

## 基于抗炎及抗氧化研究人参皂苷对衰老模型大鼠 七氟烷麻醉后认知功能障碍的改善作用

樊荣

(西安市第一医院麻醉科,陕西 西安 710002)

**摘要 目的** 研究人参皂苷对衰老模型大鼠七氟烷麻醉后认知功能障碍及炎症反应、氧化应激反应的改善作用及机制。**方法** 成年雄性 SD 大鼠随机分为对照组、衰老组、衰老十七氟烷组、衰老十七氟烷十人参皂苷组,采用皮下注射 D-半乳糖的方式建立衰老模型,在麻醉箱内给予体积分数 3.2% 七氟醚,七氟醚麻醉后给予 50 mg/kg 人参皂苷 Re 灌胃、持续 4 周。采用 Morris 水迷宫检测逃避潜伏期、穿越平台次数,采用试剂盒检测血清及海马中炎症因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  及氧化应激指标 SOD、GPX、MDA 的含量,采用 Western blot 检测海马中 p-p38MAPK、p-ERK1/2、p-JNK 的表达水平。**结果** 与对照组比较,衰老组的逃避潜伏期延长,穿越平台次数、SOD、GPX 的含量、p-ERK1/2 的表达减少,IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、MDA 的含量及 p-p38MAPK、p-JNK 的表达增加;与衰老组比较,衰老十七氟烷组的逃避潜伏期延长,穿越平台次数、SOD、GPX 的含量、p-ERK1/2 的表达减少,IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、MDA 的含量及 p-p38MAPK、p-JNK 的表达增加;与衰老十七氟烷组比较,衰老十七氟烷十人参皂苷组的逃避潜伏期缩短,穿越平台次数、SOD、GPX 的含量、p-ERK1/2 的表达增加,IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、MDA 的含量及 p-JNK 的表达减少,p-p38MAPK 的表达无明显变化。**结论** 人参皂苷 Re 能够改善衰老模型大鼠七氟烷麻醉后的认知功能障碍并减轻炎症反应、氧化应激反应,调控 ERK1/2 及 JNK 通路是可能的分子机制。

**关键词** 衰老; 七氟烷; 人参皂苷; 炎症反应; 氧化应激反应; 信号通路

### Improvement effect of ginsenoside on cognitive impairment of aging rats after sevoflurane anesthesia based in anti inflammatory and antioxidant effect

Fan Rong. Department of Anesthesiology, The First People's Hospital of Xi'an, Xi'an 710002, Shaanxi, China.

**Abstract Objective** To study the effect and mechanism of ginsenoside on cognitive dysfunction, inflammatory response and oxidative stress after sevoflurane anesthesia in aging rats. **Methods** Adult male SD rats were randomly divided into control group, aging group, aging + sevoflurane group, aging + sevoflurane + ginsenoside group. The aging model was established by subcutaneous injection of D-galactose, the volume fraction 3.2% of sevoflurane was given in the anesthesia box, 50 mg/kg ginsenoside Re was given by gavage for 4 weeks after sevoflurane anesthesia. Morris water maze was used to detect the escape latency and crossing platform times. Serum and hippocampus inflammatory factors IL-1  $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$  and oxidative stress indexes SOD, GPX and MDA were detected by kit. Western blot (WB) was used to detect the expression levels of p-p38MAPK, p-ERK1/2 and p-JNK in hippocampus. **Result** Compared with the control group, the escape latency prolonged, the crossing platform times, the contents of SOD, GPX, the expression of p-ERK1/2 decreased, and the contents of IL-1  $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , MDA and the expression of p-p38MAPK, p-JNK increased in the aging group. Compared with the aging group, the escape latency prolonged, the crossing platform times, the contents of SOD, GPX, the expression of p-ERK1/2 decreased, and the contents of IL-1  $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , MDA and the expression of p-p38MAPK, p-JNK increased in the aging + sevoflurane group. Compared with the aging + sevoflurane group, the escape latency shortened, the crossing platform times, the contents of SOD, GPX, the expression of p-ERK1/2 increased, and the contents of IL-1  $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , MDA and the expression of p-JNK decreased, the expression of p-p38MAPK there were no significant change in aging + sevoflurane + ginsenoside group. **Conclusion** Ginsenoside Re can improve the cognitive function of aging rats after sevoflurane anesthesia, reduce the inflammatory response and oxidative stress response, and regulate ERK1/2 and JNK pathway was the possible molecular mechanism.

