

• 论著 •

复元愈肝胶囊抗大鼠肝纤维化的实验研究

刘爱华¹, 黄 骏², 魏江磊¹

(1. 上海中医药大学附属曙光医院急诊内科, 上海 200021; 2. 湖北省十堰市人民医院, 湖北 十堰 442000)

【摘要】 目的: 探讨复元愈肝胶囊抗肝纤维化的作用机制。方法: 70 只 Wistar 大鼠被随机分为正常对照组(A 组, 10 只)、模型组(B 组, 12 只)、秋水仙碱组(C 组, 12 只)和复元愈肝胶囊大、中、小剂量组(D、E、F 组, 各 12 只)。除 A 组外, 余各组均采用 CCl₄、高脂、高胆固醇、低蛋白等复合因素制备大鼠肝纤维化模型。同时 A 组和 B 组每日给予 2 ml 生理盐水; C 组给予秋水仙碱 0.1 mg/kg; D、E、F 组分别给予复元愈肝胶囊 9、4.5 和 2.25 g/kg。于第 6 周末心脏取血测定血清透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LM)、Ⅲ型前胶原(PCⅢ)及肝组织羟脯氨酸(HYP)含量, 并观察肝组织病理改变, 以判定胶原纤维增生程度。结果: B 组血清 HA、LM、PCⅢ及肝组织 HYP 含量均显著高于其他各组(P 均 <0.01)。与 C 组比较, D 组血清 HA、LM 和 PCⅢ均显著降低($P<0.05$ 和 $P<0.01$), 且显著低于 F 组($P<0.05$ 和 $P<0.01$), 而 D、E、F 组血清 PCⅢ均显著低于 C 组, 但 3 组间差异无显著性(P 均 >0.05)。肝组织病理观察, C、D、E 和 F 组均可以改善肝脏病理、抑制肝纤维化形成。结论: 复元愈肝胶囊具有确切的抗肝纤维化作用, 且以大剂量组为优。

【关键词】 中医药疗法; 动物实验; 复元愈肝胶囊; 肝纤维化

中图分类号: R285.5; R256.4 文献标识码: A 文章编号: 1008-9691(2007)03-0180-03

Experimental studies of Fuyuan Yugan capsule (复元愈肝胶囊) for anti-hepatic fibrosis in rats LIU Ai-hua¹, HUANG Jun², WEI Jiang-lei¹. 1. Department of Emergency, Affiliated Shuguang Hospital of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200021, China; 2. Shiyan People's Hospital, Shiyan 442000, Hubei, China

【Abstract】 **Objective:** To study the effect of Fuyuan Yugan capsule (FYYG, 复元愈肝胶囊) on experimental hepatic fibrosis in rats. **Methods:** Seventy Wistar rats were randomly divided into normal control group (A group, $n=10$), model group (B group, $n=12$), colchicine group (C group, $n=12$) and high, middle, low dose of FYYG group (D, E, F group, each $n=12$). Hepatic fibrosis model of rat was reproduced by complex factors including carbon tetrachloride (CCl₄), high lipids, high cholesterol and low protein in all groups except A group. Two ml normal saline were given to rats in A and B group, while colchicine (0.1 mg/kg) or FYYG capsule (9, 4.5 and 2.25 g/kg) were given to the rats in C, D, E and F group, respectively. The indexes of serum hyaluronic acid (HA), laminin (LM), procollagen Ⅲ (PCⅢ) and the expression of hydroxyproline (HYP) in liver tissues were assayed at the end of the 6th week. Pathological changes of liver tissues were observed to decide proliferation degree of collagenous fibers. **Results:** The levels of serum HA, LM, PCⅢ and HYP of B group were significantly higher than those of other groups (all $P<0.01$). Compared with C group, the levels of HA, LM and PCⅢ of D group were significantly lower ($P<0.05$ and $P<0.01$), and significantly lower than those of F group ($P<0.05$ and $P<0.01$). The levels of serum PCⅢ of D, E and F group were significantly lower than those of C group. There were no significant differences in three groups (all $P>0.05$). In C, D, E and F group, the liver pathological changes were improved, and the collagenous fiber proliferation was inhibited. **Conclusion:** FYYG capsule shows definitely protective and therapeutic effect on experimental hepatic fibrosis especially in high dose.

