

绞股蓝总皂苷对血管性痴呆大鼠大脑皮层及海马的影响

张莉,吴光亮,陈小义,齐刚*

(武警医学院 药学教研室,天津 300162)

摘要:目的 观察绞股蓝总皂苷(GP)对血管性痴呆大鼠大脑皮层及海马的DNA和RNA的影响。方法 采用改良的Pulsinelli 4血管阻断(4-V O)方法建立大鼠血管性痴呆模型,用吖啶橙染色法进行GP对血管性痴呆大鼠大脑皮层及海马的DNA和RNA保护作用的研究。结果 与正常对照组比较,血管性痴呆大鼠大脑皮层及海马的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 200 mg/kg ig给药组大脑皮层及海马的DNA和RNA吖啶橙染色后的荧光强度强于血管性痴呆模型组,与正常对照组相似。结论 GP可明显减轻血管性痴呆大鼠大脑皮层及海马的DNA和RNA损伤。

关键词:绞股蓝总皂苷;痴呆;血管性;大脑皮层;海马

中图分类号: R286.1 文献标识码: A 文章编号: 0253-2670(2002)04-0330-02

Protective effect of gypenosides on cerebral cortex and hippocampus in vascular dementia rat

ZHANG Li, WU Guang-liang, CHEN Xiao-yi, QI Gang

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

Abstract Object To observe the effect of gypenosides (GP) on the DNA and RNA in cerebral cortex and hippocampus in vascular dementia rat. **Methods** Modified Pulsinelli 4-vessel occlusion (4-V O) method was used to establish the models of vascular dementia rat. The acridine orange (AO) method was applied to study the protective effect of GP on the DNA and RNA of cerebral cortex and hippocampus in vascular dementia rat. **Results** The fluorescent intensity from the DNA and RNA in cerebral cortex and hippocampus of vascular dementia rat is abated as compared with the normal control group. The fluorescent intensity from DNA and RNA of the treatment group administrated GP (200 mg/kg, ig) significantly intensified, as compared with that of non-treatment group, and is similar to that of normal group. **Conclusion** The injury to the DNA and RNA in cerebral cortex and hippocampus in vascular dementia rat was obviously decreased by GP.

Key words gypenosides (GP); dementia; vascular; cerebral cortex; hippocampus

世界人口正在变老,老化人口的速度为总人口增长速度的2倍,伴随着人口老化,老年痴呆即Alzheimer病(AD)的发病率也将增高。AD是一种慢性的大脑退行性变性病变,至少可分为4种,即老年性痴呆(AD)、脑血管性痴呆(VD)、混合性痴呆(前二者并存)及由全身性疾病引发的老年人痴呆。而血管性痴呆则是由于各种类型的脑血管病所致的认知功能选择性和可逆性损害的综合征,其患病率为7.5%。鉴于血管性痴呆由脑缺血引发,而脑缺血可诱发以神经元DNA早期降解为特征的神经元凋亡,我们进行了绞股蓝皂苷(gypenosides, GP)对血管性痴呆导致的脑内神经元DNA RNA损伤的保护作用的研究,旨在从分子水平揭示血管性痴呆与脑内神经元DNA及RNA变化之间的关

系及GP防治血管性痴呆的机制,以期治疗药物的开发奠定理论基础。

1 材料

1.1 动物:雄性Wistar大鼠,体重240~260g,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试剂

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 大鼠血管性痴呆模型的制备^[1]:取大鼠30只随机分为3组,血管性痴呆模型组: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,

* 收稿日期: 2001-06-17

* 联系人 Tel (022) 60578160 E-mail qgang@eyou.com

暴露第一颈椎翼状孔,电灼烧凝固双侧翼小孔内的锥动脉,造成永久性闭塞;24 h后乙醚浅麻醉,切开腹侧颈中皮肤,分离双侧颈总动脉,用动脉夹可逆性夹闭双侧颈总动脉 5 min,缺血共 3次,每次间隔 1 h,术后饲养 4周。进行灌注固定并取材切片。GP 200 mg/kg 给药组,ig 给药 1周后,按照大鼠血管性痴呆模型的制备方法进行手术,术后饲养 4周并观察。伪手术对照组:同样进行手术但不灼烧锥动脉,不夹闭颈总动脉,术后饲养 4周。

