

• 基础研究 •

人参二醇皂苷对小鼠颈椎稳定性异常致脑功能损伤的影响

范文静¹, 何静春¹, 崔魏², 王燕嬉³, 赵洪艳¹, 赵丽娟¹

[摘要] 目的 观察人参二醇皂苷(PDS)对小鼠颈椎稳定性异常引起智力下降和脑组织损伤的影响。方法 44 只小鼠随机分为正常对照组、模型组、PDS 高剂量组和低剂量组各 11 只,手术制备小鼠颈椎失稳模型,PDS 腹腔注射(高剂量组:14 mg/kg;低剂量组:7 mg/kg)50 d,采用水迷宫、跳台实验方法检测小鼠学习记忆能力;用试剂盒检测脑组织超氧化物歧化酶(SOD)、乳酸脱氢酶(LDH)活性和丙二醛(MDA)、一氧化氮(NO)含量。结果 水迷宫实验:与模型组比较,PDS 高剂量组小鼠游全程时间缩短,错误次数减少($P < 0.05$);跳台实验:与模型组比较,PDS 高剂量组小鼠反应期明显缩短,错误次数明显减少($P < 0.01$);PDS 组小鼠脑组织 SOD、LDH 活性明显增强($P < 0.01$),MDA、NO 含量降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。结论 人参二醇皂苷对小鼠颈椎稳定性异常引起的学习记忆能力下降和脑损伤具有一定的改善和保护作用。

[关键词] 人参二醇皂苷;颈椎稳定性;氧自由基;小鼠

Effect of Panaxadiol Saponins on Cerebral Functional Lesion Induced by Destabilization of Cervical Vertebra in Mice FAN Wen-jing, HE Jing-chun, CUI Wei, et al. The Department of Pathophysiology, School of Basic Medical Sciences, Jilin University, Changchun 130021, Jilin, China

Abstract: **Objective** To observe the effect of panaxadiol saponins (PDS) on intellectual decline and cerebral lesion induced by destabilization of cervical vertebra in mice. **Methods** 44 mice were randomly divided into the normal control group, model group, high PDS doses group and low PDS doses group with 11 animals in each group. The model of destabilization of cervical vertebra was established by operating and intraperitoneal injection of PDS performed in the PDS high doses group (14 mg/kg) and low doses group (7 mg/kg) once everyday for 50 days. The memory ability of mice was evaluated by the water maze test and tittup platform experiment. 50 days later, all mice were executed and the activities of superoxide dismutase (SOD), lactic dehydrogenase (LDH) and the content of maleic dialdehyde (MDA), nitric oxide (NO) in encephalon were tested. **Results** In the PDS groups, the incubation period and error times in water maze test shortened significantly ($P < 0.05$), and the reaction period in tittup platform experiment shortened and wrong times decreased obviously ($P < 0.01$) compared with the model group. The activities of SOD, LDH increased ($P < 0.01$), and the content of MDA and NO decreased ($P < 0.01$, $P < 0.05$) in the PDS group compared with the model group. **Conclusion** PDS has certain protective and improving effect on the decline of memory ability and cerebral lesion induced by destabilization of cervical vertebra in mice.

Key words: panaxadiol saponins; stabilization of cervical vertebra; free radicals; mouse

[中图分类号] R971 [文献标识码] A [文章编号] 1006-9771(2007)04-0346-02

[本文著录格式] 范文静,何静春,崔魏,等. 人参二醇皂苷对小鼠颈椎稳定性异常致脑功能损伤的影响[J]. 中国康复理论与实践, 2007, 13(4): 346-347.

人参二醇皂苷(panaxadiol saponins, PDS)是人参皂苷生理活性的主要物质基础,包括单体 Rb1、Rb2、Rc、Rd 和 Rh2 等。目前已发现,PDS 对中枢神经系统有广泛的作用,如改善学习记忆、抗疲劳、抗衰老和增强机体的抗应激能力等^[1,2]。本实验通过破坏颈椎周围韧带引起小鼠颈椎稳定性异常,导致小鼠学习记忆能力下降和脑组织损伤,观察 PDS 对此种损伤的康复治疗作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品试剂 PDS 由吉林大学药学院天然药物化学教研室分离、提纯,制成试剂,浓度为 10 g/L,灭菌蒸馏水稀释。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)、丙二醛(maleic dialdehyde, MDA)、一氧化氮(nitric oxide, NO)试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.1.2 实验动物 雄性 6 月龄 C57 小鼠 44 只,体重(30 ± 2) g,

由吉林大学实验动物中心提供。

1.2 方法

1.2.1 实验分组 44 只小鼠经水迷宫检测学习记忆能力无明显差异,随机将动物分为 4 组:正常对照组、模型组、PDS 高剂量组和 PDS 低剂量组,每组 11 只。

