

## 红景天苷对全脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织 肿瘤坏死因子- $\alpha$ 表达的影响

宋月英, 齐 刚, 李亚萍, 韩景田

(武警医学院 中心实验室, 天津 300162)

红景天是名贵的药用植物, 有着与人参、刺五加相似的滋补强壮、扶正固本功能。红景天属植物主要有效成分为红景天苷 (salidroside)<sup>[1]</sup>, 研究表明红景天及红景天苷对大鼠脑缺血再灌注损伤均有保护作用<sup>[2,3]</sup>。尽管缺血性脑损伤的机制尚未完全阐明, 目前认为缺血后的炎症反应可加重组织损伤<sup>[4]</sup>。肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 是炎症反应的始发细胞因子, 在脑缺血再灌注损伤中的作用越来越引起人们的关注<sup>[5-7]</sup>。TNF- $\alpha$  在脑缺血再灌注各种损伤反应中起关键作用, 研究发现, 脑缺血再灌注损伤后 TNF- $\alpha$  在受损脑区内表达增加, 其表达过多, 参与和加重了脑缺血的损害。本实验利用大鼠大脑 4-血管阻断所致的全脑缺血再灌注模型, 研究红景天苷对大鼠全脑缺血再灌注损伤中 TNF- $\alpha$  表达的调控, 旨在探讨红景天苷对全脑缺血再灌注所致脑组织损伤的保护作用机制。

### 1 材料

1.1 药品与试剂: 红景天苷 (质量分数 > 95%) 由华东理工大学生物反应器工程国家重点实验室生物分离研究室提供; 盐酸川芎嗪注射液由天津市氨基酸公司人民制药厂生产 (每支 40 mg, 批号 20010911); 大鼠 TNF- $\alpha$  酶联免疫检测试剂盒购于联星生物技术有限公司; 其他试剂均为市售分析纯。

1.2 动物: 健康成年 Wistar 雄性大鼠 60 只, 二级, 体重 250~280 g, 由军事医学科学院实验动物中心提供, 许可证号: SCXK-(军) 第 2002-001 号。

1.3 仪器: 酶标仪 (550 型, 美国伯乐); 高速冷冻离心机 (Biofugestratos, 美国科俊); 洗板机 (1575 型, 美国伯乐); 电动玻璃匀浆机 (DY89-1 型)。

### 2 方法

2.1 动物分组: 将动物随机分为 5 组, 每组 12 只。

①模型组: 按给药组相同体积每日 ig 蒸馏水; ②假手术组: 按给药组相同体积每日 ig 蒸馏水; ③阳性

药物对照组: ig 川芎嗪 80 mg/(kg·d); ④药物低剂量组: ig 红景天苷 18 mg/(kg·d); ⑤ig 药物高剂量组: ig 红景天苷 36 mg/(kg·d)。

2.2 大鼠全脑缺血再灌注损伤模型的制备: 上述分组动物分别按剂量连续给药 7 d 后制备动物模型。0.4% 戊巴比妥钠 (40 mg/kg) ip 麻醉, 采用改良的 Pulsinelli 4-血管阻断 (4-VO) 法, 复制大鼠急性全脑缺血 (30 min) 再灌注 (60 min) 损伤模型<sup>[8]</sup>。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; 然后切开腹侧颈中皮肤, 分离双侧颈总动脉, 用动脉夹夹闭 30 min, 取下动脉夹, 再灌注 60 min 后, 断头取脑。其中假手术组不灼烧椎动脉, 不夹闭颈总动脉, 其余方法相同。

2.3 TNF- $\alpha$  的测定: 精密称取脑组织 0.1 g, 加入 10 倍体积的生理盐水后冰浴匀浆, 4 ℃、1 500 r/min 离心 20 min, 吸取上清液, 用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定上清液中的 TNF- $\alpha$  浓度。操作步骤按试剂盒提供的方法进行。酶标仪测定  $A_{450}$  值, 根据标准曲线, 计算标本样品 TNF- $\alpha$  浓度。

2.4 统计学方法: 所有统计结果均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS11.0 分析软件进行 LSD 方差分析。

### 3 结果

各组间 TNF- $\alpha$  水平的变化见表 1。模型组大鼠脑匀浆液中 TNF- $\alpha$  水平高于假手术组, 阳性药物对照组以及红景天苷低、高剂量组, TNF- $\alpha$  水平均较模型组显著降低 ( $P < 0.01$ )。红景天苷低剂量组 TNF- $\alpha$  水平略高于假手术组, 而高剂量组 TNF- $\alpha$  水平则低于假手术组, 红景天苷高、低剂量组均低于阳性药物对照组, 但组间无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。

### 4 讨论

红景天属植物具有抗缺氧、抗寒冷、抗疲劳、抗微波辐射等显著功效, Darbinyan 等<sup>[9]</sup>通过对 56 名年轻健康者反复使用玫瑰红景天提取液, 测试他们

表 1 红景天苷对全脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织 TNF- $\alpha$  水平的的影响 ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

Table 1 Effect of salidroside on TNF- $\alpha$  level in brain tissue of global ischemia-reperfusion injured rats ( $\bar{x} \pm s, n=6$ )

组别	剂量/(mg·kg <sup>-1</sup> )	TNF- $\alpha$ /(ng·g <sup>-1</sup> )
模型	—	110.07±18.42 $\Delta\Delta$
假手术	—	65.27±8.05
川芎嗪	80	75.96±16.85**
红景天苷	18	69.24±6.64**
	36	60.90±17.37**

