DOI:10.13193/j.issn.1673-7717.2025.01.013

解毒化瘀颗粒对肝衰竭大鼠的保护作用及机制研究

柳琳琳[1],杨玉雯[1],姚元谦[1],毛德文[2],张文富[2],潘哲[2],吕建林[2]
(1.广西中医药大学,广西 南宁 530001;2. 广西中医药大学第一附属医院,广西 南宁 530023)

摘要:目的 观察解毒化瘀颗粒对肝衰竭大鼠的保护作用,并探讨其作用机制。方法 将30只SPF级Wistar大鼠按随机数字表法分为空白组、模型组、解毒化瘀颗粒组,每组10只。采用D-氨基半乳糖(D-GalN)+内毒素脂多糖(LPS)构建急性肝衰竭大鼠模型。解毒化瘀颗粒组于造模前5 d开始灌胃给药,空白组与模型组分别给予等量蒸馏水,延续至成模后24 h。检测各组大鼠肝功能[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)],氧化应激指标[丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)],炎症因子[白介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)]水平;HE染色观察各组大鼠肝组织病理变化。结果 经解毒化瘀颗粒治疗后大鼠肝组织肝细胞坏死的情况得到明显改善,同时可明显降低模型大鼠ALT、AST、TBil、MDA、IL-6、TNF-α,提高SOD、GSH-PX水平($P<0.05$)。结论 解毒化瘀颗粒具有良好的抗氧化抗炎作用,能减轻肝衰竭中的肝细胞坏死。

关键词:肝衰竭;解毒化瘀颗粒;抗氧化;抗炎
中图分类号:R289.5 **文献标志码**:A **文章编号**:1673-7717(2025)01-0069-04

Study on Protective Effect and Mechanism of Jiedu Huayu Granules (解毒化瘀颗粒) on Liver Failure in Rats

LIU Linlin[1], YANG Yuwen[1], YAO Yuanqian[1], MAO Dewen[2], ZHANG Wenfu[2], PAN Zhe[2], LYU Jianlin[2]
(1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, Guangxi, China;
2. The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, Guangxi, China)

Abstract: *Objective* To observe the protective effect of Jiedu Huayu Granules (解毒化瘀颗粒) on liver failure in rats and to investigate its mechanism of action. *Methods* Thirty SPF-grade Wistar rats were divided into blank control group, model control group and Jiedu Huayu Granules group (JDHYKL group) according to the number table method, with 10 rats in each group. D-galactosamine (D-GalN) + lipopolysaccharide (LPS) was used to replicate the rat model of acute liver failure, and the JDHYKL group was given Jiedu Huayu Granules by irrigated 5 days before modeling and continued until 24 h after modeling, and the blank group and the model control group were given equal amounts of distilled water. The liver function [alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), total bilirubin (TBil)], the levels of oxidative stress indexes [malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-PX)], inflammatory cytokines [interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor α (TNF-α)] were detected in each group, and the histopathological changes of liver were observed in each group by HE staining. *Results* The hepatocyte necrosis in the liver tissue of rats was significantly improved after treatment with Jiedu Huayu Granules. Meanwhile, it could significantly decrease the levels of ALT, AST, TBil, MDA, IL-6 and TNF-α, and increase the levels of SOD and GSH-PX ($P<0.05$). *Conclusion* Jiedu Huayu Granules have significant antioxidant and anti-inflammatory effects, and could mitigate hepatocyte necrosis in liver failure.

Keywords: liver failure; Jiedu Huayu Granules (解毒化瘀颗粒); antioxidant; anti-inflammation

肝衰竭是多种因素引起的严重肝脏损害,导致肝脏的合成、解毒、代谢和生物转化功能严重障碍或失代偿,出现以黄疸、凝血功能障碍、肝肾综合征、肝性脑病、腹水为主要表现的一组临床综合征[1]。我国以慢加急性肝衰竭为主,病死率高达60%~70%[2-3]。目前已有研究表明氧化应激与肝衰竭的发生有着密切的联系[4]。当肝细胞受到损伤时,有氧代谢的活性副产物活性氧(ROS)大量生成,其可以导致抗氧化/氧化系统失衡,无法清除多余的氧化物质,从而表现为机体ROS大量堆积[5]。大量堆积的ROS作用于内质网及肌浆网膜引发线粒体通透性转换,最终导致肝细胞广泛不可逆坏死的肝衰竭发生[6]。研究表明在各种肝衰竭动物模型中,均可观察到氧化

