

补肾法对健康男性血清促黄体生成素生物活性增龄性改变的影响

湖北省老年医学研究所(武汉 430071) 谈运良

上海中医学院龙华医院 姚培发

上海医科大学老年医学研究中心 谢宗林 励杏娣 王洪复

内容提要 为探讨增龄对血清促黄体生成素(LH)生物活性的影响及补肾法的调节作用,分别采用放免法(RIA)和大鼠间质细胞睾酮测定法(RICT)作了48例不同年龄男性血清LH免疫测定和生物测定,发现与成年组(≤ 44 岁)比较,增龄组(≥ 50 岁)免疫测定值(I-LH)虽呈上升趋势,但生物测定值(B-LH)却呈下降趋势,B-LH/I-LH比值明显降低($P < 0.01$),表明男性血清LH生物活性随增龄下降,不再具备成年时相应的对性腺的刺激作用。服用补肾方葆春丸后,增龄组血清LH生物活性明显上升($P < 0.05$),血清睾酮(T)也显著升高($P < 0.01$),治疗后用药组均明显高于对照组($P < 0.05$),表明补肾法具有多层次调节衰老性腺轴功能的作用。

关键词 补肾法 促黄体生成素 生物活性 生物测定 免疫测定 衰老

关于下丘脑-垂体-性腺轴(简称性腺轴)与衰老的关系,国内外都作了大量的研究,在补肾法延缓衰老的研究中,也对该轴作了许多观察^{〔1〕}。在这些工作中,很多人发现,在整个轴系统的衰老变化中,垂体促性腺激素保持不变甚至呈高分泌状态^{〔2〕}。这一现象长期得不到满意的解释,国内外学者的意见也不尽一致^{〔3〕},因而垂体促性腺功能的增龄性改变及补肾法调节性腺功能的机理也未能得到很好的阐明。揭示这些变化特点,对于阐明老年性腺功能低下的原因和性腺轴系统的整体变化及补肾法延缓衰老的机理,都有重要意义。为此,本文选择不同年龄健康男性作血清促黄体生成素(LH)免疫测定和生物测定,观察LH生物活性的增龄性变化,同时观察了血清睾酮(T)的变化情况,以及补肾法对上述变化的调节作用。

对象和方法

一、对象:健康男性,共60例。其中年龄50~73岁(平均61岁)的41例为增龄组,30~44岁(平均37.5岁)的19例为成年组。增龄组又随机分成增龄用药组(简称用药组)和增龄对照

组(简称对照组)。

1. 用药组:21例,年龄50~73岁,平均61.5岁。本组服用补肾方葆春丸,每日2次,每次9g,连服3月后测定有关指标。葆春丸按补肾填精、助阳化气原则组方,由地黄、首乌、枸杞、菟丝子、补骨脂、巴戟天、桂枝等中药组成,不含紫河车、鹿茸等动物类成份,由上海黄浦制药厂生产。

2. 对照组:20例,年龄50~72岁,平均60.5岁。本组服用外观与葆春丸相同的安慰剂,(由辅形材料制成),服法和疗程与用药组相同。

3. 成年组:19例,年龄30~44岁,平均37.5岁。本组不服药,仅作为与增龄组用药前的对照。

增龄组按中华医学会1982年规定的标准收集^{〔4〕},用药组和对照组双盲处理;成年组为体检正常的自愿者。

二、方法:所有对象均于早晨空腹静脉采血,分离血清作以下指标,其中增龄组服药前后两次检测。

1. 血清LH生物测定和免疫测定:分别采

用大鼠间质细胞睾酮测定法(The Rat Interstitial Cell Testosterone Assay, RICT)和放射免疫法(RIA)作血清 LH 的生物测定和免疫测定,并用生物测定值(B-LH)和免疫测定值(I-LH)之比(B-LH/I-LH)表示 LH 的生物活性⁽⁵⁾。RICT法的原理是将 LH 标准或血清样本与大鼠间质细胞一起在培养液中孵育,将样本刺激产生睾酮的量与 LH 标准刺激产生的量相比较,求得血清中相当于标准 LH 的值,即为 B-LH,详见文献⁽⁶⁾。RICT 法灵敏度 0.4mIU/ml,变异系数 8.3%。4 月龄雄性大鼠由上海放射医学研究所动物房提供(Wistar,合格证;沪医实动字第 34 号)。间质细胞分离用胶原酶法。I 型胶原酶(Sigma 产品)、199 培养基(Difco 产品)、LH 标准(英国 Mill Hill 产品)、LH 放免药盒由上海内分泌研究所提供。

