

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.02.004

蒙药乌力吉-18 对大鼠下丘脑-垂体-卵巢轴相关激素及受体表达的影响*

包春霞^{1,2} 董立群² 何乌云嘎¹ 王徽¹ 王秀兰^{1Δ}

(1 内蒙古民族大学蒙医药学院 内蒙古 通辽 028000; 2 通辽市蒙医医院妇科 内蒙古 通辽 028000)

摘要 目的:探讨蒙药乌力吉-18 对大鼠下丘脑-垂体-卵巢轴相关激素及受体的影响。**方法:**选取 40 只健康雌性未孕 SD 大鼠,随机分为空白组、对照组、乌力吉-18 高、低 2 个剂量组,每组 10 只。空白组灌胃等体积蒸馏水,对照组灌胃逍遥丸,高、低剂量组分别灌胃 $2.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 、 $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 乌力吉-18,连续给药 31 天。采用酶联免疫吸附法测定血清促性腺激素释放激素(GnRH)、促卵泡生成素(FSH)、黄体生成素(LH)、雌二醇(E_2)及孕酮(PROG)的含量;免疫组化法检测下丘脑组织促性腺激素释放激素(GnRH)、垂体组织促性腺激素释放激素受体(GnRHR)的表达;以蛋白免疫印迹技术检测卵巢组织促卵泡生成素受体(FSHR)、黄体生成素受体(LHR)蛋白表达量。以实时荧光定量 PCR 检测卵巢组织中 FSHR、LHR 基因表达量。**结果:**与空白组比较,乌力吉-18 低剂量组可明显升高血清 LH 含量($P<0.05$),上调下丘脑组织 GnRH、垂体组织 GnRHR 表达及卵巢组织 FSHR、LHR 蛋白表达($P<0.05$);乌力吉-18 高剂量组可显著升高血清 FSH、LH、 E_2 含量($P<0.05$),上调下丘脑组织 GnRH 表达及卵巢组织 FSHR 表达量($P<0.05$),并可显著升高卵巢组织中 FSHR、LHR 基因表达量($P<0.05$);对照组可明显升高血清 E_2 含量($P<0.05$)。**结论:**蒙药乌力吉-18 可明显升高血清 FSH、LH 及 E_2 的含量,促进下丘脑组织 GnRH、垂体组织 GnRHR 及卵巢组织中 FSHR、LHR 的表达,表明乌力吉-18 能够对下丘脑-垂体-卵巢轴相关激素及受体表达产生影响。

关键词:蒙药乌力吉-18;下丘脑-垂体-卵巢轴;性激素;受体

中图分类号:R-33;R338.2;R291.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)02-220-06

Effects of Mongolian Medicine Wuliji-18 on Hypothalamus-Pituitary-Ovarian Axis Related Hormones and Receptors Expression in Rats*

BAO Chun-xia^{1,2}, DONG Li-qun², HE Wu-yun ga¹, WANG Hui¹, WANG Xiu-lan^{1Δ}

(1 College of Mongolian Medicine, Inner Mongolia University for Nationalities, Tongliao, Inner Mongolia, 028000, China;

2 Department of Gynaecology, Inner Mongolia Tongliao Mongolian Medical Hospital, Tongliao, Inner Mongolia, 028000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of Mongolian medicine Wuliji-18 on hypothalamus-pituitary-ovarian axis related hormones and receptors in rats. **Methods:** 40 healthy female nonpregnant SD rats were selected, they were randomly divided into blank group, control group and Wuliji-18 high and low dose groups, with 10 rats in each group. The blank group was given equal volume of distilled water by gavage, the control group was given Xiaoyao pill by gavage, and the high and low dose groups were gavaged with $2.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ and $1.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ Wuliji-18 respectively, continuous administration for 31 days. The serum gonadotropin releasing hormone (GnRH), follicle stimulating hormone (FSH), luteinizing hormone (LH), estradiol (E_2) and progesterone (PROG) contents were determined by enzyme-linked immunosorbent assay. The expression of gonadotropin releasing hormone (GnRH) in hypothalamus tissue and gonadotropin releasing hormone receptor (GnRHR) in pituitary tissue were detected by immunohistochemical method. The expression of follicle-stimulating hormone receptor (FSHR) and luteinizing hormone receptor (LHR) in ovarian tissue were detected by western blot. The expressions of FSHR and LHR genes in ovarian tissue were detected by real-time quantitative PCR. **Results:** Compared with the blank group, Wuliji-18 low dose group could significantly increase the serum LH content ($P<0.05$), up-regulate the expressions of GnRH in hypothalamus tissue and GnRHR in pituitary tissue, and the protein expressions of FSHR and LHR in ovarian tissue ($P<0.05$). Wuliji-18 high dose group could significantly increase the serum FSH, LH and E_2 content ($P<0.05$), up-regulate the expression of GnRH in hypothalamus tissue and FSHR in ovarian tissue ($P<0.05$), and significantly increase the expression of FSHR and LHR in ovarian tissue ($P<0.05$). The serum E_2 content in control group was significantly increased ($P<0.05$). **Conclusion:** Mongolian medicine Wuliji-18 can significantly increase the serum FSH, LH and E_2 contents, and promote the expression of GnRH in hypothalamic tissue, GnRHR in pituitary tissue and FSHR and LHR in ovarian tissue, thus indicating that Wuliji-18 can affect the expression of hormones and receptors related to

