

脑清灵汤治疗抽动秽语综合征的作用及机理研究

倪世美* 余美献* 周大兴* 阮叶萍* 朱晓燕*

(基金项目:浙江省中医药管理局 No. 200511A)

* 浙江中医药大学,浙江省杭州市滨江区滨文路,310053)

摘要 目的:阐明脑清灵汤治疗抽动秽语综合征(TS)的作用及作用机理。方法:84 只健康昆明种小鼠随机分为 6 组,即正常对照组,模型组,脑清灵汤高、中、低剂量组,阳性药对照组,每组 14 只动物,采用苯丙胺诱发小鼠中枢神经系统亢进法建立拟 TS 模型,观察小鼠定型活动和自主活动情况,并采用荧光分光光度法测定脑内单胺类神经递质如多巴胺(DA)、去甲肾上腺素(NE)、5-羟色胺(5-HT)及其代谢产物 5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)的含量。结果:与模型组比较,脑清灵汤 3 剂量组和氟哌啶醇组小鼠由苯丙胺诱发的定型活动显著减少($P<0.01$);脑清灵汤高、中剂量组和氟哌啶醇组小鼠的自主活动明显减少($P<0.01$),低剂量组 TS 模型小鼠的自主活动也有所减少($P<0.05$);并且脑清灵汤 3 剂量和氟哌啶醇能显著降低小鼠纹状体中 DA、NE 含量($P<0.01$);脑清灵汤高、中剂量组小鼠脑内 5-HT 及 5-HIAA 的含量与模型组相比有显著性降低($P<0.01$),而低剂量组与氟哌啶醇组小鼠脑内 5-HT 及 5-HIAA 的含量与模型组相比无显著性差异($P>0.05$)。结论:脑清灵汤对 TS 动物模型有治疗作用,其作用机理可能与其影响脑内单胺类神经递质的分泌代谢有关。

关键词 抽动秽语综合征/中医药疗法; @ 脑清灵汤

Study on Function and Mechanism of Nao Qingling Tang (Nao Qingling Decoction) for the Treatment of Gilles de la Tourette syndrome

Ni Shimei, Yu Meixian, Zhou Daxing, et al.

(Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053)

Abstract Objective: To elucidate the function and mechanism of Nao Qingling Tang (Nao Qingling Decoction) for the Treatment of Gilles de la Tourette syndrome. **Methods:** 84 Kunming mice were randomly divided into 6 groups, namely, the normal control group, model group, positive control group (treated by haloperidol), and Nao Qingling Tang (Nao Qingling Decoction) treated groups of three kinds of dosage, which was 20g/kg, 15g/kg and 10g/kg respectively. 14 animals in each group. The model of experimental tourette syndrome(ETS) was established by stimulating central nervous system of mice with AP, then the stereotypia and autonomic activities of mice were observed, and fluorophotometry was used to determine the levels of monoamine neurotransmitters such as dopamine (DA), norepinephrine (NE), 5-hydroxytryptamine (5-HT) and 5-hydroxyindoleacetic acid (5-HIAA) in the brains. **Results:** Compared with that of model group, AP induced stereotypia of mice in Nao Qingling Tang (Nao Qingling Decoction) treated groups and positive control group were obviously relieved($P<0.01$). Autonomic activities of mice in Nao Qingling Tang (Nao Qingling Decoction) treated groups of dosage of 20g/kg and 15g/kg and positive control group were significantly reduced($P<0.01$), and that was reduced in mice of Nao Qingling Tang (Nao Qingling Decoction) treated group of dosage of 10g/kg too($P<0.05$). Moreover, the content of DA and NE in corpora striata of mice in Nao Qingling Tang (Nao Qingling Decoction) treated groups and positive control group were obviously reduced($P<0.01$). The content of 5-HT and 5-HIAA of mice in Nao Qingling Tang (Nao Qingling Decoction) treated groups of dosage of 20g/kg and 15g/kg were significantly reduced($P<0.01$), while those in Nao Qingling Tang (Nao Qingling Decoction) treated group of dosage of 10g/kg and positive control group didn't show significant changes. **Conclusion:** Nao Qingling Tang (Nao Qingling Decoction) has therapeutical effect on ETS model and its functionary mechanism may be related with its effects on secretion or metabolism of neurotransmitter in the brains.