基金项目:国家自然科学基金项目(81860839);广西自然科学基金项目(2020GXNSFAA238020,2022GXNSFAA035446);广西研究生教育创新计划项目(JGY2021110,YCXJ2021059,YCXJ2021065);广西高校中青年教师(科研)基础能力提升项目(2021KY0300);广西中医药大学引进博士科研启动基金项目(2023BS023)
作者简介:柳琳琳(1984-),女,湖北枣阳人,副教授,博士,研究方向:中西医结合防治肝病,护理教育。
通讯作者:吕建林(1982-),男,湖北郧西人,主任医师,博士后,研究方向:中西医结合防治肝病。E-mail:lvjianlin2009@163.com。

应激相关指标的上调[7-8]，因此抗氧化可作为拮抗肝衰竭的新靶点。解毒化瘀颗粒是毛德文教授从“毒、瘀、积”病机出发创立的临床经验方，临床取得较好疗效[9]。已有研究证实解毒化瘀颗粒对肝衰竭具有抑制炎症反应、保护肝细胞、抗氧化等功能[10-11]。本研究采用贾因棠法建立肝衰竭大鼠模型，以解毒化瘀颗粒为研究对象，系统研究其对肝细胞氧化损伤作用及病理组织改变，以更全面地探索解毒化瘀颗粒对肝衰竭的作用机制。

1 材料

1.1 动物 雄性健康 SPF 级 Wistar 大鼠 30 只，体质量(210 ± 30)g，由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供，动物合格证号(SCXK[湘]2020 - 0002)。本研究经广西中医药大学实验动物伦理委员会批准(No. DW20230830 - 154)，实验动物符合中国伦理委员会指导原则。置于广西中医药大学 SPF 动物实验室中饲养，实验室内室温和湿度适中。

1.2 药物 解毒化瘀颗粒由茵陈 30 g，白花蛇舌草 30 g，赤芍 50 g，大黄 15 g，郁金 15 g，石菖蒲 15 g 组成，使用中药配方颗粒剂，由江阴天江药业有限公司提供。给药剂量参照前期研究结果配制成 0.22 g/mL 的生药浓度(最佳给药剂量)。

1.3 主要试剂及仪器 D - 氨基半乳糖(D - GalN)、内毒素脂多糖(LPS)均由美国 Sigma 公司提供；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)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH - PX)、白介素 6(IL - 6)、肿瘤坏死因子 α(TNF - α)检测试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。

SHZ - 82A 型恒温振荡器(苏州国华企业)；TG16G 型台式离心机(上海医用分析仪器厂)；TS100 型荧光倒置相差显微镜(日本 Niko 公司)；AU5800 型全自动生化仪(BECKMAN COULTER 公司)；Multiskan GO 酶标仪(美国 Thermo 公司)；NANODROP2000 微量分光光度计(美国 Thermo 公司)。

2 方法

2.1 实验分组及模型建立 按照随机数字表法将 30 只 SPF 级 Wistar 大鼠分为空白组、模型组、解毒化瘀颗粒组，每组 10 只。急性肝衰竭大鼠造模方法参考贾因棠法，采用 D - GalN 800 mg/kg 和 LPS 0.1 mg/kg 注射的方法一次成模。

2.2 给药方法 鉴于动物模型的时效性，解毒化瘀颗粒组于造模前 5 d 开始灌胃给药，一直延续至成模后 24 h，每天 2 次，每次间隔 12 h，灌胃液体量为每天 2 mL/100 g，空白组与模型组给予等量蒸馏水。

2.3 标本采集与检测 (1)血清标本采集：在造模成功后 24 h，将 3 组大鼠经 1% 戊巴比妥钠麻醉后，腹主动脉无菌无热源采血，离心收集血清，检测肝功能(ALT、AST、TBil)，氧化应激指标(MDA、SOD、GSH - PX)，炎症因子(TNF - α、IL - 6)水平。

(2)肝组织标本采集。腹主动脉采血后，剖取肝脏，PBS 洗净肝组织，滤纸吸干，予10% 甲醛液固定，进行组织脱水、石蜡填埋、取片、HE 染色，生成切片，从显微镜中开展病理学研究。

