

DOI:10.3969/j.issn.1000-9760.2018.03.003

拉莫三嗪抗抑郁作用及其机制研究*

林娜¹ 柳洋² 祁晖³ 周凤玲¹ 辛勤¹ 王海英^{1△}

(¹ 济宁医学院基础医学院, 济宁 272067; ² 青岛市第九人民医院, 青岛 266000;

³ 济宁医学院附属济宁市第一人民医院, 济宁 272011)

摘要 目的 探究拉莫三嗪抗抑郁作用及其机制。方法 分别向抑郁模型小鼠腹腔注射拉莫三嗪(7, 15, 30mg/kg)以及氟西汀(20mg/kg), 通过强迫游泳试验(FST)、悬尾实验(TST)以及旷场实验(OFT)观察拉莫三嗪的抗抑郁作用; 预先向抑郁模型小鼠腹腔注射 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)及 NMDA 受体拮抗剂 MK-801 (MK)、MgSO₄、氯胺酮再给予拉莫三嗪, 探究拉莫三嗪抗抑郁作用的机制。结果 拉莫三嗪具有抗抑郁作用, 且呈量效依赖关系; NMDA 能够抑制拉莫三嗪抗抑郁的作用; MK-801、氯胺酮、MgSO₄ 能够促进拉莫三嗪抗抑郁的作用。结论 拉莫三嗪可能是通过抑制 NMDA 受体作用发挥抗抑郁作用。

关键词 拉莫三嗪; N-甲基-D-天冬氨酸; 强迫游泳实验; 悬尾试验; 旷场实验

中图分类号: R964 文献标识码: A 文章编号: 1000-9760(2018)06-163-05

The effect of lamotrigine on anti-depressant of and its mechanism

LIN Na¹, LIU Yang², QI Hui³, ZHOU Fengling¹, XIN Qin¹, WANG Haiying¹

(¹ College of Basic Medicine, Jining Medical University, Jining 272067, China;

² Qingdao Ninth People's Hospital, Qingdao 266000, China;

³ Jining No1. People's Hospital & the Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining 272011, China)

Abstract: Objective To investigate the mechanism of anti-depression of lamotrigine and its mechanism. **Methods** Lamotrigine at 7, 15, 30 mg/kg and fluoxetine at 20 mg/kg were injected intraperitoneally into the mice. The antidepressant effect of lamotrigine was observed by the methods of forced swimming test (FST), tail suspension test (TST) and open field test (OFT). The mice pretreated with MK, NMDA, MgSO₄ and ketamine were given lamotrigine to explore the mechanism of Lamotrigine as an antidepressant. **Results** Lamotrigine had antidepressant effect which was dose-dependent. MK-801, ketamine and MgSO₄ were able to promote the antidepressant effect of lamotrigine, but NMDA were able to inhibit the antidepressant effect of lamotrigine. **Conclusion** The antidepressant effect of lamotrigine may be induced by inhibiting of NMDA receptor.

Keywords: Lamotrigine; NMDA; Forced swimming test; Tail suspension test; Open-field behavior test

双向情感障碍是一种常见的精神疾病, 全球约有 1% ~ 4% 的人患有双向情感障碍, 在治疗双向情感障碍过程中最主要的问题是抗抑郁药的使用。谷氨酸是一种兴奋性氨基酸, 参与调控抑郁的发生及发展^[1]。重度抑郁症患者的尸检结果表明, 死者的额叶皮质中谷氨酸水平增加^[2], 额叶皮质中 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体表达也产生不同

程度的改变^[3], 并且 NMDA 受体 NMDAR1 亚基在海马中的表达减少^[4]。给予 NMDA 受体拮抗剂氯胺酮能够明显缓解抑郁患者的抑郁情绪^[5], 说明 NMDA 受体参与抑郁的产生, 并且长期抗抑郁治疗能够改变机体 NMDA 受体功能^[1]。

拉莫三嗪具有明显的抗抑郁作用^[6-7], 但其机制尚未明确。本文将着重研究拉莫三嗪抗抑郁作用机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 动物

* [基金项目] 济宁医学院青年教师科研扶持基金项目 (JY2017KJ022); 济宁市科技发展计划项目 (2015-57-78)

△ [通信作者] 王海英, E-mail: 70669694@qq.com

雄性昆明抑郁模型小鼠,购自山东省鲁抗医药股份有限公司质检中心实验动物室,体重 20 ~ 30g,饲养于 21℃ ~ 23℃ 环境中,12h 循环光照,饮食自由。所有实验在 12:00 至 16:00 之间完成。

