

马普替林对 CUMS 抑郁模型大鼠血清铜 锌 钙 镁含量的影响

周志华 韩咏竹 周海虹 胡纪源 王 训 李 凯 吕达平

[摘要] 目的 探讨部分金属元素铜、锌、钙、镁与抑郁症之间的关系。方法 健康雄性 SD 大鼠 36 只,随机分为 3 组。采用 Katz 刺激方法制备 CUMS 抑郁模型。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、模型组血清锌含量较正常组明显降低,而马普替林组较模型组比较均能够逆转上述改变;关于钙和镁未发现其差异性。结论 微量元素铜和锌与抑郁症密切相关,其机制可能与突触可塑性、内分泌、神经递质等因素相关。

[关键词] 抑郁症;慢性轻度不可预见性应激;锌;铜

doi:10.3969/j.issn.1000-0399.2010.12.009

Maprotiline's influences on the level of plasm copper, zinc, calcium and magnesium in the chronic unpredictable mild stress depression model of rats

Zhou Zhuhua, Han Yongzhu, Zhou Haihong, et al

Affiliated Hospital of Neurology Institute, Anhui College of TCM, Hefei 230061, China

[Abstract] **Objective** To study the relation between depression and copper, zinc, calcium and magnesium. **Methods** Thirty-six male rats were randomly divided into 3 groups. Katz stimulation method was used to create CUMS depression model. The level of serum Copper and Zinc were detected by atomic absorption method. The level of serum calcium and magnesium were detected by Arsenazo and MTB. **Results** The depression model was successfully created. Compared with control animals, the serum copper level of the model rat increased significantly and the serum zinc level decreased significantly in depression rats. The Maprotiline group can reverse these changes compared to the model group. The change of the serum calcium and magnesium level had no significant deviation. **Conclusion** Microcontent elements of copper and zinc are closely related to depression. This mechanism may be related to synaptic plasticity, endocrine and neurotransmitters etc.

[Key words] Depression; Chronic unpredictable mild stress; Zinc; Copper

抑郁症严重威胁人类的身心健康,WHO 预言在 2020 年时抑郁症将是人类第二大致残性疾病^[1]。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,但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。本实验采用的是四环类抗抑郁剂马普替林作为研究药物,以观察抑郁症和部分金属元素的关系。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康 Sprague-Dawley(SD)雄性大鼠 36 只,体质量(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。

1.1.2 实验药品 盐酸马普替林(北京诺华制药有限公司生产,国药准字 H19991047)。盐酸马普替林药片碾成

粉末,用去离子双蒸水配制成 1 mg/ml 药物混悬液。大鼠按 1 ml/100 g(含盐酸马普替林 10 mg/kg)给药剂量。

1.1.3 主要实验试剂和仪器 试剂:Cu、Zn 金属粉(均为 Sigma 公司产品)、钙偶氮胂法检测试剂盒和镁 MTB 法检测试剂盒(均为四川省迈克科技有限责任公司)。仪器:WFX-1E2 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)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及给药 选取 Open-field 评分相近的大鼠 36 只,随机分为 3 组,即正常组、模型组、马普替林组,每组各 12 只。马普替林组在应激的第 2d 开始灌胃给药,按混悬液 1 ml/100 g(含生药量 10 mg/kg)模型组和正常对照组给予等量(即 1 ml/100 g)的生理盐水。每天上午 8 时灌胃给药 1 次,持续至实验的第 23d。

1.2.2 模型制备 正常对照组每笼饲养 6 只,正常饮水

基金项目:福建省自然科学基金资助项目(编号:2010J01239)

作者单位:230061 合肥 安徽中医学院神经病学研究所附属医院(周志华,韩咏竹,胡纪源,王训,李凯,吕达平)

361005 福建厦门 厦门大学医学院中医系(周海虹)

通信作者:周海虹 jty_138@sina.com

饮食,不给任何刺激。除正常对照组外的其余 2 组,每只均单笼饲养,并接受 21 d 各种不同的应激刺激,刺激方法根据 Katz 方法^[2]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。

1.2.3 行为学测定 Open-field 法测定行为:所用自制敞箱规格为高 40 cm、直径 80 cm 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 1 个分区作为 1 个水平活动(crossing)得分、以双前肢完全抬离地面至放下作为 1 次垂直活动(rearing)得分、以及观察大鼠的理毛(修饰)次数。每只动物仅进行 1 次测定,每次观察 3 min。