**Keywords** Aging; Sevoflurane; Ginsenoside; Inflammatory response; Oxidative stress response; Signal pathway

中图分类号: R614;R-332 文献标识码: A 文章编号: 1000-744X(2021)04-0507-04

七氟烷是临床广泛使用的吸入型麻醉药物,麻醉和镇静效果确切且对呼吸和循环系统影响较小,但有研究<sup>[1-2]</sup>发现,其会对老年患者的认知功能产生负面影响。另有研究<sup>[3]</sup>显示,七氟烷会对衰老大鼠的认知功能及海马超微结构造成损害。人参皂苷是人参中主要的活性成分,人参皂苷 Re 为人参皂苷中重要的一种单体成分,能够在多种组织中发挥抗炎和抗氧化作用。研究<sup>[4]</sup>表明,人参皂苷 Re 能够减轻慢性酒精中毒引起认知功能损伤。基于此,本实验将人参皂苷 Re 用于衰老模型大鼠七氟烷麻醉后的干预,具体分析了人参皂苷 Re 对认知功能障碍及炎症反应、氧化应激反应的改善作用及机制。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 成年雄性 SD 大鼠购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司,D-半乳糖购自北京索莱宝公司,七氟烷购自山东鲁南贝特制药公司,白介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、白介素-6(IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)、丙二醛(MDA)的检测试剂盒购自北京全式金公司,RIPA 裂解液、BCA 蛋白检测试剂盒购自武汉艾来德公司,p-p38MAPK、p-ERK1/2、p-JNK 的抗体购自 CST 公司。

**1.2 方法** 实验动物随机分为对照组、衰老组、衰老十七氟烷组、衰老十七氟烷十人参皂苷组,每组各 8 只。衰老组、衰老十七氟烷组、衰老十七氟烷十人参皂苷组进行衰老模型制备,皮下注射 0.125 g/kg 10%D-半乳糖溶液、1 次/d、连续 40 d;对照组皮下注射等剂量生理盐水。衰老十七氟烷组、衰老十七氟烷十人参皂苷组在衰老模型造模完成后放入麻醉箱内,通入 3.2% 七氟烷、持续 6 h;对照组和衰老组放入麻醉箱内,通入空气。经上述处理后,衰老十七氟烷十人参皂苷组给予 50 mg/kg 人参皂苷 Re 灌胃、1 次/d、连续 4 周。于直径 1.6 m、高 0.5 m 的水迷宫内进行检测,水深 0.22 m,水温 22~26℃。第 1~4 天进行定位航行实验,在第 3 象限正中放置直径 12 cm、高度 20 cm 的平台,每天训练 4 次,分别从 4 个象限将大鼠面向池壁放入水中,记录大鼠找到平台的时间,若 90 s 内未找到平台,则逃避潜伏期为 90 s;第 5 天进行空间探索实验,将大鼠从第 1 象限面向池壁放入水中,记录大鼠 90 s 内穿越原平台所在位置的次数。完成 Morris 水迷宫检测后处死大鼠,收集外周血 3~5 mL 后离心分离血清;收集海马组织,加入 RIPA 裂解液后匀浆,离心分离上清,采用试剂盒分别检测血清及上清中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、SOD、GPX、MDA 的含量。取海马组织匀浆后的上清液,采用 BCA 试剂盒测定蛋白含量,根据测定结果取含有 30  $\mu$ g 蛋白的上清样本进行 Western blot 实验。将样本加入聚丙烯酰胺凝胶后进行电泳,而后电转移至 PVDF 膜,5% 脱脂牛奶

