

· 实验研究 ·

氟西汀和氟哌啶醇对 DOI 诱导头部抽动的小鼠模型的作用

姚阳, 麻宏伟, 卢瑶, 戴晓梅

(中国医科大学附属第二医院发育儿科, 辽宁 沈阳 110004)

[摘要] **目的** 建立并评价拟抽动秽语综合征动物模型,探讨氟西汀和氟哌啶醇对该动物模型的作用。**方法** 将40只小鼠随机分为实验组和对照组,实验组小鼠腹腔注射 DOI 建立抽动秽语综合征小鼠模型,对照组注射生理盐水。应用高效液相-电化学法检测脑纹状体内多巴胺及其代谢产物高香草酸的含量。将80只小鼠随机分为4组,分别注射氟西汀、氟哌啶醇、氟西汀加氟哌啶醇和等体积生理盐水,每组取10只给药20 min后注射 DOI,通过急性实验观察药物的作用;另外10只给药21 d后注射 DOI,通过慢性实验观察药物的作用。**结果** 与对照组比,DOI诱导的头部抽动小鼠纹状体内多巴胺和高香草酸含量降低(58.16 ± 14.51 ng/mg vs 45.00 ± 11.24 ng/mg, 12.82 ± 2.66 ng/mg vs 10.54 ± 1.86 ng/mg,均 $P < 0.05$)。无论是急性实验还是慢性实验,与生理盐水组相比,预先应用氟哌啶醇的小鼠注射 DOI 后抽动行为显著减少($P < 0.05$),预先应用氟西汀的小鼠注射 DOI 后抽动行为无明显改变($P > 0.05$)。**结论** DOI诱导的头部抽动小鼠脑内多巴胺神经递质含量减少,可部分模拟抽动秽语综合征病人的神经生化和行为学改变。氟哌啶醇可抑制 DOI 诱导的小鼠抽动行为,氟西汀无明显作用。

[中国当代儿科杂志,2007,9(5):469-472]

[关键词] DOI;抽动秽语;氟西汀;氟哌啶醇;小鼠

[中图分类号] R-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2007)05-0469-04

Roles of fluoxetine and haloperidol in mouse models of DOI-induced head twitch response

YAO Yang, MA Hong-Wei, LU Yao, DAI Xiao-Mei. Department of Developmental Pediatrics, Second Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110004, China (Email: yzyzyk@163.com)

Abstract: Objective To develop a mouse model to mimic the behavioral and neurochemical changes of Tourette syndrome (TS) by 1-(2, 5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane (DOI) induction and to investigate the effects of fluoxetine and haloperidol on head twitch response (HTR) induced by DOI. **Methods** 1) Preparation of mouse model of TS: Forty mice were randomly divided into experimental and control groups ($n = 20$ each). DOI (1 mg/kg) was administered by peritoneal injection in the experimental group. The control group was injected with normal saline. The levels of dopamine (DA) and homovanillic acid (HVA), the metabolite of DA, in both groups were measured by high performance liquid chromatography and electrochemical detection. 2) Effects of fluoxetine and haloperidol on HTR: Eighty mice were randomly administered with either fluoxetine (2 mg/kg), haloperidol (0.8 mg/kg), fluoxetine + haloperidol or normal saline. DOI (1 mg/kg) was peritoneally injected 20 minutes later (acute trial) or 18-20 hrs after a 21 days injection of fluoxetine or haloperidol (chronic trial). The frequency of DOI-induced HTR was observed immediately after DOI injection. **Results** The levels of DA and HVA in the experimental group were significantly lower than those in the control group (DA: 45.00 ± 11.24 ng/mg vs 58.16 ± 14.51 ng/mg; HVA: 10.54 ± 1.86 ng/mg vs 12.82 ± 2.66 ng/mg). In both acute and chronic trials, the frequency of DOI-induced HTR decreased significantly in mice administered with haloperidol alone or together with fluoxetine ($P < 0.05$), but it did not change significantly in mice administered with fluoxetine alone compared with the normal saline group. **Conclusions** The levels of DA and HVA are reduced in mice with DOI-induced HTR. DOI-induced mouse mode of HTR can mimic the neurochemical and behavioral changes of TS partially. Haloperidol can inhibit DOI-induced HTR in mice, but fluoxetine can not.

