

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2017.08.014

柴胡细辛汤加减对颅脑损伤模型大鼠海马 CA1 区 BDNF、SYN1 表达与超微结构的影响

张国梁^{1,2}, 周承扬², 庞坚¹, 石瑛¹, 赵咏芳¹, 詹红生¹, 石印玉^{*}

(1. 上海中医药大学附属曙光医院, 上海市浦东新区张江高科技园区张衡路 528 号, 201203; 2. 上海市闸北区中心医院)

摘要 目的 观察柴胡细辛汤加减对颅脑损伤模型大鼠认知功能和神经功能缺损的作用及其可能机制。方法 将 89 只 SD 大鼠随机分为假手术组 16 只, 模型组、阳性对照组和中药低剂量组各 18 只, 中药高剂量组 19 只, 除假手术组外其余各组建立控制性皮层冲击损伤模型。造模次日阳性对照组予安理申片 0.45 g/(kg·d), 中药低、高剂量组分别给予柴胡细辛汤加减方 6.5、13 g 生药/(kg·d), 假手术组、模型组予等体积双蒸水, 各组灌胃 4 周。比较各组大鼠认知功能(水迷宫测试)、神经功能缺损评分(mNSS)、脑组织病理与海马 CA1 区超微结构, 并检测 CA1 区脑源性神经生长因子(BDNF)、突触素 1(SYN1)蛋白表达。结果 各组在造模后 0、3、7 天时 mNSS 评分较假手术组均明显升高($P < 0.01$), 中药高剂量组在第 7、28 天时 mNSS 评分较模型组降低, 中药低剂量组在 28 天时亦低于模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。水迷宫测试中, 各给药组逃避潜伏期时间较模型组减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各给药组损伤海马区病理形态学显示优于模型组, 中药高、低剂量组能够改善海马 CA1 区受损的神经元、线粒体和突触的超微结构。中药高剂量组 BDNF 表达明显高于模型组和阳性对照组, 中药高剂量组 SYN1 表达高于模型组($P < 0.01$)。结论 柴胡细辛汤加减能够改善颅脑损伤模型大鼠认知功能及其神经功能缺损, 其机制可能是提高海马 CA1 区 BDNF、SYN1 的表达以促进损伤的神经元修复与突触重塑, 改善海马 CA1 区超微结构。

关键词 颅脑损伤; 柴胡细辛汤; 认知功能; 脑源性神经生长因子; 突触素 1

随着运动损伤、事故灾害等的发生, 颅脑损伤(traumatic brain injury, TBI)逐步成为创伤发病中仅次于四肢损伤的病种, 所造成的脑细胞神经元结构和功能损害仍难恢复^[1]。其存活患者中, 认知功能障碍尤为突出, 影响甚至远远超过躯体功能障碍, 给家庭和社会造成沉重负担, 亦是临床治疗的重点和难点^[2]。颅脑损伤属于中医骨伤科“头部内伤”范畴。上海石氏伤科的开拓者石筱山、石幼山先生对此早年就有系统诊治论述, 所创验方柴胡细辛汤被广泛运用^[3-4]。第四代石纯农先生对此也有较全面的归纳, 认为该病病机多在痰瘀^[5],

从而化裁出本实验方药。临床研究显示, 颅脑损伤中后期伴认知障碍者经该方治疗后, 认知功能评分均有提高, 中医病症得以改善^[6]。本研究探讨柴胡细辛汤加减对颅脑损伤大鼠认知功能和神经功能缺损的作用及可能作用机制, 报告如下。

1 材料和方法

1.1 动物

清洁级雄性 SD 大鼠 89 只, 12 月龄, 体重 250 ~ 300 g, 购自上海杰思捷实验动物有限公司, 实验动物许可证号: SYXK(沪)2014-0019。

1.2 药物

柴胡细辛汤加减方, 组方: 南柴胡 6 g, 细辛 3 g, 薄荷 3 g(后下), 石菖蒲 15 g, 胆南星 10 g, 法半夏 6 g, 钩藤 10 g(后下)等, 由上海市闸北区中心医院制剂室统一煎制, 浓缩至 72 ml, 再加入羚羊角粉 0.6 g, 搅拌均匀, 制成浓度 1 g 生药/ml, 冷藏备用。盐酸多奈哌齐片(安理申), 5 mg/片, 国药准字 H20050978, 卫材(中国)药业有限公司

