

实验研究

慢性应激引发大鼠行为改变
及复方中药的调节作用*李庆和¹,李慧吉¹,步怀恩¹,李杰²,武成³

(1. 天津中医学院,天津 300193 2. 中国科学院心理研究所,北京 100101 3. 天津市中医药研究院,天津 3000200)

摘要 [目的]探讨中医情志致病的基本病机特点、证候形成的规律及复方中药的调节作用。[方法]应用慢性心理的应激方法模拟情志不遂,在制做“气机失调证”大鼠模型的基础上,从宏观角度对模型动物进行行为学评定,并观察复方中药心舒1号的调节作用。[结果]慢性心理应激对大鼠行为的改变产生明显的影响,而复方中药心舒1号可以改善模型动物的行为异常。[结论]提示气机失调是中医情志致病的基本病机,模型动物的行为改变是其表征,中药心舒1号具有心身双调的作用,是治疗情志病的有效方剂。

关键词 应激;气机失调证;行为学;中药心舒1号

中图分类号 R289 文献标识码 A 文章编号 :1672-1519(2005)01-0062-03

中医情志学说是基于构成论的方法,更重视外显行为活动及症状的表征,即所谓“有诸于内,必形于外”,所以,将现代心理应激和行为学方法引入中医情志理论的研究中,采用“气机失调证”动物模型,进行行为学评定并观察中药的调节作用,以期对中医情志病的证候学研究及临床辨证用药提供客观依据。

1 材料与方药

1.1 动物与分组

选用 Wistar 大鼠 86 只,雄性,体质量 220~250 g,由北京大学医学部实验动物中心提供。随机分为 7 组:正常对照组(以下简称正常组)10 只,旋转组 14 只,限制组 12 只,拥挤组 12 只,旋转加中药组(以下简称旋药组)12 只,限制加中药组(以下简称限药组)12 只,拥挤加中药组(以下简称拥药组)14 只,用不锈钢标准笼饲养,自由摄食、饮水。除实验应激外,无其他不良刺激。

1.2 药物制备及给药方法

中药心舒 1 号,由陈皮 6 g,旋复花 6 g,代赭石 6 g,制半夏 6 g,茯苓 15 g,乌药 6 g,竹茹 3 g,丹参 15 g,赤芍 15 g,降香 6 g 组成(天津市中医研究所提供)。常规水煎后,浓缩至含生药 2 g/mL 的浓度药液置冰箱中备用。实验时各给药组大鼠,每只每次灌胃给药 3 mL,2 次/d,相当于成人用量的 30 倍。其余组大鼠均以同样的方法生理盐水灌胃。

* 基金项目:天津市卫生局中医中西医结合科研专项基金项目(200017)

作者简介:李庆和(1961-),男,博士,副教授,主要从事中医病因病机教学与研究工作。

1.3 模型制作

参照 Carter 氏^[1]提出的慢性多相性应激法经改良建立“气机失调证”动物模型。采用旋转、限制、拥挤的慢性心理应激方式,模拟情志不遂 3 周,引发大鼠行为改变。

1.3.1 旋转

将老式电唱机改装成旋转器,转速 45r/min。将大鼠装入塑料筒内(以大鼠可以回转身为度)并置于旋转平台上随机择时旋转刺激,第 1 周 1 次/d,第 2 周 2 次/d,第 3 周 3 次/d,每次持续 15 min。

1.3.2 限制

将大鼠放入大小适度、空底的塑料筒内,使大鼠不受挤压,但是运动受限(以大鼠不能回转身为度),放在栅板上,光线晦暗,限制刺激每夜不定时进行 1 次。第 1 周每次 60 min,第 2 周每次 120 min,第 3 周每次 180 min。

1.3.3 拥挤

使用标准大鼠饲养笼,非应激组 5~7 只放在同一饲养笼中,应激组 12~14 只放在同一饲养笼里,贯穿于实验全过程,以达相互拥挤应激刺激的目的。

1.4 观测内容及方法

1.4.1 一般状况

观察大鼠毛发、粪便、体质量、对刺激的反应性、活动度等。

1.4.2 行为学观察

1.4.2.1 避暗反应^[2]

利用大鼠的喜暗习性,来测定动物行为的异常和情绪的改变。参考有关文献,自制避暗实验箱,实

实验箱分离为大小两间,小间为20 cm×30 cm×40 cm,亮灯且箱底部无电;大间为40 cm×30 cm×40 cm,箱底部由直径0.4 cm,间隔0.5 cm的不锈钢棒构成,黑暗且箱底通电。暗箱与明箱相连的壁中央有直径为8 cm的拱形穿行洞口。实验时将大鼠背向洞放入亮灯一侧,当大鼠进入暗室后,开始记录其在暗室中的时间,并每隔10 s电击1次,每次电击时间为3 s。当大鼠遭电击后再次逃出暗室时,记录其在明室时间。如此观察3 min内大鼠的避暗反应情况。包括避暗次数(进入暗室的次数)、潜伏时间(在暗室停留时间的总和)、逃避时间(在明室停留时间的总和)。

