

- [24] Wang X B, Wang S S, Zhang Q F, *et al.* Inhibition of tetramethylpyrazine on P-gp, MRP2, MRP3 and MRP5 in multidrug resistant human hepatocellular carcinoma cells [J]. *Oncol Rep*, 2010, 23(1): 211-215.
- [25] Kania K D, Wijesuriya H C, Hladky S B, *et al.* Beta amyloid effects on expression of multidrug efflux transporters in brain endothelial cells [J]. *Brain Res*, 2011, 1418: 1-11.
- [26] 刘海艳, 顾红梅, 俞森, 等. 乳腺癌耐药蛋白与糖尿病 [J]. *生理科学进展*, 2013, 44(2): 20-25.
- [27] 吴娜, 刘安立, 余国行. 乳腺癌耐药蛋白在肿瘤中的研究进展 [J]. *医学综述*, 2018, 24(2): 295-300.

人参皂苷 Rg3 对 UVB 致抑郁模型大鼠行为学的影响

朱爽, 姜涛, 张洪长, 韩燕燕, 张哲, 王恩鹏*, 陈长宝*
(长春中医药大学, 吉林 长春 130117)

摘要: 目的 探究人参皂苷 Rg3 对 UVB 致抑郁模型大鼠行为学的影响。方法 采用体外单胺氧化酶试验对人参皂苷 Rg3、Rb1、Rc、Re、Rf、Rg1、Rh2 进行抗抑郁作用筛选。将 SD 大鼠随机分成空白组、UVB 模型组及人参皂苷 Rg3 低、高剂量组 (40.0、80.0 mg/kg)。建立 UVB 辐射大鼠抑郁模型, 给药组连续给药 21 d, 空白组及 UVB 模型组每日给予等量生理盐水。通过糖水偏好和强迫游泳实验观察大鼠抑郁行为, ELISA 法测定血清 5-HT 及皮质酮水平。**结果** 人参皂苷 Rg3 对单胺氧化酶 A 有较好的抑制效果, 可以有效阻断单胺氧化酶 A 和底物结合, 其 IC₅₀ 值为 3.094 μmol/mL。与模型组比较, 人参皂苷 Rg3 低、高剂量组糖水偏好率增加 (P<0.01); 强迫游泳实验中大鼠不动时间缩短 (P<0.01); 大鼠血清中 5-HT 水平升高 (P<0.01), 血清中皮质酮水平降低 (P<0.05)。**结论** 人参皂苷 Rg3 具有较好的抗抑郁作用, 可以明显改善 UVB 辐射导致的大鼠抑郁行为, 其机制可能与对 5-HT 及皮质酮的调节有关。

关键词: 人参皂苷 Rg3; 抑郁症; 单胺氧化酶 A; UVB 辐射; 行为学

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** B **文章编号:** 1001-1528(2021)11-3143-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.11.040

抑郁症的特点是思维迟钝、情绪低落、语言行动减少、缺乏活力和食欲不振等。随着工作和生活的步伐加快, 人类所受的压力愈来愈大, 抑郁症的病发率逐渐上升。根据世界卫生组织预测, 抑郁症将列为疾病负担的第二重病, 仅次于心脏病^[1]。目前公认的致病机制有单胺类神经递质理论、下丘脑-垂体-肾上腺轴 (HPA 轴) 理论、脑源性神经营养因子理论、免疫功能异常理论及氧化应激理论等^[2-3], 其中前两种假说已经得到广泛认可, 故本研究以两种假说的常用指标 5-羟色胺 (5-HT) 和皮质酮 (CORT) 作为判定抑郁症的依据。紫外线是皮肤最常接触的刺激源, 过量照射产生的高浓度活性氧簇能够引发氧化应激反应, 从而导致皮肤损伤、机体免疫抑制、甚至皮肤癌^[4]。最新研究表明, 中波紫外线 (ultraviolet B, UVB) 辐射可导致

HPA 轴活化, 降低海马神经新生和突触蛋白表达, 并导致受照小鼠产生抑郁行为, 而越来越多的证据表明, 氧化应激产生的炎症可能是诱发抑郁症的重要因素^[5-6]。

