

本文引用:陈心,杜清,尤昭玲,梁惠珍.补肾助卵汤上调雷公藤多苷诱导的卵巢功能低下大鼠的卵巢 PLGF 及 Flt-1 水平[J].湖南中医药大学学报,2021,41(11):1683-1688.

## 补肾助卵汤上调雷公藤多苷诱导的卵巢功能低下大鼠的卵巢 PLGF 及 Flt-1 水平

陈心<sup>1</sup>,杜清<sup>1</sup>,尤昭玲<sup>2</sup>,梁惠珍<sup>3\*</sup>

(1.湖南中医药大学,湖南长沙 410208;2.湖南中医药大学第一附属医院,湖南长沙 410007;

3.湖南中医药大学第二附属医院,湖南长沙 410005)

**[摘要]** **目的** 研究补肾助卵汤对卵巢储备功能下降(DOR)模型大鼠卵巢组织中胎盘生长因子(PLGF)及其受体 fms 样酪氨酸激酶 1(Flt-1)表达水平的影响。**方法** 选取 9 只动情周期正常的大鼠,随机分为 3 组,每组 3 只,空白组给予蒸馏水灌胃,模型组及补肾助卵汤组给予雷公藤多苷片悬浮液,连续 14 d 进行灌胃造模。观察大鼠动情周期,出现动情周期紊乱提示造模成功。空白组给予生理盐水;模型组给予雷公藤多苷片 5 mg/(kg·d)及生理盐水;补肾助卵汤组给予雷公藤多苷片 5 mg/(kg·d)及补肾助卵汤 24 g/(kg·d)。观察大鼠性周期变化,免疫组化检测和 Western blot 检测大鼠卵巢组织 PLGF 和 Flt-1 的表达水平。**结果** 模型组大鼠动情周期出现延长、不规则甚至紊乱现象。补肾助卵汤组动情周期正常,与空白组相比,动情周期相对延长;与模型组相比,动情周期有所恢复。3 组大鼠卵巢组织中细胞核和细胞质中均有 PLGF 和 Flt-1 表达,与空白组相比,模型组大鼠卵巢功能下降后 PLGF 和 Flt-1 蛋白表达水平下降( $P<0.05$ );与模型组相比,补肾助卵汤组上调大鼠卵巢组织中 PLGF 和 Flt-1 蛋白表达水平( $P<0.05$ )。**结论** 补肾助卵汤可调节雷公藤多苷所致 DOR 大鼠动情周期,并对卵巢功能下降大鼠卵巢组织 PLGF 及 Flt-1 水平有一定的改善效果。

**[关键词]** 卵巢功能低下;补肾助卵汤;胎盘生长因子;fms 样酪氨酸激酶 1

**[中图分类号]** R271.9

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.11.007

### Bushen Zhuluan Decoction Up-regulates the Levels of PLGF and Flt-1 in the Ovaries of Rats with Low Ovarian Function Induced by Tripterygium Wilfordii Polyglycosides

CHEN Xin<sup>1</sup>, DU Qing<sup>1</sup>, YOU Zhaoling<sup>2</sup>, LIANG Huizhen<sup>3\*</sup>

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China;

2. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China;

3. The Second Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410005, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the effect of Bushen Zhuluan Decoction on the expression of placenta growth factor (PLGF) and its receptor fms-like tyrosine kinase 1 (Flt-1) in the ovarian tissue of diminished ovarian reserve (DOR) model rats. **Methods** 9 animals with normal estrus cycle were selected and randomly divided into 3 groups, with 3 animals in each group. The blank group was given distilled water gavage, and the model group and the Bushen Zhuluan Decoction group were given tripterygium wilfordii polyglycoside suspension for 14 consecutive days to establish model. The estrous cycle of rats was observed, the appearance of estrous cycle disorder indicated that the model was successful. The blank group was given normal saline; the model group

