

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.04.007

五加生化胶囊对药物流产出血模型大鼠的影响及机制研究*

张智博¹ 刘斌^{1△} 姚远¹ 王瑶¹ 李铁男¹ 王发善¹ 张宁^{1,2△}

(1 黑龙江中医药大学 黑龙江 哈尔滨 150040;

2 黑龙江中医药大学北药基础与应用研究省部共建教育部重点实验室 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘要 目的:观察五加生化胶囊对药物(米非司酮配伍米索前列醇)致流产出血大鼠模型的保护作用,并探讨其作用机制。**方法:**建立大鼠药物流产出血模型,分为正常组(K)、受孕对照组(KY)、模型组(M)和给药(G)组,观测大鼠子宫出血时间、出血量、子宫指数、子宫形态和血液流变学改变,采用放射免疫法、ELISA法、免疫组织化学法和IPP6.0图像分析系统对比观察了大鼠血清雌二醇(E₂)、血浆层粘连蛋白(LM)和纤维连接蛋白(FN)含量变化,以及子宫组织中FN、LM和雌、孕激素受体(ER、PR)表达的变化。**结果:**与M组比较,G组药物流产出血大鼠子宫血量由 $0.40 \pm 0.15^{**}$ mL减少到 $0.22 \pm 0.16^{##}$ mL,出血时间由 $124.4 \pm 22.0^{**}$ h减少到 $71.3 \pm 10.4^{###}$ h,血清E₂含量在第14天由 $22.47 \pm 6.37^{*}$ pg/mL到 $39.57 \pm 5.19^{##}$ pg/mL,子宫ER α 表达OD值由 $0.036 \pm 0.025^{**}$ 升高到 $0.208 \pm 0.072^{###}$ 和PR的表达OD值由 $0.043 \pm 0.023^{*}$ 升高到 $0.095 \pm 0.035^{#}$,血浆和子宫组织LM和FN水平降低,血液流变性得以改善。**结论:**五加生化胶囊具有减少药物流产出血大鼠子宫出血量和出血时间的作用,其作用机制主要为降低了血浆和子宫组织FN的含量,起到使残留的蜕膜组织顺利排出的目的,减少了残留蜕膜对子宫的刺激;提高血清中E₂含量和子宫组织中ER α 和PR的表达,同时改善了血液流变性,使受损子宫组织局部血液循环得到改善加速了受损子宫的恢复速度。

关键词:五加生化胶囊;药物流产出血;雌二醇;雌激素受体;米非司酮

中图分类号:R-33;R714.21;R242 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)04-636-06

Protective Effect and Mechanism of Wujia Biochemical Capsule on Rats with Drug Abortion and Hemorrhage*

ZHANG Zhi-bo¹, LIU Bin^{1△}, YAO Yuan¹, WANG Yao¹, LI Tie-nan¹, WANG Fa-shan¹, ZHANG Ning^{1,2△}

(1 Heilongjiang University of traditional Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang, 150040, China; 2 The Key Laboratory of Ministry of education and province of basic medicine and applied research of Heilongjiang University of traditional Chinese Medicine, Harbin, Heilongjiang, 150040, China)

ABSTRACT Objective: To observe the protective effect of Wujia Shenghua Capsule on rats with hemorrhage induced by mifepristone and misoprostol and to explore its mechanism. **Methods:** Establishment a rat model of hemorrhage due to medical abortion, Divided into normal group (K), pregnant control group (KY), model group (M) and administration group (G), Observe the Changes of uterine bleeding time, bleeding volume, uterine index, uterine morphology and hemorheology in rats, the changes of serum estradiol (E₂), plasma laminin(LM) and fibronectin(FN) in rats were observed by radioimmunoassay, immunohistochemistry and IPP6.0 image analysis system, Changes of expression of FN, LM, estrogen and progesterone receptor (ERP, PR) in uterus. **Results:** Compared with M group, the uterine blood volume were reduced from $0.40 \pm 0.15^{**}$ mL to $0.22 \pm 0.16^{##}$ mL, the bleeding time were significantly decreased from $124.4 \pm 22.0^{**}$ h to $71.3 \pm 10.4^{###}$ h, the level of serum E₂ increased from 22.47 ± 6.37 pg/mL to $39.57 \pm 5.19^{#}$ pg/mL on the 14th day, The OD value of ER α expression in uterus increased from $0.036 \pm 0.025^{**}$ to $0.208 \pm 0.072^{###}$ and OD value of PR expression increased from $0.043 \pm 0.023^{*}$ to $0.095 \pm 0.03^{#}$, the levels of LM and FN in plasma and uterine tissue were decreased, and the hemorheology was improved in group G. **Conclusion:** Wujia Shenghua capsule can reduce the amount and time of uterine bleeding in rats with drug abortion hemorrhage, and its mechanism mainly for the FN content in plasma and uterine tissues was reduced, the residual decidual tissue was expelled smoothly, the stimulation to uterus was reduced, the E₂ content in serum and the expression of ER α and PR in uterine tissues were increased, the hemorheology was improved, the local blood circulation of damaged uterine tissues was improved and accelerated, damage

