

· 药物研究 ·

四物汤改善血虚小鼠空间学习记忆能力及其机制^{*}

李玉洁, 孙曙光, 张明昊, 龚曼, 李伟, 朱艳琴

(河南中医药大学基础医学院, 郑州 450046)

摘要 **目的** 观察四物汤对血虚小鼠空间学习记忆能力的影响及其机制。**方法** 将小鼠分为5组:正常对照组、模型对照组和四物汤大、中、小剂量组。模型对照组和四物汤大、中、小剂量组采用连续剪尾放血法造模,3个剂量组分别以2.5、5.0、10.0 g·kg⁻¹四物汤水煎液灌胃14 d。5组于造模前、给药7 d后、给药14 d后,检测小鼠外周血红细胞(RBC)、血红蛋白(HGB)及红细胞比容(HCT)的变化,以T迷宫实验检测各时间点小鼠学习记忆能力,以自主活动检测仪检测各时间点小鼠自主活动情况,并于实验结束时检测5组小鼠血清促红细胞生成素(EPO)与海马乙酰胆碱酯酶(AChE)含量,探讨四物汤改善血虚小鼠学习记忆能力的机制。**结果** 四物汤5.0、10.0 g·kg⁻¹给药7及14 d后对失血性血虚模型小鼠外周血RBC数量、HGB含量及HCT比值降低有明显的恢复和提高作用,四物汤2.5 g·kg⁻¹给药14 d后对失血性血虚模型小鼠外周血RBC数量及HCT比值降低有明显的恢复和提高作用,四物汤2.5、5.0、10.0 g·kg⁻¹对血虚小鼠自主活动次数有提高作用,并能降低血虚小鼠T迷宫实验选择错误次数,升高血清EPO含量,与模型对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。同时海马AChE含量有降低趋势,但与模型对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 四物汤提高血虚小鼠空间学习记忆能力,其机制可能与提高血清EPO水平及调节海马AChE含量有关。

关键词 四物汤;血虚;空间学习记忆能力;T迷宫

中图分类号 R285.5; R749

文献标识码 A

文章编号 1004-0781(2017)04-0370-05

DOI 10.3870/j.issn.1004-0781.2017.04.004

Effects of *Siwu* Decoction on Memory and Spatial Learning in Mice with Blood Deficiency and Related Mechanisms

LI Yujie, SUN Shuguang, ZHANG Minghao, GONG Man, LI Wei, ZHU Yanqin (Basic Medical College, Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China)

ABSTRACT **Objective** To investigate the effects of *Siwu* decoction on the learning and memory abilities in mice with blood deficiency and the related mechanism. **Methods** The mice were randomly divided into five groups: normal control group, model control group, high-, medium-, and low-dose group of *Siwu* decoction. Blood deficiency mouse model was established by continuously cutting tail and bleeding in model control group, high-, medium-, and low-dose group of *Siwu* decoction. The mice in high-, medium-, and low-dose group were intragastrically administrated with *Siwu* decoction of 2.5, 5.0, 10.0 g·kg⁻¹ for 14 days, respectively. The erythrocyte counts (RBC), hemoglobin (HGB), red blood cell hematocrit (HCT) were detected before modeling, 7 and 14 days after administration. The spatial learning and memory abilities were assessed using the T maze test. The spontaneous activities were assessed using locomotor activity detector. The levels of erythropoietin (EPO) content in serum and acetylcholinesterase (AChE) in hippocampal tissue were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** 5.0 and 10.0 g·kg⁻¹ *Siwu* decoction could increase RBC, HGB, HCT on the 7th and 14th day, 2.5 g·kg⁻¹ *Siwu* decoction could increase RBC, HCT on 14th day, and each dosage of *Siwu* decoction could significantly increase the spontaneous activities of model mice with blood deficiency on the 7th and 14th day as compared with model control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with model control group, the number of errors in T Maze test were decreased significantly in high-, medium-, and low-dose groups ($P < 0.01$). And the *Siwu* decoction had a tendency to reduce the hippocampal AChE levels, but when compared with the model control group there were no statistical differences ($P > 0.05$). **Conclusion** *Siwu* decoction is benefit for memory and spatial learning in mice with blood deficiency, which may be related with higher serum EPO and lower hippocampal AChE expression.

