

当归双参蛤蟆油片对去势大鼠内分泌的调节作用

刘凡¹, 李俊葵², 雷晓林^{1*}

(1. 东方药林药业有限公司, 广州 510515; 2. 南方医科大学, 广州 510515)

[摘要] **目的:**观察当归双参蛤蟆油片对去势雌性大鼠内分泌的调节作用。**方法:**将SD雌性50只大鼠进行双侧卵巢切除术后,随机分为5组:模型组、利维爱组、当归双参蛤蟆油片高、中、低剂量组(0.6, 0.3, 0.15 g·kg⁻¹),每组10只,另取10只作为假手术组,各给药组灌服相应药液,模型组和假手术组灌服生理盐水,连续30 d。处死动物,取大鼠脑、子宫、肾上腺,计算其脏器指数,并用试剂盒检测雌二醇(E₂),促黄体生成素(LH),促卵泡激素(FSH)含量。采用化学荧光检验法测定去甲肾上腺素(NE),多巴胺(DA),5-羟色胺(5-HT)及5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)含量。**结果:**与假手术组比较,模型组大鼠的体重、血清E₂,子宫指数,肾上腺素指数水平及NE,DA含量均明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),LH,FSH,5-HT,5-HIAA含量明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$);与模型组比较,当归双参蛤蟆油片能明显增大模型组大鼠体重,当归双参蛤蟆油片各剂量均能明显提高模型大鼠血清E₂水平($P < 0.05$),且对LH,FSH无影响,各组用药对去势后降低的子宫指数均有明显升高作用($P < 0.05$);当归双参蛤蟆油片高剂量能升高去势后降低的肾上腺指数($P < 0.05$)。各组用药对去势大鼠升高的5-HT,5-HIAA的含量均有明显降低作用($P < 0.05$),当归双参蛤蟆油片高、中剂量均能明显升高大鼠去势后降低的NE,DA水平($P < 0.05$)。**结论:**当归双参蛤蟆油片具有调节生殖内分泌激素和下丘脑神经递质的作用。

[关键词] 当归双参蛤蟆油片; 双侧卵巢切除术; 生殖内分泌激素; 脏器指数; 下丘脑神经递质

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)19-0125-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2015190125

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20150824.1008.020.html>

[网络出版时间] 2015-08-24 10:08

Effect of Danggui Shuangshen Hamayou Tablets in Regulating Incretion in Ovariectomized Rats

LIU Fan¹, LI Jun-kui², LEI Xiao-lin^{1*} (1. Orient Life Pharmaceutical Co. Ltd., Guangzhou 510515, China; 2. South Medical University, Guangzhou 510515, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Danggui Shuangshen Hamayou tablets (DSHT) in regulating the endocrine system of ovariectomized rats. **Method:** Totally 50 ovariectomized female rats were randomly divided into five groups: model group, Livial group and DSHT high, middle and low dose groups (0.6, 0.3, 0.15 g·kg⁻¹), with 10 in each group. Another 10 were included into the sham group. Each treatment group was fed with the corresponding liquid. Model group and sham group were orally given normal saline for 30 days. Animals were killed, rat brain, uterus and adrenal were collected to calculate the viscera index, and detect estradiol (E₂), luteinizing hormone (LH), follicle-stimulating hormone (FSH) with content kit. Norepinephrine (NE), dopamine (DA), 5-hydroxytryptamine (5-HT) and 5-hydroxyindole acetic acid (5-HIAA) content were tested by chemical fluorescence. **Result:** Compared with the sham group, the model group showed significantly lower weight, serum E₂, uterus index, adrenaline index, NE, DA content ($P < 0.05$, $P < 0.01$) and higher LH, FSH, 5-HT, 5-HIAA content ($P < 0.05$, $P < 0.01$). DSHT could significantly increase the weight of rats in the model group, each DSHT group could significantly increased serum E₂ levels in rats ($P < 0.05$), with no effect on LH, FSH. Each treatment group showed significantly increase in the lowered uterus index after castration ($P < 0.05$), and high dose of DSHT could increase the lowered adrenal index after castration ($P < 0.05$). Each group

[收稿日期] 20140822(014)

[基金项目] 广东省教育部产学研结合项目(2007B090400026)

[第一作者] 刘凡,从事东方药林药业有限公司企业管理工作,Tel:020-66222782,E-mail:LW985417@aliyun.com

[通讯作者] *雷晓林,工程师,从事中药及保健食品研究开发工作,Tel:020-66222786,E-mail:ETM888@163.com

showed significantly reduction in the increased 5-HT, 5-HIAA content in ovariectomized rats ($P < 0.05$). The high-dose and the middle-dose of DSHT could significantly elevated the reduced NE, DA levels in rats after castration ($P < 0.05$). **Conclusion:** DSHT can regulate reproductive endocrine hormones and hypothalamic neurotransmitters.

