

何竹青,王利,王滢迪,等. 复方地黄颗粒对帕金森病阴虚动风证小鼠血清环核苷酸的调节及多巴胺能神经元的修复作用[J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(3): 309-315.

He ZQ, Wang L, Wang YD, et al. Regulation of serum cyclic nucleotides and repair of dopaminergic neurons in mice with Yin deficiency and moving wind syndrome of Parkinson's disease by compound Dihuang Granule [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2022, 30(3): 309-315.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2022.03.002

复方地黄颗粒对帕金森病阴虚动风证小鼠血清环核苷酸的调节及多巴胺能神经元的修复作用

何竹青,王利,王滢迪,郇鹏飞,杨玉芳*,何建成*

(上海中医药大学,上海 201203)

【摘要】 目的 探讨复方地黄颗粒对帕金森病(Parkinson's disease, PD)阴虚动风证小鼠血清环核苷酸(cAMP、cGMP)的调节及多巴胺神经元的修复作用。方法 将24只雄性C57BL/6小鼠随机分为正常组(Normal)、模型组(MPTP+NS)、治疗组(MPTP+CDG),每组8只。正常组小鼠注射生理盐水,模型组腹腔注射1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)构建PD动物模型,两组均每日1次,连续注射5d。治疗组造模后给予复方地黄颗粒(Compound Dihuang Granule, CDG)灌胃治疗,每日1次,连续给药7d。本研究从PD小鼠病因、症状、客观指标检测、以方测证等方面验证该模型的中医证候属性,并探讨CDG对PD阴虚动风证小鼠血清中环核苷酸及酪氨酸羟化酶表达影响。结果 模型组小鼠行为学、舌色度值比率、血清环核苷酸含量、酪氨酸羟化酶含量与正常组差异显著($P < 0.05$)。给予CDG治疗后能显著改善小鼠的行为学及相关客观指标($P < 0.05$)。结论 给予MPTP腹腔注射制备的帕金森病阴虚动风证小鼠模型稳定、可靠,CDG能调节血清中环核苷酸含量,有效修复损伤的多巴胺能神经元。

【关键词】 阴虚动风证;帕金森病;病证结合;复方地黄颗粒;模型制备

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2022)03-0309-07

Regulation of serum cyclic nucleotides and repair of dopaminergic neurons in mice with Yin deficiency and moving wind syndrome of Parkinson's disease by compound Dihuang Granule

HE Zhuqing, WANG Li, WANG Yingdi, HUAN Pengfei, YANG Yufang*, HE Jiancheng*

(Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China)

Corresponding author: YANG Yufang. E-mail: yyfapple@icloud.com; HE Jiancheng. E-mail: hejc8163@163.com

【Abstract】 Objective To investigate regulation of serum cyclic nucleotides (cAMP and cGMP) and the repair of dopamine neurons in mice with Yin deficiency and moving wind syndrome of Parkinson's disease (PD) by Compound Dihuang Granule. **Methods** Overall, 24 male C57BL/6 mice were randomly divided into normal (Normal), model (MPTP + NS), and treatment (MPTP + CDG) groups with eight mice in each group. The normal group was injected with

【基金项目】国家自然科学基金(81573899),国家自然科学基金青年项目(82104640),上海市生物医药科技支撑专项项目(20S21901700),上海市健康辨识与评估重点实验室项目(21DZ2271000),上海市青年科技英才扬帆计划(19YF1448500)。

Funded by the National Natural Science Foundation of China (81573899), Youth Project of National Natural Science Foundation of China (82104640), Shanghai Biomedical Science Technology Support Project (20S21901700), Shanghai Key Laboratory of Health Identification and Assessment (21DZ2271000), Shanghai Sailing Program (19YF1448500).

【作者简介】何竹青(1993—),女,博士,研究方向:中医证候、心脑血管方面研究。Email:Zhuqing_He@outlook.com

【通信作者】杨玉芳(1991—),女,博士,助理研究员,研究方向:中医药防治神经退行性疾病的机制。Email:yyfapple@icloud.com;

