

“助孕丸”对肾虚-内膜抑制大鼠妊娠结局的影响^{*}

曹 蕾¹, 罗颂平^{1△}, 欧汝强² (1. 广州中医药大学第一附属医院妇科, 广东 510405; 2. 广东省计划生育研究所, 广东 510600)

【摘要】 目的 探讨“助孕丸”对肾虚-内膜抑制大鼠妊娠结局的影响。**方法** 建立肾虚-内膜抑制大鼠妊娠模型, 比较在不同生理阶段应用“助孕丸”后各组大鼠妊娠胚胎数、外周血及蜕膜中白血病抑制因子(LIF)的水平。**结果** 肾虚-内膜抑制大鼠妊娠前、后均予以“助孕丸”干预后, 妊娠胚胎数及蜕膜 LIF 水平均较其他模型大鼠明显增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。正常大鼠预防性使用“助孕丸”助孕、安胎后, 蜕膜 LIF 水平及妊娠胎数与空白对照大鼠比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 孕前至妊娠早、中期使用“助孕丸”能有效提高肾虚-内膜抑制大鼠蜕膜 LIF 水平、增加妊娠胎数。

【关键词】 “助孕丸”; 子宫内膜容受性; 肾虚证; 妊娠; 大鼠

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.20.008 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)20-2818-02

The inhibitory influence of Zhuyun pill on pregnancy outcome in rats of kidney deficiency- endometrial^{*} CAO Lei¹, LUO Song-ping^{1△}, OU Ru-qiang² (1. Department of Gynaecology, the First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510405, China; 2. Guangdong Institute of planned parenthood research, Guangzhou, Guangdong 510600, China)

【Abstract】 Objective To explore the influence of Zhuyun pill on pregnancy outcome of kidney-deficiency and endometrial-suppression rats. **Methods** kidney-deficiency and endometrial-suppression of pregnant rats models were established, and embryo number, the content of leukemia inhibitory factor(LIF) in the peripheral blood and decidua were compared among the groups after treated by Zhuyun pill in different physiological stages. **Results** The deficiency of kidney-endometrial inhibited rats before pregnancy, were treated by Chinese medicine intervention. The number of embryos and pregnancy decidual LIF content of kidney-deficiency and endometrial-suppression treated by Zhuyun pill before and after pregnancy were increased significantly, compared with other model rats ($P < 0.05$). After prevention use of Zhuyun pill in normal rats, there was no significant difference in decidual LIF content and number of embryos, compared with the blank control rats ($P > 0.05$). **Conclusion** Using Zhuyun pill before pregnancy, early pregnancy and mid pregnancy could effectively increase the content of LIF and the number of embryos in rats with the kidney-deficiency and endometrial-suppression.

【Key words】 Zhuyun pill; endometrial receptivity; kidney deficiency syndrome; pregnancy; rat

良好的子宫内膜容受性是胚胎成功着床的必需条件, 实验发现白血病抑制因子(LIF)基因敲除的小鼠胚胎发育正常但无法着床^[1], 因此 LIF 被认为是评价子宫内膜容受性的分子生物学标志物之一。前期实验发现羟基脲所致肾虚大鼠模型会出现子宫内膜腺上皮细胞分泌、传导功能受损, 内膜 LIF 水平明显减少, 可影响子宫内膜容受性从而改变妊娠结局。中医“治未病”的思想旨在避免疾病的发生、发展, 因此本研究在前期实验基础上设计中药“治未病”环节, 以进一步阐述在罗元恺教授指导下拟定“助孕丸”的助孕、安胎机制, 现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物 SPF 级 8~10 周龄 SD 大鼠, 雌性 30 只, 体质量 200~250 g; 雄性 30 只, 体质量 300~350 g, 均由广州中医药大学实验动物中心[许可证号: SCXK(粤)2008-0002 粤监证字 20080007]提供。实验场地具备无特定病原体(SPF)级环境合格证[实验动物使用许可证: SYXK(粤)2008-0092; 广东省动物实验环境设施检测合格证: 粤监证字 2008C067 号]。随

机将大鼠分为 6 组, 每组 10 只。

1.2 实验药物 羟基脲片(齐鲁制药有限公司)每片 500 mg, 国字 H37021289。“助孕丸”由菟丝子、桑寄生、党参、白术等 8 味中药组成, 药液由广州中医药大学第一附属医院中药房统一代煎提供。

