

针药结合对去势大鼠血中性激素及其受体作用的实验研究

黎烈荣¹ 谭异伦² 张 英¹ 刘又香¹ 钱利琼¹ 张茂林¹

摘要 目的:探讨针药结合对去势大鼠血清雌二醇(E_2)、卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)及外周血淋巴细胞内雌激素受体(ER)水平的影响。方法:以雌性成年未孕SD大鼠为对象,设更年Ⅰ号组、针刺组、针药结合组、更年康对照组、模型对照组和正常对照组,测定血清 E_2 、FSH、LH的含量,及外周血淋巴细胞内ER的含量。结果:(1)去势大鼠血清 E_2 水平明显低于对照组,FSH和LH水平明显高于对照组。治疗后各组大鼠 E_2 水平与模型对照组比较均明显升高,FSH和LH水平明显下降,但以针药结合组作用最为显著。(2)去势后大鼠的外周血淋巴细胞ER的含量比对照组明显下降,经针刺或更年Ⅰ号及针药结合治疗后3组大鼠淋巴细胞ER含量与模型对照组比较明显上升,但以针药结合组作用最为明显,与更年Ⅰ号和针刺组比较差异有显著性($P<0.01$)。更年康对照组对淋巴细胞ER无明显影响。结论:针刺和更年Ⅰ号不仅能提高去势大鼠血清 E_2 水平,降低促性腺激素LH、FSH水平,而且可以上调免疫细胞ER的含量,而针药结合组作用最为明显。

关键词 针药并用 性激素类/血液 受体,雌激素/血液

围绝经期(perimenopausal period)指从接近绝经出现与绝经有关的内分泌、生物学紊乱的临床特征起至绝经1年内,表现不同程度的内分泌、躯体和心理方面的变化。约2/3的妇女则可出现一系列性激素减少所致的症状,称为围绝经期综合征。西医治疗本病多采用激素替代疗法(HRT),长期服用激素容易导致各种并发症的发生,而针灸和中药治疗围绝经期综合征不但疗效肯定,无副作用或并发症,而且临床实践证明,针药结合运用,更能显著有效地改善患者各种临床症状。

本实验用更年Ⅰ号方配合电针作用于去势大鼠,研究针药结合对去势大鼠血清雌二醇(E_2)、卵泡刺激素(FSH)、黄体生成素(LH)及外周血淋巴细胞内雌激素受体(ER)水平的影响,从生殖内分泌—免疫网络的角度来研究更年Ⅰ号方和电针治疗围绝经期综合征的作用机制,探讨针药结合对围绝经期综合征的协同作用。现报道如下。

基金项目:江苏省教育厅重点研究项目(K2100)

1 湖北中医学院中医妇科教研室,针灸实验室,中心实验室,武汉市武昌区云架桥110号(430061)

2 武汉大学中南医院中医科

收稿日期:2002-08-12;修回日期:2002-11-05

1 材料和方法

1.1 实验材料

实验动物:选用雌性成年未孕SD大鼠60只,体重220~260g,购自同济医科大学动物中心。实验前置动物于室内适应环境1周,室温20~30℃。

实验药品:更年Ⅰ号主要由菟丝子15g、杜仲12g、熟地黄15g、山药12g、肉苁蓉10g、茯苓12g、怀牛膝10g组成,每片含生药0.3g,由湖北中医学院提供。药片研细,用蒸馏水制成混悬液(0.3g/ml)备用。更年康由刺五加、五味子、鹿茸等药组成,广州白云山制药厂生产,批号为20000512。

主要试剂: E_2 、FSH、LH放免药盒由中美合资天津九鼎医学生物工程公司提供,批号20011018。

鼠抗ER单克隆抗体、羊抗鼠IgG PE荧光标记物由SANTA CRUTZ公司提供,批号20000415。

主要实验仪器:GC-1200 γ 放免计数器由合肥中国科学技术大学科技实业公司中佳光电仪器分公司提供,FACSCalibur流式细胞仪为美国BD公司出品,激发光源,气冷氩离子,波长488nm,输出功率15mW。数据处理计算机型号:苹果Macintosh。

