

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2014.10.020

补肾温阳化瘀方对子宫内膜异位症模型小鼠 BK/BKB1R、PGF2 α 水平的影响

陈景伟¹, 杜惠兰^{1,*}, 仝瑞晓¹, 高 星¹, 田茜华¹, 马惠荣², 马雪莲²

(1. 河北医科大学, 河北省石家庄市中山路 361 号, 050017; 2. 河北中医学院中西医结合生殖疾病协同创新中心)
基金项目: 河北省中医药管理局科研基金资助项目 (2008001)

摘要 **目的** 探讨补肾温阳化瘀方干预子宫内膜异位症痛经的作用机制。 **方法** 将 75 只 BALB/c 雌性小鼠随机分为假手术组、模型组、中药高剂量组、中药低剂量组与西药组, 每组 15 只。除假手术组外, 其余各组小鼠均采用手术移植法复制子宫内膜异位症痛经模型。造模同时中药高、低剂量组分别每日予补肾温阳化瘀方 61.67、15.42g/kg 和戊酸雌二醇 0.5 mg/kg, 西药组每周 2 次予孕三烯酮 0.4 mg/kg 和戊酸雌二醇 0.5 mg/kg。于造模 12 天腹腔注射缩宫素后观察各组小鼠扭体反应, 测量异位灶体积, 检测小鼠血清血管舒缓激肽 (BK)、前列腺素 F2 α (PGF2 α) 含量, 免疫组化法和 western blotting 法检测子宫和异位灶缓激肽 B1 受体 (BKB1R) 蛋白表达, RT-PCR 法检测子宫和异位灶 BKB1R mRNA 的表达。 **结果** 造模第 12 天, 除假手术组外, 其余各组小鼠均成功诱发扭体反应并见异位灶。与模型组比较, 中药高剂量组、中药低剂量组与西药组扭体潜伏期均明显延长、扭体次数显著减少、异位灶体积减小 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较, 中药高剂量组、中药低剂量组、西药组血清 BK、PGF2 α 含量显著下降, 子宫及异位灶 BKB1R 蛋白及其 mRNA 表达显著降低 ($P < 0.01$), 且中药高剂量组子宫内膜异位灶 BKB1R mRNA 明显低于西药组 ($P < 0.01$)。 **结论** 补肾温阳化瘀方能有效防治子宫内膜异位症, 其机制可能与降低血清 BK 及 PGF2 α 含量、抑制 BKB1R 蛋白及其 mRNA 的表达有关。

关键词 子宫内膜异位症; 缓激肽; 缓激肽 B1 受体; 前列腺素 F2 α ; 补肾温阳化瘀方

子宫内膜异位症 (endometriosis, EMs) 临床表现为痛经、不孕、月经失调、盆腔包块等, 其中痛经是最突出的症状, 严重影响患者的生活质量。补肾温阳化瘀方具有补肾温阳、化瘀定痛的作用, 前期研究表明对 EMs 痛经具有良好的缓解作用^[1-4]。为进一步研究补肾温阳化瘀方干预 EMs 疼痛的作用机制, 本实验在前期研究基础上^[5], 建立近交系 BALB/c 小鼠 EMs 痛经模型, 观察补肾温阳化瘀方对 EMs 模型小鼠缓激肽 (BK)、缓激肽 B1 受体 (BKB1R) 及前列腺素 F2 α (PGF2 α) 的影响, 以期临床研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 动物

75 只雌性清洁级 BALB/c 小鼠, 6~8 周龄, 性周期 4~5 天, 体重 (20 $\pm$ 2) g, 购自河北省实

验动物中心, 实验动物许可证号: SCXK (冀) 2008-1-003。

1.2 药物

补肾温阳化瘀方 (炮附片 6g, 肉桂 10g, 延胡索 15g, 川芎 10g, 川牛膝 10g 等), 购自石家庄乐仁堂。将上述中药煎煮浓缩成中药高剂量、中药低剂量药液, 含生药量分别为 6.17 g/ml、1.54 g/ml。孕三烯酮胶囊, 北京紫竹药业有限公司, 批号 5312060227; 戊酸雌二醇片 (补佳乐), 拜耳医药保健有限公司广州分公司, 批号 222A; 缩宫素注射液, 上海禾丰制药有限公司, 批号 120509。

