

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2018.03.015

藏药七十味珍珠丸对帕金森病模型大鼠行为学的影响

崔海燕, 孙芳云*, 李捷, 张雪伟, 吴晓军, 张景瑜

(西藏民族大学医学部生命科学基础研究实验室/藏药筛选实验室, 陕西省咸阳市文汇东路 6 号, 712082)

摘要 目的 观察藏药七十味珍珠丸对帕金森病模型大鼠的行为学作用。方法 将 48 只大鼠随机分为正常组、模型组、美多巴组和藏药低、中、高剂量组, 每组 8 只。除正常组外其余各组采用 6-羟基多巴胺右侧纹状体单点注射法制作帕金森病大鼠模型。造模后美多巴组给予美多巴 50 mg/kg 灌胃, 藏药低、中、高剂量组分别给予藏药七十味珍珠丸溶液 90、180、360 mg/kg 灌胃, 模型组和正常组给予等量生理盐水灌胃。各组均每日灌胃 1 次, 共 4 周。干预后进行旋转行为实验、平衡杆实验及躯体扭摆实验。结果 与正常组比较, 模型组旋转行为实验中大鼠向健侧旋转鼠数增多, 平衡杆实验中潜伏期和过杆总时间明显延长, 躯体扭摆实验向健侧扭摆频率增高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组比较, 各给药组平衡杆实验潜伏期缩短, 藏药低、高剂量组过杆总时间缩短; 躯体扭摆实验中藏药低、高剂量组大鼠健侧扭摆频率较模型组明显降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各给药组旋转实验大鼠旋转数量与模型组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 藏药七十味珍珠丸可明显改善帕金森病大鼠的运动功能。

关键词 帕金森病; 七十味珍珠丸; 藏药; 行为学

帕金森病 (parkinson's disease, PD) 是一种进行性的中枢神经系统变性疾病, 多发生于中老年人, 是引起中老年人致残的主要原因之一。PD 的主要临床表现为静止性震颤、肌强直、运动减少和姿势障碍, 还可出现认知以及精神障碍等症状^[1]。藏药七十味珍珠丸又称然纳桑培, 是传统藏药大组方药品的典型代表, 成方于公元 8 世纪, 始载于藏医古典巨著《四部医典》, 该药的主要功能为安神、镇静、通经活络、调和气血及醒脑开窍^[2]。前期研究显示, 七十味珍珠丸对局灶性脑缺血大鼠具有神经保护作用^[3]。本实验观察不同剂量藏药七十味珍珠丸对 PD 大鼠的行为学的影响。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF 级健康雄性 SD 大鼠 48 只, 6~8 周龄, 体重 240~280g, 由第四军医大学实验动物中心提供, 实验动物许可证号 SCXK (军 2012-0007)。

1.2 实验药物

藏药七十味珍珠丸组成: 珍珠、檀香、降香、

甘草、天竺黄、西红花、体外培育牛黄、人工麝香、珊瑚、玛瑙、九眼石、坐台 (剂量保密) 等 70 味, 西藏甘露藏药股份有限公司生产, 批号: 17027A, 每丸重 1g。

1.3 主要试剂及仪器

水合氯醛 (批号: 20150509), 国药集团化学试剂有限公司; 6-羟基多巴胺 (6-OHDA, 批号: H4381), 美国 Sigma 公司; 维生素 C 注射液 (批号: H61022217), 西安利菌有限责任公司; 青霉素粉针剂 (批号: CA1408009-1), 哈药集团制药总厂; 美多巴片 (批号: SH2571), 上海罗氏制药有限公司; 阿朴吗啡 (批号: 0458853-17), 美国 Cayman 公司。SN-2N 动物脑立体定位仪, 日本 Narishige 公司; FDR-AXP55 摄像机, 日本索尼公司。

1.4 造模方法

参照文献^[4]方法建立大鼠 PD 模型, 使用水合氯醛 (300 mg/kg) 腹腔注射麻醉大鼠, 将其头部固定于立体定位仪上, 右侧纹状体定位依据大鼠脑定位图谱确定右侧纹状体坐标: 前囟后 0.2 mm, 矢状缝右侧 3.5 mm, 颅骨下 4.8 mm^[5]。用微量注射器吸取 6-OHDA 5 μ l (3 g/L 溶于 0.9% 生理盐水, 含 0.02% 维生素 C) 缓慢进针达预定深度,

