

## 土家药天珠散对脑缺血所致大鼠学习记忆障碍的改善作用

宋阔魁<sup>1</sup>, 叶田园<sup>1</sup>, 侯金才<sup>2</sup>, 覃筱燕<sup>3</sup>, 李彦文<sup>4</sup>, 李志勇<sup>1\*</sup>

1. 中央民族大学中国少数民族传统医学研究院, 北京 100081

2. 中国中医科学院西苑医院, 北京 100091

3. 中央民族大学生命与环境科学学院, 北京 100081

4. 中国中医科学院中医药信息研究所, 北京 100700

**摘要:** **目的** 研究天珠散对脑缺血所致的血管性痴呆 (VD) 大鼠学习记忆相关指标的影响。**方法** 双侧颈总动脉永久性结扎复制脑缺血所致学习记忆障碍大鼠模型, 天珠散连续 ig 给药 63 d, 以 Morris 水迷宫实验检测大鼠学习记忆能力, 脑海马组织 HE 染色和 Nissl 染色观察病理变化, 免疫组织化学法检测大鼠海马微管相关蛋白-2 (MAP-2)、突触素-1 (SYN-1) 表达。**结果** Morris 水迷宫实验, 从第 2 天开始, 模型组大鼠逃避潜伏期明显长于假手术组 ( $P < 0.05, 0.01$ ), 尼莫地平组和天珠散给药组大鼠逃避潜伏期较模型组不同程度缩短 ( $P < 0.05, 0.01$ )。HE 染色显示模型组大鼠脑海马 CA1、CA3 区神经细胞出现变形、坏死, 尼莫地平、天珠散能减轻神经细胞损伤。Nissl 染色显示, 天珠散能增加海马 CA1、CA3 区尼氏体含量。尼莫地平能显著提高大鼠脑海马 MAP-2 表达, 天珠散有增加 MAP-2 表达的趋势。SYN-1 在不同区域表达结果不同, CA1、齿状回区模型组增加, CA3 区下降, 天珠散具有增加 CA3 区 SYN-1 表达趋势。**结论** 天珠散能通过减轻脑组织神经细胞的损伤、促进神经递质的合成, 调节 MAP-2、SYN-1 表达, 改善慢性低灌注型 VD 大鼠的学习记忆能力。

**关键词:** 天珠散; 血管性痴呆; 学习记忆能力; Morris 水迷宫; 逃避潜伏期; 微管相关蛋白-2

**中图分类号:** R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2015)03-0389-07

**DOI:** 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.03.016

## Improving effect of Tujia Medicine Tianzhusan on learning and memory impairment caused by cerebral ischemia

SONG Kuo-kui<sup>1</sup>, YE Tian-yuan<sup>1</sup>, HOU Jin-cai<sup>2</sup>, QIN Xiao-yan<sup>3</sup>, LI Yan-wen<sup>4</sup>, LI Zhi-yong<sup>1</sup>

1. Institute of Chinese Minority Traditional Medicine, Minzu University of China, Beijing 100081, China

2. Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China

3. College of Life and Environmental Sciences, Minzu University of China, Beijing 100081, China

4. Institute of Information on Traditional Chinese Medicine, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China

**Abstract: Objective** To investigate the therapeutic effects of Tianzhusan (TZS) on the related indexes of learning and memory impairment of rats with vascular dementia (VD) caused by cerebral ischemia. **Methods** The rats' models were prepared by a permanent ligation of the bilateral common carotid arteries. After ig administration for 63 d, the learning and memory abilities of rats were observed with Morris water maze, the pathological changes in hippocampus were detected with HE staining and Nissl staining, and the expression levels of microtubule associated protein-2 (MAP-2) and synaptophysin-1 (SYN-1) in hippocampus were evaluated by immunohistochemistry. **Results** The latent period of rats in the model group was longer than that in the control group obviously ( $P < 0.05$ ). However, the latent period of rats in Nimodipine and TZS groups was shortened after ig administration by different degrees. HE staining showed that the neuronal cells appeared necrosis and deformation in CA1 and CA3 areas of hippocampus of rats in the model group, while Nimodipine and TZS could reduce these injuries. Nissl staining showed that TZS could increase the number of Nissl bodies in CA1 and CA3 areas of hippocampus. Nimodipine and TZS could improve the expression level of MAP-2 in hippocampus. The rats in the model group had a high expression of SYN-1 in CA1 and dentate gyrus areas, but a low expression in CA3 area. Nevertheless, TZS could increase the expression of SYN-1 in CA3 area. **Conclusion** TZS could improve the learning and

收稿日期: 2014-06-29

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81001693); 国家自然科学基金面上项目 (81473797); 北京市教委青年英才项目 (YETP1293)

作者简介: 宋阔魁 (1989—), 山东临沂人, 硕士研究生, 研究方向为中药 (民族药) 物质基础发现。

\*通信作者 李志勇 (1978—), 山西太原人, 医学博士, 副研究员, 硕士生导师, 主要从事中药 (民族药) 的药效物质基础研究。

E-mail: lizhiyong@muc.edu.cn

memory abilities of VD rats by relieving the damage of neuronal cell, promoting the synthesis of neurotransmitters, and regulating the expression levels of MAP-2 and SYN-1.

