

龙胆碱对反复高热惊厥大鼠的解热抗惊厥作用机制探讨

刘刚*

(连云港中医药高等职业技术学校中医药系, 江苏连云港 222007)

[摘要] **目的:**探讨龙胆碱对反复高热惊厥大鼠的抗惊厥作用机制。**方法:**60只SD大鼠随机分为健康对照组、模型组、龙胆碱高、低剂量组,各15只。除健康对照组外,其余大鼠均按照文献方法制作高热惊厥大鼠模型。大鼠隔日诱导惊厥1次,共诱导10次,20d。龙胆碱高、低剂量组每次惊厥后立即分别给予龙胆碱生理盐水溶液 $200, 50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ip, 模型组和健康对照组立即给予同体积生理盐水。观察各组大鼠惊厥潜伏期和惊厥持续时间;末次惊厥24h后检测血清白细胞介素-1, 6, 8(IL-1, IL-6, IL-8), 肿瘤坏死因子- α (TNF- α), 干扰素- α (IFN- α)水平及脑组织匀浆中环磷酸腺苷(cAMP), 前列腺素 E_2 (PGE $_2$)水平。**结果:**龙胆碱高、低剂量组大鼠惊厥潜伏期明显长于模型组($P < 0.05$);惊厥持续时间明显短于模型组($P < 0.01$)。($P < 0.05$);龙胆碱高、低剂量组血清IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , 脑组织PGE $_2$ 水平明显低于模型组($P < 0.05$)且高剂量组低于低剂量组($P < 0.05$)。**结论:**龙胆碱具有解热抗惊厥作用,其作用机制与体内细胞因子改变进而影响下丘脑PGE $_2$ 水平相关。

[关键词] 龙胆碱;惊厥;机制

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)19-0235-03

Mechanism Involved in Anticonvulsant Effect of Gentianine in Rats with Recurrent Febrile Seizures

LIU Gang*

(Department of Chinese Medicine, Higher Vocational Technical School of Chinese Medicine, Lianyungang 222007, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the mechanism involved in anticonvulsant effect of gentianine in rats with recurrent febrile seizures. **Method:** Sixty SD rats were randomly divided into the healthy control group, model group, gentianine high-dose ($200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) group, gentianine low-dose ($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) group ($n = 15$, each). Except the health control group, all rats were induced high fever seizures according to the reference method. The rats were induced convulsion every other day, totally 10 times in 20 d. When convulsion happened, gentianine was injected (ip) immediately in the gentianine high-dose group and the low-dose group. In model group and health control group, the rats were given the same volume of normal saline. Convulsion latency and convulsion duration; serum IL-1, IL-6, IL-8 and TNF- α , IFN- α levels; brain homogenate cAMP and PGE $_2$ level were investigated for the rats. **Result:** In gentianine groups, convulsions incubation period was significantly longer than that in the model group ($P < 0.05$); convulsion duration was significantly less than that in the model group ($P < 0.01$). In model group, IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α and PGE $_2$ levels were significantly higher than those in the control group and gentianine groups ($P < 0.05$). In gentianine high-dose group, IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α and PGE $_2$ levels were significantly lower than those in gentianine low-dose group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Gentianine has antipyretic and anticonvulsant effect, which has relationship with cytokines affecting the hypothalamic PGE $_2$ levels.

[Key words] gentianine; convulsions; mechanism

高热惊厥 (febrile seizures, FS) 是小儿时期常见的惊厥性疾病,指单纯发热诱发的惊厥。FS 多发生于上呼吸道感染的初期,当体温骤升至 38.5 ~ 40 °C 或更高时,突然发生惊厥。惊厥患儿起病急,如得不到及时救治,惊厥时间过长或多次复发可使脑细胞受损,影响智力发育^[1]。FS 多见于 1 ~ 3 岁的儿童,发病率为 3% ~ 5%,复发率为 30% ~ 40%。FS 发病机制较复杂,发病机制及治疗方法一直为临床研究的热点^[2-3]。龙胆碱为龙胆科植物龙胆中的一种成分,有研究表明^[4],龙胆碱具有一定的抗惊厥、解热、脑保护作用。本研究旨在探讨龙胆碱对反复高热惊厥大鼠的抗惊厥作用机制。

1 材料与方法

1.1 试剂和药物 龙胆药材购于哈尔滨市田园药材公司,粉碎后抽滤,减压回收,后加入 0.9% 生理盐水配成 4 000 mg·L⁻¹ 的溶液备用。

1.2 动物分组 SD 雄性大鼠,体重 (200 ± 30) g,上海斯莱克实验动物有限公司提供,许可证号 SCXK(沪)2003-003。60 只大鼠随机分为:健康对照组、模型组、龙胆碱高、低剂量组,各 15 只。

