

参芪解郁方对产后抑郁大鼠脑前额叶皮层, 海马区 5-HT, NE 及其受体的干预机制

杨歆科, 赵瑞珍, 李小黎, 朱明瑾, 吕凯, 唐启盛*

(北京中医药大学第三附属医院, 北京 100029)

[摘要] 目的:从脑前额叶皮层、海马 5-羟色胺(5-HT)、去甲肾上腺素(NE)及其受体变化角度,探讨具有健脾养心作用参芪解郁方对产后抑郁症(PPD)的干预机制。方法:选用雌性 SD 大鼠,2~3 月龄,随机分为正常、假手术、模型、中药、西药组,每组分设 1,2,4,6 周观察时点。采用去势后连续雌孕激素注射并突然停撤方法制备 PPD 模型,并给予药物干预。规定时点取材,选脑前额叶皮层、海马区域,采用高效液相法测定 5-HT、NE 含量,免疫组化法检测 5-羟色胺受体(5-HT_{1A}R)、去甲肾上腺素受体(α_{2A} R)蛋白表达。结果:①模型组各时点前额叶皮层、海马 5-HT、NE 含量均较正常、假手术组显著减少($P < 0.01$)。与模型组 2,4,6 周比较,中药组、西药组前额叶皮层、海马 5-HT、NE 含量增加($P < 0.05$, $P < 0.01$)。②与正常、假手术组各时点比较,模型组前额叶皮层、海马 5-HT_{1A}R 蛋白表达显著减少($P < 0.01$), α_{2A} R 蛋白表达显著增强($P < 0.01$);与模型组 2,4,6 周比较,中药组前额叶皮层及海马 5-HT_{1A}R 蛋白表达增加($P < 0.01$);中药组 2 周及中、西药组 4,6 周前额叶皮层 α_{2A} R 蛋白表达减少,中药组 4,6 周,西药组 2,4,6 周海马 α_{2A} R 蛋白表达减少($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论:参芪解郁方可明显提升 PPD 大鼠脑内 5-HT、NE 含量,并能对其受体表达的异常状态进行有效调整,对上述神经递质及其受体的平衡调节可能是该方发挥抗抑郁效应的重要途径之一。

[关键词] 产后抑郁; 前额叶皮层; 海马; 单胺递质及其受体; 参芪解郁方

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)24-0112-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2017240112

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170912.1429.050.html>

[网络出版时间] 2017-09-12 14:29

Intervention Mechanism of Shenqi Jieyu Formula on 5-HT, NE and Their Receptors in Prefrontal Cortex and Hippocampus in Rats with Postpartum Depression

YANG Xin-ke, ZHAO Rui-zhen, LI Xiao-li, ZHU Ming-jin, LYU Kai, TANG Qi-sheng*

(Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] **Objective:** To use Shenqi Jieyu formula with the power of tonifying heart and spleen to treat postpartum depression (PPD) model animals, and observe the changes in relevant prefrontal cortex, hippocampus 5-serotonin (5-HT) and norepinephrine (NE) and their receptors, in order to explore the intervening mechanism of traditional Chinese medicine (TCM) in in tonifying heart and spleen. **Method:** Female SD rats, 2 to 3 months old, were randomly divided into normal (N) group, sham operation (SO) group, model (M) group, TCM group, and western medicine (WM) group. All rats were observed respectively at 1, 2, 4, 6 weeks after preparation. The PPD model was established through sudden withdrawal of hormones after continuous injection with estrogen and progesterone. Then, the rats were given pharmacological intervention. The rats' materials were collected at the

[收稿日期] 20170516(014)

[基金项目] 科技部国际科技合作项目(2010DFA30950);教育部博士点基金优先发展领域项目(20130013130002);北京中医药大学创新团队项目(2011-CXTD-26);北京中医药大学自主选题项目(2015-JYB-JSMS140)

[第一作者] 杨歆科, 博士, 主治医师, 从事中医药防治脑病研究, Tel:010-52075438, E-mail:15005807@qq.com

[通讯作者] * 唐启盛, 博士, 主任医师, 教授, 从事中医药防治脑病研究, Tel:010-52075438, E-mail:tangqisheng@263.net

prescribed time points. Their behaviors were tested at each time points. Then the contents of 5-HT, NE were detected by HPLC, and the expressions of 5-HT_{1A} R, α_{2A} R were detected by IHC in prefrontal cortex and hippocampus. **Result:** Compared with N and SO, contents of 5-HT and NE in prefrontal cortex and hippocampus in M at each time point were lower ($P < 0.01$). Compared with M, contents of 5-HT, NE in prefrontal cortex in TCM, WM at each time point were all increased, except for at 2, 4, 6 weeks in TCM ($P < 0.05$, $P < 0.01$), with the same outputs in hippocampus in TCM and WM at each time point. Compared with M, levels of 5-HT_{1A} R in prefrontal cortex and hippocampus in N and SO at each time point were enhanced ($P < 0.01$), while levels of α_{2A} R in above places and at the time points were attenuated ($P < 0.01$). Expressions of 5-HT_{1A} R in prefrontal cortex in TCM at 2, 4, 6 weeks and in hippocampus at each time point were all higher than M ($P < 0.01$). Compared with M, expressions of α_{2A} R in prefrontal cortex in TCM at 2, 4, 6 weeks and WM at 4, 6 weeks, and in hippocampus in TCM at 4, 6 weeks and WM 2, 4, 6 weeks were decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** Shenqi Jieyu formula could significantly promote contents of 5-HT and NE in PPD rats' brain, and effectively regulate the abnormal expressions of their receptors. The balance adjustment for the above neurotransmitters and their receptors might play a very important role for this formula on treating PPD.

[**Key words**] postpartum depression; prefrontal cortex; hippocampus; monoamine neurotransmitters and their receptors; Shenqi Jieyu formula

导致抑郁发生发展的“单胺递质缺陷学说”目前已广泛被学术界认可^[1-2],该学说证实情绪变化尤其是抑郁症状的产生与体内单胺类神经递质功能低下密切相关^[3-5]。产后抑郁症(PPD)作为抑郁症常见类型之一,其发病过程中亦存在单胺类递质的改变^[6-7]。而目前多数研究仅针对脑内某些递质的某一时点变化予以讨论^[8],缺乏发病后对单胺递质的动态观察,尤其对 PPD 后单胺递质及其受体变化之间的研究更为匮乏。课题既往研究已证实通过激素模拟妊娠状态(HSP)后给予激素突然停撤方法制备的 PPD 模型,能够成功诱导大鼠产生明显抑郁行为,表现为活动能力减弱、探索能力降低、面对绝望环境挣扎逃脱反应下降等改变^[9]。为了进一步明确 PPD 过程脑内神经递质及受体的变化,本研究拟对脑前额叶皮层、海马区域 5-羟色胺(5-HT)含量及其受体 serotonin receptor subtype 1A (5-HT_{1A} R)表达、去甲肾上腺素(NE)含量及其受体 α_2 Adrenergic receptor(α_{2A} R)表达进行观察,阐释其在发病后不同时间点的动态变化特点以及上述递质与受体相互间的联系,同时给予具有健脾养心作用之参芪解郁方进行干预,探讨该方对上述改变的调节作用。

