

- formula[J]. J Ethnopharmacol, 2008, 118(2):271-279.
- [11] Tan B, Y. Ma, R. Shi, et al. Simultaneous quantification of three alkaloids of Coptidis Rhizoma in rat urine by high-performance liquid chromatography: application to pharmacokinetic study[J]. Biopharm Drug Dispos, 2007, 28(9): 511-516.
- [12] Li H. L, W. D. Zhang, R. H. Liu, et al. Simultaneous determination of four active alkaloids from a traditional Chinese medicine *Corydalis saxicola* Bunting. (Yanhuanglian) in plasma and urine samples by LC-MS-MS[J]. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci, 2006, 831(1-2): 140-146.
- [13] Lee J. W, A. Iwahashi, S. Hasegawa, et al. Coptisine inhibits RANKL-induced NF-kappaB phosphorylation in osteoclast precursors and suppresses function through the regulation of RANKL and OPG gene expression in osteoblastic cells[J]. J Nat Med, 2012, 66(1): 8-16.
- (收稿日期:2014-01-18)
(本文编辑:秦楠)

交通心肾法对老龄雌性大鼠性激素水平的影响

辛明蔚 刘雁峰 骆斌 武颖 江媚 孙天琳 苏恒香

【摘要】 目的 探讨交通心肾法中药对老龄雌性大鼠性激素水平的影响。**方法** 选用 15 月龄雌性 SD 大鼠,将其分为空白组、中药治疗组、西药对照组和中药对照组,分别给予生理盐水、宁更丹、戊酸雌二醇和更年安灌胃,另选 3 月龄大鼠作为青年对照组。采用放射免疫法检测大鼠促卵泡刺激素(follicle stimulating hormone,FSH)、促黄体生成素(luteinizing hormone,LH)、雌二醇(estradiol,E2)。**结果** 与空白组比较,中药治疗组雌激素明显升高,有显著性差异($P < 0.05$),且与西药对照组结果类似。中药对照组雌激素水平略有升高,但与空白组相比无显著性差异。中药治疗组、西药对照组、中药对照组 FSH 均有降低,与空白组均有显著性差异($P < 0.05$),但是西药对照组下降更为显著。**结论** 交通心肾法可以升高老龄雌性大鼠雌激素,降低 FSH 水平,可能是其治疗更年期综合征的作用机制之一。

【关键词】 交通心肾法; 老龄雌性大鼠; 性激素水平

【中图分类号】 R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2014.04.005

Effect of the method of promoting heart-kidney interaction on sex hormone level in old female rats

XIN Ming-wei, LIU Yan-feng, LUO Bin, et al. Department of traditional Chinese medicine, Beijing Obstetrics Gynecology Hospital, Capital Medical University, Beijing 100026, China

Corresponding author: LIU Yan-feng, E-mail: liuyaf888@sina.com

【Abstract】 Objective Study the Method of promoting heart-kidney interaction herbs on influencing the sex hormone levels in old female rats. **Methods** Choose female SD rats aged 15 months. They were divided into blank group, Chinese medicine treatment group, western medicine control group, Chinese medicine control group, and they were given normal saline, Ning Gengdan, progynova and Gengnian'an gavage treatment respectively, Another 3 months old rats were chosen as the young control group. **Methods**

基金项目:北京市自然科学基金(7112070);北京中医药大学证候规范化标准化创新团队基金(2011-CXTD-08)

作者单位:100026 北京,首都医科大学附属北京妇产医院中医科(辛明蔚、武颖);北京中医药大学东直门医院妇科[辛明蔚(博士研究生)、刘雁峰、江媚(博士研究生)、孙天琳(博士研究生)、苏恒香(硕士研究生)];北京中医药大学基础医学院(骆斌)

作者简介:辛明蔚(1980-),女,2012 级在职博士研究生,主治医师。研究方向:中医药防治女性生殖内分泌疾病。E-mail: xinmingwei@126.com

通讯作者:刘雁峰(1963-),女,博士,主任医师,教授,博士生导师。研究方向:中医药防治女性生殖内分泌疾病、不孕症等。E-mail: liuyaf888@sina.com

Radioimmunoassay was used to measure the levels of follicular stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estradiol (E2). **Results** Compared with the blank group, Groups treated by Chinese herbs in rats with estrogen levels were markedly elevated, which have significant difference between two groups ($P < 0.05$). The western medicine control group have similar results. Traditional Chinese medicine control group slightly elevated levels of estrogen, but there was no significant difference compared with the blank group. Chinese medicine treatment group, western medicine control group, and Chinese medicine control group rats FSH levels were decreased, which have significant difference compared with the blank group ($P < 0.05$), but the comparison group decreased more significantly. **Conclusion** Method of promoting heart-kidney interaction can increase the estrogen in aged female rats, decrease the level of FSH, which may be one of the mechanisms of the treatment of menopausal syndrome.

