

益气化瘀法对置铜宫内避孕器家兔子宫内膜血管内皮细胞及平滑肌细胞超微结构的影响

雷 磊, 尤昭玲, 付灵梅, 文乐兮

(湖南中医学院中西医结合系, 湖南 长沙 410007)

[摘要] 目的:探讨益气化瘀法治疗置铜宫内避孕器(intrauterine device, IUD)所致家兔子宫不规则出血的作用机制。方法:56 只家兔,随机分为宫环止血灵大、中、小剂量组,吲哚美辛对照组,模型组,假手术组(手术后不放置宫内避孕器)和空白对照组(不造模),每组 8 只。前 5 组建立家兔置铜宫内避孕器模型。宫环止血灵大、中、小剂量组及吲哚美辛对照组分别予以宫环止血灵大、中、小剂量及吲哚美辛灌胃。模型组、假手术组及空白对照组则予以蒸馏水灌胃。透射电镜观察家兔子宫内膜血管内皮细胞(vascular endothelial cells, VECs)及血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)超微结构的变化。结果:模型组子宫螺旋动脉 VSMCs 胞浆内水肿,细胞器部分崩解、数量减少,或细胞萎缩,线粒体空泡样变性,其外周胶原纤维增多,血管内皮下间质局部水肿。VEC 内线粒体空泡样变性。益气化瘀法治疗组,子宫内膜螺旋动脉 VECs 及 VSMCs 的线粒体、肌丝、高尔基体、间质等超微结构损伤较模型组均有明显减轻,与吲哚美辛对照组相似。结论:益气化瘀法对置铜 IUD 家兔子宫内膜的血管内皮有一定的保护作用,可较好地防治因置铜 IUD 引起的子宫不规则出血。

[关键词] 益气化瘀; 宫内避孕器, 铜; 子宫不规则出血; 超微结构

[中图分类号] R287.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1672-1977(2006)01-0060-04

Effects of herb therapy for benefiting qi and removing blood stasis on ultrastructure of vascular endothelial cells and vascular smooth muscle cells of uterine endometrium in rabbits with copper intrauterine device

Lei LEI, Zhao-Ling YOU, Ling-Mei FU, Le-Xi WEN

(Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hunan College of Traditional Chinese Medicine, Changsha, Hunan Province 410007, China)

ABSTRACT Objective: To observe the effects of herb therapy for benefiting qi and removing blood stasis on ultrastructure of vascular endothelial cells (VECs) and vascular smooth muscle cells (VSMCs) of uterine endometrium in rabbits with copper intrauterine device. Methods: Fifty-six rabbits were randomly divided into seven groups, which were normal control group, sham-operation group, untreated group, indomethacin-treated group and low-, medium- and high-dose Gonghuan Zhixueling Recipe (GHZCLR)-treated groups. The rabbits in the last five groups were operated with copper IUD insertion and then orally given distilled water, indomethacin and low-, medium- and high-dose GHZCLR respectively for at least one week. Rabbits in the normal control group and sham-operation group were given distilled water orally. The ultrastructure of VECs and VSMCs of uterine endometrium in rabbits was observed by transmission electron microscopy. Results: The morphological changes of VSMCs revealed intracellular edema, organelle disintegration and decrease of organelle amount, or cell atrophy and vacuolar degeneration of mitochondria in the untreated group, and the amount of collagen fibers also increased outside the VSMCs. Local interstitial edema in subendothelial

[基金项目] 国家中医药管理局科研基金资助项目(No. 02-03JL07); 湖南省教育厅科研基金资助项目(No. A0085)

Correspondence to: Lei LEI, MD, Associate Professor. E-mail: leilei1398@sina.com

substance and vacuolar degeneration of mitochondria in VECs were both observed. The ultrastructural damages to the mitochondria, Golgi bodies and myofilament of VECs and VSMCs and the intercellular substance in GHZXR-treated groups were slighter than those in the untreated group, while these damages had no significant differences as compared with those in the indomethacin-treated group. Conclusion: The Chinese herb therapy for benefiting qi for removing blood stasis has the protective effect on VECs of uterine endometrium in the rabbits with copper intrauterine device. It appears to be a good treatment for menorrhagia induced by copper IUD insertion.

