

消黄散对实验性黄疸大鼠 NO 的影响^{*}

熊益群¹, 姚小萍¹, 张赤志², 李之请², 马小军³, 贺劲松¹

(1 深圳市中医院, 广州 深圳 518033; 2 湖北中医学院肝病研究所, 湖北 武汉 430064;
3 福建厦门市中医院, 福建 厦门 36100)

摘要: 目的: 观察消黄散对实验性黄疸大鼠 NO 的影响。方法: 采用一次性灌胃异硫氰酸萘酯(ANIT)中毒制备大鼠黄疸模型, 不同剂量消黄散为治疗组, 与思美泰对照, 观察血清 NO 及丙氨酸氨基转移酶(ALT)、总胆红素(TBil)、 γ -谷氨酸转氨酶(GGT)、碱性磷酸酶(ALP)和肝组织病理变化。结果: 消黄散和思美泰都能显著改善 NO 及各项指标, 结论: 消黄散能降低 NO 水平, 抑制其对肝细胞的毒性作用及其与胆汁淤积的相关关系, 促进胆红素的正常代谢。

关键词: 消黄散; 黄疸; 一氧化氮; 大鼠; 实验研究

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)01-0037-04

Effect of Xiaohuang Granule on No on Experomental Jaundice Rats

XIONG Yi-qun, YAO Xiao-ping ZHANG Chi-zhi, LI Zhi-qing, MA Xigaojun, HE Jing-Song

(1 Shenzhen City Hospital of CTM, Shenzhen, China 518033;

2. Liver Diseases Institute of Hubei College of CTM, Wuhan China; Xiamen City Hospital of CTM, Xiamen)

Abstract: Aim: The effect of Xiaohuang Granule on No on Experomental Jundice Rats was studied. Methods: The jaundice model of rats was produced by oral administration of ANIT. The changes of NO, ALT, TBil, GGT and pathology of hepatic tissue were observed. Results: Xiaohuang Granule improved the NO level and other indexes. Concluslon: Xiaohuang Granule can reduce content of NO, by which inhibition on the toxicity of hepatic cells and promotion of bilirubin metabolism may be achieved.

Key words: Xiaohuang granule; Jaundice; NO; Rat; Experimental Studies

一氧化氮(NO, nitric oxide)与黄疸的形成关系密切。已有学者通过实验发现肝内胆汁淤积大鼠肝组织血清 NO 水平明显增高, 提示 NO 与肝内胆汁淤积发生有密切关系; 急性肝炎尤其急性黄疸肝炎时 NO 升高明显, 与肝功能损伤有关^[1~3]。我们观察了消黄散对 NO 的影响, 现报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物 雄性 Wistar 大白鼠 72 只, 清洁级, 体重 250~300g, 湖北中医学院实验动物饲养中心提供。

1.2 药物 消黄散: 茵陈(*Artemisia capillaris* Thunb.)、大黄(*Rheum officinale* Baill.)、郁金(*Curcuma wenyujin* Y. H. Chen et C. Ling)、赤芍(*Paeonia veitchii* Lynch)、桃仁(*Prunus persica* (L.) Batsch)、马鞭草(*Verbena officinalis* L.)等为主组成。水煎醇提, 含生药 0.585g/ml, 瓶装待用, 由湖北中医学院中药制

剂中心提供。思美泰注射液: 500mg/支, 由德国基诺药厂巴斯夫中国有限公司提供。异硫氰酸 α -萘酯(ANIT)(Sigma 产品)2g 加热溶于 100ml 色拉油中, 浓度 2% W/V。

1.3 主要仪器及试剂盒 全自动生化分析仪; 722 光栅分光光度计; 光学显微镜一氧化氮(NO)试剂盒, 购自北京邦定泰克生物公司。

1.4 造模 参照文献略加修改^[4,5]。除正常组外, 其余各组均每只大鼠给予 ANIT 100mg/kg 体重, 一次性灌胃中毒。

1.5 分组及用药 72 只大鼠随机分成 6 组, 每组 12 只。A 组为正常组, B 组为病理组, C-E 组分别为消黄散小、中、大剂量(5.85g/kg、11.7g/kg、23.4g/kg)治疗组, F 组为思美泰 0.018g/kg 对照治疗组。实验中, C-F 组分别灌胃相应剂量消黄散、腹腔注射思美泰各 5 次, 即中毒前 2 次, 中毒后 6h 1 次, 中毒第二天 2 次。A、B 组同时灌胃同体积的生理盐水。所有动物在 ANIT 中毒前及处死前(包括正常组)分别禁

