刺五加胶囊改善抑郁大鼠学习记忆能力及对海马 BDNF 表达的影响

黎功炳[1] 雷 宁[2] 龙 军[1] 陈德书[1] 易 伟[1] 龙 静[1△]

(1 重庆市大足县妇幼保健院 重庆 402360 ;2 成都理工大学材料与化学化工学院 化工与制药系 四川 成都 610059)

摘要 目的 :探讨刺五加胶囊对抑郁大鼠学习记忆能力及对海马 BDNF 表达的影响。**方法 :**SD 大鼠随机分为正常组、模型组和刺五加胶囊低、中、高剂量组,21d 慢性轻度不可预见性应激刺激法 (CUMS) 制备大鼠抑郁模型,对照组给予生理盐水 1ml 灌胃,刺五加胶囊低、中、高剂量组分别给予刺五加胶囊(200mg/kg,400mg/kg,800mg/kg)灌胃,取大鼠海马组织。分别采用 Morris 水迷宫法和免疫组织化学法观察大鼠大鼠学习记忆能力及对海马脑源性神经生长因子 (BDNF) 表达。**结果 :**刺五加胶囊低剂量组能升高海马组织中 BDNF 的表达 (P<0.05, P<0.01) ,降低大鼠逃避潜伏期 (EL) 时间,提高大鼠空间探索时间(SET) (P<0.05, P<0.01) 。**结论 :**刺五加胶囊能升高抑郁大鼠海马组织 BDNF 的表达,提升抑郁大鼠学习记忆能力。

关键词 :刺五加 ;抑郁 ;EL ;SET ;BDNF

中图分类号 :Q95-3,R285.5 **文献标识码 :**A **文章编号 :**1673-6273 (2012) 06-1078-03

The Effects of Acanthopanacis Senticosi Pill on the Expression of TH and TPH in Hippocamp of Depressed Rats

LI Gong-bing[1], LEI Ning[2], LONG Jun[1], CHEN De-shu[1], YI Wei[1], LONG Jing[1△]

(1 Maternal and Child Care Service Centre of da zu county, Chongqing 402360;

(2 Department of Chemical & Pharmaceutical Engineering, College of Material and Chemistry & Chemical Engineering, Chengdu University of Technology, Chengdu, 610059, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of acanthopanacis senticosi pill on the expression of BDNF in hippocamp and learning and memory capability of depressed rats. Methods: Sprague Dawley rats were divided into normal, control and acanthopanacis senticosi pill (200mg/kg,400 mg/kg,800 mg/kg)groups. Contents of BDNF in hippocamp were detected by immunity histochemical method methods, The learning and memory capability of depressed rats were measured by Morris water maze. Results: In acanthopanacis senticosi pill groups, BDNF in hippocamp and SET were increased markedly, EL were decreased markedly. Conclusion: Acanthopanacis senticosi pill could increase the expression of BDNF in hippocamp of depressed rats. It could increase learning and memory capability of depressed rats,too.

Key words: Acanthopanacis senticosi; Depression; BDNF; EL; SET

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3, R285.5 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2012)06-1078-03

焦虑和抑郁是严重威胁人类健康的精神疾病,研究资料表明,随着年龄的增长其发病率也在逐渐增加[1]。脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrop-hic factor,BDNF)属神经生长因子家族,在中枢神经系统发育过程中起重要作用,同时维持成熟的中枢及周围神经系统神经元的正常功能[2,3]。本研究拟研究刺五加对抑郁大鼠学习记忆能力的影响及对海马组织中 BDNF 表达的影响。

1 材料与方法

1.1 试验药物

刺五加胶囊由黑龙江乌苏里江制药有限公司出品 (批号: 030201)。

1.2 动物

购于华西医科大学大学实验动物中心。

作者简介 :黎功炳,男,(1965-),副主任医师

△通讯作者 :龙静,(1982-) ,检验师,

E-mail: 364854790@qq.com

(收稿日期 :2011-07-05 接受日期 :2011-08-20)

