

益气化痰方对抑郁模型大鼠行为学的影响

徐银¹, 周海虹², 韩咏竹¹, 周志华¹, 胡纪源¹, 王训¹, 胡文彬¹

(1. 安徽中医学院神经病学研究所, 安徽 合肥 230061; 2. 厦门大学医学院, 福建 厦门 361005)

摘要:目的: 观察比较中药复方益气化痰方不同剂量对比抑郁模型大鼠行为学的影响。方法: 雄性大鼠随机分为正常组、模型组、益气化痰 I 组、益气化痰 II 组, 以孤养加慢性轻度不可预见性应激方法建立大鼠抑郁症模型, 采用 Open-Field 法、1% 蔗糖水消耗实验及体重变化观察抑郁模型大鼠的行为学变化。结果: 与正常组相比, 模型组大鼠糖水消耗量明显减低, 水平得分、垂直得分、修饰次数和大便颗粒数均明显下降, 且体重增长缓慢, 有显著性差异 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 益气化痰 I 组、益气化痰 II 组均能够不同程度增加糖水消耗量、垂直得分、大便颗粒、修饰次数和体重, 较模型组有显著性差异 ($P < 0.05$); 且益气化痰 I 组改善作用更明显。结论: 益气化痰方能有效的改善抑郁模型大鼠的行为学变化; 其中补气药作用明显优于化痰药。

关键词: 益气化痰方; 抑郁症; 行为学; 大鼠; 慢性轻度不可预见性应激

中图分类号: R749.41 文献标识码: A 文章编号: 1673-842X(2011)08-0108-03

Effects of Yiqi Huatan Fang on Ethology of Depressive Disorder Rats

XU Yin¹, ZHOU Hai-hong², HAN Yong-zhu¹, ZHOU Zhou-hua¹, HU Ji-yuan¹, WANG Xun¹, HU Wen-bin¹
(1. Institute of Neurology, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230061, Anhui, China; 2. Medical College of Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China)

Abstract: *Objective:* To observe and compare the effects of traditional Chinese medicine Yiqi Huatan Fang in ratio of different doses on ethology of depressive disorder rats. *Methods:* Male rats were divided randomly into normal group, model group, Yiqi Huatan Fang group, Yiqi Huatan Fang group; Rats models were made up by chronic unpredictable mild stress (CUMS) and life of separation; The ethology on rats of depression were observed by Open-Field test, the test of 1% sucrose water consumption, and the weight changes. *Results:* Compared with control group rats, the contents of consumption to sucrose water, the frequency of crossing, rearing, modify, and the number of stools were decreased significantly and body weight increase slowly; and had significant difference comparing with control group ($P < 0.05$). Compared with model group animals, Yiqi Huatan Fang group and Yiqi Huatan Fang group could increase sucrose water consumption, rearing, modify, the number of stools, and the body weight to some extent; and had significant difference comparing with model group ($P < 0.05$). Yiqi Huatan Fang group had more effective action. *Conclusion:* The traditional Chinese medicine YQHTF could improve the performance on ethology of depressive disorder rats effectively; The effect of medicine Buqi was superior to Huatan.

Key words: Yiqi Huatan Fang; depression; behavior; rat; chronic unpredictable mild stress

抑郁症是一种严重威胁人类身心健康的精神疾病, 作为世界致残性疾病, 据预测其患病率至 2020 年将上升为第 2 位^[1]。因为该疾病临床表现的多样性, 加之人们对其病理生理基础缺乏足够的了解等多种原因, 使得许多抗抑郁西药的使用受到或多或少限制, 而中医药防治抑郁症的优势却日益凸显。我们前期研究结果显示, 具有疏肝活血、化痰清胆、养心健脾功效的中药复方能够明显提高脑单胺类神经递质含量及海马 PKA 的表达; 显著降低血清 ACTH、COR 浓度, 方中补气和化痰两组药物作用优于其他药物^[2-4]。本实验在此基础上, 将复方中的两组药物组成益气化痰方, 观察不同剂量的对比对抑

郁模型大鼠行为学的影响, 为进一步研究该方防治抑郁症的作用机理及新型抗抑郁中药制剂的研发提供实验资料。

1 材料与方

1.1 动物与分组

清洁级 SD 雄性大鼠 32 只, 体重 (180 ± 20) g, 由河南医科大学实验动物中心提供 [许可证号: Scxk (豫) 2005-0001]。适应性饲养 2 周后开始实验, 将大鼠随机分为正常组、模型组、益气化痰 I 组、益气化痰 II 组, 每组 8 只。

1.2 药物与仪器

益气化痰方 (生晒参、茯苓、半夏、陈皮) 药物均

收稿日期: 2011-05-12

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目 (2010J01239)

