

补肾对神经内分泌老化调节作用研究(I)

对下丘脑神经递质—性腺轴、甲状腺轴作用的观察

上海医科大学中西医结合研究所 张新民 沈自尹 王文健 张玲娟 陈素珍

下丘脑是调控神经内分泌系统的重要器官,其单胺类神经递质对内分泌系统的调控作用已被许多实验研究所证实。本文观察了老龄大鼠下丘脑神经递质、促释放激素、垂体促激素、靶腺激素含量的变化,研究了它们的老年性变化规律,并在此基础上探讨了补肾对老化的作用机制。

一、材料和方法

1. 实验动物及分组:取 Sprague—Dawley 雄性大鼠,由上海医科大学动物部提供。按大鼠月龄分为三组:(1)老龄组:均为 18 月龄大鼠,分为老龄补肾组、老龄健脾组和老龄对照组三个组进行观察;(2)初老对照组:均为 12 月龄大鼠;(3)成年对照组:均为 3 月龄大鼠。

2. 中药制备和给药方法:寿而康方由仙灵脾 10 克、菟丝子 5 克、枸杞子 5 克、制首乌 5 克、黄精 10 克、黄芪 12 克、生地 5 克等组成,不含动物类药材。四君子汤由生晒参 10 克、炒白术 10 克、茯苓 10 克、甘草 3 克组成。上述两方分别加水煮沸 1 小时,去渣,浓缩至 20 毫升/剂,不加任何防腐剂,4℃保存备用。寿而康每毫升含生药 3 克,四君子汤每毫升含生药 1.2 克。大鼠每 500 克体重给浓缩汤剂 2 毫升,每周给药 5 天,共 6 个月。老龄补肾组在饮用水中加入寿而康浓缩汤剂,任其自饮;老龄健脾组在饮用水中加入四君子汤浓缩汤剂,任其自饮;老龄对照组饮用水中不加药物。初老对照组及成年对照组均不在饮用水中加药。

3. 检测样品制备及测定方法:测定下丘脑单胺类神经递质的样品制备笔者已作过报道⁽¹⁾。下面介绍测定下丘脑、腺垂体促释放激素和促激素的样品制备方法:大鼠断头后迅速取出全脑和垂体,置沸腾的生理盐水中烧 5 分钟。在全脑腹侧视交叉后,用 4 毫米套管刀打孔取材,取出组织柱 2~3 毫米,称重后置于内有 1 毫升的 1 mol/L 盐酸离心管中。垂体在去除后叶后称重,置于同上的离心管中,用内切式匀浆器以 1.8~2 万 r/min 匀浆 30 秒钟,然后以 1.5 r/min 离心

3 分钟,取上清液用 1 mol/L 氢氧化钠中和,分装后置 -40℃冰箱中待测。大鼠断头取血,置离心管中,在室温下退缩 2 小时后以 2500 r/min 离心 15 分钟,取血清置 -40℃冰箱中待测。下丘脑单胺类神经递质的测定方法见另文⁽¹⁾。检测时使用的黄体生成激素释放激素(LRH)、促性腺激素(LH)放免药盒由中国科学院北京动物所提供;促甲状腺激素释放激素(TRH)、睾酮(Ts)、雌二醇(E₂)放免药盒由上海内分泌研究所提供;促甲状腺激素(TSH)放免药盒由本院同位素室提供;三碘甲状腺原氨酸(T₃)、甲状腺素(T₄)放免药盒由上海生物制品研究所提供。

二、结果

1. 老龄大鼠下丘脑单胺类递质的变化及补益中药的作用:结果见表 1。(1)老龄对照组与成年对照组比较,老龄对照组的下丘脑去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)的含量明显低于成年对照组;5-羟色胺(5-HT)和 5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)含量则无明显变化;5-HT/NE、5-HT/DA 比值明显上升。(2)老龄补肾组与老龄对照组比较,老龄补肾组的下丘脑 NE、DA、5-HT 和 5-HIAA 含量均明显高于老龄对照组;5-HT/NE 比值略有下降。(3)老龄健脾组与老龄对照组比较,老龄健脾组的下丘脑 NE、5-HIAA 含量也明显高于老龄对照组;5-HT/NE 比值明显下降。

