

γ-氨基丁酸辅助改善记忆的动物实验研究

张纬 王军

(浙江医药高等专科学校 浙江 宁波 315503)

摘要: 采用避暗实验、穿梭箱实验和水迷宫实验, 观察低、中、高剂量 (12.5、25.0、50.0mg/kg BW) γ-氨基丁酸对小鼠学习记忆的改善情况进行观察。实验结果显示, 避暗实验、穿梭箱实验和水迷宫实验, 两次实验结果均为阳性。说明 γ-氨基丁酸具有改善记忆的功能。

关键词: γ-氨基丁酸; 改善记忆; 动物实验

γ-氨基丁酸(γ-aminobutyric acid, GABA), 又称氨基丁酸, 是一种非蛋白质组成的天然氨基酸, 分布非常广泛, 在动物、植物和微生物中均有 GABA 存在。GABA 为哺乳动物中枢神经系统一种主要的抑制性神经递质, 介导了 40% 以上的抑制性神经传导^[1]。随着对 γ-氨基丁酸研究的不断深入, 其功能性已经逐渐被人们所认知, 研究发现, GABA 是在人脑能量代谢过程中起重要作用的活性氨基酸, 它具有激活脑内葡萄糖代谢, 促乙酰胆碱合成, 降血氨, 抗惊厥, 降血压, 恢复脑细胞的功能^[2]。本文主要研究了 γ-氨基丁酸辅助改善记忆的作用, 为 γ-氨基丁酸的开发利用提供一定的思路。

1. 材料与方法

1.1 材料 γ-氨基丁酸 (含量 20%), 某公司提供, 人体推荐剂量为 0.15g/人/天。避暗实验和水迷宫实验采用 SPF 级健康雄性小鼠, 穿梭箱实验选用 SPF 级 SD 大鼠, 由上广东省医学实验动物中心提供。

1.2 剂量与分组 按照《保健食品检验与评价技术规范》2003 版辅助改善记忆动物功能试验, 设三个受试物剂量组为 12.5、25.0、50.0mg/kg BW (相当于人体推荐剂量的 5 倍、10 倍、20 倍), 另设 0 mg/kg BW 组以对应溶剂代替受试物。

1.3 试验方法

1.3.1 水迷宫实验

各剂量组动物连续灌胃 30 天后开始进行水迷宫实验。每天训练一次, 连续 5 天, 期间继续给予受试样品。第一天训练前将小鼠放在梯子附近, 使其自动爬上 3 次, 以后每次训练前将小鼠放在梯子附近, 背朝楼梯, 使其自动爬上 1 次。第一天训练时用一挡板在 A 处挡死, 从 A 点开始训练, 记录从 A 点到达终点的时间。第二天从 B 处开始, 此路程训练 3 天, 至 80% 的小鼠在 2min 内到达终点;

第五天从起点开始测试; 最后计算各组小鼠 5 次训练和测试的总错误次数, 到达终点的总时间及 2min 内到达终点的总动物数 (百分率)。停止训练 5 天后在不同的时间从起点进行消退实验。

1.3.2 穿梭箱实验

各剂量组动物连续灌胃 30 天后开始进行穿梭箱实验。将大鼠放入穿梭箱任何一侧, 20s 后开始蜂鸣音, 持续 20s, 后 10s 内同时给以电刺激 (100v, 0.2mA, 50Hz, AC)。大鼠遭电击后逃避至对侧顶端, 挡住光电管后才可中断电击, 此为被动回避反应; 大鼠在蜂鸣后即跑向对侧而逃避电击, 此为主动回避反应。每隔天训练一回, 每回 50 次, 连续训练 4 回, 记录大鼠主动回避反应次数、主动回避时间、被动回避时间, 并计算主动回避率。停止训练 5 天后进行记忆消退实验, 消退实验测试 2 回, 每回 50 次。

1.3.3 避暗实验

各剂量组动物连续灌胃 30 天后开始进行避暗实验。记录各小鼠从放入明室至进入暗室遭电击所需的时间 (潜伏期)、训练 5min, 并记录 5min 内电击次数。24h 后再重作测验, 记录每只小鼠进入暗室的潜伏期、5min 内电击次数和每组进入暗室 (错误反应) 的小鼠数, 并计算错误反应的百分率。停止训练 5 天后进行记忆消退实验。

1.4 试验数据统计

用 SPSS 软件对实验数据进行统计处理, 统计方法采用方差分析和 χ^2 检验。

2. 结果

2.1 第一次实验结果

2.1.1 试验过程中动物饮水、摄食正常, 外观无异常, 体重无异常。

2.1.2 避暗实验

表 1 受试样品对小鼠记忆获得的影响 (避暗实验) ($\bar{x} \pm s$, n=10)

剂量 (mg/kg BW)	潜伏期 (s)		错误次数 (次)		错误反应率 (%)
	训练	测验	训练	测验	
0	36.0 ± 91.0	189.4 ± 126.4	1.8 ± 0.8	0.9 ± 1.3	40
12.5	42.5 ± 91.7	208.7 ± 135.4	2.0 ± 1.0	0.7 ± 0.4	30
25.0	72.2 ± 99.1*	256.3 ± 106.3	1.0 ± 0.9*	0.0 ± 0.0*	22
50.0	123.3 ± 129.6**	300.0 ± 0.0*	1.5 ± 1.1	0.4 ± 0.6	17

