

养血补肾片对阳虚证动物模型 卵巢功能的影响*

蔡连香 李宏广 魏袁琳 沈明秀 姜 坤
刘熙政 岳开琴 董 彬 刘 莉

内容提要 目的:探讨养血补肾片治疗肾虚型功能性闭经、月经稀发的作用机理。方法:采用氨基导眠能(下称氨导),复制雌性家兔阳虚证模型,以克罗米芬为阳性对照药,将家兔分为 5 组,Ⅰ组:单纯氨导;Ⅱ组:氨导加克罗米芬;Ⅲ、Ⅳ组:氨导加养血补肾片高、低剂量组;Ⅴ组:给蒸馏水组。以模型动物体征,卵巢、子宫的组织形态学及 β -内啡肽(β -EP)水平等为指标,观察性腺轴功能效应。结果:Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ 3 组对阳虚证动物具有整体复健作用,观察显示卵巢各级卵泡,子宫内膜形态、阴道角化上皮脱落细胞的变化均比Ⅰ组、Ⅴ组有显著性差异($P < 0.05$)。血浆 β -EP 含量Ⅰ组为 106.6ng/L,显著低于其他各组($P < 0.05$),而Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ 3 组与Ⅴ组相接近($P > 0.05$)。结论:养血补肾片有调节性腺轴的功能,尤其对卵巢功能有促进和调节作用,从而达到调经目的。

关键词 养血补肾片 阳虚证动物模型 氨基导眠能 β -内啡肽 性腺轴 闭经 月经稀发

Effect of Yangxue Bushen Tablet on Ovarian Function in Animal Model of Yang Deficiency Cai Lianxiang, Li Hongguang, Wei Yuanlin, et al Xiyuan Hospital, China Academy of Traditional Chinese Medicine, Beijing (100091)

Objective: To study the therapeutic mechanism of Yangxue Bushen tablet (tablet for nourishing blood and tonifying Kidney) on the Kidney deficiency type of functional amenorrhea and infrequent menstruation. **Methods:** Applied with orimeten, models of Yang deficiency in female rabbits were made, ikaclomine was taken as the control drug. Group I was the group of animal model of Yang deficiency; Group II was the ikaclomine treatment group; Group III was the high dosage treatment group; Group IV was the low dosage group; Group V normal rabbit treated with distilled water. The functional effect of gonadal axis was evaluated by the changes of the signs of animal histomorphology of ovary and uterus, and the level of β -endorphin. **Results:** The animals of Yang deficiency in Group II, III and IV recovered as a whole, and the changes of different levels of folliculi, morphosis of endometria and deciduous vaginal epithelial cell in group II, III and IV were more obviously than those in group I and V ($P < 0.05$). The content of β -endorphin in blood plasma in group I was 106.6pg/ml, which was lower than those in the other groups ($P < 0.05$), and the contents of β -endorphin in blood plasma, in group III, IV and II were similar to that in group V ($P < 0.05$). **Conclusion:** Yangxue Bushen tablet has the effect on regulating menstruation by regulating the function of gonadal axis, regulating and promoting the ovarian function.

Key words Yangxue Bushen tablet, animal model of Yang deficiency, orimeten, β -endorphin, gonadal axis, amenorrhea, infrequent menstruation

养血补肾片是我们在中药汤剂的基础上研制而成

的,具有补肾填精、养血行血功能。临床已使用多年,用于治疗肾虚型继发闭经、月经稀发有较好疗效。为探讨养血补肾片治疗的作用机理,我们于 1992 年 6 月~1993 年 5 月进行了以下实验。

* 国家中医药管理局资助课题(No.75-64-01-03)
中国中医研究院西苑医院(北京 100091)

材料与方法

1 动物造模及分组 选用清洁级封闭群管理的新西兰种系白色雌兔 27 只, 3~4 月龄, 平均 3.4 月龄, 体重 1.6~2.4kg, 平均 1.95kg, 受试环境按照北京市地方标准(DBH/017-92), 控温、控湿、标定颗粒饲料, 自由饮水, 每笼蓄养 2 只。

