

· 基础研究 ·

白芍总苷对脑缺血大鼠学习记忆能力及海马 CA1 区神经元的保护作用[△]

史晴晴*, 黄宁, 郭洋洋
(廊坊市第四人民医院, 河北 廊坊 065700)

[摘要] 目的: 研究白芍总苷对脑缺血大鼠学习记忆能力的影响以及对海马 CA1 区神经元的保护作用并初探其机制。方法: 通过结扎双侧颈总动脉制备大鼠脑缺血模型, 术后第二天开始连续 28 d 灌胃给药白芍总苷(50、100、200 mg·kg⁻¹), 每天 1 次。28 d 后, 通过 Morris 水迷宫实验和跳台实验评价大鼠学习记忆能力; HE 染色观察海马 CA1 区神经元形态, TUNEL 染色观察海马 CA1 区神经元凋亡状况, 免疫组织化学(IHC)法检测海马 Bcl-2、Bax 表达, 检测抗氧化酶活性和 MDA 含量。结果: 100、200 mg·kg⁻¹ 白芍总苷能够显著缩短脑缺血大鼠逃避潜伏期, 显著缩短跳台潜伏期、增加跳台次数($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 明显改善海马 CA1 区神经元病理性形态结构变化和细胞凋亡状况, 显著降低凋亡指数(Apoptosis Index, AI) ($P < 0.01$), 显著上调海马 Bcl-2 表达、下调 Bax 表达, 提高 Bcl-2/Bax 值($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 显著改善抗氧化酶(SOD、CAT、GSH-Px)活性并降低 MDA 含量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论: 白芍总苷具有改善脑缺血大鼠学习记忆能力的作用; 可能与其抑制海马 CA1 区神经元病变、调节 Bcl-2 和 Bax 表达、抑制海马 CA1 区细胞凋亡有关。

[关键词] 白芍总苷; 脑缺血; 学习; 记忆; 海马

Effect of Total Glucosides of Paeony on Learning and Memory Ability and Protective Effect of Neurons in Hippocampal CA1 Region of Cerebral Ischaemia Rats

SHI Qing-qing*, HUANG Ning, GUO Yang-yang
(Langfang Fourth People's Hospital, Langfang 065700, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of total glucosides of paeony on learning and memory ability of cerebral ischemia rats and the protective effect on neurons in hippocampal CA1 region and explore its mechanism. **Methods:** The cerebral ischemia model was established by ligating bilateral common carotid artery, the total glucosides of paeony (50, 100, 200 mg·kg⁻¹) were administered by intragastric administration for 28 days on the second day after operation, once a day. After 28 d, Morris water maze test and platform test were used to evaluate the learning and memory ability of rats. The morphological changes of neurons in hippocampus CA1 region were observed by HE staining, the cell apoptosis were observed after TUNEL staining, the expression of Bcl-2 and Bax were examined by IHC, the activity of antioxidant enzymes and malondialdehyde (MDA) in hippocampus tissue were measured. **Results:** The total glucosides of paeony (100, 200 mg·kg⁻¹) could significantly shorten the time of escape latency in cerebral ischemia rats, significantly shorten the time of platform latency and increase the number of jumpers ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), significantly improve hippocampal CA1 neuronal pathological changes and apoptosis, significantly decrease the apoptosis index (AI) ($P < 0.01$), significantly up-regulate the expression of Bcl-2 and down-regulated the expression of Bax, increase the Bcl-2/Bax ratio ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), significantly improve antioxidant enzymes (SOD, CAT, GSH-Px) activity and decrease MDA content ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** The total glucosides of paeony have improvement effects on the ability of learning and memory in cerebral ischemia rats, which perhaps related to inhibit the neuronal lesions in hippocampal CA1 neurons, alter the expression of Bcl-2 and Bax, suppress hippocampal CA1 neurons apoptosis.

[Keywords] Total glucosides of paeony; cerebral ischemic; learning; memory; hippocampal

doi:10.13313/j.issn.1673-4890.20170804001

[△] [基金项目] 廊坊市科技支撑计划项目(2016013151)

* [通信作者] 史晴晴, 主治医师, 研究方向: 神经病学; E-mail: lfsysqq@163.com

脑血管病已经逐渐发展成为危害人类健康的主要疾病之一,其中缺血性脑血管病占80%左右,具有极高的致残率和致死率^[1]。认知功能损伤是脑缺血病早期的主要临床表现,进一步可能发展成为认知与神经功能障碍。Lee等^[2]研究发现慢性脑血流灌注不足是认知功能下降的重要触发因素。白芍总苷为中药白芍的主要活性成分之一,具有抑制自身免疫、抗炎、抗氧化等多种活性^[3-4]。本课题组既往研究发现,白芍总苷能够通过抑制神经元凋亡、氧化应激损伤、炎症反应对脑缺血再灌注损伤具有一定的保护作用,并且对海马CA1区神经元具有保护作用^[5-6]。

