

无忧汤对 CUMS 抑郁症大鼠模型行为学的影响研究*

秦 竹¹, 唐瑶瑶², 王 臻¹

(1. 云南中医学院, 云南昆明 650500; 2. 江苏省新沂市中医院, 江苏新沂 221400)

摘要:目的 观察无忧汤对慢性不可预见性轻度应激抑郁症模型大鼠行为学的影响, 了解无忧汤防治抑郁症的效果。方法 将 60 只 SD 雄性大鼠随机分为 6 组, 空白对照组、模型组、文拉法辛组、无忧汤高、中、低剂量组, 联合孤养和 21d 慢性轻度不可预见性的应激刺激为方法进行抑郁症大鼠造模, 造模成功后进行 21d 药物干预, 灌胃给药。采用敞箱实验和蔗糖水消耗试验观察大鼠行为学变化, 并进行统计分析。结果 无忧汤能够明显改善抑郁模型大鼠的行为学障碍, 表现为大鼠的水平及垂直运动得分均增加, 蔗糖水的饮用量明显增加($P<0.05$)。结论 无忧汤具有防治抑郁症的效果。

关键词: 无忧汤; 抑郁症; 行为学影响

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1000-2723(2013)02-0036-04

无忧汤为清代陈士铎《辨证录》的有效名方, 主治不寐。其临床表现与现代医学的早期抑郁症症状十分相似。该方由人参、白芍、当归、酸枣仁、竹茹 5 味药物组成, 临床上在辨证论治的基础上使用无忧汤加味治疗抑郁症, 能够有效地缓解和改善患者抑郁症状, 疗效较好, 实验研究未见相关报道。

本文采用 60 只 SD 雄性大鼠, 以目前成熟的慢性不可预见性轻度应激(CUMS)为造模方法^[1], 观察无忧汤对抑郁大鼠模型行为学的影响, 了解该方的防治效果, 为下一步探讨其防治抑郁症的作用机制提供实验基础。

1 材料与仪器

1.1 实验药物

无忧汤由人参、白芍、当归、酸枣仁、竹茹组成, 根据古方药量换算表^[2](《方剂学》七版教材)和《辨证录》换算法, 综合为人参 15g, 当归 15g, 竹茹 9g, 白芍 15g, 酸枣仁 9g, 以此量为实验中药组中剂量。药材购于云南中医学院门诊部, 由中药鉴定教研室杨树德教授鉴定其品种和质量, 经鉴定均为正品。

中药给药剂量的计算方法是按等效量换算法计算, 将成人每日所需生药量换算成大鼠所需药量, 方法如下: 成人每日全方量为 63g, $63 \times 0.018 \times 5 =$

5.7g/kg 大鼠所需生药量 (0.018 是根据中药药理实验方法学中人与大鼠按体表面积转换系数; “5”是将 200g 大鼠生药量换算成 kg 后, 大鼠所需生药量)。低剂量: 中剂量: 高剂量=1:2:4。低剂量组: 2.85g/kg·d, 中剂量组: 5.7g/kg·d, 高剂量组: 11.4g/kg·d, 存于 4℃冰箱备用, 用前恢复至常温。文拉法辛胶囊(成都康宏药业集团股份有限公司产品。批号: H19980051), 25mg/粒, 临用时用蒸馏水配成质量浓度为 0.8mg/mL 的药液。

1.2 实验动物

雄性 SD 大鼠 60 只, 体重(180~200)g, 清洁级。购自昆明医学院实验动物中心, 许可证号: SCXK(昆)2012-13, 60 只大鼠随机分为正常对照组 10 只和抑郁造模组 50 只, 正常对照组每笼 5 只饲养, 正常饮食饮水, 不予任何刺激。抑郁造模组 50 只大鼠适应性饲养一周后单笼饲养, 并接受 21d CUMS。造模成功后, 将抑郁模型组 50 只大鼠随机均分为模型生理盐水组、模型+无忧汤高、中、低剂量组和模型+文拉法辛组。

1.3 实验仪器

自制敞箱, WLB-98-F 型振荡器(浙江新昌国康仪器厂), LSY 电热烤箱(北京市恒顺仪器厂), 游泳缸, 电刺激仪, 大鼠固定器, 止血钳, 药物冷凝回流仪。

