

养帕方改善亚急性帕金森病模型小鼠行为学及疼痛症状机制研究

石莹 梅珊珊 汪瑗玲 夏阿龙 王肖薇 李俊

【摘要】 目的 探讨养帕方对亚急性帕金森病模型小鼠行为学和疼痛症状的治疗效果及其可能的作用机制。方法 共 42 只无特定病原体级 C57BL/6J 小鼠随机分为对照组,模型组,养帕方低剂量组[13.50 g/(kg·d)],中剂量组[40.50 g/(kg·d)]和高剂量组[121.50 g/(kg·d)],多巴丝肼组(每组各 7 只)。采用爬杆实验、悬挂实验和旷场实验评估小鼠行为学改变,热痛反应潜伏期测量仪和电子压力测痛仪测量热刺激伤害性感受阈和机械刺激伤害性感受阈,免疫组化染色检测黑质和杏仁核酪氨酸羟化酶(TH)阳性表达量。结果 不同处理组小鼠爬杆时间($F = 14.625, P = 0.000$)、悬挂评分($F = 24.493, P = 0.000$)和静止时间($F = 24.506, P = 0.000$),热刺激伤害性感受阈($F = 24.726, P = 0.000$)和机械刺激伤害性感受阈($F = 21.052, P = 0.000$),黑质($F = 19.663, P = 0.000$)和杏仁核($F = 36.513, P = 0.000$)TH 阳性表达量差异均具有统计学意义。与对照组相比,模型组爬杆时间($P = 0.000$)和静止时间($P = 0.000$)延长,悬挂评分($P = 0.000$)、热刺激伤害性感受阈($P = 0.000$)和机械刺激伤害性感受阈($P = 0.000$)、黑质($P = 0.000$)和杏仁核($P = 0.000$)TH 阳性表达量降低。与模型组相比,养帕方低剂量组、中剂量组、高剂量组和多巴丝肼组爬杆时间($P = 0.020, 0.000, 0.000, 0.000$)和静止时间($P = 0.000, 0.000, 0.000, 0.000$)缩短,但仍长于对照组(均 $P < 0.05$);悬挂评分($P = 0.000, 0.000, 0.000, 0.000$)、热刺激伤害性感受阈($P = 0.008, 0.000, 0.000, 0.000$)和机械刺激伤害性感受阈($P = 0.003, 0.000, 0.000, 0.000$)、黑质($P = 0.031, 0.001, 0.000, 0.000$)和杏仁核($P = 0.007, 0.000, 0.000, 0.000$)TH 阳性表达量增加,除多巴丝肼组热刺激伤害性感受阈恢复至对照组水平($P = 0.063$)外,其余 3 组仍低于对照组(均 $P < 0.05$)。与养帕方低剂量组比较,养帕方中剂量组、高剂量组和多巴丝肼组爬杆时间($P = 0.009, 0.009, 0.006$)和静止时间($P = 0.024, 0.018, 0.001$)亦缩短,但仍长于对照组(均 $P < 0.05$);悬挂评分($P = 0.015, 0.011, 0.002$)、热刺激伤害性感受阈($P = 0.001, 0.001, 0.000$)和机械刺激伤害性感受阈($P = 0.035, 0.001, 0.001$)、黑质($P = 0.043, 0.023, 0.001$)和杏仁核($P = 0.007, 0.005, 0.000$)TH 阳性表达量亦增加,除多巴丝肼组杏仁核 TH 阳性表达量高于养帕方中剂量组($P = 0.009$)和高剂量组($P = 0.012$)外,养帕方中剂量组、高剂量组和多巴丝肼组各项指标差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。结论 养帕方可以有效改善亚急性帕金森病模型小鼠行为学和疼痛症状,推测是通过保护黑质和杏仁核多巴胺能神经元实现的。

【关键词】 帕金森病; 行为和行为机制; 疼痛; 感觉阈; 酪氨酸单氧化酶; 免疫组织化学; 疾病模型,动物

Study on the improvement of behavior and pain and the mechanism of Yangpafang in subacute Parkinson's disease model mice

SHI Ying¹, MEI Shan-shan², WANG Yuan-ling¹, XIA A-long¹, WANG Xiao-wei¹, LI Jun³

doi: 10.3969/j.issn.1672-6731.2024.12.011

基金项目: 2022 年度安徽省重点研发计划项目(项目编号: 2022e07020025); 2024 年度安徽省自然科学基金资助项目(项目编号: 2408085MH228); 2021 年度安徽省高校优秀拔尖人才培育资助项目(项目编号: gxgwf2021028); 2021 年度安徽省高校科研项目(项目编号: KJ2021A0568); 安徽省高校科研项目(项目编号: 2024AH050998); 2022 年度安徽省卫生健康科研项目(项目编号: AHWJ2022b015); 2021 年度安徽中医药大学临床科研项目(项目编号: 2021yfylc06)

作者单位: 230031 合肥, 安徽中医药大学第一临床医学院 2022 级(石莹, 汪瑗玲, 夏阿龙, 王肖薇); 100053 北京, 首都医科大学宣武医院神经内科(梅珊珊); 230031 合肥, 安徽中医药大学第一附属医院神经内科(李俊)

通讯作者: 李俊, Email: 18788899919@163.com; 梅珊珊, Email: sophy33@163.com

¹Grade 2022, The First Clinical Medical College of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, Anhui, China

²Department of Neurology, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China

³Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230031, Anhui, China

Corresponding authors: LI Jun (Email: 18788899919@163.com); MEI Shan-shan (Email: sophy33@163.com)

【Abstract】 Objective Explore the therapeutic effect of Yangpafang on behavior and pain in subacute Parkinson's disease (PD) model mice and its possible mechanism. **Methods** Total 42 specific pathogen-free (SPF) C57BL/6J mice were randomly divided into control group, model group, Yangpafang low-dose group [13.50 g/(kg·d)], medium-dose group [40.50 g/(kg·d)] and high-dose group [121.50 g/(kg·d)], levodopa and benserazide group (7 mice in each group). The behavioral changes of mice were evaluated by Pole Climbing Test, Suspension Test and Field Test. The thermal nociceptive threshold and mechanical nociceptive threshold were measured by thermal pain response latency measuring instrument and electronic pressure pain measuring instrument. Immunohistochemical staining was used to detect the positive expression of tyrosine hydroxylase (TH) in substantia nigra and amygdala. **Results** There were significant differences in pole climbing time ($F = 14.625, P = 0.000$), suspension score ($F = 24.493, P = 0.000$), resting time of Field Test ($F = 24.506, P = 0.000$), thermal nociceptive threshold ($F = 24.726, P = 0.000$) and mechanical nociceptive threshold ($F = 21.052, P = 0.000$), TH positive expression in substantia nigra ($F = 19.663, P = 0.000$) and amygdala ($F = 36.513, P = 0.000$) among different treatment groups. Compared with the control group, the pole climbing time ($P = 0.000$) and resting time ($P = 0.000$) of the model group were prolonged, and the suspension score ($P = 0.000$), thermal nociceptive threshold ($P = 0.000$) and mechanical nociceptive threshold ($P = 0.000$), substantia nigra ($P = 0.000$) and amygdala ($P = 0.000$) TH positive expression decreased. Compared with the model group, the pole climbing time ($P = 0.020, 0.000, 0.000, 0.000$) and resting time ($P = 0.000, 0.000, 0.000, 0.000$) of Yangpafang low-dose group, medium-dose group, high-dose group and levodopa and benserazide group were shortened, but still longer than those of the control group ($P < 0.05$, for all). The suspension score ($P = 0.000, 0.000, 0.000, 0.000, 0.000$), thermal nociceptive threshold ($P = 0.008, 0.000, 0.000, 0.000$) and mechanical nociceptive threshold ($P = 0.003, 0.000, 0.000, 0.000$), TH positive expression in substantia nigra ($P = 0.031, 0.001, 0.000, 0.000$) and amygdala ($P = 0.007, 0.000, 0.000, 0.000$) increased. The thermal nociceptive threshold in other 3 groups was still lower than that in the control group ($P < 0.05$, for all), except that the levodopa and benserazide group returned to the level of the control group ($P = 0.063$). Compared with the Yangpafang low-dose group, the pole climbing time ($P = 0.009, 0.009, 0.006$) and resting time ($P = 0.024, 0.018, 0.001$) in the Yangpafang medium-dose group, high-dose group and the levodopa and benserazide group were also shortened, but still longer than those in the control group ($P < 0.05$, for all). Suspension score ($P = 0.015, 0.011, 0.002$), thermal nociceptive threshold ($P = 0.001, 0.001, 0.000$) and mechanical nociceptive threshold ($P = 0.035, 0.001, 0.001$) also increased, TH positive expression was also increased in the substantia nigra ($P = 0.043, 0.023, 0.001$) and amygdala ($P = 0.007, 0.005, 0.000$). Except that the TH positive expression in the amygdala of the levodopa and benserazide group was higher than that of the Yangpafang medium-dose group ($P = 0.009$) and the high-dose group ($P = 0.012$), there was no significant difference in each index between the latter 3 groups ($P > 0.05$, for all). **Conclusions** Yangpafang can improve the behavior and pain of subacute PD model mice, which is related to the protection of amygdala and substantia nigra dopaminergic neurons.