* 基金项目:黑龙江省科技攻关计划项目(GC10C208);哈尔滨市科技创新人才研究专项资金(2016RQYXJ012);

黑龙江中医药大学科研基金项目(201718,201726);黑龙江省博士后资助项目(LB-Z16200)

作者简介:张智博,硕士研究生,从事中药药效物质基础及体内代谢研究

△通讯作者:张宁,中药学博士,研究员,硕士生导师,主要从事中药药效物质基础及体内代谢研究,

电话:(0454) 6050350, E-mail: zhangning0454@163.com;

刘斌(1970-),中西医结合专业博士,教授,硕士生导师,主要从事中医药防治老年性疾病的研究,

电话:(0454) 8782701, E-mail: liubin169@163.com

(收稿日期:2018-08-08 接受日期:2018-08-31)

the recovery rate of the uterus.

Key words: Acanthopanax senticosus capsule; Drug abortion bleeding; Estradiol; Estrogen Receptor; Mifepristone

Chinese Library Classification(CLC): R33; R714.21; R242 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)04-636-06

前言

米非司酮配伍米索前列醇在临床上广泛用于终止早孕,与人工流产相比使用方便、痛苦小,日益被广大妇女所接受^[1]。然而,药物流产仍有其弊端和不足,临床报道的主要副作用为出血量大、出血时间长,进而可引发多种疾病,如子宫内膜炎、甚至继发不孕等。因此,药物流产副作用是目前亟待解决的问题^[2]。西医对药物流产出血的机理研究较多,但至今还没有公认的防治药物流产副作用的药物,而中医药在这方面有其独特优势^[3,4]。五加生化胶囊是多多药业有限公司独家生产的国家中药保护品种,主要由刺五加、当归、川芎、桃仁、甘草、炮姜等药制成,具有益气养血、活血化瘀、行气止痛之功效,临床用于治疗产后出血症疗效独特^[5,6]。但是,早期申报的中药品种,尤其是经典组方,当时申报时还没要求提供详细药效学和药理学的研究数据,而五加生化胶囊治疗药物流产出血的研究仅停留在临床阶段,对基础药效学研究及其作用机制研究方面较薄弱,严重制约了其优势的发挥。本课题组深入开展五加生化胶囊药效及作用机制的实验研究,为五加生化胶囊的二次开发和临床推广应用提供科学依据。

1 材料

1.1 动物

体重 180~220 g Wistar 雌性大鼠,由黑龙江中医药大学实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK 黑 2008004。

1.2 药品与试剂

五加生化胶囊(多多药业有限公司);E2 定量测定化学发光试剂盒(北京源德生物医学工程公司);LM 诊断放射免疫试剂盒(北京北方生物技术研究所);FNELISA 检测试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司);兔抗 ER α 多克隆抗体(Santa Cruz, SC542)、兔抗 ER β 多克隆抗体(Santa Cruz, SC8974)、兔抗 PR 多克隆抗体(Santa Cruz, SC538)购于北京中杉金桥生物技术有限公司;兔抗 LM 多克隆抗体、兔抗 FN 多克隆抗体、即用型 SABC 二抗试剂盒、DAB 显色试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司);米非司酮片、米索前列醇片(北京紫竹药业有限公司)。

1.3 主要仪器

MS-200A 型半自动生化分析仪(四川美生科技有限公司);JETLIA-962 型发光免疫分析仪(北京源德生物医学工程有限公司);HH6003 型放射免疫分析仪(北京核海高技术有限公司);Multiskan MK3 型酶标仪(上海热电器有限公司);KD-2508 型轮转切片机(浙江金华科迪仪器设备有限公司);KPJ-1A 型烤片机(天津航空机电公司);IX-71-21PH 型 Olympus 倒置显微镜(日本 Olympus 株式会社);SA-6000 型血流变仪(北京赛科希德科技发展有限公司)。

