

扶正活血清热方预防大鼠急性放射性肠炎机制分析

杨永滨^{1*}, 赵占学², 刘元昀³, 姚琪¹, 刘浩然¹, 张荣贞¹, 张亚玉¹

(1. 河北大学基础医学院病理系, 河北保定 071000; 2. 河北大学图书馆流通部, 河北保定 071000;
3. 白求恩医务士官学校基础医学院病理系, 石家庄 050000)

[摘要] **目的:**探讨扶正活血清热方有效预防大鼠急性放射性肠炎(acute radiation enteritis, ARE)的作用机制。**方法:**将48只成年健康Wistar雄性大鼠随机分为6组(8只/组),即空白对照组、模型组、地塞米松组、扶正活血清热方高、中、低剂量组。除空白对照组不给予处理外,模型组、地塞米松组和扶正活血清热方高、中、低剂量组大鼠于照射造模前分别给予生理盐水($9.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)、地塞米松($1.425\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)和不同剂量的扶正活血清热方($16.67, 12.5, 8.33\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)保留灌肠10次后(每日1次,5 mL/次/只),接受下腹部X射线(15 Gy)局限照射。造模24 h后麻醉处死各组大鼠,取直肠组织观察形态学改变,另取部分直肠组织液氮保存待检测组织中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD),过氧化氢酶(catalase, CAT)活性和丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量的变化。**结果:**在照射后1 d内模型组造模成功。组织学变化证实实际模型组直肠黏膜放射后损伤病变明显,空白对照组、地塞米松组和扶正活血清热方高、中、低剂量组的直肠黏膜均无明显病变。地塞米松组和扶正活血清热方高、中、低剂量组直肠组织中SOD和CAT的酶活性水平均明显高于模型组($P < 0.05$),MDA含量明显低于模型组($P < 0.05$)。**结论:**扶正活血清热方可有效预防大鼠ARE的发生,其机制可能与阻滞放射后直肠组织中脂质过氧化反应程度有关。

[关键词] 扶正活血清热方; 放射性肠炎; 过氧化反应; 预防机制

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)13-0172-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2014130172

Prevention Mechanism of Fuzheng Huoxue Qingre Fang on Acute Radiation Enteritis in Rats

YANG Yong-bin^{1*}, ZHAO Zhan-xue², LIU Yuan-jun³, YAO Qi¹,
LIU Hao-ran¹, ZHANG Rong-zhen¹, ZHANG Ya-yu¹

(1. Pathology Department, College of Basic Medicine, Hebei University, Baoding 071000, China;
2. Library, Hebei University, Baoding 071000, China;
3. College of Basic Medicine, Bethune Medical Sergeant Academy, Shijiazhuang 050000, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the prevention mechanism of Fuzheng Huoxue Qingre fang (FHQF) on acute radiation enteritis (ARE) in rats. **Method:** Forty eight Wistar male rats were randomly divided into 6 groups (8 rats each group), blank control, model group, dexamethasone group, high, medium, and low dosage of FHQF groups. Except for the blank control, the physiological saline ($9.0\text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), dexamethasone ($1.425\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) and FHQF ($16.67, 12.5, 8.33\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$) were administrated daily separately 10 days before the limit abdominal irradiation (15 Gy) by rectal clysmas once a day, 5 mL per rat. The morphological differences, and the levels of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and malondialdehyde (MDA) in the rectum were detected at the moment 24 hours after the modeling success of ARE in model group. **Result:** The modeling

[收稿日期] 20140213(009)

[基金项目] 河北省2010年科技支撑计划项目(102761101);河北省中医药管理局科学技术研究课题(2008071);国家级大学生创新创业训练计划(201310075006);河北大学医学学科专项资金建设项目(2012A1002);河北大学博士基金(2011213)

[通讯作者] *杨永滨,博士,副教授,硕士生导师,从事肿瘤病理和环境毒理方面的研究. Tel:0312-5075536, E-mail: yang28yongbin@163.com

success of model group was observed within 1 day after the limit abdominal irradiation. No obvious morphologic differences were observed in all the groups except model group. The rectum levels of SOD and CAT in dexamethasone group, and high, medium, and low dosage of FHQF groups were found significantly ($P < 0.05$) higher and MDA levels were significantly lower than model group ($P < 0.05$). **Conclusion:** FHQF could attenuate ARE in rats effectively, whose possible prevention mechanism partly related to its powerful effects on limiting the peroxidation in the radiation injured rectum.

