

抑郁症睡眠障碍模型大鼠甲状腺激素变化 及逍遥散干预的研究

孔梅, 舒晓春*, 邢长永

(中山大学第五附属医院, 广东 珠海 519000)

[摘要] 目的: 观察抑郁症睡眠障碍(SDD)大鼠自主行为及血清 TT3(三碘甲状腺原氨酸), TT4(甲状腺素), FT3(游离三碘甲状腺原氨酸), FT4(游离甲状腺素), TSH(促甲状腺素)表达变化, 探讨甲状腺激素水平与抑郁症睡眠障碍的关联及逍遥散的干预作用。方法: 48 只 Wistar 大鼠进行敞箱行为(OFT)试验, 根据得分将大鼠随机分为 4 组, 正常组、模型组、米氮平组、逍遥散组。除正常组外, 其余各组共接受 21 d 不同的应激。造模开始当天应激前 1 h 模型组、米氮平组、逍遥散组分别给予等容量生理盐水、米氮平、逍遥散水提液。21 d 计算行为得分后处死大鼠, 取大鼠血清置 -20℃ 冰箱中备测 TT3, TT4, FT3, FT4, TSH 水平。结果: 21 d 后模型组自主活动较应激前显著减少($P < 0.01$), 与模型组比较, 逍遥散组及米氮平组大鼠的自主活动明显增加($P < 0.01$), 2 组与正常组无差异; 各组血清 TT3, TT4 水平变化无差异; 模型组 FT3 水平下降, FT4 水平上升, TSH 水平无变化, 米氮平组、逍遥散组与模型组比较, 无统计学意义。结论: 逍遥散具有缓解抑郁症睡眠障碍的效应, 但对甲状腺激素水平变化无影响。

[关键词] 抑郁症睡眠障碍; 甲状腺激素; 逍遥散

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)16-0147-03

Expression of Serum Thyroxine in a Rat Model of Sleep Deprivation Depression and Influenced of Ease Powder Decoction

KONG Mei, SHU Xiao-chun*, XING Chang-yong

(Department of Clinical Laboratory, the Fifth Affiliated Hospital of Sun Yat-sen University, Zhuhai 519000, China)

[Abstract] Objective: To discuss the molecular mechanism of Ease Powder decoction treating on sleep deprivation depression by observing the changes of autonomic-behavior and the expression of serum TT3, TT4, FT3, FT4, TSH in a rat experimental model of sleep deprivation depression(SDD). **Method:** Forty eight Wistar rats were divided into four groups after first open-field testing(OFT), they were normal group, model group, mirtazapine group and Ease Powder decoction group. Except the normal group, the other groups were received different stress for 21 days. Making day stress before 1 h the model group, mirtazapine, Ease Powder decoction group were intragastric administration of normal saline, mirtazapine, Ease Powder decoction respectively. At the end of 21 days, all the animals were sacrificed. The serum of rats was taken then kept in -20℃ freezer and the levels of TT3, TT4, FT3, FT4 and TSH were determined. **Result:** Compared with the situation before SDD, there was a significant decrease in the autonomic-behavior ($P < 0.01$) of SDD after 21 days. Compared with the model group, the autonomic-behavior of Ease Powder decoction group and the mirtazapine group was increased($P < 0.01$). Compared with the normal group, there was no difference. The expression of serum TT3 and TT4 was no differences between the groups. However, compared with that in the normal group, the expression of FT3 in the model group was decreased, FT4 was

[收稿日期] 2010-08-06

[基金项目] 广东省建设中医药强省科研立项资助课题(2009051)

[第一作者] 孔梅, 主管技师, 研究方向: 抑郁症睡眠障碍及代谢, E-mail: kongmei.zsu.2008@163.com, Tel: 0756-2528340

[通讯作者] * 舒晓春, 副主任医师, 研究方向: 内分泌及代谢疾病, E-mail: zhshuxc@163.com, Tel: 0756-2528340

increased, TSH was no change. Compare with the model group, the mirtazapine group and Ease Powder decoction group had no statistically significant, while the normal group has statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** The Ease Powder decoction exert an effect on SDD. However, The Ease Powder decoction has no influence on the expression of thyroxine.

[Key words] sleep deprivation depression; thyroxine; ease powder decoction

睡眠障碍是抑郁症状群的重要组成部分,睡眠障碍可能是抑郁症患者自杀的诱发因素,因此抑郁症睡眠障碍(sleep deprivation depression, SDD)的研究已成为人们关注的焦点。研究发现^[1-2], SDD 患者下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA 轴)存在功能亢进,而下丘脑-垂体-甲状腺轴(HPT 轴)功能低下,主要表现为血浆皮质醇浓度增高,促肾上腺皮质激素(ACTH)分泌增强以及促甲状腺释放激素(TRH)兴奋试验迟钝等, HPT 轴在情感障碍的发生中有着重要作用。本研究建立抑郁症睡眠障碍大鼠模型,通过观察大鼠自主行为及血清 TT3 (3, 5, 3-triiodothyronine, 三碘甲状腺原氨酸), TT4 (3, 5, 3, 5-tetraiodothyronine, 甲状腺素), FT3 (free-triiodothyronine, 游离三碘甲状腺原氨酸), FT4 (free-thyroxine, 游离甲状腺素), TSH (thyroid stimulating hormone, 促甲状腺激素)含量变化,探讨甲状腺激素与抑郁症睡眠障碍的关联及逍遥散的干预作用。

