

普乐士泰胶囊对慢性非细菌性前列腺炎模型大鼠的改善作用[△]

叶绿萍^{1*},李德钢²,刘素春³,马儒清¹,宾彬^{4#}(1.广西中医药大学第一附属医院药学部,南宁 530023;2.广西中医药大学第一附属医院胃肠肛门中心,南宁 530023;3.广西中医药大学第一附属医院检验科,南宁 530023;4.广西中医药大学第一附属医院男科,南宁 530023)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2017)22-3057-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2017.22.09

摘要 目的:考察普乐士泰胶囊对慢性非细菌性前列腺炎(CNP)模型大鼠的改善作用。方法:将60只大鼠随机分为假手术组(蒸馏水)、模型组(蒸馏水)、普乐安片组(阳性对照,2 g/kg)和普乐士泰胶囊高、中、低剂量组(16、8、4 g/kg),除假手术组外的其余5组大鼠均注射消痔灵注射液0.2 mL复制CNP模型。造模7 d后ig相应药物,每日1次,连续45 d。末次给药后24 h,肉眼观察前列腺的病变并称定其湿质量;显微镜下进行白细胞(WBC)计数和卵磷脂小体(SPL)计数,并对前列腺组织切片进行病理观察。结果:与假手术组比较,模型组大鼠前列腺局部出现灰白色结节、腺体与周围组织发生粘连等病变;腺体湿质量和前列腺组织中WBC、SPL计数均显著增加($P<0.01$);显微镜下可见前列腺间质中有明显充血、水肿及多种炎症细胞浸润。与模型组比较,普乐安片组和普乐士泰胶囊各剂量组大鼠前列腺局部灰白色结节减少、腺体与周围组织粘连程度减轻;腺体湿质量和前列腺组织中WBC、SPL计数均显著减少($P<0.01$);显微镜下可见病理变化得到不同程度改善,且以普乐士泰胶囊高剂量组改善最为明显,前列腺组织间质中仅有轻度充血、水肿和少量炎症细胞浸润。结论:普乐士泰胶囊对CNP模型大鼠有一定的改善作用。

关键词 普乐士泰胶囊;慢性非细菌性前列腺炎;白细胞;卵磷脂小体;大鼠

Improvement Effect of Prostatitis Capsule on Chronic Non-bacterial Prostatitis Model Rats

YE Lüping¹, LI Degang², LIU Suchun³, MA Ruqing¹, BIN Bin⁴(1. Dept. of Pharmacy, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China; 2. Centre of Gastrointestinal Anus Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China; 3. Dept. of Laboratory Section, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China; 4. Dept. of Andrology, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To investigate the improvement effect of Prostatitis capsule on chronic non-bacterial prostatitis (CNP) model rats. **METHODS:** 60 rats were randomly divided into sham operation group (distilled water), model group (distilled water), Pule'an tablet group (positive control, 2 g/kg) and Prostatitis capsule high-dose, medium-dose, low-dose groups (16, 8, 4 g/kg). Except for sham operation group, other 5 groups were injected Xiaozhiling injection 0.2 mL to reduce CNP model. After 7 d of modeling, they received related medicines, ig, once a day, for 45 d. After 24 h of last administration, prostate lesions were observed by eyes and wet quality was weighed. White blood cell (WBC) count and lecithin body (SPL) count were conducted under microscope, and prostate tissue slices were pathologically observed. **RESULTS:** Compared with sham operation group, prostate showed gray nodules, adhesion in glands and surrounding tissue; wet quality of prostate and WBC, SPL count in prostate tissue were significantly increased ($P<0.01$); under microscope, there were significant congestion, edema and a variety of inflammatory cell infiltration in prostate interstitial. Compared with model group, gray nodules in prostate in Pule'an tablet group and Prostatitis capsule group were reduced, as well as adhesion degree in prostate and surrounding tissue; wet quality of prostate and WBC, SPL count in prostate tissue were significantly decreased ($P<0.01$); pathological changes had improved to varying degrees under microscope, especially the changes in Prostatitis capsule high-dose group, and prostate tissue only showed mild congestion, edema and little inflammatory cell infiltration. **CONCLUSIONS:** Prostatitis capsule has a certain improvement effect on CNP model rats.

