

[药 理]

逍遥散对抑郁大鼠的行为学及抗氧化作用的影响

罗杰, 刘小波, 吕红君, 杨清鑫, 骆燕钦, 曾南*, 刘蓉*
(成都中医药大学药学院, 四川 成都 611137)

摘要: **目的** 探讨逍遥散对抑郁大鼠的行为学及抗氧化作用的影响。**方法** 建立嗅球摘除抑郁大鼠模型。大鼠随机分为假手术组、模型组、盐酸氟西汀组(0.01 g/kg)及逍遥散高、低剂量组(30、15 g/kg 原生药),连续灌胃给药4周。于给药15、30 d测定大鼠旷场活动、糖水消耗、摄食行为与梳洗时间的行为学;给药30 d后检测大鼠血清NO、GSH、SOD、IL-1 β 、IL-6水平,皮质部位MDA、GSH、IL-1 β 、IL-6水平;免疫荧光法检测海马、皮质部位ROS水平;采用Pearson法分析嗅球摘除大鼠抑郁样行为表现与生化指标的相关性。**结果** 逍遥散(15、30 g/kg)给药15、30 d能改善抑郁大鼠体质量下降、水平活动增加、梳洗时间减少抑郁样行为。与模型组比较,逍遥散(15、30 g/kg)连续给药30 d能显著升高大鼠血清GSH、SOD水平,降低大鼠皮质MDA水平,降低血清、皮质部位IL-1 β 、IL-6水平($P<0.05$, $P<0.01$);30 g/kg逍遥散降低海马DG区、CA3区及皮质部位ROS的水平($P<0.05$, $P<0.01$)。皮尔森分析发现嗅球摘除大鼠的抑郁样行为表现程度与GSH水平呈负相关,与MDA、IL-1 β 呈正相关。**结论** 逍遥散能改善嗅球摘除模型大鼠的抑郁样行为,可能与氧化还原失调及炎症因子水平升高密切相关。

关键词: 逍遥散;抑郁症;嗅球摘除;氧化还原;炎症

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2019)12-2869-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2019.12.009

Effects of Xiaoyao San on behavioral and antioxidative changes of depressed rats

LUO Jie, LIU Xiao-bo, LÜ Hong-jun, YANG Qing-xin, LUO Yan-qin, ZENG Nan*, LIU Rong*

(College of Pharmacy, Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, Chengdu 611137, China)

ABSTRACT: AIM To investigate the effects of Xiaoyao San on behavior and antioxidation changes of depressed rats. **METHODS** Rat models of depression were induced by olfactory bulbectomy (OB). Rats randomly divided into sham operation group, model group, fluoxetine hydrochloride group (0.01 g/kg) and high-dose, low-dose Xiaoyao San groups (30, 15 g/kg of crude drug), were consecutively given 4-week corresponding intragastric administration. On the 15th and the 30th days of administration, the rats were subjected to tests of open field activity, sugar water consumption, feeding behavior and grooming time. On the 30th day of administration, the serum levels of NO, GSH, SOD, IL-1 β and IL-6, and the levels of MDA, GSH, IL-1 β and IL-6 in the cortex were detected, immunofluorescence was applied to identifying the levels of ROS in hippocampus and cortex, and Pearson analysis was conducted to investigate the correlation between depression-like behaviors and biochemical parameters in OB rats. **RESULTS** Both 15 d and 30 d Xiaoyao San (15, 30 g/kg) interventions improved the body weight, the horizontal activity and reduced the depressive behaviors of depressed rats. Compared with the model group, Xiaoyao

收稿日期: 2018-12-23

基金项目: 国家自然科学基金(81503277, 81473399); 四川省教育厅自然科学基金项目(16ZB0116); 成都中医药大学科研基金(ZRQN1643)

作者简介: 罗杰(1993—), 男, 硕士生, 从事中药神经精神药理学研究。Tel: 15198167464, E-mail: 410944639@qq.com

*通信作者: 曾南(1969—), 女, 博士, 教授, 博士生导师, 从事中药药理学与毒理学研究。Tel: 13198502352, Email: zengnan966@126.com

刘蓉(1979—), 女, 博士, 副教授, 从事中药药理学研究。Tel: 13880765230

San (15, 30 g/kg) groups consecutively administered for 30 days shared significantly increased serum GSH and SOD levels, decreased cortical MDA levels, and decreased serum and cortical IL-1 β and IL-6 levels ($P < 0.05$, $P < 0.01$); Xiaoyao San group (30 g/kg) displayed ROS levels reduction in DG region, CA3 region and cortex of the hippocampus ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Pearson analysis revealed the negative correlation between the degree of depression-like behaviors and GSH levels, but positive correlation with MDA and IL-1 β in OB rats. **CONCLUSION** Xiaoyao San can improve the depression-like behaviors of OB rats, with its efficacy in managing both redox disorders and elevated levels of inflammatory factors.