人参 *Panax ginseng* C. A. Mey. 为五加科植物, 是我国珍贵滋补养生中药, 人参皂苷是其主要药效成分, 是一种固醇类化合物, 含量在 40.0% 左右, 主要成分包括人参皂苷 Re、Rg1、Rg2、Rg3、Rh1、Rh2、Rb1、Rb2、Rb3、Rc、Rd 等, 有抗衰老、抗老年痴呆、抗心律失常、抗肿瘤、降血糖血脂、抑制细胞凋亡等功效^[7]。通过文献调研发现系统筛选人参皂苷抗抑郁活性成分的研究较少, 因此本研究采用体外单胺氧化酶筛选人参中抗抑郁作用单体皂苷, 建立 UVB 辐射抑郁大鼠模型, 研究其活性成分对大鼠行为学及生化指标的影响。

收稿日期: 2020-07-23

基金项目: 国家重点研发计划项目 (2019YFC1710704); 吉林省科技发展计划项目 (20190201297JC, 20190304099YY, 20200404042YY); 吉林省省级产业创新专项资金项目 (2017C056-2); 长春市科技局科技创新重大专项 (17YJ008)

作者简介: 朱爽 (1995—), 女, 硕士生, 从事人参抗抑郁作用研究。Tel: 13514311770, E-mail: 1751029470@qq.com

* **通信作者:** 陈长宝, 研究员, 从事中药资源开发与利用研究。E-mail: ccb2021@126.com

王恩鹏, 副研究员, 从事中药有效物质基础及机制研究。E-mail: robbinwang@163.com

网络出版日期: 2020-11-26

网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1368.r.20201125.1508.004.html>

1 材料

1.1 动物 40只SD雄性大鼠,体质量(180.0±10.0)g,购自长春生物制品有限公司动物中心,实验动物生产许可证号SCXK-(辽)2018-0001,饲养温度20.0~25.0℃,相对湿度50.0%~60.0%,适应性饲养1周,期间饮食自由。

1.2 药物与试剂 单胺氧化酶、氯吉兰、犬尿胺二氢溴酸盐(批号SLBW9211、MKBW9449V、MKCF5310,美国Sigma-Aldrich公司);磷酸二氢钠、磷酸氢二钠(批号20170429、20160806,分析纯,北京化工厂有限责任公司)。人参皂苷Rg3、Rb1、Rc、Re、Rf、Rg1、Rh2对照品(纯度大于98%,吉林大学有机化学教研室);5-HT、CORT酶联免疫吸附测定(ELISA)试剂盒(批号DG-050820R、DG-031538R,美国R&D公司)。

1.3 仪器 DK600B型保温箱(上海森信仪器有限公司);TCG16G型涡旋仪(上海安亭科学仪器厂);Infinite M200PRO酶标仪(瑞士Tecan公司);Eppendorf 5804R高速离心机(德国Eppendorf公司);BT25S天平[赛多利斯科学仪器(北京)有限公司];-80℃超低温冰箱MDF-U54V[松下医疗器械(上海)有限公司]。

2 方法

2.1 人参皂苷对单胺氧化酶A抑制活性测定 参考文献[8-9],优化反应条件,确立反应总体积为200μL。分别向96孔酶标板中加入20μL样品、30μL底物和130μL PBS缓冲液,振荡均匀,于37.0℃恒温条件下反应10min,加入20μL的单胺氧化酶液(30U/mL),振荡均匀,37.0℃恒温环境下孵育40min,立即检测360nm处的光密度值(OD),平行试验3次得平均值,即为OD_{样品},空白孔(不加样品,其他步骤相同)的光密度值为OD_{空白},背景孔(不加酶试剂和底物,其他步骤相同)的光密度值为OD_{背景},底物孔(不加酶试剂和样品,其他步骤相同)的光密度值为OD_{底物}。酶的活性范围(OD_{底物}-OD_{空白})等于ΔOD,最后以下述公式计算抑制率。

$$\text{抑制率} = \frac{A_{\text{样品}} - A_{\text{背景}} - A_{\text{空白}}}{\Delta A} \times 100\%$$

