

# 补肾活血方对帕金森病大鼠多巴胺能神经元的保护作用及机制

陈松盛, 李琛, 杨颖, 胡春婷, 何娅\*

(西安交通大学第二附属医院, 西安 710004)

**[摘要]** **目的:**观察补肾活血方对 6-羟基多巴胺(6-OHDA)所致帕金森病大鼠黑质多巴胺(DA)能神经元的保护作用。**方法:**每只雄性 SD 大鼠黑质内 1 次性注射 6-OHDA 4  $\mu\text{L}$ (含 9.0  $\mu\text{g}$  6-OHDA 和 8.8  $\mu\text{g}$  抗坏血酸)制作帕金森病(PD)大鼠模型。分别以不同药物灌胃 15 d 的方式进行治疗。分为正常对照组(生理盐水 90  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ),模型组(生理盐水 90  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )、西药美多巴治疗组(美多巴 20  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ )、补肾活血方高、中、低(15, 10, 5  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ )6 组,通过行为学检测、免疫组化法测定黑质酪氨酸羟化酶(TH)、黑质中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px),观察补肾活血方对 DA 能神经元的保护作用。**结果:**①模型组引起典型的右侧旋转,补肾活血方高剂量组和美多巴组与模型组相比旋转圈数减少有显著性差异( $P < 0.05$ )。②美多巴组及补肾活血方高剂量组与模型组比较,黑质 SOD 活性增高( $P < 0.05$ ),GSH-Px 活性也增高( $P < 0.01$ ),而 MDA 含量降低( $P < 0.01$ )。③TH 免疫组化结果表明,与正常组比较 PD 模型组神经元数量明显减少( $P < 0.01$ ),甚至消失,神经元胞体萎缩,突起不清晰。补肾活血方高剂量组及美多巴组大鼠黑质 TH 阳性神经元数量较多,胞体较大,突起明显。**结论:**补肾活血方对 6-OHDA 所致帕金森病大鼠黑质 DA 能神经元损伤具有保护作用,其作用机制可能是通过抗氧化应激及提高黑质酪氨酸羟化酶水平实现的。

**[关键词]** 补肾活血方;多巴胺能神经元;酪氨酸羟化酶;超氧化物歧化酶;丙二醛;谷胱甘肽过氧化物酶

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)21-0175-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2014210175

## Protective Effects and Mechanism of Bushen Houxue Fang on Parkinson's Disease Rat Dopaminergic Neurons

CHEN Song-sheng, LI Chen, YANG Ying, HU Chun-ting, HE Ya\*

(The Second Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, China)

**[Abstract]** **Objective:** Observe the protective effects of Bushen Houxue fang (BSHXF) on 6-hydroxydopamine (6-OHDA) type of Parkinson's disease in substantia nigra of injection of 6-OHD rat dopaminergic neurons. **Method:** Substantia nigra once injection of 4  $\mu\text{L}$  6-OHDA to model the Parkinson's disease rat, and divide those models into 6 different groups: normal control (0.9% NaCl) model (0.9% NaCl), madopar comparison (20  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$  madopar), high (15  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$  BSHXF), mid (10  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) and low (5  $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) dosage of BSHXF. Each group intragastric administration one time every day for 15 days. Using ethology detection, immunohistochemistry to determine substantia nigra tyrosine hydroxylase, SOD, MDA and GSH-Px, then observe the protective effects of Bushen Houxue fang on DA neurons. **Result:** ①Group model rotates clockwise ( $11.27 \pm 1.68$ ) lap/min, there is significant difference ( $P < 0.05$ ) among High dosage of BSHXF group ( $6.35 \pm 1.49$  lap/min, madobar group ( $5.76 \pm 1.23$ ) lap/min and model group. ②Madobar and high dosage group compare to

