

复方益气化痰方及其拆方对抑郁模型大鼠血清锌、铜水平的影响

白琳¹, 韩咏竹^{1*}, 周海虹², 周志华¹, 王训¹

(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: 探讨益气化痰方(人参、清半夏、陈皮、茯苓)及其拆方对慢性轻度不可预见应激(CUMS)模型大鼠血清锌、铜含量的影响。方法: 健康雄性 SD 大鼠 60 只, 随机分为 5 组。采用 Katz 刺激方法制备 CUMS 抑郁模型。在应激的第 2 天开始, 按前期工作中得出了相应的效应中药及其各拆方最佳药物配比熬制中药浓缩剂, 调节锌、铜方(3.25 g·kg⁻¹组)和益气化痰方(7.0 g·kg⁻¹)组按提取液 10 mL·kg⁻¹灌胃, 阳性药物组按 10 mg·kg⁻¹ig 马普替林混悬液给药, 模型组和正常对照组按 10 mL·kg⁻¹给予等量的生理盐水, 持续给药至第 23 天。实验过程中, 定期测定水平得分、竖直得分、修饰次数、大便颗粒数及糖水消耗量。于第 23 天处死大鼠, 采集血样。采用原子吸收法测定各组大鼠血清锌、铜水平的含量。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; 而益气化痰方组与模型组比较均能够逆转上述改变; 其中调节锌铜方组可以显著提高血清锌的水平及降低血清铜水平。结论: 益气化痰方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调节锌铜方药。

[关键词] 慢性轻度不可预见性应激; 益气化痰方; 抑郁症; 锌; 铜

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)15-0198-04

[doi] 10.11653/syfy2013150198

Influence of Yiqi Huatan Decocotion and its Component on the Level of Plasm Copper , Zinc in Rat Depression Model

BAI Lin¹, HAN Yong-zhu^{1*}, ZHOU Hai-hong², ZHOU Zhi-hua¹, WANG Xun¹

(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 Yiqi Huatan Fang (YQHTF) and its component on the serum copper, zinc in chronic unpredictable mild stress (CUMS) model in rats. **Method:** Sixty male rats were divided into five groups randomly. The depression model was established by chronic unpredictable mild stress (CUMS) and living individually. On the second day, the adjusting zinc and copper group (3.25 g·kg⁻¹) and the YQHTF group 7.0 g·kg⁻¹ were administrated the diluent by intragastric injection with 10 mL·kg⁻¹. The positive drug group was administrated the maprotiline by intragastric injection with 10 mg·kg⁻¹. The model group and the control group were administrated the saline by intragastric injection with 10 mL·kg⁻¹. During the experiment, the data of open-field test and the percentage of sucrose preference were detected. On day 23, all the rats were decapitated after the last treatment, then blood was immediately isolated for detecting the concentration of the level of serum copper and zinc by atomic absorption method. **Result:** The depression model was successfully established. Compared with control group, the serum copper level in the model rats was increased significantly and

[收稿日期] 20130124(021)

[基金项目] 福建省自然科学基金(2009J05089)

[第一作者] 白琳, 硕士, 在读研究生, Tel: 13956927118, E-mail: 515822508@qq.com

[通讯作者] * 韩咏竹, 教授, 主任医师, Tel: 13966682323, E-mail: hyz89722@sina.com

the serum zinc level was decreased significantly. YQHTF could reverse all these changes. The adjusting zinc and copper group could significantly increase the level of serum zinc and decrease the level of serum copper.

Conclusion: YQHTF and its component have a good effect of anti-depression. It can improve the behavior of the depressed rats, increase serum copper level and decrease serum zinc level significantly in depressed rats. The adjusting zinc and copper group is likely the major components of YQHTF.