* 基金项目: 国家中医药管理局“十二五”重点建设学科“中医心理学”学科资助项目

收稿日期: 2012-11-09 修回日期: 2013-03-29

作者简介: 秦竹(1964~), 女, 江苏南京人, 教授, 研究生导师, 主要从事心身医学教学科研及临床工作。

2 试验方法

2.1 动物模型制备

采用孤养结合慢性轻度不可预知性应激刺激为造模方法,参照 Willner 等^[3]方法:大鼠 1 只/笼饲养,构成孤养模型,在 21d 内接受各种不同的不可预知的应激性刺激,包括电击足底、冰水游泳、摇晃、热刺激、夹尾、禁水(24h)、禁食(48h)和昼夜颠倒等。每天随机安排一种刺激,平均每种刺激使用 2 次,使各种刺激成为长期不可预知的应激性刺激。

2.2 大鼠体质量测定

各组大鼠分别在造模前、造模后、给药后测定体重,观察各组大鼠的体重增长情况。

2.3 大鼠行为学测定

各组于实验 0d(实验前)、21d(造模结束)、42d(给药结束)进行抑郁行为实验(包括 Open-field 行为测试、糖水消耗测试)^[1,3-4]。

2.3.1 Open-field 行为测试

用自制敞箱测试,将大鼠置于敞箱中心,以 3min 内大鼠穿越箱底面的方格数为水平运动得分(3 爪以上跨入),穿越一格得 1 分,如动物沿线行走,每 10cm 为 1 分。以双前肢抬起次数为垂直得分(两前肢离地 1cm 以上),双前肢离地一次得 1 分。

2.3.2 糖水消耗测试

实验前在安静的房间内,训练大鼠适应含糖饮水,每笼同时放置 2 个水瓶,第 1 个 24h,2 瓶均装有 1%蔗糖水,随后的 24h,1 个瓶装 1%蔗糖水,1 个瓶装纯水。24h 的禁食禁水后,进行动物的基础糖水消耗试验,同时给予每只大鼠事先定量好的 2 瓶水:1 瓶 1%蔗糖水,1 瓶纯水。24h 后,取此 2 瓶并称质量。计算动物的 24h 蔗糖水消耗,测糖水消耗时群养大鼠需单笼分开测定。

2.4 各组给药方法

各组均在早晨 8~10 点给药。治疗给药连续 21d,每天灌胃 1 次。正常组及造模组给予等量生理盐水灌胃。

2.5 实验数据处理

利用 SPSS 17.0 统计软件进行分析处理,组间比较采用单因素方差分析,统计结果用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

3 实验结果

3.1 实验动物的一般情况

抑郁模型大鼠在应激 2 周后出现蜷缩少动,胆

小易惊,并易出现激惹现象,毛发较粗糙,欠光泽。给药治疗 21d 后,与模型组比较,各给药组大鼠毛发光滑,精神反应及行为均较灵敏。60 只大鼠在实验过程中无异常死亡,所有动物参与实验结果评分。

3.2 体重变化

各组大鼠造模前体重比较,差异无统计学意义($P>0.05$);经过 21d 应激刺激后,与正常对照组比较,各造模组大鼠的体重都增长缓慢,差异有统计学意义($P<0.05$),说明慢性轻度应激刺激影响了大鼠的正常生长,表现出了与抑郁症患者类似的体重减轻症状;药物干预 21d 后,与模型组比较,各给药组大鼠的体重增长要明显高于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$ 、 $P<0.01$)。结果见表 1。

表 1 各组大鼠体重变化比较($\bar{x} \pm s$,g)

组别	n	造模前(0d)	造模后(21d)	给药后(42d)
正常组	10	206.47±6.73	274.13±12.81	302.10±8.56
模型组	10	202.33±9.17	224.06±8.53*	237.80±13.6*
文拉法辛组	10	207.06±8.59	225.08±11.87*	279.93±6.10▲
高无忧汤组	10	208.10±9.23	229.01±6.71*	289.83±5.56▲▲
中无忧汤组	10	203.02±6.41	221.75±10.21*	284.06±5.67▲
低无忧汤组	10	203.28±5.01	226.06±8.73*	253.32±4.48*▲

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,▲ $P<0.05$,▲▲ $P<0.01$

3.3 各组大鼠行为学测定结果

3.3.1 Open-field 评分

实验结果显示:各组大鼠造模前水平运动和垂直运动得分相比,差异无统计学意义($P>0.05$);经过 21d 应激刺激后,与正常组比较,各造模组大鼠水平运动和垂直运动得分明显减少,差异有统计学意义($P<0.05$),说明经过应激刺激后大鼠的活动和探索能力降低,表现出与抑郁症患者类似的精神运动性迟滞、精力减退和兴趣缺失等症状;药物干预 21d 后,与模型组相比,各给药组大鼠水平和垂直运动得分都明显升高。结果见表 2。

