

人参皂苷 Rb1 对脑缺血 / 再灌注损伤大鼠 脑血流量的影响

何海娟¹ 杨燕青¹ 俞玉龙¹ 耿武军²

(1. 温州医科大学附属台州医院麻醉科, 浙江 台州 317000 ;

2. 温州医科大学附属第一医院麻醉科, 浙江 温州 325000)

【摘要】 目的 观察人参皂苷 Rb1 对缺血 / 再灌注 (I/R) 损伤大鼠脑血流量的影响, 为探讨其脑保护机制提供新的理论基础。方法 将 24 只大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型组、生理盐水对照组、人参皂苷 Rb1 组, 每组 6 只。采用大脑中动脉闭塞 (MCAO) 法复制大鼠脑 I/R 模型。人参皂苷 Rb1 组于制模后即刻腹腔注射人参皂苷 Rb1 40 mg/kg, 生理盐水对照组腹腔注射等体积生理盐水。脑 I/R 24 h 时监测大鼠局部脑血流量, 观察大鼠行为学评分, 并采用 2, 3, 5- 氯化三苯基四氮唑 (TTC) 染色法测量脑梗死体积。结果 与假手术组比较, 模型组梗死体积百分比 [(64.23 ± 8.12)% 比 0%] 和神经行为评分 [分: 3.0 (2.0 ~ 4.0) 比 0 (0 ~ 0), $P < 0.05$] 均明显升高, 局部脑血流量明显减少 (mL/min: 125.75 ± 57.65 比 225.01 ± 78.25, $P < 0.05$); 与模型组和生理盐水对照组比较, 人参皂苷 Rb1 组梗死体积百分比 [(23.62 ± 8.74)% 比 (64.23 ± 8.12)%、56.72 ± 8.92] 和神经行为学评分 [分: 0.5 (0.0 ~ 2.0) 比 3.0 (2.0 ~ 4.0)、3.5 (1.0 ~ 4.0)] 均明显降低 ($P < 0.05$), 局部脑血流量明显增多 (mL/min: 177.25 ± 75.36 比 125.75 ± 57.65, 132.65 ± 58.65, $P < 0.05$)。结论 人参皂苷 Rb1 可以增加 I/R 大鼠脑血流量, 这可能是人参皂苷 Rb1 发挥脑保护作用的机制之一。

【关键词】 缺血 / 再灌注损伤, 脑; 脑血流量; 人参皂苷 Rb1

The effect of ginsenosides Rb1 on cerebral blood flow of cerebral ischemia/reperfusion injury in rats
He Haijuan*, Yang Yanqing, Yu Yulong, Geng Wujun. *Department of Anesthesiology, Taizhou Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Taizhou 317000, Zhejiang, China

Corresponding author: Geng Wujun, Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, Zhejiang, China; Email: gengwujun@126.com

【Abstract】 Objective To observe the effect of ginsenosides Rb1 on cerebral blood flow of rat models with cerebral ischemia/reperfusion (I/R) injury, which could provide a new theory of cerebral protective mechanism about ginsenosides Rb1. **Methods** Twenty-four rats were randomly divided into sham-operation group, model group, normal saline control group and ginsenosides Rb1 group, 6 rats in each group. The middle cerebral artery occlusion (MCAO) model was established by thread embolism method. At the end of I/R, in the rat of ginsenosides Rb1 group, ginsenosides Rb1 40 mg/kg was immediately intraperitoneally injected, while in the rat of normal saline control group, an equal volume of normal saline was injected intraperitoneally. After I/R for 24 hours, the cerebral local amount of blood flow was measured, the rats' behavior score was observed, and the volume of cerebral infarction was monitored by 2, 3, 5-triphenyl tetrazolium chloride (TTC) staining. **Results** The percentage of volume of cerebral infarction [(64.23 ± 8.12)% vs. 0%] and behavior score [3.0 (2.0-4.0) vs. 0 (0-0), $P < 0.05$] in model group were significantly higher than those in sham-operation group, while the cerebral local amount of blood flow in model group was obviously lower than that in sham-operation group (mL/min: 125.75 ± 57.65 vs. 225.01 ± 78.25, $P < 0.05$); Compared with the model group and normal saline control group, the percentage of volume of cerebral infarction [(23.62 ± 8.74)% vs. (64.23 ± 8.12)%、56.72 ± 8.92] and behavior score [0.5 (0.0-2.0) vs. 3.0 (2.0-4.0), 3.5 (1.0-4.0)] in the ginsenosides Rb1 group were significantly lower, the cerebral local amount of blood flow was markedly increased in the ginsenosides Rb1 group (177.25 ± 75.36 vs. 125.75 ± 57.65, 132.65 ± 58.65, $P < 0.05$). **Conclusion** Ginsenosides Rb1 can increase the cerebral blood flow in rats with cerebral I/R injury, which maybe one of the mechanisms of cerebral protection of Ginsenosides Rb1.

