

补肾益智方联合丁苯酞对阿尔茨海默病患者 $A\beta$, GSH-Px, SOD 及 MDA 水平的影响

邱海鹏, 张晓璇, 申兴斌, 王瑞婷, 刑恩鸿*

(承德医学院附属医院, 河北承德 067000)

[摘要] **目的:**探讨补肾益智方联合丁苯酞对阿尔茨海默病患者谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px), β 淀粉样蛋白($A\beta$), 超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)水平的影响。**方法:**74例阿尔茨海默病患者按照随机数字表法分为对照组和治疗组, 各37例。对照组患者给予口服丁苯酞软胶囊, 治疗组患者在对照组治疗的基础上加服补肾益智方进行治疗, 12周为1个疗程。治疗后, 对比分析两组阿尔茨海默病患者简易智能精神状态检查量表(MMSE)评分、日常生活活动力量表(ADL)评分、GSH-Px, $A\beta$, SOD及MDA水平的变化情况。**结果:**治疗后两组患者MMSE和ADL评分较治疗前均得到明显改善($P < 0.05$), 治疗组患者改善的程度优于对照组($P < 0.05$)。治疗后两组患者 $A\beta$ 的水平较治疗前明显降低($P < 0.05$), 治疗组患者降低程度大于对照组($P < 0.05$)。治疗后两组患者SOD和GSH-Px水平较治疗前明显升高($P < 0.05$), 治疗组升高程度大于对照组($P < 0.05$)。治疗后治疗组患者MDA水平明显降低($P < 0.05$), 治疗组明显低于对照组($P < 0.05$)。**结论:**补肾益智方联合丁苯酞可通过改善患者认知功能障碍和机体抗氧化应激的功能, 从而明显提高患者生活自理能力和认知记忆能力, 值得临床进一步推广使用。

[关键词] 补肾益智方; 阿尔茨海默病; 丁苯酞; 谷胱甘肽过氧化物酶; β 淀粉样蛋白; 超氧化物歧化酶; 丙二醛

[中图分类号] R287 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)14-0187-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2016140187

Effect of Bushen Yizhi Decoction Combined with Butylphthalide on GSH-Px, $A\beta$, SOD and MDA Levels in Patients with Alzheimer's Disease

QIU Hai-peng, ZHANG Xiao-xuan, SHEN Xing-bin, WANG Rui-ting, XING En-hong*

(Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Chengde 067000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Bushen Yizhi decoction combined with butylphthalide on glutathione peroxidase (GSH-Px), amyloid β -protein ($A\beta$), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) levels in patients with Alzheimer's disease. **Method:** The 74 patients with Alzheimer's disease were randomly divided into treatment group (37 cases) and control group (37 cases) according to the random number table method. Patients in control group were treated with oral butylphthalide soft capsule, and patients in treatment group also received Bushen Yizhi decoction based on the treatment in control group, with 12 weeks as a course of treatment. After treatment, minimum mental state examination (MMSE) scale scores, activity of daily living (ADL) scale scores, $A\beta$, SOD, GSH-Px and MDA levels were compared and analyzed between two groups of patients with Alzheimer's disease. **Result:** After treatment, the MMSE and ADL scores of both groups were significantly improved ($P < 0.05$), the degree of improvement in treatment group was more obvious ($P < 0.05$). After treatment, the levels of $A\beta$ in both groups were significantly decreased ($P < 0.05$), the extent of the

[收稿日期] 20151108(005)

[基金项目] 承德市科技支撑计划项目(20142043)

[第一作者] 邱海鹏, 主治医师, 从事脑血管病、神经内科重症医学、阿尔茨海默病等临床诊治与研究, Tel: 0314-2279520, E-mail: qiuhaipeng050306@sina.com

