

呆聪液对老龄大鼠痴呆模型脑 M 受体作用的实验研究*

岳启安 赵淑梅 高敬宗 李光宗 阎乐法 尤 敏 管福来

内容提要 目的:探讨呆聪液对老龄大鼠痴呆模型脑 M 受体的作用。方法:选用 22 月龄的老龄大鼠,采用双侧电解损毁基底核法,造成学习和记忆功能障碍的痴呆动物模型,观察了呆聪液对该动物模型脑 M 受体合成的影响。结果:呆聪液的两个不同剂量试验组对老龄大鼠痴呆模型脑 M 受体的作用与老龄大鼠痴呆模型对照组比较差异有显著性($P < 0.01$),但两个不同剂量试验组的呆聪液对老龄大鼠痴呆模型脑 M 受体的作用与脑复康对照组比较差异也有显著性($P < 0.01$)。结论:中药呆聪液具有明显提高老龄大鼠痴呆模型脑 M 受体数目的作用($P < 0.01$)和提高脑 M 受体的亲和力($P < 0.01$),改善老龄大鼠痴呆模型学习和记忆功能障碍,其作用优于脑复康。

关键词 呆聪液 M 受体 动物痴呆模型

Experimental Study of Daicong Solution on Brain M Receptor in Dementia Model of Aged Rats YUE Qi'an, ZHAO Shumei, GAO Jingzong, et al. Department of Microbiology, Weifang Medical College, Shandong (261042)

Objective: To explore the effect of Daicong Solution (DCS) on M receptor in brain of aged rat model of dementia. **Methods:** The effects of DCS on M receptor in brain of dementia model of learning and memory function hindrance were observed, the basal nuclei were ruined by destroying bilateral electrolytic method in 22-month-old rats. **Results:** Significant difference was shown in comparing the M receptor in the two groups treated by different dosages of DCS with that in the model control group ($P < 0.01$), significant difference also displayed in comparison of the DCS treated groups and Naofukang treated group ($P < 0.01$). **Conclusion:** DCS has marked effects in elevating the number and affinity of M receptor in brain of aged rat dementia model and could improve its learning and memory function, the effect was superior to that of Naofukang.

Key words Daicong Solution, M receptor, animal dementia model

老年痴呆病的发病率逐年上升,由于引起老年人的记忆力和智能障碍,给工作和生活带来诸多不便。该病在发达国家占死亡原因的第 4 位,仅次于心脏病、肿瘤和中风^[1]。近年来对老年痴呆病的研究不断深入,尤其是中药研究取得了一定的进展。本研究利用中药有效组合方剂,在临床治疗老年痴呆病方面获得了明显的治疗效果的基础上,为了进一步探讨其作用原理,利用老龄大鼠痴呆模型观察了中药呆聪液对其脑 M 受体的作用,现将研究结果报道如下。

材料与方法

1 动物及分组 选择 22 月龄纯种健康大白鼠

50 只(系本院实验动物中心提供),体重为 250~300 g,雌雄各半,随机分为 5 组:即正常老龄大鼠对照组(简称正常组),痴呆模型对照组(简称模型组),呆聪液剂量 I 组(简称剂量 I 组),呆聪液剂量 II 组(简称剂量 II 组),脑复康对照组(简称脑复康组),每组 10 只,用本院实验动物中心提供的饲料喂养。

2 药品 呆聪液的制备:是按中药水提液的制备工艺,由人参 10g 生地 24g 知母 10g 黄芪 30g 等药物加工制成,每毫升含生药 1g,由潍坊医学院附属医院药剂科配制加工而成。脑复康:每片 0.4g,生产批号 9410101,由东北制药厂生产。

3 主要试剂与仪器 ^3H -QNB:为美国杜邦公司提供,放射性活度 1.6 TBq (42 Ci)/mmol;缓冲液 50 mmol/L KH_2PO_4 -NaOH,10 mmol/L MgCl_2 ,pH7.7,由本室配制;阿托品:浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$,由本室配制;49

* 山东省中医管理局基金资助课题(No.98-24)
山东潍坊医学院(山东 261042)

型玻璃纤维滤纸,上海红光造纸厂生产;DYQ-1 型多头细胞收集器,浙江绍兴产;FJ-2101 G 型双道液闪计数器,西安国营二六二厂生产;日本产 SCR-20BA 高速冷冻离心机和岛津 UV-260 型紫外分光光度计。

