

## 人参固本口服液对小鼠股骨骨折术后认知功能的影响及机制探讨

钟彦亨<sup>1</sup>, 姚景春<sup>4</sup>, 孙成宏<sup>4</sup>, 张贵民<sup>3\*</sup>, 李法升<sup>1,2\*</sup>

1. 暨南大学附属第一医院, 广东 广州 510630

2. 河源市深河人民医院(暨南大学附属第五医院), 广东 河源 517475

3. 鲁南制药集团股份有限公司, 中药制药共性技术国家重点实验室, 山东 临沂 276006

4. 鲁南制药集团股份有限公司 新药药理中心, 山东 临沂 276006

**摘要:** 目的 探讨人参固本口服液对小鼠股骨骨折术后认知功能的影响及作用机制。方法 60只 C57BL/6 小鼠随机分为对照组、人参固本口服液(0.50 mL/只)组、手术组和手术+人参固本口服液低、中、高剂量(0.05、0.10、0.50 mL/只)组。小鼠麻醉后制备骨折模型, 各给药组 ig 相应药物; 术后第3天, 采用 Morris 水迷宫实验记录小鼠逃避潜伏期, Y 迷宫检测小鼠学习记忆次数, 旷场实验检测其情绪行为; 行为学完成后, 小鼠处死取海马组织, 采用 ELISA 法检测小鼠海马区肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) 和白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 水平; 采用 qRT-PCR 法测定海马区 B 淋巴细胞瘤 2 (B-cell lymphoma 2, *Bcl-2*) 和 *Bcl-2* 相关 X 蛋白 (*Bcl-2* associated X protein, *Bax*) mRNA 表达; 采用 TUNEL 法检测海马神经元凋亡情况。**结果** 与手术组比较, 手术+人参固本口服液高剂量组小鼠术后第3天的平均逃避潜伏期显著缩短 ( $P < 0.05$ ), 学习记忆次数显著减少 ( $P < 0.05$ ), 穿越次数显著增加 ( $P < 0.05$ ); 血清中 TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平明显降低 ( $P < 0.05$ ); 海马区 *Bax* mRNA 表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ ), *Bcl-2* mRNA 表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ ); 海马组织神经细胞凋亡数显著减少 ( $P < 0.05$ )。**结论** 人参固本口服液能够通过抑制炎症反应, 降低海马神经元凋亡, 从而改善小鼠股骨骨折术后认知功能障碍。

**关键词:** 人参固本口服液; 骨折; 认知功能; 炎症反应; 凋亡

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2022)10-3078-06

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2022.10.018

## Effect and mechanism of Ginseng Guben Oral Liquid on cognitive function of mice after femoral fracture operation

ZHONG Yan-heng<sup>1</sup>, YAO Jing-chun<sup>4</sup>, SUN Cheng-hong<sup>4</sup>, ZHANG Gui-min<sup>3</sup>, LI Fa-sheng<sup>1,2</sup>

1. The First Affiliated Hospital of Jinan University, Guangzhou 510630, China

2. Shenhe People's Hospital (The Fifth Affiliated Hospital of Jinan University), Heyuan 517475, China

3. State Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine Pharmaceutical Generic Technology, Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Linyi 276006, China

4. Center for New Drug Pharmacology, Lunan Pharmaceutical Group Co., Ltd., Linyi 276006, China

**Abstract: Objective** To investigate the effect and mechanism of Ginseng Guben Oral Liquid (人参固本口服液, RSGB) on cognitive function of mice after femoral fracture surgery. **Methods** Sixty C57BL/6 mice were randomly divided into control group, RSGB (0.50 mL/mice) group, surgery group and surgery + RSGB low-, medium- and high-dose (0.05, 0.10, 0.50 mL/mice) groups. Mice were anesthetized to prepare a fracture model, and each administration group was given corresponding drugs. On 3rd day after operation, escape latency of mice was recorded by Morris water maze test, learning and memory times of mice were detected by Y-maze, and emotional behavior of mice was detected by open field test; After behavioral study, mice were sacrificed and hippocampal tissue was taken. ELISA method was used to detect tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interleukin-6 (IL-6) levels in hippocampus of

