

# Experimental Study on the Activity of Acetylcholinesterase (chAT) and Acetylcholinesterase (a-che) in the Brain of Rats with Alzheimer's Disease

Qijun Long<sup>1</sup>, Yuying Deng<sup>1</sup>, Chuanling Tan<sup>1</sup>, Dan Zou<sup>1</sup>, Shumei Xu<sup>1</sup>, Haichao Tian<sup>1</sup>, Shuqiu Zhang<sup>2\*</sup>, Guoquan Zhou<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Heavy Metal and Arsenic Toxicology Research Laboratory, Youjiang University of Nationalities, Baise Guangxi

<sup>2</sup>Guangxi Baise High-Tech Zone Science and Technology Enterprise Incubation Base R & D Center, Baise Guangxi

<sup>3</sup>Department of Environmental Toxicology, Michigan State University, East Lansing, Michigan, USA

Email: \*sqzhang224@163.com

Received: Jun. 11<sup>th</sup>, 2019; accepted: Jun. 20<sup>th</sup>, 2019; published: Jun. 27<sup>th</sup>, 2019

## Abstract

**Objective:** To explore the effect of Chinese herbal medicine and compound preparation on mice of aluminum-induced Alzheimer's disease (AD). **Methods:** AD mice model was established first. 50 mice were divided into four groups: control group, model group, treatment group 1 and treatment group 2. Except the control group mice, the model group mice were injected intraperitoneally with mixed liquid of D-galactose + AlCl<sub>3</sub> for 60 days (the mice were injected intraperitoneally with Al<sup>3+</sup> concentration of 2 mg/ml aluminum trichloride diluted liquid at a dose of 5 mg/kg body weight for 60 days). Treatment group 1 and treatment group 2 were poisoned for 2 months with aluminum first, then the two treatment groups were poured with different dosages of Chinese herbal compound preparations respectively; the same volume of distilled water was given to mice of the control group and model group till to the end of the experiment. Hemoglobin and Morris water maze test were tested before and after experiment. At the end of experiment, the blood was obtained, the serum was isolated, and serum biochemical indexes were measured. After mice sacrificed, their brains were taken and weighed, then the brains were made into homogenate, and centrifuged to get the supernatant, in which acetylcholinesterase (AChE), acetylcholine transferase (chAT), superoxide anion free radical (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) cleaning rate, and glutathione were determined. And another part of the brain was used for pathological examination after formaldehyde treatment. **Results:** In all experimental groups, the indices showed respectively that vitality of mice's brain (AChE) was 5.77 ± 1.52, 6.02 ± 0.79, 7.30 ± 0.59, 5.27 ± 1.09 (U/mg.prot), P < 0.05, P < 0.01; Vigor Dynamic of (ChAT) was 29.25 ± 13.42, 7.05 ± 5.07, 52.95 ± 25.79, 53.95 ± 12.82 (U/g) (tissue wet weight), P < 0.05, P < 0.01; and Vigor Dynamic of serum (AChE): 51.79 ± 2.12, 44.71 ± 2.21, 55.41 ± 2.10, 41.30 ± 3.36 (U/ml), P < 0.05, P < 0.01; obviously, in all these indexes, the model group was apparently lower. Al<sup>3+</sup> in mice's brain content turned out 135.00 ± 8.37, 149.40 ± 0.89, 147.43 ± 4.83, 118.75 ± 6.41 (ng/ml); superoxide anion free radical (O<sub>2</sub><sup>-</sup>) cleaning rate was 27.65 ± 4.81, 14.71 ± 3.60, 22.65 ± 8.67, 21.57 ± 6.14 (%). Before, during, after the contamination, it showed

\*通讯作者。

**文章引用:** 龙奇军, 邓钰莹, 谭川铃, 邹丹, 许淑妹, 田海潮, 张树球, 周国荃. 阿尔茨海默病模型小鼠脑乙酰胆碱转移酶(chAT)和乙酰胆碱酯酶(AChE)活力的实验研究[J]. 临床医学进展, 2019, 9(6): 807-814.

DOI: 10.12677/acm.2019.96124

that Hb in the control group had no obvious change, in model group was low, and in the treatment group was lower first then increased. Conclusion: Aluminum can induce the brain neuron cell suffering from atrophy, degeneration and necrosis, which will reduce the AchE activity, chAT activities, and the anti-oxidative ability. Chinese medicine compound preparations have obvious curative effect on AD through excreting aluminum and improving anti-oxidative ability.

