

益智颗粒对两种缺血性脑损伤大鼠学习记忆功能的影响[※]

□ 张硕峰* 吴 艺 赵 玲 贾占红 吴金英 徐秋萍

(北京中医药大学中药学院 北京 100029)

摘 要 目的: 观察益智颗粒对两种缺血性脑损伤大鼠学习记忆功能的影响。方法: 采用大鼠双侧颈总动脉反复缺血再灌合并颈外静脉抽血降压和大鼠去大脑皮层血管两种缺血性脑损伤模型, 给予益智颗粒连续灌胃 50 天, 通过跳台试验法、水迷宫试验法进行观察。结果: 益智颗粒 6 和 12g 生药/kg 对缺血再灌合并颈外静脉抽血降压模型的大鼠学习记忆障碍有改善作用, 表现为跳台试验中错误次数减少 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)、潜伏期延长 ($P < 0.05$), 水迷宫试验中各点训练和测试到达终点时间缩短 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 错误次数减少 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。益智颗粒 6 和 12g 生药/kg 治疗给药 37 天, 对去大脑皮层血管大鼠在跳台试验和水迷宫试验中表现的学习记忆障碍均有不同程度的改善作用 ($P < 0.01$, $P < 0.05$)。结论: 益智颗粒对缺血性脑损伤大鼠学习记忆功能有不同程度的改善作用。

关键词 益智颗粒 脑缺血 记忆 实验研究

益智颗粒为治疗老年性痴呆症的中药复方制剂, 临床已证实其有较好的疗效。为进一步揭示其疗效及作用机理, 笔者作了系列实验, 现报道如下。

1 实验材料

1.1 动物 Wistar 大鼠, 雄性, 体重 $288 \pm 9\text{g}$, 由中国医学科学院实验动物所提供。

1.2 药物 益智颗粒 (代号 9601) 由北京中大天意

药业科技有限公司吉林瀚海制药厂提供, 批号 970603。临用时以 0.5% (w/v) 羧甲基纤维素钠盐 (cmc) 配制成所需浓度, 于 4℃ 冰箱保存。喜得镇 (甲磷酸双氢麦角毒碱片), 由瑞士山德士药厂与国营天津华津制药厂合作生产, 批号 971166。临用时以 0.5% cmc 配制。

1.3 仪器 大鼠跳台反应箱和大鼠水迷宫测试仪均由中国医学科学院药物研究所电子仪器室提供。

2 方法与结果

2.1 益智颗粒对双侧颈总动脉反复缺血再灌合并颈外静脉抽血降压所致缺血性损伤大鼠学习记忆功能的

※基金项目 国家九五攻关课题 (No. 96-906-09-03)。

* 作者简介 张硕峰, 男, 医学硕士, 讲师。主要从事心脑血管病基础和临床及抗血栓药物的研究。

影响

2.1.1 分组与给药 实验用大鼠60只,随机分为5组:假手术组,模型组,喜得镇组,聪智颗粒6g/kg组,聪智颗粒12g/kg组(后两者分别相当于临床人用量的7和14倍)。术后连续灌胃给药50天。

2.1.2 造模方法^[1] 实验用大鼠,以水合氯醛(0.35g/kg)麻醉、固定、消毒、无菌手术。分离双侧颈总动脉和右侧颈外静脉,以钢丝作为引线将硅胶管插进颈外静脉直至静脉窦附近,注入250μ/ml肝素(250μ/kg)抗凝,按1.5ml/100g体重抽血(血压下降最大幅度约为原血压的50%)。随后即刻用动脉夹夹闭双侧颈总动脉,断血2次,每次15分钟,中间再灌10分钟。最后将抽出的血重新推回颈静脉并结扎颈静脉,缝合、消毒。假手术组不夹闭,不放血,余同模型组。术中控制肛温在36.5℃。

2.1.3 跳台试验 采用大鼠跳台反应箱,术后第45天,将各组大鼠分别放在反应箱内适应3分钟后通电,电压为36V。训练5分钟,24小时后进行测试,测试时将大鼠放于跳台上,通电,记录大鼠第一次跳下的时间(潜伏期)、5分钟内的触电次数,结果组间比较,进行t检验,结果见表1。

表1 跳台法观察聪智颗粒对大鼠脑缺血性损伤模型记忆的影响($\bar{x} \pm s$)

