

五味子甲素通过 SIRT1/PGC-1 α 通路对血管性痴呆大鼠海马神经元凋亡的影响

周罗可¹, 孙建利¹, 杨小芳¹, 张 杰²

1. 平煤神马医疗集团总医院 药剂科, 河南 平顶山 467002

2. 河南中医药大学第一附属医院, 治未病中心, 河南 郑州 450046

摘要: 目的 探讨五味子甲素对血管性痴呆 (VD) 大鼠沉默信息调节因子 1/过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助激活因子-1 α (SIRT1/PGC-1 α) 通路及海马神经元凋亡的影响。方法 50 只大鼠双侧颈总动脉永久性结扎法制备 VD 模型, 造模大鼠按照随机数字表法分为模型组、五味子甲素 (20、40、80 mg/kg) 组、阳性对照组, 每组 10 只; 另取 10 只大鼠不结扎左右颈总动脉近端、远端, 其余处理相同, 为假手术组。五味子甲素 (低、中、高) 剂量组分别 ip 20、40、80 mg/kg 五味子甲素, 阳性对照组 ig 0.54 g/kg 甲磺酸双氢麦角毒碱片, 假手术组和模型组 ip 等体积溶媒, 1 次/d, 连续 21 d。Morris 水迷宫实验评估大鼠空间探索能力; 苏木精-伊红 (HE) 染色观察海马区神经元形态; 脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法 (TUNEL) 检测海马区神经元凋亡情况; 蛋白免疫印迹检测大鼠海马区 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3)、活化的 Caspase-3 (cleaved Caspase-3)、SIRT1、PGC-1 α 蛋白表达水平。结果 模型组大鼠海马区细胞形态不规则或纺锤形, 胞质和核浓缩、出现神经元凋亡情况; 五味子甲素 (低、中、高) 剂量组随着剂量的增加, 神经元凋亡情况逐渐缓解, 且高剂量组几乎观察不到凋亡神经元。与假手术组相比, 模型组大鼠海马区神经元凋亡比例、海马区 Bax、cleaved Caspase-3/Caspase-3 蛋白水平升高, 平台象限停留时间、穿越平台次数减少, 海马区 Bcl-2、SIRT1、PGC-1 α 蛋白水平降低 ($P < 0.05$)。与模型组相比, 五味子甲素 (中、高) 剂量组大鼠海马区神经元凋亡比例、海马区 Bax、cleaved Caspase-3/Caspase-3 蛋白水平降低, 平台象限停留时间、穿越平台次数增加, 海马区 Bcl-2、SIRT1、PGC-1 α 蛋白水平升高 ($P < 0.05$); 五味子甲素低剂量组平台象限停留时间增加, 海马区神经元凋亡比例、Bax、cleaved Caspase-3/Caspase-3 蛋白水平降低, Bcl-2 蛋白水平升高 ($P < 0.05$)。结论 五味子甲素可以抑制 VD 大鼠海马神经元凋亡情况, 可能是通过激活 SIRT1/PGC-1 α 通路实现的。

关键词: 五味子甲素; 血管性痴呆; 沉默信息调节因子 1/过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助激活因子-1 α 通路; 海马神经元; 凋亡

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2021)05-0866-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.05.002

Effects of schisandrin A on apoptosis of hippocampal neurons in vascular dementia rats through SIRT1/PGC-1 α pathway

ZHOU Luo-ke¹, SUN Jian-li¹, YANG Xiao-fang¹, ZHANG Jie²

1. Department of Pharmacy, Pingmei Shenma Medical Group General Hospital, Pingdingshan 467002, China

2. Untreated Center, the First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

Abstract: **Objective** To investigate the effects of schisandrin A on silent mating type information regulation 2 homolog 1/peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α (SIRT1/PGC-1 α) pathway and apoptosis of hippocampal neurons in vascular dementia (VD) rats. **Methods** The VD model was established by permanent ligation of bilateral common carotid arteries in 50 rats, the model rats were divided into model group, schisandrin A (low, medium and high) dose groups and positive control group according to the random number table, with 10 rats in each group. Another 10 rats were given the same treatment as the sham operation group, except that the proximal and distal ends of the left and right common carotid arteries were not ligated. schisandrin A (low, medium and high)

收稿日期: 2020-10-10

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金资助项目 (81904264)

