

## 实验研究

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2026.15.011

## 补肾活血方对帕金森病模型大鼠神经元突触囊泡相关蛋白及肠道屏障的影响

位娜鑫<sup>1</sup>, 谌盈帆<sup>2</sup>, 齐小荣<sup>2</sup>, 张倩<sup>1</sup>, 耿小涵<sup>1</sup>, 张煜桢<sup>1</sup>, 李敏<sup>2</sup>✉

1. 解放军总医院研究生院, 北京市海淀区复兴路 28 号, 100853; 2. 解放军总医院第六医学中心中医医学部

**[摘要]** **目的** 从突触囊泡循环及肠道屏障角度探讨补肾活血方治疗帕金森病(PD)的可能作用机制。**方法** 将 48 只雄性 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、美多芭组及补肾活血方组, 每组 12 只。除空白组外其余各组大鼠采用鱼藤酮灌胃构建 PD 大鼠模型, 每天 1 次, 连续给药 4 周。造模成功后, 补肾活血方组予补肾活血方浓缩液 13.5 g/(kg·d) 灌胃; 美多芭组则予美多芭片混悬液 2 g/(kg·d) 灌胃; 空白组、模型组大鼠均以蒸馏水按 10 ml/(kg·d) 灌胃。各组大鼠均连续灌胃 2 周。通过旷场试验(记录总路程、平均速度、中央区总路程)、转棒实验(掉落潜伏期)、平衡木实验(穿越时间)评估大鼠运动功能; HE 染色观察结肠组织病理变化; Western Blot 法检测脑黑质与结肠组织中  $\alpha$ -突触核蛋白( $\alpha$ -syn)、129 位丝氨酸磷酸化  $\alpha$ -突触核蛋白(pSer129- $\alpha$ -syn)、囊泡相关膜蛋白 2(VAMP2)、突触素(SYP)蛋白水平, RT-PCR 法检测  $\alpha$ -syn、VAMP2、SYP mRNA 表达, 免疫组化法检测  $\alpha$ -syn 表达; 免疫荧光法检测结肠组织中结肠紧密连接蛋白 1(ZO-1)、闭合蛋白(Occludin)水平, 以及脑黑质组织中酪氨酸羟化酶(TH)水平。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠旷场实验总路程缩短, 平均速度下降, 中央区总路程及转棒实验掉落潜伏期缩短, 平衡木实验穿越时间增加, 脑黑质及结肠组织中 pSer129- $\alpha$ -syn 蛋白水平升高,  $\alpha$ -syn 蛋白水平及其 mRNA 表达升高, VAMP2、SYP 蛋白水平及其 mRNA 表达降低, 脑黑质与结肠组织中  $\alpha$ -syn 相对积分光密度升高, 结肠组织 ZO-1、Occludin 免疫荧光相对荧光强度及脑黑质中 TH 免疫荧光相对荧光强度均降低( $P<0.05$ ); HE 染色结果显示结肠组织黏膜层内局部可见坏死, 部分肠腺消失, 大量炎性细胞浸润, 黏膜下层纤维结缔组织增生。与模型组比较, 美多芭组及补肾活血方组上述各指标均有不同程度改善( $P<0.05$ ), 结肠组织病理损伤亦改善, 肠组织黏膜层可见少量纤维组织增生伴有少量炎性细胞弥散性浸润。与美多芭组比较, 肾活血方组大鼠旷场实验平均速度上升, 中央区总路程和转棒实验掉落潜伏期增加, 脑黑质 pSer129- $\alpha$ -syn、 $\alpha$ -syn 蛋白水平降低和 VAMP2 蛋白水平升高, 结肠组织 SYP 蛋白水平及其 mRNA 表达升高, 结肠组织中 ZO-1、黑质组织中 TH 免疫荧光相对荧光强度升高( $P<0.05$ )。**结论** 补肾活血方可能通过改善脑黑质与结肠组织的突触囊泡相关蛋白表达, 调控突触囊泡循环, 修复肠道屏障及神经元突触功能, 进而改善 PD 运动功能障碍。

**[关键词]** 帕金森病; 肠-脑轴; 突触囊泡; 肠道屏障;  $\alpha$ -突触核蛋白; 囊泡相关膜蛋白 2; 突触素; 补肾活血方

胃肠功能紊乱是帕金森病(Parkinson's disease, PD)最常见的非运动症状之一, 可早于运动症状数年出现, 严重影响患者生活质量与疾病预后。近年来, 肠-脑轴在 PD 发病机制中的关键作用愈发受到重视。研究<sup>[1-2]</sup>发现, PD 病理可起源于胃肠神经系统(ENS), 异常聚集的  $\alpha$ -突触核蛋白( $\alpha$ -syn)

可逆行播散至中枢, 介导突触囊泡循环障碍与多巴胺能神经元损伤。左旋多巴是治疗 PD 的首选药物, 但长期服用易导致开关现象、剂末现象、异动症及晨僵少动等不良反应<sup>[3]</sup>。

PD 可归属于中医学“颤证”范畴。肾精亏虚则髓海空虚, 脑神失养, 肢体筋脉失濡而见震颤、僵直、行动迟缓; 久病气血运行失畅, 瘀血阻滞经络, 壅塞脑窍, 进一步加重肢体失用之症。据此病机理论, 本团队确立补肾填精、活血化瘀的核心治

基金项目: 国家自然科学基金(82274613)

✉ 通信作者: kittenlee1115@126.com

则, 临床应用补肾活血方干预 PD<sup>[4]</sup>。前期临床研究<sup>[5-6]</sup>已证实, 补肾活血方可有效改善 PD 患者运动障碍与消化道功能障碍。基础研究<sup>[7-9]</sup>也表明, 该方可通过保护多巴胺能神经元、抑制  $\alpha$ -syn 聚集、调控炎症及肠-脑轴发挥神经保护作用。神经元突触囊泡循环障碍是 PD 发生发展的关键环节, 突触作为神经元之间传递信号的核心结构, 其功能完整性依赖于突触囊泡的正常转运、融合及神经递质释放<sup>[10]</sup>, 而这一过程受  $\alpha$ -syn、囊泡相关膜蛋白 2 (VAMP2)、突触素 (SYN) 等多种突触囊泡相关蛋白的精密调控<sup>[10-11]</sup>。基于此, 本研究拟聚焦突触囊泡循环相关蛋白, 探讨补肾活血方治疗 PD 的可能作用机制, 为其临床应用及后续深入机制研究提供实验基础。本实验已通过中国人民解放军军事科学院动物实验中心伦理委员会审批 (批准号: IACUC-JSRZ-2025-0901)。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物

SPF 级雄性 SD 大鼠 48 只, 8 周龄, 体质量 (240±20) g, 购自北京唯尚立德生物科技有限公司, 实验动物生产许可证号: SCXK (京) 2023-0004。大鼠饲养于中国人民解放军军事科学院军事认知与脑科学研究中心, 温度 23~25 °C, 相对湿度 50%~70%, 12 h 光照/12 h 黑暗循环, 自由采食普通饲料与饮水。

### 1.2 药物

补肾活血方组成: 酒萸肉 20 g、酒肉苁蓉 15 g、丹参 20 g、赤芍 15 g、石菖蒲 15 g、制远志 15 g、川芎 15 g、蜈蚣 2 g。药物由中国人民解放军总医院中药房提供, 按常规方法煎煮, 水煎后蒸馏提取并制成含生药 1.35 g/ml 的中药浓缩液, 4 °C 保存。美多芭片 (国药准字 SH10930198, 货号: YT2725, 规格 250 mg/片, 上海罗氏制药有限公司) 经研磨后, 以蒸馏水为溶剂, 配制成质量分数为 0.3 g/ml 的混悬液。

