

实验研究

补肾中药对拟痴呆小鼠大脑组织中 γ -氨基丁酸和谷氨酸含量的影响

秦红友* 蒋林男* 宋菊敏* 廖 蕊* 张秋俊* 指导:宫 斌* 莫启忠*

摘要 选用氯化铝溶液制备拟痴呆小鼠动物模型,研究补肾中药对拟痴呆小鼠大脑组织中 γ -氨基丁酸(GABA)和谷氨酸(Glu)含量的影响。结果表明:拟痴呆小鼠大脑组织中 GABA 含量比正常小鼠明显升高($P < 0.01$),Glu 含量则比正常小鼠明显低下($P < 0.01$)。补肾中药则可明显降低拟痴呆小鼠大脑组织中抑制性氨基酸神经递质 GABA 的含量,升高 Glu 含量,使其接近正常水平。提示补肾中药能通过降低拟痴呆小鼠大脑组织中抑制性氨基酸神经递质 GABA 的含量,升高兴奋性氨基酸神经递质 Glu 的含量,从而增进拟痴呆小鼠大脑兴奋性,改善痴呆迟钝症状,促进记忆功能。

主题词 痴呆/中医药疗法 痴呆/代谢 补肾药/治疗应用

老年痴呆主要表现为进行性记忆力减退,病人的各种神经递质系统,包括乙酰胆碱系统、去甲肾上腺素系统、多巴胺系统均有改变^[1]。我们以前的研究也表明,拟痴呆小鼠大脑皮层中 M-受体结合容量(Rt)降低,乙酰胆碱酯酶(AchE)活性升高,而补肾中药使 Rt 值显著升高,AchE 活性显著降低;拟痴呆大鼠脑组织中 GABA 受体 Rt 值及解离常数均降低^[2,3]。另有研究报告,老年小鼠大脑皮质 L-Glu 含量及其 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体数量明显减少,这可能是衰老过程中学习和记忆衰退的重要原因之一^[4]。

本实验选用氯化铝溶液制备小鼠拟痴呆动物模型^[2,5,6],用以研究补肾中药对模型小鼠大脑组织中氨基酸类神经递质——GABA 和 Glu 的影响,以探讨补肾中药延缓脑功能衰老的机理。

1 材料与方法

1.1 动物分组及药物:选取昆明种封闭群正常 2 月龄

雌性小鼠 60 只(由本校实验动物中心提供),体重 23~27g;随机分为正常组、模型组、首乌片组、补肾活血组、补肾组和预防组 6 组。

补肾中药由首乌、熟地、肉苁蓉等组成,水煎浓缩至 3.4g/ml 生药浓度,为补肾组和预防组用药;以上补肾中药加几味活血药,水煎浓缩至 5.0g/ml 生药浓度,为补肾活血组用药;首乌片(上海中药制药一厂生产)用蒸馏水溶解,浓度为 0.5 片/ml,为首乌片组用药。以上用量按体重比均为临床成人用量的 30 倍。

1.2 造模及给药方法:除正常组外,各组均预先以氯化铝溶液灌胃(浓度为 8mg/ml, pH6.5),每日 25ml/kg,预防组同时以补肾中药灌胃。造模迷宫实验证明,记忆力减退时间大约为 3 周,3 周后分别以上述中药灌胃。正常组及模型组则相应以蒸馏水灌胃。再喂养 40 天后迅速断头处死小鼠,冰浴中取大脑组织备用。

所用标准 GABA 和 Glu 为进口国内分装产品,其余试剂均为国产分析纯产品。

1.3 小鼠记忆能力检测:采用避暗法改进^[5,7],记录每次小鼠由暗室到明室的反应时间,比较小鼠避暗反应记忆能力。小鼠处死前 3 天开始每隔 24 小时实验 1 次,第 1 次为初步反应,第 2 次为回忆反应,第 3 次为记忆能力。

1.4 用纸电泳法测大脑组织中 GABA 和 Glu 含量:按任氏^[8]和林氏^[9]方法改进测大脑组织中 GABA 和 Glu 含量。将小鼠快速断头处死,取大脑组织称重后,迅速投入 2ml 预冷的 0.4N 高氯酸中,匀浆,离心,上清液以 4N KOH 调 pH6.5~7.0,在 4℃冰箱内放置 2 小时后再离心,取全部上清液于 60℃水浴吹干,以 300 μ l 双蒸水溶解全部残渣并离心,取上清液测定。

