

活血消异方对子宫内膜异位症模型 小鼠体外受精胚胎发育的影响

崔阳阳¹, 孙伟伟¹, 赵瑞华¹, 徐 彩¹, 吴天思^{1,2}

(1. 中国中医科学院广安门医院妇科, 北京 100053; 2. 北京中医药大学, 北京 100029)

【摘要】 目的 评估活血消异方子宫内膜异位症模型小鼠体外受精胚胎发育的影响。**方法** 通过体外受精的方法, 观察中药组、模型组和假手术组的小鼠的促排卵数、受精率、二细胞分裂率、四细胞分裂率、桑葚胚形成率及最终桑葚胚形成率, 观察对子宫内膜异位症模型小鼠体外受精胚胎发育的影响。探讨内异症对小鼠体外受精后胚胎发育的影响及活血消异方对胚胎发育的作用。**结果** 中药组、模型组和假手术组, 共三组。三组的平均促排卵数、体外受精率和二细胞分裂率差异有显著性意义($P < 0.05$), 平均促排卵数、体外受精率和二细胞分裂率由高到低均依次为假手术组、中药组和模型组; 三组的四细胞分裂率差异有显著性意义($P < 0.05$), 桑葚胚形成率差异无显著性差异($P > 0.05$), 桑葚胚最终形成率差异有显著性差异($P < 0.05$)。**结论** 子宫内膜异位症可降低模型小鼠促排卵数、体外受精率及卵裂率, 影响胚胎发育质量, 活血消异方可改善胚胎发育质量。

【关键词】 子宫内膜异位症; 不孕; 体外受精; 胚胎发育

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 08-0031-06

doi: 10. 3969. j. issn. 1671. 7856. 2015. 008. 007

Effects of a Chinese traditional medicine, Huoxue Xiaoyi Fang, on embryo development after in vitro fertilization in mouse models of endometriosis

CUI Yang-yang¹, SUN Wei-wei¹, ZHAO Rui-hua¹, XU-Cai¹, WU Tian-si^{1,2}

(1. Department of Gynecology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China;
2. Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029)

【Abstract】 Objectives To evaluate the effect of a Chinese traditional medicine, Huoxue Xiaoyi Fang, on the embryo development after *in vitro* fertilization (IVF) in mouse models of endometriosis. **Methods** To observe the quantity of oocytes including the average number of superovulation, fertility rate, 2-cell and 4-cell embryo cleavage rates at different stages *in vitro* fertilization, and morulation rate among the traditional Chinese medicine group (TCM group), endometriosis model group (EM model group) and sham-operated group. To explore the influence of endometriosis and the effect of Huoxue Xiaoyi Fang on the quantity of oocytes and embryonic development after IVF in the mouse models of endometriosis. **Results** All the average number of superovulation, fertility rate, 2-cell and 4-cell embryo cleavage rates in the three groups showed significant differences ($P < 0.05$), and the average number of superovulation was in an order of sham operated group > TCM group > model group. There were no significant differences in the morulation rates in the three groups ($P > 0.05$). There were significant differences among the IVF rates of the three groups ($P < 0.05$), and to be in an order of sham operated group > TCM group > model group. There were significant differences in the final morulation rate

[基金项目] 国家自然科学基金(No:81173297)。

[作者简介] 崔阳阳(1987-), 女, 硕士, 专业: 中医妇科学, E-mail: cuiyang870216@163.com。

[通讯作者] 赵瑞华, 女, 博士生导师, 研究方向: 子宫内膜异位症、不孕症、月经失调方向。E-mail: rhzh801@126.com。

among the three groups ($P < 0.05$). **Conclusions** Endometriosis may influence the quality of embryonic development of EM model mice, including reduced average number of superovulation, fertility rate, and embryo cleavage rate. The Chinese traditional medicine Huoxue Xiaoyi Fang can improve the the quantity of embryonic development after IVF.

