

石菖蒲对抑郁大鼠脑内神经递质含量及行为学的影响

付佳, 荀晨曦, 李爽, 官杰

基金项目: 黑龙江省大学生创新创业训练计划项目(编号:201911230005)

作者单位: 161000 黑龙江, 齐齐哈尔医学院精神卫生学院(付佳, 荀晨曦, 李爽), 医学技术学院(官杰)

作者简介: 付佳(1999-), 女, 在读大学本科, 研究方向: 抑郁症及其治疗。E-mail: 3128135968@qq.com

通信作者: 官杰(1967-), 女, 医学硕士, 教授, 硕士研究生导师, 研究方向: 肿瘤免疫学基础研究。E-mail: guanjie1225@163.com

[摘要] **目的** 探讨石菖蒲对抑郁大鼠脑内神经递质含量及行为学的影响。**方法** 将30只SD大鼠随机分为空白组、模型组、氟西汀组[1.8 mg/(kg·d)]、石菖蒲低剂量组[5 ml/(kg·d)]、石菖蒲中剂量组[10 ml/(kg·d)]和石菖蒲高剂量组[20 ml/(kg·d)], 每组5只。除空白组外, 其余5组予以慢性、不可预见的温和刺激(CUMS)建造抑郁大鼠模型。通过强迫游泳试验(FST)、旷场试验(OFT)、高架十字迷宫试验(EPM)比较各组抑郁症状情况。比较各组大鼠脑组织多巴胺(DA)和5-羟色胺(5-HT)水平。**结果** 行为学实验结果显示, 模型组游泳不动时间高于空白组, OFT得分、开放臂停留时间(OT)/两臂停留总时间(TT)低于空白组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。模型组脑组织DA、5-HT水平显著低于空白组($P < 0.05$)。石菖蒲高剂量组、石菖蒲中剂量组、石菖蒲低剂量组、氟西汀组OFT得分、游泳不动时间、OT/TT较模型组改善, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。随着石菖蒲剂量的升高, 大鼠脑组织DA、5-HT水平均呈上升趋势。石菖蒲高剂量组和氟西汀组脑组织DA、5-HT水平均显著高于模型组($P < 0.05$), 而与空白组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 石菖蒲通过提高脑组织中的神经递质水平发挥抗抑郁作用。

[关键词] 石菖蒲; 抑郁症; 神经递质; 行为学

[中图分类号] R 749.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2021)12-1196-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2021.12.07

Effects of Acorus calamus on neurotransmitter content in the brain of depression rats and their ethology FU Jia, XUN Chen-xi, LI Shuang, et al. School of Mental Health, Qiqihar Medical College, Heilongjiang 161000, China

[Abstract] **Objective** To explore the effects of Acorus calamus on neurotransmitter content in the brain of depression rats and their ethology. **Methods** Thirty Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into blank group, model group, fluoxetine group[1.8 mg/(kg·d)], Acorus calamus low-dose group[5 ml/(kg·d)], Acorus calamus middle-dose group[10 ml/(kg·d)] and Acorus calamus high-dose group[20 ml/(kg·d)], with 5 rats in each group. Except for the blank group, the other 5 groups were given chronic unpredictable mild stress(CUMS) to establish depression rat models. Forced swimming test(FST), open field test(OFT) and elevated plus-maze test(EPM) were used to compare the depressive symptoms among the 6 groups. The levels of dopamine(DA) and 5-hydroxytryptamine(5-HT) in brain tissues of rats were compared among the 6 groups. **Results** The results of behavioral experiments showed that swimming immobility time of the model group was longer than that of the blank group, and that the OFT score and open-arm time(OT)/total time(TT) of the model group were lower than those of the blank group, and the differences were statistically significant($P < 0.05$). The levels of DA and 5-HT in brain tissues in the model group were significantly lower than those in the blank group($P < 0.05$). The OFT score, swimming immobility time and OT/TT in the Acorus calamus high-dose group, Acorus calamus middle-dose group, Acorus calamus low-dose group, and the fluoxetine group improved compared with those in the model group, and the differences were statistically significant($P < 0.05$). With the increase of the dose of Acorus calamus, the levels of DA and 5-HT in brain tissues of rats showed an upward trend.

