

生慧汤对糖尿病脑病模型大鼠认知障碍及神经病理改变的影响

程 玥¹, 陈淑娴², 张 雪², 胡宗苗², 张晓双², 刘继平^{2*}

(1. 陕西中医药大学药理实验中心, 陕西 咸阳 712046; 2. 陕西中医药大学中药药理实验室, 陕西 咸阳 712046)

摘要: **目的** 观察生慧汤(熟地黄、山茱萸、远志、酸枣仁、柏子仁等)对糖尿病脑病模型大鼠认知功能及神经病理改变的影响。**方法** 90 只雄性 SD 大鼠, 除空白组 ($n = 15$) 外均给予高脂高糖饲料 50 d, 腹腔注射链脲佐菌素建立 2 型糖尿病脑病大鼠模型, 随机均分为模型组、石杉碱甲组、吡拉西坦组、生慧汤低、高剂量组, 给药 30 d, Morris 水迷宫法进行行为学测试和取血检测血糖, 部分大鼠处死取脑制备海马组织匀浆, 检测乙酰胆碱酯酶 (AChE)、糖基化终末产物 (AGEs) 和乙酰胆碱转移酶 (ChAT), 其余大鼠取脑组织病理切片, 并进行糖基化终末产物受体 (RAGE) 和核转录因子- κ B (NF- κ B) 免疫组化染色。**结果** 生慧汤可明显缩短模型大鼠的逃避潜伏期和探索距离; 显著延长目标象限游泳时间, 增多站台穿越次数; 降低空腹血糖, 增加大鼠体质量; 升高海马组织中 ChAT 活性, 降低 AChE 活性及 AGEs 水平; 免疫组化染色显示生慧汤组海马组织齿状回区 RAGE 和 NF- κ B 表达减少。**结论** 生慧汤可明显改善糖尿病脑病模型大鼠认知障碍, 胆碱能神经功能, 海马组织病变, 具有一定脑保护作用。

关键词: 生慧汤; 糖尿病脑病; 认知障碍; 神经病理改变。

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1001-1528(2015)12-2579-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2015.12.002

Effects of Shenghui Decoction on cognitive function and nerve pathological change in rats with diabetic encephalopathy

CHENG Yue¹, CHEN Shu-xian², ZHANG Xue², HU Zong-miao², ZHANG Xiao-shuang²,
LIU Ji-ping^{2*}

(1. Laboratory of Pharmacology, Shanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China; 2. Laboratory of Traditional Chinese Medicine Pharmacology, Shanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, China)

ABSTRACT: **AIM** To observe Shenghui Decoction (*Rehmanniae Radix praeparata*, *Corni Fructus*, *Polygalae Radix*, *Ziziphi spinosae Semen*, *Platycladi Semen*, etc.) on cognitive function and nerve pathological change in rats with diabetic encephalopathy. **METHODS** Ninety male SD rats, except the blank group ($n = 15$), were given high fat and sugar feed, and intraperitoneal injection of STZ to establish type 2 diabetes encephalopathy rats. The modeled rats were equally and randomly divided into the model group, huperzine A group, piracetam group, Shenghui Decoction low and high dose group. All drugs were administrated for 30 days. The behavior tests were performed on the Morris water maze method. The rats blood glucose, part of rats brain hippocampus tissue homogenates were taken to measure the levels of ChAT, AChE and AGEs. The rest of rats' brain tissue were carried out on pathological observation ($n = 15$) RAGE, and NF-kappa B immunohistochemical staining. **RESULTS** Shenghui Decoction obviously shortened the escape latency of model rats and explore distance, significantly extended target quadrant swimming time, increased the platform through the number, reduced fasting blood glucose, increased

收稿日期: 2014-11-20
基金项目: 陕西中医药大学科研基金项目 (2015QN23)
作者简介: 程 玥 (1983—), 女, 实验师, 硕士, 研究方向为中药及复方药理作用研究。Tel: 13572761121, E-mail: 13572761121@126.com
* 通信作者: 刘继平 (1978—), 男, 副教授, 博士, 研究方向为中药精神神经药理学。Tel: 18391803781, E-mail: liwenjie780711@163.com

the weight of body, elevated ChAT activity in the hippocampus, lessened AchE and AGEs level. Immunohistochemical staining showed that Shenghui Decoction decreased hippocampus DG RAGE and the NF-kappa B expression. **CONCLUSION** Shenghui Decoction can obviously improve cognitive impairment, the function of cholinergic nerve, and hippocampal tissue lesions, with certain brain protection.

