

· 基础研究 ·

雷公藤多甙对慢性脑低灌注大鼠学习记忆能力的影响*

余昌胤¹ 张 华¹

摘要 **目的:**观察雷公藤多甙对慢性脑低灌注大鼠学习记忆能力的影响。**方法:**SD 大鼠随机分为正常组、假手术组、药物对照组、模型组、生理盐水组、雷公藤多甙低、高剂量组。采用永久性结扎双侧颈总动脉制成慢性脑低灌注模型,在模型组的基础上,雷公藤多甙低、高剂量组和生理盐水组分别予以雷公藤多甙 $10\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 、 $30\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 和生理盐水连续灌胃。术后 1 个月、2 个月、3 个月时采用 Morris 水迷宫检测各组大鼠的定位航行潜伏期和空间探索次数。**结果:**定位航行潜伏期和空间探索次数在术后 1 个月时各组间差异无显著性意义 ($P>0.05$);在术后 2 个月和 3 个月时模型组和生理盐水组呈进行延长和减少,与假手术组比较差异有显著性意义 ($P<0.05$, $P<0.01$)。雷公藤多甙低、高剂量组定位航行潜伏期和空间探索次数较模型组和生理盐水组明显缩短和增多 ($P<0.05$, $P<0.01$),与假手术组比较差异无显著性意义 ($P>0.05$),雷公藤多甙高剂量组和低剂量组比较差异无显著性意义 ($P>0.05$)。**结论:**慢性脑低灌注大鼠空间学习记忆能力随观察时间的延长而明显降低,雷公藤多甙能改善慢性脑低灌注大鼠学习记忆能力,这种作用在高剂量和低剂量间差异无显著性意义。

关键词 雷公藤多甙;慢性脑低灌注;定位航行;空间探索;Morris 水迷宫

中图分类号:R493,R749.1 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2007)-12-1064-03

Effect of tripterygium wilfordii polyglycoside on spatial learning and memory ability in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion/YU Changyin,ZHANG Hua//Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2007, 22(12):1064—1066

Abstract Objective: To observe the effects of tripterygium wilfordii polyglycoside (TWP) on spatial learning and memory ability of chronic cerebral hypoperfusion in rats. **Method:** SD rats were randomly divided into normal group, sham operation group, TWP control group, model group, saline group, TWP low dose group and TWP high dose group. The model of chronic cerebral hypoperfusion was established by permanent occlusion of bilateral common carotid arteries (2VO). On the base of the model group, TWP low dose group, TWP high dose group and saline group were treated by gastrointestinal perfusion with TWP at a dose of 10mg/kg , 30mg/kg and saline respectively for one month and two months after 2VO were surgery completed. The escape latencies of oriented sail and the times of spatial explore were examined with Morris water maze. **Result:** The escape latencies of oriented sail and the times of spatial explore had no difference in all groups at one month after 2VO ($P>0.05$). But at two and 3 months after 2VO, the escape latencies of oriented sail and the times of spatial explore in TWP low dose group and high dose group were significantly shorter than model group ($P<0.05$). There was no difference with sham operation group ($P>0.05$). There was not difference between TWP low dose group and TWP high dose group ($P>0.05$). **Conclusion:** Compared with normal rats, spatial learning and memory ability of rats with chronic cerebral hypoperfusion were obviously decreased. TWP can improve the spatial learning and memory ability in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion. There was no difference between TWP low dose group and TWP high dose group.

Author's address Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi, 563003

Key words tripterygium wilfordii polyglycoside; chronic cerebral hypoperfusion oriented sail; spatial explore; morris water maze

脑动脉粥样硬化、心房纤颤等多种原因可导致慢性脑低灌注,引起中老年人的认知功能障碍。近年来有报道认为炎症反应在痴呆的发病过程中起重要作用,环氧化物酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)抑制剂能减轻慢性脑低灌注大鼠的脑白质损伤^[1]。雷公藤多甙 (tripterygium wilfordii polyglycoside, TWP)

是从卫矛科植物雷公藤根提取的活性成分,具有抗炎、免疫抑制等多种作用,能抑制 COX-2 表达和改

* 基金项目:贵州省优秀科技教育人才省长专项资金(2003-04-3)

