

· 药理 ·

二仙汤对围绝经期大鼠心脏电生理的影响

谢慧慧, 王莹, 杨硕, 董业红, 张丽, 黄思敏, 徐彭, 刘波*
(江西中医药大学药学院, 南昌 330004)

【摘要】 目的:探讨二仙汤对围绝经期大鼠心脏电生理的作用及机制。**方法:**雌性 SD 大鼠,根据体质量随机分组,分为假手术组,模型组,戊酸雌二醇组($8 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),二仙汤低、中、高剂量组($4, 8, 12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)。除假手术组外,其余各组大鼠均彻底摘除卵巢复制围绝经期大鼠模型。同时分别灌胃给药,假手术组和模型组则灌胃等量生理盐水,每天 1 次,连续 80 d。以生物信号采集仪连接 II 导联电极记录大鼠心电图,酶联免疫吸附测定(ELISA)检测大鼠血清中雌二醇(E_2)的含量,苏木素-伊红(HE)染色观察大鼠子宫病理形态学变化,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测大鼠心肌组织中雌激素 α 受体($ER\alpha$)蛋白的表达。**结果:**与假手术组比较,模型组大鼠心电图 P 波, R 波, T 波幅度显著减小($P < 0.01$), PR 间期, QRS 时程, QT 间期不同程度的缩短,大鼠血清中 E_2 水平显著降低($P < 0.01$);大鼠子宫明显干瘪,皱缩,子宫内膜层变薄,腺体数量明显减少;心肌组织 $ER\alpha$ 受体蛋白表达显著降低($P < 0.01$)。与模型组比较,二仙汤各剂量组均能改善上述大鼠子宫的病理变化,中、高剂量二仙汤能显著升高 E_2 水平($P < 0.01$),显著逆转上述子宫的病理变化,上调 $ER\alpha$ 受体蛋白的表达($P < 0.01$)。**结论:**二仙汤能改善围绝经期大鼠的心脏电生理变化,其机制可能与提高大鼠体内雌激素活性和雌激素受体表达有关。

【关键词】 二仙汤; 围绝经期; 雌激素; 心脏电生理

【中图分类号】 R2-0; R22; R285.5; R289 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-9903(2019)18-0043-06

【doi】 10.13422/j.cnki.syfjx.20191601

【网络出版地址】 <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.r.20190430.1013.001.html>

【网络出版时间】 2019-05-07 17:15

Effect of Erxian Decoction on Cardiac Electrophysiology in Peri-menopausal Rats

XIE Hui-hui, WANG Ying, YANG Shuo, DONG Ye-hong, ZHANG Li, HUANG Si-min, XU Peng, LIU Bo*
(College of Pharmacy, Jiangxi University of Chinese Medicine, Nanchang 330004, China)

【Abstract】 Objective: To explore the effect and mechanism of Erxian decoction on peri-menopausal cardiac electrophysiology in rats. **Method:** Female sprague-dawley rats were randomly divided into six groups: sham operation group, model group, estradiol valerate group, and low, medium and high-dose Erxian decoction groups. Except the sham operation group, the rats in the other groups were completely removed from the ovarian replication peri-menopausal rat model. At the same time, estradiol valerate group ($8 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), low-dose Erxian decoction group ($4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), middle-dose Erxian decoction group ($8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) and high-dose Erxian decoction group ($12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), sham operation group and model group were given the same amount of normal saline. The administration was given once a day for 80 consecutive days. The electrocardiogram of rats was recorded by biosignal detector connected to lead II electrode. The content of estradiol (E_2) in rat serum was detected by enzyme-linked immuno sorbent assay (ELISA). The pathological changes of rat uterus were observed by hematoxylin-eosin. The expression of the estrogen alpha receptor ($ER\alpha$) protein was detected by Western blot method in myocardial tissue of rat. **Result:** Compared with the sham operation group, the amplitudes of P wave, R wave and T wave in the electrocardiogram of the model group were significantly decreased ($P < 0.01$), and the

【收稿日期】 20190128(007)

【基金项目】 国家自然科学基金项目(81560723,81860802);江西省自然科学基金项目(20114BAB205073,20151BAB205072)

【第一作者】 谢慧慧,在读硕士,从事老年性疾病的中药防治研究,Tel:0791-87118919, E-mail: 850693034@qq.com

【通信作者】 *刘波,博士,副教授,硕士生导师,从事老年性疾病的中药防治研究,Tel:0791-87118919, E-mail: liubojuetcm@163.com