阳虚证动物造模方法参照文献^[1]。27 只受试动物预饲 2 周, 待体温相对恒定, 外阴部出现动情周期样变化后, 随机分为 5 组, 每组 5 只或 6 只。

阳虚证模型组(I 组): 氨基导眠能(下称氨导, 上海第十二制药厂生产, 批号 901101, 蒸馏水配成 10mg/ml 悬液备用)6mg/kg 加蒸馏水; 氨导加克罗米芬组(II 组): 氨导 6mg/kg 加阳性对照药克罗米芬(clomiphene, 北京向阳制药厂生产, 批号 881101, 蒸馏水配成 10mg/ml 悬液备用)11.8mg/kg; 氨导加中药高剂量组(III 组): 氨导 6mg/kg 加养血补肾片 2g/kg; 氨导加中药低剂量组(IV 组): 氨导 6mg/kg 加养血补肾片 0.63g/kg; 正常对照组(V 组): 给蒸馏水。

每日上午定时插胃管投氨导, 5h 后灌给受试药物。每次给药均以蒸馏水调整体积为 20ml, 连续 15 天。每天详细观察记录体征、行为、摄食、摄水、体重、体温等阳虚证变化。

2 受试药物 养血补肾片, 由覆盆子 15g 菟丝子 20g 枸杞子 12g 车前子 6g 五味子 6g 当归 10g 黄芪 10g 巴戟天 10g 熟地 12g 陈皮 6g 鸡血藤 12g 等药组成, 按国家规定工艺流程由中国中医研究院西苑医院制剂室生产, 每片含生药 1.8g。实验时将片剂粉碎, 过 120 目筛, 蒸馏水调制成 0.3g/ml 悬液, 置 4℃ 备用。

3 家兔血浆 β -内啡肽(β -Endorphin, β -EP)的测定, 参照文献^[2]的方法, 试剂盒由北京科荟生物工程应用技术研究所提供。

4 方法 对受试动物的外阴部、阴道上皮脱落细胞动情周期变化, 逐只连续观察分析; 每日下午定时阴道涂片、美蓝染色, 细胞学检查。于造模始第 16 日, 施

耳静脉采血, 即刻分离血浆, 以放射免疫法按药盒操作说明测定 β -EP 的含量; 采血后空气栓塞法处死动物, 摘取子宫体(包括输卵管和卵巢), 剔除脂肪和其他组织, 滤纸稍拭后, 分别放入天平精确称重子宫、卵巢的湿重; 将卵巢置于解剖镜下, 测量卵泡大小及计数后, 与子宫体同固定。包埋、切片、HE 染色, 进行组织学检查。统计学处理用 t 检验。

结 果

1 对家兔生殖器官组织重量和排卵能力的影响 观察大、小卵泡数目(卵泡直径 ≥ 2.0 mm 为大卵泡, 直径 < 2.0 mm 为小卵泡); 每公斤体重所含卵巢、子宫的湿重, 见表 1。II、III、IV 组 3 组间大、小卵泡数、卵巢重量及 5 组间子宫湿重差异均不显著($P > 0.05$)。表明养血补肾片有增加卵巢重量, 促进卵泡发育、成熟的排卵能力。

2 对家兔生殖器官组织形态的影响 病理学显示与表 1 对应的结果。II、III、IV 3 组卵巢组织均可见成熟卵泡及发育不同阶段的初级与次级卵泡; V 组成熟卵泡较少; I 组未见成熟卵泡, 间质纤维组织增多。子宫内膜组织学观察: V 组表现为正常生理状态; II、III、IV 3 组子宫内膜明显增生、变厚, 腺体数目增多, 屈曲度增多, 腺上皮呈高柱状, 部分腺上皮可见皱襞, 出现复层柱状上皮, 表面有大量分泌物; 而 I 组子宫内膜菲薄、腺体稀少狭窄细直, 间质细胞致密。表明养血补肾片能使造模动物的生殖器官组织形态恢复正常, 并表现功能旺盛。

