

小儿黄龙颗粒对注意力缺陷多动障碍模型大鼠注意定势转移能力的影响

伍永鸿, 田 骄, 欧文静, 黄喜燕, 黄日康, 高佳慧, 张硕峰*

北京中医药大学 中药学院, 北京 102488

摘要: 目的 建立注意力缺陷多动障碍 (ADHD) 大鼠模型, 观察小儿黄龙颗粒对 ADHD 模型大鼠的注意定势转移能力的影响。方法 采用自发性高血压大鼠 (SHR) 作为 ADHD 模型大鼠, 将 32 只健康 SHR 随机分为模型组、哌甲酯(阳性药, 给予盐酸哌甲酯缓释片 $6.75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组和小儿黄龙颗粒低、高剂量 ($1.875, 3.75 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) 组, 每组 8 只, 另分别设 WKY 大鼠组和 Wistar 大鼠组 (作为对照), 每组 8 只。各给药组按 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 体质量 ig 给药, 模型组、对照组 ig 生理盐水, 每天 2 次, 连续给药 21 d。检测各组大鼠在注意定势转移任务 (AST) 中各阶段 [简单辨别 (SD) 阶段、复杂辨别 (CD) 及其反向阶段、内维度转换 (IDS) 及其反向阶段、逆反学习 (RL) 及其反向阶段、外维度转换 (EDS) 及其反向阶段] 的错误次数和错误率。结果 模型组 SHR 在 CD、IDS、RL 阶段的错误次数及错误率显著高于 Wistar 大鼠 ($P < 0.05, 0.01$); 在 IDS 反向阶段, 模型组大鼠的错误率较 Wistar 大鼠显著增加 ($P < 0.05$), 其他阶段 SHR 的错误次数及错误率较 Wistar 大鼠呈增加趋势。小儿黄龙颗粒各剂量组各阶段的错误次数及错误率较模型组大鼠有不同程度的减少, 其中小儿黄龙颗粒高剂量组在 CD 阶段的错误次数及错误率, 低剂量组在 IDS 正向阶段的错误次数与错误率, 高剂量组在 IDS 正向阶段的错误次数, 低、高剂量组在 RL 正向阶段的错误次数, 与模型组大鼠相比有显著差异 ($P < 0.05, 0.01$)。结论 小儿黄龙颗粒能够提高 ADHD 大鼠的注意定势转移能力, 治疗 ADHD。

关键词: 小儿黄龙颗粒; 自发性高血压大鼠; 注意力缺陷多动障碍; 注意定势转移任务

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376 (2023) 03-0531-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2023.03.008

Effect of Xiaoe Huanglong Granule on attention set transfer in rats with attention-deficit hyperactivity disorder

WU Yonghong, TIAN Jiao, OU Wenjing, HUANG Xiyan, HUANG Rikang, GAO Jiahui, ZHANG Shuofeng

School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: Objective To establish a model of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) and to observe the effect of Xiaoe Huanglong Granule on attention set-shifting ability in rats with ADHD. **Methods** Using spontaneously hypertensive rats (SHR) as ADHD model rats, 32 healthy SHRs were randomly divided into model group, methylphenidate (positive drug, given methylphenidate hydrochloride sustained-release tablets $6.75 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) group and low and high dose ($1.875, 3.75 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) group of Xiaoe Huanglong Granule, with eight rats in each group, and WKY rats group and Wistar rats group (as control), with eight rats in each group. The drug was administered at $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ body mass by ig. The model group and control group were administered with ig saline twice a day for 21 days. The number of errors and error rate of rats in each stage of attention set transfer task (AST) [simple discrimination (SD), complex discrimination (CD) and its reverse phase, internal dimension conversion (IDS) and its reverse phase, reverse learning (RL) and its reverse phase, external dimension conversion (EDS) and its reverse phase] were measured. **Results** The error frequency and error rate of SHR in CD, IDS and RL stage in model group were significantly higher than that in Wistar rats ($P < 0.05, 0.01$). In the reverse phase of IDS, the error rate of model group rats was significantly higher than that of Wistar rats ($P < 0.05$). The number of errors and error rate of SHR in other stages were increased compared with Wistar rats. The number of errors and error rate at each stage of Xiaoe Huanglong Granule each dose group were reduced to different degrees compared with the model group rats, including the number of errors and error rate at CD stage in the high-dose group of Xiaoe Huanglong Granule, the number of errors and error rate at the forward stage of IDS in the low-dose group, the number of errors at the forward stage of IDS in

