

DOI:CNKI:11-3495/R. 20110321. 1134. 009

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

李兰英*, 王佩娟, 彭蕴茹, 罗宇慧, 韩关绥

(江苏省中医药研究院, 江苏省中西医结合医院, 南京 210028)

[摘要] 目的:探讨补肾活血汤对制动应激所致大鼠生殖内分泌功能紊乱的影响。方法:采用重复制动应激法制造大鼠生殖内分泌功能紊乱模型,按 8.0, 4.0, 2.0 g·kg⁻¹ 分别 ig 给予补肾活血汤,以放免法检测大鼠血清中性激素:雌二醇(E₂)、孕酮(P)、黄体生成素(LH)、卵泡刺激素(FSH)水平;酶免法检测血清中激活素(ACTA)、抑制素(INHB)、卵泡抑素(FS)水平。结果:补肾活血汤 8.0, 4.0 g·kg⁻¹ 剂量组可明显升高模型大鼠血清中 E₂ 水平,降低异常升高的 ACTA 水平,升高 INHB 和 FS 水平(P<0.05 或 P<0.01),对生殖内分泌功能紊乱大鼠的卵巢功能有明显的保护作用。结论:补肾活血汤对制动应激所致大鼠生殖内分泌功能紊乱的卵巢功能有明显的保护作用。

[关键词] 补肾活血汤;制动应激;生殖内分泌功能紊乱;激素及分泌因子

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0144-04

Effect of Bushen Huoxuetang on Reproductive-endocrine Disorder Induced by Immobilization Stress in Femail Rats

LI Lan-ying*, WANG Pei-juan, PENG Yun-ru, LUO Yu-hui, HAN Guan-su

(Jiangsu Provincial Academy of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210028, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of Bushen Huoxuetang(BSHXT) in femail rats with Reproductive-endocrine Disorder(RED) induced by immobilization stress. **Method:** The female rat model of RED was established by repeated immobilization stress. The serum levels of estradiol(E₂), progesterone(P), follicle stimulating hormone(FSH) and luteinizing hormone(LH) were measured by radioimmunoassay(RIA) and, inhibin-B(INHB), follistatin(FS) and activin-a(ACTA) were measured by enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA). **Result:** The serum level of E₂ was significantly increased and the serum levels of INHB, FS and ACTA were obviously reduced in femail rat model treated by larger and middle doses of BSHXT(8.0, 4.0 g·kg⁻¹). **Conclusion:** BSHXT could obviously protect ovarian function of RED induced by immobilization stress in femail rats.

[Key words] Bushen Huoxuetang; repeated immobilization stress; reproductive-endocrine disorder; hormone and secretin

反复强烈的心理、精神刺激是重要的女性生殖内分泌功能紊乱、女性早衰以及更年期综合征的致

病因素,受到了国内外学者的广泛关注。各种身心应激与女性生殖内分泌疾病密切相关。Harlow 等学者研究发现:抑郁与卵巢早衰有密切的关系,绝经前生活中发生重大事件者绝经年龄提前;连晓媛等报道:应激可诱导卵巢功能紊乱和退化^[1-3]。同时,大量的动物实验也证实,应激可引起雌性动物内分泌功能紊乱^[4]。中医认为:人体在情志正常的情况下,气机条达,气血通畅,人体内分泌功能得以维持;相

[收稿日期] 20101116(007)

[基金项目] 江苏省自然科学基金项目(BK2007174);康缘中医药科技创新基金项目(HZ0811KY)

[通讯作者] *李兰英,硕士,副研究员,研究方向:免疫学, Tel:025-85637951, E-mail:lyli-132@163.com

[网络出版时间] 2011-03-21 11:34

反,情志失常,肾气虚衰,肝气郁结。补肾活血汤源自我院的验方,有较好的疏肝调经之功效,被广泛用于治疗卵巢储备功能减退相关疾病。我们通过实验探讨应激状况下,雌性大鼠血清中性激素以及卵巢分泌因子的改变。

1 材料

1.1 动物 SD大鼠,清洁级,体重180g左右,雌性,购于上海斯莱克实验动物有限责任公司,合格证号SCXK(沪)2007-0005。动物饲养环境:清洁级,合格证号SYXK(苏)2007-0026。

1.2 药品 补肾活血汤由菟丝子、仙灵脾、当归、川芎、生地黄、白芍、酸枣仁、柴胡、香附等中药按比例配制,经乙醇以及水提取浓缩并干燥,制成深棕色干燥粉末,含生药量为 $0.21\text{ g}\cdot\text{g}^{-1}$ 。六味地黄丸,批号0701176,河南省宛西制药股份有限公司生产,用时加适量蒸馏水配成适宜浓度的混悬液。

