

# 葛根素对慢性不可预知温和刺激大鼠抑郁行为的影响及其机制

张 聪\*, 胡楚璇, 李穗华, 张 霞, 卢慧勤, 林壮民

(广东省第二人民医院药学部, 广东 广州 510317)

**摘要:** 研究葛根素对慢性不可预知性温和刺激 (chronic unpredicted mild stress, CUMS) 诱导的大鼠抑郁样行为的影响及其作用机制的初步探讨。SD 大鼠随机分为正常对照组、CUMS 模型组、CUMS+氟西汀 ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 组、CUMS+葛根素 (50、100 和  $200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 组。采用 CUMS 法建立大鼠抑郁模型, 造模后连续灌胃给药 21 天。采用旷场实验、糖水偏爱实验、强迫游泳实验测试大鼠的抑郁样行为的变化; ELISA 法检测大鼠海马超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT) 的活性及活性氧 (reactive oxygen species, ROS)、前列腺素  $\text{E}_2$  ( $\text{PGE}_2$ ) 的含量。RT-PCR 法检测海马炎症因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  和 IL-10 的 mRNA 水平; Western blot 法检测海马炎症因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  和 IL-10 含量的变化。行为学结果显示, 与正常对照组相比, 模型组大鼠水平运动和垂直运动得分及糖水偏爱度均出现显著下降 ( $P < 0.01$ ), 强迫游泳不动时间明显延长 ( $P < 0.01$ ), 给予葛根素后可以显著逆转糖水偏爱度的下降和强迫游泳不动时间的延长; 分子生物学结果显示, 模型组大鼠海马 ROS 和  $\text{PGE}_2$  含量显著升高 ( $P < 0.01$ ), SOD 和 CAT 的活性显著降低 ( $P < 0.01$ ), IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  和 IL-10 mRNA 和蛋白水平明显升高 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。葛根素和氟西汀均能不同程度地改善 CUMS 诱导的上述改变。葛根素能明显改善 CUMS 引起的大鼠抑郁样行为, 其作用机制可能与缓解海马氧化应激水平和炎症反应相关。

**关键词:** 葛根素; 抑郁; 抗氧化应激; 抗炎

中图分类号: R964

文献标识码: A

文章编号: 0513-4870 (2018) 02-0220-07

## Anti-depressant effects of puerarin on depression induced by chronic unpredicted mild stress in rats

ZHANG Cong\*, HU Chu-xuan, LI Sui-hua, ZHANG Xia, LU Hui-qin, LIN Zhuang-min

(Department of Pharmacy, Guangdong Second Provincial General Hospital, Guangzhou 510317, China)

**Abstract:** The study is aimed to investigate the anti-depressant effect of puerarin in rat model of depression induced by chronic unpredictable mild stress (CUMS) and to explore the relevant mechanism. We established the depression rat model using CUMS. Rats were randomly divided into control, CUMS model, CUMS + fluoxetine ( $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) and CUMS + puerarin ( $50, 100, 200 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) groups. Drugs or vehicle were administrated after stress induction for 21 days. Open-field test (OFT), sucrose preference tests (SPT) and forced swim test (FST) were used to evaluate the anti-depressant effects of puerarin. The reactive oxygen species (ROS), prostaglandin  $\text{E}_2$  ( $\text{PGE}_2$ ) level, superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities in hippocampus were determined by ELISA. Expression of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , and IL-10 was measured by qRT-PCR and Western blot analysis. Behavioral test suggests that crossing score, rearing score in OFT and sucrose preference index in SPT of model group were significantly lower than the control group ( $P < 0.01$ ), while immobility time in FST was significantly increased ( $P < 0.01$ ). Compared with those in control group, the ROS and  $\text{PGE}_2$  level increased significantly

收稿日期: 2017-08-17; 修回日期: 2017-10-08.

基金项目: 广东省医学科学技术研究基金资助项目 (A2017132).

\*通讯作者 Tel: 86-20-89168251, E-mail: zhangcong2263@163.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2017-0806

( $P < 0.01$ ), SOD and CAT activities were decreased significantly ( $P < 0.01$ ), the mRNA and protein level of IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ , and IL-10 were increased significantly ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ) in rats of CUMS. Puerarin and fluoxetine ameliorated those changes induced by CUMS. Puerarin improved the depression-like behaviors of rats induced by CUMS, and the mechanism may involve in the antioxidant and anti-inflammatory effects.