2. 老龄大鼠下丘脑和腺垂体的 LRH、TRH 变化及补益中药的作用:结果见表 2。(1)初老对照组与成年对照组比较,初老对照组的下丘脑 LRH、TRH 含量和腺垂体 LRH、TRH 总量与成年对照组相比均无明显变化;但腺垂体 LRH 单位含量则明显下降,腺垂体 TRH 单位含量也略有下降。(2)老龄对照组与成年对照组比较,老龄对照组的下丘脑 LRH、TRH 和腺垂体 LRH 单位含量、TRH 单位含量与成年对照组相比均明显下降,与初老对照组相比也有不同程度的下降;而老龄对照组的腺垂体 LRH 总量、TRH 总量与成年对照组相比没有明显变化。(3)老龄补肾组与老龄对照组比较,老龄补肾组的下丘脑 TRH 含量明显高于老龄对

表 1 各组大鼠下丘脑单胺类神经递质含量(pmol/mg)和它们之间比值的比较(M±SD)

组 别	动物数	NE	DA	5-HT	5-HIAA	5-HT/NE (比值×10)	5-HT/DA (比值)
成年对照组	19	10.10±1.62	2.01±0.31	2.20±0.39	2.04±0.33	2.23±0.52	1.10±0.17
老龄对照组	15	8.27±1.53*	1.58±0.37*	2.28±0.29	2.06±0.36	2.85±0.57*	1.51±0.40*
老龄补肾组	13	10.18±1.38 ^{△△}	1.90±0.27 [△]	2.55±0.39 [△]	2.44±0.39 [△]	2.52±0.37	1.37±0.29
老龄健脾组	15	9.81±1.67 [△]	1.65±0.41	2.43±0.47	2.41±0.41 [△]	2.48±0.27 [△]	1.52±0.32

* 与成年对照组比较 P<0.01; [△] 与老龄对照组比较 P<0.05; ^{△△} 与老龄对照组比较 P<0.01

表 2 各组大鼠下丘脑和腺垂体的LRH、TRH含量的比较(M±SD)

组 别	下 丘 脑		腺 垂 体			
	LRH (pg/mg)	TRH (pg/mg)	LRH总量 (pg/只)	LRH单位含量 (pg/mg)	TRH总量 (pg/只)	TRH单位含量 (pg/mg)
成年对照组	75±26(9)	176±29(13)	177±52(8)	24±6(8)	842±377(10)	104±42(10)
初老对照组	72±35(9)	169±39(11)	184±51(14)	15±5(14)**	931±213(11)	82±13(11)
老龄对照组	44±20(7)*	134±11(10)**	219±61(11)	16±5(11)**	946±366(10)	62±23(10)*
老龄补肾组	—	157±24(12) [△]	—	—	918±315(12)	74±25(12)
老龄健脾组	—	146±27(11)	—	—	869±238(11)	61±22(11)

注: 括弧内数字为动物数; * 与成年对照组比较 P<0.05; ** 与成年对照组比较 P<0.01; [△] 与老龄对照组比较 P<0.05

组, 腺垂体 TRH 单位含量也略高于老龄对照组。

(4) 老龄健脾组与老龄对照组比较, 老龄健脾组的下丘脑、腺垂体 TRH 含量均无明显变化。

3. 老龄大鼠腺垂体重和腺垂体、血清的 LH、TSH 变化及补益中药的作用: 结果见表 3。(1) 初老对照组与成年对照组比较, 初老对照组的腺垂体重和腺垂体 LH 总量明显高于成年对照组; 腺垂体 LH 单位含量、TSH 单位含量以及血清 LH、TSH 浓度均无明显变化。(2) 老龄对照组与成年对照组比较, 腺垂体明显增重; 腺垂体 LH 总量继续升高, 而腺垂体 LH

单位含量则略下降; 腺垂体 TSH 单位含量和血清 LH、TSH 浓度均明显下降。(3) 老龄补肾组与老龄对照组比较, 老龄补肾组的腺垂体增重明显低于老龄对照组; 腺垂体 LH 单位含量和血清 LH 浓度明显高于老龄对照组; 而腺垂体 LH 总量、TSH 单位含量和血清 TSH 浓度也有不同程度的升高。(4) 老龄健脾组与老龄对照组相比较, 血清 LH、TSH 浓度和腺垂体 TSH 单位含量升高, 但均无统计学意义; 其余指标均无明显变化。

4. 老龄大鼠血清靶腺激素的变化及补益中药的作用: 结果见表 4。(1) 初老对照组与成年对照组比较,

表 3 各组大鼠腺垂体重和腺垂体、血清的 LH、TSH 含量比较(M±SD)

