

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.04.014

灵孢多糖辅助治疗抑郁症的作用及机制

刘 勳 居春阳 朱延梅 朱雨岚[△]

(哈尔滨医科大学附属第二医院神经内科 黑龙江 哈尔滨 150086)

摘要 目的:建立大鼠抑郁模型,研究和探讨灵孢多糖注射液辅助治疗抑郁症的作用及机制。**方法:**将 48 只 SD 大鼠随机分为正常组、抑郁组、生理盐水组及灵孢多糖(低剂量、中剂量、高剂量)治疗组各 8 只。应用慢性应激刺激的方法诱导抑郁组、生理盐水组、灵孢多糖治疗组大鼠抑郁,通过行为学指标评估建模是否成功。建模成功后,在生理盐水组中注射生理盐水;在灵孢多糖治疗组中分别注射低、中、高剂量灵孢多糖注射液,比较各组间的疗效差异。采用免疫组化的方法测定大鼠脑内多巴胺、去甲肾上腺素、5-羟色胺、酪氨酸羟化酶等单胺类神经递质含量的表达情况。**结果:**成功的建立了大鼠抑郁模型,抑郁组中大鼠各项行为学指标与正常组相比均明显减少,差异有统计学意义($P<0.05$);灵孢多糖治疗组大鼠脑内的多巴胺、去甲肾上腺素、5-羟色胺、酪氨酸羟化酶与抑郁组、生理盐水组大鼠脑内的含量均明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**灵孢多糖注射液对改善抑郁症状有良好的疗效,具有辅助治疗抑郁症的作用。

关键词:灵芝多糖;抑郁症;抑郁大鼠模型;单胺类神经递质

中图分类号:Q-93-33 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)04-656-07

The Assisting Effect and Mechanism of Ganoderma Lucidum Polysaccharides in Treatment of Depression

LIU Meng, JU Chun-yang, ZHU Yan-mei, ZHU Yu-lan[△]

(Department of neurology, The Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150086, China)

ABSTRACT Objective: To establish the depression model of rats, and investigate the function and mechanism of Ganoderma lucidum Polysaccharides on the treatment of depression. **Methods:** Animal experiments: Forty-eight SD rats were randomly divided into six groups: normal control group, depression group, saline solution group, ganoderma lucidum polysaccharides treating group(low-dose, moderate-dose, high-dose) and chronic stress -induced depression. Behavioral indicators were used to evaluate the modeling success. Then we injected with low, medium and high doses of the Spirit spore polysaccharide in Spirit spore polysaccharides groups, and the different effects with the different groups were compared. Meanwhile, immunohistochemical method was applied to detect the expression of monoamine neurotransmitters, such as dopamine, Norepinephrine, Serotonin and tyrosine hydroxylase, in the rats' brain. **Results:** The models of depression in rats were successfully established. The behavior indicators of depression group were lower than those in the control group ($P<0.05$). And the indicators significantly increased after drug treatment. The expressions of monoamine neurotransmitters of ganoderma lucidum polysaccharides group were much higher than those in the depression group and saline solution group ($P<0.05$). **Conclusion:** Ganoderma lucidum polysaccharides has better effect on improving the symptoms of depression, it have some assisting effect on depressive treatment.

Key words: Ganoderma lucidum Polysaccharides; Depression; Models of depression; Monoamine neurotransmitters

Chinese Library Classification(CLC): Q-93-33 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)04-656-07

前言

抑郁症(Depression)是多种因素导致的心境障碍(Mood Disorders)或情感障碍(Affective Disorders)^[1],以显著且持久的情绪低落为主要临床表现。世界卫生组织(1999)估计其发病率约占世界总人口 3%~5%^[2],预计在 2020 年抑郁症将成为世界第二大疾病。Beck 最早提出了抑郁症的认知理论^[3],后来 Abma-

son 等人也提出抑郁症社会认知理论模型^[4]。神经系统疾病患者也常伴发抑郁,如:脑卒中后抑郁、帕金森(PD)等,且抑郁症易反复发作^[5]。本研究通过动物实验证实灵孢多糖注射液是否能够通过提高大鼠脑内单胺类神经递质多巴胺、去甲肾上腺素、5-羟色胺含量,从而改善抑郁症状,达到治疗抑郁症的疗效。

1 动物实验

1.1 材料与方法

健康雄性 Sprague-Dawley 大鼠,体重 180 g-200 g,共 48 只。由哈尔滨医科大学附属第二临床医学院动物实验中心提供。随机分为正常组、抑郁组、生理盐水组、灵孢多糖(低剂量、中剂量、高剂量)组。

作者简介:刘勳(1984-),男,硕士研究生,研究方向:脑血管病、癫痫、神经症,E-mail:liumeng0717@126.com

[△]通讯作者:朱雨岚,教授,电话:0451-86605841,

E-mail:ylz1962@yahoo.com.cn

(收稿日期:2013-04-15 接受日期:2013-05-10)

1.2 实验药物及剂量

① 灵孢多糖注射液:主要成分为赤芝孢子粉提取物,北京协和药厂生产,国药准字 H20003123,试剂:酪氨酸羟化酶(TH),美国 Sigma 公司。

② 用药剂量:根据动物与人体表面积比值算出 200 g 大鼠给药剂量约为 0.42 mL,再根据预实验的半数致死量,算出高剂量组(1.68 mL),中剂量组(0.42 mL),低剂量组(0.21 mL)。

