

护卵颗粒对重复制动应激致卵巢功能减退模型大鼠的影响

黄雪君¹ 孙冬梅¹ 陈玉兴¹ 甘海宁¹ 黄琳² 赵静宇²

(1 广东省中医药工程技术研究院, 广东省中医药研究开发重点实验室, 广州, 510095; 2 广州中医药大学, 广州, 510006)

摘要 目的: 观察护卵颗粒对重复制动应激致大鼠卵巢功能减退的治疗作用。方法: 模型组采用性周期规律的雌性 SD 大鼠置于特制的束缚制动筒内, 固定身体使之不能随意活动, 制动应激 1 次/d, 连续 15 d 建立卵巢早衰大鼠模型, 每天阴道图片观察大鼠动情周期变化, 造模成功后分为 6 组: 模型对照组、补佳乐组、调经促孕丸组及护卵颗粒高、中、低剂量组, 另取 10 只作为空白对照组, 连续给药 4 周。给药结束后经开野行为测定后腹主动脉采血, 冰台上取大鼠下丘脑, 留取卵巢组织标本。测定血清雌二醇(Estradiol in serum, E_2)、促卵泡激素(Follicle-stimulating Hormone, FSH)、黄体生成素(Luteinizing Hormone LH)、孕酮(Progesterone, PROG)水平及检测下丘脑多巴胺(Dopamine, DA)、去甲肾上腺素(Noradrenaline, NA)、5-羟色胺(Hydroxytryptamine, 5-HT)含量, 观察卵巢湿重变化及组织学改变。结果: 护卵颗粒各剂量组能明显提高重复制动应激致卵巢早衰大鼠的水平和垂直活动得分, 能提高卵巢早衰大鼠血清 E_2 、PROG 水平和降低 FSH、LH 水平, 降低卵巢早衰大鼠下丘脑 DA、NA 及 5-HT 含量, 与模型组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较, 护卵颗粒高、中剂量组大鼠卵巢内各级卵泡数增多, 卵巢指数增加。结论: 护卵颗粒可以提高卵巢功能减退模型大鼠水平活动和垂直活动, 增加 E_2 、PROG 及 NA 的分泌, 增加卵巢指数, 促进卵巢功能减退大鼠的卵泡生长, 恢复受损卵巢的内分泌功能。

关键词 护卵颗粒; 卵巢功能减退; 重复制动应激; 开野行为

Effect of HuLuanKeLi on Diminished Ovarian Reserve Rats with Repeated Immobilization Stress

Huang Xuejun¹, Sun Dongmei¹, Chen Yuxing¹, Gan Haining¹, Huang Lin², Zhao Jingyu²

(1 Guangdong Research Institute of Traditional Chinese Medicine (TCM) Manufacturing Technology, Guangdong Province

Key Laboratory of TCM Research and Development, Guangzhou 510095, China; 2 Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510006, China)

Abstract **Objective:** To observe the effects of HuLuanKeLi on diminished ovarian reserve in rats of repeated immobilization. **Methods:** The adult female rats with regular cycle in model group were exposed to the scheduled daily repeated immobilization for 15 days, one time per day. The duration of immobilization was progressively increased with the subsequent episode. Daily vaginal smears were performed to follow the estrous cycle in rats. After molding, 60 rats were subdivided into 6 groups ($n = 10$): Model group, BuJiaLe group, TiaoJingCuYunWan group, high-dose, middle-dose and low-dose group, treated for 4 weeks respectively. After Openfield testing, blood samples were obtained from abdominal aorta, and samples of ovarian tissues were harvested. Serum levels of Estradiol (E_2), Follicle-stimulating hormone (FSH), Luteinizing hormone (LH), Progesterone (PROG) and hypothalamus content of Dopamine (DA), Norepinephrine (NA), Serotonin (5-HT) were measured by ELISA, and the changes of wet weight and histology of ovary were observed. **Results:** Compared with the model group, HuLuanKeLi increased serum level of E_2 , PROG and decreased FSH, LH; and decreased hypothalamus content of DA, NA, 5-HT ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); and the wet weight of ovary increased in each dose of HuLuanKeLi groups. **Conclusion:** HuLuanKeLi can promote follicle growth in rats with premature ovarian failure, increase secretion of ovarian E_2 , PROG, and improve endocrine function of damaged ovaries.

