

doi:10.3969/j.issn.1674-4616.2022.06.005

消癥丸对乳腺增生大鼠性激素水平 及抗氧化能力的影响

姜 珊¹ 聂艳艳¹ 张亚云² 王 佳² 赵 莹^{1△}

¹上海实验动物研究中心应用技术部,上海 201210

²雷允上药业集团有限公司研发部,江苏苏州 215009

摘要 **目的** 探讨消癥丸对乳腺增生大鼠性激素水平及抗氧化能力的影响。**方法** 采用雌二醇和黄体酮干预雌性未孕大鼠诱导乳腺增生模型。阳性对照组予 2 mg/kg 他莫昔芬灌胃,低剂量治疗组予 0.62 g/kg 消癥丸灌胃,高剂量治疗组予 2.48 g/kg 消癥丸灌胃。测量各组大鼠乳头直径和高度,HE 染色观察各组大鼠乳腺组织病理学表现。检测各组大鼠血清雌二醇(estradiol, E_2)、孕酮(progesterone, P)、催乳素(prolactin, PRL)及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)水平。**结果** 与模型对照组相比,高剂量治疗组大鼠乳头直径和高度显著降低($P < 0.05$),血清 E_2 、PRL、MDA 水平显著降低($P < 0.05$),血清 P、SOD、GSH-Px 水平显著升高($P < 0.05$)。**结论** 消癥丸可有效改善大鼠乳腺增生,其作用机制可能与调节性激素水平、增强抗氧化能力有关。

关键词 消癥丸;乳腺增生;性激素;抗氧化

中图分类号 R269 **文献标志码** A

Effect of Xiaozheng Pills on Sex Hormone Levels and Antioxidant Capacity in Rats with Mammary Glands Hyperplasia

JIANG Shan¹, NIE Yanyan¹, ZHANG Yayun², WANG Jia², ZHAO Ying^{1△}

¹Department of Applied Technology, Shanghai Laboratory Animal Research Center, Shanghai 201210, China

²Department of Research and development, Leiyunshang Pharmaceutical Group Co., Ltd, Suzhou 215009, China

Abstract **Objective** To investigate the effect of Xiaozheng pills on sex hormone levels and antioxidant capacity in rats with mammary glands hyperplasia. **Methods** The model of mammary glands hyperplasia was induced by estradiol and progesterone in female nonpregnant rats. The positive control group were treated with 2 mg/kg tamoxifen intragastric administration, the low-dose treatment group were treated with 0.62 g/kg Xiaozheng pills, and the high-dose treatment group were treated with 2.48 g/kg Xiaozheng pills. Diameter and height of rat nipple were measured in each group, and mammary histopathological findings of each group were visualized by HE staining. Serum levels of estradiol (E_2), progesterone (P), prolactin (PRL), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), and glutathione peroxidase (GSH-Px) in each group of rats were measured. **Results** Compared with the model control group, diameter and height of rat nipple in the high-dose treatment were significantly reduced ($P < 0.05$), serum levels of E_2 , PRL, and MDA were significantly reduced ($P < 0.05$), and serum levels of P, SOD, and GSH-Px were significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Xiaozheng pills could significantly improve the mammary gland hyperplasia in rats, and its mechanism of action might be related to the regulation of sex hormone levels and enhance antioxidant capacity.

Key words Xiaozheng pills; mammary glands hyperplasia; sex hormone; antioxidation

乳腺增生是一种以乳腺组织导管和乳腺小叶发生结构上的退行性改变和进行性结缔组织增生为特征的乳房疾病,发病率较高,可能发展成乳腺癌,严重威胁患者健康。现代医学研究^[1-2]认为,乳腺增生大多数是由于内分泌系统失调所致,雌激素与孕激素分泌失调是最终导致乳腺增生的主要原因之一。消癥丸由柴胡、香附、大黄、青皮、浙贝母、白芍、王不留行等 11 味中药材组成,具有疏肝行气、活血化瘀、软坚散结的功效,主治气滞血瘀痰凝所致的乳腺增生病。前期研究^[3-4]表明,消癥丸具有抗乳腺增生作用,能减轻乳房疼痛,缓解有关症状,但确切的作用机制尚未完全清楚。本研究旨在通过构建大鼠乳腺增生模型,观察中成药消癥丸对乳腺增生大鼠性激素水平及抗氧化能力的影响,以期为进一步研究消癥丸治疗乳腺增生症的机制提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

40 只雌性未孕 SD 大鼠,体质量 180~220 g,购自上海市计划生育科学研究所实验动物经营部,动物合格证编号 0041927,许可证号 SCXK(沪)2018-0006。