作者简介: 徐银 (1982-) 男, 安徽肥西人, 医师, 硕士, 研究方向: 神经内科疾病。

通讯作者: 周海虹 (1956-) 女, 教授, 研究方向: 中医药理论及中医临床研究。

购于北京同仁堂合肥分店,有明确原产地,经安徽中医学院生药学专家鉴定。按不同剂量配比组成益气化痰方(半夏6g,陈皮12g,人参18g,茯苓25g),益气化痰方(半夏15g,陈皮9g,人参3g,茯苓10g),两方均用水煎2次,合并滤液,分别浓缩成含生药量0.508g/mL和0.308g/mL药液,冷藏备用。

THZ-82A台式恒温振荡器(上海跃进医疗器械厂);隔水式电热恒温培养箱(上海跃进医疗器械厂);闪光刺激器(北京中科新拓仪器有限责任公司)。

1.3 大鼠 Open-field 行为学评分

所用大鼠行为观测敞箱为高40cm,直径80cm,内空的立柱体,周壁为黑色,地面用黑线划分为面积相等的25块。每次评分观察3min,均从中央格放入。以动物四肢完全进入一个分区作为一个水平活动(crossing)得分,以双前肢完全抬离地面作为一次垂直活动(rearing)得分,以刚放入时四肢完全停留在中央格的时间(s)为中央停留时间,观察大鼠的理毛(修饰)次数和大便颗粒数。每次清理敞箱后再进行下一次观察,每只动物仅进行一次测定,每次进行观察和计数的同一项目均为同一人,尽可能避免人为误差。

1.4 大鼠造模与给药

正常组每笼饲养4只,正常饮水饮食,不给任何刺激,其余3组,每只均单笼饲养,并接受21天各种不同的应激刺激,刺激方法根据Katz方法^[9]改进,包括:2次48h禁食,2次24h禁水,2次通宵照明(12h),2次4℃冷水游泳5min,2次45℃烘箱热烘5min,2次夹尾1min,2次高速水平振荡(160Hz)10min,2次昼夜颠倒,2次潮湿饲养(将200mL水加入铺有一薄层锯木屑的笼底使锯末屑全部浸湿)24h及1次闪光刺激(120次/s)15min。每天随机给予一种刺激(见表1),使大鼠不能预料刺激的发生,以避免产生适应。

表1 慢性轻度不可预见性应激日程

日期(d)	刺激方法	日期(d)	刺激方法
1	通宵照明,12h	12	通宵照明,12h
2	禁水,24h	13	夹尾,1min
3	禁食,24h	14	潮湿饲养,24h
4	禁食,24h	15	水平振荡,160Hz,10min
5	昼夜颠倒	16	冰水游泳,4℃,5min
6	夹尾,1min	17	热应激,45℃,5min
7	水平振荡,160Hz,10min	18	禁食,24h
8	潮湿饲养,24h	19	禁食,24h
9	闪光刺激,120次/s,15min	20	昼夜颠倒
10	热应激,45℃,5min	21	禁水,24h
11	冰水游泳,4℃,5min		

各组在造模的第2天开始按1mL/100g鼠重分别灌胃给药,给药量:益气化痰组0.508g生药/mL、益气化痰组0.308g生药/mL。正常组、模型组给予等量生理盐水。每天上午8时给药1次,持续给药至实验的第23天。

表2 各组大鼠体重的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	n	体重(g)			
		d1	d7	d14	d21
益气化痰组	8	203.33 ± 8.16	215.00 ± 10.49	245.00 ± 16.43	251.67 ± 14.72
益气化痰组	8	205.00 ± 5.48	216.67 ± 5.16	223.33 ± 13.66	231.67 ± 23.17
模型组	8	201.67 ± 7.53	203.33 ± 12.11	215.00 ± 18.71	218.33 ± 21.37
正常组	8	198.33 ± 9.83	220.00 ± 16.73	246.67 ± 8.16	266.67 ± 15.06

注:与正常组比较, P<0.05, P<0.01;与模型组比较, P<0.05, P<0.01。

1.5 大鼠称重、行为学及糖水消耗测试

分别在实验的第1、7、14、21天测定动物的体重变化;在实验的第21天再次行Open-field评分;糖水消耗测试^[6]于实验第22天进行。所有大鼠均单笼饲养并禁食,给予1%蔗糖水溶液150mL,计算大鼠24h饮用量。

1.6 统计学方法

采用SPSS12.0软件包进行统计学分析。计量数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较采用单因素方差分析,方差齐用LSD法,方差不齐用Dunnett's T3法。P<0.05有显著性差异,P<0.01有极显著性差异。

