

多巴胺拮抗物pimozide和LHRH-A 对长春鳊血清GtH含量和排卵的影响

林浩然 梁坚勇 李帼仪 陈舜华
李藻发 彭 纯 刘龙志 周溪涓**
(生物学系)

摘 要

不同剂量的多巴胺拮抗物pimozide和丘脑下部促黄体素释放激素类似物(LHRH-A)一次同时注射,8小时后血清GtH含量显著升高,并持续24小时左右降低;与此同时,注射后14小时部份鱼已经排卵,到注射后24小时的排卵率为75—100。单独注射LHRH-A,血清GtH含量明显低于pimozide+LHRH-A试验组,排卵效应时间明显延长。单独注射pimozide对血清GtH含量没有影响,亦未能诱导排卵。上述试验结果表明:pimozide能显著增强LHRH-A诱导长春鳊血清GtH含量升高和排卵的效应。

人工合成的LHRH-A能促进鱼类促性腺激素(GtH)的分泌和诱导排卵^[11,12],并已在我国广泛应用于鱼类人工繁殖生产^[1]。Peter等(1980)在对金鱼脑的损伤试验中,发现下丘脑的特定部位分泌产生促性腺激素释放的抑制因素(GRIF)^[13],对金鱼^[16]和鲤鱼^[2]的试验都发现在排卵前GtH的释放出现明显的高潮;在20℃时,金鱼的高潮持续近12小时。因此,可以认为:鱼类的排卵是由于GRIF减弱了对脑垂体GtH细胞的抑制作用和GnRH促使GtH细胞大量分泌GtH所引起。近年来研究儿茶酚胺对金鱼GtH分泌的作用,发现多巴胺具有GRIF的作用,它能抑制脑垂体GtH细胞自动释放GtH,亦能直接抑制或调节GnRH促进GtH释放的作用^[5,6]。相反,多巴胺受体的拮抗物pimozide能显著增强LHRH-A促进GtH分泌的作用,从而使血清GtH含量急剧升高,诱导卵母细胞发育成熟和排卵^[7,14]。

为了探讨多巴胺拮抗物pimozide抑制多巴胺的GRIF作用,从而增强LHRH-A的效应,并为进一步应用于养殖鱼类人工繁殖的生产实际,我们对比研究了LHRH-A和LHRH-A+pimozide对长春鳊(*Parabramis pekinensis*)诱导GtH分泌和排卵的效应。

- 中国科学院科学基金资助项目
- 陈潮培育长春鳊亲鱼,陈练茜协助样品收集与处理工作。

一、材料和方法

试验亲鱼在本系试验鱼场培育,在繁殖季节(5—6月),挑选腹部稍膨大而松软的成熟雌鱼(体重550—750克左右),在自然环境条件下进行试验。试验鱼均在试验前1—2天称重与编号。

LHRH-A(Des-Gly¹⁰-(D-Ala⁶)-LH-RH-ethylamide)为浙江省宁波水产激素制品厂产品,用淡水硬骨鱼类生理盐水(PS)^[4]配制成各种浓度的注射液。pimozide是比利时Janssen公司产品,用0.7%NaCl+0.1%Na₂S₂O₈溶液做载体(vehicle)配制成不同剂量的悬浮液。两者均在注射前新鲜配制使用。对照组注射PS和vehicle。腹腔注射,注射时用浓度约为0.05%的tricaine methanesulfonate(MS-222)(美国Sigma产品)轻度麻醉。注射后的雌鱼在不配雄鱼和不加水草的情况下,经过8、14和24小时轻压腹部以检查排卵效果,并在注射后8和24小时从尾部血管取0.3—0.5毫升血样。试验后每尾鱼均解剖,检查性腺成熟程度,测定性腺成熟系数。血样在低温(4℃左右)下凝血数小时,离心分离血清,在-25℃中保存,以供测定GtH含量。

血清GtH含量的放射免疫测定采用加拿大Peter等所介绍的双抗体方法^[8,9,10]。鲤-GtH和免抗鲤-GtH血清由法国Breton提供。

采用卡方检验法比较各试验组血清GtH含量和排卵率的差别程度。

二、研究结果

1. pimozide和LHRH-A同时注射对长春鳊血清GtH含量的影响

从表1看出,pimozide和LHRH-A同时注射后8小时,血清GtH含量显著升高,并持续保持高水平直到注射后24小时略为降低。血清GtH含量升高的程度和pimozide注射剂量有关,即pimozide的剂量较高,血清GtH含量也有较明显的升高。单独注射LHRH-A亦能使血清GtH含量升高,但显著低于注射pimozide+LHRH-A的各组。单独注射pimozide对血清GtH含量的升高没有作用。

