

侧柏黄酮对大鼠抑郁模型的影响

滕祖杰 肖敏敏 刘璐 粟权利 闫俊俊 鲍美华*
(长沙医学院基础医学院, 湖南长沙 410219)

【摘要】目的: 研究侧柏黄酮对慢性轻度不可预见性应激所致大鼠抑郁症模型的体重影响。方法: 选用SD大鼠制作大鼠慢性轻度不可预见性应激抑郁模型, 通过体重差得分, 采用悬尾实验、强迫游泳实验观察侧柏黄酮的抗抑郁作用。结果: 第21天, 与正常组相比, 模型组大鼠体重增长值显著减少, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 与模型组相比, 侧柏黄酮提取液组和氟西汀组大鼠体重增长值均有增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。与正常组比较, 模型组悬尾不动时间明显延长($P < 0.05$), 氟西汀能显著缩短模型组大鼠悬尾不动时间($P < 0.05$); 不同剂量侧柏黄酮提取液组均能不同程度的缩短抑郁大鼠的悬尾不动时间($P < 0.05$), 而各剂量组间无统计学差异($P > 0.05$)。模型大鼠与正常组比较, 强迫游泳不动时间明显延长($P < 0.05$), 氟西汀以及不同剂量侧柏黄酮提取液组均能显著缩短模型大鼠的强迫游泳不动时间($P < 0.05$)。结论: 侧柏黄酮可以有效缩短抑郁大鼠行为绝望时间, 具有一定的干预抑郁功效。

【关键词】侧柏; 黄酮; 抑郁症; 应激

根据世界卫生组织的最新估计, 全球目前有超过4亿人患抑郁症, 据其推测, 到2020年抑郁症将与艾滋病、癌症并列为三大健康“杀手”。在我国抑郁症患者人数已经接近1亿, 每年大约有一百万人因抑郁症而自杀, 并且患抑郁症的人数还在不断增长。目前, 对于抑郁症的治疗主要靠化学合成药物辅以心理治疗完成, 但化学合成药物造价昂贵, 且具有很大的局限性, 长期使用会对人体产生一定的毒副作用。因此本研究采用慢性轻度不可预见性的应激建立大鼠抑郁症模型, 并通过各项行为学实验指标来评价侧柏黄酮对大鼠抑郁症模型的影响, 为精神类药物研制领域中的新方向。

1 材料及方法

1.1 实验动物

SD系健康雄性大鼠72只, 体重120~200g, 购于长沙市天勤生物技术有限公司, 实验动物许可证号: SYXK(湘)2017-0003。购回大鼠后适应性喂养1周, 自由进食进水, 自然光昼夜节律照射, 控制室内温度(24 ± 2)℃及湿度40%~60%。

1.2 药品及试剂

侧柏黄酮提取液: 将侧柏叶1kg, 捣碎, 用石油醚提取除去叶绿素等杂质, 用50%乙醇加热回流提取, 回收乙醇浓缩成浸膏, 用甲醇洗脱, 浓缩洗脱液, 结晶得侧柏总黄酮; 氟西汀, 实验前以生理盐水溶解配药。

1.3 主要仪器

ML100型电子分析天平; 大鼠行为观察敞箱; 大鼠固定笼。

1.4 方法

1.4.1 动物分组。将大鼠随机分为6组: 正常组、模型组、氟西汀组、黄酮低剂量组(25mg/kg)、黄酮中剂量组(50mg/kg)、黄酮高剂量组(100mg/kg), 每组各12只。正常组正常摄食饮水, 不给予任何刺激。其他5组分别接受21d不可预知的刺激。

1.4.2 大鼠抑郁症模型制备。建模第1天开始, 氟西汀组和黄酮组给药 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 正常组和模型组则给予蒸馏水。应激方式按文献稍作改进, 包括24h禁食, 24h禁水, 通宵照明, 4℃冷水游泳5min, 45℃烘箱热烘5min, 夹尾1min, 高速水平振荡3min, 100V电击足底1min(电击延迟1s), 悬尾1min等9种刺激, 21d内随机安排, 每天给予1种刺激, 每种刺激出现2~3次, 同一种刺激不能连续出现, 使动物不能预知给予的刺激。制造为期21天的大鼠鼠养加慢性不可预见性应激抑

郁模型。

1.5 行为学实验

1.5.1 体重变化的测定。应激的第1天和第21天, 分别称取各组大鼠的体重, 将实验第21天体重减去实验第1天体重得到各组大鼠的体重增长值。

1.5.2 悬尾试验。用医用胶布将大鼠尾(在距尾尖1cm处)粘在高出桌面15cm的横杆上, 使其呈倒立状态, 四周以板隔离大鼠视线。大鼠为了克服不正常体位而挣扎活动, 但活动一段时间后出现间隙性静止, 即显示失望状态。适应1min后, 记录5min内大鼠的累计不动时间。