PR interval, QRS time course and QT interval were shortened to different degrees. The E_2 level was significantly lower ($P < 0.01$). The uterus was obviously shriveled and shrank, the endometrial layer became thinner, and the number of glands reduced significantly. The expression of $ER\alpha$ receptor protein in myocardial tissue was significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with the model group, the Erxian decoction group could improve the pathological changes of ECG in the above rats. The medium and high-dose Erxian decoction can significantly increase the E_2 level ($P < 0.01$), reverse significantly the pathological changes of the uterus, and up-regulate the expression of $ER\alpha$ receptor protein ($P < 0.01$). **Conclusion:** Erxian decoction can improve cardiac electrophysiological changes in peri-menopausal rats, and its mechanism may be related to the increase of estrogen activity and estrogen receptor expression in rats.

[**Key words**] Erxian decoction; peri-menopause; estrogen; cardiac electrophysiology

心血管疾病是导致老年女性死亡率上升的主要原因之一,流行病学显示,绝经前女性因心血管疾病如冠心病、心肌梗死等引起的左心室肥厚和心脏重塑的发生率明显低于绝经后女性。研究发现体内雌激素的水平与心血管疾病的发生密切相关^[1-2]。植物雌激素与雌二醇(E_2)具有相似的生物活性,对妇女绝经后雌激素水平下降引起的心血管疾病、骨质疏松症等围绝经期综合征具有防治作用^[3-4]。

二仙汤是 20 世纪张伯讷教授针对女性围绝经期病证所研制的中药方^[5],全方由淫羊藿、仙茅、巴戟天、当归、知母和黄柏 6 味中药组成,具有温肾益精,补血活血,滋阴降火,调和冲任的功效^[6-9]。围绝经期的变化为卵巢功能的衰退,继而下丘脑-垂体功能退化,雌激素分泌减少,导致内分泌失调、骨代谢异常、脂代谢异常、心悸等一系列病症^[10-12]。二仙汤能改善老年大鼠卵巢功能,调节下丘脑-垂体-性腺轴,刺激卵巢颗粒细胞的生长,促进卵泡的生长,增加卵巢系数等产生雌激素样作用^[13-14]。前期研究发现二仙汤具有改善大鼠围绝经期综合征的作用^[15-16],能改善对去卵巢大鼠的心室结构重构和心肌细胞的电重构,减轻心脏损伤,并改善异常的心脏电活动^[17-18]。但二仙汤对围绝经期大鼠心脏电生理的影响及机制并不清楚。围绝经期综合征动物模型包括自然衰老模型和去卵巢模型,其中去卵巢模型成功率高,大鼠因去卵巢导致的体内雌激素水平下降,子宫、性腺轴功能减退,骨质疏松,心血管功能异常等围绝经期综合征与人类围绝经期临床症状吻合度高^[19-22]。因此本研究采用切除大鼠卵巢复制围绝经期综合征,探讨二仙汤对围绝经期大鼠心脏电生理的作用

1 材料

1.1 动物 SPF 级 SD 雌性大鼠,体质量 180 ~ 220 g,购于江西中医药大学实验动物科技中心,

合格证号 SCXK(赣)2018-0003;动物使用许可证号 SYXK(赣)2014-0008。经江西中医药大学实验动物伦理委员会审查通过,批准号 JZLLSC2018-0037;动物饲养恒温恒湿,光照与环境一致,自由饮水摄食,实验前 12 h 禁食不禁水。

1.2 药物与试剂 二仙汤组成中药材淫羊藿、仙茅、巴戟天、当归、知母、黄柏均购于江西樟树天齐堂中药饮片有限公司,经江西中医药大学药学院中药鉴定学科组付小梅教授鉴定均为正品。戊酸雌二醇片(拜耳医药保健有限公司,批号 367A)。苏木素-伊红(HE)染色液(南京建成科技有限公司,批号 20180613); E_2 酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(国家酶免生物科技有限公司,批号 MM-0575R1);苯甲基磺酰氟(PMSF),RIPA 高效裂解液,BCA 蛋白定量试剂盒(美国 Thermo 公司,批号分别为 RE2173411, RA223336A, RD231234);兔单克隆雌激素受体 α ($ER\alpha$) 抗体(美国 Abcam 公司,批号 GR3175557-3); β -肌动蛋白(β -actin)抗体(美国 Affinity 公司,批号 5216j70);山羊抗兔二抗(康为世纪生物试剂有限公司,批号 50343)。