### 1.3 主要试剂与仪器

鱼藤酮、羧甲基纤维素钠 (MCE 公司, 货号分别为 HY-B1756、HY-Y0703);  $\alpha$ -syn、129 位丝氨酸磷酸化  $\alpha$ -突触核蛋白 (pSer129- $\alpha$ -syn)、VAMP2、SYN、酪氨酸羟化酶 (TH)、紧密连接蛋白 1 (ZO-1)、闭合蛋白 (Occludin)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH)、HRP 标记山羊抗兔、山羊抗兔 IgG H&L (FITC)、山羊抗兔 IgG H&L (Cy3) (Abcam 公司, 货号分别为 ab209538、ab51253、ab181869、

ab32127、ab137869、ab307799、ab216327、ab181602、ab6721、ab6717、ab97035); DAPI (Sigma 公司, 货号: D9542); 苏木素伊红染色试剂盒、DAB 显色试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司, 货号分别为 C0105S、P0202); TRIzol (Thermo Fisher 公司, 货号: 15596026CN); 反转录试剂盒、SYBR Green 荧光定量 PCR 预混液 (Vazyme 公司, 货号分别为 R223-01、Q711-02); 戊巴比妥钠 (Sigma 公司, 货号: P3761)。

病理切片机 (上海徠卡仪器有限公司, RM2016 型); 电泳仪 [伯乐生命医学产品 (上海) 有限公司, 1645070 型]; 低温高速离心机德国 (Sigma 公司, RT-6100 型); 数字切片扫描仪 (3DHISTECH 公司, Panoramic SCAN 型); 视频追踪仪 (上海欣软信息科技有限公司, XRXZ301 型); 转棒疲劳仪 (上海玉研科学仪器有限公司, YAN-ROTA 型); 微量分光光度计 (NanoDrop One 型)、实时荧光定量 PCR 仪 (QuantStudio 3 型), Thermo Fisher 公司。

### 1.4 模型制备

采用鱼藤酮灌胃给药可模拟毒素经消化道暴露的生理过程, 诱导外周肠神经系统内  $\alpha$ -syn 聚集并向中枢转运, 是研究 PD 肠-脑轴机制的理想途径<sup>[12-13]</sup>。具体造模方案为: 大鼠以 30 mg/(kg·d) 的剂量灌胃 3.0 mg/ml 鱼藤酮混悬液, 每天 1 次, 连续给药 4 周。造模后, 若大鼠出现运动迟缓、肌肉僵直、肢体震颤等典型 PD 样运动症状, 则可判定 PD 大鼠模型制备成功<sup>[12-13]</sup>。

### 1.5 分组及干预方法

采用 Excel 2021 的 RAND 函数生成随机数, 将 48 只大鼠按随机数大小排序后分为空白组、模型组、美多芭组、补肾活血方组, 每组 12 只。除空白组外, 其余各组大鼠建立 PD 模型。造模 4 周后, 除空白组外, 各组大鼠均造模成功。造模成功次日开始, 根据大鼠与人药物剂量折算等效剂量<sup>[14]</sup>, 补肾活血方组给予补肾活血方浓缩液 13.5 g/(kg·d) 灌胃; 美多芭组则予美多芭片混悬液 2 g/(kg·d) 灌胃; 空白组和模型组大鼠给予蒸馏水 10 ml/(kg·d) 灌胃。各组大鼠均每天 1 次, 连续灌胃 2 周。

### 1.6 观察指标及方法

1.6.1 大鼠一般状态及行为学观察 每日观察并记录各组大鼠体毛状态及肢体震颤、站立频次及僵直反应等行为表现。于给药第 14 天灌胃结束后采用旷场实验、转棒实验及平衡木实验评估大鼠运动协调能力<sup>[15-16]</sup>。1) 旷场实验: 适应 15 min 后记录大鼠 10 min 内运动轨迹, 分析总路程、平均速度、

中央区总路程,以评估自主活动水平和探索行为;2)转棒实验:采用300 s内从4 r/min线性增至40 r/min的加速模式,记录大鼠掉落潜伏期,用于检测运动协调与抗疲劳能力;3)平衡木实验:采用长100 cm、宽2.5 cm且距地50 cm的水平木条,记录大鼠从起始平台至暗盒的通过时间,即穿越时间,重复3次取均值,以评价精细平衡与步态控制能力。

1.6.2 取材方法 行为学检测次日,经1%戊巴比妥钠按照50 mg/kg对各组大鼠进行麻醉,0.9%氯化钠溶液行心脏灌注处理,快速剥离脑黑质及结肠组织。每组分别随机取6份脑黑质及结肠组织标本置于4%多聚甲醛溶液中固定,用于后续HE染色、免疫组化和免疫荧光检测;剩余各6份两种标本立即经液氮速冻转移至-80℃超低温冰箱保存,以备后续Western Blot和qRT-PCR实验检测。

1.6.3 HE染色观察结肠组织病理形态 每组随机选取3份结肠组织(4%多聚甲醛固定),行石蜡包埋、切片;切片经脱蜡至水后,苏木素染核5 min,盐酸酒精分化,流水返蓝;伊红染胞质2 min,梯度脱水、透明后中性树胶封片。经数字切片扫描仪采集图像,观察并分析结肠黏膜结构、上皮完整性、炎性细胞浸润及肠壁组织形态变化。

1.6.4 Western Blot法检测脑黑质与结肠组织中 $\alpha$ -syn、pSer129- $\alpha$ -syn、VAMP2、SYP蛋白水平 每组各随机选取3份脑黑质及结肠组织(-80℃冻存)50 mg,经组织匀浆、总蛋白提取、BCA定量后确定上样量。经配胶、上样、电泳、转膜后进行抗体孵育,一抗稀释比例GAPDH 1:5000, pSer129- $\alpha$ -syn 1:5000,  $\alpha$ -syn 1:20 000, VAMP2 1:10 000, SYP 1:20 000;HRP标记山羊抗兔二抗稀释比例1:5000。最后显影采集蛋白条带,使用ImageJ 1.8.0软件分析灰度,计算目的蛋白与内参GAPDH的灰度比值。

1.6.5 qRT-PCR法检测结肠与脑黑质 $\alpha$ -syn、VAMP2、SYP mRNA表达 每组各随机选取3份脑黑质及结肠组织(-80℃冻存)50 mg,分别放入加有1 ml TRIzol的EP管中,采用TRIzol法提取各组织中的RNA,然后通过微量分光光度计检测RNA的浓度与纯度。随后进行反转录:使用Oligo dT将RNA反转录为cDNA。以cDNA为模板,于实时荧光定量PCR仪上进行扩增反应,扩增条件为:95℃10 s,63℃15 s,68℃1 min,共40个循环。扩增结果用CT值表示,以GAPDH作为内参基因,采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算脑黑质和结肠组织中的 $\alpha$ -syn、

VAMP2、SYP mRNA相对表达量。引物序列由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,见表1。

表1 大鼠脑黑质及结肠组织 $\alpha$ -syn、VAMP2、SYP、GAPDH mRNA引物序列

Table 1 Primer sequences of  $\alpha$ -syn, VAMP2, SYP, and GAPDH mRNA in the substantia nigra and colon tissues of rats

| 引物名称          | 引物序列 (5'-3')                | 长度/bp |
|---------------|-----------------------------|-------|
| $\alpha$ -syn | 上游: TGTGCTTTCTCTCCCTCTCTG   | 21    |
|               | 下游: ACAACACTTCGTGCAGCCACC   | 20    |
| VAMP2         | 上游: GGAGATTGCTGACCATCATCA   | 21    |
|               | 下游: TCTTCTGCTGCTGTTCTGT     | 20    |
| SYP           | 上游: GAGCCAAGATCAACGACAA     | 19    |
|               | 下游: TCCAGCATCATCCAGAACA     | 19    |
| GAPDH         | 上游: AGGTCGGTGTGAACGGATTTC   | 21    |
|               | 下游: TCTAGACCATGTAGTTGAGGTCA | 23    |

