

方 药 研 究

甲蓉健宁片和雌激素对去势大鼠下丘脑 内源性阿片肽影响的比较

第四军医大学西京医院 吕肖锋 叶雪清 李 安

更年期综合征为临床常见病, 然而其发病机理至今尚未搞清。目前一种假设认为, 更年期时, 由于卵巢功能衰退, 分泌雌激素减少, 影响下丘脑内源性阿片肽的活性, 触发更年期综合征的发生⁽¹⁾。国内治疗此病的常用药物有雌激素和中药。由于雌激素有致癌的潜在危险性, 我们试用中药甲蓉健宁片治疗更年期围绝病人, 取得了较明显的疗效。本实验的目的是将大鼠去势后, 比较甲蓉健宁片和雌激素对其下丘脑内源性阿片肽的影响。

材料与方法

一、实验材料

实验动物为成年雌性 Wistar 大鼠, 体重 180~200 克。乙烯雌酚配成 0.02 毫克/毫升的溶液, 供灌胃用。甲蓉健宁片由西京医院药厂和妇产科教研室联合研制生产, 主要成分为熟地、山药、山茱肉、茯苓、泽泻、肉苁蓉等, 配成 1.33 片/毫升混悬液, 供灌胃用。 β -内啡肽放射免疫测定盒由第二军医大学生理教研室提供。亮氨酸脑啡肽放射免疫测定盒由上海高血压研究所提供。

二、实验方法

1. 实验分组: 动物分为假去势组和去势组。大鼠去卵巢后第 5 天起逐只进行阴道涂片检查, 每天一次, 连续 5 天, 取去卵巢完全者用于实验。假去势组除不摘除卵巢外, 余同去势组。两组均在手术后第 10 天开始试验。

假去势组灌生理盐水 1.5 毫升/次, 每日 2 次, 共 14 天。去势组根据处理因素不同分为以下三个小组: (1) 生理盐水组, 灌生理盐水 1.5 毫升/次, 每日 2 次, 共 14 天。(2) 雌激素组, 灌乙烯雌酚 1.5 毫升/次, 每日 2 次, 共 14 天。相当于 0.06 毫克/天, 此剂量按每公斤体重计算, 约为成人的 60 倍。(3) 中药组, 甲蓉健宁片灌胃 1.5 毫升/次, 每日 2 次, 共 14 天。甲蓉健宁片

的临床剂量为每日 20 至 25 片, 本实验剂量 4 片/日, 按体重计算约为成人的 50~60 倍。

用药 14 天后, 将所有大鼠处死, 测定下丘脑 β -内啡肽(β -EP)和亮氨酸脑啡肽(L-ENK)的含量。整个实验过程, 除假去势组一只动物因腹泻致死外, 其余动物外观未见异常。

2. 下丘脑内源性阿片肽的提取及放射免疫测定⁽²⁾: 将大鼠快速断头后, 迅速取脑, 置沸生理盐水中, 加热 5 分钟, 取出后, 分离下丘脑, 称重后, 将下丘脑置于含 1 毫升 1 当量醋酸溶液的玻璃匀浆器中, 匀浆, 充分酸化后, 用 1 当量的氢氧化钠 1 毫升中和, 离心取上清液, 于 -20℃ 温度下保存待测。

β -内啡肽的放射免疫测定: 9 个标准管的 β -内啡肽标准品, 范围为 10~2560 微微克/100 微升, 1:2000 的抗 β -内啡肽血清 100 微升 (最终稀释度为 1:10000), ¹²⁵I 标记的 β -内啡肽 50 微升 (6000 个计数/分/50 微升)。待测样品管用 100 微升的样品代替 β -内啡肽标准液。各管加缓冲液至 0.5 毫升, 充分混匀后于 4℃ 温度下孵育 24 小时, 每管加 1.25% 加膜活性炭溶液 0.3 毫升, 离心 (3000 转/分) 8 分钟, 弃上清液, 沉淀部分于 γ 计数器上计数。以 B/B₀ 为纵坐标, 各标准管 β -内啡肽的含量为横坐标, 用半对数坐标纸绘制标准曲线, 根据待测管的 B/B₀ 值从标准曲线中查出样本中的含量。本方法回收率为 94~103%, 批内差异 6.2%, 批间差异 14.6%。

亮氨酸脑啡肽的放射免疫测定: 标准品范围 6.25~400 微微克/100 微升, 1:5000 亮氨酸脑啡肽抗血清 100 微升 (最终稀释度 1:25000), ¹²⁵I 标记的亮氨酸脑啡肽 50 微升 (7000 个计数/分/50 微升)。待测样品管加待测样品 100 微升。各管用 PELH 放免缓冲液加至 500 微升。混匀后, 在 4℃ 温度下孵育 8 小时, 加正常兔血清 (1:12) 30 微升及足量羊抗兔丙种球蛋白血清。混匀后, 在 4℃ 温度下孵育 5 小时, 离心 (4000 转/分) 10 分