采用国产新华 3 号层析滤纸,干法点样 10 μ l,每次以 50nmol 标准 GABA 和 Glu 为对照,槽中缓冲液为吡啶-冰醋酸-双蒸水, pH4.5,电压 300V,温度 15℃左右,电泳 1 小时,取出电泳纸条晾干,置于 80℃烘箱内烘 15 分钟,再以醋酸镉-茚三酮显色液(醋酸镉

* 上海中医药大学中医基础学科中心实验室,上海零陵路 530 号(200032)

收稿日期:1997-07-08;修回日期:1997-11-24

0.05g, 双蒸水 5ml, 醋酸 1ml, 丙酮 50ml, 茚三酮 0.5g, 按次序逐一溶解, 临用前配制) 喷雾显色, 置于 80℃ 烘箱内烘 10 分钟, 将色点剪下, 试管中加入 2ml 85% 乙醇浸泡洗脱 30 分钟, 用 722 分光光度计于 505nm 处比色测定 OD 值。计算公式: GABA(或 Glu) 含量 = OD(样品)/OD(标准) × 0.05 × 30/大脑组织克数。数据分析采用 F 检验和 q 检验。

2 结果

2.1 对拟痴呆小鼠动物模型记忆能力的影响: 模型组 3 次实验反应时间均高于正常组, 模型组与记忆关系密切的第 3 次反应时间与正常组相比差异性显著 ($P < 0.05$), 表明该方法造成小鼠拟痴呆动物模型基本成功。从反应时间上来看, 灌胃中药的每一组小鼠都有降低趋势, 以预防组作用最好, 但用药组及正常组间无统计学差异, 见表 1。

表 1 各组对拟痴呆小鼠记忆能力的影响 ($\bar{X} \pm S$)

组别	动物数 (只)	反应时间(秒)		
		第一次	第二次	第三次
正常组	10	1.9 ± 1.4	1.7 ± 1.0	1.4 ± 1.1
模型组	10	2.9 ± 1.0	2.9 ± 1.4	2.7 ± 1.5 *
预防组	10	1.9 ± 0.9	1.8 ± 0.7	1.4 ± 0.7
补肾组	10	2.5 ± 1.0	2.0 ± 1.4	1.5 ± 0.8
补肾活血组	10	2.0 ± 0.8	1.9 ± 0.4	1.6 ± 0.8
首乌片组	10	2.4 ± 0.8	2.4 ± 1.2	1.9 ± 1.0

与正常组比较 * $P < 0.05$

表 2 各组对拟痴呆小鼠大脑组织中 GABA 和 Glu 含量 ($\mu\text{mol/g}$ 湿重组织) 的影响 ($\bar{X} \pm S$)

组别	动物数 (只)	GABA	Glu
正常组	10	1.89 ± 0.43	4.77 ± 0.92
模型组	10	2.98 ± 0.40 * *	3.01 ± 0.60 * *
预防组	10	1.67 ± 0.25	4.70 ± 0.56
补肾组	10	2.03 ± 0.51	4.12 ± 0.41
补肾活血组	10	1.97 ± 0.34	4.54 ± 0.56
首乌片组	10	2.32 ± 0.52 #	3.88 ± 0.70 * #

与正常组比较, * $P < 0.05$, * * $P < 0.01$; 与预防组比较 # $P < 0.05$

2.2 纸电泳方法考核: 标准 GABA 及 Glu 在 10~100nmol 浓度下与光密度呈线性关系, 提取液中 GABA 和 Glu 色点和标准品的 Rf 值完全一致。

2.3 对拟痴呆小鼠大脑组织中 GABA 和 Glu 含量的影响: 模型组小鼠大脑组织中 GABA 含量明显高于正常组 ($P < 0.01$), Glu 含量明显低于正常组 ($P < 0.01$)。用药后均可明显降低拟痴呆小鼠大脑组织中 GABA

