

# 坤泰胶囊对卵巢储备功能下降大鼠卵巢凋亡 调控蛋白 Bcl-2, Bax 表达的影响

耿利华, 谈勇\*

(南京中医药大学, 南京 210023)

**[摘要]** 目的:探讨坤泰胶囊对去氧乙烯基环己烯(4-vinylcyclohexene diepoxide, VCD)所致卵巢储备功能下降(decreasing ovarian reserve, DOR)大鼠凋亡调控蛋白 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 原癌基因(Bcl-2), Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)表达的影响,研究该药的作用机制。**方法:**SD 雌性大鼠连续腹腔注射 VCD( $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )15 d, 建立与人类相似的生理性卵巢储备功能下降模型。将动物分为正常组, 模型组, 坤泰胶囊高、中、低剂量组( $1.89, 0.63, 0.21 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), 补佳乐(戊酸雌二醇,  $0.13 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )组, 于造模第 1 天开始灌胃给药, 每天 1 次, 连续 45 d。酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测大鼠血清激素卵泡刺激素(FSH), 黄体生成素(LH)及雌二醇( $E_2$ )水平, 苏木素-伊红(HE)染色观察卵巢、子宫的病理组织变化, 蛋白质免疫印迹(Western blot)法检测卵巢组织 Bcl-2, Bax 蛋白的表达。**结果:**与正常组比较, 模型组 FSH 与 LH 明显升高,  $E_2$  明显降低( $P < 0.05$ ); 模型组卵巢、子宫体积明显缩小, 原始卵泡与初级卵泡数目明显减少, 子宫内膜变薄, 腺体数目减少; 模型组大鼠卵巢 Bcl-2 蛋白表达明显减少, Bax 蛋白表达明显增加( $P < 0.05$ ), Bcl-2/Bax 显著下降( $P < 0.01$ )。与模型组比较, 坤泰胶囊高、中、低剂量组 FSH 明显降低,  $E_2$  明显升高( $P < 0.05$ ); 补佳乐组 FSH, LH 明显降低,  $E_2$  明显升高( $P < 0.05$ )。各给药组卵巢、子宫体积增大, 原始卵泡与初级卵泡数目增多, 子宫内膜变厚, 腺体数目增加, 改善程度顺序依次为坤泰胶囊低、中、高剂量组、补佳乐组。坤泰胶囊高、中、低剂量组及补佳乐组大鼠卵巢 Bcl-2 蛋白表达明显增加( $P < 0.05, P < 0.01$ ); 坤泰胶囊高、中、低剂量组及补佳乐药组大鼠卵巢 Bax 蛋白表达减少( $P < 0.05$ ); 坤泰胶囊高、中、低剂量组及补佳乐组大鼠卵巢 Bcl-2/Bax 升高( $P < 0.05, P < 0.01$ )。**结论:**坤泰胶囊可能通过上调卵巢 Bcl-2 蛋白表达及下调 Bax 蛋白表达, 抑制卵泡的凋亡, 从而改善卵巢功能。

**[关键词]** 坤泰胶囊; 卵巢储备功能下降; 细胞凋亡; B 细胞淋巴瘤/白血病-2 原癌基因; Bcl-2 相关 X 蛋白

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)08-0138-06

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017080138

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170209.1200.018.html>

**[网络出版时间]** 2017-02-09 12:00

## Effect of Kuntai Capsule on Expressions of Bcl-2 and Bax Protein in Rats Ovaries with Decreasing Ovarian Reserve

GENG Li-hua, TAN Yong\*

(Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of Kuntai capsule on expressions of B-cell lymphoma/leukemia 2 (Bcl-2) and Bcl-2 associated X protein (Bax) protein in rats with decreasing ovaries reserve (DOR) induced by 4-vinylcyclohexene diepoxide (VCD). **Method:** The model of DOR of Sprague-Dawley female rats was established through intraperitoneal injection with  $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  of VCD for continuously 15 days. Since the 1<sup>st</sup> day of modeling, the SD rats were orally administered with drugs for 45 days. They were divided into the normal group, the model

