

醒脑再造胶囊对血管性痴呆模型大鼠的保护作用

任莹¹, 刘静², 景小龙², 申秀萍², 田义红^{2*}

(1. 天津中医药大学, 天津 300193; 2. 天津药物研究院, 天津 300301)

[摘要] 目的: 观察醒脑再造胶囊对血管性痴呆大鼠的保护作用。方法: 采用永久性结扎双侧颈总动脉结合眼眶放血法制备大鼠 VD 模型。术后第 3 天, 进行 Y 迷宫检测, 根据结果将手术动物随机分为模型组、甲磺酸双氢麦角碱 ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)、醒脑再造胶囊高、中、低 ($0.4, 0.2, 0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) 剂量组, 另有只分离血管不结扎的设为假手术组, 每组 10 只。第 4 天开始 ig 给药, $5 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 1 次/d, 给药 3 周。通过 Y 迷宫检测其学习记忆能力, HPLC 法检测脑组织内的递质含量, 激光多普勒血流量仪检测脑血流速度。结果: Y 迷宫检测模型组的正确次数显著低于假手术组 ($P < 0.01$), 阳性药甲磺酸双氢麦角碱组和醒脑再造胶囊高、中剂量组大鼠的正确次数较模型组明显提高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$); 模型组平均脑血流速度 $223.5 \text{ mm} \cdot \text{s}^{-1}$, 醒脑再造胶囊 3 个剂量组较模型显著提高; 与正常组比较模型组脑组织去甲肾上腺素 (NE)、多巴胺 (DA)、5-羟色胺 (5-HT) 3 种递质含量降低 ($P < 0.01$), 阳性药组和醒脑再造胶囊 3 个剂量组均较模型组显著提高 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论: 醒脑再造胶囊能显著改善血管性痴呆大鼠学习记忆能力, 提高脑组织内单胺类递质含量和脑血流量。

[关键词] 醒脑再造胶囊; 血管性痴呆; 单胺类神经递质; 脑血流量

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0242-04

[doi] 10.11653/syfyj2013100242

Protective Effects of Xingnao Zaizao Capsules on Vascular Dementia in Rats

REN Ying¹, LIU Jing², JING Xiao-long², SHEN Xiu-ping², TIAN Yi-hong^{2*}

(1. Tianjing University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China;

2. Tianjin Institute of Pharmaceutical Research, Tianjin 300301, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effects of Xingnao Zaizao capsules on vascular dementia in rats. **Method:** The rats were divided into sham-operation group, model group, Co-dergocrine Mesylate group ($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) and three Xingnao Zaizao capsules groups at high, median and low doses ($0.4, 0.2, 0.1 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$). VD rat models were reproduced by bilateral carotid artery occlusion. The learning and memory was assayed by Y maze. The cerebral blood flow was measured with the help of Laser Doppler flowmeter. At the end of the experiment, the rats were sacrificed and samples of brain tissues were used to determine the monoamine neurotransmitters by HPLC-FLD. **Result:** The time of correct response in the model group was significantly less than sham-operation group whose ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), and administered with Co-dergocrine Mesylate and Xingnao Zaizao capsules increased the correct response ($P < 0.01$). Also, the cerebral blood flow were increased ($P < 0.05$), NE, DA, 5-HT in brain tissues were increased remarkably compared with model group ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). **Conclusion:** Xingnao Zaizao capsules ameliorate the ability of learning and memory in VD rats, increase the cerebral blood flow, monoamine neurotransmitters in brain tissues.

[Key words] Xingnao Zaizao capsules; vascular dementia; monoamine neurotransmitter; cerebral blood flow

血管性痴呆 (vascular dementia, VD) 是指缺血

缺氧所引起的获得性智能损害性疾病, 早期以渐进性的认知和记忆的缺失为特点, 是居于第 2 位的最常见痴呆^[1]。现在还没有公认的用于治疗 VD 的药物, 因此找到安全有效的治疗药物具有重要意义。

[收稿日期] 20121121(009)

[通讯作者] * 田义红, 副研究员, E-mail: tianyh@tjipr.com

醒脑再造胶囊组方有石菖蒲、胆南星、僵蚕(炒)、冰片、石决明、珍珠(豆腐制)、地龙、天麻、猪牙皂、细辛、红花。功效益气活血、化痰醒脑、祛风活络。用于神志不清,语言蹇涩,口角流涎,肾虚痿痹,筋骨酸痛,手足拘挛,半身不遂及脑血栓形成的恢复期和后遗症。由于VD的病理过程涉及中枢递质的改变、自由基代谢障碍、炎症反应、神经细胞凋亡、血管内皮损伤等方面,因此可利用醒脑再造胶囊对其进行多靶点、多方位的治疗^[2]。

