

异常黑胆质成熟剂对异常黑胆质性癌病证模型肝硬化期的肝脏形态学的影响

阿布力孜·阿卜杜扎依尔¹, 哈木拉提·吾甫尔², 玉苏甫·吐尔逊², 阿不都卡德尔·库尔班¹, 斯坎德尔·白克力³

1. 新疆医科大学药学院, 乌鲁木齐 830011
2. 新疆医科大学维吾尔医药系, 乌鲁木齐 830011
3. 新疆医科大学基础医学院, 乌鲁木齐 830011

摘要 为探讨异常黑胆质成熟剂对异常黑胆质性肝癌病证模型肝硬化期的肝脏形态学的影响, 阐明异常黑胆质成熟剂在异常黑胆质性肝癌病证模型中预防肝癌的作用机理, 根据维吾尔医学理论, 采用多因素复制大鼠异常黑胆质性肝癌病证模型至模型大鼠发生肝硬化, 并用异常黑胆质成熟剂低、中、高不同剂量(1.5, 3.0, 6.0g/kg)对模型全程干预, 并于第7, 11, 15周处死大鼠, 对肝脏的病理变化和超微结构进行动态观察。结果表明, 低剂量组在上述时间段与病证模型组相比, 病理变化和超微结构无明显改变, 而中剂量组和高剂量组, 与病证模型组相比, 具有肝细胞结缔组织增生减少、间质炎性细胞浸润程度明显减轻、肝细胞水肿程度减轻等病理表现及肝细胞内细胞器分布不均匀、肝糖原和线粒体逐渐减少等超微结构明显变化。可以得出结论, 异常黑胆质成熟剂对异常黑胆质性肝癌病证模型肝硬化期的肝脏组织形态改变有一定的保护和修复作用。

关键词 维吾尔医学; 异常黑胆质成熟剂; 形态学; 肝癌

中图分类号 R256.4

文献标识码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2011.28.011

Effect of Abnormal Savda Munziq on Morphological Structure of Hepatic Tissue in Hepatocirrhosis Phase of Hepatocarcinoma Carrying Abnormal Savda Model

ABDUZAYIR Abliz¹, UPUR Halmurat², TURSUN Yusup², KURBAN Abdukadir¹, BAKRI Iskandar³

1. College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China
2. Department of Traditional Uighur Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China
3. College of Basic Medical Sciences, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

Abstract This paper discusses the effect and possible mechanism of abnormal savda munziq on the morphological structure of hepatic tissue in hepatocirrhosis phase of hepatocarcinoma carrying abnormal savda model. According to the theory of Uighur traditional medicine, multi-complicated induction methods were adopted to establish the hepatocirrhosis phase of hepatocarcinoma carrying abnormal savda disease rat model, three other drug groups were given three different dosages (1.5, 3.0, 6.0 g/kg) of abnormal savda munziq during the whole procedure, and the pathological and ultrastructural changes of the liver in the 7th, 11th, 15th weeks were observed dynamically. The result shows that at the same point in time, the pathological and ultrastructural changes of the liver in the low dose group have not been improved significantly compared with that of the abnormal savda syndrome model group, while there have been

收稿日期: 2011-09-07; 修回日期: 2011-9-30

基金项目: 新疆重大科技项目(200733146-2, 200733146-4); 国家自然科学基金项目(81160545)

作者简介: 阿布力孜·阿卜杜扎依尔, 研究方向为维吾尔医药的药理研究, 电子信箱: abliz4you@163.com; 斯坎德尔·白克力(通信作者), 副教授, 研究方向为维吾尔医药与疾病, 电子信箱: ikdbr@yahoo.com.cn

significant improvements in the middle dose group and high dose group compared with the abnormal savda syndrome model group, such as reduction of connective tissue hyperplasia, reduction of interstitial infiltration of inflammatory cells, reduction of the degree of edema of liver cells, ultrastructural changes of uneven distribution of liver intracellular organelles and gradual reduction of liver glycogen and mitochondrial. These findings indicate that abnormal savda munziq can protect and recover the morphological damage on hepatic tissue in hepatocirrhosis phase of hepatocarcinoma carrying abnormal savda model.

