

中 药 研 究

补肾中药对大鼠生殖内分泌作用机理的研究

张新民* 沈自尹* 王文健* 陈素珍* 陈伟华*

摘要 本实验以初老雌性大鼠、雌性去势大鼠和雄性去势大鼠为对象,给补肾中药能明显提高初老大鼠血 E_2 的含量,能明显提高雌性去势大鼠血 LH、FSH 的含量,能明显提高雄性大鼠血 LH 的含量。认为补肾中药对大鼠生殖内分泌的作用方式可能是一种多成分、多层次、多环节、多途径的综合反应。

主题词 内分泌腺/药物作用 补肾药/药理学 睾丸/药物作用

妇女更年期是指因卵巢功能衰退以致月经周期紊乱直至停止的一个过渡时期,它是妇女即将进入老年的一个标志。由于个体的差异,有相当部分的妇女在这一时期里,因机体不能适应内源性雌激素的突然下降而出现程度不同的精神症状和临床症状,如潮热汗出、烦躁易怒、心跳、头晕、腰酸等等,统称为更年期综合征。现代医学采用雌激素治疗此综合征,能取得良好的效果。但长期服用雌激素易引起乳腺肿瘤、子宫肿瘤等副作用。

传统中医以肾主生殖理论为指导,认为更年期妇女属肾气衰退,阴阳失调,常以补肾方药治疗更年期综合征,可以取得良好的效果,且几乎没有副作用。为能进一步提高疗效,有必要研究补肾中药治疗更年期综合征的作用机理。本实验从生殖内分泌的角度对此作一探讨。

1 材料与方法

17 月龄雌性大鼠 42 只,3 月龄雌性大鼠 56 只,3 月龄雄性大鼠 48 只,由上海医科大学动物中心提供。在本实验室适应 3 天后,42 只 3 月龄雌性大鼠和 36 只 3 月龄雄性大鼠在乙醚麻醉下分别作卵巢切除术和睾丸切除术,术后 3 天分组。42 只初老雌性大鼠随机分成初老对照组、初老补肾 I 组、初老补肾 II 组。另取 3 月龄雌性大鼠 14 只作为成年对照组。42 只雌性去势大鼠和 36 只雄性去势大鼠分别随机分成去势对照组、去势补肾 I 组和去势补肾 II 组。雌性空白对照组与上述成

年对照组相同。雄性空白对照组则另取 12 只 3 月龄雄性大鼠。

补肾方由附片、熟地、枸杞子、菟丝子、肉苁蓉等组成,不含动物类药材,水煎 1 小时 2 次,过滤去渣,分别浓缩成每 ml 含生药 1.0g、2.0g 两个剂量的汤剂,不加防腐剂,4℃ 保存待用。

成年对照组、初老对照组和雌、雄性空白对照组以及雌、雄性去势对照组每天上午 9 点用生理盐水 2ml 灌胃 1 次,连续 18 天;初老补肾 I 组和雌、雄去势补肾 I 组每天上午 9 点用每 ml 含生药 1.0g 的补肾方汤剂 2ml 灌胃 1 次,连续 18 天;初老补肾 II 组、雌、雄去势补肾 II 组每天上午 9 点用每 ml 含生药 2.0g 的补肾方汤剂 2ml 灌胃 1 次,连续 18 天。动物实验室每天日光照射 10 小时,室温恒定在 28℃。

所有大鼠在预定日期断头取血,血样 3000 转离心 20 分钟,血清分装, -20℃ 保存待测。LH 测定由中科院北京动物所提供抗体、标准品和标记底物,我所自行同位素标记,配制成测定大鼠 LH 放免试剂盒,具体方法见文献^[1]。测定 FSH、 E_2 的放免试剂盒由天津 DPC 公司提供。

2 结果

表 1 补肾中药对初老雌性大鼠血 E_2 、LH、FSH 影响

分 组	鼠 数	E_2 (pg/ml)	LH (ng/ml)	FSH (mIU/ml)
成年对照组	14	18.86±13.85	0.79±0.28	0.79±0.43
初老对照组	14	18.79±13.48	0.77±0.27	1.18±0.46 [△]
初老补肾 I 组	14	18.57±7.44	0.83±0.35	1.32±0.87
初老补肾 II 组	14	30.43±15.44*	1.15±1.01	1.35±0.89