1.3 试剂

BK 酶联免疫试剂盒, Enzo Life Sciences 公司, 批号 01231314B; 兔抗 BKB1R 多克隆抗体, Sata 公司, 批号 A1413; PGF2 α 酶联免疫试剂盒, Enzo Life Sciences 公司, 批号 12301111A; β -actin: 杭州华安生物技术有限公司, 批号 R1207; 兔二抗:

* 通讯作者: duhuilan@163.com, (0311) 83932190

美国 Rockland 公司, 批号 611 - 131 - 122; Trizol (RNA 提取试剂): 美国 Invitrogen 公司, 批号 15596 - 026; M-MLV 反转录试剂盒: 加拿大 MBI 公司, 批号 K1622; SYBR Green 荧光定量 PCR 试剂盒: 加拿大 MBI 公司, 批号 K0251。

1.4 仪器

MK3 酶标仪: 芬兰雷勃; 170-3940 半干式蛋白质印迹转膜槽: 美国 Bio-Rad 公司; Odyssey 红外荧光扫描成像系统: 美国基因有限公司; ABI 7300 PCR 仪: 美国应用生物系统公司。

1.5 模型建立及分组

75 只近交系 BALB/c 雌性小鼠采用随机数字表法分为假手术组、模型组、中药高剂量组、中药低剂量组、西药组, 每组 15 只。所有小鼠术前 2 天以戊酸雌二醇片 0.5 mg/kg 灌胃, 使手术时小鼠处于统一动情期 (阴道涂片为大量无核角化细胞)。除假手术组外, 其余各组参考文献 [6] 复制 EMs 模型, 假手术组只需开腹找到左侧子宫, 然后缝合腹部切口。所有小鼠术后连续 3 天肌肉注射庆大霉素预防感染 [7]。术后 1~12 天各组按以下方案灌胃: 模型组: 上午纯净水, 下午戊酸雌二醇 0.5 mg/kg; 中药高、低剂量组: 上午补肾温阳化瘀方浓缩液 61.67 g/kg、15.42 g/kg, 下午戊酸雌二醇 0.5 mg/kg; 西药组每周 2 次孕三烯酮 0.4 mg/kg, 6 h 后戊酸雌二醇 0.5 mg/kg, 其余时间给等量纯净水; 假手术组均给予等量纯净水。灌胃容积按照 1 ml/100 g。于第 12 天末次给戊酸雌二醇后 1 小时, 腹腔注射缩宫素 2 U/只 (0.2 ml) 诱发扭体反应。在 EMs 造模成功的基础上出现扭体反应 [8-9] 即为 EMs 痛经模型制作成功: ①移植物体积增大; ②移植物表面有血管形成; ③移植物呈小囊状, 内含清亮液体; ④病理检查移植物中有子宫内膜腺体和间质细胞; ⑤出现扭体反应。假手术组腹腔注射等量生理盐水。

1.6 检测指标及方法

扭体观察结束后腹腔注射 5% 水合氯醛 (6 ml/kg) 麻醉 [10], 断头取血约 2 ml, 以 3 000 r/min, 离心 15 min, 分离血清, -80℃ 保存用于 ELISA 检测。采血后逐层打开腹腔, 观察异位灶形态并用游标卡尺测量移植物体积 (长 × 宽 × 高, 单位 mm³), 测量体积后, 迅速取出异位灶组织和子宫, 部分组织立即置于 4% 多聚甲醛溶液中固定, 常规石蜡包埋, 4 μm 厚度连续切片, 用于 HE 染色和免疫组化染色; 部分组织立即置于液氮, 后转入 -

80℃ 保存用于 western blotting 检测及 RT-PCR 检测。

1.6.1 血清 PGF2α、BK 的含量 采用酶联免疫吸附法测定血清 PGF2α、BK 的含量, 严格按照试剂盒说明书操作。

1.6.2 子宫和异位灶 BKB1R 蛋白的表达 免疫组织化学法检测 BKB1R 在子宫及异位灶的表达, 并采用同济医科大学千屏影像工程公司 HMIAS-2000 高清晰度彩色病理图文分析系统分析 BKB1R 表达的平均光度值, 每一切片测 5 个视野。

