杜仲改善大鼠产后抑郁的作用机制研究Δ

李玉洁[1*]，陈文静[1]，张　岚[2]，吴英真[1]，许永杰[2]，王小兰[3]，侯俊林[2]，杨丽萍[2#]（1.河南中医药大学医学院，郑州　450046；2.河南中医药大学中医学院，郑州　450046；3.河南中医药大学中医科学院，郑州　450046）

中图分类号　R965；R285.5　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）11-1303-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.11.04

摘　要　目的　探讨杜仲改善大鼠产后抑郁的作用机制。**方法**　受孕雌鼠随机分为正常组、产后抑郁组和杜仲低、高剂量组（1.34、2.68 g/kg，以生药计），每组10只。除正常组外其余各组大鼠运用孕期旁观电击法建立产后抑郁大鼠模型；造模的同时，给药组大鼠灌胃相应药物，正常组及产后抑郁组大鼠灌胃生理盐水，持续21 d。观察各组大鼠实验期间的一般情况，通过旷场实验、Morris水迷宫实验和糖水偏好实验进行行为学评价，检测各组大鼠血清中皮质酮（CORT）、下丘脑中促肾上腺皮质激素释放因子（CRF）和尿皮质素（UCN）、垂体中促肾上腺皮质激素（ACTH）水平，以及海马组织中CRF受体1（CRFR1）、CRFR2及电压依赖性阴离子通道1（VDAC1）蛋白表达水平，海马组织凋亡细胞比例及JC-1高电位细胞比例，并观察海马组织形态。**结果**　与产后抑郁组比较，杜仲高剂量组大鼠食欲、精神、毛色均有所改善，体重有所增加；垂直运动、水平运动、自我梳理得分均显著升高（$P<0.05$）；第2～4天逃避潜伏期均显著缩短；穿越平台次数显著增加，每次穿越时间显著延长（$P<0.05$）；孕20 d及产后30 d糖水消耗比率显著升高（$P<0.05$）；CRF、UCN、ACTH、CORT水平，噬仔率，CRFR2、VDAC1蛋白表达水平，海马组织凋亡细胞比例均显著降低（$P<0.05$）；JC-1高电位细胞比例显著升高（$P<0.05$）；神经元细胞周围水肿现象明显改善。**结论**　杜仲可能通过抑制下丘脑-垂体-肾上腺轴的过度激活，降低CRFR2的表达水平，进而抑制VDAC1的表达，并减少神经元细胞的凋亡，从而改善产后抑郁症状。

关键词　杜仲；产后抑郁；下丘脑-垂体-肾上腺轴；促肾上腺皮质激素释放因子受体；电压依赖性阴离子通道1；神经元细胞

Regulatory effect mechanism of *Eucommia ulmoides* on postpartum depression in rats

LI Yujie[1], CHEN Wenjing[1], ZHANG Lan[2], WU Yingzhen[1], XU Yongjie[2], WANG Xiaolan[3], HOU Junlin[2], YANG Liping[2]（1. School of Medical Medicine, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 2. School of Traditional Chinese Medicine, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China; 3. Academy of Chinese Medical Sciences, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To explore the effect mechanism of *Eucommia ulmoides* on improving postpartum depression in rats. **METHODS** Pregnant rats were randomly divided into normal group, postpartum depression group, and low-dose and high-dose groups of *E. ulmoides* (1.34, 2.68 g/kg, calculated by crude drug), with 10 rats in each group. Except for the normal group, the rats in other groups suffered from fear stress to induce postpartum depression model during pregnancy; at the same time of modeling, the administration groups were given relevant medicine intragastrically, while the normal group and postpartum depression group were given physiological saline intragastrically for 21 days. Postpartum behaviors of rats during the experiment were assessed using the open field test, Morris water maze test and sucrose preference test. Additionally, the levels of corticosterone (CORT) in serum, corticotropin releasing factor (CRF) and urocortin (UCN) in hypothalamus, and adrenocorticotropic hormone (ACTH) in hypophysis were detected; meanwhile, the protein expressions of CRF receptor 1 (CRFR1), CRFR2, and voltage-dependent anion channel 1 (VDAC1) in hippocampal tissue were measured; the proportions of apoptotic cells and JC-1 high potential cells in hippocampal tissue were determined, and the morphology of hippocampal tissue was observed. **RESULTS** Compared with postpartum depression group, the high-dose group of *E. ulmoides* showed improvements in appetite, mental state, and hair color in rats; their body weight had increased; the scores of vertical movement, horizontal movement and self-sorting significantly increased; from the 2ed to 4th day avoidance latency significantly shortened, and the times of crossing the platform and the time of crossing the platform significantly increased/prolonged ($P<0.05$); the ratio of glucose and water consumption significantly increased at 20 days of pregnancy and 30 days postpartum ($P<0.05$); the levels of CRF, UCN, ACTH and CORT, phagocytic rate,

