

酸枣仁汤对高架十字迷宫模型 大鼠单胺类递质的影响

王欣, 谢鸣

(北京中医药大学, 北京 100029)

摘要: 采用国际通用的高架十字迷宫焦虑动物模型(EPM), 用高效液相法分别观察了地西洋(DZP)、酸枣仁汤(SZRT)对EPM大鼠海马、脾、胸腺单胺类递质及其代谢产物含量的影响。实验结果表明, 降低海马中去甲肾上腺素(NE)的释放, 降低5-羟色胺(5-HT)功能、抑制海马中5-HT的合成可能是SZRT抗焦虑作用的重要环节。

关键词: 酸枣仁汤; 高架十字迷宫模型; 单胺神经递质; 焦虑

中图分类号: R285.5 **文献标识码:** B **文章编号:** 1005-9903(2005)06-0047-03

收稿日期: 2004-06-15

通讯作者: 王欣, Tel: (0531) 2613028, E-mail: wangxin0422@

hotmail.com

酸枣仁汤(SZRT)是临床治疗肝血不足、虚热内扰之“虚劳虚烦不得眠”的著名古方^[1],有关本方药理实验方面的研究目前多局限于镇静催眠作用的初步观察^[2]。针对本方临床可用于治疗焦虑症的经验事实^[3],本文采用国际上通用的焦虑动物模型——高架十字迷宫模型(The elevated plus-maze test, EPM),观察了酸枣仁汤对 EPM 大鼠中枢及免疫器官单胺类递质的影响。

1 材料

1.1 动物 健康雄性 Wistar 大鼠 30n, 级别 SPF/VAF, 体重(180 ± 10) g, 许可证号: SCXK(京) 2002-0003, 北京维通利华实验动物中心提供。所有动物提前一周购入, 本实验室常规饲养。

1.2 药物

1.2.1 酸枣仁汤(SZRT) 由酸枣仁 18g、知母 10g、茯苓 10g、川芎 5g、甘草 3g 组成^[1], 全部药材购自北京同仁堂有限公司。常规方法煎煮后经水提制成 150% 浓度, 分装灭菌后 4℃ 保存备用。

1.2.2 地西洋(DZP) 京卫药准字(1996)第 154011 号, 北京益民制药厂出品。地西洋 36 片, 2.5mg/片研钵粉碎后以双蒸水溶解, 加入 2% 羧甲基纤维素钠 1~2 滴充分混匀, 配成 100mg/mL 浓度。4℃ 保存, 使用前混摇均匀。

1.3 行为学测试仪器 大鼠高架十字迷宫(EPM): 采用国际通用方法制作^[4,5]。

2 方法

2.1 动物处置及分组 大鼠每笼 5 只, 不限食水。光照节律 12L: 12D(6: 00~ 18: 00), 室温(18 ± 2)℃, 保持安静。将大鼠随机分为模型、DZP、SZRT 共 3 组, 每组 10 只。其中中药组按 7.5·g·kg⁻¹·d⁻¹ 给予 SZRT 灌胃, DZP 组给予 1mg·kg⁻¹·d⁻¹ 灌胃, 模型组灌服等容积的生理盐水。各组连续给药 10d, 于第 10d SZRT 末次给药 2h、DZP 或生理盐水末次灌胃 0.5h 后 8: 00a. m. ~ 14: 00p. m. 做行为学测试。

2.2 取材及测定 大鼠 EPM 行为学测试结束后, 立即断头处死, 迅速在冰盘上剪开颅盖和脑膜, 依次分离左右双侧海马; 打开胸腔, 取胸腺、脾, 迅速置于液氮冷冻保存, 高效液相法测单胺类递质^[6] 测定条件。

2.3 数据的统计处理 各组数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析(one-way ANOVA) 进行检验后, 多组间比较采用 Student Newman Keuls Test 检验, 全部数据用 SPSS 11.0 for windows 统计软件处理。

3 结果

3.1 SZRT 对 EPM 大鼠海马单胺类递质及其代谢产物的影响 结果见表 1 和表 2。从表 1 可以看出, 与模型组相比, DZP、SZRT 组大鼠海马 NE 含量均呈不同程度降低, DZP 组降低更为明显($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); DZP 组海马 5-HT 的含量显著降低($P < 0.05$), SZRT 组也有降低, 但无显著差异($P > 0.05$); 各组间海马 5-HT 代谢产物 5-HIAA 含量没有显著差异($P > 0.05$)。

从表 2 可以看出, 与模型组相比, DZP、SZRT 组大鼠海马 DA 及其代谢产物高香草酸(HVA)、二羟苯乙酸(DOPAC) 含量变化差异不显著($P > 0.05$)。

