

实验研究

颐脑解郁方对缺血性脑卒中及卒中后抑郁、焦虑、痴呆大鼠宏观表征变化的干预作用

赵子珺^{1,2} 赵瑞珍² 张媛^{1,2} 赵芸^{1,2} 郑春翔^{1,2} 唐启盛²

(1 北京中医药大学,北京,100029; 2 北京中医药大学第三附属医院,北京,100029)

摘要 目的:探究缺血性脑卒中大鼠向卒中后抑郁、焦虑、痴呆演变过程中宏观表征动态变化情况以及中药颐脑解郁方的干预作用。方法:选取雄性 wistar 大鼠 100 只,随机分为卒中模型组、卒中观察组、卒中假手术组、PSD 模型组、PSD 观察组、PSD 假手术组、PSA 模型组、PSA 观察组、PSA 假手术组、VaD 模型组、VaD 观察组、正常组。除正常组及假手术组外,均进行 MCAO 手术建立缺血性脑卒中模型,术后分别复合 CUMS 建立 PSD 模型、复合不确定性空瓶饮水刺激建立 PSA 模型、VaD 模型为术后正常喂养 28 d 后通过水迷宫实验筛选而出。卒中组术后药物干预 2 周,其余各组应激结束后药物干预 4 周。观察组灌胃颐脑解郁方,余各组灌胃蒸馏水。连续采集各组大鼠宏观表征信息,并比较卒中组治疗 1、2 周及 PSD、PSA、VaD 组治疗 1、2、4 周体重变化情况。结果:卒中大鼠向 PSD 演变过程中,以先出现易激惹表现,而后活动度、精神状态、反应性逐渐下降,口鼻黯淡,舌色紫暗,舌下脉络发绀为特征;卒中大鼠向 PSA 演变过程中表征变化为攻击性、探究性增加,梳理行为减少,口鼻黯淡,舌红少津等;向 VaD 演化过程中,具有活动度、精神状态、反应性逐渐下降趋势,口鼻色稍暗,舌润泽,舌色淡红。各模型大鼠体重均较正常组明显下降。应用颐脑解郁方干预后,观察组大鼠宏观表征改善,体重显著增加。结论:PSD、PSA、VaD 在其演变过程中具有肾虚肝郁的共同病机,益肾调气方药颐脑解郁方对缺血性脑卒中及卒中后精神疾病具有一定疗效。

关键词 益肾调气法;卒中后精神疾病;抑郁;焦虑;血管性痴呆;宏观表征;病证结合;大鼠

Effects of Yiniao Jieyu Decoction on Macroscopic Characteristics in Rat Models of Ischemic Stroke and Post-stroke Depression, Anxiety and Vascular Dementia

Zhao Zijun^{1,2}, Zhao Ruizhen², Zhang Yuan^{1,2}, Zhao Yun^{1,2}, Zheng Chunxiang^{1,2}, Tang Qisheng²

(1 Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China; 2 Third Affiliated Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

Abstract Objective: To investigate the dynamic changes of macroscopic characteristics in the development and evolution from ischemic stroke to post-stroke depression, anxiety and vascular dementia and the intervention effect of Yiniao Jieyu Decoction. **Methods:** Male Wistar rats were randomly divided into ischemic stroke (IS) model group, IS therapy group, IS sham-operation group, post-stroke depression (PSD) model group, PSD therapy group, PSD sham-operation group, post-stroke anxiety (PSA) model group, PSA therapy group, PSA sham-operation group, vascular dementia (VaD) model group, VaD therapy group and normal group. Middle cerebral artery occlusion (MCAO) was operated in rats except those in normal group and sham-operation groups. After the operation for 7 days, PSD groups were given chronic unpredictable mild stress (CUMS) and isolation rearing for 21 days for duplicating PSD model, the PSA groups were accompanied by empty water bottle stimulation for 21 days for duplicating PSA model. After the operation for 28 days, the VaD groups were selected by Morris water maze, then put into the test. The IS groups were gavaged for 2 weeks after the operation, the other groups were gavaged for 4 weeks after modeling. Therapy groups were given Yiniao Jieyu Decoction while model groups and sham-operation groups were given distilled water. Rats macroscopic characteristics were dynamically collected and the weight changes of rats in IS groups at the first and second weeks, PSD, PSA, and VaD groups at the first, second and forth weeks were compared. **Results:** In the evolution from stroke to PSD, rats showed irritability first, then the activity, mental state and reactivity gradually decreased. PSD rats represented dim lips and nose, dark purple tongue and purple sublingual vein. In the evolution from stroke to PSA, aggressive and explorative behaviors were increased, grooming behaviors were de-

基金项目:国家自然科学基金项目(81473658);教育部博士点基金项目(20130013130002);北京中医药大学在读研究生项目(2018-JYBZZ-XS238)

作者简介:赵子珺(1988.08—),女,博士研究生在读,研究方向:中医内科学,E-mail:drzhaozijun@163.com

通信作者:唐启盛(1956.02—),男,博士,教授,博士研究生导师,研究方向:中医药防治脑病的研究,E-mail:tangqisheng@263.net

creased. PSA rats represented dim lips and nose, red tongue with scant liquid. In the evolution from stroke to VaD, rats showed progressive decline in activity, mental status and responsiveness. VaD rats represented light lip color, moistened tongue and pink tongue. The weight of rats in model groups was significantly lower than that in the normal group. After the intervention of Yinao Jieyu Decoction, the macroscopic characteristics of rats were improved in therapy groups, and the body weight was increased significantly. **Conclusion:** PSD, PSA and VaD have a common pathogenesis of kidney deficiency and liver turbidity in the course of their evolution, Yinao Jieyu Decoction with the actions of replenishing kidney and regulating qi has a certain effect on ischemic stroke and mental disorders after stroke.