何建成(1966—),男,博士,教授,研究方向:中医诊断、心脑血管方面研究。Email:hejc8163@163.com。

* 共同通信作者

normal saline and the model group was intraperitoneally injected with 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) to establish the PD animal model. Both groups were injected once a day for 5 consecutive days. The treatment group was administered Compound Dihuang Granule (CDG) by gavage once a day for 7 days. The TCM syndrome attribute of the model was verified by etiology, symptoms, the objective index, and formula test in PD mice and the effect of CDG on expression of cyclic nucleotides and tyrosine hydroxylase in the serum of PD mice with Yin deficiency and moving wind syndrome was assessed. **Results** Significant differences in behavior, the tongue chroma value ratio, serum cyclic nucleotide content, and tyrosine hydroxylase content were found between model and normal control groups ($P < 0.05$). CDG treatment significantly improved the behavior and related objective indexes of mice ($P < 0.05$). **Conclusions** The mouse model of Yin deficiency and moving wind syndrome of Parkinson's disease prepared by intraperitoneal injection of MPTP is stable and reliable. CDG regulates the content of cyclic nucleotides in serum and effectively repairs damaged dopaminergic neurons.

【Keywords】 Yin deficiency moving wind syndrome; Parkinson's disease; combination of disease and syndrome; Compound Dihuang Granules; model preparation

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是第二大神经退行性疾病,属于中医“颤证”的范畴^[1-2]。根据本课题组前期研究发现,阴虚动风证是临床最常见的证型^[3-4]。PD 根本病机为脏腑失调,以肝肾阴虚为主,“瘀”“痰”“毒”互结为要,为虚实夹杂之疾。复方地黄颗粒便是基于以上理论研制并经临床反复验证,是治疗阴虚动风证帕金森病取得良好效果的中药复方。动物实验发现本方通过多途径、多靶点、多环节发挥作用,其机制具体体现在抗氧化应激^[5],抗细胞凋亡^[6],提高自噬水平^[7]等方面。本研究将从对血清环核苷酸的调节及损伤的多巴胺能神经元修复作用两方面,进一步探讨 CDG 发挥作用的机制。

动物模型的选择对探索 PD 的发病机制及治疗至关重要。病证结合动物模型,具有中医学特色,能够体现“病”与“证”的双重特性,对探索疾病的发展规律,探究方药作用具有重要的价值。课题组运用 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine, MPTP)腹腔注射制备 PD 阴虚动风证小鼠模型,本研究通过小鼠病因、症状、客观指标变化、以方测证方面进一步对模型进行评价,在此基础上探讨 CDG 的作用机制,为其临床应用提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

24 只 SPF 级 C57BL/6 雄性健康小鼠,7 ~ 8 周龄,体重 20 ~ 22 g,购自上海斯莱克实验动物有限公司【SCXK(沪)2017-0005】,实验动物饲养及观察

于上海中医药大学实验动物中心进行【SYXK(沪)2020-0009】。小鼠适应性喂养 1 周,自由进食、饮水。饲养环境:室温(23 ± 2) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度(55 ± 10)%,光照、黑夜 12 h 循环。本实验动物饲养及操作皆符合上海中医药大学实验动物伦理委员会的相关审批(PZSHUTCM200717037)。

1.1.2 主要试剂与仪器

1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(Sigma, M0896-100MG);cAMP、cGMP 试剂盒(上海威奥生物科技有限公司,EM3362S/EM3363S);TH(Sigma, sc-25269 AC);Beta Actin(Proteintech, 20536-1-AP)。

病理切片机(上海徠卡仪器有限公司,型号 RM2016);体视显微镜(中国麦克奥迪公司,型号 MoticSMZ-171);多功能酶标仪(美国 BioTek, Synergy 2);近红外双色荧光成像系统(美国 LI-COR 公司,OdysseyCLx)。

1.2 方法

1.2.1 分组及造模方法

24 只 C57BL/6 小鼠适应性喂养 1 周后,采用随机数字表将 24 只小鼠,随机分成正常组(Normal)、模型组(MPTP+NS)、治疗组(MPTP+CDG)。16 只小鼠采用 MPTP 腹腔注射法制备阴虚动风证 PD 模型,MPTP 溶于无菌生理盐水中,按 30 mg/kg 剂量腹腔注射,每日 1 次,连续 5 d;设正常组 8 只,腹腔注射相同体积的生理盐水。

造模成功标准:在帕金森病造模成功的基础上兼有阴虚症状^[8-10]:(1)病理上出现多巴胺神经元的丢失;(2)小鼠出现运动迟缓、震颤、僵直等神经行为学症状;(3)小鼠出现毛发干枯,舌象红,小便量少色黄,大便干燥等症。

1.2.2 复方地黄颗粒制备及给药

复方地黄颗粒 (Compound Dihuang Granule, CDG), 由熟地黄, 白芍, 钩藤, 珍珠母, 丹参, 石菖蒲, 全蝎组成, 由国家中药工程技术研究中心制备。

