

证的研究

经前期综合征(肝气逆证)猕猴模型月经
周期相关指标观察

乔明琦* 张惠云* 石忠峰* 指导:张珍玉*

摘要 目的:了解造模猕猴月经周期血清与尿中性激素及其调节激素与神经递质水平变化规律,为模型评价提供客观依据。方法:造模选择排卵期猕猴,运用挤压笼每天7小时,连续挤压7天;指标检测用毛细管电泳法测定造模猕猴血清及尿中单胺类神经递质水平,放射免疫法测定其性激素及其调节激素水平。结果:造模猕猴血清催乳素(PRL)较正常猕猴各期均升高,统计学处理均达到显著性水平;雌二醇(E_2)及孕酮(P)经前期有降低的趋势; β -内啡肽(β -EP)有升高的趋势;尿中亦有类似变化。造模后猕猴各期血清神经递质均有升高的趋势,尿中亦具有类似变化。结论:造模猕猴月经周期血清、尿中性激素和神经递质水平呈现与该病证近似一致的病理变化,为造模猕猴病证定性提供客观依据。

主题词 经前期综合征/代谢 月经周期/代谢 @ 肝气逆证

肝气逆证是由我们从“肝郁证”中分化出的因肝气偏盛疏泄太过所致的单一证候^[1]。我们的前期研究表明,该证为经前期综合征(PMS)主证^[2],其后得到现代医学有关PMS临床分型的支持^[3]。临床以经前急躁易怒、头痛、乳房、小腹胀痛为主要表现,其发病机制与患者体内性激素及其调节激素水平失调、单胺类神经递质含量异常有关。深入研究该病证需要非人灵长类动物模型,经反复摸索,我们创造择时挤压造模方法,复制经前期综合征肝气逆证猕猴模型。对造模猕猴月经周期不同时期性激素及其调节激素、神经多肽和单胺类神经递质含量变化进行检测,并与所建立的正常标准进行对照,以探讨猕猴模型“病证表现”的微观发病机制,为猕猴模型评价提供客观证据,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料:雌性青年猕猴13只,恒河猴种,体重4~5kg,年龄3~5岁,中国科学院苏州西山实验动物中心提供。每只猕猴均有遗传背景资料和健康检查证明。置于山东实验猕猴研究中心正常饲养、观察1年。该中心符合国家科技部关于非人灵长类实验动物一级

开放实验环境技术标准。

1.2 方法

1.2.1 造模:取排卵期(性皮肿最明显)的雌猴赶入压缩笼,挤压,以猕猴稍能活动为限,每天挤压7h,挤压造模7天;同时以远红外监视仪监视录像造模前后表情行为变化,并拍摄典型表现照片。

1.2.2 标本采集与检测:参照实验猕猴月经周期资料,结合猕猴阴道图片细胞观察确定月经周期分期,分别采取造模猕猴血、尿标本(同正常猕猴)。取血4ml,3000r/min离心20min,取血清。以放射免疫法测定血清和尿中催乳素(PRL)、雌二醇(E_2)、孕酮(P)、 β -内啡肽(β -EP)含量;以毛细管电泳法测血清及尿样中5-羟色胺(5-HT)、多巴胺(DA)、肾上腺素(E)、去甲肾上腺素(NE)的含量。

1.2.3 药品:放射免疫药盒由天津九鼎试剂公司产,批号981201。仪器:毛细管电泳仪(HP3D,美国惠普)、LB4-自动平衡微量离心机(北京医用离心机厂)。

2 结果

2.1 正常猕猴与造模猕猴血清、尿中性激素及其调节激素和多肽水平的比较:表1示,造模猕猴的血清中PRL各期水平均高于造模前,其差异均具有显著性意义,且以黄体期和月经期升高最明显($P<0.05$ 或 $P<0.01$); E_2 和P水平均具有下降趋势,可能由于样本较少致使差异未达到显著水平($P>0.05$);造模后除月经期血清中 β -EP水平有降低趋势外,其余各期均有升高趋势。造模猕猴与正常猕猴相比,尿中PRL水平经前期有升高趋势, E_2 水平有降低趋势,黄体期、经前期P的水平有降低趋势,经前期、月经期的 β -EP水平有升高趋势。由于尿样较少,且受外界因素影响较大,故统计学处理差异均无显著性($P>0.05$)。