**Key words:** Tianzhusan; vascular dementia; learning and memory abilities; Morris water maze; latent period; microtubule associated protein-2

血管性痴呆 (vascular dementia, VD) 是由一系列脑血管因素引起的脑组织血液循环障碍、脑部机能减退而致的一种认知功能缺损综合征。流行病学调查结果显示, 到 2040 年全世界发展中国家痴呆患者将达到 8.11 千万人, 其中 VD 患者约占 30%<sup>[1]</sup>。在西方发达国家 VD 的发病率在 1%~4%, 在中国 VD 的发病率也达到 0.8%, 且 65 岁以上老人 VD 发病率正在以指数形式增长<sup>[2]</sup>。

天珠散是土家族常用补脑方剂, 由头顶一颗珠 (延龄草) 与天麻组成, 具补虚强体、镇静安神、祛风散痰、补脑安神之效。土家族医学在“毒气”理论指导下, 认为“生毒内生, 脑筋不用”是 VD 的发病机制<sup>[3]</sup>, 天珠散以“治病先除毒”“毒去则体安”为治则, 属土家族“治毒药”范畴。前期研究已证实天珠散对 D-半乳糖致拟痴呆小鼠具有一定治疗作用, 表现为增强模型小鼠学习记忆能力, 增加脑组织超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活力<sup>[4]</sup>。本实验拟在脑缺血所致学习记忆障碍大鼠模型上进一步评价天珠散药效, 并初步分析其作用机制。

## 1 材料

### 1.1 药物

天珠散超微粉由天麻、延龄草组成, 药材购于河北省安国市药材市场, 由北京中医药大学中药生药系杨瑶珺教授鉴定分别为兰科天麻属多年生草本植物天麻 *Gastrodia elata* Bl. 的干燥块茎、百合科植物延龄草 *Trillium tschonoskii* Maxim. 的干燥根茎, 药材由济南倍力粉技术有限公司制备超微粉 (300 目); 尼莫地平片 (批号 130355), 亚宝药业集团股份有限公司。

### 1.2 实验动物

SD 大鼠, 体质量 190~210 g, 雄性, 北京维通利华实验动物技术有限公司, 合格证号 SCXK (京) 2012-0001, 常规饲养, 适应性喂养 3 d 后用于实验。

### 1.3 仪器

Morris 水迷宫视频跟踪分析系统、Morris 水迷宫跟踪分析系统 2.0, 成都泰盟科技有限公司; Olympus IX81 倒置荧光显微镜, 奥林巴斯株式会社; KEDEE KD-BM 生物组织包埋机, 浙江省金华

市科迪仪器设备有限公司; LEICA RM2016 组织切片机, 德国徕卡公司; Image-Pro Plus 6.0 图像处理软件。

### 1.4 试剂

突触素-1 (SYN-1)、微管相关蛋白 2 (MAP-2) 小鼠 IgG 免疫组化试剂盒 SABC 即用型、兔 IgG 免疫组化试剂盒 SABC 即用型, 武汉博士德生物工程有限公司。

## 2 方法

### 2.1 脑缺血所致学习记忆障碍大鼠模型制备

实验动物禁食不禁水 12 h, 10%水合氯醛 ip 麻醉 (0.35 mL/100 g, 0.35 g/kg), 双侧颈总动脉永久结扎复制脑缺血所致学习记忆障碍大鼠模型, 假手术组大鼠只分离颈总动脉, 不结扎<sup>[5]</sup>。

### 2.2 分组及给药

除假手术组大鼠外, 其他动物随机分为 5 组: 模型组、尼莫地平组 (20 mg/kg)<sup>[6]</sup>、天珠散超微粉低、中、高剂量 (按体质量换算法依据临床用量折算, 分别为 312、625、1 250 mg/kg) 组, 造模 2 d 后, 给药组 ig 给予相应药物 (1 mL/100 g), 假手术组与模型组给予等体积蒸馏水。每天 1 次, 共 63 d。