**[收稿日期]** 2021-08-24

**[基金项目]** 湖南省自然科学基金青年基金项目(2018JJ3398)。

**[作者简介]** 陈心,女,在读硕士研究生,研究方向:中医药防治妇科疾病。

**[通信作者]** \*梁惠珍,女,博士,副主任医师,E-mail:winny4224@126.com。

was given tripterygium wilfordii polyglycoside tablets 5 mg/(kg·d) and normal saline; the Bushen Zhuluan Decoction group was given tripterygium wilfordii polyglycosides tablets 5 mg/(kg·d) and Bushen Zhuluan Decoction 24 g/(kg·d). The changes of rat sex cycle was observed. Immunohistochemistry and Western blot were used to detect the expression levels of PLGF and Flt-1 in rat ovarian tissue. **Results** The estrus cycle of rats in the model group was prolonged, irregular and even disordered. The estrus cycle of the Bushen Zhuluan Decoction group was normal, the estrus cycle was relatively prolonged than blank group; compared with the model group, the estrus cycle was restored. The nucleus and cytoplasm of the three groups of rat ovarian tissues both PLGF and Flt-1 were expressed. Compared with the blank group, the expression of PLGF and Flt-1 protein in the model group decreased significantly after the ovarian function decreased ( $P<0.05$ ); compared with the model group, Bushen Zhuluan Decoction group significantly up-regulated the expression levels of PLGF and Flt-1 protein in the ovarian tissue of rats ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Bushen Zhuluan Decoction can regulate estrous cycle of DOR rats induced by tripterygium glycosides, and improve the levels of PLGF and Flt-1 in ovarian tissues of rats with reduced ovarian function.

[**Keywords**] decreased ovarian function; Bushen Zhuluan Decoction; placenta growth factor; fms-like tyrosine kinase 1

卵巢储备功能下降(diminished ovarian reserve, DOR)是影响女性生殖系统健康的一类妇科常见疾病,是指卵泡数目减少且质量降低,促使女性出现内分泌紊乱、月经失调及不孕的临床表现<sup>[1]</sup>。DOR可进展成卵巢早衰(premature ovarian failure, POF),故早期诊治本病,可使卵巢储备功能得到改善,提高生育能力,延缓POF的出现<sup>[2]</sup>。补肾助卵汤为尤昭玲教授补肾活血方加减而来,在临床中具有补肾填精、活血调经之效,能够有效改善卵巢储备功能,然而补肾助卵汤对DOR的治疗机制尚不明确。

胎盘生长因子(placenta growth factor, PLGF)作为血管内皮因子,与其受体 fms 样酪氨酸激酶 1(fms-like tyrosine kinase-1, Flt-1)结合后能够活化内皮细胞,促进卵巢血管生成。基于此,本实验采用雷公藤建立大鼠卵巢功能下降模型,通过观察大鼠动情周期,并结合蛋白水平表达检测来探究补肾助卵汤对大鼠卵巢功能下降的卵巢组织中 PLGF 及其受体 Flt-1 表达调控作用。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物

18 只 SD 大鼠,雌性,7 周龄,SPF 级,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,许可证号:SCXK(湘)2019-0004,饲养温度 20~26 °C,湿度 40%~70%,昼夜节律 12 h/12 h,自由饮水进食,适应性饲养 1 周。

### 1.2 药物

雷公藤多苷片(批号:20200902,湖南千金协力药业有限公司),5 mg/mL 雷公藤多苷片的配置:取 1 000 mg 雷公藤多苷片用研钵研碎,加入 200 mL 生理盐水配置成 5 mg/mL 的混悬液。补肾助卵汤药

物组成:巴戟天 10 g,肉苁蓉 10 g,覆盆子 10 g,枸杞子 10 g,桑椹 10 g,山药 15 g,莲子 15 g,橘叶 10 g,黄精 10 g,党参 10 g,黄芪 10 g,白术 10 g,玫瑰花 10 g,陈皮 10 g,当归 10 g,川芎 10 g,三七 3 g,原药材均购自湖南中医药大学第二附属医院中药房,2.4 g/mL 补肾助卵汤的配置:将 1.7 kg 的生药平均分成 6 份,取其中一份放入砂锅中,加入适量水没过中药,浸泡 30 min,然后再煎煮 50 min,将药水滤出,加入第二遍水浸没生药再煎煮 40 min,之后将药水滤出,将过滤好的药水混合浓缩,终体积浓缩成 708 mL。

