

当归四逆汤对慢性盆腔炎大鼠疗效研究

杨伟娜 李 玉 谢琳琳 于 艳

山东中医药大学第二附属医院生殖医学中心 山东 250000

【摘要】目的, 观察当归四逆汤对慢性盆腔炎模型大鼠的有效计量和治疗效果。方法: 取 30 只大鼠, 随机分为对照组、模型组及当归四逆汤高、中、低剂量组共 5 组。除对照组外, 所有大鼠均用采用苯酚胶浆法建立大鼠慢性盆腔炎模型。造模后第 7 天开始灌胃给药, 低、中、高剂量组大鼠分别灌胃给予当归四逆汤 1.3 ml/d、2.6 ml/d、5.2 ml/d, 1 日 1 次, 连续 3 周, 对照组及模型组动物给予生理盐水灌胃 5ml/ 只。末次给药 24h 后, 腹主动脉中收集血液, ELISA 法检测血清中 C- 反应蛋白 (CRP)、白介素 6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 的变化; 切除子宫组织, 观察子宫内膜病理变化。**结果:** 当归四逆汤能明显改善模型大鼠子宫内膜病理形态; 较对照组, 模型组中 CRP、IL-6、TNF- α 表达均有显著升高。汤剂干预组, 较模型组, 均有不同程度降低。

【关键词】 当归四逆汤; 慢性盆腔炎; CRP; IL-6; TNF- α

Effect of Danggui Sini Decoction on rats with chronic pelvic inflammatory disease

Weina Yang Yu Li Linlin Xie Yan Yu

Reproductive Medicine Center of The Second Affiliated Hospital of Shandong University Of Traditional Chinese Medicine 250000

Abstract: Objective: To observe the effective measurement and therapeutic effect of Danggui Sini Decoction on chronic pelvic inflammatory disease model rats. Methods: thirty rats were randomly divided into control group, model group and Danggui Sini Decoction high, medium and low dose groups. Except the control group, all rats were used to establish the rat model of chronic pelvic inflammatory disease by phenol glue method. The rats in the low, medium and high dose groups were given Danggui Sini Decoction 1.3 ml / D, 2.6 ml / D and 5.2 ml / d once a day for 3 weeks. The animals in the control group and the model group were given normal saline 5ml / animal. 24 hours after the last administration, the blood was collected from the abdominal aorta, and the serum C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor were detected by ELISA α (TNF- α) Results Danggui Sini decoction could significantly improve the pathological morphology of endometrium in model rats; compared with the control group, CRP, IL-6 and TNF in model group- α The expression in the decoction intervention group was significantly higher than that in the model group.

Key words: Danggui Sini Decoction; chronic pelvic inflammation; CRP; IL-6; TNF- α

盆腔炎 (PID) 是女性生殖系统常见疾病之一, 指上生殖道的一组感染性疾病, 常发生于生育期女性, 如果未能及时、彻底治疗, 可能导致炎症反复发作, 或者出现慢性盆腔痛, 即为俗称的慢性盆腔炎。慢性盆腔炎是妇科的常见病和多发病, 病程长, 迁延难愈, 反复发作, 给患者的健康和生活带来较大负面影响。还会引发输卵管堵塞、卵巢囊肿等病变, 甚至造成不孕^[1]。本次研究主要针对血虚寒凝型盆腔炎的常用方剂当归四逆汤。当归四逆汤是温里剂, 由当归、桂枝、芍药、细辛、通草、甘草、大枣组成, 具有温经散寒, 养血通脉之功效。我们希望通过观察当归四逆汤对慢性盆腔炎模型大鼠炎症细胞因子表达的影响和子宫内膜的病理变化进而讨论当归四逆汤对慢性盆腔炎大鼠的干预和治疗作用, 为临床治疗慢性盆腔炎提供理论依

据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药物当归四逆汤的方剂组成是: 当归 12g, 桂枝 9g, 芍药 9g, 细辛 3g, 通草 6g, 大枣 8 枚, 炙甘草 6g, 以上七味药加水 8 升熬煮到剩余 3 升, 过滤药渣备用。

