

- [7] 郝光军, 宋桂英. 新兵训练与月经不调. 人民军医, 1995, 9(1): 23 译. 美国最新临床医学问答 - 妇产科学. 北京: 海洋出版社, 1999. 256
- [8] Helen L. Frederickson, Louise Wilkinshaug 主编. 周兰兰 (2004-06-21 收稿, 责任编辑 尤俊杰)

中药茵栀清肝汤对四氯化碳大鼠急性肝损伤的保护作用

宋仕玲¹ 黄团新¹ 龚作炯² 伍秀珍¹ 甘雪婷¹ 李志强¹ 吴淑坤¹

(¹ 武警湖北总队医院传染科, 武汉 430061; ² 武汉大学人民医院感染科, 武汉 430060)

摘要 目的 研究茵栀清肝汤对四氯化碳诱导急性肝损伤大鼠的保护作用。方法 Wistar 大鼠随机分为正常组、急性肝损伤模型组、中药治疗低、中、高剂量组, 中药组分别予以茵栀清肝汤 3 g/kg、6 g/kg、12 g/kg 每日一次灌胃, 共 7 d。末次灌胃后除正常组外, 其余所有大鼠予以 50% 四氯化碳 5 ml/kg 灌胃 1 次, 24 h 后处死全部大鼠, 收集肝组织及血清标本。对肝组织进行 HE 染色病理检查; 生化方法检测大鼠血清天门冬氨酸氨基转移酶 (Aspartate transaminase, AST)、谷氨酸氨基转移酶 (Alanine transaminase, ALT) 的活性; 测定大鼠血清超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 及丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 的含量。结果 中药茵栀清肝汤治疗组大鼠血清 AST、ALT 水平较模型组显著降低, 显著改善肝组织病理。对急性肝损伤大鼠血清 SOD、GSH-PX 的活性有明显的升高作用并降低血清 MDA 的含量。茵栀清肝汤对急性肝损伤大鼠的保护作用呈剂量依赖模式, 服用 12 g/kg 剂量大鼠疗效最佳。结论 茵栀清肝汤具有显著保护四氯化碳所致大鼠急性肝损伤的作用。

关键词 中药 肝损伤 超氧化物歧化酶 丙二醛

Effects of Yinzhi Qinggan decoction on carbon-tetrachloride-induced acute hepatic injury in rats

SONG Shiling, HUANG Tuanxin, GONG Zuojiang, WU Xiuzhen, Gan Xueting, LI Zhiqiang, and WU Shukun. Department of Infectious Diseases, Hubei Provincial Corps Hospital, Chinese People's Armed Police Forces, Wuhan 430061, China

Abstract **Objective** To investigate the effect of Yinzhi Qinggan decoction on the carbon-tetrachloride (CCl₄) induced acute liver injury in rats. **Methods** Seventy Wistar rats were randomly divided into five groups of 14 rats each: normal group, model group, low dose group, middle dose group and high dose group. The treatment groups were orally administered with Yinzhi Qinggan decoction 3, 6 and 12 g/kg per day separately, whereas the normal and model groups were orally administered with saline. Except normal rats, all the other rats were administered CCl₄ 3.0 ml/kg orally once just after administration for of Yinzhi Qinggan decoction seven days. The rats were sacrificed 24 h after CCl₄ administration. Serum and liver samples were collected for analysis. The effect of Yinzhi Qinggan decoction was determined based on the serum levels of aspartate transaminase (AST), alanine transaminase (ALT), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA). The liver function was examined by biochemistry, and the histopathology of liver was observed by HE staining. **Results** All rats treated with Yinzhi Qinggan decoction were improved in a dose-dependent manner up to 12 g/kg, and the maximum effects were observed at the dose of 12 g/kg. Serum ALT, AST, and MDA concentrations in untreated rats increased, peaked at 12 g/kg, and decreased gradually in treated rats. Serum SOD concentration in rats treated with Yinzhi Qinggan decoction was significantly higher than that observed in untreated rats. The liver histological changes were also improved significantly in the treated groups. **Conclusions** Yinzhi Qinggan decoction has protective effect on rat acute liver injury induced by CCl₄ administration. It diminishes the severity of liver injury by decreasing oxidative stress due to its possible scavenging effect.

