

内异丸对大鼠子宫内膜异位模型的影响

崔丽娟¹, 佟路芳¹, 张硕峰², 唐永和¹, 鞠海^{1*}

(1. 中日友好医院, 北京 100029; 2. 北京中医药大学中药学院, 北京 100102)

[摘要] 目的: 观察内异丸对大鼠子宫内膜异位模型的影响。方法: 采用手术移植法造成大鼠子宫内膜异位模型, 观察口服给予内异丸对子宫内膜移植物体积、孕激素含量及血液流变性的影响; 采用大鼠角叉菜胶致足肿胀模型观察药物抗炎作用; 采用醋酸致小鼠疼痛模型观察药物镇痛作用。结果: 内异丸具有抑制移植性子宫内膜生长作用, 以及抗炎、镇痛作用。结论: 内异丸对子宫内膜异位症具有一定的治疗作用。

[关键词] 子宫内膜异位; 内异丸; 抗炎; 镇痛

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)08-0074-04

Effect of Neiyi Pills on Endometriosis in Rat

CUI Lijuan¹, TONG Lufang¹, ZHANG Shuofeng², TANG Yong-he¹, JU Hai^{1*}

(1. Department of Pharmacy, China-Japan Friendship hospital, Beijing 100029, China;

2. School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Neiyi Pills in rat of endometriosis. **Methods:** Experimental endometriosis was studied in the female rat. The influences of Neiyi Pills on the volume of endometrial explants and the levels of progesterone and the hemorheological influence were observed. We evaluated Neiyi Pills' action in respects of anti-inflammatory and analgesic effects. **Results:** Neiyi Pills have the effect of inhibiting the growth of transplanted endometrium. The anti-inflammatory and analgesic effects in the pharmacodynamic experiment provide evidences for releasing clinical symptoms. **Conclusions:** Neiyi Pills have the therapeutical effect on endometriosis.

[Key words] endometriosis; Neiyi Pills; anti-inflammation; analgesia

子宫内膜异位症是指具有生长功能的子宫内膜组织出现于子宫腔以外的部位所发生的病症, 该病的发病原因和发病机制主要有医源性子宫内膜播散、经血倒流子宫内膜种植、慢性炎症刺激、内分泌功能紊乱等, 临床表现有腹痛、月经失调、盆腔包块等症状。中医认为“瘀”是产生本病的主要病机。内异丸由黄芪、泽兰、水蛭、三七等 7 味中药组成, 具有活血化瘀, 益气补肾等功效, 临床用于子宫内膜异位症见有气滞血瘀, 肾气不足证者。本研究根据其病因病机特点, 采用手术移植法造成大鼠子宫内膜异位模型, 观察口服给予内异丸对子宫内膜移植物体

积、孕激素含量的影响, 并从抗炎作用、镇痛作用以及该药物对子宫内膜异位模型血液流变性的影响, 来评价药物的药效, 为临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠, 雌性, 体重 240~280 g, 北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 许可证号: SCXK 11-00-0008。

1.2 仪器 RBC 变形/聚集测试仪, 型号 LG-B-190, 北京市世帝科学仪器公司产品; 血粘度仪, 型号 R-80, 北京市世帝科学仪器公司产品; 400R 低温离心机, 德国 Heraeus 产品。

1.3 药物和试剂 内异丸由黄芪、泽兰、水蛭、三七等 7 味中药组成, 工艺为将水蛭、三七粉碎成细粉, 其余药加水提取两次, 制成浓缩丸。由中日友好医

[收稿日期] 2008-12-19

[通讯作者] * 鞠海, Tel: 84205352

院制剂室生产,批号:20051106,人用量:3次/d,1袋/次,4.5g/袋,按60kg体重计算,即 $0.225\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,大鼠受试剂量为3,1.5,0.75 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (分别相当于人用量的13.3,6.6,3.3倍),用饮用水配制,给药容积: $1\text{mL}\cdot 100\text{g}^{-1}$ 体重,小鼠受试剂量为4.5,2.25,1.125 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (分别相当于人用量的20,10,5倍),给药容积: $0.2\text{mL}\cdot 10\text{g}^{-1}$ 体重。

