

抗帕颗粒对帕金森病模型小鼠酪氨酸羟化酶神经元的影响

赵晓晖 朱玉萍 杨娟 刘慧琴 沈建

【摘要】 目的 探讨抗帕颗粒对 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)帕金森病(PD)模型小鼠黑质纹状体酪氨酸羟化酶(TH)阳性神经元的影响。**方法** 90 只健康雄性 C57BL/6 小鼠,鼠龄 8~12 周,并随机分为 3 组,即正常对照组 30 只、PD 模型对照组 30 只、PD 模型干预组 30 只;MPTP 腹腔注射($40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}\times 7\text{ d}$)制备小鼠 PD 模型;正常对照组及 PD 模型对照组予生理盐水 $1\text{ mL}\cdot\text{d}^{-1}$ 灌胃,PD 模型干预组给予抗帕颗粒 $40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ 灌胃,连续喂养 4 个月;黑质纹状体切片、HE 染色、免疫组织化学染色 TH 神经元及 Western blotting 检测 TH 蛋白的表达量。**结果** ①正常对照组 30 只(30/30 只)最终均存活,PD 模型对照组 4 个月存活 27 只(27/30 只),PD 模型干预组 4 个月存活 28 只(28/30 只);②PD 模型对照组、PD 模型干预组小鼠每次注射 MPTP 后先有短暂兴奋[持续(7.61 ± 2.17)min],表现为四处窜跳,随即出现全身中重度震颤,皮毛及尾巴时有竖立,活动减少,持续(24.23 ± 3.89)min 后震颤消失,随后出现活动减少;③HE 染色显示正常对照组大量褐色 TH 阳性细胞,PD 模型对照组 TH 阳性细胞数明显减少,PD 模型干预组 TH 阳性细胞数有所增加;④免疫组织化学染色后经 Imagepro-Plus 5.1 系统分析,正常对照组 TH 阳性细胞面积为 $64\ 145\ \mu\text{m}^2$,高倍镜下可见大量胞质为褐色颗粒的 TH 阳性细胞;PD 模型对照组 TH 阳性细胞染色面积为 $40\ 012\ \mu\text{m}^2$,高倍镜下见 TH 细胞数明显减少;PD 模型干预组 TH 阳性细胞染色面积为 $60\ 952\ \mu\text{m}^2$,高倍镜下见 TH 阳性细胞数较 PD 模型对照组增加;⑤Western blotting 检测显示正常对照组 TH 蛋白表达量与 PD 模型对照组和 PD 模型干预组比较均有明显差异($P<0.001$),PD 模型对照组 TH 蛋白表达量与 PD 模型干预组比较也有明显差异($P<0.05$)。**结论** 抗帕颗粒可使 PD 小鼠黑质纹状体中多巴胺能神经元一定程度地减少丢失,对多巴胺能神经元的数量、形态及功能具有一定的保护作用。

【关键词】 帕金森病 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶 小鼠模型 抗帕颗粒 酪氨酸羟化酶阳性神经元

【中图分类号】 R742.5 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2017)01-0008-06

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2017.01.002

Effect of anti-Parkinson granule on TH positive-neurons in model mice with Parkinson disease Zhao Xiaohui, Zhu Yuping, Yang Juan, et al. Department of Neurology, the People's Hospital of Pudong, Shanghai 201200

【Abstract】 Objective To explore the pharmaceutical effect of anti-Parkinson granule on substantia nigra and striatum Tyrosine hydroxylase(TH)-positive neurons in model mice with Parkinson disease(PD) induced by 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine(MPTP). **Methods** 90 healthy male C57BL/6 mice, aged from 8 to 12 weeks, were randomly divided into 3 groups($n=30$): normal control group, PD model control group and PD model intervention group. The PD model group was made through intraperitoneal injection with MPTP($40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}\times 7\text{ d}$). The normal control group and the PD model control group were treated with normal saline ($1\text{ mL}\cdot\text{d}^{-1}$) intragastrically. The PD model intervention group was treated with anti-Parkinson granule solution($40\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$) intragastrically for 4 months. TH protein expression was detected by HE staining, and immunohistochemistry staining of Western blotting in substantia nigra and striatum slices. At the end of the forth month, TH-positive neurons in substantia nigra and striatum among groups was contrasted and analyzed. **Results** ①30 mice(30/30 mice) were living in the normal control group, 27 mice(27/30 mice) in the PD model control group, and 28 mice(28/30 mice) in the PD model intervention group; ②After injection with

