

一理论。

从胃论治历来被医家所公认,早在张仲景就已设白虎加人参汤治疗阳明热盛,津液受损的消渴病。《兰室秘藏·消渴病》和《丹溪心法·消渴附录》用调胃承气汤清泻胃中积热,治疗中消,对后世颇有影响,沿用至今。肝胃之间属于子母关系,在临床上更是常常见到消渴患者,同时兼见情绪急躁易怒、胸胁胀满、消谷善饥、口干苦、便秘等症状。中医辨证为肝胃郁热,多运用清肝泻热和胃法。泻肝火可以:一可防止木火刑金,二可防止肝火损伤肾阴,三可消其急躁情绪,保持心理平衡。泻胃热上可以防灼伤肺津,可防耗损肾阴。

4 清泻肝郁胃热治疗消渴病的可能作用机制

运用清泻肝胃郁热的方法治疗消渴病,一方面可使肝气条达,气血和顺,五脏阴阳和谐,改善机体情志障碍,另一方面可以泻下胃肠积热,和降胃气,使胃腑能正常受纳和转输,食物在胃肠道能正常消化和吸收,而不受食物在肠道的过分停留而吸收。中医学认为,消渴病的发生可由于长期情志不舒或暴怒导致肝失条达,气机郁滞,生热化燥,或因长期过食甘美味厚,使脾运化功能损伤,胃中积滞,蕴热化燥,燥热复必伤阴,阴津不足又能化生燥热,如此恶性循环使病情逐渐加重。清泻肝郁胃热法可打破恶性循环“燥热”这一环节,也是《灵枢》所云“泻阳使补阴使也”之意,仲景所谓“急下存阴”之法的变通。

无论是在消渴病的早期还是在消渴病的晚期,一旦出现肝郁胃热证,就应该及时、恰当、合理地运用清泻肝胃郁热法治疗。肝郁胃热证在消渴病的发生发展过程中起着重要作用,正确认识它在消渴病中的作用和地位,对于糖尿病患者病情的控制,预防消渴病继发症的发生具有重要意义。清泻肝胃郁热法可作为消渴病治疗大法之一。

天螺多糖抑制 HBV 复制的体外实验研究

张超,李朝品,刘群红

(安徽理工大学医学院,安徽淮南 232001)

天螺多糖是我院首次以天螺(江西巴蜗牛, *Bradybaena Jiangxinensis*)为原料采用溶剂提取法制取的生物活性物质^[1]。为进一步了解天螺多糖的药理活性及其细胞毒性,我们以 HBV 转染的人肝癌细胞 2.2.15 细胞株为靶细胞,通过细胞培养实验观察其对 HBV-DNA 复制的抑制作用。

1 材料与方法

1.1 仪器 CO₂ 培养箱(MCO15A,日本三洋)、自动 γ 免疫计数器(XH-6010,国营西安二六二厂)、倒置显微镜(XD-101,江南光学仪器厂)、离心机(TLL-C,北京四环科学仪器厂)。

1.2 材料 天螺多糖(本实验室自制,含量为 0.02g/ml);培养瓶(丹麦 Tunclon TM);培养板(24 孔,美国 Corning 公司生产)等。

1.3 试剂 Eagles MEM 培养基(美国 GIBCO 公司);胎牛血清(美国 Hyclone Lab 公司);G-418(Geneticin,美国 GIBCO 公司);四甲基偶氮唑盐(MTT,美国 SIGMA 公司);固相放射免疫测定试剂盒(购自中国同位素公司北方免疫试剂研究所);青霉素、链霉素(华北制药厂);

1.4 试剂配制 细胞消化液用 Hanks 液配制,含 0.025% 胰酶。MEM 培养液中胎牛血清含量 10% ,G-418 含量为 380μg/ml 3% 谷氨酰胺 1% 及青霉素、链霉素各 100μg/ml, pH7.0。

1.5 实验方法

①取生长良好状态的 2.2.15 细胞,配制成 1 × 10⁵/ml 的细胞悬液,每孔 1ml 接种于 24 孔培养板,37℃ 48h 后,换用含不同药物浓度的培养液,37℃ 5% CO₂ 培育,每 3d 更换新鲜含药培养液,共 2 次,8d 后收集上清液, - 20℃ 保存,检测 HBeAg,并测定药物的细胞毒性。试验设 HBeAg 阳性和阴性对照、细胞对照和阴性药物对照;每一浓度做 8 个复孔。

