

基于脑功能核磁的抑郁症肝郁脾虚证大鼠中枢分子生物学基础研究

李君玲^{1,2} 马雪玲² 李玉波³ 夏 恺² 王 田² 薛晓兴² 赵慧辉² 王 伟²

(1 首都医科大学中医药学院,北京,100069; 2 北京中医药大学,北京,100029; 3 中国中医科学院中医基础理论研究所,北京,100700)

摘要 目的:研究抑郁症肝郁脾虚证大鼠中枢分子生物学基础。方法:慢性不可预知温和应激方法对大鼠进行造模,磁共振功能成像技术扫描大鼠全脑信息,利用 SPM8 软件计算出抑郁症肝郁脾虚证大鼠与正常组比较在低频震荡 (Amplitude of the Low-frequency Fluctuations, ALFF) 和局部一致性 (Regional Homogeneity, ReHo) 中存在异常的脑区;高效液相色谱法对所探索的密切相关脑区进行单胺类神经递质检测;四逆散方剂反证确定其中枢分子生物学基础。结果:模型大鼠下丘脑 ReHo 与 ALFF 均减弱,下丘脑 DA、5-HT、5-HIAA 和 NE 含量明显降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),四逆散组较模型组比较下丘脑 5-HT 含量显著升高 ($P < 0.05$),NE、DA、5-HIAA 存在升高趋势,差异有统计学意义 ($P > 0.05$)。结论:下丘脑 5-HT、5-HIAA、NE、DA 是肝郁脾虚型抑郁症的分子生物学基础之一。

关键词 肝郁脾虚;抑郁症;生物学基础;功能核磁

Basic Study on Molecular Biology of Depression with Stagnation of Liver Qi and Spleen Deficiency in Rats Based on Functional Magnetic Resonance Imaging

Li Junling^{1,2}, Ma Xueling², Li Yubo³, Xia Kai², Wang Tian², Xue Xiaoxing², Zhao Huihui², Wang Wei²

(1 School of Traditional Chinese Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China; 2 School of Basic Medical Sciences, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 3 Institute of Basic Theory for Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China)

Abstract Objective: To explore the central molecular biological basis of depression with stagnation of liver qi and spleen deficiency syndrome in rats. **Methods:** The chronic unpredictable mild stress (CUMS) method was used to establish the model. Rat's brain information was scanned with functional magnetic resonance imaging (fMRI). The amplitude of the low-frequency fluctuations (ALFF) and the abnormal brain region in regional homogeneity (ReHo) of rats in normal group and depression with stagnation of liver qi and spleen deficiency syndrome group were calculated and analyzed by SPM8. High performance liquid chromatography (HPLC) was used to detect the monoamine neurotransmitter change of the close related brain region. Sini Powder was used to confirm the biological basis from the perspective of counterevidence. **Results:** Both ALFF and ReHo in the hypothalamus were decreased. The contents of dopamine (DA), serotonin (5-HT), and 5 hydroxyindole acetic acid (5-HIAA) and norepinephrine (NE) were reduced significantly ($P < 0.05$). The content of 5-HT of Sini Powder group increased more significantly than that of normal group ($P < 0.05$). There was improvement tendency in the DA, 5-HIAA, and NE ($P > 0.05$). **Conclusion:** The 5-HT, 5-HIAA, NE, DA in the hypothalamus were parts of the central biological basis of depression with stagnation of liver qi and spleen deficiency syndrome.

Key Words Depression with stagnation of liver qi and spleen deficiency syndrome; Depression; Biological basis; Functional magnetic resonance imaging

中图分类号: R285.6; R749.4 + 1 文献标识码: A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.09.008

抑郁症是以情绪低落、思维迟缓、意志活动减退为主要特征的综合征^[1]。根据世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 公布的资料显示,抑郁症是全球范围内引起致残率的第 3 大疾病,并将于 2030 年成为最大疾病负担源^[2]。然而,目前临床中

仅有 <50% 的患者对现代的一线抗抑郁药有良性反应, <30% 的患者能够得到痊愈^[3]。因此,寻找更多有效的治疗手段已成为目前的研究热点。中医学是祖国传统文化的宝库,从中医学中挖掘抑郁症的解决方法越来越受到学者们的关注。然而,中医临床

基金项目:国家自然科学基金青年项目 (81703863); 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) 项目 (2011CB505106)

