

证病结合的异常黑胆质型阿尔茨海默病(AD)模型的建立及行为学改变

热娜古丽·艾则孜¹, 帕丽丹·吾术尔², 努尔买买提·艾买提³

1. 新疆医科大学附属中医医院肿瘤科, 乌鲁木齐 830000

2. 新疆医科大学附属中医医院心身科, 乌鲁木齐 830000

3. 新疆医科大学维吾尔医学院, 乌鲁木齐 830011

摘要 在前期已建立的异常黑胆质载体动物模型的基础上, 采用聚集态 A β 1-40 双海马定向注射制备证病结合的异常黑胆质型阿尔茨海默病(AD)模型, 并以 Morris 水迷宫及跳台实验验证证病结合模型的行为学改变特点。结果表明, 各组大鼠饮食、水量及体重变化: 单纯(AD)组、异常黑胆质证组饮食、水量较正常对照组增加 ($P < 0.05$); 证病结合的异常黑胆质型 AD 模型组饮食、水量较异常黑胆质组减少 ($P < 0.01$); 单纯 AD 组、异常黑胆质证组、证病结合组体重较正常对照组均减轻 ($P < 0.01$)。各组大鼠 Morris 水迷宫空间探索试验经过有效区域次数: 与正常对照组比较, 单纯 AD 组、异常黑胆质证组、证病结合组经过有效区域次数均减少 ($P < 0.01$); 与单纯 AD 组相比, 证病结合组经过有效区域次数明显减少 ($P < 0.05$)。各组大鼠跳台测试: 与空白对照组比较, 单纯 AD 组、异常黑胆质证组和证病结合组反应期延长, 潜伏期缩短, 错误次数增多, 学习记忆成绩明显降低 ($P < 0.01$); 证病结合组与单纯痴呆组相比略低, 但无统计学差异 ($P > 0.05$)。由此得出, 在异常黑胆质载体大鼠模型的基础上, 采用聚集态 A β 1-40 双海马定向注射制备证病结合的异常黑胆质型 AD 模型, 不仅动物体表特征的变化符合维医体液证候改变特点, 通过行为学验证后学习记忆改变特点又符合西医疾病的特点。

关键词 阿尔茨海默病; 异常黑胆质证; 动物模型

中图分类号 R29

文献标志码 A

doi 10.3981/j.issn.1000-7857.2015.08.013

Developing Alzheimer's disease rat model carrying abnormal savda syndrome and observing its behavioral changes

AIZEZI Renaguli¹, WUSHOUER Palida², AIMAITI Nuermaimaiti³

1. Department of Oncology, the Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China

2. Department of Psychosomatic, the Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital, Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China

3. Faculty of Traditional Uighur Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

Abstract This paper developed an Alzheimer's disease rat model carrying abnormal Savda syndrome and studied its behavioral changes. First of all, an abnormal Savda syndrome rat model was developed by using the classical method then β -Amyloid 1-40 was injected into hippocampus to establish Alzheimer's disease in these rats. After observing the biological characteristics and testing behavioral changes with Morris water maze test and step down test, the abilities of learning and memorizing of different model groups were compared. Compared with the normal group, the daily food and water intake was increased in the abnormal Savda syndrome group and the AD group ($P < 0.01$), the body weigh was decreased in the abnormal Savda syndrome group, the AD group and the AD

收稿日期: 2014-10-20; 修回日期: 2015-01-26

基金项目: 国家自然科学基金项目(81202773)

作者简介: 热娜古丽·艾则孜, 副教授, 研究方向为新疆重大疾病维吾尔医干预, 电子信箱: rena727@sina.com; 努尔买买提·艾买提(通信作者), 研究员, 研究方向为新疆重大疾病维吾尔医干预, 电子信箱: oglan1972@126.com

引用格式: 热娜古丽·艾则孜, 帕丽丹·吾术尔, 努尔买买提·艾买提. 证病结合的异常黑胆质型痴呆模型的建立及行为学改变[J]. 科技导报, 2015, 33(8): 77-83.

carrying abnormal Savda syndrome group ($P<0.01$). The numbers of crossing the effective area were reduced in the abnormal Savda syndrome group, the AD group and the AD carrying abnormal Savda syndrome group ($P<0.01$) with respect to the normal group. The number of crossing the effective area was smaller in the AD carrying abnormal Savda syndrome group ($P<0.05$) than that in the AD group. The learning and memory scores were significantly lower in the abnormal savda syndrome group, the AD group and the AD carrying abnormal Savda syndrome group ($P<0.01$) than those in the normal group. Compared with the AD group, the learning and memory scores slightly lowered in the AD carrying abnormal Savda syndrome group without any significant statistical difference ($P>0.05$). In this research, the Alzheimer's disease carrying abnormal Savda syndrome rat model was developed successfully.

