

天麻钩藤饮对抽动障碍模型大鼠行为改善及神经保护作用

程申^a, 郎旭东^b, 方芳^a, 陈玉燕^{a*} [浙江中医药大学附属第一医院(浙江省中医院), a.儿科, b.药学部, 杭州 310000]

摘要: 目的 探究天麻钩藤饮对抽动障碍(tic disorder, TD)大鼠行为改善作用及其神经保护机制。方法 腹腔注射双(2-氨基乙基)胺诱导液进行大鼠 TD 造模, 造模大鼠分为 TD 组, 硫必利组(4.2 mg·kg⁻¹), 天麻钩藤饮低、中、高剂量组(19.6, 39.2, 78.4 g·kg⁻¹), 另将正常大鼠设为正常组, 造模完成后观察大鼠行为能力。治疗 4 周后, 评价大鼠行为能力改善情况。分离各组大鼠脑部纹状体, 采集血清, ELISA 检测两者中多巴胺(dopamine, DA)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)含量。HE 染色观察大鼠纹状体病理改变情况, TUNEL 染色观察纹状体内神经元凋亡情况, Western blotting 测定大鼠纹状体内 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-GSK-3 β /GSK-3 β 蛋白表达情况。**结果** 治疗后, TD 大鼠刻板行为、运动行为、旷场运动能力较治疗前均得到改善($P<0.01$)。且与 TD 组相比, 各组大鼠脑组织病理改变减轻; 硫必利组和天麻钩藤饮中、高剂量组纹状体和血清中 DA、TNF- α 、IL-1 β 含量均降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 纹状体内的神经元凋亡数量显著下降($P<0.05$ 或 $P<0.01$), p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 蛋白表达均显著增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 天麻钩藤饮中、高剂量组 p-GSK-3 β /GSK-3 β 蛋白表达均显著增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。**结论** 天麻钩藤饮可改善 TD 大鼠行为, 并可促进 PI3K/Akt/GSK-3 β 信号通路磷酸化发挥神经保护作用, 其作用效果具有剂量依赖性。

关键词: 天麻钩藤饮; 抽动障碍; 多巴胺; PI3K/AKT/GSK-3 β

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2023)11-1475-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.20223791

引用本文: 程申, 郎旭东, 方芳, 等. 天麻钩藤饮对抽动障碍模型大鼠行为改善及神经保护作用[J]. 中国现代应用药学, 2023, 40(11): 1475-1480.

Behavior Improvement and Neuroprotective Effect of Tianma Gouteng Decoction on Tic Disorder Model Rats

CHEN Shen^a, LANG Xudong^b, FANG Fang^a, CHEN Yuyan^{a*} [The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University (Zhejiang Provincial Hospital of Chinese Medicine), a.Department of Pediatrics, b.Department of Pharmacy, Hangzhou 310000, China]

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the improvement of Tianma Gouteng decoction(TGD) on the behavior of tic disorder (TD) rats and its neuroprotective mechanism. **METHODS** Iminodipropionitrile induction solution was injected intraperitoneally to establish TD rat model, then rats were divided into TD group, thiopride group(4.2 mg·kg⁻¹), TGD low, medium, high dose group(19.6, 39.2, 78.4 g·kg⁻¹), normal rats were set into normal group, behavioral capacity of rats were measured after modeling. After 4-week treatment, behavioral capacity improvement of rats was evaluated. The striatum of rats in each group was isolated, and serum was collected, ELISA was used to detect the contents of dopamine(DA), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β). HE staining was used to observe the pathological changes in the rat striatum, TUNEL staining was used to observe the neuronal apoptosis in the rat's striatum, and Western blotting was used to determine the protein expressions of p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT, and p-GSK-3 β /GSK-3 β in the rats' striatum. **RESULTS** After treatment, the stereotyped behavior, motor behavior and exercise ability of the TD rats were improved compared to those before treatment ($P<0.01$). And compared with TD group, pathological changes in each group were reduced; and content of DA, TNF- α , IL-1 β in thiopride group and TGD medium, high-dose groups were significantly decreased($P<0.05$ or $P<0.01$), the number of apoptotic neurons of striatum significantly decreased($P<0.05$ or $P<0.01$), and the protein expressions of p-PI3K/PI3K and p-AKT/AKT were significantly increased($P<0.05$ or $P<0.01$); the protein expressions of p-GSK-3 β /GSK-3 β in TGD medium, high-dose groups were significantly decreased($P<0.05$ or $P<0.01$). **CONCLUSION** TGD improves the behavior of TD rats, and promotes the phosphorylation of PI3K/Akt/GSK-3 β signaling pathway to exert neuroprotective effect, and its effect is dose-dependent.

