

# 酒精對自發性高壓鼠 (SHR) 各腦部組織單胺含量的作用

## Effect of ethanol on monoamine content in different brain regions of spontaneously hypertensive rats

撰文 / 王應霖  
摘譯 / 陽光耀

### 序論

爲了瞭解酗酒者和酒精效應行爲之間的神經化學關係，所多的研究都著手於酒精對腦中生物胺的作用。

酒精已知會影響神經系統的合成、釋放、反射，再吸收和代謝作用。雖然由於酒精的攝取量、實驗動物種類和給予酒精的方式不同，使實驗結果令人爭議。但一般說來，攝食酒精的動物體內NE濃度會升高，Fadder et al (1980) 也報告說：紋狀體和額葉的DA含量會上升；另一方面，在長期酒精攝取後，大腦中5-HT和5-HIAA的濃度卻下降了。

過去曾有報告：SHR和正常鼠之間，對NE的吸收，代謝和含量有所不同，特別是SHR的NE值較高（但成鼠視丘的值較低爲例外）；可能是因爲酒精攝取會改變生物胺的動態平衡而SHR對酒精又特別敏感的緣故。

### 摘要

自發性高血壓鼠 (SHR) 連續以含乙醇的食物，餵食四星期，然後比較在六個腦部組織—大腦皮質、小腦、腦幹、下視丘、紋狀體 (Corpus striatum)、海馬迴 (hippocampus) 中所含單胺的含量，

例如：noradrenaline (NE)，dopamine (DA)，serotonine (5-HT) 和 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA)。結果顯示：(1) 腦幹和下視丘的NE含量增加3倍，(2) 紋狀體的NE增加2倍，(3) 紋狀體的DA含量顯著增加。但大腦皮質、腦幹、海馬迴的DA含量顯著降低。更有甚者，和對照組比較，發現5-HT含量在下視丘下降50%，腦幹下降65%，大腦皮質下降7%，小腦下降80%。

因此結果指出：酒精對不同腦組織的生物胺作用並不相同。

### 器材和方法

SHR原產於查理河 (Charles River) Kanagawa, Japan。本實驗採用國立陽明醫學院動物中心所繁殖的3-4個月大，血壓170-195mmHg的SHR。首先連續4星期，在每天的飲水中，給予2.4g/kg 30%的乙醇，而後在最後一次投予乙醇後，殺死老鼠，取出各部位腦組織。

分析步驟：(1) 將各部位腦組織加入溶液A (含1me 0.1M HClO<sub>4</sub>, 100ul 1M sodium metabisulfite, 100ul 0.1MEDTA, 15ul (30mg/ml) dihydroxybenzylamine (DHBA))。

(2)離心後，取上清液，加入 30 mg aluminum oxide (含 1 ml 0.5 M Tris - HCl, PH 8.6) 靜置於棕色玻璃離瓶中 30 分鐘。

(3)待吸收後，aluminum oxide 以 2 ml 溶液 B (含 100 ml distilled water, 100 ul 0.1 M EDTA, 100 ul 1 M sodium metabisulfite, 1 ml 0.5 M Tris - HCl) 清洗 3 次。

(4)“清洗”後，aluminum oxide 用真空吸乾，餘下溶液放入內含 1 ml 0.1 M HClO<sub>4</sub> 及 0.1 mm NaHSO<sub>4</sub> 的離心管中，搖盪 10 分鐘。

