

补肾安志方对肾不藏志不寐大鼠焦虑失眠的改善机制研究^Δ

李振辉^{1*}, 张星平^{1#}, 陈旭¹, 李海明¹, 左广珂¹, 朱海龙¹, 梁瑞宁^{2,3}, 王苗¹(1.新疆医科大学第四临床医学院, 乌鲁木齐 830099; 2.新疆医科大学中医学院, 乌鲁木齐 830017; 3.新疆神经系统疾病研究重点实验室, 乌鲁木齐 830063)

中图分类号 R285;R965 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2026)13-1685-06
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2026.13.05



摘要 **目的** 探讨补肾安志方(BSAZD)对肾不藏志不寐模型大鼠的改善机制。**方法** 将36只SD大鼠随机分为正常组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、右佐匹克隆组(阳性对照组, 0.27 mg/kg)和BSAZD低、中、高剂量组(5.85、11.70、23.40 g/kg), 每组6只。除正常组外, 其余各组均采用D-半乳糖联合DL-4-氯苯丙氨酸的方法制备肾不藏志不寐大鼠模型。造模结束后, 灌胃相应药液/生理盐水, 每天1次, 连续14 d。末次给药后, 观察大鼠行为学及海马组织病理形态学变化; 采用非靶向代谢组学技术分析各组大鼠的血清差异代谢物及其富集的相关通路。**结果** 与模型组比较, BSAZD高剂量组大鼠开放臂进入次数、开放臂停留时间、睡眠时间均显著增加/延长($P<0.05$), 闭合臂进入次数、闭合臂停留时间、入睡潜伏期均显著减少/缩短($P<0.05$); 海马组织神经元排列基本整齐, 细胞核大小、形态及位置基本正常。非靶向代谢组学分析结果显示, BSAZD高剂量组对比模型组大鼠的血清差异代谢物包括氧化型谷胱甘肽、谷氨酸等, 差异代谢物主要富集于 γ -氨基丁酸能突触、谷氨酸能突触、环磷酸腺苷信号通路、2-氧代羧酸代谢等。**结论** BSAZD可改善肾不藏志不寐大鼠睡眠质量, 缓解焦虑样行为; 其作用机制可能与调控 γ -氨基丁酸能突触、谷氨酸能突触通路, 恢复神经递质平衡, 进而减轻氧化应激损伤, 以及调节环磷酸腺苷信号通路促进神经修复和2-氧代羧酸代谢通路改善能量供应等相关。

关键词 补肾安志方; 肾不藏志不寐; 失眠症; 非靶向代谢组学; 差异代谢物

Study on the improvement mechanism of Bushen anzhi decoction on anxiety and insomnia in rats with kidney failing to store spirit

LI Zhenhui¹, ZHANG Xingping¹, CHEN Xu¹, LI Haiming¹, ZUO Guangke¹, ZHU Hailong¹, LIANG Ruining^{2,3}, WANG Miao¹ (1. Fourth Clinical Medical College, Xinjiang Medical University, Urumqi 830099, China; 2. College of Traditional Chinese Medicine, Xinjiang Medical University, Urumqi 830017, China; 3. Xinjiang Key Laboratory for Research of Neurological Diseases, Urumqi 830063, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE** To explore the intervention mechanism of Bushen anzhi decoction (BSAZD) in rats with insomnia induced by kidney failing to store spirit. **METHODS** A total of 36 SD rats were randomly divided into normal group (normal saline), model group (normal saline), eszopiclone group (positive control group, 0.27 mg/kg), and low-, medium- and high-dose BSAZD groups (5.85, 11.70, 23.40 g/kg), with 6 rats in each group. Except for the normal group, rats in the remaining groups were subjected to combined administration of D-galactose and DL-4-chlorophenylalanine to establish the rat model of insomnia due to kidney failing to store spirit. After successful modeling, corresponding liquid medicine or normal saline was intragastrically administered once daily for 14 consecutive days. After the last administration, behavioral indicators and hippocampal histopathological morphology of rats were detected. Untargeted metabolomics was adopted to screen serum differential metabolites and enrich relevant signaling pathways. **RESULTS** Compared with the model group, the high-dose BSAZD group exhibited significantly increased open arm entries, open arm time and sleep time ($P<0.05$), accompanied by markedly decreased closed arm entries, closed arm time and sleep latency ($P<0.05$). Hippocampal neurons in the high-dose BSAZD group were arranged regularly, and the size, morphology and location of cell nuclei were nearly normal. Untargeted metabolomics analysis identified oxidized glutathione, glutamate and other differential metabolites in serum of rats in the high-dose BSAZD group; these

differential metabolites were mainly enriched in GABAergic synapse, glutamatergic synapse, cAMP signaling pathway and 2-oxocarboxylic acid metabolism pathway. **CONCLUSIONS** BSAZD can improve sleep quality, relieve anxiety-like behaviors in rats with insomnia due to kidney failing to store spirit. Its therapeutic mechanism may be associated with regulating GABAergic and glutamatergic synaptic pathways to restore neurotransmitter balance and further alleviate oxidative stress injury, modulating the cAMP signaling pathway to