KEYWORDS: Tianma Gouteng decoction; tic disorder; dopamine; PI3K/AKT/GSK-3 β

抽动障碍(tic disorder, TD)多起病于儿童或青少年期, 是一种以非自主的反复快速的肌肉抽动

和(或)发声抽动为主要特征的精神障碍性疾病^[1]。TD 患儿可伴有不同程度认知、智力发展缺陷, 并

基金项目: 浙江省中医药科技计划项目(2021ZQ041)

作者简介: 程申, 男, 硕士, 主治医师 E-mail: chengshen2009@163.com

*通信作者: 陈玉燕, 女, 主任医师

E-mail: chyuyan@163.com

伴发多种共患病^[2]。多巴胺(dopamine, DA)是大脑调节机体行为、情绪、心理活动和运动能力的重要神经传递物质之一,中枢神经系统 DA 能神经元活动过度可导致抽动症状的发生^[2]。研究显示,DA 含量升高,可削弱脑内免疫抑制功能,促进细胞因子分泌,继而加重 TD 症状^[3-4]。

中医认为 TD 属于“风邪”范畴,炎症细胞因子与风邪产生极为相关^[5]。TD 具有外风袭肺、肝风内动的特征,外风与细胞因子相对,而内风则对应机体免疫异常,最终导致眩晕、震颤、四肢抽搐等症状的出现^[6]。天麻钩藤饮始载于《中医内科杂病证治新义》,在治疗高血压方面颇有建树,是常用于治疗肝风上扰的名方^[7]。临床研究显示,天麻钩藤饮治疗儿童 TD 的治愈率显著^[8]。但其作用机制尚未明确,本研究通过建立 TD 大鼠模型,以探究天麻钩藤饮治疗 TD 的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 36 只 SPF 级 SD 大鼠,♂,体质量(200±20)g,购于上海吉辉实验动物饲养有限公司,动物生产许可证号:SCXK(沪)2017-0012;动物使用许可证号:SYXK(浙)2021-0033。由浙江鹰吻医药研发有限公司 SPF 级实验动物中心提供恒温(20~26℃),恒湿(40%~70%)的屏障环境进行饲养。饲养期间采取适应性喂养方式,光照每 12 h 明暗交替,每 1 h 换风 15~20 次。

1.1.2 药品 天麻钩藤饮由天麻、钩藤、石决明、山栀、黄芩、川牛膝、杜仲、益母草、桑寄生、夜交藤、朱茯神组成,由浙江中医药大学附属第一医院药剂科制备,生药浓度为 2.1 mg·mL⁻¹。盐酸硫必利(江苏恩华药业股份有限公司,规格:每片 100 mg;批号:202205);双(2-氰基乙基)胺(3,3'-iminodipropionitrile, IDPN, 货号: I157652)购于麦克林药厂。

1.1.3 试剂 大鼠 DA、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)的 ELISA 试剂盒购于江苏酶免实业有限公司,货号分别为 MM-0355R1, MM-0047R1, MM-0180R1;HE 染色套装、Tunel 试剂盒、DAPI 试剂购于 Servicebio 公司,货号分别为 G1003, G1501, G1012;磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)、磷酸-PI3K(p-PI3K)、蛋白激酶 B(protein kinase B, AKT)、磷酸-

AKT(p-AKT)、糖原合成激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3, GSK-3 β)、磷酸-GSK-3 β (p-GSK-3 β)抗体均购于 Affinity 抗体公司,货号分别为 AF6242, AF3242, AF6261, AF0016, AF5016, AF2016);二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量试剂盒(Solarbio 公司,货号: pc0020)。

1.1.4 仪器 CMaxPlus 型酶标仪(美国 MD 公司);Micro17R 型低温高速离心机(美国 Thermo 公司);DM3000 型荧光显微镜(德国 Leica 公司);610020-9Q 型化学发光仪(中国勤翔公司)。