作者简介: 周罗可, 女, 主管药师, 从事合理用药、用药安全和药物基础研究工作。E-mail: z137826766@163.com

dose groups were intraperitoneally injected with 20, 40, 80 mg/kg schisandrin A respectively, and the positive control group was intragastrically administered with 0.54 g/kg dihydroergotamine mesylate tablets, and the sham operation group and model group were intraperitoneally injected with the same volume of solvent, once a day for 21 days. Morris water maze test was used to evaluate space exploration, the hippocampal neurons were detected by hematoxylin eosin (HE), the apoptosis of hippocampal neurons was detected by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL), Western blotting was used to detect the levels of B-lymphoma-2 gene (Bcl-2), Bcl-2-associated X protein (Bax), Caspase-3, activated Caspase-3 (cleaved Caspase-3), SIRT1, PGC-1 α protein. **Results** In the model group, the morphology of the hippocampal neurons were irregular or spindle shaped, the cytoplasm and nucleus were concentrated, and neuron apoptosis was observed, with the increase of schisandrin A (low, medium, and high) dose groups, the apoptosis of neurons gradually alleviated, and almost no apoptotic neurons were observed in the high dose group. Compared with those in the sham operation group, the apoptosis ratio of hippocampal neurons and the levels of Bax and cleaved Caspase3/Caspase-3 protein in the model group were higher, the time to stay on the platform quadrant and the time of crossing the platform were more, and the protein levels of Bcl-2, SIRT1 and PGC-1 α in hippocampus were lower ($P < 0.05$). Compared with those in the model group, the apoptosis ratio of hippocampal neurons and the levels of Bax and cleaved Caspase3/Caspase-3 protein in the schisandrin A (medium and high) dose groups were lower, the time to stay on the platform quadrant and the times of crossing the platform were less, and the protein levels of Bcl-2, SIRT1 and PGC-1 α in hippocampus were higher ($P < 0.05$), the time spent on the platform in the schisandrin A low dose groups was less, the apoptosis ratio of hippocampal neurons and the levels of Bax and cleaved-caspase3/caspase3 protein were lower, and the protein level of Bcl-2 was higher ($P < 0.05$). **Conclusion** Schisandrin A can inhibit the apoptosis of hippocampal neurons in VD rats, which may be realized by activating SIRT1/PGC-1 α pathway.

Key words: schisandrin A; vascular dementia; silent mating type information regulation 2 homolog 1/peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α pathway; hippocampal neuron; apoptosis

血管性痴呆 (vascular dementia, VD) 是各种脑血管疾病引起的脑功能障碍, 严重危害老年人身心健康^[1]; 引起 VD 的发病原因较复杂, 包括胆碱系统紊乱、兴奋性氨基酸毒性、神经元凋亡等^[2]。传统中药五味子具有安神定志、益智强识之功效, 是预防痴呆经典方剂开心散、地黄饮子、还少丹等的主要组份, 对于缓解痴呆意义重大^[3], 五味子甲素 (schisandra A) 为五味子中的主要有效成分, 可改善抑郁样行为、抑制帕金森病中细胞凋亡情况^[4]。而激活沉默信息调节因子 1/过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助激活因子-1 α (silent mating type information regulation 2 homolog 1/peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α , SIRT1/PGC-1 α) 通路在帕金森病等神经退行性疾病中可抑制氧化应激、抑制细胞凋亡等^[5], 在 VD 中可能抑制神经元凋亡, 缓解 VD 进展。为明确五味子甲素对 VD 的可能治疗作用及机制, 本实验通过双侧颈总动脉永久性结扎法制备 VD 大鼠模型, 探讨五味子甲素对 VD 大鼠神经元凋亡的影响, 并探讨其与 SIRT1/PGC-1 α 通路相关的机制, 为临床治疗 VD 的新药开发提供参考。

1 材料

1.1 实验动物

清洁级健康 SD 大鼠购自北京维通利华实验动物技术有限公司, 许可证号: SCXK(京)2016-0008。

所有大鼠在温度 (25 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 、湿度 (50 ± 5) %、自然光照、正常摄食饮水环境中常规喂养。

