

脑泰通颗粒对血管性痴呆大鼠细胞凋亡及Bcl-2或Bax蛋白表达的影响

徐长青¹, 付小燕²

(1.咸阳职业技术学院科研处, 陕西 西咸新区 712046; 2.陕西中医药大学第二附属医院 陕西 咸阳712000)

摘要:目的 观察脑泰通颗粒对血管性(VD)大鼠海马CA1区神经细胞凋亡和Bcl-2及Bax蛋白表达的影响, 探讨其作用机理。方法 采用高脂喂养及不同时间点分别结扎左、右颈总动脉制备痰瘀阻窍VD模型。设空白组、假手术组、模型组、脑泰通小、中、大剂量组。根据不同要求灌注4周。结果 脑泰通颗粒大、中、小剂量组都能升高大鼠海马CA1区 BCL-2蛋白表达, 降低Bax蛋白表达, 同时能减少细胞凋亡, 与模型组比较有显著差异($P<0.05, P<0.01$);结论 脑泰通颗粒治疗VD的机理可能与上调海马CA1区BCL-2蛋白表达下调Bax蛋白表从而减少细胞凋亡有关。

关键词: 脑泰通颗粒; 血管性痴呆; Bcl-2或Bax蛋白表达影响

中图分类号: Q954.56+1

文献标识码: B

文章编号: 94047-(2019)02-057-02

本实验通过观察该方对痰瘀阻窍血管性痴呆(VD)大鼠海马CA1区细胞凋亡和BCL-2、Bax蛋白表达的影响, 探讨其对VD大鼠的疗效和作用机理。

1 材料和方法

1.1 实验动物

清洁级SD大鼠90只, 雌雄各半, 体重(240 ± 20)g, 由陕西中医学院实验动物中心提供。大鼠在实验前适应性饲养1周。

1.2 试剂与仪器

都可喜由施维(天津)制药有限公司生产, 国药准字H20054931, 每片含有二甲硫酸阿米三嗪30mg、萝巴新10mg。脑泰通颗粒陕西中医学院附属医院制剂中心提供, 批号021026。兔抗Bcl-2多克隆抗体, 兔抗Bax多克隆抗体试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司。凋亡TUNEL试剂盒购自SantaCurz公司。Morris水迷宫由张家港生物医学仪器厂生产。

1.3 VD大鼠模型制备及动物分组

90只大鼠按重量编码, 采用随机数字表法分成空白组($n=10$)、高脂饮食组($n=80$)高脂饮食组大鼠 给予高脂喂养2w后采用不同时间点分别结扎左、右颈总动脉制备VD模型^[1]。术后切口外涂红霉

素软膏, 并肌注青霉素20万U/d, 连续3天, 预防感染。从高脂饮食组随机选取10只为假手术组, 仅分离双侧颈总动脉, 不结扎。造模术中死亡6只大鼠(主要为手术中损伤交感、迷走神经和麻醉过量造成)按VD入选标准9只大鼠不合格, 剔除实验。将造模成功的55只VD模型大鼠按随机原则分为模型组、都可喜组、脑泰通小剂量组、脑泰通中剂量组、脑泰通大剂量组每组各11只。

1.4 入选标准

造模7d后, 用Morris水迷宫对造模大鼠进行学习记忆能力测试, 连续5d, 记录错误反应次数, 最后1d反映错误次数大于8天作为大鼠痴呆标准。

1.5 给药方法

术后第十三天开始灌胃给药, 根据药品说明书常用量, 按体重计算给药剂量。都可喜组: 都可喜以 $0.0895\text{g}/\text{kg} \cdot \text{d}$, 溶于3ml生理盐水灌胃; 脑泰通颗粒大、中、小剂量组分别以脑泰通颗粒2.985、1.893、0.946 $\text{g}/\text{kg} \cdot \text{d}$ 溶于3ml生理盐水灌胃; 空白组、假手术组、模型组每早晚3ml生理盐水灌胃。7组均早晚灌胃, 持续4w。