3 对家兔阴道上皮细胞角化的影响 阴道上皮细胞的成熟程度与体内雌激素水平成正比。雌激素的主要作用是使上皮增生、细胞成熟。其影响的程度一般是以角化细胞指数为依据^[3]。表 2 提示: 养血补肾片可提高实验家兔的雌激素水平, 使其角化上皮细胞增多, 动情期显著延长。

4 家兔血浆 β -内啡肽含量测定 见表 3。I 组血浆 β -EP 的含量明显低于其他各组, II 组低于 III、IV 组。III 组、IV 组与正常对照组(V 组)接近, 表明养血补

表 1 5 组卵泡数、卵巢和子宫重量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	兔数	大卵泡数	小卵泡数	卵巢重	子宫重
		(个/只)		(mg)	
I	5	0	6.00 ± 2.35	143.99 ± 6.12	2201.11 ± 270.01
II	6	$6.33 \pm 3.08^* \Delta$	$11.33 \pm 3.01^*$	$221.78 \pm 55.70^* \Delta$	2307.48 ± 473.81
III	6	$7.67 \pm 4.68^* \Delta$	$13.67 \pm 4.55^*$	$209.56 \pm 18.55^* \Delta$	2117.64 ± 207.31
IV	5	$7.20 \pm 3.70^* \Delta$	$14.40 \pm 5.23^*$	$189.31 \pm 39.48^* \Delta$	2042.32 ± 216.18
V	5	$1.80 \pm 1.64^*$	8.20 ± 3.70	$143.43 \pm 14.40^*$	2042.43 ± 277.54

注: 与 I 组比较, $^* P < 0.05$; 与 V 组比较, $\Delta P < 0.05$

表 2 5 组阴道脱落细胞涂片比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	兔数	角化上皮细胞最高值(%)	动情期持续时间(d)
I	5	57.00 ± 5.70	2.00 ± 0.71
II	6	83.33 ± 6.06	3.50 ± 0.55* [△]
III	6	85.83 ± 7.36	4.17 ± 0.75* [△]
IV	5	82.00 ± 10.37	3.60 ± 0.55* [△]
V	5	72.00 ± 5.70	2.60 ± 0.55

注:与 I 组比较,* $P < 0.05$;与 V 组比较,[△] $P < 0.05$

表 3 5 组血浆 β -EP 水平、体重差值、体温比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	兔数	β -EP(ng/L)	体重差值(kg)	体温(℃)
I	5	106.60 ± 5.59	-0.30 ± 0.14	36.90 ± 0.23
II	6	178.00 ± 14.40*	0.13 ± 0.08 [△]	37.88 ± 0.24 [△]
III	6	194.20 ± 8.23*	0.34 ± 0.07*	38.60 ± 0.36*
IV	5	193.20 ± 6.68*	0.33 ± 0.04*	38.58 ± 0.27*
V	5	192.40 ± 5.59*	0.48 ± 0.13*	38.96 ± 0.17*

注:与 I 组比较,* $P < 0.05$;与 V 组比较,[△] $P < 0.05$

肾片能使 β -EP 水平恢复正常。

5 对家兔体温和给药前后体重的影响 见表 3。I 组体重给药后减轻,其他各组有不同程度增加;II 组的体温、体重差值与 V 组比较差异显著($P < 0.05$),而 III 组、IV 组与 V 组比较则无显著性差异($P > 0.05$)。表明养血补肾片在恢复造模动物的体重、体温方面优于西药克罗米芬。

讨 论

1 本实验除 V 组外,其余 4 组均用氨导造模。氨导能使类固醇激素合成受阻,造成垂体-肾上腺皮质和垂体-性腺轴功能减退的阳虚模型。阳虚和肾虚虽不完全等同,但由于肾阳为元阳、真阳,阳虚的病理变化主要责之于肾阳虚,肾又为水火之宅,故肾虚和阳虚的关系密切。在临床上阳虚证表现出的全身机能减退,尤其是内分泌功能低下的征象与肾虚证颇为相似。本实验模型家兔的表现兼备了阳虚和肾虚证共有的症状,可用来探讨补肾药的作用机理。