Keywords Uighur traditional medicine; abnormal savda munziq; morphology; liver cancer

0 引言

肝癌位列全球最常见恶性肿瘤的第5位,已经成为中国癌症死因中第2位的肿瘤。每年全世界大约有50万—100万新发病例,中国的肝癌发病人数占全球总数的一半以上^[1]。80%—90%的肝癌发生在肝硬化的基础上,其发病过程目前普遍认为是由肝细胞炎症坏死—增生—纤维化—肝硬化,最终发展为肝癌的过程。维吾尔族医学认为异常黑胆质证与肿瘤、高血压、糖尿病和哮喘等复杂性疾病的发生、发展密切相关。在维医恶性肿瘤的分型中异常黑胆质型最为常见,而异常黑胆质成熟剂是维吾尔医学治疗和预防各种肿瘤的有效处方,在临床实践中广泛使用,疗效显著^[2-3]。本文在以往研究中建立的异常黑胆质性肝癌病证模型肝硬化期模型的基础上,分别用不同剂量的异常黑胆质成熟剂对模型进行全程干预,对肝脏的病理变化和超微结构改变进行动态观察,为探明异常黑胆质成熟剂预防和治疗肝癌作用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

Wistar大鼠144只,清洁级,雄性,体重(150±30)g,由新疆医科大学实验动物中心提供。

1.1.2 主要仪器

RQH-350型人工气候箱、JXDT-1型小鼠跳台仪器(上海精宏实验设备有限公司),BS-110型电子天平(北京赛多科斯特平有限公司),低温超速离心机(美国Beckman公司),JEM100CX II透射电子显微镜(日本LEIKA公司);戊二醛、锇酸、丙酮(美国Sigma公司)。

1.1.3 药材和异常黑胆质成熟剂的制备

处方中的药材购自于新疆维吾尔自治区维吾尔医医院草药房,经该院制剂中心质检科鉴定,符合《中华人民共和国药典》^[4]和《中华人民共和国卫生部药品标准维吾尔药分册》^[5]规定,并根据异常黑胆质的成熟剂和清除剂及其制备方法制备,专利号C082130082.8^[6]。用旋转蒸发器浓缩至膏稠状,然后60℃真空干燥、备用,每1g药粉含3.4g生药。使用时根据实验需要用双蒸水配制使用。

1.1.4 干寒属性饲料的制备

在普通鼠料中按每千克7:3的比例加入相等比例的芫荽子和大麦,然后制成颗粒状干饲料,委托新疆维吾尔自治区医学实验动物中心加工。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及喂养

选取雄性Wistar大鼠144只,体重(150±30)g,稳定饲养3d后分成以下处理:

(1)实验组(96只):按照文献[7]—[10]建立维吾尔医学异常黑胆质证载体大鼠模型,再分组为:①异常黑胆质载体肝癌组(病证模型组);②异常黑胆质载体肝癌模型小剂量给药组;③异常黑胆质载体肝癌模型中剂量给药组;④异常黑胆质载体肝癌模型大剂量给药组,每组24只。上述4组均给予用灭菌食用水配制浓度0.1mg/mL的二乙基硝铵(DEN)溶液以诱发肝癌,自由饮用,每天更换1次,连续饮用15周停药。同时②、③、④组每天实验前1h分别灌胃给予异常黑胆质成熟剂小剂量1.5g/kg,相当于临床用量的等效剂量;中剂量3.0g/kg,相当于临床用量等效剂量的2倍;大剂量6.0g/kg,相当于临床用量等效剂量的4倍,给药15周。上述4组采用异常黑胆质证造模复合因素第2周强度维持异常黑胆质证。

(2)对照组(48只):在室温下(25±3)℃,相对湿度60%—80%,用普通鼠饲料饲养,随机饮食水,未受任何刺激,饲养3周后再分为:①正常对照组(24只),整个实验过程中均饮用灭菌食用水;②单纯肝癌组(模型对照组24只),用灭菌食用水配制浓度0.1mg/mL的DEN溶液,自由饮用,每天更换1次,连续饮用15周停药。

1.2.2 样品制备

各组动物分别于DEN诱发的第7、11周时,麻醉状态下取血后颈椎脱臼处死6只并取组织标本,至15周时在麻醉状态下取血后颈椎脱臼处死所有动物。动物处死后,迅速取肝脏组织固定于10%的甲醛溶液中,经5d固定后取材、石蜡包埋、切片、苏木素伊红(HE)染色,光学显微镜下观察。取体积<1mm³的肝组织,用4%戊二醛和1%锇酸双固定,丙酮梯度脱水,Epon812环氧树脂包埋,超薄切片,铅铀染色,JEM100CX II透射电子显微镜观察。

2 结果与分析

2.1 肝脏病理观察结果

第7周时正常对照组的肝小叶结构清晰,肝细胞索排列整齐,肝窦正常,未见水肿和坏死肝细胞;在第11、15周时未见明显异常。第7周时,肝癌对照组的纤维组织轻度增生和肝细胞再生,偶见部分细胞水肿;异常黑胆质病证模型组的肝细胞坏死和纤维组织增生明显,肝细胞再生,假小叶形成

