

· 基础研究 ·

补肾活血方对血管性痴呆大鼠海马 BDNF mRNA 及受体 TrkB mRNA 表达的影响

于文涛^{1,2} 高维娟^{2,3} 方朝义^{1,2} 张一昕⁴ 吴中秋⁵

摘要 **目的** 探讨补肾活血方对血管性痴呆(VD)大鼠脑海马神经元保护机制。**方法** 70 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、补肾活血高剂量组、补肾活血低剂量组、尼莫地平对照组,每组 14 只,采用两血管阻断法制备大鼠 VD 模型,补肾活血高剂量组、低剂量组分别以 10.14、5.07 g 生药/kg 灌服补肾活血方,尼莫地平对照组以 11.06 mg/kg 灌服尼莫地平,给药 30 天后,检测各组大鼠水迷宫法行为学、脑海马神经元超微结构及海马组织 BDNF mRNA 和 TrkB mRNA 蛋白表达。**结果** 与假手术组比较,模型组大鼠空间学习记忆能力与探索能力下降,表现为逃避潜伏期明显延长,穿越原平台次数及在原平台停留时间均明显减少($P < 0.01$),海马神经元 BDNF mRNA 和 TrkB mRNA 及蛋白表达下降($P < 0.05$, $P < 0.01$),脑海马神经元超微结构明显受损;与模型组比较,补肾活血高、低剂量组大鼠空间学习记忆能力与探索能力明显改善,表现为逃避潜伏期明显缩短,穿越原平台次数及在原平台停留时间均明显增加($P < 0.05$, $P < 0.01$),海马神经元 BDNF mRNA 及受体 TrkB mRNA 及蛋白表达升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),改善脑海马神经元超微结构。**结论** 补肾活血方可提高脑海马神经元 BDNF 及受体 TrkB 表达,保护脑海马神经元,改善 VD 大鼠学习与记忆能力。

关键词 补肾活血方;血管性痴呆;脑源性神经生长因子;酪氨酸蛋白激酶 B;超微结构

Effect of Bushen Huoxue Recipe on mRNA Expression of BDNF and Its Receptor TrkB in Hippocampus of Vascular Dementia Rats YU Wen-Tao^{1,2}, GAO Wei-juan^{2,3}, FANG Chao-yi^{1,2}, ZHANG Yi-xin⁴, and WU Zhong-qiu⁵ 1 Department of Traditional Chinese Medicine Diagnostics, Basic Medical College, Hebei College of Chinese Medicine, Shijiazhuang (050200); 2 Hebei Key Laboratory of Chinese Medicine Research on Cardio/Cerebrovascular Disease, Shijiazhuang (050091); 3 Department of Pathology, Basic Medical College, Hebei College of Chinese Medicine, Shijiazhuang (050200); 4 Department of Clinical Chinese Materia Medica, Pharmacy College, Hebei College of Chinese Medicine, Shijiazhuang (050200); 5 Department of Science and Technology, Hebei College of Chinese Medicine, Shijiazhuang (050200)

ABSTRACT **Objective** To observe the protective mechanisms of Bushen Huoxue Recipe (BHR) on hippocampal neurons in vascular dementia (VD) rats. **Methods** Totally 70 SD rats were randomly divided into 5 groups, i.e., the sham-operation group, the model group, high and low dose BHR groups, and the nimodipine group, 14 in each group. The VD rat model was prepared by blocking two blood vessels. Rats in the high dose BHR group were administered with BHR (10.14 g crude drugs/kg) by gastrogavage. Rats in the low dose BHR group were administered with BHR (5.07 g crude drugs/kg) by gastrogavage. Rats in the nimodipine group were administered with Nimodipine solution (11.06 mg/kg) by gas-

基金项目:河北省自然科学基金资助项目(No.H2015423057)

作者单位:1.河北中医学院基础医学院中医诊断学教研室(石家庄 050200);2.河北省心脑血管病中医药防治重点实验室(石家庄 050091);3.河北中医学院基础医学院病理学教研室(石家庄 050200);4.河北中医学院药学院临床中药学教研室(石家庄 050200);5.河北中医学院科技处(石家庄 050200)

