

• 基础研究 •

中药 SSY-B2 对隔海马穹隆伞切断致大鼠学习记忆障碍的改善作用

陆华宝 李林* 安文林 叶翠飞 张丽

[摘要] 目的 观察中药提取物 SSY-B2 对穹隆伞切断致大鼠学习记忆障碍的改善作用。方法 成年雄性 SD 大鼠随机分为 6 组:假手术组、模型组、阳性对照药脑复康治疗组、SSY-B2 小剂量治疗组(1.5g 生药/kg)、SSY-B2 中剂量治疗组(3g 生药/kg)、SSY-B2 大剂量治疗组(6g 生药/kg)。术前 0.5—1 小时灌胃给予试验用药直到行为学测试结束。手术后第 4 周开始进行 Morris 水迷宫测试,记录游出时间;第 6 周进行通道式水迷宫测试记录游出时间和错误次数。结果 小、中剂量 SSY-B2 治疗能缩短大鼠的游出时间或减少错误次数。结论 SSY-B2 具有改善穹隆伞切断所致的空间学习记忆障碍的作用。这种作用可能与中枢神经系统的功能代偿有关。

[关键词] 中药;SSY-B2;学习记忆障碍;康复

Effect of SSY-B2 on improvement of learning/ memory function of rats with bilateral fornix/ fimbria transection LU Hua-bao, LI Lin, AN Wen-lin, et al. Beijing Xuanwu Hospital, Beijing 100035, China

[Abstract] Objective To study the effect of SSY-B2 on improvement of learning/ memory function of rats with bilateral fornix/ fimbria transection. Methods Male adult SD rats were divided randomly into 6 groups as sham group, model group, positive control agent piracetam group, SSY-B2 low(1.5g crude drug/kg), medium(3g crude drug/kg) and high dosage (6g crude drug/kg) group. Half to 1 hour before operation, water or drugs were fed introgastrically to each group respectively. From the fourth week, Morris water maze and tunnel water maze tests were used. Escape latency of rats in Morris test, escape latency and errors in tunnel test were recorded. Results In both Morris test and tunnel water maze test, low dosage and medium of SSY-B2 markedly shorten the escape latency or reduced the errors. Conclusions SSY-B2 can ameliorate spatial learning/ memory dysfunction produced by fornix/ fimbria transection. Functional compensation in other neural structure other than regeneration of the septohippocampal pathway is considered to be responsible for the effects.

[Key words] traditional Chinese medicine; SSY-B2; learning/ memory impairment; rehabilitation

中图分类号: R259, R749.1 文献标识码: A 文章编号: 1006-9771(2003)05-0286-03

祖国医学有数千年的历史,其中有许多中草药具有健脑益智的作用。以往的研究已证明一种中药的提取物 SSY-B2 在体外试验中具有显著神经保护作用。本研究采用双侧穹隆伞切断导致大鼠学习记忆障碍模型,利用两种迷宫测试方法,观察中药提取物 SSY-B2 对学习记忆障碍的改善作用。

1 材料与方法

1.1 药物 受试药物 SSY-B2 为本研究室从中药 SSY 中经水提、醇沉,上清液经正丁醇萃取获得,分别配成折合生药为 0.15g/ml, 0.3g/ml, 0.6g/ml 的溶液。阳性对照药脑复康(piracetam, 匹拉西坦)由北京曙光制药生产(批号 990621, 京卫药准字 1996 第 138050 号),每克干粉含 0.89g 纯药,配成 62.9mg/ml 的溶液。

基金项目:1.首都二四八重大创新工程(生物医药领域)项目(No. H010210130113);2.国家重点基础研究发展计划“973”项目(No. 2000057010)

作者单位:1.100035 北京市,首都医科大学宣武医院(陆华宝、李林、安文林、叶翠飞、张丽)。2.100077 北京市,北京博爱医院(陆华宝)。作者简介:陆华宝,(1966-),男,湖北洪湖市人,副主任医师,硕士生,主要研究方向:儿童康复和神经药理研究。*通讯作者:李林。

1.2 仪器 脑立体定位仪:SN-2N 型,日本东京。Morris 水迷宫和通道式水迷宫:中国医学科学院药物研究所。

1.3 方法

1.3.1 动物造模与分组 雄性 SD 大鼠,体重(278.45±29.07)g,用 SPSS 软件随机分为 6 组,即假手术组、模型组、阳性对照药脑复康治疗组(0.56g 纯药/kg)、SSY-B2 小剂量组(1.5g 生药/kg)、SSY-B2 中剂量组(3g 生药/kg)、SSY-B2 大剂量组(6g 生药/kg)。