含量, 升高 Glu 含量, 除首乌片组外三组均接近正常组水平, 其中预防组作用最好, 但三组间无统计学差异。提示: 补肾中药能通过降低拟痴呆小鼠大脑组织中抑制性神经递质 GABA 含量, 升高兴奋性神经递质 Glu 含量, 从而增进拟痴呆小鼠大脑兴奋性, 改善痴呆迟钝症状, 促进记忆功能。另外, 首乌片组小鼠大脑组织中 GABA 含量明显高于预防组, Glu 含量明显低于预防组和正常组 ($P < 0.05$), 除了提示预防效果优于治疗效果外, 更说明中药复方效果优于单味药, 见表 2。

3 讨论

早在本世纪 50 年代人们就已发现 GABA 对哺乳类动物中枢神经系统具有普遍的抑制作用, Glu 对大脑皮质细胞有普遍强烈的兴奋作用。进一步研究发现, 包括 Glu 在内的兴奋性氨基酸(EAA)和 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体对学习、记忆和突触可塑性的形成起着重要作用。当 EAA 激活 NMDA 受体时, 可导致突触电位的长时程增强(LTP), 而 LTP 是学习和记忆过程中神经元生理活动的客观指标, 反应了突触水平上信息贮存的过程^[10]。

本实验结果表明, 补肾中药能通过降低拟痴呆小鼠大脑组织中升高的抑制性神经递质 GABA 的含量, 升高已降低的兴奋性神经递质 Glu 的含量, 从而增进拟痴呆小鼠大脑组织的 EAA-NMDA 受体-LTP 系统的功能, 提高拟痴呆小鼠学习与记忆能力。

补肾中药能够改善氯化铝溶液制备的模型小鼠的痴呆症状, 可能有人会有这样的疑问, 即补肾中药只是减少机体对氯化铝的吸收或是促进对氯化铝的排泄, 对真正的痴呆病人不会有作用。我们认为能够改善拟痴呆小鼠的症状必定会对痴呆病人起作用, 因为有两点是可以肯定的, (1) 氯化铝确实能够引起小鼠的某些痴呆症状; (2) 痴呆病人的脑组织中确实有铝的积累。这样的话, 能够促进铝排泄必定会对痴呆也有作用。

该方以补益精血的何首乌、养血滋阴的熟地、温肾助阳的肉苁蓉等为主药, 加少量补气兼调味佐使药, 使该方阴阳兼补, 填精益髓, 生髓健脑, 令智能恢复。活血化瘀亦是中医药抗衰老一法, 为此我们在实验中另设了一补肾活血组, 可以看出其与补肾组在改善拟痴呆小鼠大脑组织中氨基酸类神经递质的功能上无明显差别, 在其它方面有无差别, 还有待进一步研究。

4 参考文献

- 康宏, 李舜伟. 儿茶酚胺类神经递质与 Alzheimer 病. 北京医学, 1997, 19(1): 36.
- 莫启忠, 马骏, 宫斌, 等. 肾中药对拟痴呆小鼠胆碱能 M-受体功能及胆碱酯酶活性的影响. 中国中西医结合杂志, 1996, 16(2): 99.

- 3 莫启忠, 官斌, 方军, 等. 调理心肾中药对拟痴呆大鼠脑组织中 M 和 GABA 受体功能的影响. 核技术, 1992, 15(5): 295.
- 4 梁发权, 吕宝璋. 老龄小鼠中枢兴奋性氨基酸递质及 N-甲基-D-天冬氨酸受体的变化. 中华医学杂志, 1992, 72(1), 33.
- 5 李文彬, 张炳烈, 马向晨, 等. 吡乙酰胺对三氯化铝中毒大白鼠回避反应受损的对抗作用. 中国药理学与毒理学杂志, 1988, 5(2): 132.
- 6 Crapper DR, Krishnan SS, Quittkat S. Aluminum, neurofibrillary degeneration and Alzheimer's disease.

Brain, 1976, 99: 67.

- 7 刘祖贻, 杨远高, 郑兵, 等. 益气温阳法对小鼠记忆行为和胆碱酯酶活性的影响. 中国中西医结合杂志, 1993, 13(11): 675.
- 8 任蕴芳, 金道山, 周廷冲, 等. 四种致惊剂及其抗惊剂对大鼠小鼠 γ -氨基丁酸和谷氨酸含量的影响. 中国药理学报, 1984, 5(3): 147.
- 9 林振武, 沈其杰. 用纸上电泳测定脑脊液中 γ -氨基丁酸. 湖南医学院学报 1982, 7(2): 195.
- 10 许绍芬主编. 神经生物学. 上海: 上海医科大学出版社, 1990: 142.