1.4.2.2 旷场实验^[3]

在动物应激期结束后采用旷场行为测试法,观察大鼠的新异环境中的自发活动和探究行为的改变。自制实验箱,大小为直径50 cm,高35 cm的圆筒状箱,底板划分成25方格,距地面高1 m处用一盏60 W白炽灯照明。实验时将动物放在正中央格中,记录其3 min内的活动情况,包括由底面正中开始跑动所穿行的格数、后肢直立及修饰次数。

1.5 数据统计方法

实验数据用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用完全随机设计单因素方差分析统计处理。

2 结果

2.1 一般状态变化

初期正常组大鼠一般状态良好,活动灵活,皮毛洁白光泽,无明显异常。模型组大鼠则表现为强烈的反抗、嘶叫,粪球明显增多,呼吸频率加快等紧张状态。其中旋转组大鼠多表现为惊恐不安、双目圆睁;限制组大鼠拼命撕咬限制器、挣扎欲脱;拥挤组大鼠竖立对峙、窜叫不安。而中药组大鼠在给药后的1周内,与模型组相比大鼠的反抗程度、紧张状态等逐步有所改善。

1周后正常组大鼠的一般状态与初期相同。模型组大鼠的对峙现象、躁动不安、高度警惕、嘶叫、挣扎欲脱等表现逐渐减少。中药组大鼠的对峙现象、追打、烦躁、易激怒情况明显减少。

2周后正常组大鼠体质量有所增加,其他情况与初期相同。而模型组大鼠的反抗力明显降低,嘶叫和撕咬限制器声减弱,体质量有所减轻,毛发散乱直立无光泽,甚至偶见块状脱毛,饮水、进食有所减少,多数大鼠呈弓背或静卧少动。中药组与模型

组相比较活跃,反应尚灵活,一般状况较好。

2.2 避暗实验

见表1。

表1 大鼠避暗实验行为测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	避暗次数(次)	潜伏时间(s)	逃避时间(s)
正常组	10	3.40±1.34	41.08±16.14	129.80±12.68
旋转组	14	2.07±1.07**	27.36± 9.34*	142.50±10.45
限制组	12	1.83±0.83**	26.83±13.50*	152.25±16.06*
拥挤组	12	1.50±0.67**	19.25± 8.25**	149.83±11.87*
旋药组	12	2.33±0.89	35.17±20.91	131.58±23.07
限药组	12	2.42±1.24	26.85± 9.58	138.00±24.17
拥药组	14	2.07±1.27	30.71±23.74	126.57±41.08 [△]

注: *与正常组比较 $P < 0.05$; **与正常组比较 $P < 0.01$; [△]与模型组比较对应的给药组 $P < 0.05$ 。

从表1可以看出,在避暗实验中,与正常组相比,各模型组大鼠的避暗次数和潜伏时间显著减少;限制组、拥挤组大鼠的逃避时间明显延长。另外,与正常组相比,各中药组大鼠的避暗次数、潜伏时间和逃避时间均无显著差异,说明中药心舒1号有明显的调节作用。而3种模型组大鼠之间相比无显著性差异。

与模型组相比,各中药组大鼠的避暗次数和潜伏时间均有增加趋势。逃避时间上,与拥挤组相比,拥药组有明显降低的趋势。各中药组之间相比也无显著性差异。

2.3 旷场实验

见表2。

表2 大鼠旷场实验行为测定结果($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	穿行格数(个)	直立次数(次)	修饰次数(次)
正常组	10	49.00±17.87	12.50±6.22	2.60±2.46
旋转组	14	37.93±14.81	6.00±2.35**	4.43±2.71
限制组	12	28.42±12.37*	6.17±2.27**	5.00±2.59*
拥挤组	12	22.67± 6.65**	7.42±3.40**	5.50±3.09**
旋药组	12	42.75±15.00	10.67±4.14 ^{△△}	4.08±2.02
限药组	12	35.17±16.99	10.50±1.88 [△]	4.25±2.77
拥药组	14	48.79±34.12 [△]	9.50±6.07	4.64±1.95

注: *与正常组比较 $P < 0.05$; **与正常组比较 $P < 0.01$; [△]与模型组比较对应的给药组 $P < 0.05$, ^{△△}与模型组比较对应的给药组 $P < 0.01$ 。

从表2可以看出,在旷场实验中,与正常组相比,各模型组大鼠的直立次数显著减少;限制组、拥挤组大鼠穿行格数显著减少;修饰数有所增加。表明慢性心理应激使大鼠的自发活动和探究行为减少,而拥挤组的行为改变最明显。另外,3种模型组大鼠之间相比无显著性差异。