且界限清晰;小剂量组肝小叶结构完整,回灌区炎细胞聚集;中剂量组肝小叶结构完整,未见水肿和坏死的肝细胞;大剂量组有轻度结缔组织增生等(图 1)。

第 11 周时肝癌对照组的纤维组织增生明显,正常肝小叶结构消失,形成典型的假小叶结构,胆管增生明显;异常黑胆质病证模型组已形成典型的假小叶结构,可见双核的再生肝细胞;小剂量组肝细胞灶型坏死,纤维组织轻度增生;中剂量组肝脏胆管上皮细胞增生明显,假小叶生成明显;大剂量组有肝细胞变形,结缔组织增生减少等(图 2)。

第 15 周时肝癌对照组部分肝细胞异常改变、核大、颜色深,部分肝细胞坏死,炎细胞浸润,结缔组织增生明显,假小叶生成明显,假胆管生成;异常黑胆质病证模型组的肝脏可见形成大小不一的肝细胞团,形成假小叶结构,肝脏纤维间隔变宽,其中见较多炎细胞浸润,部分肝细胞水肿、变性、坏死,可见再生肝细胞,部分小胆管内见胆汁淤积;小剂量组肝细胞轻度水肿,结缔组织增生减少;中剂量组假小叶生成减少,胆管增生减少,结缔组织增生减少;大剂量组结缔组织增生明显减少,肝细胞水肿和假小叶明显减少等(图 3)。

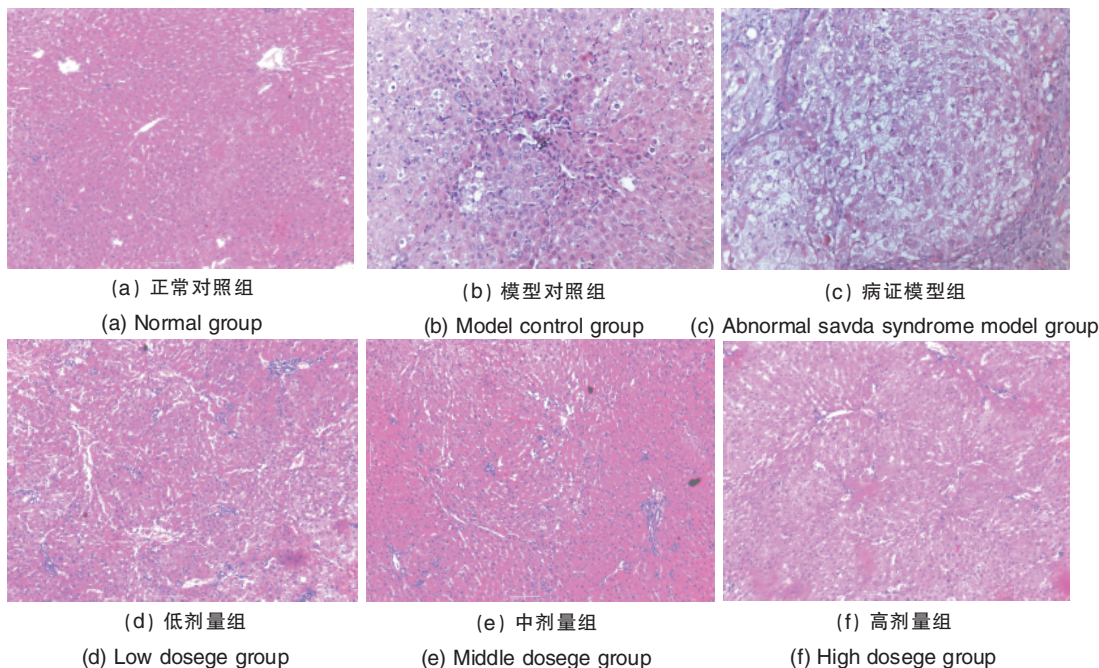


图 1 第 7 周时肝脏病理学改变 (100×)

Fig. 1 The 7th week's pathological changes of the hepatic (100×)

