

青蒿琥酯对实验性肝纤维化小鼠形态学的影响*

★ 刘金元 杨冬娣 (广州中医药大学测试中心 广州 510405)

摘要:利用 CCL₄ 致小鼠肝纤维化模型,从形态学角度探讨青蒿琥酯抗肝纤维化的作用机理,以期为青蒿琥酯临床治疗肝纤维化提供理论依据。

关键词:青蒿琥酯;肝纤维化;形态学;小鼠

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

近年有报道^[1],青蒿琥酯具有抗肝纤维化的作用,本文采用 CCL₄ 致小鼠肝纤维化模型,观察青蒿琥酯对纤维化小鼠肝脏损伤的干预作用,以期探讨青蒿琥酯抗肝纤维化的作用机理。

1 材料和方法

1.1 材料

实验动物 同龄 SPF 级昆明小鼠 60 只,雌雄各半,体重 18~22 g。由广州中医药大学实验动物中心提供,小鼠许可证号:SYXK(粤)2003-0001,粤监证字:2007A013。

大学中南医院检验科,检测血清 TC 和 TG 值。

1.4 数据处理 数据结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

表 1 结果表明,采用蛋黄乳液法造高脂小鼠模型成功,高脂模型组比正常对照组 TC 和 TG 值均有显著升高。复方荷叶制剂高、中、低剂量组小鼠血清 TC 和 TG 水平均明显低于高脂模型组。低剂量组小鼠血清 TC、TG 水平低于高脂模型组。

表 1 各组小鼠血清中 TC、TG 含量测定结果

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	TC/mmol·L ⁻¹	TG/mmol·L ⁻¹
正常对照组	-	0.56 ± 0.13	2.10 ± 0.33
高脂模型组	-	4.08 ± 0.65	5.83 ± 0.18
高剂量组	300	2.49 ± 1.03	3.44 ± 0.82
中剂量组	200	2.79 ± 0.74	3.59 ± 0.54
低剂量组	100	2.91 ± 1.08	3.71 ± 0.75

3 结论

荷叶用于减肥始于明代,李时珍的本草纲目中

1.2 试剂及药品

CCL₄(天津市耀华化学试剂有限责任公司生产,批号:20061006)、青蒿琥酯(纯度 99.99%,广西桂林制药厂,国药准字 H10930195,批号 030802),将青蒿琥酯用 5% NaHCO₃ 溶解成 12 g·L⁻¹ 的储备液,每次实验前配制成所需浓度;秋水仙素(广州威佳科技有限公司提供,批号:20070329)。苯巴比妥钠注射液(广东邦民制药厂有限公司,国药准字 H44021888)。

就有“荷叶服之,令人瘦劣,故单服可以令人消阴水浮肿之气”的记载。现代药理学研究表明,荷叶具有降脂作用^[1]。山楂含有三萜类化合物熊果酸和黄酮类化合物金丝桃苷,具有显著的降血脂作用^[2]。红曲自古以来就是药食两用的佳品,近几年来国内外学者发现红曲能产生作用很强的降胆固醇活性物质和降血压物质^[3]。我们采用蛋黄乳液造模法评价了上述复方荷叶制剂调节小鼠血脂的作用,证明确实具有较显著的疗效。

参考文献

- [1] 龚康敏,厉兰娜,姚雪梅,等. 荷叶合剂对小鼠及高血脂症大鼠血脂体重及血液流变学的影响[J]. 中国中医药科技,1998,5(5): 294-295.
- [2] 李贵海,孙敬勇,张希林,等. 山楂降血脂有效成分的实验研究[J]. 中草药,2002,33(1): 50-521.
- [3] 密鹤鸣,宋洪涛,陈磊,等. 红曲中降血脂活性成分的研究[J]. 中草药,1999,30(3): 172-1741.

(收稿日期:2008-08-04)

* 基金项目:广东省中医药管理局资助项目(2007342)

1.3 实验方法

1.3.1 动物分组 将60只小鼠随机分为5组,每组12只,分别为正常组、模型组、青蒿琥酯低剂量组、青蒿琥酯高剂量组、秋水仙素组。

1.3.2 造模及治疗 模型组和用药组动物按0.005 ml/g体重,皮下注射20% CCL₄花生油溶液,每周二和五注射共2次,注射后1小时给予药物灌胃,青蒿琥酯低剂量组0.014 4 mg/g体重,青蒿琥酯高剂量组0.028 8 mg/g体重。秋水仙素10⁻⁴ mg/g体重,正常组和模型组生理盐水灌胃0.05 mg/g体重。同时在模型组和用药组饮用水中加苯巴比妥钠250 ml/1支。

1.4 观察指标

1.4.1 光镜下的检查 造模用药2个月后,断头杀死小鼠,取小鼠右叶一块肝组织,用做光镜下的检测。修块后,在10%的中性多聚甲醛溶液中固定24小时,然后经酒精梯级脱水,浸蜡,包埋,切片,常规HE染色,镜下观察。