1.3 仪器 DW3000 型小动物人工呼吸机(安徽正华仪器设备有限公司);MD3000 型生理信号采集系统(淮北正华仪器设备有限公司);ELX800 型吸收光酶标仪(美国 Bio-Tek 仪器有限公司);DMI3000B 型倒置相差显微镜, RM2255 型轮转切片机(德国莱卡公司);PowerPac 系列电泳仪和转膜仪(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 药物的制备与给药 将二仙汤药材淫羊藿、仙茅、巴戟天、当归、知母、黄柏按 2:2:2:2:1:1 比例称取,双蒸水浸没药材表面 2 ~ 3 cm,30 min,以武火煮沸后再用文火煎煮 30 min,过滤收集药液,按前法加水再煎煮 1 次,将 2 次药液合并,浓缩成含二仙汤

生药量 $1.2 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 溶液备用。参考前期研究二仙汤防治围绝经期综合征的给药剂量^[15,23], 各组给药剂量分别为戊酸雌二醇组 ($8 \times 10^{-4} \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 二仙汤低剂量组 ($4 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 二仙汤中剂量组 ($8 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 二仙汤高剂量组 ($12 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), 按 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的给药容积灌胃给药, 每日 1 次, 连续灌胃 80 d。

2.2 围绝经期大鼠模型的制备和筛选 参照文献[20]方法, 每组 8 只大鼠, 共 48 只, 以 10% 水合氯醛 $3 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射大鼠麻醉, 腹背部肋下缘约 1 cm, 脊柱两侧约 1.5 cm 处, 分别切开 1 cm 左右切口, 拨开脂肪, 找到卵巢, 连同少量脂肪一起结扎, 并剪除卵巢。假手术组大鼠则仅作剪开, 不作卵巢切除。所有卵巢切除大鼠均以阴道涂片筛选, 连续观察 5 d, 每天 1 次, 未出现动情周期的大鼠为卵巢彻底切除大鼠, 分为模型组、戊酸雌二醇低、中、高剂量组。

2.3 心电图检测 将大鼠麻醉, 仰卧位固定于鼠板, 将大头针插入大鼠四肢皮下, 连接生理电信号采集仪, 持续记录大鼠心电图 30 min, 检测分析心率、心电间期、波形幅度等。

2.4 样本采集 心电图检测完毕后, 剪开大鼠腹腔, 从腹主动脉取血, 静置 2~4 h, $3\,500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 取血清, $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存。同时取完整心脏组织置 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存, 取子宫组织置于 10% 甲醛溶液固定。

2.5 ELISA 检测血清中 E_2 的含量 根据 ELISA 试剂盒说明书方法进行操作, 取血清测定 E_2 含量。

2.6 HE 染色检测子宫组织病理学变化 按照组

织切片方法, 对子宫组织脱水、包埋、切片, 以苏木素、伊红进行染色, 倒置显微镜观察。

2.7 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测心肌组织 ER α 蛋白的表达 取左心室心肌组织 0.1 g, 加入 1 mL 裂解液和适量的液氮研磨, 将组织研磨液化, 转入 1.5 mL 离心管, $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 摇床振摇 30 min, 以充分裂解组织。 $4 \text{ }^\circ\text{C}$, $12\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 40 min, 取上清液用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度, 剩余部分加入 Loading buffer ($5 \times$) $100 \text{ }^\circ\text{C}$ 煮沸 10 min, 分装, $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 保存待测。制胶上样, 电泳 1 h, 转膜 90 min, 一抗 ER α 以 1:1 000 比例稀释 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 孵育过夜, TBST 洗膜, 二抗 (1:1 000) 孵育 2 h, TBST 洗膜, ECL 化学发光法进行曝光条带, 拍照, Image J 软件分析。