1.2 实验药品及试剂

消癥丸(雷允上药业集团有限公司,国药准字 Z20100057),药物组成为柴胡、香附、大黄(酒炙)、青皮、川芎、莪术、土鳖虫、浙贝母、当归、白芍、王不留行。苯甲酸雌二醇注射液、黄体酮注射液购自宁波三生生物科技有限公司。枸橼酸他莫昔芬购自扬子江药业集团有限公司。

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)及谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)试剂盒购自南京建成生物工程研究所。雌二醇(estradiol, E₂)、孕酮(progesterone, P)及催乳素(prolactin, PRL)酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒购自上海鑫乐科技有限公司。

1.3 造模及干预方法

乳腺增生大鼠造模方法参考文献^[5],适应性喂养后,大鼠分别予以 0.5 mg/kg 苯甲酸雌二醇注射液肌肉注射,1 次/d,连续 25 d;再予以 5 mg/kg 黄体酮注射液肌肉注射,1 次/d,连续 5 d;共 30 d。

40 只 SD 大鼠随机分为 5 组,分别为空白对照组、模型对照组、阳性对照组、低剂量治疗组、高剂量治疗组,每组 8 只。除空白对照组外,模型对照组、阳性对照组、低剂量治疗组、高剂量治疗组大鼠均进行造模

处理。空白对照组大鼠则予以等量无菌大豆油肌肉注射,1 次/d。

造模 10 d 后,阳性对照组予以 2 mg/kg 他莫昔芬灌胃给药,低剂量治疗组予以 0.62 g/kg 消癥丸灌胃给药,高剂量治疗组予以 2.48 g/kg 消癥丸灌胃给药,空白对照组和模型对照组则予以等体积蒸馏水灌胃处理,均为 1 次/d,连续干预 4 周。实验期间,大鼠自由进食、进水,保持垫料干燥,12 h 交替照明。本动物实验经上海实验动物研究中心福利伦理委员会审批(No. 210518044)。

1.4 检测指标及方法

1.4.1 乳腺形态、病理学表现观察

末次干预给药 24 h 后,游标卡尺精确测量大鼠第 2 对乳头直径和高度,并取下第 2 对完整的乳头,用 10%中性福尔马林固定 24 h 后石蜡包埋、切片、HE 染色,制作病理切片,在光学显微镜下观察乳腺组织病理学表现。

1.4.2 性激素、氧化应激水平检测

末次干预给药 24 h 后,麻醉大鼠,腹主动脉采血,4 ℃、3000 r/min 离心 10 min,吸取上层血清,严格按照试剂盒说明书进行操作,采用 ELISA 法检测各组大鼠血清 E₂、P、PRL 水平,采用比色法检测各组大鼠血清 SOD、GSH-Px、MDA 水平。

1.5 统计学方法

采用 GraphPad Prism 7.0 软件,所有数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 乳头直径、乳头高度比较

与空白对照组比较,模型对照组大鼠乳头直径显著增大($P < 0.05$),乳头高度显著增高($P < 0.05$)。与模型对照组比较,阳性对照组、低剂量治疗组、高剂量治疗组大鼠乳头直径显著缩小($P < 0.05$),乳头高度显著降低($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠乳头直径、乳头高度比较
($n = 8, \text{mm}, \bar{x} \pm s$)

组别	乳头直径	乳头高度
空白对照组	0.98±0.14	1.18±0.10
模型对照组	1.48±0.13 [*]	1.39±0.05 [*]
阳性对照组	1.15±0.10 [△]	1.27±0.14 [△]
低剂量治疗组	1.25±0.10 [△]	1.25±0.05 [△]
高剂量治疗组	1.11±0.08 [△]	1.27±0.07 [△]

与空白对照组比较^{*} $P < 0.05$;与模型对照组比较[△] $P < 0.05$

2.2 乳腺组织病理学变化

光学显微镜下,空白对照组大鼠乳腺组织未见明显病理性改变。相比空白对照组,模型对照组大鼠乳腺组织中腺泡数量增多,乳腺小叶呈纤维腺瘤样增生,腺腔扩张充满分泌物,导管增生扩张充满分泌物,腺泡上皮增生明显,小叶内纤维组织增多。相比模型对照组,阳性对照组大鼠乳腺增生情况得到改善,腺泡开始萎缩,数目减少,导管内分泌物减少,增生情况得到改善。高剂量治疗组可观察到乳腺小叶和腺泡数目显著减少。见图 1。

2.3 血清 E₂、P、PRL 水平比较

与空白对照组比较,模型对照组大鼠血清 E₂、

PRL 水平显著升高($P<0.05$),P 水平显著降低($P<0.05$)。与模型对照组比较,阳性对照组、高剂量治疗组大鼠 E₂、PRL 水平明显降低($P<0.05$),P 水平显著升高($P<0.05$)。见表 2。

