

慢性温和不可预知应激模型大鼠血浆中正五聚蛋白3的质量浓度变化及舍曲林的干预作用研究^Δ

刘秋琼^{1*}, 林秋晓^{1#}, 谭淑敏¹, 许百虹¹, 廖丽萍¹, 林汝衡²(1.广东省人民医院药学部/广东省医学科学院, 广州 510080; 2.广东药学院药理学系, 广州 510006)

中图分类号 R749.4¹ 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2013)41-3858-03

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2013.41.07

摘要 目的:研究慢性温和不可预知应激(CUMS)模型大鼠血浆中正五聚蛋白3(PTX-3)的质量浓度变化,及舍曲林对其的干预作用,寻找抑郁早期标志物。方法:取大鼠随机分为空白对照组、模型组和舍曲林(4.5 mg/kg)组,每组8只,♀♂各半,后2组大鼠每天给予应激刺激建立CUMS模型;于第11天开始舍曲林组大鼠灌胃给予相应药物,对照组和模型组大鼠给予等体积蒸馏水。分别于应激前、应激第7、11、18、21、24、27天考察各组大鼠的体质量、糖水消耗百分率、5 min内的行走和站立次数,以及血浆中PTX-3质量浓度。结果:与空白对照组比较,模型组大鼠应激第24天体质量、应激第21、27天糖水消耗百分率均明显降低($P < 0.05$),应激第11、18、21、24、27天行走次数和应激第18、21、24、27天站立次数均明显减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),应激第24天PTX-3质量浓度明显增加($P < 0.05$);与模型组比较,舍曲林组大鼠应激第27天糖水消耗百分率和行走次数、应激第21、24天站立次数均明显增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),应激第18、21、24、27天PTX-3质量浓度明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);其余各组间指标比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论:PTX-3质量浓度随抑郁程度增加而增加,舍曲林干预后PTX-3质量浓度降低,提示PTX-3可作为抑郁早期标志物,但有待进一步研究论证。

关键词 慢性温和不可预知应激;大鼠;正五聚蛋白3;舍曲林;标志物;抑郁症

Blood Concentrations of Pentraxin-3 in Chronic Unpredictable Mild Stress Model Rats and the Intervention Effects of Sertraline

LIU Qiu-qiong¹, LIN Qiu-xiao¹, TAN Shu-min¹, XU Bai-hong¹, LIAO Lin-ping¹, LIN Ru-heng²(1.Dept. of Pharmacy, Guangdong Provincial People's Hospital/Guangdong Academy of Medical Science, Guangzhou 510080, China; 2.Dept. of Pharmacy, Guangdong Pharmaceutical College, Guangzhou 510006, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the changes of plasma concentrations of Pentraxin-3 (PTX-3) in chronic unpredictable mild stress (CUMS) model rats and the intervention effects of sertraline against it in order to find out early diagnostic marker. METHODS: Rats were randomly divided into blank control group, model group and sertraline group (4.5 mg/kg) with 8 rats in each group (evenly divided between male and female). CUMS model was established in the latter 2 groups after daily stress stimulation. Sertraline group was given relevant medicines intragastrically since 11th day, and control group and model group were given constant volume of distilled water. Body weight, the percentage of sugar consumption, 5 min walking and standing times as well as plasma concentrations of PTX-3 were determined before stimulation, and 7th, 11th, 18th, 21st, 24th, 27th day of stimulation. RESULTS: Compared with blank control group, the body weight on 24th of stimulation, the percentage of sugar consumption on 21st and 27th of stimulation decreased significantly in model group ($P < 0.05$); walking times on 11th, 18th, 21st, 24th and 27th of stimulation and standing times on 18th, 21st, 24th and 27th day of simulation decreased significantly ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); plasma concentration of PTX-3 increased significantly on 24th day ($P < 0.05$). Compared with model group, the percentage of sugar consumption and walking time on 27th day of simulation, standing times on 21st and 24th of simulation increased significantly in sertraline group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); plasma concentrations of PTX-3 decreased significantly on 18th, 21st, 24th and 27th day ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). There was no statistical significance in above index in the rest groups ($P > 0.05$). CONCLUSIONS: PTX-3 concentration increases with the increase of depression degree, while the concentration of sertraline decreases. Therefore, further study for PTX-3 as an early depression maker is needed.