## Keywords

Aluminum, Alzheimer's Disease, Ache, Antioxidant Ability

# 阿尔茨海默病模型小鼠脑乙酰胆碱转移酶(chAT)和乙酰胆碱酯酶(A-chE)活力的实验研究

龙奇军<sup>1</sup>, 邓钰莹<sup>1</sup>, 谭川铃<sup>1</sup>, 邹丹<sup>1</sup>, 许淑妹<sup>1</sup>, 田海潮<sup>1</sup>, 张树球<sup>2\*</sup>, 周国荃<sup>3</sup>

<sup>1</sup>右江民族医学院重金属与氟砷毒物研究实验室, 广西 百色

<sup>2</sup>广西百色高新区科技企业孵化基地研发中心, 广西 百色

<sup>3</sup>美国密西根州立大学环境科学毒理学教研室, 兰辛, 密西根州, 美国

Email: sqzhang224@163.com

收稿日期: 2019年6月11日; 录用日期: 2019年6月20日; 发布日期: 2019年6月27日

## 摘要

目的: 探讨中药茯苓及复方制剂对铝致老年痴呆症(AD)小鼠治疗效果的观察及对乙酰胆碱转移酶(chAT), 乙酰胆碱酯酶(AchE)的影响。方法: 建立铝致AD小鼠动物模型, 将50只小鼠分为正常组、模型组、治疗1组和治疗2组; 除正常组外, 造模组用D-半乳糖 + AlCl<sub>3</sub>混合水溶液腹腔注射(Al<sup>3+</sup> + 浓度2 mg/ml的三氯化铝水溶液按5 mg/kg体重剂量给小鼠稀释后腹腔注射60天)。治疗1、2组在铝染毒2个月后同时给予中药复方制剂不同剂量灌胃, 模型组和正常组用等量体积蒸馏水灌胃, 直至实验结束。在实验前、后分别进行水迷宫游水试验, 并测定血红蛋白; 实验结束后取血, 分离血清, 测定血清生化指标; 处死小鼠取脑, 称脑重量, 制成脑匀浆, 离心取上清, 分别测定脑中乙酰胆碱酯酶(AchE)、乙酰胆碱转移酶(chAT)、超氧阴离子自由基(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)清除率、谷胱甘肽等含量; 另部分脑用甲醛处理后作病理检查。结果: 大脑(AchE)活力, 正常组、模型组、治1组、治2组依次为, 5.77 ± 1.52<sup>△</sup>、6.02 ± 0.79、7.30 ± 0.59、5.27 ± 1.09<sup>△△</sup> (U/mg.prot), 与治疗1组比较, <sup>△</sup>P < 0.05, <sup>△△</sup>P < 0.01, 差异有统计学意义; 治疗1组明显升高; 脑乙酰胆碱转移酶(chAT)活力依次为, 29.25 ± 13.42<sup>\*</sup>、7.05 ± 5.07<sup>△</sup>、52.95 ± 25.79<sup>△△△</sup>、53.95 ± 12.82<sup>△△△</sup> (U/g组织湿重), 与正常组比较, <sup>△</sup>P < 0.05, 与模型组比较, <sup>\*</sup>P < 0.05, <sup>\*\*</sup>P < 0.01, 差异有统计学意义; 模型组明显降低; 血清乙酰胆碱酯酶(AchE)活力依次为51.79 ± 2.12<sup>△△</sup>、44.71 ± 2.21<sup>\*\*</sup>、55.41 ± 2.10<sup>△△△</sup>、41.30 ± 3.36<sup>△△△▽</sup> (U/ml), 与正常组比较, <sup>\*</sup>P < 0.05, <sup>\*\*</sup>P < 0.01, 差异有统计学意义; 与模型组比较, <sup>△</sup>P < 0.05, <sup>△△</sup>P < 0.01, 差异有统计学意义; 与治疗1组比较, <sup>▽</sup>P < 0.01, 差异有统计学意义; 模型组明显降低; 脑铝Al<sup>3+</sup>含量依次为135.00 ± 8.37、149.40 ± 0.89、147.43 ± 4.83、118.75 ± 6.41 (ng/ml), 超氧阴离子自由基(O<sub>2</sub><sup>-</sup>)清除率依次为27.65 ± 4.81、14.71 ± 3.60、22.65 ± 8.67、21.57 ± 6.14 (%), 造模前、中、后, Hb依次为正常组无明显变化、模型组降低、治疗组先降低后升高。结论: 铝可导致大脑chAT下降、AchE活性升高, 乙酰胆碱减少, 胆碱能神经障碍, 认知功能障碍, 可能是老年痴呆症发病的重要原因, 同时铝又使动物抗氧化能力降低, 加重疾病; 本中药复方制剂通过排铝、恢