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

1.2.5 大鼠血清铜、锌、钙和镁测定 每组随机选取 10 只大鼠用 10%水合氯醛(0.36 ml/100 g)腹腔注射,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 离心 10 min,取上清测血清铜、锌、钙和镁水平。铜、锌采用原子吸收法检测。钙、镁分别用钙偶氮胂法和镁 MTB 法检测,上述检测均严格按照仪器操作说明和试剂盒说明书操作。

1.3 统计学方法 用 SPSS 11.5 统计软件对两组间均数进行单因素方差分析检验和 *F* 检验。所有数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组行为学变化 与正常组比较(实验第 21 d)模型组水平得分、垂直得分、修饰次数均明显减少。与模型组比较(实验第 21 d),马普替林对于水平得分、垂直得分和修饰次数均能显著提升,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1。

2.2 各组大鼠糖水消耗量的比较 与正常组比较,模型组大鼠糖水消耗量明显降低。与模型组相比,马普替林能显著提高大鼠对糖水的消耗量。见表 2。

2.3 各组大鼠血清铜、锌、钙、镁含量的比较 与正常组比较,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,而钙和镁的水平改变无显著差异。马普

替林组大鼠血清铜和锌的水平均较模型组有显著差异。见表 3。

表 2 各组大鼠 1%糖水消耗量的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	糖水消耗量(ml/24 h)
正常组	10	54.0± 3.0
模型组	10	44.6± 1.8 ^{▲▲}
马普替林组	10	50.3± 4.3 ^{★★}

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

表 3 柴郁温胆汤及其组分对抑郁模型大鼠血清铜、锌、钙和镁的影响($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	铜(μ mol/l)	锌(μ mol/l)	钙(mmol/l)	镁(mmol/l)
正常组	10	2.50± 0.18	2.62± 0.39	1.39± 0.27	2.99± 0.46
模型组	10	3.90± 1.20 [▲]	2.08± 0.44 [▲]	1.25± 0.14	2.95± 0.23
马普替林组	10	2.66± 1.28 [★]	2.62± 0.27 [★]	1.22± 0.07	2.79± 0.09

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

3 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,已被国内外学者广泛应用^[3-5],适用于抑郁症病理生理改变及抗抑郁剂作用机制的研究。

对于抑郁大鼠的行为学观察多采用经典的 Open-field 法,目前比较肯定的观察指标是大鼠的水平运动得分和垂直运动得分。本试验还观察了大鼠的修饰次数。水平得分代表动物的活动度,垂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^[6],修饰次数代表动物对周围环境的要求和自身关注程度。

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。最近研究显示慢性的抗抑郁剂给药(西酞普兰和丙咪嗪)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^[3]。在 CUS 模型中,当连续 14 d 给予 5 mg/kg 的丙咪嗪连同 15 mg/kg 剂量的锌时,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^[7]。另外在强迫游泳试验中,发现当单独丙咪嗪(15 mg/kg)不能减少大鼠的不

表 1 各组大鼠组动物第 21 d Open-Field 法行为测定比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	水平得分		垂直得分		修饰次数	
		d1	d2	d1	d2	d1	d2
正常组	10	62.9± 12.6	63.7± 15.8	12.0± 4.7	12.7± 5.9	4.6± 1.8	6.3± 1.7
模型组	10	61.1± 17.5	48.4± 13.1 [▲]	12.9± 6.3	7.2± 3.1 [▲]	4.3± 3.7	3.5± 1.6 ^{▲▲}
马普替林组	10	63.8± 14.3	66.2± 23.0 ^{★★}	12.5± 5.7	13.9± 7.9 ^{★★}	4.8± 1.9	6.2± 2.7 ^{★★}

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

动时间,但发现只有丙咪嗪和锌(各 5 mg/kg)联合用药时就可以明显减少大鼠的不动时间;另外还观察到当西酞普兰(15 mg/kg)无效时,却发现该剂量西酞普兰同锌(15 mg/kg)联合用药能明显减少大鼠的不动时间^[8]。这些观察结果均进一步提示了锌与抑郁症的关系密切。本试验研究结果发现,模型组大鼠血清锌含量较正常组明显降低,马普替林组能够逆转这种改变,与文献报道一致。

关于铜与抑郁症的关系报道甚少。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,但对脑部铜的水平没有改变,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^[9]。国内学者发现抑郁症患者的血清铜含量较对照组高,推测可能与影响体内 DA、5-HT 以及 NE 的代谢和降解有关^[10]。本组试验结果发现,关于铜的含量,模型组大鼠血清铜含量较正常组明显升高,也较马普替林组明显升高。对于血清铜水平的变化和上述的研究结果一致。

