

· 基础研究 ·

运动训练联合地黄多糖对脑缺血再灌注大鼠神经功能的影响

郭现军¹ 李哲² 蔡西国³¹驻马店市中心医院康复医学科, 驻马店 463000; ²郑州大学第五附属医院康复科, 郑州 450000; ³河南省人民医院康复科, 郑州 450000

通信作者: 蔡西国, Email: 1254841347@qq.com

【摘要】 目的 探讨运动训练联合地黄多糖对脑缺血再灌注大鼠神经功能恢复的影响及其作用机制。**方法** 选取 SD 大鼠 60 只, 采用随机数字表法在 60 只大鼠中取 10 只大鼠作为假手术组, 剩余 50 只均建立脑缺血再灌注损伤模型。将造模成功的 50 只大鼠采用随机数字表法分为模型组、运动训练组、地黄多糖 10 mg 组、地黄多糖 20 mg 组和地黄多糖 40 mg 组, 每组 10 只大鼠。模型组、假手术组和运动训练组大鼠均每日喂服生理盐水, 连续 6 周, 运动训练组在此基础上增加为期 6 周的运动训练, 地黄多糖 10 mg 组、地黄多糖 20 mg 组和地黄多糖 40 mg 组的运动方法同运动训练组, 但将生理盐水替换为对应剂量的地黄多糖。干预 6 周后, 评定 6 组大鼠神经功能缺损评分, 并采用 Morris 水迷宫实验对 6 组大鼠进行学习和记忆能力评价, 同时采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定 6 组大鼠血清中的白细胞介素 6 (IL-6)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平, 采用蛋白质定量 (BCA) 法测定蛋白含量, 采用硝酸还原酶法检测 NO 含量, 采用 ELISA 法检测 SOD 含量, 采用硫代巴比妥酸 (TBA) 法检测 MDA 含量, 采用蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测 NF- κ B 通路中磷酸化 p65 (p-p65)、磷酸化核因子 κ B 抑制蛋白 α (p-I κ B α) 蛋白的表达。**结果** 干预 6 周后, 模型组、运动训练组和 3 个地黄多糖干预组 (即地黄多糖 10 mg 组、地黄多糖 20 mg 组和地黄多糖 40 mg 组) 的神经功能缺损评分较假手术组均显著升高 ($P<0.05$)。与模型组比较, 运动训练组和 3 个地黄多糖干预组大鼠的神经功能缺损评分均显著降低 ($P<0.05$)。与运动训练组比较, 3 个地黄多糖干预组大鼠的神经功能缺损评分均显著降低 ($P<0.05$)。干预 6 周后, 模型组的学习能力潜伏期显著高于假手术组的 (60.32 ± 10.02) s, 记忆能力潜伏期亦显著低于假手术组的 ($P<0.05$)。运动训练组和 3 个地黄多糖干预组的学习能力潜伏期均显著低于模型组, 记忆能力潜伏期均显著高于模型组 ($P<0.05$)。且 3 个地黄多糖干预组的学习能力潜伏期均显著低于运动训练组, 记忆能力潜伏期均显著高于运动训练组 ($P<0.05$)。干预 6 周后, 模型组大鼠血清中的 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平均显著高于假手术组 ($P<0.05$)。与模型组比较, 运动训练组和 3 个地黄多糖干预组大鼠血清中的 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平均有不同程度的下降 ($P<0.05$)。3 个地黄多糖干预组大鼠血清中的 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平与运动训练组比较 ($P<0.05$)。干预 6 周后, 模型组大鼠的脑组织 SOD 活性较假手术组显著降低, 而其 NO 和 MDA 水平则显著升高 ($P<0.05$)。与模型组相比, 运动训练组和 3 个地黄多糖干预组大鼠的脑组织 SOD 活性均显著升高, NO、MDA 水平较模型组则显著降低 ($P<0.05$)。3 个地黄多糖干预组大鼠的脑组织 SOD 活性显著高于运动训练组, 其 NO、MDA 水平则显著低于运动训练组 ($P<0.05$)。干预 6 周后, 与假手术组比较, 模型组大鼠脑组织中的 p-p65、p-I κ B α 蛋白水平显著增加 ($P<0.05$); 与模型组比较, 运动训练组和 3 个地黄多糖干预组大鼠脑组织中的 p-p65、p-I κ B α 蛋白水平均显著降低 ($P<0.05$); 3 个地黄多糖干预组大鼠脑组织中的 p-p65、p-I κ B α 蛋白水平较运动训练组均显著降低 ($P<0.05$)。**结论** 运动训练联合地黄多糖可修复脑缺血再灌注大鼠的神经功能, 提高大鼠的学习和记忆能力, 其作用机制可能与运动训练联合地黄多糖可降低氧化应激反应、抑制 NF- κ B 通路激活和减缓炎症的进展有关。

