

红景天苷对高原缺氧大鼠认知功能障碍的治疗作用及其可能机制

杨江河 李 华 修彬华 闫志强 刘绍明[△]

(兰州军区乌鲁木齐总医院神经外科 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要 目的 探讨红景天苷(Sal)对高原缺氧大鼠认知功能障碍的治疗作用及其可能机制。方法 将 30 只成年雄性 SD 大鼠随机分为健康对照组、模型组(Model 组)、Sal[按体重 1g/(kg·d)]治疗组(sal 组)。采用 Morris 水迷宫实验方法检测缺氧后大鼠学习记忆功能变化,同时检测脑组织匀浆中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)的水平。结果 (1)模型组大鼠寻找平台的潜伏期明显长于对照组,具有统计学意义($P < 0.05$)。Sal 组寻找平台的潜伏期相对于模型组显著缩短($P < 0.05$)。撤离平台后,模型组大鼠在平台所在象限的停留时间明显短于对照组($P < 0.05$)。Sal 治疗后大鼠在平台所在象限的停留时间较模型组显著延长($P < 0.05$)。(2)模型组 SOD、GSH-PX、GSH 显著下降,MDA 明显增高,Sal 干预组 SOD、GSH-PX、GSH 显著增高,而 MDA 明显下降,具有统计学意义($P < 0.05$)。结论 Sal 可改善高原缺氧大鼠认知功能,其可能机制是通过减轻海马区的氧化应激反应减轻海马区的损伤,从而实现改善认知功能。

关键词 高原缺氧 红景天苷 认知功能障碍

中图分类号:Q95-3 R742.1 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2011)11-2026-04

Salidroside for Hypobaric Hypoxia-Induced Cognitive Deficits in Rats and Its Possible Mechanism

YANG Jiang-he, LI Hua, XIU Bin-hua, YAN Zhi-qiang, LIU Shao-ming[△]

(Department of neurosurgery, Urumchi Hospital of Lanzhou Military region, Urumchi 830000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of salidroside (Sal) on cognitive deficits induced by hypobaric hypoxia and to investigate the possible mechanism in terms of oxidative stress in hippocampus. **Methods:** A total of 30 male Sprague-Dawley rats (200±20g) were randomly divided into three groups: (n=10 in each group): Control group, Model group and Sal group. Severe cognitive deficits were tested by the water maze task. The content of Glutathione(GSH) and Maleic Dialdehyde(MDA) were measured; The activity of Superoxide Dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-PX) in the homogenate of Hippocampus were detected. **Results:** Hypobaric hypoxia can cause severe cognitive deficits, and salidroside could attenuate hypobaric hypoxia-induced cognitive deficits. Biochemical experiments revealed that hypobaric hypoxia can significantly increase MDA, decrease GSH and the activities of SOD and GSH-PX in the homogenate of Hippocampus, which can be reversed by salidroside. **Conclusions:** Salidroside exhibits therapeutic potential for hypobaric hypoxia-induced cognitive deficits, which may be related to its anti-oxidative stress actions in hippocampus.

Key words: Hypobaric hypoxia; Salidroside; Cognitive deficits

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3, R742.1 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2011)11-2026-04

前言

慢性缺氧可诱发体内多系统功能暂时甚至永久的改变,引起多种缺氧性疾病,是高原地区一种常见的致病和损伤因素。中枢神经系统对缺氧格外敏感,高原低氧环境下机体中枢神经系统必然受到不同程度的损害,可出现记忆力减退、思维反应迟缓等多种症状,目前仍无理想的特效药。红景天是多年生名贵草本植物,药用历史悠久。藏医药文献《四部医典》、《月王药珍》等古典医籍和我国最早的本草经典古籍《神农本草经》均有关于红景天的药用记载^[1]。其主要成分为红景天苷(salidroside, sal),具有扶正固本、调和阴阳、益气补血、通脉养心、健脑益智等作用。近年来对红景天的化学成分、药理作用方面等研究有

