

刺五加苷 E 对穹窿-海马伞损伤大鼠学习记忆能力及海马神经元可塑性的影响

徐娅丽¹, 杜万雪¹, 黄德斌^{2*}

(湖北民族学院医学院, 湖北恩施 445000)

摘要: 目的 探索刺五加苷 E 对穹窿-海马伞损伤大鼠学习记忆能力及海马神经元可塑性的影响。方法 120 只大鼠随机分为对照组、模型组、假手术组及刺五加苷 E 低、中、高剂量组 (100、200、500 mg/kg), 每组 20 只。第 7、21 天分别测定寻找平台潜伏期和错误次数后, RT-PCR、ELISA 检测锥体细胞凋亡率、*c-fos* 基因表达、Na⁺-K⁺-ATP 酶活性。结果 与模型组比较, 刺五加苷 E 组寻找平台潜伏期、错误次数显著减少 ($P < 0.05$), Na⁺-K⁺-ATP 酶活性、正常锥体细胞数量显著增加 ($P < 0.05$), 锥体细胞密集度和排列方式、神经纤维缠结、胶质细胞增生、核固缩明显改善 ($P < 0.05$), 第 7 天 *c-fos* 相对灰度值显著增加 ($P < 0.05$), 第 21 天恰好相反 ($P < 0.05$)。结论 刺五加苷 E 可剂量依赖性地改善穹窿-海马伞损伤大鼠学习记忆能力, 其机制可能与增强 Na⁺-K⁺-ATP 酶活性、调控 *c-fos* 基因表达、阻止海马神经元损伤并促进其可塑性有关。

关键词: 刺五加苷 E; 学习记忆能力; 海马神经元; 可塑性; 穹窿-海马伞损伤

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2018)11-2368-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2018.11.002

Effects of eleutheroside E on memory and learning activities, hippocampal neuron plasticity of rats with fornix-fimbria lesions

XU Ya-li¹, DU Wan-xue¹, HUANG De-bin^{2*}

(Medical School, Hubei University for Nationalities, Enshi 445000, China)

ABSTRACT: **AIM** To explore the effects of eleutheroside E on memory and learning activities, hippocampal neuron plasticity of rats with fornix-fimbria lesions. **METHODS** One hundred and twenty rats were randomly divided into control group, model group, sham operation group and eleutheroside E low-dose, medium-dose, high-dose groups (100, 200, 500 mg/kg), 20 rats in each group. After the determination of searching platform latency and error frequency on the 7th and 21st days, respectively, RT-PCR and ELISA were applied to detecting pyramidal cell apoptosis rate, *c-fos* gene expression and Na⁺-K⁺-ATPase activity. **RESULTS** Compared with the model group, the eleutheroside E groups demonstrated significantly reduced searching platform latency and error frequency ($P < 0.05$), markedly increased Na⁺-K⁺-ATPase activity and normal pyramidal cell number ($P < 0.05$), obviously improved pyramidal cell intensity and arrangement style, neurofibrillary tangles, glial cell proliferation, karyopyknosis ($P < 0.05$), and *c-fos* relative gray value was significantly increased on the 7th day ($P < 0.05$), which was just on the contrary on the 21st day ($P < 0.05$). **CONCLUSION** Eleutheroside E can improve the memory and learning activities of rats with fornix-fimbria lesions in a dose-dependent manner, whose mechanisms may be related to enhancing Na⁺-K⁺-ATPase activity, regulating *c-fos* gene expression, preventing hippocampal neuron damage and promoting its plasticity.

KEY WORDS: eleutheroside E; memory and learning activities; hippocampal neuron; plasticity; fornix-fimbria lesions

收稿日期: 2018-03-17

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81360654); 湖北省教育厅基金资助项目 (D20111903)

作者简介: 徐娅丽 (1991—), 女, 硕士生, 研究方向为中医药防治脑病。Tel: 18972262957, E-mail: yl161003@163.com

* 通信作者: 黄德斌 (1966—), 男, 硕士, 教授, 研究方向为神经药理。Tel: (0718) 8430479, E-mail: hdb66910@163.com

