

# 密蒙花总黄酮对去势雄鼠干眼病血清睾酮水平的影响

李海中<sup>1,2</sup>, 彭清华<sup>1</sup>, 王 芬<sup>1,3</sup>, 姚小磊<sup>1,4</sup>, 李文娟<sup>1</sup>

**基金项目:**国家自然科学基金面上资助项目(No. 30772824);教育部高等学校博士学科点专项科研基金资助项目(No. 200805410004);湖南省自然科学基金资助项目(No. 07JJ3049);湖南省科技厅科研基金资助项目(No. 2009FJ3001);湖南省研究生创新基金资助项目(湘财教字[2008]68号);国家中医药管理局中医眼科学重点学科建设项目;湖南省中医五官科学重点学科建设项目

**作者单位:**<sup>1</sup>(410007)中国湖南省长沙市,湖南中医药大学第一附属医院眼科;<sup>2</sup>(417000)中国湖南省娄底市中心医院眼科;<sup>3</sup>(410600)中国湖南省宁乡县中医院眼科;<sup>4</sup>(530011)中国广西壮族自治区南宁市,广西中医药大学附属瑞康医院眼科

**作者简介:**李海中,硕士,住院医师,研究方向:中西医结合临床研究。

**通讯作者:**彭清华,教授,主任医师,博士研究生导师,研究方向:眼底病、青光眼、眼表疾病。pqhz\_520@163.com

**收稿日期:**2013-07-23 **修回日期:**2013-10-15

## Effects of buddleja officinalis total flavonoids on serum testosterone level of castrated male rats with xeroma

Hai-Zhong Li<sup>1,2</sup>, Qing-Hua Peng<sup>1</sup>, Fen Wang<sup>1,3</sup>, Xiao-Lei Yao<sup>1,4</sup>, Wen-Juan Li<sup>1</sup>

**Foundation items:** National Natural Science Foundation of China (No. 30772824); the Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of Ministry of Education, China (No. 200805410004); Natural Science Foundation of Hunan Province, China (No. 07JJ3049); Research Foundation of Science and Technology Agency of Hunan Province, China (No. 2009FJ3001); Postgraduate Innovating Foundation of Hunan Province, China; Ophthalmology Key Discipline Projects of China State Administration of Traditional Chinese Medicine; Ophthalmology and Otolaryngology of Chinese Medicine Key Discipline Projects of Hunan Province, China

<sup>1</sup>Department of Ophthalmology, the First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China; <sup>2</sup>Department of Ophthalmology, Loudi Central Hospital, Loudi 417000, Hunan Province, China; <sup>3</sup>Department of Ophthalmology, Ningxiang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Ningxiang County 410600, Hunan Province, China; <sup>4</sup>Department of Ophthalmology, Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530011, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

**Correspondence to:** Qing-Hua Peng. Department of Ophthalmology, the First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, Hunan Province, China. pqhz\_520@163.com

Received: 2013-07-23 Accepted: 2013-10-15

## Abstract

• **AIM:** To observe buddleja officinalis total flavonoids' effect on the basal tear secretion amount, tear film stability, lacrimal gland histomorphology and serum testosterone level of castrated male rat model with xeroma, to study the mechanism of rat xeroma caused by buddleja officinalis total flavonoids' anti-sex hormones disorders.

• **MEATHODS:** A total of 150 Wistar male rats of 1 month old, weighted about 200g, were randomly divided into 5 groups with 30 rats in each group with A representing normal group; B representing sham operation group; C representing surgery control group; D representing group treated with androgen; E representing group treated with buddleja officinalis total flavonoids. For the groups C, D, E, the bilateral testicle and epididymis were excised; For group B, scrota were incised without removal of the testicles, as the sham operation group; For group A, nothing was done. One week after modeling when the wound was to be healed, drug was given to each group. Respectively at the 1<sup>st</sup> month, 3<sup>rd</sup>, and 5<sup>th</sup> months after treatment, 10 rats were randomly selected in each group, to receive Schirmer I test, tear breakup time measurement. Blood serum testosterone levels were tested in the fifth month.