【Key words】 Parkinson disease; Behavior and behavior mechanisms; Pain; Sensory thresholds; Tyrosine 3-monooxygenase; Immunohistochemistry; Disease models, animal

This study was supported by 2022 Key Research and Development Program of Anhui (No. 2022e07020025), 2024 Natural Science Foundation of Anhui (No. 2408085MH228), 2021 Anhui Province University Excellent Top-notch Talent Cultivation Funding Project (No. gxgwx2021028), 2021 Anhui Province University Scientific Research Project (No. KJ2021A0568), Anhui Province University Scientific Research Project (No. 2024AH050998), 2022 Anhui Provincial Health Research Project (No. AHWJ2022b015), and 2021 Clinical Research Project of Anhui University of Chinese Medicine (No. 2021yfylc06).

Conflicts of interest: none declared

帕金森病(PD)是临床常见的神经系统变性疾病之一^[1]。疼痛是其易忽略的重要非运动症状,可

早于运动症状^[2]。帕金森病相关疼痛患病率为40%~85%,且随疾病进展而升高,近年越来越受到

临床关注,可发生于疾病任意阶段,加重运动症状,影响患者生活质量^[3-4];此外,抑郁与疼痛发生发展存在交互作用,抑郁症状可加重疼痛感知^[5],改善抑郁症状可缓解帕金森病相关疼痛^[6]。既往研究认为,多巴胺通过提高痛阈调节疼痛感知^[7];临床和动物实验也证实,多巴胺能神经递质减少与疼痛敏感性增加有关^[8]。帕金森病进展期杏仁核可出现多巴胺能神经元形态改变^[9],杏仁核功能障碍常表现为情绪障碍和疼痛^[10]。养帕方是安徽中医药大学第一附属医院治疗帕金森病的经验协定处方,以熟地黄、灵芝为君药,生地黄、炒僵蚕为臣药,佐以天麻、当归、葛根为使药,达到补益肝肾、调补阴阳、化痰通络之功效。中医学将帕金森病归为“颤(拘)证”范畴,帕金森病相关疼痛为颤证、痛症之合病。中医基础理论认为,帕金森病的发生与肝肾密切相关,病位在脑;肝主筋、肾主骨,生髓通于脑;肝肾不足导致筋脉脏腑失于濡养,不荣则痛,故认为帕金森病相关疼痛重在滋补肝肾、濡养筋脉脏腑。临床实践发现,养帕方可以改善帕金森病相关疼痛,但作用机制尚不清楚。本研究通过 1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)诱导亚急性帕金森病小鼠模型,观察养帕方能否改善小鼠行为学和提高痛阈并探讨可能的作用机制,以为临床拓宽帕金森病相关疼痛的治疗思路提供理论依据。

材料与方法

一、实验材料

1. 实验动物 无特定病原体(SPF)级雄性 C57BL/6J 小鼠共 42 只,8 周龄,体重(22±2)g,购自杭州子源实验动物科技有限公司[许可证号:SCXK(浙)2019-0004]。小鼠自由摄食、饮水,于平均温度 24℃、相对湿度 40%、噪音 < 60 dB、12 h 昼-12 h 夜交替照明环境中饲养。本研究经安徽中医药大学实验动物伦理委员会审核批准(审批号:AHUCM-mouse-2023001)。

2. 药品与仪器 (1)药品与试剂:养帕方药物组成为灵芝 30 g、熟地黄 15 g、当归 9 g、天麻 9 g、葛根 12 g、炒僵蚕 10 g、生地黄 15 g,上述免煎颗粒剂(安徽中医药大学第一附属医院制备)加入蒸馏水配制成高浓度(含生药 4.86 g/ml)、中浓度(1.62 g/ml)、低浓度(0.54 g/ml)养帕方灌胃液,常温冷却后于 5℃ 冰箱保存备用;多巴丝肼(规格:0.25 g/片,上海罗氏制药有限公司)含左旋多巴 200 mg 和盐酸苄丝肼

50 mg,加入蒸馏水配制成浓度为 10 mg/ml 的混悬液,于 5℃ 冰箱保存备用;MPTP 购自美国 Selleck 公司,质量分数为 4% 的多聚甲醛溶液购自上海碧云天生物技术有限公司,I 抗为抗酪氨酸羟化酶(TH)单克隆抗体(1:5000)购自武汉三鹰生物技术有限公司,辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗鼠 IgG II 抗购自安徽欣乐生物技术有限公司,二甲苯购自天津市凯通化学试剂有限公司,无水乙醇购自上海广诺化学科技有限公司,柠檬酸盐修复液(pH 值=6.00)和含 0.05% Tween-20 的磷酸盐缓冲液(PBS-T, pH 值=7.40)购自北京中杉金桥生物技术有限公司,体积分数为 3% 的过氧化氢(H₂O₂)溶液、过氧化物酶封闭液和二氨基联苯胺(DAB)染色液购自福州迈新生物技术开发有限公司,苏木素染色液购自珠海贝索细胞科学技术有限公司,中性树胶购自无锡江源塑业科技有限公司。(2)仪器与设备:电子 Von Frey 压力测痛仪购自美国 Harvard Apparatus 公司,热痛反应潜伏期测量仪购自美国 IITC 公司,旷场箱(规格:50 cm×50 cm)和旷场实验视频分析系统 SuperMaze V2.0 购自上海欣软信息科技有限公司,生物组织自动脱水机和生物组织包埋机购自湖北省亚光医用电子技术有限公司,病理切片机购自德国 Leica 公司,电热恒温鼓风干燥箱和隔水式恒温培养箱购自上海三发科学仪器有限公司,PAP Pen 免疫组化笔购自安徽欣乐生物技术有限公司,CX41 型光学显微镜购自日本 Olympus 株式会社,Image J v1.53 软件购自江苏捷达科技发展有限公司。

二、实验方法

1. 模型制备与分组 共 42 只 C57BL/6J 小鼠适应性喂养 1 周后,随机选取 35 只腹腔注射 1 mg/ml 的 MPTP 溶液 30 mg/(kg·d)制备帕金森病模型,余 7 只腹腔注射等量生理盐水作为对照,上述干预均连续 5 d。观察小鼠行为学改变,出现弓背竖毛、尾部僵直、运动迟缓、自发活动减少、震颤等异常行为,表明模型制备成功^[11]。模型制备成功后,采用随机数字表法将 35 只小鼠随机分为模型组、多巴丝肼组、养帕方低剂量组、养帕方中剂量组、养帕方高剂量组(每组各 7 只),其中多巴丝肼组予以多巴丝肼 0.034 g/(kg·d)灌胃(0.25 ml/只);参照文献[12]的标准,小鼠养帕方剂量是成人等效剂量的 9.10 倍,养帕方组分别以 13.50、40.50 和 121.50 g/(kg·d)灌胃(0.25 ml/只);对照组和模型组予等体积生理盐水灌胃,上述干预均连续 14 d。

2. 一般情况观察 干预结束后观察小鼠外观、饮食、活动情况和精神状态。

3. 行为学测验 (1)爬杆实验:自制直径 1 cm、长度 50 cm 的木杆 1 根,外层以纱布包裹防止打滑,底部插入泡沫板中。干预结束第 2 天,将小鼠头部朝上置于木杆顶部,记录其头部转向下方开始爬行至双前肢触碰木杆底部的时间(即爬杆时间),重复 3 次,每次间隔 3 min,取平均值。测试过程中若小鼠出现停留或反向攀爬,重新测试。(2)悬挂实验:自制长度 50 cm、离地高度 30 cm 的悬挂麻绳 1 根,干预结束第 2 天,将小鼠悬挂于麻绳上,观察其后肢抓绳情况(即悬挂评分),双后肢均抓绳计 3 分、单后肢抓绳计 2 分、双后肢均不抓绳计 1 分,重复 5 次,取平均值。(3)旷场实验:干预结束第 2 天于安静环境下先将小鼠置于实验房间适应 30 min,实验时置于旷场箱中心,采用旷场实验视频分析系统观察 5 min 内活动情况,记录静止时间。实验后清洗旷场箱内壁和底面以避免小鼠残留的大小便和气味影响下一次实验。

