

大豆异黄酮活性组分对阿尔茨海默病小鼠学习记忆能力的影响

杨红¹, 陈伟强¹, 赵宇红², 罗少洪¹, 李春梅¹

(1. 广东药学院基础学院, 广东 广州 510224; 2. 广东药学院药理学教研室, 广东 广州 510224)

摘要:目的 探讨大豆异黄酮活性组分对阿尔茨海默病(AD)小鼠学习和记忆能力的改善作用。方法 以 D-半乳糖和三氯化铝建立 AD 动物模型, 利用 Y-型迷宫进行被动回避反应和信号方位辨别反应测试, 观察大豆异黄酮活性组分对小鼠学习记忆能力及信号方位辨别能力的影响。结果 实验组小鼠学习能力和记忆力均显著优于模型对照组 ($P < 0.01$)。结论 大豆异黄酮活性组分能有效改善 AD 小鼠的学习和记忆能力。

关键词:大豆异黄酮; 阿尔茨海默病(AD); 学习; 记忆

中图分类号:R286.1 **文献标识码:**A **文章编号:**0253-2670(2005)06-0885-02

Effect of soybean isoflavones active-extracts on learning and memory in AD mice

YANG Hong¹, CHEN Wei-qiang¹, ZHAO Yu-hong², LUO Shao-hong¹, LI Chun-mei¹

(1. School of Basic Medicine, Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou 510224, China; 2. Department of Pharmacology, Guangdong College of Pharmacy, Guangzhou 510224, China)

Key words: soybean isoflavones; Alzheimer's Disease (AD); learning; memory

大豆异黄酮是在大豆生长中形成的一类次生代谢物, 在大豆中含量较低, 但具有较强的生物活性。近年来国内外对大豆异黄酮的研究发现其与生物体内天然雌激素结构相似, 能够竞争性地结合到雌激素受体上, 有效调节人体内雌激素水平, 改善与雌激素水平低下有关的疾病的临床症状如癌症、骨质疏松、高血脂等更年期综合征和老年性疾病^[1], 对阿尔茨海默病 (Alzheimer's Disease, AD) 也有良好疗效。本实验进一步研究提取制备的大豆异黄酮活性组分对 AD 小鼠学习和记忆能力及信号辨别学习能力的影

1 材料与方法

1.1 试剂: 大豆异黄酮活性组分 (由本室提取制备) 经高效液相色谱分析, 其质量分数达 52.26%: 其中染料木苷占 65.09%、大豆苷元占 28.41%。苯甲酸雌二醇购自通用药业, 其他试剂均为分析纯。

1.2 AD 动物模型的建立: 10 月龄昆明小鼠 (购自广州中医药大学动物中心), 体重为 (45±6) g, 随机分 5 组, 每组 12 只, 一组正常喂养, 其余各组分别 ig 三氯化铝和颈部 sc D-半乳糖。30 d 后利用 Y-型迷宫进行被动回避反应和辨别学习能力的测试, 筛选 AD 模型小鼠。

1.3 实验分组与给药: AD 模型小鼠随机分 5 组,

每组 10 只, 实验组分别 ig 高、中、低剂量 (500、100、50 mg/kg) 大豆异黄酮活性组分, 阳性对照组 ip 苯甲酸雌二醇 (每天 0.01 mL), 给药 15 d, 同时 ig 三氯化铝和颈部 sc D-半乳糖。对照组小鼠正常喂养。

1.4 学习能力和记忆保持力的测试: 采用 Y-型迷宫进行暗环境被动回避反应测试^[2]。将小鼠朝向灯光放入 I 臂, 小鼠有趋暗习性, 其会自动进入 II 臂 (暗室)。按下 I 键, I 臂的信号灯亮 (安全区), 此时打开 II、III 臂的电源键使其铝栅通电 (0.3 mA, 50 Hz), 小鼠受电击会自动逃回明室, 间隔 15 s 后再训练, 反复多次, 至小鼠进入明室后 10 min 不进暗室为学习完成 (即学会)。记录每组小鼠训练的次数。停止实验 1 周, 于第 8 天重新测试, 记录各组小鼠进入暗室前在明室停留的时间 (即进洞潜伏期), 观察小鼠记忆能力的改变。

1.5 信号方位辨别学习能力的测试: 将小鼠放入 Y-迷宫安全区, 10 s 后随机变换安全区, 小鼠受电击后跑到有灯光的安全区, 以此测试小鼠辨别灯光及安全方位的能力。两次测试间隔 30 s, 小鼠受电击后直接跑到安全区为“正确反应”, 否则为“错误反应”, 每天测试 15 次, 共 7 d, 记录各组小鼠的正确反应率 (正确反应率 = 正确反应次数 / 15 × 100%)。

收稿日期: 2004-12-17

基金项目: 广东省科技厅科技攻关项目 (2004B30101001); 广东省中医药局资助项目 (103079)

作者简介: 杨红 (1965—), 女, 广东人, 副教授, 硕士生导师, 主要研究方向为生化技术与生物制药。

Tel: (020) 39352067 E-mail: yanghong@gdpc.edu.cn

停止 15 d, 重复测试 1 次, 记录正确反应率。

1.6 数据处理: 数据处理均采用方差分析。

2 结果

2.1 AD 动物模型筛选: 根据各组小鼠完成被动回避反应测试所需训练次数和进洞潜伏期停留的时间, 以及信号方位辨别能力测试的正确反应率, 筛选出学习记忆能力和信号方位辨别能力明显低于正常水平的小鼠 ($P < 0.01$), 作为 AD 模型小鼠。

