

· 实验研究 ·

左归丸对左旋谷氨酸单钠大鼠下丘脑单胺类递质含量及体重增长的影响*

刘彦芳 蔡定芳 陈晓红 沈自尹

内容提要 目的:探讨中医肾阴虚与下丘脑弓状核毁坏后中枢单胺类递质代谢的关系。方法:用谷氨酸单钠(MSG, 出生后 2、4、6、8、10 天, 4mg/g 皮下注射)造成大鼠弓状核毁坏后继发性下丘脑—垂体—肾上腺(HPA)轴功能亢进模型, 观察其下丘脑单胺类递质含量和体重增长的变化。结果:新生期大鼠给予 MSG, 成年后下丘脑单胺类递质中多巴胺、去甲肾上腺素等含量显著降低;同时还表现体重减轻、肥胖、鼻—肛长度缩短等生长受抑现象。滋补肾阴名方左归丸能不同程度改善上述异常指标。结论:MSG 大鼠中枢单胺类递质的代谢异常与中医肾阴虚相关。

关键词 左旋谷氨酸单钠 下丘脑 单胺类递质 左归丸 滋补肾阴

Effect of Zuogui Wan on the Contents of Hypothalamic Monoaminic Transmitters and Body Weight in Rats Treated with Monosodium Glutamate Neonatally LIU Yan-fang, CAI Ding-fang, CHEN Xiao-hong, et al *Huashan Hospital, Shanghai Medical University, Shanghai (200040)*

Objective: To evaluate the interrelationship between the traditional Chinese medicine the Kidney-Yin Deficiency Syndrome and the metabolism of hypothalamic monoaminic neurotransmitters after the lesion of arcuate nucleus (ARC). **Methods:** Rats were injected with monosodium glutamate (MSG, at 2, 4, 6, 8, 10 days after born, 4mg/g body weight, s.c.) during the neonatal period, then the contents of hypothalamic monoaminic transmitters were determined with HPLC and the changes of increase of body weight were observed. **Results:** Decreases in levels of norepinephrine (NE), dopamine (DA) associated with its metabolite, 3, 4 - dihydroxyphenyl acetic acid (DOPAC) were observed, while vanillylmandelic acid (VMA), metabolite of NE, serotonin (5-HT) and 5-hydroxyindole acetic acid (5-HIAA) were unchanged. Furthermore, adult rats with neonatal MSG treatment also demonstrated growth retardation, obesity but lower body weight, and shorter length of naso - anal. Zuogui Wan, classical drugs of nourishing and recuperating the Kidney-Yin, relieved the disorder of the metabolism of hypothalamic monoaminic transmitter in MSG-rats. **Conclusion:** The metabolic disorders of the central monoaminic transmitters may be related with the Deficiency of the Kidney-Yin.

Key words monosodium glutamate, hypothalamus, monoaminic transmitters, Zuogui Wan, nourishing and recuperating the Kidney-Yin

谷氨酸单钠(monosodium glutamate, MSG)为一种神经毒素,新生期大鼠给予 MSG 可选择性地破坏下丘脑弓状核(Arcuate nucleus, ARC)⁽¹⁾,引起下丘脑单胺类递质合成与代谢的紊乱。我们近期研究表明 MSG 大鼠下丘脑—垂体—肾上腺(HPA)轴功能处于亢进状态⁽²⁾。根据中医肾阳虚证本质之一为 HPA 轴

功能低下的观点,我们推论 MSG 大鼠的 HPA 功能亢进可能表现为肾阴虚证或阴虚火旺证。为论证这种假说,我们进行了滋补肾阴及滋阴降火对 MSG 大鼠神经内分泌免疫网络影响的系列研究,本研究报告滋补肾阴代表名方左归丸对 MSG 大鼠下丘脑单胺类递质的影响。

材料和方法

1 主要试剂与药物 谷氨酸单钠(MSG)购自美

*国家自然科学基金及卫生部科学基金资助课题
上海医科大学华山医院(上海 200040)

