

· 实验研究 ·

阴阳平补中药对雄激素致不孕大鼠肝细胞膜胰岛素受体的影响*

李桂玲¹ 归绥琪¹ 唐月华² 冯佑民²

内容提要 **目的:**观察阴阳平补中药治疗前后雄激素致高胰岛素高雄激素不孕大鼠肝细胞膜胰岛素受体的变化。**方法:**建立雄激素致高胰岛素高雄激素不孕大鼠模型,采用阴道涂片的方法观察阴阳平补中药对不孕大鼠的促排卵作用;采用放射配体结合分析方法检测肝细胞膜胰岛素受体的数目与亲和力。**结果:**阴阳平补中药对雄激素致高胰岛素高雄激素不孕大鼠的促排卵率为 43.1%,而服药与未服药的不孕大鼠,其肝细胞膜胰岛素受体的数目及亲和力均与正常大鼠相似。**结论:**阴阳平补中药对雄激素致高胰岛素高雄激素不孕大鼠的促排卵作用不是通过影响胰岛素受体的结合而实现。

关键词 阴阳平补中药 雄激素致不孕大鼠 胰岛素受体

Effect of Kidney Yin-Yang Replenishing Chinese Herbs on the Binding Character of Insulin Receptor on Hepatocyte Membrane in Androgen-Induced Sterility Rats Li Guiling, Gui Suiqi, Tang Yuehua, et al *Obstetric and Gynecologic Hospital of Shanghai Medical University, Shanghai (200011)*

Objective: To observe the effect of Kidney Yin-Yang replenishing Chinese herbs on the binding character of insulin receptor (IR) on hepatocyte membrane from androgen-induced sterility rats (ASR). **Methods:** The number and affinity of IR on hepatocyte membrane of ASR were determined with radioligand binding assay. **Results:** There was no significant difference of the number or affinity for both high and low affinity sites of IR between normal and ASR. **Conclusion:** The treatment with Kidney Yin-Yang replenishing Chinese herbs had no effect on insulin binding although a relatively high rate of ovulation induction on ASR was observed.

Key words Kidney Yin-Yang replenishing Chinese herbs, insulin receptor, androgen-induced sterility rats

雄激素致不孕大鼠 (androgen induced sterile rats, ASR) 是 Barraclough⁽¹⁾ 于 1961 年首次诱发成功的, 但并未进行深入研究。近年, 俞瑾等⁽²⁾ 采用 9 日龄 SD 雌性大鼠成功地诱发出 ASR 模型, 并对其进行了大量的研究, 发现 ASR 具有高雄激素血症、无排卵性不孕及糖耐量试验异常等, 因此被用作高胰岛素高雄激素无排卵综合征病理模型而展开研究。本实验首次观察了服阴阳平补中药前后 ASR 肝细胞膜胰岛素受体 (insulin receptor, IR) 的水平, 从而为高胰岛素高雄激素无排卵综合征的发病机制提供了进一步研究的依据。

材料与方法

1 动物 9 日龄雌性 SD 成年大鼠 120 只, 体重 200~220g, 由上海医科大学实验动物部提供, 断奶后按清洁级标准饲养。

2 药物 阴阳平补中药由生地、熟地、山萸肉、肉苁蓉、茯苓、麦冬、当归、桃仁、仙灵脾、女贞子等组成, 由本校生药教研室制成口服液, 每毫升含生药 2.8g。

3 试剂及仪器 丙酸睾酮丸素、中性茶油 (上海第九制药厂生产), 猪胰岛素 (中国科学院生化所提供), Na-¹²⁵I (美国 Amersham 公司产品), 牛血清白蛋白 (美国 Sigma 公司产品); RC-5C 高速冷冻离心机 (美国 Beckman 公司产品), γ -计数器 (瑞典 Pharmacia 产品)。

4 实验方法

4.1 ASR 模型及正常对照大鼠的制备: 采用俞

* 国家自然科学基金资助项目 (No. 39570892)

