

网络出版时间:2022-3-21 14:28 网络出版地址:<https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1086.R.20220318.1612.032.html>

◇神经精神药理学◇

人参皂苷 Rg1 对慢性脑缺血导致白质损伤的影响

李欣娱¹, 楚世峰², 李晚晚³, 贺文彬¹, 陈乃宏^{1,2}

(1. 山西中医药大学中药与食品工程学院,山西 太原 030619;

2. 中国医学科学院药物研究所神经科学中心,天然药物活性物质与功能国家重点实验室,北京 100050;

3. 国家卫生健康委医药卫生科技发展研究中心,北京 100044)

doi:10.12360/CPB202108025

文献标志码:A 文章编号:1001-1978(2022)04-0576-07

中国图书分类号:R-332; R284.1; R285.5; R322.81; R742; R743.31; R977.6

摘要:目的 研究人参皂苷 Rg1 能否改善慢性脑缺血导致的白质损伤。方法 将 C57BL/6 小鼠随机分为 Sham 组、Model 组、Donepezil 组、人参皂苷 Rg1 (10, 5 mg · kg⁻¹) 组, 采用双侧颈总动脉狭窄方法建立 BCAS 模型, 术后 1 d 开始给予药物治疗, 连续灌胃 30 d, 期间观测其体质量和 CBF 值变化, 通过爬杆、新物体识别和 Y 迷宫实验观察各组动物运动协调和认知能力改善情况, LFB 染色检测胼胝体髓鞘的改善情况, Nissl 染色观察胼胝体神经元损伤情况, 免疫荧光和 Western blot 实验检测胼胝体髓鞘碱性蛋白 MBP 的表达水平。结果 体质量和 CBF 值检测结果表明, 与 Model 组相比, 人参皂苷 Rg1 组对动物的体质量和 CBF 值没有显著的改善作用; 爬杆、新物体识别、Y 迷宫实验结果表明, 人参皂

收稿日期:2021-11-09,修回日期:2022-01-04

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No 81873026, 81730096, 81603316); 北京市自然科学基金资助项目(No 7192135), CAMS 医学科学创新基金资助项目(CIFMS)(No 2016-I2M-1-004)

作者简介:李欣娱(1996-)女,硕士生,研究方向:中药药理学与毒理学,E-mail:15735646527@163.com;
陈乃宏(1961-)男,博士,教授,博士生导师,通信作者,
研究方向:神经药理学,E-mail:chennh@imm.ac.cn

expression was measured by transcriptomics. The expression levels of ferroptosis-related proteins were measured by Western blot. **Results** Osimertinib could inhibit the proliferation of H1975 cells and H1975/OR cells in different concentrations, and H1975 cells were more sensitive. Transcriptomics analysis revealed remarkable differences in gene expression levels between H1975 and H1975/OR cells, among which the ferroptosis pathway was most significant. Western blot assay validated that different degrees of change existed in the expression levels of ferroptosis-re-

苷 Rg1 组明显缩短了动物爬杆所用时间, 提高了动物的新物体识别指数和自主交替次数, LFB 和 Nissl 染色结果表明, 人参皂苷 Rg1 组明显改善了动物胼胝体的髓鞘和神经元损伤情况; 免疫荧光和 Western blot 实验结果表明, 人参皂苷 Rg1 组明显提高了动物 MBP 的蛋白表达水平。结论 人参皂苷 Rg1 能明显改善慢性脑缺血导致的白质损伤。

关键词:人参皂苷 Rg1; 白质; 胼胝体; 髓鞘损伤; 髓鞘碱性蛋白; 神经元

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



大脑内部神经纤维聚集的地方,颜色浅,称为脑白质。脑白质由被髓鞘包裹着的神经轴突组成, 控制着神经元共享的讯号, 协调脑区之间的正常运作。许多因素会导致脑白质病变, 如感染、中毒、神经退行性疾病、外伤和慢性脑缺血等。脑白质病变会损伤人的认知和运动协调能力^[1], 且越来越趋于年轻化。目前, 由于缺乏安全有效的治疗方法, 白质病变的治疗多以预防为主。人参具有增强学习记忆能力、提高免疫力^[2] 和改善心脑血管疾病的作用。本课题组研究^[3] 证明人参皂苷 Rg1 对急性脑缺血损伤具有保护作用, 而对慢性缺血造成脑白质的损伤尚未进行深入研究。本实验采用 BCAS(bilateral ca-

lated proteins in HLF-1, H1975 and H1975/OR cells. After the treatment of ferroptosis inducers RSL3 and Erastin, H1975/OR cells showed higher sensitivity, while little significance was observed on H1975 cells.

Conclusions There were significant differences between H1975 lung cancer cells and osimertinib resistant H1975/OR cells on the gene expression levels, and the ferroptosis pathway plays an important role in acquired resistance to osimertinib.

