

• 药理与临床 •

党参远志散微乳对阿尔茨海默病模型小鼠学习记忆障碍的改善作用

杨丽霞, 赵 婧, 王 善, 王佳敏, 王颖莉*

山西中医药大学中药与食品工程学院, 山西 晋中 030619

摘要:目的 研究党参远志散微乳对阿尔茨海默病(AD)模型小鼠脑组织中乙酰胆碱(Ach)和乙酰胆碱酯酶(AChE)水平及脑组织中 AChE 和乙酰胆碱转移酶(ChAT)蛋白表达的影响, 运用胆碱能学说分析作用机制。方法 小鼠随机分为对照组、模型组、生物相容性微乳组、脑复康组、党参远志散水提液组和党参远志散微乳组, 每组 15 只。除对照组外, 其余组均 ip *D*-半乳糖(*D*-gal)和 NaNO₂制备 AD 小鼠模型, 分别 ig 蒸馏水、生物相容性微乳、脑复康、党参远志散水提液和党参远志散微乳 6 周。采用水迷宫实验进行行为学考察; 酶联免疫分析测定脑组织中 Ach 和 AChE 水平; HE 染色光镜观察海马 CA1 区和皮层的病理变化; 免疫组织化学染色法检测海马 CA1 区和皮层的 ChAT、AChE 蛋白表达。结果 与模型组比较, 党参远志散微乳组小鼠学习记忆能力明显提高($P < 0.05$), 脑组织中 Ach 水平明显升高($P < 0.01$), AChE 水平明显降低($P < 0.01$), 海马 CA1 区和皮层的病理结构改变明显改善, ChAT 的蛋白阳性表达明显上升($P < 0.01$), AChE 蛋白阳性表达明显下降($P < 0.01$)。结论 党参远志散微乳可通过上调小鼠海马 CA1 区和皮层中 ChAT 表达和抑制 AChE 表达而发挥抗 AD 作用。

关键词: 党参远志散; 阿尔茨海默病; 生物相容性微乳; 乙酰胆碱; 乙酰胆碱酯酶; 乙酰胆碱转移酶

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2020)05-1257-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2020.05.023

Dangshen Yuanzhi Powder microemulsion attenuates learning and memory impairment in Alzheimer's disease model mice

YANG Li-xia, ZHAO Jing, WANG Shan, WANG Jia-min, WANG Ying-li

School of Pharmaceutical and Food Engineering, Shanxi University of Chinese Medicine, Jinzhong 030619, China

Abstract: Objective To observe the effects of Dangshen Yuanzhi Powder microemulsion on protein expression of AChE and ChAT, and the contents of Ach and AChE in brain tissue of Alzheimer's disease model mice and analyze its mechanism based on cholinergic theory. **Methods** Mice were divided into control group, model group, BME group, Piracetam group, water extractant group and microemulsion extractant group, with 15 mice in each group. Alzheimer's disease mice model was established by intraperitoneal injection with *D*-gal and NaNO₂. Meanwhile, each group was given by gavage for six weeks with distilled water, BME, Piracetam tablets, water extractant and microemulsion extractant. Water maze was used to conduct behavior study. Contents of Ach and AChE in brain tissue were also measured. HE staining was used to observe pathological changes and IHC staining was used to detect expression of AChE and ChAT in hippocampal CA1 region and cerebral cortex of mice. **Results** Compared with the model group, learning and memory abilities of mice were significantly improved ($P < 0.05$), content of Ach was significantly improved ($P < 0.01$), content of AChE was significantly decreased ($P < 0.01$), pathological changes of hippocampal CA1 region and cerebral cortex were improved, AChE expression was significantly downregulated ($P < 0.01$), and ChAT expression was markedly upregulated ($P < 0.01$) in microemulsion extractant group. **Conclusion** Dangshen Yuanzhi Powder microemulsion can control the progression of Alzheimer's disease by upregulating ChAT expression and inhibiting AChE expression in hippocampal CA1 region and cerebral cortex of mice.

Key words: Dangshen Yuanzhi Powder; Alzheimer's disease; biocompatible microemulsion; acetylcholine; acetylcholinesterase; acetylcholine transferase

收稿日期: 2019-07-11

基金项目: 山西省“1331 工程”工程(技术)研究中心中药微乳与生物新制剂研发; 山西中医药大学校级科技创新团队(2018TD-007); 晋药综合开发利用协同创新中心项目(2017-JYXT-19); 山西省应用基础研究计划项目(201901D211539); 山西省中医药管理局科研项目(2019ZYCC022)

作者简介: 杨丽霞(1979—), 女, 讲师, 研究方向为阿尔茨海默病的中医药防治。Tel: 17703435340 E-mail: yanglixia@163.com