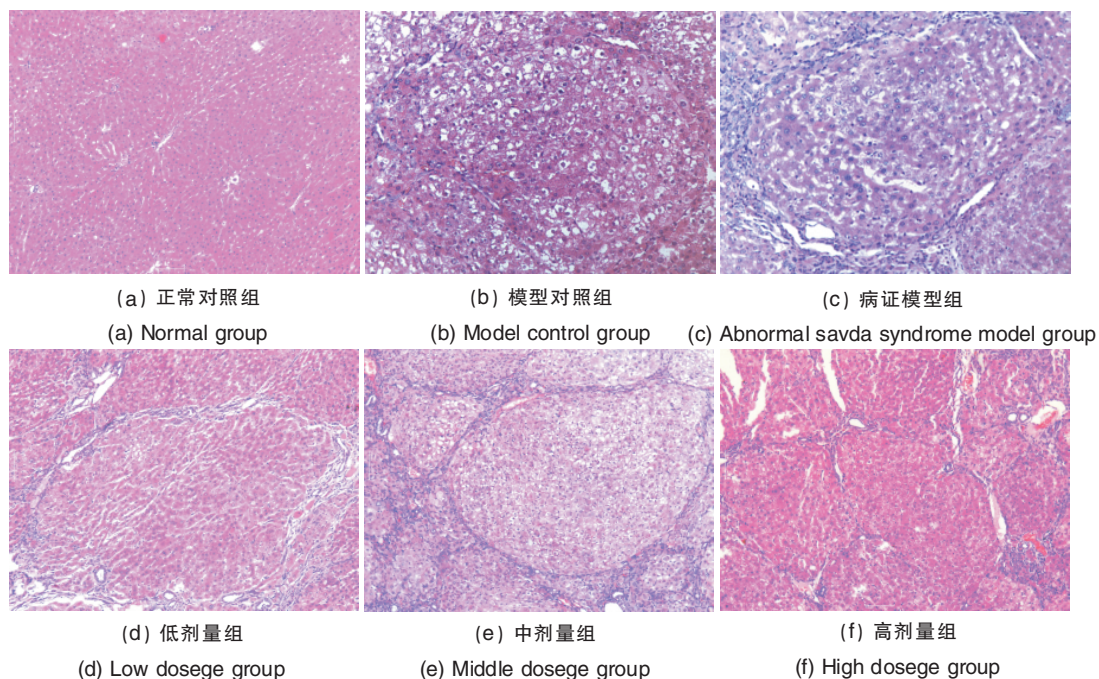


图 2 第 11 周时肝脏病理学改变 (100×)

Fig. 2 The 11th week's pathological changes of the hepatic (100×)

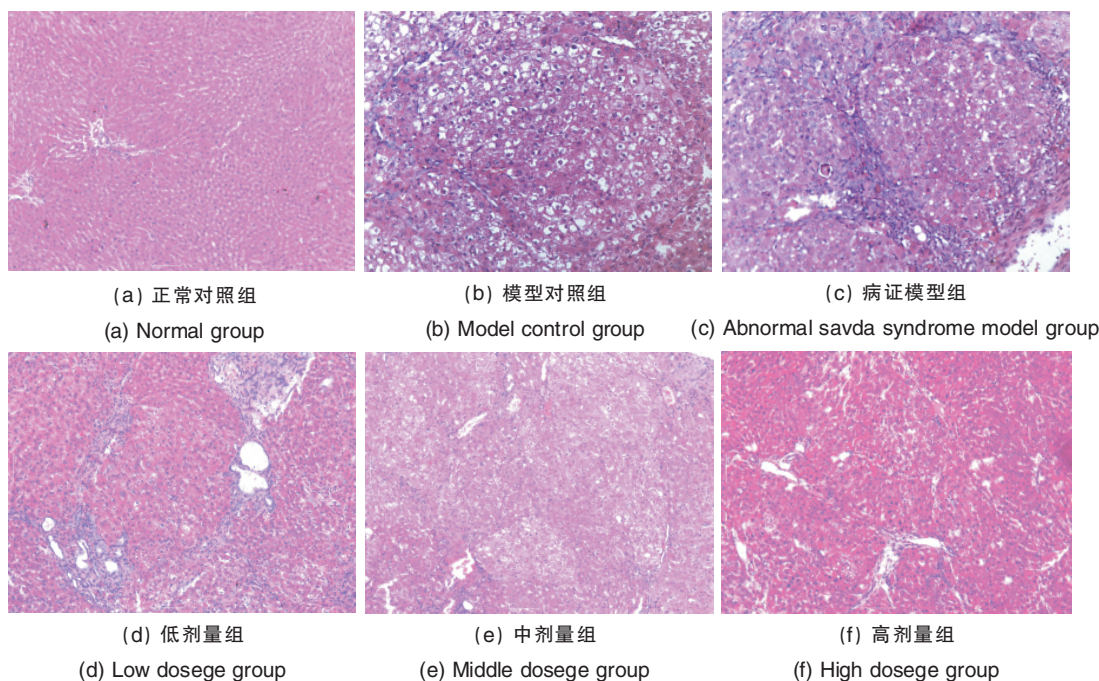


图3 第15周时肝脏病理学改变(100×)

Fig. 3 The 15th week's pathological changes of the hepatic (100×)