②上清液中 HBeAg 检测,采用固相放射免疫法测定,按说明书所示方法进行,用 γ 免疫计数器测定每孔药液 cpm 值。ID₅₀指 HBeAg 抑制率为 50% 时的药物浓度。

抑制率(%) = [(对照孔 P/N 值 - 实验孔 P/N 值) / (对照孔 P/N 值 - 2.1)] × 100%

P/N 值 = (试验组 cpm - 空白对照 cpm) / (阴性对照 cpm - 空白对照 cpm)

③通过 MTT 法测定细胞存活率观察药物细胞毒性。CD₅₀是实验组存活细胞为对照组的 50% 时的药物浓度。

细胞存活率(%) = 实验孔(A₅₉₅ - A₆₅₀) / 对照孔(A₅₉₅ - A₆₅₀) × 100%

④用治疗指数(TI)评价药物的抗 HBV 活性。TI = CD₅₀ / ID₅₀。当 TI < 1 时,药物为低效有毒;当 1 < TI < 2 时,药物有效有毒;当 TI > 2 时,药物高效低毒。TI 越大,表明药物对 HBV 的抑制作用越强,细胞毒性越小。

2 结果

本实验按上述方法进行,结果如附表,当药物浓度为 160μg/ml 80μg/ml 时,HBeAg 抑制率分别为 88% 和 78%,细胞存活率分别达 97% 和 99%; ID₅₀ 为 39.8; TI > 4.02。提示天螺多糖为体外抗 HBV 有效药物,且无细胞毒性。

附表 天螺多糖对 HBV 抑制作用与细胞毒性

药物浓度 (μg/ml)	HBeAg 抑制 率(%)	细胞存活 率(%)	CD ₅₀	ID ₅₀	TI
160	88	97	*	39.8	> 4.02
80	78	99			
40	57	101			
20	26	100			
10	3.6	100			

* 无细胞毒性

3 讨论

2.2.15 细胞株是由美国 Mount Sinai 医学中心以 HBV-DNA 转染人类肝癌细胞株 HepG₂ 所建立的细胞系,能有效表达 HBV 复制的全部标志。因此,以 2.2.15 细胞株为靶细胞进行细胞培养,观察药物对 HBV 复制过程的影响可较为准确地反映药物对乙肝病毒复制过程的实际作用与影响。本实验表明天螺多糖具有明显抑制 HBV 复制的作用,且无细胞毒性。其作用机理可能与抑制病毒 DNA 复制酶类活性、干扰病毒与细胞吸附等功能有关。

大量药理和临床研究表明,多糖类化合物是一种有效的免疫调节剂,具有激活免疫受体,提高机体的免疫功能等作用,在肿瘤和病毒感染性疾病的治疗中具有积极意义^[2-3];关于多糖的直接抗病毒作用虽有报道,但多为植物多糖^[4-6]。本实验首次发现陆生螺类多糖提取物具有显著的体外抗 HBV 复制作用,为寻找高活性天然抗病毒物质开辟了新途径,但该物质对其它病毒的抑制作用如何以及抗病毒作用的确切机理还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 张超,刘群红.江西巴蜗牛生物活性成分提取及其抗乙肝病毒作用的初步研究[J].中国实验方剂学杂志,2002,8(3):29-30.
- [2] 庞战军,陈瑗,周玫.云芝多糖对巨噬细胞 GPx 基因表达的影响[J].生物化学与生物物理学报,1999,31(3):284-288.
- [3] 张超,李文月,刘群红.天螺霜对小鼠腹腔巨噬细胞吞噬功能的影响[J].中华中西医结合杂志,2001,11:1.
- [4] 刘莅峡,刘泓,常雅萍,等.红毛五加多糖抗病毒效应的实验研究[J].中国中医基础医学杂志,1999,3(5):25-27.
- [5] 张斌,陈家童,白玉华,等.抗病毒红藻多糖的提取与测定[J].中草药,1999,30(12):899-901.
- [6] 王志洁,黄铁牛,刘焱文.黄芪总多糖抗人疱疹病毒的初步实验研究[J].成都中医药大学学报,2002,25(1):31-32.

