

护脉散不同给药方式对长春瑞滨致静脉炎小鼠疗效观察

邱 敏 李晓清 邹文娟 孙 科

(重庆市中医院,重庆,400021)

摘要 目的:观察预防性和治疗性应用护脉散对长春瑞滨致化疗性静脉炎小鼠的疗效,评价其有效性。方法:长春瑞滨尾静脉注射致小鼠静脉炎模型。分别采用预防和治疗给药2种方式,观察护脉散对给药小鼠鼠尾肿胀度、病理组织评分,并以多磺酸粘多糖乳膏为阳性对照。结果:与模型组和对照组比较,护脉散能明显减轻长春瑞滨致静脉炎小鼠鼠尾肿胀度($P < 0.05$),改善静脉炎鼠尾病理组织评分($P < 0.01$)。结论:护脉散能有效预防和治疗长春瑞滨致化疗性静脉炎,疗效优于多磺酸粘多糖乳膏。

关键词 静脉炎;长春瑞滨;护脉散;病理组织评分

Efficacy Observation: Different Administration of Humai Powder on Vinorelbine Induced Phlebitis Mice

Qiu Min, Li Xiaqing, Zou Wenjuan, Sun KE

(Chongqing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400021, China)

Abstract Objective: To observe efficacy of prophylactic and therapeutic applications of Humai powder on vinorelbine induced phlebitis mice, evaluating of its effectiveness. **Methods:** Vinorelbine was injected intravenously on models of phlebitis. Prevention and treatment of administration were respectively used, and tails swelling condition and pathological score were observed after Humai Powder administered mouse, MPS cream as a positive control. **Results:** Comparing the model group and the control group, Humai powder can significantly reduce tails swelling in vinorelbine induced phlebitis mice ($P < 0.05$), and improve tail vein inflammation pathological score ($P < 0.01$). **Conclusion:** Humai powder is effective on prevention and treatment of vinorelbine induced phlebitis, stronger than MPS cream.

Key Words Phlebitis; Vinorelbine; Humai Powder; Histopathological score

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.10.040

化疗性静脉炎是指恶性肿瘤患者接受外周静脉输注细胞毒药物化疗时导致的浅静脉血管炎性反应,尤以输注长春瑞滨(Vinorelbine, VIN)最为突出^[1]。护脉散是重庆市名中医曾定伦主任中医师的经验方,重庆市中医院肿瘤科从2010年起将其应用静脉炎的防治,累计使用超过1 000例,取得了较好临床疗效,既往我们临床观察显示该药物预防和治疗化疗性静脉炎,疗效优于临床常用药物^[2-3]。作为血管无菌性炎性反应,化疗性静脉炎发生涉及血管内皮的损伤,血管壁及周围组织的炎性细胞浸润,周围组织的水肿甚至炎性反应血管血栓形成等病理改变^[4-6],而我们既往研究以临床观察为主,缺乏护脉散对静脉炎组织病理影响的观察。本研究拟通过病理组织观察探讨预防性使用和治疗性应用护脉散防治VIN致小鼠静脉炎的临床疗效。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物与分组 健康成年昆明种小鼠,80只,雌雄各半,6~8周龄,清洁级,体重(25 ± 6)g(重庆医科大学实验教学中心提供)。按随机数字表法随机分为空白组、模型组各20只,预防组、预防对照组、观察组和治疗对照组,每组10只。

1.1.2 药物与仪器 重酒石酸VIN注射液(江苏连云港豪森药业股份有限公司,10 mg/mL,批号:20150211),多磺酸粘多糖乳膏(德国路易坡大药厂,14 g/支,进口药品注册号:H20110296),0.9%氯化钠注射液(西南药业股份有限公司,10 mL/支,批号:20150621),护脉散(芒硝60 g、生大黄30 g、黄连15 g、黄芩15 g、白芷10 g。上五味药物一起粉碎,过100目筛,按4:6质量比分别称取药粉和药用凡士

