

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2019.16.014

五脏温阳化瘀汤对血管性痴呆模型大鼠海马组织 PI3K/Akt-mTOR 信号通路的影响

王韵桥¹, 夏猛¹, 曹传东², 唐农^{1*}

(1. 广西中医药大学, 广西壮族自治区南宁市青秀区五合大道 13 号, 530299; 2. 广西中医药大学附属瑞康医院)

摘要 目的 探讨五脏温阳化瘀汤治疗血管性痴呆的可能作用机制。方法 55 只大鼠随机选择 8 只为假手术组, 剩余大鼠采用双侧颈总动脉永久性结扎法制备血管性痴呆模型。将造模成功的 39 只大鼠随机分为中药高剂量组 10 只, 中药低剂量组 10 只, 吡拉西坦组 10 只, 模型组 9 只。中药高、低剂量组分别给予五脏温阳化瘀汤 5、1.25 g/(kg·d) 灌胃, 吡拉西坦组给予吡拉西坦分散片 0.15 g/(kg·d) 灌胃, 假手术组和模型组每日给予等量生理盐水灌胃。2 周后用 Morris 水迷宫测试大鼠的学习记忆能力; 分别采用 RT-PCR 法和 Western blot 法检测大鼠海马组织中的磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K)、蛋白激酶 B (Akt) 和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) mRNA 及蛋白表达。结果 与假手术组比较, 模型组大鼠逃避潜伏期延长, 跨越平台次数减少, 海马组织 PI3K、Akt、mTOR 蛋白及 mRNA 表达升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 中药高剂量组、吡拉西坦组大鼠逃避潜伏期、跨越平台次数增加, 海马组织 PI3K、Akt、mTOR 蛋白及 mRNA 表达升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 中药高剂量组与吡拉西坦组各指标比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 五脏温阳化瘀汤可以提高血管性痴呆模型大鼠的学习记忆能力, 可能是通过调控海马组织 PI3K/Akt-mTOR 信号通路发挥作用。

关键词 血管性痴呆; 五脏温阳化瘀汤; 学习记忆能力; PI3K/Akt-mTOR 信号通路; 海马组织

血管性痴呆 (vascular dementia, VD) 是指由一系列脑血管因素 (缺血性、出血性、急慢性缺血性脑血管病等) 导致脑组织损害引起的以认知功能减退为特征的一组临床综合征^[1]。痴呆所导致的人体学习记忆能力下降, 严重影响了患者的生活质量, 同时漫长的治疗周期也给患者及其家庭带来沉重的经济负担。我们根据前期研究^[2-4]、临床实践和中医“阳化气, 阴成形”与“五脏藏神”理论, 总结得出血管性痴呆的主要病机为“阳化不过, 阴化太过”导致五脏失养、痰瘀阻滞血脉。基于此, 本课题组用五脏温阳化瘀汤作为研究对象, 通过温补五脏阳气、化痰逐瘀, 治疗 VD 疗效显著^[5]。PI3K/Akt-mTOR 信号通路是一条经典的抗凋亡、促存活的信号转导通路, 并且在真核细胞中广泛存在, 对细胞自噬、凋亡和代谢等生命活动

有重要的调控作用^[6]。该信号通路的激活对修复脑神经损伤, 治疗神经系统相关疾病有十分重要的意义^[7-8]。本研究观察五脏温阳化瘀汤对 VD 模型大鼠海马组织中磷脂酰肌醇-3-激酶 (PI3K)、蛋白激酶 B (Akt) 和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mTOR) 的影响, 探讨其治疗 VD 的可能作用机制。

1 材料及方法

1.1 动物

SPF 级 SD 大鼠 55 只, 体重 (250 ± 20) g, 由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供, 实验动物许可证号: SCXK (湘) 2016-0002, 湖南省实验动物质量合格证号: 43004700037830。

1.2 药品制备

五脏温阳化瘀汤组成: 炮附片 15 g, 干姜 15 g, 巴戟天 15 g, 桂枝 15 g, 法半夏 15 g, 石菖蒲 15 g, 三七 15 g, 淫羊藿 15 g, 生晒参 15 g, 大黄 6 g, 购自广西中医药大学第一附属医院, 经广西中医药大学药学院中药植化室鉴定。药剂制备: 加水回流提取 2 次, 第 1 次加 10 倍水提取 2 h, 第 2

基金项目: 国家自然科学基金 (81460720); 广西中医药大学研究生教育创新计划 (YCLT2018008); 广西中医药大学岐黄工程培育项目 (04B1804801)

