

紫甘薯花青素对 LPS 致炎小鼠学习记忆能力的保护作用

孙 晓 王 正 阮 杰 王晓慧 郑元林

摘要 目的 探讨紫甘薯花青素对小鼠学习记忆能力的影响。**方法** 建立小鼠脑组织慢性炎症模型,紫甘薯花青素连续灌喂,对照组灌喂生理盐水,通过开场测试、一次性被动回避测试两种行为学模型观察小鼠学习记忆能力的变化。**结果** 通过灌喂 PSPC 后,PSPC + LPS 组的小鼠与 LPS 组的小鼠相比,在总路程、速度、理毛、贴壁和站立等 4 个方面的能力都有显著的升高($P < 0.001$);记忆保持潜伏期显著增高($P < 0.001$)。**结论** 紫甘薯花青素对 LPS 致炎小鼠学习记忆能力具有保护作用。

关键词 紫甘薯花青素 慢性炎症 学习记忆

The Protective Effect of Purple Sweet Potato Color on the Ability of Learning and Memory in Mouse with LPS Induced Inflammation. Sun Xiao, Wang Zheng, Ruan Jie, Wang Xiaohui, Zheng Yuanlin. School of Life Science, Xuzhou Normal University. Key Laboratory of Biotechnology for Medicinal Plants of Jiangsu Province, Jiangsu 221116, China

Abstract Objective To explore the protective influence of purple sweet potato color (PSPC) on the mouse's ability of learning and memory. **Methods** A model of chronic inflammation tissue of mouse brain was established. Mouse was fed with PSPC continually, and normal saline was used for the control group. The change of mouse's ability on its learning and memory was observed through two behavioral models—open field test, step through test. **Results** After we feeding mouse with PSPC, compared with LPS group, PSPC + LPS group had a significant better performance on the distance, speed, grooming, rearing/learning ($P < 0.001$); and also in memory – keeping incubation period ($P < 0.001$). **Conclusion** PSPC has a protective effect on the ability of learning and memory in mouse with LPS induced inflammation.

Key words protective influence of purple sweet potato color (PSPC); Chronic inflammation; Learning and memory

紫甘薯花青素 (purple sweet potato color, PSPC) 属于类黄酮化合物,以 $C_6C_3C_6$ 为基本骨架,是一种广泛存在于植物中的水溶性色素^[1]。大量研究表明,紫甘薯花青素具有抗氧化、抗炎、清除自由基、抗突变、抗肿瘤、抗高血糖、改善肝功能、抗菌等生物学功能^[2]。作为一种天然型色素资源,紫甘薯花青素无毒、无特殊气味、安全,营养丰富,具有多种保健功能,近年来受到人们广泛的关注。

细菌脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 是革兰阴性细菌细胞壁上的特有结构,主要由 O-特异性多糖、核心多糖和类脂 A 3 部分组成,其中脂类 A 为毒性中心,核心多糖和类脂 A 又称为 R-核心。LPS 的 O-侧链的糖基组成和结构,在同一菌种内部不同类群之

间和不同菌种之间都有所差别,是确定菌体抗原特性的决定因子,因此又称为 O-抗原^[2-5]。LPS 作为一种生物体的外源性刺激剂,可通过刺激单核细胞、巨噬细胞等分泌多种细胞因子和炎症递质^[6]。

学习记忆是大脑的高级功能,是构成人脑职能的要素。研究表明,学习记忆伴随有复杂的神经生理、生化机制,涉及多种物质。中枢神经在信息的获得、储存、保持及再现等学习记忆过程中起着重要的作用,而且组织中的自由基对学习记忆的损伤也扮演着重要角色^[7]。利用整体行为学实验来检测小鼠学习记忆能力的变化,可以作为研究紫甘薯花青素的抗炎、抗氧化、抗自由基等生物学特性的重要方法。本实验利用开场测试、一次性被动回避测试两种行为学模型,从整体行为水平上来研究紫甘薯花青素对 LPS 致炎小鼠学习记忆能力的影响。

材料与方法

1. 实验材料: C57 BL/6 健康雄性小鼠 32 只, 8 周龄, 清洁级。购于北京协和医科大学; LPS 购于 Sigma 公司; 紫甘薯花青素购于青岛鹏远色素研究所; 开场实验模型: ZH-ZFT 自发