### 2.3 Morris 水迷宫实验

给药第 56 天, 进行 Morris 水迷宫实验, 水温 21~22 °C、空气湿度 44%、室温 25 °C 保持不变。隐藏平台获得实验: 水池分为 4 个象限, 平台放于第 3 象限, 分别于第 1、2、4 象限入水, 记录大鼠在 60 s 内成功进驻平台并滞留其上 5 s 所需时间和游泳路径; 共计训练 12 次, 分 5 d 进行, 计算大鼠逃避潜伏期及游泳路径平均值。空间搜索实验: 撤除平台后观察并记录 60 s 内各组大鼠的平台象限游泳时间与总游泳时间比值、平台象限游泳距离占总游泳距离比值、穿过原平台所在位置次数。

### 2.4 取材

第 63 天给药结束 1 h 后, 大鼠以 10%水合氯醛麻醉 (0.35 g/kg), 经 10%甲醛溶液心脏灌注固定, 取全脑保存于 10%甲醛溶液中。

### 2.5 HE、Nissl 染色

大鼠脑冠状位取视交叉向尾端 3~4 mm 组织

块, 依次采用 60%、75%、85%、95%、100%乙醇脱水, 二甲苯透明, 65 °C 恒温下, 浸蜡, 包埋。切片厚 5 mm, 脱蜡复水, HE 染色切片苏木精液染色 10 min, 0.5%伊红液染色 2 min, Nissl 染色液 5 min, 切片脱水透明, 中性树胶封固。

### 2.6 免疫组织化学染色

大鼠脑冠状切片, 梯度乙醇脱蜡入水, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 室温避光 10 min, 0.01 mol/L 枸橼酸缓冲盐溶液内用微波炉中高火加热 7 min, 共 2 次, 进行抗原修复, 自然冷却, PBS 清洗 2 次, 5% BSA、37 °C、20 min, 甩干; 一抗 (MAP-2 稀释比例 1 : 300, SYN-1 稀释比例 1 : 200) 4 °C 过夜, 二抗 37 °C、20 min, SABC 37 °C、20 min, DAB 室温染色 (MAP-2 染色 90 s, SYN-1 染色 2 min), 苏木素 2 min, 脱水固封。Image-Pro Plus 6.0 进行图像分析处理。

### 2.7 统计学分析

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 IBM SPSS Statistics 20.0 软件进行单因素方差分析, 数据方差不齐时, 将数据进行对数处理后, 再进行单因素方差分析。

## 3 结果

### 3.1 对大鼠学习记忆能力的影响

Morris 水迷宫训练第 2~5 天, 与假手术组比较, 模型组大鼠逃避潜伏期明显增加 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 且第 4、5 天模型组大鼠逃避路程明显长于假手术组 ( $P < 0.01$ ), 提示模型大鼠学习记忆能力下降。与模型组比较, 尼莫地平 and 天珠散能明显缩短大鼠的逃避潜伏期 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 且第 4 天各给药组大鼠的逃避路程也明显缩短 ( $P < 0.01$ ), 结果见表 1 和 2。天珠散中剂量组与模型组比较, 空间搜索实验大鼠穿过原来平台位置的次数明显增加 ( $P < 0.05$ ), 结果见表 3。

表 1 天珠散对脑缺血所致学习记忆障碍大鼠 Morris 水迷宫实验逃避潜伏期的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Effect of TZS on escape latent period of rats with learning and memory impairment induced by cerebral ischemia in Morris water maze experiment ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	动物/只	逃避潜伏期/s				
			第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
假手术	—	8	54.11 ± 8.90	26.91 ± 11.23	16.28 ± 8.18	15.15 ± 6.49	11.62 ± 4.45
模型	—	8	57.36 ± 4.13	42.49 ± 13.47 <sup>#</sup>	29.44 ± 10.17 <sup>##</sup>	30.84 ± 8.77 <sup>##</sup>	24.44 ± 9.80 <sup>##</sup>
尼莫地平	20	8	48.76 ± 9.24	19.63 ± 11.88 <sup>**</sup>	15.83 ± 7.71 <sup>**</sup>	19.76 ± 6.25 <sup>**</sup>	11.78 ± 1.88 <sup>**</sup>
天珠散	312	8	56.26 ± 4.23	25.66 ± 12.16 <sup>**</sup>	17.55 ± 9.38 <sup>**</sup>	16.33 ± 5.06 <sup>**</sup>	14.53 ± 3.90 <sup>**</sup>
	625	8	52.08 ± 7.49	24.37 ± 9.19 <sup>**</sup>	16.87 ± 6.94 <sup>**</sup>	13.98 ± 5.46 <sup>**</sup>	11.41 ± 3.01 <sup>**</sup>
	1 250	11	45.77 ± 12.10	27.47 ± 14.15 <sup>*</sup>	14.27 ± 5.71 <sup>**</sup>	15.09 ± 5.32 <sup>**</sup>	11.24 ± 5.12 <sup>**</sup>

与假手术组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>##</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较: <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$ , 下同  
<sup>#</sup> $P < 0.05$  <sup>##</sup> $P < 0.01$  vs Sham group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  <sup>\*\*</sup> $P < 0.01$  vs model group, same as below

