

实验研究

填精补肾中药对老年大鼠下丘脑—垂体—性腺—胸腺轴的形态学研究

马正立 施玉华 汪丽亚 叶 平
上海中医学院组织胚胎教研室 施九皋 李家琪 徐维蓉

内容提要: 本文工作表明,老年大鼠的下丘脑—垂体—性腺—胸腺轴各器官随增龄发生明显变化,下丘脑视上核、旁室核的甲细胞增加,乙细胞减少;垂体前叶生长激素细胞、促性腺激素细胞数量减少,嫌色细胞增加,并有性别差异。生殖器官萎缩退化, 3β -HSD、 20α -HSD、G-6-PD、SDH 等酶反应显著降低,胸腺萎缩等变化。固真、葆贞方剂能使视上核、旁室核的甲乙两型细胞比例得到改善,使垂体前叶 GH 细胞、促性腺激素 LH 细胞和促性腺激素 FSH 细胞数量增加,结构功能趋向正常,并能使生殖器官的形态结构和有关酶的活性得到改善与恢复。

祖国医学理论认为,人体的生长、发育、衰老与肾气阴精的盛衰、盈亏有密切关系。肾气衰易于衰老,而肾气盛则可延缓衰老,从而认为衰老的最重要因素是“肾虚”⁽¹⁾。应用填精补肾法以延缓衰老已成为历代中医的手段之一。Grossman 在研究胸腺—内分泌网的衰退在机体衰老中的作用中,提出下丘脑—垂体—性腺—胸腺轴 (HPGT) 的概念⁽²⁾。因此,对 HPGT 的研究将会更符合于中医的理论体系。本课题从形态学角度研究填精补肾中药对老年动物 HPGT 的影响,从而进一步探讨衰老的肾虚本质,以及它与 HPGT 的关系和填精补肾中药对延缓衰老的作用机理。

材料与方法

一、动物分组与给药方法

本实验选用 SD 系大鼠共 68 只,分为四组:老年组、固真组、葆贞组和青年组。

老年组和青年组动物均喂以普通饲料。雌雄兼用,青年组喂养至 4 月龄、老年组喂养至 21 月龄时,分别处死动物并取材。固真组和葆贞组均选用 14 月龄动物,固真组选雄性鼠,葆贞组选雌性鼠,两组动物均每月给药三周,停药一周,喂饲至 21 月龄时处死动物并取材。固真组动物给以中药固真冲剂制成的药饼,葆贞组动物给以中药葆贞冲剂制成的药饼。以上

冲剂均由本院附属龙华医院中药房提供,用药剂量为 8 克/只/日,为成人常用剂量的 20 倍。固真冲剂由复盆子配肉苁蓉等六味中药组成,有补肾固精作用;葆贞冲剂由何首乌配女贞子等六味中药组成,有补肝肾、益精血及黑鬓发的作用。

本实验共进行二次。第一次实验用 38 只动物,其中老年组 12 只,固真组 7 只,葆贞组 5 只,青年组 14 只;第二次实验用 30 只动物,其中老年组 3 只,葆贞组 6 只,固真组 6 只,青年组 10 只。

二、观察项目及方法

动物氯仿麻醉后,处死,迅速取出其垂体,固定于福马林汞液,常规石蜡切片包埋,冠状连续切片 4 微米,取第 300 片,Herlant's 阿利新蓝 (pH 0.2) 染色。油浸镜观察,并从垂体边缘开始顺视野计数,算出前叶细胞的百分比。间脑取出后,固定于 Bouin 氏液,石蜡包埋,额状连续切片厚 10 微米,醛复红染色显示神经分泌颗粒。选择核团大的切面,算出同一切面左右视上核、旁室核的细胞数及百分比。取出胸腺,以 Carnoy 氏液固定, H-E 染色和 Feulgen 反应显示 DNA。取左侧睾丸、卵巢、子宫和副性腺(输精腺、精囊腺)。液氮骤冷,恒冷箱切片 8 微米,进行组织化学反应。检测项目有 3β 羟基类固醇脱氢酶 (3β -HSD)、 20α -羟基类固醇脱氢酶 (20α -HSD)、琥珀酸脱氢酶 (SDH)、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G-6-PD)。

