【基础研究】

温振运气方改善慢性疲劳综合征认知功能障碍机制研究

陈 敏，张振贤*，封鑫宇，李俊锋，史佳宁，蒋天君
（上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院中医内科，上海 200437）

摘要：目的 探讨温振运气方对改善慢性疲劳综合征（chronic fatigue syndrome，CFS）大鼠认知功能障碍的作用机制。**方法** 采用多重慢性应激方法建立大鼠 CFS 认知功能障碍模型，连续 4 周分别给予温振运气方、不同剂量单体山柰酚及氯化钠溶液组灌胃。比较各组进行水迷宫实验、鼠尾悬挂实验及力竭游泳实验情况；取大鼠海马组织采用免疫酶联吸附法检测肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α、白介素（interleukin，IL）-6、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）、丙二醛（malondialdehyde，MDA）水平；苏木精 - 伊红（hematoxylin eosin，HE）染色法观察海马组织形态。**结果** 温振运气方组逃避潜伏时间随训练天数增加而缩短，目标象限停留时间与穿越平台次数明显增加，悬尾挣扎次数明显增加，静止时间明显减少，力竭游泳时间明显延长，SOD 水平升高，TNF-α、IL-6 以及 MDA 水平降低，海马区组织损伤明显改善，且均优于山柰酚组（$P < 0.05$）。**结论** 温振运气方可显著改善 CFS 认知功能障碍大鼠海马组织炎症因子及氧化应激因子含量，改善海马神经元病变，且疗效优于单体山柰酚，说明中药复方整体改善具有一定优势。

关键词：温振运气方；慢性疲劳综合征；认知功能；效应单体
中图分类号：R259 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188(2025)04-0348-008
引用：陈敏, 张振贤, 封鑫宇, 等. 温振运气方改善慢性疲劳综合征认知功能障碍机制研究[J]. 世界临床药物, 2025, 46(4): 348-355. DOI：10.13683/j.wph.2025.04.005

Research on the mechanism of Wenzhen Yunqi decoction in improving cognitive dysfunction in chronic fatigue syndrome

CHEN Min, ZHANG Zhenxian*, FENG Xinyu, LI Junfeng, SHI Jianing, JIANG Tianjun
(*Department of Internal Medicine of Traditional Chinese Medicine, Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China*)

Abstract: ***Objective*** To explore the mechanism of Wenzhen Yunqi decoction in improving cognitive dysfunction in rats with chronic fatigue syndrome(CFS). ***Methods*** The cognitive dysfunction model of CFS in rats was established by using the multiple chronic stress method. For 4 consecutive weeks, the rats were respectively administered Wenzhen Yunqi decoction, different doses of monomer kaempferol and the 0.9% sodium chloride solution by gavage. The results of water maze test, mouse tail suspension test and exhaustive swimming test were compared in each group. The levels of tumor necrosis factor(TNF)-α, interleukin(IL)-6, superoxide dismutase(SOD) and malondialdehyde(MDA) in hippocampal tissues of rats were detected by immunoenzyme-linked adsorption. The morphology of hippocampal tissue was observed by hematoxylin eosin(HE) staining. ***Results*** In Wenzhen Yunqi decoction group, the escape latency time decreased with the increase of training days. The stay time in the target quadrant and the number of platform crossings increased significantly,

收稿日期：2024-09-29
作者简介：陈敏，副主任医师，研究方向：慢性疲劳综合征的临床与机制研究。
通信作者：张振贤，教授，主任医师，博士研究生导师，研究方向：慢病管理、心律失常、慢性疲劳综合征以及失眠诊治。
基金项目：国家自然科学基金项目(82274430)；上海市中医药事业发展三年行动计划[ZY(2018-2020)-ZWB-1001]；上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院科研项目(2021yygm03)

the number of tail suspensive struggles increased significantly, the static rest time decreased significantly, the exhaustion swimming time prolonged significantly, the level of SOD increased, the levels of TNF-α, IL-6 and MDA decreased, the tissue damage in the hippocampus improved significantly. All those improvements in Wenzhen Yunqi decoction group were superior to those in kaempferol group ($P<0.05$). ***Conclusion*** Wenzhen Yunqi decoction can significantly improve the levels of inflammatory factors and oxidative stress factors in the hippocampal tissue of CFS rats with cognitive dysfunction, and alleviate the pathological changes of hippocampal neurons. Moreover, the therapeutic effect is superior to that of the monomer kaempferol, indicating that the overall improvement of traditional Chinese medicine compound has certain advantages.