	剂量(g/kg)	n	潜伏期(s)	触电次数
模型组	0.5%cmc	14	4.9±7.4	3.5±1.5
假手术组	0.5%cmc	10	114.0±139.0*	1.0±1.0△
喜得镇组	0.6×10 ⁻³	12	84.3±130.2	1.8±1.7*
聪智颗粒组	6	12	53.1±89.5	1.9±1.4*
聪智颗粒组	12	12	88.6±128.3*	1.0±0.7△

注:与模型组相比△P<0.01,*P<0.05。

表2 水迷宫法观察聪智颗粒对大鼠脑缺血性损伤模型学习的影响($\bar{x} \pm s$)

	剂量(g/kg)	n	游全程时间(s)		入盲端次数	
			B	C	B	C
模型组	0.5%cmc	13	72.6±39.8	83.6±33.5	6.7±3.7	6.4±2.9
假手术组	0.5%cmc	10	56.8±37.0	52.0±25.9*	4.4±3.1	3.5±2.3
喜得镇组	0.6×10 ⁻³	12	56.5±32.2	34.0±11.9△	4.1±2.7	2.4±3.1△
聪智颗粒组	6	11	43.1±25.3*	45.0±27.5△	3.4±3.7*	3.6±2.5*
聪智颗粒组	12	12	65.8±34.6	40.3±19.3△	4.3±1.9*	3.3±2.0△

注:与模型组相比△P<0.01,*P<0.05。

表3 水迷宫法观察聪智颗粒对大鼠脑缺血性损伤模型记忆的影响($\bar{x} \pm s$)

	剂量(g/kg)	n	游全程时间(s)		入盲端次数	
			B	C	B	C
模型组	0.5%cmc	13	80.1±50.5	83.7±56.8	6.5±4.5	8.2±6.2
假手术组	0.5%cmc	10	32.4±27.0△	21.8±9.3△	2.2±2.5△	1.2±1.0△
喜得镇组	0.6×10 ⁻³	12	35.5±41.8*	37.1±41.5*	2.8±3.3*	2.7±3.4*
聪智颗粒组	6	11	29.0±11.0△	23.6±8.5△	2.6±2.0*	1.6±1.0△
聪智颗粒组	12	12	40.1±45.8*	37.7±20.5△	2.4±2.8*	2.8±1.8△

注:与模型组相比△P<0.01,*P<0.05。

表5 水迷宫法观察聪智颗粒对去皮层血管大鼠记忆障碍的影响($\bar{x} \pm s$)

	剂量(g/kg)	n	游全程时间(s)		入盲端次数	
			B	C	B	C
模型组	0.5%cmc	11	45.6±27.3	65.6±36.5	4.8±2.5	6.0±3.3
假手术组	0.5%cmc	10	21.8±13.0*	25.0±18.4△	0.6±0.5△	0.7±0.3△
喜得镇组	0.6×10 ⁻³	10	37.3±10.7	39.0±23.2*	2.8±1.3*	2.8±1.8△
聪智颗粒组	6	11	33.4±19.5	43.5±26.4	2.0±0.9△	2.9±1.4△
聪智颗粒组	12	11	23.5±7.1*	25.4±8.6△	1.4±0.6△	1.3±1.0△

注:与模型组相比△P<0.01,*P<0.05。

2.1.4 水迷宫试验 大鼠水迷宫试验在隔音室内进行,水迷宫大小为138.5cm×78.5cm×30cm,箱壁由半透明的深棕色有机玻璃板构成,隔板则为不透明的黑色有机玻璃板(见图1)。条件控制在室温22±2℃,水温25±1℃,水深20±1cm。术后第47天开始训练。第1天训练A点2次和B点3次,第2天测试B点,训练C点3次,第3天测试C点。每次训练或测试时间均限定在3分钟,超时者按180秒计时。记录每只大鼠每次训练游全程的时间(游全程时间)和进入盲端的次数(错误次数),以训练期B、C二点游全程时间和错误次数的均值作为学习成绩;以测试期B、C二点游全程时间和错误次数作为记忆成绩,将结果进行组间比较,t检验,结果见表2、3。