1.4 方法

1.4.1 药物流产出血模型的构建 按照吴氏^[7]造模方法,将

Wistar 动情大鼠按雌:雄 2:1 比例合笼,次日晨进行阴道涂片检查,以显微镜下发现精子为受孕的第 1 天,受孕后随机挑选 32 只,分为正常组(K)、受孕对照组(KY)、模型组(M)和给药(G)组,每组 8 只,第 7 天,M 组和 G 组大鼠分别灌胃米非司酮(8:00),米索前列醇(18:00),同时于阴道内置入一个棉球,用于检测药物流产成功以及子宫出血量的测定。

1.4.2 给药方案 K 组:以 1 mL/100 g 灌胃蒸馏水;KY 组:以 1 mL/100 g 灌胃蒸馏水;M 组:实验第 8 天开始,每天以 1 mL/100 g 灌胃蒸馏水,连续 7 天;G 组:实验第 8 天开始,每天以 1 mL/100 g 灌胃 0.25 g/mL 五加生化胶囊混悬液,连续给药 7 天。

1.4.3 指标检测 (1)HE 染色观察子宫形态:实验第 14 天,取新鲜大鼠单侧子宫组织立即投入到 4%的中性缓冲多聚甲醛液中固定 24-48 小时,脱水后包埋处理,切片,烤片,脱蜡,苏木素-伊红常规染色,脱水,中性树胶封片后显微镜下观察。

(2)出血时间及出血量:①出血时间,实验第 8 天开始,每天早 6 点开始每隔 6 小时于大鼠阴道内放置一个棉球,每次取出阴道内棉球检查棉球是否有血渍,当取出棉球检测未有血渍时,停止向阴道内放置棉球,此时距离第一次取出棉球的时间记为流产出血时间。-20℃ 保存带血的棉球,用于出血量的测定。②出血量,实验第 14 天,各大鼠用血红蛋白吸管于尾静脉采血 0.02 mL,加入 5% NaOH 溶液 4 mL,混匀待用。将每天收集的阴道棉球分别置于烧杯内,根据出血量的情况加适量 5% NaOH 溶液浸泡挤压搓洗棉球血渍,浸洗后溶液倒入另一烧杯内保存,再加适量 5% NaOH 溶液浸泡棉球,挤压搓洗血渍,倒入保存容器。将先后所用浸提液混匀,记录所用 5% NaOH 溶液总量,取 5 mL 浸提液过滤,分别将已过滤的浸提液 4 mL、大鼠尾静脉血 5%NaOH 溶液 4 mL,以 5% NaOH 溶液为空白对照,在分光光度计 546 nm 波长下记录吸光度 A 值。

子宫出血量(mL)=尾静脉血量(0.02 mL)*子宫血浸提液 A 值 *V₂ / (尾静脉血 A 值 *V₁);V₁=稀释为静脉血所用 5% NaOH 量(mL),V₂=浸提子宫血所用 5% NaOH 量(mL)。

(3)子宫指数:实验第 14 天,分别称量大鼠子宫重量,与自身体重的比值即子宫指数。

(4)血清 E₂、血浆 FN 和 LM:分别采集实验第 1 天、第 8 天和第 14 天大鼠血清,按照试剂盒说明操作检测大鼠血清中 E₂ 的含量;采集实验第 14 天血浆,按照试剂盒说明书操作检测大鼠血浆中 FN、LM 的含量。

(5)子宫组织 ER、PR、FN 和 LM:与 HE 染色共用同一蜡块。进行切片,烤片,脱蜡,3%过氧化氢抗原封闭,微波炉热修复抗原,5%BSA 封闭,一抗(相应受体一抗)37℃ 孵育、二抗 37℃ 孵育,SABC 试剂室温孵育,DAB 镜下显色,苏木素复染,脱水,中性树胶封片后显微镜下观察,镜下 100 倍任选取 5 个视野,显微摄像系统拍摄照片,用 Image Pro Plus 6.0 图像分析软件进行显微定量分析,分析每个组织片上蛋白光密度值(OD)。

1.5 数据处理

所得数据均采用 SPSS18.0 统计软件包进行处理, 计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 五加生化胶囊对药物流产出血大鼠子宫组织形态影响

K 组大鼠子宫组织, 子宫腔呈正常子宫状态; KY 组大鼠子宫组织, 有明显的滋养层存在; M 组大鼠子宫组织滋养层已不完整结构且存在大量红细胞, 且可见明显的蜕膜细胞呈片状变性、坏死, 部分细胞核固缩, 并且子宫腔内有大量淤血; G 组大鼠子宫腔内较干净, 无明显的蜕膜细胞, 无淤血(见图 1)。

