

康复新栓对慢性阴道炎大鼠血清 MDA、SOD 及组织 PGE2 的影响

车玉林^{1,2}, 卢倩^{1,2}, 马云涛³, 马东林³, 戴莉萍⁴, 王雨佳^{1,2}, 依绍花¹, 赵键铤^{1,2}, 李婷^{2,5*} (1.云南省昆虫生物医药研发重点实验室, 云南 大理 671000; 2.药用特种昆虫开发国家地方联合工程研究中心, 云南 大理 671000; 3.祥云县人民医院, 云南 祥云 672100; 4.大理州人民医院, 云南 大理 671000; 5.大理大学护理学院, 云南 大理 671000)

摘要: 目的 探讨康复新栓对慢性阴道炎大鼠血清中丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)及阴道组织中前列腺素 E2(prostaglandin E2, PGE2)含量的影响。方法 以大肠埃希菌、白色假丝酵母菌、金黄色葡萄球菌混合菌液和 8%苯酚胶液交叉感染建立大鼠阴道炎模型。经阴道给予空白栓, 双唑泰栓(37.84 mg·kg⁻¹), 高剂量(80 mg·kg⁻¹)、低剂量(40 mg·kg⁻¹)康复新栓治疗。通过酶联免疫法检测大鼠血清中 MDA、SOD 和阴道组织 PGE2 含量, 通过病理组织学评分判断其阴道炎程度。结果 与正常对照组比较, 模型对照组大鼠血清中 MDA 和阴道组织匀浆中 PGE2 含量显著升高($P<0.01$), SOD 活力显著降低($P<0.01$); 大鼠阴道病理组织学评分显著增高($P<0.01$), 说明大鼠阴道炎模型造模成功。与模型对照组比较, 双唑泰栓组、康复新栓高、低剂量组血清 SOD 活力显著升高($P<0.01$), MDA 及 PGE2 含量显著降低($P<0.01$); 大鼠阴道病理组织学评分显著降低($P<0.01$)。结论 康复新栓能有效治疗大鼠的慢性阴道炎, 可能与降低大鼠血清中 MDA 的表达及提高阴道组织中 SOD 的活性, 改善阴道组织病变程度有关。

关键词: 康复新液; 阴道炎; 丙二醛; 超氧化物歧化酶; 前列腺素 E2

中图分类号: R965.2 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2020)01-0009-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2020.01.002

引用本文: 车玉林, 卢倩, 马云涛, 等. 康复新栓对慢性阴道炎大鼠血清 MDA、SOD 及组织 PGE2 的影响[J]. 中国现代应用药学, 2020, 37(1): 9-13.

Effect of Kangfuxin Suppository on Serum MDA, SOD and Tissue PGE2 in Rats with Chronic Vaginitis

CHE Yulin^{1,2}, LU Qian^{1,2}, MA Yuntao³, MA Donglin³, DAI Liping⁴, WANG Yujia^{1,2}, NONG Shaohua¹, ZHAO Jianting^{1,2}, LI Ting^{2,5*} (1.Yunnan Provincial Key Laboratory of Entomological Biopharmaceutical R&D, Dali 671000, China; 2.National-local Joint Engineering Research Center of Entomocetics, Dali 671000, China; 3.The People's Hospital of Xiangyun, Xiangyun 672100, China; 4.The People's Hospital of Dali, Dali 671000, China; 5.College of Nursing, Dali University, Dali 671000, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the effect of Kangfuxin suppository on the contents of malondialdehyde(MDA) and superoxide dismutase(SOD) in serum and prostaglandin E2(PGE2) in vaginal tissue of rats with chronic vaginitis. **METHODS** The rat vaginitis model was established by cross infection of *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* mixture and 8% phenolic gel. Transvaginal administration of blank suppository, metronidazole suppository (37.84 mg·kg⁻¹), high dose (80 mg·kg⁻¹) and low dose (40 mg·kg⁻¹) of Kangfuxin suppository. The contents of MDA, SOD in serum and PGE2 in vaginal tissue of rats were detected by ELISA. The degree of vaginitis was diagnosed by histopathological score. **RESULTS** Compared with normal control group, the level of MDA in serum and PGE2 content in vaginal homogenate of rats in model control group increased significantly($P<0.01$), SOD activity decreased significantly($P<0.01$). The histopathological score of rats' vagina was significantly increased($P<0.01$), indicating that the rat vaginitis model was successfully established. Compared with the model control group, the serum SOD activity in the metronidazole suppository group, Kangfuxin suppository high and low groups increased significantly($P<0.01$), and the MDA and PGE2 contents decreased significantly($P<0.01$). The histopathological score of rats' vagina was significantly decreased($P<0.01$). **CONCLUSION** Kangfuxin suppository can effectively treat chronic vaginitis of rats, which may be related to reducing the expression of MDA in rats' serum, increasing the activity of SOD in vaginal tissue and changing the degree of pathological changes in vaginal tissue.