基金项目: 西藏自治区高校青年教师创新支持计划 (6QC2015-55)

* 通讯作者: xzmysf@163.com

0.5 $\mu\text{l}/\text{min}$ 速度注入,留针 10 min,缓慢退出,缝合皮肤。腹腔注射青霉素 5 万单位,连续 7 天。

1.5 动物分组及处理方法

48 只 SD 大鼠采用随机数字表法分为藏药低、中、高剂量组和美多巴组、模型组、正常组各 8 只。正常组不造模,其余各组造模后即开始给药,美多巴组给予美多巴片 50 mg/kg 灌胃;藏药低(人临床用药的等效剂量)、中剂量(人等效剂量的 2 倍)、高剂量(人等效剂量的 4 倍)组分别灌胃藏药七十味珍珠丸溶液 90、180、360 mg/kg,均以蒸馏水 4 ml 溶解灌胃;模型组和正常对照组分别给予等量生理盐水灌胃。各组均每日灌胃 1 次,共 4 周。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 旋转行为实验 4 周后进行阿扑吗啡诱发的旋转实验^[8]。大鼠颈部皮下注射阿扑吗啡(0.5 mg/kg) 5 min 后,记录向健侧旋转且旋转频率 $\geq 7 \text{ r}/\text{min}$ 大鼠的数量。

1.6.2 躯体扭摆实验^[9] 从大鼠尾根 1 英寸处将其躯干提起,使大鼠悬空于实验台上方约 10 cm 处,当大鼠头部向左侧或右侧偏移视为摇摆行为,在进行每一次摇摆活动之前,大鼠的躯干需恢复至垂直位。观察大鼠头或身体转动的方向,连续进行 60 s,结果用向健侧偏移频率作为评价指标。

1.6.3 平衡杆实验^[8] 实验选用 105 cm $\times$ 4 cm $\times$ 3 cm 木杆,离地 20 cm,木杆一端设为起始区(长度 20 cm),另一端为终点区,终点区连接鼠笼,木杆下铺泡沫垫防止大鼠摔伤。实验使用摄像机记录大鼠走杆过程,将大鼠置于起始区后开始计时,记录大鼠走过起始区的时间(潜伏期)和大鼠走过整个平衡杆的时间。潜伏期最大允许时间为 1 min,走过横杆最大允许时间为 2 min,大鼠经过 3 次走杆训练后开始正式实验。

1.7 统计学方法

采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,实验数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

实验过程中藏药低剂量组大鼠死亡 1 只(因灌胃误入肺内),藏药中剂量组死亡 2 只(1 只大鼠死于肺部感染,另外 1 只考虑灌胃过程中操作误伤大鼠脊髓),美多巴组死亡 1 只(具体原因不明)。剩余大鼠共计 44 只,其中正常组、模型组

和中药高剂量组各 8 只,美多巴组和藏药低剂量组各 7 只,藏药中剂量组 6 只。

2.1 各组大鼠旋转行为实验结果比较

模型组大鼠健侧旋转 5 只,藏药低、中剂量组大鼠健侧旋转均 2 只,藏药高剂量组和美多巴组健侧旋转均 3 只,正常组大鼠未出现旋转行为。与正常组比较,模型组大鼠旋转数量增多($P < 0.01$),与模型组比较,藏药低、中、高剂量组及美多巴组旋转大鼠数量降低,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 各组大鼠平衡杆实验潜伏期和过杆总时间比较