2.2 取材和切片:取上述各组大鼠,ip 戊巴比妥钠 40 mg/kg 麻醉固定后,于 30~40 min内,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,进行吖啶橙染色^[2],荧光显微镜下观察结果并拍照。

3 结果

在荧光显微镜下(彩图见封 3),对照组大脑皮层及海马 CA₁区及 CA₃区 DNA 和 RNA 呈黄绿色,均匀分布于大脑皮层的细胞层和海马锥体细胞层(图 1-1~3);血管性痴呆模型大脑皮层和海马 CA₁区及 CA₃区的 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 (200 mg/kg) 给药组大脑皮层和海马 CA₁区、CA₃区的 DNA 和 RNA 荧光反应强度较血管性痴呆模型组明显增强(图 1-7~9),与对照组反应强度和分布模型基本相同。

4 讨论

已有研究表明,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,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微血管的稳定性的保护作用相关^[3]。此外,尚有报道,GP对老龄大鼠学习记忆有改善作用^[4],此作用可能与 GP清除氧自由基有关。

脑缺血再灌注可导致神经元凋亡或坏死,进而引起痴呆、学习记忆能力下降。而 DNA 梯(DNA laddering)的形成是神经元凋亡的重要特征之一。缺血可使胞浆内钙离子增多,激活钙 镁依赖的核苷酸内切酶,将 DNA 切割成许多大小不一的寡核苷酸片段。在中枢神经系统中,大脑皮层、海马等部位是缺血易损区,实验结果显示大脑皮层及海马 CA₁区、CA₃区锥体细胞层 DNA 和 RNA 荧光反应强度明显减低,表明该区神经元 DNA 及 RNA 受到缺血性损伤。已有研究表明,随着缺血时间的延长,可能有诱导型一氧化氮合酶(iNOS)的激活,从而产生大量具有神经毒性作用的 NO,在海马迟发性神经元凋亡以至 VD 的形成中发挥了一定作用^[5]。

DNA 及 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、改善学习记忆及对血管性痴呆保护作用的关系,有待于进一步研究。

参考文献:

- [1] 许丹芸,游国雄,苗建亭,等.脑缺血及血管性痴呆形成过程中一氧化氮机制的实验研究[J].中华老年医学杂志,1999,18(4):240-243.
- [2] 鄂征.组织培养技术[M].北京:人民卫生出版社,1988.
- [3] 王竹筠,邱培伦.绞股蓝总皂甙对家兔急性不完全性缺血的保护作用[J].中国药理学与毒理学杂志,1992,6(3):204-206.
- [4] 高南南,于仁,吕瑞绵.绞股蓝皂甙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] Iadecola C, Zhang F, Xu X H. Inhibition of inducible nitric oxide synthase ameliorate cerebral ischemic damage [J]. Am J Physiol, 1995, 268: 286-289.

