阿尔茨海默病异常黑胆质病证结合模型的氧化应激反应及方药干预实验

帕丽丹·吾术尔[1],哈木拉提·吾甫尔[2],阿不都卡德尔·库尔班[2],热娜古丽·艾则孜[2],
党 明[2],努尔买买提·艾买提[2]

1. 新疆医科大学附属中医医院心身科,乌鲁木齐 830000
2. 新疆医科大学维吾尔医学院,乌鲁木齐 830011

摘要 为研究阿尔茨海默病(AD)异常黑胆质病证结合大鼠海马组织抗氧化酶的活性及脂质过氧化产物的浓度变化,并观察方药对氧化应激的干预作用。选用雄性 SPF 级 Wistar 大鼠 36 只,完全随机分成正常对照组、模型组、异黑颗粒高剂量干预组、异黑颗粒中剂量干预组、异黑颗粒低剂量干预组、多奈哌奇干预组。病证结合造模后 3d 开始药物干预 15d,行为学测试后应用紫外分光光度法检测大鼠大脑海马组织超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、过氧化氢酶(CAT)、单胺氧化酶(MAO)活性和丙二醛(MDA)含量。结果表明,模型组大鼠海马组织 SOD、GSH-Px、CAT 活性明显减弱,MAO 活性增强、MDA 含量明显升高,与空白对照组比较有显著性差异(P<0.01)。经方药干预治疗后,不仅生物表征有显著改善,高剂量干预组大鼠海马组织 SOD、GSH-Px、CAT 活力较模型组明显提高,MAO 活性减低、MDA 含量明显下降,与模型组比较有显著性差异(P<0.01),与多奈哌奇干预组比较无明显差异(P>0.05)。中剂量干预组 SOD 活性明显提高,与模型组比较有显著性差异(P<0.01);GSH-Px、CAT 活性提高、MAO 活性降低,与模型组比较有明显差异(P<0.05),MDA 含量无明显改善,与正常对照组比较有显著性差异(P<0.01)。低剂量干预组 SOD、CAT、MAO 活性及 MDA 含量与模型组比较无显著性差异(P>0.05),与正常对照组比较有显著性差异(P<0.01)。GSH-Px 活性与模型组比较有明显差异(P<0.05)。由此得出,异常黑胆质证结合双海马聚集态 Aβ 注射所建立的 AD 异常黑胆质病证结合大鼠模型,存在明显的自由基损伤和氧化应激过度,异常颗粒可能通过增强 SOD、CAT、GSH-Px 等抗氧化酶的活性,抑制 MAO 活性减少单胺类神经递质的氧化分解,抑制脂质过氧化反应而减少自由基对海马神经元损伤,从而达到防治老年性痴呆的目的,方药高剂量疗效最突出。

关键词 阿尔茨海默病;病证结合模型;异常颗粒;氧化应激;自由基损伤

中图分类号 R29　　**文献标志码** A　　**doi** 10.3981/j.issn.1000-7857.2013.18.010

Oxidative Stress Reaction of the Model Combining Disease with Syndrome for Alzheimer´s Disease Carrying Abnormal Savda Syndrome and the Intervenient Experiment of Prescription

WUSHUER Palidan[1], UPUR Hamulati[2], KUERBAN Abudukadeer[2], AIZEZI Renaguli[2], DANG Ming[2], AIMAITI Nuermaimaiti[2]

1. Department of Psychosomatic, Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China
2. Institute of Traditional Uighur Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China

Abstract In order to study the antioxidant enzyme activity of hippocampal tissue in the rat model of Alzheimer´s Disease (AD) carrying

