

文章编号:1003-2754(2021)02-0128-04

doi:10.19845/j.cnki.zfysjbbz.2021.0030

# 姜黄素对帕金森模型大鼠损伤神经元的修复作用及相关机制研究

郭森<sup>1</sup>, 张硕<sup>2</sup>, 付慧霄<sup>2</sup>, 刘伟<sup>2</sup>, 李静<sup>2</sup>, 朱江<sup>2</sup>, 张弛<sup>2</sup>

**摘要:** 目的 探究姜黄素对帕金森模型大鼠损伤神经元的修复作用及相关机制。方法 选取 40 只 SD 健康雄性大鼠,10 只为正常组,其余 30 只建立帕金森模型,分为模型组、低、高剂量组,对 4 组大鼠进行分别干预。对各组大鼠学习记忆能力进行检测,去各组大鼠脑组织标本进行 HE 染色,统计神经元大小、数量,酶联免疫吸附实验法检测 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平。结果 与模型组、低剂量组比较,高剂量组大鼠神经元大小、数量较高( $P < 0.05$ )。与模型组、低剂量组比较,高剂量组大鼠各时间点逃避潜伏期较短,穿越平台次数较高( $P < 0.05$ )。与模型组、低剂量组比较,高剂量组大鼠 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平较低( $P < 0.05$ )。结论 使用姜黄素对帕金森模型大鼠进行干预,能够改善大鼠学习记忆能力,提升大鼠脑组织神经元大小、数量,发挥神经元损伤修复作用,其功能可能与减轻脑组织炎症反应,调控细胞凋亡蛋白表达有关。

**关键词:** 帕金森; 姜黄素; 神经元损伤; 炎症反应

**中图分类号:** R742.5 **文献标识码:** A

**Repair effect of curcumin on injured neurons in Parkinson's disease model rats and its related mechanism** GUO Sen, ZHANG Shuo, FU Huixiao, et al. (Chengde Medical University, Chengde 067000, China)

**Abstract:** **Objective** To explore the repair effect of curcumin on injured neurons in Parkinson's model rats and the related mechanisms. **Methods** Forty SD healthy male rats were selected, 10 were group, the remaining 30 were established Parkinson's model, divided into model group, low and high dose groups, and the four groups of rats were intervened separately. The learning and memory abilities of rats in each group were tested. HE staining was performed on brain tissue specimens of rats in each group. The size and number of neurons were counted. The levels of IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** Compared with model group and low dose group, the size and number of neurons in high dose group were higher ( $P < 0.05$ ). Compared with model group and low dose group, rats in high dose group had shorter escape latency and higher number of times crossing the platform at each time point ( $P < 0.05$ ). Compared with model group and low dose group, the levels of IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  were lower in high dose group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Intervention with curcumin in Parkinson's model rats can improve the learning and memory ability of rats, increase the size and number of neurons in rat brain tissue, and play a role in neuronal damage repair. Its function may be related to alleviating the inflammatory response in brain tissue, regulating the expression of apoptosis protein.

**Key words:** Parkinson; Curcumin; Neuronal injury; Inflammatory reaction

帕金森是一种临床较为常见的神经系统退行性疾病。主要临床表现为运动迟缓、四肢震颤等<sup>[1,2]</sup>。老年人群为帕金森症状的高发群体,近年来,我国帕金森发病率居高不下<sup>[3,4]</sup>。帕金森症状发病机制相对较为复杂,目前临床医学尚未将帕金森发病机制研究透彻,因此尚无一种特效的治疗帕金森的手段<sup>[5]</sup>。本文研究中设计动物实验,建立帕金森大鼠模型,使用姜黄素进行干预,观察效果。

## 1 材料与方法

1.1 材料 选取 40 只 SD 健康雄性大鼠,由

收稿日期:2020-10-09;修订日期:2020-11-30

基金项目:2020 年度河北省“三三三人才工程”资助项目(No. A202001022)

作者单位:(1.承德医学院人体解剖学教研室,河北承德 067000;2.承德医学院附属医院神经内科,河北承德 067000)