采用 Western blotting 法, 参考文献 [1] 提取蛋白, 100 mg 组织加入 500 μl 裂解液, 蛋白定量, 取调整浓度 4 μg/μl 的样品 40 μl, 加 10 μl 的 5 × 上样缓冲液, 混匀后变性、冷却离心, -20℃ 保存备用。配制 10% 的分离胶 10 ml 和 5% 浓缩胶 5 ml, 插梳子, 待其凝固后上样, 每孔中加样品 25 μl, 90 V 恒压下电泳 1.5 h, 至溴酚蓝迁移至距凝胶底部 0.5 cm, 电泳完毕, 以 20 V 恒压转膜 30 min, 5% 奶粉室温封闭 2 h, 加一抗 BKB1R 兔抗多克隆抗体 (1:200), 4℃ 孵育过夜, TBST 漂洗 3 次, 每次 10 min。加二抗 (1:15 000), 室温振荡 1 h, TBST 漂洗 3 次, 每次 10 min, TBS 漂洗 1 次, 10 min。Odyssey 发光仪检测抗体特异结合条带, 扫描显影, 以各条带与 β-actin 的比值为半定量指标。

1.6.3 子宫和异位灶 BKB1R mRNA 的表达 采用 RT-PCR 法, 将组织用 Trizol 一步法提取总 RNA, 紫外分光光度计测定 RNA 的纯度。反转录于 PCR 仪上 42℃ 进行 50 min, 95℃ 加热 5 min, 灭活反转录酶, 然后进行 40 个循环反应: 94℃ 30 s, 58℃ 30 s, 72℃ 30 s, 于每个循环的第三个步骤收集荧光信号, 扩增完毕进入结果分析界面, 以 GAPDH 为内参照基因, 与对照组相比, 得到目的基因的 Ct 值, 按照公式 $RQ = 2^{-\Delta\Delta Ct}$ 计算目的基因表达的相对定量值 (RQ 值), 将 RQ 值用于统计分析。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件进行数据分析。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 对所测定结果进行正态性及方差齐性检验。组间比较用单因素方差分析; 两变量相关关系用直线相关分析, 以 Pearson 相关系数表示。

2 结果

2.1 各组小鼠扭体反应比较

给药过程中灌胃发生意外致使中药高剂量组剂

余 13 只, 西药组剩余 14 只, 其他组均剩余 15 只。表 1 示, 除假手术组外, 其余组均出现扭体反应; 与模型组比较, 中药高剂量组、中药低剂量组、西药组扭体潜伏期明显延长, 扭体次数显著减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 各给药组之间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组小鼠扭体反应比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	扭体潜伏期 (s)	扭体次数 (次)
假手术组	15	—	—
模型组	15	32.30 ± 9.99	21.60 ± 9.85
中药高剂量组	13	87.88 ± 25.43**	13.25 ± 5.06*
中药低剂量组	15	90.80 ± 31.93**	9.60 ± 4.90**
西药组	14	89.44 ± 23.82**	7.33 ± 4.61**

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.2 各组小鼠异位灶体积比较

表 2 示, 除假手术组外, 其余各组小鼠均见移植植物生长; 与模型组比较, 中药高剂量组、中药低剂量组、西药组异位灶体积明显缩小 ($P < 0.01$), 各治疗组之间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 各组小鼠异位灶体积比较 ($\text{mm}^3, \bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	体积
假手术组	15	—
模型组	15	43.34 ± 10.89
中药高剂量组	13	22.89 ± 8.70*
中药低剂量组	15	19.54 ± 7.75*
西药组	14	27.67 ± 10.50*

注: 与模型组比较, * $P < 0.01$

2.3 各组小鼠血清 BK、PGF2 α 含量比较

表 3 示, 模型组小鼠血清 BK、PGF2 α 含量显著高于假手术组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 中药高剂量组、中药低剂量组、西药组血清 BK、PGF2 α 含量显著下降 ($P < 0.01$)。

