

• 药理 •

宫宁胶囊对大鼠子宫内膜异位模型的影响

李建荣¹, 周爱香¹, 李晓芹¹, 吴子伦¹, 贺 荣¹, 李成文²

(1. 中国中医研究院中药研究所, 北京 100700; 2. 北京市安康医院, 北京 102406)

摘要: 方法: 用种植内膜的方法造成大鼠子宫内膜异位症模型。结果: 宫宁胶囊可抑制大鼠子宫内膜异位病理组织学方面的改变, 减少腺体数目, 缩小腺腔内径, 使腺上皮细胞萎缩。

关键词: 子宫内膜异位; 病理组织学; 血液流变学; 大鼠

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2003)06-0019-03

Effect of Gongning Capsule on Experimental Endometriosis in the Rat

LI Jian-rong, ZHOU Ai-xiang, LI Xiao-qin, WU Zi-lun, HE Rong

(Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100700, China)

Abstract: Methods: Experimental endometriosis was studied in the intact female rat. Results: The change in pathology of endometriol explant had significantly decreased in the treated group compared with the untreated group. Less numbers of the glands, smaller glandular cavity, and shrunk glandular cells were also observed in the treated group.

Key words: endometriosis; pathology; hemorrhheology; rat

子宫内膜异位症是妇科常见病和疑难病, 属中医“症瘕”的范畴。宫宁胶囊具有活血化瘀, 行气止痛的功效, 临床用于治疗子宫内膜异位症取得一定的疗效。现将其对动物子宫内膜异位模型的药效学研究结果报道如下。

1 实验材料

1.1 动物 SD 种大鼠, 雌性, 体重 250~280g, SPF 级, 动物合格证号: SCXK(京)2002-0003, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司。昆明种小鼠, 雌、雄性, 体重 18~20g, 购自北京医学科学院动物研究所繁育场, 动物合格证号: SCXK-11-00-0006。

1.2 仪器 LG-R-80 系列血液黏度计, 北京世帝仪器公司生产。

1.3 药物 宫宁胶囊: 由益母草、红花等药物组成, 由本所制剂室提供, 批号: 20011108, 给药前加适量蒸馏水溶解, 配成相应的浓度备用。丹那唑胶囊: 200mg/粒, 江苏联环药业股份有限公司生产, 批号: 20020215。乙烯雌酚: 1mg/ml, 上海第九制药厂生产, 批号: 20010910。

2 实验方法和结果

2.1 对大鼠子宫内膜异位模型的影响 动物适应性饲养一周后皮下注射乙烯雌酚 0.1ml/100g, 每日一次, 连续注射 3d, 第 4d 以 3% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉。0.1ml/100g。开腹, 剪下左侧子宫长约 2cm, 行对端吻合术, 将剥离的子宫内膜组织用卡尺量, 切成 3×3mm 大小的内膜块, 分别缝在右侧子宫角、右侧输卵管正中和右侧卵巢附近, 缝合线为无损伤 6 号锦纶单丝线, 闭腹。造型后第 3d 将大鼠随机分为 6 组, 即正常对照组、模型对照组、阳性药对照组和宫宁胶囊大、中、小剂量组, 每组 10 只, 宫宁胶囊按照 12.0、6.0、3.0g/kg 剂量灌胃给药, 相当人临床用量的 15、7.5 和 3.75 倍, 阳性药丹那唑胶囊按照 67mg/kg 灌胃给药, 相当人临床用量的 10 倍, 给药体积均为 0.8ml/100g, 连续给药 30d, 药后 31d 动物禁食 16h, 戊巴比妥钠麻醉, 腹主动脉取血, 测血液流变学指标; 取子宫及异位组织, 肉眼观察子宫及子宫内膜的大体形态; 10% 甲醛固定, 石蜡包埋, 切片, HE 染色, 高倍显微镜下观察子宫内膜的组织形态, 按照病变程度的分级标准进行统计, 并进行组间比较; 在光镜下, 以目镜测微尺的小格数为单位, 计数假腺体的个数, 测量假腺体的横径和竖径, 比较组间差异。

2.1.1 血液流变学结果 结果显示, 宫宁胶囊 12、6、3g/kg 剂量均可降低内膜异位模型大鼠高、中、低切变率下的全血黏度和还原黏度(见表 1、2)。提示

宫宁胶囊具有一定的活血化瘀作用。

表1 对子宫内位大鼠血液流变学的影响(1) ($\bar{x} \pm s; n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	全血黏度(MPa/s ⁻¹)			
		150 ^{s-1}	38 ^{s-1}	10 ^{s-1}	5 ^{s-1}
正常	—	3.36 ± 0.52	4.82 ± 0.73	7.96 ± 0.78	10.12 ± 1.85
模型	—	5.02 ± 0.39 [#]	6.94 ± 0.47 [#]	13.26 ± 0.65 [#]	17.93 ± 1.54 [#]
丹那唑	67mg	4.07 ± 0.31 [*]	6.30 ± 0.32 [*]	10.43 ± 0.76 [*]	15.85 ± 1.44 [*]
宫宁大	12	3.95 ± 0.57 [*]	6.11 ± 0.40 [*]	10.05 ± 0.50 [*]	12.96 ± 1.47 [*]
宫宁中	6	4.22 ± 0.38 [*]	6.23 ± 0.56 [*]	10.23 ± 0.66 [*]	14.02 ± 2.01 [*]
宫宁小	3	4.50 ± 0.42 [*]	6.46 ± 0.43 [*]	12.02 ± 0.60 [*]	16.00 ± 1.53 [*]