复(chAT) (AChE)酶活力, 提高抗氧化能力, 治疗后对老年痴呆症有明显疗效。而茯苓(治1组)比复方制剂疗效较差。

## 关键词

铝, 老年痴呆症, 乙酰胆碱酯酶, 抗氧化能力

Copyright © 2019 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

铝是地球上含量最多的金属元素之一, 与人类的生产生活关系非常密切。过去一直认为铝是无毒元素, 而近年来研究发现铝也有一定的毒性, 虽毒性较低, 且体内积蓄量较少, 但如长期积蓄在大脑, 特别是颞叶皮层, 海马结构中, 与神经元纤维变性, 缠结, 神经元细胞减少有关, 研究发现老年痴呆症患者大脑神经组织中铝含量是正常人的 1.5~30 倍, 因此有学者认为铝与老年痴呆症(AD)发病有密切关系[1] [2], 近来甚至有德国学者提出通过药物促进铝的排泄来治疗老年痴呆症(AD)的策略, 因而寻找排铝药物又成为医学界的重要课题, 而用铝染毒常作为建立老年痴呆症动物模型的一种方法。为探讨两者间的关系, 本文用氯化铝染毒小白鼠建立动物模型实验, 从大脑、血清生化变化结合大脑形态学变化进行深入研究, 作对比分析, 并探讨具有排重金属作用的中药海尔福口服液的治疗效果。现将结果报告如下。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 材料

#### 2.1.1. 试剂

氯化铝、硝酸铝、D-半乳糖、亚硝酸钠、氯化钠、氰化钾、高铁氰化钾、无水磷酸二氢钾、过硫酸铵、1-萘胺、盐酸羟胺、对氨基苯磺酸、盐酸(HCL)、三羟甲基氨基甲烷(Tris)、四甲基乙二胺(TEMED), 均为国产分析纯。各种测试盒, 乙酰胆碱酯酶(AChE)测试盒、乙酰胆碱转移酶(chAT)测试盒、谷胱甘肽(GSH)测试盒、尿素氮测试盒、甘油三酯(TG)测试盒、总胆固醇(TC)测试盒、谷丙转氨酶测试盒, 购自南京建成生物工程研究所有限责任公司。

#### 2.1.2. 中药

茯苓干品, 购自市中药店, 自提: 称取中药→放锅内→加自来水 20 倍→加热煮沸 40 分钟→过滤加热浓缩→冷却→加 3 倍量 v/v 95%乙醇沉淀过夜→过滤弃沉淀→回收乙醇→药液定容→装瓶→105℃高压消毒 30 分钟→放冰箱保存待用。中药复方制剂(中药复方抗痴呆制剂, 商品名: 植物饮液, 专利号: ZL201210339742.8)由广西百色高新区科技企业孵化基地研发中心提供, 由绿豆、金银花、茯苓、甘草等组成。

### 2.2. 方法

#### 2.2.1. 动物

小白鼠 50 只, 昆明种, 健康, 雌雄各半, 鼠龄 12 个月。由学院动物室提供(动物使用许可证号: SYXK 桂 2011-0010。动物生产许可证号: SCXK 桂 2012-0003)。