作者简介:李君玲 (1987.11—),女,博士,讲师,研究方向:抑郁症肝郁脾虚证生物学基础, E-mail: julian1224@126.com

通信作者:王伟 (1964.09—),男,博士,教授,博士研究生导师,研究方向:证候生物学基础, E-mail: wangwei@bucm.edu.cn; 赵慧辉 (1977.05—),男,博士研究生,研究员,研究方向:中国传统医药防治心血管病的研究, E-mail: hh686@126.com

治疗的核心是辨证论治^[4],证候是中医治疗的基础和前提,因此研究中医对抑郁症证候认识的生物学基础是从中医学中寻找抑郁症解决办法的根本途径。肝郁脾虚证是中医临床治疗抑郁症的常见证型,中医临床治疗肝郁脾虚型抑郁症往往疗效显著^[5-7],因此运用现代手段研究肝郁脾虚型抑郁症的生物学基础是从中医学中寻找治疗抑郁症的重要途径之一。

单胺类神经递质是目前研究抑郁证发病机制较为常用的指标,然而,对于抑郁症肝郁脾虚证的中枢生物学基础,究竟选择哪些脑区进行研究更有针对性,一直是研究者们所争论和探讨的。磁共振功能成像(Functional Magnetic Resonance Imaging, fMRI),是一种新型的、无创的、并且可动态进行检测的技术,可以记录静息态大鼠的脑部功能,从全脑范围内寻找模型动物的异常脑区,从而为系统的探索疾病发病相关的脑区提供了一种影像学方法。因此本研究首先利用 fMRI 的方法对肝郁脾虚型抑郁症大鼠的异常脑区进行探索,在功能核磁所探索的基础上对密切相关脑区进行单胺类神经递质检测,从而对肝郁脾虚型抑郁症的关键中枢分子生物学基础进行探索。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SPF 级 6 周龄雄性 SD 大鼠 110 只,适应性喂养一周,据体重平均分为 2 组:正常组 21 只,慢性不可预知温和应激(Chronic Unpredictable Mild Stress, CUMS)组(CUMS 组)89 只。正常组 4 ~ 5 只/笼饲养, CUMS 组单笼饲养并予以应激。6 周后,对模型大鼠进行病证模型评价及筛选(根据病证模型判定方法,最终为 54 只符合标准)。将筛选的大鼠根据行为学测试结果平均分为 3 组:1) M(模型)组:22 只;2) S(四逆散)组:14 只;3) F(氟西汀)组:18 只;Z(正常)组大鼠不变:21 只。

1.1.2 动物造模与模型筛选 采用 CUMS 的方法进行造模,具体的应激方法如下:禁水 24 h,禁食 24 h,鼠笼倾斜(45°)12 h,潮湿垫料 8 h,冷水(4℃)游泳 5 min,束缚 2.5 h,2 笼合并 12 h,照明 24 h,夹尾 1.5 min,36 V 电压电击 1 min,间隔 30 s 共 45 min/次。每日的应激方式由 2 种不同应激方法组成,1 周内不允许连续使用同一种应激方式,应激共持续 8 周。

1.1.3 模型判定 前期实验发现,SD 雄性大鼠 CUMS 刺激 6 ~ 8 周呈现稳定的肝郁脾虚型抑郁

症^[8],因此本研究在第 6 周,采用将肝郁脾虚型抑郁症证临床症状判定标准等效转化为大鼠宏观表征的方式,采用行为学实验中的糖水偏好实验和体重测定及宏观表征观察相结合的方法,对大鼠进行抑郁症(病)、肝郁脾虚证(证)的判别及筛选,具体转换方式为:1)临床中抑郁症患者出现的情绪抑郁转换为动物的糖水偏好实验中的糖水偏好度减低与旷场实验中的自主活动度(如穿格总距离和直立次数)降低;2)临床患者的两胁胀痛转换为大鼠的抓取反抗激烈的表现;3)临床中患者的食欲降低转换为大鼠的体重增长缓慢;4)临床中的大便稀溏转换为大鼠的大便稀软不成形;5)临床出现的肠鸣矢气症状转换为大鼠的拉尾排便次数增多。经测试后,大鼠中同时具有前 4 项症状的 3 项(其中前 2 项症状必须具备)或者具有前 2 项症状加第 5 项症状即可判断为肝郁脾虚型抑郁症大鼠。

