

水蔓菁总黄酮对大鼠前列腺增生模型的影响

苗明三¹, 王智明², 张玉林¹, 高渐联¹(1.河南中医学院, 郑州 450008; 2.河南省食品药品监督管理局, 郑州 450012)

摘要: 目的 探讨水蔓菁总黄酮对去势加丙酸睾酮致前列腺增生大鼠模型的作用特点。方法 大鼠摘除双侧睾丸后第 8 天开始, 连续 30 d 皮下注射丙酸睾酮 $4 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$, 造大鼠前列腺增生模型, 将模型大鼠分为 5 组, 分别灌服 120, 60, $30 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 的水蔓菁总黄酮液、 $300 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 癸闭舒胶囊混悬液和同体积生理盐水, 另设一组空白对照组给同体积生理盐水; 每天给药 1 次, 连续给药 30 d。末次给药 1 h 后处死大鼠, 取前列腺称重后, 放射免疫法测定前列腺组织睾酮、雌二醇水平, 酶联免疫法测定表皮生长因子水平; 前列腺组织切片, 观察组织形态。**结果** 水蔓菁总黄酮可显著降低前列腺增生模型大鼠前列腺湿重及前列腺指数, 显著降低前列腺中睾酮和表皮生长因子水平, 显著升高雌二醇水平, 使前列腺腺体明显缩小、间质增多、腺体密度下降、比表面值增大。**结论** 水蔓菁总黄酮具有抗前列腺增生作用, 可能与降低雄激素水平, 改善紊乱的雌、雄激素比例, 降低前列腺中刺激性生长因子水平等有关。

关键词: 水蔓菁; 总黄酮; 大鼠前列腺增生模型; 睾酮; 雌二醇; 表皮生长因子

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2011)01-0004-04

基金项目: 河南省高等学校创新人才培养工程(2004-23)

作者简介: 苗明三, 男, 博士, 教授

Tel: (0371)65962546

E-mail: miaomingsan@163.com

Effects of Total Flavonoids from Bastard Speedwell on Benign Prostatic Hyperplasia Rats Models

MIAO Mingsan¹, WANG Zhiming², ZHANG Yulin¹, GAO Jianlian¹(1.Henan College of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China; 2.Food and Drug Administration of Henan, Zhengzhou 450012, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore action mechanism of total flavonoids from Bastard Speedwell (TFBS) on prostatic hyperplasia rats model induced by castration and testosterone propionate. **METHODS** Removing of bilateral testes in rats, and subcutaneous injecting of testosterone propionate 4 mg·kg⁻¹·d⁻¹ consecutive for 30 d from the 8th day of castration, established rat model of benign prostatic hyperplasia. The model rats were divided into 5 groups, respectively were fed with 120, 60, 30 mg·kg⁻¹ of TFBS water solution, Longbishu capsule suspension and the same volume of normal saline solution. Separate a group of blank control group was fed with the same volume of normal saline solution. Every group was given daily administration and consecutive for 30 days. One hour after the last administration, rats were killed, taken after weighing the prostate, measured the levels of testosterone and estradiol in the prostate tissue homogenate by RIA, measured the level of epidermal growth factor in the prostate tissue homogenate by enzyme-linked immunosorbent assay, other part of prostate tissue in formalin solution fixed, sliced, examination of prostate tissue in each group cytological morphology. **RESULTS** TFBS could significantly reduce the prostate wet weight and prostate index in rat model with benign prostatic hyperplasia, significantly reduce the levels of testosterone and epidermal growth factor, and significantly increase estradiol levels in the prostate of rat model. Significantly reduce the prostate gland, increase mesenchyma, decrease density of glands, and increase surface area value. **CONCLUSION** TFBS has good actions of anti-benign prostatic hyperplasia, the action mechanism may be related with reducing androgen levels, improving the disordered ratio of estrogen and androgen, and reducing the level of irritation growth factor in prostate and so on. **KEY WORDS:** Bastard Speedwell; total flavonoids; rat model of benign prostatic hyperplasia; testosterone; estradiol; epidermal growth factor

水蔓菁为玄参科婆婆纳属植物水蔓菁 *Veronica linariifolia* Pall. ex Link subsp. Dilatata (Nakai et Kitag) Hong 的干燥全草, 具有清热解毒、利尿、止咳化痰之功, 临床用于支气管炎、肺脓疡、急性肾炎、尿路感染、疖肿等, 对泌尿系统感染、慢性前列腺炎、前列腺增生及泌尿系统结石有很好的疗效^[1-2]。目前缺少水蔓菁相关药效学及活性成分的研究报道, 有报道水蔓菁总黄酮有好的抗前列腺炎作用^[3]。本研究观察了水蔓菁总黄酮对去势加丙酸睾酮致大鼠前列腺增生模型的影响。

