

安神解郁汤治疗抑郁 SD 大鼠模型的疗效观察

胡小艳¹ 李响² 李珍² 隋竹欣^{2*}

1. 大方县响水乡卫生院 贵州毕节 551700

2. 齐鲁医药学院 山东齐鲁 255000

摘要：目的 观察安神解郁汤对抑郁 SD 大鼠的治疗效果及其对海马体和睾丸的影响。方法 将 30 只雄性 SD 大鼠随机分为对照组（Control Group）、抑郁模型组（Depression Model Group）和治疗组（Drug Treatment Group），利用慢性不可预测的中度刺激建立 SD 大鼠模型，将安神解郁汤按比例配置煎煮后 60℃ 水浴箱浓缩至含生药 2g/ml，通过灌胃对治疗组进行治疗，糖水偏好和旷场实验检测各组大鼠的行为学表现，以及 HE 染色观察治疗前后大鼠海马体、睾丸的组织结构变化；结果 糖水消耗百分比抑郁模型组明显低于对照组和治疗组，旷场实验中大鼠的行走路程、中央格停留时间、行为学修饰等抑郁模型组明显低于对照组和治疗组，HE 染色 SD 大鼠海马体、睾丸组织结构明显发现变化。结论 安神解郁汤对抑郁 SD 大鼠治疗有一定疗效，同时对模型大鼠海马体积及睾丸结构有保护作用。

关键词：灌胃；抑郁症；海马；睾丸

抑郁症是一种普遍存在、威胁生命、高度反复发作的精神障碍，主要由应激性生活事件所引发，还涉及到遗传和社会等多重因素的影响，其特征是情绪低落、悲观厌世、快感缺失等，严重者则会造成自杀等不良的后果^[1-3]，抑郁症已经对人们的身心健康造成了巨大的影响，同时也给社会增加了很大的负担，因此，对抑郁症进行治疗和预防的研究已迫在眉睫，但是治疗抑郁症的有效方法迄今为止仍尚未阐明。根据目前的研究显示，患抑郁症可能会影响海马体、睾丸的正常发育及其功能的衰弱。此外，还有一些研究发现，在抑郁的病人中，海马体体积会显著降低，睾丸精液分泌量明显减少其精液形状明显发现结构改变，动物的研究也有类似的发现。抑郁症在中医学属郁病范畴，在抑郁症治疗中具有明显的优势，同时也有研究表明安神解郁汤对治疗精神类的疾病具体明显的疗效且效果明确。本实验采用慢性不可逆的应激刺激制备各组抑郁大鼠模型组，通过糖水偏好和行为学检测验证模型制备是否成功，切片制备及 HE 染色观察治疗前后大鼠海马体神经元、睾丸的细胞结构的改变。

1. 对象和方法

1.1 实验动物

30 只重 200-300 g SPF 级雄性 SD 大鼠（济南朋悦生物科技股份有限公司）证书编号：SCXK(鲁)20190003，条件：22 ~ 28℃，自由进食和饮水，12h 光照/12h 黑暗，饲

养 7 天后再进行实验，本实验的动物伦理经齐鲁医药学院医学伦理委员会批准，审批单位：齐鲁医药学院，批号：YXLL2019001。

1.2 主要药物

安神解郁汤（9.8 克柴胡、14.8 克党参、14.8 克远志、9.8 克木香、9.8 克神曲），以上药物均来自北京中医院淄博附属医院，煎煮后 60℃ 水浴箱浓缩至含生药 2g/ml^[4]。

1.3 实验分组与处理

30 只实验大鼠随机分为三个组别，分别是：对照组（Control），模型组（CUMS），药物治疗组（Drug），对照组 10 只、模型组 10 只和药物治疗组 10 只，其中对照组常规方法喂养，未作任何特别处理，模型组和药物治疗组使用慢性不可预测的温和应激（chronic unpredicted mild stress, CUMS）使其出现抑郁症状，即在 28d 内分别给予慢性不可预的刺激，分别为：孤养 3d，潮湿垫料 24h，高空掉落 10min，应激实验（播放天敌或母子分离叫声）2h，禁食禁水各 2h，电击双耳或足底（1.1mA）2 ~ 6min，行为束缚 24h，420C 热水游泳 5min，20C 冰水游泳 3 ~ 5min，鼠笼倾斜 24h，气味刺激（巴氏消毒液清洗鼠笼）3h，夹击鼠尾 3 ~ 5min，昼夜颠倒 24h，上述实验共 14 次，实验进行 2 个循环。每个实验都是随机进行，使大鼠受到的刺激不可预知。28d 后进行糖水偏好和旷场实验，确定模型制备成功，模型组大鼠处死，