2.8 统计学分析 采用 SPSS 21.0 统计软件进行统计, 实验所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 One-way ANOVA 检验比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对围绝经期大鼠心电图各间期、各波形的影响 各组大鼠心率无明显差异。与假手术组比较, 模型组大鼠心电图 PR 间期, QRS 时程, QT 间期相对缩短, P 波幅度, R 波幅度, T 波幅度显著减小 ($P < 0.01$)。见表 1。与模型组比较, 二仙汤高剂量可明显增宽 PR 间期 ($P < 0.05$), 二仙汤中剂量增宽 QT 间期 ($P < 0.05$)。见表 1。戊酸雌二醇增大 P 波, R 波和 T 波的幅度 ($P < 0.01$); 二仙汤中、高剂量同样增大 P 波幅度 ($P < 0.05$), 二仙汤高剂量还能增加 T 波幅度 ($P < 0.01$)。二仙汤各剂量均明显增大心电图 R 波幅度 ($P < 0.05$)。可见, 二仙汤能逆转由雌激素缺乏引起的大鼠心脏心电图的改变。见表 2。

表 1 二仙汤对围绝经期大鼠心电图各间期的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of Erxian decoction on interphase of electrocardiogram in peri-menopausal rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

ms

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	PR 间期	QRS 时程	QT 间期
假手术	-	46.35 ± 4.66	43.81 ± 3.28	97.68 ± 10.83
模型	-	42.88 ± 3.91	43.19 ± 4.36	95.48 ± 7.45
戊酸雌二醇	8×10^{-4}	42.47 ± 5.62	46.82 ± 4.03	100.09 ± 11.25
二仙汤	4	39.19 ± 5.31	47.33 ± 5.22	100.88 ± 6.59
	8	44.27 ± 4.45	46.04 ± 2.94	$105.54 \pm 6.30^{3)}$
	12	$47.86 \pm 5.10^{3)}$	41.76 ± 5.85	102.19 ± 3.59

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 2~4 同)。

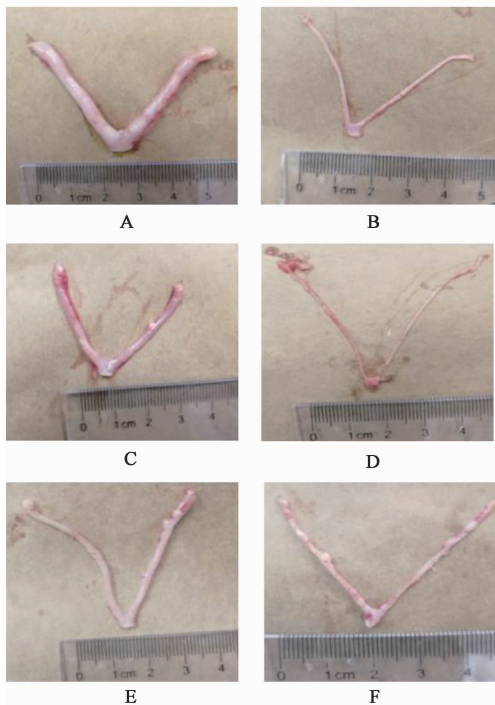
3.2 对围绝经期大鼠子宫形态的影响 假手术组大鼠子宫完整, 血管丰富, 颜色光泽。与假手术组比较, 模型组大鼠则出现子宫明显萎缩, 干瘪, 变形,

血管较少。与模型组比较, 戊酸雌二醇组大鼠子宫完整, 饱满, 血管丰富, 颜色光泽; 二仙汤中、高剂量组大鼠子宫完整, 血管较为丰富, 颜色较有光泽。见图 1。

表 2 二仙汤对围绝经期大鼠心电图各波形的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 2 Effect of Erxian decoction on waveforms of electrocardiogram in peri-menopausal rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	心率/次/min	P 波幅度/mV	R 波幅度/mV	T 波幅度/mV
假手术	-	426.25 ± 31.53	0.088 ± 0.009	0.463 ± 0.092	0.148 ± 0.022
模型	-	429.66 ± 27.03	0.071 ± 0.009 ²⁾	0.268 ± 0.052 ²⁾	0.085 ± 0.015 ²⁾
戊酸雌二醇	8×10^{-4}	431.27 ± 27.70	0.087 ± 0.007 ⁴⁾	0.426 ± 0.083 ⁴⁾	0.115 ± 0.017 ⁴⁾
二仙汤	4	430.82 ± 29.30	0.078 ± 0.020	0.393 ± 0.110 ³⁾	0.083 ± 0.024
	8	402.65 ± 22.86	0.080 ± 0.007 ³⁾	0.408 ± 0.099 ⁴⁾	0.101 ± 0.019
	12	394.81 ± 21.66	0.092 ± 0.017 ⁴⁾	0.397 ± 0.048 ⁴⁾	0.118 ± 0.026 ⁴⁾



