

补肾解郁清心方对围绝经期抑郁症模型大鼠行为学及下丘脑-垂体-肾上腺轴的影响

董莉*, 姜琳, 孟炜, 朱南孙

(上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院, 上海 200437)

[摘要] 目的: 探讨补肾解郁清心方对围绝经期抑郁症模型大鼠行为学的影响和对下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA 轴)的调节作用。方法: 采用雌性 SD 大鼠双侧卵巢摘除, 孤养与慢性轻度不可预见应激二步法制作围绝经期抑郁症动物模型。将 40 只大鼠分为正常对照组、模型组、西药组、中药组。西药组予百忧解($2.4 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)与苯甲酸雌二醇($0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 中药组予补肾解郁清心方($40 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 相当于临床成人剂量的 10 倍)。对大鼠进行 Operfield 行为学评分, 糖水消耗实验, 用酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)、促肾上腺皮质激素(ACTH)、皮质酮(CORT)含量。结果: 西药组和中药组 Operfield 水平积分、垂直积分及糖水消耗量均高于模型组($P < 0.01$); 西药组和中药组血清 CRH、CORT 含量均低于模型组($P < 0.05$), ACTH 含量有下降趋势。结论: 补肾解郁清心方能够改善围绝经期抑郁症模型大鼠行为, 调节 HPA 轴功能。

[关键词] 补肾解郁清心方; 围绝经期抑郁症; 下丘脑-垂体-肾上腺轴

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2008)05-0063-03

Effect of Bushen Jieyu Qinxin Decoction on the Behavior and Secretion of Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Axis of the Perimenopausal Depression Model in Rat

DONG Li*, JIANG Lin, MENG Wei, ZHU Nan-sun

(Affiliated Yueyang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of Bushen Jieyu Qinxin Decoction (BJQD) on the behavior and secretion of the hypothalamus-pituitary-adrenal (HPA) axis of the perimenopausal depression model in rat. **Methods:** Perimenopausal depression model was made by resecting the ovary of female SD rats combined with chronic unpredictable stress. 40 rats were evenly randomized into control group, perimenopausal depression model group, Baiyoujie group and BJQD group, with 10 rats in each group. Operfield locomotors scores and sucrose intake were employed to observe the changes of the rats' behavior. The levels of corticotrophin releasing hormone (CRH), adrenocorticotrophic hormone (ACTH) and corticosterone (CORT) in serum were determined by enzyme linked immunosorbent assay. **Results:** The operfield locomotors scores of Baiyoujie group and BJQD group were significantly higher than those in the model group ($P < 0.01$); the sucrose intake of Baiyoujie group and BJQD group were significantly higher than those in the model group ($P < 0.01$); the levels of CRH, ACTH and CORT in serum of Baiyoujie group and BJQD group were significantly lower than those of in the model group ($P < 0.05$). **Conclusion:** BJQD can effectively promote the model rats' behavior and adjust the function of HPA axis.

[收稿日期] 2007-09-20

[基金项目] 上海市科委自然科学基金课题(04501)

[通讯作者] * 董莉, Tel: (021) 65161782-3307; E-mail: dongli888@yahoo.com

[**Key words**] Bushen Jieyu Qinxin Decoction; Perimenopausal Depression; HPA axis

围绝经期抑郁症是指发生于围绝经期,以情绪低落、精力缺乏为主要症状的疾病,严重者有自杀倾向,其发病率呈逐年上升趋势。补肾解郁清心方是我院在临床长期应用且切实有效的验方。该方针对围绝经期妇女肾气渐衰、天癸将竭、阴阳失调的病理特点,以补肾为主本,调整阴阳,兼顾疏肝解郁、清心安神,使肾气充实,阴平阳秘,气机调畅,诸症自除。本实验在前期研究的基础上进一步探讨该方对围绝经期抑郁症模型大鼠行为学及下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA 轴)的影响。

1 材料

1.1 动物与分组 清洁级雌性 SD 大鼠 40 只,体重(220±20)g,中国科学院上海实验动物中心提供,合格证号 SCXK(沪)2003-0003。选用 Opern-field 行为学评分相近的大鼠 40 只,随机分为 4 组:正常对照组(A)、围绝经期抑郁症模型组(B)、西药组(C)、中药组(D),每组 10 只。

