

· 方药研究 ·

左归丸对去势雌性大鼠子宫和阴道的影响

陆 华 胡 翔 王 静

(成都中医药大学附属医院妇科, 四川省成都市十二桥路 34 号, 610075)

[摘 要] **目的** 观察左归丸对去势大鼠子宫和阴道的影响。 **方法** 将雌性育龄期大鼠分为正常组(20 只)、假手术组(17 只)和去势组(40 只)。去势组将去势成功的大鼠分为模型组(8 只)、倍美力组(11 只)、左归丸高剂量组(左高组, 6 只)、左归丸低剂量组(左低组, 9 只), 药物连续灌胃 11 周后, 测定血清雌二醇(E_2), 取子宫、阴道组织作病理切片。 **结果** 与模型组比较, 左高组、左低组大鼠子宫的重量、脏器指数、内膜厚度、内膜被覆上皮厚度、肌层厚度、腺体直径、内径、腺上皮高度、腺体个数和阴道的重量、脏器指数、上皮层数和黏膜厚度差异均无统计学意义($P > 0.05$); 左高组阴道皱襞数和阴道固有层血管数均高于模型组($P < 0.05$); 血清 E_2 值左高组、左低组差异无统计学意义($P > 0.05$)。 **结论** 补肾中药复方左归丸对去势大鼠子宫无明显影响, 可通过增加局部血液供给来延缓去势大鼠的阴道衰老。

[关键词] 去势; 左归丸; 补肾; 子宫; 阴道; 中医药疗法

Effect of Zuogui Pill on the Uterus and Vagina of Ovariectomized Female Rats

LU Hua, HU Xiang, WANG Jing

(Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 610075)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect Zuogui Pill (Yin-restoring Pill) on the uterus and vagina of ovariectomized female rats. **Methods** The female rats at childbearing age were randomized into normal group ($n=20$), sham-operation group ($n=17$), and ovariectomized group ($n=40$). After ovariectomy, the ovariectomized group was subdivided into model group ($n=8$), Premarin group ($n=11$), Zuogui Pill large dosage group ($n=6$), and Zuogui Pill small dosage group ($n=9$). The medication was given through gastric perfusion for 11 weeks in succession. The serum estradiol (E_2) was tested and the uterine and vaginal tissues were examined with the method of pathological section. **Results** Compared with the model group, there were no statistical difference in the uterine weight, viscera index, endometrial thickness, endometrial epithelial thickness, muscular thickness, gland diameter, inner diameter, gland epithelial height, and number of gland, and the vaginal weight, viscera index, epithelial layer number and mucosal thickness in the Zuogui Pill large and small dosage groups ($P > 0.05$). The number of vaginal folds and vessle of vaginal natural layers in the Zuogui Pill large dosage group were more than those in the model group ($P < 0.05$). Serum E_2 in Zuogui Pill large dosage group was not significantly different from that in the Zuogui Pill small dosage group ($P > 0.05$). **Conclusion** Zuogui Pill, the compound herbal formula for reinforcing the function of kidney, is not influential on the uterus of ovariectomized female rats. It can delay the vaginal deadness through increasing the local blood supply of ovariectomized rats.

Key Words Ovariectomy; Zuogui Pill (Yin-restoring Pill); Reinforcing the function of kidney; Uterus; Vagina; TCM therapy

妇女绝经后体内的低雌激素状态会引发一系列退行性疾病, 中医补肾活血法配合西药综合治疗老年性阴道炎等绝经后妇女退行性病变远期疗效好, 复发率低^[1,2]。目前的研究认为, 补肾可通过调节下丘脑-垂体-卵巢轴进而调节女性生殖功能, 然而在绝经后妇女下丘脑-垂体-卵巢轴功能衰退的情况下, 补肾法仍然对潮热、心悸、阴道干涩、烦躁易怒、记忆力下降等低雌激素症状体征有显著改善, 其作用机理还不甚清楚。左归丸是明代温补名家张景岳补益肾阴的经典方,

可用于治疗女性绝经前后诸症^[3]。本研究通过观察左归丸对去势大鼠生殖器官子宫、阴道的影响, 为补肾方药治疗绝经后妇女退行性病变提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

育龄期雌性 SD 大鼠, 体重(230±30)g, 77 只, 购于成都中医药大学实验动物中心, 饲养于二级动物实验室, 合格证:SCXK(川)2004-11。室温 22~25℃, 湿度 45%~65%, 12h 昼夜明暗交替。