[**Key words**] Fuzheng Huoxue Qingre fang; acute radiation enteritis; peroxidation; prevention mechanism

随着肿瘤发病率的日益增多,接受放射性治疗(放疗)的肿瘤患者人数呈逐年上升趋势。目前应用精密立体定位放射治疗仪器及技术实施放疗方案可以在一定程度上降低照射视野组织的放射性损伤程度,且提取人体脐带血干细胞治疗技术的应用亦可有效改善放射性损伤的危害程度。但国内许多地区的相关患者因家庭收入较低和地域医疗资源欠发达等因素影响,其生存期生活质量常因放疗后的毒副作用而明显降低^[1-2]。因此,近年来国内医疗界相关工作者们一直在寻找具有中国医疗特色的中药组方,力求经济适用且长期使用后无明显副作用的抗辐射中药制剂。

急、慢性放射性肠炎均为诸多盆腔腹部肿瘤患者放疗后的临床常见并发症之一。而急性放射性肠炎(acute radiation enteritis, ARE)作为早期放射性损伤病变,其发病率如能得到良好的控制,慢性放射性肠炎的临床发病率势必将明显下降。虽然疾病预防措施的有效性和重要性明显优于对疾病发生后的治疗,然而受患者就医等实际条件的制约,临床上能被给予预防性用药的机会并不多。辨证组方灌肠制剂扶正活血清热方目前已被成功应用于临床预防和治疗 ARE,且临床应用发现扶正活血清热方预防灌肠对抗 ARE 的效果明显优于照射后灌肠的治疗效果。虽然有研究结果已提示扶正活血清热方可有效调节体内抗氧化体系水平以治疗 ARE,但其预防作用机制是否与治疗机制类似,亦通过作用于体内抗氧化剂体系,至今仍未完全阐明^[3]。

本研究拟在通过验证预防用药对大鼠 ARE 造模过程的阻滞作用和检测受照射局部直肠组织中抗氧化酶体系中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD),过氧化氢酶(catalase, CAT)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)活性和含量的变化情况,以期在基础实验研究水平上对基层临床推广应用扶正活血清热方预防灌肠对抗 ARE 的发生提供相关的理论依据和支持。

1 材料

1.1 药物、试剂与仪器 扶正活血清热方每付组方包括炒大黄 15 g,白芍 15 g,白芷 10 g,马齿苋 15 g,石榴皮 10 g,槐角 10 g,地榆 10 g,黄芪 30 g,当归 10 g,均购自保定同仁堂药店并统一文火煎制;地塞米松(天津药业集团新郑股份有限公司,批号 100108),水合氯醛(天津市科密欧化学试剂有限公司出厂,批号 100923),尿液分析试条目测八联试纸(广州市花都高尔宝生物技术公司,批号 101125),SOD,CAT,MDA 和考马斯亮蓝蛋白检测试剂盒(南京建成生物工程研究所南京建成科技有限公司,批号 20120321,20120509,20120301,20111128)。M-2 型直线加速器(德国西门子公司),Bio-rad 680 型酶标仪(美国伯乐),BX51 型显微镜图像采集系统(Olympus)。

1.2 动物 48 只清洁级成年健康 Wistar 雄性大鼠,体重 250 ~ 300 g,由河北医科大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(冀)2008-1-003。实验期间在标准动物饲养室内喂养,常规驯养条件 2 只/笼,光照:黑暗为 12 h:12 h,室温(22 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,湿度 30% ~ 70%,常规饮用水。

2 方法

2.1 分组与给药 将 48 只 Wistar 雄性大鼠驯养一周后,随机分为 6 组,每组 8 只,即空白对照组、模型组(生理盐水 $9.0 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$)、地塞米松组($1.425 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)、扶正活血清热方高、中、低剂量组($16.67, 12.5, 8.33 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。造模前 2 周开始采用限量进食,4 d 后即照射前第 10 天开始,除对照组外,其余各组大鼠分别给予生理盐水和相应药物的保留灌肠干预。灌肠 6 h 前禁食,30 min 前置于大鼠固定器中备肠,灌注液体提前预热至 $33 \sim 35 \text{ }^{\circ}\text{C}$,用 10 mL 注射器经液体石蜡润滑的导尿管实施保留灌肠。灌肠大鼠每天灌注液量体积相等(5 mL/只),共灌肠 10 次(每日 1 次)。