### 2.2.2. 动物分组

将小鼠分成4组, 每组24只(雌雄各半), 即正常组、模型组、治疗1组(大剂量组)、治疗2组(小剂量组)。模型组和治疗1、2组共40只先用氯化铝+D-半乳糖造模[3]。氯化铝用蒸馏水配成含 $\text{Al}^{3+}$  2 mg/ml溶液; D-半乳糖用生理盐水溶解, 配成1.2 g%浓度, 滤膜过滤除菌。放4℃冰箱保存待用。氯化铝按5 mg/kg体重剂量、D-半乳糖按每天80 mg/kg体重剂量[3], 两溶液混合后作腹腔注射, 每日1次, 至40天, 加亚硝酸钠45 mg/kg体重剂量, 连续60日结束。染毒1个月, 水迷宫试验出现记忆障碍, 造模成功, 治疗1、2组开始用中药茯苓及复方制剂口服液灌胃, 治疗1组每鼠用中药茯苓提取液原液0.15 mL加蒸馏水稀释至总体积0.3 mL灌胃, 1次/d; 治疗2组每鼠用中药茯苓复方抗痴呆口服液原液0.15 mL加蒸馏水稀释至0.3 mL灌胃, 1次/d。正常组和模型组用等体积蒸馏水灌胃, 直至实验结束。

### 2.2.3. Y型水迷宫实验

利用Y型水迷宫, 测定小鼠记忆力, 测试方法按参考文献。开始预先训练5~8天(d), 每天游水训练3次, 使其熟悉上岸地点。测试: 连续3天, 每天3次, 计算自下水至到达上岸地点的时间(s)和错误次数(错误率), 超过40秒/次, 算失败[4]。

### 2.2.4. 血红蛋白Hb测定

取小鼠尾巴全血20 ul, 用高铁氰化钾(HiCN法)测定, 具体操作参考文献[3]。实验结束, 从眼球后取全血, 分离血清, 测定生化指标: 尿素氮、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、谷丙转氨酶(ALT)。处死小鼠, 取大脑组织, 部分作病理切片研究; 另取部分大脑用生理盐水制成10%脑匀浆, 3000 rpm离心10 min, 取上清分别测定AchE、超氧阴离子自由基( $\text{O}_2^-$ )清除率、谷胱甘肽(GSH): ALT用改良赖氏法测定; Tc用COD-CE-PAP测定; TG用GPO-OAO法测定; 尿素氮用脲酶波氏法测定; AchE根据乙酰胆碱在AchE催化下产生乙酸和胆碱, 胆碱再与巯基显色剂作用产生黄色化合物TNB(对称三硝基苯), 比色测定; 具体操作按试剂盒说明书;  $\text{O}_2^-$ 清除率测定利用比色法, 其原理: 由A液中三羟甲基氨基甲烷(Tris)、四甲基乙二胺(TEMED)与B液中过硫酸铵混合后, 产生氧自由基( $\text{O}_2^-$ ), 经盐酸羟胺、对氨基苯磺酸、1-萘胺等连续反应, 产生一种黄色产物, 可以比色测定。具体操作参考文献[5]。铝含量, 用电极法测定[6][7]; 乙酰胆碱转移酶(chAT)测定是以乙酰辅酶A和胆碱为底物, 在chAT催化下, 反应的生成物与显色剂结合, 在324 nm处有吸收峰, 以此测定并计算chAT活力。具体操作按试剂盒说明书。

## 2.3. 统计学处理

数据用SPSS-13软件处理, 进行方差分析和Q检验, 结果用( $\bar{x} \pm s$ )表示。

## 3. 结果

### 3.1. 实验前、中、后小鼠血红蛋白(Hb)含量测定结果

结果显示, 组间比较, 造模前小鼠血红蛋白(Hb)各组间差异无统计学意义。治疗前(造模后), 正常组明显高于其他各组,  $P < 0.01$ ; 治疗后, 正常组明显高于其他各组,  $P < 0.01$ ; 组内比较, 正常组前、中、后, 无明显变; 其他各组, 均明显降低。见表1。

方差分析: 血红蛋白Hb, 造模前: 各组间比较,  $F = 0.383$ ,  $p = 0.766$ , 差异无统计学意义。治疗前Hb:  $F = 24.435$ ,  $p = 0.000$ , 与正常组比较,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; 与治2组比较,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$  差异有统计学意义。治疗后Hb:  $F = 15.723$ ,  $p = 0.000$ , 与正常组比较,  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; 与模型组比较,  $\Delta\Delta P < 0.01$ , 差异有统计学意义。

组内比较: 前、中、后, 正常组: 造模前、中、后比较,  $F = 0.036$ ,  $p = 0.968$ , 差异无统计学意义;

