

# 犀角地黄汤对脓毒症大鼠肝保护作用的 影响效果分析

祝丽超 毕夏 张锦

(辽宁中医药大学附属第三医院,沈阳,110000)

**摘要** 目的:研究分析犀角地黄汤对脓毒症大鼠肝保护作用的影响效果。方法:选择2016年9月在我院实验室中饲养的SPF级SD大鼠90只进行研究,根据简单数字随机表法将其分成观察组(制成脓毒症大鼠的模型后利用犀角地黄汤处理)、模型组(制成脓毒症大鼠的模型)、假手术组,每组30只。分别在手术后的8h及16h比较各组肝功能及炎症反应指标水平,肝组织匀浆的一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)及超氧化物歧化酶(SOD)水平,分析脓毒症大鼠谷丙转氨酶(ALT)及谷草转氨酶(AST)水平与NO、MDA、iNOS及SOD的相关性。结果:观察组及模型组术后8h及16h的ALT、AST、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )及白细胞介素-6(IL-6)水平均分别明显高于假手术组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。观察组术后8h及16h的ALT、AST、TNF- $\alpha$ 及IL-6水平均分别明显高于模型组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。观察组及模型组术后8h及16h的NO及iNOS水平均明显高于假手术组,SOD水平明显低于假手术组,术后16h的MDA水平均分别明显高于假手术组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。观察组术后8h及16h的NO及iNOS水平均明显低于模型组,术后16h的MDA水平明显低于模型组,SOD水平明显高于模型组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。依据Spearman法分析相关性可知,脓毒症大鼠ALT及AST水平与NO、MDA及iNOS均呈正相关,而与SOD呈负相关。结论:犀角地黄汤对脓毒症大鼠具有较好的肝保护作用,对于大鼠的肝功能及炎症反应症状存在较好的改善效果。

**关键词** 犀角地黄汤;脓毒症大鼠;肝保护作用;影响效果

## Analysis on Influence of Xijiao Dihuang Decoction on Hepatic Protection in rats with sepsis

Zhu Lichao, Bi Xia, Zhang Jin

(The Third Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110000, China)

**Abstract Objective:** To study the influence of Xijiao Dihuang decoction on liver-protection in rats with sepsis. **Methods:** A total of 90 SPF SD rats were selected in the laboratory of our hospital in September 2016, they were randomly divided into 3 groups, the observation group (sepsis model rats with Xijiao Dihuang decoction treatment), model group (sepsis model rats), as well as sham operation group. There were 30 rats in each group. Liver function, inflammatory marker levels, nitric oxide (NO), malondialdehyde (MDA), inducible nitric oxide synthase (iNOS) and superoxide dismutase (SOD) in liver homogenate were compared among three groups 8 h and 16 h after surgery respectively. Besides, correlation between alanine aminotransferase (ALT) level as well as aspartate aminotransferase (AST) level and NO, MDA, iNOS, SOD was analyzed. **Results:** ALT, AST, tumor necrosis factor alpha (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6) levels in the observation group and model group were significantly higher than those in sham operation group both after surgery 8 h and 16 h, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The results in the observation group were significantly higher than those in model group, the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The iNOS and NO levels in the observation group and the model group were significantly higher than those in the sham operation group after 8 h and 16 h, while the SOD level was significantly lower than that in the sham operation group 16 h later the operation, the MDA level was higher than that in sham operation group, there was significantly difference. ( $P < 0.05$ ). The iNOS and NO levels in the observation group were significantly lower than those in the model group, MDA level after 16 h was significantly higher than that in model group, the level of SOD was significantly higher than that in model group, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). According to the correlation analyzed by Spearman method, the levels of ALT and AST in septic rats were positively correlated with iNOS, MDA and NO, but negatively correlated with SOD. **Conclusion:** Xijiao Dihuang decoction is effective on liver in sepsis rats, and the symptoms of liver function and inflammation in rats really improves.