KEYWORDS Prostatitis capsule; Chronic non-bacterial prostatitis; Leukocytes; Lecithin body; Rats

△ 基金项目:广西壮族自治区卫生厅中医药科技专项课题/广西壮族自治区卫生厅医院制剂遴选课题(No.GZYZ1105)

* 副主任药师。研究方向:临床药学、药剂学。电话:0771-5840015。E-mail:164589433@qq.com

通信作者:主任医师,教授,硕士。研究方向:中医男科。电话:0771-5848554。E-mail:billbinn@sina.com

慢性前列腺炎(Chronic prostatitis, CP)是中青年男性一种常见的多发的生殖系统疾病,约50%的成年男性一生中某个阶段会受该病的困扰^[1]。前列腺炎临床表现为尿频、尿急、尿痛,尿道口常有溢液,伴有会阴部、耻骨上区、腰背部隐痛等不适。1995年美国国立卫生研究院(National Institutes of Health, NIH)以前列腺炎病因学

为基础,将前列腺炎分为4类,其中第Ⅲ类为慢性非细菌性前列腺炎(Chronic nonbacterial prostatitis, CNP)或慢性盆底疼痛综合征(Chronic pelvic pain syndrome, CPPS)。CNP的特征为没有明显的前列腺感染,但伴有会阴部、耻骨上区、腰背部等疼痛和尿频、尿急、尿痛,尿道口常有溢液等不适及各种排尿和性功能异常,为最常见的类型,约占CP的90%以上^[2]。

普乐士泰胶囊是广西中医药大学第一附属医院治疗前列腺炎的院内制剂,是根据该院男科主任宾彬教授临床长期应用的经验方研制而成。处方由益母草、白蔻仁、薏苡仁、苦杏仁、川牛膝、太子参、石菖蒲、茜草、大血藤、王不留行、败酱草、萆薢、威灵仙、山药、车前子、小茴香、通草等多味中药组成,具有清热化湿、导浊通淋、活血祛瘀、行气止痛之功,临床上用于治疗CNP取得了良好的疗效,且长期服用未见不良反应的发生^[3],为我院男科治疗前列腺炎的常用处方。本研究主要通过建立大鼠CNP模型,考察普乐士泰胶囊对CNP模型大鼠前列腺的影响,探讨普乐士泰胶囊对CP的治疗作用,为其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

AEU-210电子称(日本岛津公司);CH30普通光学显微镜(日本Olympus公司)。

1.2 药品与试剂

普乐士泰胶囊(由广西中医药大学第一附属医院制剂室提供,批号:20140306,规格:0.38 g/粒);普乐安片(浙江康恩贝制药股份有限公司,批号:131141,规格:0.57 g/片);消痔灵注射液(吉林省集安益盛药业股份有限公司,批号:14042601,规格:10 mL:0.4 g);戊巴比妥钠(美国Sigma-Aldrich公司,由上海语燕生物技术有限公司分装,批号:20110222,纯度:>99%);硫酸庆大霉素注射液(河南辅仁怀庆堂制药有限公司,批号:1311031,规格:2 mL:8万U)。