1.1.2 动物 SD 大鼠 30 只, SPF 级, 180~200g, 雌性。购买自山东大学实验动物中心。

1.1.3 试剂液化苯酚, 购自 Sigma 公司; 黄芪树胶, 购自国药集团化学试剂有限公司; 甘油, 购自国药集团化学试剂有限公司。

1.1.4 主要仪器设备 (见表 1)

表 1 主要仪器设备

仪器名称	型号	生产厂商
1ml 一次性注射器		河南曙光汇知康生物科技股份有限公司
10 μ l 移液器		Eppendorf
100mm 直尖头眼科剪		卓越医械
100mm 弯尖头眼科镊		卓越医械
涡旋振荡器	VX100	Labnet

电子天平	YP*N 型	上海精密科学仪器有限公司
------	--------	--------------

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组将 30 只 SPF 级体重 180~220g 雌性 SD 大鼠随机分成 5 组: 对照组、模型组及当归四逆汤高、中、低剂量组。

- (1) 对照组 (n=6);
- (2) 模型组 (n=6);
- (3) 当归四逆汤高剂量组 (n=6);
- (4) 当归四逆汤中剂量组 (n=6);
- (5) 当归四逆汤低剂量组 (n=6);

1.2.2 大鼠慢性盆腔炎模型制作及给药

所有动物用戊巴比妥钠 35mg/kg 腹腔麻醉。腹部常规消毒, 取下腹部正中切口约 2cm, 暴露子宫。除对照组外, 其余大鼠均用 4 号针头在双侧子宫小心进针, 向卵巢方向缓慢注入苯酚胶浆 0.06mL/ 侧, 注毕, 分层关腹, 消毒术区。造模后第 7 天开始灌胃给药, 低、中、高剂量组大鼠分别灌胃给予当归四逆汤 1.3ml/d、2.6ml/d、5.2ml/d, 1 日 1 次, 连续 3 周, 对照组及模型组动物给予生理盐水灌胃 5ml/ 只。

1.2.3 样本收集及测定末次给药 24h 后, 戊巴比妥钠麻醉大鼠, 麻妥后置于无菌台上, 无菌采血针腹主动脉采血,

负压采血管管收集血液 5ml。4°C 放置 3h 后 3000r/min 离心 10min, 收集上层血清, 严格按照每种 elisa 试剂盒说明书, 分别检测 CRP、IL-6、TNF- α 的浓度。剪取大鼠子宫组织, 放入 10% 中性甲醛溶液中固定, 使用 HE 法检测子宫内膜组织病理变化。

1.2.4 统计方法采用 SPSS18.0 统计软件统计。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 形式表示, 多组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.01$ 为有非常显著性差异, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 对慢性盆腔炎模型大鼠血清中 CRP、IL-6、TNF- α 浓度的影响。

实验结果显示: 模型组较对照组 C- 反应蛋白、白介素 6、肿瘤坏死因子 α 浓度均有明显升高 ($P < 0.01$), 造模成功。模型组与用药组无论低、中、高剂量组均存在显著差异 ($P < 0.01$), 说明当归四逆汤对慢性盆腔炎型大鼠有效; 当归四逆汤低、中剂量组较对照组存在显著差异 ($P < 0.01$), 而当归四逆汤高剂量组较对照组无明显差异, 可以达到治愈效果。(见表 2)

表 2 各组大鼠血清中 CRP、IL-6、TNF- α 浓度的变化

分组	CRP (pg/ml)	IL-6 (pg/ml)	TNF- α (pg/ml)
对照组	278082 \pm 14553	58.62 \pm 3.881	58.14 \pm 1.606
模型组	398477 \pm 15885#	102 \pm 3.385#	102.1 \pm 4.207#
当归四逆汤低剂量组	362690 \pm 1630#*	91.95 \pm 0.4995#*	92.48 \pm 1.692#*
当归四逆汤中剂量组	321110 \pm 1060#*	74.46 \pm 2.429#*	79.21 \pm 0.8792#*
当归四逆汤高剂量组	296788 \pm 8203*	58.44 \pm 4.595*	58.21 \pm 1.43*