注:组间t检验:与正常组比较[#] P < 0.01;与模型组比较^{*} P < 0.05, ^{**} P < 0.01。
(下同)

表2 对子宫异位大鼠血液流变学的影响(2) ($\bar{x} \pm s; n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	还原黏度(MPa/s ⁻¹)			
		150 ^{s-1}	38 ^{s-1}	10 ^{s-1}	5 ^{s-1}
正常	—	5.15 ± 0.51	8.71 ± 0.53	15.67 ± 1.16	23.59 ± 2.03
模型	—	8.02 ± 0.90 [#]	12.64 ± 1.20 [#]	22.68 ± 1.65 [#]	34.85 ± 2.31 [#]
丹那唑	67mg	7.12 ± 0.68 [*]	11.02 ± 0.98 [*]	20.23 ± 1.22 [*]	32.69 ± 2.71
宫宁大	12	6.02 ± 0.75 [*]	8.02 ± 1.03 [*]	18.04 ± 2.25 [*]	26.32 ± 4.85 [*]
宫宁中	6	6.67 ± 0.96 [*]	10.03 ± 2.01 [*]	19.69 ± 2.66 [*]	29.65 ± 6.08 [*]
宫宁小	3	6.93 ± 0.67 [*]	10.71 ± 0.98 [*]	20.97 ± 1.16	30.80 ± 2.13 [*]

2.1.2 大体形态 子宫及子宫内膜肉眼观察可见:正常对照组大鼠的组织结构正常,未见有颜色改变,子宫管腔未见有增大或增厚,内膜未见有充血及瘀血现象。模型组大鼠的子宫内膜增大增厚,内膜呈红色透亮状,右侧(异位子宫内膜侧)子宫表面有囊肿,囊肿大小不等,部分异位内膜与周围组织粘连,个别动物粘连较重。阳性药和给药大、中、小剂量组大鼠的异位子宫呈棕色病灶,子宫内膜增大增厚、内膜色泽及内膜与其周围组织粘连等症状均较模型组有不同程度地减轻。

2.1.3 病理组织观察结果(纵切面组织形态) 镜下结果可见:正常对照组大鼠的子宫内膜上皮未见增生,未见有炎性细胞浸润,组织结构正常。模型组大鼠的异位子宫内膜有囊肿形成,囊肿的囊壁内衬柱状上皮,呈萎缩状态。表面上皮和内膜的间质细胞增生,异位内膜呈假腺体样改变,主要表现为假腺上皮呈萎缩状,个别动物的异位内膜间质有陈旧性出血,并有少量炎性细胞浸润。给药各组大鼠的异位内膜囊壁及平滑肌层变薄,假腺体减少,表面上皮和间质细胞稀少,其中大、中剂量组异位内膜囊壁及平滑肌层明显变薄,假腺体明显萎缩,表面上皮和间质细胞增生明显减轻。按照病变程度的分级标准(见表3下)进行统计,三剂量组间呈现较明显的量

效关系(见表3)。

表3 对大鼠子宫异位内膜病理组织学的影响(n = 10)

组别	剂量(g/kg)	子宫内膜的病变程度			
		+++	++	+	-
正常	—	0	0	0	10
模型	—	7 [#]	3 [#]	0	0 [#]
丹那唑	67mg	0 [*]	0 [*]	5 [*]	5 [*]
宫宁大	12	0 [*]	0 [*]	3 [*]	7 [*]
宫宁中	6	0 [*]	0 [*]	5 [*]	5 [*]
宫宁小	3	0 [*]	0 [*]	6 [*]	4 [*]

注:卡方检验:与正常对照组比较[#] P < 0.05, [#] P < 0.01;与模型对照组比较^{*} P < 0.05。

分级标准:+++ 异位子宫内膜假腺体较多,并有炎细胞浸润及出血灶;++ 异位子宫内膜假腺体减少,炎细胞浸润及出血减轻;+ 异位子宫内膜假腺体基本萎缩,炎细胞浸润和出血明显减轻;- 异位子宫内膜未见假腺体,未见炎细胞浸润和出血。

表4 对大鼠子宫异位内膜腺体的影响($\bar{x} \pm s; n = 10$)

