

· 药理实验与临床观察 ·

补肾益智方对老年性痴呆模型动物
空间探索学习记忆功能的改善作用张魁华¹, 赖世隆², 王 奇², 程淑意², 陈云波^{2*}

(1. 广州军区军事医学研究所, 广东 广州 510507; 2. 广州中医药大学 DME中心, 广东 广州 510507)

摘要: 目的 观察补肾益智方对老年性痴呆 (AD) 模型大鼠空间探索学习记忆功能的改善作用。方法 用 15 月龄老年 Wistar 大鼠 80 只, 以 D-半乳糖 ip 4 周加上鹅膏蕈酸 (ibotenic acid, IBO) 脑内 Meynert 核注射制造 AD 模型, 随机分成: AD 模型组, 双益平治疗对照组, 补肾益智方高、低剂量 (12, 6 g/kg·d) 治疗组。另加上正常老年组和正常青年组总共设立 6 个组别。动物经治疗处理 4 周后, 应用 Morris 水迷宫检测大鼠学习记忆的改善情况。结果 空间探索试验发现, 模型组及双益平组在空间探索试验中的指标与正常青年组和正常老年组有显著差异性 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 补肾益智方高、低剂量组也与模型组和双益平组有显著性差异 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。与模型组比较, 正常青年组、正常老年组和补肾益智方高剂量组第 7 天撤离平台后大鼠在原平台象限内游泳的时间占整个游泳时间的百分比明显要高 ($P < 0.05$), 而补肾益智方低剂量和双益平组虽然要高些, 但差异无显著性 ($P > 0.05$)。结论 补肾益智方能明显改善 AD 大鼠空间探索学习记忆功能。

关键词: 补肾益智方; 老年性痴呆; 学习记忆功能; 空间探索

中图分类号: R285.5 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)12-1093-03

Effects of BUSHEN YIZHI DECOCTION on interspace explore learning and memory in rat model with Alzheimer's disease

ZHANG Kui-hua¹, LAI Shi-long², WANG Qi², CHENG Shu-yi², CHEN Yun-bo²

(1. Guangzhou Military Medical Institute, Guangzhou 510507, China; 2. DME Center, Guangzhou University of TCM, Guangzhou 510507, China)

Abstract **Object** To observe the improving effects of BUSHEN YIZHI DECOCTION (BSYZD) on interspace explore learning and memory in rat model with Alzheimer's disease. **Methods** Eighty 15-month Wistar rats were induced by ip D-galactose for four weeks and injection of basal nucleus of Meynert with ibotenic acid (IBO) to make AD model, then randomly divided into AD model group, Hup-A treated group, BSYZD (high dose, 12 g/kg·d) treated group and BSYZD (low dose, 6 g/kg·d) treated group, and also normal aged and young groups. After treating for four weeks, Morris water maze was used to assess the improvement of rat interspace explore learning and memory. **Results** In the interspace explore experiment, the significant differences were observed between the model, Hup-A treated groups and normal aged, young groups ($P < 0.01$ or $P < 0.05$); also between the high-, low-dose treated groups of BSYZD and the model, Hup-A treated groups ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). Compared with the model group, the percentage of the rat swimming time in platform quadrant was markedly higher in the normal young, aged groups and high-dose treated groups of BSYZD ($P < 0.05$) after departing from the original platform in the 7th day. And there were some in the low-dose treated group of BSYZD and Hup-A treated group, but not markedly ($P > 0.05$). **Conclusion** BSYZD possesses a certain preventive effects on interspace explore learning and memory in AD rat model.