Key words: lung cancer; transcriptomics; targeted therapy; osimertinib; resistance; ferroptosis

rotid artery stenosis, BCAS) 方法^[4] 建立脑白质损伤模型,在此基础上探究人参皂苷 Rg1 对慢性脑白质损伤的影响。

1 材料与方法

1.1 动物 健康♂性 C57BL/6 小鼠,50 只,8 周龄,购买于北京维通利华实验动物技术有限公司(SYXK(京)2019-0023)。体质量(18~22) g, SPF 级。所有动物均饲养于 SPF 级动物房,恒温(22 ± 1) °C, 相对湿度 55% ± 10%, 12/12 h 明暗交替,自由获取食物和水。所有小鼠在进行正式实验前于该环境适应 1 周。

1.2 药品与试剂 人参皂苷 Rg1 由吉林大学化学学院教研室提供,纯度≥98%;盐酸多奈哌齐,卫材(中国)药业有限公司制造,批准文号:国药准字 H20050978;异氟烷购买于深圳市瑞沃德生命科技有限公司;固蓝染液、碳酸锂溶液购于武汉赛维尔生物有限公司;BCA 蛋白浓度测定试剂盒、ECL 超敏发光液等购于北京普利莱基因有限公司;牛血清白蛋白(BSA)、β-actin Mouse Antibody 等购于美国 Sigma 公司;Anti-Myelin Basic Protein antibody(货号:ab11159)、Anti-Olig2 antibody(货号:ab109186)等购于英国 Abcam;驴抗兔 IgG 荧光二抗(批号:2273718)、驴抗小鼠 IgG 荧光二抗(批号:1975519)等购于美国 Invitrogen 公司。

1.3 仪器 双目体式显微镜,深圳市瑞沃德生命科技有限公司,型号 77001S;0.18 mm 弹簧微线圈,Sawane Spring Co, Shizuoka, Japan;激光多普勒血流仪,英国 Moor 仪器公司;BX51 正置显微镜,日本 OLYMPUS 公司;Image Quant LAS-4000 min 型化学发光成像仪,美国 GE 公司;激光共聚焦显微镜,德国徕卡公司。

1.4 方法

1.4.1 动物分组、模型制备及给药 将 50 只 C57BL/6 小鼠随机分为 Sham 组、BCAS 模型组、阳性药组、Rg1 低剂量组、Rg1 高剂量组,每组 10 只。小鼠用异氟烷维持麻醉,使用加热垫将其体温保持在 37 °C 左右,从颈部正中开口,剥离两侧相关肌肉,分离出两侧迷走神经 VN(vagus nerve, VN) 和颈总动脉 CCA(common carotid artery, CCA),将 0.18 mm 弹簧微线圈缠绕在 CCA 上,注意不要损伤 VN。Sham 组只分离相关血管,不缠绕弹簧,术后立即缝合伤口并消毒。术后 1 d,阳性药组小鼠灌胃盐酸多奈哌齐 0.5 mg · kg⁻¹, Rg1 低剂量组、高剂量组分别灌胃 Rg1 5 mg · kg⁻¹、10 mg · kg⁻¹, 假手术组、BCAS 模型组小鼠灌胃等量生理盐水,不间断 30 d。

1.4.2 体重及 CBF 值检测 在造模过程中,每天称量各组小鼠的体重并记录。在造模前,沿失状正中线将小鼠头部皮肤剪开,用激光多普勒血流仪监测小鼠术前皮层 CBF(cerebral blood flow, CBF) 值,并监测术后、术后 2 h、1 d、3 d、7 d、14 d、30 d 皮层 CBF 值。

1.4.3 行为学检测

1.4.3.1 爬杆实验 动物给药 30 d 后,进行爬杆实验,爬杆实验通过记录小鼠由杆的顶端往下爬到底部所需时间,来检测动物的运动协调能力^[2]。将高 50 cm、直径 1 cm、由纱布包裹的爬杆装置放置于一个木箱中。在小鼠适应环境后,将其头部朝上放置于爬杆顶部的木质小球上,引导小鼠向下爬行。每只小鼠训练 3 次,以确保它们在被放在球上的时候有向下爬的意识。记录小鼠从开始向下爬到四肢全部着地所用的时间。共进行 5 次测试,每次测试间隔至少 30 min,选取 5 次测试的平均值进行统计分析。

1.4.3.2 新物体识别实验 新物体识别实验分为熟悉、适应、测试 3 个阶段。在动物给药 30 d 后,进行熟悉阶段的实验,首先将一只小鼠放在长、宽、高均为 50 cm 的木箱中,使其熟悉 5 min,然后取出。再将下一只小鼠放入之前,喷洒 10% 的乙醇,消除上只动物的残留气味。依此,使所有组小鼠都熟悉木箱环境。d 2, 在木箱对称位置放入两个相同大小的长方形木块,两个木块的位置距离木箱中心、侧壁距离相等。将小鼠放入木箱中距离两个物体等距位置处,使其适应 5 min, 观察小鼠的行走路径,用 Smart 3.0 软件记录小鼠对物体的探究时间,小鼠鼻子距物体 1 cm 之内视为其对物体有探索行为。d 3, 将两个长方形木块中的一个换为三角形木块,检测各小鼠 5 min 内,对两个物体的探索时间,并分析其新物体识别指数。

$$\text{新物体识别指数}/\% = \frac{\text{新物体探索时间}}{\text{新物体} + \text{旧物体探索时间}} \times 100\%$$