1 材料

1.1 动物 清洁级 Wistar 大鼠 48 只,雌雄各半,体重 200 g ~250 g (广东省动物实验中心提供,实验动物生产许可证 SCXK(粤)2008-0002)。

1.2 药物与试剂 逍遥散(柴胡 9 g, 当归 9 g, 白芍 9 g, 白术 9 g, 茯苓 9 g, 甘草 4.5 g, 薄荷 4.5 g, 煨生姜 4.5 g), 以上药材均由广州中医药大学第一附属医院药房提供,经中山大学第五附属医院药剂科郑志新主管药师鉴定均为纯正药材。中药制成粗粉,首煎将中药粗粉置 8 倍温水中浸泡 0.5 h, 沸腾后文火煎煮 4 h, 过滤;第 2 次和第 3 次煎煮均分别以 6 倍水文火煎煮 2 h, 过滤;合并 3 次药液,置水浴浓缩至含生药 0.351 g·mL⁻¹。药液常温冷却后,置 4 冰箱内保存备用。米氮平(批号 080201, 15 mg/片),购于哈尔滨三联药业有限公司, TT3 (批号 70906JN0); TT4 (批号 71897M10); FT3 (批号 74910JN00); FT4 (批号 71393M200); TSH (批号 72911JN00), 以上试剂盒均购于美国雅培制药有限公司。

1.3 仪器 ARCHIECT i2000_{SR} 全自动免疫化学发光分析仪(美国雅培公司), 移液器(法国 Gilson 公司), BDC-280 e 超低温冰箱(长沙伊来克斯); 5417R 型高速冷冻离心机(德国 EPPENDORF 公司)。

2 方法

2.1 分组与造模

2.1.1 分组 大鼠先在光暗周期为 12 h 12 h (光照时间 7:00 ~19:00) 条件下适应性饲养 1 周。分组前进行首次敞箱行为试验(OFT), 根据得分将大鼠随机分为正常组、模型组, 米氮平组, 逍遥散组, 每组 12 只。

2.1.2 慢性轻度不可预见性应激抑郁模型 除正常组外, 余各组每日随机安排 1 种应激, 包括: 行为限制 2 h、电击足底(36 V 交流电, 每隔 1 min 刺激 1 次, 每次刺激 10 s, 共 30 次)、冰水游泳(4, 5 min)、热应激(45, 5 min)、摇晃(1 次/s, 15 min)、鼠笼倾斜 45° 24 h、夹尾(1 min)、禁水(24 h)、禁食(48 h)、明暗颠倒、潮湿垫料 10 h、空瓶放置 1 h, 连续 18 d^[3]。分别在试验 7, 14, 21 d 测试动物的自主活动量。

2.1.3 快速动眼相睡眠剥夺 采用小平台水环境法, 剥夺箱为 30 cm ×30 cm ×40 cm 的玻璃水箱, 正中直立 1 直径 6 cm 圆形平台, 箱中注满水, 水面距平台面约 1 cm。大鼠在平台上可自由进食进水, 如果睡眠, 会因为肌张力松弛而落入水中。从 19 d 开始除正常组外对试验动物进行 72 h 连续快速动眼相睡眠剥夺。造模期间持续灯光照射, 室温 18.0 ~22.0。每天更换箱中的水, 水温 20 左右^[3-5]。

2.2 给药 每天在应激前 1 h, 按组分别给予生理盐水、生理盐水、米氮平(3 mg·kg⁻¹) 及逍遥散(3.51 g·kg⁻¹), 1 次/d, 连续 21 d。

2.3 大鼠自主活动测定 使用 Open-Field 法(OFT)检测^[5], 以大鼠在 3 min 内的水平运动得分和垂直运动得分之和为大鼠总的自主活动量, 于分组前和治疗后进行。

2.4 血清甲状腺激素检测 检测血清 TT3, TT4,

FT3, FT4, TSH, 参考范围: TT3 0.58 ~ 1.59 ng · mL⁻¹, TT4 48.7 ~ 117.2 μg · L⁻¹, TSH 0.35 ~ 4.94 μU · mL⁻¹, FT3 1.71 ~ 3.71 pg · mL⁻¹, FT4 7 ~ 14.8 ng · L⁻¹。

2.5 统计学方法 使用 SPSS11.5 for windows 统计软件处理, 所有试验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 符合正态分布资料采用单因素方差分析; 非正态分布资料采用 Mann-Whitney U 秩和检验。

