

葛根复方对创伤应激障碍大鼠单胺递质的影响

王金萍^{*}, 曾明, 边佳明, 邸晓辉, 梅 巍, 许景峰
(北京军区总医院, 北京 100700)

[摘要] 目的: 观察创伤应激大鼠血浆和下丘脑内单胺递质的变化及葛根复方对其的影响。方法: 采用大鼠创伤应激的动物模型, 高效液相色谱电化学法分析血浆和下丘脑内多巴胺(DA), 5-羟色胺(5-HT)、肾上腺素(AD)、去甲肾上腺素(NE)含量。结果: 创伤应激大鼠血浆和下丘脑 DA、5-HT 含量明显降低, 血浆 NE、AD 含量明显升高, 葛根复方可以升高应激大鼠下丘脑和血浆中 DA、5-HT 含量, 并能降低血浆中 NE、AD 含量, 升高下丘脑和血浆 5-HT/NE 以及血浆 5-HT/AD。结论: 葛根复方制剂可增强创伤应激状态大鼠的抗应激能力。

[关键词] 葛根复方制剂; 创伤后应激障碍; 单胺类神经递质

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)02-0048-03

The Effect of Gegen Compound on Monoamines of Posttraumatic Stress Disorder in Rats

WANG Jin-ping^{*}, ZENG Ming, BIAN Jia-ming, DI Xiao-hui, MEI Wei, XU Jing-feng
(Beijing Military Command General Hospital, Beijing 100700, China)

[收稿日期] 2006-07-31

[通讯作者] * 王金萍, Tel: (010) 66721604

[**Abstract**] **Aim:** Observing the changes of monoamines neurotransmitter in posttraumatic stress disorder of rat and the influence of Gegen compound. **Methods:** The model of posttraumatic stress disorder of rat was used. HPLC-ECD techniques were used to analyze the levels of DA, 5-HT, AD, NE. **Results:** The levels of DA, 5-HT in plasma and hypothalamus of posttraumatic stress disorder in rats decreased significantly while the levels of plasma NE, AD increased. Gegen compound can increase the levels of DA, 5-HT in plasma and hypothalamus and decrease the levels of NE, AD in plasma. **Conclusion:** Gegen compound can enhance the anti-stress ability of posttraumatic stress disorder in rats.

[**Key words**] Gegen compound; posttraumatic stress disorder; Monoamine Neurotransmitter

创伤后应激障碍(posttraumatic stress disorder, PTSD)是对创伤等严重应激因素的一种异常精神反应。随着战争、社会暴力事件、重大交通事故和自然灾害等创伤意外的不断增多, PTSD发生率也越来越高。现今 PTSD 以其发病率、患病率高, 慢性病程, 疗效差等特点严重影响创伤救治而备受关注^[1]。我们采用大鼠造成创伤后应激障碍模型, 观察应激大鼠血浆和下丘脑内单胺类神经递质的变化以及葛根复方制剂的影响。

1 材料

1.1 试验药物 葛根复方制剂由柴胡 6 g、白芍 9 g、枳壳 6 g、葛根 6 g、甘草 6 g、黄芪 6 g 组成, 购自同仁堂。加水煎煮提取 2 次, 每次 2 h, 合并水煎液, 浓缩, 过 D₁₀₁ 大孔树脂柱吸附, 水洗脱至水洗液近无色, 再用乙醇梯度洗脱, 收集 30%~50% 乙醇洗脱部分, 减压回收溶剂至干, 总黄酮类成分含量为 40%~50%, 总皂苷含量为 10.5%~13%。HPLC 测定葛根素含量为 2%~4%, 橙皮苷为 3%~5%, 甘草酸为 3.0%~3.5%。

1.2 动物 雄性 SD 大鼠, 体重 180~200 g, 购自医学科学院动物繁殖场。合格证号 scxk2000-00-0010。

1.3 试剂 去甲肾上腺素(NE)、肾上腺素(AD)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)对照品均为 Sigma 公司产品。缓冲液: 3 mmol/L 庚烷磺酸钠、100 mmol/L 醋酸钠、85 mmol/L 柠檬酸、0.2 mmol/L EDTA, 调至 pH = 4.0。

1.4 仪器 Waters 510 泵, HP1049A 电化学检测器, 745 积分仪, 超声波粉碎机。色谱柱为 IITM C₁₈, 5 μm, 4.0 mm × 150 mm。流动相为: 缓冲液: 甲醇 = 90:10(v/v)。流速: 1 mL/min。以样品峰的保留时间与对照品保留时间对照定性。以 DHBA 为内标物, 以样品峰面积与内标峰面积的比值进行定量分析。