进行灌注取材,其步骤为:将输液器置入生理盐水瓶中,放空空气,将注射针头插入,已麻醉大鼠置于解剖台,其肢体固定,沿腹白线及剑突中线,表皮及肌肉切开,切开膈肌,用止血钳夹住两边肌肉,使其向外翻开,显露心脏。用钳子对心包进行钝性分离,用止血钳轻轻夹住心脏,在左心耳上剪开一小口,将灌注针插入到主动脉2-3mm,插入时,应该有落空感觉,止血钳来夹紧固定心脏和灌注针,剪开右心耳,打开输液器的阀门,对其进行快速的输注250ml生理盐水,直到脏器变白为止,(一般为1h左右),在此状态下迅速取材大脑和睾丸。在CUMS造模成功后,药物治疗组给予安神解郁汤进行治疗,剂量为2ml/次,每天两次,对照组给予生理盐水灌喂,剂量为2ml/次,每天两次,连续灌喂10d后在相应的时间对各组别的大鼠分别处死,进行取材,取材大脑、睾丸。

1.4 指标与方法

1.4.1 糖水偏好实验

在28d上午8时左右对各个实验组大鼠在实验前进行禁水24h,在每个鼠笼中分别放置300ml自来水和300ml 2%蔗糖水双瓶供给。在实验前应对饮水瓶进行检查,检查饮水瓶是否出现漏水现象等并做好相关实验记录。3h后分别测出各组的消耗量,糖水偏好率(%) = 糖水消耗量(ml) / 糖水量 + 自来水的总消耗量(ml) x 100%。

1.4.2 旷场实验

场地规格为150cm x 90 x 60cm,底部为黑色模拟实验环境。为防止外界环境造成干扰,旷场实验应安排在寂静的屋内进行实验。实验应在每天相同时间段进行。提起大鼠背部将大鼠轻轻的放入中心方格中央,分别对其行走的路程、中央格停留时间、直立次数以及行为修饰时间进行测试,具体方法如下:在旷场旁放置三角支架,使其高出旷场50cm左右,调整摄像机的位置使其能够完整记录大鼠的行为修饰过程,最后保存数据进行电脑分析。

1.4.3 HE染色

将对照组、实验组和药物治疗组分别进行从左心室刺入升主动脉,将右心耳切开,然后在室温下对其进行迅速的灌注,直到肝脏呈现白色为止。(一般在1h左右),在用4度预冷的4%多聚甲醛固定24h后,流水冲洗24h,将取材放入包埋盒中进行梯度脱水,将脱水后组织进行石蜡包埋,冠状切片,脱蜡至水,用苏木精染色3~5min,流水冲洗

10~15min,乙醇分化5~10s,流水冲洗返蓝5min,梯度酒精脱水、透明和封片,观察大鼠海马神经元和睾丸结构的变化。

1.4.4 统计学处理

采用SPSS19.0统计学软件进行数据分析,计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各相对实验中比较采用t检验进行组间两两对比,比较进行单因素方差分析,以P < 0.05为差异有统计学意义。

2. 结果

2.1 各组糖水偏好的比较

对照组,模型组和药物治疗组各组间水的消耗量比较,差异无统计学意义(P > 0.05)。模型组的糖水消耗量低于对照组和药物治疗组(P < 0.001),差异有统计学意义,糖水偏好率低于对照组和药物治疗组(P < 0.001),差异有统计学意义。

