

· 基础研究 ·

低频重复经颅磁刺激对慢性应激抑郁模型大鼠行为学及脑内单胺类神经递质的影响

陈运平 梅元武 孙圣刚 包敏 俞善纯

【摘要】目的 观察低频重复经颅磁刺激(rTMS)对慢性应激抑郁模型大鼠行为学及不同脑区内单胺类神经递质含量的影响,探讨低频 rTMS 对抑郁症的治疗作用及其机制。**方法** 选用 12 只 SD 雄性大鼠制备慢性轻度不可预见性应激抑郁模型,造模后随机分为磁刺激组和抑郁模型组,磁刺激组给予低频 rTMS 治疗,并与正常对照组进行比较。各组大鼠于磁刺激前、后进行敞箱试验、蔗糖水消耗试验,并采用高效液相色谱法检测大鼠不同脑区内单胺类神经递质的含量。**结果** 抑郁模型组大鼠敞箱试验的水平运动得分、垂直运动得分和蔗糖水消耗量与正常对照组比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。磁刺激组大鼠经磁刺激后,敞箱试验的水平运动得分、垂直运动得分和蔗糖水消耗量与磁刺激前比较,均明显增高($P < 0.01$);与抑郁模型组模拟磁刺激后比较,也明显增高($P < 0.01$);与正常对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。抑郁模型组大鼠额叶皮质内 5-羟色胺、海马内 5-羟色胺及多巴胺、纹状体内多巴胺、下丘脑内 5-羟色胺含量均明显低于正常对照组和磁刺激组($P < 0.01$);磁刺激组大鼠额叶皮质内 5-羟色胺、海马内 5-羟色胺及多巴胺、纹状体内多巴胺、下丘脑内 5-羟色胺含量与正常对照组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 低频 rTMS 能明显改变慢性应激抑郁模型大鼠的抑郁行为;对不同脑区内单胺类神经递质水平的调节作用是低频 rTMS 的抗抑郁机制之一。

【关键词】 低频重复经颅磁刺激; 应激; 抑郁; 单胺类神经递质

Effects of low frequency repetitive transcranial magnetic stimulation on the behavior and cerebral monoamine neurotransmitter in the rats model of chronically depressive stress CHEN Yun-ping, MEI Yuan-wu, SUN Sheng-gang, BAO Min, YU Shan-chun. Department of Neurology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China

【Abstract】Objective To observe the change of behavior and monoamine neurotransmitter in different cerebral areas of the rats model of chronically depressive stress after low frequency repetitive transcranial magnetic stimulation (rTMS), and to study the therapeutic effects and the mechanism of low frequency rTMS on depression. **Methods** Twelve male Sprague-Dawley rats were exposed to an unpredictable sequence of mild stress to establish the depression model of rats. Rats of depression model were randomly allocated to two groups: a depression model group and a magnetic stimulation group, another 6 normal rats served as the control group. Before and after the repetitive transcranial magnetic stimulation treatment, the rats were evaluated in terms of their behavior with open-field test, the consumption of sucrose solution of rats of three groups and the concentration of monoamine neurotransmitter in different cerebral area by HPLC. **Results** Rats of depression model group showed no significant difference ($P > 0.05$) in level and vertical movements, consumption of sucrose solution when compared with that pre-treatment. Rats of depression model group showed a reduction in level and vertical movements in the open-field test, consumption of sucrose solution with significant difference when compared with those of the control group ($P < 0.01$). Rats of the magnetic stimulation group showed an significant increase in level and vertical movements, consumption of sucrose solution as compared with those of pre-treatment and depression model group ($P < 0.01$). Rats of the magnetic stimulation group showed no significant difference ($P > 0.05$) in level and vertical movements, consumption of sucrose solution when compared with control group. The level of 5-hydroxytryptamine in frontal brain regions, 5-hydroxytryptamine and dopamine in hippocampus, dopamine in corpus striatum, 5-hydroxytryptamine in hypothalamus in the depression model group was lower than that in the control group ($P < 0.01$). The level of 5-hydroxytryptamine in frontal brain regions, 5-hydroxytryptamine and dopamine in hippocampus, dopamine in corpus striatum, 5-hydroxytryptamine in hypothalamus in magnetic stimulation group was higher than that in depression model group ($P < 0.01$). There were no significant difference ($P > 0.05$) in level of 5-hydroxytryptamine and dopamine between magnetic stimulation group and the control group. **Conclusion** Low frequency rTMS can change the depressive behavior of rats with experimental depression. To regulate the level of monoamine neurotransmitter in different cerebral