[Key words] chronic unpredictable mild stress; Yiqi Huatan Fang; depression; zinc; copper

抑郁症是由各种原因引起的,以心情低落为主要特征的一组心境障碍,仅在中国,就有超过 2 600 万人患有抑郁症。研究发现抑郁症与血清锌水平降低有关,而经过有效的抗抑郁治疗后,血清锌的水平会被提高。锌缺乏也会引起人类抑郁和焦虑样的行为,反之补充锌治疗后抑郁症状又有所好转,锌缺乏与抑郁症的相关性已被证实^[1]。

1 材料

1.1 动物 健康 SD 雄性大鼠 60 只,体重(200 ± 10) g,由南京医科大学实验动物中心提供,许可证号 SCXK(苏) 2010 III 031。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 在笔者早期的研究中,运用均匀设计法得出了相应的中药及其最佳药物配比,其中益气化痰方组效应中药为清半夏、陈皮、人参和茯苓,药品比例为 0.15:0.15:0.15:0.25,质量浓度为生药量 0.7 g·mL⁻¹,调锌铜方组中药味清半夏、陈皮和茯苓,药品比例为 0.025:0.025:0.25,质量浓度为生药量 0.325 g·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。阳性药物组按 1 g·L⁻¹ 给予马普替林混悬液。

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 60 只,随机分为 5 组,即正常对照组、模型组、阳性药组、益气化痰方组、调锌铜方组,每组各 12 只。在应激的第 2 天开始,模型组和正常对照组按 10 mL·kg⁻¹(剂量 10 mg·kg⁻¹) 给予生理盐水。阳性药物组按 10 mg·kg⁻¹ 给予等量马普替林混悬液,益气化痰方 7 g·kg⁻¹ 组及调锌铜方 3.25 g·kg⁻¹ 组均按提取液(浓缩后) 10 mL·kg⁻¹ 给药,每天灌胃给药 1 次,均在上午 8 时进行,一直持续给药至实验

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。除正常对照组外其余 6 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,包括:2 次 48 h 禁食,2 次 24 h 禁水,2 次通宵照明(12 h),2 次 4 ℃ 冷水游泳 5 min,2 次 45 ℃ 烘箱热烘 5 min,2 次夹尾 1 min,2 次高速水平振荡(160 Hz) 10 min,2 次昼夜颠倒,2 次潮湿饲养(将 200 mL 水加入铺有一薄层锯木屑的笼底使锯末屑全部浸湿) 24 h 及 1 次闪光刺激(120 次/s) 15 min。每天随机给予一种刺激,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 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 3 min。

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 150 mL,计算大鼠 24 h 饮用 1% 蔗糖溶液量。

2.5 大鼠血清铜、锌测定 每组随机选取 6 只大鼠用 10% 水合氯醛(3.6 mL·kg⁻¹) 麻醉后开腹,经腹主动脉抽取血液 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 17.0 统计软件对两组间均数进行 *t* 检验。*P* < 0.05 认为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠 Open-field 行为评分测定 表 1 示,实验第 1 天各组行为学评分均无显著性差异,与正常对照组比较(实验第 21 天),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,差异有显著统计学意义(*P* < 0.05)。与模型组比较(实验

表 1 复方益气化痰方及其拆方对抑郁模型大鼠 Open-field 行为评分的影响 ($\bar{x} \pm s$ $n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	水平得分/分		垂直得分/分		修饰数/次		大便数/粒	
		d 1	d 21	d 1	d 21	d 1	d 21	d 1	d 21
正常对照	-	74.8 ± 11.9	76.0 ± 11.1	9.5 ± 4.0	9.7 ± 4.0	5.4 ± 1.1	9.7 ± 4.0	3.4 ± 1.8	4.6 ± 1.4
模型	-	75.3 ± 12.9	60.8 ± 13.9 ¹⁾	10.6 ± 4.1	6.2 ± 2.9 ¹⁾	5.3 ± 2.2	6.2 ± 2.9 ¹⁾	3.6 ± 1.4	2.9 ± 0.9 ¹⁾
调锌铜方	3.25	76.7 ± 9.7	76.7 ± 9.7 ⁴⁾	12.1 ± 4.9	12.0 ± 3.0 ⁴⁾	5.7 ± 2.5	12.0 ± 3.0 ⁴⁾	3.8 ± 1.9	4.0 ± 1.5
益气化痰方	7.0	73.5 ± 9.2	74.6 ± 14.7 ³⁾	9.9 ± 4.3	10.1 ± 3.4 ³⁾	5.2 ± 1.7	10.1 ± 3.4 ³⁾	3.7 ± 1.6	4.4 ± 1.9 ³⁾
马普替林	0.01	73.3 ± 5.6	78.3 ± 12.8 ⁴⁾	10.8 ± 3.7	11.2 ± 2.2 ⁴⁾	5.1 ± 1.6	5.7 ± 3.5 ⁴⁾	3.3 ± 1.8	3.7 ± 2.3