1.3 方法

1.3.1 大鼠分组 A 组为肾虚+孕前后均用“助孕丸”干预大鼠; B 组为肾虚+孕后“助孕丸”干预大鼠; C 组为肾虚大鼠; D 组为正常妊娠+孕前后均用“助孕丸”干预大鼠; E 组为正常妊娠大鼠; F 组为正常妊娠+孕前“助孕丸”干预大鼠。前 3 组建立肾虚-内膜抑制大鼠妊娠模型, 后 3 组为正常大鼠。

1.3.2 实验用药 A、B、C 组大鼠建立肾虚-内膜抑制大鼠妊娠模型, 每天给予羟基脲 450 mg/kg 灌胃, 连续 8 d; D、F 组大鼠每天给予“助孕丸”4 mL/kg 灌胃, 连续 8 d; E 组大鼠每天给予生理盐水 4 mL/kg 灌胃, 连续 8 d。自妊娠第 1 天所有大鼠给予以下药物灌胃, 每天 1 次, 共 10 d。A 组“助孕丸”4 mL/kg; B 组“助孕丸”4 mL/kg; C 组生理盐水 4 mL/kg; D 组

^{*} 基金项目: 广东省教育厅普通高校重点实验室开放基金资助项目(ZF201115)。

作者简介: 曹蕾, 女, 博士, 主治医师, 主要从事中医药防治自然流产的研究。△ 通讯作者, E-mail: songpingluo@outlook.com。

“助孕丸”4 mL/kg; E 组生理盐水 4 mL/kg; F 组生理盐水 4 mL/kg。

1.4 指标检测及判断 (1)于妊娠第 11 天,10%水合氯醛腹腔注射麻醉后,用毛细玻璃管自大鼠眼睛内眦收集静脉血,离心后收集血清,酶联免疫吸附试验法(ELISA)测血清 LIF 水平;(2)取每组大鼠离体子宫右侧中部 1/3 进行石蜡包埋、横断面切片后,按免疫组化操作规程进行 LIF 抗体标记。按显色强度分为无色、淡黄、黄色、棕黄色,分别计为 0、1、2、3 分;按阳性细胞占同类细胞的比例分为 0、0~1/3、1/3~2/3、2/3~1,分别计为 0、1、2、3 分。将两项积分相乘,0 分为阴性,1~3 分为弱阳性,4~6 分为中等阳性,9 分为强阳性。

1.5 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件对数据进行统计学分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

C 组大鼠妊娠胎数与其余各组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。各组大鼠外周血 LIF 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$);B、C 组妊娠大鼠蜕膜 LIF 水平均较 A 组明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$);B 组妊娠大鼠蜕膜 LIF 水平亦较 E 组明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 各组妊娠大鼠胚胎数和妊娠大鼠外周血及蜕膜 LIF 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	胚胎数(个)	蜕膜 LIF 水平	外周血 LIF 水平
A 组	10	14.25±3.41	1.25±0.37	0.063±0.004
B 组	10	12.17±5.15	0.93±0.31 ^{ab}	0.064±0.006
C 组	10	9.50±5.32 ^c	0.93±0.28 ^a	0.063±0.003
D 组	10	11.86±4.60	1.02±0.24	0.062±0.003
E 组	10	12.63±3.02	1.23±0.27	0.067±0.007
F 组	10	11.29±3.15	1.13±0.21	0.063±0.008

注:与 A 组比较,^a $P<0.05$;与 E 组比较,^b $P<0.05$;与其余各组比较,^c $P<0.05$ 。

3 讨 论

生活环境和方式的改变,使人类生殖健康面临着诸多问题和挑战,不孕率、流产率逐年上升^[2]。辅助生殖技术的出现和迅速发展,在一定程度上解决了部分生殖障碍的困扰^[3]。但由于卵巢低反应、胚胎着床障碍等问题,使临床妊娠率仅维持在 40%。其中,子宫内膜容受性不良是影响胚胎着床,影响妊娠成功率的重要因素。研究显示在出现胞饮泡的内膜组织中 LIF 和 LIF 受体高表达^[4],而在不明原因不孕和复发性流产妇女黄体中期子宫内膜 LIF 水平明显降低^[5],因此学者们认为 LIF 和 LIF 受体与内膜容受性密切相关^[6]。本实验中,肾虚-内膜抑制大鼠(C 组)妊娠胎数较其余各组减少,同时伴有组织中 LIF 水平减少,而各组大鼠外周血 LIF 水平比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。因此可认为 LIF 主要集中于组织局部以发挥生物学作用。