模型组：造模前、中、后比较， $F = 12.685$ ， $p = 0.00$ ，与造模前比较，明显降低， $aP < 0.01$ ；差异有统计学意义；治疗前与治疗后比较。差异无统计学意义；治1组：造模前、中、后比较， $F = 41.992$ ， $p = 0.00$ ，与造模前比较，明显降低， $bP < 0.01$  差异有统计学意义；治疗前与治疗后比较， $cP < 0.01$  差异有统计学意义；治2组： $F = 82.712$ ， $p = 0.00$ ，与造模前比较，明显降低， $dP < 0.01$ ，差异有统计学意义；治疗前与治疗后比较， $fP < 0.01$ ，差异有统计学意义。

**Table 1.** The comparison of Hb Methods AD mice model of before, during, after the contamination ( $\bar{x} \pm s$ ) (g/L)

**表 1.** 造模前、中、治疗后血红蛋白(Hb)比较( $\bar{x} \pm s$ ) (g/L)

组别	造模前	治疗前(造模后)	治疗后
正常组	157.64 ± 28.11	156.80 ± 3.88**	159.73 ± 22.82▲▲
模型组	150.00 ± 22.88	112.29 ± 11.58▲▲*a	118.40 ± 10.25***a
治1组	156.81 ± 13.90	100.05 ± 23.69▲▲*b	123.97 ± 15.40***bc
治2组	153.16 ± 15.63	95.97 ± 13.08▲▲d	114.80 ± 9.78***▲▲df

### 3.2. 血清甘油三脂(TG)、总胆固醇(TC)、尿素氮含量测定结果

结果显示，TG，各组间比较，差异无统计学意义；(TC)，各组间比较，差异有统计学意义；尿素氮，各组间比较，差异有统计学意义。见表2。

**Table 2.** The comparison of content in TG, TC and blood urea nitrogen of methods AD mice model ( $\bar{x} \pm s$ )

**表 2.** 小鼠血清甘油三脂(TG)、总胆固醇(TC)、尿素氮含量比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	TG(mmol)	TC(mmol)	尿素氮(mmol)
正常组	1.35 ± 0.47*	4.03 ± 0.43	9.48 ± 0.66
模型组	2.12 ± 0.81▲	3.01 ± 0.90**	9.68 ± 5.37
治1组	1.12 ± 0.43	3.23 ± 0.26*	5.27 ± 1.39▲▲***
治2组	2.36 ± 0.84▲▲	2.95 ± 0.64**	5.24 ± 0.73▲▲***

方差分析：方差分析：TG，各组间比较， $F = 5.243$ ， $p = 0.007$ ，与治1组比较， $\Delta P < 0.05$ ， $\Delta\Delta P < 0.01$ ，差异有统计学意义，与治2组比较， $*P < 0.05$ ，差异有统计学意义；TC，各组间比较， $F = 4.680$ ， $p = 0.009$ ，差异有统计学意义，与正常组比较： $*P < 0.05$ ， $**P < 0.01$ ，差异有统计学意义；尿素氮，各组间比较， $F = 7.260$ ， $p = 0.001$ ，与正常组比较： $\Delta\Delta P < 0.01$ ，与模型组比较： $**P < 0.01$ ，差异均有统计学意义。

### 3.3. 血清谷丙转氨酶(ALT)、脑铝 $Al^{3+}$ 含量测定结果

结果显示，血清谷丙转氨酶(ALP)、脑铝  $Al^{3+}$ 含量，各组比较，均有明显差异。见表3。

**Table 3.** The comparison of content in ALT of mice serum and aluminum of mice brain ( $\bar{x} \pm s$ )

**表 3.** 小鼠血清谷丙转氨酶(ALT)、脑铝  $Al^{3+}$ 含量比较

组别	谷丙转氨酶(U/L)	脑铝 $Al^{3+}$ (ng/ml)
正常组	51.54 ± 5.46	135.00 ± 8.37***▲▲▲
模型组	57.18 ± 14.24	149.40 ± 0.89▲▲
治1组	46.53 ± 5.15▲	147.43 ± 4.83▲▲
治2组	58.00 ± 9.41	118.75 ± 6.41**



