

# 舒郁颗粒对卒中后抑郁大鼠模型海马单胺类神经递质及炎症细胞因子的影响

沈晓明<sup>1</sup>, 韩宁<sup>2\*</sup>, 马云枝<sup>1</sup>, 贾奎<sup>3</sup>, 李冬玉<sup>4</sup>, 史继鑫<sup>1</sup>, 兰瑞<sup>1</sup>, 张可可<sup>1</sup>, 孟闯<sup>1</sup>, 任应国<sup>1</sup>  
(1. 河南中医学院第一附属医院, 郑州 450008; 2. 郑州大学第三附属医院, 郑州 450008;  
3. 新乡医学院第一附属医院, 河南 卫辉 453100; 4. 郑州市中医院, 郑州 450008)

**[摘要]** **目的:**探讨舒郁颗粒对卒中后抑郁(PSD)大鼠模型行为学、海马单胺类神经递质及肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 $1\beta$ (IL- $1\beta$ )的影响。**方法:**对成年雄性SD大鼠采用双侧颈总动脉永久性结扎后予以行为限制的方法制备PSD大鼠模型,将造模成功的雄性SD大鼠随机分为模型组、假手术组、氟西汀组以及舒郁颗粒高、中、低剂量组共6组,分别给予蒸馏水、氟西汀溶液及舒郁颗粒高、中、低(2.4, 1.2, 0.6 g·kg<sup>-1</sup>)剂量ig, 22 d后观察大鼠自发性行为改变、海马区单胺类神经递质及TNF- $\alpha$ , IL- $1\beta$ 含量的变化。**结果:**检测大鼠行为学变化,舒郁颗粒高、中、低剂量组与氟西汀组各项指标无明显差异,与模型组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。检测大鼠脑组织海马区单胺类神经递质及炎症因子的含量,与模型组比较,舒郁颗粒高、中、低剂量组去甲肾上腺素(NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)水平上升有显著性差异( $P < 0.05$ ), IL- $1\beta$ 及TNF- $\alpha$ 含量均显著下降( $P < 0.05$ ),而与假手术组无明显差异;与氟西汀组各项指标无明显差异。**结论:**舒郁颗粒可明显改善卒中后抑郁大鼠的行为,提高卒中后抑郁大鼠模型海马单胺类神经递质水平,降低炎症细胞因子含量水平。

**[关键词]** 卒中后抑郁; 舒郁颗粒; 单胺类神经递质; 肿瘤坏死因子 $\alpha$ ; 白细胞介素 $1\beta$

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)19-0177-04

## The Effect of Shuyu Granules on Monoamine Neurotransmitters and Inflammatory Factors in Hippocampus in Post-stroke Depression Rats

SHEN Xiao-ming<sup>1</sup>, HAN Ning<sup>2\*</sup>, MA Yun-zhi<sup>1</sup>, JIA Kui<sup>3</sup>, LI Dong-yu<sup>4</sup>,  
SHI Ji-xin<sup>1</sup>, LAN Rui<sup>1</sup>, ZHANG Ke-ke<sup>1</sup>, MENG Chuang<sup>1</sup>, REN Ying-guo<sup>1</sup>

(1. The First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China;  
2. The Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450008, China;  
3. The First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Weihui 453100, China;  
4. Chinese Medicine Hospital of Zhengzhou City, Zhengzhou 450008, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the effect of Shuyu granules on monoamine neurotransmitters and inflammatory factors in hippocampus of post-stroke depression(PSD) rats. **Method:** PSD model was established by permanent bilateral common carotid artery ligation together with a behavior limitation. The spontaneous behavior was observed and monoamine neurotransmitters in the hippocampus and tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) and interleukin  $1\beta$ (IL- $1\beta$ ) were detected in 22 days after surgery. **Result:** Compared with the model group, there were significant differences in the behavior ability of PSD rats in three dose groups of Shuyu granules and Fluoxetine group( $P <$

**[收稿日期]** 20110107(002)

**[基金项目]** 河南省科技攻关项目(0414410104)

**[第一作者]** 沈晓明, 主治医师, 医学硕士, 广州中医药大学在读博士, 主要从事中西医结合神经内科教学、科研与临床研究工作, Tel: 13526882166, E-mail: sxmdoc@163.com

**[通讯作者]** \* 韩宁, 主治医师, 医学硕士, 主要从事中西医结合教学、科研与临床研究工作, Tel: 15515609988, E-mail: 15515609988@163.com

0.05)。Compared with the model group, norepinephrine (NE), dopamine (DA), serotonin (5-HT) were significantly increased ( $P < 0.05$ ) in the three dose groups of Shuyu Granules., IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  were significantly decreased ( $P < 0.05$ )。 **Conclusion:** Shuyu granules could increase monoamine neurotransmitters and reduce cytokines and improve the spontaneous behavior in post-stroke depression rats.

