

# 建立一种新型痔疮动物模型的方法研究

周俊<sup>1</sup>, 吕小会<sup>1</sup>, 党丽云<sup>1</sup>, 程晓玲<sup>2</sup>, 刘元<sup>1</sup>, 舒庆<sup>3\*</sup> (1. 陕西中医药大学附属西安市胸科医院药剂科, 西安 710100; 2. 西安交通大学附属儿童医院药学部, 西安 710016; 3. 西安交通大学附属西安第九医院临床药学室, 西安 710054)

**摘要:** 目的 探索和建立一种较为接近人体痔疮实际病理症状的新型实用痔疮动物模型。方法 根据人类痔疮的肛管局部静脉曲张、血流瘀滞、微循环障碍、局部炎症等病理特征及药理学原理, 选用几种药物试剂包括微循环阻滞剂、肠道平滑肌运动抑制剂及致炎、致肿胀试剂等, 以合适剂量联合应用, 采用肛直肠局部皮下注射给药, 诱发 SD 大鼠痔疮症状的发生。结果 通过为期 2 周的造模实验及观测发现, 此种造模方法能够产生类似于人类痔疮的临床症状表现, 如肛周红肿、排便不畅等, 并显著增加模型动物的肛周直径。在大鼠肛直肠病理切片的观察中发现, 模型动物肛直肠部有较明显的血管增生、血栓、痔核形成及炎症、肉芽肿等病理变化, 能较好地反映痔疮病理症状。结论 此方法可以建立起接近临床疾病真实表现且稳定可靠的痔疮动物模型。

**关键词:** 痔疮; 抗痔药物; 痔疮模型; 造模方法

中图分类号: R965.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2019)05-0526-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2019.05.003

引用本文: 周俊, 吕小会, 党丽云, 等. 建立一种新型痔疮动物模型的方法研究[J]. 中国现代应用药学, 2019, 36(5): 526-531.

## Method Exploration for Establishing a New Type of Animal Model of Hemorrhoids

ZHOU Jun<sup>1</sup>, LYU Xiaohui<sup>1</sup>, DANG Liyun<sup>1</sup>, CHENG Xiaoling<sup>2</sup>, LIU Yuan<sup>1</sup>, SHU Qing<sup>3\*</sup> (1. Pharmacy Department, Xi'an Chest Hospital, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 710100, China; 2. Pharmacy Department, Xi'an Jiaotong University Affiliated Children's Hospital, Xi'an 710016, China; 3. Clinical Pharmacy Department, Xi'an Jiaotong University Affiliated Xi'an Ninth Hospital, Xi'an 710054, China)

**ABSTRACT: OBJECTIVE** To explore and establish a new and practical hemorrhoids model which is relatively closer to the actual pathological symptoms of human hemorrhoids. **METHODS** According to the pathological characteristics of human hemorrhoids, such as local varicose veins of the anal canal, blood stasis, microcirculation disorder and local inflammation, combined with the principles of pharmacology, chose several drugs and reagents including microcirculation blockers, intestinal smooth muscle movement inhibitors, pro-inflammation and swelling reagents, at appropriate doses administrated together via local subcutaneous injection in anal canal, to induce hemorrhoids symptoms in SD rats. **RESULTS** After the 2-week modeling experiment period and the subsequent observations, this model-building method produced a series of symptoms similar to the clinical symptoms of human hemorrhoids, such as inflamed crissum and constipation, and significantly increased the crissum diameter of the modeling animals. In the histological and pathological observations of the anal canal of rats, the pathological changes including vessels hyperplasia, thrombus, haemorrhoids, inflammation and granulomatous were observed in the animal model, which could well simulate and reflect the pathological symptoms of human hemorrhoids. **CONCLUSION** This method can establish a stable and reliable animal model of hemorrhoids with manifestations of the clinical disease symptoms.