**[收稿日期]** 20140813(010)

**[基金项目]** 2011 年陕西省中医管理局项目(2011JC-36)

**[第一作者]** 陈松盛, 硕士, 主治医师, 从事帕金森病的临床及实验研究, Tel:13609295719 Email:sschen0628@hotmail.com

**[通讯作者]** \*何娅, 硕士, 副主任医师, 从事老年脑血管病、帕金森病、痴呆等的临床及实验研究, Tel:13991125679 Email:Hesu2011@sina.com

model group have increasing activity of substantia nigra ( $P < 0.05$ ), as well as GSH-Px ( $P < 0.01$ ). Meanwhile, high dosage of BSHXF and madobar have similar increase in SOD, GSH-Px and decrease in MDA. ③ TH immunohistochemistry result shows BSHXF high dosage and madobar group rat substantia nigra TH have large number of positive neuron, large soma size, significant outgrowth, the comparison of the two groups shows no statistical difference. PD model group has significant decrease in the number of neuron ( $P < 0.01$ ), even disappearing, neuron soma atrophy, little outgrowth. **Conclusion:** There are protective effects of BSHXF on 6-OHDA type of Parkinson's disease in substantia nigra of rat dopaminergic neurons, its effect mechanism could achieved through anti-oxidative stress and increase level of tyrosine hydroxylase in substantia nigra.

[**Key words**] Bushen Houxue fang; dopaminergic neuron; tyrosine hydroxylase; superoxide dismutase; malondialdehyde; glutathione peroxidase

帕金森病(Parkinson disease, PD)又称震颤麻痹,是多发于中老年的一种渐进性中枢神经系统变性疾病。其病变主要位于黑质和纹状体的多巴胺通路上,病理改变为选择性中脑黑质多巴胺(dopamine, DA)能神经元进行性丢失<sup>[1]</sup>。正常情况下,黑质中的多巴胺能神经元利用酪氨酸羟化酶将左旋酪氨酸转化为左旋多巴,再经过脱羧酶的作用转化为多巴胺。作为神经递质的多巴胺经黑质-纹状体束转运至纹状体的尾状核和壳核细胞,传递信号。多巴胺的缺乏导致锥体外系功能失调,从而出现静止性震颤、肌强直、运动减少及平衡障碍等临床表现。

PD的药物治疗一直以复方左旋多巴替代为主,然而该疗法虽能在短时间内改善运动症状,但不能控制病程的进展。同时,还存在着随服药时间延长药效递减的问题,出现运动波动(开关现象、剂末现象)、异动症及精神障碍等不良反应,使患者难以耐受<sup>[2]</sup>。近30年来,PD新的治疗手段不断在探索,相继出现了抗自由基治疗、神经保护治疗、多巴胺受体激动剂治疗、苍白球损毁术、脑深部电刺激手术等,但效果均不令人满意。中药在治疗PD方面有一定优势,具有“减毒增效”的作用。补肾活血方治疗PD已在临床上取得较为满意的疗效,为此我们对该方对帕金森病大鼠多巴胺能神经元的保护作用及机制进行了进一步的实验研究。

## 1 材料

**1.1 动物** 雄性SD大鼠,SPF级,体重200~250g,由西安交通大学医学院实验动物中心提供,合格证号SCXK(陕)2012-003,相同条件下喂养。

**1.2 药品与试剂** 中药补肾活血方(制何首乌30g,益智仁12g,黄精15g,熟地黄15g,银杏叶20g,地龙15g,丹参30g,郁金12g,川芎15g,山楂12g),购自西安交通大学第二附属医院中草药房。煎

煮、浓缩方法:取6倍量水浸泡0.5h,煎煮1h,滤出,滤渣再加5倍量水,煎煮1h,合并两次滤液,浓缩成生药1.5,1.0,0.5g·mL<sup>-1</sup>的中药提取液。西药美多巴片(上海罗氏制药有限公司生产,批号SH1959)用生理盐水配制成2g·L<sup>-1</sup>的水溶液。阿扑吗啡(APO),6-羟基多巴胺(6-OHDA),均购自美国Sigma公司。超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)检测试剂盒(均购自南京建成生物工程研究所批号20131123)。其余试剂为国产分析纯。