Key Words Gilles de la Tourette syndrome/Chinese medical therapy; @ Nao Qingling Tang (Nao Qingling Decoction)

抽动秽语综合征(Gilles de la Tourette Syndrome, TS)又称日勒德拉图雷特综合征、多发性抽动症、Tourette 综合征、多发性抽搐等,是一种复杂的、慢性神经精神障碍,起病于儿童时期,以多种运动和发声抽动为主要表现,常伴随注意力缺陷、多动抽动或强迫症状,有时这些伴发症状对患者社会活动的影响程度超过其抽动症状的本身。此病治疗难度较大,西医仍采用氟哌啶醇或泰必利等多巴胺受体阻滞剂对症治疗,有效率 70%~80%,疗程 1~2 年或以上,但这类药

副作用大。脑清灵汤是浙江中医药大学倪世美治疗小儿抽动秽语综合征的经验方,经 110 例抽动秽语综合征的临床观察,疗效显著,无副作用,且在全面改善体质方面有良好的作用,易被患儿及家长接受^[1]。本实验主要观察脑清灵汤对苯丙胺诱发小鼠定型活动和自主活动增多的影响,以及脑清灵汤治疗 TS 作用与脑内多巴胺等单胺类神经递质的关系。研究结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料:健康昆明种小鼠 84 只,雌雄各半,体

重 20 ± 2 g,由浙江中医药大学实验动物中心提供。合格证号:SCXK(沪)2003—0003。(2)实验药品:脑清灵汤(龙骨、龟甲、牡蛎、紫石英、僵蚕、钩藤、白芍、生地黄、栀子、络石藤等)由课题组自制,每100ml含生药100g,中药饮片经本院中药资源鉴定教研室鉴别,皆为《中国药典》收载之正品。氟哌啶醇(规格:2mg/片),由上海九福药业有限公司生产,批号:050301,实验时用蒸馏水溶解。(3)实验器材:日本岛津RF-5000型荧光分光光度计;YLS-1A多功能小鼠自主活动记录仪,山东省医学科学院设备供应维修站;超低温冰箱(Forma—86C 991型),美国Thermo公司;冷藏冰箱(BCD-230C型),杭州华日电冰箱有限公司;电子恒温不锈钢水浴锅(DZKW-4型),上海东星建材试验设备有限公司。(4)主要试剂:苯丙胺(AMP)购自中国药品生物制品检定所;盐酸多巴胺(DA)、重酒石酸去甲肾上腺素(NE)、5-羟色胺(5-HT)、硫酸肌酐、5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)均为Sigma公司产品;正丁醇,浙江杭州双林化工试剂厂,批号:060324,分析纯;正庚烷,宜兴市第二化学试剂厂,化学纯,批号:060101;半胱氨酸,上海康捷生物科技发展有限公司,批号:50601;邻苯二甲醛,上海化学试剂采购供应五联化工厂,批号:20060517;过碘酸钠,玉环生化试剂厂,批号:20060113;其余试剂均为国产分析纯。

1.2 实验方法:(1)脑清灵汤的制备:将中药饮片置不锈钢提取器中,加水淹过药材2cm,浸渍30min,然后加至生药量7倍水,加热煮沸1h(其中龙骨、龟甲、牡蛎、珍珠母、紫石英打碎先煎30min,钩藤后下10min),趁热滤取药液。药渣再加生药量的5倍水,加热煮沸1h,趁热滤取药液。将两次药液合并,在水浴浓缩成每100ml药液含生药100g,分装备用。(2)分组、给药、造模^[2]:取84只小鼠,随机分为6组,即正常对照组、模型组、脑清灵汤高、中、低剂量组(20g/kg、15g/kg、10g/kg)、阳性药对照组(氟哌啶醇组:0.1mg/kg)。各组动物连续灌胃给药13d,1次/天,其中正常对照组和模型组予同容积生理盐水灌胃。末次给药后30min,除正常对照组小鼠腹腔注射同容积生理盐水外,其余各组小鼠腹腔注射苯丙胺6.0mg/kg。(3)观察指标:①小鼠定型活动的测定:腹腔注射苯丙胺10min后在笼中(每笼2只)观察模型组、脑清灵汤高、中、低剂量组和阳性药对照组小鼠定型活动,并评分。评分法按文献^[2]进行评分,对其进行统计学处理。②小鼠自主活动测定:参照张如意等^[3]报告的方法。③单胺类神经递质的测定^[4]:小鼠自主活动测定后,次日灌胃30min后,除正常对照组小鼠腹腔注射同容积生理盐水外,各组小鼠

仍腹腔注射苯丙胺6.0mg/kg,30min后将所有小鼠断头取脑,在冰上剥离纹状体,液氮处理,称重后置于-80℃低温冰箱保存待测。将标本置于含冷酸化正丁醇的匀浆器中,在冰水浴中制成匀浆,然后将全部匀浆置于带塞刻度离心管,并用酸化正丁醇补足到4.0ml。旋涡振荡5min,离心5min(3000转/分),取上清液2.5ml放入另一带塞刻度离心管内,加正庚烷5.0ml和0.05mol/L盐酸1.2ml,旋涡振荡5min,离心5min(3000转/分),此时溶液分为二层,上层为有机相,下层为水相。