【Key words】 Endometriosis; Infertility; *in vitro* fertilization; Embryos quality; Mice

子宫内膜异位症(endometriosis, EM,)简称内异症,是指具有生长功能的子宫内膜组织在宫腔以外的部位的一种雌激素依赖性疾病。是育龄妇女的常见病、多发病,以引发疼痛、不孕为特点。EM的发病率逐年上升且趋于年轻化,内异症是引起女性不孕的原因之一。内异症患者并发不孕高达40%~60%^[1]而在不孕症患者中也有40%~50%存在子宫内膜异位症,内异症患者不孕为非内异症人群的20倍^[2]。可见,内异症与不孕有密切的联系。2000年Buyalos等^[3]首次提出“endometriosis-associated infertility”,即“内异症相关不孕症”。

目前,手术治疗是EM相关不孕的首要基本措施,随着辅助生殖技术(ART)的发展及临床应用,已成为EM相关不孕患者最理想的助孕方式和治疗手段。但在行体外受精-胚胎移植(IVF-ET)中,其胚胎移植率达85%,而妊娠率仅为20%左右^[4]。因此,如何提高EM相关不孕患者IVF妊娠率成为关注的热点问题。由内异症患者行IVF-ET的高移植率和低妊娠率可见,胚胎着床则成为影响IVF-ET结局的关键性问题。本研究以中医理论为指导,结合IVF技术,在前期工作的基础上,通过建立子宫内膜异位症小鼠模型,观察子宫内膜异位症对模型小鼠体外受精后胚胎发育的影响,探讨活血消异方对子宫内膜异位症相关不孕患者胚胎发育的影响,为中医药进入辅助生殖领域奠定基础,为EM不孕症提供更完善的治疗方法。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF级雌性昆明小鼠300只,7周龄,体重(25 ± 3)g,用于模型小鼠的供体与受体;雄性昆明小鼠50只,10周龄,体重(33 ± 2)g,用于精子供体及假孕鼠制作。购自中国医学科学院医学实验动物研究所【SCXK(京)2009-0007】。饲养于中国中医科学院广安门医院动物实验室【SYXK(京)2009-0034】。日间照明交替(12L:12D),室温22℃。实验所需物品均经过高压灭菌。昆明小鼠雌鼠,昆明小鼠雄鼠。

1.2 试剂和药物

HTF和KSOM培养液购自ARK-Resource(规

格:2 mL/支,日本,熊本县熊本市)。HTF用于体外受精,KSOM用于培养受精卵直到桑葚胚期,二种培养液使用前皆于5% CO₂,恒温37℃湿度饱和的培养箱中过夜预热平衡;hCG(批号:110251282,规格:1000 IU × 10支)和PMSG(批号:110254564,规格:1000 IU × 5支,宁波第二激素厂,中国);矿物油购自(批号:101181433,规格:1 L/瓶 Sigma,德国);其他实验用药物(包括中药)及试剂全部来自于中国中医科学院广安门医院制剂室提供。

中药活血消异方由莪术、丹参、赤芍、鸡内金、生薏仁组成,由中国中医科学院广安门医院制剂室提供。以上生药加10倍量水,煎煮3次,每次1 h,合并煎液、过滤,放置24 h,浓缩。药物浓度为1.8 g生药/mL,药液4℃冰箱保存。

1.3 实验分组和用药剂量

将实验雌性昆明小鼠分为中药组,模型组和假手术组进行子宫内膜异位症小鼠模型的建立。其中,除子宫内膜供体小鼠130只外,中药组小鼠60只,死亡3只;模型组小鼠60只,死亡8只;空白组小鼠50只,死亡2只。

依据换算公式计算,小鼠等剂量的给药量约为临床成人每公斤体重用药量的10倍。每只小鼠每次灌胃量为0.2 mL/10 g,连续3个周期(5 d为1周期)。模型组、空白组依据体重予等量0.5%羧甲基纤维素钠(CMC)灌胃。

