

血府逐瘀口服液干预应激抑郁模型大鼠的实验研究

吕玲玲 沈小珩 陈敬贤

摘要 目的 观察血府逐瘀口服液对抑郁模型大鼠大脑行为学和 5-羟色胺(5-HT)及脑源性神经营养因子(BDNF)含量的影响。**方法** 将雄性 SD 大鼠随机分为对照组、模型组、血府逐瘀组、黛力新组,每组 12 只。以慢性轻度不可预见性的应激法建立抑郁大鼠模型,血府逐瘀组和黛力新组大鼠分别给予血府逐瘀口服液、黛力新片灌胃干预 21 天。采用旷野实验和蔗糖水消耗实验观察大鼠行为学改变,并检测 5-HT 和 BDNF 含量。**结果** 实验大鼠经过慢性应激性刺激后,可出现行为异常改变,模型组 5-HT 含量降低,与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。经血府逐瘀口服液和黛力新片干预后,应激大鼠行为学未发现明显改变,5-HT 含量降低不明显($P > 0.05$),且血府逐瘀组 5-HT 含量高于黛力新组($P < 0.05$)。但模型组大鼠 BDNF 含量与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),而血府逐瘀组和黛力新组大鼠 BDNF 含量低于模型组($P < 0.01$)。**结论** 应激可以导致大鼠行为学改变和 5-HT 含量降低而出现抑郁倾向。血府逐瘀口服液干预可对抗抑郁引起的行为学改变,增加 5-HT 含量;但对大鼠 BDNF 含量影响并不明显,考虑其可能不通过 BDNF 途径起效。

关键词 抑郁大鼠模型;血府逐瘀口服液;黛力新片;5-羟色胺;脑源性神经营养因子

Xuefu Zhuyu Oral Liquid Intervened Stress-stimulated Depression Model Rats LU Ling-ling, SHEN Xiao-heng, and CHEN Jing-xian *Department of Traditional Chinese Medicine, Ruijin Hospital, Medical College of Shanghai Jiaotong University, Shanghai (200025), China*

ABSTRACT Objective To observe effects of Xuefu Zhuyu Oral Liquid (XZOL) on the brain behavior and monoamine neurotransmitter 5-HT, and brain derived neurotrophic factor (BDNF) content on depression model rats. **Methods** Male SD rats were randomly divided into the control group, the model group, the XZOL group, and the Deanxit Tablet group, 12 in each group. The depressive rat model was established by chronic unpredictable mild stress method. XZOL was administered to rats in the XZOL group by gastrogavage, while Deanxit Tablet was given to those in the Deanxit Tablet group by gastrogavage. The intervention lasted for two weeks. The behavioral changes were observed by sucrose water consumption test and open-field test. The 5-HT and BDNF contents were detected using ELISA. **Results** After chronic stress stimulus, experimental rats in the model group might have abnormal behavioral changes and lowered 5-HT content, showing statistical difference when compared with the control group ($P < 0.01$). No obvious change in stimulated rats' behavior after intervention of XZOL and Deanxit Tablet. 5-HT content was not obviously reduced ($P > 0.05$). Besides, XZOL was superior to Deanxit Tablet in increasing the 5-HT content ($P < 0.05$). But the brain BDNF level of rats in the model group was not statistically different from that of rats in the model group ($P > 0.05$), while the brain BDNF level of rats in the XZOL group and the Deanxit Tablet group was lower than that of rats in the model group ($P < 0.01$). **Conclusions** Stress can lead to behavioral changes and lowered 5-HT content of rats. The intervention of XZOL could fight against depression-induced behavioral changes and increase 5-HT content. But it did not significantly affect the brain BDNF level. We inferred that it might not effect through the BDNF pathway.