研究表明,海马神经元突触可塑性的变化与阿尔茨海默病密切相关^[1-2]。目前已从行为学、胆碱能学等方面探索出很多有效的治疗方法^[3],其中减少神经突触丢失、促进突触可塑是关键措施^[1-2]。刺五加具有抗疲劳、改善睡眠、增强学习记忆能力等作用^[3-5],可使运动中枢与感觉中枢更趋于稳定,提高大脑工作效率^[6]。前期课题组发现,刺五加总苷能改善衰老大鼠模型学习记忆能力^[3,6],本实验将探索刺五加苷E对穹窿-海马伞损伤大鼠学习记忆能力及海马神经元可塑性的影响。

1 材料

SPF级雄性SD大鼠120只,24月龄,体质量(480±20)g,由三峡大学实验动物中心提供(动物编号42010200000310-304)。Morris水迷宫、牙科钻、ZS-B/S脑立体定位仪(北京众实迪创科技发展有限公司)。刺五加苷E(批号MUST-11082410,含有量98%)、Na⁺-K⁺-ATP酶试剂盒(南京建成生物工程研究所);H-600IV电子显微镜(美国Amary公司)。

2 方法

2.1 分组、建模及给药 经水迷宫测试筛选,实验前大鼠适应性训练1周,温度(24±3)℃、相对湿度(60±5)%,之后将其随机分为对照组、模型组、假手术组及刺五加苷E低、中、高剂量组,每组20只。采用穹窿-海马伞损伤法造模^[6-7],模型组、刺五加苷E组大鼠腹腔注射4%水合氯醛麻醉,脑立体定位仪固定,颅顶备皮,定前囟零点钻孔[参照大鼠脑立体定位图谱,前囟后(AP)3.5 mm,左右旁开(ML)2.0 mm,硬脑膜下(H)2.7 mm],去颅骨,挑开硬脑膜,按上述坐标从脑冠状面用自制刀片(宽1 mm,厚0.7 mm)插入脑内切断穹窿-海马伞,缝合伤口;对照组和假手术组大鼠不损伤穹窿-海马伞,直接缝合切口。实验开始后,刺五加苷E组大鼠腹腔注射100、200、500 mg/kg刺五加苷E,对照组、模型组、假手术组大鼠腹腔注射等量生理盐水,每天2次。

2.2 寻找平台潜伏期、错误次数测定^[6-7] 均于每天上午9:00~10:00、晚上21:00~22:00训练,各时间段训练4次,每次60 s。将大鼠随机选择入水点面向池壁放入水中训练,若120 s内无法找到平台,则对其进行导引。分别于造模前后药物干预第7、21天测定寻找平台潜伏期、错误次数,然后各组大鼠处死10只,用于观察海马CA3区锥

体细胞凋亡率、神经可塑性、Na⁺-K⁺-ATP酶活性、*c-fos*基因表达。

2.3 海马CA3区锥体细胞凋亡观察^[8-9] 进行“2.2”项下操作后,大鼠腹腔注射4%水合氯醛麻醉,心脏取血,断头处死,开颅取脑,分离完整海马,生理盐水洗净后从前端连续对CA3区冠状切片各3张(5~8 μm),置于离心管中,-85℃下保存备用,用于检测Na⁺-K⁺-ATP酶活性及*c-fos*蛋白、mRNA表达。

2.4 海马CA3区突触形态可塑性观察^[8-9] 进行“2.2”项下操作后,大鼠腹腔注射4%水合氯醛麻醉,心脏取血后断头处死,取出海马备用。按脑立体定位图取海马CA3区,平均分为两部分,一部分切成1 mm³小块固定2 h(2.5%戊二醛溶液),环氧树脂-Epon812包埋,切成60 nm超薄片,230目铜网捞片后双重电子染色(0.1%醋酸铀+3%柠檬酸铅),透射电镜下进行观察和图片采集,包括突触前后膜、致密带、至少3个突出囊泡。然后,Guldner法^[6]测量突触密度(Nd,个/μm²)、突触面密度(SD,μm³)、突触后致密物平均厚度(PSD)、平均面积(Aa,μm²),计算公式为Nd=8ENa/π²,Na=ΣNx/ΣAa,PSD厚度用图像分析软件Image Pro Plus 6.0计算,其中Na为每1 μm²的突触数,E为PSD的倒数,Nx和Aa分别为每张照片(1×10 000)的突触数和面积(μm²);另一部分用10%甲醛固定,脱水,石蜡包埋,切片,HE染色病理观察。