2.4 统计学方法 运用 SPSS 25.0 统计软件进行相关统计学分析，若数据符合正态分布且方差齐时采用 ANOVA 单因素方差分析及组间 t 检验，反之则采用 Kraskal - Wallis 分析，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 肝功能比较 模型组 ALT、AST、TBil 显著高于空白组($P < 0.05$)，表明该组动物肝功能受到损伤，加用解毒化瘀颗粒后，上述指标明显下降($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠肝功能比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ALT/(U/L)	AST/(U/L)	TBil/(μmol/L)
空白组	10	23.15 ± 12.14	80.63 ± 9.77	0.57 ± 0.12
模型组	10	168.00 ± 23.03 *	331.30 ± 48.18 *	8.30 ± 1.21 *
解毒化瘀颗粒组	10	87.54 ± 18.36 *△	162.62 ± 35.37 *△	5.26 ± 1.17 *△

注：* 与空白组比较，$P < 0.05$；△与模型组比较，$P < 0.05$。

3.2 氧化应激指标和炎症因子水平比较 模型组 MDA、IL - 6、TNF - α 水平显著高于空白组，SOD、GSH - PX 水平显著低于空白组($P < 0.05$)，表明该组动物存在较明显的氧化应激损伤和炎症损伤，加用解毒化瘀颗粒后，上述指标明显下降($P < 0.05$)。见表 2。

3.3 肝脏组织病理情况观察 在光学显微镜下观察各组大鼠肝脏病理情况，如插页Ⅺ图 1 所示，空白组的肝组织形态正常，肝小叶结构完整，肝细胞索呈放射状整齐排列，细胞核结构清晰；模型组肝细胞结构紊乱、细胞核体积增大、细胞破裂、空泡明显，肝细胞坏死明显，表明造模成功；而加用解毒化瘀颗粒干预后肝细胞坏死情况明显改善，该组大鼠肝组织结构较清晰，细胞排列较整齐。

4 讨论

中医学将肝衰竭归属于“黄疸”“急黄”“瘟黄”等范畴，是中医“五衰”之一，具有发病急、传变迅速、变症多，病死率高等特点，当合并出血、腹水、肝性脑病时，可归属于中医“血证”“臌胀”及“肝厥”等范畴。病位在肝胆，连及脾肾，病机上多属于“正虚邪实”[12]。《诸病源候论黄病》认为急黄乃是由“脾胃有热，谷气郁蒸，热毒所加”所致，说明急黄是以中焦郁热为基本病机，但“热毒所加”则突破了一般所谓“黄疸多因湿热”的认识范畴，进一步提出了“毒”的致病原因[13]。现代医家探讨肝衰竭的病因病机不外为“毒”“瘀”二字，病情凶险，传变极快[14-15]。

毛德文教授在文献整理及临床实践的基础上大胆创新，提出了肝衰竭“毒邪病因”的新学说，认为毒为致病之因，贯穿于疾病的始终，瘀、痰为病变之本，“毒”“瘀”“痰”胶结为本病基本病机病理，并总结凝练出验方“解毒化瘀颗粒”，方中以茵陈为君，清利中焦胆腑之湿热毒邪，为清热利湿退黄之要药；配以大黄、白花蛇舌草为臣，大黄清热泄下、畅阳明谷道，令毒邪从

表 2 各组大鼠氧化应激指标和炎症因子水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	MDA/(U/L)	SOD/(U/L)	GSH - PX/(U/L)	IL - 6/(pg/mL)	TNF - α/(pg/mL)
空白组	10	34.76 ± 6.23	3.45 ± 1.04	64.01 ± 9.59	34.86 ± 6.76	50.53 ± 12.10
模型组	10	85.29 ± 11.06 *	2.96 ± 0.59 *	74.25 ± 11.13 *	155.23 ± 33.19 *	310.75 ± 76.18 *
解毒化瘀颗粒组	10	62.18 ± 10.56 *△	5.23 ± 1.05 *△	91.16 ± 14.10 *△	82.23 ± 16.68 *△	180.65 ± 47.20 *△

注：* 与空白组比较，$P < 0.05$；△与模型组比较，$P < 0.05$。

后阴而出，白花蛇舌草清热解毒、利湿通淋，使邪从小便而去，二药合用共助茵陈利湿祛邪；赤芍、郁金凉血解毒，消瘀止痛，与大黄相伍，化瘀生新；石菖蒲开窍醒神、化湿和胃，合赤芍、郁金共为佐药。诸药相合，热去毒解，瘀散痰化，神窍清明，脾胃升降有序，肝胆疏泄气畅血行[16-17]。多项临床研究和基础实验表明其能有效干预肝衰竭的进展，如柏文婕等[18]对 68 例肝衰竭患者加用解毒化瘀颗粒发现，其能够调节肝衰竭患者的免疫功能、减轻肝脏炎症；吕建林等[19]的研究发现，解毒化瘀颗粒可能通过上调 Mfn1 和 Mfn2 的表达抑制线粒体分裂，推动线粒体结合，降低碎片化现象，保护线粒体而对肝衰竭大鼠发挥保护作用。

