

实验研究报告 ·

戊四唑致癫痫大鼠脑组织 NO 和 MDA 含量及其相关性研究

李春香¹, 唐宁波¹, 朱玉红², 马云², 于明³, 王明礼³

(1. 烟台市毓璜顶医院儿科, 山东 * 烟台 264000; 2. 滨州医学院病理教研室, 山东 * 滨州 256603; 3. 佳木斯大学医学院第一附属医院神经内科, 黑龙江 * 佳木斯 154003)

[摘要] 目的 探讨一氧化氮(NO)在戊四唑诱导癫痫中的作用机制。方法 用戊四唑建立大鼠癫痫模型,测定癫痫发作后和对照组大鼠大脑皮质、海马中 NO、丙二醛(MDA)含量及一氧化氮合酶(NOS)活性。结果 正常对照组大鼠大脑皮质 NO、MDA 含量及 NOS 活性分别为(0.930 ± 0.120) μmol/L, (1.957 ± 0.142) mmol/mg prot, (0.230 ± 0.029) U/g prot, 癫痫发作后大脑皮质 NO、MDA 含量及 NOS 活性分别为(1.233 ± 0.261) μmol/L, (4.504 ± 0.608) mmol/mg prot, (0.278 ± 0.034) U/g prot, 明显高于正常对照组($P < 0.05$, $P < 0.01$); 正常对照组大鼠海马 NO、MDA 含量及 NOS 活性分别为(0.786 ± 0.131) μmol/L, (1.731 ± 0.123) mmol/mg prot, (0.179 ± 0.027) U/g prot, 癫痫发作后海马 NO、MDA 含量及 NOS 活性分别为(1.249 ± 0.310) μmol/L, (4.379 ± 0.527) mmol/mg prot, (0.255 ± 0.044) U/g prot, 明显高于正常对照组($P < 0.01$)。NO 与 MDA, NO 与 NOS 之间呈显著正相关($r = 0.8435, 0.6827$, 均 $P < 0.01$)。结论 NO 通过增强脂质过氧化反应在癫痫发作中发挥重要作用。

[关键词] 戊四唑; 癫痫; 一氧化氮; 丙二醛

[中图分类号] R-332 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1008-8830(2001)04-0421-02

NO 是一种新型的神经递质或调质,它在中枢神经系统中具有广泛的作用。近年来研究表明 NO 可能与癫痫发作密切相关。本实验用 28 天龄 SD 大鼠建立癫痫模型,选择癫痫敏感部位——大脑皮质、海马作为重点研究部位,测定 NO、MDA 含量及 NOS 活性的变化,以进一步探讨 NO 在癫痫发病中的作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及模型制作

雄性,28 天龄 SD 大鼠(北京医科大学动物室提供)20 只,体重 60~80 g,随机分为对照组($n = 10$ 只)和实验组($n = 10$ 只)。实验组按王丽^[1]方法建立癫痫模型。对照组腹腔注射等体积的生理盐水。致病标准的判定^[2]:0 级:无惊厥;1 级:点头或头部抽搐;2 级:全身肌阵挛;3 级:头部抽搐加前肢阵挛;4 级:阵挛惊厥加后退站立;5 级:跌倒;6 级:全身强直-阵挛性惊厥。凡获连续 5 次 2 级或 2 级以上惊

厥记录的大鼠为完全点燃,即为癫痫模型。

1.2 测定方法

实验组大鼠末次惊厥发作后 2 h 处死,对照组大鼠末次注射生理盐水后 2 h 处死。迅速取脑,剥离大脑皮质和海马制成 10% 匀浆液,取上清 -20 保存,用于测 NO、NOS、MDA 及匀浆蛋白。以上指标测定严格按试剂盒(南京建成生物工程研究所)说明方法进行。

1.3 统计学处理

本实验各数据均以均数 ± 标准差表示,组间差异的显著性采用 t 检验,有关指标间的关系用直线相关分析方法处理。

2 结果

实验组在 28 d 内有 8 只大鼠达实验要求,相应对照组 8 只入选实验。未达实验要求者从实验中去掉。癫痫发作后大脑皮质和海马中 NO、MDA 含量和 NOS 活性均较对照组显著升高($P < 0.05$, $P <$

[收稿日期] 2000-07-21; [修回日期] 2001-02-22
[作者简介] 李春香(1964-),女,硕士,主治医师。

0.01), 详见表1, 表2。将NO含量和NOS活性, NO和MDA含量做相关性分析发现二者均显著正相关($r = 0.8435, 0.6827$, 均 $P < 0.01$)。