1.2 实验分组

实验分 3 部分进行。

第一部分:观察拉莫三嗪对抑郁模型小鼠的行为影响。随机选取 40 只抑郁模型小鼠分为 5 组($n=8$),分别向小鼠腹腔注射拉莫三嗪(7,15,30mg/kg)^[8]、生理盐水(7ml/kg)以及氟西汀(20mg/kg)。

第二部分:观察 NMDA 受体对拉莫三嗪抗抑郁作用的影响。随机选取 32 只抑郁模型小鼠分为 4 组($n=8$),1)腹腔注射生理盐水(7ml/kg)15min 后再腹腔注射生理盐水(7ml/kg);2)腹腔注射生理盐水(7ml/kg)15min 后再腹腔注射拉莫三嗪(30mg/kg);3)腹腔注射 NMDA(75m/kg)^[9]15min 后再腹腔注射生理盐水(7ml/kg);4)腹腔注射 NMDA(75m/kg)15min 后再腹腔注射拉莫三嗪(30mg/kg)。

第三部分:观察 NMDA 受体拮抗剂对拉莫三嗪抗抑郁作用的影响。随机选取 64 只抑郁模型小鼠分为 8 组($n=8$),1)腹腔注射生理盐水(7ml/kg)15min 后再腹腔注射生理盐水(7ml/kg);2)腹腔注射生理盐水(7ml/kg)15min 后再腹腔注射拉莫三嗪(7mg/kg);3)腹腔注射 MK-801(0.05m/kg)^[10]15min 后再腹腔注射生理盐水(7ml/kg);4)腹腔注射 MK-801(0.05m/kg)15min 后再腹腔注射拉莫三嗪(5mg/kg);5)腹腔注射氯胺酮(1mg/kg)^[10]15min 后再腹腔注射生理盐水(7ml/kg);6)腹腔注射氯胺酮(1mg/kg)15min 后再腹腔注射拉莫三嗪(7mg/kg);7)腹腔注射 $MgSO_4$ (10mg/kg)^[10]15min 后再腹腔注射生理盐水(7ml/kg);8)腹腔注射 $MgSO_4$ (10mg/kg)15min 后再腹腔注射拉莫三嗪(7mg/kg)。

以上各组均于完成注射 30min 后开始进行行为学实验。

1.3 方法

1.3.1 旷场实验(OFT) OFT 用于评估动物的运动行为^[11]。旷场由白色不透明有机玻璃制成(50cm×50cm×30cm),旷场底部均分为 12 等份。每次都将实验动物放置于旷场中心位置,小鼠 4 只爪子进入一格、2 只前爪腾空或攀附墙壁记录为运动 1 次。

1.3.2 强迫游泳实验(FST) 将动物放置于圆

柱形烧瓶(直径 10cm,高 25cm)中,向烧瓶中充以(24±1)℃的温水,水深 19cm。FST 通过动物静止时间的改变评估药物的抗抑郁作用^[12],FST 能够反映受试动物的无助状态^[12]。静止是指动物不挣扎,躯体漂浮不扭曲。记录小鼠 6 min 内静止潜伏期及之后 4min 内静止持续时间。

1.3.3 悬尾实验(TST) 小鼠尾尖部 1/3 处通过不粘胶固定于 50cm 高金属杆一端,使用摄像系统记录小鼠 6min 内静止潜伏期及之后 4min 内静止持续时间。静止是指动物不挣扎,躯体悬挂不扭曲^[12]。

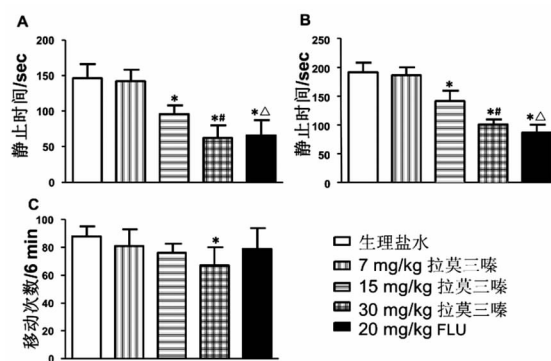
1.4 统计学方法

数据用 SPSS 22.0 统计软件进行分析。计量单位以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,进一步两两比较采用 Dunnett-t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 拉莫三嗪对抑郁型小鼠行为的影响