Δ 基金项目 国家自然科学基金项目(No.82160873);新疆维吾尔自治区研究生科研创新项目(No.XJ2026G161);新疆维吾尔自治区自然科学基金面上项目(No.2025D01C65);全国名老中医药专家传承工作室(No.国中医药人教函[2022]75号);新疆神经系统疾病研究重点实验室开放课题(No.XJDX1711-2423)

* 第一作者 博士研究生。研究方向:中医内科不寐病的诊断与治疗。E-mail: lzhgavinyz@163.com

通信作者 教授, 博士生导师, 硕士。研究方向:中医内科不寐病的诊断与治疗。E-mail: xjzyzxp@163.com

facilitate neural repair, and intervening the 2-oxocarboxylic acid metabolism pathway to optimize energy supply.

KEYWORDS Bushen anzhi decoction; kidney failing to store spirit; insomnia; untargeted metabolomics; differential metabolites

不寐是指以经常不能获得正常睡眠为特征的一类疾病,归属于现代医学“失眠症”范畴^[1]。据流行病学调查,全球每年约有30%的人出现不寐症状,并且发病率与年龄呈正相关;在我国,成年人不寐发生率高达38.2%^[2]。长期不寐不仅会严重影响人们生活质量,升高高血压、冠心病等的发病率,还会增加精神性、躯体性疾病的发生及药物依赖或滥用等风险^[3]。目前治疗不寐以口服化学药为主,此类药物虽具有起效快等优势,但服药后患者常出现头晕、头昏,以及药物依赖、反跳性失眠等不良反应^[4]。中医药治疗失眠相比化学药副作用更小,远期疗效更稳定^[5],其药效物质与作用机制值得深入挖掘。

补肾安志方(Bushen anzhi decoction,BSAZD)是全国名老中医药专家传承工作室张星平教授基于“肾不藏志不寐”理论提出的经验方,由熟地黄、酒萸肉、山药、枸杞子、菟丝子、茯苓、益智仁、五味子、牛膝、炙远志等组成,具有补肾填精、益气安志的功效,在临床应用多年,取得了较好的治疗效果^[6],但目前对BSAZD治疗肾不藏志不寐的现代生物学机制探讨不够深入。非靶向代谢组学是一种无偏向性的代谢物检测技术,可系统分析样本中全部小分子代谢物的动态变化,通过多元统计方法筛选差异代谢物并富集到相关通路,从整体层面揭示疾病的代谢紊乱特征及药物的调控靶点。鉴于此,本研究采用非靶向代谢组学技术,探究BSAZD治疗肾不藏志不寐的潜在机制。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有:8400 K2型脑电图/肌电图系统(含Sirenia® Sleep ProV 1.8.2睡眠分析软件)(美国Pinnacle Technology公司)、Triple TOF 6600型质谱仪(美国AB Sciex公司)、Nexera X2型超高效液相色谱(UHPLC)系统(日本Shimadzu公司)、DS-Ri2+Ni-U型正置光学显微镜(日本Nikon公司)等。

1.2 主要药品与试剂

熟地黄、酒萸肉、山药、牛膝、炙远志(批号分别为250301、250401、250101、250301、241101)均产自河南,枸杞子、菟丝子(批号分别为250401、241001)均产自宁夏,茯苓(批号250401)产自云南,益智仁(批号250501)产自广东,五味子(批号241201)产自辽宁,以上中药饮片均购自新疆维吾尔自治区中医医院。

右佐匹克隆片(规格1 mg,批号250402)购自迪沙药业集团有限公司;DL-4-氯苯丙氨酸(DL-4-chlorophenyl-alanine,PCPA;批号JS254515)购自上海源叶生物科技有限公司;戊巴比妥钠(批号57330)购自美国Sigma公司;乙腈、甲醇、甲酸均为色谱纯,氨水为分析纯。

1.3 动物

36只SPF级SD雄性大鼠,体重170~220 g,鼠龄10~12周,购自新疆医科大学动物实验中心[实验动物生产许可证号:SCXK(新)2023-0001]。大鼠饲养于新疆医科大学动物实验中心SPF级实验室内,实验室条件设置如下:室温(25±2)℃,相对湿度45%~55%,光照12 h/黑暗12 h交替。实验期间大鼠自由摄取食物和水。本研究实验方案经新疆医科大学动物伦理委员会审查批准(批件号:IACUC-20210301-45)。

2 方法

2.1 BSAZD药液的制备

称取BSAZD组方中各饮片(熟地黄15 g、酒萸肉20 g、山药15 g、枸杞子12 g、菟丝子12 g、茯苓10 g、益智仁15 g、五味子6 g、牛膝15 g、炙远志12 g),混合后加入10倍量蒸馏水常温浸泡30 min,武火煮沸后以文火煎煮50 min,过滤取药液;药渣加8倍量蒸馏水再煎煮30 min,合并2次滤液。将滤液减压浓缩成生药含量为2.6 g/mL的药液,过滤除菌后分装,4℃冷藏保存。