KEY WORDS *Siwu* decoction; Blood deficiency; Memory and spatial learning; T maze

血虚症是临床常见病症,多由于生血乏源、失血过多、肾精亏损、大病等引起^[1]。血虚导致血的营养和滋润功能减退,以致脏腑经络、形体器官等失养。不能滋养头目、上荣于面,故毛发不泽、头晕眼花、面色苍白或者萎黄,唇色淡白;血不能养心,则心悸、健忘、失眠、视物昏花、怔忡、乏力等^[2]。常见于多种慢性消耗性

疾病,以及妇女产后血虚^[3]。产后健忘、乏力是常见现象,很可能是血虚造成的。“虚则补之”,是虚证治疗的总则。中医常用补血方药有四物汤、当归补血汤、八珍汤、归脾汤等。现代研究表明许多补血方药都通过增强免疫,促进造血干细胞的增殖分化,促进血细胞的生成而发挥补血作用。四物汤出自宋代《太平惠民

合剂局方》,君药为熟地,有滋阴养血,填经补髓之功效;臣药当归,长于补血养肝;佐以白芍,养血敛阴;使以川芎,活血行滞。四药配伍补血而不滞血,行血而不伤血。目前四物汤在改善血虚症状及机制方面的研究很多,但血虚是否会导致记忆力下降,四物汤是否能改善血虚引起的记忆力下降笔者未见文献报道。笔者在本实验中通过连续失血法复制血虚模型,并利用 T 迷宫实验方法,观察血虚后及给予四物汤治疗后小鼠的空间学习记忆力能力,一方面观察血虚是否会导致记忆力下降,另一方面观察四物汤对血虚小鼠记忆力的影响,为四物汤用于记忆力减退性疾病的治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物 昆明种小鼠 50 只,SPF 级,雌雄各半,体质量(18 ± 2)g,购自河南省实验动物中心,实验动物生产许可证号:SCXK(豫)2015-0001。饲养条件:室温 20℃,相对湿度 57%,标准饮食和饮水。

1.2 试剂 小鼠促红细胞生成素(EPO)ELISA 检测试剂盒(路非凡生物科技有限公司,批号:201508);乙酰胆碱酯酶(AChE)ELISA 检测试剂盒(路非凡生物科技有限公司,批号:201508)。

1.3 仪器 MultiskanFC 酶标仪(Thermo Fisher Scientific,美国);“T”型迷宫(成都泰盟软件有限公司,中国);MEK-6318K 型血液细胞分析仪(日本);ZZ-6 型小鼠自主活动测试仪(成都泰盟软件有限公司)。

1.4 药材的鉴定与提取 四物汤由熟地(*Radix rehmanniae*)、当归(*Radix angelicae sinensis*)、白芍(*Radix paeoniae alba*)、川芎(*Rhizoma chuanxiong*)组成,全部药材均购自河南张仲景大药房,经河南中医药大学陈随清教授鉴定。按《太平惠民和剂局方》规定的剂量比例称取,熟地、当归、白芍、川芎的比例为 15:10:10:6,按上述比例称取药材共计 123 g,加 3 倍量水,浸泡 30 min 后按传统方法煎煮两次,合并两次滤液,浓缩至浓度为 $1 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$,置 4℃ 保存备用。用前稀释至 0.25,0.5,1 $\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度使用。

1.5 分组与给药 按照随机数字表法将小鼠随机分

为 5 组,每组 10 只,分别为正常对照组,模型对照组,四物汤小、中、大剂量组。按《中药药理研究方法学》介绍的方法折算小鼠与人的等效剂量为每天 $5.0 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ (按生药量计算),因此四物汤小、中、大剂量组每天给药量分别为每天 2.5,5.0,10.0 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$,正常对照组与模型对照组按 10 $\text{mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 灌胃等体积的 0.9% 氯化钠溶液,四物汤小、中、大剂量组均每天给药 1 次,连续给药 14 d。造模与给药同步进行。