Key Words HuLuanKeLi; premature ovarian failure; repeated immobilization; openfield

中图分类号: R285.5 文献标识码: A doi: 10.3969/j.issn.1673-7202.2016.03.035

卵巢产生卵子能力减弱, 卵泡质量下降, 导致女性生育能力下降及性激素的缺乏, 称卵巢功能减退即卵巢储备功能下降 (Diminished Ovarian Reserve,

DOR)。DOR 临床表现可无症状, 或仅表现为生育力的下降, 或轻微的月经改变等, 若患者诊断不及时而延误治疗, 容易发展为卵巢早衰 (Premature Ovari-

基金项目: 广州市越秀区科技计划项目 (编号: 2013-CY-003)

作者简介: 黄雪君 (1981—), 女, 博士, 副主任中药师, 研究方向: 从事中药药理及毒理研究, Tel: (020) 83576735, E-mail: sharon510@126.com

通信作者: 孙冬梅 (1969—), 女, 硕士, 博士生导师, 主任中药师, 研究方向: 从事中药配方颗粒剂及中药新药研发, E-mail: tcmgdp@163.com

an Failure, POF), 而增加了治疗的难度。中医的“肝”是机体调节心理应激反应的核心, 在心理应激的状态下, 最先受到影响的是人体的气机, 中医肝主疏泄与心理应激状态下导致的神经内分泌紊乱、免疫功能异常等密切相关。肝气郁结证是主要中医证型之一, 中医药治疗已经取得较好的疗效, 而且副作用小^[1-3]。

护卵颗粒(加減益經顆粒)是由加減益經湯經現代工藝製成的中成藥製劑。護卵顆粒是根據《傳青主女科》的學術思想, 在益經湯的基礎上加減而成, 應用於 DOR 患者, 取得了較好的療效。它由熟地黃、菟絲子、當歸、丹參、黨參、柴胡、白芍等中藥組成, 方中以熟地黃、菟絲子、杜仲補腎之陰陽, 柴胡調達肝氣以實肝用, 當歸白芍補血養肝以養肝陰, 全方補腎疏肝兼以活血健脾。本實驗通過建立重複制動應激致肝鬱型卵巢功能減退大鼠模型, 觀察護卵顆粒對卵巢功能減退大鼠的治療作用, 為臨床治療提供實驗依據。

1 資料與方法

1.1 一般資料

1.1.1 藥物 護卵顆粒(加減益經顆粒), 由廣東省中醫研究所製劑實驗室提供, 批號為 131003。戊酸雌二醇片(補佳樂), 法國 DELPHARM Lille S. A. S 公司產品, 批號 251A2。調經促孕丸, 北京同仁堂股份有限公司同仁堂製藥廠, 批號 2035224。

1.1.2 動物 SPF 級雌性 SD 大鼠, 體重 180 ~ 220 g, 由廣東省醫學實驗動物中心提供, 實驗生產合格證號和動物合格證號分別為 SCXK(粵)2008-0002 和 NO 44007200010888。實驗設施使用許可證號: SYXK(粵)2010-0059。

1.1.3 試劑 ELISA Kit for Rat E_2 , Batch No. 1406251; ELISA Kit for Rat FSH, Batch No. 1406251; ELISA Kit for Rat LH, Batch No. 1407252; ELISA Kit for Rat PROG, Batch No. 1407261; ELISA Kit for Rat Dopamine, Batch No. 1407181; ELISA Kit for Rat NA, Batch No. 1407101; ELISA Kit for Rat Serotonin, Batch No. 1407271; 以上均為上海西唐生物科技有限公司產品。

1.1.4 儀器 JJ3000 動物電子秤, G&G 公司產品; BS224S 萬分之一電子天平, 德國 SARTORIUS 產品; Bio-RAD 680 酶標儀, 美國伯樂公司產品; YD-AB 型攤烘烤片機, YD62 型石蠟包埋機, YD-6L 型智能冰凍包埋機, 浙江金華益迪產品; Leica RM2235 輪式切