注:表中数据为均值±标准差,以下表同

△与成年对照组比较 $P<0.05$, *与初老对照组比较 $P<0.05$

2.1 补肾中药对初老雌性大鼠内分泌的影响:表 1 示,初老对照组血中 LH、 E_2 含量尚无明显变化,FSH 含量明显高于成年对照组 ($P<0.05$),初老补肾 I 组血中 E_2 、LH、FSH 含量与初老对照组均无明显差异,初老补肾 II 组血中 E_2 含量明显高于初老对照组 ($P<0.05$),血中 LH、FSH 含量与初老对照组相比无明显差异。

* 上海医科大学中西医结合研究所,上海市华山路 (200040)

收稿日期:1995-01-12

2.2 补肾中药对切除卵巢大鼠内分泌的影响:表2示,去势对照组血中LH、FSH含量明显高于空白对照组($P<0.001$),血中 E_2 含量明显减少($P<0.05$),去势补肾I、II组血中LH、FSH含量明显高于去势对照组($P<0.05$), E_2 没有明显变化。

2.3 补肾中药对切除睾丸大鼠内分泌的影响:去势对照组血中LH、FSH含量明显高于空白对照组($P<0.001$),血中 E_2 、T含量明显减少($P<0.001$),去势补肾I组血中LH、 E_2 含量均高于去势对照组,但没有明显差异;去势补肾II组血中LH含量明显高于去势对照组($P<0.05$),血 E_2 虽有增高,但无明显差异。

表3 补肾中药对雄性睾丸切除大鼠血LH、FSH、 E_2 、T的影响

分组	鼠数	LH (ng/ml)	FSH (mIU/ml)	E_2 (pg/ml)	T (ng/dl)
空白对照组	12	0.77±0.18	2.21±0.84	7.25±3.25	6.73±6.05
去势对照组	12	1.80±0.56 $\Delta\Delta$	4.63±1.03 $\Delta\Delta$	2.92±1.51 $\Delta\Delta$	<1
去势补肾I组	12	2.20±0.41	4.88±0.83	4.42±2.47	<1
去势补肾II组	12	2.26±0.44*	4.92±1.70	4.50±2.32	<1

$\Delta\Delta$ 与空白对照组比较 $P<0.001$, *与去势对照组比较 $P<0.05$

3 讨论

随着年龄的增长,生物生殖能力逐渐下降。一般妇女在整个生命的三分之二时,月经停止,雌激素分泌减少,这是由卵巢的衰老所致。实验大鼠在最大寿命的二分之一左右就表现出生殖机能衰退现象。雌性大鼠7~10月龄时,就出现以动情周期延长为主的周期紊乱;10~15月龄多数大鼠动情周期逐渐停止,先后出现持续动情(CE),不规则假孕,最后动情周期完全消失^[2]。由于15月龄左右的实验大鼠在生殖机能方面的表现与妇女更年期极为相似,且其生殖内分泌机能紊乱、衰退尚处可逆状态,所以这一年龄段的大鼠常被用作生殖内分泌系统衰老和抗衰老研究的动物模型。

目前认为大鼠生殖能力减退的原因与人类不同。有实验表明:当老年大鼠的卵巢移植给年轻的卵巢切除大鼠时,被移植的卵巢功能恢复正常,动情周期重新开始。如将年轻大鼠卵巢移植给老年的卵巢切除大鼠时,则不能引起动情周期^[3,4]。说明老年大鼠卵巢功能尚未衰退。本实验结果表明:初老雌性大鼠血中 E_2 含量与成年对照组相比没有明显变化,提示初老雌性大鼠卵巢功能尚属正常。另有研究表明:将老年雌性大鼠的垂体移植到年轻的垂体切除大鼠的正常部位时,有三分之一的年轻大鼠能恢复动情周期。如将年轻雌性大鼠的垂体移植给老年的垂体切除大鼠的正常部位时,老年大鼠不能恢复动情周期^[4]。说明:衰老时生育

表2 补肾中药对雌性卵巢切除大鼠血LH、FSH、 E_2 的影响

分组	鼠数	LH (ng/ml)	FSH (mIU/ml)	E_2 (pg/ml)
空白对照组	14	0.79±0.28	0.79±0.43	18.86±13.85
去势对照组	14	2.07±0.40 $\Delta\Delta$	3.86±0.91 $\Delta\Delta$	9.71±8.98 Δ
去势补肾I组	14	2.57±0.63*	4.54±0.84*	7.71±5.47
去势补肾II组	14	2.48±0.46*	4.57±0.83*	10.93±5.54