1.6 血虚小鼠模型的复制 采用剪尾放血法复制血虚小鼠模型。具体方法:除正常对照组外,其余小鼠以 75% 乙醇棉球擦拭小鼠尾部,使血管扩张充血,减去鼠尾尖端 2~3 mm,然后将鼠尾伤口浸入装有 20℃ 0.9% 氯化钠溶液的刻度试管中,直至小鼠失血 0.3 mL,每天操作,连续 14 d,同时每天饲料量按 $75 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 控制,自由饮水,造模期间仍继续给药。

1.7 检测指标

1.7.1 小鼠一般情况和外周血常规的检测 5 组小鼠分别于造模前、造模 7,14 d 后以 ZZ-6 小鼠自主活动测试仪检测小鼠自主活动情况,并以尾静脉采血法取血测定血红细胞(RBC)数量、血红蛋白(HGB)含量及红细胞比容(HCT)比值,于末次给药后小鼠眼眶采血,3 000 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ ($r = 2.5 \text{ cm}$)离心取血清,酶联免疫法检测小鼠血清 EPO 含量,5 组小鼠在取血后,于冰盘上迅速分离左、右侧海马,加冰 0.9% 氯化钠溶液制成质量分数为 10% 的脑组织匀浆。取海马匀浆严格按照试剂盒说明书,以酶联免疫吸附法测定 5 组大鼠海马中 AChE 的含量。

1.7.2 小鼠空间学习记忆力检测 分别于造模前、造模 7,14 d 后以 T 迷宫检测小鼠学习与记忆能力。T 迷宫是在 T 字型的迷宫里寻找食物以检测动物对食物放置位置的记忆情况。T 迷宫两臂总长为 80 cm。开始臂长 57 cm 包括 10 cm 长的一个起始位置,高为 10 cm,宽为 10 cm。实验过程中,小鼠控制饮食,但可自由饮水。实验前 3 d 为适应阶段,每天抚摸小鼠 5 min 以消除紧张感。随后使其在 T 迷宫中自由探究,至获得目标臂两端食物奖励为止。之后对每只小鼠进行训练,每天 5 次,每次包括一个预备实验和一个正式实验。预备实验中,将其中一臂关闭,允许小鼠进臂获取食物。取食结束,将小鼠放回起始区,停留约 10 s 后,进行正式实验测试。在正式实验中起始臂和目标臂同时打开。若小鼠选择未曾进入的臂,为正确选择,并获得食物奖励。若小鼠重复进入相同的臂,则为错误选择,不予奖励,并将其关在相应臂中 10 s 进行惩罚。每次训练时间间隔为 10 min。于造模前即训练后第 4 天按照上述方法检测小

收稿日期 2016-03-28 修回日期 2016-05-27

基金项目 * 河南省科技攻关重点项目(112102310145)

作者简介 李玉洁(1983-),女,河南宜阳人,讲师,硕士,主要从事天然药物作用成分及作用机制研究。E-mail: lyj_happy@139.com。

通信作者 朱艳琴(1956-),女,河南濮阳人,教授,硕士生导师,主要从事中药活性成分及作用机制研究。E-mail: jczyqin@163.com。

鼠的空间学习记忆能力,为造模前小鼠的空间学习记忆能力,5次实验中小鼠选择的正确率越高说明空间学习记忆能力越好。并按照同样方法分别于给药7及14 d后检测每只小鼠的空间学习记忆能力。

1.8 统计学方法 采用SPSS17.0版统计软件进行分析,计量资料采用 t 检验,数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间差异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 5组小鼠外周血RBC数量、HGB含量、HCT比值的比较 结果表明,造模前5组小鼠RBC数量、HGB含量、HCT比值均差异无统计学意义($P > 0.05$)。造模7及14 d后正常对照组小鼠RBC数量、HGB含量、HCT比值均明显高于模型对照组,差异有统计学意义($F = 16.344, 16.606, P < 0.01$),表明小鼠每天经尾部放血后出现贫血现象;四物汤大、中剂量组小鼠RBC数量、HGB含量、HCT比值均明显高于同期模型对照组小鼠,差异有统计学意义($F = 11.949, 15.408, P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);四物汤小剂量组给药7 d后HCT比值明显高于同期模型对照组小鼠,给药14 d后RBC数量及HCT比值明显高于同期模型对照组小鼠($F = 16.542, 16.167, P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),提示四物汤对血虚证模型小鼠的造血功能有明显的促进作用。见表1。