1 材料

1.1 动物 健康雌性 SD 大鼠,2~3 月龄,体重(200±10)g,购买于北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2006-0009。

1.2 药物及试剂 苯甲酸雌二醇注射液(天津金耀氨基酸有限公司,批号 1007251),黄体酮注射液

(上海通用药业股份有限公司,批号 110502)。参芪解郁方[黄芪 20 g,党参 12 g,山茱萸 15 g,酸枣仁(炒)15 g,当归 10 g,郁金 15 g,佛手 10 g,陈皮 10 g],饮片配方颗粒来源于北京康仁堂药业有限公司,由该公司质检人员胡宪红对配方颗粒做鉴定及质量监控,由北京中医药大学第三附属医院煎药室最终浓缩加工制成该方药颗粒剂;盐酸氟西汀胶囊(礼来苏州制药有限公司,批号 0943A);5-HT, NE 检测试剂盒,内标物 3,4-二羟苯胺(DHBA)(Sigma 公司,批号分别为 028K5152,088K1147,04429MO);5-HT_{1A} R, α_{2A} R 抗体(北京博奥森生物技术有限公司,批号分别为 990682w,990304w)。

1.3 仪器 Agilent 1100LC 型色谱仪(美国安捷伦科技有限公司),DECADE II SDC 型电化学检测器(荷兰 ANTEC 公司),CKX41SF 型倒置式生物显微镜(日本奥林巴斯公司),Nikon Digital Sight DS-U2 图像采集系统(日本尼康公司),SW-CJ-ID 型单人单面洁净工作台(苏州苏洁净化设备有限公司),DHP-420 型电热恒温培养箱(天津市中环实验电炉有限公司)。

2 方法

2.1 分组与处理 大鼠购入后适应喂养 1 周(保持环境安静,照明时间为每日 7:00~19:00),之后行敞箱测试(OFT),筛选合格大鼠,随机分为 5 组,即正常组、假手术组、模型组、中药组、西药组。每组设置处理后 1,2,4,6 周 4 个不同观察时点,每时点各组大鼠均为 12 只。

2.2 模型建立

2.2.1 去势手术操作 参照 Galea 等^[10]方法。具体过程,腹膜内注射 10% 水合氯醛进行麻醉,于手术台右侧位固定,选取脊柱旁开 2 cm,肋缘后 2 cm 皮肤,局部消毒、备皮。垂直于腰椎向下做纵行切口约 1 cm,切开表皮,圆头剪钝性剥离表皮与肌肉组织。扩张肌肉层,暴露内脏,定位左侧子宫角,将其周围脂肪组织用镊子轻轻夹住并拉出体外,沿子宫角向上找到输卵管及卵巢,将卵巢结扎后摘除,子宫体送回腹腔内。创口局部涂洒青霉素以预防感染,后将肌肉、皮下脂肪层及表皮分别缝合。复行对侧卵巢摘除,方法同上,术后将大鼠单独置于笼中恢复。假手术组仅摘取卵巢周围少许脂肪组织,不切除双侧卵巢。

2.2.2 阴道涂片筛查 大鼠阴道涂片检查于手术后第 2 天开始,用生理盐水将无菌棉签浸湿,后插入大鼠阴道内轻轻转动,于玻片上均匀涂抹粘有阴道脱落细胞的棉签。玻片自然风干,后在涂抹脱落细胞处滴加两滴亚甲蓝,静置 15 min,纯水冲洗亚甲蓝至无色。每日观察 1 次,连续观察 5 d,辨别大鼠在此期间阴道脱落细胞变化,判断大鼠是否存在动情周期改变。有变化者即示卵巢未切除完全,激素水平逐步恢复,予剔除。

2.2.3 雌、孕激素注射 选取卵巢切除完全的模型动物,前 16 d 皮下注射雌二醇注射液 $2.5 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$,黄体酮注射液 $4 \text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$,后 7 d 皮下注射雌二醇注射液 $50 \mu\text{g}\cdot\text{d}^{-1}$,用以模拟大鼠正常“妊娠”及“分娩后”的激素分泌水平,于第 24 天(即“产后”第 2 天)停止注射激素。正常、假手术组大鼠前 16 d 皮下注射芝麻油 $0.3 \text{ mL}\cdot\text{d}^{-1}$,后 7 d 皮下注射芝麻油 $0.1 \text{ mL}\cdot\text{d}^{-1}$ 。

2.3 药物干预 于造模结束后即开始药物干预,灌胃剂量均为 $1 \text{ mL}\cdot 100 \text{ g}^{-1}$ 。中、西药组分别予参芪解郁方、盐酸氟西汀^[9]。参芪解郁方颗粒剂,使用前按照 7 倍于成人剂量 $107 \text{ g}\cdot(60 \text{ kg})^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 用量 $1.25 \text{ g}\cdot(100 \text{ g})^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 溶解配置,生药含量 $1.25 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$,贮存于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 中备用,临用前加热;盐酸氟西汀按照 7 倍于成人剂量 $20 \text{ mg}\cdot(60 \text{ kg})^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 计算大鼠用药量 $0.25 \text{ mg}\cdot(100 \text{ g})^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$,使用时溶于蒸馏水并搅拌均匀,质量浓度为 $0.25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。正常、假手术及模型组则给予等体积蒸馏水。依据每周大鼠体重变化调整灌胃剂量,各组灌胃干预分别于造模后 1,2,4,6 周不同时间点结束,大鼠于行为学测试后处死取材。

2.4 5-HT, NE 的含量测定 每组选取 8 只大鼠,采用电化学色谱方法检测 5-HT, NE 含量。剥离全脑,冰盘上迅速分离出双侧前额叶皮层和海马,称重后放置于离心管中经液氮快速冷冻,后移入 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 中保存待测定。测定时将样品称重后加入组织裂解液,冰浴条件下超声破碎,离心,取上清液 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冷冻 48 h 后析出蛋白。采用试剂盒检测,检测前 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 下使标本解冻溶解,离心。取上清液 $20 \mu\text{L}$,用 Agilent 1100 系列色谱仪检测 5-HT, NE 含量。Skyam[®] C₁₈ 色谱柱($2.1 \text{ mm}\times 100 \text{ mm}, 3 \mu\text{m}$),流速 $0.2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,柱温 $30 \text{ }^\circ\text{C}$,进样量 $20 \mu\text{L}$,流动相甲醇-水(8:92),水相中含磷酸二氢钠 $100 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,辛烷磺酸钠 $0.74 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,乙二胺四乙酸钠 $0.027 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,氯化钾 $8 \text{ mmol}\cdot\text{L}^{-1}$,乙二胺四乙酸钠调 pH 3。

