

## ·基础研究·

## 28 醇对 6-羟基多巴胺致帕金森病大鼠模型行为学的改善作用

王涛<sup>1</sup>, 刘亚静<sup>1</sup>, 刘雁勇<sup>2</sup>, 杨楠<sup>2</sup>, 纪超<sup>2</sup>, 陈彪<sup>1</sup>, 左萍萍<sup>2</sup>

**[摘要]** 目的 检测 28 醇对 6-羟基多巴胺(6-OHDA)致帕金森病(PD)大鼠模型的作用。方法 将大鼠分为假手术组(n=15)、模型组(n=15)、低剂量组(n=12)、中剂量组(n=12)和高剂量组(n=12)。将 6-OHDA 注入大鼠右侧纹状体制备 PD 模型, 治疗组分别以 28 醇 17.5 mg/kg、35 mg/kg、70 mg/kg 灌胃。给药 2 周后行阿扑吗啡诱导旋转实验、Morris 水迷宫、平衡杆实验。结果 中高剂量组 30 min 内旋转圈数少于模型组( $P<0.05$ ), 寻台时间短于模型组( $P<0.05$ ); 各治疗组潜伏期和过杆时间明显短于模型组( $P<0.01$ )。结论 28 醇可以提高 PD 模型大鼠的四肢协调及运动能力、运动始动性和运动平衡能力, 有效对抗多巴胺神经损伤造成的行为障碍。

**[关键词]** 帕金森病; 28 醇; 6-羟基多巴胺; 行为学; 大鼠

**Effects of Octacosanol on Behavioral Impairments in Rats with Parkinson's Disease Induced by 6-hydroxydopamine** WANG Tao, LIU Ya-jing, LIU Yan-yong, et al. Department of Neurobiology, Beijing Institute of Geriatrics, Xuanwu Hospital, Capital Medical University, Beijing 100053, China

**Abstract:** **Objective** To explore the effects of octacosanol on the behavioral impairments in rats with Parkinson's disease (PD) induced by 6-hydroxydopamine (6-OHDA). **Methods** The SD rats were divided into the control group (n=15), the model group (n=15), the low dose group (n=12), the medium dose group (n=12) and the high dose group (n=12). 6-OHDA was stereotactically injected into the right striatum of the rats at 2 sites to produce PD models. The treatment groups received octacosanol with the dose of 17.5 mg/kg, 35 mg/kg or 70 mg/kg for 2 weeks. They were tested with apomorphine-induced rotation test, the modified Morris Water Maze, and rotarod test. **Results** The contralateral rotation in 30 min and escape latency were less in the medium and high dose groups than in the model group ( $P<0.05$ ); the latency and total time in the rotarod test were significantly less in all the treatment groups than in the model group ( $P<0.01$ ). **Conclusion** Octacosanol can decrease the impaired behaviors of rats with PD induced by 6-OHDA.

**Key words:** Parkinson's disease; octacosanol; 6-hydroxydopamine; behavioral tests; rats

**[中图分类号]** R742.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1006-9771(2011)11-1025-03

**[本文著录格式]** 王涛, 刘亚静, 刘雁勇, 等. 28 醇对 6-羟基多巴胺致帕金森病大鼠模型行为学的改善作用[J]. 中国康复理论与实践, 2011, 17(11): 1025—1027.

帕金森病(Parkinson's disease, PD)是一种进行性神经退行性病变, 其主要特征为黑质纹状体通路的多巴胺能神经元发生变性坏死。目前 PD 治疗仍以对症治疗为主, 并无可以彻底治愈或者逆转病程的药物或其他治疗方法, 且多数药物不良反应较多。28 醇是一种从米糠蜡、甘蔗蜡等中提取的天然长链高级脂肪醇, 可有效降低血清胆固醇水平, 抗脂质过氧化, 抑制血小板凝聚, 抑制血管内皮平滑肌细胞的增生等<sup>[1]</sup>, 对 PD 患者有一定疗效<sup>[2]</sup>。本研究评价 28 醇对 PD 大鼠的药效学作用。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物及分组** 健康雄性 SD 大鼠 83 只, 体重 210~220 g, 鼠龄 3 个月, 由北京维通利化动物公司提

供。行为测试无异常。83 只大鼠分假手术组(n=15)和模型组(n=68)。

**1.2 试剂和仪器** 28 醇单体: 中国医学科学院药物所赠予, 以含 0.5% 缩甲基纤维素钠(CMC)水助溶制成悬浮液; 6-羟基多巴胺(6-hydroxydopamine, 6-OHDA)和阿扑吗啡(apomorphine, APO): Sigma 公司; 大鼠旋转行为记录仪: Columbus Instruments 公司。