通讯作者:高维娟, Tel:0311-89926007, E-mail:gwj6088@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20170703.148

trogavage. Thirty days after administration, praxiological changes were detected by water maze. Ultramicrostructure of hippocampal neuron, gene and protein expression of BDNF mRNA and TrkB mRNA were also observed. Results Compared with the sham-operation group, the ability of learning and memory exploration were reduced in VD rats of the model group, manifested as escape latency period obviously extended, times for passing platform and detention time in platform obviously decreased ($P < 0.01$), levels of mRNA and protein expressions of BDNF and TrkB in hippocampal neuron showing decreasing tendency ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the ultramicrostructure of hippocampal neuron obviously damaged. Compared with the model group, the ability of learning and memory exploration were improved in high and low dose BHR groups, manifested as escape latency period obviously shortened, times for passing platform and detention time in platform obviously increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), levels of mRNA and protein expressions of BDNF and TrkB in hippocampal neuron elevated ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the ultramicrostructure of hippocampal neuron obviously improved. Conclusion BHR could improve the expression levels of BDNF and its receptor TrkB, and protect hippocampal neuron, so as to improve the learning and memory ability of VD rats.

KEYWORDS Bushen Huoxue Recipe; vascular dementia; brain-derived neurotrophic factor; tyrosine protein kinase B; ultramicrostructure

血管性痴呆 (vascular dementia, VD) 是指由一系列脑血管因素引起的, 在脑组织损害基础上产生的以高级神经认知功能障碍为主的临床综合征^[1]。课题组前期研究表明, 补肾药和活血药是治疗 VD 使用频次最高的中药, 补肾活血方药可明显改善 VD 模型小鼠学习记忆能力^[2,3]。本实验在前期研究基础上, 通过观察补肾活血方药对 VD 大鼠行为学、脑海马神经元超微结构、脑海马脑源性神经生长因子 (brain derived neurotrophic factor, BDNF) mRNA 及其受体酪氨酸蛋白激酶 B (TrkB) mRNA 表达的影响, 从调控 BDNF mRNA 和 TrkB mRNA 表达角度揭示补肾活血方药保护脑海马神经元的作用机制。

材料与方法

1 动物 选取健康清洁级 SD 大鼠 75 只, 雄性, 7 周龄, 体重 250 ~ 300 g, 购自河北医科大学实验动物中心, 动物合格证编号: 1404010, 许可证号: SCXK (冀) 2008 - 1 - 003。5 只 1 笼饲养, 室温 20 ~ 25 °C, 湿度 50% ~ 70%, 颗粒型普通大鼠饲料喂养, 饮用凉开水, 造模前适应性喂养 1 周。

2 药物 补肾活血方: 由何首乌 15 g、益智仁 15 g、人参 10 g、川芎 15 g、丹参 15 g、当归 15 g、郁金 10 g 组成, 中药均购自河北乐仁堂药店, 经河北中医学院中药教研室鉴定符合药典标准。上药由河北中医学院实验中心煎制, 分别浓缩成为 1 014 g 生药/L 和 507 g 生药/L 药液, 装瓶、封盖、灭菌, 4 °C 冰箱保存备用。尼莫地平片: 由河北永丰药业有限公司生产, 批

准文号: 国药准字 H13021882。20 mg/片, 使用前用蒸馏水配制成浓度为 1.106 mg/mL 药液。

3 主要试剂和仪器 PrimeScrip RT Reagent: TaKaRa-RR037A; SYBR Fast qPCR Mix: TaKaRa-RR820A; TaKaRa RNAiso Plus: TaKaRa-9108; DL2000 DNA Marker: TaKaRa-3427A; BDNF antibody: sc-546, Santa Cruz Biotechnology, Inc; TrkB antibody: sc-12, Santa Cruz Biotechnology, Inc; GAPDH: sc-25778, Santa Cruz Biotechnology, Inc。ZS - 001 moriss 水迷宫 (北京众实迪创科技发展有限公司)、H - 7500 型透射电子显微镜 (日本日立公司)、TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice (TaKaRa TP650)、实时荧光定量 PCR 仪 (ABI 7500 Fast 型)、紫外分光光度计 (上海光谱仪器有限公司)、UVP 凝胶成像系统 (美国 UVP 公司)、水平电泳仪 (北京市六一仪器厂)、基因扩增仪 PE-9600 (美国 PE)、紫外透射仪 UV - 254 (北京鼎国)、分析软件 Quantity one (Bio-Rad Technical Service Department)。

