

补肾疏肝针药结合对卵巢早衰大鼠卵巢储备力的影响研究

余小乔¹ 李云君²

(1. 湖北中医药大学, 湖北武汉 430061; 2. 湖北省中医院, 湖北武汉 430061)

摘要 目的:观察补肾疏肝针药结合对卵巢早衰(POF)模型大鼠卵巢储备力的影响。方法:将60只雌性SD大鼠随机分为空白组、模型组、电针组、中药组、针药组、西药组,除空白组外其余各组大鼠采用雷公藤多苷片50mg/kg灌胃联合束缚建立卵巢早衰动物模型。造模成功后,中药组予具有补肾疏肝作用的中药复方灌胃,电针组予电针三阴交、关元、太冲穴,针药组同时予中药灌胃及电针治疗,西药组予戊酸雌二醇溶液灌胃,疗程均为30d。造模前与治疗后称重大鼠计算体质量增量,处死后摘取卵巢称重,计算卵巢指数,酶联免疫吸附法测定大鼠血清雌二醇(E₂)、卵泡刺激素(FSH)、抗苗勒氏激素(AMH)水平,HE染色观察卵巢组织形态学变化,光镜下计数各级卵泡数目。结果:模型组大鼠体质量增量、卵巢质量和卵巢指数均明显低于空白组($P<0.01$),西药组、中药组和针药组大鼠治疗后上述指标均明显高于模型组($P<0.05$, $P<0.01$),电针组大鼠卵巢质量明显高于模型组($P<0.05$),电针组体质量增量、卵巢质量明显低于针药组($P<0.05$, $P<0.01$)。模型组大鼠卵巢体积缩小,生长卵泡数减少,还可见大量闭锁卵泡和间质腺,黄体纤维化;各治疗组大鼠卵巢情况明显改善。模型组大鼠卵巢生长卵泡、成熟卵泡、黄体数目均明显低于空白组($P<0.01$),闭锁卵泡数目明显高于空白组($P<0.01$);各治疗组上述指标均较模型组有不同程度的改善;针药组较其他治疗组改善程度更有优势,其中生长卵泡、成熟卵泡数目明显高于西药组($P<0.05$),闭锁卵泡与黄体数目与西药组相当。模型组大鼠血清E₂、AMH含量显著低于空白组($P<0.01$),FSH含量显著高于空白组($P<0.01$);与模型组相比,各治疗组大鼠性激素水平均有不同程度的改善,针药组FSH、AMH含量与西药组相当。结论:补肾疏肝针药结合治疗POF模型大鼠疗效显著,可改善大鼠低雌激素高促性腺激素状态,促进卵泡生长发育及成熟,抑制卵泡过度闭锁,提高卵巢储备力。

关键词 补肾疏肝;针药结合;卵巢早衰;卵巢储备力;实验研究;电针;中药复方;SD大鼠

中图分类号 R711.750.5 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X(2019)10-0083-05

基金项目 中科院中基所自主项目(YZ-1741);湖北省中医药中西医结合科研项目(鄂卫生计生通〔2017〕20号)

卵巢早衰(Premature Ovarian Failure, POF)是指妇女40岁前因卵泡耗竭而出现的卵巢功能障碍,以低雌激素和高促性腺激素为特征,临床表现为月经失调、不孕、性功能障碍、围绝经期综合征等一系列症状。研究认为此病与遗传、自身免疫疾病、放化疗、卵巢手术史、代谢紊乱、心理因素和环境因素等有关^[1-2]。目前认为POF是不可逆转的,西医主要采用激素替代疗法治疗。中医认为卵巢早衰的病理基础是肾精亏虚、肝气郁结。有研究表明,针药结合治疗POF可改善性激素水平,提高卵巢功能^[3-4]。本研究立足于卵巢早衰的中医病机,以补肾疏肝为法,观察中药、电针或中药联合电针对POF模型大鼠卵巢储备力的影响。