1.2 方法

1.2.1 脑功能核磁数据采集 在应激 8 周后,从正常组和模型组中随机抽取 6 只进行核磁检验。采用 7.0T 小动物功能核磁仪(Bruker,德国)进行大鼠全脑扫描。使用 5% 异氟烷将大鼠麻醉后,置于扫描台,借助麻醉面罩通以持续 1 ~ 1.5% 异氟烷(维持呼吸频率:40 ~ 50 次/min)并加头部固定装置固定头部,以确保大鼠检测过程不会挣扎。具体扫描步骤与相关参数如下:1)扫面 T2 加权像,设置参数如下:视野 3.3 cm × 3.3 cm,重复时间 4 380 ms,回波时间 45 ms,矩阵 256 × 256,层数 30 层。2)扫面静息态 BOLD,设置参数如下:视野 2.5 cm × 2.0 cm,重复时间 3 280 ms,层数 20 层,层厚/间隙 1.0 mm/0.2 mm,回波时间 27.6 ms,转角 90°,矩阵 128 × 128。

1.2.2 给药方案 在北京康仁堂制备经典方剂组成的四逆散免煎颗粒备用,参照临床用量向动物给药剂量的转换系数(6.25 倍)^[8-9],以 2.5 g/(kg · d)用量对 S 组大鼠进行灌胃。氟西汀为礼来公司的 20 mg 胶囊,以 2 mg/kg/日用量对 F 组大鼠进行灌胃。M 组与 Z 组大鼠以 1 mL/100 g 剂量灌胃蒸馏水。每日应激前 30 min 进行灌胃。持续给药 2 周,给药过程中应激不停止。

1.2.3 单胺类神经递质检测 8 周后,大鼠断头,迅速剥离下丘脑储存于 -80℃ 冰箱中备测。各组随机选取 7 只大鼠的下丘脑标本进行高效液相单胺类神经递质检测,具体步骤如下:1)蛋白沉淀剂的配制:0.1 mol/L 高氯酸溶液(含有 0.3 mM EDTA-2Na 和 0.5 mM Na₂SO₃);2)标准品溶液的配制:用配制

好的蛋白沉淀剂分别溶解 DA、DOPAC、NE、5-HT、5-HIAA、HVA 等标准品,使其浓度均为 100 $\mu\text{g/mL}$;3)样品的处理:从 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中迅速取出冻存的样品,称重后,加入 3 倍重量体积的蛋白沉淀剂,采用超声细胞粉碎机对组织进行匀浆(冰上进行以防温度过高),静置 10 min,12 000 r/min 的速度进行离心 10 min,吸取上清液后,相同条件再次离心,吸取 20 μL 上清液进样检测;4)上机检测的各项条件:Alliance2695 型号高效液相色谱仪。ECD2465 型号电化学检测器:玻碳工作电极和 Ag/AgCl 参比电极, + 0.75V 检测电压。色谱柱:Atlantis C18, 2.1 $\times$ 150 mm, 3 μm 。35 $^{\circ}\text{C}$ 柱温,流动相:50 mM 柠檬酸-乙酸钠(内含 1 mM B8 离子对试剂,4% CH_3OH , 1.8 mM $\text{MC8H}_{19}\text{N}$, 0.3 mM Na_2EDTA , pH 为 3.5。),流速为 0.35 毫升/分。5)样品检测:每一次样品测试前将混标进样进行质控。分别配制 0.001、0.005、0.01、0.02、0.05、0.1、0.2、0.5、1、1.5、2 ppm 11 个不同浓度,均以 20 μL 的量进样,并记录不同浓度下的色谱峰面积。以混标溶液的浓度作 X 轴,所测出的色谱峰面积作 Y 轴,建立浓度-峰面积标准曲线,通过该标准曲线,计算每个检测样品的浓度。

1.3 统计学方法

1.3.1 理化指标数据分析 采用 SPSS 17.0 (Chicago, IL, USA) 软件对数据进行统计学分析。Shapiro-Wilk 检验来检测实验数据是否符合正态分布。根据正态检验及方差分析结果,分别采用单因素方差分析(各组符合正态分布且方差齐)、2 组独立样本非参数检验(各组均不符合正态分布)、Tamhane 检验或非参数检验(符合正态分布但不具备方差齐性)的方法对各组进行两两比较。