Δ 与空白对照组比较 $P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.001$

*与去势对照组比较 $P<0.05$

能力丧失的主要原因也并非完全是脑垂体功能的衰退。本实验结果表明:初老雌性大鼠血中LH含量与成年对照组相比没有明显变化,提示:初老雌性大鼠脑垂体机能也属正常。雌性大鼠血中FSH含量受多种因素影响,雌性激素对FSH具有正、负反馈调节作用;下丘脑促性腺激素释放激素(GnRH)对FSH也具有明显的调节作用。近年从卵泡液中发现提纯的一种多肽物质——抑制素(inhibin)能特异作用垂体细胞,抑制FSH合成与分泌,使血中FSH含量降低^[5,6]。如给大鼠特异性抑制素抗体,以中和体内抑制素的作用,大鼠血中FSH含量就会成倍上升^[7,8]。本实验结果表明,初老大鼠血中FSH含量与成年对照组相比明显升高,其原因有待进一步研究。

中医认为:随增龄而出现的生殖能力的下降是肾气虚损所致。我们过去的工作显示:补肾中药能明显提高男性老年人血清睾酮的水平,能提高男性老年人脑垂体对GnRH的反应性,能提高18月龄雄性大鼠睾丸对促性腺激素的反应性^[9]。本实验结果表明:补肾中药能明显提高17月龄雌性大鼠血清 E_2 的含量,提示补肾中药对初老雌性大鼠的生殖内分泌同样具有一定的促进作用。但本实验未见到用补肾中药后初老大鼠血清LH、FSH的含量有明显的变化,提示补肾中药有可能直接作用于卵巢水平。

我们的另一实验采用去势的方法对补肾中药的作

用机理作进一步的探索,实验结果显示:无论是雌性大鼠还是雄性大鼠去势后血中 LH、FSH 含量均明显高于对照组,血中 T、E₂ 含量明显低于对照组。这是由于外周靶腺切除后,血中性激素含量突然下降,对脑垂体的负反馈作用明显减弱,脑垂体促性腺机能增强,LH、FSH 分泌增多,血中 LH、FSH 含量上升。而给补肾中药后,雌性去卵巢大鼠血中 LH、FSH 均进一步升高,雄性去睾丸大鼠血中 LH 也进一步升高。这一结果和我们以往临床研究结果相一致^[10]。由于去势大鼠性腺被切除,性腺轴正、负反馈调节环路被“切断”,这样血中 LH、FSH 含量的进一步升高有可能是补肾中药直接作用于脑垂体细胞,促进了 LH、FSH 的合成、分泌;也有可能是补肾中药先作用于下丘脑或更高中枢,通过调控机制,间接地促进脑垂体促性腺机能,使血中 LH、FSH 含量进一步增高。

从上述的实验结果已经看到补肾中药无论对雌性去卵巢大鼠,还是对雄性去睾丸大鼠的脑垂体都有一定作用。我们过去的工作还表明补肾中药能提高 18 月龄大鼠下丘脑 DHT 受体的亲和力^[9];能延缓 24 月龄雄性大鼠下丘脑 NE、DA 的下降、能提高 24 月龄雄性大鼠下丘脑 5-HT、5-HIAA 的含量;能提高脑垂体 LH 单位含量、血清 LH 含量^[11]。这些实验结果可以给我们这样一个提示:补肾中药对神经内分泌系统的作用是广泛的,它的作用方式可能是一种多成分、多层次、多环节、多途径的综合反应。

4 参考文献

1 王海云,等. 用放射免疫测定法研究性类固醇激素和棉酚

对大白鼠垂体 LH 分泌的影响. 生理学报 1979;31(4): 337.

- 2 Meites J. Relation of neuroendocrine system to the reproductive decline in aging rats and human subjects. Federation Proceeding 1980;39: 3168.
- 3 Aschheim P. Relation of the neuroendocrine system to reproductive decline in female rats. In: Neuroendocrinology of Aging, Meites, J. (Editor), pp. 61~72, Plenum Press New York, 1983.
- 4 Peng M T. Changes in hormone uptake and receptors in the hypothalamus during aging. In: Neuroendocrinology of Aging, Meites, J. (Editor), pp. 61~72, Plenum Press New York, 1983.
- 5 Bandivdeker AH, et al. Endocrine control of inhibin biosynthesis by human placenta. Biological Research in Prenancy 1985;6(3): 128.
- 6 Simon VD, et al. Comparison between inhibin from human and bovine ovarian follicular fluid using fast protein liquid chromatography. Mol Cell Endocrinology 1985;45: 245.
- 7 Sheth AR, et al. In vitro effect of inhibin on cyclic adenosine phosphodiesterase activity in rat testis. J Andrology 1982; 3(1): 69.
- 8 Hurkadli KS, et al. Studies on immunoneutralization of inhibin - A time course study. J Exp Biol 1985;23: 561.
- 9 王文健,等. 补肾法对老年男性下丘脑-垂体-性腺轴作用的临床和实验研究. 中医杂志 1986;(4): 32.
- 10 沈自尹,等. 补肾和健脾在延缓衰老作用中的对比研究. 中西医结合杂志 1987;7(10): 584.
- 11 张新民,等. 补肾中药对老龄雄性大鼠下丘脑神经递质-性腺轴机能作用的研究. 上海医科大学学报 1991;18(5): 373.