1 实验材料

1.1 动物 6周龄雌性SD大鼠60只,体重180~200g,由湖北省实验动物研究中心提供,动物合格证号:

SCXK(鄂)2015-0018。

1.2 药品与试剂 自拟中药复方:菟丝子20g、枸杞子20g、紫石英15g、熟地10g、桑椹子15g、川续断10g、肉苁蓉15g、山茱萸10g、石斛10g、赤芝15g、佛手10g、茯苓10g,饮片由湖北省中医院药剂科提供,采用传统的煎煮方法过滤、浓缩制成浓度为1.83g/mL的水煎液。雷公藤多苷片,批号20171201,远大医药;戊酸雌二醇(1mg/片),批号349A,拜耳;苏木素染液(批号H9627)、包埋石蜡(批号69019361)、中性树胶(批号10004160),均购自国药集团;雌二醇(E₂)酶联免疫吸附测定试剂盒,批号E-EL-0065c,伊莱瑞特;卵泡刺激素(FSH)酶联免疫吸附测定试剂盒,批号E-EL-R0391c,伊莱瑞特;抗苗勒氏激素(AMH)酶联免疫吸附测定试剂盒,批号E-EL-R0640c,伊莱瑞特。

1.3 主要仪器 微型高速离心机(C2500-R-230V,美国Labnet),磁力搅拌器(T8-1,金坛市中大仪器厂),电热恒温培养箱(ICV-450,日本ASONE),全自动酶标仪(Multiskan, MK3),病理切片机(德国Leica RM),抗原修复用电烤炉(SKG),显微镜(奥林巴斯, BX53),华佗牌针灸针(0.25mm×13mm),低频电子脉冲治疗仪(G6805-2A,上海华谊)。

2 实验方法

2.1 分组与造模 按随机数字表法将大鼠分为空白组、模型组、电针组、中药组、针药组、西药组,每组10只,造模前称重。除空白组外其余各组均按每日50mg/kg灌胃雷公藤多苷制剂10周^[5]。灌胃8周后,增加束缚作为应激原以建立心理应激动物模型^[6]。将大鼠放入自制束缚制动筒内,使之不能随意活动,保持空气畅通。每天制动应激1次,连续2周,第1~3天每天制动应激2h,以后每3天延长应激时间1h,直至第12~14天每天制动应激5h。造模时间共10周。对动物的处置符合《关于善待实验动物的指导性意见》。造模10周后,随机抽取2只模型组大鼠处死,解剖后行卵巢形态学检查,卵巢体积较正常同龄雌性大鼠减小,将卵巢组织制作病理切片,镜下未见小卵泡,有较多的闭锁卵泡,证实造模成功。

2.2 电针与给药 造模结束后开始治疗。空白组:常规饲养,不做任何处理。模型组:置于鼠衣中,只捆绑,不进行针刺,并灌胃生理盐水,2mL/次,1次/d。中药组:根据人与大鼠体表面积比率换算,按14.68g/kg剂量灌服中药水煎浓缩液,1次/d。电针组:取穴参照《实验针灸学》^[7]和《大鼠穴位图谱的研制》^[8],将大鼠置于自制鼠衣中,暴露四肢及腹部,取穴三阴交、关元、太冲,分别直刺5mm、2mm、1mm。将针柄接至电极上,频率2Hz,连续波,强度以肌肉轻微抖动为度,连续20min。每日1次,9d为1个疗程,疗程间休息1d,共治疗3个疗程。针药组:分别按照中药组与电针组的方法给药与电针联合治疗。西药组:将1mg戊酸雌二醇研碎后溶于生理盐水,配成0.0048mg/mL的溶液,按照0.12mg/kg的剂量灌胃给药。各组治疗时间均为30d。

2.3 样本收集 造模前与治疗结束后,大鼠称重。禁食8h,空腹状态麻醉后,手术开腹采集腹主动脉血,分离血清,置于-20℃保存。取出双侧卵巢并称其湿重,一侧卵巢置于10%甲醛溶液