* 基金项目:内蒙古自治区重大基础研究开放课题(2019ZDKF005)

作者简介:包春霞(1978-),女,博士,副主任医师,研究方向:蒙药有效物质及作用机制研究, E-mail: baochunxia2019@163.com

Δ 通讯作者:王秀兰(1963-),女,博士,教授,博士研究生导师,研究方向:蒙药有效物质基础及作用机制, E-mail: tlmwsl@163.com

(收稿日期:2021-05-24 接受日期:2021-06-20)

the hypothalamic-pituitary-ovarian axis.

Key words: Mongolian medicine Wuliji-18; Hypothalamus-pituitary-ovarian axis; Sex hormone; Receptor

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R338.2; R291.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)02-220-06

前言

女性生殖与内分泌系统是机体重要的系统,由生殖内分泌腺及分散于全身各处的生殖、内分泌细胞等组成,与机体正常的生长、发育、生殖、全身代谢及内环境稳定的调控功能有密切关系^[1,2]。下丘脑-垂体-卵巢轴是女性的生殖内分泌轴,其分泌的各种激素是保证女性生殖与内分泌系统正常生理功能的基础^[3-5]。乌力吉-18是蒙医临床上治疗妇科疾病经典的复方^[6],出自蒙医著作《通瓦嘎吉德》^[7],由益母草、赤廔子、红花、丁香、木香、土木香等18味药配伍组成,主治妇女气血相搏,月经不调,头、腰骶、关节痛,浑身沉重,四肢浮肿,产褥热,乳腺肿胀等诸症^[8,9]。临床研究资料表明^[10],乌力吉-18治疗痛经、绝经综合征、异常子宫出血及乳腺增生等疾病,其具有独特的疗效,但对女性生殖内分泌系统的作用及具体机制尚无研究。本研究主要探讨乌力吉-18对生理状态下大鼠下丘脑-垂体-卵巢轴相关激素及受体水平的影响,为乌力吉-18临床上精确应用及后续研究提供一定依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

无特定病原体(SPF)级未孕雌性SD大鼠40只,7~8周龄,体质量200~220 g,购自辽宁长生生物技术股份有限公司(辽宁省实验动物资源中心),动物许可证号SCXK(辽)2020-0001。饲养于内蒙古民族大学SPF级动物房,温度 $23\pm 1^{\circ}\text{C}$,湿度50~60%。实验符合相关伦理学要求。

1.2 药品与试剂

蒙药乌力吉-18(内药制字14060899,内蒙古民族大学附属医院蒙药制剂室);逍遥丸(国药准字Z43020469),九芝堂股份有限公司;促性腺激素释放激素(GnRH)、促卵泡生成素(FSH)、黄体生成素(LH)、雌二醇(E2)及孕酮(PROG)等酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒,均购自江苏晶美生物科技有限公司,批号分别为JM-01927R2, JM-01972R1, JM-02207R1, JM-01981R1, JM-01957R1;促性腺激素释放激素(GnRH)、促性腺激素释放激素受体(GnRHR)免疫组化试剂盒,分别购自中国ABclonal、Proteintech公司,批号分别为A5625、22462-1-AP;促卵泡生成素受体(FSHR)、黄体生成素受体(LHR)试剂盒均购自中国affinity公司,批号分别为DF6422、DF6392;HRP标记山羊抗兔IgG(批号#31460,美国thermoFisher公司);内参抗体 β -actin(批号WL01372,中国wanleibio);无水乙醇(批号10009218,国药集团化学试剂有限公司);苏木精(批号H8070, Solarbio公司);DAB显色液(批号DA1010, Solarbio公司);2 $\times$ Taq PCR MasterMix(批号PC1150, 北京Solarbio公司);SYBR Green(批号SY1020, 北京Solarbio公司);