2.2 正常猕猴与造模猕猴血清及尿中单胺类神经递质水平比较:表2示,造模后猕猴各期血清神经递质均有升高趋势,其中以黄体期肾上腺素和去甲肾上腺素升高具有显著性意义($P<0.05$),唯独卵泡期去甲肾上腺素造模组较正常组有降低趋势,但统计学处理无显著性意义。造模后猕猴各期尿中神经递质亦均有升

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39870904)

* 山东中医药大学中医基础理论学科、天然药物实验室,济南市经十路53号(250014)

收稿日期:2001-12-17;修回日期:2002-01-30

表 1 正常猕猴与造模猕猴血清及尿中性激素及调节激素和多肽水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	期属	PRL(ng/ml)		E ₂ (pg/ml)		P(ng/ml)		β -EP(pg/ml)	
		血清	尿	血清	尿	血清	尿	血清	尿
正常组	卵泡期	17.2 $\pm$ 15.4(17)	3.7 $\pm$ 1.2(12)	65.4 $\pm$ 35.3(16)	2776.8 $\pm$ 1447.5(12)	0.5 $\pm$ 0.3(22)	2.2 $\pm$ 1.2(12)	64.1 $\pm$ 23.6(18)	817.8 $\pm$ 813.0(12)
	黄体期	12.0 $\pm$ 8.0(12)	8.8 $\pm$ 3.8(11)	47.2 $\pm$ 19.7(14)	4215.3 $\pm$ 819.7(11)	0.6 $\pm$ 0.5(15)	28.7 $\pm$ 6.1(11)	63.2 $\pm$ 18.1(10)	853.0 $\pm$ 733.6(11)
	经前期	19.2 $\pm$ 14.7(9)	5.0 $\pm$ 1.9(7)	75.8 $\pm$ 30.2(13)	3579.0 $\pm$ 119.4(7)	0.7 $\pm$ 0.5(11)	14.5 $\pm$ 5.1(7)	64.8 $\pm$ 14.1(9)	715.3 $\pm$ 533.4(7)
	月经期	7.7 $\pm$ 4.4(18)	9.0 $\pm$ 5.8(6)	63.6 $\pm$ 39.5(27)	3476.8 $\pm$ 721.8(6)	0.5 $\pm$ 0.4(29)	8.3 $\pm$ 4.8(6)	62.1 $\pm$ 37.3(24)	1184.3 $\pm$ 885.9(6)
造模组	卵泡期	32.5 $\pm$ 23.6(22)*	3.7 $\pm$ 0.1(16)	63.8 $\pm$ 21.6(21)	2750.7 $\pm$ 1421.0(16)	0.5 $\pm$ 0.3(22)	5.0 $\pm$ 3.2(16)	74.6 $\pm$ 21.5(21)	297.0 $\pm$ 244.7(16)
	黄体期	36.1 $\pm$ 20.3(10)**	8.1 $\pm$ 5.6(15)	41.0 $\pm$ 8.2(15)	3673.0 $\pm$ 1436.0(15)	0.5 $\pm$ 0.4(16)	17.1 $\pm$ 8.7(15)	72.6 $\pm$ 15.0(15)	603.0 $\pm$ 488.3(15)
	经前期	38.7 $\pm$ 24.7(15)*	11.0 $\pm$ 9.2(12)	63.8 $\pm$ 31.3(22)	3537.4 $\pm$ 1635.1(12)	0.7 $\pm$ 0.5(21)	10.4 $\pm$ 6.7(12)	72.9 $\pm$ 15.86(17)	1069.3 $\pm$ 859.6(12)
	月经期	26.1 $\pm$ 15.9(12)**	3.4 $\pm$ 3.4(10)	58.7 $\pm$ 31.3(12)	3141.5 $\pm$ 582.0(10)	0.4 $\pm$ 0.3(14)	13.4 $\pm$ 3.3(10)	52.8 $\pm$ 14.7(7)	1295.2 $\pm$ 1041.5(10)