小鼠每日用量: 参考《定量药理学》(孙瑞元. 《定量药理学》北京: 人民卫生出版社, 1987: 247) 计算。小鼠每日用量 = 标准体重成人每日用量 \times 1/388。

治疗组小鼠造模后按 10 g/kg 剂量给予复方地黄颗粒灌胃, 其它小鼠给予同等剂量的生理盐水灌胃, 每日 1 次, 给药 1 周。

1.2.3 行为学检测

旷场实验(open field test): 旷场实验在 30 cm \times 30 cm 的旷场中进行。实验前小鼠先适应环境 1 h, 开始时将小鼠放于旷场中心, 摄像头记录小鼠运动情况 5 min。实验后得到实时录像, 分析其距离中心点的运动距离及中心区域的停留时间。

爬杆实验(pole test): 将小鼠头朝上置于杆上, 训练小鼠学会掉头以及爬完全杆路程, 每只小鼠训练 3 次, 每次间隔 1 h。记录各组小鼠治疗后掉头时间以及爬完全程所用时间, 每只小鼠测试 3 次, 取平均值为最终结果。

各组小鼠造模前连续 3 d 进行行为学训练, 治疗结束后对其进行行为学检测。

1.2.4 微舌象采集

运用 MoticSMZ-171 体视显微镜, Motic Images Plus 3.0 (\times 64) 软件, 治疗结束后, 在同一光源下进行小鼠舌苔的拍摄。将所拍摄照片输入电脑, 采用 Adobe Photoshop. 2020. 图像软件。图像舌面从舌尖到舌根均等分为 5 等份, 取中间 1/5 的面积作为舌象的量化分析域^[11], 读取 R1、G1、B1^[12] (分别代表红、蓝、绿三种基本颜色) 数值, 分别进行红色度 R 的计算: $R = R1 / (R1 + G1 + B1)$ 、绿色度 G 计算: $G = G1 / (R1 + G1 + B1)$ 和蓝色度 B 的计算: $B = B1 / (R1 + G1 + B1)$ 。

1.2.5 环核苷酸含量检测

各组小鼠取血, 静置 2 h 后, -4°C 状态下离心 (3000 rpm, 10 min), 取上清液 -80°C 冰箱保存待测。ELISA 法检测各组小鼠中环核苷酸, 环磷酸腺苷 (cyclic adenosine monophosphate, cAMP)、环磷酸鸟苷 (cyclic guanosine monophosphate, cGMP) 含量, 并计算 cAMP/cGMP 值。

1.2.6 多巴胺能神经元损伤评估

小鼠纹状体装离心管放液氮中, -80°C 冰箱保存, Western Blot 法检测小鼠纹状体中酪氨酸化酶 (TH) 蛋白表达水平。灌流后取小鼠全脑, 放入 4% 多聚甲醛固定, 分别经 20% 蔗糖、30% 蔗糖脱水后冰冻切片机制片, 取小鼠黑质层面进行免疫组化 (immunohistochemistry, IHC) 法检测阳性 TH⁺ 多巴胺能神经元细胞。

1.3 统计学分析

运用 GraphPad Prism 8 软件统计, 实验数据以平均值 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。多组数据采用单因素方差分析 (One-way analysis of variance, One-way ANOVA), 或双因素方差分析 (Two-way analysis of variance, Two-way ANOVA), $P < 0.05$ 为具有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠行为学检测

小鼠的运动轨迹显示, 与正常组相比, 模型组小鼠运动距离减少, 中心区域停留时间增加, 经治疗后, 运动、探索能力得到改善, 差异具有显著性 ($P < 0.001$)。模型组小鼠的反应力较正常组减弱, 运动迟缓, 具体表现在转头时间、爬杆时间明显增加, 经过治疗后运动能力改善 ($P < 0.001$) (见图 1)。

