

· 实验研究 ·

不同经典方剂对肝外胆汁淤积大鼠肝肾功能的影响

朱平生^{1*} 王 兵² 龙爱华²

(1. 河南中医学院肝病研究所, 河南省郑州市金水路 1 号, 450008; 2. 上海中医药大学肝病研究所)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30500672); 河南省高校科技创新人才支持计划资助项目(2009HASTIT031);

河南省自然科学基金资助项目(0511043400); 河南省教育厅自然科学研究计划资助项目(200510471022)

* 通讯作者: zhupingsheng@126.com, 13783717957

[摘要] **目的** 比较茵陈蒿汤、茵陈五苓散、大柴胡汤对实验性肝外胆汁淤积大鼠肝肾功能的影响。 **方法** 行胆总管三段结扎术复制大鼠肝外胆汁淤积模型, 造模 1 周后各药物干预组每天分别灌胃给予 1ml/100g 体重茵陈蒿汤、茵陈五苓散和大柴胡汤, 模型组和假手术组给予等体积生理盐水。至造模 3 周时检测肝肾功能。 **结果** 与假手术组比较, 模型组血清白蛋白(ALB) 含量显著降低($P < 0.05$), 总胆红素(TBil)、总胆汁酸(TBA)、胆固醇(CHO)、尿素氮(BUN) 含量, 丙氨酸氨基转移酶(ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、碱性磷酸酶(ALP)、 γ -谷氨酰转肽酶(GGT) 活性显著增高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 茵陈蒿汤、茵陈五苓散和大柴胡汤均可显著增加白蛋白(ALB) 含量; 显著降低 TBil、TBA 含量, ALT、AST、LDH、ALP、GGT 活性($P < 0.01$); 茵陈蒿汤在降低 TBil 含量、ALP 活性方面显著优于茵陈五苓散组($P < 0.01$); 茵陈蒿汤在降低 ALT、AST、LDH、GGT 活性, TBA 含量方面显著优于大柴胡汤组($P < 0.01$)。 **结论** 茵陈蒿汤、茵陈五苓散和大柴胡汤均能有效改善 BDL 所诱发肝外胆汁淤积大鼠模型肝肾功能改变, 茵陈蒿汤综合疗效较优。

[关键词] 茵陈蒿汤; 茵陈五苓散; 大柴胡汤; 胆汁淤积; 肝功能; 肾功能

Effect of Different Classic Formulas on the Liver and Renal Function of Extrahepatic Cholestasis in Rats

ZHU Pingsheng¹, WANG Bing², LONG Aihua²

(1. Institute of Liver Diseases, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 45008; 2. Institute of Liver Diseases, Shanghai University of Chinese Medicine)

ABSTRACT **Objective** To compare the effect of the three classic formulas Yinchenhao Decoction (Decoction of Herba Artemisiae Scopariae), Yichen Wuling Powder (Powder of Five Drugs with Poria added by Herba Artemisiae Scopariae) and Dachaihu Decoction (Major Bupleurum Decoction) on the liver and renal functions of rats with experimental extrahepatic cholestasis. **Methods** Common bile duct ligation in three segments was performed to establish the cholestasis models. One week after modeling, the intervention groups were respectively given Yinchenhao Decoction, Yinchen Wuling Powder and Dachaihu Decoction intragastrically everyday in dose of 1ml/100g body weight. The model group and sham operation groups were administered isometric normal saline. Rats were killed 3 weeks after modeling to detect the liver and renal functions. **Results** Compared with the sham operation group, ALB content in the model group was significantly decreased ($P < 0.05$), the content of TBil, TBA, CHO, BUN, and the activity of ALT, AST, LDH, ALP and GGT were all significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the model group, Yinchenhao Decoction, Yinchen Wuling Powder, and Dachaihu Decoction all could increase the content of ALB, and significantly decrease the content of TBil and TBA, and the activity of ALT, AST, LDH, ALP and GGT ($P < 0.01$). Yinchenhao Decoction was significantly better than Yinchen Wuling Powder in decreasing TBil content and ALP activity ($P < 0.05$). Yinchenhao Decoction was significantly better than Dachaihu Decoction in decreasing the activity of ALT, AST, LDH and GGT, and the content of TBA ($P < 0.01$). **Conclusion** Yinchenhao Decoction, Yinchen Wuling Powder and Dachaihu Decoction all can improve the changes of liver and renal functions of rats with extrahepatic cholestasis. The comprehensive effect of Yinchenhao Decoction is better.