与生理盐水组相比,拉莫三嗪(15、30mg/kg)组小鼠在 FST(图 1A)和 TST(图 1B)实验中静止时间均减少且呈量效依赖关系($P < 0.05$),表现出与 20 mg/kg 氟西汀组小鼠相似的静止时间减少(图 1A、B)。但在 OFT 实验中,仅 30 mg/kg 拉莫三嗪组小鼠运动次数减少($P < 0.05$,图 1C),其余各组差异均无统计学意义($P > 0.05$,图 1C)。



注:A,FST;B,TST;C,OFT;

与 7mg/Kg 拉莫三嗪组相比,* $P < 0.05$;

与 15mg/Kg 拉莫三嗪组相比,# $P < 0.05$;

与 30mg/Kg 拉莫三嗪组相比,Δ $P > 0.05$

图 1 拉莫三嗪对抑郁型小鼠行为的影响

2.2 NMDA 受体对拉莫三嗪抗抑郁作用的影响

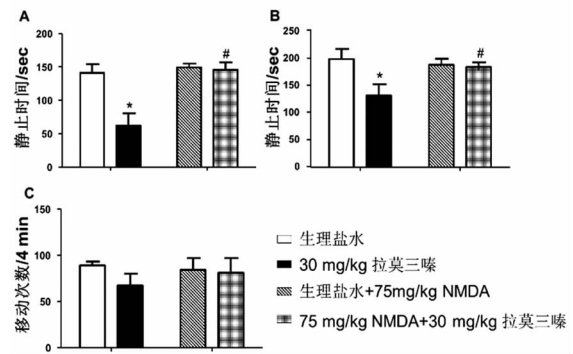
与生理盐水/生理盐水组相比,生理盐水/拉莫三嗪组小鼠在 FST(图 2A)和 TST(图 2B)实验中

静止时间明显减少($P < 0.05$),但在 OFT 实验中,小鼠运动的差异无统计学意义($P > 0.05$,图 2C)。

与生理盐水/拉莫三嗪组相比,NMDA/拉莫三嗪组小鼠在 FST(图 2A)和 TST(图 2B)实验中静止时间明显增高($P < 0.05$),但在 OFT 实验中,小鼠运动的差异无统计学意义($P > 0.05$,图 2C)。

2.3 NMDA 受体拮抗剂对拉莫三嗪抗抑郁作用的影响

与生理盐水/拉莫三嗪组相比,MK/拉莫三嗪组、氯胺酮/拉莫三嗪组以及 $MgSO_4$ /拉莫三嗪组小鼠在 FST(图 3 A,D,G)和 TST(图 3 B,E,H)实验中静止时间明显减少($P < 0.05$),但在 OFT 实验中,小鼠运动的差异无统计学意义($P > 0.05$,图 3 C,F,I)。