注: n=6; 与对照组比较 # $P < 0.01$; 与模型组比较 * $P < 0.01$

2.2 镜下大鼠子宫内膜的病理改变。

对照组大鼠子宫内膜各层组织结构界限清晰, 结构完整, 未见坏死脱落细胞及炎细胞浸润, 上皮细胞为柱状, 排列整齐, 分布均匀 (图 1)。模型组各层组织结构界限模糊, 存在大量炎症细胞, 上皮细胞形态不规则, 呈多层立方体, 间质细胞增多, 大量细胞坏死, 脱落 (图 2)。

当归四逆汤低剂量组各层组织结构不清晰, 有较多炎细胞浸润, 上皮细胞形态大多不规则, 有较多坏死脱落细胞 (图 3)。当归四逆汤中剂量组各层细胞结构逐渐清晰, 存在少量炎细胞, 上皮细胞呈柱状, 排列较紧密 (图 4)。当归四逆汤高剂量组各层细胞分布均匀, 存在及少量炎细胞, 间质细胞水肿消失, 上皮细胞排列整齐, 分布均匀 (图 5)。

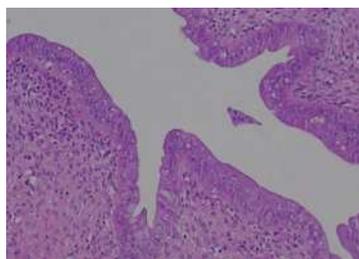


图 1 对照组

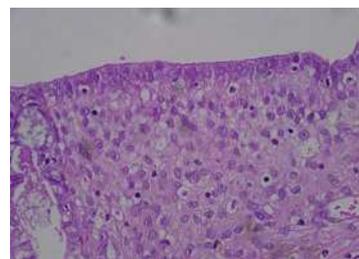


图 2 模型组

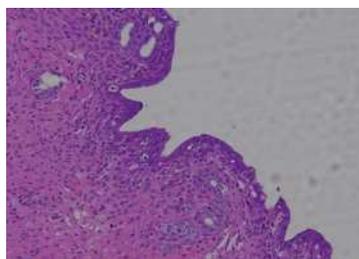


图 3 低剂量组

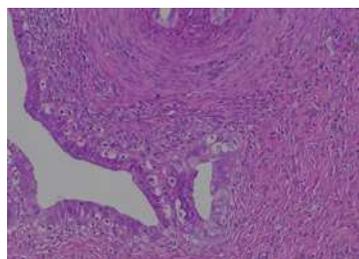


图 4 中剂量组

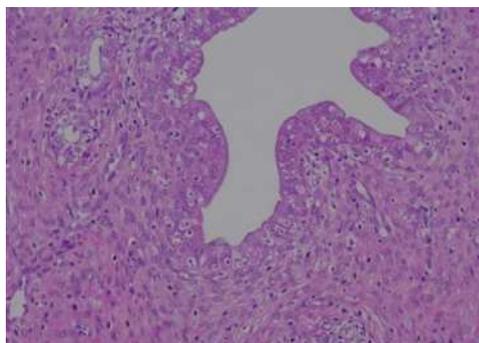


图 5 高剂量组

3 讨论

盆腔炎主要包括子宫内膜炎、输卵管炎、输卵管卵巢囊肿、盆腔腹膜炎等^[2]。表现为下腹部或腰骶部不适、疼痛等,且常伴月经紊乱^[3],于月经前后、性交以及劳累时加剧,长期发展可致组织粘连、增厚和纤维化,形成炎性包块或积液。目前以药物治疗为主,常用的广谱抗生素有左氧氟沙星和甲硝唑等,但存在效果差、易复发的缺点。相比较于西药治疗,中医治疗慢性盆腔炎有它独特的理论和优势。早在《景岳全书 妇人规》中就有记载:“淤血留滞作癥,唯妇人有之,其证则或由经期,或由产后,凡内伤生冷,或外受风寒,或悲怒伤肝,气逆而血留……总由血动之时,余血未净,而一有所逆,则留滞日积,而渐以成癥矣。”由此可知本病的主要病因病机是邪气乘虚内侵,与冲任气血相搏结,蕴积于胞宫,耗伤气血,虚实错杂,缠绵难愈。血虚寒凝型盆腔炎的患者多阳虚血弱,寒凝经脉,血行不畅,不通则痛,用当归四逆汤功用是温经散寒,养血通脉十分合适。本方本方以桂枝汤去生姜,倍大枣,加当归、通草、细辛组成。方中桂枝细辛为君药,散寒通脉;当归、白芍为臣药,温补营血,使寒邪散,血脉通,阳气旺,营血充,正合阳虚血弱,寒凝血滞的病机。

