

妇科千金片对急性盆腔炎模型大鼠外周血细胞及盆腔组织病理改变的影响

师振予¹, 郭建生^{3*}, 袁建菱³, 左之文², 岳增辉¹

- (1. 湖南中医药大学中药药性与药效三级科研实验室, 长沙 410208;
2. 株洲千金药业股份有限公司, 湖南 株洲 412003;
3. 湖南中医药大学中药现代化研究重点实验室, 长沙 410208)

[摘要] **目的:**观察妇科千金片对急性盆腔炎大鼠外周血血细胞及子宫、卵巢、输卵管组织病理改变的影响,探讨该药治疗盆腔炎的作用机制。**方法:**采用混合菌(大肠杆菌、解脲支原体和金黄色葡萄球菌)接种法建立急性盆腔炎大鼠模型,造模成功后随机分别为空白组、假手术组、模型组、妇科千金片低、中、高剂量组(0.21, 0.63, 1.89 g·kg⁻¹)、中药对照组(妇炎康 1.23 g·kg⁻¹)及西药对照组(罗红霉素 82.74 mg·kg⁻¹)。药物治疗 21 d 后取外周血及盆腔组织,生化分析仪分析血液中常规成分变化并观察大鼠盆腔组织的病理改变。**结果:**①与空白组和假手术组相比,模型组白细胞总数、中性粒细胞比例升高而淋巴细胞比例下降,且盆腔组织出现明显炎症改变。②与模型组相比,各治疗组白细胞总数、中性粒细胞比例下降而淋巴细胞比例升高,且盆腔组织病变明显改善。③与西药对照组及中药对照组相比,妇科千金片各治疗组白细胞数无统计学差异,但对盆腔病变改善情况优于中药对照组。④血红蛋白含量、血小板、嗜酸性粒细胞及嗜碱性粒细胞各组间比较无差异。**结论:**妇科千金片对大鼠免疫细胞有显著影响并对盆腔组织有一定保护作用,其抗炎作用的机制可能是通过提高机体免疫力从而抑杀进入体内病原菌而实现。

[关键词] 妇科千金片; 盆腔炎; 血细胞

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)21-0199-04

Influence of Fuke Qianjin Tablets on Blood Cells and Histopathological Manifestations of Acute Pelvic Inflammation in Rats

SHI Zhen-yu¹, GUO Jian-sheng^{3*}, YUAN Jian-ling³, ZUO Zhi-wen², YUE Zeng-hui¹

(1. Lab of Nature and Effectiveness of Chinese Medicing, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China; 2. Hunan QianJing Pharmacy, Zhuzhou 412003, China; 3. Key Lab of Modernization of Chinese Medicine, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Fuke Qianjin tablets on the blood cells and histopathological manifestations of acute pelvic inflammatory in rats. **Method:** The model of acute pelvic inflammation was established by injecting three kinds of bacteria (*Escherichia coli*, *Mycoplasma urealyticum* and *Staphylococcus aureus* Rosenbach) into the uterus. The rats were randomly divided into 8 groups and the patterns of blood cells were tested after 21 days of treatment. **Result:** Compared with normal group and sham group, the white blood cells and proportions of neutrophils in model group were significantly lowered but proportions of lymphocytes increased which indicated a significant pelvic inflammation. Compared with model group, the white blood cells and proportions

[收稿日期] 20110413(018)

[基金项目] 湖南省教育厅高校创新平台开放基金项目(10K045);湖南省中药学重点学科项目;株洲千金药业股份有限公司资助项目

[第一作者] 师振予, 讲师, 在读博士, 从事复方中药药效及作用机制的研究, Tel:0731-8845238, E-mail:helenszy@hotmail.com

[通讯作者] * 郭建生, 教授, 博士生导师, 从事中药新药的研究与开发, Tel:0731-88458239, E-mail:gjs7878@126.com

of neutrophils in treat groups were significantly increased but proportions of lymphocytes lowered. **Conclusion:** Fuke Qianjin tablets can influence the bloods cells and immunocytes to protect pelvic tissues.

