

四种精神药物和四种中枢神经递质对人红细胞膜脂质过氧化的影响

宋廷生、王步玲、蔡能 (上海市精神病防治总院, 上海 200030)

摘要 三环抗抑郁药 AMT 和 IMP, 以及中枢神经递质 NE, DA, 5-HT, GABA 促进人 rbc 膜 MDA 形成, 且 AMT 和 IMP 对 NE 之促膜 MDA 形成起增效效应。CPZ 相反, 在 2 μM 以上时阻抑膜 MDA 形成。结果提示, 三环抗抑郁药治疗加速痴呆发展, 其促膜脂质过氧化作用, 是应重视的因素之一。

关键词 神经调节剂, 趋精神药物, 脂质过氧化, 红细胞膜

三环抗抑郁药可显著加剧老年抑郁性假性痴呆病人真性痴呆症状的发展⁽¹⁾。痴呆症患者脑组织之病理改变, 与细胞器膜脂质过氧化和脂褐素累积密切相关^(2,3)。据此推测, 此类药可能具有促细胞膜脂质过氧化作用。也可能因此类药提高脑内生物胺类神经递质的浓度, 后者有促膜脂质过氧化作用, 抑或两者皆是。阐明此问题, 有助于临床合理用药。本文通过 4 种精神药物和 4 种中枢神经递质对人红细胞膜脂质过氧化的影响, 试作探讨。

材料和方法

DL-去甲肾上腺素(NE) Serva 产品。DL-5-羟色胺(5-HT)为瑞士 Fluka AG 产品。DL-多巴胺(DA)、L-γ-氨基丁酸(GABA)、普蔡洛尔(PPN)、氯丙嗪(CPZ)、丙咪嗪(IMP)和阿米替林(AMT)均为国产。

正常人抗凝静脉血红细胞(rbc), 由上海市中心血站供给。用预冷(4℃左右)的含 0.9% NaCl 之 15 mM Tris-HCl 缓冲液(pH 7.2)低速离心洗涤 rbc 3 次, 以洗去胞外血浆物。然后用冰冷的 10 mM Tris-HCl 缓冲液(pH 7.2)

使细胞低渗破裂, 并于 11 000 × g 下反复离心洗涤制备膜, 得略带黄色的乳白细胞膜, 加冰冷的 15 mM Tris-HCl 缓冲液(pH 7.2, 内含 15 mM NaCl、10 mM KCl、2 mM MgCl₂、10 mM CaCl₂、11 mM 葡萄糖), 再于 11 000 × g 离心, 制成浓膜悬液。此膜悬液放大 400 倍观察, 基本上都是球型。用考马斯蓝法测定膜蛋白含量。然后用冰冷的上述缓冲液调整到每 1 ml 含 1 mg 膜蛋白。吸 1 ml 膜悬液, 加 10 μl 药物, 使反应液最终含如表中所示之浓度。于 37℃旋转振荡 4 h, 用硫代巴比妥酸法⁽⁴⁾测定保温膜液中脂质过氧化作用, 以测定的丙二醛(MDA)含量表示之。即每管中分别加入 2.5 ml 0.5 M 甘氨酸-HCl 缓冲液(pH 3.6), 1.3 ml 0.67% 硫代巴比妥酸水溶液, 0.2 ml 10 mM FeCl₃, 于 100℃反应 40 min, 冷却后低速离心, 上清液于 532 nm 处读取光密度值。根据 MDA 克分子消光系数 1.56·10⁵ mol⁻¹·cm⁻¹, 计算 MDA 形成量, 以 MDA nmol/mg 膜蛋白表示之。

结 果

生物胺对 rbc 膜脂质过氧化影响 如表 1 所示, rbc 膜悬液于 37℃旋转振荡 4 h, 有少量 MDA 形成。各个体供血员之 rbc 膜在 MDA 形成方面甚有差别。当悬液中加入低于 2 μM 以下的 NE 时明显地促进 MDA 形成, 高于 2 μM 以上时则转为抑制, 200 μM 几乎完全阻断膜 MDA 形成, 如果加上表 3 之 NE 对照的多次测定值, 表明 NE 促膜脂质过氧化是一客观的生物学现象。