**1.3 仪器** ZH-蓝星B型脑立体定位仪(中国淮北正华生物仪器设备有限公司),5418R小型台式冷冻离心机(德国艾本德有限公司),ND-1000分光光度仪(美国NanoDrop公司),DK-98-1型电热恒温水浴锅(天津市泰斯特仪器有限公司),轮转820型切片仪(美国AO公司),CX22型光学显微镜(日本Olympus),GZX-9070MBE型包埋箱(上海博讯实业有限公司医疗设备厂)。

## 2 方法

**2.1 动物分组** 将造模成功的40只PD大鼠随机分为5组:模型组、美多巴组、补肾活血方高、中、低剂量组,每组各8只。同时设正常对照组大鼠8只,总共6组。正常对照组及模型组予生理盐水灌胃,10mL·kg<sup>-1</sup>;美多巴组予美多巴水溶液灌胃,补肾活血方低、中、高剂量组予不同浓度的补肾活血方灌胃,均为10mL·kg<sup>-1</sup>,1次/d,共15d。

**2.2 6-OHDA部分损毁PD大鼠动物模型的建立**<sup>[3]</sup>

大鼠术前12h禁食,用10%水合氯醛ip(3mL·kg<sup>-1</sup>)麻醉后,将大鼠固定于脑立体定位仪上,头部去毛,常规消毒,沿正中中线切开大鼠颅顶皮肤,剥离骨膜,暴露前囟。以前囟为准,根据包新民<sup>[4]</sup>等著大鼠脑立体定位图谱,定位坐标为:上门齿沟平面比耳间平面低2.4mm,使大鼠前后囟在同一平

面,确定右侧黑质二坐标(第1点坐标:前囟后5.2 mm,正中右侧1.0 mm,硬膜下9.0 mm。第2点坐标:前囟后5.2 mm,正中右侧2.5 mm,硬膜下8.5 mm),标记后用颅骨钻钻开颅骨,微量注射器吸取6-OHDA溶液4  $\mu\text{L}$ (含9.0  $\mu\text{g}$  6-OHDA和8.8  $\mu\text{g}$  抗坏血酸),将微量注射器针头沿颅骨钻孔插入,进针深度为颅骨表面下9.0 mm,缓慢推注,速度为1  $\mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$ ,注射后留针5 min,然后以1.0  $\text{mm}\cdot\text{min}^{-1}$ 速度缓慢退出针头,用牙托粉封闭颅骨孔,缝合头部皮肤。术后ip青霉素3万 $\text{U}\cdot\text{d}^{-1}$ 抗感染3 d。

**2.3 行为学检测** 造模后第14天进行行为学检测。大鼠腹腔注射0.01%阿扑吗啡(APO)0.5  $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ,注射10 min后开始记录,共记录30 min。如大鼠旋转时以健侧前肢或后肢为支点,呈现身体环曲、首尾相接的原地旋转、伴觅食样动作,旋转360度为1圈,记录开始旋转至30 min内的旋转圈数。

**2.4 黑质SOD, GSH-Px, MDA测定** 造模后第15 d每组取5只大鼠于麻醉后断头取脑,在冰盘上迅速分离出右侧黑质,电子天平称其湿重,用组织匀浆器制成100  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 的组织匀浆,然后置于低温离心机将匀浆以3 500  $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,取匀浆上清液用作各项检测。测定SOD, GSH-Px, MDA的含量(按试剂盒说明书执行)。组织蛋白含量按双缩脲法进行检测。