KEY WORDS Chronic unpredictable mild stress; Rats; Pentraxin-3; Sertraline; Marker; Depression

抑郁症是一种常见的情感性精神疾病,可由各种原因引起,以显著而持久的心情低落为主要临床特征。患抑郁症除

^Δ 基金项目:2012年度广东省医学科研基金项目(No.A2012042)

* 主任中药师。研究方向:药理学。电话:020-83827812-60234

通信作者:主任药师。研究方向:药事管理。E-mail: lin-qx10@sohu.com

了需付出严重的感情和社会代价之外,经济代价也是巨大的。据世界卫生组织统计,抑郁症已成为世界第四大疾患,预计到2020年,可能成为仅次于冠心病的第二大疾病。因此,抑郁障碍方面的诊治探讨有很高的社会价值,已成为全球关注的重要问题之一^[1-2]。目前,抑郁病因未明,因此临床诊断尚处于症状推断阶段,未涉及到和抑郁病因相关的诊断标准,可

以说无相对客观的指标进行抑郁病变检测,仅仅是根据精神疾病的分类体系所描述抑郁症的特征进行诊断。正五聚蛋白3(Pentraxin-3, PTX-3)与炎症性心血管疾病主要是动脉粥样硬化和急性心肌梗死密切相关。体内的PTX-3的质量浓度可间接反映病情的严重程度,体内炎症因子诱发大量PTX-3表达,可以从PTX-3质量浓度变化中预判病情的严重程度^[3-4]。另外,PTX-3在小鼠脑组织中表达结果是与白细胞介素1(IL-1)的影响结果是一致的,它可能发挥保护中枢神经的作用。有研究^[5]收集和培养人类的成纤维细胞,结果抑郁患者的成纤维细胞中的PTX-3水平是正常人群的3.5倍。因此,本文研究了慢性温和不可预知应激(CUMS)模型大鼠血浆中PTX-3的质量浓度变化,及舍曲林对其的干预作用,以期寻找抑郁早期的标志物。

1 材料

1.1 仪器

JJ3000 动物电子秤、BS224S 电子天平(德国 Sartorius 公司);HH-6 数显恒温水浴锅(金坛市富华仪器有限公司);3K30 离心机(美国 Sigma 公司);-80 ℃ 超低温冰箱(美国 Thermo 公司);Milli Q Plus 超级纯水仪(美国 Millipore 公司);XW-80A 旋涡混合器(上海青浦沪西仪器厂);680 酶标仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.2 药品与试剂

盐酸舍曲林片(辉瑞制药有限公司,批号:11720022,规格:每片 50 mg);大鼠 PTX-3 酶联免疫定量检测试剂盒(进口分装,上海西唐生物科技有限公司,批号:1211221)。

1.3 动物

SD 大鼠,SPF 级,体质量 180~220 g,♀ ♂ 各半,由广东省医学实验动物中心提供,使用许可证号为 SCXK(粤)2008-0002。实验整个过程在维护实验动物福利和遵循动物伦理规范的前提下进行。

2 方法

2.1 分组与给药

取大鼠,于实验环境适应性喂养 1 d 后,随机分为 3 组,分别为空白对照组、模型组和舍曲林组,每组 8 只,♀ ♂ 各半,♀ ♂ 分开。空白对照组大鼠不给予任何刺激,自由摄食和饮水,正常饲养。模型组和舍曲林组大鼠每天给予随机安排的刺激建立 CUMS 模型,舍曲林组于第 11 天开始灌胃给予舍曲林 4.5 mg/kg^[6],与此同时,空白对照组和模型组大鼠灌胃给予相应的蒸馏水。

2.2 CUMS 模型的建立

CUMS 应激包括①禁食、禁水 16 h,②禁水 17 h,③照明过夜,④倾斜鼠笼(45°)16 h,⑤湿笼(100 g 锯屑加 200 ml 水)21 h,⑥4 ℃ 游泳 5 min,⑦水平振荡 5 min,⑧行为限制 2 h,⑨夹尾 1 min。一共 9 种刺激,每日随机采取 1 种,共安排 27 d^[7-9]。