1.2 试剂与仪器

五味子甲素 (质量分数 $\geq 98\%$, 上海纯优生物科技有限公司, 货号: P0128, 批号: 20201503); 甲酸双氢麦角毒碱片 (天津华津制药有限公司, 批号: 2019-03-17); 苏木精-伊红 (HE) 染色试剂盒、脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法 (TUNEL) 染色试剂盒 (上海生工生物技术公司, 货号分别为: E607318、E607172-0001); 一抗 B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)、BCL2 相关 X 蛋白 (BCL-2 associated X protein, Bax)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3)、活化的 Caspase-3 (cleaved Caspase-3)、SIRT1、PGC-1 α (英国 Abcam 公司, 货号分别为: ab194583、ab32503、ab13847、ab49822、ab189494、ab188102)。ZS001 型 Morris 水迷宫 (北京众实迪创科技发展有限公司); DSX510i 光学显微镜 (日本 Olympus 公司); Tanon-2500 蛋白凝胶成像仪 (上海天能科技有限公司)。

2 方法

2.1 动物造模、分组及给药处理

参考文献方法^[6]运用双侧颈总动脉永久性结扎法制备 VD 模型。50 只大鼠实验前 12 h 禁食但不禁水, 麻醉大鼠后将大鼠固定在鼠板上, 碘酒消毒颈

部,颈前切口暴露出左右颈总动脉并剥离,结扎左右颈总动脉近端、远端,缝合伤口。造模大鼠按照随机数字表法分为模型组,五味子甲素低、中、高剂量(20、40、80 mg/kg)组,阳性对照组,每组 10 只。另取 10 只大鼠不结扎左右颈总动脉近端、远端,其余处理相同,为假手术组。术后注射 50 000 U/d 青霉素防止感染。所有大鼠待苏醒后放回鼠笼正常饲养。手术当天开始,五味子甲素(低、中、高)剂量组分别 ip 20、40、80 mg/kg 五味子甲素,阳性对照组 ig 0.54 g/kg 甲磺酸双氢麦角毒碱片^[7],假手术组和模型组 ip 等体积溶媒,1 次/d,连续 21 d。

2.2 Morris 水迷宫实验评估大鼠定位航向、空间探索能力

药物干预结束后,Morris 水迷宫检测所有大鼠,水池上方与计算机摄像头相连,实时监控,对采集到的图像、视频等进行数据分析,平台拿走后任一个水点放入大鼠,记录 2 min 内大鼠跨越平台总次数,同时记录停留时间。

2.3 样品的取材及初步处理

Morris 水迷宫实验完成后,麻醉大鼠,直接断头,左侧海马组织置于 4%多聚甲醛固定;右侧海马组织置于-80 ℃冰箱保存。

2.4 HE 染色检测海马区神经元病理改变

4%多聚甲醛中固定的海马组织固定 24 h,进行石蜡包埋、切片、展片处理,切片(厚度:6 μm),行常规 HE 染色。二甲苯脱蜡、梯度乙醇水化、PBS 洗涤、苏木精染色 5 min、水洗、0.5%乙醇盐酸分色、伊红复染 30 s、水洗、梯度乙醇脱水、中性树胶封片,显微镜下观察海马区神经元病理变化。

2.5 TUNEL 检测海马区神经元凋亡情况

冰冻切片在 4%多聚甲醛固定 20 min,加入含 0.1% Triton X-100 渗透液的 PBS 孵育 2 min,TUNEL 染色反应液 37 ℃孵育 60 min,荧光显微镜激发波长 450~500 nm,发射波长 515~563 nm 下分析、拍照。绿色为凋亡细胞。同时一张切片不经过 Triton X-100 渗透液孵育,直接 TUNEL 染色标记为阴性对照;一张切片先用 DNase I 室温孵育 10 min,再进行 TUNEL 染色为阳性对照。

神经元凋亡率=凋亡细胞数/总细胞数

2.6 蛋白免疫印迹检测大鼠海马区 Bax、Bcl-2、Caspase-3、cleaved Caspase-3、SIRT1、PGC-1α 蛋白表达水平

-80 ℃冰箱取出海马组织,蛋白裂解液裂解并

冰上研磨,10 000×g、4 ℃离心 20 min,上清即为总蛋白。凝胶电泳分离蛋白、PVDF 膜转膜,5%脱脂奶粉封闭 1.5 h,对应加入一抗 Bax、Bcl-2、Caspase-3、cleaved Caspase-3、SIRT1、PGC-1α、GAPDH,4 ℃孵育过夜,对应加入二抗,室温孵育 1 h。蛋白凝胶成像仪拍照和定量分析。目的蛋白相对表达量为目的蛋白条带灰度值与参比 GAPDH 灰度值的比值。