2.4 血清 SOD、GSH-Px、MDA 水平比较

与空白对照组比较,模型对照组大鼠血清 SOD、GSH-Px 水平显著降低($P<0.05$),MDA 水平显著升高($P<0.05$)。与模型对照组比较,阳性对照组、高剂量治疗组大鼠 SOD、GSH-Px 水平显著升高($P<0.05$),MDA 水平显著降低($P<0.05$)。见表 3。

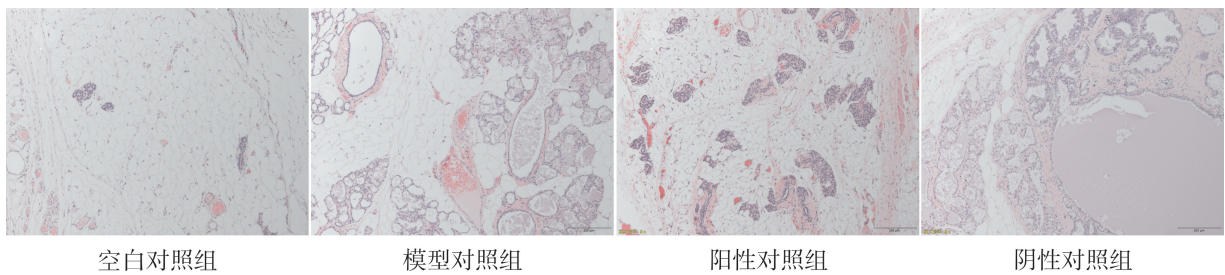


图 1 各组大鼠乳腺组织病理表现(×100)

表 2 各组大鼠血清 E₂、P、PRL 水平比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	E ₂ (ng/L)	P(ng/mL)	PRL(ng/mL)
空白对照组	13.54±5.18	14.14±5.45	9.46±2.60
模型对照组	22.68±4.12*	7.09±3.02*	17.02±4.38*
阳性对照组	16.19±5.01 [△]	13.14±4.41 [△]	10.21±3.54 [△]
低剂量治疗组	21.37±4.07	10.04±2.98	13.89±5.29
高剂量治疗组	16.22±4.58 [△]	12.13±2.47 [△]	11.33±4.22 [△]

与空白对照组比较* $P<0.05$;与模型对照组比较[△] $P<0.05$

表 3 各组大鼠血清 SOD、GSH-Px、MDA 水平比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	SOD(U/mL)	GSH-Px(U/mL)	MDA(nmol/mL)
空白对照组	144.98±13.62	817.69±67.59	6.94±1.77
模型对照组	123.05±8.33*	718.03±51.36*	10.68±3.96*
阳性药物对照组	144.50±11.42 [△]	803.74±66.37 [△]	7.32±1.60 [△]
低剂量治疗组	136.27±8.83	757.98±43.77	9.82±2.40
高剂量治疗组	140.61±11.37 [△]	791.27±41.88 [△]	7.56±1.36 [△]

与空白对照组比较* $P<0.05$;与模型对照组比较[△] $P<0.05$

3 讨论

乳腺增生性疾病是女性最为常见的乳房疾病之一,现代医学认为其发病是由于内分泌失调或其他因素导致的腺体正常结构紊乱及乳腺增生。主要表现为乳房包块和乳房疼痛,常见为单侧或双侧乳房胀痛或触痛,伴有月经失调、情志改变等,且随月经呈周期性变化,病程长、发展缓慢。中医学关于乳腺增生具有独特的理论体系,本病可归属于“乳癖”范畴。《外

科正宗》认为本病的病因在于“忧郁伤肝,思虑伤脾,积想在心,所愿不得,致经络痞涩,聚结成核”,多与患者的情志、饮食、过度劳累有关。

乳腺为性激素的靶器官,乳腺组织主要接受 E₂、P 和 PRL 的调控。E₂可促进乳腺导管及管周纤维组织生长,P 可促进乳腺小叶及腺泡组织的发育,PRL 可促进乳腺发育生长、发育并维持泌乳。PRL 的升高也会直接刺激乳腺组织并进一步抑制黄体期 P 的分泌,同时能刺激 E₂ 的合成,有助于 E₂ 水平升高而持续刺

激乳腺组织进而引起乳腺增生。本实验结果显示,与模型对照组相比,空白对照组、消癥丸高剂量治疗组大鼠血清 E_2 、PRL 水平显著降低,P 水平显著升高;提示乳腺增生模型大鼠会出现血清性激素水平异常,同时消癥丸具有一定的调节性激素水平作用。

乳腺增生症患者常伴有全身或乳腺局部炎症反应和氧化应激状态^[6]。雌激素能够刺激乳腺细胞的生长和增殖从而使乳腺发育,并且能够产生大量的活性氧并导致高水平的氧化应激^[7]。SOD、MDA 和 GSH-Px 是反应体内抗氧化能力的重要指标。本实验结果显示,与模型对照组相比,空白对照组和消癥丸高剂量治疗组大鼠血清 SOD、GSH-Px 水平显著升高,MDA 水平显著降低;提示消癥丸可显著改善乳腺增生大鼠的氧化应激反应,增强抗氧化能力。