2.5 红细胞膜与海马CA3区Na⁺-K⁺-ATP酶活性检测^[3,6] 大鼠采血后肝素抗凝,4℃下保存。测定红细胞膜Na⁺-K⁺-ATP酶活性时,低温离心3 min(3 000 r/min),加入40倍Tris-Cl破膜液(10 mmol/L)破坏细胞膜,离心(15 000 r/min)6 min后弃上清,得到红细胞膜酶,将ATP液以ATP检测裂解液稀释成3个对照浓度(20、50、100 μmol/L)。另取海马CA3区组织分为两部分,一部分匀浆器匀浆,3次离心后取上清,检测Na⁺-K⁺-ATP酶活性,具体操作按试剂盒说明书进行。

2.6 海马CA3区总RNA提取、鉴定及*c-fos*基因扩增^[2,10] Trizol试剂提取海马CA3区组织总RNA,RT-PCR法半定量分析海马CA3区*c-fos* mRNA水平,吸取该区组织60~80 mg,加入1 mL Trizol,匀浆器匀浆,匀浆移入1.5 mL离心管静置3 min(25℃)后,低温离心10 min(4 000 r/min,

12 000 × g), 吸取上清滴入备用离心管中, 加 200 μL 氯仿轻摇 15 s, 静置 3 min 后再离心 15 min, 吸取上清转入另一离心管中, 滴入 500 μL 异丙醇摇匀, 静置 10 min 后离心 10 min 去上清, 1 mL 75% 乙醇洗涤 RNA 沉淀并混匀, 低温离心 5 min (7 500 × g) 去上清, 室温下干燥沉淀 RNA 5 ~ 10 min, 50 μL DEPC 处理过的无菌水溶解 RNA, 水浴助溶 10 min (55 °C)。取 5 μL 经琼脂糖甲醛变性电泳鉴定后, 再吸取 5 μL, 加入 45 μL DEPC 处理过的无菌水, 测定 RNA 含有量, 多余 RNA 液保存于 -85 °C 冰箱。按文献 [8-9] 报道, 将 RNA 液置于 20 μL 反应体积中完成反转录, 以 0.5 μL (10 U/μL) AMV 反转录酶、2 μL (10 mmol/L) dNTP、0.7 μL (30 U/μL) Rnasin 分别在 42、95 °C 下变性 45、5 min, 在 50 μL 中进行 PCR 反应。即分别于 94、62、72、55 °C 中延伸 *c-fos* mRNA 45 s、45 s、1 min、5 min, 94、58、72、55 °C 中

延伸 β -actin mRNA 1、1、1、5 min, 各自循环 30 次; β -actin 长度 200 bp, 正向引物 5'-AATTCGTC-CGGCATTAC-3', 反向引物 5'-AGGGCAAC-CAGAACGTCA-3'; *c-fos* 长度 400 bp, 正向引物 5'-GCAACGATTCTTGACTAT-3', 反向引物 5'-GATG-GCTCCTAATATAAT-3'。

2.7 统计学分析 通过 SPSS 13.0 软件进行处理, 数据用平均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 统计计算采用方差分析 (ANOVA), 组间比较采用 Newman-Keuls 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 刺五加苷 E 对寻找平台潜伏期的影响^[6,9]

表 1 显示, 与模型组比较, 给药后第 7、21 天刺五加苷 E 组寻找平台潜伏期有所缩短, 以中、高剂量组更显著 (P < 0.05), 并呈剂量和时间依赖性 (P < 0.05)。

表 1 刺五加苷 E 对寻找平台潜伏期的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Effects of eleutheroside E on searching platform latency ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	造模前/s	造模后/s		
			给药前	给药后第 7 天	给药后第 21 天
对照组	10	21.83 ± 1.84	22.17 ± 2.12	21.73 ± 1.78	19.52 ± 2.07
假手术组	9	20.31 ± 2.51	18.35 ± 3.03	19.98 ± 2.01	20.36 ± 1.56
模型组	8	22.56 ± 2.17	42.21 ± 2.66	41.06 ± 3.76	43.14 ± 3.07
刺五加苷 E 低剂量组	10	22.07 ± 1.78	39.96 ± 3.51	40.11 ± 3.33	36.84 ± 2.49 ^{△*}
刺五加苷 E 中剂量组	9	19.89 ± 2.33	41.81 ± 1.70	36.03 ± 1.19 ^{△▲}	31.18 ± 1.24 ^{△▲**}
刺五加苷 E 高剂量组	10	21.41 ± 1.96	41.03 ± 2.54	31.14 ± 1.06 ^{△▲*}	26.89 ± 2.67 ^{△▲**}

