

开心解郁汤对抑郁模型大鼠结肠组织的保护作用

黄学宽¹, 薛晓倩¹, 陈笛², 任凌燕³, 王莎莉^{2*}

(1. 重庆医科大学中医药学院, 重庆 401331; 2. 重庆医科大学基础医学院, 重庆 400016;
3. 重庆科技学院化学化工学院, 重庆 401331)

[摘要] **目的:**观察开心解郁汤对抑郁模型大鼠结肠组织诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、谷胱苷肽过氧化物酶(GSH-Px)活性及一氧化氮(NO)含量的影响,探索开心解郁汤保护结肠组织的部分作用机制。**方法:**将30只SD雄性大鼠随机分为正常组、模型组、开心解郁汤组,每组10只;用慢性应激结合孤养的方式造模21d。在造模同时,开心解郁汤组给予开心解郁汤 ig $40\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$,1次/d,连续21d。紫外分光光度法检测大鼠结肠组织中iNOS,GSH-Px的活性及NO的含量。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠结肠组织中iNOS活性、NO含量增加,GSH-Px活性明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,开心解郁汤可显著降低抑郁模型大鼠结肠组织中iNOS的活性及NO的含量,提高结肠组织中GSH-Px的活性($P < 0.05$)。**结论:**开心解郁汤具有保护抑郁状态下大鼠结肠组织功能的作用,其机制可能与降低结肠组织中iNOS活性及NO含量、提高GSH-Px活性有关。

[关键词] 抑郁模型;开心解郁汤;诱导型一氧化氮合酶;谷胱苷肽过氧化物酶;一氧化氮

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)16-0221-03

Effect of Kaixin Jieyu Decoction on Protecting Colon Tissue in Depressed Rats

HUANG Xue-kuan¹, XUE Xiao-qian¹, CHEN Di², REN Ling-yan³, WANG Sha-li^{2*}

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 401331, China;
2. Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China;
3. College of Chemistry and Chemical Engineering, Chongqing University of Science and Technology, Chongqing 401331, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of Kaixin Jieyu Decoction on the activity of inducible nitric oxide synthase(iNOS), glutathione peroxidase(GSH-Px) and the content of nitric oxide(NO) in colon tissue of the depressed rats. So as to reveal partial mechanisms of Kaixin Jieyu Decoction for protecting colon of the depression rats. **Method:** Thirty male SD rats were evenly randomized into normal, model and Kaixin Jieyu Decoction groups, Depression model of rat was produced by using chronic unpredictable mild stress stimulation (forced ice-water swimming, electric shock, tail-clamping, etc) combined with lonely raising for 21 days. At the same time of producing the depression model rats, Kaixin Jieyu Decoction was given to the Kaixin Jieyu Decoction group rats($40\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$), once daily, continuously for 21 days. The activity of iNOS, GSH-Px and the content of NO in colon of the depressed rats were detected by ultraviolet spectrophotometer method. **Result:** The levels of iNOS and NO were increased significantly and the activity of GSH-Px was reduced significantly in colon of the model rats compared to that of the normal group ($P < 0.05$); also the levels of iNOS and NO were reduced significantly, the activity of GSH-Px was increased significantly in colon of Kaixin Jieyu Decoction group compared to that of the model group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Kaixin Jieyu Decoction had protective effect for colon tissue function of the depressed rats.

[Key words] depression model; Kaixin Jieyu Decoction; iNOS; GSH-Px; NO

[收稿日期] 2011-03-10

[第一作者] 黄学宽, 硕士, 副教授, 硕士生导师, 从事中医理论研究及临床, Tel: 13452382058, E-mail: xkhuang2002@163.com

[通讯作者] * 王莎莉, 教授, 博士生导师, 从事神经生物学及中药药理研究, Tel: 13436031935, E-mail: ypsnali@gmail.com