Key Words Replenishing kidney and regulating qi; Mental disorders after stroke; Depression; Anxiety; Vascular dementia; Macroscopic characteristic; Combination of disease and syndrome; Rat

中图分类号: R255. 2; R285. 5 文献标识码: A doi: 10. 3969/j. issn. 1673 - 7202. 2018. 12. 033

脑卒中是导致我国居民死亡的第一大病因, 其发病率呈逐年升高的趋势^[1-2]。脑卒中后精神疾患的出现, 直接影响患者的生命质量、躯体功能和认知功能的康复, 提高脑卒中的病死率^[3-5]。目前对于卒中后精神疾患的治疗, 西药具有较强的不良反应, 患者普遍依从性差^[5], 与之相比, 中医在脑卒中及卒中后精神疾患的治疗方面具有一定优势和发展潜力。异病同治是中医辨证论治的特色和精髓, 唐启盛教授在既往对脑卒中后精神疾病的临床研究发现, 其中医证候多属于肾虚肝郁型, 采用益肾调气中药收效显著。“有诸内必形诸外”, 动物宏观表征是内在病理变化的外在体现, 以宏观表征为着眼点开展研究, 比较接近临床诊病过程, 符合中医整体观和辨证论治的临床思路, 同时也是建立中医“病证结合”模型的较好切入点^[6]。因此, 本研究复制缺血性脑卒中、PSD、PSA、VaD 动物模型, 动态观察脑卒中向 PSD、PSA、VaD 演变过程中不同模型、不同时间点的表征变化特点。探讨各模型表征演化趋势, 并进行证候评价; 再以益肾调气方药颐脑解郁方对模型大鼠进行干预, 同时以“药物反证”验证证候模型, 观察并记录用药后大鼠体重及表征变化情况, 以期评价益肾调气方药颐脑解郁方的治疗作用, 并为卒中后精神疾患的病证结合研究提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SPF 级雄性 wistar 大鼠, 体重 (200 ± 10) g, 6 周龄, 购于北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号: SCXK(京)2016-0006。饲养于室温 (20 ± 2) °C、相对湿度 50% ~ 60% 的环境, 光照节律 12 L/12 D (6:00-18:00)。预养 1 周后, 进行 Open-field 行为学评分, 取评分相近的大鼠, 随机分为卒中模型组、卒中观察组、卒中假手术组、PSD 模型组、PSD 观察组、PSD 假手术组、PSA 模型组、PSA 观察组、PSA 假手术组、VaD 模型组、VaD 观察组、正常

组, 每组 8 只。

1.1.2 药物 颐脑解郁方 (药物组成: 刺五加 20 g、郁金 10 g、白芍 10 g、栀子 10 g), 由北京中医药大学第三附属医院提供。以相当于成人剂量的 7 倍计算, 配成 419 mg/kg 混悬液 (即 1 剂配方颗粒加 100 mL 蒸馏水), 贮存于 4 °C 冰箱中备用, 临用前加热。

1.1.3 试剂与仪器 戊巴比妥钠 (P3761-5, Sigma), 尼龙栓线 (2838-A4, 北京沙东生物技术有限公司); 大鼠夹尾夹 (自制)、大鼠束缚架 (自制)。

1.2 方法

1.2.1 分组及模型制备 进购动物并适应性预养 1 周后, 通过 Open-field 实验评分将大鼠随机分为以下 12 组: 卒中模型组、卒中观察组、卒中假手术组、PSD 模型组、PSD 观察组、PSD 假手术组、PSA 模型组、PSA 观察组、PSA 假手术组、VaD 模型组、VaD 观察组、正常组。

脑卒中模型: 参考新式线栓法^[7], 制备大脑中动脉梗死的脑卒中模型。动物禁食水 12 h 后, 腹腔注射 1% 戊巴比妥钠 (5 mL/kg 体重) 麻醉动物。颈正中中线切口 3 cm 左右, 钝性分离, 暴露右侧胸锁乳突肌和胸骨舌骨肌之间的三角区域, 沿胸锁乳突肌内侧分离肌肉筋膜, 暴露 CCA, 结扎 CCA 近心端, 距此节 1 cm 处的 CCA 远心端系一松节备用, 在 CCA 近 ICA 分叉处以动脉夹暂时夹闭, 在 CCA 的两线间, 距 CCA 分叉处 5 mm 左右, 剪一小口, 松开动脉夹, 插入经多聚赖氨酸处理的尼龙栓线, 在栓线标记接近 CCA 与 ICA 分叉处或遇阻力感时停止, 2 h 后进行再灌注。入组标准: 大鼠于缺血再灌注 2 h 后出现对侧前肢蜷曲、行走转圈或行走向对侧侧体征则纳入, 无此体征或于 2 h 后仍不清醒者弃去。假手术组仅分离 CCA、ICA, 不插入栓线。

