

橘荔散结丸对子宫肌瘤模型大鼠血液流变学及血清 IL-6、TNF- α 水平的影响

王占利¹, 李坤寅², 王 帅²(1. 河南中医学院, 河南 郑州 450003; 2. 广州中医药大学, 广东 广州 510006)

摘要: **目的** 观察橘荔散结丸对子宫肌瘤大鼠模型的干预作用和对血液流变学及血清 IL-6、TNF- α 水平的影响。**方法** 以雌、孕激素负荷法建立子宫肌瘤的大鼠模型, 观察橘荔散结丸对模型大鼠子宫系数、卵巢系数、子宫平滑肌厚度及全血黏度、血清 IL-6、TNF- α 水平的影响。**结果** 与模型组比较, 橘荔散结丸各治疗组大鼠子宫系数、子宫平滑肌厚度显著下降, 卵巢系数上升($P < 0.01$, $P < 0.05$), 全血高切、中切、低切黏度升高, 血浆黏度下降($P < 0.05$); 血清 TNF- α 水平明显下降($P < 0.05$), 血清 IL-6 水平上升($P < 0.01$)。**结论** 橘荔散结丸治疗子宫肌瘤的作用机制可能是通过改善血液流变学, 调节机体免疫功能, 从而达到缩小瘤体的作用。

关键词: 橘荔散结丸; 子宫肌瘤; 血液流变学; 白介素-6; 肿瘤坏死因子- α ; 大鼠

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)03-0288-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.03.012

Effects of *Juli Sanjie* Pill on Blood Viscosity and Serum IL-6 and TNF- α Levels in Rat Models of Hysteromyoma

WANG Zhanli¹, LI Kunyin², WANG Shuai²(1. Henan University of TCM, Zhengzhou 450003 Henan, China; 2. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006 Guangdong, China)

Abstract: **Objective** To study the effect of *Juli Sanjie* Pill on the hysteromyoma rats, and to observe its influence on blood viscosity and serum IL-6 and TNF- α levels in rats. **Methods** The rat model of hysteromyoma was established by the method of estrogen and progesterone load, and then we observed the changes of uterus coefficient, ovary coefficient, uterine smooth muscle thickness, whole blood viscosity and the serum levels of IL-6 and TNF- α in rats of different groups. **Results** Compared with the model group, the uterus coefficient and uterine smooth muscle thickness were decreased significantly, ovary coefficient was increased, the high-, middle- and low-shear whole blood viscosity and serum IL-6 level were increased significantly, plasma viscosity and serum TNF- α level were decreased significantly in *Juli Sanjie* Pills groups($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** The therapeutic mechanism of *Juli Sanjie* Pill for uterine hysteromyoma may be through improving the blood viscosity and regulating the immune function to reduce tumor mass size.

Keywords: *Juli Sanjie* Pill; Hysteromyoma; Blood viscosity; Interleukin-6; Tumor necrosis factor- α ; Rats

子宫肌瘤归属于中医“癥瘕”的范畴, 由于机体正气不足, 外邪、内伤等致脏腑功能失常, 瘀、痰、湿等停聚下焦胞宫, 日久而成。罗元恺教授^[1]认为本病多呈虚实夹杂, 不仅有瘀痰凝滞, 亦有气血虚衰的表现, 因此治法上既要行气化瘀、燥湿散结等攻法以治其标, 也采用益气养血健脾化湿等补法

以固其本, 其经验方“橘荔散结丸”, 具有行气活血、破瘀消癥、软坚散结等功效, 临床疗效显著。前期研究表明橘荔散结丸可使子宫肌瘤患者经量减少、经期缩短、贫血改善^[2]; 能提高子宫肌瘤患者外周血自然杀伤细胞(NK)细胞活性、缩小瘤体, 提高免疫功能^[3]。本研究通过观察橘荔散结丸对雌、孕激

收稿日期: 2013-11-06

作者简介: 王占利, 女, 博士, 讲师, 研究方向: 妊娠病、产后病及妇科良性肿瘤的防治研究。Email: deallin-100@163.com。通讯作者: 李坤寅, 教授, 博士生导师, 研究方向: 补肾活血法治疗妇科肿瘤及月经病研究。Email: lky0303@gzucm.edu.cn。