[通讯作者] *刑恩鸿, 硕士, 硕士生导师, 副主任医师, 从事免疫相关疾病的发病机制及治疗研究, Tel: 0314-2279460, E-mail: enhongcd1974@sina.com

reduction in the treatment group was more obvious ($P < 0.05$), SOD and GSH-Px levels in both groups were significantly increased after treatment ($P < 0.05$), and the extent of increase in the treatment group was more obvious ($P < 0.05$). The level of MDA in the treatment group was significantly decreased after treatment, and it was lower than that of the control group after treatment ($P < 0.05$). **Conclusion:** Bushen Yizhi decoction combined with butylphthalide can improve the cognition impairment and the function of the body's resistance to oxidative stress, thus significantly improving the self-care ability and their ability of learning and memory for the patients, so it is worthy of further promotion.

[Key words] Bushen Yizhi decoction; Alzheimer's disease; butylphthalide; glutathione peroxidase; amyloid β -protein; superoxide dismutase; malondialdehyde

阿尔茨海默病(AD)是一种主要发生于老年人群的脑神经退行性疾病,又被称为早老性痴呆或老年性痴呆,前者是指患者的发病年龄低于 65 岁,后者则是指患者的年龄在 65 岁以上。该病患者临床主要表现为认知功能障碍、精神和行为异常及日常生活自理能力丧失等症状。据我国流行病学调查,当前我国的 AD 患者约有 1 000 万,发病率与发达国家基本持平,除心血管疾病、癌症和中风之外是最重要的致死病因^[1]。目前研究表明,AD 患者的主要病理学特征是 β -淀粉样蛋白(A β)聚集成老年斑,细胞内 Tau 蛋白异常积聚形成神经元纤维缠结(NFT)和神经元死亡。针对 AD 及发病机制,在早期胆碱能神经元假说,A β 毒性假说和 Tau 蛋白假说等基础上,研究相对较少的炎症假说、胰岛素假说、氧化不平衡假说及基因突变假说也越来越受到关注。临床上关于 AD 治疗的研究较多,其治疗方法主要是针对各种假说的病理机制进行干预^[2-3],如 AD 治疗用药多奈哌齐、加兰他敏等用于增加突触间隙乙酰胆碱含量从而改善患者认知功能,中药制剂如银杏叶提取物、鼠尾扫提取物等对 AD 的临床改善亦具有一定的作用^[4]。补肾益智方基础方来源于六味地黄丸^[5],是由广州中医药大学赖世隆教授依据中医基础理论,总结长期临床经验并结合现代药理学研究成果研制而成^[6-7],后人在其研究基础上根据临床的需要对该方剂进行了相应的加减^[8-9]。

现代动物实验表明,补肾益智方可明显改善 AD 大鼠的多种神经递质,进而缓解其症状^[10-11],但关于其抗氧化应激方面的报道较少,因此本研究探讨应用补肾益智方联合丁苯酞对 AD 患者谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px),A β ,超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)水平的影响,为 AD 治疗提供方法借鉴。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究 74 例研究对象均为 2013

年 7 月—2015 年 9 月被承德医学院附属医院确诊为 AD 的患者。将所选患者随机分为两组,对照组 37 例患者,其中男性 21 例,女性 16 例,年龄 60 ~ 85 岁,平均(68.37 \pm 7.12)岁,病程 2 ~ 12 年,平均(7.24 \pm 3.86)年;治疗组 37 例患者,男 23 例,女 14 例,年龄 61 ~ 88 岁,平均(69.82 \pm 7.26)岁,病程 2 ~ 10 年,平均(7.18 \pm 3.75)年,两组患者治疗过程中,对所用药剂均可耐受,未出现服药中断者及病例脱落现象。两组患者一般资料比较无显著性差异,具有可比性。本研究经医院伦理委员会批准(批准号 20142043),所有患者均签署知情同意书,且患者对研究人员的观察与评价具有良好的依从型。

