

天麻素对帕金森病小鼠多巴胺能神经元的保护作用

周红平¹, 张三妮¹, 曹 栋¹, 王 莹²

1. 南阳市第一人民医院 神经内科, 河南 南阳 473000

2. 河南大学附属医院 神经内科, 河南 开封 475001

摘要: **目的** 观察天麻素对帕金森病小鼠纹状体多巴胺 (DA)、 α -突触核蛋白 (α -Syn) 和酪氨酸羟化酶 (TH) 的影响及神经保护作用。**方法** 50 只 C57BL/6 雄性小鼠通过 ip 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 (MPTP) 建立帕金森病模型, 分为模型组, 天麻素低、中、高剂量组和多巴丝肼组, 每组 10 只, 另设对照组 10 只。天麻素低、中、高剂量组 im 0.2、0.4、0.6 g/(kg·d) 天麻素注射液, 多巴丝肼组 im 0.05 g/(kg·d) 多巴丝肼溶液, 模型组、对照组 im 等量无菌生理盐水, 连续注射 14 d。末次给药后 1、7、14 d 对各组小鼠进行爬杆、悬挂、旷场实验等行为学测试, 14 d 时处死, 采用分光光度法检测各组小鼠纹状体内丙二醛 (MDA) 和还原型谷胱甘肽 (GSH) 水平, Western blotting 法检测各组小鼠纹状体内 α -Syn 和 TH 表达, 高效液相色谱-电化学检测法检测各组小鼠 DA 水平。**结果** 相同时间下, 与对照组相比, 模型组小鼠爬杆时间、纹状体内 MDA、 α -Syn 水平显著升高 ($P < 0.05$), 悬挂评分、旷场活动总距离、旷场活动平均速度、纹状体内 GSH、DA、TH 水平显著减少 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 天麻素 0.2、0.4、0.6 g/(kg·d) 组和多巴丝肼组小鼠爬杆时间、纹状体内 MDA、 α -Syn 水平显著减少 ($P < 0.05$), 悬挂分值、旷场活动总距离、旷场活动平均速度、纹状体内 GSH、DA、TH 水平显著增多 ($P < 0.05$), 天麻素 0.6 g/(kg·d) 组与多巴丝肼组各指标比较差异均无统计学意义。**结论** 天麻素可能通过提高机体抗氧化能力, 保护脑内 DA 能神经元, 从而改善帕金森病小鼠运动障碍症状。

关键词: 天麻素; 帕金森; α -突触核蛋白; 酪氨酸羟化酶; 多巴胺

中图分类号: R966 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2020)06-1069-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2020.06.003

Protective effect of gastrodin on dopaminergic neurons in rats with Parkinson's disease induced by MPTP

ZHOU Hong-ping¹, ZHANG Shan-ni¹, CHAO Dong¹, WANG Ying²

1. Department of Neurology, Nanyang First People's Hospital, Nanyang 473000, China

2. Department of Neurology, Affiliated Hospital of Henan University, Kaifeng 475001, China

Abstract: Objective To observe the effects of gastrodin on dopamine (DA), α -synuclein (α -Syn), and tyrosine hydroxylase (TH) in striatum of Parkinson's disease mice and its neuroprotection. **Methods** 50 C57BL/6 Male mice were ip with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) to establish the Parkinson's disease model, and they were divided into model group, gastrodin low, middle, high dose group, and madopar group, with 10 mice in each group, and another 10 mice in the control group. The low, middle, and high dose group were im 0.2, 0.4, and 0.6 g/(kg·d) Gastrodin Injection, respectively, and the madopar group was im 0.05 g/(kg·d) madopar solution, and the model group and the control group were im the same amount of sterile saline, continuous injected for 14 days. On the 1st, 7th, and 14th days after the last administration, the mice in each group were tested by climbing pole, hanging and open field experiments, and were killed at the 14th day, malondialdehyde (MDA) and reduced glutathione (GSH) levels in striatum were measured by spectrophotometry. Western blotting was used to detect the expressions of α -Syn and TH in striatum, and the content of DA in striatum of mice in each group was detected by high performance liquid chromatography electrochemical detection (HPLC-ECD). **Results** At the same time, compared with the control group, the climbing time, MDA, and α -Syn levels in striatum of the model group were significantly increased ($P < 0.05$), but suspension score, total distance of open field activity, average speed of open field activity, levels of GSH, DA, and TH in striatum decreased significantly ($P < 0.05$). Compared with the model group, the climbing