**2.5 黑质酪氨酸羟化酶免疫组化检测** 造模后第15天每组取3只大鼠行黑质酪氨酸羟化酶免疫组化检测,即10%水合氯醛深度ip麻醉,开胸经主动脉先以0.01  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的PBS缓冲液250 mL冲洗血液,再用含40  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ 多聚甲醛的0.1  $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的磷酸缓冲液(PBS, pH 7.2) 300 mL先快后慢灌注固定;灌毕取脑,放置4%的多聚甲醛中固定,石蜡包埋,冠状面制备石蜡切片,片厚7  $\mu\text{m}$ 。免疫组织化学染色步骤如下:石蜡切片经脱蜡、梯度脱水后,3%  $\text{H}_2\text{O}_2$ 室温孵育15 min,微波修复抗原,10%山羊血清封闭10 min,倾去血清,加一抗(小鼠抗大鼠TH, 1 B 3000) 4  $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜,加二抗(生物素化兔抗小鼠1 B 500),37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育30 min,滴加辣根过氧化物酶标记的链霉卵白素稀释液,室温孵育30 min, DBA显色,苏木素复染,脱水、透明,中性胶封片。每只大鼠黑质取头端、中部、尾端切片3张,取大脑脚中点上方区域在100 $\times$ 光镜下计数3个视野TH免疫反应阳性神经元个数,取平均数。

**2.6 统计学分析** 计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,用SPSS

13.0统计软件对实验数据进行分析,各组间比较采用单因素方差分析检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 对行为学指标的作用** 各组大鼠腹腔注射APO后10 min左右,都出现不同程度的旋转动作,持续约30 min逐渐恢复平静。模型组引起典型的右侧旋转,中药高剂量组和美多巴组与模型组相比有显著性差异( $P<0.05$ ),中药低、中剂量组与模型组比较差异无统计学意义(表1)。

表1 补肾活血方对阿扑吗啡(APO)诱导的大鼠旋转次数的影响

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	旋转数/圈/min
正常对照	-	1.56 $\pm$ 0.23
模型	-	11.27 $\pm$ 1.68
美多巴	20	5.76 $\pm$ 1.32 <sup>1)</sup>
补肾活血方	15 $\times$ 10 <sup>3</sup>	6.35 $\pm$ 1.49 <sup>1)</sup>
	10 $\times$ 10 <sup>3</sup>	7.95 $\pm$ 1.47
	5 $\times$ 10 <sup>3</sup>	8.73 $\pm$ 1.22

注:与模型组比较<sup>1)</sup> $P<0.05$ ,<sup>2)</sup> $P<0.01$ (表2~3同)。

**3.2 氧化应激指标的检测** 美多巴组及补肾活血方高剂量组较模型组黑质SOD活性增高( $P<0.05$ ),GSH-Px活性也增高( $P<0.01$ ),而MDA活性降低( $P<0.01$ ),补肾活血方中、低剂量组较模型组黑质SOD, GSH-Px, MDA差异无统计学意义,并且补肾活血方高剂量组黑质SOD, GSH-Px增高及MDA降低的程度与美多巴组相当。见表2。

表2 补肾活血方对大鼠黑质MDA, SOD, GSH-Px的影响( $\bar{x}\pm s, n=5$ )