KEYWORDS: Kangfuxin suppository; vaginitis; malondialdehyde; superoxide dismutase; prostaglandin E2

阴道炎是妇科门诊常见疾病之一, 病变部位 5%的妇女一次或多次患过阴道炎疾病, 以真菌或为阴道黏膜及黏膜下结缔组织。研究显示, 至少 细菌感染为主^[1-2]。临床治疗常用咪康唑、克霉唑

基金项目: 国家自然科学基金项目(81660605, 81860742, 81860765)

作者简介: 车玉林, 男 Tel: 15198832011 E-mail: 1582557651@qq.com *通信作者: 李婷, 女, 讲师 Tel: (0872)2214251 E-mail: 43868083@qq.com

等抗真菌类药物,剂型多以栓剂为主,具有操作简便、直达病所、迅速发挥疗效等特点,但长时间使用易产生耐药性。与传统抗真菌类药物比较,中医药在治疗阴道炎方面具有抗真菌作用强、疗效稳定、不易耐药等优势^[3-4]。康复新液是一种中药制剂,研究证明,其具有加速机体病损组织修复再生,改善局部血液循环,消除炎症、水肿和增强机体免疫的作用^[5-6]。本实验在此研究基础上,将康复新液制成康复新栓,通过建立慢性阴道炎大鼠模型,考察康复新栓对大鼠慢性阴道炎的治疗作用,为临床应用提供实验基础。

1 材料

1.1 动物

SPF级♀未孕SD大鼠45只,体质量180~220 g,购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司,动物生产许可证号:SCXK(湘)2011-0003。

1.2 药品与试剂

康复新原料(四川好医师攀西药业有限责任公司馈赠,批号:170301);双唑泰栓(湖北东信药业有限公司,批号:161205);注射用青霉素钠(四川鼎尖药物有限责任公司,批号:20170201);雌二醇(驻马店凯信制药有限公司,批号:20160803);混合脂肪酸甘油酯(成都泸天化科森有限责任公司,批号:141004);苯酚(西陇化工股份有限公司,批号:CAS108-95-2);水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司,批号:20170712);丙二醛试剂盒(malondialdehyde,MDA,批号:20171013)、超氧化物歧化酶试剂盒(superoxide dismutase,SOD,批号:20171013)、前列腺素E₂试剂盒(prostaglandin E₂,PGE₂,批号:20171013)均购自南京建成生物技术有限公司。金黄色葡萄球菌(*Staphylococcus aureus*,批号:25923)、大肠埃希菌(*Escherichia coli*,批号:25922)、白色念珠菌(*Candida albicans*,批号:10231)均由大理大学基础医学院白丽教授提供。

1.3 仪器

HWS24 电热恒温水浴锅、GHP-9160 隔水式恒温培养箱、GHP-9160 酶标仪、GHP-9160 紫外分光光度计均来自上海一恒科学仪器有限公司;EL-104 电子天平(梅特勒-托利多);BI-2000 离心机(成都泰盟科技有限公司)。