2.3 体质量的测定

分别于应激前和应激第 7、11、18、21、24、27 天取各组大鼠记录其体质量。

2.4 糖水消耗实验

分别于应激前和应激第 7、11、18、21、24、27 天取各组大鼠测定其糖水消耗百分率,以其作为评估 CUMS 模型的有效指标,CUMS 模型会造成糖水消耗百分率下降。实验进行时,应单笼喂养,并且实验前禁食、禁水 8 h,同时放置已称质量的 2% 蔗糖水和纯水各 1 瓶,45 min 后,调换两者的位置,1 h 后,

都取出称质量。记录每只大鼠的糖水和纯水的消耗量,计算糖水消耗百分率=糖水消耗量/总液体消耗量×100%。

2.5 行走和站立次数检测^[10]

采用旷场实验,分别于应激前和应激第 7、11、18、21、24、27 天取各组大鼠,放入自制敞箱(高 40 cm,底面为 80 cm×80 cm 的正方形,箱壁四周及底面涂为黑色,底面用白线划分为等大的 25 个方格)内,安排在安静房间内,大鼠四爪均进入同一方格内计为行走 1 格,两前爪离地计为站立 1 次。单独测试,每次测试前保持敞箱内干净。由两个人分别观察 5 min 内每只大鼠行走及站立次数,以其评价大鼠的兴奋性和运动性。

2.6 PTX-3 的质量浓度检测

分别于应激前和应激第 7、11、18、21、24、27 天取各组大鼠,在蒸馏水灌胃 60 min 后,眼眶后静脉丛采血,于 37 ℃ 下让血液凝固 1~2 h(不加抗凝剂),之后在 3 000 r/min(离心半径 8 cm)下离心 10 min,分离血清,弃去不溶物,取上清液,-80 ℃ 保存。参照大鼠 PTX-3 酶联免疫定量检测试剂盒说明书检测各组大鼠各时间点血清中 PTX-3 在 450 nm 波长处的光密度(OD),代入以 PTX-3 标准品的质量浓度为纵坐标、其对应的 OD₄₅₀ 为横坐标的标准曲线,计算质量浓度。

2.7 统计学方法

所有实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 19.0 软件进行统计,组间比较采用 *F* 检验和最小显著性差异(LSD)法。*P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 体质量和糖水消耗百分率变化

与空白对照组比较,模型组大鼠应激第 24 天体质量、应激第 21、27 天糖水消耗百分率均明显降低(*P* < 0.05);与模型组比较,舍曲林组大鼠应激第 27 天糖水消耗百分率明显增加(*P* < 0.05),其余各组各时间点大鼠体质量、糖水消耗百分率比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。各组大鼠的体质量和糖水消耗百分率比较见表 1。

表 1 各组大鼠的体质量和糖水消耗百分率比较($\bar{x} \pm s, n=8$)

Tab 1 Comparison of body weight and the percentage of sugar consumption ($\bar{x} \pm s, n=8$)

时间	体质量, g		糖水消耗百分率, %			
	空白对照组	模型组	舍曲林组	空白对照组	模型组	舍曲林组
应激前	194.9±14.4	201.2±9.9	193.5±6.8	67.38±0.13	74.00±0.16	74.75±0.08
应激第 7 天	224.9±24.2	218.7±20.0	213.7±15.8	78.50±0.05	77.13±0.06	77.13±0.06
应激第 11 天	244.6±34.9	219.8±24.0	214.9±19.7	78.63±0.10	71.75±0.11	64.25±0.22
应激第 18 天	263.0±43.9	223.5±41.8	224.0±34.7	78.62±0.10	68.83±0.22	73.37±0.20
应激第 21 天	266.7±49.5	225.5±38.6	238.2±31.8	78.63±0.10	59.63±0.20*	64.13±0.12
应激第 24 天	285.7±46.7	221.8±41.6*	247.9±34.2	74.37±0.08	61.75±0.19	66.00±0.12
应激第 27 天	278.7±51.8	222.7±44.4	254.7±28.7	80.00±0.06	54.13±0.15*	75.50±0.21*