KEY WORDS: Shenghui Decoction; diabetic encephalopathy; cognitive impairment; nerve pathological changes

糖尿病脑病 (diabetic encephalopathy, DE) 是糖尿病糖代谢紊乱引起的血管改变损害中枢神经系统, 使大脑结构、神经生理及神经精神等方面发生病理性改变, 以获得性认知和行为缺陷为特征^[1], 临床主要表现为轻、中度认知功能障碍, 学习和记忆能力下降^[1-3], 与脑老化、老年中风及老年痴呆 (AD) 均有密切联系^[4-6], 是诱发 AD 的一个危险因素。近年来, 随着糖尿病发病率的逐年增加, 其对中枢神经系统的影响也越来越引起人们的重视。国外有报道 1 455 例成年糖尿病患者中 981 人经 1 年观察后, 101 人产生了痴呆, 其中 77 例为老年性痴呆, 统计学处理显示, 糖尿病患者发生痴呆的危险性显著高于正常人群^[7]。目前对糖尿病脑病的治疗主要在控制血糖的基础上, 采用脑血管扩张剂、抗胆碱能药物、神经营养剂等进行治疗, 但这几类药物疗效有限, 不良反应也时有报道, 寻找安全、可靠、有效的治疗药物仍为临床急需, 中药因其毒副作用小、价位低廉、在治疗脑损伤引起的认知功能障碍方面的疗效备受关注。本课题组在前期文献及实验研究的基础上, 对生慧汤改善糖尿病脑病大鼠模型认知障碍及神经病理改变的作用及其机制进行了研究, 为该方临床使用提供科学依据。

1 材料

1.1 药品与试剂 生慧汤 [处方组成: 熟地 30 g、山茱萸 12 g、远志 6 g、生枣仁 15 g、柏子仁 (去油) 15 g、茯神 9 g、人参 9 g、石菖蒲 1.5 g、白芥子 6 g], 药材均购自咸阳天天乐医药超市, 按处方比例各称取适量, 加 10 倍量水浸泡 30 min, 加热煮沸, 文火煎煮 1 h, 趁热滤过; 再加 8 倍量水, 同法分别煎煮 40 min 及 30 min, 合并 3 次滤液, 减压浓缩至含生药 1 g/mL, 药液 4 ℃ 冰箱保存备用。链脲佐菌素 (STZ), 购自美国 Sigma 公司; 吡拉西坦片 (批号 130702, 上海华源安徽仁济制药有限公司); 石杉碱甲片 (批号 131105, 河南太龙药业股份有限公司); AGEs、AchE 和 ChATELISA 试剂盒 (批号 201405), 均购于艾莱萨生物科技 (上海) 有限公司; RAGE 和 NF-κB 免

疫组化试剂盒, 购自武汉博士德生物工程有限公司。

1.2 仪器 Morris 水迷宫 (上海吉量软件科技有限公司); BT224S 电子天平 (赛多利斯科学仪器有限公司); BI-2000 医学图像分析系统 (成都泰盟软件有限公司); Eon 全波长酶标仪 (美国 BioTek 公司); Thermo -86 度低温冰箱 (美国 Thermo 公司); 微量移液器 (上海求精生化试剂仪器有限公司), TGL-16M 台式高速冷冻离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司); 三诺安稳血糖仪 (三诺生物传感股份有限公司)。

1.3 动物 雄性 SD 大鼠, 清洁级, 体质量 250 ~ 300 g, 由第四军医大学实验动物中心提供, 合格证号 SCXK (军) 2012—006; 饲养环境: 陕西中医药大学药理实验中心, 动物分笼饲养, 保持 12 h 昼夜节律, 室温 (22 ± 1) ℃, 自由饮水摄食。