KEY WORDS: Xiaoyao San; depression; olfactory bulbectomy (OB); redox disorders; inflammation

抑郁症是由多种复杂原因引起的以显著而持久的情绪低落或兴趣丧失为主要症状的一种情感性障碍,是常见精神类疾病之一。世界卫生组织预测到2020年全球将会超过15%的人群罹患此病^[1],且抑郁症具有较高的致残率和致死率^[2],是一种可危及生命的精神疾病,因此抑郁症的有效药物治疗一直以来备受学者们的关注。逍遥散作为治疗情志疾病的经典方剂,其抗抑郁作用无论是临床还是动物实验研究均获得认可。实验室前期研究发现,逍遥散对应激或慢性温和应激所致的大、小鼠抑郁模型的行为学异常均有良好的改善作用,其抗抑郁作用机制涉及调控单胺类神经递质、改善HPA轴功能紊乱及影响脑源性神经营养因子信号通路等^[3-4],同时逍遥散对嗅球摘除致抑郁样模型大鼠亦具有一定对抗作用^[5-6]。本研究采用嗅球摘除抑郁大鼠模型,通过行为学测试进一步验证逍遥散的抗抑郁作用,同时初步从氧化还原失调、炎症角度探究其抗抑郁作用机制,并分析嗅球摘除抑郁模型大鼠的行为学异常与其体内氧化还原生化指标、炎症因子水平的相关性,以期逍遥散的临床应用提供更为丰富的药理学依据,同时初步阐释嗅球摘除抑郁模型大鼠的病理生理改变。

1 材料

1.1 药物 按照《方剂学》^[7]所载,逍遥散组成柴胡9g、当归9g、白芍9g、白术9g、茯苓9g、炙甘草4.5g、薄荷1.5g、生姜9g,此组成为60kg成人日用量。所有药材均购自太极大药房(温江店),经本校中药鉴定教研室严铸云教授鉴定符合2015版中国药典要求。逍遥散水煎液制备:按药物组成比例分别称取相应适量药材,加8倍量水浸泡30min,加热煮沸,文火煎煮1h,趁热滤过;再加6倍量水,同法分别煎煮40min及30min;合并3次滤液,减压浓缩至含生药1.5g/mL,药液分装,-20℃冰箱保存备用。盐酸氟西汀(法国Patheon France公司,国药准字

J20170022,批号7686A)。

1.2 动物 雄性SD大鼠,SPF级,体质量(200 \pm 20)g,购自成都达硕生物科技有限公司,生产许可证号SCXK(川)2015-030。

1.3 试剂 注射用青霉素钠(哈药集团有限公司兽药厂,批号20160301);DHE染液(美国Sigma公司,批号D7008);DAPI、抗荧光淬灭封片剂(谷歌生物生物科技有限公司,货号G1012、G1401);一氧化氮检测试剂盒(碧云天生物科技有限公司,批号072117171110);Rat IL-1 β 试剂盒(依科赛生物科技(太仓)有限公司,批号21H183);Rat IL-6试剂盒(联科生物有限公司,批号A30680231);微量还原型谷胱甘肽(GSH)试剂盒、丙二醛(MDA)测试盒、总SOD试剂盒、GSH/GSSG测试盒(南京建成生物工程研究所,批号20180126、20180313、20180309、20180726)。

1.4 仪器 脑定位仪(成都泰盟科技公司);CD200电动骨钻(成都泰盟科技公司);BS323S电子天平(德国Sartorius公司);离心机Sorvall ST16R(美国Thermo公司),纯水仪、SYNS00000(美国MiliPore公司);VARIOSKAN FLASH 2.4.3全波长多功能读数仪(美国Thermo公司);荧光显微镜NIKON ECLIPSE TI-SR(日本尼康公司);冰冻切片机Cryotome E(美国Thermo公司);脱色摇床WD-9405A(北京市六一仪器厂);敞箱(100cm \times 100cm,自制木箱,底部等分100个10cm \times 10cm小格)。

2 方法

2.1 大鼠嗅球摘除抑郁模型建立 大鼠麻醉后,固定于脑立体定位仪上,暴露三缝(冠状缝、矢状缝、人字缝)和二囟(前囟、后囟),用眼科剪和棉签清除骨膜,注意骨膜清除区域不宜过大以免影响术后恢复。在前囟前8mm正中两侧2mm处用电动骨钻钻2个直径约2mm的孔,用特制的前端已磨圆的注射器捣毁嗅球并吸取出来,止血海