1.4 子宫内膜异位症小鼠模型的建立

造模前,连续1周每日定时作阴道涂片检查^[5](如图1~2),动情周期为3~5日,选择动物周期正常的小鼠。通过内膜碎片注射法^[6,7]建立子宫内膜异位症模型小鼠,假手术组给予注射等量生理盐水。模型建立2周后,开始进行中药干预。

1.5 超数排卵及卵子的采集

各组分别取供卵鼠腹腔注射PMSG,10 IU/只,48 h后腹腔注射hCG,10 IU/只。在注射hCG 14 h后进行取卵。脱颈处死供卵小鼠置于体视显微镜下(ZOOM2000, Leica, Germany),打开小鼠腹腔,用镊子将输卵管、卵巢和脂肪垫拉出,再用小剪刀在输卵管和卵巢之间剪开,然后再靠近输卵管的子宫部剪开。将输卵管和带着的子宫部分转移入培养皿中的矿物油中,在体视显微镜下,用16号针轻轻

划破输卵管膨大的壶腹部,随即云雾状的卵子及卵丘团会释放出来,将卵丘团引入 HTF 培养中。将取出的卵子置于 5% CO_2 、恒温 37℃、湿度饱和的培养箱中等用。

1.6 精子的采集

脱颈处死雄鼠,在体视显微镜下,开腹进入腹腔找出睾丸,剪下睾丸及附睾,迅速分离出附睾尾和输精管,尽可能去除脂肪和血管,置于矿物油中,使用 26 号针于附睾尾远端小管处刺破,慢慢挤出精子,挑出精子置于 HTF 培养滴中,将培养皿放入培养箱中静置 1 h 使精子获能。受精时,精子的浓度约为 $(1 \sim 2) \times 10^6$ 个/mL。

1.7 体外受精

精子获能后,将精子加入卵子培养皿中,5 μL /滴,重新置于培养箱中静置 6 h。6 h 后使用 HTF 冲洗受精卵 2~3 次,冲洗后将受精卵置于新的 KSOM 培养液中,在倒置显微镜下对受精卵进行计数后,重新置于培养箱中进行培养。受精 24 h 后,可见到较早卵裂的 2 细胞。这些 2 细胞用于培养至桑葚胚,观察卵裂及胚胎发育情况和进行 2 细胞移植的 2 细胞供体。

1.8 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件包分析,计数资料采用 χ^2 检验,①在总频数 $n \geq 40$ 且所有理论频数 ≥ 5 时,用 Pearson χ^2 统计量;②在总频数 $n > 40$ 但 ≥ 1 时,用校正 χ^2 统计量;③在总频数 $n < 40$ 或理论频数 < 1 时,用

Fisher 确切概率法检验,组间比较采用两两四格表的 χ^2 检验。按 $\alpha = 0.05$ 水准, $P < 0.05$ 为差异显著,有统计学意义; $P > 0.05$ 为差异不显著,无统计学意义。

2 实验结果

2.1 子宫内膜异位症小鼠模型建立

建模 2 周后,小鼠腹部皮下可触及米粒大小的结节。子宫内膜异位症小鼠模型的建立结果显示(图 1~2):在皮下和腹腔均见有病灶生成,异位病灶生长良好,小鼠皮下病灶,肉眼观多为白色、红色或淡黄色的米粒大小的结节或囊状病灶,活动度小;小鼠腹腔内病灶,肉眼观多为隆起囊状,囊内充满淡黄色清亮透明或混浊粘稠积液,表面血管清晰可见,病灶 2 $\text{mm}^3 \sim 5 \text{mm}^3$ 大小不等。小鼠皮下及腹腔有不同程度的粘连。病灶的 HE 染色(图 3,见彩插 2)可见:切片中可见有血管生成,并有大量腺体存在。可见,子宫内膜异位症小鼠“腹腔+皮下”注射法建立模型的成功率达 90% 以上。