1. 上海医科大学附属妇产科医院 (上海 200011); 2. 中国科学院上海生化所分子生物学国家重点实验室

瑾等⁽²⁾的方法制备 ASR 模型。实验共分 3 组:ASR 模型组、ASR 加中药组和正常对照组,每组 30 只大鼠。于 80 日龄起 ASR 加中药组灌服阴阳平补中药两周,正常对照大鼠及模型对照大鼠灌以等量的蒸馏水,然后阴道涂片两个动情周期,观察各组大鼠的排卵情况。对生长 100 天的大鼠进行乙醚麻醉后,离取肝脏组织,用差速离心法制备细胞膜悬液⁽³⁾,改良的 Lowery 法⁽⁴⁾定蛋白备用。

4.2 ¹²⁵I-猪胰岛素的制备 按文献⁽⁵⁾报道的方法。

4.3 受体结合实验 取 200μg 细胞膜悬液,然后加入¹²⁵I-胰岛素(15 万 cpm)、不同剂量(0,0.5,1,2,5,10,20,50,100,200,500,5000,50000ng)的天然猪胰岛素及 50mmol/L 磷酸缓冲液(pH 7.5),使反应体积为 0.5ml,牛血清白蛋白浓度为 0.5%,于 4℃ 反应过夜,次日离心(3500r/min)20min,吸去上清,再用 1ml 含 0.1% BSA 的上述磷酸缓冲液洗两次沉淀,离心,吸去