【Key words】 therapy of traditional Chinese medicine; experiment on animals; Fuyuan Yugan capsule; hepatic fibrosis

肝纤维化是各种慢性肝病的病理学特征, 是其发展至肝硬化的必经阶段, 与肝癌有关, 而我国是病

毒性肝炎的高发区, 据统计 10%~15% 的慢性肝炎患者在 10~15 年内发展至肝硬化。在肝纤维化尚未发展至肝硬化前及早阻断和逆转肝纤维化是防治肝炎后肝硬化的关键。复元愈肝胶囊属三类新药, 该方是在经验方基础上研制而成的中药胶囊制剂, Ⅰ期

作者简介: 刘爱华(1977-), 女(蒙古族), 内蒙古自治区人, 博士研究生, 医师, 研究方向为脑血管病的研究 (Email: huamei1977@163.com)。

临床研究已经完成并通过鉴定,其方药配伍既严格遵循中医传统理论,又体现了中西医辨证相结合的现代理念,查阅文献也未见相同组方的报道,本研究旨在通过动物实验进一步探讨复元愈肝胶囊抗肝纤维化的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料:Wistar 大鼠 70 只,雌雄各半,体重 180~220 g,由湖北省医学科学院实验动物中心提供。血清透明质酸(HA)和Ⅲ型前胶原(PCⅢ)试剂盒均购自上海海军研究所(批号:20021001),层粘连蛋白(LM)试剂盒购自北方生物技术所(批号:20021001)。胆固醇由武汉亚法生物工程分公司提供(批号:20010012),市售猪油、玉米粉、乙醇。秋水仙碱由西双版纳制药厂出品(批号:20020425),分析纯 CCl₄ 由天津市化学试剂二厂提供(批号:20000909),复元愈肝胶囊由湖北省十堰市人民医院药剂科生产。

1.2 制模方法:采用 CCl₄、高脂、低蛋白等复合因素制造大鼠肝纤维化模型^[1]。首次在大腿内侧皮下注射分析纯 CCl₄ 溶液 5 ml/kg,以后每隔 3 d 或 4 d 注射质量分数为 40%的 CCl₄ 橄榄油溶液 3 ml/kg,连续注射 6 周;实验 1~2 周饲以高脂玉米粉饲料(79.5%单纯玉米粉+20.0%猪油+0.5%胆固醇),另外以体积分数为 30%的乙醇作为饮料,3~6 周饲以单纯玉米粉,自由饮用自来水。

1.3 分组及给药方法:70 只大鼠自制模之日起按随机数字表法分为正常对照组(A 组,10 只)、模型组(B 组,12 只)、秋水仙碱组(C 组,12 只)以及复元愈肝胶囊大、中、小剂量组(D、E 和 F 组,各 12 只)。A 组和 B 组每日分别给予生理盐水 2 ml, C 组每日给予秋水仙碱 0.1 mg/kg, D、E 和 F 组每日分别给予复元愈肝胶囊 9、4.5 和 2.25 g/kg。第 6 周末用质量分数为 2%的戊巴比妥麻醉大鼠后心脏取血,随后处死大鼠取肝组织标本。

1.4 指标检测及方法:血清 HA、LM、PCⅢ测定用放射免疫法,按试剂盒说明书要求操作。肝组织羟脯氨酸(HYP)测定按文献[2]方法。组织病理观察用常规石蜡包埋、切片,苏木素-伊红(HE)染色;按文献[3]方法制定胶原纤维增生程度半定量标准。

1.5 统计方法:采用 SPSS11.0 软件进行单因素方差分析及 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 死亡率:A 组大鼠无死亡。实验第 6 周时, B、C、D、E 和 F 组分别死亡 5、5、4、4 和 5 只,死亡率分别为 41.7%、41.7%、33.3%、33.3%和 41.7%;各组实际进入实验的动物数分别为 7、7、8、8 和 7 只。

2.2 各组大鼠血清肝纤维化指标及肝组织 HYP 变化(表 1):A、C、D、E 和 F 组血清 HA、LM、PCⅢ及肝组织 HYP 均明显低于 B 组(P 均 <0.01);与 C 组比较, D 组血清 HA、LM 均显著降低,且明显低于 F 组($P<0.05$ 或 $P<0.01$); D、E 和 F 组血清 PCⅢ较 C 组显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),但 3 组间比较差异无显著性。

