

鱼油软胶囊辅助改善记忆功能研究

刘汝萃, 范书琴, 张建全, 肖晶, 张延秀

(山东禹王制药有限公司, 山东 禹城 251200)

摘要: 研究鱼油软胶囊辅助改善记忆功能。将 120 只 SPF 级雄性昆明种小鼠随机分为对照组和鱼油软胶囊低、中、高剂量组, 每日分别灌胃给予 0、0.075、0.150 g/kg 和 0.450 g/kg 鱼油软胶囊内容物, 连续 30 d 后进行水迷宫试验、避暗试验和跳台试验。结果表明: 水迷宫试验中各剂量组小鼠到达终点的时间和到达终点前的错误次数均少于对照组, 高剂量组与对照组比较差异有显著性 ($P < 0.05$); 避暗试验中低、中剂量组小鼠进入暗室的动物数与对照组比较, 差异无显著性 ($P > 0.05$), 高剂量组小鼠进入暗室的动物数与对照组比较, 差异有显著性 ($P < 0.05$); 跳台试验中各剂量组小鼠训练时跳下平台的潜伏期与对照组比较, 差异无显著性 ($P > 0.05$), 高剂量组小鼠测验时跳下平台的潜伏期与对照组比较, 差异有显著性 ($P < 0.05$)。研究表明, 鱼油软胶囊具有辅助改善记忆功能。

关键词: 鱼油软胶囊; 改善记忆; 水迷宫试验; 避暗试验; 跳台试验

中图分类号: TS225.2; TS218 文献标识码: A 文章编号: 1003-7969(2018)02-0060-05

Effect of fish oil soft capsule on memory improvement

LIU Rucui, FAN Shuqin, ZHANG Jianquan, XIAO Jing, ZHANG Yanxiu

(Shandong Yuwang Pharmaceutical Co., Ltd., Yucheng 251200, Shandong, China)

Abstract: The effect of fish oil soft capsule on memory improvement was studied. 120 male Kunming mice of SPF were randomly divided into four groups: control group and low-, middle- and high-dose groups, and each group was administrated daily with fish oil soft capsule content 0, 0.075, 0.150, 0.450 g/kg respectively for 30 d. Then the water maze test, step-through test and step-down test were carried out. The results showed that in water maze test, the time and errors reaching the final point of mice in each dose group were less than that in control group, and high-dose group was significantly different from control group ($P < 0.05$). In the step-through test, the number of animals entering the darkroom in low- and middle-dose groups were not significantly different from that in control group ($P > 0.05$), while for high-dose group, it was significantly different from that in control group ($P < 0.05$). In the step-down test, the step-down latency of mice during training in each dose group was not significantly different from that in control group ($P > 0.05$), and the step-down latency of mice during test in high-dose group was significantly different from that in control group ($P < 0.05$). So fish oil soft capsule had function of improving memory improvement.

Key words: fish oil soft capsule; memory improvement; water maze test; step-through test; step-down test

鱼油是鱼体内全部油脂类物质的总称, 包括脑

油、体油和肝油^[1], 富含 EPA (二十碳五烯酸) 和 DHA (二十二碳六烯酸)。研究发现 EPA 和 DHA 是大脑神经细胞以及人体防御系统的重要组成部分, 具有促进脑细胞生长发育、延缓脑衰老^[2-4]、降血脂^[5-6]、抗癌^[7]、保护视力^[8]、预防和治疗动脉粥样硬化^[9]、增强记忆力、预防老年性痴呆等作用, DHA 缺乏会导致子代出生后神经传递延长、生长滞后、记

收稿日期: 2017-06-30; 修回日期: 2017-11-20

作者简介: 刘汝萃 (1976), 男, 高级工程师, 硕士, 主要从事蛋白、鱼油的相关工作 (E-mail) 1500649367@qq.com。

通信作者: 张延秀, 助理工程师, 硕士 (E-mail) rd2002@yuwangcn.com。

忆和认知能力下降^[10-11]。研究表明,脂类对改善记忆效果显著^[12]。张静姝^[13]研究发现,深海鱼油具有辅助改善记忆的功能。陈卫东等^[14]研究发现,鳕鱼油胶囊对改善人体学习记忆有一定作用。Chung等^[15]的研究发现,鱼油不仅能改善 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸缺乏人群的记忆,而且能进一步增强不缺乏 $\omega-3$ 多不饱和脂肪酸的正常人群的记忆。