2.5 5-HT_{1A}R, α_2A R 阳性细胞表达测定 每组选取 3 只大鼠,切片经脱蜡、水化、抗原修复。磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗,5% 正常山羊血清封闭。倾去血清,滴加适当比例稀释的一抗(1:100), $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 过夜。滴加生物素标记二抗,滴加链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶,DAB 显色剂显色。复行脱水、透明、中性树脂封片。选取高倍镜下视野前额叶皮层、海马部位进行观察,镜下观察到细胞浆棕黄色染色者为阳性细胞,照相,并采用全自动彩色图像处理系统进行图像分析,测定阳性细胞表达数。

2.6 统计学处理 采用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计量资料首先予正态性检验,符合正态分布者,采用 Student's *t* 检验进行两组组间比较,采用 One-way ANOVA 进行多组间比较;不符合正态分布者可通过数据转化使其符合正态分布,或采用 Nonparametric tests 分析数据。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对前额叶皮层 5-HT 含量变化影响 与正常、假手术组比较,模型、中药、西药组各时点前额叶皮层 5-HT 含量均显著减少($P < 0.01$);与模型组比较,除中药组 1 周时点外,中、西药组余各时点前额叶皮层 5-HT 含量均显著增加($P < 0.01$)。见表 1。

3.2 对海马 5-HT 含量变化影响 与正常、假手术组比较,除西药组 6 周,模型、中药、西药组余各时点海马 5-HT 含量均减少($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,中、西药组各时点海马 5-HT 含量均显著升高($P < 0.01$);与中药组比较,西药组 2 周海马 5-HT 含量增多($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 参芪解郁方对大鼠不同时点前额叶皮层 5-HT 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of Shenqi Jieyu formula on 5-HT content in prefrontal cortex of rats at different time points in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$) ng·g⁻¹

组别	剂量/mg·(100 g) ⁻¹	1 周	2 周	4 周	6 周
正常	-	199.21 ± 19.32	202.48 ± 17.66	195.85 ± 19.16	207.67 ± 18.10
假手术	-	197.99 ± 19.30	193.57 ± 16.33	202.31 ± 18.81	201.10 ± 18.09
模型	-	135.35 ± 14.83 ¹⁾	84.87 ± 10.38 ^{1,4)}	71.88 ± 8.87 ^{1,4,5)}	63.37 ± 6.65 ^{1,4,6,7)}
中药	1 250	151.71 ± 14.91 ¹⁾	172.06 ± 14.02 ^{1,2,3)}	169.47 ± 15.06 ^{1,2,3)}	180.93 ± 16.49 ^{1,2,4)}
西药	0.25	160.26 ± 15.62 ^{1,2)}	168.37 ± 13.25 ^{1,2)}	174.08 ± 14.44 ^{1,2)}	171.63 ± 16.01 ^{1,2)}

注:与正常组、假手术组同时时间点比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组同时时间点比较²⁾ $P < 0.01$;与本组 1 周时点比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$;与本组 2 周时点比较⁵⁾ $P < 0.05$,⁶⁾ $P < 0.01$;与本组 4 周时点比较⁷⁾ $P < 0.05$ 。

表 2 参芪解郁方对大鼠不同时点海马 5-HT 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of Shenqi Jieyu formula on 5-HT content in hippocampus of rats at different time points in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$) ng·g⁻¹

组别	剂量/mg·(100 g) ⁻¹	1 周	2 周	4 周	6 周
正常	-	184.19 ± 15.41	189.04 ± 15.14	195.83 ± 18.28	191.61 ± 17.90
假手术	-	187.71 ± 14.19	191.83 ± 16.48	189.93 ± 15.61	195.85 ± 16.43
模型	-	121.11 ± 12.20 ²⁾	70.99 ± 8.06 ^{2,6)}	65.65 ± 6.91 ^{2,6)}	68.35 ± 5.46 ^{2,6)}
中药	1 250	142.06 ± 13.15 ^{2,3)}	158.21 ± 13.91 ^{2,3,5)}	169.30 ± 14.88 ^{2,3,6)}	174.69 ± 16.20 ^{1,3,6,7)}
西药	0.25	155.20 ± 15.20 ^{2,3)}	172.80 ± 16.17 ^{1,3,4,5)}	179.65 ± 16.31 ^{1,3,6)}	185.78 ± 14.72 ^{3,6)}

注:与正常组、假手术组同时时间点比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组同时时间点比较³⁾ $P < 0.01$;与中药组同时时间点比较⁴⁾ $P < 0.05$;与本组 1 周时点比较⁵⁾ $P < 0.05$,⁶⁾ $P < 0.01$;与本组 2 周时点比较⁷⁾ $P < 0.05$ 。

3.3 对前额叶皮层 NE 含量变化影响 与正常、假手术组比较,除西药组 4,6 周时点外,模型、中药、西药组余各时点前额叶皮层 NE 含量均减少 ($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,除中药组 1 周外,中、

西药组余各时点前额叶皮层 NE 含量均增加 ($P < 0.05, P < 0.01$);与中药组比较,西药组各时点前额叶皮层 NE 含量均增加 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 3。

表 3 参芪解郁方对大鼠不同时点前额叶皮层 NE 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effect of Shenqi Jieyu formula on NE content in prefrontal cortex of rats at different time points in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$) ng·g⁻¹

组别	剂量/mg·(100 g) ⁻¹	1 周	2 周	4 周	6 周
正常	-	151.00 ± 14.66	145.90 ± 14.84	139.81 ± 11.73	149.00 ± 14.63
假手术	-	152.30 ± 16.95	143.29 ± 13.77	149.81 ± 13.65	144.86 ± 14.69
模型	-	93.05 ± 10.48 ²⁾	79.37 ± 9.35 ^{2,7)}	53.90 ± 5.74 ^{2,8,10)}	45.21 ± 14.33 ^{2,8,10)}
中药	1 250	101.37 ± 10.97 ²⁾	94.53 ± 11.65 ^{2,3)}	114.88 ± 10.53 ^{2,4,7,10)}	131.48 ± 5.92 ^{1,4,8,10,11)}
西药	0.25	117.97 ± 12.76 ^{2,4,5)}	122.38 ± 12.21 ^{2,4,6)}	137.61 ± 12.44 ^{4,6,8,9)}	145.43 ± 12.21 ^{4,5,8,10)}