1.3 试剂

BDNF- 抗购自 santa cruz 公司,逆转录试剂盒、荧光定量 Realtime PCR 试剂盒为 takara 公司产品。其它试剂为分析纯。

1.4 仪器

酶标仪 (bio-rad 公司) ,低温离心机 (eppendoff 公司) ,实时荧光定量仪 (eppendoff 公司) ,微量核酸定量仪 (基因公司) 。

1.5 方法

1.5.1 抑郁模型制备及分组 健康雄性 SD 大鼠 60 只, 体重 (240± 30) g。按照 Open-Field 评分方法作行为学评分,选择得分相近的 40 只大鼠,单笼饲养。抑郁组大鼠共接受 21d 慢性轻度不可预见性应激刺激,包括电击足底 (电流强度 1mA,电压 45mV,10s/ 次,间隔 1min,共 30 次) 、热应激 (45℃,5 min)、冰水游泳 (4℃,5 min)、夹尾 (3min)、禁食 +噪声、摇晃 (1 次 /s, 15min) 、禁水 +异物、昼夜颠倒、束缚 (8h) 、禁食 +潮湿垫料 (每 100g 垫料中加入 200ml 水) 与禁水 + 倾斜鼠笼。每天随机安排 1 种刺激方式,每种刺激在实验过程中使用不超过 3 次。动物分组 :分为 5 组 :正常对照组,刺五加胶囊低、中、高剂量组和模型组,正常组大鼠不予任何刺激,其余四组均给予 21d 慢性

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

轻度不可预见性应激刺激，刺五加胶囊低、中、高剂量组分别在此基础上给予刺五加胶囊（200、400、800 mg/kg）

1.5.2 免疫组织化学方法 大鼠海马组织中性福尔马林固定后，石蜡切片进行免疫组织化学方法测定 BDNF 表达(SP 法，阴性对照一抗用 0.01MPBS 代替)。显微镜下拍照后用 "Image Pro Plus 4.5" 软件进行图像分析，测定阳性物质表达面积和积分光密度。

1.5.3 Morris 水迷宫行为测定 水迷宫为直径 130 cm，高 90cm 的圆形水池，被均分为 A、B、C、D 4 个象限。训练前，水迷宫内盛自来水，加墨汁使水浑浊，检测前将平台置于 D 象限水面下 2cm。所有实验均在 9 am～3 pm 之间进行，且保持室内安静，物品放置及灯光状态一致，水温 (24± 1)℃。大鼠抑郁模型制备完毕后第 1～5 d 定位航行实验 按逆时针方向分别从 A、B、C、D 4 个象限将大鼠面向池壁放入水中，观察并计时 120 s，检测前将平台置于 D 象限正中水面下 2cm。摄像系统记录大鼠寻找并爬上平台的时间为逃避潜伏期 (escape latency，EI)，若 120 s 内还未找到平台，则引导其至平台，停留 30 s，逃避潜伏期记为 120 s。检测结束后以第 3～5 d 逃避潜伏期的平均值作为学习成绩，该时间越短显示大鼠的学习能力越好。第 6 d 空间探索实验 撤除平台，将大鼠从距原平台最远的 B 象限面向池壁放入水中，摄像系统记录大鼠在 60 s 内各象限游泳时间，以在原平台象限 D 象限游泳时间即空间探索时间(space exploration time，SET)作为记忆成绩，该时间越长显示大鼠的记忆能力越好。

1.5.4 统计学方法 所有数据以均数± 标准差 ($\bar{x}$± s) 表示，应用 SPSS 11.0 专业统计学软件对数据进行统计学处理，统计学方法采用卡方检验，当 P<0.05 时认为有统计学意义。

