

实验研究

更年期平调液抗衰老的实验研究

宋 伟* 陈友香* 夏振信* 江仙远* 侯安继* 张莹雯*

摘要 目的:针对中老年妇女卵巢机能衰退的特点,研究更年期平调液抗衰老的可能机制。方法:分别用更年期平调液、金匱肾气丸、古汉养生精、利维爱处理老年雌性大鼠,8 周后测血、脑中的脂质过氧化物(LPO)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)含量及血中性激素水平;观察子宫、卵巢的形态;检测骨密度。结果:更年期平调液能有效改善老年大鼠内分泌状况和自由基代谢;预防骨密度的降低;改善子宫、卵巢形态。结论:更年期平调液适于中老年妇女长期服用,以延缓衰老。

关键词 衰老 药物作用 @ 更年期平调液

中老年妇女因卵巢功能减退,雌激素分泌逐渐减少,机体逐渐衰老。雌激素水平的降低可导致围绝经期中老年妇女的神经、内分泌、免疫功能、骨代谢、血脂、自由基代谢等的显著改变,这些变化对中老年妇女的健康造成了很大的危害。目前,欧美一些国家对于围绝经期妇女给予激素替代疗法(HRT),但长期使用有导致乳腺癌和子宫内膜癌的危险,在我国未得到广泛应用^[1]。中医学认为,肾虚是导致衰老的根本原因,服用补肾药物可延缓衰老。我科多年来用更年期平调液治疗妇女更年期综合征,取得了很好的效果,证明更年期平调液能明显改善卵巢、肾上腺皮质、心脏的形态和功能,提高免疫功能,防止自由基损伤和骨质疏松症,延缓衰老。

1 材料

1.1 动物:15~20 月龄雌性 Wistar 大鼠 50 只,4~5 月龄雌性 Wistar 大鼠 10 只,由武汉大学医学院实验动物中心提供。

1.2 药物:金匱肾气丸(肉桂、附子、熟地黄、山药、山茱萸、泽泻、牡丹皮、茯苓,合肥神鹿集团九华药业公司出品,批号 201590)、古汉养生精(主要成分有黄芪、枸杞子、黄精、淫羊藿等,湖南古汉集团出品,批号 Z-125)、利维爱(有效成分为 7-甲异炔诺酮,荷兰欧加农公司出品,批号 LB-0801-10)购于武汉大学中南医院药剂科,更年期平调液由枸杞子、何首乌、肉苁蓉、龙齿、旱莲草、女贞子、枸杞子、夜交藤、玄参等 12 种味中

药组成,由武汉大学中南医院药厂配制成 150%(w/v)制剂,每毫升含生药 1.5g。

1.3 试剂:性激素放免药盒由天津德普生物技术医疗产品公司提供。脂质过氧化物(LPO)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒由南京建成公司提供。

2 方法

2.1 分组及处理:15~20 月龄雌性 Wistar 大鼠 50 只,随机分为 5 组(老年对照组,更年期平调液组,金匱肾气丸组,古汉养生精组,利维爱组),每组各 10 只;4~5 月龄 Wistar 大鼠 10 只作青年对照组,共 6 组。(1)青年鼠组:每日给予生理盐水 2ml/kg 体重灌胃。(2)老年对照组:方法、时间同上。(3)更年期平调液组:每日给予 150%更年期平调液 20ml/kg。(4)金匱肾气丸组:每日给予金匱肾气丸(用蒸馏水配制浓度 0.1g/ml 的溶液)1g/kg 体重。(5)古汉养生精组:每日给古汉养生精(用蒸馏水配制浓度为 0.04g/ml 的溶液)0.4g/kg 体重。(6)利维爱组:每日给予利维爱(用蒸馏水配制浓度为 0.02g/kg 的溶液)0.2mg/ml 体重。各组喂养 8 周后处死,迅速取脑、子宫、卵巢、右侧股骨,血液离心后取血清保存待测。

2.2 观察指标:(1)自由基测定:脑组织及血清中的 LPO、SOD、GSH-Px;(2)内分泌:雌二醇(E₂)、卵泡刺激素(FSH)、促黄体生成激素(LH)、孕酮(P)、催乳素(PRL);(3)骨密度测定;(4)子宫、卵巢形态观察。

2.3 检测方法:(1)性激素测定:放免分析法;(2)自由基检测:SOD:黄嘌呤氧化法,GSH-Px:DNTB 法,LPO:TBA 法;(3)骨密度检测:单光子 X 线吸收测量仪测量。

2.4 统计处理:所得检测结果均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,统计学处理采用单因素方差分析和 Dunnett *t* 检验。

