

本文引文格式:张丽凤,梁祚仁,廖素婵,等.五味子乙素改善酒精中毒大鼠学习记忆能力的作用研究[J].右江民族医学院学报,2021,43(2):160-163.

【论著与临床报道】

五味子乙素改善酒精中毒大鼠学习记忆能力的作用研究

张丽凤,梁祚仁,廖素婵,莫颂轶,黄彦峰,黎昀,余双全,黄俊杰

(右江民族医学院基础医学院,广西 百色 533000)

摘要:目的 探讨五味子乙素(Schisandrin B, Sch B)对酒精中毒大鼠学习记忆能力的影响及神经细胞保护作用。方法 每日用56°北京红星二锅头白酒(8 ml/kg)连续灌胃8周制备慢性酒精中毒大鼠模型,造模成功后Sch B低剂量组、Sch B中剂量组、Sch B高剂量组再继续给予不同剂量的Sch B灌胃30 d。然后用Morris水迷宫检测大鼠的定位航行实验训练潜伏期和游泳路径轨迹图,透射电镜和光镜观察海马神经细胞形态结构的改变。结果 Morris水迷宫结果显示模型组大鼠潜伏期长($P < 0.05$),从运动轨迹图显示,Sch B各浓度组运动趋向目标象限明确;光镜和透射电镜观察到Sch B各浓度组大鼠海马CA1区神经细胞形态较为规则,细胞膜较为完整,神经细胞水肿减轻,神经元损伤数量和损伤程度较酒精中毒模型组有明显减少。结论 Sch B能改善慢性酒精中毒大鼠的学习记忆能力,对海马组织神经细胞具有保护作用。

关键词:五味子乙素;慢性酒精中毒;学习记忆能力;神经细胞

中图分类号:R285 文献标识码:A 文章编号:1001-5817(2021)02-0160-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2021.02.002

Effect of Schisandrin B on improving the learning and memory ability of rats with chronic alcoholism

Zhang Lifeng, Liang Zuoren, Liao Suchan, Mo Songyi,
Huang Yanfeng, Li Yun, Yu Shuangquan, Huang Junjie

(School of Basic Medicine, Youjiang Medical University
for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of Schisandrin B (Sch B) on the learning and memory ability and its protective effect on nerve cells of rats with chronic alcoholism. **Methods** The rat models with chronic alcoholism were established by continuous intragastric administration of 56° Beijing Red Star Erguotou Liqueur (8 ml/kg) for 8 weeks. After successful modeling, the low-dose Sch B group, the medium-dose Sch B group and the high-dose Sch B group were given different doses of Sch B by intragastric administration for 30 days. Then Morris water maze was used to detect the experiment training latency of the rats' positioning navigation and their swimming path trajectory. The morphological and structural changes of hippocampal neurons were observed by transmission electron microscope and light microscope. **Results** The Morris water maze results showed that the latency of rats in the model group was longer ($P < 0.05$). The movement trajectory chart indicated that the movement trend of each Sch B group was clear in the target quadrant. Light microscope and transmission electron microscopy showed that the morphology of neurons in the hippocampal CA1 area of

基金项目:广西自然科学基金项目(2018GXNSFAA138113);右江民族医学院高层次人才科研课题(yy2020gcky036);广西高校中青年骨干教师科研基础能力提升项目(2021KY0557)

第一作者简介:张丽凤(1991—),女,硕士,助理实验师,研究方向:神经系统病理生理,E-mail:570122844@qq.com

通讯作者简介:黄俊杰(1970—),男,医学硕士,教授,硕士研究生导师,研究方向:神经系统病理生理,E-mail:1559199466@qq.com

rats in each Sch B group was regular, with complete cell membranes. In comparison with the alcoholism group, the edema of neurons alleviated, the number of damaged neurons and their damaging degree significantly decreased in the Sch B groups. **Conclusion** Sch B can improve the learning and memory ability of rats with chronic alcoholism and protect the neurons in hippocampus.

Key words: Schisandra B; chronic alcoholism; learning and memory ability; neurons

长期过量饮酒或酗酒可以引起慢性酒精中毒,影响记忆力、认知功能等。五味子乙素(Schisandrin B, Sch B)是中药五味子中有效成分,研究表明它有抗氧化、增强免疫力等作用^[1]。但五味子乙素对慢性酒精中毒大鼠学习记忆影响的研究尚未见报道。本研究通过观察 Sch B 对慢性酒精中毒大鼠学习记忆能力以及海马神经细胞形态结构的改变,探讨 Sch B 对酒精中毒大鼠学习记忆能力的影响及神经细胞保护作用。