***通信作者** 王颖莉, 教授, 主要从事中药药效物质基础研究。Tel: 13934161264 E-mail: wyltyut@163.com

阿尔茨海默病 (Alzheimer's disease, AD) 是老年人常见的慢性、进行性神经退行性疾病, 并伴有脑组织特征性病理改变, 起病潜隐, 病程缓慢且不可逆, 临床上以智能损害为主^[1]。主要表现为认知和记忆功能不断恶化, 日常生活能力进行性减退^[2]。其病理特征是神经原纤维缠结 (neurofibrillary tangles, NFTs)、神经元缺失和神经递质功能障碍等^[2]。中枢神经系统的胆碱能神经是构成学习记忆的重要生物学基础^[3], 脑内胆碱能系统功能损伤是引起 AD 的重要因素, 从而提出了“胆碱能学说”^[4]。

远志散由远志、人参、茯苓、石菖蒲、黄连 5 味中药组成, 是临床上治疗痴呆、健忘等记忆力减退病症的有效方剂, 原方始见于《圣济总录·卷一八六·补益门》, 书中记载此方“治健忘, 补心气, 强力益志”, 集大补元气、涤痰开窍、清心泻火之药物于一体, 具有益气开窍清心的功效^[5]。本实验在原方基础上将人参替换为党参, 党参药性平, 具有改善小鼠记忆功能的作用^[6-7]。采用生物相容性微乳 (biocompatible microemulsion, BME) 提取党参远志散复方, 制备生物相容性党参远志散微乳 (以下简称党参远志散微乳), 可以有效增加不同极性药物成分的溶解度, 提高其生物利用度^[8], 从而达到更好的治疗效果。本实验采用 ip *D*-半乳糖 (*D*-gal) 和 NaNO₂ 制备 AD 小鼠模型^[9], 通过观察党参远志散微乳对模型小鼠乙酰胆碱酯酶 (acetylcholinesterase, AchE) 和乙酰胆碱转移酶 (acetylcholine transferase, ChAT) 表达的影响, 从胆碱能通路探讨党参远志散微乳对 AD 模型小鼠学习记忆障碍的改善作用及机制。

1 材料

1.1 实验动物

SPF 级 ICR 小鼠 90 只, 雌雄各半, 体质量 (20±2) g, 由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供, 实验动物合格证号 20130016008383, 许可证号 SCXK (沪) 2013-0016, 在上海市实验动物检测中心检验合格。本实验研究所涉及动物相关操作均在山西中医药大学医学伦理委员会批准下进行, 批准号为 2019LL136。

1.2 药物与试剂

远志 (批号 130823060) 购自安国市祁澳中药饮片有限公司; 黄连 (批号 1801002)、石菖蒲 (批号 1512001)、党参 (批号 1611001)、茯苓 (批号 1611001) 均购自河北全泰药业有限公司, 经山西中

医药大学裴香萍副教授鉴定均为《中国药典》2015 年版规定正品; 卵磷脂 (批号 170701) 购自江苏曼氏生物科技股份有限公司; 猪胆盐 (批号 20181108001) 购自杭州百思生物技术有限公司; 聚氧乙烯氢化蓖麻油 CO-40 (批号 512882) 购自德国巴斯夫公司; 胆固醇 (批号 D1813151) 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 肉豆蔻酸异丙酯 (批号 Y20J8S40186) 购自上海源叶生物科技有限公司; *D*-gal (批号 20141212) 购自天津市光复精细化工研究所; NaNO₂ (批号 20160518) 购自天津市天大化工实验厂; 脑复康 (批号 6180308) 购自东北制药集团沈阳第一制药有限公司; 鼠 Ach ELISA KIT、鼠 AchE ELISA KIT (批号均为 201902) 购自上海泛柯实业有限公司; BA0596 ChAT (批号 38244)、BA0600-1AchE (批号 520538)、羊抗兔 IgG-Biotin (批号 13K02A)、AR1022 显色剂 (批号 14A18B22)、水溶性封片剂 (批号 4B16B18)、免疫组化笔 (批号 14C01A81) 均购自博士德生物有限公司。

1.3 仪器

Thermo UHPLC-Q Exactive Focus 液质联用仪, Thermo Fisher Scientific; LEICACM1950 全自动切片机、ASP300 全自动组织脱水机、EG1150 组织包埋机, 德国 Leica 公司; OLYMPUS DP80 显微镜, 日本奥林巴斯株式会社; DNM-9602 酶标仪, 北京普朗新技术有限公司; JLBHV-MWMM Morris, 上海吉量软件科技有限公司; MX-S 混匀仪, 北京索莱宝科技有限公司; JA5003 分析天平, 上海舜宇恒平科学仪器有限公司; RCT 基本型加热磁力搅拌器, 德国 IKA 公司; HH-2 水浴锅, 金坛市杰瑞尔电器有限公司。

2 方法

2.1 生物相容性微乳的制备

参照文献方法^[10-11]制备生物相容性微乳。

2.2 党参远志散复方的提取

复方配比为远志 12 g、茯苓 15 g、石菖蒲 18 g、黄连 12 g、党参 9 g。将药材按照《中国药典》2015 年版一部规定进行干燥、粉碎, 过一号筛等预处理^[12], 用 8 倍量水煎煮 3 次, 每次 30 min, 滤过, 合并滤液, 85 ℃浓缩至 0.43 g/mL, 得党参远志散水提液 (经液质分析得出党参远志散水提液中含有 3,6'-二芥子酰基蔗糖、阿魏酸、盐酸小檗碱、槲皮素、β-细辛醚等成分)。同样将药材粉碎过一号筛, 用液固比 2.3 mL/g 的生物相容性微乳避光浸泡 24 h

