

· 论 著 ·

递增负荷运动对大鼠抑郁症模型行为学功能及孤啡肽水平的影响

冯英凯¹, 杨庆华^{2△}

(1. 解放军第一医院呼吸内科, 兰州 730030; 2. 重庆市卫生信息中心 400014)

摘要:目的 探讨运动在治疗抑郁症中的治疗价值及可能机制。方法 应用慢性中等强度应激复制大鼠抑郁症模型。实验动物随机分为正常组、模型组、氟西汀组和运动组。应用 Open-Field 法测定各组行为学指标, ELISA 法测定血浆和下丘脑孤啡肽水平。结果 用药或运动后 2 周, 实验动物行为学功能改善。与模型组比较, 氟西汀组及运动组下丘脑及外周血孤啡肽水平显著降低, 差异有统计学意义(均为 $P < 0.05$)。氟西汀组及运动组比较, 下丘脑及外周血孤啡肽水平差异无统计学意义。结论 运动疗法疗效与氟西汀类似, 对抑郁症有显著的改善效果, 可根据情况选择使用。

关键词: 抑郁症; 运动疗法; 行为学; 孤啡肽

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2012.31.005

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2012)31-3252-03

Effects of progressive load exercise on ethology and orphanin levels in depression rat model

Feng Yingkai¹, Yang Qinghua^{2△}

(1. Department of Respiratory Diseases, the First Hospital of PLA, Lanzhou, Gansu 730030, China;

2. Chongqing Health Information Center, Chongqing 400014, China)

Abstract: **Objective** To explore the therapeutic value and possible mechanism of motion on treating depression. **Methods** Depression rat model was introduced by applying chronic stress with medium intensity. The experimental animals were randomly divided into normal group, model group, fluoxetine group and motion group. Open-Field method was used to examine ethologic parameters in different groups; ELISA was applied to measuring orphanin levels in plasma and hypothalamus. **Results** After two weeks' treatment of medication or motion, ethologic function was improved in the experimental animals. As compared with those in model group, the orphanin levels in plasma and hypothalamus were significantly lower, and the differences were statistically significant (all $P < 0.05$). There was no significant difference in orphanin level in plasma and hypothalamus between fluoxetine group and motion group. **Conclusion** The therapeutic effect is similar between fluoxetine group and motion group. Motion therapy has pronounced effect on depression, and can be used as a choice for treatment.

Key words: depressive disorder; exercise therapy; ethology; orphanin

运动通常被认为是治疗抑郁症的有效辅助方法, 但对疗效的观察迄今仅停留于患者主观感觉层面。运动是否确有疗效? 或是一种心理暗示或运动时患者注意力转移导致的病情好转的错觉? 均缺乏必要的客观实验依据支持。本组通过复制大鼠抑郁症模型, 观察递增负荷跑台运动后其行为学功能及孤啡肽水平的变化, 以探讨运动在治疗抑郁症中的治疗价值及可能机制, 现报道如下。

1 材料与方 法

1.1 动物及分组 成年 Wistar 大鼠 40 只, 体质量 180~220 g, 雌雄不拘, Open-Field 法得分相近。由第三军医大学动物实验中心提供[动物许可证号: SCXK(渝)2007-0003]。饲养环境: 室内温度 20~25 ℃, 湿度 50%~60%, 自由饮食。实验过程中对动物的处置参照国家科学技术部《关于善待实验动物的指导性意见》。实验动物随机分为正常组、模型组、氟西汀组和运动组, 每组 10 只。除正常组合笼饲养外, 其余各组均始终分笼饲养(每笼饲养 1 只)。

1.2 主要仪器与试剂 动物实验跑台(ZH-PT-8 型, 淮北正华生物仪器设备公司); 敞箱为自制, 呈正方形, 长、宽各 100 cm, 高 40 cm, 底面由 25 块等边长 25 cm 的正方形组成, 白色内面。PYX-DHS 37 ℃ 恒温箱(上海市跃进医疗器械厂); Sunrise 酶标仪(奥地利 Tecan 公司); 盐酸氟西汀胶囊(每粒 20

mg, 常州华生制药有限公司); 大鼠孤啡肽酶联免疫分析试剂盒(编号: E0932r, 武汉伊艾博科技有限公司)。

1.3 方法 动物实验采用随机对照法, 孤啡肽水平测定应用 ELISA 法。实验在第三军医大学新桥医院呼吸病研究所实验室完成。

1.3.1 模型复制 参照文献[1-2]方法, 应用慢性不可预见的中等强度应激复制大鼠抑郁症模型。模型组、氟西汀组和运动组大鼠, 接受 21 d 各种不同的应激, 包括冰水游泳(4 ℃, 5 min)、热应激(45 ℃, 5 min)、禁饮(24 h)、夹尾(1 min)、电击足底(50 mV, 每隔 15 s 刺激 1 次, 每次持续 10 s, 共 15 次)、摇晃(1 次/秒, 5 min)、禁食(24 h)和昼夜颠倒等刺激, 每种刺激各 4 次。正常组不接受任何应激性刺激。

