

中医学 篇 1

百合知母汤抗抑郁细胞内信号转导通路的机制研究

研究生姓名：

导师姓名、职称： 教授

学科专业：基础医学院

研究方向：方剂的配伍规律及临床运用

一 研究目的与意义

1.研究目的

百合病最早见于张仲景的《金匱要略》，属中医情志病范畴。《金匱·百合狐惑阴属阳毒病证治》篇将“百合病”描述为：“意欲食复不能食，常默然，欲卧不能卧，欲行不行，饮食或有美时，或有不闻食臭时，如寒无寒，如热无热，口苦，小便赤，诸药不能治，得药则剧吐利，如有神灵者，身形如和，其脉微数。”从百合病的临床表现看，与抑郁症的诊断标准有较多的相似之处。所以现代不少医家都将中医的百合病归属于抑郁症[1, 2, 3] 百合知母汤为治疗百合病的经典方药之一，由百合和知母两味药组成。百合宁心安神，润肺止咳；知母清热泻火，滋阴润燥。百合甘寒清润而不腻，知母苦寒降火而不燥。百合偏于补，知母偏于泻。二药伍用，一润一清，一补一泻，共奏润肺清热，宁心安神之效。主治阴虚或温热病后余热未清，以致头昏、心烦不安、失眠等症以及情志不遂，以致精神恍惚、不能自制等症。 故本课题旨在通过体动物实验揭示百合知母汤抗抑郁可能的细胞内信号转导机制。

2.研究意义

抑郁症是常见的危害人类身心健康一类精神疾病，以显著而持久的情感或心境低落为主要特征，在 WHO 的一项流行病学调查中发现全世界约有 10%-20% 的人一生中曾有过抑郁体验[4]。随着现代社会的生活压力逐渐增高、工作节奏加快，人们处于应激状态中的机会增多，抑郁症的发病率更逐年上升[5, 6] 越来越多的患者正遭受抑郁症

的折磨，给家庭及社会造成了严重的经济负担。因此，加强抑郁症的防治，寻找安全、有效的治疗方法，具有非常重要的社会和经济意义。

抑郁症发病机制复杂，诱因繁多，针对某一单一环节的药物难以取得满意的疗效，许多抗抑郁西药存在抗抑郁谱窄、起效慢、药价高、依从性差、副作用大及易复发等不足[7]。传统的中医学中蕴含着丰富的心身医学思想，其“形神合一论”，“天人合一论”就包含了广义的心身医学思想。因此国内外越来越重视传统中草药及复方抗抑郁的研究，开展了广泛而深入的实验研究，积累了丰富的经验，且实验研究成果在临床运用中也取得了良好的疗效，为中医学和现代心身医学的融合、发展提供了新的契机。中医心身医学研究工作逐渐起步，心身医学的中医药防治研究工作在病因病机及临床诊断方面也取得一定的进展[8]。

随着分子生物学的发展，抗抑郁药物抗抑郁作用机制已由细胞外单胺递质途径，逐步转向细胞内信号转导机制，而目前针对百合知母汤抗抑郁作用机制的研究大都局限在行为学观测、脑内神经递质和神经内分泌等方面。本研究采用大鼠慢性应激结合孤养抑郁模型，对百合知母汤的抗抑郁作用及其细胞内作用机制进行研究，以期为其进一步的新药开发研究和临床应用提供实验基础。

二 研究现状

1. 百合病的研究现状

1.1 百合病的起源

百合病始见于张仲景《金匱要略·百合狐惑阴阳毒病证治第三》篇：百合病者，百脉一宗，悉致其病也。意欲食复不能食，常默然，欲卧不能卧，欲行不能行，饮食或有美时，或有不用闻食臭时，如寒无寒，如热无热，口苦，小便赤，诸药不能治，得药则剧吐利，如有神灵者，身形如和，其脉微数。这段文字概括了百合病的主要症状是精神、饮食、睡眠、行为、语言、感觉的失调，与西医学抑郁症的主要症状有颇多相似之处。“百脉一宗者，分之则为百脉，合之则为一宗”因人体百脉同出一源，源病则百脉合病，周身受累，因此而得名百合病。