**[收稿日期]** 20161212(015)

**[基金项目]** 江苏省临床医学科技专项-重点病种的规范化诊疗研究“中医药诊治不孕症的规范化研究”项目(BL2013039);上海海天医药科技开发有限公司横向课题(2015026)

**[第一作者]** 耿利华, 在读硕士, 从事不孕症研究, Tel:15195752285, E-mail:574294491@qq.com

**[通讯作者]** \*谈勇, 博士生导师, 教授, 主任医师, 从事中医妇科学工作, E-mail:280582831@qq.com

control group, high, middle and low-dose Kuntai capsule groups ( $1.89, 0.63, 0.21 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ), and Estradio Valerate group ( $0.13 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ). follicle-stimulating (FSH), lactogenic hormone (LH), estradiol ( $E_2$ ) were detected by ELISA method. HE staining was used to observed histopathologic changes in ovary and uterus. Expression levels of Bcl-2 and Bax protein in rats ovarian were detected by Western blot method. **Result:** Compared to the normal group, FSH, LH of the model control group increased strikingly, and  $E_2$  decreased ( $P < 0.05$ ). Ovarian and uterus were shrunk remarkably. The numbers of primordial follicles and primary follicles reduced obviously. The endometrium became thin. The expression of Bcl-2 protein of model group decreased obviously, whereas the expression of Bax protein of model group increased ( $P < 0.05$ ), Bcl-2/Bax ratio of model group decreased sharply ( $P < 0.01$ ). Compared with the model group, FSH of high, middle and low-dose Kuntai capsule group decreased, while  $E_2$  increased ( $P < 0.05$ ). FSH, LH of Estradio Valerate group decreased, while  $E_2$  increased ( $P < 0.05$ ). After intragastric administration, the volume of ovaries and uteruses of Kuntai capsule group and Estradio Valerate group increased, and the numbers of primordial follicles and primary follicles increased. The endometrium became thick. The order of alleviation degree from low to high was low, middle and high-dose Kuntai capsule groups and Estradio Valerate group. The expression of Bcl-2 protein of high, middle and low-dose Kuntai capsule groups and Estradio Valerate group significantly increased ( $P < 0.05, P < 0.01$ ); The expression of Bax protein of high, middle and low-dose Kuntai capsule groups and Estradio Valerate group significantly decreased ( $P < 0.05$ ). Bcl-2/Bax ratio of high, middle and low-dose Kuntai capsule groups and Estradio Valerate group increased ( $P < 0.05, P < 0.01$ ). **Conclusion:** Kuntai capsule can improve the function of ovaries by up-regulating the expression of Bcl-2 protein and down-regulating the expression of Bax protein in ovarian.

[**Key words**] Kuntai capsule; decreasing ovarian reserve; cell apoptosis; B-cell lymphoma/leukemia 2; Bcl-2 associated X protein

卵巢储备功能下降 (decreasing ovarian reserve, DOR) 是指女性在 40 岁前由于各种因素导致卵巢功能障碍而造成卵巢存留卵泡的数量减少或质量减退以致影响了生育潜能, 导致生育力下降的一种疾病<sup>[1]</sup>。DOR 导致越来越多的年轻妇女过早出现了月经稀发, 甚至闭经、不孕及流产, 大大降低了辅助生殖技术的成功率, 若不及时治疗, 将进一步发展成为卵巢早衰。现代医学最常用的方法是激素替代治疗, 即补充雌激素、应用促排卵药等。然而, 目前 DOR 患病率逐年上升, 激素替代方法疗效并无显著提升, 同时也增加了患乳腺癌、子宫内膜癌、心脏病等的潜在风险<sup>[2-5]</sup>。在中国, DOR 的治疗具有中医药特色, 并且在临床上取得了较好的疗效<sup>[6]</sup>。坤泰胶囊源自医圣张仲景《伤寒杂病论》黄连阿胶汤化裁, 在临床上已得到很好的研究<sup>[7-9]</sup>, 本实验建立生理性卵巢储备功能下降模型, 观察其对 VCD 所致的 DOR 模型大鼠凋亡相关基因 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 (Bcl-2), Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 蛋白表达的影响, 探讨坤泰胶囊在细胞水平防治 DOR 的机制, 为其在防治 DOR 具有良好的前景奠定理论基础。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级 SD 雌性大鼠 90 只, 28 日龄, 体重 60 ~ 70 g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供, 动物合格证号 SCXK(京)2012-0001。本研究所涉及的动物相关操作均在南京中医药大学动物伦理委员会的批准下进行 (批准号 2014NL-065-03)。