2.2 小鼠微舌象及舌色度值分析

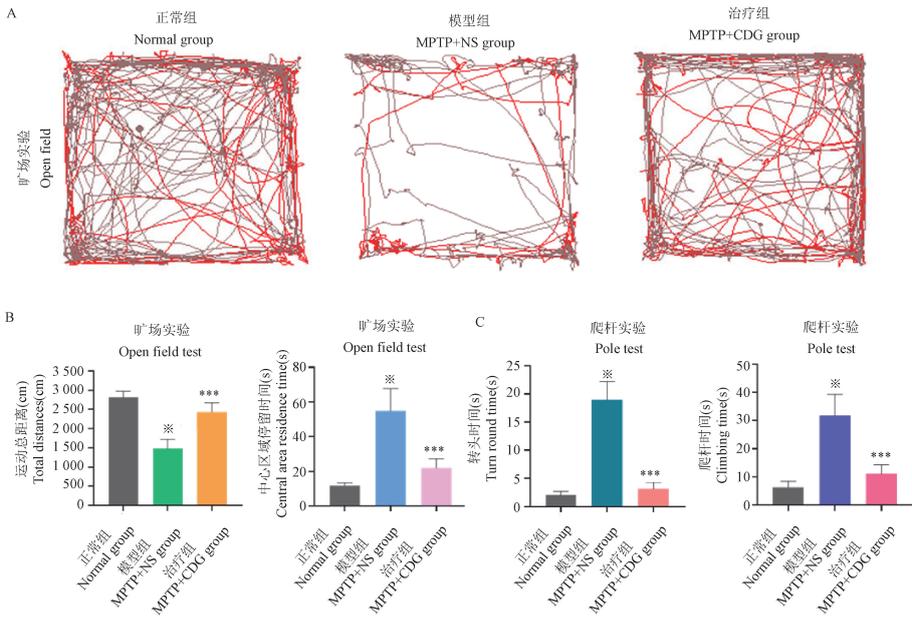
经舌色度值分析发现, 与正常组小鼠相比, 模型组小鼠舌色红色度值比例明显升高, 绿色度值比值 G、蓝色度比值 B 明显低于正常组小鼠 ($P < 0.01$)。与模型组相比, 治疗组小鼠舌色红色度值比例明显降低, 绿色度值比值 G、蓝色度比值 B 升高 ($P < 0.01$) (见图 2)。

2.3 环核苷酸 (cAMP、cGMP) 表达

与正常组相比, 模型组小鼠血清中 cAMP 明显升高 ($P < 0.001$), 而 cGMP 显著下降 ($P < 0.001$), 且模型组 cAMP/cGMP 比值明显高于正常组 ($P < 0.001$)。经过治疗后, cAMP 下降, cGMP 升高, 其比值较模型组明显降低 ($P < 0.05$) (见图 3)。

2.4 多巴胺能神经元损伤评估

IHC 显示, 与正常组相比, 模型组小鼠黑质致密部 TH⁺ 阳性多巴胺神经元细胞数量减少 ($P < 0.001$), 经治疗后, 其含量显著增加 ($P < 0.01, n = 3$)。模型组小鼠纹状体内 TH 蛋白表达明显低于正常组, 治疗后含量增加 ($P < 0.01, n = 3$) (见图 4)。

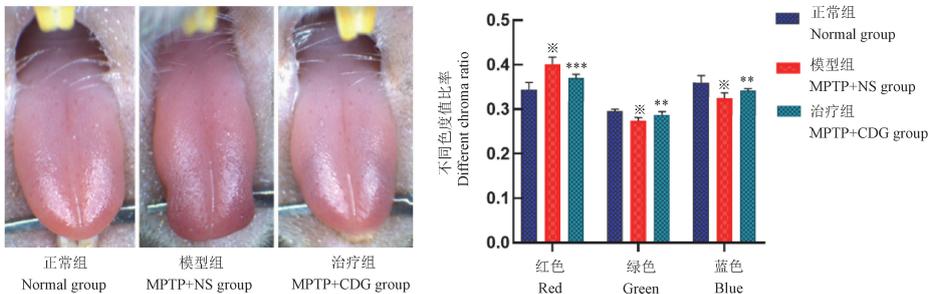


注:A: 小鼠运动轨迹;B: 旷场实验;C: 爬杆实验;与正常组相比,*** $P < 0.001$;与模型组相比,*** $P < 0.001$ 。(下同)

图 1 各组小鼠行为学检测

Note. A. Trajectory map of mice. B. Open field test. C. Pole test. Compared with the normal group, *** $P < 0.001$. Compared with the model group, *** $P < 0.001$. (The same in the following figures)

Figure 1 Behavioral test of mice in each group

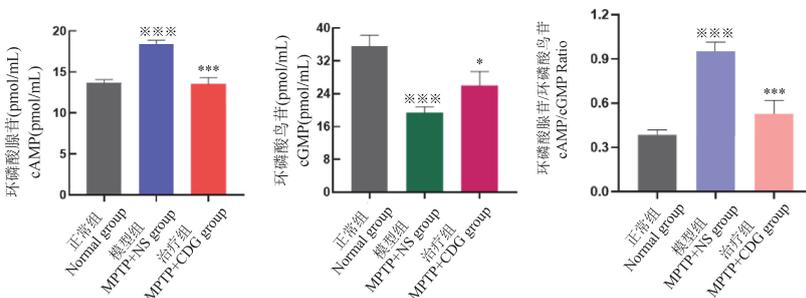


注:与模型组相比,** $P < 0.01$ 。(下同)