2.3 各组大鼠肝组织病理学变化: B 组肝细胞广泛严重脂肪变性,有少量点状坏死,汇管区有少量淋巴、单核细胞浸润,部分汇管区增宽,并有纤维间隔伸入肝小叶,局部有早期假小叶形成;其余给药组肝组织破坏不明显,肝细胞脂肪变性程度明显减轻,可见少量炎性细胞浸润,肝细胞坏死程度减轻,少见纤维结缔组织增生。B 组大鼠肝脏胶原纤维增生情况显著重于其他组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

3 讨论

肝纤维化是诸多慢性肝病发展至肝硬化过程中所共有的病理组织改变,是影响慢性肝病预后的重要环节。肝纤维化是一动态过程,其中医病机亦是动态演变过程,尽管不同病因所致肝病的发病机制不同,肝纤维化不同阶段表现的中医病机也有差异,但形成肝纤维化的最终途径均是肝之津血凝聚导致

表 1 复元愈肝胶囊对大鼠血清 HA、LM、PCⅢ,肝组织 HYP 及胶原纤维增生的影响

Table 1 Effect of Fuyuan Yugan capsule on serum HA, LM, PCⅢ and HYP, proliferation degree of collagenous fibers in liver tissues of rats in each group

组别	动物数 (只)	血清 HA	血清 LM	血清 PCⅢ	肝组织 HYP	胶原纤维增生程度(只)				
		($\bar{x}\pm s, \mu\text{g/L}$)	($\bar{x}\pm s, \mu\text{g/L}$)	($\bar{x}\pm s, \mu\text{g/g}$)	($\bar{x}\pm s, \text{mg/g}$)	-	±	+	++	+++
A 组	10	42.8±7.8 $\Delta\Delta$	90.7±7.6 $\Delta\Delta$	130.8±9.0 $\Delta\Delta$	16.9±3.4 $\Delta\Delta$	10	0	0	0	0 $\Delta\Delta$
B 组	7	181.5±14.3	202.9±8.2	295.6±13.1	43.8±6.5	0	0	1	3	3
C 组	7	103.7±8.6 $\Delta\Delta$	168.4±6.3 $\Delta\Delta$	234.8±12.4 $\Delta\Delta$	31.5±4.7 $\Delta\Delta$	0	3	2	1	1 Δ
D 组	8	91.8±5.7 $\Delta\Delta^{**}$	154.2±5.6 $\Delta\Delta^{***}$	204.8±10.6 $\Delta\Delta^{**}$	28.4±6.0 $\Delta\Delta$	0	4	2	2	0 $\Delta\Delta$
E 组	8	99.1±7.8 $\Delta\Delta$	164.9±6.1 $\Delta\Delta$	206.5±10.9 $\Delta\Delta^{**}$	30.6±5.6 $\Delta\Delta$	0	2	4	1	1 Δ
F 组	7	161.4±9.8 $\Delta\Delta$	167.1±4.1 $\Delta\Delta$	211.0±20.0 $\Delta\Delta^{*}$	32.3±5.3 $\Delta\Delta$	0	2	3	1	1 Δ

注:与 B 组比较: $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$; 与 C 组比较: $^{*} P<0.05$, $^{**} P<0.01$; 与 F 组比较: $^{#} P<0.05$, $^{##} P<0.01$

“痰湿”、“瘀血”沉积。复元愈肝胶囊由土鳖、水蛭、青皮、肉桂等组成,具有活血化瘀兼扶正之功。本实验结果表明,复元愈肝胶囊抗肝纤维化作用机制如下。

3.1 抗肝损伤:复元愈肝胶囊治疗后,大鼠肝细胞变性、坏死程度明显减轻,汇管区炎性细胞浸润程度亦较模型动物明显减轻,且作用较秋水仙碱为优。表明复元愈肝胶囊具有较好的抗肝损伤作用。

3.2 抗肝纤维化:肝纤维化的发生与胶原合成、降解的动态平衡失调有关,胶原是细胞外基质(ECM)的重要组成部分,肝纤维化主要表现为大量 ECM 异常沉积、纤维隔形成、肝细胞弥漫性变性、坏死和结节状再生^[4]。HA、LM、PCⅢ是反映肝纤维化的血清学指标,HYP 是评估胶原蛋白含量和肝纤维化程度的指标^[5]。本实验结果表明,经复元愈肝胶囊治疗的大鼠以上指标均较未治疗者显著下降,且复元愈肝胶囊治疗后部分检测指标的改善程度明显优于秋水仙碱治疗,说明该方有抗肝纤维化作用。从病理结果看,经复元愈肝胶囊及秋水仙碱治疗的肝组织纤