(5)再置入 eppendorf 管中，在室溫下，以 B A S 顯微過濾離心法，500 rpm 離心 5 分鐘。

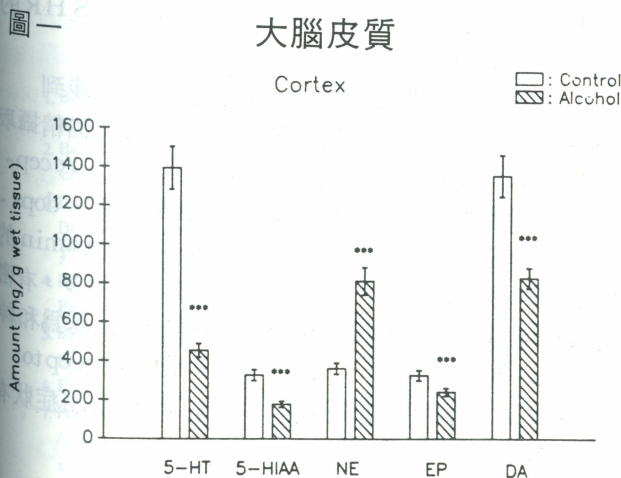
(6)最後將上清液稀釋 5 倍，注射入 HPLC - E CD System, 求取 Catecholamine 的量。

5-HT 和其代謝產物之分析法同上，但沒有 alumina “清洗” 這個步驟。

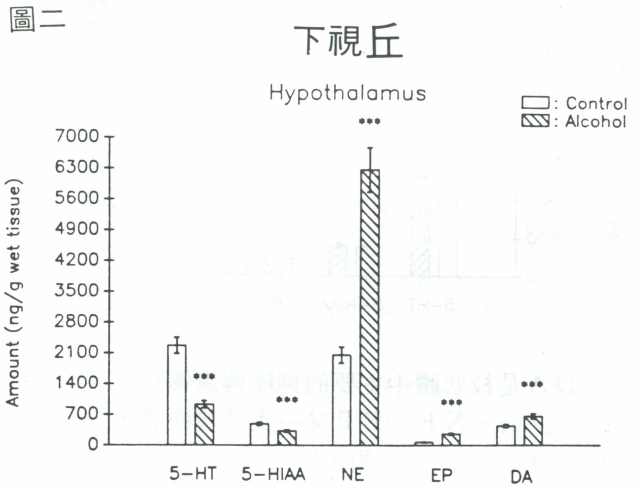
固定相為 30 cm × 3.9mm ID Column 附著上 u Bondapack C<sub>18</sub> < 10u > (B A S), 移動相為 0.05 M Phosphato buffer + 5 % methanol, 1.2 × 10<sup>-4</sup> M Na<sub>2</sub> EDTA 和 0.1 mM heptane sulfonate, PH 8.6, 流動速率 1 ml / min, 溫度 30 °C, 壓力 1200 pound / inch<sup>2</sup> (Psi), 電極電位 + 0.72 V 和參考電極 Ag / AgCl。

## 結果

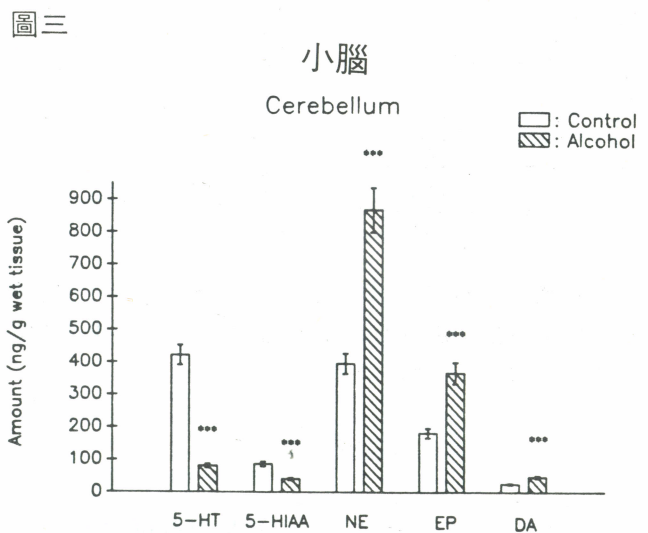
我們分析實驗組和對照組 SHR 腦中各部位的 5-HT, 5-HIAA, NE, 印及 DA 的含量，發現酒精會影響腦中各部位生物胺的含量。



在大腦皮質有三種主要的生物胺(神經傳遞物質)，在接受長期酒精治療後，有所改變，例如：NE 值增加 2 倍，DA 值降低 40%，而 5-HT 值降低 75%。(圖一) Epinephrine 是大腦皮質中，較次要的生物胺，也降低了 30%。