[**Key words**] Danggui Shuangshen Hamayou tablets; bilateral ovariectomy; reproductive endocrine hormone; viscera index; hypothalamic neurotransmitters

内分泌系统分泌各种激素,和神经系统密切相关,并且是参与调节人体新陈代谢和维持人体生理功能的重要系统之一,通常体内的各种激素能够相对保持平衡,如果打破人体的激素的生理平衡,造成体内激素含量的改变(如偏高或偏低),而出现一系列内分泌失调的疾病如出现黄褐斑、皮肤粗糙、更年期症状等^[1]。当归双参蛤蟆油片(人参、当归、丹参、蛤蟆油等)治疗内分泌失调(如黄褐斑、月经失调、更年期症状等)临床疗效确切。为探讨该复方治疗内分泌失调的机制,对当归双参蛤蟆油片治疗内分泌失调作用机制进行了研究,旨在为该产品临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 SD 雌性大鼠,动物合格证号 SCXK(粤)2011-0015,由南方医科大学动物中心提供。

1.2 药物及试剂 10% 水合氯醛,正丁醇,正庚烷均为国产分析纯,当归双参蛤蟆油片(东方药林药业有限公司,批号 G20100592),雌二醇(E_2),促黄体生成素(LH),促卵泡激素(FSH)试剂盒(达科为生物科技有限公司,批号 DKWHBV-1001-048)。

1.3 仪器 5320 型自动闪烁 γ 计数器(美国 Packard 公司),756 型紫外分光光度计(上海精密仪器公司),101-2 型恒温干燥箱(上海市实验仪器厂),HH-SH-4 型电热恒温水浴锅(北京长安科学仪器厂)。

2 方法

2.1 动物模型的建立 50 只 SD 雌性大鼠行双侧卵巢切除术^[2],用 10% 的水合氯醛 *ip* 麻醉,行背部肋下切口,俯卧位固定于动物手术台,对手术部位备皮,常规消毒,切开皮肤、肌肉,然后摘除双侧卵巢。依次缝合肌肉层和皮肤。另取 10 只作为假手术组,同法手术暴露卵巢而不切除。术后分笼饲养,正常饮食。动物术后逐只进行阴道上皮角化检查,每天 1 次,连续 7 d。阴道涂片检查,每日做阴道涂片,观察阴道上皮角化细胞无周期性变化,以证明去势成功。

2.2 动物分组及给药 将 50 只手术大鼠随机分为 5 组,分别为模型组,利维爱组($0.09 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),当归双参蛤蟆油片组高、中、低剂量组($0.6, 0.3, 0.15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$),每组 10 只,另取 10 只作为假手术组。给药组按 $200 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 体重灌服相应药液。模型组和假手术组灌服生理盐水,连续 30 d。

2.3 观察指标

2.3.1 血清生殖内分泌激素的测定 末次 *ig* 给药后禁食 12 h,各组大鼠用 10% 的水合氯醛腹腔注射麻醉。腹部切口,暴露腹主动脉,采血至普通生化管、室温静置, $3\ 000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 分离血清, $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存,用放免法测定 E_2 , LH, FSH 含量,按各试剂盒说明书操作,使用自动闪烁 γ 计数器, 125J 放射计数,测出待测样品的含量,并计算出双管的平均值。

2.3.2 脏器指数的测定 动物处死后,分离子宫组织,在宫颈和阴道交界处将其剪断;取出肾上腺。称重,按下列公式计算脏器指数。

$$\text{脏器指数} = \text{脏器质量}(\text{mg}) / \text{体重}(\text{g})$$

2.3.3 下丘脑神经递质的测定 大鼠取血完毕后,迅速断头取脑,在冰皿上精确称取下丘脑第三脑室周围组织,液氮冷冻,采用化学荧光检验法测定去甲肾上腺素(NE),多巴胺(DA),5-羟色胺(5-HT)及 5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)含量。

