

DOI:CNKI:11-3495/R.20110314.0943.012

参芎化瘀胶囊对血管性痴呆模型大鼠学习记忆行为的作用

刘斌^{1*}, 赵彬², 毛文静¹, 马原源¹

(1. 河北联合大学附属医院神经内一科, 河北唐山 063000;

2. 河北联合大学附属医院, 河北唐山 063000)

[摘要] 目的:观察参芎化瘀胶囊对血管性痴呆模型大鼠学习记忆行为的影响。方法:将 60 只健康 SD 大鼠随机分为正常组、假手术组、模型组、喜得镇 0.6 mg·kg⁻¹ 治疗组、复方丹参 270 mg·kg⁻¹ 治疗组和参芎化瘀胶囊 480 mg·kg⁻¹ 治疗组 6 个组。均 ig 给药,每日 1 次,术前预防给药 7 d,术后继续给药 28 d。采用反复夹闭、再通双侧颈总动脉同时 ip 硝普钠制备大鼠血管性痴呆模型,应用 Morris 水迷宫检测各组大鼠学习记忆行为。结果:与正常组及假手术组相比,模型组大鼠逃避潜伏期时间延长($P < 0.01$, $P < 0.01$),撤走安全平台后穿越平台的次数及在原平台象限停留时间均减少(均 $P < 0.01$)。与模型组比较,各药物治疗组大鼠逃避潜伏期时间缩短($P < 0.05$, $P < 0.01$),撤走安全平台后穿越平台的次数及在原平台象限停留时间均增多(均 $P < 0.05$)。参芎化瘀胶囊组大鼠逃避潜伏期时间较喜得镇组短($P < 0.05$),与复方丹参组之间差异无显著性。结论:参芎化瘀胶囊能改善血管性痴呆大鼠的学习记忆能力。

[关键词] 血管性痴呆;记忆;大鼠;参芎化瘀胶囊

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2011)10-0125-04

Shenxiong Huayu Capsule Improves Learning and Memory Behaviors in Rats with Vascular Dementia

LIU Bin^{1*}, ZHAO Bin², MAO Wen-jing¹, MA Yuan-yuan¹

(1. The Affiliated Hospital of Hebei United University, Tangshan 063000, China;

2. Medical Room of Hebei United University, Tangshan 063000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of Shenxiong Huayu Capsule on the learning and memory behaviors of rats with vascular dementia. **Method:** Sixty healthy rats were evenly divided into 6 groups: normal group, sham-operation group, model group, hydergine group, compound salvia miltiorrhiza tablet group and Shenxiong Huayu Capsule group. Vascular dementia (VD) model in rats was established by common carotid artery repeatedly occlusion and sodium nitroprusside ip injection. The learning and memory abilities of rats were detected by Morris water maze. **Result:** Compared with the normal group and sham-operation group, the escape latent period was increased in the model group (all $P < 0.01$), and the times of traversing terrace and the period of staying in the pristine quadrant were obviously decreased in the model group after removing the terrace (all $P < 0.01$). Compared with the model group, the escape latent period in the drug intervention groups was decreased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the times of traversing terrace and the period of staying in the pristine quadrant were increased after removing the terrace (all $P < 0.05$). The escape latent period in Shenxiong Huayu Capsule group was decreased compared with hydergine group ($P < 0.05$), but there was no significant difference between Shenxiong Huayu Capsule group

[收稿日期] 20101208(016)

[基金项目] 河北省医学科学研究重点课题(08410);河北省中医药管理局基金课题(2007010);唐山市卫生临床技术研究课题(10150204A-32)

[通讯作者] *刘斌,主任医师,从事脑血管病基础与临床研究, E-mail: liubin919tsh@sina.com

[网络出版时间] 2011-03-14 09:43

and compound salvia miltiorrhiza tablet group. **Conclusion:** Shenxiong Huayu Capsule can improve the abilities of learning and memory for the VD rats.

