

散结镇痛片对子宫内膜异位症模型大鼠妊娠功能和激素水平的影响

潘媛, 曹亮, 邓奕, 荣根新, 丁岗*, 王振中

江苏康缘药业股份有限公司, 江苏连云港 222001

摘要:目的 观察散结镇痛片对子宫内膜异位症模型大鼠妊娠功能和雌激素水平的影响。方法 采用自体种植法制备大鼠子宫内膜异位症模型。手术后将大鼠分为假手术组, 模型组, 达那唑胶囊(0.070 g/kg)阳性对照组, 散结镇痛片低、中、高剂量(0.216、0.432、0.864 g/kg)组及散结镇痛胶囊(0.864 g生药/kg)组, 每天ig给药1次, 连给4周后, 大鼠眼眶静脉丛取血, 放射免疫法测血清中促黄体生成素、催乳素和孕激素的水平。取各组大鼠与有生育能力的雄鼠合笼交配, 1周后将雄鼠取出, 分笼饲养, 于分笼后第12天处死雌鼠, 摘取右卵巢, 计数妊娠黄体数, 剖开右子宫角, 计数着床点、活胎及死胎数, 并计算着床率和死胎率。结果 与模型组比较, 散结镇痛片3个剂量均能增加活胎数、排卵数, 提高着床率, 降低死胎率, 其中高剂量增加排卵数, 提高着床率的作用尤为明显; 散结镇痛片3个剂量均能调节大鼠血清催乳素和孕激素水平, 其中高剂量降低催乳素、升高孕激素水平的作用尤为明显。结论 散结镇痛片能增强子宫内膜异位症模型大鼠的妊娠功能, 该作用可能与其调节激素水平、恢复机体正常内分泌功能有关。

关键词: 散结镇痛片; 子宫内膜异位症; 妊娠功能; 雌激素

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2011)06-0477-04

Effects of Sanjie Zhentong Tablet on pregnant function and estrogen level of rats with experimental endometriosis

PAN Yuan, CAO Liang, DENG Yi, RONG Gen-xin, DING Gang, WANG Zhen-zhong

Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

Abstract: Objective To observe the effects of Sanjie Zhentong Tablet on pregnant function and estrogen level of rats with experimental endometriosis. **Methods** Self-endometrium transplantation by surgical method was used to develop rats models of endometriosis. After operation, the rats were divided into seven groups, such as Sham group, model group, Danazuo (0.070 g/kg) group, high, medium, and low dosage (0.216, 0.432, 0.864 g/kg) of Sanjie Zhentong Tablet group, and Sanjie Zhentong Capsula (crude drugs 0.864 g/kg) group. Four weeks after ig administration once daily, blood samples were drawn from orbital venous plexus of rats, the serum LH, P and PRL levels were measured by radioimmunoassay. Then the rats were mated with known fertile male rats, that were removed after one week, sub-cage feeding, 12 d later, females were killed to open the abdominal cavity, then remove the right ovary, count the number of corpus luteum of pregnancy, cut and open the right uterine horn, count the implantation sites, the number of live births and stillbirths, and calculate the implantation rate and stillbirth rate. **Results** Three doses of Sanjie Zhentong Tablet can increase the number of live births, ovulation rate, and the implantation rate, while reduce the stillbirth rate, among which high dose of Sanjie Zhentong Tablet could significantly increase the number of ovulation rate and implantation rate; all the three doses of Sanjie Zhentong Tablet are able to regulate the level of serum PRL and P, in which large doses can significantly reduce the serum levels of PRL, elevate P level. **Conclusion** Sanjie Zhentong Tablet can improve the pregnant functions of experimental endometriosis in rats, the mechanism may be related to its functions in regulating hormone levels and restoring the body's normal endocrine.

Key words: Sanjie Zhentong Tablet; endometriosis; pregnant function; estrogen

散结镇痛胶囊由《增效产乳备要》中血竭散与《医学心悟》中消瘰丸化裁而来, 由龙血竭、三七、浙贝母和薏苡仁4味中药精制而成, 临床上广泛用

于治疗子宫内膜异位症(痰瘀互结兼气滞症)所致继发性痛经、月经不调、盆腔包块、不孕等妇科疾病, 疗效确切, 并具有抗炎、解痉、增强免疫等作

收稿日期: 2011-08-22

基金项目: 国家重大新药创制专项(2011ZX092012-066)