基金项目:重庆市卫计委中医药科技项目(ZY201402041);国家中医药管理局全国名老中医传承工作室建设项目[国中医药人教发[2013]47号]

作者简介:邱敏(1975.08—),男,医学博士,副主任中医师,研究方向:恶性肿瘤的中西医结合治疗和研究,E-mail:13983922797@163.com

通信作者:李晓清(1981.11—),女,医学硕士,副主任中医师,研究方向:恶性肿瘤的中西医结合治疗和研究,E-mail:1140641979@qq.com

表 1 Kuwahar 病理评分表

观察项目	0 分	1 分	2 分	3 分
血管内皮细胞脱落 血管壁或周围组织 炎性细胞浸润 水肿 血栓形成	无 无 无 无 无	少于血管切面 1/3 少量 局限于血管周围组织 少于血管切面 1/3	1/3 ~ 2/3 血管切面 许多 弥漫性水肿 1/3 ~ 2/3 血管切面	大于 2/3 血管切面 弥漫浸润和堆积 整个组织水肿 大于 2/3 血管切面

林,凡士林水浴加热融化后,加入药粉,不断搅拌混匀致冷却),美国 BSA 公司生产的微量恒速注射泵。

1.2 方法

1.2.1 模型制备 参照马丽娟^[7]方法制备 VIN 致静脉炎模型,于小鼠尾静脉近、中 1/3 处向近心端穿刺成功后,空白组按 5 mL/kg(体重)予 0.9% 氯化钠注射液注射,其余 5 组均予 10 mg/mL VIN 注射液静脉注射,给药量为 56.25 mg/kg(体重),给药速度 0.25 μ L/s。

1.2.2 给药方法 1)注射给药的同时预防组小鼠于穿刺点近心端上方予护脉散均匀涂擦(涂满鼠尾全周);预防对照组小鼠采用同样方法予多磺酸粘多糖乳膏涂擦,每次 1 h,间隔 4 h 后再次涂擦药物 1 次。2)注射给药 24 h 后观察组小鼠据上述方法给予护脉散涂擦,每次间隔 6 h,共计给药 3 次,治疗对照组采用同样方法予多磺酸粘多糖乳膏涂擦,模型组小鼠不作任何处理。

1.2.3 检测指标与方法 1)鼠尾肿胀度 给药前、给药 6 h、给药 24 h、给药 48 h 后,均于穿刺点近心端上方 3 cm 处用电子数显卡尺测量鼠尾直径,计算肿胀程度。肿胀度 = [(注射后鼠尾直径 - 注射前鼠尾直径)/注射前鼠尾直径] $\times$ 100%。2)病理学观察 a 静脉给药 6 h 后,脱颈处死预防组、预防对照组小鼠及空白组、模型组各 10 只小鼠;b 静脉给药后 48 h 后,处死观察组、治疗对照组小鼠及空白组、模型组剩下的 10 只小鼠。取各组小鼠尾部从静脉穿刺点至以上 5 cm 尾部组织,迅速置于 10% 福尔马林溶液中固定 4 h 以上,以 20% EDTA 进行脱钙处理后 1 周,再制作成石蜡切片、H-E 染色并进一步分析。病理切片镜下观察内皮细胞脱落、炎性细胞浸润、组织水肿及血栓形成情况。参照 Kuwahar 病理评分方法^[8]进行等级评分。

1.3 统计学方法 计量数据以($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 17.0 统计软件进行单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组鼠尾肿胀度比较 见表 2。与空白组比