1 材料

1.1 动物 SD大鼠,SPF级,雄性,体重(200±20 g)由北京维通利华实验动物技术有限公司,生产许可证号SCXK(京)2006-0009。

1.2 药品和试剂 甲磺酸双氢麦角碱(天津华津制药有限公司,9M862T),醒脑再造胶囊(吉林紫鑫药业股份有限公司,11030113204),去甲肾上腺素(NE,中国食品药品检定研究所,批号100169-201103),多巴胺(DA, Augsburg, 22-36-50),5-羟色胺(5-HT, Sigma, 1001156278),戊巴比妥钠(天津市天河化学试剂厂, 20081104)等。

1.3 仪器 MG-3型Y迷宫刺激器(河南省原阳县振华教学仪器厂),31200 series 高效液相色谱仪(Agilent Technologies co.),413300型低温离心机(Thermo science co.),多普勒激光血流量仪。

2 方法

2.1 模型的制备、实验分组及给药 所有大鼠进行Y迷宫测试,筛选对电刺激敏感度过高和过低的动物并确定各大鼠间无明显智力差异。大鼠术前12 h禁食,称重后ip 1%戊巴比妥4.5 mL·kg⁻¹麻醉,眼眶静脉丛放血3 mL,仰卧固定,备皮,消毒,颈部正中切口,钝性分离出双侧颈总动脉,0号线结扎其远近心端后从中间剪断,缝合切口,放回笼中保温饲养,术后及次日im青霉素钠。假手术组大鼠分离颈总动脉后缝合切口。术后3 d, Y迷宫测试所有存活的手术组大鼠学习记忆能力,并根据其正确次数进行随机区组分为模型组、甲磺酸双氢麦角碱组(5 mg·kg⁻¹·d⁻¹)、醒脑再造胶囊高、中、低(0.4, 0.2, 0.1 g·kg⁻¹·d⁻¹)剂量组,每组10只。假手术组的10只动物同样进行Y迷宫测试。分组完毕即开始ig给药,每日1次,连续给药3周。

2.2 Y迷宫实验 实验在黑暗、安静环境下进行。将大鼠放入起步区适应3 min后开始训练,操纵迷宫刺激器,按顺时针方向改变安全区方向给予灯光信号。大鼠受电击后从起步区直接逃避至安全区为

正确反应,否则为错误反应,灯光持续亮30 s后熄灯,结束1次训练,休息30 s。此时该安全区作为下1次训练的起步点顺时针给予灯光刺激,待其逃避至安全区,进行9次刺激训练。24 h后按照相同的步骤进行学习记忆能力的测试,记录15次刺激的正确反应次数^[3]。

2.3 多普勒测脑血流量 大鼠头部相同部位剃毛,用激光多普勒血流量仪探头置上述部位检测并记录脑血流量。

2.4 高效液相-荧光法测脑组织NE, DA, 5-HT 3种递质含量 大鼠直接断头,在冰台上剥离出大鼠全脑(保留大脑及间脑),称重。按0.1 g脑(湿重)加入1 mL 5%高氯酸的比例加入高氯酸,放入玻璃匀浆管内,冰浴下匀浆。将匀浆液收集于1.5 mL离心管中,于12 000 r·min⁻¹, -4℃离心20 min,取上清液进样检测。色谱条件色谱柱为ZORBAX Eclipse Plus-C₁₈, 150 mm×4.6 mm, 5 μm;流动相为0.1 mol·L⁻¹的KH₂PO₄缓冲液-甲醇(体积比9:1);流速0.7 mL·min⁻¹;进样体积为20 μL;柱温为35℃;荧光检测器的激发波长为254 nm,发射波长为338 nm。

2.5 统计学方法 采用SPSS 13.0软件分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间样本均数进行 χ^2 分析及t检验, P<0.05为差异有显著性意义。

3 结果

3.1 对Y迷宫电刺激后正确反应次数的影响 手术后3 d,造模组动物的正确反应次数较假手术组降低,差异具有显著性(P<0.05),说明模型组已经出现严重的学习记忆障碍。给药2,3周后,甲磺酸双氢麦角碱组、高剂量组的正确反应次数较模型组均提高,差异具有显著性(P<0.01)。中剂量组到第3周的正确率也显著提高(P<0.05),此时低剂量组仍未见显著性提高。这就提示醒脑再造胶囊对学习记忆的改善作用可能存在剂量和时间依赖性。随着实验进行模型组动物的正确率也有所提高,这跟训练次数增加,记忆相应加强有关。见表1。

3.2 对脑血流量的影响 与假手术比较,模型组脑部的收缩期峰值血流速度、舒张末期血流速度、平均血流速度值均显著降低(P<0.01);与模型组比较,阳性药和醒脑再造胶囊高、中、低剂量组血流速度显著提高(P<0.05),且随醒脑再造胶囊剂量的提高血流速度值也呈上升趋势。见表2。