注:与正常组、假手术组同时时间点比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组同时时间点比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$;与中药组同时时间点比较⁵⁾ $P < 0.05$,⁶⁾ $P < 0.01$;与本组 1 周时点比较⁷⁾ $P < 0.05$,⁸⁾ $P < 0.01$;与本组 2 周时点比较⁹⁾ $P < 0.05$,¹⁰⁾ $P < 0.01$;与本组 4 周时点比较¹¹⁾ $P < 0.01$ 。

3.4 对海马 NE 含量变化影响 与正常、假手术组比较,模型组各时点及中药组 1,2 周海马 NE 含量均

显著减少 ($P < 0.01$);与模型组比较,中、西药组各时点海马 NE 含量均增加 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 4。

表 4 参芪解郁方对大鼠不同时点海马 NE 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Effect of Shenqi Jieyu formula on NE content in hippocampus of rats at different time points in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$) ng·g⁻¹

组别	剂量/mg·(100 g) ⁻¹	1 周	2 周	4 周	6 周
正常	-	246.02 ± 18.32	261.85 ± 22.93	255.18 ± 19.27	259.84 ± 22.27
假手术	-	250.60 ± 17.15	267.61 ± 20.54	249.08 ± 20.85	252.07 ± 23.37
模型	-	202.53 ± 16.37 ¹⁾	182.53 ± 16.18 ^{1,4)}	164.42 ± 14.40 ^{1,5,6)}	170.81 ± 13.30 ^{1,5)}
中药	1 250	221.85 ± 17.03 ^{1,2)}	235.23 ± 15.72 ^{1,3)}	241.19 ± 19.33 ³⁾	244.07 ± 17.25 ^{3,4)}
西药	0.25	230.04 ± 18.95 ³⁾	245.04 ± 16.83 ³⁾	239.77 ± 20.62 ³⁾	251.11 ± 21.01 ³⁾

注:与正常组、假手术组同时时间点比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组同时时间点比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$;与本组 1 周时点比较⁴⁾ $P < 0.05$,⁵⁾ $P < 0.01$;与本组 2 周时点比较⁶⁾ $P < 0.05$ 。

3.5 对前额叶皮层 5-HT_{1A}R 蛋白表达变化影响
与正常、假手术组比较,模型、中药、西药组各时点前额叶皮层 5-HT_{1A}R 蛋白表达水平均显著减少 ($P < 0.01$);与模型组比较,中药组 2,4,6 周前额叶皮层

5-HT_{1A}R 表达水平明显增加 ($P < 0.01$)。与中药组比较,西药组 2,4,6 周前额叶皮层 5-HT_{1A}R 表达水平均明显减少 ($P < 0.01$)。见表 5,图 1。

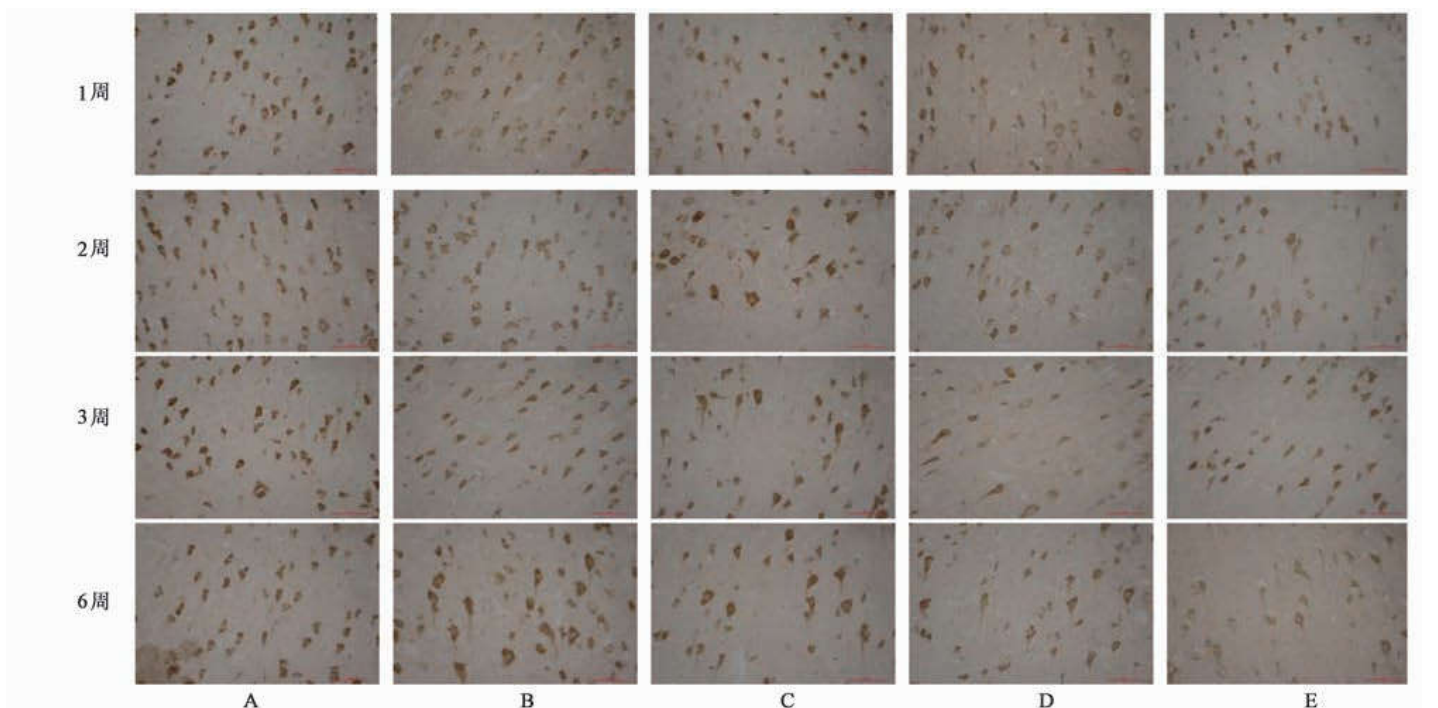
3.6 对海马 5-HT_{1A}R 蛋白表达变化影响 与正常、

表 5 参芪解郁方对大鼠不同时点前额叶皮层 5-HT_{1A}R 蛋白阳性细胞表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 5 Effect of Shenqi Jieyu formula on 5-HT_{1A}R expression in prefrontal cortex of rats at different time points in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$) 个

