

中药研究

补肾药对下丘脑—垂体—性腺轴功能影响

江西中医学院 李炳如 余运初

祖国医学认为,肾为先天之本,肾主生殖,女性生殖机能如经、带、胎、产等都与肾有密切关系。故中医临床辨证在妇科方面十分重视肾气的盛衰。补肾中药对治疗多种妇科疾病有重要作用。在妇科中西医结合研究中,也十分强调补肾的作用⁽¹⁾。为了阐明补肾中药作用机制,为临床应用和提高疗效提供理论基础和参考,本文研究了中医常用补肾中药菟丝子、巴戟天、熟地、肉苁蓉、仙茅、淫羊藿和枸杞子对下丘脑—垂体—性腺轴功能的影响,现将结果报道如下:

材料与方法

一、药物与制剂

菟丝子、巴戟天、熟地、肉苁蓉、仙茅、淫羊藿和枸杞子由本院附属医院药房提供,生药经我院中药教研组作了外观鉴定。称取生药100克,加水700毫升,浸泡1小时,文火煎煮至沸后30分钟,纱布过滤,收集滤液。残渣再加水300毫升,煎煮30分钟,过滤。合并两次滤液,水浴下蒸发浓缩至最终体积100毫升(相当于1克生药/毫升)。

¹²⁵I-hCG由上海生物制品研究所供应。经测定碘化纯度为85~90%。d-丙-LRH(黄体生成素释放激素D-丙氨酸类似物)由中国科学院上海生物化学研究所和宁波市激素制品厂提供之高纯度。

二、实验项目与方法

1. 对正常大白鼠垂体—卵巢内分泌功能的影响:用正常雌性大白鼠35只,体重150~200克。随机分为8组:菟丝子组、巴戟天组、熟地组、肉苁蓉组、仙茅组、淫羊藿组、枸杞子组和对照组。药物组以灌胃给药,按1毫升/100克体重,每日2次,连服5天。对照组灌服同量生理盐水。第6天处理动物,在戊巴比妥钠麻醉下,由腹主动脉取血1毫升,分离血浆,留作血浆黄体生成素(LH)测定。摘出垂体前叶、子宫和卵巢并称量,将卵巢立即投入冰冻之Tris-HCl缓冲液中留作测定hCG/LH受体。

2. 去卵巢大白鼠垂体对LRH反应性的影响:实验设计参照Johnson JH和Davis CL的方法⁽²⁾,取35

只成年健康雌性大白鼠,体重150~200克,在乙醚麻醉下切除双侧卵巢。一周后,随机分为8组。7组为相应各服药组,1组为对照组。每日灌胃给药2次,按1毫升/100克体重,连服5天;对照组服同量生理盐水。第6天上午8点,用戊巴比妥钠皮下注射麻醉(50毫克/公斤),麻醉后30分钟,由腹腔静脉抽血0.4毫升(肝素抗凝),然后由隐静脉注射d-丙-LRH(100毫微克/100克体重)。在注射LRH后30分钟和90分钟,由腹腔静脉各取血0.4毫升。离心分离3次,所取血样之血浆留作LH测定,以判定垂体对注射LRH后LH分泌反应。

3. 卵巢hCG/LH受体功能测定:基本方法按照Siebers JW等⁽³⁾的操作。将卵巢投入冰冷Tris-HCl缓冲液中,用玻璃匀浆器在冰水浴中作成匀浆,稀释度为1:10(W/V),取卵巢组织匀浆0.1毫升(内含卵巢组织10毫克),加¹²⁵I-hCG 0.1毫升(含¹²⁵I-hCG 1.72毫微克),加温育液(含0.1%牛血清白蛋白的Tris-HCl缓冲液)至最终体积为1毫升。在37℃水浴下温育30分钟,立即加入冰冷的缓冲液2毫升以终止反应。将此温育物测定总放射脉冲数/分,然后通过醋酸纤维微孔滤膜(孔径0.45微米,上海第十制药厂生产,用前置入4%牛血清白蛋白BSA液中浸泡半小时)抽滤,再用2毫升冷的缓冲液通过滤膜抽滤,以洗去残留的未结合碘。用γ-计数器(FH-408自动定标器,国营二六一厂)测定滤膜之放射活性(脉冲数/分)。按下式计算hCG的总结合量(微微克/10毫克卵巢):

