

葛根复方对创伤应激大鼠神经内分泌的调整作用

王金萍*, 曾明, 边佳明, 邸晓辉, 梅巍, 许景峰
(北京军区总医院药理科, 北京 100700)

[摘要] 目的: 观察创伤应激(PTSD)对大鼠神经内分泌和行为学的影响以及葛根复方制剂的调治作用。方法: 建立大鼠创伤应激模型, 采用放射免疫方法(RIA)检测大鼠血浆皮质醇(CORT)和促肾上腺皮质激素(ACTH)含量; 以旷场实验和鼠尾悬挂实验研究创伤应激对大鼠行为学的影响。结果: 创伤应激大鼠血浆 CORT 和 ACTH 含量分别为(16.76 ± 2.33) ng/mL 和(101.21 ± 22.07) pg/mL, 水平运动次数和垂直运动次数分别为(26.2 ± 8.4)次和(8.5 ± 3.5)次, 悬尾不动时间(227.00 ± 50.13) s; 葛根复方高、中、低剂量组血浆 CORT 含量为(8.69 ± 2.47), (10.32 ± 2.12)和(12.03 ± 3.06) ng/mL, ACTH 含量为(66.63 ± 15.34), (77.49 ± 14.63)和(87.93 ± 12.16) pg/mL, 水平运动次数分别为(60.3 ± 13.6), (47.0 ± 11.6)和(34.3 ± 8.2)次, 垂直运动次数分别为(24.0 ± 5.5), (20.9 ± 5.8)和(11.5 ± 4.4)次, 悬尾不动时间(164.60 ± 46.50), (178.30 ± 38.05)和(195.10 ± 50.61) s。结论: 创伤应激可使大鼠神经内分泌及行为发生异常改变, 葛根复方制剂对此具有一定的调治作用。

[关键词] 创伤应激; 葛根复方制剂; 下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴; 皮质醇; 促肾上腺皮质激素

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2007)03-0050-03

The Modulation of Gegen Compound on Neuroendocrine 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)

[Abstract] **Objective:** To observe the influence of Gegen compound on neuroendocrine and ethology of posttraumatic stress disorder in rats. **Methods:** The model of rat posttraumatic stress disorder was used. RIA was used to determine the levels of corticosterone(CORT) and adrenocorticotrophic hormone(ACTH). The influence of rat posttraumatic stress disorder on ethology were studied with Open-field test and tail hang test. **Results:** The CORT and ACTH contents of rats with PTSD are respectively (16.76 ± 2.33) ng/mL and (101.21 ± 22.07) pg/mL. The values of crossing and rearing

are (26.2 ± 8.4) and (8.5 ± 3.5), motionless time is (227.00 ± 50.13) s. The CORT contents of Gegen compound high, medium and low dosage are (8.69 ± 2.47), (10.32 ± 2.12) and (12.03 ± 3.06) ng/mL. The ACTH contents are (66.63 ± 15.34), (77.49 ± 14.63) and (87.93 ± 12.16) pg/mL. The values of crossing are (60.3 ± 13.6), (47.0 ± 11.6) and (34.3 ± 8.2). The values of rearing are (24.0 ± 5.5), (20.9 ± 5.8) and (11.5 ± 4.4), motionless time are (164.60 ± 46.50), (178.30 ± 38.05) and (195.10 ± 50.61) s. **Conclusions:** Posttraumatic stress can change neuroendocrine and ethology in rats. Gegen compound can modulate these changes.