[**Key words**] vascular dementia; memory; rat; Shenxiong Huayu Capsule

脑血管病患者常并发认知功能障碍,甚至发生痴呆^[1]。随着人类生活水平的提高和社会的老龄化,脑血管疾病的发病率呈逐年上升趋势,使得 VD 发病率逐年递增,严重威胁老年人的身体健康和生活质量,给社会和家庭带来沉重的负担,探讨 VD 的发病机制与治疗已成为目前人们关注的热点。目前 VD 尚缺乏有效的药物治疗。参芎化瘀胶囊是由石菖蒲、川芎、人参、地鳖虫、乳香、没药、全蝎、紫河车、龙血竭、五味子、郁金、桑椹子等组成,具有养血益气、化瘀通络等功效,但能否改善 VD 大鼠的学习记忆行为,还有待于进一步研究。本研究采用改良的两血管阻断法建立 VD 模型,观察参芎化瘀胶囊对 VD 大鼠学习记忆行为的作用,探讨参芎化瘀胶囊对 VD 的治疗效果,为其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 动物 清洁级健康 SD 大鼠 60 只,雌雄各半,体重 200 ~ 250g,由中国医学科学院实验动物研究所供给,合格证号 SCXK(京)2005-0013,在河北联合大学屏障环境动物实验室自由进食喂养。

1.2 试剂与仪器 参芎化瘀胶囊,由河北联合大学附属医院药剂科提供,批号冀药制字 Z20051586,实验时用生理盐水配制成 $48 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的药液备用。喜得镇,瑞士山德士药厂与天津华津制药厂合作生产,批号 10910054,用生理盐水配制成 $0.06 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的药液备用。复方丹参片,成都恩威药业有限公司生产,批号 20043413,用生理盐水配制成 $27 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的药液备用。硝普钠粉针剂,北京双鹤药业生产,批号 0302162,用双蒸水配制成 $0.25 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 的药液,黑纸包裹避光备用。Morris 水迷宫由淮北正华生物仪器设备有限公司提供。

2 方法

2.1 动物分组 动物随机分为正常组、假手术组、模型组、喜得镇治疗组、复方丹参治疗组和参芎化瘀胶囊治疗组 6 个组,每组 10 只大鼠。

2.2 动物模型制备 采用反复夹闭、再通双侧颈总动脉同时 ip 硝普钠法制备 VD 大鼠模型。具体方法见我们的先前报道^[2]。

2.3 给药方法 均 ig 给药,每日 1 次,术前预防给

药 7 d,术后继续给药 28 d。具体如下:参芎化瘀胶囊治疗组:参芎化瘀胶囊充分研磨后溶于蒸馏水中 $48 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,剂量为 $480 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。喜得镇治疗组:喜得镇片充分研磨后溶于蒸馏水中 $60 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$,剂量为 $0.6 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。复方丹参治疗组:复方丹参片充分研磨后溶于蒸馏水中 $27 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 剂量为 $270 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。正常组、假手术组和模型组:生理盐水,各组 ig 体积均为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.4 学习记忆行为测试 术后第 29 天,采用 Morris 水迷宫测试。Morris 水迷宫装置包括一个圆形不锈钢游泳池,直径 120 cm,高 50 cm,池壁上有东南西北 4 个人水点标志,将水池等分为 4 个象限,目标象限的中央放置一直径为 10 cm,高 23 cm 的圆形隐藏平台。水温保持 $(24 \pm 2)^\circ\text{C}$,室温 24°C ,实验期间迷宫外参照物始终保持不变。迷宫上方安置带有显示系统的摄像机,同步记录大鼠运动轨迹, Morris 水迷宫数据采集和分析软件记录相关数据及图像结果。测试包括:①定位航行试验:历时 5 d,每日分上、下午 2 个系列,每个系列包括 4 次,操作者将大鼠面向池壁不同象限入水,记录其在 120 s 内寻找到并爬上平台的时间即逃避潜伏期,找到平台后,让其在平台上站立 30 s,将大鼠从平台上拿下来休息 60 s,如果大鼠 120 s 内未找到平台,需将其牵引到平台,停留 30 s,这时潜伏期记为最高分 120 s。②空间探索试验:第 6 日,撤除平台,然后任选 1 个人水点将大鼠面向池壁放入水中,记录 120 s 内大鼠穿过原平台所在象限的次数及在原平台所在象限停留的时间。

2.5 统计学方法 所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,以 Excel 数据库整理后用 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析,组间比较采用单因素方差分析,两组之间均数比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠逃避潜伏期的影响 如表 1 所示,随着训练天数的增加,各组大鼠的逃避潜伏期均缩短。第 1 天、第 2 天各组大鼠找到平台的时间没有明显差异,从第 3 天起,模型组大鼠平均逃避潜伏期时间较正常组及假手术组延长 ($P < 0.01$),到第 4、5 天两者之间一直保持这种差异 ($P < 0.01$)。第 3

