

抑颤汤对帕金森病模型大鼠行为学及脑黑质细胞形态学的作用*

杨明会 窦永起 刘毅

内容提要 **目的:**探讨抑颤汤治疗帕金森病(Parkinson's disease, PD)的作用机理。**方法:**建立 PD 大鼠模型,设立正常组(给等量生理盐水)、模型组(给等量生理盐水)、抑颤汤组(给抑颤汤 1.7~1.8g/只),分别每天灌胃 1 次,连续 8 周;并观察 PD 大鼠行为特征及脑黑质细胞形态学变化。**结果:**与模型组比较,抑颤汤组大鼠治疗后旋转次数明显减少($P < 0.01$);脑黑质细胞数明显增多,神经元体积较饱满,结构较清晰,细胞内高尔基体、线粒体等趋于正常。**结论:**抑颤汤能明显改善 PD 模型大鼠的旋转行为,促进受损脑黑质细胞修复,为临床治疗 PD 提供了实验依据。

关键词 抑颤汤 帕金森病 行为学 脑黑质细胞形态学

Effect of Yichan Decoction on Behavior Pattern and Cerebral Black Substance Cell Morphology in Parkinson's Disease Model Rats YANG Ming-hui, DOU Yong-qi, LIU Yi *Department of TCM, General Hospital of PLA, Beijing (100853)*

Objective: To explore the mechanism of therapeutic effect of Yichan Decoction (YCD) in treating Parkinson's disease (PD). **Methods:** A PD model was established. A normal control group, a model group and a YCD group were set up to observe changes of rats' behavior pattern and cell morphology of cerebral black substance. **Results:** Compared with the model group, obviously more cells of black substance were found in the YCD group, with the neurons full in volume and clear in structure, and the intracellular Golgi complex and mitochondria close to be normal. YCD can also significantly improve the rotation behavior of the PD model rats ($P < 0.01$). **Conclusion:** YCD can facilitate the repair of injured cerebral black substance cells. Results of this study provide an experimental basis for clinical treatment of PD with YCD.

Key words Yichan Decoction, Parkinson's disease, behavior pattern, morphology of cerebral black substance cells

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是以震颤、肌强直、运动减少和姿势异常为特征的慢性神经系统变性疾病,是中老年人的常见病。目前西医治疗本病以多巴胺类药物替代疗法为主,但难以保持长期疗效,有效时间多为 2~5 年,且副反应严重,部分患者甚至不能耐受。多年来我们采用抑颤汤治疗 PD 取得较好的临床疗效。为研究其作用机制,我们复制了 PD 大鼠模型,观察了抑颤汤治疗前后 PD 模型大鼠行为学及脑黑质细胞形态学的改变,现报告如下。

材料与方法

1 动物 健康雌性 SD 大鼠 120 只,体重 180~

200g,由解放军总医院医学实验动物中心提供。

2 药物、试剂与仪器 抑颤汤由山萸肉、石菖蒲、仙灵脾、肉苁蓉、枸杞子、丹参、蜈蚣等组成,解放军总医院中药房鉴定并提供。按传统煎药法文火煎 30min 获取药液,以恒温水浴锅浓缩成含生药 1.0g/ml,消毒玻璃瓶密闭盛装,冰箱 4℃ 保存备用。6-羟基多巴(6-OHDA)、阿朴吗啡、维生素 C 均为 Sigma 产品;日本产 SN-2 型脑立体定位仪,国产 QL-1 型小动物旋转监测仪;OLYMPUS BH-2 光学显微镜,日本 JEM-1230 型电子显微镜。

3 造模方法 按文献^(1,2)方法,大鼠用 10% 水合氯醛溶液 5ml/kg 腹腔注射麻醉,头顶部去毛,固定于 SN-2 型脑立体定位仪上,常规消毒,切开皮肤,暴露颅骨。脑核团定位方法依据大鼠脑立体定位图谱⁽³⁾,将右侧黑质坐标选定为:门齿线低于水平线 - 3.3mm,距前囟中心后(A/P) - 4.8mm,距前囟中心左或右(L/

* 国家自然科学基金资助课题(No. 39970913)

解放军总医院中医科(北京 100853)

R)1.6mm,距脑膜表面深度(O/V)-8.2mm。将右侧黑质坐标定位后,钻开颅骨,用微量注射器抽取新鲜配制的 6-OHDA 液(2 μ g/ μ l),以 1 μ l/min 的速度缓慢旋转推药,注射完毕后留针 3min,以 1mm/min 的速度缓慢旋转退针,止血、缝合皮肤、消毒。腹腔注射青霉素 10 万 u/kg,换药,每日 1 次,7 日后拆线。术后 2 周用 0.01% 阿朴吗啡腹腔注射(1ml/只),观察记录每 5min 向健侧旋转次数及 40min 旋转的总次数,旋转次数 \geq 7 圈/min(280 圈/40min)者为阳性。每周 1 次,连续 4 周阳性者为合格的 PD 模型大鼠^[2]。