[Chin J Contemp Pediatr, 2007, 9 (5):469-472]

Key words: DOI; Tourette syndrome; Fluoxetine; Haloperidol; Mice

抽动秽语综合征 (Tourette syndrome, TS) 是一种 复杂的神经精神障碍,起病于儿童时期,临床上是以

[收稿日期]2006-12-15; [修回日期]2007-04-10

[作者简介]姚阳,女,博士,讲师。主攻方向:儿童抽动障碍的神经生物学发病机制。

[通讯作者]麻宏伟,教授,中国医科大学附属第二医院,邮编:110004。

多种运动抽动和发声抽动为主要特点的综合征,男女发病比例为5:1,发病率约为0.1%~1%,常伴有强迫性障碍症状(obsessive-compulsive disorder, OCD)^[1]。

DOI [1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane 选择性5-HT(2A/2C)受体激动剂]在小鼠中可成功地诱导出耸肩、头部抽动(head twitch response, HTR)等运动,该行为能部分模拟TS的临床表现,因此作为TS的动物模型用于多种临床药物的药效评价^[2,3]。本研究应用DOI诱导小鼠头部抽动行为,并研究其发生机制,从神经生化角度进一步评价该行为作为TS的动物模型的可行性。

临床上常用氟西汀治疗TS伴有强迫性障碍的患者,该药物可有效地减轻患者的强迫症状^[4],但目前人们对氟西汀是否能抑制TS抽动症状看法不一^[5-7]。本研究利用DOI诱导的小鼠头部抽动模型探讨TS的发病机制及氟西汀和氟哌啶醇对TS的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康雄性小鼠120只,体重18~22g。由中国医科大学实验动物部提供。

1.2 主要试剂与仪器

DOI HCl(DOI的盐酸化物),氟西汀,氟哌啶醇,多巴胺标准品,高香草酸标准品(均购于Sigma公司);Waters 510泵,U6k进样阀,464化学检测器,Millennium工作站(Waters公司,美国),台式低温超速离心机(SORVALL Biofuge Primor,德国)。

1.3 小鼠头部抽动模型建立

选雄性小鼠40只,随机分成实验组和对照组两组,每组20只。实验组腹腔注射1mg/kg的DOI,诱导小鼠抽动模型,对照组腹腔注射相同剂量的生理盐水。用药后小鼠HTR行为可持续2~3h,连续给药21d,停药后小鼠产生较持久的HTR行为。

1.4 小鼠纹状体多巴胺和其代谢产物高香草酸的含量测定

最后一次给药24h后将小鼠断头处死,剥离脑,快速分离出纹状体,用干净铝箔包好,置于液氮中速冻,-80℃冰箱保存。将两只小鼠的纹状体准确称量后,加入5%的高氯酸100μL,用超声匀浆机匀浆破裂,12 000 r/min 4℃离心20 min。定量吸取上清液20μL,加入到高效液相色谱仪中测定多巴胺(dopamine DA)和其代谢产物高香草酸

(homovanillic acid, HVA)含量。

1.5 氟西汀和氟哌啶醇对DOI诱导的小鼠头部抽动行为的作用

1.5.1 急性实验 选雄性小鼠,随机分成4组,每组10只。分别腹腔注射氟西汀(2mg/kg),氟哌啶醇(0.8mg/kg),氟西汀(2mg/kg)加氟哌啶醇(0.8mg/kg);对照组腹腔注射相同剂量的生理盐水。用药20min后给每只小鼠注射1mg/kg的DOI,注射DOI后立即人工计数30min的HTR数目,作为评价药效的指标。

1.5.2 慢性实验 选雄性小鼠,随机分成4组,每组10只。实验组分别腹腔注射氟西汀(2mg/kg),氟哌啶醇(0.8mg/kg),氟西汀(2mg/kg)加氟哌啶醇(0.8mg/kg);对照组腹腔注射相同剂量生理盐水。连续给药21d,最后一次用药后18~20h给每只小鼠注射1mg/kg的DOI。计数30min的HTR数。