注: $\alpha$ -syn, $\alpha$ -突触核蛋白;VAMP2,囊泡相关膜蛋白2;SYP,突触素;GAPDH,甘油醛-3-磷酸脱氢酶。

1.6.6 免疫组化法检测脑黑质和结肠组织中 $\alpha$ -syn表达 每组各随机选取3份脑黑质及结肠组织(4%多聚甲醛固定),石蜡包埋、切片后,依次进行脱蜡、抗原修复及阻断内源性过氧化物酶。滴加 $\alpha$ -syn一抗(1:10 000)4℃孵育过夜;随后以HRP标记二抗(1:5000)孵育,经DAB显色、苏木素复染后完成封片。经数字切片扫描仪采集图像,ImageJ 1.8.0软件分析阳性染色平均光密度值,评价 $\alpha$ -syn表达水平。

1.6.7 免疫荧光染色法检测结肠组织ZO-1、Occludin和脑黑质TH水平 每组各随机选取3份脑黑质及结肠组织(4%多聚甲醛固定),依次进行脱蜡、抗原修复、BSA封闭后,分别滴加ZO-1(1:1000)、Occludin(1:200)及TH一抗(1:500)4℃孵育过夜;随后以荧光二抗(1:2000)避光孵育,DAPI复染、封片。经数字切片扫描仪采集图像,ImageJ 1.8.0软件分析阳性荧光平均光密度值,评价蛋白水平。

## 1.7 统计学方法

采用SPSS 26.0软件进行统计分析。计量资料均符合正态分布,用均值 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较,方差齐时采用LSD检验,方差不齐时采用Dunnett's  $T_3$ 检验。取双侧 $\alpha=0.05$ 为检验水准。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠一般状态及行为学结果比较

空白组大鼠摄食、自主活动及毛发均未见异常。模型组大鼠则呈现典型的进行PD样表现,出现反应迟钝、运动迟缓、四肢及头部静止性震颤,

伴有摄食减少和毛发干枯泛黄、竖毛的外观改变，且上述症状随造模时间延长呈进行性加重。与模型组比较，补肾活血方组与美多芭组大鼠的摄食行为均有改善，自主活动能力提升，典型震颤的频率与幅度降低，皮毛干枯、竖毛现象得到缓解，毛发色泽有所恢复。

表 2 示，与空白组比较，模型组大鼠旷场实验总路程缩短，平均速度下降，中央区总路程及转棒实验掉落潜伏期缩短，平衡木实验穿越时间增加 ( $P<0.05$ )；与模型组比较，美多芭组及补肾活血方组大鼠旷场实验总路程延长，平均速度上升，中央区总路程及转棒实验掉落潜伏期延长，平衡木实验穿越时间缩短 ( $P<0.05$ )；与美多芭组比较，补肾活血方组大鼠旷场实验总路程延长，旷场实验平均速度上升，中央区总路程和转棒实验掉落潜伏期延长 ( $P<0.05$ )。

2.2 各组大鼠结肠组织病理形态学观察

图 1 示，空白组中结肠组织结构层次清晰，黏膜上皮细胞排列紧密、整齐，未见坏死脱落；黏膜层内含有大量大肠腺，肠腺间隙大小均匀，肠腺内可见丰富的杯状细胞；黏膜肌层、肌层厚度大小均匀，未见增生或萎缩；组织内未见炎症、坏死、纤维组织增生，未见水肿、出血等病理性改变，组织形态结构正常。模型组中肠组织黏膜层内局部可见

坏死，部分肠腺消失，纤维组织增生伴有大量炎性细胞浸润；黏膜下层纤维结缔组织增生，组织间隙增大，组织排列略疏松；组织内未见水肿、出血等病理性改变。美多芭组中肠组织黏膜层内局部肠腺间隙内可见少量纤维组织增生，伴有少量炎性细胞弥散性浸润；黏膜下层内少量纤维结缔组织增生，组织间隙轻度增大；组织内未见明显坏死、出血、水肿等病理性改变。补肾活血方组中肠组织黏膜层局部可见部分肠腺间隙内少量纤维组织轻度增生，肠腺间隙轻度增大，伴有少数炎性细胞弥散性浸润；组织内未见坏死、出血、水肿等病理性改变。

2.3 各组大鼠脑黑质与结肠组织中  $\alpha$ -syn、pSer129- $\alpha$ -syn、VAMP2、SYP 蛋白水平比较

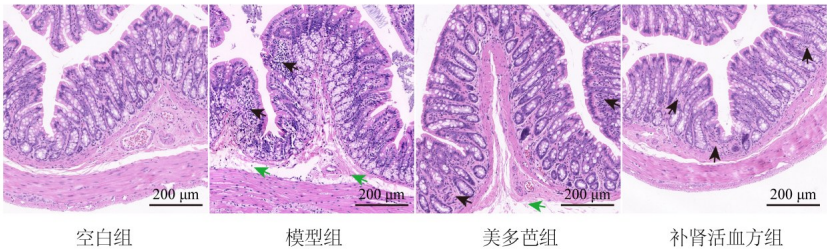
表 3、表 4 示，与空白组比较，模型组脑黑质及结肠组织中 pSer129- $\alpha$ -syn、 $\alpha$ -syn 蛋白水平升高，VAMP2、SYP 蛋白水平降低 ( $P<0.05$ )。与模型组比较，补肾活血方组和美多芭组脑黑质及结肠组织中 pSer129- $\alpha$ -syn、 $\alpha$ -syn 蛋白水平降低，VAMP2、SYP 蛋白水平升高 ( $P<0.05$ )。与美多芭组比较，补肾活血方组脑黑质中 pSer129- $\alpha$ -syn、 $\alpha$ -syn 蛋白水平降低，VAMP2 蛋白水平升高；补肾活血方组结肠组织中 SYP 蛋白水平升高 ( $P<0.05$ )。各组大鼠脑黑质与结肠组织中 VAMP2、 $\alpha$ -syn、pSer129- $\alpha$ -syn、SYP 蛋白电泳图见图 2。

表 2 各组大鼠旷场实验、转棒实验、平衡木实验指标比较

Table 2 Comparison of indicators in the open field test, rotarod test, and balance beam test among different groups of rats ( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别     | 鼠数 | 旷场实验                              |                            |                                | 转棒实验掉落潜伏期/s                    | 平衡木实验穿越时间/s              |
|--------|----|-----------------------------------|----------------------------|--------------------------------|--------------------------------|--------------------------|
|        |    | 总路程/mm                            | 平均速度/mm·s <sup>-1</sup>    | 中央区总路程/mm                      |                                |                          |
| 空白组    | 12 | 44 294.35±5835.38                 | 73.86±9.69                 | 2579.00±111.75                 | 2579.00±111.75                 | 4.97±1.10                |
| 模型组    | 12 | 17 317.10±3352.50 <sup>a)</sup>   | 28.87±5.59 <sup>a)</sup>   | 596.83±94.54 <sup>a)</sup>     | 596.83±94.54 <sup>a)</sup>     | 14.95±1.33 <sup>a)</sup> |
| 美多芭组   | 12 | 24 963.68±2493.15 <sup>b)</sup>   | 41.61±4.15 <sup>b)</sup>   | 1568.49±93.91 <sup>b)</sup>    | 1568.49±93.91 <sup>b)</sup>    | 8.08±0.51 <sup>b)</sup>  |
| 补肾活血方组 | 12 | 32 217.34±4450.50 <sup>b)c)</sup> | 53.71±7.41 <sup>b)c)</sup> | 2079.30±111.97 <sup>b)c)</sup> | 2079.30±111.97 <sup>b)c)</sup> | 7.71±0.97 <sup>b)</sup>  |

