

康脑灵胶囊治疗血管性痴呆的实验研究

于向东¹, 崔军², 张洪斌³

(1 中国中医研究院西苑医院老年病科, 北京 100091; 2 山东中医药大学第四附属医院, 山东 淄博 255300
3 山东中医药大学, 山东 济南 250014)

摘要:目的: 研究康脑灵胶囊治疗 VD 的部分作用机理。方法: 采用左心注射液体石蜡致大鼠 MID 的造模方法, 水迷宫实验证实, 模型组出现了明显的学习记忆障碍。检测大鼠的学习记忆能力、血液及脑组织 SOD、MDA 含量、血液流变学指标、红细胞膜脂流动性等。结果: 康脑灵胶囊组能显著改善 MID 大鼠的学习记忆能力, 提高模型大鼠血液及脑组织 SOD 含量 ($P < 0.05$), 降低模型大鼠血液及脑组织 MDA 含量, 改善大鼠血液流变学指标, 提高完整红细胞膜脂流动性。

关键词: 康脑灵胶囊; 血管性痴呆; 自由基; 血液流变

中图分类号: R285.5 文献标识码: B 文章编号: 1005-9903(2002)05-0034-04

The Experimental Study of Kangnaoling Capsule on Vascula Dementia

YU Xiang-dong¹, CUI Jun², ZHANG Hong-bin³

(1 Gerontology Dept. Xiyuan Hospital, Chinese Academy of TCM, Beijing, 100091, China;

2 The 4th teaching hospital of Shandong University of TCM, Zibo, 255300, China,

3 Shandong University of TCM, Jinan, 250014, China)

Abstract: In experimental study, the MID models were established with male Wistar rats induced by injecting paraffin liquid in left ventricle. The Step-through-water-maze test showed significant deficient of learn and memory function in model group. The results showed significant improvement of the MID model rats' ability of learn and memory, the SOD level of blood, cerebral issues and the index of Hemarrheology and MFU ($P < 0.05$), but decrease of the MAD level of blood and cerebral issues in Kangnaoling Capsule group.

Key words: Kangnaoling Capsule; Vascular Dementia; Free Radical; Hemarrheology

康脑灵胶囊是张洪斌教授在研究古代名方基础上, 结合多年临床经验而创制的有效方剂, 具有补肾填精益髓、活血化瘀通络的作用, 为了深入研究该方药理作用机制, 我们进行了该方对大鼠学习记忆的促进、抗衰老、血流变学、红细胞膜脂流动性实验。

1 材料

1.1 实验动物的分组 雄性 Wistar 大鼠, 54 只, 体重 $400\text{g} \pm 50\text{g}$, 4 月龄, 由山东省医药工业研究所动物中心提供。随机分为 6 组, 中药大剂量组 10 只, 以下简称中药 I 组; 中药小剂量组 10 只, 以下简称中药 II 组; 抗脑衰胶囊对照组 9 只, 以下简称中药对照组; 尼莫地平平均对照组 9 只, 以下简称西药对照组, 模型组 7 只; 空白组 9 只, 未造模。

1.2 实验药品 康脑灵胶囊, 由济南市第三人民医院制剂室生产, $0.35\text{g}/\text{粒}$, 每粒约含生药 3.3g , 主要

药物组成: 川芎 (*Ligusticum chuanxiong* Hort)、当归 (*Angelica sinensis* (Oliv.) Diels)、核桃仁 (*Juglans regia* L.) 等。三味药的比例为 4:2:1。

1.3 药品配制浓度和用药方法 中药 I 组: 配成 120% 的康脑灵胶囊水溶液, 每日灌服 4ml, 相当于生药 $120\text{g}/\text{kg}$ 。中药 II 组: 配成 30% 康脑灵胶囊水溶液, 每日灌服 2ml, 相当于生药 $20\text{g}/\text{kg}$ 。中药对照组: 配成 40% 抗脑衰胶囊水溶液, 每日灌服 4ml, 相当于生药 $40\text{g}/\text{kg}$ 。西药对照组: 配成 1% 尼莫地平水溶液, 每日灌服 2ml, 相当于 $0.05\text{mg}/\text{kg}$ 。模型组: 每日灌服自来水 2ml。

