

仁青芒觉胶囊对二甲基亚硝胺诱导的大鼠肝纤维化的治疗作用

陈维武^{1#}, 王海荣^{2, 3#}, 霍璇^{2, 3}, 胡金芳^{2, 3*}, 申秀萍^{2, 3*}

1. 西藏奇正藏药股份有限公司, 北京 100000

2. 天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

3. 天津市新药非临床评价技术工程中心, 天津 300301

摘要:目的 观察仁青芒觉胶囊对二甲基亚硝胺(DMN)诱导的肝纤维化模型大鼠的治疗作用。方法 大鼠ip DMN制备肝纤维化模型, 治疗给予低、中、高剂量(0.05、0.10、0.20 g/kg)的仁青芒觉胶囊, 1.5 g/kg扶正化瘀胶囊作为阳性药, 对照组及模型组给予同体积的蒸馏水, 每天给药1次, 连续4周。观察大鼠血清生化及胶原水平, 肝脏组织蛋白、羟脯氨酸(Hyp)及超氧化物歧化酶(SOD)水平的变化; 取肝脏, 测定肝脏指数; 肝组织固定, HE及Masson染色, 镜下观察肝脏组织结构和纤维化程度变化。**结果** ①与模型组比较, 仁青芒觉胶囊各剂量组动物体重, 高、低剂量组肝质量显著增加($P<0.05$ 、 0.01), 高剂量组动物肝脏系数明显增加($P<0.05$)。②与模型组比较, 仁青芒觉胶囊各剂量组血清总蛋白(TP)和白蛋白(ALB)含量显著升高, 血清丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)活性和总胆红素(TBIL)、透明质酸(HA)、IV型胶原(IV-C)、III型前胶原(PC-III)含量显著降低($P<0.05$ 、 0.01 、 0.001); 层粘连蛋白(LN)也有不同程度的降低, 低剂量组差异显著($P<0.05$)。③与模型组比较, 低、中剂量的仁青芒觉胶囊可以显著增加肝组织中蛋白含量($P<0.01$ 、 0.001), 各剂量SOD水平均显著升高($P<0.05$ 、 0.001)。④肝组织病理学显示, 0.2 g/kg剂量的仁青芒觉胶囊能够显著改善弥漫性肝细胞水肿变性、坏死及减轻纤维增生程度, 中、低剂量可以改善肝纤维化程度。**结论** 仁青芒觉胶囊对DMN诱导的肝纤维化模型大鼠具有一定程度的治疗作用。

关键词: 藏药; 仁青芒觉胶囊; 肝纤维化; 二甲基亚硝胺; 扶正化瘀; 血清生化; 胶原

中图分类号: R962.2 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2019)06-1099-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.06.008

Therapeutic effect of Renqing Mangjue capsule on liver fibrosis rats induced by DMN

CHEN Weiwu¹, WANG Hairong^{2,3}, HUO Xuan^{2,3}, HU Jinfang^{2,3}, SHEN Xiuping^{2,3}

1. Xizang Cheezheng Tibetan Medicine Co., Ltd., Beijing 100000, China

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research Drug Assessment Co., Ltd., Tianjin 300301, China

3. Tianjin Engineering Research Center of Drug Preclinical Assessment Technology, Tianjin 300301, China

Abstract: Objective To investigate the therapeutic effect of Renqing Mangjue capsule (RQMJC) on liver fibrosis in rats induced by dimethylnitrosamine (DMN). **Methods** Liver fibrosis rats induced by DMN were administered with RQMJC via gastro-gavage at the levels of 0.05, 0.10 and 0.20 g/kg once daily for 4 weeks. Fuzheng Huayu Capsule of 1.5 g/kg was used as positive drug. Rats in control and model group were given distilled water of the same volume. Serum chemistry, serum collagens, as well as liver SOD, protein and hydroxyproline (Hyp) were examined at the end of study. Liver was taken and liver index was measured. Histopathology with HE and Masson's trichrome staining was used to evaluate the changes of hepatocyte morphology and fibrosis degree. **Results** ①Compared with model group, the body weight in all dosing groups, the liver weight in high and low dose groups were increased significantly ($P < 0.05$ and 0.01), and the animal liver coefficient increased significantly in the high dose group ($P < 0.05$). ② Compared with model group, the content of total serum protein (TP) and albumin (ALB) of each dose group of RQMJC was