在室温封闭 PVDF 膜 1 h 后 1:1000 稀释的 p-p38MAPK、p-ERK1/2、p-JNK 抗体或 1:5000 稀释的  $\beta$ -actin 抗体 4℃孵育过夜;TBS-T 溶液洗膜 3 遍、每遍 5 min,室温孵育 1:2000 稀释的二抗 1 h,再次 TBS-T 溶液洗膜 3 遍、每遍 10 min,最后在凝胶成像系统中显影,得到 p-p38MAPK、p-ERK1/2、p-JNK、 $\beta$ -actin 条带,根据条带的灰度值计算蛋白表达量。

**1.3 统计学方法** 采用 SPSS20.0 软件录入数据,四组间计量资料的比较采用方差分析,两两比较采用 LSD-t 法, $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 学习记忆功能的比较** 与对照组比较,衰老组大鼠的逃避潜伏期延长,穿越平台次数减少( $P<0.05$ );与衰老组比较,衰老十七氟烷组大鼠的逃避潜伏期延长,穿越平台次数减少( $P<0.05$ );与衰老十七氟烷组比较,衰老十七氟烷十人参皂苷组大鼠的逃避潜伏期缩短,穿越平台次数增加( $P<0.05$ )。见表 1。

表 1 各组大鼠学习记忆功能的比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	逃避潜伏期/s	穿越平台次数
对照组	8	13.84±3.51	5.48±0.94
衰老组	8	17.12±4.52	4.55±0.73
衰老十七氟烷组	8	23.41±6.51	3.57±0.64
衰老十七氟烷十人参皂苷组	8	17.33±5.12	4.39±0.81

**2.2 血清及海马中炎症因子含量的比较** 与对照组比较,衰老组大鼠血清及海马中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的含量增加( $P<0.05$ );与衰老组比较,衰老十七氟烷组大鼠血清及海马中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的含量减少( $P<0.05$ );与衰老十七氟烷组比较,衰老十七氟烷十人参皂苷组大鼠血清及海马中 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的含量增加( $P<0.05$ )。见表 2。

表 2 各组大鼠血清及海马中炎症因子含量的比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	血清		
		IL-1 $\beta$ /(ng/mL)	IL-6/(pg/mL)	TNF- $\alpha$ /(pg/mL)
对照组	8	0.83±0.13	14.41±3.58	9.19±2.12
衰老组	8	1.13±0.22	18.94±3.25	13.57±2.41
衰老十七氟烷组	8	1.94±0.32	31.32±6.67	22.72±5.23
衰老十七氟烷十 人参皂苷组	8	1.24±0.21	21.37±6.51	14.89±3.08
组别	n	海马		
		IL-1 $\beta$ /(ng/mL)	IL-6/(pg/mL)	TNF- $\alpha$ /(ng/mL)
对照组	8	4.12±0.93	23.12±6.58	1.31±0.35
衰老组	8	5.86±0.77	30.27±4.76	1.88±0.28
衰老十七氟烷组	8	9.12±2.15	51.29±9.92	3.24±0.52
衰老十七氟烷十 人参皂苷组	8	6.45±0.93	36.57±5.27	2.09±0.35

**2.3 血清及海马中氧化应激指标的比较** 与对照组比较,衰老组大鼠血清及海马中 SOD、GPX 的含量减少,MDA 的含量增加( $P<0.05$ );与衰老组比较,衰老十七氟烷组大鼠血清及海马中 SOD、GPX 的含量增加,MDA 的含量减少( $P<0.05$ );与衰老十七氟烷组比较,衰老十七氟烷+人参皂苷组大鼠血清及海马中 SOD、GPX 的含量减少,MDA 的含量增加( $P<0.05$ )。见表 3。