2.7 统计学分析

GraphPad 8.0 软件对数据进行统计学分析,计量数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 SNK-*q* 法。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 五味子甲素对 VD 大鼠空间探索能力的影响

与假手术组相比,模型组大鼠平台象限停留时间、穿越平台次数显著减少($P < 0.05$);与模型组相比,五味子甲素中、高剂量组及阳性对照组大鼠平台象限停留时间、穿越平台次数均显著增加($P < 0.05$),五味子甲素低剂量组大鼠在平台象限停留时间增加($P < 0.05$)。见表 1。

3.2 五味子甲素对 VD 大鼠海马区神经元形态的影响

假手术组大鼠海马区神经元排列整齐,核清晰可见、大而圆,没有明显的神经元变性;模型组大鼠海马区神经元细胞形态不规则或纺锤形,胞质和核浓缩、出现神经元凋亡情况;五味子甲素低、中、高剂量组各组大鼠神经元凋亡情况逐渐缓解,且高剂量组几乎观察不到凋亡神经元;阳性对照组出现部分凋亡神经元。见图 1。

表 1 各组大鼠空间探索能力比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)
Table 1 Comparison of spatial exploration ability of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	平台象限停 留时间/s	穿越平台 次数
假手术	—	69.48 ± 16.48	11.36 ± 2.19
模型	—	19.86 ± 3.46 [#]	4.35 ± 0.98 [#]
五味子甲素	20	31.45 ± 4.17 [*]	5.68 ± 0.87
	40	39.67 ± 4.95 [*]	6.77 ± 1.06 [*]
	80	52.49 ± 9.46 [*]	8.96 ± 1.12 [*]
阳性对照	540	54.33 ± 8.18 [*]	8.64 ± 0.97 [*]

与假手术组比较: [#] $P < 0.05$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ vs sham-operation group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