了较快的发展。目前,红景天的抗疲劳、抗缺氧等作用已被公认。谢桂琴等证实红景天可显著改善老年痴呆大鼠认知功能^[2],但红景天能否改善高原缺氧所致的认知功能障碍尚不明确。故本实验拟利用低压氧仓模拟高原环境复制高原缺氧大鼠认知功能障碍模型研究红景天对高原缺氧大鼠认知功能障碍的作用及其可能机制。

1 材料方法

1.1 材料

红景天苷(自行提取,液相色谱证实纯度>95%),超氧化物歧化酶(SOD)、还原型谷胱甘肽(GSH)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)、丙二醛(MDA)检测试剂盒(购自南京建成生物工程研究所),其余试剂为国产分析纯。

1.2 实验动物

健康雄性 SD 大鼠(第四军医大学实验动物中心提供)30 只,体质量 180~220 g,随机分为健康对照组、模型组(Model

作者简介 杨江河(1967-),男,硕士,副主任医师,主要从事神经外科常见疾病的临床治疗与基础研究。电话:(0991)4991779, Email yangdanting@163.com

[△]通讯作者 刘绍明 Email yanzhiq@fmmu.edu.cn

(收稿日期 2011-03-03 接受日期 2011-03-25)

组)、Sal[按体重 1g/(kg·d)]治疗组(sal 组)。第一次缺氧当天即开始给药,给药方式腹腔注射,1次/日,对照组及模型组给予等剂量生理盐水。缺氧 28 天后(即实验第 29 日至第 34 日)进行 Morris 水迷宫行为训练及测试,第 34 天水迷宫试验结束后断头处死并取双侧海马组织,-80℃低温保存。

1.3 高原缺氧大鼠认知功能障碍模型的复制

参照文献^[5,6]略有改动。平置圆桶状缺氧舱内径 0.45m,长 0.80m,舱门为密封开合结构,有圆形玻璃窗用于观察舱内情况,并开有一出口与无油真空泵相连。舱内二氧化碳用钠石灰吸收,舱顶设置带有调节装置的进气阀,并装高灵敏度压力表。置模型组和治疗组鼠笼置于低压氧舱中,关闭低压氧舱,开动真空泵,调节进气阀,使气压缓慢下降,直至气压降至 380mmHg 左右(相当于海拔高度 5000~5500m 处气压),持续 8 小时后缓慢升高低压舱压力至常压。对照组大鼠与缺氧组大鼠同室饲养,每日亦在低压氧舱中饲养 8 小时,但不降气压。

1.4 Morris 水迷宫行为测试

参照文献所示方法进行^[5,6]略有改动。缺氧 28 天后(即实验第 29 日)上午 9 点开始行 Morris 水迷宫训练,大鼠连续训练 5 天,每天分上、下午 2 个时段,每个时段训练 4 次。每次实验大鼠在 4 个不同象限的中点头朝池壁放入水池,次序随机。任其游泳,直至找到平台。大鼠找到平台时间和轨迹由水池上方的摄像头记录。60s 内到达平台的时间即逃避潜伏期被记录下来,并允许大鼠在平台上停留 30s 以达到强化记忆效果,如果

大鼠在 60s 内未到达平台,逃避潜伏期以 60s 记录,并由实验者将其引导至平台停留 30s。取每日 8 次训练平均值作为当日的逃避潜伏期。②空间探索实验:致病后第 7 天上午进行空间探索实验,撤除平台,从平台对侧象限放入大鼠,持续 120 秒,记录大鼠在平台所在象限的停留时间。每次实验后将大鼠用毛巾擦干放入笼中。

1.5 脑组织匀浆的制备

取海马组织在电子天平上称重,低温条件下匀浆,在 4℃低温离心机中 4000r/min 离心 10 min,取上清液,按照试剂盒说明书测定脑中 SOD、GSH-Px、GSH、MDA。