A. 假手术组; B. 模型组; C. 戊酸雌二醇组; D. 二仙汤低剂量组; E. 二仙汤中剂量组; F. 二仙汤高剂量组 (图 2, 3 同)

图 1 二仙汤对围绝经期大鼠子宫的影响

Fig. 1 Effect of Erxian decoction on uterus of peri-menopausal rats

3.3 对围绝经期大鼠血清 E₂ 含量的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠体内 E₂ 含量显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 中、高剂量二仙汤均显著提高大鼠血清 E₂ 含量 ($P < 0.01$)。见表 3。

3.4 对围绝经期大鼠子宫病理变化的影响 假手术组大鼠子宫腔宽大, 子宫内膜厚, 柱状上皮细胞丰富, 且固有层细胞排列疏松, 腺体数量多呈簇状排列。与假手术组比较, 模型组大鼠经去卵巢后, 大鼠子宫内径变窄且内膜厚度明显减小, 固有层细胞致密, 腺体明显减少。与模型组比较, 各剂量二仙汤均能不同程度的改善子宫内膜厚度增大子宫内径, 使固有层细胞恢复疏松状, 增加腺体数量且排列集中。见图 2。

表 3 二仙汤对围绝经期大鼠血清 E₂ 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=8$)

Table 3 Effect of Erxian decoction on serum E₂ levels in peri-menopausal rats ($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	E ₂ / $ng \cdot L^{-1}$
假手术	-	99.47 ± 12.76
模型	-	68.93 ± 6.38 ²⁾
戊酸雌二醇	8×10^{-4}	77.33 ± 9.57
二仙汤	4	79.03 ± 11.46
	8	79.75 ± 6.97 ⁴⁾
	12	81.57 ± 8.62 ⁴⁾

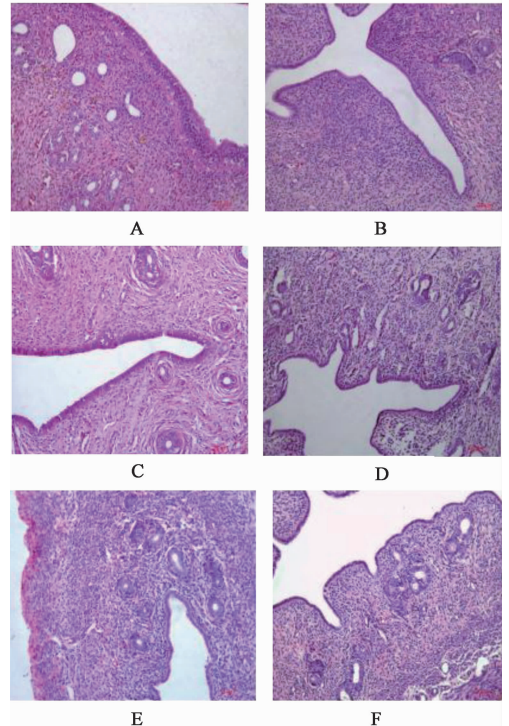


图 2 二仙汤对围绝经期大鼠子宫病理变化的影响 (HE, ×200)

Fig. 2 Effect of Erxian decoction on uterine pathologies of each group of rats (HE, ×200)

3.5 对围绝经期大鼠心肌组织 ER α 蛋白表达的影响 与假手术组比较, 模型组大鼠心肌组织 ER α

蛋白表达显著减少 ($P < 0.01$) ; 与模型组比较, 各剂量二仙汤均能显著增加 ER α 蛋白的表达 ($P < 0.01$)。见图 3, 表 4。

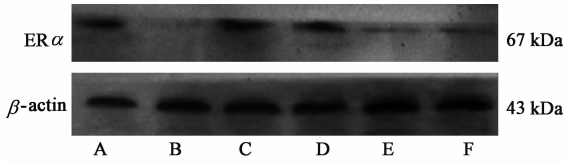


图 3 大鼠心肌组织 ER α 蛋白表达电泳

Fig. 3 Electrophoresis of ER α expression in myocardium of rats

表 4 二仙汤对围绝经期大鼠心肌组织 ER α 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

Table 4 Effect of Erxian decoction on ER α expression in myocardium of peri-menopausal rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	ER α / β -actin
假手术	-	0.958 ± 0.123
模型	-	0.301 ± 0.036 ²⁾
戊酸雌二醇	8 × 10 ⁻⁴	0.930 ± 0.030 ⁴⁾
二仙汤	4	1.239 ± 0.051 ⁴⁾
	8	0.880 ± 0.064 ⁴⁾
	12	0.621 ± 0.037 ⁴⁾