国 Sigma 化学公司。多巴胺(dopamine, DA), 3, 4 - 二羟基苯乙酸 (3, 4-dihydroxyphenylalanine acid, DOPAC), 去甲肾上腺素(norepinephrine, NE), 3-甲氧-4-羟苦杏仁酸(vanillylmandelic acid, VMA), 5-羟色胺(serotonin, 5-HT) 及 5-羟吲哚乙酸(5-hydroxyindole acetic acid, 5-HIAA)均为 Fluka 公司产品。左归丸全方由熟地、淮山药、枸杞子、山茱萸、菟丝子、川牛膝、鹿角胶、龟板胶组成, 依次按 8:4:4:4:4:3:4:4 重量比例称量, 水煎醇提用蒸馏水调药物浓度至 100%, 0.1mPa $\times$ 15min 灭菌, 4℃ 保存备用。

2 动物 SD 种鼠由上海医科大学实验动物部提供, 体重为 250~400g, 新生大鼠于出生后第 2、4、6、8、10 天皮下注射 MSG(4mg/g 体重), 对照组给予等体积生理盐水。28 天后离乳, 分笼饲养, 光照时间为 12h (8:00~12:00), 温度(22 $\pm$ 1)℃, 动物自由饮食饮水。8 周时将动物分为对照组(NS)、模型组(MSG)、左归饮低剂量组(ZG₁, 1g/kg)、左归饮高剂量组(ZG₂, 5g/kg)4 组, 每组 10~12 只, 雌雄各半。9 周开始给予左归丸灌胃, 对照组和模型组予等体积蒸馏水灌胃, 连续 3 周, 至 12 周第 1 天所有大鼠断头处死, 1min 内取出下丘脑^[3], 测定单胺类递质及代谢产物的含量。

3 下丘脑单胺类递质的测定 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, 每个标本加入冰冷的 0.05mol/L 高氯酸(1ml/200mg), 在冰冷却下以内切式组织匀浆器匀浆 1min, 15000g 离心 30min, 2 次, 取上清液储存于 -80℃ 待测。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 $\times$ 0.5cm ID, 颗粒度 10 μ m, 另加保护柱 5 $\times$ 0.5cm ID, 填料 RP-18, 10 μ m, 洗脱液为 0.15mol/L 氯乙酸-氢氧化钠缓冲液(含 EDTA 0.83mmol/L 和 CSAD-樟脑-磺酸 9mmol/L, pH4.2)与甲醇的混合液(94:6), 使用前以 0.22 μ m 滤膜过滤并充气, 流量电化学检测工作电压 750mV, 检测灵敏度为 5nA。标准品及样品进样量均为 20 μ l^[4]。

结 果

1 左归丸对 MSG 大鼠生长及体重的影响 新生期大鼠给予 MSG 后, 在第 10 天最后一次给药后及 28 天断乳时, MSG 大鼠已表现出体重减轻。至第 9 周, MSG 大鼠表现外形肥胖, 行动迟缓, 跳跃减少, 大体解剖见体腔及脏器周围均有明显脂肪堆积, 鼻-肛长度缩短, 体重较对照组减轻($P<0.01$)。给予左归丸后, 药物组体重增长较模型组加快, 但仍慢于对照组, 平均 9~12 天出现差异, 14 天全部有差异, 至 21 天(灌药止)差异显著($P<0.05$), 见表 1。

2 左归丸对 MSG 大鼠下丘脑单胺类递质含量的影响 新生期给予 MSG, 大鼠成年后下丘脑单胺类递质中 DA 及其代谢产物 DOPAC 含量下降($P<0.01$), NE 含量下降($P<0.01$), 但其代谢产物 VMA 含量则无明显变化。5-HT 及其产物 5-HIAA 变化也不显著。给予左归丸后, DA、NE 在高剂量组含量显著回升($P<0.05\sim0.01$), 见表 2。

