

# 针刺联合中药对未成年雌性大鼠性腺轴的影响

庄晨玉, 童书蓉, 周国平, 张丽华, 曾朝阳

南方医科大学中西医结合医院, 广东 广州 510315

**[摘要]** 目的: 观察针刺联合中药对未成年雌性大鼠的动情周期、血清卵泡刺激素 (FSH)、黄体生成素 (LH) 及孕激素 (P) 的影响。方法: 未成年健康雌性SD大鼠40只, 随机分成4组: 即空白对照组、针刺组、中药组、针药结合组, 每组10只。空白对照组: 生理盐水灌胃。针刺组: 取穴气海、关元、中极、肾俞、次髎、三阴交、太冲穴, 进针0.3 cm, 行平补平泻法, 留针20 min。中药组: 补肾健脾方水煎剂灌胃。针药组: 补肾健脾方水煎剂灌胃合用针刺。观察经处理后各组大鼠动情周期出现情况以及血清FSH、LH及P水平的变化。结果: 与空白对照组比较, 针刺组、中药组和针药结合组大鼠出现动情周期例数显著升高, 血清FSH、LH、P的水平显著升高, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 提示针刺、中药能改善性腺生殖轴。与针药结合组比较, 针刺组和中药组大鼠血清FSH、LH、P的水平较低, 差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论: 针药合用能明显提高未成年大鼠血清FSH、LH及P水平, 表明针药合用可以促进卵泡发育及排卵, 从而可以使增殖期内膜转化为分泌期, 因而可以用于青春期功血的治疗。

**[关键词]** 针刺; 中药; 青春期功血; 动情周期; 性腺轴; 动物实验; 大鼠

**[中图分类号]** R-332; R245 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2017) 12-0011-03

**DOI:** 10.13457/j.cnki.jncm.2017.12.004

## Acupuncture Combined with Chinese Medicine Can Improve Function of Sex Gland Axis in Impuberal Female Rats

ZHUANG Chenyu, TONG Shurong, ZHOU Guoping, ZHANG Lihua, ZENG Zhaoyang

**Abstract:** **Objective:** To observe the effect of acupuncture combined with Chinese medicine for estrous cycle, serum follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), and progesterone (P) of impuberal female rats. **Methods:** Divided 40 healthy impuberal female SD rats into four groups, namely blank control group, acupuncture group, Chinese medicine group, and the combination group, 10 rats in each group. Blank control group was given normal saline by gavage. The acupuncture group received uniform reinforcing-reducing by 0.3 cm inserting needles at Qihai, Guanyuan, Zhongji, Shenshu, Ciliao, Sanyinjiao, Taichong for 20 min once a day. Chinese medicine group was given Bushen Jianpi prescription by gavage. The combination group was given both therapies of acupuncture group and Chinese medicine group. Observed estrous cycle as well as changes of levels of FSH, LH and P after treatment. **Results:** Compared to blank control group, numbers of estrous cycle among the other three groups were obviously improved, as well as levels of serum FSH, LH and P, differences being significant ( $P < 0.05$ ), which indicated that acupuncture and Chinese medicine could improve the sex gland axis. Levels of serum FSH, LH and P in acupuncture group and Chinese medicine group were lower than those in the combination group, differences being significant ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The therapy of acupuncture combined with Chinese medicine can evidently improve levels of serum FSH, LH and P of impuberal rats, which suggested that the therapy can stimulate follicular development and ovulation to change the inner membrane from multiplication period to secretory period. Therefore, the combination therapy can be applied in the treatment of adolescent dysfunctional uterine bleeding.

**Keywords:** Acupuncture; Chinese medicine; Adolescent dysfunctional uterine bleeding; Estrous cycle; Sex gland axis; Animal experiment; Rats

**[收稿日期]** 2017-05-22

**[基金项目]** 广东省中医药局项目 (20141211)

**[作者简介]** 庄晨玉 (1987-), 女, 医师, 研究方向: 中西医结合治疗妇科病。

**[通信作者]** 曾朝阳, E-mail: zengzhaoyang30@163.com。

中医学认为,肾主生殖,为先天之本。肾气充盛与否与天癸的产生、生殖系统的正常发育和运行密切相关。已经有临床和实验证实,补肾类中药具有激素样作用,对下丘脑-垂体-卵巢-子宫的生殖性腺轴起双向调节作用,而基于中医理论的针刺通过对经络的激发和传导作用也是通过调节生殖性腺轴产生作用<sup>[1]</sup>。有研究提示,针刺去卵巢大鼠后体内促性腺激素释放激素、黄体生成素(LH)、雌二醇(E<sub>2</sub>)水平均升高,且脑内雌激素受体蛋白及 mRNA 表达增加<sup>[2]</sup>。在生殖性腺轴调节下,性激素的分泌影响生物动情周期和生殖功能的变化。

