

儿茶酚胺类药物对草鱼生长激素分泌的影响

张为民 张利红 林浩然

(中山大学生物系, 广州 510275)

提 要

本文研究了儿茶酚胺类药物对草鱼生长激素水平的影响。腹腔注射儿茶酚胺合成抑制剂 α -甲基-对-酪氨酸(α -MPT, $5\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$ 和 $50\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)显著降低草鱼鱼种血清生长激素水平, 腹腔注射儿茶酚胺能神经毒素6-羟多巴胺(6-HODA, $5\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$ 和 $50\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)也显著降低草鱼鱼种血清生长激素水平。阿扑吗啡(APO, $7.1\text{mg}/\text{Kgb}\cdot\text{w}$ 和 $12.5\text{mg}/\text{Kgb}\cdot\text{w}$)通过背大动脉插管注入草鱼体内后能显著提高草鱼血浆生长激素水平。腹腔注射去甲肾上腺素(NE, $50\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)2h, 6h和24h后, 草鱼鱼种血清生长激素水平明显低于对照组(VEH); 腹腔注射 β -肾上腺素能受体拮抗剂Propranolol($5\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)或 α -肾上腺素能受体增强剂Clonidine($5\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)对草鱼鱼种血清生长激素水平无显著影响, 而同时注射NE+Clonidine($50\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$, $5\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)或NE+Propranolol($50\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$, $5\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)2h和6h后, 草鱼鱼种血清生长激素水平显著高于单独注射NE($50\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)的草鱼鱼种。结果表明: 儿茶酚胺类药物也参与草鱼生长激素分泌的调节, 而且去甲肾上腺素(NE)结合到 α -肾上腺素能受体刺激生长激素(GH)分泌, 而结合到 β -肾上腺素能受体则抑制生长激素(GH)分泌。

关键词 生长激素, 儿茶酚胺, 草鱼, 草鱼鱼种

草鱼是一种重要的养殖鱼类。鱼类的生长与哺乳动物的生长一样, 也受到生长激素的调节^[1]。生长激素是由脑下垂体分泌的一种蛋白质激素。鱼类生长激素的分泌也可能是由下丘脑分泌的生长激素释放因子(GRF)和生长激素释放抑制因子(SRIF)控制^[2-6]。除此之外, 脑中的儿茶酚胺类物质也参与了鱼类生长激素分泌的调节^[7]。本文着重探讨儿茶酚胺类药物对草鱼生长激素分泌的影响。

1 材料和方法

从附近鱼场购买健壮草鱼鱼种, 体重为20—30g, 暂养在 $100\times 50\times 50\text{cm}$ 的水族箱中。实验是在自然温度及光周期条件下进行, 每实验组8—10尾草鱼鱼种。用于背大

动脉插管的草鱼体重为 0.5—1kg。背大动脉插管手术后 24h 抽取血样。

所用药物: α -甲基-对-酪氨酸(α -MPT, Sigma), 6-羟多巴胺(6-HODA, Sigma), 去甲肾上腺素(NE, Sigma), Clonidine (Boehringer Zngelheim), Propranolol (Sinma) 等都 用 VEH(0.7%NaCl 和 0.1%偏重亚硫酸钠混合液)配制,并放置于碎冰上,待注射用。腹腔注射容积为 $5\mu\text{l}/\text{gb}\cdot\text{w}$ 。注射后 2h, 6h 和 24h 从尾静脉抽取血样,每次取血样在 0.5h 内结束。阿卜吗啡(APO, apomorphine, Sigma)和含肝素(10IU/ml)的生理盐水(PS)配制,从背大动脉插管给药,容积为 0.2ml。给药 30min 后取样,每间隔 15min 从背大动脉插管抽取血样 0.2—0.3ml,持续 6h。每次抽完血后给草鱼补充生理盐水及血细胞。血样在 4°C 下放置数小时,然后离心($15000\text{r}/\text{min}$)3min,收集血清或血浆样品,放置在 -40°C 低温冰箱保存。

草鱼血清生长激素水平采用放射免疫分析法测定。以鲤 GH 为标准品(加拿大阿尔贝塔大学的 Dr.R.E.Peter 赠品),运用 Thorell 和 Johansson 以及 Cook 等的方法并加以改进^[8,9],建立了草鱼生长激素放射免疫分析法。通过比较高 GH 含量和低 GH 含量草鱼血清稀释曲线与标准曲线之间的平行关系,证明所建立的草鱼生长激素放射免疫分析法是可行的。所有数据采用 Student's t-test 进行显著性分析。