1.2 药物 补肾解郁清心方(熟地黄 15 g,淫羊藿 20 g,白芍 15 g,钩藤 15 g,龙齿 30 g,牡蛎 30 g,天麻 15 g,女贞子 20 g,旱莲草 20 g)由上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院制剂室制备,每毫升含生药 2.5 g。苯甲酸雌二醇(上海通用药业股份有限公司,批号:060302),百优解(礼来公司,批号:A229817),盐酸氯胺酮注射液(江苏恒瑞医药股份有限公司,批号:KH060801)。

1.3 主要试剂与器材 CRH、ACTH、CORT 试剂盒(Rappid Bio,美国),BIO-TEK ELX800 酶标仪(美国),Centrifuge 5804R 离心机(EPPENDORF 德国),SANYO MDF-U32V 低温冰箱。

2 方法

2.1 造模 ①摘除卵巢^[1]:除 A 组外,其余各组行卵巢摘除术,大鼠经氯胺酮(100 mg·kg⁻¹)腹腔注射麻醉后,腹位固定。于肋下 1 cm 和距脊柱外侧 2 cm 交叉处切开皮肤和背肌,分离脂肪,将卵巢下输卵管及脂肪一并结扎,切除卵巢,将子宫送回腹腔。同法摘除对侧卵巢。以阴道上皮角化试验验证模型,连续 5 d 阴道监测未见动情周期证明去势成功。

②慢性轻度不可预见应激:将 B、C、D 组大鼠,每笼 1 只饲养,共接受 21 d 各种不同的应激,包括电击足底(36 V 交流电,每隔 1 min 刺激 1 次,持续 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),夹尾(1 min),禁水(24 h),禁食(48 h)和昼夜颠倒等刺激,每天随机安排 1 种,平均每种刺激各进行(2~3)次。

2.2 给药 在第一轮刺激结束后开始给药。A 组、B 组给予生理盐水,2 mL·d⁻¹;C 组给予雌二醇(0.1 mg·kg⁻¹,im,隔日 1 次)与百优解混悬液(2.4 mg·kg⁻¹,ig,每日 1 次);D 组给予补肾解郁清心方 2 mL/次灌胃,每日 2 次(40 g·kg⁻¹,相当于临床成人剂量的 10 倍)。连续 21 d。

2.3 观察指标

2.3.1 Opern-field 行为学评分 采用立柱体敞箱,高为 40 cm,长宽各为 80 cm,周壁、底面为黑色,底面用白线划分为面积相等的 25 块。将大鼠置于敞箱底面的中心方格内,以大鼠穿越底面块数为水平活动积分,动物穿越 1 格为 1 次,如动物沿线行走,以每 10 cm 为 1 次。以直立次数为垂直活动积分,动物双足离开底面为标志直至放下双足为 1 次活动。于实验第 21 天进行测定。每只动物进行 1 次,每次时间为 3 min。

2.3.2 糖水消耗实验 实验时所有动物均单笼饲养,每只动物给予 1% 蔗糖溶液 150 mL,同时禁食 24 h,计算动物饮用 1% 蔗糖溶液的量。于实验第 21 天进行。

2.3.3 血清 CRH、ACTH、CORT 含量测定 经大鼠腹主动脉采血,静置 4 h 后,离心分离血清(1 500 r·min⁻¹,15 min),-70℃保存。采用酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定各激素含量。

2.4 统计学方法 实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示,计量资料的组间比较采用单因素方差分析,SPSS 11.0 软件分析。

3 结果

3.1 大鼠 Opern-field 行为学评分及糖水消耗量 模型组水平、垂直积分及糖水消耗量与正常组相比均显著降低($P < 0.01$);西药组、中药组水平积分、垂直积分及糖水消耗量与模型组相比均显著升高($P < 0.01$)。中药组与西药组相比差异无显著性见表 1。

3.2 大鼠血清 CRH、ACTH、CORT 含量 模型组 CRH、ACTH、CORT 含量与正常组相比均显著升高($P < 0.05$);西药组、中药组 CRH、CORT 含量与模型组

相比显著降低 ($P < 0.05$); 西药组、中药组 ACTH 含量与模型组相比有降低趋势, 但差异无显著性。中药组与西药组相比, 各激素值差异均无显著性。见表 2。

表 1 各组大鼠 Open-field 行为学评分及糖水消耗量的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	水平得分	垂直得分	糖水消耗量 (mL)
正常组	—	54.13 \pm 17.07 ²⁾	17.25 \pm 5.09 ²⁾	74.50 \pm 3.85 ²⁾
模型组	—	0.88 \pm 1.36	2.38 \pm 1.69	37.75 \pm 10.80
百忧解 + 雌二醇组	2.4 0.1	15.63 \pm 9.16 ²⁾	6.50 \pm 3.16 ²⁾	54.38 \pm 8.43 ²⁾
补肾解郁清心组	4×10^4	11.50 \pm 8.70 ²⁾	6.25 \pm 1.98 ²⁾	51.63 \pm 12.41 ¹⁾

