

复方柴郁温胆汤及其拆方对抑郁模型大鼠血清铜、锌含量的影响

周志华¹, 周海虹^{2*}, 韩咏竹¹, 胡纪源¹, 王训¹, 李凯¹, 陆汎²

(1. 安徽中医学院神经病学研究所附属医院, 合肥 230061;

2. 厦门大学医学院中医系, 福建 厦门 361005)

[摘要] 目的: 探讨复方柴郁温胆汤(柴胡、郁金、枳实、半夏、陈皮、竹茹、人参、茯苓、大枣、炙甘草)对抑郁模型大鼠血清铜、锌的影响。方法: 健康雄性 SD 大鼠 84 只, 随机分为 7 组。采用 Katz 刺激方法制备慢性轻度不可预见性应激(CUMS)抑郁模型。分别拆方为化痰组(半夏、陈皮、竹茹)、调气血组(柴胡、郁金、枳实)、养心脾组(人参、茯苓、大枣、炙甘草)。血清铜、锌采用原子吸收法检测。结果: 采用孤养和 CUMS 刺激方法成功制备动物抑郁模型。模型组血清铜含量较正常组明显升高、血清锌含量较正常组明显降低; 而柴郁温胆汤组较模型组比较均能够逆转上述改变; 其中化痰组可以提高血清锌的水平、养心脾组可以降低血清铜的水平。结论: 柴郁温胆汤具有良好的抗抑郁作用, 同时能逆转大鼠行为学、体内微量元素锌和铜的改变; 其中起主要作用的可能为化痰组和养心脾组药物。

[关键词] 慢性轻度不可预见性应激; 柴郁温胆汤; 抑郁症; 锌; 铜

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)18-0192-04

Chaiyu Wendan Tang and its Component Influence the Level of Plasm Copper , Zinc to Depression Model of Chronic Unpredictable Mild Stress in Rats

ZHOU Zhi-hua¹, ZHOU Hai-hong^{2*}, HAN Yong-zhu¹, HU Ji-yuan¹, WANG Xun¹, LI Kai¹, LU Fan²

(1. Institute of Neurology, Anhui College of Traditional Chinese Medicine, Hefei 230061, China;

2. Medical College, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effects of traditional Chinese drugs Chaiyu Wendan Tang (CYWDT)

[收稿日期] 20110213(001)

[基金项目] 福建省自然科学基金项目(201J01239)

[第一作者] 周志华, 主治医师, 硕士, 主要从事锥体外系和神经心理疾病的基础和临床研究, Tel: 13956024389

[通讯作者] * 周海虹, E-mail: hty_138@sina.com

[参考文献]

- [1] 彭智聪, 朱建军. 酸枣仁化学成分及药理研究进展[J]. 时珍国医国药 2001, 12(1): 86.
- [2] 张迎春, 何红玲. 中药治疗抑郁焦虑症的研究述要[J]. 中医药学刊 2005, 23(4): 764.
- [3] 张峰, 曹仲伟, 张学杰. 酸枣仁对慢性应激抑郁大鼠的治疗作用及作用机制探讨[J]. 山东师范大学学报: 自然科学版 2005, 20(2): 88.
- [4] 张业, 杨新年, 李霏, 等. 酸枣仁汤对行为绝望小鼠模型的影响[J]. 中华中医药学刊 2007, 25(10): 2136.
- [5] 朱铁梁, 胡占嵩, 李璐, 等. 酸枣仁总生物碱抗抑郁作用

的实验研究[J]. 武警医学院学报 2009, 18(5): 420.

- [6] Porsolt R D, Anton G, Blavet N, et al. Behavioural despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments [J]. Eur J Pharmacol, 1978, 47(4): 379.
- [7] Steru L, Chermat R, Thierry B, et al. The tail suspension test: a new method for screening antidepressants in mice [J]. Psychopharmacology, 1985, 85(3): 367.
- [8] Kubo M, Sonoda Y, Muramatsu R, et al. Immunogenicity of human amniotic membrane in experimental eotransplantation [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2001, 42(7): 1539.