注:与模型组比较,[△]P < 0.05;与刺五加苷 E 低剂量组比较,[▲]P < 0.05;与刺五加苷 E 中剂量组比较,^{*}P < 0.05;与同组给药后第 7 天比较,^{*}P < 0.05

3.2 刺五加苷 E 对错误次数的影响 表 2 显示, 误次数均显著减少 (P < 0.05)。与模型组比较, 给药后第 7、21 天刺五加苷 E 组错

表 2 刺五加苷 E 对错误次数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

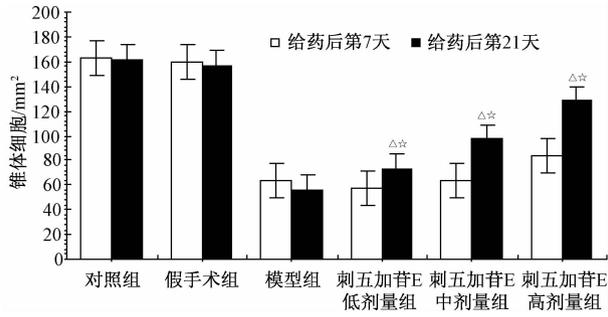
Tab. 2 Effects of eleutheroside E on error frequency ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	造模前/次	造模后/次		
			给药前	给药后第 7 天	给药后第 21 天
对照组	10	6.05 ± 1.24	6.24 ± 1.15	5.97 ± 2.06	6.12 ± 1.65
假手术组	9	6.39 ± 0.76	5.88 ± 1.43	6.13 ± 1.22	5.67 ± 1.07
模型组	8	5.78 ± 1.33	15.63 ± 0.72	16.21 ± 1.08	11.34 ± 2.26
刺五加苷 E 低剂量组	10	6.11 ± 1.01	16.33 ± 1.24	13.13 ± 1.13 [△]	8.83 ± 2.34 ^{△*}
刺五加苷 E 中剂量组	9	5.80 ± 1.03	15.01 ± 1.13	10.81 ± 1.07 ^{△▲}	6.69 ± 2.09 ^{△▲**}
刺五加苷 E 高剂量组	10	6.45 ± 0.78	15.29 ± 0.96	7.57 ± 1.09 ^{△▲*}	5.98 ± 1.26 ^{△▲**}

注:与模型组比较,[△]P < 0.05;与刺五加苷 E 低剂量组比较,[▲]P < 0.05;与刺五加苷 E 中剂量组比较,^{*}P < 0.05;与同组给药后第 7 天比较,^{*}P < 0.05

3.3 刺五加苷 E 对锥体细胞数量的影响 图 1 显示, 与模型组给药后第 21 天比较, 同一天刺五加苷 E 组锥体细胞数量显著增加 (P < 0.05), 并且显著多于同组给药后第 7 天 (P < 0.05)。

3.4 刺五加苷 E 对海马 CA3 区的影响 图 2 显示, 对照组、假手术组海马 CA3 区神经元染色清晰均匀, 细胞层 4 ~ 6 层, 排列整齐, 核为完整圆形, 核仁清晰; 模型组海马 CA3 区神经元染色模



注：与模型组第21天比较，[△] $P < 0.05$ ；与同组给药后第7天比较，^{*} $P < 0.05$

图1 刺五加苷E对锥体细胞数量的影响

Fig. 1 Effects of eleutheroside E on pyramidal cell number

糊，散乱稀疏，不规则排列，细胞层1~2层，核仁模糊，多数核固缩消失；刺五加苷E低、中剂量组海马CA3区神经元染色尚清晰，排列基本整齐，神经元脱失多，细胞层数2~3层，部分核固缩，核仁尚清，少数细胞核消失；刺五加苷E高剂量组海马CA3区神经元染色清晰，细胞排列较规则整齐，细胞层数3~6层，结构清晰，多数核仁圆形或椭圆形。