钟,测各管总放射性及沉淀放射性。以下同 β -内啡肽。本方法回收率为85~89%,批内差异3~6%,批间差异6~8%。

结 果

甲蓉健宁片和雌激素对去势大鼠下丘脑内源性阿片肽的影响见附表。

附表 甲蓉健宁片和雌激素对下丘脑内源性阿片肽的影响

组 别	β -内啡肽 (微微克/毫克)	亮氨酸脑啡肽 (微微克/毫克)
假去势组	120.00±37.97(7)	181.30±46.20(6)
去势+生理盐水组	220.77±57.98(9)	123.80±46.00(8)
去势+乙烯雌酚组	231.00±39.81(8)	203.10±52.20(7)
去势+甲蓉健宁组	168.60±32.61(9)	198.90±61.40(9)

注:表内数字为均值±标准差(鼠数)

将上表中的四组资料进行完全随机资料的方差分析。结果表明,去势组下丘脑 β -内啡肽含量明显比假去势组高($P<0.01$),而甲蓉健宁片组比去势组低($P<0.05$),但仍高于假去势组($P<0.05$)。雌激素组和去势组之间无显著性差异。去势组下丘脑亮氨酸脑啡肽水平比假去势组低($P<0.05$)。而甲蓉健宁片及雌激素组比去势组明显升高($P<0.05$)。与假去势组近似($P>0.05$)。而甲蓉健宁片组和雌激素组间无显著性差异。

一、去势对下丘脑内源性阿片肽的影响

我们的实验结果表明,去势后,大鼠下丘脑 β -内啡肽含量增加,而亮氨酸脑啡肽含量下降。去势引起下丘脑 β -内啡肽含量增加,可以通过影响下丘脑 β -内啡肽的合成与释放实现。但主要可能是抑制了 β -内啡肽的释放。大鼠去势后,垂体门脉血中 β -内啡肽含量下降,而雌激素治疗后垂体门脉血中的 β -内啡肽增加⁽⁴⁾。

二、更年期体内内源性阿片肽的改变及更年期综合征发病机理的假设

卵巢切除妇女及更年期妇女,下丘脑内源性阿片肽的活性下降,而用雌孕激素治疗可增加下丘脑内源性阿片肽的活性^(4,5)。目前,更年期综合征的发病机理尚未完全搞清,一种假设认为⁽¹⁾,更年期时,人卵巢功能衰退,引起甾体激素分泌减少,影响下丘脑内源性阿片肽的活性。因下丘脑内源性阿片肽的活性有赖于雌激素的作用。下丘脑内源性阿片肽的活性下降,致

其对去甲肾上腺素能系统的紧张性抑制作用减弱,从而影响心血管系统和下丘脑视前区的散热中枢,引起心烦、心悸、潮热等一系列更年期症候群。

三、甲蓉健宁片和雌激素对去势大鼠下丘脑内源性阿片肽的影响

如上所述,去势后下丘脑 β -内啡肽含量增加而亮氨酸脑啡肽下降。我们的结果表明,雌激素和甲蓉健宁片均可使去势大鼠下降的亮氨酸脑啡肽回升到对照组水平。用甲蓉健宁片两周后,使去势大鼠下丘脑 β -内啡肽含量明显下降,而雌激素在此时无明显作用。这些结果提示,中药和雌激素对去势大鼠下丘脑内源性阿片肽的作用及途径可能不同。

参 考 文 献

- (1) Casper RF, Yen SSC. Neuroendocrinology of menopausal flush: A hypothesis of flush mechanism. *Clinical Endocrinology* 1985; 22:293.
- (2) 汤健,等. β -内啡肽的放射免疫测定. *北京医学院学报* 1981; 13:249.
- (3) Sharon L, et al. Effect of sex steroids on brain β -endorphin. *Brain Research* 1982; 245:327.
- (4) Donna Shoupa, et al. The effects of estrogen and progestin on endogenous opioid activity in oophorectomized women. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 60:178.
- (5) Robert F, et al. Progestins increase endogenous opioid peptide activity in postmenopausal women 1985; *J Clin Endocrinol Metab*.60:34.

• 新书出版消息 •

中国针灸大全 王雪苔主编,定价:平装上下卷21.00元,精装上下卷25.00元。河南科技出版社出版。

全书分上下两卷,上卷介绍了针灸学概念、简史、主要针灸医籍、基础理论、诊断、腧穴、针法、灸法、腧穴特种疗法、逢时辨证取穴等。下卷介绍了临床发展概况、辨证论治,并对近200种适合针灸治疗的疾病就病因病机、临床表现、辨证论治等进行详明论述,力求切合实用。是一本图文并茂,普及提高兼顾的大型针灸临床参考书,可供针灸专业医疗、科研、教学人员使用。订购处:郑州市河南科技出版社服务部。

中国传统康复医学 陈可冀主编,估价10元,人民卫生出版社出版。

全书共80万字,分上、中、下三篇。分别论述基础理论、常用方药、气功、导引、按摩、针灸、养生以及临床各科疾病的传统康复适应症、原则和方法。读者对象为中高级医务人员。欲购者请与北京先农坛人民卫生出版社发行部联系。