

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

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), 从行为学角度观察了四个不同给药剂量酸枣仁汤对 EPM 大鼠的抗焦虑作用。结果显示, 酸枣仁汤确有抗焦虑作用, 但此效应不随给药剂量的增加而增强, 与一般化学药物所遵循的量效关系规律不同。

关键词: 酸枣仁汤; EPM; 行为学; 量效关系

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2004)01-0035-03

Comment on the Dose-Effect Relationship of Suanzaoren Decoction on Behavior of EPM Rat

WANG Xin, XIE Ming

(Beijing University of Traditional Chinese Medicine and Pharmacy, Beijing 100029, China)

Abstract: Adopting the international common-used anxiety animal model with the elevated plus-maze test (EPM), we observed the effect of anti-anxiety of Suanzaoren Decoction from the angle of behavior. The research results indicated: The decoction really had the effect of anti-anxiety, but differed from the general dose-effect relationship pattern of chemical medicines. The effect of the decoction does not increase with the raising doses.

Key words: Suanzaoren Decoction; EPM; Behavior; dose-effect relationship

酸枣仁汤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, 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^[1]。针对本方临床可用于治疗焦虑症的经验事实^[2], 本文采用国际上通用的焦虑动物模型——The elevated plus-maze test (EPM, 高架十字迷宫模型), 从行为学角度观察了酸枣仁汤的抗焦虑作用, 并对其量效关系特点进行了初步总结。

1 材料

1.1 动物 健康雄性 Wistar 大鼠 90 只, 级别 SPF/VAF, 体重 180 ± 10g, 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(参考高等中医院校五版《方剂学》教材), 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 DZP (Diazepam Tablets, 地西洋片): 京卫药准字(1996)第 154011 号, 北京益民制药厂出品。地西洋 36 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 10% 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^[3]。由两个相对的开放臂(open arm, 长×宽分别为 50cm×10cm)、两个相对的封闭臂(enclosed arm, close arm, 长×宽×高分别为 50cm×10cm×40cm)、一个连接四只臂的中央平台(central platform, 10cm×10cm)(即: 开放臂—中央平台—开放臂或封闭臂—中央平台—封闭臂, 此二者互相垂直成为“十”(plus)形状)和围绕在开放臂边缘的 1cm 高的矮挡板组成(目的是防止动物在探究过程中不慎滑下迷宫)。本迷宫由国产有机玻璃制作(1cm 厚), 除四个臂的底板及中央平台为黑色外, 其余部位均为无色透明。有机玻璃部分整体固定于(由黑色等长宽的“十”木架和不锈钢可升降底座组成的)支架上, 使迷宫底板调节到距实验室地面

50cm 处。

2 方法

2.1 动物处置及分组 大鼠每笼 7~8 只, 不限食水。光照节律 12L: 12D(6:00~18:00), 室温(18±2)℃, 保持安静。将大鼠随机分为空白对照、DZP、SZRT I、II、III、IV 共 6 组, 每组 15 只。其中中药 I、II、III、IV 组分别按 3.75g/kg/d、7.5g/kg/d、15g/kg/d、30g/kg/d 给予 SZRT 灌胃, DZP 组给予 1mg/kg 灌胃, 空白对照组灌服等容积的生理盐水。各组连续给药 10d, 于第 10d 在末次给药 2h 后 8:00~14:00Am 做行为测试。所有动物均提前 2h 进入测试实验室。

2.2 行为学测试

2.2.1 测试条件 实验室内光线昏暗(以 1.5m 距离处能区分大鼠细微活动的最低亮度为准)并保持恒亮, 室温 20℃左右, 保持安静。测试箱放置于实验室一角, 周围布以 2m 高黑色单调背景。实验过程中有一名人员搬运动物, 2 名事先经过实验记录培训但不熟悉分组情况的人员在距离测试箱 1.5m 处分别观察记录动物的活动。

2.2.2 测试指标 迷宫测试前将每只大鼠放入一个 60cm×60cm×35cm 塑料盒中, 任其自由探究 5min 后迅速置于 EPM 的中央平台处, 使其头部正对其中一个开放臂, 释放后即开始记录下述指标:

①进入开放臂次数(open arm entry, OE): 进入到任一开放臂的次数, 以大鼠四个爪子均进入到臂内为准, 中途一个爪子从该臂中完全退出则为该次进入活动完成; ②进入开放臂时间(open arm time, OT): 进入开放臂的时间, 单位: 秒; ③进入封闭臂次数(close arm entry, CE): 进入到任一封闭臂的次数, 以大鼠四个爪子均进入到臂内为准; ④进入封闭臂时间(close arm time, CT): 进入封闭臂的时间, 单位: 秒; ⑤向下探究次数(head-dipping): 大鼠置身于中央平台或开放臂时, 一边用前爪握住迷宫边缘一边把头部和肩部伸出开放臂的边缘向迷宫下面探究的行为次数; ⑥封闭臂后腿直立次数(rearing): 大鼠在封闭臂前腿抬起以后腿支持使身体竖立的次数。

由①~④分别计算出: ①进入开放臂和封闭臂的总次数(OE+CE): 表示大鼠的运动活力(locomotor activity); ②进入开放臂次数比例(OE%): 即开放臂进入次数/(OE+CE)×100%; ③开放臂停留时间比例(OT%), 即开放臂停留时间/(OT+CT)×100%。

