

解郁降压颗粒结合音乐疗法 对围绝经期高血压病大鼠性激素水平的影响

李晶¹, 李志²

(1. 江苏省高邮市中医医院, 江苏 扬州, 225600;

2. 湖南省中医药研究院附属医院, 湖南 长沙, 410006)

[摘要] 目的: 观察解郁降压颗粒结合音乐疗法对围绝经期高血压病模型大鼠性激素的调节作用, 初步探讨解郁降压颗粒结合音乐疗法治疗围绝经期高血压病的可能机制。方法: 选用动情周期规律的 SPF 级雌性自发性高血压 (SHR) 大鼠, 将其随机分成 SHR 组、假手术组、围绝经期高血压病模型组 (简称模型组)、解郁降压颗粒加音乐疗法组 (简称治疗组); 另设 WKY 大鼠作为正常血压对照组。通过摘除双侧卵巢方法建立围绝经期高血压病模型, 待造模成功后, 予以相应干预。治疗结束后测量血清雌二醇 (E_2)、促卵泡生成素 (FSH)、促黄体生成素 (LH) 的含量, 同时测量大鼠动脉血管的平均光密度值 (OD 值)。结果: 与 SHR 组比较, 治疗组血压下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 治疗组 E_2 上升, OD 值上升, FSH、LH 含量下降, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 解郁降压颗粒结合音乐疗法对围绝经期高血压病模型大鼠有降压作用, 且能提高 SHR 模型大鼠血清 E_2 的含量, 降低 FSH、LH 含量, 改善 SHR 模型大鼠的内分泌环境; OD 值上升, 表示雌激素 α 受体 ($ER\alpha$) 水平提高; 而对内分泌环境的改善和 $ER\alpha$ 水平的提高可能是其降压机制之一。

[关键词] 围绝经期高血压病; 解郁降压颗粒; 音乐疗法; 实验研究

[中图分类号] R259.441 **[文献标识码]** A DOI: 10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2019.09.060

Effect of Jieyu Jiangya granules combined with music therapy on the levels of sex hormones in a rat model of perimenopausal hypertension

LI Jing¹, LI Zhi²

(1. Gaoyou Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Yangzhou 225600, Jiangsu, China;

2. The Affiliated Hospital of Hunan Academy of Chinese Medicine, Changsha 410006, Hunan, China)

[Abstract] Objective: To investigate the regulatory effect of Jieyu Jiangya granules combined with music therapy on sex hormones in a rat model of perimenopausal hypertension, as well as the possible mechanism of Jieyu Jiangya granules combined with music therapy in the treatment of perimenopausal hypertension. Methods: Specific pathogen-free female spontaneous hypertension rats (SHRs) with a regular estrous cycle were selected and randomly divided into SHR group, sham-operation group, perimenopausal hypertension model group (model group), and Jieyu Jiangya granules + music therapy group (treatment group). WKY rats with normal blood pressure were selected as control group. A rat model of perimenopausal hypertension was established by resection of both ovaries, and corresponding intervention was given after the model was established successfully. After treatment, the serum levels of estradiol (E_2), follicle-stimulating hormone (FSH), and luteinizing hormone (LH) were measured, and the mean optical density (OD) value of arteries was also measured. Results: Compared with the SHR group, the treatment group had a significant reduction in blood pressure ($P < 0.05$), and compared with the model group, the treatment group had significant increases in E_2 and OD value and significant reductions in FSH and LH ($P < 0.05$). Conclusion: Jieyu Jiangya granules combined with music therapy exert an anti-hypertensive effect on rats with perimenopausal hypertension and can increase the serum level of E_2 , reduce the serum levels of FSH and LH, and improve endocrine environment in SHR model rats. An increase in OD value suggests an increase in estrogen receptor α ($ER\alpha$), and improvement of endocrine environment and an increase in $ER\alpha$ level may be one of the antihypertensive mechanisms of this treatment.

[Key words] perimenopausal hypertension; Jieyu Jiangya granules; music therapy; experimental study

基金项目: 湖南省中医药管理局资助项目 (编号: 201791)

第一作者: 李晶, 女, 2016 级硕士研究生, 研究方向: 中医药治疗心血管疾病

通讯作者: 李志, 女, 医学博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 中医药治疗心血管疾病, E-mail: 648392245@qq.com