山梨醇脱氢酶以及 PAS 反应。右侧同样器官, 固定于 Bouin 氏液, 常规石蜡切片, H-E 染色。

结 果

一、下丘脑的变化

1. 视上核的变化: 视上核的神经细胞有甲、乙两型细胞。甲细胞的胞质及突起内有丰富的紫蓝色神经分泌颗粒, 为处于静止或储备期; 乙细胞颗粒稀少, 处于分泌期。青年组在核团的神经细胞周围有许多念珠状的神经纤维, 沿视上垂体束分布。各组动物视上核细胞数的变化见表 1。

表 1 各组动物视上核细胞数的变化

组 别	动物数	甲 细 胞 M±SE(%)	乙 细 胞 M±SE(%)
老年组	8	61.13±6.22(57.06)	46.00±4.95(42.94)
固真组	6	37.50±6.53*(36.00)	66.67±6.28*(64.00)
葆贞组	6	46.83±7.64(41.69)	65.50±8.25(58.31)
青年组	10	33.60±3.72**(25.77)	96.80±10.13**(74.23)

与老年组比较: *P<0.05; **P<0.01。以下诸表同

表 2 各组动物旁室核细胞数的变化

组 别	动物数	甲 细 胞 M±SE(%)	乙 细 胞 M±SE(%)
老年组	7	58.29±9.44 (55.06)	47.57±4.77 (44.94)
固真组	6	37.17±2.96*(37.54)	61.83±5.72* (62.46)
葆贞组	6	31.33±3.68*(31.76)	67.33±5.82* (68.24)
青年组	10	46.00±5.95 (33.85)	89.90±3.78**(66.15)

从表 1 可见, 老年组视上核甲、乙两型细胞的数量及百分比较青年组有显著改变, 甲细胞明显增加, 乙细胞明显减少, 说明老年组视上核分泌活动下降。与老年组比, 固真组与葆贞组视上核甲细胞数量及百分比均见减少, 乙细胞数量则均上升, 其中固真组的改变尤为明显, 说明中药有促进调整视上核分泌活动的作用。

2. 旁室核的变化: 旁室核的神经细胞与视上核者相似, 也分为甲乙二型。青年组的神经细胞周围也有念珠状神经纤维。各组动物旁室核细胞数的变化见表 2。

从表 2 可见, 老年组核团的甲细胞数及百分比, 较青年组增加, 但无显著差异, 而乙细胞则明显减少, 说明老年组旁室核的分泌活动同样下降。固真组及葆贞组的甲细胞数及百分比都较老年组显著降低, 而乙细胞数量及百分比都较老年组明显增加, 说明中药对旁室核细胞的分泌活动同样有促进作用。

二、垂体的变化

各组动物垂体前叶细胞百分比的变化见表 3。青年组垂体前叶促甲状腺激素细胞(TSH 细胞)数量较少, 呈深蓝色、多角形, 胞质内分泌颗粒排列在细胞的周边, 细胞成群分布于前叶腹侧和两侧中间区域; 促性腺激素 LH 细胞和 FSH 细胞的数量较 TSH 细胞多, 呈紫红色, 为圆形或卵圆形, 常成群地分布于毛细血管周围; 生长激素细胞(GH 细胞)数量较多, 呈橘红色, 胞体圆形, 体积较小; 嫌色细胞(N 细胞)不着染, 轮廓不清。老年组促性腺激素 LH 细胞和 FSH 细胞数量减少, 部分细胞核固缩, 胞质有空泡化, 类似“阉割细胞”, 并着染橘黄颜色; GH 细胞数量减少, 染色减弱; N 细胞数量增多, 常呈结节样增生。固真组 GH 细胞和 N 细胞数量趋向青年组。

三、生殖器官的变化

1. 睾丸的组织学与组织化学的变化: 青年组睾丸曲细精管多数发育正常, 管腔未满, 管壁边界整齐, 基膜薄。老年组 3/4 的动物曲细精管表现萎缩退化现象。其中有 3 只动物的曲细精管有 90% 退化, 曲细精管缩小, 边缘呈锯齿状, 管腔内只有 1~2 层生殖上皮, 有的部位甚至上皮全部消失, 曲细精管之间的结缔组织增多, 间质细胞缩小, 核浓缩。固真组有 8 只动物的睾丸结构比较正常。另有 5 只动物的曲细精管呈现不同程度的萎缩退化现象, 与老年组相似, 但其退化