1.2 百合病的病因病机 百合病的病因病机为伤寒热病之后，余热伤

阴，或情志不遂，郁热伤阴，导致心肺阴虚内热，百脉失养而成。病机特点是心肺阴虚内热，心神失养，以神志改变为主要临床特点。心肺阴虚，余邪未尽，则出现口苦、小便赤、脉微数。该组症状是百合病的主要客观体征。百脉遍布周身，百脉失和，则行动感觉变异，如“欲卧不能卧，欲行不能行”“意欲食复不能食，饮食或有美时，或有不用闻食嗅时”“如寒无寒，如热无热”等。神志失和，则现“如有神灵者”“常默默”。

1.3 百合病的治疗法则

百合病以心肺阴虚为基本病机，以滋养心肺、润燥安神为治疗法则。可“随证治之”分为以下几型：①正治法：“百合病，不经吐、下、发汗，病形如初者，百合地黄汤主之。”百合病未经误治，日虽久而病形如初者，以滋养心肺阴血，清热安神为法，以百合地黄汤主之。取百合润养心肺，清气分虚热，生地滋养心血，清血分虚热，泉水煎药，取清热助阴，血热从小便下行之功。诸药合用，心肺得养，气血同治，阴复热清，百脉和调，病症自除。②误汗后：“百合病发汗后者，百合知母汤主之。”百合病误用汗法，汗后阴液受伤，心肺阴虚加重，燥热尤甚，除具备百合病的基本症状外，尚可出现津伤燥热的心烦、少寐、口干或渴、午后潮热、小便短少等症候。治宜养阴清热、润燥除烦，用百合知母汤主治。③误下后的滑石代赭汤(百合、滑石、代赭石)。④误吐后的百合鸡子汤(百合、鸡子黄)。⑤久病变渴的外用百合洗方(百合)。如内服外洗仍口渴不解，方用栝蒌牡蛎散(栝蒌根、牡蛎)。⑥久病变发热的百合滑石散(百合、滑石)。

2. 抑郁症的研究现状

2.1 抑郁症的起源

抑郁症是一种情感性精神障碍，临床上以情绪低落、思维迟缓和精神运动性抑制为特征，其它症状包括丧失自尊、不恰当的内疚感、死亡和自杀念头、注意力集中程度降低以及睡眠和食欲减退，还可能伴有各种躯体症状。

抑郁症是一种最普通的精神疾病。我国对情感性精神障碍进行流行病学调查 1985 年：终生患病率约为 12%。我国对抑郁症的识别率

低,临床漏诊率达 50-60% 。一般内科医生对包括抑郁症在内的心理障碍的识别率只有 15.9%, 约只有 1/4 的抑郁症病人才能接受正规治疗。有专家认为我国抑郁症的发病率应为 10-15% , 随着人口的逐步老龄化, 抑郁症在 60 岁以上人群中的发病率将高达 20% ~50% 。1994 年 WHO 全球调查发现,抑郁症的现症患病率现症患病率为 11.4%, 终生患病率为 20-30% 。约 13 - 20% 的人一生中曾有过至少一次抑郁体验。

《20xx 年世界卫生报告》指出, 抑郁症目前已成为世界第四大疾患, 到 20xx 年抑郁症可能成为仅次于心脏病的第二大疾病, 抑郁症正在成为一个严重的全球问题[9-13]。

2.2 抑郁症的发病

抑郁症的病因十分复杂, 一般认为病因可能与遗传、人格特征、心因因素有关。其发病机制也处于假说阶段, 主要包括单胺递质学说、神经内分泌学说、信号通路学说[14-15]。

