

实验研究

大鼠胃饲秋水仙碱脾气虚模型研究

刘士敬¹ 朱 倩²

摘要 大鼠采用胃饲适量秋水仙碱后,出现了一系列典型的脾气虚证候群及符合脾气虚证的一些生化、组织学指标的相应变化,运用中医补中益气汤可使这些病理改变得到有效的防治,证明该模型符合中医脾气虚证研究的设计要求,它为临床防治化疗药物的毒副作用提供了有实用价值的动物模型。

主题词 脾气虚/化学诱导 疾病模型,动物 秋水仙碱

治疗肿瘤的化疗药物,无论是生物碱还是抗代谢药及烷化剂,都可导致患者出现程度不等的脾气虚弱征象,临床使用健脾益胃的中药,可获得较满意的疗效。秋水仙碱的长期使用可导致吸收不良综合征,该征与中医脾气虚密切相关。同时,秋水仙碱还可引起肌无力和肌病,以及血小板减少而见各种出血,这些副作用都是中医脾气虚的典型病理产物。

我们借鉴其它脾虚造模方法所确认的一些公认指标,较成功地塑造了化疗药物引起的一种脾气虚模型,为中医临床多角度、多途径研究脾虚实质进行了有益的尝试。

1 材料与方法

1.1 动物分组:60日龄Wistar大鼠75只,雌雄均有,体重 $200\pm 30\text{g}$,随机分为5组,对照组、脾气虚组、自然恢复组、脾气虚治疗组和脾气虚预防治疗组,每组15只。实验生物观察室符合实验要求。

1.2 健脾益气液制备:该液以补中益气汤为基础,由北京中医药大学实验药厂配制的口服液,每毫升含生药8g。

1.3 造模药物:秋水仙碱片,每片0.5mg,上海制药一厂出品,批号为880109。在胃饲大鼠前,用适量水溶液溶解,防止结晶析出。

1.4 造模及给药方法:脾气虚组:造模时间共25天,

每只大鼠单笼饲养,每日按 1.2mg/kg/只/天 胃饲秋水仙碱水溶液。自然恢复组:共观察32天,造模方法同脾气虚组,第26天以后,停用秋水仙碱,改用生理盐水2ml胃饲,共7天。脾气虚治疗组:共观察32天,造模方法同脾气虚组,第26天以后,停用秋水仙碱,改用健脾益气液,每天2ml灌胃,共7天。脾气虚预防治疗组:共观察26天,胃饲秋水仙碱 1.2mg/kg/只 ,同时予健脾益气液2ml。对照组:共观察32天,每天用生理盐水2ml胃饲。

1.5 观察内容:实验期间,每日观察记录各组动物的食量、体重、粪便情况(腹泻、肛门污秽、拉尾排便)、拱背、毛色枯槁、嗜睡疲倦、乏力(悬空拉尾抵抗时间)等。脾气虚组,脾气虚预防治疗组于实验第26天,其余三组于实验第33天断头取血进行各项化验指标检查,并取胃、小肠组织进行病理学观察。

1.6 大鼠脾气虚证诊断标准:根据大鼠自身特点,结合人脾气虚的诊断标准,确定以大鼠的食欲不振(食量减少)、消瘦(体重下降)、大便溏泄(拉尾排便次数增多,便形溏稀,肛门污秽)、倦怠乏力(悬空拉尾抵抗力减弱)、毛发不荣、萎靡嗜睡、眯眼等症状体征为主要诊断因素。另外,选择了几种较公认的代表脾气虚主要病理改变的生化客观指标作为辅助诊断指标。反映脾气虚健运失常的指标,如血清胃泌素、血清D-木糖浓度、胃小肠粘膜的组织形态观察;反映脾气虚肌肉运动异常的指标,如血清碱性磷酸酶及同工酶、肌红蛋白;反映脾气虚统血之功能异常的指标,如血小板指数、血浆纤维蛋白原等。

