

丹参滴丸对二甲基亚硝胺诱导大鼠肝纤维化的治疗作用

王晶晶, 裴天仙, 郭景玥, 郭传敏, 申秀萍, 张宗鹏, 胡金芳*

天津药物研究院新药评价有限公司, 天津 300301

摘要: **目的** 观察丹参滴丸对二甲基亚硝胺诱导的大鼠肝纤维化的治疗作用。**方法** 除对照组外, 其余大鼠采用 ip 二甲基亚硝胺 4 周诱导大鼠肝纤维化, 造模结束后, ig 丹参滴丸 175、350、700 mg/kg, 设扶正化瘀胶囊为阳性对照组(1 500 mg/kg), 对照组、模型组给予同体积蒸馏水, 1 次/d, 连续给药 4 周。末次给药后 1 h 剖杀动物, 测定血清生化 (ALT、AST 活性及 TP、ALB、TBIL 含量)、血清胶原 (HA、LN、III 型前胶原、IV 型胶原) 水平、肝组织中蛋白、Hyp 的含量。取肝组织固定, 进行 HE、Masson 染色, 镜下观察肝细胞组织结构和肝纤维化程度。**结果** 丹参滴丸能够显著增加血清中 TP 和 ALB 水平, 降低 ALT、AST 活性和 TBIL 水平; 能显著降低 LN、IV 型胶原含量, 明显降低 HA 含量, 对 III 型前胶原含量有一定的降低趋势; 肝匀浆检测显示能显著增加肝组织中蛋白含量, 对 Hyp 含量有一定的降低趋势; 肝组织病理学 HE 染色和 Masson 染色显示, 丹参滴丸能够改善弥漫性肝细胞变性、坏死及炎症反应, 能显著抑制胶原增生、减轻肝纤维化程度。**结论** 丹参滴丸能显著改善大鼠的肝功能、减少肝组织纤维的增生、对二甲基亚硝胺诱导的大鼠肝纤维化有一定的治疗作用。

关键词: 丹参滴丸; 肝纤维化; 二甲基亚硝胺; 血清生化; 血清胶原; 组织病理

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2017)04-0572-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.04.005

Therapeutic effects of Danshen Dropping Pills on hepatic fibrosis in rats induced by dimethylnitrosamine

WANG Jing-Jing, PEI Tian-Xian, GUO Jing-Yue, GUO Chuan-Min, SHEN Xiu-Fang, ZHANG Zhong-Peng, HU Jing-Fang

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

Abstract: Objective To study the therapeutic effect of Danshen Dropping Pills on hepatic fibrosis in rats induced by dimethylnitrosamine (DMN). **Methods** Except the control group, all groups were ip injected with DMN for 4 weeks to induce rat liver fibrosis. After rat model established, the rats in Danshen Dropping Pills group were ig administrated with Danshen Dropping Pills 700, 350, and 175 mg/kg, the rats in positive group with Fuzheng Huayu Capsule (1 500 mg/kg), once daily for 4 weeks, and the rats in control group and model group with distilled water. The activities of alanine transaminase (ALT), aspartate transferase (AST), and the contents of total protein (TP), albumin (ALB), and total bilirubin in serum (TBIL) of rats were examined. Meanwhile, hyaluronic acid (HA), procollagen III, collagen type IV, laminin (LN) level in serum, and the contents of protein and hydroxyproline (Hyp) were determined. Then, the liver tissue structure and the degree of liver fibrosis and morphological changes of liver pathology were observed by HE and Masson staining, respectively. **Results** Danshen Dropping Pills could significantly increase the contents of TP and ALB, markedly inhibit the increasing of ALT, AST and TBIL in serum of rats with hepatic fibrosis, obviously decrease the contents of LN, collagen type IV and HA, and gradually lower the content of procollagen III. There were increase of the content of protein in homogenized liver and could gradually lower Hyp content in liver homogenate test. Danshen Dropping Pills also could improve diffuse liver cell degeneration, necrosis, inflammations in the liver histopathology, significantly inhibit collagen hyperplasia, and reduce the degree of liver fibrosis by HE staining and Masson staining. **Conclusion** Danshen Dropping Pills can significantly improve the liver function of rats, reduce the proliferation of liver tissue fibers, and have therapeutic effects on DMN-induced rat liver fibrosis.

