

脑康泰胶囊对脑缺血及痴呆小鼠学习记忆的影响*

杨 军 王 静 丁中华 孙志国(合肥 230061 安徽省医学科学研究所)

摘要 目的:观察脑康泰胶囊对小鼠学习记忆能力的影响。方法:采用脑缺血再灌注损伤及 D-半乳糖所致痴呆小鼠模型。结果:脑康泰胶囊显著增强脑缺血再灌注损伤模型小鼠被动和主动学习能力,但对血液 MDA、MAO 和 SOD 含量影响不显著;脑康泰除明显增强老年痴呆小鼠主动学习和空间分辨的能力外,还能显著降低小鼠血液中 MDA 和 MAO 水平。结论:脑康泰胶囊对改善上述模型小鼠学习记忆能力有显著促进作用。

关键词 脑康泰胶囊;脑缺血;再灌注损伤;痴呆;学习记忆

Influences of Naokangtai capsule to the memory of mice with cerebral ischemia-reperfusion injury and senile dementia

Yang Jun(Yang J), Wang Jing(Wang J), Ding Zhonghua(Ding ZH), et al (*Biological & Medicinal Central Laboratory of Anhui , Hefei 230061*)

ABSTRACT OBJECTIVE: To investigate the effect of Naokangtai capsule on the abilities of learning and memory of mice. **METHODS:** The models of cerebral ischemia-reperfusion injury and senile dementia mice caused by D-galactose were used. **RESULTS:** Naokangtai capsule improved the abilities of active and passive learning and memory remarkably in the model mice with cerebral ischemia-reperfusion injury, but there was no influence to the contents of MDA, SOD and MAO. In senile dementia mice induced by D-galactose, Naokangtai capsule possessed obvious effects of improving memory and spatial resolution and decreased contents of MDA and MAO in blood significantly. **CONCLUSION:** Naokangtai capsule can promote ability of learning and memory of mice effectively.

KEY WORDS Naokangtai capsule, cerebral ischemia, reperfusion, senile dementia, mice

脑康泰胶囊源于当归芍药散,由当归、白芍、川芎、白术等组成,与传统散剂相比,脑康泰胶囊在工艺上采用醇提结合 β -环糊精包合法,不仅保证水溶性及脂溶性物质的提取,而且完全回收具有活血化瘀作用的挥发油成分。本方具有醒脑开窍、养血柔肝、活血健脾之功效,临床上治疗老年性痴呆症取得明显疗效。本实验从治疗痴呆相关实验角度出发,观察脑康泰胶囊治疗痴呆、改善学习记忆的作用。

1 材 料

1.1 动物

昆明种和 Bab/c 小鼠(安徽省医学科学研究所实验动物研究室,具备安徽省实验动物管理委员会核发的皖医实动准字 01 号合格证)。

1.2 仪器

JZ94 多功能回避条件反射仪,全自动水迷宫记录

仪(中国医学科学院北京药物研究所)。

1.3 药物

脑康泰胶囊(合肥神鹿集团公司,批号:971020)。使用时将内容物颗粒以蒸馏水配成不同浓度的药液,小、中、大剂量组分别为 0.06、0.18 和 0.60g/kg,相当于成人临床用量的 1/3 和 10 倍。银可络组为深圳海王药业有限公司,粤卫药准字(1994)第 918006 号,批号:970802,剂量为 12mg/kg,相当于临床量的 3 倍。

2 方法与结果

2.1 脑康泰胶囊对脑缺血再灌注模型小鼠的影响

取昆明种小鼠 90 只,雄性,体重 18~20g。将小鼠随机分为空白对照组、病理组、脑康泰胶囊小、中、大组和银可络组。每组 15 只。灌胃给药,0.5ml/只,空白组

* 安徽省科委九五攻关课题,编号 9613010-1

和病理灌胃等容量饮用水,连续15d。

参照文献^[1],末次给药后,乙醚麻醉小鼠,颈部正中切口,分离两侧迷走神经,在两侧颈总动脉下分别穿线备用,待动物清醒后,与颈总动脉并行放置直径约0.1mm的实心针芯,拉线结扎两侧颈总动脉,造成脑部双侧的不完全性缺血。结扎5min后,松开拉线,恢复脑血液灌流。次日使用JZZ94多功能回避反射条件仪,以跳台法进行被动学习记忆训练,记录动物从平台跳下电栅的潜伏期;以穿梭法进行主动学习记忆训练。24h后再测试其被动和主动学习记忆能力。测试完成后,自眼眶采血,以TBA法测定丙二醛(MDA)^[2],以紫外分光光度法测定单胺氧化酶(MAO)^[3],以光还原NBT法测定超氧化物歧化酶(SOD)^[3],结果见表1。