4 讨论

雌激素是维持心血管发挥正常功能的重要物质基础, 可预防心肌细胞凋亡和坏死, 减轻病理性心脏肥大、心肌缺血再灌注引起的心肌损伤及减少心脏结构病理性重塑等^[24-26]。二仙汤中具有植物雌激素样黄酮类化合物, 如淫羊藿苷、宝藿苷等。研究发现淫羊藿总黄酮可通过作用于 ER α 受体起到弱雌激素激动剂作用^[27]。植物雌激素具有与雌激素相似的生物活性, 可通过直接与雌激素受体相互作用调节内源性雌激素水平^[28]。心脏电生理活动的变化可反映心脏功能状态。

本研究通过生理信号采集仪连接 II 导联电极记录围绝经期大鼠心电图, 结果显示围绝经期大鼠心电图 P 波, R 波, T 波幅度明显减小及 PR 间期, QRS 时程, QT 间期不同程度的改变, 而二仙汤能改善上述大鼠 ECG 的病理变化, 结果与文献报道的结论相一致^[18]。

雌激素是维持内分泌平衡和使子宫、卵巢等器官发挥正常功能的重要物质基础^[29], 雌激素水平下降引起子宫萎缩, 子宫内膜变薄, 腺体数量减少, 功能丧失。研究结果显示, 中、高剂量二仙汤能显著升高大鼠血清雌激素水平, 戊酸雌二醇组和二仙汤各

剂量组的大鼠子宫内膜明显增厚、子宫腺体数量增加, 提示二仙汤的作用与提高雌激素水平密切相关。研究还发现, 低、中、高剂量二仙汤均能显著上调大鼠心肌组织 ER α 受体蛋白的表达。雌激素可直接作用于心肌组织 ER α 受体, 抑制心肌缺血、心肌梗死、心肌炎等疾病中核转录因子 (NF)- κ B 基因的表达减少促炎因子的释放, 并激活内皮型一氧化氮合酶 (eNOS) 产生 NO 减少心血管功能障碍, 改善心脏功能, 发挥心脏保护作用^[30-31], 进一步证实二仙汤可能通过提高雌激素水平发挥保护心脏的作用。

综上所述, 二仙汤能明显改善围绝经期大鼠心电图改变, 其机制可能提高去卵巢大鼠体内雌激素水平和心肌组织 ER α 受体的表达有关。

[参考文献]

[1] Knowlton A A, Korzick D H. Estrogen and the female heart [J]. Mol Cell Endocrinol, 2014, 389 (1/2): 31-39.

[2] Iorga A, Cunningham C M, Moazeni S, et al. The protective role of estrogen and estrogen receptors in cardiovascular disease and the controversial use of estrogen therapy [J]. Biol Sex Differ, 2017, 8(1): 33.

[3] 田秀娟, 盛敏佳. 激素替代治疗对绝经后女性心脑血管疾病的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2009, 29(18): 2376-2377.

[4] 马艺鑫, 程岩岩, 冷雪, 等. 枸杞多糖对去卵巢大鼠心脏结构及心脏功能的影响 [J]. 辽宁中医杂志, 2016, 43(8): 1745-1747.

[5] 年华. 二仙汤抗骨质疏松的物质基础研究 [D]. 上海: 第二军医大学, 2006.

[6] 康建颖, 陆月红. 二仙汤治疗围绝经期综合症患者的临床疗效及对性激素的影响 [J]. 健康研究, 2017, 37(3): 321-323.

[7] 冒湘琳, 鲍伟倩, 赵丕文, 等. 二仙汤对卵巢早衰大鼠卵巢储备功能的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(2): 771-773.

[8] 刘志文, 刘波, 吴琪, 等. 二仙汤对去卵巢骨质疏松大鼠股骨蛋白质组的影响 [J]. 中国中药杂志, 2017, 42(13): 2558-2563.

