

参归益智方联合丁苯酞对阿尔茨海默病患者 血管内皮功能影响的临床研究

张会凯¹, 刘亚敏², 张 江¹

(1. 河北省新乐市中医医院, 河北新乐 050700; 2. 武警后勤学院附属医院, 天津 300162)

摘要: **目的** 观察参归益智方联合丁苯酞软胶囊对阿尔茨海默病(AD)患者血管内皮生长因子(VEGF)、一氧化氮(NO)、内皮素(ET-1)、肿瘤坏死因子(TNF- α)、白介素-1(IL-1)水平的影响,探讨其对 AD 患者的治疗作用和机制。**方法** 100 例 AD 患者随机分为对照组 50 例,给予丁苯酞软胶囊口服;研究组 50 例,给予参归益智方和丁苯酞软胶囊口服。治疗前、治疗 3 月、6 月后,比较 2 组患者血浆 VEGF、NO、ET-1、TNF- α 、IL-1 表达水平差异,及简易精神状态量表(MMSE)评分变化。**结果** 治疗前,2 组患者血浆 VEGF、NO、ET-1、TNF- α 、IL-1 水平及 MMSE 量表评分比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗 3 月、6 月后与对照组比较,研究组血浆 VEGF、NO 表达水平明显升高($P<0.05$),血浆 ET-1、TNF- α 、IL-1 表达水平明显下降($P<0.05$);研究组 MMSE 量表评分明显升高($P<0.05$),MMSE 评分改善率明显高于对照组($P<0.05$)。**结论** 参归益智方联合丁苯酞能明显提高 AD 患者血管内皮功能,明显提高认知记忆能力。

关键词: 参归益智方; 阿尔茨海默病; 血管内皮功能

中图分类号: R285.6

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2014)04-0059-03

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)是一种起病隐匿、进行性发展的神经系统变性疾病,临床主要以进行性记忆力减退、认知障碍、人格改变及行为异常为主要症状。患者大脑弥漫性萎缩,尤以颞叶、顶叶和前额叶明显,第三脑室及侧脑室明显增大,海马明显萎缩,并且这种改变随着年龄的增加和疾病的加重呈逐渐严重的趋势^[1]。本研究从血管内皮功能在 AD 中的作用作为切入点,观察参归益智方对阿尔茨海默病患者的治疗作用,探讨 AD 发病机理及参归益智方对 AD 的治疗作用机制。

1 资料与方法

2012 年 5 月至 2013 年 8 月我院门诊就诊的 AD 患者 100 例。按随机数字表法分为研究组 50 例,男 24 例,女 26 例;年龄 56~87(66.0 $\pm$ 8.5)岁;身高(168.06 $\pm$ 7.83)cm,体质量(72.04 $\pm$ 6.38)kg。对照组 50 例,男 29 例,女 21 例;年龄 59~87(68.1 $\pm$ 8.3)岁;身高(165.80 $\pm$ 9.62)cm,体质量(71.65 $\pm$ 5.95)kg。2 组性别构成、年龄、身高、体质量比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

入选标准:①MMSE 量表评分 8~20 分;②日常生活活动能力(ADL)量表评分<60 分;③年龄 $\geq$ 55

岁;④头颅 CT 或 MRI 显示颞叶明显萎缩,海马结构变小,脑室系统扩大,皮质萎缩或白质病灶;⑤本研究经我院伦理委员会批准,所有入选对象均签订知情同意书自愿参加。

排除标准:①头颅 CT 或 MRI 等检查血管性痴呆、路易体痴呆及 pick 病;②理化学因素等引起的痴呆;③无脑外伤及其它精神障碍;④近半年内有脑血管意外,严重创伤或重大手术史者;⑤长期酗酒、吸烟者;⑥肝肾功能不全。

中医证候诊断标准:按照《中药新药临床研究指导原则》^[2]中的有关标准,以气血亏虚、肝肾不足的症候表现为诊断依据。症见:心悸乏力、头晕昏沉、失眠多梦、面色苍白、食欲不振、倦怠乏力、动辄气促、神情呆滞、幻听幻想、耳鸣耳聋、腰腿酸软、头发稀少,舌淡,苔薄白,脉细弱。