收稿日期: 2022-01-27

基金项目: 中药制药共性技术国家重点实验室开放基金资助项目 (202009)

作者简介: 钟彦亨 (1991—), 男, 硕士, 医师, 研究方向为脊柱、创伤骨科疾病。Tel: (020)38688617 E-mail: 784826926@qq.com

\*通信作者: 李法升 (1989—), 男, 本科, 主管技师, 研究方向为骨科相关疾病的影像研究。Tel: 13802423266 E-mail: 412447633@qq.com

张贵民 (1969—), 男, 研究员, 研究方向为创新药物研发研究。Tel: (0539)5030565 E-mail: lunanzhangguimin@yeah.net

mice; qRT-PCR was used to determine the mRNA expressions of B-cell lymphoma 2 (*Bcl-2*) and Bcl-2 associated X protein (*Bax*) in hippocampus; TUNEL method was used to detect the apoptosis of hippocampal neurons. **Results** Compared with operation group, average escape latency of mice in operation + RSGB high-dose group was significantly shortened on 3rd day after operation ( $P < 0.05$ ), learning and memory times were significantly reduced ( $P < 0.05$ ), and crossing times were significantly increased ( $P < 0.05$ ); TNF- $\alpha$  and IL-6 levels in serum were significantly decreased ( $P < 0.05$ ); *Bax* mRNA expression in hippocampus was significantly decreased ( $P < 0.05$ ), and *Bcl-2* mRNA expression was significantly increased ( $P < 0.05$ ); Number of apoptotic neurons in hippocampus was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** RSGB can inhibit inflammatory response and reduce apoptosis of hippocampal neurons, thereby improving the cognitive dysfunction in mice after femoral fracture.

**Key words:** Ginseng Guben Oral Liquid; fracture; cognitive function; inflammatory response; apoptosis

术后认知功能障碍 (postoperative cognitive dysfunction, POCD) 是发生在高龄患者术后的重要并发症,可发生在不同类型的手术,常表现为意识、认知、记忆、定向、感知、运动行为等方面的功能障碍,往往预后不良,影响疗效与远期生存<sup>[1-3]</sup>。随着社会老龄化,老年人髌部骨折的发生率呈上升趋势,其中以股骨颈骨折和股骨转子间骨折发病率最高,且具有极高的致残率及死亡率<sup>[4]</sup>。目前,手术治疗能够有效降低病死率,促使患者早日恢复并减少并发症发生,因此老年髌部骨折现多采取手术治疗。但临床观察发现,老年患者髌部骨折术后常并发 POCD,其发生率高达 35%~65%<sup>[5]</sup>。对 POCD 相关因素的研究是对其病因和发病机制的一种探索,掌握危险因素可以对患者发生 POCD 的可能性进行预测,并提出有效的防治措施,有利于患者术后的早期功能锻炼和康复。

人参固本口服液具有滋阴益气、固本培元的功效。研究表明,人参固本口服液对小鼠有明显的抗疲劳、耐缺氧作用,能够提高小鼠腹腔内巨噬细胞的吞噬功能,同时提高机体免疫功能<sup>[6]</sup>。然而其在 POCD 中的作用尚未见报道。为明确人参固本口服液在 POCD 中的治疗作用,本研究旨在考察人参固本口服液治疗 POCD 的机制,为临床治疗 POCD 提供科学理论依据及实验基础。

## 1 材料

### 1.1 动物

SPF 级雄性 C57BL/6J 小鼠 60 只,18 月龄,体质量 20 g,购自广东省医学实验动物中心,动物合格证号 210726211101477878,动物使用许可证号 SYXK(粤)2017-0174。动物在暨南大学医学院实验动物中心饲养,饲养于无特定病原体环境,室温保持在 22~25 °C,室内相对湿度为 (55±5)%,遵循 12 h/d 光照、12 h/d 黑暗周期,并保持给予充足的饲料和灭菌饮用水,手术前后 6 h 禁食禁水。