## 1.3 方法

**1.3.1 造模** 模型组大鼠以 1% 戊巴比妥钠 50 mg/kg 腹腔注射麻醉后, 颅平位固定于大鼠脑立体定向仪。剪开头皮并剥离骨膜, 确定具体坐标并标记, 用牙科钻小心钻透颅骨。根据 Paxinos Watson 图谱确定右侧纹状体(caudate putamen, CPu)坐标, 行两点注射<sup>[3]</sup>: 前

基金项目: 1. 国家 973 基金项目(2010CB934002; 2011CB504101; 2011CBA00408); 2. 国家自然科学基金项目(81050025)。

作者单位: 1. 首都医科大学宣武医院神经生物学研究室, 北京市 100053; 2. 中国医学科学院基础医学研究所药理室, 北京市 100005。作者简介: 王涛(1980-), 男, 辽宁大连人, 博士, 博士后, 主要研究方向: 帕金森病药效学及机制研究。通讯作者: 左萍萍。

囱前 0.5 mm, 矢状线旁开 2.5 mm, 硬膜下 5.0 mm; 前囱后 0.5 mm, 矢状线旁开 4.2 mm, 硬膜下 5.0 mm。每点分别注射 5  $\mu\text{g}/\mu\text{l}$  6-OHDA 3  $\mu\text{l}$ (溶于 0.2% 抗坏血酸的生理盐水), 注射速度为 1  $\mu\text{l}/\text{min}$ , 留针 10 min, 缓慢退针 3 min (1 mm/min)。假手术组用上述相同方法向两点分别注射同体积含 0.2% 抗坏血酸的生理盐水。术后模型成功标准参考王涛等<sup>[4]</sup>文献。

**1.3.2 PD 模型筛选** 术后第 4 周开始对造模大鼠进行旋转实验筛选: 以 0.5 mg/kg 颈部皮下注射 APO, 若大鼠恒定转向健侧, 30 min 内旋转圈数 > 150, 且用大鼠旋转行为记录仪测得最大旋转速度  $\geq 7 \text{ r}/\text{min}$ , 表示毁损稳定, 视为成功 PD 大鼠模型。共 51 只造模后大鼠符合该标准, 成功率为 75%。

**1.3.3 PD 模型分组及给药** 成功造模的大鼠随机分为模型组(n=15)、低剂量组(n=12)、中剂量组(n=12)和高剂量组(n=12)。分组后第 1 天, 各剂量治疗组分别以 28 醇 17.5 mg/kg、35 mg/kg、70 mg/kg 灌胃, 每天 1 次, 模型组及假手术组给予等量 0.5% CMC 水, 连续 2 周。

#### 1.3.4 行为学检测

**1.3.4.1 APO 诱导旋转实验** 0.5 mg/kg APO 大鼠颈部皮下注射, 观察并记录其在 30 min 内转向健侧的圈数。

**1.3.4.2 Morris 水迷宫实验** 该水迷宫主要由 1 个不锈钢制成的直径 1.5 m 的圆柱形黑色水池和 1 个可移动位置的直径 10 cm 的平台组成。预先在水池里注入清水, 水温控制在  $(20 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ , 水中加入黑色墨水。与测试空间学习记忆的 Morris 水迷宫(平台没入水中)不同, 该迷宫平台高出水面 2 cm 并有光线从侧面对其照射, 使大鼠可见到该平台<sup>[5]</sup>。平台置于某一象限的中间, 大鼠入池位置为站台所在位置的对象限, 于象限边 1/2 弧度处头朝池壁入水, 水池上方通过一摄像机与监视电视和计算机相连接。当设定的训练时间已到或动物已爬上平台, 计算机停止跟踪并记录下游泳轨迹, 自动计算出动物在水池中游泳速度(以 cm/s 表示)和找到平台所需的时间, 以此测试大鼠的四肢协调及运动能力<sup>[6]</sup>。大鼠首先训练 2 次, 然后开始正式实验。

**1.3.4.3 平衡杆实验** 平衡木杆为  $105 \times 4 \times 3 \text{ cm}$ , 木杆离地 80 cm, 两端由木架支撑。木杆的一端为起始区, 长 20 cm, 另一段为终点区, 终点区后接一个大鼠笼, 木杆下有  $100 \times 100 \times 12 \text{ cm}$  的垫子防止大鼠摔伤。实验时, 将大鼠放在起始区面对鼠笼方向, 同时开始

计时, 记录大鼠走过起始区的时间(潜伏期)和大鼠走过整个平衡杆的时间, 潜伏期最大允许时间为 1 min, 走过横杆最大允许时间为 2 min。大鼠先训练 3 次, 然后开始正式实验。

**1.4 统计学分析** 采用 SPSS 11.5 统计软件进行单因素方差分析, 组间比较采用多个样本均数比较的 Dunnett 检验, 显著性水平  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

