

滋阴安神方对实验性更年期模型大鼠的影响

彭莉¹, 苏泽琦^{2,3}, 赵保胜^{2,3}, 李品¹, 李佳林¹, 王停^{2,3*}

(1. 北京中医药大学中医体质与生殖医学研究中心, 北京 100029;

2. 北京中医药大学北京中医药研究院, 北京 100029;

3. 国家中医药管理局名医方重点研究室, 北京 100029)

[摘要] **目的:** 观察滋阴安神方对实验性更年期模型大鼠及正常小鼠的影响, 为滋阴安神方的临床应用提供实验依据。**方法:** 采用摘除卵巢的方法建立更年期大鼠模型, 随机分为更年期模型组、滋阴安神方高、中、低剂量(10, 5, 2.5 g·kg⁻¹)组、戊酸雌二醇(0.09 mg·kg⁻¹)组、更年安片(0.48 g·kg⁻¹)组, 另设假手术组, 每组12只。连续灌胃给药30 d, 放射免疫法测定大鼠血浆促卵泡生成素(FSH), 黄体生成素(LH), 雌二醇(E₂), 孕酮(P)含量, 光镜下测量大鼠子宫内膜厚度。雌性ICR小鼠随机分为正常组、滋阴安神方高、中、低剂量(16.69, 8.34, 4.17 g·kg⁻¹)组和地西洋(0.001 g·kg⁻¹)组, 每组12只。灌胃给药7 d, 腹腔注射戊巴比妥钠(0.03 g·kg⁻¹), 记录翻正反射消失的小鼠数及入睡潜伏期。雌性ICR小鼠随机分为正常组、滋阴安神方高、中、低剂量(16.69, 8.34, 4.17 g·kg⁻¹)组和百忧解(0.03 g·kg⁻¹)组, 每组12只。灌胃给药7 d, 进行悬尾实验, 记录小鼠后4 min的累计不动时间。**结果:** 与假手术组相比, 模型组大鼠血浆FSH显著升高($P < 0.01$), E₂明显降低($P < 0.05$), 子宫内膜厚度显著下降($P < 0.01$); 与模型组相比, 滋阴安神方各组、戊酸雌二醇组及更年安片组大鼠血浆中E₂水平及子宫内膜厚度都有一定程度升高, 且滋阴安神方高、中剂量能降低血浆FSH水平。小鼠行为学实验中, 滋阴安神方高剂量及地西洋可显著提高与阈下剂量戊巴比妥钠协同催眠小鼠的入睡率($P < 0.05$, $P < 0.01$); 同时滋阴安神方低剂量及百忧解可显著缩短悬尾试验小鼠累计不动时间($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论:** 滋阴安神方可提高更年期大鼠血浆E₂水平, 降低FSH水平, 增加子宫内膜厚度, 并具有一定的催眠及抗抑郁的作用。

[关键词] 滋阴安神方; 更年期综合征; 药效学; 大鼠去势模型; 血浆激素水平; 子宫病理学; 行为学

[中图分类号] R22; R242; R2-031; R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)15-0137-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20181520

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20180516.1118.035.html>

[网络出版时间] 2018-05-17 9:16

Effect of Ziyin Anshen Prescription on Experimental Menopause Model Rats

PENG Li¹, SU Ze-qi^{2,3}, ZHAO Bao-sheng^{2,3}, LI Pin¹, LI Jia-lin¹, WANG Ting^{2,3*}

(1. *Research Centre of Traditional Chinese Medicine(TCM) Constitution and Reproductive Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;*

2. *Beijing Research Institute of Chinese Medicine, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China;*

3. *Key Research Office About Famous Doctors of State Administration of TCM, Beijing 100029, China)*

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Ziyin Anshen prescription (ZYASP) on the experimental menopause model rats and normal mice, and provide experimental basis for the clinical application of ZYASP. **Method:** The menopause rats models were established by ovary removal method, and were then randomly divided into the menopause model group, the ZYASP high, middle, low-dose (10, 5, 2.5 g·kg⁻¹) groups, the estradiol valerate 0.09 mg·kg⁻¹ group, and the Gengnian'an tablet (GNAT) 0.48 g·kg⁻¹ group; another sham operation