KEYWORDS depression rat model; Xuefu Zhuyu Oral Liquid; Deanxit Tablet; 5-HT; brain-derived neurotrophic factor

基金项目:上海市中医临床优势专科建设项目(No. 2008YSZK003);上海市卫生局中医药科研基金项目(No. 2010QL041A)

作者单位:上海交通大学医学院附属瑞金医院中医科(上海 200025)

通讯作者:沈小珩, Tel:021-64370045 转 601068, E-mail:meilixing@163.com

抑郁症是由各种原因引起的以显著而持久的心境低落为主要症状的一组心境障碍或情感性障碍,具有高患病率、高复发率、高疾病负担及高致残自杀率等特征^[1]。血府逐瘀口服液为中成药制剂,功能调气和血,我们常用于治疗抑郁症或抑郁焦虑状态,取得较好的临床效果,本实验通过观察血府逐瘀口服液对抑郁模型大鼠行为学和大脑 5-羟色胺(5-HT)及脑源性神经生长因子(BDNF)含量的影响,为临床治疗提供实验依据。

材料与方 法

1 动物 选用雄性 SD 大鼠 48 只,6~8 周龄,体重 180~220 g,由上海交通大学医学院附属瑞金医院实验动物中心提供,合格证:SCXK(沪)2007-0005。

2 药物 蔗糖(分析纯 AR500g,上海强顺化学试剂有限公司出品,由上海交通大学医学院核医学科提供);血府逐瘀口服液(由桃仁、红花、当归、川芎、地黄、赤芍、牛膝、柴胡、枳壳、桔梗、甘草等组成,每支 10 mL,含生药量 40.5 g^[2],吉林敖东延边药业股份有限公司,生产批号:1108001);黛力新(每片含氟哌噻吨 0.5 mg,美利曲辛 10 mg,丹麦灵北制药有限公司,生产批号:1776)。

3 试剂 5-HT ELISA 试剂盒、BDNF ELISA 试剂盒均由上海西唐公司购进。

4 方法

4.1 动物分组及抑郁模型制备方法 大鼠购进后,适应性饲养 1 周,按随机数字表法分为 4 组,每组 12 只,即对照组、模型组、血府逐瘀组、黛力新组^[3]。大鼠抑郁模型制备采用温和和不可预见性应激法,共 21 天,包括禁食 24 h、夹尾 1 min、昼夜颠倒、50 V 电击足底 3 min、强迫游泳、潮湿环境、行为限制、居住拥挤、长时间不更换垫料等,每天随机安排 1 种,每种刺激不能连续出现,使动物不能预料刺激的发生^[4]。

4.2 给药方法 造模同时,对照组、模型组予以正常饮食,每天饮用水灌胃 2 次,每次 2 mL。血府逐瘀组按每天 10 mL/kg,溶解于 2 mL 生理盐水中,2 次/天^[2]。黛力新组按(640±128)mg/kg(见黛力新药品使用说明书),溶解于 2 mL 生理盐水中,2 次/天。

4.3 观察项目及检测方法

4.3.1 糖水消耗实验 在造模开始的适应阶段 48 h 内用 1%蔗糖水代替饮用水,供大鼠饮用,训练大鼠饮用 1%蔗糖水。在造模第 21 天,再给予 1%蔗糖水饮用,并计算大鼠 24 h 的饮用量,期间大鼠禁食^[5]。

4.3.2 行为学旷野实验(Open-field) 在应激前及应激后第 21 天,用 Open field 法^[4]观察各组大

鼠行为(水平运动和垂直运动)的变化。本实验所用敞箱为长方形,长 80 cm,宽 50 cm,高 30 cm,底面由面积相等的正方形 9 块组成,以动物穿越底面的块数为水平活动(crossing)的得分数,以直立次数为垂直活动(rearing)的得分数,2 只动物 1 组,每次 3 min,分别观察记录每组大鼠的得分数。

4.3.3 5-HT 及 BDNF 测定 采用酶联免疫吸附法(ELISA)法。各组大鼠在行为学测试后采用铡刀断头,迅速剥离脑组织,取出完整的大脑,然后快速放入 -20℃ 冰冻保存,由上海西唐公司代测大鼠 5-HT、BDNF 含量。