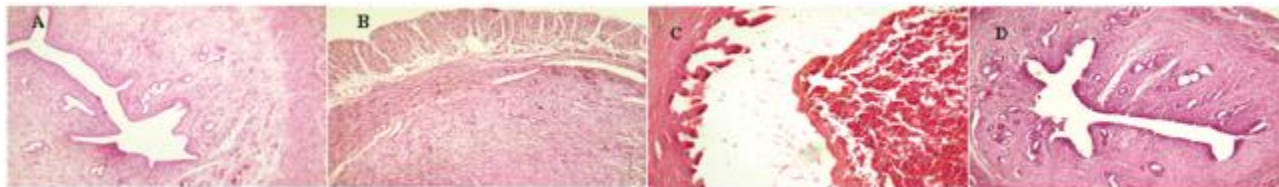


图 1 大鼠子宫组织形态(HE 染色 100×)

A: K 组; B: KY 组; C: M 组; D: G 组

Fig.1 Morphology of rat uterus (HE staining 100 ×)

A: Group K; B: Group KY; C: Group M; D: Group G

2.2 五加生化胶囊对药物流产大鼠子宫出血量和出血时间影响

见表 1, K 组和 KY 组大鼠子宫均未出血。与 K 组比较, M

组子宫出血量增加、出血时间延长($P < 0.01$)。与 M 组比较, G 组子宫出血量明显减少($P < 0.01$)、出血时间明显缩短($P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠子宫出血量和出血时间($\bar{x} \pm s$, n=8)

Table 1 Uterine bleeding and bleeding time of each group of rats($\bar{x} \pm s$, n=8)

Groups	Uterine bleeding volume(mL)	Uterine bleeding time(h)
K	0.05± 0.02	0± 0
KY	0.06± 0.04	0± 0
M	0.40± 0.15**	124.4± 22.0**
G	0.22± 0.16 [#]	71.3± 10.4 ^{##}

注: 与 K 组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 M 组比较 [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ 。

Note: Compared with group K, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; compared with group M, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ 。

2.3 五加生化胶囊对药物流产出血大鼠子宫指数的影响

见表 2, 与 K 组比较, KY 组大鼠子宫指数明显升高($P < 0.$

05); 与 K 组比较, M 组大鼠子宫指数明显升高($P < 0.05$); 与 M 组比较, G 组大鼠子宫指数明显降低($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠子宫重量及子宫指数($\bar{x} \pm s$, n=8)

Table 2 Uterine weight and uterine index of rats in each group($\bar{x} \pm s$, n=8)

Groups	Uterine weight(g)	Uterine index
K	0.301± 0.093	0.0017± 0.0007
KY	2.328± 1.073	0.0098± 0.0051**
M	1.312± 0.787	0.0058± 0.0032**
G	0.505± 0.1776	0.0021± 0.0008 [#]

注: 与 K 组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 M 组比较 [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ 。

Note: Compared with group K, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; compared with group M, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$ 。

2.4 五加生化胶囊对药物流产出血大鼠血清 E₂ 含量的影响

见表 3, 从实验第 1 日起到实验第 14 日结束, K 组大鼠血清中 E₂ 含量无明显改变; KY 组大鼠血清中 E₂ 含量呈现缓慢上升的趋势; M 组大鼠血清中 E₂ 含量呈现先上升再下降的趋势; G 组大鼠血清中 E₂ 含量一直呈现上升的趋势。实验第 14 日结果可知, 与 K 组比较, KY 组大鼠血清中 E₂ 含量有所升高, 但无统计学意义($P > 0.05$); 与 KY 组比较, M 组大鼠血清中 E₂ 含量明显升高($P < 0.05$); 与 M 组比较, G 组大鼠血清中 E₂ 含

量显著升高($P < 0.01$)。

2.5 五加生化胶囊对药物流产出血大鼠血清 FN 和 LM 含量的影响

见表 4, 与 K 组比较, KY 组大鼠血浆中 FN 和 LM 水平均无明显变化($P > 0.05$); 与 K 组比较, M 组大鼠血浆中 FN($P < 0.01$)和 LM($P < 0.05$)含量明显升高; 与 M 组比较, G 组大鼠血清中 FN($P < 0.01$)和 LM($P < 0.05$)含量明显降低。

表 3 各组大鼠血清中 E₂ 的含量($\bar{x} \pm s, n=8$)
Table 3 The content of E₂ in serum of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=8$)