[**Key words**] Fuke Qianjin tablets; acute pelvic inflammation; blood cells

妇科千金片是由株洲千金药业股份有限公司在传统中药方基础上改良研制而成的,属于国家中药保护品种。该药至 1979 年批准生产以来广泛用于治疗各类妇科炎症,其临床疗效确切,广受患者好评。近年来,由于西药抗生素耐药性的不断增加,该药的临床应用还有扩大的趋势,在各种慢性炎症治疗中具有广阔的应用前景^[1]。虽然现有的临床疗效观察证实妇科千金片对于湿热瘀阻所致的带下量多、色黄质稠、臭秽,慢性盆腔炎、子宫内膜炎,慢性宫颈炎等均有较好的疗效^[2-3],但由于其作用的物质基础、作用机理尚不十分明确,因此无法获得国际上的认可,更无法与西药抗生素相抗衡。为了进一步探讨其作用机制,我们将妇科千金片对大鼠盆腔炎模型外周血血细胞及子宫、卵巢、输卵管组织病理改变的影响进行了实验研究。

1 材料

1.1 动物 雌性 Wistar 大鼠 80 只,体重 180 ~ 220 g,鼠龄 8 周,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供(SPF 级,合格证号 2008—0016),每笼 5 只,适应性饲养 1 周后,随机抽取 15 只大鼠留做空白组及假手术组对照。

1.2 药物及菌种 妇科千金片浸膏(由株洲千金药业股份有限公司提供,即精制妇科千金片的浸膏,由千斤拔、单面针、金樱根、穿心莲、功劳木、党参、鸡血藤、当归 8 味药材组成,浸膏得率 11.7%,配方具体参数属保密内容),妇炎康(云南昆明云健制药有限公司,批号 20081011)。罗红霉素(广州白云山制药厂,批号 1080012)。金黄色葡萄球菌(菌种号 26001)、大肠杆菌(菌种号 44138)、解脲支原体,由湖南中医药大学微生物实验室提供。

1.3 仪器 CL-7200 型全自动血细胞分析仪。

2 方法

2.1 急性盆腔炎大鼠动物模型的制备 将雌性大鼠 80 只,除空白组和假手术组(各 10 只)外,其余大鼠分别称重,腹部常规消毒,10% 乌拉坦按 $7.5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重,大鼠 ip,待大鼠麻醉后,用 1 mL 注射器针头抽取 0.2 mL 含 3×10^9 个/mL 的混合菌液(此混合菌液由金黄色葡萄球菌、大肠杆菌,经生化鉴定后,

用普通肉汤培养基培养 $37 \text{ }^\circ\text{C}$,取对数生长期,用麦氏比法计数,取 $1 \times 10^9 \text{ CFU} \cdot \text{mL}^{-1}$ 按 1:1 混合备用。解脲支原体采用支原体专用培养基,85% 含氮培养箱中培养 48 h,取 1×10^6 个/mL 与上述混合菌液混合,供造模用),左手持鼠尾提起大鼠,用 10 mL 注射器的针头(磨去针头尖)于阴道底部的子宫颈分叉处小心进入一侧宫腔内,针头宫腔内来回抽拉 2 次(以机械性损伤子宫内膜组织),然后朝卵巢方向推注菌液 0.1 mL,同样操作步骤将 0.1 mL 菌液注入另一侧子宫,注射完毕后,明胶海绵放置于阴道底部的子宫颈,以防菌液漏出。假手术组手术操作同上,但针头进入子宫后不来回抽动且只朝卵巢方向注射等量 0.9% 生理盐水,空白组不予任何处理。