收稿日期: 2018-12-09

基金项目: 国家科技重大新药创制项目(2015ZX09501004); 天津市科技计划项目(16PTG CCX00090)

#第一作者: 陈维武(1972—), 男, 从事药物研发相关工作。Tel: (010)64942040 E-mail: weiwuchen@126.com

王海荣(1980—), 女, 研究方向为药理毒理学。Tel: (022)84845247 E-mail: wanghr@tjipr.com

*通信作者: 申秀萍, Tel: (022)84845266 E-mail: shenxp@tjipr.com

胡金芳, Tel: (022)84845249 E-mail: hujf@tjipr.com

significantly increased, the activities of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin (TBIL), hyaluronic acid (HA), type IV collagen (IV-C) and type III procollagen (PC-III) were significantly decreased ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). Laminin (LN) had the trend of reduction, and the difference was significant in low dose group ($P < 0.05$). ③ Compared with model group, low and medium doses of RQMJC significantly increased the protein content in liver tissue ($P < 0.01, 0.001$), and the SOD levels of each dose group were significantly increased ($P < 0.05, 0.001$). ④ Liver histopathology showed that 0.2 g/kg RQMJC significantly improved the degree of edema, degeneration, necrosis and fibrosis of diffuse hepatocytes, and medium and low dose groups of RQMJC improved the degree of liver fibrosis. **Conclusions** RQMJC is effective in the treatment of liver fibrosis induced by DMN in rats.

Key words: tibetan medicine; Renqing Mangjue capsule; liver fibrosis; DMN; reinforcing healthy qi and removing blood stasis; serum biochemistry; collagen

仁青芒觉丸成方于公元8世纪,始载于藏医古典巨著《四部医典》中,后经历代藏医学者不断发展,详载于司徒·却吉琼乃所著《盘德琼乃》一书中^[1]。现代经改良制成的仁青芒觉胶囊具有清热解毒、益肝养胃、愈创、明目醒神、滋补强身等功效,临床上广泛用于治疗消化性溃疡、急慢性胃肠炎、萎缩性胃炎等疾病^[2-4],也有研究表明其具有耐缺氧和抗心律失常作用^[5-6]。

由多种因素引发的肝硬化,是临床常见的慢性进行性肝病,具有早期诊断困难、并发症多、危害大等特点,目前尚无根治办法。仁青芒觉具有活血凉血、清热解毒、益肝养胃的功效,具备治疗肝纤维化的理论依据,本研究依据现代药理学方法考察其对肝纤维化的治疗效果。

1 材料

1.1 动物

雄性Wistar大鼠,体质量140~160 g,由天津市山川红实验动物科技有限公司提供,实验动物生产许可证号为SCXK(津)2009-0001。饲养于天津市新药安全评价研究中心(津实设施准第012号)实验动物系统内,每笼不超过6只;饲料(天津市华荣实验动物科技有限公司提供)与饮水充足。室温维持在20~25℃,相对湿度维持在40%~70%,通风次数为10~15次/h全新风,光照昼夜明暗12 h/12 h交替。动物使用方案经本中心实验动物管理和使用委员会(IACUC)审查并批准。

1.2 药物与主要试剂

仁青芒觉胶囊粉,甘肃奇正藏药有限公司,批号20100101,干燥器中保存。阳性对照药扶正化瘀胶囊,上海黄海制药有限责任公司生产,批号100403。

二甲基亚硝胺(DMN),上海开明化学厂;丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)试剂,中生

北控生物科技股份有限公司;超氧化物歧化酶(SOD)、羟脯氨酸(Hyp)和蛋白检测试剂盒,南京建成生物工程研究所;透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)、III型前胶原(PC-III)及IV型胶原(IV-C)酶免试剂盒,Adlitteram diagnostic laboratories。