动物实验经暨南大学实验动物伦理委员会批准(批准号 20200902-09)。

### 1.2 药品与试剂

人参固本口服液(10 mL/支,批号 29190332)购自鲁南厚普制药有限公司;三溴乙醇(批号 T48402)购自美国 Sigma 公司;凋亡检测试剂盒(批号 C10617)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ ) ELISA 试剂盒(批号 BMS607-3)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) ELISA 试剂盒(批号 BMS603-2)、动物总 RNA 快速提取试剂盒(批号 K157002)购自美国 Invitrogen 公司;逆转录试剂盒(批号 K1691)、qRT-PCR 试剂盒(批号 46610)购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司。

### 1.3 仪器

骨折模型架(美国 NYU Impactor ModelIII); Morris 水迷宫、Y 迷宫(上海吉量软件科技有限公司分析系统);旷场实验视频分析系统(上海软隆科技发展有限公司);KDC-40 型低速离心机(科大创新股份有限公司中佳分公司);5810R 型冷冻超速离心机(德国 Eppendorf 公司);Varioskan LUX 多功能酶标仪(美国 Thermo Fisher Scientific 公司);PCR 扩增仪(美国 Bio-Rad 公司);倒置白光显微镜(日本 Olympus 公司)。

## 2 方法

### 2.1 分组与给药

用随机数字表法将小鼠随机分为对照组、人参固本口服液(0.50 mL/只)组、手术组和手术+人参固本口服液低、中、高剂量(0.05、0.10、0.50 mL/只)组,每组 10 只。手术组和手术+人参固本口服液低、中、高剂量组大鼠麻醉后制备骨折模型;各给药组 ig 相应药物,对照组和手术组 ig 等体积生理盐水,1 次/d。

### 2.2 小鼠股骨骨折髓内固定模型的制备

小鼠 ip 三溴乙醇(13  $\mu$ L/g)麻醉,仰卧位固定,

右下肢以 10% 安尔碘消毒准备手术。取髌旁内侧切口约 3 mm, 使髌骨脱位以暴露股骨髁间。以带不锈钢导针的 26 G 不锈钢针, 于股骨髁间开口并钻入股骨髓腔, 扩髓至股骨粗隆部, 并将导针留于髓腔内。将带导针的小鼠大腿置于骨折模型架的冲撞台上, 肢体平贴于台两侧, 根据 3 点折弯作用, 打击质量 350 g, 打击高度 6 cm, 打击深度为冲撞台上 1.5 mm, 制造闭合性股骨骨折。经导针将 26 G 不锈钢针插入骨折的股骨髓腔, 行骨折髓内固定, 剪断钢针柄, 推进使尾部平齐股骨髁关节面。立即在 X 线下观察, 确定骨折类型。小鼠苏醒后置于笼中饲养, 并进行 1 周的抗生素喂养。

### 2.3 行为学分析

**2.3.1 Morris 水迷宫实验记录小鼠逃避潜伏期** 骨折模型建立后第 3 天进行 Morris 水迷宫测试, 观察受试小鼠空间学习和记忆能力, 记录小鼠逃避潜伏期, 确定小鼠术后认知功能的变化。具体操作如下: 水迷宫为直径 100 cm、高 30 cm 的圆形水池, 水深 25 cm, 水温保持在 (24±1) °C, 水中加适量二氧化钛粉末, 使水浑浊。池壁上标有东南西北 4 个入水点, 将水池等分为 4 个象限, 水池第一象限正中处放 1 个直径为 10 cm、低于水平面 0.5 cm 的透明圆形平台。迷宫上方安置带有显示系统的摄像机, 用以同步记录小鼠运动轨迹。迷宫外参照物保持不变, 以供小鼠定位平台。将小鼠面朝池壁轻轻放入水中, 记录小鼠从入水至找到平台的时间(逃避潜伏期)。如果 90 s 内找不到平台, 潜伏期记为 90 s, 并将小鼠置于平台上休息 30 s。训练结束后, 将小鼠置于笼中, 并注意保暖, 用电取暖器烘干鼠毛。