绵填充伤口，骨蜡封闭开孔，滴洒青霉素注射液2滴，缝合皮肤。假手术组不损伤嗅球，其余处理同模型组。第2天所有手术大鼠肌肉注射青霉素(8×10^5 U/只)预防感染。

2.2 分组、给药 大鼠手术后恢复性喂养14 d后，进行旷场实验，根据文献[8]报道，筛选出旷场实验中水平运动显著高于假手术组的大鼠作为模型成功大鼠。按大鼠水平运动格子数随机分为假手术组，模型组，氟西汀组(0.01 g/kg)及逍遥散高、低剂量组(原生药30、15 g/kg)。分组后各组动物连续灌胃给药30 d，模型组、假手术组分别给予等体积蒸馏水。测量大鼠体质量，计算平均体质量增长率 = $[(\text{给药后平均体质量} - \text{给药前平均体质量}) / \text{给药前平均体质量}] \times 100\%$ 。

2.3 行为学实验

2.3.1 旷场实验 参考文献[9]稍作改进，将大鼠放在自制敞箱中心位置，适应2 min后，记录大鼠后4 min内水平运动爬行跨越的格子数，以大鼠两只后腿进入另一格记为行走一格。于给药第15、30天进行测试。

2.3.2 糖水偏好实验 大鼠单只放置于鼠盒内，每个鼠盒上放两个已称重的水瓶(分别为1%的糖水和纯净水)，大鼠禁食禁水24 h后进行测定，以大鼠6 h内糖水偏好百分比 $[(\text{糖水消耗量} / \text{总液体消耗量}) \times 100\%]$ 作为评价指标^[10]。于给药后第15、30天进行糖水偏好测试。

2.3.3 飞溅测试 参考文献[11]略作改进，将10%蔗糖水喷洒于大鼠背部，连续喷洒3次，2 mL/次。然后将大鼠放回饲养鼠笼中累积记录5 min内大鼠的梳洗时间，即大鼠梳洗背部被喷洒糖水部位的行为时间。于给药后第15、30天进行飞溅测试。

2.3.4 新颖性抑制喂养试验 参考文献[12]略作改进，测试前大鼠禁食48 h，在自制敞箱(1 m × 1 m × 0.5 m)底部覆盖一层垫料，敞箱中央放置一白纸平台，平台上放置颗粒状鼠料并用垂直光源进行照射凸显。实验时，大鼠被放置在敞箱角落，并立即开始计时，记录大鼠开始进食的时间(摄食潜伏期)，观察时间为5 min(未进食者按5 min记录)。于给药后第30天进行该试验。

2.4 大鼠血清及皮质部位抗氧化及炎症细胞因子相关指标检测 行为学测试24 h后，所有大鼠麻醉，腹主动脉取血，静置30 min，3 500 r/min离心15 min分离血清，于-80℃低温保存备用。处死大

鼠，冰台上迅速剥离大脑，快速分离皮质部位，加一定量预冷PBS(pH = 7.4)液制备组织匀浆(1 mg/mL)，3 000 r/min离心20 min，取上清，分装-80℃冻存待测。按试剂盒说明化学法测定一氧化氮(NO)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)、超氧化物歧化酶(SOD)、还原型谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)水平；ELISA法测定白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)水平。

2.5 大鼠海马、皮质部位ROS水平测定 采用免疫荧光法。取大鼠新鲜脑组织于冰冻切片上切片，待组织切片复温。使用组化笔在组织周围画圈以防止液体流走。采用PBS稀释的DHE染液将组织玻片在37℃避光条件下孵育30 min。玻片置于脱色摇床，洗涤3次，5 min/次。玻片稍甩干后滴加DAPI染液，室温避光染核10 min，然后同法洗涤3次待玻片稍干使用抗荧光猝灭剂进行封片。切片于荧光显微镜下观察并采集图像。细胞核为蓝色，根据细胞中的红色荧光强度来判断细胞ROS水平。分别以 $\times 200$ 和 $\times 400$ 进行图像采集，计算采用 $\times 200$ 倍图片。计算公式为相对累积光密度(IOD) = ROS累积光密度/核染累积光密度。

2.6 统计分析 采用SPSS软件进行统计，计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示，多组比较采用单因素方差分析，组间两两比较用LSD检验，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 逍遥散对大鼠行为学的影响