Key words: Danshen Dropping Pills; dimethylnitrosamine; hepatic fibrosis; serum biochemistry; serum collagen; histopathology

收稿日期: 2016-11-28

基金项目: 国家科技重大新药创制项目 (2015ZX09501004)

作者简介: 王晶晶, 女, 硕士, 助理研究员, 主要从事毒性病理研究。Tel: 13652007964 E-mail: wangjj8@tjipr.com

*通信作者 胡金芳, 女, 副研究员, 研究方向为药理毒理。Tel: (022)84845248 E-mail: hujf@tjipr.com

丹参滴丸组分为丹参，为治疗冠心病、心绞痛的药物，具有活血化瘀、理气止痛的功效，在临床使用中不仅对心脑血管疾病有较好的疗效，还发现对肝纤维化亦有明显治疗作用。肝纤维化是各种慢性肝病向肝硬化发展的主要环节，而且肝纤维化的过程已被公认为是可逆的^[1]，因此预防和治疗肝纤维化是阻止慢性肝病向不良预后发展的重要措施。本实验采用二甲基亚硝胺诱导大鼠肝纤维化模型，观察丹参滴丸对肝纤维化的治疗作用，为确证和增加丹参滴丸治疗肝纤维化的新适应症提供可靠的实验依据。

1 材料

1.1 药物与试剂

丹参滴丸（每丸含丹参素 47.8 mg，总酚酸以丹参素计为 485.3 mg），批号 100101，规格：35 mg/丸，天津天士力制药股份有限公司提供；阳性药：扶正化瘀胶囊，上海黄海制药有限责任公司生产，规格 300 mg/粒，批号 100403。

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）测定试剂盒购自中生北控生物科技股份有限公司，批号分别为 100321、100301、090261、090261、100361；羟脯氨酸（Hyp）、蛋白测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所，批号分别为 20101018、20101105；二甲基亚硝胺，上海开明化学厂，批号 01610223；戊巴比妥钠，北京化学试剂公司德国进口分装，批号 060222；生理盐水，天津市津兰药业有限公司生产，批号 09121302。

1.2 仪器

LXJ-II B 型低速大容量多管离心机，上海安亭科学仪器有限公司；XW-80A 旋涡仪，上海沪西分析仪器厂有限公司；SUNRISE 酶标仪，奥地利日升公司；T2000 电子天平，美国双杰兄弟（集团）有限公司；日立 7080 全自动生化仪，日本日立株式会社；Olympus BX51 显微镜、Olympus DP71 显微摄影，日本奥林巴斯光学株式会社；Leica EG-1150H+C 组织石蜡包埋机，德国 Leica 公司；樱花 IVS-410 型推拉式切片机，日本大和光机工业株式会社；樱花 VIP5J-F2 全封闭式组织脱水机、樱花 DRS-2000J-D2 自动染色装置、樱花 Glas-J2 自动封片机，日本樱花检验仪器株式会社。

1.3 动物

健康雄性 Wistar 大鼠 80 只，SPF 级，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，生产许可证编号 SCXK(津)2009-0001，适应性饲养 1 周后用于实验。

2 方法

2.1 模型的制备

选用 Wistar 雄性大鼠 80 只，除预留 10 只对照组外，其余大鼠每周第 1~3 天 ip 0.5% 二甲基亚硝胺生理盐水稀释液 2 mL/kg，共注射 4 周^[2]。

2.2 动物分组及给药

将造模大鼠按体质量随机分为模型组、扶正化瘀胶囊（1 500 mg/kg）组以及丹参滴丸 175、350、700 mg/kg 组，每组 14 只。ig 给药 1 次/d，连续 4 周。对照组、模型组 ig 同体积蒸馏水。扶正化瘀胶囊的剂量根据体质量及临床用量折算，为等效剂量的 2 倍；丹参滴丸根据体质量及临床用量折算，临床等效剂量为 350 mg/kg。