*通讯作者 丁岗(1967—), 男, 博士, 研究员级高级工程师, 主要从事中药研究与开发。Tel: (025)86587930-8104

用^[1-4]。但散结镇痛胶囊的制备只采用全处方打粉灌装胶囊的传统工艺,致使服用量偏大。现代药理研究表明,许多大分子物质如纤维素等成分一般不具有药理活性,常常影响产品的稳定性和质量,这些问题也较大程度地影响了散结镇痛胶囊的推广和国际化。笔者以富集有效部位群或有效成分组为切入点,利用乙醇渗漉、回流等现代提取技术,结合动物实验筛选最优工艺,对散结镇痛胶囊进行二次开发研究,制备服用剂量减半、体积小的散结镇痛片,改善了患者的耐受性。前期研究显示,散结镇痛片具有与散结镇痛胶囊相当的缓解痛经、抗炎、增强免疫等作用和对子宫内膜异位症明显的疗效。本实验旨在观察散结镇痛片对子宫内膜异位症模型大鼠妊娠功能的影响并探讨其作用机制。

1 材料

1.1 药品与试剂

散结镇痛片,0.3 g/片,每片相当于生药 0.8 g,批号 101018,散结镇痛胶囊,0.4 g/粒,每粒相当于生药 0.8 g,批号 100607,均由江苏康缘药业股份有限公司提供;达那唑胶囊,0.1 g/粒,江苏联环药业股份有限公司产品,批号 20100302;己烯雌酚片,合肥久联制药有限公司,批号 20100108;促黄体生成素、催乳素、孕激素试剂盒,由北京华英生物技术研究所提供。

1.2 动物

清洁级 SD 大鼠,雌性,体质量 180~220 g,浙江省实验动物中心提供,生产许可证号 SCXK(浙)20080033,使用许可证号 SYXK(苏)2010-0010。

1.3 仪器

Mettler—AL204 电子天平,梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司;DK—8B 型电热恒温水槽,上海精宏实验设备有限公司;LDZ5—2 型低速自动平衡离心机,北京京立医用离心机厂;r—911 全自动放免计数仪,中国科技大学实业总公司。

2 方法

2.1 模型制备

参考文献方法^[5-9],采用自体种植法制备子宫内膜异位症模型。手术前 24 h,每只大鼠 ig 给予己烯雌酚 0.1 mg,使大鼠手术时处于动情期。大鼠以乌拉坦(0.8 g/kg) ip 麻醉后,腹部脱毛,常规消毒,腹部正中切口约 2 cm,找出左侧子宫,套扎约 1 cm 的子宫体,剪下被套扎的子宫,迅速置于盛有 0~4

℃生理盐水的培养皿中,剥离子宫内膜,沿系膜部位剪开管状子宫,切割成 4 mm×4 mm 大小的片。在手术切口中段,将子宫片缝合于腹壁上,内面向朝向腹腔。逐层缝合,常规关腹。

2.2 试药溶液配制

散结镇痛片、散结镇痛胶囊、达那唑胶囊分别研磨成细粉,以蒸馏水作为溶剂,充分研磨搅匀,超声处理 15 min 后取出,试验前配至所需质量浓度。

2.3 分组与给药

取 10 只作为假手术组,仅套扎并切除 1 cm 子宫体,不种植,给予蒸馏水 10 mL/kg。90 只随机分为 6 组(每组 15 只):模型组给予蒸馏水 10 mL/kg;达那唑胶囊组给予达那唑胶囊 0.070 g/kg;散结镇痛片低、中、高剂量组分别给予散结镇痛片 0.216、0.432、0.864 g 生药/kg;散结镇痛胶囊组给予散结镇痛胶囊 0.864 g 生药/kg。造模手术后各组大鼠恢复 8 d 再分别给予试药或蒸馏水,每天 ig 给药 1 次,给药体积 10 mL/kg,连续给药 5 周。

2.4 观察指标

于给药 4 周后将各组大鼠与有生育能力的雄鼠合笼交配。1 周后,将雄鼠取出分笼饲养,分笼后第 12 天将雌鼠处死,打开腹腔,验证是否受孕;摘取右卵巢,计数妊娠黄体数(排卵数);剖开右宫角,计数着床点、活胎及死胎数,并计算着床率(着床率=着床数/排卵数)和死胎率(死胎率=死胎数/着床数)^[10-13]。于合笼交配前 1 天眼眶静脉取血,放射免疫法检测大鼠血清促黄体生成素、催乳素、孕激素的水平^[11-13]。

2.5 统计方法

计量资料均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,如符合正态分布,组间比较采用单因素方差 LSD 法分析,如呈偏态分布,采用非参数检验;采用统计软件 SPSS16.0。

3 结果

3.1 对子宫内膜异位症模型大鼠妊娠功能的影响

动物解剖后,肉眼可见模型组原部位移植物形成明显透明、半透明囊肿或紫兰色火焰状结节,表明造模成功;各给药组均不同程度地减轻上述变化。与假手术组比较,模型组大鼠着床率显著降低,差异具有显著性($P < 0.01$);虽然死胎率升高,活胎数有减少,但由于离散度较大,差异无统计学意义($P > 0.05$)。散结镇痛片 3 个剂量均不同程度地增加排卵数,提高着床率,其中 0.864 g/kg 的剂量能明显增加排卵数,提高着床率,与模型组相比差异具