2 方法

2.1 受试栓剂的制备

2.1.1 空白栓剂的制备 称取计算量的混合脂肪酸甘油酯于小烧杯中,置55~60℃水浴中加热使其融化,然后倾入事先冷却并涂有润滑剂的栓模中(0.15 g 栓模),栓剂稍溢出即可,待完全凝固后,用刀片削去溢出部分,即得。

2.1.2 康复新栓剂的制备 称取计算量的混合脂肪酸甘油酯于烧杯中,置55~60℃水浴中加热使其融化;再将计算量的药物加入基质中,顺时针搅拌使药物均匀地分散在基质中,然后将其注入栓模中,冷却,脱模即得。

2.1.3 双唑泰栓剂的制备 向水浴加热融化的混合脂肪酸甘油酯中加入计算量的双唑泰栓并充分搅拌至两者混合均匀,然后将其注入栓模,冷却,脱模即得。

2.2 8%苯酚胶浆的制备

量取50℃液态苯酚1.6 mL,甘油6 mL,称取1 g 羧甲基纤维素钠在50℃的水浴中充分搅拌均匀,配置成8%苯酚胶浆,密封,并在4℃条件下保存,实验前先放置至室温并混匀,避光保存^[7]。

2.3 去势模型的建立

45只合格的SPF级♀未孕SD大鼠,禁食不禁水24 h,用质量分数为10 g·L⁻¹的水合氯醛腹腔注射麻醉,行腹式去势手术^[8]:将大鼠腹部朝上绑好,四肢固定,在大鼠腹部两侧剃毛、75%酒精消毒,钝性分离肌肉组织,循子宫分支找出卵巢,自输卵管结扎并切除卵巢,逐层缝合切口。术后每只大鼠肌肉注射青霉素(每天2万单位),连续3 d,防止感染,未见阴道上皮角质化则证明卵巢完全摘除。

2.4 慢性阴道炎模型的建立

随机选取8只去势大鼠作为正常对照组,其余大鼠均于造模前24 h,腹股沟肌肉注射雌二醇[0.03 mL·(100 g)⁻¹],且隔天注射1次,持续4次;造模第1天,用无菌的1 mL注射器吸取8%苯酚胶浆0.1 mL,轻轻插入到大鼠宫颈穹隆部推入大鼠阴道中,注入同时向外撤针,隔日灌注1次,持续3次;造模第2天,挑取培养好的大肠埃希菌、白色假丝酵母菌及金黄色葡萄球菌单个菌落,分别稀释成浓度为6×10⁵ cfu·mL⁻¹的菌液,将稀释

好的菌液按体积比 1:1:1 混合,制成混合菌液(现配现用)。使大鼠头朝下,提高尾部,吸取混合菌液 0.1 mL 注入其阴道内,垫高大鼠臀部使菌液不流出,保持 5 min,隔日注射 1 次,持续 3 次,与苯酚胶浆交叉造模感染,即造模完成^[9-10]。

2.5 分组及给药

将造模成功的大鼠按体质量随机分组,给药剂量按照临床用量换算^[5,11],分别为模型对照组、康复新栓高剂量组(80 mg·kg⁻¹)、康复新栓低剂量组(40 mg·kg⁻¹)、双唑泰栓组(37.84 mg·kg⁻¹),每组 8 只。除正常对照组和模型对照组每只大鼠阴道给予空白栓剂,其余各组给予相应的受试药,每天 1 次,连续 14 d。

2.6 样本采集与检测

末次给药后 24 h,用质量分数为 10 g·L⁻¹的水合氯醛溶液(3.0 mL·kg⁻¹)麻醉大鼠,腹主动脉取血,3 000 r·min⁻¹ 离心 15 min,分离血清,冻存备用,按试剂盒说明书测大鼠血清中 SOD、MDA 含量;取大鼠阴道组织,生理盐水洗净,纵向剖开,一半放于 4%甲醛溶液中固定,制成病理切片,按照阴道病理组织评定标准评分^[12],见表 1。另一半制备成 10%阴道组织匀浆,3 500 r·min⁻¹ 离心 10 min,取上清液,按试剂盒说明书检测 PGE2 含量。