2.3 样品的采集与处理

于末次给药后 1 h，40 mg/kg 戊巴比妥钠麻醉大鼠，腹主动脉取血，3 000 r/min 离心 10 min，分离血清。定位取肝组织，固定于 12% 福尔马林液中，待做组织病理学检查；并称取同一部位肝组织 200 mg，用生理盐水制成 10% 肝组织匀浆液，2 000 r/min 离心 10 min，收集上清液进行测定。

2.4 观察指标及测定

2.4.1 一般情况分析 观察并记录大鼠的体质量、肝质量、腹水及死亡情况，并计算肝脏系数。

$$\text{肝脏系数} = \text{肝质量} / \text{体质量} \times 1000$$

2.4.2 肝功能血清生化检测 采用日立 7080 全自动生化仪测定 ALT、AST 活性以及 TP、ALB、TBIL 水平。

2.4.3 血清 HA、LN、III 型前胶原、IV 型胶原的测定 使用 ELISA 试剂盒检测，按说明书进行操作。

2.4.4 肝组织蛋白、Hyp 含量测定 肝组织蛋白采用 1% 肝匀浆液进行测定，Hyp 采用样本水解法测定，均按试剂盒说明书进行操作。

2.4.5 肝组织病理形态学改变 组织经修块，梯度酒精脱水，石蜡包埋，连续切片，切片厚度 3 μm，进行 HE 染色、Masson 染色，光镜下主要检查肝脏纤维化程度并做半定量分析。

依据肝组织病理所见和参照国内外纤维化分级标准^[3-4]，将大鼠肝纤维化程度分级划分，“—”：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；“+”：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；“++”：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；“+++”：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，但无肝硬化；“++++”：早期肝硬化，完全间隔增厚，假小叶形成。

2.5 统计方法

应用 SPSS 11.5 软件做统计分析，所有计量数

据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 *t* 检验和方差分析；病理组织的病变程度采用 NPar Tests Mann-Whitney Test。

3 结果

3.1 丹参滴丸对肝纤维化大鼠生存数量的影响

治疗前期，各组均有大鼠死亡，可能与停止染毒后 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，给药组存活动物未见增多，但存活动物的状态较佳，见表 1。

表 1 丹参滴丸对二甲基亚硝胺诱导肝纤维化大鼠生存数量的影响

Table 1 Effect of Danshen Dropping Pills on survival numbers of hepatic fibrosis in rats induced by dimethylnitrosamine

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	动物数/只	给药不同时间存活动物数/只			
			1 周	2 周	3 周	4 周
对照	—	10	10	10	10	10
模型	—	14	13	12	12	11
扶正化瘀胶囊	1 500	14	14	13	11	11
丹参滴丸	175	14	14	13	12	11
	350	14	14	13	13	11
	700	14	14	13	9	8

3.2 丹参滴丸对肝纤维化大鼠肝脏系数的影响

与对照组比较，模型组体质量、肝质量显著下降 ($P < 0.001$)，肝脏系数降低；与模型组比较，丹参滴丸 175、350 mg/kg 组、扶正化瘀胶囊组体质量

量、肝质量明显增加 ($P < 0.05、0.01$)，丹参滴丸 175、350 mg/kg 组对肝脏系数的降低有一定的升高作用，表明给药组动物整体状况和肝脏坏死程度均好于模型组。结果见表 2。