收稿日期: 2020-03-20

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目 (81600940)

作者简介: 周红平 (1973—), 女, 副主任医师, 本科, 从事神经内科疾病诊治研究。E-mail: zh18212li@163.com

time, MDA and α -Syn levels in striatum of the gastrodin 0.2, 0.4, and 0.6 g/(kg·d) groups and the madopar group were significantly decreased ($P < 0.05$), but suspension score, total distance of open field activity, average speed of open field activity, levels of GSH, DA, TH in striatum increased significantly ($P < 0.05$). There was no significant difference between the gastrodin 0.6 g/(kg·d) group and madopar group. **Conclusion** Gastrodin may protect the DA neurons in the brain by improving the antioxidant capacity of the body, so as to improve the motor disorders of Parkinson's disease.

Key words: gastrodin; Parkinson's disease; α -synuclein; tyrosine hydroxylase; dopamine

帕金森病是一种以运动和非运动症状为特征的神经退行性疾病,随着社会的发展,人口增多,老龄化严重,帕金森病的发病率逐年上升^[1]。帕金森病的神经病理学特征是神经元胞浆内 α -突触核蛋白(α -Syn)积累和路易体形成^[2]。研究表明通过调控 α -Syn和神经元限速酶酪氨酸羟化酶(TH)表达可有效缓解帕金森病所致神经紊乱^[3-4]。天麻素提取自天麻 *Gastrodia elata* Bl.的干燥根块,可以通过血脑屏障,对中枢神经系统有镇静、抗惊厥等保护作用^[5]。本研究通过天麻素干预治疗帕金森病小鼠,观察其对帕金森病小鼠行为及纹状体中多巴胺(DA)、 α -Syn、TH表达情况的影响,以探究天麻素对帕金森病小鼠的神经保护作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

C57BL/6 雄性小鼠 60 只,6~8 周龄,体质量 18~20 g,由浙江省医学科学研究所实验动物中心提供,动物许可证号 SYXK(浙)2018-0014。饲养条件:温度(22±2)℃,湿度(40±5)%,光照 12 h 黑暗交替,每笼 5 只,自由摄食饮水,常规饲养 1 周进行实验。

1.2 试剂和仪器

天麻素注射液,规格 5 mL:0.5 g,产品批号 20180624,购自西南药业股份有限公司;1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP),货号 MB3783,购自美伦生物科技有限公司;多巴丝肼片,规格 0.25 g/片,产品批号 20180511,购自上海罗氏制药有限公司;兔抗小鼠 α -Syn 抗体(货号 ab214316)、兔抗小鼠 TH 抗体(货号 ab1823)、兔抗小鼠 GAPDH 抗体(货号 ab181602)均购自美国 abcam;MDA 试剂盒(货号 JL13329-48T)购自江莱生物;GSH 试剂盒(货号 BC1175)购自北京索莱宝;辣根过氧化物酶标记(HRP)的山羊抗兔二抗(货号 BHR101)购自北京博尔西科技有限公司;BCA 蛋白浓度检测试剂盒(货号 P0010S)购自上海碧云天公司;AU5800 蛋白电泳及电转移装置购自北京市六一仪

器厂;EVO75 酶联免疫分析仪购自澳大利亚 Techan 公司;MDF-U32V 超低温冰箱购自美国 Thermo 公司。

1.3 动物模型构建及分组

根据文献方法构建帕金森病模型小鼠^[6]:将 MPTP 用生理盐水稀释为 1 mg/mL,ip MPTP 30 mg/(kg·d),另设对照组小鼠(10 只)ip 等量无菌生理盐水,注射 7 d 后观察小鼠一般状态,对照组小鼠行为无明显异常,模型组小鼠的自发性活动减少,爬行减慢,对外界伤害刺激的逃避反应缓慢,静息时全身震颤明显,则表明小鼠模型构建成功。将 50 只帕金森病模型小鼠分为模型组,天麻素低、中、高剂量组,多巴丝肼组,每组 10 只。参考文献剂量^[7]天麻素低、中、高剂量组分别 im 0.2、0.4、0.6 g/(kg·d)天麻素注射液,多巴丝肼组参考文献剂量^[8]im 0.05 g/(kg·d)多巴丝肼溶液(采用 0.9%氯化钠溶液配置浓度 0.25 g/mL),对照组和模型组每天 im 等量无菌生理盐水,各组均连续注射 14 d。

