

# 泻肝安神法对睡眠剥夺大鼠氨基酸类神经递质影响的研究

邢佳 王嘉麟 贺立娟 王椿野

**【摘要】 目的** 探讨泻肝安神法对睡眠剥夺大鼠脑干、海马、下丘脑区氨基酸类神经递质含量的干预效应。**方法** 将 60 只 SD 大鼠随机分为 4 组,分别为正常对照组、失眠模型组、中药组、西药组,每组各 15 只,除正常对照组外的其余三组大鼠一律采用水平台法反复剥夺睡眠 7 次,每次持续 24 小时。造模结束后,中药组大鼠灌胃给药泻肝安神汤,西药组灌胃给药地西洋溶解液,失眠模型组灌胃给予纯净水,干预 7 天后取材,采用高效液相色谱法检测各组大鼠脑干、海马、下丘脑区 6 种氨基酸类神经递质的含量。**结果** 经方差分析发现大鼠剥夺睡眠后脑干氨基酸类神经递质门冬氨酸下降, $\gamma$ -氨基丁酸升高,下丘脑  $\gamma$ -氨基丁酸下降( $P < 0.05$ ),而在海马和下丘脑区域各氨基酸类神经递质含量变化不显著( $P > 0.05$ )。采取泻肝安神法治疗后大鼠脑干门冬氨酸含量显著升高,下丘脑  $\gamma$ -氨基丁酸含量升高( $P < 0.05$ );而采用地西洋片治疗后大鼠脑干区门冬氨酸升高,下丘脑门冬氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸、甘氨酸、牛磺酸升高( $P < 0.05$ )。**结论** 泻肝安神法可调节睡眠剥夺大鼠的氨基酸类神经递质,在下丘脑的作用机制类似于地西洋片,但对于氨基酸类神经递质的影响影响靶点要少于西药。

**【关键词】**  $\gamma$ -氨基丁酸; 泻肝安神法; 水平台法; 睡眠剥夺大鼠; 氨基酸类神经递质

**【中图分类号】** R285.5 **【文献标识码】** A doi:10.3969/j.issn.1674-1749.2015.03.015

**Study on the method of Xiegan Anshen's effects on amino acid neurotransmitters of rats after sleep deprivation** XING Jia, WANG Jia-lin, HE Li-juan, et al. NO. 2 Department of Encephalopathy, Dongfang Hospital of Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China

Corresponding author: XING Jia, E-mail: dfyxyingjia@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the Xiegan Anshen intervention of contents of amino acid neurotransmitters in brainstem, hypothalamus and hippocampus of rats after sleep deprivation. **Methods** 60 SD rats were randomly divided into 4 groups (each having 15 rats): normal control group, insomnia model group, Chinese medicine group and Western medicine group. Apart from the normal control group, other three groups of rats are repeatedly deprived of sleep for 7 times by using level station method, each lasting 24 hours. After modeling, rats of Chinese medicine group, western medicine group and insomnia model group were intragastrically administered with Xiegan Anshen Decoction, diazepam solution and pure water respectively. Rats then were killed 7 days after the intervention. HPLC method was used to detect 6 kinds of amino acid neurotransmitters in brainstem, hippocampus and hypothalamus regions. **Results** After sleep deprivation, the content of Aspartate in brainstem decreased significantly; the content of GABA in brainstem increased, and the content of GABA in hypothalamus decreased significantly. There were no significant changes in hippocampus. After treatment by Xiegan Anshen decoction, the content of Aspartate in brainstem was significantly increased, and the content of GABA in hypothalamus increased too. After treatment by Diazepam Tablets, the content of Aspartate in brainstem was significantly increased, and the contents of Aspartate, GABA, Glycine and Taurine in hypothalamus increased. **Conclusion** Xiegan Anshen decoction can regulate the content of amino acid neurotransmitters of sleep deprivation rats, and the mecha-

基金项目:2010 年北京中医药大学自主课题(JYB22-JS046);2012 年教育部博士点新教师类基金(20120013120014);2011 年北京市科技计划(Z111107056811040);北京中医药大学创新团队发展计划(2011-CXTD-23);2013 年北京中医药大学科研基金青年教师专项

作者单位:100078 北京中医药大学东方医院脑病二科

作者简介:邢佳(1983 - ),女,硕士,主治医师。研究方向:中医脑病。E-mail:dfyxyingjia@163.com

nism of action of *Xiegan Anshen* Decoction in hypothalamus is similar to Diazepam Tablets, but its effects on the targets are less effective than those of Diazepam Tablets.