表 2 丹参滴丸对二甲基亚硝胺诱导肝纤维化大鼠肝脏系数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effect of Danshen Dropping Pills on liver coefficient of hepatic fibrosis in rats induced by dimethylnitrosamine ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	动物数/只	体质量/g	肝质量/g	肝脏系数/(mg·kg ⁻¹)
对照	—	10	314 ± 59.0	9.101 ± 1.864	28.92 ± 1.19
模型	—	11	143 ± 27.5 ^{▲▲▲}	3.688 ± 1.113 ^{▲▲▲}	25.55 ± 35.74
扶正化瘀胶囊	1 500	11	170 ± 21.7 [#]	4.684 ± 0.651 [#]	27.59 ± 2.99
丹参滴丸	175	11	218 ± 56.1 ^{###}	6.610 ± 2.640 ^{###}	30.17 ± 9.79
	350	11	191 ± 41.9 ^{###}	5.715 ± 1.795 ^{###}	29.28 ± 4.09
	700	8	159 ± 27.1	4.272 ± 0.901	26.83 ± 3.00

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

3.3 丹参滴丸对肝纤维化大鼠血清生化指标的影响

与对照组比较，模型组大鼠血清 TP、ALB 水平明显降低 ($P < 0.001$)，ALT、AST 活性和 TBIL 水平明显升高 ($P < 0.01、0.001$)；与模型组比较，

丹参滴丸 175、350 mg/kg 组能够明显提高血清中 TP、ALB 水平 ($P < 0.01、0.001$)，降低 ALT、AST 活性和 TBIL 水平 ($P < 0.05、0.01$)；表明丹参滴丸能够显著改善肝纤维化大鼠的低蛋白血症和肝损伤程度。结果见表 3。

表3 丹参滴丸对二甲基亚硝胺诱导肝纤维化大鼠血清生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Effect of Danshen Dropping Pills on serum biochemical indexes of hepatic fibrosis in rats induced by DMN ($\bar{x} \pm s$)

分组	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	动物数/ 只	ALT/(U·L ⁻¹)	AST/(U·L ⁻¹)	ALB/(g·L ⁻¹)	TP/(g·L ⁻¹)	TBIL/(μmol·L ⁻¹)
对照	—	10	34.7±3.9	158.4±26.4	32.3±1.3	56.8±3.1	2.56±0.26
模型	—	11	126.5±45.4 ^{▲▲▲}	245.8±149.9	24.1±3.3 ^{▲▲▲}	47.9±6.5 ^{▲▲▲}	15.61±10.27 ^{▲▲}
扶正化瘀胶囊	1 500	11	80.3±27.0 [#]	135.4±43.5 [#]	28.2±2.4 ^{###}	52.8±4.3	7.38±3.48 [#]
丹参滴丸	175	11	77.7±31.3 ^{###}	143.5±50.8	30.1±3.2 ^{####}	56.9±7.0 ^{###}	6.33±4.53 [#]
	350	11	82.3±21.7 [#]	143.7±20.6 [#]	29.7±3.7 ^{####}	57.2±7.2 ^{###}	5.89±3.21 [#]
	700	8	82.9±16.6 [#]	149.2±27.5	26.1±3.8	47.5±7.1	9.80±3.67

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

3.4 丹参滴丸对肝纤维化大鼠血清胶原指标的影响

与对照组比较, 模型组大鼠血清 HA、LN、IV 型胶原水平显著增加 (*P*<0.01、0.001), III 型前胶原水平增加; 与模型组比较, 丹参滴丸各剂量组均

能显著降低 LN、IV 型胶原水平 (*P*<0.05、0.01、0.001), 对 HA、III 型前胶原水平有一定的降低趋势, 表明丹参滴丸能够降低肝纤维化大鼠的活跃和进展程度。结果见表 4。

表4 丹参滴丸对二甲基亚硝胺诱导肝纤维化大鼠血清指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 4 Effect of Danshen Dropping Pills on serum indicators of hepatic fibrosis in rats induced by DMN ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	动物数/只	HA/(ng·mL ⁻¹)	LN/(ng·mL ⁻¹)	III型前胶原/ (ng·mL ⁻¹)	IV 型胶原/ (ng·mL ⁻¹)
对照	—	10	0.622±0.079	2.18±0.83	0.680±0.142	1.140±0.323
模型	—	11	0.895±0.239 ^{▲▲}	11.11±8.08 ^{▲▲}	1.298±0.947	5.068±1.775 ^{▲▲▲}
扶正化瘀胶囊	1 500	11	0.682±0.106 [#]	4.23±4.04 [#]	1.117±0.219	1.864±1.044 ^{###}
丹参滴丸	175	11	0.609±0.131	6.77±6.49	0.715±0.149	2.062±1.923 ^{###}
	350	11	0.784±0.202	4.44±3.34 [#]	0.825±0.169	1.908±1.482 ^{###}
	700	8	0.803±0.102	4.24±2.46 [#]	1.086±0.343	2.291±0.943 ^{###}