综上所述,消癥丸可有效改善大鼠乳腺增生,其作用机制可能与调节性激素水平、增强抗氧化能力有关。

参 考 文 献

- [1] Jia Y, Liu X, Jia Q, et al. The anti-hyperplasia of mammary gland effect of protein extract HSS from *Tegillarca granosa*[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 85: 1-6.
- [2] Chen T, Li J, Chen J, et al. Anti-hyperplasia effects of *Rosa rugosa* polyphenols in rats with hyperplasia of mam-

mary gland[J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2015, 39(2): 990-996.

- [3] 王建刚,陈琦,严张仁,等. 消癥丸治疗乳腺增生病临床观察[J]. *中国中医药现代远程教育*, 2018, 16(6): 118-120.
- [4] 温海辉,黄文斌,蓝进,等. 消癥丸治疗气滞血瘀痰凝型乳腺增生的安全性和有效性[J]. *中国现代药物应用*, 2021, 15(10): 24-26.
- [5] 胡彦武,任立群, Rita, 等. 复方鹿角乳痛宁胶囊对乳腺增生大鼠的改善作用及其机制研究[J]. *中国药房*, 2016, 27(1): 29-32.
- [6] 王忠超,李敏,张彬,等. 蒙药乳腺-I 号对乳腺增生大鼠抗氧化能力、乳腺组织雌激素受体和孕激素受体表达的影响[J]. *吉林大学学报(医学版)*, 2012, 38(6): 1052-1057, 1036.
- [7] Karki K, Pande D, Negi R, et al. Expression of serum toll-like receptor 9 and oxidative damage markers in benign and malignant breast diseases[J]. *DNA Cell Biol*, 2014, 33(9): 630-636.
- [8] Chen H, Mo X, Yu J, et al. Alpinetin attenuates inflammatory responses by interfering toll-like receptor 4/nuclear factor kappa B signaling pathway in lipopolysaccharide-induced mastitis in mice[J]. *Int Immunopharmacol*, 2013, 17(1): 26-32.

(收稿日期: 2022-06-21)

(上接第 364 页)

参 考 文 献

- [1] Kondziella D, Bender A, Diserens K, et al. European academy of neurology guideline on the diagnosis of coma and other disorders of consciousness[J]. *Eur J Neurol*, 2020, 27(5): 741-756.
- [2] Bender A, Jox RJ, Grill E, et al. Persistent vegetative state and minimally conscious state: a systematic review and meta-analysis of diagnostic procedures[J]. *Dtsch Arztebl Int*, 2015, 112(14): 235-242.
- [3] Song M, Yang Y, Yang Z, et al. Prognostic models for prolonged disorders of consciousness: an integrative review[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2020, 77(20): 3945-3961.
- [4] Hodelin-Tablada R. Minimally Conscious State: Evolution of Concept, Diagnosis and Treatment[J]. *MEDICC Rev*, 2016, 18(4): 43-46.
- [5] Giacino JT, Ashwal S, Childs N, et al. The minimally conscious state: definition and diagnostic criteria[J]. *Neurology*, 2002, 58(3): 349-353.
- [6] 石学敏. 脑卒中与醒脑开窍[M]. 北京: 科学出版社, 2007: 561-567.

- [7] Michie PT, Malmierca MS, Harms L, et al. The neurobiology of MMN and implications for schizophrenia[J]. *Biol Psychol*, 2016, 116: 90-97.
- [8] 吴雨晨. 切尔西物理功能评估量表的汉化与临床应用[D]. 甘肃: 兰州大学, 2020.
- [9] 勉闻光,郑良成,黄珍. 脑复苏药物治疗新进展[J]. *海军医学杂志*, 2016, 37(4): 382-384.
- [10] 秦晓雅,万力源,赵晓平. 颅脑损伤术后意识障碍非药物治疗促醒方法进展[J]. *世界最新医学信息文摘*, 2019, 19(50): 74-75.
- [11] 王丽芬,姚艳玲,崔景军. 电针人中穴对大鼠中动脉梗死大鼠脑皮质局部血流量的影响[J]. *吉林中医药*, 2019, 39(10): 1339-1341, 1346.
- [12] 李牧洋,王婷婷,陈波,等. 电针足三里-环跳穴对不同状态大鼠血清外泌体表达的影响[J]. *陕西中医*, 2019, 40(2): 139-142.
- [13] 鲍英存,张芳,李群,等. “醒脑开窍”针法对脑外伤植物状态患者的促醒效应[J]. *中国针灸*, 2021, 41(11): 1225-1228.

(收稿日期: 2022-08-03)