

云南红药对功能失调性子宫出血模型大鼠血浆血栓烷 A_2 和前列环素含量的影响

吕小波, 黄春球, 杨东加, 邓 林

(云南植物药业有限公司研发中心, 云南 昆明 650109)

摘要: 目的 考察云南红药对子宫出血模型大鼠血浆血栓烷 A_2 (TXA₂) 和前列环素 (PGI₂) 含量的影响, 进一步探讨该药物止血的作用机制。方法 采用妊娠大鼠 ig 给予米非司酮和米索前列醇, 造成早孕大鼠不完全流产复制功能失调性子宫出血模型, 模型大鼠 ig 给予云南红药 0.4, 0.2 和 0.1 g·kg⁻¹, 连续 7 d。观察其对子宫出血的治疗作用, 并检测血浆 TXA₂ 和 PGI₂ 的含量。结果 与正常对照组相比, 功能失调性子宫出血模型组大鼠的凝血酶原时间 (PT), 活化部分凝血活酶时间 (APTT) 和凝血酶时间 (TT) 明显升高, 血浆纤维蛋白原 (FIB) 显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与功能失调性子宫出血模型组比较, 云南红药 0.4 和 0.2 g·kg⁻¹ 组能明显缩短子宫出血模型大鼠的 PT, APTT 和 TT, 能明显增加子宫出血模型大鼠的 FIB ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 云南红药 0.4 g·kg⁻¹ 能明显缩短子宫出血模型大鼠的 PT 和 TT ($P < 0.05$), 但对 APTT 和 FIB 没有明显影响。与正常对照组比较, 模型组大鼠血浆 TXA₂ 的含量明显降低, 而 PGI₂ 的含量明显升高 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 云南红药 0.4 和 0.2 g·kg⁻¹ 能明显增加子宫出血模型大鼠血浆 TXA₂ 的水平以及明显降低 PGI₂ 的水平 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 而云南红药 0.1 g·kg⁻¹ 组无显著差异。结论 云南红药对子宫出血模型大鼠的凝血指标具有显著作用, 其作用机制可能与调节 TXA₂/PGI₂ 系统有关。

关键词: 云南红药; 功能性子宫出血; 血栓烷 A_2 ; 前列环素

中图分类号: R285, R984 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-3002(2011)06-0558-04

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2011.06.007

功能失调性子宫出血 (dysfunctional uterine bleeding, DUB) 是指下丘脑-垂体-卵巢轴神经内分泌调节机制失常所致的子宫异常出血。国外报道其发病率为 22%^[1], 云南红药 (Yunnan Hongyao) 是云南植物药业有限公司生产的特色品种, 处方中主要药物为云南特产的民间中草药, 主要由三七、重楼、紫金龙、制黄草乌、玉葡萄根和滑叶跌打等 10 味中药组成, 具有止血镇痛、活血散瘀和祛风除湿等功效, 对风湿性关节炎、胃溃疡出血和功能性子官出血等多种病症有显著的疗效。本实验用妊娠大鼠灌胃米非司酮和米索前列醇, 造成早孕大鼠不完全流产模型^[1-2], 观察云南红药对子宫出血模型大鼠的影响及其对大鼠血浆血栓烷 A_2 (thromboxane A_2 , TXA₂) 和前列环素 (epoprostenol, PGI₂) 含量的影响, 进一步探讨该药物止血的作用机制, 为云南红药的临床用药提供实验依据。

作者简介: 吕小波 (1979 -), 男, 硕士, 主要从事新药的药理学和毒理学研究。

通讯作者: 吕小波, E-mail: lvxiaobo_007@163.com, Tel: (0871) 8412612

1 材料与方法

1.1 动物

SD 大鼠, 雌性 (未孕), 体质量 250 ~ 300 g, 由昆明医学院实验动物中心提供, 动物许可证号: SCXK (滇) 2005-0008。

1.2 药物与试剂

云南红药胶囊, 批号: 20080702, 购自云南植物药业有限公司; 宫血宁胶囊, 批号: 20090805, 购自云南白药集团股份有限公司; 米非司酮片, 批号: 090503; 米索前列醇片, 批号: 100201, 均购自浙江仙琚制药股份有限公司; 大鼠 TXA₂ 酶联免疫分析试剂盒, 批号: 100301, 购自上海希美生物科技有限公司; 大鼠前列环素酶联免疫吸附测定试剂盒, 批号: E90727Ra, 购自武汉优尔生科技股份有限公司。

1.3 仪器

LXJ2I 型离心机, 上海医用分析仪器厂产品; 三用电热恒温水浴箱, 北京长安科学仪器厂产品; 旋涡混合器, 浙江乐城电器厂产品; 550 酶标仪, 美国 Bio-Rad 公司产品; AT250 1/10 万电子天平, 瑞士 Mettler 公司产品; AMAX-200 型全自动血凝分析仪, 德国美创公司产品。

