

枸杞多糖对血管性痴呆小鼠学习记忆的影响

孙屹 朱程滢 向勤*

(长沙医学院 湖南长沙 410219)

摘要:目的:探讨枸杞多糖对血管性痴呆小鼠学习记忆的影响。方法:挑选雌性 KM 小鼠 60 只,将造模成功的小鼠随机分为假手术组(生理盐水 10uL/g)、模型组(生理盐水 10uL/g)、LBP_s 组(400ug/g), 每组 20 只。给药 4 周后检测小鼠跳台实验、Morris 水迷宫实验及 HE 染色法观察 LBP_s 对 VaD 小鼠的影响。结果:与模型对照组对比, LBP_s 组学习记忆成绩差别有统计学意义 (P<0.05); 在 Morris 水迷宫定向航行实验中, 随着实验时间的增加, 小鼠的逃避潜伏期逐渐缩短, 1 周后 LBP_s 组与模型组相比, 逃避潜伏期缩短, 差异有统计学意义 (P<0.05); LBP_s 组与模型组相比, 小鼠海马组织区锥体细胞排列尚整齐, 层次尚清楚, 较少见核固缩现象。结论: LBP_s 能够改善 VaD 小鼠的学习、记忆能力, 减轻海马组织损伤, 对血管性痴呆小鼠有一定的治疗作用。

关键词:枸杞多糖; 血管性痴呆小鼠; 学习; 记忆; 海马组织区

枸杞多糖 (Lycium barbarum polysaccharides, LBP_s) 是枸杞的主要活性成分, 具有抗肿瘤、免疫调节、抗衰老、调节血糖和血脂代谢等多种生物活性^[1]。研究发现, LBP_s 对神经退行性疾病具有一定的治疗的效果。血管性痴呆 (Vascular dementia, VaD) 是一种以进行性认知及记忆功能减退为主要临床表现的认知功能障碍综合征。其发病机制复杂, 主要与脑认知及记忆功能区神经元缺血缺氧损伤密切相关。VaD 是我国最常见的痴呆原因之一, 临床尚无有效治疗手段。因此, 本研究拟通过构建 VaD 的小鼠模型, 研究 LBP_s 对 VaD 模型小鼠学习、记忆等行为学的影响, 以期对 VaD 的预防与治疗提供新的策略和理论基础。

1 动物与方法

1.1 实验动物及主要材料

挑选雌性 KM 小鼠 60 只, 清洁级, 8 周龄, 体质量 20~22 g, 小鼠饲养于长沙医学院动物实验室。温度 22~25 °C, 相对湿度 40%~70%, 12 h 日夜交替照明。本研究项目中动物实验方案经长沙医学院实验动物使用与管理委员会审核批准。主要材料:LBP_s、水合氯醛、硝普钠、DT200 小鼠跳台测试仪、全自动组织包埋机、自动组织脱水机、石蜡切片机。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组

将 60 只小鼠随机分为假手术组给予生理盐水 15uL/g, 模型组给予生理盐水 15uL/g, LBP_s 组给予 400ug/g 计算, 每组 20 只。

1.2.2 VaD 小鼠模型制备

参考李巍^[2]等方法建模。各组手术后第 1 天均以腹腔注射方式给药 (按体质量 10uL/g), 每日腹腔注射 1 次, 连续给药 4 周。

1.3 LBP_s 对 VaD 小鼠学习与记忆行为评价指标

1.3.1 跳台实验

连续给药 4 周后进行跳台实验, 参考王冰^[3]等人的实验方式, 记录数据。

1.3.2 Morris 水迷宫实验

水迷宫试验采用小鼠水迷宫试验装置, 盲端有自动感应装置, 参考严洁^[4]等人的实验方式, 记录数据。

1.4 HE 染色法观察 LBP_s 对 VaD 小鼠海马区组织结构影响

当完成实验进行行为学后, 禁食 8 h, 再处死小鼠, 剥离取出海马, 冷藏, 备用; 进行 HE 染色并观察。

1.5 统计学处理

应用 SPSS 23.0 软件包进行统计学处理。

2 结果

2.1 各组小鼠跳台实验的学习记忆行为情况

与模型对照组对比, LBP_s 组反应时间均缩短, 错误次数减少, 差异有统计学意义 (P<0.05)。与模型对照组对比, LBP_s 组潜伏时间延长, 错误次数均减少, 差异有统计学意义 (P<0.05)。具体见表 1。

2.2 各组小鼠 Morris 实验空间学习能力情况

在 Morris 水迷宫定向航行实验中, 随着实验时间的增加, 小鼠的逃

避潜伏期逐渐缩短, 1 周后 LBP_s 组与模型组相比, 逃避潜伏期缩短, 差异有统计学意义 (P<0.05), 具体见表 2, 图 1。

表 1 各组小鼠跳台实验的学习记忆行为比较 (n=20 只)