1.2.2 制备病理模型 将小鼠乙醚麻醉后腹卧位固定,颈部消毒,颈后正中切口,止血钳逐层分离,用线作双结扎后剪断肌束,暴露颈椎韧带及第二颈椎,剪断棘突及颈椎棘上韧带,再用直径 1.0 mm 的电凝针烧灼烫伤侧韧带,而后缝合皮肤。对照组不做任何处理。术后 24 h 开始,PDS 高、低剂量组分别以 14 mg/kg 和 7 mg/kg 剂量 PDS 腹腔注射,1 次/d,连续给药 50 d;正常对照组和模型组腹腔注射等体积蒸馏水。

1.2.3 水迷宫实验 水迷宫由黑色有机玻璃板制成,水深 18 cm,水温(23 ± 1) °C,分成 A、B、C、D 区,终点区有一高出水平面的安全平台。各区至终点区为一阶段训练,每一阶段训练 3 次。每次到达平台上休息 30 s,再行下次实验。连续训练 3 d,第 4 天测试并记录游全程时间和错误次数。小鼠从起点 A 区游至终点台阶处的时间为游全程时间,进入盲端次数为错误次数。若动物 120 s 内未游到终点则以 120 s 计算。

1.2.4 跳台实验 跳台装置为直径 30 cm 的塑料圆柱箱,箱底为可通电的铜栅(由一调压器调节电压,提供交流电),底部边缘放置一直径和高为 4.5 cm 的绝缘橡皮垫作为回避电击的安

基金项目:吉林省教育厅资助项目(No. 2005201)

作者单位:1. 吉林大学基础医学院病理生理教研室,吉林长春市 130021;2. 长春医学高等专科学校,吉林长春市 130000;3. 白城医学高等专科学校病理教研室,吉林白城市 130000。作者简介:范文静(1979-),女,吉林大安市人,硕士研究生,主要从事药理研究。通讯作者:赵丽娟。

全台。实验时,将小鼠放入此装置中适应 3 min,然后立刻通 40 V 交流电。动物受电击后,正常反应是跳到安全台躲避电击。通电后小鼠跳至安全台的时间为反应期,3 min 观察时间内受电击的次数为错误次数。24 h 后测验并记录。

1.2.5 脑组织 SOD、MDA、LDH 和 NO 测定 造模 50 d 后,断头处死小鼠,于冰盘上迅速分离大脑,称重后以生理盐水 1:9 在冰水浴中制成 10% 脑匀浆,分装并-80℃冻存备用。各项指标测定均按试剂盒说明书所示方法。

1.3 统计学处理 所得数据用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 SPSS 12.0 软件进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 水迷宫实验 与正常对照组相比,模型组小鼠游全程时间延长,错误次数增加($P < 0.05$);与模型组比较,PDS 各组游全程时间均缩短,错误次数减少,但仅高剂量组的差异有显著性意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 4 组小鼠的水迷宫实验检测结果(n=11, $\bar{x} \pm s$)

组别	PDS 剂量 (mg/kg)	游全程时间 (s)	错误次数
正常对照组	-	22 ± 9.81	1.8 ± 1.32
模型组	-	37 ± 13.4 ^a	3.2 ± 1.78 ^a
PDS 高剂量组	14	20 ± 13.3 ^b	1.9 ± 1.22 ^b
PDS 低剂量组	7	24 ± 5.06	2.0 ± 1.93

注:a.与正常对照组比较, $P < 0.05$;b.与模型组比较, $P < 0.05$ 。

2.2 跳台实验 与正常对照组相比,模型组反应期明显延长,错误次数明显增多($P < 0.01$);与模型组比较,PDS 高剂量组的反应期明显缩短,PDS 高、低剂量组的错误次数均明显减少($P < 0.01$),见表 2。

表 2 4 组小鼠的跳台实验检测结果(n=11, $\bar{x} \pm s$)

组别	PDS 剂量 (mg/kg)	反应期 (s)	错误次数
正常对照组	-	9.3 ± 1.83	1.2 ± 0.92
模型组	-	53.3 ± 32.15 ^a	6.2 ± 1.53 ^a
PDS 高剂量组	14	12.3 ± 3.68 ^b	2.4 ± 0.97 ^b
PDS 低剂量组	7	52.9 ± 44.78	5.0 ± 2.58 ^b

注:a.与正常对照组比较, $P < 0.01$;b.与模型组比较, $P < 0.01$ 。

2.3 脑组织 SOD、MDA、LDH 和 NO 测定 与对照组比较,模型组小鼠脑组织 SOD 与 LDH 活性明显下降($P < 0.01$),MDA、NO 含量增加($P < 0.05$);与模型组相比,PDS 高剂量组小鼠脑组织 SOD、LDH 活性明显升高($P < 0.01$),MDA、NO 含量下降($P < 0.01$, $P < 0.05$),见表 3。

表 3 4 组小鼠脑组织 MDA 和 NO 含量及 SOD 和 LDH 活性比较(n=11, $\bar{x} \pm s$)