1.4 天麻素对帕金森病小鼠动物行为学的影响

帕金森病小鼠模型构建成功后 1、7、14 d,10:00 时对各组小鼠进行行为学检测:(1)爬杆实验:制作爬杆^[8],记录小鼠爬完的时间,每只小鼠测定 3 次,间隔 30 min/次。(2)悬挂实验^[9]:将小鼠前爪悬挂于一条水平线上,小鼠两后肢均能抓住线记 3 分,一后肢能抓住电线记 2 分,两后肢均不能抓住线记 1 分。(3)旷场实验^[9]:制作旷场,实验前先小鼠放于测试旷场内适应环境 10 min,然后将小鼠放旷场中央区内并开始计时,每只小鼠测定 1 次,测定时间 15 min。记录小鼠的平均速度及运动总距离。

1.5 天麻素对帕金森病小鼠纹状体中 MDA 和 GSH 表达的影响

给药 14 d 后,将小鼠用 1%戊巴比妥钠麻醉,迅速断头取各组小鼠纹状体后,于液氮中保存,按照试剂盒说明书操作,采用分光光度法检测其中 MDA、GSH 的水平。

1.6 天麻素对帕金森病小鼠纹状体中 α -Syn、TH 表达的影响

采用 Western blotting 法检测各组小鼠纹状体内 α -Syn 和 TH 表达。给药 14 d 后, 将小鼠用 1% 戊巴比妥钠麻醉, 迅速断头取各组小鼠纹状体后, 于液氮中保存。提取组织总蛋白, 用 BCA 法检测蛋白浓度后, 进行 SDS 聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转膜、加 α -Syn、TH 一抗 (1:1500) 在 4 °C 孵育过夜, 次日, 洗膜加二抗 (1:5000) 室温孵育 2 h, TBST 洗膜后, 加 ECL 发光液, 在凝胶成像系统中拍照。

1.7 天麻素对帕金森病小鼠纹状体内 DA 水平的影响

采用高效液相色谱 - 电化学检测法检测各组小鼠 DA 水平。给药 14 d 后, 将小鼠用 1% 戊巴比妥钠麻醉, 迅速断头分离纹状体, 组织称重匀浆, 每 4 mg 组织加入 1 mL 浓度为 0.3 mol/L 的高氯酸溶液, 超声粉碎仪匀浆, 离心取上清液, 加入 2 倍体积流动相, 混匀后取 200 μ L 经电化学检测器定量检测。

1.8 统计学处理

采用 SPSS 22.0 统计软件进行分析, 所有剂量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素有方

差分析, 两组间比较差异采用 LSD-*t* 检验。

2 结果

2.1 天麻素对帕金森病小鼠动物行为学的影响

2.1.1 小鼠爬杆实验 在相同时间下, 与对照组相比, 模型组小鼠爬杆时间显著延长 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 天麻素 0.2、0.4、0.6 g/kg 组小鼠爬杆时间均显著减少 ($P < 0.05$); 与天麻素 0.2、0.4 g/kg 组相比, 天麻素 0.6 g/kg 组、多巴丝肼组小鼠爬杆时间显著减少 ($P < 0.05$)。与 1、7 d 相比, 14 d 模型组, 天麻素 0.2、0.4、0.6 g/kg 组和多巴丝肼组小鼠爬杆时间依次延长 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.1.2 小鼠悬挂实验 在相同时间下, 与对照组相比, 模型组小鼠悬挂评分显著减少 ($P < 0.05$); 与模型组小鼠相比, 天麻素 0.2、0.4、0.6 g/kg 组和多巴丝肼组小鼠悬挂评分值显著增多 ($P < 0.05$), 与天麻素 0.2、0.4 g/kg 组相比, 天麻素 0.6 g/kg 组、多巴丝肼组小鼠悬挂评分显著增多 ($P < 0.05$)。与 1、7 d 相比, 14 d 模型组, 天麻素 0.2、0.4、0.6 g/kg 组和多巴丝肼组小鼠悬挂评分值均依次显著增多 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 1 天麻素对帕金森病小鼠爬杆时间的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 1 Effects of gastrodin on climbing pole time in rats with Parkinson's disease ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	爬杆时间/s		
		给药 1 d	给药 7 d	给药 14 d
对照	—	11.00 ± 1.23	12.04 ± 1.04	13.14 ± 1.15
模型	—	15.21 ± 2.13*	17.12 ± 2.54* ^{&}	20.24 ± 2.10* ^{&} ^δ
多巴丝肼	0.05	12.05 ± 1.15 [#]	13.27 ± 1.04 [#] ^{&}	14.59 ± 1.17 [#] ^{&} ^δ
天麻素	0.2	14.03 ± 1.06 [#]	15.34 ± 1.14 [#] ^{&}	17.15 ± 1.06 [#] ^{&} ^δ
	0.4	14.25 ± 2.01 [#]	15.35 ± 1.64 [#] ^{&}	17.97 ± 1.45 [#] ^{&} ^δ
	0.6	12.51 ± 1.26 [#] [▲] [△]	13.14 ± 1.24 [#] [▲] [△] ^{&}	14.68 ± 1.04 [#] [▲] [△] ^{&} ^δ