测定时所用标准管、空白管的处理:标准管取标准应用液0.2ml,用酸化正丁醇补足至4.0ml,其余操作与相应测定管同样处理。空白管取三蒸水0.2ml,用酸化正丁醇补足至4.0ml,其余操作与相应测定管同样处理。

5-HIAA的测定:从提取的有机相中吸取5ml液体置于另一带塞离心管,加入0.5M PH7.0磷酸缓冲液1.5ml,振荡10min,离心5min(3000转/分),取水相1.0ml加入1%半胱氨酸0.1ml,浓盐酸2.0ml,0.1%邻苯二甲醛0.1ml,0.02%过碘酸钠0.1ml,沸水浴10min,冷水冷却,于激发(Ex)波长:365nm、发射(Em)波长:480nm测定。

5-HT的测定:从提取的水相中取0.5ml置于小试管,加入0.5%半胱氨酸0.1ml,0.004%邻苯二甲醛3ml,沸水浴10min,冷水冷却,于Ex:365nm、Em:480nm测定。

NE、DA的测定:从提取的水相中取0.5ml置于小试管,0.667mol/LPH7.2磷酸缓冲液1.7ml,加碘试剂0.1ml,静置2min,加碱性亚硫酸钠0.5ml,静置2min,加6N醋酸0.5ml,沸水浴2min,冷水冷却,于Ex:365nm、Em:480nm测NE。再将上述样品加45%磷酸0.1ml,沸水浴15min,然后于Ex:310nm、Em:370nm测DA。

计算公式:

$$\frac{\text{样品管荧光读数} - \text{空白管荧光读数}}{\text{标准管荧光读数} - \text{空白管荧光读数}} \times 0.2 \times 1.5 \times \frac{1}{\text{组织重(克)}} = \text{微克/克组织}$$

1.3 统计学处理:各组小鼠定型活动总评分、自主活动次数及各项生化测定结果用SPSS12.0软件包先进行组间方差齐性检验,方差齐则采用方差分析及两两比较 q 检验, $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 为差异显著性标志;方差不齐,则采用原始数据作秩和 H 检验, $P > 0.1$ 为差异显著性标志,进而作两两比较秩和检验, $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ 为差异显著性标志。

2 结果

2.1 脑清灵汤对苯丙胺诱发小鼠定型活动的影响:

(1)模型组小鼠给予苯丙胺腹腔注射后出现明显的闻、咬、啃和舔等兴奋性定型活动。(2)与模型组比较,脑清灵汤 3 剂量组、氟哌啶醇组小鼠定型活动均有显著或极显著性减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$),表明脑清灵汤与氟哌啶醇均可显著抑制苯丙胺所致的小鼠定型活动。(3)脑清灵汤 3 剂量组组间比较:高剂量组与中剂量组比较无显著性差异($P>0.05$);高、中剂量组分别与低剂量组比较有极显著性差异($P<0.01$)。(4)氟哌啶醇组与脑清灵汤高剂量组比较有极显著性差异($P<0.01$)。见表 1。

表 1 脑清灵汤对苯丙胺诱发小鼠定型活动的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	($\bar{x}\pm s$) 定型活动评分/4 次
模型组	14	10.14±1.41
脑清灵汤高剂量组	14	5.07±1.00**▲
脑清灵汤中剂量组	14	5.93±1.07**▲
脑清灵汤低剂量组	14	8.14±1.35*
氟哌啶醇组	14	3.64±1.22**☆

与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;脑清灵汤三剂量组组间比较,与低剂量组比较,▲ $P<0.01$;氟哌啶醇组与脑清灵汤高剂量组比较,☆ $P<0.01$ 。

2.2 脑清灵汤对苯丙胺引起小鼠自主活动增强的影响:

(1)与正常对照组比较,模型组小鼠给予苯丙胺腹腔注射后出现明显的自主活动增多,好斗,易激惹。统计学处理有极显著性差异($P<0.01$)。(2)与模型组比较,脑清灵汤高、中剂量组及氟哌啶醇组小鼠自主活动均极显著性减少($P<0.01$),脑清灵汤低剂量组小鼠自主活动有显著性减少($P<0.05$),表明脑清灵汤与氟哌啶醇对苯丙胺引起的小鼠自主活动增强均有明显的抑制作用。(3)脑清灵汤 3 剂量组组间比较:高剂量组与中剂量组比较无显著性差异($P>0.05$);高、中剂量组分别与低剂量组比较有极显著性差异($P<0.01$)。(4)氟哌啶醇组与脑清灵汤高剂量组比较有极显著性差异($P<0.01$)。见表 2。