1 材料

1.1 实验动物

健康清洁级SD大鼠(雌雄不限),由河北医科大学实验动物中心提供,合格证号:SCXK(冀)2013-1-003,适应性饲养1周后进行实验。

1.2 药物与试剂

白芍总苷胶囊(宁波立华制药有限公司,批号:20161124)。HE、TUNEL试剂盒(北京博奥森生物技术有限公司);Bcl-2、Bax多克隆抗体和ABC-DAB试剂盒(北京博奥森生物技术有限公司);超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、丙二醛(MDA)试剂盒(安徽欣乐生物技术有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组、模型制备与给药

将100只实验用大鼠随机分为假手术组、模型对照组和白芍总苷(50、100、200 mg·kg⁻¹)组,每组20只。参照罗伟等^[7]报道的实验方法,通过结扎双侧颈总动脉制备慢性脑缺血大鼠模型,假手术组游离颈总动脉但不结扎。术后第二天,白芍总苷各剂量组分别灌胃给药,假手术组和模型对照组大鼠均同步给予0.9%氯化钠溶液,每天1次,共28 d。

2.2 Morris水迷宫实验

给药治疗28 d后,每组随机选取10只大鼠,行Morris水迷宫实验(Morris水迷宫视频跟踪分析系统,成都泰盟科技有限公司)。水迷宫为直径1.3 m、深0.5 m的圆柱形水桶装置,置暗室中,设置水温为25℃恒温,划分为I、II、III、IV共4个象限,

将安全平台(直径10 cm,高30 cm)放于第3象限(水面下2 cm),水迷宫上方安置电脑系统相连接的摄像机以记录大鼠运动轨迹。1)定位航行实验:实验前1天适应性训练2 min,实验历时5 d,每天每只大鼠分别从I、II、III、IV象限面向水迷宫池壁放入,记录大鼠120 s内的游泳轨迹和站上平台所需的时间(逃避潜伏期),站上平台后停留30 s,若120 s内未找到平台则逃避潜伏期记为120 s。2)空间探索实验:第6天撤去平台,大鼠于第II象限面向水迷宫池壁放入,观察并记录90 s内大鼠穿越原来平台位置次数。

2.3 跳台实验

取每组剩余的10只大鼠,实验前1天将大鼠置于反应箱中适应3 min,实验时将大鼠放在平台上并接通铜栅电源,记录各组大鼠3 min内错误次数和受电击总时间;第2天,直接将大鼠放于接通铜栅电源的平台上,记录3 min内错误次数和受电击总时间。

2.4 大脑海马CA1区神经元形态及凋亡状况的观察

每组随机取10只大鼠,参照叶志强等^[8]报道的实验方法:麻醉后断头取脑,去除嗅球、小脑和低位脑干,置于4%多聚甲醛溶液中固定72 h,然后行石蜡包埋、切片、展片处理,行常规HE染色:75%乙醇梯度脱蜡水化、PBS洗涤、苏木素染色5 min、水洗、0.5%乙醇盐酸分色、尹红染色20 s、水洗、75%乙醇梯度脱水、封片,然后通过倒置光学显微镜观察大脑海马CA1区神经元形态(海马CA1区范围见图1);在显微镜下计数海马CA1区每个视野神经元数(神经元数/视野)。行TUNEL染色观察海马CA1区神经元凋亡状况。每只大鼠取5张切片,每张切片随机选取互不重叠的5个视野,并分别计数细胞总数和凋亡细胞数,然后按公式(1)计算凋亡指数(AI)。

$$AI(\%) = (\text{凋亡细胞数} / \text{细胞总数}) \times 100\% \quad (1)$$

2.5 IHC法检测海马Bcl-2、Bax表达

取2.4制备的大鼠脑组织石蜡切片,脱蜡水化处理后,参照试剂盒操作方法步骤,采用ABC-DAB法进行染色:75%乙醇梯度脱蜡水化、PBS洗涤、3%过氧化氢-甲醇溶液孵育25 min、PBS洗涤、山羊血清封闭1.5 h、滴加一抗4℃过夜、PBS洗涤、滴加二抗室温孵育1.5 h、PBS洗涤、滴加辣根过氧