表 2 天珠散对脑缺血所致学习记忆障碍大鼠 Morris 水迷宫实验逃避路程的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Effect of TZS on escape distances of rats with learning and memory impairment induced by cerebral ischemia in Morris water maze experiment ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	动物/ 只	逃避路程/cm				
			第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
假手术	—	8	1 899.21 ± 591.50	813.51 ± 300.52	587.51 ± 278.22	725.76 ± 256.75	422.44 ± 101.95
模型	—	8	1 556.30 ± 436.64	1 272.23 ± 468.28	926.30 ± 332.09	1 508.87 ± 920.32 <sup>##</sup>	818.25 ± 215.93 <sup>##</sup>
尼莫地平	20	8	2 035.50 ± 459.32	609.60 ± 305.69 <sup>*</sup>	757.81 ± 555.95	814.52 ± 261.85 <sup>**</sup>	485.91 ± 68.41 <sup>**</sup>
天珠散	312	8	2 245.86 ± 888.50 <sup>*</sup>	764.10 ± 366.25 <sup>*</sup>	846.84 ± 552.30	686.20 ± 250.44 <sup>**</sup>	575.75 ± 116.87 <sup>**</sup>
	625	8	2 671.17 ± 1 094.65 <sup>**</sup>	736.96 ± 284.37 <sup>*</sup>	734.51 ± 350.08	517.58 ± 209.72 <sup>**</sup>	417.53 ± 109.91 <sup>**</sup>
	1 250	11	1 295.13 ± 324.46	1 002.17 ± 619.82	604.39 ± 344.74	685.93 ± 376.80 <sup>**</sup>	460.76 ± 153.43 <sup>**</sup>

### 3.2 对大鼠海马区神经细胞的影响

HE 染色表明, 假手术组大鼠海马区神经细胞排列紧密, 细胞结构完整; 模型组大鼠海马区神经细胞排列不规则, 可见细胞破裂, 海马 CA1 区、

CA3 区完整神经细胞数明显减少 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ); 与模型组比较, 尼莫地平组与天珠散中、高剂量组大鼠海马 CA1 区、CA3 区的完整神经细胞数明显增加 ( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 见表 4 和图 1。

表 3 天珠散对脑缺血所致学习记忆障碍大鼠空间搜索实验的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Effect of TZS on spatial probe experiment of rats with learning and memory impairment induced by cerebral ischemia ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	动物/ 只	穿台 次数	平台象限游泳时 间/总游泳时间	平台象限游泳距 离/总游泳距离
假手术	—	8	2.00±0.93	0.11±0.05	0.37±0.08
模型	—	8	1.63±1.19	0.22±0.07 <sup>##</sup>	0.28±0.05
尼莫地平	20	8	1.50±1.07	0.13±0.05	0.37±0.07
天珠散	312	8	2.25±1.39	0.17±0.04	0.35±0.07
	625	8	3.00±1.41*	0.13±0.05	0.39±0.09
	1 250	11	2.09±1.04	0.16±0.11	0.37±0.11

表 4 各组大鼠海马区完整神经细胞数量比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
Table 4 Comparison on number of intact neuronal cells in hippocampus of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	神经细胞数量	
		CA1 区	CA3 区
假手术	—	52.7± 6.5	24.5±2.3
模型	—	18.8±15.9 <sup>##</sup>	16.2±8.8 <sup>#</sup>
尼莫地平	20	44.7±14.9**	26.5±7.2**
天珠散	312	43.0± 7.1**	18.8±6.2
	625	54.8± 6.2**	24.0±3.9*
	1 250	43.8± 7.7**	24.3±2.6*

