

冠心静胶囊对心梗后抑郁模型大鼠行为学表现及 5-HT 的影响

佟彤¹ 李爱勇¹ 龚稻² 廖磊² 刘红旭¹

(1 首都医科大学附属北京中医医院心血管科,北京,100010; 2 北京市临床药理学研究所,北京,100035)

摘要 目的:观察冠心静对心梗后抑郁模型大鼠行为学的影响。方法:通过冠状动脉结扎后进行慢性轻度不可预见性刺激制造心梗后抑郁模型,测定治疗前后大鼠行为学指标以及 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine,5-HT)变化。结果:模型组大鼠治疗后水平及垂直运动分值、体重、液体消耗及糖水偏爱,5-羟色胺水平均明显低于空白对照组($P < 0.01$),与模型组比较,冠心静组及氟西汀组均能改善大鼠的旷场试验评分,增加体重,提高糖水偏爱得分及 5-HT 水平($P < 0.05$),2 组间比较无明显统计学意义。结论:冠心静胶囊可以改善心梗后抑郁大鼠的行为学表现及 5-HT 水平,其治疗双心疾病的作用值得进一步研究。

关键词 冠心静胶囊;双心疾病;行为学;5-羟色胺

Effects of Guanxinjing Capsule on Behavioral Manifestations And Level of 5-hydroxytryptamine in Post-myocardial Infarction Depression Model Rats

Tong Tong¹, Li Aiyong¹, Gong Tao², Liao Lei², Liu Hongxu¹

(1 Beijing Hospital of Traditional Chinese Medicine, Affiliated with Capital Medical University, department of cardiology, Beijing 100010, China; 2 Beijing Institute of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100035, China)

Abstract Objective: To observe the effects of Guanxinjing (GXJ) capsule on behavioral phenomenon of post-myocardial infarction depression model rats. **Methods:** Model was induced by chronic mild and unpredictability stress after coronary artery ligation in rats, and behavior index of rats as well as the level of 5-HT before and after treatment was measured respectively. **Results:** The score of horizontal and vertical motion score, weight, rate of liquid consumption, sucrose preference test score and level of 5-HT in model group were significantly lower than blank control group ($P < 0.01$). Compared with model group, the GXJ capsule group and fluoxetine group can improve the score of open field test, increase the body weight of rats, and improve the sucrose preference test score as well as the level of 5-HT ($P < 0.05$). There was no significant difference between the two groups. **Conclusion:** GXJ capsule can improve behavioral manifestations and 5-HT level of post-myocardial infarction depression model rats. Further study on GXJ capsule treating psycho-Cardiological disease is worthy to go on.

Key Words Guanxinjing capsule; Psycho-Cardiological disease; Behavioral manifestations; 5-hydroxytryptamine

中图分类号:R277.7;R242 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2017.08.040

急性心肌梗死 (Acute Myocardial Infarction, AMI) 是冠状动脉粥样硬化性心脏病的危重症。随着 AMI 治疗措施的不断进步,患者病死率逐步下降,AMI 患者易出现抑郁情绪引起了临床医生的注意。诸多研究已证实,冠心病与抑郁状态紧密相关,冠心病患者易出现抑郁情绪,同时抑郁状态也是冠心病的高位因素之一。“双心疾病”(冠心病及心理疾病)越来越受到人们的重视^[1-2]。中成药冠心静胶囊具有活血化瘀、通络止痛、解郁除烦、养心安神的功效,既往临床研究发现,冠心静联合常规治疗为主导的治疗组,患者心绞痛及抑郁症状明显改善^[3]。

本文从基础研究角度出发,旨在探讨其对心梗抑郁模型大鼠行为学及 5-HT 的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SPF 级雄性大鼠 40 只,体质量(200 ± 20)g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司。合格证号:SCXK(京)2007-0001。

1.1.2 药物 冠心静胶囊(保定中药制药有限公司生产,生产批号 140520)。盐酸氟西汀分散片(简称氟西汀)(PATHEON FRANCE 公司生产,生产批号 3081A)。

1.1.3 仪器 Powerlab 数据采集分析系统,型号:MI870;动物用生物电放大器,型号:ML136;小动物呼吸机:上海奥尔科特生物科技有限公司,型号ALC-V8;Thermo MULTISKAN MK3。