1.3 动物

SD大鼠60只,SPF级,♂,体质量220~240 g,购自广西医科大学动物实验中心[许可证号:SCXK(桂)2009-0002]。

2 方法

2.1 分组

将60只大鼠按体质量随机分为6组,分别为假手术组、模型组、普乐安片组(阳性对照)和普乐士泰胶囊高、中、低剂量组。

2.2 造模

各组大鼠ip 0.6%戊巴比妥钠麻醉(30 mg/kg),剪除下腹被毛,于无菌条件下在下腹部正中切口,直达腹腔,提起膀胱及两侧精囊,暴露附于精囊内侧的前列腺背

叶,分别注入消痔灵注射液0.2 mL(假手术组大鼠注入0.2 mL生理盐水),送复位器,逐层缝合肌肉皮肤。术后每只大鼠im庆大霉素0.1 mL预防感染^[4]。

2.3 给药

造模后第7天各组大鼠开始给药。假手术组和模型组:蒸馏水1 mL/100 g;普乐安片组:给药剂量为2 g/kg(相当于成人日用量的20倍),临用前用生理盐水制备成0.2 g/mL的混悬液;普乐士泰胶囊高、中、低剂量组:给药剂量分别为16、8、4 g/kg(分别相当于成人日用量的20、10、5倍),临用前用生理盐水分别制备成1.6、0.8、0.4 g/mL的混悬液。各组大鼠均ig给药,每日1次,连续45 d。

2.4 取材及指标检测

末次给药后24 h,称大鼠体质量后将其断颈处死,取出前列腺称定其湿质量,肉眼观察前列腺体颜色变化、有无灰白色结节及腺体与周围组织粘连等。然后将前列腺右侧叶迅速放入10%中性福尔马林液中固定48 h,逐级乙醇脱水,二甲苯透明、浸蜡、石蜡包埋,常规切片(4 μm),行苏木精-伊红(HE)染色,在400倍光镜(HP)下观察前列腺间质充血、水肿和间质内炎症细胞浸润情况。前列腺组织间质充血、水肿判断标准:无为-,轻度为±,较明显为+,显著为++^[5];前列腺组织间质内炎症细胞浸润判断标准:0个细胞/HP为-,1~9个细胞/HP为±,10~19个细胞/HP为+,≥20个细胞/HP为++。用电子称称定前列腺左侧叶湿质量后,将前列腺组织放入试管内,按每1 mg组织加4 μL无菌生理盐水的比例进行组织匀浆,取部分组织匀浆光镜下观察白细胞(WBC)计数和卵磷脂小体(SPL)计数。WBC计数:WBC数/L=4个大方格内的WBC总数×50×10⁶;SPL计数:满视野为++++,占3/4视野为+++ ,占2/4视野为++ ,占1/4视野为+ ,少许散在不足1/4视野为-^[6]。

2.5 统计学方法

采用PEMS 3.0软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,方差齐时均数间两两比较用SNK法,不齐时用Scheffe法;等级资料的多样本比较采用Kruskal-Wallis H检验,两两比较采用Wilcoxon秩和检验。

3 结果

3.1 前列腺肉眼观察结果

假手术组大鼠前列腺腺体柔软,表面光泽、红润,未见灰白色结节及腺体与周围组织粘连。与假手术组比较,模型组大鼠前列腺腺体表面颜色暗红,明显水肿或充血,局部有灰白色结节,腺体与周围组织明显粘连。各给药组大鼠前列腺腺体表面均可见颜色暗红,局部有灰白色结节,腺体与周围组织有粘连,但较模型组大鼠均有不同程度改善,且普乐士泰胶囊各剂量组大鼠前列腺变化与普乐安片组相似。

3.2 前列腺湿质量测定结果

各组大鼠体质量差异均无统计学意义($P>0.05$)。与假手术组比较,模型组大鼠前列腺湿质量显著增加($P<0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠前列腺湿质量显著减少($P<0.01$),且接近假手术组水平($P>0.05$),表明普乐安片及各剂量普乐士泰胶囊均对CNP模型大鼠前列腺湿质量的增加有明显的抑制作用,结果见表1。

表1 各组大鼠体质量及前列腺湿质量测定结果($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Determination results of body mass and wet prostate quality of rats in each group($\bar{x} \pm s$)