【Key words】 GABA; *Xiegan Anshen* Decoction; Water platform; Sleep Deprivation Rats; amino acid neurotransmitters

现今社会生活节奏的加快使人们生活方式改变,睡眠剥夺现象严重,心理压力不断增加,失眠发病率逐年升高,已严重威胁到人们的生活质量及身心健康,中医认为压力过大,精神抑郁,情志不畅,肝气不舒,郁久化火,火热上扰心神,发为不寐,因此,不寐与肝、心两脏密切相关。泻肝安神法标本兼顾对失眠患者的睡眠及情绪有很好的改善作用,临床取得较好疗效,但其疗效机制尚未阐明,目前已知的睡眠促进神经元全部都是以  $\gamma$ -氨基丁酸( $\gamma$ -amino butyric acid, GABA)作为神经递质的<sup>[1]</sup>。GABA 是脑内主要的抑制性神经递质,其神经元几乎无所不在地分布在大脑内的每一个解剖部位,其中脑干和丘脑网状核 GABA 能神经元,以状态选择方式释放 GABA,抑制唤醒系统的靶神经元<sup>[2]</sup>。而目前临床公认的治疗失眠的镇静催眠类药物都是作用在 GABA 受体发挥作用的。这为本研究提供了思路,本研究旨在通过动物实验观察泻肝安神法治疗失眠前后大鼠脑干、海马、下丘脑以 GABA 为代表的氨基酸类神经递质含量测定,以探讨泻肝安神法干预失眠的疗效机制。具体实验方法和结果如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物及分组

健康雄性 SPF 级 Sprague Dawley (SD) 大鼠,体重(250 ± 20) g。由北京维通利华实验动物技术有限公司提供[许可证号:SCXK(京)2012-0001]。大鼠适应环境 1 周后,用随机数字表法<sup>[3]</sup>分组为:正常对照组、失眠模型组、中药组、西药组。每组 15 只,共 60 只。

### 1.2 主要仪器及试剂

GABA 标准品 Sigma, 辛烷磺酸钠(1-Octanesulfonic Acid, Sodium Salt) 色谱纯 J. T. Baker, 乙二胺四乙酸(EDTA, Free acid) 超纯 Amresco, 甲醇(CH<sub>3</sub>OH)、乙腈(CH<sub>3</sub>CN) 色谱纯 Fisher ChemAlert, 0.5 mol/L 醋酸盐缓冲液(pH 6.0), 5% 四氢呋喃, 邻苯二甲醛(OPA), 双蒸馏水(didistilled water, DDW)

高效液相色谱仪(2695 分离单元, 2465 电导检

测器, Waters), Empower 色谱工作站。高速离心机(5417R, Eppendorf), 旋涡混合器(MS2 Minishaker, IKA Works), 超纯水器(Milli-Q Gradient A10, Millipore), 标准型 PH 计(Basic PH Meter PB-20, Sartorius)。

### 1.3 实验药品

地西洋:北京益民药业有限公司生产(国药准字 H11020898), 购自北京中医药大学东方医院。

中药汤剂:购自北京中医药大学东方医院中药房(柴胡 10 g、郁金 10 g、丹皮 12 g、栀子 10 g、当归 12 g、白芍 15 g、首乌藤 15 g、酸枣仁 20 g、川芎 10 g、枳壳 10 g、香附 10 g、夏枯草 15 g、黄芪 10 g、茯苓 15 g、刺五加 15 g、炙甘草 6 g), 自行煎制。

按人体和大鼠比例公式计算药量。中药汤剂人体单次给药生药量 195 g, 煎煮为 250 mL 中药汤剂, 按公式计算折合大鼠给药量为 17.5 g/kg, 折合为具体药量平均为 5.6 mL。西药片剂人体单次给药生药量 1 mg, 可溶解于 10 mL 纯净水中, 按公式计算折合大鼠给药量为 0.09 mg/kg, 折合为具体药量平均为 0.23 mL。