作者单位: 221116 徐州师范大学生命科学学院/徐州师范大学药用植物生物技术重点实验室 (孙晓、王正、阮杰、王晓慧、郑元林); 213000 南京医科大学附属常州第二人民医院中心实验室 (孙晓)

通讯作者: 郑元林, 教授, 博士生导师, 电子信箱: ylzhang@ xznu.edu.cn

活动实验食品分析系统;一次性被动回避实验模型;ZH-200型小鼠避暗仪,均购于淮北正华生物仪器设备有限公司。

2. 实验方法:①在小鼠适应实验室环境后,将实验小鼠随机分为4个组,分别为:正常对照组(control)、模型组(LPS)、药物治疗组(PSPC+LPS)、药物对照组(PSPC),每组8只,PSPC+LPS组、PSPC组每天灌喂PSPC(700mg/kg);control组及LPS组每日灌喂等量的生理盐水。连续灌喂4周,第5周注射LPS(5mg/kg)同时继续灌喂PSPC(700mg/kg),继续灌喂4周,进行行为学实验;②开场测试:实验在1个40cm×40cm×60cm的箱子内进行。待小鼠适应新环境后,正式开始实验。选择1个起始点,通过数码摄像机及计算机,记录小鼠在5min内的站立/贴壁次数、理毛次数、速度、总路程等。连续检测5天,比较不同组别的小鼠在新环境中自发行为与探究活动的变化;③一次性被动回避实验:实验避暗箱箱底铺铜栅,通交流电。箱前有一跳台作为小鼠回避电击的安全区。开始正式实验时,记录小鼠1min内进入暗箱的时间,即自然潜伏期。若没有进入,将小鼠送入暗箱。1min后待小鼠进入暗箱,通电5s。第2天记录小鼠5min内进入暗箱的时间(S),即记忆

保持潜伏期。若小鼠5min没有进入暗箱,则记录为300s。

3. 统计学方法:使用SPSS软件处理数据,以平均值±标准误表示,空白对照组的标准误设为1。以P<0.05为差异有统计学意义。

结 果

1. 紫甘薯花青素对LPS致炎小鼠自发行为能力的影响:开场测试中,小鼠的贴壁和站立次数反映小鼠在新异环境中的探究行为,小鼠的理毛次数反应小鼠对新环境的满意程度。实验结果显示,经LPS处理的小鼠,在总路程、速度、理毛、贴壁和站立等4个方面的能力与对照组相比,都有极显著的降低(P<0.001);通过灌喂PSPC后,PSPC+LPS组的小鼠与LPS组的小鼠相比,在以上的4个方面的能力都有显著的升高(P<0.001);单独灌喂PSPC的小鼠与对照组相比没有差异(图1)。提示PSPC对恢复致炎小鼠学习记忆能力具有一定的功效。

