

抑肝健脾复方对肝纤维化大鼠 HA、PCIII、IV-C、HyP 的影响

龙爱华, 王树槐, 陈瑾, 朱虹(扬州大学医学院, 扬州 225001)

摘要: 方法: 采用 40% CCl₄ 制备大鼠肝纤维化模型, 以秋水仙碱为对照, 观察抑肝健脾复方对大鼠肝纤维化各项指标的影响。结果: 抑肝健脾复方能显著降低大鼠血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、透明质酸(HA)、III前胶原(PCIII)、IV 胶原 C(IV-C) 和肝组织中羟脯氨酸(HyP) 的水平并能显著减轻肝脏胶原纤维增生程度。

关键词: 抑肝健脾方; 肝纤维化; 实验研究

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** D **文章编号:** 1005-9903(2000)06-0030-02

抑肝健脾复方为临床治疗慢性肝病的常用方, 具有疏肝理气、健脾和胃的功效, 我们利用此方进行抗大鼠 CCl₄ 实验性肝纤维化的研究, 并与秋水仙碱进行对照探讨其抗肝纤维化作用及其机理。

1 材料与方

1.1 动物 Wistar 大鼠 27 只, 雄性, 体重 220±20.5g, 扬州大学实验动物中心提供。

1.2 主要试剂 CCl₄ 分析纯, 宜兴化学试剂三厂产品, 秋水仙碱(Colchicine), Serva 公司生产, 羟脯氨酸(Hydroxyproline), 购自上海华美公司, HA 试剂盒为上海海军医学研究所提供。ALT、AST 试剂盒、A、G 检测试剂盒由上海生物化学试剂公司生产, PCIII 试剂盒购自重庆肿瘤研究所, IV-C 购自北京化学试剂研究所, 抑肝健脾复方由柴胡、黄芪、姜黄、桃仁、丹参、蚤休、白术、黄芩等八味中药组成, 由扬州大学医学院中西医结合研究所制成口服制剂, 每 ml 含生药 2g。

1.3 动物及药物处理 Wistar 雄性大鼠 27 只, 随机分为 5 组, 正常组 6 只, 模型组 6 只, 秋水仙碱组 5 只, 低剂量组 5 只, 高剂量组 5 只, 实验第一天皮下注射 40% CCl₄ 橄榄油溶液 0.5 ml/100g 体重, 以后每隔 3 天皮下

注射 0.3ml/100g 体重, 共 8 次。在整个实验过程中, 所有大鼠饲以颗粒饲料, 自由饮水, 从实验第 5 周开始定时灌胃每日 1 次, 每次给药剂量为高剂量 3ml/100g 体重, 低剂量 0.75ml/100g 体重, 秋水仙碱组 17ml/100g 体重, 正常组和 CCl₄ 组给 1ml/100g 体重蒸馏水, 共给药 30 天, 末次给药 24h 后, 乙醚麻醉, 颈动脉放血, 取肝脏组织待测。

1.4 ALT、AST 动力学法, A 和 G 的检测按试剂盒说明。

1.5 HA、PCIII、IV-C 放免法 按试剂盒说明, 肝组织羟脯氨酸含量采用 Jamall 氏法检测^[1]。

1.6 光镜检查 肝组织标本经 10% 福尔马林固定, 石蜡包埋后切片, HE 染色, 纤维染色, 光镜观察。

1.7 统计处理 *t* 检验。

2 结果

2.1 血清 ALT、AST、A、G 的变化 结果见表 1。高低剂量治疗组 ALT、AST 显著低于模型组, 优于秋水仙碱组, 低剂量与秋水仙碱组相比无显著差异。

2.2 血清 HA、PCIII、IV-C、肝组织 HyP 的变化, 结果见表 2。秋水仙碱、高低剂量组各项指标显著下降, 与模型组相比有显著差异, 且高剂量组优于秋水仙碱组。