收稿日期: 2022-10-19

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81973492)

第一作者: 伍永鸿 (1996—), 硕士, 从事中药神经药理学研究。Tel: (010) 64286922 E-mail: 1285951841@qq.com

*通信作者: 张硕峰 (1969—), 博士, 教授, 从事中药药理学研究。Tel: (010) 64286922 E-mail: shuofengzhang@sina.com

the high-dose group, and the number of errors at the forward stage of RL in the low-dose and high-dose groups, there was significant difference compared with the model group ($P < 0.05, 0.01$). **Conclusion** Xiaoe Huanglong Granules can improve the attentional set-shifting ability of rats with ADHD and treat ADHD.

Key words: Xiaoe Huanglong Granule; spontaneous hypertension rat; attention-deficit hyperactivity disorder; attention set transfer

注意力缺陷多动障碍(ADHD)俗称小儿多动症,是指儿童和青少年期以注意力缺陷、多动、冲动为主要行为特征的神经行为障碍性疾病,并常伴随学习与记忆障碍、品行异常、社交障碍等问题^[1]。ADHD在全球学龄期儿童中患病率约为5.29%,约2/3的病例会持续到成年,男性患病率是女性的2倍,并呈逐年上升的趋势^[2]。ADHD患者中常观察到异常的认知灵活性,患者倾向于表现出注意力和战略灵活性的缺陷,反映出低效和不成功的解决问题技能和低学术成就,存在认知功能转换障碍^[3]。患儿在执行威斯康辛卡片分类测试(WSCC)时,完成分类数显著降低,非持续错误数显著升高^[4]。而注意定势转移任务(AST)是一种模拟人类WSCC的实验方法,可用于检测啮齿类动物前额叶介导的认知灵活性。

重庆希尔安药业有限公司研发的小儿黄龙颗粒是目前唯一一个由国家食品药品监督管理局批准的治疗ADHD的中成药,方中君药为白芍、熟地黄和麦冬,3药协同作用,起着滋阴补血、安神定志、平肝潜阳的作用。临床研究^[5]显示,小儿黄龙颗粒对阴虚阳亢型ADHD有着良好的临床效果与安全性;在陈瑶^[6]的研究中发现,ADHD患儿在使用6周小儿黄龙颗粒治疗后,口干咽燥、手足心热、盗汗、失眠多梦及大便秘结积分均显著降低;武金霞等^[7]发现小儿黄龙颗粒治疗ADHD的有效率达97.44%,能显著改善患儿多动不宁、神思涣散、多言多语、性急易怒等症状。但关于小儿黄龙颗粒是否能改善ADHD患儿注意力缺陷、提高认知灵活性方面研究较少。

4~10周龄的自发性高血压大鼠(SHR)具有活动异常活跃、易冲动、易怒、学习记忆能力差,注意力不集中等特点^[8],与人类儿童ADHD的症状吻合,可用作ADHD模型大鼠^[9]。本研究将采用5阶段AST测试方法检测小儿黄龙颗粒对ADHD模型大鼠认知灵活性的影响。

1 材料

1.1 实验动物

SPF级SHR 32只,雄性,2周龄,体质量45~60 g; SPF级同源正常血压(WKY)大鼠 8只,雄性,2周

龄,体质量45~60 g; SPF级Wistar大鼠 8只,雄性,2周龄,体质量45~60 g,均由斯贝福(北京)生物技术有限公司提供,实验动物生产许可证号SCXK(京)2019-0010。室温为(23±2)°C,相对湿度为(65±5)%,给药前使动物先适应性饲养2 d,自由摄取食水,并且实验过程中对动物的操作符合医学动物伦理学标准,动物实验伦理审批号BUCM-4-2022110801-4028。

1.2 药品

小儿黄龙颗粒,由重庆希尔安药业有限公司生产,规格每袋5 g,批号201002;盐酸哌甲酯缓释片,由西安杨森制药有限公司生产,规格36 mg,批号0KE654。

1.3 实验仪器

AR1140/C型电子分析天平(上海奥豪斯公司);注意定势转移测试箱^[10]:长方形的测试箱由木板制成(70 cm×40 cm×35 cm)。木制分隔板将测试箱的1/3封闭,作为起始区,另一部分为测试区;隔板可上下垂直拉起;测试箱的另一端用木板将测试区后1/3平均分为2个区域,每个区域内均置有陶瓷罐(高6 cm、直径7 cm)。见图1。