较,各组小鼠给药后 6 h,24 h,48 h 鼠尾肿胀度明显增加,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),证明造模方法成功;给药 6 h 后,预防组及预防对照组小鼠鼠尾肿胀度虽较模型组小,但差异无统计学意义($P > 0.05$);给药 48 h 后,观察组和治疗对照组小鼠鼠尾肿胀度与模型组比较,明显减轻,差异有统计学意义($P < 0.01$)。而预防组与预防对照组,观察组与治疗对照组组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 各组鼠尾肿胀度比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	给药 6 h 鼠尾 肿胀度	给药 24 h 鼠尾 肿胀度	给药 48 h 鼠尾 肿胀度
空白组	16.81 $\pm$ 4.32	11.57 $\pm$ 5.03	10.26 $\pm$ 3.15
模型组	23.89 $\pm$ 3.33 *	43.93 $\pm$ 13.39 **	38.39 $\pm$ 5.77 **
预防组	19.57 $\pm$ 4.26 *		
预防对照组	21.43 $\pm$ 3.49 *		
观察组		44.66 $\pm$ 13.05 **	21.66 $\pm$ 9.76 ** Δ
治疗对照组		42.53 $\pm$ 12.99 **	23.01 $\pm$ 5.69 ** Δ

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.01$

2.2 各组小鼠鼠尾病理学评分比较 见表 3。病理图片见图 1。光镜下观察各组鼠尾 HE 染色切片,对照组给药 6 h 及 48 h 后鼠尾静脉内皮光整,无内皮细胞脱落,血管壁周围见少量炎性细胞浸润,血管周围组织稍水肿,血管内无血栓;模型组给药 6 h 后鼠尾静脉内皮粗糙,血管内皮细胞脱落,血管周围组织见炎性细胞浸润,血管周围组织水肿,血管内可见血栓;给药 48 h 后上述情况进一步加重,大量血管内皮细胞脱落,周围组织见大量炎性细胞浸润、堆积,血管周围组织水肿,血栓充满整个静脉管腔,病理评分明显增加,与空白组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。预防组和预防对照组鼠尾静脉病理评分明显低于模型组给药 6 h 后,差异有统计学意义($P < 0.05$),但 2 组间比较无统计学意义($P > 0.05$);观察组和治疗对照组鼠尾静脉病理评分明显低于模型组给药 48 h 后,差异有统计学意义($P < 0.05$),观察组病理评分低于治疗对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 3 各组小鼠鼠尾病理学评分比较($\bar{x} \pm s$, 分)

组别	给药 6 h 后	给药 48 h 后
空白组	2.00 ± 0.71	1.80 ± 0.84
模型组	7.80 ± 0.83 *	10.20 ± 2.82 *
预防组	5.20 ± 1.03 *▲	
预防对照组	5.40 ± 1.17 *▲	
观察组	6.90 ± 1.98 *▲▲△	
治疗对照组	8.30 ± 1.06 *▲	

注:与空白组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$;与治疗对照组比较,△ $P < 0.05$

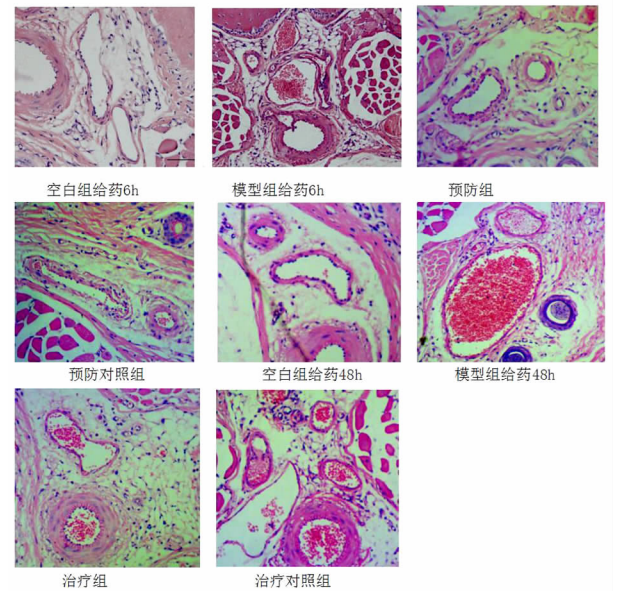


图 1 各组小鼠鼠尾 HE 染色(×200)