2 结果

2.1 刺五加胶囊对海马组织中 BDNF 表达的影响

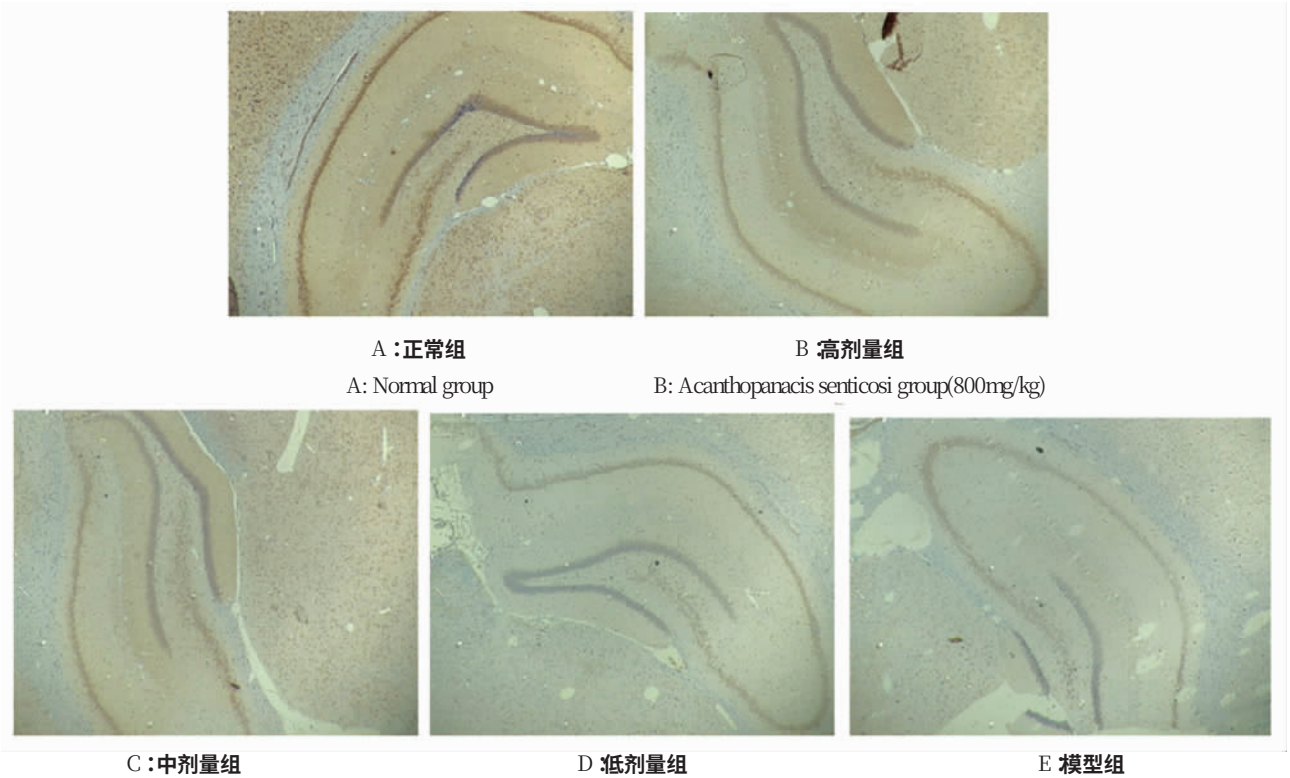
采用免疫组织化学方法检测了各组海马组织中 BDNF 的表达。结果如表 1、图 1 所示 相对于正常对照组，抑郁大鼠海马组织中 BDNF 的表达明显降低，刺五加胶囊干预后，明显升高了抑郁大鼠海马组织中 BDNF 的表达 (P<0.05，P<0.01)。

表 1 刺五加胶囊对海马组织中 TH、TPH mRNA 表达的影响 ($\bar{x}$± s, n=8)

Table 1 The effect of acanthopanacis senticosi on TH, TPH expression in hippocampus