2 结果

2.1 各组大鼠体重变化

从实验第7天起模型组体重较正常组明显减轻(P<0.05),但较益气化痰组、益气化痰组无显著性差异(P>0.05);实验第14天模型组体重增加明显低于正常组,有极显著性差异(P<0.01);与模型组比较,在实验第14天起,益气化痰组体重显著增加(P<0.01),且差异越来越明显;实验第21天益气化痰组体重改变较模型组具有显著性差异(P<0.05);益气化痰组对大鼠体重增加不明显,与模型组相比无显著性差异(P>0.05)。如表2及图1所示。

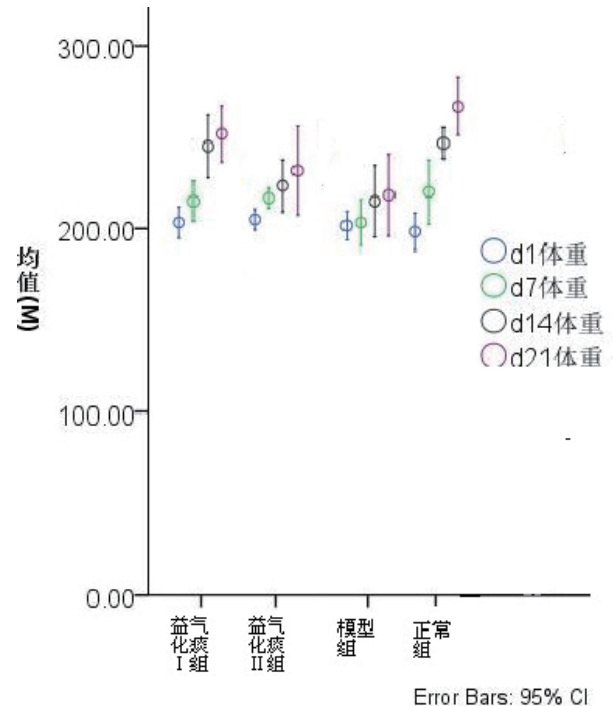


图1 各组大鼠体重变化

2.2 各组大鼠糖水消耗量变化

与正常组比较,模型组大鼠糖水消耗量明显降

低($P<0.05$);与模型组相比,益气化痰 I 组、益气化痰 II 组均能显著提高大鼠对糖水的消耗量(分别为 $P<0.01$ 和 $P<0.05$)。如表 3 所示。

表 3 各组大鼠 1%糖水消耗量的变化($\bar{x}\pm s$)

组别	n	糖水消耗量(mL/24h)
益气化痰 I 组	8	38.33 ± 9.31*
益气化痰 II 组	8	40.83 ± 6.65**
模型组	8	24.17 ± 3.76 [▲]
正常组	8	39.17 ± 14.29

注:与正常组比较,▲ $P<0.05$;与模型组比较,★ $P<0.05$,★★ $P<0.01$ 。

表 4 各组大鼠行为学评分的变化(d21, $\bar{x}\pm s$)

组别	n	水平得分	垂直得分	修饰次数	大便颗粒数	中央格停留
益气化痰 I 组	8	65.83 ± 15.08	13.33 ± 4.03*	5.00 ± 2.45*	4.33 ± 2.07*	1.17 ± 0.41
益气化痰 II 组	8	62.17 ± 17.31	12.67 ± 4.37	4.50 ± 1.52*	4.17 ± 1.83	1.50 ± 0.84
模型组	8	49.50 ± 10.91 [▲]	8.50 ± 3.02 [▲]	1.83 ± 1.47 ^{▲▲}	1.67 ± 1.37 [▲]	2.17 ± 2.04
正常组	8	72.67 ± 11.15	13.33 ± 4.13	5.33 ± 2.58	4.83 ± 0.75	1.33 ± 0.52

注:与正常组比较,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$;与模型组比较,★ $P<0.05$ 。

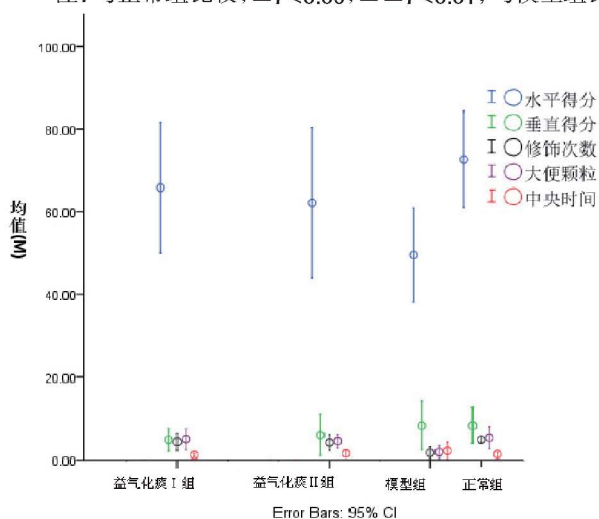


图 2 益气化痰方对抑郁模型大鼠行为学评分的影响(d21)