Δ**基金项目** 国家自然科学基金青年基金项目（No.82204789）

＊**第一作者** 副教授，硕士。研究方向：孕期应激致胎损的机制及防治措施。E-mail：lyj_happy@hactcm.edu.cn

＃**通信作者** 教授，博士生导师，博士。研究方向：孕期应激致胎损的机制及防治措施。E-mail：bioylp@126.com

protein expressions of CRFR2 and VDAC1, and the proportion of apoptosis cells in hippocampal tissue were decreased significantly ($P<0.05$); the proportion of JC-1 high potential cells significantly increased ($P<0.05$), and the phenomenon of edema around neuronal cells was significantly improved. **CONCLUSIONS** *E. ulmoides* can improve postpartum depression by inhibiting excessive activation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis, decreasing the expression of CRFR2, thereby inhibiting the expression of VDAC1, and decreasing the apoptosis of neuronal cells.

KEYWORDS *Eucommia ulmoides*; postpartum depression; HPA axis; corticotropin releasing factor receptor; voltage-dependent anion channel 1; neuronal cell

产后抑郁是比较常见的分娩并发症，往往在产后2周内出现症状，主要表现为持续的情绪低落，并伴随乏力、睡眠障碍、悲观情绪等，严重者甚至有自杀和杀婴的倾向[1]。产后抑郁对母体有严重的负面影响，据报道，因产后抑郁导致的自杀约占产后死亡的20%[2]。产后抑郁不仅会影响母体的身心健康，同时也会对婴幼儿的生长发育产生不良影响。治疗产后抑郁的一线药物主要为选择性血清素再摄取抑制剂类药物，其进入乳汁较少，但容易出现母体耐药，一旦耐药则需使用三线抗抑郁药物（主要为血清素-去甲肾上腺素再摄取抑制剂）进行治疗，但该类药物（如安非他酮）易诱发婴儿癫痫[3]。因此，有必要探明产后抑郁的发生机制，开发更有效且副作用小的治疗药物。

传统中医认为产后抑郁多为产后烦闷、虚烦所致，病因多归为气虚、血虚、血瘀，多采用益气养血、健脾疏肝，佐以益肾、祛瘀化湿之法进行辨证论治[4]。杜仲属于经典的补益类中药，具有补肝肾、强筋骨和安胎的功效。已有报道，杜仲可以改善小鼠的抑郁样行为[5—6]，但其作用机制尚不明确。

下丘脑-垂体-肾上腺（hypothalamic-pituitary-adrenal，HPA）轴是机体重要的神经内分泌轴，也是目前公认的应激反应调控轴[7]。已有研究证实，产后抑郁与HPA轴功能紊乱密切相关，主要表现为促肾上腺皮质激素释放激素（corticotropin releasing hormone，CRH）[在啮齿类动物体内为促肾上腺皮质激素释放因子（corticotropin releasing factor，CRF）]、促肾上腺皮质激素（adrenocorticotropic hormone，ACTH）、皮质醇（cortisol，COR）[在啮齿类动物体内为皮质酮（corticosterone，CORT）]等分泌显著升高[7—8]。本研究通过建立产后抑郁大鼠模型，探讨杜仲对产后抑郁的防治作用及机制，旨在为产后抑郁的治疗提供参考。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括Morris水迷宫恒温游泳池（淮北正华生物仪器设备有限公司），RT-6100型酶标仪（美国Rayto公司），Legend Micro 21R型台式高速冷冻离心机、NanoDrop Lite型分光光度计（美国Thermo Fisher Scientific公司），Accuri™ C6 Plus型流式细胞分析仪（美国BD公司），Eclipse E100型正置光学显微镜（日本Nikon公司）等。

