

健正益髓方对联合化疗小鼠骨髓抑制的影响

杨同华^{1*}, 杨艳梅¹, 陆俊², 邓道昌³

(1. 云南省第一人民医院血液科, 云南 昆明 650032; 2. 信息工程大学电子技术学院昆明分院, 云南 昆明 650231; 3. 成都中医药大学, 四川 成都 610075)

[摘要] 目的: 观察中药健正益髓方对联合化疗小鼠骨髓抑制的防治作用。方法: 健正益髓方由熟地、山茱萸、山药、泽泻、丹皮、茯苓、党参、黄芪、丹参、山楂及生甘草组成。低剂量组采用 19.2 g/kg, 高剂量组采用 38.48 g/kg, 给药后第 9 d 以环磷酰胺 (CTX) 0.2 g/kg 及第 10 d 加阿糖胞苷 (Ara-C) 0.2 g/kg 腹腔注射 1 次, 用血球自动计数仪于化疗后第 5 d 和第 7 d 查血常规, 第 7 d 手工计数骨髓有核细胞 (BMC)。结果: 化疗后第 5 d 中药低剂量组、中药高剂量组、模型对照组的白细胞 ($WBC \times 10^9/L$) 依次为 (5.77 ± 1.91) , (6.83 ± 2.81) , (3.10 ± 1.08) ($P < 0.01$); 血小板 ($PLT \times 10^9/L$) 依次为 (590.17 ± 164.38) , (695.67 ± 214.42) , (438.58 ± 114.48) ($P < 0.01$ 及 0.05)。化疗后第 7 d 中药低剂量组、中药高剂量组、模型对照组的 WBC 依次为 (4.44 ± 1.80) , (3.92 ± 1.95) , $(3.85 \pm 1.52) \times 10^9/L$ ($P > 0.05$); PLT 依次为 (921.00 ± 425.38) , (658.92 ± 281.15) , $(585.33 \pm 229.73) \times 10^9/L$ ($P < 0.05$)。结论: 健正益髓方可以防治由 CTX+ Ara-C 联合化疗导致的小鼠 WBC、PLT 减少, 促进联合化疗小鼠的造血功能恢复。

[关键词] 化疗毒副反应; 小鼠; 中医疗法

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2007)06-0056-03

化疗最易损伤的是造血系统。肾主骨生髓, 补肾应是中药拮抗化疗骨髓抑制副作用的第一治法。

造血系统恶性肿瘤患者本身骨髓受到肿瘤细胞及其分泌因子的抑制, 其病理生理有似于小儿“脏腑柔弱”的情形, 我们据钱乙《小儿药证直诀》六味地黄丸三补三泻之意, 化裁出具有补虚为主、泻邪为辅的健正益髓方, 以此研究中药复方对化疗所致骨髓抑制的防治作用。

[收稿日期] 2006-09-21

[通讯作者] * 杨同华, Tel: (0871) 3638655; E-mail: ynanblood@yahoo.com.cn

1 材料

1.1 实验动物 昆明种封闭群成年小鼠 46 只(20~25 g),雌雄各半,合格证号 0001680,由云南省医学实验动物中心提供。

1.2 主要药品、试剂 健正益髓方由熟地 30 g,山茱萸 15 g,山药 15 g,泽泻 12 g,丹皮 12 g,茯苓 12 g,党参 30 g,黄芪 30 g,丹参 20 g,山楂 10 g 及生甘草 10 g 组成。冷水浸泡 3 h,微火煎煮 1 h 得头煎,原渣再加水煎煮 40 min 得二煎,两煎混合,浓缩药液至 100% 及 200% 浓度。CTX(上海十二制药厂生产)、Ar α -C(厂家同前)瑞氏染液、煌焦油蓝染液、生理盐水 3% 醋酸溶液、肝素 EDTA 钠。