4 动物分组 适应性喂养 1 周后, 采用水迷宫实验剔除行为学表现差异较大的大鼠, 剩余 70 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、补肾活血高剂量组、补肾活血低剂量组、尼莫地平对照组, 每组 14 只。

5 模型建立 参照参考文献 [4] 方法。采用两血管阻断法 (2-VO) 制备大鼠 VD 模型, 具体方法如下: SD 大鼠术前 12 h 禁食, 4 h 禁水, 用 10% 水合氯醛 (3.5 mL/kg) 腹腔注射麻醉大鼠, 颈部正中切口, 分离并用 4 号丝线结扎双侧颈总动脉, 逐

层缝合皮肤,缝合后于伤口局部皮下注射庆大霉素 0.2 万 U 预防伤口感染,假手术组分离双侧颈动脉,但不结扎。

6 给药方法 各药物治疗组在造模术后第 3 天进行给药干预,补肾活血高剂量组以 10.14 g 生药/kg (相当于 60 kg 成人用药量 20 倍)灌服补肾活血方,补肾活血低剂量组以 5.07 g 生药/kg (相当于 60 kg 成人用药量 10 倍)灌服补肾活血方,尼莫地平对照组以 11.06 mg/kg (相当于 60 kg 成人用药量 10 倍)灌服尼莫地平。假手术组、模型组均以 10 mL/kg 灌服生理盐水,每天 1 次,灌服 30 天。造模及给药结束后剔除死亡小鼠,各组剩余动物分别为:假手术组 12 只,模型组 11 只,补肾活血高剂量组 12 只,补肾活血低剂量组 11 只,尼莫地平对照组 11 只。

7 空间学习记忆能力检测 给药 30 天后,每组随机抽取 3 只进行电镜检测,其余大鼠进行 Morris 水迷宫测试,检测时间为 6 天,前 5 天为定位航行,最后一天为空间探索实验。水深约为 35 cm,水温约保持为 22 ℃ 左右,以摄像头追踪大鼠位置。采集的图像及视频及时传入实验配套计算机并通过水迷宫分析系统进行数据分析。定位航行实验:将每一象限的中点作标记为入水点,记录 2 min 内大鼠找到平台的位置,并在平台上停留时间超过 2 s,即逃避潜伏期。每天进行 4 次,取平均值。空间探索实验:将原平台撤除,任选一入水点将大鼠放入水中,记录大鼠在 2 min 内跨越原平台的次数及停留时间。

8 脑海马神经元超微结构的观察 大鼠断头处死后,剥离大脑,置于冰盘上,于冰袋上剥离脑海马,取海马 CA1 区脑组织,大小约 1 mm × 1 mm × 1 mm,放入 4% 戊二醛中前固定,将标本置于 4 ℃ 环境内;运用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液 (PBS) 充分清洗 10 min,清洗 3 次后,将其放入 1% 锇酸中固定 1~2 h,恒温 4 ℃;重复 PBS 清洗后,进行酒精梯度脱水 50%—70%—80%—90%—100% I—100% II,每步 10~15 min,再用 100% 丙酮 I、100% 丙酮 II 脱水,各 15 min;用丙酮与树脂 3:1、1:1、1:3 的混合液各浸透 15 min,然后纯树脂浸透 30 min;再用环氧树脂 812、815 混合物包埋、聚合后,用 Leica 超薄切片机切片,厚度为 50 nm;醋酸铀 30~40 min 和柠檬酸铅 30 min 双重电子染色后;H-7500 型透射电子显微镜下观察神经元超微结构的变化,照相并记录镜下图片结果。