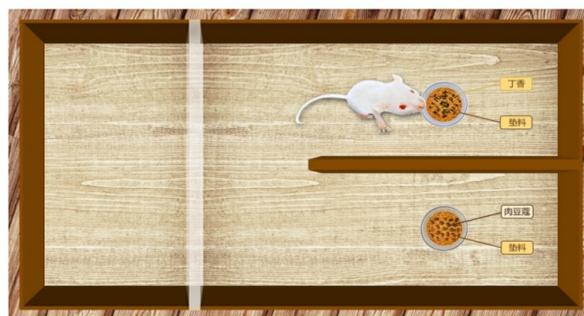


图1 注意定势转移测试箱

Fig. 1 Attention setting transfer test box

2 方法

2.1 分组与给药

将SHR按体质量随机分为4组:模型组、哌甲酯(给予盐酸哌甲酯缓释片6.75 mg·kg⁻¹)组和小儿黄龙颗粒低、高剂量(1.875、3.750 g·kg⁻¹, 1.875 g·kg⁻¹为临床等效剂量)组,每组8只,另分别设WKY大鼠组和Wistar大鼠组(作为对照),每组8只。各给药组按10 mL·kg⁻¹

体质量 ig 给药,模型组、对照组 ig 生理盐水,每天2次,连续给药21 d。

2.2 AST行为学测试

2.2.1 饮食控制 在进行AST测试期间,为维持动物保持一定的饥饿状态,须对所有大鼠进行饮食控制。将给食量控制在正常食量的70%左右,将体质量控制正常鼠的75%~85%。

2.2.2 行为学测试^[9] ig 给药第14天后开始进行行为学测试,测试时间为23:00时开始,并且每次进行行为学测试前须将动物提前放入测试箱中适应1 h,熟悉测试箱。每次任务前将大鼠置于起始区,拉起隔板使大鼠进入测试区,寻找陶瓷罐中的奖赏物。陶瓷罐中装有填充物,将奖赏物埋在填充物表面下约1 cm处,务必保证使奖赏物掩埋完全。第1天为适应期训练(测试时间:20:00时即可开始实验):给药0.5 h后开始训练,首先将陶瓷罐放入饲养笼,训练动物从装满玉米芯垫料填充物的陶瓷罐中挖掘食物,直至动物连续3次在3 min内找到掩埋的食物。随后将大鼠移入AST测试装置中,使其适应测试环境并从检测区两侧放置的陶瓷罐中挖掘奖赏物,直至动物连续3次每次在3 min内找到掩埋的食物。第2天为训练期训练(测试时间:20:00时即可开始实验):大鼠在检测箱中分别进行单一气味/介质简单辨别学习。气味辨别任务使用陈皮和吴茱萸2种气味,填充物辨别任务选择吹塑纸片和木屑垫料2种填充物。选择吴茱萸/木屑垫料作为正性线索与奖赏物关联,即始终将奖赏物放在正性线索标记的陶瓷罐中,每次测试陶瓷罐的位置随机放置在测试区的左侧或右侧。正确反应为大鼠只挖掘正性线索标记的陶瓷罐获得奖赏物,且不挖掘负性线索标记的陶瓷罐。以连续6次正确反应作为完成训练标准。第3天为包含5个连续的、难度不断增加的任务阶段[简单辨别(SD)阶段、复杂辨别(CD)阶段、内维度转换(IDS)阶段、逆反学习(RL)阶段、外维度转换(EDS)阶段]:各阶段任务依次进行,每一阶段直到动物达到连续6次正确反应的标准,然后转至下一阶段任务。整个测试程序见表1。

2.2.3 行为学原理及指标 SD阶段:大鼠通过训练已经知道奖赏物埋在填充物表面之下,并了解气味与填充物之间存在着一定关联,形成学习记忆过程。因此在SD阶段,以气味作为奖赏物线索时,大鼠可通过记忆重现过程,实现奖赏过程。CD阶段:除了SD阶段原有的气味维度外,增加了一个辨别维度,即填充物。并通过变换填充物的种类进行干