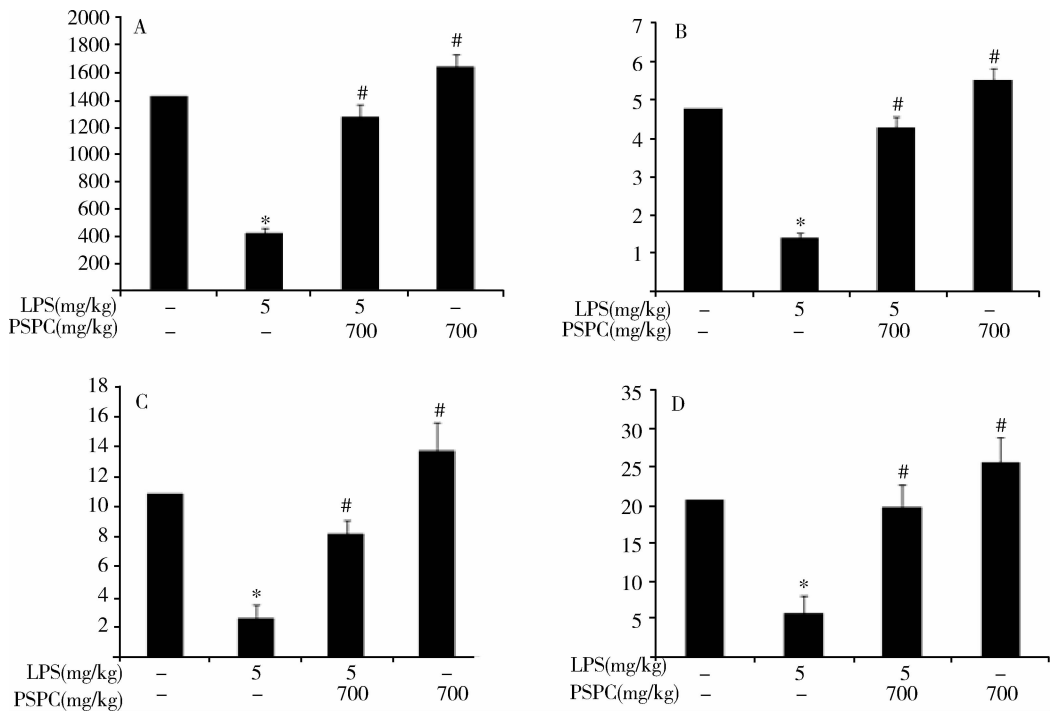


图1 PSPC对LPS致炎小鼠的自发行为能力的影响(n=8)

A. 小鼠5min内活动的总路程(cm);B. 小鼠活动的速度(cm/s);C. 小鼠5min内理毛的次数;D. 小鼠5min内贴壁和站立次数。

与对照组相比较,*P<0.001;与LPS组相比较,#P<0.001

2. 紫甘薯花青素对LPS致炎小鼠避暗行为能力的影响:一次性被动回避测试中,通过伤害性刺激建立操作式条件反射,令小鼠记住某一行为所带来的不良的后果,在下次想进行该行为时表现犹豫。实验结果显示,4组小鼠自然潜伏期没有明显差异(P<0.05);通过5s电击,24h之后,LPS组与对照组相比,

记忆保持潜伏期显著降低(P<0.001),PSPC+LPS组的小鼠与LPS组的小鼠相比,记忆保持潜伏期显著增高(P<0.001),单独灌喂PSPC的小鼠与对照组相比没有差异(图2)。结果表明,LPS处理的小鼠记忆保持能力减弱,而PSPC处理后,炎症小鼠的记忆保持能力有所恢复。

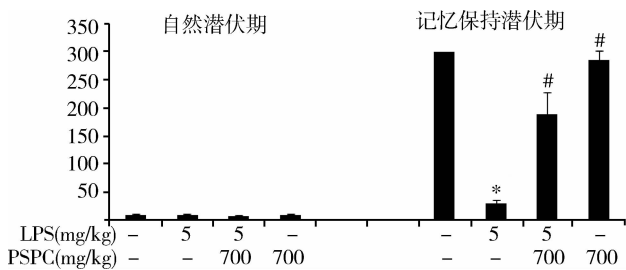


图2 PSPC对LPS致炎小鼠的避暗行为能力的影响(n=8)

一次性被动回避实验,自然潜伏期和记忆保持潜伏期。control作为对照。*与对照组相比较,P<0.005;#与LPS组相比较,P<0.005;“-”号代表未加药

讨 论

紫甘薯花青素是一种类黄酮化合物,目前已有报道证明黄体类化合物具有神经元保护,促进学习记忆和改善认知能力的作用^[8]。研究表明,类黄酮化合物对于中枢神经系统损伤具有一定的治疗价值,但是其具体的作用机制尚不明确^[9]。

学习和记忆之间是相辅相成,相互联系的,包括对事物的获取、认识、保存和再现等4个过程,而脑是学习记忆的重要载体。中枢胆碱能神经系统在学习记忆中起着非常重要的作用,中枢胆碱能通路是构成学习记忆的主要通路,胆碱能神经递质沿着中隔、海马、基底前脑系统投射到皮质,传导冲动反复出现,使之有可能学习新的知识。有研究表明,学习记忆伴随着复杂的神经生理、生化指标的变化,血液及组织中的自由基对学习记忆的损伤扮演着重要角色。体内自由基对机体造成的严重危害主要是由其对高分子的造成损伤而引起的^[10]。