1.2 药物和试剂

左归丸(上海雷允上封滨制药有限公司), 成人剂量 18g/d, 批号:040810; 倍美力(惠氏艾尔斯特制药公

司艾尔斯特药厂生产), 规格: 0.625mg/片, 批号: PKG0404001; 戊巴比妥钠(上海化学试剂公司进口分装), 批号: F20020405; 雌二醇(E₂)试剂盒(Alpha Diagnostic International 公司), 批号: 05114-B。

1.3 主要仪器

BS210S 电子天平(德国 Sartorius 公司), MK3 酶标仪(美国 Thermo 公司); 泰盟医学图像分析系统 2000(成都泰盟科技有限公司)。

1.4 动物造模及分组

除正常组(20 只)外, 均腹腔注射生理盐水配制的戊巴比妥钠(30mg/kg, 1ml/100g), 腹位固定, 假手术组(17 只)仅去除卵巢周围与卵巢同等大小的脂肪组织后关腹, 其余 40 只行去卵巢手术^[1]。术后连续 3 天注射抗生素预防感染, 此后行阴道涂片观察, 连续 5 天, 每天 1 次, 去势后大鼠阴道涂片无动情周期表现。将去势成功的大鼠分为 4 组, 模型组(8 只)、倍美力组(11 只)、左归丸高剂量组(左高组, 6 只)、左归丸低剂量组(左低组, 9 只), 正常组、假手术组、模型组均灌服生理盐水, 左高组、左低组分别灌服左归丸混悬液(0.6g/100g, 0.15g/100g), 倍美力组灌服倍美力水溶液(62.5μg/100g)^[5], 每组动物灌胃体积均为 1ml/100g, 3 天称取 1 次体重, 调整给药剂量。灌药 2 周后开始阴道涂片观察阴道细胞角化率, 均连续灌胃 11 周。末次灌药 1h 后, 大鼠股动脉放血处死, 取样。

1.5 检测指标

血清 E₂ 测定采用酶联免疫法; 开腹分离子宫组织和阴道组织, 称取子宫和阴道湿重后放入中性甲醛保存, HE 染色制作病理切片。在低倍镜(10×10)下观察子宫病理切片, 选择每个标本内膜最厚、最薄和中等厚度 3 处拍照, 以医学图像分析系统测量后, 计算内膜、被覆上皮和肌层厚度的平均值。以高倍镜(40×10)观察子宫病理切片, 每个标本选择大小适中的内膜腺体 3 个拍照后以医学图像分析系统测量腺体直径、内径、腺上皮高度, 计算出平均值; 每个标本计算低倍镜(10×10)5 个视野内的腺体数量。

1.6 统计学方法

采用 SPSS10.0 统计软件进行分析, 计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, 组间比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 各组大鼠子宫脏器指数比较

表 1 示, 左高组和左低组与模型组比较, 子宫湿重、子宫脏器指数差异无统计学意义($P > 0.05$)。表 2 示, 左高组及左低组与模型组比较, 子宫内膜厚度、内膜被覆上皮厚度、肌层厚度、腺体直径、内径、腺上皮高度和腺体个数均无统计学差异($P > 0.05$)。

2.2 左归丸高剂量对大鼠阴道相关指标影响

表 1、表 3 示, 左高组与模型组比较, 阴道湿重、脏器指数、黏膜厚度、上皮层数差异无统计学意义($P >$

表 1 各组大鼠子宫和阴道湿重、脏器指数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	鼠数	子宫		阴道	
			湿重(g)	脏器指数	湿重(g)	脏器指数
正常组	动情期	10	0.67±0.07	0.0025±0.0003	0.34±0.04	0.0013±0.0002
	动情间期	10	0.47±0.07	0.0016±0.0003	0.28±0.07	0.0010±0.0003
假手术组	动情期	7	0.68±0.09	0.0024±0.0004	0.34±0.06	0.0012±0.0003
	动情间期	10	0.50±0.09	0.0018±0.0002	0.29±0.05	0.0010±0.0002
模型组		8	0.10±0.02	0.0003±0.0001	0.15±0.03	0.0005±0.0001
倍美力组		11	0.48±0.06*△○	0.0019±0.0004*△○	0.28±0.05*△○	0.0011±0.0002*△○
左高组		6	0.09±0.02*△○●	0.0003±0.0001*△○●	0.14±0.02*△○●	0.0004±0.0001*△○●
左低组		9	0.12±0.03*△○●	0.0004±0.0001*△○●	—	—

注: 与正常组动情期比较, * $P < 0.01$; 与正常组动情间期比较, △ $P < 0.01$; 与假手术组动情期比较, ▲ $P < 0.01$; 与假手术组动情间期比较, ○ $P < 0.01$; 与倍美力组比较, ● $P < 0.01$

