文章编号:1000-5404(2006)18-1867-03

论著

冰片对长时连续作业大鼠前额叶皮层单胺类递质水平的影响

薛 丽[1],谌小维[1],樊宏孝[1],樊双义[1],梁 煜[1],夏建霞[2],周 红[3],胡志安[1,2] (第三军医大学基础医学部:[1]基础医学教学实验中心,[2]生理学教研室,[3]药理学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 研究冰片对长时连续作业大鼠前额叶皮层单胺类递质水平的影响。**方法** 采取跑台训练方法,建立大鼠长时连续作业模型。连续作业结束后,灌胃给予冰片(0.4 g/kg),测试其对大鼠随后夜间行为状态分布模式及主动回避行为的影响。采用高效液相-电化学方法测定大鼠前额叶皮层单胺类神经递质水平的变化。**结果** 跑台冰片组夜间活动明显高于跑台石蜡组;跑台冰片组主动回避反应时间(6.26±0.96) s较跑台石蜡组(6.85±1.24) s显著降低。跑台石蜡组前额叶皮层单胺类递质包括去甲肾上腺素、5-羟色胺和多巴胺水平较对照组下降,而给予冰片后去甲肾上腺素和5-羟色胺水平显著增加。**结论** 冰片可明显改善长时连续作业大鼠的觉醒水平,这种作用与其增加前额叶皮层去甲肾上腺素和5-羟色胺水平有关。

关键词:长时连续作业;觉醒;冰片;大鼠
中图法分类号:R285.5;R338.25;R338.63 **文献标识码**:A

Effect of borneol on levels of monoamine neurotransmitters in prefrontal cortex of rat after long-term continuous operations

XUE Li[1], CHEN Xiao-wei[1], FAN Hong-xiao[1], FAN Shuang-yi[1], LIANG Yu[1], XIA Jian-xia[2], ZHOU Hong[3], HU Zhi-an[1,2] ([1]Experimental Center, [2]Department of Physiology, [3]Department of Pharmacology, College of Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 40038, China)

Abstract: Objective To investigate the effect of borneol on levels of monoamine neurotransmitters in the prefrontal cortex of rat after long-term continuous operations. **Methods** A rat model of long-term continuous operations were established by using a treadmill protocol. Then Borneol (0.4 g/kg, p. o.) was given to the rats after the operation, and their activity-rest behavior and active avoidance response were assessed. Two h later, the rats were sacrificed and the level of monoamine neurotransmitter in the prefrontal cortex was determined by high performance liquid chromatography combined with electrochemical detection (HPLC-ECD). **Results** After the administration of borneol, the activities of operational animals were increased markedly as compared with that of vehicle operational group. The operational rats after borneol application had less response time [(6.26±0.96) s] than the ones treated with vehicle (6.85±1.24) s in active avoidance response. The levels of monoamine neurotransmitters including noradrenaline, dopamine, and 5-serotonin in the prefrontal cortex were decreased after treadmill operation. While application of borneol made the levels of noradrenaline and 5-serotonin increased significantly as compared to operational group. **Conclusion** Borneol have a reversal effect on rat awake activity impairment after long-term continuous operations. And the arousal effects of borneol are associated with the increase of noradrenaline and 5-serotonin levels in the prefrontal cortex.

Key words: long-term continuous operations; wakefulness; borneol; rat

长时连续作业在军事以及社会多个领域十分普遍,其所引起的一系列不良影响严重干扰了操作人员的工作能力,如何延长长时连续作业操作人员的工作能力已逐渐引起各国研究者的广泛兴趣[1]。本室的前期研究表明[2],长时连续作业对大鼠的觉醒能力有显著的损害作用。

冰片,古称龙脑香,为常用芳香开窍中药之一。中医认为冰片味辛苦、性凉,具有通关、开窍、醒神、清热

基金项目:第三军医大学军事医学创新科研基金资助项目(XJYY200310);全军"十一五"面上项目(06MA195)
Supported by the Innovative Funds for Military Medicine of Third Military Medical University (XJYY200310) and the General Program of the "Tenth Five-Year Plan" for Sci & Tech Research of PLA (06MA195)

作者简介:薛 丽(1978-),女,陕西省韩城市人,硕士研究生,主管技师,主要从事麻醉复苏与认知功能方面的研究。电话:(023)68752253
通讯作者:胡志安,电话:(023)68752253,E-mail:zhianhu@yahoo.com.cn