收稿日期:2013-03-18;修回日期:2013-05-03
基金项目:国家自然科学基金项目(81060311)
作者简介:帕丽丹·吾术尔,副主任医师,研究方向为阿尔茨海默病的中维西医干预,电子信箱:pld425@sina.com;努尔买买提·艾买提(通信作者),研究员,研究方向为新疆重大疾病的维吾尔医干预,电子信箱:oglan1972@126.com

abnormal savda syndrome and observe the effect and mechanism of prescription on the oxidative stress, 36 male Wistar rats are randomly divided into six groups (six rats per group). A rat model combining disease with syndrome is established, three days latter, three groups are given Yihei (abnormal savda) granula for 15 days. The spectrophoto-metric method is employed to test the activity of SOD, GSH-Px, CAT, MAO and the content of MDA in the hippocampus of rat cerebrum. It is found that。the activity of SOD, GSH-Px, and CAT is obliviously decreased, the activity of MAO and the content of MDA is significantly increased in the rat hippocampus of the model group, compared with the normal group, the difference is significant (P<0.01). After the treatment, the group given high dose of Yihei granula demonstrates that the activity of SOD, CAT, GSH-Px (P<0.01) increase, and the activity of MAO, content of MDA are decreased in rat hippocampus (P<0.01). Compared with the model group, the difference is significant (P<0.01), However, compared with Donepezil group, there is insignificant difference between these two groups (P>0.05). The group given mild dose of Yihei granula demonstrates that the activity of SOD increases, compared with the model group, the difference is significant (P<0.01). The activity of GSH-Px, CAT is increase, the activity of MAO is decrease, compared with the model group, the difference is significant (P<0.05), the content of MDA does not improve obviously, compared with normal group, the difference is insignificant (P<0.01). The group given low dose of Yihei granula is compared with the model group, there is insignificant difference in the activity of SOD, CAT, MAO, and the content of MDA (P>0.05). Compared with normal group, the difference is significant (P<0.01). There is significant difference in the activity of GSH-Px compared with model group (P<0.05). Therefore, the rat model combining disease with syndrome does an injury to free radical, oxidative stress is excessive, and Yihei granular is able to improve the activity of antioxidant enzyme, reduce the content of MDA, and inhibit the incidents of AD by antioxidative effect. It might be one of the formula mechanisms for the AD treatment.

Keywords Alzheimer's disease; model combining disease with syndrome; Yihei (abnormal savda) granula; oxidative stress; free radical injury

0 引言

随着人类寿命的延长，阿尔茨海默病（Alzheimer's Diseas,AD）将成为21世纪老龄化社会严重威胁老年人健康和生命的主要疾病之一。AD是一种常见于老年人的中枢神经系统退行性疾病，以进行性的认知功能损害和记忆力减退、精神行为异常以及生活能力减退等为主要表现。属痴呆中最常见类型,起病隐匿,患者通常在被发现症状后5~10年内,死于继发感染和全身衰竭[1]。许多学者从不同角度提出了多种发病机制的假说,其中β-淀粉样蛋白(Aβ)神经毒性学说占据主导地位,围绕Aβ产生了"淀粉样级联假说"(amyloidcascade hypothesis)[2,3]，世界各国科学家对此病进行了众多的遗传学、分子学、生物化学和神经病理学的研究,发现自由基损伤和氧化应激过度与Aβ的产生以及Aβ毒性诱导的氧化应激损伤是密不可分的。维医认为,年迈者易被"异常黑胆质"困扰,异常黑胆质与AD的发生、发展关系密切,是AD的病生基础和重要特征。方药异黑颗粒经临床应用多年证明,在痴呆等老年性疾病的治疗中疗效显著,是防治痴呆等复杂性疾病的首选药物。

以往研究工作中已成功地建立了AD异常黑胆质病证结合大鼠模型[4],并通过行为学检验证明异黑颗粒能改善异常黑胆质型AD大鼠学习记忆能力[4]。本研究通过研究AD异常黑胆质病证结合大鼠海马组织超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、单胺氧化酶(MAO)的活性变化以及丙二醛(MDA)含量的改变,观察异常黑胆质证结合西医病理机制联合造模对大鼠海马的氧化损伤及方药异黑颗粒对氧化应激的干预作用,以探讨异常黑胆质证对认知功能影响的生物学基础,并初探异黑颗粒改善学习记忆功能及改善痴呆症状的部分作用机制。