大黄在重症肝炎中的应用经验

陈海凤¹,李昆城²,连庆华¹

(1 河北工程学院,河北 邯郸 056002;

2 邯郸市中心医院,河北 邯郸 056001)

重症肝炎分急性坏死型和亚急性坏死型两种。具有发病急骤、病情凶险、变化迅速、预后不良等特点。笔者每遇此证,常以大黄等药组剂治之,多能减轻症状,也有转危为安之

验例,兹就大黄在重症肝炎中的应用略述个人的临床体会。

1 清热解毒,泻火

重症肝多见发热,其热有实热火毒为患,也有湿热、积热使然,邪热作祟。而大黄苦寒能清热泻火解毒,能使热邪从下焦排出。笔者用大黄 20g 配茵陈 10g、栀子 10g、牡丹皮 6g、石膏 20g、白茅根 15g 等组成基本方治疗。若因湿热为患,其热不扬,加金钱草、薏苡仁、滑石、泽泻等利湿药。若阳明热盛,但寒不热,伴口渴、汗出、脉洪数者,加重石膏及知母、玄参、芦根、天花粉等清热生津的药物。肠腹积滞兼见痞满者加栝楼仁、芒硝、枳实等理气润肠之药。若因瘀血发热午前轻、午后重,则加桃仁、川芎、赤芍等活血化瘀药。

2 祛湿利尿,退黄

本病常见黄疸,身目黄如金色,小便如浓茶,并在短期内迅速加深。肝功能检查黄疸指数多 100 单位以上。临床上常配以通腑法,使湿热从二便去,则黄疸退之速矣。故欲退黄疸者大黄又当必用。笔者常以大黄 10g 与茵陈 15g、金钱草 30g、虎杖 12g、瓜蒌 10g、泽泻 5g、车前子 8g 等组成基本方。若湿热阻滞脾胃,或肝胆疏泄失常横逆犯胃,而致胃气上逆,出现暖气、呃逆呕吐者,可于上方中加竹加、法半夏、降香、赭石等以助大黄消积导滞通降腑浊,则能减轻消化道症状。

3 凉血止血,化瘀

重症肝炎出血,应以清肝凉血止血为主治。多选用大黄炭 6g 配茵陈 10g、金钱草 30g、虎杖 12g、生地 12g、牡丹皮 10g、地榆 15g 组成基本方。临床观察大黄与藕节、茜草、白茅根、山栀炭配伍治鼻衄;大黄与地骨皮、旱连草相配治齿衄;若见呕血则以大黄炭 10g 与牛膝、赭石、三七、白及配伍。若便血则取大黄与槐花、地榆、血余炭相配随证加入治疗血症基本方中,用之灵验。

4 通腑泄浊,消肿

重症肝炎邪毒损害肝脏,引起肝之疏泄功能失常,脾运不健,水湿内停。症见黄疸持续不退,尿少、纳呆,继续出现腹胀、肢肿,渐成鼓胀。临床所见鼓胀,治之颇为棘手,预后也多不良。然而大黄气味俱厚,苦寒泻降,能通腑泄浊去滞。但此处大黄用量不宜过大,只是引药走二便。以大黄 10g 配以清湿热、行气利水之茵陈、金钱草、土茯苓、厚朴、槟榔、沉香、蟋蟀、冬瓜皮、白术、泽兰等治之,可使气行则水行,从二便排出,水肿得除。

5 清营凉心,醒脑

重症肝炎之湿热邪毒若不及时清解,则易于壅遏内陷,深入心营,冲心犯脑。由于邪毒侵犯心包,使心无所主,神不静藏则见躁动不安,神昏谵语、便结溲赤等肝昏迷之危急症候,急当清心凉营,化浊开窍醒脑。笔者体会若能及早清泄湿热火毒,釜底抽薪,引邪下行,则能凉营清心、开窍醒脑以防昏迷发生。而大黄具有清泄湿毒、通腑去积、凉血解毒诸多功能,故笔者常以大黄 25g 配清热之重药黄连、山栀、石膏,再配以茵陈、丹皮、菖蒲、丹参、郁金等药治之。可使邪毒得泻,血静心清脑醒,防治昏迷有效。

6 祛邪安正,固脱