基金项目: 教育部国家重点学科(100508); 上海市中医药领军人才建设项目(沪卫中医[2012]63号); 上海领军人才“地方队”培养计划(沪人社专领[2010]081号); 上海市进一步加快中医药事业发展三年行动计划(2014年-2016)项目(ZY3-JSFC-1-025, ZY3-CCCX-1-003); 上海市“杏林新星”计划(ZYSNXD011-RC-XLXX-20130050); 上海市卫生局中医药科研基金项目(2012QL002A); 上海市闸北区卫生科研课题(2012ZY01)

* 通讯作者: zhangzhang2003@126.com, (021) 20256519

司, 研磨为粉末状, 双蒸水稀释为 0.045 mg/ml 浓度混悬液备用。硫酸阿托品注射液, 西安秦巴药业有限公司, 批号 03141202; 注射用头孢替安, 哈药集团制药总厂, 批号 A1502908-2。

1.3 主要试剂及仪器

4% 多聚甲醛溶液, 北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司, 批号 AR-0211; 10% 水合氯醛溶液, 中国医药集团上海化学试剂公司, 批号 F20080911; 2.5% 戊二醛溶液, 生工生物工程(上海)股份有限公司, 批号 B421BA0009; 突触素 1 (SYN1) 一抗, 货号 Ab64581, 美国 Abcam 公司; 脑源性神经生长因子 (BDNF) 一抗, 货号 25699-1-AP, 武汉三鹰公司; HRP-山羊抗兔/鼠通用二抗, 货号 K5007, DAKO 公司; 免疫组化试剂盒 DAB 显色剂, 货号 K5007, DAKO 公司。PCI3000-1 型小动物精密颅脑损伤撞击器, Hatteras Instruments, Cary, NC, 美国; WMT-100 型 Morris 水迷宫, 四川成都泰盟公司; FEI Tecnai G2 Spirit 型透射电子显微镜, FEI 公司; 恒温加温垫, HTP203 型, 北京华运安特科技有限责任公司。

1.4 造模方法

参考文献 [7-8] 建立控制性皮层冲击损伤模型: 造模前禁食 12 ~ 24 h, 不禁水。麻醉前 0.5 h 肌肉注射硫酸阿托品注射液 (0.045 mg/kg), 10% 水合氯醛溶液 (350 mg/kg) 腹腔注射麻醉, 将大鼠俯卧位头部固定于脑立体定向仪上, 沿中线矢状线切开皮肤, 剪去附着肌肉, 剥除骨膜暴露颅顶骨, 以直磨机沿中线作右旁 5 mm、前囟后 2.5 mm 开一直径 4 mm 的骨窗 (投影为海马 CA1 区上方), 暴露完整硬脑膜, 移动显微操作臂精确定位, 不锈钢打击头 (直径 3 mm) 对准圆形骨窗内的脑组织进行打击, 速度 3.0 m/s, 停留时间 100 ms, 深度 3.5 mm, 之后立即止血、缝合。以恒温加温垫 37℃ 维持体温, 直至恢复正常呼吸、苏醒。再以注射用头孢替安 0.135 g/(kg·d) 腹腔注射 2 ~ 3 天防止感染。术后单笼饲养, 术后 3 天予软食。假手术组手术颅骨钻孔, 暴露到硬脑膜, 但不打击。

1.5 动物分组及给药

大鼠根据体重按照随机数字表法分为假手术组、模型组、阳性对照组和中药低、高剂量组, 其中假手术组 16 只, 模型组、阳性对照组与中药低剂量组各 18 只, 中药高剂量组 19 只。造模次日阳性对照组予安理申片 0.45 g/(kg·d) 灌胃, 中药