4 分组及给药方法 将造模成功的 70 只 PD 大鼠随机分为模型组 30 只和抑颤汤组 40 只;另取未造模的大鼠 30 只为正常组。抑颤汤组按 $d_B = d_A \times R_A / R_B \times (W_A / W_B)^{1/3}$ 计算给抑颤汤量^[4](约 1.7~1.8g/只),每日 9:00~10:00 时灌胃给药^[5];模型组和正常组同时给予等量生理盐水灌胃。各组大鼠每周称体重 1 次,按体重调整给药和生理盐水量,连续 8 周;从给药后第 5 周起开始观察其旋转行为的改变,每周观察 1 次,连续观察 4 周。

5 脑黑质细胞形态学观察 给药结束后,分别从正常组、抑颤汤组、模型组中随机抽取 10、15、10 只大鼠,断头,取出大脑切片后,经 HE 染色,用光学显微镜及电子显微镜观察脑黑质细胞的变化。

6 统计学方法 采用 SPSS 统计软件进行 *t* 检验,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

结 果

1 行为学改变 正常组大鼠腹腔注射 0.01% 阿朴吗啡后,旋转次数平均为 22 圈/40min,无固定旋转方向;模型组大鼠旋转次数明显高于正常组,两组比较

差异有显著性($P < 0.01$);抑颤汤组治疗后较模型组大鼠旋转次数明显减少($P < 0.01$),而模型组大鼠用治疗前后无改变(见图 1)。

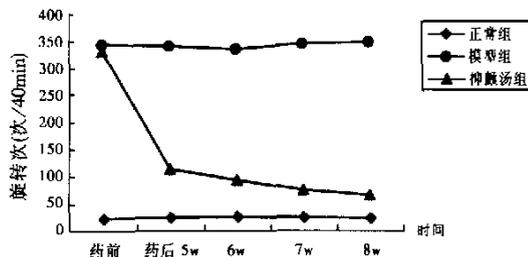


图 1 抑颤汤对 PD 大鼠行为学改变

2 脑黑质神经细胞形态学改变

2.1 光镜下见 正常组大鼠脑黑质神经细胞形态正常,体积正常,结构清晰(图 2A);模型组大鼠脑黑质神经细胞数量明显减少,残存的神经元体积瘦小,结构不清晰,色素变浅,同时伴轻度胶质细胞增生(图 2B);与模型组比较,抑颤汤组大鼠脑黑质神经细胞数量明显增多,神经元体积较饱满,结构较清晰。抑颤汤组与模型组左侧脑黑质神经细胞形态、数量等与正常组镜下观察相似(图 2C)。

2.2 电镜下见 正常组大鼠脑黑质神经元细胞形态正常,核仁、核糖体结构完好,高尔基体、线粒体结构清晰(图 3D);模型组大鼠显示神经元细胞呈损伤性改变,胞浆周围水肿严重,核仁结构不清楚,核内可见片块状电子密度增加区,线粒体肿胀、结构不清,内质网扩张,部分核糖体脱粒(图 3E);抑颤汤组脑黑质神经元细胞结构大致正常,与正常组比较,高尔基体、线粒体结构欠清晰,核仁周围有轻度肿胀,其他细胞器基本正常(图 3F)。

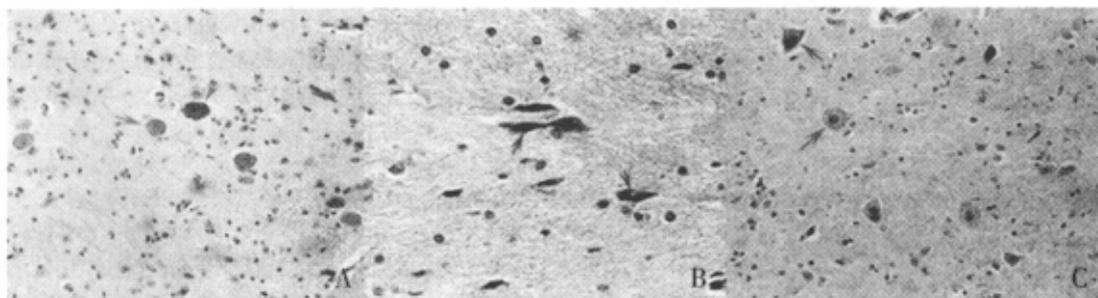


图 2 A:正常组大鼠脑黑质神经细胞形态、体积正常,结构清晰(光镜 $\times 40$);B:模型组大鼠脑黑质神经细胞数量明显减少,残存的神经元体积瘦小,结构不清晰,细胞核色淡,同时伴轻度胶质细胞增生(光镜 $\times 40$);C:抑颤汤组大鼠脑黑质神经细胞数量明显增多,脑黑质神经细胞体积较饱满,结构清晰(光镜 $\times 40$)