表 3 各组小鼠血清 BK、PGF2 α 水平比较 (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	血清 BK (ng/ml)	PGF2 α
假手术组	15	3.36 ± 1.00**	4.17 ± 0.54*
模型组	15	7.27 ± 0.71	5.26 ± 0.55
中药高剂量组	13	4.40 ± 1.11**	3.79 ± 0.68**
中药低剂量组	15	4.53 ± 1.94**	3.62 ± 0.60**
西药组	14	4.63 ± 1.35**	3.26 ± 1.39**

注: 与模型组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.4 血清 BK、PGF2 α 浓度及扭体反应的相关性分析

表 4 示, 72 只大鼠血清 BK、PGF2 α 浓度与扭体次数呈正相关关系 ($P < 0.01$); PGF2 α 浓度与

扭体潜伏期呈负相关关系, PGF2 α 与 BK 呈正相关关系 ($P < 0.05$); BK 与扭体潜伏期之间未发现相关关系 ($P > 0.05$)。

表 4 血清 BK、PGF2 α 浓度及扭体反应的相关性

项目	鼠数	BK 与扭体次数	BK 与扭体潜伏期	PGF2 α 与扭体次数	PGF2 α 与扭体潜伏期	BK 与 PGF2 α 相关
系数 r	72	0.712	-0.307	0.590	-0.518	0.458
P 值	72	0.000	0.188	0.006	0.019	0.021

2.5 各组小鼠子宫和异位灶 BKB1R 蛋白的表达

免疫组化法检测结果显示, BKB1R 主要定位表达于子宫腺体及间质细胞浆, 呈棕黄色颗粒。表 5 示, 模型组子宫 BKB1R 表达显著高于假手术组 ($P < 0.01$)。中药高剂量组、中药低剂量组、西药组子宫及异位灶 BKB1R 蛋白表达较模型组显著降低, 但子宫 BKB1R 蛋白仍较假手术组升高 ($P < 0.01$), 各治疗组之间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 5 免疫组化法检测各组小鼠子宫和异位灶 BKB1R 蛋白表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	子宫	异位灶
假手术组	15	0.13 ± 0.01*	—
模型组	15	0.36 ± 0.04	0.32 ± 0.03
中药高剂量组	13	0.21 ± 0.01*▲	0.24 ± 0.01*
中药低剂量组	15	0.22 ± 0.03*▲	0.25 ± 0.02*
西药组	14	0.24 ± 0.03*▲	0.26 ± 0.02*

注: 与模型组比较, * $P < 0.01$; 与假手术组比较, ▲ $P < 0.01$

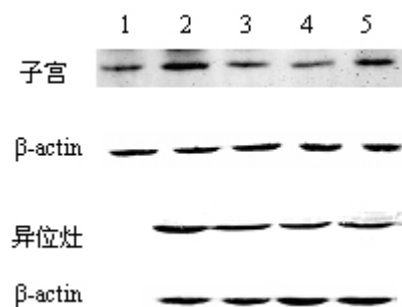


图 1 各组小鼠 BKB1R 蛋白表达电泳图

注: 1 假手术组; 2 模型组; 3 中药高剂量组; 4 中药低剂量组; 5 西药组

Western blotting 法检测结果见表 6, 模型组小鼠子宫 BKB1R 蛋白表达较假手术组增多 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 中药高剂量组、中药低剂量组、西药组小鼠子宫及异位灶 BKB1R 蛋白表达明显降低, 但子宫 BKB1R 蛋白仍较假手术组升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 各治疗组之间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。各组小鼠子宫及异位灶 BKB1R 蛋白表达电泳图见图 1。

表 6 各组小鼠 BKB1R 蛋白表达的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	子宫	异位灶
假手术组	15	0.62 ± 0.02*	—
模型组	15	1.31 ± 0.6	1.27 ± 0.11
中药高剂量组	13	0.71 ± 0.3*▲	0.65 ± 0.04*
中药低剂量组	15	0.74 ± 0.4*▲	0.70 ± 0.07*
西药组	14	0.73 ± 0.02*▲	0.68 ± 0.04*