1.2 实验方法

造模:麻醉后备皮消毒,从切口处钝性分离逐层进入腹腔,见被包裹的大鼠卵巢,分离后钳夹、结扎、剪去卵巢,检查无渗血,将脂肪组织和子宫角送回腹腔内,缝合关闭腹腔和缝合皮肤,消毒创面,同法处理对侧卵巢。术后抗炎3天。去卵巢术后5天开始阴道涂片,连续5天,以证明去势彻底^[1]。

分组:术前随机选取10只作为正常对照组,手术成功后留取无动情期变化者50只,随机分为5组,即模型对照组、更年Ⅰ号组、更年康组、针刺组及针药结合组。

给药方法与剂量:更年Ⅰ号组给予更年Ⅰ号(片剂用蒸馏水配成0.3g/ml混悬液),更年康组给予更年康(用蒸馏水配成0.15g/ml的混悬液)。针药结合组针刺同时给服更年Ⅰ号药液,对照组灌服等量生理盐水,去势手术后10天开始用药,各组动物每只每天灌服24g/kg药液,连续30天。

针刺选穴与刺法:取双侧三阴交、太溪、后三里,定

位与方法参照《实验针灸学》。后三里:后肢膝关节下方腓骨小头下约 5mm 处,直刺 7mm;三阴交:后肢内踝尖直上 10mm 处,直刺 5mm;太溪:后肢内踝与跟腱连线之中点,直刺 5mm。针刺成功后,接 G6805-1 治疗仪,中等强度,连续波,每日 1 次,每次 20 分钟,10 天为 1 个疗程,连续治疗 3 个疗程。

1.3 观察指标和测定方法

血清 E_2 、FSH、LH 的测定:末次治疗 24 小时后,摘眼球取血,静置后,离心(台式离心机,JI80-2B,上海安亭科学仪器厂)3000r/min,20min,取上清, -20℃ 冰箱保存待测。放免测定采用双抗体放射免疫法,按药盒说明书操作,受试动物同一批内测定。

外周血淋巴细胞 ER 的测定:(1)样本的处理:取 2ml 肝素抗凝全血,加 2ml PBS 扩容,加入 2ml 淋巴细胞分层液,静置 3min 后,离心,2000 r/min,15min,分层后取中间如云雾状之淋巴细胞层,置于另一试管中,离心,2000 r/min,15min,弃上清,加 1ml PBS 吹打溶解后,移入 EP 管中,离心 2000 r/min,15min,弃上清,加 0.5 ml 70% 酒精固定^[1]。(2)淋巴细胞 ER 的测定^[2]:离心,1000r/min,10min,去掉酒精,用 PBS 调整细胞浓度为 $5 \times 10^6 \sim 1 \times 10^7$ 。取 400 μ l 细胞悬液加入预先有特异 McAb (20 μ l)的离心管中,再取 500 μ l 灭活稀释的正兔血清,在 4℃ 下放置 30min,用 PBS 洗涤 2 次,每次加 PBS 2ml,1000r/min,离心 5min,弃上清。加入 20 μ l 工作浓度的羊抗鼠荧光标记物充分震荡,4℃ 放置 30min。用 PBS 洗涤 2 次,每次加入 PBS 2ml,1000r/min,离心 5min。加入 1ml 固定液,200 目尼龙网过滤,上 FCM 检测。阴性对照——样品细胞+PBS 液,阳性对照——样品细胞+羊抗鼠 IgG/荧光标记物,ER 含量通过 FCM 定量测定被标记细胞的荧光强度确定。

数据处理:实验结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 软件包做多组比较的方差分析。

2 实验结果

2.1 针药结合对去势大鼠生殖内分泌水平的影响:从表 1 实验结果中可以看出,治疗前去势大鼠血清 E_2 水平明显低于正常对照组($P < 0.01$),而 FSH 和 LH 水平则明显高于正常对照组($P < 0.01$),治疗后各组大鼠 E_2 水平与模型对照组比较均明显升高($P < 0.01$),而 FSH 和 LH 水平则明显下降($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果显示,针刺和中药均能改善围绝经期激素水平的紊乱,但以针药结合组作用最为显著(P 值均 < 0.01)。