片機, Leica TP 1020 型全自動脫水機, 德國萊卡公司產品; Shandon Gemini 染色機, 德國 Thermo 公司產品; DHG-9203 型電熱恒溫干燥鼓風干燥箱, 上海精密實驗設備廠產品; Olympus DP2-BSW 型病理圖像采集系統, 日本奧林巴斯公司產品。

1.2 方法

1.2.1 劑量設置 劑量換算方法參考《中藥藥理研究方法學》“體表面積比”換算動物等效劑量^[4]。護卵顆粒: 臨床日用量 65.50 g 生藥, 大鼠等效劑量為 5.895 g 生藥/kg, 設為中劑量。高、中、低劑量組分別對應護卵顆粒 11.790 g 生藥/kg、5.895 g 生藥/kg、2.9475 g 生藥/kg。戊酸雌二醇片: 臨床日用量 1 mg, 大鼠等效劑量為 0.09 mg/kg。調經促孕丸: 臨床日用量 10 g, 大鼠等效劑量為 0.9 g/kg。

1.2.2 造模方法 SD 大鼠適應性餵養 1 周後, 行陰道脫落細胞塗片檢查, 1 次/d, 連續 10 d, 篩選出動情期為 4 ~ 5 d, 並連續出現 2 個動情周期的大鼠。將有規律性周期的雌性大鼠取 10 只作為空白組, 其餘大鼠為模型組, 按照文獻方法^[5-6], 應激時間安排在 9:00 AM ~ 5:00 PM 之間, 大鼠置於特制的束縛制動筒內, 固定身體與尾部, 使之不能隨意活動, 制動應激 1 次/d, 連續 15 d, 第 1 ~ 3 天每天制動應激 2 h, 以後每 3 d 延長應激時間 1 h。

1.2.3 分組及給藥 應激結束後大鼠取血測定血清 E_2 含量, 以低於 180 pg/mL 為造模成功, 除空白組 10 只大鼠外, 取造模成功大鼠 60 只隨機分為 6 組, 分別為模型組、補佳樂組、調經促孕丸組及護卵顆粒高、中、低劑量組, 每組 10 只。護卵顆粒各劑量組及補佳樂、調經促孕丸組大鼠按劑量灌胃給藥, 10 mL/kg, 1 次/d, 連續 4 周, 空白組、模型組大鼠給予等體積蒸餾水。

1.2.4 檢測指標 1) 陰道脫落細胞檢查^[7]: 開始造模後, 每天進行大鼠陰道細胞學塗片蘇木素伊紅染色後鏡檢觀察其動情周期變化。2) 開野行為測定 (Open-field)^[8]: 在方形木箱 (80 cm × 80 cm × 40 cm) 進行, 周壁為黑色, 底面分為均勻的方格。實驗時在安靜的房間將大鼠放在木箱正中, 以大鼠三爪以上跨入鄰格的次數為水平活動得分, 兩前肢離地或攀附牆壁 1 cm 以上的次數為垂直活動得分。每只大鼠每次測定時間為 5 min, 徹底清潔木箱後觀察下一大鼠。3) 血清指標檢測: 大鼠腹主動脈取血, 分離血清, 血清置於 -20 ℃ 保存待測。以酶聯免疫法測定大鼠血清中 E_2 、FSH、LH、PROG 水平的變化。4) 神經遞質的檢測: 斷頭處死大鼠, 冰台上打開顱

腔,取下丘脑,液氮速冻后入低温冰箱保存。生理盐水研磨 10% 匀浆,酶联免疫法检测下丘脑 DA、NA、5-HT 含量。5) 卵巢称重:完整取出大鼠卵巢及子宫,去掉筋膜及脂肪组织,电子天平称重,将称得的卵巢湿重、子宫湿重分别除以体重,按以下公式计算:卵巢指数 = 卵巢湿重(mg)/体重(g) × 100%, 子宫指数 = 子宫湿重(mg)/体重(g) × 100%。6) 卵巢组织形态学观察:称重后置福尔马林固定,梯度酒精脱水,石蜡包埋,切片,行组织形态学观察。

1.2.5 统计学方法 所有计量资料以均数加减标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间均数的比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),组间均数两两比较,方差齐时采用 SNK 法;方差不齐时采用 Dunnett's T3 法。由 SPSS 15.0 软件完成。