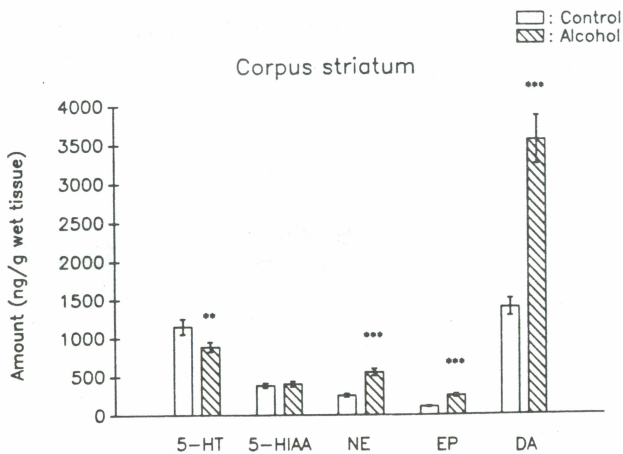
NE 是下視丘中主要的神經傳遞物質，其值增加了 3 倍，同樣我們也觀察到 EP 和 DA 的量顯著增加。(圖二) 但相反的，在較長期的酒精注射後，下視丘中的 5-HT 值降低了 50%。



小腦中主要的生物胺，也有改變的趨勢，雖然其含量較少，但仍能見 NE 值增加 2 倍，印值大約 2 倍，DA 值 2 倍以及 5-HT 值下降 80%。(圖三)

圖四

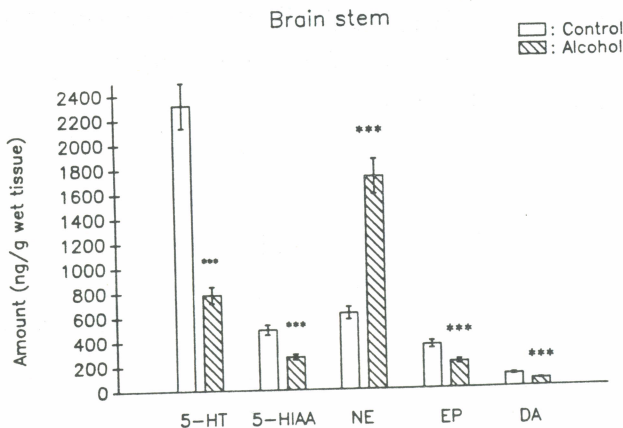
紋狀體



DA是紋狀體中主要的神經傳遞物質，其含量增加超過2倍，NE和EP又一次發現顯著增加，5-HT則顯著下降。(圖四)。

圖五

腦幹

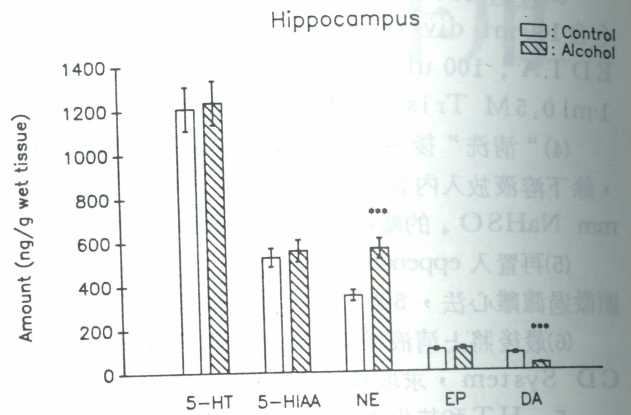


(圖五)表示在長期酒精治療後，腦幹中生物胺的變化，很像大腦皮質中所看到的情形：NE值增加3倍，但其它三種胺值都下降。

海馬迴

海馬迴對長期酒精治療似乎較有抵抗力，(圖六)：5-HT和EP沒有改變，NE值顯著增加，DA值下降；而5-HIAA是5-HT的主要代謝產物，所以含量和5-HT值是平行的。