1.3 造模与给药 除健康对照组外,其余大鼠均按文献方法^[1]制作高热惊厥模型:热水浴箱内水深以大鼠沿箱壁站立时仅露出头部为准,大鼠在水中 5 min 如不惊厥则取出,5 min 内发生惊厥者则在惊厥开始时立即取出。大鼠隔日诱导惊厥 1 次,共诱导 10 次,20 d。龙胆碱高、低剂量组每次惊厥后立即分别给予龙胆碱生理盐水溶液 200, 50 mg·kg⁻¹, ip,模型组和健康对照组给予同体积生理盐水。

1.4 观测指标

1.4.1 惊厥潜伏期和惊厥持续时间 惊厥潜伏期为从诱导惊厥开始至惊厥发生的时间,取 10 次诱导的平均值。

1.4.2 血清细胞因子检测 各组大鼠末次惊厥后

24 h,20% 乌拉坦麻醉,打开胸腔,右心耳取血,静置 15 min 后 1 500 r·min⁻¹ 离心分离血清,ELISA 法检测血清白细胞介素 1,6,8 (IL-1, IL-6, IL-8),肿瘤坏死因子-α (TNF-α),α 干扰素 (IFN-α) 水平。

1.4.3 脑匀浆环磷酸腺苷 (cAMP),前列腺素 E₂ (PGE₂) 水平检测 取血后断头取脑,切取大鼠下丘脑组织,取 50 mg 制作脑匀浆,ELISA 法检测脑匀浆内 cAMP, PGE₂ 水平。所用试剂盒均购自北京中杉金桥生物有限公司,操作步骤参考试剂说明书。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 10.0 统计软件,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较用 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对大鼠惊厥潜伏期、惊厥持续时间的影响 惊厥发作时,大鼠表现为易激惹,攻击性强或反应迟钝,个别大鼠出现尖叫、不规则呼吸、发绀等。龙胆碱高、低剂量组大鼠惊厥潜伏期明显长于模型组 (*P* < 0.05);惊厥持续时间明显短于模型组 (*P* < 0.01)。龙胆碱高、低剂量组间无显著差异。见表 1。

表 1 龙胆碱对大鼠惊厥潜伏期、惊厥持续时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	惊厥潜伏期/min	惊厥持续时间/s
模型	-	4.03 ± 0.45	149.25 ± 24.3
龙胆碱	200	4.47 ± 0.47 ¹⁾	121.56 ± 19.54 ²⁾
	50	4.56 ± 0.61 ¹⁾	124.37 ± 17.84 ²⁾

注:与模型组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01。

2.2 对大鼠血清中 IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α, IFN-α 水平的影响 与健康对照组比较,模型组 IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α 水平明显增加 (*P* < 0.05);与模型组比较,龙胆碱高、低剂量组 IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α 水平明显降低 (*P* < 0.05),高剂量组低于龙胆碱低剂量组 (*P* < 0.05)。见表 2。

表 2 龙胆碱对大鼠血清 IL-1, IL-6, IL-8, TNF-α, IFN-α 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	IL-1/μg·L ⁻¹	IL-6/ng·L ⁻¹	IL-8/ng·L ⁻¹	TNF-α/ng·L ⁻¹	IFN-α/ng·L ⁻¹
健康对照	-	0.23 ± 0.02 ¹⁾	56.24 ± 6.45 ¹⁾	16.23 ± 2.14 ¹⁾	18.11 ± 1.24 ¹⁾	19.99 ± 1.89
模型	-	0.36 ± 0.03	150.12 ± 16.32	22.25 ± 3.24	21.24 ± 2.57	21.23 ± 2.48
龙胆碱	50	0.29 ± 0.03 ¹⁾	125.22 ± 13.47 ¹⁾	20.14 ± 2.48 ¹⁾	19.17 ± 2.05 ¹⁾	20.27 ± 2.08
	200	0.25 ± 0.02 ^{1,2)}	102.07 ± 11.27 ^{1,2)}	18.27 ± 1.57 ^{1,2)}	17.29 ± 1.89 ^{1,2)}	20.22 ± 3.58

注:与模型组比较¹⁾ *P* < 0.05;龙胆碱高剂量组与低剂量组比较²⁾ *P* < 0.05 (表 3 同)。

2.3 对大鼠脑匀浆 cAMP, PGE₂ 水平的影响 与健康对照组比较,模型组 PGE₂ 水平明显增加 (*P* < 0.05);龙胆碱高、低剂量组 PGE₂ 水平明显降低

(*P* < 0.05);高剂量组低于低剂量组 (*P* < 0.05)。各组 cAMP 水平无统计学差异。见表 3。

表3 龙胆碱对大鼠脑匀浆中 cAMP, PGE₂ 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	cAMP/nmol·L ⁻¹	PGE ₂ /ng·L ⁻¹
健康对照	-	8.89 ± 0.74	43.12 ± 4.56 ¹⁾
模型	-	9.11 ± 0.84	51.23 ± 6.74
龙胆碱	50	8.23 ± 0.74	46.01 ± 4.56 ¹⁾
	200	8.54 ± 0.78	42.01 ± 5.51 ^{1,2)}