9 脑海马 BDNF、TrkB 蛋白表达测定 大鼠水迷宫行为学检测结束后,断头处死,于无菌冰盘上将大鼠脑组织取出,在大脑视交叉与视乳头之间冠状位用

无菌手术刀片垂直切开脑组织,钝性分离出完整的左右双侧海马,将左侧海马组织迅速投入液氮冷冻 1 h 后转入 -80 ℃ 超低温冰箱。取约 100 mg 组织加 1 mL 提取液匀浆提取,4 ℃,12 000 r/min 离心 5 min,取上清,加入等体积 2 × SDS 上样缓冲液,100 ℃ 中煮沸 5 min。进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,每孔上样等量总蛋白。利用水浴式电印迹法将蛋白转移至膜上。室温振荡封闭膜 2 h 后,加入 1:250 (封闭液稀释)的第一抗体,室温缓慢摇动 2 h,用 PBS-Tween 洗膜 3 次后,再加入 1:5 000 (封闭液稀释)的 HRP 标记的第二抗体,室温振摇 1 h, PBS-Tween 充分洗膜后,将膜浸入 DAB 显色液中,室温充分显色后,立即用蒸馏水洗膜,然后将膜转入 PBS 中观察、照相、分析。

10 脑海马 BDNF mRNA、TrkB mRNA 表达的检测 采用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 检测。右侧海马组织研磨并加入 1 mL RNAiso Plus Reagent 混合均匀。加入 1/5 体积的氯仿,离心 15 min,提取上层 RNA 溶解物,加入等体积的异丙醇,充分混匀,4 ℃ 离心 10 min。小心弃上清,加入预冷的 75% 乙醇。4 ℃ 反复离心 2 次,用 20 μL RNase dH₂O 溶解沉淀,保存在 -80 ℃ 冰箱中。采用紫外分光光度计测定样本 RNA 浓度及 RNA 量,在 1.5 mL 试管中用 EASY Dilution 稀释 cDNA 标准品,按照组份配制反应液,37 ℃ 反转录 15 min,85 ℃ 5 s 灭活反转录酶。将 SYBR Premix EX Taq 12.5 μL、上下游引物 10 μmol/L 各 0.5 μL、无菌水 9.5 μL、cDNA 1 μL 混合均匀,配置成 Real-time PCR 反应试剂。按照反应条件进行 Real-Time PCR 反转录反应。引物序列如下:BDNF: F: 5'-CAGGGGCATAGACAAAAG-3', R: 5'-CTTCCCCTTTTAATGGTC-3'; TrkB: F: 5'-TCAAGTTGGCGAGACATTCC-3', R: 5'-CGAAGAAGACGGAGTGTTGC-3'; GAPDH: F: 5'-GGCAAGTTCAATGGCACAGT-3', R: 5'-TGGTGAAGACGCCAGTAGACTC-3'。

11 统计学方法 采用 SPSS 16.0 统计软件。数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,用 LSD 法进行组间比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 各组大鼠空间学习记忆能力的比较

1.1 各组大鼠水迷宫定位航行实验结果比较 (表 1) 与假手术组比较,模型组大鼠逃避潜伏期明显延长 ($P < 0.01$),各用药组大鼠逃避潜伏期较模型组明显缩短 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表 1 各组大鼠水迷宫定位航行实验结果比较 ($\bar{x} \pm s$)		
组别	<i>n</i>	逃避潜伏期(s)
假手术	9	24.801 ± 15.516
模型	8	55.920 ± 25.266 *
补肾活血高剂量	9	29.861 ± 12.996 $\Delta\Delta$
补肾活血低剂量	8	36.735 ± 11.489 Δ
尼莫地平对照	8	34.043 ± 19.008 Δ
<i>F</i>		3.862
<i>P</i>		<0.05

