

## 温胆汤对精神分裂症模型鼠血清 SOD, MDA, NO, PKC 的影响

朱金华<sup>1</sup>, 田真真<sup>1</sup>, 万红娇<sup>1\*</sup>, 孙昊鑫<sup>1</sup>, 付艳丽<sup>2</sup>, 叶荷平<sup>1</sup>, 马广强<sup>1</sup>

(1. 江西中医学院, 南昌 330004;

2. 河南漯河医学高等专科学校第二附属医院中医科, 河南漯河 462000)

**[摘要]** **目的:**研究温胆汤(由半夏、茯苓、竹茹、枳实、陈皮、炙甘草配伍)对精神分裂症模型鼠血清超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)及蛋白激酶 C(PKC)含量的影响。**方法:**将 50 只清洁级 SD 大鼠随机分为 5 组:正常组(A)、模型组(B)、温胆汤高剂量组(C)、温胆汤中剂量组(D)、温胆汤低剂量组(E),每组 10 只。在造模前,C,D,E 组连续 ig 温胆汤,每次给药 20 mL·kg<sup>-1</sup>(C,D,E 组剂量相当于生药 40,20,10 g·kg<sup>-1</sup>);A,B 组用等量生理盐水 ig,1 次/d,共 21 d。在最后一次给药 2 h 后,B,C,D,E 组一次性左侧腹腔 ip MK801 0.6 mg·kg<sup>-1</sup>,建立精神分裂症模型;一般状况观察 3 d 后,处死大鼠,取血清检测。采用生化方法测定血清 SOD,MDA 和 NO 含量的改变,用双抗体夹心-酶联免疫吸附(ABC-ELISA)法检测血清中 PKC 的含量。**结果:**与模型组比较,温胆汤各组均不同程度改善了模型鼠的一般状况,并且明显降低血清 MDA,NO 的含量( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),升高 SOD 的活性( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),减轻了氧自由基引起的病理损伤。温胆汤各组显著降低血清 PKC 的含量( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。**结论:**温胆汤可减轻精神分裂症模型鼠的病理损害,对氧自由基引起的损伤具有一定的保护;降低 PKC 浓度,从而对缝隙连接通讯(GJIC)的功能起到调节作用。

**[关键词]** 温胆汤; 精神分裂症; 缝隙连接通讯; 蛋白激酶 C

**[、分类号]** R **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)13-0254-04

**[doi]** 10.11653/syfy2013130254

## Effect of Wendan Decoction on SOD, MDA, NO and PKC in Rats Serum with Schizophrenia

ZHU Jin-hua<sup>1</sup>, TIAN Zhen-zhen<sup>1</sup>, WAN Hong-jiao<sup>1\*</sup>, SUN Hao-xin<sup>1</sup>, FU Yan-li<sup>2</sup>,  
YE He-ping<sup>1</sup>, MA Guang-qiang<sup>1</sup>

(1. Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004, China;

2. Second Affiliated Hospital of Henan Luohe Medical College, Luohe 462000, China)

**[Abstract]** **Objective:** To research the effect of Wendan decoction [It was made up of Pinelliae Rhizoma, Poria, Bambusae Caulis in Taenias, Aurantii Fructus Immaturus, Citri Reticulatae Pericarpium, Glycyrrhizae Radix et Rhizoma Prasparata Cum Melle.] on superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), nitric oxide (NO) and protein kinase (PKC) in rats serum with schizophrenia. **Method:** Fifty SD rats were randomly divided five groups: normal group (A), model group (B), Wendan decoction high-dosage group (C), Wendan decoction medium-dosage group (D) and Wendan decoction low-dosage group (E), ten rats in each group. Before established the model, the C, D, E groups were given Wendan decoction (40, 20, 10 g·kg<sup>-1</sup>) and the A and B groups were given normal saline every day, which last for 21 days. After two hours at the

**[收稿日期]** 20130124(016)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81160423);江西省自然科学基金项目(2010GZY0162);江西省卫生厅中医药重点项目(2010Z02)