圖六



討論

在這個實驗中，我們分析SHR腦中各部位生物胺的含量。一般說來，NE、EP和DA值在下視丘、紋狀體和小腦是增加的，而5-HT值在這些部位則是下降的。另外，在大腦皮質和海馬迴，NE值仍然是上升的，而DA、EP和5-HT質不是下降就是沒改變。我們也觀察其它許多的研究，結果顯示：在長期酒精治療後，NE和DA值會增加，而5-HT和5-HIAA值則會下降。

根據報告，SHR腦中的NE值比正常鼠高出許多，可能是因為較低的Ca<sup>++</sup>輸送速率，導致NE合成速率增加，進而造成自發性高血壓。同樣的，在這個實驗中，長期酒精攝取，導致腦中各部位的NE值，更進一步上升，而增加的NE值將會改變SHR的生理反應，甚至造成傷害。

酒精對中樞神經的作用，曾經被認為牽涉到dopamine的傳遞；有幾個報告發現，長期酒精攝取，會影響dopamine receptor，特別是D<sub>2</sub> receptor，我們也觀察到，老鼠經長期酒精治療，dopamine的含量增加，特別是在紋狀體。而dopamine的增加和striatal D<sub>1</sub>, D<sub>2</sub> receptor數量增多，有密切關係。因為紋狀體的dopamine神經原被認為和神經一行為障礙有關連；所以dopamine和receptor量的增加，可能和慢性酒精中毒者的酒精停用症狀有相當關連。

在長期酒精治療後，許多細胞膜的功能，發生了改變，曾有報告顯示，細胞膜的功能不正常和血壓上升有關連。舉例來說，高血壓患者，血管平滑肌的 $\beta$ -adrenergic receptor的數目較少，而且高血壓動物 $Ca^{++}$ 穿過膜進入血管平滑肌的活性也遠比正常動物大。

SHR中樞神經Catecholamine含量不同於正常老鼠，可能是中樞神經系統細胞膜功能改變的反映、像：再吸收和、receptor特性……等功能。另有報告，在長期酒精治療後、腦中單胺含量會發生改變；同樣的，在本實驗，我們也發現SHR腦中不同部位的單胺含量發生改變，而且在相同的腦部組織，NE和DA值增加的量，SHR就遠比正常鼠多；而這些現象，可能是由於SHR和正常鼠之間，細胞膜對酒精進入的敏感性不同所致。

類似以上，細胞膜功能改變的現象，還在許多其它研究中也發現。舉例來說：SHR之 $(Na^{+} + K^{+}) - ATPase$ 活性比正常鼠大2倍。而在長期酒精治療後， $(Na^{+} + K^{+}) - ATPase$ 值同樣也會增加。因為 $(Na^{+} + K^{+}) - ATPase$ 值的增加，被認為是由於膜—酒精交互作用的適應性變化，而且酒精攝取增加SHR細胞膜額外的負擔，造成 $Na - Pump$ 的活性因而增加。