[收稿日期] 20180306(007)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2017ZX09301011)

[第一作者] 彭莉, 在读硕士, 从事中医体质与生殖医学研究, Tel: 010-64286291, E-mail: pl15825915839@163.com

[通信作者] *王停, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药新药研发研究, Tel: 010-64286203, E-mail: wangting@sina.com

group was also set; with 12 rats in each group. After intragastric administration for 30 days, plasma follicle stimulation hormone (FSH), luteotropic hormone (LH), estradiol (E_2) and progesterone (P) in rats were measured by radioimmunoassay, and the thickness of endometrium was measured by light microscope. The female ICR mice were randomly divided into normal control group, ZYASP high, middle, low-dose (16.69, 8.34, 4.17 $g \cdot kg^{-1}$) groups and diazepam 0.001 $mg \cdot kg^{-1}$ group, with 12 mice in each group. After intragastric administration for 7 days, intraperitoneal injection of napental (0.03 $g \cdot kg^{-1}$) was performed, and the number of mice with disappearance of righting reflex and the latency time of sleep were recorded. The female ICR mice were randomly divided into normal control group, ZYASP high, middle, low-dose (16.69, 8.34, 4.17 $g \cdot kg^{-1}$) groups and the prozac (0.03 $g \cdot kg^{-1}$) group, with 12 mice in each group. After intragastric administration for 7 days, the tail suspension experiment was performed, and the accumulative immobile time of the last 4 min was recorded. **Result:** As compared with sham operation group, the plasma FSH was significantly increased ($P < 0.01$); E_2 was significantly decreased ($P < 0.05$); and the thickness of endometrium was decreased significantly ($P < 0.01$) in model group. As compared with the model group, E_2 level in rat plasma and endometrial thickness of ZYASP groups and estradiol valerate group, and GNAT group showed increases to certain degrees, and the plasma FSH level can be reduced by ZYASP high and middle-dose groups. In the mice behavior experiment, high-dose ZYASP and diazepam could significantly increase the sleep rate of the hypnotic mice with subthreshold dose of napental ($P < 0.05$, $P < 0.01$); at the same time, the low-dose ZYASP and prozac could significantly shorten the accumulative immobile time of the tail suspension test mice ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** ZYASP can improve the level of plasma E_2 , reduce FSH level, and increase the endometrial thickness in menopausal rats, with certain hypnotic and antidepressant effect.

[Key words] Ziyin Anshen prescription; climacteric syndrome; pharmacodynamics; ovary removal rat model; plasma hormone levels; uterine pathology; behavioral

更年期综合征多发生于妇女由生育期向老年期的过渡阶段,现代医学认为本病的发生是由于女性不能适应此阶段卵巢功能逐渐衰退、雌激素水平下降,引起下丘脑-垂体-卵巢轴或肾上腺等功能紊乱,从而出现的以月经紊乱、潮热出汗、睡眠障碍、感觉异常、情绪波动等主要症状的综合征,严重者甚至影响正常工作与生活^[1-3]。调查研究表明,在中国、马来西亚、泰国等5个亚洲国家中,超过90%的女性受到更年期综合征的困扰^[4]。故研究更年期综合征的防治,对提高更年期妇女的生活质量有重要意义。

西医学对本病的治疗主要采取性激素治疗(HT),疗效欠佳,若激素使用不当还会增加心脏病事件、脑卒中、乳腺癌、子宫内膜癌、卵巢癌等病发生的风险^[5]。中医药治疗本病较西医治疗具有整体调节、副作用少的优势,对于改善更年期综合征临床症状、提高更年期综合征患者生活质量具有明显优势。目前,临床经方、针灸等中医疗法越来越受到更年期女性患者欢迎^[6-7]。滋阴安神方来源于全国名老中医秦月好主任医师的临床经验方,由左归丸化裁而来,主要由熟地黄、山茱萸、山药、枸杞子、菟丝

