

盆腔炎冲剂对大鼠慢性盆腔炎模型的影响

刘国生, 王桐生, 龙子江, 章俊如, 陈 明
(安徽中医学院中西医结合系, 安徽 合肥 230032)

摘要:目的: 观察盆腔炎冲剂(PQYCJ)对大鼠慢性盆腔炎模型的作用。方法: 采用大肠杆菌造成的大鼠慢性盆腔炎模型, 观察了盆腔炎冲剂对模型大鼠有关各项指标的影响。结果: PQYCJ 可明显抑制大肠杆菌引起的造模大鼠子宫的炎症反应和病理变化, 明显降低血清 MDA 水平。结论: 表明 PQYCJ 对慢性盆腔炎各项病理变化有明显的改善作用。

关键词: 盆腔炎冲剂; 大肠杆菌; 慢性盆腔炎; MDA

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2004)03-0024-03

Effects of PQYCJ on Chronic Pelvic Inflammatory Disease of Rats

LIU Guo-sheng, WANG Tong-sheng, LONG Zhi-jiang, ZHANG Jun-ru, Chen Ming

(Department of Integrated Chinese and Western Medicine,

Anhui College of TCM, Hefei 230032, China)

Abstract: Objective: To study the effects of PQYCJ on chronic pelvic inflammatory disease(CPID) of rats. Method: We used the CPID model rats induced by Escherichia coli to observe the influence of PQYCJ on the model rats. Results: PQYCJ can significantly inhibit the inflammatory reaction and morphologic alteration of model uterus, it can significantly decrease the MDA level in serum. Conclusion: PQYCJ treat CPID effectively.

Key words: PQYCJ; Escherichia coli; CPID; MDA

慢性盆腔炎(chronic pevic inflammatory disease, CPID)是指女性内生殖器官及其周围的结缔组织、盆腔腹膜发生炎症。目前西药对该病的治疗以抗生素和皮质激素为主,对于改善症状有一定的疗效,但是很难从根本上消除病根。中医采用活血化瘀,清热利湿、温经散寒、理气止痛等处方来治疗各种辩证的慢性盆腔炎,有较好的疗效。

盆腔炎冲剂(pengqiangyan chongji, PQYCJ)为一传统中药复方,由紫花地丁、白花蛇舌草、丹皮和败酱草等组成,主要功能为清热化痰、祛湿止痛,主治瘀热湿阻型慢性盆腔炎。本品在多年临床应用中已取得明显的疗效,本研究旨在进一步验证 PQYCJ 在治疗慢性盆腔炎方面的疗效。

1 材料

1.1 实验动物 SD 大鼠,雌性,由安徽医科大学动物中心提供,合格证号:皖医实动准字第 02 号。

1.2 主要试剂 MDA 试剂盒:南京建成生物工程研究所提供,批号 20021230;大肠杆菌悬液:取购自安徽省防疫站的标准大肠杆菌菌株,用肉汤培养基

培养 24h 后,用生理盐水稀释成一定的浓度,进行比浊度检查,使其浓度达到 6×10^6 个/ml,以上悬液的制备由安徽中医学院微生物教研室完成。

其余试剂均为分析纯。

1.3 药物 盆腔炎冲剂,安徽中医学院第一附属医院提供,主要成份为紫花地丁(*Herba Violae*)、白花蛇舌草(*Herba Hedyotis diffusa*)、丹皮(*Cortex Moutan radidis*)、败酱草(*Herba Patriniae*)、当归(*Radix Angelicae inensis*)、党参(*Rndix Codonopsis pilosulae*)、桃仁(*Semen Persicae*)(比例为 3:2:2:1.5:1:1:0.75),主要制备方法为水提取后浓缩烘干,批号为 020418;妇乐冲剂,中国襄樊市隆中制药厂,批号 020703。以上药物试验所用的剂量均指生药量,临用前用蒸馏水(ig 给药)配制所需浓度。

2 方法

2.1 模型的制备^[1] 选用体重为 180~220g 的 SD 雌性大鼠 60 只,随机分成正常组、模型组、妇乐冲剂组,盆腔炎冲剂高、中、低剂量组,除正常组外其余动物用乙醚吸入麻醉,腹部常规消毒,取下腹部正中切口约 2cm,暴露并固定子宫,一侧子宫用 1ml 注射器抽取 0.2ml 大肠杆菌悬液,在注入菌液之前用注射