表1 各组糖水偏好的比较 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	水消耗量 (ml)	糖水消耗量 (ml)	糖水偏好率
对照组	10	22.27 ± 2.68	44.54 ± 5.36	86.25 ± 2.54
模型组	10	20.21 ± 2.69	25.16 ± 2.16a	53.36 ± 2.25a
药物治疗组	10	21.25 ± 2.85	42.45 ± 2.26	84.49 ± 4.52
P值		> 0.05	< 0.001	< 0.001
F值		32.89	191.05	680.231

与对照组比较 aP < 0.001; 与药物治疗组比较, aP < 0.001

2.2 各组旷场实验的比较

旷场实验对照组和药物治疗组的大鼠在行走路程、中央格停留时间、行为学修饰等比较,差异无统计学意义(P > 0.05)。模型组行走路程低于对照组以及药物治疗组(P < 0.001),差异有统计学意义。模型组中央格停留时间低于对照组以及药物治疗组(P < 0.001),差异有统计学意义,模型组一分钟行为学修饰次数低于对照组和药物治疗组(P < 0.001),差异有统计学意义。

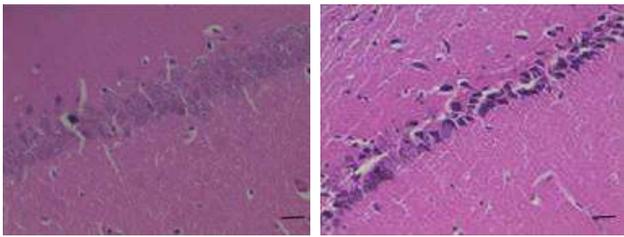
表2 各组实验大鼠行走路程、中央格停留时间、行为学修饰次数 (n=10, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	行走路程 (m)	中央格停留时间(s)	行为学修饰次
对照组	10	50.26 ± 2.45	28.16 ± 3.17	10.31 ± 2.12
模型组	10	22.25 ± 5.23b	13.38 ± 4.32b	4.37 ± 5.36b
药物治疗组	10	48.45 ± 2.39	24.46 ± 3.36	9.96 ± 3.45
P值		< 0.001	< 0.001	< 0.001
F值		238.47	116.47	60.51

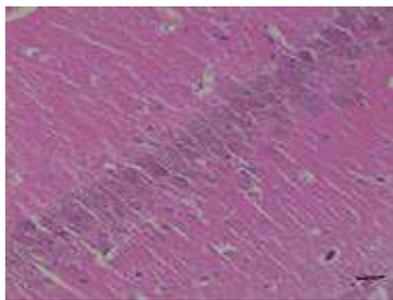
与对照组比较 bP < 0.001; 与药物治疗组比较, bP < 0.001

2.3 各组实验大鼠的 HE 染色海马神经元切片观察

通过（图1）切片镜下观察（Bar = 20 μm，放大倍数40×），可以清晰观察到对照组、药物治疗组海马细胞排列整齐，细胞密度较高，细胞核形态完整，模型组海马细胞排列则反之，存在固缩现象且核数量显著较少，其中海马体的CA1变化尤为显著。通过图B与图A、C对比发现，模型组的大鼠海马细胞固缩现象明显比对照组和药物治疗组严重，药物治疗组有所改善。



A: 对照组大鼠海马神经元; B: 模型组大鼠海马神经元;

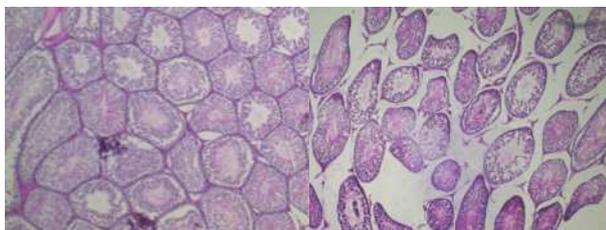


C: 药物治疗组海马神经元

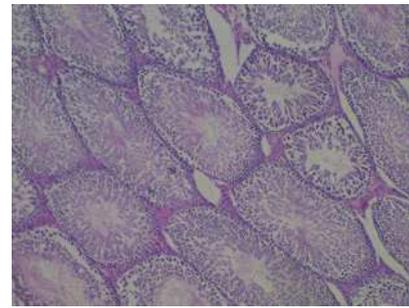
图1 海马神经元 HE 染色

2.4 各组实验大鼠的 HE 染色睾丸切片观察

通过（图2）切片镜下观察（Bar = 20 μm，放大倍数40×），可以观察到模型组大鼠睾丸生精小管的萎缩非常严重，其中生精细胞的数量和精子数量明显少于对照组和药物治疗组，细胞间质存在充血现象水肿严重，精细胞排列较杂乱且细胞核固缩严重。对照组和药物治疗组大鼠睾丸生精小管形态完好，清晰可见各个时期的生精细胞和大量的精子，间质细胞的形态正常且排列有序有较强的层次感。