在中医中子宫属奇恒之府,主月经与孕育,具有定期藏泻的功能。若肾气亏虚,机体功能调节失常,直接影响子宫对囊胚的接受及胚胎日后的生长发育。现代研究亦认为“肾藏精”功能,涵盖了激素-抗体-神经系统构筑的网络功能,具有调节内分泌-免疫-神经系统的功能^[7]。本实验结果显示,肾虚-内膜抑制大鼠妊娠后蜕膜 LIF 水平减少,可认为是肾虚证的微观表现之一。

“助孕丸”是在寿胎丸的基础上加减而成,补肾健脾并重。其中菟丝子为君,既补肾阳又益阴精,且不滞不燥,平补脾肾。续断、桑寄生二者既补肝肾,又能调补冲任,与菟丝子相配伍共建补肾安胎之效。党参、白术,具补气健脾之功效,使气旺生血。全方共补肾中先、后天之精,使肾气渐充,机体调节有度,胎有所孕,且无滋腻、燥热之弊。既往研究提示“助孕丸”有提高妊娠成功率、维持妊娠以及胚胎保护的作用^[8-10]。本实验中,肾虚大鼠妊娠前或妊娠后使用“助孕丸”均能提高肾虚大鼠妊娠后蜕膜 LIF 水平,妊娠前后均使用“助孕丸”的肾虚大鼠妊娠胎数较模型大鼠明显增加。提示“助孕丸”还可以上调肾虚大鼠妊娠后蜕膜 LIF 水平,改善蜕膜局部免疫功能,提高肾虚大鼠生育能力。

从中医学角度,肾主生殖,存在生殖障碍、寻求辅助生育技术的育龄期女性多属“肾虚”。根据中医“治未病”的理论,若通过在妊娠前或辅助生育前即对相应人群进行“预培其损”,以期提高妊娠成功率,这对减少患者经济、心理压力有着重要的现实意义。因此本实验对肾虚大鼠,妊娠前即予以“助孕丸”补肾,妊娠后继续用药安胎预防流产,结果表明此法可使肾虚大鼠妊娠后蜕膜 LIF 水平及妊娠胎数明显增加。但实验结果同时表明,对正常大鼠的“预防性”助孕、安胎治疗与空白对照正常大鼠妊娠结局并无差异。说明日常生活中正常人群妊娠前期或妊娠期无需盲目滥补。

参考文献

[1] Xu BF, Sun XX, Li L, et al. Pinopodes, leukemia inhibitory factor, integrin-beta 3, and mucin-1 expression in the peri-implantation endometrium of women with unexplained recurrent pregnancy loss[J]. Fertil Steril, 2012, 98(2): 389-395.

[2] 蒋亚玲, 李冰, 邢福祺, 等. 内异症不孕患者种植窗期子宫内膜组织中差异蛋白的表达及其与子宫内膜容受性的关系[J]. 中华妇产科杂志, 2012, 47(5): 324-327.

[3] 陈瑾, 陈晓勇, 王振迎. 补肾健脾活血法对超排卵小鼠种植窗期子宫内膜 LIF 表达的影响[J]. 中国妇幼保健, 2011, 26(13): 2024-2027.

[4] 刘海燕, 张士表, 杜晓丽, 等. “治未病”理论在不孕不育症中的应用[J]. 河北中医, 2013, 35(4): 526-527.

[5] 钟燕梅, 徐晓娟, 黄立华. 从“肾主生殖”论多囊卵巢综合征不孕现状分析[J]. 成都中医药大学学报, 2014, 37(1): 125-127.

[6] 周从蓉. 寿胎丸加味配合克罗米芬干预肾虚型黄体功能不全性不孕的临床观察[J]. 中国临床医生, 2014, 10(5): 45-47.

[7] 赵颖, 罗颂平. 孕期溴氰菊酯染毒对仔鼠生殖功能的影响及中药的干预作用[J]. 中国男科学杂志, 2010, 24(7): 3-6.

[8] 刘敏华, 张翠珍, 石静芳, 等. 不孕症病因分析[J]. 河北医药, 2012, 34(5): 730-731.

[9] 李丽丽. 宫腹腔镜联合在不孕症诊治中的临床应用[J]. 检验医学与临床, 2013, 10(17): 2299-2300.

[10] 李录花. 调补肝肾法治疗无排卵性不孕症 97 例[J]. 中国中医药现代远程教育, 2011, 9(11): 34-35.