2.2 人参皂苷Rg3对单胺氧化酶A抑制活性动力学研究

2.2.1 人参皂苷Rg3对单胺氧化酶A结合可逆性分析 许多抑制剂通过形成一种抑制剂-酶复合物来抑制目标酶的活性,而此过程在含有大量抑制剂环境中会加速进行。为了分析抑制剂与单胺氧化酶A结合的可逆性,可将酶与高浓度抑制剂(人参皂苷Rg3或阳性对照药物氯吉兰)一起孵育,然后对酶-抑制剂复合物进行广泛透析,恢复酶的活性,并分析比较透析前后其活性的变化。将5.0μmol/mL人参皂苷Rg3与单胺氧化酶A一起孵育,总反应体系1.0mL,37.0℃保温40min后,测定其在360nm波长下光密度值。通过在冰上冷却控制反应的终止,样品保持在4℃下用PBS缓冲液透析14h(更换3次)。空白组与阳性对照组进行同样操作,透析前后测定酶活性,判断抑制剂对单胺氧化酶A的抑制活性类型,即可逆性或非可逆性。

2.2.2 人参皂苷Rg3的单胺氧化酶A抑制活性类型 反应体积200μL不变,固定反应体系中酶溶液的量,改变底物和样品浓度,以底物浓度倒数(1/[S])为X轴、反应速率倒数(1/V)为Y轴,绘制Lineweaver-Burk双倒数曲线,判断人参皂苷Rg3对单胺氧化酶A可逆抑制类型,即竞争抑制、反竞争抑制、非竞争抑制或者是混合抑制。

2.3 人参皂苷Rg3对抑郁大鼠行为学及生化指标的影响

2.3.1 动物模型制备与分组 取雄性SD大鼠40只,体质量(180.0±20.0)g,禁食12h称定质量,用剃毛器剃除大鼠背部绒毛,间隔2d剃除1次,实验前随机分为空白组,UVB模型组,人参皂苷Rg3低、高剂量组(40.0、80.0mg/kg),每组10只。UVB照射剂量和造模方法与文献[10-11]类似,分别将模型组SD大鼠放于自制的盒子中,使其固定背部朝上,期间禁食禁水。给药组在UVB照射前30min给予药液,模型组与空白组同时给予生理盐水。UVB辐射时,大鼠背部距离光源30.0~42.0cm,照射剂量每次366.0mJ/cm²,持续照射5d,第6天后,每2d进行1次辐射,共14d(10次),总辐射剂量5.12J/cm²。收集第14天空白组、UVB模型组及给药组的血清样品,于-80℃冰箱保存。

2.3.2 糖水偏好实验 糖水偏好是快感缺失的评价指标。建模前实验动物在安静房间内适应含糖饮水。第1天给予大鼠两瓶1.0%蔗糖水,第2天给予1瓶纯水和1瓶1.0%蔗糖水,并在中间点更换两瓶位置。禁食禁水24h后,进行动物的基本自来水消耗试验,每只大鼠给予预定量的1.0%蔗糖水和纯水,大鼠自由饮水24h,并在中间时间更换两瓶位置。24h后统计大鼠饮水情况。计算糖水偏好率并取平均值。糖水偏好率计算公式如下。

$$\text{糖水偏好率} = \frac{\text{糖水消耗量}}{\text{糖水消耗量} - \text{纯水消耗量}} \times 100\%$$

2.3.3 强迫游泳实验 强迫游泳实验反应大鼠的绝望程度。制备圆柱形容器(直径11.0cm,高25.0cm),水深20.0cm,水温保持在(25.0±1.0)℃。将大鼠放于水中6min,并记录不动时间,不动标准为大鼠漂浮在水面,身体不挣扎。试验结束后,用毛巾擦干大鼠的毛发,保持体温,清洗漂浮在水面上的粪便。

2.3.4 血清5-HT和皮质酮水平测定 行为学测试后,进行大鼠眼眶取血,取血2.0mL,在4℃血液冷却后3000r/min离心10min,取上清-80℃保存,通过ELISA测定5-HT和CORT水平,严格遵循试剂盒说明书。

2.4 统计学方法 通过SPSS 19.0统计软件分析数据,实验结果以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析。P<0.05为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 人参皂苷的单胺氧化酶A抑制活性测定结果 单胺氧化酶是负责单胺神经递质的代谢,影响大脑发育和功能的酶。由图1可知,不同浓度的人参皂苷作用在相同浓度的酶和底物复合物中,人参皂苷Rg3具有较好的释放底物,