D: 对照组睾丸; E: 模型组睾丸;



F: 药物治疗组睾丸

图2 睾丸 HE 染色

3. 讨论

抑郁症作为全球第二大疾病，已成为危及人类生命健康的关键性社会事件^[5]。到2030年，抑郁症或将成为全球负担第一位的疾病病种^[6]，抑郁症（depression）是精神科发病率和自杀率最高的疾病^[7]，在我国抑郁症发病率约为3%–5%，目前已经有超过5300万人患有抑郁症。抑郁症是一种慢性严重的精神疾病，其主要表现为显著持续的情绪低落，具有极高的患病率、自残率以及自杀率。抑郁症已严重的影响人们的身心健康，对抑郁症的发病机制及预防研究已迫在眉睫，当前对抑郁症的理解还不够深入，但已有研究表明抑郁症与多种因素密切相关，生物学因素如基因变异、神经递质的失衡以及神经回路的异常功能可能在抑郁症的发病机制中起着重要作用。心理社会因素如应激、遗传、生活压力、人际关系问题等也被认为是抑郁症发展的重要因素^[8-9]。因此，综合多学科的研究方法是深入研究抑郁症的关键，而抑郁症基础研究应该从正确的模型建立开始，本研究通过糖水偏好实验以及旷场实验分别对各组实验大鼠对糖水偏好喜爱度和对空旷场地的探究能力验证其抑郁症的状态。

已有研究表明抑郁症患者其海马体体积明显减少^[10-12]，睾丸生精细胞和精子分泌量明显少于对照组和药物治疗组且生精小管形状也发生明显的结构性改变。本次试验结果也充分证明，模型组海马体细胞排列较为杂乱，整体呈松散状，细胞密度较低，细胞数量较少，细胞核不完整存在固缩现象且核数量显著较少，模型组的大鼠睾丸生精小管的萎缩非常严重，其中生精细胞的数量和精子数量明显少于对照组和药物治疗组，细胞间质存在充血现象水肿严重，精细胞排列较杂乱且细胞核固缩严重^[13-14]。此外，也有有关的研究发现，安神解郁汤可以起到安神养心的功效，在治疗精神类疾病方面有很好的效果^[15-17]，安神解郁汤是一种常用于治疗抑郁

症的中药方剂。它由多种中草药组成,研究表明,安神解郁汤具有安神养心的功效,并在治疗精神类疾病方面显示出良好的效果^[16-17]。本实验通过安神解郁汤灌喂治疗后 CUMS 大鼠的情况得到明显的改善,由此可以得到初步结论即安神解郁汤能够有效治疗抑郁症且治疗效果较好,其抗抑郁作用对改善抑郁 SD 大鼠海马体积及睾丸结构有明显的作用。本次实验研究已经证实了安神解郁汤可以有效的治疗抑郁症,但对于抑郁症的发病机制及根治目前为止尚未完全明确,因此对于如何有效的根治抑郁症及其发病机制的探究在未来一段很长的时间将会成为研究的热点,需要进一步加强对抑郁症的基础研究,包括从分子水平、神经递质调控、神经回路变化等方面进行深入研究。此外,还需要开展更多临床实验,探索不同治疗方案对抑郁症患者的疗效以及长期效果的评估,综合多学科的合作和综合治疗的探索,将有助于更好地理解 and 应对抑郁症这一严重精神疾病。

总的来说,抑郁症对人类健康产生重大影响,治疗和研究抑郁症是当前的紧迫任务。通过持续的努力和深入的研究,有望为抑郁症的预防、治疗和管理提供更有效的策略,从而减少其对个体和社会造成的负面影响。中药作为一种重要的替代治疗方式,也吸引了广泛的关注,中药的使用历史悠久,其中某些草药和方剂被认为对抑郁症具有一定的疗效,下一步继续进行中药成分的研究以及进一步探索抑郁症的病因机制,发展更个体化的治疗方案,并探索综合治疗的最佳实践。

参考文献:

[1] 王志锋,李志翔,李红,等.体育运动对抑郁症的干预研究[J].生理科学进展,2022,53(6):433-439.

