

“瘀热”型慢性前列腺炎大鼠模型的两种造模方法比较研究

樊千¹ 李明² 周玉春² 薛建国²

(1.南京中医药大学附属医院,江苏南京 210029; 2.南京中医药大学,江苏南京 210023)

摘要 目的:探索和评价更符合中医“瘀热”病机和症候特点的慢性前列腺炎大鼠模型的造模方法。方法:30只雄性SD大鼠按体重随机分为角干组、内干组和模拟组,每组10只。角干组于大鼠前列腺背叶注射角叉菜胶,背部皮下注射干酵母混悬液;内干组于大鼠前列腺背叶注射内毒素,背部皮下注射干酵母混悬液;模拟组于同样部位注射等量生理盐水。造模后分别观察各组大鼠体温、血液流变学指标变化,第7日取材观察大鼠前列腺组织病理学变化。结果:与模拟组比较,角干组和内干组在造模后均出现体温和血液流变学指标的明显升高($P<0.05$)。角干组与内干组之间体温差异不具有统计学意义($P>0.05$),但角干组全血黏度明显高于内干组升高($P<0.05$)。角干组大鼠前列腺组织表现为大量炎细胞浸润伴慢性肉芽肿性炎症;内干组见少量炎细胞浸润,间质中散在成纤维细胞;模拟组大鼠前列腺组织中腺腔形态尚规则,未见炎细胞浸润。结论:角叉菜胶联合干酵母混悬液注射所制作的慢性前列腺炎大鼠模型更符合中医“瘀热”病机和临床症候特点,同时简单、便于操作,可用于慢性前列腺炎基础研究、瘀热病机理论及临床药理学研究等。

关键词 慢性前列腺炎 瘀热 动物疾病模型 SD大鼠 血液流变学 前列腺 病理学

中图分类号 R697.33

文献标识码 A

文章编号 1672-397X(2015)03-0077-03

慢性前列腺炎属中医学“精浊”范畴,其发病机制尚不清楚。国医大师周仲瑛教授根据其多年临证经验提出“瘀热”理论,认为瘀热互结证不仅见于外感热病,亦存在于多种疾病的发展过程中^[1]。瘀热病机在精浊的发病过程中亦起到了关键的作用,或外感邪热入里,或内伤久病,致火热毒邪夹痰、夹湿壅滞血分,搏血为瘀,导致下焦精室蓄血,局部经络不畅,血脉瘀滞,瘀热相搏,胶结难化,使病情缠绵难愈,病机演变亦变化多端^[2]。因此,研究建立符合中医“瘀热”病机特点的慢性前列腺炎大鼠模型,对慢性前列腺炎的基础研究、中医瘀热理论研究和临床中药筛选、遣方用药均具有重要意义。本研究旨在通过对中医瘀热表征、血液流变学指标以及组织病理学方面的评价,对两种造模方法进行比较,以探索更符合中医“瘀热”病机和临床症候特点的慢性前列腺炎大鼠模型的制作方法。

1 实验材料

1.1 动物 雄性健康SD大鼠30只,体重180~220g,购于南京中医药大学SPF级动物实验室[SCXK(浙)2008-0033],直肠温度37.0~38.5℃。

1.2 试剂与仪器 角叉菜胶:规格100g,上海蓝技

科技有限公司,批号:680525。大肠杆菌内毒素:规格10mg(分装),sigma,批号:L-2880。干酵母:安琪酵母股份有限公司。福尔马林液:规格200mL,无锡市江原实业技贸总公司,批号:20130618。生理盐水:规格500mL/4.5g,南京小营药业集团有限公司,批号:2011090902。碘伏消毒液:规格500mL,上海利康消毒高科技,批号:310502a。电子天平:型号MP1002,上海精密仪器仪表有限公司。麦克大夫电子体温计:北京天天联众科技有限公司(型号MT1671)。4-0可吸收缝线:美国强生公司(型号WW9918)。