**2.3.2 采用 Y 迷宫检测小鼠学习记忆次数** Morris 水迷宫测试完成后进行 Y 迷宫检测。Y 迷宫采用灯光和电刺激, 使小鼠形成回避条件反射, 通过观察和记录回避条件反射和空间辨别能力, 来判断小鼠的学习记忆和空间认知等方面的能力。Y 迷宫由 3 个辐射式迷路箱(等长 I、II、III 臂, 及 3 者交界区)和 1 个控制仪组成。学习训练: 设置电刺激参数, 采取随机休息模式, 记录其正确反应次数。观察指标: 所需训练次数。所需训练次数反映其回避条件反射盒空间分辨反应的学习成绩, 所需次数越少证明小鼠学习速度越快或学习能力越强。正确反映率反映记忆的保存能力, 正确率高说明小鼠对信息的保持和提取能力较强。

**2.3.3 采用旷场实验检测其情绪行为** 开场装置包括 1 个 60 cm×60 cm 的正方形地面以及四面的 40 cm 高的壁构成, 中心区域定义为距离周壁大于 15 cm 的正方形区域。装置的正上方有白色冷光源(4 W, 距地面 80 cm)。测试开始时, 只打开此光源, 将小鼠面向周壁放置到同一个角落, 通过视频追踪系统记录 5 min 内小鼠的活动情况。每只小鼠试验结束后, 用酒精擦洗清理装置周壁和底面, 清理干净后进行下一只小鼠实验, 排除上一只小鼠残留信息对本次测试结果的影响。开场实验广泛应用于评估动物焦虑以及探究行为, 主要分别记录 5 min 内小鼠在装置中的水平、垂直方向的运动(包括在总区域, 外周区和中间区的运动距离), 评估小鼠于中心区域活动占总活动的百分比。

### 2.4 ELISA 检测小鼠海马区的炎症因子 TNF- $\alpha$ 和 IL-6 水平

行为学测试完成后, 小鼠 ip 三溴乙醇(13  $\mu$ L/g) 麻醉, 去除小鼠颅骨后分离其脑部组织, 用冰冻生理盐水灌洗脑部组织, 迅速剥离覆盖在海马组织上的大脑皮层, 暴露并取出小鼠海马组织。海马匀浆, 于 2~8 °C、5000 r/min 离心 5 min, 取上清液, 采用 ELISA 试剂盒说明书测定 TNF- $\alpha$  及 IL-6 水平。

### 2.5 qRT-PCR 测定海马神经元 B 淋巴细胞瘤 2(B-cell lymphoma 2, *Bcl-2*) 和 *Bcl-2* 相关 X 蛋白(*Bcl-2* associated X protein, *Bax*) mRNA 表达

通过动物总 RNA 快速提取试剂盒从海马组织提取总 RNA。然后, 按照逆转录试剂盒进行 cDNA 合成。以 18S rRNA 作为内参, 引物序列: *Bax* 上游引物 5'-GCCGAAATGTTTGCTGACG-3', 下游引物 5'-CCGATCTCGAAGGAAGTCCA-3'; *Bcl-2* 上游引物 5'-ACTTTGCCGAGATGTCCAGC-3', 下游引物 5'-ATCCCAGCCTCCGTTATCCT-3'; 18S rRNA 上游引物 5'-GAAGGGCACCACCAGGAGT-3', 下游引物 5'-CAGACAAATCACTCCACCAA-3'。最后, 使用 qRT-PCR 试剂盒, 进行 PCR 扩增反应, 反应结束后, 应用  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  法分析数据。