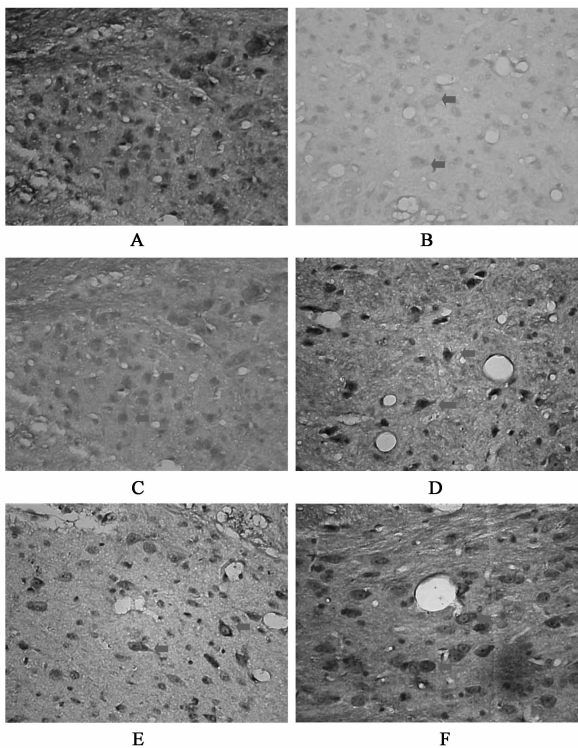
组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	MDA/ $\mu\text{mol}\cdot\text{g}^{-1}$	SOD/ $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$	GSH-Px/ $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$
正常对照	-	1.75 $\pm$ 0.12	94.18 $\pm$ 4.23	76.12 $\pm$ 1.65
模型	-	6.47 $\pm$ 0.28	36.24 $\pm$ 4.06	31.57 $\pm$ 2.25
美多巴	20	4.83 $\pm$ 0.15 <sup>2)</sup>	58.76 $\pm$ 3.78 <sup>1)</sup>	45.62 $\pm$ 2.04 <sup>2)</sup>
补肾活血方	15 $\times$ 10 <sup>3</sup>	5.18 $\pm$ 0.32 <sup>2)</sup>	53.41 $\pm$ 3.04 <sup>1)</sup>	42.43 $\pm$ 2.56 <sup>2)</sup>
	10 $\times$ 10 <sup>3</sup>	6.02 $\pm$ 0.24	49.62 $\pm$ 3.25	36.85 $\pm$ 2.17
	5 $\times$ 10 <sup>3</sup>	6.21 $\pm$ 0.35	45.17 $\pm$ 4.28	34.29 $\pm$ 1.98

**3.3 各组大鼠黑质TH染色阳性细胞数比较** 损毁对侧黑质TH阳性细胞密集,形态正常,各组之间TH阳性细胞数无明显差别。美多巴组、补肾活血方高、中、低剂量组损毁侧均较模型组损毁侧黑质TH阳性细胞数增加( $P<0.05$ ),同时美多巴组及补肾活血方高剂量组TH阳性细胞数较中、低剂量

组多 ( $P < 0.05$ ), 美多巴组与中药高剂量组相比差异无统计学意义 (表 3, 图 1)。

表 3 各组大鼠 TH 阳性细胞数比较 ( $\bar{x} \pm s, n = 5$ )

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	TH 阳性细胞数/个
正常	-	$87.14 \pm 5.62$
模型	-	$36.22 \pm 5.37$
美多巴	20	$50.17 \pm 5.87^{1)}$
补肾活血方	$15 \times 10^3$	$48.64 \pm 5.21^{1)}$
	$10 \times 10^3$	$40.57 \pm 4.85$
	$5 \times 10^3$	$41.29 \pm 5.06$



A. 正常组; B. 模型组; C. 美多巴  $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$  组;  
D. 补肾活血方  $5 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组;

E. 补肾活血方  $10 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组; F. 补肾活血方  $15 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$  组

图 1 黑质 TH 阳性细胞 (箭头所示)  
在各组中的表达 (HE,  $\times 100$ )

#### 4 讨论

PD 起病隐袭, 发病率随年龄增长而上升, 在 65 岁以上的老年人口中约为 1%, 目前我国 PD 患者总人数已超过 200 万, 严重威胁着中老年人的身体健康, 并给家庭、社会带来沉重负担<sup>[5]</sup>。病因尚不清楚。国内外研究表明, PD 患者黑质 DA 能神经元变性与线粒体功能障碍、氧化应激、蛋白质过度表达和聚集、免疫异常、细胞凋亡等一系列事件有关<sup>[6]</sup>。氧化应激在 PD 发生发展中起着重要作用<sup>[7-8]</sup>。

