

地黄饮子对血管性痴呆大鼠学习记忆能力的影响^{*}

吴 颂¹, 谢 宁², 窦金金², 关慧波², 袁晓霞³

(1. 秦皇岛市中医院, 河北 秦皇岛 066000; 2. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040; 3. 新疆医科大学中医学院, 新疆 乌鲁木齐 830054)

[摘 要] 目的: 研究地黄饮子对血管性痴呆 (vascular Dementia, VD) 大鼠学习记忆能力的影响。方法: 用改良后 2-VO + 硝普钠降压法制作 VD 大鼠模型, 分为空白组、模型组、安理申对照组及地黄饮子组共 4 组, 测试各组大鼠定位航行路经长度、穿越平台次数及逃避潜伏期。结果: 经灌胃治疗 4 周后, 地黄饮子组大鼠路径明显延长, 60 s 内穿越平台次数显著增加, 60 s 内首次穿越原平台时间显著缩短, 与模型组大鼠相比差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 与安理申组相比无差异。结论: 地黄饮子对 VD 模型大鼠的学习记忆能力有改善作用。

[关键词] 痴呆, 血管性; 地黄饮子; 迷宫学习; 记忆; 模型, 动物; 大鼠, Wister

[中图分类号] R282.71; R363.21; R743.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2013)03-0251-02

Effects of Rehmanniae Decoction on Learning and Memory Ability of Vascular Dementia Rats

WU Song¹, XIE ning², DOU Jinjin², GUAN Huibo², YUAN Xiaoxia³

(1. Traditional Chinese Medicine Hospital of Qinhuangdao City, Qinhuangdao 066000, Hebei, China; 2. Traditional Chinese Medicine University of Heilongjiang Province, Haerbin 150040, Heilongjiang, China; 3. Traditional Chinese Medicine College of Xinjiang Medical University, Wulumuqi 830054, Xinjiang, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of rehmanniae decoction on learning and memory ability of vascular dementia (VD) rats, and to explore the mechanisms. **Methods:** VD rat model was established with modified 2-vessel occlusion method (2-VO) and sodium nitroprusside (SNP) depressurization method. Wistar rats were randomly divided into normal group, model group, donepezil group and rehmanniae decoction group. Place navigation test and space exploration test were carried out in Morris water maze to detect learning and memory ability of rats. **Results:** After lavage treatment for 4 weeks, in rehmanniae decoction group, the path prolonged, the frequency of crossing platform in 60 seconds significantly increased, and latency for rats crossing platform for the first time in 60 seconds significantly shortened. Compared with the model group, the differences were significant ($P < 0.01$), and compared with donepezil group, no significant difference was found. **Conclusions:** Rehmanniae decoction could improve learning and memory ability of VD rats.

[Key words] dementia, vascular; rehmanniae decoction; maze learning; memory; model, animal; rats, Wister

VD 是指各种脑血管疾病和心血管病变 (缺血性、缺血性组织缺氧和出血性脑损害) 引起脑组织损害的基础上产生的获得性智能损害和认知障碍的一种综合征, 是一种慢性进行性疾病, 亦是老年人致残的三大疾病之一^[1]。调查显示, 我国 65 岁

以上人群中认知功能障碍的患病率约为 2% ~ 8%, 其中 VD 占 20% 左右^[2]。本研究用地黄饮子对 VD 大鼠模型进行干预, 同时设空白对照、VD 模型对照及安理申对照组, 观察地黄饮子对 VD 痴呆大鼠学习记忆能力的影响。

^{*} [基金项目] 国家自然科学基金项目 (81102555)

1 材料与方法

1.1 材料 Wistar 大鼠 62 只,雄性,体质量(200 ± 20)g,由黑龙江中医药大学实验动物中心提供。地黄饮子水丸:熟地黄 15 g、巴戟天 15 g、山茱萸 15 g、石斛 15 g、肉苁蓉 15 g、附子 15 g、五味子 15 g、肉桂 15 g、茯苓 15 g、麦冬 15 g、石菖蒲 15 g、远志 15 g、薄荷 15 g、生姜 10 g、大枣 5 g(中药饮片由哈尔滨松茂药材站提供);盐酸多奈哌齐片(商品名安理申,donepezil,Donepezil Aricept),国药准字 J20040020;硝普钠(Sodium Nitroprusside):国药准字 H11021635,由北京制药工业研究所实验药厂提供。DMS-2MORRIS 水迷宫系统,中国医学科学院药物研究所。