Keywords Alzheimer's disease; abnormal Savda syndrome; animal models

老年阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是由多种原因引起老年神经系统退行性疾病, 以记忆、认知功能障碍及神经功能受损为主要特征, 可伴有语言、运动、视空间技能及人格障碍等。随着人类寿命的普遍延长, 老年 AD 的发病率也大大增加, 目前已成为严重威胁老年人健康的严重疾病。在 AD 的机制研究中, “淀粉样级联假说” (amyloid cascade hypothesis) 所提出的 β -淀粉蛋白 (β -Amyloid, A β) 在启动 AD 的病原级联反应方面处于中心地位^[1]。与现代医学研究相结合来看, 老年人的大脑萎缩, 重量较青壮年轻, 与维吾尔医学“异常黑胆质神经毒”理论相近似。老年 AD 的 A β 淀粉样蛋白沉积、神经纤维缠结等主要病理改变与维吾尔医学致病物质 (异常黑胆质) “沉淀” \rightarrow “沉淀物” \rightarrow “刺激” \rightarrow “影响脑组织气质” \rightarrow “影响脑组织物质代谢障碍” \rightarrow “神经阻滞、神经损伤病” \rightarrow 导致老年 AD 的病机类似^[2]。用现代医学理论阐述传统医学证的本质是实现传统医学和现代医学结合的基础, 是揭示传统医药理论科学内涵的关键, 是研究天然药物作用机制的前提。阿衣努尔·买提斯迪克等^[3]以维吾尔医学理论为指导, 成功建立了异常黑胆质载体大鼠动物模型并用维药异常黑胆质成熟剂对该模型进行干预, 发现异常黑胆质成熟剂能有效控制异常黑胆质证大鼠模型血液黏度增高及凝血功能异常。玉苏甫·吐尔逊等^[4]在异常黑胆质载体大鼠模型的基础上, 用二乙基亚硝胺 (DEN) 诱发建立维吾尔医异常黑胆质性肝癌病证模型至模型大鼠发生肝硬化。阿布力孜·阿卜杜扎依尔等^[5]用异常黑胆质成熟剂低、中、高不同剂量对异常黑胆质性肝癌病证模型全程干预, 发现异常黑胆质成熟剂对异常黑胆质性肝癌病证模型肝硬化期的肝脏组织形态改变有一定的保护。本研究以维吾尔医学理论为指导, 在建立异常黑胆质载体动物模型的基础上, 采用聚集态 A β 1-40 双海马定向注射制备证病结合的异常黑胆质型 AD 模型, 并以 Morris 水迷宫及跳台实验验证证病结合模型的行为学改变特点。

1 研究内容与方法

1.1 研究对象

1.1.1 动物

雄性 SPF 级 Wistar 大鼠, 体重 300 ~ 350 g, 鼠龄 8 ~ 10 周, 购自新疆医科大学医学实验动物中心, 许可证号为 SCXK (新) 20032001。所有大鼠均饲养于新疆医科大学动物实验

中心 SPF 级清洁鼠房。

1.1.2 主要仪器与试剂

RQH-350 型人工气候箱, 上海精宏实验设备有限公司; BS-1105 型电子天平, 北京赛多科斯天平有限公司; DDT-2 大鼠跳台仪 (手动), 万华仪器出品; 100 $^{\circ}$ C 水浴锅, 常州国华电器有限公司; MT-200 Morris 水迷宫视频跟踪分析系统, 成都泰盟科技有限公司; 微量注射器, 上海精密仪器制造厂; NARISHIGE SN-2 型大鼠脑立体定位仪, 日本产; β -淀粉样蛋白 1-40 (β -Amyloid 1-40, A β 1-40) 购自美国 Sigma 公司。

1.2 内容与方法

1.2.1 分组

大鼠完全随机分为正常对照组 (假手术组)、单纯 AD 组、异常黑胆质证组、AD 异常黑胆质病证结合组, 每组 12 只。实验前对每只动物进行一般状态、生命体征观察并记录, 舌象每天拍照 1 次, 各组动物适应性喂养 1 周后调整饲养环境。

1.2.2 聚集态 A β 1-40 的制备

无菌条件下将 A β 1-40 用 Mi11iQ 水稀释成 5 μ g/ μ L, 放置在 37 $^{\circ}$ C 恒温箱内孵育 1 周, 使其变为聚集态 A β 1-40 后放入 -20 $^{\circ}$ C 冰箱中备用。

