

择时服用大承气汤对阳明腑实证大鼠影响的形态学观察

廖宗力¹, 潘慧², 李仕能², 尹栋梁², 沈志勇³

1. 广州中医药大学针灸康复临床医学院 2012 级硕士研究生, 广东 广州 510405

2. 湖南中医药大学, 湖南 长沙 410007

3. 广州中医药大学, 广东 广州 510405

[摘要] 目的: 探究不同时辰对阳明腑实证模型 SD 大鼠灌胃大承气汤的形态学变化, 以取得最佳疗效的服药时辰。方法: 将 70 只 SD 大鼠, 随机分为辰时 (8 点) 组、巳时 (10 点) 组、午时 (12 点) 组、未时 (14 点) 组、申时 (16 点) 组、酉时 (18 点) 组和对照组。造模后分别于各时辰点以大承气汤 (19g/kg) 灌胃, 观察给药前后的体温、腹围以及胃、结肠病理形态学变化。结果: ①体温: 造模后各实验组体温均升高 ($P < 0.05$)。在灌胃大承气汤后, 实验组与造模后比较体温下降 ($P < 0.05$)。灌药后午时组体温高于辰时组、巳时组 ($P < 0.05$), 未时组、申时组、酉时组体温均高于辰时组 ($P < 0.05$)。②腹围: 与对照组比较, 造模后各实验组腹围均缩小 ($P < 0.05$), 大承气汤灌胃后, 各实验组腹围均缩小, 其中辰时组缩小最明显 ($P < 0.05$)。各时辰点灌药后形态学存在差异, 以辰时 (8 点) 组形态学变化最明显, 午时 (12 点) 组变化最小, 其他各组介于 2 组之间。结论: 不同时辰给药的形态学变化存在差异, 在白天的 6 个时辰中以辰时服药变化最显著, 午时变化最不明显, 其余时辰变化介于上述两者之间。

[关键词] 择时服药; 阳明腑实证; 大承气汤; 形态学

[中图分类号] R285.5

[文献标识码] A

[文章编号] 0256-7415 (2013) 12-0164-04

根据人体生命节律择时给药治疗疾病, 是中医辨证论治理论体系的重要组成部分。随着时间医学的兴起, 择时给药理论逐渐引起广泛重视与研究。择时服药对诱导人体节律复常, 提高药物疗效, 减少服药的不良影响有重要作用。本实验根据择时服药理论, 结合子午流注理论, 选用《伤寒论》经方大承气汤, 择时灌胃阳明腑实证大鼠, 并进行形态学观察, 探讨择时服用大承气汤治疗阳明腑实证疗效的影响, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物与分组 健康 SD 大鼠, 雄性, 体重 (250 ± 20)g, 由湖南中医药大学 SPF 动物实验中心提供。将 SD 大鼠按随机数字表法分为对照组和实验组: 辰时组 (07: 00~09: 00, 灌药时间取 08: 00)、巳时组 (09: 00~11: 00, 灌药时间取 10: 00)、午时

组 (11: 00~13: 00, 灌药时间取 12: 00)、未时组 (13: 00~15: 00, 灌药时间取 14: 00)、申时组 (15: 00~17: 00, 灌药时间取 16: 00)、酉时组 (17: 00~19: 00, 灌药时间取 18: 00)。对照组正常进食水、饲料。实验组在本组时辰的灌药时间以大承气汤适量灌胃。

1.2 材料 精致冻干大肠杆菌内毒素 (O111 : B4, 由上海申索生物科技有限公司提供), 实验前在无菌条件下, 用生理盐水将内毒素制成 16.67 μg/mL 溶液, 标记备用, 置于 4℃ 冰箱保存。速尿注射液 (由上海海曲化工有限公司提供), 每支 20mg/2mL, 次硝酸铋片 (由石药集团欧意药业有限公司提供), 每片 0.3g; 大承气汤: 大黄、枳实各 12g, 芒硝 9g, 厚朴 24g。湖南中医药大学第一附属医院药剂科提供, 上方制成含生药 1g/mL 溶液, 置于 4℃ 冰箱保存。

[收稿日期] 2013-05-22

[基金项目] 湖南省大学生创新性实验研究项目 (编号: 2009161)

