

更逍遥冲剂对更年期抑郁症模型大鼠行为学以及学习记忆能力影响的观察 *

禄颖¹ 苏晶² 余轶群³ 郑丰杰¹ 柴新楼¹ 徐雅¹

(1 北京中医药大学基础医学院 北京 100029 2 香港大学专业进修学院 香港 3 北京中医药大学东方医院 北京 100078)

摘要 目的 通过对更年期抑郁症模型大鼠行为学以及学习记忆的观察,探讨中药复方更逍遥冲剂的作用机制。方法:SD 雌性大鼠 40 只,随机分为假手术组、更年期抑郁症模型组、中药中剂量组、中药大剂量组和西药对照组,观察开野实验中大鼠活动度、强迫游泳中大鼠的不动时间、以及通道式水迷宫检测大鼠学习记忆能力。结果:模型大鼠经过 21d 治疗后,开野实验水平积分、垂直积分明显增加,强迫游泳不动时间缩短,水迷宫实验游出时间缩短,错误次数减少。结论:更逍遥冲剂能够明显的改善更年期抑郁症大鼠的行为学评分,并具有改善其学习记忆能力的作用。

关键词 更年期抑郁症 行为学 学习记忆能力 更逍遥冲剂

中图分类号 Q95-3 R749 **文献标识码** A **文章编号** 1673-6273(2012)22-4241-04

Observation of the Effect of Gengxiaoyao Granule on Perimenopausal Depression Model Rats Behavior and Learning *

LU Ying¹, SU Jing², YU Yi-qun³, ZHENG Feng-jie¹, CHAI Xin-lou¹, XU Ya¹

(1 School of Basic Medical Sciences, BUCM, Beijing, 100029, China;

2 School of Professional and Continuing Education, The University of Hong Kong, Hong Kong, China;

3 Beijing University of Traditional Chinese Medicine Subsidiary Dongfang Hospital, Beijing 100078, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the Gengxiaoyao Granule's mechanism of action, through the observation of perimenopausal depression model rats behavior and learning. **Methods:** 40 SD female rats, were randomly divided into sham operation group, model group, middle dose Chinese medicine group, high dose Chinese medicine group and Western medicine group; we observed rat activity in the open field test, the immobility time on forced swimming, and memory ability through channel type water maze. **Results:** Model of rat after treatment with 21d, level integration, vertical integration in the open field tests was significantly increased, immobility time of forced swimming was reduced; in channel type water maze experiment, travel time were significantly shortened, and the error time was reduced. **Conclusion:** Gengxiaoyao granule can obviously improve the behavior scores of perimenopausal depression rats, and has improved the ability of learning and memory.

Key words: Perimenopausal Depression; Behavior science; Ability of learning and memory; Gengxiaoyao Granule

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3, R749 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2012)22-4241-04

前言

更年期抑郁症,是指发生于 45~55 岁的更年期女性,这一特定人群的抑郁症,发病率较高,据统计,中国女性平均绝经年龄 49.5 岁^[1]。更年期抑郁症占更年期人群的 5.8%^[2],占更年期综合症的 78%^[3]。更年期抑郁症以情感持续性低落为主要特征,社会功能明显降低,自杀危险性高,与一般抑郁症相比有其特殊性,成为妇科学、心理学和社会学关注的新课题。目前西药治疗以抗抑郁药物及激素替代疗法为主,激素替代疗法因其潜在的致癌风险,致使治疗中断比例高达 41%^[2]。因此,中医药治疗本病越来越引起人们的重视。更逍遥冲剂是苏晶教授在临床上长期应用,并验之有效的方剂,本实验主要观察该方对更

年期抑郁症模型大鼠行为学及学习记忆能力的影响,从而探讨中药更逍遥冲剂的干预机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物与分组 3~5 月龄 SD 雌性清洁级大鼠,体重(220±20)g,40 只,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。选用 Open-Field 行为学评分相近的大鼠 40 只,随机分为如下 5 组:假手术组(A);更年期抑郁症模型组(B);中药中剂量组(C);中药大剂量组(D);西药对照组(E)。