3.3.2 糖水消耗实验

各组大鼠造模前糖水消耗量比较,差异无统计学意义($P>0.05$);经过 21d 应激刺激后,与正常对照组比较,各模型组大鼠的糖水消耗量都明显减少,差异有统计学意义($P<0.05$)。说明经过应激刺激后大鼠表现出了与抑郁症患者类似的快感缺失症状;药物干预 21d 后,与模型组相比,各给药组大鼠的糖水消耗量明显增加。结果见表 3。

表 2 各组大鼠敞箱实验评分结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	造模前(0d)		造模后(21d)		治疗后(42d)	
		水平运动	垂直运动	水平运动	垂直运动	水平运动	垂直运动
正常组	10	39.60±9.96	19.30±3.23	34.80±6.41	19.20±3.58	37.50±7.80 [▲]	20.60±4.19 [▲]
模型组	10	39.10±10.33	19.60±3.34	15.50±1.84 [*]	2.10±1.37 [*]	13.40±2.40	3.20±3.05
文拉法辛组	10	37.40±13.96	19.80±3.99	14.80±2.20 [*]	3.20±2.82 [*]	34.10±9.57 [▲]	17.60±3.20 [▲]
高无忧汤组	10	39.70±12.43	19.50±3.21	13.30±3.30 [*]	2.80±2.10 [*]	30.10±6.32 [▲]	17.90±3.73 [▲]
中无忧汤组	10	39.60±12.14	19.70±4.17	15.70±3.02 [*]	3.40±2.55 [*]	28.50±8.53 [▲]	16.60±3.47 [▲]
低无忧汤组	10	39.80±11.54	20.10±3.87	14.47±3.01 [*]	3.302±.34 [*]	21.40±6.76 ^{▲*}	11.50±3.41 ^{▲*}

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,▲ $P<0.05$

表 3 各组大鼠糖水饮用量($\bar{x} \pm s$) mL

组别	n	造模前(0d)	造模后(21d)	给药后(42d)
正常组	10	51.60±9.32	46.70±10.11	56.91±4.28
模型组	10	51.36±15.72	16.64±3.14 [*]	18.07±5.53 [*]
文拉法辛组	10	51.07±12.68	16.08±3.35 [*]	52.94±12.67 [▲]
高无忧汤组	10	51.12±11.53	16.12±4.03 [*]	51.86±11.53 [▲]
中无忧汤组	10	52.07±12.11	15.94±3.68 [*]	48.77±10.69 [▲]
低无忧汤组	10	50.90±13.02	16.35±3.78 [*]	36.42±9.08 [▲]

注:与正常组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,▲ $P<0.05$

4 讨论

抑郁症是精神科领域的常见疾病,随着社会竞争压力的近一步加大,抑郁症的发病率逐年增高,根据世界卫生组织全球总疾病负担预测,到 2020 年抑郁症将成为仅次于心脑血管疾病的第二大疾病^[9]。抑郁症还是精神科自杀率最高的疾病,高达 12%~14%,被称为“第一号心理杀手”,给家庭和社会造成重大经济负担。因此,加强对抑郁症诊断和治疗的研究具有重要的意义。

实验研究,最重要的是能够建立与抑郁症状及机理相近的客观性、公认性、重复性较好的动物模型,到目前为止,已有 20 多种方法可以用作抑郁动物模型的制备,其中以孤养结合 CUMS 是目前应用较多的模型之一。在 CUMS 抑郁模型中应激因子的多变性和不可预测性是模型制备成功的关键,应激因子的多变性可防止动物产生适应性,温和性应激与人类抑郁症促进和加速疾病的慢性、低水平的应激更接近,比较现实地模拟人们在日常生活中所遇到的种种“困难”^[1,6-7]。该模型较好的模拟了人类抑郁症的核心症状快感缺乏,同时模拟对新奇事物探索行为能力下降、运动能力下降等其他抑郁障碍的症状^[1,6-7]。而孤养模型能有效模仿去除社会援助,