1.3 主要仪器 Cell-DYN 血球自动计数仪(美国公司生产)、血球计数板(上海医疗器械厂生产)、光学显微镜(OLYMPUS,日本)。

2 方法

2.1 分组与实验方法 将小鼠编号,按体重分层随机分为 4 组。(1)中药低剂量组:实验第 1 至 15 d 每日 11,19 时分别以中药煎剂 19.2 g/kg 灌胃(相当于临床剂量的 10 倍)。第 9 d 15 时以 CTX 0.2 g/kg 腹腔注射 1 次,第 10 d 15 时以 Ar α -C 0.2 g/kg 腹腔注射 1 次。第 14,16 d 9 时尾静脉采血查血常规。取血 2 滴于含煌焦油蓝染液 1 滴的 V 形管中,反复振荡混匀,室温下静置 15 min,涂片后用瑞氏染液复染,冲洗晾干后在油镜下计数网织红细胞(Ret)。处死后分离左股骨,用 3% 醋酸溶液 10 mL 冲洗骨髓腔,作骨髓有核细胞(BMC)计数,再计算出每根股骨的有核细胞数(BMC)绝对值。(2)中药高剂量组:将灌胃

中药改为浓度 38.4 g/kg(相当于临床剂量的 20 倍),余处理同(1)。(3)模型对照组:用生理盐水灌胃,余处理同(1)。(4)正常对照组:不作灌胃及注射化疗药物,余处理同(1)。

2.2 数据处理 用 PEMS 软件包作 *t* 检验。

3 结果

3.1 化疗后第 5 d 血象变化情况(尾静脉采血法) 结果见表 1~2。

表 1 给药 14 d 化疗后第 5 d 外周血 WBC、PLT 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	n	WBC($\times 10^9/L$)	PLT($\times 10^9/L$)
联合化疗+健正益髓方组	19.2	12	5.77 \pm 1.91 ²⁾	590.17 \pm 164.38
联合化疗+健正益髓方组	38.4	12	6.83 \pm 2.81 ²⁾	695.67 \pm 214.42 ²⁾
联合化疗模型对照组	-	12	3.10 \pm 1.08	438.58 \pm 114.48
正常对照组	-	10	7.65 \pm 2.15	824.70 \pm 271.19

注:与模型对照组比较¹⁾*P*<0.05,²⁾*P*<0.01;与高剂量组比较³⁾*P*<0.05,⁴⁾*P*<0.01,下同

从表 1~2 可知,化疗后第 5 天模型对照组 WBC 显著降低,与其他各组比较 *P* 均<0.01;该组血小板也是各组中最低的,与正常对照组和中药高剂量组比较 *P* 均<0.01,但与中药低剂量组比较无显著差异(*P*>0.05),而中药低剂量组与正常对照组比较 *P*<0.05,说明中药在保护血小板方面体现了一定的量效关系;在红细胞(RBC)系列的变化上。造模各组 RBC、血红蛋白(Hb)、红细胞压积(HCT)与正常对照组数值接近(*P*>0.05),仅模型对照组的平均红细胞容积(MCV)降低,与其他各组比较 *P* 均<0.01。

表 2 给药 14 d 化疗后第 5 d RBC、Hb、HCT 和 MCV 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	n	RBC($\times 10^9/L$)	Hb(g/L)	HCT(%)	MCV(fL)
联合化疗+健正益髓方组	19.2	12	9.46 \pm 1.19	138.41 \pm 19.07	70.43 \pm 9.44	74.75 \pm 2.14 ²⁾
联合化疗+健正益髓方组	38.4	12	10.18 \pm 1.54	139.17 \pm 12.49	75.15 \pm 8.14	75.50 \pm 2.43 ²⁾
联合化疗模型对照组	-	12	9.26 \pm 1.50	135.58 \pm 17.99	65.40 \pm 10.57	70.92 \pm 2.78
正常对照组	-	10	9.32 \pm 0.92	135.00 \pm 12.62	70.32 \pm 6.61	75.20 \pm 3.16

3.2 化疗一周后血象骨髓有核细胞变化情况 结果见表 3~4。化疗 1 周后 WBC 计数各组之间趋于接近,组间比较无统计学差异。PLT 值在中药低剂量组有反跳现象,其数值超过正常对照组,与模型对照组比较差异显著(*P*<0.05)。单用化疗的模型对照组不仅 MCV 降低(除高剂量组外,与其他组比较