组 别	腺 垂 体				血清 LH	血清 TSH
	重 量 (mg)	LH 总量 (ng/只)	LH 单位含量 (ng/mg)	TSH 单位含量 (μU/mg)	(ng/ml)	(μU/ml)
成年对照组	8±1.8(12)	35±10(10)	4.42±2.0(10)	19±8.1(9)	8.65±3.1(13)	12±4(12)
初老对照组	11±2.7(11)**	47±13(10)*	4.45±2.4(10)	18±12(10)	8.07±2.9(11)	11±3.3(11)
老龄对照组	15±2.8(11)**	52±18(10)*	3.56±1.3(10)	10±6(11)*	6.27±1.1(11)*	7.7±3.1(11)**
老龄补肾组	12.6±2.5(12) [△]	60±19(11)	4.94±1.6(11) [△]	13±6.1(10)	7.46±1.5(12) [△]	9.8±2.9(12)
老龄健脾组	15±2.3(11)	53±13(11)	3.64±0.9(11)	12±6.2(10)	7.66±2.7(11)	9.3±5.5(11)

注: 括弧内数字为动物数; * 与成年对照组比较 P<0.05; ** 与成年对照组比较 P<0.01; [△] 与老龄对照组比较 P<0.05

初老对照组的血清 Ts 明显低于成年对照组。(2) 老龄对照组与成年对照组比较, 老龄对照组的血清 T_s、T_l 明显低于成年对照组; T_s 也明显下降, 因此 E_s/T_s 比值明显升高。(3) 老龄补肾组各靶腺激素与老龄对照组相比无明显变化。(4) 老龄健脾组的血清 T_s 平均值低

于老龄对照组, 但无统计学意义; 其余各靶腺激素均无明显变化。

三、讨论

在衰老过程中, 受神经内分泌机能调控的机体各个环节均发生了变化, 而下丘脑的增龄性变化是导致

表 4 各组大鼠血清 Ts、E₂、T₃、T₄ 含量以及 E₂/Ts 比值的比较 (M±SD)

组 别	血清 Ts (ng/ml)	血清 E ₂ (pg/ml)	E ₂ /Ts (×100)	血清 T ₃ (ng/dl)	血清 T ₄ (ng/ml)
成年对照组	126±36.2(10)	22.1±8.70(15)	1.19±1.0(10)	64.5±20.5(13)	53.2±10.7(13)
初老对照组	84.6±33.9(11)*	23.2±10.1(11)	3.32±2.1(11)	54.7±21.0(11)	45.9±7.91(10)
老龄对照组	66.0±32.0(10)**	22.7±9.34(11)	4.69±3.6(10)*	47.0±13.9(11)*	41.1±6.0(10)**
老龄补肾组	56.1±31.7(11)	22.8±8.79(12)	5.14±2.8(11)	40.0±18.0(12)	37.8±11.3(12)
老龄健脾组	63.5±36.3(10)	20.7±5.96(12)	4.55±3.5(11)	48.7±21.0(11)	35.2±8.07(11)

注: 括弧内数字为动物数; * 与成年对照组比较 P<0.05; ** 与成年对照组比较 P<0.01

神经内分泌系统各器官老化的中心环节。Finch 的动物实验揭示: 老龄大鼠下丘脑和中枢神经系统的某些区域, 在结构上和功能上都发生了与内分泌相关的变化⁽⁴⁾。本实验结果显示: 老龄大鼠下丘脑 NE、DA 含量明显下降, 5-HT 含量略有上升。这些结果与 Simpkins 的实验结果相似⁽⁵⁾。许多资料均证实下丘脑的正常机能取决于各类神经元间的相对平衡。老龄大鼠下丘脑 NE 神经元、DA 神经元机能下降, 造成了 5-HT/NE、5-HT/DA 的比值明显升高, 下丘脑 5-HT 神经元机能相对偏高的状况, 这样必然影响下丘脑神经分泌细胞的机能^(6~7)。本实验结果显示老龄大鼠下丘脑 LRH、TRH 的含量明显下降, 腺垂体 LRH、TRH 总量没有明显变化, 表明老龄大鼠下丘脑 LRH、TRH 神经分泌细胞的合成能力下降。由于受周围靶腺细胞反馈调节的影响, 老龄大鼠下丘脑 LRH、TRH 神经分泌细胞的分泌并未减少。尽管如此, 老龄大鼠腺垂体 LRH、TRH 的单位含量明显下降, 对腺垂体 LH、TSH 分泌细胞的作用就会减弱, 这必将影响这些细胞的合成、分泌机能。

