

复方经血停治疗青春期子宫出血的药理学研究

彭百承, 李萍^{2?}, 甄丹丹³

(1. 南宁市中医院, 南宁 530012; 2. 广西中医学院, 南宁 530001;
3. 广西中医学院第一附属医院, 南宁 530012)

[摘要] 目的: 观察复方经血停的药理作用, 探讨其治疗青春期子宫出血的作用机制。方法: 观察复方经血停对正常小鼠子宫、卵巢质量及血清雌二醇水平的影响, 对去卵巢小鼠子宫质量的影响, 对小鼠出血时间和凝血时间的影响, 对大鼠离体子宫收缩功能的影响。结果: 经血停能增加小鼠子宫和卵巢质量, 能显著提高血清雌二醇水平; 可增加去卵巢小鼠子宫质量; 缩短小鼠出血时间和凝血时间; 能显著增强大鼠离体子宫的收缩频率、幅度和活动力。结论: 经血停可促进雌激素分泌, 有雌性激素样作用, 有止血、兴奋子宫平滑肌等作用。

[关键词] 经血停; 青春期子宫出血; 药效学

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0163-03

青春期功能失调性子宫出血, 是指青春期女性由于神经内分泌调节功能不完善引起生殖内分泌紊乱导致的异常子宫出血, 生殖器官无明显器质性病变, 是青少年女性的常见病。中医药对青春期功能性子宫出血的治疗大都从肾着手, 通过补肾可以调节卵巢内分泌, 从而使卵泡正常发育并排卵, 从根本上治愈功血。复方经血停是南宁市中医院制剂, 由当归、川芎、三七、蒲黄、牛膝、元胡 10 多味中药组成, 具有活血化瘀、补肝肾阴、收敛止血的作用, 临床用于青春期子宫出血, 月经过多, 疗效显著。前期研究工作已证实复方经血停具有明显的镇痛、抗炎作用。本试验进一步观察其对子宫、卵巢质量, 雌性激素水平, 子宫收缩功能, 出、凝血时间的影响。

1 材料

1.1 动物 昆明种小鼠, 清洁级, 18 ~22 g。由广西中医学院实验动物中心提供, 许可证 SYXK(桂)2003-0001。Wistar 大鼠, 雌性, 成年未孕, 清洁级, 体重 200 ~250 g, 由广西医科大学实验动物中心提供, 许可证号 SCXK(桂)2003-0003。

1.2 药物与试剂 经血停, 由南宁市中医院提供, 将中药打成粉末, 用纱布包, 水煎煮 3 次, 合并 3 次

滤液, 浓缩至含生药 $2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 置 -4 °C 冰箱贮存备用; 乌鸡白凤丸, 北京同仁堂有限责任公司, 批号 091006; 雌二醇 (E_2) 酶联免疫检测试剂盒, ADL 公司; 己烯雌酚注射液, 上海第九制药厂, 批号 080709; 缩宫素注射液, 上海第一生化药业有限公司, 批号 080615; 云南白药, 云南白药股份有限公司, 批号 080111。

1.3 仪器 HH-S 型数显恒温水浴箱, 江苏省金坛市医疗仪器厂; AEL-200 型电子天平, 日本岛津公司; SM-3 自动化酶免分析仪, 北京天石医疗用品制作所; ZH-Z 离体器官测量系统, 淮北正华生物仪器设备有限公司; BL-410 型多通道生理信号采集与处理系统, 成都泰盟科技有限公司。

2 方法

2.1 经血停对正常小鼠子宫、卵巢质量及血清雌二醇水平的影响^[1] 取雌性小鼠 50 只, 随机分为空白对照组 ($NS, 20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$), 阳性对照组 (乌鸡白凤丸, $3.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 复方经血停高、中、低剂量组 (生药 10, 20, 40 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$)。连续 ig 相应药物 14 d, 1 次/d, 给药容量为 $20 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。末次给药后 24 h, 动物称重, 摘眼球取血, 应用酶联免疫法测定血清雌二醇水平。处死后取出子宫和卵巢, 迅速称重, 计算脏器系数。