2.2 肝脏超微结构观察结果

第7周时正常对照组肝细胞核圆,细胞基质均匀一致,细胞器分布均匀,结构未见异常,糖原较丰富,毛细胆管可见短粗的微毛,肝细胞血窦面微绒毛丰富,肝血窦内皮细胞肿胀;在第11、15周时肝脏结构基本正常。第7周时,肝癌对照组肝细胞核不规则,异染色质增多,线粒体轻微肿胀,数目增多,毛细胆管扩张,细胞间隙增宽和细胞间有胶原纤维增生;异常黑胆质肝癌病证模型组肝细胞核大、核仁边集,核小体

增多,核内异染色质减少,游离核糖体比较丰富,线粒体数目减少,糖原减少不明显,滑面内质网增生;异常黑胆质成熟剂小剂量组肝细胞器数量减少,细胞结构及肝糖原数量正常,细胞间可见胶原增生,细胞多核仁,毛细胆管轻微扩张;异常黑胆质成熟剂中剂量组肝细胞水肿不明显,细胞结构正常,肝糖原数量正常,肝细胞核较大,核内异染色质较多;大剂量组肝细胞核不规则,异染色质成团块,基质密度降低,肝糖原和线粒体较多等(图4)。

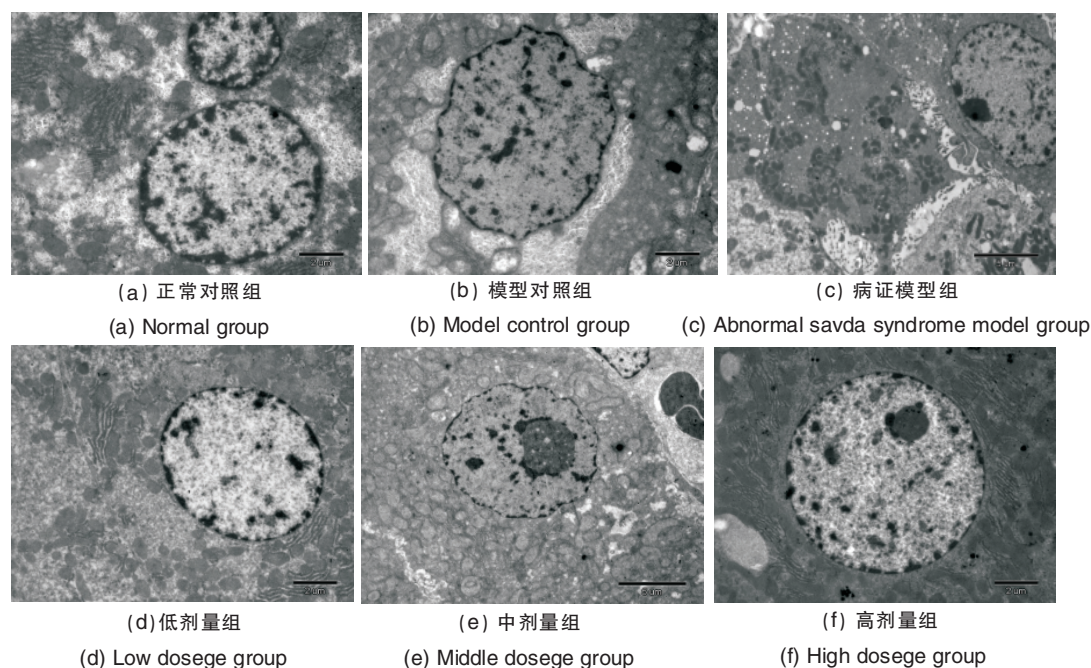


图4 第7周时肝脏细胞超微结构的改变(9.4×1000)

Fig. 4 The 7th week's ultrastructural changes of the hepatic (9.4×1000)

第 11 周时肝癌对照组肝细胞轻微水肿, 糖原减少不明显, 细胞间有胶原纤维增生, 吞噬红细胞, 肝细胞核核形不规则; 异常黑胆质病证模型组肝细胞结构变化不明显, 糖原丰富, 肝细胞核核形不规则, 核内异染色质较多, 线粒体减少, 肝细胞核固缩, 细胞间有胶原纤维增生; 小剂量组肝细胞器

数量减少, 细胞结构及肝糖原数量正常, 细胞间可见胶原增生, 细胞多核仁, 毛细胆管轻微扩张; 中剂量组肝细胞水肿不明显, 细胞结果正常, 肝细胞核较大, 核内异染色质较多; 大剂量组肝细胞水肿, 基质降低, 糖原减少, 肝细胞分布不均匀, 核内异染色质较多等(图 5)。