* 通讯作者: ntang@gxtcmu.cn, (0771) 3116641

次加 8 倍水提取 1.5 h, 药液过滤, 合并浓缩至含生药浓度 1 g/ml, 4℃ 无菌保存备用。吡拉西坦分散片 (0.8 g/片, 东北制药集团沈阳第一制药有限公司, 国药准字 H20030997), 用时以生理盐水稀释至 0.1 g/ml。

1.3 主要试剂及仪器

Trizol (Invitrogen 公司, 批号 15596-026); 水合氯醛 (天津市大茂化学试剂厂, 批号 302-17-0); DEPC 水 (北京索莱宝科技有限公司, 批号 D8210)、PI3K 抗体 (批号 ab151549)、Akt 抗体 (批号 ab8805)、mTOR 抗体 (批号 ab32028), Abcam 公司; RIPA 裂解液 (批号 R0010)、Oligo (dT) (批号 C1101-20), 北京索莱宝科技有限公司; 兽用青霉素 [华北制药有限公司, 兽药字 (2015) D30202659]; TIANScript RT 试剂盒 (批号 KR104-02)、Super Pure dNTP (批号 CD111)、RNasin (批号 DP418)、TIANScript M-MLV (批号 er104-04), 北京天根生化科技有限公司; First-Strand Buffer (TOYOBO 公司, 批号 69925-50UL); BCA 蛋白质浓度测定试剂盒 (批号 114675524); ECL 工作液 (批号 114717172), ASPEN 公司。

Morris 水迷宫视频分析系统 (上海软隆科技发展有限公司, 型号 BW-MMM101); 凝胶成像仪 (Thermo 公司, 型号 GDS-8000); 荧光定量 PCR 仪 (ABI 公司, 型号 7500); 水平电泳仪 (北京市六一仪器厂, 型号 DYCP-31DN); 半干转膜仪系统 (ATTO 公司, 型号 WSE-4040); 离心机 (湘仪集团, 型号 H1750)。

1.4 动物分组、造模及给药

大鼠适应性喂养 1 周后, 从 55 只大鼠中按随机数字表法选择 8 只作为假手术组, 剩余大鼠采用双侧颈总动脉永久性结扎法进行模型制备^[8]。术后连续 3 天皮下注射青霉素 0.2 U/d 以防止感染。饲养 1 周后进行水迷宫测试, 以模型大鼠平均逃避潜伏期与假手术组大鼠平均逃避潜伏期之差占被测试大鼠逃避潜伏期的比值超过 20% 定义为痴呆鼠^[9]。

术后饲养 2 周, 将造模成功的 39 只模型大鼠按随机数字表法分为中药高剂量组 10 只, 中药低剂量组 10 只, 吡拉西坦组 10 只, 模型组 9 只。以临床人与大鼠体表面积换算给药量^[10], 其中高剂量组为临床等效剂量。中药高剂量组 5 g/(kg · d), 中药低剂量组 1.25 g/(kg · d), 吡拉西坦组 0.15 g/(kg · d), 假手术组和模型组每日给予与等

量生理盐水, 各组均灌胃 2 周。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 记忆学习能力 由 Morris 水迷宫进行试验测试, 在电脑 Morris 系统中将水迷宫分为四个象限, 分别在四个象限做不同标记。之后将平台置于任一象限, 往水迷宫内放入清水, 没过平台 2 ~ 3 cm。最后将各组大鼠按照 1、2、3、4 四个象限的顺序放入水中, 将大鼠寻找平台的时间设置为 60 s, 如果 60 s 内大鼠找不到平台则在计时结束后引导至平台, 让大鼠在平台停留 10 s 再移开擦干。每只大鼠每天训练 4 次, 连续 5 天。第 6 天将平台撤离, 开始空间搜索实验。将大鼠从任一象限放入水中, 记录逃避潜伏期和跨越平台的次数。