1 实验材料

1.1 实验动物

Wistar 大鼠, ♂, 体重 280~300 g, 由河北省实验动物中心提供, 实验动物合格证号 610085; 实验室温度 20~25 °C, 湿度 60%~80%, 动物自由饮食。

1.2 试剂药品

水蔓菁总黄酮(取水蔓菁, 切碎, 经回流提取、水溶、石油醚萃取、水层浓缩, 加到聚酰胺柱、用蒸馏水洗脱至无色、乙醇洗脱、收集洗脱液、至洗脱液中不含黄酮类成分为止, 回收乙醇, 真空干燥, 得水蔓菁总黄酮^[3]含量 90%以上, 由本院化学室提供; 丙酸睾酮注射液(上海通用药业股份有限公司, 批号: 040303); 癸闭舒胶囊(石家庄科迪药业有限公司, 批号: 060102); 睾酮测定试

剂盒(北京科美东雅生物技术有限公司, 批号: 20061125); 雌二醇测定试剂盒(北京科美东雅生物技术有限公司, 批号: 20061125); 表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)[中国原子能科学研究院同位素研究所(北京), 批号: 200603]。

1.3 实验仪器

Sn-895B 型智能放免 γ 测量仪(上海原子核研究所四环仪器一厂); Multiscan MK3 全自动酶标仪(上海雷勃分析仪器有限公司)。

2 方法与结果

取大鼠 60 只, 其中 50 只大鼠腹腔注射戊巴比妥钠麻醉, 于无菌条件下, 经阴囊摘除双侧睾丸, 残端处结扎, 另 10 只做假手术处理, 缝合皮肤, 肌肉注射青霉素 20 万 u·kg⁻¹。从去势第 8 天起, 造模大鼠每只皮下注射丙酸睾酮 4 mg·kg⁻¹·d⁻¹, 连续 30 d^[4-6]。将造模大鼠随机均匀分为 5 组, 从去势第 8 天起分别灌胃水蔓菁总黄酮 120, 60, 30 mg·kg⁻¹, 癸闭舒胶囊混悬液 300 mg·kg⁻¹, 模型组与空白对照组给予同体积生理盐水, 灌胃体积均为 0.02 mL·g⁻¹, 1 次·d⁻¹, 连续 30 d。于末次给药后(禁食 12 h)1 h, 称重, 处死大鼠, 迅速取出前列腺组织, 称其湿重, 并计算前列腺指数[前列腺指数=前列腺湿重(mg)/鼠体重(g)], 结果见表 1。取一部分前列腺组织匀浆, 采用放射免疫法测定睾

酮、雌二醇水平, 酶联免疫法测定 EGF 水平, 测定方法按照试剂盒说明书操作, 结果见表 2 和表 3。另一部分前列腺组织固定于福尔马林溶液中, 切片、镜检各组前列腺组织的细胞学形态。对前列腺组织进行立体计量学观察, 每组 10 只, 每只动物取 3 张前列腺组织照片, 采用点分析法测定前列腺的体密度(体密度=结构体积/参照系体积)、比表面(比表面=膜面积/参照系体积), 结果见表 4。

表 1 水蔓菁总黄酮对前列腺增生模型大鼠前列腺湿重及前列腺指数的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effects of total flavonoids from Bastard Speedwell on wet weight of prostate and prostate index in benign prostatic hyperplasia rats models ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	前列腺湿重/g	前列腺指数/ g·(100 g) ⁻¹
空白对照组	-	0.688±0.128 ¹⁾	0.240±0.031 ¹⁾
模型组	-	1.592±0.226	0.582±0.069
癸闭舒组	300	1.076±0.127 ¹⁾	0.440±0.057 ¹⁾
大剂量水蔓菁总黄酮组	120	1.331±0.171 ¹⁾	0.486±0.052 ¹⁾
中剂量水蔓菁总黄酮组	60	1.291±0.141 ¹⁾	0.450±0.050 ¹⁾
小剂量水蔓菁总黄酮组	30	1.508±0.161	0.546±0.079

注: 与模型组比较, ¹⁾ $P<0.01$

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P<0.01$

由表 1 可见, 与空白对照组比, 模型组大鼠前列腺湿重和前列腺指数均显著增加($P<0.01$), 说明模型组大鼠前列腺明显增生, 模型复制成功。与模型组比, 大、中剂量水蔓菁总黄酮组和癸闭舒组均可显著降低前列腺增生模型大鼠的前列腺湿重及前列腺指数($P<0.01$)。