areas might be one of the antidepressive mechanisms of low frequency rTMS.

【Key words】 Low frequency repetitive transcranial magnetic stimulation; Stress; Depression; Monoamine neurotransmitter

重复经颅磁刺激(repetitive transcranial magnetic stimulation, rTMS)作为一种新的神经电生理技术已广泛应用于抑郁症的治疗。有研究表明,高频 rTMS 能兴奋大脑皮质中水平走向的联接神经元,并可导致大脑皮质局部代谢水平增高,有明显的抗抑郁作用;而低频 rTMS 对抑郁症的治疗作用则有不同的报道^[1,2],但国内相关文献较少。为此,我们应用低频 rTMS 治疗慢性应激抑郁模型大鼠,观察其行为学及脑内单胺类神经递质含量的变化,旨在探讨低频 rTMS 对抑郁症的治疗作用及机制。

材料和方法

一、实验动物

SD 系健康雄性大鼠 18 只,体重为 180 ~ 220 g,由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供。

二、抑郁模型的制备及动物分组

选用 12 只大鼠,采用慢性不可预见性的温和应激法结合孤养法制备大鼠抑郁模型,具体方法按照文献[3-5]并略加改进。12 只大鼠单笼饲养,并接受 3 周的随机刺激,包括禁食 24 h、禁水 24 h、夹尾 1 min、昼夜颠倒 24 h、电击足底(电压 30 mV,每隔 30 s 刺激 1 次,每次持续 10 s,共 20 次)、4℃冰水游泳 5 min、潮湿垫料 24 h,这 7 种刺激每天随机采用一种,同一种刺激不能连续选用,使大鼠无法预料刺激的发生。另外 6 只大鼠采用群养,正常饮水饮食,不给予任何刺激,作为正常对照组。

造模成功的标准为:经过 3 周慢性不可预见性的温和应激后,大鼠敞箱试验中水平运动得分和垂直运动得分、蔗糖水消耗量都显著低于应激前及正常对照组^[4,5]。3 周后将慢性不可预见性的温和应激抑郁模型大鼠随机分为磁刺激组和抑郁模型组,每组 6 只。

三、低频 rTMS 治疗

磁刺激组大鼠造模成功后给予低频 rTMS 治疗。采用丹麦 Dantec 公司产 Maglite Compact 磁刺激器,线圈直径为 12 cm,峰值刺激强度为 1.2 T,脉冲时限为 100 μ s。治疗方法:用 60% 的最大刺激强度(0.72 T)刺激大鼠双侧前额叶,每侧刺激 30 次为 1 个序列,频率为 0.5 Hz,每日 1 个序列,连续治疗 10 次为 1 个疗程。抑郁模型组及正常对照组大鼠均模拟磁刺激环境,但不给予低频 rTMS 治疗。

四、大鼠行为学测评

3 组大鼠于磁刺激前和磁刺激结束后 24 h 分别进

行敞箱试验和蔗糖水消耗试验^[4,5]。

1. 敞箱试验(open field test):试验在安静的房间内进行。敞箱装置由不透明材料制成,底面为 80 cm × 80 cm 的正方形,并被等分为 25 个等边方格,四周有高 40 cm 的墙壁。将大鼠放入箱内,以大鼠穿越底面的方格数(四爪同时进入 1 个方格计 1 分)作为水平运动得分,以直立次数(两前爪腾空或攀附墙壁 1 次计 1 分)为垂直运动得分。每只大鼠仅测定 1 次,试验时间为 5 min,每次结束后先将大鼠的排泄物清除干净再进行下一只大鼠的试验。敞箱试验的水平活动可反映大鼠的运动活动性水平,垂直活动则可反映其兴趣的高低。