表1 5阶段AST行为学测试程序

Table 1 AST behavioral test procedures in five phases

阶段	维度		线索组合	
	相关	无关	正性线索	负性线索
SD	气味		丁香/玉米芯	肉豆蔻/玉米芯
CD	气味	填充物	丁香/化妆棉	肉豆蔻/百洁布
			丁香/百洁布	肉豆蔻/化妆棉
IDS	气味	填充物	迷迭香/木珠	肉桂/塑料珠
			迷迭香/塑料珠	肉桂/木珠
RL	气味	填充物	肉桂/木珠	迷迭香/塑料珠
			肉桂/塑料珠	迷迭香/木珠
EDS	填充物	气味	褶皱纸条/香茅	卫生纸/百里香
			褶皱纸条/百里香	卫生纸/香茅

扰(CD反向学习阶段),以转移大鼠的注意力影响大鼠获得奖赏。IDS阶段:即已习得问题解决策略的调整和转换能力阶段,通过改变与奖赏相关联的气味,观察大鼠根据气味维度的变化对已经掌握的奖赏的策略进行改变的能力:并通过变换填充物的种类进行干扰(IDS反向学习阶段),以进一步转移大鼠的注意力影响大鼠获得奖赏,以判断大鼠对改变后的问题解决策略的稳定性。RL阶段:即随着环境关系变化抑制旧策略建立新策略的能力,在RL阶段将IDS阶段中作为负性线索的气味改为正性线索,并通过变换填充物的种类进行干扰,以强化大鼠新的应对策略,观察大鼠为获得奖赏而建立新的应对策略的能力。EDS阶段:即随着环境关系变化抑制旧策略跨维度建立新的应对策略能力。在EDS阶段将前4个阶段均为正性线索的气味改变为填充物,并通过改变气味的种类进行干扰,以强化大鼠新的应对策略,观察大鼠为获得奖赏而跨维度建立新的应对策略的能力。每个阶段以连续6次正确为标准,然后转至下一阶段任务。每个阶段记录错误次数、错误率。

$$\text{错误率} = \text{错误次数} / \text{挖掘次数}$$

2.3 统计方法

用IBM SPSS statistics 20统计软件处理,所有计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组计量数据先进行正态分布和方差齐性检验,符合正态分布和方差齐性的数据,采用单因素方差分析(one-way, ANOVA),并采用LSD进行多组间两两比较;对于不符合正态分布或方差齐性的数据,则用非参数检验。

3 结果

3.1 大鼠在SD阶段各指标

如表2所示,模型组SHR的错误次数与错误率

表2 各组大鼠SD阶段注意定势转移行为比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 2 AST behavior parameters of SHR rats in SD phase of all groups ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	错误次数	错误率/%
WKY大鼠	—	0.63±0.48	7.44±5.92
Wistar大鼠	—	0.25±0.43	3.04±5.37
模型	—	0.63±0.86	6.69±9.43
小儿黄龙颗粒	1.875	0.63±0.99	5.59±8.99
	3.750	0.13±0.33	1.79±4.72
哌甲酯	0.006 75	0.50±0.71	5.67±7.66

在SD阶段高于Wistar大鼠,但无显著性差异。小儿黄龙颗粒各剂量组、哌甲酯组大鼠的错误次数与错误率在SD阶段与模型组大鼠相比没有显著性差异,表明SHR与Wistar大鼠相比学习能力较差。

3.2 大鼠在CD阶段及CD反向阶段各指标

结果如表3、4所示,模型组SHR在CD阶段的错误次数及错误率显著高于Wistar大鼠($P<0.05、0.01$),表明SHR较Wistar大鼠学习记忆能力弱。在CD反向阶段,模型组大鼠的错误次数及错误率较Wistar大鼠有增加趋势但无显著性差异,表明大鼠在更换填充物后受到了干扰,坚持使用气味作为正性线索的注意定势能力减弱,SHR更容易受到填充物变化的干扰。小儿黄龙颗粒各剂量组、哌甲酯组在CD阶段及CD反向阶段的错误次数及错误率较模型组大鼠有不同程度的减少,其中小儿黄龙颗粒高剂量组与哌甲酯组大鼠在CD阶段与模型组大鼠相比有显著差异($P<0.05、0.01$)。表明小儿黄龙颗粒对于SHR学习记忆能力、抗干扰能力有一定的改善作用。

表3 各组大鼠CD阶段注意定势转移行为比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 3 AST behavior parameters of SHR rats in CD phase of all groups ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	错误次数	错误率/%
WKY大鼠	—	0.50±0.50	6.25±6.25
Wistar大鼠	—	0.38±0.70	3.31±5.84
模型	—	1.00±0.71*	12.54±8.17**
小儿黄龙颗粒	1.875	0.50±0.50	6.61±6.74
	3.750	0.25±0.43 [#]	3.17±5.56 ^{##}
哌甲酯	0.006 75	0.13±0.33 ^{###}	1.79±4.72 ^{###}