• **RESULTS:** For groups D and E, the Schirmer I test measurements were significantly higher than that of group C ( $P < 0.05$ ), tear film breakup time was significantly longer than that of group C ( $P < 0.05$ ). Serum testosterone levels in groups C and E were significantly lower than that in groups A, B, D ( $P < 0.01$ ).

• **CONCLUSION:** Decreased androgen levels can lead to xeroma, and removal of bilateral testes and epididymis can successfully establish the animal models of xeroma in rats caused by decreased androgen levels. Buddleja officinalis total flavonoids have androgenic effect, which produces the similar treatment effect of xeroma with testosterone propionate. Buddleja officinalis total flavonoids may become a new treatment for xeroma.

• **KEYWORDS:** castration; xeroma; testosterone; buddleja officinalis total flavonoids

**Citation:** Li HZ, Peng QH, Wang F, *et al.* Effects of buddleja officinalis total flavonoids on serum testosterone level of castrated male rats with xeroma. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2013;13(11):2174-2178

## 摘要

**目的:**观察密蒙花总黄酮对去势雄鼠干眼病大鼠模型基

基础泪液分泌量、泪膜稳定性及血清睾酮水平的影响,探讨密蒙花总黄酮抗性激素水平失调导致的大鼠干眼病的作用机制。

**方法:**将1月龄健康雄性Wistar大鼠150只,体质量200g左右,采用随机数字法分为5组,每组30只。分别为:A:正常组;B:假手术组;C:手术对照组;D:雄激素治疗组;E代表:密蒙花总黄酮治疗组;将C,D,E三组实验鼠切除双侧睾丸及附睾;B组只切开阴囊而不切除睾丸,作为假手术组;A组不做任何处理。各组在造模后1wk,待伤口基本愈合后开始用药。各组实验动物分别于用药1,3,5mo后随机取10只,行Schirmer I试验(S I t),测量泪膜破裂时间(breaking up time, BUT),于第5mo,抽血测定血清睾酮水平。

**结果:**D,E组S I t测量值明显高于C组( $P<0.05$ )、BUT明显长于C组( $P<0.05$ ),血清睾酮水平C,E组明显低于A,B,D组( $P<0.01$ )。

**结论:**雄激素水平下降可导致干眼病,采用双侧睾丸及附睾切除的方法可成功建立雄激素水平下降所致的大鼠干眼病动物模型。密蒙花总黄酮具有拟雄激素效应,能够产生同丙酸睾酮治疗干眼病相似的效果。密蒙花总黄酮可能成为治疗干眼病的一个全新药物。

**关键词:**去势;干眼病;血清睾酮;密蒙花总黄酮

DOI:10.3980/j.issn.1672-5123.2013.11.03

**引用:**李海中,彭清华,王芬,等.密蒙花总黄酮对去势雄鼠干眼病血清睾酮水平的影响.国际眼科杂志2013;13(11):2174-2178

## 0 引言

干眼(dry eye, xerophthalmia)是一种临床常见的慢性眼表疾病,是指任何由于泪液的量或质及动力学引起的异常<sup>[1]</sup>。近年来国内外研究表明,性激素尤其是雄激素,可调节机体及局部的免疫功能,调控泪腺和睑板腺的形态、发育、分化及分泌功能。性激素水平下降后,对泪腺调节作用异常,导致泪膜不稳定,最终导致干眼病。

前期研究证明,密蒙花花蕾中分离得到8个黄酮类化合物,黄酮类化合物属于植物性激素的一种,其化学结构与性激素有相似性,可能在治疗性激素水平下降导致的干眼病方面起到独到的效果。我们于2010-03/09制作去势雄鼠干眼病模型,测定其给药前后基础泪液分泌量、泪膜稳定性及血清睾酮水平的变化,观察密蒙花总黄酮对去势雄鼠干眼病大鼠模型血清睾酮水平的影响。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物** 选用健康1月龄雄性Wistar大鼠150只(由中南大学实验动物中心提供),体质量200g左右,无眼部疾患,饲养温度20℃~25℃,饲养条件一致,自动摄食和饮水,昼夜自然光照。