Key Words Yinchenhao Decoction (Decoction of Herba Artemisiae Scopariae); Yinchen Wuling Powder; Dachaihu Decoction; Extrahepatic cholestasis; Liver and renal function

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>
胆汁淤积(cholestasis)是多种慢性肝脏疾病共有的病理改变。胆汁淤积可致肝细胞损伤、胆管上皮细胞增生和胶原沉积形成肝纤维化、肝硬化^[1-2]。因此有效干预胆汁淤积的发生、发展是治疗这些慢性

肝病的关键一环。中医认为“湿热阻滞”是黄疸的基本病机,本研究通过比较临床常用的3首治疗湿热黄疸的经典方剂(茵陈蒿汤、茵陈五苓散、大柴胡汤)^[3]对胆总管结扎(bile duct ligation, BDL)诱发实验性肝外胆汁淤积大鼠肝肾功能的影响及其不同的作用特点,以阐释经典方剂治疗黄疸的作用机制,为指导临床治疗胆汁淤积提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物

Wistar 雄性大鼠 68 只,清洁级,体重(200±20)g,中国科学院上海实验动物中心提供,动物许可证号:SCXK(沪)2006-0012,上海中医药大学实验动物中心饲养。

1.2 药物及试剂

茵陈蒿汤(茵陈蒿 3.0kg、栀子 1.5kg、大黄 1.0kg)、茵陈五苓散(茵陈2.4kg、猪苓0.225kg、泽泻0.375kg、白术 0.225kg、茯苓 0.225kg、桂枝 0.15kg)、大柴胡汤(柴胡 2.4kg、黄芩 0.9kg、芍药 0.9kg、半夏 1.2kg、生姜 1.5kg、枳实 1.5kg、大枣 0.6kg、大黄 0.6kg),所用药物均购自河南省医药有限公司,有明确原产地,经河南中医学院生药学专家鉴定后,由河南中医学院制剂室一次制备后真空干燥、冷藏备用,同时保存生药样品备查。土狼猩红-饱和苦味酸液购自北京海德创业生物公司,批号CAT#26357-02。

1.3 模型复制^[4]

按随机数字表法将大鼠分为2组:BDL组56只,假手术组12只,大鼠禁食不禁水12h后,腹部皮肤常规消毒,用2%戊巴比妥钠以2ml/kg体重剂量大鼠腹腔注射麻醉,沿腹正中线切开,暴露并游离胆总管,将胆总管远近端三段结扎,于远心端第二、三结扎线之间剪断胆总管,关腹。假手术组仅开腹并游离胆总管后关腹。

1.4 分组及干预

以造模时间为零点,造模1周后按数字表随机法将BDL大鼠均分为模型组、茵陈蒿汤组、茵陈五

苓散组和大柴胡汤组4组。各药物干预组每天分别灌胃给予1ml/100g体重(相当于60kg体重成人每千克药物剂量的10倍)茵陈蒿汤、茵陈五苓散和大柴胡汤;模型组和假手术组给予等体积生理盐水。至造模3周时处死取材。

1.5 样品采集及处理

经2%戊巴比妥钠以2ml/kg体重剂量腹腔麻醉后,大鼠仰卧位固定,打开腹腔,观察大体情况,肝、脾的色、质、形态、体积及腹水情况。经下腔静脉采血,分离血清备用;摘取肝、脾称重。

1.6 观测指标与方法

测定体重、肝重、脾重,以肝重/体重计算肝指数,以脾重/体重计算脾指数。检测血清血清总蛋白(TP)、球蛋白(GLO)、白蛋白(ALB)、总胆红素(TBiL)、总胆汁酸(TBA)、胆固醇(CHO)、尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)含量、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(AST)、乳酸脱氢酶(LDH)、碱性磷酸酶(ALP)、γ-谷氨酰转肽酶(GGT),按试剂盒说明方法测定。

1.7 统计学方法

采用SPSS 13.0 统计分析软件,计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较用单因素方差分析。

2 结果

2.1 各组大鼠一般状况比较

造模与灌药过程中,大鼠死亡11只,死亡率为16%。表1示,与假手术组比较,模型组体重、肝重、脾重、肝指数、脾指数等均有统计学差异($P < 0.05$)。与模型组比较,所有用药干预组体重、肝重、肝指数都有所降低,脾重、脾指数显著降低($P < 0.05$)。

2.2 各组大鼠肝、肾功能比较

与假手术组比较,模型组ALB含量显著降低($P < 0.01$),GLO、TBiL、TBA、CHO、BUN含量,ALT、AST、LDH、ALP、GGT活性显著增高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);与模型组比较,茵陈蒿汤组可显