中固定,另一侧卵巢-80℃冻存备用。脱水后以卵巢最大平面作为待检平面行石蜡包埋,以4μm厚度进行切片,制作HE染色病理片。

2.4 指标检测

2.4.1 体质量增量及卵巢指数 根据造模前与治疗体质量差值计算体质量增量。根据大鼠体质量和卵巢质量计算卵巢指数,卵巢指数=卵巢质量/大鼠体质量×100%。

2.4.2 卵巢组织病理形态及卵巢内各级卵泡数目 将制备好的HE染色病理切片置于镜下观察卵巢组织形态。计数各级卵泡及黄体数目,卵泡分级标准:生长卵泡由卵子及环绕其周围的单层至复层柱状颗粒细胞组成,包括初级卵泡、次级卵泡、窦前卵泡、早期窦卵泡;成熟卵泡有大的卵泡腔,直径600~700μm;闭锁卵泡,卵泡壁塌陷,卵母细胞萎缩,颗粒细胞与卵母细胞分离。将每组HE染色切片放大40倍后全卵巢计数生长卵泡、成熟卵泡、闭锁卵泡及黄体数目。

2.4.3 血清性激素检测 取血清,ELISA法分别测定FSH、E₂、AMH水平,严格按试剂盒说明书操作。

2.5 统计学方法 所有数据均使用SPSS 22.0统计软件进行分析。数据以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析(ANOVA),均数间两两比较用LSD-t检验,如方差不齐,Welch法校正后采用DunnettT'分析。以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

3 实验结果

3.1 各组大鼠体质量增量与卵巢指数比较 见表1。

3.2 各组大鼠卵巢组织形态学观察 见图1。空白组:卵巢体积较大,成熟卵泡的卵泡液丰富,黄体发育良好,可见各级发育良好的初级卵泡、次级卵泡,卵泡颗粒细胞层较多、排列有序,血管丰富。模型组:卵巢体积缩小,卵巢内结构混乱,生长卵泡数减少,卵泡颗粒细胞排列松散紊乱,还可见大量闭锁卵泡和间质腺,黄体纤维化,血管减少,可见炎性细

表1 各组大鼠体质量增量及卵巢指数比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	体质量增量(g)	卵巢质量(g)	卵巢指数(mg/100g)
空白组	10	105.50±6.12	80.65±12.99	28.07±4.52
模型组	10	85.89±5.67**	54.14±8.66**	20.25±3.24**
西药组	10	105.50±8.99##	77.03±11.53##	27.81±6.33##
电针组	10	86.00±9.74△△	61.63±9.83#△	24.22±3.52
中药组	10	113.63±6.05##	69.18±14.58##	25.54±5.39#
针药组	10	115.75±9.07##	74.52±9.30##	26.27±3.28##

注:与空白组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.01$;与针药组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$ 。

胞浸润。西药组:卵巢内可见较多初级卵泡及闭锁卵泡,卵巢内结构稍混乱,无囊性扩张卵泡,偶见优势卵泡。电针组:卵巢内可见较多的生长卵泡,卵泡颗粒细胞层数较模型组排列整齐,卵母细胞发育正常。中药组:卵巢中可并见囊性扩张的卵泡、原始卵泡、初级卵泡、闭锁卵泡,颗粒细胞层次较丰富,卵巢内血管也较丰富。针药组:相较于模型组,卵巢体积增大,闭锁卵泡减少,可见初级卵泡、次级卵泡,以及发育正常的成熟卵泡,还偶见囊状扩张卵泡,黄体数量增多。

