

补肾调肝敛乳方对泌乳素分泌影响的动物实验研究

陈 新 刘菊芳 桂耀庭 张永锋

(深圳市红十字会医院,市中西医结合临床研究所 深圳 518029)

摘要 利用体外垂体组织培养技术及灭吐灵诱导 HPRL (Hyperprolactinemia, 高泌乳素血症) 小鼠模型, 以溴隐亭为对照, 观察敛乳方的作用。结果: 敛乳方不仅可以抑制离体垂体 PRL (Prolactin, 泌乳素) 的分泌, 还可拮抗灭吐灵导致的小鼠血清 PRL 升高、子宫减重、受孕率下降及性周期紊乱, 上述作用与溴隐亭相似, 敛乳方还可促使未成熟雌鼠阴道上皮细胞角化。

关键词 补肾调肝敛乳方 垂体 泌乳素

Effects of Bushen Tiaogan Lianru Decoction (BTL D) on the Secretion of Prolactine in Experimental Animals

Chen Xin, Liu Jufang, Gui Yaoting, Zhang Yongfeng (Shenzhen Red Cross Hospital, Shenzhen Institute of Integrated Chinese and Western Medicine, Shenzhen, 518029)

Abstract: An in vitro system of pituitary tissue culture and a HPRL (hyperprolactinemia) mice model induced by metoclopramide were used to observe the effects of BTL D. BTL D not only inhibited the PRL (prolactin) secretion by cultured pituitary tissue, but also can antagonize increase of serum PRL, decrease of womb weight and rate of pregnancy, and disorder of sex circle caused by administration of metoclopramide, these actions of BTL D were similar to those of bromocriptine, besides, BTL D could also spur cornification of vaginal epithelium in immature mice.

Key words: BTL D (Bushen Tiaogan Lianru decoction), pituitary, prolactin

补肾调肝敛乳方是广东省名中医刘菊芳副教授多年来治疗 HPRL 的经验方。为了验证其治疗作用, 我们观察了该方对大鼠离体垂体 PRL 分泌的影响以及对灭吐灵诱导 HPRL 动物模型的作用, 并与多巴胺受体激

动剂溴隐亭进行了比较。

1 材料和方法

1.1 动物 Wistar 雄性大鼠, 体重 150g 左右; NIH 小鼠, 性别及体重因实验目的不同而异, 均由第一军医大学动物中心提供。

1.2 体外垂体分泌 PRL 观测方法 大鼠断颈处死后,迅速分离垂体,取前叶,置 1640 培养液中洗涤 3 次,将每个垂体组织对切成 2 个组织块,置 24 孔培养板中(每孔一块)。每孔加 1ml 1640 培养液(不含血清,下同),CO₂ 培养箱中(37℃,5%CO₂)预培养 3h 后,吸弃培养液,再加 1ml 1640 培养液,培养 2h,作为基础培养(Basal Culture)。培养结束后,吸取培养液至冷冻管,-20℃保存待测。垂体组织块每孔加入 1ml 含有各种浓度药物的 1640 培养液,继续培养 6h,作为药物培养(Drug Expoure Culture)。培养结束后,收集培养液至冷冻管中,-20℃保存待测。

1.3 HPRL 造模及相关实验方法 小鼠雌性,体重 22±2g,随机分为正常对照组、HPRL 组、敛乳方组、溴隐亭组,各组在造模同期胃饲相应的药物或白开水,每天 1 次,每次 0.5ml,连续 4d。HPRL 造模方法参照文献^[1]加以改进:小鼠皮下注射灭吐灵,剂量为 24mg/kg,每天 3 次,连续 4d。预实验结果显示注射 4d 后血清 PRL 明显升高。子宫重量指数,按公式(子宫重×100/体重)计算。小鼠性周期观察采用阴道涂片法^[2]。小鼠交配试验,取 30±2g 小鼠参照文献^[3]方法进行。药物类雌激素样作用观察采用阴道涂片法,15±2g 雌性小鼠(阴道涂片未见有角化上皮细胞)用于实验,以出现形状大而不规则的大量角化上皮细胞判定为动情期^[2]。

1.4 药物及试剂 补肾调肝敛乳方主要由仙茅、蛇床子、菟丝子、白芍、枳壳、麦芽等组成。临床观察用药由深圳市中医院制剂室提供,每日 3 次,每次 1g,连续服用 30d 为 1 疗程,临床研究结果表明,该方治疗 HPRL 效果显著,与溴隐亭疗效无显著性差异。生药均由深圳市药材公司提供。醇水法反复提取后,4℃冰箱保存备用。用于培养的终浓度为 10、100、1000μg/ml,灌胃用药以蒸馏水调浓度为 200%(V/V),每只小鼠每天 0.5ml。溴隐亭为 SANDOZ PHARMA(瑞士)公司产品

(NO:056MFD0192),溶解后微孔滤膜滤过,培养液终浓度为 1、10、100nM/ml,灌胃用药溶于蒸馏水中,剂量为每天 1mg/kg 体重。灭吐灵(盐酸甲氧氯普胺注射液)为上海天丰制药厂出品(批号:931202)。PRL 放免药盒,由美国 DPC 公司提供(KPRD10020),γ 计数器为 LKB 产品。