食18h,自由饮水。ANIT中毒48h后,戊巴比妥麻醉,心脏采血,取肝组织标本。

1.6 检测项目 肝功能血清指标:丙氨酸氨基转移酶(ALT)、总胆红素(TBil)、 γ -谷氨酰转肽酶(GGT)、碱性磷酸酶(ALP)检测(改良赖氏法)。NO,按试剂盒说明操作,722光栅分光光度计测定。组织病理学观察采用常规石蜡切片,HE染色,光镜下观察。

1.7 统计方法 计量资料用F分析,两两比较用Q检验,等级资料用秩和检验。

2 结果

2.1 症状 灌胃ANIT 24h,造模大鼠尿液呈浓茶样逐渐向浑浊性黄绿色改变,排泄量明显增加,排泄器官周围皮毛被尿液湿染约3cm。正常组无任何改变。灌胃消黄散各剂量组大鼠尿液颜色逐渐变浅,思美泰组大鼠尿液也变浅。

2.2 各组大鼠血清NO变化情况 病理组NO明显高于正常组,经比较有显著性差异($P < 0.01$);消黄散各剂量组、思美泰组NO明显低于病理组,分别与之比较均有显著性差异($P < 0.01$);消黄散小、中、大剂量组与思美泰比较NO水平明显降低;消黄散小、中、大剂量组NO水平依次降低,各剂量组之间两两比较显示,中、大剂量组分别与小剂量组有显著性差异($P < 0.01$);中、大剂量组之间差异无显著性($P > 0.05$)。详见表1。上述结果表明消黄散和思美泰降低NO水平的作用,而消黄散大、中剂量组尚优于思美泰,两剂量之间则无差异。

表1 各组大鼠血NO变化情况($n=12$)($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g/kg)	NO($\mu\text{mol/L}$)
正常		18.014 $\pm$ 4.563
模型		37.434 $\pm$ 8.122 $^{\Delta\Delta}$
小剂量	5.85	30.192 $\pm$ 3.722 $^{\Delta\Delta}\star\star$
中剂量	11.7	21.802 $\pm$ 3.796 $^{\Delta\Delta}\star\star^*$
大剂量	23.4	20.385 $\pm$ 3.385 $^{\Delta\Delta}\star\star^*$
思美泰	0.018	30.961 $\pm$ 3.581 $^{\Delta\Delta}\star\star$

注:与正常组比较 $^{\Delta}P < 0.05$ $^{\Delta\Delta}P < 0.01$

与病理组比较 $\star P < 0.05$ $\star\star P < 0.01$

与思美泰组比较 $^*P < 0.05$ $^{**}P < 0.01$

2.3 各组大鼠血清肝功能指标变化情况 结果显示,病理组ALT、TBil、ALP、GGT水平均较正常组明显升高,两者比较有显著性差异($P < 0.01$);消黄散小、中、大各剂量组4指标均较病理组明显降低,分别与之比较均有显著性差异($P < 0.01$);思美泰组ALT、TBil、ALP均较病理组明显降低,分别与之比较均有显著性差异($P < 0.01$),GGT较病理组降低,两者比较有显著性差异($P < 0.05$);消黄散组中、大剂量组4项指标比思美泰组水平明显降低,经比较 $P < 0.01$;小剂量组TBil较思美泰组明显降低,有非常显著性差异($P < 0.01$),而ALP、ALT、GGT虽比思美泰组低,但无差异($P > 0.05$)。ALT、TBil、ALP水平以消黄散小、中、大剂量组依次降低,三者两两比较,大与小剂量组,大与中剂量组,中与小剂量组分别有非常显著性差异(均 $P < 0.01$);GGT小、中、大剂量组水平依次降低,但均无差异($P > 0.05$)。详见表2。上述结果表明消黄散和思美泰护肝退黄有作用。