1 材料与方 法

1.1 实验动物与主要实验试剂及仪器 Wistar 大鼠购买于长沙天勤生物技术有限公司[许可证号:SCXK(湘)2019-0014],雄性,体重 180~200 g,实验动物的操作经右江民族医学院实验动物伦理委员会批准同意后实施。五味子乙素(维克奇生物科技公司),电镜固定液(Servicebio 公司),透射电子显微镜(HITACHI 公司),Morris 水迷宫(北京新天地科技有限公司),超薄切片机(Leica 公司),光学显微镜(Leica 公司)。

1.2 动物分组及慢性酒精中毒模型建立 25 只 Wistar 大鼠,随机分成 5 组:空白对照组、酒精中毒模型组、Sch B 低剂量组、Sch B 中剂量组、Sch B 高剂量组,每组 5 只。空白对照组每天用蒸馏水灌胃,其余 4 组每天给予 56°北京红星二锅头白酒(8 ml/kg)灌胃,连续 8 周,建立慢性酒精中毒动物模型。Sch B 低剂量组、Sch B 中剂量组、Sch B 高剂量组再继续给予 Sch B 灌胃,各组灌胃剂量分别为 10 mg/kg、20 mg/kg、40 mg/kg,每日 1 次,连续 Sch B 灌胃 30 d。

1.3 学习记忆能力评价 按参考文献^[2]的方法进行 Morris 水迷宫实验,将大鼠面向池壁放入水中,训练大鼠找到平台的时间即潜伏期,以 4 d 为训练期训练。

第 5 天开始试验,记录动物在 60 s 内第一次经过站台所用时间即潜伏期,电脑采集图像、描绘运动轨迹,并进行分析。

1.4 光镜观察神经元形态结构 海马组织 10%福尔马林固定,石蜡包埋,组织切片后进行 HE 染色,用显微镜观察大鼠海马 CA1 区神经元形态改变并拍照采集图片。

1.5 透射电镜观察海马神经细胞形态结构 海马组织放入固定液中,经切片、染色后,采用透射电子镜观察各组大鼠海马神经细胞形态结构的变化并拍照采集图片。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 22.0 软件对数据进行统计分析,计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Sch B 对各组大鼠学习记忆能力的影响 训练第 3 天、第 4 天,模型组的潜伏期比空白对照组的潜伏期均明显增长($P < 0.05$),Sch B 高剂量组的潜伏期比模型组的潜伏期明显缩短($P < 0.05$),见表 1。从采集的运动轨迹图看出,酒精中毒组大鼠运动轨迹偏离平台,趋向性较差,探索轨迹单一,且在目标象限运动轨迹明显减少,多呈边缘化运动。而 Sch B 各浓度组运动轨迹趋向原平台所在的目标象限位置,在目标象限探索时间及路程都比模型组明显增加(见图 1)。经过前期记忆训练,大鼠在规定时间内其运动轨迹单一,且偏离目标象限,说明大鼠出现了学习记忆障碍,相反,在规定时间内,大鼠趋向目标方向运动轨迹多,说明大鼠寻找目标物体的记忆功能得到提高。

表 1 Morris 水迷宫定位航行实验训练潜伏期结果

组别	n	潜伏期/s			
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
空白对照组	5	41.75±13.27	30.40±17.41	22.55±8.50	21.15±12.38
模型组	5	48.45±8.44	45.45±12.70	39.25±8.95 ^a	39.75±9.48 ^a
低剂量组	5	42.85±12.63	37.80±10.04	34.45±6.20	32.25±5.37
中剂量组	5	37.65±17.94	39.50±10.03	33.85±12.44	32.05±10.37
高剂量组	5	37.35±22.89	32.00±15.38	23.40±7.53 ^b	22.85±10.98 ^b
F		0.410	1.017	3.366	2.914
P		0.799	0.422	0.029	0.047