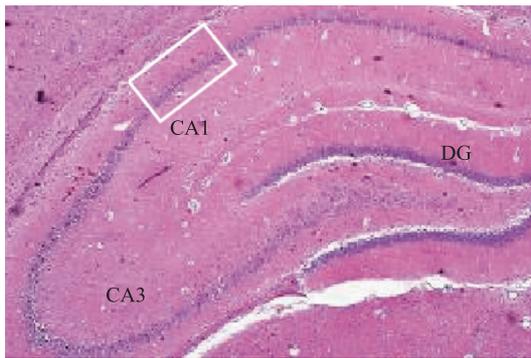


图1 大鼠大脑海马组织结构图

化物酶标记的链霉卵白素室温孵育1 h、PBS 洗涤、DAB 显色5 min、充分水洗、梯度脱水、封片, 然后通过倒置光学显微镜观察并照相保存。每只大鼠取5张切片, 每张图片同一部位选取互不重叠的5个视野, 采用Image Pro plus 图像分析系统测定图片灰度。

2.6 抗氧化酶活性和MDA含量的测定

取每组剩余的10只大鼠, 实施麻醉后断头取脑并剥取海马组织, 加入适量冷裂解液进行研磨匀浆, 离心($3000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 10 min)取上清液, 按照试剂盒方法测定海马组织抗氧化酶(SOD、CAT、GSH-Px)活性和MDA含量。

2.7 统计学处理

运用SPSS 13.0进行数理统计分析; 计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间均数比较采用单因素方差分析, 计数资料采用 χ^2 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 白芍总苷对脑缺血大鼠学习记忆能力的影响

3.1.1 Morris水迷宫实验 于给药治疗28 d完成后进行定位航行实验, 连续5 d取平均值(第29~33天):

模型对照组大鼠逃避潜伏期较假手术组显著增加($P < 0.01$)、逃避路程显著增长($P < 0.01$); 而与模型组比较, 经100、200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 白芍总苷干预治疗28 d能够显著降低脑缺血大鼠逃避潜伏期并缩短逃避路程($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。于给药治疗28 d并进行定位航行实验5 d后, 进行空间探索实验(第34天): 模型对照组大鼠穿越原平台位置次数较假手术组显著增多($P < 0.01$); 而与模型组比较, 经100、200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 白芍总苷干预治疗28 d能够显著降低脑缺血大鼠穿越原平台位置次数($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果见表1。

3.1.2 跳台实验 给药治疗28 d完成后, 连续两天进行跳台实验(第29~30天), 取跳台第二天实验数据: 模型对照组大鼠错误次数较假手术组显著增多($P < 0.01$), 受电击总时间显著延长($P < 0.01$); 而与模型组比较, 经100、200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 白芍总苷干预治疗28 d能够显著减少脑缺血大鼠错误次数并缩短受电击时间($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果见表2。

3.2 白芍总苷对脑缺血大鼠大脑海马CA1区神经元形态的影响

图2显示, 假手术组海马CA1区神经元未见异常: 层次清晰(3~5层), 排列整齐, 形态完整, 胞质染色均匀, 核膜、核仁清晰; 模型对照组海马CA1区神经元形态结构呈现明显异常: 层次紊乱, 神经元数量减少、排列稀疏、间隙增大, 胶质细胞增加, 部分神经元胞核固缩或溶解, 核仁消失等; 与模型对照组比较, 白芍总苷各剂量干预治疗组海马CA1区神经元病变呈不同程度减轻, 该药理学作用呈现一定的剂量依赖性, 以白芍总苷200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组效果最为显著。计数各组大鼠海马CA1区神经元数, 放大倍数为400倍(10×40), 视野面积 0.16 mm^2 , 正常对照组海马CA1区神经元数/视野为(66.7 ± 8.2)

表1 白芍总苷对脑缺血大鼠学习记忆能力的影响-Morris水迷宫实验($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

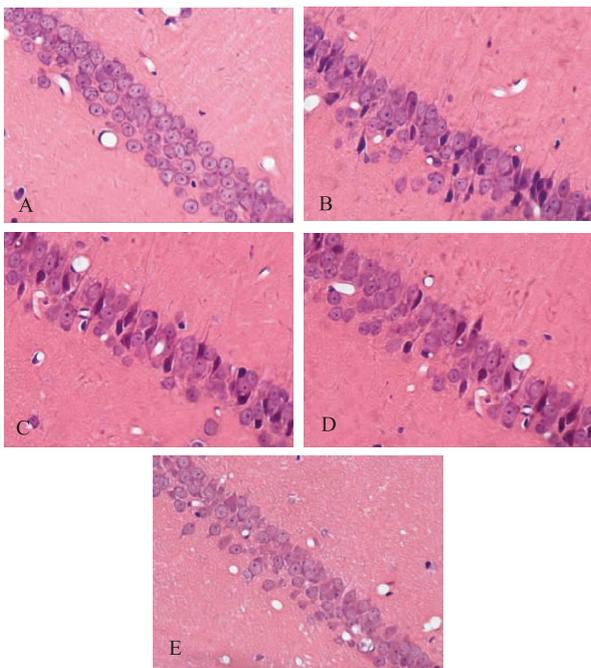
组别	动物/只	定位航行实验		空间探索实验
		逃避潜伏期/s	逃避路程/cm	穿越平台次数
假手术组	10	25.6 ± 9.4	827.3 ± 265.9	6.9 ± 1.8
模型对照组	10	57.5 ± 14.8**	1 465.8 ± 347.2**	3.1 ± 0.9**
白芍总苷50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组	10	48.1 ± 12.6	1 208.7 ± 339.1	3.7 ± 0.9
白芍总苷100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组	10	40.5 ± 11.3 Δ	1 074.5 ± 318.2 Δ	4.6 ± 1.2 Δ
白芍总苷200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组	10	34.2 ± 9.8 $\Delta\Delta$	935.7 ± 283.4 $\Delta\Delta$	5.4 ± 1.7 $\Delta\Delta$