3.1.1 逍遥散对大鼠体质量的影响 逍遥散给药后可改善嗅球摘除引起的大鼠体质量下降的状态，其中15 g/kg逍遥散给药20 d能显著增加嗅球摘除抑郁模型大鼠体质量($P < 0.05$)。见表1。

3.1.2 逍遥散对大鼠水平运动格子数的影响 给药15、30 d，与模型组比较，逍遥散能显著降低大鼠的水平运动格子数($P < 0.05$, $P < 0.01$)。见表2。

3.1.3 逍遥散对大鼠糖水偏好的影响 给药15、30 d，与模型组比较，逍遥散对嗅球摘除抑郁模型大鼠糖水偏好率有所升高，但差异无统计学意义。逍遥散高剂量组给药30 d能明显增加大鼠糖水偏好率较给药0 d($P < 0.05$)。见表3。

3.1.4 逍遥散对大鼠梳洗时间的影响 与模型组比较，逍遥散低剂量给药15、30 d显著延长大鼠的梳洗时间($P < 0.01$)，逍遥散高剂量组给药30 d亦显著延长大鼠的梳洗时间($P < 0.01$)。见表4。

表1 逍遥散对大鼠体质量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab. 1 Effects of Xiaoyao San on body weight of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	体质量	体质量	平均体质量	体质量	平均体质量	体质量	平均体质量
	(0 d)/g	(10 d)/g	增长率/%	(20 d)/g	增长率/%	(30 d)/g	增长率/%
假手术组	231.8±30.1	275.3±35.6	18.8	289.1±42.2	24.7	298.4±47.2	28.7
模型组	232.6±26.3	254.8±36.2	9.5	270.5±40.9	16.3	275.8±42.7	18.6
盐酸氟西汀	227.9±23.2	268.7±26.5	17.9	313.9±17.9*	37.7	301.7±25.8	32.4
逍遥散低剂量组	240.5±14.8	282.1±25.2	17.3	316.1±41.5*	31.4	305.7±36.7	27.1
逍遥散高剂量组	231.0±24.5	277.8±31.8	20.3	295.6±30.6	28.0	299.0±37.3	29.4

注:与模型组比较,* $P<0.05$

表2 逍遥散对大鼠水平运动格子数的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab. 2 Effects of Xiaoyao San on number of horizontal motion grids of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	水平运动格子数/格	
	15 d	30 d
假手术组	84.4±80.0*	63.5±38.5**
模型组	169.1±74.7	151.2±48.9
盐酸氟西汀	122.6±75.8	87.7±63.3*
逍遥散低剂量组	93.0±72.0*	58.0±36.4**
逍遥散高剂量组	26.4±35.5**	20.2±39.0**

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

表3 逍遥散对大鼠糖水偏好率的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Tab. 3 Effects of Xiaoyao San on sucrose preference rate of rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数/只	糖水偏好率/%		
		0 d	15 d	30 d
假手术组	8	83.8±9.0	91.1±7.3	93.3±6.2**
模型组	8	70.8±16.1	80.4±12.7	83.7±9.0
盐酸氟西汀	9	80.0±5.6	92.7±4.3**	91.0±7.8#
逍遥散低剂量组	10	73.4±19.6	85.3±10.6	90.0±9.3
逍遥散高剂量组	9	77.4±7.2	87.1±8.7	91.1±8.1#

注:与模型组比较,* $P<0.05$;与同组给药0 d比较,# $P<0.05$

表4 逍遥散对大鼠梳理时间的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab. 4 Effects of Xiaoyao San on grooming time of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	梳理时间/s	
	15 d	30 d
假手术组	75.3±38.8*	94.5±28.4*
模型组	27.9±25.6	46.5±41.8
盐酸氟西汀	51.3±40.1	70.7±58.5
逍遥散低剂量组	82.3±41.0**	112.8±27.4**
逍遥散高剂量组	54.7±37.5	133.4±63.8**

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

表6 逍遥散对大鼠氧化还原相关指标的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Tab. 6 Effects of Xiaoyao San on redox related indexes in rats ($\bar{x}\pm s$)