1.1.2 实验仪器及试剂 HY-2 调速多用振荡器(江苏金坛金城国胜实验仪器厂),电热鼓风干燥箱(天津市泰斯特仪器有限公

* 基金项目:香港大学专业进修学院科研经费资助项目-更逍遥冲剂治疗更年期抑郁症的临床与实验研究

作者简介:禄颖(1978-),女,医学博士,讲师,主要研究方向:中医睡眠及情志理论与实验研究,

电话:010-64287011 E-mail: luying840@sohu.com

(收稿日期:2012-02-14 接受日期:2012-03-08)

司);自制昼夜颠倒箱、开野箱;百忧解(20mg/片,9901C,美国礼来公司);倍美力结合雌激素片(0.625 mg/片,0903010,惠氏制药公司)

1.1.3 中药处方与制备 更逍遥冲剂由仙茅、仙灵脾、知母、黄柏、女贞子、旱莲草、夜交藤、柴胡、香附、佛手花、当归、赤芍、白芍等组成,使用江阴天江药业有限公司生产的免煎冲剂(生药含量 3g/mL)。

1.2 方法

1.2.1 造模 ①卵巢摘除术^[4]:各组大鼠常规喂养 1 周后,术前禁食 24 小时,第二日进行手术,将 B、C、D、E4 组大鼠,行卵巢摘除术,大鼠经水合氯醛(3mL/kg)腹腔注射麻醉后,腹位固定。于腋中线和距脊柱外侧 2cm 交叉处剪除长毛,常规消毒后,切开皮肤和背肌,用眼科镊夹卵巢,分离脂肪团,即可见黄红色的卵巢,将卵巢下输卵管及脂肪一并结扎,切除卵巢,将子宫角送回腹腔。同法摘除对侧卵巢。A 组也予开腹,但仅摘取卵巢旁少许脂肪组织。术后连续 5d,每日 1 次腹腔注射庆大霉素(2mL/kg)以防感染。②慢性不可预见应激^[5]:将 B、C、D、E 组大鼠,每笼 1 只饲养,共接受 21 天各种不同的应激,包括冰水游泳(4℃, 5min),热应激(45℃, 5min),水平振动 30min (160 次/min),夹尾(1min),禁水(24h),禁食(24h)和昼夜颠倒等刺激,上述种刺激每天随机安排 1 种,平均每种刺激各进行(2~3)次。

经过上述处理后的大鼠,术后 1 周阴道涂片,左手背位固定大鼠,右手持吸管,其内预先吸有生理盐水 0.1~0.2mL。轻轻插入大鼠阴道内 0.5~1.0cm,抽吸 2~3 次,滴 1 滴吸液于载玻片上。干后以 5%美蓝溶液染色 10min 后,用水冲洗多余染液。吹干后置于显微镜下进行细胞学检查。动情间期:见大量多核白细胞,少量上皮细胞。动情前期:见大量上皮细胞,胞浆呈粒状,少量角化(无核)上皮细胞,无白细胞。动情期:见大量角化上皮细胞,形状大而不规则,尚有少量上皮细胞。动情后期:见大量白细胞,尚有少量融合的角化上皮细胞。连续 5 天阴道监测未见动情周期证明去势成功。

1.2.2 给药 应激刺激的同时,开始给药,A、B 组蒸馏水灌胃,1 次/日,C、D 给予更逍遥冲剂,按人与大鼠间体表面积折算的等效剂量比率为 1:0.018 计算给药剂量。大鼠给药剂量为成人量的 18 倍,大剂量组按中剂量的 2 倍,E 组给予百忧解和倍美力结合雌激素片,百忧解混悬液用药量为 4mg/kg,1 次/d,倍美