**Key Words** Xijiao Dihuang decoction; Sepsis rats; Hepatic protection; Influence

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.08.038

脓毒症是临床高发疾病类型,其发病机制十分复杂,目前尚不明确,身体任何部位发生感染,或者烧伤、多发伤等各类严重疾病和外科手术等情况均有可能发生该病。据统计,世界上每年约有1900万人患该病,且该发病率会伴随时间推移而不断上升。由于脓毒症本身病情十分凶险,具有较高病死率,同时该病并发症种类较多,并会对患者多项器官造成严重损伤,进一步加大患者死亡危险<sup>[1]</sup>。临床研究发现,脓毒症发病机制通常会涉及到机体多项系统,并且会引发多个器官出现功能障碍,特别是肝脏作为人体重要调节器官,其不但能够产生大量炎症递质,而且会生成多种凝血因子等,所以其在脓毒症整个病情发展过程中均十分重要<sup>[2]</sup>。有学者指出,以中医角度考虑,脓毒症主要致病因素为热毒,应用具有清热解毒功效的犀角地黄汤,预期会收到较满意效果<sup>[3]</sup>。鉴于此,本文通过研究分析犀角地黄汤对脓毒症大鼠肝保护作用的影响效果,旨在为后期临床治疗用药的选择提供方案参考,现将结果报道如下。

## 1 材料与方法

1.1 材料 选择2016年9月在我院实验室中饲养的SPF级SD大鼠90只进行研究,体重为(200±15)g,雌雄不限,均为同批饲养。标准1)均为健康大鼠;2)饲养时间相同;3)初次实验的大鼠。排除1)非SPF级大鼠;2)制作模型时未成功的大鼠;3)饲养时饮食状态不佳的大鼠。剔除1)饲养期间死亡的大鼠;2)患有其他疾病的大鼠。

### 1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 根据简单数字随机表法将其分成观察组(制成脓毒症大鼠的模型后利用犀角地黄汤处理)、模型组(制成脓毒症大鼠的模型)、假手术组,每组30只。对观察组及模型组均制成脓毒症大鼠的模型,具体操作为:将大鼠应用1.25 mg/g的乌拉坦(产自上海的源叶生物科技公司,生产批号:YY11122)进行麻醉之后,于无菌条件下顺着其腹中线行1 cm长度切口开腹,而后游离盲肠与肠系膜,在盲肠根部进行结扎,通过9号针头在所结扎位置的远端进行2次盲肠的贯穿,其中针孔间距约3 cm,为其留置皮片以防闭合,再将结扎的盲肠送回腹腔,为其缝合切口,放于笼中自由活动,期间不禁饮食。另对假手术组大鼠进行麻醉后为其开腹,将盲肠游离出腹腔,翻动数次后送回腹腔为其缝合切口。以上各组在手术结束后均给予30 mL/kg的生理盐水皮下注射,以补充手术导致的液体丢失。

1.2.2 给药方法 在术前1 h给予模型组及假手

术组大鼠0.01 mL/g的生理盐水灌胃,给予观察组0.01 mL/g的由犀角地黄汤制成的混悬液灌胃。其中犀角地黄汤的中药基本方为:水牛角30 g、生地黄24 g、赤芍12 g、牡丹皮9 g。将上述4种药材制成颗粒后利用蒸馏水溶解并配置成0.78 g/mL的混悬液。

1.2.3 观察指标 分别在手术后的8 h及16 h取各组的15只大鼠开腹,并经其下腔静脉提取血液标本3 mL,行10 min 1 500 r/min的离心,提取血清后通过贝克曼AU680全自动生化分析仪依据试剂盒的说明书分别检测大鼠的肝功能指标(ALT、AST、TBiL)及炎症反应指标(TNF- $\alpha$ 、IL-6)。而后分离出大鼠的腹腔脏器,将肝脏取出,将肝组织及生理盐水在冰浴条件下制成10%的匀浆,利用标准品算出匀浆当中的NO及MDA含量以及iNOS与SOD的水平。以上步骤所涉及的试剂盒购自深圳的晶美公司及武汉的博士德公司,严格根据说明书中的步骤仔细操作。

1.3 统计学方法 通过SPSS 21.0统计软件对数据进行统计学分析,其中计数资料的比较应用 $\chi^2$ 检验,计量资料通过均值±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,进行 $t$ 检验,多组间数据资料的比较应用方差分析,计算 $F$ 值,相关性分析应用Spearman分析法进行评价,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组肝功能及炎症反应指标水平的比较 观察组及模型组术后8 h及16 h的ALT、AST、TNF- $\alpha$ 及IL-6水平均分别明显高于假手术组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。观察组术后8 h及16 h的ALT、AST、TNF- $\alpha$ 及IL-6水平均分别明显高于模型组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表1。

2.2 各组肝组织匀浆的NO、MDA、iNOS及SOD水平的比较 观察组及模型组术后8 h及16 h的NO及iNOS水平均明显高于假手术组,SOD水平明显低于假手术组,术后16 h的MDA水平均分别明显高于假手术组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。观察组术后8 h及16 h的NO及iNOS水平均明显低于模型组,术后16 h的MDA水平明显低于模型组,SOD水平明显高于模型组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