[**Key words**] post-stroke depression; Shuyu granules; monoamine neurotransmitters; tumor necrosis factor- $\alpha$ ; interleukin 1 $\beta$

卒中后抑郁症 (post-stroke depression, PSD) 是脑卒中后患者常见的精神障碍并发症之一, 主要临床表现为半身不遂、口眼歪斜、偏身麻木、情绪低落、兴趣减退、思维迟缓、悲观失望甚至绝望自杀。流行病学研究结果显示, PSD 多发生于卒中后 2 年内, 以 3 ~ 6 个月为发病高峰期, 其总体发病率为 25% ~ 80%, 卒中后 2 周内发病率多在 6% ~ 41%<sup>[1]</sup>, 严重影响中风患者的神经功能康复。因此探讨 PSD 的发病机制和有效的治疗方法具有重要意义。近年来, 笔者采用舒郁颗粒治疗 PSD 患者, 获得较为满意疗效<sup>[2]</sup>。该药系根据名老中医多年临床经验, 以“血瘀肝郁”为主立论组方<sup>[3]</sup>, 采用现代中药制剂工艺研制而成。本研究旨在观察舒郁颗粒对 PSD 大鼠模型海马单胺类神经递质及炎症细胞因子肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), 白细胞介素 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) 的影响, 探讨其抗抑郁作用的药理学机制。

## 1 材料

**1.1 动物** 清洁级健康成年雄性 SD 大鼠 (鼠龄 12 ~ 15 月), 体质量 (320  $\pm$  30) g。由郑州大学动物实验中心提供并饲养, 许可证号 SYXK (豫) 2007-0009, 饲养期间给予大鼠标准颗粒饲料及纯净饮水。

**1.2 药物** 舒郁颗粒浓缩液分为高、中、低 (1.5, 0.75, 0.375 g  $\cdot$  mL<sup>-1</sup>) 3 种质量浓度 (全方由郁金、香附、川芎、水蛭、地龙、白芍、石菖蒲组成。先以水蒸气蒸馏法提取香附、郁金、川芎及石菖蒲 4 味挥发油, 再取水蛭、地龙、白芍, 加水浸泡后与上述提油后的药渣混合, 加热煎煮滤过, 将滤液与上述水溶液合并, 减压浓缩为清膏, 干燥后粉碎, 加入适量糊精, 制粒, 干燥, 加入上述挥发油, 混匀, 包装即得, 以药品中的芍药苷含量作为质控指标, 由河南中医学院第一附属医院制剂室提供, 批号 040816)。盐酸氟西汀胶囊由美国礼来制药公司生产。

**1.3 试剂与仪器** 盐酸去甲肾上腺素 (L-NE)、多巴胺 (DA)、5-羟色胺硫酸肌肝 (5-HT) 均为 Sigma 公司产品。IL-1 $\beta$  试剂盒与 TNF- $\alpha$  试剂盒, 解放军总医

院科技开发中心放免所产品。仪器: VARIAN 高效液相色谱仪, 高速冷冻离心机, pH 计 (HANNAPH201), BP211D 电子天平 (瑞士赛多利斯公司), SN-695 B 型  $\gamma$  射线测量仪, 上海日环仪器厂产品。

## 2 方法

**2.1 脑缺血大鼠模型的制备** 参照文献制备 PSD 大鼠<sup>[4]</sup>。将大鼠用 10% 水合氯醛 ip (3 mL  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>), 麻醉后仰卧固定四肢与头部, 颈正中去毛, 乙醇消毒后行正中切开, 仔细分离肌肉, 找出双侧颈总动脉, 并小心分离迷走神经, 模型组及用药组用 9 号丝线永久性结扎颈总动脉, 缝合切口, 假手术组仅做颈正中切口即予缝合。手术后每天用青霉素 4 万单位 ip 以抗感染, 连用 3 d。