DA、5-HT、GABA 在 200 nM 浓度时,

Tab 1. Malondialdehyde (MDA) in confluent rbc membrane incubated with norepinephrine (NE) 20 nM-20 μM. 6 normal persons. $\bar{x} \pm SD$.
*p>0.05, ***p<0.01

NE	MDA(nmol/mg)	%
0	3.03±1.14	100
20 nM	3.72±1.44	123±6***
200 nM	3.82±1.22	126±10***
2 μM	3.09±1.01	102±17*
20 μM	2.38±0.95	79±11***

Tab 2. Effects of 200 nM of norepinephrine (NE), dopamine (DA), serotonin (5-HT) and L-γ-aminobutyric acid (GABA) on malondialdehyde formation in rbc membrane. 5 normal persons. $\bar{x} \pm SD$. **p<0.05, ***p<0.01

	MDA(nmol/mg)	%
O	2.72±1.02	100
NE	3.43±1.31	126±8***
DA	3.38±1.35	123±4**
5-HT	3.12±1.22	114±2**
GABA	2.89±1.07	107±2***

对 rbc 膜脂质过氧化反应均起促进作用，其强度依次为： NE≥DA>5-HT>GABA(表 2)。

精神药物对 rbc 膜 MDA 形成的影响

Tab 3. Effects of psychotropic drugs on norepinephrine induced lipid peroxidation of rbc membrane. $\bar{x} \pm SD$. *p>0.05, **p<0.05, ***p<0.01

Drugs blank	200 nM	NE plus 20 nM	various concentrations 200 nM	of 2 μM	drugs 20 μM
	0				
Propranolol.					
MDA nmol/mg	2.61±0.75	3.33±0.77	3.33±0.77	3.70±0.88	3.84±1.07
%	100	127±8***	127±8***	142±17***	147±15***
%	100	100±0*	111±8**	114±8**	107±9*
Chlorpromazine.					
MDA nmol/mg	2.92±0.95	3.70±1.25	3.72±1.26	3.54±1.00	3.08±1.01
%	100	126±8***	128±9***	126±10***	106±13*
%	100	101±1*	95±7*	84±9**	83±10**
Imipramine.					
MDA nmol/mg	2.37±1.11	2.96±1.37	3.09±1.28	3.49±1.30	3.32±1.30
%	100	125±7**	130±22***	147±27***	140±19***
%	100	104±12*	118±15***	112±9***	105±10*
Amitriptyline.					
MDA nmol/mg	2.67±0.93	3.32±1.22	3.35±1.21	3.56±1.12	3.87±1.20
%	100	124±5**	126±6***	134±12***	145±12***
%	100	101±2*	108±8**	117±10***	105±9*

了比较所试精神药物对 rbc 膜脂质过氧化反应的影响，在有促膜 MDA 形成之最适浓度 200 nM 的 NE 存在下，分别加入三环抗抑郁药 AMT 和 IMP，使达到如表 3 所示的浓度，并用抗精神病药 CPZ 和 PPN 作对比，以不加药物和 NE 的膜液作药物空白。表 3 的测定结果表明，AMT、IMP 和 PPN 在 20 nM 以上时，对 rbc 膜 MDA 形成起促进作用，且对 NE 促膜 MDA 形成起增效效应。CPZ 相反，低浓度时对 NE 促膜 MDA 形成无抑制，只有>2 μM 时才出现明显的阻抑作用。

讨 论

衰老、老年性痴呆和 Alzheimer's 症有两个共同的病理特征：脑内有大量呈弥漫性分布的脂褐素斑沉积和神经纤维变性缠绕⁽²⁾。其病因可能与脂褐素之前体物质过氧化脂质的积累有关。曾有试图使用一些抗氧化剂，如维生素 E 等抑制脂质过氧化和脂褐素累积，以图延长实验动物寿命和抗衰老的作用^(6,7)，但结果未能肯定。氯酯醒(centrophenoxine)^(7,8)与 CPZ 具有二甲胺基烷链结构，也都表现出抑制脂质

