

[7] 吴 俭,金国强,赵 玲. 低氧缺血新生大鼠脑组织 SOD、MDA 和 NO 的变化及硫酸镁的保护作用[J]. 江西医学院学报, 2002, 42(1):49-51.

[8] 陈冠容,宋红萍,刘 忠,等. 老药新用[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社,2004:163-169.

# 降铅 I 号改善铅接触幼鼠学习障碍作用研究\*

陈玉燕<sup>1</sup>,王建平<sup>2</sup>,王晓鸣<sup>1</sup>,陈 健<sup>1</sup>,宣桂琪<sup>1</sup>

(浙江省中医院 1. 儿科;2. 药剂科,杭州 310006)

**[摘要]** 目的 观察降铅 I 号对低水平铅接触幼鼠血铅水平及学习记忆能力的影响。方法 选用 Wistar 幼鼠 60 只,随机分成 6 组各 10 只,模型组、EDTA 对照组和降铅 I 号低、中、高剂量组饲喂 0.2% 醋酸铅去离子水制作铅接触模型,空白组饲喂普通去离子水。15 d 后空白组取大鼠 4 只,其他组随机取 2 只测定血铅浓度,其他大鼠进行 Y 迷宫实验。大鼠铅接触模型制作成功后开始给药,EDTA 对照组予依地酸钙钠 (CaNa<sub>2</sub>EDTA) EDTA 注射液 10 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> 腹腔注射,降铅 I 号低、中、高剂量组分别给予降铅 I 号 5,10,20 g · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> 灌胃(给药之前稀释成相同容积),空白组和模型组予等量纯化水灌胃。各组均给药 30 d 后再检测血铅浓度并进行 Y 迷宫实验。**结果** 给药 30 d 后,降铅 I 号各剂量组血铅水平均较模型组显著下降(均  $P < 0.05$ ); Y 迷宫实验显示,饲喂过醋酸铅的大鼠受电击次数明显多于空白组( $P < 0.01$ );降铅 I 号各剂量组大鼠记忆保持率高于模型组(均  $P < 0.05$ ),其中降铅 I 号中、高剂量组大鼠记忆保持率明显高于 EDTA 对照组( $P < 0.05$ )。**结论** 降铅 I 号能有效降低铅接触大鼠幼鼠的血铅水平,并能改善铅所致学习障碍。

**[关键词]** 降铅 I 号;血铅;Y 迷宫实验;学习障碍

**[中图分类号]** R286;R965

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1004-0781(2007)08-0880-03

由于环境铅污染,使儿童铅中毒的发生率居高不下<sup>[1]</sup>,铅可损害儿童的学习记忆能力,导致学习障碍,已经为许多研究所证实<sup>[2,3]</sup>。本实验以 Wistar 大鼠幼鼠为研究对象,旨在观察降铅 I 号对低水平铅接触大鼠幼鼠血铅水平的影响及对铅所致学习记忆障碍的改善作用。现报道如下。

## 1 材料与方 法

**1.1 实验动物** 健康刚断乳 Wistar 大鼠幼鼠 60 只,日龄约 25 d,体重 80 ~ 100 g,雌雄各半,由浙江中医药大学实验动物中心提供。

**1.2 药 物** 降铅 I 号方由益智仁、枸杞子、牡蛎、五味子、生甘草等组成,浙江省中医院中药制剂室制成煎剂,再浓缩至 2 g 生药 · mL<sup>-1</sup>;依地酸钙钠注射液 (CaNa<sub>2</sub>EDTA,天津金耀氨基酸有限公司生产,批号:0306261)。

**1.3 试剂与仪器** 血铅质量控制标准品(美国疾病预防控制中心提供);血铅测定仪:AA700 型原子吸收仪(美国 Perkin Elmer 公司)。

## 1.4 方 法

**1.4.1 动物分组** 将 60 只幼鼠随机分成 6 组,每组 10 只,分别为空白组。模型组。EDTA 对照组和降铅 I 号低、中、高剂量治疗组。

**1.4.2 实验方法** 空白组饲喂普通去离子水,其余各组饲喂含 0.2% 醋酸铅的去离子水以制作模型,各组饲喂共同配方的

基础饲料,共饲喂 15 d。大鼠铅接触模型制作成功后开始给药,EDTA 对照组给予 CaNa<sub>2</sub>EDTA 注射液 10 mg · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> 腹腔注射,降铅 I 号低、中、高剂量组分别给予降铅 I 号 5,10,20 g · kg<sup>-1</sup> · d<sup>-1</sup> 灌胃(给药之前稀释成相同容积),空白组和模型组予等量纯化水灌胃,各组均给药 30 d。

**1.4.3 观察指标与方法** 铅接触模型制作成功后将大鼠置于 Y 迷宫中,三臂灯均打开,让大鼠适应 3 min 后将灯熄灭。然后打开大鼠不在的一臂灯,停留 5 s(灯亮臂为安全区),将其余两臂通电(电压 50 V),随机开两灯。记录大鼠到达安全区的时间(30 s 内到达有效,否则计为失败)。灯亮持续 30 s,然后熄灭,一次实验结束。两次实验之间间隔 1 min,直到大鼠学会为止(10 次有 9 次正确到达安全区为学会),记录所受电击次数。给药 30 d 后再次检测大鼠所受电击次数,并检测记忆保持情况,即在连续 10 次测试中正确反应尚保持多少,以记忆保持的百分数表示。