表1 各组大鼠一般情况比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	体重(g)	肝重(g)	脾重(g)	肝指数(%)	脾指数(‰)
假手术组	12	306.40±13.43*	10.49±0.63*	0.68±0.09*	3.4±0.80*	2.2±0.20*
模型组	10	210.17±23.60	13.78±2.39	1.55±0.41	6.6±0.79	7.4±1.90
茵陈蒿汤组	12	201.83±29.03*	12.38±2.38*	1.08±0.31*	6.3±1.46*	5.4±1.50*
茵陈五苓散组	12	184.09±30.30*	12.09±3.04	0.88±0.33*	6.5±2.32*	5.0±2.20*
大柴胡汤组	13	177.15±27.70*	10.88±1.89*	0.78±0.23*	6.2±1.28*	4.4±1.31*

注:与模型组比较,* $P < 0.05$

表2 各组大鼠血清 ALB、GLO、TP、TBiL 含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	ALB(g/L)	GLO(g/L)	TP(g/L)	TBiL(μ mol/L)
假手术组	12	32.84 $\pm$ 1.18**	23.14 $\pm$ 1.30*	55.99 $\pm$ 2.46	3.66 $\pm$ 1.02**
模型组	11	24.10 $\pm$ 2.10	28.04 $\pm$ 3.01	52.14 $\pm$ 4.19	128.53 $\pm$ 38.50
茵陈蒿汤组	13	31.83 $\pm$ 2.51**	29.25 $\pm$ 6.23	59.42 $\pm$ 9.78	45.88 $\pm$ 7.02**▲
茵陈五苓散组	10	26.60 $\pm$ 6.89△	26.40 $\pm$ 3.22	53.00 $\pm$ 8.55	60.30 $\pm$ 6.09**△▲
大柴胡汤组	11	24.88 $\pm$ 4.12△	27.33 $\pm$ 3.93	52.21 $\pm$ 7.72	75.68 $\pm$ 8.92**△

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与茵陈蒿汤组比较,△ $P<0.01$;与茵陈五苓散组比较,▲ $P<0.01$

表3 各组大鼠血清 ALT、AST、LDH、ALP、GGT 活性比较(U/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	ALT	AST	LDH	ALP	GGT
假手术组	12	36.57 $\pm$ 3.65*	220.92 $\pm$ 51.39*	1203.79 $\pm$ 364.03*	89.21 $\pm$ 13.87*	4.87 $\pm$ 0.44*
模型组	11	144.71 $\pm$ 32.38	655.42 $\pm$ 135.94	2278.74 $\pm$ 352.35	521.60 $\pm$ 142.5	264.82 $\pm$ 73.47
茵陈蒿汤组	13	86.83 $\pm$ 14.02*▲	329.43 $\pm$ 78.70*▲▲	1590.79 $\pm$ 309.07*▲▲	95.68 $\pm$ 29.06*▲	17.70 $\pm$ 5.93*▲▲
茵陈五苓散组	10	43.50 $\pm$ 9.61*△△▲	227.90 $\pm$ 42.89*△▲	1226.08 $\pm$ 226.41*△▲	179.59 $\pm$ 30.31*△	23.02 $\pm$ 7.77*▲
大柴胡汤组	11	186.65 $\pm$ 41.88*△	773.21 $\pm$ 127.93*△	1854.0 $\pm$ 313.57*	112.16 $\pm$ 22.38*	171.09 $\pm$ 32.66*△

注:与模型组比较,* $P<0.01$;与茵陈蒿汤组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$;与大柴胡汤组比较,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$

表4 各组大鼠 TBA、CHO、BUN、Cr 含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	TBA(μ mol/L)	CHO(mmol/L)	BUN(mmol/L)	Cr(μ mol/L)
假手术组	12	14.93 $\pm$ 4.18**	1.28 $\pm$ 0.14**	8.40 $\pm$ 1.44*	33.48 $\pm$ 6.74
模型组	11	323.46 $\pm$ 93.67	2.40 $\pm$ 1.24	12.30 $\pm$ 3.46	28.67 $\pm$ 7.20
茵陈蒿汤组	13	121.48 $\pm$ 34.05**▲	2.04 $\pm$ 0.53	12.31 $\pm$ 3.90	30.08 $\pm$ 12.00
茵陈五苓散组	10	110.38 $\pm$ 23.05**▲	1.43 $\pm$ 0.66	9.65 $\pm$ 2.63	25.88 $\pm$ 6.60
大柴胡汤组	11	216.02 $\pm$ 42.47**△	1.89 $\pm$ 0.57	11.58 $\pm$ 3.14	27.90 $\pm$ 10.39