●《中国医学大成》该书系近代著名医学家曹雪琴先生编录明清的重要著作而成, 共计 136 种, 内容丰富, 且其中多为珍本、孤本, 所以受到医药界的广泛重视, 但因其为繁体字, 未加标点, 不易阅读, 此次出版, 对全书予重新标点, 采用简体横排的形式, 按以下 10 个分册出版。《内经分册》84 元, 《伤寒金匮分册》127 元, 《诊断针灸分册》99 元, 《温病分册》124 元, 《内科杂病分册》89 元, 《外科杂病分册》75 元, 《妇科杂病分册》146 元, 《医家医话分册》108 元, 《医论分册》124 元, 《本草医方分册》100 元。全套购买免收邮费, 每套 982 元。

●《清室医案研究》498.00 元(免邮费)。由中国中医研究院与中国第一历史档案馆有关专家通力合作, 历时数载完成的这部巨著, 首次对我国现存极其珍贵的清室医案医家档案, 上自顺、康、下迄光、宣, 作了系统整理研究, 不仅展示了清代历朝帝后、妃嫔及王公大臣之病案医事, 名医国手之辨治经验, 以及某些视为禁脔之宫廷药治, 供临床借鉴, 更可贵的还是编者还搜集了高医量的系列论文, 揭开了清代宫廷医学之成就及独特经验, 于医史都具有极高的参考价值。

●《金元四大医学家名著集成》85.00 元。金元四大医学家是指我国历史上金元时期的刘完素、张子和、李东垣、朱丹溪。他们在医学上有着重大贡献, 并各具特色。刘完素为“寒凉派”, 张子和为“攻下派”, 李东垣为“补土派”, 朱丹溪为“滋阴派”。时至今日, 四大家的学术思想和辨证经验, 仍被广泛应用于中医理论研究和临床实践。此书收录了他们各自有代表性的名著 25 种, 并编了总目录。

●《万密斋医学全书》991.00 元。万全(字密斋)是我国明代伟大的辨证医学家之一, 在我国医学史上以儿科、妇科、痘疹等著称。其所著《万密斋医学全书》更是继《千金方》之后我国的又一部中医全书。本书含《养生四要》《保命歌括》《伤寒集解》《广嗣纪要》《万氏妇人科》《妇科发挥》《痘疹秘决》《片玉心书》《片玉痘疹》《痘疹心法》。

●《济阴济阳纲目》每册, 140.00 元。该书是《济阴纲目》和《济阳纲目》的首次合刊校注本。精心整理校注, 阴阳相济, 床联篇合, 是一部具有重要文献价值和较高实用价值的中医辨证医学百科全书。其中保存的八千余首历代名方, 尤其具有极大的开发价值。《济阴纲目》114 卷, 论流注、带、胎产以及妇产科杂病的诊断和治疗。其中汲取并保存了《广宝》《妇人良方大全》《薛氏医案》, 尤其是王肯堂《女科证治准绳》等著名医家著作的许多珍贵治疗经验。《济阳纲目》108 卷, 主要论述内科杂证以及外科、内科、皮肤、五官、口咽等诸证的辨证和治疗。是现存明代医籍中不可多得而又亟待发掘整理的重要著作。至今尚为极稀珍印本公世。

●《冯氏痘疹集》系浙江名医冯兆张撰著的一部综合性医书。冯氏历时 30 余年, 汇选各家要籍, 结合己见, 著成此书。该书内容包括痘疹各科病症, 及痘疹、药物、脉诊、导引、养生、并采集民间验方、效方, 内容丰富, 流传颇广。冯氏诊治疾病, 主张因时、因地、因人制宜, 曾归纳三法、四因、五治、六症、八要等几方面, 条理清晰, 别具一格, 不仅具有较高的理论价值, 而且具有较高的临床应用价值。每册, 94.00 元。

●《名医类案(正续编)》是由《名医类案》与《续名医类案》两部书组成。前者是由明代名医汪氏父子编集, 清代名医之增补集, 清末名医王孟英点评。此两部书编写体例相同, 所集内容宏富, 是继我国古代医案之大成的名著。每册, 102.00 元。