子等中药组成,原方以“滋肾阴,养五脏,燮理阴阳”的治法治疗女性更年期综合征,具有良好的临床疗效。为进一步系统评估滋阴安神方药效学活性,本研究从整体动物水平,观察其对模型动物更年期综合征的干预作用,以期对滋阴安神方的临床应用和中药新药研发提供实验依据。

1 材料

1.1 药物 滋阴安神方由熟地黄、山茱萸、山药、枸杞子、菟丝子、知母、女贞子、牡蛎、酸枣仁等组成,以上中药饮片购自北京同仁堂股份有限公司,原方配比生药7 kg水煎煮2次,每次30 min,合并煎液,滤过后干燥成干膏,干膏1 g相当于生药3.64 g,粉碎成细粉,密封置于4℃冰箱中保存,备用。临用前,用蒸馏水分别配成所需浓度。更年安片(天津中新药业股份集团有限公司,批号0310247);戊酸雌二醇片(拜耳医药保健有限公司广州分公司,批号327A);百忧解胶囊(苏州礼来制药有限公司,批号6620A);地西洋片(北京益民药业有限公司,批号20170102);戊巴比妥钠(Sigma公司,批号201706);注射用青霉素钠(华北制药股份有限公司,批号F6062103)。

1.2 动物 SPF级雌性SD大鼠84只,体质量(275 ± 25)g;SPF级雌性ICR小鼠120只,体质量(18 ± 2)g,均购自北京维通利华生物科技公司,合格证号SCXK(京)2016-0006。动物饲养于屏障环境动物室,使用许可证号SYXK(京)2016-0038。实验期间自由饮水、摄食,室温 $20 \sim 25$ ℃,湿度为40%~70%,光照周期明暗各12h,通风良好。经北京中医药大学实验动物伦理委员会审查通过,伦理审查编号BUCM-4-2017071404-3004。

1.3 试剂 促卵泡生成素(FSH),黄体生成素(LH),雌二醇(E_2),孕酮(P)放射免疫试剂盒(北京福瑞润泽生物技术有限公司,批号分别为20171101,20171025,20171101,20171106)。

1.4 仪器 XH6080型放射免疫分析仪(西安核仪厂);EG1150H型石蜡包埋机,ST5020型染色机/盖片机工作站, RM2245型轮转式切片机(德国Leica公司);Olympus BX41型光学显微镜(上海赖氏电子科技有限公司)。

2 方法

2.1 雌性更年期大鼠激素水平及子宫组织病理学检测

2.1.1 模型制备 84只SD雌性大鼠随机分为2组,一组12只大鼠行假手术,1%戊巴比妥钠腹腔注射 $4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 麻醉后,俯卧位固定,于髂骨上2cm处沿背中线备皮,消毒,剪开背中线皮肤,牵拉至两侧,距脊柱约2cm处,剪开背肌并缝合肌层及表皮,不摘除卵巢。另一组72只以去势方法造模,以同样方法固定、备皮后,于相同部位剪开皮肤及背肌,经背侧切口剥离双侧输卵管用细线结扎,摘除双侧卵巢并缝合^[8]。术后连续3d给予肌肉注射青霉素,1万单位/只/d,第5天开始阴道涂片^[9],每日上午8:00进行1次,连续5d动情周期紊乱的雌性大鼠即为已经进入更年期。

2.1.2 分组给药 造模成功雌性大鼠72只按体质量随机分为6组,即更年期模型组、滋阴安神方高($10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),中($5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),低($2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)剂量组、戊酸雌二醇($0.09 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)组、更年安片($0.48 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)组,每组12只;另假手术雌性大鼠12只为假手术组。各组大鼠均按灌胃量 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,每日灌胃1次,连续30d,假手术组、去势模型组给予等量去离子水。按照临床拟用剂量每日生药58.4g,按成人70kg体质量计算,滋阴安神方拟用剂量为生药每日 $0.834 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。大鼠等效剂量^[8]约为 $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,小鼠等效剂量约为 $8.34 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,