## 1.2 药物及试剂

**1.2.1 中药配制** 坤泰胶囊 (熟药粉, 黄芩、熟地黄、黄连、芍药、阿胶、茯苓) 一次性由上海海天医药科技开发有限公司提供, 用双蒸水按照“人和动物体表面积折算的等效剂量比率表”配成高、中、低浓度药液, 分别为  $1.89, 0.63, 0.21 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ,  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱保存备用。

**1.2.2 西药配制** 补佳乐 (拜耳药业, 批号 20130009) 用双蒸水溶解药片, 按照“人和动物体表面积折算的等效剂量比率表”配成  $0.13 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

**1.2.3 试剂** 去氧乙烯基环己烯 (4-vinylcyclohexene diepoxide, VCD), 芝麻油 (美国 Sigma 公司, 批号分别为 94956, S3547); 卵泡刺激素 (FSH), 黄体生成素 (LH) 试剂盒 (伊莱瑞特生物科

技术有限公司,批号分别为 E-EL-R0391c, E-EL-R0026c),雌二醇(E<sub>2</sub>)试剂盒(美国 R&D 公司,批号 KGE014)。

**1.3 仪器** CX21 型高分辨显微镜(日本 Olympus 公司),EnSpire® 2300 型酶标仪(上海巴玖公司),MiniPROTEAN® Tetra Cell 垂直电泳槽及 Trans-Blot® SD Cell 转移电泳槽(美国伯乐公司),PowerPac™ HC 型电泳仪(新加坡 Singapore 公司),TS-12F 型生物组织自动脱水机(孝感市宏业医用仪器有限公司),BMJ-M 型病理组织包埋机和包埋冷冻台(天津天利航空机电有限公司)。

## 2 方法

**2.1 动物模型的建立** 21 日龄雌性 SD 大鼠适应性饲养 1 周(28 日龄),阴门开启后均经阴道脱落细胞涂片筛查,性周期正常。随机从 90 只大鼠选取 15 只作为正常组,其余 75 只用于造模。按预实验及结合国内外文献[10-11]等将 VCD 溶于芝麻油中,配成浓度为 80 mg·kg<sup>-1</sup>,1 次/天(10:00 开始),连续腹腔注射 15 d。正常组腹腔注射等体积芝麻油,每天 1 次。

**2.2 分组与给药** 将造模的 75 只大鼠,随机分为模型组、坤泰胶囊高、中、低剂量组、补佳乐组、正常组,共 6 组,每组 15 只,于造模的第 1 天开始灌胃,连续 45 d。模型组和正常组均予等体积生理盐水,1 次/天;补佳乐组予以补佳乐溶液 0.13 mg·kg<sup>-1</sup>,1 次/天;坤泰胶囊高、中、低剂量组以中药 1.89,0.63,0.21 g·kg<sup>-1</sup>,每天 1 次。

**2.3 取材** 分别于造模前、造模 1 周后、造模结束时称体重并记录,于 VCD 造模后(70 ± 5) d 取材前再称体重。腹主动脉取血,处死动物,快速无菌方法留取卵巢、子宫组织,称取湿重,计算脏器指数(卵巢指数 = 卵巢质量/大鼠体重,子宫指数 = 子宫质量/大鼠体重)。将每只大鼠卵巢与子宫组织的一半放于 -70 °C 冰箱待用,一半放于 4% 多聚甲醛中固定待用。

## 2.4 检测指标

**2.4.1 苏木素-伊红(HE)染色** 观察大鼠卵巢与子宫组织 将固定于多聚甲醛的卵巢与子宫组织,梯度乙醇脱水,石蜡包埋,切片,脱蜡,常规 HE 染色,置于光学显微镜下观察。

**2.4.2 酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测血清 FSH, LH 及 E<sub>2</sub> 含量** 将大鼠血液静置 30 min,离心,分离血清。按照试剂盒说明用 ELISA 法测定 FSH, LH 及 E<sub>2</sub> 的含量。

