

寿胎丸对肾虚-黄体抑制流产模型大鼠雌激素水平的影响

郜洁, 罗颂平*

广州中医药大学第一附属医院, 广东 广州 510405

摘要: 目的 探讨寿胎丸对肾虚-黄体抑制流产模型(病证结合模型)大鼠雌激素水平的影响。方法 应用羟基脲和米非司酮制备SD大鼠肾虚-黄体抑制流产模型。给模型大鼠寿胎丸进行干预,肉眼观察子宫病变,记录胚胎数,计算流产率;化学发光法检测血清雌二醇(E₂)、孕酮(P)的水平。结果 寿胎丸能明显降低大鼠的流产率,增加胚胎数,提高血清E₂和P水平。结论 寿胎丸对肾虚-黄体抑制流产模型大鼠具有良好的保胎作用,其通过提高雌激素水平、增强黄体功能,维持妊娠,发挥补肾安胎的作用。

关键词: 寿胎丸; 肾虚-黄体抑制; 自然流产; 雌激素

中图分类号: R285.5; R287.4 文献标识码: A 文章编号: 1674-5515(2011)04-0287-03

Effects of Shoutai Pills on estrogen level of abortion rat model rat suffered from corpus luteum inhibition due to kidney deficiency

GAO Jie, LUO Song-ping

No.1 Affiliated Hospital, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China

Abstract: Objective To explore the effect of Shoutai Pills on the estrogen level of abortion model SD rats suffered from corpus luteum inhibition due to kidney deficiency (disease-syndrome combination model). **Methods** Applying hydroxycarbamide and mifepristone to establish the abortion model with corpus luteum inhibition due to kidney deficiency of SD rats. Using Shoutai Pills formula to treat the model rats, observing the uterus condition, and recording the embryo numbers and the miscarriage rate of each rat. The serum estradiol (E₂) and progesterone (P) levels of these two groups were determined by chemoluminescence. **Results** Compared with the model group, the abortion rate was greatly reduced and the embryo number and the serum E₂ and P levels were obviously increased in the treating group. **Conclusion** Shoutai Pills can apparently improve the condition of this disease-syndrome combination model. It can improve the condition of the model rats through elevating the E₂ and P levels and reinforce the corpus luteum function to maintain the pregnancy, so it can achieve the effects of tonifying the kidney and preventing abortion.

Key words: Shoutai Pills; corpus luteum inhibition due to kidney deficiency; spontaneous abortion; estrogen

自然流产是常见的孕育障碍,并有复发性倾向,发病原因复杂^[1-3],安胎首重补肾。《医学衷中参西录》所记载的寿胎丸为名医张锡纯的验方,由菟丝子、桑寄生、续断、阿胶4味中药组成,主要功效是补肾安胎,是目前用于治疗先兆流产、习惯性流产和复发性流产的代表方。笔者在前期研究中,对用不同提取方法提取的寿胎丸的补肾安胎药效进行了筛选^[4],在此基础上本实验应用寿胎丸水提取液对肾虚-黄体抑制流产模型进行干预,并以地屈孕酮作为阳性对照药,考察其对模型大鼠内分泌功能

的影响,验证前期研究结果,为完善寿胎丸药效实验提供依据。

1 材料

1.1 动物

SD大鼠,SPF级,体质量220~250g,雌性40只,雄性20只,由广东省医学实验动物中心提供,合格证号2008A003。

1.2 药物

寿胎丸水提液按前期确定的提取工艺制备^[4],每毫升提取液含生药1g。地屈孕酮,荷兰Solvay

收稿日期: 2011-06-01

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30772819)

作者简介: 郜洁,主治医师,博士,研究方向为中医药防治自然流产。Tel: 13760605046 E-mail: gjfks@hotmail.com

*通讯作者 罗颂平,教授,博士生导师,研究方向为生殖健康与生殖障碍的中医药研究。Tel: (020)36585434 E-mail: songpingluo@hotmail.com