1.2 方法

1.2.1 分组和 TD 造模 大鼠适应性喂养 5 d,根据体质量随机分为 6 组:正常组,TD 组,硫必利组,天麻钩藤饮低、中、高剂量组,每组 6 只。将 15 mg IDPN 溶于 0.9%氯化钠溶液中制备 TD 诱导溶液(浓度:15 mg·mL⁻¹),随后将 IDPN(200 mg·kg⁻¹)溶液注射入除正常组外的 5 组大鼠腹腔内,每日 1 次,连续 7 d。正常组大鼠腹腔注射等体积生理盐水。

1.2.2 给药治疗 天麻钩藤饮低、中、高剂量组大鼠分别灌胃 19.6, 39.2, 78.4 g·kg⁻¹·d⁻¹的天麻钩藤饮 4 周。硫必利组大鼠灌胃 4.2 mg·kg⁻¹·d⁻¹硫必利 4 周,正常组和 TD 组大鼠灌胃等量生理盐水 4 周。

1.2.3 大鼠行为学观察 于治疗前(即造模完成时)和治疗后进行下列行为学试验。①刻板行为测定:参考 Diamond 评分法^[9],根据大鼠躯体旋转和头、颈部出现的异常运动行相应行为评分(0 分:无异常;1 分:躯体出现旋转运动;2 分:头颈部的出现上下运动;3 分:头颈部频繁上下运动+躯体旋转;4 分:头向侧摆合并头和颈部的上下运动过多)。②运动行为测定:在完成刻板行为测定后,将大鼠放入较大的观察笼内先适应 5 min,随后对大鼠的运动行为进行评分(0 分:安静或正常运动;1 分:出现兴奋、活泼表现;2 分:探究行为增加;3 分:笼内跑;4 分:笼内跑和跳)。③旷场试验测定:大鼠放入一定体积的黑色实验木箱中 5 min,观察期间大鼠水平活动的跨格次数(指三爪以上跨入邻格的次数)和垂直活动/站立的活动情况(指两前肢离地 1.0 cm 上的次数),并计算 2 种活动次数之和。每只大鼠单独测试,测试前消除木箱内气味、保持干净。

1.2.4 ELISA 检测大鼠纹状体和血清中 DA、IL-1 β 、TNF- α 含量 二氧化碳安乐死大鼠。采集大鼠血液, 3 500 r $\cdot$ min⁻¹ 离心 15 min, 取上清保存备用。手术剥离大鼠脑组织中纹状体, 取部分制备匀浆, 3 000 r $\cdot$ min⁻¹ 离心 20 min, 收集上清。按照 ELISA 说明书, 测定纹状体和血清中 DA、IL-1 β 、TNF- α 含量。

1.2.5 HE 染色观察大鼠纹状体病理改变 制备纹状体石蜡切片, 常规脱蜡至水。随后行常规 HE 染色, 高倍镜观察纹状体组织和神经元细胞病变程度。

1.2.6 TUNEL 染色观察大鼠神经元细胞凋亡情况 修复纹状体石蜡切片, 工作液处理标本。稀释后的 TUNEL 染液与样本孵育 2 h。清洗, DAPI 复染细胞核, 避光孵育 10 min, 清洗, 封片。荧光显微镜观察 3 个视野内神经细胞分布以及 TUNEL 阳性(绿色荧光)细胞, 计算神经元细胞凋亡比例。

