

大柴胡汤加减方对肝功能和凝血机制的作用研究

汉 利 王新伟 单恒云 张 晓

(山东省日照市中医医院外一科,日照,276800)

摘要 目的:探讨大柴胡汤加减方对肝功能和凝血机制的作用。方法:50 只大鼠随机分为 3 组,正常对照组(A 组)10 只,模型组(B 组)20 只,大柴胡汤组(C 组)20 只。C 组大鼠于造模前 2 d 分别灌胃大柴胡汤 10 mL/(kg·d),A、B 组予同等剂量 0.9% 氯化钠注射液灌胃,B、C 组大鼠均采用皮下注射硫代乙酰胺 0.2 g/kg,24 h 后相同剂量重复皮注 1 次,48 h 后完成急性肝衰竭动物模型,首次注射硫代乙酰胺的大鼠,予皮下注射 10% 葡萄糖注射液 0.25 g/kg。观察造模完成后继续予大柴胡汤灌胃 3 d,A 组大鼠予同等剂量 0.9% 氯化钠注射液灌胃,3 d 后取血处死所有大鼠,保存大鼠血清和病理组织。观察 3 组大鼠病理组织、肝功能(ALT、AST、ALB、CHE)、凝血功能(PT)指标的情况。结果:与模型组比较,大柴胡汤组大鼠组织肝衰竭减轻;模型组大鼠 ALT、AST、TBiL 与正常组大鼠比较,明显升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$),模型组大鼠 ALB、CHE 与正常组大鼠比较,显著降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$),大柴胡汤组大鼠 ALT、AST、TBiL 与模型组大鼠比较,明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$),大柴胡汤组大鼠 ALB、CHE 与正常组大鼠比较,显著升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$);模型组大鼠 PT 与正常组大鼠比较,明显升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$),大柴胡汤组大鼠 PT 与模型组大鼠比较,明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论:大柴胡汤加减方对肝功能和凝血机制具有保护作用。

关键词 大柴胡汤加减;肝功能;凝血机制;急性肝衰竭;研究

Research of Modified Major Bupleurum Decoction's Effect on Liver Function and Blood Coagulation Mechanism

Han li, Wang Xinwei, Shan Hengyun, Zhang Xiao

(Rizhao City Hospital of traditional Chinese Medicine, Rizhao 276800, China)

Abstract Objective: To evaluate the Modified Major Bupleurum Decoction's effect on liver function and blood coagulation mechanism. **Methods:** A total of 50 rats were randomly divided into three groups: normal group (A group) with 10 rats, model group (B group) with 20 rats and Bupleurum Decoction group (C group) with 20 rats. C group were given 10 mL/(kg·d) oral Bupleurum Decoction 2 days before modeling. A and B group were given the same dose of 0.9% NaCl. B and C group rats were given subcutaneous injection of thioacetamide 0.2 g/kg per 24h for two days and then the acute liver failure models were established. For rats injected with thioacetamide for the first time, 10% GS 0.25 g/kg were also administrated. After the model was established, Major Bupleurum Decoction lavage were given for three days, and A group rats were given the same dose of 0.9% NaCl. Three days later, all the rats were killed to take blood sample, and rats serum and tissue pathology were kept after 3 days. Pathological tissue, liver function indexes (ALT, AST, ALB, CHE), blood coagulation function indexes (PT) were compared among the three groups. **Results:** Compared with model group, the tissue of Major Bupleurum Decoction group was better; ALT, AST, TBiL of model group leveled up significantly compared with normal group rats ($P < 0.05$), ALB and CHE of model group rats decreased significantly compared with normal group ($P < 0.05$). Compared with model group, ALT, AST, TBiL of Major Bupleurum Decoction group decreased significantly ($P < 0.05$), ALB, CHE of Major Bupleurum Decoction group increased significantly ($P < 0.05$); PT of model group increased significantly compared with the normal group ($P < 0.05$), PT of Major Bupleurum Decoction group decreased significantly compared with model group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Modified Major Bupleurum Decoction plays a protective role in liver function and blood coagulation mechanism.