4. 伤害性感受阈测定 (1)热刺激伤害性感受阈测定:测试前 3 d,每日将小鼠分批置于热痛反应潜伏期测量仪适应 1 h。测试时,待小鼠安静后以大功率(8 V, 50 W)投射灯照射小鼠双后足掌心,记录照射后足至缩足时间,即为热刺激缩足反射阈值,最长照射时间 25 s 以防止足烫伤造成实验误差。每侧肢体重复 3 次,每次间隔 > 5 min,取平均值。(2)机械刺激伤害性感受阈测定:测试前 3 d,每日将小鼠分批置于电子 Von Frey 压力测痛仪适应 1 h。测试时,待小鼠安静后予以足跟匀速向上的压力刺激,缓慢增加压力,记录小鼠因刺激而缩足时的压力值,即为机械刺激缩足反射阈值。每只小鼠测试 3 次,每次间隔 5 min,取平均值。

5. 黑质和杏仁核酪氨酸羟化酶测定 上述测验完成后 2 h 内,小鼠断头处死,切取脑组织,迅速剥离黑质和杏仁核,磷酸盐缓冲液冲洗,置入 4% 多聚甲醛溶液固定,生物组织包埋机包埋,连续冠状切片,干燥箱 66 °C 干燥 20 ~ 30 min,二甲苯脱蜡 5 min ($\times 3$ 次),体积分数分别为 100%、95% 和 80% 的梯度乙醇脱水,蒸馏水缓慢冲洗至干净透明,将 2000 ml 柠檬酸盐修复液(pH 值 = 6.0)加热至沸腾,以其蒸气加热切片 2 min,冷却至室温,置 3% 过氧化氢溶液室温孵育 4 min,蒸馏水洗涤 3 次,免疫组化笔于组织周围画 2 ~ 4 次,使疏水圈完全干燥,PBS-T 冲洗

3 次;滴加 I 抗,置 37 °C 培养箱孵育 30 min, PBS-T 冲洗 3 次,滴加 II 抗,置于 37 °C 培养箱中孵育 30 min, PBS-T 冲洗 3 次,滴加二氨基联苯胺,光学显微镜下控制显色时间,阳性(呈棕褐色)则终止显色,蒸馏水洗涤 3 次,苏木素复染 2 ~ 5 min,蒸馏水洗涤 3 次;体积分数为 1% 的盐酸乙醇分化数秒后蒸馏水洗涤 3 次,碳酸锂溶液返蓝 30 s,蒸馏水洗涤 3 次,常规脱水,二甲苯透明,中性树胶封片,光学显微镜下观察。每组随机选取 3 张黑质和 3 张杏仁核切片,每张切片随机选取 1 个中倍视野($\times 200$),计数黑质和杏仁核 TH 阳性神经元和纤维数目,TH 阳性神经细胞质呈棕褐色,数量较多,排列整齐;TH 阳性纤维亦呈棕褐色。采用 Image J v1.53 软件对免疫组化图像进行半定量分析,计算平均光密度值(OD 值),代表单位面积内 TH 阳性表达量。

三、统计分析方法

采用 SPSS 26.0 统计软件进行数据处理与分析。呈正态或近似正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验。以 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一般情况观察,对照组小鼠毛发顺滑有光泽,食量正常,动作灵活,反应灵敏;模型组小鼠毛发无光泽,背部或其他部位毛发减少,食量明显减少,活动度降低,运动迟缓,时有震颤;与模型组相比,养帕方低剂量组小鼠活动度稍好,食量中等;养帕方中剂量组和高剂量组部分小鼠食量较好,活动度较好,反应较灵敏,无震颤;多巴丝肼组小鼠毛发黑亮有光泽,食量、活动度、反应度均较好。

不同处理组小鼠爬杆时间差异具有统计学意义($P = 0.000$),与对照组相比,模型组爬杆时间延长($P = 0.000$);与模型组相比,养帕方低剂量组($P = 0.020$)、中剂量组($P = 0.000$)、高剂量组($P = 0.000$)和多巴丝肼组($P = 0.000$)爬杆时间缩短,但仍长于对照组($P = 0.000, 0.014, 0.015, 0.020$);与养帕方低剂量组相比,养帕方中剂量组($P = 0.009$)、高剂量组($P = 0.009$)和多巴丝肼组($P = 0.006$)爬杆时间亦缩短,但后 3 组之间爬杆时间差异无统计学意义(均 $P > 0.05$;表 1, 2)。

不同处理组小鼠悬挂评分差异具有统计学意义($P = 0.000$),与对照组相比,模型组悬挂评分减少($P = 0.000$);与模型组相比,养帕方低剂量组($P =$

表 1 不同处理组小鼠爬杆时间的比较($\bar{x} \pm s, s$)

Table 1. Comparison of pole climbing time of mice in different treatment groups ($\bar{x} \pm s, s$)

组别	动物数	爬杆时间	F 值	P 值
对照组(1)	7	3.37 ± 0.50	14.625	0.000
模型组(2)	7	6.76 ± 1.23		
养帕方低剂量组(3)	7	5.70 ± 0.55		
养帕方中剂量组(4)	7	4.50 ± 0.71		
养帕方高剂量组(5)	7	4.48 ± 1.02		
多巴丝肼组(6)	7	4.43 ± 0.65		

表 2 不同处理组小鼠爬杆时间的两两比较

Table 2. Pairwise comparison of pole climbing time of mice in different treatment groups

组间两两比	t 值	P 值	组间两两比	t 值	P 值
(1):(2)	-6.769	0.000	(2):(6)	4.434	0.000
(1):(3)	-8.310	0.000	(3):(4)	3.528	0.009
(1):(4)	-3.438	0.014	(3):(5)	2.779	0.009
(1):(5)	-2.616	0.015	(3):(6)	3.935	0.006
(1):(6)	-3.449	0.020	(4):(5)	0.024	0.979
(2):(3)	2.089	0.020	(4):(6)	0.176	0.884
(2):(4)	4.217	0.000	(5):(6)	0.116	0.905
(2):(5)	3.779	0.000			

表 3 不同处理组小鼠悬挂评分的比较($\bar{x} \pm s$, 评分)

Table 3. Comparison of suspension score of mice in different treatment groups ($\bar{x} \pm s$, score)

组别	动物数	悬挂评分	F 值	P 值
对照组(1)	7	2.77 ± 0.14	24.493	0.000
模型组(2)	7	1.63 ± 0.14		
养帕方低剂量组(3)	7	2.11 ± 0.20		
养帕方中剂量组(4)	7	2.40 ± 0.33		
养帕方高剂量组(5)	7	2.41 ± 0.20		
多巴丝肼组(6)	7	2.49 ± 0.20		

表 4 不同处理组小鼠悬挂评分的两两比较

Table 4. Pairwise comparison of suspension score of mice in different treatment groups

组间两两比	t 值	P 值	组间两两比	t 值	P 值
(1):(2)	15.497	0.000	(2):(6)	-9.487	0.000
(1):(3)	7.273	0.000	(3):(4)	-1.987	0.015
(1):(4)	2.772	0.002	(3):(5)	-2.817	0.011
(1):(5)	3.842	0.003	(3):(6)	-3.560	0.002
(1):(6)	3.162	0.015	(4):(5)	-0.098	0.899
(2):(3)	-5.376	0.000	(4):(6)	-0.596	0.448
(2):(4)	-5.756	0.000	(5):(6)	-0.670	0.527
(2):(5)	-8.453	0.000			

组($P = 0.000, 0.002, 0.003, 0.015$);与养帕方低剂量组相比,养帕方中剂量组($P = 0.015$)、高剂量组($P = 0.011$)和多巴丝肼组($P = 0.002$)悬挂评分亦增加,但后 3 组之间悬挂评分差异无统计学意义(均 $P > 0.05$;表 3,4)。