与假手术组比较:  $\Delta\Delta P < 0.01$ ; 对模型组比较: \*\*  $P < 0.01$

$\Delta\Delta P < 0.01$  vs Sham group; \*\*  $P < 0.01$  vs model group

在夜班时间中的疲劳状态,结果证明玫瑰红景天能够缓解处在压力状态下的大脑中枢疲劳。脑组织容易遭受缺血再灌注损伤,其中炎症反应起重要的介导作用<sup>[4]</sup>。脑缺血再灌注可激活 TNF- $\alpha$  的合成机制,使其过度表达。TNF- $\alpha$  是细胞间黏附分子-1(ICAM-1)的调控因子,其过度表达可进一步促进血管内皮细胞合成 ICAM-1,增强中性粒细胞-血管内皮细胞的相互作用,加重脑缺血再灌注和炎症反应的损伤<sup>[7]</sup>。在脑组织中,TNF- $\alpha$  主要由胶质细胞与神经细胞产生。史朗峰等<sup>[10]</sup>研究证实,脑缺血再灌注大鼠脑组织 TNF- $\alpha$  mRNA 和 IL-1 $\beta$  mRNA 表达水平明显升高。Lavine 等<sup>[11]</sup>发现前脑室注射 TNF- $\alpha$  单克隆抗体,可阻断内源性 TNF- $\alpha$  活性,显著降低脑缺血再灌注引起的脑水肿及损伤<sup>[11]</sup>。本研究红景天苷可减少全脑缺血再灌注后脑组织中 TNF- $\alpha$  的蛋白表达,可能是其发挥脑保护作用的机制之一。红景天苷通过何种途径抑制 TNF- $\alpha$  的产生。尚待进一步的研究。

致谢:张文成教授和陈燕副主任技师的指导与帮助。

References:

[1] Li J X, Liu J T, Jin Y R, et al. Studies on chemical constituents from stem and leaf of *Rhodiola sachlinensis* [J]. *Chin Tradit Herb Drugs* (中草药), 1998, 29(10): 659-661.

[2] Song Y Y, Qi G, Han J T. Protective effect of hongjingtian on hippocampal area and denate gyrus of complete cerebral ischemia-reperfusion in rats [J]. *Chin J Clin Rehabil* (中国临床康复), 2005, 9(32): 232-233.

[3] Li L, Kong L K, Chen R, et al. Effect of Raiola on Nometabilism in brain ischemia-reperfusion model of rats [J]. *Shandong Med J* (山东医药), 2001, 41(19): 17-19.

[4] Yamasaki Y, Itoyama Y, Kogure K. Involvement of cytokine production in pathogenesis of transient cerebral ischemic damage [J]. *Keio J Med*, 1996, 45(3): 225-229.

[5] Uno H, Matsuyama T, Akita H, et al. Induction of tumor necrosis factor- $\alpha$  in the mouse hippocampus following transient forebrain ischemia [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1997, 17(5): 491-499.

[6] Buttini M, Appel K, Sauter A, et al. Expression of tumor necrosis factor alpha after focal cerebral ischemia in the rats [J]. *Neuroscience*, 1996, 71(1): 1-16.

[7] Meistrell M E, Botchkina G I, Wang H, et al. Tumor necrosis factor is a brain damaging cytokine in cerebral ischemia [J]. *Shock*, 1997, 8(5): 341-348.

[8] Pulsinelli W A, Brierley J B, Plum F. Temporal profile of neuronal damage in a model of transient forebrain ischemia [J]. *Ann Neurol*, 1982, 11(5): 491-498.

[9] Darbinyan V, Kteyan A, Panossian A, et al. *Rhodiola rosea* in stress induced fatigue—a double blind cross-over study of a standardized extract SHR-5 with a repeated low-dose regimen on the mental performance of healthy physicians during night duty [J]. *Phytomedicine*, 2000, 7(5): 365-371.

[10] Shi L M, Ren H M, Bai R. Effects of the domestic fibrinolytic on expressions of TNF- $\alpha$  and IL-1 $\beta$  mRNAs in ischemia/reperfused rats [J]. *Apoplexy Nerv Dis* (中风与神经疾病杂志), 2004, 21(6): 544-546.

[11] Lavine S D, Hofman F M, Zlokovic B V. Circulating antibody against tumor necrosis factor-alpha protects rat brain from reperfusion injury [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1998, 18(1): 52-58.

## 蓝萼甲素对小鼠脾细胞内游离钙离子浓度的影响

陈子珺<sup>1</sup>, 李云森<sup>2</sup>, 周吉燕<sup>1</sup>, 曹露晔<sup>3</sup>, 胡月娟<sup>1</sup>, 李仪奎<sup>3</sup>

(1. 上海中医药大学中药研究所 药理二室, 上海 201203; 2. 中国科学院上海药物研究所, 上海 201203;

3. 上海中医药大学 科技实验中心, 上海 201203)

蓝萼甲素是由唇形科香茶菜属植物香茶菜 *Rabdosia amethystoides* (Benth.) Hara 中分离提取出的二萜化合物。前期的实验研究表明, 香茶菜能显

著抑制细胞免疫反应而增加体液免疫反应。应用药理与化学密切合作的研究方法, 以活性评价为导向, 对香茶菜影响免疫功能的活性物质进行追踪分离,

收稿日期: 2005-10-20

基金项目: 国家科技部 863 计划“创新药物和中药现代化”新药博士基金资助课题 (2003AA2Z3518)

作者简介: 陈子珺 (1976—), 女, 博士, 助理研究员, 2004 年在上海中医药大学中药新药药理专业获博士学位, 现就职于上海中医药大学中药研究所, 主要从事中药免疫药理研究。Tel: (021) 51322496 E-mail: zichen21@yahoo.com.cn