1.6 统计学处理

用峰面积法定量分析纹状体内DA和HVA的含量,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数比较行非配对t检验。用单因素方差分析比较氟西汀和氟哌啶醇对小鼠头部抽动的影响,组间均数比较用Tukeys检验。以 $P < 0.05$ 为有统计学差异。

2 结果

2.1 小鼠模型纹状体内DA和HVA含量

实验组小鼠DA含量为 45.00 ± 11.24 ng/mg, HVA含量为 10.54 ± 1.86 ng/mg,对照组小鼠DA含量为 58.16 ± 14.51 ng/mg, HVA含量为 12.82 ± 2.66 ng/mg。实验组与对照组相比,纹状体DA, HVA含量降低,差异有显著性($P < 0.05$)。

2.2 氟西汀和氟哌啶醇对小鼠头部抽动行为的影响

急性实验中,预先注射氟哌啶醇的小鼠注射DOI后头部抽动次数明显减少,联合注射氟西汀和氟哌啶醇的小鼠头部抽动次数也明显减少,与对照组相比有统计学差异($P < 0.05$),见图1。注射氟西汀后小鼠头部抽动次数无明显减少,而且,注射氟西汀后小鼠出现前肢颤抖行为。

慢性实验中,预先注射氟哌啶醇的小鼠注射DOI后头部抽动次数明显减少,联合注射氟西汀和氟哌啶醇的小鼠头部抽动次数也明显减少,与对照组相比差异有显著性($P < 0.05$),预先注射氟西汀的小鼠注射DOI后头部抽动次数与对照组相比差异无显著性($P > 0.05$),见图2。

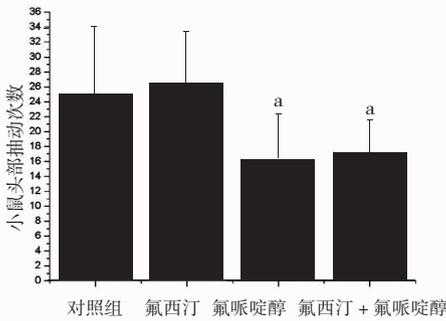


图1 急性给予氟哌啶醇、氟西汀、氟西汀 + 氟哌啶醇对小鼠头部抽动的作用。a 与对照组、氟西汀组比较, $P < 0.05$

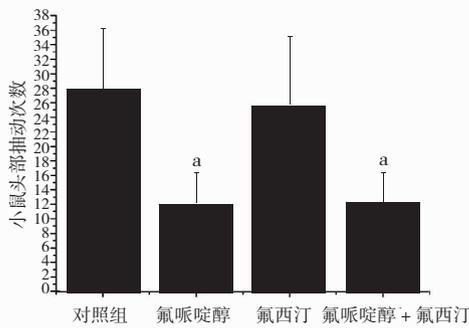


图2 慢性给予氟哌啶醇、氟西汀、氟西汀 + 氟哌啶醇对小鼠头部抽动的作用。a 与对照组、氟西汀组比较, $P < 0.05$

3 讨论

本实验应用 DOI 成功地诱导出小鼠头部抽动, 肩部抽动, 舔食前爪等类似 TS 临床表现的行为。应用高效液相色谱化学方法检测 DOI 诱导小鼠头部抽动后纹状体中 DA 及其代谢产物 HVA 的含量, 观察到纹状体内 DA 和 HVA 含量较对照组降低。多数学者认为纹状体内多巴胺系统活动亢进是 TS 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^[8], 也有可能是由突触后受体超敏感造成的^[9]。突触后受体敏感性增强, 突触间隙 DA 含量下降, DA 的主要代谢产物 HVA 含量也下降。应用 5-HT 受体激动剂后纹状体内 DA 和 HVA 含量降低提示 DOI 诱导的小鼠头部抽动行为可能由于多巴胺受体敏感性增强, 导致多巴胺系统活动亢进造成的。

5-羟色胺神经纤维从中缝核发出支配到纹状体、黑质和大脑皮层, 与 DA 神经元有纤维联系。而且, 齐拉西酮 (ziprasidone, 5-HT_{2A} 拮抗剂, 5-HT_{1A} 激动剂) 的药效学研究发现, 该药可以急性阻断 DA 转运, 而其长期效应是促进 DA 转运, 表现为眨眼次