[9] 刘波, 刘志文, 王莹, 等. 二仙汤改善去卵巢大鼠学习记忆能力的海马蛋白质组学研究 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(14): 2991-2998.

[10] 韦静, 杨勇莉. 围绝经期妇女骨质疏松浅析 [J]. 临床医药文献电子杂志, 2018, 5(87): 195.

[11] 徐春芳, 王立中. 围绝经期女性雌激素水平与骨代谢指标变化的相关性研究 [J]. 中国妇幼保健, 2017, 32

- (6):1229-1232.
- [12] 彭莉,苏泽琦,赵保胜,等.滋阴安神方对实验性更年期模型大鼠的影响[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(15):137-142.
- [13] 董冰峰,方肇勤,施建蓉,等.二仙汤及其拆方对大鼠卵泡颗粒细胞分泌功能的影响[J].中国中西医结合杂志,2006,26(S1):122-125.
- [14] 陶仕英,牛建昭,杨美娟,等.二仙汤及其组方中药对幼年大鼠卵巢形态学影响[J].中华中医药杂志,2010,25(12):1995-1998.
- [15] 谢珍,刘波,徐彭,等.二仙汤及其拆方对去卵巢大鼠更年期综合征的影响[J].中国老年学杂志,2015,35(20):5691-5693.
- [16] 刘波,陈明,李姗姗,等.二仙汤对去卵巢大鼠骨质疏松的影响[J].中国骨质疏松杂志,2014,20(2):129-132.
- [17] 陈彦静,向丽华,张治国,等.去卵巢对大鼠心肌损伤及二仙汤的保护作用研究[J].中国病理生理杂志,2015,31(10):1897-1898.
- [18] 赵兰平,陈彦静,薛淑芳,等.二仙汤对去卵巢大鼠心脏电活动的影响[J].中国实验方剂学杂志,2016,22(5):136-140.
- [19] 田硕,白明,苗明三.杜仲叶总黄酮对围绝经期大鼠模型的影响[J].中华中医药杂志,2018,33(12):5386-5391.
- [20] 田硕,白明,苗明三.基于围绝经期综合征临床病症特点的动物模型分析[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(19):217-221.
- [21] 樊官伟,苏李娜,郭茂娟.围绝经期综合征实验模型研究进展[J].辽宁中医杂志,2014,41(1):184-186.
- [22] 许惠娟,李生强,陈娟,等.绝经后骨质疏松症不同年龄段中医证型分布特点[J].中国实验方剂学杂志,2017,23(12):157-161.
- [23] 王莹,杨硕,谢慧慧,等.二仙汤对去卵巢大鼠认知障碍的影响[J].中国实验方剂学杂志,2018,24(17):114-119.
- [24] Mendelsohn M E, Karas R H. Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences[J]. Science, 2005,308:1583-1587.
- [25] Knowlton A A, Lee R. Estrogen and the cardiovascular system[J], Clin Pharmacol Ther, 2012, 135(1):54-70.
- [26] Fliegner D, Schubert C, Penkalla A, et al. Female sex and estrogen receptor- β attenuate cardiac remodeling and apoptosis in pressure overload[J]. Am J Physiol Regi, 2010,298:R1597-R1606.
- [27] De Naeyer A, Pocock V, Milligan S, et al. Estrogenic activity of a polyphenolic extract of the leaves of epimedium brevicornum[J]. Fitoterapia, 2005, 76(1):35-40.
- [28] Lagari V S, Levis S. Phytoestrogens and bone health[J]. Diabetes Obes Metab, 2010,17(6):546-553.
- [29] 胡令军.低剂量雌激素替代治疗对围绝经期综合征患者激素水平及生活质量的影响[J].实用妇科内分泌杂志:电子版,2018,5(15):31-32.
- [30] Favre J, GAO J, Henry J P, et al. Endothelial estrogen receptor α plays an essential role in the coronary and myocardial protective effects of estradiol in ischemia/reperfusion[J]. Arterioscl Throm Vas, 2010, 30:2562-2567.
- [31] Mahmoodzadeh S, Fritschka S, Dworatzek E, et al. Nuclear factor-kappaB regulates estrogen receptor-alpha transcription in the human heart[J]. J Biol Chem, 2009, 284(37):24705-24714.

[责任编辑 周冰冰]