1.3 仪器

BX53显微镜(日本OLYMPUS公司);DP73显微镜拍摄系统(日本OLYMPUS公司);eppendorf离心机(广州吉源生物科技有限公司);TECAN SPARK多功能酶标仪(上海闪谱生物科技有限公司);RM2235石蜡切片机(德国Leica公司);DYCZ-24DN双垂直蛋白电泳仪(北京六一公司);Exicycler96荧光定量PCR仪(韩国BIONEER公司)。

1.4 实验方法

1.4.1 动物分组与给药 将健康未孕雌性大鼠,随机分为空白组、对照组和乌力吉-18高、低2个剂量组,每组10只。空白组灌胃等体积蒸馏水,对照组给予 $0.78\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 逍遥丸灌胃,乌力吉-18高、低剂量组分别给予 $2.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $1.0\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 乌力吉-18灌胃,连续给药31天。

1.4.2 取材 给药31天后于动情间期处理大鼠,用10%水合氯醛腹腔注射麻醉,腹主动脉采血,离心,分离血清,冷冻于 -80°C ,用于酶联免疫吸附法检测。取下丘脑、垂体固定于4%多聚甲醛,用于免疫组化法检测。取卵巢组织冷冻于 -80°C ,用于免疫印迹法及实时荧光定量PCR测定。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 血清性激素测定 采用ELISA测定血清性激素GnRH、FSH、LH、E₂及PROG水平,严格按照试剂盒说明书进行操作,用酶标仪检测待测样品及标准品450 nm处的OD值。

1.5.2 下丘脑组织 GnRH、垂体组织 GnRHR 表达量的测定 采用免疫组化法检测,固定好的下丘脑、垂体常规切片,进行免疫组化染色程序后封片,运用Image J软件进行定量分析下丘脑组织中GnRH和垂体组织中GnRHR的表达程度,平均光密度(AOD)=累积光密度(OD)/面积(Area)。

1.5.3 卵巢组织中 FSHR、LHR 蛋白表达量的测定 采用蛋白免疫印迹技术检测,提取卵巢组织样本,用试剂盒法检测蛋白浓度,将样本上样,电泳,转膜,封闭,增强化学发光法发光显影,凝胶成像仪曝光,拍照,用Image J软件检测条带光密度(OD)值,将目的条带OD值比内参的OD值,得到FSHR、LHR蛋白的相对表达量,以 β -肌动蛋白(β -actin)为内参。

1.5.4 卵巢组织中 FSHR、LHR 基因表达量的测定 采用实时荧光定量PCR测定,每组取6只大鼠卵巢,按Trizol试剂操作说明提取各样本总RNA,微量紫外分光光度计检测样本RNA浓度,根据反转录试剂操作说明合成cDNA,置于 -20°C 保存备用。用 β -肌动蛋白(β -actin)为内参。反应参数:94 $^{\circ}\text{C}$ 5min, 94 $^{\circ}\text{C}$ 10 s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 20 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 30 s,进行40个循环,每个样本重复3次,用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 表示mRNA相对表达量。 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ =各组基因表达量/对照组基因表达量。引物序列见表1。

1.6 统计学方法

采用统计软件SPSS 18.0进行统计分析,用GraphPad Prism8.0.1软件作图,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(One-Way ANOVA)和LSD-t检验, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

表 1 引物序列及参数

Table 1 The primer sequences and parameter

Gene	Primer sequences(5'- 3')	Tm/℃	Product length/bp
FSHR	F: TGACAGCCATCACCCTAG; R: AAAGTCCAGCCCAATACC	51.5	109
LHR	F: AACCTGCTATACATTGAACC; R: GAGATTAGAGTCGTCCTCATT	50.0	275
β -actin	F: GGAGATTACTGCCCTGGCTCTAGC; R: GGCCGGACTCATCGTACTCTGCTT	61.0	155

2 结果

2.1 乌力吉 -18 对大鼠血清性激素的影响

与空白组比较, 对照组大鼠血清 E_2 含量明显升高 ($P < 0.05$), 乌力吉 -18 高剂量组大鼠血清 FSH、LH、 E_2 含量均明显升高 ($P < 0.05$), 乌力吉 -18 低剂量组大鼠血清 LH 含量显著升高

($P < 0.05$), 乌力吉 -18 高、低剂量组大鼠血清 PROG 量均有上升趋势, 但无统计学意义 ($P > 0.05$); 与乌力吉 -18 低剂量组比较, 乌力吉 -18 高剂量组大鼠血清 FSH、 E_2 量均明显升高 ($P < 0.05$); 四组大鼠血清 GnRH、PROG 含量比较无显著差异 ($P > 0.05$), 见表 2。