The levels of DA and 5-HT in brain tissues in the Acorus calamus high-dose group and the fluoxetine group were significantly higher than those in the model group ($P < 0.05$). However, compared with those in the blank group, the levels of DA and 5-HT in the Acorus calamus high-dose group and the fluoxetine group were not significantly different ($P > 0.05$). **Conclusion** Acorus calamus exerts an antidepressant effect by increasing the level of neurotransmitters in the brain tissues.

[**Key words**] Acorus calamus; Depression; Neurotransmitter; Ethology

抑郁症作为精神科常见疾病之一,是一种以持久的低落心态为主的情感综合障碍。目前西药是治疗的首选,但服药持续时间较长^[1-3]。近年来,临床研究也证实了以中药为基础的治疗方案对抑郁症的有效性^[4]。石菖蒲主要含有挥发油、氨基酸、有机酸和糖等成分,具有暖胃祛湿等功效,可用于治疗脑部疾病,抗抑郁作用效果明显,但目前对其具体机制尚不明确^[5]。本研究观察不同剂量石菖蒲干预对抑郁大鼠的行为表现及神经递质变化情况,探讨石菖蒲抗抑郁作用的机制,为新型抗抑郁药物的研发提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选取同批次健康成年雄性 SD 大鼠 30 只,体重 180 ~ 220 g,由齐齐哈尔医学院动物实验中心提供[实验动物使用许可证:SYXK(黑)2018-017]。

1.2 实验试剂 石菖蒲中药原料购自齐齐哈尔医药商厦。石菖蒲水提取液制备:将石菖蒲与同等质量的水进行熬制 30 min,过滤。盐酸氟西汀分散片(礼来苏州制药有限公司,批号 8376A)。生理盐水购自东莞市悦润生物科技有限公司。

1.3 实验方法

1.3.1 抑郁大鼠造模^[6-9] 将大鼠随机分为空白组、模型组、氟西汀组、石菖蒲低剂量组、石菖蒲中剂量组和石菖蒲高剂量组,每组 5 只,单独饲养。除空白组外,其余 5 组予以慢性、不可预见的温和刺激(chronic unpredictable mild stress, CUMS),持续干预 21 d,包括以下 6 种刺激:(1)禁食、禁水 20 h;(2)倾斜鼠笼(45°)17 h;(3)湿笼,将大鼠浸入含有 100 g 锯屑、200 ml 水的笼中 21 h;(4)4 ℃ 游泳 5 min;(5)水平摇晃鼠笼 5 min;(6)限制行为,把大鼠放入自制的束缚器中 4 h。每天随机予以其中一种刺激。以上刺激实验以不影响大鼠正常昼夜活动节律、使大鼠无损伤为前提,以不产生压迫感、不影响呼吸和排泄为度。最终以强迫游泳试验(forced swimming test, FST)、旷场试验(open field test, OFT)、高架十字迷宫试验(elevated plus-maze test, EPM)等行为学实验指标满足大鼠抑郁表现判定大鼠抑郁造模成功。期间无大鼠死亡。

1.3.2 药物干预方法^[10] 于每天 CUMS 干预 1 h 后予以药物干预。石菖蒲低剂量组、石菖蒲中剂量组和石菖蒲高剂量组分别予以 5 ml/(kg·d)、10 ml/(kg·d)和 20 ml/(kg·d)石菖蒲水提取液灌胃。氟西汀组予以 1.8 mg/(kg·d)氟西汀水溶液灌胃。空白组和模型组予以 10 ml/(kg·d)生理盐水灌胃。各组药物干预均为 1 次/d,连续干预 21 d。

1.4 行为学实验

1.4.1 OFT^[11-12] 于大鼠抑郁模型建立 21 d 后进行 OFT。实验装置是一个开放的空间(100 cm × 100 cm × 40 cm),四壁黑色。将大鼠置于开放室中央,以大鼠 5 min 内穿过广场的次数记作水平活动分数,以大鼠 5 min 内前肢离地的次数记作垂直活动分数。水平分数与垂直分数之和即为 OFT 得分。

1.4.2 FST^[13-14] 于 OFT 结束 3 d 后进行 FST。将安静状态下的大鼠放入已经连接好的圆柱水缸中,强迫其在 25 ℃ 的水中持续游泳 15 min。结束后,用毛巾擦干大鼠鼠毛,必要时用吹风机吹干,放回鼠笼。24 h 后,再次将大鼠置入水缸中 5 min,记录 5 min 内大鼠的不动时间(单位:s)。

