

3'-大豆苷元磺酸钠对大鼠脑缺血再灌注损伤后 视网膜作用的影响

曾靖*, 黄志华, 李良东, 肖海
(赣南医学院, 江西 赣州 341000)

[摘要] **目的:**研究 3'-大豆苷元磺酸钠对大鼠脑缺血再灌注损伤后视网膜作用的影响。**方法:**采用 Longa 方法制备大鼠中动脉脑缺血再灌注损伤模型,一次性给予不同剂量 3'-大豆苷元磺酸钠(1.0,2.0 mg·kg⁻¹)舌下静脉注射。观察给药后脑梗死范围和脑组织含水量的影响。用夹闭大鼠一侧颈总动脉制备大鼠视网膜缺血模型。夹闭颈总动脉前,给药组分别舌下静脉注射不同剂量 3'-大豆苷元磺酸钠(1.0,2.0 mg·kg⁻¹)。观察对夹闭大鼠颈总动脉前及灌注后 1 h 眼底荧光血管造影和视网膜电流图的影响。**结果:**与模型组相比,1.0,2.0 mg·kg⁻¹的 3'-大豆苷元磺酸钠能显著降低脑组织含水量($P < 0.05$);与模型组比,1.0,2.0 mg·kg⁻¹的 3'-大豆苷元磺酸钠能使视网膜电流图振幅显著增加(3.72 ± 1.12) mV, $P < 0.05$; (4.87 ± 1.37) mV, $P < 0.01$, 峰潜时显著减少(49.1 ± 13.4) s, $P < 0.05$; (33.6 ± 12.5) s, $P < 0.01$; 与生理盐水组比,1.0,2.0 mg·kg⁻¹的 3'-大豆苷元磺酸钠能使眼底荧光血管造影视网膜动脉充盈时间显著减少(48.4 ± 6.7) s, $P < 0.05$; (35.7 ± 3.4) s, $P < 0.01$ 。**结论:**3'-大豆苷元磺酸钠对大鼠脑缺血再灌注损伤有明显的保护作用。3'-大豆苷元磺酸钠能扩张视网膜血管,对视网膜缺血再灌注损伤有明显的保护作用。

[关键词] 3'-大豆苷元磺酸钠; 脑缺血再灌注; 视网膜; 荧光血管造影; 视网膜电流图

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0197-04

[doi] 10.11653/syfy2013120197

Effects of 3'-daidzein Sulfonate Sodium on Retina after Ischemia-reperfusion Injury in Rats

ZENG Jing*, HUANG Zhi-hua, LI Liang-dong, XIAO Hai
(Gannan Medical College, Ganzhou 341000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of 3'-daidzein sulfonate sodium on retina after ischemia-reperfusion injury in rats. **Method:** Rat cerebral ischemia-reperfusion injury modeling was established by blocking arteria cerebri media, the size of cerebral infarction area and the content of brain water were compared before and after sublingual intravenous injection of normal saline, 1.0, 2.0 mg·kg⁻¹ of 3'-daidzein sulfonate sodium, respectively. Retinal ischemia was induced by clamping the common carotid artery unilaterally. Various doses of 3'-daidzein sulfonate sodium (1.0, 2.0 mg·kg⁻¹) was injected via the sublingual vein prior to clamping the common carotid artery, and the same volume of normal saline was administered to the model group in rats. The differences of fundus fluorescein angiography and electroretinogram (ERG) at 1 hour were observed before treating and 1 hour after reperfusion. **Result:** Cerebral infarction area and brain water content of 3'-daidzein sulfonate sodium (1.0, 2.0 mg·kg⁻¹) treating groups were significantly lower than it in model group. Compared with normal saline control groups, the amplitude of ERG increased while the peak latencies reduced significantly in 3'-daidzein sulfonate sodium (1.0, 2.0 mg·kg⁻¹) treating groups. The 3'-daidzein sulfonate sodium could also significantly shorten the refill time of fundus fluorescein angiography retinal artery. **Conclusion:** 3'-daidzein sulfonate sodium show significant protect effect on rat cerebral ischemia-reperfusion injury. 3'-daidzein sulfonate sodium can greatly dilate

[收稿日期] 20121207(015)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81160399)

[通讯作者] * 曾靖,教授,硕士研究生导师,从事心、脑血管药理及中药药理研究, Tel:0797-8269818, E-mail: zengjing61@hotmail.com

retinal vessels and protect it from suffering retinal ischemia-reperfusion injury.

