

本文引用:黄晋琰,林夏静,徐珉.仙子益真胶囊对卵巢早衰小鼠外周血清性激素水平的影响[J].湖南中医药大学学报,2018,38(8):866-869.

仙子益真胶囊对卵巢早衰小鼠外周血清性激素水平的影响

黄晋琰,林夏静,徐珉*

(广州中医药大学第二附属医院妇科,广东 广州 510120)

[摘要] **目的** 观察补肾填精中药仙子益真胶囊对卵巢早衰(premature ovarian failure,POF)模型小鼠性激素调节作用,初步探讨仙子益真胶囊治疗卵巢早衰的可能机制。**方法** 选用动情周期规律的SPF级雌性C57BL/6J小鼠随机分为空白对照组、造模组。造模组使用雷公藤多苷片造模成功后,再随机分为模型组,益真低、中、高剂量组和西药组,并予以相应干预。治疗结束后ELISA测定血清中雌二醇(estradiol,E₂)、卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone,FSH)及黄体生成素(luteinizing hormone,LH)的含量。**结果** 与空白对照组比较,模型组E₂含量下降,FSH、LH含量升高,差异有统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,益真低剂量组、益真中剂量组、益真高剂量组、西药组E₂含量上升,FSH、LH含量下降,差异有统计学意义($P<0.01$)。**结论** 补肾填精中药仙子益真胶囊可以提高POF模型小鼠血清E₂的含量,降低FSH、LH的含量,改善POF小鼠生殖内分泌环境。

[关键词] 卵巢早衰;仙子益真胶囊;中医药疗法;性激素

[中图分类号]R285.5;R711.75

[文献标志码]A

[文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2018.08.006

Effect of Xianzi Yizhen Capsule on Peripheral Serum Sex Hormones in Mice with Premature Ovarian Failure

HUANG Jinyan, LIN Xiajing, XU Min*

(Department of Gynecology, The Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510120, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the regulatory effect of Xianzi Yizhen Capsule, a Chinese patent drug for nourishing kidney-essence, on sex hormones in mice with premature ovarian failure (POF) and the possible mechanism of Xianzi Yizhen Capsule in the treatment of POF. **Methods** The specific pathogen-free female C57BL/6J mice with a regular estrous cycle were randomly divided into blank control group and model group. The mice in the model group were treated with Tripterygium wilfordii polyglycoside tablets to establish a mouse model of POF and were then randomly divided into model group, low-, middle-, and high-dose Yizhen groups, and Western medicine group, and corresponding treatment was given. After the treatment ended, ELISA was used to measure the serum level of estradiol (E₂), follicle-stimulating hormone (FSH), and luteinizing hormone (LH). **Results** Compared with the blank control group, the model group had a significant reduction in E₂ and significant increases in FSH and LH ($P<0.01$). Compared with the model group, the low-, middle-, and high-dose Yizhen groups and the Western medicine group had a significant increase in E₂ and significant reductions in FSH and LH ($P<0.01$). **Conclusion** In mice with POF, the kidney essence-nourishing traditional Chinese medicine Xianzi Yizhen Capsule can improve the serum level of E₂, reduce the serum levels of FSH and LH, and improve reproductive endocrine environment.

[Keywords] premature ovarian failure; Xianzi Yizhen Capsule; traditional Chinese medicine treatment; sex hormone

[收稿日期]2017-10-29

[基金项目]国家中医药管理局课题(1199ws02);广东省中医药局科研课题(20152133)。

[作者简介]黄晋琰,女,主治中医师,研究方向:中医妇科生殖内分泌及炎症疾病。

[通讯作者]*徐珉,女,博士研究生导师,E-mail:xumin3333@163.com。

卵巢早衰(premature ovarian failure,POF)是指女性40岁以前发生的排卵和卵巢分泌激素功能的紊乱和停止,出现卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone,FSH)和黄体生成素(luteinizing hormone,LH)升高,而雌二醇(estradiol,E₂)降低,临床主要表现为继发性闭经、绝经、不孕,可能伴有围绝经期症状,如潮热、出汗、烦躁以及骨质疏松等。本病的发病率呈逐年上升且有低龄化趋势^[1]。据统计,本病在40岁之前的发病率为1%~2%,在30岁之前的发病率为0.1%^[2],在20岁以前发病率为0.01%^[3]。对于卵巢早衰,古代医学无此病名,根据临床症状属“月经过少”“血枯”“血隔”“闭经”“月水先闭”“经水早断”等范畴。古今医家对POF病因病机的认识并不统一,但大抵认为肾虚为该病的关键,且与心、肝、脾有关,故各医家对POF的治疗多从补肾着手^[4-5]。