### 1.4 动物模型制备

采用睡眠剥夺法造模, 具体方法如下:将大鼠分别放入睡眠剥夺箱内的小平台上, 自由进食、饮水, 可进行转身、抬头、舔毛等活动, 当其进入快速动眼相(REM)睡眠, 由于全身肌张力降低、肌肉松弛, 大鼠将落入平台下面的水中而惊醒, 再重新爬上站台, 继续在维持清醒状态下站立。反复剥夺睡眠 7 次, 每次持续 24 小时(8:00 ~ 8:00), 隔日 1 次, 共 14 天, 以达到睡眠剥夺的效果。为了排除隔离、限制活动和水环境造成的应激影响, 设立了大平台对照组, 大鼠在大平台上可以睡眠而不会落入水中, 其它环境与模型组相同, 但大平台直径大, 可保持完整的睡眠周期。正常对照组不接受睡眠剥夺。

### 1.5 组织取材及标本处理

取材当天称重后, 10% 水合氯醛(30 mg/kg)腹腔注射麻醉后直接断头取脑(整个过程应在 5 分钟之内完成), 从枕骨大孔向口腔侧进刀, 剪开颅骨, 剥去头顶骨, 用镊子取出整个脑组织, 冰盘上分离出海马、脑干及下丘脑, 冰冻生理盐水漂洗后滤纸

拭干表面水分,电子天平称质量,标记称重后分别装入 1.5 mL Eppendorf 管,放置于  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱保存,待样品集齐后成批检测。检测前将称重后的脑组织放入预冷至  $4^{\circ}\text{C}$  的 0.4 M 高氯酸 90 mg 中,冰浴中匀浆 2~3 分钟,并沉淀 30 分钟去除蛋白。于冰浴下快速玻璃匀浆,静置 10 分钟,  $4^{\circ}\text{C}$  条件下 14000 r/min 低温离心 15 分钟,取上清液,用 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤,  $-80^{\circ}\text{C}$  保存待测(氨基酸检测用 Costar (Spin-X, 0.22  $\mu\text{m}$ ) 离心式过滤器 7000 r/min 离心过滤,再用 0.05 M 高氯酸 10 倍稀释,取 20  $\mu\text{L}$  放入自动进样器中待测)。

## 1.6 色谱条件

预柱:Shiseido, Guard Cartridge, Capcell C18 MG S-5,  $4.0 \times 10$  mm; 色谱柱:Waters Xterra<sup>TM</sup> MS ( $3.0 \times 50$  mm, 2.5  $\mu\text{m}$ , Part#186000598); 流动相:100 mM 磷酸氢二钠, 25% 甲醇, 10% 乙腈, 用磷酸调 pH 至 6.70。流速:0.6 mL/分钟; 衍生方法:取 50  $\mu\text{L}$  OPA/ $\beta$ ME 加入到 20  $\mu\text{L}$  稀释后的脑匀浆液中, 衍生 2 分钟后上样; (程序:Line1 Add 50  $\mu\text{L}$  from reagent A to sample; Line2 Mix 4 cycles with 30  $\mu\text{L}$ ; Line3 Wait 2 minute); 进样量:20  $\mu\text{L}$ ; 柱温: $40^{\circ}\text{C}$ ; 设置 2 道电势为:150、550 mV。

## 1.7 统计处理

将有关数据进行数字化处理,输入计算机,采用 Microsoft Office Access 2003 建立数据库, SPSS 17.0 统计软件包进行数据挖掘,所有计量数据以均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示。各组间比较采用方差分析,两两比较时采用 SNK- $q$  检验;均以  $P < 0.05$  为显著统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 门冬氨酸