2.2 5组小鼠血清EPO及海马AChE含量的比较 与模型对照组比较,四物汤大、中、小剂量组小鼠血清EPO含量均明显增加,差异有统计学意义($F = 12.713, P < 0.01$);表明四物汤改善血虚症状可能与调节EPO合成有关。正常对照组小鼠海马中AChE含量低于模型对照组,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。与模型对照组比较3个治疗组海马中AChE含量在数值上有下降趋势,但均差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

2.3 5组小鼠空间学习记忆能力的比较 结果表明,造模前5组小鼠空间学习记忆能力均差异无统计学意义($P > 0.05$)。造模7及14 d后模型对照组小鼠空间学习记忆能力明显低于正常对照组,差异有统计学意义($F = 5.389, 11.818, P < 0.01$),表明小鼠每天经尾部放血后记忆力下降;给药7,14 d后四物汤大、中、小剂量组小鼠空间学习记忆能力均明显高于同期模型对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),提示四物汤对血虚证模型小鼠的空间学习记忆能力有明显的提升作用。见表3。

2.4 5组小鼠自主活动的比较 结果表明,造模前5组小鼠活动次数及站立次数比较均差异无统计学意义

表1 5组小鼠外周血RBC数量和HGB含量及HCT比值的比较

Tab.1 Comparison of peripheral RBC count, HGB content and HCT among five groups of mice

$\bar{x} \pm s, n = 10$			
组别与时间	RBC/ ($\times 10^{12} \cdot L^{-1}$)	HGB/ ($g \cdot L^{-1}$)	HCT/%
正常对照组			
造模前	8.32 \pm 0.26	96.71 \pm 1.96	38.53 \pm 1.31
给药7 d后	8.11 \pm 0.91 ^{*1}	92.32 \pm 6.88 ^{*1}	35.55 \pm 4.00 ^{*1}
给药14 d后	7.32 \pm 1.08 ^{*1}	91.94 \pm 3.72 ^{*1}	35.13 \pm 3.97 ^{*1}
模型对照组			
造模前	8.43 \pm 0.26	96.65 \pm 1.87	38.81 \pm 0.88
给药7 d后	5.96 \pm 0.69	78.18 \pm 3.39	27.37 \pm 1.60
给药14 d后	5.07 \pm 0.55	77.43 \pm 5.80	27.17 \pm 1.29
四物汤小剂量组			
造模前	8.24 \pm 0.22	96.53 \pm 2.74	38.27 \pm 1.41
给药7 d后	6.45 \pm 0.38	81.14 \pm 3.11	33.11 \pm 2.26 ^{*1}
给药14 d后	5.68 \pm 0.40 ^{*2}	81.03 \pm 3.05	31.52 \pm 2.05 ^{*1}
四物汤中剂量组			
造模前	8.43 \pm 0.26	96.28 \pm 2.82	38.68 \pm 1.00
给药7 d后	6.63 \pm 0.58 ^{*2}	84.29 \pm 5.16 ^{*1}	34.69 \pm 2.23 ^{*1}
给药14 d后	5.71 \pm 0.53 ^{*2}	82.39 \pm 4.52 ^{*2}	33.88 \pm 2.06 ^{*1}
四物汤大剂量组			
造模前	8.41 \pm 0.31	96.11 \pm 2.67	38.47 \pm 1.16
给药7 d后	6.87 \pm 0.44 ^{*1}	87.07 \pm 5.43 ^{*1}	33.98 \pm 1.76 ^{*1}
给药14 d后	5.81 \pm 0.45 ^{*2}	84.76 \pm 4.21 ^{*1}	33.75 \pm 2.17 ^{*1}

与模型对照组同时间点比较,^{*1} $P < 0.01$,^{*2} $P < 0.05$

Compared with model control group at same time point,^{*1} $P < 0.01$,^{*2} $P < 0.05$

表2 5组小鼠血清EPO及海马AChE含量的比较

Tab.2 Comparison of the content of serum EPO and AChE content in hippocampus among five groups of mice

