

DOI:10.13288/j.11-2166/r.2022.12.012

实验研究

脑络欣通及其拆方对右侧大脑中动脉闭塞再灌注大鼠学习记忆能力及突触可塑性的影响

秦雪梅¹, 李佩佩¹, 时潇¹, 王丽娜¹, 贾根², 胡建鹏¹✉

1. 安徽中医药大学中医学院, 安徽省合肥市蜀山区梅山路 103 号, 230038; 2. 徐州医科大学附属邳州医院

[摘要] 目的 探讨脑络欣通防治缺血性脑卒中的可能作用机制。方法 50 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、脑络欣通组、益气组、活血通络组各 10 只。除假手术组外, 其余各组大鼠采用改良线栓法制造大鼠右侧大脑中动脉缺血再灌注模型。造模成功后, 脑络欣通组、益气组、活血通络组大鼠分别给予脑络欣通 8.54 g/(kg·d)、益气方 3.5 g/(kg·d)、活血通络方 5.04 g/(kg·d) 灌胃, 假手术组和模型组大鼠均给予 10 ml/(kg·d) 的生理盐水灌胃, 每日 2 次, 共灌胃 14 天。采用 Morris 水迷宫 (定位航行实验、空间探索实验) 观察大鼠学习记忆能力, HE 染色观察右侧额顶叶皮质及海马区病理学变化, 免疫组化观察右侧额顶叶皮质和海马区谷氨酸受体 1 (GluR1)、钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II (CaMK II) 表达变化。结果 与假手术组比较, 模型组大鼠各时间点逃避潜伏期均显著延长, 在目标象限停留的时间及穿越平台的次数均减少, 右侧额顶叶皮质及海马区 GluR1、CaMK II 表达降低 ($P<0.01$); 与模型组比较, 脑络欣通组、益气组、活血通络组大鼠各时间点逃避潜伏期均显著缩短 ($P<0.05$), 在目标象限停留的时间及穿越平台的次数明显增多 ($P<0.05$), 右侧额顶叶皮质及海马区 GluR1、CaMK II 表达升高 ($P<0.01$); 与脑络欣通组比较, 益气组、活血通络组大鼠各时间点逃避潜伏期延长, 在目标象限停留的时间及穿越平台的次数减少, 右侧额顶叶皮质及海马区 GluR1、CaMK II 表达降低 ($P<0.05$)。益气组和活血通络组各指标表达差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。组织病理学结果显示, 与模型组相比, 脑络欣通组、益气组、活血通络组神经细胞排列、形态大小均有所恢复, 细胞水肿、坏死等现象改善。脑络欣通组比益气组、活血通络组改善病理损伤现象更明显。结论 脑络欣通可改善右侧大脑中动脉闭塞再灌注大鼠学习记忆能力, 全方效果优于各拆方, 其作用机制可能与促进额顶叶皮质及海马区 GluR1、CaMK II 蛋白表达, 从而提高突触可塑性有关。

[关键词] 缺血性脑卒中; 脑络欣通; 学习记忆能力; 突触可塑性; 谷氨酸受体 1; 钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II

缺血性脑卒中是指大脑中血管被阻塞, 造成供血区脑组织因缺血缺氧而发生坏死, 从而导致神经功能障碍^[1]。研究显示, 人体大脑 30% 的能量用于突触传递, 当缺血性脑卒中发生时, 突触可塑性的降低是导致神经功能障碍的直接原因, 其中包括突触结构与传递效能降低^[2]。脑缺血损伤部位新形成的神经突触能够改善缺血区周围的脑组织神经突

触结构及功能。突触可塑性产生的结构和功能调节是缺血性脑卒中后神经功能恢复的基础和要点, 也是改善患者预后的关键^[3]。脑络欣通是新安王氏内科第五代传人王乐甸创立的临证验方, 具有益气活血通络的功效, 能改善脑梗死恢复期气虚血瘀证患者中医证候积分值及凝血相关指标^[4], 促进脑缺血再灌注大鼠脑血流量增多^[5], 促进神经干细胞增殖分化^[6]。本实验采用改良线栓法建立右侧大脑中动脉闭塞再灌注 (MCAO/R) 大鼠模型, 观察脑络欣通及其拆方对 MCAO/R 大鼠学习记忆能力, 额顶叶皮质、海马区组织病理学改变及突触可塑性的影

基金项目: 国家中医药管理局全国中医学学术流派传承工作室项目 (国中医药人教函[2019]62 号); 安徽中医药大学第七届科技创新基金项目 (2019ZD01)

✉ 通讯作者: hujianpeng351@126.com, 13856919004

响,探讨脑络欣通治疗缺血性脑卒中的可能作用机制,为临床合理应用提供实验依据。本实验经安徽中医药大学实验动物伦理委员会批准,动物伦理号:AHUCM-rats-2021019。