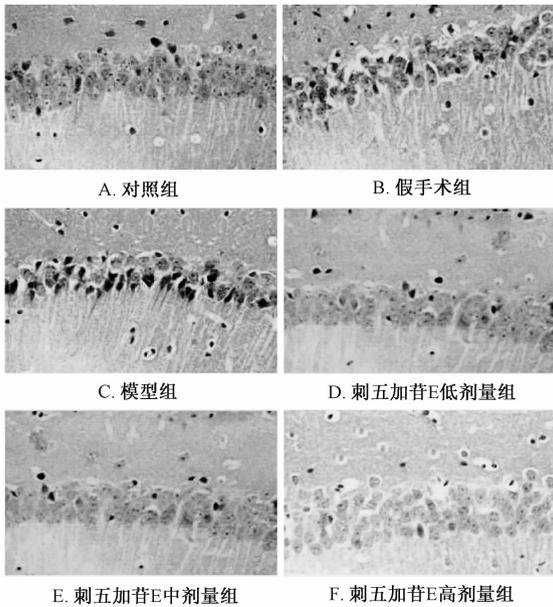


图2 刺五加苷E对海马CA3区的影响 (×400)

Fig. 2 Effects of eleutheroside E on hippocampal CA3 region (×400)

3.5 刺五加苷E对突触形态可塑性的影响^[6,10]

图3显示，第21天对照组、假手术组海马突触组成完整，突触小体发达，线粒体、微丝、微管等结构清晰，平行排列，树突为粗细长短不同的横切、纵切或斜切断面；模型组神经元胞体明显变小，胞

膜皱缩不连续，突触成分组成模糊，突触小体大多消失，线粒体、微丝、微管等结构不清甚至消失，核仁崩解消失，微管、微丝等排列紊乱，染色质出现边集现象；刺五加苷E组上述情况较模型组有所改善，并呈现明显的剂量依赖性。表3显示，与模型组比较，刺五加苷E组突触面密度显著增加 ($P < 0.05$)，并且中、高剂量组突触密度、突触后致密物平均厚度也显著增加 ($P < 0.05$)，平均面积显著减少 ($P < 0.05$)。

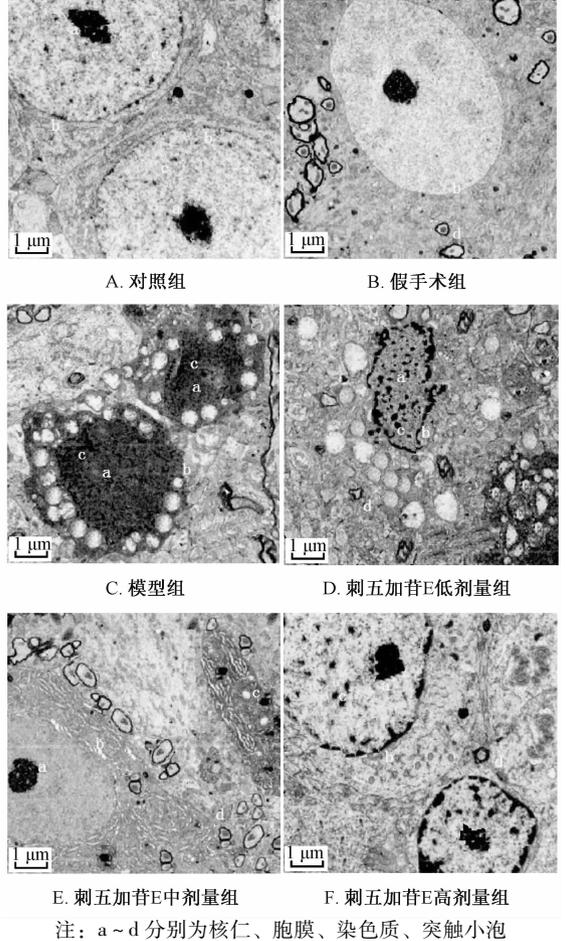


图3 海马CA3区TEM图 (×10000)

Fig. 3 TEM images for hippocampal CA3 region (×10000)

3.6 刺五加苷E对大鼠红细胞膜和海马CA3区神经元 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶的影响 表4显示，与模型组比较，刺五加苷E组 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性显著提高 ($P < 0.05$)，并呈剂量依赖性。

3.7 刺五加苷E对c-fos mRNA表达的影响 图4显示，第7天对照组、假手术组c-fos mRNA表达相当；模型组及刺五加苷E低、中剂量组荧光信号相当，但强于以上2组；刺五加苷E高剂量组荧光信号显著强于其他组。第21天对照组、假手