2. 蔗糖水消耗试验:大鼠禁水 24 h 后,给予 1% 的蔗糖水溶液,测定大鼠在 1 h 内的饮水量。蔗糖水消耗试验可反映大鼠对奖赏的反应性。

五、脑组织的处理

大鼠于末次低频 rTMS 治疗后 24 h 给予 10% 水合氯醛深度麻醉(800 mg/kg 体重),经心脏注入含 4% 多聚甲醛的磷酸盐缓冲液(0.1 mol/L, pH = 7.4)进行灌注。25 min 后将大鼠断头取脑,在冰盘上分离额叶皮质、海马、纹状体和下丘脑,于 -80℃ 冰箱中保存。冰冻环境下分别称取 100 mg 不同部位的脑组织,用 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液在冰上制备脑组织匀浆,再用 0.4 mol/L 过氯酸除去蛋白,离心沉淀,上清即用来测定单胺类神经递质含量。

六、脑组织单胺类神经递质含量的测定

采用 Gilson 116 型高效液相色谱仪, C18 反相柱 4.6 mm × 100 mm,粒度 5 μ m,紫外检测器。单胺类神经递质 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)、多巴胺(dopamine, DA)、3,4-二羟基苯乙酸(3,4-dihydroxyphenylacetic acid, DOPAC)、去甲肾上腺素(norepinephrine, NE)标准品购自 Sigma 公司。甲醇为色谱级,其余试剂均为 AR 规格。试剂用水均为亚沸重蒸馏水。上述标准品用 0.1 mol/L 高氯酸(内含 0.1% 半胱氨酸)配成浓度为 1 μ g/ μ l 的储存液,分析时用洗脱液稀释至 0.1 μ g/ μ l。色谱条件:进样量为 20 μ l,以 0.1 mol/L 柠檬酸缓冲液(pH = 4.2)和甲醇作为流动相,洗脱时甲醇与柠檬酸缓冲液的比例为 7:93,流速为 0.8 ml/min,约 25 min 后洗脱结束,打印出洗脱曲线,结果以 μ g/g 脑湿重表示。

七、统计学分析

实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示,多组均数间的比较采用

方差分析(F 检验), 2 组均数间的比较采用 t 检验。

结 果

一、低频 rTMS 治疗对抑郁模型大鼠行为学变化的影响

1. 低频 rTMS 治疗对抑郁模型大鼠敞箱试验的影响: 抑郁模型组大鼠模拟磁刺激后, 敞箱试验中水平运动得分、垂直运动得分与模拟磁刺激前比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$), 与正常对照组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.01$)。磁刺激组大鼠磁刺激后敞箱试验中水平运动得分、垂直运动得分与刺激前及抑郁模型组模拟磁刺激后比较, 差异均有统计学意义($P < 0.01$), 与正常对照组比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2. 低频 rTMS 治疗对抑郁模型大鼠蔗糖水消耗试验的影响: 抑郁模型组大鼠模拟磁刺激后蔗糖水消耗量与模拟磁刺激前比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 与正常对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。磁刺激组大鼠磁刺激后蔗糖水消耗量与刺激前及抑郁模型组模拟磁刺激后比较, 差异均有统计学意义($P < 0.01$); 与正常对照组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 低频 rTMS 治疗对大鼠敞箱试验及蔗糖水消耗试验的影响($\bar{x} \pm s$)