升高光密度的作用。从图2可以看出,人参皂苷 Rg3 的 IC₅₀ 值为 3.094 μmol/mL,对单胺氧化酶 A 具有较好的抑制效果。

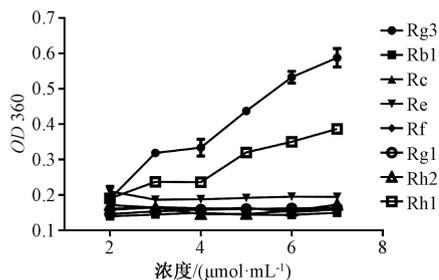


图1 不同浓度人参皂苷对单胺氧化酶 A 抑制作用

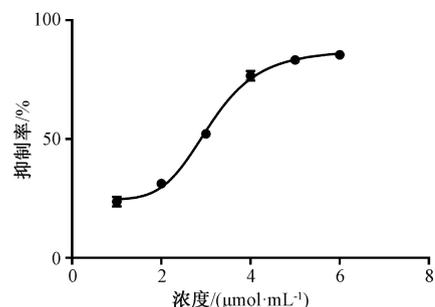
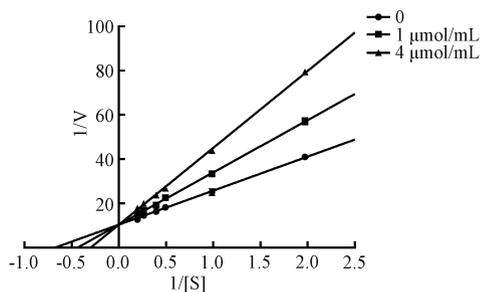


图2 人参皂苷 Rg3 对单胺氧化酶 A 抑制活性结果

3.2 人参皂苷 Rg3 的单胺氧化酶 A 抑制活性动力学研究结果

3.2.1 人参皂苷 Rg3 的单胺氧化酶 A 结合可逆性分析 采用透析法测定酶-抑制剂复合物的游离度,研究人参皂苷 Rg3 的结合特性。将高浓度的人参皂苷 Rg3 与单胺氧化酶 A 孵育 40 min,将酶-抑制剂复合物混合物在 4 ℃ 的缓冲溶液中进行透析,分析透析前后酶的活性(图3)。在没有抑制剂的情况下对单胺氧化酶 A 进行对照反应,结果显示单胺氧化酶 A 在透析过程中丧失了约 10.0%~15.0% 的活性。5.0 μmol/mL 的人参皂苷 Rg3 可以抑制 95.0% 以上的酶活性,透析后,超过 70.0% 的酶活性从酶-抑制剂复合物中恢

复出来,这表明了人参皂苷 Rg3 对单胺氧化酶 A 的抑制是可逆的,形成了可分离的酶抑制剂复合物。而阳性药(氯吉兰)的结果显示了与单胺氧化酶 A 的可逆性结合。



注:与透析前比较,** $P < 0.01$ 。

图3 人参皂苷 Rg3 的单胺氧化酶 A 抑制活性类型 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

3.2.2 人参皂苷 Rg3 的单胺氧化酶 A 可逆抑制活性类型 通过改变底物和样品浓度来研究人参皂苷 Rg3 对单胺氧化酶的抑制类型,结果(图4)表明,人参皂苷 Rg3 的系列曲线交于 Y 轴,随着抑制剂浓度的增加, Km 增大, Vmax 不变,表明人参皂苷 Rg3 对单胺氧化酶 A 的抑制类型属于竞争性抑制^[12-13]。

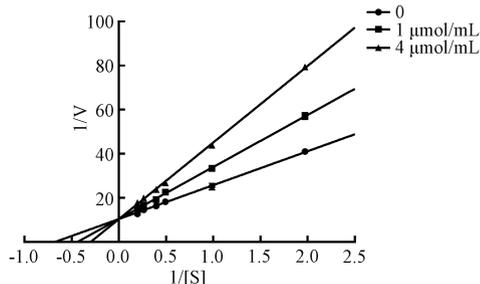


图4 人参皂苷 Rg3 的单胺氧化酶 A 可逆抑制活性类型

3.3 糖水偏好实验结果 如表1所示,辐射第14、21天,与空白组比较,模型组大鼠糖水偏好降低 ($P < 0.05, P < 0.01$);与模型组比较,人参皂苷 Rg3 低、高剂量组大鼠糖水偏好均提高 ($P < 0.05, P < 0.01$)。