Key words Chinese medicinal herbs Hepatic injury Superoxide dismutase Malondialdehyde

茵栀清肝汤以张仲景之《伤寒论》中茵陈蒿汤为基础, 增加数味凉血清热之中药, 该方剂具有清热解毒、疏肝活血功效。本试验研究茵栀清肝汤对实验

性急性肝损伤大鼠肝组织及血清超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 及丙二醛 (Malondialdehyde, MDA) 的影响, 以及肝功能和肝组织病理变化, 探讨该方抗急性肝损伤的疗效及可能作用机制。

作者简介: 宋仕玲, 女, 1970 年出生。博士研究生学历, 主治医师。主要从事病毒性肝炎发病机制研究和治疗。

1 材料和方法

1.1 药物及动物 茵栀清肝汤中茵陈、栀子、黄芪、板蓝根、丹参等购于武警湖北总队医院中药房,由本院药剂科中药制剂室专业制备为煎剂,批号:20021016,制备过程为:方中含茵陈 30 g、栀子 15 g、黄芪 15 g、板蓝根 15 g、丹参 10 g、甘草 10 g、大黄 4 g,将中药加入 600 ml 蒸馏水浸泡 60 min,加入不锈钢电热蒸气煎药锅内 100℃ 煎煮 30 min,将煎液过滤另存,再次加水 500 ml 煎煮 30 min,将煎液滤过,合并两次滤液并浓缩,制备成含生药 0.3 g/ml 的煎剂,4℃ 保存,给药之前复温至 25 ~ 35℃。清洁级 Wistar 健康大鼠 70 只,由武汉大学人民医院实验动物中心提供,体重(200 ± 20) g,雌雄各半。

1.2 方法

1.2.1 大鼠急性肝损伤模型的制备及处理 取 70 只大鼠,随机分成 5 组,每组 14 只;分别为正常组、模型组、中药茵栀清肝汤低、中、高剂量治疗组。中药茵栀清肝汤治疗 3 组分别于肝脏急性损伤前 7 d,每日予以中药煎剂每日口服 1 次,用量分别相当于生药 3 g/kg、6 g/kg、12 g/kg,正常组及模型组大鼠生理盐水 5 ml/kg 口服,1/d。第 7 天中药灌胃后,将模型损伤组、低、中、高剂量中药茵栀清肝汤治疗组大鼠给予 50% CCl₄ 5 ml/kg 口服 1 次,制成急性肝损伤模型。CCl₄ 或生理盐水口服后 24 h 处死全部大鼠,收集分离血清,留取大鼠肝左叶组织 1 cm × 1 cm × 0.5 cm 浸泡于 10% 甲醛溶液。

表 1 茵栀清肝汤对 CCl₄ 所致急性肝损伤大鼠血清 ALT, AST, SOD, MDA 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	ALT(U/L)	AST(U/L)	SOD(un/ml)	MDA(nmol/L)
正常对照组	14	50.17 ± 2.36	77.83 ± 13.36	83.00 ± 12.25	1.50 ± 0.50
模型组	9	1276.00 ± 273.07 ^②	1573.80 ± 319.38 ^②	55.86 ± 10.76 ^②	3.45 ± 1.13 ^②
中药低剂量组	10	925.32 ± 178.57 ^{②④}	1031.50 ± 247.11 ^{②④}	72.67 ± 6.41 ^{①③}	2.43 ± 0.51 ^{①③}
中药中剂量组	11	729.62 ± 205.38 ^{②④⑤}	848.50 ± 99.54 ^{②④⑤}	74.83 ± 11.92 ^④	2.07 ± 0.43 ^④
中药高剂量组	11	383.55 ± 79.46 ^{②④⑥③}	407.18 ± 68.36 ^{②④⑥③}	80.00 ± 19.38 ^④	1.67 ± 0.58 ^④

