

温胆汤对 MK801 诱发精神分裂症模型鼠突触传递效能的影响^{*}

★ 杨翠萍¹ 万红娇^{1**} 刘建华¹ 朱金华¹ 叶荷平¹ 高书亮¹ 余日跃¹ 邓居桥² 阳明² (1. 江西中医学院 南昌 330004; 2. 江西中医学院 2005 级中药班 南昌 330004)

摘要:目的:研究温胆汤对精神分裂症模型鼠突触传递效能的影响。方法:将 30 只 SD 大鼠,随机分三组,分别为正常组(A)、模型组(B)及温胆汤组(C),A、B 组灌胃生理盐水,C 组灌胃温胆汤,每天一次,21 天后地卓西平马来酸盐(MK801)造模诱发精神分裂症,3 天后采用 ASB240U 生物信号采集处理分析系统,进行 LTP 诱发实验并观测和记录诱发电位。结果:B 组大鼠 LTP 诱发成功率较 A 组和 C 组明显减少($P < 0.05$);C 组大鼠有 PS 峰潜伏期的缩短,而 B 组大鼠无明显 PS 峰潜伏期缩短现象。结论:温胆汤能改善精神分裂症模型大鼠突触传递的效能。

关键词:长时程增强;精神分裂症;突触传递;效能;大鼠

中图分类号:R 285.5 **文献标识码:**A

Effect of synaptic transmission activity of Wendan Decoction on Rats with Schizophrenia

YANG Cui-ping¹, WAN Hong-jiao¹, LIU Jian-hua¹, ZHU Jin-hua¹, YE He-ping¹, GAO Shu-liang¹, YU Ri-yue¹, DENG Ju-qiao², YANG Ming¹

1. JiangXi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004

2. Grade 2005 of Chinese Medicine class, Jiangxi University of Traditional Chinese Medicine, Nanchang 330004

Abstract : Objective :To study the effect of synaptic transmission activity of Wendan Decoction on Rats with Schizophrenia. Methods :30 SD rats were divided three groups by random. They were normal group (A), model group (B) and Wendan Decoction group (C) respectively. The A, B groups were lavaged Sodium Chloride and the C group was lavaged Wendan Decoction every day. It was lasting 21 days. Then the model of schizophrenic rats were created by MK801. After three days deploying ASB240U biont singal collection management analytical system, Long-term potentiation (LTP) was induced. Evoked potentia was surveying and recording. Results :Inducion achievement ratio of Group B was lower than that of Group A and Group C ($P < 0.05$). Incubation period of Group C declined but that of Group B. Conclusions :Wendan Decoction can reninforce the activity of synaptic transmission of schizophrenic rats.

Key words : Long-term potentiation; Schizophrenia; synaptic transmission; activity; rat

长时程动作电位增强 (Long-term potentiation, LTP) 现象被认为反映了突触水平的记忆过程,一些损害学习记忆的因素可减低或阻断 LTP 的形成,而易化 LTP 的因素或药物能提高动物的学习记忆能力。鉴于精神分裂症动物模型的记忆保持能力受到影响,而海马是学习记忆的关键脑区,本实验对精神分裂症模型鼠穿通路 (Perforant path, PP)-海马齿状回 (Hippocampal dentate gyrus, DG) 突触的功能可塑

性及其表现形式进行了在体电生理观察,进一步观察了温胆汤对模型大鼠海马 LTP 的影响,以便从电生理角度阐明温胆汤改善学习记忆的机理,为今后深入开展研究工作奠定电生理方面的基础。

1 材料与方法

1.1 动物与分组

清洁级 SD 大鼠,雌性, (200 ± 20) g, 30 只,由江西中医学院实验动物中心提供。随机分为 3 组:正

* 基金项目:江西省自然科学基金资助项目(2007GZY0911)

** 通讯作者:万红娇,博士,主要从事病原生物学研究。

常组(A)、模型组(B)、温胆汤组(C),每组 10 只。

1.2 中药汤剂制备

温胆汤组方:半夏 10 g,茯苓 30 g,竹茹 10 g,枳实 10 g,陈皮 10 g,甘草 6 g,每剂含生药 76 g,由江西省中医院中药房提供。经鉴定合格,各药物先加水浸泡 30 分钟,煎加药材量的 8 倍的水,沸腾后煎 40 分钟,过滤取汁,二煎加药材量的 6 倍的水,沸腾后煎 30 分钟,过滤两煎所得滤液混合后浓缩成 1:1 药液(每毫升药液含生药 1 g),4℃ 冰箱保存备用。

1.3 主要仪器与试剂

江湾 II 型立体定位仪;ASB240U 生物信号采集处理分析系统(成都遨生电子有限公司);屏蔽罩。

地卓西平马来酸盐(MK801):美国 SIGMA 公司生产。

1.4 给药方法

温胆汤组于造模前采用连续灌胃温胆汤,每次给药 20 ml·kg⁻¹(相当于灌胃 20 mg·kg⁻¹);正常组和模型组用等容量生理盐水灌胃。灌胃 1 次/天,共 21 天。