**2.4.3 蛋白质免疫印迹(Western blot)法检测卵巢中 Bcl-2, Bax 蛋白表达** 提取大鼠卵巢组织蛋白,测定蛋白浓度后进行 SDS-PAGE 凝胶电泳、转膜;将 PVDF 膜以 5% BSA 封闭 2 h;再分别用 Bcl-2, Bax 和 β-肌动蛋白(β-actin)兔抗鼠多克隆抗体(1:1 000)4 °C 孵育过夜,洗膜;再用山羊抗兔的二抗 37 °C 摇床孵育 2 h。然后加 NBT/BCIP 避光显色。以 β-actin 作为内参。以 Image J 软件分析结果。

**2.5 统计学分析** 采用 SPSS 21.0 统计学软件,结果用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组比较用方差分析,组间比较用 LSD 和 SNK-q 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 对 DOR 模型大鼠卵巢、子宫指数的影响** 与正常组比较,模型组大鼠卵巢、子宫指数明显降低,有显著性差异( $P < 0.05$ ),提示 DOR 大鼠卵巢、子宫萎缩;与模型组比较,坤泰胶囊高、中剂量组及补佳乐组卵巢、子宫指数升高,有显著性差异( $P < 0.05$ ),提示用药后大鼠卵巢、子宫得到了不同的改善。见表 1。

表 1 坤泰胶囊对 VCD 所致 DOR 模型大鼠卵巢、子宫指数的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

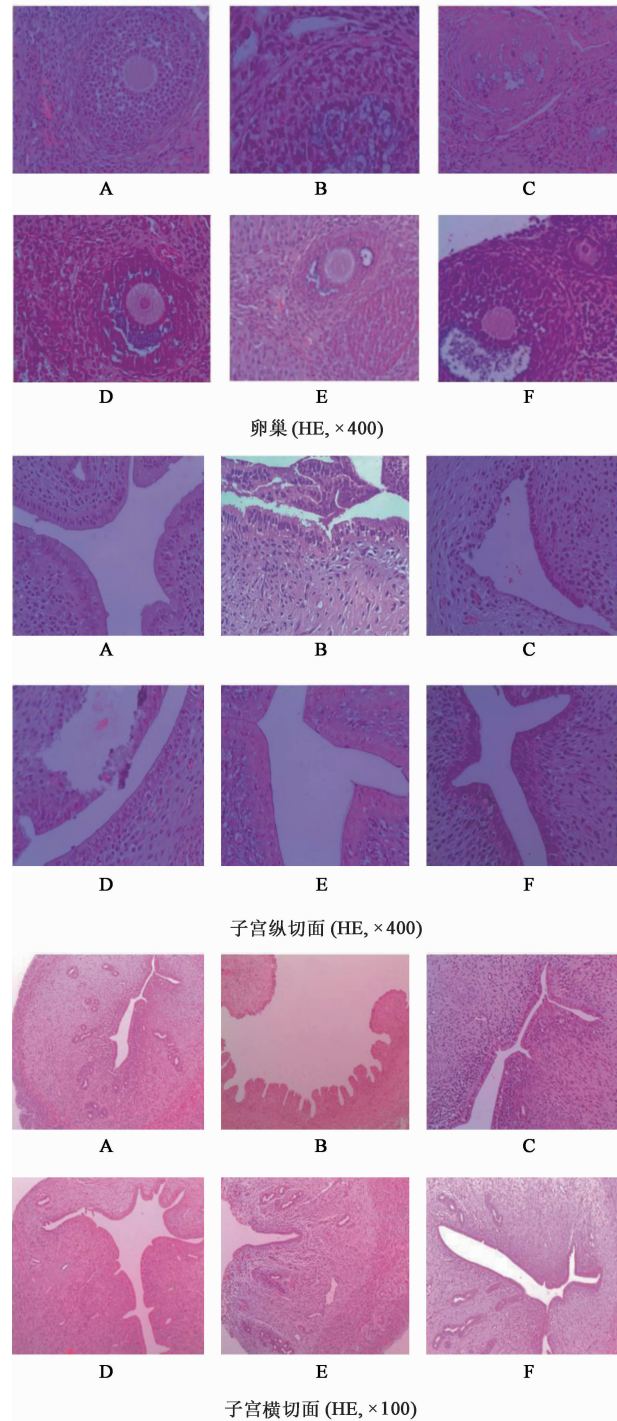
Table 1 Effect of Kuntai capsule on ovarian index and uterus index of DOR rats ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	卵巢指数	子宫指数
正常	-	84.02 ± 9.13	616.45 ± 27.12
模型	-	56.51 ± 11.22 <sup>1)</sup>	435.78 ± 19.63 <sup>1)</sup>
坤泰胶囊	0.21	60.18 ± 10.36	456.32 ± 19.98
	0.63	73.40 ± 9.78 <sup>2)</sup>	567.42 ± 21.23 <sup>2)</sup>
	1.89	79.13 ± 10.65 <sup>2)</sup>	598.15 ± 23.92 <sup>2)</sup>
补佳乐组	0.13 × 10 <sup>-3</sup>	82.60 ± 9.62 <sup>2)</sup>	601.73 ± 24.53 <sup>2)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ (表 2 同)。