3 结果

3.1 自由基水平检测结果:表 1 示,老年大鼠与青年大鼠相比,血、脑中 SOD、GSH-Px 含量降低,LPO 含量增多,差异有显著意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),说明机体的抗氧化能力,体内产生的自由基清除减少,而各处理组的药物能有效升高 SOD、GSH-Px,降低 LPO

基金项目:湖北省教育厅自然科学基金资助(99A071)

* 武汉大学中南医院中西医结合科,湖北省武汉市东湖路 111 号(430071)

收稿日期:2001-11-13;修回日期:2002-01-09

表1 各组大鼠自由基水平检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	血			脑		
		LPO(nmol/ml)	SOD(U/ml)	GSH-Px(U/mg)	LPO(nmol/ml)	SOD(U/ml)	GSH-Px(U/mg)
老年对照组	9	8.53±2.52	8.38±1.17	155.26±28.28	23.52±2.46	127.46±33.80	29.60±4.46
更年平调液组	9	6.31±0.45*	9.60±1.16*	200.56±45.97*	19.68±2.16**	160.39±21.23*	33.25±2.77
金匱肾气丸组	9	7.81±0.95	9.45±1.18	197.38±41.11*	24.86±6.43	166.29±25.69*	30.12±3.89
古汉养生精组	7	7.48±1.05	9.63±0.90*	188.16±37.51	23.53±4.70	164.89±13.76*	32.01±2.82
利维爱组	7	6.10±1.36*	10.94±0.73**	189.20±28.91*	19.75±3.41*	163.39±23.9*	34.79±3.48*
青年对照组	12	6.35±0.91*	10.18±0.93**	224.57±31.16**	18.46±2.51**	220.32±76.31**	33.80±3.92*

与老年对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

表2 各组大鼠性激素及骨密度检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	E ₂ (pg/ml)	FSH (mIU/ml)	LH (mIU/ml)	PRL (ng/ml)	PRO (ng/ml)	骨密度(g/cm ²)
老年对照组	9	13.85±5.84	3.78±0.94	2.91±0.60	1.67±1.15	25.83±7.76	0.261±0.027
更年平调液组	9	22.00±9.28*	2.07±1.44**	1.86±0.26**	4.78±3.16*	28.7±8.86	0.298±0.021**
金匱肾气丸组	9	22.35±10.70	1.45±0.91**	1.92±0.18**	0.84±0.44	32.75±16.13	0.292±0.030*
古汉养生精组	7	15.11±4.46	2.00±1.15**	1.98±0.23**	2.97±2.14	27.44±7.83	0.293±0.020*
利维爱组	7	23.73±8.84*	1.71±0.87**	1.89±0.28**	4.05±3.09*	11.28±9.69**	0.277±0.034
青年对照组	12	33.12±25.9*	1.38±1.20**	1.92±0.24**	3.49±2.03*	18.66±16.93	0.272±0.036

与老年对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

水平,差异有显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),说明这些药物能有效地改善自由基代谢状况,其中以更年平调液、利维爱的效果最佳。

3.2 性激素检测结果:表2示,老年对照组大鼠血中E₂,PRL较青年对照组明显降低($P < 0.05$),FSH、LH明显升高($P < 0.01$),PRO升高但无显著意义。各处理组的药物均能有效降低FSH、LH水平($P < 0.01$);升高E₂、PRL水平,但其中只有更年平调液组、利维爱组的差异有统计学意义($P < 0.05$);利维爱能显著降低PRO($P < 0.01$),金匱肾气丸组、更年平调液组、古汉养生精组与老年对照组间差别无统计意义($P > 0.05$)。

3.3 骨密度检测结果:表2示,各处理组大鼠的骨密度均较老年对照组升高,但只有更年平调液组、金匱肾气丸组、古汉养生精组与老年对照组的差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。青年对照组的骨密度虽高于老年对照组,但低于各处理组,可能与青年组大鼠尚处于骨骼发育阶段有关。

3.4 子宫、卵巢形态:老年大鼠卵巢功能减退,发生退行性变化,发育正常的卵泡减少,黄体数量少;青年对照组原始卵泡和初级卵泡多,黄体少;更年平调液组发育正常的卵泡较多,生长卵泡增多,黄体较多;利维爱组、金匱肾气丸组和古汉养生精组成熟的卵泡少。老年对照组大鼠的子宫内膜萎缩,腺体少;青年对照组的子宫内膜厚,腺体丰富;各处理组大鼠的子宫内膜虽较老年对照组有一定增厚,但没有明显的增生。