1.4.3 EPM^[15] 于 FST 结束 3 d 后进行 EPM。将大鼠放入中央平台(面朝闭合臂),5 min 后记录各项指标:开放臂停留时间(open-arm time, OT)、闭合臂停留时间(close-arm time, CT)。两臂停留总时间(total time, TT) = OT + CT。本研究以 OT/TT 作为 EPM 结果进行记录。

1.5 神经递质水平检测^[16] 在完成行为学实验后将大鼠断头处死,在冰上剥离全脑,取前额叶、海马组织和纹状体,用预冷的生理盐水洗净置于 EP 管。分别向组织加入适量的生理盐水捣碎,以 3 000 r/min 离心 10 min,取上清液, -80 ℃ 保存备检。检测时室温解冻,采用酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法进行多巴胺(dopamine, DA)、5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)检测,试剂盒购自厦门慧嘉生物科技有限公司。操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.6 统计学方法 应用 SPSS26.0 统计软件进行数据分析。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多

组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠行为学实验结果比较 模型组游泳不动时间高于空白组, OFT 得分、OT/TT 低于空白组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 提示大鼠抑郁模型建立成功。随着石菖蒲剂量的升高, 大鼠 OFT 得分、OT/TT 呈上升趋势, 游泳不动时间呈下降趋势, 石菖蒲高、中、低剂量组与模型组比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。石菖蒲高剂量组 OFT 得分、游泳不动时间、OT/TT 与氟西汀组比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 各组大鼠行为学实验结果比较 [$n = 5, (\bar{x} \pm s)$]

组别	OFT 得分(分)	游泳不动时间(s)	OT/TT
石菖蒲高剂量组	110.90 ± 6.21	53.68 ± 3.37	57.03 ± 2.13
石菖蒲中剂量组	102.20 ± 4.40	55.33 ± 8.04	49.24 ± 2.28 ^a
石菖蒲低剂量组	98.47 ± 4.91 ^a	58.74 ± 6.40	46.57 ± 1.75 ^{ad}
氟西汀组	113.30 ± 4.70 ^{bc}	55.07 ± 5.13	57.68 ± 2.54 ^{bc}
模型组	59.01 ± 7.11 ^{abcd}	81.77 ± 5.78 ^{abcd}	24.18 ± 1.83 ^{abcd}
空白组	118.20 ± 4.78 ^{bc*}	35.63 ± 6.02 ^{abcd*}	64.79 ± 1.61 ^{abcd*}
<i>F</i>	78.313	30.724	240.000
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000

注:与石菖蒲高剂量组比较,^a $P < 0.05$;与石菖蒲中剂量组比较,^b $P < 0.05$;与石菖蒲低剂量组比较,^c $P < 0.05$;与氟西汀组比较,^d $P < 0.05$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$

2.2 各组大鼠脑组织 DA、5-HT 比较 模型组脑组织 DA、5-HT 水平均低于空白组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。随着石菖蒲剂量的升高, 大鼠脑组织 DA、5-HT 水平均呈上升趋势。石菖蒲高剂量组和氟西汀组脑组织 DA、5-HT 水平均高于模型组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 而与空白组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。石菖蒲高剂量组和氟西汀组脑组织 DA、5-HT 水平比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠脑组织 DA、5-HT 比较 [$n = 5, (\bar{x} \pm s)$]

组别	DA (pg/ml)	5-HT (pg/ml)
石菖蒲高剂量组	276.34 ± 18.97	108.63 ± 7.28
石菖蒲中剂量组	237.25 ± 24.08	83.24 ± 8.54 ^a
石菖蒲低剂量组	221.30 ± 18.15 ^a	79.34 ± 6.89 ^a
氟西汀组	293.91 ± 20.06 ^{bc}	105.12 ± 7.76 ^{bc}
模型组	206.61 ± 35.18 ^{ad}	73.14 ± 5.80 ^{ad}
空白组	315.95 ± 31.52 ^{bc*}	117.87 ± 10.04 ^{bc*}
<i>F</i>	14.450	27.251
<i>P</i>	0.000	0.000

注:与石菖蒲高剂量组比较,^a $P < 0.05$;与石菖蒲中剂量组比较,^b $P < 0.05$;与石菖蒲低剂量组比较,^c $P < 0.05$;与氟西汀组比较,^d $P < 0.05$;与模型组比较,^{*} $P < 0.05$