1.3 抑郁模型制备

参照 Willner 和 Hennessy 等的方法^[67]。正常组大鼠每笼 8 只,自由饮水摄食,不予刺激;其余各组每笼饲养 1 只,选取不同的慢性应激刺激,给予:禁食、水(24 h), 4℃ 水游泳(5 min), 36V 电刺激(0.5 min 通电刺激 1 次,每次维持 10s,共 20 次),灯照阻碍睡眠,震荡(3 min),夹尾试验(1 min)。每天随机 1 种,相同刺激不重复出现,实验的 56 天内每种刺激使用 8 次,使大鼠不能预料发生的刺激。

1.3.1 大鼠脑组织的单胺类神经递质的测定 处死大鼠,取丘脑,称重、记录、加入一定量 PBS 缓冲液(pH7.4),用锡纸包裹脑组织,标记后置 -8℃ 低温冰箱保存。测定时加入组织蛋白萃取试剂 3 mL,用匀浆器将标本匀浆化,离心 20 分钟,每分钟 2000-3000 转,收集上清,于酶标板上滴入标准品测定。

1.3.2 海马组织 HE 染色 给予大鼠 10%水合氯醛 300 mg/kg 麻醉。之后立即断头取双侧海马,置于 10%甲醛中固定,石蜡切片,HE 染色,观察海马神经元的形态学变化。

1.4 大鼠脑中酪氨酸羟化酶的表达情况

1.4.1 脑组织处理 成功建立实验模型后,选取 10%水合氯醛麻醉(300 mg/kg)麻醉注射,开胸经左心室插管到主动脉,打开右心耳,给予 37℃ 0.9%NaCl 200 mL 快速冲洗,至流出液体为淡红色,再给予 4℃ 10%甲醛灌注固定、取脑,放入相同甲醛液的瓶中浸泡约 2 周后,常规脱水、透明,石蜡包埋、切片,每张切片厚 6 μm 测量。

1.4.2 免疫组化法 石蜡切片脱蜡至水,给予 3%H₂O₂ 水溶液室温 10 min,蒸馏水洗涤 3 次,0.01 mol/L 枸橼酸缓冲液(pH6.0)微波加热进行抗原修复,滴羊血清,室温 30 min,加入 TH(1:400,美国 sigma)孵育。4℃ 过夜,加羊抗兔(大鼠)IgG,37℃ 1 h;滴加试剂 SABC 链酶亲和素-过氧化物酶复合物,37℃ 1 h,使用 DAB 显色试剂显色,镜下控制时间。在抗原修复、滴加一、二

抗孵育用 0.01 mol/L PBS 洗 3 次,每次 5 min。阴性对照:用羊血清替代一抗。图像分析:对免疫组化染色的结果,随机各组选 3 张切片,每 1 张切片相同部位选 3 个视野,采用 Image-ProPlus 真彩病理图像分析系统(version5.0.1.11),统计视野阳性细胞平均吸光度(density)、平均阳性细胞面积(area)。

主要测量指数:通过上述的技术方法观察各组大鼠脑海马(TH)的阳性细胞平均面积及吸光度表达。

1.5 统计学处理

应用 SPSS18.0 软件对数据进行分析处理。数据均为计量资料,数据以均数±标准差($\bar{X} \pm S$)表示,各组均数之间的显著性检验应用方差分析(F 检验),每两组均数间应用显著性检验 t 检验。

2 结果

2.1 一般状态观察

正常组大鼠身体状态良好,活动灵敏,毛色光泽,水、食量正常。抑郁组、生理盐水组、药物治疗组造模初期出现烦躁、愤怒的表现。药物治疗后,灵孢多糖治疗组上述情况明显改善,而抑郁组大鼠上述表现加重,没有死亡现象。

2.2 各组大鼠的体重变化

如图 1、图 2 所示,实验开始时,各组大鼠体重无明显差异($P>0.05$),随着实验的进行,正常组大鼠体重逐步增加,模型组大鼠缓慢增加,灵孢多糖各组大鼠体重即便是增加也是逐步缓慢的。实验证明,已成功降低大鼠的饮食量,使大鼠成长缓慢。第 28 天,灵孢多糖各组大鼠和模型组的体重增加之间无明显差异;28 天后,开始给予各组药物,灵孢多糖(低剂量、中剂量、高剂量)组体重增加呈逐渐加快趋势。给药第 56 天,灵孢多糖(中、高剂量)组大鼠体重明显增加,与正常大鼠组比较差异无显著性意义($P>0.05$),灵孢多糖各组均可改善抑郁大鼠体重,灵孢多糖(中、高剂量)组更为明显。

2.3 各组大鼠 open-field 行为学评分测定

如图 3 所示,实验第 1 天,各组 Open-field 垂直运动的评分无明显差异($P>0.05$),第 28 天,正常组以外的各组大鼠得分均明显减少,灵孢多糖各组与抑郁组比较无显著性差异($P>0.05$)。实验 56 天时,灵孢多糖各组大鼠评分明显增多,以灵孢多糖(中、高剂量)组增加明显,抑郁组大鼠垂直运动明显减少,灵孢