Key words BUSHEN YIZHI DECOCTION (BSYZD); Alzheimer's disease; learning and memory function; interspace explore

补肾益智方对 D-半乳糖致亚急性衰老合并鹅 (AD) 模型大鼠学习记忆有改善作用^[1-4]。本实验
膏蕈酸 (IBO) 损伤 Meynert 基底核的老年性痴呆 试图应用中国科学院心理研究所开发的大鼠行为学

* 收稿日期: 2002-05-11

基金项目: 国家“九五”攻关课题 (96-906-09-02); 科技部博士创新课题 (98-B-13)

作者简介: 张魁华 (1966-), 男, 副研究员, 医学博士 (后), 主要从事 (中药) 抗衰老和老年性痴呆的药理学与毒理学研究及其新药开发。

软件系统从多个方面观察补肾益智方对 D 半乳糖致亚急性衰老合并 IBO 损伤 Meynert 基底核的 AD 模型大鼠空间探索学习记忆功能的改善强度进行定量分析。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 动物: 15 月龄初老年雄性 Wistar 大鼠 100 只, 体重 450~500 g; 5 月龄青年雄性 Wistar 大鼠 10 只, 体重 200~250 g, 均由广州中医药大学实验动物中心提供。

1.1.2 药物与试剂: 补肾益智方主要针对老年人肾虚、血瘀、痰闭等病机, 选用具有补肾填精、益气养血、活血开窍等功效的蛇床子、枸杞子、女贞子、首乌、丹参等组成, 经提取制成浓缩液。双益平片购自上海红旗制药厂 (批号为 99010), 规格为每片含石杉碱甲 (Hup-A) 0.05 mg, D 半乳糖 (上海试剂二厂), IBO (Sigma 公司)。

1.1.3 造模、分组与给药: 用 80 只 Wistar 大鼠 ip D 半乳糖 (48 mg/kg·d) 4 周后, 脑内双侧 Meynert 核注射 IBO 制造 AD 模型; 然后设立 AD 模型组、双益平片治疗对照组, 补肾益智方高、低剂量治疗组, ig 补肾益智方浓缩液, 相当生药量 12, 6 g/kg·d, 共 6 周; 10 只老年正常对照组 ip 生理盐水 6 周后, 脑内 Meynert 核注射生理盐水; 10 只正常青年对照组。所有动物经过处理后灌流取脑, 取脑前, 正常青年组、正常老年组、模型组、双益平片治疗组、补肾方高、低剂量治疗组大鼠分别存活 10, 8, 6, 8, 8 和 7 只。

1.2 水迷宫的组成: 由圆形水池、无色平台和记录系统 3 部分组成。水池直径 200 cm, 高 50 cm, 水深 30 cm; 水池内壁涂成乳白色, 水的温度保持在 22℃~26℃; 水池放在一间小屋的中央。池壁上随意挂两个物体作为近距离视觉暗示, 室内的门窗、柜组、摄像头等构成远距离视觉暗示。平台由透明的有机玻璃做成, 圆形, 直径 5 cm, 高 28 cm, 没于水下 2 cm, 上面有几个小孔以提供一个大鼠容易站稳的表面。

1.3 行为试验检测: 在迷宫试验的第 7 天下午进行空间探索试验。把平台撤除, 将大鼠从原放平台对面的象限中点面向水池壁放入水中, 记录 60 s 内大鼠在水池中的游泳途径。测量 60 s 内的: (1) 4 个象限内游泳路程的比较; (2) 在原平台象限内游泳的时间占整个游泳时间的百分比。

1.4 统计方法: 所有结果均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用

SAS6.12 统计软件包分别进行方差分析, 方差齐性检验水平 $T_1 = 0.10$, 显著性水平取 $T_2 = 0.05$

2 结果

2.1 撤离平台后各组大鼠 60 s 内在原平台象限和其它象限内游泳时间的分布情况: 见表 1。模型组及双益平组在空间探索试验中的指标与正常青年组和正常老年组有显著差异性 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 补肾益智方高、低剂量组也与模型组和双益平组有显著性差异 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。