1.4 实验仪器 超声振荡器, 水迷宫 (自制): 为 $90\text{cm} \times 60\text{cm} \times 35\text{cm}$ 的长方形塑料水池, 池内一端为起始区, 左右两侧分别为宽 20cm 的水道, 水道中间为死腔, 左侧水道尽头设一个 $9\text{cm} \times 9\text{cm} \times 21\text{cm}$ 的安全岛。721 分光光度计, 日立 220A 紫外分光光度计, 旋转式锥板粘度计, 型号: NXE-1, RF-540 荧光分光

光度计。

2 方法

2.1 康脑灵胶囊对 MID 大鼠学习记忆的促进作用

2.1.1 左心注射液体石蜡致 MID 模型的建立^[1]

大鼠用 4% 戊巴比妥钠(1ml/kg) 注入腹腔进行麻醉, 然后将麻醉大白鼠仰卧于操作台上, 固定四肢, 将操作台一端抬高 2~ 3cm, 使大白鼠处于头低脚高位, 将液体石蜡用超声振荡器成石蜡微滴, 抽入带 7 号针头的 0.25ml 注射器内, 注射器前端留空气少许, 便于回血和观察。从胸骨左缘心跳最明显处进针 0.5~ 1cm, 见注射器前端气泡随心脏一齐跳动或有大量血液涌入表明针头进入心脏, 回抽血液少许, 如血液颜色鲜红说明针头进入左心(若暗红则指示进入右心, 0.25ml/kg 的液体石蜡注入右心后, 呼吸急促, 很快死亡), 将液体石蜡缓慢推入, 注射完毕后再回抽一下, 如回血通畅, 说明注射过程中针头未脱离心脏。

注射后大鼠出现精神萎靡, 觅食、喝水缓慢, 行动迟缓, 行动向一侧偏斜及旋转等。大鼠的死亡率约为 5~ 10%, 1 天后开始训练。

2.1.2 水迷宫实验

实验时水深为 23cm 左右, 水温 30℃左右, 每只大白鼠连续游泳训练 5d, 每天 12 次, 每次游泳后均在安全岛上停留 20min。将大白鼠尾部朝向安全岛方向放入起始区, 以最短距离游上安全岛或在最短时间内游上安全岛为正确, 如游往安全岛的途中返回或游向安全岛对侧水道的 1/2 路程时, 为错误反应。

2.1.3 评价指标

游泳时间(S): 每只大白鼠从放入到起区开始到作业完成的时间(以能够判定正确或错误反应为准)。

正确数: 每只大白鼠每天游泳正确次数。连续正确数: 每只大白鼠每天游泳连续正确次数的最高值。获得率: 每只大白鼠每天游泳中连续正确数大于等于 8, 表明该动物训练成熟, 获得了正确反应技能, 称该动物为获得阳性, 各组中每天获得阳性鼠所占的百分率为各组当天的获得率。

2.1.4 统计学分析

游泳时间、正确数、连续正确数用 t 检验, 获得率用 X² 检验。

2.2 康脑灵胶囊对 MID 大鼠脑组织和血液 SOD、MDA 的影响

(1) 血浆 MDA 的测定: 用 TBA 反应比色法^[2]。

(2) SOD 的测定: 采用光化学扩增法^[3]。

2.3 康脑灵胶囊对 MID 大鼠血液流变性的影响

方法: 先用 Sintrobe 管(0.6mm × 95mm) 测出 1h 的血沉; 然后用 Cutler 法测得红细胞压积; 后用 NXE-1 椎板式粘度计测定高、中、低切变率下的全血粘度及血浆粘度。实验数据用方差分析进行统计学处理。