低、高剂量组分别给予柴胡细辛汤加减方 6.5、13 g 生药/(kg·d) 灌胃, 假手术组、模型组予等体积双蒸水, 各组灌胃 4 周。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 伤情评估 1) 苏醒时程: 麻醉成功后至手术后苏醒时间。2) 打击后神经体征^[9]与造模伤亡情况。3) 神经功能缺损评分 (mNSS), 大鼠苏醒后, 按照 Chen 等^[10]法评判, 最高 18 分, 13 ~ 18 分为严重损伤, 7 ~ 12 分为中度损伤, 1 ~ 6 分为轻度损伤。比较假手术组和造模组 (包括模型组、阳性对照组和中药低、高剂量组) 两组情况。

1.6.2 神经行为学观察 造模后 0、3、7、14、28 天进行 mNSS 评分判定神经功能缺损情况。水迷宫测试: 造模后第 29 天参考文献 [11] 方法记录 120 s 内大鼠在原来平台所在象限区域内的逃避潜伏期、目标区域进入次数和目标象限运动距离。

1.6.3 大鼠海马 HE 病理及其 CA1 区 BDNF、SYN1 免疫组化检测 每组取 6 只大鼠开胸暴露心脏, 从心尖部穿刺并固定穿刺针头。暴露右心耳并将其剪开, 使余血流出; 同时从穿刺针处先快速推注 37℃ 生理盐水 50 ml, 再予持续滴注 200 ml 冲洗, 直至右心耳流出液体为无色澄清; 换 4% 多聚甲醛溶液滴注, 先快后慢, 灌注约 200 ml, 直至大鼠尾部及全身变僵硬。断头取脑, 4% 多聚甲醛溶液中固定。根据大鼠脑定位图谱^[12], 取视交叉后 4 mm 至小脑前之间的大脑最宽部分 (相当于海马)^[13], 基本包含右侧脑皮质打击缺损部位, 切取厚度约 3 mm。常规处理, 制作 HE 切片。

采用标准 SABC 法, DAB 显色, 检测大鼠海马 CA1 区 BDNF、SYN1 蛋白表达。每组内每张切片在损伤侧海马 CA1 区随机取 3 个 200 倍视野拍照, Image-Pro Plus 6.0 软件选取相同的棕黄色作为判断所有照片阳性的统一标准, 对每张照片进行分析得出其阳性的光密度值 (OD 值)。

1.6.4 大鼠海马 CA1 区透射电镜观察 每组取 6 只大鼠心脏灌注方法同前, 冲洗生理盐水温度改为 4℃, 灌注液改为 4℃ 2.5% 戊二醛溶液。灌注满意后迅速断头取脑, 在冰盒上迅速切取右侧受损海马 CA1 区, 2.5% 戊二醛液中前固定 (至少 2 h), 4℃ 保存。常规制作切片, 透射电镜观察。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 16.0 统计软件, 计量资料用 ($\bar{x} \pm s$) 表示。多组间不同时间点比较, 采用重复测量数据的方差分析; 同一时间点比较, 采用单因素方差分

析。计数资料采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 假手术组和造模组大鼠伤情评估情况比较

造模完成动物 73 只, 全部出现四肢抽搐、神经反射短暂消失, 67 只出现呼吸暂停。死亡 11 只, 存活 62 只, 死亡率 15.07%。表 1 示, 与假手术组比较, 造模组大鼠苏醒时程明显变长, mNSS 评分明显升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 属于中度颅脑损伤。

表 1 假手术组和造模组大鼠苏醒时间及 mNSS 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	苏醒时程 (min)	mNSS (分)
假手术组	16	105.44 ± 29.71	4.36 ± 2.06
造模组	62	124.22 ± 33.94*	9.11 ± 1.83**