4 讨论

女性进入中年以后,卵巢功能逐步衰退,雌激素分

泌逐步减少,引起一系列相应的改变。研究发现雌激素是通过雌激素受体而发挥作用的^[7,8],雌激素受体在体内的分布极为广泛,雌激素水平的降低可导致围绝经期中老年妇女的神经、内分泌、免疫功能、骨代谢、血脂、自由基代谢等显著改变,如血胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白水平升高,高密度脂蛋白水平降低,容易发生动脉粥样硬化,使心血管疾病发病率增加;SOD、GSH-Px活性下降,LPO水平升高,自由基清除能力减弱,从而导致细胞损伤。由于雌激素分泌减少,对下丘脑-垂体的反馈抑制减弱,使FSH、LH水平升高;同时,由于雌激素减少使其抑制骨吸收的作用减弱,导致骨吸收大于骨合成,骨矿含量下降,容易导致骨质疏松症,使骨折发生率增加;绝经后胸腺萎缩,胸腺素分泌下降,T细胞减少,巨噬细胞活力降低,IL-2、TNF等细胞因子分泌减少,免疫功能减退,使中老年妇女感染、癌症和自身免疫性疾病发病率增高;并且雌激素减少,可使神经细胞生长减慢,轴突减少,神经元萎缩,易发生老年痴呆症(女性发病率为男性3~4倍)^[9~12]。这些变化对中老年妇女的健康造成了很大的危害。欧美一些国家主张对于围绝经期妇女给予HRT,通过补充雌激素和/或孕激素来达到防治疾病、提高生命质量和延长寿命的目的。但是长期运用有导致乳腺癌和子宫内膜癌的危险,在我国尚未得到广泛应用。中医学认为,肾是先天之本,肾虚是导致衰老的根本原因,服用补肾药物可延缓衰老。自建国以来,对补肾药物延缓衰老的机理进行了许多临床和实验研究,如宫斌^[13]、沈自尹^[14]等的研究。金匱肾气丸和古汉养生精是常用的补肾中药,利维爱是一种新型的人工合成甾体激素,具

有较弱的雌、孕激素和雄激素作用,在欧洲广泛用于围绝经期妇女。我们用更年平调液与以上几种药物进行对比研究,观察它们对老年雌性大鼠的作用,比较各自的优劣。从实验中可以发现,各处理组均能不同程度地改善老年大鼠的内分泌状况、自由基代谢、骨代谢以及子宫、卵巢形态。随着增龄的变化,卵巢功能衰退,分泌雌激素减少,FSH、LH 反馈性增高,PRL 降低,PRO 升高,各处理组药物均可升高 E_2 ,降低 FSH、LH ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),更年平调液和利维爱还可升高 PRL ($P < 0.05$),改善内分泌状况。

衰老的自由基学说认为自由基引发的脂质过氧化反应是导致机体细胞损伤的主要因素。随着增龄,SOD、GSH-Px 逐渐下降,LPO 增多。已知雌激素具有抗氧化能力,并以 E_2 作用最强,利维爱具有雌激素样作用,本研究也发现该药能有效地改善自由基代谢,而在几种补肾中药之中则以更年平调液的效果最好,与利维爱类似。

人们已经发现,雌激素能够预防绝经后骨质疏松症,减少中老年妇女骨折的发生,这与成骨细胞上存在雌激素受体有关,并且雌激素还可以通过影响一些细胞因子和激素如 IL-1、IL-6、转化生长因子- β (TGF- β)、甲状旁腺素(PTH)、降钙素等来发挥其对骨质代谢的影响。更年平调液、金匱肾气丸、古汉养生精能有效地预防老年大鼠骨密度的降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),从而预防骨质疏松症。同时,几种补肾中药能改善老年大鼠的子宫内膜的萎缩状况,但不会导致过度增生。更年平调液在一定程度上还可以改善卵巢的功能和形态。

通过本实验我们认为,中老年妇女的衰老在很大

程度上与其卵巢功能衰退导致的雌激素分泌减少有关,补肾中药能有效地改善卵巢功能,预防骨质疏松,增强自由基代谢的能力,从而延缓中老年妇女的衰老。其中更年平调液的效果相对较好,适于长期服用。