每只大鼠测试 5min。中间用湿布擦拭迷宫, 清

除粪便, 继用干布擦净后再进行下一只大鼠的测试。

2.3 数据的统计处理 所得数据均用 SPSS 11.0 for windows 软件统计处理, 采用单因素方差分析(one-way ANOVA)进行检验。

3 结果

3.1 SZRT 对 EPM 大鼠 OE+CE、OE%、OT% 的影响

结果见表 1。从表 1 中可以看出: 与对照组比较, DZP、SZRT II 组大鼠 OE% 和 OT%、III 组 OE% 均明显增高; SZRT II 组 OT%、IV 组 OE% 和 OT% 有增高趋势, 但与对照组相比无显著差异($P > 0.05$)。OE+CE 即总的入臂次数(Total arm entry), 标志着大鼠的运动能力(locomotor activity)。与正常组比较, SZRT II 组大鼠运动能力有所增加($P < 0.05$); 正常对照、DZP、SZRT I、III、IV 组之间比较无显著差异。

表 1 不同剂量酸枣仁汤对 EPM 大鼠 OE+CE、OE%、OT% 的影响($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	给药剂量 (g/kg)	OE+CE	OE%	OT%
空白组	0	6.93±1.45	20.68±6.22	21.80±7.34
DZP 组	1mg	8.60±1.49	54.09±3.13**	53.80±7.10**
SZRT I	3.75	7.70±1.61	23.72±6.60	23.78±7.38
SZRT II	7.5	11.33±1.20*	42.26±5.62*	40.19±5.40*
SZRT III	15	9.00±1.06	37.57±6.57*	29.26±5.75
SZRT IV	30	8.93±1.14	33.40±5.71	27.47±6.43

注: 与空白组比较* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ (下同)

表 2 不同剂量酸枣仁汤对 EPM 大鼠 Head-dipping、Rearing 的影响($\bar{x} \pm s, n = 15$)

组别	给药剂量 (g/kg)	Head-dipping	Rearing
空白组	0	4.07±1.23	8.27±0.90
DZP 组	1mg	13.80±1.02**	9.93±1.13
SZRT I	3.75	5.30±1.67	10.50±1.27
SZRT II	7.5	19.93±0.56**	12.73±1.50*
SZRT III	15	10.33±1.08**	9.73±1.11
SZRT IV	30	5.13±0.92	11.20±1.14

3.2 SZRT 对 EPM 大鼠 head-dipping 和 rearing 的影响

结果见表 2。从表 2 中可看出: 与对照组比较, DZP 和 SZRT II、III 组大鼠在开放臂和中央平台区 head-dipping 次数显著增加($P < 0.01$); SZRT I、IV 组增加不明显。中药 II 组大鼠后腿直立身体次数与空白组相比有所增多($P < 0.05$); 其他各组之间比较无明显差异。

4 讨论

酸枣仁汤(SZRT)现代临床除治疗失眠症外,还用于以情绪或神志障碍为主要表现的精神神经系统疾病。焦虑症是一种以广泛和持续焦虑或反复发作的惊恐不安为主要特征的神经症,常伴以头晕、胸闷、心悸等植物神经功能症状和运动性紧张,一般属于中医“心神不宁”的范畴,临证可从调神角度辨治。SZRT 具有养心安神、清热除烦功效,与目前中医治疗焦虑症的基本治法相吻合,其在精神疾病方面的临床有效运用也提示本方可能具有潜在的抗焦虑效用^[4]。

本研究引入的高架十字迷宫模型,为抗焦虑研究中公认的非条件反射模型。它利用动物对新异环境的探究特性相对高悬敞开臂的恐惧心理,形成动物的矛盾行为,实验指标以进入开放臂的百分数(OE%)和在开放臂停留时间的百分数(OT%)反映动物的焦虑状态,焦虑动物的 OE% 和 OT% 明显降低,经典抗焦虑药物则使两者升高^[3,5];开放臂和中央平台区 head-dipping 次数则反映了在非保护区内的探索行为,代表动物对陌生环境的好奇探究或因恐惧而寻求逃避^[6],与焦虑程度有一定相关性;开放臂和封闭臂总进入次数反映动物总的运动能力,封闭臂 rearing 值也可用来观察药物有无镇静作用及镇静强度,但多年来关于抗焦虑药究竟如何影响这两个指标一直存在争议。

本实验观察到:SZRT 7.5g/kg 可显著增加 EPM 大鼠 OE% 和 OT% 值,明显提高大鼠在开放臂和中央平台区 head-dipping 次数及封闭臂的 rearing 值;15g/kg SZRT 可增加 EPM 大鼠 OE% 和 head-dipping

次数,但对 OT% 影响不明显;与空白对照组比较, SZRT 3.75g/kg、30g/kg 对 OE%、OT%、head-dipping 和 rearing 影响均不明显。实验结果表明:SZRT 在 7.5g/kg~15g/kg 剂量范围内,具有一定的抗焦虑效应,与 DZP 的作用方向一致,从对 EPM 大鼠各项指标影响结果看,以 7.5g/kg 剂量效果最优,而在 3.75g/kg 及 30g/kg 剂量时 SZRT 几乎不表现抗焦虑效用。

本研究证实:中药酸枣仁汤确有抗焦虑作用,从小剂量开始此效用逐渐增强,但达到一定剂量后,抗焦虑效应并不再伴随剂量的增加而增强,这与一般化学药物所遵循的量效关系规律不同,其发生机制尚有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 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.
- [2] 丁德正. 酸枣仁汤治疗精神病的验案与体会[J]. 河南中医,1987,(1):21~22.
- [3] 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.
- [4] 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.
- [5] Lister RG. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mice[J]. Psychopharmacology (Berl), 1987, 92(2):180~185.
- [6] File SE, Wardill AG. Validity of head-dipping as a measure of exploration in a modified hole-board[J]. Psychopharmacologia, 1975, 44(1):53~59.