术组荧光信号相当,但弱于刺五加苷E组,同时 刺五加苷E组又显著弱于模型组。

表3 刺五加苷E对突触可塑性的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Effects of eleutheroside E on synaptic plasticity ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	突触密度/(个· μm^{-2})	突触面密度/ μm^3	突触后致密物平均厚度/nm	平均面积/ μm^2
对照组	10	7.01 ± 1.01	0.78 ± 0.02	71.241 ± 1.583	0.08 ± 0.01
假手术组	9	7.19 ± 0.22	0.81 ± 0.01	69.286 ± 2.346	0.09 ± 0.04
模型组	8	1.87 ± 0.06	0.21 ± 0.03	31.574 ± 1.382	0.27 ± 0.05
刺五加苷E低剂量组	10	2.69 ± 0.04	0.33 ± 0.06 [△]	42.573 ± 2.034 [△]	0.23 ± 0.03
刺五加苷E中剂量组	9	3.95 ± 0.12 ^{△▲}	0.46 ± 0.02 ^{△▲}	49.698 ± 1.241 ^{△▲}	0.13 ± 0.03 ^{△▲}
刺五加苷E高剂量组	10	5.36 ± 0.16 ^{△▲★}	0.64 ± 0.04 ^{△▲★}	57.886 ± 2.037 ^{△▲★}	0.08 ± 0.01 ^{△▲★}

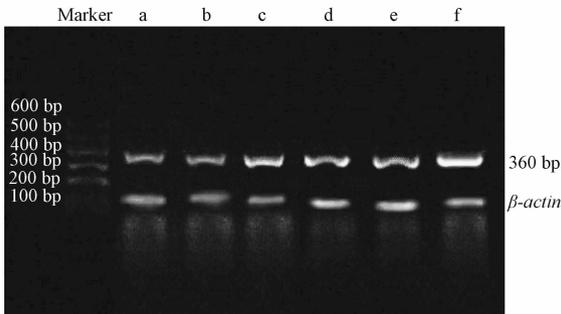
注:与模型组比较,[△] $P < 0.05$;与刺五加苷E低剂量组比较,[▲] $P < 0.05$;与刺五加苷E中剂量组比较,[★] $P < 0.05$

表4 刺五加苷E对Na⁺-K⁺-ATP酶活性的影响 ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol}/\text{mg}$)

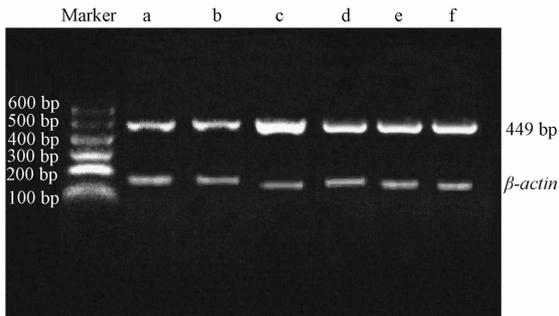
Tab. 4 Effects of eleutheroside E on Na⁺-K⁺-ATPase activity ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol}/\text{mg}$)

组别	动物数/只	给药后第7天		给药后第21天	
		红细胞膜	海马匀浆	红细胞膜	海马匀浆
对照组	10	5.44 ± 0.61	8.762 ± 1.076	5.081 ± 0.312	8.094 ± 1.315
假手术组	9	5.02 ± 0.43	8.618 ± 1.254	4.894 ± 1.267	8.112 ± 1.062
模型组	8	5.15 ± 0.36	1.631 ± 1.616	5.436 ± 0.831	2.041 ± 1.263
刺五加苷E低剂量组	10	6.33 ± 0.41 [△]	2.028 ± 1.427	7.962 ± 0.684 ^{△*}	5.003 ± 1.145 ^{△*}
刺五加苷E中剂量组	9	7.47 ± 0.25 ^{△▲}	3.883 ± 1.019 ^{△▲}	8.037 ± 0.478 ^{△▲*}	9.047 ± 1.368 ^{△▲*}
刺五加苷E高剂量组	10	7.38 ± 0.46 ^{△▲}	5.135 ± 1.221 ^{△▲★}	8.812 ± 0.528 ^{△▲*}	8.846 ± 1.054 ^{△▲*}

注:与模型组比较,[△] $P < 0.05$;与刺五加苷E低剂量组比较,[▲] $P < 0.05$;与刺五加苷E中剂量组比较,^{*} $P < 0.05$;与同组给药后第7天比较,^{*} $P < 0.05$