表 2 各组大鼠子宫内膜、被覆上皮、肌层、腺体比较($\bar{x} \pm s$)

组别	亚组	鼠数	被覆上皮厚度(μm)	内膜厚度(μm)	肌层厚度(μm)	腺体直径(μm)	腺体内径(μm)	腺上皮高度(μm)	腺体数(个)
正常组	动情期	10	0.20±0.07	7.72±1.38	2.20±0.59	0.71±0.14	0.43±0.13	0.14±0.03	39.20±11.06
	动情间期	10	0.17±0.05	6.22±1.61	2.10±0.46	0.60±0.13	0.40±0.10	0.12±0.05	32.10±8.96
假手术组	动情期	7	0.27±0.05	10.60±2.54	2.41±0.34	0.81±0.14	0.44±0.21	0.13±0.02	52.86±13.06
	动情间期	10	0.20±0.05	6.17±1.41	2.14±0.59	0.69±0.09	0.41±0.06	0.11±0.04	27.50±9.51
模型组		8	0.11±0.04	2.65±0.40	0.95±0.31	0.42±0.08	0.24±0.06	0.08±0.01	14.00±4.90
倍美力组		11	0.28±0.04▲○	8.58±2.24*△○	2.78±0.54*△○	0.93±0.26*△○	0.69±0.22○	0.15±0.06	35.09±6.98*△▲
左高组		6	0.09±0.01▲○●	2.99±0.69*△○●	1.09±0.39▲●	0.54±0.09	0.35±0.13	0.08±0.02	13.00±4.76*△▲●
左低组		9	0.10±0.03▲○●	2.79±0.58*△○●	1.09±0.30*△○●	0.50±0.12●	0.25±0.07○●	0.09±0.02	14.22±4.41*△▲●

注: 与正常组动情期比较, * $P < 0.01$; 与正常组动情间期比较, △ $P < 0.01$; 与假手术组动情期比较, ▲ $P < 0.01$; 与假手术组动情间期比较, ○ $P < 0.01$; 与倍美力组比较, ● $P < 0.01$

表 3 各组大鼠阴道黏膜、上皮、皱襞及固有层血管比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	鼠数	黏膜厚度(μm)	上皮(层)	皱襞数(个)	固有层血管数(个)
正常组	动情期	10	3.10 $\pm$ 0.64	8.20 $\pm$ 1.39	16.40 $\pm$ 6.69	19.00 $\pm$ 6.22
	动情间期	10	2.97 $\pm$ 0.69	8.10 $\pm$ 1.66	19.10 $\pm$ 6.72	27.40 $\pm$ 15.52
假手术组	动情期	7	3.36 $\pm$ 0.33	8.86 $\pm$ 1.22	11.57 $\pm$ 3.91	24.84 $\pm$ 10.42
	动情间期	10	2.88 $\pm$ 0.87	8.00 $\pm$ 1.73	15.78 $\pm$ 4.68	26.33 $\pm$ 5.77
模型组		8	0.74 $\pm$ 0.25	2.88 $\pm$ 0.64	10.25 $\pm$ 4.59	13.13 $\pm$ 4.61
倍美力组		11	3.23 $\pm$ 0.40 $\triangle\bigcirc\bigcirc$	8.55 $\pm$ 1.13 $\triangle\bigcirc\bigcirc$	17.64 $\pm$ 4.90 $\triangle\bigcirc\bigcirc$	34.91 $\pm$ 10.90 $\ast\triangle\bigcirc\bigcirc$
左高组		6	1.03 $\pm$ 0.22 $\ast\triangle\bigcirc\bullet$	3.50 $\pm$ 0.55 $\ast\triangle\bigcirc\bullet$	18.17 $\pm$ 6.11 $\ast\triangle\bigcirc\bullet\bigcirc$	28.33 $\pm$ 5.32 $\ast\triangle\bigcirc\bullet\bigcirc$

注:与正常组动情期比较, $\ast P<0.01$;与正常组动情间期比较, $\triangle P<0.01$;与假手术组动情期比较, $\blacktriangle P<0.01$;与假手术组动情间期比较, $\bigcirc P<0.01$;与倍美力组比较, $\bullet P<0.01$;与模型组比较, $\bigcirc P<0.01$

0.05),阴道皱襞数和阴道固有层血管数左高组多于模型组($P<0.01$)。而倍美力组能增加阴道黏膜厚度、上皮层数、皱襞及固有层血管($P<0.01$),提示左归丸高剂量可增加去势大鼠阴道的血液供应。

