

· 实验研究 ·

右归饮对皮质酮大鼠下丘脑单胺类递质含量
以及体重饮食摄水的影响*蔡定芳¹ 沈自尹¹ 张玲娟¹ 陈晓红¹ 堀口贞次郎² 小島晓² 井上昌辉²

内容提要 本研究观察大鼠在每日注射皮质酮(10mg/kg 皮下注射共 14 天)状态下, 下丘脑单胺类递质含量、每日体重、饮食、摄水的变化, 以及右归饮对这些变化的影响。结果表明: 皮质酮大鼠下丘脑去甲肾上腺素、3,4-二羟基苯乙酸、多巴胺、5-羟基吲哚乙酸、5-羟色胺等单胺类递质含量明显升高, 体重增长严重受抑, 每日饮食与摄水量显著减少; 加用右归饮(10 g/kg 灌胃共 14 天)后能有效改善皮质酮大鼠的上述各项指标。提示: 外源性糖皮质激素在抑制下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA)时可能激活中枢单胺类递质的合成与代谢和抑制体重增长, 减少每日饮食摄水量; 右归饮在改善皮质酮大鼠 HPA 轴抑制程度的同时, 抑制其中枢单胺类递质的激活, 保护下丘脑对饮食摄水的正常调节。

关键词 右归饮 温补肾阳 5-羟色胺 下丘脑 单胺类递质

Effect of Yougui Yin on the Content of Monoaminic Transmitters and Body Weight, Food and Fluid intake in Corticosterone-Rats Cai Ding fang, Shen Zi-yin, Zhang Ling-juan, et al. *Institute of Integrated Traditional and Western Medicine, Shanghai Medical University, Shanghai (200040)*

Great attention has been paid to the relationship between the central monoaminic transmitters and the hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis recently. This paper reported the content of hypothalamic monoaminic transmitters of rats, which were injected with corticosterone 10 mg/kg subcutaneously for 14 days. The body weight as well as volume of food and fluid intake were measured in the same period. Effect of Yougui Yin (YGY, administrated by gastrogavage) on the cortico-inhibited rats was also observed. Results showed that the contents of hypothalamic monoaminic transmitters such as norepinephrine, Dopamine, 3,4-Dihydroxyphenylalanine, serotonin, and 5-hydroxyindole acetic acid of the rats increased obviously, while the body weight, volume of food and fluid intake decreased significantly day by day. The YGY could improve the above-mentioned indexes significantly. It suggested that: (1) The synthesis and metabolism of the central monoaminic transmitters of rats activated when the HPA axis was inhibited by exogenous glucocorticoid, their body weight lowered, and the volume of food and fluid intake decreased. (2) YGY could improve the inhibited HPA axis, and inhibit the activated central monoaminic transmitters as well as protect the normal regulating function of hypothalamus on food and fluid intake.

Key words corticosterone, catecholamine, serotonin, hypothalamus, Yougui Yin

近年研究表明, 脑干单胺类递质神经活动投射到下丘脑。大量的解剖学和生理学的证据提示单胺类递质系统与下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA)的兴奋密

切相关。它们的调节部位存在于下丘脑室旁核(PVN)⁽¹⁾, PVN 有稠密的起源于脑干的单胺类神经, 并与含有促肾上腺皮质激素释放激素(CRF)的神经细胞构成突触联系^(2, 3), 而脑干单胺类神经细胞的胞体上存在着糖皮质激素的受体⁽⁴⁾。脑室内或脑内注射去甲肾上腺素(NE)能刺激皮质酮(CORT)、促肾上腺皮质激素(ACTH)、CRF 的分泌⁽⁵⁻⁷⁾。另一

* 本课题得到国家教委博士点基金及国家自然科学基金重点项目基金(NO. 3923070)和日本国养命酒制造公司中央研究所的资助

1. 上海医科大学中西医结合研究所(上海 200040); 2. 日本国养命酒制造公司中央研究所(长野 399-46)

方面,糖皮质激素可能参与脑干单胺类递质活性的调节,因为内源性糖皮质激素缺乏时支配中枢单胺类递质的神经兴奋性增高^(8,9)。为了进一步阐明HPA轴与中枢单胺类递质的相互关系,本研究采用外源性糖皮质激素造成大鼠HPA轴抑制模型,观察HPA轴抑制状态下大鼠下丘脑单胺类递质含量及体重、饮食、饮水的变化。并探讨右归饮的调节作用。