**KEYWORDS:** hemorrhoids; anti-hemorrhoids drugs; hemorrhoids model; modeling method

痔疮是一种最常见的肛肠科疾病, 同时也是一种人类特有的常见多发病, 严重影响人们的健康与生活<sup>[1-2]</sup>。痔疮又称痔核, 其实质部分主要由扩张、壁薄且充满滞留血液的异常静脉组成, 静脉内常有血栓形成, 此外还常见数量不等的浆细胞、淋巴细胞、中性粒细胞浸润及肉芽肿等炎症变化, 表面可有溃疡形成<sup>[3-4]</sup>。痔疮的临床干预主要

有手术和药物治疗。除严重的内痔和混合痔首选手术治疗外, 轻中度痔疮最适合采用药物治疗<sup>[5-7]</sup>。从中草药资源中开发廉价、高效的痔疮治疗药物具有广阔的发展前景<sup>[5,8]</sup>。虽然目前痔疮治疗药物的种类较多, 但主要用于缓解 I、II 期痔疮轻中度症状。因此需对痔疮的病因和发病机制作深入研究, 促进抗痔新药的研发<sup>[9]</sup>。而如何制作较为符

基金项目: 陕西省自然科学基金基础研究计划项目(2017JQ8016)

作者简介: 周俊, 男, 博士, 主管药师 Tel: (029)62500387  
药师 Tel: (029)82322075 E-mail: shuqinglwz@sina.com

E-mail: zhoujun2364@163.com

\*通信作者: 舒庆, 男, 博士, 主管

合人体痔疮病理特征动物模型是抗痔新药临床前药效学研究中亟待解决的重要问题<sup>[5,10-11]</sup>。国内外目前公认的合理且成熟的痔疮模型尚少见。最常用的造模方法是使用化学试剂局部刺激诱发炎症<sup>[7,12-14]</sup>，模型效果不够理想，且观察指标主要为炎症相关病理变化，其造模部位及症状表现与人体痔疮的复杂病理相去甚远。以往的痔疮模型一般只注重痔疮的局部病理表现，忽略了痔疮的发病原因和病理发生发展的多种因素。因此，有必要研发新型的痔疮模型，从痔疮发病因素和病理机制等方面综合考虑，建立科学可靠的痔疮动物模型。

本研究在比较分析现有各种痔疮造模方法的基础上，在进一步的模型改造过程中，以消化道疾病模型常用动物 SD 大鼠为研究对象<sup>[15-16]</sup>，选用合理药物和相关试剂，协同作用于肛肠局部血管和肠道平滑肌，诱导局部静脉曲张、血流瘀滞和炎症肿胀等症状，以更好地模拟痔疮的复杂病理症状，选择出简便有效的模型方法。现将该模型方案中的 2 组造模条件及痔疮模型效果报道如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物

健康 SD 大鼠，♂，30 只，普通级，体质量 200~250 g，状态良好，由西安交通大学医学院实验动物中心提供，动物质量合格证：0019020，动物生产许可证：SCXK(陕)2012-003，动物使用许可证：SYXK(陕)2012-003。动物房饲养环境：(22±2)℃，相对湿度 60%，12 h/12 h 昼夜环境，自由摄食和饮水。代谢笼单笼饲养 1 周，适应单笼饲养环境后即开始实施造模实验方案。动物实验严格遵照西安交通大学医学院实验动物伦理委员会指导实施。

### 1.2 药品和试剂

溴丙胺太林(普鲁本辛)原料药标准品(中国食品药品检定研究院，产品编号：100471；规格：每小瓶 100 mg；纯度：98.6%)；酚磺乙胺注射剂(湖北天药药业股份有限公司，国药准字 H42020039，批号：20140904；规格：每支 2 mL 含 0.5 g)；盐酸消旋山莨菪碱注射剂(安阳九州药业，国药准字 H41023061，批号：20140503；规格：每支 1 mL 含 10 mg)；角叉菜胶粉末(货号：C1013；规格：20 g)、脂多糖粉末(货号：L2630；规格：25 mg)

均购自美国 Sigma 公司。

### 1.3 实验器材

大鼠代谢笼(北京佳源兴业科技有限公司)；224-1CN 电子天平(德国 Sartorius)；游标卡尺(成都成量工具集团有限公司)；CUT4062 石蜡切片机(德国 SLEE)；OLYMPUS BX51 显微镜(日本 Olympus)；Nikon DXM1200 摄像系统(日本 Nikon)。

### 1.4 实验方案

**1.4.1 药物配制** 取角叉菜胶干粉用生理盐水配成 1% 的待用溶液。脂多糖原粉用生理盐水配成 0.5% 的待用溶液，于冰箱 4℃ 保存。取溴丙胺太林原料药，加生理盐水配成 10 mg·mL<sup>-1</sup> 的待用溶液。酚磺乙胺注射液和盐酸消旋山莨菪碱注射液直接按原剂型使用。