1.2.3 造模

按照造模方法^[6]进行异常黑胆质证的模型制作, 造模成功后 (15 d), 经生物表征系统评价后将选入大鼠随机分为异常黑胆质证组和 AD 异常黑胆质病证结合组, 各 12 只。正常饲养环境大鼠完全随机分为正常对照组 (假手术组)、单纯 AD 组, 各 12 只。分组后于第 1 阶段造模后第 15 天, 将正常对照组 (假手术组)、单纯 AD 组、异常黑胆质证组、AD 异常黑胆质病证结合组大鼠禁食水 4 ~ 6 h (在预实验中发现未禁食状态下手术麻醉醒后有肠梗阻死亡情况发生), 将市售分析纯水合氯醛用蒸馏水配制成浓度为 10% 的溶液, 按 3 mL/kg 体重分别经腹腔注射麻醉后, 固定到脑立体定位仪上, 使前、后囟位于同一水平, 左右对称。常规备皮消毒, 切开皮肤; 选择双侧海马为注射靶区, 定位坐标参照 Paxinos-Watson 大鼠脑立体定位图谱^[7], 取囟后 3.5 mm, 中线旁 1.5 ~ 2.0 mm, 门齿沟平面低于耳间线平面 3.3 mm 处钻开颅骨, 暴露硬脑膜, 微量注射器自脑表面缓慢垂直进针至硬脑膜下 2.7 ~ 3.0 mm (图 1 和图 2^[4])。正常对照 (假手术) 组、异常黑胆质证组每侧缓慢注射生理盐水 2 μ L, 单纯 AD 组、AD 异常黑胆质病证结合组

大鼠每侧缓慢在5 min内注入2 μ L聚集态A β 1-40溶液,术中留针5 min以保证溶液充分弥散,缓慢撤针,缝合切口,术后当天开始以80万单位青霉素用1 mL生理盐水稀释后以每只8万单位/0.1 mL腹腔内注射3 d防止感染。术后正常对照(假手术)组、单纯AD组正常饲养环境下喂养,异常黑胆质证组、AD异常黑胆质病证结合组大鼠于术后3 d继续给予干寒饲养环境、干寒属性的特殊饲料、间断足底电刺激等多因素复合作用15 d后进行行为学检测。自海马微量注射术后至行为学检测完毕共21 d。



图1 A β 1-40聚集态溶液双海马注射
Fig. 1 Injection of aggregated A β 1-40

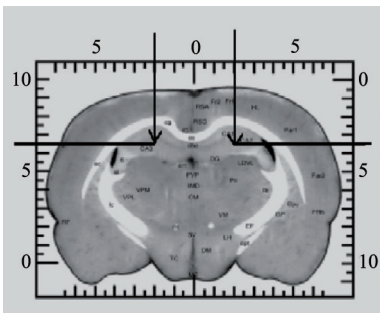


图2 海马注射点
Fig. 2 Injection site of hippocampus

1.2.4 大鼠行为学检测

1.2.4.1 Morris水迷宫实验

造模第17天进行Morris水迷宫实验。采用MT-200 Morris水迷宫视频跟踪分析系统进行测试,实验器材由圆形水池和自动录像分析系统两部分组成。圆形水池由不锈钢制成,直径120 cm,高50 cm。水池被等分为4个象限:西南象限(South West, SW),西北象限(North West, NW),东南象限(South East, SE),东北象限(North East, NE)。水深30 cm,平台位于任一象限的中间,且表面低于水面1~2 cm。水温保持在26 $^{\circ}$ C左右。池上方的摄像机同步记录大鼠的运动轨迹。经软件的分析处理,得到实验数据。水迷宫实验环境要求安静,避免一切外界干扰,保持房间安静,温度适宜,光线柔和,实验期间迷宫外的参照物始终保持不变以供大鼠定位。为使水池中的水呈不透明的白色可在水池中加入食用

白色素,大鼠头部用苦味酸染成黄色,使其与池水形成鲜明对比,利于摄像机捕捉影像。实验程序参照Morris等^[8]的方法进行。1) 定位航行试验(place navigation),用于测量大鼠对水迷宫学习和记忆的获取能力,即记录其潜伏期。历时5 d,第1天池中无平台,使大鼠在池中自由游泳120 s,进行适应性训练。以后4 d训练时随机选择一个象限将大鼠面向池壁放入水中,迫使大鼠学习寻找设于水面以下的平台。电脑中记录120 s内寻找平台所需时间即潜伏期及路线图。如果120 s内未能找到平台,可将其引导至平台并在平台停留60 s,潜伏期记录为120 s。每天训练4次,每次训练间隔60 s。系统自动记录多项参数;2) 空间探索试验(spatial probe test),用于测量大鼠学会寻找平台后,对平台空间位置记忆的保持能力^[9]。定位航行试验结束后撤去平台,将大鼠面向池壁任选一个入水点放入水中,可以记录120 s内跨越原平台位置的次数及经过有效区域次数并进行比较分析。数据搜集和处理由Morris水迷宫系统软件完成。

1.2.4.2 跳台测试

Morris水迷宫测试结束后将大鼠放入箱中自由活动5 min熟悉环境,然后将箱底的金属杆通以36 V的交流电电流,其正常反应是跳上橡胶制的平台以躲避伤害性刺激,多数动物可能再次或多次跳至金属杆上,受到电击后又迅速跳回平台^[10]。记录大鼠反应期(首次跳到平台的时间)和5 min内错误次数(大鼠再次跳到金属杆上的次数),作为学习成绩。24 h后重复试验,将大鼠放到平台上并同时通电,记录潜伏期(第1次跳下平台的时间)和5 min内的错误次数,从而反映大鼠的记忆保持能力,进行统计学检验。

