

道地通管汤对输卵管炎性不孕家兔 PGE₂、PGF_{2a}、CRP、IL-6 的影响

罗志娟¹ 马钰婷² 吴媛媛¹ 郑金兰³

(1 广西中医药大学附属瑞康医院 南宁市 530011, E-mail: zzx5415@sina.com;

2 南宁市第四人民医院 南宁市 530023; 3 广西中医药大学 南宁市 530001)

【摘要】 目的 观察道地通管汤对输卵管炎性不孕家兔前列腺素 E₂ (PGE₂)、前列腺素 (PGF_{2a})、C 反应蛋白 (CRP)、白介素-6 (IL-6) 的影响,初步探讨道地通管汤治疗输卵管不孕的作用机制。方法 36 只雌性家兔,其中 6 只不造模 (对照组),30 只采用混合菌法造家兔输卵管炎性不孕模型,造模成功后随机分为模型组、康妇消炎栓组、道地通管汤高、中、低剂量组共 5 组,每组 6 只;模型组用生理盐水灌肠,道地通管汤高、中、低剂量组分别给予不同浓度的道地通管汤灌肠 (30.4 g·kg⁻¹·d⁻¹、15.2 g·kg⁻¹·d⁻¹、7.6 g·kg⁻¹·d⁻¹),康妇消炎栓组用康妇消炎栓灌肠,均 1 次/d,10 d 为 1 疗程,共 3 个疗程。用药后观察各组输卵管组织中 PGE₂ 及 PGF_{2a} 的含量及血清 CRP、IL-6 的含量。结果 道地通管汤高剂量组输卵管组织中 PGE₂、PGF_{2a} 含量低于中、低剂量组及康妇组、模型组 ($P < 0.05$),模型组含量最高 ($P < 0.05$)。道地通管汤高、中、低剂量组、康妇组、模型组血清 CRP、IL-6 含量均高于对照组 ($P < 0.05$),模型组血清 CRP、IL-6 含量最高 ($P < 0.05$),通管汤高、中、低剂量组与康妇组比较无差异 ($P > 0.05$)。结论 道地通管汤能有效治疗输卵管炎性不孕症,可能与其降低输卵管组织中炎性介质 PGE₂、PGF_{2a} 及血清 CRP、IL-6 含量,促进炎症吸收有关。

【关键词】 输卵管性不孕; 通管汤; PGE₂; PGF_{2a}; CRP; IL-6

【中图分类号】 R 711.76 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 0253-4304(2012)11-1509-03

输卵管炎是女性不孕症的重要原因之一,急慢性炎症均能导致输卵管组织功能的降低,目前先进的医疗技术能有效地解决输卵管结构的恢复,但关键仍在于恢复输卵管的蠕动、拾卵等功能和减少组织的充血水肿。道地通管汤是笔者临床长期使用于治疗输卵管阻塞性不孕的验方,本文旨在探讨其对输卵管炎性不孕家兔前列腺素 E₂ (PGE₂)、前列腺素 (PGF_{2a})、C 反应蛋白 (CRP)、白介素-6 (IL-6) 的影响,为临床提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选用健康、清洁级、雌性、未孕家兔 36 只 4 个月龄,体重 3~4 kg,由广西医科大学动物研究所提供,合格证编号: SCXK 桂 2003-0003。

1.2 实验药物 混合菌液: 大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、链球菌,由广西中医药大学基础医学院微生物实验室提供; 生理盐水、2% 戊巴比妥钠由上海卓康生物技术有限公司生产,批号 20071020; 碘伏液、绒毛膜促性腺激素 (HCG) 注射液由丽珠集团丽珠制药厂提供,国药准字 H44020672; 道地通管汤广西中医药大学药学院药剂室提供,由蒲公英 30 g、土茯苓 20 g、千金

拔 15 g、紫花地丁 15 g、黄芪 10 g、皂角刺 15 g、三七 6 g、桂枝 10 g、苦玄参 (苦胆草) 15 g 等 10 余味中药组成; 康妇消炎栓由葵花药业集团有限公司提供,国药准字 ZZZ23022143。