$$\frac{\text{滤膜之脉冲数(结合)}}{\text{培养液总脉冲数} \times \text{碘化纯度}} \times 1720$$

为了测定卵巢匀浆hCG的非特异结合,在作每一测定管同时作一平行测定管,其中加入过量之非标记的hCG(约1800毫微克),以抑制特异结合,求得非特异结合量,从总结合量中减去非特异结合量,即为卵巢受体对hCG的特异结合量,以hCG(微微克/10毫克卵巢)表示。

为了测定卵巢hCG受体的数量及其对hCG亲和力的,需对同一组织匀浆作一系列结合试验,向各测定

管加入四个不同剂量之 ^{125}I -hCG,测定标记hCG结合量(同时平行测定非特异结合量),以各管加入 ^{125}I -hCG量为横座标,相应特异结合量为纵座标,作出特异结合曲线。并且作Scatchard分析,作图求出每毫克卵巢组织之最大结合量(Bmax),以 10^{-10} 克分子/毫克卵巢表示,代表卵巢hCG受体数目;以及解离常数(Kd),以 10^{-10} 克分子/升表示,代表卵巢hCG受体亲和力。

4. 血浆LH含量测定:用本实验室建立的hCG/LH放射受体法测定⁽⁴⁾。以大白鼠睾丸组织匀浆作为受体, ^{125}I -hCG作放射配基,温培2小时。根据加入不同剂量的标准hCG下对 ^{125}I -hCG的结合率作出标准曲线。再根据各测定管对 ^{125}I -hCG的结合率,从标准曲线上查得含量即代表血浆LH水平(毫微克/毫升)。

结 果

一、对雌性大白鼠垂体—卵巢内分泌功能的影响

实验结果列入图1、图2和表1、表2(表内数字为均数±标准差,表3同)。

由结果可见,助阳补肾中药菟丝子、巴戟天、肉苁蓉、仙茅和淫羊藿能使大白鼠垂体前叶重量、卵巢重量、子宫重量比对照组明显增重($P<0.01$);但血浆中LH水平未见改变;卵巢hCG/LH受体特异结合力服药组比对照组也明显提高($P<0.01$),其中卵巢hCG/LH受体部位的数目,菟丝子和巴戟天组增加,而Kd值比对照组却有所降低。服用补血滋阴药熟地和枸杞子剂量相同,但不表现上述作用。

二、对去卵巢大白鼠垂体对LRH反应性的影响

实验结果列表3。结果可见,各组动物在戊巴比妥钠麻醉下,血浆LH水平很低。注射了d-丙-LRH后,对照组动物在30分钟时血浆LH水平增加到22.25毫微克/毫升,90分钟时为18.50毫微克/毫升。而服了助阳补肾中药菟丝子、巴戟天、肉苁蓉、仙茅和淫羊藿的大白鼠,垂体对注射LRH后LH分泌反应明显增加,注射后90分钟时血浆LH水平分别为65.25、51.20、58、55.50和92.80毫微克/毫升,比对照组明显增高($P<0.01$)。熟地和枸杞子未见此种作用。

