

静安口服液对小儿多发性抽动症模型大鼠 脑内多巴胺转运体分布的影响

隆红艳¹, 张骝^{2*}

(1. 南京中医药大学, 南京 210046; 2. 南京市中医院儿科, 南京 210001)

[摘要] **目的:**探讨小儿多发性抽动症(Tourette 综合征, TS)发病与突触前多巴胺神经纤维支配的关系, 观察静安口服液对小儿多发性抽动症模型大鼠脑内多巴胺转运体(DAT)分布的影响。**方法:**ip DOI[选择性 5-HT(2A/2C)受体激动剂, 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane] 1 mg·kg⁻¹, 连续 21 d, 诱导大鼠抽动模型, 以出现头部抽动、耸肩及口腔运动、理毛、舔食前爪等刻板动作作为该模型诱导成功的观察指标。分为空白对照组、模型组、静安口服液组(11 g·kg⁻¹)、硫必利组(0.025 g·kg⁻¹)4 组, ig 给药 21 d。各组以⁹⁹Tc-TRODAT-1 为配体, 采用 γ -放射免疫计数器测定大鼠脑内 DAT 分布。**结果:**模型组纹状体、大脑皮层、海马 3 个部位放射性摄取比值(CMP/GB)均比对照组明显增高($P < 0.05$), 静安口服液组 3 个部位放射性摄取比值(CMP/GB)均比模型组明显减少($P < 0.05$), 具有统计学差异。**结论:**Tourette 综合征模型大鼠脑内多巴胺转运体分布较正常大鼠显著增多, 致使多巴胺功能亢进, 导致 Tourette 综合征发生; 静安口服液可能通过减少脑内 DAT 分布, 从而降低突触前多巴胺神经元的过度支配而发挥治疗作用。

[关键词] 静安口服液; 多发性抽动症; 多巴胺转运体; 大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)21-0181-03

[DOI] CNKI:11-3495/R.20110906.1108.006 **[网络出版时间]** 2011-09-06 11:08

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110906.1108.006.html>

Effect of Jing'an Oral Liquid on Distribution of Dopamine Transporter in Brain of Rat Model with Tourette Syndrome

LONG Hong-yan¹, ZHANG Biao^{2*}

(1. Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210046, China;

2. Nanjing Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210001, China)

[Abstract] **Objective:** To Explore the relationship between pathogenesis of Tourette syndrome(TS) and dominant with presynaptic dopamine nerve fibers. At the same time to observe the effect of Jing'an oral liquid on distribution of dopamine transporter of TS model rats. **Method:** The model of TS was established by peritoneal injection of 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI) 1 mg·g⁻¹ for 21 days. SD rats were randomly divided into 4 groups, the control group, the model group, Jing'an oral liquid group(11 g·kg⁻¹) and tiapride group(0.025 g·kg⁻¹), and drugs were orally administered for 21 days. In each group with ⁹⁹Tc-TRODAT-1 as a ligand, the distribution of dopamine transporter in rat brain was measured by γ -radiation immunity Counter. **Result:** In model group, three sites' (striatum, cerebral cortex and hippocampus) radioactive uptake ratio (CMP / GB) was

[收稿日期] 20110319(002)

[基金项目] 高等学校博士学科点专项科研基金项目(20070315009);南京中医药大学中医儿科学学科开放课题(EZK2009018)

[第一作者] 隆红艳, 副主任中医师, 在读博士研究生, 从事中医药治疗小儿神经及精神系统疾病、脾胃系疾病的临床及实验研究, Tel: 025-52276334; E-mail: hongyan3128@163.com

[通讯作者] * 张骝, Tel: 025-52276280, E-mail: jiejiejie9999@sina.com

significantly higher than that in control group ($P < 0.05$). In Jing'an oral liquid group three sites' radioactive uptake ratio (CMP/GB) was lower than that in model group ($P < 0.05$) with a statistically significant difference.

Conclusion: Compared with normal group, the distribution of dopamine transporter (DAT) in model group brain significantly is increased, which may cause the dopamine hyperfunction and lead to TS. Jing'an oral liquid may be play a therapeutic role by reducing the distribution of DAT, thereby reducing the presynaptic dopamine neurons over-dominance.