**1.1.2 主要仪器设备和手术器材** YZ5E-I照相裂隙灯显微镜(苏州六六视觉医疗器械有限公司生产);显微摄像机(德国Motic公司生产);JA21002电子天平(上海精科天平厂生产);离心管(上海博讯实业有限公司生产);GB11241-89恒温水浴箱(北京医疗设备厂生产);TGL-16G-A飞鸽牌低温台式离心机(上海安亭科学仪器厂生产)。

**1.1.3 主要药品和试剂** 密蒙花干药材由湖南九汇现代中药有限公司提供,其总黄酮制备由该课题组博士在湖南省植物提取工程提取中心完成(密蒙花药材中蒙花苷含量为0.85%,提取成品中蒙花苷含量约17%,蒙花苷中总黄酮含量>80%);丙酸睾酮注射液(25mg/mL):上海通用药业股份有限公司生产;Schirmer试验滤纸:天津晶明新技术开发有限公司生产;荧光素钠染色条:天津晶明新技术开发有限公司生产;3%过氧化氢:北京中杉金桥生物技术公司提供;血清睾酮放射免疫试剂盒:北京市普尔伟业生物科技有限公司解放军总医院科技开发中心放射免疫所提供。

## 1.2 方法

**1.2.1 实验动物分组** 对150只雄鼠,采用随机数字法分为5组,每组30只。分别为:A代表:正常组;B代表:假手术组;C代表:手术对照组;D代表:雄激素治疗组;E代表:密蒙花总黄酮治疗组;1代表:饲养1mo后;2代表:饲养3mo后;3代表:饲养5mo后。

**1.2.2 Wistar大鼠性激素水平下降导致干眼病动物模型的制作** 参照马轶群等<sup>[2]</sup>方法改进:将实验鼠用200g/L氨基甲酸乙酯(乌拉坦,200g/L)按7mL/kg体重腹腔注射,全身麻醉后,仰卧位固定于鼠架上。消毒铺巾,用消毒刀片将腹腔切一小口,用力将一侧睾丸由腹腔挤入切口附近并捏紧,勿使其滑动,结扎精索静脉及输精管后,切除睾丸及附睾,同法切除另侧睾丸及附睾,观察切口处无出血后,间断缝合腹腔皮肤后碘伏消毒,涂红霉素软膏预防感染。将C,D,E三组实验鼠切除双侧睾丸及附睾;B组只切开阴囊而不切除睾丸,作为假手术组;A组不做任何处理。术后7d拆线,切口一期愈合,见图1。

**1.2.3 给药方法** 各组在造模后1wk,待伤口基本愈合后开始用药。密蒙花总黄酮的灌胃剂量和丙酸睾酮注射量均按成人常用剂量,通过体表面积换算方法进行计算(大鼠以0.2kg体质量为标准,人以60kg体质量为标准)。A,B,C组以9g/L生理盐水5mL/kg灌胃,1次/d;D组丙酸睾酮注射液以1:4麻油稀释后按0.5mL/kg大腿肌肉注射,1次/3d;E组以10g/L密蒙花提取物生理盐水混悬液5mL/kg灌胃,1次/d。

**1.2.4 干眼病的传统检查方法** 检查均由同一人完成,每次检查时间、地点、照明亮度、湿度及温度相同。参照有关文献<sup>[3,4]</sup>,各组动物分别于1,3,5mo后随机取10只,以200g/L乌拉坦7mL/kg体质量经大鼠腹腔注射全麻后,行Schirmer I试验(S I t)、测量泪膜破裂时间(breaking up time, BUT)。