图 2 小鼠微舌象及舌色度值分析结果

Note. Compared with the model group, ** $P < 0.01$. (The same in the following figures)

Figure 2 Analysis of microscopic tongue image and chromaticity value of tongue color in mice

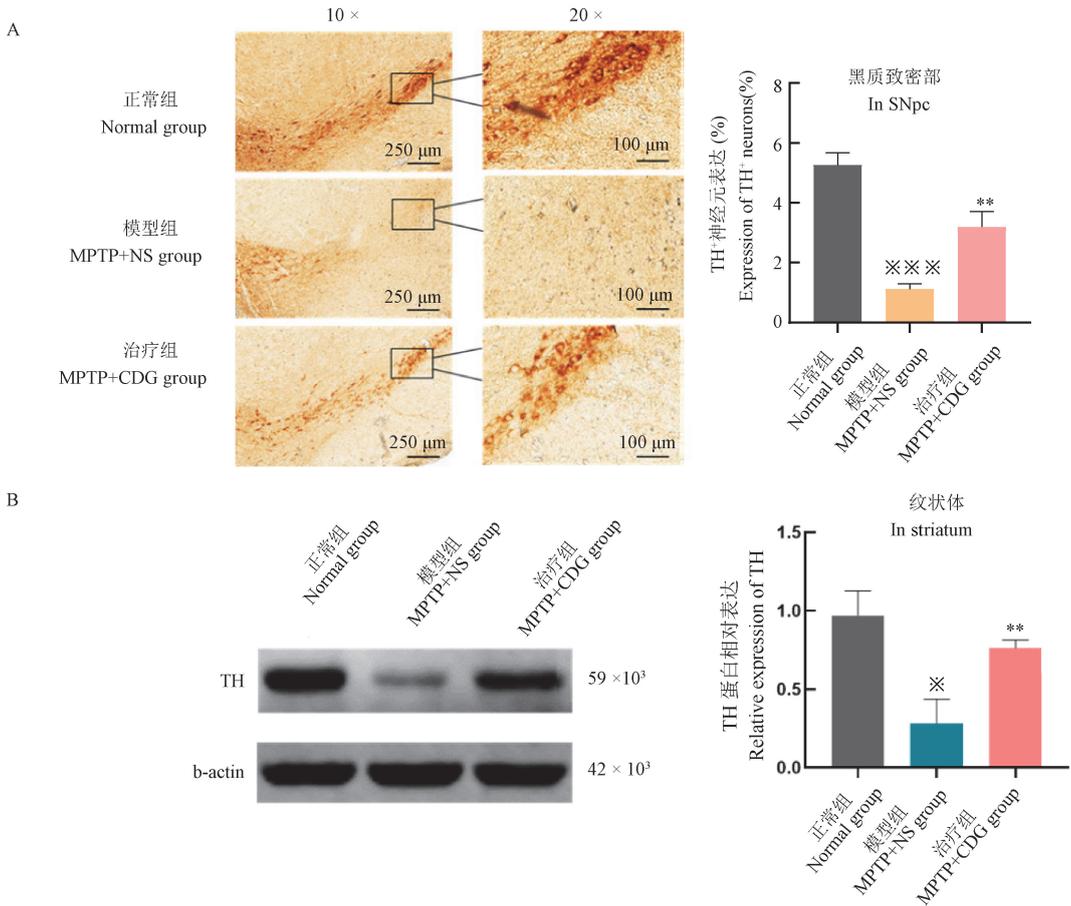


注:与模型组相比,* $P < 0.05$ 。(下同)

图 3 环核苷酸表达及比值

Note. Compared with the model group, * $P < 0.05$. (The same in the following figures)

Figure 3 cAMP, cGMP expression and ratio



注:A: 酪氨酸羟化酶在黑质致密部表达;B: 酪氨酸羟化酶在纹状体内表达;与正常组相比, * $P < 0.05$ 。

图 4 酪氨酸羟化酶表达

Note. A. Expression of TH in SNpc. B. Expression of TH in striatum. Compared with the normal group, * $P < 0.05$.