### 1.3 试剂

辣根酶标记山羊抗兔 IgG(H+L)(批号:ZB-2301,北京中杉金桥生物技术有限公司);DAB 显色试剂盒(批号:CW0125)、中性树脂(批号:CW0136)均购自北京康为世纪生物科技有限公司;苏木素染色(批号:AR1180-1,上海德生生物科技有限公司);PLGF 抗体(批号:10642-1-ap)、Flt-1 抗体(批号:13687-1-ap)均购自美国 Proteintech 公司;BCA 蛋白定量试剂盒(批号:CW0014S,江苏康为世纪生物科技股份有限公司);PVDF 膜(批号:IPVH00010,美国 Millipore 公司);封闭专用脱脂奶粉(批号:P1622,北京普利莱基因技术有限公司);牛血清白蛋白(批号:A8020,北京索莱宝科技有限公司);超敏发光液(批号:RJ239676,赛默飞世尔科技有限公司)。

### 1.4 仪器

电热恒温鼓风干燥箱(型号:HGZF-101-1,上海跃进医疗器械有限公司);热恒温培养箱(型号:DHP-9054,山东博科生物产业有限公司);显微镜

(型号:BX43,日本 Olympus 公司);全自动酶标仪(型号:WD-2102B)、蛋白垂直电泳仪(型号:DYY-6C)均购自北京六一生物科技有限公司;全自动样品快速研磨仪(型号:Tiss-12,上海净信实业发展有限公司);超高灵敏度化学发光成像系统(型号:Chemi Doc™ XRS+,上海伯乐生命医学产品有限公司)。

## 2 方法

### 2.1 动物分组

SPF级大鼠18只适应性喂养一周后,做5d的阴道脱落细胞学涂片。每天14:30左右进行阴道涂片。用生理盐水将棉签浸湿,再轻轻插入大鼠阴道内旋转后取出,涂在玻片上。光镜下观察阴道上皮脱落细胞变化情况,观察动情周期变化。筛选动情周期正常者9只大鼠作为受试动物。随机分为3组,空白组、模型组、补肾助卵汤组,每组3只。实验过程大鼠无死亡。

### 2.2 卵巢功能下降大鼠模型制备

将动情周期正常的动物筛选好后,空白组给予蒸馏水灌胃,20 g/(kg·d),连续14d,其余各组以雷公藤多苷片悬浮液5 mg/(kg·d)灌胃,连续14d造模。从灌胃开始第4天起,进行两个性周期阴道脱落细胞学检测,观察动情周期,动情周期紊乱提示卵巢功能下降大鼠模型制备成功<sup>[3-5]</sup>。

### 2.3 药物干预

按药物与人体表面积折算给药剂量。空白组、模型组:9:00和16:00均给予生理盐水;其余组9:00给予雷公藤多苷片5 mg/(kg·d),16:00给予相应药物;补肾助卵汤组予补肾助卵汤24 g/(kg·d),连续21d,每只大鼠所用药物均研碎溶解于3 mL生理盐水,或浓缩为3 mL。

### 2.4 性周期变化观察

用药结束后连续5d阴道涂片。将生理盐水湿润的棉签轻轻插入大鼠阴道内旋转后取出、涂片,光镜下观察阴道上皮脱落细胞变化情况,观察动情周期变化。

### 2.5 免疫组化检测

烤片:组织切片放入放入65℃烤箱中烤2h;脱蜡:切片在二甲苯放置10min,更换二甲苯再放置10min;水化:将切片依次放入100%乙醇、100%乙醇、95%乙醇、80%乙醇和纯化水中各5min。抗原修复:将切片放入修复盒中,加入抗原修复液(柠檬酸

缓冲液),高压锅加热到自动放气,2min后离开热源自然冷却,弃去抗原修复液,将切片用PBS缓冲液淋洗。将切片移入湿盒中,加入新鲜配制的3%双氧水,以去除内源性过氧化物酶封闭液,室温孵育10min,PBS缓冲液充分淋洗。封闭:PBS缓冲液浸洗玻片3次,每次5min,吸水纸吸干组织周围的PBS缓冲液,在玻片上滴加5%牛血清白蛋白,37℃封闭30min。敷一抗:用吸水纸吸掉组织周围的封闭液,不洗,每张玻片滴加足够量的稀释好的一抗:PLGF(1:200),Flt-1(1:100),放入湿盒中,4℃孵育过夜。敷二抗:取出4℃孵育过夜湿盒,室温静置45min,PBS缓冲液浸洗玻片3次,每次5min,滴加辣根酶标记山羊抗兔IgG(H+L)(1:100),37℃孵育30min,PBS缓冲液充分淋洗。DAB显色5~10min,在显微镜下掌握染色程度,PBS缓冲液或自来水冲洗1min;苏木精复染3min,盐酸酒精分化,返蓝;自来水冲洗1min,脱水、透明、封片、镜检。