在现代医学中,苯酚胶浆致炎法造成的子宫增粗、红肿、充血及与周围组织粘连等一系列炎性病变与临床盆腔炎性疾病相似,方法简单易掌握,造模成功率高,现已成为探讨盆腔炎发病机制广为应用的动物模型^[4]。C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)是在机体受到感染或组织损伤时血浆中一些急剧上升的蛋白质(急性蛋白),激活补体和加强吞噬细胞的吞噬而起调理作用,清除入侵机体的病原微生物和损伤,坏死,凋亡的组织细胞。白介素 6 (IL-6)是炎症起始阶段的重要致炎因子,是典型的具有炎症介导活性的细胞因子,具有多种生物学活性,能够传递信息,激活与调节免疫细胞的增殖与分化,在炎症反应中起重要作用^[5]。TNF- α 是一种参与全身炎症的细胞因子,它在免疫调控、感染与炎症反应中起着关键作用^[6]。TNF- α 水平的升高不仅能推动疾病进展,还能促进其他炎症因子的释放^[7]是目前认为致纤维化的重要细胞因子^[8]。三个指标可

以从不同时期,不同角度反映当归四逆汤对慢性盆腔炎大鼠的治疗作用。研究表明,相较模型组当归四逆汤组无论是低、中、高剂量组三个指标都有不同程度下降,虽然低、中剂量组与对照组依然有显著差异,但高剂量组与对照组没有明显差异,可以认为是达到治愈效果,另外,染色病理图片也证实当归四逆汤能够有效减少病变坏死脱落的子宫内膜上皮细胞。由此我们可以认为高剂量的当归四逆汤可以降低慢性盆腔炎模型大鼠 CRP、IL-6、TNF- α 水平,改善子宫内膜炎症反应,对慢性盆腔炎大鼠有显著治疗效果。

参考文献:

- [1] 吴彦佳,符杨滢,蔡燕.桂枝茯苓汤联合康妇消炎栓对慢性盆腔炎后遗症及细胞炎性因子的影响[J].中华中医药学刊,2020,38(4):226-228
 - [2] 乐杰,谢幸,林仲秋.妇产科学[M].7版.北京:人民卫生出版社,2008:246-252
 - [3] 张玉锋,张炜,高明霞,等.清热活血汤联合常规西药治疗慢性盆腔炎临床研究[J].新中医,2018,50(7):126-128
 - [4] 王英军,孙英莲.金丹平炎胶囊对慢性盆腔炎模型大鼠输卵管通畅率及炎性因子表达的影响.特产研究 2021.044:
 - [5] 周琳,周光炎,路丽明.IL-6的双向免疫调节作用[J].细胞与分子免疫学杂志,2012,28(10):1100-1102.
 - [6] 李斌,金福明,杨来春,等.子宫内腹异位症患者血清与腹腔液中肿瘤坏死因子及白介素-6的测定[J].中华妇产科杂志,2000,35(3):18-20.
 - [7] 王爽.消炎汤口服加保留灌肠治疗慢性盆腔炎的临床疗效分析[J].数理医药学杂志,2020,33(12):1810-1812.
 - [8] 张天嵩,韩霜,吴银根,等.肺纤煎对博莱霉素 A5 致肺纤维化小鼠肺组织 TNF-、TNF-mRNA 表达的影响[J].中医药学刊,2004,22(8):1474-1476
- 基金项目:
基金资助:山东省中医经典名方协同创新中心开放项目(2019KFY09)