3.3 脑组织NE, DA, 5-HT3种单胺类递质的变化 在实验选择的色谱条件下,3种递质能够较好检

表 1 醒脑再造胶囊对 VD 大鼠 Y 迷宫电刺激后正确反应次数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

次

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$	血流速度		
		平均值	收缩期峰值	舒张末期
假手术	-	12.84 ± 0.35	13.46 ± 0.68	14.86 ± 1.05
模型	-	6.54 ± 1.63 ²⁾	8.69 ± 1.48 ²⁾	11.36 ± 2.11 ²⁾
甲磺酸双氢麦角碱	5	6.28 ± 1.19	11.34 ± 1.64 ³⁾	12.63 ± 1.34 ⁴⁾
醒脑再造胶囊	400	6.36 ± 1.79	12.79 ± 1.36 ⁴⁾	14.12 ± 1.25 ⁴⁾
	200	6.25 ± 1.83	8.24 ± 2.13	13.63 ± 1.16 ⁴⁾
	100	5.90 ± 1.09	9.44 ± 3.81	12.10 ± 1.13

注:与假手术组比¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2~3 同)。

表 2 醒脑再造胶囊对 VD 大鼠脑血流速度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

$\text{mm} \cdot \text{s}^{-1}$

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	血流速度		
		平均值	收缩期峰值	舒张末期
假手术	-	440.9 ± 196.1	536.9 ± 207.9	360.5 ± 170.8
模型	-	223.5 ± 68.7 ²⁾	271.9 ± 82.0 ²⁾	181.8 ± 59.4 ²⁾
甲磺酸双氢麦角碱	5	351.1 ± 194.7	473.7 ± 245.8 ³⁾	269.0 ± 166.7
醒脑再造胶囊	400	513.0 ± 184.6 ⁴⁾	654.7 ± 300.1 ⁴⁾	387.8 ± 101.3 ⁴⁾
	200	455.3 ± 132.8 ⁴⁾	635.6 ± 244.3 ⁴⁾	343.9 ± 104.3 ⁴⁾
	100	380.2 ± 124.5 ⁴⁾	491.8 ± 150.6 ⁴⁾	311.7 ± 120.4 ⁴⁾

测, NE, DA, 5-HT 的保留时间分别是 2.442, 3.149, 5.454 min。

与假手术组比较, 模型组 NE, DA, 5-HT 3 种递

质显著降低 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 甲磺酸双氢麦角碱组和醒脑再造胶囊高、中、低剂量组这 3 种递质的水平均显著升高 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 醒脑再造胶囊对 VD 大鼠中枢中 3 种单胺类递质含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

$\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	单胺类递质含量		
		NE	DA	5-HT
假手术	-	0.99 ± 0.10	2.64 ± 0.20	2.92 ± 0.21
模型	-	0.73 ± 0.02 ²⁾	1.96 ± 0.03 ²⁾	2.44 ± 0.10 ²⁾
甲磺酸双氢麦角碱	5	1.27 ± 0.07 ⁴⁾	2.38 ± 0.10 ⁴⁾	4.20 ± 0.15 ⁴⁾
醒脑再造胶囊	400	0.96 ± 0.03 ⁴⁾	2.09 ± 0.14 ⁴⁾	4.97 ± 0.17 ⁴⁾
	200	1.20 ± 0.07 ⁴⁾	2.35 ± 0.11 ⁴⁾	4.19 ± 0.21 ⁴⁾
	100	1.00 ± 0.03 ⁴⁾	2.36 ± 0.04 ⁴⁾	3.12 ± 0.07 ⁴⁾

4 讨论

本实验采用结扎大鼠双侧颈总动脉加眼眶放血法, 造成脑部慢性低灌注, 长期的供血供氧不足致使神经元和胶质细胞的坏死、凋亡, 逐渐形成 VD^[4]。本实验中运用的 Y 迷宫测量的连续性自主选择能力, 是用来衡量空间工作记忆的常用指标^[5]。工作记忆是短时记忆的一种, 是指外界刺激物消逝后, 大脑对这一消逝后的刺激保持短时间记忆直到在先此信息作出反应的能力。实验中手术后 3 天即出现工作记忆损伤, 且此模型的制备方法相对于其他方法简单易行, 是一种较理想的研究 VD 的动物模型。