**1.4.2 分组给药** 将 30 只 SD 大鼠随机平均分为 3 组：对照组、实验组①、实验组②。实验组①的每只动物每次注射药量为角叉菜胶溶液 100 μL+脂多糖溶液 10 μL+山莨菪碱注射液 20 μL+酚磺乙胺注射液 30 μL。实验组②的每只动物每次注射药量为角叉菜胶溶液 100 μL+脂多糖溶液 10 μL+溴丙胺太林溶液 40 μL+酚磺乙胺注射液 30 μL。对照组的每只动物每次注射生理盐水 170 μL。各组动物注射点均在肛门以内 0.2 cm 处，4 点位黏膜下浆肌层，每天于 21:00 按时给药 1 次，连续给药 7 d。

### 1.5 指标检测

**1.5.1 一般情况观察** 每天观察、记录大鼠肛周红肿、排便不畅、便血等情况及不适体征(如肌肉过度紧张、自发及行动诱发性疼痛)。观察时间段为给药前 1 h 开始持续观察 60 min。主要以正常活动量的减少、全身或部分肌肉紧张、非正常舔舐等行为来反映大鼠的活泼程度。评分规则约定如下，5 分：饮食、探索等活动自由轻快，全身无肌肉紧张或震颤，无非正常舔舐行为；4 分：饮食、探索等活动较自由轻快，偶有部分肌肉紧张或震颤，无非正常舔舐行为；3 分：饮食、探索等活动迟缓，偶有部分或全身肌肉紧张，偶有非正常舔舐行为；2 分：饮食、探索等活动明显减少，较常见部分或全身肌肉紧张，偶有非正常舔舐行为；1 分：饮食、探索等活动明显减少且行动困难，常见全身肌肉紧张颤抖，常见非正常舔舐行为；0 分：死亡。相对正常情况，肛周出现红、肿、炎性渗出液分泌增多等均视为肛周红肿症状。“排便不

畅”是动物类似于人类便秘的症状，直肠肛管内长时有粪便的异常滞留，反映直肠和肛门肌肉功能受损。肛周红肿程度及排便不畅情况评分从 0 至 5 分为从正常到逐渐加重。

**1.5.2 肛周肿胀程度** 在每次一般情况观察完毕和给药之前，测量大鼠肛周直径。对每只大鼠用游标卡尺精确测量 3 次，取平均值。

**1.5.3 病理切片制作与观察** 在实验观测进行 14 d 后，以稍过量水合氯醛( $500\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )腹腔注射麻醉，腹部解剖，并切取肛管至直肠段 2 cm 范围组织，经 4% 甲醛溶液固定 48 h，再经石蜡包埋、切片、染色等步骤制成 HE 染色切片标本，于阴凉处晾干。用显微镜和摄像系统(Nikon ACT-1 图像处理软件)拍摄切片的显微照片( $100\times$ 光镜下)，并做进一步的组织病理学观察分析。

## 1.6 统计学方法

采用 SPSS 18.0 数据分析软件进行资料的统计分析，计量资料数据取每组各时间点的平均值，用  $\bar{x}\pm s$  表示，各组间均值比较采用重复测量资料的方差分析(repeated measures ANOVA)，检验水准为双侧检验  $\alpha=0.05$ ，以检验概率  $P<0.05$  时认为差异具有统计学意义。

表 1 各组大鼠活泼程度、肛周红肿及排便不畅情况评分汇总分析表( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

Tab. 1 Scoring and analysis results showing the active behavior, perianal redness and defecation of rats in each group ( $\bar{x}\pm s, n=10$ )