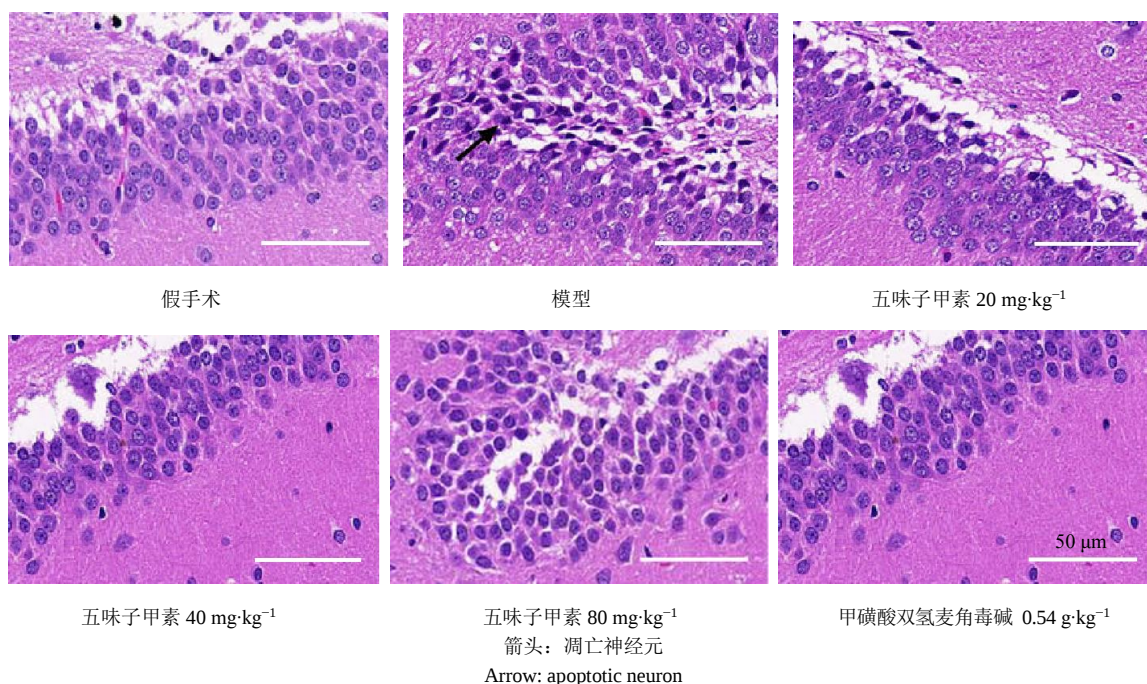


图 1 各组大鼠海马区神经元形态比较

Fig. 1 Comparison of morphology of hippocampal neurons in each group

3.3 五味子甲素对 VD 大鼠海马区神经元凋亡的影响

与假手术组相比,模型组大鼠海马区神经元凋亡比例升高 ($P < 0.05$);与模型组相比,五味子甲素低、中、高剂量组及阳性对照组大鼠海马区神经元凋亡比例降低 ($P < 0.05$)。见图 2、表 2。

3.4 五味子甲素对大鼠海马区 Bax、Bcl-2、Caspase-3、cleaved Caspase-3 蛋白水平的影响

与假手术组相比,模型组大鼠海马区 Bax、cleaved Caspase-3/Caspase-3 蛋白表达水平升高, Bcl-2 蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$);与模型组相比,五味子甲素(低、中、高)剂量组、阳性对照组大

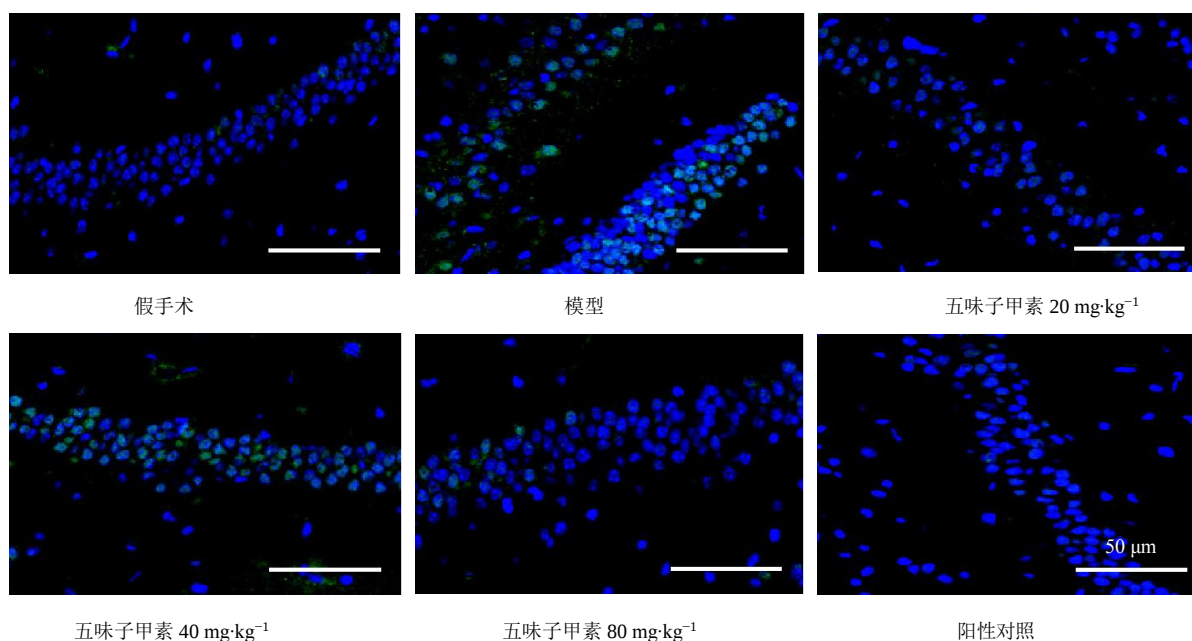


图 2 各组大鼠海马区神经元凋亡情况

Fig. 2 neuronal apoptosis in hippocampus of rats in each group

表 2 各组大鼠海马区神经元凋亡率比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Comparison of apoptosis rate of hippocampal neurons in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	神经元凋亡率/%
假手术	—	0.13±0.02
模型	—	63.48±6.47 [#]
五味子甲素	20	53.11±5.44 [*]
	40	43.19±5.95 [*]
	80	25.18±3.49 [*]
阳性对照	540	34.65±6.15 [*]

与假手术组比较: [#] $P < 0.05$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ vs sham-operation group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