2.2 分组及给药 实验动物随机分为 8 组,空白组、假手术组各 10 只,其余大鼠造模后随机分为模型组、妇科千金片低、中、高剂量组、妇炎康组、罗红霉素组。造模后第 4 天起各组大鼠开始按大鼠与人等效剂量换算法每天定时 ig 1 次,连续 21 d。妇科千金片低、中、高剂量组分别按 0.21, 0.63, 1.89 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 给药,中药对照组按 1.23 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重予妇炎康,西药对照组按 82.74 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重予罗红霉素(以上药物配制成相应浓度后按 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体重的溶液 ig)。模型组和空白对照组、假手术组则灌服等体积生理盐水。

2.3 大鼠盆腔组织获取及组织学检查 大鼠给药治疗结束后的第 2 天清晨禁食,10% 乌拉坦 $7.5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ ip 麻醉。取大鼠子宫、卵巢、输卵管组织称重后,取一部分组织 10% 中性甲醛固定,常规石蜡包埋、切片 HE 染色,生物光学镜下观察大鼠盆腔组织的病理改变。(大鼠盆腔组织结构清晰、完整,无出血、无炎性细胞浸润判为“-”;大鼠盆腔组织结构欠清晰,上皮细胞轻度水肿,少量炎性细胞浸润“+”;大鼠盆腔组织结构不清晰,上皮细胞水肿出现脱落,有炎性细胞浸润“++”;大鼠盆腔组织结构较多破坏不清晰,上皮细胞水肿、部分脱落,较多炎性细胞浸润“+++”;大鼠盆腔组织结构完全不清晰,上皮细胞脱落,炎性细胞浸润“++++”)。

2.4 外周血细胞检测 大鼠断头取血 EDTA-K2 抗

凝,进行血常规分析,检测血液中白细胞总数及分类(白细胞、嗜中粒细胞、淋巴细胞、单核细胞、嗜酸细胞、嗜碱细胞总数)、血红蛋白、血小板数。

2.5 统计学方法 所有数据采用 SPSS 16.0 软件分析。计量资料方差齐用方差分析,两两比较用 t 检验,计数资料的显著性检验用 χ^2 检验,等级资料用 H 检验,取 $P < 0.05$ 作为显著性水准。

3 结果

3.1 对大鼠外周血细胞的影响 从表 1 可见,与空白组和假手术组相比,模型组白细胞总数、中性粒细胞比例升高而淋巴细胞比例下降,差异有统计学意义($P < 0.05$);与模型组相比,妇科千金片各治疗组白细胞总数、中性粒细胞比例下降而淋巴细胞比

例升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);与罗红霉素组及妇炎康组相比,妇科千金片各治疗组白细胞数无统计学差异。各组大鼠血红蛋白含量、血小板数量差异无统计学意义。

3.2 对盆腔炎大鼠子宫、输卵管、卵巢组织病理改变的影响 与空白组和假手术组相比,模型组盆腔组织出现明显炎症改变;妇科千金片治疗后大鼠子宫组织的病理得以明显改善,与模型组、中药妇炎康组比较有统计学意义($P < 0.05$),各组大鼠卵巢、输卵管组织病变率与模型组比较也有明显改善($P < 0.05$)。以上结果提示造模成功且妇科千金片有改善组织病变及较好的保护盆腔组织作用。(表 2 及图 1)。