表 1 酸枣仁汤对 EPM 大鼠海马 NE、5-HT 和 5-HIAA 含量的影响($\bar{x} \pm s$, ng/g, n = 10)

组别	剂量 (g/kg)	NE	5-HT	5-HIAA
模型组	-	146.67 ± 58.39	70.05 ± 31.96	491.20 ± 167.16
DZP 组	0.001	76.56 ± 31.05 ²⁾	46.22 ± 16.50 ¹⁾	407.40 ± 199.61
SZRT 组	7.5	101.12 ± 34.31 ¹⁾	51.32 ± 20.70	367.81 ± 168.87

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

表 2 酸枣仁汤对 EPM 大鼠海马 DA、HVA 和 DOPAC 含量的影响($\bar{x} \pm s$, ng/g, n = 10)

组别	剂量 (g/kg)	DA	HVA	DOPAC
模型组	-	21.37 ± 15.11	24.87 ± 9.34	32.81 ± 16.01
DZP 组	0.001	18.36 ± 5.15	31.15 ± 14.70	21.18 ± 7.79
SZRT 组	7.5	14.50 ± 3.80	34.34 ± 8.89	21.89 ± 8.26

3.2 SZRT 对 EPM 大鼠胸腺单胺类递质及其代谢产物的影响 结果见表 3。从表 3 可以看出, 与模型组相比, DZP 和 SZRT 组大鼠胸腺 5-HT 含量均呈不同程度降低, 但无显著性差异($P > 0.05$); SZRT 组胸腺中 5-HT 代谢产物 5-HIAA 含量明显升高($P < 0.05$), DZP 组升高不明显($P > 0.05$); 各组间胸腺中 DA 代谢产物 HVA 的含量没有显著差异($P > 0.05$)。

表 3 酸枣仁汤对 EPM 大鼠胸腺 5-HT、5-HIAA 和 HVA 含量的影响($\bar{x} \pm s$, ng/g, n = 10)

组别	剂量 (g/kg)	5-HT	5-HIAA	HVA
模型组	-	1195.40 ± 217.79	113.64 ± 18.58	541.78 ± 186.46
DZP 组	0.001	1189.51 ± 513.87	115.03 ± 30.42	623.06 ± 234.56
SZRT 组	7.5	914.07 ± 310.42	152.80 ± 26.44 ¹⁾	489.95 ± 178.89

表 4 酸枣仁汤对 EPM 大鼠脾 5-HT、HVA 和 DOPAC 含量的影响($\bar{x} \pm s$, ng/g, n=10)

组别	剂量 (g/kg)	5-HT	HVA	DOPAC
模型组	-	4208.60 ± 1094.35	1399.89 ± 503.14	168.97 ± 45.34
DZP 组	0.001	6073.09 ± 1155.31 ¹⁾	1095.60 ± 395.96	211.21 ± 100.02
SZRT 组	7.5	5165.94 ± 1527.13	1094.23 ± 217.72	156.92 ± 64.31

3.3 SZRT 对 EPM 大鼠脾单胺类递质及其代谢产物的影响 结果见表 4。从表 4 可以看出,与模型组比较,DZP 组大鼠脾 5-HT 的含量明显增多($P < 0.05$),SZRT 组虽有增多,但无显著性差异($P > 0.05$);各组间脾中 DA 代谢产物 HVA、DOPAC 的含量没有显著性差异($P > 0.05$)。

4 讨论

目前研究发现焦虑症的发生与包括去甲肾上腺素(NE)、5-羟色胺(5-HT)、多巴胺(DA)及其各自主要代谢产物 3-甲氧基-4-羟苯乙醇(MHPG)、5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)、二羟苯乙酸(dihydroxyphenylacetic acid, DOPCA)和高香草酸(HVA)在内的单胺类递质关系最为密切。

大脑去甲肾上腺素能神经系统与焦虑应激行为密切相关。50%的去肾上腺素能神经元分布在蓝斑核(LC),其纤维投射到大脑皮质和多个皮质下脑区(包括海马、杏仁体、下丘脑等)。应激因子(stressors)往往增加 LC 的冲动发放,使受到去甲肾上腺素能神经支配的脑区 NE 释放的增加和更新加快,动物表现出恐惧行为^[7]。另有研究表明,经典抗焦虑药物阿普唑仑和 DZP 均可降低海马 NE 的释放,分析可能是 DZP 通过 BZD-GABA_A-Cl⁻ 复合体,增强 GABA 能神经传导而调节脑干 LC 神经冲动发放的结果^[8]。我们在前期研究中曾发现 1mg/kg DZP 肌肉注射、7.5g/kg、15g/kg SZRT 均能降低 EPM 大鼠海马 NE 含量,本实验再次观察到灌服 1mg/kg DZP 和 7.5g/kg SZRT 均能显著降低 EPM 大鼠海马 NE 含量,进一步证实降低海马中 NE 的释放可能是 DZP 和 SZRT 抗焦虑作用的共同环节。