注: 与假手术组比较, ** $P < 0.01$; 与模型对照组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 下同。

表2 白芍总苷对脑缺血大鼠学习记忆能力的影响-跳台实验($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	动物/只	跳台实验	
		错误次数	受点击时间/s
假手术组	10	2.3 ± 0.8	12.4 ± 3.8
模型对照组	10	5.9 ± 2.1**	29.3 ± 8.5**
白芍总苷 50 mg · kg ⁻¹ 组	10	5.0 ± 1.9	23.1 ± 6.2
白芍总苷 100 mg · kg ⁻¹ 组	10	3.7 ± 1.5 ^Δ	17.8 ± 5.7 ^{ΔΔ}
白芍总苷 200 mg · kg ⁻¹ 组	10	3.1 ± 1.2 ^{ΔΔ}	15.2 ± 4.1 ^{ΔΔ}

个, 模型组神经元数/视野为(25.3 ± 4.1)个, 较正常对照组显著降低($P < 0.01$), 白芍总苷 50、100、200 mg · kg⁻¹组神经元数/视野分别为(31.6 ± 4.5)、(40.7 ± 4.9)、(48.6 ± 6.2)个, 较模型组显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。



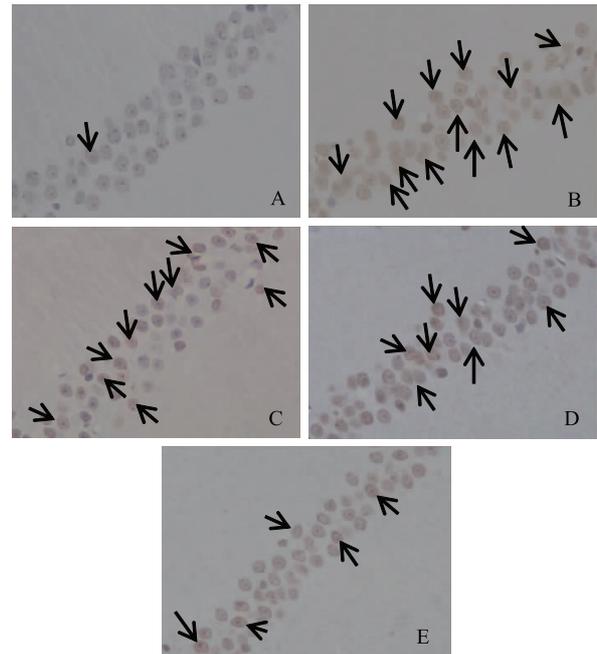
注: A. 假手术组; B. 模型对照组; C. 白芍总苷 50 mg · kg⁻¹组; D. 白芍总苷 100 mg · kg⁻¹组; E. 白芍总苷 200 mg · kg⁻¹组。

图2 各组大鼠海马 CA1 区神经元形态(HE, ×400)

3.3 白芍总苷对脑缺血大鼠海马 CA1 区神经元凋亡的影响

图3显示, 假手术组大鼠海马 CA1 区仅见少量凋亡细胞(TUNEL 染色阳性着色: 细胞核黄褐色); 模型对照组海马 CA1 区神经元凋亡细胞数较假手术组明显增多; 与模型对照组比较, 白芍总苷各剂量干预组海马 CA1 区凋亡细胞数呈不同程度减少, 以

白芍总苷 200 mg · kg⁻¹组最为显著。计算并比较各组大鼠海马 CA1 区神经元凋亡指数(AI): 假手术组 AI 为(2.7 ± 1.1)%, 模型对照组 AI 为(64.9 ± 8.6)%, 白芍总苷(50、100、200 mg · kg⁻¹)组 AI 分别为(59.3 ± 10.4)%、(41.1 ± 6.8)%、(15.6 ± 3.5)%; 模型对照组 AI 较假手术组显著升高($P < 0.01$), 经 100、200 mg · kg⁻¹ 白芍总苷干预治疗能够显著降低脑缺血大鼠海马 CA1 区神经元 AI($P < 0.01$)。