组别	剂量/mg·(100 g) ⁻¹	1 周	2 周	4 周	6 周
正常	-	62.63 ± 5.80	60.75 ± 6.18	61.63 ± 6.09	59.25 ± 4.80
假手术	-	59.75 ± 5.18	61.38 ± 6.25	57.63 ± 6.76	62.00 ± 5.13
模型	-	49.75 ± 4.20 ¹⁾	32.38 ± 3.74 ^{1,4)}	21.88 ± 2.47 ^{1,4,6)}	19.50 ± 2.07 ^{1,4,6)}
中药	1 250	52.13 ± 4.12 ¹⁾	45.13 ± 4.91 ^{1,2,4)}	41.00 ± 3.02 ^{1,2,4)}	40.00 ± 4.47 ^{1,2,4,5)}
西药	0.25	47.88 ± 4.49 ¹⁾	36.25 ± 3.24 ^{1,3,4)}	25.25 ± 3.54 ^{1,3,4,6)}	22.63 ± 2.92 ^{1,3,4,6)}

注:与正常组、假手术组同时时间点比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组同时时间点比较²⁾ $P < 0.01$;与中药组同时时间点比较³⁾ $P < 0.01$;与本组 1 周时点比较⁴⁾ $P < 0.01$;与本组 2 周时点比较⁵⁾ $P < 0.05$,⁶⁾ $P < 0.01$ 。



A. 正常组;B. 假手术组;C. 模型组;D. 中药组;E. 西药组(图 2~4 同)

图 1 参芪解郁方对大鼠不同时点前额叶皮层 5-HT_{1A}R 阳性细胞表达变化(免疫组化, ×400)

Fig.1 Effect of Shenqi Jieyu formula on positive cells expression changes of 5-HT_{1A}R in prefrontal cortex of rats at different time points in each group(IHC, ×400)

假手术组比较,模型、中药、西药组各时点海马 5-HT_{1A}R 蛋白表达水平均显著减少 ($P < 0.01$);与模型组比较,中药组各时点海马 5-HT_{1A}R 蛋白表达水

平均显著增加 ($P < 0.01$);与中药组比较,西药组各时点海马 5-HT_{1A}R 蛋白表达水平均显著减少 ($P < 0.01$)。见表 6,图 2。

表 6 参芪解郁方对大鼠不同时点海马 5-HT_{1A}R 蛋白阳性细胞表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 6 Effect of Shenqi Jieyu formula on 5-HT_{1A}R expression in hippocampus of rats at different time points in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$) 个

组别	剂量/mg·(100 g) ⁻¹	1 周	2 周	4 周	6 周
正常	-	48.38 ± 4.03	50.00 ± 4.41	51.13 ± 5.87	49.63 ± 5.29
假手术	-	47.38 ± 5.76	49.00 ± 4.00	52.88 ± 4.67	46.00 ± 4.96
模型	-	31.50 ± 3.55 ¹⁾	25.63 ± 2.33 ^{1,5)}	19.88 ± 1.96 ^{1,5,6)}	18.13 ± 2.80 ^{1,5,6)}
中药	1 250	40.50 ± 4.75 ^{1,2)}	35.75 ± 3.37 ^{1,2,4)}	29.63 ± 2.72 ^{1,2,5,6)}	26.25 ± 2.55 ^{1,2,5,6,8)}
西药	0.25	32.63 ± 3.66 ^{1,3)}	27.63 ± 3.34 ^{1,3,4)}	20.38 ± 3.20 ^{1,3,5,6)}	17.25 ± 2.55 ^{1,3,5,6,8)}

注:与正常组、假手术组同时时间点比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组同时时间点比较²⁾ $P < 0.01$;与中药组同时时间点比较³⁾ $P < 0.01$;与本组 1 周时点比较⁴⁾ $P < 0.05$,⁵⁾ $P < 0.01$;与本组 2 周时点比较⁶⁾ $P < 0.01$;与本组 4 周时点比较⁸⁾ $P < 0.05$ 。

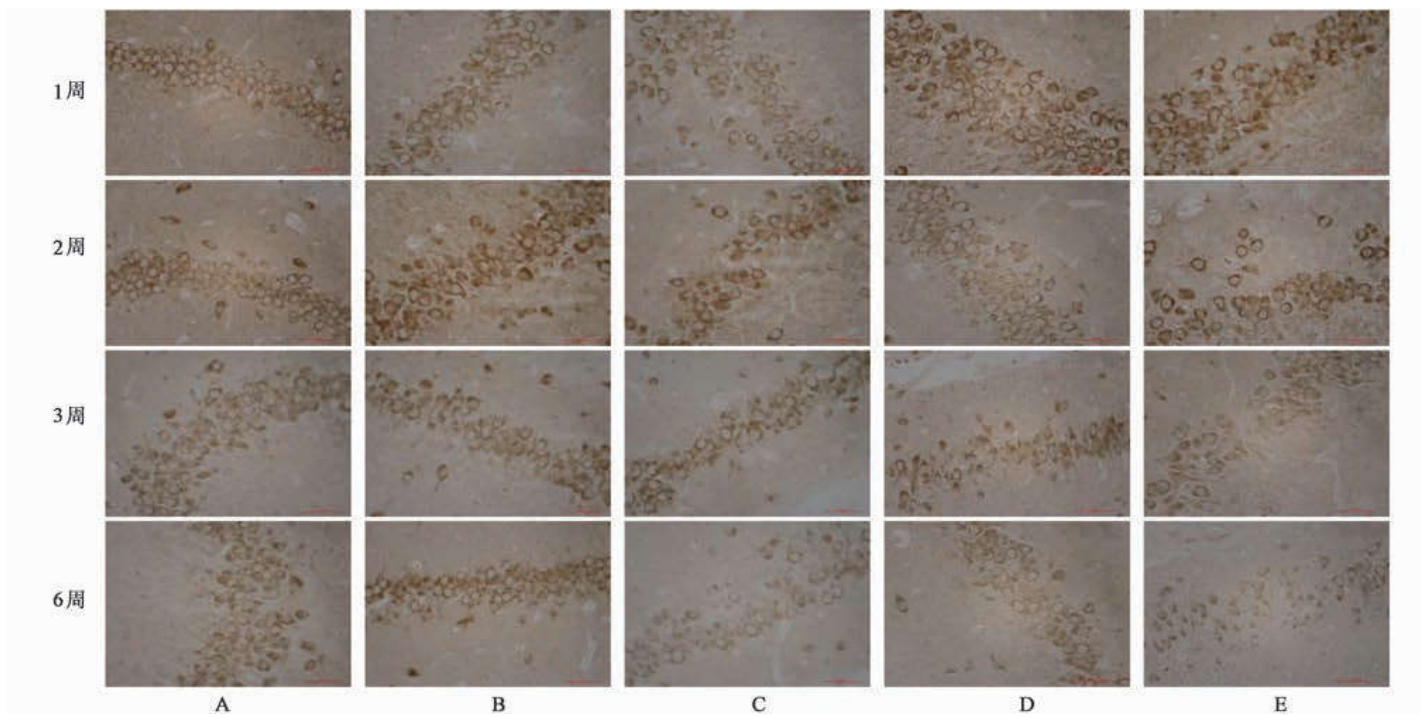


图 2 参芪解郁方对大鼠不同时点海马 5-HT_{1A}R 蛋白阳性细胞表达的影响(免疫组化, ×400)