【Key Words】 Method of promoting heart-kidney interaction; Old female rats; Sex hormone levels

随着社会进步、生活水平提高,人口老龄化越来越严重,更年期综合症的发病率呈逐年上升趋势,严重影响了患者的生活质量。现代医学一般认为卵巢功能衰退、雌激素水平过度降低是更年期综合症的发病机制。目前西医多采用激素替代疗法来防治更年期综合征,但有一定的副作用和局限性^[1-2]。中医药治疗本病疗效显著,副作用小,中药“宁更丹”秉承滋肾养心,交通心肾之法组方,在前期临床研究中能改善患者五心烦热、心烦不宁、心悸惊慌等症状,有较满意的临床疗效^[3]。本实验用自然衰老的雌性大鼠为动物模型,观察药物干预后大鼠性激素水平的变化,以探讨交通心肾法防治更年期综合征的作用机理。

1 材料和方法

1.1 试验药物

实验用中药饮片购自北京同仁堂股份有限公司。宁更丹为北京中医药大学东直门医院刘雁峰教授自拟方,组成为:枸杞子 15 g、生地黄 15 g、丹参 15 g、白芍 15 g、百合 15 g、郁金 12 g、合欢皮 12 g、莲子心 6 g、盐知母 12 g、生龙骨 30 g、生牡蛎 30 g。在首都医科大学基础医学院中药实验室,水煎后浓缩成 2.1 g/ml 的药液,4℃ 冰箱储存备用。戊酸雌二醇片,1 mg/片,拜耳公司生产,批号:257A2。更年安,0.31 g/片,天津中新药业乐仁堂生产,生产批号:D031192。

1.2 动物

健康雌性 15 月龄 SD 大鼠,56 只,体重 337 ~ 490 g,由北京斯贝福实验动物中心提供。青年鼠:健康雌性 3 月龄 SD 大鼠,14 只,体重 228 ~ 261 g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。

1.3 动物模型

健康雌性 3 月龄 SD 大鼠,连续 5 天阴道细胞学

涂片,选用有动情期者,雌性 14 ~ 15 月龄 SD 大鼠 56 只,常规饲养 1 周,连续 5 天阴道涂片,选用角化细胞指数(CI)低于 50% 者,断尾取血,放免法测定血清雌二醇(estradiol, E2)、促卵泡刺激素(follicle stimulating hormone, FSH)、促黄体生成素(luteinizing hormone, LH)。

1.4 动物分组

实验动物共分为 5 组,每组 14 只大鼠,分别为青年鼠(3 月龄),老龄鼠空白组(15 月龄),两组老鼠连续每天灌胃蒸馏水 3 ml;老龄鼠加中药宁更丹治疗组,连续每天按 20.65 g/kg 灌胃“宁更丹”药液;老龄鼠加中药更年安对照组,连续每天按 0.65 g/kg 灌胃更年安药液;老龄鼠加西药戊酸雌二醇对照组,连续每天按 0.12 mg/kg 灌胃戊酸雌二醇药液;灌胃饲养共 28 天。青年鼠 14 只,老龄鼠每组 14 只,后 4 组根据激素水平测定值平均分配,使各组分值无显著性差异。灌胃饲养过程中中药治疗组和中药对照组分别死亡一只老鼠。

1.5 生化指标的检测

实验前断尾取血,实验结束后断头取血,放射免疫法测定血清 E2、FSH、LH。

1.6 统计学处理

实验数据用 SPSS 17.0 统计软件包处理,样品测定数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。以单因素方差进行分析,LSD 比较两组间的情况,所有检验结果以 $P < 0.05$ 作为评定差异有显著性的标准。

2 结果

由表 1 可知,与空白组比较,宁更丹治疗组 E2 结果明显升高,且有显著性差异($P < 0.05$),且与戊酸雌二醇组结果类似。更年安对照组 E2 结果略有升高,但与空白组相比无显著性差异。

与空白组比较,宁更丹治疗组、戊酸雌二醇组、更年安对照组 FSH 结果均有降低,且有显著性差异 ($P < 0.05$),但是戊酸雌二醇组下降更明显。宁更丹治疗组和更年安对照组之间 FSH 结果无显著性差异。