基金项目: 广东省普通高校“中医女性生殖调节与安全性研究”重点实验室开放基金资助项目(ZF201103)。

素负荷子宫肌瘤模型大鼠的子宫大体形态学、血液流变学、血清白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平的影响,进一步探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 健康雌性 SD 大鼠,体质量(200 ± 20)g,性成熟未生育,SPF 级,广州中医药大学实验动物中心提供,合格证号:SCXK(粤)2008-0020;饲养于广州中医药大学第一附属医院 SPF 级动物实验中心,正常光照条件,自由摄食、饮水,室温控制在 $18\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 22\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。

1.2 药物 橘荔散结丸汤剂,由橘核、荔枝核、川续断、小茴香、乌药、川楝子、海藻、岗稔根、莪术等组成,由广州中医药大学第一附属医院提供,加水浓煎成 $2\text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 备用;桂枝茯苓胶囊,江苏康缘药业股份有限公司产品,批号:100716;米非司酮片,湖北葛店人福药业有限公司,批号:110202;苯甲酸雌二醇注射液,宁波第二激素厂,批号:101118;黄体酮注射液,宁波第二激素厂,批号:100228;福临门花生油,中粮食品营销有限公司。

1.3 试剂及仪器 游标卡尺($0 \sim 150\text{ mm}$),上海恒量量具有限公司;MDK-100 全自动血液流变仪,重庆麦迪克公司;BX50 荧光显微镜,日本 Olympus 公司;BSA124S 电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司。IL-6 酶联免疫试剂盒,peprotech 公司,批号:201109;TNF- α 酶联免疫试剂盒,peprotech 公司,批号:201109。SC-3610 低速离心机,科大创新股份公司中佳分公司;THERMO MULTISKAN MK3 酶标仪,THERMO 公司。

1.4 方法

1.4.1 分组与模型复制^[4] 将大鼠随机分为 7 组,即空白对照组,模型组,西药对照组(米非司酮组,剂量 $4.7\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$),中药对照组(桂枝茯苓胶囊组,剂量为 $0.52\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),橘荔散结丸高、中、低剂量组(分别相当于中药材 39.45, 19.73, $9.86\text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$,即临床成人用量的 4, 2, 1 倍),每组 10 只。除空白对照组外均隔日肌注苯甲酸雌二醇注射液 $0.5\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,每周 3 次,12 周后加肌注黄体酮注射液 $5\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$,每周 2 次,连续 4 周;空白对照组肌注等体积高压灭菌花生油。从模型复制开始第 5 周起,除空白对照组和模型组灌服等量生理盐水外,其余各组灌服相应药物至第 16 周末。每周称体质量 1 次,并根据体质量调整给药剂量。实验过程中共有 5 只大鼠死亡,其中模型组 1 只、米非司酮组 1 只、橘荔散结丸

低剂量组 2 只,橘荔散结丸高剂量组 1 只。

1.4.2 全血黏度及血清 IL-6、TNF- α 含量的测定 末次给药后当晚 20 时各组大鼠禁食 12 h,次日晨各组大鼠 10 %水合氯醛腹腔注射麻醉,经腹主动脉穿刺取血 5 mL,其中 3 mL 注入有肝素抗凝剂的试管中,迅速置于血液流变仪中测定不同切变率下的全血黏度及血浆黏度;其余 2 mL 分离血清,按试剂盒说明检测 IL-6 和 TNF- α 水平。

1.4.3 子宫、卵巢系数和子宫平滑肌厚度检测 取血后颈椎脱臼法处死大鼠,立即取出整个子宫和卵巢,去净脂肪组织,分别称质量,计算子宫系数(子宫湿质量/体质量, mg/g)、卵巢系数(卵巢湿质量/体质量, mg/g);取子宫最膨大处及分角以上 0.5 cm 相同部位组织,常规固定、包埋、切片,HE 染色观察,采用微标尺在显微镜下测量子宫平滑肌厚度。

1.5 统计学处理方法 采用 SPSS16.0 软件,数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,若符合正态分布且方差齐,采用单因素方差分析;若方差不齐,采用多个样本比较的非参数检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 空白对照组大鼠毛色润泽,性情温和,进食良好,体质量逐渐增加;雌、孕激素负荷 5 周后大鼠逐渐出现毛色发暗发黄,无光泽,爱弓背,部分大鼠出现脱毛,易激惹,撕咬现象增多,进食减少,生长缓慢,甚至体质量下降;随着模型复制时间的延长,症状逐渐改善,其中橘荔散结丸各剂量组改善较快。实验结束后空白对照组大鼠子宫形态正常,质地均匀,色泽鲜亮粉红,未见结节、囊肿及肿胀;模型组大鼠子宫色泽变暗,体积明显增大,个别可触及结节,有的子宫与膀胱及大肠黏连;药物干预后,各组大鼠子宫体积均有不同程度缩小,以西药对照组和橘荔散结丸各剂量组改变明显。