表1 各组大鼠糖水偏好比较 (% , $\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	辐射前	辐射第14天	辐射第21天
空白组	88.30±6.20	87.50±9.35	90.00±4.20
模型组	90.50±5.20	70.80±8.10*	55.30±12.60**
人参皂苷 Rg3 低剂量组	85.00±11.30	86.20±4.45#	90.60±5.60###
人参皂苷 Rg3 高剂量组	91.50±4.80	92.00±4.50#	96.70±11.50##

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

3.4 强迫游泳实验结果 如表2所示,辐射第14、21天,与空白组比较,模型组大鼠不动时间延长 ($P < 0.05, P <$

0.01);与模型组比较,人参皂苷 Rg3 低、高剂量组大鼠不动时间均缩短 ($P < 0.05, P < 0.01$)。

表2 各组大鼠强迫游泳不动时间比较 (s , $\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	辐射前	辐射第14天	辐射第21天
空白组	45.50±24.53	47.50±19.14	54.75±7.14
模型组	43.50±9.76	74.50±7.77*	104.00±16.99**
人参皂苷 Rg3 低剂量组	47.00±12.90	54.52±11.70#	56.00±10.98##
人参皂苷 Rg3 高剂量组	44.25±16.02	48.25±9.11#	53.50±13.92##

注:与空白组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,# $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

3.5 血清 5-HT、皮质酮水平测定结果 由表 3 可知，与空白组比较，模型组大鼠血清 5-HT 水平降低 ($P < 0.01$)，血清皮质酮水平升高 ($P < 0.05$)；与模型组比较，人参皂苷 Rg3 低、高剂量组大鼠血清 5-HT 水平均升高 ($P < 0.01$)，血清皮质酮水平均降低 ($P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠血清 5-羟色胺和皮质酮表达的比较
($\mu\text{g/mL}$, $\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	5-羟色胺	皮质酮
空白组	1.88±0.03	0.53±0.44
模型组	1.16±0.07**	0.61±0.42*
人参皂苷 Rg3 低剂量组	1.79±0.04##	0.56±0.20#
人参皂苷 Rg3 高剂量组	1.86±0.07##	0.58±0.44#

注：与空白组比较，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ；与模型组比较，# $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$ 。

4 讨论

抑郁症是一种以明显而持久的情绪低落为主要特点的综合性常见情感精神性疾病，早在我国古代文献中多有记载，属于中医“郁证”范畴。虽然抑郁症的单胺类神经递质学说是目前较为公认的致病机制，但仍无法完全解释抑郁症的病理生理学机制。近年来，大量研究表明抑郁症的发病率和 HPA 轴失调之间存在着一定的关系，而过度的应激刺激可能是引发抑郁症的主要因素^[14]。UVB 辐射可刺激机体产生炎症，并生成大量活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS)，引起氧化应激反应。而氧化应激可导致 HPA 轴活化，通过下丘脑分泌促肾上腺皮质激素释放激素，并刺激促进垂体前叶释放促肾上腺皮质激素，使肾上腺内合成和释放糖皮质激素，使血浆中糖皮质激素含量升高。糖皮质激素可以与海马组织中的特异性受体结合，促进海马神经细胞内立早基因的表达，作用于 cAMP 反应元件结合蛋白，抑制脑源性神经营养因子的生成，破坏海马的神经可塑性，进而导致抑郁症^[15]。本实验采用 UVB 辐射方法造模，与其他造模方法相比^[16]，应激法可较好地模仿临床抑郁患者的症状，且本实验造模方法简单易行、造模时间较短、成本低、实验重复性及可控性较好。综合以上实验结果表明，使用的 UVB 辐射动物模型基本模拟了抑郁患者的情绪低落、快感缺乏、思维动作迟钝等抑郁表现和体内单胺类神经递质、HPA 轴相关因子代谢异常等变化。

在行为学测试中，快感缺失和易产生绝望情绪反映了动物的抑郁样行为，蔗糖偏好和强迫游泳实验是行为学测试中的常用方法。糖水偏好率是快感缺失的主要指标，有研究指出，糖水饮用量的减少能够反映动物的快感缺乏情况。强迫游泳实验反映了动物在无法逃脱现有环境时的绝望状态，通常以在水中不动时间表示，时间越长，动物越绝望。本研究中，人参皂苷 Rg3 灌胃可以提高模型大鼠糖水偏好率、缩短强迫游泳不动时间，说明人参皂苷 Rg3 有明显的抗抑郁效果。在抑郁患者中，HPA 轴过度活跃，而皮质酮是 HPA 轴的重要激素之一，它可以调节人体的代

