

· 方药研究 ·

涤痰开窍汤对脑卒中后抑郁大鼠行为能力及脑内神经递质的影响

裘 涛 陈 眉 代建峰 吴乐程 张宾辉

(浙江省中医院神经内科, 杭州市邮电路54号, 310006)

[摘要] **目的** 探讨涤痰开窍汤对脑卒中后抑郁(PSD)模型大鼠行为能力及脑内神经递质的影响。**方法** 采用双侧颈总动脉永久性结扎后予以行为限制制备 PSD 大鼠模型, 随机分为模型组、涤痰开窍组、氟西汀组, 并设假手术组, 采用 RP-HPLC-荧光检测法测定大鼠海马区单胺类神经递质的变化, 并观察大鼠自发性行为改变。**结果** 模型组大鼠行为能力下降($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 海马区5-羟色胺、5-羟基吲哚乙酸、多巴胺、去甲肾上腺素水平下调($P < 0.05$)。经盐酸氟西汀、涤痰开窍汤治疗后大鼠的水平活动、垂直活动及清洁活动均较模型组改善, 脑内单胺类神经递质水平提高($P < 0.05$)。**结论** 大鼠双侧颈总动脉永久性结扎结合行为限制可为卒中后抑郁的实验及临床研究提供较为理想的动物模型。涤痰开窍汤可以改善脑卒中后抑郁大鼠的行为能力及脑内单胺类神经递质水平。

[关键词] 涤痰开窍汤; 脑卒中后抑郁; 行为能力; 神经递质

Effect of Ditan Kaiqiao Decoction on the Behavioral Ability and Intracerebral Neurotransmitter of Rats with Post-Stroke Depression
QIU Tao, CHEN Mei, DAI Jian-feng, et al.

(Neurology Department, Zhejiang Provincial Hospital of Chinese Medicine, Hangzhou 310006)

ABSTRACT **Objective** To study the effect of Ditan Kaiqiao Decoction on the behavioral ability and intracerebral neurotransmitter of rats with post-stroke depression(PSD). **Methods** After the permanent ligation of bilateral common carotid arteries was performed, the behavioral limitation was applied to make PSD model rat and they were randomized into Model group, Ditan Kaiqiao group, Fluoxetine group and Pseudooperation group. The changes of monoamine neurotransmitter of hippocampal region were tested by RP-HPLC fluoroscopic examination and the autonomy behavioral changes were observed. **Results** The behavioral ability of Model group decreased ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). 5-HT, 5-HIAA, DA and NE of hippocampal region were lowered ($P < 0.05$). With the treatment of fluoxetine hydrochloride and Ditan Kaiqiao Decoction, the horizontal movement, vertical movement and clean movement of rats were improved in comparison with Model group, while the intracerebral monoamine neurotransmitter increased ($P < 0.05$). **Conclusion** The permanent ligation of bilateral common carotid artery in combination of behavioral limitation could provide the ideal animal models for experiment and clinical study of PSD. Ditan Kaiqiao Decoction could improve the behavioral ability and intracerebral neurotransmitter of PSD rats.

Key Words Ditan Kaiqiao Decoction; Post-stroke depression; Behavioral ability; neurotransmitter

随着社会老龄化的加剧, 脑卒中已成为老年人致死和致残的主要原因之一, 脑卒中后患者出现不同程度的抑郁状态如持续2周以上则被称为脑卒中后抑郁(PSD)^[1]。为探讨中医药治疗 PSD 的疗效和机理, 我们观察了涤痰开窍汤对 PSD 大鼠模型行为能力及脑内神经递质水平的影响, 现报告如下。

1 材料

1.1 动物

清洁级健康成年雄性 SD 大鼠 40 只, 鼠龄 12~15 个月, 体重(320±30)g, 由浙江中医药大学动物中心提供。饲养期间给予大鼠标准颗粒饲料及纯净饮水。

1.2 药物

涤痰开窍汤组成: 半夏 15g, 胆南星 10g, 石菖蒲 10g, 远志 10g, 制成水提浓缩剂, 浓度为每毫升含生药 5.87g, 由浙江省中医院中药制剂室提供。阳性对照药盐酸氟西汀胶囊由美国 Lilly 公司生产, 20mg/粒。

1.3 试剂

盐酸去甲肾上腺素(L-NE)、多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)硫酸肌酐、5-羟基吲哚乙酸(5-HIAA), 均为 SIGMA 公司产品; 甲醇为色谱纯; 其他试剂均为分析纯; 水为4次蒸馏水。