与Wistar大鼠组比较: * $P<0.05$ ** $P<0.01$;与模型组比较: [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$

* $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs Wistar rats group; [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs model group

表4 各组大鼠CD反向学习阶段注意定势转移行为比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 4 AST behavior parameters of SHR rats in CD reverse learning phase of all groups ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	错误次数	错误率/%
WKY大鼠	—	0.25±0.43	3.04±5.37
Wistar大鼠	—	0.13±0.33	1.56±4.13
模型	—	0.63±0.99	6.44±9.46
小儿黄龙颗粒	1.875	0.38±0.48	4.91±6.36
	3.750	0.13±0.33	1.25±3.31
哌甲酯	0.006 75	0.25±0.43	2.70±4.75

3.3 大鼠在IDS阶段及IDS反向阶段各指标

结果如表5、6所示,模型组大鼠在IDS阶段的错误次数及错误率显著高于Wistar大鼠($P<0.05$),表明SHR在对相关气味做出调整后不能及时调整策略,学习能力差、注意力不集中并且更加多动。在IDS反向阶段,模型组大鼠的错误率较Wistar大鼠显著增加($P<0.05$),表明SHR更易受到填充物改变的干扰。小儿黄龙颗粒各剂量组、哌甲酯组在IDS阶段及IDS反向阶段的错误次数及错误率较模型组大鼠有不同程度的减少,其中小儿黄龙颗粒低剂量组的错误次数与错误率,高剂量组的错误次数在IDS正向阶段与模型组相比有显著差异($P<0.05、0.01$),表明小儿黄龙颗粒对于SHR学习能力、注意定势转换能力有一定的改善作用。

表5 各组大鼠IDS阶段注意定势转移行为比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 5 AST behavior parameters of SHR rats in IDS phase of all groups ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	错误次数	错误率/%
WKY大鼠	—	1.00±0.71	11.95±7.87
Wistar大鼠	—	0.38±0.48	5.36±6.92
模型	—	1.13±0.60*	12.61±5.80*
小儿黄龙颗粒	1.875	0.13±0.33 ^{##}	1.39±3.67 ^{###}
	3.750	0.50±0.50 [#]	6.75±6.82
哌甲酯	0.006 75	0.63±0.70	7.23±7.45

与Wistar大鼠组比较: * $P<0.05$;与模型组比较: [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$

* $P<0.05$ vs Wistar rats group; [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs model group

3.4 大鼠在RL阶段及RL反向阶段各指标

结果如表7、8所示,模型组大鼠在RL阶段的错误次数及错误率显著高于Wistar大鼠($P<0.05$),表明SHR在将正性线索与负性线索进行交换后的应对、学习能力及调整策略能力较弱。在RL反向阶段,模型组大鼠的错误次数与错误率较Wistar大鼠有所增加但无统计学差异,表明SHR易受干扰。小

表6 各组大鼠IDS反向学习阶段注意定势转移行为比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 6 AST behavior parameters of SHR rats in IDS reverse learning phase of all groups ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	错误次数	错误率/%
WKY大鼠	—	0.38±0.48	5.13±6.65
Wistar大鼠	—	0.38±0.48	4.20±5.46
模型	—	1.00±1.00	11.84±10.82*
小儿黄龙颗粒	1.875	0.75±0.66	7.99±6.39
	3.750	0.50±0.50	6.38±6.50
哌甲酯	0.006 75	0.38±0.48	3.89±5.03 [#]

与Wistar大鼠组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs Wistar rats group; [#] $P < 0.05$ vs model group

表7 各组大鼠RL阶段注意定势转移行为比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 7 AST behavior parameters of SHR rats in RL phase of all groups ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	错误次数	错误率/%
WKY大鼠	—	0.63±0.48	8.48±6.61
Wistar大鼠	—	0.25±0.43	3.57±6.19
模型	—	1.13±0.93*	11.54±8.95*
小儿黄龙颗粒	1.875	0.50±0.50 [#]	6.52±6.59
	3.750	0.50±0.50 [#]	5.85±5.99
哌甲酯	0.006 75	0.63±0.70	7.44±7.48

与Wistar大鼠组比较: * $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs Wistar rats group

