

◆方药实验研究◆

解郁颗粒对抑郁模型大鼠血清中皮质醇及海马环磷酸腺苷含量的影响

林海¹, 蒋慧², 王莹³

1. 西安市中医医院脑病科, 陕西 西安 710021
2. 青岛市中医医院脑病科, 山东 青岛 266000
3. 麻城市人民医院神经内科, 湖北 麻城 438300

[摘要] 目的: 观察院内制剂解郁颗粒对抑郁模型大鼠血清中皮质醇(Cortisol, CORT)及海马环磷酸腺苷(Cyclic adenosine monophosphate, cAMP)含量的影响并探讨其作用机制。方法: 将72只雄性SD大鼠分为空白组、模型组、盐酸氟西汀组、解郁颗粒大、中、小剂量组。采用慢性轻度不可预见性的应激抑郁大鼠模型, 观察大鼠体质量及行为学变化, 给药21天后, 测定血清中CORT及海马cAMP含量。结果: 实验前各组大鼠体质量均无明显差异($P > 0.05$)。在第22天, 各组大鼠体质量均有增加, 与空白组比较, 模型组大鼠体质量较小($P < 0.05$); 水平运动、垂直运动得分及海马cAMP水平明显减少, CORT水平明显升高, 差异均有统计学意义($P < 0.01$)。与模型组比较, 盐酸氟西汀组、解郁颗粒大、中剂量组体质量显著升高($P < 0.01$, $P < 0.05$); 盐酸氟西汀组、解郁颗粒各剂量组大鼠的水平运动和垂直运动得分均较高($P < 0.05$); CORT水平明显下降, 海马cAMP水平明显升高, 差异均有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$)。结论: 解郁颗粒对抑郁模型大鼠有抗抑郁的作用, 其作用机制可能是通过纠正下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA轴)亢进, 从而上调AC-cAMP-PKA信号通路实现的。

[关键词] 抑郁症; 中医药疗法; 解郁颗粒; 动物实验; 大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2019) 03-0001-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2019.03.001

Effect of Jieyu Granules on the Contents of Cortisol and Hippocampal Cyclic Adenosine Monophosphate in Serum of Model Rats with Depression

LIN Hai, JIANG Hui, WANG Ying

Abstract: **Objective:** To observe the effect of Jieyu granules, the hospital preparation, on the contents of cortisol(CORT) and hippocampal cyclic adenosine monophosphate (cAMP) in serum of model rats with depression and to explore its mechanism. **Methods:** Divided 72 male SD rats into six groups, namely the blank group, the model group, the fluoxetine hydrochloride group, the Jieyu granules groups of high-dose, medium-dose and low-dose. Adopted model rats with depression of chronic unpredictable mild stress, and observed the changes in the body mass and behavior of the rats. After 21-day drug administration, measured the contents of CORT and hippocampal cAMP in serum. **Results:** Before the experiment, there was no significant difference in the body mass of each group($P > 0.05$). On the 22nd day, the body mass of rats in each group increased, compared with that in the blank group, the body mass of the model group was smaller($P < 0.05$); the scores of horizontal and vertical movements and the level of hippocampal cAMP were obviously decreased, while the level of CORT was obviously increased, differences being significant($P < 0.01$). Compared with the model group, the body mass of the fluoxetine hydrochloride group and the Jieyu granules groups of high-dose and medium-dose were obviously increased($P < 0.01$, $P < 0.05$); the scores of horizontal and vertical movements of the fluoxetine hydrochloride group and the Jieyu granules groups of each dose were higher($P < 0.05$); the levels of CORT were obviously decreased, while the levels of hippocampal cAMP were obviously increased, differences being significant($P < 0.01$, $P < 0.05$).

[收稿日期] 2018-08-15

[基金项目] 西安市科技局研究项目 [SF1322 (2)]

[作者简介] 林海 (1964-), 男, 主任医师, 研究方向: 中医和中西医结合治疗脑血管病及神经症。

[通信作者] 蒋慧, E-mail: jianghui-1017@163.com。

Conclusion: Jieyu granules have good antidepressant effect on model rats with depression. Its mechanism is probably to correct the hyperfunction of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis (HPA axis), thereby up-regulating the AC-cAMP-PKA signal pathway.