表 2 各组大鼠血清性激素水平比较 ($\bar{x} \pm s$)Table 2 Comparison of serum sex hormone levels of rats in each group ($\bar{x} \pm s$)

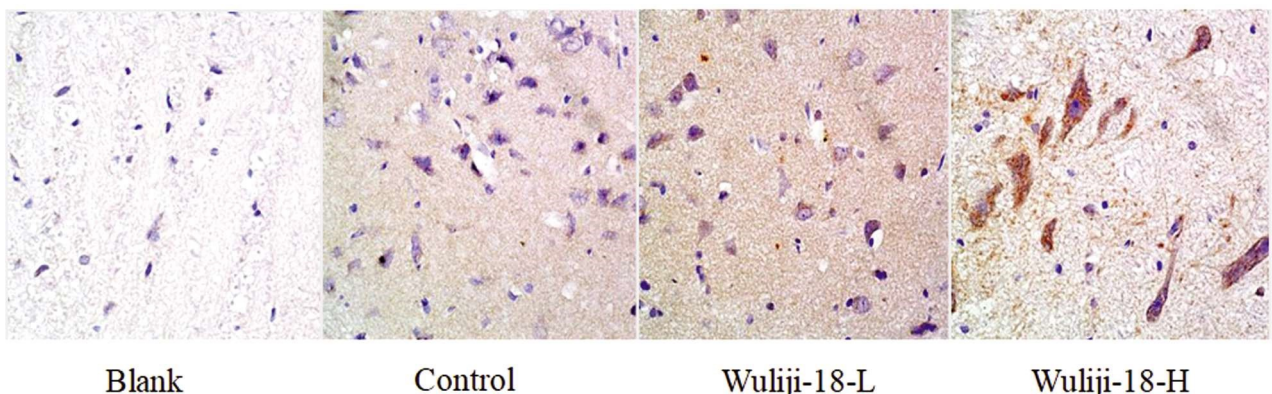
Groups	n	GnRH(mIU/mL)	FSH(IU/L)	LH(mIU/mL)	E_2 (pmol/L)	PROG(ng/mL)
Blank	8	2.00 $\pm$ 0.03	1.70 $\pm$ 0.04	1.73 $\pm$ 0.06	1.68 $\pm$ 0.04	1.68 $\pm$ 0.04
Control	9	2.05 $\pm$ 0.02	1.73 $\pm$ 0.02	1.85 $\pm$ 0.05	1.86 $\pm$ 0.07*	1.67 $\pm$ 0.03
Wuliji-18-L	9	2.06 $\pm$ 0.03	1.76 $\pm$ 0.03	1.91 $\pm$ 0.03*	1.78 $\pm$ 0.03	1.75 $\pm$ 0.02
Wuliji-18-H	8	1.94 $\pm$ 0.06	1.88 $\pm$ 0.03**	1.95 $\pm$ 0.04*	1.97 $\pm$ 0.06**	1.73 $\pm$ 0.04
F		0.951	4.534	4.745	5.338	0.874
P		0.488	0.042	0.039	0.013	0.521

Note: Compared with blank group, * $P < 0.05$. Compared with Wuliji-18 low dose group, ** $P < 0.05$.

2.2 乌力吉 -18 对大鼠下丘脑组织 GnRH、垂体组织 GnRHR 蛋白表达的影响

光镜下可见, GnRH、GnRHR 蛋白不同程度地表达于各组大鼠下丘脑、垂体组织中, 见图 1、2。图像分析结果显示: 与空

白组比较, 乌力吉 -18 低剂量组下丘脑组织中 GnRH 和垂体组织中 GnRHR 蛋白表达均明显升高 ($P < 0.05$), 高剂量组下丘脑组织中 GnRH 蛋白表达显著升高 ($P < 0.05$), 见表 3。