补肾填精中药制剂仙子益真胶囊为广东省名中医李丽芸教授经验方,由熟地黄、女贞子、旱莲草、川断、菟丝子、淫羊藿组成,有滋肾养阴、益精养血之功,在治疗月经失调、不孕不育等疾病中有较好的临床疗效。既往研究显示,补肾中药周期疗法可促进肾中阴阳平衡及其协调转化,达到健全黄体功能以助孕的目的^[6];给予补肾填精中药益真胶囊治疗后,通过观察围排卵期经阴道多普勒超声下卵子大小、形态及卵巢间质血流的变化,提示可改善高龄不孕妇女围排卵期卵巢间质血流,加快卵泡生长,减少小卵泡排卵,具有改善卵子质量、提高卵巢储备的作用^[7]。

为了进一步阐述补肾填精中药仙子益真胶囊治疗卵巢早衰的作用,本实验通过雷公藤多苷片建立卵巢早衰小鼠模型,观察仙子益真胶囊对小鼠外周血清性激素水平的影响,为临床应用提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 动物 健康雌性C57BL/6J小鼠42只,体重(21.24±0.93)g,由广东省中医院科研动物实验中心提供,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号SCXK(京)2016-0011,动物合格证号为11400700203531。所有小鼠均经阴道脱落细胞涂片筛查动情周期正常。清洁环境饲养,恒温(24℃)、恒湿(60%)、自然昼夜节律光照,给予足够的水和食

物,通风良好。

1.1.2 药物与试剂 所有实验药物均购自广东省中医院药房。雷公藤多苷片,远大医药黄石飞云制药有限公司出品,规格为10mg/片(批号20161001)。仙子益真胶囊为广东省中医院院内制剂(批号160904),其主要成分为熟地黄、女贞子、旱莲草、川断等。由院内制剂室按上述药物组成分别选料,经过清洁、干燥、粉碎、消毒、浸泡、提取、制粒,粉碎装胶囊,每粒重0.5g,约含生药量1.65g。补佳乐(戊酸雌二醇片),由拜耳医药保健有限公司出品,1mg/片(批号2016278A)。

小鼠血清分析试剂为上海沪鼎生物科技有限公司的Mouse E₂ ELISA Kit(货号E-20380),Mouse FSH ELISA Kit(货号E-20418),Mouse LH ELISA Kit(货号E-20638)。

1.1.3 主要仪器 酶标仪(型号为Multiskan FC,美国Thermo Fisher Scientific公司),微孔板恒温振荡器(型号为MB100-4P,杭州汇尔仪器)。

1.2 方法

1.2.1 造模 选择性周期正常的健康雌性C57BL/6J小鼠42只随机分为2组,空白对照组7只,造模组35只。空白对照组予等容量生理盐水灌胃。造模组参照文献[8-9]造模方法,用雷公藤多苷片50mg/(kg·d),连续灌胃14d造模。模型建立开始,每天通过观察小鼠阴道脱落细胞涂片,了解小鼠动情周期变化,当出现动情周期延长,阴道角化上皮细胞减少,有核上皮细胞混杂,表示建立模型成功。

1.2.2 分组及干预 造模成功后,将模型小鼠分为模型组及治疗组。其中治疗组包括益真低、中、高剂量组和西药组。益真低剂量组:仙子益真胶囊0.75g/(kg·d),益真中剂量组:仙子益真胶囊1.5g/(kg·d)。益真高剂量组:仙子益真胶囊3g/(kg·d),西药组:补佳乐0.15mg/(kg·d),模型组及空白对照组等容量生理盐水灌胃。每天1次,连续21d。

1.2.3 检测指标 末次给药结束后,各组小鼠禁食24h,不禁水,取血3mL,将所取血静置30min,2000r/min,离心10min,取血清,ELISA法测定血清E₂、FSH、LH的含量,具体操作严格按药盒说明进行。

1.2.4 统计学分析 数据采用SPSS 20.0统计分析软件处理,计量资料数据以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,所有资料进行正态性检验,符合正态分布者,多组计量资料采

用单因素方差分析,方差齐者,对两个变量之间计量资料的比较行 t 检验,以 $P<0.01$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

与空白对照组比较,模型组 E_2 含量下降,FSH、LH 含量升高,差异有统计学意义($P<0.01$),从激素水平提示造模成功。与模型组比较,益真低剂量组、益真中剂量组、益真高剂量组、西药组 E_2 含量上升,FSH、LH 含量下降,差异有统计学意义($P<0.01$)。可见通过补肾填精中药治疗,改善了 POF 小鼠的性激素分泌水平。见表 1。