**Key words:** puerarin; depression; antioxidant; anti-inflammatory

抑郁症是一种常见的威胁患者生活自理能力甚至生命的一种神经精神疾病。目前全球患抑郁症的人数高达 11%<sup>[1]</sup>。全球卫生组织预测,到 2020 年抑郁症引起的死亡率将上升为全球第二。根据精神障碍诊断和统计手册(第 4 版,DSM-IV)标准,抑郁症的典型症状为情绪低落,日常活动兴趣减少,快感缺失等<sup>[2]</sup>。该疾病的流行病学和病理学机制目前还没有阐明清楚。但是大量研究表明,应激和压力在抑郁症的发病过程中扮演着重要角色<sup>[3,4]</sup>。

葛根(Radix Puerariae)豆科多年生藤本植物野葛或甘葛藤的干燥根部,其主要功能有生津、透疹、解肌退热、升阳止泻,是中医临床上的常见常用药。葛根素是从中药葛根中提取出来的,化学成分是一种单体异黄酮化合物。现代研究表明,葛根有扩张脑血管、增加脑血流量、改善大脑供氧和脑部微循环等作用,还有抗氧化、保护神经元、抗凝血和抗肿瘤等作用<sup>[5]</sup>。近年研究表明,葛根具有较强的抗抑郁作用<sup>[6]</sup>。Shi 等<sup>[7]</sup>采用小鼠行为绝望模型研究表明,葛根复方制剂奔豚汤(李根白皮、半夏、川芎、当归、白芍、葛根、黄芩、甘草和生姜)能缩短绝望模型中小鼠悬尾和强迫游泳不动时间,并对其有显著性影响,对小鼠自主活动无明显影响,表明奔豚汤具有抗抑郁作用。Yan 等<sup>[8]</sup>研究发现葛根的乙醇提取物可显著缩短在大脑缺血再灌注模型中小鼠强迫游泳实验(FST)和悬尾实验(TST)的不动时间,同时有逆转大脑缺血再灌注小鼠海马和纹状体中去甲肾上腺素和 4-二羟苯乙酸含量降低的作用。Wang 等<sup>[9]</sup>采用葛根异黄酮(50、100、200 mg·kg<sup>-1</sup>)对雄性昆明小鼠连续灌胃,给药 14 天后,葛根异黄酮各剂量均显著缩短了 FST 和 TST 不动时间,显著增强了 5-HT 诱导的小鼠甩头行为,且呈剂量依赖性。以上研究均表明,葛根在动物实验中具有抗抑郁的作用。目前,葛根素对 CUMS 诱导的大鼠抑郁样行为的影响还尚未见研究报告。本研究拟观察葛根素对 CUMS 诱导的大鼠抑郁行为的影响,初步探讨葛根素的抗抑郁作用机制。

## 材料与方法

**仪器** 大鼠旷场实验装置、强迫游泳实验装置

(上海欣软信息科技有限公司); Biometra T-gradient 梯度 PCR (德国 Biometra 公司); ABI-7500 荧光实时定量 PCR 仪 (美国应用生物系统公司); ELX-800 全自动酶标仪 (美国 Bio-Tek 公司); 7500 型荧光定量 PCR 仪 (美国 ABI 公司)。

**药物与试剂** 葛根素(中国食品药品检定研究院); 盐酸氟西汀分散片(礼来苏州制药有限公司); 荧光定量 PCR 试剂盒(美国 Promega 生物技术有限公司); IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  和 IL-10 ELISA 抗体[圣克鲁斯(上海)生物技术公司]; PGE<sub>2</sub>(上海酶研生物科技有限公司); 过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)和活性氧(ROS)检测试剂盒(南京建成生物工程研究所),其余试剂为国产分析纯。

**实验动物** 选取 SPF 级雄性 SD 成年大鼠 72 只,体重 180~220 g,由广东省医学实验动物中心提供,动物合格证号: SCXK(粤)2013-0002。

**动物分组及造模** 72 只大鼠随机分为 6 组,每组 12 只,即对照组、模型组、氟西汀对照组(10 mg·kg<sup>-1</sup>)、葛根素低、中、高(50、100、200 mg·kg<sup>-1</sup>)剂量组。各组大鼠实验前适应环境 1 周,结束后进行为期 6 周的慢性不可预知温和刺激抑郁模型的构建,造模方法参考文献<sup>[10]</sup>,适当改动。对照组大鼠正常摄食饮水,不给予任何刺激;其余各组每天选用应激方式的 1 种,避免重复。应激方式包括昼夜颠倒 24 h、鼠笼倾斜 45° 24 h、4℃冰水游泳 5 min、束缚 1 h、潮湿垫料 24 h、夹尾 1 min、禁水 24 h、禁食 24 h、足底电击 2 次(2 mA 持续 4 s,间隔 10 s)、独笼应激、合笼应激等。慢性应激 3 周后开始给药,每天 1 次,连续给药 3 周(给药期间继续造模),对照组和模型组大鼠每天灌服等体积的生理盐水。