注: mNSS, 神经功能缺损评分; 与假手术组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

2.2 各组大鼠造模后不同时间 mNSS 评分比较

表 2 示, 与假手术组同时间点比较, 其余各组在造模后 0、3、7 天时 mNSS 评分均明显升高, 模型组、阳性对照组和中药低剂量组在 14 天时 mNSS 评分亦升高 ($P < 0.01$), 而造模各组在 28 天时与假手术组比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。与模型组同时间点比较, 中药高剂量组在第 7、28 天时 mNSS 评分均明显降低, 中药低剂量组在 28 天时 mNSS 评分亦低于模型组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。阳性对照组和中药低、高剂量组各时间点组间比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 2 各组大鼠造模后不同时间 mNSS 评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	0 天	3 天	7 天	14 天	28 天
假手术组	16	4.40 ± 2.10	2.27 ± 1.94	2.67 ± 2.38	1.13 ± 1.06	0.40 ± 0.51
模型组	15	7.93 ± 2.43*	7.33 ± 2.32*	6.67 ± 1.80*	4.33 ± 1.76*	4.40 ± 2.29
阳性对照组	15	9.47 ± 1.60*	8.13 ± 1.77*	5.93 ± 1.91*	3.47 ± 1.81*	2.67 ± 1.72
中药低剂量组	16	8.75 ± 2.11*	8.25 ± 1.88*	6.38 ± 2.25*	3.19 ± 2.29*	1.81 ± 1.42 Δ
中药高剂量组	16	9.38 ± 1.96*	7.69 ± 2.63*	4.50 ± 1.86* $\Delta\Delta$	3.06 ± 1.98	1.50 ± 1.41 $\Delta\Delta$

注: mNSS, 神经功能缺损评分; 与假手术组同时间点比较, * $P < 0.01$; 与模型组同时间点比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$

表 3 各组大鼠水迷宫测试结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	逃避潜伏期 (s)	目标区域进入次数 (次)	目标象限运动距离 (cm)
假手术组	16	19.04 ± 15.13	12.80 ± 3.36	7180.0 ± 1597.16
模型组	15	36.38 ± 25.26*	12.80 ± 3.43	7469.5 ± 2068.51
阳性对照组	15	16.49 ± 12.51 $\Delta\Delta$	15.40 ± 3.68* Δ	8419.7 ± 964.51*
中药低剂量组	16	19.09 ± 16.17 Δ	13.38 ± 3.01	8462.3 ± 1762.14*
中药高剂量组	16	22.95 ± 24.47	11.44 ± 3.58 Δ	6878.9 ± 1393.00 Δ

注: 与假手术组比较, * $P < 0.05$; 与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与阳性对照组比较, $\Delta P < 0.01$

2.3 各组大鼠水迷宫测试结果比较

表 3 示, 与假手术组比较, 模型组逃避潜伏期升高 ($P < 0.05$), 而目标区域进入次数和目标象限运动距离差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 阳性对照组目标区域进入次数和目标象限运动距离明显高于假手术组, 中药低剂量组目标象限运动距离亦高于假手术组 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 阳性对照组和中药低剂量组逃避潜伏期有所降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。中药高剂量组目标区域进入次数和目标象限运动距离明显低于阳性对照组 ($P < 0.01$)。

2.4 各组大鼠脑组织 HE 病理检测结果比较

图 1 示, 假手术组皮质完整, 海马正常, 神经元呈层状有序分布, 各层细胞形态饱满而数量多, 细胞核圆且大。模型组则见大片脑皮质缺损, 海马区结构异常, 海马区存在变性坏死的神经元, 散在存留正常神经细胞, 细胞排列结构杂乱, 形态异常, 部分神经元空泡样变。阳性对照组见锥体细胞排列略乱, 细胞层数减少, 形态尚可。中药低剂量组、中药高剂量组见锥体细胞排列大致正常, 细胞层数略少, 形态尚可。

2.5 各组大鼠海马 CA1 区 BDNF、SYN1 蛋白表达比较

表 4 示, 与假手术组比较, 中药低、高剂量组 BDNF 表达升高, 中药高剂量组 SYN1 表达亦升高 ($P < 0.01$)。中药高剂量组 BDNF 表达明显高于模型组和阳性对照组, 中药高剂量组 SYN1 表达高于模型组 ($P < 0.01$)。

