

# 柴胡疏肝散对心理应激大鼠行为学的影响

吴先哲\*

(深圳市福田区人民医院, 广东 深圳 518001)

[摘要] 目的: 以柴胡疏肝散为载体研究疏肝理气法对心理应激大鼠行为学的影响。方法: 刺激经 6-羟多巴胺处理的大鼠攻击受试大鼠作为心理应激源, 采用高架十字迷宫、开放场地试验检测受试大鼠行为学的改变。结果: 强烈的心理应激可导致大鼠行为发生显著改变; 柴胡疏肝散能减轻心理应激对大鼠情绪和行为的影响。结论: 以柴胡疏肝散为代表的疏肝理气法能调适大鼠抗心理应激能力。

[关键词] 心理应激; 行为学; 柴胡疏肝散

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2006)03-0038-03

## Effect of Chaihushugansan on the Praxiological Change of the Psychological Stress Rats

WU Xian-zhe

(Futian Hospital in Shenzhen, shenzhen, 518001, China)

[Abstract] **Objective:** Using Chaihushugansan as a media, to study the effect of method of soothing the liver and regulating qi(MSLRQ) on the praxiological change of the psychological stress rats. **Methods:** To stimulate the 6-OHDA-treated rats to attack the experimental rats as social psychological stressor. And the praxiological change of the experimental rats was evaluated by open-field test(OFT) and elevated plus maze(EPM). **Results:** Strong psychological stress could cause significant praxiological change in rats. Chaihushugansan could reduce the effect of psychological stress on the emotion and behavior of rats. **Conclusion:** Chaihushugansan can adjust the ability of rats to against the psychological stress.

[Key words] Psychological stress; Praxiology; Chaihushugansan

强烈的心理应激可能引起情绪和行为的改变, 甚至导致机体某些部分产生生理或病理的变化。心理应激与肝失疏泄存在辩证关系<sup>[1]</sup>, 肝是人体的应激反应调节中枢。本文以柴胡疏肝散为载体研究疏肝理气法对心理应激大鼠行为学的影响, 证实疏肝理气法能调节肝脏气机, 使肝脏能正常地发挥其疏泄作用, 增强其调适机体抗心理应激的能力。

### 1 材料与方

1.1 根据 Mine K 方法<sup>[2,3]</sup> 制备经 6-羟多巴胺处理(6-OHDA-treated)的大鼠 取健康雄性 SD 大鼠 30 只

(180~ 200g, 由华中科技大学同济医学院实验动物学部提供), 予 30mg/kg 的戊巴比妥钠腹腔内注射麻醉, 大鼠固定于脑立体定位仪(江湾 II 型, 上海江湾医疗器械厂)上。头顶备皮, 在头顶正中作一长 1cm 矢状切口, 分离骨膜。在前囟右 2mm、后 1mm 位置, 用  $\phi 0.5$ mm 牙科钻打孔, 取 20 $\mu$ L 浓度为 12.5mg/mL 的 6-羟多巴胺(Sigma 公司, USA)生理盐水溶液(含 0.1%的 Vit C)注入侧脑室, 注射深度 4mm, 缝合伤口。48h 后同样方法注射对侧侧脑室。醒后分别置 18 $\times$ 18 $\times$ 17cm<sup>3</sup> 的鼠笼中孤独饲养 4w 后, 参照 Nurimoto 方法<sup>[4]</sup> 评价其行为: ①轻轻拍其背部时惊跳; ②钳夹尾巴时攻击或躲避; ③被握持时吱吱尖叫。对这三种刺激没有反应得 0 分, 轻微反应得 1 分, 中等程度反应得 2 分, 明显的反应得 3 分, 剧烈

[收稿日期] 2005-03-09

[通讯作者] 吴先哲, Tel: 0755-26843825; E-mail: wuxianzhe@

21cn.com

的反应得 4 分,记录各大鼠的总分。得分在 10 分以下的大鼠弃去,得分在 10 分以上者共计 26 只,继续孤独饲养 1w 后即可用于下一步实验。此后 5w 内可以用于实验造模。