2. Pimozide和LHRH-A同时注射对长春鳊的催产作用

从表1看出,不同剂量pimozide和LHRH-A同时注射14小时后,有部分鱼排卵,其中pimozide较高剂量(10微克/克体重)的一组,排卵率达62.5%,显著高于其他各组,注射后24小时排卵鱼数增加,排卵率达75—100%。单独注射LHRH-A,14小时后没有鱼排卵,24小时后的排卵率为75%,排卵效应时间比较长。单独注射pimozide和对照组一样,未能诱导长春鳊排卵。

另一次试验将LHRH-A的剂量降低为0.01微克/克体重而和pimozide同时注射,亦取得良好的催产效果。单独注射LHRH-A,排卵效应时间明显延长,排卵率亦比较低(表2)。

表1 pimozide和LHRH-A同时注射对长春鳊血清GtH含量和排卵的作用
(性腺成熟系数6.5—12%, 水温22—24℃)

组别	注射的激素和药物及其剂量	血清GtH含量(毫微克/毫升) ¹⁾		排卵鱼数/试验鱼数	
		注射后8小时	注射后24小时	注射后14小时	注射后24小时
1	pimozide 10微克 + LHRH-A 0.1微克/克体重	75.69 ± 39.16 ³⁾	37.51 ± 16.61 ³⁾	5/8 ²⁾	6/8
2	pimozide 1微克 + LHRH-A 0.1微克/克体重	38.63 ± 10.97	29.39 ± 8.79	2/8	6/8
3	pimozide 0.1微克 + LHRH-A 0.1微克/克体重	30.04 ± 6.35	25.73 ± 7.39	1/8	8/8
4	vehicle + LHRH-A 0.1微克/克体重	16.54 ± 6.85	17.38 ± 6.34	0/8	6/8
5	pimozide 10微克/克体重 + PS	0.57 ± 0.38	0.40 ± 0.26	0/8	0/8
6	pimozide 1微克/克体重 + PS	0.37 ± 0.11	0.52 ± 0.09	0/8	0/8
7	pimozide 0.1微克/克体重 + PS	0.26 ± 0.08	0.45 ± 0.08	0/8	0/8
8	vehicle + PS	0.56 ± 0.36	0.39 ± 0.29	0/8	0/8

注1) 血清GtH含量(毫微克/毫升)为平均值 ± 标准误差

注2) 排卵率显著高于第4—8组($P < 0.05$)

注3) 血清GtH含量显著高于第4—8组($P < 0.05$)

表2 pimozide和低剂量LHRH-A同时注射对长春鳊排卵的作用
(性腺成熟系数6.29—11.92%, 水温22—24℃)

组别	注射的激素和药物及其剂量	排卵鱼数 / 试验鱼数	
		注射后12小时	注射后24小时
1	pimozide 1微克 + LHRH-A 0.01微克/克体重	2/3	3/3
2	vehicle + LHRH-A 0.01微克/克体重	0/4	1/4
3	vehicle + PS	0/3	0/3

三、讨 论

注射多巴胺拮抗物pimozide, 能显著增强LHRH-A促使性成熟长春鳊雌鱼GtH分泌与血清GtH含量升高的效应, 这和Chang与Peter对金鱼^(6,7)、我们对大鳞副泥鳅⁽⁸⁾的研究结果一致, 表明多巴胺在长春鳊起着GRIF的作用。

长春鳊注射pimozide和LHRH-A后8小时,血清GtH含量就达到高峰,接着在注射后14小时有部份鱼排卵,表明长春鳊在排卵前出现GtH释放的高潮,持续大约12小时,在注射后24小时降低。这种情况和金鱼^[16]相似。但长春鳊排卵前血清GtH含量升高的程度似乎不及金鱼,这可能和种类特异性有关。

长春鳊注射LHRH-A后8小时,血清GtH含量亦升高,但明显低于pimozide+LHRH-A的各个试验组;而且,注射后14小时仍未排卵,直到注射后24小时才有部份鱼排卵,而血清GtH含量仍停留在注射后8小时的水平。这表明排卵效应时间的长短和排卵前血清GtH含量升高的程度有密切关系。在水温22—24℃; pimozide+LHRH-A能促使长春鳊GtH大量释放与血清GtH含量迅速升高,排卵效应时间为14小时左右;而LHRH-A未能使长春鳊GtH大量释放,血清GtH含量升高不够显著,使排卵效应时间长达24小时。同样,当注射的pimozide剂量过低(0.1微克/克体重)时,增强LHRH-A的作用不明显,排卵效应时间也延长到24小时,