1.4.3.3 Y 迷宫 Y 迷宫由三条臂组成,每条臂长 40 cm、宽 5 cm、高 10 cm,它们与中心点成 120° 角,按顺时针顺序将三条臂分别标记为 A、B、C,在每条臂中贴上不同形状的图形作为标记。将小鼠从 A 臂末端放入,让其自由活动 8 min,手动记录小鼠进入每条臂的顺序,统计其连续交替次数,如 ABC、CAB 和最大交替次数(总交替次数 - 2),计算其自主交替次数,将进入总臂数不足 8 的小鼠排除。

$$\text{自主交替次数}/\% = \frac{\text{连续交替次数}}{\text{最大交替次数}} \times 100\%$$

1.4.4 固蓝(luxol fast blue, LFB)染色 小鼠进行完行为学测试后,用水合氯醛($400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉,PBS灌流取脑,多聚甲醛固定,石蜡包埋,将包埋的脑组织胼胝体部位切为 $4 \mu\text{m}$ 的石蜡切片用于LFB染色。将石蜡切片置于二甲苯中 $15 \text{ min} \times 2$ 次进行脱蜡,乙醇梯度水化:100%乙醇 $5 \text{ min} \times 2$,90%、80%、70%、60%的乙醇各 5 min ,然后用双蒸水冲洗 5 min 。固蓝染液于 60°C 水浴锅中预热 30 min ,然后将切片置于固蓝染液中于 60°C 染色 4 h 。切片冷却至室温后,流水冲洗 1 min ,浸入70%乙醇中 10 s 。然后再次流水冲洗切片 1 min ,并浸入碳酸锂溶液 1 min 进行分化。重复以上步骤,直到背景为无色或浅蓝色,此时神经髓鞘呈亮蓝色。最后,将切片逆浓度脱水:80%、90%乙醇各 2 min ,100%乙醇 $2 \text{ min} \times 2$ 次,二甲苯 $3 \text{ min} \times 2$ 次进行脱水,随后用中性树脂封片。BX51正置光学显微镜下观察并拍摄图像,便于后续统计分析。

1.4.5 尼氏染色 依照1.4.4中脱蜡和乙醇梯度水化流程进行操作,完成后将切片置于焦油紫染液中于 60°C 染色 30 s 。蒸馏水洗净染料后,将切片分别置于70%、80%、95%以及100%乙醇中脱水,再用二甲苯透化,中性树胶封片。BX51正置光学显微镜下观察并拍摄图像,便于后续统计分析。

1.4.6 Western blot实验 小鼠进行完行为学测试后,用水合氯醛($400 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉,断头取脑,于冰上分离胼胝体部分,立即于 -80°C 冻存。提取胼胝体组织总蛋白,BCA试剂盒定量,用SDS-PAGE凝胶电泳,12%的分离胶分离MBP。转膜,5%BSA封闭 2 h ,根据目的蛋白分子量裁膜,随后加一抗(MBP,1:1000; β -actin,1:5000), 4°C 孵育过夜。然后TBST洗 $10 \text{ min} \times 3$ 次,加入相应二抗,常温孵育 2 h ,回收二抗,TBST洗 $10 \text{ min} \times 3$ 次。于Image Quant LAS-4000 min型化学发光成像仪成像,用ImageJ软件进行统计学分析。

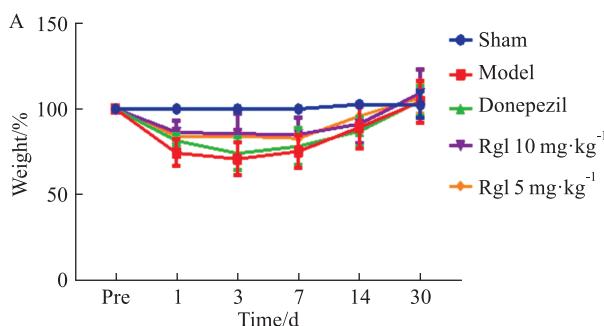


Fig 1 Effect of ginsenoside Rg1 on body weight and CBF values of mice induced by BCAS during treatment stage ($n=7-9$)

A: The changes in weight value at different time points after BCAS in each group; B: The changes in CBF values at different time points after BCAS in each group

1.4.7 免疫荧光实验 将石蜡切片置于二甲苯中 $15 \text{ min} \times 2$ 次进行脱蜡,然后依照“1.4.4”进行乙醇梯度水化,再用双蒸水、PBS洗 5 min 。抗原修复冷却至室温后,PBS洗 $5 \text{ min} \times 3$ 次,后用0.5%的TritonX-100透化 15 min ,PBS洗 $5 \text{ min} \times 3$ 次。用免疫组化笔圈住脑片周围,滴加封闭液,室温封闭 30 min 。然后弃去封闭液,滴加一抗(MBP,1:200;Olig2,1:100),切片置于湿盒中 4°C 孵育过夜。d 2,复温 30 min ,PBST洗 $10 \text{ min} \times 3$ 次。加相应的二抗室温避光孵育 2 h ,PBST避光洗 $10 \text{ min} \times 3$ 次,甘油封片,透明指甲油固定四周。激光共聚焦显微镜下观察并拍摄图像,进行统计分析。

