

· 论文 ·

人参皂甙对睡眠剥夺大鼠记忆保持的影响^{*}

中国人民解放军第四军医大学航空航天医学系心理学教研室 (710032)

杨国渝 皇甫恩 苗丹民 王家同 李 强 谢小平 陈足怀 齐建林

【摘要】目的:探讨人参皂甙(Ginsenosides, GS)对睡眠剥夺(sleep deprivation, SD)大鼠记忆保持的影响。**方法:**用小平台水环境法(Flower Pot)建立大鼠SD模型。选用Sprague-Dawley大鼠24只。根据SD时间的不同,将大鼠随机分为三组:24SD(24小时SD组),48SD(48小时SD组)和72SD(72小时SD组),每组又设实验组和对照组。其中,实验组用GS连续灌胃5天,对照组以同样方式给予等量生理盐水,然后给予不同时间的SD。观察各组SD前后在跳台实验中的行为变化。**结果:**SD后各组大鼠跳台测试第一次触电潜伏期均下降,触电次数和触电时间均增加。SD前实验组和对照组的第一次触电潜伏期、触电次数和触电时间无显著差别($p > 0.05$);72SD大鼠的第一次触电潜伏期实验组显著大于对照组($p < 0.05$),触电次数和触电时间,实验组显著低于对照组($p < 0.05$);24SD、48SD的第一次触电潜伏期、触电次数和触电时间,实验组和对照组无显著差别。**结论:**连续口服GS对SD造成的大鼠记忆保持能力受损有明显保护作用。在一定睡眠剥夺时间内,这种保护作用随SD时间的延长而增强。

【关键词】 睡眠剥夺 人参皂甙 大鼠 记忆保持

Effect of Ginsenosides on Memory Retention of Rats in Sleep Deprivation

Yang Guoyu, Huangfu En, Miao Danmin, et al

Dept. of psychology, Faculty of Aerospace Medicine, Fourth Military Medical Univ. Xi'an, Shaanxi, 710032

【Abstract】Objective: To explore the effect of ginsenosides (GS) on the memory retention of rats in sleep deprivation (SD). **Methods:** SD was induced in male Sprague-Dawley rats by employing "Flower Pot" technique. According to the time difference of being deprived of sleep, 24 rats were divided into three groups randomly: 24 SD (being deprived of sleep for 24 hours), 48 SD (being deprived of sleep for 48 hours), 72 SD (being deprived of sleep for 72 hours). And every group was also divided into two subgroups: experimental group and control group. Ginsenosides were forced fed to the experimental groups continuously for 5 days, and normal saline in equal volume to the controls, then the rats were being deprived of sleep for different time. Before and after SD immediately, the behaviors of rats were studied in Step-down test. **Results:** Among all groups, the latency of first electrification decreased, and the number and time of electrification increased after SD. Compared with control groups, the latency of first electrification of experimental group increased significantly in 72 SD ($p < 0.05$), and the number and time of electrification decreased markedly ($p < 0.05$); there were no obvious difference in 24 SD and 48 SD ($p > 0.05$). And no difference was observed between experimental groups and the controls before SD ($p > 0.05$). **Conclusion:** GS showed a memory retention facilitating effect on rats with impaired memory due to SD in Step-down test, and the effect may be enhanced with increased duration of SD to a certain extent.

【Key words】 Sleep deprivation Ginsenosides Rats Memory retention

睡眠剥夺(sleep deprivation, SD)是一种特殊的生理心理状态,它可引起机体生理、心理功能的改变。既往有研究表明^[1,2],SD对动物的短时记忆、记忆的保持和巩固、长时记忆的形成均有影响。人参皂甙是人参的主要药理成分,它对电休克、药物和脑缺血等造成的动物学习记忆受损,有明显保护作用,已有大量报道^[3,4],但对SD状态下的动物学习记忆的影响,未见报道。本研究用动物行为学的方法,初步

探讨人参皂甙(ginsenosides, GS)对SD大鼠记忆保持的影响。

材料和方法

一、实验动物及分组:成年、雄性、健康上海产Sprague-Dawley大鼠27只,体重 $180 \pm 15g$ (由第四军医大学动物研究所提供)。删除对电击不敏感和在跳台上停留时间1分钟以上的大鼠3只。将余下的24