注:与正常组相比,① $P < 0.05$;与正常组相比,② $P < 0.01$;与模型组相比,③ $P < 0.05$;与模型组相比,④ $P < 0.01$;与中药低剂量组相比,⑤ $P < 0.05$;与中药低剂量组相比,⑥ $P < 0.01$;与中药高剂量组相比,⑦ $P < 0.05$;与中药高剂量组相比,⑧ $P < 0.01$

2.3 肝组织病理检查结果 正常组大鼠肝细胞排列整齐,胞浆丰富红染,未见坏死及肿胀,胞核形态正常,染色正常。CCl₄ 模型组大鼠出现明显病理改变小叶内广泛肝细胞水样变性、脂肪样变、灶状坏死,嗜酸小体,Disse 间隙变窄或消失,汇管区常见的浆细胞、淋巴细胞浸润于肝小叶周边。甚至出现肝细胞脱落,类似碎屑坏死。茵栀清肝汤治疗组大鼠肝细胞排列接近正常,肝小叶结构清楚,肝细胞

1.2.2 血清 SOD 和 MDA 含量和肝功能测定 血清 SOD 和 MDA 含量采用化学比色法测定,试剂盒购自南京建成生物工程研究所。应用 RA1000 全自动生化分析仪检测血清谷氨酸氨基转移酶(Alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(Aspartate aminotransferase, AST)、总蛋白、白蛋白(Albumin, ALB)含量。

1.2.3 肝组织病理检查 取各组大鼠 10% 甲醛固定肝脏制成切片,进行 HE 染色,光学显微镜下观察肝脏损伤情况。

1.3 统计学处理 各组数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS11.0 统计软件进行组间方差分析。

2 结果

2.1 大鼠存活情况 实验结束前,正常组大鼠全部存活;模型组大鼠死亡 5 只,存活 9 只;中药治疗低剂量组死亡 4 只,存活 10 只;中药治疗中、高剂量组大鼠均各死亡 3 只,存活各 11 只。

2.2 ALT、AST、SOD 与 MD 结果 模型组及茵栀清肝汤治疗组大鼠血清 ALT、AST 含量均显著高于正常组 ($P < 0.01$),模型组最高,茵栀清肝汤治疗组血清 ALT、AST 含量低于模型组 ($P < 0.01$),中药茵栀清肝汤低剂量组大鼠血清 AST、ALT 高于中药中、高剂量组 ($P < 0.05$),中药茵栀清肝汤高剂量组大鼠血清 AST、ALT 含量低于中药中剂量组 ($P < 0.05$)。见表 1。

肿胀、坏死、炎性细胞浸润明显减轻,中、高剂量茵栀清肝汤治疗组大鼠肝组织损伤较低剂量组轻,高剂量组大鼠少量标本还可见到肝细胞再生。

3 讨论

本实验结果证明,经茵栀清肝汤治疗大鼠肝细胞坏死及肝组织炎细胞浸润减少,肝细胞水肿减轻,肝小叶结构接近正常大鼠肝组织。茵栀清肝汤还可

降低 CCl₄ 所诱导急性肝损伤大鼠血清 ALT、AST 水平,充分证实该药具有抗四氯化碳诱导大鼠急性肝损伤作用,疗效呈剂量依赖模式。

自由基和脂质过氧化在肝损伤中起着十分重要的作用^[1]。自由基产生过多或清除过慢,体内的动态平衡将被破坏^[2]。氧自由基对机体的损伤作用机制^[3]:(1)氧自由基为细胞杀手,它可以协助巨噬细胞杀伤入侵体内的微生物,但同时蛋白质、核酸、骨胶原和多糖等生物物质均有毒性;(2)氧自由基对细胞膜双层磷脂结构中的重要脂类进行氧化作用,生成多种脂质过氧化物,从而直接损伤细胞;(3)氧自由基能损伤细胞器的膜,进而引起溶酶体、微粒体及线粒体破裂;(4)氧自由基能引起血小板、粒细胞在微血管中黏附、聚集,造成微循环障碍。脂质过氧化最终产物是 MDA^[4],其含量反映了组织过氧化的损伤程度^[5]。肝脏炎症损伤时,肝内微循环障碍,超氧阴离子自由基产生增多,导致肝细胞膜脂质过氧化。SOD 作为抗氧化酶系统主要物质之一,对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用,SOD 能特异地清除生物氧化产生的氧自由基对细胞起到保护作用^[6]。本实验中茵栀清肝汤组 SOD 含量较模型组显著升高,而 MDA 含量显著降低,茵栀清肝汤可提高血清 SOD 水平,抑制体内 MDA 含量,抑制损伤肝细胞脂质过氧化反应,减少细胞膜脂质过氧化反应,达到保护肝细胞目的。说明茵栀清肝汤保护