收稿日期:2006-05-17;**修回日期**:2006-07-18

止痛、生肌之效[3]。现已研究表明，单味冰片可以缩短戊巴比妥钠麻醉时间，表现出醒脑和兴奋神经的作用[4]。此外，冰片的一些方剂，如安宫牛黄丸和复方丹参片（由丹参、三七、冰片三味中药组成）等，已广泛用于治疗昏迷、缺血性疾病、改善老年性痴呆患者的认知功能[5]。为了探明冰片是否具有逆转长时连续作业中觉醒、认知功能的损害，本实验拟在长时连续作业大鼠模型的基础上，观察连续作业结束后给予冰片对大鼠随后 12 h 觉醒能力和认知功能的影响，并测定前额叶皮层单胺类神经递质水平的变化，以期探讨冰片可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物

健康成年雄性 SPF 级 SD 大鼠 82 只，雌雄不拘，体质量（250 ± 10）g，由第三军医大学实验动物中心提供。室内环境：明－暗周期 12 h∶12 h（早上 7∶00 开始给予光照），自然光照，温度 24～26 ℃。动物自由饮水、摄食。

1.2 长时连续作业方法

长时连续作业在小动物跑台（天津体育学院运动医学研究所提供）上进行，参照文献[2]方法。作业过程为：20 min 作业 +20 min 作业暂停，作业和作业暂停视为 1 个周期。跑台参数设定：作业时坡度 0°，速度 15 m/min；作业暂停时坡度 0°，速度 7 m/min。整个过程连续给予电刺激，刺激强度 20 V，频率 60 Hz，一旦动物进入电刺激区则会受到电击，迫使其继续运动。每 4 个周期后将动物置于笼中给予自由活动，自由摄食水 20 min。作业前所有动物均未进行过跑台适应训练。

本实验采用连续 48 h（2 个昼夜周期）作业模式，即（18 + 6）h ×2 模式，每个昼夜周期包括作业阶段和休息阶段 2 个部分：① 跑台作业阶段：第 1 天 19∶00 至第 2 天 13∶00（18 h），进行跑台作业训练；② 休息阶段：第 2 天 13∶00～19∶00（6 h），置于鼠笼中，自由活动，自由摄食水。

1.3 大鼠觉醒能力评价方法

通过 2 项指标评价动物的觉醒能力，即大鼠觉醒期间（19∶00－07∶00）的行为状态分布模式和穿梭箱主动回避行为测试。

观察者经过培训后，通过视频监视器（Vetter, Model 620）对大鼠夜间行为状态进行 12 h 连续观察和记录。记录结果通过视频分析系统（RMVIDEO）（成都仪器厂和第三军医大学基础医学部教学实验中心联合研制）进行分析，该系统进一步把大鼠行为状态简化为活动和静止 2 种状态。

大鼠穿梭箱主动回避行为测试，具体操作过程参照文献[2]。实验时将鼠置于装置内适应 2 min 后，由微机控制铜栅通电和灯光，按设定程序自动训练大鼠主动回避反应的习得情况，每天训练 20 次，共训练 2 d。主动回避反应习得程序为：条件刺激（灯光）持续 10 s，其后 5 s 同时给予非条件刺激（足底电击），当仅有条件刺激出现时，大鼠就逃到另外一室，判断为主动性回避反应，否则判为错误。

1.4 递质测量

作业结束后 2 h（即 21∶00），大鼠断头处死取脑，迅速在冰台上分离出前额叶皮层，称重，放于冷冻管中并快速置于 －80 ℃冰箱中保存，待测。随后，待标本收集完，分别加入 0.1 mol/L高氯酸 20 ml/g 研磨成匀浆，离心（4 ℃，14 000 r/min）20 min 后取上清液，进样，采用高效液相－电化学法测定。

1.5 药品与试剂

冰片、液体石蜡分别由重庆桐君阁大药房和重庆北碚化学试剂厂提供。取适量冰片，研钵研细后，用液体石蜡配成 8% 冰片悬浊液溶液。动物用随机数排序分组法分为 4 组：①跑台冰片组（n = 17）：进行长时连续跑台作业，作业结束后（即 19∶00），冰片悬浊液按 5 ml/kg 灌胃；②跑台石蜡组（n = 23）：进行长时连续跑台作业，作业结束后，液体石蜡溶液按 5 ml/kg 灌胃；③未跑台石蜡组（n = 22）：不进行跑台作业，置于鼠笼中，自由活动，19∶00 液体石蜡溶液按 5 ml/kg 灌胃；④对照组（n = 20）：不进行跑台作业，置于鼠笼中，自由活动。

