

菝葜皂苷元对去卵巢大鼠内分泌及抗氧化功能的影响

杨茗¹, 季晖^{1*}, 戴胜军², 傅风华²

(1. 中国药科大学 药理学教研室, 江苏 南京 210009; 2. 山东省天然药物工程技术研究中心, 山东 烟台 264005)

更年期综合征在女性群体中发病率较高, 症状也较突出。女性进入绝经期后, 由于卵巢功能衰退、性激素水平骤减而导致的植物神经功能紊乱及内分泌失调的一系列症状相继出现, 如潮热盗汗、心悸、失眠、健忘、免疫力低下、骨质疏松等, 给女性身心健康及生活质量带来不利影响。知母为百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bunge 的干燥根茎, 具有清热泻火、滋阴润燥、滑肠之功效, 善治肺胃实热、阴虚烦热、消渴诸症, 为常用中药。菝葜皂苷元 (sarsasapogenin, SAR) 是知母的重要有效成分之一, 有研究表明 SAR 有明显的抗衰老作用, 能增强老年动物大脑胆碱能系统功能, 改善脑内自由基代谢, 提高学习记忆能力^[1,2]。为进一步探讨其药理活性, 本实验在去卵巢更年期大鼠模型上观察了知母皂苷元对机体内分泌及抗氧化能力的影响, 以期为 SAR 治疗更年期综合征提供实验依据。

1 材料

菝葜皂苷元 (SAR, 山东省天然药物工程技术研究中心提供, 质量分数 > 95%); 己烯雌酚 (上海通用药业有限公司, 批号 020129); 更年安片 (江西济民可信药业有限公司, 批号 040303); 均用 0.5% 羧甲基纤维素钠配制成所需浓度。超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、谷胱甘肽 (GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSHP-Px)、过氧化氢酶 (CAT) 检测试剂盒为南京建成生物技术有限公司产品; 雌二醇 (E_2)、促卵泡激素 (FSH)、黄体生成素 (LH)、促甲状腺素 (TSH) 及皮质醇 (F) 等放免试剂盒由中美合资天津九鼎医学生物工程有限公司提供。SpectraMax 酶标仪 (BioRad, 550, 美国), AE240 电子天平 (梅特勒-托利多仪器公司上海分公司), FMJ 全自动放射免疫 γ 计数仪 (上海技术监督局实验工厂)。动物: SD 大鼠, 雌性, 体重 200~250 g, 由山东省天然药物工程技术研究中心实验动物中心提供, 合格证号: 鲁动质字 200106005 号。自由饮水饮食, 环境温度 (22±5) °C。

2 方法

2.1 动物处理: 将大鼠随机分为 6 组, 每组 10 只。分别为: 假手术组、去卵巢模型组、SAR 低剂量组 (10 mg/kg)、SAR 高剂量组 (50 mg/kg)、己烯雌酚组 (50 μ g/kg)、更年安组 (1 g/kg)。大鼠 10% 水合氯醛 0.3 mL/100 g ip 麻醉后, 除假手术组外其余各组行双侧卵巢摘除术, 假手术组大鼠手术切除一小块脂肪, 然后双层缝合手术伤口。术后第 5 天开始进行阴道涂片检查, 每天 1 次, 连续 5 d, 以证明更年期模型建立成功。术后第 10 天开始 ig 给药, 连续 30 d。各组动物每周称体重 1 次, 并根据体重调整药量, 处死前 1 天禁食 12 h。末次给药后 24 h, 称体重, 麻醉, 腹主动脉取血, 常规分离血清, -20 °C 冻存, 处死动物后迅速剥离主要脏器。

2.2 检测指标

2.2.1 相关脏器指数: 摘取胸腺、脾、肾上腺、子宫称质量, 计算脏器指数。

2.2.2 激素水平测定: E_2 、LH、FSH、TSH 及 F 水平采用激素放射免疫法, 每组随机选取 8 只大鼠血清进行测定。

2.2.3 抗氧化功能: SOD、MDA、GSH、GSH-Px、CAT 检测均按照试剂盒说明书进行。

2.3 统计学处理: 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组均值之间比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 对相关脏器指数的影响: 由表 1 可见, 去卵巢后大鼠体重增长加快, 肾上腺、子宫质量减轻而胸腺质量增加, 与假手术组相比差异显著 ($P < 0.01$), 脾指数变化不明显。SAR 对实验动物体重及肾上腺、子宫质量的影响与己烯雌酚相似, 能明显抑制模型大鼠体重增长, 同时使肾上腺及子宫指数增大, 与模型组相比差异显著 ($P < 0.05, 0.01$), 但作用较己烯雌酚弱。己烯雌酚组在饲喂过程中发现有明显的消瘦、食欲减退、毛色晦暗等现象, 而 SAR 组大鼠状态良好, 无上述表现。SAR 和更年安对去卵巢后出