1.3 主要试剂及仪器 PGF_{2a}、PGE₂、CRP、IL-6 酶联免疫试剂盒,规格: 96T 由南宁恒因生物有限责任公司提供国产; 秒表、电动玻璃匀浆机、冷冻离心机、体重计、电子秤。

1.4 实验方法

1.4.1 造模与分组: (1) 分组: 36 只雌性家兔造模前使用 HCG 注射液 100 U 肌肉注射,1 次/d,连用 3 d,保证所有实验用雌兔均处于同一发情期 (动情期动物外阴部肿胀红润,抚摸其身体则出现脊柱前抬臀等行为现象^[1])。36 只家兔中随机选取 6 只为对照组,其余 30 只在动情期后参考混合菌法^[2]造模,造模成功后随机分为 5 组,每组 6 只,分别为模型组、康妇组、道地通管汤治疗高、中、低剂量组。(2) 造模方法: 30 只实验家兔用 2% 戊巴比妥钠 5 ml/kg 经耳缘静脉注射麻醉,腹部剃毛备皮、常规消毒,用眼科手术器械打开腹腔,沿子宫找到双侧输卵管,分别在两侧子宫角近输卵管处进针,向输卵管-卵巢方向缓慢注射细菌混悬液 0.05 ml (大肠杆菌、金黄色葡萄球菌、

链球菌按2:1:1比例用无菌生理盐水稀释,配成浓度为 3×10^8 /ml的混合菌;对照组则注入生理盐水0.05 ml。手术尽量避免损伤其他组织,分层关腹,消毒术区,铺无菌垫料。一般用药20 d后输卵管阻塞造模成功^[2]。

1.4.2 给药方法:对照组在相同条件下饲养,不做任何处理。而模型组、康妇组及道地通管汤高、中、低剂量组均在造模术后第21天清晨7:00开始经肛门给药。给药量均按体表面积折算公式计算^[3]。模型组:每只家兔1.72 ml/kg生理盐水灌肠。康妇组:每只家兔给康妇消炎栓 $2.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,以0.86 ml/kg的生理盐水软化后保留灌肠。道地通管汤高、中、低剂量组:分别以通管汤 $30.4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、 $15.2 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、 $7.6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 生药量灌肠。均1次/d,10 d为1疗程,3个疗程为1个周期。灌肠方法:给药前轻轻按摩并挤压雌性家兔肛门周围,促使排除直肠内积存的粪便,将家兔放入固定器内固定,肛门涂液状石蜡润滑,然后将药物注入特制注射器,缓慢插入肛门2~3 cm后,轻轻推动活塞,将药物全部送入直肠,拔出注射器,以干棉球塞住肛门,干纱布包裹,医用胶布封口固定,然后抬高固定器尾部,使家兔保持臀高头低位0.5 h。

1.5 实验情况及指标检测 用药第21天,发情期内做阴道脱落细胞涂片确认后,雄性家兔同笼配种刺激排卵1 d,后连续交配3 d,次日清晨取阴道脱落细胞涂片检测,检出精子者为交配成功,确认交配成功后第7天,手触摸家兔腹部确认家兔是否怀孕,如触摸

到花生米样大小(直径为8~10 mm)且能滑动者确定为怀孕^[1]。至用药第30 d后经耳缘静脉注射2%戊巴比妥钠(45 mg/kg)麻醉,从腹主动脉采血10 ml,采用酶免吸附法检测血清CRP、IL-6含量;沿子宫角找到输卵管,取输卵管近端组织1 cm,用匀浆机捣碎,离心后以酶联免疫吸附法检测组织匀浆中PGE₂、PGF_{2a}含量。

1.6 统计学分析 所有数据均采用SPSS 11.0进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组均数比较采用方差检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 用药后各组家兔受孕情况 对照组有5只家兔受孕,模型组均未受孕,道地通管汤高剂量组受孕4只,中、低剂量组与康妇组各受孕1只。