参考文献

- 1 Schneider HP. HRT and cancer risk: separating fact from fiction. *Maturitas*, 1999, 33: (Suppl 1), 65-72.
- 2 熊舜华,程华奇,江仙远,等.更年平调液对更年期大白鼠作用的实验研究. *湖北医科大学学报*, 1994, (1): 72-75.
- 3 张端莲,周乾毅,程化奇,等.更年平调液对更年期大鼠心肌保护机理的研究. *湖北医科大学学报*, 1997, (1): 13-16.
- 4 夏振信,程化奇,殷新元,等.更年平调液治疗骨质疏松症的临床疗效观察. *中国中医骨伤科*, 1996, 10(6): 44-45.
- 5 鲁遂荣,方学熹,江仙远,等.更年平调液对更年期大鼠自由基影响的实验研究. *中国中医基础医学杂志*, 1998, 14(8): 35-37.
- 6 汪晖,彭仁秀,陈金和,等.更年平调液对老年动物的免疫增强作用. *中国医院药学杂志*, 2000, 20(1): 9-11.
- 7 Jensen EV. Basic guides to the mechanism of estrogen action. *Recent Proc Horm*, 1962, 18(6): 387-396.
- 8 Aten RF, Dickson RB, Eisenfeld AJ. Estrogen receptor in adult male rat liver. *Endocrinology*, 1978, 103(5): 1629-1640.
- 9 吴赛珠,吴焱贤,梁万宁,等.妇女血脂水平与性激素变化的关系. *中国老年学杂志*, 1999, 19(3): 138-139.
- 10 叶钦勇,丘山东,郑安,等.中老年性激素与氧化抗氧化系统关系研究. *中国老年学杂志*, 1999, 19(2): 70-72.
- 11 关秀娟,林丽香,庄维特,等.雌激素及白细胞介素 6 与绝经后骨质疏松的关系. *中华妇产科杂志*, 1998, 33(5): 300-301.
- 12 王文君,俞瑾,李大金,等.雌性大鼠老化过程中脾细胞雌激素受体含量及白细胞介素-2、肿瘤坏死因子活性的变化. *中华内分泌代谢杂志*, 1999, 15(4): 225-228.
- 13 宫斌,莫启忠,马骏,等.补肾中药延缓老年小鼠脑功能衰老的机理研究. *中国老年学杂志*, 1996, (6): 170-172.
- 14 张新民,沈自尹,王文健,等.补肾中药对老年神经-内分泌和免疫系统作用机理的研究. *中国中西医结合杂志*, 1994, 14(11): 686-688.

中华中医药学会全国首届名老中医治疗疑难病经验 高级专修班招生通知

由中华中医药学会和中医杂志社北京东方中医药培训中心联合主办“国家中医药管理局国家级中医继续教育项目——全国首届名老中医治疗疑难病经验高级专修班”定于 2002 年举办。

1. 痹症(包括类风湿关节炎、关节疼痛等)高级专修班。主讲人:路志正(国家级资深研究员、主任医师)、孙树春(教授、博导)、胡荫琦(教授、博导)、吕爱平(教授、博导)。办班时间:拟定为 2002 年 8 月中旬。办班地点:河北省承德市。
2. 中西医结合治疗肝病高级专修班。主讲人:施奠邦(中国中医研究院名誉院长、主任医师)、陈立华(教授)、费开扬(教授)、钱英(全国肝病委员会主任委员、主任医师)、周宜强(教授、博导)。办班时间:拟定为 2002 年 9 月中旬。办班地点:河南省郑州市。
3. 肿瘤(中药肿瘤、扶正防复发)高级专修班。主讲人:王沛(教授、博导)、林洪生(教授、博导)、朴炳奎(博导、主任医师)、周岱翰(中华中医药学会肿瘤学会主任委员、博导、主任医师)、周宜强(教授、博导)。办班时间:拟定为 2002 年 10 月上旬。办班地点:北京。
4. 不育不孕症专修班。主讲人:王琦(主任医师、博导)、沈绍功(博导、主任医师)、宋祖敬(主任医师)、蔡莲香(博导、主任医师)。办班时间:拟定为 2002 年 10 月下旬。办班地点:北京。

专修班将由中国中医研究院、北京中医药大学、广州中医药大学等单位的国内著名中医、西医、中西医结合及药学科权威专家主讲,介绍当今国内外中西医结合治疗以上专病新动态、新进展、新观点,重点传授新特药物运用及现代技术治疗手段,及长期验证行之有效的专方、偏方、验方,并将介绍治疗专病中药研究进展和科研方法、医院内协定处方等。具体开班日期、地点以入学通知书为准。以上各班每期学费 580 元,学期 7 天,学习结业后颁发中英文对照(盖钢印)的结业证书和继续教育学分证书,凡参加专修班学员的优考论文,《中医杂志》将优先发表。欲学习者优先交报名费 10 元(注明班别),附个人简历(注明学历、职称、电话等)。我中心收到报名信息后即做排名和安排,经审查合格,即发入学通知。报名地址:北京东城区北新仓 18 号中医杂志社北京东方中医药培训中心,邮编:100700,电话、传真:(010)64013009 或 (010)64014411-3053。联系人:梅丽。

京教科广字(东城)2002016 号 (广告编号:200207-17)