2.3 脓毒症大鼠ALT及AST水平与NO、MDA、iNOS及SOD的相关性分析 依据Spearman法分析相关性可知,脓毒症大鼠ALT及AST水平与NO、MDA及iNOS均呈正相关,而与SOD呈负相关。见表3。

表 1 各组肝功能及炎症反应指标水平的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组名	ALT(U/L)		AST(U/L)		TBil( $\mu\text{mol/L}$ )	
	8 h	16 h	8 h	16 h	8 h	16 h
观察组( $n=30$ )	68.02 $\pm$ 12.53 * $\Delta$	83.79 $\pm$ 13.24 * $\Delta$	116.38 $\pm$ 11.35 * $\Delta$	126.54 $\pm$ 14.26 * $\Delta$	0.85 $\pm$ 0.12	0.92 $\pm$ 0.06
模型组( $n=30$ )	108.64 $\pm$ 20.41 *	149.24 $\pm$ 28.16 *	137.64 $\pm$ 12.50 *	175.54 $\pm$ 25.02 *	0.87 $\pm$ 0.15	0.94 $\pm$ 0.13
假手术组( $n=30$ )	43.89 $\pm$ 6.95	44.26 $\pm$ 5.33	61.52 $\pm$ 8.59	60.26 $\pm$ 8.32	0.85 $\pm$ 0.13	0.86 $\pm$ 0.15
<i>F</i>	12.631	13.957	20.518	22.480	1.329	1.508
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000	0.147	0.232

  

组名	TNF- $\alpha$ (pg/mL)		IL-6(pg/mL)	
	8 h	16 h	8 h	16 h
观察组( $n=30$ )	31.25 $\pm$ 4.43 * $\Delta$	41.09 $\pm$ 5.47 * $\Delta$	52.42 $\pm$ 4.79 * $\Delta$	63.35 $\pm$ 4.31 * $\Delta$
模型组( $n=30$ )	43.95 $\pm$ 6.54 *	63.86 $\pm$ 7.02 *	62.27 $\pm$ 6.88 *	82.98 $\pm$ 7.03 *
假手术组( $n=30$ )	15.02 $\pm$ 2.64	13.21 $\pm$ 2.17	21.47 $\pm$ 3.53	20.32 $\pm$ 2.55
<i>F</i>	6.306	8.212	8.359	9.178
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000

注:与假手术组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

表 2 各组肝组织匀浆的 NO、MDA、iNOS 及 SOD 水平的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组名	NO( $\mu\text{mol/L}$ )		MDA(U/mgprot)		iNOS(U/mgprot)		SOD(nmol/mgprot)	
	8 h	16 h	8 h	16 h	8 h	16 h	8 h	16 h
观察组( $n=30$ )	0.46 $\pm$ 0.08 * $\Delta$	0.78 $\pm$ 0.11 * $\Delta$	0.54 $\pm$ 0.06	0.71 $\pm$ 0.12 * $\Delta$	0.72 $\pm$ 0.19 * $\Delta$	0.92 $\pm$ 0.08 * $\Delta$	79.27 $\pm$ 10.14 *	70.15 $\pm$ 9.32 * $\Delta$
模型组( $n=30$ )	0.64 $\pm$ 0.18 *	0.94 $\pm$ 0.15 *	0.54 $\pm$ 0.05	0.86 $\pm$ 0.13 *	0.91 $\pm$ 0.15 *	1.04 $\pm$ 0.13 *	73.76 $\pm$ 9.86 *	49.24 $\pm$ 7.05 *
假手术组( $n=30$ )	0.16 $\pm$ 0.03	0.15 $\pm$ 0.05	0.46 $\pm$ 0.08	0.49 $\pm$ 0.06	0.25 $\pm$ 0.08	0.25 $\pm$ 0.03	93.64 $\pm$ 8.57	93.51 $\pm$ 9.82
<i>F</i>	5.178	6.024	1.033	1.142	5.235	6.318	10.324	11.282
<i>P</i>	0.001	0.000	0.257	0.219	0.001	0.000	0.000	0.000

注:与假手术组比较,\* $P < 0.05$ ;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

表 3 脓毒症大鼠 ALT 及 AST 水平与 NO、MDA、iNOS 及 SOD 的相关性分析

项目	NO		MDA		iNOS		SOD	
	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
ALT	0.658	0.001	0.577	0.003	0.742	0.000	-0.621	0.001
AST	0.694	0.000	0.589	0.002	0.688	0.000	-0.704	0.000

