



柴胡总皂甙对戊四氮慢性点燃大鼠痫性发作及脑电图的影响

癫痫是不同病因引起的一种慢性神经系统常见病。WHO曾在我国农村地区进行癫痫流行病学调查,显示其患病率为7.0%,其中活动型癫痫的患病率为4.6%,与其他各国报道基本一致[1][2]。以此率推算,我国约有900万人罹患癫痫,其中600万人每年都有发作。中医药治疗癫痫历史悠久,多数主张从“痰”论治。本课题组近年来提出“从肝论治”的观点,应用“柴胡疏肝汤”治疗原发性癫痫取得较好疗效[3]。研究发现方中君药“柴胡”具有一定的镇静和抗惊厥作用[4],其有效成分柴胡皂甙及挥发油有较强的抗惊厥作用[5][6]。为进一步探讨中药柴胡的抗癫痫作用,作者以柴胡总皂甙为处理因素,采用戊四氮(PTZ)慢性点燃癫痫大鼠模型,观察其痫性发作行为及脑电图的变化,探讨柴胡总皂甙抗癫痫的效应。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物及分组 SPF级Spague-Dawley大鼠48只,体质量(200±20)g,雌雄各半,购自南方医科大学实验动物中心,合格证号:2004B023,饲养于南方医院动物所。大鼠随机分为6组:A组为空白对照组,B组为生理盐水组,C组为丙戊酸钠(VPA)组,D、E、F组分别为柴胡皂甙高、中、低剂量组,每组8只(雌雄各半)。

1.1.2 药品、试剂与仪器 柴胡总皂甙粉购自上海医药工业研究院,批号:050106;VPA为湖南湘中制药有限公司生产,批号:050123;PTZ为Sigma公司生产,批号:064K0686;EEG-4418K型脑电图仪(NIHON KOHDEN公司)。

1.2 方法

1.2.1 药液配制 应用生理盐水准确配制PTZ溶液(浓度为32.50 mg/ml),柴胡总皂甙高、中、低3种浓度溶液分别为15.60、7.80和3.90 mg/ml,VPA溶液浓度为17.50 mg/ml。冷藏备用。

1.2.2 PTZ慢性点燃癫痫大鼠造模及处理 各组均选用灌胃法给予处理药物,A组与B组给予等容积生理盐水;C组按87.5 mg/kg给予VPA溶液;D、E和F组分别按照156、78、39 mg/kg给予柴胡皂甙溶液(相当于柴胡生药40、20、10 g中所含总皂甙)。每日上午8时左右给药,给药1 h后,A组按10 ml/kg生理盐水腹腔注射,其他各组按32.5 mg/kg腹腔注射PTZ溶液,1次/d,连续4周。腹腔注射PTZ溶液后观察记录大鼠痫性发作级别。痫性发作分级采用 Racine标准[7],即0级:无发作反应;1级:节律性口角、耳或面部肌肉抽动阵挛;2级:点头并伴随更严重的面部肌肉抽动阵挛;3级:出现前肢阵挛但不伴随直立;4级:前肢阵挛伴随直立;5级:全身强直阵挛发作而跌倒。凡是连续至少5次2级以上痫性发作的大鼠被认为慢性点燃致病成功[8]。

1.2.3 脑电图描记 4周结束时,以上每组随机各取4只大鼠进行脑电图描记。电极埋置方法参照文献[6]方法。在排除手术可能造成的损伤后,采用EEG-4418K型脑电图仪描记各组大鼠脑电图,纸速30 mm/s,时间常数0.1s,滤波35 Hz,增益10 μ V/mm,定标为50 μ V/5 mm,连续描记5 min。

1.3 统计学处理

统计应用SPSS10.0软件。计数资料及率的比较用卡方检验，等级资料比较用等级资料的秩和检验，计量资料用计量资料的秩和检验。

2 结果

2.1 各组PTZ慢性点燃致痫大鼠痫性发作率、点燃率的变化

腹腔注射后有过痫性发作的大鼠计算其发作率，以B组最高为100%，其他各组发作率较低，其中2周时D组与B组相比较有显著性差异($P < 0.05$)，结果见表1。4周时B组点燃率达到100%，而C组和D、E、F组点燃率都低于B组，其中D组与B组比较有显著性差异($P < 0.05$)，结果见表2。

表 1 柴胡总皂甙对大鼠痫性发作率的影响

Tab.1 Effect of saikosaponins on seizure frequency in the rats ($n=8$)

Group	Rats of seizure (n)		Seizure frequency (%)			
	2 weeks	4 weeks	2 weeks	P value*	4 weeks	P value*
A	0	0	0		0	
B	8	8	100.00		100.00	
C	5	8	62.50	0.20	100.00	
D	3	5	37.50	0.03	62.50	0.20
E	4	6	50.00	0.08	75.00	0.45
F	4	6	50.00	0.08	75.00	0.45

Group A: Blank group; Group B: Normal saline group; Group C: Sodium valproate group; Group D: High-dose saikosaponins group; Group E: Medium-dose saikosaponins group; Group F: Small-dose saikosaponins group. * P value for comparison with group B.