表 1 第 7 天撤离平台后大鼠 60 s 在各个象限内的游泳时间分布情况

组别	游泳时间 (s)			
	原平台象限	对侧平台象限	左侧平台象限	右侧平台象限
正常青年	32.92 ± 11.15*	11.76 ± 4.49	9.26 ± 4.32	6.06 ± 4.17
正常老年	27.27 ± 8.90*	13.47 ± 9.28	10.68 ± 10.16	8.47 ± 6.83
补肾方低剂量	23.18 ± 5.90*	14.98 ± 7.12	13.02 ± 4.79	10.15 ± 5.68
补肾方高剂量	27.75 ± 10.38*	13.82 ± 7.39	6.95 ± 6.84	11.42 ± 5.86
双益平对照	20.25 ± 8.39	19.43 ± 8.81	10.90 ± 6.29	9.28 ± 8.12
老年痴呆模型	20.72 ± 9.80	11.13 ± 7.03	14.40 ± 9.92	13.60 ± 4.54

大鼠在原平台象限游泳时间与其它三个象限的游泳时间进行比较: ** $P < 0.01$

2.2 第 7 天撤离平台后大鼠在原平台象限内游泳的时间占整个游泳时间的百分比: 见表 2。与模型组比较, 正常青年组、正常老年组和补肾益智方高剂量组第 7 天撤离平台后大鼠在原平台象限内游泳的时间占整个游泳时间的百分比明显要高 ($P < 0.05$), 而补肾益智方低剂量组和双益平组虽然要高些, 但差异无显著性 ($P > 0.05$)。这也反映了各组大鼠的空间探索的学习记忆功能的情况, 补肾益智方高剂量组要好于低剂量组, 并明显好于模型组和双益平组。

表 2 迷宫试验第 7 天撤离平台后大鼠在原平台象限内游泳的时间占整个游泳时间的百分比

组别	例数 (n)	所占的百分比 (%)
正常青年	10	54.86
正常老年	8	45.45
补肾方高剂量	8	46.25
补肾方低剂量	7	38.63
双益平对照	8	33.75
老年痴呆模型	6	34.53

与模型组比较: * $P < 0.05$

2.3 大鼠第 7 天撤离平台后在 60 s 内的平均游泳距离: 见表 3。与模型组比较, 正常青年组、正常老年组、补肾益智方高剂量组、补肾益智方低剂量组的平均游泳距离明显减少 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 与双益平组比较也是明显减少 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 而正常青年组、正常老年组、补肾益智方高剂量组、补肾益智方低剂量组之间比较则无差异性 ($P >$

0.05) 这也从一个侧面反映各组大鼠空间探索的学习记忆情况,补肾益智方高剂量组要略好于低剂量组,并明显好于模型组和双益平组

表 3 第 7 天撤离平台后大鼠在 60 s 内的平均游泳距离

组别	例数 (n)	平均游泳距离 (cm)
正常青年	10	802.57±191.32 *##
正常老年	8	896.33±90.33 #
补肾方高剂量	8	854.50±168.78 *##
补肾方低剂量	7	932.33±293.47 #
双益平对照	8	1193.50±122.41
老年痴呆模型	6	1320.83±190.78

与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与双益平对照组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$

3 讨论

学习记忆障碍是老年痴呆患者一个重要的临床症状和特征,它同时又是可以独立于老年痴呆之外的一个病症。以前研究学习记忆障碍大多局限于心理学范围。近年来,随着社会老龄化的到来,老年痴呆的研究得到了迅速的发展。而作为老年痴呆的主要临床表现的学习记忆障碍的研究,也得到了相应的发展。在学习记忆的检测方法上,中医药研究应用了一些较为稳定且经典的检测方法,如比较常用的有迷宫法、跳台法、避暗法等。这些方法都能在一定程度上反映动物对空间位置等的学习记忆能力。迷宫法由于避开如跳台法和避暗法利用动物防御性反射来逼迫动物学习,因而减少了动物的惊恐心理产生的结果不利的影 响,且由于迷宫软件的开发推广,近年来常利用这种模型来研究海马的记忆功能。观察的指标主要是计算动物找到平台所需要的时间(或称潜伏期)以及动物游泳的轨迹,并计算动物游泳通过平台所在象限的次数和时间。这种水迷宫方法常用于研究大鼠的空间记忆能力。