表 3 各组动物垂体前叶细胞百分比的变化

垂体前叶细胞	雄 性 动 物			雌 性 动 物		
	老 年 组 M±SD(n)	固 真 组 M±SD(n)	青 年 组 M±SD(n)	老 年 组 M±SD(n)	葆 贞 组 M±SD(n)	青 年 组 M±SD(n)
TSH 细胞(%)	2.26 ±1.02(4)	3.02 ±1.07(4)	2.86 ±0.98(4)	1.88 ±0.94(3)	1.72 ±1.31(4)	2.89 ±0.27(4)
LH 和 FSH 细胞(%)	3.21 ±0.79(4)	5.46 ±2.20(4)	5.75 ±0.83(4)*	5.87 ±2.19(3)	7.15 ±2.10(4)	5.25 ±1.01(4)
GH 细胞(%)	30.37±12.80(4)	36.42±4.06(4)	46.53±2.07(4)*	16.06±1.20(3)	27.09±6.27(4)**	42.49±0.75(4)**
N 细胞(%)	64.15±14.05(4)	55.11±1.87(4)	44.86±1.27(4)*	76.20±2.51(3)	64.04±6.29(4)**	49.37±1.80(4)**
总细胞数	36235	34680	25569	20341	17556	24347

程度及数量较轻、较少;睾丸内都还留有40~50%的结构正常、生精上皮发育良好的曲细精管。

青年组睾丸间质细胞 3β -HSD阳性反应,细胞质内充满细小的蓝紫色反应颗粒,核阴性,在15只动物中,呈强反应(+++)的11只,中等强度(++)的3只,阳性反应(+)的1只。老年组酶反应强度比青年组明显减弱,在12只动物中,呈中等强度(++)的2只,阳性反应(+)的10只。固真组的反应介于青年组与老年组之间,在13只动物中,呈中等强度(++)的10只,阳性反应(+)的3只。

青年组睾丸精原细胞、精母细胞及间质细胞SDH反应较强,6只动物均呈强反应(+++)。老年组6只动物的精原细胞酶反应仍较强,但精母细胞及间质细胞酶反应较青年组明显减弱,呈中等强度(++)。固真组的6只动物酶反应介于青年组与老年组之间,呈中等至强反应(++~+++)

2. 凝结腺和精囊腺的组织学与组织化学变化:青年组凝结腺的上皮表面形成许多皱襞,腺腔小而且不规则,腔内有分泌物及少量的前列腺凝结物;精囊腺的腺上皮细胞质内有很多的分泌颗粒,尤其在核上区。老年组的凝结腺腺腔很大,腔内有大量的分泌物,在粘膜皱襞内有较多前列腺凝结物,分泌物及前列腺凝结物均呈不均匀的着染。固真组的凝结腺和精囊腺的组织结构与老年组无明显的差别。

青年组在8只动物中凝结腺的上皮细胞质内山梨醇脱氢酶反应明显,呈强阳性反应(+++)的5只,中等强度(++)的3只。老年组山梨醇脱氢酶反应显著降低,多数动物只能看到较弱的反应。固真组的酶反应比老年组的增强,但仍低于青年组。

三组动物精囊腺的山梨醇脱氢酶反应均较弱。除青年组略强外,老年组与固真组无区别。

3. 卵巢的组织学与组织化学的变化:青年组卵巢发育良好,皮质内有数量众多的原始卵泡、生长卵泡以及大小不同的黄体;卵泡数量少则4~5个,多达10多个;髓质内的血管、淋巴管发育良好。老年组卵巢的卵泡数量显著减少,在7个动物的卵巢内只有5个退化的生长卵泡,而成团或散在的间质腺较多;黄体数量亦少,髓质中血管稀少,故结缔组织增生较明显,在一些部位的间质有纤维化的现象。葆贞组卵巢结构优于老年组,每个动物的卵巢内都存在有生长卵泡,少者1个,多则5~6个;卵巢内都存有黄体,最多的可达8个;有少量散在的间质腺,髓质的血管较丰富。

青年组卵巢内有很多 3β -HSD反应的颗粒,颗粒主要存在于新形成的黄体中;此外,在退化的黄体

间质腺和生长卵泡的颗粒层细胞内也都有不同强度的反应;由于青年组卵巢内新黄体数量多,因而整个卵巢的酶反应较强(+++)。老年组卵巢黄体少,故酶反应很弱(+),在退化的卵泡颗粒层细胞内呈微弱的酶反应。葆贞组卵巢内的生长卵泡及黄体数量均比老年组增多,故酶反应比老年组的增强。