[2] 柯雪婷.认知行为护理干预对抑郁症患者睡眠质量和自杀态度的影响评价研究[J].世界睡眠医学杂志,2022,9(8):1491-1494.

[3] Jovanovi N,Beezhold J,Tateno M,et al.Depression and suicidality among psychiatric residents—results from a multi-country study[J].J Affect Disord.2019,249(15):192-198.

[4] 李珍,隋竹欣,王笛笛,等.安神解郁汤对 CUMS 大鼠海马 p-Tau 及 HPA 轴的影响[J].神经解剖学杂志,2019,35(4):383-388.

[5] 李文文.媒体抑郁症报道的内容设置及患者形象研究[J].东南传播,2022,7(8):120-123.

[6] Abbafati C, Abbas K. M, Abbasi-Kangevari M, et al. GBD 2019 Diseases and Injuries Collaborators. Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019[J]. Lancet. 2020, 396(10262): 1562–1562.

[7] Serretti A, Mandelli L, Lattuada E, et al. Depressive syndrome in major psychoses: a study on 1351 subjects [J]. Psychiatry research, 2004, 127(1–2): 85–99.

[8] Shadrina M, Bondarenko E A, Slominsky P A. Genetics Factors in Major Depression Disease [J]. Frontiers in psychiatry, 2018, 9(2): 334.

[9] Postal M, Appenzeller S. The importance of cytokines and autoantibodies in depression [J]. Autoimmun Rev, 2015, 14(1): 30–5.

[10] Gbysl K, Rostrup E, Raghava JM, et al. Volume of hippocampal subregions and clinical improvement following electroconvulsive therapy in patients with depression [J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry. 2021, 104(9): 110048.

[11] Xu J, Tang Y, Cecilio Baro C, Zhang X, et al. Left fimbria atrophy is associated with hippocampal metabolism in female major depressive disorder patients [J]. Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc. 2018, 2018(1): 1136–1139.

[12] 苏小琴,王谨敏.抑郁症与海马体积的相关性研究进展[J].现代医药卫生,2022,38(21):3690-3693+3697.

[13] 竹梅,侯倩伶,狄贯腾,等.微波疏灯、热辐射灯、日光灯和 LED 灯对雄性抑郁大鼠生殖功能的影响[J].基础医学与临床,2017,37(6):821-827.

[14] 张莹,王尚明,张斌,等.慢性不可预知性温和刺激对雄性大鼠生殖系统的影响[J].中国计划生育学杂志,2015,23(7):440-442.

[15] 许慧,陈建宏.安神解郁汤联合耳穴刺激治疗肝气郁结型卒中后抑郁 40 例[J].湖南中医杂志,2022,38(5):1-5.

[16] 李珍.安神解郁汤对 CUMS 大鼠行为学及海马细胞骨架蛋白和 HPA 轴的影响[D].华北理工大学,2020.

[17] 毛英华,马学雷.正向促进调节联合安神解郁疗法对产后抑郁及睡眠质量的影响[J].临床护理杂志,2022,21(3):31-33.

作者简介:

胡小艳(1982—),女,贵州毕节,汉族,本科,研究方

向：临床病理学。

李响(1998—)，男，贵州毕节，汉族，本科，研究方向：
临床病理学。

通讯作者：隋竹欣(1984—)，男，山东莱阳，硕士研究生，
齐鲁医药学院副教授，研究方向：应激性疾病发病机制。

基金资助：

齐鲁医药学院大学生挑战杯项目(162)；齐鲁医药学
院校级科研项目(X19ZK04)；山东省医药卫生科技发展计
划项目(202103090636)。