* 本研究为全军“九五”指令性课题(96L050)分课题

只大鼠随机分为 3 组, 每组 8 只: 24 SD 为 24 小时 SD 组, 48 SD 为 48 小时 SD 组, 72 SD 为其中 72 小时 SD 组。各组动物又随机分为实验组和对照组, 其中, 实验组 5 只, 对照组 3 只。

二、睡眠剥夺模型的建立: 采用小平台水环境法 (flower pot)^[5] 建立大鼠 SD 模型。本教研室根据文献, 制作 30×30×30cm 的鼠箱, 其中有一直径为 6.3cm, 高 8.0cm 的平台, 在平台周边注满水, 水温保持在 20℃左右, 水面距平台面约 1.0cm。鼠在平台上可自行饮食饮水。若其睡眠, 则由于肌肉张力松弛而落入水中, 大鼠只能重振精神爬上平台, 这样反复多次达到 SD 的效果。在大鼠活动空间内给予 12hr/12hr 明暗交替, 室内温度控制在 18~22℃。实验前, 让大鼠熟悉适应环境一周。

三、药物来源及给药方法: 人参皂甙, 由白求恩医科大学植物化学教研室提供, 为人参茎叶皂甙 (由 ginseng stem-leaves saponins, GSLS), 粉剂, GS 含量为 90% 以上。实验时, 以生理盐水稀释成适当浓度, 以 50mg/kg 灌胃给药, 每日一次, 连续 5 日, 对照组以同样方式给予等量生理盐水。

四、行为实验: 大鼠跳台 (Step-down test) 由本室根据文献^[6] 自制。1. 大鼠跳台 长×宽×高为 30cm×30cm×30cm, 周壁为绝缘塑料板, 底面铺设可以通电的铜栅, 箱内有一高和直径均为 10cm 的跳台 (绝缘)。训练时, 以铃声作为刺激, 非条件刺激为足底电击。电流强度为 0.7mA, 工作电压为 36 伏。训练开始时, 将大鼠放入箱内适应环境 3 min, 铃响 5s 后, 电击 10s, 间歇 20s。大鼠受到电击后跳上绝缘跳台为被动回避反应; 听到铃声而未受到电击即跳上跳台考为主动回避反应。如此训练, 直到大鼠在绝缘跳台上停留时间超过 5min, 作为大鼠跳台回避反应达到巩固水平 (学会标准)。实验测试时, 将大鼠放在跳台上, 立即通电, 观察大鼠的行为反应。实验指标: 以将大鼠放在跳台上到第一次跳下的时间为第一次触电潜伏期 (latency of first electrification), 5min 内的触电次数 (number of electrification) 及触电时间 (time of electrification)。2. 行为实验程序 训练: 各组大鼠均适应环境后开始进行跳台训练。以 10 次训练为一训练单元, 中间休息 15 分钟, 每日每鼠训练至学会 (在绝缘跳台上停留时间超过 5min), 共训练 3 天。行为测试: 各组动物均于 SD 前和 SD 后立即测试其跳台记忆成绩。

五、数据处理 跳台测试 5min 内的触电次数、触电时间及第一次触电潜伏期取每组中各只大鼠的平

均值, 实验数据采用 SPSS 软件包进行单因素方差分析, 两两比较用 Neuman-Keuls 检验。

结 果

各组大鼠 SD 后跳台测试第一次触电潜伏期均下降, 触电次数和触电时间均增加。SD 前实验组和对照组的第一次触电潜伏期、触电次数和触电时间无显著差别 ($p > 0.05$); 72SD 大鼠的第一次触电潜伏期实验组显著大于对照组 ($p < 0.05$), 触电次数和触电时间, 实验组显著低于对照组 ($p < 0.05$); 24SD、48SD 的第一次触电潜伏期、触电次数和触电时间, 实验组和对照组无显著差别 ($p > 0.05$) (见表 1~3。)

表 1 不同时间 SD 大鼠在跳台测试中的第一次接触电潜伏期 (s)