1.4 仪器

VARIAN 高效液相色谱仪(包括 Prostar 230 三元梯度泵、Prostar 410 自动进样器、Prostar 363 荧光检测

器、star800数据采集器) 为美国瓦里安公司产品。

2 方法

2.1 脑缺血大鼠模型的制备

参照刘汇波等^[1]的造模法制备, 大鼠用10%水合氯醛腹腔注射(3ml/kg 体重), 麻醉后仰卧固定四肢与头部, 颈正中去毛, 酒精消毒后行正中切开, 仔细分离肌肉, 找出双侧颈总动脉, 并小心分离迷走神经, 用9号丝线永久性结扎颈总动脉, 缝合切口, 假手术组仅做颈正中切口即予缝合。手术后每天用青霉素4万单位腹腔注射以抗感染, 连用3天。

2.2 PSD 大鼠模型的制备

将成功制成脑缺血模型的大鼠按 Kennett 等^[2]的方法, 每日10:00~16:00期间将大鼠限制在特制的观察笼中, 予以2小时的行为限制, 连续7日。

2.3 实验动物分组

将造模后存活的大鼠随机分为模型组6只、涤痰开窍组9只、氟西汀组9只, 并设假手术组8只。假手术组、模型组均每天给予生理盐水灌胃, 每次3ml; 涤痰开窍组每天给予涤痰开窍汤灌胃, 按生药0.75g/100g 体重给药; 氟西汀组每天给予盐酸氟西汀水溶液灌胃, 按0.21mg/100g 体重给药。动物造模后第2天开始给药, 每日1次, 连续28日。

2.4 行为学指标测定

在大鼠造模后及用药后进行敞箱试验, 本实验所用敞箱为圆柱形, 高40cm, 直径80cm, 周壁为黑色, 底面按扇形分成面积相等的25块。以动物穿越底面块数为水平活动得分, 动物一般靠边行走, 穿越1格为1次, 如动物按直径方向行走, 一般以每10cm 为1次, 以直立次数为垂直活动得分, 动物双足离开底面垂直活动, 无论动物站立多长时间直至动物双足放下为1次活动。彻底清洁敞箱后再进行下一只大鼠测定, 每次测定时间为5分钟。

2.5 RP-HPLC-荧光检测法测定大鼠脑组织4种神经递质的含量

最后一次行为学检测后断头处死大鼠。取海马组织并称重。置入1ml 玻璃组织匀浆器中, 加入预冷的0.1%高氯酸400 μ l, 在冰浴下上下转动8分钟, 充分研

磨使组织匀浆化后, 将组织匀浆液倒入离心管内, 置4℃离心机内以10000转/分钟离心15分钟, 吸取上清液, 用0.1%高氯酸溶液定容至0.5ml。取处理好的样品溶液, 按上述方法操作, 取20 μ l 进样分析, 根据峰面积按回归方程计算4种神经递质的含量。

2.6 统计学方法

采用 SPSS 11.0统计软件包处理, 计量资料采用 *F* 检验, 两两比较用 *q* 检验。

3 结果

3.1 各组大鼠脑组织海马区单胺类神经递质含量变化比较

表1示, 与假手术组比较, 模型组大鼠的去甲肾上腺素(NE)、DA、5-HT、5-HIAA 含量均显著下降($P < 0.01$)。与模型组比较, 氟西汀组大鼠的5-HT 和5-HIAA 水平明显上升($P < 0.05$), 涤痰开窍组大鼠的NE、5-HT 水平明显上升($P < 0.05$)。

表1 各组大鼠脑组织海马单胺类神经递质含量变化比较(μ g/g, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	NE	DA	5-HT	5-HIAA
模型组	6	0.39 $\pm$ 0.11 Δ	1.01 $\pm$ 0.78 Δ	0.44 $\pm$ 0.15 Δ	0.35 $\pm$ 0.18 Δ
涤痰开窍组	9	0.61 $\pm$ 0.14 $\blacktriangle$	1.45 $\pm$ 0.51	0.66 $\pm$ 0.17 $\blacktriangle$	0.49 $\pm$ 0.20 $\blacktriangle$
氟西汀组	9	0.51 $\pm$ 0.17	1.49 $\pm$ 0.78	0.72 $\pm$ 0.16 $\blacktriangle$	0.58 $\pm$ 0.19 $\blacktriangle$
假手术组	8	0.71 $\pm$ 0.32	2.09 $\pm$ 0.76	0.70 $\pm$ 0.19	0.60 $\pm$ 0.15

与假手术组比较, $\Delta P < 0.01$; 与模型组比较, $\blacktriangle P < 0.05$

3.2 大鼠行为学表现变化比较

表2示, 与假手术组比较, 造模后大鼠的水平运动、垂直运动、清洁动作次数明显减少, 中央格停留时间显著增加($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 粪便粒数差异无显著性意义($P > 0.05$)。而用盐酸氟西汀、涤痰开窍汤治疗后大鼠的水平活动、垂直活动及清洁活动均较模型组有明显改善($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。