MPTP, mice in the PD model control group and the PD model intervention group had short excitements [continued (7.61 ± 2.17) min] with jumping around, followed with the whole body's moderate or severe tremors, fur and tails erected timely and less movement. Tremors ceased after (24.23 ± 3.89) min, and then the movement became less; ③ HE staining showed a large number of brown TH positive cells in the control group, the number of PD model control group was significantly reduced, and the number of TH positive cells in the PD model group increased significantly; ④ After analysis by Imagepro-Plus 5.1 system, TH positive cells in the normal control group ranged $64\ 145\ \mu\text{m}^2$, and the mass amount of TH positive cells with brown cytoplasmic granular could be observed under high power microscope. TH positive cells in the PD model control group ranged $40\ 012\ \mu\text{m}^2$, and the number of TH positive cells decreased significantly. TH positive cells in the PD model intervention group ranged $60\ 952\ \mu\text{m}^2$, and the number of TH positive cells under high power microscope was significantly increased than that in the PD model control group; ⑤ The results of TH protein expression detected by Western Blotting were as follows: the comparison between the normal control group and the PD model group was $P < 0.001$, between the normal control group and the PD model intervention group was $P < 0.001$, and between the PD model control group and the PD model intervention group was $P < 0.05$. **Conclusion** Anti-Parkinson granule can weaken the lost of TH-positive neurons in PD mice substantia nigra and striatum to some degree. Anti-Parkinson granule can partly protect dopaminergic neurons in aspects of quantity, morphology and function, and may have a hope to improve PD treatment status and a wide application in clinic.

【Key words】 Parkinson's disease 1-Methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine Mouse Model Anti-Parkinson granule TH-positive neuron

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是神经系统第二大慢性退行性疾病,近年来中医药在 PD 中的治疗作用日益受到关注。本研究应用名老中医传统用来治疗脑卒中中痰、半身瘫痪、手足痉挛的经验方药抗帕颗粒,分析其现代药理具有抗氧化应激、抗自由基及提高免疫功能等作用^[1];建立 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)致 C57BL/6 小鼠 PD 模型^[2];观察抗帕颗粒对 PD 小鼠黑质纹状体酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)阳性神经元的影响。

1 资料与方法

1.1 实验动物与试剂

1.1.1 实验动物 SPF 级健康 C57BL/6 小鼠 90 只,雄性,鼠龄 8~12 周,体质量 20~22 g,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司供应,许可证编号为 SCXK(沪)2013-0016;实验动物由上海交通大学附属上海市第六人民医院动物中心喂养,许可证编号为 SYXK(沪)2011-0128;均饲养于 20~25 °C 环境中,相对湿度 40%~70%,工作照度 150~300 lx,动物照度 15~20 lx,12 h 昼夜节律喂养。

1.1.2 实验试剂 抗帕颗粒由江苏省南通大学医学院第二附属医院提供[批准文号为通制剂(2001)02-050],MPTP 购自美国 Sigma 公司,生物素标记

的羊抗兔 IgG 及 ABC Kit 购自 Vector 公司,DAB-H₂O₂ 购自武汉博士德公司,兔抗大鼠 TH 单克隆抗体购于美国 Chemicon 公司,小鼠抗大鼠 β -actin 单克隆抗体、HRP 标记的羊抗兔 II 抗及 HRP 标记的羊抗小鼠 II 抗购自 Boster 公司。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组 90 只上述健康 C57BL/6 小鼠随机分为 3 组,即正常对照组 30 只、PD 模型对照组 30 只、PD 模型干预组 30 只。正常对照组及 PD 模型对照组予生理盐水 $1\ \text{mL} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃,PD 模型干预组给予抗帕颗粒(浓度 $800\ \text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)按 $40\ \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 灌胃,每日上午 9:00~10:00 给药,每周称体重 1 次,按体重调整给药量,连续喂养 4 个月。

正常对照组 30 只最终均存活;PD 模型对照组 4 月存活 27 只,其中 1 只背部皮肤被同笼小鼠咬伤感染于第 92 d 死亡,另 2 只进食逐渐减少,分别于第 102 d、114 d 衰竭死亡;PD 模型干预组 4 月存活 28 只,均为进食逐渐减少,于第 102 d、119 d 衰竭死亡。