氧化还原反应是人类生命活动重要的代谢途径，这一活动途径产生的副产物氧自由基，也被称为活性氧（ROS）。ROS 通过氧化应激以脂质过氧化、DNA 突变、酶失活等方式造成肝细胞损伤[20-21]。D－GalN 是一种亲肝性毒物，它通过干扰肝细胞内磷酸尿嘧啶核苷影响脂质膜结构蛋白的合成，造成细胞膜通透性增加从而加速了 ROS 产生导致了氧化应激的发生，最终造成肝脏细胞受损[22-23]；经 D－GalN 急性攻击构建的急性肝衰竭大鼠模型，其体内以 IL－6、TNF－α 等为核心的多种炎症因子含量明显升高，与肝衰竭的发生发展直接相关[24]。肝脏能够合成多种酶，ALT 在肝实质细胞胞质中合成，AST 位于肝细胞质和线粒体内，此外，TBil 是直接胆红素和间接胆红素的总和，肝细胞受到损伤，血液中 ALT、AST 和 TBil 的含量则会升高[25]，三者作为反映肝损伤程度的指标被广泛运用在临床检测中。

本实验结果显示，解毒化瘀颗粒治疗后的肝衰竭大鼠，ALT、AST、TBil、MDA 水平较模型组显著下降，SOD、GSH－PX 水平显著升高，且镜下观察到干预后的肝衰竭大鼠肝组织肝细胞形态组织结构基本正常，细胞呈条索状排列，部分假小叶形成，肝细胞坏死及空泡化较模型组减轻，表明解毒化瘀颗粒通过抗氧化、抗炎等机制，发挥对模型大鼠的抑制肝细胞坏死、改善肝功能等肝保护作用。然而，解毒化瘀颗粒通过何种具体途径、靶点发挥抗氧化和抗炎作用仍需进一步的探索。