组 别	00SD	24SD	48SD	72SD
实验组	288.08 ± 15.65	139.0 ± 99.71	43.58 ± 36.05	30.15 ± 21.42
	283.66 ± 20.42	80.07 ± 53.48	12.97 ± 8.75	7.43 ± 0.67
对照组	0.3478	0.9394	1.4036	2.3675
	0.3699	0.1919	0.1050	0.0160

表 2 不同时间 SD 大鼠在跳台测试中 (5min) 的触电次数

组 别	00SD	24SD	48SD	72SD
实验组	0.20 ± 0.45	1.00 ± 0.71	2.00 ± 1.22	3.00 ± 1.22
对照组	0.33 ± 0.58	1.33 ± 0.58	3.67 ± 2.08	7.33 ± 2.89
t	0.3692	0.6847	1.4597	3.0528
P	0.3623	0.2596	0.0973	0.0112

表 3 不同时间 SD 大鼠在跳台测试中 (5min) 的触电时间 (s)

组 别	00SD	24SD	48SD	72SD
实验组	0.19 ± 0.22	1.70 ± 1.31	3.52 ± 2.31	7.48 ± 2.57
对照组	0.23 ± 0.19	2.27 ± 1.42	7.03 ± 3.25	28.83 ± 5.64
t	0.2688	1.1715	1.8035	2.4150
P	0.3985	0.3977	0.0607	0.0104

讨 论

SD 是一种特殊的心理、生理状态, 它可造成动物情绪不稳、易激惹, 学习、记忆能力下降。本实验采用的 SD 装置一小平台水环境法是研究 SD 的常用方法。它是利用面积有限的小平台使大鼠只能立于其上, 当其进入快速眼动睡眠 (rapid eye move sleep, REM 睡眠) 时, 大鼠神志消失, 全身肌肉松弛聚然落水而惊醒只好爬上平台以维持清醒状态。再进入 RME 睡眠又落水, 如此反复导致 SD。该方法主要剥夺 REM 睡眠。既往研究认为 REM 睡眠对学习记忆的获得有重要意义, REM 睡眠 SD 影响学习记忆能力。

Smith^[7], Youngblood^[5] 等的研究表明, REM 睡眠 SD 对大鼠在 Morris 迷宫中的空间学习 (spatial learning)、参照性空间记忆 (reference spatial memory) 产生明显损害, 而对非空间学习、工作记忆 (working memory) 则无明显影响。有研究^[1,2] 观察到, 大鼠学习后立即给予 REM 睡眠 SD, 对大鼠记忆巩固明显不利, REM 睡眠 SD 影响大鼠跳台回避反应短时记忆和记忆的保持, 其影响程度随 SD 时间的延长而加大。

本研究结果表明, 大鼠经过 SD 后, 其记忆保持能力受影响, 表现为跳台实验第一次触电潜伏期下降, 触电次数和触电时间增加。且其影响程度随 SD 时间的延长而加大。这与以往研究结果相一致。SD 前给大鼠连续口服 GS 可有效的改善 SD 造成的记忆保持能力下降, GS 对其记忆保持能力损害有明显保护作用, 使其第一次触电潜伏期增加、触电次数和触电时间减少。这种对抗作用随 SD 时间的延长而增强, 以 72SD 最为明显。但 GS 对正常大鼠 (SD 前) 的学习记忆促进作用不明显。

学习、记忆是脑的最高级机能—智能的重要组成部分, 它们是两个不同而密切联系的神经理和生理、心理过程。学习与记忆是通过神经系统突触部位的一系列生理、生化和组织学的可塑性变化而实现。它们的完成不仅需要机体充足的血液和营养供应, 也需要充足而高效的睡眠作保证。SD 可引起 CNS 电生理和生化的变化, 如 REM 睡眠 SD 可使海马 θ 波的丢失, 同时伴有记忆的损害; SD 也可导致 CNS 的神经递质 (如 Ach、5-HT 等) 发生紊乱^[8], 从而使学习、记忆能力受损。