Key words: chronic fatigue syndrome; cognitive function; Wenzhen Yunqi recipe; effect monomer

慢性疲劳综合征（chronic fatigue syndrome，CFS）通常以严重疲劳、认知功能障碍、睡眠障碍和自主神经功能障碍为主要特征，对患者参与社会、家庭生活造成极大影响[1—2]。CFS 患者认知功能障碍具有典型性，以记忆与注意障碍为主呈现多维度损伤[3—5]。张振贤教授提出温肾健脾、益智通窍、解郁安神的治则，自拟温振运气方[5]。前期临床研究证实该方可有效改善认知功能损伤相关症状[6—8]。研究[9]表明，温振运气方可通过调节海马区中枢神经递质改善认知功能障碍。近年相关研究[10—13]发现，CFS 发病过程中神经炎症介质与氧化应激因子共同作用于海马组织，导致海马神经元病变，最终形成认知功能障碍。另有研究[14]表明，通过网络药理学及拓扑分析预测得出山柰酚作为温振运气方中主要效应单体，可能通过作用于肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor，TNF）-α 和白介素（interleukin，IL）-6 等核心靶点对相关神经及炎症信号通路进行调控，从而改善 CFS 及认知功能障碍。故本文拟研究温振运气方及山柰酚对 CFS 认知功能障碍大鼠及神经标志物含量的影响，探讨其中枢作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

60 只 4 周龄 SPF 级雄性 Wistar 大鼠，体质量（120±10）g，购自上海斯莱克实验动物有限责任公司。动物生产合格证号：SCXK（沪）2022-0004，动物使用许可证号：SYXK（沪）2018-0040。饲养于上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院 SPF 级动物实验中心。饲养环境温度（20±1）℃、湿度维持在 50% 左右，普通饲料喂养。本试验方案经上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院实验动物伦理委员会审核批准（YYLAC-2022-165）。

温振运气方主要有黄芪、党参、淫羊藿、石菖蒲、郁金、丹参、阳起石以及三七等。已按照相关专利（CN202210433404.4）保护要求形成固定制剂，中药来自上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院中药房，经中药指纹图谱技术检测合格，由上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院药剂科煎制。山柰酚（纯度≥ 97%，5 g/ 瓶，M2K0005ZB，上海脉铂医药科技有限公司）。TNF-α、IL-6、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）以及丙二醛（malondialdehyde，MDA）的免疫酶联吸附法（enzyme linked immunosorbent assay，ELISA）试剂盒（ER20497S、ER20298S、ET0001S 以及 ET0012S）均购自上海卓立生物科技有限公司。苏木精 - 伊红（hematoxylin eosin，HE）染液套装，购自 Servicebio。

Morris 水迷宫（深圳市瑞沃德生命科技有限公司，63031）、包埋机（武汉俊杰电子有限公司，JB-P5）、病理切片机（上海徕卡仪器有限公司，RM2016）、冰冻切片机（赛默飞世尔科技有限公司，CRYOSTARNX50）、正置光学显微镜（日本尼康，NikonEclipseE100）、成像系统（日本尼康，

NikonDS-U3)。

1.2 分组与造模

动物适应性喂养 1 周后，采用随机数字表法将 60 只大鼠分为空白组、模型组、温振运气方组、山柰酚低、中以及高剂量组，每组各 10 只。

除空白组外，其他组大鼠参照文献[15—16]采用多重慢性应激的方法建立 CFS 认知功能障碍大鼠模型。首先将大鼠头向通气口置入束缚筒后，关闭闸门，调节闸门改变大鼠的活动空间，调节至大鼠不能在束缚桶中转向为度，束缚 3 h 后取出；然后，每日大鼠在水温（15±1）℃水桶中自由游泳，以大鼠头部没入水中 10 s 不能自行浮出水面为力竭游泳的标准；隔日以纱布包裹尖端的止血钳夹住大鼠的尾巴，使其激怒，每次刺激 20 min。持续造模 28 d 造模结束后对大鼠精神状态、粪便性状、毛发光泽、耳尾色泽进行观察，以判定 CFS 模型成立的常用标准对造模大鼠进行评分，总评分≥ 4 分表示造模成功[17]。

造模结束后 24 h，各组开始给药干预。参照相关文献[18—19]确定灌胃剂量，温振运气方组给予温振运气方每天 1.05 g/kg 灌胃，山柰酚低剂量组给予山柰酚每天 0.025 g/kg 灌胃，山柰酚中剂量组给予山柰酚每天 0.05 g/kg 灌胃，山柰酚高剂量组给予山柰酚每天 0.1 g/kg 灌胃。其余各组均予等质量分数为 0.9% 的氯化钠溶液灌胃。各组均连续给药 4 周，一日 1 次。

1.3 行为学检测

给药干预结束后，各组大鼠禁食 12 h，采用 Morris 水迷宫评价空间学习记忆能力、鼠尾悬挂实验评价负性情绪及疲劳程度、力竭游泳实验评价疲劳程度。参照相关文献[20—21]操作方式进行行为学检测。