组别	动物数/只	血清			皮质		
		NO/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	GSH/($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	GSSG/GSH/%	SOD/($\text{U}\cdot\text{mL}^{-1}$)	GSH/($\text{nmol}\cdot\text{g}\cdot\text{prot}^{-1}$)	MDA/($\text{nmol}\cdot\text{g}\cdot\text{prot}^{-1}$)
假手术组	6	7.7±3.2*	31.1±6.4*	6.6±1.5*	250.0±18.5*	13.0±1.9*	2.8±0.6*
模型组	7	14.1±5.9	24.8±4.3	10.4±3.4	223.2±13.1	7.7±1.8	3.5±0.6
盐酸氟西汀	7	10.7±4.0	28.1±5.8	6.0±2.4*	225.5±25.1	9.3±1.8	2.6±0.3*
逍遥散低剂量组	7	9.2±2.9	32.9±4.7**	6.7±2.3	254.4±15.9*	8.5±1.6	2.5±0.5*
逍遥散高剂量组	7	8.8±3.0	33.2±4.3**	8.1±1.7	280.5±9.8**	7.5±2.1	2.2±0.8**

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

3.1.5 逍遥散对大鼠摄食行为的影响 假手术组较模型组表现出更短的摄食潜伏期 ($P<0.05$)。与模型组比较,逍遥散低剂量组在给药30 d能显著缩短大鼠的摄食潜伏期 ($P<0.05$),但逍遥散高剂量组表现出较高的摄食潜伏期,推测与该剂量逍遥散药液粘稠度较高影响大鼠食欲有关。见表5。

表5 逍遥散对大鼠摄食行为的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

Tab. 5 Effects of Xiaoyao San on ingestive behavior of rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	摄食潜伏期/s
	30 d
假手术组	31.2±11.8*
模型组	121.4±96.3
盐酸氟西汀	70.7±58.5
逍遥散低剂量组	55.4±23.3**
逍遥散高剂量组	140.9±120.3

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

3.2 逍遥散对大鼠氧化还原相关指标的影响 与模型组比较,逍遥散连续给药30 d能显著升高大鼠血清GSH、SOD水平 ($P<0.05, P<0.01$),降低大鼠皮质MDA水平 ($P<0.05, P<0.01$)。见表6。

3.3 逍遥散对大鼠脑部ROS水平的影响 与模型组比较,逍遥散高剂量组给药30 d能显著降低大鼠海马DG区、CA3区及皮质部位ROS的水平 ($P<0.01$)。见表7、图1。

3.4 逍遥散对大鼠IL-1 β 、IL-6水平的影响 与模型组比较,逍遥散连续给药30 d能显著降低大鼠血清、皮质部位IL-1 β 及IL-6水平 ($P<0.05$)。见表8。

表 7 逍遥散对大鼠脑部 ROS 水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

Tab. 7 Effects of Xiaoyao San on ROS levels of rats' brain ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	海马 DG 区	海马 CA3 区	皮质区
假手术组	0.57±0.18**	1.0±0.26	0.61±0.20
模型组	1.32±0.37	1.30±0.21	0.85±0.42
盐酸氟西汀	0.10±0.02**	0.11±0.05**	0.06±0.04**
逍遥散高剂量组	0.12±0.10**	0.28±0.21**	0.07±0.05**

注:与模型组比较,** $P<0.01$

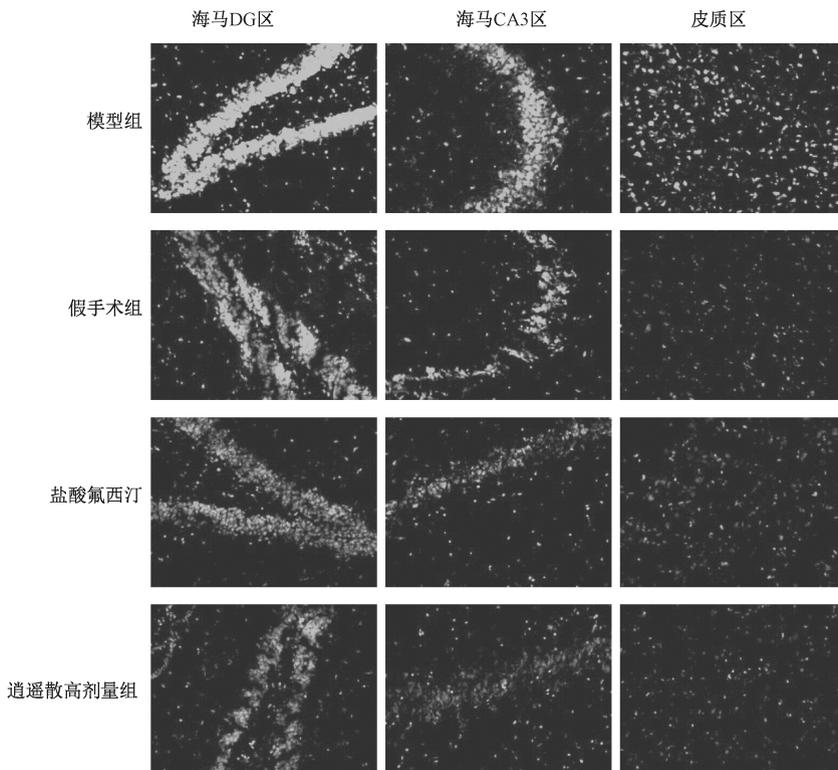


图 1 逍遥散对大鼠海马 DG、CA3 区、皮质区 ROS 的影响 ($\times 200$)