1.3 主要仪器

LXJ-IIB型低速大容量多管离心机,上海安亭科学仪器有限公司;Sunrise酶标仪,奥地利日升公司;PL203电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;日立7080全自动生化仪,日本日立株式会社;Olympus BH-2普通光学显微镜,日本Olympus公司。

2 方法

2.1 模型制备及给药

选用Wistar雄性大鼠90只,体质量140~160 g,除预留10只做对照外,其余大鼠于每周的第1~3天,ip 0.5% DMN生理盐水稀释液2 mL/kg,共4周。取2只模型大鼠,处死取肝组织,做病理检查,证明肝纤维化形成^[7-8]。将造模大鼠按体质量随机分为模型组、扶正化瘀胶囊(阳性药,1.5 g/kg)组及仁青芒觉胶囊高、中、低剂量(0.20、0.10、0.05 g/kg)组,每组14只。每天ig给药1次,连续4周,给药体积为10 mL/kg,对照组及模型组给予同体积的蒸馏水。

2.2 血清胶原、生化指标检测

末次药后1 h, ip 40 mg/kg戊巴比妥钠麻醉动物,腹主动脉取血,离心收集血清,试剂盒法测定ALT、AST、TP、ALB、TBIL、HA、LN和PC III/IV-C含量。

2.3 肝脏系数检测及肝组织病理学检查

取肝脏称质量并计算肝脏系数;12%福尔马林液固定相同位置的肝组织,进行HE及Masson纤维胶原染色,而后进行肝组织病理学检查,按照2000年西安全国病毒性肝炎病理诊断标准对肝组织病理纤维化和炎症活动度进行分级^[9-11],肝纤维化分级

标准:“—”为正常肝脏,只见汇管区内极少量纤维结缔组织,为正常结构成分;“+”为汇管区、小叶中央静脉周围胶原纤维增生,中央静脉及门静脉有少量纤维束放散延伸,但无纤维间隔形成,小叶结构仍保存;“++”为胶原纤维增生,中央静脉和门静脉区纤维束向周围延伸,形成不完全间隔,小叶结构大部分保留;“+++”为胶原纤维大量增生,有少量菲薄的完全间隔形成,小叶结构破坏;“++++”为完全间隔增厚,假小叶形成。

2.4 肝组织SOD、蛋白、Hyp含量测定

称取同一部位肝组织 200 mg,用生理盐水制成 10% 及 1% 的肝组织匀浆液,2 000 r/min 离心 10 min,收集上清液,应用相应试剂盒,采用 1% 肝匀浆液测定 SOD 和蛋白含量,样本水解法测定 Hyp。

2.5 统计分析

计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 11.5 统计学软件,符合正态分布的采用 One-Way ANOVA(单因素方差分析,LSD)对数据进行统计分析,不符合正态分布的采用非参数检验;组织病理的病变程度采用 NPar Tests Mann-Whitney Test。

3 结果

3.1 对肝纤维化大鼠的保护作用

在给药治疗前期,各组均有大鼠死亡,这可能

和造模剂停止 2 周内动物易死亡有关,死亡时消瘦,腹部膨大,尸检发现有腹水。存活动物状态良好,与模型组比较,给药组存活动物的状态较佳。见表 1。

3.2 对肝纤维化大鼠肝脏系数的影响

与对照组比较,模型组动物体质量、肝质量显著下降($P < 0.001$),肝脏系数略降低,无统计学意义。与模型组比较,仁青芒觉胶囊各剂量组动物体质量,高、低剂量组肝质量显著增加($P < 0.05$ 、 0.01), 0.2 g/kg 剂量组动物肝脏系数明显增加($P < 0.05$)。见表 2。

