

温胆汤对 MK801 诱发精神分裂症 模型鼠学习记忆的影响

万红娇, 杨翠萍*, 朱金华, 刘建华, 王敏璋, 徐小强
(江西中医学院, 江西南昌 330004)

[摘要] 目的: 探索温胆汤对精神分裂症模型鼠学习记忆功能的影响。方法: 采用 MORRIS 水迷宫检测法, 将 50 只 SD 大鼠, 随机分为正常组、模型组及温胆汤低、中、高剂量共 5 组, ig 给药, 1 次/d, 21 d 后用地卓西平马来酸盐 (MK801) 造模诱发精神分裂症, 3 d 后进行空间分辨和空间探索实验, 记录各组大鼠每天的逃避潜伏期、穿越平台次数及运动轨迹。结果: 与模型组相比, 温胆汤各组大鼠的逃避潜伏期明显缩短、跨台次数明显增加。结论: 温胆汤能改善精神分裂症模型大鼠的学习记忆功能。

[关键词] 温胆汤; 精神分裂症; MORRIS 水迷宫; 学习记忆; 大鼠

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1005-9903(2010)01-0083-03

温胆汤临床治疗疾病的范围十分广泛, 其中以癫狂为著。癫狂的病因大都为七情所伤, 病理多为脏腑功能失调, 痰浊聚结^[1]。其病因病机以阴阳失调、七情内伤、痰气上扰、气血凝滞为主要因素。祖国医学治疗癫狂, 多从“痰”入手, 强调理气化痰。温胆汤是一首化痰经典名方, 临床用治“无形之痰”所致的精神疾患, 疗效得到肯定^[2-3]。本实验选用 MORRIS 水迷宫整体行为学检测方法, 观察温胆汤对精神分裂症模型鼠学习记忆的影响, 进一步探讨温胆汤改善学习记忆的作用及其作用机制。

1 材料

1.1 动物 清洁级 SD 大鼠, 体重 180 ~ 220 g, 雌性, 动物合格证号: SCXK(赣)2005-0001, 由江西中医学院实验动物中心提供。

1.2 药物与试剂 温胆汤的药材饮片由江西省中医院中药房提供。加水浸泡 30 min, 加药材量 8 倍的水, 煮沸后煎 40 min, 过滤取汁, 二煎加药材量 6 倍的水, 煎 30 min, 合并两次滤液浓缩成 1: 1 药液 (含 1 生药 g · mL⁻¹), 此为温胆汤中剂量。高、低剂量分别为含 2 生药 g · mL⁻¹ 和 0.5 生药 g · mL⁻¹, 4℃ 冰箱保存备用; 地卓西平马来酸盐 (MK801): 美

国 SIGMA 公司生产。

1.3 主要仪器 Morris 水迷宫仪 (DMS-2): 中国医学科学院药物研究所研制。

2 方法

2.1 分组、给药与造模^[4-5] 大鼠 50 只随机分为 5 组: 正常组、模型组、温胆汤低、中、高剂量组, 每组 10 只。动物适应饲养环境 5 d 后开始分组给药, 分别 ig 3 个剂量温胆汤, 给药容量 20 mL · kg⁻¹; 正常组和模型组用等容量生理盐水。1 次/d, 连续 21 d 后, 除正常组外, 其余组大鼠末次给药后 1 h 于左侧 ip MK801, 0.6 mg · kg⁻¹, 诱发大鼠精神分裂症模型。正常组予以等量生理盐水 ip。模型建立第 3 天进行 MORRIS 水迷宫实验。

2.2 MORRIS 水迷宫实验^[6] MORRIS 水迷宫仪由一个直径为 150 cm, 高 50 cm 的圆形白铁水池组成, 池内水深 30 cm, 水温 (25 ± 1)℃, 水面均匀覆盖一层墨汁使水不透明。以通过水池圆心的两条垂直交叉线将水池分为东南西北 4 个象限, 可分别称 south-west 象限 (SW), north-west (NW) 象限, south-east (SE) 象限及 north-east (NE) 象限, 在池壁上标记东南西北四个人水点。将安全平台放置于水池中的任一象限角平分线距池壁 1/3 处, 安全平台为一直径为 9 cm, 高 29 cm 的圆形黑色平台, 平台顶部低于水面 1 cm。水池正上方悬挂摄像头, 并连接计算机, 由运动轨迹视频自动跟踪采集系统记录大鼠在水池的运动轨迹。在整个实验期间, 水迷宫处于暗环境下,

[收稿日期] 2009-04-16

[基金项目] 江西省自然科学基金项目资助 (2007GZY0911)