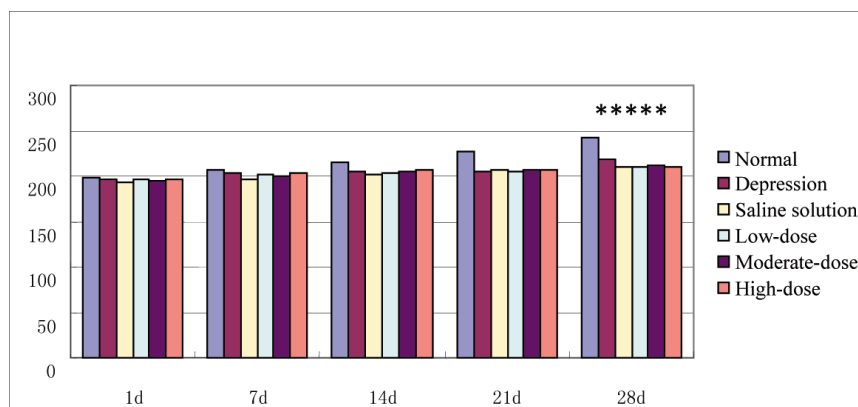


图 1 各组大鼠给药前体重的变化($\bar{x} \pm s, g$)注:与正常组相比,* $P<0.05$

Fig.1 The alteration of the weight for the rats before the treatment($\bar{x} \pm s, g$)

Compared with the normal group, * $P<0.05$

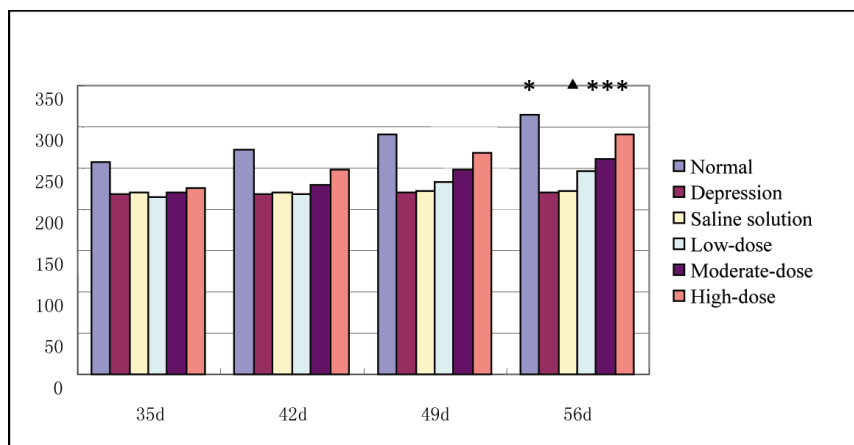


图2 各组大鼠给药后体重的变化($\bar{x} \pm s, g$)注:与抑郁组相比,* $P < 0.05$, $\blacktriangle P > 0.05$

Fig.2 The alteration of the weight for the rats after the treatment($\bar{x} \pm s, g$)

Compared with the depression group, * $P < 0.05$, $\blacktriangle P > 0.05$

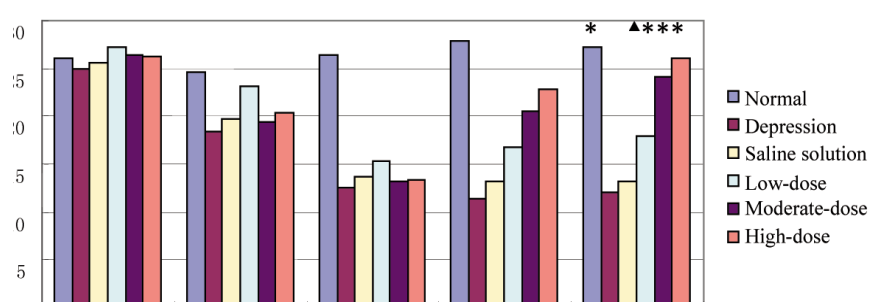


图3 各组大鼠 open-field 垂直运动评分比较($\bar{x} \pm s$, 次/3 分)注:与抑郁组相比, $\blacktriangle P > 0.05$, * $P < 0.05$

Fig.3 The comparison of the scores of open-field vertical movement for rats($\bar{x} \pm s$, 3 times/min). Compared with the depression group,

$\blacktriangle P > 0.05$, * $P < 0.05$

多糖(中、高剂量)组与抑郁组大鼠的评分相比较后发现差异有显著性意义($P < 0.05$)。

如图4所示,实验第1天,各组大鼠 Open-field 水平运动的评分无明显差异($P > 0.05$),第28天,正常组以外的各组大鼠得分均明显减少,灵孢多糖各组与抑郁组比较无显著性差异($P > 0.05$)。实验56天时灵孢多糖各组大鼠评分明显增多,以灵孢多糖(中、高剂量)组增加明显,抑郁组大鼠水平运动明显减少,灵孢多糖(中、高剂量)组与抑郁组大鼠的评分相比较后发