2 实验方法

2.1 分组与处理 雄性SD大鼠30只,适应性饲养1周后按体重随机分为角干组、内干组和模拟组,每组10只。各组大鼠腹腔注射10%水合氯醛(0.3mL/100g)进行麻醉,待麻醉完全后,橡皮筋固定四肢,松紧适中,腹部备皮,碘伏消毒,沿大鼠腹中线(耻骨上方1cm处)逐层纵向切开约1.5cm,游离肌肉、腹膜,进入腹腔后,分离前列腺及周围组织器官,充分暴露前列腺组织,1mL注射器于前列腺背叶进针。角干组注射角叉菜胶,剂量为5mg/100g;内干组注射大

基金项目:江苏省中医药局科技项目立项计划资助课题(LZ13017)

肠杆菌内毒素,剂量为 5 μ g/100g;模拟组注射等体积生理盐水。送复前列腺后逐层缝合腹腔,角干组、内干组大鼠背部皮下注射 20%干酵母混悬液,剂量为 1mL/100g,模拟组同样部位注射等量生理盐水。

2.2 瘀热表征及实验室检测 造模成功后观察各组大鼠饮水、摄食及活动情况,造模后 1、3、7 日上午 9 时使用电子体温计测量大鼠肛温;第 7 日大鼠腹尾静脉采血 3mL 置于肝素抗凝管中,送南京中医药大学附属医院检验科检测血液流变学各项指标(高切、中切、低切全血黏度值和红细胞压积、红细胞聚集指数)。

2.3 组织病理学检测 第 7 日取血后大鼠麻醉处死,取前列腺组织观察大体情况,经 10%甲醛固定,HE 染色,100 倍光镜下观察前列腺组织形态学变化,比较各组大鼠前列腺病变范围、腺腔形态、淋巴细胞浸润程度、间质增生情况。

2.4 统计学方法 所有数据采用 SPSS17.0 软件进行统计分析,计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 Student-Newman-Keuls 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组大鼠瘀热表征比较 造模后角干组大鼠出现明显的瘀热表征,表现为舌色红紫,尾部出现瘀斑,同时肛温逐渐升高;内干组大鼠出现肛温升高,但是瘀热表征不明显(仅有部分大鼠出现舌色红紫,未见尾部明显瘀斑)。模拟组大鼠观测其舌色正常,尾部未见瘀斑出现,体温未见明显升高。与模拟组比较,角干组、内干组大鼠肛温明显升高($P<0.05$),但角干组与内干组组间比较肛温差异不具有统计学意义($P>0.05$),见表 1。

3.2 各组大鼠血液流变学指标变化情况 见表 2。角干组、内干组大鼠全血黏度(低切、中切、高切)、红细胞压积、红细胞聚集指数均较模拟组显著升高($P<0.05$)。角干组与内干组比较,全血黏度指标差异显著($P<0.05$),红细胞压积和红细胞聚集指数差异不具有统计学意义($P>0.05$)。

3.3 各组大鼠前列腺组织病理学比较 造模后第 7 日角干组大鼠前列腺组织内可见上皮及腺腔形态不规则,大量炎细胞

浸润,伴有慢性肉芽肿性炎症出现。内干组大鼠前列腺组织内可见上皮细胞及腺腔形态较规则,间质亦可见少量成纤维细胞,有少量炎细胞浸润。模拟组大鼠前列腺组织内见上皮细胞为立方或柱状,虽然腺腔形态不一,但尚有规则,间质中可见少量成纤维细胞,未见炎细胞浸润。见图 1。

4 讨论

中医认为精浊以肾虚为本,湿热为标,瘀血为变。但临床中精浊症状往往繁杂,病程迁延难愈,究其原因常为多种病理因素互相胶结导致,而瘀热病机更符合精浊临床致病过程和病机特点^[2]。

目前构建中医瘀热症候的动物模型方法较少,也缺乏公认的瘀热症候动物模型的判定标准,现有文献中判定标准以动物模型表征及微循环实验室检查(血液流变学、凝血功能等)为主^[3]。为了更好地模拟瘀热病机在慢性前列腺炎致病过程中的特点并且探索符合中医瘀热临床症候的大鼠模型,本研究对角叉菜胶注射液联合活性干酵母混悬液和大肠杆菌内毒素联合活性干酵母混悬液这两种造模方法进行了对比研究。目前制作中医热毒血瘀证模型采用较多的方法仍为细菌内毒素^[4-5],而角叉菜胶是为海藻中所提取的硫酸多糖类物质,用于组织炎症和发热模型的制备,单用角叉菜胶致“瘀”的作用相对较强,其制作的大鼠模型可以表现为舌质紫红、尾部瘀斑^[6]。活性酵母菌混悬液是制作炎症反应