### 2.6 Tunnel 法检测海马神经元凋亡情况

取小鼠海马组织, 于 4% 多聚甲醛中固定后进行石蜡包埋, 将包埋后的海马组织进行切片, 厚度为 5 mm。然后, 将切片按照 TUNEL 凋亡检测试剂盒说明书进行染色, DAB 进行显色。将染色好的标本置于显微镜下进行观察, 细胞核为棕黄色或棕褐色的细胞为凋亡细胞, 每个标本取 10 个高倍视野

(×400) 记录阳性细胞数, 并计算平均值。

### 2.7 数据处理

采用 SPSS 21.0 软件分析数据, 所有数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用单因素方差分析。

## 3 结果

### 3.1 Morris 水迷宫、Y 迷宫和旷场实验结果

如表 1 所示, 人参固本口服液组与对照组小鼠术后第 3 天平均逃避潜伏期、平均学习记忆次数和中心区域活动占比比较, 差异无统计学意义; 与对照组比较, 手术组小鼠术后第 3 天平均逃避潜伏期显著延长 ( $P < 0.05$ ), 平均学习记忆次数显著增加 ( $P < 0.05$ ), 中心区域活动显著减少 ( $P < 0.05$ ); 与手术组比较, 手术+人参固本口服液高剂量组术后第 3 天平均逃避潜伏期显著缩短 ( $P < 0.05$ ), 平均学习记忆次数显著减少 ( $P < 0.05$ ), 中心区域活动显著增加 ( $P < 0.05$ )。

### 3.2 各组小鼠海马区 TNF- $\alpha$ 和 IL-6 水平

如表 2 所示, 对照组与人参固本口服液组小鼠海马区炎症因子 TNF- $\alpha$  与 IL-6 水平相近, 差异无统计学意义; 与对照组比较, 其余各组 TNF- $\alpha$  与 IL-6 水平明显升高 ( $P < 0.05$ ); 与手术组比较, 手术+人参固本口服液高剂量组小鼠海马区炎症因子 TNF- $\alpha$  与 IL-6 水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。

### 3.3 各组小鼠海马神经元 Bax 和 Bcl-2 mRNA 表达

如表 3 所示, 对照组与人参固本口服液组小鼠海马区 Bax 和 Bcl-2 mRNA 表达水平相近, 差异无统计学意义; 与对照组比较, 手术组小鼠海马区 Bax mRNA 表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ ), Bcl-2mRNA 表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ ); 与手术组比较, 手术+人参固本口服液高剂量组小鼠海马区 Bax mRNA 表达水平显著降低 ( $P < 0.05$ ), Bcl-2 mRNA 表达水平显著升高 ( $P < 0.05$ )。

表 1 各组小鼠术后第 3 天的平均逃避潜伏期、学习记忆次数和中心区域活动占比 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Average escape latency, number of learning and memory and percentage of activities in central area of mice in each group on 3rd day after surgery ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(mL·只 <sup>-1</sup> )	逃避潜伏期/s	学习记忆次数/次	中心区域活动占比/%
对照	—	21.97±3.26	29.70±4.78	10.60±2.19
人参固本口服液	0.50	20.75±3.61	29.20±4.28	10.82±2.23
手术	—	31.60±4.58 <sup>#</sup>	56.74±4.35 <sup>#</sup>	3.83±1.17 <sup>#</sup>
手术+人参固本口服液	0.05	32.78±10.83	53.43±3.41	3.52±0.79
	0.10	31.07±4.19	53.37±4.90	3.58±0.91
	0.50	24.67±2.96 <sup>*</sup>	41.73±3.36 <sup>*</sup>	7.65±0.88 <sup>*</sup>

与对照组比较: <sup>#</sup> $P < 0.05$ ; 与手术组比较: <sup>\*</sup> $P < 0.05$ , 下表同

<sup>#</sup> $P < 0.05$  vs control group; <sup>\*</sup> $P < 0.05$  vs surgery group, same as below tables