现差异有显著性意义($P < 0.05$)。

2.4 各组大鼠糖水消耗量的变化

如图5所示,实验第1天,各组大鼠糖水消耗试验无明显差异($P > 0.05$),第28天,除正常组外各组大鼠糖水消耗量明显降低。给予灵孢多糖治疗42天后,灵孢多糖各组呈现增高趋势,抑郁组和盐水组仍呈现下降趋势。实验56天时灵孢多糖(中、高剂量)组糖水消耗量较多,分别与抑郁组比较,均有显著性意义($P < 0.05$)。

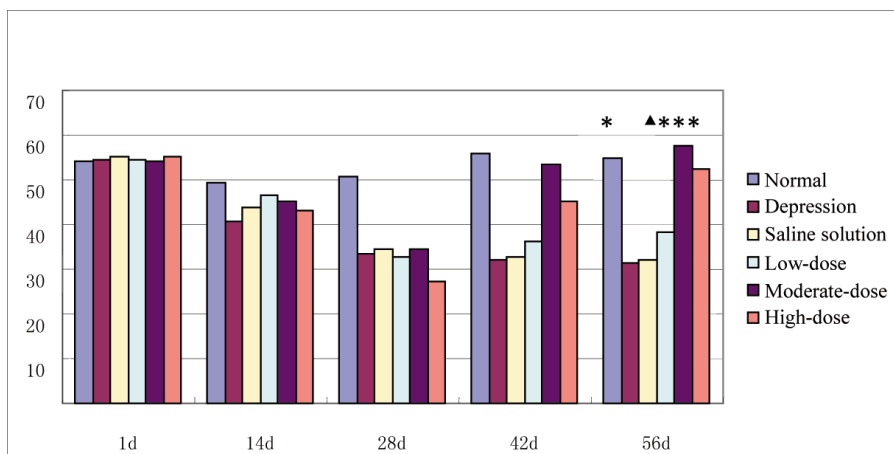


图4 各组大鼠 open-field 水平运动评分比较($\bar{x} \pm s$, 次/3 分)注:与抑郁组相比, $\blacktriangle P > 0.05$, * $P < 0.05$

Fig.4 The comparison of the scores of open-field horizontal movement for rats($\bar{x} \pm s$, 3 times/min).

Compared with the depression group, $\blacktriangle P > 0.05$, * $P < 0.05$

2.5 各组大鼠游泳不动时间比较

如图 6 所示,实验第 1 天,各组大鼠游泳不动时间比较无明显差异($P>0.05$),第 28 天,除正常组外各组大鼠的游泳不动时间均明显增加,表示大鼠在被迫游泳的过程中逃生欲望降

低,绝望度明显增加。给予灵孢多糖治疗后,灵孢多糖各组大鼠游泳不动时间呈现下降趋势,抑郁组仍呈现上升趋势。实验 56 天,灵孢多糖组大鼠游泳不动时间明显减少,以灵孢多糖(中、高剂量)组下降显著,抑郁组大鼠则仍然明显增加。灵孢多糖

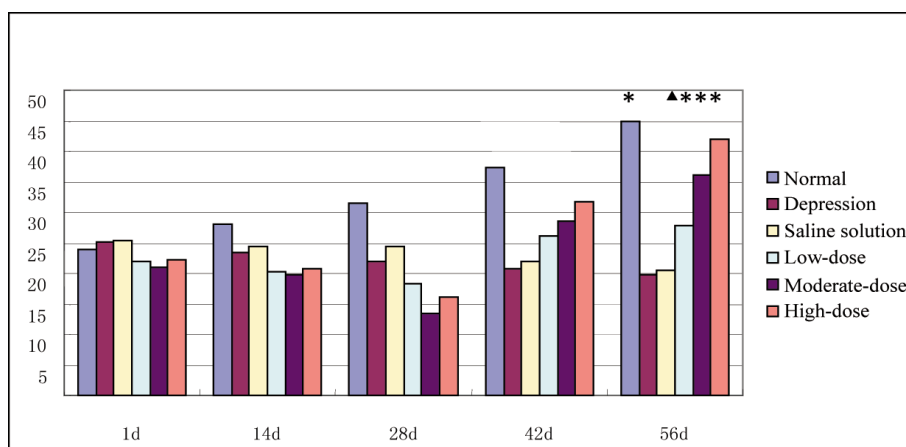


图 5 各组大鼠糖水消耗量的变化($\bar{x} \pm s, \text{ml}$)注:与抑郁组相比, $\Delta P>0.05$, $*P<0.05$

Fig.5 The alteration of the consumption of the sugar water ($\bar{x} \pm s, \text{mL}$)
Compared with the depression group, $\Delta P>0.05$, $*P<0.05$

