

丹参改善大鼠颞叶梗死后空间认知加工障碍的研究[△]

杨炯炯 隋 南 Albert Chen* 匡培梓

吴卫平** 姜树军** 匡培根**

(中国科学院心理研究所, 北京 100101)

摘要 目的 探讨丹参对大鼠单侧颞叶梗死后空间认知加工能力的改善作用。方法 采用立体定向光化学诱导脑梗死技术选择性地导致大鼠左侧颞叶皮层梗死, 术前 30 min 及术后第 3 天分别给丹参组大鼠按体重腹腔注射丹参 10 g/kg, 行为实验装置由 Morris 水迷宫及图像自动监视系统(morris maze experimental assistant system, MMEAS)组成。结果 丹参组大鼠在 Morris 迷宫中搜索目标的反应时和行程显著缩短, 且较多地使用了正常的认知策略, 其由随机式过渡到趋向和直线式策略的进程也与正常对照组无明显差异。结论 丹参可明显改善大鼠单侧颞叶梗死后的空间认知加工障碍。本研究在丹参治疗脑梗死、预防痴呆发生方面进行了有益的探索。

关键词 丹参 脑梗死 空间学习 Morris 迷宫

中图分类号 B845.1

丹参是传统的活血化瘀中药, 在临床上广泛用于治疗缺血性脑血管病。近年来的研究表明, 它除了可以减轻脑水肿, 抑制血栓形成外, 还可以明显改善大鼠脑缺血后单胺类神经介质如多巴胺(DA)、去甲肾上腺素(NE)等的紊乱, 调节血管活性肠肽(VIP)和 P 物质(SP)等神经肽及兴奋性氨基酸的含量, 清除自由基, 降低 NO 含量, 下调 c-fos 基因表达, 使 HSP 70 表达增多及 bFGF 样免疫反应增强等^[1~5]。但脑缺血发生后, 丹参对行为障碍的改善作用尚缺乏系统的研究。

Morris 水迷宫是一种测定动物空间学习记忆能力的行为实验模型^[6~7], 它可提供较多的实验参数, 系统而全面地考察空间认知加工过程的变化, 尤其可将学习记忆障碍和感觉、运动、动机等缺损分离开来^[8], 因此近年来已被广泛应用。大鼠在 Morris 迷宫中寻找隐蔽的固定位置的站台后, 可以形成稳定的空间位置认知, 即异我为参照点的认知(allocentric cognition)或图认知(mapping cognition)。与之不同, 正常大鼠在水迷宫实验中则采用自我为参照点的认知方式(egocentric cognition)。有研究报道, 丹参可改善梗死大鼠在水迷宫和跳台实验中的记忆能力, 但对空间学习能力的作用尚不肯定^[9]。因此, 本实验采用 Morris 迷宫研究丹参对大鼠单侧颞叶皮层梗死后空间学习障碍的改善作用。

[△] 国家自然科学基金(39570257)、中科院留学回国择优基金及军队“九五”M125 基金资助;

* Department of Psychology, University of Michigan, USA; ** 中国人民解放军总医院神经介质实验室

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组 成年雄性 Wistar 大白鼠(北京医科大学动物中心提供),实验起始体重(200±20)g,共 27 只。随机分为 3 组,即梗死对照组($n=10$)、丹参组($n=7$)、假手术组($n=10$)。实验期间摄食饮水自由,全部行为训练都在 10:00(am)~5:00(pm)之间完成。

1.2 动物模型的制备 采用立体定向光化学诱导脑梗死技术。将大鼠麻醉后,固定在立体定位仪上,按大鼠体重从尾静脉注射玫瑰红(RB, 20 mg/kg),切开头皮,确定颞叶位置,用光导纤维引导冷光,定向照射与左侧颞叶相应的裸露颅骨 20 min,造成局灶性颞叶梗死^[10]。术前 30 min 给丹参组大鼠腹腔注射丹参(10 g/kg,北京第四制药厂生产),梗死对照组则注射同等剂量的生理盐水。术后第 3 天(d)给丹参组大鼠追加注射同等剂量的药物。假手术组大鼠仅进行了麻醉和手术切口。术后局部抗感染。