组别	n	大鼠体质量,g	前列腺湿质量,g
假手术组	10	234.2±13.894	1.702±0.111
模型组	10	230.2±13.838	2.485±0.241**
普乐安片组	10	229.4±14.331	1.849±0.197**
普乐士泰胶囊高剂量组	10	228.9±12.332	1.831±0.187**
普乐士泰胶囊中剂量组	10	230.8±13.070	1.972±0.279**
普乐士泰胶囊低剂量组	10	229.3±13.115	2.029±0.205**

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,** $P<0.01$

Note: vs. sham operation group, ** $P<0.01$; vs. model group, ** $P<0.01$

3.3 WBC、SPL计数结果

与假手术组比较,模型组大鼠前列腺组织中WBC计数显著增加、SPL计数显著减少($P<0.01$);与模型组比较,普乐安片组及普乐士泰胶囊各剂量组大鼠前列腺组织中WBC计数显著减少、SPL计数显著增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。假手术组、模型组、普乐安片组和普乐士泰胶囊高、中、低剂量组大鼠前列腺组织中WBC计数分别为 $(1.228 \pm 0.728) \times 10^9$ 、 $(2.805 \pm 0.788) \times 10^9$ 、 $(1.676 \pm 0.531) \times 10^9$ 、 $(1.612 \pm 0.516) \times 10^9$ 、 $(1.949 \pm 0.774) \times 10^9$ 、 $(2.107 \pm 0.723) \times 10^9$ 个,SPL计数结果见表2。

表2 各组大鼠前列腺组织中SPL计数结果

Tab 2 Results of SPL count in prostate tissue of rats in each group

组别	n	SPL计数					P
		-	+	++	+++	++++	
假手术组	10	0	0	1	3	6	
模型组	10	6	2	2	0	0	<0.01
普乐安片组	10	0	1	4	2	3	<0.01
普乐士泰胶囊高剂量组	10	0	0	2	4	4	<0.05
普乐士泰胶囊中剂量组	10	0	0	4	3	3	<0.05
普乐士泰胶囊低剂量组	10	0	1	6	2	1	<0.01

3.4 前列腺组织显微镜下病理观察结果

假手术组大鼠前列腺组织间质内偶见炎症细胞浸润和成纤维细胞,腺腔大小不一,腺泡上皮多为单层柱状或立方,个别呈假复层;腺腔内可见大量深染色的分泌物。模型组大鼠前列腺组织间质均有显著充血、水肿及大量炎症细胞浸润。普乐士泰胶囊中、低剂量组大鼠前列腺组织间质也有较明显充血、水肿和炎症细胞浸润;而普乐士泰胶囊高剂量组大鼠前列腺组织间质仅有轻度充血、水肿,少见或无炎症细胞浸润,较模型组大鼠

的前列腺炎症症状明显减轻,且变化与普乐安片组相似。显微镜下病理观察结果见图1,前列腺组织间质充血、水肿与炎症细胞浸润分级结果见表3。

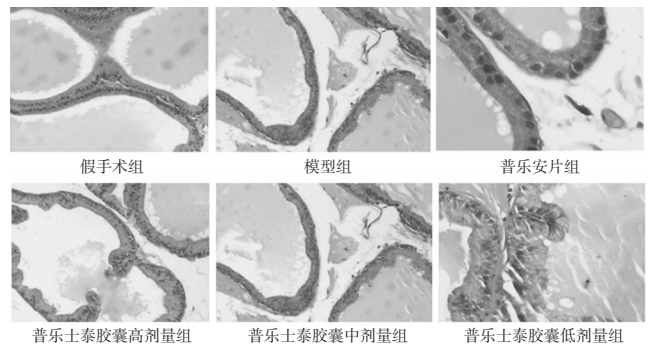


图1 各组大鼠前列腺组织病理观察结果(HE染色,×400)

Fig 1 Results of pathological observation of prostate tissue of rats in each group(HE staining, ×400)

表3 各组大鼠前列腺组织间质充血、水肿与炎症细胞浸润分级结果

Tab 3 Results of interstitial congestion, edema and inflammatory cell infiltration grading in prostate tissue of rats in each group