1.3 质量控制

为避免生理节奏的影响,每天上午10—11时测量大鼠体重及观察生物表征。水迷宫实验需选择固定场所、固定时间进行,环境要求安静,避免一切外界干扰。

1.4 统计方法

数据采用SPSS 13.0统计学软件处理,以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,Morris水迷宫中定位航行试验逃避潜伏期采用重复测量数据的多因素方差分析比较,其他组间比较正态分布定量数据采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异显著,两组间均数比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为有明显差异, $P < 0.01$ 为有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 AD异常黑胆质病证结合模型阶段生物表征的改变

海马A β 1-40注射术后3 d,异常黑胆质证与AD异常黑胆质病证结合组继续3因素模型环境中喂养14 d,当行为学测试结束时于实验第21天再次记录生物表征相关数据,统计数据显示(表1):与正常对照组比较,单纯AD组、异常黑胆质证组、病证结合组体重均减轻($P < 0.01$);单纯AD组饮水量下降($P < 0.05$);异常黑胆质证组饮水量增加($P < 0.01$);单纯

AD组饮水量减少($P < 0.01$);异常黑胆质证组饮水量增加($P < 0.05$)。与病证结合组比较,正常对照组、单纯AD组体重增加($P < 0.01$);单纯AD组饮水量减少($P < 0.01$);异常黑胆质证组饮水量增加($P < 0.01$)。

表1 病证结合模型阶段各组大鼠体重、饮食量和饮水量的变化($\bar{x} \pm s, n=12$)

Table 1 Weight diet and drinking changes in combining disease syndrome model stage($\bar{x} \pm s, n=12$)

分组	体重/g	饮食量/ ($g \cdot (100 g)^{-1}$)	饮水量/ ($mL \cdot (100 g)^{-1}$)
正常对照组	405.18±10.4 ^{##}	4.95±0.46	9.51±1.18 [#]
单纯痴呆组	381.29±10.33 ^{###}	4.47±0.31 [*]	5.32±1.21 ^{###}
异常黑胆质证组	359.02±8.31 ^{**}	6.41±1.11 ^{**}	13.28±1.81 ^{###}
痴呆异常黑胆质 病证结合组	352.09±4.14 ^{**}	4.92±0.62	10.49±1.02

注:与正常对照组相比,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$;与痴呆异常黑胆质病证结合组比较,#表示 $P < 0.05$,##表示 $P < 0.01$ 。

2.2 痴呆异常黑胆质病证结合模型阶段大鼠行为学检测结果

2.2.1 Morris水迷宫实验

2.2.1.1 各组大鼠Morris水迷宫定位航行试验逃避潜伏期结果比较

从图3~图6可以看出,各组大鼠在Morris水迷宫实验的第1天处于学习的阶段,游泳轨迹为边缘型和随机型,第2天训练时部分大鼠会对平台的位置有一些记忆,仍处在学习的过程,搜索策略还是表现为随机型,正常对照组第3天和第4天游泳时凭借空间记忆找到平台,搜索策略开始倾向于趋向型或直线型。异常黑胆质证组大鼠以随机型或趋向型为多,在水中游泳速度明显增快。单纯AD组和病证结合组大鼠学习记忆能力明显较其余组差,表现为入水后搜索策略仍表现为随机型,病证结合组大鼠第4天训练时游泳轨迹仍然杂乱无章,表现为随机型。表2的统计数据显示,正常对照组不同时间点之间均有显著性差异,潜伏期呈下降趋势。单纯AD组和AD异常黑胆质病证结合组找到平台的时间均明显长于正常对照组,与正常对照组比较单纯AD组第4天最明显($P < 0.01$)。AD异常黑胆质病证结合组的潜伏期与正常对照组比较每个时间点都有显著差异($P < 0.01$)。AD异常黑胆质