2.2 分组与造模

适应性喂养7 d后,将36只大鼠随机分为正常组(生理盐水)、模型组(生理盐水)、右佐匹克隆组(阳性对照组,0.27 mg/kg,临床等效剂量)和BSAZD低、中、高剂量组(5.85、11.70、23.40 g/kg,分别为临床等效剂量的0.5、1、2倍),每组6只。正常组大鼠正常饲养,其余各组大鼠参考本课题组前期研究方法^[7]制备肾不藏志不寐模型:颈背部皮下注射D-半乳糖[120 mg/(kg·d)],连续42 d;从第43天开始,腹腔注射PCPA[300 mg/(kg·d)],连续3 d。采用脑电图/肌电图系统及其自带的睡眠分析软件监测大鼠脑电图/肌电图,以觉醒期显著延长,非快速眼动睡眠期和快速眼动睡眠期显著缩短为造模成功的标准^[8]。本研究所有造模大鼠均造模成功。造模结束后,各组大鼠灌胃相应药液/生理盐水,每天1次,连续14 d。

2.3 行为学考察

2.3.1 高架十字迷宫实验

末次给药40 min后,将大鼠放置于十字迷宫体中央平台上,让其自由探索5 min,并记录大鼠在此期间的开放臂进入次数(open arm entries,OE)、开放臂停留时间(open arm time,OT)、闭合臂进入次数(closed arm entries,CE)、闭合臂停留时间(closed arm time,CT)。

2.3.2 戊巴比妥钠翻正反射实验

高架十字迷宫实验结束约15 min后(即末次给药约1 h后),各组大鼠均腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)。记录自注射完毕起至大鼠翻正反射消失的时间(即入睡潜伏期),以及翻正反射消失至觉醒的时间(即睡眠时间)。

2.4 样本取材与处理

行为学实验结束后的次日,麻醉各组大鼠,经腹主动脉采血,将血样以3 500 r/min(离心半径为9.3 cm)离心10 min,取上清液,置于-80 °C冰箱中保存,备用。取血结束后,于冰台上剥离大鼠脑组织,固定于通用型组织固定液中,备用。

2.5 海马组织病理形态学观察

取全脑组织,常规处理后,行全脑冠状位连续切片(厚约5 μm),选取含有海马的脑片,常规脱蜡至水。切片常规行HE染色后,采用光学显微镜观察大鼠海马组织病理形态学变化。

2.6 血清非靶向代谢组学分析

2.6.1 血清样本处理

取正常组、模型组、BSAZD高剂量组(该组干预效果更好,故选取该组样本进行非靶向代谢组学检测)血清样品(每组取5只大鼠血清)。将血清样本在4 °C下解冻并涡旋混匀,然后取每只大鼠血清100 μL,加入300 μL预冷的甲醇,-20 °C静置1 h,在4 °C下以16 000×g离心20 min,取上清,用于质谱进样分析。

2.6.2 液相色谱-串联质谱分析条件

色谱条件:采用ACQUITY UPLC® HSS T₃色谱柱(100 mm×2.1 mm,1.8 μm),以0.1%甲酸水溶液(A)-乙腈溶液(B,含0.1%甲酸)为流动相进行等度洗脱;进样量为16 μL;柱温为40 °C;流速为0.3 mL/min。

质谱条件:采用电喷雾电离源,分别在正、负离子模式下以高灵敏度信息依赖采集模式采集数据。飞行时间一级全扫描质荷比(*m/z*)为60~1 200,图谱累积时间为0.08 s;二级离子扫描*m/z*为25~1 200,图谱累积时间为0.03 s。去簇电压为80 V(+)/-80 V(-);离子源温度为500 °C,雾化气、辅助加热气压力均为60 psi,气帘气压力为35 psi;离子喷雾电压为5 500 V(+)/-4 500 V(-)。

2.6.3 进样分析与数据处理

取“2.6.1”项下血清样本,按“2.6.2”项下条件进样分析,收集图谱数据。原始数据经峰对齐、保留时间校正后提取各色谱峰峰面积。采用峰面积归一化法对数据进行处理,然后采用单位方差缩放完成数据预处理。依次开展主成分分析(principal component analysis, PCA)和正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA),并采用置换检验(200次)验证OPLS-DA模型的可靠性。以OPLS-DA模型的变量重要性投影值(variable importance in projection, VIP)>1.0、差异倍数(fold change, FC)>2或FC<0.5,且*t*检验的*P*<0.05为条件,筛选差异代谢物^[9]。根据FC与*P*值绘制火山图,对差异代谢物进行可视化展示;综合VIP与FC绘制FC-VIP图,进行差异代谢物的重要性分析,并对排名前20位的差异代谢物进行可视化展示。将筛选出的差异代谢物导入京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)数据库进行代谢通路富集分析,以*P*<0.05为显著富集的判定标准。