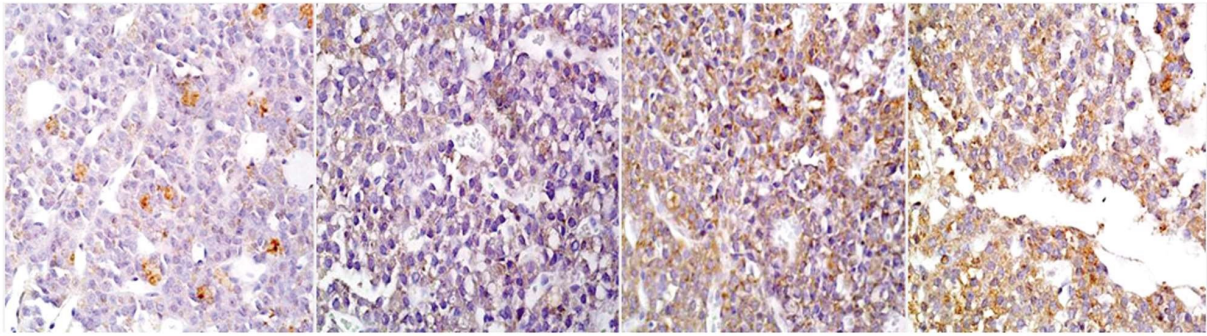
图 1 各组大鼠下丘脑组织中 GnRH 表达情况(免疫组化法, $\times 400$)Fig.1 Expression of GnRH in hypothalamus tissue of rats in each group(Immunohistochemical method, $\times 400$)

2.3 乌力吉 -18 对大鼠卵巢组织 FSHR、LHR 蛋白表达的影响

与空白组比较, 乌力吉 -18 低、高剂量组卵巢组织 FSHR 蛋白表达量均显著上升, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 乌力吉 -18 低剂量组卵巢组织 LHR 蛋白表达量与空白组、对照组及乌力吉 -18 高剂量组比较, 均显著升高, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$), FSHR、LHR 蛋白表达图见图 3, 表 4。

2.4 乌力吉 -18 对大鼠卵巢 FSHR、LHR 基因相对表达的影响

与空白组比较, 乌力吉 -18 高剂量组大鼠卵巢组织中 FSHR、LHR 基因相对表达水平均显著升高 ($P < 0.05$), 低剂量组卵巢组织中 FSHR、LHR 基因表达水平均有上升趋势, 但无统计学意义 ($P > 0.05$); 与低剂量组比较, 乌力吉 -18 高剂量组卵巢组织中 FSHR 基因表达水平显著升高 ($P < 0.05$), 见表 5。



Blank Control Wuliji-18-L Wuliji-18-H

图 2 各组大鼠垂体组织中 GnRHR 表达情况(免疫组化法, × 400)

Fig.2 Expression of GnRHR in pituitary tissue of rats in each group(Immunohistochemical method, × 400)

表 3 各组大鼠下丘脑组织 GnRH、垂体组织 GnRHR 阳性表达区域 AOD 值比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of AOD values of GnRH in hypothalamus tissue and GnRHR in pituitary tissue of rats in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	GnRH(AOD)	GnRHR(AOD)
Blank	6	(0.92± 0.03)× 10 ⁻¹	(1.50± 0.06)× 10 ⁻¹
Control	6	(1.00± 0.02)× 10 ⁻¹	(1.46± 0.04)× 10 ⁻¹
Wuliji-18-L	6	(1.07± 0.02)× 10 ^{-1*}	(1.66± 0.03)× 10 ^{-1*}
Wuliji-18-H	6	(1.02± 0.04)× 10 ^{-1*}	(1.44± 0.05)× 10 ⁻¹
F		4.835	4.667
P		0.036	0.040

Note: Compared with blank group, **P*<0.05.

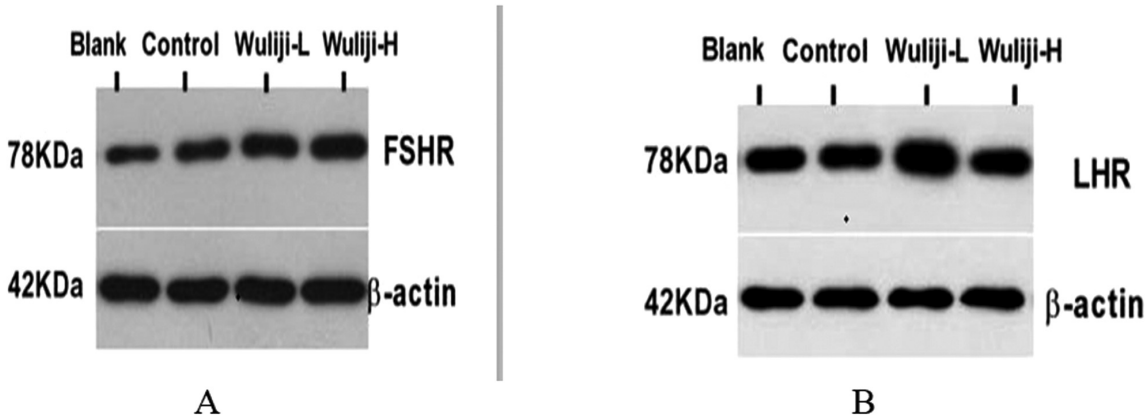


图 3 各组大鼠卵巢组织 FSHR、LHR 蛋白表达图

Fig.3 Protein expression patterns of FSHR and LHR in ovarian tissue of rats in each group

Note: A: FSHR protein expression map in ovarian tissue. B: LHR protein expression map in ovarian tissue.