1.4 大鼠功能失调性子宫出血模型的制备

参照文献[1-2]方法将大鼠按雌:雄2:1合笼,次晨检查雌鼠阴栓与阴道涂片,以发现阴栓或阴道涂片有精子为妊娠第1天,于怀孕第7天8:00 ig 给予米非司酮 $8.3 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$,于18:00时 ig 给予米索前列醇 $100 \mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$,造成早孕大鼠不完全流产模型。

1.5 剂量设计

云南红药胶囊的用量为一次2~3粒,一日3次,每粒0.25 g,则人每天最大用量为2.25 g,人体质量以60 kg计,人用剂量为 $0.0375 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,大鼠等效剂量以5.5倍计算(按体表面积换算),则大鼠剂量为 $0.206 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。所以,本实验云南红药剂量分别为0.4, 0.2和 $0.1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

宫血宁胶囊的用量为一次1~2粒,一日3次,每粒0.13 g,则人每天最大用量为0.78 g,人体质量以60 kg计,人用剂量为 $0.013 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,大鼠等效剂量以5.5倍计算(按体表面积换算),则大鼠宫血宁剂量为 $0.072 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

1.6 药物的配制

称取云南红药胶囊内容物2.0 g,加少量生理盐水使其混悬后,转移至50 ml量瓶,加生理盐水至刻度,摇匀,即得云南红药高剂量混悬液(质量浓度为 $40 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$);分别称取云南红药胶囊内容物1.0和0.5 g,同法制得云南红药0.2和 $0.1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 混悬液(质量浓度分别为 $20 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$ 和 $10 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$)。

1.7 动物分组和给药

将健康未孕的SD雌性大鼠100只与雄性大鼠于17:00时按2:1比例合笼,次日上午8:00进行阴道检查,以涂片镜检发现精子为妊娠第1天,取受孕大鼠60只,随机分为6组,每组10只,分别为正常对照组,模型组,阳性对照组,云南红药0.4, 0.2和 $0.1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组。除正常对照组外,其余各组动物均按1.4项方法造模。造模成功后,于妊娠第8日各

组动物开始 ig 给药,每天1次,连续7 d。阳性对照组大鼠 ig 给予宫血宁胶囊 $0.072 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,云南红药组大鼠分别 ig 给予云南红药0.4, 0.2和 $0.1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,正常对照组、模型组 ig 给予等量生理盐水。大鼠妊娠第14天,末次给药后1 h,股动脉放血处死大鼠,取血检测各项指标。

1.8 凝血指标的检测

采用全自动凝血分析仪测定凝血酶原时间(prothrombin time, PT),活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT),凝血酶时间(thrombin time, TT),血浆纤维蛋白原(fibrinogen, FIB);血浆TXA₂和PGI₂均采用试剂盒测定,采用固相夹心法酶联免疫吸附法进行检测。

1.9 统计学分析

实验结果数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS11.5软件进行统计学分析,组间比较进行Independent-Samples *t* 检验。

2 结果

2.1 云南红药对功能失调性子宫出血模型大鼠凝血指标的影响

如表1所示,与正常对照组相比,模型组大鼠的PT, APTT, TT和FIB有显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.01$);与模型组比较,云南红药0.4和 $0.2 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组及阳性对照组能明显缩短子宫出血模型大鼠的PT, APTT和TT,能明显增加子宫出血模型大鼠的FIB($P < 0.05$, $P < 0.01$);云南红药 $0.1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组能明显缩短子宫出血模型大鼠的PT和TT, ($P < 0.05$)但对APTT和FIB没有明显影响。云南红药组与阳性对照组相比没有明显差异,云南红药0.4, 0.2和 $0.1 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组之间呈现一定剂量-效应关系,但组间没有明显差异。

表1 云南红药对功能失调性子宫出血模型大鼠凝血指标的影响

Tab.1 Effect of Yunnan Hongyao on thrombin indicators in dysfunctional uterine bleeding rats

组别	PT/s	APTT/s	TT/s	FIB/ $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$
正常对照	10.9 ± 0.6	22.3 ± 3.1	24.6 ± 2.0	4.5 ± 0.5
子宫出血模型	$12.6 \pm 1.1^{**}$	$26.0 \pm 2.6^*$	$29.5 \pm 2.9^{**}$	$3.3 \pm 0.6^{**}$
宫血宁胶囊 $0.072 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$11.1 \pm 0.6^{\#}$	$21.1 \pm 4.0^{\#}$	$23.9 \pm 3.1^{\#\#}$	$4.1 \pm 0.4^{\#}$
云南红药 $0.4 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$10.9 \pm 0.5^{\#\#}$	$22.2 \pm 2.6^{\#}$	$24.4 \pm 3.9^{\#\#}$	$4.4 \pm 0.8^{\#}$
0.2 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$10.8 \pm 0.4^{\#\#}$	$22.5 \pm 3.2^{\#}$	$24.3 \pm 4.6^{\#}$	$4.1 \pm 0.5^{\#}$
0.1 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	$11.0 \pm 1.7^{\#}$	23.2 ± 4.3	$24.6 \pm 4.1^{\#}$	3.9 ± 0.5