2 方法

2.1 造模与分组 雄性 SD 大鼠适应性喂养 1 周后, 对其进行水迷宫筛选实验, 以确定认知能力正常、认知能力低下和认知能力超常的动物。具体方法为: 在一个实验日内, 每只大鼠连续从同一象限投入训练 3 次, 每次记录找到平台时间, 以每只大鼠平均值小于 90 s 为合格。合格大鼠除空白组 ($n = 15$) 给予基础饲料外, 其余大鼠给予自制高脂高糖饲料 (基础饲料 59%、猪油 18%、蔗糖 20%、蛋黄 3%) 喂养 50 d 后, 一次性腹腔注射 STZ 30 mg/kg (临用前溶于 0.1 mol/L、pH 4.2 的柠檬酸缓冲液中, 配置成 1% 的质量分数), 72 h 后尾静脉采血用血糖仪测血糖, 以血糖 ≥ 16.7 mmol/L, 且水迷宫试验认知功能显著缺损者 (同法测试与造模前比较) 为糖尿病脑病造模成功^[8], 成模 75 只大鼠随机分为模型组、吡拉西坦组 (0.48 g/kg)、石杉碱甲组 (40 μg/kg)、生慧汤低、高剂量组 (5.175、10.35 g/kg), 灌胃给药, 空白组和模型组均灌胃等容量生理盐水, 1 次/d, 给药 30 d, 给药期间动物自由进食进水, 未使用胰岛素及其它降糖药物。

2.2 Morris 水迷宫实验 最后一次灌胃后 1 h 每

组随机取 10 只大鼠，分上、下午两个时间段，每个时间段训练 2 次，每次分别从 4 个不同的标记点（在 4 个象限中平均分布），将大鼠面向池壁放入水中，记录 90 s 内找到平台所需时间（逃避潜伏期）及搜索距离，若 90 s 内未找到平台，将大鼠置于平台上停留 20 s 后移出迷宫，潜伏期记为 90 s。每次至少间隔 30 min，训练 4 d，第 5 天撤除平台，任选 1 个入水点将大鼠面向池壁投入水中，记录其在 90 s 内跨过虚拟平台的穿越次数及目标象限（原站台象限）的游泳时间。

2.3 取材与标本处理 水迷宫实验结束后，禁食不禁水 12 h，每组随机选取 4 只大鼠，麻醉后，4% 多聚甲醛 0.1 mol/L 磷酸缓冲液（pH 7.4）灌注固定，开颅取脑，冠状位取视交叉向尾端 3 ~ 4 mm 组织块，投入相同固定液于 4 ℃ 固定 1 周后，常规石蜡包埋，冠状切片，进行 RAGE 和 NF-κB 免疫组化染色；各组选取海马部位共 8 个不重复视野，运用 BI-2 000 医学图像分析系统对切片进行分析，统计平均灰度值。每组剩余大鼠称重，尾静脉采血测血糖后处死，迅速取脑，放在冰冷生理盐水中漂洗，滤纸吸干水分，分离海马组织，称重，在冰浴下用匀浆器匀浆，制成质量体积比为 10% 的组织匀浆，离心（3 500 r/min）10 min，取上清液

严格按试剂盒说明测定 AchE、AGEs 和 ChAT。

2.4 统计学处理 所有实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较正态分布均匀和方差齐时采用单因素方差分析，正态分布不均匀或方差不齐时用非参数检验，用 SPSS 13.0 软件统计。

3 结果

3.1 对糖尿病脑病模型大鼠水迷宫实验成绩的影响 水迷宫实验第 1 天各组间潜伏期、探索距离基本无显著性差异，与空白组比较，从第 2 天起，模型组逃避潜伏期、探索距离显著延长（ $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ ），目标象限（Ⅱ象限）游泳时间明显缩短（ $P < 0.01$ ），站台穿越次数明显减少（ $P < 0.01$ ）；而与模型组相比，第 3 天吡拉西坦组潜伏期明显缩短（ $P < 0.05$ ），第 4 天吡拉西坦组、石杉碱甲组、生慧汤高剂量组潜伏期明显缩短（ $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ），第 4 天石杉碱甲组探索距离明显缩短（ $P < 0.05$ ），从第 2 天起，生慧汤高剂量组探索距离明显缩短（ $P < 0.05$ ），生慧汤高剂量组目标象限（Ⅱ象限）的游泳时间明显延长（ $P < 0.05$ ），吡拉西坦组、石杉碱甲组、生慧汤高剂量组站台穿越次数增多（ $P < 0.05$ ）（见表 1 ~ 3，图 1）。