与正常组同时期比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。括号内为样本数。下表同。

表 2 正常猕猴与造模猕猴血清及尿中单胺类神经递质水平比较($\mu\text{g/ml}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	期属	5-HT		DA		E		NE	
		血清	尿	血清	尿	血清	尿	血清	尿
正常组	卵泡期	3.1 $\pm$ 1.4(16)	5.5 $\pm$ 2.9(11)	0.9 $\pm$ 0.4(14)	2.1 $\pm$ 0.7(8)	7.2 $\pm$ 0.4(17)	4.8 $\pm$ 2.1(10)	1.4 $\pm$ 0.7(12)	1.5 $\pm$ 1.2(11)
	黄体期	3.7 $\pm$ 1.7(17)	7.0 $\pm$ 4.5(8)	0.6 $\pm$ 0.3(5)	1.8 $\pm$ 0.7(7)	3.4 $\pm$ 1.0(5)	2.6 $\pm$ 0.6(5)	0.4 $\pm$ 0.2(5)	1.7 $\pm$ 0.9(9)
	经前期	3.2 $\pm$ 1.5(12)	7.3 $\pm$ 3.9(9)	0.6 $\pm$ 0.3(8)	1.8 $\pm$ 0.8(7)	4.1 $\pm$ 2.1(7)	3.0 $\pm$ 1.8(7)	0.9 $\pm$ 0.6(10)	1.9 $\pm$ 1.2(10)
	月经期	5.4 $\pm$ 3.1(18)	7.3 $\pm$ 1.6(6)	0.7 $\pm$ 0.3(14)	4.5 $\pm$ 3.2(5)	4.8 $\pm$ 2.5(15)	6.0 $\pm$ 2.2(8)	0.8 $\pm$ 0.3(10)	2.1 $\pm$ 0.8(5)
造模组	卵泡期	3.9 $\pm$ 1.8(15)	7.2 $\pm$ 2.5(8)	1.3 $\pm$ 0.6(15)	2.6 $\pm$ 1.1(8)	8.5 $\pm$ 3.4(19)	3.5 $\pm$ 0.5(7)	1.3 $\pm$ 0.6(19)	2.1 $\pm$ 1.2(8)
	黄体期	5.1 $\pm$ 2.8(10)	10.3 $\pm$ 6.6(11)	0.8 $\pm$ 0.5(11)	3.3 $\pm$ 1.1(9)**	5.3 $\pm$ 0.3(13)*	4.8 $\pm$ 2.4(11)	1.4 $\pm$ 0.7(12)*	1.9 $\pm$ 0.8(8)
	经前期	4.4 $\pm$ 2.0(10)	9.6 $\pm$ 4.9(14)	0.7 $\pm$ 0.3(11)	2.6 $\pm$ 1.3(11)	5.6 $\pm$ 2.8(11)	3.3 $\pm$ 1.1(10)	1.4 $\pm$ 0.8(10)	2.0 $\pm$ 1.0(11)
	月经期	3.8 $\pm$ 2.6(9)	8.5 $\pm$ 4.7(5)	0.9 $\pm$ 0.3(9)	3.1 $\pm$ 1.9(5)	6.9 $\pm$ 2.8(10)	6.5 $\pm$ 2.8(5)	1.3 $\pm$ 0.9(10)	2.5 $\pm$ 0.7(1)

高的趋势,其中以黄体期多巴胺升高具有非常显著性意义($P<0.01$),唯独月经期多巴胺和卵泡期肾上腺素造模组较正常组有降低趋势,但统计学处理无显著性意义($P>0.05$)。

3 讨论

我们前期研究发现肝疏泄失常具有太过与不及两种病机变化,产生肝气逆、肝气郁两种证候,两证为肝疏泄失常始发证,由此提出两证新概念^[1]。随后进行病证结合研究发现,两证主要病种为经前期综合征,肝气逆证为该综合征主证^[2]。妇科学研究证实,经前期综合征“具有两种截然不同类型:一种是烦躁、易怒、争吵、哭闹,不能自制;另一种则没精打采、抑郁不乐,或情绪淡漠”^[3],两者病理生理改变尚不甚了解。显然,研制 PMS 肝气逆证猕猴模型,探索其月经周期不同时期具体病理变化,无论对于揭示中医学肝疏泄太过微观机制,深化现代医学有关认识,还是促进中西医结合在该病证认识上的交叉融汇,均具有重要理论价值。猕猴病证结合造模是一新课题,造模方法难度大。经不同药物注射,人为激惹刺激均告失败后,受大鼠造模启发,尝试