腺垂体是内分泌系统的重要器官, 下丘脑的促释放激素和抑制激素通过下丘脑—垂体门脉系统被输送到腺垂体, 从而调节控制腺垂体的活动。本实验结果显示老龄大鼠腺垂体每毫克组织中 LH、TSH 含量下降, 表明老龄大鼠腺垂体机能减退。但由于腺垂体受上下多层次正负反馈的调节, 对周围靶腺机能的减退仍能作出一定的代偿反应。这一代偿反应在老龄大鼠表现为腺垂体的增大增重, LH、TSH 总量的不同程度的升高。但由于老龄大鼠下丘脑神经元机能平衡失调, 促释放激素分泌相对不足, 这种代偿性调节毕竟是不完全的。老龄大鼠血液中 LH、TSH 浓度的下降就表明了这一点。

老龄大鼠的靶腺机能一般随下丘脑—垂体机能的增龄性变化而减退。但是, 由于血液中激素浓度不仅取决于靶腺细胞的机能, 还受到机体转换、灭活机制的影响。因此老龄大鼠血清中激素浓度不能完全反映

靶腺细胞的机能, 其血液中的激素浓度也可呈多元性变化。本实验结果显示老龄大鼠血液中睾酮浓度明显下降, E₂ 浓度没有变化, E₂/Ts 的比值明显升高。血液中 T₃、T₄ 浓度也明显下降。这些现象都与老龄大鼠下丘脑—垂体机能的衰退相符。

中医对肾虚病人和老年人常以填肾精、益肾气的治疗原则来治疗肾虚证或延年益寿。本实验用此治疗原则设计了“寿而康”, 给 18 月龄的大鼠服用 6 个月显示, 服“寿而康”的老龄大鼠下丘脑 NE、DA 含量明显高于老龄对照组; 5-HT 和 5-HIAA 也有不同程度的升高, 其中以 5-HIAA 的升高更为显著。表明“寿而康”能改善老龄大鼠下丘脑儿茶酚胺类神经元机能的衰老, 使吲哚类神经元的代谢加快。“寿而康”的这一作用理应对下丘脑神经分泌细胞机能产生影响。本实验结果表明, 服“寿而康”的老龄大鼠下丘脑 TRH 含量明显高于老龄对照组, 腺垂体 TRH 单位含量也有所升高, 表明该组大鼠下丘脑神经分泌细胞的机能有所改善, 对腺垂体分泌细胞的作用有所加强。另外, 服“寿而康”的老龄大鼠腺垂体增重明显减慢, 而腺垂体 LH、TSH 总量保持在原有的水平, 表明该组大鼠腺垂体的代偿机能比老龄对照组更为有效。与此同时, 腺垂体 LH、TSH 单位含量和血液中 LH、TSH 浓度均有相应的不同程度的升高。这些现象表明, “寿而康”对老龄大鼠下丘脑—垂体机能的老年性变化具有一定的改善作用。

如前所述, 血液中靶腺激素的浓度受多种因素的影响。服“寿而康”后血液中各靶腺激素浓度没有明显变化, 不能说明“寿而康”对靶腺细胞没有影响, 这一点将在第二部分中讨论。

为证明“寿而康”的补肾作用, 本实验另设了健脾益气组作为药物对照, 结果显示“四君子汤”对老龄大鼠神经内分泌系统也有一定作用, 但其作用远不如“寿而康”那样明显和广泛。

为了解喂药前大鼠神经内分泌系统的机能状况, 本实验还设了初老对照组进行观察。结果显示, 初老

对照组大鼠下丘脑促释放激素已有不同程度的下降,腺垂体增重明显,腺垂促激素总量有不同程度的升高,但其单位含量已有下降趋势。这些现象提示初老对照组大鼠下丘脑机能已开始紊乱,腺垂体机能已处于代偿之中。服“寿而康”的老龄大鼠下丘脑TRH含量,腺垂体TRH、TSH的单位含量和血液中LH、TSH的浓度均不同程度地高于老龄对照组,但其平均值又低于初老对照组;腺垂体重量明显低于老龄对照组,但又明显高于初老对照组。表明“寿而康”对老龄大鼠神经内分泌机能的作用是“延缓”衰退,而不是“防止”或“逆转”这一机能的衰退。