[**Key words**] posttraumatic stress disorder; Gegen compound; HPA; CORT; ACTH

创伤后应激障碍 (posttraumatic stress disorder, PTSD) 是应激相关疾病中最为典型的一种^[1], 它以 3 组症状为特征, 即对创伤的反复性体验、对创伤性提示物的持久性回避和长期的觉醒度增高。创伤应激可导致生理和心理上的异常, 严重影响着人类的身心健康。本研究在以往有关工作的基础上, 建立创伤应激反应模型, 观察应激大鼠神经内分泌和一般行为学的改变以及葛根复方制剂的调治作用。

1 材料

1.1 实验动物和分组 雄性 SD 大鼠, 体重 180~200 g, 购自中国医学科学院动物繁殖场, 合格证号 scxk2000-00-0010。正式实验前适应性饲养 1 周。根据旷场实验结果, 选择得分相近大鼠试验。按体重随机分为 5 组: 对照组、模型组、葛根复方小、中、大剂量组, 每组 10 只。

1.2 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, 并经作者鉴定。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%。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 灌胃给药, 对照组及模型组以等量生理盐水, 各组在应激的次日给药, 连续给药 27 d。

1.3 试剂 皮质酮试剂盒购自北京市福瑞生物工程公司, 批号 051206; 促肾上腺皮质激素试剂盒为中国原子能研究院同位素研究所产品, 批号 051124。

1.4 仪器 SN-695B 型智能放免 γ 测量仪: 上海核所日环光电仪器有限公司生产。

2 方法

2.1 创伤应激反应模型的建立 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 °C, 5 min) 2 次热应激(45 °C, 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 检测指标和方法

2.2.1 血浆皮质酮(CORT)和促肾上腺皮质激素(ACTH)含量测定 27 d 给药结束后大鼠禁食 12 h, 次日腹主动脉取血, 试管中要加试剂盒配备的抗凝剂和保护剂, 室温静置 30 min 后, 3 000 rpm 离心 15 min, 取上清, 放射免疫法检测大鼠血浆 CORT 和 ACTH, 具体方法按试剂盒说明书要求进行。

2.2.2 旷场实验(Open-field test)^[3] 木制箱 100 cm × 100 cm × 50 cm, 周壁、底面用笔划分成面积相等的 25 块方格, 沿墙格称外周格, 其余为中央格。将动物放在正中央格, 观察 3 min 内活动情况。以动物 3 爪以上跨入邻格的次数为水平活动(crossing)得分, 以大鼠两前肢离地 1 cm 以上的次数为垂直活动(rearing)得分。

2.2.3 鼠尾悬挂实验 将大鼠尾端 1 cm 的部位贴在一水平木板上(木板距离地面约 1 cm, 使动物呈现倒挂状。悬挂两侧用木板隔开动物视线, 动物为克服不正常的体位而挣扎活动, 但活动一定时间后, 出现间断性“不动”显示“失望”状态。计算 6 min 内大鼠不动的时间(motionless time, MT), 并观察大鼠挣扎幅度。

2.4 统计学处理 所有数据以($\bar{x} \pm s$)表示, 采用组间 *t* 检验进行统计学处理。

3 结果

3.1 各组大鼠血浆 CORT 和 ACTH 含量的变化 结果见表 1。模型组血浆 CORT、ACTH 含量明显高于对照组(*P* < 0.01)。葛根复方制剂高、中、低剂量组

血浆 CORT 含量下降,与模型组相比,有显著性差异 ($P < 0.01$);与对照组相比,无显著性差异。葛根复方制剂高、中、低剂量组血浆 ACTH 含量下降,高、中剂量组与模型组相比有显著性差异。

表 1 大鼠血浆 CORT 和 ACTH 含量的变化($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (生药 g/kg)	CORT (ng/mL)	ACTH (pg/mL)
对照组	-	10.04 ± 1.54 ²⁾	58.81 ± 8.96 ²⁾
模型组	-	16.76 ± 2.33	101.21 ± 22.07
葛根复方低剂量组	3.87	12.03 ± 3.06 ²⁾	87.93 ± 12.16
葛根复方中剂量组	11.61	10.32 ± 2.12 ²⁾	77.49 ± 14.63 ¹⁾
葛根复方高剂量组	34.83	8.69 ± 2.47 ²⁾	66.63 ± 15.34 ²⁾