KEY WORDS benefiting qi and removing blood stasis; intrauterine device, copper; metrorrhagia; ultrastructure

Zhong Xi Yi Jie He Xue Bao J Chin Integr Med, 2006, 4(1): 60-63 www.jcimjournal.com

宫内避孕器(intrauterine device, IUD)常致妇女月经量增多和经期延长,甚至引起贫血,不仅严重危害妇女的身心健康,还影响计划生育措施的推广使用。但目前尚缺乏治疗该并发症的有效药物。我们按益气化瘀法研制的宫环止血灵,具有益气养血、化瘀止血之功,用于治疗放置宫内避孕器后所致经期延长、月经过多和经间期出血等证属气虚血瘀的育龄妇女,取得了较好的疗效。本实验观察了宫环止血灵对置铜宫内避孕器家兔子宫内膜血管内皮细胞(vascular endothelial cells, VECs)和血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cells, VSMCs)超微结构的影响,探讨益气化瘀法对置铜宫内避孕器子宫损伤修复作用的机制,以期为临床应用提供药效学的依据。

1 材料与方法

1.1 药物 (1)宫环止血灵(组成:黄芪 15 g、三七 5 g、炒白术 10 g、炒蒲黄 10 g、仙鹤草 10 g、阿胶 10 g、覆盆子 10 g 等八味中药)由湖南中医学院及药学院共同研制,具有益气养血、化瘀止血之效。按临床用药剂量制成浸膏剂供实验研究使用,浸膏剂含生药 2.52 g/ml,批号:20000510。(2)吲哚美辛肠溶片,镇江吉贝尔药业有限公司生产,批号 20000510,碾碎后溶于蒸馏水中,配制成药物浓度为 0.875 mg/ml 的溶液。(3)注射用青霉素(兽用),160 万 U/支,华北制药集团股份有限公司生产,批号 00121651。

1.2 主要试剂及仪器 (1)AG204 型电子分析天平, Mettler Toledo 公司产品;(2)ZK401 低温高速离心机,德国 Hermle 公司产品;(3)Freezer 低温冰箱,美国 Forma Scientific 公司产品;(4)Olympus 光学显微镜;(5)JEM-1220 型透射电镜,日本电子产品公司;(6)30 mm TCu220 宫内避孕器,天津市医疗器械厂产品,批号 000901。剪去 T 型上半部分,

取其下端带一小孔的棒状部分(含 4 节铜环),长约 2 cm,备用;(7)无水乙醇(分析纯),长沙的波化学试剂厂生产,批号 99020200;(8)乌来糖,上海市曹杨第二中学化工厂生产,批号 990115,用蒸馏水配制成 25% 的溶液;(9)戊巴比妥钠,购自中国医药(集团)上海化学试剂公司,批号 20000522,用蒸馏水配制成 2% 的溶液。

1.3 动物分组与造模 普通级雌性未孕新西兰家兔 56 只,兔龄 6~8 个月,体质量 2.5~3.0 kg,湖南省实验兔供应中心提供,证书编号 029。用随机数字表法将 56 只家兔分成 7 组:宫环止血灵大、中、小剂量组,吲哚美辛对照组,模型组,假手术组(手术后不放置宫内避孕器)和空白对照组(不造模),每组 8 只。除空白对照组和假手术组外,其余 40 只家兔用 2% 戊巴比妥钠(40 mg/kg)行静脉麻醉后,无菌剖腹。先固定四肢,剃去腹毛,然后剖腹,暴露子宫角,在子宫右侧距阴道 3.5 cm 处作一直径 2 mm 的切口,朝阴道方向插入改造备用的 IUD,将其固定于子宫壁上,并缝合切口。假手术组家兔用同样方法在子宫右侧相应部位作一切口,但不放置 IUD。术后,每只动物分别肌注青霉素 8 万 U 预防感染。所有动物均在相同环境下,予以同种饲料分笼喂养 30 d。