4 实验方法

4.1 老龄大鼠痴呆模型的制备 用 2% 异戊巴比妥行腹腔麻醉后,除去颅区鼠毛,将大鼠固定在江湾 II 型脑立体定位仪(上海生产)上,采用 Koenig 图谱,进行双侧大脑基部的基底神经核定位(前囟前 0.2 mm、旁开 2.5 mm)。用笔式开颅钻钻切双侧颅骨,取下颅骨片,显露硬脑膜。用无菌针状电极,在前囟前 0.2 mm、旁开 2.5 mm 处,从硬脑膜表面开始,向其深面垂直进针 7 mm。针状电极尖端达大脑基底神经核。用导线牢固连接直流稳压电源、电流控制器、定时器、万用表、不锈钢电极夹。将一个不锈钢电极夹夹在术区切口的皮肤上,另一个(正极)夹在针状电极的尾端。打开稳压电源开关,开启定时器,调节电流控制器输出,用 1 mA 直流电刺激 30 s,缓慢提出针状电极。用相同方法损伤大白鼠的另一侧大脑基底神经核。造模后第 4 天用大鼠自动学习训练仪⁽²⁾,进行测定、筛选,看是否造成学习和记忆功能障碍,以学习和记忆功能明显障碍者为合格,选择造模合格的痴呆大鼠,用于本课题的实验研究。

4.2 给药剂量与方法 剂量 I 组与剂量 II 组分别按每天 10 g/kg 和 20 g/kg 生药的呆聪液水提液(10 ml)灌胃给药;脑复康组按每天 0.32 g/kg 溶于 10 ml 生理盐水中灌胃给药;正常组和模型组用 10 ml 生理盐水灌胃;皆每天 1 次,连用 30 天,1 个月后同时宰杀进行脑 M 受体的测定。

4.3 制备脑细胞膜 M 受体蛋白 正常组、模型组和各给药组饲养结束后,采取颈部放血断头术,迅速取出大脑(去小脑)置于 8 ml 4℃ 缓冲液(含 0.25 mol/L 蔗糖),立即用玻璃匀浆器将其磨碎成匀浆。此匀浆液以 5000 × g,于 0℃ 离心 10 min,取上清液于 0℃ 27000 × g 离心 15 min,去掉上清液后沉淀物每只鼠的大脑加缓冲液 5 ml,振荡摇匀成悬浮液,供对照用标本也在严格相同的条件下进行处理,最后放置 -20℃ 冰箱保存备用。实验前将制备的标本用岛津 UV-260 紫外分光光度计测蛋白含量。

4.4 脑 M 受体测定 参照文献⁽³⁾方法,每管加入不同浓度的³H-QNB 放射配基(0.2 ~ 1.6 nmol/L)和定量的膜蛋白 100 μl(含蛋白量约 0.1 mg),使用双复管,平行的非特异结合管再加入抑制剂(1 μmol/L 的阿托品),放 37℃ 水浴 20 min,取出后放 -30℃ 低温冰箱

终止反应,立即用多头细胞收集器将膜蛋白 M 受体结合物收集到 49 型玻璃纤维滤纸上,膜片放 80℃ 干烤箱 0.5 h 烘干,再放入 5 ml 闪烁液(含 0.4% PPO 的二甲苯)中,然后用双道液闪计数器测定 cpm 值。

5 统计学方法 通过 Scatchard 分析法得出特异性结合的化学浓度,并计算出最大受体结合数(B_{max})及解离常数 K_D 值。

结 果

1 ³H-QNB 与大鼠脑细胞膜结合的饱和曲线 见图 1。将分别测出的³H-QNB 放射配基的总结合量减去非特异性结合量,即以每毫克膜蛋白特异性结合量(简称 B)为纵坐标,以³H-QNB 浓度(简称 C)为横坐标绘制饱和曲线。此实验结果说明模型组大鼠脑细胞膜 M 受体的形成能力受到严重影响。呆聪液两个不同剂量组对脑细胞膜 M 受体形成的作用优于脑复康组。但呆聪液两个不同剂量组间比较差异无显著性。

2 呆聪液对³H-QNB 与老龄痴呆大鼠脑组织中 M 受体结合 B_{max} 和 K_D 值的影响 见表 1。剂量 I、II 组及脑复康组与模型组比较差异均有显著性(P < 0.01)。剂量 I、II 组与脑复康组比较差异也有显著性(P < 0.01)。除模型组的脑 M 受体数目明显低于正