上清。用 γ-计数器测定每一管的 cpm。每一浓度为二复管。

5 观察项目及检测方法 中药对不孕大鼠的促排卵情况通过阴道涂片检查;肝细胞膜胰岛素受体的数目及亲和力用放射配体结合分析方法检测。

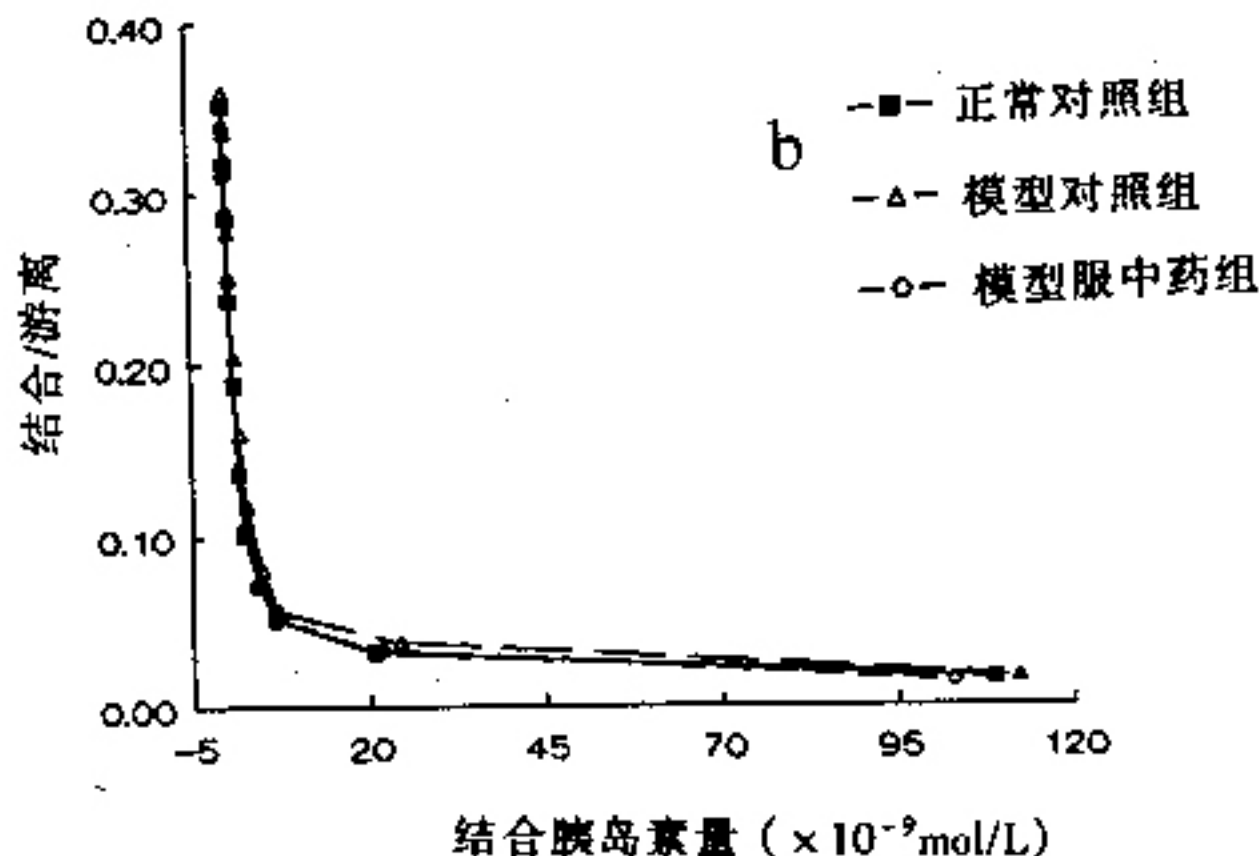
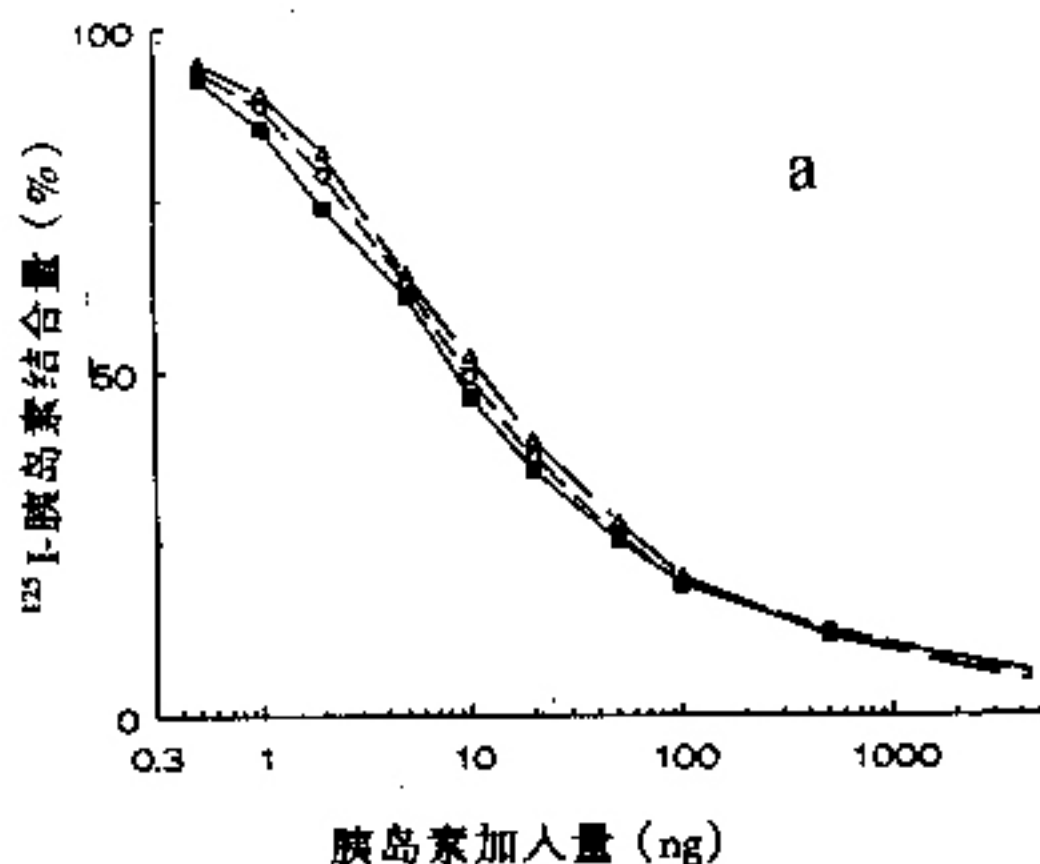
6 数据统计与处理 采用 SigmaPlot 4.0 软件制图和分析。