1.5 动物模型建立

动物适应饲养 5 天后进行试验,给药 21 天,除正常组外,其它两组大鼠最后一天给药 1 小时后,于左侧腹腔注射 MK801,按浓度 0.6 mg·kg⁻¹标准注射,诱发 SD 大鼠精神分裂症模型。正常组予以等量生理盐水腹腔注射。

1.6 LTP 实验

1.6.1 电极的制备 选用 28 号一寸的毫针,将有机玻璃碎片溶于适量氯仿中,将针灸针在溶液中浸润片刻,取出吹干,反复数次,针灸针表面附着一层有机玻璃能达到理想的绝缘作用,使尖端裸露约 0.5 mm,此即记录电极。

1.6.2 电极的埋置 以 10% 水合氯醛(330 g·kg⁻¹)麻醉大鼠并固定于立体定位仪上。以 30% H₂O₂ 除去骨膜,参照包氏大鼠脑定位图^[1]确定记录电极、刺激电极的准确位置,刺激电极的位置为内嗅区前穿质通路(Perforant path, PP),其定位坐标为 AP -6.8 mm, L 4.2 mm, H 3.5 mm,记录电极坐标为 AP -3.5 mm, L 2.0 mm, H 3.0 mm,位于同侧海马齿状回颗粒细胞层。在上述定位点用骨钻钻成直径 1 mm 小孔,刺激电极先放下 2.5 mm,然后慢慢调整位置以固定强度的刺激诱发出最大群峰电位(Population spike, PS)。以上操作均在屏蔽罩内完成。

1.6.3 诱发电位的观测、记录 采用细胞外记录方法。打开仪器,预热 10~15 min。按上述方法将各

电极安置定位,将刺激线与刺激电极(内置隔离器)连接,记录线与记录电线相连,其中零线与头皮相连,地线接于屏蔽台罩上。启动生物信号采集处理软件,按实验要求设置参数如下:记录间隔为每 30 s 记录一次,测试刺激频率 1/30 Hz、波宽 0.1 ms、时间常数为 0.001 s,高通滤波为 10 KHz。由处理系统内置的电子刺激器先发出单个方波刺激,经内置刺激隔离器再由刺激电极输向穿通通路(PP),诱发的动作电位经内置的生物电放大器,输入计算机以记忆示波形式显示并进行自动记录,并同时输入计算机进行自动记录分析、记录 PS 幅值,作为 DG 颗粒细胞群兴奋性的指标。实验开始时,先移动刺激电极,以一固定强度的刺激诱发齿状回产生 PS,记录到 PS 后,再移动记录电极,继续反复移动两电极直至记录到最大而恒定的 PS。用牙托粉固定好各电极。调整刺激强度,刺激电压由小逐渐增大,引起最大 PS 峰后,调节至引起最大 PS 幅度的 1/2 的电压强度作为测试刺激强度,并贯穿整个实验,不再改变。稳定记录 30 min 后,按下述方法给予高频刺激诱发 LTP。

1.6.4 HFS 参数 海马齿状回的颗粒细胞层 LTP 由 10 串 100 Hz 的高频刺激(high frequent stimulate, HFS)所诱导,每串由 5 个波宽 0.1 ms 的方波刺激组成,刺激间隔为 200 ms,刺激强度与单个测试刺激相同。首先记录单一方波脉冲刺激 PP 在 DG 所诱发的群体锋电位 30 min,测量每次反应的幅值及峰潜伏期,并将所得值平均,作为基线值(100%)。然后观察经同一刺激电极给予与单脉冲同样强度短串高频条件刺激(100 Hz,持续 5 s)后,待 LTP 产生后,再改用单刺激,同样记录每次 5 min 内 10 个 PS 的平均值,记录 60 min。单脉冲检验刺激诱发的 PS 幅值的变化及此变化所持续的时间,如 PS 幅值高于基线值且持续 30 min 以上,定义为长时程增强(LTP);反之,低于基线值者,则为长时程抑制(Long-term depression, LTD)。HFS 后 PS 的幅值变化值以相对于基线值的百分数表示。

1.6.5 观测指标和测量方法 PS 幅度:其计算见图 1,实验中以 PS 幅度相对值(%)为观测指标,并观察其增幅情况。具体测定方法是,串刺激前后各记录 30 min,各测 6 个时间点(每间隔 5 min 测一个时间点),每个时间点的幅度值是 6 次 PS 幅度的平均。先计算出串刺激前 6 个时间点的平均 PS 幅度值,并以此 PS 均值为 100%,用各时间点的 PS 幅度值除以串刺激前 6 个时间点的平均 PS 幅度值,就得到各时间点的 PS 幅度相对值(%)。LTP 成功诱发