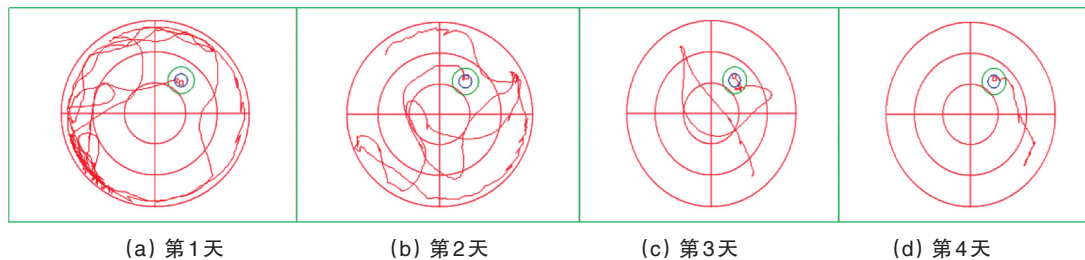


图3 正常对照组Morris水迷宫定位航行1~4 d轨迹

Fig. 3 Escape latencies during 4 days of water maze acquisition in normal group

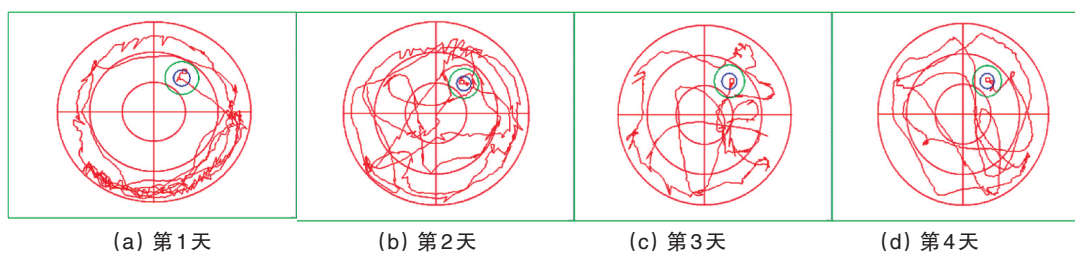


图4 单纯痴呆组Morris水迷宫定位航行1~4 d轨迹

Fig. 4 Escape latencies during 4 days of water maze acquisition in AD group

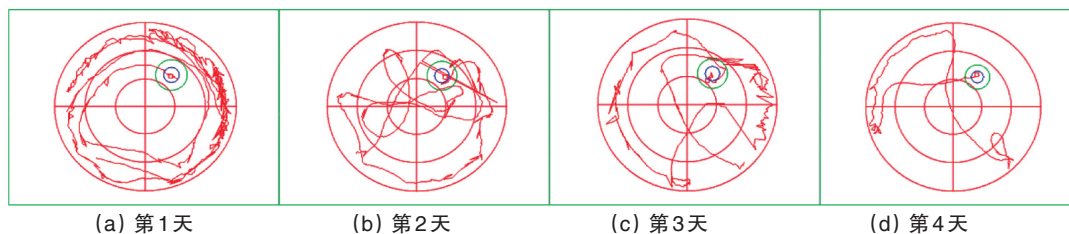


图5 异常黑胆质证组Morris水迷宫定位航行1~4 d轨迹

Fig. 5 Escape latencies during 4 days of water maze acquisition in abnormal Savda syndrome group

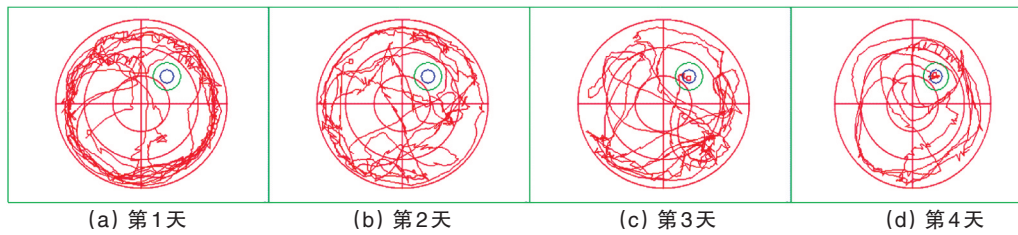


图6 AD异常黑胆质病证结合组Morris水迷宫定位航行1~4 d轨迹

Fig. 6 Escape latencies during 4 days of water maze acquisition in combining disease and syndrome group

表2 各组大鼠定位航行试验潜伏期不同时间比较 ($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Escape latencies in Morris water maze ($\bar{x}\pm s$)

分组	潜伏期/d			
	1	2	3	4
正常对照组	56.92±6.41	42.41±6.02	30.70±5.22	15.11±1.72
单纯AD组	75.02±7.49*	47.49±6.31	51.89±5.90*	75.29±6.47**
异常黑胆质证组	47.31±6.29	36.21±5.72	49.10±5.93*	49.58±6.09**
AD异常黑胆质证结合组	86.61±8.41**	84.23±9.42**	77.21±8.31**	78.28±6.49**

注:与正常对照组相比,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$ 。

病证结合组与单纯AD组及异常黑胆质组比较在每个时间点潜伏期均延长,提示病证结合模型学习记忆能力受损最为明显。第1、2天异常黑胆质证组与正常对照组寻找平台的时间差异不明显,但第3、4天异常黑胆质证组与正常对照组寻找平台的时间差异明显,提示异常黑胆质证组模型的学习记忆能力降低。

2.2.1.2 各组大鼠Morris水迷宫空间探索试验经过有效区域次数结果比较

表3中大鼠经过有效区域次数与正常对照组比较:单纯AD组、异常黑胆质证组、AD异常黑胆质病证结合组均有统计学差异($P < 0.01$);与单纯AD组相比痴呆异常黑胆质病证结合组经过有效区域次数明显减少($P < 0.05$)。提示异常黑胆质病证结合组模型学习记忆受损最为明显。