动物称重后,手术前 0.5—1 小时灌用试验用药。10%的水合氯醛腹腔注射麻醉后,肌肉注射长效西林 20000u。固定耳夹,头颅局部消毒后,切开颅骨表面皮肤,暴露前囟,标记前囟,安放到脑立体定位仪上,使前后囟处于同水平。钻孔,调整刀片(自制,宽 2mm)及调节钮至前囟标记点为 0 位,再后移 2mm,侧移 1mm,至脑表面后向下 5mm。上下缓慢抽刀 4mm 两次,然后外移 3.0mm,再上下缓慢抽刀两次,留置刀片 2 分钟,退出刀片。移至对侧进行同样操作。取下鼠后,局部滴数滴庆大霉素,缝合皮肤。把鼠放置在单独的盒中,直至鼠苏醒后再移入同一组鼠的大盒中^[1-4]。以后每日肌注长效西林 20000u 共 5 天,并每日灌药。假手

术组不进刀,其他步骤相同。各治疗组均按 1 ml/100g 容积给鼠灌胃,模型组和假手术组以同样量给予灌水。

1.3.2 Morris 测试方法 手术后第 4 周开始进行测试。在测试前 1 天将鼠头部染黑。测试设备由圆形水池和自动录像分析系统两部分组成。水池由不锈钢制成,直径 120cm,高 50cm;有机玻璃平台高 29cm,直径 9cm。水池被分为东北、东南、西北、西南 4 个象限,将平台置于东北象限的中心。3 个起点分别设定于其他 3 个象限边缘的中心。测试前将水充注到池中,并将奶粉混匀,使水温维持在(21±1)℃,平台位于水面下 2cm,室内保持安静。由助手抓着鼠身体,使头面向池壁,分别在 3 个起点放入水中,同时开始记录,每个测试持续 1 分钟,测试间隔约 1 分钟。如鼠在 1 分钟内不能找到平台,引导它达到平台,并把它放在平台上 10 秒钟。每日的起点顺序随机安排,每日测试的组顺序也依次更换,一共测试 6 天。由计算机控制的的摄像系统自动记录其找到平台的时间、距离和运动轨迹、初始角度。将游出时间直接输入到计算机中。计算第 5、6 天各组大鼠的游出时间。

1.3.3 通道式水迷宫测试方法 手术后第 6 周开始进行通道式水迷宫测试。通道式迷宫由黑色有机玻璃制成,测试时水温(21±1)℃,水深 40cm,每日分别从不同的组开始,每日进行两次,分别在上午和下午进行。测定前使每只大鼠在出口处游上平台,然后开始进行两盲端测试,次日进行 3 盲端测试,从第 3 日开始进行四盲端测试,共测试 6 天。每次测试时间定为 180s。如鼠不能找到出口,引导鼠到达出口。记录鼠游出时间和错误次数,大鼠每进入 1 个盲区或反向游泳定为 1 次错误。计算从第 4—6d 的游出时间及错误次数。

1.3.4 统计学方法 应用 SPSS 10.0 对所有各组行为学数据进行重复测量的方差分析,以 $P < 0.05$ 定为差异具有显著性意义。

2 结果

Morris 水迷宫游出时间 SSY-B2 小剂量组和脑复康组短于模型组,SSY-B2 中剂量组有缩短的趋势($P = 0.059$)。见表 1。通道式水迷宫游出时间 SSY-B2 小剂量和脑复康组均短于模型组,SSY-B2 中剂量也可显示有一定的趋势;错误次数方面脑复康和 SSY-B2 中剂量组少于模型组,见表 2。

3 讨论

许多研究已证明,隔海马胆碱能通路在空间记忆中发挥重要的作用,隔海马穹隆伞切断是常用的痴呆动物模型之一。大鼠学习记忆的行为学测试有 Morris 水迷宫测试、通道式水迷宫测试、T 型迷宫、“十”字迷宫、轮状迷宫、避暗测试、跳台测试等。Morris 水迷宫

测试和通道式水迷宫测试是其中两种反映动物空间学习记忆的方法。本研究采用了这两种方法以评价中药 SSY-B2 对大鼠双侧穹隆伞(fornix/fimbria,FF)切断致大鼠学习记忆障碍的改善作用。

