

· 实验研究 ·

五子衍宗液对雄性大鼠下丘脑单胺类递质、性激素和生育能力的影响

北京医科大学中西医结合研究所(北京 100034)

王学美¹ 谢竹藩² 刘庚信 钮淑兰

内容提要 本研究观察了五子衍宗液对雄性大鼠下丘脑单胺类递质、性激素和生育能力的影响。结果表明,该方可升高老龄大鼠下丘脑去甲肾上腺素(NE)含量,降低 5-羟色胺(5-HT)含量和 5-HT/多巴胺(DA)比值;升高老龄大鼠血浆睾酮(T)含量,降低雌二醇(E₂)/T 比值;提高雄性大鼠精子活动度、精子计数和生育能力。

关键词 五子衍宗液 去甲肾上腺素 多巴胺 5-羟色胺 睾酮 雌二醇 生育能力

临床研究表明,补肾益精的五子衍宗液具有延缓衰老,明显改善老年肾虚衰老症状的作用^{〔1〕}。为了探讨其作用机理。本实验研究了该方对不同月龄雄性大鼠下丘脑去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)、睾酮(T)、雌二醇(E₂)、精子计数、精子活动度和生育能力的影响。

材料及方法

一、药物及实验动物 五子衍宗液由北京中药五厂提供,按药典配方。实验动物由北京医科大学实验动物部提供。

2、5、10、18、24 月龄 SD 系雄性大鼠,每月龄 20 只,均随机分为二组:五子衍宗液组,灌喂五子衍宗液,其剂量相当于成人每日量的 25 倍,每毫升五子衍宗液含生药 0.8 g。对照组,灌喂相当体积的生理盐水。所有大鼠均每日灌喂两次,疗程为 5 周。于同一时间将大鼠断头处死,肝素抗凝取血,并迅速取出全脑,切取下丘脑,干冰速冻,冰箱保存,于第 2 天进行 NE、DA 和 5-HT 的测定。

二、试剂 NE、DA、5-HT、二正丁胺系 Sigma 厂和 Merck 厂产品;二甲苯、双联三苯、甲醇、离子对 B₆、高氯酸均为国产分析纯。

三、实验方法

1. 下丘脑单胺类递质用高效液相色谱电化学检测器测定^{〔2〕},血浆 T、E₂测定,按上海内分泌研究所提供的放射免疫法说明书操作。

2. 生育实验及精子计数^{〔3〕} 用生育力已趋减退的雄性大鼠,经与雌鼠同笼 3 日后,雌鼠阴道每日涂片无精子者作为观察对象。均随机分为五子衍宗液组(灌喂五子衍宗液)及对照组(灌喂生理盐水)。灌喂 3 周后,再行与育龄雌鼠一对一同笼 1 周,观察雌鼠产仔情况。将雄鼠处死,计算副睾中的精子数和活动度:取副睾称重,轻磨成匀浆,按每毫克副睾组织加任氏液(Ringer 溶液)20 ml 稀释混匀,移一滴于计数板上,在高倍镜下计数精子,并同时观察精子的活动力。精子活动分度标准:Ⅰ度:摇头摆尾,不能运动;Ⅱ度:能勉强运动;Ⅲ度:活动快,但不超过一个视野;Ⅳ度:迅速超过一个视野。

结 果

一、下丘脑单胺类递质的含量

1. 对照组单胺类递质含量 见表 1。下丘脑 NE 含量以 5、10 月龄最高,5、10 月龄大鼠下丘脑 NE 含量均较 2 月龄增高,有显著性差异($P < 0.01$),而 18 月龄大鼠下丘脑 NE 含量显著低于 5、10 月龄,24 月龄较 18 月龄更低,均有显著性差异。下丘脑 DA 含量也以 5、10 月龄含量最高,从 10 月龄到 18、24 月龄呈下降趋势,18 月龄较 10 月龄降低,24 月龄更低($P < 0.05 \sim 0.01$)。下丘脑 5-HT 含量及 5-HT/DA 比值均呈随龄递增趋势,18、24 月龄雄性大鼠下丘脑 5-HT 及 5-HT/DA 比值均较 2、5、10 月龄升高,且 24 月龄较 18 月龄进一步增高,有显著性差异($P < 0.05 \sim 0.01$)。

2. 五子衍宗液组单胺类递质含量 见表 1。灌喂

1. 博士生; 2. 导师

五子衍宗液后, 24 月龄雄性大鼠下丘脑 NE 含量, 与同龄对照组相比升高, 有显著性差异 ($P < 0.05$); 下丘脑 DA 也有升高趋势, 但差异无显著性; 18 和 24 月龄雄性大鼠下丘脑 5-HT 含量及 5-HT/DA 比值