通讯作者:朱江, E-mail: zhujianghcd@126.com

华兰生物工程股份有限公司提供,年龄8~10月,平均 $(9.0 \pm 0.9)$  m;体重225~238 g,平均体重 $(231.8 \pm 5.2)$  g。在相对湿度50%~55%、温度 $(23.9 \pm 2.5)$  °C的环境中喂养1 w,光照12 h/d。主要试剂:兔抗小鼠IL-6、IL-1 $\beta$ 抗体(Invitrogen公司);小鼠抗大鼠TNF- $\alpha$ 抗体(Hyclone公司)。

## 1.2 方法

1.2.1 建模及分组 随机选取10只大鼠为正常组,不做处理。其余30只建立帕金森模型:将鱼藤酮在葵花油乳油中溶解,浓度2 mg/ml,之后对大鼠进行颈背部皮下注射,剂量2 mg/(kg·d),1次/d,连续注射28 d。对大鼠行为学进行观察检测,大鼠肢体僵直、震颤、步态不稳、行动迟缓可视为建模成功。共建模成功28只,将28只帕金森模型大鼠随机分为模型组10只以及低、高剂量组各9只。正常组、模型组大鼠使用生理盐水进行灌胃处理,低、高剂量组大鼠分别使用20 mg/kg、60 mg/kg姜黄素提取物溶液进行灌胃处理,1次/d,连续干预14 d。

1.2.2 学习记忆能力检测 准备高50 cm、直径150 cm圆形水池,并分别标记4个点位,注入半池水,水温27 °C。准备高30 cm、直径10 cm平台置于水池中央。分别于已标记4个点位处将大鼠置入水中,统计各组大鼠自入水点游至预置平台时间,将120 s内未游至平台的大鼠引至平台,潜伏期记为120 s。大鼠在平台上停留30 s之后,将其置于其他不同入水点重新测试。所有大鼠均连续测试4 d,第5天撤除平台,将大鼠自入水点放入水中,记录60 s内大鼠穿越平台位置次数。

1.2.3 标本制备、HE染色 取各组大鼠尾部静脉血1 ml,2000 r/min离心处理15 min后分离上清液,在-80 °C环境中保存待检。对各组大鼠进行麻醉处理后,颈椎脱臼法处死,取大鼠脑组织,固定在4%甲醛中,完全浸泡,于24 h后行常规石蜡包埋及连续切片。首先将切片烤干后进行脱蜡处理,之后顺序置入不同浓度的酒精中各复水3 min。使用苏木精染色15 min后清洗3次,使用盐酸酒精分化处理30 s,充分清洗之后使用1%伊红染色,使用酒精进行脱水处理后进行脱蜡处理,封片后使用显微镜进行观察,并对神经元大小、数量进行统计。

1.2.4 酶联免疫吸附实验法检测IL-6、IL-1 $\beta$ 、

TNF- $\alpha$ 水平 设置10个标准孔,设置1个空半孔及若干待测样品,在10  $\mu$ l待测样品中加入40  $\mu$ l样本稀释液,封板膜封板,置于37 °C水浴箱温育30 min,清洗反应板5次,每次间隔30 s,拍干,在除空白孔以外的各孔中加入酶标液50  $\mu$ l,封膜温育30 min,清洗反应板5次,每次间隔30 s,拍干,在各孔中加入显色A液、B液各50  $\mu$ l,轻轻震荡混匀,37 °C避光环境下显色15 min,在反应孔内加入终止液50  $\mu$ l/孔以终止反应,450 nm波长测量每孔吸光度,检测IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平。

1.3 统计学分析 使用SPSS 21.0软件,计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组对比行 $F$ 值检验,组间对比行独立样本 $t$ 检验, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠脑组织病理学观察 与正常组比较,模型组大鼠脑组织细胞出现较为严重的肿胀、破裂状况,细胞排列不规则;低剂量组、高剂量组大鼠脑组织细胞肿胀、破裂状况出现缓解,且高剂量组大鼠脑组织细胞排列较规则,细胞肿胀、破裂状况情况相对较轻(见图1)。