1.3.2 分组干预 实验第 21 天开始进行分组干预。正常组及模型组常规饲养。氟西汀组: 以 1.8 mg/kg 氟西汀灌胃, 1 次/天, 连续 28 d。运动组: 实施递增负荷训练, 跑台坡度 10°。第 1~2 周, 每天 20 m/min 运动 10 min, 25 m/min 运动 10 min, 30 m/min 运动 10 min, 35 m/min 运动 10 min; 第 3~4 周, 每天 20 m/min 运动 10 min, 25 m/min 运动 10 min, 30 m/min 运动 20 min, 35 m/min 运动 20 min, 共训练 4 周。

1.3.3 血浆和下丘脑样品制备[3] 于实验第 49 天各组大鼠 10% 水合氯醛麻醉后, 经颈动脉采血, 加入预冷的含抑肽酶

△ 通讯作者, Tel: 18680826867; E-mail: yaqh3@126.com。

表 1 各组 Open-Field 法行为学测定结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	水平运动评分					垂直运动评分				
	D21	D28	D35	D42	D49	D21	D28	D35	D42	D49
正常组	50.32±3.25	48.74±2.16	46.96±5.29	48.41±3.32	42.55±4.12	15.63±1.42	12.34±1.45	10.76±2.02	11.38±1.24	10.56±1.45
模型组	16.64±1.27*	18.55±2.30*	20.42±2.13*	19.22±2.98*	23.71±3.35*	5.25±0.88*	4.36±0.32*	6.37±1.68*	5.96±1.12*	7.32±1.26*
氟西汀组	15.43±1.15*	21.36±2.14*	30.26±3.32*#	37.12±4.53#	35.45±2.16#	4.58±0.39*	6.15±1.25*	7.14±1.08*	8.43±1.27*#	8.18±2.62*
运动组	12.28±1.57*	18.96±2.08*	28.63±2.17*#	35.42±4.12#	36.26±2.36#	5.37±1.02*	6.22±0.78*	7.56±1.32*	8.76±1.38*#	8.25±1.33*

*: $P < 0.05$, 与正常组比较; #: $P < 0.05$, 与模型组比较。

(500 IU/L) 和乙二胺四乙酸二钠 (EDTA- Na_2 , 10 g/L) 的塑料 EP 管中, 充分混匀后, 离心 (4 °C, 3 000 r/min, 10 min), 留取血浆, 置于 -70 °C 冰箱待测; 同时迅速分离、取出下丘脑, 置 100 °C 生理盐水中煮 5 min, 称重后置于含 1 mL (0.1 mol/L) 盐酸的匀浆管中充分匀浆, 室温放置 2 h 后再加入 1 mL (0.1 mol/L) 氢氧化钠, 离心 (3 000 r/min, 10 min), 留取上清液, 置于 -70 °C 冰箱待测。

1.4 指标测定

1.4.1 行为学指标 于实验第 21 (D21)、28 (D28)、35 (D35)、42 (D42)、49 (D49) 天应用 Open-Field 法测定各组行为学指标。以动物穿越越箱底面格数为水平得分, 以直立次数为垂直得分, 每次测定 3 min。

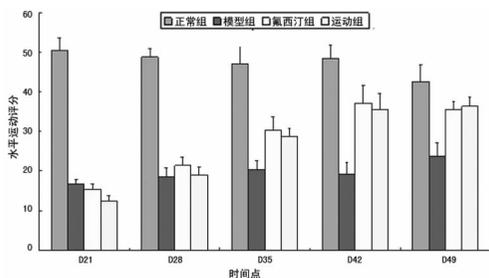
1.4.2 血浆和下丘脑孤啡肽水平测定 应用 ELISA 法。具体操作参照大鼠孤啡肽酶联免疫分析试剂盒使用说明书。

1.5 统计学处理 采用 SPSS11.0 软件进行统计学处理, 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 实验对象分析 40 只纳入大鼠完成全部实验, 实验期间无 1 只死亡。所有结果均列入数据分析。