1.3 检测试剂盒 雌二醇(E₂)、孕酮(P)、黄体生成素(LH)、卵泡刺激素(FSH)放免试剂盒,批号080220,北京北方生物技术研究所生产;激活素A(ACTA)、抑制素B(INHB)及卵泡抑素(FS)酶联免疫法检测试剂盒,批号20080316,购自美国ADL公司(Adlitteram Diagnostic Laboratories Inc.)。

1.4 仪器 SN-695B型智能放免 γ 测量仪,上海原子核研究所日环仪器一厂生产;BIO-LIS Evolis全自动酶联免疫检测仪,美国产;BH-Olympus显微镜,日本产。

2 方法

2.1 性激素观察及动物造模 雌性SD大鼠适应环境1周后,每天7:30~8:30 AM阴道涂片,立即于显微镜下观察涂片上的细胞形态,连续观察14 d,选择有规律性周期(动情前期1 d,动情期1 d,动情后期2 d)或性周期延长,但仍有规律3个周期的动物用于试验。参照文献[5]方法制造制动应激大鼠模型。将大鼠置于定制的制动器上进行制动应激。应激时间安排在8:30 AM~6:30 PM,每天制动应激1次,连续20 d,第1~3天每天制动应激2 h,以后每3天延长应激时间1 h。

2.2 分组及给药 造模大鼠50只,随机分为5组,即补肾活血汤低、中、高剂量组、阳性药六味地黄丸组、模型对照组,另取正常大鼠(约2~3月龄)10只为正常对照组。各组大鼠均于造模同时开始ig给药,每天给药1次,连续20 d。补肾活血汤低、中、高

剂量组按生药量计分别给予 $2, 4, 8\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的补肾活血汤,阳性药组按生药量计给予 $3.3\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的六味地黄丸,模型组和正常对照组给予等容积的生理盐水,各组大鼠ig体积均为 $20\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

2.3 血清采集 各组大鼠摘眼球分别收集血液,静置30 min, $3\ 000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心,分离血清,置 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存备用。

2.4 检测方法 以放射免疫法测定大鼠血清中E₂, P, LH, FSH水平,以酶联免疫吸附法测定血清中ACTA, INHB, FS水平。

2.5 统计学处理 实验数据用统计软件SPSS 10.0分析,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间数据进行 t 检验。 $P<0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 一般状况 正常对照组大鼠在整个实验过程中状况良好,造模组大鼠均出现不同程度的烦躁易怒,精神萎靡不振,反应迟钝,行动迟缓,体重增长不明显,但两组体重比较无显著差异。

3.2 子宫、卵巢变化 实验结束时,分组摘取大鼠的子宫、卵巢,剔除周围其他组织,分别称质量,各组质量无显著差异。

3.3 性周期变化情况 大鼠性周期一般为4~5 d,包括动情前期、动情期、动情后期和动情间期。在造模2周左右,除正常对照组无变化外,其余各组性周期均不规则,表现为动情期延长2~3 d或动情后期、间期延长2~3 d。到第3周时模型组大鼠性周期更加紊乱,其中一部分大鼠其周期持续表现为动情间期,各给药组大鼠周期延长至7~8 d(动情期与动情间期均延长)。结果显示:各给药组大鼠性周期虽然没有达到正常周期表现,但总的趋势优于模型组。

3.4 对血清性激素以及卵巢分泌因子的影响 表1~2结果显示正常对照组大鼠血清中E₂, INHB, FS水平明显高于模型组,而ACTA水平明显低于模型组,与之比较有显著性差异($P<0.01$);正常对照组P水平与模型组比较无显著差异。给予补肾活血汤高、中剂量组造模大鼠血清中E₂, INHB, FS水平明显升高,与模型组比较有显著性差异($P<0.05$ 或 $P<0.01$);ACTA水平下降,与模型组比较有显著性差异($P<0.05$), P, LH, FSH水平与模型组比较无显著差异。

表 1 补肾活血汤对制动应激大鼠血清中性激素水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	$\text{E}_2/\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{P}/\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{LH}/\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	$\text{FSH}/\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$
正常	-	$96.6 \pm 16.3^{2)}$	1.78 ± 0.78	0.92 ± 0.70	2.24 ± 0.36
模型	-	78.0 ± 14.5	1.58 ± 0.53	0.92 ± 0.64	2.44 ± 0.73
六味地黄丸	3.3	$92.8 \pm 11.7^{1)}$	1.47 ± 0.50	0.81 ± 0.27	2.25 ± 0.57
补肾活血汤	8.0	$91.2 \pm 11.3^{1)}$	1.50 ± 1.03	0.73 ± 0.71	2.59 ± 0.86
	4.0	$96.5 \pm 19.5^{2)}$	1.76 ± 1.14	0.85 ± 0.64	2.46 ± 0.71
	2.0	81.4 ± 22.6	1.67 ± 0.69	0.69 ± 0.32	2.45 ± 0.88