[作者简介] 廖宗力 (1988-), 男, 在读硕士研究生, 主要从事针灸治疗临床疾病的研究。

ELISA 试剂盒(由美国 R&D 公司提供)。主要检测仪器: 12 道排枪、单道移液器、单道移液器(Eppendorf 公司产), 酶标仪(深圳汇松 MB530 公司产), 自动洗板机(深圳汇松 PW-960 公司产), 低温高速离心机(Sigma 公司产)。

1.3 造模与给药 造模方法参照文献^[1]略加变动, 在实验前 2 天, 按大鼠体重以 2.4g/kg 的剂量灌胃次硝酸铋悬浊液, 每天 1 次, 共 2 次。该悬浊液由次硝酸铋片研为粉末, 按每只大鼠体重称量后混入 2mL 生理盐水中制成。实验前 1 天大鼠禁水 24h, 并于大腿外侧肌肉丰厚处肌肉注射速尿注射液 16mg/kg, 1h 后以相同剂量重复注射; 速尿注射后 2h, 由尾静脉注射大肠杆菌内毒素 20 μ g/kg。于造模后第 2 天, 各组大鼠在本组灌胃时间点以大承气汤 19g/kg 灌胃。对照组于 8:00 以 19mL/kg 生理盐水灌胃。

1.4 观察指标 ①一般症状: 饮食, 二便, 呼吸, 活动, 眼结膜, 心跳。②体温: 造模前 1 周, 每天早、中、晚各测 1 次体温(肛温), 取平均值为基础值; 造模时, 注射内毒素后每 0.5h 测 1 次, 共 8 次, 取峰值, 大承气汤给药后 2h 时测 1 次。③腹围: 测体温同时测量大鼠腹围。测量方法: 取大鼠自然直立

位, 用软质皮尺紧贴大鼠双后肢髂脊, 测量髂脊上缘的腹围。采血后立即取相同段胃和结肠组织, 10% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋常规制片, HE 染色, 光镜下病理形态学观察。

1.5 统计学方法 数据处理采用 SPSS16.0 软件包。所得数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 采用方差分析。

2 结果

2.1 一般症状 对照组在全实验过程中正常, 无明显病理变化。各实验组大鼠在造模后腹部灼热、痞硬, 大便干结, 排便明显减少, 食量显著下降甚至拒食, 腹围缩小, 排尿次数及尿量明显减少, 口渴, 甚至相互舔舐小便, 伴耸毛、蜷卧、发抖、耳廓发热、躁动不安、眼结膜充血、心跳呼吸加快等。

2.2 各组 SD 大鼠体温、腹围变化比较 见表 1。①体温: 造模后各实验组体温均升高($P < 0.05$)。在灌胃大承气汤后, 实验组与造模后比较体温下降($P < 0.05$)。午时组体温高于辰时组、巳时组($P < 0.05$), 未时组、申时组、酉时组体温均高于辰时组($P < 0.05$)。②腹围: 与对照组比较, 造模后各实验组腹围均缩小($P < 0.05$), 大承气汤灌胃后, 各实验组腹围均缩小, 其中辰时组缩小最明显($P < 0.05$)。

表 1 各组 SD 大鼠体温、腹围变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量(g/kg)	体温($^{\circ}$ C)			腹围(mm)		
			造模前	造模后	给药后	造模前	造模后	给药后
对照组	10	19	37.19 \pm 0.15	37.21 \pm 0.14	37.08 \pm 0.13	15.65 \pm 0.08	15.64 \pm 0.068	15.6 \pm 0.15
辰时组	10	19	37.36 \pm 0.07	38.13 \pm 0.18 ^①	36.66 \pm 0.13 ^{②③}	15.73 \pm 0.09	14.52 \pm 0.07 ^①	13.6 \pm 0.11 ^⑤
巳时组	10	19	37.48 \pm 0.15	38.35 \pm 0.22 ^①	37.08 \pm 0.17 ^{②③}	15.80 \pm 0.10	14.68 \pm 0.11 ^①	13.98 \pm 0.10
午时组	10	19	37.24 \pm 0.13	38.53 \pm 0.23 ^①	37.96 \pm 0.10 ^②	15.82 \pm 0.11	14.64 \pm 0.04 ^①	14.48 \pm 0.17
未时组	10	19	37.31 \pm 0.09	38.05 \pm 0.14 ^①	37.56 \pm 0.21 ^{②③}	15.80 \pm 0.13	14.64 \pm 0.11 ^①	14.41 \pm 0.10
申时组	10	19	37.35 \pm 0.16	38.21 \pm 0.22 ^①	37.53 \pm 0.31 ^{②④}	15.8 \pm 0.13	14.80 \pm 0.13 ^①	14.43 \pm 0.16
酉时组	10	19	37.32 \pm 0.05	38.00 \pm 0.20 ^①	37.33 \pm 0.09 ^{②④}	15.8 \pm 0.04	14.72 \pm 0.11 ^①	14.57 \pm 0.10