表 1 生慧汤对糖尿病脑病模型大鼠水迷宫试验潜伏期的影响（ $\bar{x} \pm s, n = 10$ ）

Tab. 1 Effect of Shenghui Decoction on the latency time in Morris water maze in DE rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	潜伏期/s			
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
空白组	—	75.50 ± 17.48	59.86 ± 14.35	37.18 ± 12.89	24.80 ± 23.54
模型组	—	89.14 ± 0.38	87.91 ± 3.51 ^{△△}	60.17 ± 26.40 [△]	56.15 ± 21.65 ^{△△}
吡拉西坦组	0.48 g/kg	89.25 ± 0.50	64.85 ± 29.07	23.52 ± 29.87 [▲]	29.66 ± 32.28 [▲]
石杉碱甲组	40 μg/kg	89.29 ± 0.49	70.34 ± 29.94	44.59 ± 35.68	21.99 ± 15.55 ^{▲▲}
生慧汤低剂量组	5.175 g/kg	87.94 ± 3.39	61.97 ± 29.07	52.36 ± 35.09	41.19 ± 34.53
生慧汤高剂量组	10.35 g/kg	89.00 ± 0.00	55.43 ± 39.60	35.12 ± 37.72	26.37 ± 23.52 [▲]

注：与空白组比较，[△] $P < 0.05$ ，^{△△} $P < 0.01$ ；与模型组比较，[▲] $P < 0.05$ ，^{▲▲} $P < 0.01$

表 2 生慧汤对糖尿病模型大鼠水迷宫试验探索距离的影响（ $\bar{x} \pm s, n = 10$ ）

Tab. 2 Effect of Shenghui Decoction on the path length in Morris water maze in DE rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	探索距离/m			
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天
空白组	—	17.81 ± 4.51	11.07 ± 3.96	6.96 ± 5.44	5.06 ± 6.25
模型组	—	20.55 ± 4.63	20.13 ± 5.40 ^{△△}	13.90 ± 7.68 [△]	12.18 ± 8.39 [△]
吡拉西坦组	0.48 g/kg	20.63 ± 1.70	12.37 ± 6.37	9.65 ± 3.14	6.50 ± 6.75
石杉碱甲组	40 μg/kg	21.68 ± 3.38	14.14 ± 9.62	9.29 ± 7.51	5.65 ± 4.86 [▲]
生慧汤低剂量组	5.175 g/kg	18.51 ± 5.57	13.87 ± 3.31	8.92 ± 4.15	5.87 ± 4.85
生慧汤高剂量组	10.35 g/kg	18.14 ± 3.93	11.95 ± 7.40 [▲]	8.10 ± 5.63 [▲]	5.71 ± 5.16 [▲]

注：与空白组比较，[△] $P < 0.05$ ，^{△△} $P < 0.01$ ；与模型组比较，[▲] $P < 0.05$

表 3 生慧汤对糖尿病脑病大鼠水迷宫试验目标象限时间和穿越次数的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 3 Effects of Shenghui Decoction on the percentage of time and number of crossings in Morris water maze in DE rats($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	Ⅱ象限时间/%	站台穿越次数/次
空白组	—	31.77 ± 6.94	9.17 ± 2.14
模型组	—	18.62 ± 6.38 ^{△△}	2.29 ± 1.70 ^{△△}
吡拉西坦组	0.48 g/kg	29.03 ± 9.19	6.50 ± 2.65 [▲]
石杉碱甲组	40 μg/kg	26.87 ± 6.47	5.40 ± 2.61 [▲]
生慧汤低剂量组	5.175 g/kg	26.80 ± 10.64	5.00 ± 3.00
生慧汤高剂量组	10.35 g/kg	28.53 ± 7.26 [▲]	6.43 ± 3.26 [▲]