3.3 各组大鼠各级卵泡数目比较 见表2。

3.4 各组大鼠血清性激素水平比较 见表3。

4 讨论

应激是机体对各种刺激产生的非特异性反应,心理应激能激活下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA轴),影响女性生殖内分泌功能^[9]。中医认为“肾主生殖”,肾精不足,天癸不充,冲任失畅,胞宫失养,致经水化源亏乏,正如《傅青主女科》中云:“经水早断,肾水衰涸”,月经需在肾气盛,天癸至,冲任通盛后至。同时肝为气血调节之枢,女性情志失调,肝失疏泄,气血运行不畅,郁久化火,使肝血暗耗,长期强烈的情志变化还会干扰肾-天癸-冲任-胞宫轴的功能,引起大脑皮质功能改变,渐致卵巢早衰^[10]。LIU等^[11]

认为雷公藤通过p53磷酸化从而激活Stk11-p53-p21信号通路,能诱导大鼠卵巢组织凋亡坏死,还有研究发现雷公藤制剂用量过大会对卵巢造成不可逆的损害^[12]。故本实验采用一定剂量的雷公藤制剂灌胃,联合中等程度的制动应激刺激大鼠,以模拟中医“情志不遂”的病因,从而造成大鼠生殖功能低下状态。

卵巢早衰的病理机制为卵巢储备功能下降,卵巢内的生长卵泡数量减少。AMH由小窦卵泡分泌,可抑制始基卵泡的募集,防止始基卵泡过度消耗,是

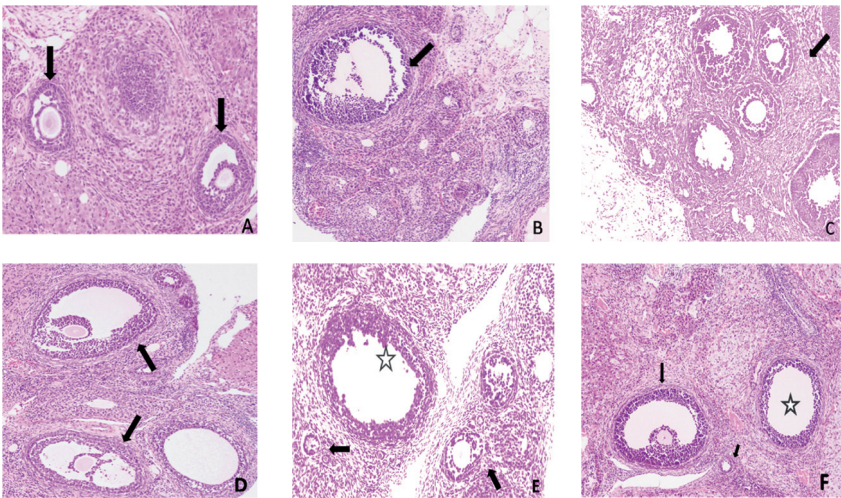


图1 各组大鼠卵巢局部形态(HE, ×100)
A: 空白组(↑: 优势卵泡); B: 模型组(↑: 闭锁卵泡); C: 西药组(↑: 初级卵泡); D: 电针组(↑: 成熟卵泡); E: 中药组(↑: 原始卵泡, ☆: 囊状扩张卵泡); F: 针药组(↑: 初级卵泡, ☆: 囊状扩张卵泡)

表2 各组大鼠各级卵泡数比较(̄x±s)

组别	动物数(只)	生长卵泡	成熟卵泡	闭锁卵泡	黄体
空白组	10	24.67±2.55	3.00±1.32	3.78±1.20	11.33±2.45
模型组	10	8.56±1.88**	0.56±0.73**	13.78±2.68**	4.89±1.36**
西药组	10	18.89±3.55##△	1.67±0.87#△	4.89±1.36##	10.33±1.58##
电针组	10	15.56±2.46##△△	1.56±1.13#△	8.00±1.58##△△	8.67±1.66##△
中药组	10	12.44±2.51##△△	0.78±0.67△△	9.67±1.58##△△	7.00±1.58#△
针药组	10	21.44±2.30##	2.56±0.88##	4.22±1.64##	10.22±1.39##

注: 与空白组比较, **P<0.01; 与模型组比较, #P<0.05, ##P<0.01; 与针药组比较, △P<0.05, △△P<0.01。

表3 各组大鼠血清性激素水平比较(̄x±s)