1 材料与方法

1.1 动物

SPF级雄性SD大鼠50只,体质量280~320 g,3月龄,由邳州市东方养殖有限公司提供,实验动物许可证号:SCXK(S苏)2017-0003。将大鼠饲养于相对湿度为40%~60%、温度22~25℃的独立送风隔离笼中,光照条件以12 h/12 h昼夜明暗交替,并自由摄入灭菌饲料和饮用水。

1.2 药物

脑络欣通组成:黄芪30 g,红花10 g,川芎10 g,天麻10 g,当归10 g,三七6 g,蜈蚣2条。脑络欣通拆方为益气方和活血通络方,益气方由黄芪30 g单味药组成,活血通络方组成:红花10 g,川芎10 g,天麻10 g,当归10 g,三七6 g,蜈蚣2条。上方分别制备成含生药6 g/ml、2.25 g/ml、3.75 g/ml的水煎剂,均由安徽省中医院中药制剂中心提供。

1.3 主要试剂及仪器

二甲苯(批号:20201203),国药集团化学试剂有限公司;85%乙醇(批号:20180915)、95%乙醇(批号:20190610)、无水乙醇(批号:20210106),江苏强盛功能化学股份有限公司;盐酸酒精分化液(批号:20200310)、PBS缓冲液(批号:20200119)、枸橼酸缓冲液(批号:20191108)、戊巴比妥钠(批号:20200412)、4%多聚甲醛(批号:20191202),山西同杰化学试剂有限公司;苏木素(批号:051218),上海科丰化学试剂有限公司;伊红(批号:1009A20),北京索莱宝科技有限公司;谷氨酸受体1(GluR1)多克隆抗体(批号:ABP51436)、钙/钙调素依赖性蛋白激酶Ⅱ(CaMkⅡ)多克隆抗体(批号:ABP56642),Abbkine公司;通用性二抗试剂盒PV-6000(批号:109825)、DAB显色试剂盒(批号:147408A),中杉金桥生物技术有限公司;生理盐水(批号:H20056626),四川科伦药业股份有限公司;鱼线(批号:27803062183),威海皮尔钓具有限公司。

DB801型Morris水迷宫及视频分析系统,北京智鼠多宝生物科技有限公司;170600型大鼠心脏

灌流泵,世联博研(北京)科技有限公司;BK-TE I型自动包埋机,济南好来宝有限公司;RM2125 RT型超薄切片机,Leica公司;TK-2181型摊片机,泰维电子设备有限公司;BX53M型正置显微镜,Olympus公司;WGLL823BE型恒温箱,天津市泰斯特仪器有限公司;JD801图像分析系统,南京捷达实验设备有限公司。

1.4 分组及造模方法

将50只大鼠采用随机数字表法分为假手术组、模型组、脑络欣通组、益气组、活血通络组,每组10只。除假手术组外,其余各组大鼠采用改良线栓法,制造MCAO/R模型大鼠^[7]。造模前大鼠禁食禁水12 h,使用3%戊巴比妥钠按照30 mg/kg剂量腹腔注射麻醉大鼠。消毒备皮后,在颈部正中切开,使用弯镊分离出颈总动脉(CCA)、颈外动脉(ECA)、颈内动脉(ICA)。使用电凝器电凝掉ECA分支上的甲状腺上动脉、枕动脉,在ECA的远心端用缝合线打一个死结留线头备用,近心端打一个活结为插鱼线固定做准备。结扎ICA分支上的翼腭动脉,动脉夹夹闭CCA、ICA。扯住ECA远心端死结备用线头,拉至与ICA同一直线上,并且用血管剪在ECA上(近心端与远心端线头之间)剪“V”形口,将1.5号用75%酒精消毒过后的鱼线带圆头端从此口插入,插到ICA动脉夹位置时,松开ICA的动脉夹,插入大脑中动脉至鱼线18~20 mm处,ECA近心端在活结线上再打一个结,固定住鱼线。松开CCA动脉夹,切口进行缝皮,伤口清洗。2 h后固定大鼠头部拔出鱼线2 cm,使大脑中动脉缺血再灌注,并采用神经功能评分标准对大鼠进行评分,2~3分为造模成功^[7]。假手术组仅做CCA、ECA、ICA分离处理后缝皮。