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

3.5 丹参滴丸对肝纤维化大鼠肝组织的影响

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, 丹参滴丸 175、350 mg/kg 组显著增加肝

组织中蛋白含量 (*P*<0.05、0.001), 对肝组织中 Hyp 含量有一定的降低趋势, 表明丹参滴丸能够显著减轻肝纤维化大鼠肝组织低蛋白状态。结果见表 5。

表5 丹参滴丸对二甲基亚硝胺诱导肝纤维化大鼠肝组织 Hyp 及蛋白的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 5 Effect of Danshen Dropping Pills on Hyp and protein contents of hepatic fibrosis in rats induced by DMN ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	动物数/只	蛋白/(g·g ⁻¹)	Hyp/(μg·g ⁻¹)
对照	—	10	187.6±9.1	111.6±14.9
模型组	—	11	149.9±18.4 ^{▲▲▲}	281.5±81.8 ^{▲▲▲}
扶正化瘀	1 500	11	183.3±6.2 ^{####}	183.9±52.0 ^{##}
丹参滴丸	175	11	179.5±27.6 [#]	260.3±94.3
	350	11	185.2±17.8 ^{####}	279.3±58.9
	700	8	159.6±24.9	251.3±42.1

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

3.6 丹参滴丸对纤维化大鼠肝组织病理形态学改变的影响

对照组大鼠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，较大汇管区有极少量纤维组织存在，为肝脏正常结构。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，表明造模是成功的。另外模型组大鼠还可见动物肝脏表面被膜不同程度的增厚，肝细胞不同程度的变性、坏死、再生且伴炎细胞浸润，部分动物肝脏可见不同程度的胆小管增生。丹参滴丸各剂量组大鼠及扶正化瘀胶囊组大鼠亦有上述病变，但肝纤维化病变程度从动物分布只数上看明显轻于模型组 ($P < 0.05$ 、 0.01)，表明丹参滴丸对大鼠肝纤维化有明显的治疗作用。镜下检查结果见图 1、2 和表 6。

