

· 实验研究 ·

星状神经节阻滞改善更年期大鼠抑郁行为及加速清除脑内损伤相关模式分子

张猛 彭飞飞 程应湘 周脉涛 邵东华

【摘要】 目的 探讨星状神经节阻滞(SGB)对更年期大鼠抑郁行为及脑内损伤相关模式分子(DAMPs)中主要分子浓度的影响。**方法** 清洁级健康成年雌性SD大鼠40只,2月龄,体重180~220 g。将大鼠随机分为四组:对照组(C组),更年期大鼠抑郁模型组(M组),星状神经节注射生理盐水组(MN组)和星状神经节注射罗哌卡因组(MR组),每组10只。C组大鼠正常喂养;M组、MN组和MR组行双侧卵巢摘除术建立更年期大鼠模型,术后第8~28天行慢性束缚应激实验(CRS)建立更年期大鼠抑郁模型。术后第29~49天每日同一时点MN组于右侧星状神经节注射生理盐水0.2 ml,MR组于相同位置注射0.25%罗哌卡因0.2 ml。于手术当天、术后第7、14、21、28、35、42、49天行体重测量和糖水偏好实验,术后第28、35、42、49天行强迫游泳实验。术后第49天各项行为学测试结束后取大鼠海马组织,采用ELISA法检测DAMPs主要分子高迁移率族蛋白B1(HMGB1)、热休克蛋白70(HSP70)、S100钙结合蛋白B(S100B)、ATP和尿酸(UA)浓度。**结果** 与C组比较,M组、MN组和MR组术后第7、14、21、28、35、42、49天体重明显减少($P<0.05$),糖水偏好百分比明显降低($P<0.05$),术后第28、35、42、49天强迫游泳不动时间明显延长($P<0.05$);M组和MN组术后第49天海马组织HMGB1、HSP70、S100B、ATP浓度明显升高($P<0.05$)。与MN组比较,MR组术后第35、42、49天体重明显增加($P<0.05$),术后第42、49天糖水偏好百分比明显升高($P<0.05$),术后第35、42、49天强迫游泳不动时间明显缩短($P<0.05$),术后第49天海马组织HMGB1、HSP70、S100B、ATP浓度明显降低($P<0.05$)。**结论** 星状神经节阻滞可以改善更年期大鼠抑郁行为,其机制可能与加速清除脑内DAMPs有关。

【关键词】 星状神经节阻滞;更年期;抑郁;损伤相关模式分子;大鼠

Stellate ganglion block ameliorates depression and accelerates the clearance of brain damage associated molecular patterns in menopausal rats ZHANG Meng, PENG Feifei, CHENG Yingxiang, ZHOU Maitao, SHAO Donghua. Jiangsu University Medical School, Zhenjiang 212000, China

Corresponding author: SHAO Donghua, Email: 13805281211@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of stellate ganglion block (SGB) on depressive behavior and the concentrations of the main molecules of damage associated molecular patterns (DAMPs) in menopausal rats. **Methods** Forty SPF-grade healthy adult SD female rats, aged 2 months, weighing 180–220 g, were randomly divided into four groups: control group (group C), menopausal rat depression model group (group M), model receiving stellate ganglion injection of normal saline group (group MN) and model receiving stellate ganglion injection of ropivacaine group (group MR), 10 rats in each group. Group C was fed normally; group M, group MN and group MR were given bilateral ovariectomy to establish menopausal rat model, and chronic restraint stress test (CRS) was performed to establish menopausal rat depression model on the 8th to 28th days after operation. From the 29th to 49th days after operation, 0.2 ml of normal saline was injected into the right stellate ganglion in group MN at the same time every day, while group MR were injected with 0.2 ml of 0.25% ropivacaine hydrochloride at the same position. Body weight and sucrose preference test were performed on the day of operation and on the 7th, 14th, 21st, 28th, 35th, 42nd and 49th days after operation. Forced swimming test was performed on the 28th, 35th, 42nd and 49th days after operation. On the 49th day after operation, the hippocampal tissues of rats were taken after the end of behavioral tests. The concentrations of main molecules of DAMPs including high mobility group protein B1 (HMGB1), heat shock protein 70 (HSP70), S100 calcium-binding protein B (S100B), adenosine triphosphate (ATP) and uric acid (UA) were detected by ELISA. **Results** Compared with group C, the