**[第一作者]** 朱金华, 硕士, 实验师, 从事中医药与病原性疾病的研究工作, Tel:13307096120, E-mail:jzzjh8160260@sina.com

**[通讯作者]** \* 万红娇, 医学博士, 教授, 博士生导师, 从事中医药与病原性疾病的研究工作, Tel:0791-87118860, E-mail: ann.wan@163.com

last given Wendan decoction or saline, the B, C, D, E groups were ip given MK801  $0.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  to establish rat schizophrenia the model at the left side of the rat abdominal cavity. After general condition of rats was observed three days, the rats were sacrificed and serum was tested. The superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), nitri oxide (NO) in rats serum were detected by biochemical methods and the PKC in rats serum was detected by double antibody clip ELASA method. **Result:** Compared with B group, general condition of rats was improved, the MDA, NO, PKC content of group C, D and E were significantly decreased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ) and their SOD was significantly increased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ), pathological damage caused by oxygen free radical was alleviated. The PKC content of group C, D and E were significantly decreased ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). **Conclusion:** Wendan decoction could reduce the pathologic lesions of rat with schizophrenia, protect from the damage caused by oxygen free radicals; Wendan decoction could decrease PKC content and thus play a regulatory role in the function of GJIC.

[**Key words**] Wendan decoction; schizophrenia; gap junction intercellular communication; protein kinase C

精神分裂症 (schizophrenia) 是以基本个性,思维、情感、行为的分裂,精神活动与环境的不协调为主要特征的一种持续、慢性的常见精神病。精神分裂症的发病与多方面的因素有关,精神分裂症的发病机制主要与神经递质功能异常有关<sup>[1]</sup>,神经递质通过其受体活动可调节神经细胞的细胞间隙连接通讯 (gap junction intercellular communication, GJIC)<sup>[2]</sup>。氧化应激介导的细胞损伤参与了精神分裂症的病理生理,研究证实氧化应激可导致细胞 GJIC 功能障碍。

中医认为气滞痰凝是精神分裂症的潜在病机,治疗多从“痰”入手,温胆汤是一首化痰经典名方,临床用治“无形之痰”所致的精神疾患,疗效得到肯定<sup>[3,4]</sup>。本实验通过对精神分裂症模型鼠超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)及蛋白激酶 C(kinase C, PKC) 的检测,来探讨温胆汤对精神分裂症模型鼠氧化损伤的保护作用及通过 PKC 调节 GJIC 的功能,为进一步的实验研究提供依据。

## 1 材料

**1.1 动物与分组** 清洁级 SD 大鼠 50 只,雌性,体重 ( $200 \pm 20$ ) g, 动物合格证号: JZDW (赣) 2011-0593, 由江西中医学院实验动物中心提供。

## 1.2 药物与试剂

**1.2.1 中药汤制备** 温胆汤,按原方剂组成及比例:生半夏 6 g,茯苓 4.5 g,竹茹 6 g,枳实 6 g,陈皮 9 g,炙甘草 3 g 配伍,每剂含生药 34.5 g,由江西中医学院附属医院提供。经鉴定合格,全方各药物先加水浸泡 30 min,一煎加药材量的 8 倍水,沸腾后煎 40 min,过滤取汁,二煎加药材量的 6 倍水,沸腾后

煎 30 min,过滤,合并水煎液,用旋转蒸发仪浓缩为  $0.5, 1, 2 \text{ g}\cdot\text{mL}^{-1}$ , pH 7.0, 于  $4 \text{ }^\circ\text{C}$  冰箱保存备用。

**1.2.2 试剂** 地卓西平马来酸盐 (MK801, 美国 Sigma 公司); SOD 试剂盒 (批号 20120513), 丙二醛 (MDA) 试剂盒 (批号 20120521), NO 试剂盒 (批号 20120415) 均为南京建成生物工程研究所提供; PKC ELISA KIT 试剂盒 (Cusabio Biotech, LTD. 批号 A21038680)。

**1.3 仪器** AL104 电子天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司]; WFZ UV-2100 型紫外-可见分光光度计 [尤尼柯 (上海) 仪器有限公司]; Thermo MULTISKAN FC 型酶标仪, Thermo WELLWASH 888 型洗板机 [均为赛默飞世尔 (上海) 仪器有限公司]。