**2.1 APO 诱导的旋转实验** 模型组向健侧旋转的圈数显著高于假手术组( $P<0.001$ ); 中、高剂量组低于模型组( $P<0.05$ )。见表 1。

**2.2 Morris 水迷宫实验** 模型组寻台时间长于假手术组( $P<0.05$ ); 中、高剂量组短于模型组( $P<0.05$ )。见表 1。

**2.3 平衡杆实验** 模型组潜伏期和过杆时间长于假手术组( $P<0.05$ ); 各剂量治疗组均明显短于模型组( $P<0.01$ )。见表 1。

## 3 讨论

神经毒素 6-OHDA 是多巴胺递质羟基化的类似物; 将 6-OHDA 注入中脑纹状体, 即可被选择性地转运到儿茶酚胺神经元末梢, 引起注射及周边部位多巴胺能神经元轴突消失、多巴胺水平和酪氨酸羟化酶(tyrosine hydroxylase, TH)活性下降、多巴胺摄入受阻; 然后引起黑质多巴胺能神经元的逆向性变性。已有文献证明, 6-OHDA 不单是用于制备多巴胺能神经元死亡实验模型的外源性毒素, 还有可能作为内源性神经毒素参与 PD 的病理变化<sup>[7-8]</sup>。

本实验采用脑立体定位技术, 将 6-OHDA 单侧纹状体两点注射复制 PD 大鼠模型, 模型组出现了一系列类 PD 的行为学指标改变, 而中、高剂量组的多项行为学指标检测中, 这些类 PD 行为学指标均有不同程度改善。

6-OHDA 可选择性损毁注射区内的多巴胺神经末梢及黑质区的多巴胺神经元, 此时患侧黑质纹状体通路多巴胺  $D_2$  受体会代偿性大量增加, 且敏感性增高, 出现超敏现象<sup>[9]</sup>; 注射多巴胺受体激动剂 APO, 可使模型动物向健侧产生旋转行为; 而中、高剂量组在治疗 2 周后, 动物向健侧旋转运动减少。露台 Morris 水迷宫实验主要检测大鼠的四肢协调及运动能力<sup>[5]</sup>, 中高剂量组寻台时间缩短, 说明治疗组的大鼠四肢协调及运动能力有所改善。平衡杆实验潜伏期主要评估大鼠的运动始动性, 而过杆时间评估的是平衡能力<sup>[10]</sup>。

治疗组均能有效地改善因 6-OHDA 的神经毒性导致的运动始动性和运动平衡能力下降。

表 1 各组行为学测验结果比较

组别	n	30min 内旋转圈数	寻台时间(s)	潜伏期(s)	过杆时间(s)
假手术组(A)	15	34.0±20.0	27.46±17.49	1.71±1.35	9.36±6.81
模型组(B)	15	319.9±179.8 <sup>a</sup>	59.20±31.61 <sup>a</sup>	4.83±3.74 <sup>a</sup>	52.23±38.53 <sup>a</sup>
低剂量组(C)	12	198.7±54.0	33.50±20.20	0.81±0.51 <sup>b</sup>	11.88±9.05 <sup>b</sup>
中剂量组(D)	12	171.8±49.1 <sup>b</sup>	29.42±14.44 <sup>b</sup>	0.77±0.63 <sup>c</sup>	8.84±6.94 <sup>c</sup>
高剂量组(E)	12	169.4±33.5 <sup>c</sup>	26.92±17.86 <sup>c</sup>	0.98±0.48 <sup>d</sup>	6.07±3.88 <sup>d</sup>
<i>F</i>		15.4204	4.9553	13.5819	14.9418
		a: B vs. A, <i>P</i> =0.0000	a: B vs. A, <i>P</i> =0.0383	a: B vs. A, <i>P</i> =0.0202	a: B vs. A, <i>P</i> =0.0029
		b: D vs. B, <i>P</i> =0.0455	b: D vs. B, <i>P</i> =0.0483	b: C vs. B, <i>P</i> =0.0017	b: C vs. B, <i>P</i> =0.0053
		c: E vs. B, <i>P</i> =0.0359	c: E vs. B, <i>P</i> =0.0370	c: D vs. B, <i>P</i> =0.0015	c: D vs. B, <i>P</i> =0.0024
				d: E vs. B, <i>P</i> =0.0026	d: E vs. B, <i>P</i> =0.0012