1.2.7 Western blotting 检测大鼠纹状体内 p-PI3K、PI3K、p-AKT、AKT、p-GSK-3 β 、GSK-3 β 蛋白表达 将分离的大鼠纹状体组织制备匀浆, 离心提取上清液。BCA 试剂盒测定组织总蛋白含量。随后转至聚片二氟乙烯膜, 5%脱脂奶粉孵育, 缓冲液清洗。加入检测的稀释后一抗抗体, 4 $^{\circ}$ C 的振荡环境下孵育过夜。隔天室温下振荡 30 min, 将上层液体轻轻吸出, 缓冲液清洗 3 遍。5%脱脂奶粉封闭液稀释, 稀释后对应二抗抗体振荡孵育 1.5 h, 缓冲液再次清洗。化学发光仪显影, 计算目的蛋白相对表达含量。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 16.0 统计软件进行数据分析, 多组间数据比较采用 One-way-ANOVA 单因素方差分析, 组间两两比较采用 Tukey 检验。所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 大鼠治疗前后各项行为表现($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Tab. 1 Behaviors of rats before and after treatment($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	刻板行为/分		运动行为/分		旷场试验(跨格、运动次数)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
正常组	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	0.00 $\pm$ 0.00	42.5 $\pm$ 7.23	44.00 $\pm$ 7.97
TD 组	3.00 $\pm$ 0.63 ¹⁾	3.33 $\pm$ 0.52 ¹⁾	3.17 $\pm$ 0.75 ¹⁾	3.67 $\pm$ 0.52 ¹⁾	21.50 $\pm$ 3.78 ¹⁾	22.67 $\pm$ 2.58 ¹⁾
疏必利组	3.17 $\pm$ 0.98	2.00 $\pm$ 0.89 ²⁾⁴⁾	2.83 $\pm$ 0.75	2.00 $\pm$ 0.63 ²⁾⁴⁾	21.33 $\pm$ 3.01	37.17 $\pm$ 3.92 ³⁾⁴⁾
天麻钩藤饮						
低剂量组	2.83 $\pm$ 0.75	2.67 $\pm$ 0.82	3.00 $\pm$ 0.89	2.50 $\pm$ 0.55 ⁴⁾	20.00 $\pm$ 2.61	28.50 $\pm$ 2.95 ⁴⁾
中剂量组	3.00 $\pm$ 0.89	2.00 $\pm$ 0.89 ²⁾⁴⁾	2.83 $\pm$ 0.75	1.83 $\pm$ 0.41 ³⁾⁴⁾	22.17 $\pm$ 3.82	31.67 $\pm$ 3.98 ²⁾⁴⁾
高剂量组	3.17 $\pm$ 0.75	1.83 $\pm$ 0.75 ²⁾⁴⁾	3.17 $\pm$ 0.41	1.67 $\pm$ 0.52 ³⁾⁴⁾	19.83 $\pm$ 3.13	32.17 $\pm$ 3.97 ²⁾⁴⁾

注: 与正常组比较, ¹⁾ $P < 0.01$; 与 TD 组比较, ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$; 与治疗前比较, ⁴⁾ $P < 0.01$ 。

Note: Compared with normal group, ¹⁾ $P < 0.01$; compared with TD group, ²⁾ $P < 0.05$, ³⁾ $P < 0.01$; compared with before treatment, ⁴⁾ $P < 0.01$.

2 结果

2.1 天麻钩藤饮治疗对 TD 大鼠行为的改善效果

与正常组相比, 治疗前后 TD 组大鼠的刻板行为、运动行为的评分显著升高($P < 0.01$), 旷场试验中跨格次数和运动次数显著减少($P < 0.01$)。与治疗前比较, 治疗后疏必利组和天麻钩藤饮中、高剂量组大鼠治疗后刻板行为、运动行为的评分显著降低($P < 0.01$), 旷场试验运动次数显著增加($P < 0.01$); 而天麻钩藤饮低剂量组大鼠治疗后的运动行为评分显著下降($P < 0.01$)、旷场试验运动次数显著增加($P < 0.01$)。与 TD 组相比, 疏必利组和天麻钩藤饮中、高剂量组大鼠刻板行为、运动行为的评分显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 旷场试验运动次数显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果见表 1。

2.2 天麻钩藤饮对大鼠 DA、IL-1 β 、TNF- α 含量的影响

与正常组相比, TD 组大鼠血清和纹状体中 DA、IL-1 β 、TNF- α 含量均显著升高($P < 0.01$)。与 TD 组相比, 疏必利组和天麻钩藤饮中、高剂量组大鼠血清和纹状体中 DA、IL-1 β 、TNF- α 含量均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 天麻钩藤饮低剂量组大鼠纹状体中 IL-1 β 含量下降($P < 0.05$)。结果见表 2。

2.3 天麻钩藤饮对大鼠纹状体病理变化、神经元细胞数量的影响

HE 染色结果显示, TD 组大鼠神经细胞肿胀变形、核固缩、坏死, 纹状体损伤严重, 而各治疗组大鼠纹状体病理改变减轻, 结果见图 1。与正常组相比, TD 组大鼠纹状体内神经元细胞凋亡比例显著升高($P < 0.01$)。与 TD 组相比, 疏必利组和天麻钩藤饮中、高剂量组大鼠纹状体内神经元细胞凋亡率显著降低($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结果见图 2。