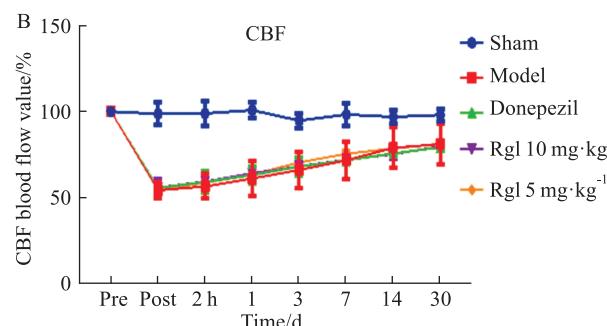
1.5 统计学分析 数据用GraphPad Prism 8.0.1软件进行分析,结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间用单因素方差分析(One-way ANOVA)。

2 结果

2.1 体质量、CBF值变化 实验造模后 $1 \sim 3 \text{ d}$ 内,与Sham组相比,BCAS模型组和给药组小鼠体质量明显下降(Fig 1A),在 $d 7 \sim 30$ 内体质量明显上升,达到初始水平,而BCAS模型组小鼠与给药组小鼠间无显著性差异。动物进行手术后,立即检测其皮层CBF值,发现Sham组小鼠CBF值下降为术前的 $98.73\% \pm 6.65\%$, 30 d 内CBF值无明显波动,BCAS模型组小鼠CBF值下降为术前的 $55.13\% \pm 3.5\%$, 30 d 内CBF值逐渐上升,最终恢复为初始的 $80.48\% \pm 5.71\%$ (Fig 1B)。

2.2 Rg1对脑白质损伤小鼠运动协调和认知能力的影响

2.2.1 爬杆实验 爬杆检测结果(Fig 2A)表明,与Sham组相比,BCAS模型组的小鼠爬杆所用时间明显延长,说明其运动协调能力下降,与BCAS模型组相比,盐酸多奈哌齐和人参皂苷Rg1治疗后,小鼠爬杆时间明显降低,与BCAS模型组相比差异有显著性,说明盐酸多奈哌齐和人参皂苷Rg1能够改



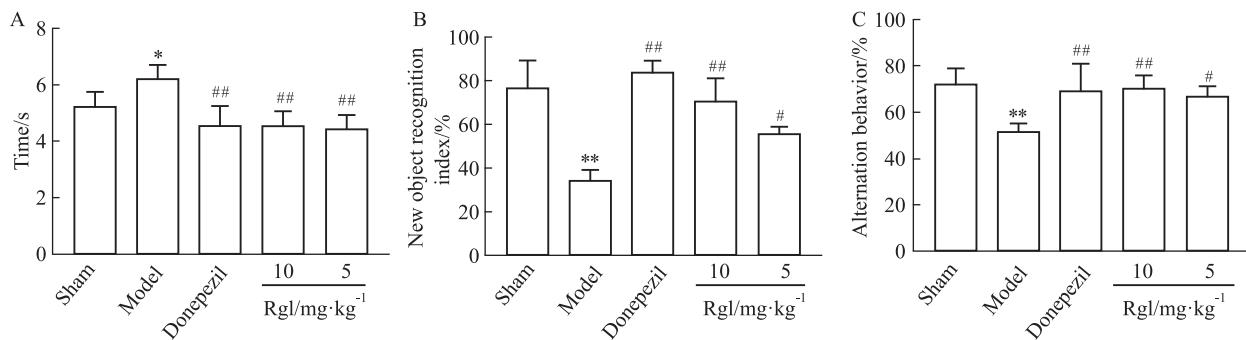


Fig 2 Effect of ginsenoside Rg1 on movement coordination and cognitive ability in BCAS mice

A: The Pole tests ($\bar{x} \pm s$, $n = 6 \sim 8$) ; B: The Novel Object Recognition tests ($\bar{x} \pm s$, $n = 4 \sim 6$) ; C: The Y-maze tests ($\bar{x} \pm s$, $n = 4 \sim 6$).

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs Sham group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs Model group.