组 别	n	敞箱试验(分)		蔗糖水消耗试验(ml)
		水平运动得分	垂直运动得分	
正常对照组	6			
刺激前		56.33 ± 9.89	15.17 ± 5.04	15.87 ± 1.04
刺激后		58.17 ± 9.95	15.67 ± 5.32	16.78 ± 0.82
抑郁模型组	6			
刺激前		23.67 ± 6.19*	6.33 ± 1.97*	10.03 ± 1.06*
刺激后		24.33 ± 7.15*	6.17 ± 1.72*	10.52 ± 1.21*
磁刺激组	6			
刺激前		22.83 ± 6.71*	5.83 ± 2.14*	9.83 ± 1.08*
刺激后		55.67 ± 9.52 ^{#△}	14.83 ± 5.12 ^{#△}	16.47 ± 0.76 ^{#△}

注: 与正常对照组相应时间点比较, * $P < 0.01$; 组内与刺激前比较, [#] $P < 0.01$; 与抑郁模型组相应时间点比较, [△] $P < 0.01$

二、低频 rTMS 治疗对抑郁模型大鼠不同脑区内单胺类神经递质含量的影响

1. 额叶皮质单胺类神经递质含量的变化: 抑郁模型组额叶皮质 5-HT 明显低于正常对照组($P < 0.01$); 磁刺激组额叶皮质 5-HT 明显高于抑郁模型组, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 与正常对照组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 而各组额叶皮质 DA、DOPAC、NE 比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2。

2. 海马内单胺类神经递质含量的变化: 抑郁模型组海马内 5-HT 和 DA 均明显低于正常对照组($P < 0.01$); 磁刺激组海马内 5-HT 和 DA 明显高于抑郁模型组, 差

异有统计学意义($P < 0.01$), 与正常对照组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 而各组海马内 DOPAC、NE 比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2。

3. 纹状体单胺类神经递质含量的变化: 抑郁模型组纹状体 DA 明显低于正常对照组($P < 0.01$); 磁刺激组纹状体 DA 明显高于抑郁模型组, 差异有统计学意义($P < 0.01$), 与正常对照组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 而各组纹状体 5-HT、DOPAC、NE 比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2。

4. 下丘脑单胺类神经递质含量的变化: 抑郁模型组下丘脑 5-HT 明显低于正常对照组($P < 0.01$); 磁刺激组下丘脑 5-HT 明显高于抑郁模型组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 与正常对照组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$); 而各组下丘脑 DA、DOPAC、NE 比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$), 见表 2。

表 2 低频 rTMS 治疗对大鼠不同脑区内单胺类神经递质的影响($\mu\text{g/g}$ 脑湿重, $\bar{x} \pm s$)

组 别	n	5-HT	DA	DOPAC	NE
正常对照组	6				
额叶皮质		2.39 ± 0.57	0.43 ± 0.07	0.33 ± 0.10	3.62 ± 1.56
海马		5.88 ± 1.59	0.40 ± 0.11	1.81 ± 0.80	3.69 ± 0.43
纹状体		3.45 ± 0.67	12.84 ± 1.37	9.09 ± 2.20	1.22 ± 0.31
下丘脑		9.52 ± 1.07	1.79 ± 0.31	4.09 ± 1.09	7.04 ± 2.04
抑郁模型组	6				
额叶皮质		1.16 ± 0.48*	0.36 ± 0.06	0.26 ± 0.12	2.82 ± 1.33
海马		2.65 ± 1.35*	0.19 ± 0.10*	1.67 ± 0.82	3.47 ± 0.52
纹状体		3.12 ± 0.92	3.71 ± 1.41*	8.41 ± 2.00	1.01 ± 0.22
下丘脑		4.94 ± 0.83*	1.53 ± 0.30	3.61 ± 1.05	6.28 ± 1.79
磁刺激组	6				
额叶皮质		2.37 ± 0.56 [#]	0.39 ± 0.08	0.29 ± 0.09	3.64 ± 1.55
海马		5.58 ± 1.52 [#]	0.38 ± 0.10 [#]	1.72 ± 0.82	3.52 ± 0.50
纹状体		3.29 ± 0.78	10.88 ± 2.51 [#]	7.86 ± 1.59	1.08 ± 0.23
下丘脑		8.87 ± 0.72 [#]	1.61 ± 0.28	3.74 ± 1.02	6.46 ± 1.77