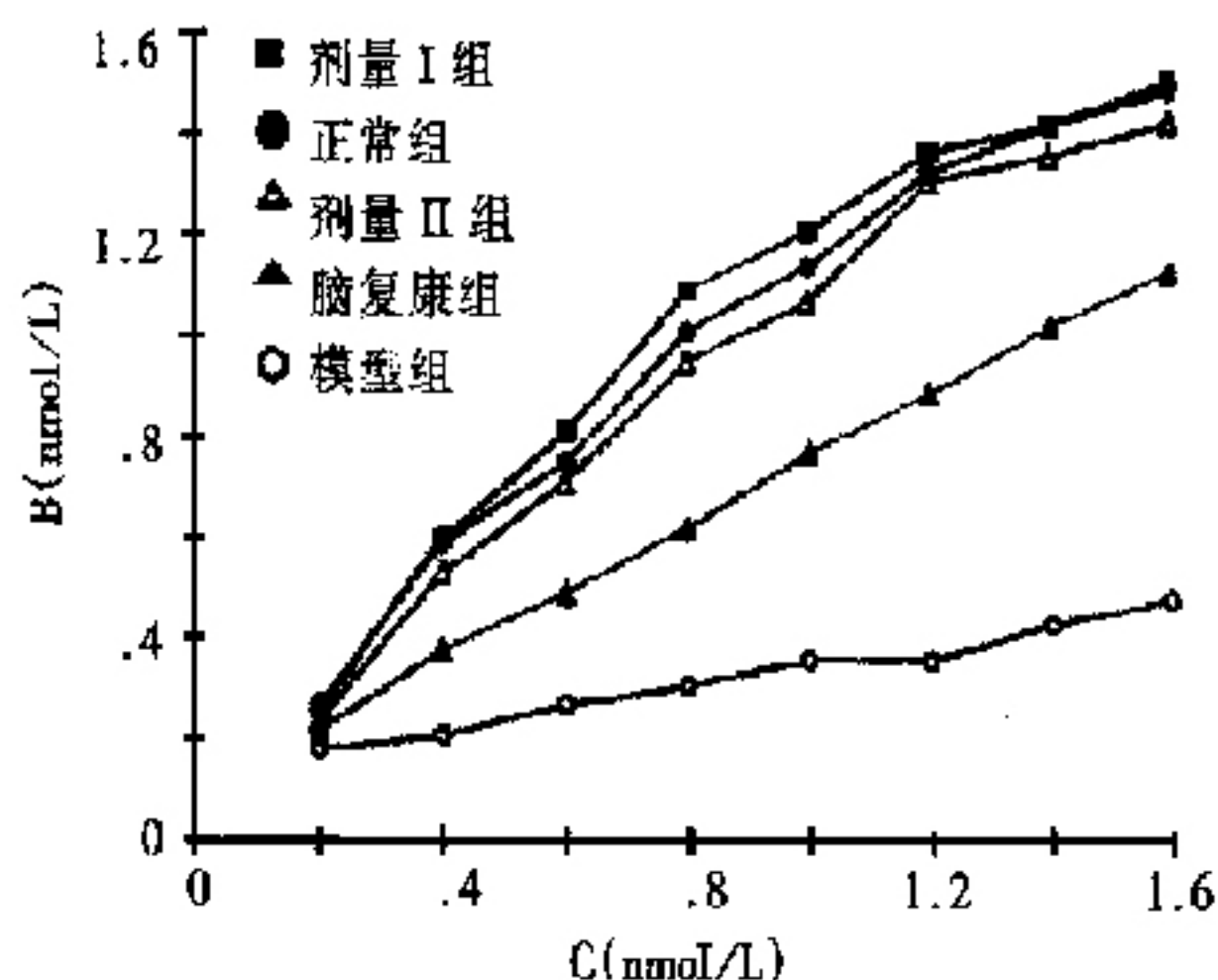


表 1 呆聪液对³H-QNB 与老龄痴呆大鼠脑组织中 M 受体结合 B_{max} 和 K_D 值的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	B _{max} (fmol/mg 蛋白)	K _D (mol/L)
正常	10	1001.6 ± 183.4 [*]	0.427 ± 0.031 [*]
模型	10	399.6 ± 234.2	0.193 ± 0.051
剂量 I	10	1090.6 ± 218.4 [*] [△]	0.360 ± 0.037 [*] [△]
剂量 II	10	1058.5 ± 220.1 [*] [△]	0.356 ± 0.025 [*] [△]
脑复康	10	849.9 ± 196.7 [*]	0.282 ± 0.035 [*]

注:与模型组比较,^{*} P < 0.01;与脑复康组比较,[△] P < 0.01

常组外($P < 0.01$),用呆聪液治疗的两组脑 M 受体数都达到了正常老龄鼠的水平,而且优于脑复康组。但呆聪液中的剂量 I 与剂量 II 组间比较差异无显著性($P > 0.05$)。此结果显示,呆聪液对老龄大鼠痴呆模型具有明显提高脑 M 受体数目的作用,由于解离常数较低,说明 M 受体的亲和力因药物作用而显著提高。