2.2 针药结合对去势大鼠淋巴细胞 ER 的影响:从表

表 1 各组大鼠血清 E_2 、LH、FSH 测定结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	E_2 (pg/ml)	LH(mIU/ml)	FSH(mIU/ml)
正常对照组	7	47.32 $\pm$ 13.77	6.21 $\pm$ 1.49	1.76 $\pm$ 1.85
模型对照组	8	10.23 $\pm$ 2.94**	12.52 $\pm$ 1.98**	5.03 $\pm$ 1.22**
更年Ⅱ号组	7	30.46 $\pm$ 4.29** $\Delta\Delta$	8.75 $\pm$ 0.75** $\Delta\Delta$	3.39 $\pm$ 0.75 $\Delta\Delta$
更年康组	7	18.81 $\pm$ 2.85** $\Delta\Delta$	10.43 $\pm$ 0.55** Δ	3.69 $\pm$ 0.61* Δ
针刺组	8	26.90 $\pm$ 8.83** $\Delta\Delta$	9.11 $\pm$ 2.08** $\Delta\Delta$	4.03 $\pm$ 0.49** Δ
针药结合组	7	45.67 $\pm$ 6.80 $\Delta\Delta$	7.56 $\pm$ 0.65* $\Delta\Delta$	2.22 $\pm$ 0.83 $\Delta\Delta$

与正常对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型对照组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

2 的结果可以看出,去势后大鼠外周血淋巴细胞 ER 的含量比正常对照组明显下降($P < 0.01$),经针刺和更年Ⅱ号及针药结合治疗后,3 组大鼠 ER 含量与模型对照组比较明显上升($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而以针药结合组作用最明显,与单纯中药和单纯针刺治疗组比较差异有显著性($P < 0.01$),更年康组对淋巴细胞 ER 无明显影响。由此可见,针药结合具有较强的改善免疫功能的作用。

表 2 各组大鼠外周血淋巴细胞 ER 荧光强度比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	荧光强度(道数)
正常对照组	8	77.678 $\pm$ 9.618
模型对照组	8	13.518 $\pm$ 2.409*
更年Ⅱ号组	6	37.473 $\pm$ 6.766* $\Delta\Delta$
更年康组	4	19.163 $\pm$ 4.938* Δ
针灸组	7	33.131 $\pm$ 7.094* $\Delta\Delta$
针药结合组	6	73.217 $\pm$ 17.331* $\Delta\Delta$

与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型对照组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

3 讨论

生殖内分泌—免疫网络与围绝经期综合征的关系:围绝经期妇女由于雌激素分泌量锐减,对垂体的负反馈变弱,于是血 FSH 及 LH 显著高于正常育龄妇女,免疫功能衰减,患者外周血淋巴细胞雌激素受体明显低于正常育龄妇女。因缺乏生理水平的雌激素刺激及细胞内雌激素受体减少,免疫细胞产生白细胞介素 2(IL-2)及 β -内啡肽等免疫调节物质减少,这种生殖内分泌—免疫调节功能紊乱可能引起围绝经期综合征临床症状的发生。

组方及选穴依据:本实验组方、选穴均从脾肾论治。更年Ⅱ号方用熟地黄滋肾益阴,山药益气健脾,合而为君。伍以菟丝子、杜仲、牛膝补肾,茯苓健脾为臣,肉苁蓉补肾助阳为其佐使,寓阴中求阳之意。足三里穴为足阳明胃经之下合穴,经气由此深入,进而汇合于脏腑,善益脾胃;三阴交为肝、脾、肾三经交会穴,而冲、任、带三脉与肝、脾、肾的关系密切,取之可调补冲任,