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与天麻素 0.2 g·kg⁻¹ 组比较: [▲] $P < 0.05$; 与天麻素 0.4 g·kg⁻¹ 组比较: [△] $P < 0.05$; 与同组给药 1 d 比较: [&] $P < 0.05$; 与同组给药 7 d 比较: ^δ $P < 0.05$

^{*} $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [▲] $P < 0.05$ vs gastrodin 0.2 g·kg⁻¹ group; [△] $P < 0.05$ vs gastrodin 0.4 g·kg⁻¹ group; [&] $P < 0.05$ vs administration for 1 d in the same group; ^δ $P < 0.05$ vs administration for 7 d in the same group

2.1.3 小鼠旷场实验 在相同时间下, 与对照组相比, 模型组小鼠旷场活动总距离、平均速度显著减少 ($P < 0.05$)。与模型组相比, 天麻素 0.2、0.4、0.6 g/kg 组和多巴丝肼组小鼠旷场活动总距离、平均速度均显著升高 ($P < 0.05$)。与天麻素 0.2、0.4 g/kg 组相比, 天麻素 0.6 g/kg 组、多巴丝肼组小鼠旷场活动总距离、平均速度显著升高 ($P < 0.05$)。与 1、7 d 相比, 14 d 模型组, 天麻素 0.2、0.4、0.6 g/kg 组和多巴丝

肼组小鼠悬旷场活动总距离、平均速度依次显著升高 ($P < 0.05$), 见表 3、4。

2.2 天麻素对帕金森病小鼠纹状体中 MDA 和 GSH 表达的影响

与对照组相比, 模型组小鼠纹状体 MDA 水平显著升高 ($P < 0.05$), GSH 水平显著降低 ($P < 0.05$)。与模型组相比, 天麻素 0.2、0.4、0.6 g/kg 组小鼠纹状体 MDA 水平依次降低 ($P < 0.05$), GSH 水平显

著升高 ($P < 0.05$); 天麻素 0.6 g/kg 组小鼠纹状体 MDA、GSH 水平与多巴丝肼组比较差异无统计学

意义。天麻素对帕金森病小鼠纹状体中 MDA 和 GSH 表达的影响见表 5。

表 2 天麻素对帕金森病小鼠悬挂评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of gastrodin on suspension scores in rats with Parkinson's disease ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	悬挂评分		
		给药 1 d	给药 7 d	给药 14 d
对照	—	3.05 ± 0.10	3.07 ± 0.13	3.12 ± 0.12
模型	—	2.02 ± 0.09*	2.14 ± 0.12* ^{&}	2.28 ± 0.12* ^{&δ}
多巴丝肼	0.05	2.41 ± 0.11 [#]	2.57 ± 0.12 ^{#&}	2.87 ± 0.13 ^{#&δ}
天麻素	0.2	2.24 ± 0.11 [#]	2.37 ± 0.13 ^{#&}	2.54 ± 0.11 ^{#&δ}
	0.4	2.29 ± 0.10 [#]	2.41 ± 0.11 ^{#&}	2.57 ± 0.10 ^{#&δ}
	0.6	2.43 ± 0.09 ^{#▲△}	2.60 ± 0.11 ^{#▲△&}	2.85 ± 0.10 ^{#▲△&δ}