本实验均设高、中、低3个剂量组,分别等效于临床拟用剂量的0.5,1,2倍,即滋阴安神方大鼠3个剂量分别为 $10, 5, 2.5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,小鼠3个剂量分别为 $16.69, 8.34, 4.17 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。阳性药戊酸雌二醇临床拟用剂量为每日0.001g,大鼠等效剂量为 $0.09 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。更年安片临床拟用剂量为每日5.58g,大鼠等效剂量为 $0.48 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 。

2.1.3 血浆激素水平测定 末次给药1h后用1%戊巴比妥钠 $4 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射麻醉,腹主动脉取血,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝, $3500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心15min,取血浆,放射免疫法测定各组大鼠血浆FSH, LH, E_2 , P含量。

2.1.4 子宫组织病理形态学观察 将大鼠子宫置于10%中性甲醛溶液中进行固定,石蜡包埋、切片,行苏木素-伊红(HE)染色,光镜下观察各组大鼠子宫组织病理变化情况,并测量子宫内膜厚度。

$$\text{子宫内膜厚度增加率} = (\text{给药组} - \text{模型组}) / \text{模型组} \times 100\%$$

2.2 对小鼠阈下剂量戊巴比妥钠协同催眠的影响

60只雌性ICR小鼠按体质量随机分为5组,即正常组、滋阴安神方高($16.69 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),中($8.34 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),低($4.17 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)剂量组和地西洋($0.001 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$)组,每组12只。灌胃量 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$,每日灌胃1次,连续7d,空白组给予等量去离子水。末次给药1h后腹腔注射戊巴比妥钠($0.03 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),记录入睡(15min内出现翻正反射消失且持续时间超过1min以上)小鼠数^[10]。

2.3 对小鼠抗抑郁作用 小鼠分组及给药同2.2项。实验前禁食不禁水12h,灌胃给药后1h,在安静、光线恒定的环境下进行。将胶布固定在距小鼠尾尖端2cm处,夹子夹住胶布,固定于横梁上,使小鼠呈倒悬体位,头部离悬尾箱底面约5cm,进行6min悬尾实验,记录后4min的累计不动(动物停止挣扎,身体呈垂直倒悬状态,静止不动)时间^[11]。

2.4 统计学处理 使用SPSS 20.0软件进行统计分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较是否齐性,采用LSD方法分析,方差不齐时用Dunnnett方法进行分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对雌性更年期大鼠的影响

3.1.1 对一般状况及体质量的影响 假手术组大鼠毛发光泽,活动自如,模型大鼠逐渐出现烦躁

易怒、多动、不欲被抓取等情况,并随着造模时间延长逐渐加重,滋阴安神方中剂量组、戊酸雌二醇组症状较模型组明显减轻;与假手术组比较,模型组大鼠

体质量增加,给药后大鼠体质量增加减慢,滋阴安神方中剂量组、戊酸雌二醇组减慢显著($P < 0.01$),见表 1。

表 1 滋阴安神方对雌性更年期大鼠体质量变化的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 1 Effect of Ziyin Anshen prescription (ZYASP) on changes in weight of female menopausal rats($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	手术前	给药前	第 1 周	第 2 周	第 3 周	第 4 周
假手术	-	250.42 ± 13.56	281.00 ± 19.90	293.25 ± 19.51	297.67 ± 14.96	292.25 ± 14.64	303.16 ± 20.00
模型	-	250.15 ± 11.19	293.62 ± 15.38	321.77 ± 15.93 ²⁾	345.69 ± 18.83 ²⁾	353.62 ± 16.94 ²⁾	362.69 ± 18.38 ²⁾
滋阴安神方	10.00	251.46 ± 11.07	289.69 ± 20.18	306.83 ± 21.83 ³⁾	325.82 ± 26.94 ³⁾	332.89 ± 28.73 ³⁾	341.72 ± 30.01 ³⁾
	5.00	249.46 ± 9.31	293.54 ± 14.35	315.00 ± 19.86	330.67 ± 17.78	337.92 ± 22.18	338.45 ± 25.11 ⁴⁾
	2.50	247.00 ± 8.16	291.08 ± 18.23	315.83 ± 16.86	336.83 ± 17.92	343.08 ± 20.20	350.44 ± 21.80
戊酸雌二醇	0.000 09	254.15 ± 11.94	293.23 ± 16.14	307.15 ± 13.17 ³⁾	320.85 ± 15.83 ⁴⁾	321.85 ± 18.20 ³⁾	332.09 ± 19.80 ⁴⁾
更年安片	0.48	249.46 ± 9.61	293.54 ± 14.38	308.92 ± 18.42	332.83 ± 21.82	339.00 ± 21.04	346.85 ± 19.74