2.2 活血消异方对子宫内膜异位症模型小鼠促排卵数的影响三组小鼠的促排卵情况(表 1)。通过单因素方差分析,三组平均促排卵数差异有显著性意义($P < 0.05$)。通过 LSD 法进行两两比较,模型组平均促排卵数明显低于中药组与假手术组($P < 0.05$);而假手术组和中药组的平均促排卵数无显著性差异($P > 0.05$)。促排卵数由高到低依次为:假手术组、中药组、模型组。



图 1 子宫内膜异位症小鼠模型皮下内异位症灶

Fig. 1 Ectopic subcutaneous lesions in the mouse models of endometriosis

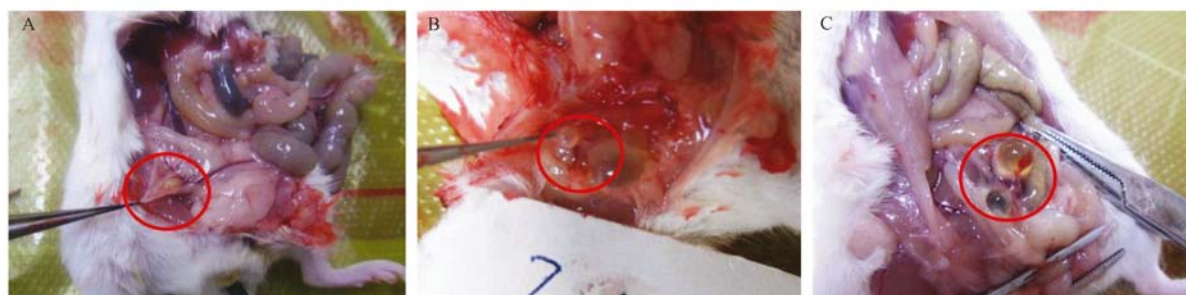


图 2 子宫内膜异位症小鼠模型腹腔内异位症灶

Fig. 2 Ectopic lesions in the abdominal cavity of mouse models of endometriosis

表 1 各组小鼠的平均促排卵数比较
Tab.1 Comparison of the average number of superovulation in the mice of three groups

组别 Groups	只数 n	取卵总数 No. of superovulation	均值 ± 标准差 $\bar{x} \pm s$	F	P
中药组 TCM group	57	2995	52.04 ± 7.19 *	77.79	0.000
模型组 EM model group	52	1749	32.93 ± 8.98		
假手术组 Sham-operated group	48	3236	60.02 ± 1.51 *		

注：数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，* 与模型组比较， $P < 0.05$
Note. Data were expressed in mean ± SD. * Compared with the EM model group ($P < 0.05$).

表 2 三组体外受精率的比较(%)
Tab.2 Comparison of the in vitro fertility rate in the three groups(%)

分组 Groups	受精 Fertilized ovum	未受精 Unfertilized ovum	合计 Total		Pearson χ^2	P
中药组 TCM group	1993	1002	2995	66.5 * Δ	248.07	0.000
模型组 EM model group	963	786	1749	55.1		
假手术组 Sham-operated group	2479	757	3236	76.6 *		

* 与模型组比较， $P < 0.05$ Δ 与假手术组比较， $P < 0.05$
Note. * Compared with the EM model group ($P < 0.05$); Δ Compared with the sham-operated group ($P < 0.05$).

表 3 三组卵细胞的二细胞分裂率比较(%)
Tab.3 Comparison of the 2-cell embryo cleavage rate in the three groups(%)

组别 Groups	只数 N	2 细胞分裂 No. of 2-cell embryos cleavage	2 细胞未分裂 No. of 2-cell embryo no cleavage	总计 Total	2 细胞分裂(%) 2-cell embryo cleavage rate(%)	Pearson χ^2
中药组 TCM group	9	271	145	416	65.14 * Δ	52.575
模型组 EM model group	11	245	217	462	53.03	
假手术组 Sham-operated group	9	395	131	526	75.10 *	

* 与模型组比较， $P < 0.05$ Δ 与假手术组比较， $P < 0.05$
Note. * Compared with the EM model group ($P < 0.05$); Δ Compared with the sham-operated group ($P < 0.05$).

