

# 益妇散治疗更年期综合症的实验研究

程贝 李旸 (湖北省新华医院药学部 武汉 430015)

**摘要 目的:** 通过观察益妇散的中药复方对去势大鼠血清性激素水平、下丘脑单胺类神经递质的影响,研究其治疗更年期综合症的作用效果。**方法:** 将 60 只 SD 大鼠随机分成 5 组:假手术组、去卵巢对照组、尼尔雌醇组、益妇散低、高剂量组。连续给药 4 周,然后测定下丘脑单胺类神经递质,测定血清性激素水平以及测定肾上腺、子宫和胸腺指数等。**结果:** 益妇散高剂量组去势大鼠的血清  $E_2$  水平为  $(4.768 \pm 2.548) \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 肾上腺、子宫指数分别为  $(0.375 \pm 0.039) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,  $(1.572 \pm 0.194) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 与去卵巢对照组大鼠的血清  $E_2$  水平  $(1.976 \pm 0.945) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , 肾上腺、子宫指数  $(0.282 \pm 0.039) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,  $(1.236 \pm 0.423) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  比较,差异有统计学意义。益妇散高剂量组能够有效地降低去势大鼠异常增高的 5-羟色胺硫酸肌肝(5-HT)和 5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)水平,提高多巴胺(DA)的含量水平,与对照组相比,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。**结论:** 益妇散能够从多方面调节生殖内分泌功能,具有缓解更年期综合症的作用。

**关键词** 益妇散;更年期综合症;去势大鼠,性激素;单胺类神经递质

中图分类号:R285.5 文献标识码:A 文章编号:1008-049X(2015)09-1588-03

## Pharmacological Effect of Yifusan in the Treatment of Menopausal Syndrome

Cheng Bei, Li Yang (Department of Pharmacy, Xinhua Hospital of Hubei Province, Wuhan 430081, China)

**ABSTRACT Objective:** To explore the pharmacological effect of Yifusan in the treatment of menopausal syndrome through observing its influence on serum sex hormone levels and hypothalamus monoamine neurotransmitters in castrated rats. **Methods:** Totally 60 SD rats were randomly divided into 5 groups: the control group, ovariectomized control group, nilestriol group, Yifusan group respectively at low and high dose. After 4-week administration, the levels of hypothalamus monoamine neurotransmitter and serum sex hormones and the index of uterus and thymus were determined. **Results:** The level of serum  $E_2$  in the high dose Yifusan group was  $(4.768 \pm 2.548) \text{ pmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , and the index of adrenal gland and uterus was  $(0.375 \pm 0.039) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  and  $(1.572 \pm 0.194) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , respectively, and compared with that in the ovariectomized control group [ $(1.976 \pm 0.945) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ ,  $(0.282 \pm 0.039) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  and  $(1.236 \pm 0.423) \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$ , respectively], the differences were statistically significant. Yifusan at high dose could effectively reduce the unusually high levels of 5HT and 5-HIAA, and increase the content of DNA, and the differences were statistically significant when compared with that in the control group ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Yifusan can adjust the reproductive endocrine function in many ways, which can relieve menopausal syndrome effectively.

**KEY WORDS** Yifusan; Menopausal syndrome; Castrated rats; Sex hormone; Monoamine neurotransmitter

更年期综合症是指妇女在绝经前后,由于卵巢功能衰退、体内雌激素降低等一系列以功能紊乱为主引发的各种征状(如潮热、盗汗、烦躁、失眠等),并伴有神经心理征状的一组征候群<sup>[1]</sup>。近年来,国内外有关研究表明,45~55岁妇女90%都有不同程度的临床表现,并且由此引发很多相关的疾病,严重影响着广大妇女的身心健康与生活质量。目前,临床上常采用防止更年期综合症的方法是雌激素替代疗法,但存在着一些较为严重的不良反应。现阶段,对更年期综合症的防治尚无不良反应小、疗效显著的治疗药物。益妇散是目前我院在研新药,是由古籍中记载的古方改进而来,主要由酸枣仁、熟地黄、当归及藏红花等组成。为探讨益妇散治疗更年期综合症的实验效果,本研究采用雌性大鼠卵巢双侧切除模型模拟妇女更年期内分泌的状态<sup>[2]</sup>,观察益妇散对去势大鼠血清性激素水平、下丘脑单胺类神经递质的影响,明确其对更年期综合症的作用效果。