2 结果

2.1 对大鼠动情周期的影响 通过阴道涂片观察所得,各大鼠造模前动情周期变化规律,周期约 4 ~ 5 d。除空白对照组外其余各组大鼠自身免疫造模后大鼠出现动情周期改变,停止于动情间期;空白对照组仍有规律的动情周期。模型对照组造模后 4 周内动情周期紊乱;补佳乐组、护卵颗粒高、中剂量组给药后 14 ~ 15 d 出现完整的动情周期;低剂量组给药后 19 ~ 20 d 左右开始出现动情前期,持续 8 ~ 10 d,至给药 4 周结束前出现动情期;调经促孕丸组给药后 15 ~ 17 d 出现动情周期,周期时间延长。

2.2 对重复制动应激大鼠开野行为的影响 由表 1 可见,各组大鼠 Open-Field 法测定水平活动,与空白对照组相比,模型对照组的大鼠水平活动得分显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),护卵颗粒高、中、低剂量组与补佳乐组、调经促孕丸组大鼠水平活动得分明显高于模型对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

各组大鼠 Open-Field 法测定垂直活动,与空白

对照组相比,模型对照组的大鼠水平活动得分显著低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),护卵颗粒高剂量组与调经促孕丸组大鼠垂直活动得分明显高于模型对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。

2.3 对大鼠血清 E₂、FSH、LH、PROG 的影响 由表 2 可知,给药 4 周后,模型对照组大鼠 E₂ 及 PROG 与空白对照组比较明显降低,护卵颗粒各剂量组与补佳乐组、调经促孕丸组大鼠 E₂ 及 PROG 与模型对照组比较显著增加,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。模型对照组大鼠 FSH、LH 与空白对照组比较明显增高,护卵颗粒各剂量组与补佳乐组、调经促孕丸组大鼠 FSH 与模型对照组比较显著降低,差异有统计学意义($P < 0.01$),护卵颗粒各剂量组大鼠 LH 与模型对照组比较显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.4 对大鼠垂体 DA、NA、5-HT 的影响 由表 3 可知,给药 4 周后,模型对照组大鼠 DA、NA、5-HT 与空白对照组比较明显增高,护卵颗粒高剂量组与补佳乐组大鼠 DA 与模型对照组比较显著降低,差异有统计学意义($P < 0.01$),护卵颗粒高、中剂量组与补佳乐组、调经促孕丸组大鼠 NA 与模型对照组比较显著降低,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),护卵颗粒各剂量组与补佳乐组、调经促孕丸组大鼠 5-HT 与模型对照组比较显著降低,差异有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。

2.5 对大鼠卵巢指数、子宫指数的影响 由表 4 可知,大鼠给药 4 周后,模型对照组大鼠卵巢指数与空白对照组比较明显下降,差异有统计学意义($P < 0.01$)。护卵颗粒各剂量组与补佳乐组、调经促孕丸组大鼠卵巢指数与模型组比较显著增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。各给药组与空白对照组及模型对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 护卵颗粒对重复制动应激大鼠水平活动、垂直活动的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	水平活动得分	垂直活动得分
空白对照组	-	69.60 ± 6.69	32.20 ± 10.23
模型对照组	-	32.00 ± 7.60 **	13.40 ± 5.50 **
补佳乐组	0.09 mg/kg	41.00 ± 8.41 * * #	17.60 ± 4.72 * *
调经促孕丸组	0.9 g/kg	53.40 ± 10.97 * * # #	22.60 ± 8.17 * #
护卵颗粒高剂量组	11.79 g/kg 生药	63.70 ± 11.03 # #	29.60 ± 5.10 # #
护卵颗粒中剂量组	5.895 g/kg 生药	60.30 ± 13.38 # #	25.10 ± 9.31 # #
护卵颗粒低剂量组	2.9475 g/kg 生药	47.80 ± 10.70 * * # #	21.80 ± 6.48 * #

注:与空白对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型对照组比较,# $P < 0.05$,# # $P < 0.01$ 。