Figure 4 Expression of TH

3 讨论

PD 是第二大神经退行性疾病,病因多样,发病机制复杂^[13],中医将其归属于“颤证”范畴。西药短期内对改善 PD 症状有效,但长期使用副作用较多,不能缓解患者病情,严重影响了其临床运用的顺从性。中医治疗 PD 强调辨证论治,早期中医药的干预可扼发病之势^[14],中晚期协同西药增效减毒,避免、缓解并发症^[15-16]。何建成教授认为,“虚”“瘀”“痰”“毒”贯穿 PD 发病总过程,肝肾阴虚,脏腑功能失调为本,肝风、痰浊、瘀热、毒聚络损为实^[17]。何建成教授研制的复方地黄颗粒(CDG)具有补肾养肝,息风止颤,化痰活血,通络解毒之功。临床运用 CDG 能改善 PD 患者症状,联合西药美多芭“增效减毒”,对 PD 患者有一定的神经保护作用^[18]。

病证结合动物模型是现阶段中医药基础研究

的重要载体^[19]。神经毒素 MPTP 制备 PD 小鼠动物模型是目前研究者常用的建模方法^[20]。MPTP 能通过血脑屏障,生成代谢产物 MPP⁺,抑制线粒体呼吸链复合体 I 的活性,导致氧化应激和 ATP 生成的减少,造成多巴胺能神经元死亡^[21]。课题组前期运用 MPTP 腹腔注射制备 PD 阴虚动风证小鼠模型^[10]。本实验进一步从小鼠的病因、行为学、舌象等对该模型进行验证,在此基础上探讨 CDG 治疗 PD 阴虚动风证小鼠的作用机理。结果显示:造模后小鼠病理显示多巴胺能神经元丢失,同时具备 PD 阴虚证的典型症状。如造模后小鼠 TH 表达减少,出现颤动、运动迟缓、抓握能力较差、便秘、毛色干枯、舌红、小便量少、大便干燥等症状。给予 CDG 治疗后,小鼠舌红色度值明显降低($P < 0.01$),运动综合能力得到显著改善($P < 0.001$),TH 表达增加($P < 0.01$)。这说明 CDG 在一定程度上能改善小鼠阴虚症状,减轻小鼠多巴胺神经元的损伤。

环核苷酸(cAMP、cGMP)可调节细胞功能,与机体神经内分泌系统的功能密切相关^[22]。本研究对小鼠血清中环核苷酸测定,发现模型组小鼠血清中cAMP明显升高,cGMP显著下降。已有的研究表明,cAMP、cGMP两者作用常具有拮抗性,类似于中医阴阳相互制约的关系,多数的研究将其作为判断中医阴虚、阳虚证候的关键指标之一^[23-24]。本研究中cAMP/cGMP比值明显高于正常组($P < 0.001$),提示本模型具有阴虚特性。给予CDG干预之后,血清cAMP明显下降,cGMP升高,两者比值降低($P < 0.001$)。提示CDG可能通过调节血清环核苷酸(cAMP、cGMP)含量改善小鼠阴虚的症状。

PD发生的根本原因在于黑质中多巴胺能神经元的变性缺失^[25]。TH为多巴胺合成的限速酶,MPTP在体内形成的代谢产物能抑制TH的活性降低多巴胺含量^[26],因此,TH含量在一定程度上反映了多巴胺神经元的数量^[27]。本研究分别用IHC、Western Blot法检测小鼠黑质、纹状体中TH含量,结果显示,模型组小鼠黑质中阳性TH⁺多巴胺能神经元细胞数量减少,纹状体内TH蛋白水平表达降低($P < 0.01$),治疗后,两者表达皆明显增加($P < 0.01$),这表明CDG能修复PD阴虚动风证小鼠损伤的多巴胺能神经元。

综上,本研究进一步从PD小鼠病因、症状、客观指标检测、以方测证等方面验证该模型的中医证候属性,本模型可靠、稳定。复方地黄颗粒,方以补肾养肝为主,祛痰、化痰、解毒为辅,其治疗切中帕金森病的根本病机。本研究证实复方地黄颗粒治疗PD阴虚动风证小鼠疗效显著,能调节血清中环核苷酸含量,有效修复损伤的多巴胺能神经元。

参 考 文 献(References)