醒脑再造胶囊组方多以益气活血, 化痰开窍为主, 可针对 VD 的病因病机进行治疗。实验显示醒脑再造胶囊能提高脑关键部位的血流速度, 改善脑部供血, 缓解脑部血氧不足。脑组织内各种单胺类递质是记忆形成和保持的重要因素, NE 调节大脑的信息传入提高注意力, 5-HT 主要参与皮质-海马的突触联系, 在认知过程中发挥重要作用^[6], DA 调节自主运动同时也作用于学习记忆相关的神经元, 多巴胺神经系统与工作记忆的关系尤为密切。脑缺血损伤后这些递质减少, 有研究表明芳香开窍类药物能有效提高脑内单胺类递质^[7-8], 与本实验中给

B1 和 B10 细胞在溃疡性结肠炎患者外周血中的表达及黄芩苷对其体外表达的影响

冯锦山^{1,2}, 王士群², 叶莹³, 周小戈⁴, 郑学宝^{1,2*}

(1. 南方医科大学中医药学院, 广州 510515; 2. 广东医学院中医药研究室, 广东 湛江 524023; 3. 广东医学院附属廉江医院, 广东 廉江 524400; 4. 广东医学院附属湛江中心医院, 广东 湛江 524023)

[摘要] 目的:检测与分析溃疡性结肠炎(UC)患者外周血 CD19⁺CD5⁺B 细胞(B1)及 CD19⁺CD5⁺CD1d⁺B 细胞(B10)的比例,探讨黄芩苷对其体外表达的影响。方法:收集并分离活动期 UC 患者其外周血单核细胞(PBMC),以年龄性别相匹配的正常人 PBMC 为对照,经脂多糖(LPS)+黄芩苷体外刺激淋巴细胞,流式细胞术检测刺激前后外周血 B1 和 B10 细胞比例。结果:UC 患者外周血中 B1 和 B10 细胞占 CD19⁺B 细胞的比例(4.83%±3.26%,0.97%±0.48%)低于正常对照组(16.16%±11.89%,5.99%±3.59%), $P<0.05$,LPS+黄芩苷体外刺激能上调 UC 患者 B10 淋巴细胞的比例($P=0.02$),但对正常人该淋巴细胞亚群未见明显影响。结论:B1 和 B10 细胞可能在 UC 病程中发挥免疫调节作用,黄芩苷可能对 UC 患者的 B10 细胞有上调作用。

[关键词] 溃疡性结肠炎;黄芩苷;调节性 B 细胞;B1;B10;流式细胞术

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)10-0245-04

[doi] 10.11653/syjf2013100245

Expression of B1 and B10 Cells in Peripheral Blood of Patients with Ulcerative Colitis and Baicalin Effect on its Expression *in vitro*

FENG Jin-shan^{1,2}, WANG Shi-qun², YE Ying³, ZHOU Xiao-ge⁴, ZHENG Xue-bao^{1,2*}

[收稿日期] 20130114(035)

[基金项目] 广东省自然科学基金项目(10152402301000003)

[通讯作者] *郑学宝,博士,教授,从事中药复方治疗消化道疾病的临床与实验研究,Tel:0759-2388502,E-mail: xuebaozheng@sina.com

药后 3 种递质均升高一致。

综上所述醒脑再造胶囊能够改善大鼠脑供血,提高脑组织的单胺类递质,使其学习记忆能力提高,为临床应用提供一定依据,由于其组方复杂,具体的作用机制还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] Laukka E J, Jones S, Small B J, et al. Similar patterns of cognitive deficits in the preclinical phases of vascular dementia and Alzheimer's disease [J]. *Int Neuropsychol Soc*, 2004, 10: 382.
[2] 中药有效成分治疗血管性痴呆的研究进展 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(7): 273.
[3] 王丽, 章军建, 刘涛. PKA-CREB 信号转导通路在大鼠慢性脑缺血所致认知功能障碍中的作用 [J]. *中国临床神经科学*, 2006, 14(5): 449.

[4] 刘斌, 马源源, 毛文静. 参芎化瘀胶囊对血管性痴呆模型大鼠海马 CA1 区细胞凋亡 Bcl-2, Bax 蛋白表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(6): 176.
[5] Robert N Hughes. The value of spontaneous alternation behavior (SAB) as a test of retention in pharmacological investigations of memory [J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2004, 28: 4972.
[6] 易传安, 岳晓玲, 王滨. 5-羟色胺与海马的学习记忆关系 [J]. *中国老年学杂志*, 2009, 29(23): 3140.
[7] 谢婷婷, 王虹, 刘屏, 等. 中药石菖蒲对脑内单胺类神经递质 5-羟色胺水平的影响 [J]. *中国药物应用与监测*, 2007, 4(3): 15.
[8] 李伟荣, 姚丽梅, 宓穗卿, 等. 冰片开放血脑屏障作用与组胺和 5-羟色胺的关系 [J]. *中国临床康复*, 2006, 10(3): 167.

[责任编辑] 聂淑琴