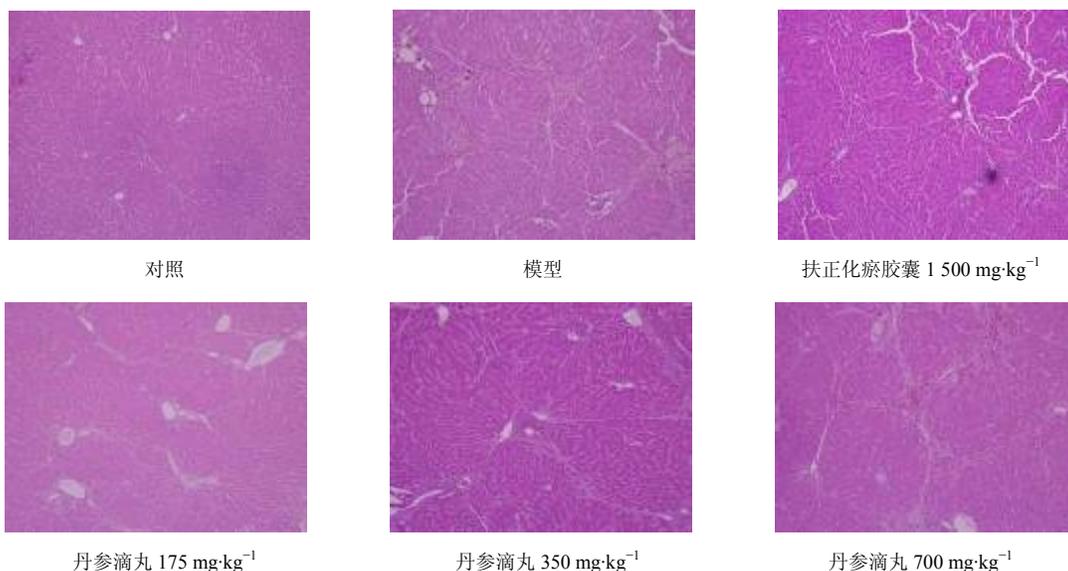


图 1 丹参滴丸对二甲基亚硝胺诱导肝纤维化大鼠肝组织病理形态学的影响 (HE 染色)

Fig 1 Effect of Danshen Dropping Pills on pathological morphology of liver tissue in rats with hepatic fibrosis (HE staining)

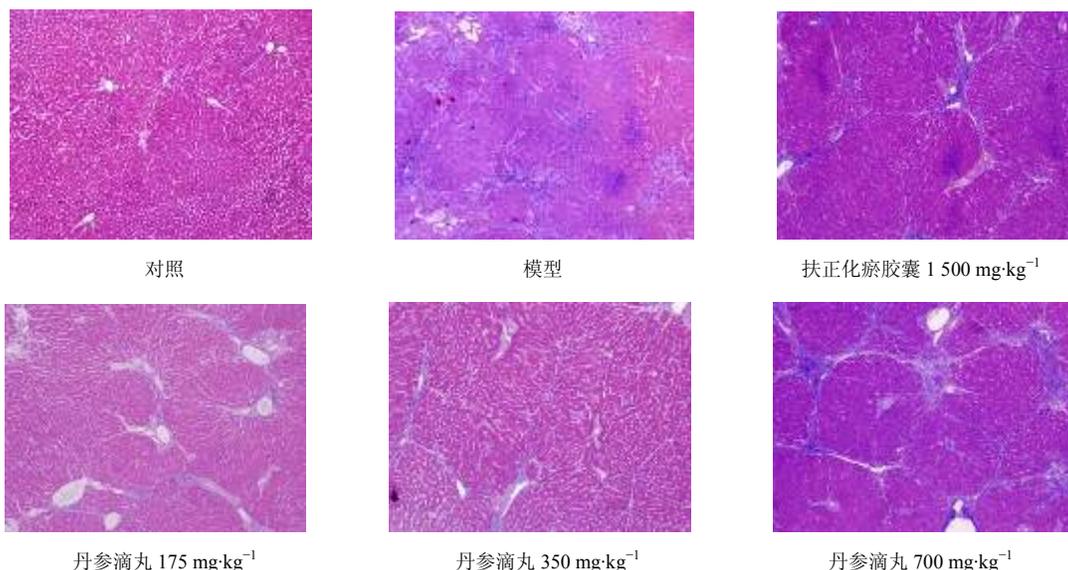


图 2 丹参滴丸对二甲基亚硝胺诱导肝纤维化大鼠肝组织病理形态学改变的影响 (Masson 染色)

Fig. 2 Effect of Danshen Dropping Pills on pathological morphology of liver tissue in rats with hepatic fibrosis (Masson staining)

表 6 丹参滴丸对二甲基亚硝胺诱导肝纤维化大鼠肝纤维化程度的影响

Table 6 Effect of Danshen Dropping Pills on liver fibrosis of hepatic fibrosis in rats induced by DMN

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	动物数/只	肝纤维化程度					P 值
			—	+	++	+++	++++	
对照	—	10	10	0	0	0	0	—
模型	—	11	0	0	0	7	4	0.000 ^{▲▲▲}
扶正化瘀胶囊	1 500	11	0	0	3	8	0	0.009 ^{##}
丹参滴丸	175	11	0	1	3	6	1	0.023 [#]
	350	11	0	1	2	7	1	0.038 [#]
	700	8	0	0	1	6	1	0.156