1.5 干预方法

造模成功后,脑络欣通组、益气组、活血通络组大鼠依据既往研究结果^[8],分别给予脑络欣通、益气方、活血通络方以8.54 g/(kg·d)、3.5 g/(kg·d)、5.04 g/(kg·d)的剂量灌胃,假手术组和模型组大鼠均给予10 ml/(kg·d)的生理盐水灌胃,每天灌胃2次,共14天。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 Morris水迷宫观察大鼠学习记忆能力 灌胃14 d后,各组采用随机数字表法取5只大鼠依据文献^[9]观察大鼠学习记忆能力。第1~5天进行定位航行实验,将大鼠分别放入1、2、3、4象限4个

不同的入水点进行训练,测定各个大鼠到达平台的潜伏期。第6天进行空间探索实验,撤掉平台,将大鼠放入第2入水象限,测定大鼠在2 min内目标象限停留的时间及穿台的次数。

1.6.2 HE染色观察大鼠右侧额顶叶皮质及海马区组织形态学变化 灌胃14天后,各组剩余5只大鼠采用3%戊巴比妥钠以30 mg/kg的剂量腹腔注射麻醉大鼠,剪开剑突部位皮肤,充分暴露心脏,剪掉尖头的输液针头,从左心尖插入主动脉内,并且快速(流速调到15)注入生理盐水,同时用眼科剪快速剪掉右心耳,直到右心房流出清亮的液体时,将生理盐水换成4%多聚甲醛400 ml继续快速地进行心脏内灌注,其中先快速灌注10 min(流速调到13),后调慢阀门缓慢灌注约30 min(流速调到8),直至肝脏和肺均变为白色,取出的脑组织置于4%多聚甲醛溶液中固定。取出脑组织进行脱水、透明、浸蜡、包埋,将石蜡块自视交叉向后呈冠状位做连续切片,每片厚度为5 μm,每只石蜡切片均含有后期需观察的大鼠右侧额顶叶皮质及海马区域,进行HE染色,中性树胶封片后,显微镜下观察缺血区组织形态学变化,并摄片。

1.6.3 免疫组织化学法检测大鼠右侧额顶叶皮质及海马区突触可塑性相关蛋白表达 取出另一部分含有石蜡切片的载玻片置于37℃温箱中过夜后,取出冷却至室温,进行脱蜡、抗原热修复,将一抗(GluR1、CaMk II)均按照比例(1:200)进行稀释并4℃孵育过夜,滴加二抗,显色、复染、脱水透明后封片。在显微镜400倍视野下观察大鼠右侧额顶叶皮质及海马区GluR1、CaMK II蛋白阳性表达情况并摄片。采用南京捷达JD801图像分析系统,分析GluR1、CaMK II蛋白阳性表达面积。

1.7 统计学方法

应用SPSS 23.0统计软件对数据进行处理,各组数据均符合正态分布且方差齐,用均数±标准差

表示,多组比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD法。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。统计图由GraphPad Prism 5软件制作。

2 结果

2.1 各组大鼠Morris水迷宫实验结果

2.1.1 各组大鼠定位航行实验结果比较 表1示,与假手术组同时间比较,模型组大鼠各时间点逃避潜伏期显著延长($P<0.01$);与模型组同时间比较,脑络欣通组、益气组、活血通络组大鼠各时间点逃避潜伏期时间显著缩短($P<0.05$);与脑络欣通组同时间比较,益气组、活血通络组大鼠各时间点逃避潜伏期时间延长($P<0.05$);益气组和活血通络组同时间比较,大鼠逃避潜伏期时间差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.1.2 各组大鼠空间探索实验结果比较 表2示,与假手术组比较,模型组大鼠在目标象限停留时间及穿越平台的次数减少($P<0.01$);与模型组比较,脑络欣通组、益气组、活血通络组大鼠在目标象限停留时间及穿越平台的次数明显增多($P<0.05$);与脑络欣通组比较,益气组、活血通络组大鼠在目标象限停留时间及穿越平台的次数减少($P<0.05$);活血通络组与益气组比较,大鼠在目标象限停留时间及穿越平台的次数差异无统计学意义($P>0.05$)。

表2 各组大鼠目标象限停留的时间及穿越平台的次数比较 ($\bar{x}\pm s$)