2 方法及实验用药

研究组给予参归益智方,水煎取汁 400mL 分 2 次温服,1 剂/d;及丁苯酞软胶囊 200mg,口服,3/d。对照组仅服用丁苯酞软胶囊 200mg,3/d。2 组患者入组前均停用其他治疗 AD 药物,并经过 2 周清洗期。药物治疗共进行 6 月。VEGF、TNF- α 、IL-1 采用

收稿日期: 2014-04-29

作者简介: 张会凯(1977-),男,河北正定人,硕士,主治医师,主要从事脑血管病及神经系统变性疾病研究。

双抗体夹心 ABC-ELISA 法测定(试剂盒购自上海西唐生物科技有限公司);NO 采用硝酸还原酶法测定(试剂盒购自上海恒盛生物科技有限公司);ET-1 采用放免法测定(试剂盒购自上海恒远生物科技有限公司)。

3 疗效判定

2 组 AD 患者治疗前、治疗 3 月及 6 月后分别予晨起空腹抽静脉血 10mL,静置数分钟后以 2 000 r/min 离心 15min,将分离后的血清标本收集于 2mLEP 管中,保存于-20℃冰箱,备用。测定血浆 VEGF、NO、ET-1、TNF- α 、IL-1 水平,比较治疗前后其表达水平差异。

2 组 AD 患者治疗前后分别测定 MMSE 量表评分。疗效判定标准:MMSE 量表评分改善率=(治疗后评分-治疗前评分)/治疗前评分 $\times$ 100%,<10%为无效、10%~20%为显效、>20%为有效。比较 2 组治疗前后 MMSE 评分,及 2 组 MMSE 量表评分改善率差异。

4 统计学方法

所有资料均采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,应用 SPSS17.0 软件进行统计学处理。2 组计量资料检测正态后组间比较采用两样本 t 检验,非正态分布采用 Mann-Whitney U 检验。率的比较采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

5 结果

5.1 MMSE 量表评分

治疗前 2 组患者 MMSE 量表评分比较差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗 3 月、6 月后,与对照组比较,研究组患者 MMSE 量表评分均明显升高($P<0.05$),MMSE 量表评分改善率明显高于对照组($P<0.05$)。(见表 1)

表 1 治疗前后 MMSE 量表评分($\bar{x}\pm s$)

组别	治疗时间	MMSE 评分/ (分)	评分改善/(例)		
			显效	有效	无效
对照组 (50 例)	治疗前	11.80 $\pm$ 2.30			
	治疗 3 月	14.26 $\pm$ 2.08	18	17	15
	治疗 6 月	19.36 $\pm$ 2.02	25	15	10
研究组 (50 例)	治疗前	11.26 $\pm$ 2.35*			
	治疗 3 月	16.86 $\pm$ 1.54#	23	21	6
	治疗 6 月	22.08 $\pm$ 2.17*	33	14	3

注:与对照组比较,* $P>0.05$,# $P<0.05$

5.2 血浆 VEGF、NO、ET-1、TNF- α 、IL-1 的表达

治疗前 2 组患者血浆 VEGF、NO、ET-1、TNF- α 、IL-1 表达水平比较差异无统计学意义($P>0.05$)。治疗 3、6 月后与对照组比较,研究组血浆 VEGF、NO 表达明显升高($P<0.05$),ET-1、TNF- α 、IL-1 表达明显降低($P<0.05$)。(见表 2)

表 2 2 组 VEGF、NO、ET-1、TNF- α 、IL-1 比较($\bar{x}\pm s$)