**1.2.4.1 S I t** 正常滤纸大小为5mm×35mm的Whatman 41号滤纸条。预实验及前期实验结果显示:大鼠正常泪液分泌量较正常人少,以这种大小的滤纸检查,滤纸被渗透的长度仅能达到被折弯的5mm处,实验结果存在不合理性。参照有关文献<sup>[4]</sup>将其剪成立两半,即变成2.5mm×35mm大小,将一端折弯5mm,置于下睑内侧1/3结膜囊内,其余部分悬垂于皮肤表面。闭眼,5min后测量滤纸湿润长度(不包括反折),见图2。

**1.2.4.2 BUT测定** 将荧光素钠测试纸浸湿后在下睑结膜囊内涂抹,使眼睑闭合荧光素均匀分布于角膜表面后,固定其上下睑使角膜充分暴露,于裂隙灯下用钴蓝光照观察,从最后一次瞬目开始计时,用秒表记录泪膜上出现第一个破裂点的时间,见图3。





图1 动物造模,切除双侧睾丸及附睾。



图2 Schirmer I 试验。



图3 BUT 测定。

1.2.5 血清睾酮水平测定 200g/L 乌拉坦腹腔注射全身麻醉后,消毒腹部皮肤后切开皮肤,暴露腹主动脉,用真空采血管(未加抗凝剂)通过腹主动脉采血。将采集的血液放入离心机离心后取上层血清液放入冰箱-4℃保存,送湖南中医药大学第一附属医院放射免疫中心,用放射免疫的方法测定大鼠血清睾酮水平。

统计学分析:所有数据均经 SPSS 16.0 系统软件处理。计量资料以平均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示。若满足正态性和方差齐性,则用多因素方差分析两两比较法;不满足正态性和方差齐性时,则用非参多重比较法。以  $P < 0.05$  为检验显著性标准,以  $P < 0.01$  为检验非常显著性标准。

## 2 结果

### 2.1 干眼病的传统检查结果

2.1.1 S I t 各组比较见表1。由此可见,随着时间的延长,动物的泪液分泌功能逐渐下降。雄激素治疗组和密蒙花总黄酮治疗组的泪液分泌功能比手术对照组要好。

表1 各组大鼠治疗后 S I t 测量值 ( $\bar{x} \pm s, \text{mm}/5\text{min}$ )

组别	治疗后 1mo	治疗后 3mo	治疗后 5mo
A 组	7.11±0.81	6.87±0.94	6.59±0.85
B 组	6.89±1.19	6.60±0.73	6.08±0.89
C 组	6.04±0.72 <sup>a</sup>	4.39±0.86 <sup>a,c</sup>	3.71±0.91 <sup>a,c</sup>
D 组	6.58±0.79	5.85±0.89 <sup>a,c</sup>	5.41±1.32 <sup>a,c</sup>
E 组	6.22±0.81 <sup>a</sup>	5.74±0.61 <sup>a</sup>	5.32±0.95 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs A 组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 治疗后 1mo。

表2 各组大鼠治疗后 BUT 测量值 ( $\bar{x} \pm s, s$ )

组别	治疗后 1mo	治疗后 3mo	治疗后 5mo
A 组	12.79±1.24	11.10±1.07	10.58±0.86 <sup>c</sup>
B 组	12.07±1.17	10.85±1.24	10.39±1.15
C 组	10.58±1.07 <sup>a</sup>	9.15±1.37 <sup>a,c</sup>	7.78±1.07 <sup>a,c</sup>
D 组	11.18±0.81 <sup>a</sup>	10.12±0.77 <sup>c</sup>	9.34±0.87 <sup>a,c</sup>
E 组	10.86±0.80 <sup>a</sup>	9.84±0.96 <sup>a,c</sup>	9.03±0.98 <sup>a,c</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs A 组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 治疗后 1mo。

表3 各组大鼠治疗第 5mo 血清睾酮浓度 ( $\bar{x} \pm s, \mu\text{mol}/\text{L}$ )