正常情况下, 机体通过酶系统或非酶系统反应不断地产生自由基, 机体的自由基生成和清除系统保持平衡。当体内氧化过剩和 (或) 抗氧化机制功能不足时, 细胞处于氧化应激状态。而脑组织极易受到氧化应激反应带来的损害。已有的研究表明, 氧化应激在 PD 患者多巴胺能神经元的损害过程中扮演着重要的角色<sup>[9]</sup>。Sanchez- Ig lesias 等<sup>[10]</sup>利用 6-OHDA 注入到大鼠右侧纹状体后发现, 在同侧纹状体和中脑腹侧脂质过氧化和蛋白质氧化指数立即增高, 因此认为氧化应激在神经元变性过程中可能是一个启动因素<sup>[11]</sup>。

GSH-Px 和 SOD 是体内最主要的自由基清除物质, 能减轻神经元损伤。MDA 作为氧自由基与生物膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应的代谢产物, 其含量变化间接地反映了组织中氧自由基含量的变化和脂质过氧化的程度<sup>[12]</sup>。本研究发现补肾活血方高剂量组及美多巴组氧化应激指标与模型组比较, 黑质 SOD, GSH-Px 活性升高, MDA 含量下降。提示补肾活血方高剂量组抗自由基损伤作用与美多巴组相近。推测补肾活血方治疗 PD 有可能是通过改善氧化应激实现的。

另一方面, 酪氨酸羟化酶 (TH) 是 DA 合成的限速酶, 而且是 DA 能神经元的特有酶, TH 染色阳性标志细胞存活, TH 阳性神经元数可直观反映脑内 DA 含量<sup>[13]</sup>。研究发现, PD 动物模型和患者体内 TH 从基因表达达到酶蛋白含量及酶的活性都有广泛的异常改变<sup>[14]</sup>。6-OHDA 损毁 DA 能神经元的严重程度与 TH 阳性细胞被破坏的程度密切相关<sup>[15]</sup>。因此, TH 阳性细胞表达的多少不仅体现 DA 能神经元被破坏的程度, 同时可用来判定 PD 的治疗效果。本研究表明, 应用补肾活血方及美多巴干预后 PD 大鼠黑质损毁侧 TH 阳性细胞表达均较模型组损毁侧显著增加, 说明补肾活血方对 6-OHDA 诱导的 PD 模型大鼠黑质 DA 能神经元具有保护作用。且补肾活血方高剂量组与西药美多巴组治疗 PD 效果相近, 提示临床上可以将二者联合应用, 能够减少美多巴用量及副作用, 增强疗效。

帕金森病属于中医“震颤、振掉、肝风、颤振”等范畴, 传统医学认为其病因与风、寒、痰、瘀、火等有关。中西医结合大家张锡纯在《医学衷中参西录》说:“人之脑髓空者……知觉运动俱废, 因脑髓之质, 原为神经之本源也。”指出肢体运动功能障碍与脑精髓衰少有关。PD 多发于中老年人, 起病隐袭, 病程缠绵, 符合中医“久病多虚, 久病多瘀”、“久病

入络”的观点。笔者经过多年临床实践认为,PD 病位在脑,基本病机为肾精亏虚,脑髓受损,瘀血阻络。肾虚为本,血瘀为标。肾虚与血瘀的病理状态贯穿于 PD 的发生、发展全过程。从而提出补肾活血治疗本病,并据此研制成补肾活血方。方以制何首乌、益智仁、熟地黄共为君药,滋补肾精、益智醒脑;银杏叶、川芎、丹参、山楂行气活血、化瘀通络,共为臣药,以助君药补肾益脑,活血通络。佐以黄精补肾健脾,郁金祛痰化浊,地龙利湿通络。诸药合用,共奏滋补肾精、化瘀活血、涤痰通络之功效。现代药理学研究表明,银杏叶、制何首乌、丹参、川芎等药物均具有一定的抗自由基损伤作用。临床应用中观察到补肾活血方可明显改善帕金森病患者的运动症状,同时对于非运动症状如失眠、便秘、多汗、乏力等亦有明显的效果<sup>[16]</sup>。