组别	n	间质充血、水肿	炎症细胞浸润
假手术组	10	-	-
模型组	10	++	++
普乐安片组	10	+	±
普乐士泰胶囊高剂量组	10	±	±
普乐士泰胶囊中剂量组	10	+	±
普乐士泰胶囊低剂量组	10	+	+

4 讨论

历代中医典籍中并没有前列腺炎的记载,仅将其笼统地归属于“淋证”“精浊”“白浊”等范畴^[7]。患病率高、治愈率低、复发率高是前列腺炎的特点,虽然其不威胁患者生命,却严重影响了患者生活质量^[8]。目前研究认为,衣原体、支原体或病毒等非细菌感染,以及自身免疫、氧化应激、自身基因或者物理化学等因素均可引起CNP的发生^[9]。近年研究表明,炎症反应参与了CNP的发病^[10]。WBC、SPL计数是判断炎症反应的主要参考指标之一,也是CP的常规前列腺液检查中重要的判断指标。但有学者认为,前列腺液以前列腺中央带分泌液为主,部分肿胀的炎症组织使周围带的腺管因阻塞而导致排除不畅,不能客观地反映病情变化,再加上检查的操作过程中也会因尿路WBC污染而造成检验结果偏差,以前列腺液的WBC、SPL计数难以准确反映CP炎症的真实状况和严重程度^[11]。因此,在本研究中笔者选择大鼠前列腺腺组织匀浆进行测定,以去除可能存在的部分干扰因素,使结果更接近客观情况。普乐安片有补肾固本的作用,对改善前列腺的微循环、尿道黏膜及其周围组织水肿以及缩小前列腺体积、加快新陈代谢、消退前

列腺局部炎症等有很好的作用,临床上广泛用于前列腺炎和前列腺增生症的治疗,疗效确切^[12]。因此,本研究以普乐安片为阳性对照药。

中医治疗学认为,CP的病因本质为湿热浊邪阻滞,而治法应先祛其湿浊再补其虚^[13]。普乐士泰胶囊组方以中医理论为指导,寒温并用,消中有补,运用了整体观念和辨证论治的特点,在治疗上显示出其独特的优势。方中君药益母草具有清热解毒、活血祛瘀、消肿利尿等功效^[14],益母草中主要活性成分益母草碱、水苏碱具有抑制肾间质纤维化的形成、抗细菌内毒素、抗炎、改善微循环等作用^[15-16],对前列腺组织瘀血、水肿等症状有一定缓解作用。苦杏仁可宣通上焦肺气,使气化助于湿化;白薏仁可运化中焦湿滞,化浊宜中;薏苡仁有益脾渗湿之功,使湿热从下而去,三者宣上畅中渗下,从而疏导三焦湿邪^[17],辅以草薢分清泌浊,引下焦湿邪外出。王不留行、大血藤活血通络,败毒散瘀,改善血运;败酱草能清热解毒、凉血消肿散结;车前子清利湿毒;山药、威灵仙、车前子助健脾渗湿;通草防利水过甚,增强生津润肠;石菖蒲开精窍;太子参补脾肺之气而无燥热之弊,健运水湿;小茴香行气止痛;川牛膝补益肝肾,性善下行,可引诸药直达下焦病所^[18-19]。诸药合用,使脾气健运、理气通络、清肃下降,可改善CP的不适症状。

本研究结果显示,普乐士泰胶囊可明显降低CNP模型大鼠前列腺组织中WBC计数、升高前列腺组织中SPL计数($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),并可明显减轻CNP大鼠的前列腺组织水肿、充血、炎症细胞浸润及与周围组织粘连和局部灰白色结节等,使前列腺炎状态改善。同时,本研究结果也证实了普乐士泰胶囊攻补兼施的组方合理性,提示其可改善前列腺血液循环障碍,促进血液运行,改善组织水肿及炎性浸润,达到治疗CNP的作用,但更多的作用机制仍有待进一步研究。