数增多^[10]。由此可推测 5-HT 系统很有可能通过对 DA 系统的支配导致 TS 发病, 或与 DA 系统相互作用共同调节了 TS 的发病。DOI 是选择性 5-HT(2A/2C) 受体激动剂, 小鼠腹腔注射 DOI 后因激动了 5-HT(2A/2C) 受体而出现头部抽动现象, 也支持 TS 发病的 5-HT 功能异常学说^[11]。而同时出现的纹状体内 DA 和 HVA 含量降低, 说明 DOI 激动 5-HT(2A/2C) 受体后, 可能进一步引起 DA 系统活动异常而导致运动异常。DA 和 HVA 含量降低也提示 TS 存在突触后受体超敏感, 超敏的受体会引起效应细胞的反应活动过度。5-HT(2A/2C) 受体与 DA 受体之间可能会出现功能性地相互干扰, 这有待进一步研究证明。

综上所述, 不论从发病机制还是行为表现上, DOI 诱导的鼠头部抽动模型均与 TS 相似, 可作为 TS 的动物模型, 用于研究 TS 的发病机制及药物治疗。

多巴胺受体阻滞剂氟哌啶醇可以有效治疗 TS, 是目前临床治疗 TS 的常规用药。本实验结果显示, 无论一次用药还是长期每日用药, 氟哌啶醇都有效的减少小鼠头部抽动次数, 具有稳定的疗效; 而氟西汀均不能抑制小鼠的头部抽动, 但也不会加重抽动行为。Scahill 等^[5]对 14 名 TS 伴或不伴 OCD 患者以安慰剂作对照进行双盲临床实验, 研究表明: 用药 20 周后氟西汀对患者的 TS 抽动症状无明显疗效, 但可减少 OCD 症状, 本实验与其研究结果一致。但是, Silvestri^[6]用氟西汀治疗 2 名 TS 患者, 运动抽动和 OCD 表现均明显减少, 至少减少 50%。Kurlan^[7]的临床观察结果显示, 患者随机双盲服用氟西汀 4 个月后, 对 OCD 症状的控制与对照组有统计学差异, 而抽动症状有加重的倾向。后两者的研究结果截然相反, 可能与临床例数太少有关。

氟西汀是选择性 5-HT 重吸收阻断剂, 其作用机制是长期激动 5-HT_{1A} 受体。该受体对 5-HT 神经元起张力性抑制作用, 受体被激动后, 5-HT 神经元放电减少, 5-HT 的合成与释放也减少。持续激动 5-HT_{1A} 受体后, 该受体脱敏, 从而减弱了 5-HT 神经元受到的张力性抑制作用, 5-HT 神经元的传导功能增强^[12]。因此氟西汀应用于抑郁症和强迫症的治疗, 临床上也用于治疗 TS 伴有 OCD 的患者。氟西汀只选择性激动 5-HT_{1A} 受体, 对抽动症状治疗效果不明显。因此, 临床在应用氟西汀治疗 TS 合并 OCD 患者时, 要注意药物剂量和与其他抗抽动症状的药物配伍使用。

[参 考 文 献]