表 1 妇科千金片对盆腔炎模型大鼠血液白细胞总数及其分类的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	白细胞总数 /×10 ⁹ /L	嗜中粒细胞 /%	淋巴细胞 /%	单核细胞 /%	嗜酸性细胞 /%	嗜碱性粒 细胞/%	血红蛋白 /g·L ⁻¹	血小板 /×10 ⁹ /L
空白	-	1.05 ± 0.49 ¹⁾	29.40 ± 4.41 ¹⁾	65.00 ± 2.85 ²⁾	3.00 ± 0.54 ¹⁾	2.20 ± 0.30	2.09 ± 0.34	155.8 ± 11.48	645.00 ± 121.21
假手术	-	1.03 ± 0.40 ¹⁾	28.36 ± 3.17 ¹⁾	65.00 ± 1.32 ²⁾	3.12 ± 0.43 ¹⁾	2.10 ± 0.32	2.05 ± 0.33	156.67 ± 6.28	619.00 ± 115.84
模型	-	1.53 ± 0.63	70.06 ± 4.30	21.00 ± 1.26	5.04 ± 0.43	2.01 ± 0.41	2.02 ± 0.29	151.67 ± 6.08	784.88 ± 120.95
妇科千金片	0.21	1.16 ± 0.57 ¹⁾	49.00 ± 4.26 ¹⁾	41.11 ± 1.79 ¹⁾	4.05 ± 0.52 ¹⁾	3.42 ± 0.40	2.40 ± 0.31	155.56 ± 7.50	746.00 ± 139.57
	0.63	0.97 ± 0.43 ¹⁾	36.14 ± 3.27 ¹⁾	55.26 ± 1.49 ¹⁾	4.00 ± 0.46 ¹⁾	2.39 ± 0.36	2.00 ± 0.21	148.56 ± 5.20	638.22 ± 125.10
	1.89	1.09 ± 0.43 ¹⁾	52.09 ± 4.15 ¹⁾	41.21 ± 2.22 ¹⁾	3.42 ± 0.41 ¹⁾	2.14 ± 0.41	2.10 ± 0.38	156.22 ± 5.93	696.50 ± 124.46
妇炎康	1.23	1.16 ± 0.46 ¹⁾	37.00 ± 4.27 ¹⁾	55.54 ± 2.40 ¹⁾	3.14 ± 0.46 ¹⁾	2.32 ± 0.37	2.08 ± 0.31	150.44 ± 7.95	615.57 ± 120.21
罗红霉素	0.083	1.15 ± 0.81 ¹⁾	28.41 ± 3.26 ²⁾	65.17 ± 1.0 ¹⁾	3.11 ± 0.01 ¹⁾	2.18 ± 0.34 ¹⁾	2.21 ± 0.29 ¹⁾	153.67 ± 7.68	632.00 ± 124.91

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ 。

表 2 妇科千金片对各组大鼠盆腔组织病理改变的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

只

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	子宫					卵巢			输卵管					P 值
		-	+	++	+++		-	+	++	-	+	++	+++		
正常对照	-	9	1	-	10	-	-	-	-	10	-	-	-	-	<0.05
假手术	-	8	2	-	-	-	10	-	-	9	1	-	-	-	<0.05
模型	-	-	1	3	2	4	1	6	3	-	1	3	4	2	-
妇科千金片	0.21	7	2	1	-	-	8	2	-	7	1	2	-	-	<0.05
	0.63	7	2	1	-	-	8	1	1	7	2	1	-	-	<0.05
	1.89	8	1	1	-	-	8	1	1	9	1	-	-	-	<0.05
妇炎康	1.23	6	2	2	-	-	8	2	-	7	2	1	-	-	<0.05
罗红霉素	0.083	9	1	-	-	-	7	3	-	9	1	-	-	-	<0.05

注:P 值为与模型组比较。

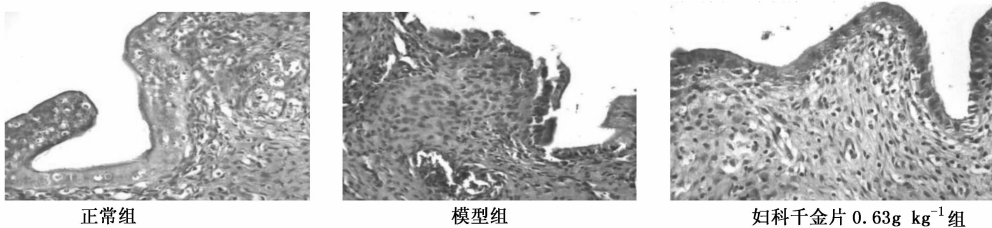


图 1 大鼠子宫组织病理变化(HE, ×400)