注：a) 与空白组比较， $P<0.05$ ；b) 与模型组比较， $P<0.05$ ；c) 与美多芭组比较， $P<0.05$ 。



注：黑色箭头示黏膜层纤维组织增生、炎性细胞浸润；绿色箭头示黏膜下层纤维结缔组织增生、组织间隙增大。

图 1 各组大鼠结肠组织 HE 染色病理形态学结果 (×20)

Figure 1 Histopathological and morphological results of HE staining in colon tissues of rats from different groups (×20)

表 3 各组大鼠脑黑质中 VAMP2、 $\alpha$ -syn、pSer129- $\alpha$ -syn、SYP 蛋白水平比较

Table 3 Comparison of VAMP2,  $\alpha$ -syn, pSer129- $\alpha$ -syn, and SYP protein levels in the substantia nigra of rats among different groups ( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别     | 鼠数 | VAMP2                            | $\alpha$ -syn                    | pSer129- $\alpha$ -syn           | SYP                           |
|--------|----|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------|
| 空白组    | 3  | 1.00 $\pm$ 0.01                  | 1.00 $\pm$ 0.02                  | 1.00 $\pm$ 0.05                  | 1.00 $\pm$ 0.02               |
| 模型组    | 3  | 0.58 $\pm$ 0.01 <sup>a)</sup>    | 1.80 $\pm$ 0.01 <sup>a)</sup>    | 1.65 $\pm$ 0.09 <sup>a)</sup>    | 0.60 $\pm$ 0.01 <sup>a)</sup> |
| 美多芭组   | 3  | 0.74 $\pm$ 0.01 <sup>b)</sup>    | 1.58 $\pm$ 0.02 <sup>b)</sup>    | 1.35 $\pm$ 0.10 <sup>b)</sup>    | 0.92 $\pm$ 0.02 <sup>b)</sup> |
| 补肾活血方组 | 3  | 0.87 $\pm$ 0.02 <sup>b) c)</sup> | 1.39 $\pm$ 0.01 <sup>b) c)</sup> | 1.17 $\pm$ 0.06 <sup>b) c)</sup> | 0.93 $\pm$ 0.05 <sup>b)</sup> |

注：VAMP2，囊泡相关膜蛋白 2； $\alpha$ -syn， $\alpha$ -突触核蛋白；pSer129- $\alpha$ -syn，丝氨酸 129 位点磷酸化  $\alpha$ -突触核蛋白；SYP，突触素。

a) 与空白组比较， $P<0.05$ ；b) 与模型组比较， $P<0.05$ ；c) 与美多芭组比较， $P<0.05$ 。

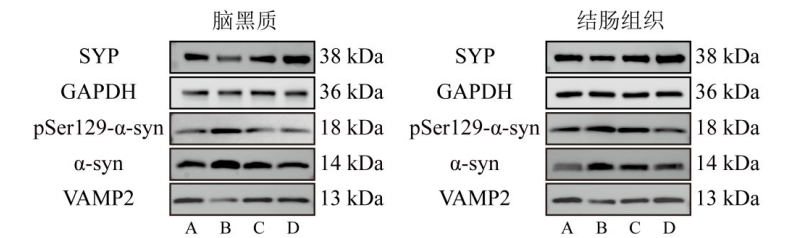
表 4 各组大鼠结肠组织中 VAMP2、 $\alpha$ -syn、pSer129- $\alpha$ -syn、SYP 蛋白水平比较

Table 4 Comparison of VAMP2,  $\alpha$ -syn, pSer129- $\alpha$ -syn, and SYP protein levels in the colon tissues of rats among different groups ( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别     | 鼠数 | VAMP2                         | $\alpha$ -syn                 | pSer129- $\alpha$ -syn        | SYP                              |
|--------|----|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|
| 空白组    | 3  | 1.00 $\pm$ 0.03               | 1.00 $\pm$ 0.01               | 1.00 $\pm$ 0.04               | 1.00 $\pm$ 0.03                  |
| 模型组    | 3  | 0.46 $\pm$ 0.04 <sup>a)</sup> | 1.45 $\pm$ 0.09 <sup>a)</sup> | 2.39 $\pm$ 0.16 <sup>a)</sup> | 0.46 $\pm$ 0.04 <sup>a)</sup>    |
| 美多芭组   | 3  | 0.83 $\pm$ 0.07 <sup>b)</sup> | 1.02 $\pm$ 0.04 <sup>b)</sup> | 1.27 $\pm$ 0.11 <sup>b)</sup> | 0.83 $\pm$ 0.07 <sup>b)</sup>    |
| 补肾活血方组 | 3  | 0.95 $\pm$ 0.03 <sup>b)</sup> | 1.04 $\pm$ 0.05 <sup>b)</sup> | 1.11 $\pm$ 0.03 <sup>b)</sup> | 0.95 $\pm$ 0.03 <sup>b) c)</sup> |

注：VAMP2，囊泡相关膜蛋白 2； $\alpha$ -syn， $\alpha$ -突触核蛋白；pSer129- $\alpha$ -syn，丝氨酸 129 位点磷酸化  $\alpha$ -突触核蛋白；SYP，突触素。

a) 与空白组比较， $P<0.05$ ；b) 与模型组比较， $P<0.05$ ；c) 与美多芭组比较， $P<0.05$ 。



注：A，空白组；B，模型组；C，美多芭组；D，补肾活血方组；SYP，突触素；GAPDH，甘油醛-3-磷酸脱氢酶；pSer129- $\alpha$ -syn，丝氨酸 129 位点磷酸化  $\alpha$ -突触核蛋白； $\alpha$ -syn， $\alpha$ -突触核蛋白；VAMP2，囊泡相关膜蛋白 2。

图 2 各组大鼠脑黑质与结肠组织中 VAMP2、 $\alpha$ -syn、pSer129- $\alpha$ -syn、SYP 蛋白电泳图

Figure 2 Electrophoresis images of VAMP2,  $\alpha$ -syn, pSer129- $\alpha$ -syn, and SYP proteins in the substantia nigra and colon tissues of rats from different groups

## 2.4 各组大鼠脑黑质与结肠组织中 $\alpha$ -syn、VAMP2、SYP mRNA 表达比较

表 5 示，与空白组比较，模型组脑黑质及结肠组织中  $\alpha$ -syn mRNA 表达升高，VAMP2、SYP mRNA

表达降低 ( $P<0.05$ )。与模型组比较，美多芭组、补肾活血方组脑黑质及结肠组织中  $\alpha$ -syn mRNA 表达降低，VAMP2、SYP mRNA 表达升高 ( $P<0.05$ )。与美多芭组比较，补肾活血方组结肠组织中 SYP