表 3 各组大鼠血清及海马中应激指标的比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	血清		
		SOD/(U/L)	GPX/(U/L)	MDA/(μmol/L)
对照组	8	64.49±11.38	40.38±8.68	1.57±0.32
衰老组	8	55.68±8.57	32.57±5.44	2.44±0.29
衰老十七氟烷组	8	41.25±7.25	26.58±5.51	4.02±0.83
衰老十七氟烷+人参皂苷组	8	49.57±7.6	30.48±4.47	2.89±0.57

组别	n	海马		
		SOD/(U/L)	GPX/(U/L)	MDA/(μmol/L)
对照组	8	13.38±3.37	8.39±1.64	0.93±0.14
衰老组	8	10.77±2.25	6.89±0.94	1.52±0.32
衰老十七氟烷组	8	7.03±1.21	4.66±0.81	2.48±0.38
衰老十七氟烷+人参皂苷组	8	9.84±1.14	6.41±0.87	1.77±0.31

**2.4 p38MAPK、ERK1/2、JNK 表达的比较** 与对照组比较,衰老组大鼠海马中 p-p38MAPK、p-JNK 的表达水平增加,p-ERK1/2 的表达水平减少( $P<0.05$ );与衰老组比较,衰老十七氟烷组大鼠海马中 p-p38MAPK、p-JNK 的表达水平增加,p-ERK1/2 的表达水平减少( $P<0.05$ );与衰老十七氟烷组比较,衰老十七氟烷+人参皂苷组大鼠海马中 p-p38MAPK 的表达水平无明显变化( $P>0.05$ ),p-JNK 的表达水平减少,p-ERK1/2 的表达水平增加( $P<0.05$ )。见图 1,表 4。

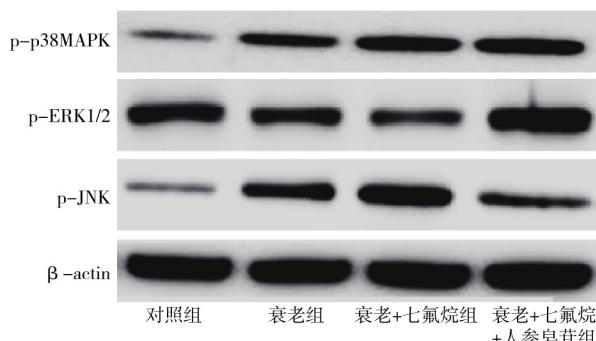


图 1 各组大鼠海马中 p-p38MAPK、p-ERK1/2、p-JNK 的蛋白条带

表 4 各组大鼠海马中 p-p38MAPK、p-ERK1/2、p-JNK 表达量的比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	p-p38MAPK	p-ERK1/2	p-JNK
对照组	8	0.32±0.08	0.74±0.09	0.24±0.07
衰老组	8	0.61±0.09	0.62±0.08	0.56±0.08
衰老十七氟烷组	8	0.82±0.16	0.49±0.07	0.83±0.13
衰老十七氟烷+人参皂苷组	8	0.85±0.12	0.87±0.15	0.52±0.09

### 3 讨论

人参皂苷 Re 是人参皂苷中重要的一种单体成分,具有广泛的生物学作用。有学者<sup>[5-6]</sup>分别将人参皂苷 Re 用于精神分裂症大鼠及阿尔茨海默小鼠的干预,结果显示动物的行为学表现及认知功能均明显改善。本研究结果显示,与衰老十七氟烷组比较,衰老十七氟烷+人参皂苷组的逃避潜伏期缩短、穿越平台次数增加,表明人参皂苷 Re 对衰老大鼠七氟烷麻醉后的认识功能具有改善作用。