4 讨论

盆腔炎、子宫内膜炎、宫颈炎等均属妇科常见疾病。中医认为经行、产后、胞脉空虚或素体肾虚不足则易受邪毒内侵,湿浊、热毒蕴结于下焦,影响任带二脉而导致各种炎症。现代医学则认为盆腔炎的主要原因是盆腔组织直接或间接感染细菌或病毒病原体等所致。两者结合我们认为首先是机体免疫力降低,子宫及阴道功能受损,致使其易受感染。若正气充足,邪不能侵,亦能克邪。妇科千金片中千斤拔、金樱子根祛湿解毒;党参、当归益气补血,全方配合具有清热解毒、补血益气之功效。因此,我们推测其治疗机制应与抗炎、提高免疫的作用密切相关。我们的前期研究也证实妇科千金片能促进急性盆腔炎大鼠血清 IgA, IgG, IgM 的表达,提高机体免疫力^[4],其他常用治疗盆腔炎的中药研究也表明,中药治疗盆腔炎的作用与抗炎、调节免疫等功能密切相关^[5-6]。

机体发生急、慢炎性反应时外周血中白细胞总数常会发生变化,其中不同类型的白细胞所占百分比也常表现出不同程度的变化^[7],因此,我们观察了妇科千金片对急性盆腔炎大鼠外周血成分表达的的影响。我们结果显示:模型组大鼠白细胞总数及中性粒细胞百分比均明显高于空白组和假手术组($P < 0.05$),提示大鼠盆腔炎急性模型制作成功,而妇科千金片各治疗组能显著降低外周血白细胞总数及并使中性粒细胞比例下降而淋巴细胞比例升高,妇科千金片对大鼠免疫细胞有显著影响,但对大鼠血红蛋白含量、血小板数量无显著影响。综合我们前期的研究结果,这一结果高度提示妇科千金片的抗炎作用与调节免疫的作用密切相关,其抗炎作用的机制可能是通过提高机体免疫力从而抑杀进入体内病原菌而实现。

要探讨妇科千金片抗炎免疫分子药理作用机制,复制与临床盆腔炎相符合的动物模型至关重要。我们从临床盆腔炎患者阴道中分离致病微生物并经体外培养,然后按不同比例配比成功建立了大鼠急性盆腔炎感染模型,对模型大鼠子宫、输卵管、卵巢组织病理的结果显示与空白组和假手术组相比,模型组盆腔组织出现明显炎症改变($P < 0.05$);经过妇科千金片治疗后,各治疗组盆腔组织病变明显改善,对子宫炎症的改善还略优于中药对照组,在我们后期的研究中,我们将利用该模型进一步对妇科千金片抗炎免疫的分子机制做深入研究,确证该药扩大临床应用的有效性与合理性。

[参考文献]

- [1] 王桂花,朱洪耀. 妇科千金片对不同类型疾病的临床研究及探讨[J]. 中国实用医药, 2009, 4(30):51.
- [2] 向志军. 妇科千金片治疗慢性盆腔炎 102 例[J]. 湖北中医杂志, 2007, 29(8):41.
- [3] 杨素萍,柯冬香. 妇科千金片配合治糜灵栓治疗慢性宫颈炎临床观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2007, 16(29):4300.
- [4] 袁建菱,郭建生. 妇科千金片对急性盆腔炎模型大鼠血清 IgA, IgG, IgM 的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2010, 30(9):87.
- [5] 张慧芳,王兰. 裴氏妇炎康颗粒治疗慢性盆腔炎的实验研究[J]. 中医研究, 2009, 22(9):7.
- [6] 丁雨,安艳,李燕,等. 泽泻丹参汤对慢性盆腔炎大鼠免疫调节及自由基表达的影响[J]. 医学研究杂志, 2009, 38(12):129.
- [7] 陈慰峰. 医学免疫学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2002:23.

[责任编辑 聂淑琴]