2.2.2 跳台测试

各组大鼠跳台测试结果显示,与空白对照组比较:单纯AD组、异常黑胆质证组和AD异常黑胆质病证结合组反应期

延长,潜伏期缩短,错误次数增多,学习记忆成绩明显降低($P < 0.01$);AD异常黑胆质病证结合组与单纯AD组相比略低,但无统计学差异($P > 0.05$),见表4。

表3 各组大鼠空间探索试验经过有效区域次数组间比较 ($\bar{x}\pm s, n=12$)

Table 3 Number of crossing the target area in spatial probe test ($\bar{x}\pm s, n=12$)

分组	经过有效区域次数
正常对照组	6.11±1.19
单纯痴呆组	2.48±0.79**
异常黑胆质证组	3.61±0.52**
痴呆异常黑胆质病证结合组	1.90±0.61***

注:与正常对照组相比,**表示 $P < 0.01$;与单纯AD组相比,#表示 $P < 0.01$ 。

表4 各组大鼠跳台测试学习和记忆成绩组间对比 ($\bar{x}\pm s, n=12$)

Table 4 Learning and memory performance in step-down test ($\bar{x}\pm s, n=12$)

分组	学习成绩		记忆成绩	
	反应期/s	错误次数	潜伏期/s	错误次数
正常对照组	11.18±2.31	1.59±1.10	236.1±75.04	0.90±0.49
单纯痴呆组	21.6±2.01**	5.9±2.41**	134.92±33.01**	3.52±0.81**
异常黑胆质证组	18.4±2.29**	3.4±2.20**	159.89±23.37*	2.22±0.71**
痴呆异常黑胆质证结合组	25.0±3.31***	6.79±2.89***	122.42±91.54***	4.21±0.94***

注:与正常对照组相比,*表示 $P < 0.05$,**表示 $P < 0.01$;与单纯AD组相比,#表示 $P < 0.01$ 。

3 讨论

维吾尔医学古籍中老年痴呆属于“善忘”、“遗忘”等范畴。在维医古代医学文献中对“善忘”、“遗忘”等疾病的病因病机、症状体征及防治等均有大量的描述和记载。维医认为年迈者易被“异常黑胆质”困扰,异常黑胆质与AD的发生、发展关系最为密切,是AD等老年病的病理基础和重要特征,能准确全面地反映AD的本质^[11]。维医病理学认为异常黑胆质通过以下几种病理机制导致“善忘”、“遗忘”等疾病^[12]:1) 异常黑胆质形成之后其干寒属性增强,使机体气质异常、支配器官功能和机体自然力减弱;2) 异常黑胆质体液分量较重,质地较稠,易在脑组织产生沉着,影响脑组织的营养力、摄主力、生长力等生理功能;3) 异常黑胆质体液使正常黑胆质体液失去固有的思维、感觉和记忆等功能。可以看出异常黑胆质从不同途径和/或不同程度上影响脑组织和细胞的正常生理功能。

淀粉样蛋白级联假说认为A β 的异常沉积是造成AD神经元退行性病变以及认知功能减退的直接原因,该假说成为海马注射聚集态A β 致痴呆动物模型的理论基础^[13]。“证”是包括维吾尔医学在内的传统医学所特有的概念,是传统医学辨证论治的起点和核心,是指在疾病的发生、发展过程中一组具有内在联系的、能够反映疾病过程在某一阶段的病理病机。“证”不仅包括一定的病理生理状态,且代表疾病在发展过程中某一阶段的动态表现^[14]。用现代医学理论阐述传统医学证的本质是实现传统医学和现代医学结合的基础,是揭示传统医药理论科学内涵的关键,是研究天然药物作用机理的前提。目前有关证候模型实验研究的主要趋势是根据“证候表征理论”建立“证候表征模型”。近年来,哈木拉提·吾甫尔课题组从维医异常黑胆质证的病因角度入手,采用干寒属性饲料、干寒饲养环境和慢性电击等病因因素研制出异常黑胆质证候动物模型,而且运用自然恢复反证验证了异常黑胆质证候模型的可行性,采用以药反证来反推和验证了异常黑胆质证候模型的可靠性^[15,16]。本研究在异常黑胆质载体动物模型的基础上,采用聚集态A β 1-40双海马定向注射制备证病结合的异常黑胆质型痴呆模型。研究结果显示,痴呆异常黑胆质证结合模型生物表征的改变较单纯异常黑胆质证模型更加明显。异常黑胆质证组舌紫黯、有瘀斑、少苔,病证结合组与异常黑胆质组比较争食水减少,反应迟钝,故痴呆异常黑胆质证结合组舌质紫黯更明显且舌欠津。异常黑胆质证皮肤毛发于造模14 d后出现掉毛现象,而病证结合组不仅掉毛增多,由于活动减少,较少清理毛发故毛中见木屑多,形体日渐消瘦,腹部内凹、弓背以病证结合组更为明显。统计数据也表明与正常对照组相比病证结合组体重减轻($P < 0.01$),单纯痴呆组饮食、水量减少,异常黑胆质证组饮食、水量增加,病证结合组由于动物争抢食水较少,少动,反应迟钝,饮食、水量反较异常黑胆质组减少,故体重减轻明显,体型瘦弱。