注:典型病理图片:光镜下观察各组鼠尾 HE 染色切片,空白组给药 6 h 及 48 h 后鼠尾静脉内皮光滑,无内皮细胞脱落,血管壁周围见少量炎性细胞浸润,血管周围组织稍水肿,血管内无血栓;模型组给药 6 h 后鼠尾静脉内皮粗糙,血管内皮细胞脱落,血管周围组织见炎性细胞浸润,血管周围组织水肿,血管内可见血栓;模型组给药 48 h 后上述情况进一步加重,大量血管内皮细胞脱落,周围组织见大量炎性细胞浸润、堆积,血管周围组织水肿,血栓充满整个静脉管腔,具有化疗性静脉炎基本特征,说明该方法造模成功。预防组鼠尾静脉内皮粗糙,周围见炎性细胞浸润,周围组织水肿,血管腔内未见血栓;观察组炎性细胞浸润进一步增加,静脉管腔内可见占 1/2 管腔血栓形成。预防对照组鼠尾静脉内皮粗糙,周围见炎性细胞浸润,周围组织水肿,血管腔内可见少量血栓形成;治疗对照组炎性细胞浸润明显,血管内皮细胞坏死,脱落,静脉管腔内可见占 2/3 管腔血栓形成

3 讨论

外周浅静脉输注化疗药物,尤其是 VIN 这类发泡剂类细胞毒药物所导致的静脉炎临床非常常见^[9-10],虽然目前其发病机制尚未完全清楚^[11-13],但作为局部无菌性血管炎性反应,化疗性静脉炎所导致的以血管内皮损伤为主的周围血管炎性反应的病

理组织改变业已十分明确:血管内皮细胞因凋亡、坏死、脱落导致血管内皮损伤,大量炎性细胞及血小板对损伤的血管内皮的黏附、浸润,导致血管及周围组织的水肿及血管内血栓形成^[14-15]。“护脉散”是重庆市名中医曾定伦主任医师创制的临床验方,我们将其外敷用于防治化疗性静脉炎,临床观察显示化疗给药前应用该药,能有效预防局部用药血管发红,周周组织肿痛等静脉炎表现^[3],而如果患者化疗后出现输液部位疼痛,输液静脉红肿,条索样改变,周围组织水肿等情况,应用护脉散后亦能迅速改善该症状^[2],但临床观察无法探讨“护脉散”对化疗性静脉炎病理组织改变的临床疗效,本研究拟进行动物实验,来探讨预防性用药及治疗性该药 2 种给药方式,对小鼠静脉炎病理组织学改变情况,为下一步进行静脉炎发病机制及“护脉散”疗效机制研究提供指导。

本研究结果显示模型组小鼠尾静脉给予 VIN 注射液后 6 h 即出现血管内皮细胞脱落,静脉内皮粗糙,血管周围组织见炎性细胞浸润,血管周围组织水肿,血管内已可见有血栓形成;而“护脉散”预防组静脉血管内皮细胞未见脱落,血管内亦未见血栓形成,仅见血管周围组织炎性细胞浸润,组织水肿,病理评分明显低于模型组($P < 0.05$);预防对照组采用多磺酸粘多糖乳膏外敷,病理组织评分亦明显低于模型组($P < 0.05$),虽可见少量血栓形成,但与预防组病理评分差异无统计学意义($P < 0.05$),说明中药“护脉散”和西药多磺酸粘多糖乳膏都有预防 VIN 致化疗性静脉炎发生的疗效,中医素来讲究“上工治未病”,如果能提前用药,减少化疗性静脉炎的发生率,会明显提高肿瘤患者治疗的依从性和生命质量。