方差分析: 谷丙转氨酶: 各组间比较,  $F = 2.319$ ,  $P = 0.100$ , 与治 2 组比较,  $\Delta P < 0.05$ , 差异有统计学意义; 脑铝  $Al^{3+}$ , 各组间比较,  $F = 39.450$ ,  $P = 0.000$ , 与模型组比较:  $\Delta\Delta P < 0.01$ , 与治 2 组比较:  $\Delta\Delta P < 0.01$  差异有统计学意义。

### 3.4. 造模前、造模后(治疗前)、治疗后水迷宫时间

结果显示, 造模前、造模后(治疗前)、治疗后水迷宫时间。各组间无明显差异, 前中后也均无明显变化。见表 4。

**Table 4.** The comparison of Hemoglobin and Morris water maze test time (s) in four groups: control group, model group, treatment group 1 and treatment group 2

**表 4.** 造模前、造模后、治疗后水迷宫时间(秒, s)比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	造模前 s	治疗前 s	治疗后 s
正常组	4.66 ± 1.08	4.26 ± 0.73 $\Delta\Delta$	5.31 ± 1.95 $\Delta\Delta$
模型组	5.02 ± 1.26	10.42 ± 4.75a	9.29 ± 3.79b
治 1 组	4.96 ± 1.40	6.31 ± 1.60 $\Delta\Delta^c$	6.33 ± 1.38 $\Delta^c$
治 2 组	4.24 ± 0.96	7.62 ± 2.96 $\Delta\Delta^d$	6.31 ± 1.62 $\Delta^f$

方差分析: 组间比较: 造模前:  $F = 1.341$ ,  $P = 0.272$ , 差异无统计学意义; 治疗前:  $F = 6.997$ ,  $P = 0.001$ , 与模型组比较,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$ , 与正常组比较,  $\Delta P < 0.05$ , 差异有统计学意义; 治疗后:  $F = 3.685$ ,  $P = 0.027$ , 与模型组比较,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$  差异有统计学意义。

组内比较: 正常组: 前, 中, 后比较, 均无明显变化, 差异无统计学意义; 模型组: 前, 中, 后比较:  $F = 5.022$ ,  $P = 0.017$ , 有明显变化, 与造模前比较,  $bP < 0.05$ ,  $cP < 0.01$ , 差异有统计学意义; 治 1 组: 前, 中, 后比较:  $F = 4.564$ ,  $P = 0.016$ , 与造模前比较,  $cP < 0.05$ , 造模后(治疗前)和治疗后均明显升高, 差异有统计学意义, 但治疗后无明显下降; 治 2 组: 前, 中, 后比较:  $F = 11.012$ ,  $P = 0.000$ , 与造模前比较,  $fP < 0.05$ ,  $dP < 0.01$ , 差异有统计学意义, 但治疗后有下降。见表 5。

**Table 5.** The comparison of error rate and failure rate in four groups before, during, after the contamination

**表 5.** 造模前、造模后、治疗后水迷宫错误率%、失败率%比较

组别	造模前		治疗前		治疗后	
	错误率%	失败率%	错误率%	失败率%	错误率%	失败率%
正常组	1.39	0	6.35	0	19.04	0
模型组	6.67	0	64.44	0	38.09	3.17
治 1 组	8.33	0	36.11	0	30.87	1.23
治 2 组	2.78	0	34.03	0	25.64	3.42

方差分析: 造模前: 各组均有错误, 错误率治 1 组最高, 正常组最低, 失败率为 0; 造模后: 各组均有错误, 且比造模前增加, 模型组增加最多, 正常组最低, 但失败率为仍 0; 治疗后: 治 1 组、治 2 组、模型组三组都有失败, 但正常组为 0; 而模型组错误率仍最高和失败率%也较高, 说明记忆功能下降较严重。

### 3.5. 脑乙酰胆碱酯酶(AchE)活力、脑乙酰胆碱转移酶(chAT)活力、血清乙酰胆碱酯酶(AchE)活力测定结果

结果显示, (AchE)活力治疗 1 组明显高于其他组; 脑乙酰胆碱转移酶(chAT)活力, 模型组明显低于其他组; 血清乙酰胆碱酯酶(AchE)活力, 模型组和治疗 2 组明显低于正常组和治疗 1 组; 见表 6。

**Table 6.** The comparison of AchE and chAT of mice brain, AchE of mice serum of Methods AD mice model in four groups, control group, model group, treatment group 1 and treatment group 2