1.2.2 PD 小鼠模型制备 对照组生理盐水 $0.1\ \text{mL}/\text{只}$,腹腔注射,1 次/d,连续 7 d;PD 模型对照组予 MPTP 腹腔注射,注射剂量 $40\ \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} \times 7\ \text{d}$;PD 模型干预组予 MPTP 腹腔注射,注射剂量 $40\ \text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1} \times 7\ \text{d}$ ^[2]。

1.2.3 黑质纹状体切片制备 喂养 4 个月每组

中随机取一半小鼠即正常对照组 15 只,PD 模型对照组 13 只,PD 模型干预组 14 只脑组织被用于制作切片;将实验小鼠以麻醉剂(Kentamine 100 mg·kg⁻¹,Xylaxine 10 mg·kg⁻¹,i. p)深度麻醉,经心脏依次灌注生理盐水 20 mL 和多聚甲醛 30 mL;灌注完毕后小鼠断头取脑,置于 4%多聚甲醛中 4℃条件下后固定 24 h;依次浸入 15%、20%和 30%蔗糖溶液中 4℃过夜后入包埋剂 O. C. T 中冰冻包埋;将小鼠脑切至 25 μM 厚切片,隔 5 片取一片,入 PBS (0.01 mol·L⁻¹)中 4℃保存。

1.2.4 TH 神经元 HE 染色 用二甲苯去蜡(经 2 次)5~10 min;无水乙醇、95%乙醇、80%乙醇、70%乙醇各 1~2 min,然后蒸馏水洗 3 min;苏木紫液染色约 10 min(视染液种类和着色情况增减);水洗,1%酸性乙醇(盐酸 1 mL,70%乙醇 99 mL)或 1%盐酸分化,显微镜下控制,流水浸洗至少 15 min,至细胞核呈蓝色,也可短时水洗后浸于 40℃温水使核变蓝;显微镜下观察若核染色过深或不足,应再分化或重染;伊红液染 1~2 min 后用 95%乙醇 2 次,无水乙醇 2 次,每次约 1~2 min;苯酚、二甲苯(1:3)5 min;二甲苯 2 次,每次 3~5 min;中性树胶盖片封片。

1.2.5 TH 免疫组织化学染色 切片经 0.01 mol·L⁻¹的 PBS 漂洗 10 min 后移入抗体稀释液包被 4 h,再予 0.01 mol·L⁻¹ PBS 漂洗 3 次(每次 10 min)后加入 R-TH 抗体,4℃冰箱内孵育 72 h;PBS 同法再漂洗 3 次,移入生物素标记的羊抗兔 IgG 4℃冰箱中孵育 48 h;PBS 同法再漂洗 3 次,移入 ABC 溶液 4℃孵育 24 h;PBS 漂洗 3 次,每次 5 min,DAB-H₂O₂ 染色;将切片贴于载玻片上,干燥后脱水透明封片;TH 抗体工作浓度 1:5 000,生物素标记的羊抗兔 IgG 及 ABC Kit 工作浓度 1:200;应用 Imagepro-Plus 5.1 系统分析小鼠脑黑质纹状体 TH 染色细胞形态及面积。

1.2.6 用 Western blotting 检测 TH 蛋白的表达量 喂养 4 个月后每组中取余下另一半小鼠即正常对照组 15 只、PD 模型对照组 14 只、PD 模型干预组 14 只脑组织被用于提取蛋白;经麻醉和冰盐水等灌注后断头取脑,冠状位切出包含黑质的脑组织(前囟尾侧 4.6~6.2 mm),然后进行匀浆裂解、离心,保留上清于 -80℃保存备用。

把已提取的蛋白解冻后测定样品的总蛋白含量;每泳道加总蛋白 20 μg 进行 SDS-PAGE 凝胶电泳后电转至硝酸纤维素膜上,封闭液封闭 3 h,4℃

孵育兔抗大鼠 TH 单克隆抗体(1:500)过夜,室温下分别孵育 HRP 标记的羊抗兔 II 抗(1:1 000)及 HRP 标记的羊抗小鼠 II 抗(1:1 000)1 h,X 线胶片曝光 1~10 min,显影、定影;为了证实每个泳道总蛋白量相等,用剥脱液洗膜后以小鼠抗大鼠 β-actin 单克隆抗体(1:500)孵育 4℃过夜,并以 HRP 标记的羊抗小鼠 II 抗(1:1 000)室温下孵育 1 h,X 线胶片曝光 1~10 min,显影、定影;用天能化学发光扫描仪对 PVDF 膜进行扫描;利用 Image J 软件分析条带吸光度,用 GraphPad 6.0 进行作图分析。