注: 与模型组比较, * $P < 0.01$; 与假手术组比较, ▲ $P < 0.01$

2.6 各组小鼠子宫和异位灶 BKB1R mRNA 的表达

表 7 示, 与假手术组比较, 模型组小鼠子宫 BKB1R mRNA 表达增多, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 中药高剂量组、中药低剂量组、西药组子宫及异位灶 BKB1R mRNA 表达明显减少, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 中药高剂量组、中药低剂量组子宫 BKB1R mRNA 表达明显低于西药组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 中药高剂量组异位灶 BKB1R mRNA 表达明显低于西药组 ($P < 0.01$)。

表 7 各组小鼠 BKB1R mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	子宫	异位灶
假手术组	15	0.90 ± 0.09*	—
模型组	15	2.84 ± 0.63	4.02 ± 0.63
中药高剂量组	13	1.31 ± 0.20*△	1.17 ± 0.19*△△
中药低剂量组	15	1.38 ± 0.29*△	1.62 ± 0.28*
西药组	14	2.06 ± 0.20*▲	2.08 ± 0.20*

注: 与模型组比较, * $P < 0.01$, 与假手术组比较, ▲ $P < 0.01$, 与西药组比较, △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$

3 讨论

EMs 属于中医学“痛经”、“癥瘕”、“不孕”等范畴, 其本质是“瘀血”。异位内膜周期性出血, 形成“离经之血”, 蓄而为瘀; 瘀阻冲任, 不通则痛, 发为痛经; 瘀血内结, 积聚日久, 可成癥积; 瘀阻胞中, 两精不能相合, 以致不孕^[12]。随着对 EMs 病机的深入研究, 众多学者认为 EMs 的主要病机责之于肾虚血瘀^[13-15]。EMs 患者多表现为腹部畏寒喜暖, 当属虚寒, 且病程较长, “久病及肾”, 易致肾虚, 故采用补肾温阳、祛寒化瘀为治疗大法, 自拟补肾温阳化瘀方。方中炮附子、肉桂温肾助阳、散寒止痛; 延胡索、川芎活血化瘀, 行气止痛; 川牛膝引血下行, 逐瘀通经。全方既能温补肾阳, 使冲任气血通畅, 又能活血化瘀, 使异位病灶瘀积得散。补肾温阳治其本, 活血化瘀治其标, 补肾与化瘀兼顾, 以达标本同治之功。

EMs 是一种慢性、复发性疾病, 治疗 EMs 的

主要目的仍然是缓解疼痛^[16], 但 EMs 相关疼痛的机制尚不明确。近年来研究发现, EMs 疼痛的持续存在与前列腺素 (PG) 水平升高存在较为明确的关系^[17-19]。PG 中的 PGF2 α 为一种致痛物质及血管收缩物质, 与 EMs 痛经的关系尤为密切, 一方面高浓度的 PGF2 α 能引起子宫平滑肌小动脉痉挛性收缩, 血流量减少致子宫缺血缺氧、酸性代谢产物积聚引起痛经^[20]; 另一方面, 异位内膜组织中过高的 PGF2 α 可诱发无菌性炎症反应, 增加血管通透性并激活缓激肽, 使局部痛觉过敏, 从而引起疼痛^[21]。BK 是一种炎症介质, 通过与缓激肽受体结合而发挥广泛作用, 除参与平滑肌收缩、腺体分泌、引发炎症反应外, 还增敏感觉神经元, 在痛觉产生过程中发挥重要作用^[22]。BK 的生物学效应是通过 B1 受体和 B2 受体介导的, 其中 BKB1R 在炎症或损伤引起的疼痛, 尤其是慢性疼痛中起着重要的作用, 是疼痛持续存在的主要因素之一^[23]。近年已有报道证实, 子宫腺肌病痛经患者 BKB1R 表达增强, 并与痛经程度密切相关^[24]。