2.4 统计学分析 以 SPSS 19.0 软件进行数据分析数据并以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,组内差异采用单因素方差分析进行统计,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对治疗前后大鼠的体重的影响 给药后各组大鼠体重均有所增加,给药后可见模型组体重增大,与假手术组比较有显著性差异($P < 0.01$),利维爱组及当归双参蛤蟆油片高、中剂量组与模型组比较,差异有显著性意义($P < 0.05$)。当归双参蛤蟆油片各剂量组与利维爱组比较,差异无显著性意义。见表 1。

3.2 对大鼠血清 E_2 , LH, FSH 水平的影响 与假手

表 1 当归双参蛤蟆油片对大鼠体重的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of Danggui Shuangshen Hamayou tablets on body weight of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	给药前体重 /g	给药后体重 /g
假手术	-	285.34 ± 8.86	345.40 ± 3.27
模型	-	285.53 ± 3.97	350.70 ± 4.97 ¹⁾
利维爱	0.09	284.46 ± 4.94	344.80 ± 3.17 ⁴⁾
当归双参蛤蟆油片	0.6	283.90 ± 7.89	343.89 ± 3.71 ⁴⁾
	0.3	283.89 ± 9.04	343.10 ± 4.51 ⁴⁾
	0.15	287.50 ± 11.69	342.70 ± 4.79 ⁴⁾

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⁾ $P < 0.01$;与利维爱组比较⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 5 同)。

术组比较,去势大鼠血清 E₂ 水平显著降低 ($P < 0.01$), LH, FSH 水平显著升高 ($P < 0.05$), 说明造模成功;各用药组均能显著提高模型大鼠血清 E₂ 水平 ($P < 0.05$), 给药组高剂量较中、低剂量作用显著;当归双参蛤蟆油片组高、中、低剂量可降低去势大鼠 LH 水平,高、中剂量可降低 FSH 水平,但无统计学意义。各当归双参蛤蟆油片组与利维爱组相比, E₂ 水平显著降低, LH, FSH 水平有升高,但无统计学意义。见表 2。

表 2 当归双参蛤蟆油片对大鼠血清 E₂, LH, FSH 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of Danggui Shuangshen Hamayou tablets on E₂, LH, FSH levels of serum in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	E ₂ /pmol·L ⁻¹	LH /U·L ⁻¹	FSH /U·L ⁻¹
假手术	-	5.75 ± 0.37	3.19 ± 0.62	2.56 ± 0.71
模型	-	1.91 ± 0.72 ²⁾	4.18 ± 1.23 ¹⁾	3.73 ± 1.04 ²⁾
利维爱	0.09	5.76 ± 1.10 ⁴⁾	3.68 ± 0.61	3.32 ± 1.28
当归双参 蛤蟆油片	0.6	3.68 ± 0.60 ^{4,5)}	3.95 ± 0.48	3.80 ± 0.82
	0.3	3.26 ± 0.91 ^{4,6)}	3.94 ± 1.11	3.83 ± 0.55
	0.15	2.52 ± 0.60 ^{3,6)}	3.93 ± 0.84	3.71 ± 0.66

表 4 当归双参蛤蟆油片对大鼠下丘脑神经递质含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of Danggui Shuangshen Hamayou tablets on hypothalamic neurotransmitter in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	NE/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	DA/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	5-HT/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$	5-HIAA/ $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$
假手术	-	0.51 ± 0.20	0.31 ± 0.09	0.62 ± 0.09	2.31 ± 0.29
模型	-	0.39 ± 0.10 ¹⁾	0.18 ± 0.02 ¹⁾	0.78 ± 0.14 ²⁾	2.63 ± 0.31 ¹⁾
利维爱	0.09	0.42 ± 0.20	0.21 ± 0.03	0.65 ± 0.07 ³⁾	2.18 ± 0.21 ⁴⁾
当归双参蛤蟆油片	0.6	0.50 ± 0.16 ^{3,5)}	0.24 ± 0.03 ³⁾	0.51 ± 0.10 ^{4,5)}	2.20 ± 0.24 ⁴⁾
	0.3	0.49 ± 0.14 ^{3,5)}	0.21 ± 0.02 ³⁾	0.60 ± 0.15 ⁴⁾	2.18 ± 0.29 ⁴⁾
	0.15	0.41 ± 0.17	0.20 ± 0.02	0.65 ± 0.16 ³⁾	2.24 ± 0.36 ⁴⁾