天起,复方丹参组与模型组比较大鼠平均逃避潜伏期时间缩短($P < 0.05$),第5天时,二者之间的差异更加显著($P < 0.01$)。第4天时,参芎化瘀胶囊治疗组与模型组比较大鼠平均逃避潜伏期时间缩短($P < 0.05$),第5天时,两者之间的差异更加显

著($P < 0.01$),同时喜得镇组与模型组比较大鼠平均逃避潜伏期时间缩短($P < 0.05$)。第5天时,参芎化瘀胶囊治疗组与喜得镇组比较,差异具有显著性($P < 0.05$),但与复方丹参组之间差异无显著性。

表1 各组大鼠逃避潜伏期的比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	第1天	第2天	第3天	第4天	第5天
正常	-	111.49 ± 4.97	89.28 ± 8.55	64.51 ± 10.32	51.09 ± 11.91	21.20 ± 3.41
假手术	-	111.49 ± 3.45	90.96 ± 11.28	65.06 ± 11.33	51.81 ± 12.67	20.42 ± 5.71
模型	-	112.29 ± 7.88	94.92 ± 13.20	90.79 ± 8.01 ^{1,2)}	84.49 ± 11.71 ^{1,2)}	84.90 ± 5.33 ^{1,2)}
喜得镇	0.6	110.24 ± 5.66	90.87 ± 19.37	89.31 ± 11.42	75.32 ± 11.02	67.95 ± 5.29 ³⁾
复方丹参	270	109.57 ± 7.85	80.37 ± 22.90	74.22 ± 12.66 ³⁾	65.11 ± 10.70 ³⁾	47.45 ± 12.36 ⁴⁾
参芎化瘀胶囊	480	111.25 ± 7.79	86.91 ± 10.51	74.75 ± 13.03	62.00 ± 16.99 ³⁾	45.60 ± 18.42 ^{4,5)}

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与假手术组比较²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$;与喜得镇组比较⁵⁾ $P < 0.05$ (表2同)。

3.2 对大鼠穿越平台的次数及在原平台象限停留时间的影响 如表2所示,撤走安全平台后,正常组与假手术组大鼠穿越平台的次数及在原平台象限停留时间比较无统计学意义。模型组大鼠于撤走安全平台后穿越平台的次数及在原平台象限停留时间均较正常对照组及假手术组明显减少($P < 0.01, P < 0.01$),各药物治疗组大鼠穿越平台的次数及在原平台象限停留时间均较模型组大鼠增多(均 $P < 0.05$),各用药组之间无显著性差异。

表2 各组大鼠穿越平台次数、在原平台象限停留时间比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /mg·kg ⁻¹	穿越平台 数/次	在原平台象限 停留时间/s
正常	-	7.33 ± 1.21	65.50 ± 5.45
假手术	-	7.17 ± 2.04	64.00 ± 8.83
模型	-	3.00 ± 0.90 ^{1,2)}	39.75 ± 4.10 ^{1,2)}
喜得镇	0.6	5.33 ± 2.16 ³⁾	49.01 ± 8.20 ³⁾
复方丹参	270	5.50 ± 1.64 ³⁾	51.75 ± 1.49 ³⁾
参芎化瘀胶囊	480	5.67 ± 1.63 ³⁾	51.26 ± 6.95 ³⁾

4 讨论

定位航行实验是训练大鼠经过反复训练后能利用环境中的空间线索来定位水下平台,达到测定空间参考记忆获得的目的。定位航行实验中以大鼠逃避潜伏期代表学习能力,逃避潜伏期越短,学习能力越强。而空间探索实验,是测量动物对平台空间位置的准确记忆,即记忆的保持能力。