Group	Dose(mg/kg)	Average optical (× 10)	Integral optical (× 10)
Normal		15.48± 2.89	26.45± 3.18
Model		5.96± 1.12	4.93± 0.89##
Acanthopanacis	200	7.26± 1.31	6.19± 1.24*
Acanthopanacis	400	10.45± 1.95	10.57± 1.83**
Acanthopanacis	800	11.93± 2.08	12.09± 1.96**

Note: ##P<0.01vs normal group；*P<0.05, ** P<0.01 vs control group



A：正常组 A: Normal group

B 高剂量组 B: Acanthopanacis senticosi group(800mg/kg)

C：中剂量组 C: Acanthopanacis senticosi group(400mg/kg)

D 低剂量组 D: Acanthopanacis senticosi group(200mg/kg)

E 模型组 E: Model group

图 1 各组海马组织中 BDNF 的表达

Figure 1 Expressions of BDNF in hippocampus of each group

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2 刺五加胶囊对抑郁大鼠水迷宫行为能力的影响

本实验采用 Morris 水迷宫法检测了各组大鼠学习记忆能力。结果如表 2 所示 相对于正常对照组，抑郁大鼠学习记忆能力明显降低，刺五加胶囊干预后，明显提高了抑郁大鼠学习记忆能力（$P<0.05$，$P<0.01$）。

表 2 刺五加胶囊对抑郁大鼠水迷宫行为能力的影响（$\bar{x}\pm s$, n=8）

Table 2 The effect of acanthopanacis senticosi on water maze capability of rat

Group	Dose(mg/kg)	EL(s)	SET(s)
Normal		19.56± 3.08	39.26± 5.21
Model		89.27± 11.29##	19.23± 2.58##
Acanthopanacis	200	68.52± 9.83*	24.59± 3.56*
Acanthopanacis	400	45.39± 6.21**	30.13± 5.13**
Acanthopanacis	800	40.52± 5.19**	32.05± 5.42**

3 讨论

当人或动物处于长期慢性应激的状态时，其学习记忆能力会受到明显的影响，在中枢系统中，海马是与学习记忆和情绪行为功能密切相关的重要脑区，也是应激易累及损伤的靶区，其与抑郁障碍的关系近年来受到关注[4,5]。BDNF 是维持神经元功能和再生修复及防 BDNF 主要在中枢神经系统内表达，集中分布在海马、杏仁核和皮质，具有刺激和促进神经细胞生长分化、维持神经细胞存活和正常功能的作用，在活性依赖的突触修饰、联系和效能中起到调控作用[6,7]。有研究表明 BDNF 是参与神经元生存的一个中介，参与中枢神经系统中 5-HT 神经元的可塑性，是神经可塑性的分子标记物，参与抑郁障碍的病理生理过程。研究提示 BDNF 表达与含量变化是导致抑郁症发病与抗抑郁治疗发挥疗效的重要因素[8]。抑郁症患者血浆 BDNF 含量显著降低，并且与自杀行为密切相关。本研究通过制备大鼠抑郁模型发现，在抑郁大鼠的海马组织中，BDNF 的表达显著下降，与研究报道相符。

空间学习记忆是人和动物在复杂环境中生存所必需的生理功能，是大脑高级而复杂的神经生理活动，空间学习记忆与海马结构的完整性密切相关，抑郁损伤海马神经元，从而影响学习记忆能力[9]。Morris 水迷宫是目前世界公认的较为客观的学习与记忆功能检测方法[10]。Morris 水迷宫定位航行实验是将大鼠放入水中，利用啮齿类动物天性会水但又怕水的特性作为驱动力，迫使动物找到逃逸平台避水上岸，并通过训练，学会利用环境标记物与隐匿平台关系来判断水中平台位置，形成稳定的空间认知，在水迷宫实验中，让动物利用远侧暗示从起始位置游到水下隐匿平台，用重复训练来评估空间学习，当水下平台被撤出时，用平台象限偏爱来确定动物参考记忆[11]。我们实验研究发现，抑郁大鼠的学习记忆能力显著下降。