[通讯作者] * 杨翠萍, Tel: (0791) 7118928; E-mail: yangcuiping2@sina.com

用屏风将实验人员与动物视线隔开,水迷宫外参照物始终保持不变。

2.2.1 空间分辨学习记忆实验 第 1 天将各组试验动物逐一放入水池中(无平台)自由游泳 1 min,让其熟悉适应迷宫环境。第 2 天开始放入安全平台(NW 象限),进行训练,每次大鼠入水采取不同的象限,放入时大鼠面向池壁,记录大鼠从入水到爬上平台时间(逃避潜伏期)。若动物在设定时间内未找到安全平台,实验自动停止,定其逃避潜伏期为 60 s。大鼠每天分上、下午两个时间段训练,每个时间段训练 2 次,取 2 次训练成绩的平均值。共训练 5 d。

2.2.2 空间探索实验 在 5 d 的空间分辨实验完成后,将经训练过的大鼠重新放入撤除了水下安全平台的水池中,一般大鼠会努力寻找水下平台,并在原平台位置附近反复搜索。记录大鼠 60 s 内跨过原平台位置的次数,以此作为大鼠记忆能力的指标。电脑分析计算各象限内泳距,测其 60 s 内在外环、中

环和中心区的游泳距离及其占总距离的百分比,记录大鼠在 60 s 内搜索平台的路线图。

2.3 数据处理 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS13.0 统计软件先进行正态性检验和方差齐性检验,呈正态分布且方差齐同则用单因素方差分析及两两 q 检验;呈偏态分布或方差不齐则作多组样本秩和 h 检验,进而作秩和 q 检验。

3 结果

3.1 空间分辨学习记忆实验 表 1 显示,空间分辨训练的第 1,2 天,各组大鼠的潜伏期相差不大。从第 3 天起,模型组比正常组逃避潜伏期明显延长($P < 0.05$),温胆汤中,高剂量组比模型组逃避潜伏期明显缩短($P < 0.05$)。在训练期间,正常组、温胆汤中,高剂量组大鼠每天的逃避潜伏期均较前 1 天有明显的缩短,表明这些组的大鼠进步显著。而模型组大鼠每天的训练与前 1 天相比进步不显著。表明温胆汤具有改善模型大鼠学习记忆的作用。

表 1 各组大鼠空间分辨实验逃避潜伏期($s, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (生药 $g \cdot kg^{-1}$)	n	d_1	d_2	d_3	d_4	d_5
正常组	-	10	48.38 ± 20.53	44.60 ± 15.62	40.62 ± 13.12 ¹⁾	36.18 ± 9.15 ²⁾	27.68 ± 19.42 ²⁾
模型组	-	10	50.49 ± 15.11	51.85 ± 9.86	52.72 ± 12.09	54.28 ± 6.38	46.65 ± 14.70
温胆汤组	10	10	49.38 ± 11.12	49.08 ± 8.99	48.28 ± 8.08	47.43 ± 8.46	47.22 ± 9.86
	20	9	47.72 ± 14.58	43.95 ± 3.38	42.21 ± 13.58 ¹⁾	39.61 ± 10.38 ²⁾	33.73 ± 14.84 ²⁾
	40	10	48.55 ± 7.67	44.32 ± 4.54	43.09 ± 10.31 ¹⁾	42.12 ± 9.31 ¹⁾	41.98 ± 8.63 ¹⁾

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

3.2 空间探索实验 表 2 显示,经过训练的正常大鼠对原水下平台的位置一般均有所记忆。从大鼠搜索平台的情形来看,正常组大鼠会在原平台位置附近反复搜索多次,形成较多的跨台次数。模型组与正常组相比,穿越次数明显减少($P < 0.01$)。温胆汤各组与模型组相比,穿越次数增多($P < 0.05$),而中高剂量组明显($P < 0.01$)。

表 2 各组大鼠穿越平台的次数($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (生药 $g \cdot kg^{-1}$)	n	穿越次数/60 s
正常组	-	10	2.67 ± 1.76 ²⁾
模型组	-	10	0.83 ± 1.00
温胆汤组	10	10	1.94 ± 2.13 ¹⁾
	20	9	2.18 ± 1.52 ²⁾

40 10 2.02 ± 1.11²⁾

搜索策略是反映大鼠学习记忆能力的一个重要指标,大鼠到达平台的搜索策略共有 4 种,分别为边缘型(Circle)、随机型(Random)、趋向型(Taxis)和直线型(Line),各种搜索策略的示意图见图 1。

大鼠在进行空间探索试验时,具有不同的搜索策略。正常组和温胆汤各剂量组大鼠以直线型和趋向型搜索策略者多,而模型组大鼠多采用随机型和边缘型搜索策略。从表 3 可以观察到温胆汤对大鼠 60 s 内在水迷宫外环、中环、中心区域活动距离百分比的影响,模型组与其它组相比,在外环区域的活动距离占其总距离百分比明显增多,中环区和中心区域的活动距离百分比显著减少。温胆汤各组与模型组相比,中环区域和中心区域的活动距离百分比显