$\bar{x} \pm s, n = 10$			
组别	剂量/ ($g \cdot kg^{-1}$)	EPO/ ($U \cdot L^{-1}$)	AChE/ ($U \cdot mg^{-1}$)
正常对照组	...	2.57 \pm 0.29	0.67 \pm 0.09
模型对照组	...	2.86 \pm 0.32	0.69 \pm 0.02
四物汤			
小剂量组	2.5	3.30 \pm 0.38 ^{*1}	0.65 \pm 0.04
中剂量组	5.0	3.35 \pm 0.33 ^{*1}	0.66 \pm 0.03
大剂量组	10.0	3.46 \pm 0.34 ^{*1}	0.64 \pm 0.04

与模型对照组比较,^{*1} $P < 0.01$

Compared with model control group,^{*1} $P < 0.01$

($P > 0.05$);造模7和14 d后正常对照组小鼠活动次数及站立次数均明显高于模型对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),表明小鼠每天经尾部放血后出现乏

力活动次数减少现象,给药 7 和 14 d 后四物汤大、中、小剂量组小鼠活动次数及站立次数均明显高于同期模型对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),提示四物汤对血虚证模型小鼠乏力症状有明显的改善作用。见表 4。

表 3 5 组小鼠空间学习记忆能力的比较
Tab. 3 Comparison of the ability of spatial learning and memory among five groups of mice

组别与时间	$\bar{x} \pm s, n = 10$		
	造模前 错误次数	给药 7 d 后 错误次数	给药 14 d 后 错误次数
正常对照组	0 ± 0.00	0 ± 0.00 ^{*1}	0.20 ± 0.42 ^{*1}
模型对照组	0 ± 0.00	1.10 ± 1.10	2.00 ± 0.94
四物汤			
小剂量组	0 ± 0.00	0.20 ± 0.42 ^{*1}	0.40 ± 0.70 ^{*1}
中剂量组	0 ± 0.00	0.20 ± 0.42 ^{*1}	0.30 ± 0.67 ^{*1}
大剂量组	0 ± 0.00	0.20 ± 0.42 ^{*1}	0.30 ± 0.67 ^{*1}

与模型对照组比较, ^{*1} $P < 0.01$
Compared with model control group, ^{*1} $P < 0.01$

表 4 5 组小鼠自主活动的比较
Tab. 4 Comparison of spontaneous activity among five groups of mice

组别与时间	$\bar{x} \pm s, n = 10$	
	活动次数	站立次数
正常对照组		
造模前	44.90 ± 3.00	13.60 ± 2.55
给药 7 d 后	27.50 ± 3.57	10.20 ± 1.75
给药 14 d 后	25.70 ± 3.47	8.40 ± 1.26
模型对照组		
造模前	44.40 ± 2.07	14.90 ± 2.33
给药 7 d 后	16.30 ± 3.59	5.20 ± 2.04
给药 14 d 后	10.10 ± 6.84	4.20 ± 2.53
四物汤小剂量组		
造模前	45.20 ± 3.05	14.30 ± 2.63
给药 7 d 后	19.80 ± 2.94 ^{*1}	7.20 ± 1.32 ^{*2}
给药 14 d 后	17.70 ± 3.47 ^{*2}	5.50 ± 1.27 ^{*1}
四物汤中剂量组		
造模前	44.60 ± 2.67	14.80 ± 2.74
给药 7 d 后	22.50 ± 2.92 ^{*2}	7.40 ± 1.17 ^{*2}
给药 14 d 后	20.40 ± 3.86 ^{*2}	6.90 ± 1.20 ^{*2}
四物汤大剂量组		
造模前	44.70 ± 2.83	15.20 ± 3.05
给药 7 d 后	23.90 ± 3.38 ^{*2}	7.10 ± 1.52 ^{*2}
给药 14 d 后	22.60 ± 5.08 ^{*2}	7.20 ± 1.03 ^{*2}

与模型对照组比较, ^{*1} $P < 0.05$, ^{*2} $P < 0.01$
Compared with model control group, ^{*1} $P < 0.05$, ^{*2} $P < 0.01$