急性大鼠肝损伤的机制与其对抗自由基脂质过氧化密切相关。本研究还发现不同剂量的茵栀清肝汤组,对大鼠血清 SOD 与 MDA 水平调节作用无显著性差异。

4 参考文献

- [1] Yao D, Vlessidis AG, Gou Y *et al* . Chemiluminescence detection of superoxide anion release and superoxide dismutase activity: modulation effect of Pulsatilla chinensis. *Anal Bioanal Chem*, 2004,379(1):171 - 177
- [2] Liu CF, Lin CH, Lin CC *et al* . Antioxidative natural product protect against econazole - induced liver injuries. *Toxicology*, 2004,196(1 - 2):87 - 93
- [3] 赵子粼,张云生,俞金龙等.肝移植体保存 - 再灌注损伤的研究现状. *世界华人消化杂志*, 2001,9(1):74 - 77
- [4] Dogru - Abbasoglu S, Karbagli O, Balkan J *et al* . The protective effect of taurine against thioacetamide hepatotoxicity of rats. *Hum Exp Toxicol*, 2001,20(1):23 - 27
- [5] Nagev BS, Abidov MT, Ivanova MR. LPO and free - radical oxidation parameters in patients with acute viral hepatitis. *Bull Exp Biol Med*, 2002,134(6):557 - 558
- [6] Broide E, Klinowski E, Koukoulis G *et al* . Superoxide dismutase activity in children with chronic liver diseases. *Hepatology*, 2000,32(2):188 - 192

(2004 - 05 - 21 收稿,责任编辑 尤伟杰)

HLA - DRB₁ 等位基因与妊高征发病的相关研究

傅正英 朱淑平 常爱华 张文成 (武警医学院附属医院妇产科,天津 300162)

摘要 目的 探讨人类白细胞抗原(HLA) - DRB₁ 等位基因与妊高征发病之间的关系。方法 应用序列特异性引物聚合酶链反应技术对 42 例妊高征患者(PIH 组)及其丈夫和新生儿对照组,28 例同期正常孕妇及其丈夫和新生儿进行 HLA - DRB₁ 等位基因检测,比较其基因频率与妊高征发病之间的关系。结果 PIH 组 HLA - DR₃ - DR₄ - DR₉ 基因频率检出均较高,PIH 组检出 17 例 HLA - DR₄,其基因频率为 32.7%;对照组仅检出 5 例,其基因频率为 13.0%,两者比较,差异有极显著性 ($P < 0.01$),其余各等位基因频率两组比较,差异均无显著性 ($P > 0.05$),PIH 组胎抗原共享为 2 的 13 对占 31%,与对照组占 17.9%相比,差异有显著性 ($P < 0.01$)。结论 PIH 患者 HLA - DR₄ 基因与妊高征易感性呈正相关。HLA 等位基因表达异常。母胎相容性增大至免疫平衡失调是妊高征发生的主要原因。

关键词 妊高征 等位基因 HLA - DR 抗原

Relationship between human leukocyte antigen DRB1 allele and incidence of pregnancy-induced hypertension

FU Zhengying, ZHU Shuping, CHANG Aihua, and ZHANG Wencheng. Department of Obstetrics and Gynecology, Affiliated Hospital, Medical College of Chinese People's Armed Police Forces

Tianjin 300162, China

作者简介:傅正英,女,1957 年出生。硕士研究生学历,主任医师。主要从事妇产科工作。