围绝经期高血压病是指排除继发性高血压且合并围绝经期综合征的高血压,表现为促性腺激素分泌增多及自主神经功能紊乱^[1],临床上可见月经周期紊乱甚或闭经,且伴有头晕、头痛、心悸、胸闷、失眠、健忘、乍热汗出、激动易怒、焦虑不安、不明原因的水肿等症状。围绝经期的生理特点主要是卵巢功能减退,雌二醇(E_2)水平降低,下丘脑-垂体-卵巢轴失常,内分泌水平不稳定。有流行病学显示,心血管疾病的发生与性别、绝经前后有关,缺血性心脏病、高血压病等在绝经前患病率低于男性,绝经后明显高于男性,病死率也较前显著上升^[2-3],提示激素水平可对心脏与血压产生影响。女性围绝经期高血压病的特点主要是临床症状多、血压变异性高、易伴发情绪障碍等。目前对本病的治疗除了有效降压以外,更迫切的是要改善围绝经期的临床症状,这不仅仅是单靠降压药物就能解决的问题。虽然有研究提倡采用西药降压的同时联合补充雌激素的疗法,但也有研究认为,雌激素替代疗法对预防围绝经期心血管事件发生未见明显益处,反而可能会增加卒中和深静脉血栓的风险^[4]。中医学并无“围绝经期高血压病”的病名,但根据临床症状可将其归为“心悸”“眩晕”“失眠”“郁证”“脏躁”“经断前后诸症”等范畴。《内经》云:“女子七岁,肾气盛,齿更发长……七七,任脉虚,太冲脉衰少,天癸竭,地道不通,故形坏而无子也。”肝肾亏虚、精血不足是本病的关键病机,临床医家多从补益肝肾着手治疗^[5-11]。

解郁降压汤是李志教授通过多年临床总结的经验方,由柴胡、钩藤、石决明、煅龙骨、煅牡蛎、青蒿、地骨皮、合欢皮、川牛膝、桑寄生、丹参、郁金、酸枣仁、甘草组成,有平肝潜阳、滋阴清热、解郁安神之功,并结合心理疏导的方法治疗围绝经期高血压病。既往研究显示,予以患者解郁降压颗粒治疗并配合心理疏导,不仅能稳定血压,同时还能明显改善围绝经期的临床症状,取得较好的疗效^[12]。本研究通过摘除双侧卵巢方法建立围绝经期高血压病大鼠模型,并用音乐疗法替代心理疗法,观察解郁降压颗粒结合音乐疗法对围绝经期高血压病大鼠血压、性激素(E_2 、FSH、LH)及雌激素受体(ER)表达的影响,并从神经-内分泌-免疫网络方面探讨中药治疗围绝经期高血压病的作用机制,为围绝经期高血压病的预防、治疗及康复提供实验依据。

1 实验材料

1.1 动物 选取13周龄SPF级雌性SHR大鼠24只,体质量160~200g;13周龄的WKY大鼠6只,体质量160~200g,实验动物由北京维通利华动物实验技术有限公司提供[SCXK(京)2016-0011]。所有大鼠均经阴道脱落细胞涂片筛查动情周期,于动物实验中心病房(SPF级)清洁环境分笼喂养,前期适应性饲养1周。

1.2 药物及试剂 解郁降压颗粒主要成分为柴胡、钩藤、石决明、丹参、郁金、酸枣仁等,均购自湖南省中医药研究院附属医院中药房新绿药配方颗粒。ER α 放免试剂盒由北京博奥森公司提供, E_2 、FSH、LH ELISA 试剂盒均由上海晶天生物有限公司提供。

1.3 主要仪器 酶标仪(Labsystems Multiskan MS352,芬

兰);洗板机(Thermo Labsystems AC8,芬兰);离心机(TG16W,国产);BP-100A型大鼠尾动脉测压仪、显微镜等均由湖南中医药大学第一附属医院中医内科学动物实验室提供。

2 实验方法

2.1 动物分组 将性周期正常的24只健康雌性SHR(自发性高血压大鼠)随机分为SHR组、假手术组、模型组(即空白对照组)、治疗组,每组6只;6只WKY大鼠作为正常血压对照组(以下简称为WKY组)。

2.2 模型制备 采用BP-2010A型大鼠尾动脉测压仪给所有大鼠测量血压,参照文献[13]中切除双侧卵巢的方法对模型组及治疗组大鼠进行造模,SHR组不做处理;假手术组予以腹部切口并切除卵巢附近脂肪后立即缝合关闭。术后第5、7、10天行阴道脱落细胞涂片。10d后模型组及治疗组大鼠阴道脱落细胞涂片无明显动情周期变化,同时血压都处于高值水平, E_2 下降,FSH、LH升高,可判断围绝经期高血压病造模成功。

2.3 给药方法 造模成功后,治疗组予以解郁降压颗粒灌胃,给药剂量按人/鼠之间的体表面积等效剂量换算公式(《实验动物学》)计算,治疗组生药量为3.726g/200g体质量。灌胃后动物房内播放舒缓的古筝音乐《春江花月夜》1h,1次/d;WKY组、SHR组、假手术组、模型组均予等剂量蒸馏水灌胃,1次/d,不播放音乐。所有组别大鼠均连续给药30d,每6d测量一次血压,30d后禁食取材。