1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 大鼠腹腔注射3%戊巴比妥钠麻醉,连接小型动物呼吸机行人工呼吸,呼吸频率90次/min,潮气量(10~12)mL,呼吸比设为1:1。胸骨左旁第3~4肋间切开皮肤,逐层钝性分离皮下组织、肌肉,暴露心脏及大血管根部,剪开心包,用6-0 Prolene 线结扎前降支血管。结扎部位以下心肌变白搏动减弱,且心电图II导联出现ST段弓背向上明显抬高为造模成功标志。将手术成功的动物随机分为空白对照组,模型组,冠心静组和氟西汀组。

除空白对照组除外,其余各组大鼠连续10d每天给予给中慢性轻度不可预见性刺激,第1天160 HZ 频率摇晃5 min;第2天禁食24 h;第3天夹尾1 min;第4天禁水24 h;第5天160 HZ 频率摇晃5 min;第6天4℃冰水游泳5 min;第7天行为限制2 h;第8天40℃热应激刺激3 min;第9天昼夜颠倒24 h;第10天夹尾1 min。

1.2.2 给药方法 术后第2天开始各组动物给药。空白对照组正常喂养,不孤养,每日灌胃给予蒸馏水5 mL/kg。模型组、冠心静组和氟西汀组均孤笼饲养,模型组按体重灌胃给予蒸馏水,冠心静组按0.378 g/kg、氟西汀组按2.1 mg/kg灌胃给药,连续给药10 d。

1.2.3 检测指标与方法 行为学测定:实验结束并进行24 h的禁食禁水后,进行动物的基础/纯水消耗试验,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。60 min后,取两瓶水定量,计算动物的总液体消耗、糖水消耗、纯水消耗、糖水偏爱(糖水偏爱=糖水消耗/总液体消耗×100%)。液体消耗实验后再次用敞箱试验对各组动物进行行为学评分。敞箱装置由木板制成,底面为75 cm×75 cm的正方形并被等分为25个等边方格,周围有高40 cm的墙壁,内面用黑漆涂满。7:30~12:00之间在安静的房间内进行此项观察。将大鼠置于中心方格内,观察大鼠在5 min水平穿越格数(4爪均进入的方格方可记数)记为水平运动得分、竖立次数(两前爪腾空或攀附墙壁即可记数)为垂直运动得分。彻底清洁敞箱后再进行下1只大鼠的观察。通过比较大鼠水平运动和竖直运动评分。

5-HT水平的测定:大鼠麻醉后心脏取血5 mL

置于EP管重静置30 min,2 000 r/min离心5 min分离血清,-80℃冻存储备,酶联免疫吸附法测定血清中5-HT的含量。

1.3 统计学方法 数据采用SPSS 15.0统计软件包(PN:32119001,SN:5045602)进行分析。实验结果以均数±标准差表示,使用student-Newman-Keuls Test法进行组间差异性比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,以 $P < 0.01$ 为差异有显著统计学意义。

2 结果

2.1 冠心静对心梗抑郁模型大鼠旷场试验评分的影响 实验显示,模型组大鼠治疗后水平及垂直运动分值明显低于空白对照组($P < 0.01$),与模型组比较,冠心静组及氟西汀组均能改善大鼠的水平运动和垂直运动得分($P < 0.05$),2组间比较无统计学意义。见表1。

表1 冠心静对心梗抑郁模型大鼠旷场试验评分的影响(分, $\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	水平运动	竖直运动
空白对照组		
治疗前	90.40 ± 19.72	18.80 ± 5.98
治疗后	71.60 ± 38.10	15.10 ± 8.85
模型组		
治疗前	96.11 ± 18.99	18.11 ± 6.31
治疗后	5.11 ± 2.15 ^{△△}	1.22 ± 1.39 ^{△△}
冠心静组		
治疗前	95.22 ± 21.42	22.89 ± 7.75
治疗后	31.44 ± 28.76*	4.89 ± 3.82*
氟西汀组		
治疗前	93.55 ± 18.86	20.29 ± 6.85
治疗后	40.20 ± 28.72*	5.70 ± 5.08**

注:与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.05$;与空白对照组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

