

复方万年青胶囊对大鼠血管性痴呆的改善作用

曲佳乐¹, 边雨¹, 佟志军², 王美慧¹, 宋德库², 石菊³, 白冰³, 高陆^{1*}

1. 吉林省现代中药工程研究中心有限公司, 吉林 长春 130012

2. 吉林天力泰药业有限公司, 吉林 白山 134400

3. 吉林修正药业新药开发有限公司, 吉林 长春 130012

摘要: **目的** 探讨复方万年青胶囊对大鼠血管性痴呆的改善作用及机制。**方法** 采用双侧颈总动脉永久性结扎法建立大鼠血管性痴呆模型, 将 40 只 SD 大鼠随机分成假手术组、模型组、复方万年青胶囊 0.375 g/kg 组和尼麦角林 0.011 g/kg 组, 每组 10 只, 连续 ig 给药 45 d, 每天 1 次。采用 Morris 水迷宫实验考察大鼠寻找站台潜伏期、原象限停留时间比和距离比, 并检测生化指标 IL-6、乙酰胆碱酯酶 (AChE) 的水平。**结果** 与模型组相比, 复方万年青胶囊组大鼠在第 1、2、4、5 天寻找站台的潜伏期均明显缩短 ($P < 0.05$), 在原象限停留时间比和距离比均明显增加 ($P < 0.05$), 生化指标 AChE 水平明显降低 ($P < 0.01$), 细胞因子 IL-6 水平降低, 无显著性差异。**结论** 复方万年青胶囊具有改善大鼠血管性痴呆的作用, 可能与降低 AChE 活性, 提升乙酰胆碱水平, 修复受损的中枢胆碱能神经系统有关。

关键词: 复方万年青胶囊; 血管性痴呆; 乙酰胆碱酯酶

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2019)08-2258-04

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2019.08.002

Improvement of Compound Wannianqing Capsules on vascular dementia of rats

QU Jia-le¹, BIAN Yu¹, TONG Zhi-jun², WANG Mei-hui¹, SONG De-ku², SHI Ju³, BAI Bing³, GAO Lu¹

1. Jilin Modern Chinese Medicine Engineering and Research Center Co.,Ltd., Changchun 130012, China

2. Jilin Tianlitai Pharmaceutical Co.,Ltd., Baishan 134400, China

3. Jilin Xiuzheng Innovative Drug Development Co.,Ltd., Changchun 130012, China

Abstract: Objective To explore the improvement of Compound Wannianqing Capsules on vascular dementia of rats and its mechanism. **Methods** Vascular dementia rats model was established by bilateral carotid artery ligation method. SD rats (40) were randomly divided into sham group, model group, Compound Wannianqing Capsules 0.375 g/kg group, and nicergoline 0.011 g/kg group, and each group had 10 rats. Rats were ig administered with drugs for 45 d, once daily. The incubation period of rats finding the latency of the platform, the time ratio of the original quadrant, and the distance ratio were observed by the Morris water maze. The biochemical index IL-6 and acetylcholinesterase (AChE) levels were detected. **Results** Compared with the model group, the incubation period of Compound Wannianqing Capsules group was significantly shortened in 1, 2, 4, and 5 d ($P < 0.05$), and the original quadrant and the distance ratio were significantly increased ($P < 0.05$), and the biochemical indicators of AChE was significantly decreased ($P < 0.01$), and the level of cytokine IL-6 was reduced with no significant difference. **Conclusion** Compound Wannianqing Capsule has the improvement effect of vascular dementia in rats, and the mechanism may be related to reducing AChE activity, increasing acetylcholine levels, and repairing damaged central cholinergic nervous system.