材料与方法

1 主要试剂 CORT购自Sigma公司,使用时溶于灭菌豆油中,浓度为10 mg/ml。去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、3,4-二羟基苯乙酸(DOPAC)、5-羟色胺(5-HT)、5-羟基吲哚乙酸(5-HIAA)均为Fluka公司产品。

2 动物分组 雄性SD大鼠30只,体重230~250 g(上海中医药大学动物中心提供),室温22±1℃,光照与黑暗时间为每12 h更替(光照时间:上午7:00~下午7:00)。动物分为对照组、皮质酮组、右归饮组,每组各10只。右归饮组按10 mg/kg体重皮下注射CORT,同时按10 g/kg体重右归饮灌胃,每天1次,连续14天;皮质酮组以等体积蒸馏水代替右归饮灌胃,余同右归饮组;对照组以等体积灭菌豆油代替CORT,余同皮质酮组。动物分笼饲养,每天称量体重、饮食、饮水。实验第15天,所有动物断头处死,按文献⁽¹⁰⁾取出下丘脑,测定单胺类递质及代谢产物的含量,取血测定CORT、ACTH含量。

3 下丘脑单胺类递质的测定 按文献⁽¹¹⁾断头后迅速取出下丘脑,用干冰固化后称重。分别放入塑料管中,每管加入冰冷的0.05 mol/L高氯酸1.0 ml,在冰冷却下以内切式组织匀浆器匀浆1 min,15000g离心30 min,取上清液贮存于-60℃待测。用Lowry法测定其蛋白的含量。高效液相色谱法(HPLC)测定其单胺类递质的含量。高效液相色谱仪为Waters M6000A泵及660梯度控制器,U6K进样阀,LC-4B/17型电化学检测器。色谱柱为u-Bondapak C18,30×0.5 cm ID,颗粒度10 μm,另加保护柱5×0.5 cm ID,填料RP-18,10 μm,洗脱液为0.15 mol/L氯乙酸-氢氧化钠缓冲液(含EDTA 0.83 mmol/L和CSA D-樟脑-B-磺酸9 mmol/L,pH 4.2)与甲醇的混合液(94:6),使用前以0.22 μm滤膜过滤并充气,流量电化学检测工作电压750 mV,检测灵敏度为5 nA。标准NE、DA分别溶于0.1 NHCl;5-HT、5-HIAA、DOPAC分别溶

于超纯水,终浓度均为1.0 ng/μl。标准液进样为4 μl,样品进样量为20 μl。

4 血浆ACTH和CORT的检测 大鼠断头后全血收集到预冷的含EDTA(1 mg/ml全血)的塑料离心管中,4℃,3000 g离心15 min,取血浆保存在-20℃待测。¹²⁵I-ACTH放射免疫检测药盒购自美国DPC公司,其检测的最小值为8 pg/ml。CORT的提取用乙醇,³H-CORT放射免疫检测药盒购自上海市内分泌研究所,其检测的最小值为5 ng/ml。

5 右归饮的制备 见文献⁽¹²⁾。

结 果

1 右归饮对皮质酮大鼠体重、饮食、饮水的影响 大鼠连续14天皮下注射CORT(10 mg/kg·d),体重增长和每日食物、水摄取量出现明显变化。体重增长于注射第4~9天受到抑制,平均于第7天显示出统计学差异(与对照组比较, $P<0.05$)。这种差异随着CORT注射日程的延续而越趋显著。至实验第14天,皮质酮组平均体重为253.4±5.8 g,对照组平均体重为310.4±12.3 g, $P<0.01$ 。皮质酮组每日食物与水的摄取量在注射2~4天见有轻度增加,但无统计学差异。在注射第5~7天开始减少,平均于第6天较对照组明显降低($P<0.05\sim0.01$),这种现象持续到实验结束。右归饮组的体重增长及每日食物、水的摄取量较皮质酮组明显改善。在注射第9~14天,右归饮组的体重较皮质酮组显著增加, $P<0.05$ 。而每日食物和水的摄取量虽较对照组有所减少,但无统计学差异($P>0.05$)。