其它依膜性神經化學反應，同樣也受到類似的影響；就因為這些膜功能的過度活性和酒精停用症狀有關；所以我們可以知道：長期酒精攝取，對高血壓的病人，遠比對正常人有害。

## 參考資料

1. Barbaccia, M. L., Bosio, A., Lucchi, L., Spano, P.F. and Trabacchi, M. (1982a) *J. Neurol. Transm.* 53, 169-177.
2. Barbaccia, M. L., Bosio, A., Lucchi, L., Spano, P.F. and Trabacchi, M. (1982b) *Life Sci.* 30 2163-2170.
3. David-Dufilho, M., Pernollet, M. G., Sang, H. L., Benlian P., and De Mendenca, M. (1986) *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 8 (Suppl 8) S130-S135.
4. De Jong, W., Nijkamp, F. P. and Bohus, B. (1975) *Arch. Int. Pharmacodyn. Therap.* 213, 272-284.
5. Ellis F. W., and Pick, J. R. (1973) *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 215, 215-217.
6. Field, F. P. and Soltis, E. E. (1985) *Hypertension.* 6 887-892.
7. Fuxe, K., Ganten, D., Jonsson, G., Bolme, P., Agniti, L.F., Andersson, K., Goldstein, M. and Hokfelt, T. (1979) *Acta Physiol. Scand.* 107, 397-399.
8. Fuxe K., Ganten D., Jonsson G., Agnati L.F., Andersson K., Hokfelt T., Bolme, D., Ganten M., Hallman, H., Unger T., and Rascher W. (1979) . Catecholamine turnover changes in hypothalamus, and dorsal midline area of the caudate medulla oblongata of spontaneously hypertensive rats. *Neurosci. Lett* 15, 283-288.
9. Hoffman, P. L. and Tabakoff, B. (1980) In: *Biological Effects of Alcohol* (H. Begleiter, ed.) plenum Press N. Y. pp. 21-42.
10. Hoffman P.L., Valverins P. Kwast M and Tabakoff B. (1987) comparison of the effects of ethanol on beta adrenergic receptors in heart and brain. *Alcohol and Alcoholism. Suppl.* 1. 749-754.
11. Howe, P.R.C., West, M.J., Provis, J.S. and Chalmers, J.P. (1981) *Eur. J. Pharmac.* 73, 123-129.
12. Howes, L. G., Rowe, P. R., Summers, R.J. and Louis, W.J. (1983) *Clin. Exp. Hypertension*, A5, 857-874.
13. Howes L.G., Rowe P.R., Summers R.J. and Louis W.J. (1984) . Age-related changes of catecholamines and their metabolites in central nervous system regions of spontaneously hypertensive and normotensive Wistar Kyoto rats. *Clin. Exp. Hypertens.* 6, 2263-2277.
14. Hruska, R. E. (1988) *J. Neurochem.* 50, 1929-1933.
15. Hunt W.A. (1981) Neurotransmitter function in the basal ganglia after acute and chronic ethanol treatment. *Fed. Proc.* 40, 2077-2081.
16. Lai, H., Carino, M.A. and Horita, A (1980) *Life Sci.* 27, 299-304.
17. Limas, C.J. and Limas, C. (1979) *Biochem. Biophys. Acta.* 582, 533-536.
18. Lucchi, L., Lupini, M. Govoni, S. Covelli, V., Spano, P.F. and Trabacchi, M. (1983) *Pharmacol. Biochem. Behav.* 18, (Suppl. 1) 329-382.
19. Lynch, M.A. and Littleton, J. (1983) *Nature (London)* 303, 175-176.
20. Murphy J.M. McBride W.J. Lunieng L. and Li, T.K. (1982) Regional brain levels of monoamines in alcohol-preferring and non-preferring lines of rats. *Pharmac. Biochem. Behav.* 16, 145-149.
21. Ozaki, M., Hotta, K. and Aoki, K. (1972). Ed. Okamoto, K. Igaku Shoin, Tokyo, pp. 37-40.
22. Penn P.E. McBride W.J. Lumeng L. Gaff T.M. and Li T.K. (1978) Neurochemical and operant behavioral studies of a strain of alcohol-preferring rats. *Pharmac. Biochem. Behav.* 8, 476-481.
23. Pohorecky, L. A. (1974) *J. Pharmac. Expt. Ther.* 189, No. 2, 380-391.
24. Pohorecky L.A. (1981) The interaction of alcohol and stress, A review, *Neurosci, Biobehav. Res.* 5, 208-229.
25. Schmidt, R. H. and Bhatnagar. R. K. (1979) *Brain Research.* 166, 293-308.
26. Sun, G.Y. and Sun, A.Y. (1985) *Alcoholism. Clin. Exp. Res.* 9, 164-180.
27. Wei, J. W., Janis, R.A. and Daniel E.E. (1976) Calcium accumulation and enzymatic activities of subcellular fractions from aortas and ventricles of genetically hypertensive rats, *Circulation Research.* 39, 1, 133-140.
28. Yamabe, H., De Jong, W. and Lovenberg, W. (1973) *Eur. J. Pharmac.* 22, 91-98.