PSD 模型: 参考导师唐启盛教授^[8-9]方法复制 PSD 模型。首先建立脑卒中模型, 手术 1 周后, 单笼饲养, 并于 21 d 慢性不可预知温和应激 (CUMS), 包

括:禁食 24 h、禁水 24 h、潮湿垫料 24 h、昼夜颠倒、夹尾 1 min、束缚 3 h、鼠笼倾斜 24 h,每种方法使用 3 次。

PSA 模型:脑卒中模型术后 1 周,采用不确定性空瓶饮水应激复制卒中后焦虑模型。术后经 1 周适应期后,进行定时喂水训练 7 d,每天早 9:00~9:10 和晚 21:00~21:10 给动物饮水,其他时间撤去水瓶不给水。第 8 天至第 21 天,进行应激实验,每天在上述 2 个时间段内,随机选取一个时间段给予空瓶刺激,另一时间段喂水,刺激的给予是无规律的,但维持 1 次/d。

VD 模型^[10]:建立 MCAO 模型后,大鼠常规饲养,28 d 后进行水迷宫评价,(实验组大鼠平均逃避潜伏期-正常组大鼠平均逃避潜伏期)/实验组大鼠平均逃避潜伏期 >20% 定为 VD 鼠,进入实验。

正常组:正常饲养。

1.2.2 干预方法 卒中组自手术 1 周后开始药物干预,观察组给予颐脑解郁方灌胃,模型组、假手术组均给予蒸馏水灌胃,灌胃剂量 10 mL/kg,1 次/d,持续 2 周。PSD 组、PSA 组、VaD 组及正常组,于应激结束后开始药物干预,观察组给予颐脑解郁方灌胃,正常组、模型组、假手术组均给予蒸馏水灌胃,灌胃剂量 10 mL/kg,1 次/d,持续 4 周。

1.2.3 检测指标与方法 一般状态观察:每周观察大鼠的行为活动、精神状态、对外界刺激的反应性、被毛色泽、粪便、舌色等。大鼠体重增长情况测量:实验开始后,每周监测大鼠体重,并根据体重调整给药量。计算卒中组大鼠灌胃第 1、2 周以及 PSD、PSA、VaD 组灌胃第 1、2、4 周体重增长情况。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行统计学分析,计量资料均采用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 进行多个样本均数比较,用 LSD 法进行两两间比

较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般状态观察结果 为更好地体现大鼠表征动态变化情况,观察结果根据时间顺序进行描述。见图 1。

实验前,各组大鼠精神状态良好,对外来刺激反应灵敏,行为活跃,被毛致密紧披有光泽,麦粒型粪便且干稀适中,舌色淡红,舌下脉络不明显、呈淡紫色。

2.1.1 缺血性脑卒中组

2.1.1.1 术后 1 周 手术大鼠术后苏醒表现为弓背、少动或不动,行走时左侧肢体力弱,或向左侧转圈,或向左侧倾倒,抬头困难;精神状态萎靡不振,双眼黯淡无神,少数大鼠触之不动;竖毛;粪便麦粒型,粒细小,质硬色深。术后 1 周内,抬头困难表现逐渐减少至消失,肢体力弱、转圈、倾倒的表现趋于好转,少数大鼠弓背蜷缩、少动;精神状态、反应灵敏性好转,无触之不动表现;少数大鼠竖毛持续;粪便棕色麦粒型,质软;口鼻颜色较黯淡,爪甲及足底淡红色,耳廓微血管清晰淡红;舌色淡红。

假手术大鼠手术苏醒后活动度低,抬头困难,无偏瘫、追尾表现;精神状态差,双眼黯淡;竖毛;粪便麦粒型,粒细小,质硬色深。假手术大鼠术后 7 d 内行为活动、精神状态、被毛色泽、粪便等恢复正常。行为活跃,双眼眼大红亮、动眼灵活,毛色纯白,被毛致密紧披有光泽,粪便棕色麦粒型,质软;口鼻润泽、呈淡粉色,爪甲及足底淡红色,耳廓微血管清晰淡红;舌色淡红。

2.1.1.2 术后 2 周 模型组大鼠活动度略低于假手术组,精神状态稍差,部分大鼠眯眼;被毛色白,欠光泽,少数大鼠竖毛;粪便棕色麦粒型,质软;口鼻颜色稍黯淡,爪甲及足底淡红色,耳廓微血管清晰淡红;舌色淡红。