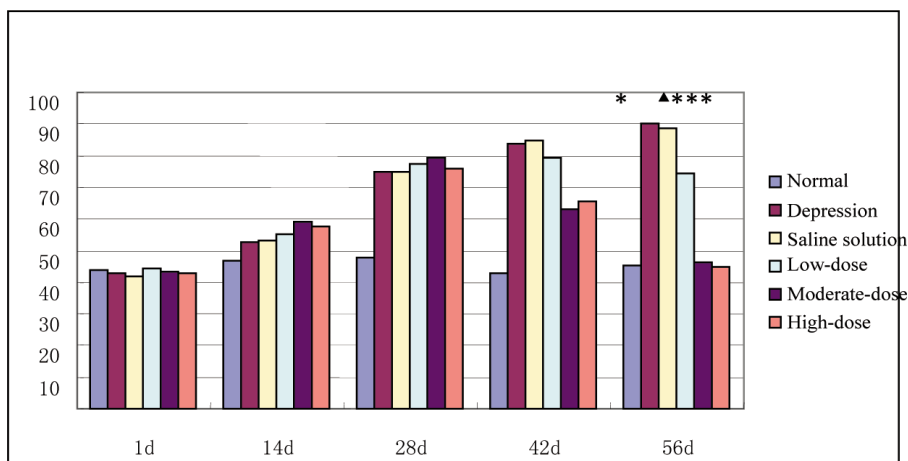


图 6 各组大鼠游泳不动时间比较($\bar{x} \pm s, \text{s/5min}$)注:与抑郁组相比, $\Delta P>0.05$, $*P<0.05$

Fig. 6 The comparison of the non-swimming time for rats ($\bar{x} \pm s, \text{s/5 min}$)
Compared with the depression group $\Delta P>0.05$, $*P<0.05$

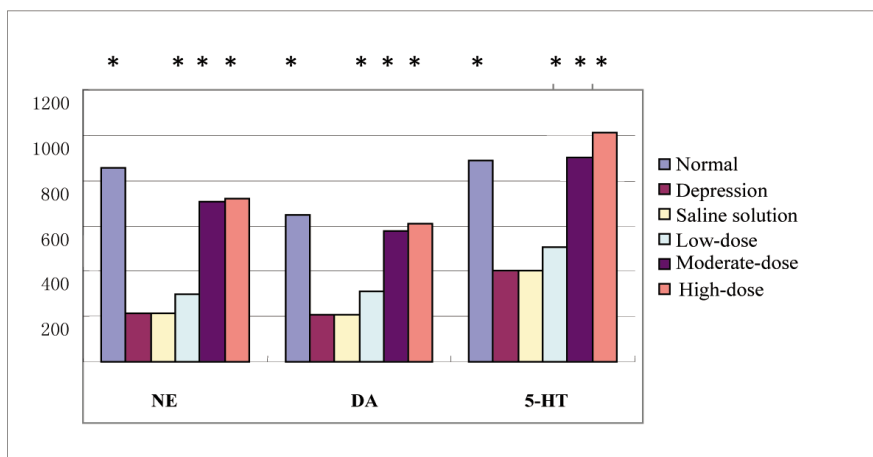


图 7 各组大鼠脑内单胺类神经递质比较注:与抑郁组相比, $\Delta P>0.05$, $*P<0.05$, n(单位):只

Fig.7 The comparison of the monoaminergic neurotransmitters for rats ($\bar{x} \pm s, \text{s/5 min}$)
Compared with the depression group, $\Delta P>0.05$, $*P<0.05$

(中、高剂量)组与抑郁组大鼠的不动时间相比较,发现差异有显著性意义($P<0.05$)。说明灵孢多糖(中、高剂量)组可以改善大鼠的求生欲望,降低绝望值。

2.6 各组大鼠脑内单胺类神经递质及其代谢产物浓度的变化

如图 7 所示, 抑郁大鼠脑内的 5-HT、NE、DA 含量较正常组明显减少($P<0.05$), 灵孢多糖各组大鼠脑内的单胺类神经递质浓度及其代谢产物浓度与抑郁组相比, 有显著性增加。尤其对 5-HT、DA 浓度升高的作用明显, 而且与正常组的大鼠脑内

的 5-HT、DA 浓度相近。

2.7 各组大鼠海马区神经元组织学变化

正常组海马区有大量致密的锥体细胞, 排列整齐, 细胞完整, 边缘清晰, 见图 A。模型组、盐水组可见细胞层次减少, 细胞层紊乱、中断、稀疏, 大量细胞坏死, 见图 B、图 C。药物治疗组神经元形态与正常组基本接近, 但以中、高剂量组较明显, 见图 D、图 E、图 F。