表 2 护卵颗粒对卵巢功能减退模型大鼠 E₂、FSH、LH、PROG 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	E ₂ (pg/mL)	FSH (ng/mL)	LH (ng/mL)	PROG (ng/mL)
空白对照组	-	273.01 ± 60.72	1.06 ± 0.52	1.45 ± 0.60	424.71 ± 47.85
模型对照组	-	116.27 ± 58.82 ^{* *}	3.76 ± 0.75 ^{* *}	4.38 ± 1.92 [*]	286.19 ± 79.72 ^{* *}
补佳乐组	0.09 mg/kg	210.24 ± 49.68 [#]	2.26 ± 0.58 ^{* * #}	2.46 ± 0.99	363.76 ± 69.72 [#]
调经促孕丸组	0.9 g/kg	181.68 ± 53.30 ^{* #}	2.82 ± 0.58 ^{* * #}	2.04 ± 1.06	377.85 ± 63.50 [#]
护卵颗粒高剂量组	11.79 g 生药/kg	239.25 ± 91.27 ^{##}	2.35 ± 0.55 ^{* * #}	1.66 ± 1.04 [#]	384.69 ± 75.66 [#]
护卵颗粒中剂量组	5.895 g 生药/kg	211.68 ± 73.47 [#]	2.39 ± 0.33 ^{* * #}	1.44 ± 0.53 [#]	367.84 ± 48.56 [#]
护卵颗粒低剂量组	2.9475 g 生药/kg	198.12 ± 52.64 [#]	2.77 ± 0.41 ^{* * #}	1.60 ± 0.76 [#]	356.80 ± 83.75 [#]

注:与空白对照组比较,^{*}*P* < 0.05,^{**}*P* < 0.01;与模型对照组比较,[#]*P* < 0.05,^{##}*P* < 0.01。

表 3 护卵颗粒对卵巢功能减退模型大鼠 DA、NA、5-HT 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	DA (pg/mL)	NA (ng/mL)	5-HT (ng/mL)
空白对照组	-	42.42 ± 10.93	4.88 ± 1.35	25.94 ± 3.55
模型对照组	-	87.47 ± 19.69 ^{* *}	13.66 ± 3.43 ^{* *}	50.77 ± 7.69 ^{* *}
补佳乐组	0.09 mg/kg	45.21 ± 6.88 ^{##}	5.46 ± 1.64 ^{##}	34.48 ± 2.34 ^{* * #}
调经促孕丸组	0.9 g/kg	73.97 ± 17.73 ^{* *}	8.57 ± 2.47 ^{* #}	39.88 ± 6.00 ^{* * #}
护卵颗粒高剂量组	11.79 g 生药/kg	52.32 ± 11.82 ^{##}	7.66 ± 1.88 ^{* ##}	34.56 ± 5.54 ^{* ##}
护卵颗粒中剂量组	5.895 g 生药/kg	64.54 ± 20.08	7.73 ± 2.72 ^{##}	37.27 ± 7.00 ^{* * #}
护卵颗粒低剂量组	2.9475 g 生药/kg	80.90 ± 22.84 ^{* *}	10.64 ± 3.61 [*]	39.64 ± 5.78 ^{* * #}

注:与空白对照组比较,^{*}*P* < 0.05,^{**}*P* < 0.01;与模型对照组比较,[#]*P* < 0.05,^{##}*P* < 0.01。

表 4 护卵颗粒对卵巢功能减退模型大鼠卵巢指数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	卵巢指数 mg/g%	子宫指数 mg/g%
空白对照组	-	50.70 ± 3.43	211.84 ± 64.40
模型对照组	-	39.32 ± 3.63 ^{* *}	165.59 ± 38.78
补佳乐组	0.09mg/kg	46.96 ± 6.40 [#]	207.08 ± 60.78
调经促孕丸组	0.9g/kg	45.15 ± 4.67 [#]	196.69 ± 67.04
护卵颗粒高剂量组	11.79g 生药/kg	47.09 ± 5.13 [#]	202.16 ± 32.55
护卵颗粒中剂量组	5.895g 生药/kg	46.87 ± 6.51 [#]	195.61 ± 52.41
护卵颗粒低剂量组	2.9475g 生药/kg	45.24 ± 5.92 [#]	175.65 ± 25.15

注:与空白对照组比较,^{*}*P* < 0.05,^{**}*P* < 0.01;与模型对照组比较,[#]*P* < 0.05,^{##}*P* < 0.01。

