

静安口服液对多发性抽动症模型大鼠脑组织及血浆多巴胺、高香草酸的影响

张 骠¹, 隆红艳^{1*}, 谈焯忠¹, 段玲玲²

(1. 南京市中医院, 江苏 南京 210001; 2. 南京中医药大学, 江苏 南京 210029)

[摘要] 目的: 观察静安口服液对小儿多发性抽动症(Tourette综合征)模型大鼠脑组织、血浆多巴胺(DA)和高香草酸(HVA)含量的影响。方法: Tourette综合征模型用ip DOI(连续20d)的方法, 分为空白对照组、模型组、静安口服液组、硫必利组4组。多巴胺(DA)和高香草酸(HVA)用HPLC法测定。结果: 静安口服液能降低脑组织中DA和HVA含量($P < 0.01$), 作用与硫必利相似。血浆中DA含量极微量, 血浆中HVA未检出。结论: 静安口服液模型组大鼠脑组织DA和HVA含量较空白对照组明显升高, 而静安口服液、硫必利二组含量较模型组明显降低, 因此, 推测静安口服液作用机理与调整脑内DA和HVA神经递质, 减少DA和HVA的异常释放, 从而降低突触前多巴胺神经元的过度支配有关。

[关键词] 静安口服液; 小儿多发性抽动症; 多巴胺; 高香草酸; 大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)01-0074-02

小儿多发性抽动症(Tourette综合征, TS)是一种复杂的神经精神障碍, 以多种运动抽动和发声抽动为主要特点的综合征^[1], 近年来有增多趋势。其病因尚不清楚, 一般认为发病与遗传和神经递质系统的异常有关。研究表明包括Tourette综合征在内的一些神经精神疾病都与多巴胺递质传递障碍有关, 其中多巴胺系统功能亢进备受重视^[2]。

静安口服液具有滋肾平肝、熄风化痰功效, 临床治疗Tourette综合征疗效显著^[3]。本实验将观察其对Tourette综合征模型大鼠脑组织、血浆多巴胺(DA)和高香草酸(HVA)含量的影响, 以期深入阐明Tourette综合征的发病机制及静安口服液的药效机理。

1 材料与方法

1.1 药品与试剂 静安口服液, 南京市中医院制剂室提供, 浓度为生药 $1.1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$, 批号: 081024。DOI[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。

1.2 实验仪器 高效液相仪(HPLC), 日本岛津L-ECD-6A型; 电化学检测器; LC-20 AD双泵; SIL-20AC自动进样器, CTO-20A柱温箱, CBM-20A工作站; 台式冰冻离心机, 美国BECKMAN公司GS-15R型。

1.3 造模及给药 SD大鼠40只, 雄性(200 ± 10)g, 随机分为4组, 即空白对照组、模型组、静安口服液组、硫必利组, 每组10只, 后3组按 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量ip DOI, 诱导大鼠头部抽动模型, 1次/d, 连续20d。大鼠给予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次给予DOI后抽动维持约2h, 连续给予10d后抽动持续存在。空白组ip同量的生理盐水。造模同时开始给药, 分别ig静安口服液、硫必利20d, 空白组、模型组ig同量生理盐水。

1.4 样本采集 末次给药后夜间禁食不禁水, 次日眼眶取血4~5mL, 分别入EDTA抗凝管, 冷冻离心($3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 10min), 取上清于 -80°C 冰箱保存; 各组大鼠脱颈处死, 冰碟上迅速取出脑组织, 称重后置 -80°C 冰箱保存。

1.5 多巴胺(DA)和高香草酸(HVA)的测定 脑组织样本处理: 取大鼠脑组织0.70g, 加入0.5mL 10% HClO_4 溶液匀浆沉淀蛋白, 转移至5mL的具塞

[收稿日期] 2009-04-20

[基金项目] 教育部高等学校博士学科点专项科研基金(20070315009); 江苏省科技厅社会发展项目(BS2007017)

[通讯作者] *隆红艳, Tel: (025) 52276334; E-mail: hongyan3128@163.com

试管中,用三蒸水定容至刻度。取上述样品液 1 mL 以 12 000 r · min⁻¹ 离心 15 min,取上清液 490 μL 于 PE 管中,加入 10 μL 10 μg · mL⁻¹ 内标溶液,涡旋 30 s,20 μL 注入色谱分析仪分析。血浆样本处理:取 300 μL 大鼠血,加入 50 μL 30% 三氯乙酸,混匀沉淀蛋白,以 12 000 r · min⁻¹ 离心 10 min,取上清液 100 μL 于 PE 管中,20 μL 注入色谱分析仪分析。色谱条件:流动相:柠檬酸:35 mmol · L⁻¹,磷酸二氢钠:45 mmol · L⁻¹ 庚烷磺酸钠:2 mmol · L⁻¹,EDTA:0.25 mmol · L⁻¹,乙腈:5.5% (v/v),NaOH 调 pH = 4.15,流速为 1.0 mL · min⁻¹,柱温为 30℃。