均明显降低, 与同龄对照组相比有显著性差异 ($P < 0.05 \sim 0.01$)。其它月龄灌药组与对照组比较无显著性差异。

表 1 不同月龄雄性大鼠下丘脑单胺类神经递质的测定 ($\bar{x} \pm S$)

月龄 组别	NE(ng/g 组织)	DA(ng/g 组织)	5-HT (ng/g 组织)	5-HT/DA
2 治疗	1.88±0.07	1.05±0.09	4.50±0.18	4.41±0.24
2 对照	1.74±0.06	1.03±0.07	4.43±0.23	4.40±0.26
5 治疗	2.31±0.15	1.10±0.07	4.70±0.22	4.29±0.15
5 对照	2.25±0.05 a	1.14±0.07	4.86±0.40	4.24±0.13
10 治疗	2.18±0.11	1.00±0.09	5.13±0.33	5.22±0.18
10 对照	2.25±0.09 a	1.17±0.07	5.53±0.31	4.71±0.11
18 治疗	2.13±0.08	0.97±0.06	4.68±0.31 *	4.88±0.19 **
18 对照	1.94±0.10 bc	0.91±0.07 c	6.07±0.40 AbC	6.76±0.34 abc
24 治疗	1.97±0.10 *	0.87±0.07	5.22±0.47 *	6.03±0.29 **
24 对照	1.65±0.07 bcd	0.76±0.06 bc	6.91±0.43 abC	9.24±0.61 abcd

注: 与 2 月龄比较 $AP < 0.05$, $aP < 0.01$; 与 5 月龄比较 $bP < 0.01$; 与 10 月龄比较 $CP < 0.05$, $cP < 0.01$; 与 18 月龄比较 $dP < 0.01$; 与同月龄对照组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 动物数均为 8

二. 性激素水平

1. 对照组血浆性激素含量 见表 2。血浆 T 含量以 5、10 月龄雄性大鼠最高, 5、10 月龄血浆 T 含量较 2 月龄显著增高 ($P < 0.05 \sim 0.01$)。而 18、24 月龄血浆 T 含量较 5、10 月龄降低, 24 月龄 T 含量的降低更为明显, 甚至显著低于 2 月龄 ($P < 0.01$)。血浆 E_2 含量从 2 月龄到 5、10 月龄均呈下降趋势, 但无统计学意义; 18 月龄较 10 月龄略有升高; 但不显著; 24 月龄血浆 E_2 含量明显升高, 且高于 2 月龄大鼠, 有显著性

差异 ($P < 0.05 \sim 0.01$)。血浆 E_2/T 比值 24 月龄大鼠较 2、5、10、18 月龄均升高, 其差别有显著性 ($P < 0.01$), 其它各月龄组间无显著性差异。

2. 五子衍宗液组血浆性激素含量 见表 2。灌喂五子衍宗液的 18、24 月龄雄性大鼠血浆 T 含量较对照组升高, E_2/T 比值较对照组降低, 均有显著性差异 ($P < 0.05$); 但各月龄大鼠血浆 E_2 均无显著性差异, 其它月龄大鼠血浆 T、 E_2/T 比值五子衍宗液组与对照组相比也无显著性差异。

表 2 不同月龄雄性大鼠血浆 T、 E_2 含量及 E_2/T 比值比较 ($\bar{x} \pm S$)

月龄 组别	T(ng/dl)	E_2 (pg/ml)	E_2/T
2 治疗	155.23±10.23(10)	12.80±1.12(11)	0.0890±0.0121(10)
2 对照	132.15±10.16(9)	14.11±1.49(8)	0.1174±0.0208(8)
5 治疗	190.18±13.72(10)	10.84±1.35(10)	0.0651±0.0146(9)
5 对照	191.59±16.39 a(9)	11.55±1.36(9)	0.0647±0.0107(9)
10 治疗	163.14±21.87(8)	8.09±0.48(9)	0.0633±0.0010(8)
10 对照	186.88±16.20 A(10)	7.74±0.89(8)	0.0447±0.0058(8)
18 治疗	116.54±9.79 *(10)	7.24±0.82(9)	0.0715±0.0142 *(9)
18 对照	81.93±11.44 bc(8)	8.81±1.31(8)	0.1201±0.0177(8)
24 治疗	89.67±7.93 *(8)	17.41±1.37(8)	0.2032±0.0247 *(8)
24 对照	62.11±6.88 abc(8)	20.53±2.18 Abcd(6)	0.3796±0.0841 abcd(6)

注: 与 2 月龄比较 $AP < 0.05$, $aP < 0.01$; 与 5 月龄比较 $bP < 0.01$; 与 10 月龄比较 $cP < 0.01$, 与 18 月龄比较 $dP < 0.01$; 与同月龄比较 * $P < 0.05$, () 内为动物数