2.3 活血消异方对内异症模型小鼠体外受精率的影响

三组小鼠的体外受精情况(表 2)。通过 χ^2 检验,三组受精率差异有显著性意义($P < 0.05$)。通过四格表的 χ^2 检验两两比较:中药组与模型组、模型组与假手术组、中药组与假手术组的体外受率差异均有显著性意义($P < 0.05$)。体外受精率由高到低依次为:假手术组、中药组、模型组。

2.4 活血消异方对内异症模型小鼠胚胎发育的影响

三组小鼠体外受精后二细胞分裂情况(表 3,图 4 见彩插 2)。通过 χ^2 检验,三组卵细胞的二细胞分裂率差异有显著性意义($P < 0.05$)。通过四格表的 χ^2 检验两两比较:模型组卵细胞的二细胞分裂率明

显低于中药组与假手术组($P < 0.05$);中药组二细胞分裂率明显低于假手术组($P < 0.05$)。

三组小鼠体外受精后四细胞分裂率(图 5 见彩插 2,表 4)。通过 χ^2 检验,三组卵细胞的四细胞分裂率差异有显著性意义($P < 0.05$)。通过四格表的 χ^2 检验两两比较:中药组与模型组卵细胞的四细胞分裂率明显低于假手术组($P < 0.05$);模型组与中药组的四细胞分裂率无显著性差异($P > 0.05$)。

三组小鼠体外受精后桑葚胚形成率(图 6 见彩插 2、表 5)。通过 χ^2 检验,三组桑葚胚形成率差异无显著性($P > 0.05$)。

通过观察三组小鼠体外受精后,胚胎发育的情况,其总取卵数、受精数、二细胞分裂数、四细胞分裂数、桑葚胚形成数情况见图 7。

表 4 三组卵细胞的四细胞分裂率比较(%)
Tab.4 Comparison of 4-cell embryo cleavage rates in the three groups(%)

组别 Groups	2-4 细胞分裂 No. of 4-cell embryos cleavage	2-4 细胞未分裂 No. of 4-cell embryo no cleavage	总计 Total	4 细胞分裂率(%) 4-cell embryo cleavage rate(%)	Pearson χ^2	P
中药组 TCM group	207	64	271	76.38 Δ	34.917	0.000
模型组 EM model group	188	57	245	77.05		
假手术组 Sham-operated group	361	34	395	91.39*		

* 与模型组比较, $P < 0.05$ Δ 与假手术组比较, $P < 0.05$
Note. * Compared with the EM model group ($P < 0.05$); Δ Compared with the sham-operated group ($P < 0.05$)

表 5 三组桑葚胚形成率比较(%)
Tab.5 Comparison of morulation rates in the three groups(%)

组别 Groups	4 细胞-桑葚胚 No. of 4-cell morulation	4-细胞未至桑葚胚 No. of no 4-cell morulation	总计 Total	桑葚胚形成率% Morulation rate %	Pearson χ^2	P
中药组 TCM group	202	5	207	97.58	2.171	0.338
模型组 EM model group	179	9	188	95.21		
假手术组 Sham-operation group	351	10	361	97.23		

表 6 三组桑葚胚最终形成率比较(%)
Tab.6 Comparison of the final blastocyst formation rates in the three groups(%)

组别 Groups	受精卵-桑葚胚 No. of morulation	受精卵未至桑葚胚 No. of no morulation	总计 Total	桑葚胚最终形成率% The final morulation rate %	Pearson χ^2	P
中药组 TCM group	202	214	416	48.56	80.581	0.000
模型组 EM model group	179	283	462	38.74		
假手术组 Sham-operation group	351	175	526	66.73		