Pharmaceuticals B.V.产品,规格为每片 10 mg,批号 332269。

2 方法

2.1 模型制备、分组与给药

SD 大鼠常规观察 1 周,按雌与雄的比例为 2:1 合笼配种。雌鼠于合笼第 1 天早晨阴道涂片,以该涂片出现大量精子并结合观察孕鼠阴道栓脱落作为妊娠第 1 天。将 40 只孕鼠随机分为 4 组,分别为对照组、模型组、阳性药地屈孕酮组、寿胎丸组,每组 10 只。从妊娠第 1 天开始,每天上午对照组 ig 生理盐水 4 mL;模型组 ig 蒸馏水 2 mL;地屈孕酮组 ig 生理盐水配制的地屈孕酮片 3.02 mg/kg 水溶液 2 mL/d;寿胎丸组 ig 生理盐水配制的寿胎丸(1 g/kg,成人等效剂量)水提液 2 mL/d。下午除对照组 ig 蒸馏水外,其余各组动物 ig 生理盐水配制的羟基脲(450 mg/kg) 1 mL 造模^[4]。各组连续给以相应物质 9 d,均在造模同时给以。配种后第 1、4、9 天,测动物的摄食量、饮水量、体质量。在妊娠第 10 天早上除对照组外,其余各组动物分别加用米非司酮 4.0 mg/kg,以造成肾虚-黄体抑制流产模型。

2.2 检测指标

每天观察动物的形态、毛色、活动、纳食、大便等一般情况。所有动物于给予羟基脲 24 h 后乙醚麻醉,外周采血分离血清,于-20℃保存备用。仔细剥取卵巢、子宫组织,保持无菌状态,用生理盐水冲洗后置于组织保护试剂中待检。纵向剖开大鼠子宫,计算总胎数、活胎数、流产数与流产率。正常子宫及胚胎判定标准:正常子宫粗大如串珠状,呈粉红色或淡红色,解剖后见胚胎完好,未见瘀血。部分流产胚胎及子宫判定标准:宫腔内见瘀血,胚胎不完整,流产早期——仅有胎盘母体部及胎盘胎儿部存在,流产中期——除上述组织外,还有一些胎儿组织。完全流产胚胎及子宫判定标准:母鼠体质量显著下降,子宫呈竹节样改变,宫腔内明显见瘀血或坏死胚胎,或仅见到胚胎着床点,未见胚胎,或胚胎呈黑褐色,或曾出现阴道出血。按照流产率公式计算流产率。

流产率 = 流产胚胎数 / (流产胚胎数 + 正常胚胎数)

卵巢指数:称双侧卵巢质量,取平均数。连胎子宫指数:计算活胎数,称总质量,取平均数。

以全自动电化学发光免疫分析仪测定血清雌二醇(E₂)、孕酮(P)水平。

2.3 统计学方法

用 SPSS12.0 统计学分析软件包进行数据处理,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,两组间均数比较用 *t* 检验。

3 结果

3.1 寿胎丸对肾虚-黄体抑制流产模型雌鼠妊娠的影响

模型组大鼠的卵巢指数与对照组比较差异无显著性($P>0.05$)。地屈孕酮组、寿胎丸组大鼠的卵巢指数与模型组比较差异无显著性($P>0.05$)。模型组大鼠的连胎子宫指数与对照组比较差异无显著性($P>0.05$)。地屈孕酮组、寿胎丸组大鼠的连胎子宫指数与模型组比较差异无显著性($P>0.05$)。模型组大鼠的流产率与对照组比较差异有显著性($P<0.01$)。地屈孕酮组、寿胎丸组大鼠的流产率与模型组比较差异有显著性($P<0.05$)。结果见表 1。

3.2 寿胎丸对肾虚-黄体抑制流产模型大鼠血清 E₂ 和 P 水平的影响

模型组大鼠的 E₂ 水平与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。地屈孕酮组、寿胎丸组大鼠的 E₂ 水平与模型组比较差异无显著性($P>0.05$)。模型组大鼠的 P 水平与对照组比较差异有显著性($P<0.01$)。寿胎丸组大鼠的 P 水平与模型组比较差异有显著性($P<0.05$);与地屈孕酮组比较差异无显著性($P>0.05$)。结果见表 1。

4 讨论

4.1 肾虚-黄体抑制流产大鼠模型的建立及雌激素水平特点

根据中医“肾主生殖”理论,肾藏精,为先天之本,肾以系胎,因此安胎首重补肾。当代名医罗元恺提出的“肾-天癸-冲任-子宫轴”概念与现代医学的“下丘脑-垂体-卵巢轴”有不谋而合之妙^[5]。肾虚冲任损伤、胎元不固引起的胎漏、胎动不安与黄体不健的自然流产具有同一性,据此罗颂平教授首创以羟基脲与米非司酮制备肾虚-黄体抑制(病证结合)大鼠流产模型^[6]。该模型模拟了临床上妊娠期肾虚与黄体抑制所致自然流产的病理状态,模型动物表现出的肾虚、血清孕激素水平下降、蜕膜孕激素受体(PR)表达被抑制等,符合肾虚和黄体不健的临床表现。P 在黄体期和妊娠早期由颗粒黄体细胞分泌,在妊娠中期由胎盘合成。E₂ 主要由卵巢合成和分泌,少量由肾上腺分泌,主要功能是刺激女性附件器官发育,在生殖活动中,雌激素、