2 观察结果

2.1 一般状态:造模大鼠从第7日起出现腹泻,肛周污秽,竖毛,毛失光泽,逐渐枯槁,体重日见减轻,倦怠嗜卧,拱背等症状,且日见加重。脾气虚治疗组停饲秋水仙碱后,用健脾益气汤复健治疗,上述症状及体征逐渐消失,于药后第7天基本恢复正常。自然恢复组于停饲秋水仙碱后第7日,症状及体征未见明显缓解。预防治疗组同时胃饲秋水仙碱及健脾药物,其症状及体征在造模25日内明显轻于脾气虚组。

1 中国人民解放军第302医院,北京丰台区岳各庄(100039)

2 北京市隆福医院(100010)

收稿日期:1996-01-22;修回日期:1996-11-07

2.2 体重变化:大鼠于造模后10天起,体重开始不同程度地下降,第15天下降最明显,之后体重基本不增。其中,预防治疗组也有所下降,但与脾气虚相比,降低幅度明显减小,自然恢复组于停止服用秋水仙碱后1周,体重略有回升,但其回升幅度远不及治疗组,两组相比差异显著。

2.3 食量:各组造模后,食量均有不同程度下降,预防治疗组食量下降幅度不大(造模前为 34.5 ± 14.5 g/天,造模后15天为 30.5 ± 12.6 g/天),与对照组相比无显著差异。治疗组在予以健脾药后,食量渐增(治疗前为 12.7 ± 9.4 g/天,治疗后 31.7 ± 6.8 g/天, $P < 0.01$),而自然恢复组未见明显增长。

2.4 拉尾排便试验:各组造模动物在造模期间除见大便溏泄外,拉尾排便率(观察1分钟内牵拉大鼠尾巴时,是否出现排便现象)亦增高,其中造模第15天时,脾气虚组拉尾排便率达13/15只(86.6%),预防治疗组为9/15只(60.0%),而对照组为3/15只(20.0%)。

2.5 悬空拉尾抵抗力试验:手提大鼠尾巴,呈悬空状,

大鼠开始摇晃挣扎时计时,直至大鼠无力旋转挣扎,统计其时间,可反映其乏力程度。各组造模后,其悬空抵抗力均有不同程度的下降,而中药复健后其抵抗力恢复的时间要明显快于脾气虚组(治疗前为 183.6 ± 29.7 秒,造模15天时降至 70.3 ± 19.6 秒,复健7天后恢复至 137.7 ± 25.9 秒)。

2.6 动物剖检情况:脾气虚组动物可见胃肠粘膜水肿或糜烂,点状出血,部分可见大小不一的溃疡,病变部位主要见于胃窦及十二指肠、空、回肠。自然恢复组至33天情况未见减轻,两治疗组和对照组均未见有病理变化。

2.7 血清胃泌素的测定:附表示,脾气虚组血清胃泌素明显低于正常对照组($P < 0.01$),治疗组经健脾药物治疗后,胃泌素含量接近正常水平,而自然恢复组在33天时,胃泌素含量仍然低于正常组($P < 0.05$)。

2.8 血清木糖浓度测定:考虑到大鼠5小时尿液难以收集,故用血清含量予以测定。附表示,肠气虚组血清木糖含量明显低于正常组($P < 0.01$)治疗组经健脾药物复健后,其含量接近正常,预防治疗组与对照组相