1.3 行为实验装置 由 Morris 水迷宫及图像自动监视系统(morris maze experimental assistant system, MMEAS)组成。Morris 水迷宫为乳白色不透明圆柱形储水池($d=94$ cm, $h=55$ cm),内设透明有机玻璃站台($s=20$ cm²)。MMEAS 系统以图像采集卡、摄像机、图像监视器等为主要扩展硬件,利用图像软件包提供的各层次库函数可完成数据采集和统计处理。有关实验装置详见参考文献[11]。

1.4 行为实验程序 各组大鼠从术后第 4 d 开始行为实验,连续 5 d。实验分为预训练(1 d)及训练(4 d)两个阶段,大鼠共接受训练 24 次,每天 6 次,每次间隔 15 min。大鼠在除站台外的其它 3 个象限边缘头朝池壁入水,每一次入水位置是假性随机的。MMEAS 自动追踪大鼠游泳轨迹,并记录各项实验数据。实验指标有:(1)反应时(s);(2)行程(cm);(3)搜索策略:分为随机式、边缘式、趋向式、直线式。

1.5 数据处理 反应时、行程以 3 次训练成绩为 1 个组次取平均值,训练 4 d,共 8 个组次。实验数据采用 SPSS 软件包进行方差分析和 χ^2 检验。本实验中各组大鼠的平均反应时和搜索行程在第 5~8 组次时已十分接近,因此在图 1 和图 2 中各数据仅标至第 5 组次。

2 结果

2.1 反应时的比较 图 1 示,梗死组、丹参组及假手术组大鼠各组内的组次间平均反应时差异均具有显著性(F 值分别为 7.53、3.67、7.70, P 均 <0.001),各组大鼠的反应时均随学习组次的增加而缩短,在第 5 组次时 3 组的反应时已十分接近。组间比较发现,各组大鼠在第 2 组次的平均反应时具有显著性差异($F=3.67, P<0.05$)。进一步两两比较可见,在这一组次梗死组与假手术组、丹参组大鼠相比差异分别具有显著性,而丹参组和假手术组之间无明显差别。

2.2 行程的比较 图 2 示,梗死组、丹参组和假手术组大鼠内组次间的平均搜索行程具有显著性差异(F 值分别为 6.51、3.67、5.52, P 均 <0.001),总的趋势是随着学习组次的增加搜索行程逐渐缩短,至第 5 组次时各组的行程已十分接近。各组在不同时间点进行比较时发现,大鼠在第 2 组次的搜索行程具有显著性差异($F=6.02, P<0.001$)。进一步两组比较可见,梗死组与假手术组、丹参组大鼠相比差异均具有显著性,而丹参组和假手术组大鼠间无明显差别。

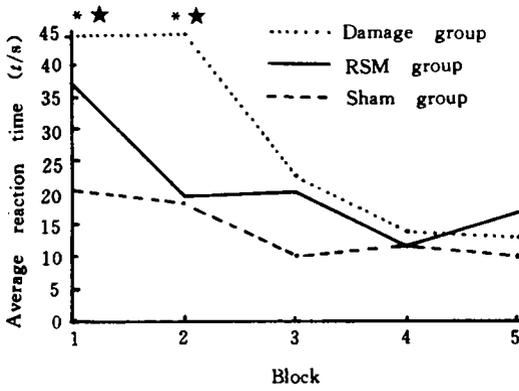


图 1 各组大鼠在第 1~5 组次平均反应时的变化
 Fig 1 Change of reaction time in each group in block 1-5

* $P < 0.05$ compared with RSM group;
 ★ $P < 0.05$ compared with sham group

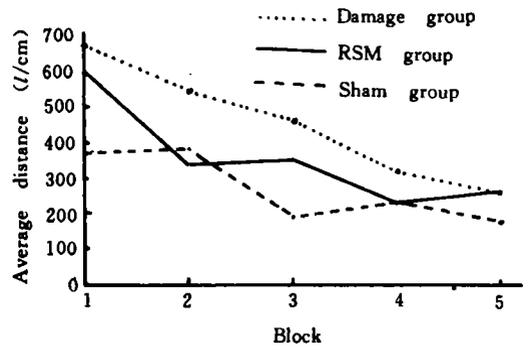


图 2 各组大鼠在第 1~5 组次平均搜索行程的变化
 Fig 2 Change of average distance in each group in block 1-5