**2.2 PSD 大鼠模型的制备** 将成功达到脑缺血模型的大鼠, 连续 7 d, 每天 10:00 ~ 16:00 任取时间将大鼠限制在特制的观察笼中, 予以 2 h 的行为限制。

**2.3 分组、给药剂量及方法** 将造模成功的大鼠分为模型组、假手术组、氟西汀组、舒郁颗粒高、中、低剂量组共 6 组 ig 给药。给药时间为 22 d, 从造模后第 8 天开始, 每天 ig 1 次, 每周测体重 1 次, 根据体重变化更新剂量。正常对照组、模型组、假手术组均 ig 蒸馏水 10 mL  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>; 氟西汀组予氟西汀溶液每日 ig 1 次, 用量为 0.000 1 g  $\cdot$  kg<sup>-1</sup> (相当于临床用量的 5 倍); 舒郁颗粒高、中、低剂量组 (2.4, 1.2, 0.6 g  $\cdot$  kg, 分别相当于生药 10.6, 5.3, 2.7 g  $\cdot$  kg<sup>-1</sup>, 为临床用药量的 10, 5, 2.5 倍)。

**2.4 大鼠海马单胺类神经递质含量测定** 取出称重过的大鼠脑组织, 置入 1 mL 玻璃组织匀浆器中, 加入预冷的 0.1% 高氯酸 400  $\mu$ L, 在冰浴下上下转动 8 min, 充分研磨使组织匀浆化后, 将组织匀浆液倒入离心管内, 置离心机内以 (4  $^{\circ}$ C) 10 000  $\times$  g 离心 15 min, 吸取上清液, 用 0.1% 高氯酸溶液定容至 0.5 mL。色谱条件: YMC-C<sub>18</sub> 色谱柱 (4.6 mm  $\times$  250 mm, 5  $\mu$ m)。流动相 0.1 mol  $\cdot$  L<sup>-1</sup> 的醋酸钠 (内含

0.1 mmol·L<sup>-1</sup>的 EDTA-2Na),用 HAC 调节 pH 5.1,用 0.45 μm 的微孔滤膜过滤,超声脱气,此缓冲液为流动相 B,甲醇为流动相 A,按比例 9:1 等度洗脱,流速为 1.0 mL·min<sup>-1</sup>,每次进样 30 μL,发射波长 330 nm,激发波长 290 nm。柱温 32 ℃。

**2.5 IL-1β, TNF-α 测定** 于实验第 22 天清晨,每组选取存活的大鼠在乙醚麻醉下打开腹腔,经下腔静脉采血,分离血清 -70 ℃ 保存待检。用放射免疫测定法测 IL-1β, TNF-α。采用平衡法,用聚苯乙烯试管取测试样品、抗血清、碘标试剂各 100 μL,充分混匀,放置 4 ℃ 24 h 后,加分离剂 500 μL,充分混匀,室温放置 20 min,4 ℃ 3 500 r·min<sup>-1</sup>离心 25 min,吸弃上清液。同时按操作说明书设 T, NSB, S<sub>0</sub>, S<sub>1</sub> ~ S<sub>5</sub> 管。结果在自动 γ 计数器上测定 cpm 数。并由 γ 计数器按程序,自动生成标准曲线、相关参数和样品浓度。以 B/T 计算 NSB, S<sub>0</sub> 结合百分率,以 B/B<sub>0</sub> 计算标准品及待测样品结合百分率,在半对数坐标纸上绘制标准曲线,并查出样品值。或由自动 γ 计数器预先编制程序,直接给出有关参数、标准曲线及样品浓度。

**2.6 大鼠行为学测定** 敞箱试验:在大鼠造模后及用药后进行,本实验所用敞箱为圆柱形,高 40 cm,直径 80 cm,周壁为黑色,底面按扇形分成面积相等的 25 块。以动物穿越底面块数为水平活动得分,动物一般靠边行走,穿越 1 格为 1 次,如动物按直径方向

行走,一般以每 10 cm 为 1 次,以直立次数为垂直活动得分,动物双足离开底面垂直活动,无论动物站立多长时间直至动物双足放下为 1 次活动。彻底清洁敞箱后再进行下一只大鼠测定,每次测定时间为 5 min。敞箱试验的水平运动反映了大鼠的运动活动性水平,垂直运动反映了动物对新鲜环境的好奇程度,即兴趣的高低,清洁动作次数的减少则反映了动物对周围环境的要求和对自身的关注下降,中央格停留时间的长短则反映了大鼠启动活动的潜伏期;而排便次数则反映了大鼠的紧张状态<sup>[4]</sup>。

**2.7 统计方法** 数据描述均以  $\bar{x} \pm s$  表示,数据用 SPSS 15.0 统计软件包处理,组间比较采用 *t* 检验。*P* < 0.05 有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 大鼠行为学检测** 与模型组比较,舒郁颗粒高、中、低剂量组大鼠的水平活动、垂直活动次数、清洁活动、中央格停留时间、粪便粒数均显著减少 (*P* < 0.05),与氟西汀组各项指标无明显差异。见表 1。