## 2 方法

**2.1 分组、给药与模型建立**<sup>[5]</sup> 将大鼠随机分为 5 组: 正常组 (A)、模型组 (B)、温胆汤高剂量组 (C)、温胆汤中剂量组 (D)、温胆汤低剂量组 (E), 每组 10 只。动物适应性喂养 5 d 后, 在造模前, 温胆汤高、中、低剂量组连续 ig 温胆汤, 每次给药  $20 \text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$  (相当于 C, D, E 组剂量为生药  $40, 20, 10 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ); 正常组和模型组用等量生理盐水 ig, 1 次/d, 共 21 d。在最后 1 次给药 2 h 后, B, C, D, E 组 1 次性左侧腹腔 ip MK801  $0.6 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ , 诱发 SD 大鼠精神分裂症模型, 正常组给予等量生理盐水注射。

**2.2 指标检测** 造模后观察记录各组大鼠的行为活动、外观体征、大小便性状等, 观察 3 d 后, 处死大鼠, 取血清测定 SOD, MDA, NO, PKC 含量的变化, 测定严格按照试剂盒说明书操作。

**2.3 统计学分析** SPSS 11.5 软件包分析统计, 所

有数据均采用  $\bar{x} \pm s$  表示,多组均数采用单因素方差分析,组间两两比较用 LSD 检验; $P < 0.05$  为有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 大鼠一般状况的观察** 造模过程中无大鼠死亡,正常组大鼠活泼好动,皮毛光泽发亮,呼吸平稳,大小便正常;模型组大鼠在注入 MK801 8 min 后,出现精神躁动,头部不自主摇动,身体瘫软扭动,四肢舞动不安且不能站立,对刺激反应过度灵敏,皮毛可见倒立;尿液增多,大便未见异常;温胆汤组大鼠状态与模型组相似。但随着时间延长,模型组仍躁动不安,四肢舞动,饮食减少;温胆汤组大鼠状况却较模型组已有明显改善。

**3.2 大鼠血清 SOD,MDA,NO,PKC 含量变化** 与正常组相比,模型组大鼠血清 MDA,NO,PKC 含量明显升高,SOD 活性明显下降,具有显著性( $P < 0.05, P < 0.01$ )。与模型组比较,温胆汤各组均有明显降低血清 MDA,NO,PKC 的含量,升高 SOD 的活性,有显著差异( $P < 0.05, P < 0.01$ )。温胆汤能降低精神分裂症大鼠血清 MDA,NO,PKC 的含量,升高 SOD 的活性。见表 1~2。

表 1 温胆汤对精神分裂症大鼠血清 SOD, MDA,NO 含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	SOD /U·mg <sup>-1</sup>	MDA /nmol·mg <sup>-1</sup>	NO /μmol·L <sup>-1</sup>
正常	-	243.97 ± 21.92 <sup>3)</sup>	5.78 ± 0.94 <sup>4)</sup>	14.96 ± 6.35 <sup>4)</sup>
模型	-	129.36 ± 14.21 <sup>1)</sup>	10.59 ± 1.40 <sup>1)</sup>	42.04 ± 13.05 <sup>2)</sup>
温胆汤	40	184.66 ± 36.89 <sup>1,3)</sup>	7.81 ± 0.43 <sup>1,3)</sup>	24.82 ± 10.56 <sup>1,4)</sup>
	20	192.64 ± 37.78 <sup>1,3)</sup>	6.97 ± 1.26 <sup>1,4)</sup>	27.73 ± 9.68 <sup>1,4)</sup>
	10	189.59 ± 34.95 <sup>1,3)</sup>	7.72 ± 1.63 <sup>1,4)</sup>	30.69 ± 9.04 <sup>2,3)</sup>

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

表 2 温胆汤对精神分裂症大鼠血清 PKC 含量的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量 /g·kg <sup>-1</sup>	PKC /ng·L <sup>-1</sup>
正常	-	78.04 ± 2.75 <sup>3)</sup>
模型	-	86.94 ± 1.79 <sup>2)</sup>
温胆汤	40	83.31 ± 1.55 <sup>1,3)</sup>
	20	81.00 ± 1.32 <sup>2,3)</sup>
	10	82.21 ± 1.39 <sup>1,3)</sup>