1 材料与仪器

1.1 动物与分组

雄性SPF级Wistar大鼠,体重300~350g,鼠龄8~10周,购自新疆医科大学医学实验动物中心，许可证号为SCXK(新)20032001。所有大鼠都饲养于新疆医科大学动物实验中心SPF级清洁鼠房。各组动物适应性喂养1周后调整饲养环境,正常对照组即假手术组(Control)用普通饲料(100g/d)、200mL水,2:00PM—次日10:00AM随机饮食水，室温控制在(25±3)℃,相对湿度60%~80%条件下喂养。AD异常黑胆质病证结合组(模型组),异黑颗粒高剂量干预组、异黑颗粒中剂量干预组、异黑颗粒低剂量干预组、盐酸多奈哌奇干预组采用干寒饲养环境（用人工气候箱,(5±3)℃，相对湿度20%~30%),以干寒属性的特殊饲料、间断足底电刺激等多因素复合作用下喂养,共计6组,每组6只。

1.2 饲料和药物

普通饲料购于新疆医科大学实验动物中心。在普通鼠饲料中按每kg 7:3的比例加入等比例的芫荽子和大麦,加工成颗粒状干饲料,委托新疆维吾尔自治区医学实验动物中心加工。异黑颗粒又称异常黑胆质成熟剂颗粒,由新疆维吾尔自治区维吾尔医医院提供。基本组方由破布木果、红枣、牛舌草、蜜蜂花、甘草根、薰衣草、铁线蕨、小茴香、地锦草、刺糖等多味药组成，根据异黑颗粒制备方法制备（专利号C082130082.8),用旋转蒸发仪浓缩至膏稠状,然后在60℃真空干燥,备用,每1g药粉含3.4g生药。使用时根据试验需要用双蒸水配制。盐酸多奈哌齐:购自卫材(中国)药业有限公司(批号:110807A),使用时粉碎,用双蒸水溶解。

1.3 试剂和主要仪器

CHA-S恒温箱（常州国华电器有限公司);BioMate紫外

可见光光度计(美国 Thermo 公司);80-2 型低速离心机(上海手术器械厂);100℃水浴锅(常州国华电器有限公司);机械匀浆器(德国 IKA 公司);BS-1105 型电子天平(北京赛多科斯天平有限公司);β-淀粉样蛋白 1-40 (β-Amyloid1-40,$A\beta_{1-40}$)购自美国 Sigma 公司。总蛋白定量试剂盒 (考马斯亮蓝法,20121205)、丙二醛 (MDA,20121208)、过氧化氢酶(CAT,20121216)、总抗氧化能力(T-AOC,20121215)、单胺氧化酶(MAO,20121217)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px,20121210)、超氧化物歧化酶(SOD,20121210)活性检测试剂盒均为南京建成生物工程研究所产品。

2 实验方法

2.1 动物模型的制作

正常对照组采取双海马生理盐水注射造模。模型组动物造模分为两个阶段:根据文献[6]提供的方法,第 1 阶段建立异常黑胆质证大鼠模型;第 2 阶段在异常黑胆质证动物模型基础上进行双侧海马注射孵育后的聚集态 $A\beta_{1-40}$,建立 AD 异常黑胆质病证结合大鼠模型[4]。药物干预组选用 AD 异常黑胆质病证结合大鼠模型。

2.2 给药方法

造模后 3d 开始给药, 盐酸多奈哌齐干预组按 0.92mg/kg 给药,每天灌胃 1 次。异黑颗粒干预组:小剂量 2.53g/kg,中剂量 5.06g/kg,大剂量 10.12g/kg。1mL/100g 体重。正常对照组给予等体积生理盐水每天灌胃 1 次,均 15d。