### 行为学检测

**糖水偏爱实验** 实验前,大鼠训练适应 1% (w/v) 糖水:每笼放置两瓶 1% 糖水,24 h 后将其中一瓶 1% 糖水换成纯水,放置 24 h。适应后,大鼠禁水禁食 24 h,进行糖水偏爱实验。实验中,大鼠可自由饮用 2 瓶水,一瓶为 1% 糖水 20 mL,另一瓶为纯水 20 mL,实验开始之前称量每瓶水的重量。24 h 后,测量剩余的重量,得出糖水和纯水的消耗量(g)。用糖水消耗

量与总液体消耗量(糖水消耗量+纯水消耗量)之比表示糖水偏爱度。

**旷场实验** 实验在一个 100 cm×100 cm×50 cm 的开放木箱内进行,木箱底面等分成 25 个正方形,四周全部涂黑。实验在安静的环境下进行,把大鼠放在木箱中央,观察 5 min 内的活动情况。由不知实验方案的人员记录其水平运动得分(穿越底面格子数)、垂直运动得分(直立次数)。

**强迫游泳实验** 实验在高为 50 cm,直径为 25 cm 的透明圆柱形游泳桶。实验第 1 天,塑料桶装入 30 cm 高的水,水温为 23±3 °C,使大鼠后肢无法靠塑料桶底部支撑身体,让其自由游泳 6 min 以适应环境。第 2 天,塑料桶内装入同样温度和高度的水,让大鼠游泳 6 min,由不知实验方案的人员记录大鼠后 4 min 内的不动时间。不动状态定义为大鼠停止挣扎,漂浮于水面或仅做一些支持浮在水面的细小肢体活动。

**海马 CAT、SOD 活性及 ROS 含量的检测** 强迫游泳实验次日给药 30 min 后,断头取脑,冰上迅速剥离双侧全海马组织,用预冷的 PBS 冲洗海马组织(除用于本部分实验外其他剩余组织存放于液氮中保存),检测 CAT、SOD 酶活性及 ROS、PGE<sub>2</sub> 含量,按试剂盒说明书操作。

**海马 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  及 IL-10 mRNA 水平检测** 提取总 mRNA:大鼠海马组织加入 TRIzol 匀浆,使组织完全裂解。加入氯仿 200  $\mu$ L 振荡,离心 10 min,弃去上清。加入预冷的 75% 乙醇清洗沉淀,离心 5 min 弃上清。将沉淀晾干,RNase free water 溶解 RNA 沉淀。逆转录体系,PCR 反应体系扩增条件:94 °C 变性 45 s,退火 45 s,周期为 40 个循环,最后 72 °C 延伸 45 s。内参为 GAPDH,引物序列见表 1。RT-PCR 定量分析 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  及 IL-10 基因表达水平:按照荧光定量 PCR 检测试剂盒(TaqMan<sup>®</sup> 2×Universal PCR Master Mix, NoAmpErase<sup>®</sup> UNGb)的说明进行实验,整个操作在冰上进行,注意避光。PCR 结束后

得到扩增曲线和 C<sub>t</sub> 值,  $\Delta\Delta C_t = (C_{t \text{ 目的基因}} - C_{t \text{ 管家基因}})_{\text{实验组}} - (C_{t \text{ 目的基因}} - C_{t \text{ 管家基因}})_{\text{对照组}}$ , 基因差异表达水平用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法计算。