3.3 对肝纤维化大鼠血清胶原的影响

模型组大鼠血清 HA、LN、IV-C、PC-III 含量较对照组显著增加($P < 0.01$ 、 0.001);与模型组比较,仁青芒觉胶囊各剂量组 HA、IV-C、PC-III 含量显著降低($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001),其中 HA 和 PC-III 降至正常水平,IV-C 降低程度与扶正化瘀相当;LN 也有不同程度的降低,低剂量差异显著($P < 0.05$);表明仁青芒觉胶囊能够降低 DMN 诱导的大鼠肝纤维化的活跃和进展程度。见表 3。

3.4 对肝纤维化大鼠血清生化指标的影响

如表 4 所示,与对照组比较,模型组大鼠血清 TP、ALB 含量显著降低,ALT、AST 活性和 TBIL 含量显著升高($P < 0.01$ 、 0.001)。与模型组比较,仁青芒觉

表 1 仁青芒觉胶囊对 DMN 诱导的肝纤维化大鼠生存时间的影响

Table 1 Effect of RQMJC on survival time of DMN-induced liver fibrosis model rats

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	n/只	存活动物数			
			1 周	2 周	3 周	4 周
对照	—	10	10	10	10	10
模型	—	14	13	12	12	12
扶正化瘀	1.50	14	14	13	11	11
仁青芒觉胶囊	0.20	14	11	10	10	10
	0.10	14	14	10	10	8
	0.05	14	13	10	10	10

表 2 仁青芒觉胶囊对 DMN 诱导的肝纤维化大鼠肝脏系数的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of RQMJC on liver index in DMN-induced rat liver fibrosis model ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	体质量/g	肝质量/g	肝脏系数/(mg·g ⁻¹)
对照	—	314±59	9.101±1.864	28.92±1.19
模型	—	143±27 ^{###}	3.688±1.113 ^{###}	25.55±5.74
扶正化瘀	1.5	170±22 [*]	4.684±0.651 [*]	27.59±2.99
仁青芒觉胶囊	0.20	175±34 [*]	5.958±1.938 ^{**}	34.71±10.86 [*]
	0.10	192±50 [*]	4.984±1.698	26.00±5.64
	0.05	195±42 ^{**}	5.266±1.553 [*]	26.80±3.28

与对照组比较: ^{###} $P < 0.001$;与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

表3 仁青芒觉胶囊对DMN诱导的肝纤维化大鼠血清胶原的影响($\bar{x} \pm s$)Table 3 Effect of RQMJC on serum collagen in DMN-induced rat liver fibrosis model ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	HA/(ng·mL ⁻¹)	LN/(ng·mL ⁻¹)	PC-III/(ng·mL ⁻¹)	IV-C/(ng·mL ⁻¹)
对照	—	0.622±0.079	2.18±0.83	0.680±0.142	1.140±0.323
模型	—	0.895±0.239 ^{##}	11.11±8.08 ^{##}	1.298±0.947 ^{##}	5.068±1.775 ^{##}
扶正化痰	1.5	0.682±0.106 [*]	4.23±4.04 [*]	1.117±0.219	1.864±1.044 ^{***}
仁青芒觉胶囊	0.20	0.615±0.109 ^{***}	7.04±3.26	0.713±0.082 ^{**}	2.433±0.767 ^{**}
	0.10	0.678±0.103 [*]	6.00±3.68	0.720±0.203 ^{**}	2.575±0.856 ^{***}
	0.05	0.547±0.076 ^{**}	3.42±1.89 [*]	0.694±0.077 ^{**}	1.256±1.031 ^{***}