表 4 各组大鼠卵巢组织 FSHR、LHR 蛋白表达比较

Table 4 Comparison of FSHR and LHR protein expression in ovarian tissue of rats in each group

Groups	n	FSHR	LHR
Blank	6	0.45± 0.03	1.02± 0.04 [#]
Control	6	0.57± 0.07	1.01± 0.05 [#]
Wuliji-18-L	6	0.65± 0.04*	1.47± 0.09
Wuliji-18-H	6	0.72± 0.03*	1.10± 0.09 [#]
F		4.538	4.621
P		0.041	0.038

Note: Compared with blank group, **P*<0.05. Compared with Wuliji-18 low dose group, [#]*P*<0.05.

表 5 各组大鼠卵巢组织中 FSHR、LHR 基因相对表达量的比较($\bar{x} \pm s$)Table 5 Comparison of FSHR and LHR gene expression in ovarian tissue of rats in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	FSHR gene	LHR gene
Blank	6	1.14 $\pm$ 0.11	0.83 $\pm$ 0.05
Control	6	1.35 $\pm$ 0.07	0.75 $\pm$ 0.07
Wuliji-18-L	6	1.43 $\pm$ 0.12	1.18 $\pm$ 0.15
Wuliji-18-H	6	2.55 $\pm$ 0.10* [#]	2.03 $\pm$ 0.32*
F		5.424	5.382
P		0.006	0.011

Note: Compared with blank group, * $P < 0.05$. Compared with Wuliji-18 low dose group, [#] $P < 0.05$.

3 讨论

下丘脑-垂体-卵巢轴在女性生殖中起主要调控作用,其下丘脑分泌 GnRH 到达垂体门脉系统,与垂体 GnRHR 结合,促进垂体分泌 FSH 和 LH,FSH 促进女性卵泡发育^[1],且在 LH 协同作用下使卵泡发育分泌 E₂、P 及少量 T,促进卵子产生,从而控制人类个体发育和生殖过程^[12-14]。乌力吉-18 是蒙医妇科临床上应用最广泛、疗效最确切的传统复方制剂,也是治疗妇科疾病首选之方,故对其传统功效进行全面深入的研究非常有必要。

乌力吉-18 是由益母草、赤廔子、红花、丁香、木香、土木香等 18 味药配伍组成的蒙医经典方剂。其中益母草具有利尿消肿、活血调经、清热解毒的功效,可用于治疗痛经闭经、月经不调、产后恶露不尽等^[15]。赤廔子为葫芦科植物长毛赤廔干燥果实,是一种传统的藏、蒙药物,具有活血化瘀,调经的功效,主要用于血瘀宫中、经闭、血脉病、血痞、死胎、胎衣不下等^[16]。红花具有活血通经、祛瘀止痛之功效,是治疗闭经、难产、死胎、产后恶露不尽等的经典中药^[17]。丁香具有温中降逆、温肾补阳的功效,对肾虚、阳痿、腰膝酸软等有一定治疗效果,同时具有温经通络、活血消肿、散寒止痛的功效^[18]。木香具有行气止痛、健脾消食的功效。土木香具有健脾和胃、行气止痛的功效^[19]。诸药合用具有活血调经、补气安神的功效,可以用于治疗各种原因导致的月经不调,产后发烧,心神不安,头昏头痛,乳腺肿胀等。目前已有研究报道,乌力吉-18 对乳腺增生^[8]、围绝经期综合征^[20]、卵巢储备功能下降^[10]具有很好的治疗效果,但关于乌力吉-18 对大鼠下丘脑-垂体-卵巢轴相关激素及受体的影响尚未见报道。

本研究结果表明,乌力吉-18 能够明显升高大鼠血清 FSH、LH、E₂ 含量,其中 FSH、LH 是两种重要的促性腺激素,主要由垂体产生并分泌,其分泌量受到 GnRH 分泌的调控,FSH 可以作用于卵巢颗粒细胞、子宫内膜、宫颈等的 FSH 受体,起到促进卵泡成熟的作用^[21-23]。LH 可以作用于卵巢卵泡膜细胞、黄体细胞,在卵泡发育的启动、选择、排卵中起到重要作用^[24-25]。E₂ 及 PROG 是重要的女性性激素,对于维持女性第二性征、保证女性正常生殖功能具有重要作用^[26-27]。本研究结果表明乌力吉-18 可促进卵泡发育分泌 E₂ 和 P 激素,但不能明确有无促排卵功能,其原因本试验中血清 PROG 量只是有上升趋势,无统计学意义。