表 1 Morris 水迷宫试验游出时间

组别	动物数	游出时间	P 值
假手术组	14	13.49±10.72	0.000
模型组	14	45.60±14.54	
脑复康组	12	35.70±14.53	0.039
小剂量组	15	32.78±18.29	0.005
中剂量组	16	37.22±17.28	0.059
大剂量组	12	37.79±12.93	0.101

表 2 通道式水迷宫游出时间及错误次数

组别	动物数	游出时间	P 值	错误次数	P 值
假手术组	14	27.36±19.24	0.000	2.19±2.17	0.000
模型组	14	148.07±51.87		18.94±8.80	
脑复康组	11	104.14±63.22	0.017	12.27±7.58	0.010
小剂量组	15	112.86±7.87	0.037	14.46±8.60	0.058
中剂量组	14	119.86±56.93	0.099	14.21±7.36	0.050
大剂量组	9	128.96±59.38	0.320	15.31±8.26	0.180

在 FF 切断后 4 周和 6 周,切断损伤的各组与假手术组在任何一天都有明显的差异,也说明大鼠双侧隔海马通道穹隆伞切断确可导致大鼠学习记忆障碍。事实上,损伤海马、内侧隔核、内嗅皮层或 FF 切断等都可导致在迷宫测试中产生明显的记忆障碍^[5]。本研究表明,SSY-B2 小、中剂量和阳性对照药脑复康对 FF 切断后空间学习记忆障碍具有改善作用。而 SSY-B2 大剂量无明显作用的原因可能在于大剂量可能对大鼠产生了其他不良的影响。如大剂量组的大鼠平均体重明显偏低(数据未显示),死亡也较多。这提示,许多药物包括中药都有毒性作用,并不是剂量越大越好。

1969 年,Luria 等重新提出并完善了功能重组的理论,认为伤后脑的残留部分,通过功能上的重组,以新的方式完成已丧失了的功能,在此过程中,特定的康复训练是必须的^[6]。事实上,参与学习记忆的中枢结构和神经递质、神经肽也有很多。直接或间接与海马相联的结构对空间记忆也发挥系统性的特殊作用^[7-9]。

由于隔海马通路很难完整恢复,因此,SSY-B2 改善 FF 切断导致的学习记忆障碍可能是依赖于隔海马通路外的其他神经结构的功能代偿,而有关其功能代偿的环节还有待进一步研究。

[参考文献]

[1] 隋建峰,熊鹰,张长城,等.胎脑提取液对隔-海马通路损伤大鼠学习和记忆的影响[J].第三军医大学学报,1995,17(2): 156—157.

[2] Danks AM, Oestreicher AB, Spruijt BM, et al. Behavioral and anatomical consequences of unilateral fornix lesions and the administration of nimodipine[J]. Brain Res, 1991, 557(1—2): 308—312.

- [3] Weskamp G, Gasser UE, Dravid AR, et al. Fimbria-fornix lesion increases nerve growth factor content in adult rat septum and hippocampus[J]. Neurosci Lett, 1986, 70(1) : 121 — 126 .
- [4] Spruijt B, Pitsikas N, Algeri S, et al. Org2766 improves performance of rats with unilateral lesions in the fimbria fornix in a spatial learning task[J]. Brain Res, 1990, 527 : 192 — 197 .
- [5] Aggleton JP, Keith AB, Rawlins JN, et al. Removal of the hippocampus and transection of the fornix produce comparable deficits on delayed non-matching to position by rats[J]. Behav Brain Res, 1992, 52(1) : 61 — 71 .
- [6] 缪鸿石, 陈立嘉, 周淑梅. 中枢神经系统损伤后功能恢复的理论[A]. 见: 缪鸿石. 康复医学理论与实践[C]. 上海: 上海科学技术出版社, 2000. 49 — 100 .
- [7] Sutherland RJ; Rodriguez AJ. The role of the fornix/fimbria and some related subcortical structures in place learning and memory[J]. Behav Brain Res, 1989, 32(3) : 265 — 277 .
- [8] 刘燕强, 顾景范. 学习和记忆的神经生化学机制的研究概况[J]. 生理科学进展, 1998, 29(3) : 203 — 208 .
- [9] 舒斯云, 包蓉, 包新民, 等. 大鼠纹状体边缘区与 Meynert 氏基底核的突触联系及其与学习记忆功能的关系: WGA-HRP 束路追踪法、电镜法和行为实验法研究[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 1998, 7(1) : 1 — 11 .

(收稿日期: 2003-03-17)