1.4 给药方法 造模后第 31 天起,根据临床成人用药剂量,按人兔体表面积比计算给药剂量。模型组、假手术组及空白对照组给予蒸馏水 8 ml·kg⁻¹·d⁻¹灌胃;宫环止血灵大、中、小剂量组分别按 14.7、8.8 和 2.9 g·kg⁻¹·d⁻¹给予宫环止血灵浸膏剂灌胃;吲哚美辛对照组按 3.4 mg·kg⁻¹·d⁻¹给予吲哚美辛溶液灌胃。连续给药 7 d,给药时间系参照临床用药即:月经周期延长者,出血时开始服用;月经量过多者,经前 2 d 开始服用。连服 7 d 为 1 个疗程,若出血不止,再服 1 个疗程,连续 2 个疗程不愈者,为无效。

1.5 标本采集及镜下观察 末次灌胃 2 h 后,空气

栓塞法处死家兔,立即剖腹,取 IUD 接触处的子宫组织,未置 IUD 家兔取右侧相应部位子宫的内膜层。用 2.5% 戊二醛固定 25 h 以上,0.1 mol/L PBS 清洗 15 min × 3 次,1% 锇酸固定 1 h,50%、70%、90%、100% 丙酮梯度脱水(每级 2 次,10 min/次),37 浸泡 25 h(环氧树脂混合剂 纯丙酮 = 1 : 1),60 环氧树脂包埋 25 h。于光镜下确认内膜层螺旋动脉,行超薄切片,醋酸铀及柠檬酸铅双重染色。从阻断血流到组织取材、固定, 30 min。组织保存良好的标志:细胞器正常,细胞间连接完整,基底膜连续。JEM-1220 型透射电镜观察子宫内膜组织超微结构的变化。

2 结果

电镜下,空白对照组及假手术组子宫螺旋动脉

VECs 及其外周的 VSMCs 无空泡样变,VSMCs 围绕管壁外周;模型组子宫螺旋动脉 VSMCs 胞浆内水肿,细胞器部分崩解、数量减少,或细胞萎缩,线粒体空泡样变性,其外周胶原纤维增多,血管内皮下间质局部水肿,VECs 内线粒体空泡样变;吲哚美辛对照组子宫螺旋动脉 VECs 和 VSMCs 几乎正常,偶见 VECs 线粒体空泡样变性;宫环止血灵大剂量组子宫螺旋动脉基本正常,偶见部分 VECs 线粒体空泡样变性,VSMCs 内亦偶见个别线粒体水肿,可见内质网、线粒体及肌丝等;宫环止血灵中剂量组子宫螺旋动脉 VECs 和 VSMCs 基本正常,仅个别 VECs 线粒体出现水肿和空泡样变性;宫环止血灵小剂量组子宫螺旋动脉 VECs 和 VSMCs 亦大多正常,仅个别 VECs 线粒体水肿和空泡样变性,VSMCs 内吞噬小泡增多。见图 1。