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与天麻素 0.2 g·kg⁻¹ 组比较: [▲] $P < 0.05$; 与天麻素 0.4 g·kg⁻¹ 组比较: [△] $P < 0.05$; 与同组给药 1 d 比较: [&] $P < 0.05$; 与同组给药 7 d 比较: ^δ $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [▲] $P < 0.05$ vs gastrodin 0.2 g·kg⁻¹ group; [△] $P < 0.05$ vs gastrodin 0.4 g·kg⁻¹ group; [&] $P < 0.05$ vs administration for 1 d in the same group; ^δ $P < 0.05$ vs administration for 7 d in the same group

表 3 天麻素对帕金森病小鼠旷场活动总距离的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of gastrodin on total distance of open field activity in rats with Parkinson's disease ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	旷场活动总距离/cm		
		给药 1 d	给药 7 d	给药 14 d
对照	—	12 346.31 ± 3 516.34	12 304.57 ± 2 648.12	12 257.34 ± 3 241.00
模型	—	3 241.26 ± 564.23*	4 134.42 ± 489.34* ^{&}	5 310.24 ± 504.32* ^{&δ}
多巴丝肼	0.05	7 312.75 ± 452.67 [#]	9 246.01 ± 536.01 ^{#&}	10 093.12 ± 601.75 ^{#&δ}
天麻素	0.2	4 623.12 ± 521.41 [#]	6 082.94 ± 436.22 ^{#&}	7 451.13 ± 536.12 ^{#&δ}
	0.4	4 756.98 ± 365.48 [#]	6 117.24 ± 346.12 ^{#&}	7 983.61 ± 406.31 ^{#&δ}
	0.6	7 300.24 ± 631.32 ^{#▲△}	9 300.47 ± 703.14 ^{#▲△&}	10 154.49 ± 785.64 ^{#▲△&δ}

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与天麻素 0.2 g·kg⁻¹ 组比较: [▲] $P < 0.05$; 与天麻素 0.4 g·kg⁻¹ 组比较: [△] $P < 0.05$; 与同组给药 1 d 比较: [&] $P < 0.05$; 与同组给药 7 d 比较: ^δ $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [▲] $P < 0.05$ vs gastrodin 0.2 g·kg⁻¹ group; [△] $P < 0.05$ vs gastrodin 0.4 g·kg⁻¹ group; [&] $P < 0.05$ vs administration for 1 d in the same group; ^δ $P < 0.05$ vs administration for 7 d in the same group

表 4 天麻素对帕金森病小鼠旷场活动平均速度的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Effects of gastrodin on average speed of open field activities in rats with Parkinson's disease ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	旷场活动平均速度/(cm·s ⁻¹)		
		给药 1 d	给药 7 d	给药 14 d
对照	—	47.62 ± 1.51	48.16 ± 1.61	48.01 ± 1.48
模型	—	15.07 ± 1.23*	16.34 ± 1.42* ^{&}	17.86 ± 1.34* ^{&δ}
多巴丝肼	0.05	21.35 ± 1.20 [#]	26.18 ± 1.26 ^{#&}	37.31 ± 1.28 ^{#&δ}
天麻素	0.2	17.15 ± 1.30 [#]	20.69 ± 1.24 ^{#&}	28.31 ± 1.26 ^{#&δ}
	0.4	17.91 ± 1.34 [#]	21.72 ± 1.35 ^{#&}	29.98 ± 1.06 ^{#&δ}
	0.6	22.32 ± 1.41 ^{#▲△}	27.43 ± 1.52 ^{#▲△&}	38.12 ± 1.36 ^{#▲△&δ}

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与天麻素 0.2 g·kg⁻¹ 组比较: [▲] $P < 0.05$; 与天麻素 0.4 g·kg⁻¹ 组比较: [△] $P < 0.05$; 与同组给药 1 d 比较: [&] $P < 0.05$; 与同组给药 7 d 比较: ^δ $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [▲] $P < 0.05$ vs gastrodin 0.2 g·kg⁻¹ group; [△] $P < 0.05$ vs gastrodin 0.4 g·kg⁻¹ group; [&] $P < 0.05$ vs administration for 1 d in the same group; ^δ $P < 0.05$ vs administration for 7 d in the same group