单胺假说作为抑郁症研究的重点认为单胺类神经递质(如 5-羟色胺、多巴胺、去甲肾上腺素等)的失衡可导致抑郁的发生。大量研究亦显示抑郁症与遗传、神经、心理等因素诱发的中枢 5-羟色胺(5-HT)、去甲肾上腺素(Norepinephrine, NE)、多巴胺(Dopamine, DA)等单胺类神经递质含量降低及其受体功能下降有关 [16-17]。有研究[18]表明抑郁模型大鼠下丘脑、纹状体、海马内 5-HT、NE 及 DA 及其代谢产物、合成前体的含量明显降低。这也支持了经典的单胺递质学说。①5-HT: 抑郁症的发病机制涉及突触间隙 5-HT 水平及 5-HT 受体亚型功能的失调。5-HT 功能活动降低,则患者心情抑郁、食欲减退、运动活动减少。Coppent[19] 等于 1965 年首先提出 5-HT 与抑郁症有关,认为抑郁症是由中枢神经系统 5-HT 释放减少,突触间隙的含量下降而引起的。近年来,研究发现了很多 5-羟色胺的受体亚型,使得 5-HT 递质系统与抑郁症发病的关系越来越受到关注。②NE: 大量研究证明脑内 NE 的绝对或相对缺乏会引起情绪低落、心境抑郁。Schildkraut[20]于 1965 年首先提出抑郁症的发生是由于脑中 NE 不足所致,中枢神经系统中 NE 含量不足则发生抑郁症 NE 的缺乏可能是由于内源性的生成释放异常或由于 NE 系统慢性刺激所致的继发性耗竭[21]。Bmnello[22] 等指出,自从发

现一些药物通过改变 NE 代谢既能导致抑郁症又能缓解抑郁症, NE 在抑郁症中所起的作用越来越受到关注。③DA: 1975 年 Randrup 首先提出,抑郁症的发病可能与 DA 有关。后来 Maj 等研究者证实,几乎所有长期抗抑郁治疗的患者都会增加 DA 诱导的奖赏反应。1983 年 Willner 等提出抑郁症存在 DA 功能的降低,尤其是伴随有精神运动迟滞的患者[23]。对抑郁症自杀者尸检结果提示,抑郁症自杀患者尾状核和伏核的 DA 代谢率降低[24]。

目前,抑郁症的神经内分泌机制研究中,下丘脑-垂体-肾上腺轴(HPA 轴)功能亢进是较为公认的发病机制之一。大量研究显示,抑郁症患者的 HPA 轴功能亢进,血浆促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)、促肾上腺皮质激素(ACTH)和皮质醇(CORT)浓度明显升高,而且这种功能亢进是依赖性的,随着抑郁的恢复,HPA 轴的功能也逐步恢复正常[25]。Catalan[26]等发现抑郁症患者下丘脑及下丘脑外的促肾上腺皮质激素释放因子(CRF)浓度都升高,重度抑郁组比轻度与中度抑郁发作 CRF 血浓度更高,且 CRF 与皮质醇血浓度显著相关。在发病机制方面,受体后信号通路及其第二信使系统在该病发病及治疗中的作用是当前研究的热点。以脑内 cAMP 反应元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)为交汇点的细胞内信号转导通路正受到越来越多的关注,尤其是海马 CREB 的改变。早在 1996 年,Nibuya[27]等就报道抗抑郁治疗,大鼠海马 CA1 区、CA3 区和齿状回均可见 CREB mRNA 的表达增多。CREB 可能是各种抗抑郁信号转导通路的交汇点。海马 CREB 的表达和活化受到多种信号分子和信号通路的影响:

①腺苷酸环化酶/环磷酸腺苷/蛋白激酶 A 通路(AC/cAMP/PKA 通路),是研究最早的抗抑郁通路。其主要过程是:胞外信号激活胞膜上 G 蛋白耦联受体→AC 激活→胞内 cAMP 升高(降解 cAMP 的酶主要是磷酸二酯酶)→PKA 激活→CREB 磷酸化→调节基因转录→生物学效应。Li 和 Branski[28, 29]等实验研究发现海马 cAMP 通路的激活对改善抑郁症状起积极作用。

②酪氨酸激酶受体 B/丝裂原活化蛋白激酶/核糖体 S6 激酶通路(TrkB/MAPK/RSK 通路),是一条和细胞生长、增殖、凋亡以及突触可

塑性密切相关的信号通路。在各种 MAPK 通路中，细胞外信号调节激酶 1/2 (ERK1/2) 信号通路 与抑郁症关系最为密切。ERK1/2 通路激活的大致过程是：TrKB 的激活→MAPK 激酶激酶 (MAPKKK, RAF) 的激活→MAPK 激酶 (MAPKK, MEK) 的激活→ERK1/2 的激活→RSK 的激活→CREB 磷酸化→调节基因转录→生物学效应。抑郁症患者的尸检报告显示脑内 MAPK 减少可能是严重抑郁症的病因之一[30]。

③Ca²⁺/ 钙调蛋白 / 钙调蛋白依赖的蛋白激酶通路 (Ca²⁺/CaM/CaMK 通路)，通路涉及多种离子通道、受体和酶，其激活的主要过程是：胞浆内钙浓度升高→钙离子与 CaM 结合→激活 CaMK→CREB 磷酸化→调节基因转录→生物效应。王庆松等 [31]利用猫对大鼠造成急性捕食应激，发现在捕食应激后大鼠海马细胞内 CaM 信号通路调控紊乱，表现在细胞内 Ca²⁺ 浓度明显升高，Ca²⁺-CaM 复合体增多，CaMK 的表达升高，提示海马该信号转导通路在严重心理应激所致的行为异常中可能有重要意义。

3. 百合知母汤的研究现状

3.1 百合的研究现状

方中百合为百合科植物百合 *Lilium brownii* F. E. Brown var. *colchesteri* Wils.、卷丹 *Lilium lancifolium* Thunb. 和细叶百合 *Lilium pumilum* DC. 的肉质鳞茎。味甘，性微寒。入心、肺经。本品气味稍缓，甘中有收，既能清心肺之余热，而敛气养心、安神定魄，用于治疗热性病后、余热未尽所引起的神思恍惚、烦躁失眠、莫名所苦的“百合病”，又能润肺止咳，用于治疗肺燥咳嗽，或肺虚久咳，或阴虚久咳、痰中带血等症。百合中主要含有酚酸甘油酯、苷类、生物碱及多糖，另外还含有一些磷脂、蛋白质和无机元素。药理研究表明百合具有抗癌、止咳、耐缺氧与抗疲劳、提高机体细胞免疫功能等作用[32-34]。

3.2 知母的研究现状

方中知母为百合科植物知母 *Anemarrhena asphodeloides* Bge. 的根茎。味苦、甘，性寒。入肺、胃、肾经。本品质润，苦寒不燥、，沉中有浮，降中有升。上行能肃清肺气，以泻肺火，润肺燥、除烦热、

止咳嗽，用于治疗温热病，邪在气分，症见高热、烦躁、口渴、脉洪大者，以及阴虚燥咳，或肺热咳嗽诸症；入于中，善清胃火、除烦渴，用于治疗消渴病之中消诸症；行于下，则能泻相火、滋肾燥，用于治疗阴虚火旺、骨蒸潮热、盗汗等症。

知母主要含有皂苷、黄酮、双苯吡酮、木脂素等成分。现代研究表明，知母具有抗病原微生物、抗血小板聚集、降血糖、解热、抗炎、降低转氨酶等多种药理活性[35-37]。

3.3 百合知母汤的研究现状

百合知母汤有养阴清热、除烦润燥之效，以润养心肺为大法，治疗百合病误汗后，津液受伤，虚热较甚者。临床上运用百合知母汤治疗乳腺增生病[38-39]、长期低热[40]、消渴、喘证、盗汗、胃脘痛[41]、失眠[42]、抑郁[43]等症。