A. 第7天



B. 第21天

注: a~f 分别为对照组,假手术组,模型组,刺五加苷E低、中、高剂量组

图4 刺五加苷E对c-fos mRNA表达的影响

Fig. 4 Effects of eleutheroside E on c-fos mRNA expression

3.8 刺五加苷E对c-fos相对灰度值的影响 表5、图5显示,与模型组比较,刺五加苷E组第7天c-fos相对灰度值显著增加($P < 0.05$),第21

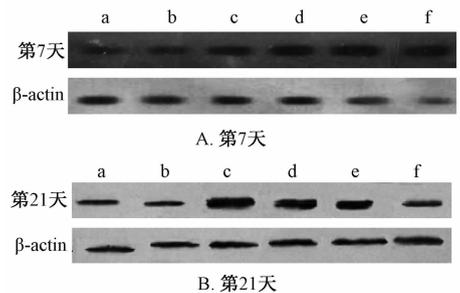
天恰好相反($P < 0.05$),均呈剂量依赖性。

表5 刺五加苷E对c-fos相对灰度值的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 5 Effects of eleutheroside E on c-fos relative gray value ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数/只	c-fos 灰度值/ β -actin 灰度值	
		给药后第7天	给药后第21天
对照组	10	0.25 ± 0.04	0.27 ± 0.02
假手术组	9	0.28 ± 0.02	0.24 ± 0.06
模型组	8	0.37 ± 0.04	0.85 ± 0.03
刺五加苷E低剂量组	10	0.45 ± 0.01 [△]	0.71 ± 0.02 ^{△*}
刺五加苷E中剂量组	9	0.57 ± 0.03 ^{△▲}	0.63 ± 0.06 ^{△▲*}
刺五加苷E高剂量组	10	0.66 ± 0.05 ^{△▲★}	0.54 ± 0.05 ^{△▲*}

注:与模型组比较,[△] $P < 0.05$;与刺五加苷E低剂量组比较,[▲] $P < 0.05$;与刺五加苷E中剂量组比较,^{*} $P < 0.05$;与同组给药后第7天比较,^{*} $P < 0.05$



B. 第21天

注: a~f 分别为对照组,假手术组,模型组,刺五加苷E低、中、高剂量组

图5 刺五加苷E对c-fos相对灰度值的影响

Fig. 5 Effects of eleutheroside E on c-fos relative gray value

4 讨论

神经突触的可塑性体现在形态、功能两方面,老年期虽然神经突触可塑能力弱,但仍存在^[6,10],若神经元轴突的再生不足以代偿相应功能时,就可导致神经突触数量减少和形态退变^[11]。阿尔茨海默病早期神经突触主要通过增加突触面积来完成其代偿,若突触面积的改变仍不足以替代其突触功能的缺失时,反过来会加速突触数量减少^[12]。研究证实,穹窿-海马伞切断所造AD模型可致胆碱能神经元损伤、突触形态及功能的弱化^[6,13]。

刺五加苷E为五加科植物刺五加的主要成分^[2,6],本实验发现该成分可剂量依赖性地减少寻找平台潜伏期和错误次数,表明它能改善大鼠学习记忆能力。HE染色显示,刺五加苷E组锥体细胞肿胀、细胞核固缩、核膜变化、胶质细胞增生等情况显著优于模型组。

海马与丘脑-垂体-肾上腺轴的调控主要依赖于脑内能量代谢。Na⁺-K⁺-ATP酶活性是神经元质膜功能状态的标志,也是生物膜能量转换、物质转运、信息传递的一种重要蛋白酶,在神经递质释放与代谢、细胞兴奋-传导维持与调节中起着重要作用^[14],记忆神经元和星型胶质细胞膜的Na⁺-K⁺-ATP酶活性平衡乙酰胆碱与胆碱比例,维持脑能量代谢^[13]。本实验发现,刺五加苷E可剂量依赖性地提高红细胞膜和海马CA3区Na⁺-K⁺-ATP酶活性,表明该成分能减轻海马锥体细胞凋亡,其机制可能与为神经元提供良好能量保障有关^[12]。