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

4 讨论

肝纤维化是各种致肝损伤因素引起的肝脏中胶原蛋白等细胞外基质合成和降解失去平衡, 进而导致肝脏内纤维结缔组织过度沉积造成的。初期增生的纤维组织虽形成小的条索, 但尚未互相连接形成间隔而改建肝小叶结构时, 称为肝纤维化, 为可复性病变。如果病因消除, 纤维化尚可逐渐吸收。如果继续进展, 小叶中央区和汇管区等处的纤维间隔互相连接, 最终使肝小叶结构和血液循环被改建而形成肝硬化, 当进展至肝硬化时则不可逆^[5]。二甲基亚硝胺为诱癌剂, 长期低剂量给药可致肝癌, 高剂量可导致肝细胞发生严重的变性、坏死, 进一步则引起细胞外基质蛋白尤其是胶原在肝脏的沉积, 导致肝纤维化。其诱导的模型具有造模周期短、动物死亡率低、成模率高、可重复性强等优点, 且停止染毒后形成的纤维化不易自行吸收恢复, 并且该模型中动物肝脏组织病理学的变化类似人类肝病的病理改变, 因此该模型是抗纤维化药物治疗的理想模型^[6-7], 本实验采用二甲基亚硝胺诱导大鼠肝纤维化模型。

肝纤维化诊断和判断疗效的金标准是病理组织学检查, 但因其具有局限性和创伤性, 临床上很难将其作为常规检查。血清 HA、LN、III型前胶原、IV 型胶原是反映细胞外基质 (ECM) 代谢的血清学指标^[8-9], HA 为细胞外基质的主要成分之一, 主要由肝星状细胞合成, 在内皮细胞中降解, 肝纤维化时产生增加, 内皮细胞受损降解减少, 使血清 HA 水平增高, 可较准确灵敏地反映肝纤维化程度及肝细胞受损状况; LN 为基底膜中特有的非胶原性结构蛋白, 在肝内主要有内皮细胞和贮脂细胞合成, 肝纤维化时肝窦中 LN 的合成、沉积大量增加, 引

起肝窦毛细血管化、汇管区纤维化; III型前胶原反映肝内 III 型胶原的合成情况, 其血清水平与肝纤维化程度一致, 能早期反映肝纤维化的程度; IV 型胶原是基底膜网状结构的主要成分, 是反映基底膜更新率的指标, 在纤维化早期即见其增生且转化率较快, 最后与持续沉积的 LN 形成完整的基底膜, 含量的增高可较灵敏反映出肝纤维化过程, 是肝纤维化的早期标志之一。同时 LN、IV 型胶原与肝组织的病理纤维化程度呈正相关。上述肝脏纤维化四项血清学指标分别从不同机制、不同侧面反映了肝脏纤维化和肝损伤的程度, 同肝组织纤维化发展具有良好的相关性和一致性, 因此通过检测血清纤维化指标可以客观的判断肝纤维化的程度。胶原蛋白是构成结缔组织中胶原纤维的主要成分, Hyp 是胶原蛋白的主要成分, 其他蛋白质几乎不含 Hyp, 在纤维化过程中, 肝组织中 Hyp 随着胶原的消长而变化, 是评估胶原蛋白含量和肝纤维化程度的指标^[10]。

丹参是临床常用的活血化瘀药, 其有效成分有水溶性和脂溶性两大类; 水溶性成分主要是以丹参素为基本结构的酚酸类化合物, 也是丹参滴丸的主要成分, 具有抗炎、抗自由基氧化损伤, 促进损伤肝细胞的修复, 改善肝脏微循环, 抑制胶原形成、促进病理沉积胶原的降解, 抑制肝星状细胞活化、干预细胞内信号传导等多方面的药理作用^[11-13]。