表 2 各组小鼠海马区 TNF- $\alpha$  和 IL-6 水平 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 TNF- $\alpha$  and IL-6 levels in hippocampus of mice in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(mL·只 <sup>-1</sup> )	TNF- $\alpha$ /(pg·mL <sup>-1</sup> )	IL-6/(pg·mL <sup>-1</sup> )
对照	—	253.04±13.61	1 689.52±129.67
人参固本口服液	0.50	251.42±15.21	1 833.47±132.81
手术	—	360.89±18.54 <sup>#</sup>	3 048.50±276.14 <sup>#</sup>
手术+人参固本口服液	0.05	338.73±18.15	3 013.45±238.26
	0.10	335.42±27.32	2 966.17±221.13
	0.50	316.81±21.12 <sup>*</sup>	2 730.03±256.74 <sup>*</sup>

表 3 各组小鼠海马神经元 Bax 和 Bcl-2 mRNA 表达 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Bax and Bcl-2 mRNA expressions in hippocampal neurons of mice in each group ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/(mL·只 <sup>-1</sup> )	mRNA 相对表达量	
		Bax	Bcl-2
对照	—	1.000±0.020	1.000±0.015
人参固本口服液	0.50	1.009±0.011	1.012±0.019
手术	—	3.241±0.017 <sup>#</sup>	0.736±0.014 <sup>#</sup>
手术+人参固本口服液	0.05	3.236±0.015	0.732±0.012
	0.10	3.001±0.016	0.785±0.014
	0.50	1.914±0.018 <sup>*</sup>	0.907±0.012 <sup>*</sup>

### 3.4 各组小鼠海马组织神经细胞凋亡情况

如图1和表4所示,对照组与人参固本口服液组小鼠海马组织神经细胞凋亡细胞数相近,差异无统计学意义;与对照组比较,手术组小鼠术后海马

组织神经细胞凋亡个数显著增多 ( $P < 0.05$ );与手术组比较,手术+人参固本口服液高剂量组小鼠术后海马组织神经细胞凋亡个数显著减少 ( $P < 0.05$ ),手术+人参固本口服液低、中剂量组呈降低趋势。

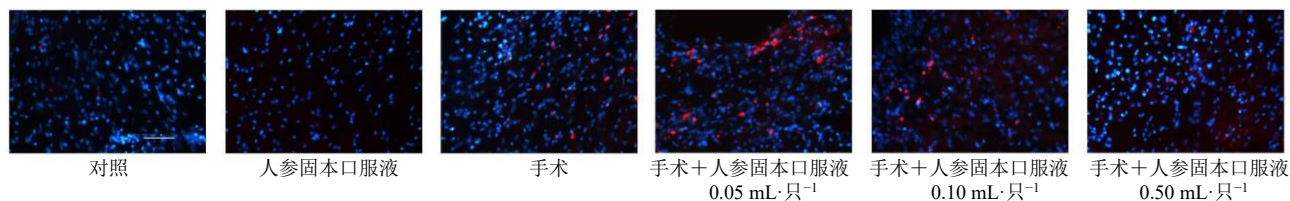


图1 各组小鼠海马组织神经细胞凋亡情况

Fig. 1 Apoptosis of neurons in hippocampus of mice in each group

表4 各组小鼠海马组织神经细胞凋亡情况  
Table 4 Apoptosis of neurons in hippocampus of mice in each group

组别	剂量/(mL·只 <sup>-1</sup> )	神经细胞凋亡数
对照	—	3.16±0.77
人参固本口服液	0.50	3.11±0.75
手术	—	7.36±1.01 <sup>#</sup>
手术+人参固本口服液	0.05	7.29±0.74
	0.10	6.04±0.55
	0.50	4.34±0.76 <sup>*</sup>