### 3 讨论

脓毒症是由感染导致的全身性炎症反应综合疾病,是机体对致感染因素作出的反应。脓毒症机制复杂,涉及全身多个系统,并会引发多项器官出现病理以及生理性改变。经研究发现,肝脏作为能够平衡代谢机制以及可以发挥防御功能的关键性器官,其功能完整性对脓毒症最终能否发展至全身多项器官出现功能障碍十分重要<sup>[4]</sup>。研究结果显示,合并肝硬化等肝脏疾病患者发生脓毒症的几率更大,其体内各项炎症反应递质水平显著增高,且患者发生脓毒症后病死率也更高,进一步说明肝脏器官功能健全对脓毒症病情控制的重要性<sup>[5]</sup>。中医学认为,脓毒症为外感热病所致,犀角地黄汤作为清热方剂,十分适于治疗该病<sup>[6]</sup>。同时临床上以往应用该方剂治疗肝炎、肝昏迷等类型疾病均起到满意疗效,至于其对脓症患者肝保护作用需进一步研究总结。

本文经研究发现,观察组及模型组术后 8 h 及 16 h 的 ALT、AST、TNF- $\alpha$  及 IL-6 水平均分别明显高于假手术组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),且观察

组术后 8 h 及 16 h 的 ALT、AST、TNF- $\alpha$  及 IL-6 水平均分别明显高于模型组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。提示制成脓毒症模型的大鼠肝脏功能均具有一定的损害,而应用犀角地黄汤处理后,大鼠的肝脏功能具有明显的改善。原因可能与犀角地黄汤的中药调理作用有关。犀角地黄汤属于中医清热方剂,具有清热解毒以及凉血散瘀等治疗功效。通常将其用于治疗热入血分证和热伤血络以及蓄血瘀热等症。临床研究证实,该药对重症肝炎、尿毒症以及肝昏迷等多种血分热盛类疾病均起到满意治疗效果<sup>[7-8]</sup>。同时,犀角地黄汤内存在抑制炎症反应的细胞因子,其在降低脂质过氧化作用,以及减少并预防血栓生成等方面均起到积极作用。ALT 及 AST 为 2 种能够反映出肝功能是否受损的酶,其水平升高程度和肝功能受损程度有关。本文研究得出模型组出现 ALT 及 AST 水平均上升现象,证实在脓毒症初期已发生肝脏受损。然而观察组 ALT 及 AST 两项水平上升程度均显著低于模型组,表示犀角地黄汤可起到保护肝脏,防止其受损的功效。库弗氏细

胞可清除体内细菌及毒素,肝脏中库弗氏细胞中贮藏着大量巨噬细胞,占人体总量的80%,当发生脓毒症时,肝脏中的库弗氏细胞可生成大量不同种类的促炎性因子,包括TNF- $\alpha$ 以及IL-6等<sup>[9-10]</sup>。其中TNF- $\alpha$ 为一种重要炎性反应因子,其能够诱导全身性炎性反应型综合征,且其还可以造成肝细胞凋亡,并同时刺激产生大量IL-6。临床通常将IL-6活性水平用于预测肝炎患者肝受损程度,认为IL-6活性和肝脏类疾病病情严重程度以及预后效果等存在直接联系。由此可知,对TNF- $\alpha$ 以及IL-6等活性进行抑制,有助于降低脓毒症对肝脏损伤程度。

此外,本文发现,观察组及模型组术后8h及16h的NO及iNOS水平均明显高于假手术组,SOD水平明显低于假手术组,术后16h的MDA水平均分别明显高于假手术组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。观察组术后8h及16h的NO及iNOS水平均明显低于模型组,术后16h的MDA水平明显低于模型组,SOD水平明显高于模型组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。这再次表明观察组经犀角地黄汤处理后大鼠的肝功能损害程度更小。脓毒症初期,机体内毒素和多种细胞因子均会对肝细胞以及库弗氏细胞等产生刺激,导致iNOS呈高表达状态,进而生成过多NO,使得血管扩张,引发低血压以及心肌受抑等不良后果<sup>[11-12]</sup>。MDA属于氧自由基代谢中间产物,可用于表达脂质过氧化活动情况。而SOD则为一种抗氧化酶,其大量存在于多种生物体内,对超氧阴离子起到催化作用,进而发生歧化反应,SOD可作为一项关键性自由基清除剂。本文结果证实脓毒症对肝脏损伤阶段,肝脏产生的氧自由基以及脂质过氧化作用为主要原因,犀角地黄汤能够发挥抑制作用,进而降低肝损伤程度。水牛角苦寒咸,可清心火,并具有解毒作用。中医认为心火得以清之,则身体诸经络之火均可自平,是以将其作为君药。生地黄有凉血以及滋阴液等功效,其能够对犀角起到协助作用,进而帮助其获得解血分热毒功效,同时生地黄还能够提高止血效果,因此其为辅药。而芍药能够和营泄热,同时牡丹皮可以凉血散瘀,其二者可共同为犀角以及生地黄进行协助,提升解毒化斑等效果,其二者同属佐使药<sup>[13]</sup>。以上4药合用所组犀角地黄汤方剂,发挥清热解毒以及凉血散瘀至功效。需要指出的是,蒋华等<sup>[14-15]</sup>虽报道犀角地黄汤对大鼠而言具有一定的肝保护作用,但并未深入分析各指标之间的关系,本文依据Spearman法分析相关性可知,脓毒症大鼠ALT及AST水平与