抑郁症是一种常见的障碍性情绪疾病,是一种以显著而持久的心境低落、躯体不适和睡眠障碍等为主要特征的综合征。据 WHO 报告,抑郁症在全世界发病率约为 11%,目前已成为世界第四大疾患,到 2020 年可能成为仅次于心脏病的第二大疾病^[1]。而消化功能障碍为抑郁症发作期间出现的主要躯体症状。有文献报道,许多肠道疾病(如肠易激综合征、炎症性肠病等)的发生、发展与精神心理因素特别是焦虑、抑郁密切相关^[2]。中医药治疗抑郁症越来越受到重视,但有关抑郁对肠道功能影响的研究不多。本实验旨在探讨开心解郁汤对慢性应激性抑郁模型大鼠结肠组织中诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性及一氧化氮(NO)含量的影响及其对抑郁状态下结肠组织的保护机制。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 开心解郁汤由酸枣仁、合欢皮、五味子、郁金、淫羊藿等中药组成,原药购自重庆市西部医药商城,按常规法自制煎剂,浓缩为含生药 2 g·mL⁻¹的煎剂。NOS 试剂盒、NO 试剂盒、GSH-Px 试剂盒购自南京建成生物工程研究所;Biofuge fresco 低温离心机,德国 Herraces 公司;752 紫外光栅分光光度仪,上海精密仪器公司。

1.2 动物分组与模型复制 健康雄性 SD 大鼠,清洁级,体重(200±20)g,由重庆医科大学实验动物中心提供,生产许可证号 SCXK(渝)2007-0001。自由饮食,自然光线,适应性喂养 1 周。按照 Open-Field 评分方法^[3]作为行为学评分,选择得分相近的 30 只雄性大鼠随机分为 3 组:正常组、模型组、开心解郁汤组,每组 10 只。除正常组仍群养外,每笼饲养 5 只,其余大鼠适应性喂养后运用慢性应激结合孤养(每笼 1 只)的方法进行模型复制。慢性多种应激程序每日随机安排以下 1 种:冷水游泳(10℃ 5 min),热刺激(45℃,5 min),禁水(24 h),夹尾(1 min),电击足底(电压 30 V,电击 5 s,间歇 5 s,共 2 min),摇晃(1 次/s,5 min),昼夜颠倒^[4]。平均每种刺激在实验过程中使用 3 次,连续 21 d。正常组大鼠不予任何刺激。

1.3 给药 开心解郁汤组在进行模型复制的同时,于每次应激刺激前 1 h 按生药 40 g·kg⁻¹ig,1 次/d,连续 21 d。正常组及模型组未予任何治疗。

1.4 iNOS, GSH-Px, NO 的测定 在末次治疗后禁

食 12 h,摘取大鼠眼球取血,分离血清以备其他实验指标检测用,同时颈椎脱臼处死大鼠,及时开腹,在距肛门约 8 cm 处取结肠组织 1 cm,在冰冷生理盐水中漂洗,除去血液,用滤纸快速吸干,电子天平称重,用 0.9% 的生理盐水制成 10% 的组织匀浆液,低温 3 000 r·min⁻¹离心 15 min,取上清液,低温(4℃)保存待测。iNOS, GSH-Px, NO 检测按相应试剂盒说明进行。

1.5 统计方法 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SAS 8.0 统计软件分析系统一般线性模型进行统计分析, $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

开心解郁汤对大鼠结肠组织 iNOS, GSH-Px 活性及 NO 含量的影响 与正常组比较,模型组大鼠结肠组织中 iNOS 活性、NO 含量明显增加, GSH-Px 活性降低($P < 0.05$);与模型组比较,开心解郁汤可显著降低抑郁模型大鼠结肠组织中 iNOS 的活性及 NO 的含量,提高结肠组织中 GSH-Px 的活性($P < 0.05$)。提示开心解郁汤具有保护抑郁状态下结肠功能的作用。结果见表 1。

表 1 开心解郁汤对大鼠结肠组织 iNOS, GSH-Px 活性及 NO 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	iNOS	GSH-Px	NO
	/g·kg ⁻¹	/U·mg ⁻¹	/U·g ⁻¹	/μmol·g ⁻¹
正常	-	0.253 ± 0.107 ¹⁾	24.507 ± 6.071 ¹⁾	4.761 ± 1.636 ¹⁾
模型	-	1.286 ± 0.272	13.184 ± 3.239	11.276 ± 3.162
开心解郁汤	40	0.396 ± 0.112 ¹⁾	21.188 ± 5.439 ¹⁾	5.941 ± 1.782 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3 讨论