组别	血清睾酮浓度
A 组	4.46±2.18
B 组	4.43±2.59
C 组	0.39±0.61 <sup>a</sup>
D 组	4.45±2.50
E 组	0.25±0.25 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs A 组。

2.1.2 BUT 测定 各组比较见表2。由此可见,随着时间的延长,动物的 BUT 逐渐缩短。雄激素治疗组和密蒙花总黄酮治疗组的 BUT 比手术对照组要长。

2.2 血清睾酮浓度测定 血清睾酮浓度比较见表3。由此可见,切除了睾丸和附睾的雄鼠体内睾酮水平确实明显下降,密蒙花总黄酮并不能提高去势雄鼠体内睾酮水平,但它具有类似雄激素的生物学效应。

## 3 讨论

3.1 干眼病动物模型的建立 从20世纪70年代起,干眼病动物模型就陆续的建立起来了。Fujihara 等<sup>[5]</sup>将机械性阻止瞬目与甲苯胺蓝染色有机结合,建立了兔短期干眼病模型;施炜等<sup>[6]</sup>通过第三眼睑切除联合板层角膜切开成功建立了反射缺乏型干眼动物模型;Burgalassi 等<sup>[7]</sup>通过每日重复注射 10g/L 硫酸阿托品诱导形成兔简单干眼病模型;Gifford 等<sup>[8]</sup>通过烧灼兔睑板腺口,导致睑板腺口阻塞,脂质不能正常排出,引起泪膜脂质层异常,从而产生干眼病。Gilbard 等<sup>[9]</sup>将射频探针插入兔三叉神经节,去除兔眼表的神经支配,发现泪液分泌量明显下降,泪液渗透压增高,杯状细胞密度下降,发生明显的干眼改变。Zhu 等<sup>[10]</sup>将新西兰白兔的一侧泪腺摘出,用其自体外周血淋巴细胞培养 5d 后,将培养的自体混合细胞液注射至对侧泪腺,以诱导对侧泪腺组织产生自身免疫性泪腺炎,从而产生干眼病症状。吴艺等<sup>[11]</sup>摘除家兔泪腺和 Harder 腺制成兔干眼病模型;马铁群等<sup>[2,12]</sup>通过切除兔睾丸和附睾成功建立去势雄兔干眼病模型,通过喂养维生素 A 缺乏食物建立了维生素 A 缺乏兔干眼病模型;田明霞等<sup>[13]</sup>通过睑缘缝线机械性阻止大鼠瞬目,制作了暴露性干眼病大鼠模型;刘常明等<sup>[14]</sup>通过百日咳疫苗加完

全弗氏佐剂加同种鼠结膜抗原,多点注射于小鼠的足垫、背部皮下及四肢腋下淋巴结,诱导了结膜干燥症模型; Dursun 等<sup>[15]</sup>通过经鼠皮肤安装东莨菪碱装置并将小鼠暴露在持续的气流中,在雌鼠中成功制造了干眼模型。这些动物模型为进一步进行干眼病的研究奠定了基础。从以上的这些造模方法中,大都是根据发病机制的不同,制造了以下几种模型:(1)泪腺炎症模型;(2)蒸发过强性模型;(3)神经调控模型;(4)性激素调控模型。这些造模方法虽然都能使动物产生干眼的表现,但都具有一定的局限性,都无法完全模拟干眼产生的所有可能病因。

本实验采用马驮群等<sup>[2,12]</sup>通过切除大鼠睾丸和附睾成功建立去势雄鼠干眼病模型,是基于以下几方面的考虑:(1)造模方法操作较简单,手术成功率高。(2)在本课题的前期研究中密蒙花总黄酮可以与眼组织雄激素受体结合,考虑拟雄激素效应是其治疗干眼病的主要机制之一;Wickham 等<sup>[16]</sup>研究证实鼠、兔及人的泪腺、睑板腺、结膜和角膜中存在雄激素、雌激素和黄体酮等性激素受体,性激素与受体结合后有共同调节泪腺、睑板腺、结膜和角膜的功能,性激素水平是影响干眼发病的重要因素之一。(3)该方法是目前制造雄激素水平下降的干眼病模型中比较公认的造模方法。