●《证治准绳》为明代著名医家王肯堂所撰。全书共 16 卷, 《杂考》八卷, 《类方》八卷, 《伤寒》八卷, 《诸病》六卷, 《幼科》九卷, 《妇科》五卷, 共 41 卷, 四十四卷。其中《杂考》与《类方》两书内容相关, 前者专论杂病证治, 后者专论所用方药, 二者实为姊妹篇。其余四书均独立成篇, 分述了伤寒及外、妇、儿科疾病的病因证治。由于该书详论各科证治, 来分论析, 博采众家所长, 平正公允, 故本书自问世以来, 颇为历代医家所推崇, 是一部中医临床治疗的重要著作。每册, 203.00 元。

●《医学纲要》本书系明代医家张景岳之代表作, 全书共 40 卷, 汇集明以前中医学之大成, 并结合个人见解分论总论, 纲目清晰, 资料丰富, 内容包括阴阳脏腑、运气占候、各科病症证治、针灸及痘疹等。其特点是每论一证, 先引历代有关论述, 治法区分为正门与支门, 取各家之长, 体现同病异治的原则。该书是一部颇具法度的中医类图书。每册, 98.50 元。

●《黄元御医学全书》清·黄元御撰, 包括《素问悬解》《灵枢悬解》《难经悬解》《伤寒悬解》《金匮悬解》《伤寒要略》《四圣悬解》《素灵微议》《长沙药解》《玉微药解》11 种医著, 均系《四库全书总目提要》所著录。以上 11 种黄氏医籍均予全书点校, 简体横排印刷。每册, 103.00 元。

●《平乐正骨》本书较系统地介绍了平乐正骨的经验 and 现实水平。全书 130 万字, 插图 1400 余幅、图文并茂, 对每个骨折疾病的治疗, 力争体现平乐正骨的整体辨证、筋骨并重、内外兼治三个原则的手法治疗、器具固定、药物疗法、功能疗法的系列治疗方法。每册, 108.00 元。

实用专科方剂临床大全 98.00 烧伤创面修复与全身治疗 54.60 中药现代临床应用手册 34.50 中国历代中医方书 150.00 中医老年病研究 99.00
痔疮痔瘻的临床与研究 49.00 胃肠病和肝病的最新治疗 70.00 当代中药外治临床大全 83.00 中成药临床应用指南 39.00 临床中医内科 230.00(免邮费)

欲购者请汇款至北京东直门内北新仓 18 号中医杂志医海林香书店 刘振海 收, 邮政编码: 100700. 电话: (010) 64035632. 请在汇款单附言栏写清所购书名、数量及邮政编码。备有详细书目函索即寄。

(广告部: 9808-15)

●《千金方衍义》每册, 70.00 元。《千金要方》是唐代名医孙思邈的一部划时代医学巨著, 为历代医家研究发掘医学的一个宝库。由于其博大精深, 经历 1300 余年, 对其注释阐发无一不取于同津。清代名医张璐氏 60 多年的证证体会, 搜罗研究数十年, 撰成《千金方衍义》一书, 为历史上唯一的一部《千金要方》注释之书。

●《神奇的中医八大方》本书系统地总结了补中益气汤、小柴胡汤、龙胆泻肝汤、乌梅丸、六味地黄汤、阳和汤、血府逐瘀汤、温胆汤等八大名方的古今著名方论及临床研究成果和应用案例, 每方分组成与用法、名方方论、验案类举、妙用分析、类方汇编五项, 收集了现代医家应用此八大方治疗 534 种疾病的 1079 个病案, 每病皆有按语, 对辨证颇有启发。每册 39.00 元。

●《明清十八家名医医案》共收明清两代汪机、孙一奎、薛己、李中梓、高斗魁、尤怡、徐大椿、薛雪、吴瑭、王士雄、程文海、蒋宝素、谢星焕、费伯雄、王泰林、陈楚舫、张景岳、余景和 18 位著名医家的 21 部医案。这些医案风格各异, 有的质朴无华, 简明扼要; 有的细密绵长, 穷求源流; 有的议论风生, 雄辩有力, 展现了明清医家多姿多彩的繁荣景象。但有一点是共同的, 即各家医案都力求完整记录下成功治疗的案例的经验教训, 有的也坦言不成功的教训, 则更可贵。本书依据最佳底本, 精心点校, 繁体字横排, 汇编成帙。230 万字, 精校, 每册, 160.00 元。