DOI:10.12089/jca.2021.07.016

作者单位:212000 镇江市,江苏大学医学院(张猛、彭飞飞、程应湘);解放军第904医院麻醉科(周脉涛);镇江市第一人民医院麻醉科(邵东华)

通信作者:邵东华,Email: 13805281211@163.com

weight of rats and the percentage of sucrose preference in groups M, MN and MR decreased significantly on day 7, 14, 21, 28, 35, 42, 49 after operation ($P < 0.05$), and the time of immobility during forced swimming process delayed in groups M, MN and MR on day 28, 35, 42, 49 after operation ($P < 0.05$); the concentrations of HMGB1, HSP70, S100B, and ATP in hippocampus on 49th day after operation in groups M and MN increased significantly ($P < 0.05$). Compared with group MN, the weight of rats increased significantly on 35th, 42nd and 49th days after operation ($P < 0.05$), the sucrose preference percentage increased markedly on the 42nd and 49th days after operation ($P < 0.05$), and the immobility time of forced swimming on the 35th, 42nd and 49th days after operation was also shortened ($P < 0.05$), the concentrations of HMGB1, HSP70, S100B and ATP in hippocampus were significantly reduced on 49th day ($P < 0.05$). **Conclusion** Stellate ganglion block can ameliorate depression in menopausal rats, and its mechanism may be related to accelerating the clearance of DAMPs in the brain of menopausal depressive rats.

【Key words】 Stellate ganglion block; Menopause; Depression; Damage associated molecular patterns; Rat

更年期抑郁症是女性更年期严重的情感性精神障碍,传统有效的抗抑郁药物主要作用于单胺氧化酶系统,但超过 30% 的抑郁症患者在多次治疗后仍未缓解^[1]。有研究^[2-3]表明,损伤相关模式分子(damage associated molecular patterns, DAMPs)参与抑郁症引起的神经炎症反应,在抑郁症的发病和相关症状中起到重要作用。而星状神经节阻滞(stellate ganglion block, SGB)可用于非疼痛性疾病的治疗,且具有抗抑郁的作用^[4]。本研究通过观察 SGB 对更年期大鼠抑郁行为及脑内 DAMPs 浓度的影响,探讨 SGB 治疗更年期抑郁的效果及相关作用机制。

材料与方法

实验动物 清洁级健康成年雌性 SD 大鼠 40 只,2 月龄,体重 180~220 g,由江苏大学动物实验中心提供[实验动物许可证号: SCXK(苏)2018-0012]。所有大鼠分笼饲养,每笼 10 只,温度 22~25 °C,湿度 65%~70%,自由饮食饮水。

实验分组与处理 将大鼠随机分成四组:对照组(C 组),更年期大鼠抑郁模型组(M 组),星状神经节注射生理盐水组(MN 组)和星状神经节注射罗哌卡因组(MR 组),每组 10 只。C 组正常喂养;M 组、MN 组和 MR 组行双侧卵巢摘除术建立更年期大鼠模型,术后第 8~28 天行慢性束缚应激实验(chronic restraint stress, CRS)建立更年期大鼠抑郁模型。术后第 29~49 天每日同一时点 MN 组于右侧星状神经节注射生理盐水 0.2 ml,MR 组于相同位置注射 0.25%罗哌卡因 0.2 ml。

更年期大鼠抑郁模型建立 采用大鼠双侧卵巢切除术建立更年期大鼠模型^[5]。术前大鼠禁食 12 h,采用 7%水合氯醛 5 ml/kg 腹腔麻醉,俯卧位

固定,于背部肋弓下 1 cm、脊柱侧面 1 cm 处做切口,分离性腺周围脂肪组织,结扎卵巢周围血管,切除卵巢后逐层缝合,局部碘酊消毒,肌注青霉素 20 万单位/只预防感染。手持吸有生理盐水的移液器,轻轻插入大鼠阴道取阴道细胞,重复 3~5 次,将吸出的液体滴至载玻片上,放入 37 °C 振荡培养箱,待干燥后使用亚甲基蓝溶液 5 g/L 染色 10 min,吹干后在显微镜下观察,连续 5 d 未观察到角化细胞或仅有少量角化细胞表示去势成功。