1.3.2 核磁数据分析 核磁数据委托中国中医科学院高能物理研究所利用 SPM8 软件进行全脑的 ALFF 和 Reho 的指标分析,具体步骤如下:1)转换数据,筛选可以分析的高质量图像。2)校正时间片:将中间层作为标准,对所有受试个体的所有 volume,对其余层的时间信息进行校正。3)头动校正:对所有受试体,将其第一幅图像作参考标准进行空间校正,生成校正后的以及 150 副校正后图像的平均图像。4)空间标准化:将第 3 步所成的平均图像作为源图像,确定图像的配准参数,并将该参数应用于第 3 步所生成的 150 副图像上。5)高斯平滑:利用高斯平滑核[半高宽为(3 6 3)mm]对空间标准化的图像进行平滑,以使所有数据符合正态分布。6)去线性漂移、带通滤波:机器噪声等线性影响利用线性回归的

方法进行去除。带通频段滤波(0.01 ~ 0.08 Hz)来减小低频或高频漂移。7)ALFF 测定:对滤波后的数据进行低频振荡幅度值的计算。8)ReHo 测定:肯德尔和谐系数被用来计算包含 27 个体素在内的每个团块的时间序列变化的一致性。9)统计分析:对预处理后的所有图像进行基于广义线性模型的随机效应分析,包括 ALFF、ReHo。对于正常组和模型组的预处理后的数据,利用 SPM8 软件进行双样本 t 检验的统计分析。10)ALFF 与 Reho 结果显示:个体的体素阈值 $P < 0.001$ (未校正)、体簇大小 > 54 个体素,认为是具有统计学差异的激活脑区,最后得出正常组和模型组之间的统计参数图。

2 结果

2.1 脑静息态 BOLD 应激 8 周后,模型组较正常组的 Reho 和 ALFF 信号均呈现减弱现象,其中在海马、下丘脑、中脑被盖部、嗅皮层、梨状皮层、脑桥的 6 个脑区 Reho 信号均减弱。在小脑、下丘脑、脑桥 3 个脑区 ALFF 信号均减弱。见图 1。

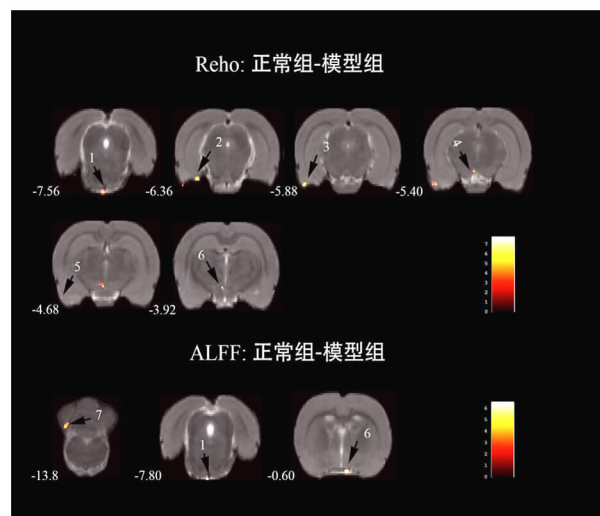


图 1 正常大鼠与肝郁脾虚型抑郁症大鼠 Reho 和 ALFF 的统计参数图

注:每幅图的左侧底部数字代表 Paxinos & Watson 所著的 2005 版大鼠脑立体定位图谱中的 z 坐标值。右侧底部的色阶代表 2 组比较的 t 值大小(颜色越亮,代表 t 值越大)。每幅脑图上的激活点为具有统计学意义的脑区(AlphaSim 以校正全部团块内体素, $P < 0.001$, 团块大小 > 50 voxels),激活点分别代表的脑区为:1. 脑桥;2. 海马;3. 嗅皮层;4. 中脑被盖部;5. 梨状皮层;6. 下丘脑;7. 小脑

2.2 下丘脑神经递质 根据功能核磁分析的结果,我们发现肝郁脾虚型抑郁症大鼠下丘脑在 Reho 和 ALFF 2 个指标中均存在明显的改变,因此我们进一步对下丘脑的神经递质进行了检测。DA:模型组较正常组下丘脑 DA 含量显著降低,氟西汀组与正常组和模型组比较,均有显著升高;四逆散组与模型组

比较有改善趋势,但差异无统计学意义,与正常组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);DOPAC、HVA:下丘脑 DOPAC、HVA 含量各组之间差异无统计学意义;5-HT:模型组与正常组比较,下丘脑 5-HT 含量显著降低,四逆散组和氟西汀组较模型组比较,含量显著升高;5-HIAA:模型组和氟西汀组与正常组比较,下丘脑 5-HIAA 含量显著降低,其余各组之间差异无统计学意义;NE:模型组与正常组比较,下丘脑 NE 含量显著降低,四逆散与氟西汀组较模型组比较有升高趋势,但差异无统计学意义。见图 2~7。