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group表4 仁青芒觉胶囊对DMN诱导的肝纤维化大鼠血清生化的影响($\bar{x} \pm s$)Table 4 Effect of RQMJC on serum biochemical index in DMN-induced rat liver fibrosis model ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	ALB/(g·L ⁻¹)	TP/(g·L ⁻¹)	TBIL/(μmol·L ⁻¹)
对照	—	34.7±3.9	158.5±26.4	32.3±1.3	56.8±3.1	2.56±0.26
模型	—	126.5±45.4 ^{###}	245.8±149.9 ^{##}	24.1±3.3 ^{###}	47.9±6.5 ^{###}	15.61±10.27 ^{##}
扶正化痰	1.5	80.3±27.0 ^{***}	135.4±43.5 ^{**}	28.2±2.4 ^{**}	52.8±4.3 [*]	7.38±3.48 [*]
仁青芒觉胶囊	0.20	74.4±18.4 ^{***}	146.4±11.2 ^{**}	30.3±1.0 ^{***}	58.5±3.4 ^{***}	5.67±2.05 [*]
	0.10	88.8±33.9 ^{**}	156.8±28.3 [*]	28.5±4.0 [*]	55.4±7.2 ^{**}	7.98±2.66 [*]
	0.05	73.2±20.6 ^{***}	135.8±29.2 ^{**}	28.5±3.0 ^{**}	53.6±4.8 [*]	6.86±2.33 [*]

与对照组比较: ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group

胶囊各给药组能够显著提高血清中TP和ALB含量,降低ALT、AST活性和TBIL含量($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001),表明仁青芒觉胶囊能够显著改善DMN肝纤维化模型大鼠的低蛋白血症和肝损伤程度。

3.5 对肝组织中SOD、Hyp及蛋白含量的影响

与对照组比较,模型组肝组织中Hyp含量明显增加,蛋白含量明显减少($P < 0.001$)。与模型组比较,0.05、0.10 g/kg的仁青芒觉胶囊可以显著增加肝组织中蛋白含量($P < 0.01$ 、 0.001),Hyp含量呈降低趋势;模型组动物肝脏SOD水平与对照组相当,仁青芒觉胶囊给药组SOD水平较模型组显著升高($P < 0.05$ 、 0.001)。表明仁青芒觉胶囊能够显著

减轻肝组织低蛋白状态,对肝组织的纤维增生有一定的降低趋势。见表5。

3.6 对肝纤维化大鼠肝组织病理的影响

如图1、2和表6所示,镜下检查结果显示,对照组动物肝脏肝小叶结构完整,组织结构清晰,肝细胞形态正常并以中央静脉为中心成条索状排列,肝窦清晰。模型组动物肝脏肝小叶均有不同程度的破坏,肝细胞排列紊乱,汇管区、中央静脉、门静脉均有不同程度的纤维组织增生,轻者纤维组织以汇管区、中央静脉、门静脉为中心呈放射延伸,或形成不完全纤维间隔;重者纤维组织相互连接形成完全纤维间隔分割肝小叶,甚者形成假小叶。

肝纤维化程度分级结果表明,与对照组比较,

表5 仁青芒觉胶囊对DMN诱导的肝纤维化大鼠肝组织中SOD、Hyp及蛋白含量的影响($\bar{x} \pm s$)Table 5 Effect of RQMJC on live SOD, Hyp and protein expression in DMN-induced rat liver fibrosis model ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	蛋白/(mg·g ⁻¹)	Hyp/(μg·g ⁻¹)
对照	—	38.7±3.9	187.6±9.1	111.6±14.9
模型	—	37.7±8.0	149.9±18.4 ^{###}	281.5±81.8 ^{###}
扶正化痰	1.5	36.3±4.5	183.3±6.2 ^{***}	183.9±52.0 ^{**}
仁青芒觉胶囊	0.20	47.3±4.3 ^{***}	171.3±25.6	225.2±63.5
	0.10	42.8±4.5 [*]	181.2±15.8 ^{***}	252.2±89.7
	0.05	42.4±4.1 [*]	183.2±22.3 ^{**}	291.3±90.1

与对照组比较: ^{###} $P < 0.001$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ ^{###} $P < 0.001$ vs control group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ ^{***} $P < 0.001$ vs model group