表5 天麻素对帕金森病小鼠纹状体中MDA和GSH表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 5 Effects of gastrodin on MDA and GSH levels in striatum of rats with Parkinson's disease ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)	GSH/(mg·g ⁻¹)
对照	—	1.65 ± 0.62	10.17 ± 1.14
模型	—	9.76 ± 1.01*	3.63 ± 0.87*
多巴丝肼	0.05	3.62 ± 1.02#	8.01 ± 1.13#
天麻素	0.2	7.72 ± 1.07#	4.94 ± 1.08#
	0.4	6.07 ± 0.91# [▲]	6.67 ± 1.03# [▲]
	0.6	3.76 ± 1.10# ^{▲△}	8.34 ± 1.04# ^{▲△}

与对照组比较: *P<0.05; 与模型组比较: #P<0.05; 与天麻素0.2 g·kg⁻¹组比较: [▲]P<0.05; 与天麻素0.4 g·kg⁻¹组比较: [△]P<0.05

*P < 0.05 vs control group; #P < 0.05 vs model group; [▲]P < 0.05 vs gastrodin 0.2 g·kg⁻¹ group; [△]P < 0.05 vs gastrodin 0.4 g·kg⁻¹ group

2.3 天麻素对帕金森病小鼠纹状体内DA、α-Syn、TH水平的影响

与对照组相比,模型组小鼠纹状体α-Syn水平显著升高(P<0.05),DA、TH水平显著降低(P<0.05);与模型组相比,天麻素0.2、0.4、0.6 g/kg组小鼠纹状体α-Syn水平依次降低(P<0.05),DA、TH水平依次升高(P<0.05);天麻素0.6 g/kg组小鼠纹状体内DA、α-Syn、TH表达水平与多巴丝肼组比较差异无统计学意义。天麻素对帕金森病小鼠纹状体内DA、α-Syn、TH水平的影响见图1、表6。

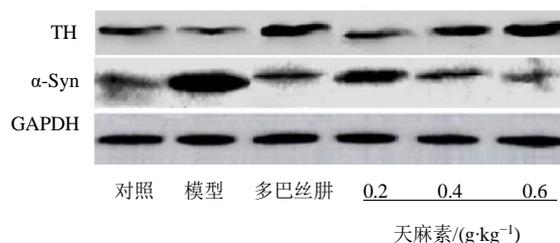


图1 天麻素对帕金森病小鼠纹状体内α-Syn和TH水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Fig. 1 Effects of gastrodin on α-Syn and TH levels in striatum of rats with Parkinson's disease ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

表6 天麻素对帕金森病小鼠纹状体内DA、α-Syn、TH水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 6 Effects of gastrodin on DA, α-Syn, and TH levels in striatum of rats with Parkinson's disease ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	DA/(ng·mg ⁻¹)	α-Syn/GAPDH	TH/GAPDH
对照	—	7.96 ± 0.93	1.01 ± 0.13	1.31 ± 0.15
模型	—	1.58 ± 0.71*	0.32 ± 0.10*	2.92 ± 0.14*
多巴丝肼	0.05	6.13 ± 0.96#	1.21 ± 0.12#	0.93 ± 0.13#
天麻素	0.2	3.12 ± 0.89#	0.58 ± 0.11#	1.61 ± 0.11#
	0.4	4.94 ± 0.861#	0.76 ± 0.12# [▲]	1.09 ± 0.12# [▲]
	0.6	6.27 ± 0.98# ^{▲△}	1.30 ± 0.13# ^{▲△}	0.87 ± 0.13# ^{▲△}

与对照组比较: *P<0.05; 与模型组比较: #P<0.05; 与天麻素0.2 g·kg⁻¹组比较: [▲]P<0.05; 与天麻素0.4 g·kg⁻¹组比较: [△]P<0.05

*P < 0.05 vs control group; #P < 0.05 vs model group; [▲]P < 0.05 vs gastrodin 0.2 g·kg⁻¹ group; [△]P < 0.05 vs gastrodin 0.4 g·kg⁻¹ group

3 讨论

帕金森病的发生与黑质中DA能神经元的丧失密切相关,临床表现为静止性震颤和进行性运动功能障碍等^[10-11]。本研究发现,与对照组小鼠相比,模型组小鼠爬杆时间显著升高,小鼠悬挂分值、旷场活动总距离、平均速度显著减少,提示帕金森病的发生会引起小鼠运动障碍。天麻是一种传统的中草药,在治疗多种疾病中安全性能高,对机体无严重毒副作用,其中天麻素是天麻提取物中重要有效成分。研究表明天麻素可用于治疗神经系统疾病,对