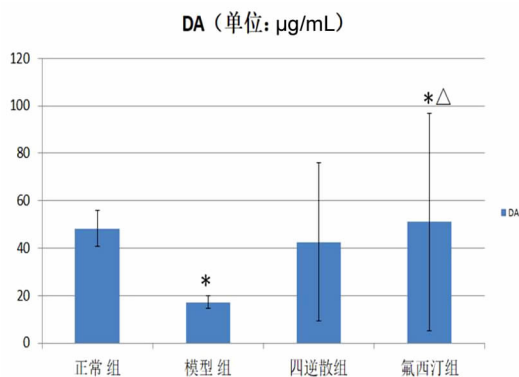


图 2 各组 DA 含量比较结果

注:与正常组比较, * $P \leq 0.05$;与模型组比较, $\Delta P \leq 0.05$

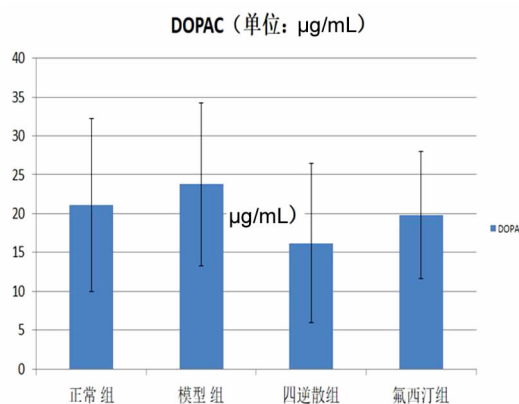


图 3 各组 DOPAC 含量比较结果

注:与正常组比较, * $P \leq 0.05$;与模型组比较, $\Delta P \leq 0.05$

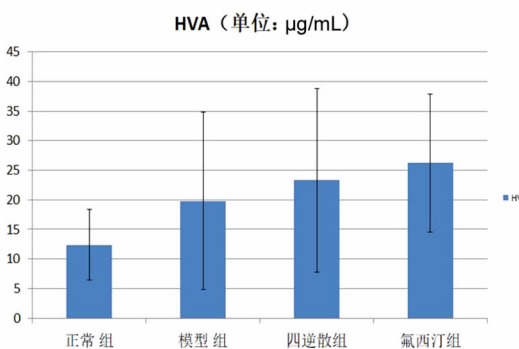


图 4 各组 HVA 含量比较结果

注:与正常组比较 * $P \leq 0.05$;与模型组比较, $\Delta P \leq 0.05$

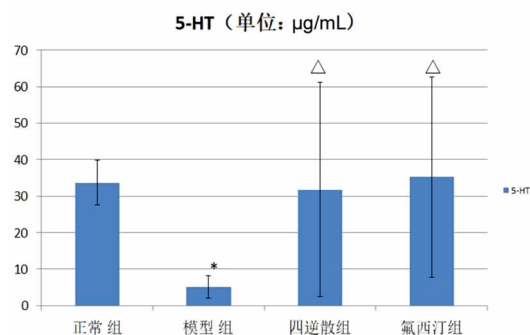


图 5 各组 5-HT 含量比较结果

注:与正常组比较 * $P \leq 0.05$;与模型组比较, $\Delta P \leq 0.05$

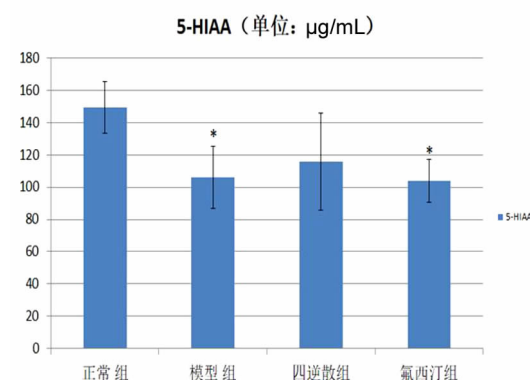


图 6 各组 5-HIAA 含量比较结果

注:与正常组比较, * $P \leq 0.05$;与模型组比较, $\Delta P \leq 0.05$

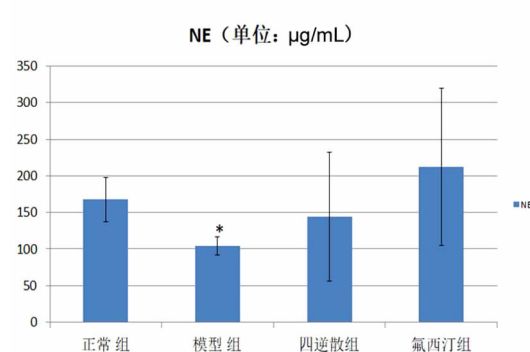


图 7 各组 NE 含量比较结果

注:与正常组比较, * $P \leq 0.05$;与模型组比较, $\Delta P \leq 0.05$

3 讨论

肝郁脾虚证是抑郁症疾病中的常见证型,本研究参照前期实验研究中大鼠抑郁症肝郁脾虚证的造模、评价方法及所确定的稳定时间窗^[9],在慢性应激第 8 周,首先利用磁共振功能成像的方法,对肝郁脾虚型抑郁症大鼠的相关异常脑区进行了筛选,并基于脑功能核磁的结果,利用高效液相的方法,对所检测到的密切相关脑区——下丘脑进行了单胺类神经递质的检测,同时利用疏肝理脾方——四逆散进行方剂反证,确定了与肝郁脾虚型抑郁症大鼠密切相关的中枢分子生物学基础为下丘脑 5-HT、5-HIAA、NE

和 DA。