表 2 水蔓菁总黄酮对前列腺增生模型大鼠前列腺中睾酮、雌二醇水平的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effects of total flavonoids from Bastard Speedwell on the levels of testosterone and estradiol in the prostate tissue homogenate of benign prostatic hyperplasia rats models ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	睾酮/ ng·mL ⁻¹	雌二醇/ pg·mL ⁻¹
空白对照组	-	0.34±0.03 ¹⁾	1.191±0.135 ¹⁾
模型组	-	7.16±0.61	0.742±0.103
癸闭舒组	300	1.48±0.13 ¹⁾	1.305±0.154 ¹⁾
大剂量水蔓菁总黄酮组	120	2.01±0.12 ¹⁾	0.957±0.099 ¹⁾
中剂量水蔓菁总黄酮组	60	2.56±0.20 ¹⁾	1.181±0.079 ¹⁾
小剂量水蔓菁总黄酮组	30	3.57±0.61 ¹⁾	0.878±0.075 ¹⁾

注: 与模型组比较, ¹⁾ $P<0.01$

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P<0.01$

由表 2 可见, 与空白对照组比, 模型组大鼠前列腺组织中睾酮水平显著升高($P<0.01$), 而雌二醇水平显著降低($P<0.01$), 表明在去势条件下, 通过皮下注射丙酸睾酮注射液, 可使大鼠体内睾酮含量显著升高、雌二醇水平显著下降, 使大鼠前列腺组织在外源性雄激素作用下出现增生。与模型组比, 大、中、小剂量水蔓菁总黄酮组和癸闭舒组均可显著降低模型大鼠前列腺中的睾酮水平($P<0.01$), 显著升高模型大鼠前列腺中的雌二醇水平($P<0.01$)。

表 3 水蔓菁总黄酮对前列腺增生模型大鼠前列腺中 EGF 水平的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effects of total flavonoids from Bastard Speedwell on the levels of EGF in the prostate tissue homogenate of benign prostatic hyperplasia rats models ($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	EGF/pg·mL ⁻¹
空白对照组	-	79.4±5.0 ¹⁾
模型组	-	594.5±68.5
癸闭舒组	300	187.8±24.8 ¹⁾
大剂量水蔓菁总黄酮组	120	191.6±26.2 ¹⁾
中剂量水蔓菁总黄酮组	60	159.8±11.2 ¹⁾
小剂量水蔓菁总黄酮组	30	227.2±25.9 ¹⁾

注: 与模型组比较, ¹⁾ $P<0.01$

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P<0.01$

由表 3 可见, 与空白对照组比, 模型组大鼠前列腺中 EGF 水平显著升高($P<0.01$), 表明在外源性雄激素作用下, 可诱导模型大鼠前列腺中 EGF 水平升高。与模型组相比, 大、中、小剂量水蔓菁总黄酮组和癸闭舒组均可显著降低大鼠前列腺中 EGF 水平($P<0.01$)。

前列腺组织光镜观察可见: 空白对照组大鼠前列腺腺上皮呈立方状排列, 腔内含有少量的液体, 腺腔上皮呈皱状, 腺腔间隙不扩大; 模型组大鼠前列腺明显增生, 腺上皮呈扁平状排列, 腺腔上皮皱壁消失, 腺腔明显扩张, 腔内含有大量的液体; 大剂量水蔓菁组大鼠前列腺部分腺上皮细胞呈扁平状, 腺腔明显扩张, 部分腺上皮细胞呈立方状和空泡状, 腺腔不扩张而变小; 中剂量水蔓菁组大鼠前列腺上皮细胞呈立方状, 腺腔不扩张明显变小; 小剂量水蔓菁组大鼠前列腺上皮细胞呈扁平状, 腺腔扩张不明显; 癸闭舒组大鼠前列腺部分不扩张, 部分明显扩张、增生。

由表 4 可见, 通过计量学观察, 与空白对照

表 4 水蔓菁总黄酮对前列腺增生模型大鼠前列腺体密度和比表面的影响($n=10, \bar{x} \pm s$)

Tab 4 Effects of total flavonoids from Bastard Speedwell on prostate volume density and the specific surface area in benign prostatic hyperplasia rats models($n=10, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	体密度	比表面
空白对照组	-	86.4±19.2 ¹⁾	64.3±8.4 ¹⁾
模型组	-	98.8±7.2	52.7±12.4
癃闭舒组	300	90.2±8.3	60.4±19.4 ¹⁾
大剂量水蔓菁总黄酮组	120	91.4±8.3	57.3±9.4
中剂量水蔓菁总黄酮组	60	85.2±5.3	68.5±10.6 ¹⁾
小剂量水蔓菁总黄酮组	30	88.5±6.4	58.6±7.3 ²⁾

注: 与模型组比较, ¹⁾ $P<0.01$, ²⁾ $P<0.05$

Note: Compared with model group, ¹⁾ $P<0.01$, ²⁾ $P<0.05$

组比, 模型组大鼠前列腺增生, 前列腺腺体体密度显著增加($P<0.01$), 前列腺间质明显减少、腺腔明显扩张, 比表面数显著减小($P<0.01$), 说明造前列腺增生模型成功。与模型组比, 中剂量水蔓菁总黄酮组和癃闭舒组使前列腺腺体比表面数显著增加($P<0.01$), 小剂量水蔓菁总黄酮组使前列腺腺体比表面数明显增加($P<0.05$)。