组别	动物数(只)	E ₂ (ng/dL)	FSH (mIU/mL)	AMH (ng/mL)
空白组	10	122.87±14.91	7.29±0.74	1.35±0.04
模型组	10	75.67±16.09*	11.24±0.60*	0.54±0.04*
西药组	10	113.82±19.45##△△	7.41±1.36##	1.18±0.05##
电针组	10	81.40±10.40△	8.40±0.99##	0.71±0.03#△
中药组	10	92.47±14.08#	10.26±0.67△△	0.79±0.04#△
针药组	10	96.71±13.66##	6.37±0.22##	1.13±0.10##

注: 与空白组比较, *P<0.01; 与模型组比较, #P<0.05, ##P<0.01; 与针药组比较, △P<0.05, △△P<0.01。

反映卵巢内窦卵泡数量及卵巢储备力的灵敏指标。模型组大鼠窦前卵泡及小窦卵泡减少, AMH含量降低, 抑制始基卵泡募集作用减弱, 卵泡耗竭加速, AMH的降低反映了模型组大鼠卵巢储备功能的降低。FSH是卵泡发育必需的激素, E₂是由卵泡膜细胞与颗粒细胞在FSH与LH的共同作用下合成的, 由于各级卵泡处于生长抑制状态, 无法发育至具备分泌能力的卵泡, 故E₂的合成减少, 进而负反馈调节垂体分泌过多的FSH。

关元穴是任脉与足三阴经的交会穴,通冲任脉,可补益冲任;三阴交穴位于足太阴经,是肝脾肾三阴经交会穴,可调理肝脾肾三脏气血;太冲穴位于足厥阴肝经,刺之使肝气疏泄条达,运行通畅,气血调和。三穴合用,有补益冲任、调理肝脾肾之功。乔瑞瑞等^[13]发现针刺“百会”“神门”“太冲”穴可下调血清中促肾上腺皮质激素(AcTH)以及皮质醇(CORT)含量,认为其作用机制可能与针刺调节HPA轴的功能有关。田梦等^[14]发现关元、三阴交是治疗卵巢早衰的常用穴。本实验结果表明,与模型组相比,电针组大鼠卵巢组织中生长卵泡、黄体数目增多,闭锁卵泡减少,血清中FSH含量下降,AMH含量升高,差异均有统计学意义;病理图片示电针组卵巢内可见较多的生长卵泡,卵泡颗粒细胞排列趋于整齐。说明电针有助于改善卵巢功能,可能通过重建卵巢与垂体之间的调节应答,进而调整血清内分泌激素水平。然而,电针组大鼠体质量、卵巢质量无显著升高,推测由于电针治疗重在理气疏肝,调节全身气机,可改善机体的功能状态,但未能使大鼠恢复至肾精充足的健康状态,且大量研究发现针刺具有较好的减肥作用^[15-16],这些可能是造成电针组大鼠体质量升高不明显的原因。

本实验的中药复方由导师李云君根据临床经验自拟而成,其中菟丝子、肉苁蓉温补肾阳,熟地、枸杞子益精填髓、大补真阴,紫石英、桑椹子、川续断、山茱萸阴阳相济,石斛滋阴清热生津,佛手疏肝解郁。茯苓健脾,赤芝益气,两药相配补后天以养先天。全方集阴阳双补于一方,体现“阴中求阳”“阳中求阴”,且全方有温润补虚之能而无苦寒伤正之弊,具有补肾填精之用,兼疏肝理气之功。结果表明,与模型组相比,中药组大鼠体质量、卵巢指数均显著增高,病理切片中可见各级生长卵泡、成熟卵泡及囊状扩张卵泡,且卵巢内血管较丰富。中药组血清FSH含量与模型组相比无统计学差异,推测可能与受损的卵巢还未恢复正常功能有关,而E₂含量升高也可能与部分补肾中药具有雌激素样作用有关^[17],AMH含量较模型组升高,说明卵巢储备功能有一定的改善。本研究发现单用中药复方,卵巢功能有一定的恢复,但治疗作用不甚明显。