讨 论

虽然老年痴呆病的发病率逐年升高,但其发病的机理至今未完全阐明。由于中枢胆碱能神经系统与学习和记忆功能密切相关,Bigl 等^[4]提出中枢胆碱能神经功能障碍很可能是各种不同原因痴呆类发病机理中共同的原因。经临床病理证实丘脑、海马区的小灶性多发性梗死易引起痴呆^[5]。因此,由 Meynert 基底核发出的神经元缺失则伴有胆碱能功能的减退,痴呆患者脑中胆碱能活性降低在老年性痴呆(AD)患者的记忆与认识障碍中起着重要作用^[6]。脑内乙酰胆碱与痴呆类的形成密切相关,它主要作用于分布在大脑皮质、海马、纹状体等部位的 M 受体上^[1]。为了更进一步研究老年痴呆病的发病机理及临床中药混合制剂的作用机理,在呆聪液治疗老年痴呆疗效较好的基础上,利用老龄大鼠痴呆模型进行了作用机理的探讨,初步结果证明,呆聪液能显著提高老龄大鼠 M 受体的数目,对

改善动物的记忆力和学习功能具有明显的作用,与对照组老龄鼠痴呆模型比较,差异有显著性($P < 0.01$)。呆聪液的两个不同剂量组之间比较,虽然都能提高脑 M 受体的数目及亲和力,但差异无显著性($P > 0.05$),说明呆聪液当达到一定疗效后,并未随剂量的增加而出现 M 受体数目的显著增加。可主要通过纠正衰老动物相对减慢的脑 M 受体的合成而提高脑 M 受体数,使脑 M 受体在一个新的水平上达到平衡,恢复正常的生理功能。

参 考 文 献

- 1.朱振铎,刘瑞霞,霍青,等.老年呆病的中医临床与实验研究进展.山东中医杂志 1997;16(7):334—336.
- 2.李光宗.大白鼠自动训练仪的研制.解剖学杂志 1998;21(增刊):93.
- 3.胡雅儿,芑以洁,易宁育,等.用放射配基结合分析法测定钾低小鼠脑 M 受体.中华核医学杂志 1989;9(2):91.
- 4.Bigl V, Arendt T. Cholinergic neurons of the central nervous system: morphofunctional aspects. Acta Psychiatr Scand 1991;366(Suppl):7—13.
- 5.刘冬戈,尤广发,韦嘉珊,等.老年人痴呆 30 例尸检分析.中华老年医学杂志 1995;14(1):28—31.
- 6.刘道宽. Alzheimer's 病的研究进展点滴.中华神经精神科杂志 1995;28(4):239—242.

(收稿:1999-12-07 二次修回:2000-02-08)

• 征订启事 •

▲《中华老年心脑血管病杂志》是由中国人民解放军总后勤部卫生部主管、中国人民解放军总医院主办的专业学术期刊。1999 年 12 月创刊,2001 年由邮局发行,邮发代号:2—379;国内统一刊号:CN 81—1193/R;国际标准刊号:ISSN 1009—0126。

本刊主要内容为国内外老年心脑血管病的临床诊断与治疗新技术、新进展及发病机制的探讨;老年心脑血管病基础研究的新成果及新动态;老年心脑血管病保健工作的经验体会;相关学科的学术经验交流等。是一本具有可读性和指导性的杂志。

本刊为双月刊,大 16 开本。每期订价 9.80 元,全年 58.80 元。欲购本刊的单位及读者,请直接到各地邮局办理订购手续,也可汇款至北京市复兴路 28 号《中华老年心脑血管病杂志》编辑部,邮编:100853;开户银行:北京工商银行海淀区太平路分理处,帐号:987157—74。

▲《中医临床杂志》(双月刊,64 页,国内统一刊号:CN34—

1132/R,国际标准刊号:ISSN 005—7331)创刊于 1988 年,是国家科委和新闻出版署正式批准的中医综合性学术期刊,内容丰富,格调活泼,设有专家论坛、专题研究、专病证治、临床研究、名老中医之路、医家经验、临床报道、医案医话、病案讨论、病例报告、方药运用、学术探讨、岐黄论坛、新安医学研究、华佗学术研究、针灸推拿、中医护理、综述讲座、中医药进展、百家园、简法验方等栏目。为临床不可多得的良师益友,适宜各级中西医疗单位订阅,更适合广大中医、中西医结合临床医生个人订阅珍藏。

国内订阅:全国各地邮局,邮发代号:26—131;国内定价:4.00 元/册,全年 24.00 元。国外发行:中国国际图书贸易总公司(北京 299 信箱);国外代号:BM6656,国外定价:4 美元/册,全年 24 美元。可以到当地邮局办理订阅,也可以直接与本刊联系订阅。本刊可以试读,如果读者对本刊不满意,请函告责任编辑,或电告主编。欢迎订阅,欢迎投稿。本刊地址:合肥市大通路明光小区 5 栋,邮政编码:230011;联系电话:0551—4475775。