不同处理组小鼠旷场实验静止时间差异具有统计学意义($P = 0.000$),与对照组相比,模型组静止时间延长($P = 0.000$);与模型组相比,养帕方低剂量组($P = 0.000$)、中剂量组($P = 0.000$)、高剂量组($P = 0.000$)和多巴丝肼组($P = 0.000$)静止时间缩短,但仍长于对照组($P = 0.000, 0.000, 0.000, 0.008$);与养帕方低剂量组相比,养帕方中剂量组($P = 0.024$)、高剂量组($P = 0.018$)和多巴丝肼组($P = 0.001$)静止时间亦缩短,但后 3 组之间静止时间差异无统计学意义(均 $P > 0.05$;表 5,6)。

不同处理组小鼠热刺激伤害性感受阈值($P = 0.000$)和机械刺激伤害性感受阈值($P = 0.000$)差异均具有统计学意义,与对照组相比,模型组热刺激伤害性感受阈值($P = 0.000$)和机械刺激伤害性感受阈($P = 0.000$)均降低;与模型组相比,养帕方低剂量组($P = 0.008, 0.003$)、中剂量组($P = 0.000, 0.000$)、高剂量组($P = 0.000, 0.000$)以及多巴丝肼组($P = 0.000, 0.000$)热刺激伤害性感受阈值和机械刺激伤害性感受阈值均增加,除多巴丝肼组热刺激伤害性感受阈值恢复至对照组水平($P = 0.063$),其余 3 组热刺激伤害性感受阈值($P = 0.000, 0.004, 0.004$)和机械刺激伤害性感受阈值($P = 0.000, 0.001, 0.015, 0.027$)仍低于对照组;与养帕方低剂量组相比,养帕方中剂量组($P = 0.001, 0.035$)、高剂量组($P = 0.001, 0.001$)以及多巴丝肼组($P = 0.000, 0.001$)热刺激伤害性感受阈值和机械刺激伤害性感受阈值亦增加,但后 3 组之间热刺激伤害性感受阈值和机械刺激伤害性感受阈值差异并无统计学意义(均 $P > 0.05$;表 7,8)。

不同处理组小鼠黑质($P = 0.000$)和杏仁核($P = 0.000$)TH 阳性表达量差异均具有统计学意义,与对照组相比,模型组黑质($P = 0.000$)和杏仁核($P = 0.000$)TH 阳性表达量均降低;与模型组相比,养帕方低剂量组($P = 0.031, 0.007$)、中剂量组($P = 0.001, 0.000$)、高剂量组($P = 0.000, 0.000$)和多巴丝肼组($P = 0.000, 0.000$)黑质和杏仁核 TH 阳性表达量均增加,但仍低于对照组($P = 0.000, 0.000, 0.001, 0.000, 0.002, 0.000, 0.037, 0.042$);与养帕方低剂量组相比,养帕方中剂量组($P = 0.043, 0.007$)、高剂量

0.000)、中剂量组($P = 0.000$)、高剂量组($P = 0.000$)和多巴丝肼组($P = 0.000$)评分增加,但仍低于对照

表 5 不同处理组小鼠旷场实验静止时间的比较($\bar{x} \pm s, s$)

Table 5. Comparison of resting time of mice in Field Test in different treatment groups ($\bar{x} \pm s, s$)

组别	动物数	静止时间	F 值	P 值
对照组(1)	7	62.54 ± 10.55	24.506	0.000
模型组(2)	7	123.53 ± 11.27		
养帕方低剂量组(3)	7	100.86 ± 11.70		
养帕方中剂量组(4)	7	86.91 ± 13.97		
养帕方高剂量组(5)	7	86.24 ± 10.89		
多巴丝肼组(6)	7	79.10 ± 6.63		

表 6 不同处理组小鼠旷场实验静止时间的两两比较

Table 6. Pairwise comparison of resting time of mice in Field Test in different treatment groups

组间两两比	t 值	P 值	组间两两比	t 值	P 值
(1):(2)	-10.450	0.000	(2):(6)	8.988	0.000
(1):(3)	-6.434	0.000	(3):(4)	2.024	0.024
(1):(4)	-3.683	0.000	(3):(5)	2.419	0.018
(1):(5)	-4.136	0.000	(3):(6)	4.280	0.001
(1):(6)	-3.516	0.008	(4):(5)	0.100	0.910
(2):(3)	3.692	0.000	(4):(6)	1.337	0.194
(2):(4)	5.936	0.000	(5):(6)	1.483	0.235
(2):(5)	6.295	0.000			

组 ($P = 0.023, 0.005$) 和多巴丝肼组 ($P = 0.001, 0.000$) 黑质和杏仁核 TH 阳性表达量亦增加, 多巴丝肼组杏仁核 TH 阳性表达量高于养帕方中剂量组 ($P = 0.009$) 和高剂量组 ($P = 0.012$), 而养帕方中剂量组与高剂量组杏仁核 TH 阳性表达量差异无统计学意义 ($P = 0.889$), 后 3 组之间黑质 TH 阳性表达量差异亦无统计学意义 (均 $P > 0.05$; 表 9, 10)。

免疫组化染色, 对照组小鼠黑质可见大量 TH 阳性神经元和纤维, 细胞轮廓清晰, 杏仁核可见大量 TH 阳性纤维; 模型组小鼠黑质 TH 阳性神经元数目明显减少, 纤维稀疏, 杏仁核 TH 阳性纤维稀疏; 予以养帕方干预后, TH 阳性神经元和纤维相对增多, 且随着养帕方剂量的增加, TH 阳性神经元和纤维逐渐增多; 予以多巴丝肼干预后, TH 阳性神经元和纤维增多, 细胞轮廓较清晰 (图 1)。

讨 论

本研究结果显示, 养帕方低剂量组、中剂量组、高剂量组和多巴丝肼组小鼠较模型组爬杆实验爬杆时间和旷场实验静止时间缩短, 悬挂实验悬挂评分增加, 热刺激伤害性感受阈值和机械刺激伤害性

表 7 不同处理组小鼠伤害性感受阈值的比较($\bar{x} \pm s$)

Table 7. Comparison of nociceptive thresholds of mice in different treatment groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	热刺激伤害性感受阈值(s)	机械刺激伤害性感受阈值(g)
对照组(1)	7	19.71 ± 0.35	3.84 ± 0.16
模型组(2)	7	10.83 ± 2.21	2.70 ± 0.12
养帕方低剂量组(3)	7	13.42 ± 1.72	3.10 ± 0.28
养帕方中剂量组(4)	7	16.84 ± 2.34	3.37 ± 0.15
养帕方高剂量组(5)	7	16.90 ± 1.62	3.53 ± 0.16
多巴丝肼组(6)	7	17.94 ± 1.33	3.56 ± 0.40
F 值		24.726	21.052
P 值		0.000	0.000

表 8 不同处理组小鼠伤害性感受阈值的两两比较

Table 8. Pairwise comparison of nociceptive thresholds of mice in different treatment groups

组间两两比	热刺激伤害性感受阈值		机械刺激伤害性感受阈值	
	t 值	P 值	t 值	P 值
(1):(2)	10.515	0.000	15.209	0.000
(1):(3)	9.464	0.000	6.128	0.000
(1):(4)	3.207	0.004	5.659	0.001
(1):(5)	4.494	0.004	3.650	0.015
(1):(6)	3.400	0.063	1.770	0.027
(2):(3)	-2.454	0.008	-3.528	0.003
(2):(4)	-4.951	0.000	-9.400	0.000
(2):(5)	-5.867	0.000	-11.094	0.000
(2):(6)	-7.307	0.000	-5.508	0.000
(3):(4)	-3.117	0.001	-2.282	0.035
(3):(5)	-3.889	0.001	-3.544	0.001
(3):(6)	-5.498	0.000	-2.506	0.001
(4):(5)	-0.049	0.955	-1.896	0.212
(4):(6)	-1.081	0.241	-1.163	0.141
(5):(6)	-1.322	0.263	-0.177	0.818

感受阈值增加, 黑质和杏仁核 TH 阳性表达量增加; 养帕方中剂量组、高剂量组和多巴丝肼组小鼠较养帕方低剂量组爬杆时间和静止时间亦缩短, 悬挂评分增加, 热刺激伤害性感受阈值和机械刺激伤害性感受阈值增加, 黑质和杏仁核 TH 阳性表达量增加; 而多巴丝肼组与养帕方中剂量组和高剂量组爬杆时间、悬挂评分和静止时间, 热刺激伤害性感受阈值和机械刺激伤害性感受阈值, 黑质 TH 阳性表达量无明显差异, 表明养帕方可以有效改善 MPTP 诱导的亚急性帕金森病模型小鼠的行为学和疼痛症状, 可能与增加黑质和杏仁核 TH 阳性表达量有关, 尤以养帕方中、高剂量显著。