Keywords: Depression; Chinese medicine therapy; Jieyu granules; Animal experiment; Rats

抑郁症为心境障碍的一种临床症状,是以显著而持久的心境低落、思维迟缓、认知功能损害、意志活动减退和躯体症状为主要临床特征的一类疾病^[1]。属于中医的郁病。本研究通过观察解郁颗粒对抑郁模型大鼠血清中皮质醇(Cortisol, CORT)及海马环磷酸腺苷(Cyclic adenosine monophosphate, cAMP)含量的影响,探讨解郁颗粒治疗抑郁症的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 雄性成年SD大鼠72只,体质量在180~220 g之间。由西安交通大学实验动物中心提供,动物许可证号为SCXK(陕)2007-001,在陕西中医药大学中心实验室给予普通饲料,自由饮水,自然昼夜节律光照,安静环境中,温度控制在18℃~22℃,湿度65%~70%,适应性喂养1周。

1.2 实验药物 解郁颗粒由西安市中医医院药剂科自制提供,由柴胡、生龙骨、生牡蛎、郁金等中药组成,每克相当原生药5 g,4℃保存。盐酸氟西汀胶囊(由礼来苏州制药有限公司生产,20 mg/粒,批准文号:9701B)研钵粉碎,溶于适量蒸馏水制成悬液,4℃保存。

1.3 主要仪器和试剂 电子天平(上海精密科学仪器有限公司)、TDL-802B型离心机(科大创新有限公司中佳分公司)、DK-8A型电恒温水浴箱(上海精宏实验设备有限公司)、OLYMPUS全自动显微镜照相装置(奥林巴斯株式会社)、冰箱(西门子公司)。CORT放射免疫分析试剂盒、cAMP放射免疫分析试剂盒(北京市福瑞生物工程公司)。

1.4 模型制备 实验前大鼠进行1%的蔗糖水训练3天,以改变动物以前的饮水习惯,第4天开始24 h禁水不禁食后,测12 h的1%蔗糖水偏嗜度,根据测量结果和体质量随机分为6个组,每组12只。即空白组、模型组、盐酸氟西汀组(给以2.1 mg/mL盐酸氟西汀)、解郁颗粒小、中、大剂量组(给药浓度分别为94.5 g/mL、189 g/mL、378 g/mL)。根据文献^[2]中的方法并改进,制造慢性轻度不可预见性的应激模型加孤养诱导大鼠慢性应激抑郁模型。空白组每笼6只,正常饲养,不给任何刺激,其余各组单笼饲养,21天随机每天给予1种不可预知的应激刺激,同1种刺激不能连续出现,平均每种刺激各进行2~3次,使动物不能预料刺激的发生。造模同时给药,空白组、模型组给等量生理盐水灌胃,每天1次,连续给药21天。

1.5 蔗糖水消耗实验及大鼠行为学观察 实验大鼠首先饮用1%的蔗糖水,以改变饮水习惯,在实验开始48 h内以蔗糖水替代自来水,接着禁水24 h不禁食,测量大鼠在1 h内蔗糖水的饮用量,实验每周进行1次禁食禁水及1 h蔗糖水测试。应

用敞箱实验法测定行为活动数,将大鼠置于1个长、宽均1 m,高0.6 m的敞箱中,底部用黑线划成20 cm×20 cm的小方格,共25个。将大鼠置于敞箱中央,测其水平和垂直活动,活动水平活动得分以前肢抬起、后肢直立为标准,计1分,垂直活动得分以前肢抬起、后肢直立为标准,计1分。统计3 min内大鼠水平活动得分和垂直活动得分。

1.6 各组大鼠血清CORT及海马cAMP含量测定 第23天将实验大鼠腹腔注射10%水合氯醛麻醉后开腹,取血3 mL加入40 μL肝素钠的试管,混匀,室温放置15 min,离心(3 500 r/min)15 min,吸弃上清液,分离血浆放置-20℃冰箱保存,严格按照放免试剂盒说明书进行操作,分离血清,采用¹²⁵I标记放免法测定CORT含量。将实验大鼠脑部定位,麻醉后取出大鼠海马组织,将海马组织装入冻存管内然后投入液氮中,等其固化后称重,装入冰箱里待测。检测时将海马放入pH 4.75的醋酸缓冲液中匀浆,再加无水乙醇沉淀蛋白,然后离心后取出上清液,60℃烘干^[3]。严格按照放免试剂盒方法要求,采用¹²⁵I标记放免法测定海马cAMP含量。