鉴于“寿而康”对老龄大鼠下丘脑单胺类神经递质、促释放激素和促激素的老年性变化和腺垂体代偿性增重均有不同程度的、如此广泛的作用,是否可以考虑“寿而康”的这种作用可能是改善了机体的某一个或几个中心环节后的相应结果。根据现代神经内分泌的理论,有理由认为,尽管本实验不排除“寿而康”对下丘脑以外环节具有直接作用,但“寿而康”很可能是通过延缓了老龄大鼠下丘脑儿茶酚胺神经元机能的老化,使下丘脑机能紊乱得以改善,进而延缓了神经内

分泌系统各环节机能的衰退。

参 考 文 献

- (1) 张新民,等. 改良高效液相色谱法测定大鼠下丘脑单胺类神经递质及其主要代谢物. 上海医科大学学报 1988; 15(4):307.
- (2) Finch C. E. et al. Handbook of the biology of aging (ed)1985.
- (3) Simpkins J. W. et al. Evidence for depressed catecholamine and enhanced serotonergic metabolism in aging male rats: possible relation to gonadotropin secretion. Endocrinology 1977; 100:1672.
- (4) Morley J. E. et al. Neurotransmitters control of hypothalamic-pituitary-thyroid function in rats. Eur J. pharmacol 1981; 70:263.
- (5) Krulich L. et al. On the role of the central serotonergic system in the regulation of the secretion of thyrotropin and prolactin. Endocrinology 1979; 105:276.
- (6) Krulich L. Neurotransmitter control of thyrotropin secretion. Neuroendocrinology 1982; 35:139.
- (7) Meites J. et al. Hypothalamic hypophysiotropic hormones and neurotransmitter regulation. Current Views. Ann. Rev. pharmacol Toxicol 1981; 21: 295.

• 中医药信息 •

• 江苏省淮阴县人民医院经过9年临床研究,研制出一种可治慢性非特异性溃疡性结肠炎的中药复方刘寄奴煎剂,日前已通过专家鉴定。“复方刘寄奴煎剂”具有活血化瘀、温补肾阳、利水和脾、祛湿止泻等功效,经临床验证表明,该药无任何毒副作用,总有效率达96.3%。

• 经国家教委批准,北京、广州、上海三所中医学院同时开办中医学专业七年制本科硕士试点班。它要求学生系统掌握中医基础理论和中医临床诊治技能,掌握必要的现代科学研究方法和现代医学基础理论及临床诊断、急救技术,具有扎实的自然科学基础理论和较宽广的社会人文科学知识,有较强的从事中医临床及研究工作的能力。学生在校最后两年享受硕士研究生标准的助学金、住房和科研经费等待遇,毕业考试合格者,可获硕士学位。

• 天津乐仁堂药厂不久前喜庆七十诞辰。党的十一届三中全会以来,这个厂先后开发了几十个新品种、新剂型,其中天津感冒片、更年安、养阴清肺糖浆、海马补肾丸等获得国家优质产品称号。有20多个产品出口到十几个国家和地区,1990年创汇167万美元。

• 解放军第四军医大学坚定不移走中西医结合道路,在全军率先组建了中医科,采取了七项倾斜政策,开设了60张中医病床,建立了血液流变、活血化瘀为主的实验室。眼科吴纯智教授应用活血化瘀和异病同治的理论,研制出治疗角膜瘢痕的“化云宁”,临床有效率达86.47%,获国家部级二等科技进步奖。

• 武汉市中西医结合医院组建20年来,坚持中西医结合,科技兴院,共取得科研成果35项,协作成果12项,其中达到国际先进水平的有8项。《银屑病抗体依赖细胞介导生长刺激》、《中西医结合对急性放射性损伤的临床与实验研究》、《植物类中药110味方剂煎剂四性机理与微量元素关系的研究》等都得到部级奖励。现该院的中西医结合治疗肾病、中药微量元素研究等,其研究成果及临床疗效均达到国内先进水平。

• 广东省最近成立了“广东省中医药科技专家委员会”,34位专家被聘为委员,专家委员会的职责和任务是:根据国家有关科技政策,结合广东实际情况,参与制定本省的中医药科技发展战略计划,审查本省中医药科研计划任务书,检查年度科研计划进展,指导省的科研攻关项目,评审年度中医药科技成果奖励项目,论证、审议对外合作和引进设备、技术项目等工作。