**1.2 材料** 取健康成年 SD 大鼠 50 只,体重 180~200g,雌雄各半,随机分为正常组、模型组、多虑平对照组、柴胡疏肝散小剂量组和柴胡疏肝散大剂量组,每组 10 只。柴胡疏肝散(柴胡 6g,陈皮 6g,川芎 4.5g,香附 4.5g,枳壳 4.5g,赤芍 4.5g,甘草 1.5g,由湖北省中药材公司饮片厂提供)经冷水浸泡药材 2h,常规两煎,头煎 1.5h,二煎 1h,两次水煎液混合并过滤,经水浴蒸发浓缩成含生药 1.12g/mL 的浓缩药液冷藏备用。按体表面积折算,大鼠每天的柴胡疏肝散等效剂量为 2.8g/kg(体重),小剂量组大鼠投以等效剂量即  $2.8\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,大剂量组予以 4 倍等效剂量即  $11.2\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 。多虑平按成人日剂量 100mg 折算,等效剂量为  $9\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ ,配成浓度为 0.9mg/mL 的悬浊液。实验采用等体积不同浓度药液灌胃的方法,取部分制备的中药液用 3 倍蒸馏水稀释后用于小剂量组灌胃,则各给药组灌胃体积均为 10mL/kg,模型组予 10mL/kg 蒸馏水灌胃,正常组不作任何处理。在实验前 4d 开始给药,每天 1 次,末次给药后禁食不禁水。

**1.3 造模方法** 末次给药 12h 后分别将各给药组大鼠放入饲养经 6-羟多巴胺处理的大鼠的鼠笼中,用胶布将止血钳尖包裹,用 1~2kg 力度钳夹经 6-羟多巴胺处理的大鼠尾部外 1/3 端,刺激其攻击受试大鼠。5min 后放开止血钳,间歇 5min 后继续激起攻击行为,交替进行,持续 90min。受试大鼠 90min 内出现直立防御姿态和蛰伏、仰卧姿势的次数不足 12 次者弃去。将体表伤口共计多于 5 处或总长度大于 0.5cm 的大鼠弃去。正常组大鼠不做任何处理。

**1.4** 将保留的受试大鼠和正常组大鼠分别进行高架十字迷宫实验(Elevated plus maze, EPM)<sup>[5,6]</sup>和开放场地实验(Open-field test, OFT)<sup>[5,7]</sup>。EPM 包括两条相对的开放臂(50cm×10cm)和两条闭合臂(50cm×10cm×45cm),由中央区(10cm×10cm)联结,闭合臂顶部开放,闭合臂内墙及悬臂全部油漆成黑色。将在开阔的场地中适应 5min 后的大鼠面对闭合臂放置在 EPM 的中央区,同时开始记录大鼠 5min 内在开放臂停留的时间(以双前肢进入为准),计算开放臂停留时间占总时间的百分比。测试时室内为暗光,

单盲测试。测试时实验人员离 EPM 至少 1m。每测试完一只大鼠,用蘸水的毛巾仔细擦拭 EPM,清除大鼠排泄物,以免影响后面的检测。EPM 测试完毕分别将受试大鼠置于 60cm×60cm×35cm 木制暗箱中进行暗适应 5min,然后进行 OFT 测试。开放场地为一特制的圆木桶,其底部直径 82cm,边栏高 30cm,桶内全部油漆成黑色。底面用白线划分为三个同心圆,直径分别为 20、50、82cm,中环再平均分为 6 部分,外环分为 12 部分。将暗适应后的大鼠放在 OFA 中心区域,同时开始记录 5min 内大鼠穿行格子数(以三足踏入同一格为准),以及大鼠竖起修饰(双前肢离地并梳理头面部毛发)次数。测试时 75W 白炽灯置于 OFA 上 52cm 处,单盲测试。测试人员离设备至少 1m。同前方法清理实验设备。