三 研究思路与立题依据

1.研究思路 百合知母汤是《金匱要略》中治疗百合病的经典方剂。百合病的描述“百合病者，百脉一宗，悉致其病也，欲卧不能卧，欲行不能行……意欲食复不能食，常默默，如有神灵者……”主要归纳为情绪障碍、躯体不适，与现代医学抑郁症的诊断标准有很大的相似性，因此一般将百合病归属于抑郁症范畴。百合知母汤中的部分有效成分能通过提高抑郁症大鼠大脑皮层单胺递质、抑制 HPA 轴亢进、提高模型动物脑组织 BDNF 含量等途径发挥抗抑郁效应。

CREB 可能是各种抗抑郁信号转导通路的交汇点。抗抑郁药物(包括中药)或其它治疗措施可通过调节一种或几种通路，最终激活 CREB，调节 BDNF 等基因表达，影响神经元增殖、分化、成熟等可塑性改变，发挥抗抑郁作用。参与调节 CREB 的各调节因子之间、通路之间存在复杂的交叉联系和相互作用，共同维持着 CREB 活性的平衡。近年来研究提示：抑郁模型小鼠，存在神经元蛋白和营养因子在海马的表达异常，而这些变化可以被一些中药逆转[44]。当前致力于阐明信号通路、CREB、营养因子、神经再生之间是如何相互联系的，以及细胞靶点、分子应答、行为反应的调节与抗抑郁之间错综复杂的关系。这将有助于我们以 CREB 为中心了解抑郁症的病理生理机制，并在此基础

上研发出疗效可靠、起效迅速、副作用小、经济实用的新药，尤其是帮助我们更好地认识一些中药抗抑郁的可能机制，更充分地利用祖国宝贵的中医药资源。

细胞内信号转导通路是目前抗抑郁机制研究的重点和热点。可被多种不同的信号路径激活。环磷酸腺苷(cAMP)、丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、钙调蛋白激酶(CaMK)等3条通路是目前认为与抗抑郁相关、最主要的信号通路，这3个主要上游通路最终都使CREB磷酸化，进而调节其下游通路的基因表达，完成神经元生化功能，而CREB是上述3种通路的交汇点。

前期的研究证实：百合知母汤抗抑郁的机制与提高慢性不可预见性应激结合孤养抑郁(CUMS)模型大鼠海马组织5-HT含量、提高脑组织中CREB(cAMP反应元件结合蛋白)mRNA的表达有关(见7.3)。有鉴于此，我们提出假设：百合知母汤抗抑郁的信号机制可能与以上三种细胞内通路有关，三个通路在抗抑郁机制中可能会有所偏重。

围绕假设，基于CREB磷酸化通路，本课题拟将百合知母汤作用于CUMS大鼠，运用ELISA、RT-PCR、免疫组化、Western印记等方法，检测大脑组织cAMP信号中cAMP和PKA、MAPK信号中TrKB和BDNF、CaMK信号中钙调蛋白(CaM)和CaMK等关键因子，初步探讨百合知母汤抗抑郁的信号机制，筛选出该方抗抑郁的基因靶点。

2. 立题依据

中药复方具有成分多、作用环节多、靶点多的特点，多环节之间具有协同效应。因此研究中药及其方剂的抗抑郁作用具有极大的挖掘潜力，而且对解决日益增加的抑郁患者的痛苦有重大的社会意义[45-46]。

四 研究内容及目标

1. 建立慢性不可预见性应激结合孤养大鼠抑郁(CUMS)模型；
2. 通过检测用药前后模型动物大鼠海马组织环磷酸腺苷(cAMP)和蛋白激酶A(PKA)含量变化，评价百合知母汤对抑郁症cAMP信号的干预作用；
3. 通过检测用药前后模型动物大鼠络氨酸激酶受体B(TrKB)和脑源