2. 血清 T 测定: RIA 法,药盒由上海内分泌研究所提供。

3. 统计方法: 组间均数 t 检验和配对 t 检验。

结 果

一、血清 LH 生物测定和免疫测定: 结果见表 1、表 2。

表 1 不同年龄血清 B-LH、I-LH 及 B-LH/I-LH 比较 ($\bar{x} \pm S$)

组别	例数	B-LH (mIU/ml)	I-LH (mIU/ml)	B-LH/I-LH
增龄	31	30.1 $\pm$ 18.90*	17.5 $\pm$ 7.41	1.68 $\pm$ 1.28**
成年	17	39.9 $\pm$ 14.02	14.1 $\pm$ 5.24	2.84 $\pm$ 1.36

注: 与成年组比较 *0.05<P<0.1, **P<0.01

表 1 示: 与成年组比较, 增龄组 I-LH 略有上升, 但无显著差异, B-LH 呈下降趋势, 而 B-LH/I-LH 则显著降低(P<0.01), 提示 LH 生物活性随增龄下降。

表 2 示: 服用葆春丸后, B-LH 有上升趋势, B-LH/I-LH 则显著升高(P<0.05), 且治疗后用药组明显高于对照组(P<0.05), 表明补肾方葆春丸可以提高增龄男性血清 LH 的生

物活性。

表 2 葆春丸对增龄组血清 B-LH、I-LH 及 B-LH/I-LH 的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	例数	B-LH (mIU/ml)	I-LH (mIU/ml)	B-LH/I-LH
用药	16	29.3 $\pm$ 14.01 38.8 $\pm$ 14.40	17.2 $\pm$ 5.36 16.8 $\pm$ 5.20	1.69 $\pm$ 0.96 2.17 $\pm$ 0.84* Δ
对照	15	30.5 $\pm$ 15.91 31.6 $\pm$ 15.11	17.8 $\pm$ 7.09 18.8 $\pm$ 6.31	1.68 $\pm$ 1.08 1.58 $\pm$ 0.76

注: 每组上行为治前, 下行为治后。与治疗前比较(配对), *P<0.05; 与对照组治疗后比较, ΔP <0.05

二、血清 T 测定: 成年组 19 例血清 T 浓度为 651 $\pm$ 273 μ g/dl, 增龄组 41 例为 462 $\pm$ 215 μ g/dl, 明显低于成年组。表 3 示, 用药组治疗后, 血清 T 浓度显著升高(P<0.01), 且治疗后, 用药组血清 T 浓度显著高于对照组(P<0.05)。

表 3 葆春丸对增龄组血清 T 的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	例数	血清 T 浓度(ng/dl)		
		治前	治后	差值
用药	21	459 $\pm$ 184	607 $\pm$ 179 Δ	-148 $\pm$ 226*
对照	20	466 $\pm$ 193	486 $\pm$ 195	-20 $\pm$ 59

注: 治疗前后自身对照, *P<0.01; 与对照组比较, ΔP <0.05

讨 论

在对性腺轴与衰老关系的研究中, 国内外许多学者都发现这一现象, 即在整体的增龄性衰退过程中, 垂体分泌的促性腺激素如 LH 的血清浓度保持不变, 甚至还有所上升, 而睾酮分泌减少是大多数研究者的一致结论。LH 不变或升高而 T 减少, 即呈高 LH/T 比值状态, 这至少有以下几种可能性: 一是睾丸对 LH 的反应性减弱, 二是 LH 的活性发生变化, 对睾丸的刺激减弱, 或是二者同时存在。在以往的研究中, 人们已经发现, 睾丸 Leydig 细胞随增龄减少, 性腺对外源性人绒毛膜促性腺激素(hCG)的急性刺激的反应性减弱⁽⁷⁾, 但老年时睾丸仍保留着相当的储备能力, 慢性给予外源性 hCG 刺激可使老年大鼠 T 分泌达到成年鼠水