表 2 脑清灵汤对苯丙胺引起小鼠自主活动的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	($\bar{x}\pm s$) 自主活动/min
正常对照组	14	158.29±27.50
模型组	14	253.07±27.31 [#]
脑清灵汤高剂量组	14	199.36±23.21**▲
脑清灵汤中剂量组	14	205.71±20.11**▲
脑清灵汤低剂量组	14	231.50±19.11*
氟哌啶醇组	14	88.07±31.02**☆

与正常对照组比较,[#] $P<0.01$;与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;脑清灵汤 3 剂量组组间比较,与低剂量组比较,▲ $P<0.01$;氟哌啶醇组与脑清灵汤高剂量组比较,☆ $P<0.01$ 。

2.3 脑清灵汤对小鼠纹状体中单胺类递质含量的影响:

模型组小鼠纹状体内 DA、NE、5-HT 及其代谢产物 5-HIAA 的含量较正常对照组都明显升高($P<0.01$)。

(1)各组小鼠纹状体中 DA 含量比较:①与模型组比较,脑清灵汤高、中、低剂量组及氟哌啶醇组均有极显著降低($P<0.01$)。②脑清灵汤 3 剂量组组间比较:高剂量组与中剂量组比较无显著性差异($P>0.05$);高、中剂量组分别与低剂量组有极显著性差异($P<0.01$)。③氟哌啶醇组与脑清灵汤高剂量组比较有极显著性差异($P<0.01$)。(2)各组小鼠纹状体中 NE 含量比较:①与模型组比较,脑清灵汤高、中剂量组及氟哌啶醇组均有极显著性降低($P<0.01$),脑清灵汤低剂量组有显著性降低($P<0.05$)。②脑清灵汤三剂量组组间比较:高剂量组与中剂量组比较无显著性差异($P>0.05$);高、中剂量组分别与低剂量组比较有极显著性差异($P<0.01$)。③氟哌啶醇组与脑清灵汤高剂量组比较无明显差异($P>0.05$)。(3)各组小鼠纹状体中 5-HT 含量比较:①与模型组比较,脑清灵汤高、中剂量组均有极显著性降低($P<0.01$),而脑清灵汤低剂量组和氟哌啶醇组均与模型组无显著性差异($P>0.05$)。②脑清灵汤 3 剂量组组间比较:高剂量组与中剂量组比较无显著性差异($P>0.05$);高、中剂量组分别与低剂量组比较有极显著性差异($P<0.01$)。③脑清灵汤高剂量组与氟哌啶醇组比较有极显著性差异($P<0.01$)。见表 3。

上述结果表明,脑清灵汤能降低实验性抽动秽语综合征小鼠纹状体内单胺类递质 DA、NE、5-HT 及其代谢产物 5-HIAA 的含量;阳性药氟哌啶醇也能降低 DA、NE 的含量,但对 5-HT 及其代谢产物 5-HIAA 的含量无明显影响。

3 讨论

本实验通过观察拟 TS 小鼠定型活动和自主活动情况,并测定脑内纹状体中单胺类神经递质如 DA、NE、5-HT 及其代谢产物 5-HIAA 的含量,结果显示脑清灵汤能对抗苯丙胺诱发的定型活动,能明显减少拟 TS 模型小鼠的自主活动,并能显著降低拟 TS 模型小鼠纹状体中 DA、NE、5-HT 及其代谢产物 5-HIAA 含

表3 脑清灵汤对小鼠纹状体中DA、NE、5-HT、5-HIAA含量的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	含 量			
		DA($\mu\text{g/g}$ 脑组织)	NE($\mu\text{g/g}$ 脑组织)	5-HT($\mu\text{g/g}$ 脑组织)	5-HIAA($\mu\text{g/g}$ 脑组织)
正常对照组	14	4.81±1.19	2.53±1.11	1.23±0.52	2.78±1.19
模型组	14	10.43±1.54 [#]	6.40±1.41 [#]	3.24±0.78 [#]	6.17±1.25 [#]
脑清灵汤高剂量组	14	6.15±1.04 ^{**▲}	3.71±1.03 ^{**▲}	1.81±0.46 ^{**▲}	3.53±1.30 ^{**▲}
脑清灵汤中剂量组	14	6.52±1.04 ^{**▲}	4.02±1.12 ^{**▲}	1.70±0.51 ^{**▲}	4.12±1.24 ^{**▲}
脑清灵汤低剂量组	13	9.18±1.09 ^{**}	5.31±0.99 [*]	2.81±0.59	5.38±0.94
氟哌啶醇组	14	5.60±1.18 [☆]	3.28±0.81 ^{**}	2.91±0.54 [☆]	5.64±0.92 [☆]