表 5 各组大鼠脑黑质 VAMP2、 $\alpha$ -syn、SYP mRNA 表达比较

Table 5 Comparison of VAMP2,  $\alpha$ -syn, and SYP mRNA expression in the substantia nigra of rats among different groups ( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别     | 鼠数 | 脑黑质                           |                               |                               | 结肠组织                          |                               |                                  |
|--------|----|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|----------------------------------|
|        |    | $\alpha$ -syn                 | VAMP2                         | SYP                           | $\alpha$ -syn                 | VAMP2                         | SYP                              |
| 空白组    | 6  | 1.00 $\pm$ 0.07               | 1.00 $\pm$ 0.06               | 1.00 $\pm$ 0.05               | 1.00 $\pm$ 0.07               | 1.00 $\pm$ 0.06               | 1.00 $\pm$ 0.06                  |
| 模型组    | 6  | 2.38 $\pm$ 0.20 <sup>a)</sup> | 0.55 $\pm$ 0.04 <sup>a)</sup> | 0.56 $\pm$ 0.04 <sup>a)</sup> | 2.37 $\pm$ 0.19 <sup>a)</sup> | 0.60 $\pm$ 0.05 <sup>a)</sup> | 0.57 $\pm$ 0.04 <sup>a)</sup>    |
| 美多芭组   | 6  | 1.40 $\pm$ 0.08 <sup>b)</sup> | 0.83 $\pm$ 0.14 <sup>b)</sup> | 0.82 $\pm$ 0.12 <sup>b)</sup> | 1.30 $\pm$ 0.09 <sup>b)</sup> | 0.80 $\pm$ 0.10 <sup>b)</sup> | 0.71 $\pm$ 0.04 <sup>b)</sup>    |
| 补肾活血方组 | 6  | 1.25 $\pm$ 0.08 <sup>b)</sup> | 0.77 $\pm$ 0.07 <sup>b)</sup> | 0.78 $\pm$ 0.07 <sup>b)</sup> | 1.24 $\pm$ 0.08 <sup>b)</sup> | 0.77 $\pm$ 0.06 <sup>b)</sup> | 0.78 $\pm$ 0.07 <sup>b) c)</sup> |

注： $\alpha$ -syn， $\alpha$ -突触核蛋白；VAMP2，囊泡相关膜蛋白 2；SYP，突触素。

a) 与空白组比较， $P<0.05$ ；b) 与模型组比较， $P<0.05$ ；c) 与美多芭组比较， $P<0.05$ 。

mRNA 表达升高 ( $P<0.05$ )。

2.5 各组大鼠脑黑质与结肠组织中  $\alpha$ -syn 免疫组化结果比较

表 6 示, 与空白组比较, 模型组大鼠脑黑质与结肠组织中  $\alpha$ -syn 相对积分光密度值升高 ( $P<0.05$ )。与模型组比较, 美多芭组、补肾活血方组大鼠脑黑质与结肠组织中  $\alpha$ -syn 相对积分光密度值降低 ( $P<0.05$ )。美多芭组、补肾活血方组组间比较差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。各组大鼠结肠与脑黑质组织中  $\alpha$ -syn 表达见图 3。

表 6 各组大鼠脑黑质和结肠组织中  $\alpha$ -syn 免疫组化相对积分光密度值比较

Table 6 Comparison of relative integrated optical density values of  $\alpha$ -syn immunohistochemistry in the substantia nigra and colon tissues of rats among ( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别     | 鼠数 | 脑黑质 $\alpha$ -syn        | 结肠组织 $\alpha$ -syn      |
|--------|----|--------------------------|-------------------------|
| 空白组    | 6  | 1.00±0.14                | 1.00±0.09               |
| 模型组    | 6  | 18.86±6.04 <sup>a)</sup> | 4.41±0.03 <sup>a)</sup> |
| 美多芭组   | 6  | 1.51±0.25 <sup>b)</sup>  | 1.69±0.16 <sup>b)</sup> |
| 补肾活血方组 | 6  | 1.46±0.08 <sup>b)</sup>  | 1.74±0.20 <sup>b)</sup> |

注:  $\alpha$ -syn,  $\alpha$ -突触核蛋白。  
a) 与空白组比较,  $P<0.05$ ; b) 与模型组比较,  $P<0.05$ 。

2.6 各组大鼠结肠组织 ZO-1、Occludin 和脑黑质中 TH 水平比较

表 7 示, 与空白组比较, 模型组大鼠结肠组织 ZO-1、Occludin 相对荧光强度及脑黑质中 TH 相对荧光强度均降低 ( $P<0.05$ )。与模型组比较, 美多芭组、补肾活血方组大鼠结肠组织 ZO-1、Occludin 相

对荧光强度和脑黑质组织中 TH 相对荧光强度均升高 ( $P<0.05$ )。与美多芭组比较, 补肾活血方组结肠组织中 ZO-1、脑黑质组织中 TH 相对荧光强度升高 ( $P<0.05$ )。各组大鼠结肠组织 ZO-1 与 Occludin、脑黑质中 TH 表达免疫荧光图见图 4、图 5。

表 7 各组大鼠结肠组织 ZO-1、Occludin 和脑黑质 TH 免疫荧光相对荧光强度比较

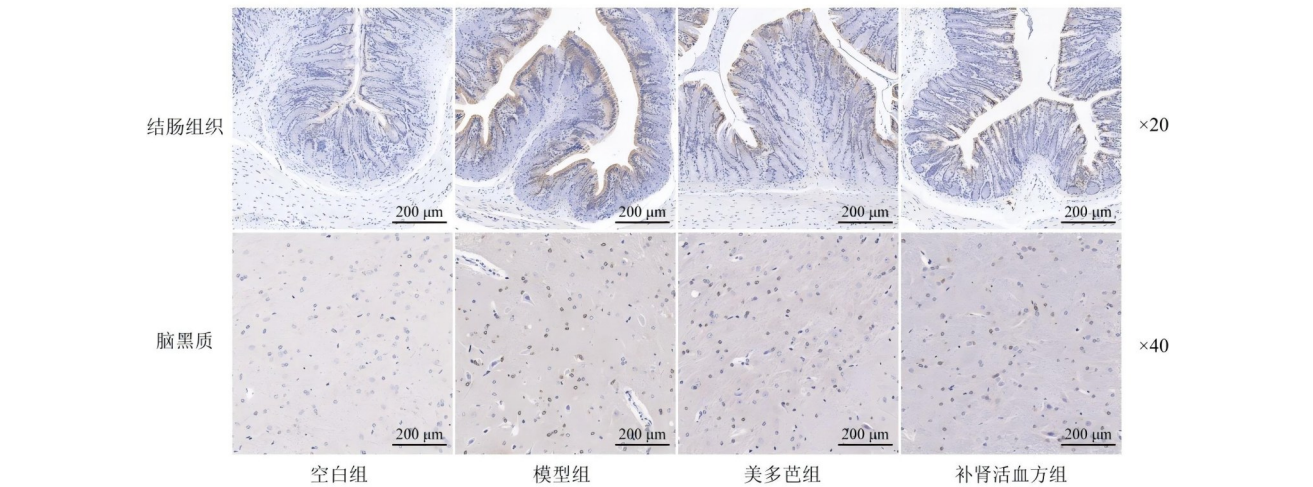
Table 7 Comparison of relative fluorescence intensity of ZO-1 and Occludin in colon tissues and TH in the substantia nigra of rats among different groups ( $\bar{x}\pm s$ )

| 组别     | 鼠数 | 结肠组织                       |                         | 脑黑质 TH                     |
|--------|----|----------------------------|-------------------------|----------------------------|
|        |    | ZO-1                       | Occludin                |                            |
| 空白组    | 3  | 1.00±0.03                  | 1.00±0.04               | 1.00±0.07                  |
| 模型组    | 3  | 0.33±0.02 <sup>a)</sup>    | 0.50±0.06 <sup>a)</sup> | 0.18±0.02 <sup>a)</sup>    |
| 美多芭组   | 3  | 0.50±0.01 <sup>b)</sup>    | 0.76±0.05 <sup>b)</sup> | 0.28±0.01 <sup>b)</sup>    |
| 补肾活血方组 | 3  | 0.63±0.02 <sup>b) c)</sup> | 0.77±0.06 <sup>b)</sup> | 0.46±0.05 <sup>b) c)</sup> |

