

肉蔻-5 味丸对慢性抑郁模型大鼠行为及海马单胺递质的影响

呼日乐巴根^{1,2}, 佟海英¹, 松林², 陈英松², 呼和木仁², 阿古拉^{2*}
(1. 北京中医药大学, 北京 100029; 2. 内蒙古医科大学, 呼和浩特 010110)

[摘要] 目的:观察蒙药肉蔻-5 味丸对慢性抑郁模型大鼠行为及海马单胺递质的影响,探讨其抗抑郁作用机制。方法:60 只雄性 SD 大鼠,随机分为正常组、模型组、盐酸氟西汀组(3.6 mg·kg⁻¹)及肉蔻-5 味丸低、中、高剂量组(0.2,0.4,0.8 g·kg⁻¹),每组 10 只。采用慢性不可预见性应激与孤养结合的造模方法复制抑郁模型,造模同时 ig 给药,每天 1 次,连续给药 21 d。以体重变化,旷场试验(open-field test),糖水消耗试验来进行行为学评价,酶联免疫法(ELISA)检测大鼠海马 5-羟色胺(5-HT),去甲肾上腺素(NE),多巴胺(DA)单胺递质的含量。结果:给予 21 d 应激后,模型组大鼠体重增长缓慢,糖水消耗量、Open-field 试验水平活动得分和垂直活动得分及海马 5-HT,DA,NE 的含量较正常组显著降低($P<0.05$, $P<0.01$),与模型组相比氟西汀和肉蔻-5 味丸可不同程度改善其抑郁状态,氟西汀组、肉蔻-5 味丸高、中剂量组大鼠海马 5-HT,DA,NE 的含量显著增加($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:肉蔻-5 味丸的抗抑郁作用可能与提高脑内 5-HT,NE,DA 单胺递质的含量相关。

[关键词] 肉蔻-5 味丸; 抑郁症; 行为学; 单胺递质

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2015)11-0146-04

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015110146

Experimental Research on Nutmeg Wuwei Pills Against of Depression Model Rat Behavior and Hippocampus Monoamine Neurotransmitters HURILEBAGEN^{1,2}, TONG Hai-ying¹, SONG Lin², CHEN Ying-song², HUHEMUREN², AGULA^{2*} (1. *Beijing University of Chinese Medical*, Beijing 100029, China; 2. *Inner Mongolia Medical University*, Hohhot 010110, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Nutmeg Wuwei pills on the depressive behavior and the monoamine neurotransmitters of depression rat model and explore the mechanism. **Method:** Sixty male SD rats were randomly divided into normal group, model group, fluoxetine group (3.6 mg·kg⁻¹) and Nutmeg Wuwei pills low, medium and high dose groups (0.2, 0.4, 0.8 g·kg⁻¹), 10 rats in each group. After 21 days, behavior evaluation was made through observing the rats weight, open-field experiment and sugar consumption experiment. Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) method was used for determination of the content of the rat hippocampus 5-hydroxytryptamine (5-HT), norepinephrine (NE) and dobaamine (DA). **Result:** Compared with normal group, the scores of horizontal activity and vertical activity, sugar consumption were decreased significantly in the model group. Compared with model group, fluoxetine group and Nutmeg Wuwei pills groups got significantly higher scores of horizontal activity, vertical activity and sugar consumption. Nutmeg Wuwei pills could increase hippocampus 5-HT, NE and DA content, especially which was significant in the medium and high dose groups ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion:** Nutmeg Wuwei pills can improve abnormal behavior of depressive model rats and improve the neurotransmitter NE, 5-HT, DA. The anti-depressive mechanism is mainly due to increasing the cerebral monoamine neurotransmitters concentration in the brains.