2.4 观察指标 末次给药结束后,各组大鼠禁食不禁水24h,腹主动脉取血,同时立即取下主动血管组织。采用ELISA法测量血清 E_2 、FSH、LH含量,免疫组化法测量动脉血管ER α 的OD值,具体操作严格按药盒说明执行。

2.5 统计学方法 采用SPSS 21.0统计学软件进行统计分析,计量资料数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,所有资料进行正态性检验,符合正态分布者,多组计量资料采用单因素方差分析及重复测量资料的方差分析(方差齐用LSD检验,方差不齐用Dutter检验)。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组大鼠血压比较 与WKY组比较,其余4组差异均有统计学意义。治疗后治疗组与SHR组、假手术组、模型组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。可见通过解郁降压颗粒结合音乐疗法虽然不能将大鼠血压降至正常范围,但可以降低血压水平。(见图1)

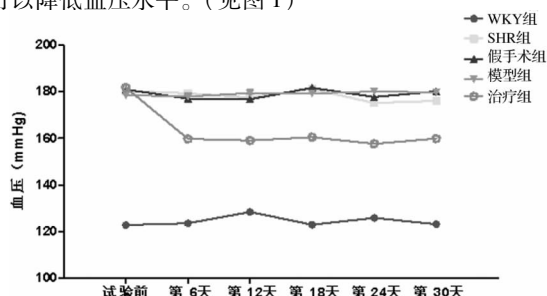


图1 各组大鼠血压比较

3.2 各组大鼠血清 E₂、FSH、LH 及 OD 值比较 与 SHR 组比较,模型组 E₂ 含量下降,FSH、LH 含量上升,OD 值下降,差异有统计学意义,说明造模成功;与模型组比较,治疗组 E₂ 含量上升,FSH、LH 含量下降,OD 值上升,差异有统计学意义。说明解郁降压颗粒结合音乐治疗,改善了围绝经期高血压病大鼠的性激素水平和 ER 表达。(见表 1)

表 1 各组大鼠血清 E₂、FSH、LH 及 OD 值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	E ₂ (pmol/l)	FSH(mIU/ml)	LH(mIU/ml)	OD 值
SHR 组	6	97.85 ± 6.61	5.36 ± 0.52	1.95 ± 0.32	0.37 ± 0.01
假手术组	6	96.27 ± 4.54	5.67 ± 0.65	1.93 ± 0.23	0.34 ± 0.04
模型组	6	78.4 ± 5.34 ^a	7.89 ± 0.57 ^a	3.33 ± 0.39 ^a	0.22 ± 0.02 ^a
治疗组	6	88.7 ± 4.95 ^{ab}	6.33 ± 0.63 ^{ab}	2.65 ± 0.56 ^{ab}	0.29 ± 0.03 ^{ab}

注:与 SHR 组比较,^aP < 0.05;与模型组比较,^bP < 0.05。

4 讨 论

目前围绝经期高血压病治疗多采用西医降压的同时联合激素替代(HRT)疗法,但大量研究证明长期应用 HRT 将增加乳腺癌、冠心病、卒中、阿尔茨海默病等疾病的风险^[14]。中医学认为,围绝经期高血压病与肝肾关系最为密切,亦与心脾关联,临床上多出现肝血不足、肝失条达、肝郁脾虚、情志不畅,或肝肾阴虚,阳亢于上,阴阳失调等症。解郁降压颗粒由柴胡、钩藤、石决明、煅龙骨、煅牡蛎、青蒿、地骨皮、合欢皮、川牛膝、桑寄生、丹参、郁金、酸枣仁、甘草组成,全方在平肝潜阳、疏肝解郁、滋阴清热的基础上佐以安神而奏效。方中地骨皮、川牛膝、丹参、柴胡等含有植物雌激素,有研究表明植物雌激素可以通过与经典雌激素受体结合、表现遗传效应等途径,发挥雌激素样作用,从而达到防治围绝经期综合征、心血管疾病、代谢性疾病等作用^[15]。也有研究认为通过影响雌性小鼠延髓和下丘脑自主神经系统的 ER α 及孕激素受体的表达和分布,可以调节高血压^[16]。目前对于心血管系统中雌激素受体的分布类型及水平还仍有争议,有研究者认为以 ER α 的 mRNA 表达有优势^[17]。有实验发现雌激素受体 α 敲除后,诱导血管内皮快速产生 NO 的生物效应消失,推断 ER α 较 ER β 发挥效应更明显^[18]。NO 可以舒张血管、抑制平滑肌细胞增殖及 MAPK 激活等作用^[19-20]。总的来说通过雌激素受体途径以及雌激素受体表达的诱导,为研究药物如何对围绝经期心血管系统起到保护效应,提供一个非常好的靶点。