**表 6.** 脑乙酰胆碱酯酶(AchE), 乙酰胆碱转移酶(chAT), 血清乙酰胆碱酯酶(AchE) ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	脑(AchE)活力(U/mg prot)	脑(chAT)活力(U/g 组织湿重)	血清(AchE)活力(U/ml)
正常组	5.77 ± 1.52 <sup>▲</sup>	29.25 ± 13.42 <sup>*</sup>	51.79 ± 2.12 <sup>▲▲</sup>
模型组	6.02 ± 0.79	7.05 ± 5.07 <sup>▲</sup>	44.71 ± 2.21 <sup>**</sup>
治 1 组	7.30 ± 0.59	52.95 ± 25.79 <sup>▲▲▲</sup>	55.41 ± 2.10 <sup>▲▲▲</sup>
治 2 组	5.27 ± 1.09 <sup>▲▲</sup>	53.95 ± 12.82 <sup>▲▲▲</sup>	41.30 ± 3.36 <sup>▲▲▲▽▽</sup>

方差分析: 组间比较: 乙酰胆碱酯酶(AchE)活力:  $F = 4.454$ ,  $P = 0.014$ , 与治疗 1 组比较,  $^{\Delta}P < 0.05$ ,  $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ , 差异有统计学意义; 脑(chAT)活力:  $F = 10.230$ ,  $P = 0.001$ , 与正常组比较,  $^{\Delta}P < 0.05$ , 与模型组比较,  $^{\Delta}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ , 差异有统计学意义; 血清(AchE)活力:  $F = 34.910$ ,  $P = 0.000$ , 与正常组比较,  $^{\Delta}P < 0.05$ ,  $^{**}P < 0.01$ , 差异有统计学意义; 与模型组比较,  $^{\Delta}P < 0.05$ ,  $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ , 差异有统计学意义; 与治疗 1 组比较,  $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ , 差异有统计学意义。

### 3.6. 脑超氧阴离子自由基( $O_2^{\cdot-}$ )浓度( $\mu\text{mol/L}$ )、清除率%, 谷胱甘肽(GSH)含量( $\mu\text{mol/L}$ )测定结果

结果显示, (AchE)活力正常组明显高于其他组; 自由基( $O_2^{\cdot-}$ )浓度, 正常组明显低于其他组; 谷胱甘肽(GSH), 治疗 1 组和治疗 2 组明显低于正常组和模型组; 见表 7。

**Table 7.** The comparison of clearance rate and concentration of mice brain free radical, and concentration of glutathione

**表 7.** 脑自由基( $O_2^{\cdot-}$ )清除率%, 自由基( $O_2^{\cdot-}$ )浓度( $\mu\text{mol/L}$ ), 谷胱甘肽比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	自由基( $O_2^{\cdot-}$ )清除率%	自由基( $O_2^{\cdot-}$ )浓度( $\mu\text{mol/L}$ )	谷胱甘肽(GSH) ( $\mu\text{mol/L}$ )
正常组	27.65 ± 4.81	2.38 ± 0.25 <sup>▲▲</sup>	27.95 ± 4.52
模型组	14.71 ± 3.60 <sup>▲▲</sup>	3.05 ± 0.21	29.65 ± 5.76
治 1 组	22.65 ± 8.67	2.63 ± 0.29 <sup>▲</sup>	27.53 ± 5.77
治 2 组	21.57 ± 6.14	2.67 ± 0.21 <sup>▲</sup>	32.26 ± 5.36

方差分析: 组间比较: 自由基( $O_2^{\cdot-}$ ):  $F = 3.223$ ,  $P = 0.051$ , 与正常组比较,  $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ , 差异有统计学意义; 自由基浓度( $\mu\text{mol/L}$ ):  $F = 6.066$ ,  $P = 0.005$ , 与模型组比较,  $^{\Delta}P < 0.05$ ,  $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ , 差异有统计学意义; 谷胱甘肽(GSH):  $F = 1.185$ ,  $P = 0.338$ , 各组比较, 差异无统计学意义。