补肝、脾、肾三脏之阴,添精益髓,健脾和胃;太溪穴为输穴、原穴,为脏腑原气输注、经过和留止的部位,益肾滋阴,培土生金,肾阴肾阳双补。中药治疗强调整体,具有多环节、多途径的调节作用;针灸治疗则主要调整人体自身功能,使自身机能恢复,作用持久。本实验旨在发挥针药结合优势,为临床治疗围绝经期综合征提供一种更为高效、优化的治疗方案。

针药结合治疗围绝经期综合征的临床应用前景展望:卵巢的功能对维持女性内分泌功能和植物神经系统的平衡,以及调节机体物质代谢和免疫功能有重要意义^[3]。HRT 是西医常用的治疗方法,但有资料显示,其有可能增加子宫内膜癌或乳腺癌的发病相对危险度,同时某些疾病史也会限制 HRT 的临床应用。因此,通过调节各靶器官 ER 含量以增强雌激素生理效应成为治疗的新途径,中药可能通过提高相应靶器官

受体含量而发挥作用。从实验结果来看,针灸和中药有类似雌激素的作用而并非雌激素制剂,可以改善生殖内分泌功能,调节免疫细胞的雌激素受体表达,协调生殖内分泌—免疫网络的功能,且二者具有协同作用,从升高 E_2 和 ER 两个方面增强 E_2 -ER 生物效应,有效地改善围绝经期生殖内分泌—免疫功能。因此,我们认为,应用针刺和中药治疗不仅可以替代 HRT 用于治疗围绝经期各种症状,又可避免 HRT 引起的种种副作用,无疑具有良好的应用前景。

参考文献

- 1 徐淑云,卞如濂,陈修,等.药理学实验方法学.第2版,北京:人民卫生出版社,1991:818,997.
- 2 左连富,王凤荣,张祥云.流式细胞术与生物医学.沈阳:辽宁科学技术出版社,1996:240-248.
- 3 王淑贞,袁耀尊,严仁英,等.妇产科理论与实践.第2版.上海:上海科学技术出版社,1991:243.

全国中医、中西医结合临床学术交流 全国针灸、推拿及外治法学术交流 征文通知

由中华中医药学会和中医杂志社联合主办的“全国中医、中西医结合临床学术交流会”和“全国针灸、推拿及外治法学术交流会”将于2003年7月在贵州省贵阳市举行。

全国中医、中西医结合临床学术交流会(简称“中医会”)征文内容如下:(1)名老中医临床治疗经验总结;(2)临床辨证施治的经验;(3)中医和中西医结合临床治疗的新成果、新技术、新经验介绍;(4)基础研究及理论探讨;(5)临床应用成方、验方的治疗新体会,例如:半夏泻心汤、柴胡疏肝散等等,对其中一方在临床新用的经验与体会;(6)临床应用单味中药的治疗体会,例如夏枯草、牛蒡子等等,对其中一味中药在临床新用的经验体会;(7)对于某方剂或其单味中药的研究新成果;(8)药物外敷、外贴、外洗等临床新用的经验体会。

全国针灸、推拿及外治法学术交流会(简称“针灸会”)征文内容如下:(1)针灸治疗常见病的经验;(2)推拿、按摩及其它理疗方法治疗常见病的经验;(3)气功和体育疗法治疗常见病的经验;(4)食疗治疗常见病的经验;(5)非药物康复治疗经验;(6)穴位埋线和割治法等治疗常见病的经验;(7)某一个新、旧穴位的临床应用经验体会;(8)常用配穴临床经验体会;(9)穴位研究新成果。

以上两会征文要求:(1)征文截止日期为2003年5月20日;(2)每位作者只限投一篇;(3)文稿要求字迹工整,字数在2000~3000字,尽量不用表格,请自留底稿,字迹潦草者不予审阅;(4)文稿中的计量单位均须采用法定计量单位,如“克”应为“g”,“毫升”应为“ml”,“白细胞5000/mm³”应为“白细胞 $5 \times 10^9/L$ ”等等;(5)文题下署作者姓名、作者单位名称、地址、邮政编码请写在稿纸首页末尾;(6)文稿务请加盖单位公章;(7)征文经专家评审后,录用文章将刊登在《中医杂志》2003年增刊上,并由中华中医药学会和中医杂志社联合颁发论文证书,参会代表将授予继续教育学分;(8)请在投稿信封左下角注明“中医会”或“针灸会”字样。会议具体时间、地点另行通知。