综上所述,补肾活血方对 6-OHDA 所致帕金森病大鼠黑质 DA 能神经元损伤具有保护作用,其作用机理可能是通过抗氧化应激及提高黑质酪氨酸羟化酶水平实现的。补肾活血方治疗 PD 是否还存在其他方面的作用机制,有待今后进一步研究。

#### [参考文献]

- [ 1 ] Kwon D H, Kim J M, Oh S H, et al. Seven-Tesla magnetic resonance images of the substantia nigra in Parkinson disease[J]. *Ann Neurol*, 2012,71(2):267.
- [ 2 ] 陈生弟,王刚. 帕金森病药物治疗的若干问题[J]. *中华神经科杂志*,2008,41:145.
- [ 3 ] 孙晋浩,杨琳,高英茂,等. 6-羟基多巴不同部位损毁大鼠帕金森病模型的建立及比较 [J]. *中国临床康复*,2001,5(12):46.
- [ 4 ] 包新民,舒思云. 大鼠脑立体定位图谱[M]. 北京:人民卫生出版社,1991:53.
- [ 5 ] Zhang Zhen-Xin, Gustavo C Roman, Zhen Hong, et al. Parkinson's disease in China: prevalence in Beijing, Xian and Shanghai[J]. *Lancet*,2005(365):595.
- [ 6 ] 陈生弟. 帕金森病临床诊治手册[M]. 北京:人民卫生出版社,2008:5.
- [ 7 ] Przedborski S, Ischiropoulos H. Reactive oxygen and nitrogen species: weapons of neuronal destruction in models of Parkinson's disease [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2005, 7 (5/6): 685.
- [ 8 ] Hald A, Lotharius J. Oxidative stress and inflammation in Parkinson's disease: is there a causal link[J]. *Exp Neurol*, 2005, 193(2): 279.
- [ 9 ] Buchmann C, Arlt S, Kontush A, et al. Plasma and CSF markers of oxidative stress are increased in Parkinson's disease and influence by antiparkinsonian medicine[J]. *Neurobiol Dis*,2004(15):160.
- [ 10 ] Maragakis N J, Jackson M, Ganel R, et al. Topiramate protects against motor neuron degeneration in organotypic spinal cord cultures but not in G93A SOD1 transgenic mice[J]. *Neurosci Lett*, 2003, 338(2): 107.
- [ 11 ] Sanchez-Iglesias S, Rey P, Mendez-Alvarez E, et al. Time course of brain oxidative damage caused by intrastriatal administration of 6- hydroxydopamine in a rat model of Parkinson's disease[J]. *Neurochem Res*, 2007, 32(1): 99.
- [ 12 ] 王喜丰,孙圣刚. 托吡酯对多巴胺能神经元保护作用研究[J]. *卒中与神经疾病*,2007,14(6):365.
- [ 13 ] Yuan H, Sarre S, Ebinger G, et al. Histological, behavioural and Neurochemical evaluation of medial forebrain bundle and striatal 6-OHDA Lesions as rat models of Parkinson's disease[J]. *J Neurosci Methods*, 2005,144(1):35.
- [ 14 ] Shiman R, Akino M. Solubilization and Partial Purification of Tyrosine Hydroxylase From Bovine Adrenal Medulla [J]. *Biol Chem*, 1971, 246(5): 1330.
- [ 15 ] 罗恩丽,鲍春龄,王德生. 息风定颤汤对帕金森病模型大鼠多巴胺能神经元保护作用的研究[J]. *中国中医基础医学杂志*,2011,17(5):507.
- [ 16 ] 陈松盛,马巧亚,王锐利,等. 补肾活血方治疗帕金森病的临床研究[J]. *中国医药导报*,2014,11(22):99.

[责任编辑 聂淑琴]