[Key words] Nutmeg Wuwei pills; depression; behavior; neurotransmitters

肉蔻-5 味丸是蒙医治疗“赫依”病、心烦失眠、心神不安、心跳、心悸、胸闷气喘、心绞痛等病证的常用药,并对“赫依”病尤为有效的验方。本药方出自于蒙医经典著作《蒙医成方集》,在《蒙医百科全书·

[收稿日期] 20141104(021)
[第一作者] 呼日乐巴根, 博士生, 副高, 从事蒙医药现代化研究, Tel:15847670061, E-mail: hurile1997@163.com
[通讯作者] * 阿古拉, 教授, 博士生导师, 从事蒙医治疗学现代研究, Tel:13804745237, E-mail: agula372000@126.com

蒙医学》和《卫生部药品标准·蒙药分册》均有记载^[1-2]。本方由肉豆蔻、广枣、葶苈、土木香、木香等 5 种天然药物配伍组成。目前,肉蔻-5 味丸的药理研究主要有抗心律失常和心肌缺血效应的机制探讨方面^[3-6],亦有关于其治疗抑郁症的文献报道^[7],尚缺抗抑郁作用机制研究。本试验中采用慢性不可预见性应激(CUMS)与孤养结合的方法复制大鼠抑郁模型,观察肉蔻-5 味丸对慢性抑郁模型大鼠行为学及海马单胺递质的影响,以期探究其抗抑郁作用机制。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠,体重 180 ~ 200 g,雄性,SPF 级,由北京维通利华试验动物技术有限公司提供,合格证号 SCXK(京)2012-0004。

1.2 药品及试剂 肉蔻-5 味丸(内蒙古库伦蒙药厂,国药准字 Z15020881),盐酸氟西汀胶囊(山西仟源制药股份有限公司,国药准字 H20073985),生理盐水(安徽丰原淮海制药有限公司,国药准字 H34021875),5-羟色胺(5-HT)试剂盒(批号 CSB-E08364r),多巴胺(DA)试剂盒(批号 CSB-E08660r),去甲肾上腺素(NE)试剂盒(批号 CSB-E07022r),均购自武汉华美生物工程有限公司。

1.3 仪器 Multiskan MK3-型全自动多功能酶标仪(美国 Thermo 公司),ST16R 型台式高速冷冻离心机(美国 Thermo 公司),OFT-100 型自主活动视频分析系统(成都泰盟科技有限公司),YLS-19A 型大鼠电动断头器(济南益延科技发展有限公司),Thermo-991 型超低温冰箱(美国 Thermo 公司),BSA124S-CW 型电子天秤(赛多利斯科学仪器有限公司),DHG-9145 型电热鼓风干燥箱(上海一恒科学仪器有限公司)。

2 方法

2.1 分组及给药 SD 大鼠 60 只适应性饲养 1 周后按体重随机分 6 组,每组 10 只。分别为正常组、模型组、阳性对照组、肉蔻-5 味丸高、中、低剂量组。正常组每笼饲养 5 只,自由饮水摄食,不接受任何刺激。其余组单笼饲养,并接受 21 d 的轻度温和刺激。造模同时,对各组大鼠 ig 给药,阳性对照组给予盐酸氟西汀 3.6 mg·kg⁻¹,肉蔻-5 味丸高、中、低剂量组分别给予肉蔻-5 味丸 0.8,0.4,0.2 g·kg⁻¹,正常组和模型组给予等量生理盐水。按 10 mL·kg⁻¹体积 ig 给药,每日 1 次,连续 21 d。

2.2 造模^[8-9] 由慢性轻度不可预见性应激(CUMS),配合孤养的方法复制抑郁模型。正常组

每笼饲养 5 只,自由饮水摄食,不接受任何刺激。其余组单笼饲养,并接受 21 d 不同刺激,包括 24 h 禁食,24 h 禁水,4 ℃冷水游泳 5 min,45 ℃热刺激 5 min,夹尾 1 min,高速水平震荡 15 min,潮湿垫料 24 h,昼夜颠倒 12 h。每日随机安排 1 种刺激,相同的刺激不能连续出现,1 种刺激使用不超过 3 次。

2.3 行为学及体重变化

2.3.1 旷场试验行为测定 采用视频分析系统,箱体规格 50 cm×50 cm×30 cm,周壁为黑色,底面划分为面积相等的 9 个等边方格,上方放置摄像机。末次给药 24 h 后,将动物放置于底面中心方格内,记录大鼠在 3 min 内水平活动和垂直活动情况,以大鼠穿越敞箱底面格数为水平活动得分,以直立次数为垂直活动得分。