2 右归饮对皮质酮大鼠血浆CORT和ACTH水平及下丘脑单胺类递质含量的影响 见附表。连续14天皮下注射CORT(10 mg/kg·d)后,皮质酮组大鼠的血浆CORT和其ACTH水平显著下降,下丘脑单胺类递质及其代谢产物的含量明显升高。与对照组比较,各项检测指标均有显著性差异(P 均 <0.01)。右归饮能有效改善CORT对肾上腺皮质和垂体前叶ACTH分泌细胞的抑制以及有效控制CORT对下丘脑儿茶酚胺类和5-羟色胺类神经递质的合成与代谢的兴奋性增高,与皮质酮组比较,右归饮组的各项检测指标均有显著性差异(P 均 <0.01)。

讨 论

随着神经内分泌学研究的深入,中枢单胺类递质特别是脑干儿茶酚胺类递质与下丘脑—垂体—肾上腺皮质轴的关系日益受到重视。中枢单胺类递质的升高

附表 右归饮对皮质酮大鼠血浆 ACTH、CORT 水平及下丘脑单胺类递质的影响 ($\bar{x} \pm S$)

组别	鼠数	血浆激素水平		下丘脑单胺类递质含量(pg/mg 蛋白)				
		CORT($\mu\text{g/dl}$)	ACTH(pg/ml)	NE	DOPAC	DA	5-HIAA	5-HT
对 照	10	13.72 $\pm$ 3.12	86.60 $\pm$ 7.22	3999 $\pm$ 261	524 $\pm$ 37	1120 $\pm$ 74	617 $\pm$ 41	1080 $\pm$ 63
皮质酮	10	1.78 $\pm$ 0.96*	23.43 $\pm$ 4.12*	8406 $\pm$ 531*	1080 $\pm$ 75*	2315 $\pm$ 177*	1675 $\pm$ 68*	3074 $\pm$ 203*
右归饮	10	6.54 $\pm$ 1.43 Δ	46.23 $\pm$ 5.10 Δ	4878 $\pm$ 396 Δ	649 $\pm$ 46 Δ	1357 $\pm$ 143 Δ	816 $\pm$ 50 Δ	1526 $\pm$ 118 Δ

注: 与对照组比较, * $P < 0.01$; 与皮质酮组比较, $\Delta P < 0.01$

程度, 非常敏感地受循环的糖皮质激素的影响。双侧肾上腺摘除(ADX)的大鼠因应激而增高的下丘脑 DOPAC、NE 的含量 2 倍以上高于对照组, 而且其持续时间也明显延长。这种现象可以被预先注射地塞米松(DEX 4 mg/kg 皮下注射)而阻断。提示儿茶酚胺与糖皮质激素之间存在着负反馈联系^(9,13)。对大鼠的下丘脑前部的离体组织培养观察到: 在培养液含有可的松(50 $\mu\text{g/L}$)的条件下, NE 以剂量依赖性(1~20 μg)和时间依赖性(0.5~6h)促进培养组织的 CRF 释放以及增加培养组织的 CRF 含量。然而, 一旦培养液中撤除可的松, NE(1~10 $\mu\text{mol/l}$)不仅不能促进 CRF 的分泌, 反而非常显著地抑制 CRF 的基础分泌⁽¹⁴⁾。本研究结果提示, 外源性糖皮质激素在反馈抑制 HPA 轴的同时, 引起中枢单胺类递质的激活。大鼠连续 14 天皮下注射 CORT, 血浆 CORT、ACTH 水平明显下降, 下丘脑 NE、DOPAC、DA、5-HIAA、5-HT 等各项指标的含量均显著升高。提示长期大剂量注入糖皮质激素可能反馈性激活中枢单胺类神经递质的生物合成和代谢。进一步支持糖皮质激素—儿茶酚胺的相互联系是共同构成 HPA 轴的重要调节因素的观点。