表8 各组大鼠RL反向学习阶段注意定势转移行为比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 8 AST behavior parameters of SHR rats in RL reverse learning phase of all groups ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	错误次数	错误率/%
WKY大鼠	—	0.50±0.71	5.45±7.43
Wistar大鼠	—	0.13±0.33	1.39±3.67
模型	—	0.38±0.70	4.06±7.28
小儿黄龙颗粒	1.875	0.50±1.00	5.19±9.57
	3.750	0.38±0.70	4.91±8.92
哌甲酯	0.006 75	0.38±0.48	5.13±6.65

儿黄龙颗粒各剂量组、哌甲酯组在RL阶段及RL反向阶段的错误次数及错误率较模型组大鼠有不同程度的降低,其中小儿黄龙颗粒各剂量组大鼠在RL正向阶段的错误次数与模型组大鼠相比有显著差异($P < 0.05$)。表明小儿黄龙颗粒对于SHR逆反学习能力有一定的改善作用。

3.5 大鼠在EDS阶段及EDS反向阶段各指标

结果如表9、10所示,模型组大鼠在EDS阶段及EDS反向阶段的各项指标与Wistar大鼠相比无明显

表9 各组大鼠EDS阶段注意定势转移行为比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 9 AST behavior parameters of SHR rats in EDS phase of all groups ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	错误次数	错误率/%
WKY大鼠	—	0.50±0.50	6.92±6.94
Wistar大鼠	—	0.38±0.70	3.71±6.43
模型	—	0.75±0.83	8.17±8.61
小儿黄龙颗粒	1.875	0.38±0.48	4.74±6.17
	3.750	0.50±0.71	6.08±8.73
哌甲酯	0.006 75	0.38±0.48	4.42±5.82

表10 各组大鼠EDS反向学习阶段注意定势转移行为比较($\bar{x}\pm s, n=8$)

Table 10 AST behavior parameters of SHR rats in EDS reverse learning phase of all groups ($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	剂量	错误次数	错误率/%
WKY大鼠	—	0.88±0.60	11.09±7.09
Wistar大鼠	—	0.38±0.48	4.82±6.35
模型	—	0.63±0.70	6.70±7.04
小儿黄龙颗粒	1.875	0.25±0.66	2.50±6.61
	3.750	0.88±0.93	10.33±9.07
哌甲酯	0.006 75	0.38±0.48	4.48±5.94

差异。小儿黄龙颗粒各剂量组、哌甲酯组在EDS阶段及EDS反向阶段的各项指标较模型组大鼠相比无显著改善作用,但可不同程度地减少其错误次数及错误率。表明各组大鼠在正性线索维度发生变化后的学习能力均减弱。

4 讨论

ADHD是儿童时期最常见的神经行为障碍之一,主要以注意力不集中、易分心、多动、冲动和执行功能受损为特征^[11]。由于患者年龄过小,症状不受家人重视,30%~50%的患者持续到青少年以至成年仍有多动症状^[12]。执行功能的缺陷是ADHD患者的一个重要表现,其表现在患者的控制能力、工作记忆和认知灵活性以及更高层次的功能如推理、计划和解决问题方面存在障碍^[13]。ADHD患者常表现为认知灵活性异常,解决问题的能力低下,学习成绩不佳等。此外,执行功能是高阶认知功能,对于多动症儿童的学习生活,以及抑制不适当的行为有很大帮助。中医古籍未见ADHD的相关记载,根据其活动过度、冲动不安、神志涣散等症状,将其归属于“脏躁”“躁动”证;而学习与记忆障碍、注意力不集中、神经发育异常等症状,当归属于“健忘”“失聪”证^[14]。一些中医名家对ADHD的中医治疗进行了深入探索,例如马融^[15]认为髓海发

育迟缓致儿童多动症的假说,认为ADHD的病机关键为“肾精亏虚,髓海发育迟缓,阴阳失调,阳动有余,阴静不足”;韩新民^[16]认为儿童多动症以心肝火旺证最为多见,治则应以清心平肝、豁痰开窍、安神定志为原则;王俊宏^[17]提出气阴两虚证是儿童多动症的常见证型之一,病机关键为“脏腑阴阳失调”。