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~5 同)。

3.1.2 对雌性更年期大鼠血浆激素水平的影响
与假手术组比较,模型组大鼠血浆 E_2 , P 水平降低($P < 0.01$),FSH 升高($P < 0.01$),滋阴安神方各组、

戊酸雌二醇组及更年安组大鼠血浆中 E_2 水平都有一定程度升高,滋阴安神方高、中剂量组大鼠血浆 FSH 水平亦有一定程度降低,均无统计学差异,见表 2。

表 2 滋阴安神方对雌性更年期大鼠血浆激素水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 2 Effect of ZYASP on plasma hormone levels of female menopausal rats($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	FSH/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	LH/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	P/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	E_2 / $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$
假手术	-	3.16 ± 0.59	8.90 ± 1.33	3.13 ± 2.76	14.45 ± 10.74
模型	-	4.11 ± 0.60 ²⁾	8.82 ± 1.24	0.26 ± 0.17 ²⁾	6.90 ± 3.26 ²⁾
滋阴安神方	10.00	3.56 ± 0.78	7.36 ± 1.75	0.21 ± 0.08	8.10 ± 3.09
	5.00	3.64 ± 0.79	7.41 ± 2.72	0.27 ± 0.07	9.15 ± 3.09
	2.50	4.19 ± 0.80	9.96 ± 2.76	0.26 ± 0.20	8.47 ± 2.60
戊酸雌二醇	0.000 09	4.22 ± 0.88	8.68 ± 3.06	0.20 ± 0.16	8.45 ± 3.51
更年安片	0.48	4.33 ± 0.63	9.06 ± 2.33	0.29 ± 0.12	7.67 ± 3.09

3.1.3 对雌性更年期大鼠子宫组织病理改变及子宫内膜厚度的影响
去势造模后,模型组及个给药组大鼠子宫均出现了不同程度的萎缩。与假手术组相比,模型组大鼠子宫内膜厚度显著下降($P < 0.01$),给药 30 d 后,滋阴安神方高剂量组、戊酸雌二醇组及更年安组大鼠子宫内膜厚度有所增加;子宫内膜厚度增加以戊酸雌二醇组最为显著($P < 0.01$),较模型组增加 34.08%,见表 3,图 1。