### 1 材料与方法

#### 1.1 仪器

SN-682 型放射免疫计数器(上海核福光电仪器有限公司);RF-5000 荧光分光光度计(日本岛津公司);动物送风设备(苏州市苏杭动物仪器设备厂);电子天平(上海精密科学仪器有限公司)。

司);RF-5000 荧光分光光度计(日本岛津公司);动物送风设备(苏州市苏杭动物仪器设备厂);电子天平(上海精密科学仪器有限公司)。

#### 1.2 试剂

血清  $E_2$ 、卵泡刺激素(FSH)、促黄体生成素(LH)、睾酮(T)及孕酮(P)放射免疫测定试剂盒(秦皇岛紫竹药业有限公司),批号:20130117001;5-羟色胺硫酸肌酐(5-HT)、5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)、重酒石酸去甲肾上腺素(NE)及多巴胺(DA)对照品(美国 Sigma 公司),批号:201302160002;邻苯二甲醛(OPA)(美国 Sigma 公司)。

#### 1.3 试药

益妇散,由华中农业大学中药新药研究室提供,其中酸枣仁  $20 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 、熟地黄  $10 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 、当归  $20 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 、藏红花  $10 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ ,批号:20130422001;乙烯雌酚片(DT),由广东药学院制药厂生产,批号:201303210003,规格:0.5 mg/片。

#### 1.4 动物

SD 生育龄未受孕的雌性大鼠,体质量约 220 g,由湖北

通讯作者:程贝 Tel:18674007885 E-mail:6990562@qq.com

防疫中心提供,许可证号:SCXK(鄂)2013-0003。实验前将动物置于实验室内适应环境7 d,室温22℃左右。

### 1.5 动物模型

用2.25%的戊巴比妥钠麻醉SD大鼠,剂量为40 mg·kg<sup>-1</sup>,将腹部固定。在最末肋骨下、腋中线和脊柱外侧约几公分的交叉处,剪除长毛,在皮肤和背肌约2 cm处切开,在切口的视野中可以发现一团白色发亮的脂肪,然后分离脂肪团,即可看到卵巢,一般呈现粉红色或黄红色。摘取卵巢时,首先用丝线将卵巢下的包括脂肪团在内的输卵管结扎,然后再摘除卵巢。使用同样方式,摘除另一侧的卵巢。摘除动物卵巢后1周,逐一进行阴道检查,每天1次,连续1周,参照文献<sup>[3]</sup>判定是否去势成功。

### 1.6 分组及给药

随机将大鼠分成5组,即:假手术组、去卵巢对照组、尼尔雌醇组、益妇散低、高剂量组,每组12只。用蒸馏水将尼尔雌醇片配成0.02 g·L<sup>-1</sup>溶液;用1%的吐温将益妇散配成混悬液,高低剂量每毫升混悬液分别相当于原生药200 mg和100 mg,标准参照人体应用药物的20倍与10倍计算。去势手术后2周开始,各组用药按5 ml·kg<sup>-1</sup>灌服相应药液,连续4周。对照组灌服同等体积的生理盐水。

### 1.7 指标观察和方法测定

1.7.1 生殖内分泌激素测定 取腹部主动脉血液8 h后分离血清,-20℃保存,用放免法测定E<sub>2</sub>、LH、FSH、T、P等含量,所有的操作均严格按照药盒说明书。

1.7.2 下丘脑神经递质的测定 末次灌胃12 h后,将大鼠断头处死,迅速取脑,在冰皿上精确地称取下丘脑第三脑室周围的组织,用液氮进行保存,待测。利用化学荧光检测法<sup>[3]</sup>测定NE、DA、5-HT以及5-HIAA含量。

1.7.3 脏器指数测定 处死动物以后,将其解剖,取出胸腺、肾上腺和子宫,精确称重,然后按如下公式进行脏器指数的计算。脏器指数=脏器质量(mg)/体质量(g)。

### 1.8 统计学方法

使用SPSS 13.0统计软件进行数据分析,计数资料采用

$\chi^2$ 检验比较,计量资料比较采用 $t$ 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 生殖内分泌激素

与假手术组比较,去卵巢后大鼠血清E<sub>2</sub>水平明显降低( $P < 0.05$ );FSH水平明显升高,T水平明显降低( $P < 0.05$ )。与去卵巢对照组比较,各用药组E<sub>2</sub>水平都有明显提高( $P < 0.05$ );与去卵巢对照组比较,益妇散高剂量组FSH水平明显提高( $P < 0.05$ ),尼尔雌醇组与益妇散低剂量组FSH、T水平无明显变化( $P > 0.05$ );与尼尔雌醇组比较,益妇散高剂量组与低剂量组大鼠E<sub>2</sub>以及T水平没有显著性变化,而益妇散高剂量组FSH水平显著提高, ( $P < 0.05$ )。见表1。