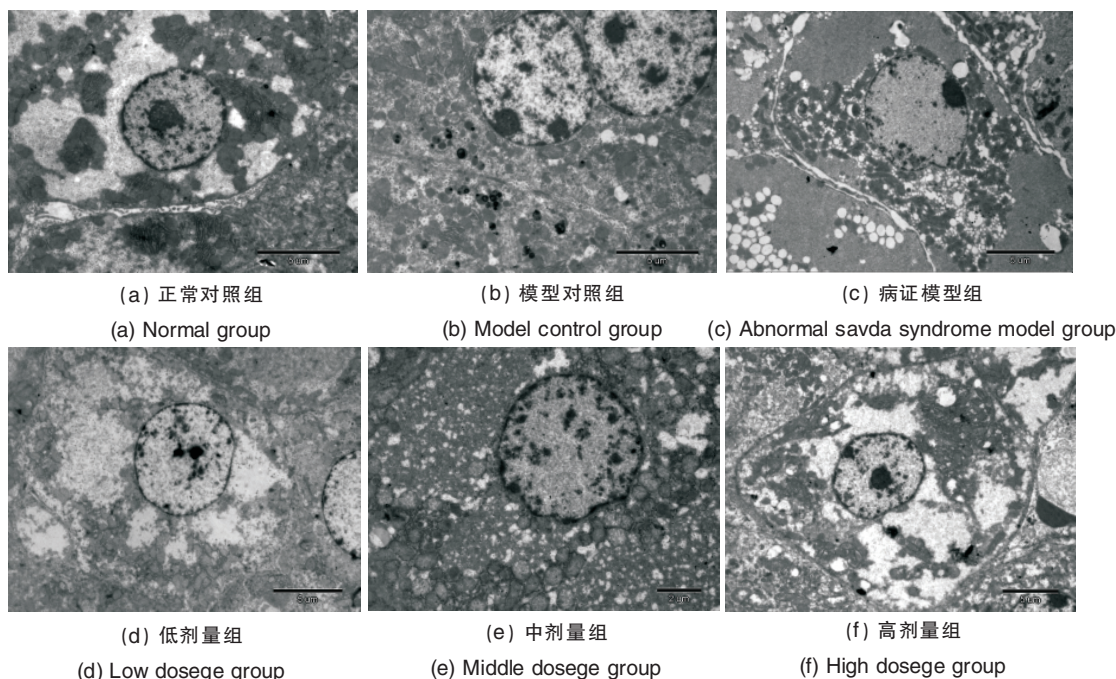


图 5 第 11 周时肝脏细胞超微结构的改变 (9.4×1000)

Fig. 5 The 11th week's ultrastructural changes of the hepatic (9.4×1000)

第 15 周时肝癌对照组部分细胞溶解性坏死, 糖原变化不明显, 肝细胞水肿, 细胞间有胶原纤维增生, 线粒体空泡变不明显; 异常黑胆质病证模型组肝细胞水肿明显, 肝细胞微绒毛减少, 线粒体空泡变, 糖原减少; 小剂量组肝细胞及线粒体

轻度水肿, 糖原减少不明显, 细胞核内可见溶酶体; 中剂量组部分细胞溶解性坏死, 肝细胞水肿, 糖原减少, 细胞间有胶原纤维增生, 线粒体空泡变化不明显。大剂量组肝细胞轻度水肿, 细胞结构正常, 糖原丰富等(图 6)。