注: A. 假手术组; B. 模型对照组; C. 白芍总苷 50 mg · kg⁻¹组; D. 白芍总苷 100 mg · kg⁻¹组; E. 白芍总苷 200 mg · kg⁻¹组。

图3 各组大鼠海马 CA1 区神经元凋亡状况 (TUNEL, ×400)

3.4 白芍总苷对脑缺血大鼠海马 Bcl-2、Bax 表达的影响

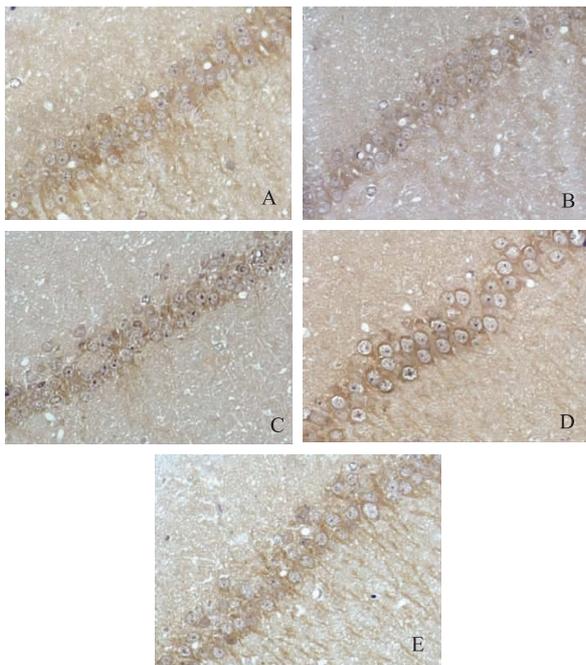
观察 IHC 染色切片发现, Bax 和 Bcl-2 主要于细胞质中表达; 与假手术组比较, 模型组大鼠海马 Bcl-2 表达明显下调、灰度显著降低($P < 0.01$), Bax 表达显著上调、灰度显著升高($P < 0.01$); 而与模型组比较, 白芍总苷各剂量干预组海马 Bcl-2 表达上调、Bax 表达下调, 上述作用呈一定剂量依赖性, 以白芍总苷 200 mg · kg⁻¹组效果最为显著; 白芍总苷(100、200 mg · kg⁻¹)组 Bcl-2 表达灰度较模型对照组均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), Bax 表达灰度较模型对照组均显著降低($P < 0.01$), Bcl-2/Bax 值显著升高($P < 0.01$)。结果见图4、5和表3。

3.5 白芍总苷对全脑缺血再灌注大鼠脑组织抗氧化酶活性和MDA含量的影响

模型对照组抗氧化酶活性较假手术组显著降低且MDA含量显著升高($P < 0.01$)；经100、200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 白芍总苷干预治疗能够显著提高抗氧化酶(SOD、CAT、GSH-Px)活性并显著降低MDA含量($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果见表4。

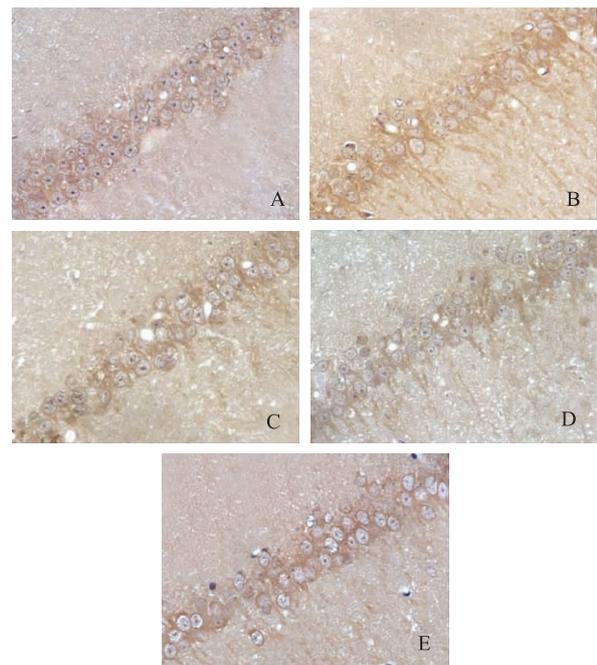
4 讨论

慢性脑缺血引发的能量代谢障碍、蛋白合成异常、神经元缺失等是导致血管性痴呆(Vascular Dementia, VD)、皮质下动脉硬化性脑病(Binswanger)等多种脑血管疾病的病理通路^[9]，甚至可能导致认知功能障碍^[10]，临床表现主要为渐进性痴呆、学习