著富集的判定标准。

2.7 统计学方法

采用SPSS 27.0软件进行统计分析。数据符合正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比较采用单因素方差分析,若方差齐性,组间两两比较采用LSD-*t*检验;若方差不齐性,组间两两比较采用Tamhane's *T*₂检验。检验水准α=0.05。

3 结果

3.1 高架十字迷宫实验结果

与正常组比较,模型组大鼠OE、OT均显著减少(*P*<0.05),CE、CT均显著增加(*P*<0.05)。与模型组比较,各给药组大鼠OE、OT均显著增加(*P*<0.05),CE、CT均显著减少(*P*<0.05)。与右佐匹克隆组比较,BSAZD中剂量组大鼠上述指标差异均无统计学意义(*P*>0.05);BSAZD高剂量组大鼠上述指标均显著改善(*P*<0.05)。结果见图1、表1。

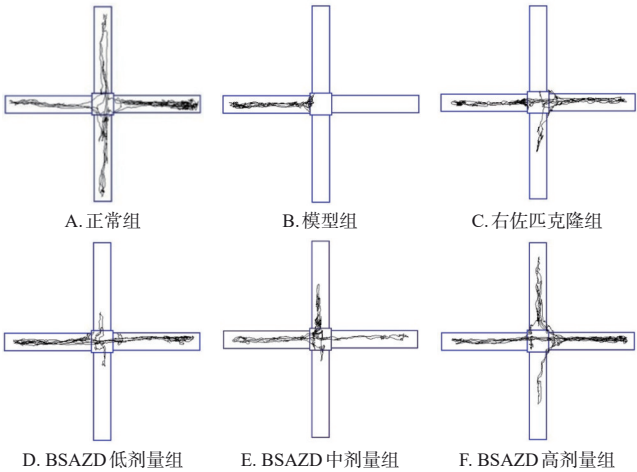


图1 各组大鼠高架十字迷宫实验运动轨迹图

表1 各组大鼠高架十字迷宫实验运动轨迹相关指标比较($\bar{x} \pm s, n=6$)

分组	OE/次	CE/次	OT/s	CT/s
正常组	12.48±0.63	5.15±0.87	229.79±3.38	64.74±2.65
模型组	4.32±0.49 ^a	12.65±0.61 ^a	47.52±2.98 ^a	249.17±3.47 ^a
右佐匹克隆组	6.63±0.58 ^b	10.32±0.73 ^b	71.58±2.07 ^b	228.95±3.28 ^b
BSAZD低剂量组	5.37±0.55 ^{bc}	11.62±0.68 ^{bc}	61.85±2.48 ^{bc}	236.72±3.35 ^{bc}
BSAZD中剂量组	6.83±1.52 ^b	9.67±1.41 ^b	73.17±2.14 ^b	224.50±3.02 ^b
BSAZD高剂量组	9.58±0.67 ^{bc}	7.35±0.75 ^{bc}	190.64±3.87 ^{bc}	98.96±3.25 ^{bc}

a:与正常组比较,*P*<0.05;b:与模型组比较,*P*<0.05;c:与右佐匹克隆组比较,*P*<0.05。

3.2 戊巴比妥钠翻正反射实验结果

与正常组比较,模型组大鼠入睡潜伏期显著延长(*P*<0.05),睡眠时间显著减少(*P*<0.05)。与模型组比较,各给药组大鼠入睡潜伏期均显著缩短(*P*<0.05),睡眠时间均显著增加(*P*<0.05)。与右佐匹克隆组比较,BSAZD中剂量组大鼠入睡潜伏期和睡眠时间差异均无统计学意义(*P*>0.05);BSAZD高剂量组大鼠入睡潜伏期显著缩短(*P*<0.05),睡眠时间显著增加(*P*<0.05)。结果见表2。

表2 各组大鼠戊巴比妥钠翻正反射实验相关指标比较
($\bar{x} \pm s, n=6, s$)

分组	入睡潜伏期	睡眠时间
正常组	236.00 ± 4.36	3 538.55 ± 74.45
模型组	402.03 ± 4.93 ^a	2 545.15 ± 70.38 ^a
右佐匹克隆组	302.73 ± 12.25 ^b	2 879.68 ± 99.63 ^b
BSAZD 低剂量组	336.40 ± 5.99 ^{bc}	2 718.85 ± 76.94 ^{bc}
BSAZD 中剂量组	299.17 ± 3.43 ^b	2 891.83 ± 82.74 ^b
BSAZD 高剂量组	285.51 ± 14.93 ^{bc}	3 026.98 ± 106.13 ^{bc}