表 1 各组小鼠性激素水平的比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	n	E_2 /($\text{pmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	FSH/($\text{U}\cdot\text{L}^{-1}$)	LH/($\text{pg}\cdot\text{mL}^{-1}$)
空白对照组	7	119.69±6.51	9.97±1.40	1 226.34±105.64
模型组	7	107.59±4.67 [#]	13.71±0.95 [#]	1 470.87±65.25 [#]
益真低剂量组	7	121.45±5.67 [▲]	10.73±0.75 [▲]	1 307.03±70.07 [▲]
益真中剂量组	7	119.33±4.89 [▲]	10.09±1.69 [▲]	1 140.34±106.91 [▲]
益真高剂量组	7	126.36±7.96 [▲]	11.07±1.14 [▲]	1 204.04±118.85 [▲]
西药组	7	122.65±8.39 [▲]	10.76±0.84 [▲]	1 206.35±65.58 [▲]
F 值		6.697	9.455	8.231
P 值		<0.01	<0.01	<0.01

注:与空白对照组比较,[#] $P<0.01$;与模型组比较,[▲] $P<0.01$ 。

3 讨论

POF 目前尚无理想的治疗方法。对于无生育要求的患者,目前国内外的治疗均以激素替代疗法(hormone replacement therapy,HRT)治疗为主,维持其月经周期来潮及体内激素水平的稳定。但大量的研究证实长期应用 HRT 将增加乳腺癌、冠心病、卒中、阿尔茨海默病等的风险^[10]。开拓新的治疗方法,是 POF 治疗中需面临的问题。

近年来,中医药治疗 POF 有了很大的进展。动物实验方面,张军武^[11]研究发现归肾丸能够降低 POF 大鼠血清中 LH 水平及升高 E_2 含量,增大卵巢体积,优化卵泡质量,促使排卵;高慧等^[12]研究发现补肾调冲方能使 POF 大鼠的卵泡数明显增多,卵巢血供丰富,FSH 及 LH 水平下降, E_2 水平上升。临床治疗方面,许多医家对 POF 进行分型论治,饶辉^[13]将 POF 分为肝肾阴虚型、脾肾阳虚型、肝气郁结型 3 型;黄爱萍等^[14]将 POF 分为肝郁肾虚型、肾阳虚弱

型、血虚火旺型 3 型治疗,效果确切;另有医家将月经周期分为月经后期、经间期、经前期、月经期 4 期,根据每个时期不同的特点来进行序贯用药^[15-17];解娟等^[18]采用滋肾育胎丸联合克龄蒙治疗 POF,其临床各种症状,LH、FSH、 E_2 含量,子宫内膜的改善程度均优于单用克龄蒙。另外还有针灸治疗,也取得一定的效果^[19-20]。由此可见中医药治疗 POF 有着一定的优势,已经展现出广阔的前景。

中医学认为,肾为先天之本,藏精而主生殖,是人体生长发育、生殖的根本,故肾气盛,则天癸按期而至,任通冲盛,月事如期而至,阴阳和而有子;肾气盛,则肾精充足,化血有源,而血为女子月事来潮的根本,乃孕育之基础。李丽芸教授认为,肾虚是 POF 的主因,是卵子难以发育成熟、排出障碍的根本原因。肾阴不足,则难以聚而为精,卵子缺乏形成的物质基础不能充分发育成熟;肾阳不足,则卵子缺乏排出的动力;肾精不足,肾阴阳俱虚,则卵巢功能不能正常发挥,这些都会导致无排卵,黄体功能不健,甚至卵巢早衰。因此,在治疗上,调经当以补肾气、益精血、培元固本、调养冲任为大法。现代药理研究表明,熟地黄通过提高血中抗氧化相关酶的活性,有很好的抗氧化作用^[21];女贞子、早莲草有抗衰老的作用^[22-23];菟丝子可升高去势雌性大鼠胸主动脉平滑肌细胞雌激素受体数量^[24];淫羊藿对小鼠卵泡颗粒细胞分泌雌二醇有直接刺激作用^[25]。仙子益真胶囊选用熟地黄、女贞子、早莲草养血滋阴、填精益髓为君药,川断补肾暖腰膝为臣药,佐以菟丝子、淫羊藿温肾壮阳、补阳益阴,使其“阳得阴助而生化无穷,阴得阳升而泉源不竭”,以提升卵巢功能。

FSH 和 LH 为促性腺激素,由腺垂体促性腺细胞分泌,是卵泡发育的必要激素,并能调节体内 E_2 的分泌。POF 患者卵泡数目减少,由卵泡产生的 E_2 也随之降低,低水平的 E_2 能够通过下丘脑-垂体-卵巢轴的反馈作用,促进垂体 FSH 分泌,从而导致 FSH 水平升高。反之,卵泡活动的恢复则表现为血液循环中 FSH 下降, E_2 升高^[26]。本研究结果表明补肾填精中药仙子益真胶囊治疗 POF 的作用机制可能是通过调节下丘脑-垂体-卵巢轴功能,从而干预应激所致的雌性小鼠生殖内分泌功能下降,提升卵巢功能。其作用途径还有待于进一步探讨。