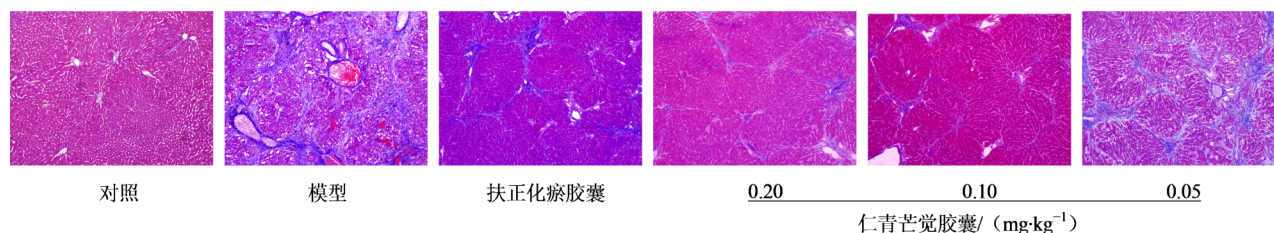


图1 仁青芒觉胶囊对DMN诱导的肝纤维化大鼠肝组织病理形态学的影响(Masson染色, $\times 10$)

Fig. 1 Effect of RQMJC on live pathological morphology of fibrosis rats induced by DMN (Masson staining, $\times 10$)

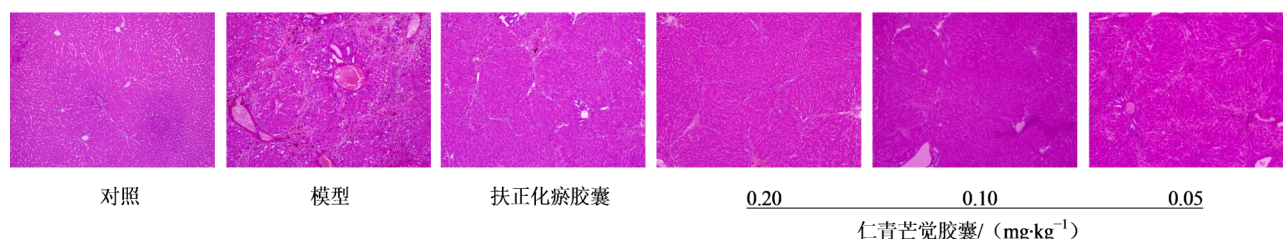


图2 仁青芒觉胶囊对DMN诱导的肝纤维化大鼠肝组织病理形态学的影响(HE染色, $\times 10$)

Fig. 2 Effect of RQMJC on live pathological morphology of fibrosis rats induced by DMN (HE staining, $\times 10$)

表6 仁青芒觉胶囊对DMN诱导的肝纤维化大鼠肝纤维化程度的影响

Table 6 Effect of RQMJC on degree of liver fibrosis in DMN-induced rat liver fibrosis model

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	n/只	肝纤维化程度					P
			—	+	++	+++	++++	
对照	—	10	10	0	0	0	0	0.000
模型	—	12	0	0	1	7	4	—
扶正化瘀	1.5	11	0	0	3	8	0	0.038
仁青芒觉胶囊	0.20	10	0	2	3	5	0	0.009
	0.10	8	0	0	2	4	2	0.439
	0.05	10	0	1	1	8	0	0.060

模型组肝纤维化程度及分级显著增加($P<0.001$);与模型组比较,0.2 g/kg的仁青芒觉胶囊可以显著减轻肝纤维化程度及分级($P<0.01$),0.10、0.05 g/kg的仁青芒觉胶囊可以一定程度上降低大鼠的肝纤维化程度和级别。

4 讨论

仁青芒觉胶囊由毛诃子、蒲桃、西红花、体外培育牛黄、人工麝香、朱砂、马钱子等多味药材加工制成^[12];其中毛诃子具有调和气血的功效,麝香、西红花可以活血凉血、化瘀消癥,朱砂和牛黄可以清热解毒、抑制病毒;全方活血化瘀、清热解毒、益养肝胃的功效可以对抗肝纤维化病人的血络瘀阻、湿热疫毒,解决肝纤维化湿、热、毒、瘀、虚等基本病理因素^[13-14],仁青芒觉胶囊具备治疗肝纤维化的理论依据^[15-16]。本文以DMN诱导的肝纤维化大鼠模型考察了仁青芒觉胶囊对肝纤维化的治疗效果。