组别	PDS 剂量 (mg/kg)	SOD (U/ml)	MDA (nmol/ml)	LDH (U/g(pro))	NO (μmol/L)
正常对照组	-	37 ± 4.6	3.6 ± 1.28	5.1 ± 0.76	2.5 ± 0.15
模型组	-	12 ± 2.9 ^b	6.1 ± 2.81 ^a	3.7 ± 0.58 ^b	6.2 ± 0.44 ^a
PDS 高剂量组	14	22 ± 5.8 ^d	3.4 ± 1.26 ^d	4.2 ± 0.67 ^d	3.0 ± 0.18 ^c
PDS 低剂量组	7	10 ± 4.4	4.0 ± 1.57 ^c	4.1 ± 0.74 ^d	3.6 ± 0.15 ^c

注:a.与正常对照组比较, $P < 0.05$;b.与正常对照组比较, $P < 0.01$;c.与模型组比较, $P < 0.05$;d.与模型组比较, P

< 0.01 。

3 讨论

随着计算机技术的普及,人们在工作与生活中越来越多地需要使用计算机,而长时间操作计算机往往使颈椎长时间保持前屈姿势,这种非生理性体会使颈椎稳定性与灵活性受到破坏,最终导致颈椎关节结构、神经根受累。据有关资料显示,目前颈椎病的发病率正逐年增高,其中因使用计算机引起的占 35%。颈椎的生理学特性是活动度大,稳定性差,故依赖强有力的周围肌肉、筋膜和韧带的保护,其中任何因素变化均会导致颈椎稳定性异常^[3],由于力学不平衡而致肌张力失衡,骨关节轻度移位,压迫刺激周围血管神经,引起身体其他系统的相应症状和体征^[4]。我们采用破坏小鼠颈部肌肉韧带的方法使颈椎关节发生渐进性的微错位,造成椎动脉机械性受压,脑组织缺血缺氧,产生氧化应激损伤。颈交感神经受刺激可引起椎—基底动脉缺血^[5,6],而椎—基底动脉系统通过后交通动脉对边缘系统中的海马回、下丘脑等重要组织结构供血,椎—基底动脉供血不足,将导致边缘系统,特别是海马功能障碍,引起小鼠记忆障碍、情绪不稳定等症状^[7]。我们的前期研究已初步证明该模型的这一病理变化^[8]。

PDS 单体 Rb1 是人参促智作用的主要有效成分,通过增加乙酰胆碱的合成和释放,增强脑突触受体对胆碱的提取,同时增强脑内与记忆有关的多种神经营养因子 mRNA 的表达^[9]等方式,促进和提高正常动物与记忆损伤动物的学习记忆能力。Chang^[10]和 Kim^[11]等的研究均显示,人参二醇有明显的抗自由基作用,并以 Rb2 的作用最为明显,可以有效保护小动脉和中枢神经系统等免受自由基的损害。

本研究的水迷宫、跳台实验及脑组织生化指标测定结果显示,PDS 对小鼠颈椎稳定性异常引起的空间辨别能力、学习记忆能力下降和自由基所致的脑损伤有一定的保护作用。

[参考文献]

[1] Tohda C, Matsumoto N, Zou K, et al. A beta(25-35)-induced memory impairment, axonal atrophy, and synaptic loss are ameliorated by MI, a metabolite of protopanaxadiol-type saponins[J]. Neuropsychopharmacology, 2004, 29(9): 860-868.

[2] 杨国愉, 皇甫恩, 苗丹民. 人参皂苷对动物学习记忆影响的研究进展[J]. 中国行为医学科学, 2000, 9(3): 239-241.

[3] 姜思权, 党耕町, 蔡钦林. 颈椎病的诊断标准[C]//全国第二次颈椎病专题座谈会纪要, 青岛, 1992: 35-37.

[4] 张长江. 脊柱相关疾病[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998: 1-2.

[5] 于腾波, 夏玉军, 周秉文. 交感神经因素对椎—基底动脉血流影响的实验研究[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2000, 10(3): 157-159.

[6] 王立石, 赵丽娟, 何静春, 等. 小鼠颈椎稳定性异常与老年性痴呆的关系[J]. 吉林大学学报(医学版), 2005, 31(4): 731-734.

[7] 张学斌, 游国雄. 颅脑—颈椎外伤综合征的立论依据与实践[J]. 现代康复, 2000, 4(9): 1356-1367.

[8] 林桂渺, 赵洪艳, 范文静, 等. 囊胚椎乳酸堆积对小鼠学习记忆能力的影响[J]. 吉林大学学报(医学版), 2006, 32(6): 969-971.

[9] Liu M, Zhang JT. Effects of ginseno side Rg1 on c-fos gene expression and cAMP levels in rat hippocampus[J]. Acta Pharmacologica Sinica, 1996, 17(4): 171-174.

[10] Chang MS, Lee SG, Rho HM. Transcriptional activation of Cu/Zn superoxide dismutase and catalase genes by panaxadiol ginsenosides extracted from Panax ginseng[J]. Phytother Res, 1999, 16(3): 641-644.

[11] Kim YH, Park KH, Rho HM. Transcriptional activation of the Cu, Zn-superoxide dismutase gene through the AP2 site by ginsenoside Rb2 extracted from a medicinal plant, Panax ginseng[J]. J Bio Chemistry, 1996, 271(4): 24539-24543.

(收稿日期: 2006-08-18)