与空白对照组比较: **P* < 0.05; 与模型组比较: #*P* < 0.05

vs. blank control group: **P* < 0.05; vs. model group: #*P* < 0.05

3.2 行走和站立次数变化

与空白对照组比较,模型组大鼠应激第 11、18、21、24、27 天行走次数和应激第 18、21、24、27 天站立次数均明显减少(*P* < 0.05 或 *P* < 0.01),表明 CUMS 模型对大鼠的兴奋性和运动性具有抑制作用;与模型组比较,舍曲林组大鼠应激第 27 天行走次数、应激第 21、24 天站立次数均明显增加(*P* < 0.05 或 *P* < 0.01),其余各组各时间点大鼠行走、站立次数比较差异无统计学意义(*P* > 0.05)。各组大鼠旷场实验中行走次数和站立次数比较见表 2。

表2 各组大鼠旷场实验中行走次数和站立次数比较($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab 2 Comparison of walking and standing times of rats in open field test($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

时间	水平格数			站立次数		
	空白对照组	模型组	舍曲林组	空白对照组	模型组	舍曲林组
应激前	108.87±25.68	117.87±26.06	126.50±22.53	25.62±7.13	28.12±11.26	29.12±4.58
应激第7天	145.75±39.46	128.88±34.04	127.87±33.62	25.87±6.58	22.25±6.54	26.62±6.67
应激第11天	146.62±26.01	121.00±22.21*	121.88±23.93	23.12±8.77	16.37±5.80	16.62±4.60
应激第18天	138.50±33.55	90.13±15.69**	97.50±24.19	24.50±8.57	12.75±4.95**	14.50±5.53
应激第21天	131.13±29.05	93.13±15.48*	90.50±50.31	19.12±8.85	10.12±5.03*	17.25±4.27*
应激第24天	140.63±43.57	97.38±12.40**	116.38±18.14	19.37±6.35	12.75±3.69*	20.12±6.62*
应激第27天	174.50±42.92	81.38±17.49**	142.25±30.77**	28.50±11.06	14.75±3.77**	21.37±10.08

与空白对照组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$; 与模型组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

vs. blank control group: * $P<0.05$, ** $P<0.01$; vs. model group: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

3.3 PTX-3质量浓度变化

与空白对照组比较,模型组大鼠应激第24天PTX-3质量浓度明显增加($P<0.05$);与模型组比较,舍曲林组大鼠应激第18、21、24、27天PTX-3质量浓度明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。其余各组各时间点大鼠PTX-3质量浓度比较差异无统计学意义($P>0.05$)。各组大鼠血浆中PTX-3质量浓度比较见表3。

表3 各组大鼠血浆中PTX-3质量浓度比较($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Tab 3 Comparison of plasma concentration of PTX-3 in rats ($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

时间	PTX-3, ng/ml		
	空白对照组	模型组	舍曲林组
应激前	71.86±45.92	81.41±51.78	未测
应激第7天	100.39±46.43	115.46±45.09	未测
应激第11天	111.94±47.49	131.27±24.86	120.79±38.30
应激第18天	97.45±49.80	119.16±48.52	62.09±22.68**
应激第21天	82.34±67.40	102.19±37.75	44.42±25.95*
应激第24天	48.32±28.24	79.16±42.03*	35.40±6.48**
应激第27天	85.23±45.94	115.17±45.89	65.80±33.36*

与空白对照组比较: * $P<0.05$; 与模型组比较: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

vs. blank control group: * $P<0.05$; vs. model group: * $P<0.05$, ** $P<0.01$

4 讨论

CUMS模型与人类发病情景拟合程度较高,建模一旦成功,上述的行为改变将会持续2~3个月。因此该模型应用性比较广泛。但是研究者投入的精力较大,耗费的时间也较长^[10-12]。实验中的CUMS建立抑郁模型基本成功,引起了受试大鼠行为学变化,使受试大鼠有抑郁倾向。