### 2.6 Western blot检测

将组织在低温条件下打碎后,每孔加入100 μL的裂解液,置于冰上20min后,于12 000 r/min(离心半径9 cm)条件下离心10min,去上清液即得总蛋白。根据BCA试剂盒测定蛋白浓度。蛋白变性,上样,进行十二烷基苯磺酸钠凝胶电泳2h,后用300 mA恒流转膜80min。一抗溶液孵育(1:1 000),4℃过夜;二抗溶液中室温孵育2h。在膜上滴加ECL发光液,在凝胶成像系统中曝光。用“Image J”软件分析各条带灰度值。

### 2.7 统计方法

应用SPSS 20.0软件进行统计分析,计量资料采用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,若资料满足正态性和方差齐性,则采用单因素方差分析,反之则采用秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 结果

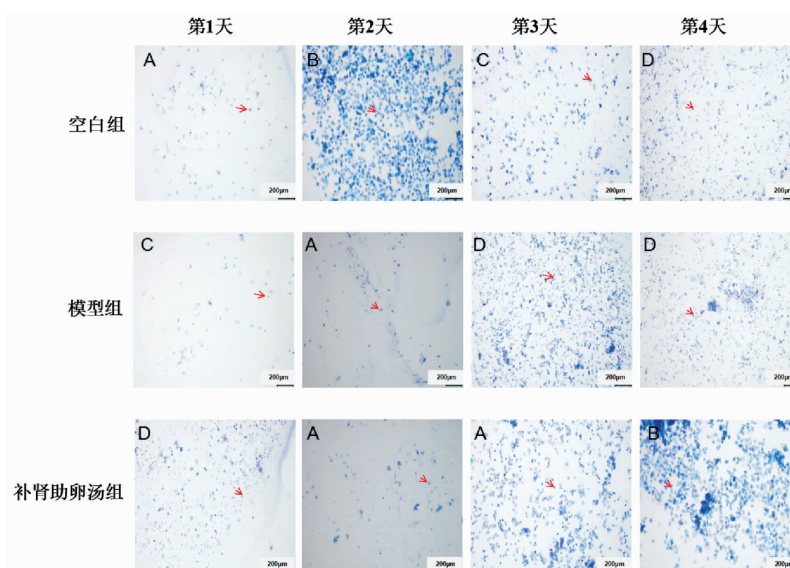
### 3.1 补肾助卵汤干预对大鼠动情性周期的影响

空白组的大鼠在5d后就出现动情前期、动情期、动情后期、动情间期,有稳定的动情周期。模型组则持续性在动情前期和动情间期,出现动情周期延长、不规则甚至紊乱。与模型组相比,补肾助卵汤组动情周期正常,动情周期在10d后按照动情前期、动情期、动情后期、动情间期循环,出现动情周期相对延长。见图1、表1。

### 3.2 大鼠卵巢组织中PLGF和Flt-1的表达情况

免疫组化检测及Western blot检测出PLGF和





注:A.动情前期;B.动情期;C.动情后期;D.动情间期

图 1 大鼠动情周期各阶段的典型阴道涂片(美兰染色,×100)

表 1 补肾助卵汤对大鼠动情周期的影响

分组	动物编号	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d
空白组	1	A	B	D	D	D	A	B	C	D	D
	3	A	C	D	D	D	A	B	D	D	D
	5	A	B	C	D	D	A	C	D	D	D
模型组	2	C	A	D	D	D	D	D	D	D	D
	6	D	A	A	B	D	D	A	D	D	D
	8	D	D	D	D	D	B	D	A	B	B
补肾助卵汤组	9	D	A	A	B	D	D	A	B	D	D
	4	B	B	D	D	D	A	D	A	A	A
	7	C	B	B	D	A	A	D	D	A	A

注:A.动情前期;B.动情期;C.动情后期;D.动情间期

Flt-1 在 3 组大鼠卵巢组织细胞质和细胞核中都有表达,与空白组相比,模型组大鼠 PLGF 和 Flt-1 蛋白表达水平下降( $P<0.05$ );与模型组相比,补肾助卵汤组大鼠卵巢组织中 PLGF 和 Flt-1 蛋白表达水平上调( $P<0.05$ )。见图 2、表 2-3。