针药结合治疗是针对病理因素进行综合治疗的方式,且电针和中药并非只是治疗作用的累加,而是相辅相成,互相加强的。本研究结果表明,针药结合组大鼠卵巢指数、各级卵泡数目和血清E₂、FSH、AMH含量及卵巢形态均趋于正常水平,各项指标与西药组相比无显著性差异,说明补肾疏肝针药结合治疗

后,下丘脑-垂体-卵巢轴的内分泌功能得以恢复,卵巢能分泌正常水平的E₂,反馈性地抑制垂体分泌过量的FSH,从而抑制了卵泡凋亡,各级小卵泡得以正常发育,由小卵泡分泌的AMH也同时恢复至正常水平。这说明卵巢早衰患者的卵巢内是依然存在卵泡的,部分始基卵泡及小窦卵泡停止了生长,进入了“休眠状态”,推测此疗法可有效激活生长停滞的卵泡,使卵巢功能复苏,进而恢复正常激素水平。我们推测针药结合治疗可能基于某些通路或通过作用于某些细胞因子发挥治疗卵巢早衰的作用,后续可进一步对针药结合治疗卵巢早衰的机制进行深入研究。

参考文献

- [1] SHEIKHANSARI G, AGHEBATI-MALEKI L, NOURI M, et al. Current approaches for the treatment of premature ovarian failure with stem cell therapy[J]. Biomedicine Pharmacother, 2018, 102: 254.
- [2] VERMA P, K SHARMA A, SHANKAR H, et al. Role of trace elements, oxidative stress and immune system: a triad in premature ovarian failure[J]. Biol Trace Elem Res, 2018, 184(2): 325.
- [3] 张永兴, 李静云. 针药结合治疗卵巢早衰疗效观察[J]. 中国中医药信息杂志, 2014, 21(8): 97.
- [4] 李明月. 补肾疏肝针刺法对卵巢早衰模型大鼠性激素的影响研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2015.
- [5] 吴克明, 张黎鹏, 王家葵, 等. 雷公藤多甙致雌性小鼠生殖损伤模型治疗时机研究[J]. 成都中医药大学学报, 2008, 31(2): 27.
- [6] KAM K, PARK Y, CHEON M, et al. Effects of immobilization stress on estrogen-induced surges of luteinizing hormone and prolactin in ovariectomized rats[J]. Endocrine, 2000, 12(3): 279.
- [7] 余曙光. 实验针灸学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 76, 126, 151.
- [8] 华兴邦, 周浩良. 大鼠穴位图谱的研制[J]. 实验动物与动物实验, 1991(1): 3.
- [9] 毕天成, 胡文晓, 俞超芹. 应激对下丘脑-垂体-卵巢轴的影响机制及中药对应激动物模型作用的研究进展[J]. 泰山医学院学报, 2014, 35(7): 708.
- [10] 陈家旭, 刘群, 寇美静, 等. 中医药从肝论治卵巢早衰的理法方药观[J]. 中华中医药杂志, 2014, 29(6): 1916.
- [11] LIU T, ZHANG L N, WANG S W, et al. Tripterygium glycosides induce premature ovarian failure in rats by promoting p53 phosphorylation and activating the serine/threonine kinase 11-p53-p21 signaling pathway[J]. Exp Ther Med, 2015, 10(1): 12.
- [12] 湛婕. 雷公藤多甙致雌性小鼠肾虚生殖功能低下动物模型研究[D]. 成都: 成都中医药大学, 2006.