### 4 讨论

谷氨酸功能低下的精神分裂症病因学假说认为,谷氨酸 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体功能障

碍在该病的病理生理中起重要作用。地卓西平马来酸盐(MK-801)是选择性很强的 NMDA 受体拮抗剂,被广泛应用于谷氨酸功能低下的精神分裂症动物模型研究中,能在啮齿类动物中引起一系列的行为改变,包括自主活动增加、刻板行为、共济失调、感觉运动门控障碍、社会功能低下等。MK-801 诱发的精神分裂症模型鼠病变与气滞痰凝相似。

有研究报道,患有精神分裂症的患者血中的各种抗氧化物质及脂质过氧化物的水平存在异常<sup>[6]</sup>,由此可以推断该患者脑内的自由基生成过多,或者是生理性清除机制有所减弱,从而导致脂质过氧化反应增多,神经毒性增强,这可能在该疾病的发生中起到一定的作用。有研究表明<sup>[7]</sup>,有一些治疗药物能够影响到自由基的代谢,这些表明,可以通过调节自由基的代谢来达到治疗精神分裂症的目的。

超氧化物歧化酶(SOD)对机体的氧化与抗氧化平衡起着至关重要的作用,此酶能够清除超氧阴离子自由基(O<sub>2</sub><sup>-</sup>),保护细胞免受损伤,在一定程度上反应了保护细胞损伤的能力。丙二醛(MDA)的含量是反映机体内脂质过氧化程度及自由基水平的一项重要指标<sup>[8-9]</sup>,间接反应了机体细胞受自由基攻击的严重程度。本实验中模型组 SOD 活性明显较正常组、温胆汤组低,MDA 增多,结果表现出明显的组间差异性( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),与高永利<sup>[7]</sup>、万红娇<sup>[10]</sup>学者报道的类似。

NO 是体内的一种信号分子,是细胞-细胞间信息传递的重要调节物质,广泛参与机体心血管、神经及免疫系统的病理生理过程<sup>[11]</sup>。有研究表明,NO 在中枢神经系统中具有两面性作用,既有神经保护作用,又有神经毒性作用。其一,氧化型 NO(NO<sup>+</sup>)对 N-甲基-D-天门冬氨酸受体(NMDAR)氧化还原部位的巯基(-SH)反应,使 NMDAR 活性下调,抑制 Ca<sup>2+</sup> 内流,阻断谷氨酸(Glu)传导,避免细胞内 Ca<sup>2+</sup> 超载所致的毒性,起神经保护作用。而还原型 NO(NO<sup>-</sup>)与 O<sub>2</sub> 结合形成过氧亚硝基阴离子(ONOO<sup>-</sup>)<sup>[12]</sup>。ONOO<sup>-</sup> 可使酪氨酸、色氨酸等硝基化,导致体内许多重要的酶(如酪氨酸羟化酶、SOD 等)失活,影响细胞代谢;可破坏线粒体结构及细胞的 Ca<sup>2+</sup> 稳态;与核酸作用引起 DNA 链断裂,并与脂质发生反应启动脂质过氧化<sup>[13]</sup>引起组织损伤。本实验中模型组 NO 含量明显较正常组、温胆汤组增多,结果表现出明显的组间差异性( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),与杨洪志<sup>[14]</sup>、秦俊莲<sup>[13]</sup>学者报道的类似。

本实验发现,大鼠在 MK801 诱导精神分裂症

后,清除自由基的 SOD 下降,而 MDA,NO 产生明显增多。应用温胆汤治疗后,可提高精神分裂症模型鼠的 SOD,使 MDA,NO 的产生减少,说明温胆汤具有改善海马组织代谢,提高清除自由基的能力,减少体内的氧自由基积聚,减缓因精神分裂症所致 NO 和自由基明显增高引起的海马组织损伤,对精神分裂症模型鼠的氧化损伤有一定的保护作用。