神经退行性疾病、疼痛和精神疾病均有治疗作用^[12-15]。本研究发现,与模型组小鼠相比,天麻素0.2、0.4、0.6 g/kg组和多巴丝肼组小鼠爬杆时间均显著减少(P<0.05),悬挂分值、旷场活动总距离、平均速度均显著增多(P<0.05),其中以天麻素0.6 g/kg组改善效果最好,与阳性对照药物多巴丝肼效果接近。另外,给药1、7、14 d,模型组,天麻素0.2、0.4、0.6 g/kg组和多巴丝肼组小鼠爬杆时间依次减少(P<0.05),悬挂分值、悬旷场活动总距离、平均速度依次升高(P<0.05),提示随着药物作用延长,天

麻素可逐渐缓解帕金森病引起小鼠运动障碍症状。

帕金森病的发病机制较为复杂,设计多种因素共同参与。研究表明帕金森病的发生与环境、遗传、压力等有关^[16]。 α -Syn 是突触前末梢中大脑中的一种蛋白质,是路易小体的核心组成成分^[17]。早期研究发现帕金森病患者的脑部出现大量路易小体和 α -Syn 的异常聚集,与帕金森病疾病发生密切相关。TH 是神经元合成限速酶,不仅在发育、骨稳态、肠胃运动等中发挥着重要的作用,还与多种神经性疾病和脑部疾病相关^[18]。研究表明天麻素能抑制帕金森病模型小鼠脑组织中 DA 能神经元的凋亡^[19]。本研究发现,与对照组小鼠相比,模型组小鼠纹状体 α -Syn 水平显著升高 ($P<0.05$), DA、TH 水平显著降低 ($P<0.05$),提示帕金森病小鼠脑组织中 α -Syn、TH 异常表达、DA 代谢异常。另外,与模型组相比,天麻素 0.2、0.4、0.6 g/kg 组小鼠纹状体 α -Syn 水平显著降低 ($P<0.05$), DA、TH 水平显著升高 ($P<0.05$),且天麻素 0.6 g/kg 组小鼠纹状体 α -Syn、DA、TH 水平与多巴丝肼组比较差异无统计学意义,提示天麻素可抑制帕金森病小鼠纹状体中 α -Syn 蛋白表达,促进 TH 蛋白表达,提高 DA 水平,保护帕金森病小鼠脑内 DA 能神经元。

研究报道线粒体功能缺陷引起的氧化应激,自由基损坏可导致 DA 能神经元凋亡,天麻素可以有效抑制氧化反应,是重要的抗氧化保护剂^[20]。MDA 是脂质过氧化作用的产物,与机体抗氧化能力有关。吴艳芬等^[21]研究表明 GSH、MDA 可有效反映机体氧化应激程度,与帕金森病的发生发展密切相关。早期研究表明,GAS 可增加脑内 GSH 水平,降低 MDA 水平,减少自由基产生,抑制脂质过氧化过程。本研究发现,与对照组小鼠相比,模型组小鼠纹状体 MDA 表达显著升高 ($P<0.05$),GSH 表达显著降低 ($P<0.05$),提示帕金森病小鼠脑组织中氧化应激程度较高。与模型组相比,天麻素 0.2、0.4、0.6 g/kg 组小鼠纹状体中 MDA 水平依次降低 ($P<0.05$),GSH 水平依次升高 ($P<0.05$),且天麻素 0.6 g/kg 组小鼠纹状体 MDA、GSH 水平与多巴丝肼组比较差异无统计学意义,提示天麻素可提高帕金森病小鼠脑组织应对氧化应激的能力,降低氧化应激程度。