特发性膜性肾病中医药治疗进展

吴成态¹ 李颖霞¹ 丁 秀² 王小琴²

(1. 湖北中医药大学, 湖北武汉 430061; 2. 湖北省中医院, 湖北武汉 430061)

摘 要 近年来中医药治疗特发性膜性肾病(IMN)取得了一定进展,主要包括辨证论治、单方及中成药治疗、针灸及其他治疗、中西医结合治疗等方面。但也应看到研究中存在的不足之处,未来需要更多高质量、多中心随机对照实验来证实IMN患者可以单独采用中医辨证治疗,建立统一的辨证标准和疗效评价体系。在基础研究方面,中医药治疗IMN的靶点机制有待阐明,以期中成药开发提供依据。在治疗方式上,中医辨治疾病方式多样,针灸、穴位贴敷、穴位注射等作为辅助疗法治疗IMN也有待进一步的研究。

关键词 特发性膜性肾病;综述;中医药疗法

中图分类号 R277.529 **文献标志码** A **文章编号** 1672-397X (2019) 10-0087-03

基金项目 国家自然科学基金项目(81874439);国家中医临床研究基地业务建设科研专项(JDZX2015194);中国中医科学院中医基础理论研究所“院所协同创新科研专项基金”(YZ-1847)

特发性膜性肾病(Idiopathic Membranous Nephropathy, IMN)是导致中国成人肾病综合征最主要原因之一^[1],其病理组织学表现为脏层上皮细胞下免疫复合物沉积、基底膜弥漫性增厚及钉突形成^[2]。临床上多为大量蛋白尿、低蛋白血症、水肿、高脂血症等肾病综合征的表现。IMN患者自然病程呈现多样性^[3],约1/3的患者可表现为自发缓解,1/3的患者表现为持续性蛋白尿但肾功能保持相对稳定,剩下1/3的患者将最终进展为终末期肾脏病(End-Stage Renal Disease, ESRD)。2012年KDIGO指南推荐IMN初始治疗选用糖皮质激素联合环磷酰胺治疗,但临床上部分患者疗效欠佳且副作用大^[4]。近几年,随着对IMN的认识逐渐加深,中医药治疗本病

也取得了一定进展。陈以平教授团队的一项多中心随机对照试验显示参芪颗粒中药制剂对IMN的缓解率与激素加环磷酰胺的标准疗法相当,能明显改善肾功能且安全性更好^[5]。这表明中医药在治疗IMN方面有较好应用前景,现将近年来中医药治疗IMN的进展概述如下。

1 辨证论治

中医各家对IMN的辨证分型见仁见智。吕仁和教授将本病分为本虚证及标实证两大类^[6]。本虚证包括:脾气亏虚证,治宜益气健脾为主,方药中多重用黄芪、当归;脾肾两虚证,治宜健脾补肾为主,方药多选黄芪、炒白术、金樱子、芡实等;肝肾两亏证,治宜补益肝肾,方药多用女贞子、墨旱莲、枸杞等;气阴两伤

- [13] 乔瑞瑞,燕平,刘明菲,等.电针“百会”“神门”“太冲”穴对慢性应激抑郁模型大鼠血清ACTH、CORT的影响[J].世界中西医结合杂志,2014,9(2):156.
- [14] 田梦,娄天伟,卢岩,等.针灸治疗卵巢早衰取穴规律探析[J].江苏中医药,2017,49(7):67.
- [15] 唐红珍,植兰英,颜世俊,等.特定穴位针刺治疗对肥胖模型小鼠血清血管生成因子的影响[J].世界科学技术-中医药现代化,2013,15(6):1370.
- [16] 刘志诚,孙凤岷,赵东红,等.针刺对肥胖大鼠瘦素水平和瘦素受体基因表达的作用[J].中国针灸,2003,23(7):412.

- [17] WONG K C, LEE K S, LUK H K, et al. Er-xian Decoction exerts estrogen-like osteoprotective effects in vivo and in vitro[J]. American Journal of Chinese Medicine, 2014, 42(2):409.

第一作者: 余小乔(1993—),女,医学硕士,研究方向为中医治疗妇科杂病。

通讯作者: 李云君,医学博士,主任医师,硕士研究生导师。yejun84@126.com

收稿日期:2019-02-28

编辑:吴 宁