**3.2 对 DOR 模型大鼠卵巢、子宫的病理形态学的影响** 肉眼观察:与正常组比较,造模后卵巢体积明显缩小,且与周围组织有不同程度的粘连;子宫体积萎缩。光学显微镜下:与正常组比较,造模后可见原始卵泡与初级卵泡明显减少,间接地成熟卵泡数目也减少。卵母细胞缩小,颗粒细胞数目减少,排列紊乱;子宫内膜与正常组比较变薄,腺体数目减少,腺腔小。严重程度顺序依次为模型组、坤泰胶囊低、中、高剂量组、补佳乐组。见图 1。

**3.3 对 DOR 模型大鼠血清 FSH, LH 及 E<sub>2</sub> 含量的影响** 与正常组比较,模型组 FSH, LH 及 E<sub>2</sub> 均有显



A. 正常组; B. 模型组; C. 坤泰胶囊 0.21 g·kg<sup>-1</sup> 组; D. 坤泰胶囊 0.63 g·kg<sup>-1</sup> 组; E. 坤泰胶囊 1.89 g·kg<sup>-1</sup> 组; F. 补佳乐 0.13 mg·kg<sup>-1</sup> 组 (图 2 同)

图 1 坤泰胶囊对 VCD 所致 DOR 模型大鼠卵巢、子宫形态学的影响

Fig.1 Effect of Kuntai capsule on morphologies of ovarian and uterus of DOR rats

著性差异 ( $P < 0.05$ ), FSH, LH 明显升高,  $E_2$  明显降低; 与模型组比较, 坤泰胶囊高、中、低剂量组 FSH 降低,  $E_2$  升高有显著性差异 ( $P < 0.05$ ), LH 有一定

程度降低, 但是改变差异不显著; 补佳乐组 FSH, LH 降低及  $E_2$  升高与模型组比较有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。见表 2。

**3.4 对 DOR 模型大鼠卵巢组织 Bcl-2, Bax 蛋白表达的影响** 模型组与正常组比较, 大鼠卵巢 Bcl-2 蛋白表达减少, Bax 表达增加, 具有显著差异 ( $P < 0.05$ ), Bcl-2/Bax 下降, 有极显著差异 ( $P < 0.01$ ), 则提示模型组卵巢 Bcl-2 蛋白低表达, Bax 蛋白高表达可能加速了卵泡凋亡, 导致卵巢储备功能下降; 与模型组比较, 坤泰胶囊高剂量组及补佳乐组大鼠卵巢 Bcl-2 蛋白表达明显增加, 有极显著差异 ( $P < 0.01$ ), 坤泰胶囊中、低剂量组大鼠卵巢 Bcl-2 蛋白表达增加, 有显著差异 ( $P < 0.05$ ); 坤泰胶囊高、中、低剂量组及补佳乐组大鼠卵巢 Bax 蛋白表达减少, 有显著差异 ( $P < 0.05$ ); 坤泰胶囊中、低剂量组大鼠卵巢 Bcl-2/Bax 升高, 有显著差异 ( $P < 0.05$ ); 坤泰胶囊高剂量组及补佳乐组大鼠卵巢 Bcl-2/Bax 明显升高, 有极显著差异 ( $P < 0.01$ )。见图 2, 表 3。