为了评估ADHD大鼠的认知灵活性,本研究采用AST方法对大鼠进行测试,由于经典的AST测试包含7个阶段的测试任务,在测试过程中只能由人工观察记录动物行为,测试难度较大、耗时较长,故而本研究采用简化版AST测试任务。简化的5阶段AST测试任务包括5个难度逐渐增加的阶段,其中CD阶段和SD阶段为学习阶段,大鼠在这2个阶段中会根据嗅觉,依据正性线索找到奖赏物。IDS阶段为已习得问题解决策略的调整和转换能力阶段,这一阶段改变与奖赏物相关联的气味,大鼠需要根据气味维度的变化对已经掌握的奖赏的策略进行改变。RL阶段为随着环境关系变化抑制旧策略建立新策略的阶段,这一阶段将IDS阶段中作为负性线索的气味改为正性线索,并通过变换填充物的种类进行干扰,使大鼠建立新的应对策略从而获得奖赏物。EDS阶段观察大鼠随着环境关系变化抑制旧策略跨维度建立新的应对策略的能力,在EDS阶段将前4个阶段均为正性线索的气味改变为填充物,并通过改变气味的种类进行干扰,以强化大鼠新的应对策略。研究以错误次数以及错误率作为指标,评价SHR的注意定势能力以及小儿黄龙颗粒对ADHD大鼠的作用。

动物模型对于研究药物对疾病的药效及机制是极其重要的,在本研究中选用低周龄SHR作为ADHD模型。SHR起源于东京远交系Wistar大鼠,由同样起源于Wistar大鼠的WKY大鼠交叉培育而来^[9]。SHR因在10周龄后出现高血压症状而得名,常用于高血压的研究。而4~10周龄的SHR具有活动异常活跃、易冲动、易怒、学习记忆能力差、注意力不集中等特点^[8],与人类儿童ADHD的症状吻合,故用于ADHD模型大鼠。因SHR是从WKY大鼠繁育而来,故常用WKY大鼠作为研究高血压以及ADHD的对照动物。但同时有研究^[18]表明,WKY大鼠作为SHR的天然对照组存在争议,WKY大鼠在行为学测试中有着自主活动性低下的特点,与正常大鼠行为活动存在差异,且有抑郁的倾向。周荣易等^[18]的研究显示,在旷场实验中WKY大鼠的运动距离、运动速度及穿格数较SHR、正常大鼠均大

大降低,在水迷宫实验中,WKY大鼠常常出现浮在水面上不动的状态,提示WKY大鼠具有抑郁症状。因此本研究增加了一组Wistar大鼠,研究结果显示,WKY组大鼠学习记忆能力低下,较模型组大鼠无显著差异,无法作为对照组,因此采用Wistar大鼠作为对照组。

研究结果显示,模型组大鼠较Wistar大鼠相比在5阶段AST测试中错误次数、挖掘次数及错误率均增加,其中在CD、IDS及RL阶段结果具有显著性,这表明SHR认知灵活性低下,执行功能障碍以及注意定势转移能力缺陷,使用SHR作为ADHD模型具有可行性。小儿黄龙颗粒各剂量组大鼠较SHR组大鼠相比在5阶段测试中错误次数及错误率有不同程度的降低,其中在CD、IDS阶段结果具有显著性,这表明小儿黄龙颗粒可以改善低周龄SHR的认知灵活性,改善执行功能障碍,提高注意定势转移能力,治疗ADHD。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 张天睿,严素玉,杨爱玲,等. 哌甲酯缓释片对注意缺陷多动障碍大鼠的干预作用及其机制[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 27(4): 244-248.
Zhang T R, Yan S Y, Yang A L, et al. Effect of methylphenidate sustained-release tablets on attention deficit hyperactivity disorder rats and its mechanism analysis [J]. Chin J Clin Pharm, 2018, 27(4): 244-248.
- [2] Polanczyk G V, Salum G A, Sugaya L S, et al. Annual research review: A Meta-analysis of the worldwide prevalence of mental disorders in children and adolescents [J]. J Child Psychol Psychiatry, 2015, 56(3): 345-365.
- [3] Lambez B, Harwood-Gross A, Golumbic E Z, et al. Non-pharmacological interventions for cognitive difficulties in ADHD: A systematic review and Meta-analysis [J]. J Psychiatr Res, 2020, 120: 40-55.
- [4] Capilla Gonzalez A, Etchepareborda M C, Fernandez Gonzalez S, et al. The neurofunctional foundation of cognitive rigidity in attention deficit hyperactivity disorder: Some preliminary findings [J]. Rev Neurol, 2004, 38(Suppl 1): S145-S148.
- [5] 刘小凡,马融,丁樱,等. 小儿黄龙颗粒治疗注意缺陷多动障碍随机、双盲双模拟、多中心临床研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(2): 171-176.
Liu X F, Ma R, Ding Y, et al. A randomized, double blind, multicenter clinical research of pediatric Huanglong Granule treating attention deficit hyperactivity disorder