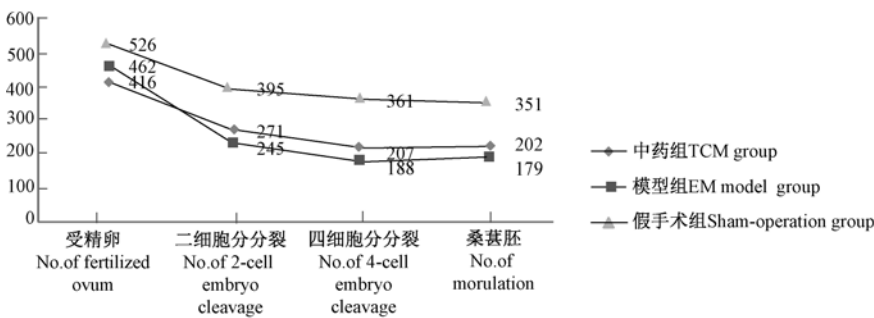


图 7 三组体外受精后胚胎发育情况
Fig.7 The embryonic development after IVF

三组小鼠体外受精后,由受精卵最终形成桑葚胚的桑葚胚形成率见表 6。通过 χ^2 检验,三组桑葚胚最终形成率差异有显著性($P < 0.05$)。

3 讨论

古代文献中未对子宫内膜异位症的病名进行记载,但根据本病的病因、病机及临床表现可归于

“痛经”“癥瘕”“不孕”“月经不调”等疾病的范畴。

中医认为血瘀为子宫内膜异位症的公认病机。瘀血是本病的主要致病因素和病理产物。瘀血阻滞,不通则痛;血瘀日久,可成癥积。我院李光荣教授以“离经之血”立论,组成系列方药,其中核心药物(丹参、赤芍、莪术等)组成活血消异方,临床疗效显著。方中丹参,有活血调经、祛瘀止痛之功效。赤芍,出自《神农本草经》,有活血祛瘀、散瘀止痛之功。莪术,始载于《药性论》,能入气分血分而行气血之滞,有破血祛瘀、行气消积止痛之功。活血消异方中,以丹参、赤芍、莪术相伍,共奏活血化瘀、散结止痛之效。

前期临床研究发现活血法对 EM 不孕患者有助孕疗效,实验研究显示活血消异方能缩小异位内膜体积,改善 EM 的组织病理形态;有效降低血清及异位内膜组织中 ICAM-1、MMP-9、VEGF 的蛋白表达。临床研究表明^[8,9],补肾活血治疗可以提高 EM 患者子宫内膜容受性,诱发成熟卵泡排卵,促进黄体发育,提高黄体功能。谈勇^[10]认为 EM 患者 IVF-ET 周期的各阶段采用补肾活血法治疗,可获得良好的妊娠率。同时,结合目前临床西医使用阿司匹林改善患者子宫内膜容受性的治法,我们认为活血化瘀治疗 EM 的助孕机理,可能从改善胚泡质量而提高妊娠率。

本研究通过建立子宫内膜异位症小鼠模型,结合 IVF 技术,通过观察小鼠体外受精以及受精后胚胎卵裂和发育情况,研究发现 EM 可降低模型小鼠的平均促排卵数、体外受精率、受精后二细胞及四细胞卵裂率和桑葚胚最终形成率,而对体外受精后四细胞发育至桑葚胚期的桑葚胚形成率无影响。活血消异方可提高模型小鼠的平均促排卵数、体外受精率、受精后二细胞及四细胞卵裂率和桑葚胚最终形成率,而对体外受精后四细胞发育至桑葚胚期的桑葚胚形成率无影响。因此,EM 影响胚胎早期发育,降低胚胎发育质量,而活血消异方可能通过改善胚胎发育环境,从而提高胚胎质量,从而提高 EM 相关不孕的妊娠率。