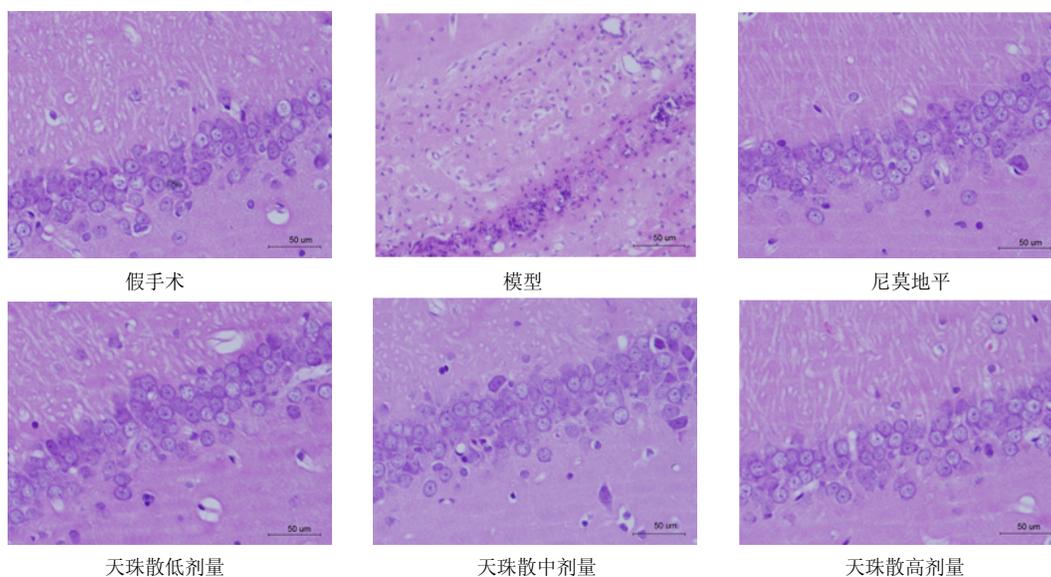


图 1 天珠散对脑缺血所致学习记忆障碍大鼠海马组织 CA1 区神经细胞的影响

Fig. 1 Effect of TZS on neuronal cells in hippocampus CA1 area of rats with learning and memory impairment induced by cerebral ischemia

Nissl 染色显示,与假手术组比较,模型组大鼠海马区可见细胞散乱堆积,大小不一,出现破裂,尼氏体积分吸光度明显减少 ( $P < 0.01$ );与模型组比较,尼莫地平组大鼠尼氏体积分吸光度明显增加 ( $P < 0.01$ ),天珠散高剂量也能增加大鼠海马区尼氏体积分吸光度 ( $P < 0.01$ ),天珠散低剂量、中剂量可使大鼠海马 CA1 区尼氏体积分吸光度增加 ( $P < 0.05、0.01$ ),见表 5 和图 2。

### 3.3 对大鼠脑组织 MAP-2、SYN-1 表达的影响

与假手术组比较,模型组大鼠海马区 MAP-2 蛋白在 CA3 区、齿状回区的表达面积和积分吸光度均明显下降 ( $P < 0.05、0.01$ ),CA1 区表现为降低趋势;与模型组比较,尼莫地平能显著增加大鼠海马组织 CA1 区 MAP-2 的量 ( $P < 0.05$ ),天珠散则

表 5 各组大鼠海马区尼氏体积分吸光度值比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )  
Table 5 Comparison on integral optical density of Nissl bodies in hippocampus of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	积分吸光度值	
		CA1 区	CA3 区
假手术	—	456.18±138.62	386.57± 35.38
模型	—	195.68± 73.53 <sup>##</sup>	221.88± 87.08 <sup>##</sup>
尼莫地平	20	423.40± 52.75**	446.70±114.80**
天珠散	312	468.00± 84.37**	290.82± 73.58
	625	314.17± 73.46*	320.48± 73.13
	1 250	434.13±128.04**	377.39± 56.90**

能增加 MAP-2 表达趋势,结果见表 6 和图 3。

与假手术组相比,模型组大鼠 SYN-1 表达面积与积分吸光度在 CA1 区、齿状回的表达增加,其他

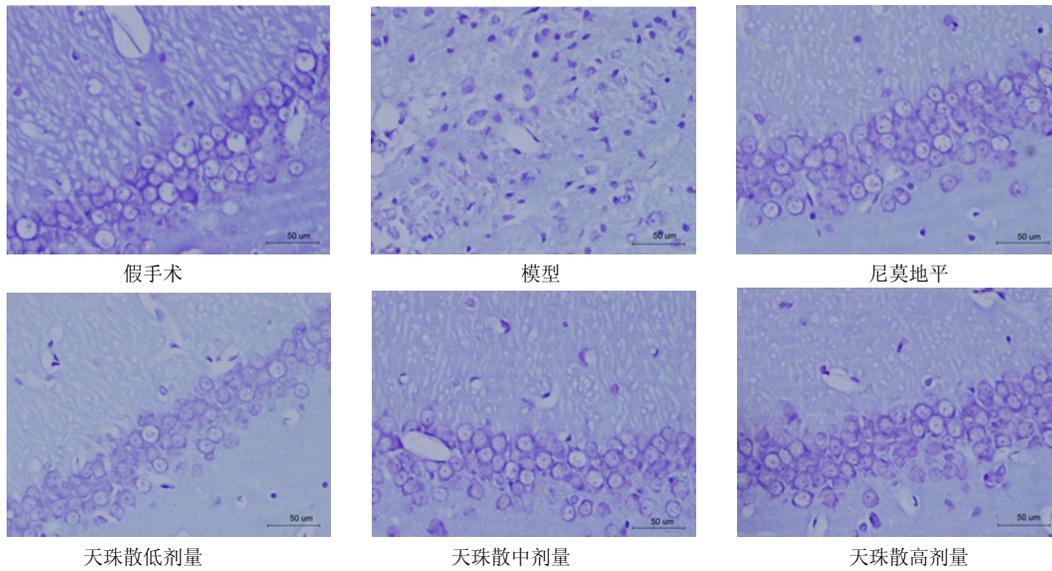


图2 天珠散对脑缺血所致学习记忆障碍大鼠海马组织CA1区尼氏体量的影响

Fig. 2 Effect of TZS on level of Nissl bodies in hippocampus CA1 area of rats with learning and memory impairment induced by cerebral ischemia