1.2.7 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件。计量资料数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,均数比较采用 *t* 检验、单因素方差分析(analysis of variance,AVONA),均数间的两两比较采用 L-S-D(least significant difference procedure,L-S-D)法;计数资料以百分数表示,采用 χ^2 检验;以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 小鼠造模情况

PD 模型对照组、PD 模型干预组小鼠每次注射 MPTP 后先有短暂兴奋[持续(7.61±2.17)min],表现为四处窜跳随即出现全身中重度震颤,皮毛及尾巴时有竖立,活动减少,持续(24.23±3.89)min 后震颤消失,随后出现活动减少,并于各时间点以爬杆实验、悬挂实验、游泳实验等行为学评分显示,制模后 15 d 开始正常对照组与 PD 模型对照组比较各评分均有明显差异(*P*<0.05),至 4 个月 2 组比较各评分仍有明显差异(*P*<0.05)。(表 1~3)

表 1 各组各时间点爬杆实验得分($\bar{x} \pm s$,分)

观测时间	爬杆实验得分		
	正常对照组 (<i>n</i> = 30)	PD 模型对照组 (<i>n</i> = 27)	PD 模型干预组 (<i>n</i> = 28)
15 d	7.28 ± 1.49	4.05 ± 1.20*	3.92 ± 1.32*▲
1 个月	8.09 ± 1.37	5.02 ± 1.28*	4.78 ± 1.19*▲
2 个月	6.86 ± 1.52	4.63 ± 1.24*	6.67 ± 1.28△#
3 个月	8.21 ± 1.25	5.15 ± 1.31*	7.40 ± 1.37△#
4 个月	8.34 ± 1.03	5.01 ± 1.15*	7.11 ± 1.46△#

注:与正常对照组比较,**P*<0.05;△*P*>0.05;与 PD 模型对照组比较,▲*P*>0.05,#*P*<0.05

2.2 各组小鼠黑质纹状体 TH 神经元 HE 染色情况见图 1。

2.3 各组小鼠黑质纹状体区 TH 免疫组化染色情况见图 2。

2.4 各组小鼠脑黑质纹状体 TH 蛋白含量见图 3。

表 2 各组各时间点悬挂实验得分($\bar{x} \pm s$, 分)

观测时间	悬挂实验得分		
	正常对照组 (n = 30)	PD 模型对照组 (n = 27)	PD 模型干预组 (n = 28)
15 d	2.92 ± 0.37	1.61 ± 0.72*	1.60 ± 0.81*▲
1 个月	2.88 ± 0.24	1.54 ± 0.66*	1.69 ± 0.85*▲
2 个月	2.90 ± 0.35	1.41 ± 0.63*	2.62 ± 0.29△#
3 个月	2.93 ± 0.28	1.52 ± 0.70*	2.68 ± 0.31△#
4 个月	2.87 ± 0.22	1.49 ± 0.55*	2.71 ± 0.32△#

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$;△ $P>0.05$;与 PD 模型对照组比较,▲ $P>0.05$,# $P<0.05$

表 3 各组各时间点游泳实验得分($\bar{x} \pm s$, 分)

观测时间	游泳实验得分		
	正常对照组 (n = 30)	PD 模型对照组 (n = 27)	PD 模型干预组 (n = 28)
15 d	28.29 ± 5.05	17.18 ± 7.28*	17.01 ± 7.31*▲
1 个月	28.12 ± 3.94	17.67 ± 7.79*	17.32 ± 7.53*▲
2 个月	28.88 ± 3.84	19.03 ± 8.12*	20.84 ± 5.62*▲
3 个月	28.52 ± 5.01	16.54 ± 6.23*	24.28 ± 4.16△#
4 个月	29.17 ± 1.72	16.89 ± 8.01*	24.77 ± 5.66△#

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$;△ $P>0.05$;与 PD 模型对照组比较,▲ $P>0.05$,# $P<0.05$