**海马 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  及 IL-10 蛋白含量测定** 海马组织用含有蛋白酶抑制剂 cocktail 和磷酸化抑制剂的 RIPA 缓冲液匀浆,以 13 000 ×g 离心 30 min,取上清用 Bradford 蛋白分析方法测定蛋白质含量。将上清液与 SDS 样品缓冲液稀释后于沸水中煮 3 min。上样(12% SDS-PAGE 凝胶)分离,湿转法将蛋白转移至硝酸纤维素膜,封闭 2 h, TBST 洗 5 min,加 IL-1 $\beta$  抗体(1:1 000 稀释)、TNF- $\alpha$  抗体(1:1 000 稀释)、IL-10 抗体(1:500 稀释)或 GAPDH 抗体(1:1 000 稀释)。于 4 °C 摇床上过夜。然后用 TBST 洗 3 次,每次 5 min,加荧光标记的二抗,室温下振荡 60 min,用 TBST 洗 3 次之后用荧光扫描仪扫描特异性条带并定量(Odyssey Infrared Imaging System, 美国 LI-COR Biotechnology 公司)。

**统计学方法** 数据采用 SPSS18.0 统计软件进行分析。结果均用 mean±SEM(均数±标准误)的格式表示。数据用单因素多水平设计定量资料的方差分析(one-way ANOVA)及 LSD 检验(方差齐性)或者 Dunnett T3 检验(方差不齐)。P<0.05 定义为显著性差异有统计学意义。

## 结果

### 1 葛根素对旷场实验的影响

造模 6 周后,与对照组大鼠相比,模型组大鼠穿越格子数及直立次数明显减少(P<0.01),表明大鼠的自发活动能力显著降低。给予中、高剂量葛根素及氟西汀后,与模型组相比,大鼠穿越格子数及直立次数显著性增加(P<0.05 或 P<0.01),结果如图 1 所示。

### 2 葛根素对糖水偏爱实验的影响

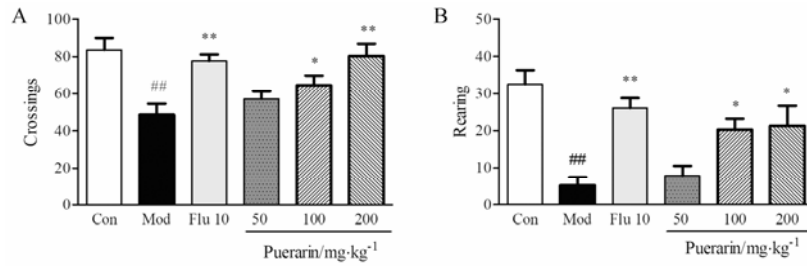
造模 6 周后,模型组大鼠对糖水的偏爱度较对照组大鼠明显降低(P<0.01),而在给予中、高剂量葛根素和氟西汀处理 3 周后,大鼠的糖水偏爱度明显升高(P<0.05, P<0.01),表明葛根素能改善应激造成的快感缺失,缓解抑郁症状,结果如图 2 所示。

### 3 葛根素对强迫游泳实验的影响

造模 6 周后,模型组大鼠的不动时间明显高于对照组,差异具有统计学意义(P<0.01),而给药中、高剂量葛根素及氟西汀后可明显缩短大鼠在强迫游泳中的不动时间(P<0.05 或 P<0.01),表明动物的抑郁状态得到改善,结果如图 3 所示。

**Table 1** Sequences of PCR primers

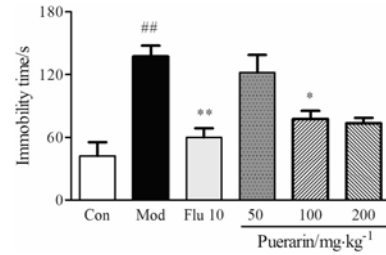
Gene		Sequences of PCR primer
IL-1 $\beta$	Sense	5'-TGTGATGTCCCATAGAC-3'
	Antisense	5'-AATACCACTTGTGGCTTA-3'
TNF- $\alpha$	Sense	5'-GTAGCAAACCAAGCG-3'
	Antisense	5'-GGTATGAAATGGCAAATCG-3'
IL-10	Sense	5'-GCAGGACTTTAAGGGTTAC-3'
	Antisense	5'-TGCTCCACTGCCTTGCTTTT-3'
GAPDH	Sense	5'-CCTTCCGTGTTCTACCCC-3'
	Antisense	5'-GCCAGGATGCCCTTAGTG-3'



**Figure 1** Effect of puerarin on open-field test in chronic unpredicted mild stress (CUMS) rats, number of crossings (A) and ambulation (B). Mean  $\pm$  SEM,  $n = 12$ .  $^{##}P < 0.01$  vs control group;  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$  vs model group. Con: Control; Flu: Fluoxetine; Mod: Model