注: *表示与对照组比较, $P < 0.05$; **表示与对照组比较, $P < 0.01$

表 2 受试样品对小鼠记忆消退的影响 (避暗实验) ($\bar{x} \pm s$, n=10)

剂量 (mg/kg BW)	潜伏期 (s)	错误次数 (次)	错误反应率 (%)
0	238.9 ± 112.1	0.5 ± 1.0	30
12.5	250.0 ± 92.9	1.1 ± 1.9	20
25.0	325.2 ± 48.9*	1.2 ± 2.1	15
50.0	275.7 ± 768	0.2 ± 0.6	10

注: *表示与对照组比较, $P < 0.05$

由表 1、表 2 可见, 给予小鼠不同剂量的受试物 30 天, 避暗实验中剂量组训练潜伏期、训练错误次数、测验错误次数以及错误反应率, 高剂量组训练潜伏期、测验潜伏期, 与对照组比较均有显著

性差异 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。避暗消退实验中剂量组训练潜伏期与对照组比较有显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.1.3 穿梭箱实验

表 3 受试样品对大鼠记忆获得的影响 (穿梭箱实验) ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

剂量 (mg/kg BW)	主动回避时间 (s)	被动回避时间 (s)	主动回避反应次数 (次)	主动回避率 (%)
0	851.8 ± 152.3	499.6 ± 217.4	146.1 ± 22.2	72
12.5	806.2 ± 113.5	428.5 ± 168.3	154.0 ± 16.6	73
25.0	731.5 ± 96.7*	491.8 ± 212.7	148.2 ± 21.4	74
50.0	715.0 ± 74.2*	453.6 ± 173.9	151.6 ± 18.0	76

注: *表示与对照组比较, $P < 0.05$

表 4 受试样品对大鼠记忆消退的影响 (穿梭箱实验) ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

剂量 (mg/kg BW)	主动回避时间 (s)	被动回避时间 (s)	主动回避反应次数 (次)	主动回避率 (%)
0	443.7 ± 100.2	207.6 ± 114.9	72.4 ± 13.4	75
12.5	425.3 ± 78.6	154.0 ± 129.4	76.8 ± 16.9	82
25.0	436.5 ± 102.1	231.2 ± 145.6	74.5 ± 16.3	77
50.0	368.6 ± 76.8*	243.7 ± 144.3	74.9 ± 15.6	78

注: *表示与对照组比较, $P < 0.05$

由表 3、表 4 可知, 给予大鼠不同剂量的受试物 30 天, 穿梭箱实验中、高剂量组大鼠主动回避时间低于对照组, 记忆消退实验高剂量组主动回避时间低于对照组, 且以上结果均具有差异显著性 ($P < 0.05$)。

2.1.4 水迷宫实验

表 5 受试样品对小鼠记忆获得的影响 (水迷宫实验)

($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

剂量 (mg/kg BW)	到达终点时间 (s)	到达终点前错误次数 (次)	2min 内达到终点动物数 (%)
0	197.3 ± 55.7	18.9 ± 7.4	96
12.5	168.7 ± 44.0	17.4 ± 5.3	97
25.0	130.6 ± 50.3*	12.8 ± 3.5	98
50.0	121.3 ± 42.8*	12.6 ± 4.2	97

注: *表示与对照组比较, $P < 0.05$

表 6 受试样品对小鼠记忆消退的影响 (水迷宫实验)

($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

剂量 (mg/kg BW)	到达终点时间 (s)	到达终点前错误次数 (次)	2min 内达到终点动物数 (%)
0	28.3 ±	2.7 ± 2.8	100

	13.5		
12.5	19.7 ±	1.6 ± 3.0	100
	12.3		
25.0	16.3 ±	2.0 ± 2.1	100
	13.4		
50.0	15.8 ±	1.5 ± 2.2	100
	12.6		

由表 5、表 6 可见, 给予小鼠不同剂量的受试样品 30d, 与对照组相比较, 中、高剂量组小鼠到达终点的时间明显减少, 且差异均有显著性 ($P < 0.05$)。

2.2 第二次实验结果

受试样品对大、小鼠体重均无明显的影响, 避暗实验、穿梭箱实验和水迷宫实验结果均阳性。

3. 讨论

实验结果显示, 避暗实验、穿梭箱实验和水迷宫实验, 两次实验结果均为阳性。表明 γ -氨基丁酸具有辅助改善记忆的功能, 主要在主动回避反应以及空间辨别能力的获得方面起作用。

参考文献

- [1]杨胜远, 陆兆新, 吕凤霞, 别小妹. γ -氨基丁酸的生理功能和研究开发进展 [J]. 食品科学, 2005, 26(9):546-551.
- [2]郭晓娜, 朱永义, 朱科学. 生物体内 γ -氨基丁酸的研究 [J]. 氨基酸和生物资源, 2003, 25(2):70-72.