2.2 橘荔散结丸对大鼠脏器系数及子宫平滑肌厚度的影响 见表 1。与空白对照组比较,模型组大鼠子宫系数及子宫平滑肌厚度明显增加($P < 0.01$, $P < 0.05$),与前期实验结果相符,提示模型复制成功;模型组卵巢系数下降($P < 0.05$),提示长期外源性性激素刺激,可抑制卵巢功能。药物干预后,各组大鼠子宫系数及子宫平滑肌厚度均有所下降,卵巢系数上升($P < 0.01$, $P < 0.05$),其综合治疗效果以橘荔散结丸汤剂各剂量组为佳,其缩小子宫系数尤以中剂量组效果显著($P < 0.05$),与米非司酮效果相近,提示橘荔散

表 1 各组大鼠子宫系数、卵巢系数、子宫平滑肌厚度比较($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Comparison of uterus coefficient, ovary coefficient, uterine muscle thickness in each group of rats

组别	<i>n</i>	剂量 /g·kg ⁻¹	子宫系数 /%	卵巢系数 /%	子宫平滑肌厚度 /μm
空白对照组	10	-	3.53±0.89	0.53±0.38	531.20±89.73
模型组	9	-	8.39±2.75 [*]	0.25±0.04 [*]	767.00±124.28 ^{**}
米非司酮组	9	4.7×10 ⁻³	3.88±1.07	0.34±0.20	517.33±142.51 ^{##}
桂枝茯苓胶囊组	10	0.52	5.72±1.49	0.49±0.15 [#]	671.10±127.84 [#]
橘荔散结丸低剂量组	8	9.86	4.16±0.74	0.43±0.19	603.00±168.20 ^{##}
橘荔散结丸中剂量组	10	19.73	3.92±0.87 [#]	0.46±0.30	559.50±122.24 ^{##}
橘荔散结丸高剂量组	9	39.45	5.16±1.32	0.59±0.29 ^{##}	570.78±148.44 ^{##}

注：与空白对照组比较，^{*}*P* < 0.05，^{**}*P* < 0.01；与模型组比较，[#]*P* < 0.05，^{##}*P* < 0.01。

结丸可有效抑制子宫肌瘤的生长。

2.3 橘荔散结丸对大鼠血液黏度的影响 见表 2。与空白对照组比较，模型组全血黏度(高、中、低切)均明显下降(均 *P* < 0.01)。与模型组比较，各给药组全血黏度均有不同程度上升，差异有统计学意义(*P* < 0.01, *P* < 0.05)，但以橘荔散结丸各剂量组变化明显。

表 2 各组大鼠血液黏度变化的比较(mPa·s, $\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of blood viscosity in each group of rats

组别	<i>n</i>	剂量 /g·kg ⁻¹	全血黏度			血浆黏度
			高切	中切	低切	
空白对照组	10	-	5.40±0.70	6.31±0.82	12.62±1.69	1.39±0.05
模型组	9	-	3.31±0.99 ^{**}	4.69±0.87 ^{**}	9.06±1.80 ^{**}	1.44±0.08 ^{**}
米非司酮组	9	4.7×10 ⁻³	3.94±0.64 ^{##}	4.74±0.79 ^{##}	9.57±1.61 ^{##}	1.45±0.12
桂枝茯苓胶囊组	10	0.52	3.98±0.86 ^{##}	4.63±0.85 ^{##}	9.55±1.30 ^{##}	1.41±0.08
橘荔散结丸低剂量组	8	9.86	4.01±1.26 ^{##}	4.26±1.05 ^{##}	9.62±1.50 ^{##}	1.34±0.08 [△]
橘荔散结丸中剂量组	10	19.73	4.72±0.92 ^{##△}	5.55±0.83 ^{△*}	10.97±1.54 ^{##△*}	1.36±0.10 [△]
橘荔散结丸高剂量组	9	39.45	4.26±0.39 ^{##}	5.15±0.48 ^{##}	10.35±0.97 ^{##}	1.37±0.06 [△]

注：与空白对照组比较，^{**}*P* < 0.01；与模型组比较，[#]*P* < 0.05，^{##}*P* < 0.01；与米非司酮组比较，[△]*P* < 0.05；与桂枝茯苓胶囊组比较，^{*}*P* < 0.05。