后, 37 ℃ 恒温渗漉, 得生物相容性党参远志散微乳 (由于党参远志散微乳提取液中含有表面活性剂, 液质分析的前处理尚未找到合适的方法, 后续将进一步研究其化学成分)。

2.3 分组、造模与给药

常规饲养 1 周后, 将小鼠随机分为对照组、模型组、生物相容性微乳组、脑复康组、党参远志散水提液组、党参远志散微乳组, 每组 15 只, 雌雄各半。对照组小鼠 ip 生理盐水 10 mL/kg, 其余组均 ip *D*-gal 120 mg/kg 及 NaNO₂ 54 mg/kg, 间隔 6 h 后, 对照组 ig 蒸馏水 10 mL/kg, 生物相容性微乳组 ig 生物相容性微乳 10 mL/kg, 脑复康组 ig 脑复康片 0.63 g/kg, 党参远志散水提液组 ig 党参远志散水提液 8.58 g/kg (相当于生药材量, 相当于复方的临床等效剂量), 党参远志散微乳组 ig 党参远志散微乳 8.58 g/kg (相当于生药材量), 持续 6 周。

2.4 Morris 水迷宫实验

参照文献方法^[13]进行定位航行实验和空间探索实验。其中定位航行实验历时 5 d, 每天将小鼠面向池壁分别从 4 个入水点放入水中各 1 次, 记录其寻找到隐藏在水面下平台的时间, 即逃避潜伏期。空间探索实验是在定位航行实验后去除平台, 任选 1 个入水点将小鼠放入水池中, 记录小鼠 60 s 内在原平台象限停留的时间和经过原平台次数, 考察小鼠对原平台的记忆。

2.5 脑组织中 Ach 和 AchE 水平测定

行为学考察结束 24 h 后, 每组随机取 10 只小鼠, 解剖, 冰上快速分离脑组织 (除去小脑), 用预冷的生理盐水洗净, 滤纸拭干进行称质量, 用生理盐水制成 10% 的脑组织匀浆, 低温离心机 3 500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 按照 ELISA 试剂盒说明书稀释, 加样, 温育, 洗涤, 加酶, 终止, 测定, 计算小鼠脑组织匀浆中 Ach 及 AchE 水平。

2.6 海马区和皮层病理观察及 AchE 和 ChAT 蛋白阳性表达

行为学考察结束 24 h 后, 每组随机取 5 只小鼠, 先用生理盐水灌注至肝脏变白, 再用 4% 多聚甲醛溶液灌注固定, 直到小鼠肢体变僵直, 取出鼠脑放入多聚甲醛固定液中固定。固定完成后, 取经固定的海马组织, 脱水、透明、浸蜡、包埋、切片, 按苏木精-伊红染色法 (HE) 常规染色, 光镜检查海马区及大脑皮层病理改变。按免疫组织化学染色法 (IHC) 常规染色, 光学显微镜观察, 拍片^[14]。

2.7 统计学方法

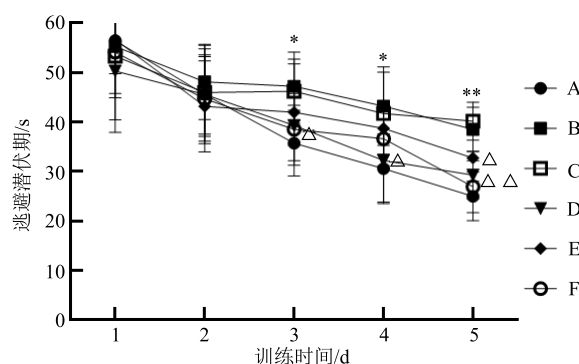
应用 SPSS 19.0 统计软件进行分析, 计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD 检验。

3 结果

3.1 Morris 水迷宫实验结果

定位航行实验中, 前 2 天训练中各组小鼠逃避潜伏期无差异。从第 3 天训练开始, 与对照组比较, 模型组和生物相容性微乳组小鼠逃避潜伏期明显增加 ($P < 0.05$ 、 0.01)。与模型组比较, 各给药组小鼠的逃避潜伏期明显缩短, 其中第 3 天训练中脑复康组和党参远志散微乳组小鼠逃避潜伏期明显缩短 ($P < 0.05$)。第 4 天训练中脑复康组小鼠逃避潜伏期明显缩短 ($P < 0.05$)。第 5 天训练中脑复康组和党参远志散微乳组小鼠逃避潜伏期明显缩短 ($P < 0.01$), 党参远志散水提液组小鼠逃避潜伏期明显缩短 ($P < 0.05$)。结果见图 1。