1.7 统计学方法 采用SPSS16.0统计软件进行统计学处理,计量资料均用($\bar{x} \pm s$)表示,各计量资料采用单因素方差分析和组间 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠糖水消耗量变化结果比较 见表1。与空白组比较,模型组大鼠糖水消耗量明显降低($P < 0.01$);与模型组比较,盐酸氟西汀组、解郁颗粒小、中、大剂量组大鼠糖水消耗量明显升高($P < 0.01$);与盐酸氟西汀组比较,解郁颗粒小剂量组大鼠糖水消耗量较小($P < 0.05$),中、大剂量组差异无统计学意义。

表1 各组大鼠糖水消耗量变化结果比较($\bar{x} \pm s$) mL

组别	n	糖水消耗量
空白组	12	17.28 ± 3.56
模型组	12	11.79 ± 2.75 ^①
盐酸氟西汀组	12	15.54 ± 2.65 ^②
解郁颗粒小剂量组	12	15.21 ± 2.98 ^{②③}
解郁颗粒中剂量组	12	15.33 ± 3.37 ^②
解郁颗粒大剂量组	12	15.83 ± 2.49 ^②

与空白组比较,① $P < 0.01$;与模型组比较,② $P < 0.01$;与盐酸氟西汀组比较,③ $P < 0.05$

2.2 各组大鼠体质量变化结果比较 见表2。造模前各组大

鼠体质量差异无统计学意义($P > 0.05$)。第22天,与空白组比较,模型组大鼠体质量下降($P < 0.01$);与模型组比较,盐酸氟西汀组、解郁颗粒大、中、小剂量组大鼠体质量上升($P < 0.01$, $P < 0.05$);与盐酸氟西汀组比较,解郁颗粒大剂量组、中剂量组大鼠体质量差异无统计学意义($P > 0.05$),解郁颗粒小剂量组体质量较小($P < 0.05$)。

表2 各组大鼠体质量变化结果比较($\bar{x} \pm s$)^g

组别	n	第0天体质量	第22天体质量
空白组	12	190.4 ± 13.7	223.2 ± 7.9
模型组	12	189.5 ± 11.0 ^①	208.0 ± 8.8 ^②
盐酸氟西汀组	12	191.3 ± 9.8 ^①	221.5 ± 9.3 ^③
解郁颗粒小剂量组	12	188.9 ± 12.4 ^①	215.4 ± 9.7 ^{④⑤}
解郁颗粒中剂量组	12	187.8 ± 11.9 ^①	217.9 ± 8.4 ^{③⑥}
解郁颗粒大剂量组	12	189.7 ± 12.6 ^①	220.4 ± 7.6 ^{③⑥}

与空白组比较,① $P > 0.05$, ② $P < 0.01$;与模型组比较,③ $P < 0.01$, ④ $P < 0.05$;与盐酸氟西汀组比较,⑤ $P < 0.05$, ⑥ $P > 0.05$

2.3 各组大鼠行为学得分结果比较 见表3。与空白组比较,模型组水平运动和垂直运动得分明显减少($P < 0.01$);与模型组比较,盐酸氟西汀组、解郁颗粒大、中、小剂量组大鼠的水平运动和站立运动得分均较高($P < 0.05$);与盐酸氟西汀组比较,解郁颗粒各个剂量组水平运动和垂直运动得分差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表3 各组大鼠行为学得分结果比较^分

组别	n	水平运动得分	垂直运动得分
空白组	12	62.11 ± 27.49	13.12 ± 7.91
模型组	12	25.27 ± 8.43 ^①	6.31 ± 1.89 ^①
盐酸氟西汀组	12	60.36 ± 19.55 ^②	10.95 ± 4.73 ^②
解郁颗粒小剂量组	12	41.91 ± 19.97 ^{②③}	8.63 ± 3.33 ^{②③}
解郁颗粒中剂量组	12	43.84 ± 17.38 ^{②③}	8.92 ± 3.64 ^{②③}
解郁颗粒大剂量组	12	59.79 ± 22.31 ^{②③}	9.88 ± 3.76 ^{②③}