2.2 行为学测定结果 各组 Open-Field 法行为学测定包括大鼠水平运动、垂直运动评分 (表 1, 图 1、2)。结果显示, 实验第 21 天 (D21), 造模完成时, 模型组、氟西汀组及运动组水平运动、垂直运动评分均显著降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。干预 1 周后 (D28), 氟西汀组及运动组评分变化不明显; 干预 2 周后 (D35), 氟西汀组及运动组水平运动评分显著低于正常组而高于模型组 ($P < 0.05$), 垂直运动评分与模型组比较差异无统计学意义; 干预 3 周后 (D42), 氟西汀组及运动组水平运动评分显著高于模型组, 垂直运动评分显著低于正常组而高于模型组 ($P < 0.05$); 干预 4 周后 (D49), 氟西汀组及运动组水平运动评分显著高于模型组, 与正常组间差异无统计学意义。



*: $P < 0.05$; 与模型组比较, #: $P < 0.05$ 与正常组比较。

图 1 各组 Open-Field 法水平运动评分比较

2.3 下丘脑及外周血孤啡肽含量测定结果 模型组下丘脑及外周血孤啡肽含量显著高于正常组相应指标, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 而氟西汀组及运动组上述指标均显著高于正常组, 而低于模型组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 各组大鼠下丘脑及外周血孤啡肽含量比较, 见表 2。

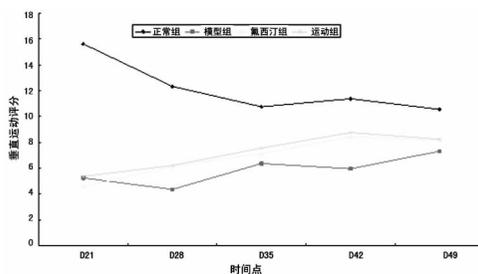


图 2 各组 Open-Field 法垂直运动评分比较

表 2 各组大鼠下丘脑及外周血孤啡肽含量比较 ($\bar{x} \pm s$, ng/L)

组别	n	下丘脑孤啡肽	外周血孤啡肽
正常组	10	43.36 ± 6.32	15.24 ± 2.45
模型组	10	118.21 ± 10.58**	32.65 ± 4.86**
氟西汀组	10	75.48 ± 7.37*#	21.36 ± 4.35*#
运动组	10	73.58 ± 8.21*#	24.48 ± 3.28*#

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, 与正常组比较; #: $P < 0.05$, 与模型组比较。

3 讨 论

抑郁症是一种严重影响患者身心健康的医学紊乱, 成为现代文明社会的隐形杀手之一。随着生活节奏的加快, 其发病率呈上升趋势^[4-5]。患者常感情绪低落, 甚至以自杀解除痛苦。抑郁症的治疗方法包括药物治疗、心理疗法、运动疗法等。运动疗法近年来备受推崇, 但缺乏必要的证据支持。本研究通过复制大鼠抑郁症模型, 观察递增负荷运动对其行为学改变及孤啡肽水平的影响, 并与氟西汀治疗平行对比, 了解运动在抑郁症治疗中的潜在价值。

表 1、图 1~2 结果显示, 实验第 21 天, 除正常组以外的 3 个实验组大鼠水平运动、垂直运动评分均显著降低, 提示模型复制成功。干预 1 周后, 氟西汀组及运动组评分变化不明显, 提示短时间药物或运动干预无明显疗效。干预 2 周后, 氟西汀组及运动组水平运动评分显著低于正常组而高于模型组 ($P < 0.05$), 显示用药或运动后 2 周, 实验动物行为学功能改善。干预 3、4 周后, 氟西汀组及运动组水平运动评分显著高于模型组, 与正常组间差异无统计学意义, 显示了药物及运动对抑郁症模型的良性效应。

孤啡肽又称“痛敏素”, 是阿片样孤儿受体的内源性配体,

其主要分布于中枢神经系统。研究认为它与心理和生理均密切相关^[6],对痛觉、离子通道、免疫功能、学习与记忆、心血管系统、消化系统、呼吸系统、行为与运动等均产生影响。有报道孤啡肽可能通过抑制 5-羟色胺、多巴胺、去甲肾上腺素等神经递质的释放及转运而导致抑郁症的发生^[7-8]。国内亦有多项研究证实内啡肽与抑郁症的发生可能存在关联^[9-10]。内啡肽及其受体可能作为治疗抑郁症的靶点^[11-13]。

本组研究发现,与正常组比较,模型组、氟西汀组及运动组下丘脑及外周血孤啡肽水平显著升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较,氟西汀组及运动组下丘脑及外周血孤啡肽水平显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示药物或运动干预均有部分改善抑郁症作用。氟西汀组及运动组比较,下丘脑及外周血孤啡肽水平差异无统计学意义,显示运动与药物治疗疗效相似。

综上所述,本研究提示,运动疗法疗效与氟西汀类似,对抑郁症有显著的改善效果,其机制可能与降低孤啡肽水平有关。相比于药物^[14],运动强度可控、实施简单、无毒副作用,值得推广应用。但应注意到,并非所有的抑郁症患者都适合运动治疗,某些躁狂型患者运动后病情可能反而加重;另外,超负荷的力竭运动同样可能带来各种身体损害^[15-18],所以运动并非治疗抑郁症的万能灵药,应在医生指导下选择使用。

