

童智灵口服液对大鼠学习记忆的促进作用及其作用机制研究

王明正 武冬梅 牛栓成 高 应 申慧琴 王慧云 (山西医科大学 太原 030001)

童智灵口服液中主要成分为灵芝(*Ganoderma lucidum karst*)20g、枸杞子(*Lycium-barbarum L*)15g、益智仁(*Alpinia Oxyphylla Miq*)30g、大枣(*Zizyphus jujuba Mill*)20g 及适量大豆汁和花粉精等。以上中药经提取加工制成 25% 口服液,北京儿科研究所用于防治患儿智能低下及发育不良获理想疗效。为探讨该制剂影响智能发育的药理作用,采用水迷宫实验,研究其对幼年大鼠学习记忆的影响,同时测定被试大鼠脑内过氧化脂质含量和超氧化物歧化酶活性,通过与被试大鼠的记忆成绩作相关分析,揭示该制剂影响大鼠学习记忆机能的可能机制。

1 材料

1.1 动物 wistar 大鼠,23 天龄。药前体重 $54.6 \pm 4g$,实验时体重 $190.4 \pm 28.5g$;由山西医科大学实验动物中心提供。

1.2 药品及试剂 童智灵口服液由中外合资山西永太童智灵公司制备提供。硫代巴比妥酸(TBA,生化试剂,上海试剂二厂生产);二甲砷酸钠、二乙基三氨基五乙酸(化学纯,上海化学试剂采购供应站)。

1.3 仪器 岛津 RF-510LC 型荧光分光光度计(日本产)。

2 方法

2.1 Morris 水迷宫测试^[1]

2.1.1 动物分组及给药 健康幼年大鼠 30 只,出生后 23d 断乳,按体重随机分成 3 组,

同胞鼠均匀分到 3 组中,每组 10 只。童智灵口服液 5.0、10.0g/kg ig,对照组 ig 等体积生理盐水,每天 1 次,共 30d。

2.1.2 训练程序 Morris 水迷宫装置按文献^[1]设计。以定位航行训练和空间搜索测试判定动物获取信息及信息贮存能力。动物休息 30d 后用同法测定其记忆保持和再现能力。

定位航行:定位航行训练历时 6d。第 1d 令大鼠自由游泳 2min 以熟悉环境。第 2d 起每日分 2 段,每段训练 4 次,共训练 5d。记录每鼠分别以 4 个不同点入水开始至找到水下平台所需时间(寻台潜伏期),若大鼠在 2min 内未找到平台,实验者将鼠诱导至台上,此时寻台潜伏期按 120s 计算。同时记录各鼠诱导上台次数和运动轨迹,作为学习成绩参考指标。每次训练间隔 60s。

空间搜索:空间搜索试验是在最后一段训练结束后,撤除水下平台,任选一入水点将大鼠面向池壁放入水中,记录大鼠在 120s 内跨越原水下平台相应位置的次数(跨原平台次数),检测大鼠空间定位能力。

记忆测试:大鼠休息 30d(休息期间继续 ig 给药)后,以同法进行定位航行和空间搜索,根据成绩判定药物对其记忆保持和再现能力的影响。

2.2 被试鼠脑组织 LPO、SOD 测定 大鼠休息 30d 记忆测试后 30min 处死,立即取

脑,制备成10%脑组织匀浆备用。脑组织LPO含量测定:采用改良八木国夫法^[2]。含量以mmol/g新鲜脑组织表示。脑组织SOD活性测定^[3]:采用邻苯三酚自氧化法略加改良。以每分钟抑制自氧化速率达50%的酶量为一个活力单位。

2.3 统计学分析 数据采用 t 检验处理。用大鼠的记忆成绩(寻台潜伏期)与其脑内LPO含量和SOD活性分别作相关分析。

3 结果

3.1 对大鼠学习记忆的影响 幼年大鼠历时5d定位航行训练,均于训练5段学会寻找水下平台,以后趋于稳定。寻找水下平台潜伏期与训练次数呈负相关性($r = -0.9731$)。在历时5d共9段训练中,服童智灵口服液2组大鼠从第一段训练起每段4次训练的平均寻台潜伏期均较对照组缩短。1~2段寻台潜伏期下降速率加快,表现在变化斜率(绝对值)较对照组增大(童智灵10g组 $b = -28$);童智灵5g组 $b = -27$;对照组 $b = -15$)。在第9段训练时,服童智灵口服液大鼠在 9.5 ± 3.0 s即可找到水下平台,而对照组大鼠 15.0 ± 6.0 s才能找到。说明服药鼠的信息获取能力明显提高。