表6 各组大鼠海马区MAP-2表达面积和积分吸光度值 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 6 Expression area and integral optical density of MAP-2 in hippocampus of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/ (mg·kg <sup>-1</sup> )	MAP-2 表达面积			MAP-2 积分吸光度值		
		CA1 区	CA3 区	齿状回 <sup>▽</sup>	CA1 区	CA3 区	齿状回
假手术	—	89.8±12.2	233.2±148.3	153.5±66.2	16.8± 2.2	43.9±28.3	29.5±13.2
模型	—	55.1±34.9	49.7± 34.6 <sup>###</sup>	69.8±34.1 <sup>###</sup>	10.7± 6.7	9.7± 6.7 <sup>#</sup>	13.7± 6.8 <sup>###</sup>
尼莫地平	20	113.7±61.3*	138.9±149.8	90.9±52.8	22.6±12.6*	30.3±37.6	17.9±10.8
天珠散	312	63.7±29.6	83.7± 54.9	72.9±30.4	12.3± 5.7	16.3±10.7	14.2± 6.0
	625	71.9±30.1	137.5±125.3	79.7±26.0	14.0± 5.7	26.7±23.8	15.7± 4.9
	1 250	66.6±58.2	78.0± 64.8	81.2±40.4	12.9±11.3	15.0±12.3	15.7± 7.7

<sup>▽</sup>示方差不齐，数据开方后方差齐

<sup>▽</sup>indicates uneven variance, variance even after rooting

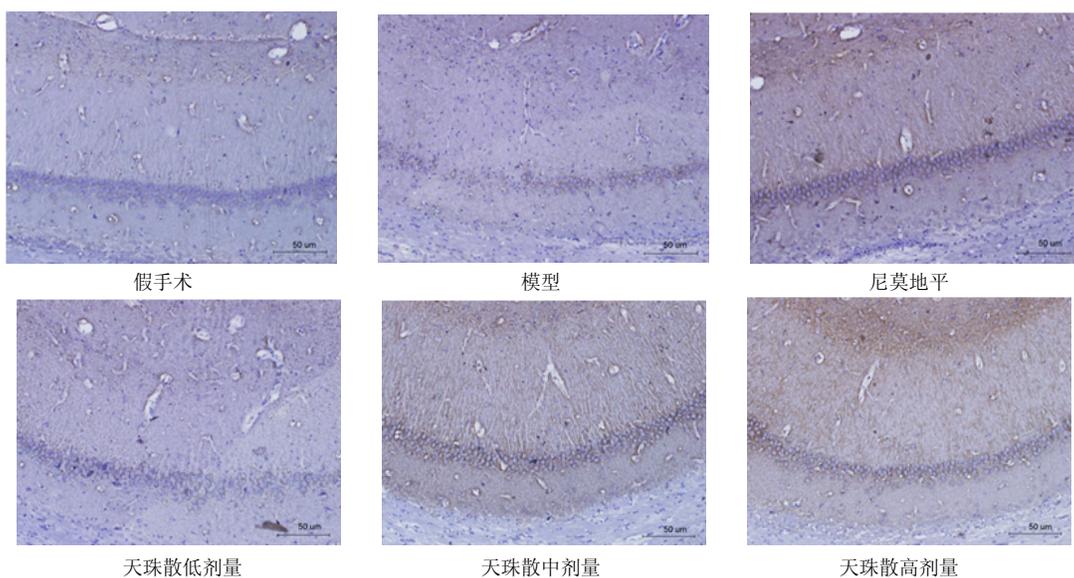


图3 各组大鼠海马区MAP-2表达

Fig. 3 Expression of MAP-2 in hippocampus of rats in each group

给药组略有下降, CA3 区模型组大鼠 SYN-1 的表达面积和积分吸光度低于假手术组, 而给药组较模型组有增加趋势, 与模型组相比, 在齿状回区天珠散中、高剂量 SYN-1 的积分吸光度值明显增加

( $P < 0.05$ 、 $0.01$ ), 见表 7 和图 4。

#### 4 讨论

在我国, 民族药可定义为我国少数民族使用的, 以本民族传统医药理论和实践为指导的植物、

表 7 各组大鼠海马区 SYN-1 表达面积和积分吸光度 ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