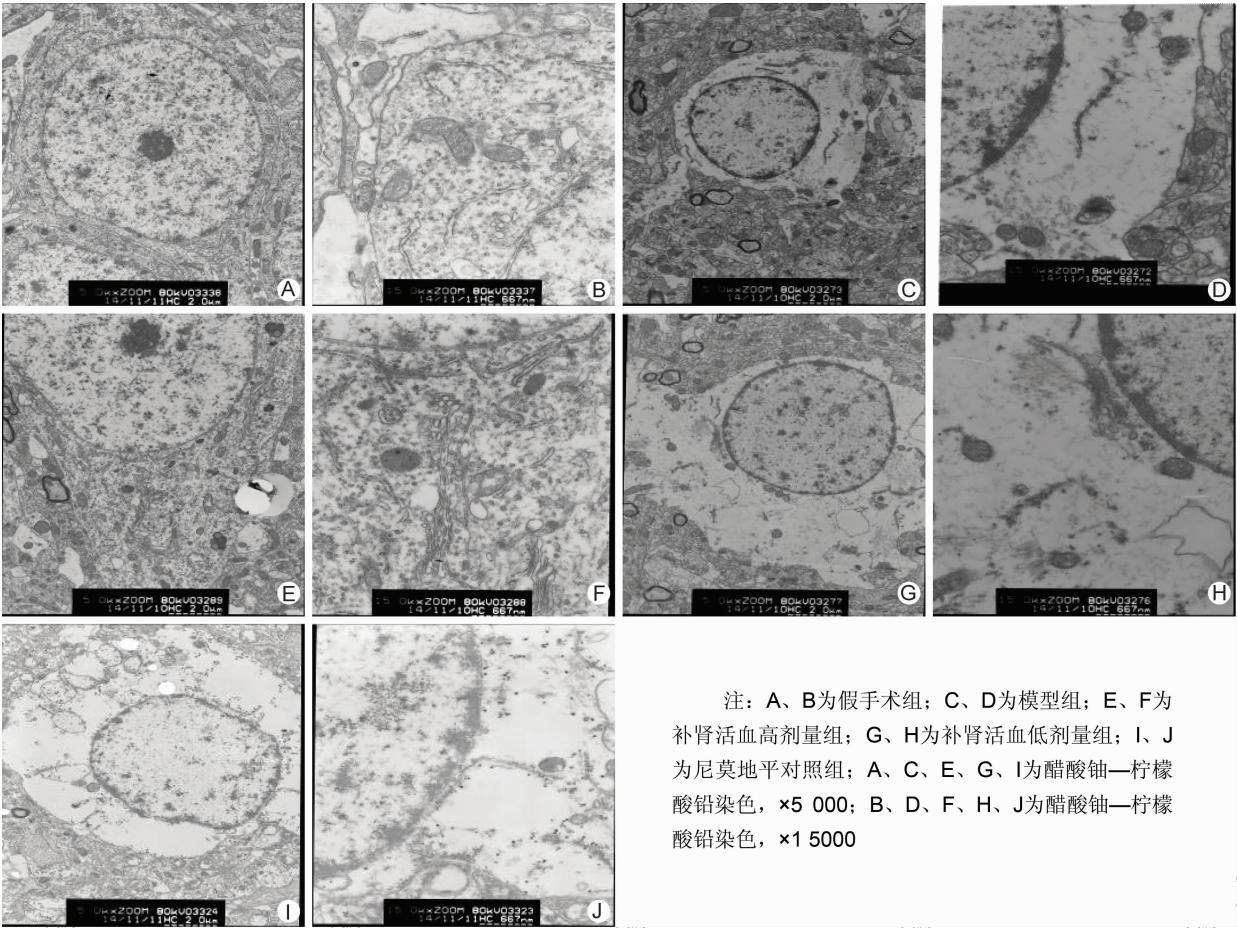
注:与假手术组比较,**P* < 0.01;与模型组比较, Δ *P* < 0.05, $\Delta\Delta$ *P* < 0.01