与旋转组、限制组相比,对应的旋药组和限药组在旷场实验中,大鼠的直立次数显著增加,而穿

行格数变化不大。与拥挤组相比,拥挤组大鼠的穿行格数明显增多;直立次数变化不大。修饰次数中,与各模型组相比,对应的中药组无明显变化。各中药组之间相比无显著性差异。

3 分析与讨论

近年来,随着分子生物学的迅速发展,对情志致病理论的研究,逐步从系统、器官、组织推向细胞、分子水平,为阐明情志致病机制提供了更科学的依据。但是这些实验研究中,多注重情志致病或心理应激的生物学基础研究^[4,5],而对中医证候的形成及宏观整体反应特点的研究较少。借鉴应激理论与七情学说相互具有通约性的特点,本实验以旋转、限制和拥挤3种慢性心理应激方式,模拟情志刺激使造模动物不能自主,所愿不遂,从而产生紧张、挣扎、急躁、恐惧、愤怒等心理及行为变化。显示了动物对情志刺激的宏观反应状态。而中医学的“辨证”恰是对这种宏观反应状态的动态分析归纳过程。

中医学强调情志过激导致气机失调,产生各种病症。应激反应是通过神经-内分泌-免疫网络调节功能实现的,因此国内学者认为应激诱发的气机失调与神经内分泌免疫网络功能紊乱密切相关^[6]。在多年临床实践和实验研究的基础上,课题组从基本的病因、病机角度提出了“心理情志因素”是情志病的共同病因,气机失调是情志致病共有的基本病机,且一般多是以气滞气逆为主的假说。以气机失调概括情志病的基本病理变化既有综合性,也为情志病的辨证论治提供了依据。

本实验通过观察大鼠一般状态的改变和评定大鼠对新异环境的自发活动和探究行为的次数,以及观察动物在避暗实验中的反应,发现模型组大鼠在穿行格数、直立次数和避暗次数、潜伏时间等方面均减少,表明了模型组大鼠存在不良的心理变

化,并通过其外在行为变化表现出来。从中医学分析这些慢性心理应激及行为的改变,是应激诱发大鼠产生了气机失调的病机变化,并以气滞、气逆为主,反映了“气机失调证”的外在变化。同时以理气降逆散结作用的中药心舒1号治疗取得的良好效果,也反证此模型证候的成立。

复方中药心舒1号,是临床治疗情志病的有效方药。主中以陈皮辛行温通,理气调中为主药,辅以旋复花、代赭石降逆顺气;制半夏、茯苓化痰散结;乌药温通以行气,竹茹化痰降逆以除烦;方中再佐丹参、赤芍、降香以活血散瘀。诸药合参共奏理气降逆、化痰散结、活血行瘀之功。实验证明,中药心舒1号对慢性情志刺激导致的大鼠不良心理和行为的改变,具有明显的改善和调节作用。提示本方具有抗应激作用,能调节气机失调,从而进一步证实了中医药对心身疾病辨证施治的有效性和心身并治的优势。笔者认为中药心舒1号的作用可能是通过神经-内分泌-免疫网络系统的某些环节实现的,而关于其现代药效作用机制如何,还待今后深入研究证实。

参考文献:

- [1] Carter WR, Herman J, Stokes K. Promotion of diabetes onset by stress in BB rat[J]. Diabetologia, 1987, 30: 674.
- [2] 张瑛,陈俊宁,陈明,等.百路达对小鼠学习记忆行为的影响[J].中国行为医学科学,1996,5(2):65.
- [3] 徐淑云,卞如廉,陈修.药理实验方法学[M].第2版.北京:人民卫生出版社,1991. 642.
- [4] 刘黎青,刘斌,鲁明源,等.惊吓对大鼠肝藏组织学及荧光组织化学的影响[J].山东中医药大学学报,1998,22(2):144.
- [5] 王米渠.“恐伤肾”对大鼠胃影响及其机理的初步影响[J].安徽中医学院学报,1993,19(2):34.
- [6] 武成,李慧吉,潘从清,等.应激与支气管哮喘相关性的实验研究[J].中国中医基础医学杂志,1998,4(5):20.

(收稿日期:2004-11-05)

Behavior Alteration Induced by Chronic stress in Rats and Regulative Effect of Compound Chinese Herbs

LI Qing-he, LI Hui-ji, BU Huai-en *et al*

(Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

Abstract [Objective] To explore the basic pathogenic characteristics of emotions in TCM, the rule of syndromes formation and the regulative effect of the compound Chinese herbs. **[Methods]** Emotional failure was imitated by chronic psychological stress. In rats with “disharmonious function of Qi activity”, the behavior assessment was performed from macroscopical aspects and the regulative effect of “Xinshu I”, a compound Chinese herbal medicine, was observed. **[Result]** Chronic psychological stress had obvious influence on the behavior of rats, while “Xinshu I” could improve the behavior alteration, the superficial expressive syndrome. **[Conclusion]** “Xinshu I” possessed a psychosomatic regulative effect and is an effective herbs for the treatment of diseases caused by emotions.

Key words stress; disharmonious function of Qi activities; Chinese herbal medicine “Xinshu I”; behavior