空间探索实验中, 与对照组比较, 模型组小鼠的学习记忆能力明显下降, 表现为在原平台所在象限停留时间、穿越原平台的次数明显减少 ($P < 0.01$), 生物相容性微乳组小鼠穿越原平台的次数明显减少 ($P < 0.01$)。与模型组比较, 脑复康组在原平台所在象限停留时间明显增多 ($P < 0.01$), 党参



A-对照 B-模型 C-生物相容性微乳 D-脑复康 E-党参远志散水提液 F-党参远志散微乳, 与对照组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与模型组比较: △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$, 图 2 同

A-control group B-model group C-BME group D-Piracetam group E-Dangshen Yuanzhi Powder water extract F-Dangshen Yuanzhi Powder microemulsion, * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs control group; △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$ vs model group, same as figure 2

图 1 党参远志散微乳对 AD 模型小鼠逃避潜伏期的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

Fig. 1 Effects of Dangshen Yuanzhi Powder microemulsion on escape latency of Alzheimer's disease model mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

远志散水提液组和党参远志散微乳组小鼠在原平台所在象限停留时间明显增多 ($P<0.05$)。与模型组比较, 脑复康组和党参远志散水提液组小鼠穿越原平台的次数变化无统计学意义, 党参远志散微乳组小鼠穿越原平台的次数明显增多 ($P<0.05$); 与脑复康组比较, 党参远志散水提液组和微乳组 2 项指标变化均无统计学意义; 与党参远志散水提液组比较, 党参远志散微乳组 2 项指标变化均无统计学意义。实验结果表明党参远志散微乳可以显著提高 AD 模型小鼠的学习记忆能力。见图 2。

3.2 小鼠脑组织中 Ach 和 AchE 水平测试结果

与对照组比较, 模型组和生物相容性微乳组小鼠脑组织中 Ach 水平明显下降 ($P<0.01$), AchE 水平明显升高 ($P<0.01$)。与模型组比较, 脑复康组、党参远志散水提液组和微乳组小鼠脑组织中

Ach 水平明显升高 ($P<0.01$); 与模型组比较, 脑复康组和党参远志散微乳组小鼠脑组织中 AchE 水平明显下降 ($P<0.01$), 党参远志散水提液组 AchE 水平变化无统计学意义。与脑复康组比较, 党参远志散水提液组小鼠脑组织中 AchE 水平明显升高 ($P<0.01$), 使得党参远志散水提液组小鼠脑组织中 Ach 水平无明显升高。与党参远志散水提液组比较, 党参远志散微乳组小鼠脑组织中 AchE 水平明显下降 ($P<0.01$)。实验结果表明, 党参远志散水提液可显著提高 AD 模型小鼠脑组织中 Ach 水平, 但不能显著降低 AchE 水平, 而党参远志散微乳可显著提高 AD 模型小鼠脑组织中 Ach 水平, 同时显著降低 AchE 水平, 说明党参远志散微乳可通过降低小鼠脑组织中 AchE 的水平而提高 Ach 水平。结果见表 1。

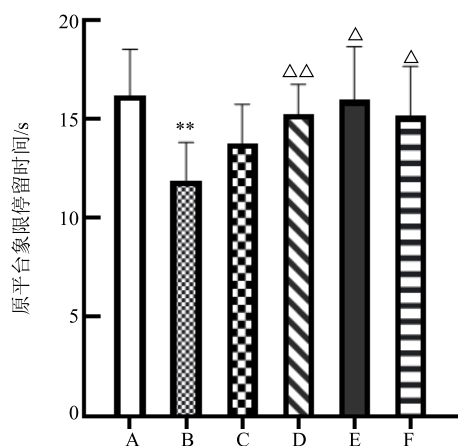


图 2 党参远志散微乳对 AD 模型小鼠空间探索实验的影响 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 2 Effects of Dangshen Yuanzhi Powder microemulsion on spatial probe test in AD model mice ($\bar{x} \pm s, n=10$)

表 1 各组小鼠脑组织中 Ach 和 AchE 水平 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Ach and AchE level in brain tissue of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量	Ach/(pmol·L ⁻¹)	AchE/(nmol·L ⁻¹)
对照	—	768.24±35.54	238.03±13.46
模型	—	552.65±38.33**	300.45±24.13**
生物相容性微乳	10 mL·kg ⁻¹	603.03±36.07**	308.40±35.51**
脑复康	0.63 g·kg ⁻¹	760.24±54.46△△	246.92±26.01△△
党参远志散水提液	8.58 g·kg ⁻¹	805.82±29.71△△	298.54±12.83△△
党参远志散微乳	8.58 g·kg ⁻¹	749.26±57.92△△	259.57±20.90△△##

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: △△ $P<0.01$; 与脑复康组比较: △△ $P<0.01$; 与党参远志散水提液组比较: ## $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group; △△ $P<0.01$ vs model group; △△ $P<0.01$ vs Piracetam group; ## $P<0.01$ vs water extractant group