表1 寿胎丸水提液对肾虚-黄体抑制流产大鼠模型及雌激素水平的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)Table 1 Effects of Shoutai Pills on estrogen level of abortion model rat suffered from corpus luteum inhibition due to kidney deficiency ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	卵巢指数	连胎子宫指数	流产率/%	E ₂ /(pmol·mL ⁻¹)	P/(nmol·L ⁻¹)
对照	0.039±0.006	0.530±0.212	0	61.7±13.1	343.7±58.9
模型	0.043±0.005	0.506±0.116	69.4±24.6 ^{△△}	68.4±31.9	169.5±115.6 ^{△△}
寿胎丸	0.041±0.008	0.631±0.224	29.2±18.3 ^{**}	77.1±38.6	259.9±65.6 [*]
地屈孕酮	0.037±0.009	0.540±0.202	41.4±32.4 [*]	95.1±65.7	207.6±137.5

与对照组比较: ^{△△} $P<0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ ^{△△} $P<0.01$ vs control group; ^{*} $P<0.05$ ^{**} $P<0.01$ vs model group

孕激素,尤其是孕激素对胚胎种植、妊娠维持起重要作用。本实验中模型组大鼠子宫呈暗红色,胚胎大小不一,宫腔内可见黑色的瘀点(特别是胚胎附着处),流产率达69.4%,且P水平较低就证实了这一点。

4.2 寿胎丸对大鼠妊娠的影响

寿胎丸是名医张锡纯的经典方。刘昱磊^[4]应用米非司酮流产模型研究“助孕3号方”(以寿胎丸为基础方的补肾安胎复方)的内分泌调节效应。结果表明“助孕3号方”能促进孕激素分泌,并使米非司酮与PR的结合率降低,提示该方具有内分泌调节作用,其一方面促进孕激素分泌,另一方面又使子宫蜕膜PR的量增加,从而在受体水平发挥促黄体、补肾安胎作用。在本实验中,模型组流产率为69.4%,寿胎丸组为29.2%,两组比较差异有显著性,而寿胎丸组与对照组比较差异无显著性,说明寿胎丸发挥补肾安胎药效,逆转了黄体功能不足的流产,与地屈孕酮的作用相当。寿胎丸组P水平显著高于模型组,说明寿胎丸在一定程度上调节雌激素分泌,

从而达到维持妊娠的作用。

参考文献

- [1] Fatima R M, Aniceto P. Determination of environmental impacts on reproductive health and specifically on the incidence of early spontaneous abortion [J]. *Int J Hyg Environ Health*, 2007, 28(2): 20.
- [2] Penta M, Lukic A, Conte M P, et al. Infectious agents in tissues from spontaneous abortions in the first trimester of pregnancy [J]. *New Microbiol*, 2006, 26(4): 329-337.
- [3] Rao K A, Pillai J R. Recurrent pregnancy loss [J]. *J Indian Med Assoc*, 2006, 104(8): 458-460.
- [4] 刘昱磊, 罗颂平, 梁国珍, 等. 助孕3号方及拆方防治肾虚黄体抑制动物流产模型的实验研究 [J]. *生殖与避孕*, 2003, 23(1): 17-19.
- [5] 宁艳, 罗颂平, 梁国珍. 补肾健脾中药复方对肾虚黄体抑制妊娠大鼠流产模型的实验研究 [J]. *中国医药学报*, 2000, 15(6): 28-31.
- [6] 罗颂平, 张玉珍. 罗元恺妇科经验集 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2005: 89-90.
- [7] 张锡纯. 医学衷中参西录 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2006.

经集中程序获得共同体上市授权的新药 (2011-04-20 公布)

商品名	活性成分	开发公司	获批时间	适应证
Gilenya	eribulin	Novartis Europharm Limited	2011-03-17	多发性硬化症
Halaven	eribulin	Eisai Europe Limited	2011-03-17	乳腺癌
Jevtana	cabazitaxel	Sanofi-Aventis	2011-03-17	前列腺癌
Trobalt	retigabine	Glaxo Group Limited	2011-03-28	癫痫局部发作
Riprazo HCT	aliskiren hemifumarate / hydrochlorothiazide	Novartis Europharm Limited	2011-04-13	原发性高血压
Pravafenix	fenofibrate / pravastatin	Laboratoires SMB S.A.	2011-04-14	冠心病