1.2 主要药品与试剂

杜仲饮片购自北京同仁堂股份有限公司，经河南中医药大学药学院谢小龙副教授鉴定为真品。大鼠CORT、尿皮质素（urocortin，UCN）、CRF、ACTH酶联免疫吸附试验（ELISA）试剂盒（批号均为202304）均购自江苏酶免实业有限公司；兔抗鼠CRF受体1（CRF receptor 1，CRFR1）、CRFR2、电压依赖性阴离子通道1（voltage-dependent anion channel 1，VDAC1）多克隆抗体（批号分别为AC240110087、AC240110088、AC240110009）均购自武汉塞维尔生物科技有限公司；兔抗鼠α-微管蛋白（α-tubulin）多克隆抗体（批号10028551）购自武汉三鹰生物技术有限公司；辣根过氧化物酶标记的羊抗兔IgG二抗（批号BST18F26C18G54）购自武汉博士德生物工程有限公司；Annexin Ⅴ-FITC/PI细胞凋亡试剂盒、JC-1线粒体膜电位试剂盒（货号分别为E-CK-A211、E-CK-A301）均购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司。

1.3 实验动物

SD大鼠，SPF级，80日龄，体重（180±20）g，雌鼠50只，雄鼠25只，购自北京维通利华实验动物技术有限公司，生产许可证号为SCXK（京）2021-0006。动物实验在河南中医药大学实验动物伦理委员会监督下完成，实验动物伦理审查批准编号为DWLLGZR202202061。大鼠饲养条件如下：雌雄分笼饲养，昼夜循环比为12 h∶12 h，温度20 ℃左右，相对湿度50%左右。

2 方法

2.1 实验药物的制备与储存

取杜仲60 g，加水600 mL，浸泡30 min，以武火煮沸后，调至文火煎煮30 min，以纱布过滤；残渣再次加水450 mL，煎煮30 min，过滤；合并滤液，低温减压浓缩至420 mL，按生药计算浓度为14.29%，4 ℃储存备用。

2.2 动物分组、造模与给药

大鼠适应性饲养7 d后，统一进行糖水偏好实验，运用箱线图法评价动物的个体差异，结果显示所有动物均可纳入实验。糖水偏好实验结束后，按雌雄大鼠数量2∶1

的比例进行合笼，持续饲养3 d（受孕比例约为80%），采用阴栓或阴道涂片查精子法确定雌鼠是否受孕，记录受孕时间。受孕雌鼠按随机数字表法分组，分别为正常组、产后抑郁组和杜仲低、高剂量组（1.34、2.68 g/kg，以生药计相当于临床人用剂量的6.25、12.5倍），每组10只。产后抑郁组及杜仲各剂量组采用孕期旁观电击法，在造模过程中使孕鼠旁观其它鼠被电击过程，使孕鼠身处相似环境，通过视觉、听觉及嗅觉感受恐惧信息，诱导产后抑郁大鼠模型[9]。造模的同时，杜仲低、高剂量组大鼠每日按相应剂量灌胃杜仲水煎液，正常组及产后抑郁组大鼠每日灌胃生理盐水，给药体积均为4 mL，持续21 d。

2.3 大鼠产后抑郁行为评价

按文献方法[10]对各组大鼠进行抑郁行为评价。

2.3.1 一般情况

实验期间，记录各组大鼠的一般情况，主要包括体重、毛色、饮食情况、精神状况等。

2.3.2 行为学

（1）旷场实验：于大鼠产后29～35 d进行实验，记录大鼠垂直运动、水平运动、自我梳理得分。评分标准为：大鼠2只前爪不触碰箱壁站立为垂直运动，记1分；大鼠4只爪子进入方格为水平运动，记1分；大鼠完整梳毛1次为自我梳理，记1分。

（2）Morris水迷宫实验：于大鼠产后31～35 d进行实验，包含定位巡航实验（产后31～34 d）和空间搜索实验（产后35 d）。定位巡航实验是记录大鼠4 d内每天的逃避潜伏期；空间搜索实验是记录大鼠90 s内穿越平台的次数和每次穿越时间。

（3）糖水偏好实验：分别于孕前、孕20 d和产后30 d进行实验，计算并记录大鼠的糖水消耗比率。糖水消耗比率（%）=蔗糖消耗量/（蔗糖消耗量+自来水消耗量）×100%。

2.4 大鼠HPA轴激活水平评价和噬仔率计算

为保证大鼠正常产仔养仔，本研究仅于大鼠孕20 d时通过尾静脉取血，分离血清，按试剂盒说明书方法操作，检测各组大鼠血清中CORT水平。于产后35 d，仔鼠断奶后，取各组大鼠脑及血清，分别按试剂盒说明书方法操作，检测下丘脑中CRF、UCN水平，垂体中ACTH水平，以及血清中CORT水平；计算大鼠噬仔率，噬仔率（%）=噬仔只数/仔鼠总数×100%。