Table 7 Expression area and integral optical density of SYN-1 in hippocampus of rats in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 6$ )

组别	剂量/ ( $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )	SYN-1 表达面积			SYN-1 积分吸光度值		
		CA1 区	CA3 区	齿状回	CA1 区	CA3 区	齿状回
假手术	—	81.2±22.3	163.7±78.5	73.7±45.7	23.8±4.6	34.0±19.3	18.8±11.3
模型	—	99.7±48.4	96.0±63.3	96.4±50.5	32.3±15.2	25.7±16.7	26.1±13.7
尼莫地平	20	56.9±21.6	143.8±81.2	109.4±46.0	15.9±4.3	28.8±16.6	26.8±13.6
天珠散	312	65.0±15.4	113.2±70.5	93.4±51.1	21.5±3.5	29.9±19.0	31.9±18.2
	625	60.6±12.4	180.6±99.7	170.9±88.1	18.0±6.4	48.1±27.6	55.6±24.8**
	1 250	90.2±24.6	99.1±55.3	188.5±88.1*	25.4±7.1	33.6±20.6	52.3±23.7*

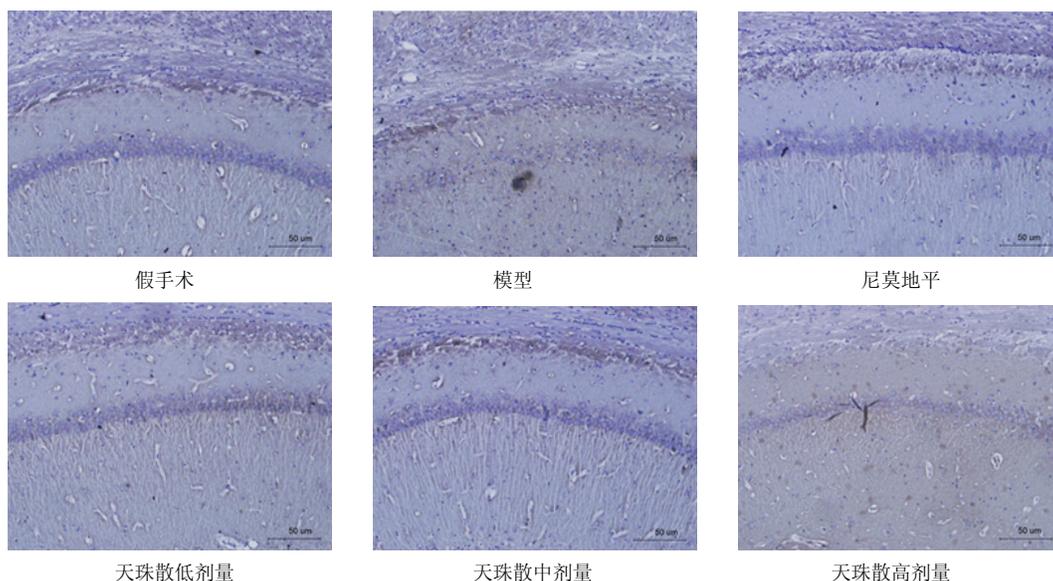


图 4 各组大鼠海马区 SYN-1 表达

Fig. 4 Expression of SYN-1 in hippocampus of rats in each group

动物及矿物类药材, 其也包括少数民族习惯使用的天然药物, 具有鲜明的地域性和民族传统<sup>[7]</sup>。民族药研究应尊重民族药形成的规律和特点, 充分考虑到民族药所蕴含的医学理论与经验内核, 并积极寻找民族医药理论与现代疾病认识的契合, 本研究从以土家族医学“脑衰”病“生毒内生, 脑筋不用”病机与 VD 病理特征关联分析切入, 实现土家族医学理论对现代疾病的认识溯源, 作为天珠散药效研究方向的基础。

本研究发现, 天珠散能改善脑缺血所致学习记忆障碍大鼠的非陈述性记忆能力<sup>[8]</sup>, 抑制其海马区神经细胞损伤, 表现为缩短大鼠 Morris 水迷宫逃避

潜伏期, 增加大鼠单位时间内通过原平台位置次数; 减少海马区神经细胞破裂、肿胀, 使细胞排列更加紧密、规则; 且能通过增加尼氏体量, 促进神经递质的合成, 保护脑组织, 降低脑缺血所致学习记忆障碍的发生率。

MAP-2 主要是神经生长和修复相关蛋白, 是研究神经再塑的分子标志物, 在神经细胞成核、微丝或微管的稳定性及细胞器在轴突和树突间的传递中起到重要作用<sup>[9]</sup>, MAP-2 免疫活性下降可造成微管性堆积, 影响细胞骨架的完整, 最终导致神经元死亡<sup>[10]</sup>。SYN-1 是突触前膜的特异性标分子, 不仅是突触的结构和功能标志, 也对突触发生、成熟起