组别	剂量 (g/kg)	假腺体		
		数量(个)	横径	竖径
正常	—	0	—	—
模型	—	7.2 ± 4.0 [#]	11.2 ± 2.6 [#]	8.0 ± 1.2 [#]
丹那唑	67mg	1.2 ± 0.8 [*]	4.2 ± 2.5 [*]	2.2 ± 1.5 [*]
宫宁大	12	0.6 ± 0.9 [*]	2.5 ± 2.3 [*]	1.1 ± 1.4 [*]
宫宁中	6	1.3 ± 1.0 [*]	2.8 ± 1.5 [*]	1.7 ± 1.2 [*]
宫宁小	3	2.0 ± 1.1 [*]	4.4 ± 1.6 [*]	2.6 ± 1.0 [*]

注:假腺体横径和竖径的单位为光镜目镜下测微尺的小格数(16 × 16)

2.2 对非特异性炎症模型的影响

2.2.1 对慢性炎症模型(大鼠棉球肉芽肿)的影响^[5] 取体重150~180g雄性大鼠,适应性饲养3d后以3%戊巴比妥钠麻醉(1.0ml/kg),将已称重并经高压灭菌的棉球植入大鼠两侧腹股沟部皮下,术后随机分为5组,每组10只,手术当日开始连续灌胃给药7d,宫宁胶囊大、中、小剂量组分别为12、6、3g/kg,阳性药阿司匹林的剂量为0.1g/kg,给药体积均为0.8ml/100g,术后第8d处死动物,剥离并取出棉球肉芽组织,于60~90℃烘箱内干燥1h后称重,减去棉球的重量,即为肉芽肿的净量,比较组间肉芽肿的重量,计算其抑制率。

结果显示,宫宁胶囊大、中、小三剂量均可抑制大鼠棉球肉芽肿,提示,本品对非特异性慢性炎症模型具有抑制作用(见表5)。

2.2.2 对急性炎症模型(二甲苯性小鼠耳肿胀)的影响^[5] 取体重为25~30g雄性小鼠,随机分为5组,每组10只,连续灌胃给药3d,宫宁胶囊大、中小

表 5 对大鼠棉球肉芽肿的影响($\bar{x} \pm s; n=10$)

组别	剂量(g/kg)	肉芽肿干重 mg	抑制率%
模型	—	123.75 ± 17.64	
阿司匹林	0.1	74.90 ± 13.50 ^{***}	65.2
宫宁大	12	75.20 ± 14.36 ^{***}	64.6
宫宁中	6	79.54 ± 15.68 ^{***}	55.6
宫宁小	3	85.42 ± 20.19 ^{**}	44.9

注: 组间 *T* 检验: 与模型对照组比较: ^{***} *P* < 0.001。

剂量组分别为 12、6、3g/kg, 阳性药阿司匹林的剂量为 0.1g/kg, 给药体积均为 0.2ml/10g, 末次给药后 0.5h, 将二甲苯 50μl 用加样器滴于小鼠左耳的前后两面, 右耳为对照, 0.5h 后处死小鼠, 沿耳廓基线剪下两耳, 用 8mm 直径的打孔器分别在同一部位打下圆耳片, 组织天平称重, 以每鼠的左耳片重减去右耳片重即为肿胀度, 计算各组的肿胀度的均值及标准差, 计算其抑制率, 比较组间差异。

表 6 对小鼠耳肿胀的影响($\bar{x} \pm s; n=10$)

组别	剂量(g/kg)	肿胀度 mg	抑制率 %
模型	—	25.7 ± 5.1	
阿司匹林	0.1	15.2 ± 5.5 [*]	69.9
宫宁大	12	16.0 ± 4.2 [*]	60.6
宫宁中	6	18.2 ± 4.3 [*]	41.2
宫宁小	3	20.5 ± 5.2	25.4

结果显示, 宫宁胶囊大、中剂量均可抑制二甲苯致小鼠的耳肿胀, 小剂量组的作用不明显。提示本品对动物非特异性急性炎症模型具有一定地抑制作用(见表 6)。

3 讨论

3.1 在该试验条件下, 大鼠子宫内膜异位模型在病理组织学方面表现为假腺体样改变, 并表现为似血瘀证模型的症状, 即全血黏度和还原黏度增加。

3.2 药效学试验显示, 宫宁胶囊可抑制子宫内膜异位大鼠病理组织学的改变, 降低其高、中、低切变率下的全血黏度和还原黏度, 抑制大鼠棉球肉芽肿和小鼠二甲苯性耳肿胀。提示宫宁胶囊对大鼠试验性子宫内膜异位模型具有治疗作用, 并具有一定的活血化瘀和抗炎作用。该研究为临床用药提供了药效学研究基础。

参考文献:

- [1] 杜卓民. 实用组织学技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998. 48.
- [2] 俞超芹, 翟美芙, 邢玲玲, 等. 子宫内膜异位症白细胞介素-8 与白细胞介素-10 水平及内异方对其调节作用[J]. 中国中西医结合杂志, 2000, 8(20): 603.
- [3] 李仪奎. 中药药理试验方法学[M]. 上海科学技术出版社, 1991. 304, 300.