表 9 不同处理组小鼠黑质和杏仁核 TH 阳性表达量的比较($\bar{x} \pm s$, OD 值)

Table 9. Comparison of TH positive expression in substantia nigra and amygdala of mice in different treatment groups ($\bar{x} \pm s$, OD value)

组别	动物数	黑质	杏仁核
对照组(1)	7	0.67 ± 0.03	0.65 ± 0.04
模型组(2)	7	0.33 ± 0.07	0.26 ± 0.03
养帕方低剂量组(3)	7	0.42 ± 0.03	0.36 ± 0.05
养帕方中剂量组(4)	7	0.51 ± 0.03	0.47 ± 0.05
养帕方高剂量组(5)	7	0.52 ± 0.06	0.47 ± 0.04
多巴丝肼组(6)	7	0.58 ± 0.03	0.57 ± 0.03
F 值		19.663	36.513
P 值		0.000	0.000

表 10 不同处理组小鼠黑质和杏仁核 TH 阳性表达量的两两比较

Table 10. Pairwise comparison of TH positive expression in substantia nigra and amygdala of mice in different treatment groups

组间两两比	黑质		杏仁核	
	t 值	P 值	t 值	P 值
(1):(2)	7.432	0.000	12.534	0.000
(1):(3)	10.098	0.000	7.833	0.000
(1):(4)	6.500	0.001	4.687	0.000
(1):(5)	3.867	0.002	5.341	0.000
(1):(6)	3.899	0.037	2.491	0.042
(2):(3)	-1.973	0.031	-3.229	0.007
(2):(4)	-3.786	0.001	-6.179	0.000
(2):(5)	-3.453	0.000	-7.681	0.000
(2):(6)	-5.460	0.000	-12.275	0.000
(3):(4)	-3.186	0.043	-2.732	0.007
(3):(5)	-2.488	0.023	-3.295	0.005
(3):(6)	-6.353	0.001	-6.600	0.000
(4):(5)	-0.329	0.375	-0.132	0.889
(4):(6)	-2.877	0.079	-3.062	0.009
(5):(6)	-1.543	0.141	-3.610	0.012

疼痛是帕金森病患者重要且最痛苦的非运动症状^[13]。帕金森病相关疼痛表现多样且可发生于疾病各时期,参照 Ford 分类,帕金森病相关疼痛分肌肉骨骼疼痛、神经性/神经根性疼痛、肌张力障碍相关疼痛、静坐不能性不适和中枢性疼痛共 5 种类型^[13]。因此,积极缓解帕金森病相关疼痛可提高患者生活质量和治疗依从性,具有重要临床意义^[14]。帕金森病相关疼痛的发生机制复杂,与黑质纹状体通路多巴胺能递质和非多巴胺能递质(乙酰胆碱、去甲肾上腺素和 5-羟色胺)缺失等相关,但拟多巴

胺药仍是首选治疗方法^[15],然而,长期服药后存在疗效减退、症状波动现象,且易发生胃肠道不良反应^[16],因此有待探寻替代药物。目前针对帕金森病相关疼痛的治疗药物并不多,中药更是匮乏。中药复方制剂可以发挥多系统、多靶点的作用机制,并且具有安全性较高、不良反应较少等优势^[17]。中医普遍认为,帕金森病的发病机制与肝肾亏虚密切相关^[18],肝肾不足和内风始终贯穿于疾病发生、发展和转归的各阶段。养帕方是安徽中医药大学第一附属医院的经验协定处方,由灵芝、熟地黄、当归、天麻、葛根、炒僵蚕、生地黄 7 味药组成,补益肝肾的同时息风止痉、调和气血。养帕方中多种有效成分已被证实具有保护多巴胺能神经元、抑制慢性炎症等多种作用。研究显示,灵芝多糖的抗氧化作用可以减轻神经毒素对多巴胺能神经元的损伤^[19]。黑质多巴胺能神经元因其特异性结构和功能需更高能量以维持正常生理活动,故对线粒体功能变化更敏感,灵芝孢子可诱导 Parkin 蛋白通路通过调控自噬及时识别并有效清除异常线粒体,抑制氧化应激反应,维持细胞内环境稳态^[20-21]。灵芝三萜也可显著减少多巴胺能神经元丢失^[22]。熟地黄提取物毛蕊花糖苷通过抑制线粒体通路细胞凋亡和抑制炎症反应,保护多巴胺能神经元^[23]。豆甾醇和 β -谷甾醇均为熟地黄提取的植物甾醇,可进入线粒体,提高线粒体跨膜电位,从而发挥减少多巴胺能神经元凋亡的作用^[24]。藁本内酯作为当归的有效成分,具有良好的镇痛、消炎作用^[25]。动物模型显示,天麻素可以下调帕金森病模型小鼠纹状体 α -突触核蛋白(α -Syn)表达,上调 TH 表达,升高多巴胺水平,发挥对多巴胺能神经元的保护作用^[26]。葛根素具有抗炎、抗氧化、抗凋亡作用,可以有效改善神经损伤引起的慢性疼痛^[27]。炒僵蚕提取物通过抗细胞凋亡以保护多巴胺能神经元^[28]。

帕金森病典型病理改变为中脑黑质致密区多巴胺能神经元变性和进行性丢失^[29]。帕金森病相关疼痛与多巴胺表达变化和脑组织多巴胺能通路中断有关,黑质纹状体多巴胺能通路参与痛觉中枢的调控,多巴胺能神经元轴突投射至黑质纹状体最为密集,其次是杏仁核,参与疼痛等非运动症状的发生^[30]。黑质纹状体通路在帕金森病痛觉信息传入和疼痛产生过程中发挥关键作用,且多巴胺能神经元主要源自黑质、腹侧被盖区和下丘脑,再投射至不同脑区^[31]。亦有研究显示,帕金森病相关疼痛