1.4.2 电镜的检测 处死动物后,在小鼠肝右叶取1 mm³肝组织,用磷酸缓冲液迅速清洗后,放入2.5%的戊二醛磷酸缓冲液中固定3小时,用磷酸缓冲液清洗后,在1%的锇酸中后固定1小时,经过脱水,渗透,epson812树脂包埋,LEICA超薄切片机切片。经双重染色后,在JEM1200-EX电镜下观察。

2 结果

光镜下正常组肝小叶结构完整,肝板排列规则,肝细胞和胞核清晰可见,部分细胞变性和炎细胞浸润。模型组在肝小叶中出现片状坏死,在中央静脉周围有大量炎细胞浸润,可见大片凝固坏死的区域,有一些胶原纤维形成且在其周围分布许多呈分支状的成纤维细胞,在窦周隙也可见一些枯否氏细胞,在肝小叶的肝板中可见一些核固缩的细胞。青蒿琥酯低剂量组在肝小叶间出现片状坏死的区域,在肝板及窦周隙可见有大量炎细胞浸润,其中可见枯否氏细胞,和坏死无核的一些肝细胞,在肝板间可见有一些胶原形成和成纤维细胞分布。青蒿琥酯高剂量组在肝小叶间有点状坏死区域,其中有少量炎细胞浸润,肝板和肝窦结构基本正常,在窦周隙可见一些成纤维细胞分布。秋水仙素组在中央静脉周围出现片状坏死区域,有大量炎细胞浸润,肝板结构遭到一定程度的破坏,出现桥接样坏死,在窦周隙有一些成纤维细胞分布。

电镜观察正常组肝细胞核结构正常,核膜结构完整,无缺损,核内膜附着一些异染色质,核中可见核仁,胞浆中可见大量糖原、线粒体、少量粗面内质

网和一些微管、微丝等细胞骨架结构。模型组肝细胞结构遭到破坏,胞浆中的一些细胞器破坏严重,一些细胞器结构已发生崩解,胞浆结构排列紊乱,在胞浆中出现了空白无结构区域,在下方的狄氏间隙充满了大量的胶原纤维,形成了明显的纤维化间隔。青蒿琥酯低剂量组肝细胞胞浆中充满大量脂滴,其中夹杂了一些线粒体,胞核可见,核膜变的扭曲,核仁清晰可见,胞核中常染色质明显增多。青蒿琥酯高剂量组肝细胞胞膜结构基本完整,胞浆中可见溶酶体、线粒体、和粗面内质网,有少量脂滴,在狄氏间隙可见有一些胶原纤维分布,在肝血窦中可见一浆细胞和一些血小板等细胞。秋水仙素组肝细胞胞膜结构有部分缺损,在肝细胞胞浆中可见大量脂滴,其它细胞器较少,在狄氏间隙,有大量胶原纤维沉积,纤维间隔明显增宽。

3 讨论

肝纤维化是各种损伤因子损伤肝细胞后激活枯否氏细胞,枯否氏细胞分泌各种细胞介质(如TGF β 和PDGF等),激活狄氏间隙处于静息状态的肝星状细胞,活化的肝星状细胞转变为肌成纤维样细胞,分泌各种细胞外介质,阻止炎症的扩散,但胞外基质过渡的沉积和降解不足会造成肝纤维化的发生,本研究从形态学的角度探讨细胞基质的变化和炎症的发展程度,为青蒿琥酯抗肝纤维化提供理论依据,结果从镜下分析来看,无论从光镜水平和亚细胞超微结构水平青蒿琥酯各组对肝细胞都有很好的保护作用。首先,从肝小叶结构来看,无论是肝血窦及窦周隙和肝板结构,青蒿琥酯组,尤其是高剂量组的结构相对比较完整,而模型组和对照组都受到不同程度的破坏;其次,从胞外基质来看,模型组在汇管区和中央静脉周围有许多胶原纤维形成和一些成纤维细胞分布,形成了明显的纤维间隔,而青蒿琥酯组则明显要有所改善;第三,从超微结构来看,模型组肝细胞遭到严重破坏,许多细胞器发生了崩解,并在窦周隙充满了胶原纤维,青蒿琥酯各组虽有些脂肪变性,但细胞结构没有发生崩解,在窦周隙有少量胶原纤维沉积,对胶原的形成有明显的改善作用。因此,青蒿琥酯从形态上对肝小叶及肝细胞有很好的保护作用,并能够明显减少胶原的形成,防止血窦毛细血管化的作用。

参考文献

- [1]来丽娜,方步武. 青蒿琥酯抗牛血清白蛋白免疫性大鼠肝纤维化作用的研究[J]. 中药药理与临床,2006,22(3,4):35-36.

(收稿日期:2008-06-24)