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.05$ ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$ ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

第 21 天) ,调节锌铜方组、益气化痰方组水平得分与垂直得分均明显提高,差异有显著性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);阳性药物组对于水平得分、垂直得分和修饰次数的提升均具有显著差异性($P < 0.01$)。

3.2 各组大鼠 1% 糖水消耗量测定 与正常对照组比较,模型组大鼠糖水消耗量明显降低($P < 0.01$)。与模型组相比,益气化痰方组及阳性药物组能极显著提高 CUMS 大鼠对糖水的消耗量($P < 0.01$);调节锌铜方组能显著提高 CUMS 大鼠对糖水的消耗量($P < 0.05$)。模型组相相对糖水的消耗量有升高趋势,但无显著差异性。见表 2。

表 2 益气化痰方及其拆方对抑郁模型大鼠 1% 糖水消耗量的影响 ($\bar{x} \pm s$ $n=10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	糖水消耗量 /mL·d ⁻¹
正常对照	-	48.2 ± 4.5
模型	-	34.3 ± 2.5 ²⁾
调锌铜方	3.25	43.6 ± 11.4 ⁴⁾
益气化痰方	7.0	44.7 ± 7.5 ⁴⁾
马普替林	0.01	46.0 ± 7.4 ⁴⁾

3.3 大鼠血清锌、铜水平的测定 与正常组对照组比较,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性($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较,调锌铜方组对于降低大鼠血清铜水平和增高大鼠血清锌水平具有统计学意义($P < 0.01$);益气化痰方组对于降低大鼠血清铜的水平具有统计学意义($P < 0.05$);益气化痰方组及阳性药物组对于提升大鼠血清锌的水平也具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

4 讨论

本实验采用了孤养和 CUMS 相结合制备动物抑郁模型的方法,CUMS 模型开发为抑郁模型的历史已超过 20 年^[3],其应激因子的多变性和不可预测性

表 3 复方益气化痰方及其拆方对抑郁模型大鼠血清铜、锌含量的影响 ($\bar{x} \pm s$ $n=6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	铜	锌
正常	-	25.70 ± 6.00	26.06 ± 5.04
模型	-	33.64 ± 5.61 ¹⁾	18.65 ± 0.72 ²⁾
调锌铜方	3.25	21.39 ± 4.14 ⁴⁾	24.94 ± 4.49 ⁴⁾
益气化痰方	7.0	27.57 ± 3.50 ³⁾	23.23 ± 4.39 ³⁾
马普替林	0.01	27.19 ± 5.33	22.13 ± 3.64 ³⁾

被认为基本模拟了人类抑郁症发生及发展的机制,得到国内外学者广泛应用及认可^[4-5]。

中医治疗“郁症”历史悠久,“郁症之说”源自于《黄帝内经》,而目前对于中医药治疗抑郁症的研究,多集中在经复方、经验方^[6]及拆方等。其中拆方也是根据中药药理特性来拆分,相对来说现代药理学依据稍差。本实验所采用的益气化痰方由半夏、陈皮、人参、茯苓 4 味中药组成,在我们早期的研究中,笔者选取了多年来在我国中医药研究中发挥了多方面作用的均匀设计法,并运用均匀设计法得出了相应的效应中药及其最佳药物配比^[8]。

1955 年 Maske 首次发现在哺乳动物的海马和大脑皮质中高度富含 Zn²⁺,Zn²⁺ 对脑部的成熟和功能来说是必须的,脑部 Zn²⁺ 水平的失调多见于像抑郁症这样的精神和神经系统的疾病中。而脑部 Zn²⁺ 的水平可反映在血清锌水平中。多数研究发现血清锌水平在抑郁症患者中是降低的。Maes^[9] 发现与没有患抑郁的受试者相比患重性抑郁症者显示出更低的血清锌水平;患有轻度抑郁的患者表现出轻度的锌水平;并且单相性抑郁症不仅仅与更低的血清锌水平相关,而且抑郁症的严重性与血清锌水平成正比^[10]。这表明血清锌是抑郁症的一个敏感且特异的标志。在给予大鼠 10 周缺锌食物后,大鼠表现出抑郁样改变,而在给予 3 周经典的抗抑郁药丙咪嗪和西酞普兰后,大鼠抑郁样改变消失^[11]。另一方面,长期摄入锌能改善抑郁症状^[12]。在无效