本实验结果显示, 丹参滴丸各剂量组均能显著降低血清 LN、IV型胶原水平, 对血清 HA、III型前胶原水平和肝组织中 Hyp 含量有一定的降低趋势, Masson 染色病理组织学结果也显示丹参滴丸能明显改善肝纤维化程度, 明显减轻胶原沉积, 且 175、350 mg/kg 组效果明显; 另外, 丹参滴丸对肝纤维化大鼠的肝功能亦有改善作用, 丹参滴丸 175、350

mg/kg 组能不同程度地降低 ALT、AST 活性和 TBIL 含量,能够明显提高血清中 TP 和 ALB 含量及肝组织中蛋白的含量,HE 染色病理结果也显示丹参滴丸能明显改善肝细胞变性、坏死及炎细胞浸润程度。

综上所述,丹参滴丸对二甲基亚硝胺诱导的大鼠肝纤维化有明显的治疗作用,能显著抑制胶原增生,达到抗纤维化的效果,保护肝细胞、改善肝功能;本实验室前期亦做过丹参滴丸对 CCl₄ 诱导的大鼠肝纤维化的相关研究^[14],结果亦显示丹参滴丸预防给药有明显的保护肝细胞、抑制胶原蛋白沉积的作用;因此本实验研究分析了丹参滴丸对大鼠肝纤维化的治疗作用,为临床应用提供了可靠地实验数据,尤其对同时患有心脑血管疾病的肝纤维化患者更具有重要的临床意义。

参考文献

- [1] 杨文卓,曾民德. 肝纤维化的发生机制及病理生理 [J]. 国外医学: 消化系疾病分册, 2000, 20(4): 216-221.
- [2] 申凤俊,朱跃科,阴赫宏,等. DMN 肝纤维化模型肝组织 I, III 型胶原和 TIMP—1 mRNA 表达及复方 861 的干预作用 [J]. 临床和实验医学杂志, 2002, 1(3): 150-153.
- [3] 王宝恩,王惠吉,朱佳璇,等. 中药复方丹参不同剂型治疗肝纤维化的实验研究与临床观察 [J]. 肝脏病杂志, 1993, 1(2): 69-72.
- [4] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案 [J]. 中华肝脏病杂志, 2000, 8(6): 324-329.
- [5] 黄玉芳. 病理学 [M]. 北京: 中国中医药出版社, 2003: 278-280.
- [6] 彭雄群. AKF-PD 预防性治疗 DMN 诱导的大鼠肝纤维化及机制的研究 [D]. 长沙: 中南大学, 2013.
- [7] George J, Rao K R, Stern R, et al. Dimethylnitrosamine-induced liver injury in rats: the early deposition of collagen [J]. *Toxicology*, 2001, 156(2/3): 129-138.
- [8] 乔成栋,张彩云,郭小冬,等. 复方丹参滴丸抗大鼠肝纤维化的实验研究 [J]. 兰州大学学报: 医学版, 2007, 33(1): 14-18.
- [9] 吴春晓,陈燕鸿,周晓蕾,等. 慢性乙型肝炎肝纤维化血清学指标与肝组织病理变化的相关性研究 [J]. 黑龙江医学, 2006, 30(9): 649-650.
- [10] Peng Y, Tao Y, Wang Q, et al. Ergosterol is the active compound of cultured mycelium *Cordyceps sinensis* on antiliver fibrosis [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2014, 2014:537234.
- [11] 孙瑞芳,刘立新. 丹参及其单体治疗肝纤维化的研究进展 [J]. 中国药物与临床, 2009, 9(2): 88-90.
- [12] 赖文芳,吴符火,陈兴明. 丹参抗肝纤维化作用机制的研究进展 [J]. 中国民族民间医药, 2010, 19(3): 30-32.
- [13] 陶艳艳,刘成海. 丹参及其化学成分抗肝纤维化作用机制研究进展 [J]. 中西医结合学报, 2004, 2(2): 145-148.
- [14] 刘兆凤,胡金芳,马洁,等. 丹参滴丸对 CCl₄ 诱导的大鼠肝纤维化的影响及其作用机制 [J]. 中草药, 2012, 43(10): 1991-1996.