3.3 对去势大鼠子宫、肾上腺的影响 模型组与假手术组比较,子宫指数、肾上腺指数均有显著降低 ($P < 0.05$);各组用药对去势后降低的子宫指数均有显著升高作用 ($P < 0.05$);与利维爱组比较,当归双参蛤蟆油片各剂量对子宫的增大作用不如利维爱。当归双参蛤蟆油片高剂量能升高去势后降低肾上腺指数 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 当归双参蛤蟆油片对大鼠子宫、肾上腺的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of Danggui Shuangshen Hamayou tablets on uterus adrenal in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	子宫指数 /mg·g ⁻¹	肾上腺指数 /mg·g ⁻¹
假手术	-	2.01 ± 0.51	0.34 ± 0.06
模型	-	0.98 ± 0.36 ²⁾	0.28 ± 0.05 ¹⁾
利维爱	0.09	2.44 ± 0.43 ⁴⁾	0.38 ± 0.08
当归双参蛤蟆油片	0.6	1.75 ± 0.23 ^{4,5)}	0.39 ± 0.05 ⁴⁾
	0.3	1.60 ± 0.15 ^{3,5)}	0.34 ± 0.03
	0.15	1.52 ± 0.11 ^{3,5)}	0.30 ± 0.05

3.4 对去势大鼠下丘脑神经递质含量的影响 模型组与假手术组比较,5-HT,5-HIAA 的含量均明显升高 ($P < 0.05$);DA,NE 含量降低 ($P < 0.05$)。各组用药对去势大鼠升高的 5-HT,5-HIAA 的含量均有显著降低作用 ($P < 0.05$),当归双参蛤蟆油片高、中剂量均能显著升高大鼠去势后降低的 NE,DA 水平 ($P < 0.05$)。与利维爱组比较,各当归双参蛤蟆油片组 DA 水平均无显著性差异,低剂量组 NE 水平,中、低剂量组 5-HT 水平以及高剂量组 5-HIAA 水平均无显著性差异。见表 4。

4 讨论

子宫和卵巢是女性重要的生殖内分泌器官,卵巢分泌的激素对于女性生殖内分泌系统的平衡起着重要的作用。女性的内分泌腺体组成有垂体、甲状腺、卵巢、肾上腺、胸腺等。而激素可紧密伴随女性

的一生,影响女性的生理功能^[3-6]。女性内分泌失调会导致月经不调、失眠、妇科炎症、黄褐斑、皮肤粗糙、骨质疏松等症状。当归双参蛤蟆油片包含人参、当归、丹参、蛤蟆油等中药,研究显示,蛤蟆油具有增强细胞和体液免疫、降血脂、镇咳祛痰、抗疲劳、抗氧化等作用,蛤蟆油水溶性总蛋白具有耐缺氧和氧化的作用^[7-9]。当归具有增强免疫、明显地改善血液系统,改善内分泌系统的作用^[11-14]。

内分泌失调常常伴随着植物神经功能紊乱、卵巢功能衰退等情况的出现。本实验研究结果表明切除双侧卵巢可使大鼠体重增加,利维爱组及当归双参蛤蟆油片高、中剂量组相应减轻。本实验结果显示,当归双参蛤蟆油片具有减退去势所致的大鼠增重作用。

各组用药对去势后降低的子宫指数均有升高的作用,证实造模是成功的,而当归双参蛤蟆油片高剂量能升高去势后降低的肾上腺指数。

女性内分泌失调,卵巢功能衰退,性激素分泌减少,促性腺激素升高。机体内分泌重新调整过程中,病人不能适应而引起的植物神经功能紊乱是导致内分泌失调的主要原因。本实验结果表明,当归双参蛤蟆油片可升高去势大鼠的血清 E₂ 水平,对去势大鼠升高的 LH,FSH 水平均无明显影响。