有显著性 ($P < 0.05$)。散结镇痛片 0.864 g/kg 与等剂量散结镇痛胶囊的效果相当, 未见明显的统计学

差异 ($P > 0.05$)。提示散结镇痛片能提高子宫内膜异位症大鼠的妊娠功能。结果见表 1。

表 1 散结镇痛片对子宫内膜异位症模型大鼠妊娠功能的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of Sanjie Zhentong Tablet on pregnant function in rats with experimental endometriosis ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	动物/只	排卵数	活胎数	着床率/%	死胎率/%
假手术	—	10	7.8±2.4	5.5±2.8	73.6±29.8	8.3±27.1
模型	—	14	6.9±3.7	2.4±3.8	32.9±35.9 ^{▲▲}	30.0±48.0
散结镇痛片	0.216	13	8.2±3.1	3.8±4.0	46.6±36.4	24.2±41.1
	0.432	13	8.4±3.1	4.7±3.8	61.8±28.7 [*]	19.7±35.2
	0.864	13	9.5±2.4 [*]	5.3±3.3	58.8±26.1 [*]	19.0±38.2
散结镇痛胶囊	0.864	14	9.3±1.5 [*]	5.2±2.8	59.9±24.2 [*]	17.7±37.0
达那唑胶囊	0.070	15	7.3±2.2	5.3±2.8 [*]	76.4±24.3 ^{**}	9.2±27.5

与假手术组比较: ^{▲▲} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

^{▲▲} $P < 0.01$ vs Sham group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

3.2 对子宫内膜异位症模型大鼠血清促黄体生成素、孕激素和催乳素的影响

与假手术组比较, 模型组大鼠血清催乳素水平显著升高 ($P < 0.01$)、孕激素水平降低 ($P < 0.05$)。散结镇痛片 3 个剂量均能调节大鼠血清催乳素和孕

激素水平, 其中剂量为 0.864 g/kg 时能显著降低大鼠血清催乳素, 升高孕激素水平, 与模型组相比差异具有显著性 ($P < 0.01$)。散结镇痛片 0.864 g/kg 与等剂量散结镇痛胶囊效果相当, 未见明显的统计学差异 ($P > 0.05$)。结果见表 2。

表 2 散结镇痛片对子宫内膜异位症模型大鼠血清促黄体生成素、催乳素和孕激素的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 2 Effects of Sanjie Zhentong Tablet on LH, P, and PRL levels in serum of rats with experimental endometriosis ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	动物/只	促黄体生成素/(mIU·mL ⁻¹)	催乳素/(ng·mL ⁻¹)	孕激素/(ng·mL ⁻¹)
假手术	—	10	5.523±2.443	0.759±0.618	2.171±0.654
模型	—	14	6.929±1.873	5.433±1.915 ^{▲▲}	1.466±0.636 [▲]
散结镇痛片	0.216	13	6.391±1.494	4.678±2.643	1.805±0.777
	0.432	13	6.407±1.832	3.512±1.919 [*]	1.526±0.684
	0.864	13	6.611±1.384	3.377±1.745 ^{**}	2.412±0.958 ^{**}
散结镇痛胶囊	0.864	14	6.608±2.519	3.296±1.412 ^{**}	2.107±0.831 [*]
达那唑胶囊	0.070	15	6.392±2.356	3.168±1.559 ^{**}	2.224±0.765 ^{**}

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

[▲] $P < 0.05$ ^{▲▲} $P < 0.01$ vs Sham group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

4 讨论

子宫内膜异位症是指有生长功能的子宫内膜组织出现在子宫腔被覆黏膜以外的身体其他部位的疾病, 是一种激素依赖性、出血性、炎性、遗传性疾病, 临床症状表现为盆腔痛、月经失调、不孕、盆腔包块等^[14-16]。自体移植法是建立子宫内膜异位症动物模型的经典方法^[14]。在本实验中, 模型组大鼠解剖后肉眼观察结果表明大鼠子宫内膜异位症模型建立成功。

子宫内膜异位症合并不孕的机制至今尚未完全阐明。研究表明, 子宫内膜异位症患者的卵子质量

下降, 加上其他多种因素, 导致妊娠率低于正常水平。目前治疗方法很多, 西医对其临床治疗主要分为期待疗法、药物治疗、腹腔镜手术、开腹手术以及辅助助孕等治疗, 但多数药物价格昂贵或有不良反应, 且停药易复发, 而手术及辅助助孕治疗经济负担重, 因此很难推广应用。中医认为子宫内膜异位症属“痛经”、“不孕”、“月经不调”、“瘕”等范畴, 瘀血内阻已成为本病的公认发病机制, 对子宫内膜异位症合并不孕的治疗注重整体调节, 多途径作用, 故取得较好疗效。血清生殖激素异常或比例失调, 都可能导致不排卵, 引起不孕。促黄体生成