桂枝茯苓胶囊:江苏康缘药业股份有限公司产品,批号:051112,规格:0.31g/粒,人用量:3粒/次,3次/日,按60kg体重计算,即 $0.0465\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,大鼠受试剂量为 $0.279\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ (相当于人用量的6倍),用饮用水配制,给药容积: $1\text{mL}\cdot 100\text{g}^{-1}$ 体重。

己烯雌酚:天津金耀氨基酸有限公司产品,批号:0504191,规格1mL/支,含 $0.5\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ 。

芬必得:中美史克产品,批号:05060161,人用量:1粒/次,2次/d,0.3g/粒,按60kg体重计算,即 $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,小鼠受试剂量为 $90\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (相当于人用量的9倍)。

2 方法

2.1 对子宫内膜异位模型大鼠的影响^[1]

2.1.1 动物造模 大鼠用10%水合氯醛 $350\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 腹腔注射麻醉,背位固定,切开腹腔,结扎一侧子宫角,取一段子宫,剥离子宫内膜,切成 $5\text{mm}\times 5\text{mm}$ 小块,内膜侧朝向腹壁,缝合于腹壁上(四角各1针),分层缝合,并腹腔注射庆大霉素 $0.1\text{mL}/\text{只}$ 。造模后第3天腹腔注射己烯雌酚 $0.1\text{mL}/\text{只}$,1次/d,共3次。造模后4周再次打开腹腔,观察子宫内膜成活情况,并测量体积,按子宫内膜移植体积分组。

2.1.2 分组和给药 造模后4周,按子宫内膜移植植物大小将大鼠随机分为5组:模型组、内异丸3,1.5,0.75 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组、桂枝茯苓胶囊组 $0.279\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组,另设假手术组、空白对照组(测血液流变性时使用)。内异丸连续灌胃给药30d,1次/d,假手术组、模型组灌胃给予等量($1\text{mL}\cdot 100\text{g}^{-1}$ 体重)的饮用水。取材前3d,腹腔注射己烯雌酚 $0.1\text{mL}/\text{只}$,1次/d,共3次。

2.1.3 检测指标 末次给药后1h,大鼠10%水合氯醛 $350\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 腹腔注射麻醉,背位固定,打开腹腔测量子宫内膜移植植物长、宽、高,计算移植植物体积,计算给药前后移植植物体积变化率。并将子宫内膜移植植物用10%甲醛固定,石蜡包埋,切片,HE染色,做

组织病理学检查;颈总动脉取血2mL血制备血清,放免法测定雌二醇、孕激素。3mL血用肝素抗凝备用,测定红细胞变形性、红细胞聚集性、血液流变学指标。结果进行组间比较。

移植植物体积=长×宽×高

移植植物体积变化率(%)=给药后移植植物体积-给药前移植植物体积/给药前移植植物体积×100%。

2.2 对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀的影响^[2] 将大鼠随机分为5组,即模型组、地塞米松组($2\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、内异丸3,1.5,0.75 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组。灌胃给药,每日1次,连续3d,模型组给予等量($1\text{mL}\cdot 100\text{g}^{-1}$ 体重)的饮用水。末次给药后1h,在大鼠右后足足跖部皮内注射1%角叉菜胶 0.1mL ,于致炎后1,2,4,6h用软皮尺测量足跖周长,并测量左足相应部位的周长,按下列公式计算肿胀率。结果采用均值±标准差表示,用SPSS 11.5软件进行单因素方差分析,以t检验进行组间比较。

肿胀率(%)=(右足足跖周长-左足足跖周长)/左足足跖周长×100%

2.3 对醋酸致小鼠疼痛反应的影响^[2] 小鼠随机分为5组,即模型组、芬必得组($90\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)、内异丸4.5,2.25,1.125 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组。灌胃给药3d,1次/d,模型组给予等量的饮用水。末次给药后1h,腹腔注射0.6%冰醋酸 $0.3\text{mL}/\text{只}$,记录小鼠痛反应时间及造模后0~<10min,10~<20min各组小鼠的扭体次数。结果采用均值±标准差表示,用SPSS 11.5软件进行单因素方差分析,以t检验进行组间比较。