3 讨论

龙胆具有清肝泻火的功效,临床上常用于治疗焦湿热等症,有研究表明^[5],龙胆复方制剂具有明显的解热抗惊厥作用。龙胆中的活性成分龙胆苦苷经肠道菌群代谢后的产物之一为龙胆碱,其具有一定的抗高热惊厥及明显的神经元保护作用^[6]。刘学伟等^[7]研究表明,龙胆碱、龙胆苦苷、龙胆水提取液均能降低发热模型大鼠的体温,龙胆碱的解热作用强于其他二者,龙胆碱可能是中药龙胆解热作用的更直接物质,其解热作用机制可能与降低血清中 IL-6 水平,进而影响下丘脑 PGE₂ 含量相关。刘学伟等^[8]研究了龙胆碱对反复高热惊厥大鼠血清 IL-8, TNF- α , IFN- α 水平的影响,结果表明,龙胆碱具有一定的抗惊厥作用,其作用机制与体内细胞因子的改变有关。姚素媛等^[9]探讨了龙胆碱对高热惊厥模型大鼠脑内氨基酸类神经递质含量及海马区 γ -氨基丁酸(GABA)、谷氨酸(Glu)受体的影响,结果表明,龙胆碱对惊厥所致的脑损伤的保护作用机制与脑内神经递质 GABA, Glu 改变有关, GABA 递质的增高与 GABA 受体的相应增加是其作用的机制之一。

本研究中,龙胆碱高、低剂量组大鼠的惊厥潜伏期高于模型组、惊厥持续时间明显短于模型组,可见经龙胆碱干预后,惊厥发病程度减轻,但病情减轻的程度与龙胆碱剂量高低关系不大。高热惊厥模型大鼠血清或脑组织匀浆中 IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α , PGE₂ 水平明显高于正常对照组,推测以上细胞因子参与了脑组织神经功能异常与热性惊厥的发生。PGE₂ 为一种重要的细胞生长及调节因子,有研究表明脑室内注射 PGE₂ 可引起实验动物发热反应^[10-13],本研究中发热惊厥大鼠脑匀浆内 PGE₂ 水平明显升高也证明了这一点。ip 龙胆碱后,上述细胞因子水平明显降低,高剂量龙胆碱组较低剂量龙胆碱组降低更加明显,具有剂量依赖性。对以上细胞因子水平的调节可能是龙胆碱抗发热惊厥的部分

作用机制。

[参考文献]

- [1] 杨志仙,秦炯,周国平,等. 发育期大鼠高热惊厥脑损伤模型的建立[J]. 北京大学学报:医学版, 2002, 34(3): 225.
- [2] Klein N P, Lewis E, Baxter R, et al. Measles-containing vaccines and febrile seizures in children age 4 to 6 years[J]. Pediatrics, 2012, 129(5): 809.
- [3] Gupta M, Batra A, Trivedi A, et al. Restless leg syndrome, periodic limb movements, febrile seizures and attention deficit hyperactivity disorder in an indian family [J]. Ann Indian Acad Neurol, 2012, 15(1): 39.
- [4] 陈雷,王海波,孙晓丽,等. 龙胆苦苷镇痛抗炎药理作用研究[J]. 天然产物研究与开发, 2008, 20(5): 903.
- [5] 陈长勋,刘占文,孙峥嵘,等. 龙胆苦苷抗炎药理作用研究[J]. 中草药, 2003, 34(9): 814.
- [6] 唐卡毅. 龙胆泻肝胶囊、龙胆泻肝汤临床应用研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2009, 18(10): 1197.
- [7] 刘学伟,曹敏,刘树民. 龙胆碱的解热作用及机制研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(24): 128.
- [8] 刘学伟,姚素媛,刘树民,等. 龙胆碱对反复高热惊厥大鼠血清 IL-8、TNF- α 和 IFN- α 水平的影响[J]. 中医药信息, 2009, 26(5): 52.
- [9] 姚素媛,刘学伟,刘树民. 龙胆碱对高热惊厥模型大鼠脑内氨基酸类神经递质含量及海马区 GABA_B, Glu 受体的影响[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(7): 1633.
- [10] 韩颖,秦炯,常杏芝,等. 发育期大鼠高热惊厥前后海马 γ -氨基丁酸 B 受体亚基表达的变化[J]. 北京大学学报:医学版, 2003, 35(3): 288.
- [11] Marais M, Maloney S K, Gray D A. Brain IL-6-and PG-dependent actions of IL-1 β and lipopolysaccharide in avian fever [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2011, 301(3): R791.
- [12] Krekels E H, Angesjö M, Sjögren I, et al. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of the inhibitory effects of naproxen on the time-courses of inflammatory pain, fever, and the *ex vivo* synthesis of TXB₂ and PGE₂ in rats[J]. Pharm Res, 2011, 28(7): 1561.
- [13] Morrison S F, Nakamura K. Central neural pathways for thermoregulation[J]. Front Biosci, 2011, 16: 74.

[责任编辑 何伟]