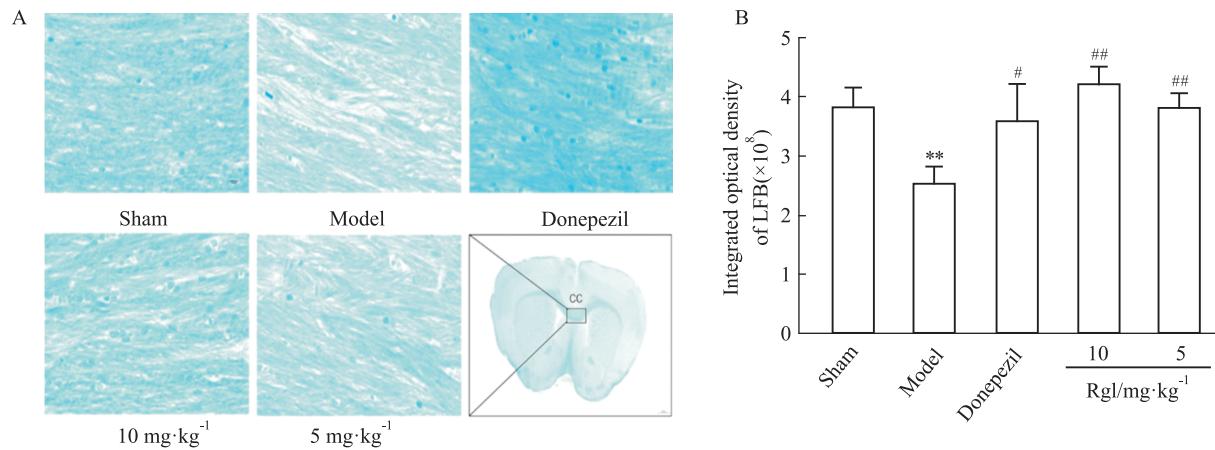


Fig 3 Effect of ginsenoside Rg1 on pathological changes in BCAS mice ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

A: Representative images of tissue sections in the corpus callosum with LFB, scale bar = 50 μm ; B: Quantitative data of LFB-positive IOD. ** $P < 0.01$ vs Sham group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs Model group.

善脑白质损伤引起的行为学障碍。

2.2.2 新物体识别实验 新物体识别实验被广泛用于评价动物的学习记忆能力^[5],新物体识别实验结果(Fig 2B)表明,与Sham组比较,BCAS模型组小鼠新物体识别指数明显降低,认知能力严重受损。而给予盐酸多奈哌齐和人参皂苷Rg1治疗后,小鼠新物体识别指数与BCAS模型组相比差异有显著性,认知能力得到明显改善。

2.2.3 Y迷宫实验 Y迷宫实验模型用来研究啮齿类动物的空间识别记忆能力,这种迷宫利用了啮齿类动物对新异环境天然探究的自然习性,不需要动物学习任何规则来趋利避害,能够有效地反映出动物对新异环境的识别记忆能力^[6]。Y迷宫的实验结果(Fig 2C)表明,与Sham组相比,BCAS模型组的小鼠自主交替次数明显减少,空间记忆能力明显下降,与Sham组相比差异有显著性,而给予盐酸多奈哌齐和人参皂苷Rg1治疗的小鼠,其自主交替次数增加,与BCAS模型组相比差异有显著性,表明阳

性药盐酸多奈哌齐和人参皂苷Rg1能改善脑缺血引起的脑白质损伤,提高空间记忆能力。

2.3 Rg1对脑白质损伤小鼠髓鞘的影响

2.3.1 LFB染色 LFB染色常用来检测髓鞘的形态结构和病理损伤^[7]。Sham组的小鼠胼胝体髓鞘致密,颜色深,而BCAS造模的小鼠,其胼胝体髓鞘疏松,颜色浅,大部分崩解且呈空泡状(Fig 3A),经统计比较,两组IOD(integrated optical density, IOD)值(Fig 3B)有显著性差异,而给予盐酸多奈哌齐和人参皂苷Rg1治疗后,其髓鞘明显颜色加深,排列致密,崩解和空泡状减少,与模型组相比差异有显著性,说明人参皂苷Rg1能有效改善髓鞘损伤。

2.3.2 Nissl染色 Sham组小鼠的胼胝体神经元Nissl+细胞数量较多,尼氏小体颜色深,细胞核完整,而BCAS模型组小鼠的胼胝体神经元Nissl+细胞数明显减少,且细胞核固缩,尼氏小体色浅(Fig 4A)。在给予盐酸多奈哌齐和人参皂苷Rg1给药治疗后,小鼠胼胝体神经元Nissl+细胞数有明显增加

(Fig 4B),细胞核固缩程度减弱,尼氏小体颜色加深,与模型组相比差异有显著性,说明人参皂苷Rg1对脑白质神经元损伤有明显的改善作用。

2.4 Rg1 对髓鞘碱性蛋白 MBP 表达水平的影响

2.4.1 Western blot MBP 是检测髓鞘结构完整性最常用的标记蛋白之一^[8]。Western blot 检测结果 (Fig 5A,5B) 表明,与 Sham 组相比,BCAS 模型组 MBP 蛋白表达水平明显降低,两者相比差异有显著性,而给予盐酸多奈哌齐和人参皂苷 Rg1 治疗的小鼠其 MBP 蛋白水平相比 BCAS 模型组升高,与其相比差异有显著性。说明人参皂苷 Rg1 能明显提高 MBP 蛋白表达水平,对脑白质损伤引起的髓鞘脱落有明显的治疗作用。