平⁽⁸⁾，就是说体内持续升高的LH(即使是反馈引起的)是应有可能刺激睾丸分泌更多睾酮的。这就提出了这样一个问题，老年时高分泌状态的LH是否具有与成年时一样的生物活性，其分子是否发生了变化，有必要对此进行研究。基于这一认识，Conn等人用凝胶洗脱法对不同年龄大鼠垂体和循环中的LH进行了比较研究，发现老年鼠LH的分子量增加，并发现不同年龄鼠LH从循环中清除的行为不尽相同⁽⁹⁾。为了观察这种变化给LH活性带来的影响，有人建立了大鼠间质细胞睾酮测定法(RICT)来作LH的生物测量，认为RIA作为一种普遍采用的激素测定方法，依据的是抗原-抗体反应原理，测得的LH是一种免疫测定(Immunoassay)值，不能全面地反映LH的生物活性，也不能全面反映垂体促性腺功能的变化，而应结合RICT法作LH的生物测定(Bioassay)，并发现生物测定值(B-LH)与免疫测定值(I-LH)之比可以作为表达LH生物活性(biological activity)及质变(qualitative change)的指标，甚至很轻微的生物化学变化都能从中表达出来⁽⁵⁾。很显然LH生物活性变化会对性腺轴产生很明显的影 响。因此有必要比较不同年龄B-LH、I-LH及其比值的变化情况，从中观察垂体促性腺功能的增龄性变化，这一研究国内还未见公开报道。

本文同时使用RIA和RICT法作不同年龄男性血清LH测定，结果表明，增龄组I-LH虽有升高趋势，而B-LH反呈下降趋势(均值下降32.6%， $0.05 < P < 0.1$)，B-LH/I-LH显著下降($P < 0.01$)。说明男性血清LH随增龄发生了分子变化，不再具有与成年人相应的生物活性，其促性腺作用也必然相应减弱。我们还同时测量了不同年龄血清T水平，与以往结果一致，增龄组明显下降($P < 0.01$)。以上结果显示，垂体-性腺轴随增龄出现整体性的功能衰退，老年及老年前期血清LH生物活性下降，可能是T分泌减少的主要原因之一。

以往的研究表明，补肾法对改善性腺功能

的衰退有明显的作用⁽¹⁾。为进一步阐明其作用机理，本文观察了补肾方葆春丸对上述垂体-性腺轴增龄性变化的影响。结果用药组B-LH/I-LH显著升高($P < 0.05$)，接近成年组水平，表明葆春丸能改善LH生物活性，延缓垂体促性腺功能增龄性退化作用。同时用药组血清T也显著升高($P < 0.01$)，说明葆春丸能同时调节垂体和性腺，而不是仅作用于后者。结合以往补肾法对性腺轴所作的观察可以看出，补肾法具有下丘脑、垂体、性腺多层次的调节作用。这种整体综合作用的特点，显然对变化复杂的增龄性性腺轴功能的衰退，甚至对全身功能衰老的调节具有不可低估的优势。