1.2 诊断标准 西医诊断标准参考《神经病学》^[12]中 AD 临床诊断标准,即①患者神经心理学检查结果显示情节记忆受损;②认知功能受损,且持续时间在 6 个月以上;③简易智力状况检查法(MMSE)量表评分为 6 ~ 20 分;④工作及日常生活能力降低,日常生活能力量表(ADL)量表评分 < 60 分;⑤神经影像学检查结果显示海马体积缩小。

中医诊断标准参照国家标准应用《中医内科常见病诊疗指南·中医证部分》^[13]中的相关辨证标准:①中医辨证属于肝肾亏虚者;②智能减退,表情木讷、呆板,且伴有眩晕耳鸣症状;③耳聋耳鸣、倦怠乏力、行走困难,舌苔薄白,舌淡嫩,脉弱。

1.3 纳入标准 符合诊断标准;年龄 60 ~ 88 岁;头部核磁共振成像(MRI)检查结果显示颞叶萎缩,海马结构变小,脑室系统增大,皮质萎缩。

1.4 排除标准 ①近期曾使用过对本研究有干扰作用药物的患者;②不能遵守本研究相关要求者;③由其他理化因素所诱发的 AD;④患有严重心脏、肝、肾及其他类型严重疾病的患者,如恶性肿瘤、精神疾病等。

1.5 治疗方法 两组患者首先停止使用对本研究有干扰作用的各种药物,建立科学合适饮食结构,如

多吃新鲜水果蔬菜,禁食肥肉等,并在治疗期间保证充足的休息时间,同时进行适当的康复运动。对照组患者口服丁苯酞软胶囊(石药集团恩必普药业有限公司,国药准字 H20050299,100 mg/粒)治疗,200 mg/次, tid, 治疗组患者在口服丁苯酞的同时加服补肾益智方,方剂组成:蛇床子 15 g,人参 12 g,熟地黄 25 g,丹参 10 g,水蛭 10 g,川芎 12 g,枸杞子 15 g,制何首乌 20 g,女贞子 10 g,菖蒲 10 g,远志 10 g,炙甘草 10 g,以上药物均由承德医学院附属医院中药房提供水煎剂,1 剂/天,两次水煎合并至 300 mL,早晚各服药 1 次,3 个月为 1 个疗程。两组患者均不间断治疗 1 个疗程,治疗期间患者对所用药物均可耐受,未出现中途停药及中断治疗者。

1.6 观察指标及测定方法 治疗后,观察分析两组患者 MMSE 评分,ADL 评分, β , SOD, GSH-Px 及 MDA 水平的变化情况。

1.6.1 MMSE 和 ADL 评分的测定 通过 MMSE 和 ADL 量表进行测定。

1.6.2 β 水平的测定 治疗前后,清晨空腹肘静脉取血 10 mL,2 000 r·min⁻¹离心 30 min,抽取上层血清,置于 -40 °C 的冰箱中保存备用。采用 β 试剂盒(北京华科泰生物技术有限公司,批号 20100525)进行测定,具体操作方法严格按照试剂盒说明书进行。

1.6.3 GSH-Px, SOD 及 MDA 水平的测定 GSH-Px, SOD 及 MDA 水平采用酶联免疫试剂盒(南京建成生物有限公司,批号分别为 20100508, 20100508, 20100114),具体操作方法严格按照试剂盒说明书进行。

1.7 疗效评价标准 以治疗后 MMSE 评分的改善率进行 AD 患者疗效的评价,显效:MMSE 评分的改善率为 10% ~ 20%;有效:MMSE 评分的改善率 > 20%;无效:MMSE 评分的改善率 < 10%。

$$\text{MMSE 评分的改善率} = (\text{治疗后评分} - \text{治疗前评分}) / \text{治疗前评分} \times 100\%$$

1.8 统计学方法 采用 SPSS 17.0 统计软件,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间计量数据比较采用 *t* 检验,计数数据处理和分析通过 χ^2 检验法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者疗效比较 治疗 3 个月后,治疗组患者治疗总有效率为 91.89%,明显高于对照组患者的 78.38% ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 两组患者 ADL 及 MMSE 评分比较 治疗后,