力结合雌激素片用药剂量为 0.11mg/kg,连续 21d。

1.3 观察指标

1.3.1 开野实验(Open-Field) 参考文献^[6]采用敞箱为立柱体,高为 40cm,长宽各为 80cm,周壁为黑色,底面由面积相等的 25 块组成。以动物穿越地面块数为水平活动得分(crossing) 动物穿越 1 格为 1 次,如动物沿线行走,以每 10cm 为 1 次。以直立次数为垂直活动得分(rearing) 动物双足离开底面为标志,无论动物站立多长时间直至放下双足为 1 次活动。在实验的第 1,7,14,21d 分别进行测定。每只动物进行 1 次,每次时间为 3min。

1.3.2 强迫游泳实验 强迫游泳中不动时间测定根据文献^[7]的方法进行。于末次应激 24h 后,先进行适应性强迫游泳 15min,然后将大鼠放入内径 20cm、高 60cm 的圆形透明玻璃缸中,缸中加温度(25±1)℃的温水,深约 25cm,使大鼠在水中不能以后爪支撑身体、前爪攀附于缸壁,取出后用毛巾擦干放回笼中。每缸水仅使用 1 只大鼠。24h 后再同样将大鼠放入水中,累计记录 5min 内大鼠在水中停止挣扎、呈漂浮状态的时间。每只大鼠进行 1 次实验,由两人同时观察记录,取平均值作为各大鼠强迫游泳不动时间的数据。

1.3.3 大鼠通道式水迷宫实验 大鼠通道式水迷宫实验,参照张均田等报道的方法^[8-9]进行。于末次刺激后的第三天进行。通道式迷宫由黑色有机玻璃制成(2.1×1.7×0.6)m³水箱,水深 40cm,水温 22~25℃。共设 4 个盲端,终点有台阶,动物可通过台阶上岸躲避溺水威胁。各组动物依次进行水迷宫实验,第 1 天路径包括 2 个盲端,第 2 天有 3 个盲端,第 3,4,5 天均为 4 个盲端。每天训练 2 次,记录每只动物的游出时间(如果 120 秒内未上岸按 120 秒记录)及在游泳中进入盲端的次数(错误次数)。第 1、2 天为训练,后 3 天数据记为学习记忆成绩。

1.4 数据处理

实验数据采用均数±标准差($\bar{X} \pm S$)表示,计量资料的组间比较采用单因素方差分析,SPSS11.5 软件分析。

2 结果

2.1 各组大鼠 Open-Field 评分的比较

与 A 组相比,B 组水平积分、垂直积分均显著降低;与 B 相比,C、D、E 组水平积分、垂直积分显著增高,如表 1 所示。

表 1 各组大鼠 Open-Field 评分的比较

Table 1 Comparison of Open-Field Assessment in Rats of Various Groups

Group	n	Horizontal Integral	Vertical Integral
A	7	70.00± 9.02	14.18± 1.61
B	7	22.93± 5.50**	6.54± 0.83**
C	7	66.69± 9.23##	12.61± 1.16##
D	8	75.91± 10.97##	13.78± 0.94##
E	6	81.25± 6.88##	11.29± 0.93##

Note: In comparison with Group A. • P<0.05, ● P<0.01, #n comparison with Group B #P<0.05, ## P<0.01(same below).

2.2 各组大鼠强迫游泳不动时间的比较

与 A 组相比,B 组强迫游泳实验不动时间明显延长;与 B

相比,C、D、E 组强迫游泳实验不动时间明显缩短,如表 2 所示。

表 2 各组大鼠强迫游泳不动时间的比较
Table 2 Comparison of Fixed time of Forced swimming in Rats of Various Groups

Group	n	Fixed time
A	7	144.71± 21.45
B	7	255.57± 19.59**
C	7	151.29± 31.62##
D	8	148.38± 24.54##
E	6	169.00± 11.29##

Note : In comparison with Group A. ● P<0.05 ,●● P<0.01 ,In comparison with Group B #P<0.05 ## P<0.01(same below).