注: ZO-1, 紧密连接蛋白 1; Occludin, 闭合蛋白; TH, 酪氨酸羟化酶。  
a) 与空白组比较,  $P<0.05$ ; b) 与模型组比较,  $P<0.05$ ; c) 与美多芭组比较,  $P<0.05$ 。

3 讨论

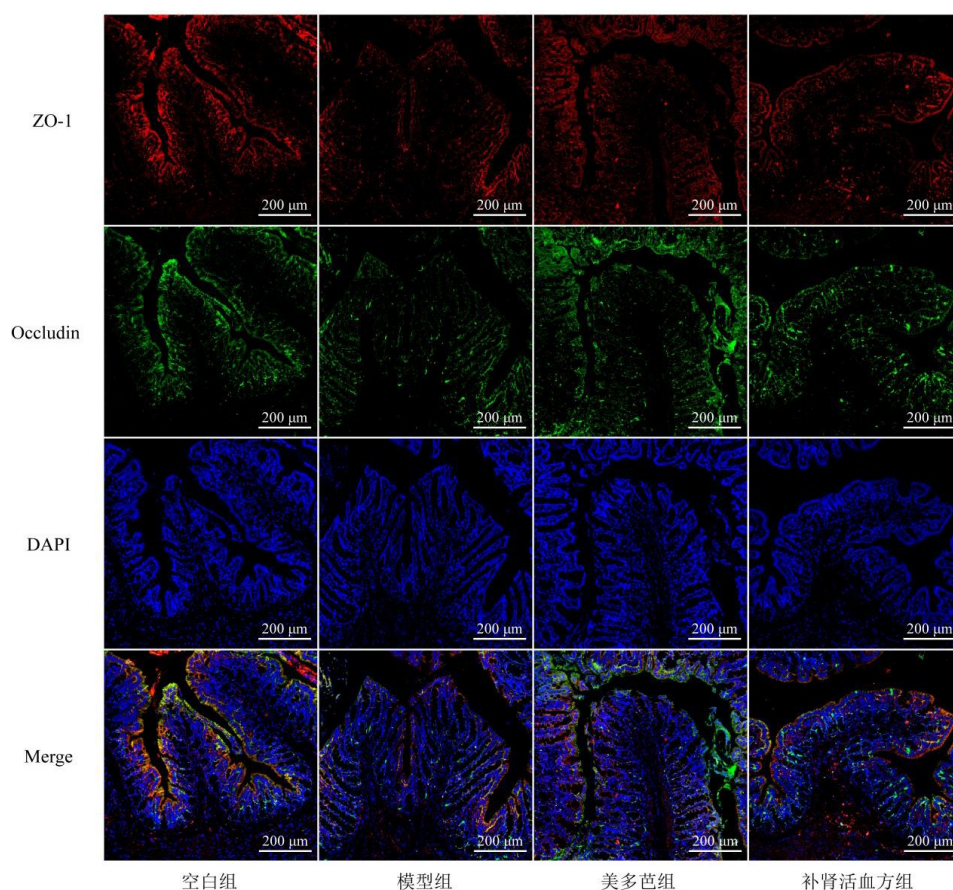
PD 是常见的神经退行性疾病, 其病理特征为中脑黑质致密部多巴胺能神经元变性丢失及中枢及周围神经元内  $\alpha$ -syn 异常聚集<sup>[17]</sup>。 $\alpha$ -syn 在中枢黑质与外周结肠组织中的异常沉积, 不仅会直接损伤多巴胺能神经元, 还可能通过肠-脑轴通路介导中枢与外周的病理联动, 加速疾病进展<sup>[18]</sup>。PD 患者普遍存在肠道菌群失调, 常见的胃肠功能障碍是胃



注: 黑色箭头示黏膜层纤维组织增生、炎性细胞浸润; 绿色箭头示黏膜下层纤维结缔组织增生、组织间隙增大。

图 3 各组大鼠结肠与脑黑质组织中  $\alpha$ -syn 表达 (免疫组化)

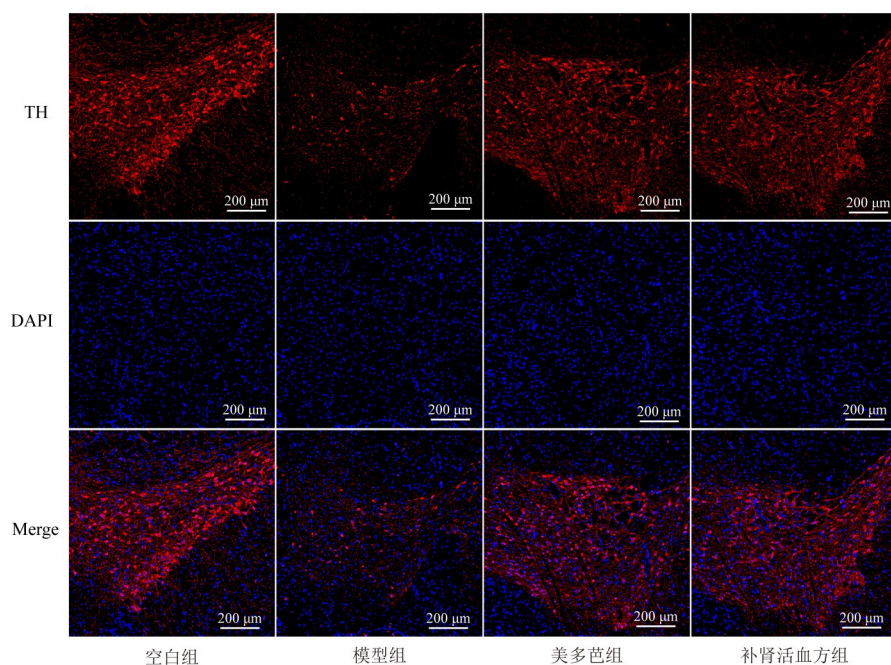
Figure 3 Expression of  $\alpha$ -syn in the colon and substantia nigra tissues of rats from different groups (Immunohistochemical)



注：ZO-1，紧密连接蛋白1；Occludin，闭合蛋白；DAPI，4',6-二脒基-2-苯基吡啶；Merge，为ZO-1、Occludin、DAPI的合并图。

图4 各组大鼠结肠组织中ZO-1与Occludin表达（免疫荧光，×20）

Figure 4 Expression of ZO-1 and Occludin in colon tissues of rats from different groups (Immunofluorescence, ×20)



注：TH，酪氨酸羟化酶；DAPI，4',6-二脒基-2-苯基吡啶；Merge，为TH、DAPI的合并图。

图5 各组大鼠脑黑质中TH表达（免疫荧光，×15）

Figure 5 Expression of TH in the substantia nigra of rats from different groups (Immunofluorescence, ×15)

排空延迟、便秘等，与PD病情进展密切相关。通过干预肠-脑轴调控肠道微生态及免疫炎症反应，可能成为PD治疗的方向<sup>[19]</sup>。本课题组基于PD肾虚血瘀核心病机拟定的补肾活血方可以调补肾精以充髓海，通利血脉以行瘀滞，开窍醒神以益元神，润肠通便以开肾关，通补兼施、涩利并行，共奏补肾活血之功。方中肉苁蓉补肾益精、润肠通便，丹参活血通脉，二者共为君；赤芍助丹参散瘀兼能养血；山萸肉补益肝肾、熄风润燥；石菖蒲、远志开窍通脑、醒神益智；蜈蚣平肝熄风、化瘀散结，诸药合用以达补肾填精、活血化瘀之效。