Fig. 1 Effects of Xiaoyao San on rats' ROS in DG, CA3 of hippocampus and cortical areas ($\times 200$)

表 8 逍遥散对大鼠 IL-1 β 、IL-6 水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

Tab. 8 Effects of Xiaoyao San on rats' levels of IL-1 β and IL-6 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	血清		皮质	
	IL-1 β /(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)	IL-1 β /(pg·mg ⁻¹)	IL-6/(pg·mg ⁻¹)
假手术组	28.7±0.4*	270.1±72.2	0.56±0.01*	5.4±1.3*
模型组	30.3±1.4	305.5±66.3	0.67±0.08	7.5±1.9
盐酸氟西汀	28.0±2.2	191.0±13.2**	0.58±0.02*	6.5±1.0
逍遥散低剂量组	27.7±1.0*	228.7±43.5*	0.59±0.05*	5.7±0.78*
逍遥散高剂量组	27.0±0.6*	228.7±36.8*	0.57±0.02*	5.6±0.78*

注:与模型组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$

3.4 大鼠抑郁样行为与部分抗氧化及炎症因子指标的相关性分析 皮尔森相关性分析发现,嗅球摘除抑郁模型大鼠糖水偏好率、梳洗时间行为学表现与其血清、皮质部位 GSH 水平,血清 SOD 水平呈中度正相关 ($0.5<r<1$);其水平运动格子数与皮质 MDA、IL-1 β 水平呈高度正相关 ($0.5<r<1$);嗅球摘除抑郁模型大鼠梳洗时间与皮质 MDA、IL-1 β 水平

呈高度负相关 ($-1<r<-0.5$)。见图 2~3。

4 讨论

嗅球摘除模型是经典的抑郁模型之一,通过手术摘除动物嗅球,能诱导动物产生抑郁样行为和抑郁症患者相似的病理学症状^[13]。嗅球摘除诱导的激越性行为(水平运动显著增加)是考察嗅球摘除模型是否成功建立的主要指标^[14]。研究通过手