实验结果经方差分析统计提示,各组间门冬氨酸含量在脑干 ( $F = 4.37, P = 0.0095$ ) 和下丘脑 ( $F = 3.29, P = 0.0332$ ) 有差异,在海马无统计学差异 ( $F = 1.26, P = 0.3025$ )。组间采用 SNK- $q$  检验提示,在脑干区模型组低于空白对照组,中药组及西药组高于模型组 ( $P < 0.05$ )。在下丘脑西药组高于模型组 ( $P < 0.05$ )。该结果表明,睡眠剥夺后模型组大鼠脑干区的门冬氨酸含量较空白组明显下降 ( $P < 0.05$ ),海马区和下丘脑也相对降低,但变化无统计学差异。而在泻肝安神汤干预 1 周之后,中药组在脑干区的门冬氨酸含量显著高于模型组 ( $P <$

0.05),在下丘脑与海马也有升高的趋势,但无统计学差异。采用地西泮片治疗后大鼠脑干区和下丘脑区门冬氨酸也有所升高 ( $P < 0.05$ )。

表 1 各组间不同脑区的门冬氨酸含量比较

( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/mL}, n = 15$ )

组别	脑干	下丘脑	海马
空白对照组	447.22 $\pm$ 60.1	143.59 $\pm$ 49.43	622.31 $\pm$ 863.71
失眠模型组	280.92 $\pm$ 116.47 <sup>b</sup>	109.06 $\pm$ 31.29	252.06 $\pm$ 193.20
西药组	317.82 $\pm$ 30.88 <sup>a</sup>	201.86 $\pm$ 77.81 <sup>a</sup>	839.26 $\pm$ 897.71
中药组	417.16 $\pm$ 72.71 <sup>a</sup>	155.72 $\pm$ 76.66	554.70 $\pm$ 600.05

注:与模型组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与空白组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

### 2.2 $\gamma$ -氨基丁酸

实验结果经方差分析统计提示,各组间 GABA 含量在脑干 ( $F = 4.37, P = 0.0095$ ) 和下丘脑 ( $F = 3.29, P = 0.0332$ ) 有差异,在海马无统计学差异 ( $F = 4.31, P = 0.1605$ )。组间采用 SNK- $q$  检验提示,在脑干区模型组高于空白对照组 ( $P < 0.05$ )。在下丘脑模型组低于空白对照组,中药组及西药组高于模型组 ( $P < 0.05$ )。该结果表明,睡眠剥夺后模型组大鼠较空白组大鼠在脑干区的 GABA 含量升高,在下丘脑区的 GABA 含量下降 ( $P < 0.05$ ),在海马有下降趋势,但无统计学差异 ( $P > 0.05$ )。泻肝安神汤干预 1 周之后,中药组在下丘脑区的 GABA 含量高于模型组 ( $P < 0.05$ ),在脑干与海马也有升高的趋势,但无统计学差异 ( $P > 0.05$ )。西药组结果与中药组一致。

表 2 各组间不同脑区的 GABA 含量比较

( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/mL}, n = 15$ )

组别	脑干	下丘脑	海马
空白对照组	253.60 $\pm$ 44.29	137.86 $\pm$ 36.35	649.39 $\pm$ 321.42
失眠模型组	306.07 $\pm$ 25.20 <sup>b</sup>	111.01 $\pm$ 23.84 <sup>b</sup>	365.80 $\pm$ 108.99
西药组	375.32 $\pm$ 84.36 <sup>b</sup>	200.7 $\pm$ 54.37 <sup>ba</sup>	1477.33 $\pm$ 1755.66
中药组	357.32 $\pm$ 84.36 <sup>b</sup>	169.56 $\pm$ 63.77 <sup>a</sup>	856.74 $\pm$ 813.57

注:与模型组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与空白组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ 。

### 2.3 谷氨酸

实验结果经方差分析统计提示各组间谷氨酸含量在脑干 ( $F = 2.5, P = 0.0736$ )、下丘脑 ( $F = 2.45, P = 0.0823$ ) 和海马均无统计学差异 ( $F = 2.39, P = 0.075$ )。提示睡眠剥夺及重要干预对谷氨酸递质含量影响不大。

表 3 各组间不同脑区的谷氨酸含量比较  
( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/mL}, n = 15$ )