组别	学习		记忆	
	总反应时间 (s)	总错误数量 (次)	总反应时间 (s)	总错误数量 (次)
假手术组	14.85 ± 5.11	3.07 ± 1.08	157.75 ± 16.59	2.64 ± 1.54
模型组	56.24 ± 12.24	8.65 ± 2.41	76.65 ± 18.28	7.29 ± 2.16
LBP _s 组	33.47 ± 6.54	5.83 ± 2.04	137.24 ± 31.33	5.76 ± 1.97

表 2 各组小鼠 Morris 实验空间学习能力比较

组别	例数 (只)	时间 (周)	定向航行	
			逃避潜伏期 (s)	游泳速度 (cm/s)
假手术组	20	0	40.84 ± 6.91	16.23 ± 4.83
		1	20.05 ± 5.64	17.25 ± 5.02
		4	14.64 ± 4.48	17.33 ± 5.08
模型组	20	0	42.31 ± 7.04	16.84 ± 4.91
		1	31.57 ± 6.22	19.47 ± 5.44
		4	27.23 ± 5.90	16.90 ± 5.11
LBP _s 组	20	0	38.51 ± 6.53	18.49 ± 5.13
		1	19.44 ± 5.49	17.66 ± 5.18
		4	16.37 ± 5.10	16.30 ± 4.73

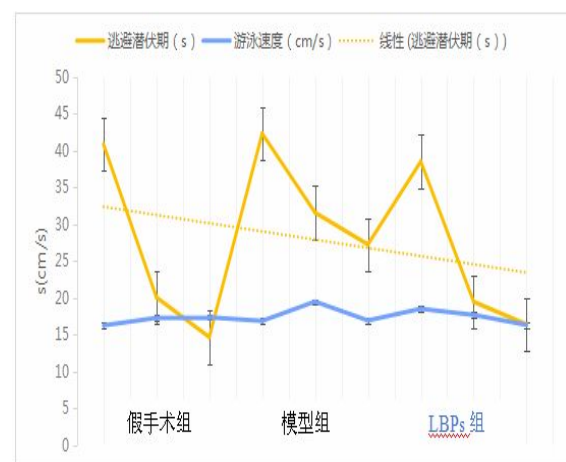


图 1 各组小鼠 Morris 实验空间学习趋势比较

2.3 4 周后各组小鼠 Morris 实验空间记忆能力情况

在空间探索实验中, 模型组与假手术组相比, 穿越平台次数减少显著 (P<0.05); LBP_s 组与模型组相比, 穿越平台次数增多, 差异有显著性 (P<0.05)。而空间探索中各组小鼠之间的游泳速度差异无显著性 (P>0.05)。具体见表 3, 图 2。

表 3 4 周后各组小鼠 Morris 实验空间记忆能力比较

组别	例数 (只)	空间探索	
		穿越频数 (次)	游泳速度 (cm/s)
假手术组	20	4.10 ± 1.12	17.33 ± 5.08
模型组	20	2.41 ± 1.06	16.90 ± 5.11
LBP _s 组	20	3.79 ± 0.87	16.30 ± 4.73

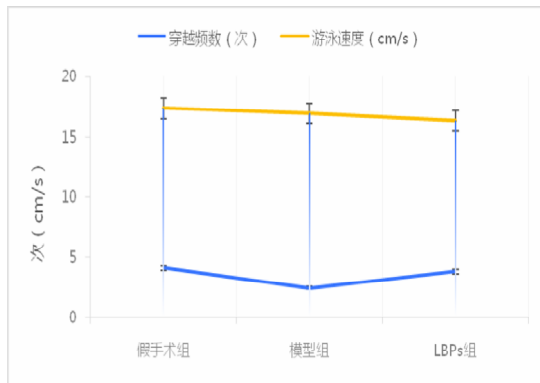


图 2 4 周后各组小鼠 Morris 实验空间记忆趋势比较

2.4 海马区 HE 染色观察

LBP_s 组与模型组相比, 小鼠海马组织区锥体细胞排列尚整齐, 层次尚清楚, 较少见核固缩现象。具体见图 3。

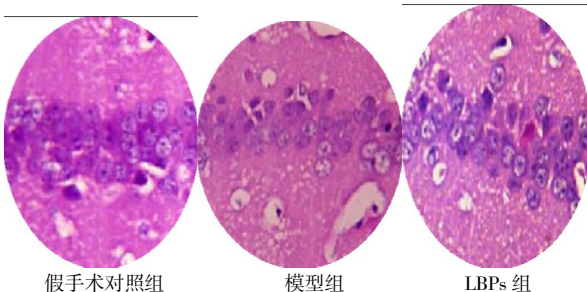


图 3 海马区 HE 染色比较

3 讨论

随着社会老龄化及生活模式的改变, 血管性痴呆 (Vascular dementia, VaD) 的发病率逐年提高, 从病史和临床特征来看, VaD 大体可分为两大类, 一类是急性或亚急性发病, 通常有明确的卒中史, 另一类是渐进或隐袭起病, 通常无明确的卒中史, 后者占 36%~67%^[5,6] 成为仅次于阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 的第二大痴呆类型。由于发病机制的多样化, 现有治疗手段或药物均不能很好改善 VaD 的一系列症状^[7]。