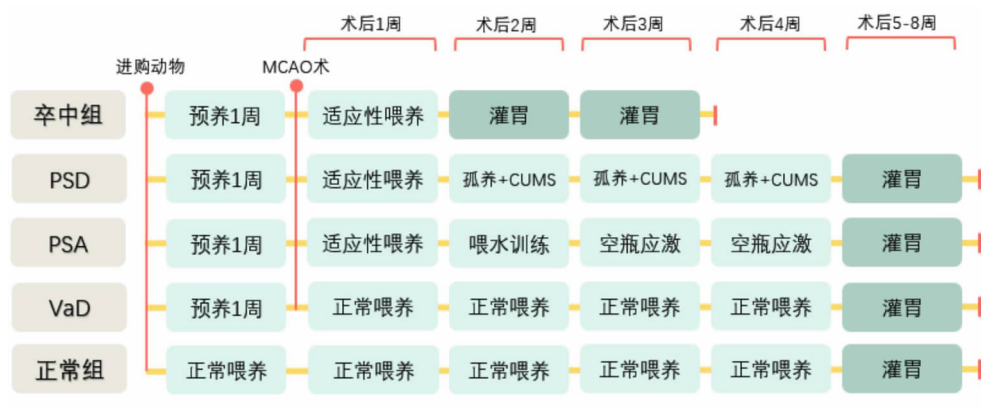


图 1 实验流程图

卒中观察组大鼠活动度较前略增加;精神状态改善,双眼较模型组红亮,动眼灵活;被毛色白,竖毛减少;粪便深棕色麦粒型,质软;口鼻颜色稍黯淡,爪甲及足底淡红色,耳廓微血管清晰淡红;舌色淡红。

卒中假手术组宏观表征较前无明显变化。

2.1.1.3 术后3周 模型组部分大鼠活动度减低,梳理次数减少,倦卧,精神状态转差,双眼黯淡,闻响后反应欠灵敏,口鼻颜色黯淡,舌色较前紫暗;同时可见部分大鼠攻击行为较前增加,舌色较前者红。少数大鼠出现浅棕色稀便。

卒中观察组大鼠无明显活动度减低、攻击行为增加表现,反应性可,闻响即抬头。粪便棕色麦粒型,质软,未见稀便。舌色淡红,口鼻颜色淡红。

卒中假手术组大鼠表征同前,无明显改变。

2.1.2 卒中后精神疾病组

2.1.2.1 术后2周 PSD 大鼠出现明显的易激惹表现,束缚及夹尾时可见明显反抗、嘶叫、毛须竖立,抓取时反抗明显;被毛色白,竖毛;束缚时,大鼠排泄行为增加,为棕色软便或稀便,未行束缚时粪便棕色麦粒型、质软;口鼻颜色稍黯,舌色淡红。

PSA 大鼠探究行为、攻击行为明显增多;反应灵敏性高,轻微响声即抬头;被毛色白,竖毛不明显;粪便棕色麦粒型,质硬。舌少津,色淡红。

VaD 大鼠行为活动较前无明显改变,精神状态稍差,部分大鼠双眼黯淡无神,被毛色白,欠光泽,少数大鼠竖毛。粪便棕色麦粒型,质软。舌色淡红。

2.1.2.2 术后3周 PSD 大鼠活动度较前减低,修饰行为减少,精神状态转差,束缚及夹尾时反抗、嘶叫程度减低,挣脱束缚次数减少,出现脱毛现象,被毛凌乱欠光泽。束缚时,大鼠排泄行为增加,为棕色软便或稀便,未行束缚时多为棕色麦粒型软便,偶见稀便。口鼻黯淡,舌色稍显紫暗。

PSA 大鼠探究行为、攻击行为持续,修饰行为减少,有明显啃咬鼠笼行为,抓取反抗明显,给水时段抢夺水瓶激烈。部分大鼠竖毛,被毛欠光泽。粪便麦粒型,粒小色黑质硬。舌红少津。

VaD 大鼠自发活动减少,梳理次数减少,部分大鼠倦卧、对外界刺激反应性下降,被毛欠光泽,偶有稀便。舌润泽,舌色淡红。

2.1.2.3 术后4周 PSD 大鼠活动度低,自发活动较少,倦卧、少动,喜蛰伏于鼠笼角落,精神状态差,眯眼、双眼黯淡,反应淡漠,闻响后不抬头,抓取反抗。被毛干枯杂乱无光泽,毛色白中夹黄,脱毛现象持续。形瘦。多为棕色麦粒型软便,偶见稀便。足

底颜色偏紫,口鼻黯淡,舌色紫暗,舌下脉络清晰、呈青紫色。

PSA 大鼠攻击行为、探究行为、修饰行为同前,鼠笼托盘内可见大量细碎饲料残渣(为大鼠啃咬饲料但不食入所致)。抓取时呈弓背抬头的攻击姿态,抓取反抗激烈、嘶叫。形瘦,竖毛,被毛欠光泽,脱毛。粪便麦粒型,粒小色黑质硬。口鼻黯淡,舌红少津。