Groups	E ₂ (pg/mL)		
	Day 1	Day 8	Day 14
K	15.27± 4.20	14.98± 7.14	15.63± 5.36
KY	15.52± 3.90	17.18± 4.14	18.23± 4.87
M	15.44± 3.25	33.03± 9.62	22.47± 6.37 [▲]
G	15.45± 3.02	34.89± 5.72	39.57± 5.19 ^{▲▲}

注:与 K 组比较 *P<0.05, **P<0.01;与 M 组比较 [#]P<0.05, ^{##}P<0.01;与 KY 组比较 [▲]P<0.05, ^{▲▲}P<0.01。

Note: Compared with group K, *P<0.05, **P<0.01; compared with group M, [#]P<0.05, ^{##}P<0.01; compared with group KY, [▲]P<0.05, ^{▲▲}P<0.01.

表 4 各组大鼠血浆 FN 和 LM 的含量($\bar{x} \pm s, n=8$)
Table 4 The content of plasma FN and LM in rats of each group($\bar{x} \pm s, n=8$)

Groups	FN(pg/mL)	LM(ng/mL)
K	0.05± 0.01	12.44± 4.32
KY	0.06± 0.01	13.57± 6.52
M	2.19± 1.49**	20.45± 7.47*
G	0.08± 0.02 ^{##}	15.82± 8.97 [#]

注:与 K 组比较 *P<0.05, **P<0.01;与 M 组比较 [#]P<0.05, ^{##}P<0.01。

Note: Compared with group K, *P<0.05, **P<0.01; compared with group M, [#]P<0.05, ^{##}P<0.01.

2.6 五加生化胶囊对药物流产出血大鼠子宫 ER 和 PR 的影响

见表 5, 与 K 组比较, KY 组大鼠子宫组织 ER α 和 PR 阳性表达 OD 值无显著性差异(P>0.05);与 K 组比较, M 组大鼠

子宫组织 ER α 阳性表达 OD 值明显降低 (P<0.01), PR 阳性表

达 OD 值亦降低 (P<0.05); 与 M 组比较, G 组大鼠子宫组织 ER α 阳性表达 OD 值明显升高(P<0.01), PR 阳性表达 OD 值升高。

表 5 各组大鼠子宫 ER α 和 PR 阳性表达 OD 值($\bar{x} \pm s, n=8$)
Table 5 The OD values of ER α and PR in the uterus of each group($\bar{x} \pm s, n=8$)

Groups	ER α	PR
K	0.091± 0.024	0.076± 0.022
KY	0.035± 0.019	0.065± 0.012
M	0.036± 0.025**	0.043± 0.023*
G	0.208± 0.072 ^{##}	0.095± 0.035 [#]

注:与 K 组比较 *P<0.05, **P<0.01;与 M 组比较 [#]P<0.05, ^{##}P<0.01。

Note: Compared with group K, *P<0.05, **P<0.01; compared with group M, [#]P<0.05, ^{##}P<0.01.

2.7 五加生化胶囊对药物流产出血大鼠子宫 FN 和 LM 的影响

见表 6, 与 K 组比较, KY 组大鼠子宫组织 FN 阳性表达 OD 值无显著性差异(P>0.05);与 K 组比较, M 组大鼠子宫组织 FN 阳性表达 OD 明显升高(P<0.01);与 M 组比较, G 组大鼠子宫组织 FN 阳性表达 OD 值明显降低(P<0.01)。

2.8 五加生化胶囊对药物流产出血大鼠血液流变学指标的影响

见表 7, 与 K 组比较, KY 组大鼠血液流变学各指标均无显著性差异(P>0.05), 表明大鼠受孕后对血液流变学指标无明显影响;与 K 组比较, M 组大鼠血浆粘度、全血粘度(1/s)和全血粘度(5/s)、全血低切相对指数、全血低切还原粘度明显升高, 具有统计学意义 (P<0.05), 其余各指标均无显著性差异(P>0.05);与 M 组比较, G 组明显降低大鼠血浆粘度、全血粘度(1/s)和全血粘度(5/s)、全血低切相对指数、全血低切还原粘度, 其余

各指标均无显著性差异(P>0.05)。

表 6 各组大鼠子宫 FN 阳性表达 OD 值($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 6 OD value of positive expression of FN in uterus of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=8$)

Groups	FN
K	0.084± 0.011
KY	0.104± 0.020
M	0.251± 0.069**
G	0.091± 0.033 ^{##}

注:与 K 组比较 *P<0.05, **P<0.01;与 M 组比较 [#]P<0.05, ^{##}P<0.01。

Note: Compared with group K, *P<0.05, **P<0.01; compared with group M, [#]P<0.05, ^{##}P<0.01.