2 结果

2.1 α -甲基-对-酪氨酸(α -MPT)和6-羟多巴胺(6-HODA)对草鱼鱼种血清生长激素水平的影响(表 1)

腹腔注射低剂量($5\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)和高剂量($50\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)的儿茶酚胺合成抑制剂 α -MPT 都能降低草鱼鱼种血清生长激素水平,并且注射后 6h 草鱼鱼种血清生长激素水平显著低于对照组(VEH)。腹腔注射低剂量($5\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)和高剂量($50\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)的儿茶酚胺能神经毒素 6-HODA 也都降低草鱼鱼种血清生长激素水平,而且注射高剂量的草鱼鱼种在 2h 和 6h 后,其血清生长激素水平显著低于对照组(VEH)。

2.2 阿卜吗啡(APO, apomorphine)对草鱼血浆生长激素水平的影响(表 2)。

从背大动脉插管给 APO($7.1\text{mg}/\text{kgb}\cdot\text{w}$ 和 $12.5\text{mg}/\text{kgb}\cdot\text{w}$)后草鱼生长激素水平都显著高于对照组(PS),而且也都分别显著高于各自给药前的生长激素水平。

2.3 去甲肾上腺素(NE), NE+Clonidine 和 NE+Propranolol 对草鱼鱼种血清生长激素水平的影响(表 3)

腹腔注射 NE($50\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)2h, 6h 和 24h 后,草鱼鱼种血清生长激素水平显著低于对照组(VEH)。腹腔注射 β -肾上腺素能受体拮抗剂 Propranolol ($5\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)或 α -肾上腺素能受体增强剂 Clonidine($5\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)后草鱼鱼种血清生长激素水平与对照组(VEH)无显著差异。而同时注射 NE($50\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)和 β -肾上腺素能受体拮抗剂 Propranolol($5\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)2h 和 6h 后,草鱼鱼种血清生长激素水平显著高于单独注射 NE($50\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)的草鱼鱼种,同时注射 NE($50\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)和 α -肾上腺素能受体增强剂 Clonidine ($5\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)2h 和 6h 后,草鱼鱼种血清生长激素水平显著高于单独注射 NE($50\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)的草鱼鱼种。

表 1 α -甲基-对-酪氨酸(α -MPT)和 6-羟多巴胺(6-HODA)对草鱼鱼种血清生长激素(GH)水平的影响

Tab.1 The effects of α -methyl-p-tyrosine(α -MPT) and 6-hydroxydopamine (6-HODA) on the serum growth hormone (GH) levels of grass carp fingerling

药物 Medicine	剂量($\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$) Dosage	生长激素水平(ng/ml) Growth hormone levels		
		注射后 2h	注射后 6h	注射后 24h
α -MPT	5	120.3 $\pm$ 18.2	121.2 $\pm$ 11.6*	136.2 $\pm$ 13.4
α -MPT	50	110.6 $\pm$ 21.9	109.6 $\pm$ 26.1*	131.3 $\pm$ 32.0
6-HODA	5	125.1 $\pm$ 15.2	128.2 $\pm$ 29.3	216.1 $\pm$ 22.2
6-HODA	50	77.1 $\pm$ 7.1*	74.7 $\pm$ 13.1	181.8 $\pm$ 34.3
VEH		180.6 $\pm$ 37.5	218.0 $\pm$ 42.4	171.7 $\pm$ 15.9

表中 GH 值为平均 $\pm$ SEM。* 表示显著($p<0.05$)低于对照组(VEH)。
GH values are reported as mean $\pm$ SEM. * significantly lower than the controls (VEH) ($p<0.05$).

表 2 阿扑吗啡(APO, apomorphine)对草鱼血浆激素(GH)水平的影响

Tab.2 The effects of apomorphine (APO) on the plasma growth hormone (GH) levels of grass carp

药物 Medicine	剂量($\text{mg}/\text{kgb}\cdot\text{w}$) Dosage	生长激素水平(ng/ml) Growth hormone levels	
		给 药 前	给 药 后
APO	7.1	156.5 $\pm$ 27.5 (n=7)	375.8 $\pm$ 49.5* (n=25)
APO	12.5	85.8 $\pm$ 16.7 (n=7)	314.5 $\pm$ 35.9* (n=25)
PS		111.1 $\pm$ 38.3 (n=7)	71.7 $\pm$ 11.5 (n=25)

表中 GH 值平均值 $\pm$ SEM。n 为取样点数。* 表示显著($p<0.05$)高于给药前生长激素水平和对照组(PS)生长激素水平。GH values are reported as mean $\pm$ SEM. n represent the number of samples. * significantly higher than the value before treatment and the control ($p<0.05$).