### 2.2 脏器指数

与假手术组比较,去卵巢对照组的子宫指数、肾上腺指数都有明显的降低( $P < 0.05$ );胸腺指数有下降趋势,但差异无统计学意义。与去卵巢对照组比较,各用药组对子宫指数均有升高作用,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),并且益妇散高剂量组能够降低肾上腺指数( $P < 0.05$ );在胸腺指数的比较中,差异无统计学意义。与尼尔雌醇组比较,益妇散高剂量组与低剂量组的子宫指数、肾上腺指数以及胸腺指数比较,差异无统计学意义。见表2。

### 2.3 下丘脑神经递质

与假手术组比较,去卵巢对照组大鼠下丘脑5-HT、5-HIAA的含量明显升高( $P < 0.05$ ),DA含量降低( $P < 0.05$ ),NE含量也有降低,但差异无统计学意义。与去卵巢对照组比较,各用药组大鼠的5-HT、5-HIAA的含量都有显著降低( $P < 0.05$ );益妇散高剂量组、低剂量组都能够提高NE、DA的水平,与去卵巢对照组比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),且益妇散高剂量组作用效果比低剂量组好。与尼尔雌醇组比较,益妇散高剂量组与低剂量组的NE、DA比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而5-HT、5-HIAA间差异无统计学意义。见表3。

表1 各组大鼠血清E<sub>2</sub>,FSH,T水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量(g·kg <sup>-1</sup> )	只数	E <sub>2</sub> (pmol·L <sup>-1</sup> )	FSH(U·L <sup>-1</sup> )	T(×10 <sup>-2</sup> nmol·L <sup>-1</sup> )
假手术对照组	/	12	6.012 ± 1.943	2.766 ± 0.713	5.673 ± 2.143
去卵巢对照组	/	12	1.976 ± 0.945 <sup>a</sup>	3.899 ± 1.032 <sup>a</sup>	2.130 ± 1.032 <sup>a</sup>
尼尔雌醇组	1.00	12	5.061 ± 1.638 <sup>b</sup>	3.521 ± 1.342	1.432 ± 0.632
益妇散低剂量组	2.00	12	3.987 ± 1.236 <sup>b</sup>	4.612 ± 0.764	2.534 ± 0.956
益妇散高剂量组	4.00	12	4.768 ± 2.548 <sup>b</sup>	5.015 ± 1.067 <sup>bc</sup>	2.971 ± 1.423

注:与假手术对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与去卵巢对照组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与尼尔雌醇组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

表2 各组大鼠脏器指数测定结果( $\bar{x} \pm s$ ,mg·g<sup>-1</sup>)

组别	剂量(g·kg <sup>-1</sup> )	只数	子宫指数	肾上腺指数	胸腺指数
假手术对照组	/	12	2.310 ± 0.521	0.041 ± 0.043	1.823 ± 0.367
去卵巢对照组	/	12	1.236 ± 0.423 <sup>a</sup>	0.282 ± 0.039 <sup>a</sup>	1.721 ± 0.299
尼尔雌醇组	1.00	12	2.463 ± 0.764 <sup>b</sup>	0.396 ± 0.056	1.456 ± 0.301
益妇散低剂量组	2.00	12	1.513 ± 0.267 <sup>b</sup>	0.368 ± 0.031	1.821 ± 0.417
益妇散高剂量组	4.00	12	1.572 ± 0.194 <sup>b</sup>	0.375 ± 0.039 <sup>b</sup>	1.806 ± 0.231

注:与假手术对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与去卵巢对照组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与尼尔雌醇组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

表3 各组大鼠下丘脑神经递质含量( $\text{ng} \cdot \text{mg}^{-1}$ )