2.4 橘荔散结丸对血清 IL-6 和 TNF-α 的影响 见表 3。与空白对照组比较，模型组 IL-6 水平明显降低(*P* < 0.05)，TNF-α 水平显著升高(*P* < 0.01)。与模型组比较，除米非司酮组外，各组 IL-6 均有所上升，橘荔散结丸各剂量组 IL-6 升高明显，其中低、中剂量组差异有统计学意义(*P* < 0.05)；各给药组大鼠血清 TNF-α 明显降低(*P* < 0.01)。随着剂量的增加，橘荔散结丸组 IL-6 水平的上升呈下降趋势，TNF-α 水平的下降呈上升趋势。

3 讨论

血液流变学是研究血液及其有形成分(血细胞)

表 3 各组大鼠血清 IL-6、TNF-α 比较($\bar{x}\pm s$)

Table 3 Comparison of the level of serum IL-6 and TNF-α in each group of rats

组别	<i>n</i>	剂量 /g·kg ⁻¹	IL-6/ng·L ⁻¹	TNF-α/ng·L ⁻¹
空白对照组	10	-	17.21±3.17	30.55±8.42
模型组	9	-	9.24±1.36 [*]	45.44±7.72 ^{**}
米非司酮组	9	4.7×10 ⁻³	9.61±1.31	32.16±3.97 ^{##}
桂枝茯苓胶囊组	10	0.52	10.93±2.43	33.04±8.30 ^{##}
橘荔散结丸低剂量组	8	9.86	17.25±2.62 [#]	29.21±2.89 ^{##}
橘荔散结丸中剂量组	10	19.73	16.93±2.08 [#]	29.37±5.48 ^{##}
橘荔散结丸高剂量组	9	39.45	14.76±4.09	30.89±7.84 ^{##}

注：与空白对照组比较，^{*}*P* < 0.05，^{**}*P* < 0.01；与模型组比较，[#]*P* < 0.05，^{##}*P* < 0.01。

和无形成分(血浆)的流动性和变形性以及这种特性对循环以至全身功能和代谢影响的科学^[5]。血液流变学异常与中医血瘀证理论“脉不通则血不流”和“血行失度”的理念相似^[6]。中国中西医结合学会活血化瘀专业委员会提出血小板聚集性或血流变性等理化指标异常提示循环瘀滞为血瘀证的诊断标准之一^[7]。药理研究^[8]表明，活血破瘀类药物醋莪术在全血黏度、血浆黏度、红细胞聚集指数、血沉、血细胞压积等方面，对“气滞血瘀”型大鼠模型有显著改善。本研究表明，橘荔散结丸组大鼠血浆黏度下降，全血黏度上升，提示橘荔散结丸可通过机体改善血瘀状态达到缩小瘤体的作用，同时增强机体的造血能力，起到养血祛瘀的效果。

IL-6 可明显提高肿瘤细胞表面 MHC 类分子的表达，增强免疫监视作用，以及调节体液免疫反应，增强体内外抗原特异性的初次和二次抗体应答^[9]。正常子宫肌层中 IL-6 的表达明显高于子宫肌瘤，提示 IL-6 可能与子宫肌瘤的发病呈负相关^[10]。TNF-α 可触发细胞合成 IL-1、IL-6、TNF-α 和 C 反应蛋白等级联反应，当浓度适当时，它可起到杀伤肿瘤细胞或介导免疫反应消灭肿瘤细胞的作用，而体内 TNF-α 异常增高，则造成患者免疫紊乱，使肿瘤细胞逃避宿主免疫监视而不断生长^[11]。子宫肌瘤患者血清 TNF-α 水平较正常女性明显升高，米非司酮治疗后血清 TNF-α 显著下降，肌瘤缩小，提示 TNF-α 可能是诊断子宫肌瘤的一个可靠指标^[12]。本研究显示，子宫肌瘤大鼠血清 IL-6 水平较空白对照组显著降低，TNF-α 水平明显升高，说明子宫肌瘤的形成与机体免疫功能紊乱有关。橘荔散结丸组大鼠血清 IL-6 上升，血清 TNF-α 下降，提示橘荔散结丸可降低 TNF-α 所致的炎症反应及增生改变，其消瘤作用

可能与改善机体免疫功能有关。

综上,橘荔散结丸可能通过改善机体血液流变学,调节免疫功能,从而达到缩小瘤体的作用。但橘荔散结丸为攻补兼施之剂,其功用毕竟以攻邪为主,方中橘核、荔枝核、莪术、海藻等活血散结药物大量长期使用可能损伤正气,不利于血瘀的改善和免疫功能的恢复。因此临床应用时将其制成丸剂可取缓消癥块之效,同时防止攻急而伤正。