表 2 大鼠血清以及纹状体中 DA、IL-1 β 、TNF- α 含量($\bar{x} \pm s$, $n=6$)
Tab. 2 Content of DA, IL-1 β , TNF- α in rats serum and striatum($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别		DA/ng·mL ⁻¹		IL-1β/pg·mL ⁻¹		TNF-α/pg·mL ⁻¹	
		血清	纹状体	血清	纹状体	血清	纹状体
天麻钩藤饮	正常组	56.39±6.20	63.01±6.32	15.68±1.53	23.42±2.60	38.26±3.70	30.58±2.68
	TD 组	87.36±9.85 ¹⁾	90.63±8.91 ¹⁾	38.81±4.47 ¹⁾	62.41±5.96 ¹⁾	81.24±8.30 ¹⁾	63.38±6.39 ¹⁾
	硫必利组	66.20±6.36 ³⁾	74.35±8.55 ²⁾	20.83±2.21 ³⁾	41.43±4.57 ³⁾	55.48±5.19 ³⁾	40.30±4.00 ³⁾
	低剂量组	85.79±7.60	76.02±8.38	34.04±3.38	53.99±5.42 ²⁾	81.02±8.16	60.96±6.40
	中剂量组	67.33±7.08 ³⁾	74.34±7.22 ²⁾	31.22±3.63 ³⁾	49.04±4.90 ³⁾	68.04±6.58 ³⁾	50.73±5.05 ³⁾
	高剂量组	59.95±6.32 ³⁾	67.85±6.80 ³⁾	29.08±2.15 ³⁾	40.68±4.30 ³⁾	63.61±6.36 ³⁾	41.97±4.08 ³⁾

注:与正常组比较, ¹⁾ $P<0.01$;与 TD 组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$ 。
Note: Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with TD group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$.

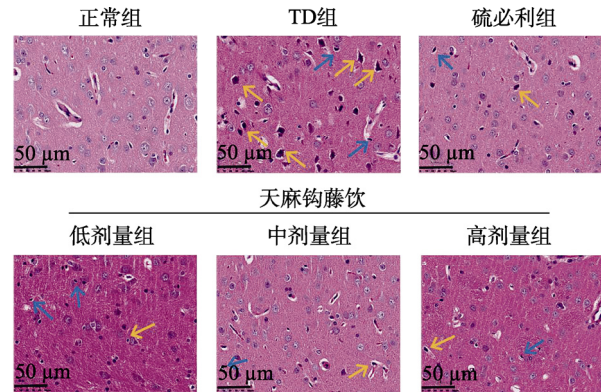


图 1 大鼠纹状体病理改变(HE, 400 $\times$)
黄色箭头—皱缩神经元细胞;蓝色箭头—坏死神经元细胞。
Fig. 1 Pathological changes of rat striatum(HE, 400 $\times$)
Yellow arrow—crinkle neuron cell; blue arrow—necrotic crinkle neuron cell.

2.4 天麻钩藤饮对大鼠纹状体中 PI3K、AKT、GSK-3 β 蛋白磷酸化的影响

与正常组相比, TD 模型组大鼠纹状体中 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT、p-GSK-3 β /GSK-3 β 相对表达量均显著降低($P<0.01$)。与 TD 组相比, 硫必利组和天麻钩藤饮中、高剂量组大鼠纹状体中

p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 蛋白相对表达量显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 天麻钩藤饮中、高剂量组大鼠纹状体中 p-GSK-3 β /GSK-3 β 蛋白相对表达量显著升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果见图 3。

3 讨论

TD 可影响儿童娱乐活动的正常进行, 引起儿童与他人交流障碍, 更易使儿童出现大幅度情绪波动, 出现抑郁和焦虑等精神症状^[1]。目前, TD 无法预防, 只能尽量控制抽动次数以减少其带来的损害^[10]。DA 受体阻滞剂是用于治疗中重度 TD 儿童的有效药物, 可拮抗中枢系统 DA 和 5-羟色胺, 但存在多种可影响神经系统的不良反应, 不利于儿童的生长发育^[11]。中药复方可增强 DA 转运体摄取能力降低脑组织内 DA 含量, 或下调 DA 受体表达, 抑制 DA 发挥作用, 起到 TD 治疗的作用^[12-14]。天麻钩藤饮可用于多种神经疾病治疗, 其可介导纹状体释放 DA 改善神经系统症状, 并能够调控脑组织内炎症细胞因子表达发挥神经保护作用^[7,15-16]。