注：A. 假手术组；B. 模型对照组；C. 白芍总苷 50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组；D. 白芍总苷 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组；E. 白芍总苷 200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组。

图4 各组大鼠海马 Bcl-2 表达(IHC, $\times 400$)



注：A. 假手术组；B. 模型对照组；C. 白芍总苷 50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组；D. 白芍总苷 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组；E. 白芍总苷 200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组。

图5 各组大鼠海马 Bax 表达(IHC, $\times 400$)

表3 白芍总苷对脑缺血大鼠海马 Bcl-2、Bax 表达灰度及 Bcl-2/Bax 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	动物/只	Bcl-2	Bax	Bcl-2/Bax
假手术组	10	137.2 \pm 54.9	86.9 \pm 25.1	1.6 \pm 1.1
模型对照组	10	49.6 \pm 21.5**	207.5 \pm 56.8**	0.3 \pm 0.2**
白芍总苷 50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组治疗组	10	68.4 \pm 29.0	183.4 \pm 47.6	0.5 \pm 0.2
白芍总苷 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组	10	89.5 \pm 37.2 Δ	141.3 \pm 42.8 Δ	0.8 \pm 0.5 Δ
白芍总苷 200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组	10	112.6 \pm 46.7 $\Delta\Delta$	124.8 \pm 35.2 $\Delta\Delta$	1.0 \pm 0.6 $\Delta\Delta$

表4 各组大鼠脑组织抗氧化酶活性和MDA含量($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	动物/只	SOD	CAT	GSH-Px	MDA/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$
假手术组	10	173.3 \pm 8.9	5.1 \pm 1.4	20.4 \pm 4.1	16.8 \pm 3.5
模型对照组	10	139.2 \pm 8.2**	2.7 \pm 1.0**	9.8 \pm 2.7**	30.7 \pm 4.3**
白芍总苷 50 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组治疗组	10	144.0 \pm 8.6	3.0 \pm 1.2	11.3 \pm 3.5	26.4 \pm 4.1
白芍总苷 100 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组	10	148.6 \pm 9.0 Δ	3.5 \pm 1.5 Δ	12.6 \pm 3.2 Δ	19.8 \pm 3.9 Δ
白芍总苷 200 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组	10	156.7 \pm 9.3 $\Delta\Delta$	4.0 \pm 1.7 $\Delta\Delta$	15.1 \pm 4.0 $\Delta\Delta$	17.5 \pm 3.2 $\Delta\Delta$

能力和记忆能力显著下降,目前临床上尚无针对性的治疗药物,主要采取扩张血管、抗凝溶栓、改善脑循环等治疗方案^[11]。

海马结构不仅与多种神经性和精神性疾病相关,而且与空间学习记忆密切相关,海马对缺血缺氧十分敏感,尤其CA1区锥体系细胞极易受缺血缺氧损伤,宿宝贵等^[12]和李长天等^[13]研究报道脑部血流低灌注引起海马CA1区神经元损伤可能是导致学习记忆能力障碍的病理基础。Burda等^[14]研究发现脑缺血所致神经功能损伤与海马神经元继发性凋亡有关,及时恢复脑血流供应挽救缺血半影区神经元,对缺血性脑损伤具有积极的保护作用。Bcl-2基因家族是一系列原癌基因蛋白,在细胞凋亡过程中发挥着重要的调控作用,其中Bcl-2和Bax具有较高的同源性,但功能相反^[15]。Bcl-2能够通过抑制线粒体细胞色素C释放,抑制半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶(caspase)激活,表现出抑制细胞凋亡的作用;Bax能够促进细胞色素C释放,激活caspase-9,并且能够与Bcl-2形成二聚体而抑制Bcl-2活性,因此Bax具有促凋亡的作用,而Bax/bcl-2比值更加能够体现Bcl-2基因家族对细胞凋亡的调控作用^[16]。正常生理状态下,体内生产的氧自由基(ROS)在SOD和CAT、GSH-Px的催化作用下最终被还原为对人体无害的H₂O和O₂^[17];不饱和脂肪酸是细胞膜的主要组成之一,极易被ROS攻击而氧化最终生成MDA,因此MDA的含量水平能够间接反应机体氧化应激损伤程度^[18],此外氧化应激损伤是诱发细胞凋亡的重要因素^[19]。