Morris 水迷宫：水迷宫内水深 30 cm，注入 26 ℃水温。在水池壁标明 4 个入水点，将水池等分为 4 个象限，任选一象限设置逃生平台，置于该象限水面下 2 cm 处。D1 ～ 5，将大鼠按顺时针方向从第一象限开始从四个象限入水点放入水中，记录 90 s 内大鼠寻找平台的时间，为逃避潜伏期。D6 进行空间探索测试，移走逃生平台，然后从原平台象限对侧池壁中点将大鼠放入水中，记录 90 s 内大鼠穿过平台所在区域的次数及平台所在象限游泳的时间。

鼠尾悬挂实验：将大鼠尾端 1 cm 的部分固定于不锈钢板上，板面距离地面 1 m 左右，使大鼠呈倒挂状，观察 6 min 内的挣扎次数（大鼠由倒挂向上翻转的总次数）及不动时间（大鼠处于静止不动状态的总时间）。

力竭游泳实验：水箱中加水至水深 50 cm、水温（20±1）℃，将大鼠放入水箱，记录大鼠从入水到游泳力竭的时间。力竭标准为大鼠头部沉入水中 3 s 不能浮出水面。

1.4 海马组织 TNF-α、IL-6、MDA 及 SOD 水平

所有行为学测试结束后，所有大鼠按体质量比例（40 mg/kg）腹腔注射 2% 戊巴比妥钠溶液进行腹腔麻醉，直接断头取脑，剥离颅骨，去除脑膜，取出完整大脑，在冰袋上沿背侧矢状轴切开，取出海马组织。将海马组织置于磷酸盐缓冲液缓冲液中，于冰浴中充分匀浆，4 ℃条件下离心机离心 15 min，取上清。用 ELISA 检测大鼠海马区 TNF-α、IL-6、MDA 以及 SOD 水平。

1.5 海马组织病理形态观察

取海马组织，放入 4%多聚甲醛溶液中后固定，4 ℃静置 24 h。室温下进行酒精梯度脱水[22]进行透明。透明后脑组织放入液体石蜡Ⅰ，静置 1 h，液体石蜡Ⅱ，静置 1 h 浸蜡，随后包埋，石蜡切片机连续冠状切片，片厚约 4 μm，42 ℃水浴展片，用防脱载玻片进行捞片，置于 60 ℃烘箱内烘烤 1 ～ 2 h。将切片放在切片盒内，4 ℃冰箱保存，用于后续 HE 染色。

1.6 统计学方法

采用 SPSS21.0 软件进行统计分析，所有结果经

检验符合正态分布，以 $(\bar{x}\pm s)$ 表示，组间比较采用单因素方差分析，以 $P<0.05$ 表示具有统计学意义。

2 结果

2.1 CFS 大鼠模型建立

造模前，全部大鼠整体健康状况良好。造模过程中，造模大鼠精神状态逐渐变差，皮肤松弛、毛发稀疏易脱落、色泽暗淡逐渐加重，大便稀薄不成形。造模结束后，造模大鼠精神萎靡不振，皮肤松弛、皮下脂肪较少，全身毛发枯槁、稀疏脱落，粪便稀溏。造模过程中，各组大鼠均死亡 1 只，每组各剩下 9 只。

2.2 Morris 水迷宫实验

逃避潜伏期显示，随着训练天数的逐渐增加，各组大鼠逃避潜伏期时间均缩短。D1 ～ 2 各组大鼠逃避潜伏期时间无明显差异（$P>0.05$）。与空白组相比，D3 模型组、温振运气方组与山柰酚低、中、高剂量组逃避潜伏期明显延长（$P<0.05$）。与模型组相比，D3 温振运气方组逃避潜伏期明显缩短（$P<0.05$），山柰酚低、中、高剂量组逃避潜伏期无明显差异（$P>0.05$）。与温振运气方组相比，D3 山柰酚低剂量组逃避潜伏期明显延长（$P<0.05$）；D4 山柰酚中、高剂量组逃避潜伏期明显延长（$P<0.05$）。D3 ～ 5 山柰酚低剂量组逃避潜伏期相较山柰酚中、高剂量组明显延长（$P<0.05$）；D5 山柰酚中剂量组逃避潜伏期相较山柰酚高剂量组明显延长（$P<0.05$），见表 1。

定位航行结果显示，与空白组相比，模型组、温振运气方组与山柰酚低、中、高剂量组目标象限停留时间与穿越平台次数明显减少（$P<0.05$）。与模型组相比，温振运气方组目标象限停留时间与穿越平台次数明显增加（$P<0.05$）；山柰酚低、中、高剂量组目标象限停留时间与穿越平台次数无明显差异（$P>0.05$）。与温振运气方组相比，山柰酚低、中、高剂量组目标象限停留时间与穿越平台次数明显减少（$P<0.05$）。山柰酚低、中、高剂量组组间比较无明显差异（$P>0.05$），见表 2。