于术后第 8~28 天行 CRS 建立更年期大鼠抑郁模型^[5]。将大鼠置于高 24 cm、直径 8 cm 的透明聚乙烯材料管中,管顶端有直径 1.5 cm 的通气孔,尾端为可关闭的圆形门,每天上午 8:00 至下午 2:00 对大鼠进行束缚应激^[6]。建模成功 30 只,失败 5 只,失败原因可能与大鼠个体差异有关,或者与造模过程中应激刺激的强度和时长有关。

右侧 SGB 阻滞 本研究参照 Abdi 等^[7]研究并稍做修改。采用 8%七氟醚轻度麻醉大鼠后用手触摸 C₇ 椎体横突,沿 C₇ 椎体右侧插入 1 ml 注射器。当针尖与椎体接触时,向后退出约 0.5 mm,回抽无血、无脑脊液后 MR 组注射 0.25%罗哌卡因 0.2 ml, MN 组于相同位置注射生理盐水 0.2 ml。所有大鼠均在 10~20 s 内从全麻中恢复, SGB 成功的指标为大鼠右眼睑下垂^[8]。SGB 首次成功率达 80%,未成功阻滞的大鼠待其恢复半小时后,进行第二次阻滞基本能成功阻滞。失败原因可能是由于星状神经节位置较深,周围组织结构比较复杂,操作不当导致药物注射部位偏差。

糖水偏好实验 采用糖水偏好实验模拟抑郁症的兴趣缺失^[9],1%~2%蔗糖溶液为最佳浓度^[10],本研究选择 1%蔗糖水进行糖水偏好实验。手术开始前 72 h 让大鼠适应含糖饮水,每笼同时放 2 个水

瓶,第一个 24 h 两瓶均装入 1%蔗糖水。第二个 24 h,一瓶装入 1%蔗糖水,一瓶装入纯净水,12 h 后交换瓶子位置。于手术当天、术后第 7、14、21、28、35、42、49 天禁食禁水 20 h 后进行 1 h 糖水偏好实验,测试过程中大鼠自由饮用蔗糖水和蒸馏水。1 h 后取走两瓶水称重,计算每组蔗糖水消耗量、蒸馏水消耗量以及总液体消耗量。糖水偏好=(蔗糖水消耗量/总液体消耗量)×100%。

强迫游泳实验 采用强迫游泳实验评估大鼠类似抑郁样行为。于术后第 28、35、42、49 天进行^[6]。将大鼠放入高 60 cm、直径 30 cm、水深 40 cm (水温 22~23 ℃)的玻璃圆桶中,使大鼠无法触碰到圆桶底部^[11]。每组均由两位不知晓分组的人员观察并记录大鼠强迫游泳不动时间。每只大鼠观察 6 min,第 1 分钟不计,排除大鼠受外界环境因素干扰后,记录后 5 min 大鼠强迫游泳累计不动时间。每次测量前需冲洗圆桶,重新换水,避免大鼠气味影响。

DAMPs 主要分子含量 于术后第 49 天各项行为学测试结束后处死大鼠,取海马组织,采用 ELISA 法检测大鼠海马组织中 DAMPs 主要分子高迁移率蛋白 B1 (high mobility group protein B1, HMGB1)、热休克蛋白 70 (heat shock protein 70, HSP70)、S100 钙结合蛋白 B (S100 calcium-binding protein B, S100B)、ATP 和尿酸(uric acid, UA)浓度。

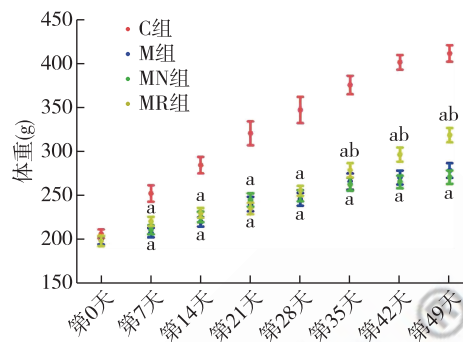
统计分析 采用 SPSS 19.0 统计学软件进行数据分析。正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,组内比较采用重复测量方差分析,两两比较采用 Tukey 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

大鼠体重 与 C 组比较,术后第 7、14、21、28、35、42、49 天 M 组、MN 组和 MR 组体重明显减少($P < 0.05$)。与 MN 组比较,术后第 35、42、49 天 MR 组体重明显增加($P < 0.05$)。M 组和 MN 组体重差异无统计学意义(图 1)。