本研究发现, 模型组血清中 BK、PGF2 α 浓度升高且与扭体次数正相关, 同时二者亦呈正相关关系, 表明 BK 及 PGF2 α 在 EMs 痛经的产生中发挥重要作用, 其含量越高扭体次数越多, 痛经程度越重; BK 与扭体潜伏期无关, PGF2 α 与扭体潜伏期负相关, PGF2 α 浓度越高, 扭体潜伏期越短, 越容易诱发扭体反应引起痛经。可见 BK 和 PGF2 α 浓度的升高直接参与 EMs 疼痛的产生。补肾温阳化瘀方高、低剂量能明显降低血清 BK、PGF2 α 含量, 与孕三烯酮比较无显著性差异。此外, 本研究还发现 BKB1R 蛋白及其 mRNA 在模型组子宫异常升高, BKB1R 被激活后能引起多种模式的疼痛, 如引起 Ca²⁺ 释放, 激活磷酸蛋白激酶 C (PKC), 磷酸化瞬时感受器电位香草酸受体 1 (TRPV1) 复合体, 增强离子的进入并降低痛觉感受器的活化阈值, 参与疼痛的发生^[25]。补肾温阳化瘀方可下调 BKB1R 蛋白及 BKB1R mRNA 的表达, 减少 BK 与其受体结合, 阻断 BK 介导的炎症反应从而达到止痛的目的。本研究表明, BK/BKB1R 及 PGF2 α 在 EMs 疼痛的发病机制中起重要作用, 补肾温阳化瘀方可通过影响 BK/BKB1R 及 PGF2 α 从而实现了对 EMs 疼痛的改善作用, 今后我们将对其深层次机制进一步研究。

参考文献

[1] 陈景伟, 杜惠兰, 杨剑, 等. 补肾温阳化瘀方治疗子宫

- 内膜异位症临床研究 [J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(25): 3053-3054.
- [6] 边文会, 杜惠兰, 陈惠娟, 等. 补肾温阳化瘀方对子宫内
膜异位症患者痛经影响的临床研究 [J]. 临床医药实
践, 2008, 1(6): 370-373.
- [7] 陈景伟, 仝瑞晓, 李清雪, 等. 补肾温阳化瘀方对子宫
内膜异位症模型痛经的影响 [J]. 中药药理与临床, 2013, 29(5): 113-116.
- [8] 陈景伟, 杜惠兰, 杨剑, 等. 补肾温阳化瘀方对子宫内
膜异位症血管生成的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2010, 37
(9): 1715-1717.
- [9] 陈景伟, 仝瑞晓, 孙晓换, 等. 补佳乐联合缩宫素建立
小鼠原发性痛经模型 [J]. 中国实验动物学报, 2013, 21
(5): 78-81.
- [10] Vernon MW, Wilson EA. Studies on the surgical induction
of endometriosis in the rat [J]. Fertil Steril, 1985, 44(5):
684-694.
- [11] 马芳, 段彩芳, 黄学惠, 等. 沙利度胺联合孕三烯酮对
大鼠子宫内位症血管生成的影响 [J]. 中国新药与
临床杂志, 2010, 29(2): 134-138.
- [12] 刘学军, 何援利. 子宫内位症动物模型的建立及
应用 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2002, 18(7): 444-
445.
- [13] 嵇波, 张露芬, 朱江, 等. 痛经模型建立和评价方法的
思考 [J]. 中国药理学通报, 2008, 25(6): 711-714.
- [14] 张颖, 曹洪, 张昌军. 改良大鼠子宫内位症模型
的建立及微血管密度观察 [J]. 中国实验动物学报, 2008, 16(1): 56-58.
- [15] Ji C, Aisa HA, Yang N, et al. Gossypium herbaceum ex-
tracts inhibited NF-kappaB activation to attenuate spatial
memory impairment and hippocampal neurodegeneration
induced by amyloid-beta in rats [J]. J Alzheimers Dis,
2008, 14(3): 271-283.
- [16] 尹燕, 朱芝玲, 归绥琪. 子宫内位症患者中医辨
证分型与 r-AFS 分期的相关性 [J]. 中医杂志, 2011, 52
(23): 2021-2023.
- [17] 周华, 齐聪. 补肾活血法对子宫内位症模型大鼠
细胞凋亡的影响 [J]. 中医杂志, 2009, 50(2): 165-
168.
- [18] 张敏, 曹保利. 复方莪术散对子宫内位症大鼠异
位内位组织基质金属蛋白酶 2 和血管内皮生长因子表
达的影响 [J]. 中医杂志, 2011, 52(14): 1225-1228.
- [19] 周华, 齐聪. 齐聪治疗复发性子宫内位症经验
[J]. 中医杂志, 2012, 53(23): 2042-2044.
- [20] Crosignani P, Olive D, Bergqvist A, et al. Advances in the
management of endometriosis: An update for clinicians
[J]. Hum Reprod Update, 2006, 12(2): 179-189.
- [21] Koike H, Egawa H, Ohtsuka T, et al. Correlation between
dysmenorrheic severity and prostaglandin production in
women with endometriosis [J]. Prostaglandins Leukot Es-
sent Fatty Acids, 1992, 46(2): 133-137.
- [22] Koike H, Ikenoue T, Mori N. Studies on prostaglandin pro-
duction relating to the mechanism of dysmenorrhea in en-
dometriosis [J]. Nihon Naibunpi Gakkai Zasshi, 1994, 70
(1): 43-56.
- [23] 张振鄂, 翟建平, 姜惠中. 子宫内位症痛经患者
血浆 PGF2 α 、PGE2 变化及活血祛瘀法治疗机理探讨
[J]. 中医杂志, 2000, 41(9): 559-560.
- [24] French L. Dysmenorrhea [J]. Am Fam Physician, 2005,
71(2): 285-291.
- [25] Audebert A, Bäckström T, Barlow DH, et al. Endometrio-
sis 1991: a discussion document [J]. Human Reproduc-
tion, 1992, 7(3): 432-435.
- [26] 张海燕, 朱芝玲. 子宫内位症疼痛与缓激肽 B1
受体阻断剂的关系 [J]. 国际妇产科学杂志, 2012, 39
(5): 503-506.
- [27] Moreau ME, Garbacki N, Molinaro G, et al. The kal-
likrein-kinin system: current and future pharmacological
targets [J]. Pharmacol Sci, 2005, 99(1): 6-38.
- [28] 颜志鹏. 缓激肽 B1 受体与子宫腺肌病痛经关系的研
究 [J]. 长沙: 中南大学, 2011: 19.
- [29] Kohno T, Wang H, Amaya F, et al. Bradykinin enhances
AMPA and NMDA receptor activity in spinal cord dorsal
horn neurons by activating multiple kinases to produce
pain hypersensitivity [J]. J Neurosci, 2008, 28(17):
4533-4540.