Fig.2 Effect of Shenqi Jieyu formula on positive cells expression changes of 5-HT_{1A}R in hippocampus of rats at different time points in each group(IHC, ×400)

3.7 对前额叶皮层 α_{2A}R 蛋白表达变化影响 与正常、假手术组比较,中药组 1,2,4 周及西药组 1,2 周前额叶皮层及模型组各时点前额叶皮层 α_{2A}R 蛋白

表达水平均增加 ($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,中药组 2,4,6 周及西药组 4,6 周前额叶皮层 α_{2A}R 表达水平均减少 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 7,图 3。

表 7 参芪解郁方对大鼠不同时点前额叶皮层 α_{2A}R 蛋白阳性细胞表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 7 Effect of Shenqi Jieyu formula on α_{2A}R expression in prefrontal cortex of rats at different time points in each group ($\bar{x} \pm s, n = 8$) 个

组别	剂量/mg·(100 g) ⁻¹	1 周	2 周	4 周	6 周
正常	-	50.38 ± 4.37	48.13 ± 4.19	50.25 ± 4.89	49.63 ± 4.31
假手术	-	52.38 ± 6.61	50.25 ± 5.18	49.50 ± 5.32	48.13 ± 4.02
模型	-	61.25 ± 6.58 ²⁾	68.88 ± 6.17 ^{2,5)}	75.00 ± 6.55 ^{2,6)}	77.00 ± 6.14 ^{2,6,7)}
中药	1 250	60.88 ± 5.46 ²⁾	62.75 ± 5.23 ^{2,3)}	57.38 ± 4.50 ^{1,4,7)}	52.38 ± 5.15 ^{4,6,8)}
西药	0.25	59.50 ± 5.68 ²⁾	63.75 ± 7.21 ²⁾	55.25 ± 6.48 ^{4,7)}	50.38 ± 5.24 ^{4,6,8)}

注:与正常组、假手术组同时点比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组同时点比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$;与本组 1 周时点比较⁵⁾ $P < 0.05$,⁶⁾ $P < 0.01$;与本组 2 周时点比较⁷⁾ $P < 0.05$,⁸⁾ $P < 0.01$ 。

3.8 对海马 α_{2A}R 蛋白表达变化影响 与正常、假手术组比较,中药组 1,2,4 周,西药组 1,2 周,模型组各时点海马 α_{2A}R 蛋白表达水平均增加 ($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,中药组 4,6 周及西药组 2,4,6 周海马 α_{2A}R 表达水平均减少 ($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 8,图 4。

4 讨论

PPD 抑郁症状产生后出现的单胺类神经递质含量减少及其受体表达的异常已被相关研究逐步证实。相关研究显示 PPD 患者静脉血中单胺递质含量存在明显下降趋势,且递质下降程度与其汉密

尔顿抑郁量表 (HAMD),爱丁堡产后抑郁量表 (EPDS)评分呈负相关^[11-12],Yildiz 等^[13],LUO 等^[14]进行的队列研究及系统评价亦印证了上述结果。谢萍^[6],江涛等^[8],崔艳超等^[15]进行的动物实验结果同样显示 PPD 模型动物脑组织中普遍存在 5-HT, NE 含量的降低。Moses-Kolko 等^[16]影像研究也证实,PPD 患者前扣带回皮质突触后存在广泛 5-HT_{1A}R 的下降,Cottingham 等^[17]亦发现抑郁症患者当中多数存在 α_{2A}R 的失调。由此可见,机体单胺递质及其受体的变化与抑郁情绪的发生密切相关。

前额叶皮层、海马作为参与机体情感变化的

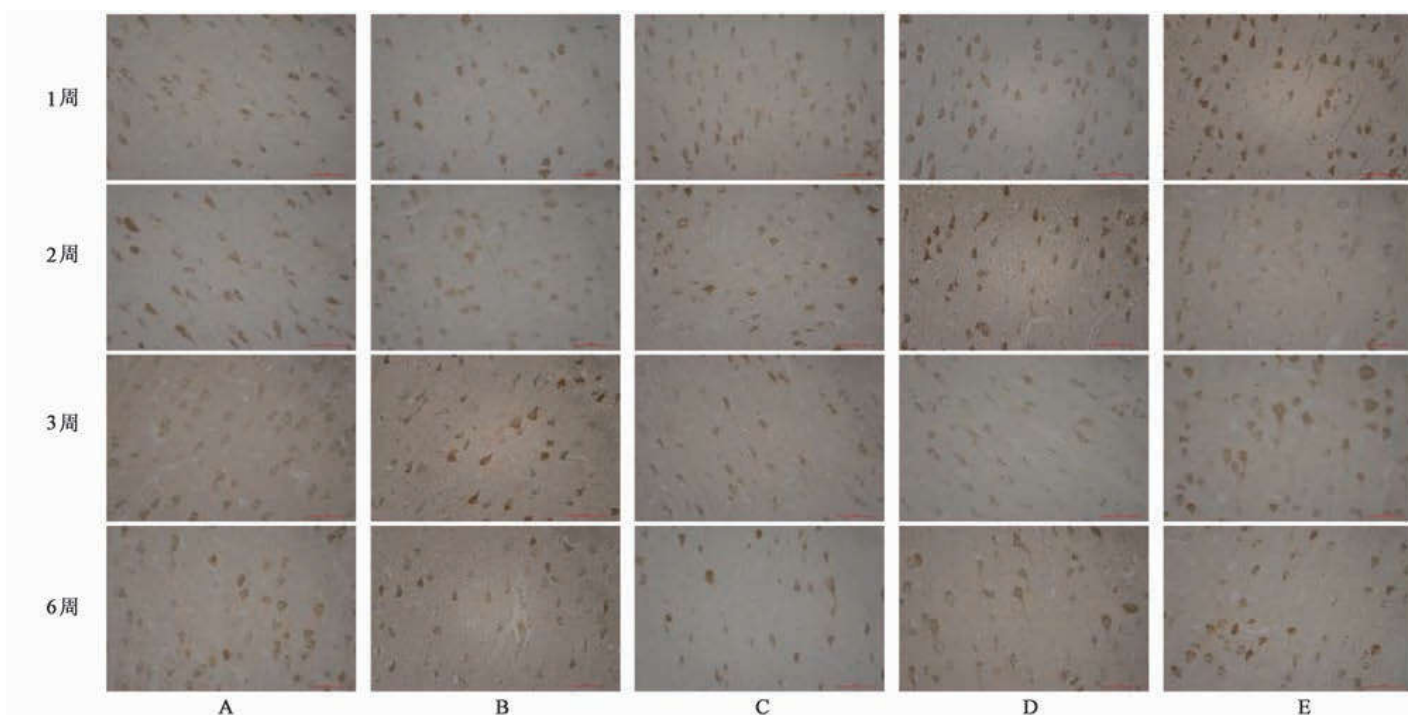


图 3 参芪解郁方对大鼠不同时点前额叶皮层 α_{2A} R 蛋白阳性细胞表达的影响(免疫组化, $\times 400$)

