

培土孕康汤防治大鼠先兆流产的作用

戴仕林¹, 陈蓉¹, 胥京生², 吴启南^{1*}

(1. 南京中医药大学 江苏省方剂重点实验室, 南京 210046;

2. 南京市秦淮区中医院, 南京 210049)

[摘要] 目的: 观察培土孕康汤对大鼠先兆流产模型的治疗作用, 探讨其作用机制。方法: 对妊娠大鼠以米非司酮合并米索前列醇建立先兆流产模型, 分别用培土孕康汤 12, 6, 3 g·kg⁻¹·d⁻¹对妊娠大鼠灌胃治疗, 黄体酮 8 mg·kg⁻¹·d⁻¹肌注治疗, 同时设立模型对照组和正常妊娠组。妊娠 14 d 处死, 考察保胎率、脏器系数, 观察子宫卵巢组织的形态学变化, 测定血清孕酮及-绒毛膜促性腺激素(-HCG)的含量。结果: 培土孕康汤 12, 6, 3 g·kg⁻¹·d⁻¹组均能显著提高先兆流产大鼠的血清-HCG 和孕酮含量及保胎率, 对流产子宫损伤有显著疗效, 减轻流产子宫的病理改变; 其中在提高-HCG 含量及减轻子宫的损伤方面, 培土孕康汤 6 g·kg⁻¹组疗效优于黄体酮组; 在提高孕酮含量和保胎率方面, 培土孕康汤 6 g·kg⁻¹·d⁻¹组疗效与黄体酮组相当。结论: 培土孕康汤对于大鼠的先兆流产有较好的治疗作用, 6 g·kg⁻¹·d⁻¹组疗效最佳。

[关键词] 培土孕康汤; 先兆流产; 孕酮; -绒毛膜促性腺激素

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0113-03

Effect of Peitu Yunkang Decoction on Threatened Abortion in Rats

DAI Shi-lin¹, CHEN Rong¹, XU Jing-sheng², WU Qi-nan^{1*}

(1. Nanjing University of Chinese Medicine, Jiangsu Provincial Key Lab of Chinese Medicine Formula,

Nanjing 210046, China; 2. Chinese Medicine Hospital of Qinhuai District, Nanjing 210049, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of Peitu Yunkang Decoction on abortion model of rat and to investigate the mechanism. **Method:** The abortion model was established in pregnant rats by giving mifepristone combined with misoprostol. The model was treated with 12, 6, 3 g·kg⁻¹·d⁻¹ Peitu Yunkang Decoction and 8 mg·kg⁻¹·d⁻¹ progesterone respectively for the model group and normal pregnancy group, normal saline of the same volume was given. All rats were sacrificed on the 14th day after pregnancy. Miscariage rate, organ coefficient and morphological changes in uterine ovarian tissue were determined. Serum progesterone and -Human chorionic gonadotropin(-HCG) were also measured. **Result:** The group of 12, 6, 3 g·kg⁻¹·d⁻¹ Peitu Yunkang Decoction increased the content of serum progesterone and -HCG and the rate of anti-abortion significantly; The 6 g·kg⁻¹·d⁻¹ Peitu Yunkang Decoction group had a better effect than the progesterone group in increasing -HCG level and reducing the damage in the uterus. **Conclusion:** Peitu Yunkang Decoction has good effect for the treatment of rat model of threatened abortion, and the dose of 6 g·kg⁻¹·d⁻¹ shows impressive effect.

[Key words] Peitu Yunkang Decoction; threatened abortion; progesterone; -human chorionic gonadotropin

先兆流产是早孕期较常见的并发症之一, 发生率约为 20% ~25%^[1], 属于中医临床中“胎动不

安”、“胎漏”、“滑胎”范畴。中医治疗以安胎为主, 以固肾、扶脾、益气、养血为基本治疗方法。培土孕

[收稿日期] 20100513(004)

[基金项目] 江苏省老中医药专家学术经验继承专项研究课题(200946)