### 4 讨论

老年髌部骨折分为老年股骨颈骨折和老年股骨转子骨折,以关节置换和髓内钉内固定为主要手术治疗方式。临床观察发现,老年患者髌部骨折术后常并发POCD,其发生率高达35%~65%<sup>[5]</sup>。老年髌部手术的POCD发生使患者对于各种不良因素的反应减弱,更容易发生坠积性肺炎、下肢深静脉炎、褥疮等并发症,间接影响手术的治疗效果。大量临床研究和动物实验所证实,POCD的持续时间越长,远期恢复效果越差。Edelstein等<sup>[7]</sup>对老年髌部骨折患者行手术治疗,随访发现术后发生POCD的患者其住院时间延长,患肢功能恢复缓慢。Marcantonio等<sup>[8]</sup>报道发生POCD的患者的术后6个月死亡率是未发生患者的3倍。因此,本研究通过构建一种稳定的小鼠股骨骨折髓内固定的POCD模型,用以研究人参固本口服液对POCD的影响。

人参固本口服液是由人参固本丸改变剂型而成,具有补益元气、固本培元的功效<sup>[6,9]</sup>。有研究表明,补益脾胃元气方药人参、洗心汤、大补元煎含药脑脊液可拮抗脑组织β淀粉样蛋白诱导的氧化应激,且其有效成分易透过血脑屏障,对大鼠海马神经干/粗细胞活力与迁移能力具有促进作用<sup>[10]</sup>;补益

脾胃元气方药对快速老化痴呆模型小鼠空间识别和学习记忆能力有明显的改善作用,可能与人参皂苷Rg<sub>1</sub>密切相关<sup>[10-11]</sup>。本研究结果显示,与对照组比较,手术组小鼠平均逃避潜伏期延长,学习记忆次数增加,穿越次数减少,表明股骨骨折髓内固定小鼠学习记忆功能受损,出现术后认知功能的改变。而手术+人参固本口服液高剂量组较手术组平均逃避潜伏期缩短,平均学习记忆次数减少,平均穿越次数增加,提示高剂量人参固本口服液可明显改善股骨骨折髓内固定小鼠的学习记忆功能损伤,其功能的改善可能与人参固本口服液中的皂苷密切相关。

目前普遍认为POCD的发生是在中枢神经系统衰老的基础上由麻醉和手术刺激诱发,多种因素综合作用的结果,而炎症反应在其中发挥着重要的作用<sup>[12]</sup>。有研究发现在胃肠道大手术患者血清中IL-6显著升高,且与POCD发生率相关<sup>[13]</sup>。Cibelli等<sup>[14]</sup>在动物实验中发现手术可致外周血中IL-1β、IL-6、TNF-α等水平升高,进而使与海马相关的记忆受损。本研究结果显示,与对照组比较,手术组血清中TNF-α与IL-6水平明显升高,提示股骨骨折髓内固定可诱发强烈的无菌性炎症反应;与手术组比较,手术+人参固本口服液高剂量组小鼠海马区炎症因子TNF-α与IL-6水平降低,提示高剂量人参固本口服液可改善股骨骨折髓内固定老龄小鼠POCD,可能与降低海马区炎症反应有关。

Bcl-2家族蛋白在细胞凋亡调控中发挥着重要作用,Bcl-2是一种抑凋亡蛋白<sup>[15-16]</sup>,而Bax是促凋亡蛋白之一,两者的表达含量及表达比率决定着细胞最终的生命走向<sup>[17-18]</sup>。本研究结果显示,与对照组比较,手术组小鼠海马区Bax mRNA表达水平升

高, *Bcl-2* mRNA 表达水平降低, *Bax/Bcl-2* 值升高, 海马组织神经细胞凋亡数明显增多, 提示手术造成小鼠海马神经凋亡倾向增加; 与手术组比较, 手术+人参固本口服液高剂量组小鼠海马区 *Bax* mRNA 表达水平降低, *Bcl-2* mRNA 表达水平升高, *Bax/Bcl-2* 值降低, 海马组织神经细胞凋亡数减少, 凋亡率降低, 提示高剂量人参固本口服液可降低小鼠海马神经凋亡的发生。