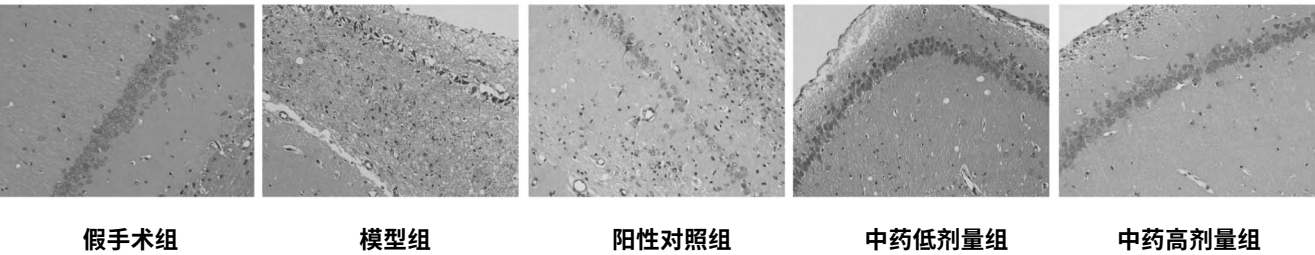


图 1 各组大鼠脑组织 HE 病理图 (× 200)

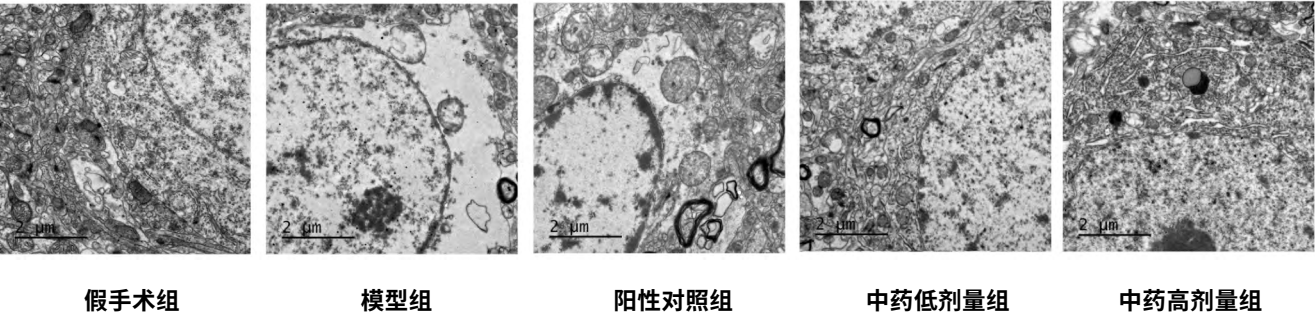


图 2 各组大鼠海马 CA1 区透射电镜超微结构图(× 8200)

表 4 各组大鼠海马 CA1 区 BDNF、SYN1 蛋白表达比较 (OD 值, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	BDNF	SYN1
假手术组	6	471. 37 ± 552. 46	333. 96 ± 2. 98
模型组	6	1221. 60 ± 907. 31	358. 76 ± 13. 06
阳性对照组	6	2081. 40 ± 2039. 57	1698. 24 ± 2. 59
中药低剂量组	6	2716. 20 ± 1088. 35*	1436. 15 ± 2. 78
中药高剂量组	6	4235. 60 ± 2184. 13*△▲	5697. 71 ± 4. 491*△

注: 上述均数与标准差以反对数表示; BDNF, 脑源性神经生长因子; SYN1, 突触素 1; 与假手术组比较, * $P < 0. 01$; 与模型组比较, △ $P < 0. 01$; 与阳性对照组比较, ▲ $P < 0. 01$

2. 6 各组大鼠海马 CA1 区透射电镜超微结构观察
 图 2 示, 假手术组海马神经元细胞形状规则, 核膜结构清晰; 线粒体形态尚正常; 突触数量、结构, 突触前后无明显异常变化。模型组: 海马神经元细胞形状不规则, 核膜有部分结构不清; 核仁周围空泡样变, 线粒体肿胀、空泡变性, 线粒体嵴有断裂、重则或见消失; 突触数量减少, 形状不规则, 少见完整结构, 突触前区小泡减少, 分布欠均匀; 突触间隙略增宽、可辨认; 突触后区线粒体少见, 突触前后膜略见增厚, 突触后致密区染色较浅, 密度变小, 突触后致密物 (PSD) 明显变薄。阳性对照组较模型组有所改善, 海马神经元细胞形状不规则, 核膜结构尚清; 线粒体肿胀、空泡变性, 线粒体嵴可有断裂或消失; 突触数量较模型组多, 结构尚完整, 突触前区小泡略减少; 突触间隙略增宽; 突触前后膜不厚, 突触后致密区染色较浅, 密度变小, PSD 稍变薄。中药低、高剂量组较模型组都有改善, 高剂量组更明显, 中药低剂量组