注: 与正常对照组比较, * $P < 0.01$; 与抑郁模型组比较, [#] $P < 0.01$

讨 论

有研究发现, rTMS 能改变抑郁大鼠的抑郁行为。Sachdev 等^[2]对抑郁模型大鼠使用 1 ~ 25 Hz 间不同频率的 rTMS 治疗, 结果发现高频与低频 rTMS 治疗均能显著缩短大鼠强迫游泳的时间, 二者之间差异无统计学意义, 表明频率为 1 ~ 25 Hz 的 rTMS 治疗有显著的抗抑郁作用。有文献报道, rTMS 治疗与电休克疗法相似, 均可改变去水吗啡诱导的刻板症, 缩短 Porsolt 游泳试验中固定不动的时间、提高连续刺激所致惊厥的阈值^[6]。Tsutsumi 等^[7]也发现, rTMS 能显著缩短大鼠强迫游泳试验中固定不动的时间, 表明 rTMS 治疗有与电休克疗法相似的抗抑郁效应。本研究结果也显示: 磁刺激组大鼠接受经磁刺激作用后, 水平运动得分和垂直运动得分、蔗糖水消耗量均明显高于刺激前及抑郁模型组模拟

磁刺激后,差异有统计学意义($P < 0.01$)。这提示低频 rTMS 能明显改善抑郁大鼠的活动能力下降、兴趣丧失和快感缺乏等特征,表明低频 rTMS 能有效改善抑郁大鼠的抑郁行为,对抑郁症具有治疗作用。

抑郁症的发生可能与 5-HT 和 DA 有一定关系。有研究发现抑郁症模型大鼠脑内 5-HT、DA 含量显著减少^[8,9]。本研究结果证明:抑郁模型组大鼠额叶皮质 5-HT、海马 5-HT 和 DA、纹状体 DA、下丘脑 5-HT 均明显低于正常对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),表明大鼠抑郁症状的发生与脑内单胺类递质 5-HT 和 DA 的降低有明显关系。

rTMS 治疗抑郁症的确切机制尚不清楚,但有研究显示其可能与脑内单胺类神经递质水平等的改变密切相关^[6,10]。有文献报道,经 rTMS 治疗 7~10 d 后,抑郁症模型大鼠额叶皮质内多巴胺含量减少,纹状体、海马内多巴胺含量增加,同时海马内 5-HT 和 5-羟吲哚乙酸含量增加^[6]。Kech 等^[10]研究发现,rTMS 治疗能增加边缘系统和纹状体 DA 的释放,并认为这可能是 rTMS 治疗抑郁症的作用机制。Ben-Shachar 等^[11]研究发现,rTMS 治疗 10 d 后, β -肾上腺素能受体水平在额叶皮质明显上调而在纹状体下调,5-HT₂ 受体水平在额叶皮质下调,提示 rTMS 可能有其独特的抗抑郁机制。Ikeda 等^[12]对 rTMS 治疗后单胺运载体基因 mRNA 的表达进行了研究,发现经过 20 d 的 rTMS 治疗后,这些基因在大鼠脑内有不同的表达。rTMS 治疗后,5-HT 运载体 mRNA 水平下调,5-HT 的摄取和结合减少,而 DA 运载体和 NE 运载体 mRNA 水平上调。结果提示单胺运载体的调节可能是 rTMS 治疗神经精神疾病的机制之一。本研究结果表明:磁刺激组大鼠额叶皮质 5-HT、海马 5-HT 和 DA、纹状体 DA、下丘脑 5-HT 均明显高于抑郁模型组,差异有统计学意义($P < 0.01$),提示低频 rTMS 能调节抑郁模型大鼠不同脑区内单胺类递质的水平,这可能是 rTMS 治疗抑郁症的机制之一。

