以肝脾论治老年性痴呆及逍遥散对老年痴呆模型小鼠学习记忆能力、中枢胆碱能神经元活性的影响

吴红彦*，王虎平
(甘肃中医学院，兰州　730000)

[摘要]　目的：研究逍遥散对 D-gal 所致老年性痴呆(AD)模型小鼠学习记忆能力及中枢胆碱能神经元活性的影响，探讨逍遥散防治 AD 的作用及其机理。方法：采用 ig D-gal 复制 AD 小鼠模型，同时用逍遥散低、中、高剂量组进行对抗治疗，共 42 天。第 41 天进行学习能力训练，第 42 天进行记忆能力测试，然后取脑测定脑组织乙酰胆碱脂酶(AchE)、乙酰胆碱转移酶(ChAT)活性。结果：逍遥散低、中、高剂量组均可提高小鼠学习记忆能力，降低潜伏时间，但以高剂量组最为明显；逍遥散低、中、高剂量组皆可降低脑组织 AchE 活性，提高 ChAT 活性，但亦以高剂量组最为明显。结论：逍遥散能较好的对抗 D-gal 所致 AD 小鼠模型，其机制可能与调节中枢胆碱神经递质活性和数量有关。

[关键词]　逍遥散；老年性痴呆；学习记忆能力；潜伏时间；乙酰胆碱酯酶；胆碱乙酰转移酶
[中图分类号]　R285.5　　[文献标识码]　B　　[文章编号]　1005-9903(2010)05-0190-02

老年性痴呆(AD)是一种由于大脑皮层退化导致包括记忆力、判断力、抽象思维力、推理能力及空间关系等正常的活动功能丧失的神经退化性疾病，学习记忆能力的低下是 AD 一个特异性的改变。现代医学认为，AD 与中枢胆碱神经递质数量和活性的改变有着密切的联系，一般把乙酰胆碱转移酶(ChAT)和乙酰胆碱酯酶(AchE)活性作为中枢胆碱能神经元的特异标记，在 AD 中具有特异性。本实验以学习记忆能力、ChAT、AchE 作为测试指标，探讨逍遥散防治 AD 的作用及其机理。

1　材料

1.1　动物　SPF 级昆明种小鼠，50 只，体重(20 ± 2) g，雌、雄各半，由甘肃中医学院科研实验动物中心提供，合格证号 scxk(甘) 2007-121。

1.2　药物与试剂　逍遥散各组成生药由甘肃中医学院附属医院中药房提供；D-半乳糖(北京中泰化学试剂公司，批号 20071214)；AchE 试剂盒、ChAT 试剂盒及考马斯亮兰蛋白测试盒均为南京建成生物化学试剂有限公司提供，批号 20071227。

1.3　仪器　Y 型水迷宫，甘肃中医学院基础医学实验室自制；XH-B 型漩涡混匀器(姜堰市康健医疗器具有限公司)；UV-2401PC 型紫外分光光度计(日本岛津)。

2　方法

2.1　造模　模型组、逍遥散低、中、高剂量组小鼠每天 ip D-半乳糖 120 mg·kg^{-1}，连续 42 d 造模[1]，空白对照组小鼠每天 ip 生理盐水 24 mL·kg^{-1}。

2.2　分组和给药方法　小鼠随机分为空白对照组、模型组、逍遥散低、中、高剂量组，每组 10 只，自由饮食。空白对照组和模型组小鼠每天 ig 生理盐水 24 mL·kg^{-1}；给药组逍遥散原方等效剂量作为本实验中剂量，低、中、高剂量组每天分别 ig 1.243，2.485，4.970 生药 g·kg^{-1}，于造模同时开始，共 42 d。

2.3　指标测定　末次给药前 1 d 开始用水迷宫进行学习能力测量，小鼠从入水臂直接游至安全臂停靠台为正确，反之进入另一臂则为错误。学习能力以达到连续 9 次正确所需的次数为指标，超过 30 次则记为 30，并记录每次达到安全台所需的时间为潜伏时间；末次给药后进行记忆能力测试，记忆能力以 15 次中正确的次数为指标，并记录每次的潜伏时间[2]。记忆能力测定后，处死动物，迅速取出脑组织，用生理盐水制成 10% 匀浆，以测定 AchE、ChAT 活性。AchE、ChAT 活性测定采用分光光度法按试剂盒操作说明进行。

2.4　统计学处理　数据用($\bar{x} \pm s$)表示，使用 SPSS13.0 软件，采用单因素方差分析，$P < 0.05$ 为有显著意义。

[收稿日期]　2009-03-16
[通讯作者]　* 吴红彦，Tel：(0931) 8765470；E-mail：wu.hy@163.com

3　结果

3.1　对 AD 小鼠学习能力及学习潜伏时间的影响

模型组学习能力低下、潜伏时间较长，与空白对照组相比，有非常显著的差异（$P<0.01$）；逍遥散低、中、高剂量组均能提高小鼠的学习能力、降低其潜伏时间，有显著差异（$P<0.01$ 或 $P<0.05$），但数值上尤以高剂量组最为明显（$P<0.01$），见表 1。