素在促排卵及黄体发育成熟中起重要作用, 卵泡期高促黄体生成素水平诱导卵母细胞过早成熟, 造成受精能力下降和着床困难, 导致不孕; 血清催乳素升高导致不排卵、月经失调、闭经、溢乳等; 血清孕激素降低也是导致不孕的因素之一^[11]。

散结镇痛片具有软坚散结、化瘀定痛的功效, 在近几年的临床实践中取得了良好的效果^[17-19]。本研究结果显示, 散结镇痛片能显著降低子宫内膜异位症大鼠血清催乳素水平, 升高孕激素水平, 增加活胎数、排卵数, 提高着床率, 降低死胎率, 推测其提高子宫内膜异位症模型大鼠的妊娠功能可能与调节激素水平、使其恢复正常内分泌功能, 从而使排卵数和活胎数增加, 提高着床率、减少死胎率有关。

参考文献

- [1] 吴琳, 李国伟. 散结镇痛胶囊治疗子宫内膜异位症 68 例疗效分析 [J]. 亚太传统医药, 2010, 6(9): 60-61.
- [2] 陈丽娟. 散结镇痛胶囊治疗子宫内膜异位症腹腔镜术后疗效观察 [J]. 上海中医药杂志, 2010, 44(11): 57-58.
- [3] 周娟, 惠宁. 散结镇痛胶囊治疗子宫内膜异位症的 Meta 分析 [J]. 中医·中西医结合研究, 2010, 8(13): 2524-2527.
- [4] 韦冰, 张凤兰. 散结镇痛胶囊治疗子宫内膜异位症的临床观察 [J]. 中国医药导报, 2007, 4(20): 91-92.
- [5] Jones R C. The effect of a luteinizing hormone releasing hormone (LRH) agonist (Wy-40,972), levohorgestrel, danazol and ovariectomy on experimental endometriosis in the rat [J]. *Acta Endocrinol*, 1984, 106(2): 282-286.
- [6] 吴献群, 李海棠. 两种实验大鼠 EM 模型复制方法比较 [J]. 湖北中医学院学报, 2005, 7(4): 3-4.
- [7] 杨萍, 纳冬荃, 熊亚龙, 等. 大鼠子宫内膜异位模型的建立与组织学观察 [J]. 中国实验动物学报, 2006, 14(2): 139-142.
- [8] 罗健英, 吴基良, 陈金和. 大鼠子宫内膜异位症模型的建立和评价 [J]. 咸宁医学院学报: 医学版, 2003, 17(1): 33-35.
- [9] 王瑞霞, 俞超芹. 大鼠子宫内膜异位症模型的建立及应用 [J]. 上海实验动物科学, 2004, 24(1): 55-58.
- [10] 赵志梅. 补肾化瘀法治疗子宫内膜异位症不孕的研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2000.
- [11] 刘彩霞, 高美华, 常继贤. 自身抗体和生殖激素失调与女性不孕症的相关性研究 [J]. 吉林医学, 2011, 32(2): 219-220.
- [12] 冉青珍, 司徒仪. 自体移植法子宫内膜异位症模型大鼠妊娠功能的研究 [J]. 广州中医药大学学报, 2004, 21(1): 47-49.
- [13] 冉青珍. EMT 模型大鼠低妊娠功能及中药治疗机理的研究 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2001.
- [14] Bourlev V, Volkov N, Pavlovitch S, *et al*. The relationship between microvessel density, proliferative activity and expression of vascular endothelial growth factor-A and its receptors in eutopic endometrium and endometriotic lesions [J]. *Reproduction*, 2006, 132(3): 501-509.
- [15] 张颖, 曹洪, 张昌军. 改良大鼠子宫内膜异位症模型的建立及微血管密度观察 [J]. 中国实验动物学报, 2008, 16(1): 56-58.
- [16] 金仙玉, 文晓燕, 张海珍. 子宫内膜异位症动物模型建立及应用的研究现状 [J]. 大连医科大学学报, 2007, 29(5): 507-508.
- [17] 任艳丽, 胡生海, 张海礁. 散结镇痛胶囊治疗 112 例子宫内膜异位症的疗效及跟踪调查 [J]. 实用诊断与治疗杂志, 2005, 19(4): 279-280.
- [18] 王颖. 散结镇痛胶囊治疗子宫内膜异位症 [J]. 医药论坛杂志, 2004, 25(16): 39.
- [19] 徐燕. 散结镇痛胶囊治疗子宫内膜异位症 76 例 [J]. 陕西中医, 2008, 29 (3): 330.