[责任编辑 聂淑琴]

and its component on the serum copper, zinc in depressed rats. **Method:** Eighty-four male rats were divided into seven groups randomly. Model of depression was established by chronic unpredictable mild stress (CUMS) and living individually. The herbs in CYWDT was split into three categories, namely Huatan, Tiaoqixue and Yangxinpi. The level of serum copper and zinc was detected by atomic absorption method. **Result:** The model of depression was successfully established. Compared with control animals, the serum copper level in the model rat was increased significantly and the serum zinc level was decreased significantly. CYWDT could reverse all these changes. Huatan could significantly increase the level of serum zinc ($P < 0.05$). Yangxinpi could significantly decrease the level of serum copper. **Conclusion:** CYWDT has a good effect for anti-depression. It can improve the behavior of the depressed rats, increase serum copper level and decrease serum zinc level significantly in depressed rats. Huatan and Yangxinpi are likely the major components of CYWDT.

[Key words] chronic unpredictable mild stress; Chaiyu Wendan Tang; depression; zinc; copper

抑郁症(depression)严重威胁人类的身心健康。目前大量动物实验结果显示:抑郁症模型大鼠体内锌含量降低,且经抗抑郁剂治疗后可以逆转这种改变^[1-4];另外临床研究资料结果也显示,抑郁症患者血清锌的含量也降低,抗抑郁剂治疗也可以提升体内锌的含量^[5]。目前研究了抑郁症的病理生理改变和新型抗抑郁剂的临床疗效,其研究结果仍不令人满意。因此寻找更加有效和安全的治疗措施的研究持续在进行。

1 材料

1.1 动物 健康SD雄性大鼠84只,体重(180±20)g,由南京医科大学实验动物中心提供,许可证号SCXK(苏)2002-0031。所有大鼠均采用普通大鼠饲料喂养,并在预饲养2周后开始造模。

1.2 药品 柴郁温胆汤组(柴胡10g,郁金10g,清半夏10g,陈皮12g,淡竹茹10g,枳实10g,人参5g,茯苓10g,炙甘草5g,生姜5g,大枣5g)质量浓度为生药量(下同)1.84g·mL⁻¹。化痰组(清半夏10g,陈皮12g,淡竹茹10g)0.64g·mL⁻¹。调气血组(柴胡10g,郁金10g,枳实10g)0.6g·mL⁻¹。养心脾组(人参5g,茯苓10g,炙甘草5g,大枣5g)0.5g·mL⁻¹。以上药物的煎制和浓缩均手工操作,所用煎药器具为陶瓷制品以保证药物在煎制过程中的稳定性。浓缩后的药物中每种单味药的浓度在整方和拆方中均相同,以保证各组实验结果的可比性。盐酸马普替林(北京诺华制药有限公司生产)用去离子双蒸水配制成1g·L⁻¹药物混悬液。

1.3 试剂和仪器 Cu,Zn金属粉(均为Sigma公司产品)。WFX-4E2型原子吸收分光光度计(北京瑞利分析仪器公司),铜和锌空心阴极灯(北京有色金

属研究总院),日立7020全自动生化分析仪(日本)。

2 方法

2.1 动物分组及给药 选取Open-field评分相近的大鼠84只,随机分为7组,即正常组、模型组、复方柴郁温胆汤组、化痰组、调气血组、养心脾组、马普替林组,每组各12只。马普替林组在应激的第2天开始ig给药,按混悬液10mL·kg⁻¹(剂量10mg·kg⁻¹);模型组和正常对照组给予等量(即10mL·kg⁻¹)的生理盐水。各治疗组在应激的第2天开始均按提取液(浓缩后)10mL·kg⁻¹ig给药;每天上午8时ig给药1次,持续至实验的第23天。

2.2 模型制备 正常对照组每笼饲养6只,正常饮水饮食,不给任何刺激。除正常对照组外的其余6组,每只均单笼饲养,并接受21d各种不同的应激刺激,刺激方法根据Katz方法^[6]改进。每天随机给予1种刺激。使大鼠不能预料刺激的发生,以避免产生适应。

2.3 行为学测定 Open-field法测定行为:所用自制敞箱规格为高40cm,直径80cm的内空圆柱桶,周壁为黑色,地面用黑线划分为面积相等的25块。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至放下作为一次垂直活动(rearing)得分、以及观察大鼠的理毛(修饰)次数和大便颗粒数。每只动物仅进行1次测定,每次观察3min。

2.4 糖水消耗实验 在实验第22天所有实验大鼠均单笼饲养并禁食和禁水,只给1%蔗糖溶液150mL,计算大鼠24h饮用1%蔗糖溶液量。

2.5 大鼠血清铜、锌测定 每组随机选取10只大

鼠用 10% 水合氯醛 (3.6 mL·kg⁻¹) ip, 麻醉后开腹, 腹主动脉抽取血液 5 mL, 放入普通生化管中。将血液以 4 ℃ 3 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清后采用原子吸收法检测血清铜、锌水平。