本研究结果显示围绝经期高血压病造模成功并解郁降压颗粒结合音乐治疗后,治疗组大鼠 E₂ 上升,FSH、LH 降低,ER α 表达增加,增加 E-ER 生物学效应,调节神经-内分泌-免疫网络,从而达到降低血压,保护血管系统,改善围绝经期症状。对于本病的治疗,心理疏导也应该是重要的组成部分,帮助患者建立对围绝经期生理特点的正确认识,进行围绝经期与高血压病的健康宣教,为患者疏导情志,改善症状有显著作用。故本研究设计中不使用药物,同时也考虑到心理疏导的重要性,故在动物实验设计中予以汤药的同时,结合舒缓的音乐来取代心理疏导,观察大鼠的情绪变化,发现播放音乐时大鼠情绪更安静,不易被激惹,

音乐对大鼠的影响有待进一步通过行为症状学指标去探索,其更深入的作用机制也需进一步研究证明。

参考文献

- [1] 李晶,李志. 围绝经期高血压病发病机制的中西医研究进展[J]. 湖南中医杂志,2018,34(3):182-184.
- [2] Ostadal B, Ostadal P. Sex - based differences in cardiac ischaemic injury and protection; therapeutic implications[J]. British Journal of Pharmacology, 2014, 171(3):541-554.
- [3] Christine MB, Gilbert EL, Ryan MJ. Impact of ovarian function on cardiovascular health in women; focus on hypertension [J]. International Journal of Womens Health, 2014, 6(1):131-139.
- [4] 凌雅琴. 吸烟对高血压患者影响的研究进展[J]. 全科护理, 2015, 13(30):3001-3003.
- [5] 谢幼娟. 更年期高血压从肝论治[J]. 天津中医药, 2009, 26(1):48-49.
- [6] 张亮,陈坤,薛金贵,等. 加减二仙汤治疗阴虚阳亢型围绝经期高血压病的临床观察[J]. 上海中医药大学学报, 2014, 28(4):38-41.
- [7] 卞春辉,王保和,徐强. 安神定志宁魂法论治女性更年期高血压[J]. 辽宁中医杂志, 2013, 40(12):2467-2469.
- [8] 李思三. 辨证论治更年期高血压经验[J]. 中医研究, 2013, 26(11):53-54.
- [9] 张焱,朱怡菁. 基于数据挖掘分析何立人治疗女性更年期高血压的用药规律[J]. 上海中医药杂志, 2014, 48(1):16-19.
- [10] 冯晓敬. 临证辨治女性更年期高血压心得[J]. 江苏中医药, 2014, 46(8):35-36.
- [11] 丁超,卢苏. 从脾胃论治更年期综合征[J]. 吉林中医药, 2011, 31(2):137-138.
- [12] 李志,解发良,刘春华,等. 中西医结合并心理治疗女性高血压合并更年期综合征 58 例临床观察[J]. 中国中医药科技, 2008, 15(2):137-138.
- [13] 林雪,虚燥更平散对更年期高血压病虚燥证模型大鼠血管重塑影响的实验研究[D]. 长春:长春中医药大学,2013.
- [14] Mendiza N, Julia MD, Galliano D, et al. Spanish consensus on premature menopause[J]. Maturitas, 2015, 80(2):220-225.
- [15] 徐颖,赵元,林娜,等. 中药植物雌激素的研究进展[J]. 中国中药杂志, 2017, 42(18):3474-3487.
- [16] Milner TA, Drake CT, Lessard A, et al. Angiotensin II - induced hypertension differentially affects estrogen and progesterone receptors in central autonomic regulatory areas of female rats[J]. Experimental Neurology, 2008, 212(2):393-406.
- [17] 吴海英,芦殿香. 雌激素受体与高血压和心血管疾病研究进展[J]. 医学综述, 2011, 17(18):2740-2742.
- [18] Hsueh WA, Lyon CJ, Quiones MJ. Insulin resistance and the endothelium[J]. American Journal of Medicine, 2004, 117(2):109-117.
- [19] Bouallegue A, Daou GB, Srivastava AK. Nitric oxide attenuates endothelin-1 - induced activation of ERK1/2, PKB, and Pyk2 in vascular smooth muscle cells by a cGMP - dependent pathway [J]. American Journal of Physiology Heart & Circulatory Physiology, 2007, 293(4):2072-2079.
- [20] Simoncini T, Hafezizmoghadam A, Brazil DP, et al. Interaction of oestrogen receptor with the regulatory subunit of phosphatidylinositol-3-OH kinase[J]. Nature, 2000, 407(6803):538-541.

(收稿日期:2019-04-01)