【Key words】 Ischemia reperfusion injury, brain; Cerebral blood flow; Ginsenosides Rb1

人参具有益气固脱、养阴生精、生脉之功效。现代药理学研究证明, 人参中的主要有效成分之一是人参皂苷, 其中以人参皂苷 Rb1 为代表。有研究表

明, 人参皂苷 Rb1 对脑缺血 / 再灌注 (I/R) 损伤大鼠具有脑保护作用, 可以减少脑梗死体积和改善神经缺损的症状^[1-2], 但其脑保护机制并不完全明确。中医学认为, 人参具有活血化瘀的功效, 而现代药理学研究表明, 人参皂苷 Rb1 能减少血管内皮细胞一

doi: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.05.004

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (LY15H270014)

通讯作者: 耿武军, Email: gengwujun@126.com

氧化氮(NO)的释放,从而起到扩张血管的作用^[3]。因此本实验以局部脑血流量为观察切入点,探讨人参皂苷 Rb1 对脑 I/R 大鼠脑血流量的影响。

1 材料与方 法

1.1 动物选择及实验分组:健康成年 SD 雄性大鼠 24 只,体质量(220±10)g,由温州医科大学动物实验室提供,动物合格证:医动字第 2007000517432 号。手术前 1 d 禁食,自由饮水。将 24 只大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型组、生理盐水对照组、人参皂苷 Rb1 组,每组 6 只。

1.2 模型复制及给药方法:参照 Longa 等^[4]的方法采用大脑中动脉闭塞(MCAO)法复制大鼠脑 I/R 模型。以 10% 水合氯醛麻醉大鼠,结扎离断颈外动脉(ECA),用动脉夹夹住左侧颈总动脉(CCA),同时在 ECA 残端处剪一小口,置入线栓圆头端,将尼龙线栓尾端经 CCA 沿颈内动脉(CA)放入颅腔,直至大脑中动脉(MCA),插入深度约 20 mm,遇阻力即止,此时即造成大脑中动脉供血区血流的阻断,缺血 2 h 后,抽出线栓造成再灌注。动物苏醒后按照 Longa 等^[4]的标准对大鼠神经功能进行评分,评分 1 分以上的大鼠作为实验观察对象,0 分则剔除。整个实验过程中监测大鼠肛温,保持在(37.0±0.5)℃。人参皂苷 Rb1 组大鼠制模成功后即刻腹腔注射生脉注射液 40 mg/kg,生理盐水对照组注射等量生理盐水。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 局部脑血流量测定:大鼠取俯卧位,头部备皮消毒后,矢状位剪开额顶部皮肤 1 cm,暴露皮下组织,用双氧水棉签摩擦暴露筋膜至露出右半颅骨及颅骨前囟,并使用立体定位仪以前囟起点向右 5 mm、向后 3 mm,用牙科砖打孔,以穿透颅骨但未破硬脑膜为宜。将多普勒探头固定于孔上,记录右侧大脑中动脉供血区域血流量的变化。

1.3.2 脑梗死体积测定:脑 I/R 后 24 h,用 10% 水合氯醛麻醉大鼠后断头取脑,用脑模具切成厚 2 mm 的冠状切片,置于 2% 37℃ 2, 3, 5- 氯化三苯基四氮唑(TTC)溶液中,20 min,染色后正常脑组织呈红色,梗死区呈苍白色。用扫描仪将照片扫入 LUZEX-F 型图像分析仪内分析,计算出梗死体积百分比。

1.3.3 行为学检测:于脑 I/R 24 h 进行神经功能评分,行为学评分参照标准^[4]:0 分无功能障碍 1 级,不能伸展左侧前肢级,2 分为向左侧旋转圈,3 分为向左侧倾倒,4 分为无自主活动伴意识障碍。