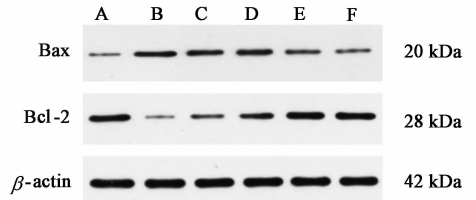


图 2 坤泰胶囊对 VCD 所致 DOR 模型大鼠卵巢 Bcl-2, Bax 及 Bcl-2/Bax 蛋白表达的影响

Fig.2 Effect of Kuntai capsule on Bcl-2, Bax and Bcl-2/Bax of DOR rats

#### 4 结论

卵巢储备功能下降归属于中医的“月经后期”、“月经过少”、“经断前后诸症”、“不孕症”等病种范畴。本病的病因病机各个医家虽然认识有所不同, 但是基本病机以肾虚为主<sup>[1,12-14]</sup>。主要的治疗原则以补肾滋阴养血为主。坤泰胶囊由医圣张仲景《伤寒杂病论》中的黄连阿胶汤化裁而来, 由黄芩、熟地黄、黄连、芍药、阿胶、茯苓组成, 具有滋阴养血、清虚热、安神除烦的功效<sup>[15]</sup>。方中熟地黄为君药, 性甘温, 为滋阴补肾、填精益髓、养血之要药。黄连、白芍、阿胶为臣药, 黄连清热泻火、清心除烦, 与熟地黄配伍, 滋阴降火、交通心肾, 治疗阴虚火旺发热汗出, 心烦不眠; 白芍养血敛阴、阿胶补血养阴, 两者与熟地黄配伍, 增强熟地黄滋阴养血的作用。黄芩、茯苓为佐药, 黄芩清热泻火, 加强黄连清热燥湿, 泻火解毒的作用; 茯苓益心健脾, 交心肾以安神, 为补肾精提供源泉, 又能安神, 治疗虚烦不眠。现代药理研究

表 2 坤泰胶囊对 VCD 所致 DOR 模型大鼠血清 FSH, LH, E<sub>2</sub> 的含量的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

Table 2 Effect of Kuntai capsule on FSH, LH and E<sub>2</sub> of DOR rats ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	FSH/U·L <sup>-1</sup>	LH/U·L <sup>-1</sup>	E <sub>2</sub> /ng·L <sup>-1</sup>
正常	-	18.52 ± 2.14	35.29 ± 2.23	30.29 ± 2.45
模型	-	24.35 ± 1.56 <sup>1)</sup>	37.65 ± 2.78 <sup>1)</sup>	15.89 ± 1.82 <sup>1)</sup>
坤泰胶囊	0.21	18.95 ± 1.09 <sup>2)</sup>	31.12 ± 1.99	21.78 ± 2.31 <sup>2)</sup>
	0.63	17.32 ± 1.56 <sup>2)</sup>	30.35 ± 2.17	25.89 ± 2.67 <sup>2)</sup>
	1.89	15.88 ± 0.96 <sup>2)</sup>	30.01 ± 3.27	29.02 ± 1.68 <sup>2)</sup>
补佳乐	0.13 × 10 <sup>-3</sup>	16.65 ± 0.96 <sup>2)</sup>	28.99 ± 2.25 <sup>2)</sup>	27.56 ± 2.28 <sup>2)</sup>

表 3 坤泰胶囊对 VCD 所致 DOR 模型大鼠卵巢 Bcl-2, Bax 蛋白相对表达水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