VaD 大鼠少动、扎堆、倦卧、不活跃,精神状态较差,闭目趴卧时间较长,对外界刺激反应性下降,行动略迟缓,被毛色白欠顺滑,时有稀便。口鼻色稍暗,舌润泽,舌色淡红。

2.1.2.4 术后5~8周 PSD 模型组、假手术组大鼠经灌胃后行为活动、精神状态、被毛色泽等均较灌胃前无明显差异。

PSD 观察组大鼠经灌胃后,较应激后活跃,于角落蜷缩蛰伏等表现减少,对外界刺激兴奋性增加,脱毛现象明显减轻,被毛较前顺滑,稀便现象减少。舌色稍暗,舌下脉络淡紫。

PSA 模型组、假手术组大鼠停止应激并灌胃后无抢夺水瓶表现,探究行为较前减少,攻击、啃咬鼠笼行为略减少。稀便增多,肛周污染明显。脱毛。舌较前润泽,舌红。

PSA 观察组大鼠探究行为减少,梳理次数增加,攻击及啃咬鼠笼行为明显减少,抓取反抗程度减低,脱毛现象减少,粪便质软色棕。舌体润泽,舌色淡红。

VaD 模型组大鼠经灌胃后,行为活动、精神状态、被毛色泽等均较灌胃前无明显差异。舌多津,舌色淡红。

VaD 观察组大鼠经灌胃后,自发活动、梳理次数增加,精神状态改善,倦卧减少,稀便现象减少。舌体润泽,舌色淡红。

2.2 大鼠经灌胃后体重测量结果

2.2.1 卒中组大鼠体重测量结果 见表1。卒中组及正常组大鼠体重均呈现上升趋势。治疗1周后,卒中观察组较模型组体重略有升高,但无明显差异。模型组、观察组体重显著低于假手术组、正常组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。治疗2周后,观察组与模型组比较,体重有明显上升,差异有统计学意义($P < 0.05$),且与假手术组比较无显著差异。模型组与假手术组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。在治疗1周后及2周后时点上,卒中各组体重均显著低于正常组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

表 1 卒中组大鼠体重测量结果($\bar{x} \pm s, g$)

	卒中模型组	卒中观察组	卒中假手术组	正常组	F
治疗 1 周	286.00 $\pm$ 17.06 $^{\Delta\Delta}$	296.88 $\pm$ 18.06 $^{\Delta\Delta}$	327.70 $\pm$ 8.18 **	368.44 $\pm$ 7.87 $^{***\Delta\Delta}$	59.42
治疗 2 周	290.17 $\pm$ 18.19 $^{\Delta\Delta}$	322.13 $\pm$ 38.12 *	346.88 $\pm$ 17.60 **	404.13 $\pm$ 13.53 $^{***\Delta\Delta}$	56.34

注:与模型组比较, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$;与假手术组比较, $^{\Delta}P<0.05$, $^{\Delta\Delta}P<0.01$

表 2 PSD 组大鼠体重测量结果($\bar{x} \pm s, g$)

	卒中模型组	卒中观察组	卒中假手术组	正常组	F
治疗 1 周	261.50 $\pm$ 33.12	291.00 $\pm$ 43.19 $^{\Delta\Delta}$	343.00 $\pm$ 24.65 **	456.63 $\pm$ 16.07 $^{***\Delta\Delta}$	90.52
治疗 2 周	289.50 $\pm$ 39.53	325.57 $\pm$ 40.31 $^{\Delta\Delta}$	369.10 $\pm$ 29.62 **	474.00 $\pm$ 26.73 $^{***\Delta\Delta}$	41.13
治疗 4 周	303.80 $\pm$ 24.31	356.43 $\pm$ 36.30 $^{*\Delta}$	399.40 $\pm$ 35.40 **	480.57 $\pm$ 42.72 $^{***\Delta\Delta}$	26.47

注:与模型组比较, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$;与假手术组比较, $^{\Delta}P<0.05$, $^{\Delta\Delta}P<0.01$

表 3 卒中后焦虑组大鼠体重测量结果($\bar{x} \pm s, g$)

	PSA 模型组	PSA 观察组	PSA 假手术	正常组	F
治疗 1 周	334.02 $\pm$ 37.75	322.94 $\pm$ 32.24	350.11 $\pm$ 29.55	456.63 $\pm$ 16.07 $^{***\Delta\Delta}$	33.97
治疗 2 周	348.53 $\pm$ 44.39	357.19 $\pm$ 26.56	381.11 $\pm$ 28.40	474.00 $\pm$ 26.74 $^{***\Delta\Delta}$	25.31
治疗 4 周	361.65 $\pm$ 47.35	406.16 $\pm$ 32.75	406.44 $\pm$ 36.82 *	480.57 $\pm$ 42.72 $^{***\Delta\Delta}$	11.22

注:与模型组比较, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$;与假手术组比较, $^{\Delta}P<0.05$, $^{\Delta\Delta}P<0.01$

表 4 血管性痴呆组大鼠体重测量结果($\bar{x} \pm s, g$)

	VaD 模型组	VaD 观察组	正常组	F
治疗 1 周	388.83 $\pm$ 60.47 $^{\Delta}$	406.17 $\pm$ 74.84	456.63 $\pm$ 16.07 *	6.51
治疗 2 周	391.83 $\pm$ 62.18 $^{\Delta\Delta}$	410.60 $\pm$ 64.49 $^{\Delta}$	474.00 $\pm$ 26.74 **	8.22
治疗 4 周	409.17 $\pm$ 49.52 $^{\Delta\Delta}$	426.60 $\pm$ 68.80	480.57 $\pm$ 42.72 **	4.70

注:与模型组比较, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$;与正常组比较, $^{\Delta}P<0.05$, $^{\Delta\Delta}P<0.01$