开场实验被广泛运用于神经生理领域,已成为一种研究空间学习与记忆的标准模式。避暗实验也是常用的研究动物学习记忆的方法,本实验通过对小鼠腹腔注射LPS建立慢性炎症模型,检测正常对照组、模型组、药物治疗组、药物对照组4个组别的小鼠在新异环境下的自发活动状态,记忆保持能力等方面的行为表现,从而比较用药对小鼠学习记忆能力的影响,为紫甘薯花青素保护LPS致炎小鼠学习记忆能力的作用,提供一定得佐证。

本实验发现,在自发行为中,经LPS处理的小鼠,其自发活动、空间学习记忆能力明显下降,与空白对照组有极显著的差异。通过紫甘薯花青素的处理,小鼠的自发活动、学习记忆能力有所提高。同样,在避暗实验中,经LPS处理的小鼠,其记忆保持潜伏期

明显低于空白对照组的小鼠;由紫甘薯花青素灌喂的LPS处理小鼠,比单独以LPS处理的小鼠的记忆保持潜伏期有明显提高。而单独灌喂紫甘薯花青素的小鼠与空白对照组的小鼠在以上两个行为学实验中都没有明显的差异。提示紫甘薯花青素一定程度上增强对小鼠学习记忆的影响。已有文献证明,紫甘薯花青素在对脑组织中自由基具有一定的清除作用^[11],提示对自由基产生的抑制及其清除能力的提高,是紫甘薯花青素保护脑神经元,改善学习记忆能力的一个重要的途径。

综上所述,可以推测紫甘薯花青素对改善LPS致炎小鼠的学习记忆功能还可能与调节中枢胆碱能神经系统的活动有关。

参 考 文 献

- Hwang YP, Choi JH, Yun HJ, *et al.* Anthocyanins from purple sweet potato attenuate dimethylnitrosamine - induced liver injury in rats by inducing Nrf2 - mediated antioxidant enzymes and reducing COX - 2 and iNOS expression[J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 49 (1): 93 - 99
- 李彦青,卢森权,黄咏梅,等. 紫色甘薯花青素的应用前景[J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(29): 12641 - 12642
- 黄宏. LPS受体及其信号传导通路[J]. *免疫学杂志*, 2002, 18 (6): 84 - 87
- Hsu HY, Wen MH. Lipopolysaccharide - mediated reactive oxygen species and signal transduction in the regulation of interleukin - 1 gene expression[J]. *Biol Chem*, 2002, 277(25): 22131 - 22139
- Arcaroli J, Hokanson E, Abraham E, *et al.* Extracellular superoxide dismutase haplotypes are associated with acute lung injury and mortality [J]. *Am J Respir Critic Care Med*, 2009, 179(2): 105 - 112
- Aderem A, Ulevitch RJ. Toll - like receptors in the induction of the innate immune response[J]. *Nature*, 2000, 406 (6797): 782 - 787
- Cagetti E, Pinna G, Guidotti A, *et al.* Chronic intermittent ethanol (CIE) administration in rats decreases levels of neurosteroids in hippocampus, accompanied by altered behavioral responses to neurosteroids and memory function[J]. *Neuropharmacology*, 2004, 46(4): 570 - 579
- Frye CA, Alicia A. Progesterone enhances performance of aged mice in cortical or hippocampal tasks[J]. *Neurosci Lett*, 2008, 437(2): 116 - 120
- 王永丽,徐俊然,魏芳. 灯盏花素对AD模型小鼠学习记忆能力的影响[J]. *中药药理与临床*, 2009, 25 (6): 49 - 51
- Hinz B, Brune K. Cyclooxygenase - 2 - 10 years later[J]. *Pharmacol Exp Ther*, 2002, 300(2): 367 - 375
- Wang YJ, Lu J, Chen GQ. Purple sweet potato color suppresses lipopolysaccharide - induced acute inflammatory response in mouse brain[J]. *Neurochem Int*, 2010, 56(3): 424 - 430

(收稿:2011-02-20)

(修回:2011-04-12)