为研究鱼油软胶囊辅助改善记忆功能,本文采用小鼠经口灌胃鱼油,观察鱼油软胶囊对小鼠记忆功能的影响。

1 材料与方法

1.1 试验材料

鱼油软胶囊(内容物成分为鱼油,其中:EPA \geq 5 g/100 g,DHA \geq 40 g/100 g),由山东禹王制药有限公司提供。人体口服推荐量为每日2次,每次1粒,成人体重按60 kg计算,折合剂量0.015 g/kg。

SPF级雄性昆明种小鼠共120只,体重18~22 g,由长沙市开福区东创实验动物科技服务部提供,生产许可证号为SCXK(湘)2009-0012。动物分两批购进进行重复试验。试验条件为屏障环境,试验环境温度22~24℃,相对湿度52%~56%。试验动物使用许可证号为SYXK(湘)2010-0010。

水迷宫、避暗仪、跳台仪。

1.2 试验方法

1.2.1 剂量组选择与受试物给予方式

根据人体口服推荐量,设定鱼油软胶囊样品低、中、高剂量分别为0.075、0.150、0.450 g/kg(分别相当于人体推荐剂量的5、10、30倍)。低、中、高剂量受试液配制时分别取鱼油软胶囊内容物0.75、1.50、4.50 g加食用植物油至100 mL,对照组予以等体积的食用植物油,每天灌胃1次,灌胃体积为0.01 mL/g,连续30 d。

1.2.2 水迷宫试验

体重18~22 g的雄性小鼠,随机分为3个剂量组和1个对照组,每组10只。给予受试物30 d后开始进行水迷宫试验。训练期间继续给予受试物。每天训练1次,连续5 d。第一天训练前将小鼠放在梯子附近,使其自动爬上3次,以后每次训练前将小

鼠放在梯子附近,使其自动爬上1次。第一天训练时,用挡板在A处挡死,从A点开始进行训练;第二天从B处开始,此路程训练3 d,至80%的动物在2 min内到达终点;第五天从起点开始训练;最后以5 d的总学习成绩进行评价(即各组5 d达到终点的总时间、总错误次数和每组2 min内到达终点的动物数)。停止训练5 d后进行消退试验。

1.2.3 避暗试验

体重18~22 g的雄性小鼠,随机分为3个剂量组和1个对照组,每组10只。连续灌胃30 d后开始进行避暗试验。记录各鼠从放入明室至进入暗室遭电击所需的时间(潜伏期)、5 min内进入暗室的错误次数和每组进入暗室的动物数。24 h后同一时间,再进行测验,记录小鼠进入暗室的潜伏期、5 min内进入暗室的错误次数和每组进入暗室的动物数。停止训练5 d后进行消退试验。

1.2.4 跳台试验

体重18~22 g的雄性小鼠,随机分为3个剂量组和1个对照组,每组10只。连续灌胃30 d后进行跳台试验。将动物放入反应箱内适应3 min,立即通以36 V交流电刺激小鼠。然后将小鼠放在绝缘平台上,记录小鼠第一次跳下平台的潜伏期、5 min内跳下平台的错误次数和每组跳下平台的动物数,以此作为学习成绩。24 h后重复测验,记录第一次跳下平台的潜伏期、5 min内跳下平台的错误次数和每组跳下平台的动物数。停止训练5 d后进行消退试验。

1.2.5 数据统计分析与结果判定

跳台试验、避暗试验、水迷宫试验3项试验中任2项试验结果为阳性,且重复试验结果一致(所重复的同一项试验两次结果均为阳性),可以判定该受试样品辅助改善记忆功能动物试验结果为阳性。

2 结果与分析

2.1 鱼油软胶囊对小鼠体重的影响(见表1~表3)