表 2 定位航行试验

Table 2 Positioning navigation test

组别	目标象限停留时间/s	穿越平台次数/次
空白组（$n=9$）	33.67±7.71	4.56±1.74
模型组（$n=9$）	19.44±4.93*	1.00±0.87*
温振运气方组（$n=9$）	27.44±3.78*#	3.00±1.22*#
山柰酚低剂量组（$n=9$）	21.44±3.00*△	1.00±0.87*△
山柰酚中剂量组（$n=9$）	21.78±3.38*△	1.33±0.87*△
山柰酚高剂量组（$n=9$）	23.56±4.48*△	1.89±1.05*△

注：与空白组比较，*$P<0.05$；与模型组比较，#$P<0.05$；与温振运气方组比较，△$P<0.05$。

Note: vs. the control group, *$P<0.05$; vs. the model group, #$P<0.05$; vs. the Wenzhen Yunqi decoction group, △$P<0.05$.

2.3 鼠尾悬挂试验

与空白组相比，模型组、温振运气方组与山柰酚低、中、高剂量组挣扎次数明显减少（$P<0.05$），

表 1 逃避潜伏期试验（$\bar{x}\pm s$，单位：s）

Table 1 Escape incubation period test（$\bar{x}\pm s$, unit: s）

组别	D1	D2	D3	D4	D5
空白组（$n=9$）	88.86±0.79	79.75±3.87	63.79±2.90	49.62±2.40	31.69±2.04
模型组（$n=9$）	88.69±0.91	82.86±4.27	74.51±3.30*	63.79±3.50*	51.93±2.21*
温振运气方组（$n=9$）	86.74±1.79	76.56±4.47	69.09±2.80*#	57.52±2.52*#	42.29±2.36*#
山柰酚低剂量组（$n=9$）	88.72±0.95	80.67±2.92	73.00±2.83*△	62.53±5.94*△	50.92±6.51*△
山柰酚中剂量组（$n=9$）	87.38±0.82	80.22±3.01	72.44±3.05*	61.03±4.88*△	48.58±4.47*△
山柰酚高剂量组（$n=9$）	88.04±1.19	79.36±2.77	71.92±3.65*	59.47±4.77*△	45.64±5.16*△

注：与空白组比较，*$P<0.05$；与模型组比较，#$P<0.05$；与温振运气方组比较，△$P<0.05$。

Note: vs. the control group, *$P<0.05$; vs. the model group, #$P<0.05$; vs. the Wenzhen Yunqi decoction group, △$P<0.05$.

悬尾静止时间明显延长（$P < 0.05$）。与模型组相比，温振运气方组与山柰酚中、高剂量组挣扎次数明显增加（$P < 0.05$），悬尾静止时间明显减少（$P < 0.05$）。与温振运气方组相比，山柰酚低、中、高剂量组挣扎次数明显减少（$P < 0.05$），悬尾静止时间明显延长（$P < 0.05$）。山柰酚低、中、高剂量组组间比较，山柰酚低、中剂量组挣扎次数较山柰酚高剂量组明显减少（$P < 0.05$）；山柰酚低剂量组悬尾静止时间较山柰酚高剂量组明显延长（$P < 0.05$），见表 3。

表 3 鼠尾悬挂试验

Table 3 Mouse tail suspension test

组别	挣扎次数/次	悬尾静止时间/s
空白组（n=9）	29.24±2.11	196.78±12.76
模型组（n=9）	15.44±2.61*	259.11±8.36*
温振运气方组（n=9）	27.12±1.75*#	221.00±8.76*#
山柰酚低剂量组（n=9）	16.21±3.25*△▽	252.90±7.91*△▽
山柰酚中剂量组（n=9）	20.74±2.85*#△▽	243.10±11.15*#△
山柰酚高剂量组（n=9）	23.85±2.45*#△	238.90±9.21*#△

注：与空白组比较，*$P < 0.05$；与模型组比较，#$P<0.05$；与温振运气方组比较，△$P < 0.05$；与山柰酚高剂量组比较，▽$P < 0.05$。

Note: vs. the control group, *$P < 0.05$; vs. the model group, #$P < 0.05$; vs. the Wenzhen Yunqi decoction group, △$P < 0.05$; vs. the high-dose kaempferol group, ▽$P < 0.05$.