2.3 各组大鼠水迷宫学习记忆成绩的比较 与 B 相比 ,C、D、E 组游出迷宫时间明显缩短、错误次数显著减少 ,如表 3 所示。
与 A 组相比 ,B 组游出时间明显延长、错误次数显著增多 ;

表 3 各组大鼠水迷宫学习记忆成绩的比较
Table 3 Comparison of Fixed time of Forced swimming in Rats of Various Groups

Group	n	Swimming time	Vertical Integral
A	7	38.47± 12.29	4.11± 1.39
B	7	76.60± 7.41**	8.24± 0.86**
C	7	35.49± 8.19##	4.10± 1.19##
D	8	32.48± 10.10##	4.05± 1.07##
E	6	39.86± 10.01##	5.98± 0.68##

Note : In comparison with Group A. ● P<0.05 ,●● P<0.01 ,In comparison with Group B #P<0.05 ## P<0.01.

3 讨论

更年期抑郁症多发生在妇女生育旺盛的性成熟期向老年期过渡的这一阶段。据调查欧美等国本病的发病率为 20% ,而我国北京妇女更年期抑郁症的发病率为 36.1% ,且其发病率有逐年上升趋势^[10-12]。对于本病的治疗 ,国际上目前多主张雌激素替代疗法、雌孕激素序贯疗法及抗抑郁药的选择应用。一般传统的抗抑郁药可产生抗胆碱能、心血管和植物神经反应等不良反应 ,这些副作用严重影响了患者的依从性^[13]。而雌激素替代疗法 ,有潜在的致癌性 ,给临床应用带来了一定困难^[14]。

在中医学整体观念、辨证论治原则的指导之下 ,中医治疗更年期抑郁症具有自身特色 ,且疗效肯定^[15-16]。更年期抑郁症属中医学“脏躁”、“郁证”等病范畴 ,本病的发生与肝肾密切相关 ,《素问·上古天真论》曰 :“女子二七天癸至 ,任脉通 ,太冲脉盛 ,月事以时下 ,故有子 ;……七七任脉虚 ,太冲脉衰 ,天癸竭 ,地道不通 ,故形坏而无子”。说明妇女 49 岁左右 ,正是肾气渐虚 ,冲任功能渐衰的一个过渡时期 ,由于这种生理特点 ,于是就导致肾中的真阴真阳失调 ,肾为先天之本 ,肾虚则人体全身阴阳失衡 ,出现潮热汗出 ,心悸头晕 ,心烦失眠等更年期症候 ,肝藏血 ,主疏泄 ,调畅人的精神情志 ,肝肾乙癸同源 ,精血互生互化 ,肾水不足 ,则水不涵木 ,则失调达 ,肝气郁结 ,情绪低落 ,郁郁寡欢 ,郁而化火 ,肝火引动心火 ,导致心肝火上炎 ,扰动心神 ,则产生各种精神症状。所以 ,肾虚肝郁是更年期抑郁症的病机关键。

更逍遥冲剂以二仙汤和丹栀逍遥散加减而成 ,从调整人体

肝肾功能入手 ,方中仙茅、仙灵脾温肾阳 ,女贞子、旱莲草补肝肾之阴 ,黄柏、知母泻肾火、滋肾阴 ,当归温润养血 ,调理冲任 ;柴胡、香附、赤芍、佛手花疏肝理气 ,活血解郁 ,夜交藤养心安神 ,白芍则能柔肝养肝、补血敛阴。诸药共奏滋补肝肾 ,泻火安神之功 ,使机体处于阴阳平衡之态 ,以达到心身整体调治的目的。

开野实验是一种反应动物主动运动能力的行为学观察方法^[17]。本研究发现更逍遥冲剂能明显改善更年期抑郁症模型大鼠的行为学评分 ,在开野实验中 ,中药组大鼠的水平和垂直评分高于模型组 ;

慢性应激可导致动物行为活动减少^[18] ,强迫游泳实验是一种评价动物是否具有抑郁行为的重要指标 ,被广泛应用于抗抑郁药的研究^[19]。当大鼠被放进水里时 ,开始拼命游动力图逃脱 ,很快就变成不动状态 ,这是动物放弃逃跑 ,出现行为绝望的表现。在强迫游泳实验中 ,中药组大鼠不动时间较模型组显著减少 ,能够明显对抗行为绝望^[20]。