表 2 免疫组化检测大鼠卵巢组织中 PLGF 和 Flt-1 的表达水平( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

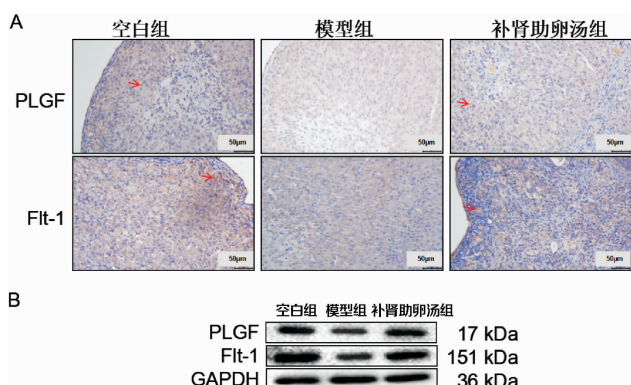
组别	PLGF	Flt-1
空白组	0.124±0.040	0.074±0.058
模型组	0.003±0.003*	0.001±0.001*
补肾助卵汤组	0.045±0.004 <sup>#</sup>	0.044±0.013 <sup>#</sup>

注:与空白组比较,\* $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$

表 3 Western blot 检测大鼠卵巢组织中 PLGF 和 Flt-1 的表达水平( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

组别	PLGF	Flt-1
空白组	0.919±0.300	1.216±0.170
模型组	0.299±0.012*	0.301±0.077*
补肾助卵汤组	0.650±0.034 <sup>#</sup>	0.718±0.115 <sup>#</sup>

注:与空白组比较,\* $P<0.05$ ;与模型组比较,<sup>#</sup> $P<0.05$



注:A.免疫组化检测图;B.Western blot 检测图

图 2 大鼠卵巢组织中 PLGF 和 Flt-1 的表达情况

## 4 讨论

DOR 目前尚无较好的方法进行根治,西医主要通过激素治疗、免疫治疗、生育治疗等对症支持治疗

来控制本病进展,但激素类药物不良反应大,复发率高,患者心理难以承受<sup>[6]</sup>。中医学并无记载 DOR 这一病名,但根据患者临床表现和体征,可归类于月经病中“月经后期”及“血枯经闭”。《傅青主女科·调经》云:“经本于肾……经水出诸肾”,肾藏精,主生殖,肾主宰女性一生的生殖机能的发育、旺盛和衰退,因此肾对女性卵巢生理功能的实现起着关键性作用<sup>[7]</sup>。研究<sup>[8]</sup>认为肾气不足,肾精耗损是本病发病基础,妇人以血为基本,气血亏虚,气虚血瘀是本病发展的主要环节。有学者<sup>[9]</sup>提出肾虚血瘀是 DOR 最主要的病因病机,故常以补肾活血作为治疗原则。实验研究<sup>[10]</sup>已明确证实补肾活血中药可以调节下丘脑-垂体-卵巢性腺轴。本研究所用补肾助卵汤由巴戟天、肉苁蓉、黄芪、覆盆子、山药、黄精、陈皮、枸杞子、桑椹、当归、莲子、橘叶、党参、白术、玫瑰花、川芎、三七等中药配伍组成,共奏补肾填精、活血调经之功效。方中黄精、桑椹、枸杞子可填补肾精、滋补肝肾;巴戟天、肉苁蓉、覆盆子温补肾阳,临床常联合使用补肾阴、补肾阳药物,共同调补肾中阴阳;党参、山药、陈皮、黄芪、白术相配,共奏益气健脾、滋补脾肾之功;川芎、当归、三七有活血行气调经之效;橘叶、玫瑰花能够疏肝理气、调畅气机。现代药理学发现肉苁蓉可通过调节大鼠性激素水平,提高 Bcl-2/Bax 凋亡蛋白表达,抑制 TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  的表达,从而减少卵泡闭锁以及细胞凋亡,进而减慢卵巢衰竭速度<sup>[11]</sup>;黄芪运用于雷公藤多苷 POF 大鼠可发挥减毒效应,且能降低凋亡分子表达<sup>[12]</sup>;覆盆子、枸杞子具有调节下丘脑-垂体-性腺轴功能,有助于改善女性生殖系统功能,并能促进黄体功能,增加子宫内膜血流,调节卵巢性激素的作用<sup>[13-14]</sup>;当归、玫瑰花具有抗氧化功能,从而减轻围绝经期综合征大鼠的氧化应激损伤,从而发挥延缓生殖器官功能衰退的作用<sup>[15]</sup>。