a: 与正常组比较, $P < 0.05$; b: 与模型组比较, $P < 0.05$; c: 与右佐匹克隆组比较, $P < 0.05$ 。

3.3 海马组织病理形态学观察结果

正常组大鼠海马神经元排列整齐,形态清晰、结构完整;细胞核呈圆形或椭圆形,大小正常且位置居中;染色质分布均匀。模型组大鼠海马神经元数量较正常组减少,神经元普遍出现胞体缩小、核固缩,部分神经元边界模糊、间质疏松伴空泡化改变。右佐匹克隆组大鼠海马神经元轻度水肿、边界欠清晰,部分细胞轮廓模糊,病理变化较模型组有所减轻;BSAZD 低剂量组大鼠神经元排列紊乱,部分细胞出现核固缩、胞质深染,病理变化较模型组亦有所减轻;BSAZD 中剂量组大鼠神经元数量增加,但排列不规则,且少量神经元皱缩、体积变小;BSAZD 高剂量组大鼠海马神经元形态基本正常,仅见轻度细胞质疏松。结果见图2。

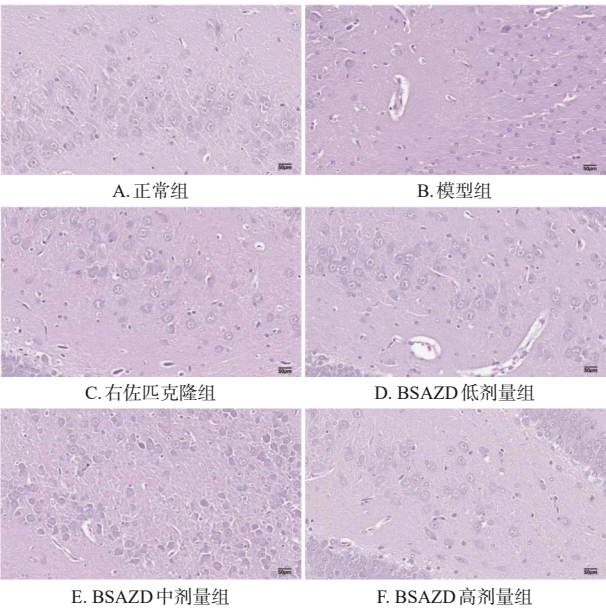


图2 各组大鼠海马组织病理染色显微图(HE 染色)

3.4 血清非靶向代谢组学分析结果

3.4.1 多元统计分析结果

PCA 和 OPLS-DA 结果显示,不同组别大鼠的血清代谢物存在明显组内聚集与组间分离趋势,可用于血清差异代谢物的筛选。OPLS-DA 模型验证结果显示,模型组对比正常组的 Q^2 (模型预测拟合参数,用于判断模型是否存在过拟合,置换检验回归线截距 < 0 表示模型可靠) 为 -0.70 ,BSAZD 高剂量组对比模型组的 Q^2 为 -0.79 ,均小于 0 ,说明 OPLS-DA 模型可靠。BSAZD 高

剂量组对比模型组的多元统计分析结果见图3~图5(模型组对比正常组的结果请扫描本文首页二维码,进入“增强出版”页面查看附图1~附图3)。

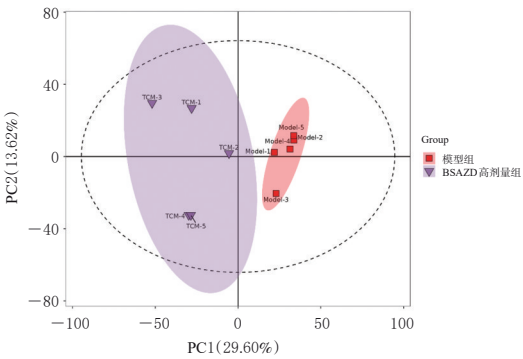


图3 BSAZD 高剂量组对比模型组大鼠血清代谢物的 PCA 得分图

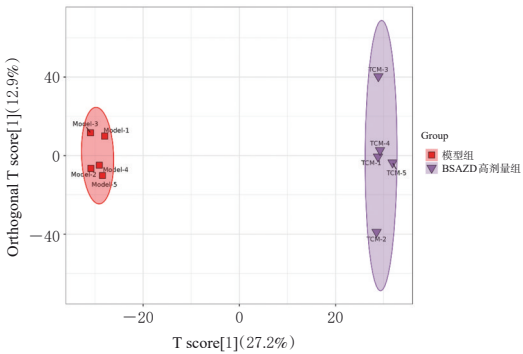


图4 BSAZD 高剂量组对比模型组大鼠血清代谢物的 OPLS-DA 得分图

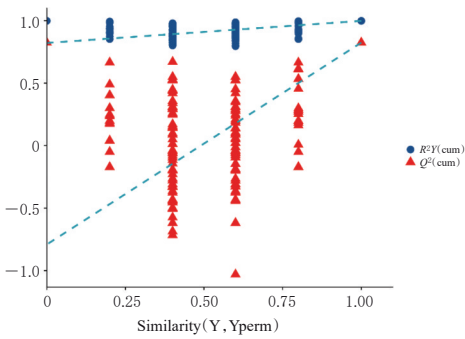


图5 BSAZD 高剂量组对比模型组大鼠血清代谢物的 OPLS-DA 置换检验图

3.4.2 差异代谢物筛选结果

按前述条件筛选发现,模型组对比正常组有 33 个代谢物上调,57 个代谢物下调;BSAZD 高剂量组对比模型组有 128 个代谢物上调,59 个代谢物下调。BSAZD 高剂量组对比模型组大鼠血清代谢物的火山图见图6(模型组对比正常组的结果请扫描本文首页二维码,进入“增强出版”页面查看附图4)。