DA 能系统与焦虑的关系目前了解还不多。本实验观察到,DZP、SZRT 对 EPM 大鼠海马 DA 及其代谢产物含量没有明显影响,提示 EPM 模型大鼠的脑内 DA 与焦虑的关系有待进一步研究,同时推测 DZP 和 SZRT 抗焦虑作用可能与脑内 DA 关系不大。

许多实验证实 5-HT 功能增强可以导致焦虑,而降低 5-HT 功能的药物则有抗焦虑作用^[9]。在 EPM

测试中,不同种属的大鼠,其海马中 5-HT 含量与焦虑呈正相关^[10]。DZP 不同剂量均可降低海马中 5-HT 含量,其对大鼠海马部位 5-HT 神经能的抑制性影响可能是通过介导 5-HT 能神经末梢附近的 GABA-苯二氮₇受体实现的^[11]。本实验也观察到,1mg/kg DZP 灌胃能显著降低大鼠海马内 5-HT 的含量,SZRT 也有不同程度降低大鼠海马内 5-HT 含量的作用,推测 DZP 和 SZRT 抗焦虑作用与其降低脑内 5-HT 功能有关,从两者对海马 5-HIAA 的含量均无明显影响的结果来看,DZP 和 SZRT 对脑内 5-HT 功能的影响主要是抑制海马中 5-HT 的合成。

已知神经系统对免疫功能的影响主要是通过神经递质与免疫器官或细胞上特异性受体结合而发挥作用^[12],但有关焦虑状态下免疫器官上神经递质及其受体的研究目前还未有见。本实验采用高效液相法在 EPM 大鼠脾和胸腺上检测到了 5-HT、5-HIAA、HVA、DOPAC 等,这表明 EPM 焦虑模型大鼠外周免疫器官上有单胺神经递质及其代谢产物的存在,为理解焦虑状态下机体神经系统对免疫功能的调控提供了有力证据。本实验还发现,DZP 和 SZRT 能分别升高脾、胸腺中 5-HT、5-HIAA 的含量,那么,DZP、SZRT 有否可能通过脾、胸腺上的 5-HT、5-HIAA 与相应受体结合而发挥免疫调节作用? DZP 升高脾 5-HT,SZRT 升高胸腺 5-HIAA,结果提示两者对免疫器官的影响可能有所不同,有待进一步研究。

参考文献:

[1] 许济群. 方剂学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1995. 118.

[2] 李玉娟, 刘雯, 杨静玉, 等. 酸枣仁汤的镇静催眠作用[J]. 沈阳药科大学学报, 2002, 19(2): 115-117.

[3] 王欣, 王守勇. 酸枣仁汤临床与实验研究评述[J]. 中成药, 2003, 25(5): 414.

[4] Pellow S, Chopin P, File SE, et al. Validation of open: closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat[J]. J Neurosci Methods, 1985, 14(3): 149-167.

[5] 王欣, 谢鸣. 酸枣仁汤对高架十字迷宫大鼠行为学影响的量效关系评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2004, 10(1): 35-37.

[6] 张家俊, 陈文为. 中药酸枣仁汤、龙齿、石菖蒲对小鼠脑组织单胺神经递质及其代谢产物的影响[J]. 北京中医药大学学报, 1995, 18(6): 64-66.

[7] Bremner JD, Krystal JH, Southwick SM, et al. Noradrenergic mechanisms in stress and anxiety: I[J]. Preclinical studies. Synapse, 1996, 23(1): 28-38.

- [8] Broderick PA. Alprazolam, diazepam, yohimbine, clonidine: in vivo CA1 hippocampal norepinephrine and serotonin release profiles under chloral hydrate anesthesia[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 1997, 21(7) : 1117-1140.
- [9] Hegarty AA, Vogel WH. The effect of acute and chronic diazepam treatment on stress-induced changes in cortical dopamine in the rat[J]. Pharmacol Biochem Behav, 1995, 52(4) : 771-778.
- [10] Wedzony K, Mackowiak M, Fijal K, et al. Evidence that conditioned stress enhances outflow of dopamine in rat prefrontal cortex: a search for the influence of diazepam and 5-HT_{1A} agonists[J]. Synapse, 1996, 24(3) : 240-247.
- [11] File SE, Pellow S. No cross-tolerance between the stimulatory and depressant actions of benzodiazepines in mice[J]. Behav Brain Res, 1985, 17(1) : 1-7.
- [12] Pellow S, File SE. Lack of cross-tolerance in mice between the stimulatory and depressant actions of novel anxiolytics in the holeboard[J]. Behav Brain Res, 1987, 23(2) : 159-166.