与本组造模前比较, ① $P < 0.05$; 与本组造模后比较, ② $P < 0.05$; 与午时组给药后比较, ③ $P < 0.05$; 与辰时组给药后比较, ④ $P < 0.05$; 与本组造模后比较, ⑤ $P < 0.05$

2.3 胃、结肠病理形态学观察 造模后内毒素使大鼠胃和结肠发生炎症反应, 表现为黏膜上皮细胞脱落, 炎症细胞浸润, 黏膜下毛细血管充血等。大承气汤对这些内毒素炎性反应有一定的改善作用^[2]。笔者观察到在应用大承气汤后, 各实验组的炎性改变有不同程度的改善。胃、结肠辰时组与对照组最接近(图 2, 图 9), 胃、结肠巳时组仅见轻微炎性征象(图 3, 图 10), 午时组无明显改善(图 4, 图 11), 其余各组

均有一定程度改善, 介于辰时组和午时组之间(图 5, 图 6, 图 7, 图 12, 图 13, 图 14)。

3 讨论

中医时间医学是指在中医药理论的指导下, 从整体上研究人体生命活动的周期性, 并指导临床诊断、治疗、预防和养生的一门科学。它是中医学的一个分支学科, 是中医药学的重要组成部分^[3]。根据人体生命节律择时给药治疗疾病, 是中医辨证论治理论

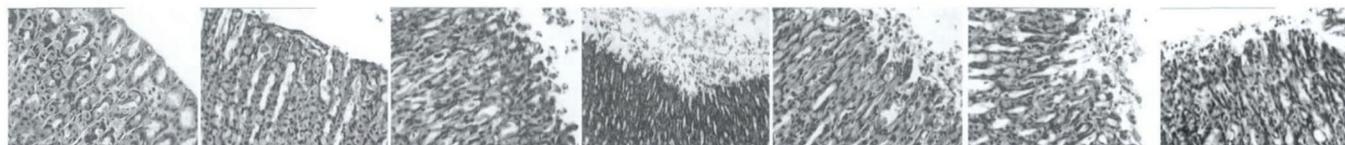


图1 胃对照组: 胃黏膜层光滑, 无充血, 无炎症细胞浸润, 无脱落。
 图2 胃辰时组: 高倍镜下胃黏膜层欠光滑无充血, 无炎症细胞浸润, 无脱落。
 图3 胃巳时组: 高倍镜下胃黏膜层细胞少量脱落, 有少量炎性细胞浸润。
 图4 胃午时组: 高倍镜下胃黏膜上皮细胞脱落较甚, 炎性细胞浸润, 黏膜下毛细血管充血。
 图5 胃未时组: 高倍镜下胃黏膜少量脱落, 少量炎性细胞浸润, 黏膜下毛细血管充血。
 图6 胃申时组: 高倍镜下胃黏膜少量脱落, 黏膜下毛细血管轻度充血。
 图7 胃酉时组: 高倍镜下胃黏膜炎性细胞浸润, 少量脱落, 未见黏膜下充血。