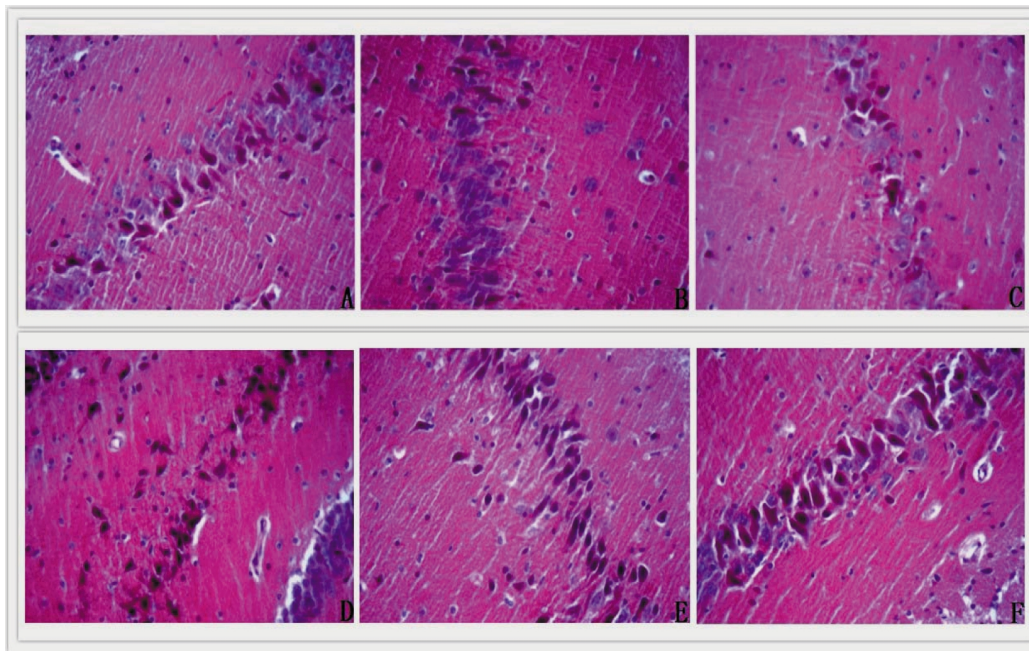


图 8 大鼠海马区神经元组织学图片(HE×200):A:正常组,B:抑郁组,C:盐水组,D:低剂量组,E:中剂量组,F:高剂量组

Fig.8 Histological of rat hippocampal neurons: A:Normal group, B:Depression group, C:Saline solution group, D:Low-dose group, E:Moderate-dose group, F: High-dose group

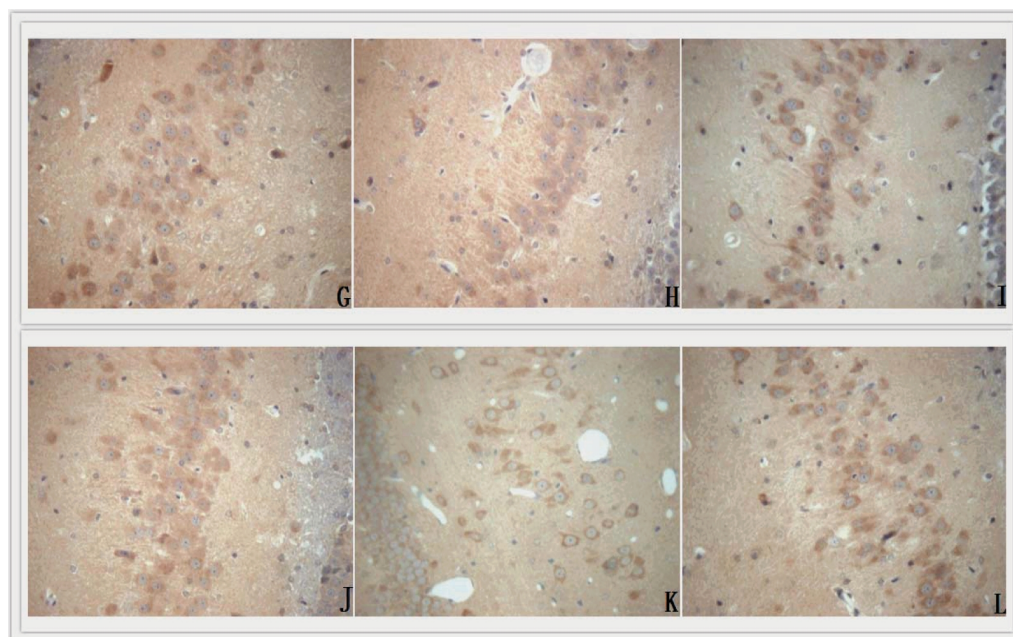


图 9 大鼠脑内酪氨酸羟化酶(TH)表达情况:G:正常组,H:抑郁组,I:盐水组,J:低剂量组,K:中剂量组,L:高剂量组

Fig.9 The Expression of TH in rat brain:G: Normal group, H: Depression group TH, I: Saline solution group, J: Low-dose group, K: Moderate-dose group, L: High-dose group

表 1 各组脑内酪氨酸羟化酶(TH)阳性细胞,吸光度的表达($\bar{x} \pm s$, n=10)

Table 1 The absorbance of the TH positive cells in the brain for each group

Group	n	Hypothalamic area	Hypothalamic density
Normal	10	2.40± 0.03	149.281± 14.256
Depression	10	2.36± 0.12 [▲]	120.587± 8.248 [▲]
Saline solution	10	2.41± 0.08 [▲]	122.954± 9.257 [▲]
Low-dose	10	2.38± 0.02	140.167± 10.951
Moderate-dose	10	2.40± 0.03	144.951± 11.354
High-dose	10	2.39± 0.02	148.985± 13.867

注: ▲与正常组比较 P<0.05, n=10 为视野数。

Note: compared with control group; ▲P<0.05.