关于镁与抑郁症的关系没有得到证实,有人对产妇产前和产后抑郁症患者的研究中发现其血清锌含量是降低的,但血清镁的含量没有变化^[11]。对于血清镁的含量,本研究中各组比较均没有显著差异,这也与文献报道一致。

临床报道抑郁症患者可能会导致骨质疏松及骨折等。早在 1999 年临床研究就发现老年白人女性抑郁症患者易向后跌倒、髌骨和脊椎骨矿物质密度降低并易发生骨折^[12],最近的临床研究进一步观察到在 50 岁以上老年抑郁患者给予选择性 5-HT 再摄取抑制剂(氟西汀、帕罗西汀、西酞普兰各 20 mg/d;舍曲林、氟伏沙明各 50 mg/d)后发现,均增加了骨折和跌倒的危险性以及降低了髌骨的骨质密度,还发现了脊柱骨密度有降低趋势^[13]。另外在 CUS 模型中,丙咪嗪给药后发现不但其抑郁行为得到改善,而且与模型组比较,丙咪嗪显著阻止了应激所导致的骨形成降低和骨小梁丢失^[14]。本试验模型组大鼠血清离子钙水平与正常组和各治疗组比较差异无统计学意义,这可能与观察时间较短和观察指标单一有关。

对于锌、铜和抑郁症之间的关系以及抗抑郁剂对血清锌、铜含量的调节和抑郁症状改善之间的关系有待进一步的研究和证实,从而可能对于抑郁症的治疗和新型抗抑郁剂的开发带来一定的启示。

参考文献

[1] Murray CJL, Lopez AD. Global mortality disability and the

contribution of risk factors: global burden of disease study. *Lancet*, 1997, 349: 1436-1442.

- [2] Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression. *Neurosci Biobehav Rev*, 1981, 5(2): 247-251.
- [3] Nowak G, Schlegel-Zawadzka M. Alterations in serum and brain trace element levels after antidepressant treatment: Part I. *Zinc. Biol Trace Elem Res*, 1999, 67(1): 85-92.
- [4] Cieslik K, Klenk-Majewska B, Danilczuk Z, et al. Influence of zinc supplementation on imipramine effect in a chronic unpredictable stress (CUS) model in rats. *Pharmacol Rep*, 2007, 59(1): 46-52.
- [5] Szweczyk B, Brański P, Wierońska JM, et al. Interaction of Zinc with antidepressants in the forced swimming test in mice. *Pol J Pharmacol*, 2002, 54(6): 681-685.
- [6] Duman RS, Malberg J, Nakagawa S, et al. Neuronal plasticity and survival in mood disorders. *Biol Psychiatry*, 2000, 48(8): 732-739.
- [7] Cieslik K, Klenk-Majewska B, Danilczuk Z, et al. Influence of zinc supplementation on imipramine effect in a chronic unpredictable stress (CUS) model in rats. *Pharmacol Rep*, 2007, 59(1): 46-52.
- [8] Szweczyk B, Brański P, Wierońska JM, et al. Interaction of zinc with antidepressants in the forced swimming test in mice. *Pol J Pharmacol*, 2002, 54(6): 681-685.
- [9] Schlegel-Zawadzka M, Nowak G. Alterations in serum and brain trace element levels after antidepressant treatment. Part II. *Copper. Biol Trace Elem Res*, 2000, 73(1): 37-45.
- [10] 马晓军, 郭小青, 张玉平. 三种微量元素与郁证的相关性研究. *陕西中医*, 2006, 27(7): 815-816.
- [11] Wójcik J, Dudek D, Schlegel-Zawadzka M, et al. Antepartum/postpartum depressive symptoms and serum zinc and magnesium levels. *Pharmacol Rep*, 2006, 58(4): 571-576.
- [12] Whooley MA, Kip KE, Cauley JA, et al. Depression falls, and risk of fracture in older women. *Arch Intern Med*, 1999, 159(5): 484-490.
- [13] Richards JB, Papaioannou A, Adachi JD, et al. Effect of selective serotonin reuptake inhibitors on the risk of fracture. *Arch Intern Med*, 2007, 167(2): 188-194.
- [14] Yirmiya R, Goshen I, Bajayo A, et al. Depression induces bone loss through stimulation of the sympathetic nervous system. *PNAS*, 2006, 103(45): 16876-16881.

(2010-06-11 收稿 2010-09-06 修回)