着重要的作用,且海马 CA3 区突触可塑性与空间辨别性学习记忆活动密切相关<sup>[11-12]</sup>。神经细胞的损伤会导致 MAP-2 和 SYN-1 蛋白的表达发生变化,天珠散能提高脑缺血所致学习记忆障碍大鼠海马组织 MAP-2 表达,促进神经发育和轴突再生,促进学习记忆障碍大鼠被破坏的海马组织快速修复,维持正常细胞形态,进而提高其在水迷宫实验中的对空间物体的学习记忆能力;并通过调节 SYN-1 在 CA3 及齿状回的表达,增加突触素水平,减轻脑组织因缺血造成的记忆功能损伤,进一步提高大鼠的学习记忆能力。

氧化应激(oxidative stress)在中枢神经系统进行性疾病的发病机制中起重要作用,机体氧化还原失衡引致的活性氧(ROS)体内堆积,产生的细胞毒性可致神经细胞凋亡、退化或变性<sup>[13]</sup>。前期报道的天珠散通过增加拟痴呆小鼠脑组织 SOD 和 GSH-Px 活性,降低脂质过氧化,减少自由基对脑组织损伤,表明天珠散能提高小鼠抗氧化能力<sup>[4]</sup>,清除体内“生毒”;本研究揭示的天珠散提高神经元 MAP-2、SYN-1 表达,促进神经递质合成等作用与天珠散恢复“脑筋不用”等病理过程相关。

综上,植根于我国民族医药“土壤”,以民族医药理论为牵引,提出土家族特色复方的研究方向并进行基础验证,基本确认了天珠散防治 VD 的有效性,为进一步进行物质基础研究和组方优化提供了有力参考。

参考文献

[1] Kalaria R N, Maestre G E, Arizaga R, et al. Alzheimer's disease and vascular dementia in developing countries: prevalence, management, and risk factors [J]. *Lancet Neurol*, 2008, 7(9): 812-826.  
 [2] Dong M J, Peng B, Lin X T, et al. The prevalence of dementia in the People's Republic of China: a systematic analysis of 1980-2004 studies [J]. *Age Ageing*, 2007,

36(6): 619-624.  
 [3] 李志勇, 赵 晖, 裴凌鹏, 等. 血管性痴呆“生毒内生”病机初探 [J]. *中华中医药杂志*, 2011, 26(7): 1594-1596.  
 [4] 毕 天, 宋阔魁, 杜文喜, 等. 天珠散对 D-半乳糖拟痴呆小鼠的治疗作用 [J]. *时珍国医国药*, 2013, 24(11): 2593-2595.  
 [5] Zhao H, Li Z Y, Wang Y L, et al. Hippocampal expression of synaptic structural proteins and phosphorylated cAMP response element-binding protein in a rat model of vascular dementia induced by chronic cerebral hypoperfusion [J]. *Neur Reg Res*, 2012, 7(11): 821-826.  
 [6] Zhang X L, Zheng S L, Dong F R, et al. Nimodipine improves regional cerebral blood flow and suppresses inflammatory factors in the hippocampus of rats with vascular dementia [J]. *J Int Med Res*, 2012, 40(3): 1036-1045.  
 [7] 李志勇, 李彦文, 庞宗然, 等. 民族药特色与研究 [J]. *南京中医药大学学报: 自然科学版*, 2011, 27(5): 17-19.  
 [8] 许绍芬. 神经生物学 [M]. 上海: 上海医科大学出版社, 1999.  
 [9] Sanchez C, Diaz-Nido J, Avila J. Phosphorylation of microtubule-associated protein 2 (MAP2) and its relevance for the regulation of the neuronal cytoskeleton function [J]. *Prog Neurobiol*, 2000, 61(2): 133-168.  
 [10] 张玉华, 赵瑞波, 李宗敏, 等. 病变侧亚低温对大鼠局灶性脑缺血 MAP2 表达的影响 [J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2004, 38(2): 129-134.  
 [11] 马 隽, 张展翅, 崔慧先, 等. 磁刺激对小鼠原代海马神经元突触素、生长相关蛋白及脑源性神经营养因子表达的影响 [J]. *第二军医大学学报*, 2011, 32(10): 1096-1102.  
 [12] Hasan A, Nitsche M A, Rein B, et al. Dysfunctional long-term potentiation like plasticity in schizophrenia revealed by transcranial direct current stimulation [J]. *Behav Brain Res*, 2011, 224(1): 15-22.  
 [13] 李 莉. 五味子酚等三种抗氧化剂对氧化应激损伤中枢神经细胞的保护作用及其作用机理研究 [J]. *生理科学进展*, 1998, 29(1): 35-38.