[Key words] 3'-daidzein sulfonate sodium; ischemia-reperfusion; retina; Fluorescein angiography; electroretinogram

3'-大豆苷元磺酸钠 (3'-daidzein sulfonate sodium, DSS) 是中药葛根的主要有效成分大豆苷元进行结构修饰和改性的新合成的强水溶性物质, 结构式见图 1。本课题组的研究显示, 3'-大豆苷元磺酸钠具有耐缺氧^[1]、扩血管^[2]、抗心律失常作用^[3]及影响豚鼠离体右心房自律性及收缩特性^[4]。我们的研究亦显示, 3'-大豆苷元磺酸钠的前体大豆苷元对心肌缺血再灌注损伤具有保护作用^[5]。但关于 3'-大豆苷元磺酸钠对大鼠脑缺血再灌注损伤后视网膜作用的影响目前尚未见文献报道。本研究旨在探讨 3'-大豆苷元磺酸钠对大鼠脑缺血再灌注损伤后视网膜缺血再灌注损伤的保护作用。

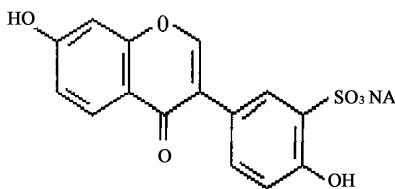


图 1 DSS 的结构式

1 材料

1.1 药品与试剂 3'-大豆苷元磺酸钠由沈阳药科大学植化教研室提供。实验前用生理盐水稀释至所需浓度, 用 NaHCO₃ 调 pH 至 7.0 备用。2,3,5-氯化三苯基四氮唑 (triphenyl tetrazolium chloride, TTC) 上海山浦化工有限公司产品, 批号 20080510。

1.2 动物 清洁级 SD 雄性大鼠 62 只, 体重 (300 ± 25) g, 由江西省中医学院实验动物中心提供。动物中心许可证号 SCXK (赣) 2005-0001。实验前动物在实验室适应 1 周, 温度 (25 ± 2) °C。

1.3 仪器 APS-2000 型视觉电生理仪 (重庆康华公司), CF-60UD 眼底血管荧光造影仪 (日本, 佳能)。

2 方法^[6-8]

2.1 分组与脑缺血再灌注损伤模型的制备 大鼠 32 只, 随机分成 4 组 (n = 8): 假手术组, 模型组, 1.0, 2.0 mg · kg⁻¹ 3'-大豆苷元磺酸钠组。大鼠用 10% 水合氯醛溶液 (3.0 mL · kg⁻¹) ip 麻醉后, 参照 Longa 等的方法制备大脑中动脉阻断模型, 将一尼龙线 (长 4 cm, 直径 0.2 mm) 经颈总动脉主干切口缓慢向颈内动脉入颅方向推进, 以颈总动脉分叉处为标记, 推进 18 ~ 20 mm 感到轻微阻力时, 即达到较

细的大脑前动脉, 阻断大脑中动脉的所有血液供应, 60 min 后, 拔出尼龙线并扎紧动脉残端, 缝合皮下组织和皮肤, 造成脑缺血再灌注损伤模型。假手术组大鼠只暴露和分离出颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉, 不闭塞大脑中动脉。术中严格控制室温在 23 ~ 25 °C。药物治疗组分别从舌下静脉注射不同剂量的 3'-大豆苷元磺酸钠, 假手术组和模型组给予同体积的生理盐水。