**1.5** 应避免经 6-羟多巴胺处理的大鼠在同一天连续用于实验,且每只经 6-羟多巴胺处理的大鼠共计只能用于实验三次。

**1.6 数据处理** 数据采用“均数±标准差”( $\bar{x}\pm s$ )表示,统计方法为方差分析,用计算机统计软件 SPSS10.0 进行统计分析。

## 2 结果

**2.1** 各组大鼠在 EPM 开放臂停留时间的比较 心理应激后,各实验组大鼠在 EPM 开放臂的停留时间较正常组显著缩短。各给药组均与模型组有显著性差异,而柴胡疏肝散大剂量组与多虑平组也有显著性差异。见表 1。

表 1 各组大鼠在 EPM 开放臂停留时间的比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	剂量	n	开放臂停留时间 (s)	占总时间 百分比(%)
正常对照组	—	10	90.40±23.27	30.13±7.76
模型对照组	10mL/kg/d	9	11.30±7.70	3.77±2.57 <sup>1)</sup>
多虑平对照组	9mg/kg/d	10	39.63±13.38	13.21±4.46 <sup>1,2)</sup>
柴胡疏肝散小剂量组	2.8g/kg/d	10	31.11±16.86	10.37±5.62 <sup>1,3)</sup>
柴胡疏肝散大剂量组	11.2g/kg/d	9	59.90±18.00	19.97±6.00 <sup>1,2,4)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup>P<0.01;与模型组比较<sup>2)</sup>P<0.01,<sup>3)</sup>P<0.05;与多虑平比较<sup>4)</sup>P<0.05。

**2.2** 各组大鼠 OFT 走格数和竖起修饰次数比较:心理应激后,各实验组大鼠在开放场地中走格数较正常组显著减少,而竖起修饰次数则显著增加。各给药组大鼠竖起修饰次数均显著少于模型组,柴胡疏肝散大剂量组和多虑平组走格数与模型组有显著性差异。见表 2。

表 2 各组大鼠 OFT 走格数和竖起修饰次数比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量	n	走格数	竖起修饰次数
正常对照组	—	10	47.30 ± 17.26	1.20 ± 1.23
模型对照组	10ml/kg/d	9	11.70 ± 3.59 <sup>1)</sup>	13.20 ± 3.08 <sup>1)</sup>
多虑平对照组	9mg/kg/d	10	25.75 ± 9.81 <sup>1,3)</sup>	5.25 ± 3.99 <sup>2,3)</sup>
柴胡疏肝散小剂量组	2.8g/kg/d	10	17.11 ± 4.96 <sup>1)</sup>	8.50 ± 3.60 <sup>1,3)</sup>
柴胡疏肝散大剂量组	11.2g/kg/d	9	27.60 ± 11.88 <sup>1,3)</sup>	5.70 ± 3.74 <sup>1,3)</sup>

注:与正常组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ;与模型组比较<sup>3)</sup>  $P < 0.01$ 。

### 3 讨论

本模型较好地引起大鼠产生应激的诸因素中的心理因素和躯体因素分离,是比较理想的心理应激动物模型。雄性大鼠长期孤独饲养后,具有很强的攻击性,会本能地对入侵者发起进攻以保护自己的“领地”,尤其在同时受到疼痛刺激时。而受试大鼠的体型处于劣势,属于“入侵者”,是受攻击的对象,在实验中对来自新环境的生存压力产生极度的恐惧和严重的焦虑。受试大鼠出现站立防御姿态或蛰伏、仰卧等屈服姿态的次数若不足 12 次,说明心理应激强度不足以使该对象感受“社会失败”,进而不能确定其后所产生的一切生理病理反应均来源于心理性应激。同时,如果受试大鼠在打斗中所受的创伤过多过重,这种躯体性强刺激也可能参与激发应激反应,因此在实验中将其弃去,从而突现了实验中应激源的社会心理因素。