2.5 大鼠海马组织中CRFR1、CRFR2和VDAC1蛋白表达水平检测

采用Western blot法检测。分离各组大鼠海马组织，裂解、离心后，取上清液，检测蛋白浓度；再以金属浴变性，电泳，转膜，脱脂牛奶封闭2 h，加入CRFR1、CRFR2、VDAC1、α-tubulin一抗（稀释度分别为1∶2 000、1∶2 000、1∶2 000、1∶3 000），4 ℃孵育过夜；次日用TBST缓冲液洗涤后，加入二抗（稀释度为1∶20 000），室温孵育1 h；然后用TBST缓冲液洗涤后，使用ECL化学发光显影液显影。采用Image J软件分析，以目的蛋白与内参蛋白（α-tubulin）的灰度值比值评价目的蛋白的表达水平。

2.6 大鼠海马组织中细胞凋亡情况检测

取各组大鼠海马组织，制备成单细胞悬液，分别按照试剂盒说明书方法操作，采用流式细胞仪检测海马组织中凋亡细胞比例和JC-1高电位细胞（正常细胞）比例。

2.7 大鼠海马组织形态观察

取各组大鼠海马组织，用4%的多聚甲醛固定后，常温保存，常规脱水、包埋、切片、苏木精-伊红（HE）染色，在显微镜下观察海马组织形态变化。

2.8 统计学方法

采用SPSS 17.0软件进行统计分析。计数资料用率（%）表示，采用χ^2检验。计量资料以$\bar{x}\pm s$表示，多组间比较采用单因素方差分析，组间方差齐性的两两比较采用LSD-t检验，组间方差不齐的两两比较采用Tamhane's检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 大鼠一般情况比较

实验期间，与正常组比较，产后抑郁组大鼠表现出食欲不振、体重减轻、精神萎靡、毛色暗淡无光等症状；与产后抑郁组比较，杜仲低、高剂量组大鼠食欲、精神、毛色均有所改善，体重有所增加。

3.2 大鼠行为学比较

3.2.1 旷场实验结果

与正常组比较，产后抑郁组大鼠垂直运动、水平运动及自我梳理得分均显著降低（$P<0.05$）；与产后抑郁组比较，杜仲低、高剂量组大鼠垂直运动、水平运动及自我梳理得分均显著升高（$P<0.05$），结果见表1。

表1 杜仲对产后抑郁大鼠旷场实验的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=10$，分）

组别	垂直运动得分	水平运动得分	自我梳理得分
正常组	27.60±4.16	6.25±2.22	3.80±0.94
产后抑郁组	2.17±0.98[a]	1.50±0.55[a]	2.80±0.79[a]
杜仲低剂量组	5.93±1.00[b]	4.11±1.05[b]	4.50±1.17[b]
杜仲高剂量组	8.00±2.16[b]	7.25±1.71[b]	3.11±0.93[b]

a：与正常组比较，$P<0.05$；b：与产后抑郁组比较，$P<0.05$。

3.2.2 Morris水迷宫实验结果

在定位巡航实验中，随着训练次数的增多，正常组大鼠逃避潜伏期表现出缩短的趋势；产后抑郁组大鼠的逃避潜伏期无缩短趋势。与正常组比较，产后抑郁组大鼠第2～4天的逃避潜伏期均显著延长（$P<0.05$）；与产

后抑郁组比较，杜仲低、高剂量组大鼠第2～4天的逃避潜伏期均显著缩短（$P<0.05$），结果见表2。

表2　杜仲对产后抑郁大鼠定位巡航实验逃避潜伏期的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=10$，s）

组别	第1天	第2天	第3天	第4天
正常组	51.76±31.29	19.63±5.43	16.07±7.91	17.65±6.96
产后抑郁组	39.86±31.27	35.77±10.17[a]	49.14±8.56[a]	44.80±7.07[a]
杜仲低剂量组	37.05±25.11	22.30±4.31[b]	18.79±8.15[b]	19.78±8.91[b]
杜仲高剂量组	39.47±32.00	22.84±5.39[b]	19.20±6.17[b]	12.60±4.20[b]

a：与正常组比较，$P<0.05$；b：与产后抑郁组比较，$P<0.05$。

在空间搜索实验中，与正常组比较，产后抑郁组大鼠的穿越平台次数显著减少（$P<0.05$），每次穿越时间显著缩短（$P<0.05$）；与产后抑郁组比较，杜仲低、高剂量组大鼠的穿越平台次数均有所增加，每次穿越时间均有所延长，其中杜仲高剂量组的差异有统计学意义（$P<0.05$）。结果见表3。