维化程度均明显减轻,以复元愈肝胶囊大剂量为优。

3.3 提高机体免疫功能:现代药理研究揭示,补肾药有保护肝细胞能量代谢和核酸代谢等作用,还可调节肝脏疾病引起的机体免疫功能紊乱。本实验的病理结果表明,复元愈肝胶囊治疗后大鼠肝细胞的变性、坏死程度较模型动物明显减轻,我们认为可能与该方具有提高机体的免疫功能有关。

参考文献:

- [1] 王宝恩,孙森,白宁.活血化瘀中药复方对实验性肝纤维化的疗效观察[J].中草药,1990,21(4):23-25.
- [2] 许志勤,高兰兴.组织羟脯氨酸测定方法的改进[J].解放军预防医学杂志,1990,8(1):40-42.
- [3] 冯惠强,黄河清.复元愈肝胶囊治疗无症状 HBsAg 携带者疗效观察[J].现代中西医结合杂志,2001,10(14):1304-1306.
- [4] 张小兆,乔汉臣.自拟抗纤方对肝硬化纤维化的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2005,12(1):23-26.
- [5] Ruwart M J, Rush B D, Snyder K F, et al. 16, 16 - dimethyl prostaglandin E₂ delays collagen formation in nutritional injury in rat liver[J]. Hepatology, 1988, 8(1): 61-64.

(收稿日期:2006-12-09 修回日期:2007-01-06)

(本文编辑:李银平)

• 经验交流 •

自体血液回收机在骨科手术中的应用及体会

李红峰,马月兰

(宁夏回族自治区人民医院手术室,宁夏 银川 700021)

【关键词】 自体血回收;自体血回输;急救

中图分类号:R683.2 文献标识码:B 文章编号:1008-9691(2007)03-0182-01

将自体血液保护和回输技术用于 10 例骨科手术患者,有助于减少异体输血对血源的依赖和输血并发症的发生,也避免了血源的浪费,报告如下。

1 临床资料

1.1 病例:本组 10 例患者均为男性;体重 53~82 kg,平均 67.5 kg;年龄 26~77 岁,平均 65.6 岁;脊椎骨折 6 例,颈椎前后路联合手术 2 例,脊椎侧前方减压、植骨融合并椎弓根内固定手术 2 例。

1.2 方法:自手术开始用全自动血液回收机收集术野出血。抗凝剂使用肝素 50 kU/L,吸引负压调整在 100 mm Hg (1 mm Hg=0.133 kPa)内。使用 125 ml 或 225 ml 离心碗对回收血进行分离、用生理盐水每次 1 000 ml 进行洗涤,每次

洗涤出约 125 ml 或 225 ml 红细胞。术中输入乳酸林格液、琥珀酸明胶、质量分数为 6% 的羟乙基淀粉注射液,根据中心静脉压及血压的变化调整输液速度以维持血流动力学稳定。

1.3 结果:10 例患者术中输血全部采用自体血回输,无一例出现输血意外,患者均顺利恢复。

2 讨论

血液回收机操作简单,5~6 min 即可处理 1 罐浓缩细胞回输给患者,可以边回收边回输血液,且无需检验血型和交叉配血,为抢救赢得了时间,尤其对实质性器质性器官破裂内出血的患者,在急需输血又缺乏相溶血液时,自体血回收再回输可以挽救患者生命。

自体血回输不传播疾病,无血型不合引起的溶血反应,无异体抗体引起的

免疫反应,并且术中自体血回收再回输可以减少血液资源的浪费,同时可减轻患者的经济负担。

经血液回收机回收血液是在回收机密闭的管道内进行一系列过滤、清洗、净化,血液不被污染,且血液中破碎细胞及有害成分可被排到废液袋中去。

洗涤式自体血回收再回输是一种安全而有效的血液保护技术,但临床表明它的作用是有限的,仍不能完全免除异体输血。若此技术与其他血液保护技术联合应用,如控制性降压、术前自体采血、急性等容性血液稀释、应用止血或凝血因子保护药物等,可进一步增加血液保护的效果。

(收稿日期:2007-01-13)

(本文编辑:保健媛)

作者简介:李红峰(1971-),女(汉族),宁夏回族自治区人,护师。