1.6 样本采集处理

灌胃4w后, 用10%水合氯醛腹腔注射麻醉各组大鼠, 4%多聚甲醛灌注后 断头取脑, 置于4%多聚

收稿日期: 2019-05-11

作者简介: 徐长青(1973—), 男, 陕西榆林人, 硕士, 副主任医师, 主要从事中西医结合方面的教学与研究工作。

甲醛溶液中固定取出,依次进行脱水、透明,石蜡包埋,连续冠状切片,厚4-5 μ m。

1.7 检测指标

TUNEL法检测细胞凋亡:按TUNEL试剂盒说明书进行。在光学显微镜下观察海马CA1区细胞形态、大小、染色情况,经图像分析仪(每个切片随机选择5个视野)观察计数,结果取平均值。

免疫组织化学法检测BCL-2、Bax蛋白表达:按BCL-2、Bax蛋白试剂盒说明书进行。在光镜下

随机选择5个视野,取平均值作为海马CA1区BCL-2、Bax蛋白表达。

1.8 统计学分析

应用SPSS17.0统计软件分析,所有数据用均数加减标准差(\pm S)表示,采用单因素方差分析以($P<0.05$)为差异有统计学意义。

2 结果

试验结果见表1。

表1海马CA1区 BCL-2蛋白表达和细胞凋亡比较(\pm S)

组别	n	BCL-2 蛋白表达	Bax 蛋白表达	细胞凋亡
空白组	10	5.13 \pm 1.09	3.56 \pm 1.68	12.05 \pm 4.52
假手术组	10	6.32 \pm 1.56 [△]	4.53 \pm 2.56 [△]	15.23 \pm 4.19 [△]
模型组	11	17.87 \pm 3.04 ^{△△}	29.31 \pm 3.10 ^{△△}	213.54 \pm 3.68 ^{△△}
都可喜组	11	22.78 \pm 2.46 ^{◎◎*}	12.23 \pm 2.68 ^{◎◎*}	102.23 \pm 3.88 ^{◎◎*}
脑泰通小剂量组	11	20.86 \pm 2.62 [◎]	13.92 \pm 3.01 [◎]	109.23 \pm 3.74 [◎]
脑泰通中剂量组	11	23.98 \pm 2.21 ^{◎◎●*}	10.17 \pm 3.24 ^{◎◎●*}	94.49 \pm 4.68 ^{◎◎●*}
脑泰通大剂量组	11	24.14 \pm 2.47 ^{◎◎●**}	9.87 \pm 3.64 ^{◎◎●**}	91.51 \pm 4.35 ^{◎◎●**}

与假手术组比较 * $P<0.01$,与模型组比较 ◎ $P<0.05$,◎◎ $P<0.01$,与空白组比较 △ $P<0.05$,△△ $P<0.01$,与都可喜比较 ● $P<0.05$,与小剂量组比较 ★ $P<0.05$,★★ $P<0.01$ 。

3 讨论

VD属中医“中风痴呆”范畴,多由中风发展而来。导师李军教授认为VD主要病理机制是痰瘀阻窍,治疗以“涤痰活血开窍”为原则,并在多年临床研究经验基础上自创脑泰通颗粒方剂,组成主要有:半夏,丹参,蝉蜕石菖蒲冰片等中药。前期研究以表明,脑泰通颗粒有防治VD的作用,其机理之一可能与改善血清胰岛素关^[2]。本实验在原有基础上,进一步探讨脑泰通颗粒治疗VD的作用机制。

研究结果显示,VD模型大鼠海马CA1区可见大量凋亡细胞,且Bcl-2与Bax蛋白表达均升高,脑泰通颗粒小,中,大剂量组海马CA1区Bcl-2蛋白表达

均升高,Bax蛋白表达降低,凋亡细胞明显减少。本实验表明,脑泰通颗粒治疗VD机制可能与诱导海马CA1区Bcl-2蛋白表达及降低Bax蛋白表达从而减少细胞凋亡有关。

参考文献

- [1]黄新武,李华,秦大莲,等.不同时间点分别结扎左右颈,总动脉建立大鼠血管性痴呆模型[J].中国老年心血管病杂志,2010,12(6):497-498.
- [2]袁有才,高碧峰,李军.脑泰通颗粒对血管性痴呆大鼠认知功能影响的实验研究[J].陕西中医学院学报,2006,29(3):49.

[责任编辑:王军利]