4 讨论

应激可以引起人及动物的抑郁, 可以造成抑郁模型的应激包括行为绝望、慢性不可预见性应激(如强烈噪音、昼夜节律的改变等)、孤养或分养模型、药理学模型、脑损伤模型如切除双侧嗅结节等^[3]。

PSD大鼠模型的建立不同于内源性抑郁动物模

表2 各组大鼠行为学表现变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数(只)	水平运动(次)	垂直运动(次)	清洁动作(次)	中央格停留时间(秒)	粪便数(粒)
模型组	6	25.00 $\pm$ 9.76 $\Delta\Delta$	13.33 $\pm$ 4.13 $\Delta\Delta$	1.00 $\pm$ 0.89 $\Delta\Delta$	5.33 $\pm$ 4.59 Δ	1.50 $\pm$ 1.98
涤痰开窍组	9	43.00 $\pm$ 15.26 $\Delta\Delta\blacktriangle$	32.00 $\pm$ 15.59 $\blacktriangle$	3.67 $\pm$ 2.55 $\blacktriangle$	2.00 $\pm$ 4.00	0.56 $\pm$ 0.88
氟西汀组	9	56.22 $\pm$ 30.17 $\Delta\Delta\blacktriangle$	32.33 $\pm$ 15.74 $\blacktriangle\blacktriangle$	4.56 $\pm$ 1.94 $\blacktriangle\blacktriangle$	1.89 $\pm$ 3.26	2.22 $\pm$ 1.48 Δ
假手术组	8	97.23 $\pm$ 7.23	55.88 $\pm$ 14.22	8.50 $\pm$ 1.20	0.25 $\pm$ 0.71	0.63 $\pm$ 1.19

与假手术组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与模型组比较, $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$

型,必须具备与卒中相类似的脑血管病理基础,同时有较好的模拟抑郁症的临床表现。本模型采用双侧颈总动脉永久性结扎后予以一段时间的行为限制,导致全脑不完全性缺血(慢性低灌注),脑血管的病理改变和临床脑卒中的病理基础接近,造成脑缺血状态后予以应激压力,较好地模拟了 PSD 的病理状态。

敞箱试验的水平运动反映了大鼠的运动活动性水平,垂直运动反映了动物对新鲜环境的好奇程度,即兴趣的高低,清洁动作次数的减少则反映了动物对周围环境的要求和对自身关注的下降,中央格停留时间的长短则反映了大鼠启动活动的潜伏期;而排便次数则反映了大鼠的紧张状态。中枢单胺类神经递质系统功能紊乱仍是抑郁症生物学发病机制中最重要的假说。研究显示^[4,5],脑卒中后抑郁的发生与神经递质缺乏有关。实验结果显示,双侧颈总动脉结扎结合行为限制的 PSD 大鼠模型与正常大鼠相比自发行为减少,大鼠脑海马区 5-HT、NE 水平明显下降,表现出的抑郁状态、活动能力下降、兴趣丧失与 PSD 临床表现中的精神抑制症状极为相似。

涤痰开窍汤方中半夏具有降逆止呕、燥湿化痰、和胃安神、宽中消痞、排脓消痈等作用。现代研究表明,半夏具有降低全血黏度,明显抑制红细胞聚集和提高红细胞的变形能力等作用^[6]。胆南星清化热痰,熄风止痉,治痰功宏。石菖蒲含挥发油、黄酮类、糖类、氨基酸等成分;其味辛能开窍宁神,性温可化湿豁痰;有研

究^[7]证实其具有胆碱能样效应,可改善脑内 5-HT 水平。远志味辛,苦泄温通,能助心阳,益心气,又能使肾气上交于心,故有安神益智、解郁化痰等作用。经治疗后,大鼠脑海马区 5-HT、NE 浓度较模型组有所上升,行为学表现明显改善,从而改善抑郁状态,为探讨中医药治疗 PSD 的疗效和机理,进一步开发治疗 PSD 的新药提供了一定的科学依据。

参考文献

- [1]刘汇波,叶翠飞,李斌,等.双侧颈总动脉结扎对大鼠学习记忆功能和海马组织形态学的影响.基础医学与临床,1998,18(4):54~57.
- [2]Kennett GA, Chaouloff F, Marcou M, et al. Female rats are more vulnerable than males in an animal model of depression: the possible role of serotonin. Brain Res, 1986, 382(2):416~421.
- [3]沈渔邨.精神病学.4版.北京:人民卫生出版社,2001:434~436.
- [4]Starkstein SE, Robinson RG, Price TR. Comparison of cortical and subcortical lesions in the production of post stroke mood disorders. Brain, 1987, 110(Pt4):1045~1059.
- [5]许晶,孙玉华.急性脑卒中后抑郁血清单胺类递质的变化.中国康复理论与实践,2003,9(3):153~155.
- [6]蒋文跃,杨宇,李燕燕.化痰药半夏、瓜蒌、浙贝母、石菖蒲对大鼠血液流变性的影响.中医杂志,2002,43(3):215.
- [7]李明亚,陈红梅.石菖蒲对行为绝望动物抑郁模型的抗抑郁作用.中药材,2001,24(1):40~41.