剂量的丙咪嗪或者西酞普兰中加入极低剂量的锌离子提高了丙咪嗪或者西酞普兰的抗抑郁的效果^[13]。抑郁症病人在给予一段时间的丙咪嗪治疗后血清锌水平有了逐步的提高,从而抑郁症状得到改善。这与本实验结论益气化痰方及其拆方能显著提升大鼠血清锌水平相符,进一步肯定了益气化痰方及其拆方治疗抑郁的疗效。

关于铜和抑郁症单独研究的报道较少,但铜和锌是两种拮抗性的元素,在体内吸收和转运过程中互相竞争,互相抑制。国内完燕华^[14]及马晓军^[15]等都有研究发现抑郁症患者的血清铜含量明显高于正常对照组,马晓军并推测这可能是由于血清铜的升高促进了体内5-羟色胺的降解,使体内5-羟色胺进一步减少,进而导致抑郁。这也与本实验益气化痰方及其拆方能降低大鼠血清铜水平这一结论也相符合。

综上所述,本实验采用益气化痰方治疗抑郁模型大鼠可以逆转抑郁模型大鼠的行为学评分、血清锌、铜水平的含量。且本实验采用均匀设计法来分组药物组成,进而通过本实验反过来验证上述药物的抗抑郁机制,得出其能良好改善抑郁模型大鼠的行为学评分和体内锌铜水平的含量,是否其也能逆转脑内单胺类神经递质、内分泌机能和细胞内信号转道通路有待进一步研究。同时通过本实验推测,含锌制剂的药物可能存在潜在的抗抑郁作用和/或加强抗抑郁剂疗效的作用。

[参考文献]

- [1] Cope E C, Levenson C W. Role of zinc in the development and treatment of mood disorders [J]. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2010, 13(6): 685.
- [2] 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 Biobehav Rev*, 1981, 5(2): 247.
- [3] Hill M N, Hellemans K G, Verma P, et al. Neurobiology of chronic mild stress: Parallels to major depression [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2012, 36(9): 2085.
- [4] Cieślak K, Klenk-Majewska B, Danilczuk Z, et al. Influence of zinc supplementation on imipramine effect in a chronic unpredictable stress (CUS) model in rats [J]. *Pharmacol Rep*, 2007, 59(1): 46.
- [5] 贾广成, 郑兴宇. 逍遥散对 CUMS 模型大鼠行为学及血浆内单胺类神经递质的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志* 2011, 17(6): 136.
- [6] 胡燕, 洪敏. 柴胡类方治疗抑郁症研究 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2010, 16(17): 247.
- [7] 周志华, 周海虹, 韩咏竹, 等. 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 [J]. *中国实验方剂学杂志* 2011, 17(18): 192.
- [8] 徐银, 周海虹, 韩咏竹, 等. 益气化痰方对抑郁大鼠行为学的影响 [J]. *辽宁中医药大学学报*, 2011(8): 108.
- [9] Maes M, D' Haese P C. Hypozincemia in depression [J]. *J Affect Disorders*, 1994, 31(2): 135.
- [10] Schlegel-Zawadzka M, Zieba A, Dudek D, et al. Effect of depression and of antidepressant therapy on serum zinc levels a preliminary clinical study [M]. In: *Trace Elements in Man and Animals 10*, Kluwer Academic Plenum Press, 2000: 607.
- [11] Młyniec K, Nowak G. Zinc deficiency induces behavioral alterations in the tail suspension test in mice. Effect of antidepressants [J]. *Pharmacol Rep*, 2012, 64(2): 249.
- [12] Yary T, Aazami S. Dietary intake of zinc was inversely associated with depression [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2012, 145(3): 286.
- [13] Szewczyk B, Brański P, Wierońska J M, et al. Interaction of zinc with antidepressants in the mouse forced swimming test [J]. *Pol J Pharmacol*, 2002, 54(6): 681.
- [14] 完燕华, 刘菊林, 陈庆勇, 等. 抑郁症患者全血五种微量元素含量变化的研究 [J]. *华北国防医药* 2008, 20(3): 76
- [15] 张玉平, 雷艳霞, 李蕾. 三种微量元素与郁证的相关性研究 [J]. *陕西中医* 2006, 27(7): 815.

[责任编辑 聂淑琴]