3.3 小鼠海马和皮层病理改变

与对照组比较, 模型组小鼠海马 CA1 区神经元层次紊乱, 形态不规则, 神经元萎缩, 胶质细胞增生; 生物相容性微乳组小鼠海马神经元层次减少, 呈节段性丢失; 党参远志散水提液组小鼠海马神经

元排列相对规整, 存在神经元萎缩。与模型组比较, 党参远志散微乳组和脑复康组小鼠神经元层次清楚, 核型规则, 着色均匀, 病理结构改变明显改善。与对照组比较, 模型组、生物相容性微乳组和党参远志散水提液组小鼠大脑皮层神经元轴突和树突消

失，神经元萎缩，胶质细胞增生。与模型组比较，党参远志散微乳组和脑复康组小鼠大脑皮层细胞轮廓清晰，核型圆而规则，病理结构改变明显改善。结果见图 3。

3.4 小鼠海马 CA1 区和皮层 AchE、ChAT 蛋白阳性表达结果

每组选取 3 张切片，在 40×10 倍视野下随机选取 3 个视野拍照，采用软件 Imagepro plus 进行图像分析和处理，记录海马 CA1 区和皮层的阳性细胞数。与对照组比较，模型组和生物相容性微乳组小鼠海马 CA1 区和皮层 AchE 阳性细胞数明显增多 ($P<$

0.01)，ChAT 阳性细胞数明显减少 ($P<0.01$)。与模型组比较，药物干预组小鼠海马 CA1 区和皮层 AchE 阳性细胞数明显减少 ($P<0.01$)，ChAT 阳性细胞数明显增多 ($P<0.01$)。与脑复康组比较，党参远志散水提液组小鼠皮层 AchE 阳性细胞数明显增多 ($P<0.01$)，党参远志散微乳组皮层 AchE 阳性细胞数明显减少 ($P<0.01$)，CA1 区和皮层 ChAT 阳性细胞数明显增多 ($P<0.01$)。与党参远志散水提液组比较，党参远志散微乳组小鼠皮层 AchE 阳性细胞数明显减少 ($P<0.01$)，CA1 区和皮层 ChAT 阳性细胞数明显增多 ($P<0.01$)。结果见图 4~6。

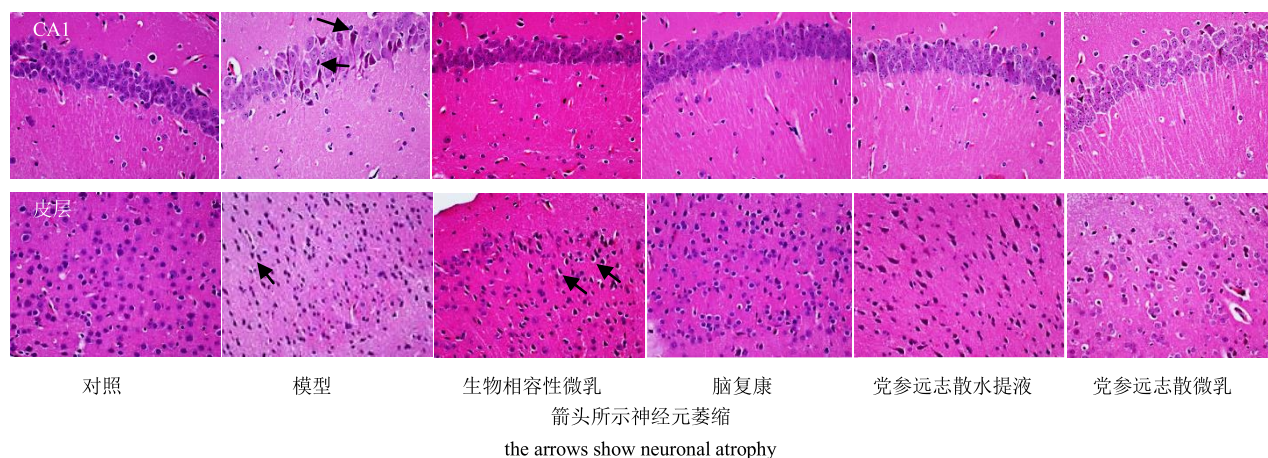


图 3 各组小鼠海马 CA1 区和大脑皮层病理形态学改变 (HE, $\times 400$)

Fig. 3 Pathomorphology changes of hippocampal CA1 and cerebral cortex in mice (HE, $\times 400$)