海马神经元细胞形状尚规则, 核膜结构尚清; 线粒体有部分肿胀、空泡变性, 线粒体嵴有断裂, 而中药高剂量组神经元结构基本正常, 线粒体嵴存在, 仅有小部分局部略空泡变性; 中药低剂量组突触数量较多, 结构尚完整; 突触前区小泡略减少; 突触间隙略增宽、可辨认或正常; 突触后区见线粒体, 突触前后膜不厚, 突触后致密区染色较浅, 密度变小, PSD 略变薄。中药高剂量组则突触数量较多、结构完整、间隙正常, 突触前正常, PSD 可正常。

3 讨论

中医学认为, “脑为元神之府”, 人的感官、思维、意识和记忆力等皆由脑统摄。外伤导致颅脑损伤, 可使患者对外界的认识程度、感知水平和适应能力下降^[4]。石氏伤科倡导“理伤从痰”, 该理念亦贯穿于头部内伤治疗的始终。本实验方中柴胡主升散, 调和升降; 细辛主头痛脑动, 辛开苦降, 两药为君, 合用可升清降浊。石菖蒲可聪耳目、益心智, 胆南星主治老年神呆, 法半夏祛痰, 三者合用以豁痰开窍醒神; 羚羊角粉去瘀生新、定心安神; 钩藤增强平肝镇静祛痰之功又合脑病不离肝经之意, 五味合用以为臣。薄荷辛散升浮, 引药上行头面为使。诸药合用共奏其效。

控制性皮层冲击损伤模型是比较成熟而公认的颅脑损伤模型, 结合我们在造模过程中大鼠的死亡率、神经体征、mNSS 评分认为所造颅脑损伤模型属中度损伤。造模组大鼠苏醒时程长于假手术组 ($P < 0. 05$), 推测昏迷时间长短在伤情评估方面有

一定意义。水迷宫测试仍然是目前最经典的学习记忆考察模型, 研究结果显示, 阳性对照药组与中药低剂量组的逃避潜伏期较模型组明显减小 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 说明低剂量的柴胡细辛汤加减与安理申片都能够改善颅脑损伤的认知记忆功能。mNSS 评分从运动、感觉、平衡、反射及是否有神经缺损相关异常运动等 6 个方面综合评价实验动物的神经功能缺损程度, 并且在颅脑损伤性动物模型方面也得到认可与应用, 分数越高, 神经功能缺损程度越重^[3]。本研究显示, 造模后各组 mNSS 评分明显升高, 符合中度损伤征象。与模型组比较, 中药高剂量组在造模后 7、28 天较模型组降低, 中药低剂量组在造模后 28 天亦降低, 提示中药应尽早、足量、坚持服用, 具有改善神经功能缺损的作用。

海马结构是脑内参与学习和记忆贮存功能的重要部分, 实验性颅脑损伤后认知功能损害的主要机制在于海马区神经元丢失或凋亡^[4]。本实验模型组见海马 CA1 区锥体细胞坏死、排列紊乱、减少等改变, 证实海马损伤明确。而经过柴胡细辛汤加减治疗, 其镜下形态学有所改善。颅脑损伤是导致部分细胞死亡以致 BDNF 阳性细胞数量减少的主要原因, 同时颅脑损伤后留存的神经元合成 BDNF 的能力明显提升^[5]。本研究结果显示, 中药低、高剂量组均可上调 BDNF 的表达, 从而促进海马 CA1 区神经修复与重塑。突触是两个神经元之间或神经元与效应器之间相互接触并借以传递信息的部位, 其结构的破坏会影响到脑内诸多功能通路中的联系, 可导致认知和记忆障碍^[6]。SYN1 是突触囊泡膜的主要成分之一, 是突触发育的标志性蛋白, 其表达增多则反映突触数目的增多和突触连接及突触传导的增多, 更有助于神经功能恢复^[7]。此外, SYN1 也是 BDNF 酪氨酸激酶级联反应通路的下游效应因子, BDNF 可通过增加促分裂素原活化蛋白激酶依赖的 SYN1 磷酸化而增加谷氨酸的释放, 调节突触可塑性^[8]。本研究结果显示, 中药高剂量组 SYN1 表达高于模型组, 显示柴胡细辛汤高剂量能够更好地促进突触的重塑与神经功能恢复。