DMN可以引起肝细胞核酸和蛋白质甲基化,导致肝细胞坏死,从而形成纤维化模型,具有相对稳定且不易吸收的特点,与临床肝纤维化和肝硬化

病理组织学特征相似,本研究采用此模型考察仁青芒觉胶囊对肝纤维化的治疗效果。与对照组比较,模型组大鼠体质量、肝脏质量降低;血清胶原HA、LN、IV-C、PC-III显著升高;肝脏功能损伤严重,ALT、AST、TBIL升高,蛋白合成能力下降,血清TP、ALB及肝脏组织内蛋白含量显著下降;胶原蛋白特有成分Hyp^[17-18]升高超过两倍;组织病理学显示,模型组大鼠肝脏肝小叶均有不同程度的破坏,肝细胞排列紊乱,汇管区、中央静脉、门静脉均有不同程度的纤维组织增生,轻者纤维组织以汇管区、中央静脉、门静脉为中心呈放射延伸,或形成不完全纤维间隔;重者纤维组织相互连接形成完全纤维间隔分割肝小叶,甚者形成假小叶;肝纤维化模型制备符合临床疾病病理及临检特征。

对纤维化模型大鼠,ig给予0.05~0.20 g/kg的仁青芒觉胶囊4周,结果表明,存活动物状态良好,体质量及肝质量显著增加;0.05~0.20 g/kg的仁青芒觉胶囊均能显著增加大鼠血清中TP和ALB含量,降低ALT、AST活性和HA、LN、IV-C、PC-III和

TBIL 含量, 升高肝脏组织 SOD 酶活性; 仁青芒觉胶囊同时还能不同程度的升高肝组织中的蛋白含量、降低 Hyp 含量; 组织病理学结果表明, 0.2 g/kg 仁青芒觉胶囊可以显著改善模型组动物的弥漫性肝细胞水肿变性、坏死, 减轻纤维增生程度, 肝纤维化程度显著低于模型组。以上血清胶原、生化及肝组织等各项指标的变化, 表明仁青芒觉胶囊可以显著降低大鼠肝纤维化的活跃程度、减轻肝组织的脂质过氧化损伤和低蛋白水平、纠正低蛋白血症, 从而降低肝损伤程度, 延缓肝纤维化的进展, 该作用在组织病理学检查中也得到了验证, 给药组大鼠肝脏纤维化程度减轻、级别降低。

研究发现, 单纯肝细胞损伤不足以诱导肝纤维化, 脂质过氧化是诸多病因引起肝损伤向肝纤维化发展的中间必须环节^[19-21]; DMN 在体内的主要代谢产物—乙醛, 其导致的谷胱甘肽和 SOD 减少是脂质过氧化损伤的主要原因^[22]; 脂质过氧化产物如甲醛、MDA 可直接刺激星状细胞活化, 而且星状细胞内氧化物含量与活化水平相关^[20-23]。本研究中模型组动物肝脏组织 SOD 含量与对照组当, 未见显著性减少, 可能与肝纤维化的阶段相关; 不同于扶正化瘀组, 仁青芒觉胶囊各剂量组 SOD 含量均有显著性升高, 表明仁青芒觉胶囊较扶正化瘀在抗肝纤维化的过程中具有明显的抗氧化优势。

藏药仁青芒觉胶囊能够改善 DMN 持续刺激诱发的大鼠肝纤维化病理性损伤, 降低 MDA、IV 胶原、Hyp 含量等, 减少肝细胞外基质合成和胶原蛋白沉积, 显示出明显的抗肝纤维化作用。