另外有实验表明^[15],雌激素水平过度降低引起下丘脑-垂体-卵巢轴等功能紊乱,从而导致神经递质、激素、细胞因子等失衡。神经-内分泌与内分泌失调引起的疾病的关系非常密切。实验表明^[16],内分泌系统紊乱后,会导致潮热、出汗、头痛、记忆力下降、焦虑、抑郁、失眠等内分泌失调的表现。本实验结果提示,当归双参蛤蟆油片各组用药对去势大鼠升高的 5-HT,5-HIAA 的含量均有显著降低作用,当归双参蛤蟆油片高、中剂量均能显著升高大鼠去势后降低的 NE,DA 水平。

综上所述,根据本研究结果表明,以人参、当归、丹参、蛤蟆油等为主要成分的当归双参蛤蟆油片,能明显改善去势雌性大鼠下丘脑肽类神经递质的功能,调整下丘脑单胺类神经递质的紊乱,并通过调节机体生殖内分泌功能而起到治疗内分泌失调的作用。当归双参蛤蟆油片通过多环节、多层次、多途径的治疗内分泌失调,体现了中医治疗疾病的整体性特点。

[参考文献]

[1] 谢宾. 人类摄食的控制及肥胖的生理心理因素[J]. 呼伦贝尔学院学报, 2001, 9(3): 88-91.

[2] 朱榆. 实验动物的疾病模型[M]. 天津:天津科技翻译出版公司, 1997.

[3] 吴士丽. 功能失调性子宫出血病的护理体会[J]. 中国实用医药, 2009, 4(31): 179-180.

[4] 李兰英, 王佩娟, 彭蕴茹, 等. 补肾活血汤对制动应激雌性大鼠生殖内分泌功能紊乱的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 144-147.

[5] 尹金磊, 关素珍, 赵长普. 更年期灵汤治疗女性围绝经期综合征的疗效及对内分泌免疫系统的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(9): 227-230.

[6] 佟海英, 乌吉斯古冷, 白亮凤, 等. 蒙药槟榔十三味丸对抑郁模型大鼠神经-内分泌-免疫功能的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(9): 194-198.

[7] 吴运明, 赵雨, 王思明. 蛤蟆油水溶性总蛋白对小鼠耐缺氧及抗氧化能力的影响[J]. 食品科技, 2012, 37(4): 47-50.

[8] 谢程, 张兰杰, 张炜煜, 等. 蛤蟆油对免疫功能低下或增强小鼠的免疫调节作用[J]. 中国老年学杂志, 2010, 11(30): 3132-3133.

[9] 顾红缨, 林卓, 徐云, 等. 蛤蟆油调节小鼠细胞免疫功能的实验研究[J]. 吉林中医药, 2010, 30(12): 1103-1104.

[10] Chen Y, Duan J, Qian D W, et al. Assessment and comparison of immunoregulatory activity of four hydrosoluble fractions of *Angelica sinensis* in vitro on the peritoneal macrophages in ICR mice [J]. Int Immunopharmacol, 2010, 10(4): 422-430.

[11] Yeh J C, Cindrova-Davies T, Belleri M, et al. The natural compound n-butylidenephthalide derived from the volatile oil of *Radix Angelicae Sinensis* inhibits angiogenesis in vitro and in vivo [J]. Angiogenesis, 2011, 4(2): 187-197.

[12] Gao M, Zhang J H, Zhou F X, et al. *Angelica sinensis* suppresses human lung adenocarcinoma A549 cell metastasis by regulating MMPs/TIMPs and TGF- β_1 [J]. Oncology Reports, 2011, 7(2): 585-593.

[13] Cao W, Li X Q, Wang X, et al. A novel polysaccharide, isolated from *Angelica sinensis* (Oliv) Diels induces the apoptosis of cervical cancer HeLa cells through an intrinsic apoptotic pathway [J]. Phytomedicine, 2010, 17: 598-605.

[14] 王滨, 刘宏艳, 王红, 等. 中药复方更年期乐对更年期大鼠单胺类神经递质的影响[J]. 天津中医药, 2003, 20(2): 27-29.

[15] 郁晓群, 高想, 蒋凤荣, 等. 利心冲剂对心衰大鼠模型神经内分泌及炎症因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(10): 147-151.

[责任编辑 周冰冰]