本研究所采用的雷公藤是一种皮部具有很大毒性的中药,其能严重影响生殖功能<sup>[16]</sup>,汪倩等<sup>[17]</sup>使用雷公藤对大鼠进行 14 d 造模灌胃以后,大鼠出现动情周期紊乱、动情周期持续延长,卵巢内成熟卵泡减少,闭锁卵泡增多,黄体体积减小,且卵巢内部出现瘢痕样组织。研究<sup>[18]</sup>发现雷公藤多苷可降低小鼠生育能力,下调血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、上调内皮抑制素(endostatin, ES)的表达,减少卵巢血管生成,进而影响卵泡生

长,进一步说明其生殖毒性可能是通过直接损伤卵巢组织结构,并认为采用雷公藤多苷造模 DOR 大鼠符合中医肾虚血瘀证型。因此,由雷公藤建立的 DOR 大鼠模型有利于从中医角度病证结合研究补肾助卵汤对卵巢功能低下模型的影响。

卵巢血管可以为卵泡生长提供循环支持,并影响着卵巢储备功能<sup>[19]</sup>。PLGF 作为 VEGF 家族中的一员,是一种分泌型同源二聚体糖蛋白,包括 PLGF 1-4 4 种异构体,可通过与 Flt-1 特异性结合从而发挥生物学作用。PLGF 参与内皮细胞生长、迁移、存活、血管形成、缺血组织血管再通以及及胎盘绒毛膜血管形成<sup>[20]</sup>。已有研究<sup>[21-22]</sup>证实 PLGF 与其受体 Flt-1 结合后能够促使血管内皮细胞活化,促进新生血管形成。尹燕等<sup>[23]</sup>发现运用补肾益气和血方能促进 DOR 大鼠 VEGF 及其受体 Flt-1、kdr 蛋白的表达,不仅促进卵巢新生血管重建和生成,并可以保护和修复损伤的卵巢组织血管。吴笛等<sup>[24]</sup>发现通过左归丸干预雷公藤多苷造模 DOR 大鼠后,PLGF 和 Flt-1 蛋白表达水平上调,促进卵巢血管生成。本研究所建立大鼠 DOR 模型是通过比较治疗前后大鼠卵巢功能是否得到改善,本文研究结果显示,PLGF 和 Flt-1 受体蛋白在 3 组大鼠卵巢组织中均有不同程度表达,DOR 模型组中 PLGF 和 Flt-1 蛋白表达水平低于空白组( $P<0.05$ ),其下降会减少卵巢血供从而导致卵巢功能下降。而通过补肾助卵汤灌胃 DOR 大鼠模型后,大鼠动情周期基本恢复正常,且提高了大鼠卵巢组织中 PLGF 和 Flt-1 蛋白表达水平( $P<0.05$ ),从而促进卵巢血管生成,使卵巢功能得到改善。

综上所述,使用补肾助卵汤对雷公藤多苷所致 DOR 模型大鼠进行干预,可调节大鼠动情周期,改善大鼠卵巢功能,促进卵巢血管生成,其作用机制可能是补肾助卵汤能够调控 PLGF 及其特异性受体 Flt-1 蛋白表达,从而起到保护卵巢功能的作用,可作为 DOR 是否得到改善的重要指标。

## 参考文献

- [1] 王月娇,徐莲薇,刘小菲,等.卵巢储备功能下降的中医研究进展[J]. 中国中医基础医学杂志,2021,27(6):1047-1050.
- [2] 葛任洁,胡荣魁,陈 昊,等.卵巢储备功能下降的中医药诊治进