1.6 统计学处理

采用 SPSS 10.0 软件进行 t 检验和 χ^2 检验。

2 结果

2.1 冰片对长时连续作业大鼠夜间行为状态分布的影响

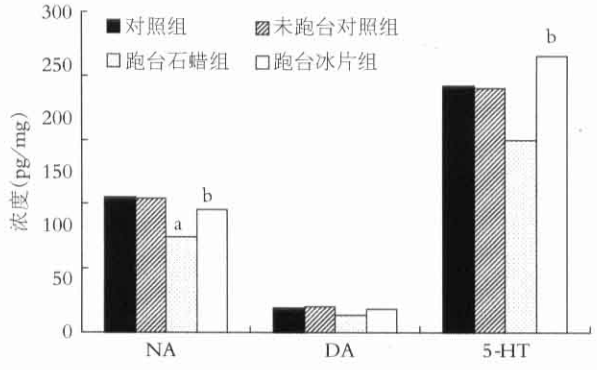
大鼠连续 48 h 跑台作业结束后，在 19∶00 给予冰片悬浊液或液体石蜡，并开始记录随后 12 h 动物夜间活动－静止情况。未跑台石蜡组（n = 6）和对照组（n = 8）（P > 0.05）在整个夜间主要处于活动状态；跑台冰片组（n = 6）活动时间明显多于跑台石蜡组（n = 6）（P < 0.05），但仍比未跑台石蜡组和对照组少（P < 0.05）。

2.2 冰片对长时连续作业大鼠认知功能的影响

长时连续作业后，将动物进行穿梭箱主动回避行为测试，测试均在夜间 21∶00 进行。结果显示，各组大鼠反应时间分别为：未跑台石蜡组（5.63 ± 0.01）s（n = 6），对照组（5.70 ± 1.63）s（n = 6），跑台石蜡组（6.85 ± 1.24）s（n = 6），跑台冰片组（6.26 ± 0.96）s（n = 6）；其中，前 2 组比较无显著性差异（P > 0.05），而后 3 组两两比较，均存在显著性差异（P < 0.05）。

2.3 长时连续作业后大鼠前额叶皮层单胺类递质水平的变化及冰片对其的影响

在连续作业结束后 2 h，利用高效液相色谱-电化学检测方法测定大鼠前额叶皮层单胺类神经递质包括去甲肾上腺素（NA），多巴胺（DA）及 5-羟色胺（5-HT）递质的含量。如图 1 所示，NA 在跑台石蜡组（n = 11）前额叶皮层脑区的含量明显低于未跑台石蜡组（n = 10）（P < 0.05）和对照组（n = 6）（P < 0.05）。跑台石蜡组前额叶皮层 DA 和 5-HT 水平虽有降低，但较未跑台石蜡组和对照组并无显著差异（P > 0.05）。给予大鼠口服冰片 2 h 后，跑台冰片组（n = 5）NA、5-HT 水平较跑台石蜡组显著增加（n = 11）（P < 0.05），与未跑台石蜡组和对照组水平相当（P > 0.05）。跑台冰片组 DA 水平在给冰片后升高，但与跑台石蜡组及未跑台石蜡组和对照组无显著差异（P > 0.05）。



a：$P<0.05$，与对照组比较；b：$P<0.05$，与跑台石蜡组比较

图 1　冰片对长时连续作业大鼠前额叶皮层递质水平的影响

3　讨论

长时连续作业对机体各个系统以及各种正常功能产生复杂影响，究其核心主要是觉醒能力的下降和认知功能的受损[1]。因此，目前对长时连续作业不利影响防护措施的研究主要是集中于探索改善觉醒状态与恢复认知功能。迄今为止，已研发和筛选出多种抗疲劳药物及神经兴奋剂包括咖啡因、可可碱、安他非明和莫达非尼等。尽管这些药物早就得到应用，但其成瘾性和选择性差等缺点却在很大程度上限制了其广泛应用[6]。因此，寻找速效、后效应小以及成瘾性小、高选择性的精神兴奋剂成为目前的研究重点。