表 1 两组 AD 患者疗效的比较

Table 1 Comparison of clinical efficacy between two groups of AD patients

组别	显效/例(%)	有效/例(%)	无效/例(%)	总有效率/%
对照	15(40.54)	14(37.84)	8(21.62)	78.38
治疗	22(59.45)	12(32.43)	3(8.11)	91.89 ¹⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

两组患者的 ADL 量表评分均明显降低 ($P < 0.05$), 治疗组患者该指标的降低幅度更为明显 ($P < 0.05$)。两组患者的 MMSE 量表评分明显升高 ($P < 0.05$), 其中治疗组患者 MMSE 量表评分升高的幅度更为明显 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组患者 ADL 量表及 MMSE 量表评分的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 37$)

Table 2 Comparison of ADL and MMSE scores between two groups of patients ($\bar{x} \pm s, n = 37$)

组别	时间	ADL 量表评分	MMSE 量表评分
对照	治疗前	51.09 ± 3.52	15.27 ± 1.86
	治疗后	43.97 ± 3.26 ¹⁾	18.34 ± 2.02 ¹⁾
治疗	治疗前	50.86 ± 3.32	15.45 ± 3.25
	治疗后	38.95 ± 4.04 ^{1,2)}	20.14 ± 2.96 ^{1,2)}

注:与本组治疗前比较¹⁾ $P < 0.05$;与对照组治疗后比较²⁾ $P < 0.05$ (表 3, 4 同)。

2.3 两组患者血清 β 水平的比较 治疗后,两组患者 β 的水平较治疗前均有明显降低 ($P < 0.05$), 治疗组患者降低的程度较对照组更为明显 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组患者血清 β 水平的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 37$)

Table 3 Comparison of serum β levels between two groups of patients ($\bar{x} \pm s, n = 37$)

组别	时间	β /ng·L ⁻¹
对照	治疗前	88.90 ± 10.72
	治疗后	75.13 ± 9.27 ¹⁾
治疗	治疗前	88.93 ± 11.06
	治疗后	67.86 ± 9.39 ^{1,2)}

2.4 两组患者血清 SOD, GSH-Px 及 MDA 水平的比较 治疗 1 个疗程后,两组患者的 SOD 和 GSH-Px 较治疗前均有明显升高 ($P < 0.05$), 治疗组患者在上述各指标方面的升高程度较对照组更为明显 ($P < 0.05$)。治疗后,治疗组患者 MDA 的水平明显降低 ($P < 0.05$), 较对照组患者降低明显 ($P < 0.05$)。见表 4。

2.5 安全性评价 两组患者治疗期间未出现明显不良反应。

表 4 两组患者血清 SOD, GSH-Px 及 MDA 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 37$)

Table 4 Comparison of serum SOD, GSH-Px and MDA levels between two groups of patients ($\bar{x} \pm s, n = 37$)

组别	时间	SOD/U·mL ⁻¹	GSH-Px/U	MDA/μmol·L ⁻¹
对照	治疗前	60.24 ± 4.72	82.28 ± 10.18	4.29 ± 1.23
	治疗后	67.40 ± 3.86 ¹⁾	102.05 ± 3.62 ¹⁾	3.59 ± 1.27
治疗	治疗前	59.56 ± 4.64	82.05 ± 9.93	4.36 ± 1.20
	治疗后	84.18 ± 4.39 ^{1,2)}	130.12 ± 13.14 ^{1,2)}	1.99 ± 0.67 ^{1,2)}

3 讨论

AD 的发病原因至今尚未有明确的解释,大量假说及理论研究认为代谢异常、应激反应、年龄增大、基因突变和遗传等均可能成为其诱发因素。对于 AD 的治疗尚无特效方法,临床主要根据辨证施治的原则进行治疗。西医药物疗法治疗主要集中于两个方面,其一采用对症支持治疗,有效控制患者精神病理症状,如抗抑郁、抗精神病药物等;其二提升智能水平或改善认知功能,如强化中枢胆碱能活动、提升记忆力的药物等。这些药物虽取得了一定的短期效果,但具有易反复、费用高和毒副作用大等缺点,导致患者用药依从性差,难以在临床大范围推广应用。