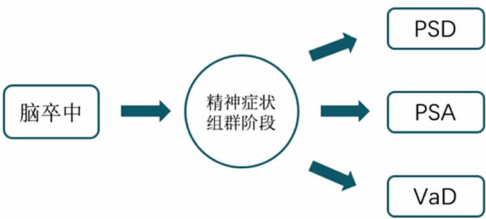


图 2 卒中后精神疾病发展示意图

2.2.2 PSD 组大鼠体重测量结果 见表 2。各组大鼠体重均呈上升趋势。治疗 1 周及 2 周后,PSD 观察组较模型组体重均有升高,但不具有统计学差异,且模型组、观察组体重显著低于假手术组、正常组,差异有统计学意义($P<0.01$)。治疗 4 周后,中药组较模型组体重有显著上升,差异有统计学意义($P<0.05$),仍明显低于假手术及正常组,差异有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。各时点假手术组体重均低于正常组,差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.2.3 PSA 组大鼠体重测量结果 见表 3,治疗 4 周内,各组大鼠体重呈上升趋势。治疗 1 周及 2 周后,模型组、观察组、假手术组之间无统计学差异。治疗 4 周后,模型组大鼠体重明显低于假手术组,差异有统计学意义($P<0.05$),观察组与假手术组间

无统计学差异。各时间点,正常组与 PSA 各组比较,体重均显著升高,差异有统计学意义($P<0.01$)。

2.2.4 VaD 组大鼠体重测量结果 见表 4,各组大鼠体重总体呈上升趋势。在治疗 1 周、2 周、4 周时间点上,模型组大鼠体重均显著低于正常组,观察组体重略高于模型组,但二者间差异无统计学意义。

3 讨论

3.1 卒中后精神疾病的发展演化及颐脑解郁方的立方依据 前期临床及基础研究发现,脑卒中患者发病后可出现情绪不稳、认知功能受损、思维迟滞、注意力下降及睡眠障碍等精神症状组群^[11],据其特征表现可归属于阈下抑郁、阈下焦虑或早期痴呆的范畴,其中部分患者最终发展为卒中后精神疾病。据此,唐启盛教授提出,PSD、PSA、VaD 是由卒中后精神症状组群阶段发展而来。见图 2。

中医认为,中风病的发展转归,由内风、痰浊、邪热、瘀血等病因与机体正气相争及其消长、变化的结果所决定。中风病后,若肾精亏耗,气虚痰阻,血行不畅,筋脉失养,则可出现行动迟缓、记忆力减退等症状;肝郁气滞,痰瘀气结者,可见郁郁寡欢等症状;

气郁化火,郁火痰热,扰乱心神者,又可出现烦躁焦虑、担忧紧张等表现。随着病程迁延,若心神失养,营血受损,肝郁加重,可出现心情抑郁、时时欲哭、悲观绝望、失眠等抑郁症表现;气郁化火,灼伤阴津,肝肾阴虚,心失所养则可出现坐立不安、烦躁担心及汗出、心悸、手抖等一系列植物神经症状的焦虑样表现;病程缠绵,瘀久致虚,气血亏耗,髓海不足,又可导致痴呆症状的出现,如情感淡漠、反应迟钝、认知功能障碍等。

究其病机之根本,不外乎气机阻滞、脑络痹阻属实;气血不足、肾精亏虚、脑失所养属虚。根据中医理论,并结合多年临床经验,唐启盛教授认为,中风后情志疾病证属本虚标实,肾精亏虚为本,气机壅滞为标。其治疗当以补肾疏肝、调气通络、解郁安神为治疗原则,以此立补肾调气之法,以固本解郁为要,而又虚实兼顾,组成复方颐脑解郁方。临床应用于中风后情志疾病,收效满意。颐脑解郁方由刺五加、五味子、郁金、栀子组成,方中刺五加益气健脾,补肾安神;郁金疏肝解郁,行气活血,清心安神;五味子益气生津、补肾宁心;栀子泻火除烦。四味药物共奏补肾调气之功效。现代药理学研究同样提示上述药物具有一定的脑保护作用,方中刺五加包含的苷类物质具有减缓脑缺血损伤、抗疲劳作用^[12-13],郁金包含的主要活性成分为姜黄素类及挥发油两大类,具有抗抑郁功效^[14];五味子的主要活性成分五味子乙素具有保护脑神经的作用^[15];栀子的活性成分具有抗焦虑活性及神经保护作用^[16]。

3.2 脑卒中向 PSD、PSA、VaD 演化过程中的表征变化趋势 在本研究中观察到,卒中模型组大鼠在术后 3 周时宏观表征出现分化,部分大鼠倦卧、精神状态萎靡、对外界刺激反应性下降,同时可见部分大鼠攻击行为较前增加。这与前期研究中精神症状组群阶段具有相同表现。此外,研究结果可见脑卒中向 PSD、PSA、VaD 发展演化过程中,大鼠的宏观表征变化趋势确有不同。

卒中大鼠向 PSD 演变过程中,首先出现明显的易激惹表现,如束缚及夹尾时反抗、嘶叫、毛须竖立、窜叫不安,抓取时呈现站立攻击姿态、反抗激烈,而后攻击性、对外界刺激反应性、活动度均逐渐降低,至应激结束后,表现为少动、蛰伏于鼠笼角落,修饰行为少,对外界刺激反应性低,形瘦,被毛结缕、无光泽,足底颜色偏紫,口鼻黯淡,舌色紫暗,舌下脉络发绀。