2.8 大鼠脑内酪氨酸羟化酶表达(TH)

(TH)的阳性细胞主要表达在下丘脑的神经元细胞质中,表现为深棕色,胞浆表达,也有深棕色的纤维样表达,见图 G、J、K、L。抑郁组、盐水组下丘脑的(TH)阳性细胞表达减少,颜色变浅,阳性细胞面积、吸光度明显下降,见图 H、I。与正常组比较差异有统计学意义(P<0.05)。

3 讨论

本研究通过动物实验证实灵孢多糖能够通过提高大鼠脑内单胺类神经递质多巴胺、去甲肾上腺素、5-羟色胺含量,从而改善抑郁症状,达到辅助治疗抑郁症的疗效。动物实验首先通过体重变化及 open-field 评分、糖水消耗实验^[9]、游泳不动时间^[9]等行为学实验证实抑郁大鼠模型成功建立^[10]。接下来通过治疗组与模型组之间的数据比较,证实灵孢多糖可改善抑郁大鼠的活动度及对外界的需求、探知欲望,可改善大鼠的抑郁状态,可使大鼠幸福指数增加、增加大鼠在危险情况下的反抗及求生欲望,使绝望度明显降低。

在证实灵孢多糖治疗抑郁症有效性的基础上,本研究还就其作用机制做了初步探索。抑郁症的发病机制尚无定论,关于 5-HT^[11,12]、NE^[13]、DA^[14]、TH^[15]等经典的神经递质及其受体的研究最为深入。国外研究人员认为脑内单胺神经递质的浓度相对不足或绝对不足,是抑郁症发生的重要机理之一。国外研究发现,慢性应激刺激制作的抑郁大鼠模型脑内单胺类神经递质的 5-HT^[16,17]、NE^[18,19]、DA^[20,21]、TH^[22]含量较正常组大鼠明显降低^[23],应用灵孢多糖治疗后,可以增加大鼠脑内单胺类神经递质物质的含量,从而达到治疗抑郁症的目的,类似的实验结果还有很多,因此对抑郁状态的动物脑内单胺类神经递质的测定,也成为了选择抗抑郁药物的重要指标之一。

通过结果可以看出,与正常组比较,抑郁组大鼠脑内 5-HT、NE、DA 的含量明显降低,差异有显著性意义(P<0.05,见图 7),结果证实抑郁症发病的单胺类神经递质学说。与此同时研究发现应用灵孢多糖(低、中、高剂量)治疗 28 天后,治疗的抑郁大鼠脑内 5-HT、NE、DA 的含量较抑郁组明显增高,差异有显著性意义(P<0.05,见图 7),此结果证实灵孢多糖可以明显提高上述神经递质的含量,从而使大鼠的抑郁症状得到明显改善。而且,以灵孢多糖注射液高剂量治疗组 28 天后的抑郁症大鼠脑内 NE、DA、5-HT 的含量同正常组相比差异无显著性意

义(P>0.05,见图 7),该结果提示灵孢多糖注射液可有效纠正大鼠的抑郁状态,疗效显著。

上述实验方法证明了灵孢多糖辅助治疗抑郁症的作用,治疗效果显著。我们从动物实验数据中发现,虽然灵孢多糖对于辅助治疗抑郁症效果显著,但在治疗组上比较,低剂量灵孢多糖的效果不如高剂量灵孢多糖治疗效果理想,由此可见,在动物实验中灵孢多糖高剂量组治疗效果为最佳,给以后的实验研究带来方便。从而进一步证实灵孢多糖治疗神经症疗效的确切性,也对灵孢多糖辅助抗抑郁作用加以明确的阐述,为今后在治疗抑郁症上做出了新的探索及贡献。

参考文献(References)

- [1] 中华医学会精神科分会. 中国精神障碍分类与诊断标准 [M]. 济南: 山东科学技术出版社, 2001: 87-88
Chinese classification and diagnostic criteria for mental disorders. Psychiatric branch of Chinese medical association [M]. Jinan: Shandong science and technology press, 2001: 87-88
- [2] Thase ME. Treating major depression: antidepressant algorithms [J]. J Clin Psychiatry, 2009, 70(12): 46
- [3] Filakovic P, Petek A, Koic O, et al. Comorbidity of depressive and dermatologic disorders-therapeutic aspects [J]. Psychiatr Danub, 2009, 21(3): 401-410
- [4] Abramson L, Metalsky G, Alloy L. Hopelessness depression: a theory-based subtype of depression [J]. Psychological Review, 1989, 96(2): 358-372
- [5] Hales RE, Yudofsky SC, Gabbard GO. 精神病学教科书 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 290-332
Hales RE, Yudofsky SC, Gabbard GO. Psychiatry -5 [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2010: 290-332
- [6] Willner P, Towell A, Sampson D, et al. Reduction of sucrose preference by chronic mild stress and its restoration by a tricyclic antidepressant [J]. Psychopharmacology, 1987, 93(3): 358-364
- [7] Hennessy MB, Deak T, Sehlmeier PA. Stress-induced sickness behaviors: an alternative hypothesis for responses during maternal separation [J]. Dev Psychobiol, 2001, 39(2): 76-83
- [8] Benelli A, Filaferrero M, Bertolini A, et al. Influence of Sadenosyl-L-methionine on chronic mild stress-induced anhedonia in castrated rats [J]. Br J Pharmacol, 1999, 127(3): 645-654
- [9] Bourin M, Mocaër E, Porsolt R. Antidepressant-like activity of S 20098 (agomelatine) in the forced swimming test in rodents: involve-