组别	剂量( $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	只数	NE	DA	5-HT	5-HIAA
假手术对照组	/	12	1.212 ± 0.256	0.268 ± 0.132	0.627 ± 0.087	1.278 ± 0.301
去卵巢对照组	/	12	0.814 ± 0.265	0.189 ± 0.025 <sup>a</sup>	0.792 ± 0.123 <sup>a</sup>	1.763 ± 0.421 <sup>a</sup>
尼尔雌醇组	1.00	12	0.910 ± 0.176	0.212 ± 0.049	0.632 ± 0.071 <sup>b</sup>	1.094 ± 0.264 <sup>b</sup>
益妇散低剂量组	2.00	12	1.627 ± 0.298 <sup>bc</sup>	0.298 ± 0.076 <sup>bc</sup>	0.597 ± 0.125 <sup>b</sup>	1.213 ± 0.312 <sup>b</sup>
益妇散高剂量组	4.00	12	1.821 ± 0.396 <sup>bc</sup>	0.310 ± 0.093 <sup>bc</sup>	0.534 ± 0.102 <sup>b</sup>	1.121 ± 0.276 <sup>b</sup>

注:与假手术对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与去卵巢对照组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与尼尔雌醇组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ 。

### 3 讨论

现代医学认为,更年期综合征的发生是随着女性生殖年龄过渡到老年阶段而引起的,是由于卵巢功能逐渐的消退乃至消失,内分泌失调而导致的一系列植物神经功能紊乱的症状。其主要表现主要为卵巢功能减退、雌激素水平下降等生殖性内分泌紊乱。 $E_2$  主要是由卵巢、肾上腺皮质分泌,它可以促进卵泡发育成为成熟的卵子而排出<sup>[5]</sup>。现代医学已研究,雌激素具有反馈调节垂体促性腺激素的分泌和合成作用,由于绝经后雌激素水平的下降,从而诱导了下丘脑分泌促性腺激素释放激素至门脉循环,进一步刺激垂体释放FSH,使其增加,迫使正常的下丘脑-垂体-卵巢轴三者之间的平衡失调。更年期综合征的机制主要涉及下丘脑体温调节中枢的功能等,并且与FSH等分泌的增高有密切关系<sup>[6-9]</sup>。

本文对益妇散进行了缓解更年期综合征的研究,实验结果表明,益妇散高剂量组与低剂量组均能够提高更年期大鼠血清 $E_2$ 水平,降低FSH水平,还能提高去势大鼠子宫指数、肾上腺指数等,并且能够提高NE,DA的水平。由此可以推断,益妇散通过提高血清雌激素水平重新建立卵巢与垂体之间负反馈的关系,从而降低了血液中促性腺激素的水平。从研究结果可以看出,益妇散能使更年期生殖内分泌水平明显的改善,并且使更年期大鼠的性腺轴功能也得到改善,内环境逐渐趋于稳定,这有可能是益妇散治疗更年期综合征的作用机制之一。益妇散由酸枣仁、地黄、当归、藏红花等植物组方而成,植物中存在的“植物雌激素”,是一种与雌激素结构

相似的天然化合物,其功能与雌激素效能也类似,可以改善更年期妇女因内源性雌激素不足所引发的相关性疾病,具有潜在的预防保健功效<sup>[10]</sup>。由此推测,益妇散能够提高 $E_2$ 水平,其机制可能与其含有的“植物雌激素”成分相关。

### 参 考 文 献

- 1 魏育林,李培恒,王继峰,等.大豆提取物对去卵巢大鼠子宫和阴道作用的实验研究[J].中国医学研究与临床,2003,1(12):1-4
- 2 马墜,李连达.中医药治疗更年期综合征的实验研究[J].中国中西医结合杂志,2005,25(6):570-573
- 3 朱愉,多秀瀛.实验动物的疾病模型[M].天津:天津科技翻译出版公司,1997.514
- 4 徐淑云.药理试验方法学[M].北京:人民卫生出版社,1991.1296
- 5 肖炜,邓红珠,马云.益妇宁软胶囊治疗更年期综合征的实验研究[J].中国中药杂志,2003,28(3):253-257
- 6 Rosenberg J, Holst Larsen S. Pathogenesis of post menopausal hot flush[J]. *Med Hypothesis*, 1991, 35: 349-350
- 7 De Aloysic D, Altieri P, Bottiglionc F. Climacteric hot flushes[J]. *Intel J Gynaecol Obstet*, 1993, 4(5): 69-76
- 8 Kang HJ, Ansbacher R, Hammoud MM. Use of alternative and complementary medicine in menopause[J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2002, 79(3): 195-199
- 9 钟卫江.六味地黄丸治疗女性更年期综合征疗效观察[J].江西中医药,2005,36(2):52-54
- 10 祝红达,黄琳琳,汤春芳.更年期综合征药物的选择与评价[J].中国药师,2004,7(6):561-562

(2015-02-24 收稿 2015-05-28 修回)