由表1~表3可知,经口连续灌胃给予小鼠不同剂量的鱼油软胶囊30 d,水迷宫试验、避暗试验和跳台试验中各剂量组小鼠体重与对照组比较,差异均无显著性($P>0.05$)。

表1 鱼油软胶囊对小鼠体重的影响(水迷宫试验)

组别	初始体重	中期体重	末期体重	增重
对照组	20.13 \pm 1.32	30.81 \pm 2.36	36.65 \pm 2.63	16.52 \pm 2.63
低剂量组	20.08 \pm 1.30	31.94 \pm 2.98	38.08 \pm 3.32	18.00 \pm 2.75
中剂量组	20.15 \pm 1.21	31.62 \pm 2.30	37.43 \pm 2.72	17.28 \pm 2.35
高剂量组	20.16 \pm 1.31	31.47 \pm 3.24	37.58 \pm 3.83	17.42 \pm 3.30

表2 鱼油软胶囊对小鼠体重的影响(避暗试验)

组别	初始体重	中期体重	末期体重	增重
对照组	19.95 ± 1.31	31.98 ± 2.79	38.43 ± 2.97	18.48 ± 2.24
低剂量组	19.90 ± 1.29	32.14 ± 2.73	37.41 ± 2.83	17.51 ± 2.23
中剂量组	19.87 ± 1.13	30.50 ± 2.62	36.16 ± 3.26	16.29 ± 2.68
高剂量组	19.99 ± 1.29	32.06 ± 2.77	38.13 ± 3.39	18.14 ± 3.13

表3 鱼油软胶囊对小鼠体重的影响(跳台试验)

组别	初始体重	中期体重	末期体重	增重
对照组	20.23 ± 1.33	32.16 ± 3.14	38.42 ± 3.97	18.19 ± 3.02
低剂量组	20.19 ± 1.27	32.52 ± 3.08	38.39 ± 3.57	18.20 ± 2.84
中剂量组	20.25 ± 1.18	30.98 ± 3.21	36.50 ± 3.54	16.25 ± 2.80
高剂量组	20.27 ± 1.25	32.10 ± 2.68	37.94 ± 3.28	17.67 ± 2.68

2.2 鱼油软胶囊对小鼠水迷宫试验的影响(见表4~表6)

表4 鱼油软胶囊对水迷宫试验中小鼠到达终点时间的影响

组别	到达终点时间/s	<i>P</i>
对照组	393.0 ± 74.0	-
低剂量组	354.0 ± 77.0	0.494
中剂量组	338.6 ± 72.8	0.239
高剂量组	297.2 ± 66.3	0.015

表5 鱼油软胶囊对水迷宫试验中小鼠到达终点前错误次数的影响

组别	错误次数	<i>P</i>
对照组	33.5 ± 7.9	-
低剂量组	28.4 ± 9.0	0.300
中剂量组	26.4 ± 5.9	0.097
高剂量组	24.1 ± 6.3	0.020

表6 鱼油软胶囊对水迷宫试验中2 min内到达终点的动物数的影响

组别	试验次数	到达终点的动物数(只)	<i>P</i>
对照组	5	43	-
低剂量组	5	44	1.000
中剂量组	5	47	0.182
高剂量组	5	47	0.182

由表4可知,各剂量组小鼠到达终点的时间均短于对照组,高剂量组与对照组比较差异有显著性($P < 0.05$)。

由表5可知,各剂量组小鼠到达终点前的错误次数均少于对照组,高剂量组与对照组比较差异有显著性($P < 0.05$),说明给予小鼠不同剂量的鱼油,对小鼠记忆获得与巩固有一定的促进作用,能明显提高小鼠的空间辨别能力。

由表6可知,各剂量组2 min内到达终点的动物数与对照组比较差异无显著性($P > 0.05$)。

2.3 鱼油软胶囊对小鼠避暗试验的影响(见表7~表9)

表7 鱼油软胶囊对小鼠避暗试验潜伏期的影响

组别	训练潜伏期/s	<i>P</i>	测验潜伏期/s	<i>P</i>
对照组	39.1 ± 26.2		194.0 ± 90.7	
低剂量组	38.6 ± 30.6	0.937	198.1 ± 91.4	0.599
中剂量组	43.3 ± 21.6		240.8 ± 80.4	
高剂量组	36.3 ± 19.9		222.2 ± 85.5	