- ment of melatonin and serotonin receptors [J]. *Rev Psychiatr Neurosci*, 2004, 29 (2): 126-133
- [10] Qi XL, Lin WJ, Li JF, et al. The depressive-like behaviors are correlated with decreased phosphorylation of mitogenactivated protein kinases in rat brain following chronic forced swimstress [J]. *Behav Brain Res*, 2006, 175 (2): 233-240
- [11] Berg KA, Harvey JA, Spampinato U, et al. Physiological and therapeutic relevance of constitutive activity of 5-HT 2A and 5-HT 2C receptors for the treatment of depression [J]. *Prog Brain Res*, 2008, 172(8): 287-305
- [12] Nishi K, Kanemaru K, Hasegawa S, et al. Both acute and chronic buspirone treatments have different effects on regional 5-HT synthesis in Flinders Sensitive Line rats (a rat model of depression) than in control rats [J]. *Neurochem Int*, 2009, 54(3-4): 205-214
- [13] Goodwin FK, Jamison KR. Manic-depressive illness [M]. New York: Oxford University press, 1990: 416-441
- [14] Jay TM, Rocher C, Hotte M, et al. Plasticity at hippocampal to prefrontal cortex synapses is impaired by loss of dopamine and stress: importance for psychiatric diseases [J]. *Neurosci Res*, 2004, 6(3): 233-244
- [15] 薛启冥. 神经系统的生理和病理化学 [M]. 北京: 科学出版社, 1992: 183-187
- Xue Qi-ming. The physiology and chemistry pathology of the nervous system [M]. Beijing: Science press, 1992: 183-187
- [16] Novati A, Roman V, Cetin T, et al. Chronically restricted sleep leads to depression-like changes in neurotransmitter receptor sensitivity and neuroendocrine stress reactivity in rats [J]. *Sleep*, 2008, 31(11): 1579
- [17] 陶明, 施慎逊, 顾牛范. 5-羟色胺受体的研究现状 [J]. *中华精神科杂志*, 1998, 31(3): 12
- Tao Ming, Shi Shen-xun, Gu Niu-fan. The research status of the 5-hydroxytryptamine receptor [J]. *Chinese Journal of Psychiatry*, 1998, 31(3): 12
- [18] Chen D B, Dai L X, Lai Y. Neural and endocrine mechanisms of depression induced by chronic stress [J]. *Journal of Chengdu Medical College*, 2007, 2(3-4): 212-215
- [19] Moret C, Briley M. The importance of norepinephrine in depression [J]. *Neuropsychiatr dis treat*, 2011, 7(11): 9-13
- [20] 姚芳传. 情感性精神障碍 [M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1998: 75
- Yao Fang-chuan. Mood disorders [M]. Changsha. Hunan Science and Technology Press, 1998: 75
- [21] Di Chiara G, Lodo P, Tanda G. Reciprocal changes in prefrontal and limbic dopamine responsiveness to adverse and rewarding stimuli after chronic mild stress: implications for the psychobiology of depression [J]. *Biol psychiatry*, 1999, 46(12): 1624-1633
- [22] Banmann B, Peter D, Silvia D, et al. Tyrosine hydroxylase immunoreactivity in the locus coeruleus reduced in depressed nonsuicidal patients but normal in depressed suicide patients [J]. *European Archives of Psychiatry and Clinical Neuroscience*, 1999, 249(4): 212-219
- [23] 张峰, 曹仲伟, 张学杰, 等. 柴胡对大鼠慢性应激抑郁模型脑单胺类神经递质及其代谢物含量的影响 [J]. *山东中医药大学学报*, 2005, 3(29): 224-226
- Zhang Feng, Cao Zhong-wei, Zhang Xue-jie, et al. The effects of Radix Bupleuri on the brain monoamine neurotransmitters and their metabolites for the chronic stress depression model of rat [J]. *Journal of Shandong university of traditional Chinese medicine*, 2005, 3(29): 224-226

(上接第 645 页)

- [17] Chuang C C, Chen C D, Chao K H, et al. Age is a better predictor of pregnancy potential than basal follicle-stimulating hormone levels in women undergoing in vitro fertilization [J]. *Fertil Steril*, 2003, 79(1): 63-80
- [18] Melo M, Busso CE, Bellver J, et al. GnRH agonist versus recombinant HCG in an oocyte donation programme: a randomized, prospective, controlled, assessor-blind study [J]. *Reprod Biomed Online*, 2009, 19 (4): 486-492
- [19] 丁海珍, 于宝生. 促性腺激素抑制激素与生殖轴的关系 [J]. *现代生物医学进展*, 2010, 10(23): 4598-4600, 4597
- Ding Hai-zhen, Yu Bao-sheng. Relationship between Gonadotropin-inhibitory Hormone and Hypothalamus-Pituitary-Gonadal Axis [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2010, 10(23): 4598-4600, 4597
- [20] 周立花, 李汶, 卢光琇. FSHR, LHR 基因突变与多态对女性生殖的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2010, 10(01): 186-189
- Zhou Li-hua, Li Wen, Lu Guang-xiu. The Influence of Gene Mutations and Polymorphism of FSHR and LHR to the Female Reproduction [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2010, 10(01): 186-189