2.4.2 免疫荧光 免疫荧光实验结果 (Fig 6A,6B) 表明,BCAS 模型组小鼠的 MBP 荧光强度明显降低,与 Sham 组相比,两者差异有显著性,而给予盐酸多奈哌齐和人参皂苷 Rg1 治疗的小鼠,其 MBP 的荧光强度有明显的提高,与 BCAS 模型组相比差异有显

著性,说明人参皂苷 Rg1 能够明显促进 MBP 蛋白的表达,改善脑缺血引起的脑白质损伤。

3 讨论

目前许多研究都表明,在大脑缺血/缺氧的情况下,脑白质会受损^[9],从而影响其对神经信号的传导作用。Shibata 等^[4],Wang 等^[10]都通过双侧颈总动脉狭窄手术建立了成功的慢性脑缺血白质损伤模型,我们也基于此,建立了 BCAS 模型,其 CBF 值指标与文献报道的一致,在术后动物皮层 CBF 血流值降低为初始的 55.13% ± 3.5%^[11],证明模型建立成功。BCAS 模型操作简单易重复,不损伤小鼠眼动脉,避免了对小鼠行为学的测试结果的干扰。相对于传统饲料喂养和 2VO 的造模方式,有极大的优势,对药物的评价结果也更为准确。目前髓鞘损伤后的修复成为治疗脑白质损伤主要手段,现代研究证明^[12-15],人参会增强机体免疫力、改善学习记忆和心脑血管疾病的作用,且本课题组也已证明人参会改善急性脑缺血造

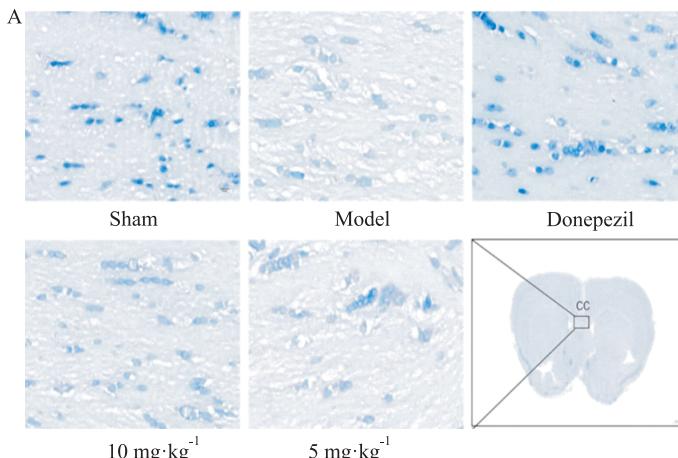


Fig 4 Effect of ginsenoside Rg1 on pathological changes in BCAS mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

A: Representative images of tissue sections in the corpus callosum with Nissl, scale bar = 50 μm ; B: Quantitative data of Nissl positive cells.

* * $P < 0.01$ vs Sham group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs Model group.

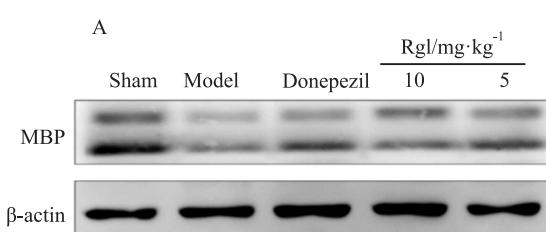
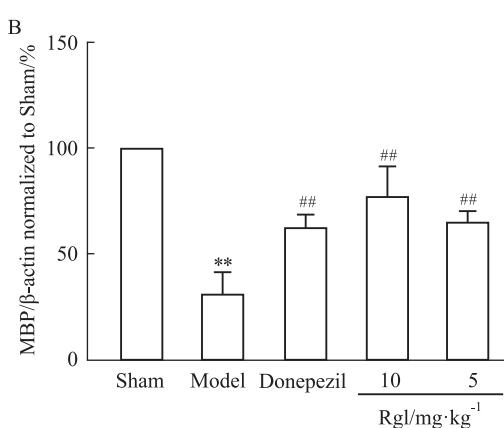


Fig 5 Effect of ginsenoside Rg1 on expression of MBP proteins in BCAS mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

A: Representative Western blot image of the MBP protein expression in the corpus callosum; B: Quantitative analysis of MBP in the total protein in each group. * * $P < 0.01$ vs Sham group; ## $P < 0.01$ vs Model group.