4.4 统计学方法 统计分析采用 SAS 8.0 软件完成,所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 *q* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠糖水消耗量比较(表 1) 应激前,各组大鼠糖水消耗量差异无统计学意义(*P* > 0.05)。应激后,模型组糖水消耗量明显减少,与对照组比较,差异有统计学意义(*P* < 0.01);血府逐瘀组及黛力新组糖水消耗量较应激前下降不明显,与模型组比较,差异均有统计学意义(*P* < 0.01);两干预组间比较,差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

2 各组大鼠旷野实验得分比较(表 1) 应激前,各组大鼠旷野实验得分,差异无统计学意义(*P* > 0.05)。应激后,模型组大鼠活动明显减少,与对照组比较,差异有统计学意义(*P* < 0.01);血府逐瘀组及黛力新组较应激前活动未见明显减少;与模型组比较,差异均有统计学意义(*P* < 0.01);两干预组间比较,差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

表 1 各组大鼠糖水消耗量、穿格数及直立次数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	时间	1%糖水消耗量 (mL)	水平活动 (穿格数)	垂直活动 (直立次数)
对照	12	应激前	155.25 ± 24.41	61.80 ± 3.25	8.90 ± 1.36
		应激后	147.92 ± 29.03	59.60 ± 3.89	9.75 ± 1.54
模型	12	应激前	151.92 ± 50.61	64.20 ± 3.23	8.33 ± 1.62
		应激后	99.59 ± 30.11*	31.00 ± 2.72*	5.00 ± 1.16*
血府逐瘀	12	应激前	150.15 ± 51.02	58.70 ± 5.21	8.75 ± 1.06
		应激后	144.59 ± 28.89 [△]	44.92 ± 3.42 [△]	8.00 ± 1.16 [△]
黛力新	12	应激前	152.58 ± 30.19	59.10 ± 4.38	8.67 ± 1.44
		应激后	142.08 ± 25.18 [△]	44.08 ± 3.58 [△]	7.00 ± 1.66 [△]

注:与对照组同期比较,**P* < 0.01;与模型组同期比较,[△]*P* < 0.01;与血府逐瘀组同期比较;[▲]*P* < 0.05;下表同

3 各组大鼠 5-HT 含量比较(表 2) 通过 21 天各种不同的应激后,模型组大鼠 5-HT 含量明显降低,

与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。血府逐瘀组和黛力新组大鼠 5-HT 含量降低不明显,且与模型组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。两干预组比较,血府逐瘀组 5-HT 含量高于黛力新组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

4 各组大鼠 BDNF 含量比较(表 2) 21 天各种不同的应激后,模型组大鼠 BDNF 含量有所降低,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。血府逐瘀组和黛力新组 BDNF 含量均低于模型组,且差异均有统计学意义($P < 0.01$)。两干预组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 2 各组大鼠 5-HT 及 BDNF 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	5-HT (ng/mL)	BDNF (pg/mL)
对照	12	1.87 ± 0.07	0.60 ± 0.11
模型	12	0.85 ± 0.03*	0.53 ± 0.02
血府逐瘀	12	1.82 ± 0.02 [△]	0.41 ± 0.01 [△]
黛力新	12	1.36 ± 0.07 ^{△△}	0.41 ± 0.02 [△]

讨 论

抑郁症的生物学基础是中枢神经系统突触间隙单胺类神经递质水平或功能下降,主要是 5-HT、去甲肾上腺素(NE)的水平低下,这是抑郁症研究中的最经典的假说^[6]。神经营养因子是神经网络形成及可塑性的重要调节因子,在神经营养因子家族中,以神经生长因子(NGF)、BDNF 和神经营养因子 3 最具代表性和研究最为深入。BDNF 在成年哺乳动物脑内广泛表达,在神经系统的发育和功能维持中起至关重要的作用,它与中枢神经系统神经元的生存以及多巴胺能、胆碱能、5-HT 能神经元的可塑性密切相关^[7]。BDNF 能通过多种途径调控神经细胞的发生、生存、生长、分化和凋亡,并直接参与了神经突触的可塑性和重构,这可能是 BDNF 参与抑郁症发病和治疗的重要机制^[8]。