表1结果显示:与空白组相比,脑缺血病理组动物测试潜伏期显著减少,表现出极显著意义,证明脑

表2 脑康泰胶囊对脑缺血小鼠主动学习记忆的影响/ $\bar{X} \pm s$

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	测试阶段			
		T1/sec	Ts/sec	N1	Ns
空白组		1.39 ± 0.36	3.72 ± 0.37	1.38 ± 0.23	9.75 ± 2.38
病理组		0.73 ± 0.30 ^{*1}	5.16 ± 0.56 ^{*1}	0.62 ± 0.24 ^{*1}	12.3 ± 2.06 ^{*1}
脑康泰	0.06	1.59 ± 0.46 ^{*2}	4.85 ± 0.51	1.45 ± 0.39 ^{*2}	12.2 ± 1.17
	0.18	1.42 ± 0.46 ^{*2}	4.06 ± 0.48 ^{*2}	0.91 ± 0.31 ^{*3}	12.3 ± 1.35
	0.60	1.15 ± 0.31 ^{*2}	3.34 ± 0.30 ^{*2}	1.55 ± 0.55 ^{*2}	11.1 ± 2.64
银可络	0.012	1.38 ± 0.38 ^{*2}	3.61 ± 0.46 ^{*2}	1.50 ± 0.45 ^{*2}	10.5 ± 3.77 ^{*2}

注:T1为主动回避潜伏期;Ts为被动回避潜伏期;N1为主动回避次数;Ns为被动回避次数;与空白组相比,^{*1} $P < 0.01$;与病理组相比,^{*2} $P < 0.01$,^{*3} $P < 0.05$

表2结果显示:与空白组相比,病理组小鼠测试阶段T1及N1均明显减少,而Ts及Ns均明显增加,表现出极显著意义,进一步证明脑缺血在灌注模型成功;与病理组相比,脑康泰胶囊组和银可络组对T1和N1均有显著性增加作用,对Ts有明显减少的作用,统计学意义极显著。表明给药后,小鼠学习记忆能力显著提高,但对Ns作用不明显。

表3 脑康泰胶囊对脑缺血小鼠SOD、MDA和MAO含量的影响/ $\bar{X} \pm s$

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	AMO/ μml^{-1}	SOD/ $\mu g \cdot g$ HB	MDA/ $nmol ml$
空白组		37.0 ± 7.26	271 ± 33.3	3.56 ± 0.29
病理组		38.6 ± 8.37	267 ± 25.2	3.62 ± 0.39
脑康泰	0.06	37.7 ± 5.77	286 ± 18.1	3.63 ± 0.32
	0.18	36.0 ± 5.42	284 ± 28.0	3.51 ± 0.40
	0.60	36.0 ± 5.92	286 ± 26.4	3.53 ± 0.20
银可络	0.012	37.6 ± 5.95	276 ± 32.3	3.57 ± 0.32

注:与空白组相比, $P > 0.05$;与病理组相比, $P > 0.05$

表3结果显示:与空白组相比,病理组小鼠MAO、

表1 脑康泰胶囊对脑缺血小鼠被动学习记忆的影响/ $\bar{X} \pm s$

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	训练时潜伏期/sec	测试时潜伏期/sec
空白组		103.7 ± 26.5	281.9 ± 17.4
病理组		89.2 ± 34.0	232.8 ± 25.9 ^{*1}
脑康泰	0.06	107.8 ± 16.9	266.2 ± 26.0 ^{*2}
	0.18	102.3 ± 21.7	299.0 ± 10.1 ^{*2}
	0.60	75.1 ± 30.2	252.0 ± 10.2 ^{*3}
银可络	0.012	75.9 ± 33.1	266.4 ± 17.4 ^{*2}