表 3 去甲肾上腺素(NE), Clonidine, Propranolol 对草鱼鱼种血清生长激素(GH)水平的影响

Tab.3 The effects of norepinephrine (NE), clonidine and propranolol on the serum growth hormone (GH) levels of grass carp fingerling

药物 Medicine	剂量($\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$) Dosage	生长激素水平(ng/ml) Growth hormone levels		
		注射后 2h	注射后 6h	注射后 24h
NE	50	65.5 $\pm$ 3.7*	65.9 $\pm$ 6.6*	91.8 $\pm$ 8.9*
clonidine	5	152.3 $\pm$ 20.4	132.9 $\pm$ 22.1	163.6 $\pm$ 20.7
propranolol	5	120.1 $\pm$ 11.1	130.5 $\pm$ 13.4	205 $\pm$ 27.5
NE+clonidine	50,5	92.9 $\pm$ 7.2**	102.5 $\pm$ 13.1**	215.9 $\pm$ 37.8
NE+peopranolol	50,5	87.0 $\pm$ 9.5**	95.4 $\pm$ 4.3**	193.3 $\pm$ 21.1
VEH		185.3 $\pm$ 34.8	214.8 $\pm$ 39.3	208.5 $\pm$ 15.9

表中 GH 值为平均值 $\pm$ SEM。* 表示显著($p<0.05$)低于对照组(VEH); ** 表示显著($p<0.05$)高于注射 NE (50 $\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$)组。GH values are reported as mean $\pm$ SEM. * significantly lower ($p<0.05$) than the control (VEH); ** significantly higher ($p<0.05$) than the group injected NE (50 $\mu\text{g}/\text{gb}\cdot\text{w}$).

3 讨论

6-羟多巴胺 (6-HODA) 是儿茶酚胺能神经毒素^[10, 11], 而 α -甲基-对-酪氨酸 (α -MPT) 是儿茶酚胺合成抑制剂^[12], 腹腔注射 6-HODA 或 α -MPT 都能降低草鱼鱼种血清生长激素水平 (表 1), 因而儿茶酚胺可能参与了草鱼鱼种生长激素分泌的调节, 这与在金鱼中报道的结果一致^[7]。

在金鱼中, APO 经腹腔注射^[7]或混在食物中投喂^[13]都能提高其血清生长激素水平。为了进一步研究 APO 对鱼类生长激素分泌的影响, 本文采用背大动脉插管给药, APO 直接进入草鱼血液循环, 并且从背大动脉插管每间隔 15min 抽取血样, 以监测血液中生长激素水平的变化。实验结果表明: APO 从背大动脉插管进入血液循环后显著提高草鱼生长激素水平 (表 2), 进一步证实了金鱼中的实验结果。APO 是多巴胺 (DA) 受体激动剂, 多巴胺 (DA) 在金鱼中起着促进生长激素释放的作用^[10]。因而有关阿扑吗啡及多巴胺等对草鱼生长激素分泌的影响值得进一步探讨。

腹腔注射 NE 降低草鱼鱼种血清生长激素水平 (表 3)。在金鱼中, 腹腔注射 NE 也降低了其血清生长激素水平, 而且 NE 可能直接影响垂体 GH 细胞而抑制 GH 释放。 β -肾上腺素能受体拮抗剂 Propranolol 与 NE 一起注射到草鱼鱼种体内时, 其血清生长激素水平显著高于单独注射 NE 的草鱼鱼种, 而 α -肾上腺素能受体增强剂 Clonidine 与 NE 一起注射到草鱼鱼种体内时, 其血清生长激素水平也显著高于单独注射 NE 的草鱼鱼种 (表 3), 这些结果提示 NE 在草鱼鱼种体内可能结合到 β -肾上腺素能受体会抑制生长激素的分泌, 而结合至 α -肾上腺素能受体会刺激生长激素分泌。在正常条件下, NE 更易结合到 β -肾上腺素能受体而使 NE 对草鱼鱼种生长激素的释放表现出抑制作用。类似现象在哺乳类狒狒中也有报道^[11]。有关 NE 影响草鱼鱼种生长激素分泌的机理还需要进一步研究。此外, NE 还能通过改变鱼类的血液动力学状态^[12]而影响草鱼鱼种血液中 GH 含量。