Key Words Major Bupleurum Decoction; Liver function; Blood coagulation mechanism; Acute hepatic failure; Research

中图分类号:R289.1;R575.3

文献标识码:A

doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2016.06.034

急性肝衰竭(Acute Hepatic Ailure, AHF)是由多种因素引起的严重肝功能损害,导致其合成、解毒、排泄和生物等功能发生严重失代偿,主要出现以凝血机制障碍、黄疸、腹水等为主要表现的一组临床综合征。具有起病迅速、进展快、预后差等特点^[1],死亡率高达 70% 以上^[2]。西医治疗主要是保肝、抗

炎、抗纤维化,其中人工肝支持系统^[3]虽然是目前最有效的治疗急性肝衰竭的方法,但价格昂贵,且具有严格的禁忌和适应证。中医中药注重“整体观念”,因不良反应较小、价格便宜、备受人们青睐,经方的现代临床运用展现了独特的魅力,在各系统疾病中取得了肯定的疗效。为此,本研究选用大柴胡汤加

减,探讨对急性肝衰竭大鼠肝功能和凝血功能作用的机制,为临床应用提供参考依据,现报道如下。

1 材料

1.1 实验动物 选用清洁级大鼠 50 只,体重 220 ~ 240 g,雌雄各半,上海奉贤辉煌养殖场提供,实验动物生产许可证:SCXK(沪)2009-0022。

1.2 主要实验仪器和试剂 主要实验仪器:离心机采用德国 HETTICH,型号:MIKRO 120;全自动生化仪:意大利爱康 ECHO-PLUS;显微镜:奥林巴斯 CX31-32C02;病理组织切片机:欧贝尔生产的 micro Tec 旋转式切片机。

主要实验试剂:硫代乙酰胺:上海万疆生物技术有限公司生产。丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、总胆红素(TBiL)、白蛋白(ALB)、胆碱酯酶(CHE)和凝血酶原时间(PT)试剂盒由南京建成生物工程研究所有限公司生产。大柴胡汤加减方组成^[4]:柴胡 15 g、黄芩 10 g、白芍 10 g、半夏 10 g、茵陈 15 g、枳实 10 g、大黄 9 g、黄芪 30 g、生姜 3 片、金钱草 15 g、木香 15 g。药液制备方法:500 mL 清水浸泡重要 20 min,煮沸后文火煎 15 min,过滤药液,同样方法熬取第二遍,取两次药液混合,恒温水浴浓缩至 100 mL,2 ~ 8 ℃ 冰箱保存备用。给药剂量参考《现代医学实验动物学》^[5]:按人与大鼠体表面积折算等效剂量经口灌胃大柴胡汤 10 mL/(kg · d)。

2 实验方法

分组:50 只大鼠随机分为 3 组,正常对照组(A 组)10 只,模型组(B 组)20 只,大柴胡汤组(C 组)20 只。造模方法^[6]:C 组大鼠于造模前 2 d 分别灌胃大柴胡汤 10 mL/(kg · d),A、B 组予同等剂量 0.9% 氯化钠注射液灌胃,继而 B、C 组大鼠均采用皮下注射硫代乙酰胺 0.2 g/kg,24 h 后相同剂量重复皮注 1 次,48 h 后完成急性肝衰竭动物模型,同时首次注射硫代乙酰胺后,予大鼠皮下注射 10% 葡萄糖注射液 0.25 g/kg,频次为每 12 h。参考 AHF 的诊断标准^[7]:急性起病,2 周内出现 II 度及以上肝性脑病合并以下症状:1)极度乏力,有严重消化道症状;2)黄疸短期进行性加深;3)明显出血倾向,血浆凝血酶原活动度 PTA ≤ 40%;4)肝脏进行性缩小;5)肝细胞呈大块或亚大块坏死,或桥接坏死。观察造模完成后继续予大柴胡汤灌胃 3 d,A 组大鼠予同等剂量 0.9% 氯化钠注射液灌胃,3 d 后取血处死所有大鼠,于 3 500 r/min 离心 10 min 分离血清,并迅速剪取相同部位的肝脏组织用预冷氯化钠溶液进行匀浆,制

成 10% 匀浆液,于 4 000 r/min 离心 10 min 分离上清液,将分离的血清和肝匀浆液保存 - 80 ℃ 冰箱待测。肝脏病理组织制备如下:取相同部位的肝组织 10% 中性甲醛固定,冲洗,乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,切片,最后染色。

3 检测指标

观察 3 组大鼠病理组织、肝功能(ALT、AST、ALB、CHE)、凝血功能(PT)指标的情况。

4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件对数据进行统计分析,实验数据以平均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用双侧 *t* 检验,以 *P* < 0.05 差异具有统计学意义。

5 结果

5.1 大柴胡汤加减方对病理组织的作用 在电镜下观察,正常组大鼠的肝细胞形态良好肝小叶结构完整,肝板排列整齐,肝细胞无变性、坏死(见图 1);模型组可见大量肝细胞坏死、变性,肝小叶结构破坏,残留少量肝细胞,但严重变性、肿胀,有明显的炎性细胞浸润,说明造模成功(见图 2);大柴胡汤组可见肝小叶结构尚完整,肝板排列欠整齐,肝小叶内可见点片状坏死,汇管区炎性细胞浸润,与模型组比较,肝细胞坏死程度轻微(见图 3)。