20 α -HSD只存在于月经期黄体,并且随黄体的退化而酶活性增强⁽⁸⁾。青年组的卵巢内具有20 α -HSD阳性反应的黄体较多(+++)。老年组的卵巢内多数黄体均为阴性反应,在5只动物的卵巢内只有2个黄体为阳性反应。葆贞组具有20 α -HSD反应的黄体数量及强度比老年组显著增多并增强(+++),除一只动物无阳性反应的黄体外,其余4只动物均含有少则2~3个,多至7~8个阳性反应的黄体。

青年组的原始卵泡、生长卵泡、卵泡膜内层细胞以及黄体细胞的胞质内充满G-6-PD的酶反应颗粒。由于卵巢内卵泡及黄体数量众多,故整个卵巢反应很强(+++)。老年组酶反应明显减弱(+).葆贞组酶反应比老年组增强(++),但仍低于青年组。

4. 子宫的组织学与组织化学的变化:青年组子宫各层发育均良好,内膜上皮细胞的结构清晰;固有膜的细胞成分较多,特别在功能层的浅层;固有膜内有少量的子宫腺体。老年组内膜上皮退化,细胞核固缩,有的动物局部上皮发生鳞化现象;固有膜内的细胞和腺体数量明显减少,特别是基底层的结缔组织内含有较粗的胶原纤维和发生玻璃样病变。葆贞组的子宫内膜内基质和细胞数量比老年组的增多,腺体也比老年组的粗和发达,腺腔大;胶原纤维的数量比老年组的少。

青年组子宫内膜上皮细胞及基膜PAS反应阳性,固有膜内的子宫腺上皮也呈阳性反应。老年组内膜上皮阴性反应,固有膜内的基质和胶原纤维增多,并呈强阳性反应。葆贞组内膜上皮及子宫腺上皮均呈阳性反应;固有膜基质PAS呈中等强度反应,介于老年组及青年组之间。

四、胸腺的组织学与组织化学的变化:青年组胸腺皮质的淋巴细胞及上皮性网状细胞密集,髓质中的淋巴细胞较稀疏,淋巴细胞的Feulgen反应明显。老年组胸腺显著萎缩,大部分被脂肪组织及纤维组织所替代,只残留有少量的胸腺组织,其中淋巴细胞也显著减少,并且有大量浆细胞和巨噬细胞,Feulgen反应减弱。固真组及葆贞组胸腺同样萎缩,但残留的胸腺组织较老年组多,其中淋巴细胞也较多,Feulgen反应则较老年组的增强。

讨 论

老年大鼠的下丘脑—垂体—性腺—胸腺轴各器官随增龄而发生形态学的改变,主要表现为:下丘脑视上核、旁室核的甲乙两型细胞百分比发生显著变化,甲细胞百分率显著上升,乙细胞则显著下降,而且雌、雄动物变化一致,表明老年动物视上核、旁室核细胞分泌活动下降;垂体前叶生长激素细胞、促性腺激素细胞数量减少,嫌色细胞数量增加,其中雄性以促性腺激素细胞变化明显,同时细胞的形态变化也明显,而雌性动物的生长激素细胞、嫌色细胞变化较雄性更为明显。表明老年大鼠垂体前叶细胞的结构改变与功能紊乱相一致,同时还存在有性别的差异。老年动物性腺的变化在雄性为睾丸曲细精管明显萎缩,管壁变形和变薄,生殖上皮数量减少,3 β -HSD、SDH酶反应显著降低,凝结腺腔扩大,凝结物增多,山梨醇脱氢酶反应显著减弱。在雌性为卵巢内的卵泡及黄体减少,皮质变薄、髓质增厚,3 β -HSD、20 α -HSD和G-6-PD的反应显著降低。子宫内膜上皮变低,甚至局部发生上皮鳞化,固有膜基质增多、胶原纤维变粗、增多。胸腺显著萎缩,T淋巴细胞显著减少,并出现大量浆细胞及巨噬细胞。以上结果与我室过去所报道的论文和文献记载基本一致^(4~7)。