笔者以传统中医学理论为指导,以补肾健脾为治则,创立了补肾健脾方和针刺用穴,在临床用来治疗青春期功能失调性子宫出血(简称青春期功血)取得良好疗效。在相关实验研究方面,由于月经的调节机制及青春期功血的发病机理相对复杂,实验动物的选择尤其是动物模型的建立是目前研究青春期功血的一大难点。国内文献研究青春期功血的动物模型还欠完善,多数是尚未建立正常的卵巢周期的未成年大鼠。未成年大鼠是45日龄前自然条件下性腺轴功能未健全的大鼠模型。戴方伟等<sup>[3]</sup>报道,雌性大鼠血清 LH、E<sub>2</sub> 浓度在32日龄时出现较为明显升高,提示性腺功能已激活,表示进入青春期。因此本研究选择30日龄SD大鼠为研究对象,此时的未成年大鼠性腺轴及靶器官反应灵敏,便于观察,可以最大限度地减少实验误差,接近青春期无排卵功血。本研究从针刺、中药及针药合用出发,探讨其对大鼠动情周期、血清卵泡刺激素(FSH)、LH及孕激素(P)水平的影响,以进一步揭示针刺、中药对垂体及卵巢功能的影响。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 未成年健康雌性SD大鼠,30日龄,体质量100~120g,40只。由南方医科大学实验动物中心提供,合格证号:SYXK(粤)2011-0074。实验动物的饲养环境:南方医科大学中西医结合医院中心实验室,温度:20~26℃,湿度50%~60%。动物实验通过南方医科大学动物伦理委员会的审批。

**1.2 药物和试剂** 补肾健脾固冲方(按临床剂量20倍取材):党参、黄精各20g,白术、黄芪、茯苓、熟地黄、菟丝子、淫羊藿、仙茅、续断、杜仲、山茱萸各15g,加水煎煮2次,合并煎液、过滤,浓缩成生药浓度约1.5g/mL,高温消毒后置于4℃冰箱保存备用,由南方医科大学中西医结合医院制剂室提供,使用时配成适当浓度。

**1.3 动物分组及给药** 大鼠适应性喂养3天,随机分成4组:即空白对照组、针刺组、中药组、针药结合组,每组10只。空白对照组:生理盐水灌胃2mL/100g,每天1次,共5天。针刺组:取穴气海、关元、中极、肾俞、次髎、三阴交、太冲穴,进针0.3cm,行平补平泻法,留针20min,每天1次,连续5天。中药组:补肾健脾方水煎剂混悬液,灌胃按2mL/100g,即30g/(kg·d),每天1次,共5天。针药结合组:

补肾健脾方水煎剂混悬液灌胃(剂量同上)合用针刺(取穴及针法同上),每天1次,共5天。

**1.4 生殖性腺轴周期情况检测** 研究针刺及针药合用对大鼠动情周期的影响:从实验结束第1天开始,所有实验大鼠每天早上10点开始做阴道涂片,暴露阴道后,用蘸有少许生理盐水的无菌小棉签在阴道侧壁上1/3处轻涂后取分泌物少许,将其均匀的涂于玻片上,用95%乙醇固定,HE染色后光学显微镜下观察。观察到出现角化细胞时,12h后增加1次阴道脱落细胞检查。最长连续观察2个动情周期,即10天。

**1.5 观察各组血清激素水平的动态变化** 每组大鼠于动情期股静脉采血(防止溶血及杂质污染),室温放置30min后离心,分离血清,用放射免疫法(放射免疫分析盒,北京北方生物技术研究所,批号:100520)测定FSH、LH水平。动情后期查P水平。连续10天未出现动情周期者于第10天采血。

**1.6 统计学方法** 所有数据均采用SPSS19.0软件进行处理,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间均数比较采用单因素方差分析,多组间率的比较采用 $\chi^2$ 检验。

## 2 结果

**2.1 各组大鼠动情周期情况比较** 见表1。与空白对照组比较,针刺组、中药组和针药结合组大鼠出现动情周期例数显著升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示针刺、中药能改善性腺生殖轴。

表1 各组大鼠动情周期情况比较

组别	n	出现动情周期例数
空白对照组	10	1
针刺组	10	7 <sup>①</sup>
中药组	10	7 <sup>①</sup>
针药结合组	10	9 <sup>①</sup>

与空白对照组比较,① $P < 0.05$

**2.2 各组大鼠血清激素水平比较** 见表2。与空白对照组比较,针刺组、中药组和针药结合组大鼠血清FSH、LH、P的水平显著升高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。与针药结合组比较,针刺组和中药组大鼠血清FSH、LH、P的水平较低,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明针刺联合中药比单独针刺或者中药治疗效果更好。

表2 各组大鼠血清激素水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	FSH(mIU/mL)	LH(mIU/mL)	P(nmol/mL)
空白对照组	10	1.217 ± 0.096	1.133 ± 0.106	21.44 ± 1.977
针刺组	10	1.673 ± 0.140 <sup>①②</sup>	1.573 ± 0.080 <sup>①②</sup>	29.90 ± 1.468 <sup>①②</sup>
中药组	10	1.693 ± 0.047 <sup>①②</sup>	1.643 ± 0.077 <sup>①②</sup>	31.82 ± 1.500 <sup>①②</sup>
针药结合组	10	2.070 ± 0.149 <sup>①</sup>	2.277 ± 0.085 <sup>①</sup>	41.57 ± 1.599 <sup>①</sup>