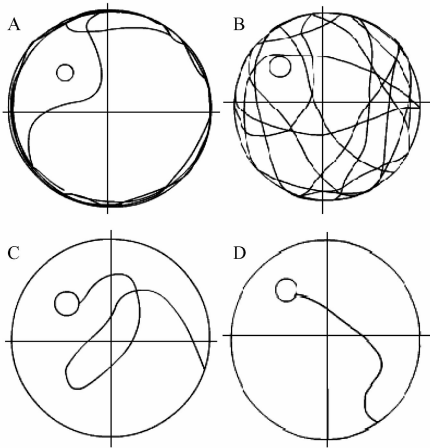


图 1 大鼠搜索平台策略

A 边缘型; B 随机型; C 趋向型; D 直线型

著增多。表明温胆汤组大鼠基本记住了水下平台的放置方位,在原平台位置周围的活动增多,保持记忆的能力增强。

表 3 各组大鼠 60 s 在外环、中环、中心区域活动的百分比(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 (生药 g · kg ⁻¹)	n	外环区	中环区	中心区
正常组	-	10	66.47 ± 18.71 ¹⁾	30.50 ± 18.48 ¹⁾	2.91 ± 2.57 ¹⁾
模型组	-	10	83.62 ± 13.64	14.91 ± 13.31	1.40 ± 2.38
温胆汤组	10	10	65.29 ± 12.55 ¹⁾	32.16 ± 12.11 ¹⁾	2.87 ± 1.21 ¹⁾
	20	9	62.31 ± 16.31 ¹⁾	33.45 ± 15.38 ¹⁾	4.51 ± 1.87 ¹⁾
	40	10	64.17 ± 10.22 ¹⁾	33.21 ± 11.06 ¹⁾	3.10 ± 1.33 ¹⁾

4 讨论

精神分裂症存在记忆、注意、抽象思维及信息整合等认知功能的障碍,主要表现为学习记忆能力较差^[7]。通过 MK801 建立精神分裂症动物模型,是目前公认的实验研究方法之一, MK801 对动物的短时记忆、记忆保持和巩固、长时记忆的形成均有影响^[8]。对精神分裂症实验动物模型的学习记忆进行探讨,是研究精神分裂症患者复杂的发病机制和治疗方法的一个重要方面。

本研究用 MK801 作用于 SD 大鼠,建立了精神分裂症的动物模型,用 Morris 水迷宫整体行为检测方法对动物模型的学习记忆能力进行了测试,结果证明精神分裂症动物模型的学习记忆明显受损,而使用了温胆汤的大鼠学习记忆有一定程度的改善。在定位航行实验中显示模型组大鼠 Morris 水迷宫隐匿平台逃避潜伏期较正常组和温胆汤各组明显延

长,空间探索实验中模型组大鼠穿越平台的次数也较其他组明显减少。经过 5 天的训练和学习,模型组大鼠与正常和用药组大鼠的脑功能差异明显显现,模型组的大鼠学习记忆能力显著低于正常组和用药组的,表现在入水后搜索策略局限在随机型或少数趋向型,正常和用药组多为直线型和趋向型,表现为入水后,大鼠随即辨别出方向,径直向平台游去。说明 MK801 诱发精神分裂症模型鼠的学习记忆能力受到一定的损害,使用温胆汤的大鼠学习记忆能力得到明显改善。

总之,本研究结果首次从行为学上证明了温胆汤对精神分裂症模型鼠学习记忆的损伤有较明显的改善作用,其作用机制可能是通过改善模型鼠中枢谷氨酸的含量和功能、阻止或延缓海马神经细胞的变性损伤来提高学习记忆能力的,其确切的作用机制有待进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] 赵田雍,汪卫东. 癫狂病[M]. 北京:中国中医药出版社,1995:54-56.
- [2] 范闽香,李辉,韩英. 中药治疗精神分裂症 64 例疗效观察[J]. 中国误诊学杂志,2005,5(6):1090-1091.
- [3] 欧阳东先. 浅谈温胆汤在精神科临床应用[J]. 时珍国医国药,2007,1(1):210-212.
- [4] 刘春文,谢俊霞. 精神分裂症模型大鼠伏核和纹状体多巴胺含量的检测及氟哌啶醇的影响[J]. 中国行为医学科学,2001,4(10):281-283.
- [5] 吴金华,邹洪,于军,等. 用不同实验小鼠品系建立精神分裂症的动物模型[J]. 生理学报,2003,55(4):381-384.
- [6] 胡镜清,温泽淮,赖世隆. Morris 水迷宫检测的记忆属性与方法学初探[J]. 广州中医药大学学报,2000,17(2):117-119.
- [7] 高永利,刘小彩,杨来启,等. 精神分裂症动物模型学习记忆实验研究[J]. 中国行为医学科学,2005,14(8):684-686.
- [8] Ban TA, Guy W, Wilson WH. Description and distribution of the subtypes Of chronic schizophrenia based on Leonhard's classification[J]. Psychiatr Dev, 1984,2(3):179-182.