表 2 柴胡总皂甙对致痫大鼠点燃率的影响

Tab.2 Effect of saikosaponins on kindling rate in the rats ($n=8$)

Group	Rats of kindling (n)		Kindling rate (%)			
	2 weeks	4 weeks	2 weeks	P value*	4 weeks	P value*
A	0	0	0		0	
B	3	8	37.50		100.00	
C	1	4	12.50	0.56	50.00	0.08
D	1	3	25.00	0.56	37.50	0.03
E	3	5	37.50	1.00	62.50	0.20
F	2	5	25.00	1.00	62.50	0.20

* P value for comparison with group B

2.2 各组PTZ慢性点燃致痫大鼠每周痫性发作总例次的变化

根据各组每周的痫性发作例次连线绘制成图1。可以看出各组4周内发作例次的总体趋势：B组随时间延长，痫性发作总例次增加；C、D、E、F组线条平缓而较靠近X轴。前3周各组大鼠发作例次虽有差异但无统计学意义($P>0.05$)；第4周时各组存在显著性差异($P<0.05$)，说明C、D、E、F组能减少大鼠痫性发作的总例次。

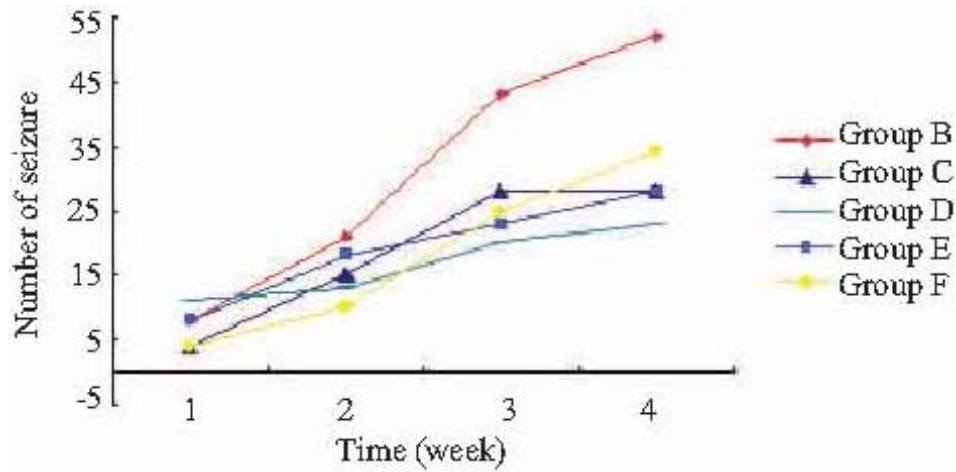


图1 柴胡总皂甙对PTZ慢性点燃大鼠每周总发作例次的影响

Fig.1 Effect of saikosaponins on weekly seizure onsets in PTZ-induced kindling rats

2.3 各组PTZ慢性点燃致痫大鼠痫性发作级别的变化

PTZ腹腔注射4周内，各组大鼠痫性发作级别结果比较存在显著性差异($P<0.01$ ，表3)，提示柴胡总皂甙和VPA能降低PTZ致痫大鼠的痫性发作级别。

表3 柴胡总皂甙对PTZ慢性点燃模型发作级别的影响

Tab.3 Effect of saikosaponins on seizure grades in PZT-induced chronic kindling rats

Group	Seizure level						χ^2	P value*
	0	1	2	3	4	5		
A	0	0	0	0	0	0	152.03	0.00
B	100	0	42	50	28	4		
C	149	0	47	21	7	0		
D	157	0	26	27	12	2		
E	147	0	20	22	30	5		
F	151	0	35	18	17	3		

*By Kruskal-Wallis test

2.4 对大鼠脑电图的影响

各组大鼠脑电图见图2。A组大鼠皮质及海马脑电图以 α 、 β 波即基础波为主，无明显节律性；B组大鼠出现散在性痫波，多为棘波、尖波、棘慢复合波，出现大量痫性放电；C、D组大鼠无棘波、尖波、棘慢复合波等出现，基本表现为 α 、 β 波；E和F组可以见到少量的散在的棘波、尖波出现。VPA和柴胡皂甙高、中、低剂量组均能抑制慢性点燃大鼠的痫性放电，以VPA和柴胡皂甙高剂量组明显。

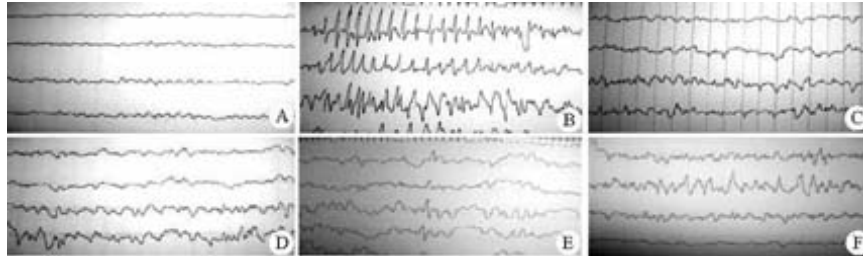


图2 各组大鼠脑电图

Fig.2 EEG of each group

A: Blank control group; B: Normal saline group; C: Sodium valproate group; D: High-dose saikosaponins group; E: Medium-dose saikosaponins group; F: Small-dose saikosaponins group