1.6 统计学处理

所得数据均用 spss 软件进行处理。结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析。

2 实验结果

2.1 各组大鼠寻找平台潜伏期变化

如 Fig.1 所示,从训练第三天开始,模型组大鼠寻找平台的潜伏期明显长于对照组,具有统计学意义($P < 0.05$),Sal 组寻找平台的潜伏期时间相对于模型组显著降低($P < 0.05$)。

2.2 空间探索实试验

模型组大鼠在平台所在象限的停留时间明显短于对照组($P < 0.05$),Sal 治疗后大鼠在平台所在象限的停留时间较模型组显著延长($P < 0.05$)(Fig.2)。

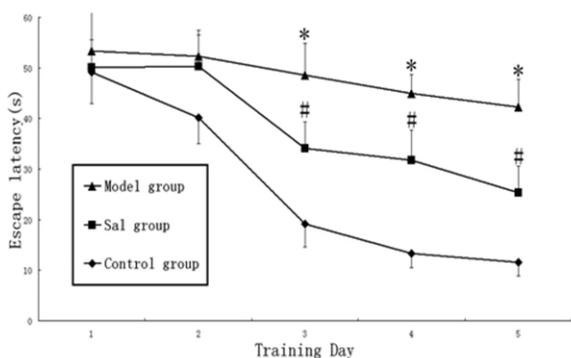


图 1 红景天苷对高原缺氧大鼠寻找平台潜伏期的影响

Fig.1 Effects of salidroside on escape latencies caused by hypobaric hypoxia

Note: * $P < 0.05$ Model group compared with control group;
$P < 0.05$ Sal group compared with model group

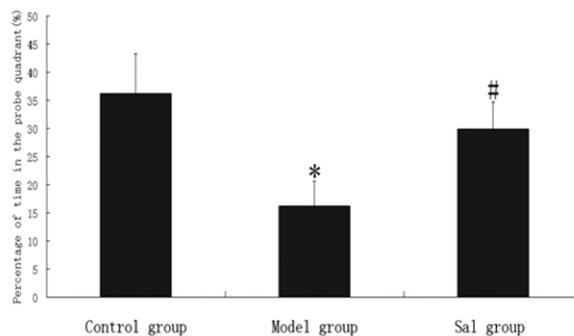


图 2 红景天苷对高原缺氧大鼠寻找平台潜伏期的影响

Fig.2 Effects of salidroside on Percentage of time in the probe quadrant caused by hypobaric hypoxia

Note: * $P < 0.05$ Model group compared with control group;
$P < 0.05$ Sal group compared with model group

2.3 Sal 对高原缺氧大鼠海马组织中 SOD、GSH-Px、GSH、MDA 的影响

由 Table 1 可见,模型组与正常对照组相比,大鼠脑组织

SOD、GSH-Px、GSH 降低 ($P < 0.05$),MDA 显著增高($P < 0.05$),Sal 可显著提高高原缺氧大鼠海马组织 SOD、GSH-Px、GSH 水平($P < 0.05$),降低 MDA 水平($P < 0.05$)。

表 1 红景天苷对高原缺氧大鼠氧化应激的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effects of salidroside on oxidative stress actions in hippocampus caused by hypobaric hypoxia ($\bar{x} \pm s$)

| Group | SOD(μ U/mg) | GSH-Px(U/mg) | GSH(nmol/mg) | MDA(nmol/mg) |
|---------------|-------------------|-------------------|-------------------|------------------|
| Control group | 77.63 \pm 13.38 | 38.16 \pm 5.99 | 18.96 \pm 3.08 | 2.48 \pm 0.94 |
| Model group | 38.66 \pm 4.77* | 15.98 \pm 7.76* | 7.98 \pm 2.02* | 5.87 \pm 1.23* |
| Sal group | 62.33 \pm 8.47# | 28.57 \pm 7.88# | 12.76 \pm 2.96# | 3.57 \pm 0.46# |