率:成功诱发 LTP 的大鼠例数占本组实验大鼠总例数的百分数^[2~4]。

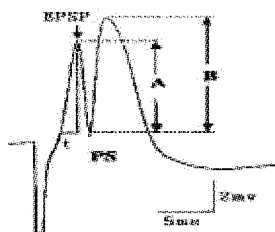


图 1 PS 幅度为 A、B 和的二分之一

1.7 数据处理

以 HFS 前 30 min 内的 PS 均值为 100%, HFS 前后各时间点记录的 PS 均值与之比较,以百分数(%)表示。

2 结果

2.1 LTP 诱发成功率

温胆汤对精神分裂症模型鼠 LTP 诱发成功率的影响见表 1。温胆汤组大鼠 10 只中有 8 只在 CA1 区记录到了 PS 反应,正常组、模型组大鼠 10 只中分别有 5 只和 3 只在 CA1 区记录到了 PS 反应。用 χ^2 检验,与温胆汤组比较,模型组 LTP 诱发的成功率显著低下,提示精神分裂症大鼠海马群峰电位的形成受到显著抑制,而温胆汤可明显降低这种对群峰电位形成的抑制作用。

表 1 各组大鼠 LTP 诱发成功率

组别	样本数	诱发数	诱发率(%)
正常组	10	5	50*
模型组	10	3	30
温胆汤组	10	8	80*

注:与模型组比较★为 $P < 0.05$, ☆为 $P < 0.01$ 。

2.2 PS 峰潜伏期的变化

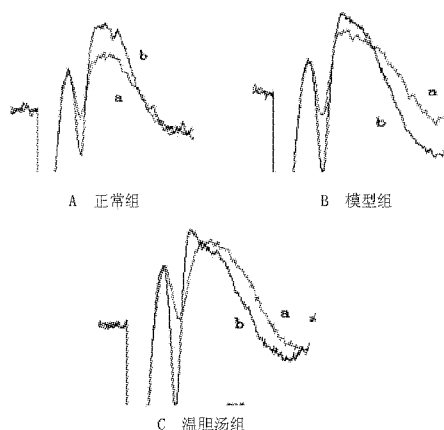


图 2 各组大鼠海马齿状回 SP 峰潜伏期比较

a:高频刺激前; b:高频刺激后

图 2 展示的是三组大鼠在高频刺激前后 PS 峰潜伏期的变化情况, a 为高频刺激前曲线, b 为高频

刺激后曲线。从上图可见,各组高频刺激后在 PS 幅值增强的同时,温胆汤组还伴有峰潜伏期的缩短,一般为 1~2 ms。而正常组、模型组大鼠无明显 PS 峰潜伏期缩短现象。

3 分析与讨论

早在 1966 年, Lomo 等^[5]首先对频率刺激在海马结构引起的突触传递效应增强现象做了简要报道。1973 年 Bliss 和 Lomo^[6]在家兔海马发现 LTP 现象的系列研究文章发表于英国的生理学杂志上。此后,人们对 LTP 是否为学习记忆的生理学基础产生了极大的兴趣,由于其具有学习记忆所需的联合性、特异性以及长时程的效应, LTP 现象被认为反映了突触水平的记忆过程,一些损害学习记忆的因素可减低或阻断 LTP 的形成,而易化 LTP 的因素或药物能提高动物的学习记忆能力。正常大鼠海马经高频刺激后,其穿通 PP-DG 突触的传递功能可发生以 LTP 为主的可塑性变化,而 LTP 被认为可能是学习记忆基础的突触可塑性机制之一^[7]。脑内 DA 的生物合成和释放受突触前受体负反馈调控^[8]。也有可能是温胆汤抑制了 DA 与 D2 受体的结合,从而抑制了 DA 效应的发生,谢辉等^[9]研究发现温胆汤的某个作用部位与 DA 竞争参与受体结合,使磷酸化的 TH 增多,从而增加了酪氨酸向多巴的生物合成。本实验研究结果表明温胆汤能改善精神分裂症鼠突触传递效能。是否温胆汤增加了大鼠纹状体 DA 的合成从而影响到神经元突触可塑性的形成,将有待进一步研究。

参考文献

- [1]包新民,舒斯云.大鼠脑立体定位图谱[M].北京:人民卫生出版社,1991,34-40.
- [2]Packard MG. Postraining estrogen and memory modulation[J]. Horm Behav, 1998, 34:126-39.
- [3]刘振伟,张永祥.调心方对麻醉大鼠海马长时程增强[J].中药药理与临床. 2002;18(3):4-6.
- [4]裴伟,张永祥,周金黄.雌激素对卵巢切除大鼠海马长时程增强的影响[J].中国神经科学杂志. 2001,17(4):335-337.
- [5]Lomo T. Frequency potentiation of excitatory synaptic activity in the dentate area of the hippocampal formation[J]. Acta physiol scand, 1966;68(suppl):277-279.
- [6]Bliss T V P, Lomo T. Long-lasting potentiation of synaptic transmission in the anaesthetized rabbit following stimulation of the perforant path[J]. J physiol, 1973;232:331.
- [7]时利德,蔡葵,赵晓萍,等.正常年轻大鼠穿通路-海马齿状回突触功能可塑性的在体电生理观察[J].中国医科大学学报,1998,27(2):114-8.
- [8]周宏源.分子药理学[M].哈尔滨:黑龙江科技出版社,1995,20-21.
- [9]谢辉,贺又舜.温胆汤及其配伍对大鼠纹状体 DA 合成的影响[J].湖南中医杂志,2004,20(3):66-67.

(收稿日期:2008-09-04)