三、精子计数、精子活动度和生育力 五子衍宗液组每毫克副睾精子数 ($40.11 \times 10^6/\text{mg}$ 组织) 较对照组 ($31.40 \times 10^6/\text{mg}$ 组织) 增多, 有显著性差异 ($P < 0.05$); 活动精子百分数多于对照组, 不活动精子百

分数少于对照组, 经 Ridit 分析, 与对照组比较 ($P < 0.01$), 见表 3。与 15 只对照组雄鼠同笼的雌鼠, 有 3 只产仔; 与 16 只五子衍宗液组雄鼠同笼的雌鼠, 9 只产仔, 经卡方检验, $P < 0.05$ 。

表3 五子衍宗液对雄性大鼠副睾中精子活动度的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	鼠数	不活动精子(%)	活动精子(%)			
			I度	II度	III度	IV度
对照	10	63.59±4.78	32.35±4.45	3.10±0.68	0.55±0.20	0.05±0.05
治疗	9	42.49±1.10	44.89±1.95	8.83±1.40	2.72±0.83	0.61±0.23

注: 经 Ridit 分析, 治疗组与对照组比较 P 均 <0.01

讨 论

众所周知, 正常的生殖活动基本上都是受丘脑下部释放的促性腺激素释放激素(GnRH)所调节, 丘脑下部释放的 GnRH 刺激垂体前叶释放促性腺激素, 促性腺激素进一步刺激性腺, 分泌相应的甾体性腺激素, 以维持精子的不断产生和月经周期的发生。GnRH 在下丘脑特定脑区的神经细胞合成, 其神经元又受多种中枢神经介质(尤其是单胺类)的调节。已知 DA 兴奋 GnRH 神经元; NE 通过 α -受体兴奋 GnRH 的释放, 亦通过 β -受体抑制其释放, 但在正常情况下, α -受体的作用占主导地位; 5-HT 则抑制 GnRH 释放, 因此下丘脑单胺能神经元的活动调节 GnRH 向门脉系统的释放, 进而影响垂体前叶的分泌, 最后改变睾丸和卵巢甾体激素的分泌。有人认为 5-HT 与 NE 或 DA 平衡关系的改变可能是衰老的一个重要环节^[4]。

本研究系统观察了不同月龄雄性大鼠下丘脑单胺类递质及血中性激素水平的随龄变化, 结果表明雄性大鼠下丘脑 DA 含量在 2、5、10 月龄基本上维持同一水平, 到 18、24 月龄其 DA 含量均明显低于 5 月龄。NE 含量由 2 月龄到 5 月龄呈上升趋势, 10 月龄无变化, 18 月龄较 5、10 月龄为低, 24 月龄下降更为显著。5-HT 含量随龄增高, 18、24 月龄雄性大鼠下丘脑 5-HT 含量均较 2、5、10 月龄升高, 5-HT/DA 比值在 18、24 月龄也明显高于 2、5、10 月龄。血浆 T 由 2 月龄到 5 月龄呈上升趋势, 一直维持到 10 月龄, 18、24 月龄明显下降; 24 月龄 E_2 及 E_2/T 比值显著升高, 与 Fujitas 报道一致^[5]。此结果说明在衰老过程中雄性大鼠下丘脑、性腺发生显著的变化, 这种衰老变化始于 18 月龄, 表现为下丘脑儿茶酚胺减少、5-HT 随龄增高, 血中 T 随龄降低, E_2 及 E_2/T 比值升高。目前, 一般认为大鼠的正常存活年限是 3 年, 相当于人类的 80 岁, 24 月龄大鼠相当于人的 65~70 岁以上老年期, 18 月龄相当于人 45~50 岁老年前期^[4]。因此, 本研究可能为临床使用防治衰老药物的时间, 提供了实验依据。

许多实验已表明下丘脑儿茶酚胺减少, 5-HT 增多, 是老龄雌鼠和雄鼠生殖系统老化的主要原因^[6]。用左旋多巴或其他增加脑内 DA 类含量药物或给予 5-HT 合成酶抑制剂及限制色氨酸的摄入以减少下丘脑 5-HT 含量, 从而改善了 5-HT 与 DA 或 NE 比值, 均恢复了雄性大鼠的睾酮分泌及雌性大鼠的动情周期^[7]。