收稿日期: 2006-05-09

作者简介: 杨茗 (1976—), 女, 博士, 研究方向为老年药理学。Tel: 13396383355

* 通讯作者 季晖 Tel: (025) 86021369 E-mail: Huijicpu@163.com

现的胸腺增生均无明显影响 ($P>0.05$), 而已烯雌酚对其有明显的抑制 ($P<0.01$)。

3.2 对激素水平的影响: 由表 2 可见, 大鼠去卵巢后血清 E_2 水平降低, 而 FSH 及 LH 水平增高, 与假手术组相比差异显著 ($P<0.05, 0.01$)。SAR 组与模型组相比 E_2 水平明显增高 ($P<0.05, 0.01$), 但增高程度较己烯雌酚弱; FSH 及 LH 数值呈增高趋势, 高剂量组与模型组相比有显著差异 ($P<0.05$)。模型组 TSH 值明显增高, 而 F 值明显降低; SAR 与其他各组相比统计分析无显著性差异, 但从数值

上看, SAR 有使 TSH 及 F 值趋于正常的趋势。

3.3 对机体抗氧化能力的影响: 由表 3 可见, 与假手术组相比, 去卵巢大鼠 MDA 水平升高 ($P<0.05$), 而 SOD、GSH 及 GSH-Px 活性明显下降 ($P<0.05, 0.01$), CAT 活性也有下降趋势, 说明大鼠去卵巢后清除氧自由基的能力降低, 自由基代谢紊乱; SAR 治疗组与模型组相比各项指标均有所改善, MDA 值减小, 而其他指标显著增高 ($P<0.05, 0.01$)。此结果提示 SAR 可有效提高机体清除自由基及抗氧化损伤能力。

表 1 SAR 对去卵巢大鼠体重及胸腺、脾脏、肾上腺、子宫指数的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 1 Effect of SAR on body weight and indexes of thymus, spleen, adrenal gland, and uterus in OVX rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	体重增长率/%	胸腺指数/(g·kg ⁻¹)	脾脏指数/(g·kg ⁻¹)	肾上腺指数/(g·kg ⁻¹)	子宫指数/(g·kg ⁻¹)
假手术	—	16.10±2.64	1.51±0.30	2.40±0.46	0.125±0.023	2.44±0.36
模型	—	37.56±11.12△△	2.23±0.52△△	2.23±0.33	0.072±0.012△△	0.54±0.09△△
SAR	10	27.80±8.39△△*	2.26±0.48△△	2.39±0.22	0.096±0.029△*	0.93±0.38△△*
	50	25.10±7.83△△*	2.25±0.59△△	2.43±0.25	0.107±0.031**	1.02±0.33△△**
己烯雌酚	0.05	11.97±4.72△△*	1.51±0.48**	2.56±0.28*	0.149±0.036**	1.51±0.29△△**
更年安	1 000	35.32±7.95△△	2.32±0.60△△	2.60±0.42*	0.103±0.021△**	0.50±0.12△△

与假手术组比较: △ $P<0.05$ △△ $P<0.01$; 与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

△ $P<0.05$ △△ $P<0.01$ vs Sham group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group

表 2 SAR 对去卵巢大鼠血清 E_2 、FSH、LH、TSH 和 F 水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 2 Effect of SAR on E_2 , FSH, LH, TSH, and F levels in serum of OVX rats ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	E_2 /(pg·mL ⁻¹)	FSH/(mIU·mL ⁻¹)	LH/(mIU·mL ⁻¹)	TSH/(μIU·mL ⁻¹)	F/(ng·mL ⁻¹)
假手术	—	18.93±2.66	2.14±0.74	1.41±0.44	2.63±0.52	10.54±1.25
模型	—	8.90±1.70△△	3.40±0.95△	2.83±0.42△△	3.33±0.74△	9.16±1.27△
SAR	10	11.93±2.83△△*	3.60±0.66△△	3.00±0.42△△	3.07±0.67	9.72±1.26
	50	13.91±2.60△△**	4.28±0.63△△*	3.34±0.45△△*	2.98±0.66	9.84±1.36
己烯雌酚	0.05	15.80±2.68△△**	2.25±0.76*	1.89±0.51**	2.68±0.61	10.03±1.40
更年安	1 000	9.89±2.21△△	3.44±0.87△△	2.89±0.49△△	3.06±0.73	9.91±1.23