Table 3 Effect of Kuntai capsule on relative expression of Bcl-2 and Bax of DOR rats ( $\bar{x} \pm s, n = 15$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	Bcl-2/ $\beta$ -actin	Bax/ $\beta$ -actin	Bcl-2/Bax
正常	-	0.69 ± 0.05	0.25 ± 0.03	2.46 ± 0.25
模型	-	0.20 ± 0.08 <sup>1)</sup>	0.64 ± 0.07 <sup>1)</sup>	0.31 ± 0.07 <sup>2)</sup>
坤泰胶囊	0.21	0.38 ± 0.04 <sup>3)</sup>	0.55 ± 0.04 <sup>3)</sup>	0.72 ± 0.09 <sup>3)</sup>
	0.63	0.46 ± 0.06 <sup>3)</sup>	0.49 ± 0.05 <sup>3)</sup>	0.95 ± 0.10 <sup>3)</sup>
	1.89	0.66 ± 0.07 <sup>4)</sup>	0.38 ± 0.02 <sup>3)</sup>	1.76 ± 0.15 <sup>4)</sup>
补佳乐	0.13 × 10 <sup>-3</sup>	0.67 ± 0.08 <sup>4)</sup>	0.36 ± 0.05 <sup>3)</sup>	1.95 ± 0.19 <sup>4)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup> P < 0.05, <sup>2)</sup> P < 0.01; 与模型组比较<sup>3)</sup> P < 0.05, <sup>4)</sup> P < 0.01。

表明:坤泰胶囊具有植物雌激素样作用,可以改善卵巢血供,延长卵巢的生命力,进而改善性激素水平<sup>[16]</sup>。现在临床上坤泰胶囊治疗妇科疾病已经取得了很好的疗效,尤其对卵巢储备功能下降所带来的病症疗效较佳<sup>[17-20]</sup>。

细胞凋亡是细胞自我破坏的程序性过程,出现在正常生理状态或疾病中,在一定的生理或病理条件下,遵循自身的程序,自己结束生命的过程。卵泡在正常情况下颗粒细胞的分裂和凋亡现象一同发生,当颗粒细胞凋亡达 10% 以上时,则预示着该卵泡闭锁<sup>[21]</sup>,提示细胞凋亡是导致卵泡闭锁的前提。由于出生时卵巢中始基卵泡的数目就已定,卵泡闭锁又是卵巢正常生理机能的重要一部分,是其生理性除掉多余组织的一个过程,所以少量卵泡的闭锁并不影响周围卵泡的正常发育,只有当大量卵泡的闭锁速度快于生理代谢速度时,才发生 DOR。Bcl-2, Bax 蛋白是 Bcl-2 家族蛋白的成员, Bcl-2 家族可以分为 2 类,以 Bcl-2 为代表的一类蛋白抑制细胞凋亡;以 Bax 为代表的一类蛋白促进细胞凋亡。本研究结果提示,造模药物 VCD 导致大鼠 FSH, LH 水平升高,卵巢分泌 E<sub>2</sub> 下降, Bcl-2 表达下降, Bax 表达升高,导致卵泡颗粒细胞凋亡。坤泰胶囊具有植物雌激素样作用,能够下调 FSH, LH 水平,刺激卵巢

分泌 E<sub>2</sub>, 抑制卵巢颗粒细胞的凋亡,延缓衰老。FSH 与 LH 调节卵巢颗粒细胞的凋亡及分泌功能,在调控卵泡发育及排卵过程中发挥重要作用。可见坤泰胶囊可能是通过下调 FSH, LH 水平,上调 E<sub>2</sub> 水平及上调 Bcl-2 蛋白的表达与下调 Bax 蛋白的表达,从而能够抑制卵泡的凋亡。

由本实验可知,坤泰胶囊可以通过下调 FSH, LH 水平,刺激 E<sub>2</sub> 分泌,调控 Bcl-2 家族蛋白成员中 Bcl-2/Bax, 即上调 Bcl-2 蛋白的表达与下调 Bax 蛋白的表达,以维持促凋亡蛋白与抑制凋亡蛋白之间的平衡来改善卵巢储备功能,这可能是防治 DOR 的机制之一。

[参考文献]

[1] 姜智瑞, 夏天. 中医治疗卵巢储备功能下降的临床研究进展[J]. 天津中医药大学学报, 2014, 33(4): 249-252.