子宫内膜异位症会影响卵泡发育过程的不同阶段:引起卵泡生长缺陷;卵细胞质量差;卵泡发生黄体化不破裂;输卵管周边受到侵蚀,功能受损;精子在宫腔内活动性减弱;卵细胞受精能力下降;胚胎卵裂减慢;胚胎着床能力下降。

在排卵过程中,卵泡液随着卵细胞一起从卵泡

中被释放出来,因而有可能对受精过程和胚胎的发育产生一定影响。李新玲等^[11]研究结果表明,EM 患者的卵泡液与鼠胚共培养,发现各期胚胎的发育受到抑制,提示 EM 患者卵泡液可能抑制早期胚胎的发育并存在毒性作用。EM 患者在位子宫内膜与鼠胚共培养,发现各期胚胎发育均受到明显抑制,推测内异症可能影响胚胎发育,降低胚胎质量,这可能是导致内异症相关不孕的原因之一。

胚泡植入是建立妊娠的第一步,目前已知性激素、细胞因子、免疫因子、糖类、肽类以及酶类等物质对植入的调控至关重要,其中基质金属蛋白酶(MMPs)及其天然抑制剂(TIMPs)这一组锌依赖性的蛋白水解酶与胚泡植入密切相关。故 MMPs 在胚泡植入时溶解 ECM 以利着床,在月经期分解 ECM 以利内膜剥脱。在此过程中,MMPs 对宿主 ECM 的溶解作用受 TIMPs 的调控。Tabibzadeh 等^[12]发现在植入的小鼠胚泡中主要的蛋白酶是 MMP-9,而在这一过程中小鼠宫内膜产生的 TIMP 是 TIMP-3,使用定量 RT-PCR 可以检测植入过程中 TIMP-3 mRNA 表达。Wang 等^[13]通过 RT-PCR 检测了植入前胚胎发育的不同阶段 TIMPs mRNA 的表达,发现 TIMP-1、-3mRNA 在胚胎发育的全部阶段中都检测到,而在接近植入前的阶段,表达 TIMP-1、-3mRNA 的胚胎数量明显增加。因此,我们认为,EM 可能导致胚泡种植过程中对子宫内膜 ECM 的过度溶解,从而导致着床失败。活血消异方能通过调整胚泡 MMP-9/TIMP-3 的平衡,改善胚泡着床情况。但本研究尚未对胚胎及子宫内膜进行分子和基因相关的检测,尚待进一步深入研究。

随着辅助生殖技术的发展,造福了一大批 EM 相关不孕的患者。但辅助生殖技术并不能解决所有问题。如何安全、有效地提高 EM 患者妊娠率,是中西医共同面临的难题。本研究通过行体外受精观察胚胎发育情况来探讨活血消异方对 EM 相关不孕患者的胚胎质量,为中医药提高 EM 妊娠率提供科学依据,并为进一步探讨中医药在 EM 辅助生殖领域中的作用及调控机制奠定基础。

参考文献:

- [1] 张惜阴. 实用妇产科学(第2版)[M]. 北京:人民卫生出版. 2003: 745 - 749.
- [2] Bininghan A. Endometriosis and infertility[J]. Fertil Steril, 2004, 82:(1): 40 - 45.

(下转第 43 页)

- 大学, 2010, 19-31.
- [11] 温靖, 顾为望, 杨海英. SPF 级新西兰兔血液生理生化指标的测定 [J]. 动物医学进展, 2005, 26(1): 81-83.
- [12] 莫重辉, 常建军, 王生伟, 等. 西宁市某地绵羊胰脏功能研究初探 [J]. 动物医学进展, 2005, 26(1): 83-84.
- [13] 孙波, 刘文利. 右心导管法测定大鼠肺动脉高压的实验方法 [J]. 中国医学科学院学报, 1984, 6(6): 465-467.
- [14] 王新. 阿托伐他汀对兔肺动脉高压的作用及对白介素-6 水平的影响 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2009, 13-14.
- [15] 董浩然. 新西兰兔心衰气虚证模型的建立及其基因芯片数据分析 [D]. 广州: 广州中医药大学, 2013. 17-27.
- [16] 李增强, 孙淑华, 孟金萍, 等. 无菌兔、SPF 兔和普通兔脏器系数的比较 [J]. 中国比较医学杂志, 2009, 19(1): 37-40.
- [17] 王刚, 张富发, 刘科, 等. 离乳一周 SPF 级与普通级新西兰兔血液学参数的比较 [J]. 实验动物科学, 2010, 27(2): 26-29.
- [18] 杨锋, 艾应先, 谢晓娟, 等. 屏障系统大耳白、新西兰兔血液学指标测定分析 [J]. 实验动物科学, 2012, 29(6): 26-29.