器机械损伤子宫内膜,然后注入 0.1ml 菌液,另一侧子宫不注射菌液,注毕,分层关腹,消毒术区。假手术组仅进行开腹和关腹手术,未进行子宫处理。造模后第 10d 开始灌胃(ig)给药,每天 1 次,连续 20d。未造模型假手术组动物每日给予蒸馏水;模型动物组中一组给予蒸馏水,另外三组给予不同剂量的盆腔炎冲剂: 8.67、17.33、34.66g·kg⁻¹ 体重;阳性药对照组给予妇乐冲剂 20g·kg⁻¹。

2.2 造模子宫肿胀率测定 末次给药 24h 后,将动物用戊巴比妥钠 30mg/kg 腹腔麻醉,剖腹,摘取双侧子宫,除去脂肪组织后用电子天平称重,子宫左右两侧的重量差即为炎症肿胀程度,求出肿胀率和抑制率,进行组间比较。

肿胀率 = (致炎侧子宫重量 - 未致炎侧子宫重量) / 未致炎子宫重量 × 100%

抑制率 = (模型组子宫平均肿胀率 - 给药组子宫平均肿胀率) / 模型组子宫平均肿胀率 × 100%

2.3 造模子宫病理变化 末次给药 24h 后,将动物用戊巴比妥钠 30mg/kg 腹腔麻醉,剖腹,摘取双侧子宫,称重后用 10% 的甲醛溶液固定,石蜡包埋,常规切片,HE 染色,光镜下观察子宫病理形态学变化。病理观察指标及积分标准为:

1. 宫腔粘连闭塞或扩张:“—”无病变记 0 分;“+” < 1/3 病变记 1 分;“++” 1/3~ 2/3 病变记 2 分;“+++” 2/3 以上病变记 3 分。

2. 腔壁结构病变:“—”各层结构正常记 0 分;“+”粘膜固有层腺体结构消失记 1 分;“++”肌层与粘膜层分界不清记 2 分;“+++”分层结构不清记 3 分。

3. 上皮细胞变性坏死:“—”单层柱状上皮记 0 分;“+”上皮细胞扁平或脱落 < 1/3 记 1 分;“++”上皮细胞扁平或脱落 1/3~ 2/3 病变记 2 分;“+++”全层上皮细胞变性坏死记 3 分。

4. 慢性炎细胞浸润:“—”无慢性炎细胞浸润记 0 分;“+”小数散在或灶性且仅在粘膜固有层内记 1

分;“++”散在或灶性但深入肌层记 2 分;“+++”多数散在或层状浸润并累及全层记 3 分。

5. 内膜充血水肿:“—”无内膜充血水肿记 0 分;“+”固有膜轻微充血水肿记 1 分;“++”明显充血水肿记 2 分;“+++”全层充血水肿记 3 分。

2.4 血液中 MDA 测定 末次给药 24h 后,将动物用戊巴比妥钠 30mg/kg 腹腔麻醉,剖腹,腹主动脉取血,离心,取血清,按照试剂盒说明书中所述的方法进行操作,用 754 型分光光度计测定结果,并按照试剂盒说明书中所述的计算公式计算出血液中 MDA 的浓度。

3 结果

3.1 对模型大鼠子宫肿胀率的影响结果 见表 1 所示,盆腔炎冲剂(34.66, 17.33, 8.67g·kg⁻¹) ig 给药,均能不同程度抑制大肠杆菌引起的子宫炎性肿胀,作用程度与剂量相关。

表 1 盆腔炎冲剂对模型大鼠子宫肿胀率的影响($\bar{x} \pm s; n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	肿胀率/%	抑制率/%
假手术组	—	1.17 ± 15.71	
模型组	—	44.03 ± 12.9 ^{△△}	
PQYCJ	34.66	8.11 ± 5.52 ^{**}	81.58
	17.33	22.46 ± 13.56 ^{**}	49.00
	8.67	30.23 ± 15.37 [*]	31.34
妇乐冲剂	20.00	16.56 ± 6.2 ^{**}	62.39