2.4 康脑灵胶囊对 MID 大鼠完整红细胞膜脂流动性的影响

方法: 荧光偏振度(P) 测定^[4]。

3 结果

3.1 康脑灵胶囊对 MID 大鼠学习记忆的促进作用

造模后第 1d, 各药均能显著缩短大鼠游泳时间, 不能改善连续正确数和获得率的降低; 第 2d 中药 I 组, 抗脑衰组, 尼莫地平且能显著缩短游泳时间, 中药 II 组无此作用, 各药均不能改善连续正确数和获得率的降低; 第 3d 抗脑衰组, 中药 II 组, 尼莫地平组均能显著改善大鼠游泳时间, 中药 I 组无此作用, 各药均能显著改善获得率的降低, 中药 II 组和尼莫地平组能显著改善连续正确数的降低; 第 4d 各药均不能缩短游泳时间及改变正确数的降低; 第 5d 抗脑衰组, 中药 II 组, 尼莫地平组均能缩短游泳时间, 抗脑衰组织和尼莫地平组还能改善正确数和连续正确数的降低。由折线图可以看出, 中药 II 组、中药对照组、西药对照组的游泳时间均有明显缩短($P < 0.05$, $P < 0.01$), 正确数、连续正确数均有升高的趋势; 中药 II 组和中药对照组有提高获得率的趋势。

3.2 康脑灵胶囊对 MID 大鼠脑组织和血液 SOD、MDA 的影响。

3.2.1 对脑组织和血浆 MDA 的影响(见表 1)

由结果可以看出模型组的血浆和脑组织 MDA 明显升高, 与空白组比较 $P < 0.05$, 表明造模后大鼠出现了自由基反应。中药 I 组、中药 II 组和西药对照组的血浆 MDA 均明显低于模型组($P < 0.05$), 中药 I 组和中药 II 组的脑组织 MDA 均明显低于模型组($P < 0.05$)。

表 1 各组血浆和脑组织 MDA 含量($\bar{x} \pm s$)

组别	N	血浆 MDA(nmol/l)	组织 MDA(nmol/g 湿组织)
空白组	8	4.52 ± 2.18	151.31 ± 57.56
模型组	6	7.90 ± 2.51 [△]	188.70 ± 32.27 [△]
西药对照组	6	4.27 ± 1.14 [*]	180.11 ± 44.86
中药对照组	6	5.79 ± 2.49	170.46 ± 57.94
中药 I 组	6	3.98 ± 1.22 [*]	146.31 ± 10.06 [*]
中药 II 组	6	3.49 ± 0.84 [*]	130.04 ± 45.81 [*]

注: 与模型组比较: * $P < 0.05$; 与空白组比较: [△] $P < 0.05$ 。

3.2.2 对大鼠脑组织和红细胞 SOD 的影响(见表 2)

由结果可以看出, 中药 II 组的红细胞及脑组织

SOD 含量均明显高于模型组和空白组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。中药 I 组和中药对照组的脑组织 SOD 含量明显高于模型组 ($P < 0.05$), 而中药 I 组和中药 II 组的红细胞 SOD 含量又明显高于西药对照组 ($P < 0.05$)。

表 2 各组红细胞和脑组织 SOD 含量($\bar{x} \pm s$)

组别	N	红细胞 SOD($\mu\text{g/ml}$)	组织 SOD($\mu\text{g/g}$ 湿组织)
空白组	9	140.91 \pm 18.67	183.67 \pm 24.26
模型组	9	140.58 \pm 27.39	188.80 \pm 31.00
西药对照组	6	130.71 \pm 20.14	210.18 \pm 38.29
中药对照组	7	132.57 \pm 21.70	230.84 \pm 31.48*
中药 I 组	6	162.86 \pm 24.64 $\Delta^{\#}$	243.26 \pm 43.67* Δ
中药 II 组	6	187.72 \pm 36.43 $\Delta^{\#}$ *	239.84 \pm 26.73* Δ

注:与西药对照组比较, $\# P < 0.05$ 。

3.3 康脑灵胶囊对 MID 大鼠血液流变性的影

表 3 各组血液流变性变化($\bar{x} \pm s$)

