

行抗血小板聚集比较,发现桃仁木香合剂作用更显著,优于单味药桃仁和木香,与祖国医学行气活血的理论相吻合,从实验角度说明理气药行气加强活血作用,其机制或许在于其抗血小板聚集作用。

参考文献:

[1] 吉中强,高晓昕,宋鲁卿,等.调脂中药抗血小板聚集和对红细胞流变性影响的实验研究[J].中医药研究,1999,15(5):47-

49.

[2] 凌一揆.中药学[M].上海:上海科学技术出版社,1984.

[3] 陈奇.中药药理研究方法学[M].北京:人民卫生出版社,1993.

[4] 陈光荣.中国植物药薤白对人血小板聚集的影响[J].中草药,1987,18(10):12.

[5] 陈可冀.活血化瘀研究与临床[M].北京:北京医科大学中国协和医科大学联合出版社,1993.

绞股蓝总苷对全脑缺血再灌注大鼠海马及齿状回的保护作用

齐刚,张莉,宋月英,汪超,陈小义,李积胜*

(武警医学院中心实验室,天津 300162)

摘要:目的 观察绞股蓝总皂苷(GP)对全脑缺血再灌注大鼠海马及齿状回DNA和RNA的保护作用。方法 采用4血管阻断(4-VO)方法建立大鼠急性全脑缺血模型,用吖啶橙染色法进行GP对全脑缺血再灌注大鼠海马及齿状回的DNA和RNA保护作用的研究。结果 与正常对照组比较,全脑缺血再灌注大鼠海马及齿状回DNA和RNA吖啶橙染色后的荧光强度(反映DNA和RNA含量)明显减弱,GP 100 mg/kg ig给药组海马及齿状回DNA和RNA吖啶橙染色后的荧光强度强于全脑缺血再灌注模型组,与正常对照组相似。结论 GP可明显减轻缺血再灌注对大鼠海马及齿状回DNA和RNA损伤。

关键词:绞股蓝总皂苷;脑缺血再灌注;海马;齿状回

中图分类号: R285.5

文献标识码: A

文章编号: 0253-2670(2001)05-0430-02

Protective effect of gypenosides on cerebral ischemia-reperfusion injury of hippocampus and dentate gyrus of rat

QI Gang, ZHANG Li, SONG Yue-ying, WANG Chao, CHEN Xiao-yi, LI Ji-sheng

(Department of Pharmacology, Medical College of Chinese People's Armed Police Forces, Tianjin 300162, China)

Abstract Object To observe the effect of gypenosides (GP) on DNA and RNA in hippocampus and dentate gyrus of cerebral ischemia-reperfusion injured rat. **Methods** Modified 4-vessel occlusion (4-VO) method was used to establish the models of acute global ischemia. Acridine orange (AO) method was carried out to study the protective effect of GP on cerebral ischemia-reperfusion injury in hippocampus and dentate gyrus of rat. **Results** The fluorescent intensity of the DNA and RNA in hippocampus and dentate gyrus of cerebral ischemia-reperfusion injury of rat is abated as compared with the normal control while the group with ig GP (100 mg/kg) is enhanced when compared with the ischemia-reperfusion injury model, and showed the same degree of intensity with the normal control group. **Conclusion** It is shown that the injury on DNA and RNA in hippocampus and dentate gyrus of ischemia-reperfusion of rat could be alleviated by GP.

Key words gypenosides (GP); cerebral ischemia-reperfusion; hippocampus; dentate gyrus

绞股蓝 *Gynostemma pentaphyllum* (Thunb.) Mak. 为葫芦科绞股蓝属植物,其主要有效成分为绞股蓝皂苷(gypenosides, GP)。目前已分离鉴定出80余种皂苷,其中皂苷III,IV,VIII,VII的化学结构与人参皂苷Rb₁,Rb₃,Rd,F₂结构相同^[1]。已有报道,

GP对大鼠全脑缺血再灌注损伤及家兔急性不完全性脑缺血具有保护作用^[2,3],对老龄大鼠学习记忆有改善作用^[4],认为GP对缺血脑组织的保护作用不仅与其抑制自由基的产生、清除氧自由基和脂质过氧化有关,而且与其对缺血脑组织的神经细胞膜及

* 收稿日期: 2000-08-10

作者简介: 齐刚(1962-),男,1996年毕业于北京医科大学,医学硕士,副教授。现任武警医学院中心实验室负责人。主要从事心脑血管药理学研究。Tel (022)24372788-78496 E-mail qqang@eyou.com.