不同时期挤压造模,终于寻找到排卵期挤压适宜造模方法。而这一方法仅适用于猕猴群中高地位猕猴,低地位猕猴则呈现另一证候即肝气郁证表现(详见另文)表明本造模方法有明确的适用范围。

现代医学认为,PMS 的发病机制可能是由于孕激素水平不足,雌激素水平相对过高引起,也可能由于组织对孕激素敏感性失常所致^[4]。我们前期研究发现,PMS 肝气逆证患者不是雌激素水平过高,孕激素水平相对不足,而是 E₂/P 水平持续性低下,即 E₂ 增殖期分泌峰缺失,月经前期分泌高峰低平;P 分泌期释放高峰缺如;雌、孕激素比值可能升高。随后这一发现在大鼠模拟 PMS 肝气逆证的研究中得到证实。在以猕猴模拟 PMS 肝气逆证的研究中发现,造模后正常 E₂ 分泌高峰消失,整体水平有下降趋势;造模后血清中 P 的水平比正常有降低趋势;造模前后雌孕激素比值差异不具有显著性。造模猕猴的血清中 PRL 平均水平高于造模前,且经前期、卵泡期升高较明显,以经前期最高($P<0.01$);造模后 β -EP 水平有升高趋势,且以经前期最高。造模猕猴的尿中,造模后尿中 PRL 水平经前

期有升高趋势。造模后尿中 PRL 水平经前期升高; E_2 水平降低; P 黄体期、经前期降低; β -EP 经前期、月经期升高。这基本符合 PMS 肝气逆证相应的临床病理变化。

内啡肽是一类具有吗啡样活性的神经多肽。它们可能是一类新的神经递质或神经调节物质,在体内具有广泛的生理作用。在生殖系统内啡肽参与生殖内分泌的调节,在调控下丘脑-垂体的功能方面起重要作用,月经中期 LH 峰的产生与 β -EP 浓度的变化相关。现代医学研究证明,神经类阿片肽随月经周期而变化, PMS 妇女在黄体后期循环中类阿片肽浓度异常下降,表现内源性类阿片肽撤退症状,影响精神、神经及行为方面的变化,从而引起 PMS。熊光峰等^[5]通过研究发现,53 例 PMS 患者经前期 β -EP 浓度较 31 例无症状对照者明显降低($P<0.01$)。我们通过研究发现,造模后猕猴较未造模前血清 β -EP 卵泡期和黄体期有降低趋势,经前期和月经期有升高趋势,但统计学处理无意义,这与现代医学及熊光峰等结论不尽一致,其原因可能有两点。一是挤压刺激对猕猴造成的应激反应所致,因应激时血浆 β -EP 浓度增加;二是可能由于采取的样本数较少,值得进一步深入探讨。

催乳素的作用极为广泛,它可能是应激反应中腺垂体分泌的三大激素之一。20 世纪 70 年代 Halbreich 提出催乳素在经前期综合征的发病机制中起重要作用。但关于 PMS 患者血中 PRL 浓度的变化结论不一。熊光峰等^[5]研究表明,53 例 PMS 患者经前期 PRL 浓度较 31 例无症状对照者明显升高,统计学处理有极显著性意义。我们前期对大鼠经前期综合征肝气逆证造模表明,正常未孕大鼠前期造模后 PRL 明显高于正常,中期造模后 PRL 明显低于正常,后期造模后 PRL 明显高于正常,孕后造模大鼠 PRL 明显高于正常孕后大鼠各期($P<0.01$)。通过对猕猴造模显示,造模后猕猴卵泡期、经前期和月经期 PRL 比造模前有明显升高,差异具有显著性意义,与熊光峰等及我们前期研究结果基本一致。

情绪的生理机制和单胺类神经递质含量变化关系密切。单胺类神经递质是指多巴胺、去甲肾上腺素和 5-羟色胺。多巴胺既是去甲肾上腺素的前体,又是一种独立的神经递质。脑内 DA 在影响机体的一般行为和精神情绪活动方面起着重要作用。用电生理微电泳法将多巴胺作用于纹状体神经元,主要起抑制作用^[6]。我们前期通过肝气逆、肝气郁大鼠模型研究显示,两证大鼠下丘脑内 DA 含量比正常对照组大鼠均明显升高,两证组大鼠相比,肝气郁证组明显高于肝气逆证组。我