Effects of Kidney-Supplementing Yang-Warming Stasis-Removing Formula on BK/BKB1R and PGF2 α in Mice With Endometriosis

CHEN Jingwei¹, DU Huilan^{1,2}, TONG Ruixiao¹, GAO Xing¹, TIAN Qianhua¹, MA Huirong², MA Xuelian²
(1. Hebei Medical University, Hebei Province 050017; 2. Hebei University of Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To study the mechanism of Kidney-Supplementing Yang-Warming Stasis-Removing Formula (KYSF) for dysmenorrhea caused by endometriosis. **Methods** Totally 75 male BALB/c mice were randomized into the sham operation group, model group, KYSF high-dose group, KYSF low-dose group and western medicine group, with 15 in each. The mouse models of dysmenorrhea caused by endometriosis were established with surgical

transplantation in all groups except the sham operation group. During modeling, the KYSF high-dose group and KYSF low-dose group were given 61.67 g/kg KYSF + 0.5 mg/kg estradiol valerate or 15.42 g/kg KYSF + 0.5 mg/kg estradiol valerate once daily respectively, and the western medicine group was given 0.4 mg/kg gestrinone + 0.5 mg/kg estradiol valerate twice weekly. On the 12th day of modeling, the writhing response and ectopic foci volume was observed, and the contents of bradykinin (BK) and prostaglandin F_{2α} (PGF_{2α}), the expressions of BKB1R protein and BKB1R mRNA in the uterus, and ectopic foci were detected after intraperitoneal injection of oxytocin. **Results**

On the 12th day of modeling, the writhing response and ectopic foci could be seen in all groups except the sham operation group. Comparing with the model group, the latency of writhing was significantly prolonged, writhing times were significantly reduced, and the volume of ectopic foci was significantly decreased in the KYSF groups and western medicine group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Comparing with the model group, the contents of BK and PGF_{2α} were significantly decreased, and the expressions of BKB1R protein and BKB1R mRNA in the uterus and ectopic foci were significantly decreased in the KYSF groups and western medicine group ($P < 0.01$). Also, the expression of BKB1R mRNA in the KYSF high-dose group was significantly lower than that in the western medicine group ($P < 0.01$).