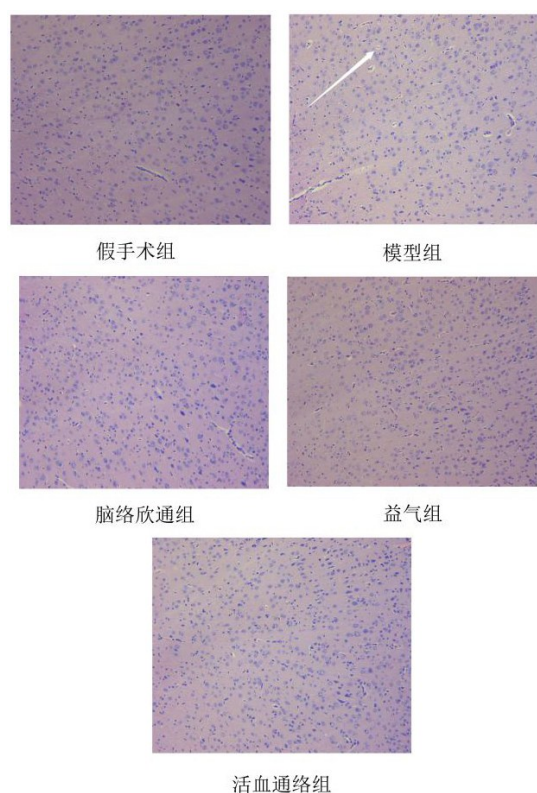
组别	鼠数	目标象限停留时间/s	穿越平台的次数/次
假手术组	5	35.11±2.83	9.92±2.04
模型组	5	20.33±3.15 ^{a)}	2.31±1.57 ^{a)}
脑络欣通组	5	34.43±2.25 ^{b)}	9.64±1.50 ^{b)}
益气组	5	29.42±2.08 ^{b) c)}	5.84±1.02 ^{b) c)}
活血通络组	5	28.95±1.43 ^{b) c)}	5.68±1.13 ^{b) c)}

注: a) 与假手术组比较, $P<0.01$; b) 与模型组比较, $P<0.05$; c) 与脑络欣通组比较, $P<0.05$ 。

表1 各组大鼠不同时间逃避潜伏期时间比较 ($s, \bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	第1天	第2天	第3天	第4天	第5天
假手术组	5	57.75±7.86	37.68±9.06	34.96±10.67	17.35±11.02	14.06±6.24
模型组	5	93.18±4.88 ^{a)}	93.24±9.84 ^{a)}	77.35±4.45 ^{a)}	58.33±5.28 ^{a)}	56.73±10.33 ^{a)}
脑络欣通组	5	69.98±3.62 ^{b)}	54.15±11.62 ^{b)}	48.85±6.35 ^{b)}	28.12±7.51 ^{b)}	17.28±8.20 ^{b)}
益气组	5	80.96±3.87 ^{b) c)}	72.71±7.59 ^{b) c)}	64.13±4.38 ^{b) c)}	43.87±6.28 ^{b) c)}	38.31±8.36 ^{b) c)}
活血通络组	5	80.06±5.53 ^{b) c)}	71.89±9.64 ^{b) c)}	63.65±7.23 ^{b) c)}	43.17±6.41 ^{b) c)}	37.34±8.74 ^{b) c)}

注: a) 与假手术组同时间比较, $P<0.01$; b) 与模型组同时间比较, $P<0.05$; c) 与脑络欣通组同时间比较, $P<0.05$ 。

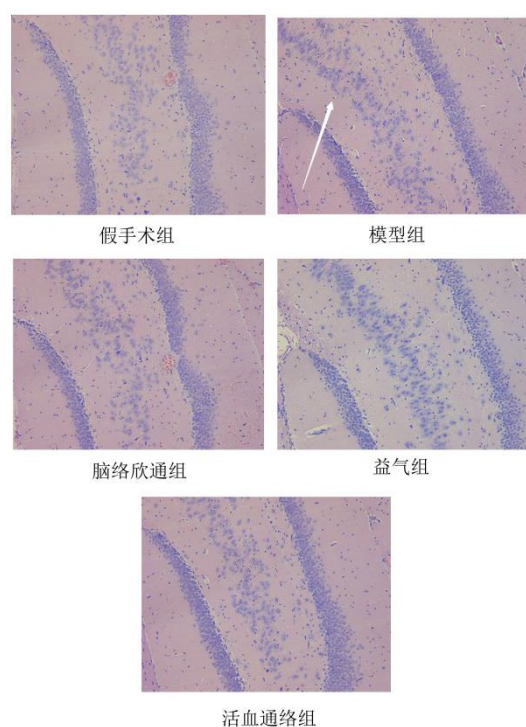


注：箭头表示神经细胞空泡、细胞核固缩及核膜破裂。

图1 各组大鼠右侧额顶叶皮质区组织病理学改变 (HE 染色, $\times 200$)

2.2 各组大鼠右侧额顶叶皮质及海马区组织病理学结果

图1、图2示 (扫描本文二维码获取彩图), 假手术组大鼠右侧额顶叶皮质及海马区神经细胞排列细密整齐, 细胞形态大小均正常, 结构完整。模型组大鼠右侧额顶叶皮质及海马区神经细胞排列松散且紊乱, 细胞数量减少, 细胞明显水肿、变性、坏死, 细胞核固缩深染, 细胞出现空泡, 核膜破裂, 在 14 d 可见部分对脑细胞恢复有益的胶质细胞增生。脑络欣通组、益气组、活血通络组与模型组比较, 脑缺血后右侧额顶叶皮质及海马区的病理损伤均不同程度有所改善, 神经细胞排列、数量、形态