【关键词】 地黄多糖; 运动训练; 脑缺血再灌注**基金项目:** 河南省医学科技攻关计划项目 (201806132)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.04.001

Exercise combined with rehmannia polysaccharide can restore neurological functioning after cerebral ischemia and reperfusionGuo Xianjun¹, Li Zhe², Cai Xiguo³¹Rehabilitation Medicine Department of Zhumadian Central Hospital, Zhumadian 463000, China; ²Rehabilitation Department of the Fifth Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, China; ³Rehabilitation Department of Henan People's Hospital, Zhengzhou 450000, China

Corresponding author: Cai Xiguo, Email: 1254841347@qq.com

[Abstract] Objective To explore the effect of combining exercise training with the administration of rehmanna polysaccharide on the recovery of neurological function after cerebral ischemia and reperfusion, and its mechanism. **Methods** Sixty Sprague-Dawley rats were randomly divided into a sham operation group, a model group, an exercise training group, a rehmanna polysaccharide 10mg group, a rehmanna polysaccharide 20mg group and a rehmanna polysaccharide 40mg group, each of 10. The cerebral ischemia-reperfusion injury model was induced in all of the rats except those of the sham operation group. After the modelling, the rats not receiving rehmanna polysaccharide were given normal saline solution daily for 6 weeks. The other rats received rehmanna polysaccharide at 10mg, 20mg or 40mg dosage as appropriate. All of the rats exercised. After the intervention, the 6 groups were evaluated through neurological deficit scoring, and their learning and memory ability was assessed using the Morris water maze test. The levels of interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in serum as well as superoxide dismutase (SOD) levels were measured using enzyme-linked immunosorbent assays. Protein, methylene dioxyamphetamine (MDA) and nitric oxide levels were detected using the bicinchoninic acid method, the nitrate reductase method and the thiobarbituric acid method respectively. Western blotting was used to detect the expression of phosphorylated p65 (p-p65) and phosphorylation of nuclear factor κ B inhibitor protein α (p-I κ B α). **Results** After 6 weeks of treatment the average neurological deficit scores of all groups except the sham operation group had improved significantly. Compared with the model group, the average neurological deficit scores of the training group and the drug groups had decreased significantly. Compared with the exercise training group, the average neurological deficit scores of the three rehmanna polysaccharide groups had decreased significantly. The average latency of the model group was at that point significantly longer than that of the sham operation group, while its memory ability was significantly weaker. However, the average learning latencies of the exercise training group and the 3 drug groups were significantly lower than that of the model group, while their memory was significantly better. The average learning latencies of the 3 drug groups were all significantly shorter than that of the exercise training group, while their memory was significantly better. After the 6 weeks of medication the average IL-6, IL-1 β and TNF- α levels of the model group were significantly higher than those of the other 5 groups. Those of the 3 drug groups were significantly different from that of the exercise training group. The average SOD activity in the brain tissue of the model group was significantly lower than that of the sham operation group, while the average levels of NO and MDA were significantly higher. Compared with the model group, the average SOD activity in the exercise group's brain tissue and that of the three rehmanna glutinosa groups had increased significantly, while the levels of NO and MDA had decreased significantly. The average SOD activity of the three drug groups was significantly higher than that of the exercise training group, while the average levels of NO and MDA were significantly lower. After 6 weeks of medication, compared with the sham operation group, the average levels of p-p65 and p-I κ B α protein in the brain tissue of the model group had increased significantly, while compared with the model group, the average levels of p-p65 and p-I κ B α protein in the exercise training group and the three drug groups had decreased significantly. Moreover, those levels in the three drug groups were significantly lower than in the exercise training group. **Conclusion** Combining exercise with polysaccharide administration can better restore neurological function after cerebral ischemia and reperfusion, at least in rats. It improves learning ability and memory, perhaps by reducing oxidative stress, inhibiting activation of the NF- κ B pathway, and slowing the inflammatory response.