1.5.2 Real-Time PCR 法测定海马组织 PI3K、mTOR、Akt mRNA 表达 大鼠水迷宫实验结束后, 用 10% 水合氯醛 (0.3 ml/100 g) 进行腹腔注射麻醉后, 迅速断头, 置于冰台上迅速分离海马, 放入 -80℃ 液氮中保存, 每组取材 5 只。用 Trizol 提取组织样本中总 RNA, 取 5 μl RNA 用 1% 琼脂糖凝胶进行电泳, 以检测 RNA 的完整性; 用 TIANScript RT 试剂盒进行反转录, 按总 RNA 1 μg, Oligo (dT) 2 μl, 超纯 dNTP 2 μl, DEPC 定容至 14.5 μl, 向反应管中加入 50 μl 反应体系的第一部分, 混匀。70℃ 加热 5 min, 迅速在冰上冷却 2 min, 4℃、1200 r/min 离心 10 min, 离心半径 40 cm。收集反应液后加入以下各组分: 混合物 14.5 μl; 第一缓冲区 0.5 μl; RNasin 0.5 μl; TIANScript M-MLV 1 μl; 轻轻吸打混匀, 25℃ 温浴 10 min, 42℃ 温浴 50 min, 95℃ 加热 5 min。用 RNase-Free ddH₂O 将反应体系稀释到 50 μl, -20℃ 保存; RT-PCR 用荧光定量 PCR 仪, 采用 2^{-ΔΔCT} 法进行数据的相对定量分析。引物由天根生物科技有限公司设计并提供。引物序列: PI3K: 上游 GAGGGGCTACGAGTGGGATA, 下游 CAG-GCTGGAAGGAGAAGATG, 产物长度 81 bp; mTOR: 上游 AAGAAGGTCAGTGGGATT, 下游 GGAGATAGAACGGAAGAAG, 产物长度 81 bp; Akt: 上游 AGGACCCTACACAGAGGCT, 下游 ACACGATGTTGGCAAAGAA, 产物长度 81 bp。

1.5.3 Western blot 法检测海马组织 PI3K、Akt、mTOR 蛋白表达 按说明书提取各组大鼠海马组织蛋白; 用 BCA 试剂盒测定并调整每个样本蛋白浓度之后上样; 连接电泳装置及电源, 电压设为 120V 恒压, 1.5 h 后停止电泳; 用封闭液 (含 5%

脱脂奶粉的 PBST 溶液) 室温封闭膜 2 h, 用新配制的封闭液稀释抗体 4℃ 孕育过夜; 用封闭液稀释各蛋白一抗对应的二抗, 室温下孵育膜 1 h, 用 PBST 洗膜用于图像采集; 加 ECL 工作液, 在凝胶成像仪下曝光成像。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 22.0 软件处理数据。计量数据均服从正态分布, 以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 各组间比较采用单因素方差分析, 方差齐使用 LSD, 方差不齐使用 Dunnett's T^3 。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 各组大鼠记忆学习能力比较

表 1 示, 与假手术组比较, 模型组、中药低剂量组逃避潜伏期均延长, 跨越平台次数均减少 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 中药高剂量组、吡拉西坦组逃避潜伏期缩短, 跨越平台次数增加 ($P < 0.01$)。与中药低剂量组比较, 中药高剂量组、吡拉西坦组逃避潜伏期缩短, 跨越平台次数增加

表 1 各组大鼠记忆学习能力比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	逃避潜伏期 (s)	跨越平台次数 (次)
假手术组	8	10.73 ± 3.80	6.85 ± 1.90
模型组	9	30.82 ± 6.15**	1.86 ± 0.82**
中药低剂量组	10	23.23 ± 5.56*	3.15 ± 1.26*
中药高剂量组	10	12.55 ± 3.25△▲	5.28 ± 1.95△▲
吡拉西坦组	10	17.56 ± 5.34△▲	3.92 ± 1.54△▲

注: 与假手术组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, △ $P < 0.01$; 与中药低剂量组比较, ▲ $P < 0.05$

表 2 各组大鼠海马组织 PI3K、Akt、mTOR 蛋白表达比较 (灰度值, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	PI3K	Akt	mTOR
假手术组	5	0.235 ± 0.101	0.248 ± 0.128	0.136 ± 0.057
模型组	5	0.617 ± 0.091*	0.611 ± 0.054*	0.301 ± 0.119*
中药低剂量组	5	0.692 ± 0.060*	0.778 ± 0.082*	0.502 ± 0.227*
中药高剂量组	5	0.917 ± 0.116**△▲	1.090 ± 0.108**△▲	0.858 ± 0.249**△▲
吡拉西坦组	5	1.104 ± 0.042**△▲	1.293 ± 0.086**△▲	0.993 ± 0.160**△▲

注: PI3K, 磷脂酰肌醇-3-激酶; Akt, 蛋白激酶 B; mTOR, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; 与假手术组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, △ $P < 0.01$; 与中药低剂量组比较, ▲ $P < 0.05$

表 3 各组大鼠海马组织 PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达比较 ($2^{-\Delta\Delta CT}$, $\bar{x} \pm s$)