参考文献:

- [1] CORDTS E B, CHRISTOFOLINI D M, DOS SANTOS A A, et al. Genetic aspects of premature ovarian failure: a literature review[J]. Arch Gynecol Obstet, 2011, 283(3):635-643.
- [2] SHELLING A N. Premature ovarian failure[J]. Society for Reproducing and Fertility, 2010,140:633-641.
- [3] KOKCU A. Premature ovarian failure from current perspective[J]. Gynecological Endocrinology, 2010,26(8):555-562.
- [4] 艾红云,肖炳坤.补肾中药治疗卵巢早衰的研究进展[J].中医临床研究,2014,6(16):144-146.
- [5] 秦佳佳,吴倩,杨静.卵巢早衰的病因病机及中医药干预策略[J].中国老年学杂志,2014,34(8):4720-4721.
- [6] 顾春晓,徐珉,李丽芸.补肾法治疗黄体不健性不孕症30例临床研究[J].国医论坛,2008,23(4):18-19.
- [7] 徐珉,黄健玲,司徒仪,等.补肾中药益真I、II号胶囊对高龄不孕妇女围排卵期卵巢间质血流的影响[J].中国现代医学杂志,2008,18(7):833-837.
- [8] 郝娟,王春莲,王培嵩,等.雷公藤多甙片致卵巢早衰大鼠动物模型的研究[J].中国妇幼保健,2012,27(12):1866-1870.
- [9] 孙莉莉,周郦楠.卵巢早衰动物模型造模[J].中国实用医药,2011,6(19):229-230.
- [10] MENDOZA N, JULIA M D, GALLIANO D, et al. Spanish consensus on premature menopause[J]. Maturitas,2015,80(2):220-225.
- [11] 张军武.归肾丸对大鼠卵巢早衰防治作用的实验研究[J].中国现代医药杂志,2008,10(6):79-80.
- [12] 高慧,杨涓,夏天,等.补肾调冲方对卵巢早衰大鼠性激素水平和卵巢组织形态学的影响[J].国医论坛,2008,23(1):35-39.
- [13] 饶辉.中医论治卵巢早衰的临床研究[J].中国医药指南,2012,10(34):605-606.
- [14] 黄爱萍,付艳霞.卵巢早衰的中医辨证分型治疗临床观察[J].中医学报,2011,26(5):622-623.
- [15] 李艳红,陈瑞雪.中药周期疗法对卵巢早衰的指导作用[J].辽宁中医药大学学报,2013,15(2):134-135.
- [16] 赵海云.中药序贯周期疗法治疗卵巢早衰疗效观察[J].四川中医,2007,25(5):83-84.
- [17] 徐美炎,曹毅君.自拟抗衰老贯疗法治疗卵巢早衰临床分析[J].现代中西医结合杂志,2012,21(2):165-166.
- [18] 解娟,陈明芳.滋肾育胎丸联合克龄蒙治疗卵巢早衰的临床观察[J].湖南中医药大学学报,2017,37(12):1396-1399.
- [19] 杨晓虹,赖晓梅,黄祖波.针灸治疗卵巢早衰60例临床观察[J].四川中医,2008,26(5):106-107.
- [20] 陈瑞雪,李艳红,马晓晶,等.电针治疗卵巢早衰的疗效观察[J].中国中医基础医学杂志,2009,15(3):208.
- [21] 苗明三,孙艳红,方晓艳,等.(怀)熟地黄多糖抗氧化作用[J].中国中医药信息杂志,2002,9(10):32-33.
- [22] 张振明,葛斌,许爱霞,等.女贞子多糖的抗衰老作用[J].中国药理学与毒理学杂志,2006,20(2):108-111.
- [23] 张耀锋,陈莉.早莲草对衰老小鼠自由基代谢的影响[J].第四军医大学学报,2006,27(10):957-959.
- [24] 王晓敏,王建红,邹志坚,等.菟丝子黄酮对去势雌性大鼠血脂和血管雌激素受体的影响[J].中成药,2008,30(2):255-256.
- [25] 李芳芳,李恩,吕占军,等.淫羊藿甙对大鼠卵泡颗粒细胞和肾上腺皮质细胞分泌功能的影响[J].中国中药杂志,1997,22(8):499-500.
- [26] 丁岩,刘新莲.卵巢早衰的临床诊治[J].中国计划生育和妇产科,2014,6(2):10-13.

(本文编辑 杨 璞)