**3.2 大鼠海马区单胺类神经递质含量的检测** 与模型组比较,舒郁颗粒高、中、低剂量组大鼠的 NE, DA, 5-HT 等含量均显著上升 (*P* < 0.05),IL-1β 及 TNF-α 含量均显著下降 (*P* < 0.05),与氟西汀组各项指标无明显差异,其效果与舒郁颗粒的剂量呈正相关。见表 2。

表 1 大鼠敞箱试验各项指标的检测( $\bar{x} \pm s$ )

分组	<i>n</i>	给药剂量/g·kg <sup>-1</sup>	水平运动得分	垂直运动得分	5 min 清洁数/次	中央格停留/s	粪便数/粒
假手术	10	-	43.87 ± 8.33	15.11 ± 6.55	5.07 ± 1.33	0.83 ± 0.76	0.62 ± 1.14
模型	9	-	10.56 ± 7.93	3.64 ± 1.60	1.59 ± 1.92	5.56 ± 3.43	2.36 ± 1.93
氟西汀	8	0.0001	39.71 ± 18.90	14.57 ± 4.56	4.96 ± 1.63	1.99 ± 3.51 <sup>1)</sup>	1.17 ± 1.60
舒郁颗粒	9	2.4	35.20 ± 14.05 <sup>1)</sup>	12.33 ± 2.88 <sup>1)</sup>	4.87 ± 1.82 <sup>1)</sup>	2.02 ± 3.11 <sup>1)</sup>	1.10 ± 1.82 <sup>1)</sup>
	8	1.2	31.73 ± 7.98 <sup>1)</sup>	10.14 ± 5.17 <sup>1)</sup>	4.63 ± 1.98 <sup>1)</sup>	2.12 ± 3.28 <sup>1)</sup>	1.19 ± 1.35 <sup>1)</sup>
	8	0.6	29.92 ± 8.14 <sup>1)</sup>	9.93 ± 3.45 <sup>1)</sup>	4.55 ± 1.14 <sup>1)</sup>	2.23 ± 3.21 <sup>1)</sup>	1.24 ± 1.42 <sup>1)</sup>

注:与模型组比较<sup>1)</sup> *P* < 0.05(表 2 同)。

表 2 大鼠脑组织海马区单胺类神经递质及细胞因子含量的检测( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	<i>n</i>	NE	DA	5-HT	TNF-α	IL-1β
假手术	-	10	0.83 ± 0.15	2.09 ± 0.35	1.21 ± 0.35	0.47 ± 0.35	0.07 ± 0.35
模型	-	9	0.32 ± 0.12	1.03 ± 0.67	0.53 ± 0.43	0.93 ± 0.51	0.39 ± 0.86
氟西汀	0.0001	8	0.61 ± 0.14	1.91 ± 0.74	1.15 ± 0.44	0.73 ± 0.74	0.12 ± 0.74
	2.4	9	0.59 ± 0.17 <sup>1)</sup>	1.87 ± 0.87 <sup>1)</sup>	1.12 ± 0.37 <sup>1)</sup>	0.70 ± 0.87 <sup>1)</sup>	0.10 ± 0.87 <sup>1)</sup>
	1.2	8	0.48 ± 0.18 <sup>1)</sup>	1.72 ± 0.69 <sup>1)</sup>	0.98 ± 0.48 <sup>1)</sup>	0.68 ± 0.53 <sup>1)</sup>	0.13 ± 0.81 <sup>1)</sup>
	0.6	8	0.40 ± 0.11 <sup>1)</sup>	1.63 ± 0.65 <sup>1)</sup>	0.76 ± 0.39 <sup>1)</sup>	0.60 ± 0.68 <sup>1)</sup>	0.15 ± 0.79 <sup>1)</sup>

#### 4 讨论

PSD 的发病机制尚不清楚,“原发性内源性机制”学说认为 PSD 的发病可能与脑卒中后大脑边缘系统如杏仁核、海马回等特定部位遭到破坏,引起与情绪反应有关的 NE, 5-HT, DA 等单胺类神经递质的合成与代谢以及神经递质的信息传递障碍有关<sup>[5]</sup>。同时,现代研究发现,PSD 的发生与血液中 IL-1 $\beta$  及 TNF- $\alpha$  等炎症细胞因子的改变密切相关。该类炎症因子在中枢神经细胞内产生,其受体位于海马、下丘脑等部位<sup>[6]</sup>,在脑内影响单胺类神经递质和胆碱能通路,其浓度与下丘脑-垂体-肾上腺(HPA)轴的活性密切相关<sup>[7-9]</sup>。近年来,中医药治疗 PSD 在提高生存质量、远期疗效较好、药物不良反应小等方面显示出独特优势,成为研究的热点。