1.5 结果计算 先分别计算各标本基础培养和药物培养 PRL 分泌量/h,然后将后者之值与前者之值相比,得出 R 值。组间均值的差异比较使用方差分析。

2 实验结果

2.1 各组药物对垂体培养液中 PRL 浓度的影响 见表 1。

表 1 各组药物对垂体培养液中 PRL 浓度的影响

组别	药物浓度	n	PRL 含量($\bar{x}\pm s$)	抑制率(%)
对照组		8	0.991±0.507	
溴隐亭组	1nM/ml	6	0.591±0.132	40
	10nM/ml	10	0.496±0.268*	49.9
	100nM/ml	8	0.385±0.284*	61.2
敛乳方组	10μg/ml	8	0.806±0.502	18.7
	100μg/ml	8	0.734±0.359	25.9
	1000μg/ml	8	0.508±0.275*	49

注:与对照组相比 *P<0.05

2.2 各组药物对 HPRL 小鼠血清 PRL 及子宫重量的影响 见表 2。

2.3 各组药物对 HPRL 小鼠受孕率的影响 见表 3。

2.4 各组药物对性成熟雌鼠 HPRL 模型性周期的影响 见表 4。

表 2 药物对 HPRL 小鼠血清 PRL 及子宫重量的影响

组别	血清 PRL 值(μg/L)	子宫重量指数
正常对照组	14.7±1.1*(10)	705.5±152.0*(9)
HPRL 组	30.1±19.9(9)	393.1±90.6(9)
敛乳方组	15.3±0.6*(10)	696.0±236.8*(9)
溴隐亭组	14.1±0.7*(10)	633.4±298.0*(9)

与 HPRL 组比较 *P<0.01,() 内为动物数, ($\bar{x}\pm s$)

表 3 药物对 HPRL 小鼠受孕率的影响

组别	孕鼠数/总鼠数	受孕百分率(%)
正常对照组	14/14	100.00
HPRL 组	6/17	35.29*
敛乳方组	13/17	76.47
溴隐亭组	11/13	84.62

与正常对照组比较 *P<0.01

表 4 各组药物对性成熟雌鼠 HPRL 模型性周期的影响

组 别	n	性周期(d) ($\bar{x} \pm s$)
正常对照组	10	4.4 ± 0.4
HPRL 组	10	6.0 ± 0.7*
敛乳方组	10	4.6 ± 0.3
溴隐亭组	10	4.6 ± 0.3

与正常对照组比较 * $P < 0.01$

2.5 各组药物的类雌激素样作用 未成熟雌性小鼠, 分组胃饲敛乳方, 溴隐亭和白开水, 仅敛乳方组小鼠 100% 出现阴道上皮细胞角化, 其它各组无此现象。

3 分析与讨论

3.1 灭吐灵是一种多巴胺拮抗剂, 它可作用于垂体前叶, 降低 PRL 的分泌^[4], 它既可通过诱导 HPRL 而导致性腺功能的紊乱, 又可直接作用于内分泌系统而影响性腺功能^[5]。我们给小鼠注射灭吐灵, 造模组血清 PRL 明显高于正常对照。PRL 量超过生理水平时就对性腺功能起着抑制作用, 本组实验结果表明, 灭吐灵诱导的 HPRL 动物子宫减重, 受孕率下降, 性周期延长, 与临床 HPRL 症状类似。

3.2 敛乳方及溴隐亭均可有效拮抗灭吐灵所致的血清 PRL 的升高及子宫重量指数的下降, 明显提高受孕率, 并可保持灭吐灵处理动物性周期的正常(表 2~4), 可见, 敛乳方不但可在体外抑制垂体 PRL 的分泌, 还可以在体内整体水平发挥抑制 PRL 水平的作用。两组药物中, 仅敛乳方可使未成熟小鼠阴道出现上皮细胞, 溴隐亭无此作用, 表明敛乳方具有雌激素样作用, 这可能与该方中含有补

肾中药有关。可见, 由于敛乳方除了具有抑乳功能外, 还兼备补肾及调肝作用, 从而在下丘脑-垂体-性腺轴多个层次发挥良性调节作用, 不仅抑制了血清 PRL 水平, 而且还可改善各种相关症状。

3.3 HPRL是多种原因导致垂体 PRL 分泌增多而产生的一种疾病, 临床可见月经稀少、闭经、溢乳、不孕等症状。我们的实验结果表明, 敛乳方在体内及体外抑制 PRL 分泌作用与溴隐亭类似, 说明该药对于治疗 HPRL 有着一定的开发前景。由于 PRL 分泌的调控过程、中药成分及其代谢过程均十分复杂, 因而敛乳方作用机理尚需进一步实验才有可能阐明。

参考文献

- 1 Lin K. C., N. Kawamura, H. Okamura, et al. Inhibition of oovulation, steroidogenesis and collagenolytic activity in rabbits by sulpiride-induced hyperprolactinemia. *J Reprod Fert.* 1988, 83:611
- 2 李仪奎. 中药药理实验方法学. 上海: 上海科技出版社, 1992. 226~227
- 3 徐叔云. 药理实验方法学. 北京: 人民卫生出版社, 1991. 1313
- 4 Macleod R. M., Robyn, C. Mechanism of increased prolactin secretion by sulpiride. *J Endocrin.* 1977, 72:272~277
- 5 L'Hermite, M., Denayer, P., Golstein, J., et al. Acute endocrine profile of sulpiride in the human. *Clin Endocrinol.* 1978, 9:195~204

(收稿: 1997-05-19)