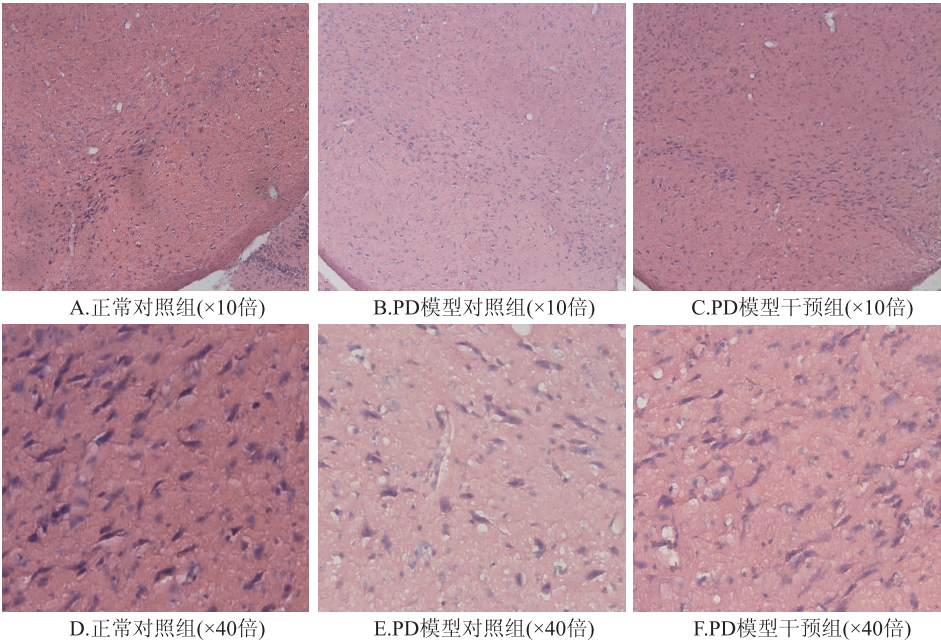


图 1 TH 神经元 HE 染色

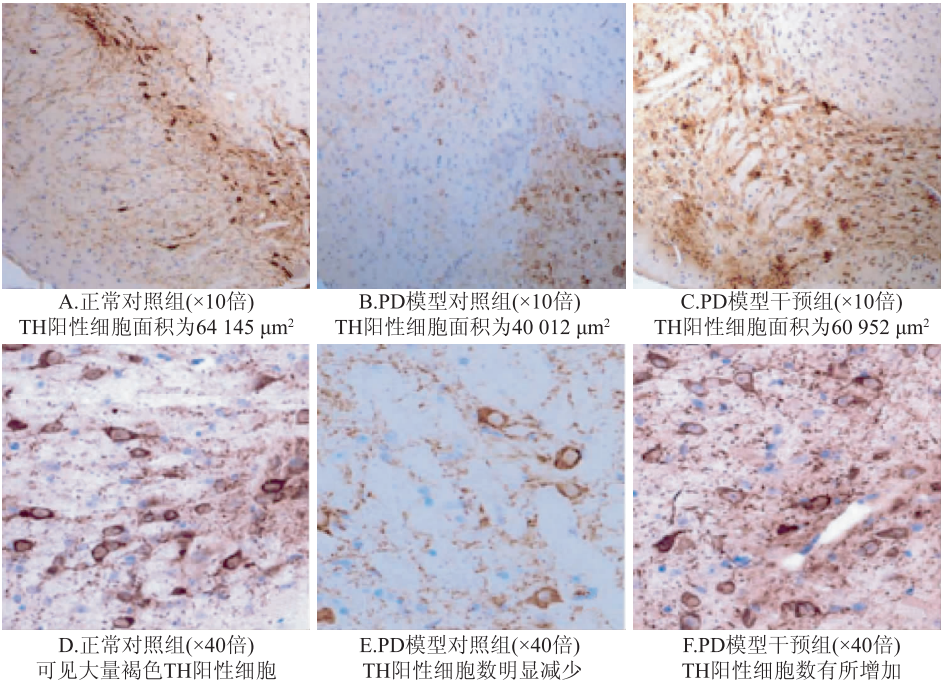
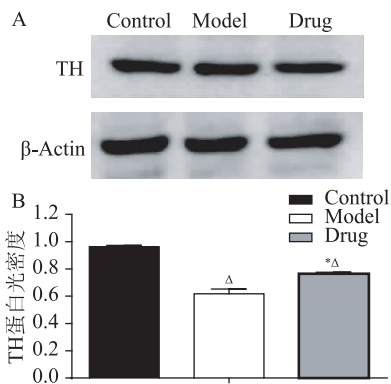