2.7 统计学分析

计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,并用 SPSS 17.0 软件对各组数据进行统计分析。符合正态分布的数据采用 One-way ANOVA 分析,不符合正态分布的数据采用秩和检验。以 $P < 0.01$ 和 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。根据数据处理结果,使用 GraphPad Prism 5 软件制图。

3 结果

3.1 康复新栓对慢性阴道炎大鼠血清中 MDA、SOD 的影响

与正常对照组比较,模型对照组大鼠血清中 MDA 含量显著升高,SOD 活力显著降低($P < 0.01$);与模型对照组相比,双唑泰栓组和康复新各剂量

组大鼠血清中 MDA 含量显著降低,SOD 活力显著升高($P < 0.01$)。结果见图 1。

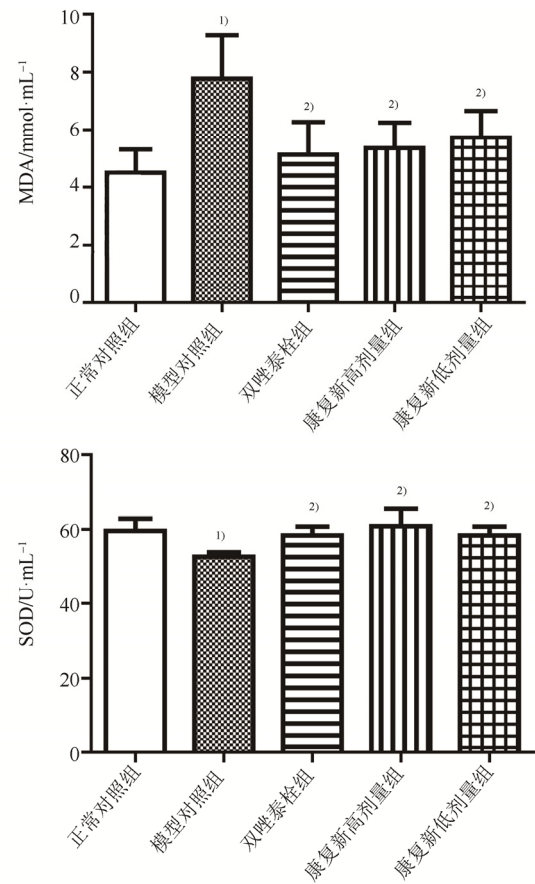


图 1 康复新栓对慢性阴道炎大鼠血清中 MDA、SOD 的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

与正常对照组比较, ¹⁾ $P < 0.01$; 与模型对照组比较, ²⁾ $P < 0.01$ 。

Fig. 1 Effect of Kangfuxin suppository on MDA and SOD in serum of rats with chronic vaginitis($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Compared with normal control group, ¹⁾ $P < 0.01$; compared with model control group, ²⁾ $P < 0.01$.

3.2 康复新栓对慢性阴道炎大鼠阴道组织匀浆中 PGE2 的影响

与正常对照组比较,模型对照组大鼠阴道组织匀浆中 PGE2 含量显著升高($P < 0.01$);与模型对照组比较,双唑泰栓组与康复新高、低剂量组大鼠阴道组织匀浆中 PGE2 含量显著降低($P < 0.01$)。结果见图 2。

表 1 慢性阴道炎大鼠阴道组织病理评分标准

Tab. 1 Vaginal tissue pathological scoring criteria in rats with chronic vaginitis