鼠海马区 Bax、cleaved Caspase-3/Caspase-3 蛋白表达水平降低, Bcl-2 蛋白水平升高 ($P < 0.05$)。见图 3、表 3。

3.5 五味子甲素对 VD 大鼠海马区 SIRT1、PGC-1 α 蛋白表达水平的影响

与假手术组相比, 模型组大鼠海马区 SIRT1、

PGC-1 α 蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$); 与模型组相比, 五味子甲素(中、高)剂量组、阳性对照组大鼠海马区 SIRT1、PGC-1 α 蛋白表达水平升高 ($P < 0.05$)。见图 4、表 4。

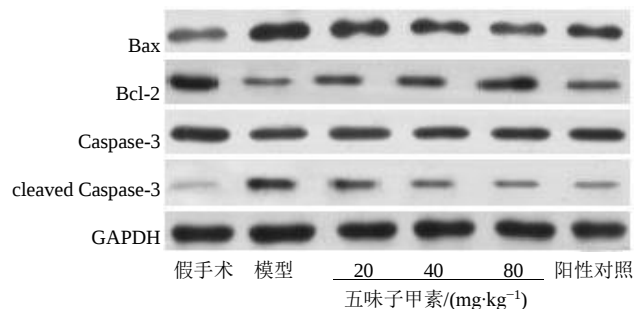


图 3 各组大鼠海马区 Bax、Bcl-2、Caspase-3、cleaved Caspase-3 蛋白表达

Fig. 3 Protein expression of Bax, Bcl-2, Caspase-3 and cleaved Caspase-3 in hippocampus of rats in each group

表 3 各组大鼠海马区 Bax、Bcl-2、Caspase-3、cleaved Caspase-3 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Comparison of protein expression levels of Bax, Bcl-2, Caspase-3 and cleaved Caspase-3 in hippocampus of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Bax/GAPDH	Bcl-2/GAPDH	Caspase-3/GAPDH	cleaved Caspase-3/Caspase-3
假手术	—	0.33±0.08	0.76±0.08	0.93±0.08	0.05±0.01
模型	—	1.06±0.15 [#]	0.09±0.01 [#]	0.89±0.09	0.36±0.04 [#]
五味子甲素	20	0.86±0.08 [*]	0.16±0.02 [*]	0.92±0.09	0.26±0.02 [*]
	40	0.59±0.06 [*]	0.33±0.04 [*]	0.87±0.08	0.14±0.01 [*]
	80	0.48±0.08 [*]	0.86±0.04 [*]	0.92±0.08	0.12±0.02 [*]
阳性对照	540	0.54±0.07 [*]	0.29±0.03 [*]	0.93±0.05	0.12±0.01 [*]

与假手术组比较: [#] $P < 0.05$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ vs sham-operation group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

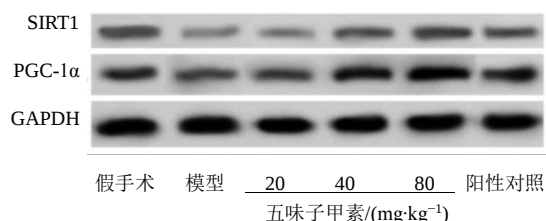


图 4 各组大鼠海马区 SIRT1、PGC-1 α 蛋白表达

Fig. 4 Protein expression of SIRT1 and PGC-1 α in hippocampus of rats in each group

4 讨论

五味子为木兰科植物五味子 *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill.干燥成熟果实, 具有宁心安

表 4 各组大鼠海马区 SIRT1、PGC-1 α 蛋白表达水平比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 4 Comparison of protein expression levels of SIRT1 and PGC-1 α in hippocampus of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	SIRT1/GAPDH	PGC-1 α /GAPDH
假手术	—	0.89±0.09	0.68±0.05
模型	—	0.13±0.02 [#]	0.21±0.02 [#]
五味子甲素	20	0.14±0.02	0.23±0.02
	40	0.33±0.04 [*]	0.59±0.06 [*]
	80	0.57±0.06 [*]	1.06±0.10 [*]
阳性对照	540	0.34±0.04 [*]	0.56±0.04 [*]

与假手术组比较: [#] $P < 0.05$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

[#] $P < 0.05$ vs sham-operation group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