注:与空白组相比,^{*1} $P < 0.01$;与病理组相比,^{*2} $P < 0.01$,^{*3} $P < 0.05$

缺血再灌注模型造型成功;与病理组相比,脑康泰胶囊和银可络组测试阶段小鼠的潜伏期均有显著增加,表明给药后,动物的学习记忆能力达到有效提高,结果见表2。

SOD及MDA含量未见明显改变;给药后,各组动物三项指标虽有一定意义的改善,但均未显示出显著的统计学意义。

2.2 脑康泰对D-半乳糖所致老年痴呆小鼠的影响

取6月龄的雌性Bab/c小鼠120只,体重18~24g。将小鼠随机分为老年鼠组、D-半乳糖痴呆鼠组、痴呆鼠+脑康泰胶囊小、中、大剂量组和银可络组,每组动物20只。灌胃给药,每鼠0.5ml/d,老年鼠组和痴呆鼠组灌胃等容量饮用水,连续灌胃30d。

除老年鼠组小鼠外,每日灌胃同时,给其余给药组小鼠皮下均注射5%半乳糖溶液0.5ml/只^[4];老年组小鼠皮下注射等容积生理盐水,连续注射30d。小鼠给药后第27天开始训练,采用水迷宫法,连续训练4d,第1、2天将动物置于水迷宫第3盲端,第3、4天将动物置于第4盲端,计算每次训练时达岸时间,2min内达岸动物百分数及2min内错误次数。第28日,以JZZ多功能回避反射条件仪,采用穿梭法进行主动学习记忆训练;第29和30日,再连续测试二日。测试完成后,自眼眶采

血,分别测定血液中 MAO、MDA 及 SOD 含量,结果见表 4。

表 4 脑康泰胶囊对老年痴呆小鼠主动学习记忆的影响/ $\bar{X} \pm s$

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	测试第 1 天			
		T1/sec	Ts/sec	N1	Ns
老年组		2.12 ± 0.53	3.05 ± 0.28	1.20 ± 0.29	9.45 ± 0.64
痴呆组		1.70 ± 0.40	3.81 ± 0.10 ^{*1}	0.90 ± 0.22 ^{*1}	10.3 ± 0.57 ^{*1}
脑康泰	0.06	2.70 ± 0.61 ^{*3}	2.57 ± 0.34 ^{*3}	1.32 ± 0.24 ^{*3}	7.28 ± 0.71 ^{*3}
	0.18	2.45 ± 0.56 ^{*3}	2.86 ± 0.20 ^{*3}	1.05 ± 0.20	9.00 ± 0.74 ^{*3}
	0.60	3.44 ± 0.57 ^{*3}	2.81 ± 0.10 ^{*3}	1.55 ± 0.28 ^{*3}	8.22 ± 0.51 ^{*3}
银可络	0.012	2.16 ± 0.61	2.92 ± 0.22 ^{*3}	1.90 ± 0.34 ^{*3}	6.59 ± 0.85 ^{*3}

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	测试第 2 天			
		T1/sec	Ts/sec	N1	Ns
老年组		2.93 ± 0.63	3.65 ± 0.18	1.42 ± 0.32	10.3 ± 0.54
痴呆组		2.69 ± 0.55 ^{*1}	3.86 ± 0.21 ^{*2}	0.68 ± 0.22 ^{*1}	10.6 ± 0.49
脑康泰	0.06	2.87 ± 0.67 ^{*3}	2.67 ± 0.49 ^{*3}	1.26 ± 0.22 ^{*3}	8.74 ± 0.62 ^{*3}
	0.18	3.58 ± 0.72 ^{*3}	3.09 ± 0.28 ^{*3}	1.37 ± 0.23 ^{*3}	9.10 ± 0.60 ^{*3}
	0.60	3.80 ± 0.62 ^{*3}	3.14 ± 0.23 ^{*3}	1.50 ± 0.32 ^{*3}	9.15 ± 0.59 ^{*3}
银可络	0.012	2.00 ± 0.41	2.36 ± 0.20 ^{*3}	1.90 ± 0.40 ^{*3}	8.25 ± 0.49 ^{*3}

注:与老年组相比,^{*1} $P < 0.01$,^{*2} $P < 0.05$;与痴呆组相比,^{*3} $P < 0.01$

表 4 结果显示:与老年组相比,痴呆组动物的 T1 及 N1 均明显减少,而 Ts 及 Ns 均明显增加,意义极显著;脑康泰胶囊组和银可络组对 T1 和 N1 均有显著性增加作用,对 Ts 和 Ns 有明显减少作用,统计学意义极显著。表明给药后,表明痴呆模型造型成功;与老年组相比,脑康泰胶囊药后,小鼠学习记忆能力达到显著提高。结果见表 5。