2.4 力竭游泳实验

与空白组相比，模型组、温振运气方组及山柰酚低、中、高剂量组力竭游泳时间明显缩短（$P < 0.05$）。与模型组相比，温振运气方组力竭游泳时间明显延长（$P < 0.05$），山柰酚低、中、高剂量组力竭游泳时间无明显差异（$P > 0.05$）。与温振运气方组相比，山柰酚低、中、高剂量组力竭游泳时间明显缩短（$P < 0.05$）。山柰酚低、中、高剂量组组间比较无明显差异（$P > 0.05$），见表 4。

表 4 力竭游泳试验

Table 4 Exhaustive swimming test

组别	力竭游泳时间/min
空白组（n=9）	16.83±1.46
模型组（n=9）	10.28±1.77*
温振运气方组（n=9）	13.56±0.98*#
山柰酚低剂量组（n=9）	10.50±1.67*△
山柰酚中剂量组（n=9）	11.20±2.29*△
山柰酚高剂量组（n=9）	11.50±1.90*△

注：与空白组比较，*$P < 0.05$；与模型组比较，#$P < 0.05$；与温振运气方组比较，△$P < 0.05$。

Note: vs. the control group, *$P < 0.05$; vs. the model group, #$P < 0.05$; vs. the Wenzhen Yunqi decoction group, △$P < 0.05$.

2.5 对大鼠海马区 TNF-α、IL-6、MDA、SOD 水平影响

与空白组相比，模型组与山柰酚低、中剂量组 TNF-α、IL-6 及 MDA 水平升高，SOD 水平降低（$P < 0.05$）；温振运气方组 IL-6 及 MDA 水平均升高（$P < 0.05$）；山柰酚高剂量组 MDA 水平升高（$P < 0.05$）。与模型组相比，温振运气方组与山柰酚中、高剂量组 SOD 水平升高（$P < 0.05$），TNF-α、IL-6 及 MDA 水平降低；山柰酚低剂量组 SOD 水平升高（$P < 0.05$）。与温振运气方组相比，山柰酚低、中剂量组 TNF-α、IL-6 及 MDA 水平升高，SOD 水平降低（$P < 0.05$）；山柰酚高剂量组 TNF-α、MDA 及 SOD 水平升高，IL-6 水平降低。与山柰酚高剂量组比较，山柰酚低、中剂量组 TNF-α 及 IL-6 水平升高，SOD 水平降低（$P < 0.05$），见表 5。

2.6 海马组织病理形态

空白组大鼠海马 CA1 神经元结构完整、排列整齐、核染色清晰；模型组大鼠海马 CA1 区神经元出现神经凋亡数量增加、排列疏松、核固缩、核异染色质增多，染色质出现空亮区等神经病理改变；温振运气方组神经细胞数量、排列及形态均有显著改善；山柰酚低剂量组海马神经元核固缩、凋亡略有改善，但神经元排列仍疏松不规整，染色质出现空亮范围也未见明显改善。山柰酚低、中、高三组改善作用随浓度升高而增强，山柰酚高剂量组改善效果最明显。

3 讨论

认知功能障碍作为 CFS 患者除特征性疲劳之外最明显的症状，其与海马区神经元的损害和细胞代谢异常相关。海马作为人类学习记忆的关键脑区，其结构和功能的改变与认知功能障碍关系密切[23—25]。TNF-α 与 IL-6 作为炎症因子可引起血脑屏障功能损伤，导致其进入中枢神经系统造成神经元损伤或死亡[26—27]。MDA 是脂质过氧化产物，含量升高提示机体存在氧化应激损伤[28]，SOD 是一种抗氧化因子，具有清除氧自由基和抗氧化应激的作用[29]。本研究通过多重慢性应激的方法制备 CFS 认知功能障碍大鼠模型，与空白组相比，模型组逃避潜伏期、悬尾静止时间明显延长，目标象限停留时间、穿越平台次数、挣扎次数以及力竭游泳时间明显减少；病理学显示，空白组大鼠海马 CA1 神经元结构完整、排列整齐，模型组大鼠海马 CA1 区神经凋亡数量增加、排列疏松、核固缩以及核异染色质增多；ELISA 法检测结果显示，与空白组相比，模型组海马组织内 TNF-α、IL-6 以及 MDA 水平升高，SOD 水平降低。上述结果表明，CFS 认知功能障碍大鼠躯体疲劳明显，认知和记忆功能受损，海马组织发生病变，同时伴随炎症反应与氧化应激损伤。

山柰酚是一种黄酮类化合物。研究表明，针对躯体疲劳，山柰酚能通过激活磷脂酰肌醇 3- 激

表 5 各组大鼠神经标志物（单位：pg/mg）

Table 5 Neural markers of rats in each group (unit: pg/mg)