表3　杜仲对产后抑郁大鼠空间搜索实验指标的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	穿越平台次数/次	每次穿越时间/s
正常组	4.60±1.67	2.02±0.47
产后抑郁组	1.25±0.50[a]	0.56±0.05[a]
杜仲低剂量组	3.50±1.29	1.18±0.28
杜仲高剂量组	5.20±2.17[b]	2.06±1.07[b]

a：与正常组比较，$P<0.05$；b：与产后抑郁组比较，$P<0.05$。

3.2.3　糖水偏好实验结果

与正常组比较，产后抑郁组大鼠孕20 d和产后30 d的糖水消耗比率均显著降低（$P<0.05$）；与产后抑郁组比较，杜仲低、高剂量组大鼠孕20 d和产后30 d的糖水消耗比率均有所升高，其中杜仲高剂量组的差异有统计学意义（$P<0.05$）。结果见表4。

表4　杜仲对产后抑郁大鼠糖水偏好实验糖水消耗比率的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=10$，%）

组别	孕前	孕20 d	产后30 d
正常组	80.44±11.58	84.49±11.34	84.09±13.15
产后抑郁组	79.97±18.64	63.70±9.64[a]	64.51±9.16[a]
杜仲低剂量组	79.05±18.73	73.33±13.68	74.09±13.33
杜仲高剂量组	79.88±12.36	77.35±10.41[b]	95.01±4.12[b]

a：与正常组比较，$P<0.05$；b：与产后抑郁组比较，$P<0.05$。

3.3　大鼠HPA轴激活水平和噬仔率比较

大鼠孕20 d的检测结果显示，与正常组比较，产后抑郁组大鼠血清中CORT水平显著升高（$P<0.05$）；与产后抑郁组比较，杜仲高剂量组大鼠血清中CORT水平显著降低（$P<0.05$）。大鼠产后35 d的检测结果显示，与正常组比较，产后抑郁组大鼠下丘脑中CRF、UCN水平，垂体中ACTH水平，血清中CORT水平以及噬仔率均显著升高（$P<0.05$）；与产后抑郁组比较，杜仲低、高剂量组大鼠下丘脑CRF、UCN水平，垂体ACTH水平，血清中CORT水平以及噬仔率均显著降低（$P<0.05$）。结果见表5。

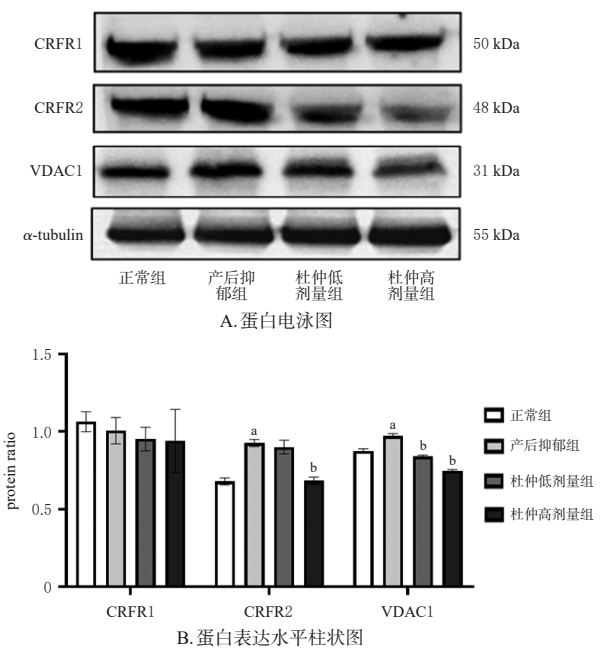
表5　杜仲对产后抑郁大鼠产前及产后HPA轴激活水平和噬仔率的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	孕20 d的	产后35 d				
	CORT/(pg/mL)	CRF/(pg/mg)	UCN/(pg/mg)	ACTH/(pg/mg)	CORT/(pg/mL)	噬仔率/%
正常组	47.21±2.93	275.57±8.01	369.74±6.35	239.73±19.98	44.48±5.27	0
产后抑郁组	60.23±5.76[a]	295.68±2.57[a]	416.80±3.97[a]	334.37±1.34[a]	62.99±4.46[a]	40[a]
杜仲低剂量组	54.06±4.24	249.23±33.06[b]	361.08±12.33[b]	273.91±22.55[b]	53.15±4.37[b]	10[b]
杜仲高剂量组	46.30±2.41[b]	223.01±7.23[b]	350.99±15.16[b]	233.92±5.61[b]	54.56±3.81[b]	0[b]