抑郁症属中医学“郁证”范畴,其病机为气机失调,内气及血,日久导致气血不和,肝郁血瘀,心神失养。血府逐瘀汤为功能调气和血,方中当归、川芎、赤芍、红花、桃仁化瘀活血;牛膝通血脉、祛瘀血并引血下行,为方中主要药物;“气为血帅”,“气行则血行”,故又配伍柴胡疏肝解郁、升达清阳;枳壳、桔梗开胸行气,使气机调达,则血行通畅;生地凉血清热,配当归又有养血润燥,使瘀祛而不伤阴血;甘草调合诸药^[9]。

本实验发现,抑郁造模制备后,模型组大鼠 BDNF 含量与对照组相似,而血府逐瘀组和黛力新组大鼠均显示大脑 BDNF 含量低于对照组。究其原因,我们认为:(1)这可能与抑郁本身导致大脑代偿性应激有关。当机体受外界各种应激时,通过反馈调节来增加内源

性 BDNF 合成和分泌增加,增强脑组织的抗损伤作用,使神经元的可塑性和自我保护机制得到加强。另外,应激可使机体的氧化应激水平增高以及体内的脂质过氧化产物增加,同时体内的过氧化氢酶活性降低,通过抗氧化作用来保护机体免受应激损害。(2)抗抑郁药的治疗效果可能与中枢的神经再生有关,一些营养因子和生长因子如 BDNF、胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)、胰岛素样生长因子等虽能够调节成人的神经再生,但慢性应激性不可预见性的刺激本身对于大鼠并未引起器质性的病变或不可逆的神经性的损伤^[10]。(3)抗抑郁药提高 BDNF 在脑内表达水平的能力可能依赖于长时间给药,药物改善抑郁心境的作用是否与神经营养活性的慢性改变有关,长期给药后效果有待进一步观察。(4)实验方法和对象的不同及标本来源的差异,大脑各区组织的选择差异都可能影响到实验结果。(5)血府逐瘀口服液与黛力新片在抑郁症治疗方面虽有一定的效果,但其机制并非作用于 BDNF 通路。因此,其机制值得进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] 修丽娟,杨玉兴,魏品康. 抑郁症中医研究回顾与展望[J]. 中西医结合学报, 2008, 6(4): 416-421.
- [2] 王迎昕,王炳芳,王晓蕾,等. 血府逐瘀口服液对大鼠溃疡性结肠炎的治疗作用及机理[J]. 同济大学学报(医学版), 2006, 27(4): 9-12.
- [3] 陈建,王贺,林久茂,等. 柴桂温胆定志汤对抑郁模型大鼠海马 BDNF 和 TrkB 的影响[J]. 长春中医药大学学报, 2010, 26(5): 643-648.
- [4] 符文彬,刘建华. 电针对抑郁症大鼠海马 CREB-BDNF 受体后信号转导通路的作用[J]. 中国老年学杂志, 2009, 12(9): 3038-3042.
- [5] 杨新年,张业,李霁. 酸枣仁汤对抑郁模型大鼠行为和脑组织单胺类神经递质的影响[J]. 河南中医学院学报, 2007, 22(4): 14-17.
- [6] 李建国,赵博. 中医药对抑郁症单胺类神经递质影响的研究进展[J]. 贵阳中医学院学报, 2011, 33(4): 129-132.
- [7] 田亮. BDNF 在抑郁症病程中的变化及其对神经发生影响的实验研究[C]. 第三军医大学, 2009, 11.
- [8] 李则攀,洪武,方贻儒. 脑源性神经营养因子在抑郁症发作病理机制中的作用[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2010, 30(6): 651-655.
- [9] 郭淑芹. 血府逐瘀口服液研制应用概述[J]. 吉林中医药, 2005, 25(1): 61-62.
- [10] 张晓斌,张志珺,谢春明,等. 氟西汀对抑郁模型大鼠海马区胶质细胞源性神经营养因子 mRNA 表达的影响[J]. 东南大学学报, 2009, 28(3): 228-232.

(收稿:2012-04-06 修回:2012-07-29)