[修回日期]2015-06-28

(上接第 30 页)

- [8] Konsman JP, Parnet P, Dantzer R. Cytokine-induced sickness behaviour: mechanisms and implications [J]. Trends Neurosci. 2002, 25(3): 154-159.
- [9] McDonald DR, Brunden KR, and Landreth GE. Amyloid fibrils activate tyrosine kinase-dependent signaling and superoxide production in microglia [J]. J Neurosci, 1997. 17: 2284-2294.
- [10] Tamagno E, Parola M, Bardini P, et al. Beta-site APP cleaving enzyme up-regulation induced by 4-hydroxynonenal is mediated by stress-activated protein kinases pathways [J]. J Neurochem, 2005. 92(3): 628-636.
- [11] 石森. 2 型糖尿病与阿尔茨海默病相关性探讨 [J]. 继续医学教育, 2012, 26(11): 36-39.
- [12] 周鑫, 韩德五, 许瑞龄, 等. 肠源性内毒素血症在代谢综合征相关疾病发生发展中的作用及其机制 [J]. 中国病理生理杂志, 2012, 28(3): 492-498.

[修回日期]2015-06-17

(上接 36 页)

- [3] Buyalos RP, Agaiwal SK. Endometriosis-associated infertility [J]. Curr Opin Obstet Gynecol, 2000, 12(5): 377-381.
- [4] Bamhart K, Dunsmoor-Su R, Coutifaris C. Effect of endometriosis on in vitro fertilization [J]. Fertil Steril, 2002, 77(6): 1148-1155.
- [5] 李靖, 李炫诚, 吴云霞. 确定小鼠动情周期的三种方法 [J]. 实验动物科学, 2007, 24(3): 63-64, 62.
- [6] 马丽, 谢淑武, 朱焰, 等. 注射法小鼠下子宫内位异位症模型及组织学观察 [J]. 中国实验动物学报, 2008, 16(3): 192-195.
- [7] 郭方, 徐丛剑. 腹腔注射甲氨蝶呤对小鼠异位内膜生长的影响 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2007, 23(9): 692-693.
- [8] 杨桂云, 刘红林. 补肾活血方对子宫内位异位症不孕腹腔液微环境改善作用的实验研究 [J]. 中医药学刊, 2003, 21(1): 58-59.
- [9] 具春花, 陈玲. 补肾活血方对内异症伴不孕患者子宫内膜的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2008, 35(5): 722-723.
- [10] 王艳妮, 谈勇. 补肾活血法在子宫内位异位症不孕患者行试管婴儿术中的应用体会 [J]. 实用中医药杂志, 2010, 26(4): 264.
- [11] 李新玲, 连方, 刘延荷. 祛瘀解毒颗粒治疗子宫内位异位症患者卵泡液对小鼠胚胎发育的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2009, 29(11): 1001-1004.
- [12] Tabibzadeh S. Decoding implantation and menstruation: the tale of two opposing signals [J]. Front Bio Sci, 2002, 7: 475-486.
- [13] Wang H, Wen Y, Mooney S, et al. Matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase expression in human preimplantation embryos [J]. Fertil Steril, 2003, 80(Suppl 2): 736-742.

[修回日期]2015-06-13