卒中大鼠向 PSA 演变过程中,可见攻击性行为、探究性行为明显增加,而后出现修饰行为减少。

至空瓶应激结束后,PSA 大鼠表现为攻击性高、探究性高,抓取时嘶叫、反抗激烈,修饰行为少,形瘦,竖毛,粪便粒小色黑质硬。口鼻黯淡,舌红少津。

卒中大鼠向 VaD 演变过程中,呈活动度、精神状态、反应性逐渐下降趋势,至术后 4 周,表现为自主活动少,行动较迟缓,精神状态差,倦卧,对外界刺激兴奋性低,被毛色白欠顺滑。偶有稀便。口鼻色稍暗,舌润泽,舌色淡红。

3.3 益肾调气方药的干预作用及卒中后精神疾病的“病证结合”探索 动物模型是中医药基础研究的桥梁和重要载体,建立同时具有西医疾病病理和中医证候特点的“病证结合”动物模型是中医药研究中亟需解决的问题,并已逐渐成为中医实验动物模型发展的新方向。肾虚肝郁证是中医肾虚证与肝郁证的复合证,具有肾虚、肝郁的加和内涵。本研究结果可见,各组大鼠具有不同程度的自主活动减少、抓取反抗、对外界刺激兴奋性低、精神萎靡、泄泻、脱毛等表现,与《中医诊断学》中关于肾虚及肝郁证的描述“精神萎靡、久泻不止、发脱、情志抑郁、胁肋胀痛、急躁易怒”等相符合。除此之外,PSD、PSA、VaD 模型大鼠宏观表征也不尽相同,各模型具有诸多特异性表征,提示各模型肾虚和肝郁的偏重有所不同。PSD 大鼠活动度低、精神状态差、舌色紫暗、舌下脉络发绀,提示疾病证候偏重于肝郁;PSA 大鼠攻击性高、抓取反抗激烈、舌红少津,提示偏重于肝郁化火;VaD 大鼠活动度低、精神萎靡、时有稀便、舌淡,其证候类型偏重于肾虚。在应用益肾调气中药颐脑解郁方后,各模型大鼠在行为活动、精神状态、被毛色泽、粪便情况及体重等方面均有不同程度的改善,揭示了益肾调气方药对治疗脑卒中及卒中后精神疾病的有效性,并从药物反证的角度进一步验证了肾虚肝郁的证候模型。

本研究从动物宏观表征入手,对脑卒中及卒中后精神疾患的“病证结合”进行了初步探索,但尚缺乏客观指标的佐证,在下一步的研究中,可以运用现代检测指标进一步印证中医证候。就目前而言,明确的评价标准和公认的评价方法,需要我们在以后的研究中不断摸索和完善。

综上所述,本研究初步验证卒中后精神疾病在其演变过程中具有肾虚肝郁的共同病机,益肾调气方药颐脑解郁方对缺血性脑卒中及卒中后精神疾病具有一定疗效,并为脑卒中、卒中后精神疾病的“病证结合”研究提供实验依据。

(下接第 3094 页)

- 32-65.
- [2] Teive HA, Chien HF, Munhoz RP, et al. Charcot's contribution to the study of tourette's syndrome[J]. *Arq Neuropsiquiatr*, 2008, 66: 918-921.
- [3] Diamond BI, Reyes MG, Borison R. A new animal model for Tourette syndrome[J]. *Adv Neurol*, 1982, 35(2): 221-225.
- [4] 王道涵, 王素梅, 张雯, 等. IDPN 诱导 TS 模型小鼠纹状体 EAAT2 表达变化及健脾止动汤的干预研究[J]. *中华中医药杂志*, 2013, 28(5): 1471-1474.
- [5] 王道涵, 王素梅, 卫利, 等. 健脾止动汤对多发性抽动症模型小鼠纹状体多巴胺及其受体含量的影响[J]. *北京中医药大学学报*, 2012, 35(7): 452-455.
- [6] 刘晓芳, 王素梅, 卫利, 等. 健脾止动汤对 Tourette 综合征模型鼠纹状体多巴胺转运蛋白表达的影响[J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2012, 21(3): 225-227.
- [7] 刘晓芳, 王素梅, 卫利, 等. 健脾止动汤对多发性抽动综合征模型鼠纹状体多巴胺 D2 受体 mRNA 的影响[J]. *中华行为医学与脑科学杂志*, 2013, 22(4): 296-298.
- [8] 梁媛, 郭晓玲, 岳广欣, 等. 逍遥散对肝郁脾虚证模型大鼠行为学变化的调节作用[J]. *北京中医药大学学报*, 2010, 33(5): 317-322.
- [9] 岳利峰, 丁杰, 陈家旭, 等. 肝郁脾虚证大鼠模型的建立与评价[J]. *北京中医药大学学报*, 2008, 31(6): 396-400.
- [10] 刘燕, 邹小娟, 丁秀芳. 基于复合应激的肝郁脾虚证小鼠模型的建立与评价[J]. *中华中医药杂志*, 2016, 5(21): 80-84.
- [11] 盛昭园, 王佑华, 徐燕, 等. 健脾疏肝降脂汤对高脂血症大鼠血脂及炎症因子水平调节的作用[J]. *世界中西医结合杂志*, 2017, 12(12): 107-110.
- [12] 刘海洋, 董文婷, 雷霞, 等. 肝郁脾虚型慢性肝炎“病、证”复合模型的建立[J]. *中医药信息*, 2014, 31(3): 84-85.
- [13] 刘晓芳, 卫利, 张雯, 等. 王素梅教授从病因病机论小儿多发性抽动症的治疗[J]. *现代中医临床*, 2016, 23(3): 38-41.
- [14] 田佳鑫, 马增春, 王宇光, 等. 三种脾虚泄泻证模型大鼠消化系统功能改变的比较[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(39): 129-131.
- [15] 蒋萃, 李白雪, 袁世清, 等. 脾虚证大鼠模型的制备方法研究进展及评价[J]. *环球中医药*, 2018, 11(8): 1333-1336.
- [16] 王洪海, 谢鸣. 复合病因造模法致脾虚证大鼠模型在免疫系统方面的变化[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2006, 12(12): 41-45.
- [17] 陈琼科, 王再谟. 脾虚宁浸膏对脾虚泄泻动物模型红细胞免疫的影响[J]. *中国中西医结合消化杂志*, 2002, 10(5): 273-275.
- [18] 陈自佳, 于文静, 王素梅. 脾虚证多发性抽动症小鼠模型的建立及评价[J]. *环球中医药*, 2016, 9(9): 1055-1058.
- [19] 张雯, 于文静, 王道涵, 等. 健脾止动汤对 TS 模型大鼠抗抽动效应及脑内兴奋性氨基酸递质的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2014, 29(5): 1653-1656.
- [20] ISOLA R, ZHANG H, TEJWANI GA, et al. Acute nicotine changes dynorphin and prodynorphin mRNA in the striatum[J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2009, 201(4): 507-516.
- [21] NYLANDER I, TERENIUS L. Chronic haloperidol and clozapine differentially affect dynorphin peptides and substance P in basal ganglia of the rat[J]. *Brain Res*, 1986, 380(1): 34-41.
- [22] Herrero-Marschitz M, Hokfelt T, Ungersted U, et al. Functional studies with the opioid peptide dynorphin: Acute effects of injections into the substantia nigra reticulata of naive rats[J]. *Life Sci*, 1983, 33(1): 555-558.
- (2018-10-26 收稿 责任编辑: 王明)