2.2 冠心静对心梗抑郁模型大鼠体重及糖水偏爱的影响 实验显示,模型组大鼠治疗后第8天及第11天测量体重均低于空白对照组($P < 0.01$),且总液体消耗及糖水偏爱也显著低于空白对照组($P < 0.01$)。冠心静组及氟西汀组在模型大鼠体重增长方面优于模型组($P < 0.01$),且2组大鼠的糖水偏爱得分均高于模型组($P < 0.05$)。2组间比较无统计学意义。见表2。

2.3 冠心静对心梗抑郁模型大鼠血清中5-HT的影响 实验显示,模型组大鼠血清中5-HT显著下降,与空白对照组比较具有统计学意义。经过冠心静及氟西汀干预后,大鼠血清中5-HT均有不同程度的升高,与模型组有显著统计学意义($P < 0.01$),但2组间无统计学意义。

表2 治疗前后各组大鼠体重、液体消耗及糖水偏爱的比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	体重		总液体消耗	糖水偏爱
	D8	D11		
空白对照组	281.66 ± 16.33	311.47 ± 31.82	21.10 ± 2.73	85.90 ± 1.77
模型组	243.40 ± 10.10 ^{△△}	266.39 ± 9.24 ^{△△}	10.40 ± 1.95 ^{△△}	79.42 ± 5.37 ^{△△}
冠心静组	270.78 ± 4.48 ^{**}	294.07 ± 5.15 ^{**}	10.00 ± 3.43	91.94 ± 9.82 [*]
氟西汀组	277.24 ± 15.86 ^{**}	302.13 ± 13.15 ^{**}	10.70 ± 4.19	96.65 ± 0.63 ^{**}

注:给药组与模型组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.05$;与空白对照组比较,[△] $P < 0.05$,^{△△} $P < 0.01$

表3 实验各组大鼠血清5TH含量比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	5TH (ng/mL)
空白对照组	102.07 ± 14.06
模型组	85.43 ± 9.65 [△]
冠心静组	138.97 ± 27.37 ^{**}
氟西汀组	158.76 ± 19.62 ^{**}

注:给药组与模型组比较,^{**} $P < 0.01$;模型组与空白对照组比较,^{△△} $P < 0.01$

3 讨论

冠心病与抑郁症之间有着紧密的联系,许多心血管疾病的患者合并心理问题,特别是冠心病、心绞痛合并情绪障碍的患者具有较高的死亡率和较差的预后^[4]。有资料显示,心血管疾病并发情绪障碍的概率为8%~44%^[5],而在心肌梗死后,合并抑郁的发生率则可达45%左右^[6],且抑郁程度与死亡率之间存在线性关系^[7],数据显示,心梗后合并有抑郁症的患者24个月内风险较正常人提高1.6~2.7倍^[8]。但多年来该症始终未受到充分重视,发病机理尚不明确,这在一定程度上影响了冠心病合并抑郁疾病治疗策略的制定^[3,9]。

冠心静胶囊由丹参、赤芍、川芎、红花、玉竹、三七、人参、苏合香及冰片9种中药组成。临床证明其可以明显改善冠心病常见症状,包括胸闷、胸痛、心悸、气短、心烦、失眠等心脏和心理症状,起到调神和调心双重治疗作用^[10]。其中丹参为君药,有活血化瘀、清心除烦、养血安神之功;川芎、赤芍、红花、三七、人参共为臣药,起到活血化瘀、通络止痛、补气生津之效;佐药玉竹有清热养阴之功;使药为苏合香及冰片,两药可解郁开窍止痛。诸药合用,共奏活血化瘀、通络止痛、解郁除烦、养心安神的作用。现代研究证明,冠心静胶囊治疗“双心疾病”的作用机理主要是改善心肌供血和镇静抗抑郁作用^[10]。

慢性不可预见性温和应激模型与人类抑郁症临床特征相似,被广泛应用为抑郁动物模型^[11]。本实验通过冠状动脉结扎法制作心肌梗死模型,并通过慢性轻度不可预见刺激模型模拟心梗后抑郁状态。通过冠心静进行药物干预,观察模型大鼠的行为学