研究表明,静息态功能磁共振成像(Resting-state Functional Magnetic Resonance Imaging, r-fMRI)是研究机体自发或者固有神经脑活动的影像方法^[10],由于这种方法不需要给予检测者各种任务、检测灵敏,方法可靠^[5],因此也是目前研究鼠类或其他需麻醉的动物的脑功能的常用方法^[10-12]。低频震荡(Amplitude of the Low-frequency Fluctuations, ALFF)和局部一致性(Regional Homogeneity, ReHo)是探索静息态全脑神经元振幅和局部一致性异常脑区的2种方法^[13-14]。本研究采用2种方法相结合的方法,检测到与抑郁症肝郁脾虚证大鼠相关的脑区包含海马、下丘脑、中脑被盖部、嗅皮层、梨状皮层、脑桥、小脑,其中在使用ALFF和ReHo这2种分析方法时,均检测到下丘脑和脑桥的异常神经活动改变。脑桥在抑郁症的研究中并不多见,目前公认的功能多为调节呼吸和肌肉运动。然而目前也有临床研究发现抑郁症患者出现脑桥的ReHo信号改变,与本研究的结果一致^[15]。下丘脑-垂体-肾上腺轴的改变是历来被公认的抑郁症发病的机制之一^[16-17],同时下丘脑是调节机体稳态的重要中枢脑区,在调节机体的代谢、水平衡、饥饿感、生殖、节律及情绪反应中都起到重要作用,是大脑皮质下调节内脏活动的高级中枢^[18],本实验的核磁结果显示肝郁脾虚型抑郁症大鼠的下丘脑ALFF和ReHo均存在异常改变,符合肝郁脾虚型抑郁症大鼠情绪抑郁与消化道症状并存的状态。因此我们将下丘脑作为研究肝郁脾虚型抑郁症大鼠中枢分子生物学基础的重点观察脑区。

在此基础上,本研究利用高效液相色谱法方法对肝郁脾虚型抑郁症模型的下丘脑的单胺类神经递质5-HT、DA、NE及其代谢产物5-HIAA、DOPAC进行了检测,并且观察了疏肝祖方——四逆散对下丘脑单胺类神经递质的疗效,从而从模型和方剂反证的角度证明下丘脑5-HT、5-HIAA、NE和DA是肝郁脾虚型抑郁症的重要分子生物学基础,也是疏肝祖方四逆散发挥抗抑郁效应的机制之一。5-HT是一种重要的由脑中缝核中的5-HT能神经元合成的神经递质,5-HT功能活动的降低是抑郁症患者出现抑郁心态、性功能减弱、食欲下降、内分泌紊乱等症状的重要原因之一,也是目前抗抑郁药物发挥抗抑郁疗效的重要靶标之一^[19]。NE是一种与睡眠和觉醒调节、学习和记忆、选择性注意、应激反应以及奖赏系统等有关的中枢神经递质。目前学者们普遍认