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，中华医学会肝病学分会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南（2018 年版）[J]. 实用肝脏病杂志，2019，22(2)：164－171.
[2] 中华医学会感染病学分会，中华医学会肝病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南（2019 年版）[J]. 肝脏，2019，24(12)：1335－1356.
[3] 中国医师协会器官移植医师分会移植免疫学专业委员会，中国研究型医院学会加速康复外科委员会肝移植加速康复学组. 成人慢加急性肝衰竭肝移植围手术期管理专家共识[J]. 器官移植，2020，11(5)：533－542.
[4] 毛德文，邱华，马银瑶，等. 解毒化瘀Ⅱ方对暴发性肝衰竭大鼠肝线粒体的保护作用[J]. 中华中医药学刊，2007，25(5)：907－909.
[5] 胡雪，江应安. 内质网应激与肝衰竭的相关研究[J]. 胃肠病学和肝病学杂志，2021，30(5)：501－504.
[6] 毛德文，刘洁，邱华，等. 解毒化淤中药配方颗粒对肝衰竭模型大鼠肝脏脂质过氧化影响的研究[J]. 中国药房，2007，18(24)：1843－1845.
[7] WANG Y，YANG F，JIAO F Z，et al. Modulations of histone deacetylase 2 offer a protective effect through the mitochondrial apoptosis pathway in acute liver failure[J]. Oxid Med Cell Longev，2019，2019：8173016.
[8] YAN M Z，HUO Y Z，YIN S T，et al. Mechanisms of acetaminophen－induced liver injury and its implications for therapeutic interventions[J]. Redox Biol，2018，17：274－283.
[9] 吕建林，张荣臻，王挺帅，等. 解毒化瘀颗粒对乙型肝炎重症化阻断作用的临床研究[J]. 中西医结合肝病杂志，2017，27(2)：75－76，100.
[10] 吕超，石清兰，覃倩，等. 解毒化瘀颗粒治疗肝衰竭作用机制研究进展[J]. 辽宁中医杂志，2019，46(11)：2453－2457.
[11] 张荣臻，毛德文，孙克伟，等. 解毒化瘀颗粒对 H_2O_2 诱导 LO2 肝细胞炎症反应的影响[J]. 时珍国医国药，2022，33(3)：564－567.
[12] 吕建林，毛德文，柳琳琳，等. 中西医结合治疗慢加急性肝衰竭的临床研究进展[J]. 中西医结合肝病杂志，2021，31(11)：1047－1050.
[13] 杨锋.《诸病源候论》之黄疸观[J]. 内蒙古中医药，2012，31(8)：115.
[14] 聂广，张赤志，唐智敏，等. 拓展王伯祥教授“肝络瘀阻”学说构建中医肝病分期辨证体系[J]. 中西医结合肝病杂志，2022，32(9)：773－779，786.
[15] 潘美林，过建春，荀运浩. 过建春教授从“瘀”论治肝衰竭临床经验[J]. 中西医结合肝病杂志，2021，31(8)：754－756.
[16] 龙富立，林镛，颜耿杰，等. 解毒化瘀颗粒对肝衰竭大鼠肝细胞凋亡的影响与机制研究[J]. 时珍国医国药，2022，33(7)：1545－1548.
[17] 姚元谦，吕建林，毛德文，等. 解毒化瘀颗粒对肝衰竭的疗效与作用机制研究[J]. 中医药导报，2022，28(9)：127－132.
[18] 柏文婕，毛德文，石清兰，等. 解毒化瘀颗粒对慢性肝衰竭毒热瘀结证患者炎症状态的影响[J]. 中国实验方剂学杂志，2022，28(3)：109－115.
[19] 吕建林，毛德文，张文富，等. 解毒化瘀颗粒对肝衰竭大鼠的作用机制——肝损伤和肝线粒体自噬蛋白 Mfn1、Mfn2 的影响[J]. 广西大学学报（自然科学版），2020，45(4)：836－840.
[20] 张荣臻，毛德文，孙克伟，等. 解毒化瘀颗粒缓解肝细胞氧化应激的作用机制[J]. 中华肝脏病杂志，2021，29(12)：1188－1193.
[21] BELLANTI F，MANGIERI D，BELLO G D，et al. Redox－dependent modulation of human liver progenitor cell line fate[J]. Int J Mol Sci，2023，24(3)：1934.
[22] 何巧燕，王知平，王芳. 龙胆苦苷对 D－氨基半乳糖联合脂多糖诱导的慢性肝损伤模型小鼠的保护作用[J]. 山西中医药大学学报，2022，23(3)：168－172.
[23] MEHDI S，AHMAD F U，LODHI A H，et al. Protective effects of p－CA against acute liver damage induced by LPS/D－GalN in wistar albino rats[J]. Drug Des Devel Ther，2022，16：3327－3342.
[24] 卢明芹，许烂漫，陈永平，等. 内毒素耐受对 D－GalN/LPS 致大鼠肝损伤保护[J]. 中国公共卫生，2008，24(12)：1493－1494.
[25] 曹庆生，李志超，杨宝友，等. 矮地茶黄酮对四氯化碳致小鼠急性肝损伤的保护作用[J]. 华西药学杂志，2016，31(1)：43－45.

解毒化瘀颗粒对肝衰竭大鼠的保护作用及机制研究

(正文见 69－71 页)