图8 结肠对照组: 低倍镜下见结肠组织黏膜上皮光滑, 无上皮细胞脱落, 无炎症细胞浸润, 无黏膜下充血, 黏膜下腺体排列整齐有序。
 图9 结肠辰时组: 低倍镜下见结肠组织无上皮细胞脱落, 无炎症细胞浸润, 无黏膜下充血。
 图10 结肠巳时组: 低倍镜下见结肠组织黏膜上皮欠光滑, 黏膜下有少量上皮细胞脱落, 无炎症细胞浸润, 未见黏膜下充血。
 图11 结肠午时组: 低倍镜下见结肠组织黏膜上皮细胞脱落, 黏膜下炎性浸润, 分泌物较多, 黏膜下腺体排列欠规整。
 图12 结肠未时组: 低倍镜下见结肠组织黏膜上皮细胞脱落, 黏膜下少量炎性浸润, 轻度毛细血管充血。
 图13 结肠申时组: 低倍镜下见结肠组织黏膜少量上皮细胞脱落, 黏膜下轻度炎性浸润。
 图14 结肠酉时组: 低倍镜下见结肠组织黏膜上皮细胞脱落, 黏膜下毛细血管轻度充血, 黏膜下腺体排列较不规整。

体系的重要组成部分。

现代医学时辰药理学表明, 研究时间相关的机体对药物的反应, 包括药理效应与毒性、药代动力学和生物利用度等随时间发生变化的规律。人体的激素分泌、酶的活性都呈节律性变化, 机体对药物的生物利用度、血药浓度、代谢排泄也是有节律性的改变。根据机体自身的节律变化选择合适的用药时机及新型智能药物, 达到最小剂量、最佳疗效、最小毒性来保持药物安全有效, 对改善患者的生存质量很有意义^[4]。

本研究根据择时服药理论, 结合子午流注理论; 阳明之气旺于申酉之时, 阳明潮热当以申酉时见长等综合理论, 选用《伤寒论》经方大承气汤, 进行白天6个时辰择时服药的动物实验研究, 观察不同时辰灌胃大承气汤对阳明腑实证模型SD大鼠形态学改变的影响, 为临床择时服药, 诱导紊乱的人体节律复常, 提高疗效, 减少泻下药的不良影响提供科学实验依据, 进一步丰富时间医学理论, 使中医药临床更加客观化、科学化。

结果还显示, SD大鼠的形态学改变与服药时辰相关, 不同时辰给药而产生的变化存在差异, 各实验组造模后体温、腹围以及胃、结肠等在形态上与对照组以及自身前后对比产生显著差异, 当灌胃大承气汤后, 这种改变向着造模前恢复, 并提示上午8点(辰

时)和10点(巳时)的服药这种形态学恢复最明显, 中午12点(午时)服药相比较差, 其他时辰介于以上2组之间, 为中医学“择时服药”的观点提供了一定的科学根据。为开辟中医治疗新思路, 切实提高中医药疗效寻找新契机。

有实验表明, 鼠类的昼夜活动周期和人类完全相反^[5-6], “白昼休息, 夜间活动, 其摄食, 进水主要在其活动期”^[7]。本研究结果表明, 白天6个时辰中, 8点(辰时)和10点(巳时)服药疗效较佳, 而这2个时辰刚刚好对应人类的入夜时段, 这在一定程度上印证了金元时期张子和在其常用的导水丸、禹功散、神佑丸等攻下剂后注明“临卧服”的观点。中医学认为, 临卧入夜时阳气渐衰, 阴气渐甚, 气机成敛降之势, 此时服用泻下药, 药力可借助阳气收降之势, 入里而助其发挥攻下作用。大鼠12点(午时)服药疗效最差, 此时对应人类的子时, 阳气深伏阴分潜藏, 阴气主事, 机体处于相对静态, 某种程度上不利于泻下药物作用的发挥, 故此时不宜服药。中医学理论中天人相应、因时制宜, 强调人与自然界是一个整体, 这就要求在诊断治疗疾病时必须参照昼夜交替的自然法则, 充分认识时间节律变化对人体内环境的影响, 探求时辰药理规律, 在治疗用药时依据时间医学相关理论和规律, 往往运用精妙得当, 则会收到事半功倍之

疗效。

[参考文献]