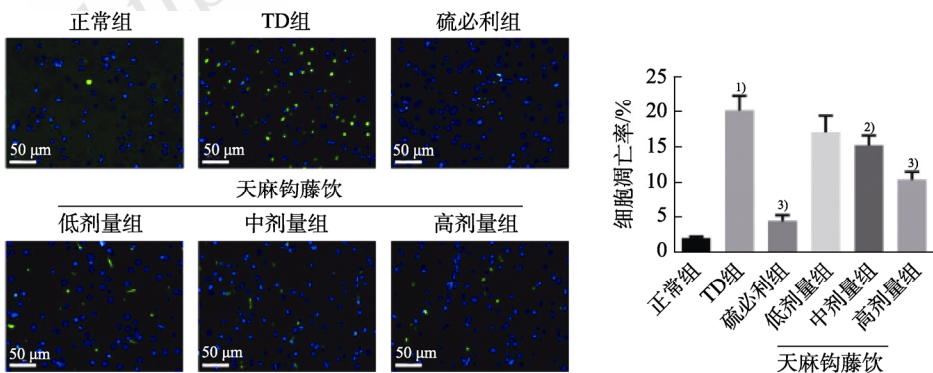


图 2 大鼠纹状体神经元细胞凋亡情况(400 $\times$)
与正常组比较, ¹⁾ $P<0.01$;与 TD 组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$ 。
Fig. 2 Neurons apoptosis of rat striatum(400 $\times$)
Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with TD group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$.

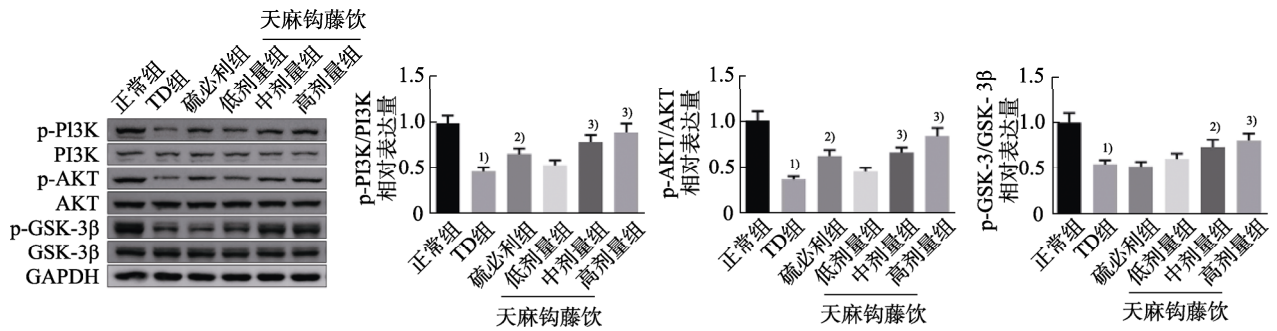


图3 大鼠脑纹状体中PI3K、AKT、GSK-3β蛋白磷酸化表达情况($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

与正常组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与TD组比较, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$ 。

Fig. 3 Protein phosphorylation expression of p-PI3K, p-AKT, p-GSK-3β in rat striatum($\bar{x} \pm s$, $n=3$)

Compared with normal group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with TD group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$.

IDPN 为 TD 造模的常用药物,通过诱导神经递质失调,引起大鼠兴奋性增加,并出现不自觉的旋转、舞蹈样运动等全身性抽动症状,类似 TD 患儿典型表现^[9,17-18]。本研究采用腹腔注射 IDPN 建立大鼠 TD 模型,造模后大鼠刻板评分、行为评分升高,旷场运动能力减弱,与既往所报道的研究结果相同^[19]。硫必利具有精神阻滞的作用,是治疗小儿抽动的常用药物^[20],本研究以硫必利做阳性药物对照,便于观察天麻钩藤饮的剂量效应。结果显示,天麻钩藤饮治疗后,TD 大鼠刻板行为、运动行为和旷场运动能力得到改善,纹状体和血清中 DA 含量下降,提示天麻钩藤饮可通过调节 DA 分泌来改善 TD 大鼠异常行为。