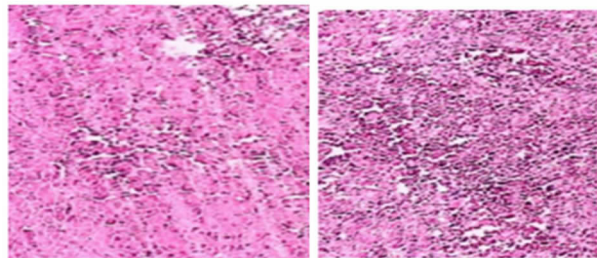


图 1 正常组大鼠病理组织 图 2 模型组大鼠病理组织

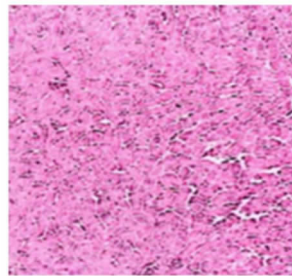


图 3 大柴胡汤组大鼠病理组织

5.2 大柴胡汤加减方对肝功能的作用 模型组大鼠 ALT、AST、TBiL 与正常组大鼠比较,明显升高,差异具有统计学意义(*P* < 0.05);模型组大鼠 ALB、CHE 与正常组大鼠比较,显著降低,差异具有统计学意义(*P* < 0.05);大柴胡汤组大鼠 ALT、AST、TBiL

与模型组大鼠比较,明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$);大柴胡汤组大鼠 ALB、CHE 与正常组大鼠比较,显著升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 3 组大鼠肝功能指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	ALT(U/L)	AST(U/L)	TbIL(mmol/L)	ALB(g/L)	CHE(U/L)
正常组	10	44.5 ± 11.43	72.11 ± 18.89	14.29 ± 6.75	32.5 ± 4.18	557.41 ± 43.22
模型组	20	798.42 ± 173.26 [*]	856.29 ± 193.46 [*]	65.41 ± 16.59 [*]	23.67 ± 3.20 [*]	31.81 ± 5.01 [*]
大柴胡汤组	20	566.73 ± 145.71 [#]	602.61 ± 99.37 [#]	47.93 ± 17.47 [#]	29.46 ± 4.18 [#]	24.26 ± 4.24 [#]

注:与正常组比较^{*} $P < 0.05$,与模型组比较[#] $P < 0.05$ 。

5.3 大柴胡汤加减方对凝血功能的作用 模型组大鼠 PT 与正常组大鼠比较,明显升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$);大柴胡汤组大鼠 PT 与模型组大鼠比较,明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 3 组大鼠凝血指标比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	PT(S)
正常组	10	11.6 ± 2.2
模型组	20	58.3 ± 7.9 [*]
大柴胡汤组	20	22.4 ± 2.9 [#]

注:与正常组比较^{*} $P < 0.05$,与模型组比较[#] $P < 0.05$ 。

6 讨论

大柴胡汤一方首见于《伤寒论》和《金匱要略》,由柴胡、黄芩、半夏、枳实、芍药、大黄、生姜、大枣组成,主治少阳病兼里实之症,后世医家将其广泛应用于临床,多有效验。可以治疗胆石症^[8]、胆囊炎、胆道蛔虫,急性水肿性胰腺炎及其保护胰腺作用,治疗急性传染性肝炎、慢性肝炎、肝脓疡等^[9]。本研究大柴胡汤加减方中,柴胡味苦、微寒,归肝胆实经,主要成分为挥发油、柴胡皂苷,以及多糖等;黄芩味苦性寒,入肺、大小肠、脾、胆经,具有清热燥湿、泻火解毒、止血、安胎等功效,研究发现柴胡-黄芩药对,共奏“透散半表之邪、清泻半里之热”之功,具有解热、抗炎和保肝作用^[10]。杨广栋等^[11]发现茵陈具有很好的保肝降酶、利胆退黄之功,有一定的利尿作用,在调节免疫、抗肿瘤、调节血脂水平等方面,亦有良好效果。大黄、金钱草味苦、性寒,生大黄提取物能明显改善硫代乙酰胺诱导的肝性脑病大鼠的神经反射,显著降低血氨、血浆内毒素浓度,减轻肝脏病理损伤^[12];也有学者认为^[13]金钱草乙醇提取物对肝损伤具有保护作用,其作用机制可能与降低小鼠肝脂质过氧化、增强超氧化物歧化酶及过氧化氢酶活力有关,且金钱草提取物保肝活性可能与其所含槲皮素和山柰酚的含量多少有关。急性肝衰竭,往往为邪盛正虚,正气不足无力抵御外邪导致发病,正气不足是其发病的关键因素,黄芪性味甘、微温,归肺、