*c-fos*基因通过直接影响反向靶基因转录而影响蛋白质合成^[2,10],表明维持海马神经的正常功能可通过调节*c-fos*基因编码来实现^[7,12]。有报道表明它对神经元有双向调控作用,可加快已受损神经元的修复和再生^[8],其表达的早期上调直接参与了神经元信号的分析、整合、转导过程,并阻止神经元的凋亡^[14]。已有研究证实神经元生长、分化、突触可塑性变化等均伴随其表达上调^[2],表明它对于维持大脑学习、记忆及认知等功能有正向作用^[14]。脑缺血再灌注大鼠实验发现,海马神经元*c-fos*基因产物Fos表达增强,表明*c-fos*基因与神经元修复相关^[13];但若*c-fos*过度表达,则神经元损伤明显加重,其修复与再生也停止^[12]。本实验发现,第7天模型组海马CA3区*c-fos*表达弱于刺五加苷E组,但第21天强于后者,表明刺五加苷E早期维持*c-fos*高表达,减缓海马神经元损伤,

后期又调控其过度表达来加快神经元修复与再生。

刺五加苷E可剂量依赖性地改善穹窿-海马伞损伤大鼠学习记忆能力,其机制可能与增强Na⁺-K⁺-ATP酶活性、调控*c-fos*基因表达、阻止海马神经元损伤并促进其可塑性有关。

参考文献:

- [1] Solomon A, Kivipelto M, Soininen H. Prevention of Alzheimer's disease: moving backward through the lifespan [J]. *J Alzheimers Dis*, 2013, 33(Suppl 1): S465-469.
- [2] Huang D B, Hu Z H, Yu Z F. Eleutheroside B or E enhances learning and memory in experimentally aged rats [J]. *Neural Regen Res*, 2013, 8(12): 1103-1112.
- [3] 陈奔,覃梅春,黄金兰,等.老年性痴呆-血瘀证病证结合树鼯模型的初步建立及三七总皂苷干预的评价[J].*中国中药杂志*, 2017, 42(6): 1175-1182.
- [4] 吴建华,杜根香,黄强.刺五加苷B/E对高糖环境下HBZY-1细胞增殖及TGF-β1和PPARγ表达的影响[J].*中国病理生理杂志*, 2015, 31(3): 511-517.
- [5] 王合作,孙燕,李立,等.刺五加注射液联合氟西汀治疗老年痴呆伴发抑郁的疗效分析[J].*国际精神病学杂志*, 2016, 43(1): 116-118.
- [6] 第五永长,田金洲,时晶.洗心汤对散发性老年性痴呆大鼠脑内tau蛋白O-GlcNAc糖基化修饰的影响[J].*中成药*, 2013, 35(8): 1620-1625.
- [7] 颜永刚,王红艳,尹立敏,等.太白洋参不同溶剂提取物对老年性痴呆模型大鼠TNF-α、CRP、5-HT、AChE的影响[J].*中成药*, 2016, 38(4): 908-911.
- [8] 元红花,程琳,许妍姬.刺五加皂苷对AB₂₅₋₃₅诱发PC12细胞毒性及细胞凋亡的保护作用[J].*中国老年学杂志*, 2014, 34(6): 1570-1572.
- [9] 孟锐,陈逸青,陈勤.阿魏酸对痴呆小鼠脑内胶质细胞活化与炎性细胞因子表达的影响[J].*中国医院药学杂志*, 2018, 38(1): 50-53.
- [10] 余圆圆,陈钧.微波炮制白果对APP/PS1转基因老年痴呆小鼠学习记忆能力的影响[J].*中成药*, 2018, 40(1): 1-7.
- [11] Kobayashi D, Yoshimura T, Johno A, et al. Decrease in pyridoxal-5'-phosphate concentration and increase in pyridoxal concentration in rat plasma by 4'-O-methylpyridoxine administration [J]. *Nutr Res*, 2015, 35(7): 637-642.
- [12] Kobayashi D, Yoshimura T, Johno A, et al. Toxicity of 4'-O-methylpyridoxine-5'-glucoside in *Ginkgo biloba* seeds [J]. *Food Chem*, 2011, 126(3): 1198-1202.
- [13] 周桂生,姚鑫,唐于平,等.白果仁化学成分研究[J].*中国药理学杂志*, 2012, 47(17): 1362-1366.
- [14] 姚刚,朱博驰,于挺敏,等.丁苯酞对血管性痴呆大鼠海马CA1区Bax和Bcl-2表达的影响[J].*中国老年学杂志*, 2018, 38(1): 6-10.