脑组织内炎性细胞因子 TNF-α、IL-1β、IL-6 含量升高可增加 DA 神经元凋亡^[21]。在本研究中,TD 大鼠纹状体及血清中 TNF-α、IL-1β 含量均显著增加,纹状体组织病理改变加重、神经元细胞凋亡数量增加。而天麻钩藤饮则能下调 TD 大鼠纹状体和血清中 TNF-α、IL-1β 含量,减轻纹状体组织病理改变,抑制神经元细胞的凋亡,以中、高剂量天麻钩藤饮的效果较为显著,表明天麻钩藤饮对 TD 大鼠神经保护作用呈现剂量依赖性。PI3K/Akt 信号通路在介导 DA 能神经元存活中起重要作用,其表达增加可发挥对神经元的保护作用^[22-24]。GSK-3β 是 PI3K/Akt 通路关键下游基因^[25]。PI3K/Akt/GSK-3β 信号通路可减轻神经细胞炎症损伤,促进受损神经元细胞再生^[25-27]。本研究发现,TD 大鼠脑纹状体内 PI3K/Akt/GSK-3β 信号通路表达显著降低,而天麻钩藤饮则能促进 PI3K/Akt/GSK-3β 信号通路的表达,以中、高剂量天麻钩藤饮的效果最为显著,提示天麻钩藤饮可通过 PI3K/Akt/GSK-3β

减轻 TD 大鼠纹状体内 DA 能神经元损伤、坏死。

综上,天麻钩藤饮治疗可改善 TD 大鼠行为能力,其神经保护作用可能与其下调 DA 和炎症细胞因子含量,促进 PI3K/Akt/GSK-3β 信号通路表达,减少神经元细胞凋亡有关。

REFERENCES

- [1] GUO N, LI Y P. Research progress on TCM treatment of TIC disorder in children[J]. Shaanxi J Tradit Chin Med(陕西中医), 2021, 42(7): 983-985.
- [2] JIA R M, TU Y, WANG Y M. Research progress in the pathogenesis of central neurotransmitter imbalance in tic disorders[J]. China Med Pharm(中国医药科学), 2020, 10(21): 45-48.
- [3] LEISMAN G, SHELDON D. Tics and emotions[J]. Brain Sci, 2022, 12(2): 242.
- [4] YOU H Z, SUN K X, ZHOU Y F. Advances in immunopathogenesis of tic disorder[J]. J Bio Educ(教育生物学杂志), 2022, 10(3): 242-247.
- [5] LUO J X, WU M, JIN L J. Relationship between inflammatory cytokines and tic disorder of endogenous liver wind type caused by external wind invasion[J]. Acta Univ Tradit Med Sin Pharmacol Shanghai(上海中医药大学学报), 2014, 28(2): 44-46.
- [6] JIN S S, XU W C, WANG X Q. Discussion on material basis of disease caused by pathogenic wind from inflammatory cytokines[J]. Chin Arch Tradit Chin Med(中华中医药学刊), 2019, 37(1): 67-69.
- [7] ZHANG Y Y, LI J J, LONG Y L, et al. Research progress of Tianma Gouteng drink in preventing and treating nervous system diseases[J]. Chin Tradit Pat Med(中成药), 2022, 44(9): 2901-2905.
- [8] 高红伟, 冯斌. 天麻钩藤饮治疗儿童多发性抽动症 46 例[J]. 河南中医, 2012, 32(9): 1226.
- [9] CHE L C, LIU X M, CHEN L, et al. Study on praxiology and mechanisms of animal models of tic disorders[J]. Chin J Child Health Care(中国儿童保健杂志), 2016, 24(12): 1274-1277, 1286.
- [10] STIEDE J T, WOODS D W. Pediatric prevention: Tic