3.4.3 差异代谢物的重要性分析结果

模型组对比正常组,主要的差异代谢物包括上调的谷胱甘肽、谷氨酸、牛磺熊去氧胆酸、O-磷酸乙醇胺等,以及下调的鹅肌肽、组胺、肌氨酸等;BSAZD 高剂量组

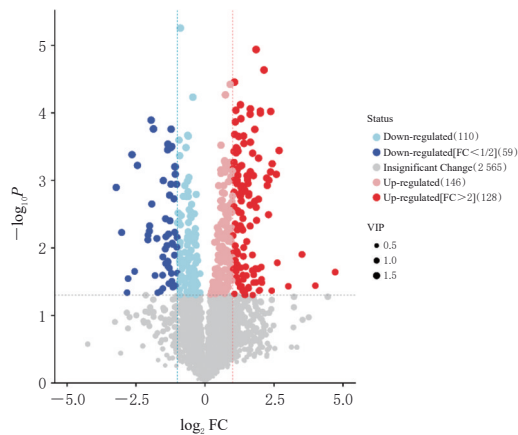


图6 BSAZD高剂量组对比模型组大鼠血清代谢物的火山图

对比模型组,主要的差异代谢物包括上调的柠檬酸、柠檬酸、黄苷等,以及下调的氧化型谷胱甘肽、谷氨酸等;3组共同的差异代谢物包括谷氨酸、氧化型谷胱甘肽、谷胱甘肽等。BSAZD高剂量组对比模型组大鼠血清代谢物的FC-VIP图见图7(模型组对比正常组的结果请扫描本文首页二维码,进入“增强出版”页面查看附图5)。

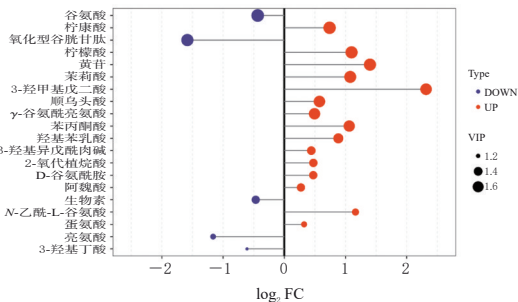


图7 BSAZD高剂量组对比模型组大鼠血清代谢物的FC-VIP图

3.4.4 差异代谢物的KEGG通路富集结果

通过KEGG数据库对差异代谢物进行富集分析发现,模型组对比正常组的血清差异代谢物主要富集在 γ -氨基丁酸能突触、谷氨酸能突触、ABC转运蛋白等信号通路,BSAZD高剂量组对比模型组的血清差异代谢物主要富集于 γ -氨基丁酸能突触、谷氨酸能突触、环磷酸腺苷信号通路、2-氧代羧酸代谢等信号通路。BSAZD高剂量组对比模型组大鼠血清代谢物的KEGG图见图8(模型组对比正常组的结果请扫描本文首页二维码,进入“增强出版”页面查看附图6)。

4 讨论

不寐这个病名最早见于《难经》。《黄帝内经》称其为“不得卧”“不得瞑”。不寐的病因病机复杂,历代医家各有论述,然归纳其观点,主要包括以下几点:(1)营卫不和、阴阳失交而不寐——《灵枢·营卫生会》云“五脏之气相搏,其营气衰少而卫气内伐,故昼不精,夜不瞑”;(2)胃不和则卧不安——吴鞠通《温病条辨》曰“胃不和则卧不安……盖阳气下交于阴则寐,胃居中焦……中寒饮聚,致令阳气欲下交而无路可循,故不寐也”,即“胃不和