与空白组比较,① $P < 0.01$;与模型组比较,② $P < 0.05$;与盐酸氟西汀组比较,③ $P > 0.05$

2.4 各组大鼠血清CORT及海马cAMP变化结果比较 见表4。与空白组比较,模型组大鼠血清中CORT明显升高,海马cAMP水平明显下降,差异均有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,盐酸氟西汀组、解郁颗粒大、中、小剂量组大鼠血浆中CORT下降,海马cAMP水平升高,差异均有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$);与盐酸氟西汀组比较,解郁颗粒大、中剂量组大鼠血浆中CORT、大鼠海马cAMP水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

慢性轻度不可预见性的应激抑郁模型已成为抑郁症经典常

表4 各组大鼠血清CORT及海马cAMP变化结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CORT(ng/mL)	cAMP(pmol/mL)
空白组	12	5.984 ± 1.3	0.72 ± 0.10
模型组	12	10.482 ± 3.72 ^①	0.46 ± 0.11 ^①
盐酸氟西汀组	12	6.553 ± 2.68 ^②	0.63 ± 0.15 ^②
解郁颗粒小剂量组	12	7.462 ± 3.16 ^③	0.56 ± 0.09 ^③
解郁颗粒中剂量组	12	6.972 ± 2.46 ^{③④}	0.58 ± 0.11 ^{③④}
解郁颗粒大剂量组	12	7.034 ± 3.17 ^{③④}	0.61 ± 0.13 ^{③④}

与空白组比较,① $P < 0.01$;与模型组比较,② $P < 0.01$, ③ $P < 0.05$;与盐酸氟西汀组比较,④ $P > 0.05$

用实验模型。本实验严格按照此模型加孤养诱导2种经典方式,通过在造模的21天里随机选取多种不同的应激因素刺激大鼠,使大鼠不能预料刺激的发生,造成孤养动物抑郁状态。行为学指标是评价模型大鼠抑郁状态的重要参数。敞箱实验得分能反映大鼠中枢神经系统兴奋性的高低,水平得分反映大鼠活动能力,垂直得分反应大鼠探究行为和好奇程度^[4]。结果显示大鼠在遭受刺激后的行为表现与抑郁症患者的症状相似,如大鼠蔗糖水摄入的减少与抑郁症患者兴趣下降相似,大鼠在敞箱实验中活动变慢与抑郁症患者运动能力下降、反应迟钝相似。本实验在有限的条件下,一定程度上,采用大鼠成功模拟了人类抑郁症的临床表现和病理变化,对研究抑郁症的发病机制及药物治疗具有一定临床意义。模型组大鼠与空白组比较蔗糖水消耗量降低,体质量增长速度变慢,行为活动次数减少,敞箱活动得分减少。说明慢性应激刺激后实验大鼠表现出不同程度的抑郁症状,造模成功。模型组与解郁颗粒各剂量组及盐酸氟西汀组比较,大鼠糖水消耗量增大,体质量增长速度增加,行为活动次数增多,敞箱活动得分增加,说明解郁颗粒对抑郁症的治疗有一定作用。

下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA轴)的功能失调是抑郁症患者主要的神经内分泌改变,当机体受到刺激后,HPA轴会产生促肾上腺皮质激素释放激素(Corticotropin releasing hormone, CRH)、促肾上腺皮质激素(Adrenocorticotrophic hormone, ACTH)及CORT,CORT能抑制HPA轴的活性,形成负反馈环路。抑郁症时,该负反馈环路发生障碍,HPA轴的活性增高,糖皮质激素大量释放,可导致海马神经元损害,因而产生抑郁^[5]。目前细胞内的信号传导通路大多分为2部分,其中1部分是cAMP、Ca²⁺等第二信使,这些细胞内信号传导分子级联的适应性可能对靶神经元可塑性的作用产生抗抑郁效应^[6]。最近有证据显示cAMP级联上调,cAMP信号转导级联的受体后组成受几个水平的调节,抗抑郁药物治疗后刺激性的G蛋白Gsα与AC的耦合作用增强,会导致AC对不同类型的抗抑郁药物治疗的活力增强^[7]。与空白组比较,模型组大鼠血清CORT含量升高、海马cAMP的含量降低。与模型组比较,解郁颗粒各剂量组和盐酸氟西汀组血清CORT含量降低、海马cAMP