PT: 凝血酶原时间; APTT: 活化部分凝血活酶时间; TT: 凝血酶时间; FIB: 血浆纤维蛋白原. $\bar{x} \pm s$, $n=10$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与正常对照组比较; $\#P < 0.05$, $\#\#P < 0.01$, 与模型组比较。

2.2 云南红药对子宫出血模型大鼠血浆 TXA₂ 和 PGI₂ 的影响

与正常对照组大鼠比较,模型组大鼠在造模后,血浆 TXA₂ 的含量明显降低,而 PGI₂ 的含量明显升高($P < 0.01$)。云南红药 0.4 和 0.2 g·kg⁻¹ 组及阳性对照组能明显增加子宫出血模型大鼠血浆 TXA₂ 的水平、降低 PGI₂ 的水平,与模型组相比有显著差异($P < 0.01$, $P < 0.05$),而云南红药低剂量组无显著差异。与阳性对照组相比,云南红药 0.4, 0.2 和 0.1 g·kg⁻¹ 组没有明显差异。云南红药 0.4 和 0.1 g·kg⁻¹ 之间有显著差异($P < 0.05$),并呈现明显的剂量-效应关系。结果见表 2。

表 2 云南红药对功能失调性子宫出血模型大鼠血浆血栓烷 A₂ (TXA₂) 和前列环素 (PGI₂) 的影响

Tab. 2 Effect of Hunnan Hongyao on serum thromboxane A₂ (TXA₂) and epoprostenol (PGI₂) in dysfunctional uterine bleeding rats

组别	TXA ₂ /ng·L ⁻¹	PGI ₂ /ng·L ⁻¹
正常对照	511 ± 43	140 ± 24
模型	434 ± 28 ^{**}	178 ± 10 ^{**}
宫血宁胶囊 0.072 g·kg ⁻¹	491 ± 26 ^{##}	160 ± 5 ^{##}
云南红药 0.4 g·kg ⁻¹	494 ± 22 ^{##Δ}	152 ± 9 ^{##Δ}
0.2 g·kg ⁻¹	485 ± 40 [#]	160 ± 8 [#]
0.1 g·kg ⁻¹	451 ± 43	162 ± 10

$\bar{x} \pm s$, $n = 10$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与正常对照组比较; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$, 与模型组比较; Δ $P < 0.05$, 与云南红药 0.1 g·kg⁻¹ 组比较。

3 讨论

TXA₂ 是由前列环素 H₂ (prostaglandin H₂, PGH₂) 经血栓素合成酶的作用生成,主要在血小板微粒体合成与释放,亦有报道 TXA₂ 的合成来源于血管内皮细胞 (vascular endothelial cell, VEC) 释放的花生四烯酸 (AA) 转移至血小板微粒体内合成 TXA₂ 再释放出来^[3]。TXA₂ 是目前所知体内合成的最强的缩血管物质之一,同时 TXA₂ 可抑制血小板膜上的腺苷环化酶,使 cAMP 的生成减少,促进血小板活化、聚集,促进血栓形成。另一种是 PGI₂,它是由 PGH₂ 在前列环素合酶的作用下生成。PGI₂ 主要由血管内皮细胞产生,能抑制 ADP、胶原、AA 等

诱导的血小板聚集和释放,同时扩张血管。PGI₂ 在防止血小板在血管局部的聚集和血栓形成方面有重要的作用^[4]。当血小板活化后释放 TXA₂,通过刺激 TXA₂ 受体,升高胞内 Ca²⁺ 离子浓度,产生各种生物学效应:血小板激活与积聚,血细胞黏附、血管收缩等。因此, TXA₂ 和 PGI₂ 的平衡维持了适当的冠脉张力和血小板内环境的稳定,对控制正常的止血机制及防止血栓形成具有重要的病理生理意义^[5-9]。当 TXA₂ 生成增加或 PGI₂ 产生减少时,就可导致血小板活化,促进血栓形成,产生止血作用。

本实验结果显示,云南红药对功能失调性子宫出血模型大鼠的凝血指标具有显著作用,充分显示出其止血的功效,其作用机制可能与促进 TXA₂ 的合成和抑制 PGI₂ 的合成有关。

参考文献:

- [1] Chen BH, Giudice LC. Dysfunctional uterine bleeding [J]. *West J Med*, 1998, **169**(5):280-284.
- [2] 王晓东, 赵军宁, 张白嘉, 邓治文, 彭晓华, 董岷. 药物致早孕大鼠子宫出血模型的建立 [J]. *中国药理学通报*, 1999, **15**(2):182-184.
- [3] Pfister SL. Role of platelet microparticles in the production of thromboxane by rabbit pulmonary artery [J]. *Hypertension*, 2004, **43**(2):428-433.
- [4] Nieuwenhuys CM, Feijge MA, Offermans RF, Kester AD, Hornstra G, Heemskerk JW. Modulation of rat platelet activation by vessel wall-derived prostaglandin and platelet-derived thromboxane: effects of dietary fish oil on thromboxane-prostaglandin balance [J]. *Atherosclerosis*, 2001, **154**(2):355-366.
- [5] 陈春, 杨天伦. TXA₂/PGI₂ 与心血管疾病 [J]. *现代生物医学进展*, 2008, **8**(11):2166-2168, 2172.
- [6] 杨军, 奚九一. 清营化痰冲剂对大鼠下肢深静脉血栓 TXA₂/PGI₂ 的影响 [J]. *北京中医药*, 2010, **29**(10):785-787.
- [7] 金鸣. 活血化瘀与自由基损伤 [J]. *中草药*, 1993, **24**(5):269-271.
- [8] 张爱娟, 周序斌. 血管内皮细胞的损伤及机理的研究进展 [J]. *中国药理学通报*, 1993, **9**(5):326-329.
- [9] 窦肇华, 张远强, 郭顺根. 免疫细胞学与疾病 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004:735-799.

Effect of Yunnan Hongyao on serum thromboxane A₂ and epoprostenol in dysfunctional uterine bleeding rats

LÜ Xiao-bo, HUANG Chun-qiu, YANG Dong-jia, DENG Lin

(Department of Research and Development, Yunnan Phytopharmaceutical Co., Ltd, Kunming 650109, China)

Abstract: OBJECTIVE To investigate effect of Yunnan Hongyao on serum thromboxane A₂ (TXA₂) and epoprostenol (PGI₂) in dysfunctional uterine bleeding (DUB) rats, and explore its mechanism. **METHODS** DUB models in rats were established by administering intragastrically with mifepristone and misoprostol to pregnant rats. After management, the serum prothrombin time (PT), activated partial thromboplastin time (APTT), thrombin time (TT) and fibrinogen (FIB) levels were detected, and serum TXA₂ and PGI₂ levels were determined with ELISA method. **RESULTS** Compared with DUB model group, Yunnan Hongyao had significantly therapeutic effect on DUB rats, and serum PT, APTT and TT levels significantly decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), however levels of serum FIB significantly increased in Yunnan Hongyao 0.4 and 0.2 g·kg⁻¹ groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$), respectively. In addition, serum PT and TT levels significantly decreased in Yunnan Hongyao 0.1 g·kg⁻¹ group ($P < 0.05$) than those in normal control group, and serum TXA₂ levels significantly decreased and serum PGI₂ levels significantly increased in DUB model group. Compared with DUB model group, serum TXA₂ levels significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and serum PGI₂ levels significantly decreased in Yunnan Hongyao 0.4 and 0.2 g·kg⁻¹ groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **CONCLUSION** Yunnan Hongyao can effectively cure dysfunctional uterine bleeding rats.

Key words: Yunnan Hongyao; dysfunctional uterine bleeding; thromboxane A₂; epoprostenol

Corresponding author: LÜ Xiao-bo, E-mail: lvxiaobo_007@163.com, Tel: (0871)8412612

(收稿日期: 2010-12-02 接受日期: 2011-05-10)

(本文编辑: 付良青)

欢迎订阅《中国药理学与毒理学杂志》

《中国药理学与毒理学杂志》(CJPT)是新闻出版署正式批准,由中国药理学会、中国毒理学会及军事医学科学院毒物药物研究所共同主办的学术期刊。主要刊登实验药理学与实验毒理学各分支学科的研究论著、综述、短讯及新技术方法。投稿请登录 www.cjpt.ac.cn 在线投稿;通过本刊网站还可以免费阅读全文。

CJPT 为双月刊,国内外公开发行。国内统一刊号 CN11-1155R,国内邮发代号:82-140,国外邮发代号:BM-1051。国内每期定价为 15.0 元,全年定价 90.0 元。可以通过邮局订阅,也可以直接联系编辑部补订。

地址:北京市海淀区太平路 27 号毒物药物研究所《中国药理学与毒理学杂志》编辑部,邮编 100850

电话:(010)68276743,66931617

E-mail: cjpt@nic.bmi.ac.cn