**1.4.4 标本的采集** 为检验造模是否成功,模型制作结束时全部幼鼠完成 Y 迷宫实验后,空白组选取 4 只,其他各组随机抽取 2 只幼鼠,2% 戊巴比妥钠 3 mL · kg<sup>-1</sup> 腹腔注射麻醉,腹腔动脉取血约 1 mL,置于加入肝素钠 16 μL 干燥的离心管中,混匀,用于血铅的测定。给药结束后,其余幼鼠再按上述同步步骤取血。所有容器均作无铅化处理,用 5% 稀硝酸浸泡 24 h,再用纯化水洗净,烘干,标本的盛放及处理过程中尽量避免外环境污染。

**1.4.5 血铅的测定** 采用 AA700 型原子吸收光谱仪石墨炉法进行。将抗凝血与标准品同时用 10% 硝酸消化(按 1 : 9 的比例),10 000 r · min<sup>-1</sup> 离心 5 min,取上清 20 μL 加入石墨管。由标准管做一条原子吸光度与浓度的曲线,每管标本根据其铅原

[收稿日期] 2007-02-26 [修回日期] 2007-03-23

[基金项目] \* 浙江省中医药管理局资助项目(项目编号:2003C050)

[作者简介] 陈玉燕(1964 -),女,浙江温州人,副主任医师,学士,主要从事儿科神经专业临床工作。电话:0571 - 86620263。

子的吸光度,在标准曲线上读出相应浓度。

**1.5 统计学方法** 所有数据均输入 SPSS11.0 软件包中,采用均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 描述,各组间采用多组单因素方差分析 (One-way-ANOVA)。

## 2 结果

**2.1 实验前后各组血铅浓度** 空白组大鼠血铅浓度为  $(71.20 \pm 11.41) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ;模型制作成功后,测得各染铅组随机抽取的 10 只幼鼠血铅浓度平均为  $(160.17 \pm 15.88) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ ,作为治疗前浓度。两者相比较,模型大鼠的血铅浓度明显较高 ( $P < 0.05$ ),提示铅中毒大鼠模型制作成功。大鼠模型制作成功后 1 个月,空白组血铅水平无明显变化 ( $P > 0.05$ ),其他各组大鼠血铅浓度较给药前不同程度下降 (均  $P < 0.05$ )。降铅 I 号各剂量组和 EDTA 对照组大鼠治疗后血铅水平与模型组比较均明显较低 ( $P < 0.01$  或  $P < 0.05$ ),与空白组比较均差异无显著性 (均  $P > 0.05$ );降铅 I 号各剂量组之间及降铅 I 号各剂量组与 EDTA 对照组之间血铅浓度差异无显著性 (均  $P > 0.05$ )。结果见表 1。

表 1 治疗前后各组幼鼠血铅浓度测定结果  $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}, \bar{x} \pm s$

组别	幼鼠/只	治疗前	治疗后
降铅 I 号低剂量组	8	160.17 $\pm$ 15.88	85.74 $\pm$ 12.12 * <sup>1</sup>
降铅 I 号中剂量组	8	160.17 $\pm$ 15.88	82.01 $\pm$ 11.92 * <sup>2</sup>
降铅 I 号高剂量组	8	160.17 $\pm$ 15.88	81.03 $\pm$ 9.03 * <sup>2</sup>
EDTA 对照组	8	160.17 $\pm$ 15.88	88.85 $\pm$ 10.00 * <sup>1</sup>
模型组	8	160.17 $\pm$ 15.88	117.00 $\pm$ 19.80
空白组	6	71.20 $\pm$ 11.41	72.10 $\pm$ 9.80

与模型组比较, \*<sup>1</sup> $P < 0.05$ , \*<sup>2</sup> $P < 0.01$

**2.2 大鼠学习障碍改善情况** Y 迷宫实验结果提示,经过 15 d 的低水平铅接触,各染铅组幼鼠在 Y 迷宫中受电击次数均明显高于空白组 ( $P < 0.01$ ),各染铅组之间差异无显著性。经过 1 个月治疗后,降铅 I 号各剂量组大鼠记忆保持率明显高于模型对照组,且均差异有显著性 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );降铅 I 号高剂量组与空白组比较差异无显著性 ( $P > 0.05$ ),其他各组与空白组比较均差异有显著性 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );降铅 I 号中剂量组和高剂量组与 EDTA 对照组比较亦差异有显著性 ( $P < 0.05$ )。结果见表 2。