1.5.3 强迫游泳不动试验。强迫游泳实验正式强迫游泳实验前24h进行预游泳实验, 将大鼠放入水温26℃, 水深20cm, 直径20cm, 高80cm玻璃缸内游泳15min。次日进行正式实验, 大鼠放入与预游泳相同的环境中, 大鼠表现为被动漂浮, 挣扎行为消失持续3s被认定为不动状态。计算6min内大鼠强迫游泳的累计不动时间。

1.6 统计学方法

所有数据均输入计算机并建立数据库, 应用SPSS22.0软件进行统计分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 标本左右两侧测量结果进行t检验和相关分析, 统计结果以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 侧柏黄酮提取液对抑郁大鼠体重变化的影响

第21天, 与正常组相比, 模型组大鼠体重增长值显著减少, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 与模型组相比, 侧柏黄酮提取液组和氟西汀组大鼠体重增长值均有增加, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

表1 侧柏黄酮提取液对抑郁大鼠体重变化的影响(g, $\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | 第1天 | 第21天 | 增长值 |
|--------|----|-------------------|---------------------|--------------------|
| 正常组 | 12 | 165.29 \pm 6.21 | 225.82 \pm 6.32 | 60.53 \pm 6.47 |
| 模型组 | 12 | 165.42 \pm 7.27 | 203.14 \pm 5.21* | 37.72 \pm 5.76* |
| 氟西汀组 | 12 | 167.38 \pm 5.90 | 228.88 \pm 6.24** | 61.50 \pm 5.30** |
| 黄酮低剂量组 | 12 | 167.35 \pm 6.58 | 234.15 \pm 6.35* | 66.8 \pm 6.08* |
| 黄酮中剂量组 | 12 | 166.20 \pm 6.72 | 247.57 \pm 5.13** | 81.57 \pm 6.54** |
| 黄酮高剂量组 | 12 | 168.51 \pm 7.33 | 212.34 \pm 4.33* | 43.83 \pm 5.09* |

注: *与正常组比较; $P < 0.05$; #与模型组比较; $P < 0.05$ 。

2.2 侧柏黄酮提取液对抑郁大鼠悬尾不动时间的影响

与正常组比较,模型组悬尾不动时间明显延长 ($P < 0.05$),氟西汀能显著缩短模型组大鼠悬尾不动时间 ($P < 0.05$);不同剂量侧柏黄酮提取液组均能不同程度的缩短抑郁大鼠的悬尾不动时间 ($P < 0.05$),而各剂量组间无统计学差异 ($P > 0.05$)。见表2。

表2 侧柏黄酮提取液对抑郁大鼠不动时间的影响 ($\bar{s}, \bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | 悬尾不动时间 | 强迫游泳不动时间 |
|--------|----|-------------------------|---------------------------|
| 正常组 | 12 | 173.83±23.87 | 146.63±11.09 |
| 模型组 | 12 | 75.88±6.19* | 66.4±3.80* |
| 氟西汀组 | 12 | 151.7±19.5 [#] | 104.25±26.23 [#] |
| 黄酮低剂量组 | 12 | 94.18±4.13 [#] | 75.9±5.31 [#] |
| 黄酮中剂量组 | 12 | 85.88±8.43 [#] | 81.4±7.15 [#] |
| 黄酮高剂量组 | 12 | 83.28±9.81 [#] | 84.15±7.30 [#] |

注: *与正常组比较: $P < 0.05$; #与模型组比较: $P < 0.05$ 。

2.3 侧柏黄酮提取液对抑郁大鼠强迫游泳不动时间的影响

模型大鼠与正常组比较,强迫游泳不动时间明显延长 ($P < 0.05$),氟西汀以及不同剂量侧柏黄酮提取液组均能显著缩短模型大鼠的强迫游泳不动时间 ($P < 0.05$),见表2。

3 讨论

侧柏中的黄酮(Flavonoid, 又称类黄酮)成分对神经系统具有保护作用,它可以有效抑制兴奋性神经递质谷氨酸的释放,并且抑制效应随浓度增加而增加。侧柏为我国特有中药材。主要含有黄酮、萜类、树脂等化合物。侧柏叶具有神经保护、抗红细胞氧化、降血压等作用;侧柏的果实具有加快血液循环、增强记忆、清除自由基和抗弹性蛋白酶的活性。黄酮作为钙离子通道拮抗剂,抑制氯化钾、去甲肾上腺素、5-羟色胺等引起的钙离子增高,从而对神经系统起到保护作用。

盐酸氟西汀是一种选择性5-羟色胺再摄取抑制剂,可以通过增加大脑自身的5-HT供给来纠正这种神经递质的缺乏,从而能够有效治疗抑郁症,但对NE再摄取影响很少。本实验通过慢性不可预见性应激抑郁模型建立抑郁大鼠模型,该模型

是目前国内外文献中广泛使用的模型,能够较好地模拟抑郁患者的病理状态,如快感缺乏、兴趣丧失、体重减轻、自主活动次数减少及糖水摄入量等。与模型组比较,与正常组比较,不同剂量侧柏黄酮提取液组均能不同程度的缩短抑郁大鼠的悬尾不动时间 ($P < 0.05$)。模型大鼠与正常组比较,强迫游泳不动时间明显延长 ($P < 0.05$)。具有抗抑郁作用。