组别	脑干	下丘脑	海马
正常对照组	707.69 $\pm$ 297	674.24 $\pm$ 230.98	1112.27 $\pm$ 532.80
失眠模型组	918.36 $\pm$ 228.51	654.21 $\pm$ 184.89	706.65 $\pm$ 225.85
西药组	974.94 $\pm$ 340.17	1016.45 $\pm$ 325.19	2613.97 $\pm$ 2753.71
中药组	969.91 $\pm$ 162.20	851.27 $\pm$ 420.08	1615.92 $\pm$ 1497.26

## 2.4 谷氨酰胺

实验结果经方差分析统计提示各组间谷氨酰胺含量在脑干( $F = 1.84, P = 0.1554$ )、下丘脑( $F = 1.5, P = 0.2336$ )和海马均无统计学差异( $F = 3.77, P = 0.287$ )。提示睡眠剥夺及重要干预对谷氨酰胺递质含量影响不大。

 表 4 各组间不同脑区的谷氨酰胺含量比较  
( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/mL}, n = 15$ )

组别	脑干	下丘脑	海马
正常对照组	397.25 $\pm$ 175.52	347.39 $\pm$ 178.50	824.50 $\pm$ 420.05
失眠模型组	449.80 $\pm$ 85.88	277.66 $\pm$ 93.79	450.99 $\pm$ 136.79
西药组	516.18 $\pm$ 188.61	435.49 $\pm$ 162.38	1666.65 $\pm$ 1790.13
中药组	524.03 $\pm$ 105.15	381.42 $\pm$ 188.42	1106.23 $\pm$ 1100.95

## 2.5 甘氨酸

实验结果经方差分析统计提示,各组间甘氨酸含量在下丘脑( $F = 2.94, P = 0.0481$ )有差异,其中西药组高于模型组( $P < 0.05$ ),其余组间无统计学差异( $P > 0.05$ )。各组间在脑干( $F = 1.26, P = 0.3004$ )和海马( $F = 2.08, P = 0.1189$ )无统计学差异。提示睡眠剥夺及中药干预对甘氨酸递质含量影响不大。

 表 5 各组间不同脑区的甘氨酸含量比较  
( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/mL}, n = 15$ )

组别	脑干	下丘脑	海马
正常对照组	234.49 $\pm$ 97.32	44.3 $\pm$ 17.93	132.22 $\pm$ 66.06
失眠模型组	208.57 $\pm$ 45.94	35.45 $\pm$ 11.99	62.25 $\pm$ 29.26
西药组	259.24 $\pm$ 94.19	59.77 $\pm$ 14.86 <sup>a</sup>	240.32 $\pm$ 266.69
中药组	273.01 $\pm$ 70.33	43.61 $\pm$ 20.37	145.29 $\pm$ 147.81

注:与模型组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$

## 2.6 牛磺酸

实验结果经方差分析统计提示,各组间牛磺酸含

量在下丘脑( $F = 3.5, P = 0.0265$ )有差异,其中西药组高于模型组和空白对照组( $P < 0.05$ ),其余组间无统计学差异( $P > 0.05$ )。各组间在脑干( $F = 1.26, P = 0.3004$ )和海马( $F = 2.22, P = 0.1011$ )无统计学差异。提示睡眠剥夺及中药干预对甘氨酸递质含量影响不大,西药对下丘脑牛磺酸递质有部分影响。

 表 6 各组间不同脑区的牛磺酸含量比较  
( $\bar{x} \pm s, \mu\text{g/mL}, n = 15$ )

组别	脑干	下丘脑	海马
正常对照组	218.47 $\pm$ 114.65	415.80 $\pm$ 173.69	429.30 $\pm$ 243.37
失眠模型组	259.51 $\pm$ 138.25	323.78 $\pm$ 98.69	183.76 $\pm$ 75.36
西药组	298.29 $\pm$ 116.89	587.44 $\pm$ 180.41 <sup>ab</sup>	774.85 $\pm$ 836.57
中药组	278.96 $\pm$ 61.93	431.36 $\pm$ 198.03	472.99 $\pm$ 462

注:与模型组比较<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,与空白组比较<sup>b</sup> $P < 0.05$