2.3 样品的制备

行为学测试后,10%水合氯醛麻醉大鼠, 迅速断头取脑,于冰盘上分离海马组织,用 0℃冰冷的生理盐水漂洗,除去血液,滤纸拭干,称重,按 1/9(质量比)加入预冷的无菌生理盐水,用组织匀浆器充分匀浆,低温离心(3000r/min)10min,取上清液, 用考马斯亮蓝法测定总蛋白含量后-80℃冻存备用。测定时, 取冻存的上清液,4℃融化,SOD、GSH-Px、CAT、T-AOC、MAO 活性和 MDA 含量的测定,利用紫外分光光度计严格按试剂盒说明书检测。

2.4 统计学方法

所有数据采用均数±标准差($\bar{x}$±SD)表示,SPSS 13.0 软件进行统计分析。多组间均数比较采用单因素方差分析;两组间均数比较采用 t 检验。P<0.05 为有明显差异,P<0.01 为有显著性差异。

3 结果与分析

3.1 AD 异常黑胆质病证结合大鼠模型抗氧化酶活性及氧化产物的变化

表 1 显示各组大鼠脑海马区氧化应激相关酶的活性及氧化产物的变化。结果表明, 异常黑胆质病证结合组大鼠海马 SOD、GSH-PX、CAT 活性均降低,MAO 活性增强,脂质过氧化产物 MDA 浓度增高,与正常对照组相比有显著性差异(P<0.01)。

表 1 AD 异常黑胆质病证结合大鼠海马 SOD、GSH-PX、CAT、MAO 活性改变及 MDA 含量的变化($\bar{x}$±SD,n=6)

Table 1 Activities changes of SOD, GSH-Px, CAT, MAO and content changes of MDA in the hippocampus of rat model combining disease with syndrome for Alzheimer´s disease carrying abnormal savda syndrome($\bar{x}$±SD, n=6)

抗氧化指标	正常对照组	模型组
SOD 活性/(U·mg^{-1}prot)	56.47±4.31	32.7±3.38**
CAT 活性/(U·mg^{-1}prot)	0.58±0.09	0.20±0.07**
GSH-Px 活性/(U·mg^{-1}prot)	19.45±2.94	7.72±1.95**
MDA 含量/(U·mg^{-1}prot)	1.56±0.29	3.67±0.15**
MAO 活性/(U·mg^{-1}prot)	3.10±0.49	7.24±0.53**

注:与正常对照组比较,**,P<0.01。

Note: Compared with Control group **, P<0.01.

3.2 异黑颗粒对海马组织抗氧化酶活性及氧化产物的影响

从表 2 可以看出,经药物干预后,异黑颗粒高剂量干预组大鼠海马组织 SOD、GSH-Px、CAT 活性较模型组明显上升,MAO 活性减低、MDA 含量明显下降,与模型组比较有显著性

表 2 异黑颗粒对痴呆异常黑胆质病证结合大鼠海马组织 SOD、GSH-Px、CAT、MAO 活性及 MDA 含量的影响($\bar{x}$±SD,n=6)

Table 2 Effect of ASMq on the activities changes of SOD, GSH-Px, CAT, MAO and content changes of MDA in the hippocampus of rat model combining disease with syndrome for Alzheimer´s disease carrying abnormal savda syndrome

分组	SOD 活性/(U·mg^{-1}prot)	GSH-PX 活性/(U·mg^{-1}prot)	CAT 活性/(U·mg^{-1}prot)	MDA 活性/(U·mg^{-1}prot)	MAO 活性/(U·mg^{-1}prot)
正常对照组	56.47±4.32**	19.45±2.94**	0.58±0.09**	1.56±0.29**	3.10±0.49**
模型组	32.79±3.38##▲▲	7.72±1.95##▲▲	0.20±0.07##▲	3.66±0.15##▲▲	7.24±1.56##▲▲
盐酸多奈哌奇干预组	54.84±3.93**	18.95±2.07**	0.53±0.19*	1.98±0.30**	3.75±0.51**
异黑颗粒低剂量组	40.20±3.78##▲▲	12.70±1.42*#▲▲	0.28±0.07##	3.14±0.34##▲▲	5.71±0.91##▲
异黑颗粒中剂量组	48.56±3.05**	13.90±2.72*	0.38±0.03*#	2.89±0.50##	5.09±1.02*
异黑颗粒高剂量组	53.81±5.98**	18.79±1.24**	0.58±0.06**	1.76±0.45**	3.70±0.58**