(上接第 3090 页)

参考文献

- [1] Wang W, Jiang B, Sun H, et al. Prevalence, incidence, and mortality of stroke in China: results from a nationwide population-based survey of 480687 adults[J]. *Circulation*, 2017, 135(8): 759-771.
- [2] 宇传华, 罗丽莎, 李梅, 等. 从全球视角看中国脑卒中疾病负担的严峻性[J]. *公共卫生与预防医学*, 2016, 27(1): 1-5.
- [3] 李予春, 李强, 冯砚国, 等. 认知行为疗法联合米氮平治疗脑卒中后抑郁疗效观察[J]. *新乡医学院学报*, 2018, 35(9): 816-819.
- [4] 崔燕, 魏峰, 阎文静, 等. 脑卒中后抑郁发病的影响因素[J]. *山东医药*, 2017, 57(9): 89-91.
- [5] 唐启盛, 侯秀娟, 赵瑞珍. 中药颐脑解郁方对抑郁模型大鼠脑单胺递质的干预作用[J]. *北京中医药*, 2011, 30(9): 710-713.
- [6] 尹军祥, 田金洲, 王永炎, 等. 寒凝血瘀证表征模型的建立[J]. *北京中医药大学学报*, 2006, 29(10): 682-685, 722.
- [7] 范瑞娟, 罗亚非, 孙玉凤. 新式线栓法建立大鼠局灶性脑缺血再灌注模型的建立[J]. *中国民族民间医药*, 2014, 31(6): 26-27.
- [8] 唐启盛, 罗斌, 司银楚, 等. 脑出血后抑郁状态动物模型的建立[J]. *北京中医药大学学报*, 2006, 1(29): 16-19.
- [9] 李冬梅, 唐启盛, 李小黎, 等. 脑卒中后大鼠模型精神症状组群的改变及中药的干预作用[J]. *北京中医药大学学报*, 2011, 34(6): 391-395.
- [10] 赵宪林, 方秀斌, 李东培. 大鼠血管性痴呆模型制作[J]. *中国医科大学学报*, 2002, 31(3): 166-167.
- [11] 李冬梅, 唐启盛, 赵瑞珍, 等. 脑卒中后大鼠模型边缘系统血管内皮生长因子的动态改变及中药的干预作用[J]. *北京中医药大学学报*, 2014, 37(9): 606-610.
- [12] Xie Y, Zhang B, Zhang Y. Protective effects of Acanthopanax polysaccharides on cerebral ischemia-reperfusion injury and its mechanisms[J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2015, 72(1): 946-50.
- [13] 白雪, 胡文忠, 姜爱丽, 等. 刺五加主要活性物质及其药理作用的研究进展[J]. *食品工业科技*, 2016, 37(6): 396-399.
- [14] 王颖, 郭兰萍, 黄璐琦, 等. 姜黄、莪术、郁金的化学成分与药理作用研究进展[J]. *中国药房*, 2013, 24(35): 3338-3341.
- [15] 梁婧, 侯海燕, 兰晓霞, 等. 五味子乙素的药理作用及其分子机制的研究进展[J]. *中国现代应用药学*, 2014, 31(4): 506-510.
- [16] 王亭. 中药栀子有效成分及药理作用的研究进展[J]. *中国药师*, 2015, 18(10): 1782-1784.
- (2018-07-02 收稿 责任编辑: 杨阳)