谢、认知和情绪，尤其对焦虑和抑郁作用明显。5-HT 是抑郁相关的神经递质，当其水平不足时，会使中脑边缘系统、网状结构和低位脑干的中线区的神经元功能失调，从而出现抑郁症状。本研究中，人参皂苷 Rg3 治疗可使模型大鼠血清中 5-HT 水平升高、CORT 水平降低，表明人参皂苷 Rg3 对体内单胺类神经递质和 HPA 轴具有一定的调节作用，这可能是改善 UVB 模型大鼠抑郁行为的作用机制之一。

综上，本研究通过体外单胺氧化酶筛选出人参中抗抑郁作用单体皂苷 Rg3，采用 UVB 连续照射建立抑郁动物模型，经行为学观察及神经内分泌物质的检测，证明该模型模拟了抑郁症患者常见行为学表现及血清中 5-HT 水平降低和皮质酮水平增加等变化。给予人参皂苷 Rg3 组大鼠糖水偏好率增加、强迫游泳不动时间缩短、5-HT 水平增加、皮质酮水平降低，表明人参皂苷 Rg3 有一定的抗抑郁效果，为继续深入研究其作用机制提供了部分实验依据。

参考文献：

- [1] 苗茸茸, 曲显俊. 抑郁症动物模型的研究进展[J]. 实验动物科学, 2019, 36(3): 80-85.
- [2] Fischer S, Macare C, Cleare A J. Hypothalamic-pituitary-adrenal (HPA) axis functioning as predictor of antidepressant response Meta-analysis[J]. *Neurosci Biobehav Rev*, 2017, 83: 200-211.
- [3] Bouvier E, Brouillard F, Molet J, et al. Nrf2-dependent persistent oxidative stress results in stress-induced vulnerability to depression[J]. *Mol Psychiatry*, 2017, 22(12): 1701-1713.
- [4] Bess A S, Ryde I T, Hinton D E, et al. UVB-induced mitochondrial degradation via autophagy correlates with mDNA damage removal in primary human fibroblasts[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2013, 27(1): 28-41.
- [5] Han M, Ban J J, Bae J S, et al. UV irradiation to mouse skin decreases hippocampal neurogenesis and synaptic protein expression via HPA axis activation [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 15574.
- [6] Czamy P, Wigner P, Galecki P, et al. The interplay between inflammation, oxidative stress, DNA damage, DNA repair and mitochondrial dysfunction in depression [J]. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 2018, 80(Pt C): 309-321.
- [7] 李倩, 柴艺汇, 高洁, 等. 人参现代药理作用研究进展[J]. 贵阳中医学院学报, 2019, 41(5): 89-92.
- [8] 王豪, 周凌华, 徐致远, 等. 单胺氧化酶的制备及活性测定[J]. 江苏农业科学, 2011, 39(3): 372-373.
- [9] Chaurasiya N D, Gogineni V, Elokely K M, et al. Isolation of acacetin from *calea urticifolia* with inhibitory properties against human monoamine oxidase-A and -B[J]. *J Nat Prod*, 2016, 79(10): 2538-2544.
- [10] Ahmed T, Raza S H, Maryam A, et al. Ginsenoside Rb1 as a neuroprotective agent: a review[J]. *Brain Res Bull*, 2016, 125: 30-43.
- [11] González-Burgos E, Fernández-Moriano C, Gómez-Serranillos

- M P. Potential neuroprotective activity of ginseng in parkinson's disease; a review [J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2015, 10 (1): 14-29.
- [12] Andrew H. On the practical aspects of characterising monoamine oxidase inhibition *in vitro* [J]. *J Neural Transm (Vienna)*, 2018, 125(11): 1685-1705.
- [13] Ramsay R R, Albrecht A. Kinetics, mechanism, and inhibition of monoamine oxidase [J]. *J Neural Transm (Vienna)*, 2018, 125(11): 1659-1683.
- [14] Keller J, Gomez R, Williams G, et al. HPA axis in major depression; cortisol, clinical symptomatology and genetic variation predict cognition [J]. *Mol Psychiatry*, 2017, 22 (4): 527.
- [15] Skobowiat C, Postlethwaite A E, Slominski A T. Skin exposure to ultraviolet B rapidly activates systemic neuroendocrine and immunosuppressive responses [J]. *Photochem Photobiol*, 2017, 93(4): 1008-1015.
- [16] 曲书苑, 庞宝兴. 应激性抑郁动物模型评价方法研究进展 [J]. *实验动物科学*, 2019, 36(6): 59-63.