表 1 各组大鼠造模后第 1、3、7 日肛温比较

组别	动物数(只)	肛温(°C)		
		第 1 日	第 3 日	第 7 日
角干组	10	37.44 \pm 0.18	38.16 \pm 0.21*	38.54 \pm 0.16*
内干组	10	37.60 \pm 0.12	38.10 \pm 0.16*	38.44 \pm 0.18*
模拟组	10	37.82 \pm 0.25	37.78 \pm 0.19	37.73 \pm 0.29

注:*与模拟组比较, $P<0.05$ 。

表 2 各组大鼠造模后第 7 日血液流变学指标比较

组别	动物数(只)	全血黏度(mPa.s)			红细胞压积(L/L)	红细胞聚集指数
		低切[5/s]	中切[30/s]	高切[200/s]		
角干组	10	11.44 \pm 1.30* \blacktriangle	5.92 \pm 0.51* \blacktriangle	4.15 \pm 0.34* \blacktriangle	0.53 \pm 0.08*	7.08 \pm 0.90*
内干组	10	11.29 \pm 0.72* \blacktriangle	5.75 \pm 0.28* \blacktriangle	3.95 \pm 0.18* \blacktriangle	0.56 \pm 0.02*	6.32 \pm 0.57*
模拟组	10	9.54 \pm 0.29	5.39 \pm 0.34	3.72 \pm 0.14	0.59 \pm 0.03	5.74 \pm 0.30

注:*与模拟组比较, $P<0.05$; \blacktriangle 与内干组比较, $P<0.05$ 。

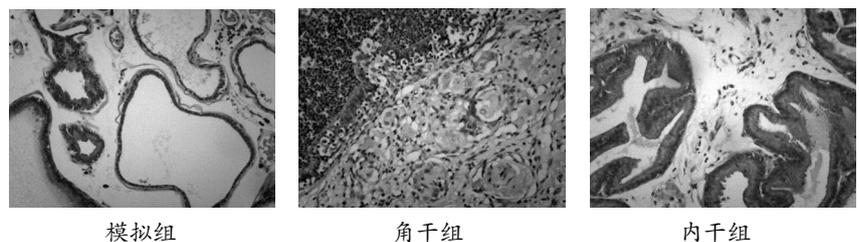


图 1 各组大鼠前列腺组织病理图片(HE, $\times 100$)

介导的发热模型的常用材料,其致“热”作用明显^[7]。因此,从造模角度来看将角叉菜胶联合活性干酵母混悬液作为致病因素更为符合中医瘀热病机理论特点和临床症候表现。

本研究从大鼠模型瘀热表征、实验室(血液流变学)指标和前列腺组织病理学三方面对两种造模方法进行了探索比较。从瘀热表征比较,内干组大鼠模型仅表现为体温异常,部分出现舌质红紫,未见明显尾部瘀斑;角干组大鼠模型表现为舌质红紫、尾部瘀斑,同时伴随体温升高等异常表现。从实验室(血液流变学)指标比较,两组大鼠模型均表现为血液黏稠度增高,但角干组升高更加明显。从大鼠模型前列腺组织病理学比较,内干组大鼠模型前列腺仅有少量慢性炎细胞浸润,而角干组前列腺腺体内出现大量炎细胞浸润伴随慢性肉芽组织增生的异常反应。

综上,角叉菜胶联合干酵母混悬液和大肠杆菌内毒素联合干酵母混悬液两种方法均可制作瘀热型慢性前列腺炎大鼠模型,但相比而言角叉菜胶联合干酵母混悬液所制作的大鼠模型更符合中医“瘀热”病机理论特点,瘀热临床症候明显,实验室指标及组织病理学证据充足,同时该模型制作简单、便于操作,可更好地用于慢性前列腺炎的基础研究、中医瘀热理论和临床有效中药筛选等多方面的研究。但国内外对于瘀热型慢性前列腺炎大鼠模型的