2.2 各组大鼠神经元大小、数量比较 与正常组比较,模型组、低剂量组、高剂量组大鼠神经元大小、数量较低,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型组比较,低剂量组、高剂量组大鼠神经元大小、数量较高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );与低剂量组比较,高剂量组大鼠神经元大小、数量较高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(见表1)。

2.3 各组大鼠学习记忆能力比较 与正常组比较,模型组、低剂量组、高剂量组大鼠各时间点逃避潜伏期较长,穿越平台次数较低,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型组、低剂量组比较,高剂量组大鼠各时间点逃避潜伏期较短,穿越平台次数较高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(见表2)。

2.4 各组大鼠IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平比较 与正常组比较,模型组、低剂量组、高剂量组大鼠IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平较高,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型组、低剂量组比较,高剂量组大鼠IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平较低,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(见表3)。

表 1 各组大鼠神经元大小、数量比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数( <i>n</i> )	大小( $\mu\text{m}^2$ )		数量(个/HP)	
		右侧	左侧	右侧	左侧
正常组	10	367.52 ± 32.16	523.16 ± 39.62	72569.34 ± 3164.59	32587.60 ± 2431.07
模型组	10	225.37 ± 24.62 <sup>a</sup>	315.67 ± 25.16 <sup>a</sup>	33564.25 ± 2534.66 <sup>a</sup>	18553.27 ± 2054.33 <sup>a</sup>
低剂量组	9	283.15 ± 26.34 <sup>ab</sup>	457.32 ± 35.11 <sup>ab</sup>	53227.63 ± 2677.21 <sup>ab</sup>	23564.28 ± 2153.46 <sup>ab</sup>
高剂量组	9	321.55 ± 28.67 <sup>abc</sup>	385.79 ± 30.27 <sup>abc</sup>	64537.88 ± 2987.52 <sup>abc</sup>	28647.19 ± 2316.59 <sup>abc</sup>

与正常组相比  $aP < 0.05$ ; 与模型组相比  $bP < 0.05$ ; 与低剂量组相比  $cP < 0.05$

表 2 各组大鼠学习记忆能力比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数( <i>n</i> )	逃避潜伏期(s)				穿越平台次数(次)
		第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	
正常组	10	35.67 ± 2.85	29.76 ± 2.63	24.79 ± 2.51	19.57 ± 2.16	1.89 ± 0.29
模型组	10	53.28 ± 5.16 <sup>a</sup>	47.21 ± 4.59 <sup>a</sup>	42.13 ± 4.12 <sup>a</sup>	37.65 ± 3.85 <sup>a</sup>	0.89 ± 0.12 <sup>a</sup>
低剂量组	9	44.72 ± 4.60 <sup>ab</sup>	38.69 ± 4.25 <sup>ab</sup>	33.16 ± 3.79 <sup>ab</sup>	29.85 ± 3.52 <sup>ab</sup>	1.23 ± 0.18 <sup>ab</sup>
高剂量组	9	39.64 ± 4.25 <sup>abc</sup>	34.67 ± 3.78 <sup>abc</sup>	28.15 ± 3.29 <sup>abc</sup>	24.15 ± 2.97 <sup>abc</sup>	1.61 ± 0.25 <sup>abc</sup>

与正常组相比  $aP < 0.05$ ; 与模型组相比  $bP < 0.05$ ; 与低剂量组相比  $cP < 0.05$

表 3 各组大鼠 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	只数( <i>n</i> )	IL-6 (pg/ml)	IL-1 $\beta$ (pg/ml)	TNF- $\alpha$ (ng/L)
正常组	10	4.59 ± 0.97	5.67 ± 1.13	5.22 ± 1.06
模型组	10	24.63 ± 3.15 <sup>a</sup>	26.85 ± 3.22 <sup>a</sup>	21.37 ± 2.87 <sup>a</sup>
低剂量组	9	17.65 ± 2.53 <sup>ab</sup>	18.09 ± 2.61 <sup>ab</sup>	15.26 ± 2.34 <sup>ab</sup>
高剂量组	9	10.27 ± 1.87 <sup>abc</sup>	12.75 ± 1.95 <sup>abc</sup>	10.35 ± 2.03 <sup>abc</sup>