与假手术组比较: △ $P<0.05$ △△ $P<0.01$; 与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

△ $P<0.05$ △△ $P<0.01$ vs Sham group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group

表 3 SAR 对去卵巢大鼠血清 MDA 水平及 SOD、GSH、GSH-Px、CAT 活性的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 3 Effect of SAR on MDA level and SOD, GSH, GSH-Px, and CAT activities in serum of OVX rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	SOD/(U·mL ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)	GSH/(mg·mL ⁻¹)	GSH-Px/(μmol·L ⁻¹)	CAT/(U·mL ⁻¹)
假手术	—	57.61±0.70	13.33±2.89	133.31±15.76	326.65±4.41	1.83±0.41
模型	—	56.81±0.88△	16.30±2.61△	92.53±17.80△△	317.81±6.77△△	1.55±0.49
SAR	10	57.81±0.93*	12.59±3.24*	115.08±17.90△*	325.51±6.39*	1.86±0.23
	50	58.51±0.89△△**	11.85±2.94**	128.21±16.50**	330.93±5.94**	2.07±0.27*
己烯雌酚	0.05	56.79±1.40	15.83±3.45	133.90±20.60**	325.80±6.60*	1.03±0.56△△*
更年安	1 000	57.99±1.27*	12.92±2.14*	99.69±17.97△△	324.16±4.70*	1.75±0.56

与假手术组比较: △ $P<0.05$ △△ $P<0.01$; 与模型组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$

△ $P<0.05$ △△ $P<0.01$ vs Sham group; * $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs model group

4 讨论

更年期综合征的发生、发展与卵巢功能衰退、性激素失调有关。本实验中, 去卵巢大鼠血清 E_2 减少, FSH、LH 增高, 子宫明显萎缩; SAR 治疗组血清 E_2 水平明显提高、子宫萎缩程度减轻, 但其恢复程度不

及己烯雌酚组; 而且与己烯雌酚组不同的是, 去卵巢后由于低雌激素水平对垂体的负反馈作用减弱而导致的 FSH、LH 水平的增高, 在应用 SAR 处理后不降反升。因据李仪奎报道^[3], 能使去卵巢成年大鼠子宫质量增加的中药, 一般具有雌激素样作用; 而

Shiizaki 等^[4]通过具有高敏感的生化实验发现治疗绝经后紊乱的许多中草药中含有植物雌激素,只是大多数中草药的雌激素活性是很微弱的。据此推测 SAR 可能具有弱雌激素活性,可通过强化低雌激素水平所致的正反馈调节作用而促进下丘脑和垂体分泌促性腺激素。

本实验中模型组大鼠肾上腺指数及血清 F 水平较假手术组均明显降低 ($P < 0.01, 0.05$),而 SAR 治疗组与之相比肾上腺指数明显增大 ($P < 0.05, 0.01$),F 水平也有增高趋势,数值与假手术组相当 ($P > 0.05$)。提示 SAR 能减轻去卵巢大鼠肾上腺萎缩,使肾上腺功能维持于正常水平。因为有研究显示,雌激素除对生殖器官和垂体分泌有调节作用外,可能对肾上腺的功能也有直接影响。Wemert 等^[5]在给大鼠 ip E_2 观察肾上腺形态变化的研究中,发现用药第 2 周肾上腺质量增加,束状带细胞体积增大。这进一步提示 SAR 可能具有雌激素活性。另外,肾上腺皮质网状带可分泌少量雄激素,通过脂肪组织和大脑神经细胞再将其转化为雌激素。卵巢切除后,肾上腺就成了合成性激素的主要脏器。因此推测 SAR 上调雌激素的作用也可能与其保护肾上腺并促进肾上腺皮质网状带分泌性激素有关。