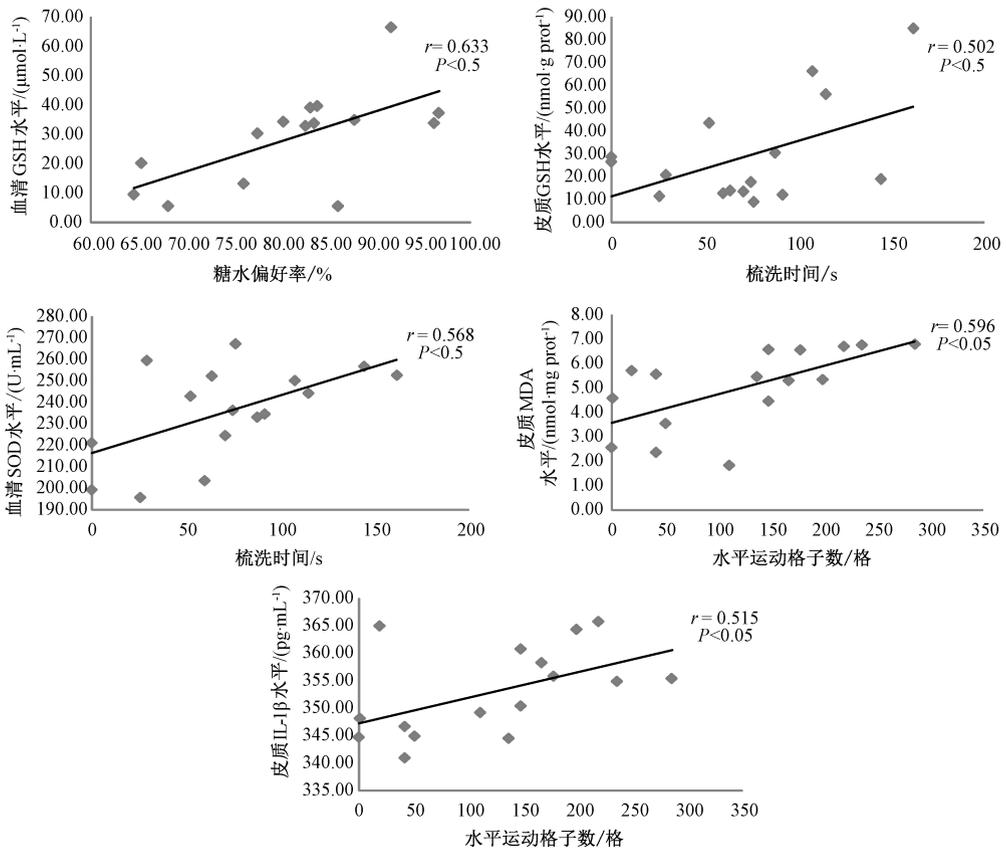


图2 与嗅球摘除模型大鼠抑郁样行为呈正相关性表现的指标

Fig. 2 Positive correlation between depression-like behaviors and physiological indicators of OB rats

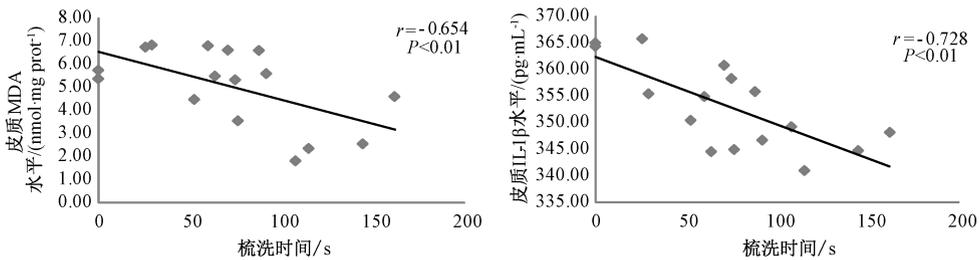


图3 与嗅球摘除模型大鼠抑郁样行为与呈负相关性表现的指标

Fig. 3 Negative correlation between depression-like behaviors and physiological indicators of OB rats

术摘除SD大鼠嗅球，恢复性喂养2周后采用旷场实验筛选出模型成功的大鼠再连续给予逍遥散30d，发现逍遥散能改善嗅球摘除抑郁模型大鼠体重质量增长减缓、旷场水平运动增加、糖水偏好率降低、梳洗行为减少及摄食欲望降低等类抑郁样行为，从行为学角度再次表明逍遥散具有良好的抗抑郁作用。

研究表明，应激下活性氧/氮物质(ROS/RNS)的过度生成会引起机体氧化还原失调(损伤GSH调节或氧化防御系统的酶)^[15]，机体的高活性物质活性氧(ROS)可通过NLRP3、NF-κB信号通路诱导炎症反应的发生，而炎症与抑郁症的发生密切

相关^[16]。嗅球摘除模型研究中发现，嗅球摘除后能持久增加模型小鼠ROS和炎症因子(IL-6、IL-1、TNF-α)水平、降低GSH水平^[17]，药物可从抗氧化及抗炎角度进行改善，如黄芩苷通过影响嗅球摘除模型大鼠MDA、GSH、SOD水平改善模型大鼠的抑郁样行为^[18]；氟西汀通过调节GSH依赖性防御系统，降低炎症因子水平改善社会孤立模型大鼠的抑郁样行为^[19]；叶酸和ω-3脂肪酸组成的抗抑郁药物亦能通过改善早期或晚期应激所致抑郁模型大鼠的氧化还原失调(SOD、过氧化氢酶、亚硝酸盐/硝酸盐浓度)发挥抗抑郁作用^[20]。因此，可明确抗氧化及抗炎是药物发挥抗抑郁作用途径之一。

研究初步发现,以嗅球摘除抑郁样模型大鼠为载体,逍遥散连续给药 30 d 能有效提高嗅球摘除大鼠血清与皮质部位 GSH 水平,增加 SOD、CAT 水平,降低 NO、MDA 水平,改善海马 DG 区、CA3 区以及皮质部位的 ROS 水平,提示逍遥散可能通过增加机体还原性物质及相关酶的活力,增强机体对 ROS 自由基的清除,降低氧化损伤,从而发挥抗抑郁作用。此外,结果表明逍遥散对嗅球摘除模型大鼠血清、皮质部位 IL-1 β 、IL-6 水平的升高有明显改善作用,提示逍遥散可能通过抗炎途径发挥对嗅球摘除大鼠抑郁样行为的改善作用。进一步皮尔森相关性分析发现,嗅球摘除模型大鼠抑郁样行为的严重程度与还原性物质 GSH 水平呈负相关,与氧化损伤程度(MDA)、炎症反应(IL-1 β)呈正相关,由此表明逍遥散对该模型的抗抑郁作用发挥可能与改善氧化还原失调、减轻炎症反应有关。