分值/分	黏膜病变评分标准	黏膜下层充血病变	炎细胞浸润病变
0	鳞状上皮无增厚、水肿,柱状上皮无鳞状趋势	黏膜下层未见明显扩张血管	未见明显炎细胞浸润
1	鳞状上皮局部 2~3 层增厚、轻微水肿、柱状上皮有鳞状趋势	黏膜下层可见轻度扩张血管	可见轻度炎细胞浸润
2	鳞状上皮明显增厚、明显水肿、柱状上皮明显鳞化	黏膜下层可见明显扩张血管	可见明显炎细胞浸润
3	广泛增厚并使黏膜凹凸不平、大量细胞水肿、鳞化区域分布达致宫腔	黏膜下层较多增生血管扩张	可见大量炎细胞浸润

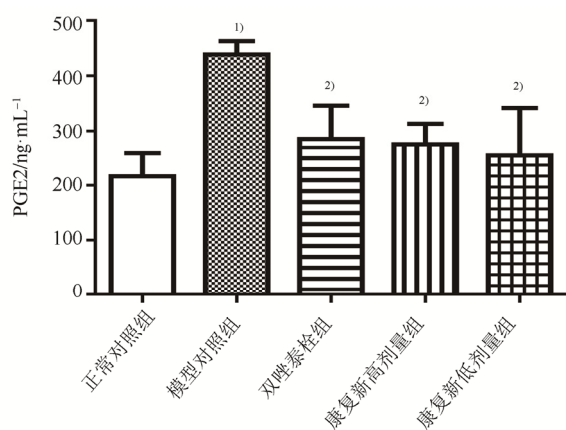


图 2 康复新栓对慢性阴道炎大鼠阴道组织匀浆中 PGE2 的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型对照组比较, ²⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 2 Effect of Kangfuxin suppository on PGE2 in vaginal tissue homogenate of rats with chronic vaginitis ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)
Compared with normal control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model control group, ²⁾ $P<0.01$.

3.3 康复新栓对慢性阴道炎大鼠阴道病理组织评分的影响

正常对照组大鼠阴道组织鳞状上皮细胞无增厚、水肿, 黏膜下层无明显扩张充血, 各层无炎

细胞浸润; 模型对照组大鼠阴道组织鳞状上皮细胞异常增生, 可见明显水肿, 黏膜下层可见明显的毛细血管扩张充血, 各层可见明显的炎细胞浸润。与正常对照组相比, 模型对照组鳞状细胞异常增生、水肿, 黏膜下层血管扩张充血、炎细胞浸润评分及病变总积分显著升高($P<0.01$); 与模型对照组相比, 康复新栓各剂量组, 双唑泰组病变总积分显著降低($P<0.01$), 结果见图 3。各组大鼠阴道组织病理切片图见图 4。

4 讨论

阴道炎是妇女常见病之一, 临床以带下量多、质稠、外阴瘙痒、红肿热痛等炎症病变为主, 抑制病菌、消除炎症是治疗阴道炎的关键。阴道炎炎症组织修复愈合的机制是一个复杂的生理过程, 主要包括炎症反应、细胞增殖、氧化与抗氧化反应等几个阶段, 最终完成炎症组织的修复^[13]。前列腺素是炎症反应的重要介质, 炎症的发生发展与局部 PGE2 含量有密切关系^[14]。而在炎症的发病过程中, PGE2 起着主要的作用, 它能使局部毛细血管扩张, 血管通透性增加, 组织充血、水肿,