表 1 左归丸对 MSG 大鼠体重增长的影响 (g, $\bar{x} \pm s$)

组别	性别	鼠数	灌药后			
			1 天	7 天	14 天	21 天
NS	m	5	304 $\pm$ 18**	331 $\pm$ 16**	357 $\pm$ 19**	385 $\pm$ 21**
	f	5	244 $\pm$ 12**	259 $\pm$ 15**	274 $\pm$ 12**	298 $\pm$ 16**
MSG	m	5	254 $\pm$ 11	268 $\pm$ 14	281 $\pm$ 15	292 $\pm$ 12
	f	6	196 $\pm$ 10	209 $\pm$ 10	220 $\pm$ 11	234 $\pm$ 14
ZG ₁	m	5	257 $\pm$ 15	285 $\pm$ 16	301 $\pm$ 15*	328 $\pm$ 17*
	f	6	198 $\pm$ 13	218 $\pm$ 14	234 $\pm$ 12*	256 $\pm$ 13*
ZG ₂	m	6	253 $\pm$ 14	278 $\pm$ 13	319 $\pm$ 16*	348 $\pm$ 18*
	f	6	194 $\pm$ 12	231 $\pm$ 12	250 $\pm$ 13*	272 $\pm$ 11*

注:与 MSG 组比较, $P<0.05$, ** $P<0.01$

表 2 左归丸对 MSG 大鼠下丘脑单胺类递质含量的影响 (ng/mg 组织, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	DA	DOPAC	NE	VMA	5-HT	5-HIAA
NS	10	609.1 $\pm$ 196.2	566.0 $\pm$ 199.3	1013.4 $\pm$ 259.0	1616.0 $\pm$ 311.6	403.3 $\pm$ 176.5	782.6 $\pm$ 161.4
MSG	11	391.1 $\pm$ 146.6*	308.9 $\pm$ 150.7*	660.3 $\pm$ 166.2*	2063.7 $\pm$ 441.9	544.3 $\pm$ 163.6	940.3 $\pm$ 229.4
ZG ₁	11	416.4 $\pm$ 141.9	265.5 $\pm$ 156.3	655.3 $\pm$ 307.3	1666.9 $\pm$ 379.9	466.7 $\pm$ 119.0	906.4 $\pm$ 137.6
ZG ₂	12	625.3 $\pm$ 194.4 $\Delta\Delta$	290.4 $\pm$ 124.0	740.4 $\pm$ 153.9 Δ	1919.9 $\pm$ 356.6	465.7 $\pm$ 111.3	898.5 $\pm$ 159.4

注:与 NS 组比较, * $P<0.05$; 与 MSG 组比较, $\Delta P<0.05$, $\Delta\Delta P<0.01$

讨 论

下丘脑不仅是植物神经功能的中枢,而且还是神经系统与内分泌系统的联结点,因而在机体的整合调控活动中起着极为重要的作用。近年研究表明,新生期大鼠给予 MSG 能特异性地毁坏下丘脑弓状核 (ARC),使 ARC 与室旁核 (Paraventricular nucleus, PVN),视交叉上核以及垂体等的联系出现病理生理学改变,进而导致神经、内分泌、免疫三大调控系统的紊乱^(5~7)。本研究表明,MSG 大鼠下丘脑单胺类递质的合成与代谢处于异常状态,NE 与 DA 及 DA 的代谢产物 DOPAC 含量下降,5-HT、5-HIAA 变化不明显,提示 MSG 大鼠单胺类递质异常以儿茶酚胺类递质含量下降为主。已知 ARC 存在着大量的 DA 能神经元,这些神经元的受损是引起 MSG 大鼠 DA 的儿茶酚胺类递质含量下降的直接原因。