综上所述, 石氏伤科验方柴胡细辛汤加减能够改善中度颅脑损伤模型大鼠认知功能及其神经功能缺损评分, 其机制可能是提高海马 CA1 区 BDNF、SYN1 的表达, 从而改善海马 CA1 区超微结构以促进该区神经元的修复与突触重塑。

参考文献

- [1] 王忠诚. 神经外科学 [M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 1998: 279-306.
- [2] 罗爱华, 窦祖林. 颅脑外伤后认知功能障碍恢复的实验研究进展 [J]. 中国康复医学杂志, 2011, 26(9): 881-883.
- [3] 石关桐, 陆品兰, 周恩元. 著名伤科石筱山、石幼山先生治疗脑震荡的经验 [J]. 辽宁中医杂志, 1985(10): 7-9.
- [4] 施杞, 石仰山. 石筱山伤科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 323.
- [5] 石纯农. 石氏伤科临床经验 [M]. 上海: 上海科技文献出版社, 1992: 114.
- [6] 张国梁, 周承扬, 韩扬, 等. 石氏伤科针药联合高压氧治疗颅脑损伤后认知功能障碍患者 40 例临床研究 [J]. 中医杂志, 2015, 56(3): 207-211.
- [7] SINGLETON RH, YAN HQ, FELLOWS-MAYLE W, et al. Resveratrol attenuates behavioral impairments and reduces cortical and hippocampal loss in a rat controlled cortical impact model of traumatic brain injury [J]. J Neurotrauma, 2010, 27(6): 1091-1099.
- [8] 沈夏锋, 吴军发, 于惠贤, 等. 一种适用于康复研究的局灶性颅脑外伤大鼠模型 [J]. 中国康复, 2014, 29(3): 163-166.
- [9] 陈世文, 马霞, 陈建文, 等. 大鼠中度脑损伤后行为和认知功能障碍的测定 [J]. 中国临床康复, 2014, 10(1): 48-49.
- [10] CHEN J, LI Y, ZHANG Z, et al. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats [J]. Stroke, 2001, 32(4): 1005-1011.
- [11] 贾强, 只达石, 黄慧玲, 等. 促红细胞生成素对创伤性脑损伤大鼠认知功能影响的实验研究 [J]. 中华神经外科杂志, 2010, 9(7): 686-690.
- [12] GEORGE P, CHARLES W. 大鼠脑立体定位图谱 [M]. 3 版. 诸葛启钊, 主译. 北京: 人民卫生出版社, 2005: (切面图).
- [13] 孙鹏, 董涛, 石秋艳. 盐酸多奈哌齐对血管性痴呆大鼠海马 CA1 区神经细胞凋亡及突触素表达的影响 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2013, 30(10): 910-912.
- [14] 张觉人. 呆从痰治 [J]. 上海中医药杂志, 1995(3): 20.
- [15] 刘建新, 王晓峰, 张荣军, 等. 经枕大池移植神经干细胞治疗重型颅脑损伤大鼠的实验研究 [J]. 临床神经外科杂志, 2012, 9(3): 133-135.
- [16] HUANG Z, LIU J, CHEUNG PY, et al. Long-term cognitive impairment and myelination deficiency in rat model of perinatal hypoxic-ischemic brain injury [J]. Brain Res, 2009, 1301: 100-109. doi: 10.1016/j.brainres.2009.09.

006.

〔7〕 赵波, 汤海玲, 但齐琴, 等. 脑损伤大鼠运动皮质 BDNF 的表达变化 〔J〕. 四川大学学报(医学版), 2012, 43(2): 236-239.