的含量升高。说明解郁颗粒能纠正 HPA 轴亢进，上调 AC-cAMP-PKA 信号通路，这可能是解郁颗粒抗抑郁的作用机制。

抑郁症的发病机制目前存在很多假说。解郁颗粒是治疗轻-中度抑郁中的 1 种，其临床疗效确切，但其作用机制尚不明确。本次试验中，体质量减少是抑郁大鼠的 1 个常见表现。盐酸氟西汀组和解郁颗粒大、中剂量组可以显著增加抑郁大鼠的体质量及饮食欲望。解郁颗粒能够显著的改善抑郁模型大鼠的行为状态，效果与盐酸氟西汀相似。说明中药解郁颗粒和西药氟西汀均对大鼠有抗抑郁作用。解郁颗粒治疗抑郁症能纠正 HPA 轴亢进，从而上调 AC-cAMP-PKA 信号通路，是否还通过其他机制发挥作用，尚需进一步研究。

[参考文献]

- [1] 陈顺革, 刘秀娥, 张淑艳, 等. 养心汤加减联合盐酸舍曲林片治疗抑郁症的临床效果[J]. 陕西中医, 2016, 37(6): 676-677.
- [2] 张均田, 张庆柱. 神经药理学研究技术与方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 364-366.
- [3] 周志华, 周海虹, 陆汎, 等. 柴郁温胆汤及其拆方对抑郁大鼠血清 ACTH、COR 及海马 cAMP 的影响[J]. 浙江中医药大学学报, 2010, 34(1): 59.
- [4] 邓颖. 情绪应激动物模型的建立及评估[J]. 华西医学, 2007, 22(4): 902-903.
- [5] 王永辉, 冯振宇, 刘慧宇, 等. 当归补血汤对慢性轻度不可预见性刺激抑郁模型大鼠行为学及 HPA 轴的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2017, 23(7): 154-157.
- [6] 蔡莉, 李荣, 吴清清, 等. 橙皮苷对慢性应激抑郁模型大鼠行为学及 HPA 轴的影响[J]. 中国中药杂志, 2013, 38(2): 229-233.
- [7] 陈姣, 楚世峰, 陈乃宏. 糖皮质激素与抑郁发病相关机制研究进展[J]. 中国药理学通报, 2013, 29(11): 1493-1495.

(责任编辑: 冯天保, 钟志敏)

黄芪甲苷对心肌梗死小鼠左心室功能与心脏重塑的影响及其机制研究

吴程程¹, 娄成龙², 韩淑萍¹

1. 浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院中药房, 浙江 杭州 310006
2. 杭州市红十字会医院中药房, 浙江 杭州 310003

[摘要] 目的: 研究黄芪甲苷对心肌梗死小鼠左心室功能和心脏重塑的影响及其可能机制。方法: 选取 32 只 C57/BL6 雄性小鼠, 制作心肌梗死动物模型, 分为空白组、模型组、假手术组和治疗组, 每组 8 只。假手术组经左前降支结扎, 治疗组给予黄芪甲苷注射液治疗。比较 3 组小鼠体质量、左心室射血分数 (Left ventricular ejection fraction, LVEF)、左心室舒张末期径 (Left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)、左心室质量、心脏质量等指标。结果: 与空白组比较, 模型组 LVEF、LVEDD 及心脏称重/体质量比均明显升高 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 假手术组 LVEF 明显升高, LVEDD、心脏称重/体质量比及左心室称重/体质量比均明显下降, 末端梗死区及梗死边缘区血管内皮生长因子高表达与血小板内皮细胞黏附分子 1 (VEGF high/PECAM-1 low) 标记的新生血管明显减少 ($P < 0.05$); 治疗组 LVEF 明显升高, LVEDD、心脏称重/体质量比及左心室称重/体质量比均明显下降 ($P < 0.05$)。与假手术组比较, 治疗组 LVEF 明显下降, LVEDD、心脏称重/体质量比及左心室称重/体质量比均明显升高 ($P < 0.05$)。结论: 黄芪甲苷注射液可改善心肌梗死小鼠左心室功能, 减缓小鼠心脏重塑, 其机制可能与黄芪甲苷刺激末端梗死区与梗死边缘区血管再生密切相关。

[关键词] 心肌梗死; 黄芪甲苷; 左心室功能; 心脏重塑; 动物实验; 小鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 0256-7415 (2019) 03-0004-04

DOI: 10.13457/j.cnki.jncm.2019.03.002

[收稿日期] 2018-07-09

[作者简介] 吴程程 (1988-), 女, 初级中药师, 研究方向: 中药药理。