注：与空白组比较，[△] $P < 0.05$ ，^{△△} $P < 0.01$ ；与模型组比较，[▲] $P < 0.05$

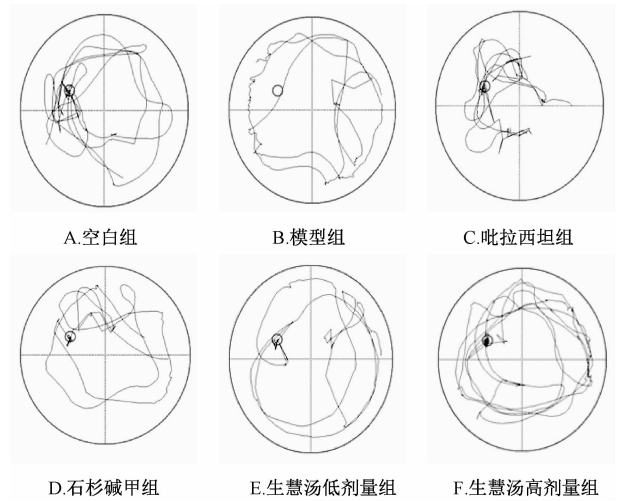


图 1 生慧汤对糖尿病脑病模型大鼠 Morris 水迷宫游泳轨迹的影响

Fig.1 Effect of Shenghui Decoction on the swim pattern in Morris water maze in DE rats

3.2 对糖尿病脑病模型大鼠血糖、体质量、AchE、ChAT 和 AGEs 的影响 与空白组比较，模型组血糖、AchE、AGEs 水平显著增加 ($P < 0.01$)，体质量、ChAT 水平显著降低 ($P < 0.01$)；与模型组比较，生慧汤低、高剂量组血糖值显著降

低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)，生慧汤高剂量组大鼠体质量值显著性升高 ($P < 0.05$)，吡拉西坦组、石杉碱甲组、生慧汤高剂量组 AchE 水平显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)，吡拉西坦组、石杉碱甲组、生慧汤低、高剂量组 ChAT 水平显著增加，AGEs 水平显著降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)，见表 4、5。

表 4 生慧汤对糖尿病脑病模型大鼠血糖、体质量指标测试结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 4 Effects of Shenghui Decoction on the blood glucose level and the body weight in DE rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	血糖/ (mmol·L ⁻¹)	体质量 /g
空白组	—	5.47 ± 0.64	473.00 ± 27.99
模型组	—	20.74 ± 3.55 ^{△△}	360.62 ± 50.39 ^{△△}
吡拉西坦组	0.48 g/kg	18.03 ± 2.43	362.50 ± 53.31
石杉碱甲组	40 μg/kg	18.34 ± 1.98	331.43 ± 51.21
生慧汤低剂量组	5.175 g/kg	13.95 ± 4.87 [▲]	410.00 ± 40.21
生慧汤高剂量组	10.35 g/kg	12.05 ± 5.94 ^{▲▲}	424.29 ± 38.23 [▲]

注：与空白组比较，^{△△} $P < 0.01$ ；与模型组比较，[▲] $P < 0.05$ ，^{▲▲} $P < 0.01$

3.3 对各组大鼠海马组织病理改变的影响 免疫组化染色显示，与空白组比较，模型组大鼠海马 DG 区 RAGE 免疫阳性细胞数明显增多，着色明显加深，平均灰度值明显降低 ($P < 0.01$)；与模型组比较，吡拉西坦组、石杉碱甲组、生慧汤组大鼠海马 DG 区 RAGE 免疫阳性细胞数明显降低，着色较浅，平均灰度值明显升高 ($P < 0.01$)，见图 2、表 6；与空白组比较，模型组大鼠海马 DG 区颗粒细胞层和皮质神经元 NF-κB 免疫反应阳性细胞多且着色深，平均灰度值明显降低 ($P < 0.01$)；与模型组比较，吡拉西坦组、石杉碱甲组、生慧汤组大鼠海马 DG 区颗粒细胞层和皮质神经元 NF-κB 免疫反应阳性细胞较少，平均灰度值明显升高