表 5 脑康泰胶囊对痴呆小鼠训练期间达岸时间的影响/ $\bar{X} \pm s$

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	训练期间达岸时间/sec			
		1d	2d	3d	4d
老年组		27.3 ± 5.89	24.5 ± 7.46	89.7 ± 8.17	60.3 ± 7.47
痴呆组		45.5 ± 9.48 ^{*1}	19.0 ± 5.88	81.5 ± 8.29	69.7 ± 9.78 ^{*2}
脑康泰	0.06	28.3 ± 7.64 ^{*3}	22.7 ± 6.90	77.1 ± 9.72	62.4 ± 8.35
	0.18	36.9 ± 9.37	13.6 ± 2.11 ^{*4}	69.7 ± 8.88 ^{*3}	57.6 ± 9.27 ^{*3}
	0.60	28.2 ± 6.07 ^{*3}	13.7 ± 3.80 ^{*4}	66.5 ± 8.29 ^{*3}	53.7 ± 8.81 ^{*3}
银可络	0.012	21.7 ± 4.99 ^{*3}	25.7 ± 6.70	82.2 ± 8.71	67.2 ± 9.53

注:与老年组相比,^{*1} $P < 0.01$,^{*2} $P < 0.05$;与痴呆组相比,^{*3} $P < 0.01$,^{*4} $P < 0.05$

与老年组相比,痴呆组在训练过程中,除第 2、3 天达岸时间未显示出显著意义外,第 1、4 天其差异非常显著;脑康泰胶囊和银可络组前 4d 达岸时间较痴呆组明显缩短,显示出不同程度的统计学意义,以中、大剂量脑康泰组缩短达岸时间显著,统计意义极显著。结果见表 6。

表 6 脑康泰胶囊对痴呆小鼠训练期间错误次数的影响/ $\bar{X} \pm s$

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	训练期间错误次数			
		1d	2d	3d	4d
老年组		2.55 ± 0.58	1.64 ± 0.54	11.1 ± 1.86	10.7 ± 2.02
痴呆组		2.95 ± 0.75	1.75 ± 0.68	12.7 ± 1.09	10.5 ± 1.56
脑康泰	0.06	2.44 ± 0.67	1.56 ± 0.34	12.2 ± 1.66	8.56 ± 1.61 [*]
	0.18	2.10 ± 0.60	1.58 ± 0.39	11.4 ± 1.42	8.67 ± 1.23 [*]
	0.60	2.81 ± 0.64	1.35 ± 0.46	13.8 ± 1.41	8.01 ± 2.01 [*]
银可络	0.012	2.10 ± 0.59	3.51 ± 1.07	15.5 ± 2.26	10.5 ± 1.56

注:与痴呆组相比,^{*} $P < 0.05$

与老年组相比,痴呆组在训练过程中,错误次数未有显著增多。但与老年组和痴呆组相比,第4天时脑康泰各剂量组动物的错误次数均有明显减少,有显著统计意义。结果见表7。

表7 脑康泰胶囊对痴呆小鼠训练期间达岸正确率的影响/ $\bar{X} \pm s$

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	达岸正确率/%			
		1d	2d	3d	4d
老年组		95.0	100	55.0	95.0
痴呆组		85.0	100	70.0	70.0
脑康泰	0.06	85.0	100	80.0	90.0
	0.18	90.0	100	80.0	90.0
	0.60	100	100	90.0	85.0
银可络	0.012	100	85.0	70.0	75.0

表7显示:痴呆组小鼠在第4盲端训练2次,达岸正确百分率无明显提高。脑康泰胶囊各剂量组达岸正确百分率组基本呈明显递增趋势。与痴呆组比较,脑康泰组和银可络组自第2天起达岸正确百分率明显提高,有显著性意义。结果见表8。