海马是大脑中与认知、学习、记忆等功能直接相关的脑区,海马结构的损害能够引起认知功能障碍、学习记忆能力减退。研究<sup>[7-8]</sup>表明,在七氟烷诱导认知功能障碍的过程中,海马中的炎症反应和氧化应激反应的激活与结构损害直接相关。本研究表明,衰老组及衰老十七氟烷组血清、海马中 IL-1β、IL-6、TNF-α、MDA 的含量增加,SOD、GPX 的含量减少且衰老十七氟烷组的上述变化较衰老组更为显著,表明衰老及七氟烷麻醉均对海马中的炎症和氧化应激反应具有激活作用。人参皂苷 Re 具有抗炎和抗氧化作用,能够在神经元细胞、内皮细胞、心肌细胞中减轻多种病理因素引起的炎症反应和氧化应激反应<sup>[9-10]</sup>。本研究结果显示,血清、海马中 IL-1β、IL-6、TNF-α、MDA 的含量减少,SOD、GPX 的含量增加,表明人参皂苷 Re 能够在衰老大鼠七氟烷麻醉后发挥抗炎和抗氧化作用,这可能是其改善认知功能的机制之一。

MAPK 通路是细胞内感受能量变化并调控凋亡、炎症、氧化应激的重要通路,ERK1/2、JNK、p38MAPK 均属于 MAPK 家族。报道<sup>[11-12]</sup>显示,七氟烷能够使海马中的 JNK、p38MAPK 发生激活,ERK1/2 受到抑制。本研究结果显示,衰老十七氟烷组海马中 p-p38MAPK、p-JNK 的表达水平增加,p-ERK1/2 的表达水平减少,表明上述信号通路的变化可能参与了七氟烷诱导的海马组织炎症及氧化应激激活,进而引起认知功能减退。在人参皂苷 Re 干预后,海马中 p-p38MAPK 的表达水平无明显变化,p-JNK 的表达水平减少,p-ERK1/2 的表达水平增加,表明人参皂苷 Re 可能通过 ERK1/2 和 JNK 通路发挥改善认知功能及抑制炎症反应、氧化应激反应的作用。

(下转第 521 页)

NTF、VEGF 较治疗前及同期对照组有明显降低,且研究组治疗后的 NIHSS 与 BI 评分下降/升高幅度明显大于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),证实微创介入治疗在临床患者中的有效性与可行性。主要由于实施微创介入治疗可使闭塞血管获得再通,实现动脉再灌注,恢复或改善狭窄管腔,有效改善血管微循环,纠正病变血管,同时较好保护患者心功能与神经功能,因而更能从整体上显著改善患者生活质量<sup>[9-10]</sup>。

综上所述,采用微创介入治疗可有效改善急性脑梗死患者血清神经生长因子、神经营养因子、内皮生长因子细胞因子水平,最大限度降低神经功能缺损,促进患者病情康复。

#### 参考文献

- [1] 杨梅,阮超,陈敬菊,等.分水岭脑梗死患者血管内治疗的长期疗效观察[J].中风与神经疾病杂志,2019,36(3):229-232.
- [2] 陈荣华,曹洁,宣井岗,等.急性前循环大血管闭塞血管内治疗效果及影响因素分析[J].中华神经医学杂志,2018,17(8):784-789.
- [3] 蔡瑞兴,夏范蕾.超早期介入治疗伴有远端血管栓塞的

(上接第 509 页)