2.3 各组大鼠血清 E₂ 水平比较

表 4 示,与模型组比较,倍美力显著地提高了去势大鼠血清 E₂ 水平($P<0.01$),左高组、左低组未能改变血清 E₂ 水平($P>0.05$)。

表 4 各组大鼠血清 E₂ 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	鼠数	E ₂ (pg/ml)
正常组	动情期	10	61.67 $\pm$ 24.36
	动情间期	10	28.30 $\pm$ 13.38
假手术组	动情期	7	61.56 $\pm$ 13.50
	动情间期	10	36.77 $\pm$ 14.49
模型组		8	16.28 $\pm$ 5.96
倍美力组		11	530.32 $\pm$ 295.97 $\ast\triangle\bigcirc\bigcirc$
左高组		6	28.13 $\pm$ 15.23 $\ast\bigcirc\bullet$
左低组		9	17.80 $\pm$ 6.63 $\ast\triangle\bigcirc\bullet$

注:与正常组动情期比较, $\ast P<0.01$;与正常组动情间期比较, $\triangle P<0.01$;与假手术组动情期比较, $\blacktriangle P<0.01$;与假手术组动情间期比较, $\bigcirc P<0.01$;与倍美力组比较, $\bullet P<0.01$;与模型组比较, $\bigcirc P<0.01$

3 讨论

妇女绝经之后,因肾精不足,真阴亏损,不能润泽前阴空窍而使阴道过于干涩。去势大鼠阴道组织处于枯萎状态,且弹性降低,此现象与人类绝经后妇女阴道组织变化类似^[6]。

肾藏精,主生殖,为冲任之本,经血之源,藏真阴而寓元阳,其阴阳宜保持相对平衡。肾虚是绝经前后诸症的基本病机。若绝经后妇女“素多忧郁不调之患”,或由于工作和生活的不同境遇以及外界刺激的影响,导致难以适应这一阶段的过渡,使阴阳失去平衡,脏腑气血功能不相协调,则出现潮热心悸、阴道干涩、烦躁易怒等症状,绝经前后诸症以肾阴虚为主^[7],因此补肾益精为治疗的根本所在。

左归丸方中重用熟地黄滋肾填阴;山茱萸“兴阴道,填精髓”;枸杞子“补益精气,强盛阴道”;菟丝子配

牛膝强腰膝;山药“益肾气,健脾胃”。龟甲胶、鹿角胶为血肉有情之品,鹿角胶偏补阳,龟甲胶偏补阴,二者益精填髓,补益冲任,“阳中求阴”,为“壮水之主第一方”,临床证明本方治疗绝经前后诸症多收到良好效果^[8]。本实验结果提示,去势大鼠灌服左归丸高剂量后,阴道皱襞数量和阴道固有层血管数量增加,而子宫重量、子宫病理切片各项观察指标及血清 E₂ 差异无统计学意义,说明左归丸可通过改善阴道血液供应来延缓去势大鼠阴道衰老,而对雌激素的靶器官子宫无明显影响。而去势大鼠给予外源性雌激素倍美力后,全身 E₂ 水平明显升高,引起了雌激素效应器官子宫和阴道各指标的明显变化。因此可以认为,左归丸作用于去势大鼠的机理并非药物本身的类雌激素样作用,其作用也不是通过直接升高血中 E₂ 来实现的。本研究也提示了左归丸可在一定程度上改善去势大鼠的阴道血液供应,改善后去势鼠阴道血液供应与低雌激素状态下的正常大鼠和假手术大鼠相当。

参考文献

- [1]王小霞.补肾活血法配合西药综合治疗老年性阴道炎 100 例[J].广东药学院学报,2004,6(3):329-330.
- [2]李秀霞.中药内服外洗治疗老年性阴道炎 33 例临床观察[J].四川中医,2005,23(8):80-81.
- [3]朱玲,陈彬彬,黄泉智,等.左归丸临床与实验研究进展[J].国医论坛,2003,18(2):51-53.
- [4]苗明三主编.实验动物和动物实验技术[M].北京:中国中医药出版社,1997:242.
- [5]杨召,杨华,姚振强,等.补肾中药对去卵巢大鼠骨组织 ER、OPG 表达的促进作用[J].中医正骨,2004,3(3):3-5.
- [6]曹缙孙.绝经妇女的病理生理变化[J].中国实用妇科与产科杂志,1999,15(2):81.
- [7]罗元恺,郑国平.以补肾为主治疗更年期综合征临床研究[J].中国医药学报,1990,4(2):23-25.
- [8]李素琴,张宏亮.左归丸加减治疗绝经前后诸症 54 例[J].四川中医,2005,23(6):75.