[Key words] Jing'an oral liquid; Tourette syndrome (TS); dopamine transporter (DAT); rat

小儿多发性抽动症是一种儿童期起病的,通常伴有运动和行为异常的慢性神经精神障碍性疾病。1885 年法国医生 Gille de la tourette 首先报道了 9 例具有本病临床特征的患儿,本病又称为 Tourette 综合征 (Tourette syndrome, TS)^[1]。最新流行病学研究资料表明,本病的发病率在 1.0% ~ 4%,且有逐年增高的趋势。本病是一个具有复杂病因和多样表型的临床综合征,其病因和发病机制目前仍不十分清楚,一般认为发病与遗传和神经递质系统的异常有关。研究表明 TS 患者存在脑纹状体多巴胺能神经元过度支配现象^[2],而多巴胺转运体 (DAT) 是位于中枢多巴胺神经元突触前膜的膜蛋白,其功能为多巴胺神经元发放神经冲动后,再摄取突触间隙的多巴胺 (DA),终止神经细胞间的信息传导。它是突触间隙多巴胺代谢途径中最重要的一种,在调节间隙内多巴胺浓度中起着重要作用。DAT 密度变化可以反映多巴胺能神经元支配数量,二者之间具有量变的一致性。

静安口服液是由生地黄、白芍、天麻、钩藤、地龙、僵蚕等药物组成,按现代中药制剂工艺研制而成的院内专病中药方药,具有滋肾平肝、息风化痰功效。8 年来经治 200 余例患者,已获得较为显著的疗效^[3,4]。本实验通过⁹⁹Tc 标记的 2 β -N,N-双(2-巯乙基)二撑二胺基甲基,3 β -(4-氯苯基)托烷 (TRODAT-1),可以观察 DOI 诱导的 TS 模型大鼠脑内 DAT 功能变化,揭示 TS 的发病机制和静安口服液的效应机制。

1 材料

1.1 动物 SD 雄性大鼠,40 只,体重(200 \pm 10)g,购自浙江省实验动物中心,合格证号 SCXV(浙)D2005-100。

1.2 药品、试剂与仪器 静安口服液由生地黄、白芍、天麻、钩藤、地龙、制僵蚕等药物按 2:1.5:1.5:1:1.5:1.5 的比例组方,其制备工艺为:分别采用乙醇

提取、水提醇沉法,合并提取液,浓缩至适当密度,调节 pH 值,加入单糖浆适量,离心,加水调整含量,搅匀,灌装即得;质量标准为:采用 TLC 鉴别制剂中天麻、地龙、钩藤、白芍等组分,制定了相对密度、pH 值等限度,采用 HPLC 测定制剂中主要成分芍药苷的含量。南京市中医院制剂室提供,按生药量计为 1.1 g·mL⁻¹,批号 090610。硫必利片,江苏恩华药业集团有限公司生产,批号 20090904。DOI[选择性 5-HT (2A/2C) 受体激动剂 1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane],由 Sigma 公司生产,上海博蕴生物公司提供。⁹⁹TcO₄⁻ 新鲜淋洗液(南京森科核药房),TRODAT-1 试剂盒(江苏省原子医学研究所), γ -放射免疫计数器 GC-911 型(中佳光电)。

2 方法

2.1 造模及分组给药 大鼠购回后适应性喂养 3 d,分笼饲养,常规饮食。随机分为空白组、模型组、静安组、硫必利组,每组 10 只。模型组、静安组、硫必利组 ip 1 mg·kg⁻¹ 的 DOI,诱导大鼠抽动模型。大鼠 ip DOI 后出现头部抽动、耸肩及口腔运动、理毛、舔食前爪等刻板动作,其中头部抽动明显且容易分辨,作为该模型诱导成功的观察指标;第 1 次 ip 给药后抽动行为可持续约 2 h,连续给药 10 d 后,大鼠产生较持久的抽动行为。连续 ip DOI 21 d,既能保证模型的稳定性,又与治疗组 ig 时间保持一致。空白组 ip 相同容积的生理盐水。同时静安组、硫必利组分别 ig 静安口服液 11 g·kg⁻¹、硫必利 0.025 g·kg⁻¹,空白组、模型组 ig 同容积生理盐水,共 21 d (静安口服液临床疗程为 21 ~ 28 d)。

2.2 ⁹⁹Tc-TRODAT-1 的标记^[5] 将 2.0 mL ⁹⁹TcO₄⁻ 新鲜淋洗液加入 TRODAT-1 试剂盒中(含 100 mg TRODAT-1,10 mg 葡庚糖酸钠,20 mg 氯化亚锡和适量赋型剂),使之全部、充分溶解,100 °C 加热 30 min,冷却至室温,即得⁹⁹Tc-TRODAT-1,稀释备用。经测放射化学纯度大于 90%。

2.3 脑内分布 每组大鼠经尾静脉注射 ^{99}Tc -TRODAT-1 0.15 mL(5.55 MBq),注射后1 h断颈快速取出脑组织,在冰碟上分离出纹状体、大脑皮层和海马,分别称重后用 γ -放射免疫计数器测定放射性摄取值(CMP),再除以各个组织的质量(mg),计算各个组织的摄取比值 CMP/GB,并进行统计学处理。

2.4 统计学处理 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据用SPSS 11.5 统计软件处理,组间比较用 t 检验, $P <$