[2] 冯敬华, 孔丽蔚, 李柳丽. 卵巢储备功能下降病因与治疗的中西医研究进展[J]. 中国医药导报, 2014, 11(14): 161-164.

[3] Rees M C, et al. Premature menopause: Hormone replacement therapy is indeed indicated[J]. BMJ, 2008, 33(7): 1033-1034.

[4] Chlebowski R T, Manson J E, Anderson G L, et al. Estrogen plus progestin and breast cancer incidence and mortality in the women health initiative observational

- study [J]. J Natl Cancer Inst, 2013, 105 (8): 526-535.
- [5] Worsley R, Davis S R, Gavrilidis E, et al. Hormonal therapies for new onset and relapsed depression during perimenopause [J]. Maturitas, 2012, 73(2): 127-133.
- [6] 刘丽丽, 曲秀芬, 周颖, 等. 卵巢储备功能下降的中医药治疗[J]. 杏林中医药, 2012, 32(2): 151-152.
- [7] 徐静, 孙建新. 坤泰胶囊在围绝经期妇女骨折治疗中的临床应用[J]. 陕西中医, 2016, 28(4): 394-395.
- [8] 刘梅云, 马晓莉. 坤泰胶囊治疗卵巢储备功能下降及卵巢早衰的临床研究[J]. 河北大学, 2014, 18(6): 58-60.
- [9] 陈继明, 高红艳, 邓洋, 等. 坤泰胶囊作用机制与生殖毒性的研究进展[J]. 中医药导报, 2016, 20(11): 96-98.
- [10] 陆樱瑜, 沈明洁, 李佳慧, 等. 卵巢储备功能下降动物模型研究进展[J]. 生殖医学杂志, 2014, 23(12): 996-997.
- [11] Mayer L P, Pearsall N A, Christian P J, et al. Long-term effects of ovarian follicular depletion in rats by 4-vinylcyclohexene diepoxide [J]. Reprod Toxicol, 2002, 16(5): 775-781.
- [12] 陈舒, 何嘉琳. 何嘉琳治疗卵巢储备功能下降的临床经验[J]. 浙江中医杂志, 2014, 49(1): 22-27.
- [13] 黄芸, 章勤. 章勤治疗卵巢储备功能下降的临床经验[J]. 黑龙江中医药, 2014, 43(2): 43-44.
- [14] 宋佳怡, 夏天, 马瑞红. 和颜坤泰胶囊治疗卵巢储备功能下降的机制探讨及前景分析[J]. 中国中医药现代远程教育, 2016, 14(8): 145-148.
- [15] 张杰, 宋春, 李瑞霞, 等. 和颜坤泰胶囊改善卵巢功能的临床研究进展[J]. 中成药, 2014, 36(6): 1337-1339.
- [16] 周华锋. 地屈孕酮联合坤泰胶囊治疗女性更年期综合征的临床研究[J]. 中国妇幼保健, 2014, 29(21): 3390-3392.
- [17] 杨蔚. 坤泰胶囊治疗妇科疾病的应用研究进展[J]. 药物评价研究, 2015, 38(4): 453-457.
- [18] 任红娟, 杨睿. 坤泰胶囊对比雌孕激素序贯疗法治疗围绝经期综合征的临床疗效及对生存质量的影响[J]. 中国生化药物杂志, 2015, 35(2): 116-118.
- [19] 陈继明, 高红艳, 丁屹, 等. 坤泰胶囊在围绝经期综合征中的应用[J]. 中成药, 2015, 37(11): 2478-2480.
- [20] 杜晓琴, 衡明莉, 徐玲. 坤泰胶囊和激素替代治疗围绝经期综合征患者的有效性及安全性荟萃分析[J]. 国际妇产科学杂志, 2016, 43(3): 267-271.
- [21] Chauhan P, Sodhi A, Tarang S. Cisplatin-treated murine Peritoneal macrophages induce apoptosis in L929 cells; role Of Fas-Fas ligand and tumor necrosis factor-tumornecrosis Factor receptor1 [J]. Anticancer Drugs, 2007, 18(2): 187-196.

[责任编辑 周冰冰]