1.2 分组 随机将大鼠分为空白组(不造模,15 只)、模型组(15 只)、安理申对照组(16 只)、地黄饮子组(16 只),共 4 组。给药时间为 4 周,空白组、模型组给予等体积蒸馏水,安理申组[安理申 0.004 5 g/(kg·d)],地黄饮子组[1.62 g/(kg·d)]。

1.3 VD 模型制作 模型组、安理组及地黄饮子组大鼠用改良 2VO + 硝普钠降压法制作血管性痴呆大鼠模型^[3],常规喂养。手术前采用 10% 的乌拉坦(10 mg/kg)腹腔麻醉,分离暴露双侧颈总动脉,无创动脉夹关闭双侧颈总动脉,20 min 后,再通 10 min,再夹闭 20 min,重复 3 次。模型组在松开双侧 CCA 之前,腹腔注射硝普钠(2.5 mg/kg),洒入青霉素钠盐预防感染,伤口缝合。手术全过程中保持大鼠肛温在 37 ℃ 左右,以防止低温对脑缺血损伤的保护作用。动物模型的筛选标准:3 d 后以空白组大鼠逃避潜伏期的均值为参考值,将术后所有存活大鼠进行水迷宫试验训练,计算模型组大鼠

各鼠平均逃避潜伏期与参考值之差占平均逃避潜伏期的比值,当比值 > 20% 定为痴呆,> 20% ~ 30% 为轻度痴呆,> 30% ~ 40% 为中度痴呆,> 40% 为重度痴呆^[4]。将比值低于 20% 的大鼠剔除。

1.4 水迷宫测试 于给药 4 周后,进行学习记忆能力的测定。定位航行试验:在 Morris 水迷宫内倒入清水,水面要求高于池内平台 2 cm,将水池等分为 4 个区域,将平台置于其中一区域内中间,在其他三个区域选择任意一点贴池壁放将大鼠放入水中,试验过程要求水温保持在 22 ~ 26 ℃,每天每个区域各测试 1 次,每次测试 60 s,试验历时 4 d。若大鼠 60 s 内未找到平台,则将其放在平台上停留 10 s,其潜伏期为 60 s;若大鼠 60 s 内找到平台,也令其在平台上停留 60 s,一次训练结束,如此训练 4 d。记录大鼠分别在三个区域找到平台所需路径。空间探索试验:训练第 5 天将安全平台撤走,选择离原平台最远的象限为大鼠入水点,进行大鼠 60 s 内穿越原平台位置的次数测试,用于测试大鼠学会寻找平台之后对平台空间位置的记忆能力;测试撤除平台后 60 s 内首次穿越平台的时间(潜伏期),用于进行大鼠对平台空间位置记忆的保持能力。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 17.0 软件,数据分析运用 *t* 检验。

2 结果

2.1 定向航行路径 实验结果显示,与模型组路径长度比较,空白组路径明显延长,地黄饮子组和安理申组路径明显缩短,地黄饮子组与安理模型组比较,差异无统计学意义(表 1)。

表 1 各组大鼠水迷宫定位航行结果

Tab. 1 Place navigation test results of each group in Morris water maze

组 别	<i>n</i>	大鼠找到平台前航行路径(m)			
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
空白组	15	24.37 ± 4.88 ⁽¹⁾	22.01 ± 7.03 ⁽¹⁾	17.09 ± 3.69 ⁽¹⁾	13.01 ± 5.79 ⁽¹⁾
模型组	15	49.10 ± 6.25	46.95 ± 8.02	45.10 ± 5.79	45.19 ± 5.65
安理申组	16	36.88 ± 5.33 ⁽¹⁾	35.63 ± 4.58 ⁽¹⁾	32.77 ± 5.98 ⁽¹⁾	23.80 ± 3.98 ⁽²⁾
地黄饮子组	16	37.12 ± 5.67 ⁽¹⁾	34.23 ± 4.98 ⁽¹⁾	31.21 ± 4.97 ⁽¹⁾	22.76 ± 6.98 ⁽²⁾

⁽¹⁾ 与模型组比较,*P* < 0.01; ⁽²⁾ 治疗组与空白组比较,*P* < 0.05。

2.2 空间探索试验 实验结果显示,地黄饮子组和安理申组 60 s 内首次穿越原平台时间短、穿越原

平台次数多,两组比较差异无统计学意义(表 2、3)。

(下转第 256 页)

31.
[4] Cao Q, Mak KM, Lieber CS. Dilinoleoylphosphatidylcholine decreases LPS-induced TNF-alpha generation in Kupffer cells of ethanol-fed rats: respective roles of MAPKs and NF-kappaB [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2002(294): 849 - 853.
[5] Andrzejczak D, Gorska D, Czarnecka E. Influence of amlodipine and atenolol on lipopolysaccharide (LPS)-induced serum concentrations of TNF-alpha, IL-1, IL-6 in spontaneously hypertensive rats (SHR) [J]. Pharmacol Rep, 2006(58): 711 - 719.