侧柏叶和果实中含有槲皮素、二萜类化合物和槲皮苷,黄酮类化合物槲皮黄酮3-O-木糖苷、芦丁、槲皮素和橘皮苷,均可显著降低大鼠在水中的不动时间,显著诱导抗抑郁作用。据此我推测侧柏中的黄酮对抗抑郁有可能有显著效果。但侧柏中黄酮类化合物抗抑郁的作用机制还不能完全阐明,对哪些信号通路具有干预作用,这些信号通路之间又是怎样相互作用和相互联系的需要我们进一步深入研究。

项目基金:湖南省大学生创新创业训练计划项目(项目编号:湘教通[2016]283号-767);长沙医学院大学生创新创业训练计划项目(项目编号:长医教[2016]19号-004)。

参考文献:

[1] 于美霞,毛宁,张琪,等. 抑郁症自杀未遂患者脑磁共振研究进展[J]. 磁共振成像, 2019, 10(11):855-858.
 [2] 鲜慈英,凌志峰,黄斌,等. 中医药治疗抑郁症研究现状[J]. 湖北民族大学学报(医学版), 2020, v.37;No.110(01):79-82.
 [3] 张国琴,刘延红,潘田琅,等. 侧柏叶中总黄酮成分含量测定[J]. 西北药学杂志, 2001(03):12-13.
 [4] 雷萌,戴佳锐,曹朵,等. 侧柏叶和种子的化学成分及其药理作用研究进展[J]. 生命的化学, 2018, v.38; No.221(02):106-114.
 [5] 邢航,路承彪,韩雄. 选择性5-羟色胺再摄取抑制剂治疗癫痫合并抑郁症效果的meta分析[J]. 河南医学研究, 2020, v.29(25):13-18.
 [6] 石典花,宗珊珊,胡军,等. 对《中国药典》中侧柏叶TLC鉴别方法的改进[J]. 中成药, 2019, 41(03):210-212.
 作者简介:滕祖杰(1999.8-),男,福建福州人,本科,研究方向:临床医学;通讯作者:鲍美华(1978.8-),女,湖南长沙人,博士,副教授,研究方向:药理学。

上接第158页

[5]. Prensner JR, Iyer MK, Sahu A, et al. The long noncoding RNA SChLAP1 promotes aggressive prostate cancer and antagonizes the SWI/SNF complex. Nat Genet. 2013;45:1392 - 1398.
 [6]. Hung CL, Wang LY, Yu YL, et al. A long noncoding RNA connects c-Myc to tumor metabolism. Proc Natl Acad Sci USA. 2014;111(52):18697 - 18702.
 [7]. Hu T, Lu Y. BCYRN1, a c-MYC-activated long non-coding RNA, regulates cell metastasis of non-small-cell lung cancer. Cancer Cell Int. 2015;15:36.
 [8]. Booy EP, McRae EK, Koul A, et al. The long non-coding RNA BC200 (BCYRN1) is critical for cancer cell survival and proliferation. Mol Cancer. 2017;16(1):109.
 [9]. Yang L, Zhang Y, Bao J, et al. Long non-coding RNA BCYRN1 exerts an oncogenic role in colorectal cancer by regulating the miR-204-3p/KRAS axis[J]. Cancer Cell Int. 2020;20: 453.
 [10]. Gao Q, Zhou R, Meng Y, et al. Long noncoding RNA CMPK2 promotes colorectal cancer progression by activating the FUBP3 - c-Myc

axis[J]. Oncogene, 2020(1).
 [11]. Xu M, Chen X, Lin K, et al. The long noncoding RNA SNHG1 regulates colorectal cancer cell growth through interactions with EZH2 and miR-154-5p[J]. Molecular Cancer, 2018, 17(1).
 [12]. Huang H, Yang X, Chen J, et al. lncRNA DGCR5 inhibits the proliferation of colorectal cancer cells by downregulating miR21[J]. Oncology Letters, 2019, 18(3):3331-3336.
 [13]. MourtadaMaarabouni M, Hedge VL, Kirkham L, Farzaneh F and Williams GT: Growth arrest in human T-cells is controlled by the non-coding RNA growth-arrest-specific transcript 5 (GAS5). J Cell Sci 121: 939946, 2008
 [14]. Yang Y, Shen Z, Yan Y, et al. Long non-coding RNA GAS5 inhibits cell proliferation, induces G0/G1 arrest and apoptosis, and functions as a prognostic marker in colorectal cancer.[J]. Oncology Letters, 2017.
 [15]. Yao H, Xia D, Wang M, et al. Overexpression of lncRNA-422 inhibits proliferation and invasion in colorectal cancer[J]. International Journal of Clinical and Experimental Medicine, 2017, 10(10):14394-14400.