组别	TNF-α	IL-6	MDA	SOD
空白组（n=9）	25.32±0.90	55.23±1.55	2.20±0.07	0.23±0.01
模型组（n=9）	35.28±2.52*	67.38±2.18*	2.64±0.10*	0.20±0.01*
温振运气方组（n=9）	27.26±1.20$^{\#}$	60.65±1.71*$^{\#}$	2.32±0.07*$^{\#}$	0.22±0.01$^{\#}$
山柰酚低剂量组（n=9）	34.62±1.68*$^{\#\triangle\triangledown}$	65.75±1.11*$^{\triangle\triangledown}$	2.63±0.40*$^{\triangle}$	0.17±0.01*$^{\#\triangle\triangledown}$
山柰酚中剂量组（n=9）	31.30±1.63*$^{\#\triangle\triangledown}$	62.00±0.68*$^{\#\triangle\triangledown}$	2.50±0.17*$^{\#\triangle}$	0.21±0.01*$^{\#\triangle\triangledown}$
山柰酚高剂量组（n=9）	28.53±0.90$^{\#\triangle}$	55.63±1.80$^{\#\triangle}$	2.46±0.11*$^{\#\triangle}$	0.24±0.01$^{\#\triangle}$

注：与空白组比较，*P < 0.05；与模型组比较，$^{\#}P$ < 0.05；与温振运气方组比较，$^{\triangle}P$ < 0.05；与山柰酚高剂量组比较，$^{\triangledown}P$ < 0.05。

Note: vs. the control group, *P < 0.05; vs. the model group, $^{\#}P$ < 0.05; vs. the Wenzhen Yunqi decoction group, $^{\triangle}P$ < 0.05; vs. the high-dose kaempferol group, $^{\triangledown}P$ < 0.05.

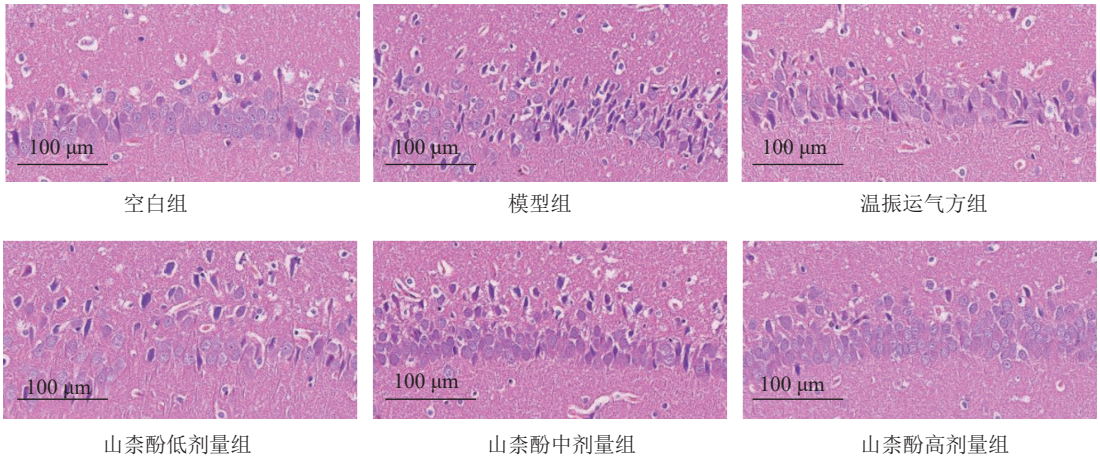


图 1 各组海马组织病理

Figure 1 Pathologies of hippocampal tissues in each group

酶 / 蛋白激酶 B 和丝裂原活化蛋白激酶（mitogen-activated protein kinase，MAPK）信号通路上调线粒体对葡萄糖的摄取和供能，改善疲劳积分，提升运动表现[30]。针对海马区炎症反应，山柰酚可通过抗炎作用，从而保护神经退行性疾病中神经细胞[31]。PC12 细胞作为海马神经元的体外模拟模型，山柰酚能通过 p38MAPK 信号通路发挥抗炎作用，提高 PC12 细胞活力，降低炎性相关蛋白表达水平，减轻 6-羟多巴胺所致的 PC12 细胞损伤[32]。针对海马区氧化应激损伤，山柰酚可通过抗氧化机制发挥神经保护作用改善认知功能障碍，能减轻因慢性应激导致的抗氧化物质的减少和氧化通路的激活，缓解脑组织神经炎症反应和线粒体功能紊乱，降低过氧化氢对神经元的氧化损伤[33—36]。本研究结果显示，山柰酚组大鼠海马组织病变程度随浓度增高依次减轻，逃避潜伏期、悬尾静止时间、TNF-α、IL-6 以及 MDA 水平较模型组依次降低，挣扎次数、SOD 水平较模型组依次升高，目标象限停留时间、穿越平台次数以及力竭游泳时间较模型组无明显改善。提示山柰酚能呈剂量依赖性地缓解 CFS 认知功能障碍大鼠躯体疲劳，保护大鼠海马组织，改善认知和记忆功能，抑制炎症反应，缓解氧化应激损伤。