表 5 生慧汤对糖尿病脑病模型大鼠 AchE、ChAT 和 AGEs 指标测试结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab. 5 Effect of Shenghui Decoction on ChAT, AchE enzymes activities and AGEs content in DE rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量	AchE/(U·L ⁻¹)	ChAT/(U·L ⁻¹)	AGEs/(ng·mL ⁻¹)
空白组	—	130.32 ± 16.25	62.28 ± 9.72	345.68 ± 10.31
模型组	—	206.83 ± 20.32 ^{△△}	37.00 ± 4.65 ^{△△}	515.34 ± 25.65 ^{△△}
吡拉西坦组	0.48 g/kg	145.80 ± 23.68 [▲]	55.15 ± 7.68 [▲]	443.01 ± 11.24 [▲]
石杉碱甲组	40 μg/kg	141.76 ± 22.53 ^{▲▲}	51.61 ± 1.71 [▲]	388.00 ± 72.08 ^{▲▲}
生慧汤低剂量组	5.175 g/kg	181.51 ± 10.99	52.15 ± 4.88 [▲]	442.50 ± 45.75 [▲]
生慧汤高剂量组	10.35 g/kg	141.20 ± 30.93 ^{▲▲}	49.13 ± 3.19 ^{▲▲}	394.79 ± 94.02 [▲]

注：与空白组比较，^{△△} $P < 0.01$ ；与模型组比较，[▲] $P < 0.05$ ，^{▲▲} $P < 0.01$

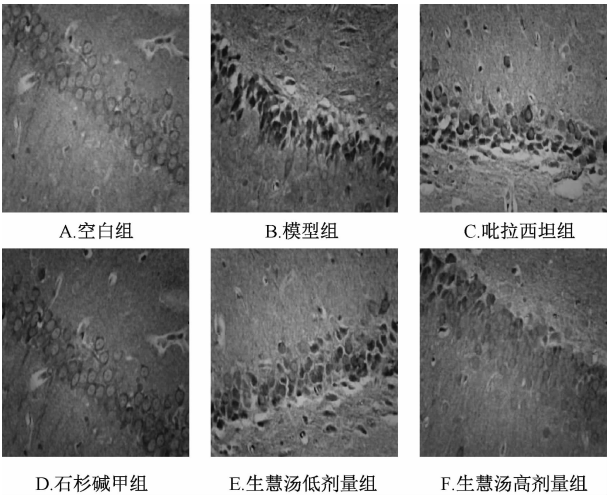


图 2 生慧汤对糖尿病脑病模型大鼠海马组织凋亡的影响 (RAGE 染色)

Fig. 2 Effect of Shenghui Decoction on RAGE expressions in hippocampus in DE rats

($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$) 见图 3、表 6。

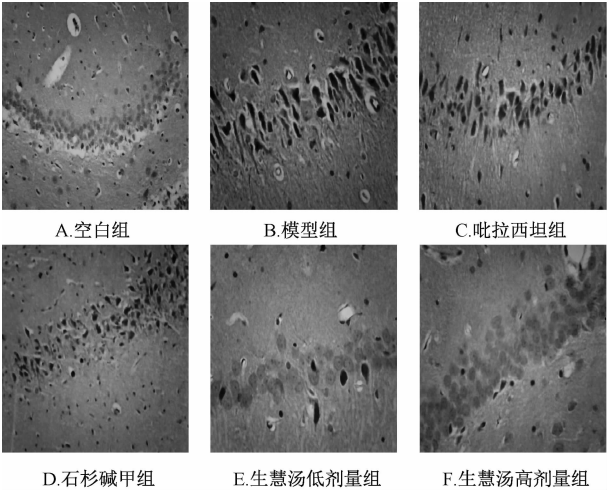


图 3 生慧汤对糖尿病脑病模型大鼠海马组织凋亡的影响 (NF-κB 染色)

Fig. 3 Effect of Shenghui Decoction on the NF-κB expressions in hippocampus in DE rats

3 讨论

糖尿病脑病临床上表现为认知功能障碍及相应的大脑形态学和生理学改变^[9-10]，是导致患者痴呆的主要因素之一，目前认为，血糖紊乱引起的直接损害、血脑屏障结构改变、氧化应激、糖基化终末产物 (AGEs) 增多、神经营养因子缺乏、胆碱能神经功能衰退等方面的改变均参与了其发病过程^[10-11]。中医药在防治糖尿病及中枢认知疾病方面有悠久的历史，糖尿病脑病应归属于中医消渴病