Key words: Compound Wannianqing Capsules; vascular dementia; acetylcholinesterase

血管性痴呆是老年期痴呆的一种主要类型, 由一系列脑血管因素导致脑组织损害而引起认知功能减退为特征的一组临床综合征。目前发病率逐年递增, 威胁人类健康生活^[1]。复方万年青胶囊是以虎眼万年青为主要原料, 配以人参、黄芪、虎杖、丹参等 10 味名贵中药材制备而成的抗癌中药复方。

收稿日期: 2019-03-29

基金项目: 吉林省科技发展计划资助项目 (20190404002YY、20130727032YY)

作者简介: 曲佳乐, 工程师, 硕士, 主要从事中药学及项目管理。E-mail: jiale2599@sina.com

*通信作者 高陆, 主任药师, 博士生导师, 主要从事中药新药研究与开发。E-mail: bianyu19900812@126.com

研究显示神经系统和免疫系统的相互作用在癌症及其治疗疼痛过程中密切相关^[2], 故在复方万年青胶囊的抗癌功效基础上探讨其神经保护的作用, 具有重大意义。本实验主要研究复方万年青胶囊对大鼠血管性痴呆的改善作用及作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物

成年雄性 SD 大鼠, 体质量 (250±20) g, 购于吉林大学白求恩医学院动物实验中心, 合格证号 SCXK (吉) 2011-0004。

1.2 药物

复方万年青胶囊, 规格 0.4 g/粒, 产品批号 20150301, 由吉林天力泰药业有限公司提供; 尼麦角林片, 规格 5 mg/片, 产品批号 20141207, 由昆山龙灯瑞迪制药有限公司提供。

1.3 试剂及仪器

白介素-6 (IL-6)、乙酰胆碱酯酶 (AChE) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 批号 20150416), Morris 水迷宫系统 (成都泰盟科技有限公司), BP211D 型电子天平 (北京赛多利斯天平有限公司), 光吸收酶标仪 SpectraMax Plus 384 (美谷分子仪器上海有限公司)。

1.4 造模及给药

采用双侧颈总动脉永久结扎法^[3-4]。大鼠术前 12 h 禁食、4 h 禁水, 用 10% 水合氯醛 (3 mL/kg) 腹腔注射麻醉, 保证手术期间有自主呼吸。仰卧固定, 颈前部去毛消毒后沿颈正中切开, 分离出双侧颈总动脉, 双重丝线结扎, 避免损伤颈交感神经和迷走神经, 术中注意保暖, 术后缝合伤口, 动物送回动物房饲养, 术后第 3 天取存活大鼠进行分组试验。将大鼠分成 4 组, 分别为假手术组、模型组、复方万年青胶囊 0.375 g/kg 组和尼麦角林 0.011 g/kg

组, 每组 10 只, 各组大鼠均 ig 给药, 每天 1 次, 共 45 d, 给药剂量按大鼠和成人表面积换算, 假手术组、模型组给予同等剂量的生理盐水。

1.5 Morris 水迷宫实验^[5-6]

给药第 39 天, 将各组大鼠依此放入 Morris 水迷宫中进行适应性游泳 1 次, 不放平台, 不记录成绩, 共计 120 s。给药第 40 天, 正式开展连续 6 d 的 Morris 水迷宫实验, 实验期间继续给药, 定位航行实验, 前 5 d 将大鼠从两个象限的入水点放入水中, 每天上午、下午各一次, 记录其在 120 s 里寻找平台所用的时间 (逃避潜伏期) 和游泳路径。继续进行空间探索实验, 在第 6 天撤除平台, 记录 120 s 内大鼠在池内的游泳轨迹和时间, 分析各组大鼠在原平台象限游泳的时间和路径与总游泳时间和路径的比值。

1.6 生化指标测定

Morris 水迷宫实验结束后, 腹主动脉或眼球取血, 按试剂盒说明测定 IL-6 的水平; 大鼠麻醉状态下, 断头取脑, 将脑组织, 制成 10% 的组织匀浆, 按试剂盒说明测定脑组织 AChE 的水平。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 19.0 统计学软件包对数据进行分析检验。