2.2 对脑缺血再灌注损伤大鼠脑梗死范围的影响 再灌注 24 h, 用上述方法麻醉并断头处死大鼠。取脑, 将前脑沿冠状面切成厚度基本相同的 5 片, 脑片置于 5 mL 2% TTC 染色溶液中, 37 °C 避光孵育 30 min。经染色后非缺血区呈玫瑰红色, 梗死区呈白色。

2.3 脑组织含水量测定 再灌注 24 h, 上述方法取前脑称湿重, 再将脑组织烘干 (105 °C × 24 h) 后称重, 按干湿重法, 计算脑组织含水量。脑组织含水量计算公式:

$$\text{脑组织含水量} = (\text{脑湿重} - \text{脑干重}) / \text{脑湿重} \times 100\%$$

2.4 脑缺血再灌注损伤后视网膜的影响 30 只大鼠随机分为 3 组: 模型组, 3'-大豆苷元磺酸钠组 1.0, 2.0 mg · kg⁻¹ 组。用 10% 水合氯醛 (3.0 mL · kg⁻¹) ip 麻醉后, 于颈部作皮肤切口, 分离皮下组织, 暴露左侧颈总动脉, 用专用金属夹夹闭左侧颈总动脉 1 h, 制备大鼠脑缺血模型。给药组与对照组在夹闭颈总动脉前分别舌下静脉注射 1.0, 2.0 mg · kg⁻¹ 3'-大豆苷元磺酸钠和等体积的生理盐水。在夹闭大鼠颈总动脉前及灌注后 1 h 分别行眼底荧光血管造影和视网膜电流图检查。

2.5 统计学分析方法 采用 SPSS 14.0 统计软件进行数据分析。各测量指标的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间各测定指标的总体比较采用单因素方差分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对脑缺血再灌注损伤时脑梗死范围及脑组织含水率的影响 与模型组比, 1.0, 2.0 mg · kg⁻¹ 3'-大豆苷元磺酸钠治疗组均能显著缩小脑梗死范围。模型组的含水量明显高于假手术组 (P < 0.01), 与模型组相比, 1.0, 2.0 mg · kg⁻¹ 的 3'-大豆苷元磺酸钠治疗后, 均能显著降低脑组织含水量 (P < 0.05)。与表 1。

表1 3'-大豆苷元磺酸钠对脑梗死范围的影响($\bar{x} \pm s, n=8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	脑梗死范围/%	脑组织含水率/%
假手术	-	0 ± 0	73.8 ± 1.8
模型	-	8.3 ± 1.5	76.8 ± 2.4
DSS	1.0	5.2 ± 1.1 ¹⁾	74.4 ± 2.1 ¹⁾
	2.0	1.3 ± 0.3 ²⁾	74.8 ± 1.9 ¹⁾

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$ (表2~3同)。

表2 3'-大豆苷元磺酸钠对夹闭颈总动脉前、后视网膜电流图的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	振幅/mV		峰潜时/s	
		缺血前	灌注后1h	缺血前	灌注后1h
模型	-	2.35 ± 0.67	2.54 ± 0.82	62.8 ± 15.7	69.5 ± 15.2
DSS	1.0	2.29 ± 0.71	3.72 ± 1.12 ¹⁾	60.3 ± 17.9	49.1 ± 13.4 ¹⁾
	2.0	2.56 ± 0.86	4.87 ± 1.37 ²⁾	63.6 ± 15.4	33.6 ± 12.5 ²⁾

3.3 对眼底荧光血管造影视网膜动脉充盈时间的影响 各组眼底照相和荧光血管造影显示,夹闭大鼠一侧颈总动脉后视网膜血管明显变细,血管痉挛,后极部视网膜色泽明显变淡,视乳头周围轻度水肿;给予3'-大豆苷元磺酸钠后视网膜血管痉挛明显恢复;视网膜动脉充盈时间明显缩短($P < 0.05, P < 0.01$)。见表3。

表3 3'-大豆苷元磺酸钠对眼底荧光血管造影视网膜动脉充盈时间的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	缺血前/s	灌注后1h/s
模型	-	52.3 ± 4.2	72.1 ± 5.5
DSS	1.0	50.5 ± 3.9	48.4 ± 6.7 ¹⁾
	2.0	53.8 ± 6.6	35.7 ± 3.4 ²⁾