注：箭头表示神经细胞空泡、细胞核固缩及核膜破裂。

图2 各组大鼠右侧海马区组织病理学改变 (HE 染色, $\times 200$)

大小均有所恢复, 细胞水肿、变性、坏死及细胞核固缩、核膜破裂现象得到了改善。脑络欣通组较益气组、活血通络组改善脑缺血后额顶叶皮质及海马区病理损伤更明显。

2.3 各组大鼠右侧额顶叶皮质及海马区突触可塑性相关蛋白表达结果

表3示, 与假手术组比较, 模型组大鼠额顶叶皮质区及海马区 GluR1 蛋白、CaMK II 蛋白表达均降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 脑络欣通组、益气组、活血通络组大鼠额顶叶皮质区及海马区 GluR1 蛋白、CaMK II 蛋白表达均升高 ($P < 0.01$); 与脑络欣通组比较, 益气组、活血通络组大鼠额顶叶皮质区及海马区 GluR1 蛋白、CaMK II 蛋白表达

表3 各组大鼠右侧额顶叶皮质及海马区 GluR1、CaMK II 蛋白表达比较 (阳性表达面积, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	GluR1		CaMK II	
		额顶叶皮质区	海马区	额顶叶皮质区	海马区
假手术组	5	30.89 $\pm$ 1.65	29.25 $\pm$ 2.61	28.24 $\pm$ 2.05	27.75 $\pm$ 1.90
模型组	5	15.29 $\pm$ 1.29 ^{a)}	16.75 $\pm$ 2.07 ^{a)}	15.74 $\pm$ 2.56 ^{a)}	16.15 $\pm$ 2.21 ^{a)}
脑络欣通组	5	26.42 $\pm$ 2.01 ^{b)}	25.47 $\pm$ 1.18 ^{b)}	25.83 $\pm$ 3.32 ^{b)}	24.56 $\pm$ 1.38 ^{b)}
益气组	5	23.32 $\pm$ 1.04 ^{b)c)}	22.09 $\pm$ 1.03 ^{b)c)}	20.82 $\pm$ 1.61 ^{b)c)}	21.30 $\pm$ 1.23 ^{b)c)}
活血通络组	5	23.29 $\pm$ 1.06 ^{b)c)}	21.79 $\pm$ 1.47 ^{b)c)}	21.30 $\pm$ 1.98 ^{b)c)}	20.79 $\pm$ 1.47 ^{b)c)}

注：GluR1, 谷氨酸受体 1; CaMK II, 钙/钙调素依赖性蛋白激酶 II。

a) 与假手术组比较, $P < 0.01$; b) 与模型组比较, $P < 0.01$; c) 与脑络欣通组比较, $P < 0.05$ 。

均降低 ($P < 0.05$)；益气组和活血通络组大鼠额顶叶皮质区及海马区 GluR1 蛋白、CaMK II 蛋白表达差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

缺血性脑卒中的病理变化是比较复杂的，发生时会出现一系列的细胞及分子级联反应，涉及线粒体反应、兴奋性氨基酸毒性、氧化及硝化应激、炎症反应等多种机制，可能进一步促使神经细胞坏死，血脑屏障被破坏^[10]。目前西医干预手段包括溶栓、抗血小板、抗凝、神经细胞保护、基因治疗等方法^[11]。在中医学中，缺血性脑卒中属于“中风”范畴，其病因病机分为风、火、痰湿、瘀血、虚，主要从中经络、中脏腑论治。王清任认为气虚血瘀为中风的主要病机，并且独创益气活血通络法经典方“补阳还五汤”^[12]。脑络欣通是在补阳还五汤基础上，增强了熄风通络的功效，方中黄芪大补元气，使气旺血行；当归活血，有祛瘀不伤血的作用；川芎、红花、三七助当归活血化瘀；天麻、蜈蚣熄风通经活络，使气充血行脉络通。