五组间 LH 结果无差异。

表 1 用药前后各组 E₂、FSH、LH 比较

组别	E ₂ (pg/ml)	LH (mIU/ml)	FSH (mIU/ml)
A 青年鼠			
治疗前	18.32 ± 10.30	6.87 ± 2.47	3.69 ± 0.75
治疗后	19.31 ± 5.10	6.61 ± 2.65	3.98 ± 0.96
B 宁更丹治疗组			
治疗前	9.42 ± 9.42	7.71 ± 3.12	4.83 ± 1.18
治疗后	19.23 ± 6.49	6.05 ± 3.12	3.84 ± 1.00
C 空白组			
治疗前	9.81 ± 3.94	7.73 ± 3.4	4.81 ± 1.22
治疗后	8.99 ± 7.96	7.80 ± 3.25	5.6 ± 1.13
D 戊酸雌二醇组			
治疗前	9.47 ± 5.40	7.79 ± 3.33	4.88 ± 1.01
治疗后	21.29 ± 8.67	5.05 ± 2.29	2.97 ± 0.68
E 更年安对照组			
治疗前	9.64 ± 4.53	7.65 ± 3.22	4.83 ± 1.00
治疗后	10.62 ± 3.86	5.80 ± 1.86	3.76 ± 0.66

3 讨论

3.1 模型的选择及评价

目前,部分实验研究采用去势大鼠模型,通过切除动物卵巢,人为制造一个雌激素突然降低的环境来模拟人类更年期发生过程,但孙静汾等^[4]采用 15 月龄大鼠与去势模型相比,两模型阴道脱落细胞涂片及血清性激素水平均有围绝经期改变,证明本模型可以达到去势模型同样的造模效果,所以本模型的建立是成功的,但去势模型鼠没有自然衰老过程,其他各个系统均为青年,与围绝经期机体老化有一定差距;另外,去势模型鼠卵巢的彻底切除与围绝经期鼠卵巢功能的衰竭有着本质的不同,本模型比去势模型更接近事实本身,用此模型研究围绝经期综合征更具有说服力。

3.2 交通心肾法治疗更年期综合征

中医药治疗更年期综合征有着独特的疗效和特色,任婕等^[5]分析了 2006 年 10 月至 2007 年 6 月在全国 7 家三级甲等医院就诊的 1584 例病例(其中

围绝经期 802 例,绝经后期 782 例)后认为心肾不交证是更年期综合征的常见证型之一,该病之病机与心肾相关。肾在下焦属水,以上升为顺;心在上焦属火,以下降为和。心中之阳下降至肾,能温养肾阳;肾中之阴上升至心,则能涵养心阴。在正常情况下,心火和肾水就是互相升降、协调,彼此交通,保持动态平衡。如肾阴亏虚,肾水不足,不能上济于心,心火独亢,心肾失济,阴阳失衡则发为更年期综合征。因此治疗上应着重滋肾宁心,“宁更丹”方中丹参、百合清心除烦,养血安神;合欢皮、郁金疏肝解郁,清心安神;生龙骨、生牡蛎潜阳补阴,重镇安神;枸杞子、生地黄滋补肝肾之阴,白芍平抑肝阳,养血敛阴,莲子心,《本经逢原》述其“得水之精英,补中养神,益气清心,固精止泻,除崩带赤白浊,能使心肾交而成既济之妙”,《本草蒙筌》谓其:“味甘、涩,气平、寒。无毒。利益十二经脉血气,安靖上下君相火邪。”所以本方用其交通心肾,滋肾宁心安神。诸药合用能使肾水充,心神宁,故前期临床研究显示能有效缓解潮热汗出、急躁易怒、头痛头晕、失眠多梦诸症,临床疗效颇佳^[3]。

3.3 植物雌激素的作用

植物中一类具有雌激素样或抗雌激素作用的活性成分被称为植物雌激素(phytoestrogen, PE),其杂环多酚类结构类似于内源性雌激素,能够与哺乳动物或人的雌激素受体(estrogen receptor, ER)结合,起到微弱的雌激素样或抗雌激素样活性效应^[6]。本方中枸杞子可通过调控雌激素的代谢,使雌激素经 C-2 羟基化与 C-16 α 羟基化作用分别代谢生成 2-羟雌酮与 16 α -羟雌酮,通过调节 2-羟雌酮与 16 α -羟雌酮的比例而发挥药理效应^[7];丹参主要活性成分为黄酮类、萜类和甾醇等,主要有效成分丹参酮可以使幼龄雌鼠子宫质量明显增加,成年雌鼠服用丹参酮后阴道细胞学检查呈现动情期变化^[8]。Fan 等^[9]研究表明,丹参酮 IIA 通过 ER 亚基(ER α 或 ER β)的介导,使得海拉细胞中雌激素应答元件(estrogen response element, ERE)的荧光素酶活性增加,呈现出一定的雌激素样活性。但是由于植物中化学成分比较复杂,发挥雌激素样作用的活性物质也不止一种,故中药中的有效成分相互之间存在协同性和多靶向性^[6],故本方是否主要通过这两味药发挥类雌激素样的作用尚需进一步研究。