注:各组与模型组相比,*,P<0.05,**,P<0.01;各组与正常对照组比较,#,P<0.05,##,P<0.01;各组与盐酸多奈哌齐干预组比较,▲,P<0.05,▲▲,P<0.01。

Notes: Compared with model group, *, P<0.05, **, P<0.01; Compared with model group, #, P<0.05, ##, P<0.01; Compared with donepezil group, ▲, P<0.05, ▲▲, P<0.01.

差异(P<0.01),与多奈哌奇干预组比较无明显差异(P>0.05)。异黑颗粒中剂量干预组 SOD 活力明显上升,与模型组比较有显著性差异 (P<0.01),GSH-Px、CAT 活力提高、MAO 活性降低,与模型组比较有明显差异(P<0.05),MDA 含量无明显改善,与正常对照组比较有显著性差异(P<0.01)。与模型组比较,异黑颗粒低剂量干预组 SOD、CAT 活力有上升,但无显著性差异(P>0.05),MAO 活性降低,MDA 含量也有下降,但也无显著性差异(P>0.05),而各组指标与正常对照组比较有显著性差异(P<0.01)。

与盐酸多奈哌齐干预组比较, 异黑颗粒低剂量干预组 SOD、GSH-Px 活性降低,MDA 含量升高(P<0.01)。异黑颗粒中、高剂量组各项指标无统计学差异。

4　讨论

氧化应激在 AD 发病中起重要作用, 人的大脑耗氧量极高,金属离子含量高,而且含有许多易于被氧化的脂肪酸,但抗氧化物含量较低,因而易于受到氧化损害[7]。目前氧化损害的机制尚不清楚,但可以肯定的是,氧化应激被认为参与 AD 的发生,脂质过氧化是 AD 发生发展的主要诱因。自由基损伤是 β-淀粉样蛋白的主要毒性机制[8],β-淀粉样蛋白的聚集导致神经元损伤、老年斑形成,β-淀粉样蛋白的沉积又能诱导自由基的产生, 并通过多种途径导致氧化应激,氧化应激又促进β-淀粉样蛋白聚集,由此形成一种神经细胞受损和功能紊乱的恶性循环,最终导致 AD[9]。除胆碱能损害学说外,其他各种学说都与氧化应激或自由基损伤存在很密切的关系。Smith 等[10]对 AD 患者的尸检资料证明,AD 神经纤维缠结(NFT)也是自由基氧化损伤的积累,在神经纤维缠结形成的部位存在蛋白质的氧化产物和脂质过氧化物的增加[11]。Migliore 等[12]在神经元死亡的细胞内发现有脂质过氧化物升高而抗氧化酶活性降低的现象,提示神经元凋亡与氧化应激密切相关。炎症反应也可以通过增加细胞膜(脂类过氧化作用)反应性氧化物(ROS)而加速 Aβ 的沉积,并进一步驱动其他因子引起氧化应激和神经褪化的积累。