Note: * $P < 0.05$ Model group compared with control group # $P < 0.05$ Sal group compared with model group

3 讨论

1981年心理学家 Morris 首次应用水迷宫方法研究大鼠学习记忆,此后该方法不断完善并被广泛认可,现已成为公认的研究学习记忆的最准确的方法之一^[7-9]。本实验通过 Morris 实验证实慢性缺氧可使大鼠寻找平台潜伏期延长,空间探索试验中缺氧大鼠在平台所在象限的停留时间缩短,提示学习记忆能力下降,与文献报道一致^[10],红景天苷治疗后可显著改善上述现象,从而证实了红景天苷可显著改善慢性缺氧大鼠认知功能障碍。目前已明确,海马区与大脑学习记忆功能密切相关,其损伤会严重影响动物的学习记忆功能^[11-13],缺氧所致的认知功能障碍亦与海马区损伤有关^[14]。大脑是脂质过氧化物敏感的器官,其中海马神经元氧化应激损伤是大鼠认知功能障碍发生、发展的重要因素之一。故本实验选取 SOD、GSH-Px、GSH、MDA 等氧化还原相关指标探索红景天苷改善慢性缺氧大鼠认知功能障碍的可能机制。

SOD 是一种肽链大分子金属酶,能催化超氧化物阴离子自由基歧化为过氧化氢与氧气,其活力的高低可间接反应机体清除氧自由基的能力^[15]。GSH-Px 是体内广泛存在的一种过氧化物分解酶,它能特异的催化还原型谷胱甘肽变为氧化型谷胱甘肽,使有毒的过氧化物还原成无毒的羟基化合物,同时促进过氧化氢分解,保护细胞膜的结构及功能不受过氧化物损害^[16]。GSH 是 GSH-Px 的底物,是 GSH-Px 完成其功能的基础。这两种酶及 GSH 的作用都是减少自由基的产生,防止脂质过氧化及其代谢产物对机体的损害,其活性降低,可导致氧自由基的产生和消除失去平衡,表现为氧自由基产生增加和细胞自由基清除酶的活力下降,造成神经细胞脂质过氧化的发生。MDA 作为氧自由基与生物膜不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应的代谢产物^[17],其含量的变化间接地反应了组织中氧化自由基含量的变化,通过测定 MDA 含量可以估计脑组织中氧自由基水平和脂质过氧化反应的强弱。本实验结果显示,慢性缺氧后海马组织中 SOD、GSH-Px 活性降低、GSH 含量降低,MDA 含量显著增高,红景天苷可显著逆转上述变化。故红景天苷可显著抑制海马组织的氧化应激反应,保护海马细胞,进而减轻大鼠认知功能损害。

综上所述,红景天苷可改善慢性缺氧大鼠认知功能障碍,其可能机制是通过减轻海马区的氧化应激反应减轻海马区的损伤,从而实现改善认知功能。为高原缺氧认知功能障碍的治疗提供了新思路。

参考文献(References)

- [1] 刘晓梅,田国忠.红景天苷对局灶性脑缺血再灌注大鼠突触超微结构的影响[J].解剖学研究,2009;31(5):353-355
Liu Xiao-mei, Tian Guo-zhong. Effect of Salidroside on synapse ultrastructure following focal cerebral ischemia/reperfusion in rats [J]. Anat res, 2009;31(5):353-355 (In Chinese)
- [2] 谢桂琴,孙秀兰,田苏平,等.红景天素对实验性老年性痴呆大鼠防治作用的研究[J].中国行为医学科学,2003,12(1):18-20
Xie Gui-qin, Sun Xiu lan, Tian Su ping, et al. Studies on the preventive and therapeutic effects of rhodosin on rats with Alzheimer's disease [J]. Chinese Journal of Behavioral Medical Science, 2003,12(1):