[Key words] Rehmanna glutinosa polysaccharides; Exercise training; Cerebral ischemia; Reperfusion

Funding: A Medical Science and Technology Project of Henan Province (201806132)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2020.04.001

缺血性脑血管疾病是脑血管疾病中常见类型之一,在其治疗过程中易发再灌注损伤,研究表明,炎症反应、氧化应激反应等均与脑缺血再灌注损伤密切相关^[1]。目前的临床和基础研究多集中于氧化应激反应所造成的神经功能损伤^[2]。有研究表明,地黄具有养阴、生津、清热、凉血等作用,而地黄多糖属于地黄最为主要的有效成分,可发挥抗氧化、提高机体免疫力以及降血糖等功能^[3-5]。研究证明,脑卒中

后进行运动训练有助于患者运动功能和神经功能的恢复,促进其血管和神经的生成,并可抑制神经元细胞凋亡和炎症反应^[6-7]。目前,运动训练联合地黄多糖对脑缺血再灌注神经损伤的影响尚未阐明。本研究旨在探讨运动训练联合地黄多糖对脑缺血再灌注大鼠神经功能的影响,并分析其可能的作用机制,以期为提高缺血性脑血管疾病的临床治疗效果提供相关参考依据。

材料与方法

一、动物材料与主要试剂

健康雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 60 只, 体质量 200~220 g, 清洁级, 购自上海南方模式生物科技股份有限公司, 许可证号: SCXK(沪) 2016-0003。所有大鼠均自由饮食饮水, 12 h 光照/12 h 黑暗。兔抗鼠磷酸化 p65 (phospho-p65, p-p65)、磷酸化核因子 κ B 抑制蛋白 α (phospho-inhibitor of nuclear factor kappa-B α , p-I κ B α) 多克隆抗体均购自美国 Cell Signaling 公司; 白细胞介素 6 (interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α) 酶联免疫吸附 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、一氧化氮 (NO)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒均购自南京建成生物工程研究所; 总蛋白提取试剂盒与超敏化学发光试剂盒 (enhanced chemiluminescent, ECL) 均购自碧云天生物技术研究所。

二、大鼠脑缺血再灌注损伤模型的建立

将 60 只 SD 大鼠采用随机数字表法取 10 只大鼠作为假手术组, 剩余 50 只均建立脑缺血再灌注损伤模型, 在造模前先进行 3 d 的适应性跑台训练, 跑台速度设置为 5 m/min, 每日训练 1 次, 每次训练 15 min^[9]。适应性跑台训练结束后, 采用 10% 水合氯醛对所有大鼠进行腹腔麻醉, 术中分离左侧颈总动脉 (common carotid artery, CCA)、颈外动脉 (external carotid artery, ECA) 及颈内动脉 (internal carotid artery, ICA), 结扎左侧颈总动脉与颈外动脉并使用钳夹大鼠两侧颈总动脉, 同时用纱布覆盖切口创面 30 min, 松开动脉夹后使用线栓向内推进直至轻微阻力, 待线栓插入颈总动脉分叉处, 阻塞左侧大脑中动脉血流 90 min (假手术组不使用栓线阻塞血管, 其余步骤与造模大鼠相同), 最后对造模大鼠进行神经功能缺损评分, 评分高于 1 分视为造模成功^[8]。

三、实验分组和干预方法

将造模成功的 50 只大鼠采用随机数字表法分为模型组、运动训练组、地黄多糖 10 mg 组、地黄多糖 20 mg 组和地黄多糖 40 mg 组, 每组 10 只大鼠。