4 讨论

视网膜缺血再灌注(RIR)损伤是指缺血性眼病患者的视网膜在恢复供血后,出现明显功能障碍,甚至发生不可逆性损伤,再灌注并不缓解细胞损伤,反而加剧了细胞死亡。

越来越多的研究表明,许多药物对视网膜急性缺血再灌注损伤具有保护作用。于亚男^[9]等研究发现牛磺酸通过抑制细胞膜表面的谷氨酸受体,而阻止谷氨酸引起的钙超载;还可激活细胞膜表面钙泵,使细胞内Ca²⁺泵出细胞或进入细胞内钙库。临床上常用的钙离子拮抗剂异博定、尼莫地平、倍他洛尔^[10-12]等能阻断Ca²⁺内流,扩张视网膜中央动脉,恢复视网膜的血液供应,使视网膜得到充足的营养,同时抑制钙超负荷,减轻对视网膜的损伤。贺玲^[13]等研究表明葛根素可通过提高视网膜组织中SOD活性,降低MDA含量,以及增加组织中nNOS表达,对大鼠实验性高眼压视网膜缺血-再灌注损伤有一

3.2 对视网膜电流图的影响 再灌注后1h与缺血前视网膜电流图A50波振幅及峰潜时比较:3'-大豆苷元磺酸钠能使视网膜电流图振幅显著增加($P < 0.05, P < 0.01$),峰潜时显著减少($P < 0.05, P < 0.01$),与生理盐水组比较具有显著性差异,见表2。

定的保护作用。

本文结果显示:采用阻断大鼠中动脉制备脑缺血再灌注损伤模型,给予不同剂量3'-大豆苷元磺酸钠。3'-大豆苷元磺酸钠对大鼠脑缺血再灌注损伤有明显的保护作用。同时夹闭大鼠一侧颈总动脉后,出现明显的视网膜缺血;给予3'-大豆苷元磺酸钠后视网膜血管痉挛明显减轻和恢复,视网膜动脉充盈时间明显缩短,与对照组相比差别具有显著统计学意义。所以,笔者认为,3'-大豆苷元磺酸钠对大鼠脑缺血再灌注损伤有明显的保护作用。同时对大鼠视网膜急性缺血再灌注损伤也具有明显保护作用。

[参考文献]

- [1] 曾靖,曾昭毅,黄志华,等.3'-大豆苷元磺酸钠的耐缺氧作用[J].中国临床康复,2005,10(23):130.
- [2] Li Liang-dong,Zeng Jing,Qiu Feng,et al.Effect of 3'-Daidzein sulfonate sodium on contractile of rabbit thoracic aortic strips[J].Drug Development Research,2005,66(3):243.
- [3] Ye He-Yang,Zhong Xin-min,Jing Zeng,et al.Effect of 3'-Daidzein sulfonate sodium as an antiarrhythmic agent[J].Drug Development Research,2005,66(3):235.
- [4] 曾靖,李良东,黄志华,等.3'-大豆苷元磺酸钠对豚鼠离体右心房自律性及收缩特性的影响[J].时珍国医国药,2007,18(7):1553.
- [5] 叶和杨,邱峰,曾靖,等.大豆苷元对大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J].中药药理与临床,2006,22(5):10.
- [6] 刘宗涛,刘江,李继斌,等.安宫牛黄丸对实验性大鼠脑缺血模型的影响[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(23):188.