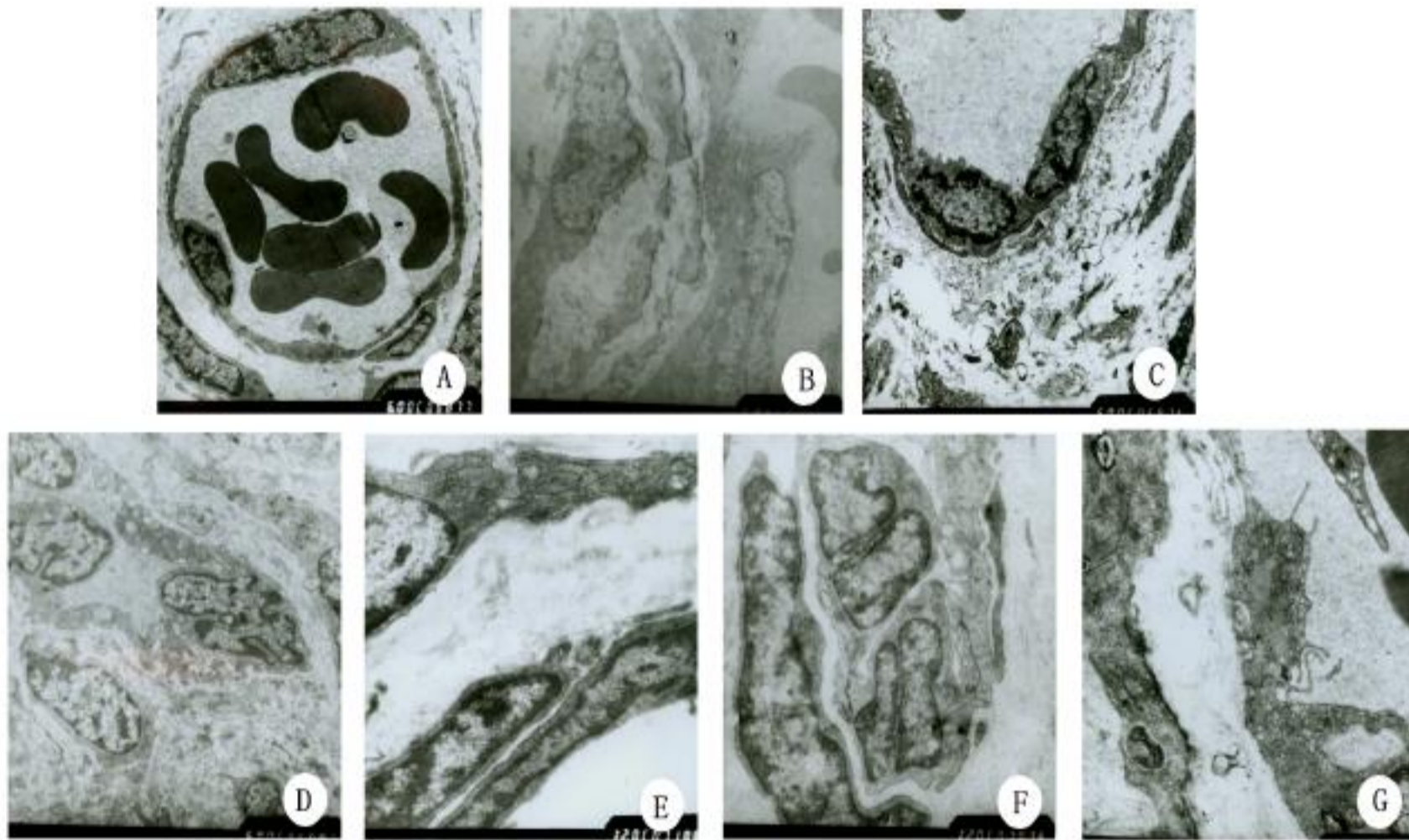


图 1 各组家兔子宫内膜血管内皮细胞及平滑肌细胞的超微结构

Fig 1 Ultrastructure of VECs and VSMCs of uterine endometrium in rabbits of different groups

A: Normal control group (× 60 000); B: Sham-operation group (× 60 000); C: Untreated group (× 60 000); D: Indomethacin-treated group (× 60 000); E: High-dose GHZCLR-treated group (× 20 000); F: Medium-dose GHZCLR-treated group (× 20 000); G: Low-dose GHZCLR-treated group (× 20 000) .

3 讨论

置 IUD 后导致子宫不规则出血,其原因是多方面的,包括局部子宫内膜形态的改变、生化的改变及反应性改变等。子宫内膜螺旋动脉的收缩功能在月经形成及月经量的调节方面起着重要作用。研究显示,妇女置 IUD 后,螺旋动脉受到一定影响,表现为

管腔扩张、管壁变薄、内皮细胞变性、管壁平滑肌细胞变性及其排列紊乱,而置 IUD 后子宫的不规则出血可能仅与子宫内膜海绵层螺旋动脉收缩功能下降有关^[1,2]。电镜观察发现:置 IUD 组子宫内膜螺旋动脉 VSMCs 存在由收缩型向合成型转化的现象,表现为细胞中与收缩有关的结构(如肌丝、密体、密斑等)明显减少,而与合成有关的内质网、线粒体等明