动物建模方面,抑郁模型虽然基本建成,但未从抑郁发生机制上去衡量大鼠抑郁的情况。应在动物处死后,取其大脑海马组织,进而测定动物体内的5羟色胺(5-HT)、多巴胺(DA)、去甲肾上腺素(NE)及其代谢产物等指标进行检测,所以需要更多的实验数据支持,获得更多信息,进一步加强论证。

舍曲林属于选择性5-HT再摄取抑制剂,临床上常用其盐酸盐,其作用机制与其对中枢神经元5-HT重摄取的抑制有关。在临床剂量下,舍曲林阻滞人血小板对5-HT的摄取,从而能够有效控制抑郁症的症状。有动物实验表明增加突触间隙5-HT或直接刺激5-HT_{2c}受体可减少动物进食,反之则增加

进食。因此,舍曲林通过升高突触间隙的5-HT水平,减少了大鼠的进食,进而导致体质量下降^[11-13]。

实验显示PTX-3质量浓度水平随抑郁程度增加而增加,且在抗抑郁药物舍曲林的干扰下有所降低。提示了在抑郁症的发生发展中,体内可能产生了某种炎性因子,从而引起PTX-3表达。因此推断PTX-3应该与抑郁相关,但需再进一步验证。

本研究通过采用ELISA法检测抑郁大鼠模型血清中PTX-3水平表达,初步探讨了其在抑郁症发病机制中的作用,为抑郁症的早期预测和诊断提供了新的靶点。由于抑郁症发病机制复杂,虽然炎症反应在其中起一定作用,但其具体调控机制仍不十分明确。PTX-3和抑郁症的相关性尚待进一步探讨。因此暂未能由此即推断出PTX-3与抑郁确切相关,此后需要更多的实验去论证并推出最终的结论。

参考文献

- [1] 徐涛,武变瑛.抑郁症病理机制及治疗的研究现状[J].医药研究与教育,2010,27(6):79.
- [2] Nestler EJ, Barrot M, Dileone RJ, et al. Neurobiology of depression[J]. *Neuron*, 2003, 34(1):13.
- [3] Diamandis EP, Goodglick L, Planque C, et al. Pentraxin-3 is a novel biomarker of lung carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(8):2395.
- [4] Inoue K, Kodama T, Daida H. Pentraxin 3: a novel biomarker for inflammatory cardiovascular disease[J]. *Int J Vasc Med*, 2012:657-675.
- [5] Jacobs FM, van Erp S, van der Linden AJ, et al. Pitx3 potentiates Nurr1 in dopamine neuron terminal differentiation through release of SMRT-mediated repression[J]. *Development*, 2009, 136(4):531.
- [6] 方力群,樊自豪,刘利.卒中后抑郁模型大鼠海马BDNF-mRNA的表达及舍曲林的干预作用[J].黑龙江医学,2011,35(5):35.
- [7] 张臣颢,张曼芳,谢青莲.慢性不可预知温和应激抑郁小鼠模型的建立[J].复旦学报:自然科学版,2011,50(3):390.
- [8] Katz RJ, Roth KA, Carroll BJ. Acute and chronic stress-effects on open field activity in the rat: implications for a model of depression[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 1981, 5(2):247.
- [9] 崔翰明,黄世敬,白鸽,等.开心解郁汤对抑郁模型大鼠脑皮质内单胺类神经递质和行为学的影响[J].中国中医基础医学杂志,2011,17(3):276.
- [10] Diamandis EP, Goodglick L, Planque C, et al. Pentraxin-3 is a novel biomarker of lung carcinoma[J]. *Clin Cancer Res*, 2011, 17(8):2395.
- [11] 陆燕华,焦玉梅,王立伟,等.细胞因子与抑郁症相关性研究进展[J].精神医学杂志,2010,23(6):472.
- [12] 徐永君,盛慧.抑郁症发病机制研究进展[J].安徽医科大学学报,2012,47(3):323.
- [13] 张丽梅,季波,张方子,等.浅谈舍曲林的临床应用及进展[J].实用药物与临床,2011,14(3):253.

(收稿日期:2013-06-27 修回日期:2013-08-27)