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

表 2 补肾活血汤对制动应激大鼠血清中抑制素、
激活素及卵泡抑素水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	ACTA $/\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	INHB $/\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	FS $/\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
正常	-	$7.89 \pm 1.46^{2)}$	$81.4 \pm 11.7^{2)}$	$57.4 \pm 11.1^{2)}$
模型	-	12.89 ± 3.37	53.2 ± 11.1	37.8 ± 5.0
六味地黄丸	3.3	$8.52 \pm 2.47^{1)}$	$71.2 \pm 8.7^{2)}$	$46.4 \pm 4.2^{2)}$
补肾活血汤	8.0	$9.07 \pm 1.76^{1)}$	$76.2 \pm 5.3^{2)}$	$53.2 \pm 13.1^{1)}$
	4.0	$8.61 \pm 1.87^{1)}$	$79.9 \pm 12.4^{2)}$	$51.0 \pm 5.8^{2)}$
	2.0	11.60 ± 3.04	64.5 ± 11.5	36.7 ± 4.6

4 讨论

在女性神经内分泌系统中,生殖内分泌系统不仅是参与应激反应的重要系统,也是更易受应激危害的系统,应激已成为女性生殖内分泌疾病常见而重要的原因。随着社会快速发展,心理精神因素造成的女性生殖内分泌功能紊乱、卵巢功能低下或紊乱严重影响广大妇女的健康。现代医学多以激素,诱导排卵,免疫抑制剂等方法治疗,其疗效不确定,长期应用均有明显的副作用,激素治疗也只有替代作用,未能从根本上调节、改善卵巢的功能^[6-7]。

中医认为:卵巢功能低下病机复杂,多以肾虚血亏、血瘀,虚实夹杂而以肾虚为主导,血虚为基础。虚为本,实为标,虚多实少。肾为先天之本,主藏精、生长、生殖和发育;肝主情志、主疏泄、调畅气机。而百病生于气,怒则气上,情志失常可使肝郁气滞,气血不和,脏腑功能失调,致肾虚冲任失养。因此,肾虚和肝郁是导致卵巢功能失调的重要原因。补肾活血汤中,菟丝子、仙灵脾滋补肾精,当归、川芎、生地黄、白芍养血、活血、调经;酸枣仁养心、安神;柴胡、香附理气健脾,诸药合用,发挥滋肾、活血、疏肝、调经、养心、安神之功效。有文献报道^[8-9]:菟丝子具有雌激素样作用以及抗氧化、抗衰老作用,对性腺功能有双向调节作用。仙灵脾有性激素样作用,能提高性激素分泌量,对糖皮质激素所致“肾阳虚”有明

显的改善作用,可刺激卵巢颗粒细胞分泌雌二醇;香附在大鼠试验表明有雌激素样活性并在体内转化后活性增强。众所周知:机体通过下丘脑-垂体-卵巢轴,应激反应激活下丘脑-垂体-肾上腺轴与神经、内分泌、卵巢激素以及分泌因子相互作用,共同维持卵巢的正常功能^[10]。FSH, LH 是垂体激素,可促进卵巢 E_2, P 的分泌。同时,血液中升高的 E_2, P 也可反馈性抑制垂体分泌 FSH, LH。在本研究中,模型组 E_2 水平明显降低,性周期紊乱,而 FSH, LH 在正常范围。此时,机体卵巢内分泌功能紊乱尚处于较早期阶段,还未能反馈调节垂体激素的改变。能敏感反映卵巢功能的卵巢分泌因子 INHB, FS 出现明显降低, ACTA 则高于正常。机体 INHB-ACTA-FS 系统出现明显的紊乱,这与临床大量的生殖内分泌功能紊乱,卵巢功能早期减退的患者中,临床症状明显,但是,性激素水平处于正常状态的表现相一致。我们认为此时机体的生殖内分泌、卵巢功能紊乱处于较早期的可逆状态,及时给予合理的干预可有效地改善机体状态。补肾活血汤初步研究显示对机体 INHB-ACTA-FS 系统的功能有调节作用,从而干预应激所致雌性大鼠生殖内分泌功能紊乱、卵巢功能降低。但其作用点,作用途径以及作用机制等还有待于进一步探讨。

[参考文献]

- [1] Harlow B L, Signorello I B. Factors associated with early menopause. [J]. J Maturitas, 2000, 35(1):3.
- [2] Lubna P L, Wanette S T. Premature ovarian failure discordance between somatic and reproductive aging. [J]. Elsevier Science Ireland, 2002, 2(15):413.
- [3] 连晓媛, 丁岩, 陈奇, 等. 重复制动应激对雌性大鼠卵巢功能的影响 [J]. 中药新药与临床药理, 2004, 15(6):373.
- [4] 胡随瑜, 张春虎, 曹美群, 等. 白松片对大鼠慢性应激抑郁模型的抗抑郁实验研究 [J]. 中南大学学报, 2006, 31(5):676.