结 果

1 各组大鼠灌胃两周后的排卵情况 正常对照组大鼠全部排卵,ASR 模型组无 1 只排卵,ASR 模型加中药组促排卵率为 43.1%。提示阴阳平补中药对 ASR 确有显著的促排卵作用,并明显高于未服药的 ASR 的排卵率。

2 胰岛素受体分析

2.1 胰岛素与大鼠肝细胞膜结合的竞争取代曲线及 Scatchard 作图 见附图。



附图 大鼠肝细胞膜与胰岛素结合的竞争取代曲线(a)及 Scatchard 作图(b)

2.2 各组大鼠肝细胞膜胰岛素受体的定量分析 见附表。各组大鼠肝细胞膜胰岛素受体高低亲和位点的饱和常数与结合容量之间无明显差异。

附表 各组大鼠肝细胞膜胰岛素受体的定量分析

组 别	样本数	R ₁ (10 ¹² 个/mg)	K ₁ (10 ⁷ M ⁻¹)	R ₀ (10 ¹⁴ 个/mg)	K ₀ (10 ⁵ M ⁻¹)
正常对照	30	7.395	6.147	2.403	2.920
ASR 模型	30	8.452	5.754	2.403	3.344
ASR 加中药	12	7.694	5.884	2.323	3.305

注:R₁:高亲和低容量结合位点的结合容量;K₁:高亲和低容量结合位点的亲和常数;R₀:低亲和高容量结合位点的结合容量;K₀:低亲和高容量结合位点的亲和常数;M:摩尔浓度

讨 论

高胰岛素高雄激素无排卵综合征是妇科常见病,也被认为是非胰岛素依赖性糖尿病⁽⁶⁾、高脂血症和某

些心血管疾病⁽⁷⁾等的高危因素。其主要特征是高雄激素血症、无排卵性不孕及糖耐量异常等。在其治疗上,至今西医尚无有效疗法。而在发病机制上,国内外至今众说纷纭,难以定论。近年来,我院根据中医辨证施治的原则,采用补肾中药治疗该病,证实有降低雄激素水平,纠正糖耐量异常而达到促排卵的效果,促排卵率高达 60.0%。ASR 模型所做的实验亦取得与临床类似的效果,本研究中阴阳平补中药对 ASR 的促排卵率为 43.1%。由此看来,ASR 模型的建立,灌服补肾中药后的研究,将为高胰岛素高雄激素无排卵综合征发病机制及补肾中药对其治疗机理的研究提供一些思路。

80 年代以来,胰岛素拮抗在高胰岛素高雄激素无排卵综合征中的机理性作用引起人们的极大关注。胰岛素拮抗,指机体内正常胰岛素的生理功效降低而血

循环胰岛素水平代偿性升高的现象。升高的胰岛素可刺激机体产生过多的雄激素,进而导致无排卵性不孕。胰岛素拮抗可产生于受体前、受体本身和受体后 3 个环节,最受重视的则是受体自身如胰岛素受体数目减少或亲和力下降的可能意义⁽⁸⁾。至于高胰岛素高雄激素无排卵综合征是否存在受体水平的胰岛素拮抗,尚难定论。因为肝细胞是胰岛素作用的经典靶器官,所以本实验检测了正常大鼠及阴阳平补中药治疗前后 ASR 肝细胞膜胰岛素受体数目及亲和力水平,以弥补人体实验的不足。结果显示,阴阳平补中药对 ASR 肝细胞膜胰岛素受体数目及亲和力无明显影响,其水平与正常大鼠相似。由此推测,ASR 不存在受体水平的胰岛素拮抗;同时提示,阴阳平补中药对 ASR 的治疗作用不是通过影响胰岛素受体数目及亲和力而实现的。因此,高胰岛素高雄激素无排卵综合征发病机制及补肾中药对其治疗机理的研究尚待另辟蹊径。