[第一作者] 戴仕林, 硕士研究生, 主要从事中药品质评价研究, E-mail: leonard2511@126.com

[通讯作者] * 吴启南, 教授, 主要从事中药资源及品质评价研究, Tel: 025-85811059, E-mail: qnlxw@yahoo.com.cn

康汤是江苏省名中医胥京生先生临床经验方, 具有补脾益气, 固肾安胎之功效, 临床疗效确切。

1 材料

1.1 药物与试剂 培土孕康汤, 全方由党参 10 g, 炒白术 10 g, 淮山药 20 g, 黄芩 10 g, 白芍 15 g, 菟丝子 15 g, 杜仲 10 g, 仙鹤草 15 g, 砂仁 3 g 和炙甘草 3 g 组成, 饮片购于安徽亳州市药材公司, 经南京中医药大学吴启南教授鉴定为合格饮片; 将上述饮片至搪瓷锅内, 加相当于药材量 8 倍的冷水浸泡 1 h, 煎煮 30 min(砂仁后下), 滤过; 药渣加 4 倍量的水, 继续煎煮 20 min, 滤过, 合并煎液, 于水浴上浓缩成每 1 mL 相当于药材量 1 g 的药液^[2]。置 4℃ 冰箱备用。米非司酮片, 浙江仙琚制药股份有限公司, 批号 080603; 米索前列醇片, 北京紫竹药业有限公司, 批号 43091907-01; 黄体酮注射液, 浙江仙琚制药厂, 批号 090807; 己烯雌酚片(加蒸馏水配制成 0.5 mg 混悬液备用), 合肥久联制药厂, 批号 2009031G; β -绒毛膜促性腺激素(β -HCG)试剂盒, 批号 BPE090306 孕酮试剂盒, 批号 PS090908005 购于南京生兴生物技术有限公司。

1.2 动物 SD 大鼠, 体重 180 ~220 g, 由上海斯莱克实验动物责任有限公司提供, 合格证号 SVXK(沪) 2007-0005。

1.3 仪器 PowerWaveX340 酶标仪, BIO-Tek instruments 公司; AY220 型分析天平, Shimadzu 公司; 奥林巴斯 CH 型专业双目显微镜, 日本 Olympus。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 将适应性饲养 1 周的成年未孕雌性大鼠, ig 己烯雌酚 2 mg·kg⁻¹ 一次以促情, 增加交配率, 次晨做阴道涂片检查, 光镜下见大量阴道脱落细胞的为合格动情雌鼠^[3]。取合格雌鼠于当晚与同种成年雄鼠以 2:1 比例合笼交配, 次晨阴道涂片镜检有大量精子者为妊娠 1 d。取妊娠大鼠 72 只, 随机分成 6 组, 每组 12 只。分别为正常妊娠组、模型组、黄体酮组、培土孕康汤高、中、低剂量组。除黄体酮组外, 其他各组于大鼠妊娠 1 d 分别 ig 生理盐水、培土孕康汤 12, 6, 3 g·kg⁻¹·d⁻¹, 每日 1 次, 每次 2 mL, 连续 7 d。黄体酮组于大鼠妊娠 1 d im 黄体酮 8 mg·kg⁻¹·d⁻¹, 隔日再用 1 次, 培土孕康汤和黄体酮剂量均为临床等效量。模型组、黄体酮组、培土孕康汤 12, 6, 3 g·kg⁻¹·d⁻¹ 组于妊娠 8 d 上午 8 时 ig 米非司

酮 8.3 mg·kg⁻¹, 下午 6 时 ig 米索前列醇 100 μ g·kg⁻¹ 引起流产^[2]; 正常妊娠组 ig 等量生理盐水。妊娠 9 d 按各组原剂量继续 ig 4 d 或 im 黄体酮 1 次。

2.2 标本采集及处理 各组大鼠妊娠 14 d 后称质量, 眼眶取血, 3 000 r·min⁻¹ 离心, 取上层血清待测。取血后处死大鼠, 迅速摘取双侧子宫及卵巢, 精密称质量; 检查保胎数、各鼠胚胎数及胚胎病理改变; 将子宫及卵巢用 Bouin's 液固定、石蜡包埋、HE 染色、连续切片, 光镜观察组织器官形态学变化。

2.3 观察指标

2.3.1 血清 β -HCG 和孕酮的含量测定 采用酶联免疫法(ELISA)测定血清 β -HCG 和孕酮的含量。

2.3.2 保胎率计算 正常胚胎和流产胚胎的判定标准, 正常胚胎: 宫内未见瘀血, 胚胎淡红色; 流产胚胎: 解剖时子宫呈“竹节状”, 宫内胚胎呈黑褐色。保胎率 = 正常胚胎数 / (正常胚胎数 + 流产胚胎数) × 100%。