欢迎计算机软盘及电子邮件投稿。

联系地址:北京东直门内南小街16号,中医杂志社东方岐黄科技服务中心,邮政编码:100700,联系人:牛易。电话:(010)64035632,传真:(010)86472013,网址:www.jtcm.net.cn E-mail:jtcm@163.com

“玉泉丸、天麻钩藤颗粒临床应用 与学术研究”征文通知

成都金鼎药业有限公司是以生产金鼎牌系列中成药为主的现代化制药企业,为进一步促进中医药文化的繁荣和发展,由中医杂志社和成都金鼎药业有限公司联合主办“玉泉丸、天麻钩藤颗粒临床应用与学术研究”征文活动,征文如下。

一、征文内容:(1)玉泉丸、天麻钩藤颗粒临床应用总结与研究;(2)玉泉丸、天麻钩藤颗粒的临床应用综述、分析;(3)玉泉丸、天麻钩藤颗粒的实验研究;(4)玉泉丸、天麻钩藤颗粒有效成分的研究;(5)玉泉丸、天麻钩藤颗粒扩大应用范围的研究;(6)玉泉丸、天麻钩藤颗粒用量、用法的研究;(7)玉泉丸、天麻钩藤颗粒药味组成分析。

二、征文要求:(1)来稿应未公开发表;(2)文章应立论新颖、论据充分、文字严谨;(3)文稿限5000字以内;(4)文稿中的计量单位均须采用法定计量单位,如“克”应为“g”,“毫升”应为“ml”,“白细胞5000/mm³”应为“白细胞 $5 \times 10^9/L$ ”等等;(5)文题下署作者姓名、作者单位名称、地址、电话、邮政编码请写在稿纸首页末尾;(6)文稿务请加盖单位公章;(7)欢迎计算机软盘及电子邮件投稿(请用Word文件格式)。来稿不退,请自留底稿。

三、奖励办法:主办单位邀请全国中医药界专家、教授等组成评审委员会评出一、二、三等奖和优秀奖,其中一等奖1名(每名奖金5000元)、二等奖2名(每名奖金2000元)、三等奖5名(每名奖金1000元)、优秀奖10名(每名奖金500元)、纪念奖22名,获奖论文将由主办单位颁发论文证书,论文达到刊用标准者将在《中医杂志》上发表,其他获奖论文在《中医杂志》2003年增刊发表,并赠送样刊1册。评选结果将在《中医杂志》、《健康报》、《中国中医药报》上予以公布。

征文来稿请于2003年5月20日前寄至:北京市东直门内南小街16号,中医杂志社36号编辑收,邮政编码:100700,电话:(010)64035632,传真:(010)86472013, E-mail:jtcm@21cn.com, 网址:www.jtcm.net.cn, 联系人:36号编辑。

ABSTRACTS FROM ORIGINAL ARTICLES

Clinical observation on 31 cases of low pulse pressure syndrome treated with acupuncture at Neiguan (PC 6)

Li Peirun, Wang Hui, Gao Jing, et al.