表 7 各组大鼠血液流变学指标($\bar{x} \pm s, n=8$)Table 7 Hemorheological parameters of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=8$)

Surveillance project	K	KY	M	G
Whole blood viscosity(1/s)	17.92 $\pm$ 3.20	18.79 $\pm$ 4.36	26.78 $\pm$ 4.91*	20.73 $\pm$ 4.71 [#]
Whole blood viscosity(5/s)	8.88 $\pm$ 1.06	8.19 $\pm$ 1.34	10.71 $\pm$ 1.38*	9.02 $\pm$ 1.51 [#]
Whole blood viscosity(30/s)	5.01 $\pm$ 0.45	5.02 $\pm$ 0.69	5.59 $\pm$ 0.42	5.13 $\pm$ 0.57
Whole blood viscosity(200/s)	3.85 $\pm$ 0.29	3.75 $\pm$ 0.33	3.92 $\pm$ 0.17	3.81 $\pm$ 0.29
Plasma viscosity	1.51 $\pm$ 0.31	1.52 $\pm$ 0.14	1.95 $\pm$ 0.36**	1.73 $\pm$ 0.12 [#]
Erythrocyte sedimentation rate	23.71 $\pm$ 1.70	24.00 $\pm$ 4.19	23.16 $\pm$ 5.45	23.25 $\pm$ 3.94
Hematocrit	0.31 $\pm$ 0.01	0.32 $\pm$ 0.03	0.35 $\pm$ 0.03	0.35 $\pm$ 0.03
Whole blood high shear relative index	2.47 $\pm$ 0.25	2.48 $\pm$ 0.24	2.06 $\pm$ 0.46	2.31 $\pm$ 0.38
Whole blood low shear relative index	11.52 $\pm$ 2.21	12.34 $\pm$ 2.78	15.72 $\pm$ 2.81*	11.74 $\pm$ 1.08 [#]
Whole blood low shear reduction viscosity	51.75 $\pm$ 8.59	52.78 $\pm$ 9.99	73.98 $\pm$ 14.26**	59.51 $\pm$ 5.09 [#]
Whole blood high shear reduction viscosity	6.64 $\pm$ 1.20	6.93 $\pm$ 0.60	6.58 $\pm$ 0.91	6.57 $\pm$ 0.53

注:与 K 组比较 *P<0.05, **P<0.01;与 M 组比较 [#]P<0.05, ^{##}P<0.01。

Note: Compared with group K, *P<0.05, **P<0.01; compared with group M, [#]P<0.05, ^{##}P<0.01.

3 讨论

本实验基于大量文献基础之上,成功构建了采用早孕大鼠灌服米非司酮配伍米索前列醇造成阴道出血的模型大鼠^[8],并进行了五加生化胶囊对大鼠药物流产出血的药效学研究及其作用机制研究。文中设立了空白组和受孕对照组,旨在研究受孕大鼠受孕后对生理和病理指标的影响,排除受孕对大鼠的干扰,更为全面、准确的研究五加生化胶囊对药物流产出血作用机制。

对于药物流产后子宫出血的机制研究中,观察子宫蜕膜的残留和子宫恢复状况是两个比较直观的证明^[9],其次检测子宫出血量及出血时间,也用于药物发挥疗效的直接评价^[10]。在药物流产出血后灌胃五加生化胶囊悬浊液后,观察相关部位的病理片可以看出五加生化胶囊对药物流产出血有一定的修复作用,而且明显缩短了出血时间,减少出血量。

FN 是细胞外基质(ECM)的重要组成部分,是细胞分子生物学研究的主要内容,在细胞增生、移动、固着、分化和免疫等方面起重要作用^[11,12],而且与月经周期中子宫内膜的脱落、修复、胚胎着床和内膜脱落等方面密切相关^[13,14]。实验中,服用五加生化胶囊具有降低了子宫 FN 表达的作用,结合血浆中 FN 含量结果分析,可见五加生化胶囊可以同时降低血浆和子宫组织 FN 的水平,有利于蜕膜组织的顺利排出。

子宫是雌激素作用的重要靶器官,也是雌激素受体^[15]广泛存在的器官之一。药物流产后出血,子宫组织受损,其修复需要雌激素和其受体结合后发挥细胞修复作用^[16,17]。雌激素是维持女性正常内分泌重要激素,其分泌的不足或加剧都会引起一系列的生理变化,其对子宫内膜的影响尤为重要,具有促进子宫内膜细胞增殖的作用^[18,19]。M 组大鼠血清 E₂ 含量有明显的降低趋势,但仍处于较高水平,分析产生这一现象的原因可能为,随着米非司酮在体内代谢后,其抑制雌孕激素的作用逐渐消失,E₂ 发挥其对子宫内膜修复的作用,进而消耗血循环中的