变化,采用旷场实验评分,糖水偏爱观察评价大鼠心肌梗死后行为学变化情况。糖水偏好可以反映动物的奖赏反应程度,糖水偏爱降低是衡量快感缺乏的有效客观指标。水平活动得分反映动物的活动度,垂直活动则反映动物对新鲜环境的好奇程度。3者是对动物行为学评价的重要指标^[12]。1965年Schildkraut JJ首次提出抑郁症发病的单胺递质学说以来,5-HT被认为是与抑郁症发生关系最为密切的脑内单胺神经递质,其具有调节情感、睡眠、记忆、食欲、体温、下丘脑-垂体-内分泌等多种功能。在5-HT的合成、释放、转运,再摄取过程中的任何一个环节出现异常都会导致抑郁症的发生,脑内5-HT的减少直接与精神及情绪变化有关,它还可以通过影响其他递质的活动诱发抑郁症^[13]。

实验结果显示与模型组大鼠水平及垂直运动分值明显低于对照组,且体重下降,总液体消耗及糖水偏爱也较对照组降低,表明心梗后大鼠活动度以及对外界新鲜环境的好奇程度下降,快感缺乏,说明大鼠出现了心梗后抑郁状态。比较之下,冠心静可以显著改善心梗抑郁大鼠的旷场水平及垂直运动得分,增加大鼠体重,增加糖水偏爱得分,大鼠的行为学表现显著得到改善。同时,大鼠的血清中5-HT水平也显示,在模型组中大鼠5-HT水平显著下降,与行为学的变化相吻合,而冠心静及氟西汀组大鼠血清中的5-HT含量则高于模型组,2组间未见显著统计学意义,提示冠心静可以改善心梗后抑郁状态从而改善预后,而其作用机理值得进一步研究。

参考文献

- [1] 黄子菁,陈康.急性心肌梗死合并抑郁症的相关性研究进展[J].实用心脑血管病杂志,2015,22(2):1-3.
- [2] 石卫晨,吴蓉,蔡利红.浅谈“双心”疾病的研究现状及方向[J].现代临床医学,2015,40(3):230-232.
- [3] 姜俊玲,李新军.冠心静治疗冠心病抑郁症的疗效观察[J].中国中医药科技,2014,20(3):316-317.
- [4] 胡大一.心血管疾病和精神心理障碍的综合管理-“双心医学”模式的探索[J].中国临床医生,2006,34(5):2.

(下接第1889页)

人体造成损害。尤其是当人体一次性大量摄入乙醇,导致乙醇脱氢酶活性降低时,乙醇就会通过另外2个途径代谢。正常情况下,ADH与ALDH在肝脏中含量最高,有当肝细胞受损时,ADH与ALDH由肝细胞内释放入血,从而引起ADH与ALDH含量升高,所以检测ADH与ALDH活性是诊断某些肝脏疾病的指标之一。本实验采取测定单位时间内生成的NADH引起的吸收度变化率的方法,测定ADH与ALDH活性的变化,试图阐述葛花与枳椇子这2种药物对乙醇的代谢与这2种酶是否相关^[12]。

基于本实验结果,小鼠酒后肝中ADH与ALDH活性的改变规律,可看出酒后1~2h内,肝中ADH活性增强,随之血中乙醇浓度的增高,酒后1h,乙醇脱氢酶及乙醛脱氢酶的肝脏中的含量显著上升,乙醇脱氢酶于1h达峰,乙醛脱氢酶于1.5h达峰,而后开始下降,与小鼠血中乙醇浓度达峰值时间基本吻合。葛花枳椇子单用及配伍的各个组药效也不尽相同,各个给药组对肝中ADH含量的影响较ALDH含量明显。提示该药对配伍发挥作用主要是在乙醇的吸收阶段,而对于乙醇分解代谢阶段,作用不甚明显。

本实验在前期实验的基础上^[13-14],从传统解救药对葛花枳椇子配伍角度出发,通过对急性乙醇中毒小鼠体内乙醇浓度、ADH与ALDH含量变化提示配伍使用比单用一种药物预防醉酒效果更佳,为临床应用葛花、枳椇子这一传统解酒药对防治急性乙醇中毒提供依据,为传统中药的成果转化提供数据支持。

参考文献

[1] Hazeldine S, Hydes T, Sheron N. Alcoholic liver disease—the extent of

the problem and what you can do about it [J]. *Clin Med*, 2015, 15 (2): 179-85.

[2] Cohen JJ, Nagy LE. Pathogenesis of alcoholic liver disease: interactions between parenchymal and nonparenchymal cells [J]. *J Dig Dis*, 2011, 12(1): 3.

[3] 张永昕, 俞发. 枳椇子总黄酮治疗酒精性肝病及其作用机制研究 [J]. *中药材*, 2010, 33(10): 1782-1785.