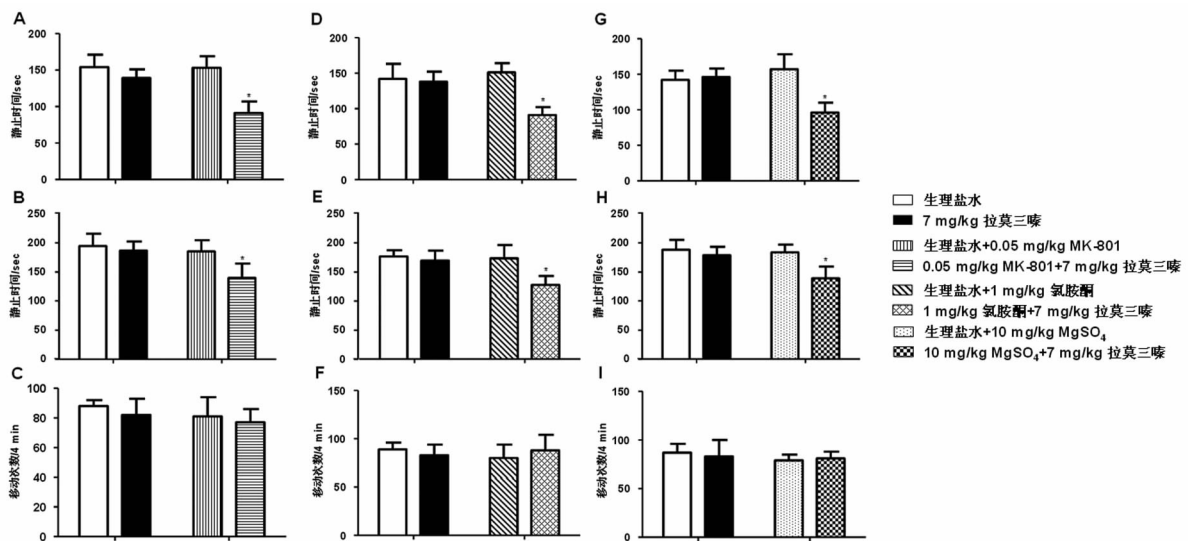


注:A,FST;B,TST;C,OFT

与生理盐水组相比; * $P < 0.05$

与生理盐水/拉莫三嗪组相比; # $P > 0.05$

图 2 NMDA 对拉莫三嗪抗抑郁作用的影响



注:A,D,G:FST;B,E,H:TST;C,F,I:OFT;与生理盐水/拉莫三嗪组相比, * $P < 0.05$

图 3 NMDA 受体拮抗剂对拉莫三嗪抗抑郁作用的影响

3 讨论

在治疗双向情感障碍过程中最主要的问题是抗抑郁药的使用,尤其是三环抗抑郁药,这些抗抑郁药能够增加躁狂的发作^[13]。因此,如何稳定在治疗双向情感障碍中出现的情绪就成为研究的热点。拉莫三嗪不但能够治疗多种类型的癫痫还能够有效缓解双向情感障碍患者的重度抑郁,并且与其他一些抗抑郁药物相比,使用拉莫三嗪的抑郁症患者较少表现出躁狂^[14]。但是到目前为止,拉莫三嗪抗抑郁的确切机制尚未明确。目前已经有大量研究证实,NMDA 受体参与抑郁症的发生发展。有研究发现,封闭 NMDA 受体后能够产生抗抑郁

样反应^[1],抗抑郁类药物能够明显抑制 NMDA 受体的活化,抑制 NMDA 受体功能并且抑制 NMDA 受体的结合能力以及表达^[1]。为了探究拉莫三嗪抗抑郁作用是否与 NMDA 受体有关,故在本文中使用了 NMDA 受体激动剂以及多种拮抗剂,用于探究 NMDA 受体在拉莫三嗪抗抑郁效果中的作用。

FST 以及 TST 是常用的评估药物抗抑郁作用的实验^[11-12],抗抑郁药物能够明显减少动物在 FST 以及 TST 中的静止时间。本文结果显示低剂量拉莫三嗪(7mg/kg)不能减少动物在 FST 以及 TST 中的静止时间,而中剂量(15mg/kg)以及高剂量拉莫三嗪(30mg/kg)能够减少动物的静止时间,表明拉

莫三嗪的抗抑郁效应具有剂量依赖性。虽然在研究中发现大剂量的拉莫三嗪 (30mg/kg) 能够明显降低小鼠在 FST 以及 TST 中的静止时间,但是有研究表明大剂量的拉莫三嗪能够影响啮齿类动物的运动活性^[6-7],推测高剂量的拉莫三嗪产生的抗抑郁作用是通过镇静作用产生的。

NMDA 受体是谷氨酸受体的一种亚型,研究表明 NMDA 受体有多个独立受点,位于受体表面的甘氨酸受点以及锌离子受点,还有位于离子通道内的镁离子受点以及苯环哌啶 (PCP) 受点,药物可以直接作用于这些受点从而会影响 NMDA 受体的功能^[10]。MgSO₄、氯胺酮以及 MK-801 均为非竞争性 NMDA 受体拮抗剂^[10]。镁离子在低于正常细胞外液浓度时就能选择性地阻断 NMDA 受体,这种作用是电位依赖性的,当膜处于更负电位时,其阻断受体的作用最强,作用出现快,是非竞争性的。氯胺酮能够通过 PCP 受点非竞争性阻断 NMDA 受体,并且大剂量的 NMDA 以及谷氨酸均不能翻转其作用。MK-801 可以非竞争性特异性拮抗 NMDA 受体作用,减少谷氨酸的毒性。虽然拉莫三嗪抗抑郁作用主要是通过阻断神经元表面的电压依赖性钠通道,但是拉莫三嗪的抗谷氨酸作用也能够产生一定的抗抑郁效应^[15]。同样,拉莫三嗪也能够阻断神经元表面的电压依赖性钙通道^[15]。拉莫三嗪除了能够阻断神经元表面的电压依赖性钙通道以及钠通道以外,还能够抑制谷氨酸的释放,进一步增强拉莫三嗪对神经元表面电压依赖性钙通道以及钠通道的抑制作用^[15]。本文发现 NMDA 受体兴奋剂 NMDA 能够扭转高剂量 (30mg/kg) 拉莫三嗪的抗抑郁作用,而 NMDA 受体拮抗剂能够增强拉莫三嗪的抗抑郁作用使原本无抗抑郁作用的低剂量 (7mg/kg) 拉莫三嗪产生抗抑郁效应,表明拉莫三嗪可能通过 NMDA 受体发挥抗抑郁作用。这与先前关于 NMDA 受体拮抗剂参与药物抗抑郁过程的研究相一致^[1]。