缺血性脑卒中后导致神经突触数量减少、突触传递信息功能障碍^[13]。长时程增强 (LTP) 在缺血性脑卒中突触可塑性的研究中属于热点，是指给予突触前神经纤维一个高频刺激，能够使突触传递效率与强度持久提高几倍的现象^[14]。当脑缺血高频刺激发生在突触前膜时，N-甲基-D-天冬氨酸受体 (NMDAR) 被激活，使 Ca^{2+} 流入突触后锥体细胞内与钙调蛋白 (CaM) 结合，形成 Ca^{2+} /CaM 复合物，从而激活和磷酸化 CaMK II，此蛋白被活化和磷酸化后能使 GluR1 S831 位点磷酸化，增强 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸受体 (AMPA) 的电导功能，进而诱导 LTP 发生^[15]，促进受损脑组织突触可塑性功能提高，使神经功能得到恢复。CaMK II 在突触前及突触后均能引起 LTP 的发生，在突触可塑性方面发挥关键的作用，其不仅能使 AMPAR 磷酸化，并且使 AMPAR 数量及功能提高，从而使突触后反应增强，诱导 LTP 的发生^[16]。GluR1 蛋白是 AMPAR 亚基之一，其在正常的快突触传递及 LTP 的发生中扮演着至关重要的角色^[17]。被 CaMK II 磷酸化的 GluR1 是使 AMPAR 插入突触后膜增强电导的基础，是诱发 LTP 的要点^[18]。课题组前期研究发现，脑络欣通对突触可塑性相关蛋白突触素 (SYP)、生长相关蛋白 43 (GAP-43)、脑源性神经

营养因子 (BDNF)、胶质纤维酸性蛋白 (GFAP)、微管相关蛋白 2 (MAP-2) 等具有促进合成作用，且能使树突数量及神经细胞数量增多^[19-21]。

本实验结果发现，脑络欣通能够促使大鼠逃避潜伏期的时间明显缩短，而目标象限停留的时间、穿越平台的次数显著增加，说明脑络欣通提高了 MCAO/R 大鼠学习记忆能力，且 HE 染色显示脑络欣通能改善缺血侧组织病理损伤。脑络欣通组、益气组、活血通络组大鼠缺血侧额顶叶皮质及海马区 GluR1、CaMK II 蛋白表达均比模型组高，且脑络欣通组优于益气组、活血通络组，说明脑络欣通及其拆方均对缺血性脑卒中突触可塑性有促进作用，但脑络欣通全方相比于其拆方对梗死区周围神经元突触可塑性的促进作用更强。

综上，脑络欣通可能通过促进缺血侧额顶叶皮质及海马区 GluR1、CaMK II 蛋白表达，从而诱导 LTP 发生、改善突触可塑性，进而促进 MCAO/R 大鼠神经功能的恢复，改善学习记忆能力。本实验不足之处在于，没有利用透射电镜等从直观角度观察脑络欣通对脑缺血后突触可塑性的影响，今后需进一步深入探究。

参考文献

- [1] 彭斌, 吴波. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018[J]. 中华神经科杂志, 2018, 51(9): 666-682.
- [2] HOFMEIJER J, PUTTEN MJVAN. Ischemic cerebral damage: an appraisal of synaptic failure[J]. Stroke, 2012, 43(2): 607-615.
- [3] 袁栋才, 张凤春, 魏巍, 等. 神经可塑性与脑卒中后运动功能恢复的研究进展[J]. 中国康复医学杂志, 2014, 29(4): 391-394.
- [4] 杨文明, 李祥, 王键, 等. 脑络欣通治疗脑梗死恢复期气虚血瘀证的临床研究[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2013, 12(12): 1424-1426.
- [5] 王丽娜, 曹健, 朱国旗, 等. 脑络欣通降低局灶性脑缺血再灌注大鼠额顶叶皮质 TLR4 及 TRAF6 和 TNF- α 蛋白的表达[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2018, 34(8): 702-707.
- [6] 陈立铭, 裴磊. 脑络欣通和左归丸药物血清体外培养神经干细胞的增殖与分化[J]. 中国组织工程研究, 2016, 20(32): 4845-4851.
- [7] 李玉. 益气活血通络法对局灶性脑缺血/再灌注大鼠 rCBF 及 GRB7、VEGFR2 蛋白表达的影响[D]. 合肥: 安徽中医药大学, 2020.
- [8] 胡建鹏, 王键, 程红, 等. 脑络欣通及其拆方对脑缺血再