| 实验<br>天数/d | 活泼评分    |                       |                       | 红肿评分    |                       |                       | 排便不畅评分  |                       |                       |
|------------|---------|-----------------------|-----------------------|---------|-----------------------|-----------------------|---------|-----------------------|-----------------------|
|            | 对照组     | 实验组①                  | 实验组②                  | 对照组     | 实验组①                  | 实验组②                  | 对照组     | 实验组①                  | 实验组②                  |
| 1          | 5.0±0.0 | 5.0±0.0               | 5.0±0.0               | 0.0±0.0 | 0.0±0.0               | 0.0±0.0               | 0.0±0.0 | 0.0±0.0               | 0.0±0.0               |
| 2          | 4.8±0.2 | 4.7±0.5               | 4.0±0.4               | 0.2±0.2 | 3.4±0.5 <sup>2)</sup> | 3.2±0.4 <sup>2)</sup> | 0.0±0.0 | 1.3±0.5 <sup>1)</sup> | 1.9±0.7 <sup>1)</sup> |
| 3          | 4.9±0.3 | 4.4±0.5               | 3.1±0.3 <sup>1)</sup> | 0.3±0.5 | 4.0±0.3 <sup>2)</sup> | 4.2±0.6 <sup>2)</sup> | 0.0±0.0 | 1.7±0.6 <sup>1)</sup> | 2.7±0.5 <sup>2)</sup> |
| 4          | 4.6±0.3 | 0.6±0.4 <sup>2)</sup> | 0.4±0.2 <sup>2)</sup> | 0.5±0.2 | 4.8±0.6 <sup>2)</sup> | 4.5±0.6 <sup>2)</sup> | 0.1±0.3 | 1.3±0.4 <sup>1)</sup> | 3.1±0.7 <sup>2)</sup> |
| 5          | 4.7±0.1 | 1.3±0.3 <sup>2)</sup> | 1.1±0.3 <sup>2)</sup> | 0.6±0.3 | 4.1±0.3 <sup>2)</sup> | 4.3±0.5 <sup>2)</sup> | 0.0±0.0 | 2.6±0.4 <sup>2)</sup> | 4.4±0.5 <sup>2)</sup> |
| 6          | 4.5±0.3 | 1.5±0.2 <sup>2)</sup> | 1.4±0.3 <sup>2)</sup> | 0.9±0.4 | 4.5±0.5 <sup>2)</sup> | 4.7±0.8 <sup>2)</sup> | 0.1±0.2 | 4.5±0.6 <sup>2)</sup> | 4.7±0.5 <sup>2)</sup> |
| 7          | 4.6±0.2 | 2.5±0.3 <sup>1)</sup> | 3.1±0.2 <sup>1)</sup> | 1.1±0.4 | 4.7±0.5 <sup>2)</sup> | 4.8±0.7 <sup>2)</sup> | 0.3±0.4 | 4.3±0.6 <sup>2)</sup> | 4.6±0.7 <sup>2)</sup> |
| 8          | 4.7±0.3 | 1.4±0.3 <sup>2)</sup> | 2.0±0.4 <sup>1)</sup> | 1.0±0.3 | 4.9±0.6 <sup>2)</sup> | 4.9±0.5 <sup>2)</sup> | 0.2±0.3 | 4.5±0.4 <sup>2)</sup> | 4.8±0.8 <sup>2)</sup> |
| 9          | 4.9±0.4 | 1.7±0.2 <sup>2)</sup> | 2.5±0.5 <sup>1)</sup> | 0.9±0.3 | 4.6±0.8 <sup>2)</sup> | 4.5±0.6 <sup>2)</sup> | 0.0±0.0 | 1.7±0.5 <sup>1)</sup> | 3.8±0.6 <sup>2)</sup> |
| 10         | 4.9±0.4 | 4.1±0.5               | 2.8±0.4 <sup>1)</sup> | 0.6±0.4 | 3.8±0.5 <sup>2)</sup> | 4.2±0.7 <sup>2)</sup> | 0.0±0.0 | 0.6±0.7               | 3.5±0.7 <sup>2)</sup> |
| 11         | 5.0±0.0 | 3.2±0.5 <sup>1)</sup> | 3.5±0.6               | 0.4±0.2 | 2.7±0.4 <sup>2)</sup> | 4.3±0.6 <sup>2)</sup> | 0.0±0.0 | 0.5±0.4               | 3.4±0.6 <sup>2)</sup> |
| 12         | 5.0±0.0 | 2.0±0.6 <sup>1)</sup> | 4.3±0.4               | 0.3±0.4 | 1.3±0.5 <sup>1)</sup> | 3.4±0.5 <sup>2)</sup> | 0.0±0.0 | 0.2±0.3               | 1.4±0.5 <sup>1)</sup> |
| 13         | 5.0±0.0 | 2.6±0.4 <sup>1)</sup> | 4.6±0.3               | 0.1±0.3 | 0.9±0.6               | 2.6±0.5 <sup>2)</sup> | 0.0±0.0 | 0.2±0.2               | 1.3±0.5 <sup>1)</sup> |
| 14         | 5.0±0.0 | 3.4±0.5               | 4.7±0.3               | 0.1±0.2 | 0.8±0.5               | 1.2±0.6 <sup>1)</sup> | 0.0±0.0 | 0.1±0.2               | 1.2±0.3 <sup>1)</sup> |

注：第 1~7 天于观察后给药，第 8 天之后只观察不给药。与对照组相比，<sup>1)</sup> $P<0.05$ ，<sup>2)</sup> $P<0.01$ 。

Note: 1-7 d, drugs were administered after observation; after 8th day, there was only observation without drug administration. Compared with control group, <sup>1)</sup> $P<0.05$ , <sup>2)</sup> $P<0.01$ .