DOI:CNKI;11-3495/R. 20110321. 1135. 011

利心冲剂对心衰大鼠模型神经内分泌及炎症因子的影响

郁晓群¹, 高想^{1*}, 蒋凤荣², 姜卫东¹, 唐艳芬¹, 张锋莉¹

(1. 南通市中医院, 江苏南通 226001, 2. 南京中医药大学, 南京 210046)

[摘要] 目的:研究利心冲剂对心衰大鼠神经内分泌因子及炎症相关因子的影响。方法:实验分组:正常对照组、模型组、利心冲剂低剂量组(20 g·kg⁻¹)、利心冲剂高剂量组(40 g·kg⁻¹)、卡托普利阳性药组(16 mg·kg⁻¹)。ip 阿霉素(ADR)4 mg·kg⁻¹, 每 5 天 1 次, 共 3 次, 复制大鼠心衰模型, 左心室插管术测定血流动力学指标, HE 病理染色, Real time PCR 检测心肌细胞神经内分泌因子及炎症相关因子, 免疫组织化学检测基质金属蛋白酶组织抑制因子(TIMP-1)。结果:利心冲剂治疗组和模型组比较, 形态学显示心肌细胞变性坏死明显减轻;左心室收缩内压显著升高, 以高剂量最为明显($P < 0.01$); ADR 作用后心肌细胞神经内分泌因子相关指标 BNP, ANP 与 ETmRNA 明显升高($P < 0.01$), 利心冲剂治疗后 BNP, ANP 与 ETmRNA 明显降低, 以高剂量最为明显($P < 0.01$); ADR 作用后心肌细胞炎症相关因子 TNF- α 明显升高($P < 0.01$), 利心冲剂治疗后 TNF- α 明显降低, 以利心冲剂高剂量组最为明显($P < 0.01$); ADR 作用后心肌细胞 TIMP-1 表达明显减少($P < 0.01$), 利心冲剂治疗后 TIMP-1 表达明显增加, 以高剂量最为显著($P < 0.01$)。结论:利心冲剂调控神经内分泌因子及炎症相关因子, 改善心脏功能。

[关键词] 利心冲剂; 心衰大鼠模型; 神经内分泌因子; 炎症相关因子

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0147-05

Effect of Lixin Granule on Neuroendocrine and Inflammation in Rats with Adriamycin-induced Heart Failure

YU Xiao-qun¹, GAO Xiang^{1*}, JIANG Feng-rong², JIANG Wei-dong¹, TANG Yan-fen¹, ZHANG Feng-li¹

(1. Nantong Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nantong 226001, China;

2. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China)

[收稿日期] 20101210(003)

[基金项目] 江苏省中医药局科技研究专项项目(HZ07072)

[第一作者] 郁晓群, 学士, 副主任医师, 专业方向: 心血管内科及急诊

[通讯作者] *高想, 学士, 主任医师, 专业方向: 心血管内科, Tel: 0513-85126191, E-mail: gaoxiang@medmail.com.cn

[网络出版时间] 2011-03-21 11:35

- [5] 连晓媛, 丁岩, 陈奇, 等. 急性应激雌性大鼠生殖内分泌紊乱模型的建立[J]. 中药新药与临床药理, 2004, 15(3):155.
- [6] 范红霞, 万立生. 去卵巢大鼠性皮素和骨钙素的含量变化及补肾中药对其影响[J]. 内蒙古中医药, 2000, 19(1):43.
- [7] 狄俊英, 张伯莉, 崔红英, 等. 补肾调冲药对去卵巢小鼠作用的实验研究[J]. 天津中医学院学报, 1998, 17(3):40.
- [8] 蔡立荣, 李大金, 孙晓溪, 等. 补肾活血方对小鼠实验性卵巢早衰防治作用的研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2001, 21(2):126.
- [9] 朱玲, 罗颂平. 卵巢早衰的病因病机及其证治[J]. 中医药学刊, 2003, 21(1):143.
- [10] 杨林芝. 应激与女性生殖内分泌疾病关系的研究进展[J]. 中国实用医药, 2008, 3(6):127.

[责任编辑 聂淑琴]