参考文献:

- [1] 罗元恺. 子宫肌瘤的中医治疗[J]. 新中医, 1992, 21(8): 18.
- [2] 罗清华, 冯金英, 陈碧云. 橘荔散结丸治疗子宫肌瘤 150 例临床体会[J]. 新中医, 1990, 19(8): 26.
- [3] 陈小锋, 王培训, 罗元恺, 等. 橘荔散结丸治疗子宫肌瘤的 NK 细胞活性观察[J]. 中成药, 1988, 1(11): 21-22.
- [4] 王占利, 李坤寅, 赵颖, 等. 长期与短期双模法子宫肌瘤大鼠模型制备的比较[J]. 中医研究, 2012, 25(5): 54-57.
- [5] 李越. 血液流变学检查临床应用价值分析[J]. 中外医疗, 2009, 3(12): 169.
- [6] 贺信祥. 血液流变学检测项目选择应体现机体整体观[C]. 第九次全国中西医结合血瘀证及活血化瘀研究学术大会论文集, 2012: 5: 214-215.
- [7] 中国中西医结合学会活血化瘀专业委员会. 血瘀证中西医结合诊疗共识[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(6): 839-844.
- [8] 廖婉, 章津铭, 傅舒, 等. 醋莪术对气滞血瘀血液流变学影响的表征及谱效相关性研究[J]. 中成药, 2013, 35(2): 330-334.
- [9] Hsiao YW, Liao KW, Chung TF, et al. Interactions of host IL-6 and IFN2 gamma and cancer-derived TGF-beta1 on MHC molecule expression during tumor spontaneous regression[J]. Cancer Immunol Immunotherapy, 2008, 57(7): 1091-1104.
- [10] 李彩荣, 冯定庆, 周颖, 等. 子宫肌瘤患者血清及局部白细胞介素 6 水平的检测与意义[J]. 中国临床保健杂志, 2009, 12(1): 60-61.
- [11] Terlikowski SJ. Tumour necrosis factor and cancer treatment: a historical review and perspectives [J]. Roczniki Med Białym, 2001, 46: 5-18.
- [12] 辛华, 周伟, 邓伟雄, 等. 米非司酮对子宫肌瘤患者血清 IL-6 和 TNF- α 的影响[J]. 中国医药导报, 2010, 7(11): 57-58.

(编辑: 邓响潮)

荞麦花叶总黄酮对心肌梗死大鼠的保护作用及机制研究

高风华¹, 白静², 胡雷², 吕华² (1. 唐山钢铁集团有限责任公司医院重症医学科, 河北唐山 063000; 2. 河北联合大学, 河北唐山 063000)

摘要: **目的** 观察荞麦花叶总黄酮(TFBFL)对心肌梗死大鼠的保护作用及机制。**方法** 采用结扎左冠状动脉前降支建立大鼠心肌梗死模型, 随机分为假手术对照组, 模型组, TFBFL 高、中、低剂量组(400, 200, 100 mg·kg⁻¹), 麝香保心丸组(50 mg·kg⁻¹)。模型复制后 24 h 各组灌胃给药, 连续 2 周。比色法及 ELISA 法测定血清肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)、白介素-6(IL-6)、白介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、一氧化氮(NO)、内皮型一氧化氮合酶(eNOS)含量; 硝基四氮唑蓝(NBT)染色测定心肌梗死面积。**结果** 与模型组比较, TFBFL 中、高剂量组大鼠心肌梗死面积缩小以及血清 CK、LDH 水平均降低($P < 0.05$, $P < 0.01$); 血清 SOD、GSH-Px 含量升高, MDA 含量降低($P < 0.05$, $P < 0.01$); IL-6、TNF- α 水平降低, IL-10 升高($P < 0.05$, $P < 0.01$); NO、eNOS 水平升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** TFBFL 对心肌梗死大鼠有一定的保护作用, 其作用机制可能与 TFBFL 的抗炎及抗氧化作用相关。

关键词: 荞麦; 黄酮; 心肌梗死; 大鼠

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1003-9783(2014)03-0291-04

doi: 10.3969/j.issn.1003-9783.2014.03.013

收稿日期: 2013-09-26

作者简介: 高风华, 女, 副主任医师, 研究方向: 重症医学。Email: gaofenghua7888@163.com。通讯作者: 白静, 硕士, 副教授, 研究方向: 药理学。Email: 13513259511@sina.com。

基金项目: 河北省自然科学基金项目(C2010001795)。