脾、肝、肾经,能补一身之气。方中加此味药,意在防止苦寒诸药伤及正气,“正气存内,邪不可干”,众多报道黄芪主要成分有多糖、皂苷、黄酮、氨基酸及微量元素,可抗纤维化,在体内、体外都可促进人脐干细胞生长并分化为肝细胞^[14],减少肝脏损耗,同时对体液免疫、细胞免疫、非特异性免疫,均有显著的免疫双向调节作用^[15]。白芍柔肝止痛,枳实破气消积,白芍-枳实药对还可治疗复杂病情,调和药物之间的偏性,减少药物不良反应^[16]。肝病患者多有胃肠消化道不适,半夏、生姜降逆止呕,生姜并可以顾护胃气。木香理气健脾,脾气健,则精微有所化生。诸药共奏清肝利胆,补中益气之功效。本实验急性肝衰竭大鼠通过大柴胡汤加减方的干预,肝功能和凝血机制均有不同程度的改善,这与以上研究是一致的。

综上所述,大柴胡汤加减方对大鼠的肝功能和凝血功能具有保护的作用,但本实验仍属于初步探索阶段,样本量较少,且如何把握药物的最佳用量需要进一步探索。临床实际急性肝衰竭患者的病情更是多种多样,中医中药在该领域具有广阔的前景,怎样将中医药运用实践,提高患者生存质量,需要广大医务工作者不断努力。

参考文献

[1] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南(2012 年版)[J]. 中华移植杂志:电子版,2013,7(1):40-48.
[2] 聂青和. 肝衰竭综合治疗进展[J]. 实用肝脏病杂志,2013,16(1):17-19.
[3] 黄舒华,王桂娥,谢忠侠. 人工肝支持系统辅助治疗重型肝炎 75 例[J]. 山东医药,2014,54(19):103-104.
[4] 刘志刚,柴程芝,黄煌. 大柴胡汤方证诊断标准研究方法探索[J]. 中医杂志,2015,54(2):160-162.
[5] 施新猷. 现代医学实验动物学[M]. 北京:人民军医出版社,2000:78-82.
[6] 齐玉娟,张靖溥. 硫代乙酰胺诱导的斑马鱼急性肝损伤模型[J]. 药物分析杂志,2014,14(5):782-789.
[7] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组,中华医学会肝病病学分会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南(2012 年版)[J]. 实用肝脏病杂志,2013,16(3):210-216.

可降低 VEGF 蛋白的表达,差异均有统计学意义($P < 0.01$),与氟尿嘧啶组比较,虽然单纯消癌 I 方中药组 VEGF 表达无统计学意义($P > 0.05$),但有减少的趋势。扶正消癌 I 号方、氟尿嘧啶及联合用药均可明显抑制大肠癌细胞株 CT26 移植瘤的生长,因此,我们认为,消癌 I 号联合氟尿嘧啶在荷瘤鼠体内均具有抗血管生成作用。消癌 I 号方抗血管生成可能是通过下调 VEGF 的表达间接抑制肿瘤血管形成,直接作用于血管内皮细胞,抑制肿瘤组织生长。

参考文献

- [1] 侯安继,刘源,胡艳,等.扶正消癌 I 号方治疗晚期结直肠癌疗效观察[J].时珍国医国药,2009,20(11):2908-2910.
- [2] 文军宝,聂飏,姜泊.两种大肠癌细胞株小鼠肝转移模型的建立及比较[J].南方医科大学学报,2007,27(7):1044-1046.
- [3] 刘曼曼,余涛,陈旻,等.抑癌方对小鼠肠癌移植瘤微血管生成及 VEGF、HIF-1 α 表达的影响[J].辽宁中医药大学学报,2011,13(6):73-76.
- [4] Folkman J. Tumor angiogenesis; therapeutic implications[J]. N Engl Med,1971,285(21):1182-1186.
- [5] Young RJ,Read MW. Anti-angiogenic therapy:concept to clinic[J]. 2012,19(2):115-125.
- [6] Zhang D,Li B,Shi J,et al. Suppression of tumor growth and metastasis by simultaneously blocking vascular endothelial growth factor (VEGF)-A and VEGF-C with a receptor-immunoglobulin fusion protein[J]. Cancer Research,2010,70(6):2495-2503.
- [7] 赵春清,刘志,闫咸,等. VEGF、MVD、Ki-67 联合检测与大肠癌临床病理特征及预后相关性的研究[J].河北医药,2014,36(12):3226-3229.
- [8] Botelho F,Pina F,Lunet N. VEGF and prostatic cancer:a systematic review[J]. Eur J Cancer Prev,2010,19(5):385-392.
- [9] Zhang L,Hannay JA,Liu J,et al. Vascular endothelial growth factor overexpression by soft tissue sarcoma cells: implications for tumor