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与茵陈蒿汤组比较,△ $P<0.01$;与大柴胡汤组比较,▲ $P<0.01$

著增加 ALB 含量;3 个药物组均能显著降低 TBiL、TBA 含量,ALT、AST、LDH、ALP、GGT 活性($P<0.01$);茵陈蒿汤在降低 TBiL 含量、ALP 活性方面显著优于茵陈五苓散组($P<0.01$);茵陈蒿汤、茵陈五苓散在降低 ALT、AST、LDH、GGT 活性,TBA 含量方面显著优于大柴胡汤组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

3 讨论

BDL 模型是成熟的肝外胆汁淤积模型^[5],我们在 BDL 模型研究中发现,胆管结扎后大鼠血清 ALB 含量随着时间的推移呈进行性降低,源于肝实质细胞数量的降低;GLO 含量在造模后 3d 即有增高,在第3周有所下降,与肝细胞的适应性有关;血清TBiL 持续增高,表明代偿失衡肝内的胆汁淤积通过TBiL 表现出来^[6]。ALT、AST 活性是监测肝炎的敏感指标,当肝脏发生炎症、坏死时,ALT、AST 就会从肝细胞内大量释放入血。ALT 活性3d 时最高,其后下降,可能与肝细胞通透性瞬间的增加相关。AST 一直维持在较高水平与肝细胞的细胞器损伤相关。血清 ALP 的增高程度与胆管阻塞的程度有关;GGT

进行性增高主要表明胆管细胞的病变,亦有认为与肝纤维化的程度有关。在肝外胆汁淤积时,肝脏产生的胆固醇过多,由于排泄障碍而返流入血液^[7];胆汁酸在造模 3d 的显著增高与胆固醇含量的增高有关,后由于胆固醇含量的降低,胆汁酸的量有所下降。这些改变均可以用来作为该模型进展的肝功能评价指标。

本实验结果显示,虽然模型组大鼠肾脏颜色呈青绿色改变,但其肾功能的改变却无统计学差异。模型组大鼠的肝重、脾重及肝指数、脾指数比较假手术组是明显增加的,可能的原因是:①胆汁淤积大鼠肝内胆汁淤积;②胆管上皮细胞大量增生;③脾重增大,可能是因为门静脉压升高所致。各药物干预组肝重、肝指数都有所降低,脾重、脾指数显著降低($P<0.05$)。综上所述,说明各药物组降低肝重、脾重及肝指数、脾指数比值的作用与其改善胆汁淤积,抑制胆管上皮细胞的增生的作用是相关的。

实验结果同时表明,在抗胆汁淤积方面,3 个药物组均能显著降低 BDL 胆汁淤积大鼠 TBiL、TBA 含量($P<0.01$),以茵陈蒿汤疗效最佳,茵陈五苓散

(下转第 348 页)

常广泛,但绝不可滥用。临床实践中不仅要注意辨证、辨病,配伍合理,还要考虑药物间的相互作用。在用量上也应持慎重态度,若盲目用于矫味、解毒、调和诸药,轻者影响疗效,重者可能产生危及人身安全的严重不良反应。

参考文献

- [1]江苏新医学院·中药大辞典[M].上海:上海人民出版社,1977:570.
- [2]杨学,孔祥亮,岳小强,等.《伤寒论》甘草量效探微[J].中西医结合学报,2009,7(3):268-272.
- [3]王羽超,华浩明.浅析张仲景对甘草的运用[J].河南中医,2007,27(11):4-5.
- [4]权红,李文泉,范春琦,等.方和谦临床合用生炙甘草的体会[J].北京中医药,2008,27(2):106-107.
- [5]杨学,孔祥亮,岳小强,等.《伤寒论》甘草应用原则与配伍禁忌探骊[J].江苏中医药,2009,41(9):56-58.
- [6]孟翔宇,皮子风,宋风瑞,等.麻黄-甘草药对配伍前后主要药效成分及抗炎活性的变化[J].应用化学,2009,26(7):801-806.
- [7]韩刚,金光灿,叶小舟,等.大黄甘草汤中甘草酸对蒽醌类化合物提取率的影响[J].时珍国医国药,2009,20(3):704-705.
- [8]沈少华,张宇燕,杨洁红,等.甘草与附子配伍对甘草黄酮溶出影响的实验研究[J].时珍国医国药,2009,20(4):846-847.
- [9]洪玉梅,王维皓,王智民,等.甘草制吴茱萸炮制研究[J].中国中药杂志,2008,33(8):884-888.
- [10]杜佳林,崔明昊,苏忠伟,等.雷公藤与甘草配伍对大鼠生化指标的影响[J].实用中医内科杂志,2008,22(5):

71-72.