3 结果

3.1 对子宫内膜异位模型大鼠的影响

3.1.1 对子宫内膜异位模型大鼠异位子宫内膜移植植物体积变化的影响 结果见表1,结果显示:内异丸给药30d后,可明显减少大鼠异位子宫内膜移植植物体积,其中1.5,0.75 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组异位子宫内膜移植植物体积变化率与模型组相比较均有统计学意义($P<0.05, P<0.01$)。

3.1.2 对子宫内膜异位模型大鼠血清雌二醇、孕激素含量的影响 结果见表2,结果显示:内异丸给药30d后,可明显减少模型大鼠血清中孕酮含量,其中内异丸3,1.5 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 作用明显($P<0.05, P<0.01$),但血清中雌二醇含量未见明显变化。

表 1 内异丸对子宫内位模型大鼠异位子宫内
膜移植体积变化的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 (g·kg ⁻¹)	造模后分组时子 宫内膜体积(mm ³)	子宫内位移植植物 体积变化率(%)
假手术组	10	-	-	0.0 ± 0.0 ²⁾
模型组	13	-	117.7 ± 119.9	- 10.4 ± 42.7
内异丸组	13	3	122.2 ± 129.6	- 45.8 ± 35.0
	14	1.5	124.1 ± 121.9	- 70.4 ± 30.1 ²⁾
	13	0.75	109.9 ± 116.7	- 58.8 ± 46.8 ¹⁾
桂枝茯苓胶囊组	13	0.279	88.9 ± 80.6	- 42.6 ± 63.2

注:与模型组相比¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01(下同)

表 2 内异丸对子宫内位模型大鼠血清
雌二醇、孕酮含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	剂量 (g·kg ⁻¹)	雌二醇 (pg·mL ⁻¹)	孕酮 (ng·mL ⁻¹)
假手术组	10	-	266.8 ± 149.7	77.6 ± 24.4 ¹⁾
模型组	13	-	351.1 ± 231.6	101.7 ± 23.1
内异丸组	13	3	396.7 ± 84.0	74.5 ± 19.9 ²⁾
	14	1.5	406.5 ± 111.2	79.2 ± 25.5 ¹⁾
	13	0.75	433.5 ± 163.1	91.9 ± 28.1
桂枝茯苓胶囊组	12	0.279	443.5 ± 82.2	82.2 ± 14.5 ¹⁾

3.1.3 对子宫内位模型大鼠红细胞变形性、聚集性及血液黏度的影响 结果见表 3, 结果显示: 内异丸给药 30 d 后, 内异丸各剂量组可明显抑制红细胞变形性的降低(与模型组比较 P < 0.01), 但内异丸各剂量组对红细胞聚集性指数无明显作用。内异丸各剂量组对模型大鼠高、中、低切变率下的全血黏

度、血浆黏度均无明显作用。

表 3 内异丸对子宫内位模型大鼠红细胞变形性和聚集性的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	例数	红细胞变 形性指数	红细胞聚 集性指数
空白对照组	-	11	0.78 ± 0.02 ²⁾	0.17 ± 0.04 ²⁾
假手术组	-	13	0.73 ± 0.03	0.46 ± 0.30
模型组	-	13	0.73 ± 0.03	0.33 ± 0.14
内异丸组	3	14	0.76 ± 0.03 ¹⁾	0.31 ± 0.11
	1.5	13	0.76 ± 0.03 ¹⁾	0.35 ± 0.31
	0.75	13	0.76 ± 0.02 ²⁾	0.40 ± 0.14
桂枝茯苓胶囊组	0.279	13	0.75 ± 0.05	0.33 ± 0.22

3.1.4 病理组织学检查结果 组织学检查表明, 模型组: 横纹肌组织内可见多个呈高度囊性扩张之宫内膜腺体, 腺上皮呈高立方状排列, 腔内含有分泌物, 腔外间质内有较多淋巴细胞浸润。

内异丸 3, 1.5 g·kg⁻¹ 组: 横纹肌组织内多处可见宫内膜腺体及少许间质成分, 腺腔明显缩小, 腔内分泌物亦减少, 间质区较疏松, 亦见少量淋巴细胞浸润。