注:与假手术组比较[△] P < 0.05, ^{△△} P < 0.01;与模型组比较^{*} P < 0.05, ^{**} P < 0.01

3.2 盆腔炎冲剂对模型造模大鼠子宫病理变化的影响 各组 10 只动物的子宫病理切片分别进行打分后计算平均值和方差,并进行计量统计,结果见图 1,表 2,大肠杆菌复制慢性盆腔炎模型大鼠子宫内膜炎模型病理具有宫腔粘连闭塞或扩张、腔壁结构紊乱、内膜腺上皮细胞变性坏死,炎细胞浸润及充血水肿等病变,基本符合临床慢性盆腔炎的病变,提示模型符合要求。各治疗组子宫病变较模型组有较明显改善,尤其是 34.66, 17.33g·kg⁻¹ 剂量组。说明盆腔炎冲剂对大肠杆菌复制的慢性盆腔炎模型大鼠的子宫病理变化有一定的治疗作用。

表 2 盆腔炎冲剂对模型大鼠子宫病理变化(评分结果)的影响($\bar{x} \pm s; n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	粘连或扩张	腔壁结构病变	上皮细胞 变性坏死	炎细胞浸润	内膜充血水肿
假手术组	—	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
模型组	—	2.20 ± 1.32 ^{△△}	0.00 ± 0.00	1.70 ± 1.06 ^{△△}	2.20 ± 0.42 ^{△△}	1.10 ± 1.20 ^{△△}
PQYCJ	34.66	0.20 ± 0.63 ^{**}	0.00 ± 0.00	0.30 ± 0.67 ^{**}	0.40 ± 0.52 ^{**}	0.10 ± 0.32 ^{**}
PQYCJ	17.33	0.20 ± 0.63 ^{**}	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00 ^{**}	1.00 ± 1.05 [*]	0.40 ± 0.84 ^{**}
PQYCJ	8.67	0.40 ± 0.80 [*]	0.20 ± 0.63	0.90 ± 0.88	1.80 ± 0.42	0.00 ± 0.00
妇乐冲剂组	20	0.00 ± 0.00 ^{**}	0.00 ± 0.00	0.40 ± 0.80 ^{**}	0.90 ± 0.88 ^{**}	0.60 ± 0.97

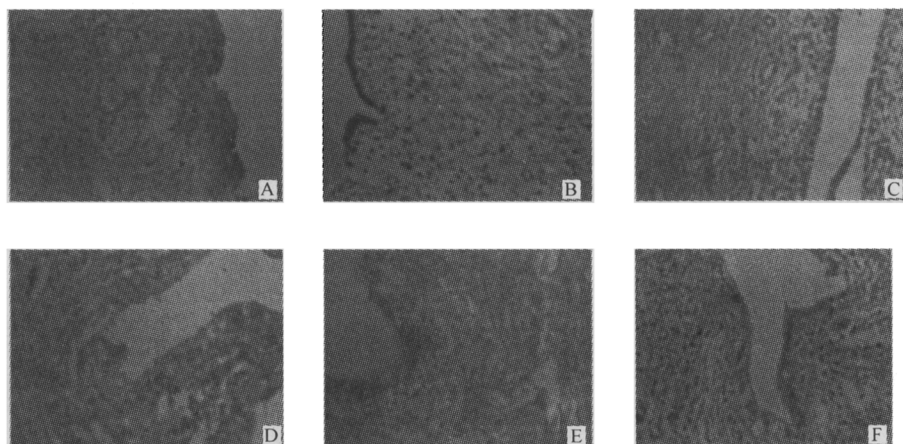


图 1 盆腔炎冲剂对大肠杆菌引起的慢性盆腔炎大鼠子宫病理变化的影响

A 假手术组($\times 200$); B 模型动物组($\times 200$) 上皮变性坏死, 炎细胞浸润, 充血水肿; C PQYCJ $34.66\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ($\times 200$); D PQYCJ $17.33\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ($\times 200$) 炎细胞浸润; E PQYCJ $8.67\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ($\times 200$) 炎细胞浸润, 上皮脱落; F 妇乐冲剂 $20\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ($\times 200$) 充血水肿, 炎细胞浸润。