指标	空白组	模型组	西药对照组	中药对照组	中药 I 组	中药 II 组
N	9	7	6	7	6	6
全血粘度						
高切(200/s)(mpa.s)	5.69 \pm 0.80	6.0 \pm 1.54	5.12 \pm 0.67	5.54 \pm 0.49	5.10 \pm 0.46	5.15 \pm 0.60
中切(30/s)(mpa.s)	6.52 \pm 1.21	7.16 \pm 1.57 Δ	6.11 \pm 0.50	5.55 \pm 1.03*	5.56 \pm 0.63*	5.84 \pm 0.61*
低切(3/s)mpa.s	6.06 \pm 4.04	17.47 \pm 5.97 Δ	12.33 \pm 3.60	14.35 \pm 3.02	11.78 \pm 1.45	14.70 \pm 4.89
血浆粘度(mpa.s)	1.74 \pm 0.42	2.82 \pm 0.84	1.97 \pm 0.53	1.56 \pm 0.73*	1.48 \pm 0.44*	1.62 \pm 0.52*
RBC 压积(%)	46.44 \pm 3.58	55.20 \pm 3.19 Δ	54.00 \pm 3.32	46.00 \pm 3.61*	45.29 \pm 2.36*	46.14 \pm 2.73*
血沉(mm/h)	3.00 \pm 1.00	4.86 \pm 1.57 Δ	3.43 \pm 2.07	2.29 \pm 1.60*	0.20 \pm 0.84*	1.80 \pm 0.84*

表 4 各组大鼠完整红细胞膜指流动性的变化($\bar{x} \pm s$; $n = 6$)

组别	荧光偏振度(P 值)
空白组	0.2594 \pm 0.0152
模型组	0.2663 \pm 0.0295
西药对照组	0.2296 \pm 0.0299
中药对照组	0.2031 \pm 0.0517* Δ
中药 I 组	0.2069 \pm 0.0274* Δ
中药 II 组	0.1967 \pm 0.0295* Δ

4 讨论

康脑灵胶囊主要以古方“芎藭散”为基础,由核桃仁、川芎、当归等药组成,以川芎为君,川芎性辛温,功用行气开郁,祛风燥湿,活血止痛。针对本病气滞血瘀的病机,用川芎以行气活血,又能解郁,故用之为君。当归性甘辛温,功用补血和血,调经止痛,润燥滑肠。用当归为臣,一者助川芎行气活血之功;二者又能和血养血,以治血虚诸郁。胡桃仁,性甘温,功用补肾固精,温肺定喘,润肠。用胡桃仁为佐,一者能润血脉,通经脉,助芎、归之行血和血之功;二者补肾固精,使肾精充足,神志清晰。全方共

响(见表 3) 由结果可以看出,模型组造模后的全血粘度中切、低切、红细胞压积、血沉均较空白组升高($P < 0.05$),中药 I 组、中药 II 组和中药对照组的全血粘度中切、低切、血浆粘度、红细胞压积、血沉均明显低于模型组($P < 0.05$),表明造模后大鼠出现了较明显的血流变异常,而中药 I 组、中药 II 组和中药对照组用药后能明显改善血流变学指标。

3.4 康脑灵胶囊对 MID 大鼠完整红细胞膜脂流动性的影响(见表 4) 与模型组比较, $* P < 0.05$,与空白组比较, $\Delta P < 0.05$ 。结果中药 I 组、中药 II 组、中药对照组的荧光偏振度均较模型组和空白组小($P < 0.05$),表明其红细胞脂流动性均较模型组和空白组大。