3 讨论

中医学认为心主神志,肝主疏泄,两脏的生理病理与人的精神、情绪、思维、认知等心理活动密切相关。抑郁症多由情志内伤导致肝失疏泄,脾失健运,心失所养,初起病变多以气郁、血瘀、痰结等邪实为主;病久耗伤气血,损及心脾,则易由实转虚而成虚实夹杂之证。益气化痰方具有益气养心,健脾化痰功效,切合抑郁症“气虚”、“痰结”之病机特点,其中益气化痰 I 方以益气养心脾为主,化痰为辅;益气化痰 II 方以化痰为主,益气为辅。

对于抑郁模型大鼠的行为学观察,目前多采用经典的 Open-field 法,其中,水平得分代表动物的活动度;竖直得分代表动物对新鲜事物的好奇程度和对外界环境的探究兴趣^[1]。修饰次数代表了动物对周围环境的要求和对自身关注的程度,大便颗粒数从一定程度上反映了大鼠是否有便秘,这亦是抑郁症常见的并发症,中央格停留时间反映大鼠在环境改变时的敏感性和活跃程度。实验结果表明:模型组大鼠的水平得分、垂直得分、修饰次数和大便颗粒数均较正常组明显减低,说明模型组大鼠对活动度、新鲜事物的好奇心、探究能力和外表修饰等均降低,与人类抑郁症的发病及表现相似。益气化痰 I 组能够明显提升垂直得分、修饰次数和大便颗粒数,其改

2.3 各组大鼠行为学变化

实验第 1 天各组行为学评分均无显著性差异($P>0.05$);实验第 21 天,与正常组比较,模型组水平得分、垂直得分、修饰次数和大便颗粒数均明显减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与模型组比较,益气化痰 I 组能够提升垂直得分、修饰次数和大便颗粒数($P<0.05$),益气化痰 II 组对于上述指标改变除修饰次数外其他均无统计学意义($P>0.05$);中央格停留时间模型组较各组有所延长,但无显著性差异($P>0.05$)。如表 4 及图 2 所示。

善行为学评分要优于益气化痰 II 组。对于中央格停留时间,模型组大鼠表现出时间延长,但无统计学意义,可能与时间短暂(1~3s)不利于观察以及样本量较少有关。

糖水消耗量反映了大鼠脑内一些关于奖赏系统神经元的活动和功能情况。抑郁大鼠糖水消耗量减少,反映了动物对幸福事件反应能力的下降,这可能是大鼠脑内奖赏系统内部分神经元结构受损,导致快乐体验能力下降和缺乏^[8]。本实验研究结果表明,模型组大鼠糖水消耗量明显低于正常组,益气化痰 I 组、益气化痰 II 组均能显著提高大鼠对糖水的消耗量。

本实验结果还显示,模型组大鼠的体重增长明显较正常组缓慢,与模型组比较,自实验第 14 天起,益气化痰 I 组体重比模型组显著增高,且差异性越来越明显,而益气化痰 II 组对此改善却不明显。

综上,益气化痰方能够明显改善抑郁大鼠行为学变化和糖水消耗量,显示出良好的抗抑郁作用,其中益气化痰 I 方的作用明显优于益气化痰 II 方,提示补气药对于抑郁症的治疗具有重要临床意义。至于该方发挥抗抑郁效应的作用机理及物质基础有待进一步明确。◆

参考文献

- [1] World bank. Global economic prospects and the developing countries[M]. Washington DC: World bank, 1997: 28-90.
- [2] 周海虹,陆汎,陈艳玲,等. 柴郁温胆汤对大鼠抑郁模型行为学及脑内单胺类神经递质的影响[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(10): 931-933.
- [3] 周海虹,陆汎,陈艳玲,等. 方剂学现代研究[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008: 211-215.
- [4] 周志华,周海虹,陆汎,等. 柴郁温胆汤及其拆方对抑郁模型大鼠血清 ACTH、COR 及海马 CAMP 的影响[J]. 浙江中医药大学学报, 2010, 34(1): 58-61.
- [5] Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression[J]. Neurosci Biobehav Rev, 1981, 5(2): 247-251.
- [6] D'Aquila PS, Brain P, Willner P. Effects of chronic mild stress on performance in behavioural tests relevant to anxiety and depression[J]. Physiol Behav, 1994, 56(5): 861-867.
- [7] Gregus A, Wintink AJ, Davis AC, et al. Effect of repeated corticosterone injections and restraint stress on anxiety and depression-like behavior in male rats[J]. Behav Brain Res, 2005, 156(1): 105-114.
- [8] Kitayama I, Wang P, Yamashita K, et al. Noradrenergic function in depression model rats[M]. Acad Press, 1998: 236-247.