2 方法

2.1 动物分组及处理 根据旷场实验结果, 选择得

分相近大鼠按体重随机分为 5 组: 对照组、模型组、葛根复方制剂 3 个剂量组(分别为 3.87, 11.61 和 34.83 g 生药/kg), 每组 10 只。灌胃给药, 对照组及模型组给以等量生理盐水, 各组在应激的次日给药, 连续给药 27 d。

动物模型参照文献[2]方法改进。动物遭受 28 d 的随机刺激: 3 次冰水游泳(4℃, 5 min)、2 次热应激(45℃, 5 min)、2 次禁水(48 h)、2 次禁食(48 h)、3 次夹尾(1 min)、3 次电击足底(电流强度 1 mA, 每隔 30 s 刺激 1 次, 持续 1~10 s, 共 20 次)、2 次制动(分别为 5 h、6 h)、3 次频闪照明(120 次/min)。每天给予 1 次, 禁水禁食后 24 h 停止刺激 1 次。

2.2 样品制备及测定 末次给药后将大鼠断头处死, 取血, 4℃放置 4 h, 4 000 r/min, 离心 15 min, 取上清, 加入等体积的 0.1 mol/L 高氯酸(内含 0.1% 半胱氨酸), 振荡混合 30 s, 再加一滴浓高氯酸, 冰上振荡 1.5 min, 18 000 r/min 离心 20 min, 取上清液 100~200 μL 进样分析。

断头取血的同时, 快速在冰盘上分离出下丘脑, 称取 50 mg 冷冻, 加 0.1 mol/L 高氯酸(内含 0.1% 半胱氨酸) 1 mL, 冰浴中磨成匀浆(20 μL/mg), 18 000 r/min 离心 20 min, 取上清液 25~100 μL 进样分析。

2.3 统计学处理 所有数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 采用 SPSS 统计软件进行组间 *t* 检验统计。

3 结果

3.1 葛根复方制剂对 PTSD 大鼠血浆 DA, AD, NE, 5-HT 的影响 模型组大鼠血浆 DA, 5-HT 含量明显降低, 而 NE, AD 含量则明显升高。葛根复方制剂中, 高剂量组明显升高血浆 DA 含量, 葛根复方制剂低、中、高剂量组明显升高血浆 5-HT 含量, 与模型组比较, 分别具有显著性和极显著性差异($P < 0.05$, $P < 0.01$); 葛根复方制剂高剂量组明显降低血浆 AD 含量, 中、高剂量组明显降低血浆 NE 含量, 与模型组比较均具有极显著性差异($P < 0.05$ 或 $P <$

0.01)。结果见表 1。

表 1 大鼠血浆 DA、5-HT、AD、NE 的变化($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(生药 g/kg)	DA (ng/mL)	5-HT (ng/mL)	AD (ng/mL)	NE (ng/mL)
对照组	-	262.24 ± 91.58 ²⁾	2 106.60 ± 889.55 ²⁾	204.91 ± 54.56 ²⁾	1 946.70 ± 696.99 ²⁾
模型组	-	162.14 ± 70.07	1 595.30 ± 829.66	895.29 ± 199.31	2 795.60 ± 727.53
葛根复方低剂量组	3.87	186.80 ± 88.61	1 774.20 ± 643.70 ¹⁾	754.73 ± 217.96	2 552.90 ± 615.70
葛根复方中剂量组	11.61	221.89 ± 82.94 ¹⁾	1 950.80 ± 525.94 ¹⁾	620.79 ± 218.05	2 087.80 ± 587.89 ²⁾
葛根复方高剂量组	34.83	282.06 ± 96.73 ²⁾	2 191.10 ± 716.66 ²⁾	459.18 ± 153.82 ¹⁾	1 837.10 ± 592.01 ²⁾

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

3.2 葛根复方制剂对 PTSD 大鼠下丘脑 DA、NE、5-HT 的影响 模型组大鼠下丘脑 DA 和 5-HT 含量明显降低,而 NE 含量没有明显变化。葛根复方制剂高剂量组对 PTSD 大鼠下丘脑 DA 和 5-HT 均有明显的升高作用。结果见表 2。

表 2 大鼠下丘脑 DA、NE、5-HT 的变化($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(生药 g/kg)	DA (ng/mg)	NE (ng/mg)	5-HT (ng/mg)
对照组	-	0.526 ± 0.258 ¹⁾	2.854 ± 0.598	0.563 ± 0.257 ¹⁾
模型组	-	0.297 ± 0.140	2.800 ± 0.701	0.316 ± 0.170
葛根复方低剂量组	3.87	0.333 ± 0.121	2.625 ± 0.643	0.362 ± 0.145
葛根复方中剂量组	11.61	0.401 ± 0.171	2.442 ± 0.615	0.446 ± 0.132
葛根复方高剂量组	34.83	0.444 ± 0.149 ¹⁾	2.656 ± 0.750	0.499 ± 0.124 ²⁾