1.4 统计学方法:使用 SPSS 18.0 软件进行统计分析,正态分布的计量数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,方差齐则采用 LSD 检验;若方差不齐,则采用 Tamhane 检验;非正态分布的计量资料以中位数[M(范围)]表示,采用非参数秩和检验 Kruskal-Wallis,若组间存在差异,用 Nemenyi 方法进行两两比较。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 人参皂苷 Rb1 对 MCAO 大鼠脑梗死体积和脑血流的影响(表 1):模型组大鼠脑梗死体积较假手术组明显增大,局部脑血流量较假手术组明显减少;人参皂苷 Rb1 组大鼠脑梗死体积较生理盐水对照组和模型组明显缩小,局部脑血流量较生理盐水对照组和模型组明显增多(均 $P < 0.05$)。

表 1 各组大鼠脑 I/R 24 h 梗死体积与局部脑血流量的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数(只)	梗死体积百分比(%)	局部脑血流量(mL/min)
假手术组	6	0	225.01 ± 78.25
模型组	6	64.23 ± 8.12 ^a	125.75 ± 57.65 ^a
生理盐水对照组	6	56.72 ± 8.92	132.65 ± 58.65
人参皂苷 Rb1 组	6	23.62 ± 8.74 ^{bc}	177.25 ± 75.36 ^{bc}

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与生理盐水对照组比较,^c $P < 0.05$

2.2 人参皂苷 Rb1 对 MCAO 大鼠行为学评分的影响(表 2):模型组大鼠行为学评分明显高于假手术组,人参皂苷 Rb1 组大鼠行为学评分较生理盐水对照组和模型组降低($P < 0.05$)。

表 2 各组大鼠脑 I/R 24 h 神经行为学评分的比较

组别	动物数(只)	神经行为学评分(只)						M(范围)
		0分	1分	2分	3分	4分		
假手术组	6	6	0	0	0	0	0 (0 ~ 0)	
模型组	6	0	0	2	2	2	3.0(2.0 ~ 4.0) ^a	
生理盐水对照组	6	0	0	1	2	3	3.5(1.0 ~ 4.0)	
人参皂苷 Rb1 组	6	3	2	1	0	0	0.5(0.0 ~ 2.0) ^{bc}	

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与生理盐水对照组比较,^c $P < 0.05$

3 讨 论

脑 I/R 损伤的机制十分复杂,是一个多因素多环节的级联反应,如何缓解 I/R 损伤是目前研究的热点与难点^[5-6]。李国福等^[7]研究表明,异氟烷预处理或后处理可缓解 I/R 引起的血清中炎症因子分

泌及过氧化程度,降低大脑组织中基质金属蛋白酶(MMP)对紧密连接蛋白的蛋白水解活性,减少紧密连接蛋白的缺失,从而减轻 I/R 损伤。也有研究表明,脑 I/R 后,脑细胞水肿,颅内压升高,从而使脑血流量减少^[8],因此增加脑血流量或许能减轻脑 I/R 损伤。有研究表明,人参皂苷 Rb1 具有神经保护作用^[1-2]。本研究结果表明,人参皂苷 Rb1 组大鼠行为学评分较模型组明显降低,脑梗死体积较模型组明显减小;而脑 I/R 后 24 h,人参皂苷 Rb1 组大鼠局部脑血流量较模型组明显增加。因此人参皂苷 Rb1 的脑保护作用机制可能与增加脑 I/R 血流量有关。

腺苷是中枢神经系统中的一种重要递质,其可激活神经系统中的腺苷 A1 受体而达到脑保护作用^[9-10],并可激活血管内皮细胞膜上的腺苷 A2a 受体达到扩张血管的作用^[8]。有研究表明,激活腺苷 A2a 受体可以缓解脑出血后的血管痉挛而起到脑保护作用^[11]。脑梗死后,脑细胞水肿坏死,颅内压增加,脑血流量减少。现代药理学研究表明,参麦注射液的有效成分是麦冬皂苷和人参皂苷 Rb1、麦冬黄酮、麦冬多糖和人参多糖^[12]。有研究表明,参麦注射液可以提高脑组织中腺苷含量^[12]。人参皂苷 Rb1 也是参麦注射液的有效成分之一,因此人参皂苷 Rb1 也可能增加脑组织中的腺苷含量,从而激活脑血管内皮细胞膜上的腺苷 A2a 受体,进而使脑血管扩张,增加脑血流量,从而达到脑保护的作用。另外人参皂苷 Rb1 也可以通过激活腺苷 A1 受体达到脑保护作用。中医学认为,人参具有活血化瘀的功效^[13],因此人参皂苷 Rb1 可能通过降低血液黏稠度进而减少血液流经血管的阻力,进而增加脑血流量。腺苷 A2a 受体可能介导了人参皂苷 Rb1 对脑 I/R 损伤大鼠脑血流量的增加^[14]。另外,炎性因子也是脑 I/R 损伤的一个重要机制,增加脑血流量对清除炎性因子起了重要的作用^[15]。