本研究结果显示，模型组大鼠出现典型的进行性PD样运动障碍及外观改变，行为学结果进一步显示其自主运动、探索能力及肢体平衡协调功能均明显受损，提示造模成功。补肾活血方和美多芭干预后，大鼠进食、自主活动及皮毛外观均明显改善，大鼠运动活力、平衡控制能力显著增强，说明运动功能障碍得到有效缓解，可为临床运用补肾活血方治疗帕金森病运动障碍提供依据。

$\alpha$ -syn 参与囊泡循环，促进突触小泡聚集和可溶性 N-乙基马来酰亚胺敏感因子附着蛋白受体 (SNARE) 复合物组装，调节多巴胺等神经递质的释放<sup>[20]</sup>。pSer129- $\alpha$ -syn 是  $\alpha$ -syn 在第 129 位丝氨酸 (Ser129) 发生磷酸化的翻译后修饰形式，是 PD 特征性病理标志<sup>[21]</sup>。VAMP2 是 SNARE 复合物的一种成分，存在于突触小泡上，通过带电残基直接与  $\alpha$ -syn 的 C-末端区域相互作用<sup>[20]</sup>。VAMP2 与  $\alpha$ -syn 的相互作用可抑制胞质内  $\alpha$ -syn 形成富含  $\beta$  片层结构的淀粉样纤维，当  $\alpha$ -syn 发生异常聚集与折叠并形成大寡聚体及淀粉样纤维时，其无法正常结合突触囊泡，进而导致突触功能受损<sup>[21-22]</sup>。SYP 为突触小泡膜上的跨膜蛋白，参与突触囊泡的形成、循环与转运，可作为反映突触密度与突触可塑性水平的重要指标<sup>[23]</sup>。因此， $\alpha$ -syn、VAMP2 及 SYP 表达异常可加剧突触结构与功能损伤，导致多巴胺等神经递质释放障碍，加速 PD 的病理进展。

本研究结果显示，一方面 PD 模型大鼠脑黑质及结肠组织中  $\alpha$ -syn、pSer129- $\alpha$ -syn 均出现异常聚集增多，其聚集水平升高会进一步加剧蛋白质错误折叠与沉积，形成病理恶性循环，影响多巴胺能神经元的功能，导致脑黑质 TH 表达降低，进而减少多巴胺分泌，引发 PD 特征性的运动功能障碍；另一方面  $\alpha$ -syn 沉积于结肠组织，肠上皮 ZO-1、Occludin 的表达降低，破坏肠道屏障，造成结肠组织病理损

伤。而补肾活血方和美多芭干预后，可下调脑黑质及结肠组织中  $\alpha$ -syn、pSer129- $\alpha$ -syn 的异常聚集，同时提高脑黑质 TH 表达水平，提示补肾活血方可通过抑制  $\alpha$ -syn 病理聚集，减轻多巴胺能神经元损伤。并且，补肾活血方在降低脑黑质 pSer129- $\alpha$ -syn、 $\alpha$ -syn 蛋白水平和升高 VAMP2 蛋白水平，升高结肠组织 SYP 蛋白水平及其 mRNA 表达，升高结肠组织中 ZO-1、脑黑质组织中 TH 水平方面优于美多芭，但具体机制需进一步验证。

综上所述，补肾活血方可能通过改善脑黑质与结肠组织的突触囊泡相关蛋白表达，调控突触囊泡循环，修复肠道屏障及神经元突触功能，进而改善 PD 模型大鼠的运动功能障碍，为补肾活血方治疗 PD 提供了重要实验依据。但本研究造模方式比较单一，无法充分复刻 PD 临床复杂病理进程；且未设置梯度给药组别，药物量效关系尚不明确。未来将进一步完善研究设计，并结合细胞实验深入探究相关信号通路调控机制，为补肾活血方的临床应用提供实验基础依据。

## 参考文献

- [1] Treviño M, Guerra-Crespo M, Padilla-Godínez F J, et al. Synaptic vesicle disruption in Parkinson's disease: dual roles of  $\alpha$ -synuclein and emerging therapeutic targets [J]. Brain Sci, 2025, 16(1): 7.
- [2] Takahashi R, Yamakado H, Uemura N, et al. The gut-brain axis based on  $\alpha$ -synuclein propagation-clinical, neuropathological, and experimental evidence [J]. Int J Mol Sci, 2025, 26(9): 3994.
- [3] 姜立刚, 李海平, 李威. 美多巴单用及联合普拉克索治疗帕金森病的疗效和安全性比较 [J]. 中国老年学杂志, 2016, 36(2): 424-442.
- [4] 李敏, 杨明会. 补肾活血法治疗帕金森病患者 30 例临床研究 [J]. 西部中医药, 2013, 26(3): 1-3.
- [5] 李敏, 杨明会, 刘毅, 等. 补肾活血颗粒治疗帕金森病运动并发症临床研究 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 26(6): 1296-1299.
- [6] 李敏, 栾振先, 王鹏, 等. 从“肠-脑轴”角度探讨补肾活血法治疗帕金森病 [J]. 中华中医药学刊, 2023, 41(6): 143-146, 270.
- [7] 王鹏, 张崇耀, 耿小涵, 等. 补肾活血颗粒对帕金森病小胶质细胞免疫调节的作用机制研究 [J]. 中华中医药杂志, 2026, 41(1): 193-198.
- [8] 孙和昊, 湛盈帆, 王鹏, 等. 补肾活血颗粒对帕金森病模型小鼠脑纹状体多巴胺稳态及 ERK/CREB/VMAT2 信号通路的影响 [J]. 中医杂志, 2025, 66(23): 2484-2493.
- [9] 陈琦, 王鹏, 湛盈帆, 等. 补肾活血颗粒对帕金森病模

- 型小鼠大脑黑质 Nrf2/NLRP3 炎症小体轴的影响[J]. 中医杂志, 2025, 66(4): 390-398.
- [10]刘聪聪,孟兰霞,张振涛.  $\alpha$ -突触核蛋白在突触囊泡循环中的作用研究进展[J]. 卒中与神经疾病, 2022, 29(6): 582-584.
- [11]Wang C, Zhang K, Cai B, et al. VAMP2 chaperones  $\alpha$ -synuclein in synaptic vesicle co-condensates [J]. Nat Cell Biol, 2024, 26(8): 1287-1295.
- [12]李亚楠, 马骏, 余沛豪, 等. 鱼藤酮帕金森病模型的建立与评价[J]. 中华中医药学刊, 2020, 38(3): 175-179, 272-273.
- [13]毛美玲, 关银瑞, 闫咏梅, 等. 鱼藤酮致帕金森病模型的最佳造模方法探讨[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20(9): 1611-1616.
- [14]陈奇. 中药药理研究方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 1141-1143.
- [15]胡毅龙, 赵怡楠, 苗晋鑫, 等. 大小鼠帕金森病行为学评价方法概述及常用动物模型特点分析[J]. 中国实验动物学报, 2024, 32(7): 942-954.
- [16]余琦琦, 董雯. 神经退行性疾病动物模型及行为学评价的研究进展[J]. 牡丹江医科大学学报, 2025, 46(6): 138-141, 166.
- [17]Tanner C M, Ostrem J L. Parkinson's disease [J]. N Engl J Med, 2024, 391(5): 442-452.
- [18]Borghammer P, van den Berge N. Brain-first versus gut-first Parkinson's disease: a hypothesis [J]. J Parkinson Dis, 2019, 9(s2): S281-S295.
- [19]Travagli R A, Browning K N, Camilleri M. Parkinson disease and the gut: new insights into pathogenesis and clinical relevance [J]. Nat Rev Gastroenterol Hepatol, 2020, 17(11): 673-685.
- [20]Gao V, Briano J A, Komer L E, et al. Functional and pathological effects of  $\alpha$ -synuclein on synaptic SNARE complexes [J]. J Mol Biol, 2023, 435(1): 167714.
- [21]Li B, Xiao X, Bi M, et al. Modulating  $\alpha$ -synuclein propagation and decomposition: implications in Parkinson's disease therapy [J]. Age Res Rev, 2024, 98: 102319. DOI:10.1016/j.arr.2024.102319.
- [22]Agarwal A, Chandran A, Raza F, et al. VAMP2 regulates phase separation of  $\alpha$ -synuclein [J]. Nat Cell Biol, 2024, 26(8): 1296-1308.
- [23]Burré J, Sharma M, Südhof T C. Cell biology and pathophysiology of  $\alpha$ -synuclein [J]. Cold Spring Harb Perspect Med, 2018, 8(3): a024091.