- [1] Tysnes OB, Storstein A. Epidemiology of Parkinson's disease [J]. *J Neural Transm (Vienna)*, 2017, 124(8): 901-905.
- [2] 王永炎. 中医老年颤证诊断和疗效评定标准(试行) [J]. *山东中医学院学报*, 1992, 16(6): 55.
Wang YY. Criteria for diagnosis and efficacy evaluation of senile fibrillation syndrome in traditional Chinese medicine (Trial) [J]. *J Shandong Univ Tradit Chin Med*, 1992, 16(6): 55.
- [3] 盛慧敏, 何建成, 王文武, 等. 帕金森病中医证候的现代文献研究 [J]. *时珍国医国药*, 2011, 22(4): 967-969.
Sheng HM, He JC, Wang WW, et al. The literature research of syndromes of TCM about Parkinson's disease [J]. *Lishizhen Med Mater Med Res*, 2011, 22(4): 967-969.
- [4] 王文武, 何建成, 冉秋, 等. 帕金森病常见中医证候、症状和证候要素的文献研究 [A]. 第二次全国中西医结合诊断学
- 术研讨会论文集 [C]. 丽江: 中国中西医结合学会; 2008.
Wang WW, He JC, Ran Q, et al. Literature study on common TCM syndromes, symptoms and syndrome elements of Parkinson's disease [A]. *Proceedings of the second national symposium on integrated traditional Chinese and western medicine diagnosis* [C]. Lijiang: China Society of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine; 2008.
- [5] 滕龙, 洪芳, 何建成. 阴虚动风证帕金森病异动症模型大鼠的氧化应激反应及复方地黄方的干预作用 [J]. *中国实验动物学报*, 2015, 23(1): 25-29.
Teng L, Hong F, He JC. Oxidative stress in the rat models of Parkinson's disease dyskinesia with Yin deficiency stirring wind pattern, and the interventional effect of compound formula *Rehmannia* on the disease condition [J]. *Acta Lab Anim Sci Sin*, 2015, 23(1): 25-29.
- [6] 王振华, 何建成, 张春燕. 复方地黄方对帕金森病大鼠细胞凋亡的影响 [J]. *新中医*, 2010, 42(4): 86-88.
Wang ZH, He JC, Zhang CY. Effect of compound dihuang formula on apoptosis in rats with Parkinson's disease [J]. *J New Chin Med*, 2010, 42(4): 86-88.
- [7] 何建成. 自噬与帕金森病及中药干预研究 [J]. *医学研究杂志*, 2017, 46(6): 1-4.
He JC. Autophagy and Parkinson's disease and intervention of traditional Chinese medicine [J]. *J Med Res*, 2017, 46(6): 1-4.
- [8] 田德禄. 中医内科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社; 2003.
Tian DL. *Internal medicine of traditional Chinese medicine* [M]. Beijing: People's Medical Publishing; 2003.
- [9] 刘军. 中国帕金森病的诊断标准(2016版) [J]. *中华神经科杂志*, 2016, 49(4): 268-271.
Liu J. Diagnostic criteria of Parkinson's disease in China (2016 Edition) [J]. *Chin J Neurol*, 2016, 49(4): 268-271.
- [10] 梁建庆, 何建成. 病证结合帕金森病小鼠模型的构建 [J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(20): 4961-4963.
Liang JQ, He JC. Establishment of a mice model of Parkinson's disease with combination of disease and syndrome for preliminary study [J]. *Chin J Gerontol*, 2017, 37(20): 4961-4963.
- [11] 潘志强, 卢文丽, 方肇勤. 小鼠舌象的显微拍摄 [J]. *中国中医基础医学杂志*, 2007, 13(3): 189-191.
Pan ZQ, Lu WL, Fang ZQ. Shoting picture of the tongue about mice in microscope [J]. *Chin J Basic Med Tradit Chin Med*, 2007, 13(3): 189-191.
- [12] 冉秋, 何建成. 帕金森病大鼠显微舌象研究 [J]. *中医药信息*, 2009, 26(6): 13-14.
Ran Q, He JC. Study on the tongue shoting picture of PD rat in microscope [J]. *Inf Tradit Chin Med*, 2009, 26(6): 13-14.
- [13] J Deuschl G, Beghi E, Fazekas F, et al. The burden of neurological diseases in europe: an analysis for the global burden of disease Study 2017 [J]. *Lancet Public Health*, 2020, 5(10): e551-e567.
- [14] 曾毅, 刘玲, 吴东南, 等. 中医“治未病”理论在帕金森病防治中的应用 [J]. *湖北中医杂志*, 2021, 43(3): 53-56.