- disorders[J]. *Pediatr Clin North Am*, 2020, 67(3): 547-557.
- [11] ZHAI Q, FENG L, ZHANG G F. Etiology of tic disorder in children and the treatment progress[J]. *Chin J Pract Pediatr*(中国实用儿科杂志), 2020, 35(1): 66-72.
- [12] CHEN H M, SHI W L, HE Q, et al. Effect of traditional Chinese medicine on tic disorder based on dopamine system regulation[J]. *Liaoning J Tradit Chin Med*(辽宁中医杂志), (2022-07-08). <https://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1128.R.20220707.1718.102.html>
- [13] FENG P, SHI Z G, SUN Z Q, et al. Research progress of Chinese medicine treating on tourette syndrome by regulating neurotransmitter[J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*(中药药理与临床), 2020, 36(2): 267-271.
- [14] 许金钊, 刘建阳, 方昉, 等. 平肝健脾补肾汤治疗儿童抽动障碍症的疗效观察[J]. *浙江临床医学*, 2022, 24(9): 1324-1325.
- [15] ZHANG L J, ZHANG Q, WANG K F, et al. Effects of Tianma Gouteng Decoction on behaviors and dopamine content in Striatum of parkinson's disease model rats[J]. *Jiangsu J Tradit Chin Med*(江苏中医), 2018, 50(2): 79-82.
- [16] GAO X H, CHEN D Y, LIU X S, et al. Effect of serum containing Tianma Gouteng Decoction on expressions of serum inflammatory factors and apoptosis related factors in brain tissue around hematoma in rats with intracerebral hemorrhage[J]. *Chin Arch Tradit Chin Med*(中华中医药学刊), 2022, 40(3): 232-235, 259.
- [17] KE Z L, CHEN Y H. Research advances in animal models of tic disorder[J]. *Acta Lab Animalis Sci Sin*(中国实验动物学报), 2020, 28(3): 416-422.
- [18] LIANG Y, ZHU Q Q, ZHANG D. Effect of Jianpi Rougan Xifeng Decoction on the content of DARPP-32 and TH in the brain neurons of model rats with tic disorder[J]. *J Hunan Univ Chin Med*(湖南中医药大学学报), 2022, 42(2): 235-239.
- [19] YANG D S, MENG Z L, GUO W W, et al. Effects of Chaihu jialong gumuli decoction on ethology and dopamine system of tourette syndrome model rats[J]. *Chin J Integr Tradit West Med*(中国中西医结合杂志), 2018, 38(1): 76-79.
- [20] 景兰, 任瑞. 阿立哌唑与硫必利对抽动障碍患儿的有效性比较[J]. *中国医师杂志*, 2020, 22(9): 1401-1403.
- [21] HU D, XIONG J, LIU Z C. The protective effect and mechanism of β -arrestin 2 on primary dopaminergic neurons[J]. *Stroke Nerv Dis*(卒中与神经疾病), 2018, 25(6): 625-629.
- [22] TAN H J, SONG J K, SHI F, et al. Isorhamnetin prevents PC12 cell from rotenone-induced injury via PI3K/Akt/GSK-3 β /CREB signaling pathway[J]. *Chin Pharmacol Bull*(中国药理学通报), 2020, 36(2): 272-276.
- [23] FANG Y, SONG G J, CHEN L, et al. Neuroprotective effect of tanshinone II A and its effects on the PI3K/AKT pathway in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Acta Lab Animalis Sci Sin*(中国实验动物学报), 2021, 29(4): 499-505.
- [24] WU Y, LIANG S L, XU B, et al. Study on curcumin enhances autophagy by inhibiting PI3K/Akt/mTOR pathway to protect cell models of Parkinson's disease[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2021, 38(19): 2351-2358.
- [25] JIANG H, FAN C, WANG Y Z, et al. Investigation of Zhinao Capsule induces proliferation of Alzheimer's disease model cells by PI3K/AKT/GSK-3 β signal pathway[J]. *Chin J Hosp Pharm*(中国医院药学杂志), 2022, 42(24): 2612-2617.
- [26] ABDALLAH H M, EL SAYED N S, SIRWI A, et al. Mangostanaxanthone IV ameliorates streptozotocin-induced neuro-inflammation, amyloid deposition, and Tau hyperphosphorylation via modulating PI3K/Akt/GSK-3 β pathway[J]. *Biology*, 2021, 10(12): 1298.
- [27] LI Y, SHI Y, LI W, et al. Kaixin Powder regulates PI3K/Akt/GSK3 signaling pathway to promote intracranial nerve regeneration in AD model mice[J]. *Pharmacol Clin Chin Mater Med*(中药药理与临床), 2020, 36(5): 73-78.

收稿日期: 2022-11-08

(本文责编: 陈怡心)