3 讨论

血虚症涵盖了现代医学以贫血特征为主要表现的多种疾病,如再生障碍性贫血、失血性贫血、溶血性贫血等。血虚作为中医理论体系中的重要证候之一,其发病机制及病因病机研究都不是十分透彻。由于中医“证”的主观不确定性,导致动物造模方法的选用和相关检测指标的选择存在争议,动物模型建立与评价方法也成为制约中医药研究走向深入的关键科学问题。目前有关血虚症动物模型的造模方法主要有环磷酸胺化学损伤法、辐射法、乙酰苯肼溶血法、乙酰苯肼-环磷酸胺复合法和放血法等。其中放血法通过使实验动物失血而造成动物血虚模型,该法需要对小鼠进行反复放血,增加了小鼠感染的概率,检测过程中发现许多小鼠的外周血白细胞水平升高,且在放血过程中精确的放血体积较难控制,增加造模的难度。但该法所造模型与中医血液亏虚所致的血虚理论一致,是最接近中医血虚症本质的造模方法,故本实验采用放血法复制动物血虚模型^[4]。现代医学对于血虚影响记忆力的原理研究还不是很多,祖国医学所讲的“血虚”与现代医学中的“贫血”有相似之处但又不完全相同,因此本实验在检测小鼠血象的同时,还记录了小鼠的一般活动情况及自主活动情况,以便更准确的反映动物血虚症状。

祖国医学认为:人的神志活动与心的关系最为密切,而以气血为物质基础。《灵枢·邪客》云:“心者,五脏六腑之大主也,精神之所舍也。《素问·八正神明论》说:“血气者,人之神”。《灵枢·本神》说:“心藏脉,脉舍神”。《灵枢·营卫生会》云:“血者,神气也”。《灵枢·平人绝谷》又说:“血脉和利,精神乃居”。可见,血的正常运行和充盈是心主神志的重要条件。血虚体质如果以心血亏耗为主,则易于影响精神活动。如心神失养,则可表现为精神思维活动障碍,出现失眠,多梦,健忘,神志不宁,或反应迟钝,精神萎靡,甚则昏迷,不省人事。《景岳全书》说:“营主血,血虚则无以养心,心虚则神不守舍,或成为惊惕,或成为恐惧,或若有所恋,或无因而偏多妄思,以至终夜不寐,及忽寐忽醒而为鬼神不安等证”^[5]。现代医学对于血虚影响记忆力的原理研究还不是很多。现代医学认为学习记忆是中枢神经系统的高级神经活动,是衡量智能发育的重要指标。胡瑞梅等^[6]研究发现缺铁性贫血不仅可引起脑铁含量降低,还可造成脑内多种微量元素的改变,如:脑组织锌、锰、铜、铅等微量元素代谢紊乱,这些改变可能与缺铁性贫血大鼠的学习记忆能力降低有关。

四物汤是中医补血、养血的经典药方,主治营血虚滞症,用于心悸失眠、头晕目眩、面色无华、行瘦乏力、妇人月经不调、量少或经闭不行、脐腹作痛、舌淡、脉细玄或涩^[7]。现代药理学研究发现四物汤具有调节内分泌、纠正贫血、抗辐射、抗药物损伤、抗突变、抗自由基。调节免疫、改善微循环、增加血流量、抗血栓形成、降血脂、抗炎、抗皮肤疾病等作用^[8]。韩岚等^[9]发现四物汤对血管性痴呆大鼠有神经保护作用,能显著改善血管性痴呆大鼠海马病理变化,降低海马乙酰胆碱酯酶及 ET-1 水平,提高海马 5-羟色胺及血管内皮生长因子水平,进而提高血管性痴呆大鼠的空间学习记忆能力。故笔者在本实验中采用失血法复制血虚模型,并利用 T 迷宫实验方法,观察四物汤对血虚小鼠的空间学习记忆能力的影响,一方面观察血虚是否会导致记忆力下降,另一方面观察四物汤对血虚小鼠记忆力的影响,为四物汤的临床用药及记忆力减退性疾病的治疗提供参考。