文献报道老年人下丘脑—垂体—性腺—胸腺轴的功能发生紊乱,其表现有下丘脑对性激素反馈信息应答能力降低及其神经内分泌发生紊乱^(8~10),垂体前叶对下丘脑释放因子的反应性明显下降⁽¹¹⁾,以及性激素水平下降等变化,导致下丘脑—垂体—性腺轴的老化。下丘脑前区的损伤可导致胸腺萎缩,并改变细胞免疫功能⁽⁴⁾。胸腺的功能并受垂体GH的调节⁽¹²⁾和受性激素的影响,故HPGT轴的老化乃引起机体衰老的重要因素。

本实验所观察到老龄动物的下丘脑核团甲乙两型细胞百分比的改变,垂体前叶生长激素细胞和促性腺激素细胞数量减少,嫌色细胞数量增加,同时细胞结构也发生明显改变、生殖器官萎缩退化、酶活性明显降低,以及胸腺萎缩等变化,从形态物质基础角度为老龄动物的加压素分泌出现障碍、促性腺激素和生长激素含量减少,以及对下丘脑激素等反应下降、性激素水平下降、下丘脑对性激素反馈信息应答能力降低、免疫功能下降等生化免疫变化提供了有力的物质基础。

固真、葆贞方剂是以填精补肾中药为主,分别用于男性及女性老年人的成药,在临床实际应用中有一

定效果。本实验观察到固真、葆贞方剂能够分别使雌、雄性老龄大鼠的下丘脑视上核、旁室核的甲乙两型细胞比例得到改善。促进神经内分泌细胞的分泌活动。提高下丘脑对激素反馈的反应性,使垂体前叶细胞中的GH细胞、促性腺激素LH细胞和FSH细胞数量增加和结构、功能趋向正常,使生殖器官的形态结构和有关酶的活性确能得到恢复和改善,使胸腺淋巴细胞的数量增加,Feulgen反应强度提高,因而对HPGT轴各层次器官的形态、功能老化有着良好的改善和调整作用,从而通过调整机体的神经内分泌和免疫系统的活动,以达到延缓机体衰老的作用。

综上所述,老年大鼠下丘脑—垂体—性腺—胸腺轴各层次结构均发生形态学变化,该变化与性激素的关系更为密切。填精补肾中药对此轴有调整及延缓衰老的作用,说明肾虚与下丘脑—垂体—性腺—胸腺轴有关,并且与衰老有密切的关系。

参 考 文 献

- (1) 林乾良,等.浅析祖国医学的衰老理论.上海中医药杂志 1982; 8:8.
- (2) Grossman, C. J: The Interrelationship of the HPG-Thymic axis and Immune system regulation. J. Steroid Biochem., 19(1B):461, 1983.
- (3) Marcos Pupkin, et al. Dehydrogenase in the Rat ovary. I A Histochemical study of δ^5 -3 β and 20 α -hydroxysteroid dehydrogenases and enzymes of carbohydrate oxidation during the estrous cycle. Endocrinology, 79:316, 1966.
- (4) 吕维善,等.人类衰老机理的现代理论.中华医学杂志 1982; 62(3):181.
- (5) 丁桂凤,等.胸腺与衰老.国外医学.老年医学分册 11, 1982.
- (6) 倪传源,等译.老年学的免疫学观点.老年医学分册 1:13-17, 1987.
- (7) 施玉华,等.中药对大白鼠氢考模型丘脑下部神经分泌核团的影响.解剖学杂志 9(1):8, 1986.
- (8) Bellisle, S: Endocrine again in C57BL mice 2 Dynamics of Estrogen receptors in the Hypothalamic-pituitary axis. J. Steroid Biochem. 18:737, 1983.
- (9) Haji M et al: Age-related changes in the concentration of cytosol receptors for sex steroid Hormones in the hypothalamus and pituitary gland of rat. Brain Reserch, 204:373, 1981.
- (10) 王文健,等.补肾法影响下丘脑—垂体—性腺(男)轴及免疫功能衰老过程的研究.全国中西医结合虚证与老年病研究第二次学术会议论文汇编. 38页, 1984.
- (11) Riegler, et al. 转引自《内科讲座》(14)12页 牟善初和王士雯主编,人民卫生出版社, 1983.
- (12) 刘树铮.老年神经内分泌调节.国外医学,老年医学分册 2:49-53, 1981.