2 结果

2.1 Morris 水迷宫实验

定位航行实验观测其逃避潜伏期和游泳路径检测大鼠的学习能力, 结果见表 1。与假手术组比较, 模型组第 1~5 天寻找站台的潜伏期明显延长 ($P < 0.05$ 、 0.01), 说明建模成功; 与模型组比较, 尼麦角林组第 1~5 天寻找站台的潜伏期明显缩短 ($P < 0.05$ 、 0.01); 复方万年青胶囊组在第 1、2、4、5 天寻找站台的潜伏期均明显缩短 ($P < 0.05$)。

表 1 大鼠的逃避潜伏期 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)
Table 1 Escape incubation period of rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	潜伏期/s				
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
假手术	—	97.9±19.88	78.5±49.06	54.58±34.55	47.83±26.46	36.28±20.86
模型	—	118.5±4.95 ^{##}	157.23±59.67 [#]	112.8±39.47 [#]	100.58±51.13 [#]	102.56±47.1 [#]
尼麦角林	0.011	102.56±21.90 [*]	86.27±48.18 [*]	61.1±35.30 ^{**}	50.51±37.34 [*]	43.38±19.29 ^{**}
复方万年青胶囊	0.375	101.28±22.11 [*]	83.76±61.61 [*]	98.2±49.47	44.25±18.94 [*]	57.94±36.92 [*]

与假手术组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$

[#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs sham group; ^{*} $P < 0.05$ ^{**} $P < 0.01$ vs model group

空间探索实验记录各组大鼠寻找原平台象限游泳的时间与总游泳时间的比值及寻找原平台象限游泳的距离与总距离的比值,见表 2。与假手术组比较,模型组大鼠在原象限停留时间比和距离比均有缩短 ($P < 0.01$),建模成功;与模型组比较,尼麦角林组、复方万年青胶囊组在原象限停留时间比和距离比均明显增加 ($P < 0.05$)。

表 2 大鼠游泳时间比和路径比 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Results of swimming time and route ratio of rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (g·kg ⁻¹)	原象限停留 时间比/%	原象限停留 距离比/%
假手术	—	8.78 ± 3.58	13.37 ± 4.16
模型	—	4.8 ± 1.53 ^{##}	5.98 ± 2.00 ^{##}
尼麦角林	0.011	7.38 ± 3.02 [*]	8.94 ± 3.54 [*]
复方万年青胶囊	0.375	7.53 ± 3.09 [*]	8.18 ± 1.61 [*]

与假手术组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

^{##} $P < 0.01$ vs sham group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

综合分析 Morris 水迷宫实验结果,表明复方万年青胶囊对血管性痴呆大鼠的学习记忆障碍有显著改善作用。

2.2 生化指标检测

与假手术组比较,模型组 AchE 水平明显升高 ($P < 0.01$),IL-6 水平有所升高;与模型对照组比较,尼麦角林组、复方万年青胶囊组 AchE 水平显著降低 ($P < 0.01$),IL-6 水平有所降低,但无明显差异。结果表明 AchE 指标变化与血管性痴呆疾病相关,调节控制其水平可改善治疗效果,而 IL-6 参与免疫反应,但影响作用不显著,见表 3。

表 3 大鼠生化指标的检测结果 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Results of biochemical index in rats ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	IL-6/(ng·L ⁻¹)	AchE/(ng·mL ⁻¹)
假手术	—	8.62 ± 0.40	25.96 ± 4.60
模型	—	8.84 ± 2.22	30.51 ± 1.81 ^{##}
尼麦角林	0.011	8.47 ± 0.67	26.56 ± 3.83 ^{**}
复方万年青胶囊	0.375	8.56 ± 0.71	27.86 ± 1.74 ^{**}

与假手术组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较: ^{**} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs sham group; ^{**} $P < 0.01$ vs model group

3 讨论

老年痴呆是老年人中最常见的神经退行性变性病之一,现已成为继心脏病、癌症、中风之后的第 4 位导致老年人致死的原因^[7]。临床一般将老年痴

呆分为血管性痴呆、阿尔茨海默病即老年性痴呆和混合型痴呆,其中血管性痴呆和老年性痴呆的发病率占老年痴呆症总数的 75%,且发病率仍然均呈逐年上升的趋势。本研究通过建立血管性痴呆体内动物经典模型,根据 Morris 水迷宫行为学检测结果,与模型组比较,复方万年青胶囊组大鼠逃离潜伏期明显缩短和在目标象限中游泳时间比、距离比的显著增加,证明其对血管性痴呆症状有明显改善作用。