参考文献:

- [1] 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):247-251.
- [2] 夏军,叶慧,周义成,等.慢性应激大鼠抑郁模型的建立及其有效性的探讨[J]. *华中科技大学学报:医学版*, 2005, 34(4):493-495.
- [3] 古航,胡电,洪新如,等.缺血缺氧新生鼠下丘脑及外周血孤啡肽含量的变化及意义[J]. *中华妇产科杂志*, 2003, 38(11):683-684.
- [4] 王欢,符冬梅.空巢离退休干部抑郁症与 A 型行为模式的关系[J]. *中国老年学杂志*, 2010, 30(9):1300-1301.
- [5] 周强,季晓林,叶建华,等.福建省直机关离退休干部血管性抑郁症的流行病学调查[J]. *中华中医药学刊*, 2008, 26(12):2651-2651.
- [6] Fernandez F, Misilmeri MA, Felger JC, et al. Nociceptin/orphanin FQ increases anxiety-related behavior and circulating levels of corticosterone during neophobic tests of

anxiety[J]. *Neuropsychopharmacology*, 2004, 29(1):59-71.

- [7] Marti M, Stocchi S, Paganini F, et al. Pharmacological profiles of presynaptic nociceptin/orphanin FQ receptors modulating 5-hydroxytryptamine and noradrenaline release in the rat neocortex[J]. *Br J Pharmacol*, 2003, 138(1):91-98.
- [8] Mela F, Marti M, Ulazzi L, et al. Pharmacological profile of nociceptin/orphanin FQ receptors regulating 5-hydroxytryptamine release in the mouse neocortex[J]. *Eur J Neurosci*, 2004, 19(5):1317-1324.
- [9] 王斌,郑洪波,秦峰,等.抑郁症患者血浆孤啡肽含量研究[J]. *中华神经医学杂志*, 2006, 5(9):947-949.
- [10] 胡电,古航,洪新如,等.产后抑郁症患者血中孤啡肽水平与单胺类递质的相关性[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(30):6103-6105.
- [11] 张建斌,王玲玲,吕梅,等.针刺对抑郁症模型大鼠前额皮质单胺类神经递质的影响[J]. *中国临床康复*, 2006, 10(15):129-131.
- [12] 张璐璐,郑洪波.孤啡肽及其受体与抑郁症的研究进展[J]. *实用医学杂志*, 2009, 25(14):2384-2386.
- [13] 王宁,姜建伟,柱莅娜,等.鞘内注射孤啡肽对正常及创伤大鼠 NK 细胞活性的影响[J]. *复旦学报:医学版*, 2002, 29(1):61-63.
- [14] 刘兰英,陆倩,王玲玲.电针对抑郁症患者氟西汀不良反应的影响[J]. *浙江中医药大学学报*, 2007, 31(4):484-485.
- [15] 陈家旭,杨维益,梁嵘,等.长期高强度运动对大鼠脑组织神经肽 Y、亮氨酸脑啡肽、强啡肽 A1-13 动态变化的影响[J]. *中国应用生理学杂志*, 1999, 15(4):306-309.
- [16] 李丽.运动性低血红蛋白形成过程中递增负荷跑台运动对大鼠红细胞及网织红细胞参数影响的研究[J]. *北京体育大学学报*, 2007, 30(3):356-359.
- [17] 姜振,张林.高压氧对递增负荷训练大鼠腓肠肌 P53、Bcl-2 蛋白表达的影响[J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2009, 13(7):1309-1312.
- [18] 耿青青,郝选明.长期递增负荷跑台对大鼠骨髓 ProB 细胞、PreB 细胞发育的影响[J]. *广州体育学院学报*, 2011, 31(5):101-105.

(收稿日期:2012-04-25 修回日期:2012-07-16)

(上接第 3251 页)

histology changes in nonalcoholic steatohepatitis after one year of treatment with probucol[J]. *Dig Dis Sci*, 2008, 53(8):2246-2250.

- [12] 段纬喆.辛伐他汀和普罗布考对 TNF- α 诱导的内皮细胞凋亡的影响[D].湖南:中南大学,2010.
- [13] Locatelli F, Gaulty A, Czekalski S, et al. The MPO Study:

just a European HEMO Study or something very different? [J]. *Blood Purif*, 2008, 26(1):100-104.

- [14] Kumar D, Kirshenbaum LA, Li T, et al. Apoptosis in adriamycin cardiomyopathy and its modulation by probucol [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2001, 3(1):135-145.

(收稿日期:2012-03-09 修回日期:2012-06-22)