3 讨论

3.1 目前,抑郁症作为仅次于缺血性心脏病的第二大疾病,其患病人数仍逐年增长,且有年轻化的趋势。我国古代典籍就有对抑郁症的描述。中医认为,郁证是由于肝气过旺,或体质平素太弱,加之情志因素所致气机不畅,肝气失于疏泄,脾失健运,心失所养,脏腑阴阳气血失调而成。随着对郁证论治理论的深入研究,中医药对情志疾病特别是郁证的治疗及预防将显示出其优势^[17-20]。中药石菖蒲其根茎叶的提取物中含有抗抑郁物质,能够有效改善抑郁症状,但目前对其机理研究甚少。

3.2 单胺类神经递质有广泛的生物学功能,参与睡眠节律调节、精神活动、体温调控、情绪反应等生理反应。神经递质由神经末梢释放以完成神经元之间信息传递,对神经、内分泌等相关系统进行调节。目前认为与抑郁症发病相关较为密切的单胺类神经递质有 5-HT、DA、去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)等^[21-22]。5-HT 在抑郁症的发生、发展中有重要地位。有研究表明,5-HT 水平与抑郁症的严重程度呈正相关^[23]。对抑郁症患者的尸检也发现,其缝核内 5-HT 含量明显减少^[24]。目前,在临床上使用的抗抑郁药物也是通过抑制 5-HT 的代谢和重摄取以提升 5-HT 含量,从而起到抗抑郁的作用^[25]。另外,DA 的减少与抑郁症也有紧密联系^[26]。患有某些能引起机体 DA 水平降低疾病的患者,常常表现出抑郁的情绪^[27]。因此,在众多抑郁症病因的假说中,单胺类神经递质假说得到较广泛的认可,这也是目前临床抗抑郁治疗的基础。该假说认为,中枢神经系统的 5-HT 能神经和 DA 能神经存在着复杂的联系,脑组织内 DA 和 5-HT 缺乏是引起抑郁的重要原因之一^[28]。

3.3 本研究通过 CUMS 建立抑郁大鼠模型,并通过 FST、OFT、EPM 行为学实验判定造模成功。OFT 可反映大鼠进入新环境的活动情况和情绪变化,观察其出现与抑郁症患者类似的运动迟缓、精神萎靡、缺乏兴趣等症状的情况。FST 可反映大鼠在行为绝望时的自主反应,观察其出现与抑郁症患者类似的轻生厌世、求生欲降低等麻木情绪的情况。临床上抑郁和焦虑是密切关联的症状,而 EPM 可反映大鼠的焦虑表现。本研究结果显示,模型组大鼠的游泳不动时间显著高于空白组, OFT 得分、OT/TT 显著低于空白组,提示抑郁大鼠模型建造成功。而经过不同剂量的石菖蒲干预后,抑郁大鼠的行为学指标获得改善,提示抑郁症状好转,且实验结果呈现出剂量依赖性。另外,本研究结果还显示,抑郁大鼠脑组织

的 DA、5-HT 水平显著低于空白组,这也验证了 DA 和 5-HT 在抑郁症发生、发展中具有重要作用。经过不同剂量石菖蒲干预后,抑郁大鼠脑组织的 DA、5-HT 水平上升,且呈剂量依赖性。