1 遵义医学院附属医院神经内科,贵州,563003

作者简介:余昌胤,男,博士,副主任医师

收稿日期:2007-02-12

善 A β 所致 AD 大鼠的学习记忆能力^[2-3], 但对慢性脑低灌注大鼠学习记忆能力的影响未见报道。本实验旨在观察雷公藤多甙对慢性脑低灌注大鼠空间学习记忆能力的影响, 现将结果报告如下:

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

健康 SD 大鼠 105 只, 清洁级, 鼠龄 8—10 周, 体重 250—300g, 雌雄不拘, 由第三军医大学实验动物中心提供。采用单纯随机原则将大鼠分为: 正常组、药物对照组、假手术组、模型组、生理盐水组、雷公藤多甙低剂量组和雷公藤多甙高剂量组, 每组 5 只。

1.2 模型制作及给药方法

采用文献^[4]报道的永久性结扎双侧颈总动脉的方法复制慢性脑低灌注模型。正常组不予以任何处理, 假手术组除不结扎双侧颈总动脉外, 其余步骤同模型组。在模型组的基础上, 雷公藤多甙低剂量组、高剂量组和生理盐水组分别予以雷公藤多甙 (湖南) 10mg·kg⁻¹·d⁻¹、30mg·kg⁻¹·d⁻¹ 和与高剂量组等体积的生理盐水连续灌胃, 药物对照组除予以 30mg·kg⁻¹·d⁻¹ 雷公藤多甙灌胃外不作其他处理, 模型组和假手术组不灌任何药物和液体。

1.3 行为学实验方法

应用 Morris 水迷宫检测定位航行潜伏期和空间探索次数观察大鼠空间学习记忆能力。定位航行实验: 术前用定位航行实验训练大鼠, 从四个不同象限将大鼠放入水中, 让其自己找到水中的平台, 若在 120s 内不能找到, 实验者将大鼠引导到平台上, 并让大鼠在平台上站立 15s, 每天训练 8 次, 共训练 5 天, 最后 1 天大鼠平均成绩大于 30s 者予以淘汰, 选择符合要求的 105 只大鼠。分别于术后 1 个月、2 个月和 3 个月分别用定位航行实验检测大鼠的逃避潜伏期, 仍从四个不同象限将大鼠放入水中, 入水时使大鼠的头朝向池壁, 检测大鼠从入水到找到平台所需要的时间 (即逃避潜伏期), 以 120s 为限, 大于 120s 以 120s 计算。上、下午各 4 次, 共 5 天。空间探索实验: 第 6 天上午撤除平台, 观察大鼠在 120s 内经过平台相应位置的次数作为空间探索能力统计指标。Morris 水迷宫检测完毕处死大鼠检测其他观察指标。

1.4 统计学分析

每只大鼠定位航行实验数据去掉最高值和最低值。数据均以均数 $\pm$ 标准差表示, 用 SPSS 11.5 统计软件进行统计学分析, 统计方法采用 q 检验。

2 结果

2.1 定位航行实验结果

术后 1 个月, 各组间大鼠的定位航行潜伏期比较差异无显著性意义 ($P>0.05$)。术后 2 个月和 3 个月时模型组和生理盐水组定位航行潜伏期较术后 1 个月明显延长, 雷公藤多甙低、高剂量组无明显变化; 术后 2 个月和 3 个月时, 与假手术组、正常组和药物对照组比较, 模型组和生理盐水组定位航行潜伏期明显延长, 而雷公藤多甙低、高剂量组无明显变化。各组比较结果见表 1。

2.2 空间探索实验结果

术后 1 个月, 各组间比较大鼠空间探索次数差异无显著性 ($P>0.05$)。与术后 1 个月比较, 术后 2 个月和 3 个月时模型组和生理盐水组空间探索次数明显减少, 雷公藤多甙低、高剂量组无明显变化; 术后 2 个月和 3 个月时, 与假手术组、正常组和药物对照组比较, 模型组和生理盐水组空间探索次数明显减少, 而雷公藤多甙低、高剂量组无明显变化。各组比较结果见表 2。

表 1 各组大鼠定位航行潜伏期实验结果 (s)