(收稿日期:2006-05-08;修回日期:2006-10-17)

中医杂志社北京医海林音像书店销售各种医学音像制品

计算机光盘(CD-ROM)

针灸治疗大师——贺普仁,国医圣手杂症克星——路志正,疝病研究第一人——焦树德,肝病研究大家——关幼波,中西医眼科开拓者——唐由之,以上每盘均为 80 元
常用中成药,中药炮制学,常用中药真伪鉴别,头针,中医舌诊,ECG 心电图快易通,超声检查的临床应用,临床常用诊断技术,泌尿男性生殖系统外科检查和诊断,常用产科技产手术操作,妇科常用检查及治疗基本操作,小儿水、电解质和酸碱平衡紊乱,血液一般检查,心肺脑复苏,以上每盘均为 100 元
经络腧穴学(英汉对照)89 元,脏腑辨证 160 元

VCD

1. 诊断学

肺功能检查,肝、胆、胰病的影像诊断,脊柱与四肢体格检查,肾功能检查,以上每盘均为 38 元
全身体格检查,骨关节疾病的影像诊断,神经系统阳性体征,心脏体格检查,中枢神经系统影像诊断,中枢神经系统疾病的 CT 诊断,中枢神经系统疾病的 MRI 诊断,神经系统检查法——运动功能,神经系统检查法——感觉功能,泌尿系统疾病的超声诊断,胰腺及脾脏疾病的超声诊断,肝脏疾病的超声诊断,胆道疾病的超声诊断,以上每盘均为 48 元
心电图检查(上、下),呼吸系统疾病的 X 线诊断,

以上每盘均为 96 元

2. 中医基础

阴阳,五行,六淫,金匱要略(脏腑篇),金匱要略(妇人篇),舌下络脉诊法,脉诊,舌诊,七情,藏象,八纲辨证,以上每盘均为 50 元

中医舌诊 48 元

3. 中医美容系列:

针灸推拿面部美容法 50 元 针灸美容 45 元
皮肤医学美容常识 35 元
损容性皮肤病的治疗 35 元
常用面部皮肤护理程序 35 元

4 解剖学

中枢神经系统解剖脑中枢系统解剖,脊神经系统解剖,呼吸系统解剖,运动系统解剖(骨关节),运动系统解剖(肌肉),心血管系统解剖,感觉器解剖,消化系统解剖,四肢断肢解剖,腹部断层解剖,纵隔的断层解剖,脊柱区断层解剖,女性盆部断层解剖,生殖系统解剖,男性盆部断层解剖,泌尿系统解剖,以上每盘均为 48 元
淋巴系统解剖 38 元,断层解剖 50 元

5. 中国针灸学系列

导论,经络,腧穴(一),腧穴(二),腧穴(三),刺法(一),刺法(二),灸法,内科证治(一),内科证治(二),内科证治(三),内科证治(四),妇儿科证治,外伤及皮肤科证治,五官科及其他证治,奇经八脉,一、二、三、四海,腧穴(续),慎针穴位的解剖,古典针法,针刺

补泻手法,耳穴的诊断与治疗,眼科疗法,颞三针和围针法,醒脑开窍法,温针灸和隔药饼灸,穴位敷贴疗法,肩痹症和延髓麻痹,类风湿关节炎,心悸心痹,以上每盘均为 40 元

6. 中国肛肠病学

总论,痔,肛裂,肛痿,肛周脓肿,以上每盘均为 50 元

7 四大经典及四大基础系列:

四大经典:内经、伤寒论、金匱要略、温病学 VCD 光盘全套特价 2300 元
四大基础课:中医基础理论、中医诊断学、中药学、方剂学 VCD 光盘全套特价 2300 元

以上音像制品一律免邮资。

欲购者汇款地址:北京东直门内南小街 16 号

中医杂志社

收款人:北京医海林音像书店

邮编:100700

购买地址:北京东直门内南小街 16 号中国

医学院

大楼 1 楼 135 房间(周六、日休息)

开户行:北京工商银行北新桥分理处

户名:北京医海林音像书店

帐号:04309006536006

电话:(010)64035632

传真:(010)64050201. <http://www.cnki.net>

请在汇款附言处写清所购名称、数量。