机体饮食摄水活动的中枢在下丘脑。下丘脑室旁核(PVN)是调节饮食摄水、能量代谢和营养选择的重要中枢核团。外源性糖皮质激素的补充能使 ADX 大鼠饮食、摄水、体重增长等抑制现象得以恢复。将糖皮质激素直接注入下丘脑的 PVN、下丘脑腹内侧核(VMN)、下丘脑外侧野(PLH)等各个核团, 结果证明只有注入到 PVN 的大鼠出现明显的摄食增加⁽¹⁵⁾。本研究提示, 大鼠每天皮下注入 CORT 后第 1~4 天, 其每日饮食、摄水量有轻度增加趋势, 但无统计学意义($P > 0.05$)。这是因为注入量不足还是因为其它原因, 有待进一步研究。这种现象在注射第 6~8 天不仅完全消失, 而且出现相反结果, 即随着注射天数的延续, 其饮食、摄水、体重增长等受到严重抑制($P < 0.01$)。外源性糖皮质激素抑制 HPA 轴所导致的激活中枢单胺类递质释放和抑制体重增长, 减少饮食摄水的效应可被右归饮灌胃所改善。与皮质

酮组比较, 右归饮组的血浆 ACTH、CORT 水平明显上升, 下丘脑 NE、DOPAC、DA、5-HIAA、5-HT 等单胺类递质含量下降; 每日饮食摄水量增多, 体重增加。基于皮质酮大鼠下丘脑单胺类递质的升高及每日饮食摄水量的减少, 体重增长抑制是因为外源性糖皮质激素抑制 HPA 轴所致, 我们推论右归饮的这种效应是通过改善 HPA 轴的抑制程度所引起的, 其重要的依据之一是右归饮组的血浆 CORT、ACTH 水平较皮质酮组明显增高($P < 0.01$)。

参 考 文 献

1. Plotsky PM, Cunnigham ET Jr, Widmaier EP. Catecholaminergic modulation of corticotropin-releasing-factor and adrenocorticotropin secretion. *Endocr Rev* 1989; 10: 437.
2. Liposits ZS, Sherman D, Phelix C, Paull WK. A combined light and electron microscopic immunocytochemical method for the simultaneous localisation of multiple tissue antigens. Tyrosine hydroxylase immunoreactive innervation of corticotropin-releasing-factor synthesizing neurons in the paraventricular nucleus of the rat. *Histochemistry* 1986; 85: 95.
3. Sawchenko PE, Sawanson LW. The organization of noradrenergic pathways from the brainstem to the paraventricular and supraoptic nuclei in the rat. *Brain Res Rev* 1982; 4: 275.
4. Harstrand A, Fuwe K, Cintra A, et al. Glucocorticoid receptor immunoreactivity in monoaminergic neurons of rat brain. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 9779.
5. Leboeitz SF, Diaz S, Tempel D. Norepinephrine in the paraventricular nucleus stimulates corticosterone release. *Brain Res* 1989; 496: 219.
6. Plotsky PM. Facilitation of immunoreactive corticotropin-releasing-factor secretion into the hypothalamic-portal circulation after activation of catecholaminergic pathways or central norepinephrine injection. *Endocrinology* 1987; 121: 924.
7. Szafarczyk A, Alonso G, Ixart G, et al. Diurnal-stimulated and stress-induced ACTH release in rats is mediated by ventral noradrenergic bundle. *Am J Physiol* 1985; 249: E219.

8. Lachuer J, Buda M, Tappaz M. Differential time course activation of the brain stem catecholaminergic groups following chronic adrenalectomy. *Neuroendocrinology* 1992; 56 : 125.
9. Lachuer J, Buda M, Tappaz M. Lack of glucocorticoids enhances the early activation of noradrenergic cell group triggered by restraint stress. *J Neuroendocrinology* 1992; 4 : 153.
10. Elena WB, Debra JM, Thackery SG. Androgen inhibits the increases in hypothalamic corticotropin-releasing-hormone (CRH) and CRH-immunoreactivity following Gonadectomy. *Neuroendocrinology* 1994; 59 : 228.
11. Johnston CA, Spinedi EJ, Negro-vilar A. Effect of acute ether stress on monoamine metabolism in median eminence and discrete hypothalamic nuclei of the rat brain and on anterior pituitary hormone secretion. *Neuroendocrinology* 1985; 41 : 83.
12. Cai DF, Kojima S, Shen ZY. The regulation of YG on the hypothalamic-pituitary-adrenal-thymus by corticosterone. *Chinese Journal of Immunology* 1994; 10 : 236.
13. Vetrugno GC, Lachuer J, Perego C, et al. Lack of glucocorticoids sustains the stress-induced release of noradrenaline in the anterior hypothalamus. *Neuroendocrinology* 1995; 57 : 835.
14. Szafarczyk A, Feuvrier E, Siaud P, Rondouin G, et al. Removal of adrenal reverses the stimulating effect of catecholamines on corticotropin-releasing-hormone neurons in organotypic cultures. *Neuroendocrinology* 1995; 61 : 517.
15. Tempel DL, Kim T, Leibowitz SF. The paraventricular nucleus is uniquely responsive to the feeding stimulatory effects of steroid hormones. *Brain Research* 1993; 614 : 197.