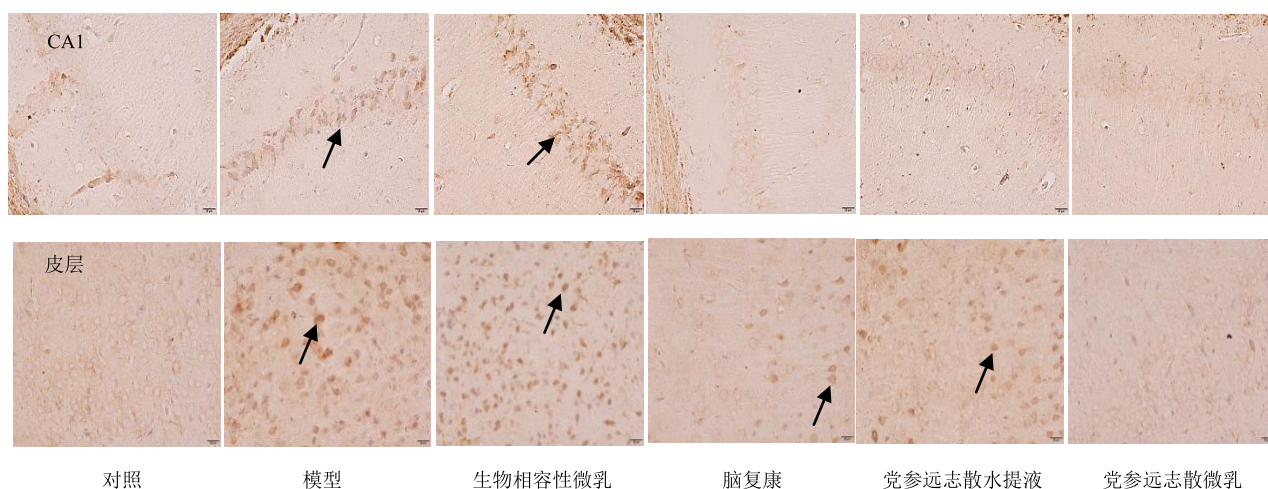


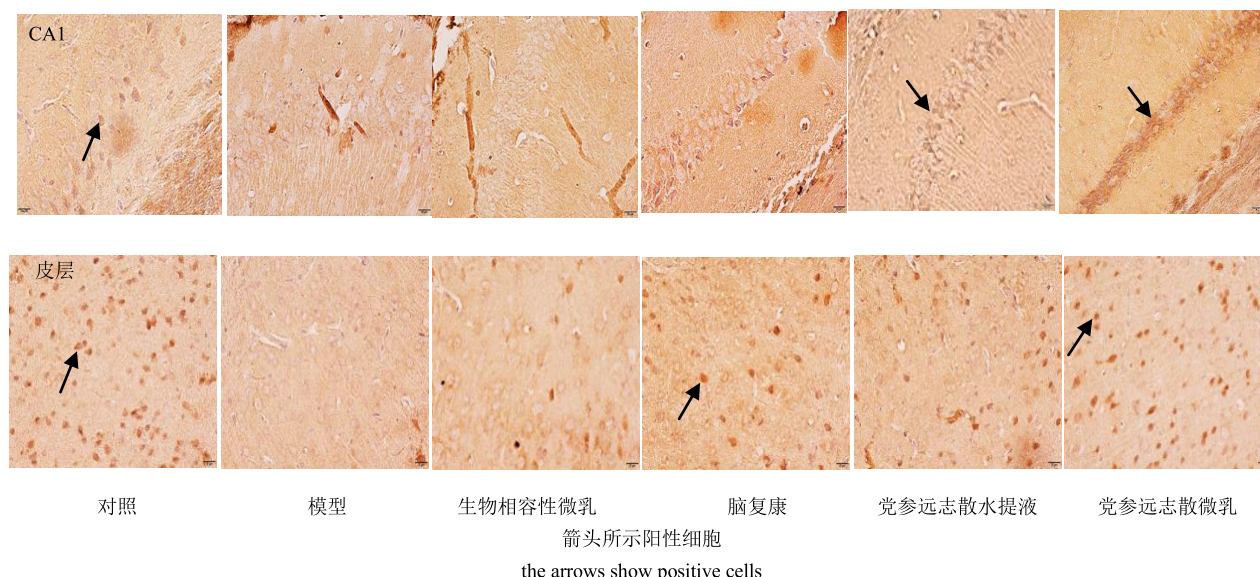
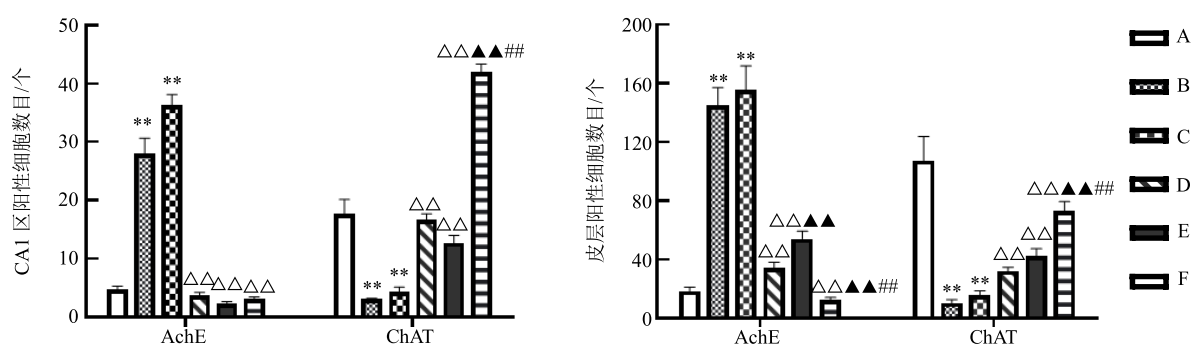
图 4 各组小鼠海马 CA1 区和大脑皮层 AchE 蛋白阳性表达 ($\times 400$)