图 2 TH 免疫组织化学染色



注:Control 为正常对照组;Model 为模型对照组;Drug 为模型干预组;A 为各组小鼠 TH 蛋白含量变化;B 为各组小鼠 TH 蛋白光密度定量分析;与模型对照组比较,* $P<0.05$;与正常对照组比较, $\Delta P<0.001$

图3 Western blotting 检测 TH 蛋白表达量

3 讨论

帕金森病(PD)是一种以震颤、强直、运动减少为主要临床表现的中老年人常见的中枢神经系统变性疾病,随着 PD 的进展,轻者可丧失工作能力,重者生活不能自理,甚至出现抑郁、痴呆、完全丧失运动功能等。因此,PD 已成为我国乃至世界各国面临的重大医学和社会问题。

迄今为止,医学上还没有预防或治愈帕金森病的方法。左旋多巴作为治疗 PD 药物治疗的首选,在疾病早期可使患者的运动症状得到有效控制,遗憾的是左旋多巴的治疗并不能改变神经元变性的进展过程,并且长期使用可出现疗效减退及副作用等问题^[1-2],因此 PD 患者亟需更多更全面的治疗来有效阻断或延缓神经元的死亡。

PD 的主要病理改变是中脑黑质致密部多巴胺能神经元选择性变性丢失,目前关于神经元选择性退行性变的原因,主要的学说有氧化应激和线粒体功能障碍等。有学者发现,PD 患者脑黑质中固醇类过氧化物比正常人增加 10 倍^[3]。近年来随着对中医药研究的深入,中医药在 PD 中的治疗作用日益受到关注。本研究应用的抗帕颗粒由熟地、山萸肉、红参、生黄芪、丹参、水蛭、全蝎、僵蚕等 8 味中药组成,现代药理分析显示抗帕颗粒中熟地能调节谷氨酸/ γ -氨基丁酸系统递质与受体水平,维持中枢兴奋性与抑制性氨基酸功能的协调平衡,同时可降低脑线粒体单胺氧化酶活性,降低体内过氧化脂含量,具有一定的抗自由基作用^[4]。山萸肉能明显抑制二磷酸腺苷、花生四烯酸诱导的血小板聚集,同时可抑

制白介素-2 的产生和表达^[5]。红参中的人参皂甙有促进神经元轴突生长、清除自由基等作用,并可通过抑制氧化应激来对抗多巴胺所诱导的 PC-12 细胞凋亡^[6]。生黄芪能提高网状内皮系统的吞噬功能,增加抗体分泌细胞及 T、B 淋巴细胞,提高 NK 细胞活性,具有增强免疫的作用^[7]。丹参成分中的丹参酮类、丹参素、丹酚酸类化合物等具有很强的抗氧化、抑制炎症因子、抗氧自由基功能^[8-9]。水蛭有较强的抗凝与抗血栓作用,并可减少血小板源生长因子等重要炎症因子的产生,同时通过调节 Bax/Bcl-2 的表达起到抑制神经细胞凋亡的作用^[10]。僵蚕通过其所含的草酸胺具有催眠与抗惊厥作用,并可提高机体免疫力^[11]。全蝎可促进乙酰胆碱的释放,并通过调节血栓素 B2 和 6-酮-前列腺素 F1 α 的平衡,起到保护血管内皮、预防血栓的作用^[12]。从以上药理分析看到,抗帕颗粒具有抗氧化应激、抗自由基及提高免疫功能等作用,推测这种神经元保护作用很可能在 PD 治疗中起重要作用。

TH 为多巴胺(dopamine, DA)合成的限速酶,黑质纹状体其蛋白含量及活性降低是发病的主要原因,在黑质水平面上连续冰冻切片之后行 TH 神经元 HE、免疫组织化学染色,观察 TH 阳性神经元并计数,是评价 PD 病理改变的主要方法,被认为是 PD 的直接指示剂^[13-14]。本研究结果显示,PD 模型对照组黑质纹状体 TH 阳性神经元较正常对照组明显稀疏,数量明显减少;高倍镜下神经元胞体变小,胞质染色变浅,细胞数量减少,突起变短,说明制模有效成功。PD 模型干预组黑质纹状体 TH 阳性神经元较 PD 模型对照组显著增多,显示抗帕颗粒对 TH 阳性神经元损害有明显的改善作用;同时运用 Western blotting 检测显示,正常对照组 TH 蛋白的表达量与 PD 模型对照组比较有明显差异($P<0.001$),说明模型复制成功;PD 模型对照组 TH 蛋白的表达量与 PD 模型干预组比较也有明显差异($P<0.05$),提示抗帕颗粒干预可提高 PD 小鼠的黑质纹状体 TH 蛋白的阳性表达水平,对 PD 多巴胺神经元具有保护作用,而正常对照组 TH 蛋白的表达量与 PD 模型干预组比较也有明显差异($P<0.001$),显示抗帕颗粒干预 PD 虽有效,但仍不能显著改善至正常,分析可能与 PD 为神经系统退行性、变性疾病的特性有关,同时说明中药治疗的局限性,并提示在下一步的研究中需适当延长干预时间作进一步的研究。