GnRH 是由下丘脑分泌的一种神经内分泌激素,能够作用

于垂体的 GnRHR,具有刺激或抑制垂体促性腺激素分泌的功能,能够刺激 FSH、LH 的生成^[28-29]。本研究中免疫组化结果显示,乌力吉-18 能明显上调下丘脑组织中 GnRH 和垂体组织中 GnRHR 蛋白表达程度,表明其可促进 GnRH 合成和 GnRHR 蛋白表达。FSH 和 LH 是通过 FSHR 和 LHR 的介导,发挥其调节生殖细胞成熟及排卵的生理功能^[30-31]。血液中高浓度的 FSH、LH 与卵巢上的 FSHR、LHR 受体特异性结合,促进卵泡发育分泌 E₂,使得血清中 E₂ 含量增加。本实验中,蛋白免疫印迹法及实时荧光定量 PCR 检测结果显示,乌力吉-18 明显升高了大鼠卵巢组织 FSHR 和 LHR 的蛋白表达量和基因表达量,基因结果趋势与蛋白完全一致。从而可以推测乌力吉-18 升高血清 E₂ 含量,其作用机制可能是促进卵巢中 FSHR、LHR 的表达有关。

综上所述,乌力吉-18 促进 GnRH 的合成和 GnRHR 的表达从而促进垂体释放 FSH 和 LH,高浓度的 FSH、LH 通过血液与卵巢中高表达的 FSHR、LHR 受体特异性结合,促进卵泡发育分泌 E₂,使得血清 E₂ 的含量增加。故乌力吉-18 对下丘脑-垂体-卵巢轴相关激素的分泌及受体表达有一定的促进作用,将会为后续研究乌力吉-18 的传统功效及作用机制提供理论参考。

参考文献(References)

- [1] Diakosavvas M, Fasoulakis Z, Ntounis T, et al. A Potential Pathogenic Link Between Cancer of Female Reproductive System and Infertile Women Treated With Assisted Reproduction Techniques[J]. In Vivo, 2021, 35(3): 1393-1399
- [2] 刘佳,钟成福,张勇,等.雌激素与丹桅逍遥丸对更年期女性生殖内分泌系统及免疫功能的调节作用[J].现代生物医学进展,2015,15(19): 3728-3730, 3751
- [3] Ruohonen ST, Poutanen M, Tena-Sempere M. Role of kisspeptins in the control of the hypothalamic-pituitary-ovarian axis: old dogmas and new challenges[J]. Fertil Steril, 2020, 114(3): 465-474
- [4] Mikhael S, Punjala-Patel A, Gavrilova-Jordan L. Hypothalamic-Pituitary-Ovarian Axis Disorders Impacting Female Fertility [J]. Biomedicine, 2019, 7(1): 5
- [5] Sun J, Hui C, Xia T, et al. Effect of hypothyroidism on the hypothalamic-pituitary-ovarian axis and reproductive function of pregnant rats [J]. BMC Endocr Disord, 2018, 18(1): 30
- [6] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准·蒙药分册[S]. 赤峰:内蒙古科学技术出版社,1998: 86
- [7] 吉格木德丹金扎木苏. 通瓦嘎吉德 [M]. 内蒙古科学技术出版社,