2.2 经血停对去卵巢小鼠子宫质量的影响^[1] 取雌性小鼠 50 只, 在乙醚浅麻醉下摘除两侧卵巢, 伤口愈合后, 分组、给药剂量和途径和时间同 **2.1**, 末次给药后 24 h 将动物称重后, 处死, 剖腹取子宫, 称重,

[收稿日期] 2010-06-18

[第一作者] 彭百承, 副主任中药师, 主要从事医院制剂及临床药学, Tel: 13807878505; E-mail: 13807878506@139.com

[通讯作者] [?] 李萍, 硕士, 副教授, 主要从事中药药理研究, Tel: 13005923060, E-mail: lizli92@163.com

并计算脏器系数。

2.3 经血停对小鼠出血时间和凝血时间的影响^[1]

选取小鼠 50 只,雌雄兼用,随机分为空白对照组(NS, 20 mL·kg⁻¹),阳性对照组(云南白药, 0.33 g·kg⁻¹),经血停高、中、低剂量组(40.0, 20.0, 10.0 g 生药·kg⁻¹)。连续 ig 7 d, 1 次/d, 给药容量 20 mL·kg⁻¹。末次给药后 1 h, 用剪尾法测出血时间, 用玻片挑丝法测凝血时间。最长观察 30 min, 超过 30 min 不凝固者按 30 min 计算。

2.4 经血停对大鼠离体子宫收缩功能的影响^[2]

取成年未孕雌性大鼠 10 只, 于试验前 72 h sc 己烯雌酚 0.5 mL·kg⁻¹ 造成人工动情期以提高子宫对药物的敏感性。试验时颈椎脱臼法处死大鼠, 剖取子宫, 立即置于盛有乐氏液的玻璃平皿中, 剥离附着于子宫的结缔组织和脂肪组织, 迅速移入盛有 30 mL 乐氏液的浴槽中, 温度(37 ± 0.5), 通入混合氧, 一端固定于浴槽底部, 另一端与张力换能器相连, 子宫前负荷为 1 g, 通过 BL-410 生物机能实验系统记录正常子宫活动情况, 待子宫活动稳定后, 依次加入生理盐水、缩宫素、经血停, 每次更换药液前要用乐氏液反复冲洗, 待子宫收缩基本恢复到未加药前水平再加入下 1 种药液。经血停给药采用累积加量法, 质量浓度由低至高。记录子宫收缩频度、幅度和子宫活动力(频次 × 幅度)。

2.5 数据处理 所有实验数据均采用 SPSS 11.5 软件进行处理。计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 为有统计学差异。

3 结果

3.1 经血停对正常小鼠子宫、卵巢质量及血清雌二醇水平的影响 见表 1。与生理盐水组比较, 乌鸡白凤丸组和经血停高剂量组均能明显增加小鼠子宫、卵巢的质量, 提高血清雌二醇水平(*P* < 0.05)。

表 1 经血停对正常小鼠子宫、卵巢质量及血清雌二醇水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	子宫系数 /g·g ⁻¹	卵巢系数 /g·g ⁻¹	雌二醇 /pg·mL ⁻¹
生理盐水	-	0.260 1 ± 0.063	0.078 3 ± 0.018	98.14 ± 33.08
乌鸡白凤丸	3.0	0.360 2 ± 0.076 ¹⁾	0.113 2 ± 0.023 ¹⁾	142.22 ± 30.55 ¹⁾
经血停	10.0	0.283 6 ± 0.095	0.082 3 ± 0.042	109.95 ± 43.89
	20.0	0.325 5 ± 0.095	0.093 1 ± 0.021	17.68 ± 43.12
	40.0	0.350 1 ± 0.092 ¹⁾	0.099 9 ± 0.035 ¹⁾	128.00 ± 41.90 ¹⁾