凑活血祛瘀、补肾填精、养血补虚之功效。

血管性痴呆患者最主要的表现是认知功能障碍,而认知功能障碍包括学习、记忆和思维等内容。目前研究 VD 的方法主要是通过各种途径造成动物的学习和记忆障碍,以此来研究药物的促智作用。本实验选用辨别性学习方法。采用每个实验日固定测试段的训练方法,其学习过程中呈现了较好的规律性。由实验结果可知,模型大鼠游泳时间明显延长,正确数、连续正确数、阳性率均明显下降,特别是在第三天最明显,说明 VD 模型组的记忆巩固能力和长期记忆形成能力受到损害,出现了严重的学习记忆障碍。本模型的栓子主要在海马部位,已知海马在记忆的整理、巩固、重演中居于极为重要的地位。海马受损可致顺行性遗忘症,即对新信息的储存能力下降,短期记忆很难转变为长期记忆,动物不能分离出重要信息并加以整理、巩固并重演,于是形成近事遗忘^[5-7]。本实验结果表明,随着训练天数的延长,康脑灵胶囊组不同程度地缩短了游泳时间,提高了正确数、连续正确数和获得率,表明在不同程

度上改善了模型大鼠的学习记忆能力。

脑最容易受自由基的损害,脂质过氧化产物对脑细胞有毒害作用,它能交链蛋白质、脂类、核酸和糖类,致使生物膜变性和破坏,由于 DNA 发生突变、交链等影响了信息传递、转录和复制,导致蛋白质合成功能紊乱,从而表现出记忆力和智力下降。SOD 是体内 O_2^- 的清除剂,可以防止 O_2^- 引起的自由基连锁反应,保护细胞免遭活性氧的损害。本实验结果表明模型组血浆和脑组织 MDA 与空白组比较明显升高,说明造模后大鼠出现了自由基反应;中药 I 组、II 组均可降低脑组织和血浆 MDA 含量,显著提高脑组织和红细胞 SOD 含量。提示康脑灵胶囊可抑制体内脂质过氧化物生成,提高体内 SOD 的活力,在一定程度上改善自由基代谢异常状况,从而减轻脑损害和脑损害所致的记忆力和智力下降,这可能是康脑灵胶囊治疗 VD 和抗衰老的重要机理。

有研究表明,脑缺血时神经细胞损害程度与血粘度有明显关系,且红细胞压积高时,梗塞灶大,可能因为高红细胞压积和高血粘度时,脑血流量减少,侧枝循环不易建立,故梗塞灶大^[8]。而 VD 的发生,与梗塞灶容积密切相关。红细胞膜脂的流动性是红细胞变形性(RCD)的主要方面。RCD 下降可使血液粘度增加,这在高切变率下尤著^[9]。而红细胞膜微粘度增高,可影响氧的弥散,红细胞变形性降低易造成微循环血流不畅,增加组织缺氧。由于动脉硬化时脑血管的自身调节功能丧失或降低,管径对 CBF

的影响下降,RCD 益显其重要性。本实验表明,康脑灵胶囊能改善血流变学指标,且能增高红细胞膜的流动性,减低红细胞膜的微粘度。故康脑灵胶囊可能通过改善血流变学指标,提高红细胞膜的流动性,改善组织缺氧,从而改善脑缺血时的神经细胞损害。

参考文献:

- [1] 张炳烈. 杞枣复方对脑功能综合征疗效的实验研究[J]. 当代医师杂志, 1996, (9): 4.
- [2] 魏明竟. 血浆过氧化脂质的测定及其临床意义[J]. 国外医学临床生物化学与检验分册, 1984, (1): 6.
- [3] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 956.
- [4] 陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993. 976.
- [5] 邱盈科. 学习与记忆的神经生理学基础[J]. 铁道医学, 1985, 13(3): 176-179.
- [6] Kiyota, Y, Masaomi, M, Nagaoka, A. Relationship between brain damage and memory impairment in rats exposed to transient forebrain ischemia[J]. Brain Res, 1991, 538: 295-302.
- [7] Barnes, CA. Spatial learning and memory progresses: the search for their neurobiological mechanism in the rat[J]. Trends neuroses, 1988, 11: 163-169.
- [8] 钱采韵. 缺血性脑血管疾病的血液流变学研究[J]. 国外医学·内科分册, 1987, (8): 357.
- [9] 苏镇培. 血液粘度与脑血流量及脑梗塞的关系[J]. 中国神经精神疾病杂志, 1988, 14(1): 60.