模型组、假手术组和运动训练组大鼠均喂服 40 mg/kg 体重的生理盐水, 每日 1 次, 连续 6 周。运动训练组在此基础上增加运动训练, 跑台速度为 5 m/min, 每日训练 1 次, 每次训练 15 min, 连续训练 6 周。

地黄多糖 10 mg 组、地黄多糖 20 mg 组和地黄多糖 40 mg 组的运动方法同运动训练组, 但将生理盐

水换成对应剂量的地黄多糖, 即地黄多糖 10 mg 组每日喂服 10 mg/kg 体重的地黄多糖, 每日 1 次, 连续 6 周; 地黄多糖 20 mg 组每日喂服 20 mg/kg 体重的地黄多糖, 每日 1 次, 连续 6 周; 地黄多糖 40 mg 组每日喂服 40 mg/kg 体重的地黄多糖, 每日 1 次, 连续给药 6 周^[10]。

四、神经功能缺损评分评定

干预 6 周后, 对 6 组大鼠进行神经功能缺损评分, 采用 Longa 评分法, 具体评分标准: 无神经功能缺损症状记为 0 分, 轻微神经功能缺损且左侧前爪不能完全伸展记为 1 分, 中度局灶性神经功能缺损且大鼠向左侧转圈记为 2 分, 大鼠向左侧倾倒且出现重度局灶性神经功能缺损记为 3 分, 大鼠意识水平降低且不能自主行走记为 4 分^[11]。

五、迷宫实验

干预 6 周后, 检测 6 组大鼠的学习能力和记忆能力, 采用大鼠定位航行试验记录大鼠从游泳池到平台的潜伏期 (即学习能力潜伏期), 采用跳台试验进行重复测量训练检测大鼠刺激后回避反应的时间 (即记忆能力潜伏期)^[12]。

六、检测大鼠血清中 IL-6、IL-1 β 和 TNF- α 水平

干预 6 周后, 采集 6 组大鼠腹主动脉血液, 经离心后分离血清, 根据 ELISA 试剂盒说明书检测各组大鼠血清 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平, 严格按照试剂盒说明书进行操作。

七、检测大鼠脑组织中 SOD、NO 和 MDA 水平

以上检测和评定结束后, 6 组大鼠断头取脑, 使用生理盐水冲洗缺血脑组织, 滤纸吸干后称重, 加入生理盐水制备脑组织匀浆, 采用二喹啉甲酸法 (bicinchoninic acid, BCA) 测定蛋白含量, 使用硝酸还原酶法检测 NO 含量, 采用 ELISA 法检测 SOD 含量, 硫代巴比妥酸 (thiobarbituric acid, TBA) 法检测 MDA 含量, 严格按照试剂盒说明书进行操作。

八、检测脑组织中核因子- κ B 通路 p-p65 和 p-I κ B α 蛋白表达

采用蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测脑组织中核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 通路 p-p65、p-I κ B α 蛋白表达, 分别取 6 组大鼠缺血侧脑组织皮质, 加入放射免疫沉淀 (radio immunoprecipitation assay, RIPA) 裂解液提取组织总蛋白, 采用 BCA 法定量蛋白, 取蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (sodium dodecyl sulfate- polyacrylamide gelelectrophoresis, SDS-PAGE) 电泳分离蛋白, 将分离的蛋白凝胶转移至聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene fluoride, PVDF) 膜, 室温条件下使用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 分别加入蛋白抗体 (1: 500), 4 $^{\circ}$ C 条件下孵育 24 h,

TBST 洗膜,加入辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的二抗 (1 : 2000),室温孵育 2 h,吐温-20 羟甲基氨甲烷缓冲盐溶液 (tris buffered saline withtween20,TBST) 洗膜,增强型化学发光试剂 (electrochemiluminescence,ECL) 显影后置于凝胶成像系统,应用 Quantity One 软件分析各蛋白条带灰度值。

九、统计学处理

采用统计学软件 SPSS 21.0 版分析数据,计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、6 组大鼠神经功能缺损评分比较