中医学理论认为肝主谋虑,这就决定了肝在提高机体抗应激能力上起着重要的作用。尽管情志活动统属于心,然心主神志为高层次的调控,肝主疏泄为低层次的调节,没有肝的调节,心主神志的功能就不可能实现,肝气正常流通,心气才能和平<sup>[8]</sup>。肝的疏泄功能可以帮助机体宣泄伴随各种刺激产生的不良或过激情绪,维持正常的气血运行,情志畅达并逐渐遗忘不良的情感记忆,适应各种应激源。如突然受到强烈的精神刺激,或者长期反复受到精神刺激,超越了肝的调节限度,引起急剧的情绪变化,或者因过分压抑自己的情绪,常常喜怒不形于色,致使情绪得不到恰当的宣泄,肝失疏泄,则情志过极,气机失常,脏腑阴阳气血失调。

动物的情绪改变可以通过观察大鼠的行为来间接感知,OFT 和 EPM 是两个最常用于测定大鼠情绪、心理状态的行为学实验方法,能以量化的指标客观反映大鼠的焦虑程度以及对外界、未知的探究欲望,从而提示受试大鼠的情绪状态。

柴胡疏肝散是疏肝理气法的代表方剂,能调节

肝脏气机,使肝脏能正常地发挥其疏泄作用。本实验证实:恶劣的生存环境可使大鼠处于心理应激状态,并表现出情绪抑郁状态,伴有不安和焦虑,对外界反应迟钝,对新异和未知的探究欲望减弱。疏肝理气法能安定大鼠的情绪,减轻不安和焦虑,以及对开放性新环境的恐惧,增强大鼠对新异环境的适应能力。同时也证实心理应激反应以及对机体产生的影响与肝的疏泄功能存在关联。已有一些学者认识到肝失疏泄的病理实质与中枢神经系统的变化相关<sup>[9-11]</sup>,乔明琦<sup>[12]</sup>也根据研究结果提出肝主疏泄的功能与调节单胺类递质有关的假说。结合本实验结果可以初步推断疏肝理气法可能通过影响中枢神经系统的生理活动,减轻心理应激对大鼠情绪的影响。

### [参考文献]

[1] 吴先哲.论心理应激与肝失疏泄的辨证关系[J].时珍国医国药杂志,2004,15(7):445-447.

[2] Mine K, Nakagawa T, Fujiwara M, et al. A new experimental model of stress ulcers employing aggressive behavior in 6-OHDA-treated rats[J]. *Physiol Behav*, 1981, 27(4): 715-721.

[3] Mine K, Noda T, Fujiwara M, et al. Autonomic drug effects and gastric secretion in a new experimental model of stress ulcers in rats[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1983, 19(2): 359-364.

[4] Seiichi Nurimoto, Nobuya Ogawa, Showa Ueki. Hyperemotionality induced by lesions in the olfactory system of the rat[J]. *Japan J Pharmacol*, 1974, 24: 175-184.

[5] Amanda M. T. Pare, William P. Pare, Joseph Kluczynski. Negative affect and voluntary alcohol consumption in Wistar-Kyoto (WKY) and Sprague-Dawley rats [J]. *Physiology Behavior*, 1999, 67(2): 219-225.

[6] H. G. 沃格尔, W. H. 沃格尔. 药理学实验指南——新药发现和药理学评价[M]. 北京: 科学出版社, 2001. 309-310.

[7] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982. 465.

[8] 刘涛. 实用心身医学[M]. 北京: 农村读物出版社, 1989. 395.

[9] 赵益业. 肝郁证的免疫学探讨[J]. 山东中医药大学学报, 1997, 21(1): 28-32.

[10] 顾永华. 肝郁证实质及动物模型研究进展[J]. 中西医结合杂志, 1989, 9(9): 575-576.

[11] 张震. 从“肝病”患者之植物神经功能失调看“疏泄”的实质[J]. 云南中医杂志, 1982, 3(1): 1.

[12] 乔明琦, 张惠云, 陈雨振, 等. 肝郁证动物模型研究的理论思考[J]. 中国医药学报, 1997. 12(5): 42-44.