[4] 宋莎莎, 何伟, 袁平凡, 等. 复方枳椇子制剂对乙醇所致小鼠肝损伤的保护作用 [J]. *安徽医药*, 2013, 17(6): 923-925.

[5] 柳海艳. 葛花枳椇子配伍对酒精性肝损伤的防治作用及机理探讨 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2011.

[6] 李萍, 钟赣生. 葛花对酒后血中乙醇浓度和肝中乙醇脱氢酶活性的影响 [J]. *科技导报*, 2009, 27(23): 82-85.

[7] 陈绍红, 钟赣生. 枳椇子对酒后血中乙醇质量浓度和肝中乙醇脱氢酶活性的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2006, 31(13): 1094-1096.

[8] Cope K, Risby T, Diehl AM. Increased gastrointestinal ethanol production in obese mice: implications for fatty liver disease pathogenesis. *Gastroenterology*, 2000, 119(5): 1340-1347.

[9] 瞿昊宇, 冯楚雄, 朱建平, 等. GC法检测五汁饮对大鼠酒后血中乙醇浓度影响的实验研究 [J]. *湖南中医杂志*, 2016, 32(3): 171-174.

[10] 李先栓. 乙醇代谢物的解毒探究 [J]. *实验教学与仪器*, 2010, 27(10): 36-37.

[11] 柳海艳, 钟赣生, 李怡文, 王茜, 刘佳. 醇提和水提葛花枳椇子及其配伍对酒精性肝损伤大鼠肝脏抗氧化功能的影响 [J]. *中华中医药杂志*, 2012, 27(4): 1181-1184.

[12] Tilg H, Moschen AR, Kaneider NC, et al. Pathways of liver injury in alcoholic liver disease [J]. *J Hepatol*, 2011, 55(5): 1159-1161.

[13] 王旭, 陈绍红, 钟赣生, 等. 葛花、枳椇子配伍对慢性酒精性肝损伤大鼠海马7种单胺类神经递质及代谢产物含量水平的影响 [J]. *中国现代中药*, 2016, 18(5): 558-562 + 594.

[14] 刘明, 陈绍红, 钟赣生, 等. 葛花枳椇子配伍对酒精性肝损伤大鼠肝脏功能及病理形态的影响 [J]. *南京中医药大学学报*, 2015, 31(2): 147-151.

(2017-01-01 收稿 责任编辑: 徐颖)

(上接第1884页)

[5] Fleetrip, Beitman BD. Cardiovascular death from panic disorder: a critical review of the literature [J]. *J Psychosom Res*, 1999, 44(1): 71-80, 16-317.

[6] 王悦芬, 徐雅, 卢小芳, 等. 心肌梗死后大鼠行为学变化的特征分析 [J]. *世界中医药*, 2013, 8(12): 1465-1466, 1470.

[7] Watkins L L, Grossman P. Association of depressive symptoms with reduced baroreflex cardiac control in coronary artery disease. [J]. *American Heart Journal*, 1999, 137(3): 453-457.

[8] Meijer A, Conradi H J, Bos E H, et al. Prognostic association of depression following myocardial infarction with mortality and cardiovascular events: a meta-analysis of 25 years of research [J]. *Psychosomatic Medicine*, 2013, 66(6): 814-22.

[9] 胡大一, 丁荣晶. 关注心血管疾病患者精神心理卫生的建议 [J]. *中华心血管病杂志*, 2012, 40(2): 89-91.

[10] 袁曙光, 陈儒. 冠心静胶囊治疗“双心疾病”机理初探 [J]. *新中医*, 2013, 45(12): 176-178.

[11] Grippo A J, Beltz T G, Johnson A K. Behavioral and cardiovascular changes in the chronic mild stress model of depression [J]. *Physiology & Behavior*, 2003, 78(4-5): 703-10.

[12] 袁晓冉, 石少波, 王芳, 等. 舍曲林对心梗后抑郁大鼠行为学及海马NR1表达的影响 [J]. *武汉大学学报: 医学版*, 2014, 35(1): 56-59.

[13] 安书成, 安锋利. 5-羟色胺与应激反应及其抑郁症的关系 [J]. *陕西师范大学继续教育学报*, 2006, 23(1): 122-124.

(2016-08-19 收稿 责任编辑: 徐颖)