2.3.3 脏器系数^[4]的计算

$$\text{脏器系数} = \frac{\text{子宫质量}(\text{mg}) + \text{卵巢质量}(\text{mg})}{\text{体重}(\text{g})} \times 10$$

2.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行统计分析, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 *t* 检验比较组间差异。P < 0.05 有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠血清 β -HCG 与孕酮含量的影响 结果表明: 与模型组相比, 培土孕康汤各剂量组和黄体酮组的血清 β -HCG 与孕酮含量均显著提高 (P < 0.01)。对于提高孕酮含量而言, 培土孕康汤 12, 6 g·kg⁻¹·d⁻¹ 组与黄体酮组疗效相当, 培土孕康汤 3 g·kg⁻¹·d⁻¹ 组疗效不及黄体酮组; 对于提高 β -HCG 含量而言, 培土孕康汤 6 g·kg⁻¹·d⁻¹ 组效用优于黄体酮组 (P < 0.05), 培土孕康汤 12, 3 g·kg⁻¹·d⁻¹ 组与黄体酮组疗效相当(表 1)。

表 1 培土孕康汤对大鼠血清 β -HCG 及孕酮含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	n	孕酮 /pg·L ⁻¹	β -HCG /pg·L ⁻¹
空白对照	-	12	109.14 ± 9.89	2 390.35 ± 86.70
模型	-	11	22.89 ± 16.23	1 567.54 ± 84.40
黄体酮	0.008	10	69.45 ± 6.21 ¹⁾	1 866.49 ± 32.46 ¹⁾
培土孕康汤	12	12	71.00 ± 11.45 ¹⁾	1 866.18 ± 46.99 ¹⁾
	6	12	73.01 ± 8.30 ¹⁾	1 983.55 ± 34.67 ^{1,2)}
	3	11	58.22 ± 9.98 ^{1,2)}	1 849.27 ± 47.10 ¹⁾

注: 与模型组相比¹⁾ P < 0.01; 与黄体酮组相比²⁾ P < 0.05(表 2 ~ 3 同)。

3.2 对大鼠保胎率的影响 与模型组比较, 培土孕康汤各剂量组和黄体酮组的保胎率均有明显增高 ($P < 0.01$); 其中培土孕康汤 $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 组的保胎效果与黄体酮组相当, 培土孕康汤 $12, 3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 组的保胎作用不及黄体酮组(表 2)。

表 2 培土孕康汤对大鼠保胎率的影响

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	n	保胎数 /只	保胎率 /%	活仔均值 (范围)
空白对照	-	12	11	91.67	10(7~14)
模型	-	11	4	36.36	5(2~8)
黄体酮	0.008	10	8	80.00 ¹⁾	6.5(5~9)
培土孕康汤	12	12	5	41.67 ¹⁾	7.1(4~12)
	6	12	10	83.33 ¹⁾	8.8(6~12)
	3	11	5	45.45 ¹⁾	7.3(4~11)

3.3 对大鼠脏器系数的影响 与模型组相比, 培土孕康汤各剂量组和黄体酮组对流产子宫损伤有显著疗效 ($P < 0.01$); 培土孕康汤 $6 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 组对流产子宫损伤的疗效明显优于黄体酮组 ($P < 0.01$) (表 3)。

表 3 培土孕康汤对大鼠脏器系数的影响(均±s)

组别	剂量 $/\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	n	子宫、卵巢 体重		脏器系数 $/\text{mg} \cdot (10 \text{ g})^{-1}$
			合重/g	/g	
空白对照	-	12	3.57	317.27	112.52 ±30.08
模型	-	11	0.57	319.75	17.83 ±3.88
黄体酮	0.008	10	1.54	335.64	45.88 ±16.24 ¹⁾
培土孕康汤	12	12	1.26	314.67	40.00 ±12.69 ¹⁾
	6	12	2.33	325.40	71.60 ±13.30 ^{1,2)}
	3	11	1.19	322.82	36.86 ±15.06 ¹⁾