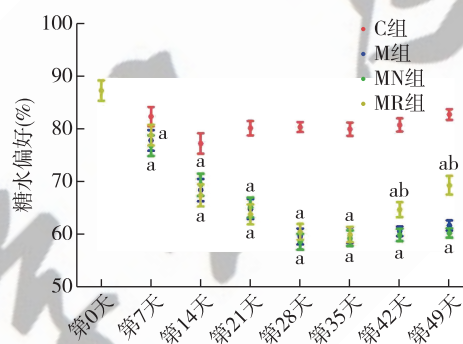
糖水偏好 与 C 组比较,术后第 7、14、21、28、35、42、49 天 M 组、MN 组和 MR 组糖水偏好明显降低($P < 0.05$)。与 MN 组比较,术后第 42、49 天 MR 组糖水偏好明显升高($P < 0.05$)。M 组和 MN 组糖水偏好差异无统计学意义(图 2)。

不动时间 与 C 组比较,术后第 28、35、42、49 天 M 组、MN 组和 MR 组不动时间明显延长($P <$



注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 MN 组比较,^b $P < 0.05$

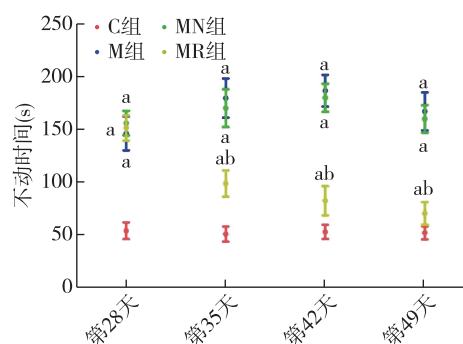
图 1 四组大鼠不同时点体重的比较



注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 MN 组比较,^b $P < 0.05$

图 2 四组大鼠不同时点糖水偏好的比较

0.05)。与 MN 组比较,术后第 35、42、49 天 MR 组不动时间明显缩短($P < 0.05$)。术后第 28 天 M 组、MN 组和 MR 组不动时间差异无统计学意义,术后第 35、42、49 天 MN 组和 MR 组不动时间差异无统计学意义(图 3)。



注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 MN 组比较,^b $P < 0.05$

图 3 四组大鼠不同时点强迫游泳不动时间的比较

DAMPs 浓度 与 C 组比较,M 组和 MN 组海马组织 HMGB1、HSP70、S100B、ATP 浓度明显升高($P < 0.05$)。与 MN 组比较,MR 组海马组织 HMGB1、HSP70、S100B、ATP 浓度明显降低($P < 0.05$)。M 组

和 MN 组海马组织 HMGB1、HSP70、S100B、ATP 浓度差异无统计学意义。四组海马组织 UA 浓度差异无统计学意义(表 1)。

讨 论

Dempsey 等^[12]研究表明,持续的中枢性炎症可能是抑郁症状出现的基础。对抗抑郁药无反应的患者体内常检测出较高浓度的炎症标记物^[13]。生理和心理压力会诱发细胞释放 DAMPs,其与模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)结合,刺激核转录因子(nuclear factor kappa B, NF-κB)信号,产生促炎因子,增强炎症信号。DAMPs 激活在应激诱导炎症和情绪障碍中起着重要的作用^[14]。Franklin 等^[2]研究表明, HMGB1、HSP70、S100B、ATP 和 UA 在抑郁症免疫炎症的启动和调节中起到关键作用。

HMGB1 是一种在大多数细胞中表达丰富的核蛋白,与多种炎症类型有关,在压力暴露下, HMGB1 可发挥 DAMP 功能并促进炎症信号传导,引起中枢炎症反应^[15]。Festoff 等^[16]研究表明, HMGB1 可以调节认知能力下降等与抑郁相关的症状。HSP70 与抑郁症等精神疾病有关。Alo 等^[17]研究表明,在应激仓鼠模型中 HSP70 浓度中度升高。S100B 浓度在应激状态下明显升高。Stroth 等^[18]研究表明,小鼠抑郁样行为与海马组织中 S100B 浓度升高相一致。Yue 等^[19]研究表明,大鼠海马细胞外的 ATP 浓度与慢性不可预测应激暴露时间成比例升高。本研究结果显示,建立更年期抑郁模型后大鼠有明显的行为学改变,并且海马组织中 DAMPs 浓度明显升高,表明大鼠抑郁样表现与 DAMPs 浓度升高有关。大鼠行 SGB 后,体重明显增加,糖水偏好明显升高,强迫游泳不动时间明显缩短,这些指标随时间延长,变化程度进一步加大,同时大鼠海马组织