- 2015: 287
- [8] 赵金山, 其合力嘎. 蒙药乌力吉 -18 对女性 E~2 水平的调节研究[J]. 中国民族医药杂志, 2017, 23(8): 11-12
- [9] 孙萍, 包秀芳. 蒙药乌力吉 -18(乌力吉 -18)对卵巢早衰患者的临床疗效[J]. 实用妇科内分泌杂志(电子版), 2017, 4(9): 65-68
- [10] 张雅丽, 赵敏, 金荣. 蒙药乌力吉 -18 丸治疗卵巢储备功能下降的疗效观察[J]. 中国民族医药杂志, 2016, 22(1): 27-29
- [11] Walters KA, Edwards MC, Tesic D, et al. The Role of Central Androgen Receptor Actions in Regulating the Hypothalamic-Pituitary-Ovarian Axis[J]. Neuroendocrinology, 2018, 106(4): 389-400
- [12] Rovner P, Keltz J, Allshouse A, et al. Induction of the LH Surge in Premenarchal Girls Confirms Early Maturation of the Hypothalamic-Pituitary-Ovarian Axis[J]. Reprod Sci, 2018, 25(1): 33-38
- [13] Li H, Song H, Huang M, et al. Impact of food restriction on ovarian development, RFamide-related peptide-3 and the hypothalamic-pituitary-ovarian axis in pre-pubertal ewes [J]. Reprod Domest Anim, 2014, 49(5): 831-838
- [14] Shen WW, Zhang YS, Li LH, et al. Long-term use of methamphetamine disrupts the menstrual cycles and hypothalamic-pituitary-ovarian axis[J]. J Addict Med, 2014, 8(3): 183-188
- [15] 谢晓芳, 陈俊仁, 李刚敏, 等. 益母草对子宫的药理作用研究进展[J]. 世界中医药, 2020, 15(9): 1263-1266
- [16] 周琴, 杨小姣, 石孟琼, 等. 南赤藤提取物通过 PI3K/Akt/mTOR 信号通路促进人宫颈癌 Caski 细胞凋亡 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2016, 21(1): 42-49
- [17] 李响, 俱蓉, 李硕. 红花化学成分药理作用研究进展及质量标志物预测分析[J]. 中国现代中药, 2021, 23(5): 928-939
- [18] 于陶钧, 王立波, 吴立军. 丁香属植物化学成分及药理作用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2016, 44(2): 168-170
- [19] 王阳, 范满晓, 杨军, 等. 木香的萜类成分与药理作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2020, 45(24): 5917-5928
- [20] 黄托娅, 达布希拉图. 蒙药乌力吉 18 味治疗围绝经期综合征 101 例疗效观察[J]. 中国民族医药杂志, 2006, 13(3): 63-63
- [21] Weng SL, Tzeng SL, Lee CI, et al. Association between GnRH Receptor Polymorphisms and Luteinizing Hormone Levels for Low Ovarian Reserve Infertile Women [J]. Int J Environ Res Public Health, 2021, 18(13): 7006
- [22] Conforti A, Esteves SC, Humaidan P, et al. Recombinant human luteinizing hormone co-treatment in ovarian stimulation for assisted reproductive technology in women of advanced reproductive age: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2021, 19(1): 91
- [23] Riestenberg C, Ahern S, Shamonki M. Follicle-stimulating hormone receptor autoantibody associated primary ovarian insufficiency successfully treated with corticosteroids: a case report[J]. F S Rep, 2020, 1(3): 206-208
- [24] Singh N, Mishra N, Dogra Y. Do basal Luteinizing Hormone and Luteinizing Hormone/Follicle-Stimulating Hormone Ratio Have Significance in Prognosticating the Outcome of In vitro Fertilization Cycles in Polycystic ovarian Syndrome? [J]. J Hum Reprod Sci, 2021, 14(1): 21-27
- [25] Jonas KC, Rivero Müller A, Oduwale O, et al. The Luteinizing Hormone Receptor Knockout Mouse as a Tool to Probe the In Vivo Actions of Gonadotropic Hormones/Receptors in Females [J]. Endocrinology, 2021, 162(5): bqab035
- [26] 罗健, 鹿卓超, 徐一红, 等. 穴位埋线联合益肾化痰方对多囊卵巢综合征患者 T、E₂、LH 水平影响 [J]. 现代生物医学进展, 2020, 20(19): 3745-3748
- [27] Eftekhari M, Hoseini M, Saeed L. Erratum to "Progesterone-primed ovarian stimulation in polycystic ovarian syndrome: An RCT" [Int J Reprod BioMed 2019; 17: 671-676][J]. Int J Reprod Biomed, 2021, 19(6): 579
- [28] Gurbuz AS, Deveer R, Gode F. Evaluation of Dual Trigger with Combination of Gonadotropin-Releasing Hormone Agonist and Human Chorionic Gonadotropin in Improving Oocyte-Follicle Ratio in Normo-Responder Patients [J]. Niger J Clin Pract, 2021, 24(8): 1159-1163
- [29] Chen LH, Chin TH, Huang SY, et al. Supplementation with human menopausal gonadotropin in the gonadotropin-releasing hormone antagonist cycles of women with high AMH: Pregnancy outcomes and serial hormone levels [J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2021, 60(4): 739-744
- [30] Saadia Z. Follicle Stimulating Hormone (LH: FSH) Ratio in Polycystic Ovary Syndrome (PCOS) - Obese vs. Non- Obese Women[J]. Med Arch, 2020, 74(4): 289-293
- [31] Egbert JR, Robinson JW, Uliasz TF, et al. Cyclic AMP links luteinizing hormone signaling to dephosphorylation and inactivation of the NPR2 guanylyl cyclase in ovarian follicles? [J]. Biol Reprod, 2021, 104(5): 939-941