为了进一步明确补肾益智方改善 AD 学习记忆功能的作用强度和作用环节,本实验在以往采用 Morris 水迷宫检测大鼠学习记忆能力的基础上,引用中国科学院心理学研究所研制开发的水迷宫实验软件系统,形成较为系统全面的学习记忆功能检测方案。实验结果发现:模型组大鼠在 Morris 水迷宫检测中原平台象限游泳时间显著缩短,说明模型组大鼠的空间探索学习记忆能力受到较严重的损伤。补肾益智方高、低剂量治疗组大鼠在 Morris 水迷宫的上述检测指标都明显优于模型组,并表现为高剂量组要略好于低剂量组的趋势;表明补肾益智方对 D-半乳糖加速衰老加上 IBO Meynert 核损毁的 AD 模型大鼠的学习记忆功能有明显的改善作用。

实验结果还显示:补肾益智方高、低剂量治疗组对 AD 大鼠学习记忆的改善作用与正常青年组和正常老年组还有一定的差距;说明补肾益智方只能部分改善 AD 的学习记忆障碍,而不能全愈;这也与临床表现相类似。

肾虚是衰老的基础,是许多老年性疾病发生的主要原因。肾虚无以生髓充脑则神失所养,肾虚不能蒸化水湿、温煦推动气血运行则为痰为瘀痹阻清窍。肾虚痰瘀相互影响,促进老年性痴呆的发生。大量的实验和临床研究表明,老年肾虚者大多脑功能下降,大脑神经细胞减少,递质含量及递质受体数量均下降,内分泌功能紊乱,免疫功能下降,自身免疫和变态反应增加,体内自由基的容量及过氧化物随年龄增加而积累,而抗自由基损伤的物质如 SOD 含量下降。这些变化与现代医学解释 AD 型痴呆病因的胆碱能假说、免疫损伤假说、代谢紊乱假说等相一致,说明肾虚是老年性痴呆的重要病因。因此,以肾虚为主要病机,以补肾填精益髓为治疗大法组方遣药来延缓衰老和防治老年性痴呆可以说是传统的共识。补肾益智方就是基于这样的共识之上,结合临床经验和现代中药药理学研究成果设计而成,含有何首乌、枸杞子、女贞子、人参等补肾填精益髓的中药,它们具有促进蛋白质合成,改善神经系统功能,清除自由基,改善智能低下状况的作用^[5];这些都是补肾益智方治疗 AD 的物质基础。老年性痴呆的病程较长,老年人又多为身患多种疾病,临床证型纷繁复杂,但不管病情如何变化,肾虚始终贯穿老年性痴呆的整个病程是其最本质的特征。临床上只要以补肾填精益髓立方防治老年性痴呆,就能取得较好的疗效,本实验结果显示补肾益智方能较有效地改善 AD 模型动物的学习记忆功能。

参考文献:

- [1] 林水森. 中药药理与临床研究进展(第四册)[M]. 北京:军事医学科学出版社,1996.
- [2] 赖世隆,胡镜清,王奇,等. 补肾益智方对老年性痴呆大鼠学习记忆保护作用的观察[J]. 广州中医药大学学报,2000,17(2): 106-108.
- [3] 赖世隆,饶燕,高洁,等. 补肾益智改善 Alzheimer 病模型大鼠的学习记忆能力[J]. 中药新药与临床药理,2000,11(6): 337-339.
- [4] 张魁华,赖世隆,胡镜清,等. 补肾益智方改善老年性痴呆动物模型定位航行学习记忆功能的作用强度[J]. 中草药,2002,33(10): 917-920.
- [5] 皱莉波,刘干中. 部分中药对小鼠学习记忆能力的影响[J]. 中药药理与临床,1999,6(5): 16-18.