氧自由基是体内一类氧的单电子还原产物,产生的场所是线粒体,正常机体内存在一个自由基清除系统,其中包括 SOD、CAT、GSH-Px、维生素 E 等。SOD 是一种源于生命体的能消除生物体在新陈代谢过程中产生的有害物质的含有金属元素的活性蛋白酶,是一种重要的氧自由基清除剂,能对超氧阴离子自由基进行歧化反应,生成过氧化氢,再由 CAT 和 GSH-Px 催化后生成水, 从而保护生物体免受自由基的攻击,其活力的高低间接反应了机体清除氧自由基的能力[13]。因此, 测定 SOD 和 GSH-Px、CAT 活性能在一定程度上反映机体的自由基清除能力,即抗氧化能力。MDA 是氧自由基攻击生物膜中的不饱和脂肪酸而形成的脂质过氧化物,氧自由基不但通过生物膜中不饱和脂肪酸的过氧化引起细胞损伤,而且还能通过 MDA 等产物引起细胞损伤,因此 MDA 的高低反应了机体细胞受自由基攻击的严重程度。MDA 作为一种脂质过氧化产物,既是评价衰老的重要指标,又可反映组织氧化的程度, 测定 MDA 的含量可以间接反映体内自由基的水平和机体的老化程度[14]。脑中的 MAO 是一种十分重要的酶,分为 MAO-A 和 MAO-B 两种类型,MAO 底物中多为单胺类神经递质,故 MAO 活力升高时,可氧化分解单胺类神经递质,促进神经系统的老化。MAO-B 主要存在于胶质细胞中,随着年龄的增长, 神经元不断被胶质细胞补偿而导致 MAO-B 的增高,氧化应激可加速氧化单胺类神经递质,单胺类神经递质含量下降,导致老年脑神经递质代谢紊乱,故 MAO-B 和衰老关系密切。另一方面,MAO-B 可激活内源性和外源性的神经毒,提高有害的 H_2O_2 水平,损伤脑细胞。

体液论是维吾尔医学(简称维医)基础理论的核心,体液失衡和气质异常使正常体液转变为对人体有害的异常体液,在机体"热"的作用下,体液质"燃烧"继而"沉淀"形成最终病理产物或表现形式——异常黑胆质体液。异常黑胆质型人群中,其疾病的发生多在老年人群中[15],当异常黑胆质作用于"脑",脑的干寒属性就会偏盛,影响"脑"的代谢,使其在脑"沉淀"影响脑组织气质,导致神经阻滞而出现智能减退、健忘、神情呆滞、语言颠倒、失语等严重症状。在长期与疾病斗争的过程中,维医积累了丰富的治疗经验,以异常黑胆质成熟疗法防治痴呆症等复杂性疾病疗效显著, 在临床应用已多年。在维医古籍中虽没有"痴呆"的诊断,但是对"善忘"、"遗忘"等疾病的病因病机、症状体征及防治等均有详细的记载。在以往对异黑颗粒的研究已表明,异黑颗粒具有良好的抗氧化功能[16],并能保护 DNA 氧化损伤[17]。实验证明,异黑颗粒不仅对羟自由基致膜脂质过氧化损伤有保护作用,又可提高线粒体 SOD 活性,同时可维持对线粒体膜结构的完整[18]。相关研究[17]发现,使用成熟剂和清除剂后,异常黑胆质型病人 SOD、GSH-Px 活性显著增高,MDA 含量明显下降,表明异黑颗粒能有效保护 OH·引发的 DNA 氧化损伤, 提高异常黑胆质型病人抗氧化能力,抑制脂质过氧化损伤。目前在方剂疗效的实验研究中,动物模型多数是模拟发病原理进行复制的模型。由于维吾尔医药(维药)多为复方制剂,只有既辨病又辨证才能体现维药复方的特色及优势, 因此建立病证结合动物模型是中、维药复方研究的必要途径。在保留了维医传统理论体系精髓的基础上结合现代的研究方法,使维医辨证论治思想与现代医学疾病诊断标准相结合更符合科学实际。这样不仅能揭示维医学的本质,也能从不同的角度重新揭示西医特定疾病的本质。