神、敛肺滋肾之功效,晋代葛洪《抱朴子》中记载五味子:“常服能返老还童、延年益寿”,五味子具有抗衰功效^[8-9]。五味子甲素为五味子主要成分,具有抗抑郁功效。本研究发现,与假手术组相比,模型组大鼠平台象限停留时间、穿越平台次数减少,提示VD大鼠出现脑部认知记忆功能障碍等症状,可能与神经损伤、神经递质突触传递等过程关系密切。与模型组相比,五味子甲素(低、中、高)剂量组大鼠平台象限停留时间、穿越平台次数逐渐增加,提示五味子甲素具有改善认知及记忆功能障碍作用,但具体机制尚不清楚。

细胞凋亡是神经元损失的一种重要形式,海马区作为大脑中与学习、记忆关系最密切区域,直接参与信息储存和处理过程,神经元丢失将严重影响海马接收其他联络区域的信息,引起学习和记忆障碍^[10]。在本研究中,HE染色、TUNEL染色均发现模型组大鼠海马神经元凋亡明显,提示VD模型中记忆功能障碍确实与海马神经元凋亡有关。与模型组相比,五味子甲素(低、中、高)剂量组随着剂量的增加,大鼠海马区神经元凋亡情况得到缓解,提示五味子甲素可以缓解VD大鼠中海马神经元凋亡严重情况,从而缓解疾病症状。Bax、Bcl-2是细胞程序性凋亡主要成员,Bax诱导细胞凋亡发生,Bcl-2抑制细胞凋亡发生^[11]。Caspase-3是哺乳动物细胞凋亡的启动者,活化的Caspase-3可促进Caspase级联“瀑布”反应,在凋亡过程中起决定性作用^[12]。降低Bax、cleaved Caspase-3蛋白水平,升高Bcl-2蛋白水平可以逆转神经功能,降低神经元凋亡对机体的影响^[13]。本研究发现,与假手术组相比,模型组大鼠海马区Bax、cleaved Caspase-3/Caspase-3蛋白水平升高,Bcl-2蛋白水平降低,提示在VD大鼠海马区影响神经元凋亡蛋白变化明显,各蛋白共同促进神经元凋亡。与模型组相比,五味子甲素(低、中、高)剂量组大鼠海马区Bax、cleaved Caspase-3蛋白水平降低,Bcl-2蛋白水平升高,提示五味子甲素可以降低凋亡蛋白的表达,促进抗凋亡蛋白的表达,从而缓解神经元凋亡现象。

SIRT1是一种烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性蛋白去乙酰化酶,正常情况在海马神经元中表达丰富,可以促进神经元分化和轴突延长,抑制炎症反应、氧化应激、细胞凋亡等,从而实现对神经元保护^[14-17]。SIRT1可调控下游NF- κ B、PGC-1 α 、P53等的表达,PGC-1 α 作为一种转录调控辅助激活因子,通过与

不同的转录因子结合,发挥不同的生理作用^[18]。研究发现,SIRT1/PGC-1 α 通路可以通过去乙酰化激活三磷酸腺苷合酶 β ,实现对线粒体的保护,预防神经元凋亡^[19];在胰岛 β 细胞系中抑制PGC-1 α 水平可升高活化的Caspase-3水平,从而发挥促凋亡作用^[20]。本研究发现,与假手术组相比,模型组大鼠SIRT1、PGC-1 α 蛋白水平降低,提示在VD模型中SIRT1/PGC-1 α 通路处于抑制状态,可能对神经元中线粒体的保护作用减弱,促进细胞凋亡。与模型组相比,五味子甲素(中、高)剂量组大鼠海马区SIRT1、PGC-1 α 蛋白水平升高,提示经五味子甲素处理后,SIRT1/PGC-1 α 通路激活,保护神经元线粒体、促进神经元分化等,实现对神经元的保护。