相关研究仍较少,是否有更优化的造模方法还有待进一步的探索研究。在今后研究中我们将尝试从炎症信号通路及表观遗传学机制等方面着手,以本研究的大鼠模型为基础,从分子生物学方向进一步探寻慢性前列腺炎的发病机制,尝试从微观分子机制阐述宏观中医瘀热本质。

参考文献

- [1] 周仲瑛.论瘀热.南京中医药大学学报,2006,22(5):273
- [2] 薛建国,樊千.从“瘀热”论慢性盆腔疼痛综合征的发病机制.江苏中医药,2012,44(12):6
- [3] 杜正彩,邓家刚,郝二伟.瘀热互结证模型大鼠中医表征指标量化研究.中华中医药杂志,2012,27(2):345
- [4] 杨进,陆平成.家兔“热毒血瘀证”系列动物模型的试制.南京中医药大学学报,1995,11(2):70
- [5] 许立,蒋宝平,过伟峰,等.实验性淤热证大鼠模型的初步研究.时珍国医国药,2008,19(12):2896
- [6] 魏陵博,彭敏,戎冬梅,等.通心络胶囊对角叉菜胶所致大鼠血栓形成的影响.中西医结合心脑血管病杂志,2006,4(9):785
- [7] 陈秋红,周小梅,多杰,等.青鹏胶囊解热镇痛及抗炎作用实验研究.山东中医杂志,2006,25(6):407

第一作者:樊千(1985-),男,医学硕士,住院医师,从事中医外科学及男科学方向的科研、临床及教学工作。superjust@126.com

收稿日期:2015-01-04

编辑:吴宁

(上接第76页)

本研究表明,益气化瘀方确实具有一定的抗炎、止血、镇痛作用,然而作为中药复方成分,进一步明确其有效成分,将其推广应用是我们今后研究的重点。

参考文献

- [1] 刘琼英,陈乐群,李红.中西医结合疗法对产后并发子宫内膜炎产妇产后炎症因子的影响.实用临床医药杂志,2013,17(13):134
- [2] 张秀贤,田洁,彭菲.益母草对产后子宫内膜炎大鼠内膜止血修复的实验研究.河北医药,2013,35(7):1023
- [3] 曾晶,尤昭玲.中西医结合防治产后子宫复旧不全的研究进展.湖南中医杂志,2010,26(1):113
- [4] 陈正爱,曲香芝,尹大维,等.不同炮制方法的淫羊藿对小鼠抗炎作用的影响.时珍国医国药,2006,17(1):48
- [5] 李芳,孔祥鹏,陈佩东,等.蒲黄炭对血瘀大鼠血液流变性、凝血时间及舌象体征的影响.中国实验方剂学杂志,2011,17(16):154
- [6] 汪文女.黄芪的药理作用研究进展.健康大视野,2014,22(6):480

- [7] 郭琳,苗明三.马鞭草化学、药理及临床应用探讨.中医学报,2014,29(9):1345
- [8] 王静,王晋,高荣,等.茜草提取方法及其活性成分的药理作用研究.疾病监测与控制杂志,2012,6(4):225
- [9] 陈方亮,余翠琴.乌药的药理研究概况.海峡药学,2011,23(12):44
- [10] 贺卫和,王志琪,蒋孟良,等.胶艾汤止血机制的实验研究.世界中西医结合杂志,2012,7(12):1032
- [11] 杨耀强.中药党参炮制原理与药理作用的研究.健康学报.医学版,2014,19(8):150
- [12] 索天娇,韩蕾,贾天柱.狗脊生、制品正丁醇提取物药效学实验研究.辽宁中医药大学学报,2012,14(10):35

第一作者:曾晶(1982-),女,博士,主治医师,研究方向:中西医结合治疗妇产科月经病、产后病。841825639@qq.com

收稿日期:2014-12-27

编辑:吴宁