与正常组相比  $aP < 0.05$ ; 与模型组相比  $bP < 0.05$ ; 与低剂量组相比  $cP < 0.05$

### 3 讨论

作为一种常见的神经内科疾病,帕金森发病后主要临床表现为静止性震颤、步态、姿势障碍、运动障碍等<sup>[6,7]</sup>。目前临床医学尚未将帕金森的发病机制研究透彻,年龄因素、环境因素、家庭遗传因素、氧化应激反应等均可能参与帕金森的发生发展<sup>[8,9]</sup>。药物治疗是临床常用的治疗帕金森的手段,有研究表明,抗精神疾病药物多具有一定的药物毒性,可能会对患者肝肾功能造成一定的损伤,治疗安全性并不理想,因此越来越多的专家学者致力于中医药治疗帕金森的研究<sup>[10,11]</sup>。作为一种由天南星科、姜科植物中提取出的多酚化合物,姜黄素具有消炎、降血脂、抗氧化、抗肿瘤、神经保护等药理作用<sup>[12,13]</sup>,但是关于将姜黄素应用于帕金森临床治疗的研究还相对较少。

帕金森症状的发生发展对机体认知功能、神经功能造成严重的影响。许多学者通过设计水迷宫动物实验对动物模型学习记忆能力进行检测。余恒<sup>[14]</sup>等在研究中建立帕金森大鼠模型,并设计水迷宫实验对学习记忆能力进行检测,得出有效的干预能够改善帕金森大鼠学习记忆能力,发挥神经功能保护作用的结论。本研究中设计水迷宫实验,结果显示,帕金森大鼠逃避潜伏期较长,穿越平台次数少,说明帕金森症状的发生发展会对大鼠神经功能造成较大损伤,严重影响学习记忆能力。使用高剂量姜黄素进行干预的帕金森大鼠逃避潜伏期明显缩短,穿越平台次数增加,说明使用高剂量姜黄素进行干预能够减轻帕金森大鼠神经损伤程度,使大鼠学习记忆能力提升,具有一定的神经保护作用。本文

研究中还对帕金森大鼠脑组织神经元大小、数量进行检测,结果显示,使用高剂量姜黄素进行干预的帕金森大鼠脑组织神经元大小、数量均明显上升,说明姜黄素能够改善帕金森大鼠神经元大小、数量,具有一定的神经保护作用。

帕金森症状的发生发展与机体脑组织炎症反应密切相关<sup>[15-17]</sup>。IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  均为 TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路的下游因子,TLR4/NF- $\kappa$ B 信号通路在机体炎症反应发生发展过程中发挥重要作用,因此 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  在机体炎症反应过程中发挥重要作用。本文研究结果显示,使用高剂量姜黄素对帕金森模型大鼠进行干预,大鼠 IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平出现明显下降,说明使用高剂量姜黄素进行干预,能够减轻帕金森脑组织炎症反应,从而减轻神经损伤严重程度,发挥神经保护作用。

综上所述,使用姜黄素对帕金森模型大鼠进行干预,能够改善大鼠学习记忆能力,提升大鼠脑组织神经元大小、数量,发挥神经元损伤修复作用,其功能可能与减轻脑组织炎症反应,调控细胞自噬、细胞凋亡蛋白表达有关,为帕金森的临床治疗提供一定的理论依据。

[参考文献]

[1] 冯英慧,谷 伟. 丁苯酞对帕金森病免疫调节作用的研究[J]. 国际老年医学杂志,2020,41(5):276-279.  
 [2] Dawson VL, Dawson TM. Promising disease-modifying therapies for Parkinson's disease[J]. Sci Transl Med,2019,11(520):1659.  
 [3] 冷方达,王雅薇,刘 芳,等. 帕金森病患者吞咽功能障碍的发病机制及康复治疗进展[J]. 医学综述,2020,26(17):3451-3455.  
 [4] 顾 晔,徐 嵩,郭亦华. 老年帕金森病人抗氧化功能、表皮生长因子水平及临床意义[J]. 实用老年医学,2020,34(8):838-839.