3.4 大鼠子宫及卵巢的组织形态学变化 肉眼观察, 正常妊娠大鼠子宫结节状膨大, 色红润, 血管丰富, 解剖后见胚胎完好; 其余各组子宫膨大结节明显小于空白组, 胚胎有明显的瘀血痕迹, 其中模型组子宫呈黑色, 多数无膨大结节, 似未孕大鼠子宫。光镜下观察, 正常妊娠大鼠子宫内蜕膜组织正常, 未见充血坏死及核固缩, 胚胎发育正常; 流产大鼠子宫镜下可见蜕膜及滋养叶细胞充血坏死, 绒毛结构模糊, 部分绒毛纤维素化, 绒毛间隙变宽, 有以中性粒细胞为主的炎细胞渗出。培土孕康汤各剂量组和黄体酮组的妊娠黄体中可见较多的黄体细胞中有脂滴, 伴有核固缩, 绒毛面积增宽, 间隙变窄, 充血及炎细胞渗出较模型组减少。

4 讨论

先兆流产作为自然流产的早期阶段, 西医多采用孕激素、绒毛膜促性腺激素等辅助药物治疗, 途径单一, 效果不好且长期使用有致畸等副作用^[5]。江

苏省名中医胥京生教授认为造成流产的原因主要有两点: 肾亏。冲任不固, 胎失所养, 系胎无力而最终流产。脏腑失调, 气血不和。妇人孕后, 血聚于下, 冲任气盛, 肝木受冲任脉气影响而横逆犯胃, 孕妇偏嗜或呕不食, 久之化源匮乏, 冲任血海亏虚, 不能益养胎元而流产。培土孕康汤是根据胥京生先生多年的临床经验确立的补脾益气, 固肾安胎方。方中党参、山药、白术补脾肺之气以养胎, 白术兼燥湿安胎; 菟丝子、杜仲补肝肾, 固冲任安胎; 苏梗、砂仁顺气安胎; 白芍、仙鹤草、甘草养血柔肝, 缓急止痛, 止血安胎。全方健脾益气, 固肾安胎兼缓急止痛, 顺气安胎, 故疗效佳。现代药理研究表明, 菟丝子有雌激素样作用, 促进卵巢黄体形成, 子宫及胚胎的发育; 杜仲、白术有抑制大鼠子宫平滑肌自主收缩作用; 白芍有抗血栓, 增强免疫的功效。培土孕康汤 3 个剂量组均能显著提高先兆流产大鼠的血清 $-HCG$ 和孕酮含量及保胎率, 对流产子宫损伤有显著疗效。

$-HCG$ 单位^[6] 是特异的 HCG, 其水平反映了滋养细胞的活跃程度, 促进胎盘增生, 维持和保障妊娠; 孕酮^[6] 是妊娠早期判断胎儿和胎盘功能的重要指标, 影响子宫平滑肌细胞的通透性, 降低妊娠子宫对缩宫素的敏感性, 利于受精卵在子宫内的发育。单独检测 $-HCG$ 和孕酮的敏感性^[6] 不高, 故本实验采用两者联测。脏器系数的变化则反映药物对器官的影响程度。实验结果表明, 培土孕康汤对大鼠先兆流产的治疗机制可能与提高 $-HCG$ 和孕酮激素水平, 减轻子宫损伤有关, 这也可能是临床治疗先兆流产的有效机制。

[参考文献]

- [1] 谢瑞兰, 李斌, 张海青. 252 例先兆流产妇女妊娠结局及相关因素分析[J]. 医学研究杂志, 2006, 35(1): 28.
- [2] 李仪奎, 金若敏, 王钦茂. 中药药理实验方法学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2006: 119, 819.
- [3] 邹移海, 徐志伟, 苏钢强. 实验动物学[M]. 北京: 科学出版社, 2004: 84.
- [4] 孙建新, 安娟, 连军. 影响实验动物脏器重量及脏器系数因素分析[J]. 实验动物科学, 2009, 26(1): 49.
- [5] 王茜. 先兆流产长期保胎致婴儿畸形 1 例[J]. 井冈山医学专报, 2001, 8(5): 79.
- [6] 魏璇, 陈燕, 张国英. 血清孕酮与 $-HCG$ 联合检测预防先兆流产结局的意义[J]. 中国误诊学杂志, 2009, 9(16): 3781.

[责任编辑 聂淑琴]