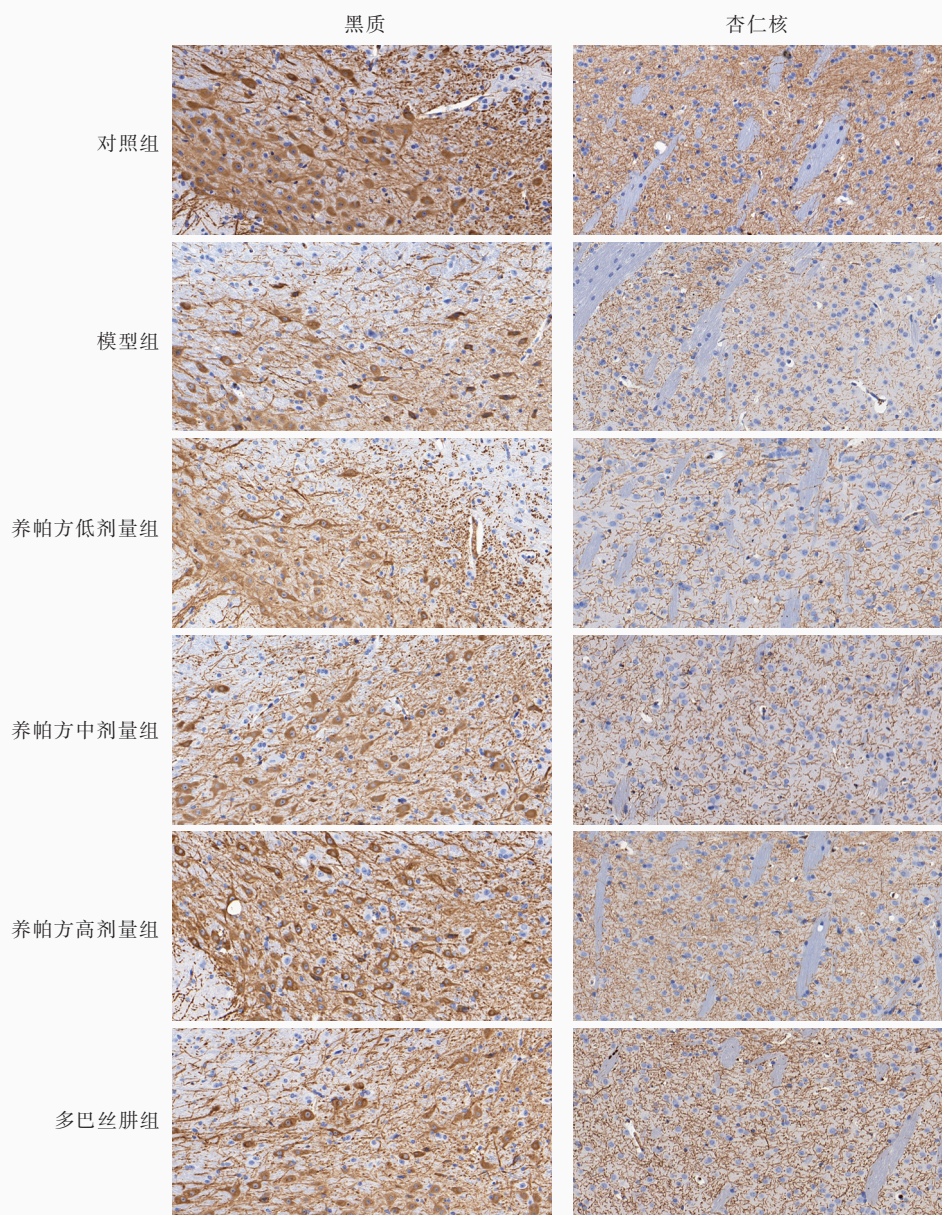


图 1 光学显微镜观察显示, 对照组小鼠中脑黑质可见大量棕褐色 TH 阳性神经元和纤维, 细胞轮廓清晰, 杏仁核可见大量棕褐色 TH 阳性纤维; 模型组小鼠中脑黑质 TH 阳性神经元数目明显减少, 纤维稀疏, 杏仁核 TH 阳性纤维稀疏; 养帕方低剂量组小鼠中脑黑质 TH 阳性神经元和纤维仍较少, 杏仁核 TH 阳性纤维亦较少, 但随着养帕方剂量的增加, 中脑黑质和杏仁核 TH 阳性神经元和纤维逐渐增多; 多巴丝肼组小鼠中脑黑质 TH 阳性神经元数目增多, 纤维明显, 细胞轮廓较清晰, 杏仁核 TH 阳性纤维亦明显增多。免疫组化染色 (EnVision 二步法) 中倍放大

Figure 1 Light microscopy showed that a large number of brown TH positive neurons and fibers were observed in the substantia nigra of the control group, and the cell contour was clear. A large number of brown TH positive nerve fibers were observed in the amygdala. The number of TH positive neurons in the substantia nigra of the model group was significantly reduced, the fibers were sparse, and the TH positive fibers in the amygdala were sparse. The TH positive neurons and fibers in the substantia nigra and amygdala in the Yangpafang low-dose group were still less. However, with the increase of the dose of Yangpafang, the TH positive neurons and fibers in the substantia nigra and amygdala were gradually increased. The number of TH positive neurons in the substantia nigra of the midbrain in the levodopa and benserazide group increased, the fibers were obvious, the cell contour was clear, and the TH positive fibers in the amygdala also increased significantly. Immunohistochemical staining (EnVision) Medium power magnified

可能是黑质纹状体多巴胺能神经元丢失的直接结果^[1]。由此可见, 黑质纹状体可能参与帕金森病相

关疼痛的调节。疼痛是伤害感受与情绪的整合, 常与抑郁并存, 二者相互影响或存在双向关系。帕金

森病相关疼痛患者常伴发情感障碍,前额皮质、岛叶皮质与杏仁核存在功能连接,并参与认知、情绪和疼痛的调节,其中杏仁核参与痛觉的编码和调节过程,疼痛具有强烈的情感维度,基底外侧核群为感觉信息增加情感背景^[32],杏仁核尤其是中央杏仁核作为疼痛中枢的关键结构,负责调节疼痛。中央杏仁核亦称为“伤害感受性杏仁核”,是杏仁核功能的主要输出核团,疼痛信息从丘脑和皮质间接传递至中央杏仁核,或者从脊髓和脑干直接获得伤害性感受输入至中央杏仁核^[33]。中央杏仁核外侧囊状部的过度神经活动可以解释疼痛相关情绪反应^[1]。因此认为,杏仁核在帕金森病相关疼痛和情绪障碍的发生机制中发挥关键作用。此外,多巴胺能通路可影响疼痛相关通路^[34],多巴胺能神经元丢失可改变疼痛感知、伤害性感受输入相关脑区神经元活动,导致帕金森病患者出现疼痛。由于多巴胺能通路与疼痛调节通路存在重叠,多巴胺通过对疼痛的调节作用间接或直接影响疼痛调节区域的神经活动,如丘脑、基底节、岛叶、前扣带回和导水管周围灰质等,故多巴胺能系统障碍可以导致疼痛刺激被放大,当脑组织多巴胺能神经元丢失时可发生自发性疼痛^[35]。TH是多巴胺合成的限速酶,其功能和表达变化可以反映多巴胺能神经元状态,是后者的重要标志酶^[36]。本研究结果显示,与模型组相比,养帕方低剂量组、中剂量组和高剂量组小鼠爬杆实验爬杆时间和旷场实验静止时间缩短,悬挂实验悬挂评分增加,热刺激伤害性感受阈值和机械刺激伤害性感受阈值增加,黑质和杏仁核TH阳性表达量增多,表明养帕方可以有效改善帕金森病模型小鼠的行为学和疼痛症状,同时保护黑质和杏仁核多巴胺能神经元;与养帕方低剂量组相比,养帕方中剂量组和高剂量组小鼠爬杆时间和静止时间亦缩短,悬挂评分增加,热刺激伤害性感受阈值和机械刺激伤害性感受阈值增加,黑质和杏仁核TH阳性表达量增多,提示养帕方中、高剂量的疗效更佳;与多巴丝肼组相比,养帕方中剂量组和高剂量组杏仁核TH阳性表达量减少,但疼痛疗效(热刺激伤害性感受阈值和机械刺激伤害性感受阈值)无明显差异,提示养帕方缓解帕金森病相关疼痛除与多巴胺能机制相关外,还可能与非多巴胺能机制有关,有待进一步验证。

综上所述,养帕方可以改善帕金森病模型小鼠的行为学和疼痛症状,可能与其对黑质和杏仁核多

巴胺能神经元的保护作用有关。然而本研究尚存在一定局限性,养帕方复方制剂的成分复杂,其中起主要作用的成分尚不明确;养帕方对帕金森病相关疼痛涉及的黑质和杏仁核多巴胺能神经元保护通路尚不明确,有待进一步深入探究,以揭示养帕方缓解帕金森病相关疼痛的作用机制。

利益冲突 无

参 考 文 献

- [1] Guo ZY, Liu WG, Sun Y, Zheng HF, Yang YX, Zhao MM. Study on related risk factors of pain in de novo Parkinson's disease patients[J]. Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 2022, 22:173-178.[郭志颖, 刘卫国, 孙钰, 郑慧芬, 杨予莹, 赵名明. 初诊帕金森病患者疼痛相关危险因素分析[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2022, 22:173-178.]
- [2] Peng JJ, Zhu BF, Li J, Li SS, Zhu SH, Xiao SD, Yang ZL, Xu EH. The intervention of acupoints in the motor area of the head by electroacupuncture on the mechanical pain threshold of subacute MPTP model mice [J]. Zhongguo Lao Nian Xue Za Zhi, 2023, 43:3529-3532.[彭晶晶, 朱本藩, 李俊, 李珊珊, 朱四欢, 肖顺东, 杨志来, 许二赫. 电针头部运动区穴位对亚急性MPTP模型小鼠机械痛阈的干预[J]. 中国老年学杂志, 2023, 43:3529-3532.]
- [3] Shao QY, Li ZH, Niu XB, Teng X, Hu BB, Xu CY, Cui GY, Zan K. Association between serum inflammatory cytokines and Parkinson disease with pain [J]. Zhong Feng Yu Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 2023, 40:304-309.[邵秋悦, 李则衡, 牛学斌, 滕幸, 呼彪彪, 徐传英, 崔桂云, 管坤. 血清炎症因子水平与帕金森病伴疼痛的相关性研究[J]. 中风与神经疾病杂志, 2023, 40:304-309.]
- [4] Li J, Mi TM, Zhu BF, Ma JH, Han C, Li Y, Yang WM, Chan P. High-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation over the primary motor cortex relieves musculoskeletal pain in patients with Parkinson's disease: a randomized controlled trial [J]. Parkinsonism Relat Disord, 2020, 80:113-119.
- [5] Zhou Y, Chen R, Zhi ZW, Zhang WB, Zhao LD. Clinical efficacy analysis on subthalamic nucleus deep brain stimulation for Parkinson's disease related pain [J]. Lin Chuang Shen Jing Wai Ke Za Zhi, 2020, 17:538-542.[周永, 陈锐, 支中文, 章文斌, 赵连东. 丘脑底核-脑深部刺激术治疗帕金森病相关疼痛的疗效分析[J]. 临床神经外科杂志, 2020, 17:538-542.]
- [6] Zhu Y, Luo ZX, Zeng XY. Therapeutic effect of low-frequency repetitive transcranial magnetic stimulation on Parkinson's disease associated with pain [J]. Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 2019, 19:429-436.[朱扬, 罗志秀, 曾晓云. 低频重复经颅磁刺激治疗帕金森病伴疼痛疗效观察[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2019, 19:429-436.]
- [7] Cortes-Altamirano JL, Reyes-Long S, Bandala C, Morraz-Varela A, Bonilla-Jaime H, Alfaro-Rodriguez A. Neuropathic pain in Parkinson's disease [J]. Neurol India, 2022, 70:1879-1886.
- [8] Mostofi A, Morgante F, Edwards MJ, Brown P, Pereira EAC. Pain in Parkinson's disease and the role of the subthalamic nucleus [J]. Brain, 2021, 144:1342-1350.
- [9] Ma ZW, Liang H, Zhao B, Cai SJ, Guo J, Yu D. Effect of acupoint piercing on expression of TNF- α and IL-10 in amygdala of anxious rats with Parkinson's disease [J]. Shaanxi Zhong Yi, 2021, 42:1171-1174.[马振旺, 梁浩, 赵兵, 蔡绍杰, 郭婧, 于丹. 透穴刺法对帕金森病焦虑大鼠杏仁核TNF- α 和IL-10表达的影响[J]. 陕西中医, 2021, 42:1171-1174.]