中医药作为祖国医学宝库，已有大量方剂和单药被用于提神醒脑，在治疗觉醒不良以及缓解疲劳、提升记忆力和改善工作状态等方面占有重要位置。因此，在中医药中筛选理想的干预长时连续作业对觉醒能力损害的药物将具有潜在的价值。特别是以苏醒提神为主要功效的芳香开窍药（如牛黄、冰片及麝香等）具有通关开窍、启闭醒神的作用。冰片味辛苦、微寒，到目前为止的研究表明，冰片除具有抗炎、抗菌、抗生育以及止痛等作用外，还可以缩短戊巴比妥钠睡眠持续时间，表现出醒脑和神经兴奋作用[3,4]。因此，冰片有可能作为防治长时连续作业不利影响的候选措施之一。

实验中，我们首先通过跑台作业方式建立连续作业大鼠模型，结果显示，经过 48 h 长时连续作业训练后，大鼠的行为活动量减少，此外，认知能力也可反映觉醒水平，训练后大鼠主动回避反应时间延长，进一步表明长时连续作业后大鼠的觉醒能力下降，这与我们先前的研究结果相一致[2]。作业训练结束后，给予适量冰片灌胃，大鼠的行为活动量显著增加，主动回避反应时间也明显缩短，提示冰片在一定程度上可以恢复长时连续作业大鼠的活动能力和认知功能，从而改善长时连续作业大鼠受损的觉醒能力。

同时，本研究表明，长时连续作业后大鼠前额叶皮层的去甲肾上腺素（NA）、多巴胺（DA）及 5-羟色胺（5-HT）递质水平明显下降。蓝斑去甲肾上腺素能、背缝核 5-羟色胺能、黑质多巴胺能神经元是皮层下觉醒调节和维持系统的重要组成部分。因此，我们的结果揭示了长时连续作业后觉醒能力的下降可能与觉醒系统的受损相关。文献[7]报道，冰片可以改变下丘脑 NA、DA、组胺以及 5- HT 含量。此外，经灌胃给予的冰片在脑内达峰时间为 48 min，而半衰期近 3 h[3]，因此为进一步观察冰片对大鼠作业后觉醒期递质水平的影响，在本实验中我们采取给药后 2 h 测定大鼠前额叶皮层递质水平的方法。结果表明冰片可显著恢复长时连续作业后大鼠前额叶皮质降低的 NA 和 5-HT 水平。因此，我们认为，冰片可能是通过重新激活相关觉醒系统、恢复皮层觉醒递质水平而改善长时连续作业大鼠受损的觉醒能力。此外，已有文献报道，冰片方剂－安宫牛黄丸可以广泛促进神经元活动标记物－即早基因 c-fos 基因在脑干、丘脑及皮层的表达[4]，提示了安宫牛黄丸可能具有激活皮层下相关觉醒脑区或直接作用皮层达到促醒的效应，这为本研究结果提供了有力的支持。

尽管我们的研究初步揭示了冰片可能会通过增加皮层觉醒递质水平，对长时连续作业的不利影响起到一定的干预作用，进而实现改善工作状态的目的，但其药代动力学、药效学和副反应等问题还有待进一步探明。此外，其他芳香开窍药是否同样可以对长时连续作业所引起的不利影响产生干预作用，还需要更多的实验证明。

参考文献：

[1] CALDWELL J A, CALDWELL J L. Fatigue in military aviation: an overview of US military-approved pharmacological countermeasures [J]. Aviat Space Environ Med, 2005, 76 (7 Suppl): C39－C51.

[2] 樊双义，谌小维，樊宏孝，等. 长时连续作业对大鼠觉醒能力的损害作用[J]. 第三军医大学学报，2005，27 (21)：2151－2153.

[3] 吴寿荣，程　刚，冯　岩. 冰片药理作用的研究进展[J]. 中草药，2001，32 (12)：1143－1145.

[4] 方永奇，邹衍衍，李　羚，等. 芳香开窍药和祛痰药对中枢神经系统兴奋性的影响[J]. 中医药研究，2002，18 (3)：40－42.

[5] 覃仁安，罗佳波，陈　矛，等. 复方丹参片对阿尔茨海默病大鼠脑内氨基酸类神经递质含量的影响[J]. 中草药，2004，35 (8)：905－907.

[6] DEMARCHI R, BANSAL V, HUNG A, *et al*. Review of awakening agents[J]. Can J Neurol Sci, 2005, 32 (1): 4－17.

[7] 刘养凤，张军平，张伯礼，等. 冰片对大鼠下丘脑单胺类神经递质的影响[J]. 中国中医药信息杂志，2004，11 (2)：122－124.

（编辑　陈聪连）