**Figure 2** Effect of puerarin on sucrose preference test in CUMS rats. Mean  $\pm$  SEM,  $n = 12$ .  $^{##}P < 0.01$  vs control group;  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$  vs model group



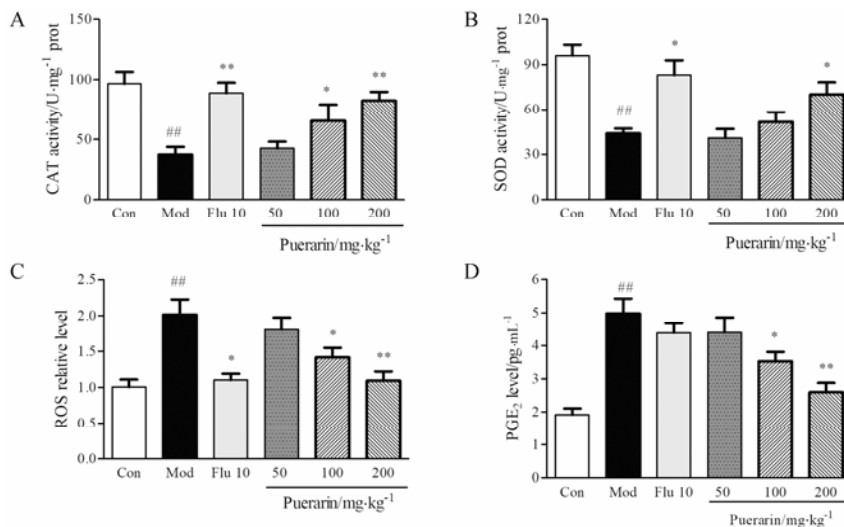
**Figure 3** Effect of puerarin on forced swimming test in CUMS rats. Mean  $\pm$  SEM,  $n = 12$ .  $^{##}P < 0.01$  vs control group;  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$  vs model group

#### 4 葛根素对大鼠海马组织 CAT、SOD 活性及 ROS、PGE<sub>2</sub> 含量的影响

造模后大鼠海马内 ROS 及 PGE<sub>2</sub> 含量较对照组明显升高 ( $P < 0.01$ ), 但是 CAT 和 SOD 酶活性显著降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 提示海马内氧化应激水平明显升高。而在给予 3 周的葛根素及氟西汀后均能明显降低以上指标的水平 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 表明葛根素能降低大鼠海马内氧化应激水平, 具有较强的抗氧化作用, 结果如图 4 所示。

#### 5 葛根素对大鼠海马 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 及 IL-10 mRNA 水平的影响

模型组大鼠海马 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  及 IL-10 的 mRNA 水平较对照组明显升高, 差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。在给予葛根素及氟西汀处理后, 大鼠海马促炎因子 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  的 mRNA 水平均出现显著性降低 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 而抗炎因子 IL-10 的 mRNA 水平则有不同程度的提高, 其中 200 mg·kg<sup>-1</sup> 葛根素给药组出现显著性上升, 差异具有统



**Figure 4** Effect of puerarin on enzymatic activity of CAT (A), SOD (B) and content of ROS (C), PGE<sub>2</sub> (D) in the hippocampus in CUMS rats. Mean  $\pm$  SEM,  $n = 6$ .  $^{##}P < 0.01$  vs control group;  $^{*}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$  vs model group. CAT: Catalase; SOD: Superoxide dismutase; ROS: Reactive oxygen species; PGE<sub>2</sub>: Prostaglandin E<sub>2</sub>

计学意义 ( $P < 0.05$ ), 结果如图 5 所示。

### 6 葛根素对大鼠海马 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 及 IL-10 蛋白含量的影响

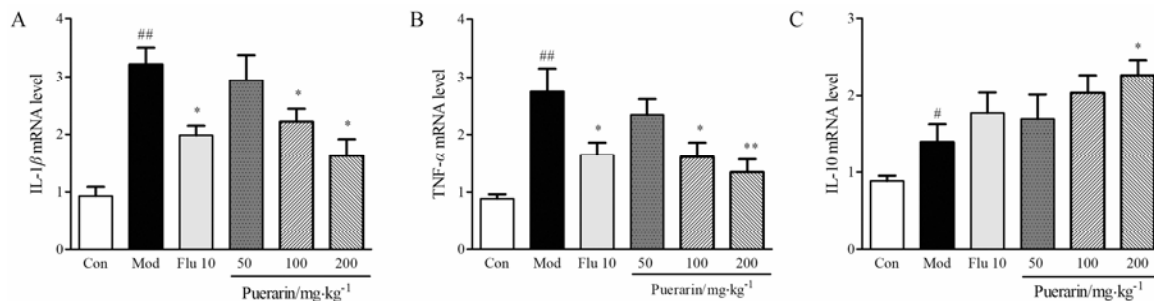
海马内 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  及 IL-10 蛋白表达水平与 mRNA 检测结果相一致, 造模 6 周后, 模型组大鼠 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  和 IL-10 蛋白表达明显升高 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。在给予葛根素及氟西汀处理后, 大鼠海马内促炎因子 IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  的蛋白水平均有不同程度的降低, 而抗炎因子 IL-10 的含量则有不同程度的提高, 结果如图 6 所示。