- 展[J].中华中医药杂志,2020,35(1):322-325.
- [3] 徐丽萍,张 蕾,宋欣伟.雷公藤多苷不同给药方式对雌性大鼠肝功能及生殖功能影响的比较研究[J].浙江中医药大学学报,2019,43(2):177-181.
- [4] 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.
- [5] 陈燕霞,袁 苑,马 堃,等.定坤丹对雷公藤多苷诱导卵巢储备功能低下小鼠性激素和卵泡计数的影响[J].中国实验方剂学杂志,2020,26(14):78-84.
- [6] 李晓晓,齐丽红,仝瑞晓,等.卵巢储备功能下降病因及治疗的中西医结合研究进展[J].医学综述,2021,27(13):2612-2618.
- [7] 孙爱军,唐旭东,张巧利,等.卵巢储备功能降低不孕症中西医结合治疗的理论与临床试验研究探讨[J].中国实验方剂学杂志,2019,25(8):148-157.
- [8] 倪 爽,徐莲薇,李盛楠,李祥云以补肾活血法辨治卵巢储备功能下降不孕症经验拾萃[J].上海中医药杂志,2019,53(4):22-24.
- [9] 王带林,匡继林.自拟补肾通络方联合人工周期治疗卵巢储备功能下降所致不孕[J].中医药临床杂志,2020,32(3):486-489.
- [10] 赵井苓,王 娟,萧 闵,等.补肾活血方调节卵巢储备功能下降大鼠生殖激素水平的实验研究[J].湖南中医药大学学报,2021,41(7):1031-1036.
- [11] 刘 涛,殷松娜,栾 昕.肉苁蓉对卵巢早衰大鼠免疫因子和凋亡相关蛋白的影响[J].中国临床药理学杂志,2019,35(23):3084-3087.
- [12] 王 辉.黄芪联合雷公藤多苷对卵巢颗粒细胞的增殖活性和凋亡分子表达的影响[J].中国处方药,2021,19(5): 31-32.
- [13] 段凌燕,陈思思,李永平,等.基于“补五脏之阴”刍议覆盆子在妇科杂病中的应用[J].实用中医内科杂志,2020,34(5):24-27.
- [14] 孙慧霞,郭 哲,许 静.枸杞多糖对顺铂化疗诱导的大鼠卵巢早衰模型的卵巢保护作用[J].临床与病理杂志,2020,40(3):578-584.
- [15] 王 静,安方玉,陈雪娟.玫瑰红芪当归水煎剂对围绝经期综合征大鼠性激素水平及氧化指标的影响[J].中国中医基础医学杂志,2020,26(12):1795-1798.
- [16] 徐 颖,樊媛芳,赵 元,等.近 40 年雷公藤生殖毒性研究概述[J].中国中药杂志,2019,44(16):3406-3414.
- [17] 汪 倩,卢 鸽,解子婧,等.艾灸对卵巢储备功能减退大鼠 Nrf2/HO-1 信号通路的影响[J].中国针灸,2021,41(1):53-58.
- [18] 袁 苑,陈燕霞,马 堃,等.探索建立雷公藤多苷致早发性卵巢功能不全肾虚血瘀证的小鼠模型[J].中国中药杂志,2019,44(9):1895-1903.
- [19] 仝慧杰,刘丽丽,范志刚,等.卵巢早衰患者血浆中 miRNA-503 的作用及对内皮祖细胞的影响[J].实用医学杂志,2019,35(17):2765-2769,2774.
- [20] 张素素,李红梅,李红霞,等.转化生长因子- $\beta$ 1 与胎盘生长因子在葡萄胎预后中的意义[J].癌症进展,2017,15(4):443-446.
- [21] GUTMAN G, BARAK V, MASLOVITZ S, et al. Regulation of vascular endothelial growth factor-A and its soluble receptor sFlt-1 by luteinizing hormone in vivo : implication for ovarian follicle angiogenesis[J]. Fertility and Sterility, 2008, 89(4): 922-926.
- [22] TORRY D S, MUKHERJEA D, ARROYO J, et al. Expression and function of placenta growth factor: Implications for abnormal placentation[J]. Journal of the Society for Gynecologic Investigation, 2003, 10(4): 178-188.
- [23] 尹 燕,金志春,杨雅琴,等.补肾益气 and 血方对卵巢储备功能下降大鼠血清性激素和卵巢组织 VEGF 及其受体蛋白表达的影响[J].现代中西医结合杂志,2021,30(17):1830-1835,1839.
- [24] 吴 笛,段 恒.左归丸上调雷公藤多苷诱导卵巢功能低下大鼠卵巢 PLGF 及 Flt-1 水平[J].中国组织化学与细胞化学杂志,2016,25(3):237-241.

(本文编辑 贺慧斌 黎志清)