P 均<0.05),且 HCT 也明显下降,与其他各组比较 *P* 均<0.05。BMC 降低最多的为模型对照组。依次是中药低剂量组和中药高剂量组(各组间比较 *P*<0.05 或 0.01)。低剂量组的 Ret 高于高剂量组(*P*<0.05)。

表 3 给药 16 d 化疗 7 d 后外周血 WBC、PLT 和骨髓 BMC 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	n	WBC($\times 10^9/L$)	PLT($\times 10^9/L$)	BMC($\times 10^7$)
联合化疗+ 健正益髓方组	19.2	11	4.44 \pm 1.80	921.00 \pm 425.38 ¹⁾	1.20 \pm 0.14 ^{2,3)}
联合化疗+ 健正益髓方组	38.4	12	3.92 \pm 1.95	658.92 \pm 281.15	1.56 \pm 0.27 ¹⁾
联合化疗模型对照组	-	12	3.85 \pm 1.52	585.33 \pm 229.73	0.76 \pm 0.14
正常对照组	-	10	4.97 \pm 1.49	827.50 \pm 212.97	1.89 \pm 0.54

注: (实验中低剂量组有 1 只动物因灌胃不当死亡)

表 4 给药 16 d 化疗 7 d 后 RBC、Hb、HCT、MCV 及 Ret 变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g/kg)	n	RBC($\times 10^{12}/L$)	Hb(g/L)	HCT(%)	MCV(fL)	Ret(%)
联合化疗+ 健正益髓方组	19.2	11	9.70 \pm 3.14	131.00 \pm 22.43	60.34 \pm 11.55 ¹⁾	66.18 \pm 3.57 ¹⁾	3.35 \pm 2.22 ³⁾
联合化疗+ 健正益髓方组	38.4	12	9.02 \pm 1.55	135.83 \pm 16.31	60.90 \pm 13.55 ¹⁾	64.17 \pm 2.76	1.55 \pm 1.04
联合化疗模型对照组	-	12	7.93 \pm 1.26	123.42 \pm 18.66	49.81 \pm 8.51	62.58 \pm 2.23	2.70 \pm 1.16
正常对照组	-	10	9.78 \pm 1.90	132.70 \pm 12.15	62.94 \pm 10.00 ¹⁾	65.70 \pm 2.91 ¹⁾	1.75 \pm 1.09

4 讨论

临床上以单味药进行化疗的情况较为少见,而多是采用联合化疗。联合化疗可增强杀伤作用的广度和强度。为此,我们把 CTX 和 Ara-C 联用造成小鼠骨髓抑制,以此观察健正益髓方的作用机理。

目前国内采用化疗药物造成骨髓抑制得到的多是白细胞减少模型。要造成全血减少的模型所需时间均较长,至少在 10 d 以上,甚至达 20 d^[1]。我们曾单用 CTX(0.15 g·kg⁻¹·d⁻¹,连用 3 d)造模,第 6 天查全血常规,除白细胞减少外,红系和血小板均未见明显变化。血细胞减少需较长时间的模型不能模拟临床上强烈联合化疗冲击所致的骨髓抑制情况。我们根据 Ara-C 可迅速造成血小板减少模型^[2],且与 CTX 合用有增效作用的特点,采取 CTX 与 Ara-C 序贯联用的方法,在 1 周内很快造成了全血减少的骨髓抑制模型。

实验结果表明,健正益髓方具有防治联合化疗小鼠 WBC、PLT、HCT、MCV 和 BMC 过度减少的作用。该方滋补肾阴、益气活血,作用平和,组方基础取法于六味地黄丸三补三泻之意,其中补肾中药熟地等具有直接保护骨髓造血功能的作用,而方中的茯苓、泽泻、丹皮具有利尿化瘀作用,还有可能尽快促进化疗后肿瘤组织损伤分解代谢物质的排泄。在众多防治化疗骨髓抑制毒性的复方中,健正益髓方是较为切合病机的。

[参考文献]

- [1] 谢伯玲,许长照,朱宏,等.生血汤治疗继发性再障的实验研究[J].南京中医学院学报,1990,6(1):44.
- [2] 贾立群.中医药防治癌症患者化疗毒副反应的概况[J].辽宁中医杂志,1989,4:44,1989,5:45.