随着神经内分泌学研究的不断深入,中枢儿茶酚胺与糖皮质激素共同构成下丘脑—垂体—肾上腺 (HPA)轴调节因素的观点日益受到重视。我们以往的研究工作阐明肾阳虚证表现 HPA 轴功能低下,而 MSG 大鼠的 HPA 轴功能处于亢进状态⁽²⁾。如果右归饮(阴中求阳)提高 HPA 轴功能的机理在于通过温补肾阳⁽⁸⁾,那么 HPA 轴功能亢进则应属于肾阴不足,在理论上当用滋补肾阴。左归丸是中医滋补肾阴的代表方,为明代医学大家张景岳创制,临床上广泛用于肾阴不足引起的神经内分泌免疫功能紊乱的多种病症。此方与六味地黄丸虽均属补阴之剂,但两者的根本区别在于左归丸是“阳中求阴”之剂。本实验结果表明,左归丸能有效参与下丘脑的调节,改善 MSG 大鼠 (HPA 轴亢进大鼠)下丘脑的儿茶酚胺类递质含量,提

示 MSG 大鼠的下丘脑儿茶酚胺类递质代谢异常与中医肾阴虚相关。左归丸可能通过滋补肾阴使 MSG 大鼠下丘脑 DA 等含量升高。

参 考 文 献

1. Jessop DS, Chowdrey HS, Biswas S, et al. Substance P and substance K in the rat hypothalamus following monosodium glutamate lesions of the arcuate nucleus. *Neuropeptides* 1991; 18 (3):165—170.
2. 蔡定芳,刘彦芳,陈晓红,等.新生期给予 MSG 大鼠下丘脑—垂体—肾上腺—胸腺轴的改变. *中国学术期刊文摘* 1996;2 (9):116—117.
3. Bingaman EW, Magnuson DJ, Gray TS, et al. Androgen inhibits the increase in hypothalamic corticotropin-releasing hormone (CRH) and CRH immunoreactivity of following gonadectomy. *Neuroendocrinology* 1994;59(3):228—234.
4. Johnston CA, Spined EJ, Negro-vilar A. Effect of acute ether stress of monoamine metabolism in median eminence and discrete hypothalamic nuclei of rat brain and on anterior pituitary hormone secretion. *Neuroendocrinology* 1985;41(1):83—88.
5. Larson PJ, Mikkelsen JD, Jessop D, et al. Monosodium glutamate treatment alters both the activity and the sensitivity of the rat hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis. *J Endocrinol* 1994;141(3):497—503.
6. Miskowiak B, Partyka M. Effects of neonatal treatment with MSG on hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis in adult male rats. *Histology Histopathol* 1993;8(4):731—734.
7. Kubera M, Bubak-Satora M, Skow-Cendrzak A, et al. Effect of monosodium glutamate on cell-mediated immunity. *Pol J Pharmacol Pharm* 1991;43(1):39—44.
8. 蔡定芳,堀口贞次郎,沈自尹,等.右归饮对皮质酮大鼠下丘脑—垂体—肾上腺—胸腺轴模型的影响. *中国免疫学杂志* 1994;10(4):236—238.

(收稿:1996-10-10 修回:1997-07-22)

· 简 讯 ·

▲第七届全国中西医结合儿科学术交流会于 1997 年 8 月 2~5 日在北京召开。来自全国 22 个省、自治区、直辖市的 136 名代表出席会议。会议收到学术论文 260 篇,其 24 篇在大会上做了学术交流,110 篇做了分会交流。闫田玉、张梓荆等 6 位专家分别做了专题学术报告。

中国中西医结合学会儿科专业委员会在这次会议上进行了改选换届。闫田玉任名誉主任委员,虞佩兰、张梓荆任顾问。李贵任主任委员,时毓民、李美珠、张宝

林、叶礼燕任副主任委员。

▲北京市中西医结合学会神经科专业委员会 1997 年 9 月 24 日宣告成立,大会选出了首届专业委员会。主任委员谢道珍,副主任委员程昭寰、张志真、谢汝萍及委员 15 人。该专业委员会的成立,将对北京地区中西医结合诊治及预防神经科疾病的工作起到积极的促进作用。

(本刊讯)