- 灌注大鼠脑组织 GFAP、bFGF 和 GDNF 蛋白表达的影响[J]. 中国中医急症, 2008(03):349-351.
- [9]李永格,刘庆春. 山茱萸多糖对血管性痴呆大鼠学习记忆能力的影响及其机制研究[J]. 中国药房, 2016, 27(7): 889-891.
- [10]GEORGE PM, STEINBERG GK. Novel stroke therapeutics: unraveling stroke pathophysiology and its impact on clinical treatments[J]. *Neuron*, 2015, 87(2):297-309.
- [11]刘兵兵,徐雅,刘政申,等. 缺血性脑卒中的中西医研究进展[J]. 国医论坛, 2018, 33(3):65-67.
- [12]巫芳华,刘玉莲,杨开令,等. 胶质细胞在补阳还五汤治疗脑缺血再灌注损伤中的作用[J]. 中国中医药现代远程教育, 2021, 19(15):189-192.
- [13]JOKINEN H, MELKAS S, YLIKOSKI R, et al. Post-stroke cognitive impairment is common even after successful clinical recovery[J]. *Eur J Neurol*, 2015, 22(9): 1288-1294.
- [14]宋迪,吴军发. 基因对脑卒中后神经可塑性的影响以及在精准康复中的作用[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2018, 40(9):712-715.
- [15]吴建丽,袁珍,王永亮,等. 电项针对慢性睡眠剥夺轻度认知障碍大鼠海马突触可塑性相关蛋白的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(3):370-375.
- [16]HERRING BE, NICOLL RA. Long-term potentiation: from CaMK II to AMPA receptor trafficking[J]. *Annu Rev Physiol*, 2016, 78:351-365.
- [17]REISEL D, BANNERMAN DM, SCHMITT WB, et al. Spatial memory dissociations in mice lacking GluR1[J]. *Nat Neurosci*, 2002, 5(9): 868-873.
- [18]SHI S, HAYASHI Y, ESTEBAN JA, et al. Subunit-specific rules governing AMPA receptor trafficking to synapses in hippocampal pyramidal neurons[J]. *Cell*, 2001, 105(3): 331-343.
- [19]江爱娟,胡建鹏,王键,等. 益气活血方和补肾生髓方对大鼠脑缺血恢复期 GAP-43 和 SYP 表达的影响[J]. 中国中医药科技, 2008, 15(6):418-419, 400.
- [20]江爱娟,胡建鹏,申国明,等. 两种中药复方对脑缺血大鼠脑组织 BDNF 和 bFGF 表达的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2009, 11(7):188-190.
- [21]郜峦,王键,胡建鹏,等. 益气活血法对脑缺血再灌注大鼠 MAP-2 及 Nogo-A 蛋白表达的影响[J]. 辽宁中医药大学学报, 2013, 15(5):23-25.

Effects of *Naoluoxtong* and its Disassembled Prescriptions on Learning and Memory Ability and Synaptic Plasticity in Right Middle Cerebral Artery Occlusion-reperfusion Rats

QIN Xuemei¹, LI Peipei¹, SHI Xiao¹, WANG Lina¹, JIA Gen², HU Jianpeng¹

1. School of Traditional Chinese Medicine, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei, 230038; 2. Pizhou Hospital Affiliated to Xuzhou Medical University

ABSTRACT Objective To explore the possible mechanism of *Naoluoxtong* (脑络欣通) for prevention and treatment of ischemic stroke. **Methods** Fifty SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, *Naoluoxtong* group, *Yiqi* (益气) group and *Huoxue Tongluo* (活血通络) group, with 10 rats in each group. Except for the sham operation group, the modified suture method was used in the other groups to establish the right middle cerebral ischemia-reperfusion model. After successful modeling, rats in the *Naoluoxtong* group, *Yiqi* group and *Huoxue Tongluo* group were given *Naoluoxtong* 8.54 g/(kg·d), *Yiqi Formula* 3.5 g/(kg·d) and *Huoxue Tongluo Formula* 5.04 g/(kg·d) by gavage respectively, while the sham operation group and the model group were given the 10 ml/(kg·d) of normal saline by gavage, twice a day, for a total of 14 days. Morris water maze (positioning navigation test, spatial navigation test) was used to observe the learning and memory ability of rats, while HE staining was used to observe the pathological changes in the right frontoparietal cortex and hippocampus, and immunohistochemistry was used to detect changes in the expression of glutamate receptor 1 (GluR1) and calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMK II) in the right frontoparietal cortex and hippocampus. **Results** Compared with those in the sham operation group, the escape latency of rats in the model group was significantly prolonged at each time point, while the time spent in the target quadrant and the times of crossing the platform decreased, and the expressions of GluR1 and CaMK II were reduced ($P < 0.01$). Compared with those in the model group, the escape latency of the rats in the *Naoluoxtong* group, the *Yiqi* group and the *Huoxue Tongluo* group at each time point was significantly shortened ($P < 0.05$), while the time spent in the target quadrant and the times of crossing the platform increased significantly ($P < 0.05$), and the expressions of GluR1 and CaMKII increased as well ($P < 0.01$).