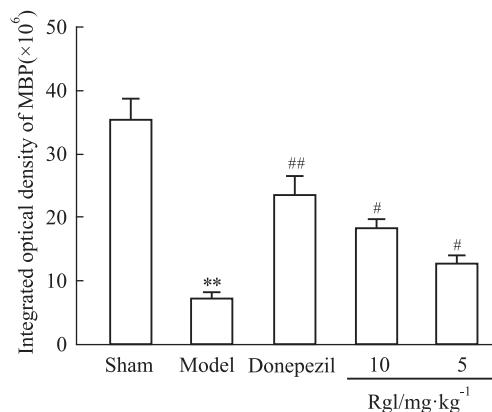
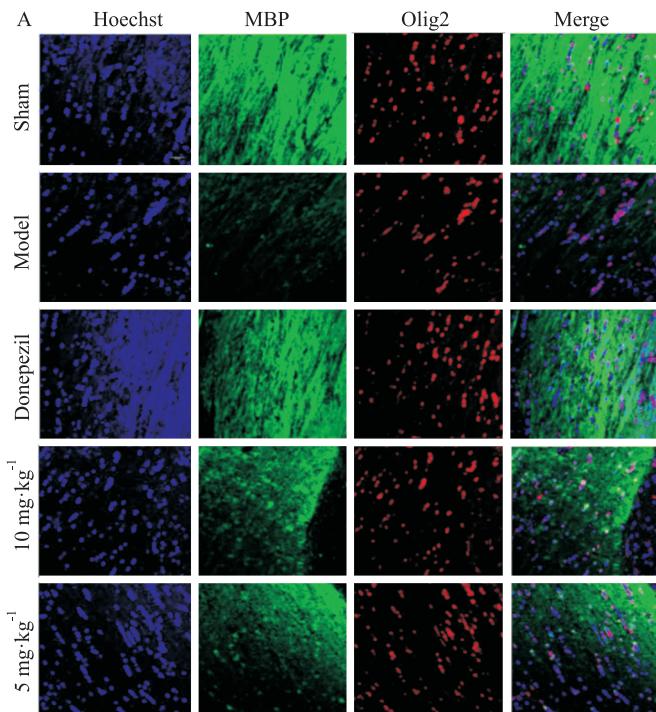


Fig 6 Effect of ginsenoside Rg1 on expression of MBP proteins in BCAS mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

A: Representative immunofluorescent staining of MBP of each group in the corpus callosum, scale bar = 50 μm ; B: Quantitative data of MBP-positive IOD. ** $P < 0.01$ vs Sham group; # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ vs Model group.

成的神经损伤^[3],而对于人参皂苷 Rg1 能否改善慢性脑缺血造成的白质损伤尚未及进行深入研究。盐酸多奈哌齐已被证明对脑缺血/再灌注损伤有很好的神经保护作用^[16],所以我们选用盐酸多奈哌齐作为阳性药进行治疗。在给予药物治疗后,发现各治疗组小鼠的 CBF 值差异无显著性,说明人参皂苷 Rg1 对小鼠的 CBF 值影响不大,与已有研究的结果一致。行为学测试结果表明,人参皂苷 Rg1 明显提高了小鼠的物体识别和自主活动能力,明显改善了小鼠因脑白质损伤导致的认知障碍和运动失调。胼胝体连接左右大脑半球,通常是检测脑白质损伤的代表性部位^[17],LFB 染色和尼氏染色结果表明,人参皂苷 Rg1 组能明显改善胼胝体已损伤髓鞘的空泡状结构,减弱髓鞘的疏松度,增加 Nissl + 神经元的表达,对髓鞘损伤有明显的修复作用。少突胶质细胞是中枢神经系统的成髓鞘细胞,少突胶质前体细胞在髓鞘损伤后会迁移到受损部位,进而分化成为成熟的少突胶质细胞形成髓鞘,改善脑白质的损伤,Olig2 是少突胶质细胞谱系特殊标志物,通过 Western blot 和免疫荧光实验,我们检测到人参皂苷 Rg1 组能明显促进 MBP 和 Olig2 的表达,维持髓鞘的完整性。本实验的行为学和病理学检测结果都表明,人参皂苷 Rg1 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的剂量比 $5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的改善效果要好。

综上,人参皂苷 Rg1 能明显改善因慢性脑缺血造成的脑白质损伤。本研究为人参皂苷 Rg1 研究脑白质损伤提供了理论依据,为治疗脑白质损伤的

研究提供了备选药物,但其改善的作用机制尚需进行深入研究。

参考文献:

- Meng D, Hosseini A A, Simpson R J, et al. Lesion topography and microscopic white matter tract damage contribute to cognitive impairment in symptomatic carotid artery disease [J]. *Radiology*, 2017, **282**(2):502–15.
- Heng Y, Zhang Q S, Mu Z, et al. Ginsenoside Rg1 attenuates motor impairment and neuroinflammation in the MPTP-probenecid-induced parkinsonism mouse model by targeting alpha-synuclein abnormalities in the substantia nigra[J]. *Toxicol Lett*, 2016, **243**:7–21.
- Chu S F, Zhang Z, Zhou X, et al. Ginsenoside Rg1 protects against ischemic/reperfusion-induced neuronal injury through miR-144/Nrf2/ARE pathway [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2019, **40**(1):13–25.
- Shibata M, Ohtani R, Ihara M, et al. White matter lesions and glial activation in a novel mouse model of chronic cerebral hypoperfusion [J]. *Stroke*, 2004, **35**(11):2598–603.
- Lueptow L M. Novel object recognition test for the investigation of learning and memory in mice[J]. *J Vis Exp*, 2017, (126):55718.
- Dellu F, Contarino A, Simon H, et al. Genetic differences in response to novelty and spatial memory using a two-trial recognition task in mice[J]. *Neurobiol Learn Mem*, 2000, **73**(1):31–48.
- Sribnick E A, Wingrave J M, Matzelle D D, et al. Estrogen attenuated markers of inflammation and decreased lesion volume in acute spinal cord injury in rats[J]. *J Neurosci Res*, 2005, **82**(2):283–93.
- Brädl M, Lassmann H. Oligodendrocytes: biology and pathology [J]. *Acta Neuropathol*, 2010, **119**(1):37–53.
- 王倩,饶江燕,王钰淳,等. β-石竹烯对小鼠脑缺血/再灌注

