

实验研究

黄芪桂枝五物汤对奥沙利铂周围神经毒性大鼠病理形态的影响

马伊磊¹ 叶伟成² 周荣耀³ 钟 薏³

奥沙利铂 (Oxaliplatin) 是第三代铂类抗肿瘤化疗制剂, 其抗癌谱广, 在临床上广泛应用, 尤其是含奥沙利铂的化疗方案已被认为是大肠癌术后辅助化疗的标准方案。虽然该药较少出现类似顺铂的肾毒性, 但周围神经毒性作为其主要副反应之一, 尤其是感觉神经毒性, 不仅导致患者生活质量明显下降, 甚至有可能影响患者肢体功能。奥沙利铂导致的周围神经毒性主要表现为肢体麻木, 针刺样、烧灼样疼痛, 感觉异常、减退等症状, 与《金匮要略》中“血痹”的描述相符, 本研究通过观察黄芪桂枝五物汤对奥沙利铂导致的周围神经毒性在大鼠中的病理学研究, 来评价该经方的防治作用。

1 材料与方法

1.1 材料

实验动物: 健康雌性 Wistar 大鼠 78 只 (由中国科学院上海实验动物中心提供), 清洁级, 8 周龄, 体重 140~160g。普通饲料喂养, 自由摄食饮水, 由上海中医药大学动物实验中心协助饲养。主要试剂: 注射用奥沙利铂 (商品名: 艾恒); 国药准字: H20000337, 批号: 06090211, 规格: 50mg/瓶, 由江苏恒瑞医药股份有限公司提供。将艾恒 200mg 溶于 5% 葡萄糖溶液 50ml 中, 终浓度为 4mg/ml。实验药物: 本实验所用黄芪桂枝五物汤根据张仲景《伤寒论》剂量, 由黄芪 15g、桂枝 12g、白芍 15g、生姜 6g、大枣 10g 组成, 成人处方生药量为 58g, 由上海中医药大学附属曙光医院中草药房提供, 水煎后浓缩为药液, 相当于 3g 生药/ml, 4℃ 保存备用。

1.2 方法

将 78 只健康雌性 Wistar 大鼠适应性喂养 1 周后, 称重, 随机分为正常组 14 只、模型组 16 只、治疗组 16 只、预防组 16 只、防治组 16 只。造模方法: 参照 McKee MJ^[1] 等的造模方法变化, 除正常组第 7 天予以腹腔注射 5% 葡萄糖注射液 5ml/kg 外, 其他 4 组按照 20mg/kg 予以腹腔注射奥沙利铂 5ml/kg。奥沙利铂剂量按照临床上人常用剂量 (130mg/m²), 根据动物种属与用药转换公式换算出大鼠的用药剂量为 20mg/kg。

造模前, 预防组和防治组予以黄芪桂枝五物汤煎剂 5ml/kg 灌胃; 正常组及模型组予生理盐水灌胃每日 1ml/kg; 上述处理用药 7 天。治疗组予以生理盐水灌胃每日 1ml/kg, 共 6 天。用药第 7 天造模, 造模后 6h, 治疗组予以黄芪桂枝五物汤煎剂 5ml/kg 灌胃, 持续 3 天; 防治组于第 8 天起予以黄芪桂枝五物汤煎剂 5ml/kg 灌胃, 持续 2 天; 正常组、模型组及预防组不予处理。大鼠中药量按照成人 (按体重 60kg 计算) 剂量换算成 15g/kg·d。

1.3 样本收集及制备方法

5 组大鼠均在第 7 天造模后, 分两批于 24h (正常组 7 只, 模型组、治疗组、预防组、防治组各 8 只)、72h (正常组 7 只, 模型组、治疗组、预防组、防治组各 8 只) 称重, 腹腔注射 3% 的戊巴比妥钠 (50mg/kg) 麻醉后俯卧固定, 钝性分离右侧坐骨神经, 根据检测方法及要求分别予以处理、检测。

1.4 检测指标及方法

光学显微镜观察: 将分离的右侧坐骨神经, 用 4% 多聚甲醛溶液固定, 取材后梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 切片厚度 5μm, 切片后脱蜡, 复水, 苏木素-伊红 (HE) 染色, 再经梯度酒精脱水, 二甲苯透明后树胶封片, 于光学显微镜下进行坐骨神经形态结构的观察, 并用日本 Nikon 公司 Dxm1200 光学显微镜成像记录系统采集图像, 由上海中医药大学附属曙光医院实验中心协助检测。透射电镜观察: 将分离的右侧坐骨神经置于预冷 (4℃) 的 2.5% 的戊二醛缓冲液中固定, 之后 4℃ 的缓冲液漂洗 4h 以上, 然后置于 1% 的锇酸液中后固定 2h, 4℃ 缓冲液清洗 5min 以上, 梯度脱水, 环氧树脂包埋, 制成超薄切片, 枸橼酸铅染色, 于荷兰 PHILIP 公司 Tecnai 12 透射电镜下观察及拍照, 由上海中医药大学科技实验中心协助检测。

