

依达拉奉对氧惊厥小鼠脑组织白细胞介素-1 β 和白细胞介素-10 含量的影响

Effects of edaravone on levels of IL-1 β and IL-10 in brain tissue of mice after hyperbaric oxygen-induced convulsion

雷箴¹, 贾兴元¹, 王国忠²

(1. 首都医科大学附属北京朝阳医院医学研究中心, 北京 100020; 2. 民航总医院氧疗科, 北京 100123)

摘要: 将 56 只小鼠随机分为氧惊厥组、依达拉奉组以及正常对照组。氧惊厥组和依达拉奉组小鼠置于高压氧环境中至惊厥发作, 建立氧惊厥小鼠模型。用酶联免疫吸附法检测小鼠脑组织白细胞介素-1 β (IL-1 β) 和白细胞介素-10 (IL-10) 含量。结果显示, 依达拉奉 24 h 组和 48 h 组小鼠脑组织 IL-1 β 含量均低于同时时间点氧惊厥组 ($P<0.05$); 氧惊厥组、依达拉奉组和正常对照组之间小鼠脑组织 IL-10 含量差异无统计学意义 ($P>0.05$)。提示依达拉奉可以有效降低氧惊厥小鼠在惊厥早期脑组织 IL-1 β 水平, 有助于减轻惊厥性脑损伤。

关键词: 氧惊厥; 依达拉奉; 脑组织; IL-1 β ; IL-10

中图分类号: R852.15 **文献标识码:** B

文章编号: 1002-221X(2015)02-0118-02

DOI:10.13631/j.cnki.zggyx.2015.02.014

氧中毒主要损伤部位是脑、肺和眼等组织, 脑型氧中毒最显著表现是惊厥发作即氧惊厥^[1]。炎症反应是癫痫/惊厥发生的一个重要因素^[2]。依达拉奉是一种新型的氧自由基清除剂, 已初步应用于癫痫治疗^[3,4]。本研究拟应用酶联免疫吸附法 (ELISA) 观察依达拉奉对氧惊厥小鼠脑组织白细胞介素-1 β (IL-1 β) 和白细胞介素-10 (IL-10) 含量的影响, 探索氧惊厥治疗的新途径。

1 材料与方法

1.1 实验动物

56 只清洁级成年雄性 BALB/c 小鼠 (25~30 g), 购于北京大学医学部实验动物中心, 许可证号: SCXK(京)2006-008。

1.2 主要试剂和仪器

Mouse IL-1 β ELISA Kit、IL-10 ELISA Kit (美国 ENDOGEN 公司产品), 考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒 (南京建成生物工程研究所产品), 依达拉奉注射液 (南京先声公司); MK2 型酶标仪 (芬兰 Labsystems 公司产品)。

1.3 实验动物分组

BALB/c 小鼠按抽签法随机分成 7 组: 氧惊厥 6 h 组、24 h 组、48 h 组, 氧惊厥 6 h+依达拉奉 6 h 组、24 h 组、48 h 组及正常对照组, 每组 8 只。

1.4 实验动物处理

1.4.1 氧惊厥模型建立 参照文献[5], 将氧惊厥组和依达拉奉组小鼠置于动物实验舱内, 纯氧洗舱 5 min, 加压 4 min

至 5.0 ATA, 维持压力直到小鼠出现惊厥发作, 减压 15 min 出舱。

1.4.2 依达拉奉处理 依达拉奉 6 h 组小鼠在氧惊厥后 2 h 时接受依达拉奉腹腔注射各 1 次 (3 mg/kg); 依达拉奉 24 h 组分别在氧惊厥后 2 h、20 h 时接受依达拉奉腹腔注射各 1 次; 依达拉奉 48 h 组分别在氧惊厥后 2 h、20 h、44 h 时接受依达拉奉腹腔注射各 1 次。氧惊厥组小鼠在相应时间点给予腹腔注射同等体积的生理盐水。

1.5 标本制备和检测方法

氧惊厥 6 h 组 (即在惊厥发作后 6 h 时) 以脊椎脱臼法处死小鼠, 其它各组小鼠在相应的时间点处理, 迅速取出脑组织, 加入预冷的匀浆液 (1 ml/100 mg 脑组织), 匀浆 3 min, 4℃下 15000 g/min 离心 10 min, 取上清液置于-70℃冰箱中保存。采用 ELISA 双抗夹心法检测上清液中 IL-1 β 和 IL-10 含量; 并采用考马斯亮蓝蛋白测定法检测上清液中蛋白含量; 最后换算出每克蛋白中细胞因子含量 (pg/g)。