3 结果

3.1 大鼠自主行为变化 应激前, 4 组大鼠的自主活动量无差异。21 d 后模型组自主活动显著减少 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 逍遥散组及米氮平组大鼠自主活动量明显增加, 与正常组相似(表 1)。

表 1 逍遥散对大鼠自主活动量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=12$) 分

组别	剂量 /g · kg ⁻¹	给药前	给药后
正常	-	96.35 ± 9.21	98.78 ± 8.78 ¹⁾
模型	-	98.59 ± 8.69	37.45 ± 9.14
米氮平	0.003	97.65 ± 9.53	95.68 ± 9.24 ¹⁾
逍遥散	3.51	97.86 ± 9.21	96.72 ± 8.89 ¹⁾

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.2 大鼠血清 TT3, TT4, FT3, FT4, TSH 含量 与正常组相比, 各组血清 TT3, TT4, TSH 变化无差异; 模型组 FT3 下降 ($P < 0.01$), FT4 上升 ($P < 0.01$); 米氮平组、逍遥散组与模型组比较无统计学意义(表 2)。

表 2 逍遥散对大鼠血清 TT3, TT4, FT3, FT4, TSH 的影响表达 ($\bar{x} \pm s, n=12$)

组别	TT3	TT4	FT3	FT4	TSH
	/ng · mL ⁻¹	/μg · L ⁻¹	/pg · mL ⁻¹	/ng · L ⁻¹	/μU · mL ⁻¹
正常	1.12 ± 0.21	69.57 ± 32.31	3.45 ± 1.25 ¹⁾	8.38 ± 5.40 ¹⁾	2.29 ± 0.47
模型	1.17 ± 0.32	74.74 ± 25.62	1.21 ± 1.18	14.62 ± 2.11	2.18 ± 0.32
米氮平	1.01 ± 0.18	71.15 ± 29.84	1.99 ± 1.16	13.96 ± 4.94	2.49 ± 0.56
逍遥散	1.10 ± 0.19	72.72 ± 27.46	2.02 ± 1.10	13.37 ± 5.03	2.32 ± 0.21

4 讨论

抑郁症的病因尚未彻底阐明, 目前认为慢性、低水平、长期的应激是促进抑郁发生并加重病情的主要原因。慢性温和和不可预见性应激抑郁模型根据此理论建立, 已成为国内外广泛应用的动物模型^[5]。

研究发现甲状腺功能亢进症与情感障碍有明显的共发性, 无情感症状的甲亢患者经抗甲亢治疗、使血清甲状腺激素水平下降至正常范围后出现了抑郁

状态, 认为甲状腺激素水平的动态下降与抑郁状态发生有关^[6]。本研究证明, SDD 大鼠血清 FT3 水平下降, FT4 水平上升, TSH, TT3, TT4 无变化。提示 SDD 大鼠可能存在甲状腺功能低下的表现。临床研究发现^[7], 抑郁症中只有部分病人存在甲状腺激素水平偏低, 而且抗抑郁剂合并甲状腺激素治疗只能使部分病人有效的事实, 说明甲状腺激素下降只与部分抑郁症的形成有关。从大鼠自主行为变化及前期研究, 我们均已经证实逍遥散具有明确缓解 SDD 的效应, 但本试验发现逍遥散改善 SDD 症状的同时并不伴有甲状腺激素水平的变化, 提示逍遥散不具备调节甲状腺激素水平的效应。关于逍遥散干预 SDD 的机制还有待深入研究。

[参考文献]

- [1] Bauer M, Berman S M, Schlagenhauf F, et al. Regional cerebral glucose metabolism and anxiety symptoms in bipolar depression: effects of levothyroxine [J]. Psychiatry Res, 2010, 181(1) : 71.
- [2] Wiersinga W M. Do we need still more trials on T4 and T3 combination therapy in hypothyroidism? [J]. Eur J Endocrinol, 2009, 161(6) : 955.
- [3] Lopez-Rodriguez F, Kim J, Poland R E. Total sleep deprivation decreases immobility in the forced-swim test [J]. Neuropsychopharmacology, 2004, 29(6) : 1105.
- [4] De Oliveira R A, Cunha G M, Borges K D, et al. The effect of venlafaxine on behaviour, body weight and striatal monoamine levels on sleep-deprived female rats [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2004, 79(3) : 499.
- [5] Kotaleski J H, Blackwell K T. Modelling the molecular mechanisms of synaptic plasticity using systems biology approaches [J]. Nat Rev Neurosci, 2010, 11(4) : 239.
- [6] Nygaard B, Jensen E W, Kvetny J, et al. A paradoxical difference in relationship between anxiety, depression and thyroid function in subjects on and not on T4: findings from the HUNT study [J]. Eur J Endocrinol, 2009, 161(6) : 895.
- [7] Pae C U, Mandelli L, Han C, et al. Effects of selective serotonin reuptake inhibitors on thyroid function in depressed patients with primary hypothyroidism or normal thyroid function [J]. Psychiatry Clin Neurosci, 2009, 63(3) : 305.

[责任编辑 何伟]