综上所述,本文证实拉莫三嗪能够产生抗抑郁效应,并且 NMDA 受体参与这一过程。这一发现不但能够进一步探究抗抑郁药物的作用机制,还为抑郁症的治疗提供了新的策略。

参考文献:

- [1] Sanacora G, Zarate CA, Krystal JH, et al. Targeting the glutamatergic system to develop novel, improved therapeutics for mood disorders [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2008, 7(5):426-437. DOI:10.1038/nrd2462.
- [2] Hashimoto K, Sawa A, Iyo M. Increased levels of glutamate in brains from patients with mood disorders [J]. *Biol Psychiatry*, 2007, 62(11):1310-1316. DOI:10.1016/j.biopsych.2007.03.017.
- [3] Volke V, Wegener G, Bourin M, et al. Antidepressant and anxiolytic-like effects of selective neuronal NOS inhibitor 1-(2-trifluoromethylphenyl)-imidazole in mice [J]. *Behav Brain Res*, 2003, 140(1-2):141-147. DOI:10.1016/S0166-4328(02)00312-1.
- [4] Harkin A, Connor TJ, Burns MP, et al. Nitric oxide synthase inhibitors augment the effects of serotonin re-uptake inhibitors in the forced swimming test [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2004, 14(4):274-281. DOI:10.1016/j.euroneuro.2003.08.010.
- [5] Zarate CA Jr, Singh JB, Carlson PJ, et al. A randomized trial of an N-methyl-D-aspartate antagonist in treatment-resistant major depression [J]. *Arch Gen Psychiatry*, 2006, 63(8):856-864. DOI:10.1001/archpsyc.63.8.856.
- [6] Bourin M, Prica C. The role of mood stabilisers in the treatment of the depressive facet of bipolar disorders [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2007, 31(6):963-975. DOI:10.1016/j.neubiorev.2007.03.001.
- [7] Consoni FT, Vital MA, Andreatini R. Dual monoamine modulation for the antidepressant-like effect of lamotrigine in the modified forced swimming test [J]. *Eur Neuropsychopharmacol*, 2006, 16(6):451-458. DOI:10.1016/j.euroneuro.2006.01.003.
- [8] Haj-Mirzaian A, Kordjazy N, Ostadhadi S, et al. Fluoxetine reverses the behavioral despair induced by neurogenic stress in mice: role of N-methyl-d-aspartate and opioid receptors [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2016, 94(6):599-612. DOI:10.1139/cjpp-2015-0429.
- [9] Ostadhadi S, Khan MI, Norouzi-Javidan A, et al. Involvement of nMDA receptors and L-arginine/nitric oxide/cyclic guanosine monophosphate pathway in the antidepressant-like effects of topiramate in mice forced swimming test [J]. *Brain Res Bull*, 2016, 122:62-70. DOI:10.1016/j.brainresbull.2016.03.004.
- [10] Haj-Mirzaian A, Kordjazy N, Haj-Mirzaian A, et al. Evidence for the involvement of nMDA receptors in the antidepressant-like effect of nicotine in mouse forced swimming and tail suspension tests [J]. *Psychopharmacology (Berl)*, 2015, 232(19):3551-3561. DOI:10.1007/s00213-015-4004-0.