· 书 讯 ·

●《叶天士诊治大全》叶天士医案被中医界誉为“临证指南”。本书对叶氏 8 本医案经过多年研究,综合地、系统地、把叶天士诊治心法条分缕析,使读者明了叶氏辨证论治、处方用药的精髓,其中还附有后人和作者的临床验证,是一本非常实用的参考书。每册 28.60 元。●《农村医师临床必读》是在国家中医药管理局倡导和支持下,以我国农村“2000 年人人享有卫生保健”为目标,专为农村医生编写的一部大型临床用书。本书的使用,亦可探索到 2000 年以后,广大农村医疗能够达到的水平。全书有三大特点:一为概念简明扼要,叙述条理分明,便于农村医生阅读;收录病症之多,可视为农村医生之小百科;二为突出治疗手段,以叙述之详启示中西医之特长,三为中西医合璧,反映现代医疗水平,每册 74.70 元。●《杂病源流犀烛》本书为清代名医沈金鳌所著。30 卷,内容以介绍杂病为主,包括脏腑门、奇经八脉门、六淫门、内伤外感门、面部门、身形门,每门分若干病症,每病各著源流,详述病症原委,悉其源流,考其主治,因病用方,理法方药甚为契合。为影响最广、流传久远的有关杂病的杰出医籍。此次以简体字横排,据原刻本精校而成。每册 51.70 元。●《瘡医大全》是现存内容最为丰富的一部中医外科全书。虽名为“瘡医大全”,但实际上已远远超出了瘡疡肿毒的外科范畴。如该书载有很多治疗雀斑、胎毒、赤鼻的美容妙方,论述了人面疮、人咬舌断、误服蒙汗药等怪异奇病的解治方法,还汇集有治疗沙虫入目、竹木刺肉和驱蚊的生活经验与窍门等。凡人身从头到脚一切肉眼可见的

病症几乎无所不包,更令人叫绝的是,该书图文并茂,每一证,就有一图。每册 69.00 元。●《中药别名词典》搜集多种古籍及日本汉方药书籍之中药别名,全书共载录常用中药正名 5500 余种,别名 27000 之多。本书以正名(即现行通用名称)为序,分列条目。正名之下,列“别名”。各别名按时代顺序排列。力求注明出处,鉴于中日文化交流源远流长,并有部分医药典籍仅见于东瀛之事实,故亦将日本汉方药之名称载录,其异于我国医药典籍者,并注明出处。为了便于鉴别与临证应用,在“别名”之下,简略介绍药物之植物科属、药用部分,以及临床应用范围(主治疾病和证)、用法和临证参考剂量。每册 91.00 元。●《金匱要略汤证论治》将《金匱要略》206 方逐一论述,每张方剂按下列体例论述。原文节录、方组、临证参考用量、功效、主治、方论、注意事项、禁忌、应用范围、临证加减、衍方、文献参考、治验等。本书突出临证应用,内容全面,融通古今,深入浅出,详而不繁,易于应用临床各科,开阔读者思路,了解古今医家对《金匱要略》二百多方正确应用,提高医者理论,指导临证实践。插图(腹正图)50 余幅,每册平装 67.00 元,精装 92.00 元。●《中华民间秘方大全》全书共收秘方、偏方、验方、食疗方万余种,分内科、外科、儿科、妇科、男科、耳鼻喉科、伤骨科、肿瘤科以及传染病、急救、健美长生等 26 个门类。是临床医生和中医爱好者必备工具书。定价:55.00 元。

以上书价已含邮资,欲购者汇款至北京东直门内北新仓 18 号中医杂志社科技服务中心刘振海收,邮政编码:100700,电话:(010)4035632,传真:(010)4013971。