2.6 统计学方法 所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。用 SPSS 11.5 统计软件对两组间均数进行单因素方差分析。P < 0.05 认为差异有显著性。

3 结果

采用孤养和 CUMS 相结合的方法成功制备抑郁模型, 模型组大鼠的水平得分、垂直得分、修饰次数和糖水消耗量均较正常组明显减少^[11]。

各组大鼠血清铜、锌含量的比较 模型组大鼠血清铜增高和锌降低的水平较正常组具有显著差异性 (P < 0.05)。柴郁温胆汤组和养心脾组对于降低大鼠血清铜的水平具有统计学意义 (分别为 P < 0.01 和 P < 0.05)。柴郁温胆汤组和化痰组对于提升大鼠血清锌的水平也具有显著差异性, 亦达到统计学意义 (P < 0.05)。麦普替林组对于降低大鼠血清铜和提升锌的水平均具有显著差异性, 也具有统计学意义 (P < 0.05)。见表 1。

表 1 柴郁温胆汤及其组分对抑郁模型大鼠血清铜、锌的影响 ($\bar{x} \pm s$, n = 6)

组别	剂量 / g·kg ⁻¹	铜 / μmol·L ⁻¹	锌 / μmol·L ⁻¹
正常	-	2.50 ± 0.18	2.62 ± 0.39
模型	-	3.90 ± 1.20 ¹⁾	2.08 ± 0.44 ¹⁾
柴郁温胆汤	18.4	1.80 ± 0.50 ³⁾	2.57 ± 0.44 ²⁾
化痰	6.4	2.96 ± 0.74	2.51 ± 0.42 ²⁾
调气血	6.0	3.75 ± 1.43	2.38 ± 0.41
养心脾	5.0	2.65 ± 1.07 ²⁾	2.11 ± 0.33
麦普替林	0.010	2.66 ± 1.28 ²⁾	2.62 ± 0.27 ²⁾

注: 与正常组比较¹⁾ P < 0.05; 与模型组比较²⁾ P < 0.05, ³⁾ P < 0.01。

4 讨论

本实验采用孤养和 CUMS 相结合制备动物抑郁模型的方法, 该模型已被国内外学者广泛应用^[1,7-9], 适用于抑郁症病理生理改变及抗抑郁剂作用机制的研究。

本实验所采用的柴郁温胆汤是以元代名医危亦林所编著《世医得效方》中温胆汤加柴胡、郁金组成, 我们早期研究结果显示该方具有良好的逆转抑郁模型大鼠行为学得分、调节 HPA 轴和脑内单胺类神经递质含量的水平^[10-11]。

关于金属元素与抑郁症之间的关系报道不多,

目前比较肯定的是锌与抑郁症关系较密切。国内报道数篇临床研究^[4,12-14], 均提示抑郁症患者血清锌水平降低。我们报道一篇实验研究^[4], 也提示抑郁症模型大鼠血清锌水平降低, 而抗抑郁剂可以逆转抑郁模型大鼠血清锌的水平。最近研究显示西酞普兰和丙咪嗪联合给药或电休克治疗诱导了大鼠脑部锌的含量增加; 同时电休克治疗不但显著增加了大鼠海马锌的水平, 还轻度增加皮层和小脑锌含量, 另外还发现西酞普兰给药组还增加了大鼠血清锌的水平^[11]。在 CUS 模型中, 发现丙咪嗪联合锌给药能够明显改善 CUS 模型大鼠的抑郁行为, 提示了补锌给药能够增强丙咪嗪的抗抑郁效果^[2]。在强迫游泳试验中, 单独丙咪嗪不能减少小鼠的不动时间, 但丙咪嗪和锌联合用药时就可以明显减少大鼠的不动时间; 另外还观察到小剂量的西酞普兰治疗无效时, 却发现同等小剂量的西酞普兰和锌联合用药能明显减少大鼠的不动时间^[3]。这些观察结果均进一步提示了锌具有抗抑郁剂的作用和/或锌具有加强抗抑郁剂疗效的作用。