本研究给药 48 h 后模型组小鼠尾静脉出现典型的血栓性静脉炎组织病理表现,尾静脉肿胀度明显增加($P < 0.01$),大量血管内皮细胞脱落,周围组织见大量炎性细胞浸润、堆积,血管周围组织水肿,血栓充满整个静脉管腔,病理组织评分较给药前明显增加($P < 0.01$);而治疗对照组小鼠应用多磺酸粘多糖乳膏外敷治疗后,鼠尾肿胀度及病理评分均较模型组显著改善($P < 0.05$),观察组小鼠应用“护脉散”治疗后尾静脉肿胀度虽较治疗对照组差异无统计学意义($P > 0.05$),但其病理组织学评分较治疗对照组改善更加明显($P < 0.05$),提示“护脉散”对于治疗 VIN 引起的化疗性静脉炎疗效优于多磺酸粘多糖乳膏,与我们临床观察结果一致^[2]。

化疗性静脉炎临床表现为局部给药静脉及周围组织红肿,疼痛,静脉颜色加深,条索样改变,根据其临床表现曾定伦主任中医师提出该病“热壅血瘀”的中医病机:静脉穿刺及药物毒性等原因导致脉络创伤,湿热毒邪外侵,脉道不利,阻塞不通,气血瘀滞;瘀血阻滞,血行不畅,不通则痛;气血运行不畅,津液输布受阻则肿胀;瘀血内蕴,蕴久化热,则局部发热、发红。针对其中医病机,曾老师以“清热解毒,消肿软坚、活血化瘀”立法创制“护脉散”。本方据古方《兰室秘藏·疮疡门》“保生救苦散”为基础,原方由:寒水石、大黄、黄柏三味药物组成,曾老师易寒水石为芒硝,取黄芩、黄连代黄柏,加白芷,制成“护脉散”局部外敷治疗本病。本方中生大黄外用能凉血消肿,逐瘀通经,黄连、黄芩清热解毒,凉血消肿,芒硝外用取其清热消肿之功,更重要的是芒硝有软坚散结之效,对于静脉炎发生过程中组织充血,肿胀及脉管壁条索状改变疗效显著,曾老师将寒水石改为石膏,并在该方中重用,加辛散通络止痛之白芷,迅速缓解静脉炎“肿,痛”症状,体现出老中医独特的临床思辨能力。

本研究结果显示“护脉散”能有效阻断和改善化疗性静脉炎血管内皮细胞损伤、炎性细胞浸润,减轻血管周围组织水肿和血管内血栓形成,从而有效预防和治疗化疗性静脉炎,疗效优于多磺酸粘多糖乳膏,具有临床应用价值。

参考文献

- [1] Gasparini G, Caffo O, Barni S, et al. Vinorelbine is an active antiproliferative agent in pretreated advanced breast cancer patients: a phase II study[J]. J Clin Oncol, 1994, 12(10): 2094-2101.
- [2] 邱敏, 邹文娟, 陶劲, 等. 护脉散治疗化疗性静脉炎的疗效观察[J]. 中国药房, 2015, 26(29): 4092-4094.