增加无助和无望感,从而增强抑郁情绪,故本实验采用此复合模型。

根据 Willner^[3]理论,以快感缺乏作为抑郁症模型成功的重要指标。本文观察到:与正常对照组比较,模型组大鼠在规定时间内水平运动得分和垂直运动得分均明显减少,蔗糖水消耗量明显降低,即活动度降低,兴趣度下降,对奖赏的反应性下降。上述结果提示:给予孤养和 CUMS 后,动物表现出的抑郁状态、兴趣缺失和快感缺乏,与抑郁症的临床表现具有很大程度的相似性,因而认为抑郁症大鼠模型制备成功。

无忧汤为清代陈士铎《辨证录》治疗不寐症的有效名方,症见夜不能寐,恐鬼祟来侵,睡卧反侧,辗转不安,或少睡而即惊醒,或再睡而恍如捉拿。属于郁证心胆气虚型,其临床表现与现代医学早期抑郁症的症状十分相似。秦竹^[8]用无忧汤治疗抑郁症有效率达 95%,临床疗效良好。

本研究发现无忧汤能增加大鼠 Open-field 测试中的水平运动及垂直运动水平,提高蔗糖水消耗量,显示该方具有增加大鼠活动度,提高大鼠对周围环境的兴趣性,具有改善抑郁症症状的效果,为中医药治疗抑郁症提供了实验支持。

参考文献

- [1] 马妮,陈林庆,蔺兴遥,等. 慢性应激抑郁大鼠模型的复制与评价[J]. 甘肃中医学院学报,2010,27(6):7-9.
- [2] 邓中甲. 方剂学[M]. 北京:中国中医药出版社,2003:27.
- [3] Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of glucose Preference by chronic mild unpredictable stress and its restoration by a try cyclic antidepressant[J]. Phychopharmacology 1987, 93(3):358-364.
- [4] 吕俊华,钟玲. 实验性抑郁症动物模型的评价[J]. 中国病理生理杂志,2001,17(9):916-919.

- [5] Gelenberg AJ. Depression symptomatology and neurobiology [J]. Clin Psychiatry[J]. 2010, 71(1):602.
- [6] 张雪琴,崔跃,骆渊. 抑郁症的环境应激动物模型研究[J]. 神经疾病与精神卫生, 2010, 10(1):100-102.
- [7] 汤球,刘志学,崔淑芳,等. 大鼠抑郁症模型的建立与评价 [J]. 实验动物科学, 2011, 28(1):6-9.
- [8] 秦竹,唐瑶瑶,毕秀华. 无忧汤治疗抑郁症 40 例临床观察及疗效评价的研究[J]. 江苏中医药, 2012(8):30-31.
- (编辑:岳胜难)

To research the Effect of Wu You Decoction on Behaviors of Depressed Rat Model Caused by Chronic Unpredictable Mild Stress

QIN Zhu, TANG Yao-yao, WANG Zheng

(Yunnan University of TCM, Kunming Yunnan 650500)

ABSTRACT: **Objective** The present study was designed to observe the effect of Wu You Decoction on behaviors of depressed rat model caused by chronic unpredicted mild stress, to explore its effect on depression. **Methods** 60 male SD rats were randomly divided into six groups: the normal control group, the model group, Venlafaxine group, the high, middle and low dose of Wu You Decoction groups. Establishing the depressed rat model by solitary raise combines with chronic unpredictable mild stress 21 days, then giving the medicines 21 days orally. To observe changes of behaviors of depressed rat by open field test and sugar consumption test and analyze the results. **Results** Wu You Decoction can improve obviously behaviors disorder of depressed rat model, Marked by increasing the score of horizontal and vertical movement of rats and incremental sugar consumption ($P < 0.05$). **Conclusion** Wu You Decoction has effect of antidepressant.

KEY WORDS: depression; Wu You Decoction; behaviors effect

(原文见第 33 页)

The Meaning of “He” in the Writings of “On Cold Damage”

WANG Zhi-hong, LI Xiao-yu, GAO Lei

(Yunnan college of TCM, Yunnan, Kunming, 650500)

ABSTRACT: “He” has two usages in the writings of “On Cold Damage”. First, “He” is used as a noun or adjective, such as “harmony of yin-yang”, “normal pulse” and “normal stomach qi”, mainly refer to “the best condition”. Second, “He” is used as a verb, such as “harmonizes the stomach qi”, “harmonizing”, representation of harmonic, namely “adjust to the best”. The “He” in the writings of “On Cold Damage” and the “harmonizing method” in the later are not equal. Without explicitly use of such word as “harmonizing method” in the writings of “On Cold Damage”, it becomes the theoretical basis of “harmonizing method” for later doctors understanding and expand.

KEY WORDS: “On Cold Damage”; Zhang Zhongjing; “He”