## 4. 讨论

1) 造模前、中、治疗后血红蛋白(Hb), 造模前后各组间无明显差异; 造模后(治疗前)、治疗后除正

常组无明显变化外, 各组均低于造模前, 提示造血系统已受抑制。治疗后有所恢复。高浓度铝抑制亚铁氧化酶活性, 影响铁的利用, 铝影响 d-ALA 脱水酶, 影响血红素的合成, 进而影响血红蛋白合成, 贫血。

2) 正常脑组织含铝量(平均为 1~2 mg/kg 干重), 含量升高可引起铝性脑病。文献表明, 铝可使皮层颞叶, 海马胆碱乙酰转移酶(chAT)活性降低 25%~40%, 使乙酰胆碱(Ach)减少, 是影响动物记忆的主要原因之一。铝还使额叶, 顶叶, 颞叶皮层的 5-羟色胺(5-HT)含量降低, 去甲肾上腺素含量减少。铝可使神经元 cAMP 升高, 促使蛋白磷酸化, 微管蛋白磷酸化使其结构变化, 结果形成纤维缠结。本实验模型组乙酰胆碱转移酶(chAT)明显低于其它各组, 模型组酶(chAT)活性仅为正常组的 24.10%, 与文献报道的接近, 治疗 1 组、治疗 2 组升高接近正常组, 与文献报道相符合。由于乙酰胆碱递质合成减少, 乙酰胆碱酯酶(AchE)活力也代偿性降低, 模型组低于正常组及治疗组, 在本实验得以证实。

3) 脑中铝  $Al^{3+}$  造模已明显升高, 但治疗组已明显下降。铝可能是引起老年痴呆症的重要因素, 文献中已有证明, 本实验用中药排铝, 已见明显下降。通过排铝的治疗组, 记忆功能恢复。

4) 自由基( $O_2^-$ )浓度, 谷胱甘肽, 是反映体内抗氧能力的重要指标。自由基学说也是老年痴呆症发病的重要学说。有研究认为, 大量的自由基在大脑中存在, 促进了衰老过程, 因此, 清除自由基( $O_2^-$ ), 有利于治疗恢复。谷胱甘肽是清除自由基的一种物质, 它含量高低反映清除自由基能力大小, 抗氧化功能高低的表現。

5) 血清谷丙转氨酶(ALT)、甘油三脂(TG)、总胆固醇(TC)、尿素氮含量, 是反映肝、肾是否受损伤的重要代谢指标。

6) 水迷宫时间、错误率%、失败率%是测定小鼠记忆功能的常用指标。本实验表明, 模型组水迷宫时间延长, 错误率%、失败率%增加, 治疗组下降, 记忆功能恢复。

7) 老年痴呆症是世界医学界一大难题, 发病率高, 严重影响老年人生活质量, 给家庭和社会都背上沉重的经济负担, 它的病因与发病机理相当复杂, 尚未阐明, 也无根治药物, 为此需深入研究, 但又不能在病人身上进行研究, 这是伦理不允许的。因此, 在动物身上替代, 复制人类疾病。

## 参考文献

- [1] 程肖蕊, 周文霞, 张永祥. 阿尔茨海默病发病机制及防治药物研究思考[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2017, 31(12): 1129-1141.
- [2] 刘汝臣. 铝中毒与 ALZHEIMER 病及其治疗药物[J]. 山东医药工业, 2000, 19(2): 22-23.
- [3] 张宝弟, 郭雄. 铝致阿尔茨海默病的分子机制[J]. 国外医学地理分册, 2003, 24(1): 16-18.
- [4] 萧华山, 何文锦, 傅文庆, 等. 一种用分光光度计检测氧自由基的新方法[J]. 生物化学与生物物理进展, 1999, 26(2): 180-181.
- [5] 叶应妩, 王毓三. 全国临床检验操作规程[M]. 第 2 版. 南京: 东南大学出版社, 1997: 2.
- [6] 何胜, 黄杰林, 李佩蕾, 等. 中药对老年痴呆症小鼠干预作用[J]. 中国公共卫生, 2014, 30(4): 448-449.
- [7] 黄芳, 邵阳, 张翠玲, 等. 离子选择电极法测定食品中的铝含量[J]. 中国食品添加剂, 2012(3): 218-220.



**知网检索的两种方式：**

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择：[ISSN]，输入期刊 ISSN：2161-8712，即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入，输入文章标题，即可查询

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：[acm@hanspub.org](mailto:acm@hanspub.org)