- [1] Rampello L, Alvano A, Battaglia G, Bruno V, Raffaele R, Nicoletti F. Tic disorders: from pathophysiology to treatment [J]. *J Neurol*, 2006, 253(1): 1-15.
- [2] Hayslett RL, Tizabi Y. Effects of donepezil on DOI-induced head twitch response in mice: implications for Tourette syndrome [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2003, 76(3-4): 409-415.
- [3] Tizabi Y, Russell LT, Johnson M, Darmani NA. Nicotine attenuates DOI-induced head-twitch response in mice: implications for Tourette syndrome [J]. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psychiatr*, 2001, 25(6):1445-1457.
- [4] Eapen V, Trimble MR, Robertson MM. The use of fluoxetine in Gilles de la Tourette syndrome and obsessive compulsive behaviours: preliminary clinical experience [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 1996, 20(4): 737-743.
- [5] Scahill L, Riddle MA, King RA, Hardin MT, Rasmusson A, Makuch RW, et al. Fluoxetine has no marked effect on tic symptoms in patients with Tourette's syndrome: a double-blind placebo-controlled study [J]. *J Child Adolesc Psychopharmacol*, 1997, 7(2): 75-85.
- [6] Silvestri R, Raffaele M, De Domenico P, Tisano A, Lagana A, Di Perri R. Serotonergic agents in the treatment of Gilles de la Tourette's syndrome [J]. *Acta Neurol (Napoli)*, 1994, 16(1-2):58-63.
- [7] Kurlan R, Como PG, Deeley C, McDermott M, McDermott MP. A pilot controlled study of fluoxetine for obsessive-compulsive symptoms in children with Tourette's syndrome [J]. *Clin Neuropharmacol*, 1993, 16(2):167-172.
- [8] Minzer K, Lee O, Hong JJ, Singer HS. Increased prefrontal D2 protein in Tourette syndrome: a postmortem analysis of frontal cortex and striatum [J]. *J Neurol Sci*, 2004, 219(1-2):55-61.
- [9] Albin RL, Koeppel RA, Bohnen NI, Nichols TE, Meyer P, Wernette K, et al. Increased ventral striatal monoaminergic innervation in Tourette syndrome [J]. *Neurology*, 2003, 61(3):310-315.
- [10] Sallee FR, Gilbert DL, Vinks AA, Miceli JJ, Robarge L, Wilner K. Pharmacodynamics of ziprasidone in children and adolescents: impact on dopamine transmission [J]. *J Am Acad Child Adolesc Psychiatry*, 2003, 42(8): 902-907.
- [11] Muller-Vahl KR, Meyer GJ, Knapp WH, Emrich HM, Gielow P, Brucke T, et al. Serotonin transporter binding in Tourette syndrome [J]. *Neurosci Lett*, 2005, 385(2):120-125.
- [12] 姜佐宁. 现代精神病学 [M]. 修订版. 北京: 科学出版社, 1999, 227-228.

(本文编辑: 吉耕中)

· 消息 ·

欢迎订阅《中国当代儿科杂志》

《中国当代儿科杂志》是由中华人民共和国教育部主管,中南大学主办的国家级儿科专业学术期刊。本刊为国家科学技术部中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),中国科学引文数据库(CSCD)收录期刊和国际权威检索机构美国MEDLINE、俄罗斯《文摘杂志》(AJ)、美国《化学文摘》(CA)和荷兰《医学文摘》(EM)收录期刊,是《中国医学文摘·儿科学》引用的核心期刊,同时被中国学术期刊(光盘版)、中国科学院文献情报中心、中国社会科学院文献信息中心评定为《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊,并被《中国期刊网》、《中国学术期刊(光盘版)》和《万方数据——数字化网络期刊》全文收录。已被复旦大学、浙江大学、中南大学和中国医科大学等国内著名大学认定为儿科核心期刊。

本刊内容以儿科临床与基础研究并重,反映我国当代儿科领域的最新进展与最新动态。辟有英文论著、中文论著(临床研究、实验研究、儿童保健、疑难病研究)、临床经验、病例讨论、病例报告、社区医师园地、专家讲座、综述等栏目。读者对象主要为从事儿科及相关学科的临床、教学和科研工作者。

本刊为双月刊,大16开本,80页,亚光铜版纸印刷,逢双月15日出版,向国内外公开发行人。中国标准刊号:ISSN 1008-8830, CN 43-1301/R。欢迎全国各高等医学院校,各省、市、自治区、县医院和基层医疗单位,各级图书馆(室)、科技情报研究所及广大医务人员和医学科技人员订阅。每期定价12元,全年72元。邮发代号:42-188。可通过全国各地邮局订阅或直接来函与本刊编辑部联系订阅。向本刊投稿一律通过网上稿件远程处理系统,免审稿费,审稿周期短(4~8周)。请登录本刊网站了解详情。

联系地址:湖南省长沙市湘雅路87号《中国当代儿科杂志》编辑部 邮编:410008

电话:0731-4327402 传真:0731-4327922 Email: ddek@vip.163.com

投稿网址: [http:// www.cjcp.org](http://www.cjcp.org)