中 DAMPs 浓度明显降低。这些结果提示 SGB 可以加速大鼠脑内 DAMPs 的主动清除,并能改善更年期大鼠兴趣缺乏、行为意志丧失和快感缺失等抑郁行为,这可能是大鼠更年期抑郁样行为改善的机制。此外,大鼠糖水偏好实验中,术后第 42 天 MR 组才与其他组产生差异,这可能与大鼠个体行为学差异有关。

UA 被认为是精神分裂症^[20]和双相情感障碍^[21]等精神疾病的生物标志物,能够强有力地激活炎症小体,在抑郁症中起一定作用。Franklin 等^[2]研究表明,UA 浓度在抑郁症患者中的一致性较差,应激引起 UA 浓度变化取决于应激暴露的频率、严重程度和时间。大鼠旷场试验各组间差异无统计学意义,也可能与上述因素有关,亦或者本研究采用慢性束缚应激实验造模,应激方式较为单一导致。另外,自然睡眠或麻醉状态脑内间质间隙可以增加 60%,导致脑脊液与组织间液的对流交换明显增加,增加了脑内相关物质的清除^[22]。星状神经节神经细胞分布广泛,与大脑各部分联系紧密,可以调节中枢神经系统活动。SGB 对更年期睡眠障碍有治疗作用,促使脑内有害物质清除,使睡眠中枢功能得以恢复^[23],从而起到抗抑郁作用。

本研究的不足之处:受限于操作者的技术水平,大鼠右侧 SGB 首次成功率为 80%。不同 SGB 操作次数星状神经节免疫微环境是否发生变化,以及 SGB 对脑内 DAMPs 的清除通道类淋巴系统^[24]清除效率的影响和对脑内炎性因子的影响有待进一步研究。

综上所述,慢性应激实验下大鼠会产生抑郁行为,且脑内 DAMPs 浓度异常升高,星状神经节阻滞可以改善更年期大鼠抑郁行为,其机制可能与加速清除更年期抑郁大鼠脑内 DAMPs 有关。

表 1 四组大鼠海马组织中 DAMPs 浓度的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	HMGB1 (ng/ml)	HSP70 (ng/ml)	S100B (pg/ml)	ATP (ng/ml)	UA (μmol/L)
C 组	10	5.8±1.0	34.5±3.5	71.5±5.4	9.2±2.1	91.9±12.9
M 组	10	7.6±0.7 ^a	39.1±1.9 ^a	82.6±10.7 ^a	11.5±2.1 ^a	90.0±6.5
MN 组	10	7.2±0.9 ^a	39.9±4.1 ^a	82.4±6.3 ^a	12.1±1.9 ^a	86.4±13.6
MR 组	10	5.9±1.5 ^b	34.3±3.4 ^b	75.4±6.7 ^b	9.6±2.1 ^b	81.9±7.0