growth, metastasis, and chemoresistance[J]. Cancer Res,2006,66(17):8770-8778.

- [10] Weidner N,Gasparini G. Determination of epidermal growth factor receptor provides additional prognostic information to measuring tumor angiogenesis in breast carcinoma patients[J]. Breast Cancer Res Treat,1994,29(1):97-107.
- [11] 刘静,史勤,吕祥.健脾复方对人大肠癌移植瘤裸小鼠血管内皮生长因子及肿瘤微血管密度的影响[J].上海中医药杂志,2010,44(4):62-65.
- [12] 董晶,郭勇,方红明,等.复方藤梨根制剂对小鼠 CT26 移植瘤生长及对 MVD 影响的研究[J].中华中医药学刊,2014,32(7):1691-1693.
- [13] 侯丽,许晶,王婧,等.新加良附方联合 5-Fu 对荷人胃癌裸鼠血清 VEGF、bFGF 水平的影响[J].世界中医药,2014,9(12):1636-1639.
- [14] 高冬,陈文元,林薇,等.血府逐瘀汤促血管新生中 VEGF 通路的作用研究[J].中国中药杂志,2012,17(37):2622-2625.
- [15] 王旺胜,尤建良,浦琼华.微调三号方(WD-3)对小鼠大肠癌肝转移灶 nm23-H1 mRNA、CD44 mRNA、VEGF mRNA 的影响[J].四川中医,2011,29(8):21-23.
- [16] 任为民,张培彤.血瘀证及活血药对肿瘤转移影响的相关分子机制研究概况[J].中国肿瘤,2011,20(7):509-514.
- [17] 刘曼曼,余涛,陈旻,等.抑癌方对小鼠肠癌移植瘤微血管生成及 VEGF、HIF-a 表达的影响[J].辽宁中医药大学学报,2011,13(6):73-76.
- [18] 侯安继,陈友香,项荣.扶正消癌 I 号方治疗中晚期上消化道恶性肿瘤的临床研究[J].中国中西医结合消化杂志,2004,12(6):332-334.
- [19] 胡艳,侯安继,周维,等.扶正消癌 I 号方对 FOLFOX4 方案治疗晚期结直肠癌减毒增效的临床研究[J].上海中医药杂志,2009,43(2):30-31.

(2015-07-12 收稿 责任编辑:张文婷)

(上接第 1065 页)

- [8] 喻斌,阮鸣,张志芬,等.大柴胡颗粒对胆色素结石豚鼠保护作用机制研究[J].中草药,2013,44(10):1309-1313.
- [9] 王福忠.茵陈大柴胡汤加减治疗淤胆型肝炎 18 例[J].内蒙古中医药,2010,29(16):9-10.
- [10] 胡煜明,李顺祥,严建业,等.柴胡、黄芩药对的研究进展[J].湖南中医杂志,2014,11(7):199-201.
- [11] 杨广栋,陈兰羽,张莎莎,等.茵陈在肝病治疗中的应用[J].吉林中医药,2011,31(5):455-457.
- [12] 何琦,谢冬梅.大黄在肝性脑病灌肠治疗中应用的研究进展[J].北方药学,2015,12(10):86-87,122.

- [13] 王君明,刘菊,崔瑛,等.金钱草提取物对雷公藤多苷致肝损伤的保护作用及机制研究[J].中国药理学杂志,2013,48(1):30-34.
- [14] 张永红,曾妍,唐晓鹏.黄芪注射液促进脐血干细胞向肝细胞分化:具有增强移植干细胞治疗大鼠肝衰竭的效果[J].中国组织工程研究与临床康复,2010,14(1):103-107.
- [15] 周承.中药黄芪药理作用及临床应用研究[J].亚太传统医药,2014,10(22):100-101.
- [16] 梁巧文,陈雅,马丽,等.枳实白芍配伍中化学成分变化及药效相关性研究[J].广州中医药大学学报,2014,31(4):592-596.

(2016-01-08 收稿 责任编辑:洪志强)