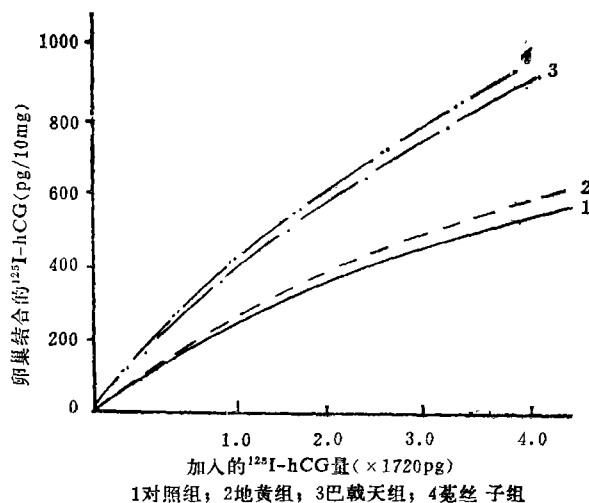


图1 大白鼠卵巢对 ^{125}I -hCG结合曲线

表1 肉苁蓉、仙茅、淫羊藿、枸杞子对大白鼠垂体—卵巢内分泌功能影响

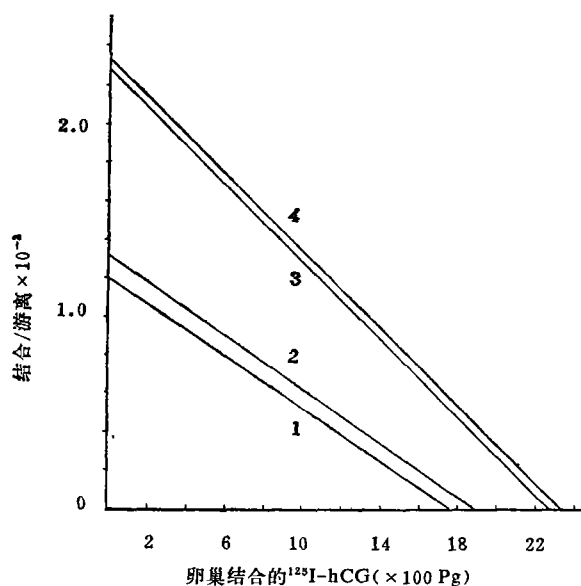
实验分组	动物数	垂体重量 (毫克)	血浆中LH水平 (毫微克/毫升)	卵巢重量 (毫克/100克体重)	卵巢对 ^{125}I -hCG 结合力(毫微克/ 10毫克卵巢)	子宫重量 (毫克/100克体重)
对 照 组	5	2.48±0.17	11.10±2.73	24.50±2.75	94.33±4.1	71.40±10.93
肉 苁 蓉 组	5	4.20±0.37	8.80±2.01	39.44±3.17	188.90±14.22	135.90±15.15
仙 茅 组	5	3.54±0.44	9.60±2.40	38.04±3.63	192.87±15.78	124.50±12.30
淫 羊 藿 组	5	4.76±0.11	10.20±2.58	38.04±3.66	301.99±8.06	112.96±11.43
枸 杞 子 组	5	2.66±0.22	10.10±3.19	25.52±1.74	101.74±4.91	76.00±13.56

表2 菟丝子、巴戟天、熟地对大白鼠—卵巢内分泌功能的影响

实验分组	动物数	垂体重量 (毫克)	血浆中LH 水 平 (毫微克/毫升)	卵巢重量 (毫克/100克 体重)	卵巢对 ^{125}I -hCG 结合力			子宫重量 (毫克/100克 体重)
					微克/10毫克 卵巢	B _{max} ($\times 10^{-15}$ 克分子/毫克)	Kd($\times 10^{-10}$ 克 分子/升)	
对 照 组	5	2.32±0.19	3.40±1.09	18.41±1.80	170.06±18.78	3.87	3.04	109.28±6.45
菟 丝 子 组	5	4.67±0.33	2.60±1.06	30.86±1.40	335.70±16.14	5.06	2.26	156.93±7.24
巴 戟 天 组	5	4.49±0.24	5.80±0.92	28.90±1.02	302.41±27.06	4.98	2.17	196.59±8.72
熟 地 组	5	3.78±0.23	3.00±1.60	19.83±2.93	185.26±19.00	4.00	3.34	115.38±11.52

表 3 菟丝子、巴戟天、肉苁蓉、仙茅、淫羊藿、熟地、枸杞子对去卵巢大白鼠垂体对LRH反应性影响

实验分组	动物数	血浆中 LH 水平(毫微克/毫升)		
		注 射 LRH 前	注 射 LRH 30'后	注 射 LRH 90'后
对 照 组	5	0.5	22.25±2.78	18.50±5.36
菟丝子组	5	0	36.10±8.30	65.25±4.44
巴戟天组	5	2.6	43.63±5.37	51.20±4.46
肉苁蓉组	5	1.6	34.00±4.20	58.00±8.28
仙茅组	5	0.8	41.60±6.00	55.50±13.41
淫羊藿组	5	1.6	45.20±4.64	92.80±11.74
熟地组	5	1.4	29.20±8.60	14.20±4.16
枸杞子组	5	1.4	20.20±9.41	17.40±3.50