性神经营养因子(BDNF) 含量变化, 评价百合知母汤对抑郁症 MAPK 信号的干预作用;

4.通过检测用药前后模型动物大鼠海马组织中钙调蛋白(CaM) 和钙调蛋白激酶(CaMK) 含量变化, 评价百合知母汤对抑郁症 CaMK 信号的干预作用;

五 拟解决的关键问题

通过检测 cAMP 、 MAPK 、 CaMK 三条信号转导路径上重要调节因子 cAMP 、 PKA 、 TrKB 、 BDNF 、 CaM 、 CaMK 用药前后的变化, 初步评估百合知母汤对以上三个信号转导路径的干预作用, 评价方剂抗抑郁的机制, 以便进一步筛选出方剂抗抑郁靶点。

六 实验研究方案

1.实验动物 SD 雄性大鼠, 7—12 周龄, 体重 180—200g 2.药物制备

按照《金匱要略》中记载的方法: 百合七枚(劈)约 20g), 知母三两(切)约 10g) 即百合: 知母=2:1。取百合 100g, 知母 50g, 先以清水将百合浸泡 12 小时, 当白沫出, 去其水, 再加清水 20xxml, 武火煎开后改为文火, 得百合煎煮液 1000ml; 再用清水 20xxml, 先武火后文火, 得知母煎煮液 1000ml; 将 2 次煎煮液混合, 文火浓缩得煎煮液 1500ml。按照比例配制足够数量百合知母汤煎煮液, 放入冰箱-20℃ 储存备用。临用时取出, 浓缩至合适体积。为确保实验结果的可比性, 所有实验都用同一批药材。所有药物的给药剂量根据“人和动物体表面积折算的等效剂量比率表”计算而来: 大鼠(200g)用药量= 人(70kg) 日用剂量*0.018。每只大鼠的给药体积为 1ml/100g。

百合知母汤终浓度为 2.2g/Kg/d(成人日用量 30g)

氟西汀终浓度为 1.8mg/kg/d(成人日用量 20mg)

各组按浓度给药 28 天, 对照组给等体积的三蒸水。

3. CUMS 抑郁症模型大鼠制备

除正常对照组外, 其余动物采用慢性轻度不可预见性温和刺激结合孤养(CUMS) 的造模方法: 各造模组大鼠均单笼饲养, 刺激因子包括禁食、禁水、4℃冰水游泳、夹尾、晃尾、潮湿垫料和倾斜 45°、束缚

应激、陌生物品、空笼刺激、噪音刺激、闪光刺激、水平震荡、昼夜颠倒等。每日随机给予 2 到 3 种刺激，使大鼠不能预料刺激的发生以避免产生适应。每种刺激交叉累计使用 2-3 次，持续 21 天，造模成功后，给药期间继续维持造模。建立慢性温和不可预见性应激结合孤养 (CUMS) 抑郁症大鼠模型,具体操作方法如下：

(1)禁水：即 24 小时不予供水。具体方法为,造模当天,上午 8:00 始,撤出大鼠笼内供水瓶,禁水 24 小时后,于次日上午 8:00 正常供水。

(2)禁食：即 24 小时禁止进食。具体方法为,造模当天上午 8:00 始,清除鼠笼内所有鼠粮,剥夺进食 24 小时后,禁食期间供水正常。禁食后给少量碎食,然后正常饲养。

(3)昼夜颠倒：造模当天,上午 8:00,将正常对照组大鼠转移至其它 SPF 级实验室后,关闭本实验室所有电源,模仿黑夜,至 20:00 准时打开实验室电源,模仿白昼,给大鼠制造昼夜颠倒的假象。