参考文献

- [1] 司徒·却吉琼乃. 盘德琼乃 [M]. 德格本刻印版. 公元 18 世纪.
- [2] 俄措卓玛. 藏药仁青芒觉治疗慢性胃炎临床疗效观察 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2017, 17(13): 175-176.
- [3] 曲牟文, 李君毅, 李国栋, 等. 仁青芒觉丸联合美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎 34 例疗效观察 [J]. 中国临床医生杂志, 2016, 44(11): 92-94.
- [4] 贺平, 旦增群培, 王世华, 等. 藏药仁青芒觉和帮间久埃对金黄色葡萄球菌的增殖抑制作用 [J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(3): 33-35.
- [5] 达杰尼玛. 研究分析仁青芒觉胶囊的耐缺氧及抗心律失常作用 [J]. 世界最新医学信息文摘, 2016, 16(83): 155.
- [6] 程体娟, 杨军英, 朱玲, 等. 仁青芒觉胶囊的耐缺氧及抗心律失常作用 [J]. 中药药理与临床, 2003, 19(2): 40-41.
- [7] 刘建文. 药理实验方法学: 新技术与新方法 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2008.
- [8] 刘永刚, 谢少玲, 李芳君. 姜黄素对 DMN 诱导的大鼠肝纤维化形成的影响 [J]. 中药材, 2005, 28(12): 1094-1096.
- [9] Chinese Society of Infectious Diseases and Parasitology and Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association. The program of prevention and treatment for viral hepatitis [J]. Chin J Infectious Dis, 2001, 19: 56-62.
- [10] Shiha G, Ibrahim A, Helmy A, et al. Asian-Pacific Association for the Study of the Liver (APASL) consensus guidelines on invasive and non-invasive assessment of hepatic fibrosis: a 2016 update [J]. Hepatol Int, 2017, 11(1): 1-30.
- [11] 何云, 王建宾, 王宇明. 肝纤维化程度诊断方法的评价 [J]. 成都军区医院学报, 2002, (3): 35-37, 40.
- [12] 中国药典 [S]. 一部. 2010.
- [13] 李生财. 中医对肝纤维化病因病机的认识 [A]// 中华中医药学会. 脾胃病分会第二十三次全国脾胃病学术交流会论文汇编 [C]. 海口: 2011.
- [14] 曹继宽, 王小玲, 畅国华, 等. 对肝纤维化病因病机的中医认识 [J]. 中国现代医生, 2009, 47(28): 22-23.
- [15] 赵勤, 杨海峰, 王薇, 等. 仁青芒觉对小鼠肝药酶影响的实验研究 [A]// 中华中医药学会. 第十次中药实验药理学术会议 [C]. 烟台: 2013.
- [16] 李恒方, 陈维武, 李敬涛, 等. 藏药仁青芒觉在制备治疗肝硬化药物中的应用 [P]. 中国专利: CN102343015A. 2012.
- [17] 潘亮, 杨大明. 血清羟脯氨酸含量在实验性肝纤维化中的变化 [J]. 南通大学学报: 医学版, 2004, 24(2): 136-137.
- [18] 孙殿兴, 王锡育, 王政民, 等. 肝病患者血清羟脯氨酸 (HYP) 测定的临床意义 [J]. 临床荟萃, 1993, 8(23): 1082-1083.
- [19] Svegliati B G, D'Ambrosio L, Ferretti G, et al. Fibrogenic effect of oxidative stress on rat hepatic stellate cells [J]. Hepatology, 1998, 27(3): 720-726.
- [20] 李丽娟, 田学明, 范宗江. 脂质过氧化对实验性肝纤维化的影响 [J]. 西南国防医药, 2000, 10(3): 139-142.
- [21] 范建高, 曾民德, 李继强, 等. 肝内脂肪和脂质过氧化与肝纤维化关系的实验研究 [J]. 中华内科杂志, 1997, 36(12): 808-811.
- [22] 刘成海, 李风华, 熊卫国. 脂质过氧化在二甲基亚硝胺诱导的大鼠肝纤维化中的作用 [J]. 世界华人消化杂志, 2001, 9(6): 645-648.
- [23] 陈文慧, 刘平, 徐光福, 等. 脂质过氧化在二甲基亚硝胺大鼠肝纤维化形成过程中的作用 [J]. 世界华人消化杂志, 2001, 9(6): 645-648.