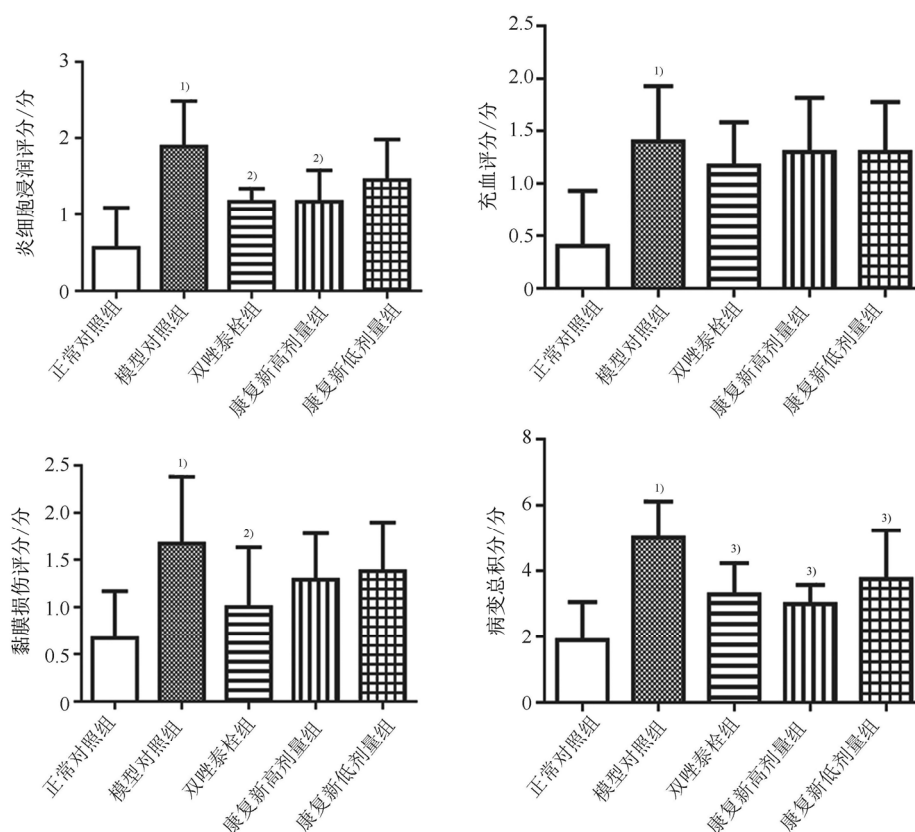


图 3 康复新栓对慢性阴道炎大鼠阴道病理组织评分的影响

与正常对照组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型对照组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 3 Effect of Kangfuxin suppository on vaginal pathological tissue score in rats with chronic vaginitis
Compared with normal control group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model control group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$.

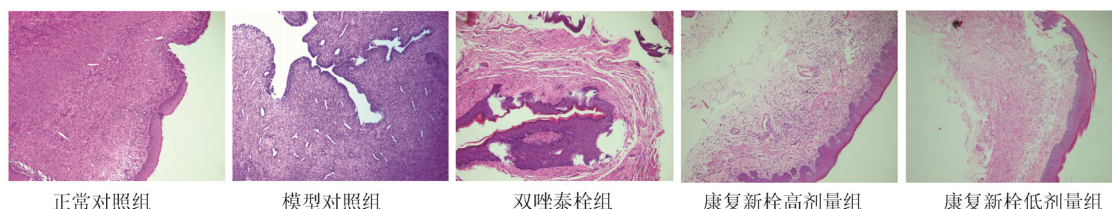


图4 大鼠阴道组织切片(HE, 100×)

Fig. 4 Rats' vaginitis tissue section(HE, 100×)

从而导致炎症的发生^[15-16]; MDA 是脂化过氧化物反应的产物之一, 其活性的强弱可以衡量机体内氧化应激反应的程度。SOD 是机体内氧自由基清除剂之一, 能够避免或减少氧自由基对组织细胞的损害。SOD 的活性反映了细胞内清除自由基即抗氧化的能力。研究表明^[17], 机体内的氧自由基清除酶系统可以保持其氧化还原态的平衡。如果这一平衡受到破坏, 就会导致机体内大量的氧自由基积聚, 自由基清除能力下降, 脂质过氧化反应活跃, 炎症反应的加重。在本研究中, 经康复新栓治疗后, 不同剂量的给药组大鼠血清中MDA、黏膜组织中PGE2含量均显著降低($P<0.01$), 血清中SOD活性显著升高($P<0.01$), 表明康复新栓可以通过减少炎症因子分泌, 调节机体氧化与抗氧化系统的平衡发挥治疗阴道炎症作用。