- [10] Wang J, Sun L, Chen L, Sun J, Xie Y, Tian D, Gao L, Zhang D, Xia M, Wu T. Common and distinct roles of amygdala subregional functional connectivity in non-motor symptoms of Parkinson's disease[J]. NPJ Parkinsons Dis, 2023, 9:28.
- [11] Zeng XS, Geng WS, Jia JJ. Neurotoxin-induced animal models of Parkinson disease: pathogenic mechanism and assessment [J]. ASN Neuro, 2018, 10:1-15.
- [12] Wang YL, Xu EH, Shi Y, Wang XW, Xia AL, Zhu SH, Li J. Intervention effect and mechanism of Yangpafang on motor function of subacute MPTP model mice with Parkinson's disease [J]. Zhongguo Lao Nian Xue Za Zhi, 2024, 44:3760-3764. [汪瑗玲, 许二赫, 石莹, 王肖薇, 夏阿龙, 朱四欢, 李俊. 养帕方对亚急性 MPTP 帕金森病小鼠运动功能的干预作用及机制[J]. 中国老年学杂志, 2024, 44:3760-3764.]
- [13] Li J, Zhu BF, Gu ZQ, Zhang H, Mei SS, Ji SZ, Liu SY, Han C, Chen HZ, Chan P. Musculoskeletal pain in Parkinson's disease [J]. Front Neurol, 2022, 12:756538.
- [14] Zhang XL, Hui Z, Wang SL, Xiao J, Chen Q, Liang Y, Tang LL, Xu CC, Chen C, Zhao Y, Zhang ZN. Clinical study of Modified Dihuang Yinzi on pain of Parkinson's disease [J]. Shaanxi Zhong Yi, 2021, 42:620-624. [张秀琳, 惠振, 王苏雷, 肖婧, 陈清, 梁艳, 唐莉莉, 徐成成, 陈畅, 赵杨, 张臻年. 加减地黄饮子治疗帕金森病疼痛临床研究[J]. 陕西中医, 2021, 42:620-624.]
- [15] Lei J, You HJ. The clinical and basic research of pain of Parkinson's disease [J]. Zhongguo Teng Tong Yi Xue Za Zhi, 2021, 27:330-334. [雷静, 尤浩军. 帕金森病疼痛的临床与基础研究[J]. 中国疼痛医学杂志, 2021, 27:330-334.]
- [16] Kang KW, Wang Y, Guo XR, Li J, Ma X, Wang Q. Effect of "Xiusanzhen" on the expression of high-mobility group box 1 and nuclear factor-kappa B in the substantia nigra of mice with Parkinson's disease [J]. Anhui Zhong Yi Yao Da Xue Xue Bao, 2020, 39:39-43. [亢恺雯, 王渊, 郭新荣, 李杰, 马雪, 王强. "嗅三针"对帕金森病小鼠黑质高迁移率组蛋白 B1 及核因子- κ B 表达的影响[J]. 安徽中医药大学学报, 2020, 39:39-43.]
- [17] Zhang H, Wang H, Sun LT, Xie MY, Ding T. Clinical efficacy of traditional Chinese medicine combined with western medicine in the treatment of Parkinson's disease: a meta-analysis [J]. Zhong Xi Yi Jie He Xin Nao Xue Guan Bing Za Zhi, 2022, 20:1205-1209. [张慧, 汪瀚, 孙兰婷, 解明月, 丁涛. 中药联合西药基础治疗帕金森病临床疗效的 Meta 分析[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2022, 20:1205-1209.]
- [18] Wang Y, Li LL, Shen Q, Guo MQ, Liu X, Guo H. Duzhong Formula improves the intestinal microenvironment of Parkinson's mice [J]. Tianjin Zhong Yi Yao Da Xue Xue Bao, 2023, 42:463-469. [王玉, 李莉莉, 申茜, 郭梦情, 刘璇, 郭虹. 杜仲方改善帕金森小鼠的肠道微环境[J]. 天津中医药大学学报, 2023, 42:463-469.]
- [19] Huang Q, Ren ZL. Protective effect of Ganoderma lucidum extract on Parkinson's disease model cell apoptosis [J]. Zhong Cheng Yao, 2022, 44:1973-1976. [黄茜, 任志丽. 灵芝提取物对帕金森病模型细胞凋亡的保护作用[J]. 中成药, 2022, 44:1973-1976.]
- [20] Yang YN, Sun LZ, Cao XL. Molecular mechanisms related to Parkinson's disease and the intervention effect of traditional Chinese medicine [J]. Shi Yong Xin Nao Fei Xue Guan Bing Za Zhi, 2024, 32:25-31. [杨亚男, 孙灵芝, 曹晓岚. 帕金森病相关分子机制及中医药干预效果[J]. 实用心脑血管病杂志, 2024, 32:25-31.]
- [21] Zhou GX, Qi YL, Zhou SB, Wu KJ, Zhang Y, Shi RP, Qin LW, Wang SX, Fu HY, Zhang X, Wang SQ. Effect of Ganoderma lucidum spores on renal cell apoptosis in diabetic nephropathy model rats based on the PINK1/Parkin pathway [J]. Zhongguo Lao Nian Xue Za Zhi, 2022, 42:2805-2811. [周广旭, 齐亚灵, 周少波, 吴可佳, 张莹, 石瑞平, 秦丽微, 王淑湘, 付宏扬, 张欣, 王淑秋. 基于 PINK1/Parkin 通路探讨灵芝孢子对糖尿病肾病模型大鼠肾脏细胞凋亡的影响[J]. 中国老年学杂志, 2022, 42:2805-2811.]
- [22] Wu SZ, Wang C, Gui SY, Peng C, Luo JP, Li QM. Optimization of vacuum-coupled ultrasonic extraction process for Ganoderma lucidum triterpenoids and their anti-parkinsonian activity [J]. Zhong Cheng Yao, 2023, 45:2822-2827. [吴淑珍, 王成, 桂双英, 彭灿, 罗建平, 李强明. 灵芝三萜真空耦合超声提取工艺优化及其抗帕金森病活性[J]. 中成药, 2023, 45:2822-2827.]
- [23] Qu YJ, Zhen RR, An HM. Effect and mechanism of verbascoside in treatment neurodegenerative diseases [J]. Zhonghua Zhong Yi Yao Xue Kan, 2021, 39:69-72. [曲彦洁, 甄蓉蓉, 安红梅. 毛蕊花糖苷治疗神经退行性疾病作用及机制[J]. 中华中医药学刊, 2021, 39:69-72.]
- [24] Li Y, Wang D, Li T, Yan YM. Pharmacological mechanism of rehmannia glutinosa against Parkinson's disease: a review [J]. Zhongguo Shi Yan Fang Ji Xue Za Zhi, 2022, 28:228-236. [李雨, 王豆, 李涛, 闫咏梅. 熟地黄治疗帕金森病的药理机制研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2022, 28:228-236.]
- [25] Zhou D, Ling JY, Yu H, Zhang ZY, Jin H. Clinical observation of Danggui Sini Decoction (当归四逆汤) combined with governor meridian moxibustion in treatment of cold coagulation in heart meridian syndrome of microvascular angina pectoris [J]. Zhonghua Zhong Yi Yao Xue Kan, 2024, 42:232-235. [周盾, 凌家艳, 余浩, 张忠阳, 金恒. 当归四逆汤合督脉灸治疗寒凝心脉型微血管性心绞痛疗效观察[J]. 中华中医药学刊, 2024, 42:232-235.]
- [26] Zhou HP, Zhang SN, Cao D, Wang Y. Protective effect of gastrodin on dopaminergic neurons in rats with Parkinson's disease induced by MPTP [J]. Xian Dai Yao Wu Yu Lin Chuang, 2020, 35:1069-1075. [周红平, 张三妮, 曹栋, 王莹. 天麻素对帕金森病小鼠多巴胺能神经元的保护作用[J]. 现代药物与临床, 2020, 35:1069-1075.]
- [27] Zhang WL, Tang Q, Deng Z, Zhao YS, Zhong Y. Puerarin alleviates radicular pain by inhibiting Nav1.7 upregulation in the dorsal root ganglia [J]. Zhongguo Teng Tong Yi Xue Za Zhi, 2023, 29:332-339. [张玮丽, 唐倩, 邓镇, 赵元淑, 钟祎. 葛根素通过抑制背根神经节 Nav1.7 上调治疗神经根性疼痛[J]. 中国疼痛医学杂志, 2023, 29:332-339.]
- [28] Li JF, Wang YP, Bian XF, Zhang H, Sun JM. Anti-Parkinson activity of bombyx batryticatus in vitro before and after processing based on thermal oscillation theory of peptide bond [J]. Zhongguo Xian Dai Zhong Yao, 2019, 21:1229-1235. [李晶峰, 王亚萍, 边学峰, 张辉, 孙佳明. 基于肽键热振荡理论对僵蚕炮制前后体外抗帕金森活性的研究[J]. 中国现代中药, 2019, 21:1229-1235.]
- [29] Wang F, Zhang XL, Li HZ, Li YN, Hu MN, Ma J. Effects of inhibiting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway on autophagy, apoptosis and PD characteristic expression proteins in MPP⁺-treated SH-SY5Y cells [J]. Tianjin Yi Yao, 2023, 51:449-454. [王飞, 张小蕾, 李含章, 李亚楠, 胡梦妮, 马骏. 抑制 PI3K/Akt/mTOR 信号通路对 MPP⁺ 处理的 SH-SY5Y 细胞自噬、凋亡及 PD 特征蛋白表达的影响[J]. 天津医药, 2023, 51:449-454.]
- [30] Li J, Chen B. The role of dopamine in Parkinson's disease-related pain and research progress [J]. Zhonghua Lao Nian Yi Xue Za Zhi, 2024, 43:759-763. [李俊, 陈彪. 多巴胺在帕金森病相关性疼痛中的地位及研究进展[J]. 中华老年医学杂志, 2024, 43:759-763.]
- [31] Wood PB. Role of central dopamine in pain and analgesia [J]. Expert Rev Neurother, 2008, 8:781-797.
- [32] Yang S, Boudier-Revéret M, Choo YJ, Chang MC. Association