对于血管性痴呆的病因和发病机制尚不明确。有研究表明炎症反应在脑缺血后可引发连锁过程,与再灌注损伤也有关。脑缺血和再灌注时,炎症细胞和血管内皮细胞可释放多种细胞因子(TNF- α 、IL-1B、IL-6、IL-10 等)参与免疫反应,可修复受损组织,具有神经保护作用,但过度表达又可加重脑组织损伤。IL-6 为重要的炎症介质,故可作为监测指标^[8-9]。现代研究表明中枢胆碱能系统的损伤与失调是造成血管性痴呆并发症的重要因素,乙酰胆碱(Ach)是中枢胆碱能神经系统重要的神经递质,与学习记忆密切相关,脑中 Ach 降低与血管性痴呆病情的发生有关联,而 Ach 水平在体内受胆碱乙酰转移酶(ChAT)和 AchE 调控,AchE 是 Ach 的水解酶,可作为 Ach 活性的标志,当脑缺血时,AchE 释放过多,分解 Ach 增强,导致 Ach 浓度降低促进痴呆的发生,因此通过抑制 AchE 活性,有利于改善血管性痴呆症状^[11]。本实验通过检测 IL-6、AchE 水平结果显示,大鼠血管性痴呆的治疗作用,与降低 AchE 活性,提升乙酰胆碱水平,修复受损的中枢胆碱能神经系统有关。

复方万年青胶囊是由 10 味中药配伍组成的复方制剂,复方万年青胶囊中含有的多种成分既是抗癌的活性组分,又是神经保护的活性组分。故在抗癌活性作用明确的基础上,开发其新用途,扩大药物的适应症,可以增加药物使用人群,节省开发新药的成本。其次,癌症的发生及病变的过程与神经系统密切相关,服用该药物可以使受试人群达到抗癌、抗血管性痴呆双重功效的作用,意义重大,为临床用药提供基础。

参考文献

- [1] 张立,邢艳丽,熊伟南.血管性痴呆治疗的研究进展[J].医学综述,2015,21(8):1414-1417.
- [2] 王海慧,王素匣.神经免疫机制在癌症疼痛中的研究进展[J].实用癌症杂志,2016,31(10):1737-1739.
- [3] 赵光恒,王正君.脑立轻胶囊对血管性痴呆大鼠影响

- 的实验研究 [D]. 武汉: 湖北中医学院, 2007: 7-10.
- [4] 彭晓燕, 万 婷, 张丽丹, 等. 血管性痴呆大鼠模型的研究概述 [J]. 中华中医药学刊, 2018, 36(2): 311-314.
- [5] 张东明. Y型迷宫实验和 Morris 水迷宫实验的比较 [J]. 中国医药科学, 2011, 1(20): 26-27.
- [6] 吴晓光, 李 玲, 苗光新. 等. 山楂叶总黄酮对血管性痴呆大鼠学习记忆的干预作用及机制 [J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(14): 3819-3822.
- [7] 李春伟. 中药复方治疗老年痴呆的临床文献研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2010: 4.
- [8] 王 萍, 张密霞, 庄朋伟, 等. 脑缺血再灌注损伤的炎症反应机制研究进展 [J]. 天津中医药大学学报, 2014, 33(5): 317-320.
- [9] 王 菲. 血管性痴呆的分子机制及治疗学研究进展 [J]. 中国神经精神疾病杂志, 2014, 40(5): 317-320.
- [10] 蔺心敬, 胡常林, 李吕力, 等. 乙酰胆碱和血小板激活因子含量变化与血管性痴呆发生机制的相关性 [J]. 中国组织工程研究, 2003, 7(16): 2270-2272.