- 白质损伤的保护作用研究[J]. 中国药理学通报,2020,36(3):360-5.
- [9] Wang Q, Rao J Y, Wang Y C, et al. Protective effect of β -caryophyllene on white matter injury induced by cerebral ischemia/reperfusion in mice[J]. Chin Pharmacol Bull, 2020, 36(3):360-5.
- [10] Wang M, Qin C, Luo X, et al. Astrocytic connexin 43 potentiates myelin injury in ischemic white matter disease[J]. Theranostics, 2019, 9(15):4474-93.
- [11] Washida K, Ihara M, Nishio K, et al. Nonhypotensive dose of telmisartan attenuates cognitive impairment partially due to peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation in mice with chronic cerebral hypoperfusion[J]. Stroke, 2010, 41(8):1798-806.
- [12] Chu S H, Gu J F, Feng L, et al. Ginsenoside Rg5 improves cognitive dysfunction and beta-amyloid deposition in STZ-induced memory impaired rats via attenuating neuroinflammatory responses[J]. Int Immunopharmacol, 2014, 19(2):317-26.
- [13] Shin Y W, Bae E A, Kim D H. Inhibitory effect of ginsenoside Rg5 and its metabolite ginsenoside Rh3 in an oxazolone-induced mouse chronic dermatitis model[J]. Archiv Pharm Res, 2006, 29(8):685-90.
- [14] Lee M J, Choi J H, Oh J, et al. Rg3-enriched Korean Red Ginseng extract inhibits blood-brain barrier disruption in an animal model of multiple sclerosis by modulating expression of NADPH oxidase 2 and 4[J]. J Ginseng Res, 2021, 45(3):433-41.
- [15] Zhu J H, Mu X Y, Zeng J, et al. Ginsenoside Rg1 prevents cognitive impairment and hippocampus senescence in a rat model of D-galactose-induced aging[J]. PLoS One, 2014, 9(6):e101291.
- [16] Ongnok B, Khuanjing T, Chunchai T, et al. Donepezil provides neuroprotective effects against brain injury and Alzheimer's pathology under conditions of cardiac ischemia/reperfusion injury[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2021, 1867(1):165975.
- [17] Liang S, Zhang J, Zhang Q, et al. Longitudinal tracing of white matter integrity on diffusion tensor imaging in the chronic cerebral ischemia and acute cerebral ischemia[J]. Brain Res Bull, 2020, 154:135-41.

Effects of ginsenoside Rg1 on chronic white matter injury

LI Xin-yu¹, CHU Shi-feng², LI Wan-wan³, HE Wen-bin¹, CHEN Nai-hong^{1,2}

- (1. Institute of Chinese Medicine & Food Engineering, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030619, China;
 2. State Key Laboratory of Bioactive Substances and Functions of Natural Medicines, Institute of Materia Medica & Neuroscience Center, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050, China;
 3. National Health Commission Medical and Health Technology Development Research Center, Beijing 100044, China)

Abstract: Aim To study whether ginsenoside Rg1 could improve white matter injury caused by chronic cerebral ischemia. **Methods** C57BL/6 mice were randomly divided into Sham group, Model group, Donepezil group, and ginsenoside Rg1 ($10, 5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) group. BCAS was established by using bilateral common carotid artery stenosis. Drug treatment was started one day after the operation, and the stomach was given continuously for 30 days. During this period, the body weight and CBF changes were observed, and observed by climbing rods, new object recognition and Y maze experiments. The movement coordination and cognitive abilities of each group of animals were improved. The improvement of the myelin sheath of the corpus callosum was detected by LFB staining, the damage of corpus callosum neurons was observed by Nissl staining, and the expression level of MBP in the corpus callosum was detected by immunofluorescence and Western blot. **Results** The test results of body weight and CBF

showed that compared with model group, ginsenoside Rg1 group did not significantly improve the animal's body weight and CBF values; the results of climbing rod, new object recognition, and Y maze experiment showed that ginsenoside Rg1 group significantly shortened the time it took animals to climb rods, and improved the animal's new object recognition index and the number of autonomous alternations; LFB and Nissl staining results showed that ginsenoside Rg1 group significantly improved the myelin and neuron damage of the animal corpus callosum. The results of immunofluorescence and Western blot showed that ginsenoside Rg1 group significantly increased the expression level of animal myelin basic protein MBP. **Conclusion** Ginsenoside Rg1 can significantly improve white matter injury caused by chronic cerebral ischemia.

Key words: ginsenoside Rg1; white matter; corpus callosum; myelin injury; myelin basic protein; neurons