a：与正常组比较，$P<0.05$；b：与产后抑郁组比较，$P<0.05$。

3.4　大鼠海马组织中CRFR1、CRFR2和VDAC1蛋白表达水平比较

与正常组比较，产后抑郁组大鼠海马组织中CRFR2和VDAC1蛋白表达水平均显著升高（$P<0.05$）。与产后抑郁组比较，杜仲低、高剂量组大鼠海马组织中CRFR2（杜仲低剂量组除外）和VDAC1蛋白表达水平均显著降低（$P<0.05$），结果见图1。



a：与正常组比较，$P<0.05$；b：与产后抑郁组比较，$P<0.05$。

图1　杜仲对产后抑郁大鼠海马组织中CRFR1、CRFR2和VDAC1蛋白表达的影响

3.5　大鼠海马组织细胞凋亡情况比较

与正常组比较，产后抑郁组大鼠海马组织凋亡细胞比例显著升高（$P<0.05$），JC-1高电位细胞比例显著降低（$P<0.05$）。与产后抑郁组比较，杜仲低、高剂量组大鼠海马组织凋亡细胞比例均显著降低（$P<0.05$），杜仲高剂量组大鼠海马组织JC-1高电位细胞比例显著升高（$P<0.05$）。结果见表6。

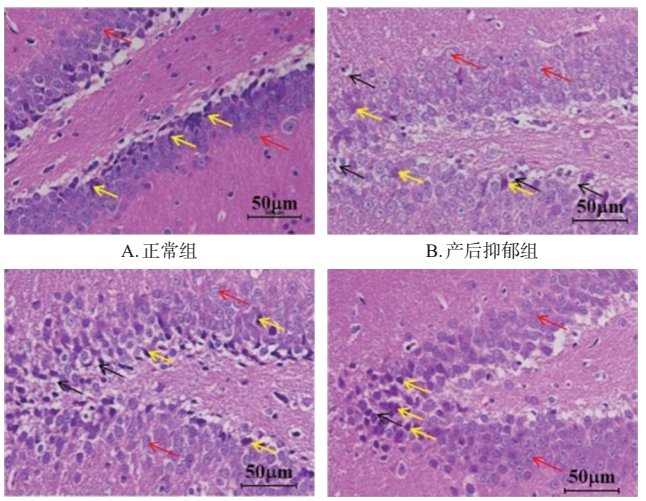
3.6　大鼠海马组织病理形态学比较

与正常组比较，产后抑郁组大鼠海马神经元细胞周围有轻微水肿。与产后抑郁组比较，杜仲低剂量组大鼠海马神经元细胞周围仍有轻微水肿；杜仲高剂量组大鼠海马神经元细胞周围无明显水肿现象。结果见图2。

表6　杜仲对产后抑郁大鼠海马组织细胞凋亡的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=10$，%）

组别	凋亡细胞比例	JC-1高电位细胞比例
正常组	10.62±4.69	100.00±1.77
产后抑郁组	40.92±3.05[a]	95.07±1.53[a]
杜仲低剂量组	35.48±4.59[b]	95.13±0.93
杜仲高剂量组	26.17±5.49[b]	102.52±1.10[b]

a：与正常组比较，$P<0.05$；b：与产后抑郁组比较，$P<0.05$。



A. 正常组　B. 产后抑郁组

C. 杜仲低剂量组　D. 杜仲高剂量组

黄色箭头：神经元细胞；红色箭头：胶质细胞；黑色箭头：周围水肿。

图2　杜仲对产后抑郁大鼠海马组织形态的影响

4　讨论

产前应激是导致产后抑郁的主要危险因素之一[11-12]，本课题组前期在研究孕期应激对子代影响的过程中，意外发现通过孕期旁观电击法诱导的模型大鼠出现体重增长缓慢、糖水偏好降低、快感缺失、探索行为和对新环境的好奇心降低，以及明显的噬仔情况[9]。上述行为表现均说明孕期心理应激可以引发或加剧雌鼠产后抑郁的发生和发展。此外，该法在造模过程中使孕鼠旁观其它鼠被电击过程而身处相似环境，通过视觉、听觉及嗅觉感受恐惧信息，并不对孕鼠本身进行身体或药物刺激，是一种较纯粹的心理应激模型。该法为产后抑郁模型的建立提供了新的思路。