2.3.2 1%蔗糖水消耗试验 应激结束后禁水 24 h,每只大鼠给予 1%蔗糖溶液 100 mL,计算大鼠 1 h 内饮用 1%蔗糖溶液量。

2.3.3 体重变化 试验过程中观察各组大鼠的一般状态以外,测定每只动物的造模前、造模后第 7,14,21 天的体重变化情况。

2.4 样品制备及检测 行为学观测结束后,10%水合氯醛麻醉,剂量为 3 mL·kg⁻¹。将大鼠断头处死,在冰上剥离大脑,迅速取海马,并称重后置于速冻管,用液氮快速冷冻,放入 -80 ℃冰箱保存待测。采用 ELISA 检测技术,按试剂盒说明进行检测大鼠海马 5-HT,DA,NE 单胺递质的含量。

2.5 数据统计 采用 SPSS 17.00 统计软件处理,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,选用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对旷场实验行为活动的影响 与空白组比较,模型组大鼠水平穿越格数和竖立次数显著降低($P < 0.01$)。与模型组相比,盐酸氟西汀组、肉蔻-5 味丸高、中剂量组大鼠水平穿越格数显著增加($P < 0.05$, $P < 0.01$),肉蔻-5 味丸高剂量组大鼠竖立次数显著增加($P < 0.01$),见表 1。

3.2 对蔗糖水消耗量的影响 与空白组比较,模型组大鼠 1%蔗糖水消耗量显著降低($P < 0.05$)。与模型组相比,盐酸氟西汀组、肉蔻-5 味丸高剂量组 1%蔗糖水消耗量显著增加($P < 0.05$),见表 2。

3.3 对大鼠体重变化的影响 实验第 14,21 天模型组大鼠体重较正常组明显降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。实验第 14 天肉蔻-5 味丸中剂量组体重显著高于模型组($P < 0.05$);实验第 21 天阳性对照

表 1 肉蔻-5 味丸对慢性抑郁模型大鼠 Open-field 行为活动的影响
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effect of Nutmeg Wuwei pills on Open-field activity in depression model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	水平活动得分	垂直活动得分
	/g·kg ⁻¹	/次	/次
正常	—	96 ± 26 ²⁾	18 ± 7 ²⁾
模型	—	53 ± 20	10 ± 5
盐酸氟西汀	0.003 6	81 ± 18 ²⁾	16 ± 6 ¹⁾
肉蔻-5 味丸	0.8	79 ± 22 ²⁾	16 ± 5 ²⁾
	0.4	75 ± 24 ¹⁾	15 ± 7
	0.2	68 ± 17	12 ± 6

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

表 2 肉蔻-5 味丸对慢性抑郁模型大鼠 1% 蔗糖水摄入量的影响
($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effect of Nutmeg Wuwei pills on 1% sucrose water intake in depression model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	糖水消耗量/mL
正常	—	18.4 ± 7.1 ¹⁾
模型	—	12.5 ± 5.1
盐酸氟西汀	0.003 6	17.3 ± 4.6 ¹⁾
肉蔻-5 味丸	0.8	16.6 ± 3.3 ¹⁾
	0.4	13.3 ± 5.6
	0.2	15.9 ± 4.1

组、肉蔻-5 味丸中、低剂量组体重增长显著高于模型组($P < 0.05, P < 0.01$),见表 3。

表 3 肉蔻-5 味丸对慢性抑郁模型大鼠体重变化的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effect of Nutmeg Wuwei pills on weight change in depression model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	体重变化/g		
	/g·kg ⁻¹	第 0 天	第 14 天	第 21 天
正常	—	195.9 ± 6.0	298.3 ± 7.0 ²⁾	352.2 ± 18.0 ²⁾
模型	—	194.4 ± 7.0	257.1 ± 17.0	289.3 ± 13.0
盐酸氟西汀	0.003 6	196.6 ± 6.0	263.9 ± 9.0	304.4 ± 8.0 ²⁾
肉蔻-5 味丸	0.8	196.9 ± 10.0	266.6 ± 16.0	300.3 ± 14.0
	0.4	197.5 ± 9.0	275.9 ± 9.0 ²⁾	303.1 ± 13.0 ¹⁾
	0.2	196.5 ± 11.0	264.9 ± 14.0	305.4 ± 13.0 ¹⁾

3.4 对大鼠海马单胺递质的影响 与正常组比较,模型组大鼠海马 5-HT, NE, DA 的含量均显著降低($P < 0.05, P < 0.01$)。与模型组相比,阳性对照组海马 5-HT, NE 含量均显著增加($P < 0.05$),肉蔻-5 味丸高剂量组海马 NE 的含量与中剂量组海马