祖国医学把 PSD 归属于“郁证”病范畴,认为本病发生与中风发病密切相关。中风发病以风、火、痰、瘀、气、虚六因素为主,肝肾亏虚、气虚血瘀是中风的主要病因病机,病发中风,多遗留半身不遂、语言不利、口眼歪斜等后遗症,促发患者情感障碍,失去治疗及生活的信心,久则情绪低落、忧愁悲恐,肝气郁结不得疏泄,造成 PSD 的发生。所以,PSD 的病机既有郁病情志不舒,气机不畅的特点,又有中风气血失调,痰瘀互结,上扰清窍的特点。其本在瘀血阻络,其标在肝气郁结,故治宜标本同治,以舒肝解郁为主,辅以活血通络。舒郁颗粒以“血瘀肝郁”为主立论组方,由郁金、香附、川芎、水蛭、地龙、石菖蒲等组成,旨在舒肝解郁,活血通络。现代药理研究显示,舒郁颗粒组方中的药物多具有抗抑郁和焦虑,增加中枢神经系统单胺类神经递质含量,减轻脑损伤后炎症反应和自由基对脑的损害,降低血液黏稠度,促进患者中风后偏瘫侧肢体功能康复等作用,这为舒郁颗粒治疗 PSD 提供了现代药理学依据<sup>[10-16]</sup>。本研究结果显示,舒郁颗粒可明显改善 PSD 大鼠模型的行为,提高 PSD 大鼠模型海马单胺类神经递质水平,降低炎症细胞因子含量;舒郁颗粒高、中、低剂量对 PSD 大鼠的行为学、海马单胺类神经递质水平及炎症细胞因子含量均有改善,其效果与舒郁颗粒的剂量呈正相关。本研究为舒郁颗粒在临床应用提供了实验室依据。

#### [参考文献]

- [1] 杨伶俐,张志珺,孙鼎. 脑卒中急性期患者卒中后抑郁的发生率及其危险因素[J]. 临床神经病学杂志, 2010, 23(3): 185.
- [2] 马云枝,沈晓明,王磊,等. 舒郁颗粒治疗中风后抑郁症 150 例临床观察[J]. 新中医, 2007, 39(10): 32.
- [3] 沈晓明. 中风后抑郁症病机钩玄[J]. 中国民间疗法, 2010, 18(1): 53.
- [4] 裘涛,陈眉,代建峰,等. 脑卒中后抑郁症动物模型的建立与评价[J]. 中国行为医学科学, 2006, 15(1): 12.
- [5] Zalcmán S, Green-Johnson J M, Murray L, et al. Cytokine specific central monoamine alterations induced by interleukin 1, 2, and 6 [J]. Brain Res, 1994, 64(10): 40.
- [6] Hopkins S J, Rothwell N J. Cytokines and the nervous system [J]. Trends Neurosci, 1995, 18: 83.
- [7] Breder C D, Dinarello C A, Saper C B. Interleukin 1 innervation of the human hypothalamus [J]. Science, 1988, 240(22): 321.
- [8] Arvin B, Neville L F, Barone F C, et al. Brain injury and inflammation: a putative role of TNF- $\alpha$  [J]. Ann N Y Acad Sci, 1995, 765(1): 62.
- [9] 李菊英,何爱香,吴朝荣. 脑卒中后抑郁情绪对预后的影响[J]. 中国临床心理学杂志, 2001, 9(4): 239.
- [10] 黄险峰,彭国平. 香附的化学成分及药理研究进展[J]. 中药材, 2003, 26(1): 65.
- [11] 王见宾,张毅. 中药郁金的临床应用概况[J]. 中药材, 2005, 26(6): 59.
- [12] 胡永红,周爱民,田野,等. 川芎嗪促进脑缺血耐受形成的作用及机制研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2010, 16(8): 44.
- [13] 莫可元,张桂英,莫志江. 水蛭的药理研究进展[J]. 中成药, 2003, 25(5): 408.
- [14] 肖移生,侯吉华,伍庆华,等. 地龙对大鼠大脑局灶性脑缺血损伤保护作用研究[J]. 中药药理与临床, 2009, 12(6): 64.
- [15] 王景霞,张建军,李伟,等. 白芍提取物治疗抑郁症的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 190.
- [16] 陈俐. 石菖蒲药理作用的实验研究[J]. 广州医学院学报, 2002, 12(30): 75.

[责任编辑 聂淑琴]