Conclusion KYSF can effectively prevent and treat endometriosis, which may be associated with decreasing the contents of BK and PGF_{2α} and inhibiting the expressions of BKB1R protein and BKB1R mRNA.

Keywords endometriosis; bradykinin; bradykinin B1 receptor; prostaglandin F_{2α}; *Kidney-Supplementing Yang-Warming Stasis-Removing Formula*

(收稿日期: 2013-10-23; 修回日期: 2014-02-10)

[编辑: 洪涛]

中医杂志社医海林音像书店邮购图书目录

●国医大师临床丛书

李济仁医论医选集 98
中医脾胃病学 (第二版) 158
张灿理医论医话集 168
李玉奇学术思想及临床医案 98
中医古籍文献学 (第2版) 228
张琪学术思想探赜 78
●名老中医方药心得丛书
周文泉老年病临证经验集 79
白兆芝临证经验集萃 88
祁宝玉眼科方药心得 50
姜良铎内科方药心得 68
徐福松男科纲目 88
晁恩祥临证方药心得 58
俞长荣临床经验集 68
段富津方剂学讲课实录 78
●重读中医经典丛书
内经临床精要 59
金匱要略临床运用 48
金匱要略临床精要 58
伤寒论临床精要 59
内经临床运用 79
伤寒论临床运用 59
伤寒论临床发挥 68
●中医药科学方法学研究系列丛书

中医药理论技术发展的方法学思考 118
古代中医药名家学术思想与认识论 98
中医学科学方法特征与沿革 69
中医药临证特效实例与方法学思考 50
中医临床基础医学研究 128
当代中医药学家谈科学思维与方法 88
●其它图书
现代中成药的药材炮制 98
抗微生物药物合理应用手册 39
天然产物化学研究 198
病毒感染性疾病中医治疗学概要 54
常见肿瘤的非手术治疗 79
康复评定学 148
糖尿病饮食新概念 20
中药血清药物化学 188
现代脉诊学 148
岭南本草集锦 148
临床常见疾病影像诊断及治疗原则 128
广西特色中草药资源选编 498
中医学概论 (英文版) 68

中医学导论 69.8
病毒性传染病中医治疗概要 58
脊髓损伤的中西医结合康复治疗 98
中医药学名词内科学妇科学儿科学 88
伤寒论方剂当代研究 128
手法治疗骨科软组织损伤图释 39.8
中国的藏医 (汉文、藏文、英文) 98
中药药对表解 (修订版) 39
中药微量元素分析 58
伦理委员会制度与操作规程 78
糖络杂论 (第2版) 128
药用植物教学践行录 98
藏医药临床实践方法汇集 98
当代中医药领域杰出人物案例研究 68
全国名老中医柴瑞霭临床经验集萃 78
章次公《药理学》点校 48
刘炳凡医论医案 118
林沛湘学术经验集 138
华廷芳学术经验集 128
黄德彰医文精华 68

柴浩然医论医案集 128
陈雨苍中医妇科临床经验 68
何汝湛金匱要略探究 78
重订何子淮女科 98
章次公医论经验集 158
白清佐先生临床经验辑要 48
孟庆云讲中医经典 58
裘沛然讲《内经》 38
张琪讲临床 42
张灿理医论医案纂要 79
农村实用液体疗法 37
农村实用针灸技术 34
中药炮制实用技术 29.8
地方性疾病中西医诊疗技术 27
千金翼方译注 110
当代中医外治精要 48
济阴济阳纲目 140

以上书均免费邮寄, 欲购者请汇款至北京东直门内北新仓 18 号中医杂志社医海林音像书店图书部收, 邮政编码: 100700。电话: (010) 64035632。请在汇款单附言栏写清所购书名、册数及邮编。