GS 是人参的主要药理成分, 近年来的研究发现, 它含有多种单体, 如 Ra、Rb、Rf、Rg、Rh、PO、F4 等。GS 对学习记忆的促进作用, 国内外学者已有大量研究^[3,4]。发现 GS 对正常动物和学习记忆受损动物 (如休克、脑缺血、药物等) 的学习记忆均有促进作用。有的研究还发现, 这种作用对学习记忆受损动物更为明显^[4]。本研究表明, GS 对 SD 大鼠的学习记忆受损有明显保护作用。可能原因如下: ①短时间 SD 对大鼠学习记忆影响不大, 药物作用无法显现; ②人参皂甙属于中药, 其半衰期长, 起效慢, 作用缓和, 作用时间持久^[9]。GS 促进学习记忆的中枢机制已有大量文献报道^[10,11]。研究认为, GS 的主要促智成分 Rb1 和 Rg1 可增强胆碱能系统的功能, 增加脑突触受体对 ^3H -胆碱的摄取, 增加乙酰胆碱的合成与释放。GS 也可提高大鼠脑中去甲肾上腺素、多巴胺的含量。而对 5-HT 的影响则成双向性, 因此认为

GS 可能调节各递质的水平, 使其达到平衡状态而促进学习记忆。另外, GS 还可通过增加脑血流、增强脑核酸和蛋白质的合成、影响第二信使 c-AMP 的含量, 增加海马突触的数目和面积, 从而诱发海马长时程突触效应增强 (long term potentiation, LPT) 现象, 并促进大鼠的学习记忆行为^[12]。

在战争环境下或特殊职业里, 睡眠剥夺是不可避免的。因此, 为了保证人员的安全与健康, 保证作战和特殊职业工作的需要, 探讨减少睡眠剥夺对机体影响的措施具有十分重要的意义。人参皂苷作为中药, 有其优越性, 如能平衡治病、易得、无短长期副作用、无成瘾性等, 应大力倡导在中医中药领域中对 SD 对抗措施的研究, 以满足作战等特殊职业的需要。

参考文献

- 1 李德明, 邵道生. 快速眼动 (REM) 睡眠剥夺对大鼠记忆巩固的影响. 心理学报, 1981, (2): 226 ~ 237.
- 2 刘善循, 李德胆. 睡眠剥夺对大鼠短时记忆和记忆保持的影响. 心理学报, 1986, (4): 409 ~ 412.
- 3 MA Tian - Cai, YU Qing - Hai, CHEN Ming - Hua, Effect of ginseng stem - leaves saponins on one - way avoidance behavior in rats. Acta Pharmacologica, 1991, 12 (5): 403 ~ 406.
- 4 曹颖林, V.D.Petcov, I Todorov, et al. 中国 GSLS 对大鼠行为的影响. 沈阳药科大学学报, 1996, 13 (3): 185 ~ 188.
- 5 Youngblood BD, Zhou J, Smagi GN, et al. Sleep deprivation by the: "flower pot" technique and spatial reference memory. Physiol Behav, 1997, 61 (2): 249 ~ 256.
- 6 徐叔云, 卞如廉, 陈修主编. 药理实验方法学, 第二版. 北京: 人民卫生出版社, 1991, 642 ~ 643.
- 7 Smith CT, Conway JM and Rose GM. Brief paradoxical sleep deprivation impairs reference, but not working memory in the radial arm maze task. Neurobiol - Learn - Mem, 1998, 69 (2): 211 ~ 217.
- 8 Oniani TN. Role of sleep in the regulation of learning and memory. Translation from Fiziologiya Cheloveka, 1982, 69 (2): 211 ~ 217.
- 9 上官隽华, 刘国诠. 人参成分的代谢研究进展. 中草药, 1999, 30 (11): 865 ~ 870.
- 10 陈嘉峰, 崇瑞义, 秦震. 人参皂苷对实验性脑缺血脑组织内 Ach、ChAT 的影响. Chin J Neurosci, 1995, 2 (2): 90 ~ 92.
- 11 Salim - KN, McEwen - BS and Chao - HM. Ginsenoside Rb1 regulates ChAT, NGF and trkA mRNA expression in the rat brain. Brain Res Mol Brain Res, 1997, 47 (12): 177 ~ 182.
- 12 汪健, 姜艾琳. 人参总皂苷对大鼠海马突触影响的形态定量研究. 基础医学与临床, 1998, 18 (3): 61 ~ 63.