我们的实验显示,在定位航行试验中,第1,2天,各组大鼠寻找平台的时间没有明显差异,说明各组大鼠学习训练的起点相同。从第3天起,模型组大鼠平均逃避潜伏期时间较正常组及假手术组延长,到第4,5天两者之间一直保持这种差异,说明模型组大鼠的学习记忆能力明显减退,造模成功。第4天时,复方丹参治疗组、参芎化瘀胶囊治疗组大鼠逃避潜伏期与模型组相比明显缩短。第5天时,喜得镇治疗组、复方丹参治疗组、参芎化瘀胶囊治疗组大鼠逃避潜伏期与模型组比较明显缩短,说明喜得镇、复方丹参、参芎化瘀胶囊对血管性痴呆大鼠的学习、记忆能力有改善作用。第5天时,参芎化瘀胶囊治疗组大鼠逃避潜伏时间短于喜得镇治疗组,差异具有统计学意义,与复方丹参治疗组比较无统计学意义。提示参芎化瘀胶囊改善血管性痴呆大鼠学习记忆能力的作用优于喜得镇,而与复方丹参的作用相当。

在空间探索实验中,模型组大鼠的空间探索实验120 s内的探索次数、在原平台象限停留的时间与正常对照组、假手术组相比较明显减少,有显著性差异,也说明造模后大鼠的记忆能力明显减退,造模成功。喜得镇治疗组、复方丹参治疗组、参芎化瘀胶囊治疗组大鼠穿越平台的次数及在原平台象限停留时间均较模型组大鼠增多,说明喜得镇、复方丹参、参芎化瘀胶囊均能改善血管性痴呆大鼠的学习、记忆能力。

目前用于改善 VD 患者脑功能的药物很多,喜得镇是一种麦角碱制剂,能减少反复缺血再灌注引起的中枢胆碱能神经元及脑内学习、记忆生化基础海马环路的损害,进而提高 VD 小鼠的学习、记忆成绩^[3]。复方丹参具有改善 VD 患者的认知、情绪和行为的作用,治疗血管性痴呆效果良好^[4]。我们的研究结果与上述结果基本一致。参芎化瘀胶囊是由石菖蒲、川芎、人参、地鳖虫、乳香、没药、全蝎、紫河车、龙血竭、五味子、郁金、桑椹子等组成,方中石菖蒲可醒神健脑,聪耳益智,有抑制大鼠神经细胞凋亡的作用^[5],可降低小鼠脑组织兴奋性氨基酸含量,对痴呆大鼠学习记忆具有显著改善作用^[6];川芎为血中之气药,活血行气,现代研究表明,川芎嗪可通过上调脑缺血再灌注诱导的 Bcl-2 蛋白表达,抑制细胞凋亡^[7]。乳香、没药、血竭助川芎活血化瘀;全蝎搜剔络中之邪,使脑络畅通元神之府气血平和;人参、紫河车大补气血,填精益髓;桑椹子养血健脾开胃,使气血生化有源,气血生而精髓充,配合活血药使邪去而不伤正;郁金行气解郁;五味子宁心安神,全方共奏养血益气,化瘀通络之功,使脑络气血通畅,脑功能得到有效恢复。本实验结果说明参芎化瘀胶囊对血管性痴呆大鼠学习记忆具有显著改善作用,这为临床应用参芎化瘀胶囊治疗血管性痴呆提供实验

室依据。

[参考文献]

- [1] 刘斌,姜敏,张晋霞. 急性脑梗死患者认知障碍的临床特征分析[J]. 山东医药,2009,49(33):5.
- [2] 刘斌,毛文静,李爱春,等. 参芎化瘀胶囊对血管性痴呆大鼠海马 CA1 区 p38 丝裂原活化蛋白激酶表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2010,16(8):161.
- [3] 梅建勋,张云岭,张伯礼. 多发梗塞性痴呆大鼠模型的改进与应用[J]. 中国中西医结合杂志,2000,20(2):113.
- [4] 周光燕. 复方丹参滴丸联合氢化麦角碱治疗血管性痴呆的临床观察[J]. 中国民康医学,2008,20(22):2613.
- [5] 方永奇,匡忠生,谢宇辉,等. 石菖蒲对缺血再灌注脑损伤大鼠神经细胞凋亡的影响[J]. 现代中西医结合杂志,2002,11(17):1647.
- [6] 景玉宏,冯慎远,汤晓琴. 石菖蒲对学习记忆的影响及突触机制[J]. 中国中医基础医学杂志,2002,8(6):38.
- [7] 李庚华,杨迎春,任占川. 川芎嗪对大鼠脑缺血再灌注损伤后大脑皮质 Bcl-2 表达的影响[J]. 解剖学杂志,2010,33(1):82.

[责任编辑 聂淑琴]

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20110314.0943.012.html>