* $P < 0.05$, compared with RSM group

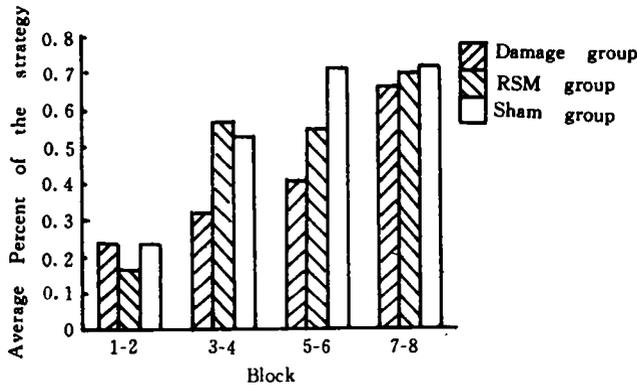


图 3 各组大鼠在第 1~8 组次趋向和直线式策略总比例的变化
 Fig 3 Change of the percentage of taxic and mapping strategies in each group of rats in block 1-8

2.3 搜索策略的比较 实验统计了不同组大鼠第 1~8 组次所使用各种搜索策略的比例,不同搜索策略在不同组内的百分比,以及各组在不同组次时搜索策略的变化(图 3)。结果表明,各组大鼠所使用的策略与处理有关,丹参组大鼠较多地使用了趋向式和直线式策略,梗死组大鼠则以随机式策略为主($\chi^2 = 15.74, P < 0.01$)。进一步分析发现,丹参组和假手术组大鼠在第 3~4 组次时趋向式策略已较多,第 5~6 组次时梗死组大鼠的搜索方式由随机式为主变为由趋向式为主,而假手术组则以趋向和直线式居多,且具有显著性差异($P < 0.001$),第 7~8 组次时各组大鼠的直线式策略均增多,组间没有明显差别。

3 讨论

研究结果表明,丹参可以显著地缩短梗死大鼠在 Morris 迷宫中搜索目标的反应时和行程,同时与梗死组相比,丹参组大鼠较多地使用了正常的认知策略,由随机式过渡到边缘式策略的进程也较快。丹参组大鼠在第 2 组次时已较梗死大鼠的反应时和行程明显缩短,表明在缺

血早期应用丹参可显著改善颞叶梗死后空间认知功能障碍。

但分析大鼠的行为变化仅用反应时和行程是不够的,不同的搜索方式都可使反应时和行程缩短,因此还需要联合策略这一指标^[11~14],以反映大鼠空间学习行为质的差异。大鼠在 Morris 迷宫中搜索目标的策略可分为四种:随机式策略的轨迹出现于迷宫的大部分区域,具有较大的盲目性;边缘式则是根据局部距离线索确定目标,是以自我为参照点的认知方式,这种策略在正常大鼠的行为训练早期或损毁大鼠中出现率均较高,可以认为是一种本能行为,与图认知方式相比,它处于较低级的水平;趋向式是图式策略形成过程中的一种过渡形式,此时大鼠对目标的位置及方向的判断基本正确,定位精确性尚不足,但它与盲目的随机式和以自我为参照点的边缘式有质的差异;直线式即图认知,是动物加工空间信息所依赖的有效手段,即它们根据迷宫外线索逐渐形成的参考认知方式。

O'keefe 和 Nadel 认为,在完成空间学习记忆任务时,正常大鼠会采用图认知方式,损毁图认知系统而使选择精确性受到损害,此时损毁大鼠会运用其它非图类认知策略^[15]。颞叶皮层已被证实直接或间接地参与了空间认知加工过程,损毁颞叶会使大鼠的图认知系统受损,以致搜索策略发生变化。而且在以自我为参照点的认知方式形成中,大鼠基本上都经过从随机式和边缘式到趋向、直线式的变化过程,损毁图认知系统会使这一过程延长。本实验中各组大鼠的搜索策略变化都经过了这一过程,但丹参组大鼠在第 3~4 组次时已较多地使用趋向式策略,梗死组则在第 5~6 组次时才发生上述变化。由于趋向式策略是图式形成中的一种过渡形式,因而结果表明丹参可以有效地缩短颞叶梗死大鼠搜索策略变化的进程,改善其空间认知功能障碍。