- 18-20 (In Chinese)
- [3] 隋建峰,熊雄,熊鹰.模拟高原缺氧条件下大鼠记忆行为变化及其突触机制[J].中国行为医学科学,2002,11(2):125-126
Sui Jian feng, Xiong xiong, Xiong Ying. Changes of memory behavior and its synaptic mechanism in rats exposed to simulated high altitude [J]. Chinese Journal of Behavioral Medical Science, 2002,11 (2): 125-126 (In Chinese)
- [4] 刘曼玲,李志超,董明清,等.丹参酮-A磺酸钠对慢性低氧性肺动脉高压大鼠的治疗作用[J].中国药理学通报,2008,24(6):723-726
Liu Man-ling, Li Zhi-chao, Dong Ming-qing, et al. The therapeutical effect of sodium tanshinone A sulphionate on hypoxic pulmonary hypertension rats [J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2008,24(6): 723-726 (In Chinese)
- [5] Wang LM, Han YF, Tang XC, et al. Huperzine A improves cognitive deficits caused by chronic cerebral hypoperfusion in rats[J]. European Journal of Pharmacology,2000, 98(1):65-72
- [6] Zheng G, Zhang W, Zhang Y, et al. Gamma-Aminobutyric acid (A) (GABA (A)) receptor regulates ERK1/2 phosphorylation in rat hippocampus in high doses of methyl tert-butyl ether (MTBE)-induced impairment of spatial memory[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2009, 236 (2):239-245
- [7] Mulder GB, Pritchett K. The Morris water maze [J]. Contemp Top Lab Anim Sci, 2003,42(2):49-50
- [8] D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory [J]. Brain Res Brain Res Rev, 2001,36 (1):60-90
- [9] Brandeis R, Brandys Y, Yehuda S. The use of the Morris Water Maze in the study of memory and learning[J]. Int J Neurosci, 1989, 48(1-2): 29-69
- [10] 朱自强,朱广瑾,刘伟,等.模拟高原低氧对大鼠皮质和海马神经颗粒素表达的影响[J].中国临床康复,2006,10(2):88-90
Zhu Zi-qiang, Zhu Guang-jin, Liu Wei, et al. Expression of neurogranin of hippocampus and cortex in rats exposed to simulated high altitude hypoxia [J]. Chinese Journal of Clinical Rehabilitation, 2006,10(2): 88-90 (In Chinese)
- [11] 段瑞生,刘娜,王维平,等.戊四氮诱导癫痫大鼠的认知功能测定与海马超微结构观察[J].江苏医药,2009;35(3):332-334
Duan Rui-sheng, Liu Na, Wang Wei-ping, et al. Cognitive ability and ultra-microstructure in rats hippocampus after pentetrazol induced seizure[J]. Jiangsu Medical Journal, 2009, 35(3): 332-334 (In Chinese)
- [12] 叶冰,黄华品,车春晖,等.癫痫复杂部分性发作患者认知功能与海马质子磁共振波谱改变相关性分析[J].中华神经医学杂志,2010,9 (2):158-161
Ye Bing, Huang Hua-pin, Che Chun-hui, et al. Correlation analysis of cognitive function and changes in proton magnetic resonance spectroscopy of the hippocampus in patients with complex partial seizures [J]. Chinese Journal of Neuromedicine, 2010, 9(2):158-161 (In Chinese)
- [13] 贾丽景,王维平,刘瑞春,等.慢性癫痫大鼠认知功能及海马胞外信号调节激酶 1/2 的变化 [J]. 中国全科医学, 2009,12 (24): 2216-2219
Jia Li -ring, Wang Wei -ping, Liu Rui-chun, et al. Impaired Spatial Learning Related with Seizures and Levels of ERK1/2 in Hippocampus of Pentetrazol - kindled Rats [J]. Chinese General Practice,