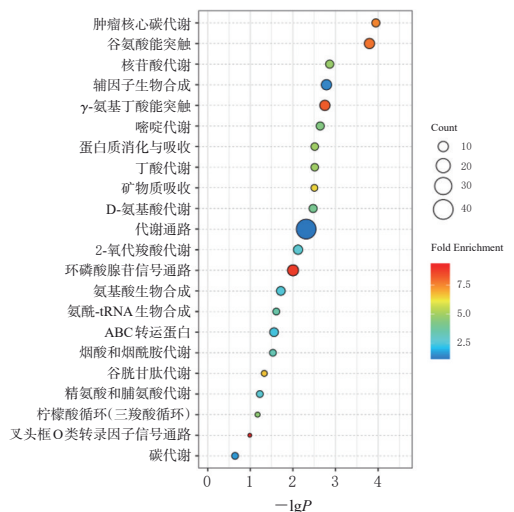


图8 BSAZD高剂量组对比模型组大鼠血清代谢物的KEGG图

则卧不安”为中焦不畅,阳不交阴而不寐;(3)五神不安于五脏——《续名医类案》曰“人之安睡,神归心,魄归肺,魂归肝,意归脾,志藏肾,五脏各安其位而寝”,即五神不安于五脏而不寐。此外,尚有“脏腑失调、阴阳失和”^[10]等观点。由此可见,不寐之病机虽各家描述不同,但归纳起来多属于“阳不交阴”“神不入舍”。

张星平教授依据《黄帝内经》“五神藏”理论及自身临床经验,提出了依据不寐直接症状确定其五脏病位的“中医不寐五神分型诊断法”^[11]。肾不藏志不寐是中医不寐五神分型诊断法中以夜寐早醒(即早醒)为直接症状特征的分型,病机为肾脏之精、气、阴、阳虚损所致的肾志不安于舍,多见于老年人。正如《冯氏锦囊秘录·杂症大小合参》曰:“壮年肾阴强盛,则睡沉熟而长;老年阴气衰弱,则睡轻而短”。治疗当以补肾安志为主。BSAZD具有补肾填精、益气定志的功效,在临床上治疗不寐已取得一定的效果。

本研究行为学实验结果显示,肾不藏志不寐模型大鼠入睡潜伏期延长,CE、CT增加;睡眠时间、OE、OT减少。BSAZD可逆转肾不藏志不寐模型大鼠上述指标,表明BSAZD可缓解其睡眠和焦虑样行为。海马病理形态学观察结果提示,模型组大鼠海马神经元存在明显损伤;不同剂量BSAZD均可不同程度减轻肾不藏志不寐模型大鼠海马神经元病变,其中以高剂量BSAZD的效果最优。该结果提示,BSAZD能够保护海马神经元,改善肾不藏志不寐。

本研究非靶向代谢组学研究结果显示,BSAZD调控肾不藏志不寐涉及多个差异代谢物及其富集的相关通路。在差异代谢物层面,显著变化的代谢物包括谷氨酸、谷胱甘肽等。其中,谷氨酸是中枢神经系统主要的兴奋性神经递质,其与抑制性神经递质 γ -氨基丁酸形成动态平衡,共同维持大脑正常的兴奋-抑制水平^[12]。有研究表明,谷氨酸升高会导致神经递质失衡而引发不寐^[13]。此外,谷胱甘肽和氧化型谷胱甘肽的比值是评价

细胞氧化应激水平的重要指标^[14]。当氧化应激发生时,谷胱甘肽会被氧化为氧化型谷胱甘肽,而氧化型谷胱甘肽的积累通常是氧化应激加剧的标志^[15]。在不寐病理条件下,谷胱甘肽水平降低、氧化型谷胱甘肽水平升高,该变化提示氧化应激反应增强,进而加重不寐。本研究结果显示,BSAZD可降低模型大鼠血清中谷氨酸水平,平衡神经递质;并可降低氧化型谷胱甘肽水平,抑制氧化应激。

进一步通过KEGG通路富集分析发现,BSAZD高剂量组对比模型组筛选得到的血清差异代谢物主要富集的通路包括 γ -氨基丁酸能突触、谷氨酸能突触、环磷酸腺苷信号通路、2-氧代羧酸代谢等信号通路。其中, γ -氨基丁酸能突触、谷氨酸能突触通路直接关联睡眠-觉醒调节中枢,其异常可导致兴奋-抑制失衡而诱发不寐^[12];ABC转运蛋白通路参与多种内源性物质及药物的跨膜转运,其功能异常可能影响神经活性物质的分布与清除^[16]。环磷酸腺苷信号通路可促进神经细胞分化、调控炎症反应和免疫等多种病理过程。该信号通路通过激活蛋白激酶A以调节cAMP应答元件结合蛋白质(cAMP response element binding protein, CREB)表达,进而促进CREB的磷酸化激活;激活后的CREB能够上调脑源性神经营养因子的生成与释放,促进神经细胞损伤的修复,从而改善不寐^[17]。此外,有研究表明,不寐可致大脑葡萄糖代谢紊乱和三羧酸循环活性降低^[18],而2-氧代羧酸代谢通路作为三羧酸循环的重要组成部分,其功能状态直接反映线粒体能量代谢水平^[19]。本研究结果提示,BSAZD能逆转模型大鼠的兴奋-抑制失衡,从而改善不寐;并且,其可通过正向调控2-氧代羧酸代谢通路,提高三羧酸循环通量,纠正能量代谢障碍。