2 结果

2.1 HE 染色结果分析

各组大鼠造模后 24h 结果分析: 正常组大鼠坐骨

神经有髓神经纤维排列紧密整齐、形态正常,轴突及髓鞘结构清晰,神经纤维轴突及其周围髓鞘染成紫红色、间质均匀淡染。模型组神经纤维排列稀疏、紊乱,多数轴突及髓鞘淡染;髓鞘肿胀,甚至空泡变性。治疗组亦出现模型组病变,但较之改变轻微。预防组大鼠神经纤维较正常组排列稀疏;部分髓鞘肿胀,出现空泡变性;轴突结构无明显变化,较模型组明显减轻。防治组坐骨神经纤维排列紧密,髓鞘空泡变性较轻,轴突及髓鞘结构清晰。

各组大鼠造模后 72h 结果分析:经药物干预后 72h,预防组及防治组大鼠神经纤维较造模后 24h 排列更紧密,且仅见部分髓鞘肿胀及空泡变性;而模型组大鼠神经纤维仍可见多数髓鞘肿胀及空泡变性。

2.2 电镜结果分析

各组大鼠造模后 24h 结果分析:正常组大鼠有髓神经纤维髓鞘致密均匀、结构完整,中心为轴突,其外有明暗相间的同心板层髓鞘结构,其内有排列整齐的微丝、微管,无髓神经纤维正常。模型组的有髓神经纤维髓鞘板层增厚、结构分层变性溶解,可见脱髓鞘,部分轴突萎缩、变性,有的神经微丝溶解、凝集,无髓神经纤维正常。治疗组亦可见板层增厚,部分板层分离变性,偶可见脱髓鞘。预防组大多数有髓神经纤维髓鞘板层结构正常,部分髓鞘板层增厚,轴突病变不明显,可见部分微丝溶解、凝集。防治组仅少数有髓神经纤维髓鞘出现轻微的板层增厚、分层,未出现溶解变性,微丝、微管散在。

各组大鼠造模后 72h 结果分析:模型组大鼠在造模后 72h 仍可见大多数的有髓神经纤维髓鞘板层增厚、结构分层变性溶解,脱髓鞘及部分轴突萎缩、变性;而经黄芪桂枝五物汤干预的治疗组及预防组、防治组大鼠坐骨神经纤维髓鞘致密均匀、结构完整,形态基本

同正常组。

3 讨论

古代文献对“血痹”的描述在临床表现及病机与周围神经毒性相符,因此可以将奥沙利铂导致的周围神经毒性辨证归纳为血痹范畴,气血亏虚、营卫不和、脉络瘀阻为基本病机,以益气养血、活血化瘀、调和营卫为治疗原则,选方黄芪桂枝五物汤,重用黄芪,随症加减。现代药理研究证明,黄芪桂枝五物汤具有清除自由基、改善微循环、调节免疫的作用。在本研究中,我们发现模型组主要表现为髓鞘变性,偶可见轴突变性,且随观察时间的延长这种结构改变逐渐严重;而经黄芪桂枝五物汤干预治疗后,至 72h 这种基本恢复正常,与文献报道^[2]的 5 周时间相比明显缩短了病变的持续时间。证明黄芪桂枝五物汤能减轻奥沙利铂周围神经毒性在大鼠中病理形态及超微结构的病变。本研究结果从动物模型实验角度验证了黄芪桂枝五物汤对这种髓鞘变性有确实的保护作用,为利用黄芪桂枝五物汤治疗和预防奥沙利铂周围神经毒性以及制定合理的联合化疗方案提供了基础理论依据,值得进一步研究。

参考文献

- [1] McKee M J, Hsu T, Screnci D, et al. Nucleolar damage correlates with neurotoxicity induced by different platinum drugs [J]. Br J Cancer, 2001, 85 (8): 1219-1225
- [2] Hirata A, Masaki T, Motoyoshi K. Intrathecal administration of nerve growth factor delays GAP 43 expression and early phase regeneration of adult rat peripheral nerve [J]. Brain Res, 2002, 944 (1-2): 146-156

1 复旦大学附属上海市第五人民医院中医科 (200240);

2 上海中医药大学附属曙光医院实验中心;

3 上海中医药大学附属曙光医院肿瘤科

异常黑胆质性肝癌病证模型肝硬化期下丘脑-垂体-肾上腺轴结构和功能的变化

斯坎德尔·白克力¹ 玉苏甫·吐尔逊² 阿地里江·阿布力米提³

阿布力孜·阿卜杜扎依尔⁴ 阿不都卡德尔·库尔班⁴ 哈木拉提·吾甫尔²

维吾尔医学认为异常黑胆质是在各种内外因素的作用下,体液质平衡紊乱,体液质被燃烧,继而沉淀的最终病理产物或表现形式,是肿瘤等复杂性疾病在维吾尔医病理生理上所共有的特性^[1]。临床研究发现^[2],

异常黑胆质病证有不同程度的神经内分泌免疫功能的损害,其中下丘脑-垂体-肾上腺轴 (HPAA) 功能紊乱的表现极为突出。恶性肿瘤中异常黑胆质型较非异常黑胆质型常见,且更加严重。HPAA 功能紊乱可能是