(收稿: 1995—08—09 修回: 1995—09—25)

高粘胶囊改善高粘滞血症及血脂的作用

姚金梅¹ 张向阳²

临床资料 本组 64 例均为门诊患者, 参照高粘滞血症学术会议制定标准(陶凯等. 高粘滞血症. 第 1 版. 青岛出版社, 1992 : 251)及血液粘滞程度(按廖福龙等. 临床血液流变学. 第 1 版. 天津科技翻译出版社, 1988 : 43)诊断。分为两组。观察组 33 例, 男 20 例, 女 13 例; 年龄 46~55 岁 15 例, 56~64 岁 18 例; 病种: 高脂血症 19 例, 冠心病 5 例, 糖尿病 3 例, 高血压病 3 例, 中风后遗症 2 例, 肾病综合征 1 例。血粘滞程度轻度(++) 9 例, 中度(+++) 18 例, 重度(> +++) 6 例。对照组 31 例, 男 21 例, 女 10 例; 年龄 46~55 岁 16 例, 56~64 岁 15 例; 病种: 高脂血症 20 例, 冠心病 3 例, 糖尿病 5 例, 高血压病 1 例, 中风后遗症 2 例。血粘滞程度轻度 8 例, 中度 17 例, 重度 6 例。

治疗方法 观察组口服高粘胶囊(由生黄芪 45 g 廑虫 10 g 水蛭 10 g 桃仁 10 g 赤芍 15 g 白芍 15 g 大黄 6 g 组成, 每粒相当于生药 1 g; 东直门医院自制), 每次 4 粒, 每日 3 次, 连服 35 天; 对照组以低分子右旋糖苷 500 ml 静脉滴注, 每日 1 次, 每疗程 15 天, 共观察 2 个疗程(间隔 5 天)。治疗前后检测血脂(氧化酶法)、高密度脂蛋白(酶法加沉淀

剂)和血液流变学测定(NXF-1 型锥板式粘度计, 成都仪器厂)。

结果 (1)对血脂的改善作用: 总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白三项, 治疗前观察组分别为 8.9 ± 0.9 , 3.3 ± 0.6 , 1.7 ± 0.9 (mmol/L, $\bar{x} \pm S$, 下同), 对照组分别为 8.7 ± 1.0 , 3.4 ± 0.7 , 1.6 ± 0.9 ; 治疗后观察组分别为 7.1 ± 0.8 , 2.4 ± 0.4 , 2.9 ± 0.7 ; 对照组分别为 7.6 ± 0.9 , 2.7 ± 0.6 , 1.9 ± 0.6 。结果提示, 高粘胶囊对血脂三项指标具有较好的改善作用($P < 0.01$), 且与对照组相比亦具有显著性差异($P < 0.01$)。(2)对血液流变学的影响: 治疗后全血 5.575 s^{-1} 至 230 s^{-1} (mPa·s) 剪切范围内和血浆 115 s^{-1} (mPa·s), 红细胞压积(%)及红细胞聚集指数各项数值, 观察组均比对照组改善明显, 经统计学处理, 有显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.01$), 红细胞刚性指数两组间比较无显著性差异。

讨论 高粘滞血症是以血液中的血浆粘度、红细胞压积、红细胞聚集、红细胞刚性及血小板聚集等一系列粘滞因素升高为特征的血液高粘滞状态, 是多种疾病发生发展的重要病理基础, 本研究初步表明, 益气活血化瘀为主的方药对该症具有较好的改善作用, 同时对血脂也有改善作用。

(收稿: 1995—08—30 修回: 1995—09—25)

1. 北京中医药大学附属东直门医院(北京 100700); 2. 北京军区司令部门诊部