张华龙等^[4,20]和郑亚萍等^[21]研究发现白芍总苷能够通过改善抗氧化酶活性而抑制心肌缺血再灌注后氧化应激损伤、通过调节凋亡相关蛋白表达而抑制心肌缺血再灌注后细胞凋亡,从而表现出对心肌缺血再灌注损伤的保护作用;此外,刘玮等^[22]和吴华璞等^[23]研究发现白芍总苷能够通过抑制氧化应激损伤对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤以及全脑缺血再灌注损伤均具有一定的保护作用。本研究中,Morris水迷宫实验结果显示,100~200 mg·kg⁻¹白芍总苷能够显著降低脑缺血大鼠逃避潜伏期并缩短逃避路程,显著降低脑缺血大鼠穿越原平台位置次数;跳台实验结果显示,100~200 mg·kg⁻¹白芍总苷治疗能够显著减少脑缺血大鼠错误次数并缩短受电击时间。经白芍总苷治疗能够明显上调海马Bcl-2表达、下调Bax表达、提高Bcl-2/Bax值,改善抗氧

化酶(SOD、CAT、GSH-Px)活性并降低MDA含量;提示白芍总苷对脑缺血后学习记忆能力有一定的改善作用,可能与白芍总苷调控海马凋亡相关基因(Bcl-2、Bax)表达、降低氧化应激损伤、抑制海马神经元凋亡有关。

参考文献

- [1] Liu L, Wang D, Wong K S, et al. Stroke and stroke care in China: huge burden, significant workload, and a national priority [J]. *Stroke*, 2011(42):3651-3656.
- [2] Lee J H, Park S Y, Shin Y W, et al. Neuroprotection by cilostazol, a phosphodiesterase type 3 inhibitor, against apoptotic white matter changes in rat after chronic cerebral hypoperfusion [J]. *Brain Res*, 2006, 1082(1):182-191.
- [3] 李艳梅. 白芍总苷佐治系统性红斑狼疮的临床效果观察[J]. *临床合理用药*, 2013, 8(6):68-69
- [4] 张华龙, 张友良, 魏庆民. 白芍总苷对大鼠心肌缺血再灌注损伤后心肌细胞凋亡的影响[J]. *中药药理与临床*, 2015, 31(4):79-83.
- [5] 史晴晴, 杜欢, 于红梅, 等. 白芍总苷对全脑缺血再灌注损伤保护作用的研究[J]. *中国中医急症*, 2017, 26(7):1172-1174.
- [6] 史晴晴, 于红梅. 白芍总苷对脑缺血再灌注后细胞凋亡抑制作用的研究[J]. *中国中医急症*, 2017, 26(6):973-975.
- [7] 罗伟, 壮荣, 吴昊, 等. 阿司匹林对全脑缺血大鼠记忆功能的影响[J]. *中国行为医学科学*, 2004, 13(2):142-143.
- [8] 叶志强, 闫桦. 熊果酸对大鼠永久性局灶性脑缺血损伤的保护作用及机制研究[J]. *中华中医药学刊*, 2015, 33(10):2484-2486.
- [9] 陈涛, 章军建, 余芬, 等. 促红细胞生成素对慢性脑缺血大鼠空间学习记忆能力的影响[J]. *武汉大学学报:医学版*, 2006, 27(2):225-228.
- [10] 薛慎伍, 徐玲玲, 张兆岩, 等. 尼麦角林对慢性脑缺血鼠脑源性神经营养因子、神经生长因子阳性表达的影响[J]. *中华保健医学杂志*, 2008, 10(4):265-267.
- [11] 汤伟, 彭康, 朱传武, 等. 乌龙丹对慢性脑缺血大鼠学习记忆功能的影响[J]. *南方医科大学学报*, 2009, 29(12):2421-2424.
- [12] 宿宝贵, 许鹿希. 大鼠海马结构在学习记忆活动时的细胞形态学可塑性研究[J]. *解剖学杂志*, 1999, 22(2):141-145.
- [13] 李长天, 吴国泰, 王雅莉, 等. 葛根素对去卵巢大鼠学习记忆能力和海马结构的保护作用[J]. *中药药理与临床*, 2012, 28(5):36-38.

(下转第431页)