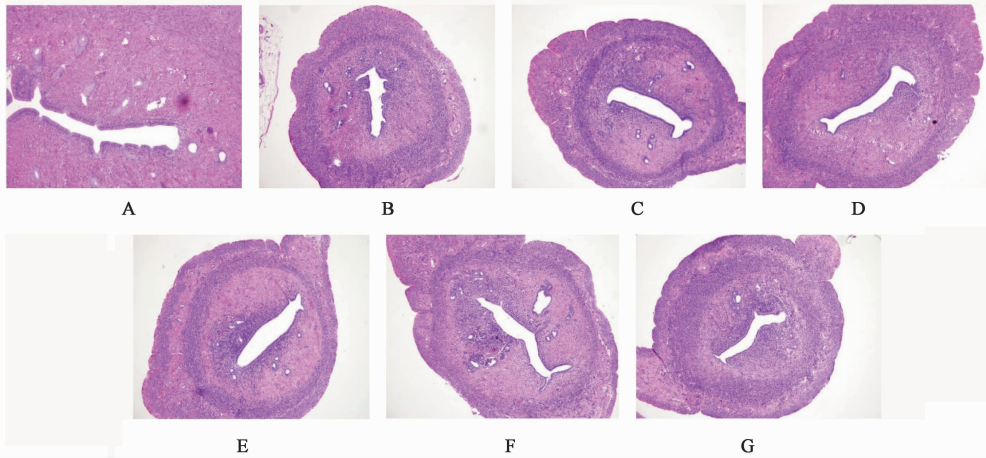
表 3 滋阴安神方对雌性更年期大鼠子宫脏脑比及子宫内膜厚度的影响

Table 3 Effect of ZYASP on ratio of uterus to brain, and endometrium thickness of female menopausal rats

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	子宫内膜厚度($\bar{x} \pm s, n = 12$)/ μm	子宫内膜厚度增加率/%
假手术	-	771.14 ± 186.69	-
模型	-	369.98 ± 47.20 ²⁾	-
滋阴安神方	10.00	431.03 ± 65.31	16.50
	5.00	413.19 ± 48.54	11.68
	2.50	420.59 ± 119.49	13.68
戊酸雌二醇	0.000 09	496.80 ± 100.68 ⁴⁾	34.08
更年安片	0.48	391.56 ± 75.69	5.83

3.2 对雌性小鼠阈下剂量戊巴比妥钠协同催眠的影响
滋阴安神方高、中剂量及地西洋均提高了阈下剂量戊巴比妥钠入睡率,其中地西洋效果最佳($P < 0.01$),滋阴安神方表现出明显的量效关系,见表 4。

缩短,滋阴安神方低剂量组及百忧解组累计不动时间缩短明显($P < 0.05, P < 0.01$),见表 5。



A. 假手术组; B. 模型组; C. 滋阴安神方高剂量组; D. 滋阴安神中剂量组; E. 滋阴安神方低剂量组; F. 戊酸雌二醇组; G. 更年期安片组
图 1 滋阴安神方对雌性更年期大鼠子宫病理形态学变化的影响 (HE, ×100)

Fig. 1 Effect of ZYASP on pathological morphology of uterus in female menopausal rats (HE, ×100)

表 4 滋阴安神方协同戊巴比妥钠阈下剂量对雌性小鼠催眠时间的影响

Table 4 Effect of ZYASP with subthreshold dose napental on hypnotic time of female mice

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	阈下剂量睡眠动物只数/只	阈下剂量入睡率/%
正常	-	0	0
滋阴安神方	16.69	4	33.33 ¹⁾
	8.34	1	8.33
	4.17	0	0
地西洋	0.001	8	72.73 ²⁾

表 5 滋阴安神方对雌性小鼠抗抑郁作用的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

Table 5 Effect of ZYASP on improving depression of female mice ($\bar{x} \pm s, n = 12$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	累计不动时间/s
正常	-	75.2 ± 36.17
滋阴安神方	16.69	60.8 ± 36.70
	8.34	59.5 ± 28.50
	4.17	47.5 ± 26.01 ¹⁾
百忧解	0.03	33.3 ± 29.54 ²⁾

4 讨论

现代医学对更年期综合征的发病机制提出了很多相关理论,但更年期综合征发病机制目前仍然没有完全明了。大量实验研究验证,更年期妇女卵巢功能衰退导致的雌激素骤然减少及其他性激素水平大幅度波动是更年期综合征发病的基础^[12]。中医学根据更年期综合征症状将其归于“绝经前后诸症”、“百合病”、“郁证”、“脏躁”等范畴论治^[13],发病的主要病机为“五脏阴虚,阴阳失衡”,在症状上呈现虚中夹实“症状群”的特点,其中自主神经功能