表8 脑康泰胶囊对痴呆小鼠血液SOD、MDA和MAO含量的影响/ $\bar{X} \pm s$

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	MAO/ $\mu \cdot ml^{-1}$	SOD/ $\mu g \cdot g^{-1}$ HB	MDA/ $nmol \cdot ml^{-1}$
老年组		39.0 ± 3.06	272 ± 26.2	3.57 ± 0.22
痴呆组		42.4 ± 2.53 ^{*1}	263 ± 27.8	3.72 ± 0.35
脑康泰	0.06	39.3 ± 2.60 ^{*2}	257 ± 24.9	3.51 ± 0.22
	0.18	37.6 ± 2.13 ^{*3}	261 ± 35.4	3.31 ± 0.23 ^{*3}
	0.60	36.2 ± 2.53 ^{*3}	264 ± 37.6	3.32 ± 0.22 ^{*3}
银可络	0.012	38.9 ± 3.90	277 ± 22.9	3.82 ± 0.36

注:与老年组相比,^{*1} $P < 0.05$;与痴呆组相比,^{*2} $P < 0.05$,^{*3} $P < 0.01$

表8结果显示:与老年组相比,痴呆组小鼠MAO含量显著提高;MDA含量虽明显增加,但未见显著意义;SOD无明显改变;给药后,脑康泰胶囊各剂量组均可显著降低MAO含量,中、大剂量组对MDA含量也有显著降低,但对SOD水平无明显影响。

3 讨论

阿尔采默氏病(Alzheimer's disease, AD)是一种慢性进行性脑功能衰退性疾病,为老年期痴呆的主要类型,占老年期痴呆的50%~60%。病理表现为大脑皮质萎缩,皮质神经细胞减少,大脑皮质和海马中大量神经元缠结和老年斑。其病因和发病机理仍不清楚,近年认为主要与超氧自由基代谢紊乱,皮质胆碱能神经

元中乙酰胆碱转移酶活性降低,单胺类物质代谢改变,5-HT系统活性改变,脑区神经肽水平降低等相关^[5]。

当归芍药散及银杏叶制剂均是目前国内外发现的治疗AD的有效中药制剂,实验证明:当归芍药散作用主要是通过三个方面来实现,即:①对血液流变学的作用;②对下丘脑-垂体-生殖腺轴的作用;③对中枢神经系统的直接作用^[6]。

脑康泰胶囊对脑缺血再灌注损伤模型小鼠和D-半乳糖所致老年痴呆模型小鼠均具有显著的增强学习记忆能力的作用,这与文献报道的大鼠服本方后,记忆获得、记忆消退有明显改善^[7]及当归芍药散对动物空间识别和报道回避反射显著改善作用^[8-10]相一致。

脑康泰胶囊对脑缺血再灌注模型小鼠的MAO、SOD和MDA无明显影响。在老年痴呆小鼠实验中,老年痴呆组小鼠MAO的含量显著提高,MDA含量也有明显增加,SOD无明显改变;给药后,脑康泰胶囊可显著降低MAO含量,中、大剂量组对MDA含量也有显著降低。从实验角度来考虑,机体内与老化相关的代谢产物的明显变化与动物模型形成时间及药物治疗的时间因素可能呈密切相关性。

参考文献

- 陈志武,马传庚,赵维忠,金丝桃苷对脑缺血再灌注损伤保护作用的实验研究.药学报,1998,33(1):14.
- 魏明竞.血浆过氧化脂质的测定及其临床意义.国外医学(临床生物化学与检验学分册),1984,5(1):6.
- 闻杰.“回春仙”中药复方制剂对小鼠脑和肝MAO-B活性的影响.中医药学报,1988,(3):51.
- 龚国清.小鼠衰老模型研究.中国药科大学学报,1991,22(2):101.
- 孟家眉主编.神经内科临床新进展.第1版.北京:北京出版社,1994:504.
- 杨军,魏守建,王静.当归芍药散治疗老年痴呆症药理研究进展.安徽中医学院学报,1998,16(3):61.
- 鸟居冢和生.当归芍药散对摘除卵巢小鼠、大鼠的免疫功能以及记忆的作用.日本东洋医学杂志,1993,43(5):145.
- 藤原道弘.当归芍药散对大鼠空间识别和被动回避反射障碍影响.和汉医学杂志,1989,6(3):234.
- 道尻诚助.当归芍药散对小鼠垂直及水平运动的影响.日本东洋医学杂志,1990,40(4):162.
- 罗唤敏,姚志彬,陈以慈.当归芍药散水煎剂对老年痴呆小鼠空间学习记忆能力的影响.中国老年学杂志,1995,15(5):283.

收稿日期:1998-10-12