(下转第 170 页)

森病 PD 较为相似的症状,较好地模拟临床上 PD 发病慢、进行性发展的特点^[10]。因此,被国内外学者广泛应用于制备帕金森病动物模型。

鱼藤酮见光易分解。因此,本实验操作中需尽量避光操作,也有学者尝试将其制备成为纳米脂质体和包合物来提高其稳定性,降低毒性并减小个体差异。本文成功制备了鱼藤酮微球,并将其进行了 PD 大鼠造模的初步研究。研究表明鱼藤酮微球用于 PD 大鼠造模可以降低给药频率,减小动物死亡率,造模动物出现了 PD 大鼠的行为学典型特征。但系统的病理学以及药物代谢动力学实验还有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 苏娜,吴斌,徐琰.司来吉兰治疗帕金森病的有效性与安全性的系统评价[J].中国医院药学杂志,2014,34(14):1206-1212. DOI:10.13286/j.cnki.chinhosp-pharmacyj.2014.14.17.
- [2] 李子悦,尤浩军,孙志宏.环境和遗传因素在帕金森病中的作用[J].延安大学学报:医学科学版,2017,15(1):70-72. DOI:10.3969/j.issn.1672-2639.2017.01.024.
- [3] Ranjita B, Sherer TB, Gillian MK, et al. Chronic systemic pesticide exposure reproduces features of Parkinson's disease[J]. Nat Neurosci, 2015, 3(12):1301-1306. DOI:10.1038/81834.
- [4] Sherer TB, Kim JH, Betarbet R, et al. Subcutaneous ro-

tenone exposure causes highly selective dopaminergic degeneration and a Synuclein aggregation[J]. Exp Neurol, 2003, 179(1):9-16. DOI:10.1006/exnr.2002.8072.

- [5] 张玉梅.长期低剂量皮下注射鱼藤酮制备多巴胺神经元损伤模型及其机制研究[D].大连:大连医科大学,2009.
- [6] 马宝仓,陈忻.鱼藤酮帕金森病动物模型及毒性机制研究进展[J].中药药理与临床,2013,29(1):164-169. DOI:10.13412/j.cnki.zyyl.2013.01.058.
- [7] 周雪,薛雨晨,贺智勇,等.阿司匹林 PEG-PLGA 缓释微球的制备以及体外释药的考察[J].中国医院药学杂志,2014,34(22):1889-1893. DOI:10.13286/j.cnki.chinhosp-pharmacyj.2014.22.03.
- [8] 甘晶瑶,梁荣才,刘沙,等. Notel 长效微球制剂的制备和评价[J].中国医院药学杂志,2016,36(14):1185-1189. DOI:10.13286/j.cnki.chinhosp-pharmacyj.2016.14.09.
- [9] 陈忻,张楠,赵辉,等.鱼藤酮致帕金森病大鼠行为学与黑质病理损伤的关系[J].中国神经精神疾病杂志,2008,34(4):232-234. DOI:10.3969/j.issn.1002-0152.2008.04.011.
- [10] 李亚南,毛全高.鱼藤酮纳米脂质载体及其修饰物在大鼠体内的分布[J].江苏大学学报(医学版),2016,26(4):346-351. DOI:10.13312/j.issn.1671-7783.y160102.

(收稿日期 2017-10-13)

(本文编辑:石俊强)

(上接第 166 页)

- [11] Kordjazy N, Haj-Mirzaian A, Amiri S, et al. Involvement of N-methyl-D-aspartate receptors in the antidepressant-like effect of 5-hydroxytryptamine 3 antagonists in mouse forced swimming test and tail suspension test[J]. Pharmacol Biochem Behav, 2016, 141:1-9. DOI:10.1016/j.pbb.2015.11.009.
- [12] Kordjazy N, Haj-Mirzaian A, Amiri S, et al. Elevated level of nitric oxide mediates the anti-depressant effect of rubidium chloride in mice[J]. Eur J Pharmacol, 2015, 762:411-418. DOI:10.1016/j.ejphar.2015.06.030.
- [13] Gould TD, Einat H. Animal models of bipolar disorder and mood stabilizer efficacy: a critical need for improve-

ment[J]. Neurosci Biobehav Rev. 2007;31(6):825-831.

- [14] Goldberg JF, Truman CJ. Antidepressant-induced mania: an overview of current controversies[J]. Bipolar Disord, 2003, 5(6):407-420. DOI:10.1016/j.neubiorev.2007.05.007.
- [15] Ghasemi M, Montaser-Kouhsari L, Shafaroodi H, et al. nMDA receptor/nitric system blockage augments antidepressant-like effects of paroxetine in the mouse forced swimming test[J]. Psychopharmacology (Berl), 2009, 206(2):325-333. DOI:10.1007/s00213-009-1609-1.

(收稿日期 2018-02-10)

(本文编辑:石俊强)