表 6 生慧汤对糖尿病脑病模型大鼠海马组织中 RAGE、NF-κB 表达平均灰度值的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 6 Effect of Shenghui Decoction on RAGE, NF-κB average gray level in hippocampus in DE rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量	RAGE 平均 灰度值	NF-κB 平均 灰度值
空白组	—	128.66 ± 7.19	121.44 ± 11.1
模型组	—	93.62 ± 3.62 ^{△△}	91.99 ± 2.83 ^{△△}
吡拉西坦组	0.48 g/kg	110.78 ± 7.38 ^{▲▲}	104.99 ± 5.16 ^{▲▲}
石杉碱甲组	40 μg/kg	119.42 ± 2.27 ^{▲▲}	113.68 ± 5.20 ^{▲▲}
生慧汤低剂量组	5.175 g/kg	110.80 ± 5.47 ^{▲▲}	111.08 ± 4.07 ^{▲▲}
生慧汤高剂量组	10.35 g/kg	112.65 ± 2.88 ^{▲▲}	117.04 ± 1.60 ^{▲▲}

注：与假手术组比较，^{△△} $P < 0.01$ ；与模型组比较，[▲] $P < 0.05$ ，^{▲▲} $P < 0.01$

合并呆病、健忘的范畴，在一些中医古籍关于消渴病的兼症中已有所认识，如李杲《兰室秘藏》中记载消渴可出现“上下齿皆麻，舌根强硬，肿痛，四肢痿弱……喜怒善忘”。生慧汤出自《辨证录》卷四，为传统经典名方，由熟地、山茱萸、远志、生枣仁、柏子仁（去油）、茯神、人参、菖蒲、白芥子 9 味药物组成。为心肾兼补，上下互资，实治健忘之圣方。临床研究表明，生慧汤对痴呆具有较好的防治效果^[12]。陈氏认为治疗健忘，石菖蒲与人参须同用，才能取得强记的真正效果。现代药理研究表明，熟地黄、远志、茯神、石菖蒲等中药对实验性动物学习记忆障碍有着不同程度的保护和改善作用^[13]。

本实验通过水迷宫进行大鼠神经认知模型的验证和神经认识治疗可行性的评估^[14-15]，大鼠逃避时间、摸索距离越短，穿越次数越多、目标象限活动时间越长，提示大鼠学习记忆能力越强。本研究水迷宫实验数据显示，生慧汤能显著减少大鼠逃避潜伏期和摸索距离，增加穿越次数和目标象限活动时间，表明生慧汤可明显改善糖尿病脑病模型大鼠的学习记忆能力。

2 型糖尿病在临床上以血糖增高为主要表现，以高胰岛素血症和胰岛素抵抗为病理基础，本实验采取高脂高糖饲料喂养诱导动物体内葡萄糖和脂质代谢紊乱，之后再给大鼠腹腔注射 STZ，化学药物 STZ 具有高特异性杀伤胰岛 β 细胞的作用，造成 β 细胞大量破坏，胰岛素合成和分泌减少，引起糖代谢紊乱，从而导致糖尿病。本研究显示生慧汤明显增加糖尿病脑病模型大鼠的血糖和体质量，表明生慧汤在 STZ 诱导糖尿病实验大鼠中具有一定的治疗糖尿病效应，这可能是其改善神经病变的机制之一。因为高血糖是糖尿病的启动因素，降低血糖本

身就能有效地延缓和减轻糖尿病脑病的发生发展,从而改善糖尿病大鼠学习记忆功能。

乙酰胆碱 (Ach) 被认为是与学习、记忆相关最重要的神经递质,其缺失的严重程度与痴呆程度密切相关^[16],Ach 减少的程度与痴呆的严重性呈正相关。ChAT 是催化 Ach 合成的酶,也是胆碱能神经元的标志物,乙酰胆碱又由 AchE 分解。