为中枢5-HT、NE缺乏能引起抑郁,而升高5-HT、NE可以有效改善抑郁状态^[20],本研究中肝郁脾虚型抑郁症模型大鼠出现5-HT、NE水平都降低的现象可能是与肝郁脾虚证的抑郁状态有关,而四逆散对5-HT水平的改善较为显著,对NE水平的改善不甚显著,说明下丘脑5-HT的水平下降可能与肝郁脾虚证出现的脾虚症状更为密切;中枢多巴胺系统是体内重要的神经递质系统,中枢DA含量变化对情绪以及行为的调节均起重要的作用,然而,目前实验研究中对于抑郁症不同脑区DA含量的变化,结论不一^[21],本研究结果显示肝郁脾虚型抑郁症大鼠下丘脑DA水平呈减少状态。

总之,本研究利用先进的功能核磁影像学方法,通过2种核磁分析方法,对全脑脑区进行探查,筛选出与肝郁脾虚型抑郁症最为密切相关的脑区,在确定脑区的基础上,对其单胺类神经递质进行检测,并采用疏肝方剂进行方剂反证,较为严谨的对肝郁脾虚型抑郁症中枢的分子生物学基础进行了初步探索和研究,也为研究中医中的疏肝疗法治疗抑郁症的分子生物学机制提供了线索,值得注意的是,由于研究时间有限,本研究仅对ALFF和ReHo这2种方法均探测到的脑区——下丘脑进行了分子生物学的检测,对于2种方法检测到的其他脑区未来如海马、中脑被盖部、嗅皮层、梨状皮层、脑桥、小脑等尤其是脑桥未进行分子生物学的检测,未来应完善这些脑区的分子生物学检测,以达到更为系统全面的探究肝郁脾虚型抑郁症生物学基础的目的。同时由于本研究的研究对象——肝郁脾虚型抑郁症模型,其抑郁状态较为严重,因此,仅仅两周的四逆散治疗,其抗抑郁疗效不太显著,因此,在以后的研究中,若对四逆散的抗抑郁机制进行研究,其治疗时间可能需要适量延长。

参考文献

- [1] Lackamp J, Schlachet R, Sajatovic M. Assessment and management of major depressive disorder in older adults[J]. *Psychiatr Danub*, 2016, 28(Suppl-1): 95-98.
- [2] Gronli J, Murison R, Fiske E, et al. Effects of chronic mild stress on sexual behavior, locomotor activity and consumption of sucrose and saccharine solutions[J]. *Physiol Behav*, 2005, 84(4): 571-577.
- [3] Hou Z, Jiang W, Yin Y, et al. The Current Situation on Major Depressive Disorder in China: Research on Mechanisms and Clinical Practice[J]. *Neurosci Bull*, 2016, 32(4): 389-397.
- [4] 师建平, 郭静. 中医辨证论治理论体系的研究现状与发展趋势[J]. *中华中医药杂志*, 2013, 28(9): 2508-2511.
- [5] 杜辉. 喜乐宁颗粒治疗轻中度抑郁证肝郁脾虚证的研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.

- [6] 张培智. 金香疏肝片治疗抑郁症(肝郁脾虚证)的随机双盲双模拟多中心平行对照研究[J]. 世界临床药物, 2014, 35(7): 399-403, 416.
- [7] 徐磊. 应用抑郁方治疗抑郁症(肝郁脾虚证)临床研究[D]. 长春: 长春中医药大学, 2013.
- [8] 李玉波. 抑郁症肝郁脾虚证大鼠模型的建立及其生物学基础研究[D]. 北京: 北京中医药大学, 2014.
- [9] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 1263.
- [10] Fox M D, Raichle M E. Spontaneous fluctuations in brain activity observed with functional magnetic resonance imaging[J]. Nature Reviews Neuroscience, 2007, 8(9): 700-11.
- [11] Yan C G, Wang X D, Zuo X N, et al. DPABI: Data Processing & Analysis for (Resting-State) Brain Imaging[J]. Neuroinformatics, 2016, 14(3): 339-351.
- [12] Gass N, Cleppien D, Lei Z, et al. Functionally altered neurocircuits in a rat model of treatment-resistant depression show prominent role of the habenula[J]. Eur Neuropsychopharmacol, 2014, 24(3): 381-390.
- [13] Zang YF, HeY, Zhu C Z, et al. Altered baseline brain activity in children with ADHD revealed by resting-state functional MRI[J]. Brain & Development, 2007, 29(2): 83-91.
- [14] Zang Y, Jiang T, Lu Y, et al. Regional homogeneity approach to fMRI data analysis[J]. Neuroimage, 2004, 22(1): 394-400.
- [15] Li J, Li G X, Guo Y, et al. Regional homogeneity in the patients of irritable bowel syndrome complicated with depression: a resting-state functional magnetic resonance imaging study[J]. National Medical Journal of China, 2018, 98(3): 196-201.
- [16] Peng GJ, Tian JS, Gao XX, et al. Research on the Pathological Mechanism and Drug Treatment Mechanism of Depression[J]. Curr Neuropharmacol, 2015, 13(4): 514-523.
- [17] Juruena MF, Bocharova M, Agustini B, et al. Atypical depression and non-atypical depression: Is HPA axis function a biomarker? A systematic review[J]. J Affect Disord, 2018(233): 45-67.
- [18] Biran J, Tahor M, Wircer E, et al. Role of developmental factors in hypothalamic function[J]. Frontiers in Neuroanatomy, 2015, 9(7): 47.
- [19] Schwasinger-Schmidt T E, Macaluso M. Other Antidepressants[M]. Springer: Handb Exp Pharmacol, 2018: 1-31.
- [20] Wang C, Wu C, Yan Z, et al. Ameliorative effect of Xiaoyao-jieyu-san on post-stroke depression and its potential mechanisms[M]. Springer: J Nat Med, 2018.
- [21] 彭淑芹. 四逆散和逍遥散对抑郁模型大鼠行为学及其抗病机理的研究[D]. 济南: 山东中医药大学, 2014.