综上所述,抑郁症的发生可能与脑组织 DA、5-HT 水平、功能下降有关,石菖蒲治疗可有效改善抑郁症状,且这可能是通过提升大脑环境中 DA、5-HT 含量实现的。

参考文献

- [1] 汤久慧,张丽萍,宋瑞雯. 中医药抗抑郁实验研究现状[J]. 河南中医,2014,34(7):1248-1251.
- [2] 刘艳红,沈浩,或昱歆,等. 中医药治疗抑郁症其作用机理浅析[J]. 山西青年(下半月),2013(3):118.
- [3] 张晓南,黄世敬. 枳实、枳壳的抗抑郁作用[J]. 环球中医药,2014,7(1):77-80.
- [4] 苏宵苇. 抑郁症发病机制与临床抗抑郁药研究进展[J]. 智慧健康,2017,3(15):15-17.
- [5] 王小萌,吴全娥,石鑫,等. 石菖蒲超临界萃取物对抑郁模型大鼠行为学的影响[J]. 医学综述,2019,25(10):2064-2068.
- [6] Yao Z, Zhang Z, Zhang J, et al. Electroacupuncture alleviated the depression-like behavior by regulating FGF2 and astrocytes in the hippocampus of rats with chronic unpredictable mild stress[J]. Brain Res Bull, 2021,169:43-50.
- [7] 李东朋. 昼夜节律紊乱对大鼠脑损伤病理改变及 NGF 治疗影响的实验研究[D]. 河南:郑州大学,2016.
- [8] 张巨颢,张曼芳,谢青莲,等. 慢性不可预知温和应激抑郁小鼠模型的建立[J]. 复旦学报(自然科学版),2011,50(3):390-393.
- [9] 杨栋,喻妍,杨萍,等. 慢性应激抑郁模型大鼠海马 Trek-1、GFAP 表达情况及氟西汀的干预作用[J]. 中国临床心理学杂志,2018,26(1):43-46.
- [10] 高志影,张春,董海影,等. 石菖蒲有效成分对抑郁模型大鼠海马神经元的保护作用[J]. 中国老年学杂志,2014,34(4):1000-1002.
- [11] Sturman O, Germain PL, Bohacek J. Exploratory rearing: a context- and stress-sensitive behavior recorded in the open-field test[J]. Stress, 2018,21(5):443-452.
- [12] 孙玉荣,董海影,王显艳,等. β -细辛醚对抑郁模型大鼠行为及海马神经元的影响[J]. 北京中医药大学学报,2013,36(8):546-549.
- [13] Muir J, Lopez J, Bagot RC. Wiring the depressed brain: optogenetic

and chemogenetic circuit interrogation in animal models of depression [J]. Neuropsychopharmacology, 2019,44(6):1013-1026.

- [14] 闫盼盼,闫国立,詹向红,等. Morris 水迷宫实验设计的统计学方法探析[J]. 中华中医药学刊,2013,31(2):264-266.
- [15] Marchette RCN, Bicca MA, Santos ECDS, et al. Distinctive stress sensitivity and anxiety-like behavior in female mice: strain differences matter[J]. Neurobiol Stress, 2018,9:55-63.
- [16] 李荣俊. 电针对偏头痛伴抑郁大鼠血浆及脑 5-HT、NE 及 MAO 含量的影响[D]. 北京:中国中医科学院,2014.
- [17] 王联生,潘菊华. 石菖蒲治疗抑郁症的研究进展[J]. 环球中医药,2017,10(4):509-512.
- [18] 肖爽. 欣悦 1-5 号颗粒辩证治疗抑郁症的临床疗效观察[D]. 北京:北京中医药大学,2011.
- [19] 王岳青,曲森,茹尘,等. 参芪解郁方对母婴分离产后抑郁大鼠磁共振波谱的干预作用研究[J]. 湖南中医药大学学报,2021,41(3):338-344.
- [20] 陈小四. 开心散常用药对干预应激抑郁大鼠行为及 NE、5-HT 的对比研究[D]. 昆明:云南中医学院,2013.
- [21] 盘晓芳,白贺霞,娄红岩,等. 中医药治疗抑郁症的研究进展[J]. 新疆中医药,2018,36(4):89-92.
- [22] 努尔夏提·塔布什. CIA 伴抑郁大鼠 5-HT、DA 和 IL-6、TNF- α 的表达及相关性分析[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学,2020.
- [23] 李永超,彭亮,王高华,等. 炎症因子、皮质醇、5-羟色胺与抑郁严重程度关系的初步研究[J]. 国际精神病学杂志,2015,42(6):6-9.
- [24] Nemeroff CB. Recent advances in the neurobiology of depression[J]. Psychopharmacol Bull, 2002,36 Suppl 2:6-23.
- [25] 吴帅,安书成,陈慧彬,等. 慢性应激性抑郁发生中大鼠眶额叶多巴胺 D1 受体对谷氨酸及其 NMDA 受体的调节[J]. 心理学报,2014,46(1):69-78.
- [26] Han Y, Khodr CE, Sapru MK, et al. A microRNA embedded AAV α -synuclein gene silencing vector for dopaminergic neurons[J]. Brain Res, 2011,1386:15-24.
- [27] Reddy PL, Khanna S, Subhash MN, et al. CSF amine metabolites in depression[J]. Biol Psychiatry, 1992,31(2):112-118.
- [28] 张洁,张剑宇. 抑郁症临床研究进展[J]. 医学信息,2015,28(39):418-419.

[收稿日期 2021-05-23][本文编辑 余军 韦颖]

本文引用格式

付佳,荀晨曦,李爽,等. 石菖蒲对抑郁大鼠脑内神经递质含量及行为学的影响[J]. 中国临床新医学,2021,14(12):1196-1199.