本研究结果显示,与模型组比较,生慧汤能增加 ChAT 的活性,增加 Ach 的合成,抑制 AchE 的活性,减少 Ach 的水解,且有显著性差异。

高血糖导致脑组织中 AGEs 的沉积,AGEs 的聚集能引起很多毒性反应,它对细胞的毒性作用是通过与其特异性受体糖基化终末产物受体 (RAGE) 的结合来实现的。RAGE 与糖尿病并发症有密切关系。AGEs 与其细胞表面受体 RAGE 结合后相互作用,产生活性氧簇 (ROS),进而活化细胞内促炎性反应转录因子 NF- κ B,活化的 NF- κ B 可以刺激众多靶基因表达,如组织因子 (TF)、血管细胞粘附分子-1 (VCAM-1) 以及 RAGE 本身的表达^[17]。这些促氧化基因的激活可以造成一个促炎症反应的恶性循环,导致组织损伤的进一步发展。本研究结果显示,生慧汤能降低海马组织中 AGEs 水平,降低糖尿病脑病大鼠海马 DG 区 RAGE 和 NF- κ B 的表达。

参考文献:

[1] Biessels G J, van der Heide L P, Kamnal A, *et al.* Ageing and diabetes: implications for brain function[J]. *Eur J Pharmacol*, 2002, 441(1-2): 1-14.

[2] Lupien S B, Bluhm E J, Ishii D N. Symstemic insulin-like growth factor-1 administration prevents cognitive impairment in diabetic rats, and brain IGF regulates learning/memory in normal adult rats[J]. *J Neurosci Res*, 2003, 74(4): 512-523.

[3] 许淑莲,金 星,任桂英,等. 老年糖尿病患者某些认知功能的临床探讨[J]. 中国心理卫生杂志,1999, 13(5): 307-309.

[4] Kamal A, Biessels G J, Duis S E. Learing and hippocampal synaptic plasticity in streptozotocin-diabetic rats: interaction of

diabetes and ageing [J]. *Diabetologia*, 2000, 43 (4): 500-506.

[5] Gispen W H, Biessels G J. Cognition and synaptic plasticity in diabetes mellitus [J]. *Trends Neurosci*, 2000, 23 (11): 542-549.

[6] 盛树力. 糖尿病脑病与老年痴呆[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2001, 17(1): 58-59.

[7] Leibson C L, Rocca W A, Hawson V A, *et al.* Risk of dementia among persons with diabetes mellitus: a population-based cohort study [J]. *Am J Epidemiol*, 1997, 145 (4): 301-308.

[8] 于德民,吴 锐,尹 潍,等. 实验性链脲佐菌素糖尿病动物模型的研究[J]. 中国糖尿病杂志, 1995, 3 (2): 105-109.

[9] Reijmer Y D, vander Berg E, Ruis C, *et al.* Cognitive dysfunction in patients with type 2 diabetes[J]. *Diabetes Metab Rev*, 2010, 26(7): 507-519.

[10] Zhou Y, Luo Y, Dai J. Axonal and dendritic changes are associated with diabetic encephalopathy in rats: an important risk factor for Alzheimer's disease[J]. *J Alzheimers Dis*, 2013, 34 (4): 937-947.

[11] Chen X, Mori T, Guo Q, Hu C, *et al.* Carbonyl stress induces hypertension and cardio-renal vascular injury in Dahl salt-sensitive rats[J]. *Hypertens Res*, 2013, 36(4): 361-367.

[12] 马 捷,李 峰,宋月晗,等. “生慧汤”治疗神经类疾病的研究[J]. 中国卫生产业, 2012(17): 160-162.

[13] 沈云辉,曹玉净,崔 瑛,等. 熟地黄对拟痴呆模型小鼠记忆力的影响及机制研究[J]. 上海中医药杂志, 2007, 41(4): 67-68.

[14] Hartman R E, Lee J M, Zipfel G J, *et al.* Characterizing learning deficits and hippocampal neuron loss following transient global cerebral ischemia in rats[J]. *Brain Res*, 2005, 1043 (1-2): 48-56.

[15] 叶翠飞,张 丽,艾厚喜,等. 两种水迷宫实验对拟痴呆模型学习记忆功能测试的比较[J]. 中国行为医学科学杂志, 2004, 13(3): 256-261.

[16] 王宪玲,贾建平,左萍萍,等. 自发性 2 型糖尿病小鼠脑组织胆碱能神经递质系统研究[J]. 首都医科大学学报, 2006, 27(3): 354-357.

[17] Wantier M P, Chappey O, Corda S, *et al.* Activation of NADPH oxidase by AGE links oxidative stress to altered gene expression via RAGE[J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001, 280(5): 685-694.