本实验研究中通过检测大鼠 S I t 和 BUT 发现,手术对照组 3 和 5mo 后泪液分泌检测试纸被泪液浸湿的长度和 BUT 均有明显减少(表 2,3),与正常组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。这充分说明,大鼠切除睾丸和附睾后导致体内雄激素水平下降(表 3),能影响泪液的分泌和泪膜的稳定性,从而使大鼠产生干眼病的症状和体征。参照张梅的标准也说明实验制作去势雄性 Wistar 大鼠干眼病模型是成功的<sup>[5]</sup>。

**3.2 雄激素下降导致的干眼病** 本实验通过去势后干眼病动物模型的成功建立,已经可以帮助我们证实雄激素在促进泪液分泌功能和维持泪膜稳定性方面的作用。罗丰年等<sup>[17]</sup>在去势雄兔眼表及泪膜的变化研究中发现,雄兔去势后随着睾酮水平的下降,其泪液分泌量也相应的减少,两者间呈正相关。刘超等<sup>[18]</sup>通过去势雄兔实验研究进一步认识到雄激素水平降低可能通过细胞信号转导途径,对靶基因转录的调控发生改变,导致一系列细胞因子的表达发生改变,主要通过细胞凋亡途径和眼表组织炎症反应,损伤泪腺结构、降低泪腺分泌功能;并且通过细胞凋亡和眼表炎症反应导致干眼病。Azzarolo 等<sup>[19]</sup>研究发现雄激素具有防止泪腺细胞凋亡及抗炎反应的作用<sup>[20]</sup>。

通过以上研究,我们发现雄激素与干眼病的发生有着非常密切的关系。我们不仅完全能够在性激素降低所导致的干眼病动物模型中找到干眼病与雄激素下降的显著相关性。

**3.3 密蒙花总黄酮对干眼病的影响** 中医对干眼病的认识有悠久的历史,干眼病暂无确切的中医病名,根据其症状,轻症可归属于“白涩症”,重症可归属于“外障翳症”、“神水将枯”的范畴。干眼病在祖国医学中,一般认为其病因为肺阴不足,或肝肾受损,阴血不足,目失濡养,或脾肾虚弱,津液不布,或脾胃湿热,清浊升降失司,或余热未尽等。其辨证方法大多采用五轮理论之轮脏隶属关系,强调眼表为标(轮),脏腑为本,宜辨轮脏之虚实,治则标本兼顾。

密蒙花(Buddleja of ficinalis Maxim)别名老蒙花、锦花、水黄饭花、虫见死、染饭花、糯米花、酒药花、断肠草,为马钱科(Loganiaceae)醉鱼草属(Buddleja)落叶灌木密蒙花树的花蕾,其味甘,性微寒,归肝经,属清热泻火药,有清热(泻火)养肝,明目退翳之功效<sup>[21]</sup>。主治目赤翳障、目昏干涩、多泪羞明、眼生翳膜、肝虚目暗、视物昏花等症<sup>[22]</sup>。《张皆春眼科证治》云:“肝虚目昏,肝热赤翳皆可用之,阴虚有热者尤宜。此为眼科之要药。”古籍中有许多关于密蒙花为君药治疗干眼病的记载:《银海精微·药性论》曰:“密蒙花,……入肝经,能明目。”所收录代表方剂为密蒙花散,以密蒙花为君药。《银海精微·卷之下》说:“密蒙花散:治久患内外障翳,羞明怕日,……风热气障等病皆治之。”《秘传眼科龙木论》亦有治疗眼表干燥的论述:“密蒙花散:治风气攻注,两眼昏暗,眵泪羞明。睑生风栗,隐涩难开,或痒或痛,……昏涩隐疼,并暴赤肿疼皆治之。”金树森<sup>[23]</sup>用复方密蒙花汤以密蒙花 30g 为君治疗结膜炎 30 例,取得较好疗效。陈兆明<sup>[24]</sup>自拟密蒙花散治疗小儿目眨,收到满意疗效。可见密蒙花在内可以清肝之积热,滋肝之阴液,在外可清卫表风热,为治疗干眼病的理想药物。