内异丸 0.75 g·kg⁻¹ 组: 横纹肌组织内宫内膜腺体呈囊性扩张较显著, 腔内亦见分泌物, 间质内较多淋巴细胞浸润。

桂枝茯苓胶囊组: 横纹肌组织内宫内膜腺体扩张, 腔内有较多分泌物, 间质内较多淋巴细胞浸润。

3.2 对角叉菜胶所致大鼠足跖肿胀的影响 结果见表 4, 结果表明: 内异丸各剂量组在造模后各时间点均表现出抗炎作用, 表现为足跖肿胀率降低。

表 4 内异丸对角叉菜胶致大鼠足跖肿胀的影响($\bar{x} \pm s$, n = 15)

组别	剂量 (g·kg ⁻¹)	不同时间点大鼠的足肿胀率(%)			
		1 h	2 h	4 h	6 h
模型组	-	22.46 ± 4.03	37.97 ± 10.56	40.63 ± 6.34	38.88 ± 8.55
内异丸组	3	19.88 ± 7.82	25.76 ± 6.87 ²⁾	32.56 ± 6.61 ²⁾	28.69 ± 7.95 ²⁾
	1.5	19.14 ± 4.92	32.97 ± 7.48	31.19 ± 8.34 ²⁾	34.42 ± 9.90
	0.75	18.62 ± 4.94 ¹⁾	29.49 ± 8.41	36.39 ± 9.87	32.65 ± 10.00
地塞米松组	0.002	0.37 ± 3.71 ²⁾	10.75 ± 6.14 ²⁾	13.94 ± 5.19 ²⁾	11.98 ± 10.34 ²⁾

3.3 对醋酸致小鼠疼痛反应的影响 结果见表 5, 结果表明: 内异丸可明显减轻小鼠的扭体次数, 其中 3 g·kg⁻¹ 剂量组在造模后 0~ 10 min, 10~ 20 min 作用最明显, 1.5 g·kg⁻¹ 量组在造模后 10~ 20 min 作用最明显, 与模型组相比较具有统计学意义(P < 0.01)。

4 讨论

子宫内位膜异位症是育龄妇女常见病, 它具有转

移、种植、复发的特点。临床主要症状是周期性腹痛(包括月经痛、性交痛、肛门坠胀痛等)、盆腔包块、月经失调等。该病病因病机复杂, 主要是内膜的种植, 且又关联到炎症的发生, 内分泌功能失调, 免疫因素等。中医认为“瘀”是产生该病的主要病机。子宫内位膜异位症的治疗应从调节内分泌功能, 改善激素水平, 抑制炎症, 改善血液流变性几方面考虑。

表 5 内异丸对醋酸致小鼠疼痛反应的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 ($g \cdot kg^{-1}$)	n	痛反应时间 (s)	扭体次数 (0~ 10 min)	扭体次数 (10~ 20 min)
模型组		15	248.4 \pm 81.2	10.8 \pm 5.8	10.9 \pm 6.8
内异丸组	3	16	200.2 \pm 33.4	3.2 \pm 2.7 ²⁾	2.4 \pm 2.7 ²⁾
	1.5	16	241.3 \pm 106.2	6.3 \pm 4.9	3.4 \pm 3.3 ²⁾
	0.75	15	188.0 \pm 19.7	12.9 \pm 8.4	10.7 \pm 10.1
芬必得组	0.002	16	561.4 \pm 115.8 ²⁾	0.3 \pm 0.9 ²⁾	0.0 \pm 0.0 ²⁾

内异丸为中药复方制剂,功效:活血化瘀,佐以益气补肾,主治子宫内膜异位症(见有气滞血瘀,肾气不足证者)。主要药效学结果表明内异丸可明显抑制子宫内膜移植物的生长,降低血清孕酮含量,改

善大鼠血液流变性,以及抗炎和镇痛作用。

综上所述,内异丸具有抑制移植性子宫内膜生长作用,该作用与降低血液孕激素水平,改善血液流变性有关;该制剂在药效学实验中表现出的抗炎、镇痛作用也为其缓解临床症状提供了实验依据。

[参考文献]

- [1] 俞超芹,翟美英,刑玲玲,等.内异方对SD大鼠子宫内膜异位症模型种植内膜作用的实验研究[J].中国实验方剂学杂志,1996,2(4):34.
- [2] 李仪奎.中药药理实验方法学[M].上海:上海科技出版社,1991:253,298-300.