2.2 AD 小鼠学习和记忆保持力的改变: 各组小鼠在暗环境被动回避反应试验中学习速度及记忆保持力的结果见表 1。实验组小鼠学会所需训练次数均明显少于模型组 ($P < 0.01$), 与正常组和阳性对照组相近。停止训练后实验组小鼠进洞潜伏期明显高于模型组 ($P < 0.01$), 与正常组和阳性对照组相近。

表 1 各组小鼠学习和记忆能力 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Capacity of learning and memory of mice in every groups ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (mg · kg ⁻¹)	学会需要 训练次数	进洞潜伏期/s
正常	—	5.75 ± 1.34	637.25 ± 137.24
模型	—	11.67 ± 3.21 ^{△△}	344.47 ± 80.56 ^{△△}
阳性对照	—	6.52 ± 2.32 ^{**}	594.75 ± 110.79 ^{**}
实验	50	6.07 ± 2.78 ^{**}	603.65 ± 97.64 ^{**}
	100	5.27 ± 2.19 ^{**}	632.34 ± 120.34 ^{**}
	500	5.12 ± 2.27 ^{**}	645.67 ± 129.98 ^{**}

与正常组比较: ^{△△} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$

^{△△} $P < 0.01$ vs normal group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group

2.3 AD 小鼠信号方位辨别学习能力的改变: 各组小鼠信号方位辨别学习能力测试结果见图 1。结果显示, 各组小鼠随着训练时间的延长, 正确反应率缓慢上升, 停止训练 15 d 后再测试, 正确反应率均有所下降。实验组小鼠正确反应率明显高于 AD 模型组, 与正常组 (73%) 和阳性对照组 (76%) 接近, 至第 7 天达到 80% 左右, 停止训练 15 d 后实验组小鼠正确反应仍达 69%, 阳性对照组和正常对照组分别为 67% 和 63%。而模型组则下降至 29%。

3 讨论

学习和记忆是动物和人赖以生存的重要脑功能, 动物回避学习及分辨性学习能力的获得更接近人类在通常情况下学习记忆的行为动作^[3,4]。衰老及 AD 等神经退行性疾病的显著特征之一是中枢学习记忆功能障碍。临床研究显示, AD 等老年性疾病与

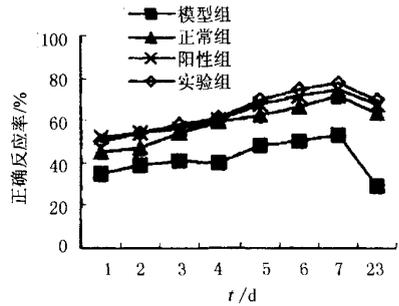


图 1 各组小鼠信号方位辨别正确反应率

Fig. 1 Rate of response to signal direction discrimination for every murine groups

体内雌激素水平低下密切相关, 临床上常用雌激素替代疗法治疗 AD, 但易引起子宫出血、肿瘤等不良反应, 临床应用有一定局限。

植物雌激素是一类具有类似雌激素结构和生物活性的异黄酮类化合物, 活性高, 不良反应少, 是防治 AD 的理想药物。本实验通过小鼠被动回避反应和信号方位辨别试验, 研究从大豆中提取分离的异黄酮活性组分对 AD 小鼠学习记忆功能的影响, 结果显示, 大豆异黄酮活性组分与动物雌激素二醇具有相同的功能, 能明显改善 AD 小鼠学习记忆功能、信号方位辨别能力和记忆保持力, 尤其是灯光信号方位迷路学习需要小鼠学会辨别灯光信号, 将不规则的信号变化与逃入安全臂的方位变化联系起来, 此为较复杂的条件性反应的建立, 比避暗反应的学习更困难^[5]。本实验结果为大豆异黄酮活性组分的药理作用研究及临床应用提供了理论依据。

References:

- [1] Sun L, Wei Z C, Xu Z, et al. Extracting of soybean isoflavones and effects of protecting aging [J]. Food Sci (食品科学), 2002, 23(8): 267-270.
- [2] Wang Y C, Wang Z D. Establish of test quoto normal-values on Y-maze in mice [J]. China Behav Med Sci (中国行为医学科学), 2003, 12(3): 333-335.
- [3] Zhou L L, Ming L, Lie Q J, et al. Effect of extracts of Ginkgo biloba leaves on learning and memory in presenium mice [J]. Acta Univ Med Anhui (安徽医科大学学报), 1998, 33(5): 337-339.
- [4] Long D H, Yao Z B, Li W T. Effect of nerve growth factor on learning and memory of Alzheimer's disease mice [J]. China Behav Med Sci (中国行为医学科学), 2001, 10(1): 4-6.
- [5] Xing S H, Li M, Cui J Y, et al. Effects of extracts of Ginkgo biloba leaves on learning and memory in mice [J]. Acta Acad Med Xuzhou (徐州医学院学报), 1999, 19(6): 431-433.