蛋白激酶 C(PKC),为丝氨酸/苏氨酸激酶家族成员,是 G 蛋白偶联受体系统中的效应物,它在非活性状态下是水溶性的,游离存在于胞质溶胶中,激活后成为膜结合酶。在多种免疫受体介导的信号转导中能被二酰甘油和钙离子所激活。但蛋白激酶 C 的激活是脂依赖性的,需要膜脂 DAG 的存在,同时又是  $Ca^{2+}$  依赖性的,需要胞质溶胶中  $Ca^{2+}$  浓度的升高。当 DAG 在质膜中出现的时候,胞质溶胶中的蛋白激酶 C 就被结合到质膜上,之后在  $Ca^{2+}$  的作用下被激活。蛋白激酶 C 能够激活细胞质中的靶酶从而参与生化反应的调控,同时还能作用于细胞核中的转录因子,参与基因表达的调控,但所调控的基因多与细胞的生长和分化相关<sup>[15]</sup>。本实验结果模型组大鼠血清 PKC 的浓度明显高于正常组,且有显著性差异( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。温胆汤各组 PKC 的浓度较模型组明显降低,且有显著性差异( $P < 0.05$ ),提示,温胆汤能够降低 MK801 诱导的精神分裂症模型大鼠血清中 PKC 的浓度,PKC 可能通过上述机制上调 GJIC 的功能,但温胆汤如何通过降低血清中 PKC 的浓度来调节 GJIC 的功能,还有待于进一步的研究。

#### [参考文献]

- [1] 杨娜,隋峰,姜延良. 神经性疾病相关的谷氨酸转运体研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(7):255.
- [2] 付艳丽,万红娇,朱金华,等. 温胆汤对地卓西平马来

酸盐诱发精神分裂症模型大鼠脑组织中 Cx43mRNA 表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(20):173.

- [3] 张建平,段玉琴. 温胆汤治疗精神病的临床体会[J]. 内蒙古中医药,1996,15(3):34.
- [4] 范闽香,李辉,韩英. 中药治疗精神分裂症 64 例疗效观察[J]. 中国误诊学杂志,2005,5(6):1090.
- [5] 吴金华,邹洪,于军,等. 用不同实验小鼠品建立精神分裂症的动物模型[J]. 生理学报,2003,55(4):381.
- [6] 张向阳,周东丰,张培琰,等. 精神分裂症免疫与过氧化物歧化酶的相关研究[J]. 中国神经精神疾病杂志,2000,26(3):187.
- [7] 高永利,袁亚文,刘小彩. 石杉碱甲片对精神分裂症动物模型大鼠的记忆力和抗氧化酶的影响[J]. 中国神经精神疾病杂志,2005,31(2):136.
- [8] 杨志伟,周娅,曹秀琴. 苦豆子生物碱体外抗柯萨奇 B3 病毒的作用[J]. 四川中医,2003,21(3):14.
- [9] 聂红明,陈建杰,高月求,等. 槐定碱体外抗乙肝病毒的实验研究[J]. 北京中医药,2007,10(10):678.
- [10] 万红娇,杨翠萍,贺又舜,等. 温胆汤对精神分裂症模型鼠免疫调节及抗氧化的影响[J]. 江西中医学院学报,2008,20(2):58.
- [11] 刘耕陶. 一氧化氮的研究前景[J]. 中华医学杂志,1996,76(8):563.
- [12] Lipton S A, Stamler J S. Actions of redox-related congeners of nitric oxide at NMDA receptor [J]. Neuropharmacol, 1994, 33:1229.
- [13] 秦俊莲,张卫红. 脑栓通对脑缺血大鼠脑组织 SOD 活性及血清 NO 的影响[J]. 中国应用生理学杂志,2003,19(2):202.
- [14] 杨洪志,董占华,冯春霞. 氯氮平与氟哌啶醇对血清一氧化氮含量的影响[J]. 临床精神医学杂志,2004,14(5):265.
- [15] Newton A C. Protein Kinase C: structure, function, and regulation[J]. Biol Chem,1995,270(48):28495.

[责任编辑 聂淑琴]