表 1　逍遥散对 AD 小鼠学习能力及学习潜伏时间的影响（$\bar{x}\pm s$）

组别	剂量 /g·kg^{-1}	n	学习能力 /次	学习潜伏时间 /s
空白对照	—	9	13.66 ±2.85$^{2)}$	8.71 ±4.07$^{2)}$
模型对照	—	10	24.63 ±4.51	14.85 ±5.56
逍遥散	1.243	9	19.85 ±4.21$^{1)}$	12.13 ±0.93$^{1)}$
	2.485	9	19.43 ±4.27$^{1)}$	11.72 ±0.87$^{1)}$
	4.970	10	14.63 ±2.90$^{2)}$	11.03 ±1.58$^{2)}$

注：与模型组比较 $^{1)}P<0.05$，$^{2)}P<0.01$（下同）

3.2　对 AD 小鼠记忆能力及记忆潜伏时间的影响

模型组记忆能力低下、潜伏时间较长，与空白对照组相比，有非常显著的差异（$P<0.01$）；逍遥散低、中、高剂量组均能提高小鼠的记忆能力、降低其潜伏时间，有显著差异（$P<0.01$ 或 $P<0.05$），但数值上尤以高剂量组最为明显（$P<0.01$），见表 2。

表 2　逍遥散对 AD 小鼠记忆能力及记忆潜伏时间的影响（$\bar{x}\pm s$）

组别	剂量 /g·kg^{-1}	n	记忆能力 /次	记忆潜伏时间 /s
空白对照	—	9	11.87 ±1.82$^{2)}$	7.41 ±1.27$^{2)}$
模型对照	—	10	8.13 ±1.51	10.11 ±1.31
逍遥散	1.243	9	9.34 ±1.71$^{1)}$	9.03 ±1.03$^{1)}$
	2.485	9	9.95 ±1.21$^{1)}$	8.92 ±0.97$^{1)}$
	4.970	10	11.44 ±1.90$^{2)}$	7.73 ±1.08$^{2)}$

3.3　对 AD 小鼠脑组织 AchE、ChAT 活性影响

模型组小鼠脑组织 AchE 活性增高、ChAT 活性降低，与空白对照组相比，有非常显著的差异（$P<0.01$）；采用逍遥散各组对抗治疗后能显著升高小鼠脑组织 ChAT 活性、降低 AchE 活性，有显著性差异（$P<0.01$ 或 $P<0.05$），但数值上仍以高剂量组最为明显（$P<0.01$），见表 3。

表 3　逍遥散对 AD 小鼠脑组织匀浆 AchE、ChAT 活性的影响（$\bar{x}\pm s$）

组别	剂量 /g·kg^{-1}	n	AchE /U·mgprot^{-1}	ChAT /U·g^{-1}
空白对照	—	9	1.16 ±0.17$^{2)}$	87.41 ±9.50$^{2)}$
模型对照	—	10	1.62 ±0.25	70.91 ±7.58
逍遥散	1.243	9	1.38 ±0.21$^{1)}$	79.83 ±8.35$^{1)}$
	2.485	9	1.34 ±0.26$^{1)}$	80.42 ±7.97$^{1)}$
	4.970	10	1.25 ±0.24$^{2)}$	86.33 ±4.89$^{2)}$

4　讨论

中医传统观念认为，AD 病变与心、肾关系最为密切，属本虚标实，不外乎虚、痰、瘀三者。虚责之于年老体衰、心肾虚，气血精亏、髓海空虚，脑失所养；实责之气郁痰阻、气滞血瘀、痰瘀蒙蔽脑窍。而依据该病中医文献及临床循征研究，认为其发病与肝、脾密切相关。《素问·灵兰秘典论》云："肝者，将军之官，谋虑出焉"，《素问·六节藏象论》云："肝者，罢极之本，魂之居也。"肝主疏泄而藏血，与情志思忆密切相关。精血同源，肝血足则髓海充，神魂安藏，思维敏捷；疏泄司则气机调畅，情志愉悦。若肝之阴血不足，则脑窍失荣；气机不畅则情志郁结而失守，皆可发为痴呆。《素问·本病论》云："脾为谏议之官，智周出焉"，《难经》云："脾藏意与智"，《医方类聚》云："脾藏二神意与智，意不安，思无虑，神夺愚也"。脾胃为后天之本，气血生化之源。脾胃生化有源，则气血充而能上达于脑，肾精得补而化为髓。又脾主运化水湿，脾虚则水湿停留，痰浊阻滞；肝郁则气滞，气滞则血瘀，痰、瘀蒙蔽清窍，神志恍惚，呆证遂成。近年来，人们常用当归芍药散治疗此类病症取得良好疗效也说明此点。作者提出以肝脾入手论治 AD 的新思路，并以逍遥散类方进行防治研究，探讨其作用机制。逍遥散具有疏肝理气、健脾养血之功。方中柴胡疏肝理气、调达气机；当归、白芍养血柔肝，活血行瘀；茯苓、白术燥湿健脾，合煨姜、甘草既能培补后天之本，健泽气血生化之源，又可化痰利浊，薄荷芳香散肝，醒神开窍。全方八味配伍，补后天而滋先天，补气养血、填精益髓，既针对 AD 正亏本虚之虞，又行气活血，化痰利湿，祛浊开窍，以消 AD 邪滞标实之害。如此肝气畅达，邪实得除，精血充沛，正虚得补，则神有所依，魂有所归，形神俱健，神明自聪。

现代医学认为，AD 的病因病机可能与基因突变、激素水平下降、能量代谢降低、免疫功能紊乱、神经递质及生化改变、铝中毒、神经生长营养因子缺失等诸多因素有关，现代药理研究表明，逍遥散具有抗自由基氧化、营养保护神经元、调节免疫、提高 DA