本研究结果显示，杜仲水煎液可改善孕鼠的产后抑郁症状，主要表现为可缩短定位巡航实验逃避潜伏期，增加空间搜索实验的穿越平台次数和延长每次穿越时间，以及提高旷场实验的垂直运动、水平运动、自我梳理得分和糖水偏好实验的糖水消耗比率。

HPA轴归属于机体的神经内分泌系统，主要调节身体对应激的反应。本研究结果发现，产后抑郁组大鼠在产后35 d时下丘脑中CRF、UCN水平，垂体中ACTH水平及血清中CORT水平均显著高于正常组，提示异常激活的HPA轴可能是导致产后抑郁的主要原因。HPA轴的异常激活，导致过高的血清CORT水平，进而激活胎盘*CRH*基因启动子区域，使胎盘CRH合成增加[13]，因此，部分学者提出将胎盘CRH水平升高推荐为产后抑郁的诊断标准[14]。本研究中，低、高剂量的杜仲可显著降低产后抑郁大鼠下丘脑中CRF、UCN水平和垂体中ACTH水平，进而降低血清中CORT水平，调节慢性应激导致的HPA轴过度激活状态，这可能是杜仲改善产后抑郁的作用机制。

CRF及UCN主要通过与其受体结合发挥作用，其中CRF对CRFR1的亲和力相对较高，对CRFR2的亲和力较低；而UCN1与两种受体的结合具有相同的亲和力；UCN2和UCN3则是CRFR2的选择性配体[15]。有研究证实，CRFR2在压力焦虑信号传达中发挥着重要的作用[16]。本研究结果显示，产后抑郁组大鼠海马组织中CRFR2水平显著高于正常组，而CRFR1水平变化不明显，这一结果说明孕期旁观电击可能通过影响大鼠海马区CRFR2表达来调控下游信号通路，从而引发产后抑郁。

细胞凋亡是一种细胞程序性死亡方式，通常在细胞受损或者功能散失时被启动。凋亡信号启动后，可刺激线粒体膜通透性的变化，促使VDAC1形成新的大孔，导致细胞色素C等分子透过线粒体外膜进入细胞质，从而促进凋亡的发生[17]。本研究结果显示，产后抑郁组大鼠海马组织中VDAC1蛋白水平显著高于正常组，同时凋亡细胞比例也显著升高。为进一步验证这一结果，本研究进行了JC-1线粒体膜电位检测。线粒体膜电位的下降是细胞凋亡早期的标志性事件，正常情况下，线粒体膜电位较高，但当某些因素导致呼吸链电子传递障碍时，线粒体膜电位会下降[18]。本研究结果显示，产后抑郁组大鼠海马组织中JC-1高电位细胞比例显著低于正常组，说明细胞出现了早期凋亡现象。而高剂量杜仲水煎液能显著抑制上述指标变化，同时JC-1线粒体膜电位检测结果及组织形态观察结果也与这一检测结果一致。

综上所述，本研究运用孕期旁观电击法成功建立了产后抑郁大鼠模型，该法为产后抑郁模型的建立及研究提供了新思路。同时本团队对杜仲改善产后抑郁的作用及机制进行了研究，发现杜仲可能通过抑制HPA轴的过度激活，降低CRFR2的表达水平，进而抑制VDAC1的表达，并减少神经元细胞的凋亡，从而改善产后抑郁症状。但CRFR2的过表达如何影响VDAC1的表达进而调控细胞凋亡的机制目前尚不清楚，有待进一步研究。

参考文献

[1] 黄敏，李佩钰，田毅. 产前睡眠障碍对产后抑郁影响的研究进展[J]. 生殖医学杂志，2023，32(12)：1922-1926.
HUANG M，LI P Y，TIAN Y. Research advances on effects of prenatal sleep disorders on postpartum depression [J]. J Reprod Med，2023，32(12)：1922-1926.

[2] PAYNE J L，MAGUIRE J. Pathophysiological mechanisms implicated in postpartum depression[J]. Front Neuroendocrinol，2019，52：165-180.

[3] STEWART D E，VIGOD S N. Postpartum depression：pathophysiology，treatment，and emerging therapeutics[J]. Annu Rev Med，2019，70：183-196.

[4] 高思博，马文政，宋立群. 宋立群教授治疗产后抑郁的临床经验[J]. 黑龙江医学，2014，38(5)：551-552.
GAO S B，MA W Z，SONG L Q. Professor Song Liqun's clinical experience in treating postpartum depression[J]. Heilongjiang Med J，2014，38(5)：551-552.