E₂,使 E₂ 含量缓慢降低;然而 G 组大鼠血清 E₂ 含量仍处于缓慢上升趋势,弥补机体雌激素的作用。ER α 主要以子宫腺上皮细胞、单层柱状上皮细胞胞核为主,子宫内膜肌层细胞胞核亦有表达,ER β 表达不明显^[20,21]。服用米非司酮和米索前列醇致药物流产出血后,抑制了大鼠子宫 ER α 的表达;而灌胃五加生化胶囊后可提高大鼠子宫组织 ER α 的阳性表达。可见,五加生化胶囊治疗药物流产出血量大、出血时间长不单单是与血清 E₂ 的含量有关,与其受体的表达亦密不可分。

此外,血液流变性发生改变也会直接影响组织的微循环,继而影响受损组织恢复^[22]。实验中发现五加生化胶囊具有改善血液流变性的作用,可恢复血液正常流动性的状态,减轻组织水肿,促进子宫组织微循环,加速受损子宫内膜的修复,这些亦可能是治疗药物流产出血的机制之一。

综上所述,五加生化胶囊通过调节药物流产出血大鼠血浆 FN、LM 及子宫组织 FN 表达和血清中 E₂ 及子宫组织 ER α 、PR 受体表达,进一步促进残留蜕膜组织的排除和受损子宫的恢复,可能是治疗药物流产后大鼠子宫异常出血的作用机制之一。

参考文献(References)

- [1] Song L P, Tang S Y, Li C L, et al. Early medical abortion with self-administered low-dose mifepristone in combination with misoprostol[J]. The journal of obstetrics and gynaecology research, 2018
- [2] Saroj Kumar Yadav. 药物流产的可行性与可接受性分析[D]. 新乡医学院, 2017
- [3] 金焱,刘红霞.中西药联合干预药物流产的临床观察[J]. 光明中医, 2018(11)
- [4] 刘红霞,金焱.早期妊娠药物流产中西医结合研究概况[J]. 广西中医药大学学报, 2018, (2)
- [5] 王雪萍,张新莲,张春霞.五加生化胶囊联合米非司酮、米索前列醇缩短药物流产后阴道流血时间研究[J]. 亚太传统医药, 2017, 13(13): 125-126
- [6] 白向军.五加生化胶囊缩短药物流产后阴道出血的疗效观察[J]. 实用妇科内分泌杂志(电子版), 2017, 4(01): 176