附表 实验各组大鼠造模前后生化指标变化比较

组别	鼠数	血清胃泌素 PG/ml	血清D-木糖含量 mg/dl	血清肌红蛋白 PG/ml	纤维蛋白原 mg/dl	血清CPK IU/L
对照组						
造模前	15	127.5 ± 12.1	48.5 ± 7.2	35.4 ± 14.2	2.7 ± 0.1	1933 ± 322
造模第15天	15	132.1 ± 15.6	47.8 ± 5.3	34.5 ± 11.2	2.8 ± 0.3	1833 ± 358
复健1周	15	131.6 ± 20.5	47.2 ± 7.1	37.5 ± 19.9	3.1 ± 0.4	1866 ± 534
脾气虚组						
造模前	15	134.1 ± 11.9	45.6 ± 8.9	36.5 ± 17.9	2.8 ± 0.1	1897 ± 459
造模第15天	15	$75.6 \pm 12.5^{\Delta\Delta}$	$14.2 \pm 5.1^{\Delta\Delta}$	$157.7 \pm 18.4^{\Delta\Delta\Delta}$	$1.04 \pm 0.2^{\Delta}$	$4486 \pm 399^{\Delta\Delta}$
脾气虚治疗组						
造模前	15	124.7 ± 10.5	47.4 ± 2.5	34.7 ± 15.5	2.7 ± 0.3	1788 ± 527
造模第15天	15	$74.8 \pm 16.7^{\Delta\Delta}$	$12.1 \pm 1.7^{\Delta\Delta\Delta}$	$122.4 \pm 34.2^{\Delta\Delta\Delta}$	$1.2 \pm 0.1^{\Delta}$	$4299 \pm 357^{\Delta\Delta}$
复健1周	15	117.5 ± 11.6	44.7 ± 2.5	47.8 ± 19.4	2.1 ± 0.2	2237 ± 573
脾气虚预防治疗组						
造模前	15	132.8 ± 8.9	49.2 ± 5.7	32.8 ± 12.8	2.9 ± 0.2	1877 ± 256
造模第15天	15	$107.4 \pm 7.8^{\Delta}$	39.4 ± 5.2	64.7 ± 25.9	2.1 ± 0.2	$2374 \pm 497^{\Delta}$
自然恢复组						
造模前	15	128.5 ± 10.6	46.5 ± 2.7	34.2 ± 15.4	2.8 ± 0.2	1902 ± 297
造模第15天	15	$76.6 \pm 6.8^{\Delta\Delta}$	$13.1 \pm 7.8^{\Delta\Delta}$	$122.8 \pm 17.9^{\Delta\Delta\Delta}$	$1.2 \pm 0.1^{\Delta}$	$4733 \pm 553^{\Delta}$
复健1周	15	$95.5 \pm 10.2^{\Delta}$	30.4 ± 7.4	$109.9 \pm 12.9^{\Delta}$	$1.3 \pm 0.1^{\Delta}$	$3948 \pm 527^{\Delta}$

注:与同时对照组比较 $\Delta P < 0.05$ $\Delta\Delta P < 0.01$ $\Delta\Delta\Delta P < 0.001$

比,含量下降不明显。

2.9 血清肌红蛋白含量测定:附表示,脾气虚组血清肌红蛋白明显高于对照组,其它造模组也如此,而中药复健治疗后,其含量降低明显。

2.10 血清肌酸磷酸激酶(CPK)含量测定:附表示,大鼠造模后,血清CPK含量均有不同程度的增高,中药复健后,治疗组CPK含量降至正常。

2.11 血小板计数及纤维蛋白原含量测定:附表示,造模大鼠血小板与纤维蛋白原含量均有不同程度的下降,反映了此时动物凝血机制异常,也是大鼠皮下、粘膜出血的缘由,经由中药复健治疗后,血小板及纤维蛋白原均逐渐升至正常。

2.12 胃肠粘膜组织学观察:取大鼠胃窦部空肠、回肠组织进行HE染色。脾气虚组胃粘膜中性和酸性粘液增多,粘膜萎缩,固有层水肿,炎性细胞浸润。小肠绒毛变性脱落,肠上皮细胞萎缩,绒毛间质水肿。脾气虚治疗组7天治疗后,胃及小肠粘膜形态基本恢复正常。自然恢复组,造模7天后,肠粘膜仍有新的损伤和脱落,说明该模型自愈的时间要远远大于治疗组。