[5] 段卫华，于佳慧，高秀梅. 不同配比杜仲丸对SAMP6小鼠抗抑郁作用的研究[J]. 天津中医药大学学报，2015，34(1)：34-36.
DUAN W H，YU J H，GAO X M. Study on the antidepressant effect of Duzhongwan with different proportions[J]. J Tianjin Univ Tradit Chin Med，2015，34(1)：34-36.

[6] 肖黎明，王程荣，冯欣，等. 杜仲安胎的研究进展[J]. 环球中医药，2020，13(12)：2189-2192.
XIAO L M，WANG C R，FENG X，et al. Research progress of miscarriage prevention of *Eucommia ulmoides* Oliv[J]. Glob Tradit Chin Med，2020，13(12)：2189-2192.

[7] 陈佳丽，张燕萍，周文华，等. HPA轴功能障碍在产后抑郁症中的作用机制[J]. 生命的化学，2021，41(10)：2125-2133.
CHEN J L，ZHANG Y P，ZHOU W H，et al. Mechanism of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis dysfunction in postpartum depression[J]. Chem Life，2021，41(10)：2125-2133.

[8] 刘晶，胡喜姣，孙淼，等. 电针联合归脾汤对产后抑郁大鼠抑郁症状的影响及机制分析[J]. 现代生物医学进展，2023，23(5)：807-811，891.
LIU J，HU X J，SUN M，et al. Effect and mechanism analysis of electroacupuncture combined with Guipi decoction on depressive symptoms in postpartum depression rats[J]. Prog Mod Biomed，2023，23(5)：807-811，891.

[9] 侯俊林，杨丽萍，朱江慧，等. 孕期恐应激对孕鼠及其子代近远期海马NMDAR1、NR2B表达的影响[J]. 时珍国医国药，2020，31(2)：479-481.
HOU J L，YANG L P，ZHU J H，et al. Effect of fear stress during pregnancy on the expression of NMDAR1 and NR2B in hippocampus of pregnant rats and their offspring in the near and long term[J]. Lishizhen Med Mater Med Res，2020，31(2)：479-481.

[10] LI Y J，YANG L P，HOU J L，et al. Prenatal stress impairs postnatal learning and memory development via disturbance of the cGMP-PKG pathway and oxidative phosphorylation in the hippocampus of rats[J]. Front Mol Neurosci，2020，13：158.

[11] WHITTON A，APPLEBY L，WARNER R. Maternal thinking and the treatment of postnatal depression[J]. Int Rev Psychiatry，1996，8(1)：73-78.

[12] BECK C T. Predictors of postpartum depression：an update [J]. Nurs Res，2001，50(5)：275-285.

[13] SANDMAN C A. Fetal exposure to placental corticotropin-releasing hormone（pCRH）programs developmental trajectories[J]. Peptides，2015，72：145-153.

[14] YIM I S，GLYNN L M，DUNKEL-SCHETTER C，et al. Risk of postpartum depressive symptoms with elevated corticotropin-releasing hormone in human pregnancy[J]. Arch Gen Psychiatry，2009，66(2)：162-169.

[15] DEDIC N，CHEN A，DEUSSING J M. The CRF family of neuropeptides and their receptors-mediators of the central stress response[J]. Curr Mol Pharmacol，2018，11(1)：4-31.

[16] HAMMACK S E，SCHMID M J，LOPRESTI M L，et al. Corticotropin releasing hormone type 2 receptors in the dorsal raphe nucleus mediate the behavioral consequences of uncontrollable stress[J]. J Neurosci，2003，23(3)：1019-1025.

[17] 冉芮，陈婷婷，陈永鑫，等. 天麻素调控PINK1/Parkin-VDAC1信号改善$CoCl_2$诱导的HT22细胞凋亡[J]. 中华中医药杂志，2023，38(7)：3109-3114.
RAN R，CHEN T T，CHEN Y X，et al. Inhibitory effect of gastrodin on HT22 apoptosis induced by $CoCl_2$ via PINK1/Parkin-VDAC1 signal[J]. China J Tradit Chin Med Pharm，2023，38(7)：3109-3114.

[18] 王倩倩，卢均坤，王燕琴. 苦参碱减轻阿霉素致心肌细胞凋亡作用的研究[J]. 黑龙江医药科学，2020，43(5)：1-4，18.
WANG Q Q，LU J K，WANG Y Q. Study on the effect of matrine on apoptosis of myocardial cells induced by adriamycin[J]. Heilongjiang Med Pharm，2020，43(5)：1-4，18.

（收稿日期：2024-02-01　修回日期：2024-04-23）
（编辑：邹丽娟）