●《中西医结合内科学》16 开(精) 170 万字 101.00 元 我国第一部中西医结合内科临床专著, 由国家一流中西医结合专家编撰, 著名中西医结合专家陈可冀院士总审, 书中详尽介绍了 180 多种内科常见病和症状的中西医诊断、鉴别诊断、中西医结合治疗、中西医结合治疗等内容, 全面总结了 30 余年内科临床领域中医、西医、中西医结合临床的新进展、新成果、新技术和新观点。

●《白话本草纲目拾遗》为《本草纲目拾遗》的白话本。每册 59.00 元, 《本草纲目拾遗》为清代赵学敏撰, 收录《本草纲目》中未载或已载而需补充的药物, 共 18 类 900 多种。其中新增 700 多种, 100 多种为《本草纲目》已收药物的补订内容。赵学敏广泛参考了多种文献资料, 结合个人采集、种植、见闻和临床经验分别予以介绍。还收集较多的民间验方、治法和当时传入的西药资料。

●《穴位注射疗法临床大全》16 开(精) 86.00 元, 首次系统、全面阐述穴位注射法在临床各科的应用, 包括原理机制、适应症、操作方法、使用注意等, 内容详尽, 融合中西, 覆盖面广, 实用性强。

●《医品全书》是明清最著名的一部医学全书, 是理论与临床紧密结合的惊世之作。现对该书进行整理, 并以简体横排版式出版, 以便读者使用。每册 101.00 元。

●《中国医学大辞典》由民国期间著名中医家、医史学者高澍唐组织数十人, 经六七十年之久写成, 素有“中医辞海”之称, 是中西医结合工作者成功的航标, 向被奉为中医辞书的典范与蓝本。迄今为止, 尚未有超出其。本书所以享此盛誉, 与其来目解释之详略得当不无关系, 简略者, 一言而终, 详尽者, 则洋洋数千言, 如“痢疾”条, 从理论到临床, 从成方到验方, 从秦汉到明清, 竟达五千多字, 列治法 32 种, 俨然一部痢疾专论, 初学者可由此入门, 登堂入室, 专业人士则可从中学以提高, 丰富自己。许多专科辞典中查找不到的条目, 尽可通过本书解决, 如书中收录的大量中药别名, 迄今为止的专门辞书, 竟没有可与之比者。经过数年的积极筹备, 现以标准简化字、新式标点、双栏横排互补的形式出版。每册 170.00 元。

●《中医脾胃学说应用与研究》全书共分五部分, 即, 中医脾胃学说的文献研究、中医脾胃学说的现代研究、脾胃疾病临床证治研究、中医脾胃学说在临床各科应用研究, 以及附录——北京名老中医关于脾胃学说的理论与实践。这部中医学专著的特点是: 从古到今, 从理论到实践, 从脾胃系统到临床各科, 按系统全面地展示了脾胃学说的产生、发展过程和当代的实践、研究水平, 既继承发展了以李东垣《脾胃论》为代表的先贤的脾胃理论, 又为今后脾胃学说的研究工作向更深阶段发展提供了丰富的历史经验和资料。每册 40.30 元。

●《中药现代研究与临床应用(第三册)》是前两册的延续。在前两册的基础上第三册又另选临床上常用中药品种对这些中药的化学成份、药理作用、制剂学和炮制学研究、组织培养和现代临床应用均进行了系统详实地论述, 本书全面反映中药研究新成果, 并将研究成果与现代临床应用紧密联系起来, 编写体例上与前两册完全相同。该书书对广大科研、教学、中医临床医生有很大的参考价值。每册 89.50 元。

●《中医药专利大全》本书重点介绍了中医药专利的申请、审查、以及保护等内容, 详细阐述了中医药专利的申请手续、法律程序、检索审查方法、专利侵权的基本条件以及审查流程等。读者可按书介绍的步骤去申请专利, 并知如何获得专利权利其要旨。本书又汇集了 1985 年以来中国专利局公开的与中医药方面的专利申请, 便于读者了解目前中医药专利概况, 并利于检索。每册 51.70 元。