组别	鼠数	第 1 月	第 2 月	第 3 月
正常组	5	26.02 $\pm$ 1.49	25.86 $\pm$ 1.77 ^①	26.85 $\pm$ 2.13 ^①
药物对照组	5	26.16 $\pm$ 1.91	25.94 $\pm$ 1.77 ^①	26.35 $\pm$ 1.53 ^①
假手术组	5	24.20 $\pm$ 1.58	25.50 $\pm$ 1.87 ^①	26.34 $\pm$ 0.57 ^①
模型组	5	23.95 $\pm$ 1.49	30.93 $\pm$ 2.82 ^②	46.28 $\pm$ 0.98 ^④
生理盐水组	5	24.07 $\pm$ 2.28	30.35 $\pm$ 3.41 ^②	44.83 $\pm$ 2.18 ^④
低剂量组	5	23.78 $\pm$ 2.00	24.72 $\pm$ 1.53 ^③	27.26 $\pm$ 1.93 ^③
高剂量组	5	24.19 $\pm$ 1.63	24.95 $\pm$ 2.84 ^③	25.77 $\pm$ 1.93 ^③

第 2 月时, ②与①、③比较 $P<0.05$, ①与③比较 $P>0.05$ 。第 3 月时, ④与①、③比较 $P<0.01$, ①与③、③与③比较 $P>0.05$ 。组内不同时间点比较: 与第 1 月时比较, ② $P<0.05$, ③ $P>0.05$, ④ $P<0.01$ 。

表 2 各组大鼠空间探索实验结果 (次)

组别	鼠数	第 1 月	第 2 月	第 3 月
正常组	5	8.00 $\pm$ 1.00	8.20 $\pm$ 0.84 ^①	6.80 $\pm$ 0.84 ^①
药物对照组	5	8.20 $\pm$ 0.84	8.00 $\pm$ 0.71 ^①	7.40 $\pm$ 0.55 ^①
假手术组	5	7.80 $\pm$ 1.30	8.00 $\pm$ 1.00 ^①	7.00 $\pm$ 0.71 ^①
模型组	5	7.80 $\pm$ 0.84	5.40 $\pm$ 1.14 ^②	3.00 $\pm$ 0.71 ^⑥
生理盐水组	5	7.80 $\pm$ 0.45	5.80 $\pm$ 1.30 ^③	3.00 $\pm$ 1.00 ^⑦
低剂量组	5	8.20 $\pm$ 0.84	8.00 $\pm$ 1.00 ^④	7.00 $\pm$ 1.00 ^④
高剂量组	5	8.00 $\pm$ 1.00	7.80 $\pm$ 0.84 ^⑤	7.00 $\pm$ 0.71 ^④

第 2 月时, ②、③与⑤比较 $P<0.05$, 与①和④比较, $P<0.01$; ⑤与④、①比较 $P>0.05$ 。第 3 月时, ⑦、⑥与①、④比较 $P<0.01$, ④与①比较, ④与④比较 $P>0.05$ 。组内不同时间点比较: 与第 1 月比较 ③ $P<0.05$, ②、⑥、⑦ $P<0.01$ 。⑦与③比较, ⑥与②比较, $P<0.01$ 。④与④比较, ④与⑤比较, $P>0.05$ 。

3 讨论

严重的颈动脉狭窄或闭塞、颈部动静脉瘘、颅内动静脉畸形、长期低血压等多种原因可导致慢性脑低灌注, 引起认知功能障碍, 其可能的机制涉及血流动力学改变、能量代谢障碍、葡萄糖利用减少、神经递质改变、蛋白质合成异常、脑白质损害和神经元缺

失等多个环节。本实验采用双侧颈总动脉结扎复制大鼠慢性脑低灌注模型,使脑组织呈低灌注状态,比较符合人动脉粥样硬化导致颈总动脉和颈内动脉狭窄后的病理过程。通过 Morris 水迷宫检测大鼠学习记忆能力,结果发现,慢性脑低灌注大鼠术后 2 个月和 3 个月呈进行性下降,表明双侧颈总动脉结扎导致的慢性脑低灌注可引起认知功能障碍,与相关文献报道一致^[5]。

对认知功能障碍的治疗目前主要是应用神经保护剂、胆碱酯酶抑制剂、抗氧化剂及改善脑血液循环等治疗^[6-7]。雷公藤多甙是卫矛科植物雷公藤根提取物的主要活性成分,具有抗炎及免疫调节作用,临床广泛用于类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮等免疫性疾病的治疗。近年来发现雷公藤多甙能改善 A β 所致的 AD 大鼠的学习记忆能力^[3]。本组实验表明:慢性脑低灌注后 2 个月和 3 个月时,雷公藤多甙高、低剂量治疗组大鼠的学习记忆能力明显好于模型组及生理盐水组,与正常对照组和假手术组无显著性差异,表明雷公藤多甙能改善慢性脑低灌注后的认知功能障碍,这种作用在高低剂量组间差异无显著性。