[6] Jansson AH, Eriksson C, Wang X. Lung inflammatory responses and hyperinflation induced by an intratracheal exposure to lipopolysaccharide in rats [J]. Lung, 2004 (182): 163 - 171.
[7] Murakami K, Okajima K, Uchiba M, et al. Gabexate mesilate, a synthetic protease inhibitor, attenuates endotoxin-induced pulmonary vascular injury by inhibiting tumor necrosis factor production by monocytes [J]. Crit Care Med, 1996(24): 1047 - 1053.

(2013-03-18 收稿, 2013-05-09 修回)

编辑:周 凌

(上接第 252 页)

表 2 各组大鼠 60 s 内穿越平台次数($\bar{x} \pm s$)
Tab. 2 Comparison of platform-crossing frequency by rats in 60 seconds in each group

组 别	n	穿越平台次数(次)
空白组	15	6.33 ± 0.82
模型组	15	2.17 ± 0.41
安理申组	16	4.33 ± 1.03 ⁽¹⁾⁽²⁾
地黄饮子组	16	4.17 ± 0.98 ⁽¹⁾⁽²⁾

治疗组与空白组比较, ⁽¹⁾ $P < 0.01$, ⁽²⁾ $P < 0.01$

表 3 各组大鼠逃避潜伏期($\bar{x} \pm s$)
Tab. 3 Comparison of escape latency of rats in each group

组 别	n	潜伏期(s)
空白组	15	11.01 ± 2.27 ⁽¹⁾
模型组	15	52.65 ± 6.96
安理申组	16	23.03 ± 6.19 ⁽¹⁾⁽²⁾
地黄饮子组	16	22.47 ± 4.36 ⁽¹⁾⁽²⁾

⁽¹⁾ $P < 0.01$; 安理申组、地黄饮子组与空白组比较, ⁽²⁾ $P < 0.01$

3 讨论

VD 临床多表现为记忆及认知等功能障碍,其发病率高、致残率高,给家庭和社会带来沉重的精神压力和经济负担。本实验灌胃治疗 4 周后,经 Morris 水迷宫检测结果显示,地黄饮子组 VD 大鼠路径明显延长、60 s 内穿越平台次数显著增加、60 s 内首次穿越原平台时间显著缩短,与模型组相比差异有统计学意义,提示地黄饮子可改善血管性痴呆大鼠学习记忆能力,其结果虽与安理申组相当,

且两组比较差异无统计学意义,但可以提示经典古方地黄饮子在治疗血管性痴呆学习记忆障碍方面具有明显的改善作用,可提高学习记忆能力的同时,还可改善大鼠的一般情况,提高生存质量,并为临床治疗血管性痴呆开发中药新药提供实验基础。

地黄饮子出自金元四大家之首刘完素《黄帝素问宣明论方》,由熟地黄、石斛、石菖蒲、山萸肉、肉苁蓉、茯苓、远志、五味子、巴戟天、麦冬、附子、肉桂、薄荷、姜、枣组成,用于治疗下元虚衰,痰浊随之上泛,堵塞窍道所致的暗瘵证。VD 的病机是以本虚标实为特征,以肾精不足,髓海失养而成痴呆为本虚。因此地黄饮子符合 VD 本虚标实的病机特点,遵循“虚者补之,实者泻之,攻补兼施”的治疗原则,其意义在于使肾气充盛、精髓得化、髓海得充,同时化痰开窍,交通心肾以醒神。本研究结果表明,地黄饮子可改善 VD 大鼠的认知功能,提高 VD 大鼠学习记忆能力。

4 参考文献

[1] 王艳玲,赵建军. 中医药治疗血管性痴呆研究进展 [J]. 世界中西医结合杂志, 2008(2): 118 - 119.
[2] 张俊华,王晓辉. 血管性痴呆中医药临床研究现状分析 [J]. 中医脑病杂志, 2008(2): 104.
[3] 窦金金,谢宁,吴颂,等. 血管性痴呆大鼠模型的改良 [J]. 中国临床保健杂志, 2012(2): 167 - 168.
[4] 赵宪林,方秀斌,李东培. 大鼠血管性痴呆模型制作 [J]. 中国医科大学报, 2002(3): 166 - 167.

(2013-03-25 收稿, 2013-04-25 修回)

编辑:文箫颖