3 讨论

癫痫是以神经元阵发性异常放电并导致突然、反复和短暂的中枢神经系统功能失常为特征，神经元兴奋性增加及过度同步化放电可能是产生癫痫的基本条件。经典致痫剂PTZ点燃模型被认为是模拟人类癫痫的理想动物模型之一[9]。许多学者将PTZ腹腔注射或在脑皮质表面应用，成功地诱导出癫痫的动物模型，而PTZ本身无特殊的神经毒性作用，是研究癫痫发作与神经元损伤关系的常用模型[10]。本研究中腹腔注射PTZ对大鼠的慢性点燃率达100%，说明造模是成功的。

本课题组曾选用青霉素造模成功后给予干预处理，发现柴胡及柴胡皂甙有一定的治疗癫痫作用[4][6]。在本研究中则采用PTZ腹腔注射同时给予柴胡总皂甙干预处理，探讨柴胡总皂甙对PTZ慢性点燃致痫大鼠痫性发作及慢性点燃进程的影响，以期多途径研究柴胡总皂甙抗癫痫作用。研究提示，给予柴胡总皂甙口服的大鼠有7只(高、中、低剂量3组合计)始终未出现痫性发作，其痫性发作率低于模型组，尤以2周时柴胡总皂甙高剂量组明显($P < 0.05$)。4周时柴胡总皂甙高剂量组点燃率也显著低于模型组($P < 0.05$)，其余各组包括VPA组点燃率虽低于模型组，但统计学处理无显著性意义，可能与样本数不足有关。随服药时间延长，柴胡总皂甙能减少大鼠痫性发作的总例次，尤以第4周明显($P < 0.05$)。对于痫性发作级别的影响，柴胡总皂甙和VPA均能降低痫性发作级别，以柴胡总皂甙高剂量组和VPA组明显。从部分大鼠脑电图描记结果看，柴胡总皂甙和VPA均能抑制大鼠痫性放电，棘波、尖波、棘慢复合波减少。痫性放电与其痫性发作的结果是相吻合的。可见柴胡总皂甙与VPA相类似，均能通过抑制PTZ慢性点燃大鼠的痫性放电而发挥其拮抗大鼠痫性发作的作用，降低其痫性发作级别，减少痫性发作次数，对抗PTZ的慢性点燃，具有一定的阻止PTZ慢性点燃进程的作用。柴胡总皂甙是否与VPA具有相似的抗痫机制，即通过增加脑内抑制性神经递质含量，降低神经元兴奋性，从而控制痫性发作，尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] ILAE Commission Report. The epidemiology of the epilepsies: future directions[J]. *Epilepsia*, 1997, 38: 614-8.
- [2] Jallon P. ILAE. Workshop Report: Epilepsy in developing countries[J]. *Epilepsia*, 1997, 38: 1143-51.
- [3] 黄运生, 陈宝田, 谢 炜. 柴胡疏肝汤添加治疗原发性癫痫108例疗效观察[J]. *中药材*, 2002, 25(5): 374-6.
- [4] 李 静, 谢 炜, 陈宝田. 柴胡对实验性癫痫大鼠的治疗作用[J]. *中药药理与临床*, 2000, 16(S): 28-30.

- [5]刘 燕, 廖卫平, 葛发欢. 柴胡有效成分的萃取与抗惊厥作用实验研究[J]. 中医药学报, 2001, 29(3): 47-9.
- LiuY, Liao WP, Ge FH. The extraction of Bupleurum chinese D. C. and research of its anticonvulsion effect[J]. ACMP, 2001, 29(3): 47-9.
- [6]黄运生, 谢 炜, 陈宝田. 柴胡皂甙对癫痫大鼠脑电的影响[J]. 第一军医大学学报, 2004, 24(12): 1379-81.
- Huang YS, Xie W, Chen BT. Effect of saikosaponins of epileptic rat electroencephalogram[J]. J First Mil Med Univ/Di Yi Jun Yi Da Xue Xue Bao, 2004, 24(12): 1379-81.
- [7]Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation II. Motor seizure[J]. Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 1972, 32: 281-94.
- [8]张丽萍, 王进声, 陈 青, 等. 戊四唑致痫模型大鼠脑神经元损害及宁痫颗粒的干预作用[J]. 山东中医杂志, 2004, 23(10): 619-20.
- [9]van der Graf PH, Ghijsen W, Voskuyl R, et al. Mechanism-based modeling of adaptive changes in the pharmacodynamics of midazolam in the kindling model of epilepsy[J]. Pharm Res, 1999, 16(11): 1702-9.
- [10]Holmes GL. Seizure-induced neuronal injury: Animal data[J]. Neurology, 2002, 59(9Suppl 5): S3-6.

[回结果列表](#)