脑组织缺血缺氧后发生的学习记忆能力障碍常作为功能预后的指标之一,痴呆发生早期的最主要表现也是学习记忆能力的下降^[16]。因此,及时而有效地保护神经细胞,尽可能地恢复认知功能是治疗脑梗死、预防痴呆发生的重要方面。本研究对丹参改善梗死大鼠空间认知功能障碍的作用进行了有益的探索。

参 考 文 献

- 1 Kuang PG, Wu WP, Liu JX, *et al.* The effect of Radix Salviae Miltiorrhizae on substance P in cerebral ischemia — animal experiment. *J Trad Chin Med*, 1991, 11(2):123-127
- 2 吴卫平,李振洲,匡培根. 脑缺血再灌注后脑组织 c-fos 基因表达及丹参的影响. *中国神经免疫学及神经病学杂志*, 1995, 2(1):1-3
- 3 陶 沂,匡培根. 缺血再灌注时脑组织中 NO 含量的变化及腺苷的影响. *卒中与神经疾病*, 1995, 2(3): 115-118
- 4 匡培根,吴卫平,刘 军,等. 局灶性脑缺血再灌注时丹参对热休克蛋白 70 的影响——免疫细胞化学及病理学研究. *卒中与神经疾病*, 1996, 3(2):61-63
- 5 刘 军,吴卫平,匡培根. 丹参脑缺血再灌注的神经保护作用——成纤维细胞生长因子上调. *中国神经免疫学及神经病学杂志*, 1996, 3(4):225-229
- 6 Morris RGM, Garrud P, Rawlins JNP, 等. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature*, 1982, 297:681-683
- 7 Schenk F, Morris RGM. Dissociation between components of spatial memory in rats after recovery from effects of retrohippocampal lesions. *Exp Brain Res*, 1985, 58:11-28
- 8 McNamara RK, Skelton RW. The neuropharmacological and neurochemical basis of place learning in the Morris water maze. *Brain Res Rev*, 1993, 18:33-49

- 9 姜树军,吴卫平,匡培根,等. 丹参对颞叶梗塞大鼠学习记忆能力影响的研究. 心理学报,1997,29(增刊):75-77
- 10 向 敬,匡培根. 选择性白鼠感觉运动区梗塞模型建立与缺血损伤定量分析技术. 中华医学杂志,1994,26(4):417-422
- 11 隋 南,匡培梓. 隔区或皮质顶叶损毁对大鼠空间认知能力的影响及大鼠搜索策略差异的研究. 心理学报,1992,24(1):80-88
- 12 隋 南,陈双双,匡培梓. 海马结构、前额叶皮质或尾—壳核损毁对大鼠空间认知能力的影响. 心理学报,1992,24(4):415-421
- 13 隋 南,谢 东,匡培梓. 杏仁复合体损毁对大鼠空间认知能力的影响. 心理学报,1995,27(3):311-314
- 14 隋 南,翁旭初,高 扬,等. 梨状皮层或苍白球损毁对大鼠空间认知能力的影响. 心理学报,1995,27(4):428-433
- 15 O'keefe J, Nadel L. The hippocampus as a cognitive map. Oxford, England: Clarendon Press, 1978
- 16 Hachinski V. Preventable senility:a call for action against the vascular dementias. Lancet, 1992, 340: 645-648

Radix Salviae Miltiorrhizae(RSM) Could Improve Spatial Cognition of Rats with Left Temporal Infarction

Yang Jiongjong Sui Nan Albert Chen Kuang Peizi Wu Weiping, *et al*

(The Institute of Psychology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101)

Objective Effects of RSM on spatial cognition of rats with left temporal infarction were investigated in Morris water maze task. **Methods** Selective left temporal infarction of rats was induced by the cold light and RSM group was treated 30 minutes before and 3 days after the operation. The behavioral apparatus was consisted of Morris water maze and Morris maze experimental assistant system. **Results** RSM reduced the reaction time and distance of this kind of spatial learning test. Moreover, the rats of RSM group used normal strategies more often, and the strategies changed faster than that of the damage group. **Conclusion** RSM could improve spatial learning ability of rats with temporal infarction. This study had done some contribution to the exploration concerning how to cure cerebral infarction and prevent dementia.

Key words radix salviae miltiorrhizae; cerebral infarction; spatial learning; morris water maze

(1997-11-27 收稿)