Fig. 3 Effect of Shenqi Jieyu formula on positive cells expression changes of α_{2A} R in prefrontal cortex of rats at different time points in each group(IHC, $\times 400$)

表 8 参芪解郁方对大鼠不同时点海马 α_{2A} R 蛋白阳性细胞表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 8 Effect of Shenqi Jieyu formula on α_{2A} R expression in hippocampus of rats at different time points in each group($\bar{x} \pm s, n = 8$) 个

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot (100 \text{ g})^{-1}$	1 周	2 周	4 周	6 周
正常	-	40.38 ± 4.87	42.25 ± 4.89	39.63 ± 4.60	40.50 ± 5.04
假手术	-	38.63 ± 3.93	39.63 ± 2.92	40.75 ± 5.20	42.75 ± 5.37
模型	-	$53.00 \pm 4.34^{2)}$	$54.38 \pm 4.53^{2)}$	$62.13 \pm 5.89^{2,6,7)}$	$65.38 \pm 6.46^{2,6,8)}$
中药	1 250	$50.25 \pm 4.43^{2)}$	$50.50 \pm 4.57^{2)}$	$45.88 \pm 4.36^{1,4)}$	$39.38 \pm 3.62^{4,6,8,9)}$
西药	0.25	$48.25 \pm 5.78^{2)}$	$49.13 \pm 3.48^{2,3)}$	$43.00 \pm 3.34^{4,5,8)}$	$40.13 \pm 3.64^{4,6,8)}$

注:与正常组、假手术组同时点比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组同时点比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$;与本组 1 周时点比较⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$;与本组 2 周时点比较⁷⁾ $P < 0.05$, ⁸⁾ $P < 0.01$;与本组 4 周时点比较⁹⁾ $P < 0.01$ 。

重要结构,其中所含单胺递质与受体的变化是抑郁情绪产生的重要物质基础。本研究有关神经递质的结果显示,模型大鼠前额叶皮层,海马 5-HT, NE 含量于 1 周时即较正常、假手术组降低,此后各时点依然呈现出明显下降趋势。而 1 周时中西药则可明显改善前额叶皮层、海马 5-HT, NE 含量低下状态,至 6 周时中西药可调整脑内 NE 含量基本接近正常,而对脑内 5-HT 调节作用略弱。结合氟西汀的药理作用,其作为一种选择性 5-HT 再吸收抑制剂,主要通过抑制神经突触细胞对神经递质 5-HT 的再摄取,从而增加细胞外可以和突触后受体结合的 5-HT 水平,对 NE 的再吸收效用较弱。据此推测以上实验结果为通过氟西汀及参芪解郁方干预后,使疾病初期模型动物神经递质的低下状态即得以明显改

善,尤其体现于前额叶皮层,海马 5-HT 含量方面。随着时间的迁移,至 6 周时递质含量显著升高,而氟西汀可使海马 5-HT 含量基本恢复至正常水平。

本研究相关神经递质受体结果亦表明,模型组前额叶皮层,海马 5-HT_{1A}R 表达于 1 周时即出现明显下降趋势,随时间推移其表达又进一步减弱,至 6 周时较正常组存在极为明显的下降幅度;而上述部位 α_{2A} R 表达变化则与 5-HT_{1A}R 相悖,1 周时表达已较正常组显著增多,此后则进一步呈现逐渐增强趋势。推测产生上述结果可能为 5-HT 效应的发挥需借以与 5-HT_{1A}R 结合为前提,抑郁症状产生后,引起 5-HT 与受体的结合减少,最终导致 5-HT 能效发挥减弱;而 α_{2A} R 为效应抑制性受体,初期时增高即影响 5-HT, NE 的释放,进而逐步引发神经递质效能的