本文在"病证结合"的基础上对 AD 异常黑胆质病证结合大鼠模型进行了研究,并验证了异黑颗粒的作用。在此模型评估及行为学验证阶段发现异常黑胆质型 AD 组在水迷宫测试中学习记忆成绩表现比单纯痴呆组略低, 有统计学差异,推测可能与异常黑胆质证组整体状态差,体力下降有关[4]。AD 异常黑胆质病症结合组经异黑颗粒干预后,行为学测试结果明显高于用药前, 提示异黑颗粒对实验性 AD 异常黑胆质病证结合大鼠的学习记忆障碍起到改善作用[4]。本研究在以往

研究的基础上对各组模型海马区氧化应激相关酶的活性及氧化产物的变化进行检测,结果证明,与正常对照组比较,AD异常黑胆质病证结合组大鼠海马 SOD、GSH-Px、CAT 活性均降低,MAO 活性增强,氧化产物 MDA 含量增高(P<0.01)。经过异黑颗粒干预后,高剂量组 SOD、GSH-Px、CAT 活性明显提高,MAO 活性降低,氧化产物 MDA 含量明显减少,与模型组相比有显著性差异(P<0.01),且作用优于中剂量干预组。中、高剂量干预组与多奈哌奇组对比差异不大,无统计学意义,提示作用相当。研究结果也显示,异黑颗粒低剂量干预组用药后与模型组比较有所改善,但无统计学差异,与正常对照组比较各项指标有显著性差异(P<0.01),提示疗效不显著,与以往研究中行为学改变的研究结果一致[4]。由上,推断中、高剂量异黑颗粒能够上调 SOD、CAT、GSH-Px 的活性,抑制 MAO 活性,使其减少对单胺类神经递质的氧化分解,还可明显减少 MDA 的表达,提示异黑颗粒具有加快体内自由基的清除,对抗自由基所致的氧化防御系统受损和脂质过氧化水平升高的作用。保护神经元结构,从而达到防治 AD 的目的。在药物干预剂量上得到的结论是高剂量优于中剂量,低剂量疗效不显著,呈现剂量依赖性。

5　结论

通过 AD 异常黑胆质病证结合大鼠海马组织 SOD、CAT、GSH-Px、MAO 的活性及 MDA 含量的改变,发现异常黑胆质证结合聚集态 $A\beta_{1-40}$ 大鼠海马注射所建立的 AD 异常黑胆质病证结合模型存在明显的自由基损伤和氧化应激过度,异常黑胆质证加速了 $A\beta_{1-40}$ 在神经毒性中对神经元的损害,导致氧化应激损伤明显于单纯痴呆模型异黑颗粒可能通过增强 SOD、CAT、GSH-Px 等抗氧化酶的活性,抑制 MAO 活性,减少单胺类神经递质的氧化分解,抑制脂质过氧化反应而减少自由基对海马神经元损伤,从而达到防治 AD 的目的,且方药高剂量疗效最突出。

参考文献(References)

[1] 吴思缪, 周黎明. 阿尔茨海默病的发病机制及药物治疗的进展 [J]. 四川生理科学杂志, 2009, 31(1): 36-39.
Wu Simiao, Zhou Liming. Sichuan Journal of Physiological Sciences, 2009, 31(1): 36-39.

[2] Hardy J, Selkoe D J. The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: Progress and problems on the road to therapeutics [J]. Science, 2002, 297(5580): 353-356.

[3] Mayeux R. Epidemiology of neurodegeneration [J]. Annual Review of Neuroscience, 2003, 26: 81-104.

[4] 帕丽丹·吾术尔, 哈木拉提·吾甫尔. 异常黑胆质型痴呆证病结合模型建立及方药干预实验[J]. 科技导报, 2012, 30(33): 50-55.
Wushouer Palidan, Upur Halmurat. Science & Technology Review, 2012, 30(33): 50-55.

[5] 努尔买买提·艾买提, 哈木拉提·吾甫尔. 异常黑胆质成熟剂对异常黑胆质载体动物模型下丘脑-垂体-肾上腺轴的调节作用研究 [J]. 时珍国医国药, 2007, 18(11): 2601-2603.
Nurmuhammat Amat, Halmurat Upur. Lishizhen Medicine and Materia Medica Research, 2007, 18(11): 2601-2603.