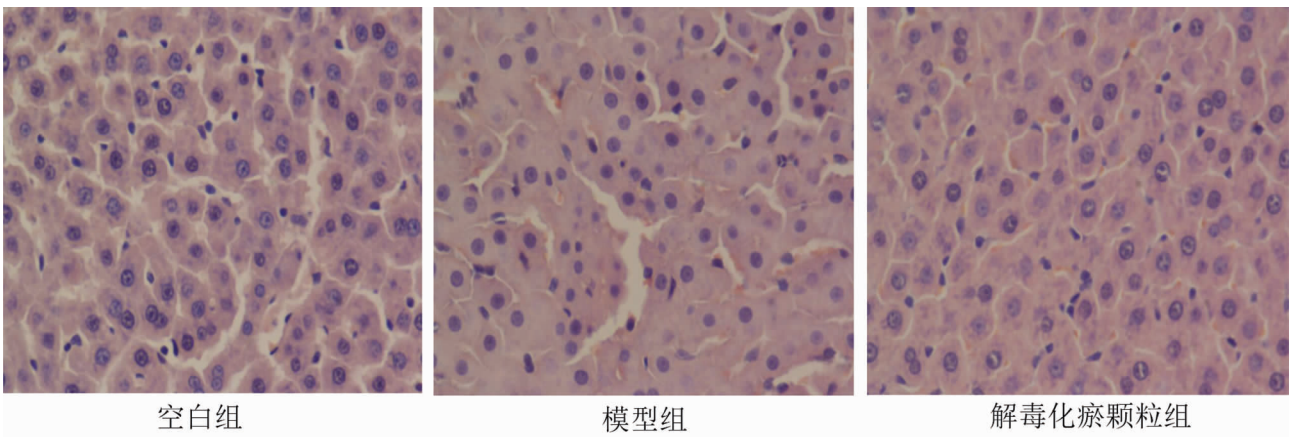


图 1 各组大鼠肝脏组织 HE 染色结果(×100)

黄芪抗病毒药效物质基础和作用机制研究进展

(正文见 241－246 页)

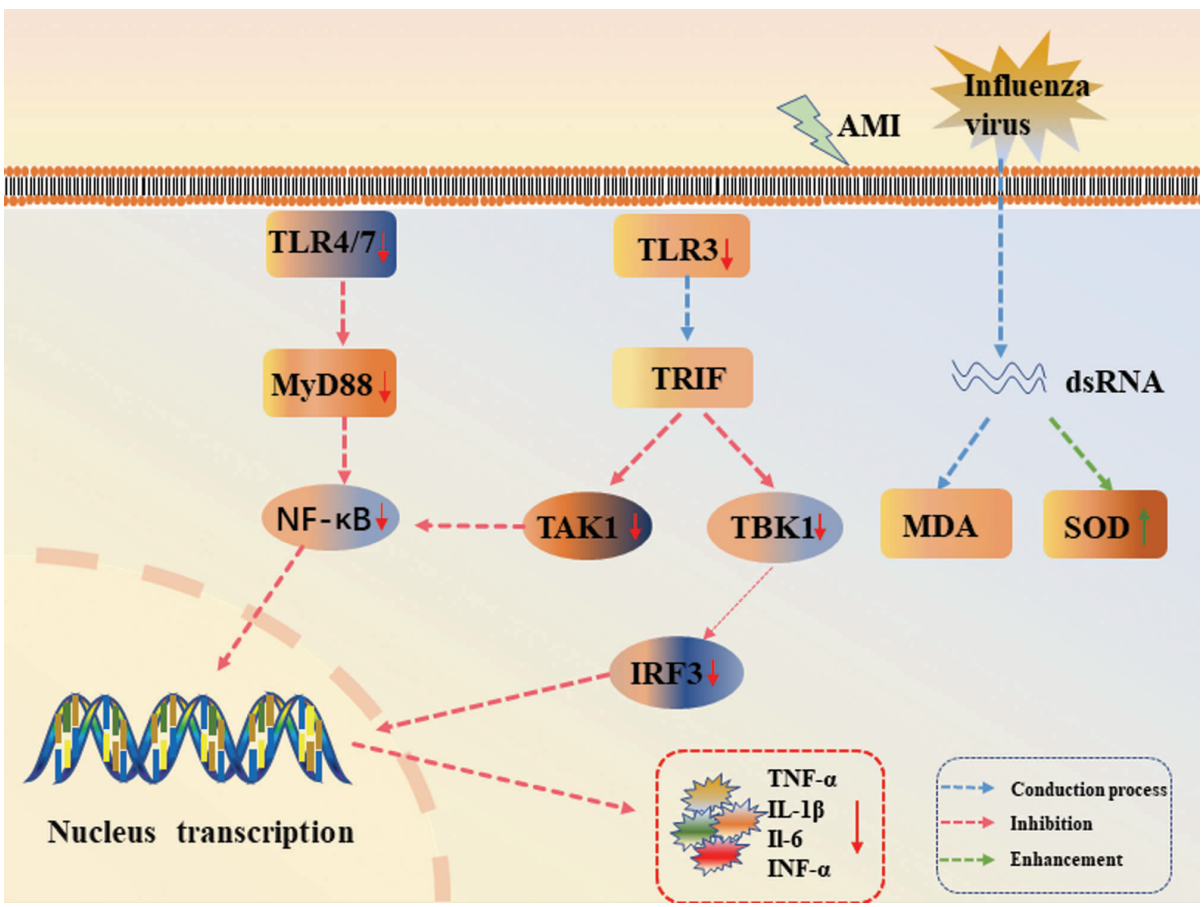


图 1 黄芪发挥抗病毒作用的主要信号通路