注:与 C 组比较,^a $P < 0.05$;与 MN 组比较,^b $P < 0.05$

参 考 文 献

- [1] Rush AJ. STAR * D; what have we learned? *Am J Psychiatry*, 2007, 164(2): 201-204.
- [2] Franklin TC, Xu C, Duman RS. Depression and sterile inflammation; essential role of danger associated molecular patterns. *Brain Behav Immun*, 2018, 72: 2-13.
- [3] Cheng Y, Pardo M, Armini RS, et al. Stress-induced neuroinflammation is mediated by GSK3-dependent TLR4 signaling that promotes susceptibility to depression-like behavior. *Brain Behav Immun*, 2016, 53: 207-222.
- [4] 王祥, 余建明. 星状神经节阻滞研究新进展. *浙江中西医结合杂志*, 2017, 27(2): 172-175.
- [5] Gu S, Ma Y, Ge K, et al. Danshen-Honghua ameliorates stress-induced menopausal depression in rats. *Neural Plast*, 2018, 2018: 6589608.
- [6] Chiba S, Numakawa T, Ninomiya M, et al. Chronic restraint stress causes anxiety-and depression-like behaviors, downregulates glucocorticoid receptor expression, and attenuates glutamate release induced by brain-derived neurotrophic factor in the prefrontal cortex. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2012, 39(1): 112-119.
- [7] Abdi S, Yang Z. A novel technique for experimental stellate ganglion block in rats. *Anesth Analg*, 2005, 101(2): 561-565, table of contents.
- [8] Qu Y, Ma KN, Li XZ. Identification of differentially expressed proteins and validation of the changes of N-ethylmaleimide-sensitive factor in rats with focal cerebral ischemia after transection of the cervical sympathetic trunk. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci*, 2014, 34(6): 801-807.
- [9] Tong L, Gong Y, Wang P, et al. Microglia loss contributes to the development of major depression induced by different types of chronic stresses. *Neurochem Res*, 2017, 42(10): 2698-2711.
- [10] Liu MY, Yin CY, Zhu LJ, et al. Sucrose preference test for measurement of stress-induced anhedonia in mice. *Nat Protoc*, 2018, 13(7): 1686-1698.
- [11] 韩金凤, 徐宁, 潘薇, 等. 氯胺酮对疼痛抑郁共病大鼠行为学及吗啡胺 2,3 二加氧酶信号通路的影响. *临床麻醉学杂志*, 2016, 32(12): 1200-1203.
- [12] Dempsey E, Abautret-Daly Á, Docherty NG, et al. Persistent central inflammation and region specific cellular activation accompany depression-and anxiety-like behaviours during the resolution phase of experimental colitis. *Brain Behav Immun*, 2019, 80: 616-632.
- [13] Yang C, Wardenaar KJ, Bosker FJ, et al. Inflammatory markers and treatment outcome in treatment resistant depression: a systematic review. *J Affect Disord*, 2019, 257: 640-649.
- [14] Fleshner M, Frank M, Maier SF. Danger signals and inflammasomes; stress-evoked sterile inflammation in mood disorders. *Neuropsychopharmacology*, 2017, 42(1): 36-45.
- [15] 梁萌, 杜冰滢, 范存秀, 等. 高迁移率族蛋白 1 在抑郁症发病机制中的研究进展. *中华精神科杂志*, 2020, 53(3): 267-270.
- [16] Festoff BW, Sajja RK, van Dreden P, et al. HMGB1 and thrombin mediate the blood-brain barrier dysfunction acting as biomarkers of neuroinflammation and progression to neurodegeneration in Alzheimer's disease. *J Neuroinflammation*, 2016, 13(1): 194.
- [17] Alò R, Mele M, Fazzari G, et al. Exposure to sub-chronic unpredictable stress accounts for antidepressant-like effects in hamsters treated with BDNF and CNQX. *Brain Res Bull*, 2015, 118: 65-77.
- [18] Stroth N, Svenningsson P. S100B interacts with the serotonin 5-HT7 receptor to regulate a depressive-like behavior. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2015, 25(12): 2372-2380.
- [19] Yue N, Huang H, Zhu X, et al. Activation of P2X7 receptor and NLRP3 inflammasome assembly in hippocampal glial cells mediates chronic stress-induced depressive-like behaviors. *J Neuroinflammation*, 2017, 14(1): 102.
- [20] Sarandol A, Sarandol E, Acikgoz HE, et al. First-episode psychosis is associated with oxidative stress; effects of short-term antipsychotic treatment. *Psychiatry Clin Neurosci*, 2015, 69(11): 699-707.
- [21] Bartoli F, Crocamo C, Dakanalis A, et al. Purinergic system dysfunctions in subjects with bipolar disorder: a comparative cross-sectional study. *Compr Psychiatry*, 2017, 73: 1-6.
- [22] Xie L, Kang H, Xu Q, et al. Sleep drives metabolite clearance from the adult brain. *Science*, 2013, 342(6156): 373-377.
- [23] Haest K, Kumar A, Van Calster B, et al. Stellate ganglion block for the management of hot flashes and sleep disturbances in breast cancer survivors: an uncontrolled experimental study with 24 weeks of follow-up. *Ann Oncol*, 2012, 23(6): 1449-1454.
- [24] Louveau A, Plog BA, Antila S, et al. Understanding the functions and relationships of the glymphatic system and meningeal lymphatics. *J Clin Invest*, 2017, 127(9): 3210-3219.

(收稿日期: 2020-10-30)