参 考 文 献

- [1] Donaldson E M, Fagerlund U H M. Hormonal enhancement of growth in fish. In: Fish physiology, vol VIII, W. S. Hoar, D. J. Randall and J. R. Brett (editors), New York: Academic press. 1979, 445—597.
- [2] Ball J N. Hypothalamic control of the pars distalis in fishes, amphibians, and reptiles. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1981, **44**: 135—170.
- [3] Cook A F, Peter R E. Effects of hypothalamic lesions on serum growth hormone levels and growth rates in goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1983, **51**: 175—182.
- [4] Cook A F, Peter R E. The effects of somatostatin on serum growth hormone levels in the gold-fish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1984, **54**: 109—113.
- [5] Marchant T A, et al. The influence of mammalian and teleost somatostatin of the secretion of growth hormone from goldfish (*Carassius auratus* L.) pituitary fragments in vitro. *Regulatory peptides*, 1987, **17**: 41—52.
- [6] Helms L M, et al. Studies on the regulation of growth hormone release from the proximal pars distalis of male tilapia, *Oreochromis mossambicus*, in vitro. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1987, **65**: 48—55.
- [7] Chang J P, et al. Influences of catecholamines on growth hormone release in female goldfish, *Carassius auratus*. *Neuroendocrinology*, 1985, **40**: 463—470.
- [8] Thorell J I, Johansson B G. Enzymatic iodination of polypeptides with ¹²⁵I to high specific activity. *Biochemica*

Biophysica Acta, 1971, **251**: 363—369.

- [9] Cook A F, Wilson S W, Peter R E. Development and validation of a carp growth hormone radioimmunoassay. *Gen. Comp. Endocrinol.* 1983, **50**: 335—347.
- [10] Wong A O, Chang J P, Peter R E. In vitro and in vivo evidence that dopamine exerts growth hormone-releasing activity in goldfish. *Am. J. Physiol.* 1993, **264**: (Endocrinol. Metab. 27): E925—E932.
- [11] McWilliam J R, Meldrum B S. Noradrenergic regulation of growth hormone secretion in the baboon. *Endocrinology*, 1983, **112**: 254—259.
- [12] Payan P, Girard J P. Adrenergic receptors regulating patterns of blood flow through the gills of trout. *Am. J. Physiol.*, 1977, **232**: H18—H23.

EFFECTS OF CATECHOLAMINES ON GROWTH HORMONE (GH) SECRETION IN GRASS CARP (CTENOPHARYNGODONIDELLUS)

Zhang Weimin, Zhang Lihong and Lin Haoran

(Biology Department, Zhong shan University Guangzhou 501275)

Abstract

The effects of catecholamines on the growth hormone (GH) secretion in grass carp, were investigated. α -MPT (i. p., 50ug / gb · w and 5ug / gb · w) decreased significantly the GH levels in the serum of grass carp fingerling 6 hours post-injection. 6-HODA of higher dose (i. p., 50ug / gb · w) decreased significantly the GH levels in the fingerlings 2 hours and 6 hours post-injection, whereas 6-HODA of lower dose (i. p., 5ug / gb · w) decreased significantly the GH levels in the fingerlings 2 hours post-injection. APO (via dorsal aorta cannulae, 7.1 mg / Kgb · w and 12.5mg / Kgb · w) increased significantly the serum GH levels. NE (i. p., 50ug / gb · w) decreased significantly the GH levels in the serum of the fingerlings 2 hours, 6 hours and also 24 hours post injection. Intraperitoneal injections of β -adrenergic antagonist Propranolol (5 ug / gb · w) or α -adrenergic agonist Clonidine (5ug / gb · w) did not imposed any significant influences on the GH levels in the serum of the grass carp fingerling. The GH levels in the serum of grass carp fingerling injected i. p. with NE+Clonidine (50ug / gb · w, 5ug / gb · w) or NE+Propranolol (50ug / gb · w, 5ug / gb · w) were significantly higher than those injected with NE (50ug / gb · w) alone. It is indicated that catecholamines may be involved in the regulation of GH secretion in grass carp, and that NE can bind the β -adrenergic receptors to inhibit GH secretion, and bind the α -adrenergic receptors to stimulate GH secretion in grass carp fingerling.

Key words Growth hormone(GH), Catecholamines, Grass carp, Grass carp fingerling