综上所述,BSAZD可改善肾不藏志不寐大鼠睡眠质量,缓解焦虑样行为;其作用机制可能与调控 γ -氨基丁酸能突触、谷氨酸能突触信号通路,恢复神经递质平衡,进而减轻氧化应激损伤,以及调节环磷酸腺苷信号通路促进神经修复和2-氧代羧酸代谢通路改善能量供应等相关。然而,本研究仅通过血清非靶向代谢组学筛选获得差异代谢通路,尚未开展细胞、分子水平的靶点机制验证,也未结合脑组织样本同步分析中枢神经通路。后续研究将针对关键通路,检测脑组织神经递质与通路蛋白表达,并结合体外细胞实验明确该复方活性成分作用靶点,进一步完善BSAZD改善肾不藏志不寐的分子调控机制。

参考文献

- [1] 中医科学院失眠症中医临床实践指南课题组. 失眠症中医临床实践指南(WHO/WPO)[J]. 世界睡眠医学杂志, 2016, 3(1): 8-25.
- [2] Yoon J E, Oh D, Hwang I, et al. Longitudinal trends in sleep and related factors among South Korean adults from 2009 to 2018[J]. J Clin Neurol, 2023, 19(4): 392-401.
- [3] Perlis M L, Posner D, Riemann D, et al. Insomnia[J]. Lan-

cet, 2022, 400(10357): 1047-1060.

- [4] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会睡眠障碍学组, 张鹏, 等. 中国成人失眠诊断与治疗指南: 2017版[J]. 中华神经科杂志, 2018, 51(5): 324-335.
- [5] 田楚娇, 王亮, 王硕, 等. 和胃安神方治疗应激性失眠男性患者52例随机对照试验[J]. 中医杂志, 2024, 65(22): 2326-2331.
- [6] 孙洁, 郝振华, 张星平, 等. “补肾安志方”治疗以“夜寐早寤”为主症的老年不寐临床研究[J]. 中医学报, 2022, 50(7): 65-68.
- [7] 任小娟, 王晶, 陈小兵, 等. 远志对肾不藏志不寐大鼠睡眠影响的实验研究[J]. 新疆医科大学学报, 2022, 45(7): 770-775.
- [8] 贾宏林, 张星平, 陈旭, 等. 远志介导 γ -氨基丁酸转氨酶靶向Keap1/Nrf2信号通路调控肾不藏志不寐的作用机制[J]. 中华中医药杂志, 2025, 40(10): 4999-5004.
- [9] Sun L, Kang Q, Pan Y, et al. Serum metabolite profiling of familial adenomatous polyposis using ultra performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry[J]. Cancer Biol Ther, 2019, 20(7): 1017-1028.
- [10] 杨佐琴, 文谦, 李德华, 等. 梁繁荣教授“治神和脏”学术思想论治新冠后失眠经验撷英[J]. 四川中医, 2024, 42(7): 14-17.
- [11] 张星平, 邓宁, 陈俊逾, 等. 中医不寐五神分型诊断法对中医神志理论研究的价值[J]. 中华中医药杂志, 2018, 33(9): 3831-3833.
- [12] Li R, Pan Y K, Jing N N, et al. Flavonoids from mulberry leaves exhibit sleep-improving effects via regulating GABA and 5-HT receptors[J]. J Ethnopharmacol, 2025, 337: 118734.
- [13] 舒治钧, 黎明, 蔡定均, 等. 针刺对失眠大鼠自发活动节律周期及丘脑网状核内 γ -氨基丁酸能神经元的影响[J]. 中华中医药杂志, 2024, 39(6): 3063-3067.
- [14] Giustarini D, Colombo G, Garavaglia M L, et al. Assessment of glutathione/glutathione disulphide ratio and S-glutathionylated proteins in human blood, solid tissues, and cultured cells[J]. Free Radic Biol Med, 2017, 112: 360-375.
- [15] Jozefczak M, Remans T, Vangronsveld J, et al. Glutathione is a key player in metal-induced oxidative stress defenses[J]. Int J Mol Sci, 2012, 13(3): 3145-3175.
- [16] Schulz J A, Hartz A M S, Bauer B. ABCB1 and ABCG2 regulation at the blood-brain barrier: potential new targets to improve brain drug delivery[J]. Pharmacol Rev, 2023, 75(5): 815-853.
- [17] Bock A, Irannejad R, Scott J D. cAMP signaling: a remarkably regional affair[J]. Trends Biochem Sci, 2024, 49(4): 305-317.
- [18] He Q Q, Ji L W, Wang Y Y, et al. Acetate enables metabolic fitness and cognitive performance during sleep disruption[J]. Cell Metab, 2024, 36(9): 1998-2014.e15.
- [19] Li Q C, Hoppe T. Role of amino acid metabolism in mitochondrial homeostasis[J]. Front Cell Dev Biol, 2023, 11: 1127618.

(收稿日期: 2026-03-30 修回日期: 2026-06-17)

(本文责编: 林 静)