[5] 黄笑尘,杨 煜,王保华,等. 帕金森疾病与 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路及氧化应激作用的研究进展[J]. 中国实验诊断学,2020,24(8):1373-1376.  
 [6] Armstrong MJ, Okun MS. Diagnosis and treatment of Parkinson disease: A review[J]. JAMA,2020,323(6):548-560.  
 [7] 冯丽荣,张英菊,王为民,等. 帕金森病患者非运动症状的主要表现及其治疗的研究进展[J]. 实用心脑血管病杂志,2020,28(8):131-135.  
 [8] 蒋 颖,梁健芬,张兴博,等. 丁苯酞软胶囊对早期老年性帕金森病的疗效观察[J]. 河北医学,2020,26(7):1182-1186.  
 [9] Goh SY, Chao YX, Dheen ST, et al. Role of microRNAs in Parkinson's disease[J]. Int J Mol Sci,2019,20(22):5649.  
 [10] 张诗敏,胡玉英,韦晓芸,等. 中医药治疗帕金森病的研究进展[J]. 广西医学,2020,42(10):1303-1305.  
 [11] 魏运兰,张明菊,王 凤. 银杏叶提取物通过 TH 能神经元保护作用缓解帕金森小鼠大脑氧化应激实验研究[J]. 世界中西医结合杂志,2020,15(8):1445-1451.  
 [12] 吕慧君,王运良,白宏英,等. 姜黄素灌胃对帕金森病大鼠中脑黑质氧化应激损伤的影响及其机制探讨[J]. 山东医药,2018,58(11):40-42.  
 [13] 吴 忱,梁顺利,徐 彬,等. 姜黄素保护帕金森多巴胺能神经元的机制研究[J]. 浙江大学学报(医学版),2018,47(5):480-486.  
 [14] 余 恒,宋光捷. 脑纹状体内植入 CREB 基因修饰的 BMSCs 对帕金森大鼠学习记忆能力影响的实验研究[J]. 中国免疫学杂志,2020,36(10):1180-1184.  
 [15] 易 震,陈晓萍,华 蔚,等. 帕金森病患者血同型半胱氨酸水平与认知功能、神经损伤、炎症反应的相关性研究[J]. 临床和实验医学杂志,2019,18(24):2629-2632.  
 [16] 庄文欣,陈 超,马一闻,等. 香橼子多醣通过抑制 p38MAPK 信号通路减轻帕金森病大鼠的神经炎症反应[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2019,35(9):794-799.  
 [17] 余慧芬,陈 霖,唐 李,等. 自噬在帕金森病发病机制中的研究进展[J]. 毒理学杂志,2019,33(6):489-491.

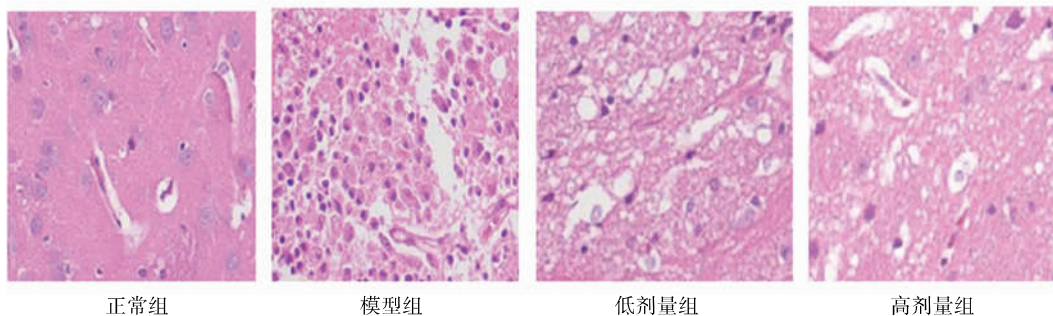


图1 各组大鼠脑组织病理学观察(HE,  $\times$ 400)