失调最为突出,临床表现出性情急躁易怒,抑郁、焦虑,难以入睡等,故治疗需重视阴阳平衡,标本同治。滋阴安神方以“滋肾阴,养五脏,燮理阴阳”为治疗原则,原方在临床上取得了良好疗效,可明显改善更年期女性潮热汗出、情绪波动、睡眠障碍等方面的症状,具有显效时间短,无毒副作用等特点。方中熟地黄味甘性温,滋阴补肾、填精补髓,《本草纲目》言其“填骨髓,长肌肉,生精血,补五脏、内伤不足,通血脉,利耳目,黑须发”^[14],为补肾阴之要药,现代研究也表明熟地黄具有促使幼鼠子宫增重和促 MCF-7 细胞增殖的植物雌激素样作用^[15];山茱萸味酸微温,归肝、肾经,补肝益肾、收敛固涩,《本草新编》:“温肝经之血,补肾脏之精,暖腰膝而助阳气……独山茱萸大补肝肾,性专而不杂,既无寒热之偏,又无阴阳之背,实为诸补阴之冠”^[16],为平补阴阳之要药,上两味共为君药。山药味甘性平,归脾、肾经,补肺脾肾、滋阴固精,与熟地黄、山茱萸相配,以肝、脾、肾三阴并补;枸杞子味甘性平微凉,滋补肝肾、乌须明目;菟丝子补肾益精,但偏于补阳,补阴药中配伍补阳药,取其“阳中求阴”之意,其提取物菟丝子黄酮提取物对雌性大鼠表现出雌激素样活性,可一定程度增强卵巢 HCG/LH 受体功能;对未成年小鼠则具有促性腺激素样作用,能够促进其生殖系统的发育^[17];再入知母滋阴润燥、清热除烦,上 4 味共为臣药。又见“心烦难寐”,故加入牡蛎重镇安神、滋阴潜阳、收涩止汗;入女贞子味甘性平微凉,增强补益肝肾、乌须明目之力,并遵酸枣仁汤之意,以酸枣仁养血补肝、宁心安神,现代药理学研究表明,酸枣仁具有镇静催眠、抗焦虑抗抑郁等作用^[18],此 3 味共

为佐使药。全方心、肝、脾、肺、肾五脏同治,更重在益肾阴之不足,诸药相合,共奏“滋肾阴,养五脏,燮理阴阳”之功。

本研究在既往临床应用的基础上,从更年期综合征发病基础及临床高发症状^[12,19]出发,对滋阴安神方进行多角度药效学研究,分别选择更年安片和戊酸雌二醇片作为阳性药,先后观察了滋阴安神方对更年期大鼠雌激素、促卵泡刺激素水平、子宫内膜厚度、失眠症状及抑郁状态的影响等。研究结果显示,滋阴安神方能够在降低更年期综合征大鼠血浆中FSH含量,增加E₂含量上有一定趋势,因此采用摘除卵巢造模方法后已失去E₂分泌的主要器官,外源药物的雌激素样作用仅对升高血浆E₂有一定作用,但无法完全逆转其E₂低下的状态。绝经后妇女体内雌激素的主要来源是由肾上腺分泌的雄激素转换而来的,滋阴安神方可能有提高肾上腺代偿分泌的作用。戊酸雌二醇未显著升高血浆E₂水平,可能与给药量较低有关。通过对比大鼠用药前后子宫病理组织后发现,去势后的大鼠子宫组织出现萎缩,子宫内膜厚度明显降低,符合更年期女性在这个过渡期的子宫组织形态特点,在给予滋阴安神方后,大鼠子宫内膜厚度增加,说明了滋阴安神方对雌激素减少而引起的子宫退行性变化具有调节作用。同时,从药效结果来看,滋阴安神方优于更年安片。针对更年期综合征中失眠这一典型症状,本研究系统观察了小鼠用药前后入睡率的差异,发现滋阴安神方干预后小鼠注射阈下剂量戊巴比妥入睡率明显提高,说明滋阴安神方有一定的协同戊巴比妥的镇静催眠作用;同时针对更年期抑郁状态,观察悬尾实验发现滋阴安神方干预后小鼠的静止不动时间缩短,说明滋阴安神方可以调节小鼠抑郁状态,对紊乱的自主神经功能有一定调节作用。