查阅近十几年与CP治疗相关的文献,发现关于CP的中医药治疗大多数依然为医家各自的经验总结,一般样本量不大,疗效机制不明确,大多数没有和现代药理实验相结合,仍处于探索研究阶段^[20]。因此,笔者下一步的研究将严格按《中医病证诊断疗效标准》的证候分型分类,结合现代医学的研究方法及手段,希望能检测出用药后前列腺腺组织内留存了该药的哪些药物成分,探索如何提高口服用药后前列腺腺组织内的血药浓度等,注重实验指标的具体化、量化研究,以进一步提高疗效判断标准。

参考文献

- [1] 李曰庆,李海松,秦国政,等.慢性前列腺炎中医诊治专家共识[J].北京中医药,2015,34(5):412-415.
- [2] 梁朝朝.慢性前列腺炎诊断标准的再认识[J].现代泌尿外

科杂志,2012,17(6):537-540.

- [3] 宾彬,潘章宇.普乐士泰胶囊治疗慢性非细菌性前列腺炎30例[J].河南中医,2006,26(8):42-43.
- [4] 魏伟,吴希美,李元建.药理实验方法学[M].4版.北京:人民卫生出版社,2010:38-40,69-73,1430-1431.
- [5] 许涛,戴宁,江安红,等.消炎消对大鼠实验性前列腺炎影响的病理学观察[J].安徽中医学院学报,2001,20(1):38-40.
- [6] 陈国宏,李兰群,王传航,等.慢性前列腺炎症状评分与前列腺液白细胞及卵磷脂小体数量相关性分析[J].中国性科学,2009,18(3):17-18.
- [7] 郭宏志,刘云波,曾明月,等.补肾活血利湿类中药复方治疗慢性前列腺炎疗效与安全性的系统评价[J].中国药房,2016,27(30):4241-4244.
- [8] Liang CZ, Li HJ, Wang ZP, et al. The prevalence of prostatitis-like symptoms in China[J]. *J Urol*, 2009, 182(2): 558-563.
- [9] 石理华.慢性非细菌性前列腺炎的病因研究进展[J].中国男科学杂志,2007,21(3):56-59.
- [10] 王浩,周玉春,薛建国.中药有效成分治疗慢性前列腺炎的免疫机制[J].中华男科学杂志,2016,22(1):63-66.
- [11] 潘秀芳,黎滨,王玉丰.前列腺液中白细胞、卵磷脂小体与慢性前列腺炎病情程度的相关性[J].贵阳医学院学报,2015,40(4):404-406.
- [12] 王传航,李兰群,周强,等.普乐安片治疗慢性前列腺炎多中心临床观察[J].中国现代应用药学,2010,27(11):1054-1056.
- [13] 郭宝垒.慢性前列腺炎病因病机与分虚实论治浅识[J].现代中西医结合杂志,2010,19(12):1491-1492.
- [14] 刘绍夔,白明,纪晓宁,等.益母草总碱对小鼠前列腺增生模型的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(21):177-180.
- [15] 贺春晖,赵懿清,李霞,等.益母草碱药理作用的分子机制研究进展[J].中国临床药理学与治疗学,2013,18(12):1419-1423.
- [16] 叶绿萍.水苏碱的药理研究进展[J].河北医药,2016,38(1):118-121.
- [17] 张永康,曹方,王素君,等.从三仁汤临床应用看中医异病同治[J].中国中医急症,2015,24(3):559-561.
- [18] 吴道胜.补肾逐瘀汤合中药热敷治疗慢性前列腺炎42例[J].中医药临床杂志,2010,22(3):249-250.
- [19] 江涛,李海华,唐春萍,等.前列通宁片对慢性非细菌性前列腺炎的影响及抗炎镇痛作用[J].广东药学院学报,2011,27(6):624-627.
- [20] 王从俭,宾彬,谭育能.中医治疗慢性前列腺炎研究进展[J].实用中医药杂志,2015,31(9):879-881.

(收稿日期:2016-11-01 修回日期:2017-03-06)

(编辑:林 静)