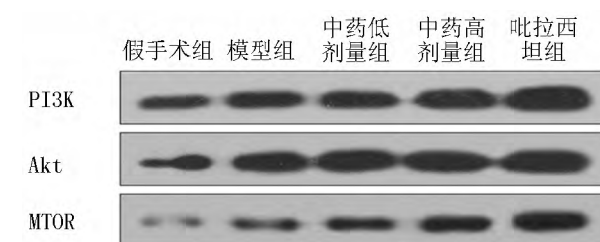
组别	鼠数	PI3K	Akt	mTOR
假手术组	5	0.961 ± 0.102	0.988 ± 0.128	0.915 ± 0.206
模型组	5	2.062 ± 0.118*	1.750 ± 0.106*	1.868 ± 0.129*
中药低剂量组	5	2.403 ± 0.140*	2.053 ± 0.192*	2.141 ± 0.079*
中药高剂量组	5	3.010 ± 0.317**△▲	2.517 ± 0.192**△▲	2.370 ± 0.140**△▲
吡拉西坦组	5	3.168 ± 0.240**△▲	3.149 ± 0.282**△▲	3.180 ± 0.373**△▲

注: PI3K, 磷脂酰肌醇-3-激酶; Akt, 蛋白激酶 B; mTOR, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白; 与假手术组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, △ $P < 0.05$, △△ $P < 0.01$; 与中药低剂量组比较, ▲ $P < 0.05$

($P < 0.05$), 中药高剂量组与吡拉西坦组逃避潜伏期缩短, 跨越平台次数比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 各组大鼠海马组织 PI3K、Akt、mTOR 蛋白表达比较

图 1、表 2 示, 与假手术组比较, 其余各组大鼠海马组织 PI3K、Akt、mTOR 蛋白表达升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 与模型组比较, 中药高剂量组和吡拉西坦组 PI3K、Akt、mTOR 蛋白表达升高 ($P < 0.01$); 与中药低剂量组比较, 中药高剂量组和吡拉西坦组 PI3K、Akt、mTOR 蛋白表达升高 ($P < 0.05$)。中药高剂量组和吡拉西坦组 PI3K、Akt、mTOR 蛋白表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。



注: PI3K, 磷脂酰肌醇-3-激酶; Akt, 蛋白激酶 B; mTOR, 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白

图 1 各组大鼠海马组织 PI3K、Akt、mTOR 蛋白表达电泳图

2.3 各组大鼠海马组织 PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达比较

表 3 示, 与假手术组比较, 其余各组大鼠海马

组织 PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)；与模型组比较，中药高剂量组、吡拉西坦组 PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达升高 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)；与中药低剂量组比较，中药高剂量组和吡拉西坦组 PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达升高 ($P < 0.05$)；中药高剂量组与吡拉西坦组 PI3K、Akt、mTOR mRNA 表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

血管性痴呆依据其发病症状，可归属于中医学“痴症”“呆病”“郁证”范畴。肾为先天之精脏，藏精生髓可充养骨髓，是脑髓生成之根本来源。肾精充足，则生髓机能旺盛，髓充则脑实，神机聪颖；肾精不足，则脑髓失充，人逐渐出现耳不聪、目不明、智力减退、健忘迟钝，最终发生痴呆。有研究^[2]表明，VD 患者中肾精亏虚、痰浊阻窍、瘀血阻络这 3 种证候类型的出现频率普遍高于其他证型，分别占到了 87.4%、75.1% 和 51.8%。故治疗宜填精益髓、调理气机。五脏温阳化瘀汤以附子、淫羊藿共为君药，相须为用，共同温补肾阳；干姜回阳通脉、温脾肺阳；巴戟天温肝阳；桂枝具有温经通脉、通阳化气之功，温心阳；半夏化痰浊；三七活血化瘀；石菖蒲豁痰开窍；生晒参补五脏、开心智、定神志；大黄泄腑浊，可逐瘀通经，亦可防附子、干姜之辛热伤阴，具有壮元阳、滋肾阴、补脑髓、促气化、消痰瘀、醒神窍的功效。现代研究^[3]发现，温阳药多能扩张血管，推动血液运行，减少瘀滞；能增强心肌收缩力，增强心脏排血量，提高脑部血流量及耐缺氧能力。