1.6 统计学处理

用 SPSS11.5 统计软件处理, 数据以均数 $\pm$ 标准差表示, 组间均数比较采用方差分析和 Q 检验

2 结果

氧惊厥 24 h 组和 48 h 组小鼠脑组织 IL-1 β 含量均高于正常对照组 ($P<0.05$); 依达拉奉 24 h 组和 48 h 组小鼠脑组织 IL-1 β 含量均低于同时时间点氧惊厥组 ($P<0.05$)。在同时时间点, 氧惊厥组、依达拉奉组和正常对照组之间小鼠脑组织 IL-10 含量差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 1。

表 1 依达拉奉对氧惊厥小鼠脑组织 IL-1 β 和

IL-10 含量的影响 ($\bar{x}\pm s$)		pg/g	
组别	例数	IL-1 β	IL-10
正常对照组	8	146.45 $\pm$ 34.26	123.90 $\pm$ 31.74
氧惊厥 6 h 组	8	164.70 $\pm$ 22.32	131.64 $\pm$ 27.51
24 h 组	8	212.94 $\pm$ 54.75*	145.85 $\pm$ 32.89
48 h 组	8	187.24 $\pm$ 40.37*	156.95 $\pm$ 36.99
依达拉奉 6 h 组	8	152.55 $\pm$ 26.20	138.44 $\pm$ 33.60
24 h 组	8	156.49 $\pm$ 39.69 Δ	149.73 $\pm$ 30.48
48 h 组	8	134.23 $\pm$ 33.25 Δ	157.49 $\pm$ 37.01

注: 与正常对照组相比, * $P<0.05$; 与同时时间点氧惊厥组相比, $\Delta P<0.05$ 。

3 讨论

氧惊厥与癫痫大发作相似, 所引起的脑内炎症反应是导致惊厥发作后脑组织病理改变的主要原因之一^[1,6]。IL-1 β 是

收稿日期: 2014-09-22; 修回日期: 2014-12-01

作者简介: 雷箴 (1963—), 女, 主管技师, 主要从事神经病学基础研究工作。

一种重要的促炎性细胞因子, 而 IL-10 可抑制一些促炎细胞因子如 IL-1 的产生, 是一种抗炎细胞因子, 并有一定的抗惊厥作用^[7,8]。

Voutsinos 等^[9]应用免疫组化技术检测锂-匹罗卡品致病大鼠脑组织 IL-1 β 表达, 发现在惊厥发作 12 h 后大鼠海马、丘脑等处脑组织即出现 IL-1 β 表达量增高并持续到 24 h, 在惊厥发作 72 h 后 IL-1 β 表达量渐恢复到正常水平。王海萍等^[6]发现锂-匹罗卡品致病大鼠在惊厥发作后 12 h 时, 海马 CA1 区 IL-1 β 阳性细胞明显增多, 24 h 时最为显著, 48 h 时开始减少。本研究采用高压氧诱导惊厥发作, 发现在氧惊厥发作 24 h 和 48 h 后小鼠脑组织 IL-1 β 蛋白含量较正常对照组显著增高, 提示 IL-1 β 可能参与了氧惊厥发作的始动过程, 也可能是惊厥性脑损伤原因之一。

Pereira 等^[10]通过声响刺激建立大鼠惊厥模型, 发现惊厥 24 h 后大鼠海马 IL-10 mRNA 表达较正常对照组无明显变化。本研究与此研究结果相似, 也发现氧惊厥后小鼠脑组织 IL-10 含量无明显变化。

依达拉奉对癫痫/惊厥有一定的治疗作用。翟红等^[4]报道依达拉奉辅助治疗癫痫持续状态效果显著, 患者癫痫发作次数明显减少。王海萍等^[6]发现依达拉奉处理癫痫大鼠后, 其 IL-1 β 阳性神经元细胞和神经细胞凋亡均明显减少, 提示依达拉奉对惊厥性脑损伤可能有一定的保护作用。

本研究发现氧惊厥小鼠经依达拉奉处理后, 脑组织 IL-1 β 含量在惊厥发作 24 h、48 h 时有显著降低, 这有助于控制过度的炎症反应。但各组 IL-10 含量至惊厥发作后 72 h 时仍无明显差异, 我们考虑这可能与观察时间较短有关。Gouveia 等^[11]发现经洛伐他汀处理的癫痫大鼠在惊厥发作 30 d 时, 其海马 IL-10 mRNA 表达明显增高。

本研究显示在氧惊厥早期, 应用依达拉奉处理可以有效降低惊厥后小鼠脑组织 IL-1 β 水平, 有助于重建促炎和抗炎细胞因子的平衡。这可能是控制氧惊厥发展、减轻惊厥性脑损伤的有效途径之一, 有待我们进一步研究。

参考文献:

[1] Koch A E, Kähler W, Wegner B H, *et al.* Monitoring of CBFV and

time characteristics of oxygen-induced acute CNS toxicity in humans [J]. *Eur J Neurol*, 2008, 15 (7): 746-748.