表 1 示,与正常组比较,模型组大鼠潜伏期和过杆总时间延长($P < 0.01$);与模型组比较,各给药组潜伏期缩短,美多巴组过杆总时间仍延长,而藏药低、高剂量组过杆总时间缩短($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与美多巴组比较,藏药低、高剂量组大鼠潜伏期差异无统计学意义($P > 0.05$),而藏药中剂量组大鼠潜伏期明显延长($P < 0.01$);藏药高、中、低剂量组过杆总时间均短于美多巴组($P < 0.01$),而藏药低、中、高剂量组之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。与藏药低剂量组比较,藏药中剂量组大鼠潜伏期明显延长($P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠平衡杆实验潜伏期和过杆总时间比较($s, \bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	潜伏期	过杆总时间
正常组	8	0.03 $\pm$ 0.26	5.75 $\pm$ 2.06
模型组	8	0.27 $\pm$ 0.09*	17.50 $\pm$ 8.12*
美多巴组	7	0.09 $\pm$ 0.29 $\Delta\Delta$	32.80 $\pm$ 4.38 $\Delta\Delta$
藏药低剂量组	7	0.09 $\pm$ 0.72 $\Delta\Delta$	9.13 $\pm$ 2.90 $\Delta\Delta$
藏药中剂量组	6	0.18 $\pm$ 0.28 $\Delta\Delta\Delta\Delta$	14.00 $\pm$ 10.19 Δ
藏药高剂量组	8	0.10 $\pm$ 0.25 $\Delta\Delta$	9.71 $\pm$ 4.82 $\Delta\Delta$

注:与正常组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与美多巴组相比较, $\Delta P < 0.01$;与藏药低剂量组比较,# $P < 0.05$

2.3 各组大鼠躯体扭摆实验向健侧扭摆频率比较

表 2 示,与正常组比较,模型组大鼠健侧扭摆

表 2 各组大鼠躯体扭摆实验向健侧扭摆频率比较($\%, \bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	频率
正常组	8	50.2 $\pm$ 13.5
模型组	8	61.3 $\pm$ 11.2*
美多巴组	7	59.5 $\pm$ 31.2
藏药低剂量组	7	51.8 $\pm$ 11.6 Δ
藏药中剂量组	6	57.2 $\pm$ 7.1
藏药高剂量组	8	51.7 $\pm$ 21.4 Δ

注:与正常组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

频率增高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 藏药低、高剂量组大鼠健侧扭摆频率降低 ($P < 0.05$)。美多巴组和藏药各剂量组大鼠扭摆频率差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

有研究显示, 6-OHDA 纹状体单点注射所造模型属于不完全损毁模型, 可模拟 PD 的早、中期阶段^[9]。本研究结果表明, 大鼠注射 6-OHDA 后 4 周, 阿扑吗啡诱发旋转行为试验中, 模型组有 5 只大鼠出现向健侧恒定旋转行为, 符合早期 PD 模型的特征^[10]。阿扑吗啡诱发的旋转行为是评价 6-OHDA 大鼠模型黑质-纹状体多巴胺神经元损伤的可靠指标, 旋转次数的增加和协调运动能力的降低与多巴胺能神经系统功能障碍密切相关^[11]。平衡杆实验潜伏期主要用于评价 PD 模型大鼠的运动起始能力缺陷, 类似临床上 PD 患者的起始运动不能; 总过杆时间检测的是实验动物运动迟缓、运动平衡能力差及姿态不稳等类似 PD 行为障碍^[12]。躯体扭摆实验可评价 PD 早期阶段出现的运动不对称行为, 早期 PD 大鼠不仅出现显著的躯体偏侧摇摆行为, 且偏移方向与阿扑吗啡诱导的旋转行为之间存在显著的正相关^[9]。

藏药七十味珍珠丸具有安神、镇静、通经活络、调合气血、醒脑开窍之功效, 是藏医临床治疗各种急慢性心脑血管及神经系统疾病最常用的药物, 如高血压病、心脏病、脑震荡、脑卒中、面神经麻痹、坐骨神经痛等, 同时对四肢麻木、拘挛僵直、角弓反张等神经系统症状也有确切疗效^[13]。本研究发现, 藏药七十味珍珠丸干预 4 周后可降低向健侧旋转大鼠数量, 改善大鼠运动协调能力。藏药低、高剂量组大鼠平衡杆实验过杆潜伏期及过杆总时间均明显降低, 提示藏药七十味珍珠丸可改善 6-OHDA 毒性导致的运动能力下降。藏药低、高剂量组大鼠健侧扭摆频率接近正常组, 该实验结果与文献报道^[9]是一致的。综上所述, 藏药七十味珍珠丸干预 4 周后可明显改善 PD 大鼠的运动功能, 提示藏药七十味珍珠丸对 PD 的行为障碍具有一定的治疗改善作用。但研究显示高、低剂量的七十味