红景天苷对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌的保护作用

王秋静¹, 王烁瓔², 王 莘³, 杨 丽^{4*}

(1. 吉林大学基础医学院, 吉林 长春 130021; 2. 吉林大学药学院, 吉林 长春 130021; 3. 吉林大学第一医院, 吉林 长春 130021; 4. 吉林大学动物医学学院人兽共患病研究所, 吉林 长春 130062)

摘要: **目的** 观察红景天苷对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌的保护作用。**方法** 大鼠随机分为假手术组, 模型组, 阳性药组, 红景天苷低、中、高 (7.5、15、30 mg/kg) 剂量组, 采用结扎冠状动脉左前降支 (LAD) 的方法制备大鼠心肌缺血再灌注损伤 (I/R) 模型, 手术前连续 7 d 腹腔注射给药, 缺血 60 min 再灌注 24 h 后, 观察红景天苷对血清 AST、CK、LDH、SOD、NOS 活性及 MDA、NO 水平的影响。分光光度法检测心肌组织 caspase-3 活性, 测定心肌梗死面积, TUNEL 法检测细胞凋亡, 蛋白印迹法检测相关信号通路关键蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 红景天苷各剂量组能降低 AST、CK、LDH、caspase-3 活性和 MDA 水平, 增加 SOD、NOS 活性和 NO 水平, 抑制心肌细胞凋亡, 提高心肌组织 Nrf2 蛋白表达和 ERK 磷酸化。**结论** 红景天苷可降低缺血再灌注导致的心肌损伤, 其机制可能与 Nrf2 激活和 ERK 磷酸化有关。

关键词: 红景天苷; 心肌缺血再灌注; 氧自由基; 细胞凋亡; 信号通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2021)11-3147-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2021.11.041

心肌缺血再灌注 (reperfusion injury, I/R) 损伤是心脏缺血性疾病、心脏手术和器官移植中常见的一种病理性损伤, 是影响心功能恢复的重要因素^[1]。红景天为景天科景天属多年生草本植物或亚灌木植物, 主要生长于高寒、缺氧地区, 因此具有极强的抗氧化作用。红景天主要有效成分有红景天苷、红景天素、酪醇等, 其中红景天苷可以从植物的根、茎中提取^[2], 近年来的研究表明, 红景天苷不仅具有抗缺氧、抗疲劳等功效, 而且在抗心肌缺血, 补气养血活血等方面都具有较好的调节和补益作用^[3], 本实验采用结扎冠状动脉左前降支的方法复制心肌 I/R 模型, 在整体动物模型基础上研究观察红景天苷对 I/R 心肌的影响, 探讨其保护作用机制, 为红景天苷用于心肌保护提供新的理论依据。

1 材料

1.1 动物 Wistar 大鼠 120 只, 雌雄各半, 体质量 220~240 g, 由吉林大学基础医学院实验动物中心提供, 实验动物生产许可证号 SCXK (吉) 2016-0004。动物饲养和处理严格遵循动物福利 3R 原则和吉林大学基础医学院伦理委员会相关条例要求。

1.2 试剂与药物 红景天苷购于北京索莱宝科技有限公司 (SS8080, 纯度 ≥ 98%)。生脉注射液, 华西医科大学制药厂, 批号 050416; 戊巴比妥钠, 北京化学试剂公司, 批号 060222。2,3,5-三苯氯化四氮唑 (TTC), 上海惠世生化试剂有限公司, 批号 100708; 超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、一氧化氮 (NO)、一氧化氮合酶 (NOS) 试剂盒 (批号 20180822、20180115、20180415、20181008), 南京建成生物工程研究所;

收稿日期: 2020-09-29

基金项目: 国家自然科学基金地区基金项目 (81860567); 吉林省自然科学基金项目 (20200201493JC)

作者简介: 王秋静 (1963—), 女, 高级工程师, 从事药理学研究。Tel: 13504314502, E-mail: wqj@jlu.edu.cn

* **通信作者:** 杨 丽, 女, 实验师, 从事高原缺氧生物学机制研究。Tel: 15043017292, E-mail: ccyangli@jlu.edu.cn