3.3 各组大鼠血浆 5-HT/NE、血浆 5-HT/AD 及下丘脑 5-HT/NE 的变化 模型组大鼠血浆 5-HT/NE、血浆 5-HT/AD 及下丘脑 5-HT/NE 均明显下降。与模型组相比,葛根复方制剂中、高剂量组对 PTSD 大鼠血浆 5-HT/NE 和血浆 5-HT/AD 均有明显的升高作用,葛根复方制剂低、中、高剂量组对下丘脑 5-HT/NE 均有明显的升高作用。结果见表 3。

表 3 大鼠血浆 5-HT/NE、血浆 5-HT/AD 及下丘脑 5-HT/NE 变化($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量(生药 g/kg)	血浆 5-HT/NE	血浆 5-HT/AD	下丘脑 5-HT/NE
对照组	-	1.40 ± 0.20 ²⁾	12.03 ± 8.60 ²⁾	0.211 ± 0.122 ²⁾
模型组	-	0.59 ± 0.35	1.80 ± 0.76	0.114 ± 0.058
葛根复方低剂量组	3.87	0.72 ± 0.28	2.55 ± 1.18	0.136 ± 0.04 ¹⁾
葛根复方中剂量组	11.61	1.02 ± 0.46 ¹⁾	3.45 ± 1.32 ¹⁾	0.202 ± 0.11 ¹⁾
葛根复方高剂量组	34.83	1.28 ± 0.62 ²⁾	5.19 ± 2.25 ²⁾	0.202 ± 0.08 ²⁾

4 讨论

精神活动异常与中枢神经系统的 5-HT 和 NE 相互作用的关系越来越受到关注,特别是 5-HT 和 NE 之间的非平衡状态与精神异常的关系已初步建立^[3]。本试验发现,PTSD 大鼠血浆 5-HT/NE、5-HT/AD 以及下丘脑 5-HT/NE 均明显下降,说明 PTSD 可使大鼠神经递质间的平衡失调。

5-HT 介导了脑内精神行为抑制系统,其功能紊乱可显著增强 PTSD 患者的易激惹性、兴奋性与好斗

性,导致其环境适应能力明显下降;注射 5-HT 激动剂可促发患者惊恐发作和幻觉重现,而 5-HT 再摄取抑制剂则可有效缓解其临床表现,显示 5-HT 参与了 PTSD 致病过程^[4]。5-HT 含量减少的原因可能是在应激状态下下丘脑-垂体-肾上腺轴功能亢进,增高的糖皮质激素通过诱导肝脏色氨酸吡咯化酶,降解血浆色氨酸,终致中枢色氨酸不足和 5-HT 合成低下^[5]。在本实验中,连续 28 d 的创伤应激可使大鼠体内 5-HT 长期释放,这也可以导致 5-HT 的耗竭^[6]。由此可见,5-HT 在一定程度上可以反映应激状态下的情绪本质。

DA 系统主要参与调控精神活动。有实验发现急性游泳应激可使大鼠脑内尾核 DA 的水平升高,其原因可能是在应激状态下,机体 DA 合成亢进,从而加速合成去甲肾上腺素。但是在反复长期心理应激情况下,大量的 DA 被耗竭,最终导致其含量明显下降^[7],本实验的结果与报道一致。

[参考文献]

- [1] Vanitallie TB. Stress: a risk factor serious illness [J]. Metabolism, 2002, 51(6 suppl): 40-45.
- [2] Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ. Acute and chronic stress effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression[J]. Neurosci Biobehav Rev 5: 247-251, 1981a.
- [3] Astor-Jones G. Potent interactions between NE and 5-HT system[J]. Biol Psychiatry, 1994, 35: 621s.
- [4] Meltzer-Brody S, Connor KM, Churchill E, et al. Symptom-specific effects of fluoxetine in post-traumatic stress disorder [J]. Int Clin Psychopharmacol, 2000, 15: 227-231.
- [5] Azmitia EC, Whitaker-Azmitia PM. Awakening the sleeping giant: anatomy and plasticity of the brain serotonergic system [J]. J Clin Psychiatry, 1991, 12: 52Suppl: 4-16.
- [6] Richardson-Mortimer KD, Varrault-Kar-LD, Brownfield MS. Stress-induced renin and corticosterone secretion is mediated by catecholaminergic nerve terminals in the hypothalamic paraventricular nucleus [J]. Neuroendocrinology, 1990, 51(3): 320-327.
- [7] Greschler PJ, Sved AF, Zigmond MJ, et al. Finlay JM Stress-induced sensitization of dopamine and norepinephrine efflux in medial prefrontal cortex of the rat [J]. J Neurochem, 1994, 63(2): 575-583.