NO、MDA及iNOS均呈正相关,而与SOD呈负相关。这再次证实脓毒症大鼠的肝功能损害与其肝功能指标联系紧密,也表明了监测ALT及AST指标能够在一定程度上反馈出肝功能损害的情况。

综上所述,犀角地黄汤对脓毒症大鼠具有较好的肝保护作用,对于大鼠的肝功能及炎性反应症状存在较好的改善效果。

#### 参考文献

- [1]周丽芳,彭慧云,欧阳文献,等.芍药苷对实验性大鼠脓毒症肝损伤的保护作用[J].医学临床研究,2016,33(5):861-864.
- [2]徐红丰,王欢,刘曼曼,等.生脉注射液治疗脓毒症相关肝损伤的相关机制探讨[J].世界临床医学,2015,9(7):16-17.
- [3]尹海燕,主有峰,陶珮,等.姜黄素对脓毒症大鼠肝细胞的剂量保护效应[J].中华危重病急救医学,2016,28(3):252-256.
- [4]Gaddam RR, Fraser R, Badiei A, et al. Cystathionine-Gamma-Lyase Gene Deletion Protects Mice against Inflammation and Liver Sieve Injury following Polymicrobial Sepsis [J]. PLoS One, 2016, 11(8): 160521-160522.
- [5]王晓群,赵芳,徐凯智,等.盐酸右美托咪定对脓毒症肝细胞损伤的保护作用[J].河北联合大学学报:医学版,2016,18(3):169-173.
- [6]C6ndor JM, Rodrigues CE, Sousa Moreira Rd, et al. Treatment With Human Wharton's Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cells Attenuates Sepsis-Induced Kidney Injury, Liver Injury, and Endothelial Dysfunction [J]. Stem Cells Transl Med, 2016, 5(8): 1048-1057.
- [7]伍伟光,胡晓光,王海彦,等.髓源性抑制细胞对脓毒症性肝损伤保护机制的初步研究[J].岭南急诊医学杂志,2016,21(1):13-15.
- [8]Kaplan JM, Nowell M, Lahni P, et al. Obesity enhances sepsis-induced liver inflammation and injury in mice [J]. Obesity: Silver Spring, 2016, 24(7): 1480-1488.
- [9]唐成武,朱鸣,黄三雄,等.  $\delta$ 阿片受体激动剂对脓毒症大鼠肝线粒体呼吸功能的保护作用[J].中国现代医生,2015,53(16):8-10.
- [10]Zheng D, Yu Y, Li M, et al. Inhibition of MicroRNA 195 Prevents Apoptosis and Multiple-Organ Injury in Mouse Models of Sepsis [J]. J Infect Dis, 2016, 213(10): 1661-1670.
- [11]Cho HI, Kim SJ, Choi JW, et al. Genipin alleviates sepsis-induced liver injury by restoring autophagy [J]. Br J Pharmacol, 2016, 173(6): 980-991.
- [12]张海霞,吴先正,杨长青,等.脓毒症患者肝功能损伤与病情严重程度及预后的相关性研究[J].检验医学与临床,2015,12(2):204-206.
- [13]彭慧云,李森,周丽芳,等.58例严重脓毒血症患儿肝损伤的临床分析[J].临床肝胆病杂志,2016,32(3):541-544.
- [14]蒋华,周珉,吕海,等.犀角地黄汤对脓毒症大鼠肝功能及肝组织病理的影响[J].中医杂志,2016,57(8):696-700.
- [15]Xu W, Lu Y, Yao J, et al. Novel role of resveratrol: suppression of high-mobility group protein box 1 nucleocytoplasmic translocation by the upregulation of sirtuin 1 in sepsis-induced liver injury [J]. Shock, 2014, 42(5): 440-447.