3.4 交通心肾法对模型大鼠性激素的调节

目前更年期综合征的发病机制尚未完全明了,

但是大量的临床和实验研究表明,更年期综合征患者血清 E2 水平低于更年期无症状者,而 FSH 则明显高于无症状者,说明雌激素降低是更年期综合征的发病基础。因此,观察 E2、FSH 含量的变化,在更年期综合征的诊断和治疗中,有着十分重要的意义。前期临床研究结果显示^[3],更年期患者的血清 FSH、LH 水平较治疗前下降,E2 水平较治疗前升高,由此可见,改善患者的生殖内分泌功能可能是“宁更丹”治疗更年期综合征的机制之一。

更年期妇女由于雌激素不足,对下丘脑—垂体不能进行有效的负反馈,致使垂体分泌促性腺激素增加。垂体 FSH 的释放受卵巢激素的反馈抑制较 LH 敏感,因此 FSH 的变化比 LH 更明显。本实验结果表明,给予老龄大鼠宁更丹治疗后,与空白组比较,中药治疗组雌激素明显升高,有显著性差异($P < 0.05$),且与西药对照组结果类似。与文献报道一致^[10],当植物雌激素使用足够剂量时,可以产生与体内 17 β -雌二醇相似的效应。中药对照组结果略有升高,但无显著性差异。与空白组比较,中药治疗组、西药对照组、中药对照组 FSH 均有降低,且有显著性差异($P < 0.05$),但是西药对照组下降更明显,与中药治疗组和中药对照组相比有显著性差异($P < 0.05$),而中药治疗组和中药对照组之间无显著性差异。老龄空白组 FSH 水平较实验前升高,可能与其饲养过程中进一步衰老有关。可以看出交通心肾中药治疗后可以升高老龄大鼠的 E2 水平,降低 FSH 水平,从而延缓老龄大鼠更年期的进程,与本课题组前期临床研究结果一致^[3],为交通心肾法治疗更年期综合征提供了实验依据,同时也

发现中药更年安对照组在降低 FSH 水平方面也有明显效果,但是对 E2 水平升高作用不明显。

参 考 文 献

- [1] 杨淑臻. 围绝经期综合征激素替代疗法的利与弊[J]. 中国医药导报, 2008, 20(5): 174-175.
- [2] 田秦杰. 如何辩证看待绝经妇女的激素替代疗法[J]. 中国中西医结合杂志, 2008, 28(3): 197-198.
- [3] 刘雁峰, 何焕娣, 王荣莉, 等. 滋肾宁心法治疗绝经综合征临床观察[J]. 北京中医药大学学报, 2010, 33(8): 567-570, 574.
- [4] 孙静汾, 赵焯, 吴素慧, 等. 围绝经期综合征实验动物模型的比较分析[J]. 山西医科大学学报, 2007, 38(1): 43-45.
- [5] 任婕, 王天芳, 李力. 更年期综合征绝经前与绝经后临床常见中医症状及体征的分布特点[J]. 中华中医药杂志(原中国医药学报), 2010, 25(8): 1204.
- [6] 朱迪娜, 王磊, 王思彤. 植物雌激素的研究进展[J]. 中草药, 2012, 43(7): 1422.
- [7] Li G, Sepkovic D W, Bradlow H L, et al. Lycium barbarum inhibits growth of estrogen receptor positive human breast cancer cells by favorably altering estradiol metabolism [J]. Nutr Cancer, 2009, 61(3): 408-414.
- [8] Kato S, Endoh H, Masuhiro Y, et al. Activation of the estrogen receptor through phosphorylation by mitogen-activated protein kinase [J]. Science, 1995, 270(5241): 1491-1494.
- [9] Fan G W, Gao X M, Wang H, et al. The anti-inflammatory activities of tanshinone IIA, an active component of TCM, are mediated by estrogen receptor activation and inhibition of iNOS [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2009, 113(3-5): 275-280.
- [10] Miksicek R J. Estrogenic flavonoids: structural requirements for biological activity [J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1995, 208(1): 44-50.

(收稿日期: 2013-11-24)

(本文编辑: 董历华)

· 信息之窗 ·

欢迎订购《环球中医药》2013 年合订本

《环球中医药》杂志 2013 年合订本于 2014 年 2 月中旬出版。其中汇集了本刊 2013 年全部 12 期 292 篇精彩文章, 约 200 万字, 大 16 开, 960 页。内容丰富, 信息量大, 印装精美, 是一本不可多得的中医药相关领域的学术参考书, 具有一定的保存价值。

《环球中医药》杂志 2013 年合订本每本定价 120 元。免邮费挂刷投寄。

邮局汇款地址: 北京市东城区东四西大街 46 号综合楼 203 室, 邮编 100711, 收款人“环球中医药杂志社”。请在邮局汇款单附言栏注明 2013 年合订本。

咨询请致电: 010-65133322 转 5203