由于许多肠道疾病的发生、发展与精神心理因素特别是焦虑、抑郁密切相关,为此,本实验以自拟开心解郁汤作为防治抑郁症的一种干预手段进行实验研究。该方由酸枣仁、合欢皮、五味子、郁金、淫羊藿等中药组成,方中酸枣仁养肝安神,合欢皮解郁安神,五味子宁心安神,郁金行气解郁,淫羊藿补肾阳、振奋阳气,共奏疏肝解郁、振奋阳气之功。现代药理研究表明,酸枣仁、合欢皮有镇静、催眠、镇痛、抗惊厥等作用;五味子有适应原样作用,能增强机体防御能力;郁金有轻度镇痛作用;淫羊藿所含的淫羊藿苷等黄酮苷具有多种与抗抑郁有关的生物活性,如改善失眠、舒缓压力和疲劳等^[5]。因此,本实验选用开心解郁汤,研究其对慢性应激性抑郁模型大鼠结肠

组织中 iNOS, GSH-Px 活性及 NO 含量的影响, 以此为切入点探讨开心解郁汤对抑郁状态下胃肠功能的调节途径及其保护机制。

在体内, NOS 是生成 NO 的惟一关键酶, NOS 分为神经型 NOS (nNOS), 内皮型 NOS (eNOS) 和诱导型 NOS (iNOS), 前两者又称为结构型, 为 Ca^{2+} 依赖型, 经常合成少量的 NO; 后者为 Ca^{2+} 非依赖型, 在其基因被诱导因子如干扰素- α (INF- α)、肿瘤坏死因子 β (TNF- β)、脂多糖 (LPS)、白介素-1 (IL-1) 等诱导后大量表达, 继而合成大量的 NO^[6]。iNOS 是一种急性反应蛋白, 在许多炎症条件下, 结肠上皮组织中 iNOS 的活性增强, 从而使 NO 生成相应增加, 而 NO 犹如一把双刃剑, 在通常状态下对胃黏膜有保护作用, 但 NO 过多则会发挥细胞毒性作用, 降低肠道平滑肌的兴奋性, 使肠道内容物在肠道长时间滞留引起肠梗阻或肠炎^[7], 而且对靶细胞呼吸链及 DNA 合成中的关键酶具有抑制作用, 破坏 DNA 双链^[8], NO 还可通过过氧化形成具有毒性的超氧化阴离子导致细胞脂质过氧化, 损伤细胞^[9], 从而影响靶细胞的生长及能量代谢。可见, 抑郁症患者出现的胃肠功能紊乱, 可能是通过上调 iNOS, 使 NO 过量生成, 而导致肠道的结构和功能异常。此外, GSH-Px 是体内存在的一种含硒的清除自由基和抑制自由基反应的系统, 对于防止体内自由基引起的膜脂质过氧化特别重要, 对胃黏膜具有保护作用, 是抗氧化作用的指标之一, 对于研究抑郁状态下胃肠功能的变化也是一个十分重要的检测指标。

实验结果表明, 灌喂开心解郁汤可明显降低慢性应激性抑郁模型大鼠结肠组织中 iNOS 的活性及 NO 的含量, 提高结肠组织中 GSH-Px 的活性, 从而抑制结肠组织中的脂质过氧化反应, 减轻结肠组织的损害。可见, 开心解郁汤对抑郁症胃肠功能紊乱

有一定保护作用, 其机制可能与其降低结肠组织 iNOS 的活性、NO 的含量和增强 GSH-Px 的活性有关。

[参考文献]

- [1] 许天红. 抑郁障碍 [M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004: 1.
- [2] Haug T T, Mykletun A, Dahl A A. Are anxiety and depression related to gastrointestinal symptoms in the general population? [J]. Scand J Gastroenterol, 2002, 37 (3): 294.
- [3] Willner P. Validity, reliability and activity of the chronic mild stress model of depression: a 10-year review and evaluation [J]. Psychopharmacology, 1997, 134 (4): 319.
- [4] Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress and its restoration by a tricyclic antidepressant [J]. Psychopharmacology, 1987, 93 (3): 358.
- [5] 陶忠增. 中药方剂学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 146, 182, 184, 212.
- [6] 周爱儒. 生物化学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 332.
- [7] Dufour J F, Turner T J, Arias I M. Nitric oxide blocks bile canalicular contraction by inhibiting inositol trisphosphate dependent calcium mobilization [J]. Gastroenterology, 1995, 108 (3): 841.
- [8] 陶梅. 一氧化氮与慢性胃病关系的研究进展 [J]. 陕西医学杂志, 2003, 32 (6): 534.
- [9] Jour'd'heuil D, Morise Z, Conner E M, et al. Oxidants, transcription factors, and intestinal inflammation [J]. J Clin Gastroenterol, 1997, 25 (Suppl 1): 61.

[责任编辑 何伟]