干预 6 周后,模型组、运动训练组、地黄多糖 10 mg 组、地黄多糖 20 mg 组和地黄多糖 40 mg 组的神经功能缺损评分较假手术组均显著升高,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。与模型组比较,运动训练组、地黄多糖 10 mg 组、地黄多糖 20 mg 组和地黄多糖 40 mg 组大鼠的神经功能缺损评分均显著降低,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。与运动训练组比较,地黄多糖 10 mg 组、地黄多糖 20 mg 组和地黄多糖 40 mg 组大鼠的神经功能缺损评分均显著降低,差异均有统计学意义 ($P<0.05$),详见表 1。

表 1 6 组大鼠神经功能缺损评分、学习能力和记忆能力潜伏期比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	神经功能缺损评分 (分)	学习能力潜伏期 (s)	记忆能力潜伏期 (s)
假手术组	10	0	60.32±10.02	135.26±20.37
模型组	10	1.87±0.42 ^a	98.67±15.54 ^a	80.34±11.36 ^a
运动训练组	10	1.58±0.35 ^{ab}	81.36±8.03 ^b	96.31±12.07 ^b
地黄多糖 10 mg 组	10	1.35±0.13 ^{abc}	70.16±6.18 ^{bc}	110.32±16.49 ^{bc}
地黄多糖 20 mg 组	10	1.32±0.10 ^{abc}	68.31±5.78 ^{bc}	120.34±17.45 ^{bc}
地黄多糖 40 mg 组	10	1.02±0.08 ^{abc}	63.18±9.24 ^{bc}	130.21±10.71 ^{bc}

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与运动训练组比较,^c $P<0.05$

二、6 组大鼠迷宫空间学习记忆能力比较

干预 6 周后,模型组的学习能力潜伏期显著高于假手术组,记忆能力潜伏期显著低于假手术组,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。运动训练组、地黄多糖 10 mg 组、地黄多糖 20 mg 组和地黄多糖 40 mg 组的学习能力潜伏期均显著低于模型组,记忆能力潜伏期均显著高于模型组,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。且地黄多糖 10 mg 组、地黄多糖 20 mg 组和地黄多糖 40 mg 组的学习能力潜伏期均显著低于运动训练组,记忆能力潜伏期均显著高于运动训练组,差异均有统计学意义 ($P<0.05$),详见表 1。

三、6 组大鼠血清中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平比较
干预 6 周后,模型组大鼠血清中的 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平均显著高于假手术组,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。与模型组比较,运动训练组、地黄多糖 10 mg 组、地黄多糖 20 mg 组和地黄多糖 40 mg 组大鼠血清中的 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平均有不同程度的下降,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。地黄多糖 10 mg 组、地黄多糖 20 mg 组和地黄多糖 40 mg 组大鼠血清中的 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平与运动训练组比较,均显著降低,差异均有统计学意义 ($P<0.05$),详见表 2。

表 2 6 组大鼠血清中 IL-6、IL-1 β 、TNF- α 水平比较 (ng/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	只数	IL-6	IL-1 β	TNF- α
假手术组	10	245.36±20.41	472.36±24.19	342.11±34.37
模型组	10	1242.58±124.34 ^a	1128.49±63.78 ^a	896.48±89.78 ^a
运动训练组	10	952.34±95.13 ^b	826.37±28.12 ^b	703.49±70.39 ^b
地黄多糖 10 mg 组	10	785.12±78.68 ^{bc}	712.49±12.37 ^{bc}	612.64±61.12 ^{bc}
地黄多糖 20 mg 组	10	616.49±62.37 ^{bc}	613.18±11.47 ^{bc}	516.54±51.24 ^{bc}
地黄多糖 40 mg 组	10	412.37±41.03 ^{bc}	516.78±10.89 ^{bc}	410.10±41.26 ^{bc}