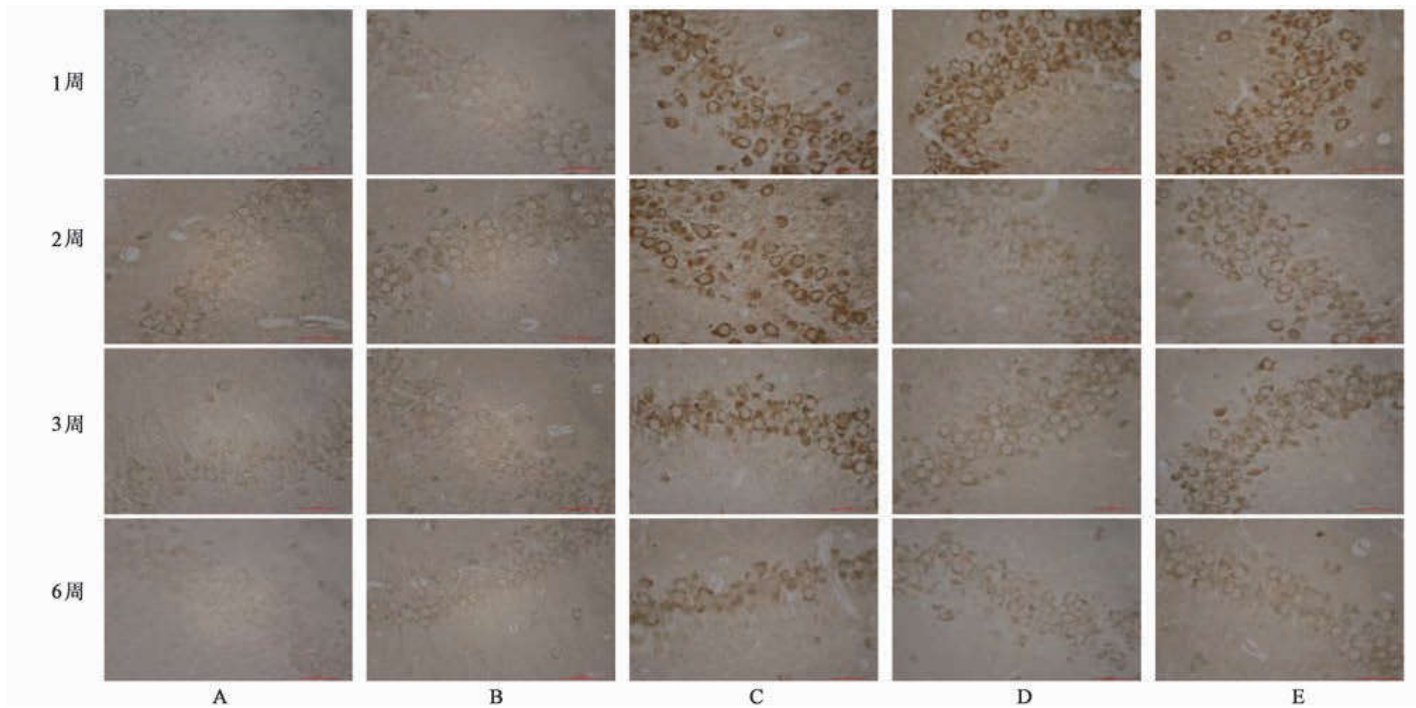


图 4 参芪解郁方对大鼠不同时点海马 α_{2A} R 蛋白阳性细胞表达的影响(免疫组化, $\times 400$)

Fig. 4 Effect of Shenqi Jieyu formula on positive cells expression changes of α_{2A} R in hippocampus of rats at different time points in each group(IHC, $\times 400$)

低下,最终诱导抑郁症状的产生。值得注意的是,中药于 2 周时已表现出对 5-HT_{1A}R, α_{2A} R 明显的表达增强作用,随着时间的推移,至 6 周时中西药均可显著调整二者的表达,使之逐步恢复正常水平。而于上述过程中 5-HT_{1A}R 的表达变化更为明显,推测在机体抑郁情绪产生的过程中,5-HT 与 5-HT_{1A}R 结合后发挥调节抑郁情绪的作用更为关键。

本实验显示出的 PPD 模型大鼠脑内前额叶皮层、海马区域内单胺递质含量的普遍下降以及受体表达的紊乱,进一步印证了“单胺递质缺陷”在抑郁症状发生发展过程中的重要调节作用。在中、西药的干预过程中,参芪解郁方对 5-HT 表达的促进作用整体上优于氟西汀,而氟西汀在起效时间方面却更胜一筹;同时,氟西汀对前额叶皮层 NE 的调节改善作用优于参芪解郁方,而参芪解郁方在调节机体 5-HT_{1A}R 方面则优于氟西汀,表明二者在改善抑郁状态后单胺类神经递质含量及受体的表达方面均有一定的效果,但其作用靶点可能存在一定程度的差异性。

综上所述,5-HT, NE 及其受体的改变,特别是上述递质含量与功能的低下以及受体表达的异常,对 PPD 疾病的形成与发展过程中有较为重要的影响作用。参芪解郁方可通过提升 PPD 大鼠脑内 5-HT, NE 含量,并调整其受体表达异常的途径而有效改善模型大鼠的抑郁行为,对上述神经递质及其受

体的平衡调节可能是该方发挥抗抑郁效应的重要途径之一。

[参考文献]

[1] Mansari M E, Guiard B P, Chernoloz O, et al. Relevance of norepinephrine-dopamine interactions in the treatment of major depressive disorder [J]. CNS Neurosci Ther, 2010, 16(3) : e1-e17.

[2] Scholl J L, Renner K J, Forster G L, et al. Central monoamine levels differ between rat strains used in studies of depressive behavior [J]. Brain Res, 2010, 1355(2) : 41-51.

[3] Doornbos B, Fekkes D, Tanke M A, et al. Sequential serotonin and noradrenalin associated processes involved in postpartum blues [J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2008, 32(5) : 1320-1325.

[4] Newport D J, Owens M J, Knight D L, et al. Alterations in platelet serotonin transporter binding in women with postpartum onset major depression [J]. J Psychiatr Res, 2004, 38(5) : 467-473.

[5] Avraham Y, Hants Y, Vorobeiv L, et al. Brain neurotransmitters in an animal model with postpartum depressive-like behavior [J]. Behav Brain Res, 2017, 326: 307-321.

[6] 谢萍, 黄志娟, 冯俭, 等. 产舒颗粒调节产后抑郁大鼠单胺类神经递质的作用机理研究 [J]. 中国中医急症, 2008, 17(2) : 218-220.

[7] 黄志娟. 产舒颗粒调节产后抑郁大鼠单胺类神经递

- 质的作用机理研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2007.
- [8] 汪涛, 秦锋. 逍遥散对产后抑郁大鼠海马中单胺类神经递质含量的影响 [J]. 中西医结合学报, 2010, 8 (11): 1075-1079.
- [9] 李小黎, 杨歆科, 唐启盛, 等. 参芪解郁方对产后抑郁大鼠行为学与脑组织形态学改变的干预研究 [J]. 北京中医药, 2013, 32 (3): 177-182.
- [10] Galea L A, Wide J K, Barr A M. Estradiol alleviates depressive-like symptoms in a novel animal model of post-partum depression [J]. Behav Brain Res, 2001, 122 (1): 1-9.
- [11] 习永霞, 王莹. 针刺配合心理干预对产后抑郁患者 5-HT、OFQ 和 E₂ 的影响 [J]. 上海针灸杂志, 2015, 34 (10): 947-950.
- [12] Maurer-Spurej E, Pittendreigh C, Misri S. Platelet serotonin levels support depression scores for women with postpartum depression [J]. J Psychiatry Neurosci, 2007, 32 (1): 23-29.
- [13] Yildiz G, Senturk M B, Yildiz P, et al. Serum serotonin, leptin, and adiponectin changes in women with postpartum depression: controlled study [J]. Arch Gynecol Obstet, 2017, 295 (4): 853-858.
- [14] LUO Y, HE G P. Correlative analysis of postpartum depression [J]. J Central South Univ: Med Ed, 2007, 32 (3): 460-465.
- [15] 崔艳超, 唐启盛. 归脾汤对产后抑郁模型大鼠 HPA 轴相关激素及 5-羟色胺的影响研究 [J]. 北京中医药, 2016, 35 (2): 122-126.
- [16] Moses-Kolko E L, Wisner K L, Price J C, et al. Serotonin 1A receptor reductions in postpartum depression: a positron emission tomography study [J]. Fertil Steril, 2008, 89 (3): 685-692.
- [17] Cottingham C, WANG Q. Alpha2 adrenergic receptor dysregulation in depressive disorders: implications for the neurobiology of depression and antidepressant therapy [J]. Neurosci Biobehav Rev, 2012, 36 (10): 2214-2225.

[责任编辑 张丰丰]