表2 各组大鼠血清肝功能指标($n=12$)($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(g/kg)	TBil($\mu\text{mol/L}$)	ALT(U/L)	ALT(U/L)	GGT(U/L)
正常		8.73 $\pm$ 0.86	83.75 $\pm$ 15.18	344.65 $\pm$ 50.20	1.75 $\pm$ 0.62
模型		111.7 $\pm$ 3.30 $^{\Delta\Delta}$	1113.92 $\pm$ 295.32 $^{\Delta\Delta}$	848.08 $\pm$ 110.38 $^{\Delta\Delta}$	9.83 $\pm$ 4.04 $^{\Delta\Delta}$
小剂量	5.85	85.31 $\pm$ 5.67 $^{\Delta\Delta}\star\star^*$	928.40 $\pm$ 57.10 $^{\Delta\Delta}\star\star$	751.33 $\pm$ 76.92 $^{\Delta\Delta}\star\star$	7.25 $\pm$ 1.60 $^{\Delta\Delta}\star\star$
中剂量	11.7	70.5 $\pm$ 6.27 $^{\Delta\Delta}\star\star^*$	654.33 $\pm$ 110.25 $^{\Delta\Delta}\star\star^*$	620.33 $\pm$ 94.55 $^{\Delta\Delta}\star\star^*$	5.25 $\pm$ 2.26 $^{\Delta\Delta}\star\star^*$
大剂量	23.4	54.38 $\pm$ 4.25 $^{\Delta\Delta}\star\star^*$	372.08 $\pm$ 72.83 $^{\Delta\Delta}\star\star^*$	527.75 $\pm$ 69.634 $^{\Delta\Delta}\star\star^*$	4.67 $\pm$ 1.67 $^{\Delta\Delta}\star\star^*$
恩美泰	0.018	89.89 $\pm$ 3.39 $^{\Delta\Delta}\star\star$	970.17 $\pm$ 58.84 $^{\Delta\Delta}\star\star$	761.1.333 $\pm$ 58.53 $^{\Delta\Delta}\star\star$	8.08 $\pm$ 1.73 $^{\Delta\Delta}\star$

(注:正常组指标相对较高可能是系统误差所致)

2.4 各组大鼠肝脏病理学变化

2.4.1 肉眼观察 病理组大鼠肝脏普遍肿大,明显黄染,表面有明显的坏死斑,大小不等。消黄散各剂量组及思美泰组大鼠肝脏变化远较病理组轻,而正常组大鼠肝脏则未见异常。

2.4.2 光镜观察 正常组大鼠肝细胞、汇管区胆管区未见异常;病理组肝细胞病变最严重,大多数肝细

胞肿大,胞浆疏松,有的呈气球样变,嗜酸样变;可见明显点状、片状、灶性坏死。坏死区见少许细胞溶解后残物;胆管上皮细胞肿胀、坏死,管腔内可见坏死细胞碎屑,胆管增生,汇管区、胆管区见大量淋巴细胞、中性粒细胞、单核细胞、巨噬细胞浸润,可见嗜酸样小体出现;肝窦明显扩大可见红细胞堆积。小、中、大剂量组与思美泰治疗组也有不同程度肝细胞

破坏、胆管周围炎、炎症细胞浸润等肝损伤病变,但与病理组相比损伤程度明显减轻。经统计学处理发

现消黄散各剂量组、思美泰组分别与病理组相比有显著差异。详见表3。

表3 各组大鼠肝脏病理学变化(n=12)

分组	灶性坏死					胆管周围炎					片状坏死				
	-	+	++	+++	+++	-	+	++	+++	+++	-	+	++	+++	+++
A	12	0	0	0	0	12	0	0	0		12	0	0	0	0
B	0	0	0	0	12 ^{△△}	0	0	0	12 ^{△△}		0	1	1	10	12 ^{△△}
C	1	1	2	2	6 ^{△△★*}	0	4	2	6 ^{△△★*}		1	2	5	4	6 ^{△△★*}
D	7	2	3	0	0 ^{△△★★*}	0	8	3	1 ^{△△★★*}		1	4	6	1	0 ^{△△★★*}
E	10	1	1	0	0 ^{△△★★*}	0	10	2	0 ^{△△★★*}		1	5	5	1	0 ^{△△★★*}
F	0	1	1	3	7 ^{△△}	0	4	1	7 ^{△△}		0	2	2	8	7 ^{△△}

注:病理切片评定方法:灶性坏死:64mm² 肝组织内病灶数:- 无 + 1~4 ++ 5~8 +++ 9~12 ++++ 12以上;胆管周围炎、片状坏死:- 基本正常 + 轻度异常 ++ 中度异常 +++ 重度异常