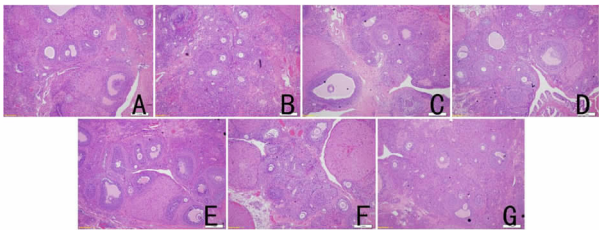


图 1 护卵颗粒卵巢功能减退模型大鼠卵巢结构形态学影响(HE, ×100)

注:注:A 空白对照组;B 模型对照组;C 补佳乐组;D 调经促孕丸组;E 护卵颗粒高剂量组;F 护卵颗粒中剂量组;G 护卵颗粒低剂量组

2.6 对大鼠卵巢结构形态学变化 空白对照组卵巢可见各级卵泡及黄体分布,形态正常,成熟卵泡体积较大,卵泡液较多。模型对照组卵巢生长卵泡减少,原始卵泡较多,黄体数量少,闭锁卵泡多。补佳乐组与调经促孕丸组初级卵泡、生长卵泡增多,成熟

卵泡可见。护卵颗粒高、中剂量组生长卵泡较模型对照组增多,出现较大直径的卵泡,闭锁卵泡减少。护卵颗粒低剂量组生长卵泡、成熟卵泡可见。结果见图 1。

3 讨论

社会、心理因素对女性生殖健康的影响越来越受到关注,妇女易受身心应激的影响而导致月经失调闭经等妇科疾病发生。有调查研究心理因素是导致 DOR 及 POF 的中药原因之一,且长期的社会心理压力可能比短期的压力更能影响卵巢的功能^[9-10]。肝主谋虑,性喜条达而恶抑郁,肝健则情志调畅,肝与情志密切相关。陈修园在《妇科要旨·种子篇》中云:妇人无子,皆由经水不调,经水所以不调者,皆由内有七情之伤,外有六淫之感,或气血偏盛,阴阳相乖所致。有学者提出心理应激从中医脏象理论分析当主要责之于肝^[11],肝气郁结证的客

观化研究也提示^[12],肝气郁结证存在心理应激的障碍病理机制,涉及神经内分泌等调节网络。躯体和心理应激均能在下丘脑-垂体-卵巢轴(Hypothalamic-pituitary-ovarianaxis, HPO)水平抑制或损害女性卵巢功能,导致女性生殖内分泌功能紊乱或下降,甚至卵巢早衰。肝郁主要由应激产生的一系列神经内分泌的变化来体现的,尤其是HPO在卵巢内分泌活动的周期性变化调控中居关键地位,并可能以单胺类递质的调节来实现在情志与生殖内分泌之间呈双向调节作用。

本实验采用重复制动应激建立肝郁型卵巢功能减退大鼠模型,慢性制动应激使动物自由行动受限,情绪受抑,比较接近中医“情志不遂”的病因。模型组大鼠水平活动及垂直活动减少,动情周期紊乱,血清中E₂、PROG的含量显著降低,FSH、LH水平明显升高,下丘脑DA、NA、5-HT含量升高,提示应激状态下升高DA、NA、5-HT影响了中枢性腺对激素的分泌,引起了大鼠内分泌功能受损,说明造模成功。慢性应激能使大鼠活动减少,血清E₂水平降低及FSH水平升高,能使大鼠卵巢各级卵泡数及黄体数减少^[5,13-14]。在行为学研究中,旷场实验常用来考察动物在新奇环境中的活动度、探究行为、恐惧紧张状态及警觉性,肝郁证动物活动度明显减少^[15]。HPO轴应激性紊乱与下丘脑-垂体-肾上腺轴(Hypothalamic - pituitary - adrenal Axis, HPA)轴应激性亢进密切相关,心理应激能激活HPA轴,并在下丘脑、垂体、卵巢3个水平影响女性生殖内分泌功能^[16],而儿茶酚胺类和5-HT被认为是应激最重要的神经递质^[17-18]。FSH水平升高在卵巢功能下降时出现,它随卵巢功能及受孕能力的降低而升高^[19]。E₂可能是比FSH更早反应卵巢功能下降的指标^[20]。实验结果表明,护卵颗粒各剂量组均能增加大鼠水平活动和垂直活动得分,明显降低下丘脑DA、NA、5-HT含量,并明显地升高DOR大鼠血清中E₂、PROG的含量,降低FSH、LH水平,提示护卵颗粒可能通过参与调节HPO的内分泌功能,调节紊乱的单胺类递质水平,促进卵巢分泌E₂,抑制下丘脑和垂体FSH和LH的分泌。病理结果亦表明,护卵颗粒各剂量组生长卵泡数和成熟卵泡数增多,闭锁卵泡明显减少。