金欣口服液对 RSV 感染 BALB/c 小鼠 IFN- α 表达的影响

梁晓鑫, 戴启刚, 汪受传*, 李佳曦, 孙寒丹
(南京中医药大学中医儿科研究所, 南京 210029)

[摘要] **目的:** 探讨金欣口服液对呼吸道合胞病毒(RSV)感染 BALB/c 小鼠干扰素- α (IFN- α)表达的影响。**方法:** 将 BALB/c 小鼠按 RSV 首次滴鼻至取标本时间分为三大组, 每组分别在 RSV 首次滴鼻后 24, 72, 144 h 后取支气管肺泡灌洗液(BALF), 用 ELISA 法检测 BALF 中所含 IFN- α 浓度, 观察金欣口服液对 IFN- α 表达的影响, 利巴韦林为阳性对照。**结果:** RSV 感染 24 h 后小鼠 BALF 中 IFN- α 的表达显著增高, 其中金欣预防组(385.38 ± 16.54) ng·L⁻¹能上调 IFN- α 的表达($P < 0.01$); RSV 感染 72 h 后小鼠 BALF 中 IFN- α 上调作用仍较显著, 但是较之于 24 h 时 IFN- α 的表达明显有所下降, 其中金欣治疗组(131.41 ± 6.96) ng·L⁻¹和金欣预防组(32.83 ± 4.77) ng·L⁻¹组均能上调 IFN- α 的表达($P < 0.01$), 且金欣治疗组上调作用更为明显($P < 0.01$); RSV 感染 144 h 后小鼠 BALF 中 IFN- α 的表达量显著减少($P < 0.01$), 金欣治疗组(14.21 ± 0.80) ng·L⁻¹下调 IFN- α 表达($P < 0.01$)。**结论:** 在 RSV 感染早期, 金欣口服液预防组和治疗组能显著上调 BALB/c 小鼠 IFN- α 的表达; 随着感染时间延长, IFN- α 表达下降, 金欣口服液能进一步下调其表达水平, 以促进机体恢复。

[关键词] 金欣口服液; 呼吸道合胞病毒; BALB/c 小鼠; 干扰素- α

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)12-0200-04

[doi] 10.11653/syjf2013120200

Regulation of Jinxin Oral Liquid on Expression of IFN- α in BALB/c Mice Infected by Respiratory Syncytial Virus

LIANG Xiao-xin, DAI Qi-gang, WANG Shou-chuan*, LI Jia-xi, SUN Han-dan

(Institute of Pediatrics of Chinese Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate regulation of Jinxin oral liquid on expression of interferon- α (IFN- α) in BALB/c mouse infected by respiratory syncytial virus (RSV). **Method:** BALB/c mice were divided into

[收稿日期] 20121026(007)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81072840); 江苏省研究生创新计划项目(CXZZ11_0773)

[第一作者] 梁晓鑫, 硕士研究生, 从事小儿呼吸系统疾病研究, E-mail: liangxx304@163.com

[通讯作者] *汪受传, 教授, 博士生导师, 从事小儿呼吸系统疾病研究, Tel: 025-86798182, E-mail: wscnj@126.com

- [7] 潘照斌, 李柒朝, 廖月娥, 等. 黄杞叶总黄酮对大鼠实验性脑缺血保护作用的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(5): 223.
- [8] Longa E Z, Weinstein P R, Carlsons, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20 (1): 84.
- [9] 于亚男, 李晓芳, 毕力夫, 等. 牛磺酸对大鼠视网膜缺血再灌注保护作用的实验研究[J]. 武警医学, 2006, 17(4): 276.
- [10] 李国栋, 姜德咏, 游志鹏, 等. 异博定对视网膜缺血再灌注损伤 ERG 的影响[J]. 实用医学杂志, 2004, 20 (4): 360.
- [11] 王应利, 孙乃学, 张磊, 等. 尼莫地平对兔视网膜缺血再灌注损伤保护作用的实验研究[J]. 眼科新进展, 2004, 24(1): 30.
- [12] 荣华, 艾明, 邢怡桥, 等. 倍他洛尔对实验性视网膜缺血再灌注损伤后视神经的保护作用[J]. 中华眼底病杂志, 2005, 21(4): 249.
- [13] 贺玲, 万新顺, 韩丽英, 等. 葛根素对实验性视网膜缺血再灌注损伤后视神经的保护作用[J]. 眼科新进展, 2006, 26(12): 135.

[责任编辑] 聂淑琴