综上,本研究提示,人参皂苷 Rb1 具有脑保护作用,其可能机制之一是增加 I/R 大鼠的脑血流量。

参考文献

- [1] 孙德旭, 萧洪文, 袁琼兰, 等. 人参皂苷 Rb1 对大鼠脑缺血再灌注损伤中 NAIP 表达的影响[J]. 解剖与临床, 2007, 12(4): 250-253.
- [2] 刘俊伟, 张慧玲, 李斌, 等. 人参皂苷 Rb1 联合亚低温对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤保护作用的实验研究[J]. 中国中医急症, 2014, 23(10): 1793-1795.
- [3] 解慧梅, 胡格, 索占伟, 等. 人参皂苷 Rb1 和黄芪多糖对微血管内皮细胞分泌 NO、IL-6 和 TNF- α 的影响[J]. 畜牧兽医学报, 2006, 37(9): 903-907.
- [4] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.
- [5] Gui L, Duan W, Tian H, et al. Adenosine A2A receptor deficiency reduces striatal glutamate outflow and attenuates brain injury induced by transient focal cerebral ischemia in mice [J]. Brain Res, 2009, 1297: 185-193.
- [6] 周宏锋, 程多今, 黄怀, 等. 高压氧大鼠脑缺血/再灌注损伤细胞凋亡的作用研究[J]. 中华危重病急救医学, 2002, 14(11): 692-694.
- [7] 李国福, 贾佳, 符加红, 等. 异氟烷预处理或后处理对大鼠局灶性脑缺血/再灌注损伤的影响[J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26(6): 431-435.
- [8] 鲁华荣, 宋胜文, 韩琨元, 等. 腺苷 A1 受体介导参麦注射液对脑缺血再灌注损伤大鼠脑保护作用的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2015, 35(9): 1109-1112.
- [9] 戴勤学, 王雷雷, 晁娟, 等. 百会穴注射腺苷 A1 受体激动剂对脑缺血再灌注损伤大鼠大脑皮质的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(3): 390-393.
- [10] Tohdoh Y, Narimatsu E, Kawamata M, et al. The involvement of adenosine neuromodulation in pentobarbital-induced field excitatory postsynaptic potentials depression in rat hippocampal slices [J]. Anesth Analg, 2000, 91(6): 1537-1541.
- [11] Lin CL, Shih HC, Lieu AS, et al. Attenuation of experimental subarachnoid hemorrhage--induced cerebral vasospasm by the adenosine A2A receptor agonist CGS 21680 [J]. J Neurosurg, 2007, 106(3): 436-441.
- [12] 黄陆平, 何昕, 戴勤学, 等. 参麦注射液对大鼠大脑皮层嘌呤含量的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2015, 22(2): 154-156.
- [13] 王文奇, 李一帆, 张大威. 人参骨髓间充质干细胞移植对脊髓损伤大鼠功能恢复的影响[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2014, 21(6): 401-404.
- [14] 戴勤学, 张荣, 张民远, 等. 腺苷 A2a 受体介导人参皂苷 Rb1 增加脑缺血/再灌注损伤大鼠的脑血流量[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2016, 23(4): 337-340.
- [15] 王涛, 文亮, 李大江. 全脑缺血/再灌注损伤后炎性细胞因子的变化及其意义[J]. 中华危重病急救医学, 2000, 12(5): 290-292.

(收稿日期: 2016-03-07)

(本文编辑: 邸美仙 李银平)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对基金目标注的有关要求

基金项目指论文产出的资助背景,例如国家自然科学基金资助项目、国家高技术研究发展计划(863)项目、国家科技攻关计划、国家重点基础研究发展规划(973项目);行业专项基金列出提供基金的单位,如国家卫生和计划生育委员会科研基金,临床重点专项资金建设项目可只列出国家临床重点学科建设项目或国家中医药管理局临床重点学科建设项目等。各省市基金也同上方法。

获得基金资助的论文应在文章首页左下方标注“基金项目”,项目名称应按国家有关部门规定的正式名称填写,并在圆括号内注明其项目编号,多项基金应依次列出,其间以分号隔开。例如:基金项目:国家自然科学基金资助项目(30271269);广东省建设中医药强省科研项目(20121078)。作者投稿时应向编辑部提供基金证书的复印件。