### 讨论

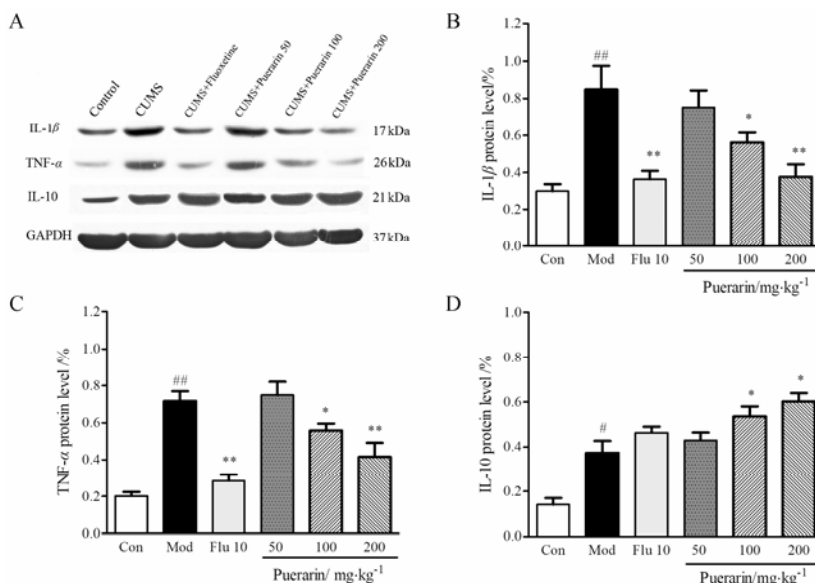
抑郁症的发病机制复杂, CUMS 模型是公认的经典的抑郁症动物模型。大鼠在 CUMS 造模后所表现的抑郁行为与人长期暴露下的多重压力下引起的抑郁临床表现相似<sup>[11]</sup>。动物行为学变化, 是评价模型制作是否成功的标志, 也是判定药物是否有效的标准。

本实验中大鼠在经过 CUMS 后成功模拟了抑郁状态, 表现为旷场实验中自主活动减少, 糖水偏爱实验中糖水偏爱度降低, 及在强迫游泳实验中不动时间增加。而葛根素能逆转应激引起的以上行为学改变, 表明葛根素具有很好的抗抑郁作用。

研究表明, 肿瘤、心血管疾病、糖尿病、脑卒中和阿尔茨海默病等在内的多种疾病均可能引发抑郁症<sup>[12–14]</sup>。抑郁症的发生与细胞介导的免疫激活、炎症反应和氧化应激密切相关。临床研究表明, 抑郁症患者外周血中炎症因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 等明显高于正常人, 而在给予抗抑郁药物治疗之后这些炎症因子的水平得到了抑制<sup>[15]</sup>。在动物实验中, 通过腹腔或脑内注射脂多糖 (LPS) 均能引起小鼠抑郁样的行为学改变<sup>[16, 17]</sup>, CUMS 大鼠皮层及海马小胶质细胞被激活引起炎症因子如 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  和 PGE<sub>2</sub> 的过度表达, 炎症因子表达的增加又能进一步促进小胶质细胞的激活, 小胶质细胞的过度激活直接对



**Figure 5** Effect of puerarin on mRNA levels of IL-1 $\beta$  (A), TNF- $\alpha$  (B) and IL-10 (C) in the hippocampus in CUMS rats. Mean  $\pm$  SEM,  $n = 6$ . <sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group



**Figure 6** Effect of puerarin on protein expression (A) of IL-1 $\beta$  (B), TNF- $\alpha$  (C) and IL-10 (D) in the hippocampus in CUMS rats. Mean  $\pm$  SEM,  $n = 6$ . <sup>#</sup> $P < 0.05$ , <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group