近年来, 补肾药延缓衰老, 调节下丘脑—垂体—性腺轴作用虽有报道, 但补肾药能否通过调节下丘脑单胺类递质影响生殖系统的功能, 还有待于探讨。本研究结果表明, 五子衍宗液可升高 24 月龄雄性大鼠下丘脑 NE 含量, 对 DA 也有升高的趋势, 降低 18、24 月龄雄性大鼠 5-HT 含量, 使 18、24 月龄大鼠 5-HT/DA 比值降低, 还可升高 18、24 月龄大鼠血浆睾酮的含量, 降低 E_2/T 比值, 提高雄性大鼠的精子数, 精子活动度和生育力, 这些结果提示五子衍宗液对雄性大鼠性激素水平和生育力的作用, 可能是通过调节下丘脑单胺类递质的随龄变化来实现的, 这也为该方延缓衰老的作用机制提供了实验依据。

参 考 文 献

1. 王学美, 等. 五子衍宗液延缓衰老的临床研究. 中国中西医结合杂志 1992; 12(1): 23.
2. 屈志炜, 等. 用高效液相色谱电化学检测器测定大小鼠脑内单胺类物质的研究. 中国医学科学院学报 1987; 9(5): 371.
3. 徐叔云, 等. 药理实验方法学. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1985: 1020.
4. 周隆武. 中枢神经递质及受体. 老年学杂志 1986; 4(2): 35.
5. Fujitas, et al. Alteration of plasma sex hormone levels associated with old age and its effect on hepatic drug metabolism in rats. J pharmacol Exp Ther 1990; 253(1): 369.
6. Meites J, et al. Why the neuroendocrine system is important in aging processes. Exp Gerontol 1987; 21: 1.
7. 胡去白, 等. 左旋多巴对雌性大鼠生殖系统的影响. 中华老年医学杂志 1987; 6(4): 238.

Clinical and Experimental Studies on Membranous Pulp-Capping Agent with Chinese Medicinal Herbs

Wang Zhu-ping (汪竹平), Li Zai-ren (李再仁), Li Shu-ling (李淑玲); et al
Shandong Medical University, Jinan (250012)

A membranous pulp-capping agent of Chinese medicinal herbs was made by ourself prescription, and was filled in capsules for medication. Direct pulp-capping and pulpotomy were performed on 102 permanent teeth. During the observation period of more than one year, the successful rate was 82.4%. Under light microscope, the artificial exposed sites of normal sheep teeth were fully sealed after capping for 45 days. There were calcification under the exposed sites. The inner lines were preparative dentins. Experiments on dogs' teeth revealed that the pulps were normal after two month's direct pulp-capping, and the new dentins appeared. The bacteria culture test was made before and after the pulp-capping agent was used on ten deep carious teeth. It revealed that the bacteria all converted negative after medication of two weeks. Clinical and experimental studies indicated that the pulp-capping agent is valuable in clinical treatment.

Key words Chinese medicinal herb, pulpitis, pulp-capping, pulpotomy, antibacterial test

(Original article on page 345)

Clinical Observation on Effect of Suo Quan Pill (缩泉丸) for Reducing Clozapine Induced Salivation

Kang Bing (康冰), et al
Nanjing Neuropsychiatric Hospital, Nanjing (210029)

40 Schizophrenic inpatients with clozapine induced salivation were divided into two groups randomly. They were treated with Suo Quan pill and a control study of the placebo (neutral pill) for reducing clozapine induced salivation. These cases were also classified by TCM Syndrome Differentiation and laboratory examinations were performed. Results: There was a significant difference in effect on salivation between the therapeutic group (21 cases) and the controlled group (19 cases), $P < 0.01$. According to their TCM subtypes two subtypes (Stagnation of Phlegm-Dampness and Yin Deficiency) showed the best results. No correlation between the peripheral clozapine level and salivation was found. No side effect was recorded.

Key words Suo Quan Pill, clozapine, salivation

(Original article on page 347)

Effect of Wuzi Yanzong Liquid (五子衍宗液) on Hypothalamus, Monoamines, Sexual Hormones and Reproductivity in Male Rats

Wang Xue-mei (王学美), Xie Zhu-fan (谢竹藩), et al
Institute of Integration of TCM and WM, Beijing Medical University, Beijing (100034)

About 100 male SD rats aged 2, 5, 10, 18 and 24 months (each age group for about 20 rats) were used in the antisenility experiment. The animals of each age group were further subdivided into two groups randomly: one group administered with Wuzi Yanzong Liquid (WYL) daily for 5 weeks, and the other group with normal saline. After treatment, plasma testosterone (T) and estradiol (E2), hypothalamus norepinephrine (NE), dopamine (DA) and serotonin (5-HT) levels were determined. In comparison with younger groups, the 18 and 24 months old rats administered with saline had markedly lowered plasma T, hypothalamus NE and DA levels, and elevated 5-HT, E2 levels and 5-HT/DA, E2/T ratios; while in the 18 and 24 months rats administered with WYL the above mentioned changes were much less remarkable. Since WYL only raised plasma T level in old rats