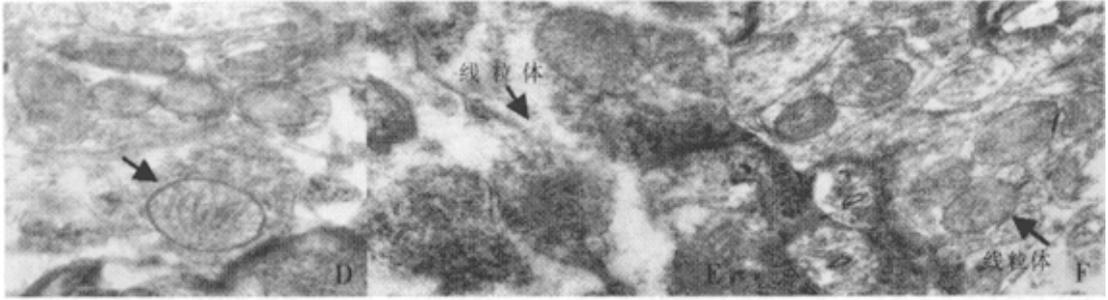


图 3 D:正常组大鼠脑黑质神经元细胞形态正常,线粒体结构清晰、完好(电镜 $\times 40k$);E:模型组大鼠脑神经元细胞呈损伤性改变,胞浆周围水肿严重,线粒体肿胀,结构欠清,内质网扩张(电镜 $\times 50k$);F:抑颤汤组大鼠治疗 8 周后,脑黑质神经元细胞结构大致正常,线粒体结构正常(电镜 $\times 25k$)

讨 论

继多巴胺替代疗法后,神经保护性治疗被称为 PD 治疗的第二次革命^[6],中医药的神经保护性作用逐渐得到重视。抑颤汤在总结前人经验的基础上,结合多年临床实践总结出来的。中医学认为该病病机以肝肾亏损为本,瘀、痰、风为标,治疗本病主张以补肾为主,兼以化痰祛痰熄风。方用山萸肉、枸杞子、仙灵脾、肉苁蓉等补肾益髓,石菖蒲化痰开窍,丹参活血化瘀;而蜈蚣走窜之力最强,外通经络,内达脏腑,凡气血凝聚之处皆能通之,古人谓其“节节有脑,乃物类之至异者,是以性能入脑,善理脑髓神经,使不失所司”。全方配伍合理,药中病机,疗效明显。

帕金森病主要的病理改变为脑黑质变性,其致密部不能合成多巴胺(DA)而致 DA 严重缺失。通过颅骨钻孔直接注入神经毒剂 6-OHDA 损毁脑黑质致密部,使之分泌多巴胺类神经介质减少,大鼠出现旋转行为异常的表现,从而造成 PD 模型。高军茂等^[7]观察证明该模型稳定可靠,重复性好,成功率较高;本研究也证实该模型符合该病的发病机理和临床特征,从而为 PD 研究提供了实验模型。

本研究研究表明 PD 模型大鼠具有 PD 的行为学

特征;抑颤汤对其有明显改善作用,可能与抑颤汤能够促进受损的脑黑质细胞修复和再生及神经递质分泌增多有关,其详细机理有待于深入研究。

参 考 文 献

1. Schwartivg R KW. Relationships between indices of behavioral asymmetries 6-hydroxydopamine injections. *J Brain Research* 1991;554:46—55.
2. 薛毅琬,罗 芸,崔 忻,等. 6-羟基多巴诱发偏侧帕金森病样大鼠模型的制作和特征. *军医进修学院学报* 1999;20(3):164—166.
3. 包新民,舒斯云著. 大鼠脑立体定位图谱. 北京:人民卫生出版社,1991:30—59.
4. 徐叔云,卞如濂,陈 修,等. 药理实验方法学. 第 2 版. 北京:人民卫生出版社,1994:178—181.
5. 施新猷主编. 医学动物实验方法. 北京:人民卫生出版社,1986:111.
6. Chase TN Levodopa therapy: consequences of the nonphysiologic replacement of dopamine. *Neurology* 1998;50(5 suppl 5):s17—25.
7. 高军茂,齐增飞,罗 芸,等. 帕金森病样大鼠模型的稳定性观察. *中国临床神经科学* 2000;8(2):148—149.

(收稿:2002-06-14 修回:2002-07-24)

《中国医药导刊》2003 年征订启事

《中国医药导刊》是由国家药品监督管理局主管,国家药品监督管理局信息中心主办,国内外公开发行的医药科技性专业期刊。本刊主要设置 14 个栏目:临床医学、药物临床研究与应用、大规模临床试验、疾病治疗指南、卫生经济学、临床药事管理、药物安全性监察、新产品介绍与述评、信息快递、医海撷英、GCP 讲座、OTC 专栏、争鸣及其他。本刊紧密结合临床实际,突出先导性、实用性和时效性,是临床医药工作者的重要参考文献,也是药品和医疗设备生产、营销企业了解我国临床需求信息的重要窗口。

《中国医药导刊》为双月刊,大 16 开本,胶印,80 页,约 18 万字,每册定价 15 元,全年 6 期,共 90 元。全国邮局均可订阅,邮发代号 2-492。读者也可直接与本刊编辑部联系;汇入行开户名称:国家药品监督管理局信息中心;开户行:建设银行北京展览路分理处,账号:2610002517;通讯地址:北京西城区北礼士路甲 38 号(100810);电话:68350889;传真:68311978