2.2 各家兔输卵管组织匀浆中PGE₂、PGF_{2a}及血清CRP、IL-6含量比较 通管汤高、中、低剂量组及康妇组、模型组家兔输卵管组织中PGE₂、PGF_{2a}含量均高于对照组($P < 0.05$),但高剂量组含量低于中、低剂量组及康妇组、模型组($P < 0.05$),模型组含量最高($P < 0.05$)。由此可知道地通管汤能有效降低组织匀浆中PGE₂及PGF_{2a}的含量,起到抗炎的治疗效果。通管汤高、中、低剂量组、康妇组、模型组血清CRP、IL-6含量均高于对照组($P < 0.05$),模型组血清CRP、IL-6含量最高($P < 0.05$),道地通管汤高、中、低剂量组与康妇组比较无差异($P > 0.05$)。见表1。

表1 各组家兔输卵管组织中PGE₂和PGF_{2a}及血清CRP、IL-6含量比较($\bar{x} \pm s$ ng/L)

组别	n	PGE ₂	PGF _{2a}	CRP	IL-6
对照组	6	54.45 ± 18.17*	28.52 ± 2.73*	294.44 ± 42.10 [△]	36.52 ± 8.48 [△]
模型组	6	110.23 ± 14.33	42.36 ± 6.21	497.94 ± 104.29 [○]	71.77 ± 6.70 [●]
高剂量组	6	66.82 ± 11.10*	33.80 ± 5.94*	464.56 ± 53.66 [○]	61.23 ± 10.57 [●]
中剂量组	6	78.72 ± 3.22*	35.05 ± 3.98**	340.02 ± 22.47 ^{▲●}	58.20 ± 8.71 [▲]
低剂量组	6	83.42 ± 1.17*	35.73 ± 3.70**	429.78 ± 34.96 [○]	49.50 ± 6.96 [●]
康妇组	6	77.05 ± 4.94*	34.71 ± 3.34**	378.83 ± 26.99 [▲]	69.63 ± 7.20 [▲]
F值		18.112	5.989	11.943	15.457
P值		0.000	0.001	0.000	0.000

注:与模型组相比较,* $P < 0.01$,** $P < 0.05$;与模型组比较,[△] $P < 0.01$,[▲] $P < 0.05$;与对照组比较,[○] $P < 0.01$,[●] $P < 0.05$ 。

3 讨论

不孕属于祖国医学中“无子”、“断绪”、“带下”、“腹痛”等范畴。目前腹腔镜诊治术是输卵管炎性不孕患者最青睐的西医治疗方法,但是术后输卵管功能的恢复不可轻视。地道通管汤是我们自拟的用于治

疗输卵管性不孕症的临床验方,对输卵管炎性不孕行腹腔镜诊治术后的康复及提高受孕率有较好疗效。

众所周知,PGE₂是一种具有很强免疫调节作用的脂质性介质,能促进血小板聚集、血管收缩、凝血及血栓的形成,能有效地清除细胞外基质。炎症时,PGEs能增加微静脉、毛细血管后微静脉的通透性。PGEs增加血管通透性的机制除直接作用外,一部分

是通过刺激组胺释放的间接作用。与 PGE_s 作用相反,PGF_{2a} 颞颥组胺和缓激肽的作用,使血管通透性降低。因此,一般认为 PGE_s 具有促炎作用,PGF_{2a} 具有抗炎作用,PGE_s 和 PGF_s 的平衡与否影响炎症过程发展^[4]。通过炎症局部的 PGE/PGF_{2a} 比值的变能确切反映急性炎症过程中 PGF_s 促炎作用和 PGF_{2a} 抗炎作用之间的关系,即比值变大时,渗出液增多,比值变小时,渗出液减少。本实验中模型组 PGE₂ 升高,PGF_{2a} 降低,说明炎症渗出最多,而对照组与其余各组则反之,说明道地通管汤的治疗作用可能是通过调节炎症因子 PGE₂、PGF_{2a} 来实现的。研究发现在 PGE₂ 的其中一个亚基 EP2 基因的启动子区域含有多个与炎症刺激物如 IL6、NF- κ B 和 AP2 相关的序列以及一些对孕酮敏感的区域,推断 PGE₂ 的抗炎作用与该亚基关系密切^[5]。