## 3 讨论

### 3.1 大鼠造模后神经递质的变化

睡眠是一个重要的生物学过程,睡眠是通过多个脑区和神经调节物质交互错杂作用来调节的。而睡眠剥夺后中枢神经系统处于普遍的抑制状态,其机制就与中枢神经系统内兴奋性氨基酸与抑制性氨基酸神经递质的平衡失调密切相关。有研究发现剥夺睡眠 96 小时后大鼠各脑组织(脑干、大脑额叶皮质及下丘脑等)GABA、GABA/Glu( $\gamma$ -氨基丁酸/谷氨酸)均显著增高<sup>[4]</sup>。尚有研究提示,大鼠睡眠剥夺后下丘脑 GABA 表达较正常睡眠组显著增高<sup>[5]</sup>。但对于失眠大鼠脑内 GABA 的含量变化的研究并不统一,目前存在两种截然相反的结果,一类研究<sup>[6-8]</sup>发现睡眠剥夺后下丘脑谷氨酸、GABA 升高,给予中药治疗后下降并趋于正常水平。而另有研究<sup>[9-11]</sup>发现腹腔注射氯苯丙氨酸致失眠造模后大鼠下丘脑 GABA 下降,而治疗后回升。目前,没有学者对两种不同的结果做出解释,这可能与造模方法、睡眠剥夺的时间不同均有关。本研究采用水平台法剥夺睡眠建立失眠模型,结果发现睡眠剥夺后不同脑区 GABA 含量变化存在差异。睡眠剥夺后脑干 GABA 含量升高、而下丘脑 GABA 含量下降。此外,脑干氨基酸类神经递质门冬氨酸下降,而在海马和下丘脑区域各氨基酸类神经递质含量变化不显著。该结果表示剥夺睡眠后大鼠神经递质发生改变,证明造模成功有效。

### 3.2 泻肝安神法对大鼠脑内氨基酸类递质的影响

本实验用睡眠剥夺方法造模,造模结束后连续灌胃给药 7 天,结果表明泻肝安神法治疗后大鼠脑干门冬氨酸升高,下丘脑 GABA 含量升高,海马的氨基酸递质无明显变化。该结果证明泻肝安神法可升高脑干内门冬氨酸含量,升高下丘脑 GABA 含量,其疗效机制可能与改变不同部位脑内氨基酸类神经递质的含量有关。

GABA 是脑内主要的抑制性氨基酸类递质,对神经元的活动及相互联系具有抑制性调控作用。Glu 是脑内主要的兴奋性氨基酸类递质,对神经元具有兴奋性作用。Glu 和 GABA 对于维持神经细胞抑制与兴奋功能平衡的稳定具有极为重要的意义。近年来研究表明 GABA 的水平与人的心理、精神疾病关系密切。目前很多研究均认为 GABA 能神经元抑制丘脑皮层中继神经元,来降低皮层激活<sup>[12]</sup>,且 GABA 能神经系统在褪黑素的催眠过程中起着重要的调节作用<sup>[13]</sup>。因此,常见催眠药物和麻醉剂都是通过增强 GABA 介导的神经递送来发挥作用的<sup>[14]</sup>。本研究西药组选用地西洋片,是治疗失眠的经典药物,属苯二氮卓受体激动剂,其作用机制是非选择性拮抗  $\gamma$ -氨基丁酸复合受体,具有镇静、肌松、抗惊厥和抗焦虑的四重作用。而中药组采用泻肝安神汤干预,研究结果是后脑干及下丘脑 GABA 含量均升高,中西药组之间没有显著差异,这提示了泻肝安神法改善睡眠的疗效作用机制可能与地西洋类似,也通过提高下丘脑及脑干 GABA 含量改善失眠,促进发挥神经抑制功能,但相比西药组,泻肝安神法对氨基酸类神经递质的整体影响较小。