组别	治疗时间	VEGF/(pg/mL)	NO/(umol/L)	ET-1/(ng/L)	TNF- α /(pg/ml)	IL-1/(μ g/L)
对照组(50 例)	治疗前	414.75 $\pm$ 16.92	31.28 $\pm$ 2.51	69.70 $\pm$ 4.33	68.43 $\pm$ 4.74	0.63 $\pm$ 0.10
	治疗 3 月	447.27 $\pm$ 20.05	34.53 $\pm$ 2.97	63.74 $\pm$ 4.15	62.11 $\pm$ 3.85	0.57 $\pm$ 0.88
	治疗 6 月	485.99 $\pm$ 22.17	38.08 $\pm$ 3.41	56.91 $\pm$ 4.33	56.72 $\pm$ 3.91	0.52 $\pm$ 0.08
研究组(50 例)	治疗前	416.54 $\pm$ 17.35*	31.35 $\pm$ 1.90*	69.84 $\pm$ 7.11*	68.04 $\pm$ 6.67*	0.65 $\pm$ 0.10*
	治疗 3 月	480.62 $\pm$ 18.92#	37.43 $\pm$ 2.75#	60.17 $\pm$ 5.36#	57.67 $\pm$ 6.13#	0.53 $\pm$ 0.09#
	治疗 6 月	545.83 $\pm$ 68.31*	43.95 $\pm$ 4.00*	51.58 $\pm$ 6.04*	50.87 $\pm$ 6.26*	0.46 $\pm$ 0.07*

注:与对照组比较,* $P>0.05$;# $P<0.05$

6 讨论

阿尔茨海默病(Alzheimer's disease,AD)是老年人常见的神经系统变性疾病,严重威胁着老年人的健康,早在 25 年前就有国外研究者认为血管内皮功能障碍参与了 AD 的发生和发展^[3],当血管内皮细胞功能发生障碍时,血管收缩和舒张平衡被打破,导致内皮细胞渗透性增加、血小板聚集、白细胞粘连、炎性因子生成,缺血缺氧最终发展为阿

尔茨海默病^[4]。

本研究显示,经过治疗后 AD 患者血浆 VEGF、NO 表达水平升高,ET-1 降低,血管内皮功能得到明显改善,脑缺血得到不同程度改善,随着治疗时间延长 MMSE 评分也较前升高,记忆认知障碍得到明显提升。研究发现,长期脑供血不足使脑组织缺乏葡萄糖和氧气,高尔基体受损,ATP 合成减少,异常 APP 翻译加工,生成大量的具有神经毒性的 A β ,

促进和加速老年斑的形成,使记忆力受损^[5]。研究中还发现,治疗前2组患者TNF- α 、IL-1比较差异无统计学意义,经过3月、6月治疗后,研究组TNF- α 、IL-1明显下降,并且随着治疗时间延长,下降越明显,呈现出与时间的正相关性。长期慢性缺血缺氧导致TNF- α 、IL-1等大量炎症因子产生,P38MAPK被磷酸化,移位入核作用到相应的目标,激活下游多种转录调节因子,调节基因转录,诱导Bax转位,介导caspase-3活化,上调TNF- α 的表达,促使细胞凋亡^[6]。另外,磷酸活化的P38MAPK进一步使IL-1、TNF- α 等炎症因子活化,直接损伤神经元,而炎症因子反过来又强烈激活P38MAPK通路,形成一个逐渐增强的炎症正反馈途径,导致突触减少、神经元缺损、诱导海马神经元的凋亡,最终导致记忆及认知功能障碍^[7]。

现已发现,大脑中VEGF容易与A β 相互聚集,沉积在淀粉样蛋白斑处并缓慢释放,导致大脑在脑血流不足的情况下无法产生足够VEGF,从而导致AD病理过程中的神经退行性病变以及血管功能异常^[8]。VEGF的持续表达能促进缺血区血管的生成,在体外培养细胞的实验中,加入VEGF可以使去血清培养的脑神经细胞存活的数目增多^[9]。丁苯酞是治疗脑缺血的国家一类新药,能改善脑部微循环、脑部能量代谢,对抗炎症反应,通过VEGF诱导、促进缺血区血管生成,加速微血管周围组织对A β 等有毒物质的清除,抑制炎症因子和自由基的产生,从而抑制P38MAPK被磷酸化激活,减少炎症因子的产生^[10]。实验中,对照组经过治疗后,血管内皮功能得到不同程度改善,炎症因子表达水平也明显下降,但研究组中血管内皮功能改善更明显、显著,TNF- α 、IL-1等炎症因子表达水平下降更明显,表明联合用药更能较好的治疗AD,改善记忆认知障碍。