与空白对照组比较,① $P < 0.05$ ;与针药结合组比较,② $P < 0.05$

### 3 讨论

中医学认为,肾主生殖,其中肾-天癸-冲任-胞宫轴与现代医学中的下丘脑-垂体-卵巢轴的功能相近。青春期功血的根本原因是由于肾气未充,肾阴阳不足,血海空虚,致冲任不固,经血非时而下,遂成崩漏。笔者认为,青春期功血病本在肾,病位在冲任、胞宫,表现为胞宫的藏泻失常,肾气虚损、冲任不固为本病的主要病机,补肾健脾、固冲止血为治疗本病的基本原则。本病治疗首先要补肾,通过补先天之本,使肾中精气充盈,任通冲盛,封藏有力。其次健脾,在补肾固冲的基础上兼顾健脾,脾胃为后天之本,气血生化之源,肾中精气有赖于水谷精微的充养才能不断充盈和成熟。脾又主统血,脾失健运,则后天失养,统摄失职;脾土化生气血以养肾中精气,促进肾中精气充盛,脾气健旺,统摄有权,气血充足,先天得以濡养,肾气充足,冲任得固。

方中重用党参、黄精为君,党参健脾益气,黄精滋阴补肾,填精益髓,两者兼顾脾肾,补益先后天之本;菟丝子、淫羊藿、仙茅、续断、杜仲补肾阳;熟地黄滋补肾阴,山茱萸补益肝肾、涩精固脱,二药同用共奏补肾填精固冲之功;选用黄芪、炒白术、茯苓补中益气健脾,共收益气健脾之效。全方兼顾到肾肝脾三脏,体现了脏腑同调,治病求本,标本兼顾的特点。关元为足三阴与冲任之会,又为经血之室,任脉起于胞宫,主一身之阴,凡精、血、津、液都属任脉总司,故关元可补肾健脾,调补冲任;气海位于任脉,是治肾虚要穴,具有补脾益肾之功;诸穴合用共奏补肾健脾、益气固摄之功。上述针药在临床上均证实治疗青春期功血疗效明显。

补肾健脾固冲方可以影响未成年雌性大鼠性周期,下丘脑-垂体-卵巢轴日渐成熟,生殖器官随着卵巢激素出现周期性变化,最明显的特征是子宫内膜的周期性脱落。大鼠动情周期中阴道脱落细胞形态结构变化主要受动情周期中雌激素变化的影响<sup>[4]</sup>,阴道涂片法可以较准确的区分动情周期的每个阶段<sup>[5]</sup>。实验结果显示,针药结合组较单纯针刺或中药能明显改善大鼠动情周期,但是差异无统计学意义,可能与样本量过少有关。目前的研究表明:青春期功血原因在于性腺发育不成

熟,雌激素分泌呈持续低水平,由于缺乏正常的雌激素正反馈而出现的LH峰,导致无排卵,致使缺乏孕酮的对抗和腺体分泌化,在单一而长期低水平雌激素刺激下使子宫内膜渐进性增生、增殖过度,导致不规则出血、崩漏<sup>[6]</sup>。本研究结果显示:针药合用能明显提高未成年大鼠血清FSH、LH及P水平,表明针药合用可以促进卵泡发育及排卵,从而可以使增殖期内膜转化为分泌期,因而可以用于青春期功血的治疗。

综上所述,针刺合用补肾健脾方治疗青春期功血作用机制与促进性腺轴成熟密切相关,为针刺合用补肾健脾固冲方促进肾中精气充盛、天癸成熟提供了理论依据。

### [参考文献]

- [1] Chen BY. Acupuncture normalize dysfunction of hypothalamic pituitary ovarian axis [J]. Acupunct Electrother Res, 1997, 22(2): 97-108.
- [2] Chen BY, Cheng LH, Gao H, et al. Effects of electroacupuncture on the expression of estrogen receptor protein and mRNA in rat brain [J]. Sheng Li Xue Bao, 1998, 50(5): 495-500.
- [3] 戴方伟, 陈文文, 毛栋森, 等. 多种检测方法在雌性SD大鼠真性性早熟模型中的应用及其临床意义 [J]. 中国儿童保健杂志, 2009, 17(5): 566-568.
- [4] Marcondes FK, Bianchi FJ, Tanno AP. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations [J]. Braz J Biol, 2002, 62(4A): 609-614.
- [5] 王洁, 吴素慧, 尚海霞. 性成熟雌性SD大鼠动情周期的观察 [J]. 当代医学, 2013, 19(28): 25-26.
- [6] 禹良艳, 华永庆, 朱敏, 等. 四物汤及其组成药对对大鼠卵巢颗粒细胞增殖的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(6): 141-144.

(责任编辑:冯天保,郑锋玲)