## 2 结果

### 2.1 一般情况

给药造模开始后各实验组动物的活泼程度出现明显的下降，虽然表现有较大的波动性，但与对照组相比，活泼评分明显降低 [ $F_{(2, 39)}=9.86$ ,  $P=0.003$ ]。从实验第 3 天开始，各实验组动物肛周红肿情况一直保持较高水平，直到第 12 天实验组①动物的红肿情况才有所缓解；与此同时对照组动物均没有出现肛周红肿现象 [ $F_{(2, 39)}=28.32$ ,  $P<0.001$ ]。各实验组于造模开始后均出现程度不等的排便不畅(便秘)症状，有较大波动，但与对照组相比较仍有明显差异 [ $F_{(2, 39)}=19.76$ ,  $P<0.001$ ]。结果见表 1。

### 2.2 肛周肿胀情况

实验组动物在造模期间与对照组相比，均出现不同程度的肛周直径增加现象，组间差异有统计学意义 [ $F_{(2, 39)}=8.74$ ,  $P=0.006$ ]，对比说明造模药物有较为明确的致肛周肿胀作用。进入停药期后，各实验组肛周直径有逐渐回缩的趋势，但与对照组相比肿胀仍较明显。停药期的肛周肿胀情况及模型肿胀症状的稳定性还需进一步根据病理学检查结果进行综合判断。结果见表 2。

表 2 各组大鼠肛周直径测量数据汇总分析表( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

Tab. 2 Data summary and analysis results of perianal diameter of rats in each group( $\bar{x} \pm s$ ,  $n=10$ )

| 实验<br>天数/d | 肛周直径/mm   |                         |                         |
|------------|-----------|-------------------------|-------------------------|
|            | 对照组       | 实验组①                    | 实验组②                    |
| 1          | 2.10±0.08 | 2.15±0.17               | 2.26±0.21               |
| 2          | 2.30±0.14 | 2.65±0.08               | 4.72±0.16 <sup>1)</sup> |
| 3          | 3.25±0.22 | 3.60±0.41               | 4.92±0.58               |
| 4          | 3.30±0.28 | 4.15±0.39               | 5.50±0.55 <sup>1)</sup> |
| 5          | 3.50±0.07 | 3.98±0.32               | 5.08±0.64               |
| 6          | 3.30±0.28 | 4.48±0.18 <sup>1)</sup> | 5.50±0.28 <sup>2)</sup> |
| 7          | 3.10±0.35 | 4.58±0.38 <sup>1)</sup> | 4.74±0.33 <sup>2)</sup> |
| 8          | 2.95±0.30 | 4.61±0.15 <sup>2)</sup> | 4.75±0.26 <sup>2)</sup> |
| 9          | 2.65±0.35 | 4.63±0.12 <sup>2)</sup> | 4.78±0.32 <sup>2)</sup> |
| 10         | 3.05±0.10 | 4.57±0.36 <sup>2)</sup> | 5.28±0.36 <sup>2)</sup> |
| 11         | 3.25±0.15 | 4.30±0.37 <sup>1)</sup> | 5.55±0.24 <sup>2)</sup> |
| 12         | 3.20±0.14 | 4.05±0.33               | 4.65±0.29 <sup>1)</sup> |
| 13         | 3.18±0.26 | 3.85±0.30               | 4.25±0.30               |
| 14         | 3.15±0.20 | 3.70±0.21               | 4.05±0.28               |

注: 第 1~7 天于观察后给药, 第 8 天之后只观察不给药。与对照组相比, <sup>1)</sup> $P<0.05$ , <sup>2)</sup> $P<0.01$ 。

Note: 1-7 d, drugs were administered after observation; after 8th day, there was only observation without drug administration. Compared with control group, <sup>1)</sup> $P<0.05$ , <sup>2)</sup> $P<0.01$ .