Compared with those in the *Naoluoxtong* group, the escape latency in the *Yiqi* group and the *Huoxue Tongluo* group was prolonged at each time point, while the time spent in the target quadrant and the times of crossing the platform decreased, and the expression of GluR1 and CaMK II were reduced ($P < 0.05$). There were no significant differences in the expression of all indicators between the *Yiqi* group and the *Huoxue Tongluo* group ($P > 0.05$). The histopathological results showed that compared with those in the model group, the arrangement, shape and size of nerve cells in the *Naoluoxtong* group, the *Yiqi* group and the *Huoxue Tongluo* group were restored, and the cell edema and necrosis were improved, with more significant improvement in the *Naoluoxtong* group. **Conclusion** *Naoluoxtong* can improve the ability of learning and memory in right middle cerebral artery occlusion-reperfusion rats, and the overall effect is better than its disassembled prescriptions. The mechanism may be related to the promotion of the expression of GluR1 and CaMK II proteins in the fronto-parietal cortex and hippocampus, thereby enhancing synaptic plasticity.

Keywords ischemic stroke; *Naoluoxtong* (脑络欣通); learning and memory ability; synaptic plasticity; glutamate receptor 1 (GluR1); calcium/calmodulin-dependent protein kinase II (CaMK II)

(收稿日期: 2021-09-25; 修回日期: 2022-01-21)

[编辑: 邓 媛]

珍贵文献 临床科研必备《中医杂志》光盘合订本

《中医杂志》光盘检索系统收录了 1951—2013 年出版发行的《中医杂志》所有期刊(繁体字已转为简体字)。您可借助计算机阅读收录的任意一篇文章, 而且可对光盘进行任意词或多组合条件检索, 检索结果可以打印或下载保存。您可以在几秒钟内就能检索到某种疾病、某种疗法或某种药的相关文章, 本光盘可按自然年、期排序, 方便阅读与保存。1951—1986 年光盘还收录了扫描的原文版面图像。

邮购地址: 北京东直门内南小街 16 号中医杂志社, 邮政编码: 100700

电话: (010) 64035632 联系人: 杨秋雷(请在汇款单附言栏写明购买者的电话)

1951—1986 年光盘合订本每套(4 张光盘) 480 元

1987—1994 年光盘合订本每套(1 张光盘) 260 元

1995—2004 年光盘合订本每套(1 张光盘) 280 元

2005—2013 年光盘合订本每套(1 张光盘) 300 元



欢迎关注《中医杂志》公众号

科技精品光盘全文检索管理系统 3.5 - 《中医杂志》(1987-1994)

系统工具 检索结果 检索设置 桌面设置 帮助

库项检索 年代·期 检索 二次检索 全选

期刊目录

- 中医杂志. 1987年08期
- 中医杂志. 1987年09期
- 中医杂志. 1987年10期
- 中医杂志. 1987年11期
- 中医杂志. 1987年12期
- 中医杂志. 1988年01期
- 中医杂志. 1988年02期
- 中医杂志. 1988年03期
- 中医杂志. 1988年04期
- 中医杂志. 1988年05期
- 中医杂志. 1988年06期
- 中医杂志. 1988年07期
- 中医杂志. 1988年08期
- 中医杂志. 1988年09期
- 中医杂志. 1988年10期
- 中医杂志. 1988年11期
- 中医杂志. 1988年12期
- 中医杂志. 1989年01期
- 中医杂志. 1989年02期
- 中医杂志. 1989年03期
- 中医杂志. 1989年04期
- 中医杂志. 1989年05期
- 中医杂志. 1989年06期
- 中医杂志. 1989年07期
- 中医杂志. 1989年08期
- 中医杂志. 1989年09期
- 中医杂志. 1989年10期
- 中医杂志. 1989年11期
- 中医杂志. 1989年12期

篇名 作者 中文刊名 年 期

1. 潜阳证治

2. 厥脱与中风的关系

3. 脉法三论

4. 针灸保健益寿法探

5. 清热解暑法治疗暑气中

6. 余无言医方治法述介

7. 中医治疗高热症21例

8. 丁仲山外科医案三则

9. 闭经溢乳综合征证治急

10. 医话二则

11. 甘露消毒丹新用

12. 中药结合治疗皮肤切

13. 失眠从气论治2例

14. 男性不育症从肝肾论治

15. 东垣升阳泻火法在针灸

16. 井穴的贯通应用法则

17. 萎缩性胃炎436例中医

18. 中药重泻法治疗急性

19. 三种不同治法治疗急性

20. 痹证对老年便秘及睡眠

21. 利胆合剂治疗小儿迁延

22. 中药治疗小儿迁延性血

23. 慢性肾炎辨证论治和血

24. 八种经期中中药效的

1951 1952

1953 1954

1955 1956

1957 1958

1959 1960

1961 1962

1963 1964

1965 1966

1967 1968

选择年份

1951-1986 光盘合订本

1987-1994 光盘合订本

1995-2004 光盘合订本

2005-2013 光盘合订本

1951-1986 光盘合订本

1987-1994 光盘合订本

1995-2004 光盘合订本

2005-2013 光盘合订本