注: 与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)

表 2 各组大鼠血清 CRH、ACTH、CORT 含量的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	CRH ($\text{ng} \cdot \text{mL}^{-1}$)	ACTH ($\text{pg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	CORT ($\text{nmol} \cdot \text{L}^{-1}$)
正常组	—	480.11 \pm 69.20 ¹⁾	424.08 \pm 27.79 ¹⁾	24.48 \pm 4.03 ¹⁾
模型组	—	570.11 \pm 54.20	498.04 \pm 80.41	30.49 \pm 5.42
百忧解+ 雌二醇组	2.4 0.1	490.69 \pm 83.76 ¹⁾	450.77 \pm 72.21	25.12 \pm 2.47 ¹⁾
补肾解郁清心组	4×10^4	464.73 \pm 79.79 ¹⁾	434.44 \pm 69.63	22.74 \pm 2.09 ¹⁾

4 讨论

近年来神经内分泌学研究提示, 抑郁症发病常伴有内分泌功能的改变, 特别是下丘脑-垂体-肾上腺轴 (HPA 轴) 功能亢进, 主要表现为: 中枢、外周及代谢产物中 CRH 水平升高; ACTH 分泌增强; 皮质醇水平增高, 昼夜分泌节律改变^[2]。本实验采用雌性大鼠卵巢摘除、孤养与慢性轻度不可预见应激^[3] 二步法造成围绝经期抑郁症模型。水平活动反映了大鼠的活动度; 垂直活动即探究行为反映大鼠对新鲜环境的好奇程度; 糖水消耗量反映大鼠对奖赏的敏感度。经过长期应激刺激后, 模型大鼠的活动度、探

究行为及糖水消耗量均显著降低, 表现出抑郁症患者所具有的精神运动迟滞、兴趣丧失、快感缺乏的特征。模型大鼠血清 CRH、ACTH、CORT 含量均显著高于正常对照组, 与文献报道的抑郁症患者 HPA 轴的功能改变相一致, 说明围绝经期抑郁症的发病机制除卵巢功能衰退、下丘脑-垂体-卵巢轴 (HPO 轴) 功能失调外^[4], 亦存在 HPA 轴的病理改变。该模型较好地模拟了围绝经期抑郁症患者的行为学和内分泌改变。补肾解郁清心方使模型大鼠水平活动、垂直活动、糖水消耗量均显著增加, 使模型大鼠的行为学异常得到明显改善; 该方下调血清 CRH、CORT 含量, ACTH 含量有下降趋势, 使 HPA 轴功能亢进得到纠正。HPA 轴与 HPO 轴可以相互影响, CRH 抑制 GnRH 的分泌, 皮质醇升高可以抑制 GnRH、LH、FSH 的分泌, 引起 HPO 轴功能失调^[5]。我们的前期实验发现该方可以降低模型大鼠血清 LH、FSH 含量, 显著改善 HPO 轴的功能紊乱状态^[6], 可能与之对 HPA 轴的调节作用有关。本实验证明, 补肾解郁清心方能够改善围绝经期抑郁症模型大鼠的行为, 调节 HPA 轴的功能亢进状态。

[参考文献]

- [1] 程化奇, 殷新龙. 大鼠更年期试验模型研究[J]. 上海实验动物学, 1993, 13(4): 192.
- [2] 李喆, 孙学礼. 下丘脑-垂体-肾上腺轴与抑郁症的相关性[J]. 中国临床康复, 2006, 10(42): 130-133.
- [3] Willner P. Animal model as stimulation of depression[J]. Trends Pharmacol Sci, 1991, 12: 131-136.
- [4] 董莉, 归绥琪, 孟炜, 等. 实验性更年期抑郁症动物模型的建立和评价[J]. 中国临床康复, 2004, 8(27): 5871-5873.
- [5] 于传鑫, 李诵紘. 实用妇科内分泌学[M]. 上海: 复旦大学出版社, 2004. 44.
- [6] 董莉, 吕嵘, 洪岩, 等. 补肾解郁清心方对更年期抑郁症模型大鼠 HPO 轴及单胺类神经递质的影响[J]. 上海中医药大学学报, 2003, 17(2): 38-41.