CRP 是一种能与肺炎球菌 C 多糖体反应形成复合物的急性时相反应蛋白。正常人体内浓度很低,在炎症和组织损伤后 6~12 h,血中 CRP 水平即明显升高,并且几乎与炎症和损伤程度呈正比,当病理状态恢复时,CRP 水平也下降^[6-7]。本文结果发现,模型组家兔血清 CRP 水平升高,可以推断 CRP 在输卵管炎性不孕病理发生中起一定作用。用药后,与对照组比较,道地通管汤高、中、低剂量组 CRP 水平均下降 ($P < 0.05$),但各剂量组之间 CRP 水平比较无差异 ($P > 0.05$),说明道地通管汤能有效降低血清 CRP 水平而发挥抗炎作用。

IL-6 是炎症反应的主要标志之一,参与慢性炎症的病理过程,促进炎症损伤和纤维化,导致输卵管慢性损伤,最终形成输卵管等局部组织粘连、促进肉芽纤维组织的生长^[8]。本文结果发现模型组 IL-6 水平明显高于其他组 ($P < 0.05$),说明 IL-6 也参与了输卵管炎症的过程。经用药治疗后,道地通管汤各剂量组均可显著降低炎性不孕模型家兔 IL-6 水平,控制慢性炎症病情的发展,抑制纤维组织增生,输卵管黏膜及纤毛等逐渐修复,使病情好转,受孕率明显升高,这可能是道地通管汤治疗炎性不孕机制之一。

道地通管汤由蒲黄 30 g、土茯苓 20 g、千金拔 15 g、紫花地丁 15 g、黄芪 10 g、皂角刺 15 g、三七 6 g、桂枝 10 g、苦玄参(苦胆草) 15 g 等 10 余味中药组成,方中蒲黄收涩止血、活血化瘀,使宿血祛、新血生,能预防术后输卵管管腔的再次充血、水肿甚至粘连,为下次受孕提供良好的内环境;三七能活血化瘀、止血、止痛;苦玄参(苦胆草)具有抗菌消炎、清热解毒的功能,配伍皂角刺活血化瘀祛风,皂角刺有抗炎抗菌作用,能抑制或杀灭多种革兰阳菌和革兰阴性菌;土茯苓、千斤拔、十大功劳叶等加强清热利湿作用;桂枝温阳通脉,利水消肿。本文结果表明,该方能明显降低输卵管组织中 PGE、PGF_{2a} 及血清 CRP、IL-6 因子含量,但其如何作用于 PGE、PGF_{2a}、CRP、IL-6 因子发挥疗效,有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 邵义祥. 医学实验动物学教程 [M]. 南京: 东南大学出版社, 2003: 323.
- [2] 王北婴, 李仪奎. 中药新药研制开发技术与方法 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001: 403-807.
- [3] 贺石林, 王 键, 王净净. 中医科研设计与统计 [M]. 长沙: 湖南科技出版社出版, 2007: 48.
- [4] Ferreira SH. Prostaglandins. In Glynn LE, Houck JC, Weissmann G et al. Handbook of Inflammation I [M]. New York: Rayen Press, 1979: 113-378.
- [5] 朱 森, 杨吉春, 管又飞. 前列腺素 E₂ 受体亚型 EP2 和 EP4 的最新研究进展 [J]. 临床医学工程, 2009, 16(7): 109-112.
- [6] 曾敬波, 黄文清. 快速 CRP 与 WBC 联合检测的临床应用评价 [J]. 实用医技杂志, 2005, 12(7): 1719-1720.
- [7] 沙 文, 僧国珍, 侯鹏飞, 等. 血清急性时相蛋白在胃癌复发中的临床意义 [J]. 中国普通外科杂志, 2003, 12(1): 9-11.
- [8] 刘 义, 罗丽兰, 赵海波. 子宫内膜异位症患者腹腔液中肿瘤坏死因子- α 及白细胞介素-6 的测定及其对人精子活动力和鼠胚胎的影响 [J]. 中华妇产科杂志, 2000, 35(6): 332-334.

(收稿日期: 2012-04-17 修回日期: 2012-06-20)