(2018-04-20 收稿 责任编辑: 张文婷)

(上接第 2129 页)

- [6] Fukuta H, Goto T, Wakami K, Ohte N. Effects of drug and exercise intervention on functional capacity and quality of life in heart failure with preserved ejection fraction: A meta-analysis of randomized controlled trials[J]. Eur J Prev Cardiol, 2016, 23(1): 78-85.
- [7] 衡奇霞. 芪蒯强心胶囊在射血分数保留的心衰中临床应用意义[J]. 中西医结合心脑血管病电子杂志, 2017, 5(16): 28.
- [8] 刘晶, 徐浩. 从气血理论探讨射血分数保留心力衰竭的中医药防治[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15(17): 2210-2213.
- [9] 张苏洁, 方祝元, 张一炎, 等. 参附强心汤治疗射血分数保留慢性心衰的临床研究[M]. 南京: 南京中医药大学学报, 2017, 33(4): 335-338.
- [10] 王金平, 黄力. 稳定性冠心病患者舌象与检查指标相关性[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(12): 5350-5353.
- [11] 中华医学会心血管病学分会, 中华心血管病杂志编辑委员会. 中国心力衰竭诊断和治疗指南 2014 篇[J]. 中华心血管病杂志, 2014, 42(2): 98-122.
- [12] 国家食品药品监督管理局. 中药新药临床研究指导原则[S]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002.
- [13] 林爱华. 医院资料如何应用 SPSS 软件包进行 Logistic 回归分析[J]. 中国医院统计, 2003, 10(1): 57-59.
- [14] Shah KS, Maisel AS. Novel biomarkers in heart failure with preserved ejection fraction[J]. Heart Fail Clin, 2014, 10(3): 471-479.
- [15] 左易霞, 范晋奇, 殷跃辉. 射血分数保留的心力衰竭新进展[J]. 心血管病学进展, 2017, 38(1): 21-24.
- [16] 李欣. 芪参益气滴丸联合曲美他嗪治疗左室射血分数保留心衰的临床研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2014, 12(5): 557-559.
- [17] 罗平, 万凤福. 芪蒯强心胶囊联合西药治疗射血分数保留的心衰临床观察[J]. 江西医药, 2016, 51(10): 1069-1071.
- [18] 周琳, 李嘉俊, 任继刚. 观察芪蒯强心胶囊早期防治糖尿病伴射血分数保留心力衰竭的疗效[J]. 中国疗养医学, 2017, 26(1): 77-79.
- [19] 焦全林, 马骏麒. 温心汤治疗 60 例不同射血分数心力衰竭疗效评价[J]. 新疆中医药, 2015, 33(5): 14.
- [20] 吴超. 丹郁调心舒治射血分数保留性心衰患者的临床观察[D]. 昆明: 云南中医学院, 2017.
- [21] 平伟, 赵志强, 侯欣颖, 等. 加载中药干预射血分数正常心力衰竭的系统评价[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 14(21): 2465-2471.

(2018-03-07 收稿 责任编辑: 张文婷)