参考文献

[1] 张媛媛,康洁,丁珊珊,等. 围绝经期综合征患者舌苔脱落细胞

EGFR表达与中医肝郁分级相关性的研究[J]. 中国医学创新, 2014,11(6):14-16.

[2] 王方圆,王楠,何赛萍. Engel模式疏肝方法对肝郁型卵巢早衰干预的临床研究[J]. 浙江中医药大学学报,2014,38(3):274-276,282.

[3] 王方圆,王楠,何赛萍. 疏肝通络方抗大鼠卵巢早衰作用的研究[J]. 浙江中医杂志,2013,48(10):711-712.

[4] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2000:1103.

[5] 连晓媛,丁岩,陈奇,等. 重复制动应激对雌性大鼠卵巢功能的影响[J]. 中药新药与临床药理,2004,15(6):373-376.

[6] 姚懿,姚琴琴,潘小玲,等. 心理应激与卵巢储备功能下降的相关性研究[J]. 南昌大学学报:医学版,2012,52(3):11-13,16.

[7] 邹移海,徐志伟,苏钢强. 实验动物学[M]. 北京:科学出版社,2004:84.

[8] Biesalski HK. Free radical theory of aging[J]. Curr Opin Clin Nutr Metab Care,2002,5(1):5.

[9] 许小凤,范春. 卵巢早衰与卵巢储备功能下降的相关发病因素探讨[J]. 中国循证医学杂志,2011,11(4):400-403.

[10] Pal L,Bevilacqua K,Santoro NF. Chronic psychosocial stressors are detrimental to ovarian reserve;a study of infertile women[J]. J Psychosom Obstet Gynaecol,2010,31(3):130-139.

[11] 罗来成,王建红,马娜,等. 心理应激对生殖轴内分泌网络影响的因子分析模型[J]. 生物医学工程学杂志,2006,25(6):1368-1371.

[12] 黎萍,郭锡永. 应激影响女性生殖内分泌功能机制的研究进展[J]. 中国妇幼保健研究,2006,17(3):215-217.

[13] 郑源,张澈,张良圣,等. 慢性焦虑刺激对成年雌性大鼠性激素水平的影响[J]. 湖南中医药大学学报,2015,35(1):26-27,31.

[14] 徐彩,金哲,林晓华,等. 慢性精神应激对雌性大鼠卵巢储备功能的影响研究[J]. 疑难病杂志,2013,12(2):124-126.

[15] 沈建英,丁珊珊,赖新梅,等. 围绝经期综合征肝郁大鼠模型的建立及评价[J]. 中国医学创新,2015,12(22):5-8.

[16] 毕天成,胡文晓,俞超芹. 应激对下丘脑-垂体-卵巢轴的影响机制及中药对应激动物模型作用的研究进展[J]. 泰山医学院学报,2014,35(7):708-710.

[17] 黄庆军,赵魏峰,刘少文,等. 脑室注射白介素-1 β 对大鼠行为及脑内单胺氧化酶和单胺类神经递质的影响[J]. 中国行为医学科学,2006,15(11):973-975.

[18] Southwick SM,Vythilingam M,Ehamey DS. The psychobiology of depression and resilience to stress: implications for prevention and treatment[J]. Annu Rev Clin Psychol,2005(1):255-291.

[19] Sherman B M,West J H,Korenman S G,et al. The menopausal transition: analysis of LH, FSH, estradiol, and progesterone concentrations during menstrual cycles of older women[J]. J Clin Endocrinol, 1976,42(4):629-636.

[20] 梁琳琳. 卵巢功能评估研究现状[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2012,26(3):213-215.

(2015-05-13 收稿 责任编辑:张文婷)