- [7] 吴敏,叶凤,干红女,等.崩漏停对药物流产大鼠子宫出血模型的影响[J].中华中医药学刊, 2016, 34(06): 1446-1449
- [8] 岳明,全敏,马丽,等.花仙宫血胶囊对功能失调性子宫出血大鼠子宫的保护作用[J].现代药物与临床, 2018, (1): 15-18
- [9] 李玉萍,梁月华,严秋林.药物流产后阴道出血与子宫刮出物病理学观察分析[J].中国基层医药, 2003, (11): 37-38
- [10] 姬霞,金娜,傅金英.不同剂量米非司酮联合去氧孕烯炔雌醇治疗围绝经期功能失调性子宫出血的临床试验研究[J].成都医学院学报, 2017, 12(2): 182-186
- [11] Raitman I, Huang M L, Williams S A, et al. Heparin-fibronectin interactions in the development of extracellular matrix insolubility[J]. Matrix Biology, 2018
- [12] Liao Y X, Zhang Z P, Zhao J, et al. Effects of Fibronectin 1 on Cell Proliferation, Senescence and Apoptosis of Human Glioma Cells Through the PI3K/AKT Signaling Pathway[J]. Cellular Physiology & Biochemistry International Journal of Experimental Cellular Physiology Biochemistry & Pharmacology, 2018, 48(3): 1382
- [13] Godoy-Guzmán C, Nuñez C, Orihuela P, et al. Distribution of extracellular matrix molecules in human uterine tubes during the menstrual cycle: a histological and immunohistochemical analysis[J]. Journal of Anatomy, 2018
- [14] Yuan M, Hu M, Lou Y, et al. Environmentally relevant levels of bisphenol A affect uterine decidualization and embryo implantation through the estrogen receptor/serum and glucocorticoid-regulated kinase 1/epithelial sodium ion channel α -subunit pathway in a mouse model[J]. Fertility & Sterility, 2018, 109(4)
- [15] Vasquez Y M. Estrogen-Regulated Transcription: Mammary Gland and Uterus[J]. Steroids, 2018, 133: 82-86
- [16] Shuai L I, Tian W. Curative effect of low-dose mifepristone combined with Marvelon in treatment of functional uterine bleeding and the impact on estrogen, follicle-stimulating hormone, and luteinizing hormone[J]. Maternal & Child Health Care of China, 2018
- [17] Yu C, Zhong J, Wu N, et al. Clinical Study of Effects of Different Ways of Administration of Estrogen and Progesterone on Endometrium of Adolescent Dysfunctional Uterine Bleeding[J]. Journal of Yangtze University, 2018
- [18] Zhang G, Cheng Y, Zhang Q, et al. ATX-LPA axis facilitates estrogen-induced endometrial cancer cell proliferation via MAPK/ERK signaling pathway [J]. Molecular Medicine Reports, 2018, 17(3): 4245-4252
- [19] 王宝金,付喜玲,杜俊鹏,等.雌二醇浓度对羊膜上子宫内膜细胞增殖的影响[J].安徽医科大学学报, 2018, (4)
- [20] Zhang X, Chen Q, Chen B, et al. Herb Formula ZhenRongDan Balances Sex Hormones, Modulates Organ Atrophy, and Restores ER α and ER β Expressions in Ovariectomized Rats [J]. Evidencebased Complementary and Alternative Medicine: eCAM, 2018, 2018
- [21] Wang Y, Wang Z, Yu W, et al. Seasonal expressions of androgen receptor, estrogen receptors and cytochrome P450 aromatase in the uteri of the wild Daurian ground squirrels (*Spermophilus dauricus*)[J]. European Journal of Histochemistry Ejh, 2018, 62(1)
- [22] Han Y W, Chen G, Orthopedics D O, et al. Clinical efficiency and effect of diclofenac combined with HuoXueHuaYuTang on hemorheology in the treatment with fracture and early soft tissue injury[J]. Chinese Journal of Clinical Pharmacology, 2016

(上接第 675 页)

- [20] 张智鹏.抗凝剂对动物布鲁菌病虎红平板凝集试验的影响[J].动物医学进展, 2017, 38(11): 132-136
- [21] Koçman EE, Erensoy MS, Taşbakan M, et al. Comparison of standard agglutination tests, enzyme immunoassay, and Coombs gel test used in laboratory diagnosis of human brucellosis[J]. Turk J Med Sci, 2018, 48(1): 62-67
- [22] 赵娜,赵赤鸿,荣蓉,等.布鲁氏菌病血清学 Brucellacapt 和 iELISA 检测方法的比较 [J]. 中国人兽共患病学报, 2014, 30(10): 1045-1047, 1051
- [23] 张广冻,陈梦茜,李俊玫,等.羊布鲁菌血清抗体 iELISA 方法的建立及应用[J].动物医学进展, 2017, 38(7): 6-11
- [24] Peeridogahch H, Golmohammadi MG, Pourfarzi F. Evaluation of ELISA and Brucellacapt tests for diagnosis of human Brucellosis[J]. Iran J Microbiol, 2013, 5(1): 14-18
- [25] Sarrou S, Skoulakis C, Hajioannou J, et al. Brucella Melitensis As Causative Agent for Neck Abscess in an Endemic Area [J]. Balkan Med J, 2017, 34(1): 78-80
- [26] 吴忠华,吕沁凤,郑伟,等.复合探针荧光定量 PCR 法检测布鲁氏菌的实验研究[J].现代生物医学进展, 2011, 11(21): 4054-4057, 4068
- [27] Carugati M, Biggs HM, Maze MJ, et al. Incidence of human brucellosis in the Kilimanjaro Region of Tanzania in the periods 2007-2008 and 2012-2014[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 2018, 112(3): 136-143
- [28] Gómez L, Alvarez F, Betancur D, et al. Brucellosis vaccines based on the open reading frames from genomic island 3 of Brucella abortus[J]. Vaccine, 2018, 36(21): 2928-2936
- [29] Baron-Epel O, Bord S, Cohen-Dar M, et al. A cross sectional survey assessing knowledge, attitudes and behaviors regarding brucellosis among Arab Israelis[J]. BMC Public Health, 2018, 18(1): 516
- [30] Conkar S, Kosker M, Cevik S, et al. Association of brucellosis with renal tubular and glomerular damage in children in Turkey[J]. Saudi J Kidney Dis Transpl, 2018, 29(2): 284-289