表 2 各组大鼠电击次数与治疗记忆保持率测定结果  $\bar{x} \pm s$

组别	电击/次	治疗后记忆保持率/%
降铅 I 号低剂量组	27.4 $\pm$ 6.5 * <sup>1</sup>	53.7 $\pm$ 14.1 * <sup>2</sup>
降铅 I 号中剂量组	26.4 $\pm$ 8.1 * <sup>1</sup>	62.5 $\pm$ 11.6 * <sup>3,4,5</sup>
降铅 I 号高剂量组	27.1 $\pm$ 9.8 * <sup>1</sup>	63.7 $\pm$ 11.8 * <sup>4,5</sup>
EDTA 对照组	25.1 $\pm$ 7.1 * <sup>1</sup>	45.0 $\pm$ 16.0 * <sup>1</sup>
模型组	28.0 $\pm$ 10.7 * <sup>1</sup>	37.5 $\pm$ 22.5 * <sup>1</sup>
空白组	13.6 $\pm$ 8.5	80.0 $\pm$ 6.3

## 3 讨论

现代医学对铅中毒的处理方法相对单一,不良反应较多。EDTA 类金属螯合剂在螯合铅的同时也螯合了体内必需的微量元素,这种邪正俱伤的过程会造成体内微量元素失衡,因此临床应用有一定局限性,更无法用于血铅水平不很高的亚临床性铅中毒和儿童铅中毒的预防<sup>[4]</sup>。

祖国医学认为“铅”为阴寒之邪,性濡滑沉坠,入人体后易

伤人阳气,小儿稚阴稚阳之体,五脏六腑成而未全,阳气易受阴寒之邪所遏,造成脏腑功能失调,阳损及阴,阻碍儿童正常生长发育,患儿常有多动难静、脾气急躁、盗汗、舌红苔薄、脉细数等阴虚的症状。故应以补肾柔肝、和胃健脾、利湿解毒、软坚排铅等为治疗原则。降铅 I 号以滋补肝肾、益智安神为组方原则,由补肾平肝解毒益智之中药益智仁、枸杞子、龙齿、牡蛎、五味子、生甘草等组成。其中益智仁补肾益智;牡蛎、五味子镇静安神开窍;五味子又能收阳中之阴气以养五脏;枸杞子对铅的免疫毒性有拮抗作用<sup>[5]</sup>;牡蛎含有丰富的钙质;生甘草是中药中公认的解毒药,其含有的锌元素在一定程度上也增加了排铅的功效<sup>[6]</sup>。整个方剂组方严谨,切合儿童铅中毒的病因病机,标本兼顾。降铅 I 号作为院内制剂,已在我院临床应用多年,显示该方能改善铅中毒儿童症状,降低血铅水平,改善学习行为能力<sup>[7,8]</sup>。

本实验造模成功后,Y 迷宫实验结果显示铅接触组幼鼠的受电击次数均明显高于空白组,提示低水平铅接触可影响大鼠分辨学习和记忆能力,导致学习能力下降。经 1 个月的治疗后,降铅 I 号各组的记忆保持率明显高于模型对照组,而降铅 I 号中剂量组和高剂量组与 EDTA 对照组比较也有意义。说明降铅 I 号能明显改善大鼠接触铅所致的学习记忆障碍,尤其以中剂量组和高剂量组作用为佳。本实验中,降铅 I 号各剂量组治疗后血铅水平比模型组显著下降,而模型组在停止铅接触后 1 个月,其血铅水平比治疗前也有明显下降。说明降铅 I 号有较强的排铅作用,同时也提示临床上对轻度铅中毒儿童进行健康教育的重要性。

本实验结果表明,降铅 I 号能有效降低铅接触大鼠幼鼠的血铅水平,并能改善铅接触所致的大鼠学习障碍。为临床寻求治疗铅中毒及学习障碍的有效药物提供了实验依据,其作用机制尚有待于进一步的探讨和研究。

### [参考文献]

- [1] 戚其平,杨艳伟,姚孝元,等. 中国城市儿童血铅水平调查[J]. 中华流行病学杂志,2002,23(3):162-166.
- [2] JETT D A, KUHLMANN A C, FAMER S J, et al. Age-dependent effects of developmental lead exposure on performance in the Morris water maze[J]. *Pharmacol Biochem Behav*, 1997, 57(1-2):271-279.
- [3] MURPHY K J, REGAN C M. Low-level lead exposure in early postnatal period results in persisting neuroplastic deficits associated with memory consolidation[J]. *J Neurochem*, 1999, 72(5):2099-2104.
- [4] 沈晓明. 儿童铅中毒[M]. 北京:人民卫生出版社,1996:199-200.
- [5] 宫道华,陈吉庆,卢秋穗. 智子颗粒剂降血铅的疗效观察[J]. 广东微量元素科学,1998,5(6):45-49.
- [6] 张俊清,刘明生,李果果. 中草药排铅领域之研究概况[J]. 中国职业医学,2002,21(4):33.
- [7] 陈健,陈玉燕,王晓鸣,等. 降铅冲剂治疗儿童注意缺陷多动障碍的临床观察[J]. 中国中西医结合杂志,2002,22(4):258-260.
- [8] 王晓鸣,陈玉燕,宣桂棋. 降铅 I 号冲剂防治儿童铅中毒的研究[J]. 广东微量元素科学,2001,8(10):64-66.