2.2 动物 ARE 造模 各组大鼠照射前 8 h 禁食

水。除空白对照组外,试验大鼠均经 10% 水合氯醛 ip(3.5 mL·kg⁻¹)麻醉后平放在特制的固定盒中,用 X 射线定位照射耻骨联合上 1.5 cm × 1.5 cm 面积大小区域(15 Gy),铅块遮挡保护非照射区域。观察各组大鼠的一般状况表现,包括精神状态、自主活动、进食量、有无便血等项目并记录。B 组大鼠如出现柏油样便或用目测八联试纸检测大便呈潜血强阳性(卅)即提示造模成功。

2.3 组织标本取材及生化检测 于造模成功后 24 h 给予各组大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛(3 mL·kg⁻¹)麻醉。沿长轴方向切取照射区域中乙状结肠和直肠交界区域 2.5 cm 长肠壁全层组织,长轴方向切取 1/4 置于液氮(-196 ℃)中冻存,其余组织用 4% 多聚甲醛固定。固定组织用于常规 HE 染色石蜡组织切片制取,冻存肠组织用试剂盒检测其中 SOD, CAT 和 MDA 的活性和含量变化,具体操作方法和试剂、缓冲液配制按试剂盒说明书进行。

2.4 统计学处理 应用 SPSS 16.0 统计软件对所得数据进行组间比较的单因素方差分析,实验数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

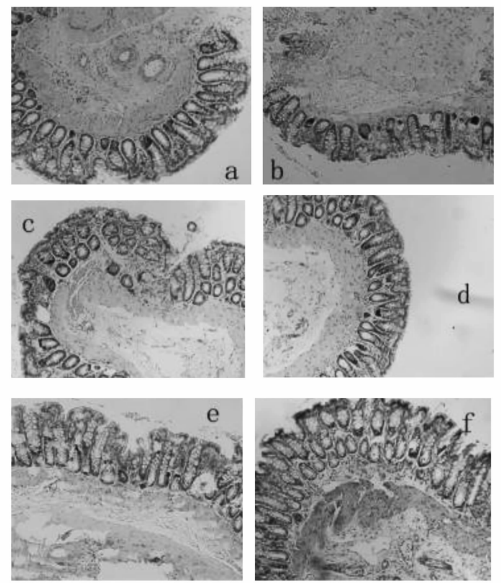
3 结果

3.1 照射后动物情况 模型组大鼠于照射后 24 h 之内均检测出粪便潜血呈强阳性,但呕吐症状均不明显。此外,除模型组大鼠在取材麻醉前的精神状态较萎靡、自主活动和食欲均明显减少和下降外,其余各组大鼠上述方面均无明显状态异常,且粪便检测潜血结果均为阴性。

3.2 组织形态学特征 显微镜下观察正常对照组大鼠直肠黏膜结构完整,未见细胞变性、组织水肿、出血和炎细胞浸润;模型组造模成功后 24 h 大鼠直肠黏膜上皮和腺体上皮细胞均可见明显细胞水肿,部分黏膜上皮和腺体坏死脱落,黏膜下间质广泛水肿、可见局部出血和部分炎细胞浸润;地塞米松组和扶正活血清热方高、中、低剂量组大鼠直肠黏膜上皮和腺体结构基本完整,无明显细胞变性和组织水肿现象,但地塞米松组和扶正活血清热方低剂量组可见黏膜下组织轻度充血和少量炎细胞浸润现象。见图 1。

3.3 直肠组织中 SOD 活性 大鼠被照射区域直肠组织模型组的 SOD 活性水平明显低于对照组($P < 0.05$);各给药组 SOD 活性均明显高于模型组($P < 0.05$);各给药组与扶正活血清热方高剂量组之间未见明显活性差异。见表 1。

3.4 直肠组织中 CAT 活性 大鼠被照射区域直肠



a. 空白对照组; b. 模型组; c. 地塞米松 1.425 mg·kg⁻¹组;
d. 扶正活血清热方 16.67 g·kg⁻¹组;
e. 扶正活血清热方 12.5 g·kg⁻¹组;
f. 扶正活血清热方 8.33 g·kg⁻¹组

图 1 扶正活血清热方预防大鼠急性放射性结肠炎的直肠形态学特征(HE 染色, ×200)

组织模型组的 CAT 活性水平仅略低于对照组;各给药组 CAT 活性水平均明显高于模型组($P < 0.05$);各给药组中仅地塞米松组 CAT 酶活性水平显著低于扶正活血清热方高剂量组($P < 0.05$)。见表 1。