注:①表内计量资料数据以($\bar{x} \pm s$)表示;②与空白对照组比较,a: $P < 0.05$;与模型组比较,b: $P < 0.05$ 。

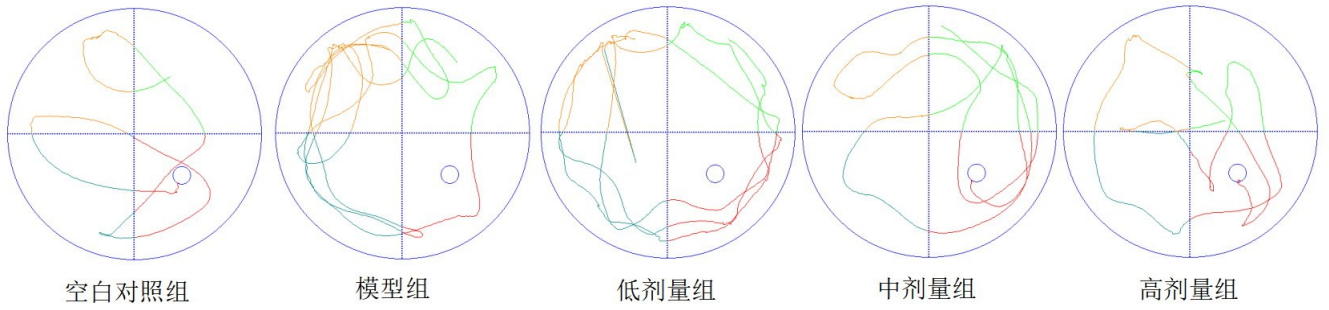


图 1 各组大鼠 Morris 水迷宫定位航行实验游泳路径轨迹比较

2.2 光镜观察大鼠海马神经细胞形态结构 空白对照组海马神经细胞形态规则、排列整齐、无变性；模型组海马区神经细胞排列紊乱，染色质深染，大量神经细

胞核异形。而 Sch B 低、中、高剂量组结构异常较轻，损伤数量减少，以中、高剂量组显著表现^[3]，见图 2。

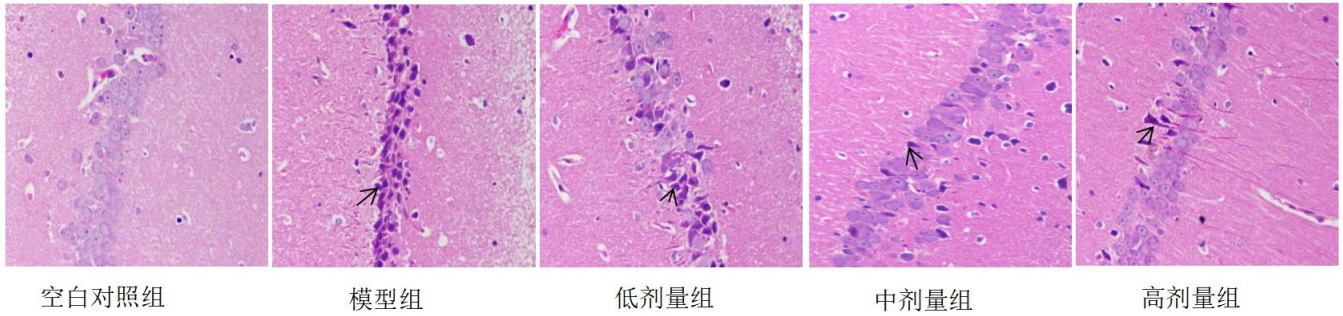


图 2 HE 染色观察各组大鼠海马 CA1 区病理改变(×400)

2.3 透射电镜观察大鼠海马神经细胞形态结构的改变 空白对照组大鼠海马 CA1 区神经细胞胞膜完整，细胞核呈圆形，染色质均匀，核膜清晰、完整；而酒精中毒组的神经细胞胞膜破损，细胞呈不同程度水肿，细胞核固缩，异染色质边集。通过 Sch B 干预后，Sch B 低、中剂量组神经元细胞呈轻度水肿，细胞膜局部破损，染

色质轻度溶解，细胞核呈不规则形，局部齿状凹陷；与 Sch B 低、中剂量组比较，Sch B 高剂量组神经元细胞水肿减轻，细胞膜较为完整，细胞损伤面积减少、损伤程度降低，细胞核完整、核膜清晰，染色质均匀(见图 3)。

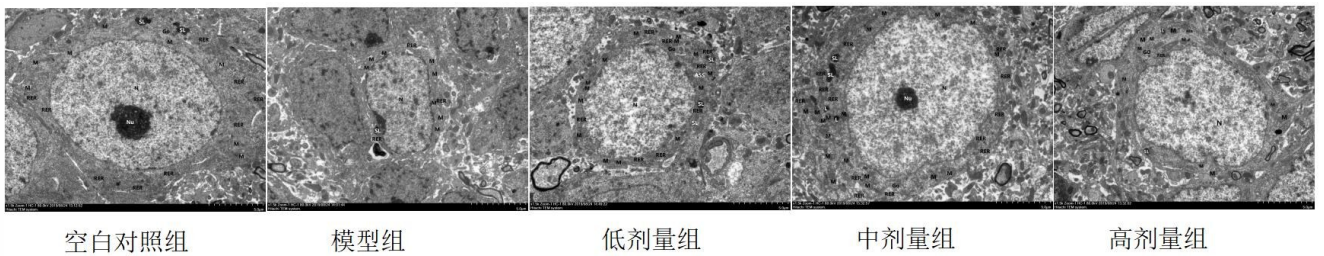


图 3 透射电镜观察各组大鼠海马 CA1 区神经细胞(×1500)