β 是老年斑中的重要成分,正常情况下大脑中 β 的生成和降解处于动态的平衡中,如果这种平衡被打破, β 的生成速度大于降解速度,多余的 β 就会发生聚集和沉积,并诱发脑部炎症反应,激活白细胞介素、肿瘤坏死因子等炎症因子,进而导致神经元的凋亡、轴突损伤以及突触丢失等,并最终引起阿尔茨海默的发生。据报道,氧化应激在 AD 的发生发展过程中发挥着重要的作用,其与 AD 的发病机制存在着密切的联系^[14-15]。AD 患者体内自由基的水平较高,可加速细胞膜脂质的过氧化速度,最终引起细胞膜受损和神经元的死亡^[15]。SOD 能够清除体内的自由基,GSH-Px 可通过催化 GSH 分解为氧化型谷胱甘肽(GSSG)的反应,将毒性较高的过氧化物还原为无毒的羟基化合物,这就在一定程度上缓解了自由基对组织细胞膜结构和功能的损害。MDA 是常用的氧化应激标志物,可用于评价自由基的水平 and 氧化应激反应的程度。李海龙等^[16]研究表明,AD 模型大鼠的血清和脑组织中 GSH-Px 和 SOD 的结构和活性与健康大鼠比较均存在明显的差异。尽快清除体内多余的自由基,并有效抑制其过度生成,有助于 AD 患者临床症状和认知功能的改善和恢复。因此,在 AD 的常规治疗方法中添加

具有抗氧化应激作用的药物对该病的治疗具有重大的现实意义^[17]。

AD 在中医学上属于“痴呆”、“痴狂”的范畴,但大量的专家学者对于其发病机制的阐释和治疗方案不尽相同。AD 的发病部位在大脑,本课题组认为“虚、瘀、痰”是其关键病因,本病属中医“神呆”、“善忘”、“呆病”的范畴,肾虚血瘀是其主要病机,因此其治疗应坚持“补肾益气,活血化瘀、添精益髓”的原则。方中丹参、川芎、水蛭活血化瘀,可疏通脑部经络,石菖蒲、远志具有协调水火,改善脑部血供、精神和记忆之功^[18],女贞子补益肝肾,熟地黄、制何首乌益精血、补脑髓,人参安神益智,蛇床子、枸杞子温肾助阳,炙甘草调和诸药,共奏补肾活血化瘀之功。研究表明补肾益智方可通过增加突触的密度来提高大鼠突触传递的能力,进而改善 AD 患者的认知记忆能力衰退这一核心症状,此外对于患者生活自理能力也有较大的促进作用^[18-20]。且饶燕等^[21]发现补肾益智方能够促进 AD 大鼠突触传递能力的提高。鉴于此,本研究将补肾益智方联合丁苯酞应用于 AD 患者的治疗。

脑在老化过程中会产生大量的自由基,导致机体细胞器和细胞膜的受损,在此一些列的过程中会产生有毒的 MDA,而 GSH-Px 和 SOD 则可有效清除多余的自由基。本研究结果表明,补肾益智方联合丁苯酞能够明显降低血清中 β 的水平,提高 SOD 和 GSH-Px 的水平,进而降低 MDA 的水平,可能与其组分中的人参及蛇床子、枸杞子和女贞子等组分所具有的抗氧化应激作用有关。这一研究结果与其他学者报道的结果一致^[8]。综上,补肾益智方联合丁苯酞可通过改善患者认知功能障碍和机体抗氧化应激的功能,进而提高患者生活自理能力和认知记忆能力,值得临床进一步推广使用。

[参考文献]

[1] Ewbank D C. Death attributable to Alzheimer's disease in the United States of America [J]. Am J Public Health, 1999, 89(1): 90-91.