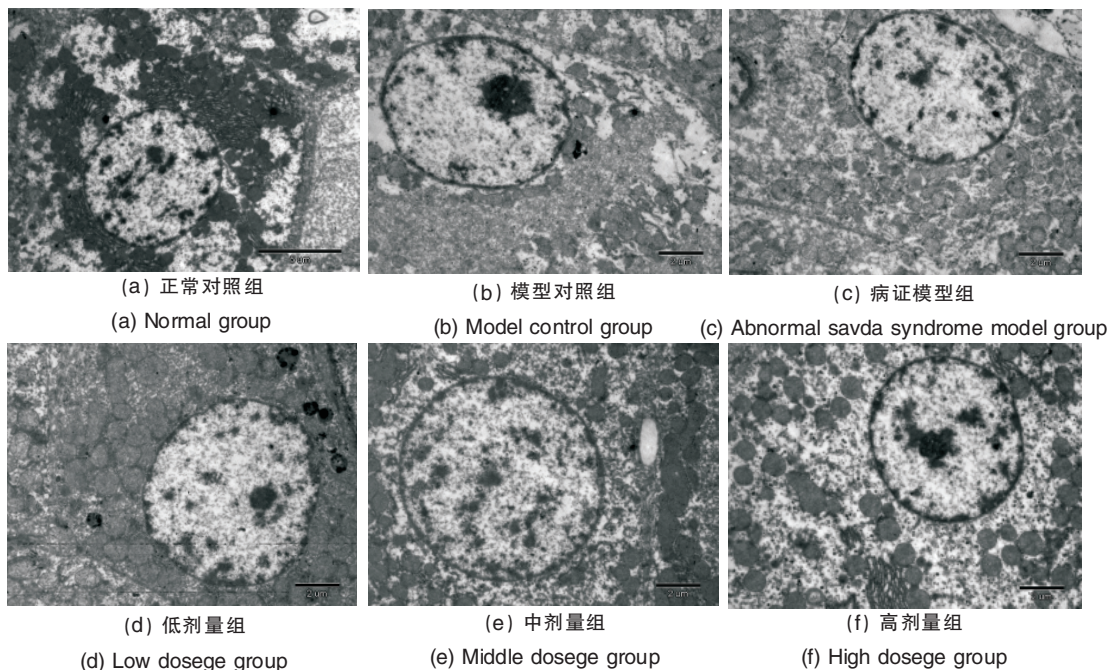


图 6 第 15 周时肝脏细胞超微结构的改变 (9.4×1000)

Fig. 6 The 15th week's ultrastructural changes of the hepatic (9.4×1000)

3 讨论

维吾尔医学“异病同源”论认为,异常黑胆质体液作为黑胆质、胆液质、黏液质、血液质等体液“燃烧”的最终病理产物,经常导致肿瘤、高血压、哮喘和糖尿病等复杂性疾病,是上述疾病发生发展的共同病理生理学基础,这种基础很可能反映在组织和细胞的亚微水平上^[1]。异常黑胆质体液不仅是病理产物,更是一种致病因素。异常黑胆质体液也可能通过影响免疫-内分泌网络而促进肿瘤的发生、发展;反之,恶性肿瘤也会使神经内分泌免疫紊乱,加重异常黑胆质证,形成恶性循环^[12-13]。根据维吾尔医学“异病同源,异病同治”观点,维药异常黑胆质成熟剂是治疗异常黑胆质性疾病的必须手段。多年来维吾尔医在临床上将异常黑胆质成熟剂应用于各种癌症的治疗并取得了良好的效果^[2]。以往的研究表明,异常黑胆质成熟剂对肝癌、淋巴瘤、乳腺癌等肿瘤有抗癌作用,该处方可抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞的凋亡,具有良好的抗氧化功能^[14],并能保护 DNA 氧化损伤^[15]。实验证明,异常黑胆质成熟剂不仅对羟自由基致膜脂质过氧化损伤有保护作用,还可提高线粒体 SOD 和 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 活性,同时可维持线粒体膜结构的完整。异常黑胆质成熟剂可明显减轻羟自由基对线粒体的损伤,对线粒体结构和功能均有明显的保护作用,从而维持线粒体功能及结构的完整性,在亚细胞水平上发挥防治肿瘤等疾病的作用^[16]。

在实验第 7、11、15 周时观察肝脏病理结果发现,低剂量组在同时间段上与病证模型组相比无明显改善,而中剂量组和高剂量组与病证模型组相比,其肝细胞结缔组织增生减少、间质炎性细胞浸润程度明显减轻、肝细胞水肿变形减少、胆管增生减少、假小叶趋于恢复。从超微结构变化来看,低剂量组在同时间段上与病证模型组相比无明显改善,而中剂量组和高剂量组较病证模型组相比,其细胞内脂滴增多,细胞内细胞器分布基本均匀,肝细胞水肿程度明显改善,细胞内的腔隙逐渐减少,糖原逐渐增多,说明异常黑胆质成熟剂在一定程度上具有保护和修复肝脏损伤的作用。

4 结论

异常黑胆质体液促进肝癌的发生发展,而异常黑胆质性疾病“成熟疗法”中所用的异常黑胆质成熟剂可能防止、纠正和改善异常黑胆质性肝癌病证模型肝硬化期的肝脏组织病理学和细胞超微结构的改变,在一定程度上起到防治肝硬化的发展,进而起到一定的抗肝癌作用。

参考文献 (References)

- [1] 毛一雷, 杜顺达, 桑新亭. 肝细胞癌治疗的现状和展望[J]. 中国实用外科杂志, 2004, 24(6): 380-381.
Mao Yilei, Du Shunda, Sang Xinting. *China Journal of Practical Surgery*, 2004, 24(6): 380-381.
- [2] 哈木拉提·吾甫尔. 维吾尔医气质、体液论及其现代研究 [M]. 乌鲁木齐: 新疆科学技术出版社, 2003.
Upur Halmurat. *Theory of Mizaj and Hilit in Uighur medicine and modern study*[M]. Urumqi: Xinjiang Scientific and Technical Publisher, 2003.
- [3] 易沙克江·马合穆德, 阿不都热依木·卡地尔. 中国医学百科全书: 维

吾尔医学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005: 89-94.