综上,逍遥散能改善嗅球摘除大鼠的抑郁样行为,抗抑郁作用发挥与上调体内 GSH 水平、增强 SOD 水平,降低 NO、MDA 水平,降低炎症因子 IL-1 β 、IL-6 水平,清除脑部 ROS 水平有关,但究其如何调控氧化还原失调及炎症反应则有待进一步研究。

参考文献:

[1] Walker E R, Megee R E, Druss B G. Mortality in mental disorders and global disease burden implications: a systematic review and meta-analysis[J]. *JAMA Psychiatry*, 2015, 72(4): 334-341.

[2] Caraci F, CoPani A, Nicoletti F, et al. Depression and Alzheimer's disease; neurobiological links and common Pharmacological targets [J]. *Eur J Pharmacol*, 2010, 626(1): 64-71.

[3] 熊静悦,曾南,张崇燕,等. 逍遥散对 CUMS 模型大鼠行为学及脑内单胺类神经递质的影响[J]. *现代生物医学进展*, 2007, 7(11): 1635-1639.

[4] 彭希,曾南,龚锡萍,等. 逍遥散抗抑郁作用的 BDNF/CREB 信号机制[J]. *中药药理与临床*, 2012, 28(3): 9-12.

[5] 刘金伟,曾南,苟玲,等. 逍遥散对嗅球摘除抑郁模型大鼠行为学及脑内单胺类神经递质的影响[J]. *中药药理与临床*, 2012, 28(5): 4-7.

[6] 何敏,刘金伟,龚锡萍,等. 逍遥散对嗅球摘除抑郁模型大鼠的抗抑郁作用机制研究[J]. *中药药理与临床*, 2014, 30(5): 14-17.

[7] 段富津. 方剂学(供中医药类专业用)[M]. 上海: 上海

科学技术出版社, 1995.

[8] Yuan T F, Slotnick B M. Roles of olfactory system dysfunction in depression[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2014, 54: 26-30.

[9] Wu L M, Han H, Wang Q N, et al. Mifepristone repairs region-dependent alteration of synapsin I in hippocampus in rat model of depression[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2007, 32(12): 2500-2510.

[10] Lamprea M R, Cardenas F P, Setem J, et al. Thigmotactic responses in an open-field[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2008, 41(2): 135-140.

[11] Yalcin I, Aksu F, Belzung C. Effects of desipramine and tramadol in a chronic mild stress model in mice are altered by yohimbine but not by pindolol[J]. *Eur J Pharmacol*, 2005, 514(2-3): 165-174.

[12] Wang J, Hodes G E, Zhang H, et al. Epigenetic modulation of inflammation and synaptic plasticity promotes resilience against stress in mice[J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 477.

[13] Yuan T F, Slotnick B M. Roles of olfactory system dysfunction in depression[J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2014, 54: 26-30.

[14] Freitas A E, Machado D G, Budni J, et al. Fluoxetine modulates hippocampal cell signaling pathways implicated in neuroplasticity in olfactory bulbectomized mice[J]. *Behav Brain Res*, 2013, 237: 176-184.

[15] Perić I, Stanisavljević A, Gass P, et al. Fluoxetine reverses behavior changes in socially isolated rats; role of the hippocampal GSH-dependent defense system and proinflammatory cytokines [J]. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 2017, 267(8): 737-749.

[16] Hovatta I, Juhila J, Donner J. Oxidative stress in anxiety and comorbid disorders[J]. *Neurosci Res*, 2010, 68(4): 261-275.

[17] Almeida R F, Ganzella M, Machado D G, et al. Olfactory bulbectomy in mice triggers transient and long-lasting behavioral impairments and biochemical hippocampal disturbances [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2017, 76: 1-11.

[18] Yu H Y, Yin Z J, Yang S J, et al. Baicalin reverses depressive-like behaviours and regulates apoptotic signalling induced by olfactory bulbectomy [J]. *Phytother Res*, 2016, 30(3): 469-475.

[19] Perić I, Stanisavljević A, Gass P, et al. Fluoxetine reverses behavior changes in socially isolated rats; role of the hippocampal GSH-dependent defense system and proinflammatory cytokines [J]. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci*, 2017, 267(8): 737-749.

[20] Réus G Z, Maciel A L, Abelaira H M, et al. ω -3 and folic acid act against depressive-like behavior and oxidative damage in the brain of rats subjected to early or late life stress[J]. *Nutrition*, 2018, 53: 120-133.