5-HT, DA 的含量均显著增加($P < 0.05$),见表 4。

表 4 肉蔻-5 味丸对慢性抑郁模型大鼠海马 5-HT, DA, NE 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of Nutmeg Wuwei pills on 5-HT, DA, NE in hippocampus of depression model rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	5-HT	DA	NE
	/g·kg ⁻¹	/μg·g ⁻¹	/μg·g ⁻¹	/ng·g ⁻¹
正常	—	11.76 ± 8.51 ¹⁾	0.68 ± 0.33 ²⁾	78.78 ± 39.08 ²⁾
模型	—	2.72 ± 1.87	0.26 ± 0.15	21.87 ± 8.12
盐酸氟西汀	0.003 6	6.53 ± 4.59 ¹⁾	0.48 ± 0.24	50.59 ± 30.72 ¹⁾
肉蔻-5 味丸	0.8	6.11 ± 4.65	0.44 ± 0.26	43.82 ± 27.43 ¹⁾
	0.4	4.85 ± 1.25 ¹⁾	0.39 ± 0.09 ¹⁾	30.43 ± 24.86
	0.2	2.85 ± 1.73	0.28 ± 0.10	25.03 ± 7.99

4 讨论

抑郁症(major depressive disorder, MDD)是常见的精神障碍疾病,其发病机制十分复杂,与遗传、生物化学、社会、心理、文化等众多因素有关。虽然国内外对抑郁症的研究并未间断,但其发病机制尚不完全明确。20 世纪 50 年代发现抑郁症与脑内单胺类神经递质(NT)有关,并且抑郁症发病机制及其抗抑郁药的研制中起主导作用^[10]。海马与抑郁症的发病密切相关^[11-12]。海马是属于边缘系统,对情绪、学习和记忆、行为等调节方面发挥着非常重要的生理作用,也是应激反应的高位调节中枢,而慢性应激可损害海马组织,引起其结构和功能的变化^[13-14]。目前国内外广泛采用于慢性应激与孤养结合方法来建立抑郁模型,其特点是模拟了抑郁症的核心症状,即快感缺失,造模成功的标志在于反映情绪或情感,神经兴奋性、学习记忆能力及认知能力、食欲等行为异常改变^[15]。该模型制备的关键是更接近于人类抑郁症自然病理过程,在一定程度上反应了类似于人类抑郁症的临床表现。本试验研究利用慢性抑郁模型,选择抑郁模型大鼠行为及海马单胺递质的含量为观察指标,探究肉蔻-5 味丸的抗抑郁作用机制。研究发现慢性应激导致大鼠体重增长缓慢,糖水消耗试验,Open-field 试验及海马单胺递质的各项指标显示模型组明显低于正常组,而盐酸氟西汀和肉蔻-5 味丸可不同程度改善其抑郁行为,并明显提高海马 5-HT, DA, NE 单胺递质的含量。其中肉蔻-5 味丸高、中剂量组显著提高抑郁模型大鼠海马 5-HT, DA, NE 单胺递质的含量,与模型组相比具有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。总之,肉蔻-5 味丸可能提高脑内单胺递质的含量来发挥抗抑郁作用,并有一定的量效关系。