此外,在学习训练过程中,对照鼠寻找水下平台诱导次数达 4.9 ± 0.9 /次120s,童智灵5、10g组大鼠分别为 1.8 ± 0.8 和 1.0 ± 0.9 次/120s,均较对照减少,具有非常显著性差异($P < 0.01$)。训练中亦可见,服药大鼠的运动轨迹最多位于原平台象限,而对照组大鼠则随机分布于4个象限中。由此进一步说明童智灵口服液对大鼠的学习过程有明显的促进作用。

大鼠空间搜索试验结果见表1。童智灵10g组明显多于对照组,而5g组大鼠跨越原水下平台次数与对照组间无统计学差异。

大鼠休息30d后童智灵5、10g2组大鼠寻找水下平台潜伏期较对照组缩短,而跨越原水下平台次数明显增多(见表1),说明童

智灵2种剂量对幼年大鼠信息贮存、保持和再现过程均有促进作用。

表1 童智灵口服液对幼年大鼠空间搜索能力的影响

组别	剂量 (g/kg)	n	跨越原水下平台次数(次/120s)	
			5d	30d
对照组		10	5.2 ± 1.5	2.7 ± 0.8
童智灵	5	10	6.0 ± 0.5	$5.8 \pm 1.4^*$
童智灵	10	10	$8.7 \pm 1.4^*$	$7.5 \pm 0.5^*$

与对照组比较 * $P < 0.01$

3.2 对大鼠脑内LPO、SOD的影响 结果见表2。由表2表明,童智灵10.0g、5.0g组大鼠脑内LPO含量降低,SOD活性升高,与对照组比较均具有显著性差异。用LPO、SOD测定值分别与相应组的记忆成绩(休息30d后大鼠寻找水下平台潜伏期)进行相关分析。结果,童智灵10.0g、5.0g组的记忆成绩与脑内LPO含量变化呈正相关性,相关系数分别为 $r = 0.8887$ ($P < 0.001$)和 $r = 0.5648$ ($P < 0.05$);与脑内SOD活性呈负相关性,相关系数分别为 $r = -0.8589$ ($P < 0.001$)和 $r = -0.6471$ ($P < 0.05$);对照组大鼠记忆成绩与脑内LPO和SOD变化亦呈相同变化,相关系数分别为 $r = 0.7302$ ($P < 0.01$)和 $r = -0.7834$ ($P < 0.01$)。

表2 童智灵口服液对大鼠脑内LPO、SOD的影响

组别	剂量 (g/kg)	n	LPO	SOD
			(mmol/g)	(U/mg Pro)
对照组		10	6.67 ± 0.66	2.88 ± 0.46
童智灵	5	10	$5.82 \pm 0.89^*$	$3.83 \pm 0.89^*$
童智灵	10	10	$5.36 \pm 0.92^{**}$	$4.92 \pm 0.59^{**}$

与对照比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

4 讨论

采用Morris迷宫研究药物对大鼠学习记忆的影响,可通过多项观察指标反应其学习记忆成绩,从而较客观地判定药效。童智灵口服液的临床应用对象为儿童,采用幼年大鼠作为实验对象,既近似于儿童发育特征,又能客观反映该制剂对其代谢过程和脑机能发育的影响。实验结果表明,幼年大鼠服该制剂30d,其空间位置辨别信息的获取和贮存能力明显提高,继续服药30d,能明显增强信息保

持和再现能力。

由服童智灵大鼠的记忆成绩与其脑内 LPO、SOD 变化的相关分析结果表明,成绩优秀大鼠寻找水下平台潜伏期越短,脑内 LPO 含量均偏低,两者变化呈正相关性,而 SOD 活性则较高,与其记忆成绩呈负相关性。可以认为,童智灵口服液促进幼年大鼠学习记忆过程的作用与其抑制脑内自由基反应有一定关系,可能为其作用机制之一。

参考文献

- 1 Morris RGM. Developments of a water-maze procedurd for studying spatial learning in the rat. *J. Neurosci Methods*, 1984, 11: 47~60
- 2 余嘉丽, 为平, 蔡雷, 等. 血清过氧化脂质硫代巴比妥酸荧光微量测定法的标化. *中华医学检验杂志*, 1987, 10(1): 24~26
- 3 表勤生. 邻苯三酚自氧化法测定 SOD 的活性. *医药工业杂志*, 1983, 16: 16~18

(收稿: 1997-01-13)