## 2.3 病理学观察

造模期间, 实验组大鼠肛周局部表现各异, 但通过观察和触摸可知, 均有较严重的肛周肿胀、直肠脱垂、便秘甚至出血症状, 且大部分能够保持到停止造模给药后的 1 周左右, 初步推测已达到人类痔疮的重度症状表现。由第 14 天的解剖观察可知, 实验组动物均表现较严重的便秘现象, 粪便积结于结肠和直肠、结肠膨胀变形明显、直肠增生性肥厚, 由此可推测整个肠道运动能力的下降及肠壁血液循环受阻。结合所使用的造模药物的药效特性, 如平滑肌抑制和促进血栓形成等, 推测动物很可能出现血流瘀滞、血栓和静脉血管瘤等痔疮病理症状。笔者进一步观察肛直肠切片病理发现, 实验组模型动物的直肠末端均有较为明显的炎性浸润、血栓、血管增生、静脉扩张、痔核形成及肉芽肿等病理变化, 能够较好地反映和模拟痔疮的病理现象。结果见图 1。

从病理切片观察中可知, 实验组①和②都有较严重的符合痔疮的病理变化, 如静脉曲张、血管增生、血栓和炎症等。本造模方法中 2 个实验

组的痔疮外观症状表现均较理想, 且从一般情况观测和肛周肿胀数据可以发现, 使用溴丙胺太林的实验组②的模型效果在症状表现及稳定性方面均较采用山莨菪碱的实验组①略有优势。这可能是因为溴丙胺太林有很强的胃肠道平滑肌选择性, 血管作用微弱, 没有山莨菪碱的血管舒张作用; 同时溴丙胺太林对胃肠道以外的其他系统不良反应极小, 因此可以适当加大在最终模型方案中的使用剂量。在对作用于血管、促进血栓形成和促血液凝滞的药物进行选择时, 发现血小板激活药物中的酚磺乙胺注射液很适合造模给药, 而且其促凝作用可对抗山莨菪碱的微循环起促进作用, 两者联用既能促进血栓形成又能抑制胃肠道平滑肌。

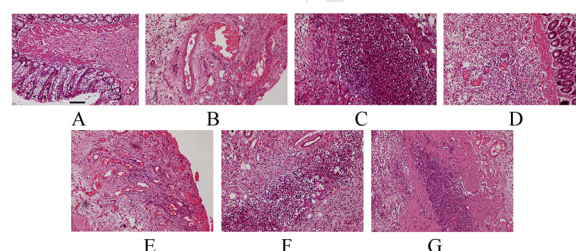


图 1 各组大鼠肛直肠组织病理学观察结果(HE 染色, 100×)

A-对照组, 正常组织形态; B-实验组①, 静脉扩张, 静脉充血, 血管增生, 血栓; C-实验组①, 肉芽组织增生; D-实验组①, 炎性浸润, 血管增生; E-实验组②, 静脉扩张, 静脉充血, 血管增生, 血栓; F-实验组②, 肉芽组织增生; G-实验组②, 炎性浸润, 血管增生; 标尺线=100 μm。

Fig. 1 Pathological observations of rectal tissues of rats in each group (HE staining, 100×)

A-control group, normal tissue morphology; B-experimental group ①, venous dilation, venous congestion, angiogenesis, thrombosis; C-experimental group ①, granulation tissue hyperplasia; D-experimental group ①, inflammatory infiltration, angiogenesis; E-experimental group ②, venous dilation, venous congestion, angiogenesis, thrombosis; F-experimental group ②, granulation tissue hyperplasia; G-experimental group ②, inflammatory infiltration, angiogenesis; the scale bar=100 μm.

## 3 讨论

由于痔疮是人类特有的疾患, 因此在抗痔药物的临床前药效学研究中, 如何制作出合适的痔疮模型是关键的实际问题<sup>[10-11]</sup>。一般疾病模型的建立方法可大致分 5 类: ①手术、机械或物理刺激; ②特殊化学试剂腐蚀和刺激作用; ③通过药物的药理学方法; ④使用细菌、病毒等病原体感染的生物学方式; ⑤通过饮食营养控制或生活习性干预的方法等。具体到痔疮模型的问题上, 通过病因病理分析并结合前人方法探索, 可总结出

使用药物的药理学方法和化学试剂的局部刺激方法,是痔疮造模中最为可行且简便实用的方式。文献中介绍的痔疮动物模型造模方法主要有以下几种:①大鼠巴豆油(一种常用的致炎剂)肛门肿胀模型;②醋酸致肛门溃疡模型;③家兔肛门细菌性溃疡模型;④肛门周围皮肤创伤模型;⑤大鼠食道静脉曲张模型;⑥门静脉血流动力学模型;⑦减慢肠蠕动的慢传输型便秘模型等<sup>[7,10-11,15]</sup>。其中最常用也较为成熟的仍是化学试剂局部刺激方法。