3.3 盆腔炎冲剂对模型大鼠血液中 MDA 的影响

结果见表 3, 模型组动物血中的 MDA 水平明显升高, 给予盆腔炎冲剂 $34.66\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 高剂量后可显著降低大鼠血中升高的 MDA 水平。盆腔炎冲剂 17.33 , $8.67\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组和阳性对照药组均无明显影响。

表 3 盆腔炎冲剂对模型大鼠血液中 MDA 的影响($\bar{x} \pm s$; $n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	MDA/ $\text{nmol}\cdot\text{ml}^{-1}$
假手术组	—	2.15 ± 1.28
模型组	—	$4.27 \pm 2.20^{\Delta\Delta}$
PQYCJ	34.66	$1.40 \pm 1.08^{**}$
	17.33	2.85 ± 1.52
	8.67	3.15 ± 2.05
妇乐冲剂	20	3.22 ± 0.92

注: 与假手术组比较 $\Delta\Delta P < 0.01$; 与模型组比较 $^{**} P < 0.01$

4 讨论

对于盆腔炎模型的建立, 国内学者^[2] 最早采用化学性烧伤致炎的方法造成大鼠子宫内膜粘连模型, 该模型模拟子宫内膜在化学烧伤后发生的炎症反应, 造成子宫内膜发生充血、水肿、炎症渗出和粘连不通。后期学者认为化学性烧伤致炎模型虽然在病理结果上和人类的盆腔炎有一致之处, 但感染途径不同, 人类盆腔炎最接近的应为细菌性盆腔炎动物模型。近年来的研究也表明, 人类慢性盆腔炎绝大多数为厌氧菌和需氧菌并存或多种厌氧菌混合感染所致, 其中大肠杆菌是引起慢性盆腔炎的主要病原微生物且试验室较容易繁殖和保存。

根据前人的经验, 我们采用大肠杆菌加机械损伤的方法造成更贴切于人类慢性盆腔炎的病理变化模型。造模动物病理检查结果表明, 造模子宫有明显的炎症病变, 出现红肿、充血、重量增加, 病理切片发现子宫有明显的粘连、炎症浸润、粘膜层水肿、腺

体破坏减少等变化。由于大鼠具有双侧子宫, 因此大鼠子宫炎症造模多采用自身对照的方法, 即一侧子宫形成炎症, 而另一侧作为正常对照, 这样便于计算子宫的肿胀率。采用阴道注射的方法虽接近实际病理过程, 但感染的可能是双侧子宫, 无法计算出子宫炎症造模引起的准确的肿胀率, 且阴道注射造模炎症的反应有较大差异, 不如开腹造模那样准确一致。因此子宫炎症造模以开腹手术为佳。

盆腔炎冲剂可明显减轻造模侧子宫的炎症反应和病理变化, 说明对慢性盆腔炎有一定的治疗作用。从其他指标检测结果来看, 盆腔炎冲剂可降低模型动物血清中 MDA 的水平。MDA 为脂质过氧化终产物^[3], 本试验大肠杆菌所致的大鼠 CPID 模型中, 可能由于子宫内慢性损伤引起炎细胞浸润, 吞噬细胞功能增强, 产生了氧自由基, 氧自由基攻击细胞膜脂质, 产生脂质过氧化反应, 生成过氧化终产物 MDA, 从而使模型动物血清中的 MDA 水平升高。盆腔炎冲剂 $34.66\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组可以显著降低血清中 MDA 的水平, 因此提示可能有抑制氧自由基的产生和(或)脂质过氧化反应的作用, 这可能是 PQYCJ 发挥抗炎作用的机制之一。

参考文献:

- [1] 闻 莉, 张三元, 李 莉, 等. 大鼠慢性盆腔炎模型的技术要求及模型特点[J]. 浙江中西医结合杂志, 2001, 11(8): 484.
- [2] 陈学忠. 活血化瘀方防治子宫内膜粘连的实验研究[J]. 中西医结合杂志, 1986, 6(12): 740.
- [3] 李 兰. 妇产科领域中的活性氧与脂质过氧化[J]. 国外医学·妇产科分册, 1990, 17(3): 129.