0.05 有统计学意义。

3 结果

由表1可知,模型组脑内纹状体、大脑皮层、海马中的放射性摄取比值较空白组明显增高,即模型组 ^{99}Tc -TRODAT-1 与 DAT 结合显著高于对照组($P < 0.05$);3个部位的治疗组放射性摄取比值均较模型组明显降低,即治疗组 ^{99}Tc -TRODAT-1 与 DAT 结合显著低于模型组($P < 0.05$),具有统计学差异。

表1 静安口服液对 TS 大鼠脑组织各部位 DAT 分布的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

CMP/GB

| 组别 | 剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ | 纹状体 | 大脑皮层 | 海马 |
|-----|-------------------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|
| 空白 | - | $3.03 \pm 0.83^{1)}$ | $2.49 \pm 0.72^{1)}$ | $1.98 \pm 0.75^{1)}$ |
| 模型 | - | 5.43 ± 1.39 | 4.61 ± 1.58 | 4.06 ± 1.34 |
| 静安 | 11 | $3.16 \pm 1.28^{1)}$ | $2.58 \pm 1.44^{1)}$ | $2.42 \pm 1.08^{1)}$ |
| 硫必利 | 0.025 | $3.21 \pm 0.97^{1)}$ | $2.40 \pm 0.97^{1)}$ | $2.18 \pm 1.30^{1)}$ |

注:与模型组比较 $^{1)}P < 0.05$ 。

4 讨论

小儿多发性抽动症的病因与中枢单胺类神经递质异常有关,许多研究认为过度活跃的多巴胺系统是重要原因。在多巴胺突触传递过程中,由于 DAT 分布异常而导致的多巴胺在突触间隙的代谢不平衡,也是造成多巴胺系统过度活跃的重要因素之一。突触间隙多巴胺代谢有两种途径:①被 DAT 再摄取入多巴胺神经元以便进一步被再次利用;②在儿茶酚胺氧位甲基转移酶(COMT)等的催化作用下变成高香草酸而降解。在突触间隙,约3/4的多巴胺被再摄取,故而 DAT 分布水平能很好地反映多巴胺神经元的功能状况。

^{99}Tc -TRODAT-1 属 DAT 类显像剂,对于 DAT 标记具有高度的特异性,且单胺特异转运蛋白的变化比多巴胺受体的变化更敏感和直接,是反映多巴胺系统功能的重要指标。本研究用 ^{99}Tc 标记的 TRODAT-1 观察 TS 大鼠脑内功能,脑内分布实验显示模型组脑内纹状体、大脑皮层、海马中的放射性活性较空白组明显增高,即模型组 ^{99}Tc -TRODAT-1 与 DAT 特异性结合显著高于对照组($P < 0.05$),说明造模成功、稳定;3个部位的治疗组放射性活性均较模型组明显降低,即治疗组 ^{99}Tc -TRODAT-1 与 DAT 特异性结合显著低于模型组($P < 0.05$),二者无显著性差异,说明静安口服液、硫必利有很好的降低 DAT 脑内分布作用。尽管硫必利具有与静安口服液相似的调节 DAT 的药理作用,且临床作为治疗 TS 的常用药能快速抑制抽动症状,但是由于其具有嗜

睡、肝功能损伤、肌肉强直及运动失调等副作用,不适合长期应用;相比之下,静安口服液具有副作用小、疗效确实而持久,并同时能调节患儿身体阴阳平衡和脏腑功能、全面改善患儿身体状况的独特优势,因而更具发展潜质^[6]。

总之,本实验结果支持 TS 发病的以纹状体为主的多巴胺系统活动亢进学说;表明静安口服液可能通过减少脑内 DAT 分布,从而降低突触前多巴胺神经元的过度支配而发挥治疗作用。

[参考文献]

- [1] 陶国泰. 儿童少年精神医学[M]. 南京:江苏科学技术出版社,1999:217.
- [2] Serra-Mestres J, Ring H A, Costa D C et al. Dopamine transporter binding in Gilles de la Tourette syndrome: a [^{123}I]FP-CIT/SPECT study[J]. Acta Psychiatr Scand, 2004,109(2):140.
- [3] 国家食品药品监督管理局. 药物临床试验批件,批件号 2008L11133,药物名称静安口服液[P].
- [4] 张骝,孔群,许惠琴,等. 静安口服液治疗小儿多发性抽动症的药效研究[J]. 中国药师,2008,11(8):878.
- [5] 杜明华,贾鹏,王夕海,等. 大鼠帕金森病模型 ^{99}Tc -TRODAT-1 的脑内分布[J]. 第四军医大学学报,2006,27(18):1658.
- [6] 张骝,孔群,林节,等. 静安口服液为主治疗小儿多发性抽动症的临床研究[J]. 南京中医药大学学报,2008,24(3):156.

[责任编辑 聂淑琴]