本研究水迷宫测试结果显示，与假手术组比较，模型组大鼠逃避潜伏期延长，跨越平台次数减少；而与模型组相比，中药高剂量组以及吡拉西坦组逃避潜伏期均缩短，跨越平台次数增加，提示五脏温阳化瘀汤高剂量可以显著提高 VD 大鼠的学习记忆能力，可以达到临床常用吡拉西坦分散片类似治疗效果。

PI3K/Akt-mTOR 信号通路广泛存在于生物各个组织之中，可以释放促生存信号，在调控多种疾病的发生发展以及人体自我修复的过程中发挥着重要作用，该信号通路的激活在保护神经细胞，尤其是缺血缺氧导致的神经元损伤方面有极其重要的意义^[4]。PI3K 是细胞内重要的信号传导因子，PI3K 和其下游分子 Akt 所构成的信号途径作为一个经典

抗凋亡、促存活的信号传导途径，可通过激活下游 mTOR 来调节自噬^[4]；Akt 是 PI3K 的下游直接靶点蛋白，调节细胞代谢和存活，PI3K 的激活将致 Akt 磷酸化^[5]。激活后的 Akt 蛋白启动通路下游的级联反应，进一步磷酸化一系列下游底物，通过多种机制发挥其促进细胞存活、抗细胞凋亡的作用^[6-17]；mTOR 是一种丝/苏氨酸蛋白激酶，是控制细胞生长、增殖、代谢和细胞凋亡的关键调节物^[18]，是 PI3K 信号通路下游分子之一。

本研究结果显示，与假手术组相比，模型组大鼠海马组织 PI3K、Akt、mTOR 蛋白及 mRNA 表达增加，但由于上调程度有限，不足以达到修复神经组织、治疗血管性痴呆的目的。与模型组比较，中药高剂量组和吡拉西坦组 PI3K、Akt、mTOR 蛋白及 mRNA 表达明显上调，说明此时该信号通路得以进一步激活，从而达到保护神经细胞、修复受损神经元的目的；而中药低剂量组 PI3K、Akt、mTOR 蛋白及 mRNA 表达低于中药高剂量组和吡拉西坦组，这也与水迷宫测试中中药低剂量组大鼠记忆力改善不明显的结果相符，说明中药剂量的高低会对治疗结果产生影响。综上，五脏温阳化瘀汤可能是通过上调 VD 模型大鼠海马组织 PI3K/Akt-mTOR 信号通路相关蛋白表达，从而激活该信号通路，达到保护神经元、改善记忆力的目的。

本实验需要改进之处：1) 在今后实验中用不同种类阳性对照药物来验证五脏温阳化瘀汤治疗 VD 的作用机制；2) 增设不同剂量的五脏温阳化瘀汤干预 VD 模型大鼠，寻求最佳的中药治疗剂量；3) 以阳虚血瘀型 VD 大鼠作为研究对象，使实验更加符合中医特色。

参考文献

- [1] IEMOLO F, DURO G, RIZZO C, et al. Pathophysiology of vascular dementia [J]. Immun Ageing, 2009, 6: 13. doi: 10.1186/1742-4933-6-43.
- [2] 张海燕, 唐农, 廖君, 等. 从五脏失调论治血管性痴呆 [J]. 云南中医学院学报, 2013, 36(2): 30-32.
- [3] 张海燕, 唐农, 葛金文, 等. 五脏温阳化瘀汤对动脉粥样硬化血管性痴呆大鼠海马组织 Nrf2 蛋白通路的影响 [J]. 云南中医学院学报, 2013, 36(3): 8-11, 20.
- [4] 张海燕. 五脏温阳化瘀汤对动脉粥样硬化血管性痴呆大鼠作用机理的研究 [J]. 长沙: 湖南中医药大学, 2013.
- [5] 孔小广. 五脏温阳化瘀汤治疗动脉硬化性血管性痴呆的临床疗效观察 [J]. 实用医技杂志, 2018, 25(6): 659-660.