- (7):799-801.
- [11] 谈利红. 体外抗氧化评价体系在中药中的拓展应用[D]. 重庆:重庆医科大学,2016.
- [12] 刘伯言. 肉苁蓉苯乙醇苷的提取、纯化和抗氧化活性研究[D]. 北京:北京林业大学,2014.
- [13] 王力伟. 肉苁蓉成分的分离鉴定、定量分析及生物活性研究[D]. 呼和浩特:内蒙古大学,2016.
- [14] 刘洋,修效友,汪维云. 响应面分析法优化肉苁蓉苯乙醇苷提取反应及其抗氧化反应研究[J]. 安徽农业大学学报,2015,42(2):294-298.
- [15] 俞慧红,竺巧玲,戴飞,等. 多糖抗氧化作用的研究现状[J]. 食品研究与开发,2008,29(3):172-176.
- [16] Peng F, Xu R, Wang X, et al. Effect of the Steaming Process on Quality of Postharvest *Cistanche deserticola* for Medicinal Use during Sun Drying[J]. Biol Pharm Bull, 2016, 39(12):2066-2070.
- [17] Peng F, Chen J, Wang X, et al. Changes in Levels of Phenylethanoid Glycosides, Antioxidant Activity, and Other Quality Traits in *Cistanche deserticola* Slices by Steam Processing[J]. Chem Pharm Bull(Tokyo), 2016, 64(7):1024-1030.
- [18] Wang X, Wang J, Guan H, et al. Comparison of the Chemical Profiles and Antioxidant Activities of Different Parts of Cultivated *Cistanche deserticola* Using Ultra Performance Liquid Chromatography-Quadrupole Time-of-Flight Mass Spectrometry and a 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl-Based Assay[J]. Molecules, 2017, 22(11):E2011.
- [19] 李丽,刘质净,时东方,等. 车前草中苯乙醇苷类化合物的抗氧化活性研究[J]. 江苏农业科学, 2010(1):275-277.
- [20] 吴海虹,玄国东,刘春泉,等. 肉苁蓉苯乙醇苷的纯化及其抗氧化活性研究[J]. 食品科学, 2008(6):190-193.
- [21] 杨建华,胡君萍,热娜·卡斯木,等. 肉苁蓉属植物中六种苯乙醇苷类化合物抗氧化活性的构效关系研究[J]. 中药材, 2009, 32(7):1067-1069.
- [22] 汪瑞敏,朱秋劲,张春花,等. 不同提取方法对天麻多糖抗氧化活性的影响[J]. 食品科技, 2015, 40(3):208-213.
- [23] 姜宁,刘晓鹏,陈芳,等. 厚朴多糖提取工艺及其体外抗氧化活性[J]. 食品科学, 2015, 36(6):12-17.
- [24] 赵永安,陈冠,陶遵威. 苦豆子多糖及其衍生物的体外抗氧化活性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(5):229-232.
- [25] 徐丛玥,林款,梁征,等. 不同提取方法对米邦塔仙人掌粗多糖体外抗氧化性的影响[J]. 食品工业科技, 2018, 39(3):56-60.
- [26] 严成,严夏. 枸杞多糖提取工艺比较及体外抗氧化性研究[J]. 食品科学, 2008, 29(7):183-187.
- [27] 李寒冰,苗静静,李根林,等. 生、熟地黄的体外抗氧化活性测定方法研究[J]. 中国医药指南, 2012, 10(9):393-395.
- [28] 郝杰,查学强,鲍素华,等. 霍山石斛不同分子量多糖体外抗氧化研究[J]. 食品科学, 2009, 30(15):94-98.

(收稿日期 2017-12-03)

(上接第420页)

- [14] Burda J, Matiasova M, Gottlieb M. Evidence for a role of second pathophysiological stress in prevention of delayed neuronal death in the hippocampal CA1 region[J]. Neurochem Res, 2005, 30(11):1397-1405.
- [15] Saeedi Borujeni M J, Hami J, Haghiri H, et al. Evaluation of Bax and Bcl-2 Proteins Expression in the Rat Hippocampus due to Childhood Febrile Seizure[J]. Iran J Child Neurol, 2016, 10(1):53-60.
- [16] Renault T T, Dejean L M, Manon S, et al. A brewing understanding of the regulation of Bax function by Bcl-xL and Bcl-2[J]. Mech Ageing Dev, 2016, 161(PtB):201-210.
- [17] Lartigue A, Burlat B, Coutard B, et al. The Megavirus chilensis Cu, Zn-superoxide dismutase: the first viral structure of a typical cellular copper chaperone-independent hyperstable dimeric enzyme[J]. J Virol, 2015, 89(1):824-832.
- [18] 张晓雪,孙慧君,李士军,等. 穿山龙多糖影响 NADPH 氧化酶/ROS 信号通路抗 H₂O₂ 诱导的 HUVECs 细胞损伤作用研究[J]. 大连医科大学学报, 2017, 39(3):214-219.
- [19] 廖永晖,汤雨,千年松,等. 氧化应激与细胞凋亡[J]. 新乡医学院学报, 2011, 28(1):110-113.
- [20] 张华龙,张友良,魏庆民. 白芍总苷对大鼠心肌缺血再灌注损伤保护作用及其机制研究[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(4):117-120.
- [21] 郑亚萍,刘春杰. 白芍总苷对心肌缺血再灌注大鼠心肌细胞内质网应激及凋亡的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(17):108-112.
- [22] 刘玮,吴华璞,祝晓光,等. 白芍总苷对全脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2004, 20(2):211-214.
- [23] 吴华璞,祝晓光. 白芍总苷对大鼠局灶性脑缺血的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2001, 17(2):223-225.

(收稿日期 2017-08-04)