微血管的稳定性的保护作用相关。作者就 GP对全脑缺血再灌注损伤大鼠海马及齿状回的影响进行了研究

1 材料

1.1 动物: 雄性 Wistar大鼠, 体重 240~260 g; 天津市职业病防治中心动物室提供。

1.2 药品和试剂: 绞股蓝总皂苷(含量大于 90%), 华光实业有限公司提供; 吖啶橙 sigma公司出品; 其它试剂均为市售分析纯。

1.3 仪器: 恒冷箱冰冻切片机, 英国 Bright公司出品; U1111荧光显微镜, 日本 Nikon公司出品。

2 方法

2.1 大鼠全脑缺血再灌注损伤模型的制备^[5]: 取大鼠 30只随机分为 3组, 即 GP 100 mg/kg全脑缺血再灌注损伤组: ig GP 100 mg/(kg·d), 连给 7 d, ip 戊巴比妥钠 40 mg/kg麻醉固定后, 切开颈部皮肤, 分离椎旁肌, 暴露第一颈椎翼状孔, 电灼烧凝固双侧椎动脉, 24 h后, 乙醚浅麻醉下切开腹侧颈中皮肤, 分离双侧颈总动脉, 用动脉夹夹闭 30 min, 打开动脉夹, 再灌注 1 h后进行灌注固定并取材切片。全脑缺血再灌注损伤模型对照组: 按给药组相同体积每日 ig蒸馏水, 连续 7 d, 同法手术制备模型。伪手术对照组: 同样进行手术但不灼烧椎动脉, 不夹闭颈总动脉。

2.2 取材和切片: 取上述各组已灌注 1 h的大鼠, ip 戊巴比妥钠 40 mg/kg麻醉固定后, 开胸, 从左心室快速依次灌注生理盐水 100~150 mL, 4%多聚甲醛 500 mL (4℃), 迅速取脑, 置 4℃的上述同样的固定液中固定 7~9 h后, 移入 20%蔗糖溶液中浸泡 12 h以上, 以恒冷箱冰冻切片机切片(片厚 50 μm), pH 7.4的 0.01 mol/L PBS接片。

2.3 吖啶橙染色^[6]及镜检: 取固定好的切片用 AO染色液进行染色 2~3 min, 以磷酸缓冲液洗 1 min, 用氯化钙溶液分化 30 s后, 以磷酸缓冲液漂洗 3次, 荧光显微镜下观察结果并拍照。

3 结果

在荧光显微镜下(图 1见封 3), 对照组海马 CA₁区、CA₃区及齿状回 DNA和 RNA呈黄绿色, 均匀分布于 CA₁区和 CA₃区的锥体细胞层和齿状回的颗粒细胞层(图 1-1~3); 缺血再灌注模型组海

马 CA₁区、CA₃区及齿状回 DNA和 RNA荧光反应强度(反映 DNA和 RNA含量)明显减低(图 1-4~6); GP 100 mg/kg给药组海马 CA₁区、CA₃区及齿状回 DNA和 RNA荧光反应强度较缺血再灌注模型组明显增强(图 1-7~9), 与对照组反应强度和分布模式基本相同。

3 讨论

脑缺血可导致细胞活动和功能障碍, 甚至导致神经元死亡, 进而引起痴呆、学习记忆能力下降。许长庆等发现, GP对沙土鼠短暂性脑缺血后海马 CA₁区神经元坏死有保护作用, 使该区神经元密度显著提高。一般认为海马 CA₁区、CA₃区及齿状回颗粒细胞为脑缺血再灌注的易损区, 脑缺血再灌注可导致海马 CA₁区、CA₃区神经元及齿状回颗粒细胞热休克蛋白基因(HSP70基因)的转录和翻译几乎均被破坏, HSP具有改变细胞、增加脑细胞对缺氧的耐受性, 抵抗进一步坏死的作用。缺血再灌注可导致细胞浆内钙离子增多, 激活钙依赖的核酸内切酶, 将 DNA切割成大小不一的寡核苷酸片段, 形成 DNA梯, 此为细胞凋亡的特征^[7]。本研究结果显示, 脑缺血再灌注模型组海马 CA₁区、CA₃区及齿状回 DNA和 RNA荧光反应强度明显减低, 即 DNA和 RNA含量降低。而 GP对全脑缺血再灌注大鼠海马及齿状回具有保护作用, 抑制了缺血再灌注导致的海马 CA₁区、CA₃区及齿状回神经细胞的凋亡。长记忆的形成与脑内新蛋白的合成有密切关系。DNA和 RNA与蛋白质的合成密切相关, 此作用的机制及其与 GP抗衰老、改善学习记忆及对缺血脑组织保护作用的关系, 有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 郭生桢, 王庆勇, 王根朝, 等. 绞股蓝研究进展[J]. 中草药, 1987, 18(7): 37-40.
- [2] 田鹤鹤, 张成英, 陈前芬. 绞股蓝总皂苷对大鼠全脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 蚌埠医学院学报, 1993, 18(2): 117-119.
- [3] 王竹筠, 邱培伦. 绞股蓝总皂苷对家兔急性不完全性脑缺血的保护作用[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 1992, 6(3): 204-206.
- [4] 高南南, 于澍仁, 吕瑞绵. 绞股蓝皂苷对老龄大鼠学习记忆的改善作用[J]. 中国老年学杂志, 1995, 15(6): 359-361.
- [5] 张均田. 现代药理实验方法[M]. 下册. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 1998.
- [6] 鄂征. 组织培养技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1998.
- [7] 程欣, 沈伟哉, 正达人. 细胞凋亡研究进展[J]. 解剖学杂志, 1998, 21(4): 368-371.

更正

《中草药》杂志 2001年第 32卷第 4期 p351论文“天麻及其伪品的毛细管电泳鉴别及天麻素的测定”的第三作者应为刘海兴, 特此更正

《中草药》杂志编辑部