在珠江三角洲常用的长春鳊催产方法是间隔7—8小时注射二次,第一次注射少量LHRH-A(约20微克/尾),第二次注射鲤脑垂体4—5粒/尾,排卵效应时间约为6—8小时。我们的试验表明:长春鳊对pimozide和LHRH-A都比较敏感,一次注射pimozide 10微克+LHRH-A 0.1微克/克体重,在不加雄鱼的情况下,排卵效应时间为14小时左右。由于只进行一次注射,操作简便,可减少亲鱼损伤,排卵效应时间和生产操作由第一次注射到排卵所需的时间相近,因此,采用pimozide+LHRH-A对长春鳊进行人工催产将有一定的实际意义。

参 考 文 献

- [1] 经济鱼类激素应用研究协作组, 中国科学, 1976, 4, 388—393.
- [2] 厦门水产学院鱼类生殖生理科研小组、中国科学院上海生物化学研究所多肽激素组, 生物化学与生物物理学报, 10(1978), 4, 399-407.
- [3] 林浩然、彭纯、林鸿平, 多巴胺拮抗物pimozide增强丘脑下部促黄体素释放激素类似物(LHRH-A)诱导大鳞副泥鳅排卵效应的研究, 科学通报, 29(1984), 12
- [4] Burnstock, G., *J. Physiol.*, 141 (1958), 35-44.
- [5] Chang, J. P., Cook, A. F. and Peter, R. E., *Gen. Comp. Endocrinol.*, 49(1983), 22-31.
- [6] Chang, J. P. and Peter, R. E., *Neuroendocrinology*, 36 (1983a), 351-357.
- [7] Chang, J. P. and Peter, R. E., *Gen. Comp. Endocrinol.*, 52 (1983b), 30-37.
- [8] Crim, L. W., Peter, R. E. and Billard, R., *Gen. Comp. Endocrinol.*, 30 (1976) 77-82.
- [9] Hontela, A. and Peter, R. E., *Can. J. Zool.*, 56 (1978), 2430-2442.
- [10] Hontela, A. and Peter, R. E., *Gen. Comp. Endocrinol.*, 40 (1980), 168-179.
- [11] Peter, R. E., *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39(1982), 48-55.
- [12] Peter, R. E., *Fish Physiology*, Vol. 9, Academic Press, New York, 1983, NY, pp. 97-135.

- [13] Peter, R. E., and Paulencu, C. R., *Neuroendocrinology*, 31 (1980), 133-141.
- [14] Sokolowska, M., Peter, R. E., Nahorniak, C. S., Pan, C. H., Chang, J. P., Crim, L. W. and weil, C., *Aquaculture*, 36 (1984), 71-83.
- [15] Stacey, N. E., Cook, A. F. and Peter, R. E., *Gen. Comp. Endocrinol.*, 37(1979), 246-249.

Effects of Pimozide and LHRH-A on Serum Gonadotropin Concentrations and Ovulation in Female Bream, *Parabramis pekinensis*

Lin Haoren Liang Jianyong Li Guoyi Chen Shunhua Li Zaofa
Peng Chun Liu Longzhi Zhou Xijuan

Abstract

The effects of intraperitoneal injections of LHRH-A, des-Gly¹⁰-(D-Ala⁰)-LH-RH-ethylamide together with pimozide, a dopamine antagonist, on serum gonadotropin (GtH) and ovulation in bream held at 22-24⁰ C were investigated. Injections of LH-RH-A(0.1 ug/g body weight) alone increased serum GtH levels moderately, but were ineffective for inducing ovulation at 14 h after injection. Pimozide greatly potentiated the GtH release response to LH-RH-A injection. Rapidly increase of GtH at 8 h and a high rate of occurrence of ovulation (62.5%) at 14 h after pimozide was injected with LH-RH-A were observed. At 24 h after injection, both LH-RH-A and LH-RH-A+pimozide showed a high rate of occurrence of ovulation (75-100%), however, a longer response time was observed when LH-RH-A was injected alone. These results showed that dopamine acts directly at the pituitary level as a GtH release-inhibitory factor in bream, and pimozide, a dopamine antagonist, greatly potentiated the effects of LH-RH-A on serum gonadotropin concentrations and ovulation in female bream.