3 讨论

中医学无前列腺增生 (benign prostatic hyperplasia, BPH) 病名, 根据其临床表现(尿频、尿急、排尿困难、急性尿潴留等)应归属于“癃闭”、“小便不利”等病证范畴。现代医学提示 BPH 发病是多种性激素及其他因素综合作用的结果。前列腺增生的发病机制, 目前性激素平衡失调的内分泌学说受到公认^[7]。性激素水平紊乱与前列腺增生症的发生密切相关, 前列腺细胞的生长分化依赖雄激素, 并通过间质细胞和上皮细胞相互作用来实现, 而且与浓度成正比关系; 雌激素是前列腺纤维基质生长刺激因子, 作用于前列腺间质成纤维细胞、基底上皮细胞, 产生角质生长因子及其受体, 同时增加对雄激素刺激的敏感性, 促进激发前列腺增生。青年时期体内雌、雄激素相互制约, 处于平衡状态, 维持前列腺的正常大小与形状; 进入老年后, 男性体内雄激素水平下降, 雄激素对雌激素的抑制作用减弱, 雌激素促前列腺基质细胞增殖的刺激作用被释放出来, 使前列腺基质细胞过度增殖, 发生前列腺增生^[8]。前列腺的自身稳定要通过间质和上皮的相互作用, 产生一些生长因子来调节, EGF 是较早被分离鉴定的

一种生长因子; 免疫组化和原位杂交显 EGF 与表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)结合, 刺激前列腺上皮细胞的增殖; 通过光镜观察前列腺组织的显微结构, 可以较直观地了解前列腺组织是否增生以及增生的程度^[9]。

本研究表明, 大鼠采用去势加皮下注射丙酸睾酮可成功建立前列腺增生模型, 前列腺腺体明显增生, 睾酮、雌二醇和 EGF 水平显著升高, 腺体的体密度显著升高, 比表面值就显著减小。水蔓菁总黄酮对大鼠前列腺增生有好的改善作用, 能显著抑制大鼠的前列腺增生, 显著降低模型大鼠前列腺中的睾酮和 EGF 水平, 显著升高模型大鼠雌二醇水平, 使模型大鼠前列腺腺体明显缩小、间质增多, 使腺体的体密度下降、比表面值增大。提示水蔓菁总黄酮防治前列腺增生的作用机制可能与其降低雄激素水平, 改善紊乱的雌、雄激素比例, 降低前列腺中刺激性生长因子水平等作用有关。本研究为水蔓菁临床治疗前列腺疾病提供了实验依据。

REFERENCES

- [1] ZHANG Z M, MIAO M S. Textual on herbal and function of Bastard Speedwell [J]. Lishizhen Med Mater Med Res (时珍国医国药), 2008, 19(2): 775-776.
- [2] CAO X T. Efficacy of Lema back tablets in treatment on urinary tract infections[J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 1997, 19(6): 49.
- [3] ZHANG Z M, MIAO M S, ZHANG Y L. Effect of Water Manjing flavonoids in mice models of prostatitis[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med (中药药理与临床), 2008, 24(3): 43-44.
- [4] DONG N B, ZHAN B Y, XIA Y S, et al. Effect of psoralen on benign prostatic hyperplasia[J]. Chin J Exp Surg (中华实验外科杂志), 2003, 20(2): 109-110.
- [5] HOU H R, ZHANG H, ZHANG J Y, et al. Therapeutic effect of Longbitong eliminate granule on experimental prostatic hyperplasia in rats[J]. Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志), 2005, 11(3): 60-61.
- [6] DUANC D Z, YU L, HEN L M, et al. Impact of Qianliehuichun on prostate weight of experimental rat[J]. Yunnan J Tradit Chin Med Mater Med (云南中医中药杂志), 2003, 24(3): 35-36.
- [7] ZHENG W D. Diagnosis and Treatment of Combination Chinese and Western Medicine on Prostate Disease(前列腺疾病中西医结合诊治)[M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2003: 2; 46; 51.
- [8] CONG T, ZHAO S, BAO S F. Interventional effects of pine pollen in rats with hyperplasia of prostate[J]. Chin J Clin Rehabil (中国临床康复), 2005, 9(35): 123-125.
- [9] LI X H, FANG Z Z, YANG J R, et al. Effect of Luodalintong capsule on benign prostate hyperplasia in rats[J]. Chin Tradit Herb Drugs(中草药), 2007, 37(9): 1376-1378.

收稿日期: 2010-02-10