珍珠丸效果较中剂量效果更好, 具体原因还需进一步研究和探讨。

参考文献

- [1] BOLL MC, ALCARAZ-ZUBELDIA M, RIOS C. Medical management of Parkinson's disease: focus on neuroprotection [J]. Curr Neuroparmacol, 2011, 9(2): 350-359.
- [2] 徐文龙, 孙位军, 王张, 等. 基于文献数据挖掘的七十味珍珠丸与二十五味珍珠丸的现代研究进展对比和分析 [J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(4): 59-63.
- [3] 甄丽芳, 罗远带, 黄福开, 等. 七十味珍珠丸对局灶性脑缺血大鼠的神经保护作用 [J]. 中药药理与临床, 2014, 30(1): 90-92.
- [4] 张伟, 杨辉. 6-OHDA 制作帕金森病大鼠模型及评估 [J]. 四川医学, 2007, 28(8): 818-820.
- [5] 包新民, 舒斯云. 大鼠脑立体定向图谱 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1991: 48-54.
- [6] 魏翔, 刘晓莉. 帕金森病大鼠模型运动行为测评方法的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2015, 23(2): 209-215.
- [7] 潘静, 赵延欣, 白丽, 等. 两点单侧注射前脑内侧束建立 PD 大鼠模型及其行为学评价 [J]. 上海交通大学学报 (医学版), 2007, 27(12): 1416-1419.
- [8] ALLBUTT HN, HENDERSON JM. Use of the narrow beam test in the rat, 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease [J]. Neurosci Methods, 2007, 159(2): 195-202.
- [9] 刘洪海, 王炎强, 丁艳霞, 等. 早期帕金森病大鼠模型的建立 [J]. 徐州医学院学报, 2005, 25(6): 481-484.
- [10] IANCU R, MOHAPEL P, BRUNDIN P, et al. Behavioral characterization of a unilateral 6-OHDA-lesion model of Parkinson's in mice [J]. Behav Brain Res, 2005, 162(1): 1-10.
- [11] SCHWARTING RK, HUSTON JP. The unilateral 6-hydroxydopamine lesion model in behavioral research. Analysis of functional deficits, recovery and treatments [J]. Prog Neurobiol, 1996, 50(2/3): 275-311.
- [12] ALLBUTT HN, HENDERSON JM. Use of the narrow beam test in the rat, 6-hydroxydopamine model parkinson's disease [J]. J Neurosci Methods, 2007, 159(2): 195-202.
- [13] 朱敏侠. 七十味珍珠丸对神经系统的作用 [J]. 中国医药科学, 2014, 22(4): 32-34.

Impact of Tibetan Medicine *Qishiwei Zhenzhu Wan* (七十味珍珠丸) on Behavior of Parkinson's Disease Model Rats

CUI Haiyan, SUN Fangyun, LI Jie, ZHANG Xuwei, WU Xiaojun, ZHANG Jingyu

(Life Science Basic Research Laboratory/Tibetan Medicine Screening Laboratory, Medical Department of Xizang Minzu University, Xianyang, 712082)

ABSTRACT Objective To observe the effect of Tibetan medicine *Qishiwei Zhenzhu Wan* (七十味珍珠丸) on behavior of parkinson's disease (PD) model rats. **Methods** Forty-eight rats were randomized into normal group, model group, madopar group, and Tibetan medicine low, median and high dose groups ($n=8$). Rats except for the normal group were made PD rat models by single point injection of 6-hydroxy dopamine in the right striatum. After modeling, the madopar group was given madopar 50 mg/kg by gavage respectively. The Tibetan medicine low, median and high dose groups were given Tibetan medicine *Qishiwei Zhenzhu Wan* solution 90, 180 and 360 mg/kg by gavage respectively. The model group and the normal group were given equivalent normal saline by gavage. Rats in each group were gavaged once every day for 4 weeks. After intervention, rotational behavior experiment, balancing rod experiment and body torsion pendulum experiment were carried out. **Results** Compared with the normal group, in rotational behavior experiment, rats' number of uninjured side rotation increased in the model group, and the latency time and total layout time were lengthened in balancing rod experiment. In body torsion pendulum experiment, uninjured side torsion pendulum frequency increased ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared with the model group, the latency time in the medication groups was shortened in balancing rod experiment; total layout time in the Tibetan medicine low and high dose groups was shortened. In body torsion pendulum experiment, rats' uninjured side torsion pendulum frequency in the Tibetan medicine low and high dose groups was lower than that in the model group ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared the model group with all medication groups, in rotational behavior experiment, the difference of rats rotation number was not significant ($P>0.05$). **Conclusion** The Tibetan medicine *Qishiwei Zhenzhu Wan* might improve PD rats' motor function.