本实验中模型组大鼠体重增长明显加快,与文献报道一致^[6]。这与雌激素水平骤减,对垂体的抑制作用减弱,导致继发性下丘脑、垂体功能亢进及植物神经功能紊乱,致使糖脂代谢异常有关。实验发现,模型组大鼠 TSH 值升高明显,与假手术组相比差异显著 ($P < 0.05$),这可能是因为机体代谢水平降低而引起 TSH 反射性增高。SAR 对去卵巢大鼠的体重增长有明显的抑制作用,而且 SAR 组 TSH 数值与假手术组相比无明显差异 ($P > 0.05$),此结果提示 SAR 可调节 TSH 水平,进而使机体代谢维持于正常。

胸腺是神经-内分泌-免疫网络中的一个重要器官,胸腺指数在一定程度上反映了机体免疫功能的强弱。有研究表明胸腺上皮有高亲和性的雌激素受

体,过高的雌激素可通过改变微环境而使胸腺细胞凋亡。本实验结果显示,去卵巢大鼠的胸腺指数明显升高,这可能与去卵巢后免疫功能部分重建有关;己烯雌酚组胸腺出现萎缩,而 SAR 对胸腺指数无明显影响,说明 SAR 在增加大鼠血清 E_2 同时,不使胸腺指数变小,这将有利于该药治疗妇女更年期综合征,有利于患者的康复。

在衰老过程中,机体对自由基的清除能力逐渐降低,其代谢产物在组织中不断堆积。MDA 是自由基脂质过氧化的分解产物,其水平的变化间接反映了组织中自由基的变化。清除自由基的酶类主要有 SOD、CAT、以 GSH-Px 为代表的过氧化物酶及谷胱甘肽硫转移酶 (G-ST) 等。本实验发现,SAR 可明显升高去卵巢大鼠血清 SOD、CAT、GSH-Px 活力、提高 GSH 水平,降低血清 MDA 水平,说明 SAR 可有效提高去卵巢大鼠抗氧化能力,延缓衰老。

References:

- [1] Chen Q, Hu Y E, Xia Z Q. Action of Sapogenin from Zhimu on learning and memory ability and free-radical metabolism in mouse *D*-galactose demetia model [J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med* (中药药理与临床), 2000, 16(5): 14-16.
- [2] Chen Q, Cao Y G, Lin Y M, et al. Effects of sapogenin from zhimu (ZMS) and its isomer on learning and memory ability and muscarinic subtype M1 receptor density in aged rats [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报), 2004, 20(5): 561-564.
- [3] Li Y K. *Methodology in Pharmacological Experiment of Chinese Materia Medica* (中药药理学实验方法学) [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1991.
- [4] Shiizaki K, Goto K, Ishige A, et al. Bioassay of phytoestrogen in herbalmedicines used for postmenopausal disorder using transformed MCF-t cells [J]. *Phytother Res*, 1999, 13(6): 498-503.
- [5] Wernert N, Antalffy A, Dhom G. Effects of estradiol on adrenal cortex and medulla of the rat morphometric studies [J]. *Pathe Res Pract*, 1986, 181(5): 551-557.
- [6] Picard F, Deshaies Y, Lalonde J, et al. Effects of the estrogen antagonist EM-652. HD on energy balance and lipid metabolism in ovariectomized rats [J]. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 2000, 24(7): 830-840.

敬告读者

《中草药》杂志编辑部尚存部分过刊合订本,包括:1974-1975 年、1976 年、1979 年、1985-1994 年(80 元/年),1995-1997 年(110 元/年)、1998 年(120 元/年)、1999 年(135 元/年)、2000 年(180 元/年)、2001-2003 年(200 元/年)、2004 年(220 元/年)、2005 年(260 元/年)、2006 年(280 元/年)。1996 年增刊(50 元)、1997 年增刊(45 元)、1998 年增刊(55 元)、1999 年增刊(70 元)、2000 年增刊(70 元)、2001 年增刊(70 元)、2002 年增刊(65 元)、2003 年增刊(65 元)、2004 年增刊(65 元)、2005 年增刊(65 元)、2006 年增刊(65 元)。欢迎订购。订阅者请直接与《中草药》杂志编辑部联系。

电话:(022) 27474913 23006821

传真:(022) 23006821

E-mail: zcyzzbjb@tjipr.com