学习、记忆是脑的高级神经活动 ,即是认知活动的组成部分 ,也是重要的智力因素。学习是指接受外界环境的信息而影响自身行为的过程 ;而记忆是指对获得的信息在脑内进行储存、加工和提取的过程^[21]。本方还能改善更年期抑郁症模型大鼠的学习记忆能力 ,中药组大鼠游出迷宫的时间和错误次数都显著减少。从整体来看更逍遥冲剂能改善更年期抑郁症模型大鼠的行为学评分 ,以及对抗更年期抑郁症模型大鼠的学习记忆能力的衰退。

参考文献(References)

- [1] 曹瓚孙. 绝经妇女的病理生理变化 [J]. 中国实用妇科与产科杂志, 1999, 15(2):81
Cao Zan-sun. The pathological and physiological changes in postmenopausal women [J]. Chinese Journal of Practical Gynecology and Obstetrics, 1999, 15(2):81
- [2] 何敏蕙, 冯永林, 王政科, 等. 城市社区更年期居民抑郁、焦虑状况及影响因素 [J]. 中华精神科杂志, 1999, 4(32):22-23
He Min-hui, Feng Yong-lin, Wang Zheng-ke, et al. The status and influencing factors of city community climacteric residents in depression and anxiety. [J]. Chinese Journal of Psychiatry, 1999, 4(32):22-23
- [3] 卫生部继续医学教育委员会编. 女性生殖内分泌性激素补充疗法 [M]. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1999: 36
The Ministry of Health Continuing Medical Education Committee. Female reproductive endocrine hormone replacement therapy[M]. Beijing: Beijing Medical University Peking Union Medical College Press Association, 1999: 36
- [4] 董莉, 吕嵘, 洪岩, 等. 补肾解郁清心方对更年期抑郁症模型大鼠 HPO 轴及单胺类神经递质的影响 [J]. 上海中医药大学学报, 2003, 17(2): 38
Dong Li, Lv Rong, Hong Yan, et al. The prescription of reinforcing kidney and removing depression on climacteric depression HPO axis in a rat model and effects of monoamine neurotransmitters [J]. Acta universitatis traditionis medicalis sinensis pharmacologiaeque shanghai, 2003, 17(2): 38
- [5] 金光亮, 南睿, 郭霞珍. 慢性应激肝郁证大鼠模型的建立 [J]. 北京中医药大学学报, 2003, 26(2): 18-21
Jin Guang-liang, Nan Rui, Guo Xia-zhen. Establishment of the Rat Model of Liver-Depression Syndrome by Chronic Stress [J]. Journal of Beijing university of additional Chinese medicine, 2003, 26(2): 18-21
- [6] 阳仁达, 严洁, 易受乡, 等. 从穴位注射的药效作用探讨经穴脏腑的相关性 [J]. 湖南中医学院学报, 1995, 15 (4): 57
Yang Ren-da, Yan Jie, Yi Shou-xiang, et al. Discuss the correlation of acupoints viscera from the effect of acupoint injection [J]. Journal of Hunan University of Chinese Medicine, 1995, 15 (4): 57
- [7] 赵志宇, 王卫星, 郭洪祝, 等. 甘草苷对慢性应激抑郁模型大鼠的抗抑郁作用 [J]. 中国临床康复, 2006, 10(27):69-72
Zhao Zhi-yu, Wang Wei-xing, Guo Hong-zhu, et al. The antidepressant effects of Licorice glycoside on chronic stress rat model of depression [J]. Chinese Journal of clinical rehabilitation, 2006, 10(27):69-72
- [8] 张均田, 石成璋, 梅保幸, 等. “水迷宫”自动控制仪的研制及在神经药理研究中的应用 [J]. 药物分析杂志, 1991, 11:23-26
Zhang Jun-tian, Shi Cheng-zhang, Mei Bao-xing, et al. "Water maze" automatic control instrument and its application in pharmacological studies on Neural [J]. Chinese Journal of pharmaceutical analysis, 2006, 10(27):69-72
- [9] 穆俊霞, 李新毅. 聪脑汤对 AD 大鼠学习记忆和胆碱酯酶活性的影响 [J]. 山西中医学院学报, 2006, 7(1):22