〔8〕 李宜培, 刘芳, 尚俊杰, 等. EPO 对 Alzheimer 样大鼠记忆能力及海马 synapsin1 蛋白表达的影响 〔J〕. 中风与神经疾病杂志, 2014, 31(10): 888-890.

〔9〕 桂伟, 余传勇, 汪凯, 等. 转化生长因子 β -1 对神经元树

突生长以及突触素 1 表达的影响 〔J〕. 中风与神经疾病杂志, 2011, 28(10): 25-28.

〔20〕 CHUANG CM, HSIEH CL, LIN HY, et al. Panax Notoginseng Burk attenuates impairment of learning and memory functions and increases ED1, BDNF and beta2-secretase immunoreactive cells in chronic stage ischemia-reperfusion injured rats 〔J〕. Am J Chin Med, 2008, 36(4): 685-693.

Effect of Modified *Chaihu Xixin Decoction* (柴胡细辛汤) on Expression of BDNF and SYN1 and Ultrastructure of Hippocampal CA1 in Rats with Craniocerebral Injury

ZHANG Guoliang^{1,2}, ZHOU Chengyang², PANG Jian¹, SHI Ying¹, ZHAO Yongfang¹, ZHAN Hongsheng¹, SHI Yinyu¹

(1. Shi's Center of Orthopedics and Traumatology, Shuguang Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai, 201203; 2. Shanghai Zhabei District Central Hospital)

ABSTRACT Objective To observe the effect of modified *Chaihu Xixin Decoction* (柴胡细辛汤) on the cognitive function and neurological function impairment in rats with craniocerebral injury and the possible mechanism. **Methods** Eighty nine Sprague Dawley rats were randomly divided into sham operation group (n=16), model group (n=18), positive control group (n=18) and low dose (n=18) and high dose (n=19) of Chinese herb groups. Controlled cortical impact injury model were built in these groups except sham operation group. The day after modeling, positive control group was given 0.45 g/(kg·d) of Donepezil Hydrochloride Tablets, low dose of Chinese herb group was given 6.5 g/(kg·d) of modified *Chaihu Xixin Decoction*, high dose of Chinese herb group was given 13 g/(kg·d) of *Chaihu Xixin Decoction*, and sham operation group and model group were given double distilled water of the same volume. Each group was treated for 4 weeks by gavage. Cognitive function (water maze test), modified neurological severity score (mNSS), brain histopathology and ultrastructure of hippocampal CA1 in these groups were compared. The expression of brain derived neurotrophic factor (BDNF) and synaptophysin1 (SYN1) were tested. **Results** On day 0, day 3, and day 7 after modeling, mNSS in the all other groups were significantly increased compared with that in the sham operation group ($P < 0.01$). On day 7 and day 28 after modeling, mNSS in the high dose of Chinese herb group was decreased compared with that in model group. At day 28 after modeling, mNSS in the low dose of Chinese herb group was also decreased compared with that in model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). In water maze test, escape latency time in groups given medicines was decreased compared with that in model group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Injured hippocampal pathologic examination in groups given medicines was better than that in model group. The injured ultrastructure of neuron, mitochondrion and synapse in hippocampal CA1 in low and high dose of Chinese herb groups could be improved. The expression of BDNF in high dose of Chinese herb group was significantly higher than that in model group and positive control group. The expression of SYN1 in high dose of Chinese herb group was higher than that in model group ($P < 0.01$). **Conclusion** Modified *Chaihu Xixin Decoction* could improve cognitive function and neurological function in rats with craniocerebral injury. Its mechanisms might be that Modified *Chaihu Xixin Decoction* could increase the expression of BDNF and SYN1 in hippocampal CA1 to promote the healing in injured neuron, as well as promote synaptic remodeling and improve ultrastructure in hippocampal CA1.

Keywords craniocerebral injury; *Chaihu Xixin Decoction*; cognitive function; brain derived neurotrophic factor; synaptophysin1

(收稿日期: 2016-09-27; 修回日期: 2016-12-19)

编辑: 邓 媛