3.5 直肠组织中 MDA 含量 模型组中 MDA 含量显著高于对照组($P < 0.05$);各给药组 MDA 含量显著明显低于模型组($P < 0.05$);各给药组中 MDA 含量均显著高于扶正活血清热方高剂量组($P < 0.05$)。见表 1。

4 讨论

如何控制放疗对照射域邻近组织造成副损伤程度一直是困扰临床的一个现实问题。而在我国部分经济欠发达地区的医疗机构中尽快解决此问题显得更具现实性和紧迫性。经典西医采用的激素预防和治疗非常有效,但长期使用后副作用较大。在临床上的推广和应用新型药物和干细胞治疗等先进手段及技术的进度严重受其高技术成本和价格的制约。针对 ARE 在临床盆腔恶性肿瘤经放射治疗患者人群中的常见多发性,在基层医疗组织中大力推广和应用传统中医组方制剂灌肠预防和治疗 ARE 在实用性和经济性上均非常符合我国现有国情^[4-5]。因为基层临床机构具有患者邻近就医方便的优势,基于防病重于治病的指导理念,应在社区广泛开展宣

表1 扶正活血清热方预防大鼠急性放射性肠炎直肠组织中 SOD 和 CAT 活性及 MDA 含量的变化($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	SOD/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$	CAT/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$	MDA/ $\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$
空白对照	-	3.53 ± 1.64	0.25 ± 0.97	$0.20 \pm 0.16^{2)}$
模型	-	$2.95 \pm 1.99^{1)}$	0.19 ± 0.06	$0.40 \pm 0.29^{1)}$
地塞米松	1.425×10^{-3}	$4.17 \pm 2.26^{2)}$	$0.32 \pm 0.14^{2,3)}$	$0.26 \pm 0.16^{2,3)}$
扶正活血清热方	16.67	$5.28 \pm 2.75^{2)}$	$0.47 \pm 0.20^{2)}$	$0.21 \pm 0.13^{2)}$
	12.5	$4.91 \pm 1.95^{2)}$	$0.37 \pm 0.14^{2)}$	$0.30 \pm 0.26^{2,3)}$
	8.33	$4.44 \pm 2.36^{2)}$	$0.46 \pm 0.17^{2)}$	$0.27 \pm 0.10^{2,3)}$

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$;与扶正活血清热方高剂量组比较³⁾ $P < 0.05$ 。

传早期实施干预疾病发生措施的益处,改变患者就医理念,以提高大型医疗机构有限医疗资源的充分利用。

课题组在前期研究发现,扶正活血清热方可通过调节体内抗氧化体系水平和功能有效治疗模型大鼠 ARE 的基础上,进一步探讨了扶正活血清热方预防用药可对大鼠 ARE 成功阻滞效果的可能机制研究。对比各组病理形态学观察结果提示扶正活血清热方的预防 ARE 效果不亚于甚至部分程度上优于西医传统激素防治干预方法。检测结果提示扶正活血清热方适当剂量组确实可以通过调节抗氧化体系中相关抗氧化酶(如 SOD 和 CAT)活性水平,有效降低受照射局部直肠组织中脂质过氧化反应程度。以上研究结果部分阐明了扶正活血清热方预防 ARE 发生的部分机制,对国内实施大力推进中医中药辨证组方制剂在基层临床中的应用政策具有重要的现实指导意义和价值。

[参考文献]

- [1] 杨杰,张泽高,古力米拉木·艾热提,等. 调强适形放射治疗对宫颈癌术后患者放射治疗剂量学优势的探讨[J]. 中国肿瘤临床与康复,2013,20(6):558.
- [2] Rui Wang, Wei Yuan, Qiang Zhao, et al. An experimental study of preventing and treating acute radioactive enteritis with human umbilical cord mesenchymal stem cells [J]. Asian Pac J Trop Med, 2013,6(12):968.
- [3] 杨永滨,许苗苗,黄建霞,等. 扶正活血清热方对急性放射性肠炎大鼠血清 SOD 活性的影响[J]. 医学研究与教育,2011,28(6):9.
- [4] 郑伟达,郑东海,郑伟鸿,等. 放射性肠炎中医辨证治疗[J]. 世界中西医结合杂志,2013,8(8):844.
- [5] 苏路侠,王守才. 中药口服及灌服治疗慢性非特异性溃疡性结肠炎 124 例[J]. 中国中药杂志,2002,27(09):706.

[责任编辑 聂淑琴]

欢迎投稿

欢迎订阅