参归益智方由人参10g,当归12g,何首乌30g,黄芪30g,丹参10g,川芎12g,赤芍10g,水蛭10g,熟地30g,菟丝子30g,半夏12g,茯苓30g,炙甘草6g组成。其中,人参大补元气、安神益智,有“百草药王”的美称;当归甘补辛行,温通质润,专能补血,入心肝脾经;何首乌入肝肾二经,甘温微涩,补益精血,收敛精气,为须发早白,早衰要药。三药配伍,补益气血,填精益髓,健脑益智,共为君药。配合其他补气、活血、燥湿化痰之品,共奏补肾健脑,益气活血,化痰开窍的功效。参归益智方能改善脑循环,改

善脑组织和海马组织的微循环,加速微血管周围组织结构对A β 等毒性物质的清除,使VEGF的表达明显增加,诱导和促进缺血区新血管生成,减轻A β 的神经毒性,抑制炎症因子和自由基的产生,使细胞内NF- κ B及P38MAPK的活性降低,降低Caspase-3的表达,抑制神经元凋亡等。

总之,本研究从血管内皮功能在AD中的作用作为切入点,发现长期联合应用参归益智方和丁苯酞软胶囊,可以更有效地改善血管内皮功能,降低炎症因子表达,从而可以更好地改善AD患者记忆认知障碍,值得临床推广应用,是否还有其他治疗机制尚需进一步实验和研究。

参考文献:

- [1] Liu XP,Zheng HY,Qu M,et al.Upregulation of astrocytes protein phosphatase-2A stimulates astrocytes migration via inhibiting p38 MAPK in tg2576 mice[J]. *Glia*,2012,60(9):1279-1288.
- [2] 郑筱萸. 中医新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002:356.
- [3] Altman R,Rutledge JC. The vascular contribution to Alzheimer's disease [J]. *Clin Sci (Lond)*,2010,119(10):407-421.
- [4] Ponnambalam S,Alberghina M. Evolution of the VEGF-regulated vascular network from a neural guidance system[J]. *Mol Neurobiol*,2011,43(3):192-206.
- [5] Medeiros R,Prediger RS,Passos GF,et al. Connecting TNF- α signaling pathways to iNOS expression in a mouse model of Alzheimer's disease:relevance for the behavioral and synaptic deficits induce by amyloid beta protein [J]. *J Neurosci*,2007,27(20):5394-5404.
- [6] 张会凯,张晓伟,生晓娜. 丁苯酞对阿尔茨海默病大鼠VEGF、P38 MAPK表达的影响 [J]. *中国医师杂志*,2013,15(9):1158-1161.
- [7] Sanchez A,Tripathy D,Yin X,et al. p38 MAPK: a mediator of hypoxia-induced cerebrovascular inflammation [J]. *J Alzheimers*,2012,32(3):587-597.
- [8] 张桂莲,姚丽,杜赞. p38MAPK在A β 25-35诱导AD大鼠海马CA1区表达的研究[J]. *南方医科大学学报*,2008,28(7):1176-1179.
- [9] 宋锦秋,陈小春,张静,等. 人参皂苷Rb1通过JNK/p38MAPK途径减轻A β 25-35诱导的胎鼠皮层神经元tau蛋白过度磷酸化[J]. *药学报*,2008,43(1):29-34.
- [10] 侯德仁,田怡,周军. 丁苯酞对阿尔茨海默病模型大鼠P38及ERK表达的影响及意义[J]. *南方医科大学学报*,2009,29(8):1592-1595.

(编辑:徐建平)