本研究经过相关文献调研分析<sup>[4-7]</sup>,在综合考量各种原有的造模方法后,认为选用适当的局部作用化学试剂和药物诱导是最能有效模仿人类痔疮病理特征的模型方法。根据痔病的主要病理机制,即静脉曲张和微循环阻滞,可使用作用于血管平滑肌、血流及神经的药物进行新型的造模方法探索。这种联用多种药物试剂的综合诱导模型与其他单种试剂诱导模型(如炎性肿胀模型、醋酸溃疡模型、创伤模型等)相比具有如下优点:①避免单一药物试剂的作用片面且特定刺激或不良反应严重的弊端;②所诱导出的复杂病理模型能较大程度地克服单一药物试剂模型偏离一般病理生理特点的局限性;③从多种病理因素考虑所采用的多种药物试剂能够多管齐下,在增强复杂病理模型效果的同时降低某种药物试剂的剂量,从而减轻不良反应。此种综合模型方法的缺点是可选择组合用药种类繁多,方法条件的探索过程较为复杂,且不利于对单个药物的作用做出明确评价。因此,需要从药物试剂的作用性质和理化性质等方面综合审慎地选择药物种类和剂量,在保证模型效果的同时,减少给药次数,合理缩减造模时程和工作量。

痔疮的病理特征是肛垫病理性肥大、移位及肛周皮下血管丛血流淤滞形成的局部肿块,并会由于肛门形成静脉曲张而致肛周肿胀及血管病变诱发出血、疼痛、感染、坠胀、瘙痒等临床症状<sup>[6,11]</sup>。基于人类痔疮的静脉曲张形成痔核、局部血管丛血流瘀滞、炎症并伴有黏膜组织坏死的特征<sup>[10]</sup>,以SD大鼠为实验对象,通过前期预实验选择使用如下药物试剂及相应剂量:致肿胀致炎试剂角叉菜胶,致炎试剂脂多糖、盐酸消旋山莨菪碱、溴丙胺太林,血小板激动药酚磺乙胺等。所选药物及试剂均采用局部黏膜下注射的方法给药。对于本研究中模型动物各种病理症状的产生,

可从所选用的造模药物和试剂的作用性质角度予以合理解释。例如,造模组动物普遍出现严重便秘、直肠扩张的症状,可能与山莨菪碱和溴丙胺太林的选择性M<sub>3</sub>受体阻断作用及抑制肠道平滑肌活动和减慢胃肠道排空有关。再如,模型动物普遍出现程度不一且较为严重的肛周肿胀、脓肿、炎性浸润等情况,与致炎致肿胀试剂角叉菜胶和脂多糖的作用密切相关。又如,模型动物中出现的静脉血管血栓、微循环障碍等,可能与酚磺乙胺的血小板凝血激活作用有关。

本研究实验期间的症状观测主要包括肛周肿胀、排便情况以及能间接反映痔疮疼痛症状的行为表现。疼痛是痔疮影响患者生活的重要症状之一<sup>[3]</sup>,因此要考量痔疮模型中的疼痛指征,并选择合适的疼痛评价方法判断模型疼痛症状。本实验中所要测定的模型疼痛系病理自发性疼痛以及行动诱发性疼痛,故不宜采用外界刺激加痛阈测定的方法,而应采取观察动物疼痛行为学变化的评价方法,如正常活泼程度降低、抖动、非正常舔舐等。根据痔病的局部微循环障碍及静脉曲张的病因特点,采用病理切片观察法,此观测结果同样可视为模型评价的重要指标。

本实验对大鼠全程的体质量和摄食量均有测量记录,各实验组动物整体状态较好,体质量平稳或略有增加,无死亡或严重消瘦现象。这说明本模型方法所采用的造模方案及所选药物对实验动物无其他方面的严重不良影响。与对照组相比,实验组大鼠在造模期间有较为明显的活泼程度减弱和摄食量减少现象,并普遍出现较为严重的肛周红肿、溃疡及便秘症状。由连续的肛周直径测量结果可知,实验组均出现较为严重的肛周肿胀症状。个别模型大鼠甚至出现直肠脱垂、严重便秘、肛周出血和便血等痔疮症状。结合局部解剖和病理观察,可证明痔疮主要症状表现的发生,如便秘、结肠和直肠扩张、直肠增生肥厚、炎性浸润、局部静脉曲张和血栓形成等。停药7d后观察到上述症状仍然存在,说明本方法的模型稳定性高,可用于抗痔药物的临床前研究。