表1 各组大鼠血清ALT、AST的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ALT(U/L)	AST(U/L)	A(g/L)	G(g/L)
正常组	6	78.76±12.32	208.74±8.01	31.2±2.4	28.3±4.5
CCl ₄ 组	6	121.31±7.21	270.43±9.28	25.3±5.2	27.6±7.2
秋水仙碱组	5	106.17±8.32	234.11±7.29	26.1±4.8	28.3±6.5
低剂量组	5	86.41±5.84 ^{Δ#}	220.17±6.98 ^{Δ#}	27.9±3.3	25.1±7.3
高剂量组	5	81.54±3.28 ^{Δ##}	210.30±8.40 ^{Δ##}	30.7±4.6	26.1±8.2

注:与CCl₄组相比^Δ $P < 0.05$,^{Δ#} $P < 0.01$;与秋水仙碱组相比[#] $P > 0.05$,^{##} $P < 0.01$ (下同)。

表2 各组大鼠血清HA、PCIII、IV-C、肝组织HyP的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HA	PCIII	IV-C	HyP
正常组	6	305.43±40.21	108.94±31.20	80.32±18.93	88.21±19.58
CCl ₄ 组	6	813.51±43.42	238.52±88.12	244.26±27.46	256.32±22.37
秋水仙碱组	5	663.53±38.72	135.41±37.48	142.38±17.59	179.21±22.49
低剂量组	5	633.64±39.40 ^Δ	132.19±35.24 ^Δ	133.14±25.29 ^Δ	171.27±23.41 ^Δ
高剂量组	5	584.97±44.13 ^{Δ#}	113.72±32.64 ^{ΔΔ}	95.58±16.67 ^{Δ#}	145.40±23.29 ^Δ

2.3 肝组织病理变化 HE染色标本观察,模型组有较广泛的肝细胞点状坏死,伴淋巴细胞浸润,肝细胞再生较为明显,汇管区结缔组织有不同程度增生,高剂量组明显轻于其余各组,纤维染色标本观察,模型组的肝脏内可见主要由胶原纤维构成的菲薄间隔,部分破坏界板,分割包绕肝小叶,尚无假小叶形成。

3 讨论

本实验采用CCl₄致肝纤维化是研究抗肝纤维化的典型模型,抑制肝内炎症,保护肝脏功能,减少肝细胞坏死、增生和贮脂细胞活化应当成为预防、治疗肝纤维化的主要手段。

秋水仙碱已被证实可以增加肝硬化患者的生存率,该药具有抗炎、抗纤维化作用,实验亦证实可以抑制增生的肝细胞、活化的贮脂细胞合成和分泌胶原^[2],北京友谊医院用丹参、桃仁、黄芪等药物使肝纤维化患者症状明显好转,它能抑制I、III、IV型胶原的合成,并能抑制TGF- β 1的活性^[3]。从本实验的结果可以看出,抑肝健脾复方在保护肝脏功能

方面,无论是低、高剂量均具有显著效果,且优于秋水仙碱,这可能与黄芪、柴胡、白术、黄芩等条达肝气、益气健脾之功效有关,这也与病理表现十分吻合。在抑制血清HA、PCIII、IV-C和肝组织HyP的作用方面,高剂量组的抑肝健脾方同样优于秋水仙碱组,纤维染色的高剂量组纤维增生破坏界板的情况明显少于其它各组,也正是说明了这一变化。这可能与方中姜黄、桃仁、丹参、蚤休等活血化瘀作用抑制肝内炎症、肝细胞再生和贮脂细胞活化有关,进一步的作用机理有待研究。

参考文献:

- [1] Jamall IS, Finelli VN, Que Hee SS. A simple method to determine nanogram levels of 4-hydroxyproline in biological tissue[J]. Analytical Biochemistry, 1981, 112: 70.
- [2] Kershehovich O, et al. Colchicine in the treatment of cirrhosis of the liver[J]. N Engl J Med, 1988, 318: 1709.
- [3] 钱绍诚. 肝纤维化、肝硬化的可逆性[J]. 中华消化杂志, 1995, 15(5): 251.