中医认为肝主魂,不寐与肝脏密切相关。《病因脉治》曰:“肝火不得卧之因……阴火扰动血室则夜卧不宁矣。”《普济方》曰:“平人肝不受邪,故卧则魂归于肝,神静而得寐。”本研究采用剥夺睡眠方法造模一可致大鼠不得卧而耗伤阴血,二可造成部分应激致大鼠郁怒不畅,接近临床肝气郁结证。本研究采用临床经验泻肝安神法治疗失眠症,该方君药选用柴胡、川芎、枳壳梳理肝气,臣以香附、郁金、黄芪、茯苓辅助君药理气健脾,佐以栀子、丹皮、夏枯草泻火,以当归、白芍养血,以首乌藤、酸枣仁及刺五加安神,炙甘草调和诸药,以期标本兼顾。在前期研究工作中发现疏肝泻火养血安神法治疗临床肝郁化火型失眠症有效,并对睡眠质量及情绪均有改善作用<sup>[15]</sup>。而在本研究中通过与西药地西洋片对比探索中药方剂的疗效机制,研究发现失眠

是一种神经节律失常性疾病,GABA 能神经系统与睡眠关系密切,本研究发现泻肝安神法可使大鼠脑干门冬氨酸含量显著升高,下丘脑 GABA 含量升高;而采用地西洋片治疗后大鼠脑干区门冬氨酸升高,下丘脑门冬氨酸、GABA、甘氨酸、牛磺酸升高。提示其疗效机制可能与改变不同部位脑内神经递质的含量有关,且在下丘脑的作用机制类似于地西洋片,但对于氨基酸类神经递质的影响靶点要少于西药。

### 参 考 文 献

- [1] Jones, B. E. Basic mechanisms of sleep-wake states[M]//Meir H. Kryger, MD, FRCPC, et al. Principles and Practice of Sleep Medicine. 3d ed. Philadelphia: W. B Saunders, 2000; 134-154.
- [2] Maloney KJ, Mainville L, Jones BE. c-Fos expression in GABAergic, serotonergic, and other neurons of the pontomedullary reticular formation and raphe after paradoxical sleep deprivation and recovery[J]. J Neurosci, 2000, 20(12): 4669-4679.
- [3] 苗明三. 实验动物和动物实验技术[M]. 北京: 中国中医药出版社, 1997: 142.
- [4] 王升旭, 李求实. 睡眠剥夺对大鼠脑组织氨基酸类神经递质含量的影响[J]. 第一军医大学学报, 2002, 22(10): 888-890.
- [5] 李振. GABA 能药物干预对 REM 睡眠剥夺大鼠认知功能影响的实验研究[D]. 上海: 第二军医大学, 2008.
- [6] 游秋云, 王平, 吴丽丽, 等. 舒郁安神方对老年抑郁失眠证候模型大鼠学习记忆及脑组织谷氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸含量的影响[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(6): 1006-1009.
- [7] 游秋云, 王平, 孔明望, 等. 酸枣仁汤对老年血亏阴虚失眠证候模型大鼠脑组织谷氨酸、 $\gamma$ -氨基丁酸及  $\gamma$ -氨基丁酸 A 受体表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(14): 119-123.
- [8] 张林挺. 酸枣仁汤对虚劳失眠干预机理的研究[D]. 广州: 广州中医药大学, 2009.
- [9] 兰妮. 失眠大鼠电针后不同时间单胺类和氨基酸类递质的变化[D]. 广州: 暨南大学, 2010.
- [10] 刘祖丽, 唐成林, 余敏, 等. 不同强度电针对 PCPA 失眠大鼠下丘脑  $\gamma$ -氨基丁酸及受体的影响[J]. 生命科学研究, 2011, 15(3): 236-240.
- [11] 王振华. 枣参安神颗粒治疗失眠的药效学实验研究及机制探讨[D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2011.
- [12] Steriade MI, Contreras D, Amzica F. Synchronized sleep oscillations and their paroxysmal developments[J]. Trends Neurosci, 1994, 17(5): 199-208.
- [13] 肖成荣, 马增春, 李海静, 等. PCPA 失眠大鼠模型的制作及其机制[J]. 毒理学杂志, 2007, 21(4): 326.
- [14] Rudolph UI, Antkowiak B. Molecular and neuronal substrates for general anaesthetics [J]. Nat Rev Neurosci, 2004, 5(9): 709-720.
- [15] 邢佳, 王嘉麟, 王椿野, 等. 疏肝泻火养血安神法干预失眠症的临床研究[J]. 环球中医药, 2013, 6(7): 500-504.

(收稿日期: 2014-08-08)

(本文编辑: 蒲晓田)