[2] D'Ambrosio R, Eastman C L, Fattore C, *et al.* Novel frontiers in epilepsy treatments: preventing epileptogenesis by targeting inflammation [J]. *Expert Rev Neurother*, 2013, 13 (6): 615-525.

[3] Kamida T, Fujiki M, Ooba H, *et al.* Neuroprotective effects of edaravone, a free radical scavenger, on the rat hippocampus after pilocarpine-induced status epilepticus [J]. *Seizure*, 2009, 18 (1): 71-75.

[4] 翟红, 翟军, 李光建. 依达拉奉注射液辅助治疗癫痫持续状态的临床效果观察 [J]. *中国医药导报*, 2013, 10 (18): 91-92.

[5] Chavko M, Braisted J C, Harabin A L. Attenuation of brain hyperbaric oxygen toxicity by fasting is not related to ketosis [J]. *Undersea Hyperb Med*, 1999, 26 (2): 99-103.

[6] 王海萍, 邓小龙, 李光乾. 依达拉奉对惊厥持续状态幼年大鼠海马 GFAP 和 IL-1 β 表达及细胞凋亡的影响 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2011, 13 (3): 231-235.

[7] Iyer S S, Cheng G. Role of interleukin 10 transcriptional regulation in inflammation and autoimmune disease [J]. *Crit Rev Immun*, 2012, 32 (1): 23-43.

[8] Levin S G, Godukhin O V. Protective effects of interleukin-10 on the development of epileptiform activity evoked by transient episodes of hypoxia in rat hippocampal slices [J]. *Neurosci Behav Physiol*, 2007, 37 (5): 467-470.

[9] Voutsinos P B, Koning E, Kaplan H, *et al.* Temporal patterns of the cerebral inflammatory response in the rat lithium-pilocarpine model of temporal lobe epilepsy [J]. *Neurobiol Dis*, 2004, 17 (3): 385-402.

[10] Pereira M G, Gitaf D L, Pacó L M L, *et al.* Modulation of B1 and B2 kinin receptors expression levels in the hippocampus of rats after audiogenic kindling and with limbic recruitment, a model of temporal lobe epilepsy [J]. *Int Immunopharmacol*, 2008, 8 (2): 200-205.

[11] Gouveia T L, Scorza F A, Iha H A, *et al.* Lovastatin decreases the synthesis of inflammatory mediators during epileptogenesis in the hippocampus of rats submitted to pilocarpine-induced epilepsy [J]. *Epilepsy Behav*, 2014, 36: 68-73.

(上接第 115 页)

[24] 陈婉蓉, 傅仲滇, 端礼荣. 金属致畸的体外系统研究 [J]. *环境与健康杂志*, 1994, 11 (1): 14-16.

[25] Harding H E. The toxicology of zircon: preliminary report [J]. *Br J Ind Med*, 1948, 5: 73-76.

[26] Ghosh S, Sharma A, Talukder G. Zirconium—an abnormal trace element in biology [J]. *Biol Trace Elem Res*, 1992, 35 (3): 247-271.

[27] Shima S, Morita K, Tachikawa S, *et al.* IgM antibody production in mice intraperitoneally injected with zirconium oxychloride [J]. *Br J Ind Med*, 1987, 44: 633-637.

[28] 骆蓉, 刘志宏. 慢性铍病发病机制及铍免疫毒性的研究进展 [J]. *宁夏医学院学报*, 2009, 29 (1): 103-105.

[29] 刘镜瑜. 职业与环境性过敏性疾病的研究现状 [J]. *中华劳动卫生职业病杂志*, 2000, 18 (3): 189-190.

[30] 曾庆富, 牛海艳. 肺纤维化机制的研究进展 [J]. *中华病理学杂志*, 2001, 30 (5): 371-373.

[31] Kang K Y, John Salvaggio. Effects of zirconium and aluminum salts on the alveolar macrophages [J]. *Tohoku J Exp Med*, 1978, 126 (4): 317-324.

[32] 高衍新, 王瑞. 矽尘致肺纤维化机制及细胞因子在矽肺纤维化中的作用 [J]. *中国工业医学杂志*, 2008, 21 (1): 31-34.

[33] 王向东, 逯福生, 贾栩, 等. 2011 年锆工业年评 [J]. *钛工业进展*, 2013, 30 (1): 1-4.

[34] 苏怡, 王玉燕, 侯延文. 氧化锆牙种植体材料的毒理学研究 [J]. *中国卫生工程学*, 2001, 10 (4): 147-149.

[35] 李为, 刘庆, 周乙雄, 等. 锆铌氧化合金关节表面材料在全膝关节置换术中的临床应用 (附 75 例报告) [J]. *中华关节外科杂志*, 2007, 1 (1): 50-52.