注: 与生理盐水组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01(表 2 ~ 4 同)。

3.2 经血停对去卵巢小鼠子宫质量的影响 见表 2。表 2 表明, 与生理盐水组比较, 乌鸡白凤丸和经

血停高剂量组均能明显增加去卵巢小鼠子宫的质量(*P* < 0.05)。

表 2 经血停对去卵巢小鼠子宫质量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	子宫系数 /g·g ⁻¹
生理盐水	-	0.103 0 ± 0.020
乌鸡白凤丸	3.0	0.159 9 ± 0.040 ²⁾
经血停	10.0	0.118 9 ± 0.037
	20.0	0.123 9 ± 0.038
	40.0	0.140 1 ± 0.031 ¹⁾

3.3 经血停对小鼠出血时间和凝血时间的影响 见表 3。与生理盐水组比较, 云南白药和经血停高剂量组均能明显缩短小鼠出血时间(*P* < 0.05, *P* < 0.01), 并能显著缩短小鼠凝血时间(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。

表 3 经血停对小鼠出血时间和凝血时间的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	出血时间 /min	凝血时间 /min
生理盐水	-	5.10 ± 1.28	2.91 ± 0.75
云南白药	0.33	3.09 ± 1.41 ²⁾	1.78 ± 0.89 ²⁾
经血停	10.0	4.10 ± 1.52	2.30 ± 1.14
	20.0	4.78 ± 1.33	2.75 ± 1.11
	40.0	3.80 ± 1.07 ¹⁾	2.04 ± 1.04 ¹⁾

3.4 经血停对大鼠离体子宫收缩功能的影响 见表 4。缩宫素及经血停中、高剂量组对大鼠离体子宫的收缩频率、幅度和活动力均有显著增强作用(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。

表 4 复方经血停对大鼠离体子宫平滑肌收缩功能的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	质量浓度 /ng·L ⁻¹	频率 /mm	幅度 /mm	活动力 /mm × 次·min ⁻¹
生理盐水	-	3.17 ± 0.93	3.88 ± 1.90	29.13 ± 13.24
缩宫素	0.02	6.43 ± 0.48 ²⁾	11.53 ± 4.74 ²⁾	66.00 ± 19.22 ²⁾
经血停	100.0	3.96 ± 0.82	5.66 ± 3.03	34.49 ± 15.26
	150.0	4.87 ± 2.05 ¹⁾	6.74 ± 2.78 ¹⁾	46.74 ± 19.58 ¹⁾
	200.0	5.89 ± 1.70 ²⁾	9.02 ± 3.21 ²⁾	59.48 ± 22.17 ²⁾

4 讨论

青春期子宫出血属中医崩漏范畴, 为妇科急症之一。现代医学认为其发病机制与下丘脑-垂体-卵巢轴调节机制失调、子宫内膜凝血和纤溶系统异常以及血栓素(TXA₂)和前列环素(PGI₂)分泌失调等有关^[2-4]。本研究结果表明, 经血停可促进小鼠生殖系统生长发育, 能显著提高血清雌二醇水平, 并可增加去卵巢小鼠的子宫质量; 能显著缩短小鼠出血时

间和凝血时间;对大鼠离体子宫的收缩频率、幅度和活动力均有显著增强作用。提示经血停治疗青春期子宫出血的机制可能与以下途径有关:一是促进雌激素分泌,有雌性激素样作用,能促进子宫内膜修复,产生“性激素止血”的作用^[5];二是对机体的正常凝血系统有一定的抑制作用;三是兴奋子宫平滑肌,压迫子宫肌层内血管而止血。

[参考文献]

[1] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社, 2006: 431, 480, 801.