3 讨论

脾气虚弱证可见脾失健运、中气不足、脾不统血等分型,针对脾气的具体功能,我们观察模型的几个靶点分别设为:(1)脾气不足,脾失健运,机体胃肠消化吸收机能异常,动物可见大便异常(溏泄或便秘)、倦怠、消瘦、食欲不振等,客观指标可选择胃泌素、D-木糖吸收试验及胃肠粘膜的组织形态学观察。从动物模型看,其症状、体征和上述要求相符,而动物的小肠粘膜受到损伤,以致对木糖的吸收能力远远低于正常,胃窦部G细胞的破坏,使血清胃泌素的分泌少于正常,影响胃酸的分泌及胃肠运动,它们可视为脾失健运的病理基础。(2)脾胃的运化功能障碍,必致肌肉瘦削软弱无力,甚至萎缩不用。我们观察了大鼠的悬空抵抗力以观察其肌力,观察肌红蛋白、血清CPK两项指标,其中肌红蛋白及CPK含量增高,反映了骨骼肌或心肌受到不同程度的损伤,而骨骼肌的组织形态异常印证了这一点。(3)脾气虚弱,其固摄血液的功能减退,而致出血。在大鼠胃窦秋水仙碱第25天后,部分大鼠眼结膜出血或大便带血,另外,此时大鼠血小板计数及血清纤维蛋白原含量的降低也是大鼠出血倾向的很好解释。

秋水仙碱属于典型的抑制细胞有丝分裂的抗肿瘤药,其毒性反应也是同类生物碱药品的共有特性,这些毒性反应造成的临床异常表现与中医脾气虚弱证的临床特点基本符合。通过对于秋水仙碱大鼠脾虚模型的研究,不在于单纯塑造一种模型,而在于通过研究解决这

一古人不曾遇到的难题——抗肿瘤化疗药物的毒性反应,使中草药在防治抗癌药物的毒性反应、增强抗癌效力上发挥更突出的作用。

中药健脾益气液在治疗这种脾虚大鼠模型时,取得了较理想的疗效,经过7天的治疗,可使动物脾虚的多种症状、体征得到纠正,可以改善多种异常的化验检测指标,使其数值或组织形态恢复或接近正常。一方面验证了该动物模型处于典型的脾虚状态;另一方面,也表明健脾益气液在治疗化疗药物引起的胃肠道反应及其副作用方面具有良好的效果。

预防治疗组是在给予秋水仙碱的同时,予以中草药健脾益气液预防治疗。结果证明这样也可收到较满意的效果,提示接受化疗的患者经常口服健脾益气中药,可以起到很好的疗效。推而广之,临床服用与秋水仙碱相似毒副作用的植物药或化学药物,同时予以健脾药物可以较好地预防许多不良反应的发生。

自然恢复组的结果表明,这种模型有长时间的持续性,没有接受中药治疗的大鼠自愈性差,这与人体的情况更接近,化疗形成的以胃肠道损伤为主的副作用持续时间较长,以利于细致观察其病理改变。其各项指标与治疗组相比(第32天时)仍然差异显著,说明不经及时治疗,该模型在短时间恢复正常是困难的。

本次实验统计整理的各项指标反映了服用抗肿瘤植物药后,造成脾虚状态时,大鼠体内病理改变的物质基础,但它不反映其它脾虚状态的实质,随着疾病种类不同,即使是同属脾虚证,由于伴随疾病不一,各项指标也可以有所差异。一种模型只能说明一种情况,脾虚的动物模型没有一固定模式可循,其种类是千差万别的,具体疾病的脾虚模型是多种多样的。

本次实验说明,随着新条件、新病因(古人不曾涉及)、新情况(化疗植物药形成的脾虚状态)的出现,中医的动物模型必须密切联系临床实际,为解决临床具体疾病服务。

· 征 文 ·

国家中医药管理局人政司、办公室与中国中医药学会定于1997年第三季度召开“中医药现代化战略研讨会”。现将有关事宜通知如下:

征文内容:中医药现代化的含义;中医药现代化与中西医结合、继承与发扬的关系;中医药临床现代化的内容和措施;中医药教育现代化的内容和措施;中药生产的现状及实现中药现代化的措施;中医药科研的现状以及如何适应中医药现代化的要求;与中医药现代化的相关内容。

征文要求:征稿限6千字以下,8百字以内摘要;欢迎中医药管理部门、中医药专家、关心中医药的相关人士投稿。征文截止日期:1997年6月30日。信封上注明“战略”字样。来稿请寄:北京樱花东路甲4号中国中医药学会学术部,邮编:100029。