表8 鱼油软胶囊对小鼠避暗试验错误次数的影响

组别	训练错误次数	<i>P</i>	测验错误次数	<i>P</i>
对照组	2.7 ± 1.3		1.3 ± 1.2	
低剂量组	2.3 ± 1.2	0.586	1.0 ± 0.9	0.477
中剂量组	2.0 ± 1.1		0.9 ± 1.1	
高剂量组	2.2 ± 1.0		0.6 ± 0.7	

表9 鱼油软胶囊对小鼠避暗试验测验错误反应率的影响

组别	错误动物数/受试动物数	<i>P</i>
对照组	7/10	-
低剂量组	6/10	0.300
中剂量组	5/10	0.097
高剂量组	5/10	0.020

由表7可知,各剂量组小鼠训练时进入暗室的潜伏期、测验时进入暗室的潜伏期与对照组比较,差异均无显著性($P > 0.05$)。

由表8可知,各剂量组小鼠训练错误次数、测验错误次数与对照组比较,差异无显著性($P > 0.05$)。

由表9可知,低、中剂量组小鼠进入暗室的动物数与对照组比较,差异无显著性($P > 0.05$),高剂量组小鼠进入暗室的动物数与对照组比较,差异有显著性($P < 0.05$)。

2.4 鱼油软胶囊对小鼠跳台试验的影响(见表10~表12)

由表10可知,各剂量组小鼠训练时跳下平台的潜伏期与对照组比较,差异无显著性($P > 0.05$),高剂量组小鼠测验时跳下平台的潜伏期与对照组比较,差异有显著性($P < 0.05$)。

由表11可知,各剂量组小鼠训练错误次数及测验错误次数与对照组比较,虽然差异无显著性($P > 0.05$),但训练错误次数和测验错误次数均降低,说明鱼油能提高小鼠被动回避反应及空间辨别能力的记忆再现能力。

表10 鱼油软胶囊对小鼠跳台试验潜伏期的影响

组别	训练潜伏期/s	<i>P</i>	测验潜伏期/s	<i>P</i>
对照组	43.9 ± 25.3		88.3 ± 64.4	-
低剂量组	36.5 ± 13.4	0.646	128.6 ± 50.0	0.210
中剂量组	48.4 ± 27.3		140.5 ± 43.2	0.076
高剂量组	38.2 ± 23.7		153.0 ± 46.0	0.022

表13 鱼油软胶囊对水迷宫试验中小鼠记忆再现的影响

组别	到达终点时间/s	<i>P</i>	到达终点前的错误次数	<i>P</i>	2 min 内到达终点动物数(只)	<i>P</i>
对照组	83.6 ± 24.8		8.1 ± 3.1		8	-
低剂量组	80.1 ± 34.0	0.408	7.8 ± 2.9	0.564	8	1.000
中剂量组	75.1 ± 22.9		6.5 ± 3.7		9	1.000
高剂量组	63.3 ± 29.6		6.6 ± 2.7		9	1.000

由表13可知,水迷宫消退试验中各剂量组小鼠到达终点时间、到达终点前的错误次数及2 min内到达终点动物数与对照组比较,差异无显著性($P >$

表11 鱼油软胶囊对小鼠跳台试验错误次数的影响

组别	训练错误次数	<i>P</i>	测验错误次数	<i>P</i>
对照组	2.8 ± 1.3		1.8 ± 1.6	
低剂量组	2.6 ± 1.3	0.142	1.3 ± 1.3	0.210
中剂量组	1.8 ± 0.9		1.0 ± 1.1	
高剂量组	1.9 ± 1.0		0.6 ± 1.0	

表12 鱼油软胶囊对小鼠跳台试验测验错误反应率的影响

组别	错误动物数/受试动物数	<i>P</i>
对照组	7/10	-
低剂量组	7/10	1.000
中剂量组	6/10	1.000
高剂量组	4/10	0.370