学习记忆障碍是AD患者一个重要的临床症状和特征,表现为比较突出的近期记忆受损^[17]。Morris水迷宫是1981年英国科学家Morris发明的,Morris水迷宫的图像采用计算机自动采集和处理系统,视频跟踪系统进行客观记录。本实验中选用定位航行实验、空间探索实验两个实验程序。研究中主要分析了逃避潜伏期和空间探索试验中的经过平台的有效区域次数,通过SPSS 13.0软件,采用定量数据重复测量的方差分析对其进行了统计并记录了大鼠不同时间段的航行轨迹。逃避潜伏期是学习记忆能力损害中最敏感的指标之一,因为它需要准确地定位原平台所在位置。空间探索试验中经过平台的有效区域次数则反应了各组大鼠对平台空间位置准确记忆,即记忆保持能力^[18]。实验结果显示,各组大鼠第1天处于学习的阶段,游泳轨迹为边缘型和随机型,第2天训练时部分大鼠会对平台的位置有一些记忆,仍处在学习的过程,搜索策略还是表现为随机型,正常对照组第3天和第4天游泳时凭借空间记忆找到平台,搜索策略开始倾向于趋向型或直线型。异常黑胆质证组大鼠以随机型或趋向型为多,在水中游泳速度明显增快,开始训练时成绩与正常对照组差异不明显,但第3、4天与正常对照组寻找平台的时间差异明显,提示异常黑胆质证组模型的学习记忆能力降低,异常黑胆质对模型的学习行为能力有损伤。痴呆异常黑胆质证结合组与单纯痴呆组学习记忆能力明显较其余组差,痴呆异常黑胆质证结合组与单纯痴呆组相比潜伏期延长更明显,第4天训练时游泳轨迹仍然杂乱无章,表现为随机型,逃避潜伏期与正常对照组比较每个时间点都有显著差异($P < 0.01$)。空间探索能力中经过有效区域次数明显减少($P < 0.01$)。结果表明,痴呆异常黑胆质证结合组从开始训练到实验结束游泳轨迹都杂乱无章,统计结果与正常对照组比较差异显著,学习、记忆能力严重受损。Morris水迷宫行为学检测结果中病证结合模型大鼠产生的AD相似的学习记忆功能障碍说明A β 1-40和异常黑胆质环境是导致该模型记忆障碍的原因。

跳台实验其正常反应是跳上橡胶制的平台以躲避伤害性刺激,研究中各组大鼠跳台测试结果显示与空白对照组比较,单纯痴呆组、异常黑胆质证组和痴呆异常黑胆质证结合组反应期延长,潜伏期缩短,错误次数增多,学习记忆成绩明显降低($P < 0.01$);痴呆异常黑胆质证结合组与单纯痴呆组相比略低,但无统计学差异($P > 0.05$)。

4 结论

研究将“病”和“证”的因素集于一体而建立的病证结合动物模型,不仅动物体表特征的变化符合维医体液证候改变特点,通过行为学验证后学习记忆改变特点又符合西医疾病的特点,为维医异常黑胆质证和老年痴呆的基础研究提供了理想的动物模型,并可为传统医药的开发研究提供可行、科学的研究平台。

参考文献 (References)