[6] 哈木拉提·吾甫尔, 阿依努尔·买提斯迪克, 努尔买买提·艾买提, 等. 异常黑胆质证载体动物模型的建立及其自然恢复反证[J]. 新疆医科大学学报, 2006, 29(10): 910-914.
Halmurat Upur, Aynur Matsidik, Nurmammat Amat, et al. Journal of Xinjiang Medical University, 2006, 29(10): 910-914.

[7] Cecchi C, Fiorillo C, Sorbi S, et al. Oxidative stress and reduced antioxidant defenses in peripheral cells fromvfamilial Alzheimer's Patienst [J]. Free Radical Biology and Medicine, 2002, 33(10): 1372-1379.

[8] Vina J, Loret A, Orti R, et al. Molecular bases of the treatment of Alzheimer's disease with antioxidants: prevention of oxidative stress [J]. Molecular Aspects of Medicine, 2004, 25(1-2): 117-123.

[9] Luo X, Weber G A, Zhang J, et al. C1q-calreticulin induced oxidative neurotoxicity: Relevance for the neuropathogenesis of Alzheimer's disease [J]. Journal of Neuroimmunology, 2003, 135(1-2): 62-71.

[10] Smith M A, Perry G, Richey P L, et al. Oxidative damage in Alzheimer's[J]. Nature, 1996, 382(6587):120-131.

[11] Polidori M C. Oxidative stress and risk factors for Altheimer's disease: Clues to prevention and therapy [J]. Journal of Alzheimer's Disease, 2004, 6(2): 185-91.

[12] Migliore L, Fontana I, Colognato R, et al. Searching for the role and the most sultable biomarkers of oxidative stress in Alzheimer's disease and in other neurodegenerative diseases[J]. Neurobiology of Aging, 2005, 26 (5): 587-595.

[13] 张益, 叶燕. 阿托伐他汀对阿尔茨海默病患者血清 SOD、MDA 和 ox-LDL 的影响[J]. 重庆医学, 2009, 38(12): 1527-1528.
Zhang Yi, Ye Yan. Chongqing Medicine, 2009, 38(12): 1527-1528.

[14] 董军, 裘晟. 姜黄素对东莨菪碱所致小鼠记忆功能障碍的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2009, 25(1): 112-117.
Dong Jun, Qiu Sheng. Chinese Journal of Pathophysiology, 2009, 25(1): 112-117.

[15] 哈木拉提·吾甫尔, 阿不都热依木·玉苏甫, 吐尔逊·吾甫尔. 维医异常体液分型与年龄、性别关系的探讨 [J]. 中国民族民间医药杂志, 2003(2): 84-86.
Halmurat Upur, Abudureyimu Yusupu, Tursun Uper. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 2003(2): 84-86.

[16] 哈木拉提, 阿不都热依木, 阿不都艾尼, 等. 维吾尔医成熟剂和清除剂抗活性氧的作用研究[J]. 中国民族医药杂志, 2000, 6(3): 30-32.
Halmurat, Abudureyimu, Abuduaini, et al. Chinese Journal of Ethnomedicine and Ethnopharmacy, 2000, 6(3): 30-32.

[17] 阿布都艾尼, 阿不都热依木. 异常黑胆质成熟剂和清除剂对 OH·引发的 DNA 损伤的保护作用[J]. 中药药理与临床, 2000, 16(3): 33-35.
Abuduaini, Abudureyimu. Pharmacology and Clinics of Chinese Materia Medica, 2000, 16(3): 33-35.

[18] 阿不都热依木, 哈木拉提, 斯拉甫, 等. 异常黑胆质清除剂对线粒体氧化损伤的保护作用[J]. 中国中医基础医学杂志, 2002, 8(7): 38-40.
Abdiryim, Halmurat, Israpil, et al. Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine, 2002, 8(7): 38-40.

(责任编辑　吴晓丽)