现代研究认为密蒙花提取物中,活性成分为黄酮类物质。李教社等<sup>[25]</sup>对密蒙花化学成分进行了研究,用色谱等方法从密蒙花花蕾中分离得到 8 个黄酮类化合物。目前研究已证明某些黄酮类化合物具有拟雄激素作用<sup>[26]</sup>,可以用于治疗因性激素水平下降所致的某些疾病,如骨质丢失等<sup>[27]</sup>。密蒙花提取物中所含有的 8 种黄酮类物质同样属于植物性激素。用放射性示踪标记方法研究还表明密蒙花提取物中含有的大量黄酮类物质是细胞膜雄激素受体的刺激物,可以与细胞膜雄激素受体结合发挥生物学效应<sup>[28]</sup>。

根据本研究结果,我们认为采用密蒙花总黄酮喂养去势雄鼠并不能直接提高大鼠体内的睾酮水平,其机制可能是密蒙花提取物与雄激素受体( androgen receptors, AR)结合后,使雄激素受体阳性表达<sup>[29]</sup>,产生与雄激素相似的生物学效应,此效应可能通过减少角膜和泪腺细胞凋亡,炎症反应及调节免疫等多种途径来减轻角膜及泪腺组织的损伤,保护其组织形态学结构,从而提高泪液基础分泌量,维持泪膜稳定性,改善眼表干燥状态。可以认为密蒙花总黄酮可用于雄激素水平下降所导致的干眼病的治疗。但是,本实验只能从密蒙花总黄酮保护其组织形态学结构,这一个侧面说明其对干眼病的作用机制,其具体的分子生物学机制尚有待进一步研究。同时,对于临床上能否使用其来替代雄激素治疗雄激素水平下降所致的干眼病以及长期使用密蒙花总黄酮是否会引起副作用,及临床上具体的用法和用量及采用什么样的剂型给药等诸多问题尚等待进一步的深入研究探讨。

本研究通过观察密蒙花总黄酮对去势雄鼠干眼病大鼠模型基础泪液分泌量、泪膜稳定性、泪腺和角膜组织形态学改变及血清睾酮水平测定,得出如下结论:(1)雄激素水平下降可导致干眼病,采用双侧睾丸及附睾切除的方法可成功建立雄激素水平下降所致大鼠干眼病动物模型。(2)密蒙花总黄酮可改善雄激素下降导致的干眼病 Wistar 大鼠角膜和泪腺组织的病理改变。密蒙花总黄酮能产生同丙酸睾酮治疗干眼病相似的效果。密蒙花总黄酮可能成为治疗干眼病的一个全新药物。