(上接第 162 页)

治疗结果表明天麻钩藤饮能减轻大鼠症状和降低血压,高剂量天麻钩藤饮能降低血浆 Ang 水平。利血平治疗组大鼠易激惹程度好转,饮水量减少,但被毛蓬松,无泽,且出现眯眼、拱背等虚寒表现。本研究采用利血平作为对照治疗药物,是因有文献^[5]报道利血平具有平肝潜阳、清泄肝火的功效,临床证实利血平对高血压病与中医概念的肝有关证型(肝阳上亢、肝阳挟湿和肝肾阴虚)疗效较佳,对其余证型无效或效差。目前认为高血压的发病与神经-内分泌-体液因素、肾素-血管紧张素-醛固酮系统(RAAS)、血管内皮功能、免疫状态等有关。Ang 是已知最强的缩血管活性物质之一,使外周血管阻力增加,血压升高;并可增强渴感,导致饮水行为^[6]。本研究表明影响 Ang 水平变化可能是天麻钩藤饮的降压和改善症状的机制之一。各组大鼠经治疗后 ALD 含量差异无统计学意义,反映 ALD 的分泌是通过多种途径调节的,并非单一的 RAS 途径^[7-8]。

蛋白质组的概念最早是澳大利亚 Macquarie 大学的 Wilkins 和 Williams 于 1994 年提出,最初定义为一个基因组所编码的全部蛋白质^[9]。蛋白质组学作为高通量平行筛选技术在理论体系上与中医药的整体观相契合,能够深化证候的本质研究,为以多靶点、作用复杂为特点的传统中药的作用机制研究带来了新的希望。本试验利用蛋白质组学关键技术——双向电泳技术分析了 SHR 对照组、肝阳上亢组和天麻钩藤饮高剂量组大鼠肝脏蛋白质组,发现各组的蛋白斑点总体分布相似,大鼠肝脏蛋白质表达谱明显发生了改变。这些差异表达蛋白质可能存在高血

- [2] Chen B H, Giudice L C. Dysfunctional uterine bleeding [J]. West J Med, 1998, 169(5): 280.
- [3] Edmonds D K. Dysfunctional uterine bleeding in adolescence [J]. Baillieres Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 1999, 13(2): 239.
- [4] Slap G B. Menstrual disorders in adolescence [J]. Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol, 2003, 17(2): 75.
- [5] 张以友. 正常子宫出血及功能失调性子宫出血的出血机制[J]. 实用妇产科杂志, 1998, 14(2): 62.

[责任编辑 何伟]

压肝阳上亢证证候相关蛋白,天麻钩藤饮降压和改善症状可能与上述蛋白质的改变有关。但有关这些蛋白质的性质、功能及相互关系有待深入研究。

[参考文献]

- [1] 卫生部心血管病防治中心. 中国心血管病报告 2005 [M]. 北京:中国大百科全书出版社, 2006: 84.
- [2] 王海燕. 肾脏病学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 2008: 1662.
- [3] 鄢东红, 金益强. 自发性高血压大鼠肝阳上亢证模型的复制[J]. 湖南中医学院学报, 1999, 19(4): 35.
- [4] 胡光慈. 中医内科杂病证治新义[M]. 成都:四川人民出版社, 1958: 7.
- [5] 吕士选, 岳凤先. 从中医药理论角度探讨利血平的药理作用[J]. 中国中西医结合杂志, 1995, 15(3): 177.
- [6] 姚泰. 生理学[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社, 2002: 123.
- [7] Toffelmire E B, Slater K, Corvol P, et al. Response of plasma prorenin and active renin to chronic and acute alterations of renin secretion in normal humans. Studies using a direct immunoradiometric assay [J]. J Clin Invest, 1989, 83(2): 679.
- [8] Azizi M, Guyene T T, Chatellier G, et al. Additive effects of losartan and enalapril on blood pressure and plasma active renin [J]. Hypertension, 1997, 29(2): 634.
- [9] Wilkins M R, Sanchez J C, Gooley A A, et al. Progress with proteome project: why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it? [J]. Biotechnol Genet Eng Rev, 1996, 13: 19.

[责任编辑 何伟]