1.2 各组大鼠水迷宫空间探索实验结果比较 (表 2) 与假手术组比较,模型组大鼠穿越原平台次数及在原平台停留时间均明显减少(*P* < 0.01)。各用药组大鼠穿越原平台次数及原平台停留时间均较模型组明显增加(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。与补肾活血高剂量组比较,补肾活血低剂量组和尼莫地平对照组大鼠穿越原平台次数及原平台停留时间均明显减少(*P* < 0.05, *P* < 0.01)。

表 2 各组大鼠水迷宫空间探索实验结果比较 ($\bar{x} \pm s$)			
组别	<i>n</i>	穿越原平台次数(次)	原平台停留时间(s)
假手术	9	9.44 ± 1.81	65.01 ± 20.99
模型	8	3.75 ± 1.28 *	22.69 ± 6.98 *
补肾活血高剂量	9	8.11 ± 1.76 $\Delta\Delta$	61.83 ± 12.80 $\Delta\Delta$
补肾活血低剂量	8	5.88 ± 2.10 $\Delta\Delta$	41.73 ± 9.62 $\Delta\Delta$
尼莫地平对照	8	6.00 ± 1.85 $\Delta\Delta$	46.54 ± 14.02 $\Delta\Delta$
<i>F</i>		12.962	12.556
<i>P</i>		<0.01	<0.01

注:与假手术组比较,**P* < 0.01;与模型组比较, Δ *P* < 0.05, $\Delta\Delta$ *P* < 0.01;与补肾活血高剂量组比较, Δ *P* < 0.05, $\Delta\Delta$ *P* < 0.01

2 各组大鼠海马神经元超微结构观察结果 (图 1) 假手术组神经元形态正常,细胞器丰富,胞核大呈椭圆形,核膜完整,常染色质丰富,异染色质较少。模型组:神经元严重水肿,细胞器数量显著减少,线粒体大部分嵴和部分膜融合、模糊不清,嵴有断裂和缺失现象,粗面内质网有明显的颗粒融合或脱颗粒现象。补肾活血高剂量组:神经元轻度水肿,线粒体部分嵴和膜融合,模糊不清,粗面内质网出现颗粒融合、脱颗粒



注: A、B为假手术组; C、D为模型组; E、F为补肾活血高剂量组; G、H为补肾活血低剂量组; I、J为尼莫地平对照组; A、C、E、G、I为醋酸铀—柠檬酸铅染色, ×5 000; B、D、F、H、J为醋酸铀—柠檬酸铅染色, ×1 5000

图 1 各组大鼠海马神经元超微结构

现象。突触小泡减少,突触间隙融合。补肾活血低剂量组和尼莫地平对照组超微结构表现接近,均可见神经元水肿,细胞器数量减少,线粒体大部分嵴和部分膜融合、模糊不清,嵴有断裂和缺失现象,粗面内质网有明显的颗粒融合或脱颗粒现象。

3 各组大鼠脑海马 BDNF、TrkB 蛋白表达比较(表 3,图 2) 与假手术组比较,模型组大鼠脑海马 BDNF 和 TrkB 蛋白表达量明显下降($P < 0.05$, $P < 0.01$),各用药组大鼠脑海马 BDNF 和 TrkB 表达量较模型组均明显升高($P < 0.01$)。与补肾活血高剂量组比较,补肾活血低剂量组和尼莫地平对照组 BDNF 和 TrkB 表达量均有所降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表 3 各组大鼠脑海马 BDNF、TrkB 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BDNF	TrkB
假手术	9	0.4014 ± 0.068	0.6632 ± 0.118
模型	8	0.2626 ± 0.070 *	0.4579 ± 0.131 **
补肾活血高剂量	9	0.7950 ± 0.168 $\Delta\Delta$	0.9825 ± 0.141 $\Delta\Delta$
补肾活血低剂量	8	0.5738 ± 0.117 $\Delta\Delta\Delta\Delta$	0.7023 ± 0.132 $\Delta\Delta\Delta\Delta$
尼莫地平对照	8	0.5762 ± 0.186 $\Delta\Delta\Delta\Delta$	0.8461 ± 0.103 $\Delta\Delta\Delta\Delta$
F		20.054	20.744
P		<0.01	<0.01