Fig. 4 AchE positive expression in hippocampal CA1 and cerebral cortex of mice in each group ($\times 400$)

4 讨论

中医理论来说肾虚髓空是 AD 的发病基础^[15]，肾主骨生髓，脑为髓海，肾经充足，则精力充沛，记忆力增强^[16]。复方党参远志散由党参、远志、石

菖蒲、茯苓和黄连 5 味药组成，方中党参甘、平，入脾、肺经，补脾肺气，补血，生津；远志苦、辛、温，入心、肾、肺经，安神益智、祛痰开窍；石菖蒲辛、苦、温，入心，胃经，开窍醒神、化湿和胃、

图 5 各组小鼠海马 CA1 区和大脑皮层 ChAT 蛋白阳性表达 ($\times 400$)Fig. 5 ChAT positive protein expression in hippocampal CA1 and cerebral cortex of mice in each group ($\times 400$)

A-对照 B-模型 C-生物相容性微乳 D-脑复康 E-党参远志散水提液 F-党参远志散微乳, 与对照组比较: ** $P < 0.01$; 与模型组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$, 与脑复康组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$; 与党参远志散水提液组比较: $\Delta\Delta P < 0.01$

A-control group B-model group C-BME group D-Piracetam group E-Dangshen Yuanzhi Powder water extract F-Dangshen Yuanzhi Powder microemulsion, ** $P < 0.01$ vs control group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs model group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs Piracetam group; $\Delta\Delta P < 0.01$ vs water extractant group

图 6 各组小鼠 CA1 区及皮层 AchE 和 ChAT 阳性细胞数目 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)Fig. 6 Number of positive cells of AchE and ChAT in hippocampal CA1 and cerebral cortex of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

宁神益智; 茯苓甘、淡、平, 入心、脾、肾经, 利水渗湿、健脾、宁心; 黄连苦, 寒, 入心、脾、胃、胆、大肠经, 清热燥湿、泻火解毒^[17]。全方共奏补肾益脾、祛痰开窍、宁神益智, 对防治 AD 具有潜在的研究价值。

中枢胆碱能系统与学习、记忆密切相关, Ach 是中枢胆碱能系统最重要的神经递质之一, 主要功能是维持意识的清醒, 在学习记忆中作用重大。随着人体机体的老化, 海马和皮层等脑区的 Ach 水平急剧下降, 胆碱能神经元大量变性丢失, 致使记忆力下降, 进而可诱发老年性痴呆 AD^[18-19]。AchE 是 Ach 的水解酶, ChAT 是 Ach 合成的限速酶^[20-21],

在神经细胞中, Ach 是由胆碱和乙酰辅酶 A 在 ChAT 的催化作用下合成的, 进入突触间隙的 Ach 作用于突触后膜发挥生理作用后, 被 AchE 水解成胆碱和乙酸, Ach 就被破坏、失活^[4]。AD 发生时, 脑内 ChAT 活性降低, AchE 活性增高, 造成 Ach 的合成、释放和储存减少, 进而导致以记忆和认知障碍为主的多种临床表现的发生^[22], 脑复康为脑代谢改善药, 能够促进 Ach 合成并正增强神经兴奋的传导, 对缺氧所致的遗忘有改进作用, 可以增强记忆, 提高学习能力^[23]。本实验酶联免疫分析结果提示党参远志散微乳可通过调节脑组织中 Ach、AchE 水平发挥胆碱能效应, 增强神经突触兴奋性, 从而提高学

习记忆的能力。本实验免疫组化检测结果显示模型组海马 CA1 区和皮层 AchE 蛋白表达高于对照组, ChAT 蛋白表达低于对照组, 提示模型组海马 CA1 区和皮层中胆碱能神经元可能受到损伤和破坏。治疗后党参远志散水提液组和微乳组 AchE 蛋白表达降低, ChAT 蛋白表达增高, 以微乳组的蛋白表达变化最为显著, 提示采用生物相容性微乳提取党参远志散复方具有显著的增效作用。作用机制可能是通过抑制 AchE 蛋白和上调 ChAT 蛋白的表达, 调节 Ach 的生理代谢, 从而改善 AD 小鼠学习记忆功能障碍^[24-25]。

本实验 HE 染色结果显示模型组小鼠海马 CA1 区和皮层神经元数目减少, 胶质细胞增生, 在行为学考察实验中表现为模型组小鼠忘记逃避路线, 导致主动逃避时间延迟, 错误次数增加, 表明小鼠海马神经元受损, 影响小鼠的记忆能力。党参远志散微乳组海马 CA1 区和皮层神经元核型圆而规则, 数目未见明显减少, 表明党参远志散微乳可以改善 D-gal 和 NaNO₂ 联合所致的相关病理结构改变。