- 2009,12(24): 2216-2219 (In Chinese)
- [14] 孙正启,王唯析,康龙丽,等. 模拟高原低低压低氧对大鼠学习记忆行为和海马 GABA 表达的影响 [J]. 现代预防医学, 2009, 36(21): 4133-4135
- Sun Zheng-qi, Wang Wei-xi, Kang Long-li, et al. THE Influence of simulated high-altitude hypobaric hypoxia on learning memory behaviors and expression of gaba neurons in hippocampus of rats [J]. Modern Preventive Medicine, 2009, 36(21): 4133-4135 (In Chinese)
- [15] 毛海峰,陈嘉勤,梁宋平,等. HWTX- 对全脑缺血大鼠脑组织自由基及海马神经元损伤的保护作用研究 [J]. 北京体育大学学报, 2007,30(3): 351-353
- Mao Hai-feng, Chen Jia-qin, Hang Song-ping, et al. Research on Protective Effects of HWTX- on the Damages of Free Radical and I-lippocmpnus Neurons in the Brain of Cerebral Ischemia Rats [J]. Journal of Beijing University of Physical Education, 2007,30 (3): 351-353 (In Chinese)
- [16] 卢斌,陈永,姜绪平. 消化道肿瘤患者血清中活性氧、超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶的活性测定 [J]. 中国医学创新, 2010,7 (28): 9-10
- Lu Bin, Chen Yong, Jiang Xu -ping. The determination of plasma ROS, SOD and GSH - PX activity in gastrointestinal cancer patients [J]. Medical Innovation of China, 2010,7(28): 9-10 (In Chinese)
- [17] 闫志强,魏敏,李志超,等. 心房钠利尿肽对肺泡 II 型上皮细胞的保护作用[J]. 中国病理生理杂志, 2007(6):1111-1115
- Yan Zhi- qiang, Wei Min, Li Zhi -chao, et al. Protective effect of atrial natriuretic peptide on alveolar type II cells [J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2007(6):1111-1115 (In Chinese)

·重要信息·

《分子影像学》第二版已正式出版发行

卜丽红¹ 戴薇薇²

(1 哈尔滨医科大学附属第四医院医学影像科 150001 2 人民卫生出版社医药教育出版中心第四编辑室)

由哈尔滨医科大学附属第四医院申宝忠教授主编的《分子影像学》第二版(ISBN :978-7-117-13344-9/R·13345)一书已于2010年9月14日由人民卫生出版社出版发行。《分子影像学》是国内第一分子影像学大型专著。对于分子影像学的基本概念、基本原理、基本方法和应用概况都有精彩而详细的论述,充分体现了国际分子影像学的最新进展。

《分子影像学》第二版由著名医学影像学家、中国工程院院士刘玉清教授和美国分子影像学专家、美国医学科学院院士 Sanjiv Sam Gambhir 教授亲自作序。编委会包括美国哈佛大学、斯坦福大学等国外知名院校7名专家作为国外编委,国内多家知名大学、研究中心学术带头人13名作为国内编委,还包括国内外共40名专家参与编写。

全书共计130余万字,收录图片378幅,共分基础篇和应用篇。

基础篇共分10章,主要介绍了分子影像学的发展简史,分子成像的相关概念、基本原理、基本技术和设备等,内容较第一版更为精准、完善,覆盖面更加宽泛。着重针对探针合成这一当前分子成像研究的技术瓶颈,纳入了材料学、生物学和化学等相关技术内容。

应用篇共分7章,着重介绍了分子影像学技术的最新进展和应用情况,并详细介绍了分子成像在肿瘤、中枢神经系统和心血管系统疾病诊断中的应用情况,重点阐述了分子成像在监测基因治疗、活体细胞示踪以及新药研发等方面的最新研究进展,并就分子影像学向临床转化所面临的问题进行了深入剖析。

本书内容系统详实,深入浅出,图文并茂,可读性强。可供医学影像学专业、临床专业学生使用,并可为临床各学科研究生、临床医师及其他相关生命科学的研究人员提供参考。

《分子影像学》精装本定价260元,全国各大书店有售。