参考文献

- 1 刘祖国. 眼表疾病学. 北京: 人民卫生出版社 2003; 286-294
- 2 马轶群, 王传富, 刘美光. 去势雄兔干眼症模型角膜上皮细胞凋亡及相关基因表达的研究. 眼科研究 2004; 22(3): 286-289
- 3 林静. 去势雌干眼症动物模型制作及发病机制的研究. 眼科研究 2007; 25(11): 814-817
- 4 张梅, 陈家祺, 刘祖国. 干眼症检查的进展. 眼科研究 2001; 19(2): 184-187
- 5 Fujihara T, Nagano T, Nakamura M, et al. Establishment of a rabbit short-term dry eye model. *J Ocul Pharmacol Ther* 1995; 11(4): 503-508
- 6 施炜, 李桥, 王育良, 等. 反射缺乏型干眼动物模型的研究. 眼科研究 2009; 27(4): 296-299
- 7 Buralgassi S, Panichi L, Chetoni P. Development of a simple dry eye mode in the albino rabbit and evaluation of some tear substitutes. *Ophthalmic Res* 1999; 31(2): 286-289
- 8 Gifford P, Evans BJ, Morris J. A clinical evaluation of Systane. *Cont Lens Anterior Eye* 2006; 29(1): 31-40
- 9 Gilbard JP, Rossi SR. Tear film and ocular surface changes in a rabbit model of neurotrophic keratitis. *Ophthalmology* 1990; 97(3): 308-312
- 10 Zhu Z, Stevenson D, Schechter JE, et al. Lacrimal histopathology and ocular surface disease in a rabbit model of autoimmune dacryoadenitis. *Cornea* 2003; 22(1): 25-32
- 11 吴艺, 柯晓云, 张汗承. 中药人工泪液对家兔干眼模型疗效研究. 中国中医眼科杂志 1997; 7(4): 195-196
- 12 马轶群, 王传富, 王青. 维生素 A 缺乏干眼症兔泪腺凋亡及相关基因表达. 眼科新进展 2003; 23(6): 406-408
- 13 田明霞, 王传富. 暴露性干眼症大鼠模型角膜上皮细胞凋亡及相关基因的表达. 眼科新进展 2006; 26(10): 747-750
- 14 刘常明, 孙京华, 张翌昭. 环孢素 A 滴眼液治疗结膜干燥综合症的机理探讨. 临床眼科杂志 2005; 13(5): 431-434
- 15 Dursun D, Wang M, Monroy D, et al. A mouse model of keratoconjunctivitis sicca. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2002; 43(3): 632-638
- 16 Wickham LA, Gao J, Toda I, et al. Identification of androgen, estrogen and progesterone receptor mRNAs in the eye. *Acta Ophthalmol Scand* 2000; 78(2): 146-153
- 17 罗丰年, 张汉承, 孙叙清, 等. 去势雄兔泪液分泌及泪膜稳定性的改变. 中华眼科杂志 2001; 37(6): 458-461
- 18 刘超, 王传富. NFκBp65、NOS2 在去势雄兔角膜、结膜和泪腺中的表达及意义. 眼科研究 2006; 24(1): 81-83
- 19 Azzarolo AM, Wood RL, Mircheff AK, et al. Androgen influence on lacrimal gland apoptosis, necrosis, and lymphocytic infiltration. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1999; 40(3): 592-602
- 20 赵萍, 宋秀君, 赵霞, 等. 雌雄激素对去卵巢雌鼠泪腺 TGF-β1 表达的影响. 眼科研究 2009; 27(4): 307-311
- 21 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国药典. 北京: 化学工业出版社 2005; 230
- 22 徐国钧, 施大文, 沈联德, 等. 生药学. 北京: 人民卫生出版社 1986; 313
- 23 金树森. 复方密蒙花汤治疗结膜炎 30 例. 云南中医药杂志 1998; 19(1): 21-22
- 24 陈兆明. 自拟密蒙花散治疗小儿目眨. 云南中医学院学报 1999; 22(2): 39-40
- 25 李教社, 赵玉英, 李秀兰. 密蒙花黄酮类化合物的分离和鉴定. 药学报 1996; 31(11): 849-854
- 26 黄秀兰, 周亚伟, 王伟. 淫羊藿黄酮类化合物药理研究进展. 中成药 2005; 27(6): 719-721
- 27 Moyad MA. Complementary therapies for reducing the risk of osteoporosis in patients receiving luteinizing hormone-releasing hormone treatment/orchiectomy for prostate cancer: a review and assessment of the need for more research. *Urology* 2002; 59( Suppl 1): 34-40
- 28 Nifli AP, Bosson-Kouame A, Papadopoulou N, et al. Monomeric and oligomeric flavanols are agonists of membrane androgen receptors. *Exp Cell Res* 2005; 309(2): 329-339
- 29 彭清华, 姚小磊, 吴权龙, 等. 密蒙花提取物滴眼对于干眼症去势鼠泪腺组织雄激素受体数量的影响. 国际眼科杂志 2010; 10(2): 203-208