参考文献

- [1] 潘文娇. 老年痴呆症的护理 [J]. 中国民康医学, 2012, 24(2): 213.
- [2] 李兆珍, 李 炜, 张丹参. 老年痴呆症发病机制及药物治疗 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2019, 33(6): 474-477.
- [3] 伍大华. 基于脑髓理论分阴阳论治的补肾活血法干预血管性痴呆的疗效及作用机制研究 [D]. 长沙: 湖南中医药大学, 2013.
- [4] 李 莎, 崔慧先. 雄激素对海马和额前皮质神经元突触可塑性的调节 [J]. 解剖学杂志, 2010, 33(3): 401-403.
- [5] 孙中莉, 王明杰, 王丽娟, 等. 益气开窍清心法治疗老年性痴呆的理论探讨 [J]. 中国中医基础医学杂志, 2017, 23(10): 1374-1375.
- [6] 郭军鹏, 葛 斌. 党参不同提取物对小鼠记忆功能的改善作用 [J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(6): 1564-1565.
- [7] 张振东, 吴兰芳, 景永帅, 等. 党参多糖对小鼠学习记忆作用研究 [J]. 山地农业生物学报, 2010, 29(3): 242-245.
- [8] Lawrence M J, Rees G D. Microemulsion-based media as novel drug delivery systems [J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2000, 45: 89-121.
- [9] 李牧函. 6 首开心散类方对阿尔茨海默症的药理作用及机制初探 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2016.
- [10] 李卫飞, 冯前进, 李 妍, 等. 生物相容性微乳抗 H1N1 流感病毒效果及其作用机制的网络分析 [J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(10): 4377-4380.
- [11] 刘晓艳, 刘 帅, 李 妍, 等. 复方龙芩草微乳提取液体外抗 H1N1 流感病毒的作用研究 [J]. 天津中医药大学学报, 2016, 33(3): 172-176.
- [12] 中国药典 [S]. 一部. 2015.
- [13] Lu J, Wu D M, Zheng Y L, *et al*. Purple sweet potato color alleviates D-galactose-induced brain aging in old mice by promoting survival of neurons via PI3K pathway and inhibiting cytochrome C-mediated apoptosis [J]. *Brain Pathol*, 2010, 20(3): 598-611.
- [14] 周惠芬, 万海同, 何 昱, 等. 丹参-川芎有效成分配伍对氧糖剥夺海马神经元细胞保护作用研究 [J]. 中草药, 2019, 50(6): 1372-1381.
- [15] 第五永长. 老年性痴呆“髓空痰浊”病机及治法再识 [J]. 中医杂志, 2016, 57(12): 1075-1077.
- [16] 邵 莹, 罗占收. 中医“治未病”思想与现代医学“预防、诊断和治疗”早期阿尔茨海默病 [J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(4): 991-996.
- [17] 李国栋, 牛 洁, 吴志松, 等. 近 20 年中药治疗慢性阻塞性肺疾病稳定期组方用药规律文献研究 [J]. 中医杂志, 2019, 60(7): 614-618.
- [18] 张 艳, 余巨明, 李志民. 乙酰胆碱特征超低频经颅磁刺激对阿尔茨海默病模型大鼠记忆力的影响 [J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2017, 44(2): 118-123.
- [19] Strupp B J, Powers B E, VeLazquez R, *et al*. Maternal choline supplementation: A potential prenatal treatment for down syndrome and Alzheimer's Disease [J]. *Curr Alzheimer Res*, 2016, 13(1): 97-106.
- [20] 黄 维, 马 晶, 晁凤蕾, 等. 氟西汀通过增加阿尔茨海默病 APP/PS1 转基因小鼠脑内乙酰胆碱的含量改善其空间学习能力 [J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2017, 26(1): 29-35.
- [21] 姚维范, 刘明妍, 钟 欣, 等. 美金刚激活 NGF/TrkA 信号通路改善 APP/PS1 转基因小鼠学习记忆障碍 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32(4): 473-480.
- [22] Choudharya R, Malairamanb U, Katyala A, *et al*. Katyal. Inhibition of 12/15 LOX ameliorates cognitive and cholinergic dysfunction in mouse model of hypobaric hypoxia via. attenuation of oxidative/nitrosative stress [J]. *Neuroscience*, 2017, 359(17): 308-324.
- [23] 卞 辑. 酶法制备乳清蛋白肽及其对衰老小鼠学习记忆能力的影响 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2014.
- [24] Wang X Q, Yu H H, Xing R E, *et al*. Effect and mechanism of oyster hydrolytic peptides on spatial learning and memory in mice [J]. *RSC Adv*, 2018, 8(11): 6125-6135.
- [25] 周 雪, 李小清, 刘 琪, 等. 川芎挥发油防治脂多糖致小鼠血管认知障碍的作用机制研究 [J]. 中草药, 2019, 50(10): 2390-2397.