关于铜与抑郁症的关系报道甚少。国内马晓军等发现抑郁症患者的血清铜含量较健康对照组高, 推测可能与影响体内 DA、5-HT 以及 NE 的代谢和降解有关^[5]。丙咪嗪和西酞普兰慢性给药能够显著降低大鼠血清铜的水平, 但未降低脑部铜的水平; 然而电休克治疗却显著增加了海马和小脑铜的水平, 提示了两种抗抑郁疗法对脑部铜水平的不同影响和可能不一样的抗抑郁机制, 也提出了电休克治疗和药物治疗抑郁症机制的不同^[15]。

中医学虽无抑郁症病名记载, 但早在《内经》里即有木郁、火郁、土郁、金郁、水郁及情志内郁之说。本病可归属于中医学“郁证”、“百合病”、“脏躁”等范畴。其病因病机因个人年龄、性别、禀赋、环境等因素的不同而异, 多与情志内伤致肝郁气滞、胆失决断、脾失健运、肾精亏虚、心神失养、气血失调、痰浊内阻、阴虚火旺等相关。提出疏肝解郁、养心健脾、交通心肾、化痰开窍、活血祛瘀、滋阴清热等疗法或药物加心理治疗的综合疗法。复方柴郁温胆汤具有疏肝解郁, 调气化痰和颐养心脾之功效。本试验证实了模型组大鼠血清锌水平降低和血清铜水平升高, 柴郁温胆汤具有和麦普替林类似的能够逆转这种病理改变的作用, 对于血清锌和铜与抑郁症之间的关系、柴郁温胆汤调节抑郁模型大鼠血清锌、铜水

平的机制有待进一步的研究。

[参考文献]

- [1] Nowak G, Schlegel Zawadzka M. Alterations in serum and brain trace element levels after antidepressant treatment: part I [J]. Zinc Biol Trace Elem Res, 1999, 67(1): 85.
- [2] Cieřlik K, K lenk-Majewska B, Danilczuk Z, et al. Influence of zinc supplementa-tion on imipramine effect in a chronic unpredictable stress (CUS) model in rats [J]. Pharmacol Rep, 2007, 59(1): 46.
- [3] Szewczyk B, Brański P, Wierońska J M, et al. Interaction of zinc with antidepres-sants in the forced swimming test in mice [J]. Pol J Pharmacol, 2002, 54(6): 681.
- [4] 周志华, 韩咏竹, 周海虹, 等. 马普替林对 CUMS 抑郁模型大鼠血清铜、锌、钙、镁含量的影响 [J]. 安徽医学, 2010, 31(12): 1419.
- [5] 马晓军, 郭小青, 张玉平. 三种微量元素与郁证的相关性研究 [J]. 陕西中医, 2006, 27(7): 815.
- [6] Katz R J, Roth K A, Carroll B J. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression [J]. Neurosci Biobeha Rev, 1981, 5(2): 247.
- [7] Cieřlik K, Klenk-Majewska B, Danilczuk Z, et al. Influence of zinc supplementa-tion on imipramine effect in a chronic unpredictable stress (CUS) model in rats [J]. Pharmacol Rep, 2007, 59(1): 46.
- [8] Szewczyk B, Brański P, Wierońska J M, et al. Interaction of zinc with antidepressants in the forced swimming test in mice [J]. Pol J Pharmacol, 2002, 54(6): 681.
- [9] 周志华, 韩咏竹. 抑郁症动物模型的研究进展 [J]. 安徽医学, 2008, 29(2): 211.
- [10] 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.
- [11] 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): 58.
- [12] 杨坤, 张中兴, 王长虹, 等. 抑郁症患者帕罗西汀治疗前后血清细胞因子 C-反应蛋白和锌水平变化的研究 [J]. 中国行为医学, 2004, 5(92): 792.
- [13] 杨坤, 谢光荣, 张中兴, 等. 抑郁症患者血清细胞因子、C-反应蛋白和锌水平的变化及其临床意义 [J]. 中国临床心理学杂志, 2005, 3(4): 475.
- [14] 李蕾, 郭小青, 白泽慧, 等. 抑郁症中医症型与 10 种血清微量元素相关性探讨 [J]. 辽宁中医杂志, 2007, 134(4): 385.
- [15] Schlegel-Zawadzka M, Nowak G. Alterations in serum and brain trace element levels after antidepressant treatment. part II [J]. Copper Biol Trace Elem Res, 2000, 73(1): 37

[责任编辑 聂淑琴]