RBC、HGB、白细胞及血小板是血液中的主要细胞成分,也是判定血虚症的重要指标,在临床上血常规变化是血虚证的重要的客观指征,二者之间存在明显的相关性^[10]。促红细胞生成素(erythropoietin, EPO)是由肾皮质肾小管周围间质细胞和肝脏分泌的一种激素样物质,能促进红细胞生成。服用 EPO 可使肾性贫血患者增加血流比容(即增加血液中红细胞百分比),EPO 能增强机体对氧的结合、运输和供应能力,改善缺氧症状。当机体红细胞减少时,机体血红蛋白含量下降,导致缺氧,EPO 将代偿性增加,以促进机体骨髓造血,因此其含量变化可以作为观察机体造血功能状态变化的指标^[8]。本实验结果显示:连续尾静脉放血 7 d 后,模型对照组小鼠 RBC 数量、HGB 含量、HCT 比值较正常对照组明显降低,差异有统计学意义,并出现毛发紊乱,无光泽,足趾苍白,自发活动减少,记忆力下降,符合中医血虚症状。四物汤可提高血虚小鼠 RBC 数量、HGB 含量及 HCT 比值,升高血清 EPO 含量,并提高血虚小鼠 30 min 内在自发活动仪中的活动次数及站立次数,说明四物汤可改善血虚小鼠的血虚症状,促进血虚小鼠在新异环境中的自发行为和探究反应,加速血虚小鼠体能的恢复,增强血虚小鼠体力。

记忆过程依次为记忆获得、巩固、再现,多次反复予以刺激往往会加强记忆^[11]。T 迷宫实验主要反映动物对空间位置和方向的空间学习记忆能力。实验结果显示给药 7 及 14 d 后,血虚模型小鼠选择错误次数

增加,四物汤大、中、小剂量组与模型对照组比较,错误次数减少,正确率提高,说明四物汤对血虚模型小鼠记忆认知功能有一定的改善作用。其作用可能通过增加血清 EPO 水平,进而作用于骨髓造血系统,促进造血,改善贫血症状,从而改善大脑缺血缺氧状态,提高血虚小鼠空间学习记忆能力;另一方面也可能通过降低血虚小鼠海马 AChE 含量,提高 ACh 水平,进而提高空间学习记忆能力的,AChE 可降解 ACh,ACh 是中枢神经系统调节高级神经功能的重要神经递质,其水平下降可导致空间学习记忆障碍。但实验结果显示模型对照组海马 AChE 含量虽然比正常对照组有所升高,但差异无统计学意义。可能是由于血虚会导致记忆力下降,但并没有像痴呆证一样出现记忆障碍。因此血虚小鼠海马 AChE 含量有升高趋势,但与正常对照组比较,差异无统计学意义,具体机制尚待证实。

参考文献

- [1] 何晓燕,李真贞.白芍对血虚小鼠补血作用的研究[J].时珍国医国药,2009,20(4):999-1000.
- [2] 龚文君,沃兴德.血虚证的现代研究概述[J].现代生物医学进展,2007,7(6):934-937.
- [3] 沈鸿,肖红,陈建芳,等.酸枣仁汤对血虚小鼠的镇静催眠作用[J].中国临床康复,2005,9(43):106-108.
- [4] 贾梅,郑传柱,张丽,等.胶艾汤对血虚模型大鼠补血作用的有效部位筛选[J].中草药,2015,46(16):2428-2433.
- [5] 陈嫵如.血虚体质与女性养生保健[D].济南:山东中医药大学,2012:134-150.
- [6] 胡瑞梅,魏美文,张岩,等.缺铁性贫血大鼠学习记忆能力的变化及其与脑组织中微量元素的关系[J].中华儿科杂志,2002,40(3):36-38.
- [7] 富徐燕,陈梦,赵丕文,等.四物汤补血调经作用的物质基础及分子机理的研究进展[J].时珍国医国药,2013,24(11):2771-2773.
- [8] 张荣桃.四物汤的现代研究进展[J].北京中医药,2012,31(1):73-76.
- [9] 韩岚,季兆洁,陈卫东,等.四物汤对血管性痴呆大鼠的神经保护作用及其机制研究[J].安徽中医药大学学报,2015,34(4):69-73.
- [10] 李瑞丽,黄晓巍,卢彤宇,等.参红补血颗粒对失血性血虚证模型动物造血功能的影响[J].中国妇幼保健,2015,30(5):770-772.
- [11] 蔡乐,李丽,王冬梅,等.金蛤口服液对环磷酰胺所致血虚模型小鼠外周血象及记忆功能的影响[J].中国药房,2013,24(15):1354-1356.