显增多。由于螺旋动脉收缩功能下降,因此月经时不能完全阻断血流,致使子宫内膜组织坏死缓慢、剥离延迟,从而导致月经量增多、经期延长^[3]。

本实验结果显示,模型组子宫内膜螺旋动脉 VSMCs 胞浆内水肿,细胞器部分崩解、数量减少,或细胞萎缩,线粒体空泡样变性,VECs 内线粒体亦有空泡样变性,与文献报道相符。宫环止血灵大、中、小剂量组子宫内膜螺旋动脉超微结构变化与吡哌美辛对照组相似,损伤较模型组均有明显减轻。推测益气化瘀法可能通过改善局部血液循环、增加子宫内膜螺旋动脉 VECs 和 VSMCs 的营养、改善子宫内膜螺旋动脉的收缩功能、减少子宫内膜的炎性细胞及炎性渗出、修复子宫内膜的损伤^[4]、双向调整子宫平滑肌的收缩力^[5]以及调整子宫局部血管舒缩因子水平和局部免疫状态(降低补体 C3、IgG、IgA 及 IgM 的水平)^[6,7]等途径,使子宫螺旋动脉舒缩趋于正常状态。

[参考文献]

1 潘俊峰,余玉琳,陈桂英,等.宫内节育器致异常出血

子宫内膜止血反应的形态学改变.中华妇产科杂志,1995,30(9):526-529.

2 Pan JF, Yu YL, Wang LJ, et al. The morphologic changes of endometrial spiral arterioles in IUD-induced menorrhagia. Adv Contracept, 1994, 10(3): 213-222.

3 周玉玲.宫内节育器影响子宫出血机理的研究现状.中国计划生育学杂志,1999,7(8):379-381.

4 雷磊,尤昭玲,文乐兮,等.益气化瘀法对置铜宫内节育器家兔子宫内膜形态学的影响.中国中医基础医学杂志,2004,10(11):41-43.

5 文乐兮,雷磊,尤昭玲,等.益气化瘀法对离体大鼠子宫平滑肌收缩活动的影响.湖南中医药导报,2003,9(9):49-52.

6 张焯,尤昭玲,文乐兮.宫环号胶囊对宫环出血患者月经血中 NO 水平及免疫因素影响的研究.中国中医基础医学杂志,2004,10(1):67-69.

7 尤昭玲,张焯,雷磊,等.宫环号胶囊对宫环出血患者血管舒缩因子的影响.中国中医药信息杂志,2004,11(4):290-291.

[收稿日期] 2005-05-07

2006 年全国时间生物医学学术会议征文通知

经中国中西医结合学会批准,将于 2006 年 6 月下旬召开 2006 年全国时间生物医学学术会议并正式成立中国中西医结合学会时间生物医学专业委员会,有关会议内容及征文通知如下。

1 会议时间 2006 年 6 月 28 日~7 月 1 日,会期 4 天。

2 会议地点 江苏省苏州市苏州大学东吴饭店。

3 会议内容 (1)时间医学与时间生物学的临床、基础研究与教学等方面学术交流,包括时间生理学、时间药理学、时间毒理学、时间中医学、针灸时间治疗(子午流注、灵龟八法等)、时间养生学、肿瘤时间治疗、生物节律研究、生物钟基因研究、动态血压及动态心电图研究与应用、睡眠研究等;(2)邀请国际时间生物学著名专家作有关时间生物学研究进展学术报告;(3)正式成立中国中西医结合学会时间生物医学专业委员会。

4 主办单位 中国中西医结合学会及其时间生物医学专业委员会筹委会主办,苏州大学承办,山东省医学科学院山东省抗衰老研究中心协办。

5 会议费用 代表注册费 800 元/人,学生注册费 500 元/人。

6 征稿要求 (1)关于时间医学与时间生物学方面的研究论文、综述等。论文全文(包括 1 000 字以内的摘要,研究性论文请按目的、方法、结果、结论四部分撰写)以电子邮件附件方式(Word 或纯文本文件)或 A4 纸打印件和软盘寄送会议联系人,可参见网址:E-mail: yjwang88@hotmail.com。(2)寄交地址:山东省济南市经十路 89 号山东省医学科学院抗衰老研究中心;联系人:赵子彦;电子信箱:ziyanzhao@163.com 或 ziyanzhao@sina.com.cn;邮政编码:250062;电话:0531-82919892;传真:0531-82601295。请自留底稿,恕不退稿。(3)截稿日期:2006 年 5 月 15 日。

中国中西医结合学会时间生物医学专业委员会筹委会