- [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2014, 20(2): 171-176.
- [6] 陈瑶. 小儿黄龙颗粒治疗儿童注意缺陷多动障碍单臂临床试验 [D]. 武汉: 湖北中医药大学, 2018.
- Chen Y. Pediatric Huanglong Granule treatment of attention deficit hyperactivity disorder in children one-armed clinical trials [D]. Wuhan: Hubei University of Chinese Medicine, 2018.
- [7] 武金霞, 武婷婷, 高桂香, 等. 小儿黄龙颗粒联合哌甲酯治疗儿童注意缺陷多动障碍的临床研究 [J]. 现代药物与临床, 2018, 33(5): 1198-1202.
- Wu J X, Wu T T, Gao G X, et al. Clinical study on Xiaoe Huanglong Granules combined with methylphenidate in treatment of attention deficit hyperactivity disorder [J]. Drugs & Clin, 2018, 33(5): 1198-1202.
- [8] 严素玉, 张硕峰, 张天睿, 等. 静宁颗粒对注意力缺陷多动障碍模型大鼠注意定势转移能力的影响 [J]. 北京中医药大学学报, 2017, 40(6): 463-470.
- Yan S Y, Zhang S F, Zhang T R, et al. Effects of Jingning Granule on attention set transfer in ADHD rats [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 2017, 40(6): 463-470.
- [9] Okamoto K, Aoki K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats [J]. Jpn Circ J, 1963, 27: 282-293.
- [10] Cao A H, Yu L, Wang Y W, et al. Effects of methylphenidate on attentional set-shifting in a genetic model of attention-deficit/hyperactivity disorder [J]. Behav Brain Funct, 2012, 8(1): 10.
- [11] Weibel S, Menard O, Ionita A, et al. Practical considerations for the evaluation and management of attention deficit hyperactivity disorder (ADHD) in adults [J]. Encephale, 2020, 46(1): 30-40.
- [12] Karr J E, Areshenkoff C N, Rast P, et al. The unity and diversity of executive functions: A systematic review and re-analysis of latent variable studies [J]. Psychol Bull, 2018, 144(11): 1147-1185.
- [13] Alloway T P, Passolunghi M C. The relationship between working memory, IQ, and mathematical skills in children [J]. Learn Individ Differ, 2011, 21(1): 133-137
- [14] 汪受传, 虞坚尔. 中医儿科学 [M]. 第3版. 北京: 中国中医药出版社, 2012.
- Wang S C, Yu J E. Pediatrics of Traditional Chinese Medicine [M]. 3rd Ed. Beijing: China Traditional Chinese Medicine Press, 2012.
- [15] 马融, 张喜莲. 髓海发育迟缓致儿童注意缺陷多动障碍病机假说探讨 [J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(8): 737-739.
- Ma R, Zhang X L. Discussion on pathomechanism hypothesis ADHD caused by growth retardation of spinal marrow [J]. China J Tradit Chin Med Pharm, 2008, 23(8): 737-739.
- [16] 韩新民. 儿童多动症心肝火旺证探析 [J]. 中医儿科杂志, 2006, 2(1): 11-13.
- Han X M. Analysis of hyperactivity of heart and liver syndrome in children [J]. J Pediatr Tradit Chin Med, 2006, 2(1): 11-13.
- [17] 刘玉清, 王俊宏, 刘玲佳, 等. 王俊宏教授治疗气阴两虚型儿童注意力缺陷多动障碍经验 [J]. 中医学报, 2017, 32(10): 1902-1906.
- Liu Y Q, Wang J H, Liu L J, et al. Professor Wang Junhong's experience in treating children with attention deficit hyperactivity disorder with Qi Yin two deficiency syndrome [J]. Acta Chin Med, 2017, 32(10): 1902-1906.
- [18] 周荣易, 王娇娇, 韩新民. SHR、WKY大鼠与SD大鼠注意缺陷多动障碍模型行为学特征的比较 [J]. 中国实验动物学报, 2017, 25(4): 380-385.
- Zhou R Y, Wang J J, Han X M. Comparison of the behavior characteristics in SHR, WKY and SD rat models of attention deficit/hyperactivity disorder [J]. Acta Lab Animalis Sci Sin, 2017, 25(4): 380-385.

[责任编辑 兰新新]