蒙医药迄今已有几千年的历史,其理论体系的基本特点是整体观和辨证施治理论。蒙医学认为,胸部属于“巴达干”区,心位于胸腔之中,故而心居于“巴达干”的总位。心又是“赫依”的甯行之道,因此,心脏与“赫依”、“巴达干”有着密切关系。当“赫依”的功能紊乱时,影响心主精神、意志、思维活动等正常生理功能,故蒙医学古籍经典著作《蒙医药选编》中记载,心“赫依”者出现神志不清,睡眠减少,头晕,叹气等表现,临床上可出现记忆力减退,思维迟钝等抑郁症状^[16]。当“巴达干”功能紊乱时,临床上可见反应迟钝,意识模糊等“巴达干”异常的症状,这与抑郁症的临床表现一致。蒙医学理论中心脏与脑有着不可分割的关系,心脏和大脑主要以黑白脉相连。蒙医学古籍经典著作《医宗要旨》中对白脉的一段描述从脑部脉的海洋里,像树根一样向下延伸的十九条白脉^[17]。白脉的起源是脑,脑是白脉之海,从脑出发的白脉像彩带一样延伸到心脏连接与脑。当心“赫依”和“巴达干”功能紊乱时,将影响白脉的传导功能,临床可出现意识模糊,精神紊乱,烦躁不安等抑郁症状。因此,从蒙医学理论分析抑郁症的病因,可认为心“赫依”“巴达干”功能紊乱,影响白脉的传导功能,进而影响白脉之海-脑而引起。本研究以蒙医药理论的整体观为指导,蒙医学的心与脑的关系为出发点,选择具有治疗“赫依”病、心烦失眠、心神不安、心跳、心悸、胸闷气喘、心绞痛等功效的传统蒙药肉蔻-5 味丸。本验方源于蒙药古方,性温,以味辛、性温、治心良药肉豆蔻为主药,配以土木香、木香为调理气血运行和止痛,配以广枣为增强心功能,配以荜茇为祛巴达干和调理体素,故对心“赫依”“巴达干”病均有功效。因此,蒙医临床常用于治疗西医诊断的冠心病、心绞痛,还可以治疗失眠抑郁,神经衰弱等病症效果卓著,无依赖、无任何毒副作用。传统医药复方或单味药与西药的单靶点抗抑郁作用相比,其具有化学成分多样性和药理作用的多靶点性,且低副作用的特点,很少存在依赖性,值得进一步研究与开发。

[参考文献]

[1] 中华人民共和国卫生部药典委员会. 中华人民共和国卫生部药品标准:蒙药分册[S]. 1998:89.

[2] 白清云. 中国医学百科全书-蒙医学[M]. 上海:上海科技出版社,1992:266.

[3] 许海杰,武娜,董玉. 蒙药复方肉豆蔻五味的研究进展[J]. 内蒙古医学院学报,2010,32(3):9-12.

[4] 朱小玲,李树明,董玉,等. 治疗心脏病的蒙药复方及研究进展[J]. 内蒙古医学院学报,2012,34(2):149-152.

[5] 张昌盛. 蒙医药治疗室性早搏的临床观察[J]. 中国民族医药杂志,2012,18(4):32.

[6] 郝雷,焦效兰,史飞,等. 肉蔻五味及卡托普利对大鼠心肌梗死模型中 MMPs 和 c-myc 表达的影响[J]. 内蒙古医学院学报,2012,34(3):229-233.

[7] 刘耀东,郭春丽,张丽萍,等. 蒙药匝迪-5、逍遥散联合心理疗法治疗脑卒中后抑郁症[J]. 中国民族医药杂志,2007,13(9):10-11.

[8] Willner P. Chronic mild stress (CMS) revisited: consistency and behavioural-neurobiological concordance in the effects of CMS[J]. Neuropsychobiology,2005,52(2):90.

[9] Banasr M,Duman R S. Gial loss in the prefrontal cortex is sufficient to induce depressive-like behaviors[J]. Biol Psychiatry,2008,64(10):863.

[10] 张华军,毛晓徽. 天然抗抑郁药物促进海马神经发生的研究进展[J]. 中医药学报,2014,42(1):99-102.

[11] 张小玲,孙彦,张鑫,等. 首发抑郁症患者海马容积的研究[J]. 西安交通大学学报:医学版,2012,33(5):647-650.

[12] Ytiksel C, Ongar D. Magnetic resonalrlce spectroscopy studies of glutamate-related ahnommlities in mood disorders[J]. Biol Psyehiato,2010,68:785-794.

[13] Taylor M J, Mannie Z N, Norhury R, et al. Elevated cortical glutamate in young people at increased familial risk of depression [J]. Int J Neuropsychopharmacol, 2011,14:255-259.

[14] 张大鹏,许豪勤,陈艳,等. 褪黑激素对慢性应激性抑郁症大鼠前脑皮质 BDNF,TrkB 表达及认知行为的影响[J]. 江苏大学学报:医学版,2009,9(1):1-4.

[15] 高杉,李蓐. 抑郁症动物模型及其评价标准研究进展[J]. 天津中医药大学学报,2012,31(1):57-60.

[16] 罗布桑却昆勒. 蒙医药选编[M]. 呼和浩特:内蒙古人民出版社,1974:5.

[17] 若来扎拉布. 医宗要旨[M]. 呼和浩特:内蒙古人民出版社,1999:69.

[责任编辑 聂淑琴]