参 考 文 献

1. Barraclough CA. Production of anovulatory sterile rats by single injection of testosterone propionate. *Endocrinology* 1961;68:

62—67.

2. 俞瑾,杨淑萍,张月萍,等.雄激素致高胰岛素高雄激素性无排卵大鼠模型. *生殖医学杂志* 1993;2(4):251—259.
3. Cuatrecasas P. Isolation of the insulin receptor of liver and fat cell membrane. *Proc Natl Acad Sci USA* 1972;69(2):318—324.
4. Lowry OH, Rosebrough NJ, Lewis Farr A, et al. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951;193:265—271.
5. Fraker PJ. Protein and cell membrane iodinations with a sparingly soluble choromide 1, 3, 4, 6-tetrachloro-3a, 6a-diphenylglycoluril. *Biochem Biophys Res Commun* 1978;80:804—891.
6. Dunaif A. Hyperandrogenic anovulation (PCOS): a unique disorder of insulin action associated with an increased risk of Non-insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Am J Med* 1995;98(suppl 1A):33s—39s.
7. Derman RJ. Effect of sex steroids on woman's health implications for practitioners. *Am J Med* 1995;98(1A):137s—143s.
8. Dunaif A. Insulin resistance and ovarian hyperandrogenism. *The Endocrinologist* 1992;2:248—260.

(收稿:1997-12-30 修回:1998-03-26)

感冒用药的组方应在包装上注明西药成分与含量

卢继华

伤风感冒是常见病和多发病,为此许多药厂根据这一特点设计和生产了不少治疗该病的处方和药物。这类药大多是由数种疏风清热或解表散寒中药与某种解热镇痛西药如:阿斯匹林、扑热息痛、非那西丁;或抗病毒药如:吗啉胍,再辅以少量的抗组织胺药如:扑尔敏、苯海拉明;中枢兴奋药咖啡因及维生素 C 等组成,该类制剂成分与含量较复杂,它既不同单纯的中药制剂,又与单纯化学药相异,名目繁多,有的只有一字之差。有的名称相同而处方各异,有些厂家未将该药的全部成分和含量在说明书上注明,有的虽注明了名称但无含量。加之一些书籍未载,无法查寻。致使临床医师及药剂人员对此种制剂的成分、含量不甚了解,很容易带来用药盲目性,结果产生重复用药,不合理并用,导致毒副反应增加,给患者带来不应有的痛苦。

由门诊处方和病历用药发现,感冒患者服用中西结合感冒药与阿斯匹林、扑热息痛,扑尔敏并用较为多见。据了解一部分医师并非为了增强疗效,而是不清楚中西结合感冒药制剂所含西药成分与含量,误认为是传统中成药,造成用量过大,加之一些患者治病心切,自行加大剂量,有的与多种药物并用,这很容易造成不良后果。近年来使用解热镇痛药造成药源性疾病的报道屡见不鲜。对单方制剂引起的毒副反应已引起人们警惕,但对中西结合感冒药中所含解热镇痛药的使用没有引起足够重视。为保证临床用药的安全有效,药品包装、说明书是临床用药的重要参考之一。建议个别制药厂家,在创造出富有特色方剂的同时,更应在中西结合感冒药包装与说明书上注明所含西药成分与含量,尤其是新品种更为重要。

(收稿:1998-01-04 修回:1998-03-29)