(4)夹尾：用缠裹有胶布的塑料夹,夹持鼠尾根部,时长为 5min 。

(5)晃尾：提住大鼠尾巴中部以每秒钟 1 次的频率,晃尾 15 分钟,晃尾时力度要轻柔,避免牵拉大鼠尾尖部位,以防脱皮

(6)冰水游泳：取一直径为 30cm 玻璃缸,注入适量清水后加入适量冰块,调整水温至 4℃ (根据天气情况,适当调整,以防冻伤),同时调整水液平面据器皿边缘约 15-20cm, 然后将大鼠放入冰水中,强迫其游泳 5min 。5min 后将大鼠捞出,先用干毛巾擦拭动物毛发,然后用吹风机吹干,避免感冒。每次冰水游泳结束后需捞干净游泳器皿内大鼠粪便,避免对下一只鼠产生影响。

(7)高速水平震荡：将动物放入空的鼠笼中，进行人工振荡，2 次/秒，有效节奏连续持续 5min;或者水平晃动，1 次/秒，持续 30 分钟

(8)噪音刺激：90 分贝噪音刺激 2h ，尽量选在白天大鼠休息的时候给予此种刺激。

(9)束缚刺激：将大鼠束缚于 500ml 烧杯中 2h ，注意保持通气。

(10)潮湿环境：将大鼠的垫料换以潮湿垫料，持续刺激 12h 。

(11)异物刺激：往大鼠笼内放置金属条棒，钝性玻璃器皿的异物予以刺激，持续 2h 。

(12)空 笼：撤掉大鼠笼里面的垫料笼子里不放置任何物品，持续 12h 。

(13)倾斜刺激：该刺激因素通常在禁水后进行,应激动物本身饥渴,在倾斜的鼠笼中觅食觅水更为困难。

(14)闪光刺激：LED 频闪灯，频闪频率 2 次/s，持续刺激 2h 。

以上各种刺激的实施顺序遵循由弱(轻刺激,如昼夜颠倒、禁水禁食、潮湿环境)到强(重刺激,如冰水游泳,夹尾，晃尾，束缚刺激，噪音，闪光等刺激)的原则,以避免刺激之间的交互作用。每日采用 1 种刺激,平均每种刺激被采用 2—3 次,同种刺激不能连续出现,使动物不能预料刺激的发生。

4.行为学指标的测量

包括 1% 蔗糖水消耗率、体重变化率、敞箱实验、Morris 水迷宫实验

4.1 体重变化率

分别在实验的第 1d、15d、22d、29、36d、43d、50d、57、64d 进行。动物体重变化率(%)=(当日测量的体重-第 1 天的体重)/第 1 天的体重。

4.2糖水消耗实验

实验前期准备，在安静的环境内训练动物适应含糖饮水：第一个 24h，每笼同时放置两个完全相同的动物水瓶，两瓶均为同等重量的 1% 蔗糖水;第二个 24 h，一瓶为 1% 蔗糖水,一瓶为相同重量的纯净水。然后进入实验阶段，禁水禁食 24h 后,测定 9p.m-7a.m 10 小时内大鼠 1% 蔗糖水摄入量。糖水偏爱率% = 糖水消耗量/(糖水消耗量+ 清水消耗量)X100%。适养期间进行三次糖水偏爱筛选,将糖水偏爱率异常的大鼠剔除,不用于正式实验(三次糖水偏爱测试中均只喝自来水的大鼠为异常大鼠)。测定动物在实验第 1 天、第 22 天、第 49 天、第 64 天糖水偏爱率的变化。

4.3 敞箱实验

敞箱实验(Open-field Test)是评价实验动物在新异环境中自主行为、探究行为与紧张度的一种方法。以实验动物在陌生环境中某些行为的发生频率和持续时间来反应实验动物的自主行为与探究行为,以尿

以上内容仅为本文档的试下载部分，为可阅读页数的一半内容。如要下载或阅读全文，请访问：<https://d.book118.com/875334203003012122>