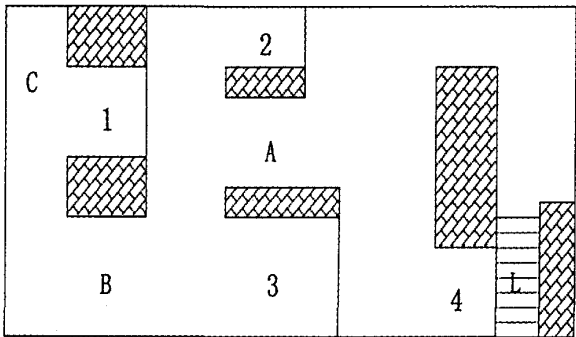


图 1 水迷宫示意图

A、B、C、游泳线路的起点;1、2、3、4,盲端;L,台阶

2.2 聪智颗粒对去皮层血管大鼠学习记忆障碍的影响

2.2.1 分组与给药 分组同前,术后第 2 天开始灌胃给药,直至试验完毕,共给药 37 天。

2.2.2 去皮层血管所致大鼠学习记忆障碍模型的制作方法^[2] 大鼠以水合氯醛(0.35 g/kg)麻醉,卧位固定,消毒,无菌手术,在颅项正中部位切开皮肤,露出左侧颅骨,用牙科钻分别在左侧颅骨前窗旁开 2mm 取两点,并取其中点;沿此三点平行向左旁开 5mm 再取三点,共钻 6 个颅窗,沿 6 个颅窗剪除左侧前部颅骨约 0.5 cm²,暴露硬脑膜,除去硬脑膜及软脑膜,除去皮层血管,明胶海绵止血,缝合肌肉皮肤。连续 5 天腹腔注射 20 万 μ 的青霉素 1ml/只,其中假手术对照组保留脑皮层血管,余操作均同模型组。

2.2.3 跳台试验 采用大鼠跳台反应箱,术后第 32 天开始试验,将各组大鼠分别放在反应箱内适应 3 分钟后通电,电压为 50V,训练 5 分钟。24 小时后进行测试,测试时将大鼠放于跳台上,通电,记录大鼠第一次跳下的时间(潜伏期)、5 分钟内的触电次数。结果进行组间比较,t 检验,如表 4。

表 4 跳台法观察聪智颗粒对去皮层血管大鼠记忆障碍的影响

	剂量(g/kg)	n	潜伏期(s)	触电次数
模 型 组	0.5% emc	11	25.3 ± 17.1	3.5 ± 2.5
假 手 术 组	0.5% emc	10	300.0 ± 0.0 *	0.0 ± 0.0 *
喜 得 镇 组	0.6 × 10 ⁻³	11	228.6 ± 123.5 *	0.4 ± 0.6 *
聪智颗粒组	6	12	178.0 ± 148.3 *	0.6 ± 0.8 *
聪智颗粒组	12	11	155.5 ± 139.2 *	1.1 ± 1.3 *

注:与模型组相比 Δ P < 0.01。

2.2.4 水迷宫试验 采用大鼠水迷宫,术后第 34 天开始试验,方法同前。结果组间比较,进行 t 检验,结果如表 5。

3 讨 论

双侧颈总动脉反复缺血再灌合并颈外静脉抽血降压的方法可使大鼠产生学习记忆障碍。表现为在跳台实验中,测试期的错误次数增加,测试期的潜伏期缩短。在水迷宫实验中,各点训练和测试的时间均延长,错误次数均增多。聪智颗粒 6、12g/kg 组和喜得镇组经长时间用药,可使大鼠学习记忆障碍有所改善,表现为跳台实验中,训练期和测试期的错误次数减少,记忆成绩的潜伏期延长。水迷宫实验中各点训练和测试的时间缩短,错误次数减少,此种结果可能与药物保护脑组织的作用有关。

采用去除大鼠部分脑皮层血管的方法可达到脑缺血的目的,从而使大鼠产生学习记忆障碍。在跳台实验中,假手术组大鼠测试期错误次数比训练期减少,说明大鼠在受电击刺激后形成记忆。而模型组大鼠测试期的错误数增加,测试期的潜伏期明显缩短,说明模型大鼠产生学习记忆障碍。水迷宫实验中,随着从起点到 A 点、到 B 点和 C 点路程的延长。大鼠抵达平台的时间延长,错误次数增多,模型组大鼠的学习记忆障碍更明显。

聪智颗粒系张伯礼教授临床经验方,主要由黄芪、当归、制首乌、川芎等药组成,具有益肾健脾、活血化瘀、健脑益智作用,主治老年血管性痴呆。实验结果表明聪智颗粒对上述几种学习记忆实验方法和指标表现出不同程度的改善作用。此种结果与药物对脑缺血的改善作用有关。本实验为临床治疗本病提供了有力的依据。

参考文献

[1] 方福德,周 吕,丁 薇,等主编.现代医学实验技巧全书(下册).北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1995: 248-251.

[2] Lorez HP, Von Frankenberg M, Weskamp G, Otten U. Effect of bilateral decortication on nerve growth factor content in basal nucleus and neostriatum of adult rat brain. Brain Res, 1988, 454: 355-360.