1对照组; 2地黄组; 3巴戟天组; 4菟丝子组

图 2 图 1 的 Scatchard 分析

讨 论

正常雌性大白鼠给予助阳补肾中药煎剂, 对血中 LH 水平没有明显影响, 但却使垂体前叶、卵巢和子宫的重量明显增加。特别是它能提高卵巢 hCG/LH 受体功能, 表现对 ^{125}I -hCG 的结合量, hCG 受体数目 (Bmax) 及亲和力都增加。表明卵巢对 LH 的反应可能提高了。卵巢在 LH 的作用下, 促进排卵、黄体生成并维持黄体功能⁽⁶⁾。

切除卵巢的大白鼠, 消除了卵巢激素对垂体的反馈性影响⁽⁶⁾。应用戊巴比妥钠麻醉, 可阻断内源性 LRH 的释放⁽⁷⁾。在此基础上, 可观察垂体对注射外源

LRH 后分泌 LH 的反应性。本研究结果表明, 给大白鼠服用助阳补肾中药后, 对注射 LRH 后分泌反应有明显增强作用, 说明垂体对 LRH 的反应性提高了。

由此可见, 助阳补肾中药 (菟丝子、巴戟天、肉苁蓉、仙茅、淫羊藿) 可能增强下丘脑—垂体—卵巢促黄体功能, 而这种作用并不是由于它们直接刺激垂体促黄体激素的分泌, 而是提高垂体对 LRH 的反应性及卵巢对 LH 的反应性。这一点可能正是中药补肾的特点, 并具有生理意义。因为女性生殖内分泌必须维持正常生殖周期的动态平衡, 如果在外加药物的直接作用下使某一环节的激素水平提高, 将影响自然的生殖周期中内分泌平衡。助阳补肾中药没有表现这种作用, 但它们可以增强垂体及卵巢的反应性 (可能是通过激素受体功能的调节), 从而使下丘脑—垂体—卵巢轴的调节功能得以改善。这样在临床上就可以治疗黄体功能不足和调理女性生殖内分泌功能紊乱, 并且不会出现副反应。如近代研究表明, 少量雌激素对垂体 LRH 受体功能及垂体对 LRH 的反应性亦有促进作用⁽⁸⁾, 为雌激素的临床应用提示了新的意义。但雌激素本身还具有其他的激素样活性, 因此在用药剂量及时间上必须注意其副作用。这提示中药补肾的主要意义在于改善机体内的调节机制, 通过机体本身内在功能恢复而起积极的治疗作用。肾为先天之本, 通过以上实验也可以有助于理解其含意。

在本实验中, 没有发现熟地和枸杞子表现有上述作用, 因此对临床上配用熟地和枸杞子的机制还要进一步研究, 可能补血滋阴药有另外的作用。曾有报道表明, 六味地黄汤可增加肾血流量⁽⁹⁾。熟地和枸杞子是否也可以增加卵巢—子宫的血流量或改变局部的激素浓度, 尚有待进一步探讨。

本文承杨鸿志同志给予技术协助, 特此致谢。

参 考 文 献

- (1) 廖玟玲等: 江西中医药(1):21, 1983。
- (2) Johnson JH & Davis CL: Proc Soc Exp Biol 167 (3):434, 1981。
- (3) Siebers JW, et al: J Endocrinology 73:491, 1977。
- (4) 余运初: hCG/LH 放射受体测定法的建立。生殖与避孕 2(1):48, 1982。
- (5) 余运初: 排卵、受精、妊娠与分娩的内分泌学。内部资料, 1982。
- (6) Marian J, et al: Mol Pharmacol 19(3):394, 1981。
- (7) Blake CA: Endocrinology 95:572, 1974。
- (8) Aiyer MS & Fink G: J Endocrinology 62:553, 1974。
- (9) 余运初: 肾阳肾阴的生理功能及其临床意义。内部资料, 1975。