CFS 的中医病机可归于气血亏虚，脏腑失调，气郁日久，损伤阳气，清阳不升，髓海失养[9]。本研究选用温振运气方干预 CFS 认知功能障碍大鼠，具有温肾健脾、益智通窍、解郁安神之功[21]。本研究结果显示，温振运气方组逃避潜伏期、悬尾静止时间明显低于模型组及山柰酚组；目标象限停留时间、穿越平台次数、挣扎次数以及力竭游泳时间明显高于模型组及山柰酚组；相关炎症因子及氧化应激因子的含量水平上，温振运气方组能有效降低 TNF-α、IL-6 以及 MDA 水平，提高 SOD 水平，其整体效果优于山柰酚组；温振运气方组与山柰酚高剂量组大鼠海马组织病理学变化无显著差异。这说明温振运气方在减轻疲劳和炎症反应，改善认知功能和氧化应激反应，以及保护神经元细胞等多方面共同发挥作用，且整体表现优于效应单体山柰酚。

4 结论

综上所述，CFS 认知功能障碍存在确切的海马炎性病变，温振运气方不仅可改善疲劳症状，还可干预神经系统，从而改善脑功能，进一步揭示温振运气方治疗 CFS 认知功能障碍的海马作用机制。

参考文献：

[1] 王铁刚, 孙忠人, 杨添淞, 等. 孙申田头针、腹针联合治疗改善慢性疲劳综合征患者的认知功能[J]. 神经损伤与功能重建, 2023, 18(5): 259-263.

[2] COCKSHELL SJ, MATHIAS JL. Cognitive deficits in chronic fatigue syndrome and their relationship to psychological status, symptomatology, and everyday functioning[J]. Neuropsychology, 2013, 27(2): 230-242.

[3] 黄瑶, 史佳宁, 张振贤, 等. 慢性疲劳综合征主要中医证型患者认知功能特点的研究[J]. 天津中医药, 2021, 38(1): 37-42.

[4] 张振贤, 张烨, 王扬, 等. 理虚解郁方对慢性疲劳综合征患者负性情绪及皮质醇与5-羟色胺的影响[J]. 上海中医药大学学报, 2012, 26(5): 38-40.

[5] 陈若宏, 张振贤, 王拯. 慢性疲劳综合征认知功能损伤临床特征研究[J]. 辽宁中医杂志, 2019, 46(6): 1222-1227.

[6] 黄瑶, 张振贤, 陈若宏, 等. 温振运气方对慢性疲劳综合征患者负性情绪及脑海马区功能代谢影响的临床研究[J]. 上海中医药杂志, 2016, 50(10): 60-63.

[7] 孔祥宇. 温振运气方联合督灸治疗阳虚型亚健康状态疗效观察及中医临床路径效果观察[D]. 上海: 上海中医药大学, 2020.

[8] 黄瑶, 张振贤, 李冠武, 等. 温振运气方对慢性疲劳综合征气虚证患者脑功能和脑代谢的影响[J]. 中医杂志, 2022, 63(10): 943-950.

[9] 李俊锋, 张振贤, 史佳宁, 等. 温振运气方对慢性疲劳综合征大鼠认知功能的影响[J]. 吉林中医药, 2024, 44(7): 838-843.

[10] KLIMAS NG, BRODERICK G, FLETCHER MA. Biomarkers for chronic fatigue[J]. Brain Behav Immun, 2012, 26(8): 1202-1210.

[11] 水玲, 乌云格日乐, 卢峻, 等. 蒙医温针对慢性疲劳大鼠iNOS信号通路及海马,下丘脑细胞因子表达的影响[J].

2021, 48(9): 196-198.

[12] MARIC D, BRKIC S, TOMIC S, *et al*. Multivitamin mineral supplementation in patients with chronic fatigue syndrome[J]. Med Sci Monit, 2014, 20: 47-53.

[13] 罗英华, 罗伟君, 唐纯志. 针刺背俞穴对慢性疲劳大鼠氧化应激的影响[J]. 中医药导报, 2012, 18(6): 63-64.

[14] 李俊锋. 慢性疲劳综合征不同证型睡眠脑电特征及温振运气方干预效应的机制研究[D]. 上海: 上海中医药大学, 2024.

[15] 李悦, 韩秀珍, 徐秋露, 等. 慢性疲劳综合征动物模型的构建与评价[J]. 中国实验方剂学杂志, 2023, 29(9): 234-242.