3 讨论

过量摄入酒精对健康有害，长期过量饮酒或酗酒可以引起慢性酒精中毒，酒精能通过血脑屏障作用于脑组织，其与神经细胞膜有较高亲和性，进而影响与记

忆相关脑区及其功能，从而导致神经损伤，同时，还将累及机体的多器官多系统损害：如神经心理认知功能障碍、肝脏的损伤等等^[4-5]。慢性酒精中毒主要表现为学习和记忆能力减退、认知和判断的障碍等，目前其机

制尚未完全阐明清楚,对其预防和治疗也没有特效药。

本研究用连续用白酒灌胃8周制备慢性酒精中毒大鼠模型,中毒大鼠潜伏期长,运动轨迹偏离平台,在目标象限运动轨迹明显减少,出现了学习记忆障碍。大鼠海马区神经元排列紊乱,大量神经元胞核异形,染色质深染;神经元细胞膜破损,细胞呈不同程度水肿,细胞核固缩,异染色质边集。说明酒精中毒引起脑组织的损伤和神经系统功能的损害。酒精中毒不仅使大脑结构发生改变,酒精还对神经细胞产生毒性兴奋作用,从而使神经元系统突触间隙神经递质数量以及突触受体构形发生改变,导致认知功能损害^[4-6]。

慢性酒精中毒大鼠通过用Sch B连续灌胃30 d后,大鼠运动轨迹探索目标方向明确,在目标象限探索时间及路程都比模型组明显增加,说明Sch B能提高酒精中毒大鼠寻找目标物体的记忆功能,可以增强酒精中毒大鼠学习和记忆。显微形态学观察到Sch B各浓度组大鼠海马CA1区神经细胞形态较为规则,细胞膜较为完整,神经细胞水肿减轻,神经元损伤数量和损伤程度较酒精中毒模型组有明显减少。五味子是一种含多种活性成分的木兰科植物,有甲素、乙素、醇甲、醇乙、酮、酚等活性成分,其中以五味子乙素含量最高,其具有保护大脑神经元、改善学习记忆的作用^[7]。其作用机制可能Sch B通过调节细胞凋亡相关的基因,改善神经细胞线粒体抗凋亡作用,从而保护神经细胞,提高学习记忆^[8];Sch B也能提高海马组织中PSD-95和SYN蛋白表达,减轻突触小体水肿程度,使突触间隙清晰、突触后致密区增厚及突触数量增加,进而影响神经细胞突触可塑性,从而改善学习记忆能力^[9-10],这可能也是Sch B对慢性酒精中毒大鼠学习记忆影响作用的机制之一。

综上所述,五味子乙素减轻神经细胞水肿,降低神

经细胞损伤程度,从而保护神经细胞,提高酒精中毒大鼠学习和记忆能力。但其详细的分子机制有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 蔡萧君, 颜彦鹏, 陆振华, 等. 五味子乙素对抑郁模型大鼠海马神经递质含量、炎症及氧化应激程度的影响[J]. 海南医学院学报, 2019, 25(15): 1125-1129.
- [2] 武海霞, 吴志刚, 刘红彬, 等. Morris水迷宫实验在空间学习记忆研究中的应用[J]. 神经药理学报, 2014, 4(5): 30-35.
- [3] 张丽凤. 五味子乙素对慢性酒精中毒大鼠学习记忆的影响及其分子机制的研究[D]. 百色: 右江民族医学院, 2020.
- [4] 徐杰, 李成海, 陈婉蓉, 等. 乙醇对大鼠肝细胞和脑神经细胞超微结构的影响[J]. 卫生毒理学杂志, 2004, 18(4s): 294-296.
- [5] 洪珊珊, 赵中, 韩伯军, 等. 酒依赖患者认知功能障碍的临床观察[J]. 中国临床心理学杂志, 2017, 25(1): 79-81.
- [6] 冀新波, 李大年. 慢性酒精中毒所致神经系统损害[J]. 中风与神经疾病杂志, 2014, 31(7): 661-665.
- [7] 白文字, 王厚恩, 王冰瑶, 等. 五味子化学成分及其药理作用研究进展[J]. 中成药, 2019, 41(9): 2177-2183.
- [8] 李佳芮, 聂文博, 张佳悦, 等. 五味子乙素对阿尔茨海默病小鼠学习记忆能力及神经细胞凋亡的影响[J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(14): 3390-3394.
- [9] 张丽凤, 张玲童, 易思, 等. 五味子乙素对慢性酒精中毒大鼠海马组织PSD-95蛋白表达的影响[J]. 右江民族医学院学报, 2020, 42(2): 142-146.
- [10] 张丽凤, 余双全, 梁祚仁, 等. 五味子乙素对慢性酒精中毒大鼠海马突触超微结构的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(2): 88-92.

收稿日期: 2021-02-15; 修回日期: 2021-03-22