综上所述,本课题组从激素水平、病理、行为学多个角度,对滋阴安神方治疗更年期综合征的药效学进行了评价,并探讨了其作用途径,研究表明,滋阴安神方通过调节激素水平,改善自主神经功能,从而对女性更年期综合征达到一定的治疗作用。通过本研究为临床上滋阴安神方治疗女性更年期综合征提供了现代药理学依据,也为进一步开发新药奠定了基础。

[参考文献]

[1] 中华预防医学会妇女保健分会,更年期保健学组. 更年期妇女保健指南(2015年)[J]. 实用妇科内分泌杂志:电子版, 2016, 3(2):21-32.

[2] Avis N E, Colvin A, Bromberger J T, et al. Change in health-related quality of life over the menopausal transition in a multiethnic cohort of middle-aged women: study of women's health across the nation (SWAN)[J]. Menopause, 2009, 16(5):860-869.

[3] Poomalar G, Arounassalame B. The quality of life during and after menopause among rural women[J]. J Clin Diagn Res, 2013, 7(1):135-139.

[4] HUANG K E, XU L, Nasri N, et al. The Asian menopause survey: knowledge, perceptions, hormone treatment and sexual function[J]. Maturitas, 2010, 65(3):276-283.

[5] 曾春燕, 叶云. 激素替代疗法治疗更年期综合征的研究进展[J]. 中国药房, 2014, 25(18):1696-1699.

[6] 孙雪英, 刘炜, 刘贵海, 等. 滋阴清心膏治疗女性更年期综合征临床疗效的研究[J]. 中外女性健康研究, 2016, 1(14):218, 226.

[7] Goldstein K M, McDuffie J R, Shepherd-Banigan M, et al. Nonpharmacologic, nonherbal management of menopause-associated vasomotor symptoms: an umbrella systematic review (protocol)[J]. Syst Rev, 2016, 5(1):69.

[8] 杜力军, 赵玉男. 实验动物与实验动物模型[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2012:410.

[9] 印丹丹, 封瑞, 任丽菲, 等. 阴道涂片法鉴定大鼠生理周期的应用评价[J]. 解剖科学进展, 2014, 20(4):360-363.

[10] 祝洪艳, 王国丽, 林海成, 等. 参芪五味子颗粒协同戊巴比妥钠对小鼠睡眠及免疫器官指数的影响[J]. 上海中医药杂志, 2014, 48(12):85-87.

[11] 刘健翔, 方吟荃, 魏峥曦, 等. 槲皮素与贯叶连翘提取物合用抗抑郁作用初步研究[J]. 浙江大学学报:医学版, 2013, 42(6):615-619.

[12] 张思嘉. 北京社区妇女更年期症状与生殖衰老分期、性激素水平的关系探讨[D]. 北京:北京协和医学院, 2013.

[13] 张玉珍. 中医妇科学[M]. 北京:中国中医药出版社, 2007:169.

[14] 明·李时珍. 本草纲目[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2016:86-87.

[15] 郝庆秀, 王继峰, 牛建昭, 等. 熟地黄等4味中药的植物雌激素作用的实验研究[J]. 中国中药杂志, 2009, 34(5):620-624.

[16] 清·陈士铎. 本草新编[M]. 北京:中国医药科技出版社, 2011:208-211.

[17] 林玉榕, 郑丽燕. 中药菟丝子药理研究[J]. 生物技术世界, 2014(2):84.

[18] 李梅, 胡霖霖, 张永华. 加味酸枣仁汤联合佐匹克隆治疗焦虑性失眠及对5-羟色胺与多巴胺水平的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(17):161-164.

[19] 邵祺腾. 更年期妇女五态人格、体质与更年期症状及生存质量的关系探讨[D]. 北京:中国中医科学院, 2014.

[责任编辑 张丰丰]