[2] 许祥峰. 盐酸多奈哌齐联合阿托伐他汀钙治疗轻中度阿尔茨海默病对照研究[J]. 临床心身疾病杂志, 2014, 20(6): 15-16.

[3] 陈炜, 蒋凌飞, 吴林, 等. 中西医结合治疗阿尔茨海默病临床研究[J]. 广西中医药, 2014, 37(5): 346-349.

[4] 王琴. 银杏叶提取物对阿尔茨海默病记忆功能影响的研究[J]. 医学综述, 2013, 19(10): 1898-1899.

[5] 张昱, 乔之龙, 郭蕾. 补肾益智汤治疗老年血管性痴

- 呆的临床研究[J]. 世界中西医结合杂志, 2012, 7(7):594-595.
- [6] 张魁华, 赖世隆, 胡镜清, 等. 补肾益智方对老年性痴呆模型大鼠海马结构生长抑素神经元的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2001, 18(1):25-29.
- [7] 于涛, 赖世隆. 补肾益智方对实验性阿尔茨海默病模型大鼠学习记忆水平的影响[J]. 中国老年学杂志, 2015, 35(4):1030-1031.
- [8] 刘斯文, 底改娟, 何伟亮. 补肾益智颗粒联合盐酸多奈哌齐分散片治疗阿尔茨海默病的疗效观察[J]. 河北医药, 2015, 37(17):2649-2651.
- [9] 梁新安, 张贺, 梁健芬. 补肾益智颗粒联合盐酸多奈哌齐片治疗老年性痴呆 64 例观察[J]. 实用中医药杂志, 2014, 30(4):291-293.
- [10] 李菲, 郭蕾, 乔之龙, 等. 补肾益智汤对老年痴呆模型大鼠治疗作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(2):315-317.
- [11] 陈云波, 赖世隆, 胡镜清, 等. 补肾益智方拆方含药血清保护 $A\beta_{25-35}$ 损伤 NG108-15 细胞的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2002, 8(5):27-30.
- [12] 吴江, 贾建平, 崔丽英. 神经病学[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2010:331-336.
- [13] 中华中医药学会. 中医内科常见病诊疗指南·中医病证部分[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2008:124.
- [14] 魏昌秀, 聂红, 黄启辉, 等. 脑还丹对快速老化鼠学习记忆及 SOD、MDA、GSH-Px 的影响[J]. 新中医, 2004, 36(6):77-78.
- [15] 李虹. 补脾益肾汤治疗阿尔茨海默病 35 例[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(5):193-196.
- [16] 李海龙, 王虎平, 刘建鸿, 等. 黑逍遥散对 $A\beta_{(25-35)}$ 诱导 AD 大鼠模型脑组织和血清 SOD, GSH-Px 及 MDA 的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(21):186-189.
- [17] 李玲玲, 刘蓉, 叶兰, 等. 抗氧化剂在阿尔茨海默病治疗中的地位和临床应用前景[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2009, 36(6):521-525.
- [18] 李菲, 郭蕾, 乔之龙. 补肾益智汤对老年痴呆模型大鼠治疗作用的实验研究[J]. 时珍国医国药, 2010, 21(2):315-317.
- [19] 高丽萍, 伊朝晖, 柴锡庆, 等. 益智方对阿尔茨海默病大鼠学习记忆的影响[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(8):1976-1977.
- [20] 胡镜清, 赖世雄, 王奇, 等. 补肾益智方对阻抑老年性痴呆海马突触病理性重构的研究[J]. 广州中医药大学学报, 2000, 17(2):113-116.
- [21] 饶燕, 赖世雄, 胡镜清, 等. 补肾益智方对老年性痴呆大鼠突触传递长时程增强的影响[J]. 广州中医药大学学报, 2000, 17(2):109-112.

[责任编辑 张丰丰]