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

3.2 各组大鼠旷场实验行为的测定 结果见表 2。模型组与对照组比较,水平运动次数和垂直运动次数均明显减少($P < 0.01$)。葛根复方制剂高、中剂量组旷场活动明显增强,与模型组相比,具显著性差异($P < 0.01$)。与正常对照组无差异。

3.3 各组大鼠悬尾不动时间测定 结果见表 3。模型组悬尾后的不动时间明显长于对照组,葛根复方制剂高剂量组不动时间缩短,与模型组相比,具有显著性差异($P < 0.01$)。

表 2 大鼠旷场行为测定结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (生药 g/kg)	水平活动 (次数)	垂直活动 (次数)
对照组	-	70.4 ± 11.6 ²⁾	30.3 ± 9.6 ²⁾
模型组	-	26.2 ± 8.4	8.5 ± 3.5
葛根复方低剂量组	3.87	34.3 ± 8.2	11.5 ± 4.4
葛根复方中剂量组	11.61	47.0 ± 11.6 ²⁾	20.9 ± 5.8 ²⁾
葛根复方高剂量组	34.83	60.3 ± 13.6 ²⁾	24.0 ± 5.5 ²⁾

表 3 大鼠悬尾 6 min 试验结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量(生药 g/kg)	不动时间(s)
对照组	-	155.00 ± 3.9.72 ²⁾
模型组	-	227.00 ± 50.13
葛根复方低剂量组	3.87	195.10 ± 50.61
葛根复方中剂量组	11.61	178.30 ± 38.05
葛根复方高剂量组	34.83	164.60 ± 46.50 ²⁾

4 讨论

心理应激发生时,脑内内分泌机能改变的最主要途径是下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴(HPA)被激活,HPA 的紊乱是 PTSD 发生的主要原因之一。本实验结果表明,葛根复方制剂可降低创伤应激大鼠血浆 CORT 及 ACTH 含量,从而抑制创伤应激大鼠 HPA 的兴奋性。

旷场行为实验和鼠尾悬挂实验是用于反映动物探究行为及情绪反应的实验方法。旷场行为实验中,水平活动反映了动物的活动度,垂直活动反映了动物对新鲜环境的好奇程度。本实验观察到,与正常对照组相比,创伤应激大鼠的水平活动次数、垂直活动次数明显减少,悬尾不动时间明显延长,提示创伤应激大鼠出现抑郁样行为。而葛根复方制剂可以提高创伤应激大鼠旷场行为实验得分,缩短其悬尾不动时间,从而表明葛根复方制剂可以有效地改善创伤应激大鼠的抑郁表现。

中医脏象及七情学说认为,肝主疏泄,调畅情志。黄柄山^[3]在总结前人及自己的研究成果后提出,应激反应与中医初期肝郁气滞与肝胆不宁证候及病机相符。对于情志失调(特别是慢性长期的情志活动异常),中医多从肝入手进行治疗。中医的理论与临床实践为疏肝解郁法治疗应激损伤提供了基础和依据。创伤应激会在人体内产生大量的自由基,进而对人体造成进一步的损害。本方在调理气机的基础方四逆散的基础上增加葛根、黄芪两味药,葛根具抗氧化、清自由基的作用,黄芪可提高免疫力。研究表明,本方药对创伤应激损伤具有较好的调治作用。

[参考文献]

- [1] Vanitallie TB. Stress: a risk factor serious illness [J]. *Metabolism*, 2002, 51(6suppl): 40-45.
- [2] Kalynchuk L E, Pinel J P, Treit D, *et al.* Changes in emotional behavior produced by long-term amygdala kindling in rats [J]. *Biol Psychiatry*, 1997, 41: 438.
- [3] 黄柄山. 中医征候与应激反应的关系 [J]. *黑龙江中医药*, 2003, 17(3): 5.