- between chronic pain and alterations in the mesolimbic dopaminergic system[J]. Brain Sci, 2020, 10:701.
- [33] Yang S, Chang MC. Chronic pain: structural and functional changes in brain structures and associated negative affective states[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20:3130.
- [34] Lu JS, Chen QY, Chen X, Li XH, Zhou Z, Liu Q, Lin Y, Zhou M, Xu PY, Zhuo M. Cellular and synaptic mechanisms for Parkinson's disease-related chronic pain[J]. Mol Pain, 2021, 17:1-11.
- [35] Wang XY, Zhang YY, Gao Q, Zhang LM. The neural mechanism and treatment progress of pain of Parkinson's disease[J]. Zhonghua Lao Nian Xin Nao Xue Guan Bing Za Zhi, 2022, 24:105-107.[王肖莹, 张颖颖, 高晴, 张丽梅. 帕金森病疼痛的神经机制和治疗进展[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2022, 24:105-107.]
- [36] Zhang XN, Chen ZG, Chen L, Kang SH. Effect of Bushen Yisui Formula (补肾益髓方) on the expression of NLRP3 inflammasome activation-related protein in the brain tissue in Parkinson's disease model mice[J]. Zhong Yi Za Zhi, 2023, 64: 71-76.[张新宁, 陈志刚, 陈路, 康盛华. 补肾益髓方对帕金森病模型小鼠脑组织 NLRP3 炎症小体激活相关蛋白表达的影响[J]. 中医杂志, 2023, 64:71-76.]
- (收稿日期: 2024-07-03)
(本文编辑: 彭一帆)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《中国现代神经疾病杂志》编辑部关于稿件参考文献的要求

《中国现代神经疾病杂志》编辑部对来稿的参考文献一律按照 GB/T 7714-2005《文后参考文献著录规则》采用顺序编码制著录, 依照其在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字加方括号标出。尽量避免引用摘要作为参考文献。内部刊物、未发表资料、个人通信等请勿作为文献引用。每条参考文献著录项目应齐全, 不得用“同上”或“ibid”表示。参考文献中的主要责任者(专著作者、论文集主编、学位申报人、专利申请人、报告撰写人、期刊文章作者、析出文章作者)均全部列出。外文期刊名称用缩写, 以 *Index Medicus* 中的格式为准, 中文期刊用全名。每条参考文献均须著录起止页码。中英文双语形式著录时, 文献序号后先列出完整的中文文献英译文, 再列出中文文献。作者姓名的英译文采用汉语拼音形式表示, 姓大写, 名用缩写形式, 取每个字的首字母, 大写。期刊名称以汉语拼音注录。

(1) 期刊著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志/文献载体标志]. 刊名, 年, 卷: 起页-止页.

举例: [1] Gao S. Ten-year advance of transcranial Doppler ultrasonography[J]. Zhongguo Xian Dai Shen Jing Ji Bing Za Zhi, 2010, 10:127-136.[高山. 经颅多普勒超声十年进展[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2010, 10:127-136.]

(2) 著作或编著著录格式: 主要责任者. 题名: 其他题名信息[文献类型标志/文献载体标志]. 其他责任者(例如翻译者). 版本项(第 1 版不著录). 出版地: 出版者, 出版年: 引文起页-止页.

举例: [2] Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK. WHO classification of tumours of the central nervous system[M]. 4th ed. Li Q, Xu QZ, Trans. Beijing: Editorial Office of Chinese Journal of Diagnostic Pathology, 2011: 249-252.[Louis DN, Ohgaki H, Wiestler OD, Cavenee WK. 中枢神经系统肿瘤 WHO 分类[M]. 4 版. 李青, 徐庆中, 译. 北京: 诊断病理学杂志社, 2011: 249-252.]

(3) 析出文献著录格式: 析出文献主要责任者. 析出文献题名[文献类型标志/文献载体标志]//专著主要责任者. 专著题名: 其他题名信息. 版本项(第 1 版不著录). 出版地: 出版者, 出版年: 析出文献起页-止页.

举例: [3] 吕传真. 肌肉疾病[M]//史玉泉. 实用神经病学. 3 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1994: 564-576.

(4) 电子文献著录格式: 必须于题名后著录[文献类型标志/文献载体标志], 一般同时于起页-止页后著录[引用日期]以及获取和访问路径.

举例: [4] Aboud S. Quality improvement initiative in nursing homes: the ANA acts in an advisory role[J/OL]. Am J Nurs, 2002, 102(6):23[2002-08-12]. <http://www.nursingword.org/AJN/2002/june/Wawatch.htm>.

[5] Foley KM, Gelband H. Improving palliative care for cancer[M/OL]. Washington: National Academy Press, 2001 [2002-07-09]. <http://www.nap.edu/books/0309074029/html>.

(5) 会议文献著录格式: 主要责任者. 题名: 其他题名信息[文献类型标志/文献载体标志], 会议地点, 年份. 出版地: 出版者, 出版年: 引文起页-止页.

举例: [6] 中国科技期刊编辑学会医学分会, 中华医学会杂志社. 第一届全国医药卫生期刊管理和学术研讨会资料汇编[C], 北戴河, 2002. 北京: 中国科技期刊编辑学会医学分会, 2002.