1.6 统计学处理 实验结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据用 SPSS11.5 统计软件处理,组间比较用 *t* 检验。

2 实验结果

根据测得的峰高值按回归方程计算 DA 和 HVA 的含量并进行统计学处理,结果见表 1、表 2。

表 1 静安口服液对 TS 大鼠脑组织中 DA 和 HVA 含量的影响(ng · g⁻¹, $\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量 (g · kg ⁻¹) | DA | HVA |
|------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| 空白组 | - | 547.66 ± 207.84 ¹⁾ | 65.53 ± 17.93 ¹⁾ |
| 模型组 | - | 1 108.98 ± 241.18 | 96.29 ± 23.88 |
| 静安组 | 11.0 | 669.67 ± 167.59 ¹⁾ | 77.92 ± 8.76 ¹⁾ |
| 硫必利组 | 2.5 × 10 ⁻² | 759.17 ± 144.42 ¹⁾ | 68.99 ± 11.42 ¹⁾ |

注:与模型组相比较¹⁾ *P* < 0.01

表 1 显示,模型组大鼠脑组织 DA、HVA 较空白组明显升高 (*P* < 0.01),表明模型成功建立;治疗组(静安组和硫必利组)较模型组明显减低;静安组与硫必利组间无显著性差异。

表 2 静安口服液对 TS 大鼠血浆中 DA 和 HVA 含量的影响(ng · mL⁻¹, $\bar{x} \pm s, n = 10$)

| 组别 | 剂量(g · kg ⁻¹) | DA | HVA |
|------|---------------------------|-------------|-----|
| 空白组 | - | 5.14 ± 2.01 | - |
| 模型组 | - | 5.48 ± 2.29 | - |
| 静安组 | 11 | 4.07 ± 1.00 | - |
| 硫必利组 | 2.5 × 10 ⁻² | 5.83 ± 2.46 | - |

表 2 显示,血浆中 DA 含量明显低于脑组织,各组间无明显差异;血浆中 HVA 未检测到。

DA 标准曲线回归方程及系数: $Y = 0.026 3X + 0.321 3, R = 0.997 2$ 。

HVA 标准曲线回归方程及系数: $Y = 0.019 9X$

+ 0.012 4, *R* = 0.999 9。

3 讨论

自从发现 DA 拮抗剂能减轻抽动障碍患者的症状后(Bockner, 1959), Tourette 综合征患者存在 DA 功能异常的学说便诞生了。不少研究表明多巴胺能系统的功能异常在 TS 的病理生理方面起着重要的作用。于是人们对 DA 的产生、释放、转运,转运体及其基因、DA 受体及受体基因与 TS 之间的关系进行了大量的临床及动物实验研究,但研究结果不尽一致。多数学者认为多巴胺系统活动亢进是 Tourette 综合征发病的原因,而多巴胺系统活动亢进有可能由突触前多巴胺神经元的过度支配引起,也有可能是由突触后受体超敏感造成的;而高香草酸是中枢神经系统中多巴胺的主要代谢产物,通常被作为判断多巴胺活性的主要指标。

本研究发现 DOI 诱导的头部抽动模型组大鼠脑组织中 DA、HVA 含量升高, HVA 含量变化与 DA 一致,支持 Tourette 综合征多巴胺系统活动亢进学说;而静安口服液和硫必利二组含量较模型组明显降低,可推测静安口服液的作用机理可能是抑制多巴胺的异常释放,从而降低突触前多巴胺神经元的过度支配有关。本实验中外周血中 DA、HVA 含量极微甚或测不出,主要是由 DA 的分布及代谢特点所决定的,DA 主要分布在脑组织并在此代谢、衰减,极少量可溢入血。

另外,临床及实验研究皆显示静安口服液有良好的疗效和药理作用^[3,4],但无硫必利等治疗 Tourette 综合征常用药的副作用如:厌食、嗜睡、肝功能损伤等,故而应用前景更为宽广。

[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,1999:217-228.

[2] 李凡,舒斯云,包新民. 多巴胺受体的结构和功能[J]. 中国神经科学杂志,2003,19(6):405-409.

[3] 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):878-881.

[4] 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):156-159.