神经元产生神经毒性作用。研究显示, 葛根素对于炎症因子的分泌能起到一定的抑制作用, 可以降低脑损伤后脑组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$  和 IL-6 等的含量, 减轻病灶处白细胞的聚集, 从而阻止局部的炎症级联反应<sup>[18]</sup>。Wan 等<sup>[19]</sup>发现脑缺血再灌注损伤模型大鼠经过葛根素处理之后, IL-1 $\beta$  的水平明显低于模型组。另有临床报道, 葛根素能显著降低急性脑梗死患者血清 IL-6 和 TNF- $\alpha$  的水平<sup>[20]</sup>。本研究发现, 大鼠在经过 CUMS 应激之后, 海马内炎症因子 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、PGE<sub>2</sub> 和 IL-10 表达增加, 表明海马出现了明显的炎症反应损伤。而在给予葛根素及氟西汀干预之后, 可以改善由应激导致的炎症反应损伤, 这表明葛根素的抗抑郁样作用可能与其抗炎作用相关。

已有研究报道, 抑郁症的发生与氧化应激损伤关系密切<sup>[21]</sup>。抑郁症是慢性的心理及生理应激过程, 可引起体内神经内分泌系统的功能变化, 并伴有氧化应激系统的激活, 引起中枢神经系统的氧化损伤。临床研究发现, 重度抑郁症患者体内 SOD 活性降低, 而 MDA 含量升高, 给予清除自由基的药物, 能改善大鼠的抑郁症状<sup>[22]</sup>。Tao 等<sup>[23]</sup>研究结果显示, 慢性抑郁模型大鼠大脑海马 MDA 含量显著升高, 而 SOD 活性显著降低, 提示大鼠脑内氧化应激系统失衡, 并出现脂质过氧化损伤。研究表明, 葛根素可以提高脑组织内一种或多种内源性抗氧化剂活性, 减轻因自由基引起的氧化损伤, 起到神经保护作用。脂质过氧化产物 (如 MDA 的含量) 能在一定程度上反映细胞所受到的氧化损伤程度。Li 等<sup>[24]</sup>研究证实葛根素能有效增加帕金森病模型大鼠黑质中 GSH-Px 和 SOD 活性, 降低 MDA 含量, 提高帕金森病模型大鼠抗氧化能力, 减轻氧化应激损伤。本研究发现, 大鼠在经过 6 周的应激之后, 海马内 ROS 水平升高, SOD 及 CAT 酶活性下降, 表明海马出现了明显的氧化应激损伤。而在给予葛根素及氟西汀干预之后, 可以改善由应激导致的氧化应激损伤, 这表明葛根素的抗抑郁样作用可能与其抗氧化作用相关。

综上所述, 本实验研究结果显示, 葛根素能够逆转 CUMS 诱导的大鼠抑郁样症状, 且该作用可能是通过缓解 CUMS 引起的过度炎症反应和氧化应激反应起作用的。但是, 该机制的研究只是初步的探索, 具体的信号通路过程尚需进一步探讨。