Keywords parkinson's disease; *Qishiwei Zhenzhu Wan*; Tibetan medicine; behavior

(收稿日期: 2017-07-24; 修回日期: 2017-09-12)

编辑: 邓 媛

香港浸会大学中医药学院

中医学硕士学位课程/中药学硕士学位课程/中医健康管理理学硕士学位课程 一年全日制修课式课程现正招生

所有资料以香港浸会大学官方网站公布为准

中医学硕士学位课程	中药学硕士学位课程	中医健康管理理学硕士学位课程
入学要求 (1) 具备香港浸会大学中医药学院认可的中医学士学位或中药学士学位; 或 (2) 具备与上述中医学士学位或中药学士学位同等学历。	(1) 具备香港浸会大学中医药学院认可的中药学士学位或中医学士学位; 或 (2) 具备与上述中药学士学位或中医学士学位同等学历* (如生物学、生物化学、化学、药理学、药剂学、西医学等本科学位)。	(1) 具备香港浸会大学中医药学院认可的学士学位及持有注册医护/保健人员资格*; 或 (2) 具备中医学士学位或中药学士学位; 或 (3) 具备香港浸会大学中医药学院认可的其他专业学士学位*。
* 没有中医药相关学科基础的学员需修读限定选修科目: 「中医学概论」。		
学费 港币130,000元	港币120,000元 (不包括限定选修科目学费: 港币16,800元)	港币124,000元 (不包括限定选修科目学费: 港币12,300元)
语文要求 中国语文 (a) 以中文为第一教学语言之学士学位证书; 或 (b) 香港高级补充程度会考中国语文及文化科达到E级或以上成绩; 或 (c) 香港中学文凭试中国语文达到3级或以上成绩; 或 (d) 通过由香港浸会大学中医药学院安排的中国语文水平考试。	英语语文 (适用于中医健康管理理学硕士学位课程) (a) 以英文为第一教学语言之学士学位证书或具有良好英文水平 (如: (i) TOEFL: 550 (笔试考核), 79 (网上考核); 或 (ii) IELTS (学术): 达6.5分或以上; 或 (iii) 中国大学英语六级水平试达450以上等); 或 (b) 香港高级补充程度会考英语运用达到E级或以上成绩; 或 (c) 香港中学文凭试英国语文达到3级或以上成绩; 或 (d) 通过由香港浸会大学中医药学院安排的英国语文水平考试。	
申请途径 http://gs.hkbu.edu.hk/sc/prospective/tpg/find_prog/prog_offered/	申请日期: 由即日起至2018年3月29日止	开课时间: 2018年9月初
查询方法 有关课程资料 香港九龙塘浸会大学道7号赛马会中医药学院大楼2楼205D室 香港浸会大学中医药学院持续及专业教育部 电话: (00852) 3411 5565 传真: (00852) 3411 2918 电邮: dcpe@hkbu.edu.hk 网址: http://scm.hkbu.edu.hk/sc/education/taught_postgraduate_programmes	有关申请及入学事宜 香港九龙塘浸会大学道校园教学及行政大楼9楼904室 香港浸会大学研究院 电话: (00852) 3411 5127 传真: (00852) 3411 5133 电邮: gs@hkbu.edu.hk 网址: http://gs.hkbu.edu.hk	有关在港住宿资料 可浏览大学住宿资料 http://sass.hkbu.edu.hk/sass/ntt/guests/chi/