们在模拟 PMS 肝气逆证猕猴造模中检测发现,造模猕猴经前 DA 有升高的趋势。但统计学处理无显著性意义,这与我们前期大鼠肝气逆证模型结果基本一致。NE 肝气逆证盐水组显著高于肝气郁证盐水组($P<0.01$),高于正常对照组($P<0.05$);而 5-HT 含量肝气郁证盐水组显著高于肝气逆证盐水组和正常对照组($P<0.01$),后两组相比差异不具显著性,表明脑内 NE 水平升高是大鼠受刺激发怒的重要生化因素,是肝气逆证急躁易怒的生理机制之一,与临床肝气逆证患者尿内 NE 含量升高一致,证明造模证与临床证是一致的,为大鼠肝气逆证模型的认可提供了客观依据。我们在模拟 PMS 肝气逆证猕猴造模中检测发现,造模猕猴经前 NE 升高较明显,5-HT、DA 有升高趋势,这基本符合 PMS 肝气逆证相应的微观改变。

参考文献

- 1 乔明琦,张珍玉.肝气逆、肝气郁两证客观指标实验研究,山东中医学院学报,1992,16(3):23-26.
- 2 乔明琦,张珍玉,韩秀琴,等.经前期综合征候分布规律流行病学调查研究,中国中医基础医学杂志,1997,3(3):31-33.
- 3 苏应宽,徐增祥,江森主编.实用妇科学.济南:山东科学技术出版社,1999:579.
- 4 乐杰主编.妇产科学.第5版.北京:人民卫生出版社,2000:381-382.
- 5 熊光峰,廖玲.经前期综合征患者 β -EP 和催乳素与经前症状的关系研究.江西医药,1998,33(3):136-138.
- 6 张镜如主编.生理学.北京:人民卫生出版社,1995:309.

• 书 讯 •

●《中国现代名中医医案精华》(1~3册,124.00元)本书共收录全国146位名中医精选的医案1850多例,以及大量的按语、评注。这些医案涉及到内、外、妇、儿、五官、骨伤、针灸等各科的众多疑难重症、罕见奇病和常见多发顽症的治疗经验,是现代名中医医案精华之总汇。这些医案、按语和评注,充分反映出各家名医灵活运用中医理、法、方、药的独特风格和高深造诣。本书网罗名家之广、选材按注之精和资料之多,为目前国内所少见,是医务人员的重要参考书。

●《中国现代名中医医案精华》(4~6册,2002年2月出版,每套170.00元)本书共收录了王季儒、柴彭年、赵恩临、胡翊武、张泽生、曹鸣高、夏实钧、由昆、朱良春、任达然、徐景藩、周仲瑛、陈尔人、陆芷青、张沛虹、黄丽娟等112位现代名中医的医案1884例。

●《临床中医内科学》由中华中医药学会内科分会组织编写,荣获“第二届国家图书奖提名奖”。参加本书编写工作的有全国各地的专家、学者近300名。本书从酝酿筹备至专家组审定稿件,历时5个春秋,全书分为总论、各论和附篇三大部分。各论又分为上篇(中医病证)、中篇(西医疾病辨证论治)、下篇(现代研究进展)三篇,共收载中医病证156种,西医疾病163种,是现今收载病种最多的中医内科专著。本书对各种疾病的编写体例分为病名(或证名)、定义、范围、历史沿革、证候学特征、病因病机、临证思路、诊断与鉴别、辨证与治疗、转归与预后、护理与调摄、康复、预防、古今医论选粹等14项,内容既各自独立,又相互联系,蔚成一体。全书计2587页,100余万字,16开,精装,每套230.00元(免收邮资)。

●《临床中药学研究进展》每册96.00元。该书是由中医药学专家编写,对各类中药的性能、作用、临床疗效、临床应用、中药药理药化等方面进行全面系统的整理、总结和研究,旨在充分反映国内对临床中药学的研究水平和临床应用水平,在保证科学性和学术先进性的同时,重点突出临床实用性,以适应不同层次、不同类型读者的需求。本书首次提出建立临床中药学,阐述了这一学科的研究现状及进展,具有较高的学术价值;各论介绍了21类、400余味常用中药的性味、功能、临床应用、用量、宜忌、现代研究进展等内容,具有较强的实用价值。

(下转第776页)