目前痔疮动物模型大多与人类痔病的真实情况有较大偏差,包括操作复杂且成功率较低的手术方法<sup>[11]</sup>,以及片面的以炎症、溃疡或静脉阻塞来验证抗痔药物有效性的方法,或用耳廓、足爪或背部等部位建立的肿胀或溃疡模型等<sup>[4-5,12,14]</sup>。

本研究使用具有针对性药效的药物, 联用有局部刺激作用的药物试剂, 直肠黏膜下浆肌层局部给药, 通过从整体情况到局部症状, 再到显微病理学的指标检测, 建立和评价痔疮模型。本研究采用的痔疮模型方法, 从目前国内外相关报道描述来看尚属首次。实验证明本研究的痔疮模型方法探索是较为成功的, 可为抗痔药物临床前药效学研究提供可靠性高、实用性强的动物模型, 从而为针对临床痔疮的药物治疗方法研发提供更多支持。

## REFERENCES

- [1] BROWN S R. Haemorrhoids: an update on management [J]. *Ther Adv Chronic Dis*, 2017, 8(10): 141-147.
- [2] MENG W. The formation, treatment and prevention of hemorrhoids [J]. *Chin J Mod Drug Appl*(中国现代药物应用), 2011, 5(7): 126-127.
- [3] HASKINS I N, HOLZMACHER J, OBIAS V, et al. The use of transanal hemorrhoidal dearterialization for treatment of hemorrhoid disease at a single institution [J]. *Am Surg*, 2016, 82(12): 1160-1162.
- [4] BAI M, LIU D D, LIAO J X, et al. Anti-inflammatory effects of oil paste of different varieties rhubarb by external use on skin ulcers model and hemorrhoids model in rats [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2013, 30(6): 575-581.
- [5] DEY Y N, WANJARI M M, KUMAR D, et al. Curative effect of *Amorphophallus paeoniifolius* tuber on experimental hemorrhoids in rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 2016, 192(21): 183-191.
- [6] LI X M, SHAO Y, ZHOU J P. Tongbianhuazhi Keli on the hemorrhoids rat animal model efficacy studies [J]. *Chin J Comp Med*(中国比较医学杂志), 2012, 22(5): 22-24.
- [7] XU C, ZHOU Q, ZHU X X, et al. Research on Zhilou Fumigating and washing therapy for hemorrhoid models [J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*(中华中医药学刊), 2015, 33(9): 2228-2230.
- [8] 张宏辉, 杜位良. 痔疮的中西医研究进展[J]. *亚太传统医药*, 2016, 12(15): 103-105.
- [9] WANG J, LI D. Therapeutic drugs for hemorrhoids [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2009, 26(7): 545-549.
- [10] AZEEMUDDIN M, VISWANATHA G L, RAFIQ M, et al. An improved experimental model of hemorrhoids in rats: evaluation of antihemorrhoidal activity of an herbal formulation [J]. *ISRN Pharmacol*, 2014(2014): 530931. Doi: 10.1155/2014/530931.
- [11] MA Z G, JIANG N, YU M Y, et al. Progress in research on animal models of hemorrhoids [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*(中国实验动物学报), 2010, 18(5): 446-450.
- [12] YANG Y, GONG Y. The Local inflammation and histopathological effects of YinZhi anorectal smoked lotion act on similar hemorrhoid model of rats [J]. *J Yunnan Univ Tradit Chin Med*(云南中医学院学报), 2014, 37(3): 11-14.
- [13] AKKOL E K, ERCIL D. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of some linaria species from turkey [J]. *Pharm Biol*, 2009, 47(3): 188-194.
- [14] AKKOL E K, GUVENC A, YESILADA E. A comparative study on the antinociceptive and anti-inflammatory activities of five *Juniperus* taxa [J]. *J Ethnopharmacol*, 2009, 125(2): 330-336.
- [15] ZHUANG Q, ZHANG C Y, CHENG Y, et al. Experimental study on the diagnosis of slow transit constipation rats with colon transport particles [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2017, 34(12): 1675-1678.
- [16] CAI Z B, ZHAO X, ZHAO P J, et al. Establishment of rat model of hyperuricemia combined with nonalcoholic fatty liver disease [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2017, 34(9): 1234-1238.

收稿日期: 2018-04-24  
(本文责编: 李艳芳)