PD 病因尚不明确，但与多种因素有关，如氧化应激、线粒体功能异常、兴奋毒作用、细胞凋亡及遗传因素等，其基本病理改变为脑黑质-纹状体多巴胺神经元变性<sup>[11]</sup>。目前治疗多采用化学药物疗法，疗效不理想且副作用较大，因此寻找新的潜在治疗药物已成为迫切需求<sup>[12]</sup>。28 醇是从植物蜡中提取的低分子量脂肪醇，是新型调脂非处方药普利醇的主要成分。普利醇作为一种与他汀类不同的药物，可有效降低血清胆固醇水平，抗脂质过氧化，抑制血小板凝聚，抑制血管内皮平滑肌细胞的增生等<sup>[13]</sup>，安全性和耐受性好<sup>[14-15]</sup>。

既往研究显示，28 醇可以保护大鼠 6-OHDA 损伤侧纹状体内抗氧化还原酶系统，减少模型组动物患侧纹状体内丙二醛(MDA)含量，逆转 6-OHDA 致黑质纹状体通路神经元及其神经末梢的损伤；而 28 醇对 6-OHDA 致 PD 大鼠的行为学改善作用可能与其通过调节神经营养因子前体(proNGF)和神经营养因子(NGF)介导的细胞凋亡/存活通路，进而对抗 6-OHDA 致纹状体区神经细胞凋亡的机制相关<sup>[16]</sup>。

综上所述，28 醇给药 2 周后，能提高 PD 模型大鼠的运动平衡能力，增强运动始动性，改善四肢协调性，有效对抗多巴胺神经损伤造成的行为障碍。

[参考文献]

[1] Taylor JC, Rapport L, Lockwood GB. Octacosanol in human health [J]. Nutrition, 2003, 19(2): 192-195.  
[2] Snider SR. Octacosanol in parkinsonism [J]. Ann Neurol, 1984, 16:723.  
[3] Lee CS, Sauer H, Bjorklund A. Dopaminergic neuronal degeneration and motor impairments following axon terminal lesion by intrastriatal 6-hydroxydopamine in the rat [J]. Neuroscience, 1996, 72: 641-653.  
[4] 王涛,左萍萍. 帕金森病实验动物模型的研究进展[J]. 中国神

经免疫学和神经病学杂志, 2008, 15 (6): 455-457.  
[5] 王涛,左萍萍,刘雁勇,等. 帕金森病模型大鼠行为学评价与黑质神经元凋亡的相关研究[J]. 中国康复理论与实践, 2010, 16 (4): 301-304.  
[6] Whishaw IQ, Dunnett SB. Dopamine depletion, stimulation or blockade in the rat disrupts spatial navigation and locomotion dependent upon beacon or distal cues [J]. Behav Brain Res, 1985, 18: 11-29.  
[7] Soto-Otero R, Mendez-Alvarez E, Hermida-Ameijeiras A, et al. Autoxidation and neurotoxicity of 6-hydroxydopamine in the presence of some antioxidants: potential implication in relation to the pathogenesis of Parkinson's disease [J]. J Neurochem, 2000, 74: 1605-1612.  
[8] Andrew R, Watson DG, Best SA, et al. The determination of hydroxydopamines and other trace amines in the urine of Parkinsonian patients and normal controls [J]. Neurochem Res, 1993, 18: 1175-1177.  
[9] Hudson JL, van Horne CG, Stromberg I, et al. Correlation of apomorphine- and amphetamine-induced turning with nigrostriatal dopamine content in unilateral 6-hydroxydopamine lesioned rats [J]. Brain Res, 1993, 626: 167-174.  
[10] Allbutt HN, Henderson JM. Use of the narrow beam test in the rat, 6-hydroxydopamine model of Parkinson's disease [J]. J Neurosci Methods, 2007, 159: 195-202.  
[11] Dauer W, Przedborski S. Parkinson's disease: mechanisms and models [J]. Neuron, 2003, 39 (6): 889-909.  
[12] Yuan H, Zhang ZW, Liang LW, et al. Treatment strategies for Parkinson's disease [J]. Neurosci Bull, 2010, 26 (1):66-76.  
[13] Gouni-Berthold I, Berthold HK. Policosanol: clinical pharmacology and therapeutic significance of a new lipid-lowering agent [J]. Am Heart J, 2002, 143: 356-365.  
[14] Aleman CL, Mas R, Hernandez C, et al. A 12-month study of policosanol oral toxicity in Sprague Dawley rats [J]. Toxicol Lett, 1994, 70: 77-87.  
[15] Fernandez L, Mas R, Illnait J, et al. Policosanol: results of a postmarketing surveillance study of 27,879 patients [J]. Curr Ther Res Clin Exp, 1998, 59: 717-722.  
[16] Wang T, Liu YY, Wang X, et al. Protective effects of octacosanol on 6-hydroxydopamine-induced Parkinsonism in rats via regulation of ProNGF and NGF signaling [J]. Acta Pharmacol Sin, 2010, 31 (7): 765-774.

(收稿日期:2011-05-20 修回日期:2011-10-09)