过氧化和脂褐素累积的效应⁽⁸⁾，本文以 CPZ 所作的对比实验亦是补证。

本实验表明，三环抗抑郁药和单胺类神经递质有明显的促进细胞膜脂质过氧化的作用。若三环抗抑郁药的药理作用之一是阻抑突触膜对单胺类递质的回收，提高突触间隙递质的浓度，则药物和递质以加成方式更促进膜脂质过氧化反应。如果老年性痴呆的发展与脂质过氧化确有密切的联系，那么对老年抑郁性假性痴呆病人应用三环抗抑郁药治疗，药物促膜脂质过氧化的作用应重视。

此外，由本文结果似可推测，脑信息活动中释放的单胺类神经递质对耗氧最著的脑细胞之膜脂质层亦起促进脂质过氧化的作用，而可视为脂褐素斑形成源之一。是否导致衰老和病变，则主要视机体抗脂质过氧化防御体系的功能和完整。但须指出的，在信息活动中，单胺类神经递质除了对细胞膜上特异性受体的作用，并同时引发细胞膜脂质层的过氧化反应外，对膜磷脂层的影响也是非常值得注意的。

参 考 文 献

1 Kral VA. Depressive Pseudodementia und senile

- Demenz vom Alzheimer-Typ, eine Pilot-Studie. *Nervenarzt* 1982; 83 : 284
- 2 Brizzee KR, Ordy JM, Kaack B. Early appearance and regional differences in intraneuronal and extraneuronal lipofuscin accumulation with age in the brain of a nonhuman primate (*Macaca mulatta*). *J Gerontol* 1974; 29 : 366
- 3 Chio KS, Tappel AL. Synthesis and characterization of the fluorescent products derived from malonaldehyde and amino acids. *Biochemistry* 1969; 8 : 2821
- 4 Asakwa T, Matsushita S. Thiobarbituric acid test for detecting lipid hydroperoxides under anaerobic condition. *Agric Biol Chem* 1981; 45 : 453
- 5 Hall DA. Gerontological research—today and tomorrow. *Age Ageing* 1976; 5 : 198
- 6 Harman D. Free radical theory of ageing: Effect of free radical reaction inhibitors on the mortality rate of male LAF mice. *J Gerontol* 1968; 23 : 476
- 7 Nandy K. Centrophenoxine; effects on ageing mammalian brain. *J Am Geriat Soc* 1978; 26 : 74
- 8 Marcer D, Hopkins SM. The differential effects of meclofenoxate on memory loss in the elderly. *Age Ageing* 1977; 6 : 123
- 9 阿部裕、末松俊彦、鎌田武信、佐藤信絵、松村高勝。肝疾患と過酸化脂質。最新医学 1978; 33 : 708

Acta Pharmacologica Sinica 1986 Jul; 7 (4) : 308-311

Effects of 4 psychotropic drugs and 4 central neurotransmitters on lipid peroxidation in human erythrocyte membrane

SONG Ting-sheng, WANG Bu-ling, CAI Neng

(Shanghai Psychiatric Hospital, Shanghai 200030)

ABSTRACT Lipid peroxidation of rbc membrane was measured by thiobarbituric assay for malondialdehyde (MDA), a product of lipid peroxidation. A small amount of MDA was formed after the incubation of rbc membrane at 37°C. NE enhanced MDA

formation at 20 nM-2 μM when NE was added to the incubated rbc membrane, but inhibited MDA formation at 2-200 μM. DA, 5-HT, and GABA showed promoting effects on MDA formation of rbc membrane at 200 nM: NE ≥ DA > 5-HT > GABA.

Tricyclic antidepressants amitriptyline (AMT) and imipramine (IMP) accelerated MDA formation at 20 nM-20 μ M when AMT and IMP was added to rbc membrane treated with 200 nM NE, and so did propranolol. Chlorpromazine did not inhibit MDA formation of NE-treated rbc membrane, but depressed slightly the MDA formation at 2-20 μ M. The above-mentioned findings

suggest that tricyclic antidepressants may increase dementia probably because of their enhancement of MDA formation in membrane lipids.

KEY WORDS neuroregulators; psychotropic drugs; lipid peroxidation; erythrocyte membrane