综上所述,天麻素可能通过提高机体抗氧化能力,保护脑内 DA 能神经元,从而改善帕金森病小鼠的运动障碍症状,但其具体的作用机制仍需进一步研究。

参考文献

- [1] Schneider R B, Iourinets J, Richard I H. Parkinson's disease psychosis: presentation, diagnosis and management [J]. *Neurodegener Dis Manag*, 2017, 7(6): 365-376.
- [2] Kiechle M, von Einem B, Höfs L, et al. In vivo protein complementation demonstrates presynaptic α -synuclein oligomerization and age-dependent accumulation of 8-16-mer oligomer species [J]. *Cell Rep*, 2019, 29(9): 2862-2874.
- [3] 刘亘梁, 冯 涛. α -突触核蛋白作为帕金森病生物学标志物的研究进展 [J]. *中华神经科杂志*, 2017, 50(10): 797-800.
- [4] 吴 艳, 杜 娟, 张晓雷. 参附注射液联合左旋多巴对帕金森病小鼠黑质组织形态及酪氨酸羟化酶水平的影响 [J]. *中成药*, 2019, 41(5): 200-203.
- [5] Liu Y, Gao J, Peng M, et al. A review on central nervous system effects of gastrodin [J]. *Front Pharmacol*, 2018, 12(9): 24.
- [6] 秦劲晨, 王爱梅, 李若瑜. 芍药甘草汤加减对 MPTP 诱导的帕金森病模型小鼠的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(13): 15-21.
- [7] 席 暄, 任小琼. GAS 注射液对帕金森病大鼠的保护作用 [J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(20): 4996-4997.
- [8] Wang X L, Xing G H, Hong B, et al. Gastrodin prevents motor deficits and oxidative stress in the MPTP mouse model of Parkinson's disease: involvement of ERK1/2-Nrf2 signaling pathway [J]. *Life Sci*, 2014, 114(2): 77-85.
- [9] 吴 忱, 徐 彬, 梁顺利, 等. 姜黄素对帕金森病小鼠运动障碍和多巴胺能神经元存活的影响及机制研究 [J]. *中国中西医结合杂志*, 2018, 38(7): 838-843.
- [10] 韩婧洋, 张晓娜, 房金妮, 等. P2X4 对帕金森病模型大鼠黑质中 α 突触核蛋白表达的影响 [J]. *精准医学杂志*, 2018, 33(1): 62-66.
- [11] Chen P Z, Jiang H H, Wen B, et al. Gastrodin suppresses the amyloid β -induced increase of spontaneous discharge in the entorhinal cortex of rats [J]. *Neural Plast*, 2014, 28(6): 1052-1056.
- [12] 艾艳萍. GAS 对癫痫合并偏头痛病人血清炎症因子、脑源性神经营养因子及氧化应激水平的影响 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2018, 16(11): 1592-1595.
- [13] Ye T, Meng X, Wang R, et al. Gastrodin alleviates cognitive dysfunction and depressive-like behaviors by inhibiting ER stress and NLRP3 inflammasome activation in db/db mice [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(12): 1382-1384.
- [14] Wang X, Li P, Liu J, et al. Gastrodin attenuates cognitive deficits induced by 3,3'-iminodipropionitrile [J]. *Neurochem Res*, 2016, 41(6): 1401-1409.

- [15] 黄 灵, 黄建敏, 李雪斌, 等. GAS 对癫痫患者炎症因子、脑源性神经营养因子水平的影响 [J]. 广西医学, 2017, 39(3): 289-290.
- [16] 李淑华, 陈海波. 帕金森病非运动症状研究进展及临床意义 [J]. 中华神经科杂志, 2017, 50(1): 71-74.
- [17] Masaracchia C, Hnida M, Gerhardt E, *et al.* Membrane binding, internalization, and sorting of alpha-synuclein in the cell [J]. *Acta Neuropathol Commun*, 2018, 6(1): 79.
- [18] 蔡 婷, 魏 操, 翟素珍, 等. α -硫辛酸促进帕金森病大鼠黑质细胞铁转出的机制 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2018, 34(1): 35-40.
- [19] Hu Y, Li C, Shen W. Gastrodin alleviates memory deficits and reduces neuropathology in a mouse model of Alzheimer's disease [J]. *Neuropathology*, 2014, 34(4): 370-377.
- [20] Qiu F, Liu T T, Qu Z W, *et al.* Gastrodin inhibits the activity of acid-sensing ion channels in rat primary sensory neurons [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 15(731): 50-57.
- [21] 吴艳芬, 陈 文, 王鸣飞, 等. α -硫辛酸对帕金森病大鼠脑内黑质多巴胺能神经元保护机制研究 [J]. 河北医药, 2017, 39(14): 2105-2108.