油菜吡咯硫苷降解物对 S₁₈₀小鼠抗肿瘤作用的实验研究

文碧玲¹,李培武²,李航森¹,赵力¹,余萍¹,邹俊清¹,张文¹,亦霞²,杨涓²,汪雪芳²,吴渝^{2*}

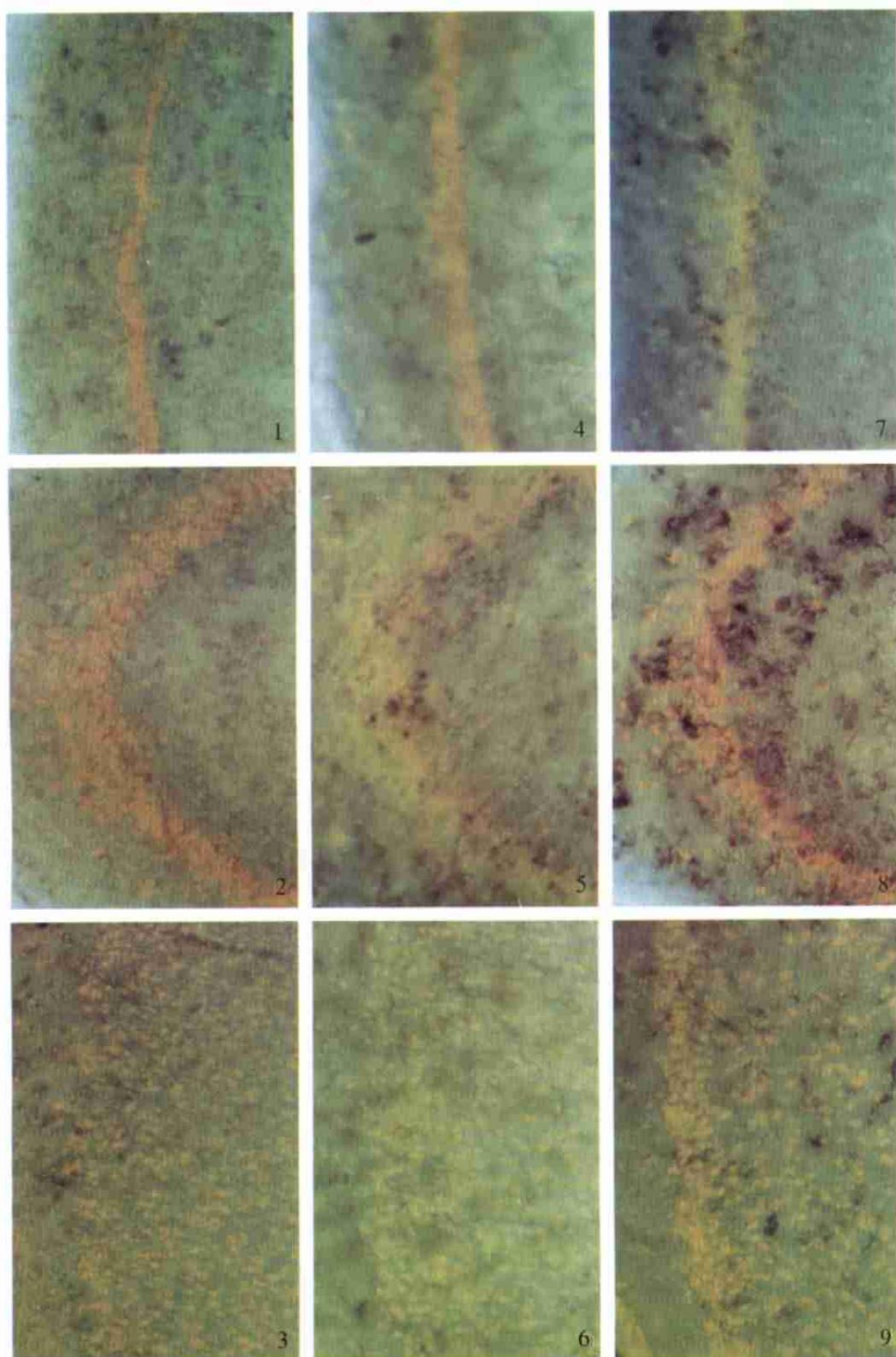
(1.湖北中医学院附院,湖北武汉 430061; 2.中国农业科学院油料作物研究所,湖北武汉 430062)

摘要:目的 探讨油菜资源中吡咯硫苷降解物对肿瘤的抑制作用及对免疫功能的影响。方法 分别将两种不同提取法制备的高、低浓度的吡咯硫苷对 S₁₈₀小鼠 ig 给药,ip 环磷酰胺。结果 吡咯硫苷降解物 2号高浓度和吡咯硫苷降解物 1号低浓度治疗组与生理盐水对照组相比有明显的抑制作用,能增加淋巴细胞转化率。结论 吡咯硫苷

* 收稿日期:2001-08-08

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39770452)

作者简介:文碧玲(1962-),女,副主任医师,主要从事中医药临床和实验研究,现为此项课题组主要成员之一。



1-对照组 CA₁区 2-对照组 CA₁区 3-对照组皮层 4-模型组 CA₁区 5-模型组 CA₁区
 6-模型组皮层 7-GP组 CA₁区 8-GP组 CA₁区 9-GP组皮层

图1 荧光显微镜下大脑DNA和RNA(吖啶橙染色法, × 100)