- [3] 邱敏, 应坚, 刘莉. 护脉膏预防化疗性静脉炎临床疗效观察[J]. 中医临床研究, 2014, 6(2): 29-31.
- [4] Herter J, Zarbock A. Integrin regulation during leukocyte recruitment[J]. The Journal of Immunology, 2013, 190(9): 4451-4457.
- [5] Schnoor M, Alcaide P, Voisin M B, et al. Crossing the vascular wall: common and unique mechanisms exploited by different leukocyte subsets during extravasation[J]. Mediators of inflammation, 2015: 1-23.
- [6] Voisin M B, Nourshargh S. Neutrophil transmigration: emergence of an adhesive cascade within venular walls[J]. Journal of innate immunity, 2013, 5(4): 336-347.
- [7] 马丽娟, 王卓, 胡晋红. 西咪替丁对长春瑞滨所致输液性静脉炎的防治作用[J]. 药学服务与研究, 2009, 9(5): 340-343.
- [8] Kohno E, Murase S, Nishikata M, et al. Methods of preventing vinorelbine-induced phlebitis: an experimental study in rabbits[J]. International journal of medical sciences, 2008, 5(4): 218.
- [9] Shum E, Halmos B, Cheng H, et al. Vinorelbine-induced phlebitis is common in patients receiving adjuvant chemotherapy for non-small cell lung cancer (NSCLC) [C]//ASCO Annual Meeting Proceedings. 2016, 34(15): 3-7.
- [10] 麦荣国, 覃彪民. 瘀肿消贴治疗急性软组织损伤的临床价值[J]. 中国医药, 2012, 7(4): 419-420.
- [11] Konaka K, Moriyama K, Okada N, et al. Ephedra protects vascular endothelium cells from vinorelbine - induced cytotoxicity by preserving endothelial nitric oxide synthase activity[J]. Traditional & Kamppo Medicine, 2015, 2(2): 74-80.
- [12] 周秀敏, 朱丽杰, 张秀梅, 等. 中医药防治化疗性静脉炎的新进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2013, 22(3): 338-340.
- [13] 王红, 吴婷婷, 卢慧芳, 等. 长春瑞滨致家兔化疗性静脉炎血清 TNF- α 变化趋势研究[J]. 护理学杂志: 外科版, 2015, 30(1): 48-49.
- [14] 张小来, 叶希平, 陈晓蓉, 等. 热敷法预防家兔化疗性静脉炎效果观察及机制探讨[J]. 山东医药, 2013, 53(22): 22-24.
- [15] 周留勇, 尤建良, 单珍珠, 等. 复脉膏外敷防治长春瑞滨致兔耳缘静脉损伤的病理实验研究[J]. 四川中医, 2014, 32(5): 58-61.

(2016-07-15 收稿 责任编辑: 洪志强)

(上接第 2433 页)

- [6] 钱毅, 薛耀明, 李佳, 等. 六味地黄丸对自发性 2 型糖尿病大鼠血浆脂联素水平的影响[J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(1): 34-36.
- [7] Hanifi-Moghaddam P, Kappler S, Seissler J, et al. Altered chemokine levels in individuals at risk of Type 1 diabetes mellitus[J]. Diabet Med, 2006, 23(2): 156-163.
- [8] 毛淑梅, 李承德, 王琳, 等. 黄芪多糖对糖尿病大鼠胰岛 β 细胞超微结构及 Fas 表达的影响[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(6): 791-793.
- [9] 杨宏莉, 张宏馨, 李兰会, 等. 山药多糖对 2 型糖尿病大鼠降糖机理的研究[J]. 河北农业大学学报, 2010, 33(3): 100-103.
- [10] 赵大鹏, 隋艳波, 栾仲秋, 等. 洋参御糖方对糖尿病大鼠糖脂代谢的干预作用[J]. 中医药信息, 2013, 30(2): 44-45.

- [11] 谢宁, 王小博, 吴颂. 洋参御糖丸对 STZ-DM 大鼠血脂影响的实验研究[J]. 长春中医药大学学报, 2008, 24(2): 133-134.
- [12] 暴鹏. 洋参御糖丸对 STZ-2DM 大鼠 TNF- α 、IL-6 以及 GLUT-4 等表达调节的实验研究[D]. 哈尔滨: 黑龙江中医药大学, 2007.
- [13] 赵大鹏, 栾仲秋, 隋艳波, 等. 洋参御糖丸对糖尿病肾病模型大鼠肾组织 TGF- β_1 、Smad2/3 表达的影响[J]. 中医药学报, 2014, 42(6): 63-65.
- [14] 潘善余. 糖尿病从脾论治探讨[J]. 浙江中医杂志, 2004, 39(1): 6-7.
- [15] 王德惠, 吴贤顺, 李晋宏, 等. 从脾虚“脾不散精”或“散精障碍”探讨糖尿病的中医病机[J]. 中医杂志, 2014, 55(22): 1906-1908.

(2017-03-10 收稿 责任编辑: 王明)