### Effects of *Bushen Huoxue Formulation* (补肾活血方) on Synaptic Vesicle-Associated Proteins in Neurons and the Intestinal Barrier in Parkinson's Disease Model Rats

WEI Naxin<sup>1</sup>, CHEN Yingfan<sup>2</sup>, QI Xiaorong<sup>2</sup>, ZHANG Qian<sup>1</sup>, GENG Xiaohan<sup>1</sup>, ZHANG Yuzhi<sup>1</sup>, LI Min<sup>2</sup>

1. Graduate School, Chinese People's Liberation Army General Hospital, Beijing, 100853; 2. Department of Traditional Chinese Medicine, the Sixth Medical Center, Chinese People's Liberation Army General Hospital

**ABSTRACT Objective** To investigate the potential mechanisms underlying the therapeutic effects of *Bushen Huoxue Formulation* (补肾活血方, BSHXF) in Parkinson's disease (PD) from the perspectives of synaptic vesicle cycling and intestinal barrier function. **Methods** Forty-eight male SD rats were randomly divided into four groups, control group, model group, Madopar group, and BSHXF group, with 12 rats in each group. Except for the control group, rats were administered rotenone by gavage once daily for 4 consecutive weeks to establish a PD rat model. After successful modeling, rats in the BSHXF group received concentrated BSHXF solution by gavage at a dose of 13.5 g/(kg·d), while rats in the Madopar group received Madopar tablet suspension at 2 g/(kg·d). Rats in the control group and the model group were administered distilled water by gavage at 10 ml/(kg·d). All groups received continuous gavage treatment for 2 weeks. Motor function was evaluated using the open field test (total distance traveled, average speed, and total distance traveled in the central zone), rotarod test (latency to fall), and balance beam test (traversal time). Histopathological changes in colon tissues were observed by HE staining. Western Blotting was used to detect the protein levels of  $\alpha$ -synuclein ( $\alpha$ -syn), phosphorylated serine 129  $\alpha$ -synuclein (pSer129- $\alpha$ -syn), vesicle-associated membrane protein 2 (VAMP2), and synaptophysin (SYP) in the substantia nigra and colon tissues. The mRNA expression levels of  $\alpha$ -syn, VAMP2, and SYP were detected by RT-PCR, and  $\alpha$ -syn expression was examined by immunohistochemistry. Immunofluorescence staining was performed to assess the levels of tight junction protein 1 (ZO-1) and occludin in colon tissues, as well as tyrosine hydroxylase (TH) levels in substantia nigra tissues. **Results**

Compared with the control group, rats in the model group showed reduced total distance traveled, average speed, and central-zone distance in the open field test, decreased latency to fall in the rotarod test, and prolonged traversal

time in the balance beam test. The protein levels of pSer129- $\alpha$ -syn and  $\alpha$ -syn, as well as  $\alpha$ -syn mRNA expression were increased in the substantia nigra and colon tissues, whereas the protein and mRNA expression levels of VAMP2 and SYP were decreased. The relative integrated optical density of  $\alpha$ -syn in the substantia nigra and colon tissues was increased, while the relative fluorescence intensities of ZO-1 and occludin in colon tissues and TH in the substantia nigra were decreased ( $P < 0.05$ ). HE staining showed focal necrosis in the mucosal layer of colon tissues, disappearance of some intestinal glands, extensive inflammatory cell infiltration, and proliferation of fibrous connective tissue in the submucosa. Compared with the model group, both the Madopar group and BSHXF group showed varying degrees of improvement in the above indicators ( $P < 0.05$ ). Pathological damage in colon tissues was also alleviated, with only mild fibrous tissue proliferation and limited diffuse inflammatory cell infiltration observed in the mucosal layer. Compared with the Madopar group, rats in the BSHXF group exhibited increased average speed, central-zone distance, and latency to fall in the rotarod test. The levels of pSer129- $\alpha$ -syn and  $\alpha$ -syn proteins in the substantia nigra were decreased, while VAMP2 protein expression was increased. In colon tissues, SYP protein levels and mRNA expression were elevated. The relative fluorescence intensity of ZO-1 in colon tissues and TH in substantia nigra tissues was also increased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** BSHXF may improve motor dysfunction in PD by regulating synaptic vesicle cycling, restoring intestinal barrier integrity, and improving neuronal synaptic function through modulation of synaptic vesicle-associated protein expression in the substantia nigra and colon tissues.

**Keywords** Parkinson's disease; gut-brain axis; synaptic vesicles; intestinal barrier;  $\alpha$ -synuclein; vesicle-associated membrane protein 2; synaptophysin; *Bushen Huoxue Formulation* (补肾活血方)

(收稿日期: 2026-03-10; 录用日期: 2026-04-27; 修回日期: 2026-05-27)

[编辑: 邓 媛]

(上接第 1626 页)

## Discussion on the Pathogenetic Evolution of Cerebral Small Vessel Disease in the Elderly Based on the "Form-Function" Disharmony of Brain Collaterals

XU Ying<sup>1</sup>, GE Jinwen<sup>2</sup>

1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, 410208; 2. Hunan Academy of Chinese Medicine

**ABSTRACT** Cerebral small vessel disease (CSVD) is a heterogeneous condition affecting small vessels in the brain and is closely associated with cognitive dysfunction, gait abnormalities, and emotional disorder in the elderly. Based on the collateral disease theory of traditional Chinese medicine (TCM), a "form-function" pathogenesis framework for elderly CSVD is proposed from the perspective of their relationship. In this framework, the "form" refers to the morphological basis of the brain collaterals and sweat pore, while the "function" refers to the activities of *qi*-blood circulation, nourishment and regulation, as well as the body fluid transportation and distribution; the two are interdependent and jointly maintain the mental activities of the brain. Under this framework, the dynamic pathogenesis evolution patterns of CSVD, namely collateral fragility, collateral rigidity, collateral stagnation, and collateral damage, are systematically explained, revealing the potential mechanisms underlying the transformation of age-related physiological decline of brain collaterals into pathological impairment. This provides a theoretical foundation for the diagnosis and treatment of elderly CSVD with TCM.

**Keywords** cerebral small vessel disease; brain collaterals; sweat pore; geriatric disease

(收稿日期: 2025-11-10; 录用日期: 2026-02-22; 修回日期: 2026-05-30)

[编辑: 焦 爽]