与正常对照组比较, [#] $P<0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$; 脑清灵汤3剂量组组间比较, 与低剂量组比较, [▲] $P<0.01$; 氟哌啶醇组与脑清灵汤高剂量组比较, [☆] $P<0.01$ 。

量,说明脑清灵汤对TS动物模型有治疗作用。

我们认为,本病的病机为脾虚痰扰,肝脉失调。脾虚生痰,痰气互结,上扰咽喉,而出现喉内异常声响;风痰流窜经络,则见不自主多发性抽搐;肝主筋、主疏泄,肝气失调,则肢体筋脉颤动;肝主风,风善行而数变,故患儿抽搐部位多变。临床应以滋养肝肾、清热化痰、平肝熄风为主。脑清灵汤中以龙骨、牡蛎、僵蚕、钩藤、紫石英等平肝熄风,龟甲、白芍、生地黄等滋养肝肾、清热润肺,栀子清热泻火、凉血解毒,络石藤舒经活络以止抽搐。该方经临床观察疗效显著。动物实验提示,脑清灵汤可能影响大脑基底核单胺类神经递质分泌代谢,

从而达到治疗作用。

参考文献

1 倪世美. 脑清灵汤口服液治疗抽动秽语综合征110例. 上海中医药杂志, 2005, 39(8): 29~30.

2 杨龙飞, 潘思源, 尹丹. 熄风静宁冲剂抗大鼠实验性Tourette综合征. 北京中医药大学学报, 2005, 28(2): 47~49.

3 张如意, 李林, 艾厚喜, 等. 多巴胺能系统亢进法建立拟抽动秽语综合征小鼠模型. 中国行为医学科学, 2005, 14(3): 210~212.

4 王孝媛, 顾萱娣, 张建伟. 鼠脑和脊髓中5-羟色胺、5-羟吲哚乙酸、去甲肾上腺素和多巴胺的快速测定法. 苏州医学院学报, 1985, (1): 10~13.

(2006—09—21 收稿)

新斯的明穴位注射治疗前列腺术后胀气30例

张 勇* 孙凤岭* 臧 桐*

(* 北京军区总医院泌尿外科, 北京市东城区东四六条南门仓5号, 100700)

关键词 前列腺增生症/手术疗法; @ 穴位注射

自2002年9月~2006年8月,应用新斯的明穴位注射疗法,治疗前列腺术后胀气患者30例,疗效显著。现报道如下。

1 临床资料

本组共60例,年龄最小者62岁,最大者90岁;病程短者12h,最长者72h。其中行耻骨上经膀胱前列腺摘除术17例,经尿道前列腺电切术43例。全部60例病例均为手术后腹胀,肠鸣音减弱,行翻身活动和促使肛管排气治疗无效者。60例随机分为穴位注射新斯的明组(治疗组)30例、肌内注射新斯的明组(对照组)30例。

2 治疗方法

患者仰卧,将一侧腿屈曲90°,选足三里穴,常规消毒皮肤后,取2ml注射器抽取新斯的明0.5mg直刺快速进针2~4cm,上下缓慢提插,得气后有酸、麻、胀感时,抽无回血,缓慢注入新斯的明0.5mg后拔针。对照组:新斯的明1mg臀部肌肉注射。

3 疗效标准

注射后30~60min有肛门排气为显效,2h内排便为有效;2h后无排气和排便为无效。

4 治疗效果

治疗组30例中,显效25例,有效3例,无效2例,总有效率93.3%;对照组30例中,显效5例,有效6例,无效19例,总有效率36.6%。组间疗效比较有显著差异($P<0.01$)。

5 讨论

手术后胀气是腹部外科手术后常见并发症。足三里属足阳明胃经,位于犊鼻下3寸,距胫骨前嵴外侧一横指,主治胃痛、呕吐、胀气等,故可以取该穴针刺治疗。新斯的明是毒扁豆碱的人工合成代用品,化学结构较毒扁豆碱简单,可抑制胆碱酯酶的作用和增强乙酰胆碱的效应,能兴奋胃肠道平滑肌及膀胱逼尿肌,促进排气和排尿。新斯的明足三里封闭既发挥穴位的特异作用,也发挥药物的特异作用,应用于治疗前列腺术后胀气能收到满意效果。

(2006—09—25 收稿)