[16] 王庆勇, 孙维伯, 杨燕, 等. 慢性疲劳综合征常用动物模型研究进展[J]. 神经损伤与功能重建, 2021, 16(7): 392-394.

[17] 钟晓玲, 童伯瑛, 杨一涵, 等. 经皮穴位电刺激对慢性疲劳综合征大鼠学习记忆能力的影响及其机制探讨[J]. 针刺研究, 2023, 48(4): 317-324.

[18] 徐叔云, 卞如濂, 陈修. 药理实验方法学[M]. 药理实验方法学, 2003.

[19] 张震, 朱天宇. 山柰酚抗运动性疲劳的作用研究[J]. 中国临床药理学杂志, 2024, 40(9): 1306-1310.

[20] 吴丽丽, 张振贤, 张烨, 等. 五行音乐联合理虚解郁方对慢性疲劳综合征大鼠模型的行为学影响[J]. 辽宁中医杂志, 2015, 42(8): 1556-1559.

[21] 封鑫宇, 张振贤, 史佳宁, 等. 温振运气方对嗅球摘除大鼠认知功能及海马区神经递质的影响[J]. 上海中医药杂志, 2024, 58(3): 72-78.

[22] 张宁, 崔霞, 张宏贤, 等. 健脾止动汤对慢性束缚应激多发性抽动症大鼠糖代谢影响及机制研究[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(5): 2522-2526.

[23] BERDUGO-VEGA G, ARIAS-GIL G, LOPEZ-FERNANDEZ A, *et al*. Increasing neurogenesis refines hippocampal activity rejuvenating navigational learning strategies and contextual memory throughout life[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 135.

[24] VALDES HERNANDEZ MC, CLARK R, WANG SH, *et al*. The striatum, the hippocampus, and short-term memory binding: volumetric analysis of the subcortical grey matter's role in mild cognitive impairment[J]. Neuroimage Clinl, 2020, 25: 102158.

[25] YANG CY, YU TH, WEN WL, *et al*. Conditional deletion of CC2D1A reduces hippocampal synaptic plasticity and impairs cognitive function through Rac1 hyperactivation[J]. J Neurosci, 2019, 39(25): 4959-4975.

[26] HUANG Z, WONG LW, SU Y, *et al*. Blood-brain barrier integrity in the pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. Front Neuroendocrinol, 2020, 59: 100857.

[27] RAJESH Y, KANNEGANTI TD. Innate immune cell death in neuroinflammation and Alzheimer's disease[J]. Cells, 2022, 11(12): 1885.

[28] GASCHLER MM, STOCKWELL BR. Stockwell. Lipid peroxidation in cell death[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 482(3): 419-425.

[29] AFZAL S, ABDUL MANAP AS, ATTIQ A, *et al*. From imbalance to impairment: the central role of reactive oxygen species in oxidative stress-induced disorders and therapeutic exploration[J]. Front Pharmacol, 2023, 14: 1269581.

[30] JI X, ZHANG C, YANG J, *et al*. Kaempferol improves exercise performance by regulating glucose uptake, mitochondrial biogenesis, and protein synthesis via PI3K/AKT and MAPK signaling pathways[J]. Foods, 2024, 13(7): 1068.

[31] YANG EJ, KIM GS, JUN M, *et al*. Kaempferol attenuates the glutamate-induced oxidative stress in mouse-derived hippocampal neuronal HT22 cells[J]. Food Funct, 2014, 5(7): 1395-1402.

[32] 蔡美云, 庄文欣, 吕娥, 等. 山柰酚通过抑制p38 MAPK通路减轻6-羟多巴胺(6-OHDA)诱导的PC12细胞炎症[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2020, 36(7): 583-589.

[33] KOUHESTANI S, JAFARI A, BABAEI P. Kaempferol attenuates cognitive deficit via regulating oxidative stress and neuroinflammation in an ovariectomized rat model of sporadic dementia[J]. Neural Regen Res, 2018, 13(10): 1827-1832.

[34] ABUELEZZ SA, HENDAWY N, MAGDY Y. Targeting oxidative stress, cytokines and serotonin interactions via indoleamine 2, 3 dioxygenase by coenzyme Q10: role in suppressing depressive like behavior in rats[J]. J Neuroimmune Pharmacol, 2017, 12(2): 277-291.

[35] ANDERSON G, MAES M. Oxidative/nitrosative stress and immuno-inflammatory pathways in depression: treatment implications[J]. Curr Pharm Des, 2014, 20(23): 3812-3847.

[36] 张胜, 张尧, 李彪, 等. 山柰酚对CUMS抑郁模型大鼠海马神经元过度自噬和氧化应激损伤的保护作用[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(2): 146-150, 155.

(编辑：沈佳婕)