研究表明, 高剂量人参固本口服液可改善老龄小鼠股骨骨折 POCD, 可能与人参固本口服液中的皂苷通过降低炎症因子 *TNF- $\alpha$* 、*IL-6* 水平, 抑制炎症反应, 从而降低海马神经元凋亡有关。

**利益冲突** 所有作者均声明不存在利益冲突

#### 参考文献

- [1] Nacije G, Peppersack T. Delirium in elderly people [J]. *Lancet*, 2014, 383(9934): 2044-2045.
- [2] O'Sullivan R, Inouye S K, Meagher D. Delirium and depression: Inter-relationship and clinical overlap in elderly people [J]. *Lancet Psychiatry*, 2014, 1(4): 303-311.
- [3] Devore E E, Fong T G, Marcantonio E R, et al. Prediction of long-term cognitive decline following postoperative delirium in older adults [J]. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 2017, 72(12): 1697-1702.
- [4] Rudolph J L, Marcantonio E R. Review articles: Postoperative delirium: Acute change with long-term implications [J]. *Anesth Analg*, 2011, 112(5): 1202-1211.
- [5] Terrando N, Brzezinski M, Degos V, et al. Perioperative cognitive decline in the aging population [J]. *Mayo Clin Proc*, 2011, 86(9): 885-893.
- [6] 高玉敏, 王名洲, 张文高, 等. 人参固本口服液研究 [J]. *山东中医学院学报*, 1994, 18(5): 348-351.
- [7] Edelstein D M, Aharonoff G B, Karp A, et al. Effect of postoperative delirium on outcome after hip fracture [J]. *Clin Orthop Relat Res*, 2004(422): 195-200.
- [8] Marcantonio E R, Flacker J M, Michaels M, et al. Delirium is independently associated with poor functional recovery after hip fracture [J]. *J Am Geriatr Soc*, 2000, 48(6): 618-624.
- [9] 钟诚, 杨东亮, 姚景春, 等. UHPLC-ESI-QE-Orbitrap-MS 技术的人参固本口服液干预食蟹猴颈椎间盘置换术后的血清代谢组学研究 [J]. *中草药*, 2022, 53(6): 1776-1782.
- [10] 陈璐, 第五永长, 温晓强, 等. 补益脾胃元气方药含药脑脊液对大鼠海马神经干细胞活力与迁移的影响 [J]. *中草药*, 2018, 49(23): 5580-5587.
- [11] 陈璐, 第五永长, 温晓强, 等. 补益脾胃元气方药对 SAMP8 小鼠海马区形态功能和皮层胆碱能系统的影响 [J]. *中草药*, 2020, 51(20): 5187-5193.
- [12] 唐玉洁, 欧阳文. 术后认知功能障碍炎症相关机制及其防治 [J]. *中南大学学报: 医学版*, 2017, 42(11): 1321-1326.
- [13] Lin G X, Wang T, Chen M H, et al. Serum high-mobility group box 1 protein correlates with cognitive decline after gastrointestinal surgery [J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2014, 58(6): 668-674.
- [14] Cibelli M, Fidalgo A R, Terrando N, et al. Role of interleukin-1beta in postoperative cognitive dysfunction [J]. *Ann Neurol*, 2010, 68(3): 360-368.
- [15] Chipuk J E, Moldoveanu T, Llambi F, et al. The BCL-2 family reunion [J]. *Mol Cell*, 2010, 37(3): 299-310.
- [16] Youle R J, Strasser A. The BCL-2 protein family: Opposing activities that mediate cell death [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2008, 9(1): 47-59.
- [17] 冯健愉, 朱玉山, 陈隼, 等. *Bcl-2* 家族蛋白的生理功能及结构基础 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2019, 41(8): 1477-1489.
- [18] 吴林, 唐农, 麻小梅, 等. 温肺降浊方对血管性痴呆大鼠海马 CA1 区神经元凋亡及 *Bcl-2*、*Bax* 蛋白表达的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2019, 39(20): 5074-5077.

[责任编辑 李亚楠]