Objective: To explore the effect of acupuncture at Neiguan (PC 6) on the cardiovascular functions in the patient with low pulse pressure syndrome. **Methods:** 49 cases were randomly divided into acupuncture group and medicine group. Acupuncture group was treated by acupuncture at bilateral Neiguan (PC 6) for 3 consecutive days, and the medicine group was given intravenous drip of Shenmai Injectio for 6 consecutive days, 20ml each day. Blood pressure, pulse pressure, SV, CO, LVWL, MAP, TPR, CCP, PAWP, BV, MHR and CMBV were examined before and after treatment. 23 healthy subjects were observed as controls. **Results:** The pulse pressure of patients before treatment was significantly lower than that of controls ($P < 0.01$), and after treatment it was raised ($P < 0.01$). SV, CO, LVWL, PAWP, BV, MHR and CMBV of patient were significantly lower than those of healthy subjects ($P < 0.01$), but after treatment they raised in both groups ($P < 0.01$). CCP and TPR of patients before treatment were significantly higher than those of healthy subjects ($P < 0.01$), and after treatment decreased significantly ($P < 0.01$). The therapeutic effect of acupuncture treatment was slightly better than that of medicine group ($P < 0.05$ for part of the indexes). There was no significant difference in MAP between the two groups. **Conclusion:** Acupuncture at Neiguan (PC 6) can strengthen pumping blood function of the heart, decrease the peripheral resistance, improve microcirculation and increase difference of pulse pressure.

Author's address: Ningxia Hui Autonomous Region Hospital of TCM, Yinchuan 750021, Ningxia

Key words: Acupuncture therapy

(Original article on page 262)

Effects of acupuncture combined with medicine on serum sexual hormones and their receptors in castrated rats

Li Lierong, Tan Yilun, Zhang Ying, et al.

Objective: To explore effects of acupuncture combined with medicine on serum E_2 , FSH, LH and ER level in peripheral blood lymphocytes. **Methods:** Female SD rats without pregnancy were divided into Gengnian I group, acupuncture group, group of combined acupuncture and medicine, Gennian Kang control group, model control group and normal control group, and their serum level of E_2 , FSH and LH contents, and ER contents in peripheral blood lymphocytes were determined. **Results:** (1) Serum E_2 level in castrated rats was lower than, and FSH and LH level were higher than those in the control group. E_2 level in all other groups increased, and FSH and LH

level decreased significantly after treatment as compared with those in model control group, with the most obvious action in the group of combined acupuncture and medicine. (2) ER content in castrated rat decreased significantly as compared with control group. After treatment of acupuncture, Gengnian I or acupuncture combined with medicine, ER contents increased significantly as compared with that in model control group, with the most obvious action in the group of combined acupuncture and medicine. Gengnian Kang had no remarkable influence on ER. **Conclusion:** Acupuncture and Gengnian I can increase serum E_2 level, decrease FSH and LH level, and up-regulate ER content in immunocytes with the most obvious action for the combined treatment of acupuncture and medicine.

Author's address: Hubei College of TCM, Wuchang 430061

Key words: Combined application of acupuncture and medicine sexual hormones/blood receptor, estrogens/blood

(Original article on page 264)

Clinical observation on 108 cases of rheumatoid arthritis at active stage treated by bathing with Compound Xiaobi Yaoyu Bao

Chang Tiejun, Zhang Junhong

Objective: To observe the therapeutic effect of bathing with Compound Xiaobi Yaoyu Bao on rheumatoid arthritis. **Methods:** 169 cases of rheumatoid arthritis at active stage were randomly divided into treatment group ($n = 108$) and control group ($n = 61$), and were treated by bathing with Compound Xiaobi Yaoyu Bao and external smearing of 1% Voltaren emulsion respectively. After treatment of 30 days, therapeutic effects, symptoms and signs, infra-red thermogram, inflammatory markers and hemorheologic indexes were investigated. **Results:** Clinically cured rate and total effective rate were 77.8% and 92.6% respectively, main symptoms and signs improved significantly in treatment group. Examination of infra-red thermogram showed that temperature on surface of bilateral finger joints decreased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), inflammatory markers ESR and CRP decreased significantly ($P < 0.01$), and hemorheologic indexes decreased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$) in the patient. And all the indexes in treatment group were superior to those in control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** Bathing with Compound Xiaobi Yaoyu Bao has obvious therapeutic action on rheumatoid arthritis at active stage.

Authors' address: The People's Hospital of Dezhou City, Shangdong Province 250014

Key words: Arthritis, rheumatoid/TCM therapy

(Original article on page 267)