注:与假手术组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与补肾活血高剂量组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

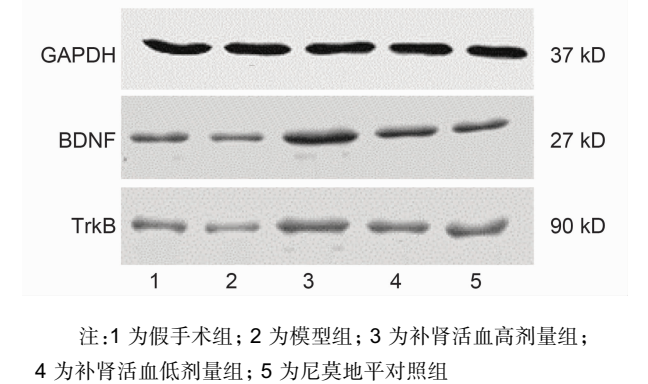


图 2 各组大鼠脑海马 BDNF、TrkB 蛋白表达比较

4 各组大鼠脑海马 BDNF mRNA、TrkB mRNA 表达比较(表 4) 与假手术组比较,模型组 TrkB mRNA 表达显著下降($P < 0.05$)。各用药组大鼠脑海马 BDNF mRNA 和 TrkB mRNA 表达较模型组均明显升高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与补肾活血高剂量组比较,补肾活血低剂量组和尼莫地平对照组 BDNF mRNA 表达均有所降低($P < 0.05$);补肾活血低剂量组 TrkB mRNA 表达明显降低($P < 0.01$)。

表 4 各组大鼠脑海马 BDNF mRNA、TrkB mRNA 表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	BDNF mRNA	TrkB mRNA
假手术	9	1.2178 ± 0.058	1.1238 ± 0.044
模型	8	1.1582 ± 0.079	1.0600 ± 0.033 *
补肾活血高剂量	9	1.3355 ± 0.089 $\Delta\Delta$	1.3417 ± 0.058 $\Delta\Delta$
补肾活血低剂量	8	1.2472 ± 0.046 $\Delta\Delta$	1.1545 ± 0.081 $\Delta\Delta\Delta\Delta$
尼莫地平对照	8	1.2484 ± 0.077 $\Delta\Delta$	1.2889 ± 0.046 $\Delta\Delta$
F		6.805	38.822
P		<0.01	<0.01

注:与假手术组比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与补肾活血高剂量组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

讨 论

VD 属中医学中“呆病”、“健忘”、“癫病”、“文痴”、“郁证”等病证范畴。中医学认为,肾主藏精,脑为髓海,若肾精亏虚,则髓海不足,脑窍失养,学习记忆能力下降,故《素问·调经论》指出“肾藏志”;本病多继发于中风之后,脑脉闭阻,气血不畅,说明瘀血亦是痴呆的重要病机。课题组前期研究表明,在治疗 VD 的中药中,补肾药、活血药是使用频次最高的药物,分别为 19.2% 和 14.4%,联合采用补肾和活血药物者占 79.4%,说明补肾活血方药是治疗 VD 使用频次最高的药物,补肾活血法为治疗 VD 有效治法^[2]。临床研究显示,补肾活血方药可明显改善 VD 患者学习记忆能力,调节血脂代谢,降低事件相关电位 P300,临床总有效率为 83.72%^[5]。

VD 发生的病理机制主要与脑血管病变导致局部或全脑缺血缺氧,引起脑部与认知记忆等相关的特定神经组织损害有关。中枢神经系统,尤其大脑皮质(第三层)、海马、小脑等部位对缺血缺氧高度敏感^[1]。脑缺血损伤导致的级联反应过程,如:能量衰竭、兴奋性氨基酸毒性、梗塞周围去极化、炎症反应、细胞凋亡以及氧化应激等环节会影响神经递质调节和突触传递,促进神经元变性损伤,从而引发学习记忆功能障碍^[6]。有研究显示,中药可通过抑制炎症反应所致小胶质细胞的增生和活化,发挥对 VD 的治疗作用^[7]。本实验亦表明,模型组大鼠海马 CA₁ 区神经元超微结构有显著病理损伤,说明脑缺血导致神经元损伤是引起痴呆的重要原因,补肾活血方高剂量组大鼠脑海马 CA₁ 区神经元损伤程度较轻,说明补肾活血方药有保护海马神经元,减轻缺血损伤的作用。