3 讨论

《金匱要略·黄疸脉证并治》曰:“黄家所得,从湿得之。一身尽发热而黄。”“诸病黄家但利其小便”。今人关幼波认为黄疸的发生一定是湿热之邪深入血分,故提出“治黄先治血”。汪承柏认为瘀热互结乃黄疸基本病因病机,故主张凉血活血为治^[6,7]。根据笔者的临床观察认为,湿热熏蒸肝胆实为黄疸发生的病理基础,而以清热利湿,佐以血分药,确有利于提高疗效。消黄散功能通腑泄浊,清热利湿,凉血活血,疏肝利胆。方中茵陈为清热利湿除黄之要药;大黄清热泻下除秽;郁金疏肝利胆,解血中之郁气;赤芍、桃仁凉血活血具有疏肝利胆退黄之效;马鞭草可清热解毒、活血散瘀,利水消肿。实验结果显示,消黄散有很好的退黄作用。

NO对机体具有保护和损害双重效应^[8],这种双重作用可能有赖于其所在组织及其生理环境。当组织氧水平低时,增加的NO可能主要起扩张血管作用,抑制细胞粘附和聚集,以增加组织灌流,减轻损害。当组织氧水平高时NO可能参与过氧化物反应,消除了NO扩血管作用,同时生成对细胞有毒性的物质ONOO⁻。低水平的NO通过信息传递发挥效应,而高水平的NO不但可以增加cGMP水平,而且可以直接表现出细胞毒作用。

各种原因导致肝损伤时肝细胞枯否细胞合成NO增多,其中内毒素是刺激NO生成的最重要因素。此外白介素、TNF、IFN等对iNOS生成亦有影响。在肝病过程中肠源性内毒素增加,肝脏功能受损,形成肠源性内毒素血症,使NO合成在6~12h达高峰,由于肝细胞数量大,其自发产生NO量明显高于其它细胞^[6~12]。临床报道表明急性肝炎、慢性肝

炎、肝硬化时均有NO增高^[13]。

消黄散对NO的影响是因其通腑利胆作用,促进肠源性内毒素的排泄,改善肝脏微循环、氧供及病理,降低NO水平,从而抑制NO对肝细胞的毒性作用及其与胆汁淤积的相关关系,促进胆红素的正常代谢。

参考文献:

- [1] 郑若玄,陈逸诗,庄国汾,等.茵陈蒿汤及其提取物对急性黄疸大白鼠防治效应的初步研究[J],中西医结合杂志.1985,5(6):356.
- [2] 陶建华,卢晖,黄正明,等.三种肝炎治疗概况[J],医学研究通讯.1998,27(4):38.
- [3] 汪承柏,常爱敏,宋为云,等.凉血活血重用赤芍治疗重度黄疸肝炎血浆血栓素B₂变化的研究——附6例报告[J],中西医结合杂志.1985,5(6):326.
- [4] 汪承柏,葛安平,宋为云,等.凉血活血通腑利胆法对重度黄疸肝炎的退黄作用及其机制的探讨[J],中医杂志.1986,6(4):270.
- [5] Ma TT. Endotoxin-stimulated nitric oxide production increases injury and reduces rat liver chemiluminescence's during reperfusion[J]. Gastroenterology. 1995, 103: 463.
- [6] 黄颖秋,萧树东.一氧化氮与肝病研究进展[J],国外医学.消化系统疾病分册.1992,17(2):79.
- [7] 杨路亭,邹玉安,刘昭.一氧化氮对肝脏的病理生理作用[J],临床肝胆病杂志.1998,14(4):208.
- [8] 滕书玲,习玲,武希润.大鼠急性肝损伤中一氧化氮及自由基的变化[J],中华肝病杂志.1998,6(2):113.
- [9] 邢卉春,王守义.一氧化氮在肝损害中的作用[J],临床肝胆病杂志.1997,13(3):123.
- [10] 丁勇如,冯家齐,俞红,等.肝病患者血清一氧化氮的检测[J],中华传染病杂志.1998,16(4):232.

[11] 王斌,俞红,周霞秋. 急性肝坏死大鼠 NO 水平的动态变化和作用[J], 华人消化杂志. 1998, 6(6): 499.

[12] 郑曲波,李灼亮,罗端德,等. 病毒性肝炎患者血浆一氧化氮和内皮素水平及意义[J], 临床肝胆病杂志. 1999, 15(2): 93.

[13] 邢卉春,谢文轩,王守义. 一氧化氮在肝损伤中作用的实验研究[J], 中华肝脏病杂志. 1999, 7(1): 2, 30.