刺五加性味辛、微苦。具有益气健脾，补肾安神功能。用于脾肾阳虚，体虚乏力，食欲不振，腰膝酸痛，失眠多梦[12]。现代药理学研究表明，刺五加具有神经元保护、免疫调节、延缓衰老、抗氧化、抗肿瘤、改善心脑血管活性、调节血糖等作用[13]。本研究发现，刺五加能提升抑郁大鼠海马中的 BDNF 表达，提高其学习记忆能力，其机制可能是刺五加提升抑郁大鼠海马中的 BDNF 表达，从而促进抑郁大鼠海马损伤神经元的修复。

参 考 文 献 (References)

[1] Yohannes AM, Caton S. Management of depression in older people with osteoarthritis: A systematic review[J]. Aging Ment Health, 2010, 14(6): 637-651

[2] Massa SM, Yang T, Xie Y, et al. Small molecule BDNF mimetics activate TrkB signaling and prevent neuronal degeneration in rodents[J]. J Clin Invest, 2010, 120(5): 1774-1785

[3] Geremia NM, Pettersson LM, Hasmatali JC, et al. Endogenous BDNF regulates induction of intrinsic neuronal growth programs in injured sensory neurons[J]. Exp Neurol, 2010, 223(1): 128-142

[4] Heberlein A, Lenz B, Muschler M, et al. BDNF plasma levels decrease during benzodiazepine withdrawal in patients suffering from comorbidity of depressive disorder and benzodiazepine dependence[J]. Psychopharmacology-(Berl), 2010, 209(2): 213-215

[5] Yoshimura R, Ikenouchi Sugita A, Hori H, et al. Blood levels of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) in major depressive disorder[J]. Seishin Shinkeigaku Zasshi, 2010, 112(10): 982-985

[6] Kuramoto S, Yasuhara T, Agari T, et al. BDNF-secreting capsule exerts neuroprotective effects on epilepsy model of rats [J]. Brain Res, 2011, 1368(1): 281-289

[7] Kurita M, Nishino S, Nakahata N. Brain-derived neurotrophic factor (BDNF)[J]. Nippon Rinsho, 2010, Suppl 7: 131-133

[8] Lambert GW, Schlaich MP, Esler MD. Brain derived neurotrophic factor (BDNF) release from the human brain in patients with type 2 diabetes--possible influence of venous anatomy and comorbid major depressive disorder[J]. Diabetologia, 2007, 50(9): 2027-2028

[9] Skirzewski M, Hernandez L, Schechter LE, et al. Acute lecozotan administration increases learning and memory in rats without affecting anxiety or behavioral depression [J]. Pharmacol Biochem Behav, 2010, 95(3): 325-330

[10] Scearce Levie K. Monitoring spatial learning and memory in Alzheimer's disease mouse models using the Morris Water Maze[J]. Methods Mol Biol, 2011, 670: 191-205

[11] Faes C, Aerts M, Geys H, et al. Modeling spatial learning in rats based on Morris water maze experiments [J]. Pharm Stat, 2010, 9(1): 10-20

[12] 张茹, 李廷利, 刘晓岩. 刺五加对睡眠剥夺大鼠学习记忆及海马 LTP 的影响[J], 中药药理与临床, 2011, 27(1): 63-66
Zhang Ru, Li Yan-li, Liu Xiao-yan. Effects of Acanthopanax on learning and memory and LTP in hippocampus of sleep deprived rats[J]. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2011, 27(1): 63-66

[13] 金爽, 张迎, 李月, 等. 刺五加的研究进展 [J]. 黑龙江中医药, 2011, 18(1): 54-55
Jin Shuang, Zhang Ying, Li Yue, et al. The research progress of acanthopanacis[J]. Heilongjiang Journal of Traditional Chinese Medicine, 2011, 18(1): 54-55

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net