2 I 组为阳虚模型组,该组动物表现体重减轻、体温下降,出现拱背穹起,毛发卷曲、稀疏而无光泽,摄食减少,对外界刺激反应迟钝,活动减少、萎靡不振等症状。而加养血补肾片中药的 III 组、IV 组的动物,则表现神清活泼、摄食正常,反应灵敏,毛发滋润光亮,体重、体温与正常对照的 V 组比较无显著性差异,并出现动情期的跑圈现象,说明养血补肾片能拮抗氨导造成的毒性作用,改善机体功能低下状态,促使功能恢复,包括生殖内分泌功能。这可能与养血补肾片的药物组成有关,该药片是以五子衍宗丸、当归补血汤为主要药

物,又加补肾阳的巴戟天,补血行血的熟地、鸡血藤等药,全方具有补肾填精、养血行血的功能,能使肾精充、肾气足、气血旺、冲任滋,故能起到上述作用,体现了中医药整体调节的优势。

3 β -EP 是女性生殖内分泌活动的重要调节因素。 β -EP 是一种神经内分泌激素,它的生成部位在下丘脑、垂体、脑干的弧束核以及肠道中的内分泌腺体。随着研究的深入,发现 β -EP 与下丘脑-垂体-肾上腺轴、下丘脑-垂体-卵巢轴有着密切的关系^(4,5)。我们用氨导造模的阳虚证动物(I 组)血浆 β -EP 含量显著低于其他各组($P < 0.05$),与吕肖铎等⁽⁶⁾用氢化可的松造成的阳虚动物下丘脑 β -EP 含量下降相一致。单用氨导的 I 组家兔,表现卵巢功能低下:卵巢无成熟卵泡,子宫内膜菲薄,阴道上皮角化细胞指数低。而氨导加中药的 III 组、IV 组的家兔则血浆 β -EP 的含量与正常对照的 V 组接近,两组动物不仅无卵巢功能低下的情况,还表现出阴道上皮角化细胞增多,动情期延长,卵巢的成熟卵泡比 V 组增多,子宫内膜明显增生、变厚,腺体数目增多等卵巢功能旺盛的表现。表明养血补肾片中药能拮抗氨导的毒性,使 β -EP 含量恢复正常,提示 β -EP 可能参与性腺轴的功能活动,尤其对卵巢功能有促进、调节作用,但如何调节及其机理尚待进一步探讨。

4 克罗米芬是当前公认的促排卵西药,本实验中养血补肾片对家兔的促排卵能力与克罗米芬比较无显著性差异($P > 0.05$),表明两者在受氨导抑制后恢复卵巢功能的作用基本相同,但在维持正常体温、体重及抵消阳虚证的有关症状方面如毛发、活动等中药组优于西药,体现了补肾中药的整体作用。

参 考 文 献

1. 中国现代医学编辑委员会主编. 中国现代医学. 北京:人民卫生出版社,1987:46—51.
2. 祝元祥,管小滨,崔瑞耀,等. β -内啡肽抗血清及其放射免疫测定. 第二军医大学学报 1986;7(5):332—336.
3. 郑怀美主编. 妇产科学. 北京:人民卫生出版社,1991:398—399.
4. 王 勤. 内啡肽与妇科内分泌活动. 江西医学院学报 1988;28(3):91—94.
5. 沈卫斌,王 红,张崇理. β -内啡肽在雌激素负反馈调节中的作用机理. 动物学报 1990;36(3):286—291.
6. 吕肖铎,逯瑞霞,叶雪清. 阳虚动物模型下丘脑 β -内啡肽的改变及助阳药的作用. 中医杂志 1994;35(10):619—620.

(收稿:1997-09-22 修回:1998-04-30)