综上所述,低频 rTMS 治疗能显著改变慢性应激抑郁模型大鼠的抑郁行为;抑郁模型大鼠活动能力的显著下降、兴趣丧失、快感缺乏等与不同脑区内单胺类神经递质的改变有密切关系;对不同脑区内单胺类神经递质(主要是 5-HT、DA)水平的调节作用是低频 rTMS 抗抑郁作用的机制之一。

参 考 文 献

- 1 王小明,杨德本,谢建平,等. 重复经颅磁刺激治疗抑郁症的初步探讨. 中华物理医学与康复杂志,2004,26:428-429.
- 2 Sachdev PS, McBride R, Loo C, et al. Effects of different frequencies of transcranial magnetic stimulation (TMS) on the forced swim test model of depression in rats. Biol Psychiatry, 2002, 51:474-479.
- 3 李晓秋,许晶. 抑郁动物模型的研究进展. 中华精神科杂志,2002,35:184-186.
- 4 许晶,李小秋. 慢性应激抑郁模型的建立及评价. 中国行为医学科学,2003,12:14-17.
- 5 唐启盛,裴清华,侯秀娟,等. 脑卒中后抑郁状态动物模型的建立. 北京中医药大学学报,2004,27:33-36.
- 6 王小明,周树舜. 重复经颅磁刺激治疗抑郁症的研究进展. 中华物理医学与康复杂志,2000,22:248-249.
- 7 Tsutsumi T, Fujiki M, Akiyoshi J, et al. Effect of repetitive transcranial magnetic stimulation on forced swimming test. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2002, 26:107-111.
- 8 畅洪昇,王庆国,石任兵,等. 四逆散活性成分对抑郁症大鼠慢性应激模型行为学及脑内单胺类神经递质的影响. 北京中医药大学学报,2003,26:42-44.
- 9 瞿融,孟海彬,褚蔚,等. 柴胡加龙骨牡蛎汤对抑郁模型大鼠脑内单胺递质的影响. 中药药理与临床,2003,19:1-3.
- 10 Kech ME, Welt T, Muller MB, et al. Repetitive transcranial magnetic stimulation increases the release of dopamine in the mesolimbic and mesostriatal system. Neuropharmacology, 2002, 43:101-109.
- 11 Ben-Shachar D, Guzawi H, Riboyad-Levin J, et al. Chronic repetitive Transcranial magnetic stimulation alters beta-adrenergic and 5-HT₂ receptor characteristics in rat brain. Brain Res, 1999, 816:78-83.
- 12 Ikeda T, Kurosawa M, Uchikawa C, et al. Modulation of monoamine transporter expression and function by repetitive transcranial magnetic stimulation. Biochem Biophys Res Commun, 2005, 327:218-224.

(修回日期:2005-10-12)

(本文编辑:吴倩)

· 消息 ·

骨关节疾病康复评定和康复治疗技术培训班通知

为进一步提高骨关节疾病康复评定和康复治疗的水平,北京大学第一医院将于 2006 年 3 月 26 日~31 日举办骨关节疾病康复评定和康复治疗技术培训班。特第三次邀请英国国家物理治疗学会常务委员、Glasgow 物理治疗及运动损伤医院院长 Smith 教授前来主讲肘、腕、手、踝和足部等关节的临床检查方法和康复治疗新技术(包括关节松动术)以及软组织损伤的康复治疗新进展。另外,我们还邀请手功能康复专家 Linda Miller 讲授手功能评测及治疗。学习班以理论授课、技术演示和实习指导相结合的方式,紧密联系临床,强调实用性。

报到时间:2006 年 3 月 26 日。经费:学费 950 元,资料费 50 元,统一安排食宿,费用自理。考试合格者授予国家级 1 类继续教育学分 13 学分及结业证。

报名者请于 3 月 10 日前将报名信件寄北京大学第一医院物理医学康复科黄真收(邮编 100034),或电子邮件联系:huang-zhen6313@yahoo.com.cn,也可电话联系:010-66551122 转 2455 或 2457。若无第二轮通知,请按时到北京市西城区大红罗厂街 1 号,北大医院第二住院部教学楼一楼报到。