- Mahmud Ishakjan, Kadir Abdurym. *Traditional Uighur medicine of China medical encyclopaedia* [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 2005: 89-94.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2005.
Chinese Pharmacopoeia Commission. *Pharmacopoeia of people's Republic of China: First part* [M]. Beijing: China Medical Science & Technology Press, 2005.
- [5] 国家药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准·维吾尔药分册 [M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1999.
Chinese Pharmacopoeia Commission Drug standard of the Ministry of health of People's Republic of China·Uighur Medicine Fascicule [M]. Urumqi: Xinjiang Scientific and Technical Publisher, 1999.
- [6] 哈木拉提·吾甫尔. 能够使异常黑胆质体液成熟和清除的药物及其制备方法: 中国, 02130082.8[P]. 2003-04-16.
Upur Halmurat. Preparation method of abnormal savda munziq and mishill on the effect of abnormal savda syndrome: China, 02130082.8[P]. 2003-04-16.
- [7] 玉苏甫·吐尔逊, 斯坎德尔·白克力, 哈木拉提·吾甫尔, 等. 异常黑胆质性肝癌病证模型肝硬化期的肝脏形态学研究 [J]. 科技导报, 2010, 28(24): 82-88.
Tursun Yusup, Bakri Iskandar, Upur Halmurat, et al. *Science and Technology Review*, 2010, 28(24): 82-88.
- [8] 哈木拉提·吾甫尔, 阿依努尔·买提斯迪克, 努尔买买提·艾买提, 等. 异常黑胆质证载体动物模型的建立及其自然恢复反证[J]. 新疆医科大学学报, 2006, 29(10): 910-914.
Upur Halmurat, Matsidik Aynur, Amat Nurmammat, et al. *Journal of Xinjiang Medical University*, 2006, 29(10): 910-914.
- [9] Palermo-Neto J, Massoco O C, Souza W R. Effects of physical and psychological stressor on behavior, macrophage activity, and Ehrlich tumor growth[J]. *Brain, Behavior, and Immunity*, 2003, 17(1): 43-54.
- [10] Beaufour C C, Ballon N, Le Bihan C, et al. Effects of chronic antidepressants in operant conflict procedure of anxiety in the rat[J]. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 1999, 62(4): 591-599.
- [11] 阿地力江·阿不力米提, 哈木拉提·吾甫尔, 胡汉华, 等. 异常黑胆质成熟剂对异常黑胆质载体动物模型支配器官细胞超微结构的影响 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2008, 14(1): 32-35.
Ablimit Adiljan, Upur Halmurat, Hu Hanhua, et al. *China Journal of Basic Medicine in Traditional China Medicine*, 2008, 14(1): 32-35.
- [12] 张莉, 哈木拉提·吾甫尔, 玛依努尔·艾力, 等. 异常黑胆质肿瘤动物模型下丘脑-垂体-肾上腺形态学的改变 [J]. 中华中医药杂志, 2009, 24(12): 1581-1586.
Zhang Li, Upur Halmurat, Ali Mayinuer, et al. *China Journal of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy*, 2009, 24(12): 1581-1586.
- [13] 张有辉, 玉苏甫·吐尔逊, 哈木拉提·吾甫尔, 等. 异常黑胆质性肝癌病证模型肝硬化期免疫、内分泌紊乱状态[J]. 科技导报, 2010, 28(11): 39-41.
Zhang Youhui, Tursun Yusup, Upur Halmurat, et al. *Science and Technology Review*, 2010, 28(11): 39-42.
- [14] 哈木拉提. 维吾尔医成熟剂和清除剂抗活性氧的作用研究[J]. 中国民族医药杂志, 2000, 6(3): 30-32.
Halmurat. *Journal of Medicine and Pharmacy of Chinese Minorities*, 2000, 6(3): 30-32.
- [15] 阿布都艾尼, 阿不都热依木, 哈木拉提. 异常黑胆质成熟剂和清除剂对羟自由基引发的 DNA 损伤的保护作用[J]. 中药药理与临床, 2000, 16(3): 34-36.
Abdugini, Abdurym, Halmurat. *Pharmacy of Chinese Traditional Medicine and Clinic*, 2000, 16(3): 34-36.
- [16] Yusup A, Upur H, Umar A, et al. Protective effects of Munziq and Mushil of abnormal Savda to mitochondrial oxidative damage[J]. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 2004, 18(4): 471-476.

(责任编辑 胡兴平)