- [6] 崔晓萍, 陈建梅, 穆军山, 等. 低氧条件下星形胶质细胞对神经干细胞增殖的影响 [J]. 临床神经病学杂志, 2011, 24(6): 448-451.
- [7] RABINOWITZ JD, WHITE E. Autophagy and metabolism. [J]. Science, 2010, 330(6009): 1344-1348.
- [8] 崔晓萍, 陈建梅, 穆军山, 等. 低氧条件下星形胶质细胞对神经干细胞增殖的影响 [J]. 临床神经病学杂志, 2011, 24(6): 448-451.
- [9] 黄新武, 李华, 秦大莲, 等. 不同时点分别结扎左右颈总动脉建立大鼠血管性痴呆模型 [J]. 中国老年学杂志, 2010, 30(14): 2006-2007.
- [10] 谭洁, 韩国栋, 张泓, 等. 改良大鼠双侧颈总动脉结扎方式建立血管性痴呆模型的评价研究 [J]. 中国康复医学杂志, 2017, 32(3): 264-268.
- [11] 李凤奎, 王纯耀. 实验动物与动物实验方法学 [M]. 郑州: 河南医科大学出版社, 2007: 321-323.
- [12] 石江伟, 刘小溪, 贾玉洁, 等. 天津市 334 例血管性痴呆患者中医证候研究 [J]. 天津中医药, 2015, 32(9): 533-536.
- [13] 黄洁茹, 傅雷, 刘涛. 中医药治疗老年痴呆病的研究进展 [J]. 中医学报, 2013, 28(5): 729-730.
- [14] ENGELMAN JA. Targeting PI3K signalling in cancer: opportunities, challenges and limitations [J]. Nat Rev Cancer, 2009, 9(8): 550-562.
- [15] ARBOLEDA G, MORALES LC, BENÍTEZ B, et al. Regulation of ceramide-induced neuronal death: cell metabolism meets neurodegeneration [J]. Brain Res Rev, 2009, 59(2): 333-346.
- [16] MARTELLI AM, EVANGELISTI C, CHIARINI F, et al. The phosphatidylinositol 3-kinase/Akt/mTOR signaling network as a therapeutic target in acute myelogenous leukemia patients [J]. Oncotarget, 2010, 1(2): 89-103.
- [17] 王维, 张琨. PI3K/Akt 信号转导通路的研究进展 [J]. 现代医药卫生, 2010, 26(7): 1051-1052.
- [18] ELLIS L, KU SY, RAMAKRISHNAN S, et al. Combinatorial antitumor effect of HDAC and the PI3K-Akt-mTOR pathway inhibition in a Pten deficient model of prostate cancer [J]. Oncotarget, 2013, 4(12): 2225-2236.

Effects of Wuzang Wenyang Huayu Decoction (五脏温阳化痰汤) on Hippocampus PI3K/Akt-mTOR Signaling Pathway in Vascular Dementia Model Rats

WANG Yunqiao¹, XIA Meng¹, CAO Chuandong², TANG Nong¹

(1. Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530299; 2. Ruikang Hospital Affiliated to Guangxi University of Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To investigate the possible mechanism of *Wuzang Wenyang Huayu Decoction* (五脏温阳化痰汤) in the treatment of vascular dementia. **Methods** Eight rats were randomly selected from 55 rats as a sham operation group. The remaining rats were treated with bilateral common carotid artery permanent ligation to prepare the vascular dementia model. The 39 successful model rats were randomly divided into a high-dose group with 10 rats, a low-dose group with 10 rats, a piracetam group with 10 rats and a model group with 9 rats. The high-dose and low-dose groups of traditional Chinese medicine were given *Wuzang Wenyang Huayu Decoction* respectively 5 and 1.25 g/(kg·d) by gavage, and the piracetam group was given 0.15 g/(kg·d) of piracetam dispersible tablets by gavage. The sham operation group and the model group were given equivalent normal saline per day by gavage. After 2 weeks, Morris water maze was used to test the learning and memory ability of rats. RT-PCR and Western blot were used to detect phosphatidylinositol-3-kinase (PI3K) and protein kinase B (Akt) in rat hippocampus, and mammalian rapamycin target protein (mTOR) mRNA and protein expression. **Results** Compared with the sham operation group, the escape latency of the model group was prolonged, the number of crossing platforms was decreased, and the expression of PI3K, Akt, mTOR protein and mRNA in hippocampus was increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with the model group, the escape latency and the number of crossing platforms increased in the Chinese medicine high dose group and the piracetam group, and the expression of PI3K, AKT, mTOR protein and mRNA in hippocampus increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). There were no significant differences in the indicators between the high dose group of Chinese medicine and the piracetam group ($P > 0.05$). **Conclusion** *Wuzang Wenyang Huayu Decoction* can improve the learning and memory ability of rats with vascular dementia, which may be achieved by regulating PI3K/Akt-mTOR signaling pathway in hippocampus.

Keywords vascular dementia; *Wuzang Wenyang Huayu Decoction* (五脏温阳化痰汤); learning and memory ability; PI3K/Akt-mTOR signaling pathway; hippocampus

(收稿日期: 2018-10-08; 修回日期: 2019-04-25)

编辑: 王利芬