#### 参考文献

- [1] Guo L, Lin F, Dai H, et al. Impact of sevoflurane versus propofol anesthesia on post-operative cognitive dysfunction in elderly cancer patients: a double-blinded randomized controlled trial[J]. Med Sci Monit, 2020, 15(26): e919293.
- [2] Belrose JC, Noppens RR. Anesthesiology and cognitive impairment: a narrative review of current clinical literature[J]. BMC Anesthesiol, 2019, 19(1): 241.
- [3] 杨洋,吴振宇,林夏妃,等.七氟烷对衰老模型大鼠认知功能及海马超微结构的影响[J].四川大学学报(医学版),2019,50(5): 689-694.
- [4] 陈荻,李阳,田梦,等.人参皂苷 Re 对慢性酒精中毒大鼠学习、记忆能力的影响及机制[J].中华中医药学刊,2016,34(12): 2974-2977.
- [5] Tran TV, Shin EJ, Dang DK, et al. Ginsenoside Re protects against phencyclidine-induced behavioral changes and mitochondrial dysfunction via interactive modulation of glutathione peroxidase-1 and NADPH oxidase in the dorsolateral cortex of mice[J]. Food Chem Toxicol, 2017, 110: 300-315.
- [6] Li J, Liu Y, Li W, et al. Metabolic profiling of the effects of ginsenoside Re in an alzheimer's disease mouse model[J]. Behav Brain Res, 2018, 30 (337): 160-172.
- [7] Yin J, Zhao X, Wang L, et al. Sevoflurane-induced inflammation development: involvement of cholinergic

急性大动脉闭塞型脑梗死的临床疗效[J].中西医结合心脑血管病杂志,2019,17(16):2546-2549.

- [4] 张亦岐,张静,曲桂艳,等.介入治疗与药物治疗在对脑梗死患者凝血-纤溶功能的影响及疗效比较[J].血栓与止血学,2017,23(1):115-117.
- [5] 邓鹏飞,李递通.脑血管介入治疗与血浆高同型半胱氨酸血症的相关性研究[J].中西医结合心脑血管病杂志,2017,15(6):738-740.
- [6] 封灏,谭华桥,方淳,等.早期血管内介入治疗进展性脑卒中 15 例[J].介入放射学杂志,2018,27(8):765-769.
- [7] 何晓斌,潘文,刘毅,等.急性缺血性脑卒中介入治疗体会[J].贵州医药,2014,38(10):906-907.
- [8] 刘乃瑞.急性心肌梗死介入治疗后急性脑梗死发生情况及危险因素分析[J].中国实用神经疾病杂志,2019,22(5):491-497.
- [9] 李力,段国礼,赵瑞,等.颅内未破裂动脉瘤介入治疗术后神经系统并发症的危险因素分析[J].第二军医大学学报,2018,39(3):238-244.
- [10] 廖建宁,吴炯仁,叶汉根,等.经桡动脉导管反折技术完成颈部动脉血管造影及介入治疗的可行性分析[J].中国循环杂志,2019,34(5):472-476.

(收稿日期:2020-04-29)

anti-inflammatory pathway [J]. Behav Pharmacol, 2019, 30(8): 730-737.

- [8] Cui RS, Wang K, Wang ZL. Sevoflurane anesthesia alters cognitive function by activating inflammation and cell death in rats[J]. Exp Ther Med, 2018, 15 (5): 4127-4130.
- [9] Lee GH, Lee WJ, Hur J, et al. Ginsenoside Re mitigates 6-hydroxydopamine-induced oxidative stress through upregulation of GPX4 [J]. Molecules, 2020, 25 (1): E188.
- [10] Liu M, Bai X, Yu S, et al. Ginsenoside Re inhibits ROS/ASK-1 dependent mitochondrial apoptosis pathway and activation of Nrf2-Antioxidant response in beta-amyloid-challenged SH-SY5Y cells[J]. Molecules, 2019, 24(15): E2687.
- [11] Bi C, Cai Q, Shan Y, et al. Sevoflurane induces neurotoxicity in the developing rat hippocampus by upregulating connexin 43 via the JNK/c-Jun/AP-1 pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2018, 108: 1469-1476.
- [12] Liu J, Yang J, Xu Y, et al. Roscovitine, a CDK5 inhibitor, alleviates sevoflurane-induced cognitive dysfunction via regulation Tau/GSK3 $\beta$  and ERK/PPAR $\gamma$ /CREB signaling [J]. Cell Physiol Biochem, 2017, 44 (2): 423-435.

(收稿日期:2020-05-15)