- [1] 张喜奎, 李森. 土燥水竭证动物模型研制[J]. 福建中医学院学报, 2004, 14(2): 35-40.
- [2] 邓文龙, 龚世蓉, 周莉萍. 近年中医方剂药理学研究进展(上)[J]. 中国实验医学杂志, 1995, 1(1): 3-6.
- [3] 张年顺, 宋乃光. 实用中医时间医学[M]. 上海: 上海中医学院出版社, 1991: 4.
- [4] 梁芝萍, 丁萌. 临床用药切勿忽视时辰药理[J]. 华北国防医药, 2009, 21(5): 28-29.
- [5] 伊藤真次. 人体昼夜节律[M]. 重庆: 重庆出版社, 1983: 150.
- [6] 罗卫芳, 郭树仁, 李国卿. 择时应用大承气汤对小鼠泻下作用的时辰差异[J]. 中药药理与临床, 1995, 11(3): 7-9.
- [7] 来建国. 庆大霉素在小鼠的时辰毒性及时辰药代动力学[J]. 药理学报, 1991, 9(6): 26.

(编辑: 马力)

扶芳藤丹参合剂预处理通过 JAK/STAT 通路干预 心肌缺血再灌注损伤炎症反应的研究

王庆高¹, 卢健棋¹, 朱智德², 李成林¹, 覃裕旺¹, 潘朝铨¹, 何新兵¹, 杨春花¹

1. 广西中医药大学第一附属医院, 广西 南宁 530023; 2. 广西中医药大学制药厂, 广西 南宁 530023

[摘要] 目的: 观察扶芳藤丹参合剂预处理通过 JAK/STAT 通路干预心肌缺血再灌注损伤中的炎症反应。方法: 选用大鼠建立冠状动脉粥样硬化模型, 造模成功后随机分为假手术组、缺血再灌注 (I/R) 组、缺血预处理 (IPC) 组、缺血预处理 (IPC) + AG490 组、扶芳藤丹参合剂预处理组、扶芳藤丹参合剂预处理 + AG490 组。缺血再灌注后观察各组心肌梗死面积, 磷酸肌酸激酶 (CK)、乳酸脱氢酶 (LDH)、肿瘤坏死因子 (TNF- α)、NF- κ B、p-JAK2 及 p-STAT3 含量。结果: 扶芳藤丹参合剂预处理组及 IPC 组 p-JAK2, p-STAT3 均明显升高, 与 I/R 组比较, 差异均有非常显著性意义 ($P < 0.01$)。I/R 组心肌梗死面积、CK 及 LDH、TNF- α , NF- κ B 明显增高, 扶芳藤丹参合剂预处理组及 IPC 组, 与 I/R 组相比, 心肌梗死面积、CK 及 LDH、TNF- α , NF- κ B 明显降低 ($P < 0.01$)。IPC + AG490 组、扶芳藤丹参合剂预处理 + AG490 组 p-JAK2, p-STAT3 与 I/R 组比较升高不明显 ($P > 0.05$), 而心肌梗死面积、CK 及 LDH、TNF- α , NF- κ B 均较 IPC 组、扶芳藤丹参合剂预处理组升高 ($P < 0.01$)。结论: 扶芳藤丹参合剂预处理能够通过激活 JAK/STAT 通路而抑制炎症反应, 从而减少心肌缺血再灌注损伤。

[关键词] 心肌缺血再灌注; 扶芳藤丹参合剂; JAK/STAT 通路; 预处理; 细胞信号转导

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2013) 12-0167-04

研究表明, 炎症反应在心肌缺血再灌注损伤中发挥了重要作用^[1], 抑制炎症反应在防治缺血再灌注损伤中具有重要意义。Janus 激酶信号转导子与转录激活子 (JAK/STAT) 信号转导通路广泛参与细胞的增殖、

分化、凋亡以及免疫调节、炎症、肿瘤等多种生理、病理过程, 尤其显示出是预处理的中心环节^[2-3]。在预处理中, 对 JAK/STAT 与炎症反应的关系研究不多。本研究观察扶芳藤丹参合剂预处理通过 JAK/STAT 通

[收稿日期] 2013-07-01

[基金项目] 广西自然科学基金项目 (编号: 桂科自 0991162)

[作者简介] 王庆高 (1971-), 男, 副教授, 副主任医师, 研究方向: 心血管疾病中西医结合防治。