REFERENCES

- [1] LAI Y H. Infection situation and seasonal changing analysis of fungal and bacterial vaginitis [J]. Chin J Clin Ration Drug Use(临床合理用药杂志), 2017, 10(9): 85-86.
- [2] 吴文湘, 廖秦平. 阴道炎的诊治进展[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2009, 25(12): 949-952.
- [3] ZHANG C X, CHEN Q H. Research progress on drugs against vaginitis and their topical preparations [J]. World Clin Drugs(世界临床药物), 2010, 31(6): 381-386.
- [4] XIE Y J, ZHONG L Y, CUI M Y. A survey of vaginitis treated with Chinese medicine suppository [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm(中国民族民间医药), 2018, 27(4): 47-49.
- [5] LI X Q, ZHAO J T, HE M, et al. Study on the anti-inflammatory and analgesic effects of Kangfuxin suppository [J]. J Chin Med Mater(中药材), 2017, 40(11): 2668-2671.
- [6] ZHANG H C, GENG F N, SHEN Y M, et al. Research progress of Kangfuxin Ye in pharmacological action and clinical application [J]. Chin J Ethnomed Ethnopharm(中国民族民间医药), 2017, 26(3): 57-60.
- [7] LI Q, LI X L, ZHAO Y, et al. Studies on the changes of

chronic pelvic inflammatory disease(CPID) rat model of Penyangkunhe liquor [J]. Chin J Clin Pharmacol Ther(中国临床药理学与治疗学), 2014, 19(4): 381-385.

- [8] LI Y B, MAI Q Y, LI T, et al. Influence of castration methods on the subcutaneous auto-transplantation of mouse ovaria [J]. Guangdong Med J(广东医学), 2014, 35(11): 18-20.
- [9] CHEN Z Y, DONG L S, ZHANG Y Z, et al. Effect of Kangfuyanmi effervescent suppository on mixed bacterial rats' colitis and cervicitis model [J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2013, 29(4): 149-152.
- [10] LI X Y, GAO J W, XU L F, et al. Therapeutic effects of viable lactobacillus against vaginitis caused by mixed infection with *S.aureus*, *E.coli* and *C.albicans* in Rabbit [J]. Anti-Infect Pharm(抗感染药), 2010, 8(3): 185.
- [11] SHI J, YU Y H, XU Y R, et al. Protective effect of FK1 suppository against bacterial and mycotic vaginitis[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med(中药药理与临床), 2012, 28(5): 211-214.
- [12] KONG L S, SONG Y P, WANG Q. Effect of compound shajizi suppository on model rats with vaginal and cervical erosion [J]. J Shanxi Coll Tradit Chin Med(山西中医学院学报), 2008, 9(1): 16-18.
- [13] WANG X Y. The clinical effect of baofukang suppository combined *Lactobacillus vagina* capsule treatment mould sex vaginitis during pregnancy [J]. Guid China Med(中国医药指南), 2013, 11(16): 19-20.
- [14] LIU L, YANG D X, JIANG D, et al. A systematic review of effectiveness and safety of Kangfuxin combined with Pantoprazole for peptic ulcer [J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2014, 36(3): 491-497.
- [15] JIANG J X, YANG M S, QUAN Y, et al. Therapeutic window for cyclooxygenase-2 related anti-inflammatory therapy after status epilepticus [J]. Neurobiol Dis, 2015(76): 126-136.
- [16] DUARTE S, KATO H, KURIYAMA N, et al. Hepatic ischemia and reperfusion injury in the absence of myeloid cell-derived COX-2 in mice [J]. PLoS One. 2014, 9(5): e96913.
- [17] LAN Y S, GAO W, LIAO H T, et al. Expression and role of superoxide dismutase, malondialdehyde and endothelin in rat model of pressure ulcer injury [J]. J Nurs(护理学报), 2017, 24(9): 1-6.

收稿日期: 2019-02-14

(本文责编: 李艳芳)