Mu Jun-xia, Li Xin-yi. Smart brain Decoction on AD rats on learning and memory and cholinesterase activity [J]. Journal of Shanxi University of Traditional Chinese medicine, 2006, 7(1):22
- [10] Castelli MP, Ingianni A, Stefanini E, et al. Distribution of GABABmRNAs in the rat brain and peripheral organs [J]. Life Sciences, 1999, 15:1321-1328
- [11] 张艳美. 抑郁症与细胞因子 [J]. 国外医学·精神病学分册, 2000, 27 (2):122-124
Zhang Yan-mei. Cytokine and depression [J]. Foreign Medical Sciences·Section of Psychiatry, 2000, 27(2):122-124
- [12] Meston CM, Frohlich PF [J]. Arch Gen Psychiatry, 2000, 57:1012-1030
- [13] Rampello L, BattagliaG, Raffaele Retal. Is it safe to use antidepressants after stroke? [J]. Expert Opin Drug Saf, 2005, 4 (5): 885-897
- [14] 杨权. 下丘脑垂体肾上腺轴应急反应的中枢控制 [J]. 生理科学进展, 2002, 31(3):222-224
Yang Quan. Hypothalamic pituitary adrenal axis emergency response in the central control [J]. Progress in Physiological Sciences, 2002, 31 (3):222-224
- [15] 张兰柱, 张宝忠. 浅谈更年期忧郁症的辨证治疗 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2001, 7(7): 53-54
Zhang Lan-zhu, Zhang Bao-zhong. Discussion on the differentiation and treatment of the climacteric melancholia [J]. Chinese Journal of basic medicine in traditional Chinese medicine, 2001, 7(7): 53-54
- [16] 李健美. 更年期郁证的辨治体会 [J]. 南京中医学院学报, 1994, 10 (2):50
Li Jian-mei. Syndrome differentiation and treatment of climacteric depression syndrome [J]. Nanjing College of traditional Chinese Medicine, 1994, 10(2):50
- [17] 韩要武, 赵乐章, 刘巧琼, 等. 条件恐惧训练对 F344 大鼠行为活动的影响 [J]. 中国行为医学科学, 2004, 13: 622-623
Han Yao-wu, Zhao Le-zhang, Liu Qiao-qiong, et al. The effect of conditioned fear training on behavioral activity in F344 rats [J]. Chinese Journal of Behavioral Medical Science, 2004, 13: 622-623
- [18] 严进, 路长林, 汤淑萍, 等. CNTF 对应激大鼠行为障碍和海马 CA1 神经元损害的作用 [J]. 心理学报, 2000, 32 (2):210-216
Yan Jin, Lu Chang-lin, Tang Shu-ping, et al. The effect of CNTF on stressed rat behavior disorder and hippocampal CA1 neurons damage [J]. Journal of Psychology, 2000, 32 (2):210-216
- [19] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学 [M]. 第三版, 北京: 人民卫生出版社, 2002: 80
Xu Shu-yun, Bian Ru-lian, Chen Xiu. Methodology of pharmacological experiment [M]. Third edition, Beijing: People's Medical Publishing House, 2002: 80
- [20] West CH, Weiss JM. Effects of antidepressant drugs on rats bred for low activity in the swim test [J]. Pharmacology Biochemistry Behavior, 1998, 61:67-79
- [21] 胡镜清, 温泽淮, 赖世隆. Morris 水迷宫检测的记忆属性与方法学初探 [J]. 广州中医药大学学报, 2000, 17: 117-119
Hu Jing-qing, Wen Ze-huai, Lai Shi-long. The discussion of test memory property and methodology of Morris water maze [J]. Journal of Guangzhou University of Chinese Medicine, 2000, 17: 117-119