五味子甲素在VD模型大鼠中可以缓解海马神经元凋亡,可能是通过激活SIRT1/PGC-1 α 通路实现的。但确切的作用机制仍需进一步探讨。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Zong W J, Zeng X C, Chen S Y, et al. Ginsenoside compound K attenuates cognitive deficits in vascular dementia rats by reducing the A β deposition [J]. *J Pharmacol Sci*, 2019, 139(3): 223-230.
- [2] Jiang P, Chen L, Sun J, et al. Chotosan ameliorates cognitive impairment and hippocampus neuronal loss in experimental vascular dementia via activating the Nrf2-mediated antioxidant pathway [J]. *J Pharmacol Sci*, 2019, 139(2): 105-111.
- [3] 朴钟源, 宋琳, 姚丽芬, 等. 五味子醇甲对痴呆小鼠学习记忆能力的影响及机制研究 [J]. *中华神经医学杂志*, 2019, 18(4): 325-330.
- [4] 张艺蓉, 宫凤秋, 李杨, 等. 五味子甲素药理作用的研究进展 [J]. *饮食保健*, 2019, 6(18): 294.
- [5] 张雯, 宋俊科, 朱晓瑜, 等. 异鼠李素激活Sirt1/PGC-1 α 信号通路抑制MPP⁺诱导的SH-SY5Y细胞损伤 [J]. *药学学报*, 2019, 54(11): 1976-1981.
- [6] Farkas E, Luiten P G, Bari F. Permanent, bilateral common carotid artery occlusion in the rat: A model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases [J]. *Brain Res Rev*, 2007, 54(1): 162-180.
- [7] 付佳宇, 刘宏雁, 谢宇. 血栓心脉宁对血管性痴呆大鼠炎症因子的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(2): 177-180.
- [8] 史琳, 王志成, 冯叙桥. 五味子化学成分及药理作用的研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2011, 34(3): 208-212.
- [9] 王姝越. 五味子多糖提取及纯化研究 [J]. *饮食保健*,

- 2018, 5(7): 70-71.
- [10] Wang J, Chen Y B, Zhang C L, *et al.* Learning and memory deficits and alzheimer's disease-like changes in mice after chronic exposure to microcystin-LR [J]. *J Hazard Mater*, 2019, 373(5): 504-518.
- [11] Zhang H, Dong R, Zhang P, *et al.* Songorine suppresses cell growth and metastasis in epithelial ovarian cancer via the Bcl-2/Bax and GSK3 β / β -catenin signaling pathways [J]. *Oncol Rep*, 2019, 41(5): 3069-3079.
- [12] Weng C Y, Chen Y, Wu Y, *et al.* Silencing UBE4B induces nasopharyngeal carcinoma apoptosis through the activation of caspase3 and p53 [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12(8): 2553-2561.
- [13] Zhang Y, Yang X, Ge X, *et al.* Puerarin attenuates neurological deficits via Bcl-2/Bax/cleaved caspase-3 and Sirt3/SOD2 apoptotic pathways in subarachnoid hemorrhage mice [J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 109(32): 726-733.
- [14] Fujita Y, Yamashita T. Sirtuins in neuroendocrine regulation and neurological diseases [J]. *Front Neurosci*, 2018, 26(12): 778-786.
- [15] Chen T, Li Y, Ni W, *et al.* Neural stem cell-conditioned medium inhibits inflammation in macrophages via sirt-1 signaling pathway *in vitro* and promotes sciatic nerve injury recovery [J]. *Stem Cell Dev*, 2020, 29(16): 1-27.
- [16] Wang Y, Zhang M, Li Z, *et al.* Fine particulate matter induces mitochondrial dysfunction and oxidative stress in human SH-SY5Y cells [J]. *Chemosphere*, 2019, 218(2): 577-588.
- [17] Gao K, Niu J, Dang X. Neuroprotection of melatonin on spinal cord injury by activating autophagy and inhibiting apoptosis via SIRT1/AMPK signaling pathway [J]. *Biotechnol Lett*, 2020, 42(10): 8-19.
- [18] Li X N, Yang S H, Wang L, *et al.* Resveratrol inhibits paclitaxel-induced neuropathic pain by the activation of PI3K/Akt and SIRT1/PGC1 α pathway [J]. *J Pain Res*, 2019, 12(4): 879-890.
- [19] Tang J, Lu L, Liu Y, *et al.* Quercetin improve ischemia/reperfusion - induced cardiomyocyte apoptosis *in vitro* and *in vivo* study via SIRT1/PGC-1 α signaling [J]. *J Cell Biochem*, 2019, 22(10): 1-11.
- [20] 郭衍, 李海, 管洪宇, 等. 孤儿核受体 Nr2a1 对棕榈酸诱导的 Min6 细胞凋亡的影响及其可能机制 [J]. *中华糖尿病杂志*, 2019, 11(11): 752-756.

[责任编辑 刘东博]