- Zeng Y, Liu L, Wu DN, et al. Application of “preventive treatment” theory of traditional Chinese medicine in the prevention and treatment of Parkinson’s disease [J]. Hubei J Tradit Chin Med, 2021, 43(3): 53-56.
- [15] Armstrong MJ, Okun MS. Diagnosis and treatment of Parkinson disease: a review [J]. JAMA, 2020, 323(6): 548-560.
- [16] 岑川, 何建成. 中医药防治帕金森病药物左旋多巴副作用研究进展 [J]. 中华中医药学刊, 2009, 27(12): 2530-2532.
- Cen C, He JC. The side effects of LD and the progress of the prevention and treatment of TCM For Parkinson’s Disease [J]. Chin Arch Tradit Chin Med, 2009, 27(12): 2530-2532.
- [17] 何建成. 帕金森病中医药治疗的再思考-兼谈“滋肾平肝, 化痰活血, 解毒散结”是帕金森病的基本治疗法则 [J]. 中医药通报, 2005, 4(1): 12-14.
- He JC. Rethinking on the treatment of Parkinson’s disease with TCM-also on “nourishing the kidney and calming the liver, resolving phlegm and activating blood circulation, detoxifying and dispersing knots” is the basic treatment principle of Parkinson’s disease [J]. Tradit Chin Med J, 2005, 4(1): 12-14.
- [18] 徐鹏恒, 何建成, 王利, 等. 复方地黄汤联合美多巴治疗帕金森病的临床疗效观察 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(2): 838-840.
- Xu PH, He JC, Wang L, et al. Clinical efficacy observation on compound dihuang decoction combined with levodopa in the treatment of Parkinson’s disease [J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2019, 34(2): 838-840.
- [19] 钟森杰, 李静, 李琳, 等. 病证结合动物模型研究思路述评 [J]. 中国中医药信息杂志, 2021, 28(8): 141-144.
- Zhong SJ, Li J, Li L, et al. A review of research ideas in combination of disease and syndrome animal models [J]. Chin J Inf Tradit Chin Med, 2021, 28(8): 141-144.
- [20] Kin K, Yasuhara T, Kameda M, et al. Animal models for Parkinson’s disease research: Trends in the 2000 s [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(21): 5402.
- [21] Chia SJ, Tan EK, Chao YX. Historical perspective: models of Parkinson’s disease [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(7): 2464.
- [22] 张译心, 王鑫, 刘博, 等. 2 型糖尿病气阴两虚病证结合动物模型的制备及评价指标的建立 [J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(2): 219-229.
- Zhang YX, Wang X, Liu B, et al. Preparation of animal model of type 2 diabetes with Qi-Yin deficiency syndrome and establishment of evaluation index [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(2): 219-229.
- [23] 冉秋, 何建成. 一体化病证结合帕金森病大鼠模型中医证候属性研究 [J]. 中国实验动物学报, 2011, 19(6): 465-471.
- Ran Q, He JC. Study on the traditional Chinese medicine syndrome properties of the rat models of Parkinson’s disease and “ combining syndrome and disease ” induced by 6-hydroxydopamine [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2011, 19(6): 465-471.
- [24] 张翠珍, 王天芳. cAMP、cGMP 拮抗性代谢调节与中医证候关系研究进展 [J]. 北京中医药大学学报, 1999, 22(6): 51-53.
- Zhang CZ, Wang TF. Research progress on the relationship between camp, cGMP antagonistic metabolic regulation and TCM syndromes [J]. J Beijing Univ Tradit Chin Med, 1999, 22(6): 51-53.
- [25] Jankovic J, Tan EK. Parkinson’s disease: etiopathogenesis and treatment [J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry, 2020, 91(8): 795-808.
- [26] 胡雅岑, 徐倩, 郭纪峰, 等. MPTP 诱导的帕金森病小鼠模型黑质脑组织 DNA 甲基化研究 [J]. 生物化学与生物物理进展, 2015, 42(3): 277-285.
- Hu YC, Xu Q, Guo JF, et al. Abnormal DNA methylation in substantia nigra region of MPTP-induced mice model of Parkinson’s disease [J]. Progress Biochem Biophy, 2015, 42(3): 277-285.
- [27] 林臻, 陈洪志, 赵航, 等. MPTP 诱导 C57BL/6 小鼠帕金森模型的制备和评估 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(8): 57-62, 85.
- Lin Z, Chen HZ, Zhao H, et al. Preparation and assessment of a C57BL/6 mouse Parkinson’s model induced by MPTP [J]. Chin J Comp Med, 2020, 30(8): 57-62, 85.

[收稿日期] 2021-10-14