参 考 文 献

1. 谈运良. 补肾法延缓衰老的研究概况. 上海中医药杂志 1990; (2):42.
2. Wither SJ, et al. Episodic luteinizing hormone(LH) secretion and the response of LH and follicle stimulating hormone to LH releasing hormone in aged men. J Clin Endocrinol Metab 1982; 55:560.
3. 胡自正, 等. 老年人血清垂体催乳素、促性腺激素测定研究. 中华老年医学杂志 1987; 6(2):103.
4. 杨泽延, 等. 健康老年人几项免疫测定结果. 中华老年医学杂志 1984; 3(4):193.
5. Jarner BA, et al. Effects of pituitary testicular axis in men: qualitative as well as quantitative changes in luteinizing hormone. J Clin Endocrinol Metab 1985; 60:265.
6. Dufau ML, et al. A highly sensitive in vitro bioassay for luteinizing hormone and chorionic gonadotropin: Testosterone production by dispersed leydig cell. J Clin Endocrinol Metab 1974; 39:610.
7. Chan SWX, et al. Testicular metabolism and serum testosterone in aging male rats. Endocrinol 1977; 101:128.
8. Harman SM. Testosterone secretion in the rat in response to Chorionic gonadotropin: alterations with age. Endocrinol 1978; 102:540.
9. Conn PM, et al. Qualitative change in gonadotropin during normal aging in the male rat. Endocrinol 1980; 106:1549.

Abstracts of Original Articles

Study of Immune Function on Blood Stasis Syndrome in Patients with Abdominal Surgical Diseases

Xue Cheng-rui (薛承锐), Zhu Li-wei (朱理玮), Wu Xian-zhong (吴咸中)*
*Affiliated Hospital of Tianjin Medical College (300070). * Tianjin Medical College*

52 Patients with Blood Stasis Syndrome (BSS) in abdominal surgical diseases were divided into 3 types according to their symptoms, signs and natures of diseases. Peripheral blood T lymphocyte subsets of these BSS patients and 12 healthy persons were studied with Flow Cytometry and monoclonal antibodies. The immunoglobulins and complements of these cases were also studied. There were no difference in T cell subsets, immunoglobulins and complements between Qizhi (气滞)-BSS group and normal control. The Shire (湿热)-BSS group showed that CD_8 cell, IgG, IgM, and C_1 , C_{3c} were increased. These results showed that the immune response increased in this type of BSS patients. In the Qixu (气虚)-BSS group, the CD_2 was nearly normal, and the CD_4^+ , CD_4^+/CD_8^+ ratio, and CD_{16}^+ were statistically decreased. However, the CD_8^+ cells markedly increased, the IgG, IgM and IgD were also lowered significantly in this type. The marked morphologic abnormal changes in ultrastructures of T lymphocyte were found in 6 patients with Qixu-BSS group. These results showed that the Qixu type of Blood Stasis Syndrome patients were in the immuno-suppressive status.

Key words Blood Stasis Syndrome, abdominal surgery, ultrastructures of T cell, immunoglobulins, complements, T lymphocyte subsets

(Original article on page 652)

Clinical and Experimental Study of Qing Wen Oral Liquid (清瘟口服液) in Treating Viral Infections Fever

Guo Wei-feng (过伟峰), Zhou Zhong-ying (周仲英), et al
Nanjing College of TCM, Nanjing (210029)

110 cases of viral fever patients receiving Qing Wen oral liquid were observed. The total effective rate was 94.5% in comparing to 86.5% in the control group, $P < 0.01$. The shortening of time concerning both the beginning on the declining of fever and normalization of body temperature were obvious in comparison with the control. The remedy was also effective in improving symptoms and signs, alleviating renal failure, improving microcirculation and providing bi-directional regulation to the immune system, thus the progression of the disease was controlled. Animal experiments showed that Qing Wen oral liquid could protect the rabbits with hemorrhagic fever, delay the incubation period and the peak of fever, lower the febrile index and PGE content, improve the hemorheology and enhance the cell-mediated immunity in CSF.

Key words viral fever, Qing Wen oral liquid

(Original article on page 656)

Study on Efficacy of Replenishing Kidney Therapy on Biological Activity of Serum LH in Aged Subjects

Tan Yun-liang (谭运良), et al
Hubei Institute of Geriatric Medicine, Wuhan (430071)

There have been many research reports about changes of aging of hypothalamus-pituitary-gonad axis, but no satisfactory explanation on the constancy or elevation of serum gonadotropin level in