由表12可知,各剂量组小鼠测验时跳下平台的动物数与对照组比较,差异无显著性($P > 0.05$)。

2.5 鱼油软胶囊对小鼠水迷宫消退试验的影响(见表13)

0.05)。

2.6 鱼油软胶囊对小鼠避暗消退试验的影响(见表14)

表14 鱼油软胶囊对避暗试验中小鼠记忆再现的影响

组别	潜伏期/s	<i>P</i>	错误次数	<i>P</i>	进入暗室动物数(只)	<i>P</i>
对照组	179.2 ± 81.7		1.8 ± 1.7		8	-
低剂量组	193.1 ± 85.8	0.182	1.2 ± 1.3	0.401	7	1.000
中剂量组	231.5 ± 74.4		1.0 ± 1.1		6	0.628
高剂量组	247.9 ± 67.6		0.9 ± 0.9		6	0.628

由表14可知,避暗消退试验中各剂量组小鼠进入暗室的潜伏期、进入暗室的错误次数和进入暗室的动物数与对照组比较,差异均无显著性

($P > 0.05$)。

2.7 鱼油软胶囊对小鼠跳台消退试验的影响(见表15)

表15 鱼油软胶囊对跳台试验中小鼠记忆再现的影响

组别	潜伏期/s	<i>P</i>	错误次数	<i>P</i>	跳下平台的动物数(只)	<i>P</i>
对照组	110.0 ± 62.9		1.5 ± 1.4		7	-
低剂量组	120.2 ± 61.4	0.565	1.0 ± 1.1	0.443	6	1.000
中剂量组	140.3 ± 58.9		0.9 ± 1.1		5	0.650
高剂量组	140.6 ± 47.6		0.7 ± 0.8		5	0.650

由表15可知,各剂量组小鼠跳下平台的潜伏期、错误次数、跳下平台的动物数与对照组比较差异无显著性($P > 0.05$)。

3 结论

以0.075、0.150、0.450 g/kg剂量的鱼油软胶囊内容物连续给小鼠灌胃30 d后进行记忆试验。

试验结果显示:水迷宫试验中,0.450 g/kg 剂量组小鼠到达终点的时间和错误次数均少于对照组,差异有显著性($P < 0.05$);跳台试验中,0.450 g/kg 剂量组小鼠测验时跳下平台的潜伏期与对照组比较,差异有显著性($P < 0.05$);避暗试验中,除 0.450 g/kg 剂量组小鼠进入暗室的动物数与对照组比较差异有显著性($P < 0.05$)外,各剂量组小鼠其他测验指标与对照组比较,差异无显著性($P > 0.05$)。水迷宫消退试验、避暗消退试验及跳台消退试验中各剂量组小鼠各项测验指标与对照组比较,差异无显著性($P > 0.05$)。水迷宫试验、跳台试验结果均为阳性,证实了鱼油软胶囊对小鼠记忆的改善作用,提示鱼油软胶囊对动物具有辅助改善记忆功能。

参考文献:

- [1] 张云竹,柏杨,刘小琴,等. 海洋鱼油资源开发和应用研究进展[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(28): 14005-14007.
- [2] 杨贤庆,吕军伟,林婉玲,等. DHA 功能特性以及抗氧化研究进展[J]. 食品工业科技, 2014, 35(2): 390-394.
- [3] 曾强,张静姝,刘中慧,等. 深海鱼油改善小鼠记忆功能的实验研究[J]. 卫生研究, 2012, 41(3): 441-444.
- [4] 李妍,王静,李麒龙,等. EPA 和 DHA 最新研究进展[J]. 农产品加工(学刊), 2013(2): 6-13.
- [5] 付成伟,赵小玲,尚刚,等. 脂肪酸构成比和 DHA 含量对血脂代谢的调节[J]. 食品研究与开发, 2013, 34(9): 88-91.
- [6] 朱昱哲,王静凤,毛磊,等. 高含量 DHA/EPA 甘油三酯鱼油改善脂肪肝大鼠脂质代谢作用的研究[J]. 营养学报, 2013, 35(4): 332-337.
- [7] SUN S N, LI J S, JIA W D, et al. Docosahexaenoic acid reduces proliferation and inhibits invasion of human hepatocellular carcinoma cell lines [J]. Cancer Biol Med, 2013, 10(1): 221-222.
- [8] 王月囡,侯冬岩,辛广,等. DHA 对婴幼儿的生理作用及应用研究[J]. 鞍山师范学院学报, 2012, 14(4): 50-53.
- [9] CASULA M, SORANNA D, CATAPANO A, et al. Long-term effect of high dose omega-3 fatty acid supplementation for secondary prevention of cardiovascular outcomes: a meta-analysis of randomized, double blind, placebo controlled trials [J]. Atherosclerosis Supp, 2013, 14(2): 243-251.
- [10] CHURCH M W, JEN K L, JACKSON D A, et al. Abnormal neurological responses in young adult offspring caused by excess omega-3 fatty acid (fish oil) consumption by the mother during pregnancy and lactation [J]. Neurotoxicol Teratol, 2009, 31(1): 26-33.
- [11] CARAMIA G. Omega-3: from cod-liver oil to nutrigenomics [J]. Minerva Pediatr, 2008, 60(4): 443-455.
- [12] 宫新统. 蛋黄卵磷脂的制备、检测及其改善记忆功能实验研究[D]. 长春:吉林大学, 2009.
- [13] 张静姝. 深海鱼油辅助改善记忆功能的研究[D]. 天津:天津医科大学, 2011.
- [14] 陈卫东,简洁莹,黄国燕,等. 鳕鱼油胶囊改善记忆作用的研究[J]. 中国食品卫生杂志, 1999, 11(4): 17-20.
- [15] CHUNG W L, CHEN J J, SU H M. Fish oil supplementation of control and (n-3) fatty acid-deficient male rats enhances reference and working memory performance and increases brain regional docosahexaenoic acid levels [J]. J Nutr, 2008, 138(6): 1165-1171.
- (上接第 59 页)
- [13] 王美菊,陶明煊,牛文颖,等. 石榴叶多酚对急性酒精性肝损伤小鼠肾脏、心脏及免疫器官的抗氧化作用[J]. 食品科学, 2016, 37(1): 208-212.
- [14] KUMER D, RIZVI S I. Black tea supplementation augments redox balance in rats: relevance to aging [J]. Arch Physiol Biochem, 2017, 23: 1-7.
- [15] 刘贵珊,杨博,张泽生,等. 白藜芦醇对 D-半乳糖致衰老小鼠学习记忆能力和脑组织抗氧化能力的影响[J]. 食品科学, 2014, 35(5): 204-207.
- [16] 吴莹,周庆,李杏,等. 蓝莓花青素与白藜芦醇复配对老龄小鼠抗衰老作用的评价[J]. 中国医院药学杂志, 2016, 36(24): 2178-2183.
- [17] 贾秀月,高艳华,赵晓莲,等. 自由基与抗衰老的研究概况[J]. 黑龙江医药科学, 2007, 30(2): 75-76.
- [18] 李书丹,宋娜,李晓东,等. 红树莓原液对 D-半乳糖模型小鼠抗衰老作用[J]. 长春中医药大学学报, 2016, 32(5): 902-904.
- [19] 甄天元,赵梦醒,雷敏. 鲑鱼墨黑色素对亚急性衰老模型小鼠抗氧化功能的影响[J]. 中国食品学报, 2012, 12(5): 61-65.
- [20] ZHANG W K, TAO S S, LI T T, et al. Nutmeg oil alleviates chronic inflammatory pain through inhibition of COX-2 expression and substance P release in vivo [J]. Food Nutr Res, 2016, 60: 1-5.
- [21] QIN Y Y, LI M, FENG X, et al. Combined NADPH and the NOX inhibitor apocynin provides greater anti-inflammatory and neuroprotective effects in a mouse model of stroke [J]. Free Radical Bio Med, 2017, 104: 333-345.
- [22] NAGASAKI H, NAKASHIMA A, KANEKO S, et al. Aripiprazole increases NADPH level in PC12 cells: the role of NADPH oxidase [J]. J Neural Transm, 2014, 121(1): 91-103.