## References

- [1] Kessler RC, Bromet EJ. The epidemiology of depression across cultures [J]. *Annu Rev Public Health*, 2013, 34: 119–138.
- [2] Bromet E, Andrade LH, Hwang I, et al. Cross-national epidemiology of DSM-IV major depressive episode [J]. *BMC Med*, 2011, 9: 90.
- [3] Kiecolt-Glaser JK, Fagundes CP, Andridge R, et al. Depression, daily stressors and inflammatory responses to high-fat meals: when stress overrides healthier food choices [J]. *Mol Psychiatry*, 2017, 22: 476–482.
- [4] Ferguson EH, Di Florio A, Pearson B, et al. HPA axis reactivity to pharmacologic and psychological stressors in euthymic women with histories of postpartum *versus* major depression [J]. *Arch Womens Ment Health*, 2017, 20: 411–420.
- [5] Wang YZ, Feng WS, Shi RB, et al. A new chemical component of *Pueraria Lobata* (Willd.) Ohwi [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2007, 42: 964–967.
- [6] Luo C, Ke Y, Yuan Y, et al. A novel herbal treatment reduces depressive-like behaviors and increases brain-derived neurotrophic factor levels in the brain of type 2 diabetic rats [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2016, 12: 3051–3059.
- [7] Shi XF, Song HH, Wu ZG. Antidepressant effect of ben tun tang on mice induced by desperate behavioral [J]. *J Sichuan Tradit Chin Med (四川中医)*, 2012, 30: 47–48.
- [8] Yan B, Wang DY, Xing DM, et al. The antidepressant effect of ethanol extract of *radix puerariae* in mice exposed to cerebral ischemia reperfusion [J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 2004, 78: 319–325.
- [9] Wang HL, Shi TY. Experiment study on anti-depressant effects of *pueraria isoflavone* [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form (中国实验方剂学杂志)*, 2012, 18: 268–271.
- [10] Chen JL, Gao Y, Qin XM, et al. Anti-depression mechanism of supercritical CO<sub>2</sub> extract from Compound Chaigui Fang based on network pharmacology [J]. *Acta Pharm Sin (药学报)*, 2016, 51: 388–395.
- [11] Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic unpredictable mild stress, and its restoration by a tricyclic antidepressant [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 1987, 93: 358–364.
- [12] Gentil L, Vasiliadis HM, Berbiche D, et al. Impact of depression and anxiety disorders on adherence to oral hypoglycemics in older adults with diabetes mellitus in Canada [J]. *Eur J Ageing*, 2017, 14: 111–121.
- [13] Jacobs JM, Traeger L, Eusebio J, et al. Depression, inflammation, and epidermal growth factor receptor (EGFR) status in metastatic non-small cell lung cancer: a pilot study [J]. *J Psychosom Res*, 2017, 99: 28–33.
- [14] Sarfo FS, Jenkins C, Singh A, et al. Post-stroke depression in Ghana: characteristics and correlates [J]. *J Neurol Sci*, 2017, 379: 261–265.

- [15] Catena-Dell'Osso M, Bellantuono C, Consoli G, et al. Inflammatory and neurodegenerative pathways in depression: a new avenue for antidepressant development? [J]. *Curr Med Chem*, 2011, 18: 245–255.
- [16] Li M, Li C, Yu H, et al. Lentivirus-mediated interleukin-1beta (IL-1beta) knock-down in the hippocampus alleviates lipopolysaccharide (LPS)-induced memory deficits and anxiety- and depression-like behaviors in mice [J]. *J Neuroinflammation*, 2017, 14: 190.
- [17] Deyama S, Shimoda K, Suzuki H, et al. Resolvin E1/E2 ameliorate lipopolysaccharide-induced depression-like behaviors *via* ChemR23 [J]. *Psychopharmacology*, 2017. DOI: 10.1007/s00213-017-4774-7.
- [18] Chang Y, Hsieh CY, Peng ZA, et al. Neuroprotective mechanisms of puerarin in middle cerebral artery occlusion-induced brain infarction in rats [J]. *J Biomed Sci*, 2009, 16: 9.
- [19] Wan H, Zhu H, Tian M, et al. Protective effect of chuanxiong-zine-puerarin in a rat model of transient middle cerebral artery occlusion-induced focal cerebral ischemia [J]. *Nucl Med Commun*, 2008, 29: 1113–1122.
- [20] Ding CY, Wang RX, Guo LY. Effects of puerarin on the concentration of plasma IL-6 and TNF- $\alpha$  in patients with cerebral hemorrhage [J]. *J Radioimmunol (放射免疫学杂志)*, 2012, 25: 645–647.
- [21] Bouvier E, Brouillard F, Molet J, et al. Nrf2-dependent persistent oxidative stress results in stress-induced vulnerability to depression [J]. *Mol Psychiatry*, 2016. DOI: 10.1038/mp.2016.211.
- [22] Kotan VO, Sarandol E, Kirhan E, et al. Effects of long-term antidepressant treatment on oxidative status in major depressive disorder: a 24-week follow-up study [J]. *Prog Neuro-Psychopharmacol Biol Psych*, 2011, 35: 1284–1290.
- [23] Tao W, Dong Y, Su Q, et al. Liquiritigenin reverses depression-like behavior in unpredictable chronic mild stress-induced mice by regulating PI3K/Akt/mTOR mediated BDNF/TrkB pathway [J]. *Behav Brain Res*, 2016, 308: 177–186.
- [24] Li R, Zheng N, Liang T, et al. Puerarin attenuates neuronal degeneration and blocks oxidative stress to elicit a neuroprotective effect on substantia nigra injury in 6-OHDA-lesioned rats [J]. *Brain Res*, 2013, 1517: 28–35.