(下转第 23 页)

(上接第 12 页)

综上所述,抗帕颗粒可使 PD 小鼠黑质纹状体中多巴胺能神经元一定程度地减少丢失,对多巴胺能神经元的数量、形态及功能具有一定的保护作用,阻断氧化应激反应可能是这种保护作用的关键机制,但还有待于扩大样本、延长干预时间作进一步跟踪研究,并有望在临床进一步推广应用。

参 考 文 献

[1] Colamartino M, Padua L, Meneghini C, et al. Protective effects of L-Dopa and carbidopa combined treatments on human catecholaminergic cells[J]. DNA Cell Biol, 2012, 31(11): 1572-1579.

[2] Quintana A, Sgambato-Faure V, Savasta M. Effects of L-DOPA and STN-HFS dyskinesia treatments on NR2B regulation in basal ganglia in the rat model of Parkinson's disease[J]. Neurobiol Dis, 2012, 48(3): 379-390.

[3] Sarrafchi A, Bahmani M, Shirzad HA. Oxidative stress and parkinson's disease: new hopes in treatment with herbal antioxidants[J]. Curr Pharm Des, 2016, 22(2): 238-246.

[4] 黄勇, 吴建军, 刘凯, 等. 熟地含药血清对骨髓间质干细胞向神经细胞分化的影响[J]. 中国老年学杂志, 2011, 31(20): 3979-3981.

[5] 李慧敏, 刘艳妮, 王小蕊, 等. 以 α -葡萄糖苷酶活性抑制率为指标优化山茱萸果肉的提取条件[J]. 植物资源与环境学报, 2013, 22(1): 112-114.

[6] 王晶, 余惠旻, 胡胜全, 等. 红参水提取物对 Ap25-35 诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡的保护作用[J]. 华西药理学杂志, 2008, 23(6): 627-630.

[7] 左军, 张文钊, 胡晓阳, 等. 黄芪现代药理及临床研究进展[J]. 中医药信息, 2014, 31(1): 111-112.

[8] 范慧霞. 中药丹参药理作用研究概况[J]. 新疆中医药, 2007, 25(5): 113-117.

[9] 齐艳艳, 史永照. 丹参对缺血性再灌注损伤的保护作用及机制研究进展[J]. 上海中医药大学学报, 2010, 24(2): 89-91.

[10] 李克明, 武继彪, 隋在云, 等. 水蛭微粉对脑缺血再灌注损伤大鼠 ICAM、VCAM、PDGF 的影响[J]. 中药新药与临床药理, 2009, 20(2): 136-137.

[11] 黄海英, 彭新君, 彭延古. 僵蚕的现代研究进展[J]. 湖南中医学院学报, 2003, 23(4): 62-64.

[12] 石雕, 吴萍, 黄莺, 等. 全蝎纯化液对大鼠静脉血栓形成 TXB₂、6-keto-PGF_{1 α} 的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2012, 10(6): 705-706.

[13] Li H, Park G, Bae N, et al. Anti-apoptotic effect of modified Chun-simyeolda-tang, a traditional Korean herbal formula, on MPTP-induced neuronal cell death in a Parkinson's disease mouse model[J]. Ethnopharmacol, 2015, Dec 24(176): 336-344.

[14] Naskar A, Prabhakar V, Singh R, et al. Melatonin enhances L-DOPA therapeutic effects, helps to reduce its dose, and protects dopaminergic neurons in 1-methyl-4-phenyl-1, 2, 3, 6-tetrahydropyridine-induced Parkinsonism in mice[J]. Pineal Res, 2015, 58(3): 262-274.

(2016-06-08 收稿)