- [11]闫静,朱海光,刘志强,等.马钱子与甘草配伍前后生物碱成分的变化规律[J].分析化学,2007,35(8):1218-1220.
- [12]文睿先.中成药与西药不合理配伍分析[J].时珍国医国药,2004,15(8):480-480.
- [13]吕娟丽,刘振华,陈红英,等.中药和西药的相互作用及临床意义[J].武警医学,2004,15(5):381-383.
- [14]姜卓,李孝成.甘草的合理应用[J].中国药业,2001,10(2):51-52.
- [15]徐芝秀,石苏英,金科涛,等.甘草与海藻大戟芫花配伍对大鼠肝脏CYP2E1酶活性及mRNA表达的影响[J].中国药物与临床,2007,7(7):493-495.
- [16]肖成荣,王宇光,代方国,等.甘草、芫花合用对大鼠肝脏细胞色素P450酶的影响[J].中国实验方剂学杂志,2006,12(12):48-50.
- [17]沈丕安.中药药理与临床运用[M].北京:人民卫生出版社,2006:122-123.
- [18]彭漫,杨小芹.海藻甘草合用治疗乳腺增生症120例毒副反应观察[J].宜春学院学报,2007,29(6):122,129.
- [19]邓毅,宁艳梅.甘草甘遂配伍对小鼠血清GPT、GOT、LDH影响的实验研究[J].中医研究,2007,20(3):15-16.
- [20]杜旭.日本甘草诱发假醛固酮症的现状[J].药学实践杂志,1995,13(1):24-26.
- [21]刘然.甘草及甘草酸制剂引起的假性醛固酮增多症及防治[J].药物不良反应杂志,2009,11(6):416-419.

(收稿日期:2010-05-06;修回日期:2010-09-21)

[编辑:李 巍]

(上接第321页)

次之,大柴胡汤又次之,三者比较有统计学差异($P < 0.01$);在抗肝损伤方面,3个药物组均能显著降低ALT、AST、LDH、GGT升高的活性($P < 0.01$),茵陈五苓散疗效优于茵陈蒿汤($P < 0.01$),茵陈蒿汤又优于大柴胡汤($P < 0.01$);在抗胆管阻塞方面,茵陈蒿汤和大柴胡汤对ALP升高的活性均有显著的降低,疗效优于茵陈五苓散($P < 0.05$)。因此3个方剂干预BDL诱导的肝外胆汁淤积,均有抗胆汁淤积、肝损伤和胆管阻塞的作用,且三者的作用特点各有不同,对方剂的临床选用提供有益的资料。其中茵陈蒿汤的利胆、促进胆红素的清除与胆汁酸排泄的疗效较优,其作用机制是否与影响胆盐转运器相关,有待进一步研究。

参考文献

- [1]Lefkowitch JH. Histological assessment of cholestasis

[J]. Clin Liver Dis, 2004, 8(1):27-40.

- [2]Li MK, Crawford JM. The pathology of cholestasis[J]. Semin Liver Dis, 2004, 24(1):21-42.
- [3]王永炎.中医内科学[M].上海:上海科学技术出版社,2002:211.
- [4]Liu Y, Binz J, Numerick MJ, et al. Hepatoprotection by the farnesoid X receptor agonist GW4064 in rat models of intra- and extrahepatic cholestasis[J]. J Clin Invest, 2003, 112(11):1678-1687.
- [5]尹珊珊,王宝恩,王泰龄,等.胆管阻塞性肝纤维化模型的建立与改进[J].中华肝脏病杂志,2002,10(5):385-386.
- [6]刘钊,张朝明,郝玲,等.血清总胆红素、甘氨酸胆、甲胎蛋白、糖类抗原19-9与胆汁淤滞相关性评价[J].国际放射医学核医学杂志,2006,30(2):107-109.
- [7]姚光弼,范上达,廖家杰.临床肝脏病学[M].上海:上海科学技术出版社,2004:144.

(收稿日期:2010-06-28;修回日期:2010-09-28)

[编辑:行 之]