在慢性脑低灌注时,基质金属蛋白酶-2 (metalloproteinase-2, MMP-2) 表达增高,参与破坏血脑屏障、激活小胶质细胞, MMP-2 基因敲除或应用 MMP-2 抑制剂能明显减轻慢性脑低灌注大鼠的脑白质损伤^[4,8]。抑制 TNF- α 产生和 caspase-3 的活性,促进 Bcl-2 表达,能减少慢性脑低灌注大鼠脑白质神经细胞凋亡和改善大鼠的认知功能^[9-10]。雷公藤提取物除具有免疫调节作用外,还能抑制小胶质细胞激活、抑制 MMP、COX-2 和 TNF- α 的表达等多种药理作用^[11-12],推测雷公藤多甙改善慢性脑低灌注大鼠学习记忆能力的机制可能与上述作用有关。

本组实验发现,雷公藤多甙高剂量组和低剂量组大鼠的学习记忆能力差异无显著性,推测雷公藤多甙 10mg·kg⁻¹·d⁻¹ 已达到改善慢性脑低灌注大鼠学习记忆能力的最大剂量。在以后的研究中将逐渐减小治疗剂量,观察其治疗效果,探讨雷公藤多甙改善慢性脑低灌注大鼠学习记忆能力的最佳有效剂量,并进一步完善相关作用机制的研究,为雷公藤多甙

治疗慢性脑低灌注性认知功能障碍提供理论基础。

参考文献

- [1] Wakita H, Tomimoto H, Akiguchi I, et al. A cyclooxygenase-2 inhibitor attenuates white matter damage in chronic cerebral ischemia[J]. Neuroreport, 1999, 10(7): 1461—1465.
- [2] 肖诚,何颖辉,黄芳华,等.雷公藤多甙对佐剂性关节炎大鼠自由基和炎症因子的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2006, 29(6): 389—392.
- [3] 胡小令,吕诚,万卫,等.雷公藤多甙对 Alzheimer 病大鼠学习记忆和小胶质细胞的影响[J]. 中国老年医学杂志, 2005, 25(2): 169—171.
- [4] Cho KO, La HO, Cho YJ, et al. Minocycline attenuates white matter damage in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion[J]. J Neurosci Res, 2006, 83(2): 285—291.
- [5] De Jong GI, Farkas E, Stienstra CM, et al. Cerebral hypoperfusion yields capillary damage in the hippocampal CA1 area that correlates with spatial memory impairment[J]. Neuroscience, 1999, 91: 203—210.
- [6] Ellis JM. Cholinesterase inhibitors in the treatment of dementia[J]. J Am Osteopath Assoc, 2005, 105: 145—158.
- [7] Ramirez BG, Blazquez C, Gomez del Pulgar T, et al. Prevention of Alzheimer's disease pathology by cannabinoids: neuroprotection mediated by blockade of microglial activation[J]. J Neurosci, 2005, 25(8): 1904—1913.
- [8] Nakaji K, Ihara M, Takahashi C, et al. Matrix metalloproteinase-2 plays a critical role in the pathogenesis of white matter lesions after chronic cerebral hypoperfusion in rodents[J]. Stroke, 2006, 37(11): 2816—2823.
- [9] Lee JH, Park SY, Shin YW, et al. Neuroprotection by cilostazol, a phosphodiesterase type 3 inhibitor, against apoptotic white matter changes in rat after chronic cerebral hypoperfusion[J]. Brain Res, 2006, 1082(1): 182—191.
- [10] Watanabe T, Zhang N, Liu M, et al. Cilostazol protects against brain white matter damage and cognitive impairment in a rat model of chronic cerebral hypoperfusion[J]. Stroke, 2006, 37(6): 1539—1545.
- [11] Sylvester J, Liacini A, Li WQ, et al. Tripterygium wilfordii Hook F extract suppresses proinflammatory cytokine-induced expression of matrix metalloproteinase genes in articular chondrocytes by inhibiting activating protein-1 and nuclear factor-kappa B activities[J]. Mol Pharmacol, 2001, 59(5): 1196—1205.
- [12] 周静,赵宁,贾红伟,等.雷公藤多甙对大鼠胶原免疫性关节炎及佐剂关节炎黏膜免疫功能影响的对比研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(8): 723—726.