表1 戊四唑致癫痫大鼠大脑皮质NO, MDA含量和NOS活性 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	NO ($\mu\text{mol/L}$)	MDA (mmol/mg prot)	NOS (U/g prot)
对照组	8	0.930 \pm 0.120	1.957 \pm 0.142	0.230 \pm 0.029
实验组	8	1.233 \pm 0.261 ^a	4.504 \pm 0.608 ^b	0.278 \pm 0.034 ^a

注: a * "与对照组相比较 $P < 0.05$; b * "与对照组比较 $P < 0.01$

表2 戊四唑致癫痫大鼠海马NO, MDA含量和NOS活性 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	NO ($\mu\text{mol/L}$)	MDA (mmol/mg prot)	NOS (U/g prot)
对照组	8	0.786 \pm 0.131	1.731 \pm 0.123	0.179 \pm 0.027
实验组	8	1.249 \pm 0.310 ^a	4.379 \pm 0.527 ^a	0.255 \pm 0.044 ^a

注: a * "与对照组相比较 $P < 0.01$

3 讨论

建立癫痫模型是探讨人类癫痫发病机制的重要手段之一。本实验用戊四唑建立28天龄大鼠的点燃模型, 该模型与人类原发性癫痫全身性发作类似, 是研究小儿癫痫的理想动物模型。

NO化学性质活泼, 在体内的生物半衰期极短(3~5s), 很快代谢转化为 NO_2^- 和 NO_3^- , 而 NO_2^- 进一步转化为 NO_3^- 。本实验特异性将 NO_3^- 还原为 NO_2^- , 通过显色深浅测定其浓度的高低。同时测定NOS活性间接反映脑组织细胞NO的含量。相关分析结果显示NO含量和NOS活性呈显著正相关, 说明用这两种方法测定NO含量的方法是可靠的。实验结果显示癫痫发作后大脑皮质、海马NO含量和NOS活性增高, 说明戊四唑诱导的癫痫发作伴随NO的大量生成。Osone等^[3]观察了NOS特异性抑制剂甲基精氨酸(me-Arg)和N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)对戊四唑诱导大鼠惊厥发作的影响, 结果表明两种药物均能抑制强制性惊厥, 均能延长各种惊厥的潜伏期。Proctor等^[4]将NO注入鼠

的前梨状区导致了短暂的惊厥发作。这些均说明NO与癫痫发作密切相关, 过量的NO可引起癫痫发作。

研究表明^[5]戊四唑连续注射可引起NMDA受体激活, 导致 Ca^{2+} 向细胞内流动, 当细胞内 Ca^{2+} 达一定水平时便激活NOS, 使NOS活性增高, NO产生增多。过量的NO可与超氧阴离子(O_2^-), H_2O_2 反应生成过氧化硝酸阴离子(ONOO^-)并进一步分解成羟自由基(OH^-)、和二氧化氮, ONOO^- 和 OH^- 均可引起细胞膜脂质过氧化和细胞毒性作用, 导致细胞膜功能失调, 影响离子通道, 从而引起膜的电生理紊乱, 导致癫痫发作^[6]。MDA是脂质过氧化分解的产物, 通过对MDA的测定可以反映机体脂质过氧化反应的程度。本实验结果表明癫痫发作后MDA显著升高, 且NO与MDA含量呈显著正相关, 进一步说明NO的增多可通过脂质过氧化反应的增强发挥作用。

总之, NO与戊四唑诱导的癫痫发作密切相关, NO可通过增强脂质过氧化反应发挥其作用。

[参 考 文 献]

- [1] 王丽, Jono, Walson PD. 大鼠戊四唑点燃模型的建立[J]. 药学报, 1993, 28(7): 486-489.
- [2] Ono J, Vieth RF, Walson PD. Electrocorticographical observation of seizures induced by pentylenetetrazol (PTZ) injection in rats [J]. Funct Neurol, 1990, 5(4): 345-352.
- [3] Osone K, Mori N, Suzuki K, et al. Antiepileptic effects of inhibitors of nitric oxide synthase examined in pentylenetetrazol-induced seizures in rats [J]. Brain Res, 1994, 663(2): 338-340.
- [4] Proctor MR, Fornai F, Afshar JK, et al. The role of nitric oxide in focally-evoked limbic seizures [J]. Neuroscience, 1997, 76(4): 1231-1236.
- [5] Nevins ME, Arnold SM. A comparison of the anticonvulsant effects of competitive and non-competitive antagonists of the N-methyl-D-aspartate receptor [J]. Brain Res, 1989, 503(1): 1-4.
- [6] Lipton SA, Choi YB, Pan ZH, et al. A redox-based mechanism for the neuroprotective and neurodestructive effects of nitric oxide and related nitroso-compounds [J]. Nature, 1993, 364(6438): 626-632.

(本文编辑: 吉耕中)