临床上常用胆碱酯酶抑制剂和谷氨酸受体拮抗剂治疗 VaD, 非典型抗精神病药物也被用于治疗痴呆伴随的精神行为症状, 但会加重认知损害^[8]。催眠药用于治疗痴呆伴睡眠障碍, 使用 3 个月后会不仅会损伤认知功能^[9], 还会增加死亡风险^[10]。另外, 中医因其特有的有效性、安全性、简便性的特点, 它作为一种治疗 VaD 的手段越来越受到人们的认可和重视^[11]。近年来, 研究者们发现枸杞多糖对阿尔兹海默病、脑缺血等神经系统疾病的治疗具有显著的临床效果^[12]。冯云^[13]研究表明, LBP_s 对癫痫模型大鼠进行干预后, 大鼠海马齿状回颗粒层溴脱氧尿嘧啶核苷 (BrdU) 阳性细胞数、微管相关蛋白-2 (MAP-2) 和神经元核抗原 (NeuN) 阳性神经元细胞表达均出现一定改善, 具有较好的神经保护作用。LBP_s 能够促进 AD 模型小鼠海马齿状回神经发生, 减少小胶质细胞的数目,

同时改善其学习记忆能力, 且随剂量的增加上述作用增强, 提示 LBP_s 可能通过促进 AD 模型小鼠海马齿状回神经发生、抑制小胶质细胞, 从而提高 D-半乳糖联合亚硝酸钠所致衰老小鼠的学习记忆能力^[14]。与本文研究结果基本一致。表明 LBP_s 能够改善 VaD 小鼠的学习、记忆能力, 减轻海马组织损伤, 对血管性痴呆小鼠有一定的治疗作用。

参考文献:

[1] 苗珍花, 于建春, 苗永霸, 等. 枸杞叶及枸杞多糖对快速老化模型小鼠行为学的影响. 宁夏医科大学学报, 2018, 35 (2): 117-129.

[2] 李巍, 姜立刚, 徐忠信, 等. 实验性血管性痴呆小鼠中枢神经系统细胞凋亡与迟发型神经元坏死. 中国组织工程研究, 2005, 9(28): 133-135.

[3] 王冰. 丁苯酞对血管性痴呆小鼠海马神经元谷氨酸受体及钙信号转导机制的作用研究[D]. 河北医科大学, 2008.

[4] 严洁, 潘庆敏, 刘伟. 宽叶缙草对血管性痴呆小鼠学习记忆及海马区神经元病理学改变的影响[J]. 中国临床神经科学, 2005(01): 24-26.

[5] Roman GC, Tate Michi TK, Kinjite T, et al. Vascular dementia; diagnostic criteria for research studies. Report of the NINDS-AIREN International Workshop Neurology, 2015, 43(2): 250-260.

[6] Gorelick PB, Scuteri A, Black SE, et al. A statement for healthcare professionals from the American Heart Association/American Stroke Association. Stroke, 2018, 42(9): 2672-2713.

[7] 兰晓阳, 杨国锋, 谭纪萍, 等. 血管性痴呆危险因素的研究现状. 中华老年多器官疾病杂志, 2017, 11(3): 168-171.

[8] Vixen CL, Mack WJ, Keefe RS, et al. Cognitive effects of atypical antipsychotic medications in patients with Alzheimer's disease: outcomes from CATIE-AD. Am J Psychiatry, 2018, 168 (8): 831-839.

[9] Saravanan L, Toupane AM, Koopman M, et al. Risk of death associated with new benzodiazepine use among persons with Alzheimer's disease: A matched cohort study. Int J Geriatric Psychiatry, 2018, 33 (4): 583-590.

[10] Higgins JP & Green S. Cochrane handbook for systematic reviews of interventions [EB/OL]. [2020-11-31] <https://handbook-5-1.cochrane.org/index.htm>.

[11] Dubey Aki, Shan knar Pr, Upadhyaya D. Gink Gilboa -an appraisal. Kath mandi Univ Med J (Komi). 2004Ju-1Sep; 2 (3): 225-229.

[12] Zhang E, Yau S Y, Lau B W M, et al. Synaptic plasticity, but not hippocampal neurogenesis, mediated the counteractive effect of wolfberry on depression in rats. Cell Transplant, 2012, 21(12): 2635-2649.

[13] 冯云, 刘津, 唐海丹, 等. 枸杞多糖对癫痫大鼠神经的保护作用及机制. 中国老年学杂志, 2017, 37: 6036-6038.

[14] 仁丹. 枸杞多糖对 AD 模型小鼠海马齿状回神经发生和小胶质细胞的影响[D]. 广西医科大学硕士学位论文, 2009.

第一作者: 孙屹, (2001.6-), 女, 汉族, 宁夏中卫, 本科, 临床医学;

*通讯作者: 向勤, (1985.9-) 男, 汉族, 湖南湖南常德, 博士研究生, 讲师, 神经变性病基础与临床;

基金项目: 湖南省大学生创新创业训练计划项目: 湘教通[2021]197号-3903; 长沙医学院大学生创新创业训练计划项目: 长医教[2021]47号-058。