神经营养因子是由多种细胞分泌的一类对中枢和外周神经系统发挥营养作用的物质,它们在神经组织

以靶源分泌、旁分泌及自分泌等多种形式调节神经系统的代谢和功能活动,对神经系统损伤后的再生修复发挥着重要作用^[8]。BDNF 是脑组织含量最丰富的神经营养因子,其中以海马和皮质中含量最高,BDNF 可促进和维持脑缺血后神经元生长与分化,刺激神经元的轴突和树突出芽,增强神经元突触间递质的释放,提高损伤突触可塑性,改善学习记忆能力,在促进 VD 认知功能方面发挥重要作用^[9]。BDNF 作为信号传导通路的配体与其受体 TrkB 特异性结合,激活胞内的酪氨酸激酶活性,引导 TrkB 的自身磷酸化,从而激活下游信号通路,发挥神经元保护作用^[10]。脑缺血损伤时,BDNF 及其受体 trkB 表达均增加,BDNF 含量降低或受体 TrkB 被阻断,均可引起动物学习记忆严重受损^[11]。本研究结果显示,补肾活血方可以从蛋白和基因水平升高 VD 大鼠脑海马神经元 BDNF 及受体 TrkB 表达,通过激活下游信号通路,促进对受损海马神经元的修复,从而改善 VD 大鼠学习与记忆能力。

参 考 文 献

- [1] 田金洲主编. 血管性痴呆[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2003:1-2.
- [2] 王玮, 于文涛, 张文天. 血管性痴呆临床方药组成的文献研究[J]. 中国中医基础医学杂志, 2012, 18(9): 1031-1032.
- [3] 于文涛, 苏博伦, 苏凤哲, 等. 补肾活血方对血管性痴呆小鼠脑组织 bFGF mRNA 和 BDNF mRNA 表达的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2012, 18(5): 514-515.
- [4] Farkas E, Luiten PG, Bari R. Permanent, bilateral common carotid artery occlusion in the rat: a

model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases[J]. Brain Res Rev, 2007, 54(1): 162-180.

- [5] 王志宏, 刘素梅, 于文涛. 补肾活血法治疗血管性痴呆的临床研究[J]. 中华实用中西医杂志, 2005, 4(24): 3756-3757.
- [6] 闫凤霞, 高维娟. 血管性痴呆发病机制研究进展[J]. 承德医学院学报, 2011, 28(1): 77-80.
- [7] 李晶, 马原源, 刘斌, 等. 养血清脑颗粒对血管性痴呆大鼠海马 CA1 区 CD11b 表达的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2016, 36(5): 619-623.
- [8] Harvey AR, Lovett SJ, Majda BT, et al. Neurotrophic factors for spinal cord repair: Which, where, how and when to apply, and for what period of time? [J]. Brain Res, 2015, 1619: 36-71.
- [9] Ploughman M, Windle V, MacLellan CL, et al. Brain-derived neurotrophic factor contributes to recovery of skilled reaching after focal ischemia in rats[J]. Stroke, 2009, 40(4): 1490-1495.
- [10] De Vry J, Vanmierlo T, Martínez-Martínez P, et al. TrkB in the hippocampus and nucleus accumbens differentially modulates depression-like behavior in mice[J]. Behav Brain Res, 2016, 296(1): 15-25.
- [11] Von Bohlen und Halbach O, Krause S, Medina D, et al. Regional and age dependent reduction in TrkB receptor expression in the hippocampus is associated with altered spine morphologies[J]. Biol Psychiatry, 2006, 59(9): 793-800.

(收稿:2016-02-15 修回:2017-05-12)

责任编辑: 李焕荣

英文责编: 张晶晶