- [1] Herholz K. Cerebral glucose metabolism in preclinical and prodromal Alzheimer's disease[J]. Expert Review of Neurotherapeutics, 2010, 10 (11): 1667-1673.
- [2] 易沙克江·马合穆德. 中国医学百科全书维吾尔医学分卷[M]. 乌鲁木齐: 新疆科技卫生出版社, 1995, 221-224.
Mahmud Ishakjan. Chinese medical encyclopedia Uighur medicine volume[M]. Xinjiang: Health Technology Press, 1995, 221-224.
- [3] 阿衣努尔·买提斯迪克, 吾尔古力·阿卜杜来海提. 维药异常黑胆质成熟剂对异常黑胆质载体大鼠动物模型血液流变学指标的影响[J]. 科技导报, 2011, 29(27): 31-35.
Maitisidike Ayinuer, Abudulhahiti Wuerguli. Hemorheological effect of abnormal savda munziq, as a traditional Uighur medicine, on the abnormal savda rat model[J]. Science & Technology Review, 2011, 29 (27): 31-35.
- [4] 玉苏甫·吐尔逊, 斯坎德尔·白克力. 异常黑胆质性肝癌病证模型肝硬化期的肝脏形态学研究[J]. 科技导报, 2010, 28(24): 82-88.
Tursun Yusupjan, Bakri Iskandar. Morphological study on hepatic tissue in hepatocirrhosis phase of hepatocarcinoma carrying abnormal savda model[J]. Science & Technology Review, 2010, 28(24): 82-88.
- [5] 阿布力孜·阿卜杜扎依尔, 哈木拉提·吾甫尔. 异常黑胆质成熟剂对异常黑胆质性肝癌病证模型肝硬化期的肝脏形态学的影响[J]. 科技导报, 2011, 29(28): 68-73.
Abduzayir Abliz, Upur Halmurat. Effect of abnormal savda munziq on morphological structure of hepatic tissue in hepatocirrhosis phase of hepatocarcinoma carrying abnormal savda model[J]. Science & Technology Review, 2011, 29(28): 68-73.
- [6] 张有辉, 哈木拉提·吾甫尔, 玉苏甫·吐尔逊, 等. 异常黑胆质证载体大鼠模型的建立及其免疫、内分泌紊乱状态的研究[J]. 新疆医科大学学报, 2010, 33(6): 596-598.
Zhang Youhui, Upur Halmurat, Tursun Yusup, et al. Establishment of abnormal savda syndrome rat model and study on its disordered immune-endocrine network[J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2010, 33(6): 596-598.
- [7] Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates[M]. London: Academic Press, 1986.
- [8] Morris R G M. Spatial localization does not require the presence of local cues[J]. Learning and Motivation, 1981, 12(2): 239-260.
- [9] 李静, 周东华, 王延红. 海马注射 β -淀粉样蛋白建立阿尔茨海默病大鼠模型的实验研究[J]. 中国临床神经科学, 2008, 16(5): 467-470.
Li Jing, Zhou Donghua, Wang Yanhong. The study on establishing AD rat model by intrahippocampal injection of β -amyloid[J]. Chinese Journal of Clinical Neuroscience, 2008, 16(5): 467-470.
- [10] 张均田, 张庆柱. 神经药理研究技术与方法[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005, 297-299.
Zhang Juntian, Zhang Qingzhu. Neuropharmacology research techniques and methods[M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2005: 297-299.
- [11] 木塔力甫·艾力阿吉. 维吾尔医精神病学[M]. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 2004, 87-89.
AiliAji Mutalip. Psychiatry of Uygur medicine[M]. Urumqi: Xinjiang People's Health Publishing House, 2004, 87-89.
- [12] 阿布里米提·玉素甫阿吉. 维吾尔医学基础理论[M]. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 1988: 189-192.
YsupAji Abimit. Basic theory of Uygur medicine[M]. Urumqi: Xinjiang People's Health Publishing House, 1988: 189-192.
- [13] Jeon S, Bose S, Hur J, et al. A modified formulation of Chinese traditional medicine improves memory impairment and reduces A β level in the Tg-APPswe/PS1dE9 mouse model of Alzheimer's disease[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2011, 137(1): 783-789.
- [14] 张有辉, 玉苏甫·吐尔逊, 哈木拉提·吾甫尔, 等. 异常黑胆质型肝癌病证模型肝硬化期内分泌—免疫紊乱的研究[J]. 科技导报, 2010, 28 (11): 39-41.
Zhang Youhui, Tursun Yusupjan, Upur Halmurat, et al. The study on the endocrine-immune disorder of abnormal Savda cirrhotic liver cancer syndromes model[J]. Science & Technology Review, 2010, 28 (11): 39-41.
- [15] 哈木拉提·吾甫尔, 阿依努尔·买提斯迪克, 努尔买买提·艾买提, 等. 异常黑胆质证载体动物模型的建立及其自然恢复反证[J]. 新疆医科大学学报, 2006, 29(10): 910-914.
Upur Halmurat, Matsidik Aynur, Amat Nurmammad, et al. The establishment and evaluation of abnormal savda syndrome animal model[J]. Journal of Xinjiang Medical University, 2006, 29(10): 910-914.
- [16] Amat N, Upur H, Ablimit A. Immunomodulatory effects of abnormal savda munziq, a traditional Uighur medicine, on the combined stress mice[J]. Journal of Ethnopharmacology, 2009, 122(1): 42-47.
- [17] Salloway S, Mintzer J, Weiner M F, et al. Disease-modifying therapies in Alzheimer's disease[J]. Alzheimers Dement, 2008, 4(2): 65-79.
- [18] Bennett S, Grant M M, and Aldred S. Oxidative stress in vascular dementia and Alzheimer's disease: a common pathology[J]. Journal of Alzheimer's Disease, 2009, 17(2): 245-257.

(责任编辑 吴晓丽)

·学术动态·



中国科学技术协会

2015 国家机器人发展论坛在北京召开

2015年4月13日,由中国自动化学会、中国机电一体化技术应用协会主办的2015国家机器人发展论坛在北京召开,来自科研院所、高等院校和企业的负责人、400余位出席会议。

本次论坛旨在促进智能机器人基础理论研究、成果原始创新和高技术开发,增强中国智能机器人自主研发水平和工业基础能力,推动其在智能制造、智慧生活、智能产业和国防安全领域的深入应用和产业转型升级,站在世界科技的至高点规划中国机器人产业的未来。会议安排了7个特邀主旨报告、28个分会场报告和机器人应用及产业展示。

详见中国科协网<http://www.cast.org.cn/n35081/n35548/n38620/16339766.html>。