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与运动训练组比较,^c $P<0.05$

四、6 组大鼠脑组织中 SOD、NO、MDA 水平比较

干预 6 周后,模型组大鼠的脑组织 SOD 活性较假手术组显著降低,而其 NO 和 MDA 水平则显著升高,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。与模型组相比,运动训练组、地黄多糖 10 mg 组、地黄多糖 20 mg 组和地黄多糖 40 mg 组大鼠的脑组织 SOD 活性均显著升高,NO、MDA 水平较模型组则显著降低,差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。地黄多糖 10 mg 组、地黄多糖 20 mg 组和地黄多糖 40 mg 组大鼠的脑组织 SOD 活性显著高于运动训练组,其 NO、MDA 水平则显著低于运动训练组,差异均有统计学意义 ($P<0.05$),详见表 3。

表 3 6 组大鼠脑组织中 SOD、NO、MDA 水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

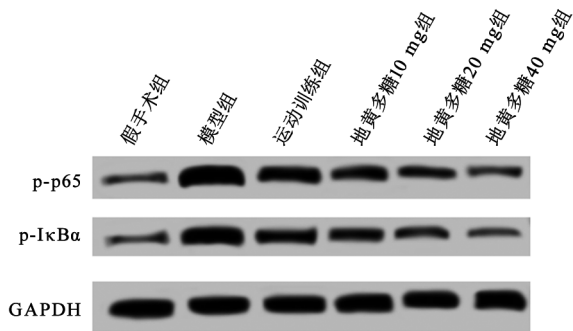
组别	只数	SOD (U/mg)	MDA (nmol/mg)	NO (μ mol/mg)
假手术组	10	35.91±2.12	4.82±0.68	2.01±0.13
模型组	10	12.41±2.02 ^a	15.84±2.05 ^a	5.98±0.56 ^a
运动训练组	10	15.85±1.06 ^b	11.83±2.11 ^b	4.62±0.21 ^b
地黄多糖 10 mg 组	10	20.08±1.92 ^{bc}	9.30±0.62 ^{bc}	3.58±0.31 ^{bc}
地黄多糖 20 mg 组	10	26.31±2.34 ^{bc}	8.21±1.09 ^{bc}	3.01±0.16 ^{bc}
地黄多糖 40 mg 组	10	30.51±3.32 ^{bc}	6.14±0.58 ^{bc}	2.69±0.11 ^{bc}

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与运动训练组比较,^c $P<0.05$

五、6 组大鼠脑组织中 NF- κ B 通路相关蛋白表达

干预 6 周后,与假手术组比较,模型组大鼠脑组织中的 p-p65、p-I κ B α 蛋白水平显著增加,差异均有统计学意义 ($P<0.05$);与模型组比较,运动训练组、地黄多糖 10 mg 组、地黄多糖 20 mg 组和地黄多糖

40 mg 组大鼠脑组织中的 p-p65、p-IκBα 蛋白水平均显著降低,差异均有统计学意义 ($P<0.05$);地黄多糖 10 mg 组、地黄多糖 20 mg 组和地黄多糖 40 mg 组大鼠脑组织中的 p-p65、p-IκBα 蛋白水平较运动训练组均显著降低,差异均有统计学意义 ($P<0.05$),详见图 1 和表 4。



注: GAPDH 为甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase)

图 1 各组大鼠脑组织中 NF-κB 通路相关蛋白表达

表 4 各组大鼠脑组织中 NF-κB 通路相关蛋白表达 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	p-p65	p-IκBα
假手术组	10	0.43±0.04	0.48±0.03
模型组	10	1.65±0.12 ^a	1.42±0.12 ^a
运动训练组	10	1.21±0.06 ^b	0.96±0.10 ^b
地黄多糖 10 mg 组	10	1.01±0.05 ^{bc}	0.81±0.13 ^{bc}
地黄多糖 20 mg 组	10	0.75±0.11 ^{bc}	0.69±0.15 ^{bc}
地黄多糖 40 mg 组	10	0.54±0.09 ^{bc}	0.51±0.10 ^{bc}

注:与假手术组比较,^a $P<0.05$;与模型组比较,^b $P<0.05$;与运动训练组比较,^c $P<0.05$

讨 论

脑部缺血性疾病具有极高的发病率和死亡率,且严重威胁人类生命安全,早期治疗时可使用溶栓类药物恢复脑组织供血,但脑缺血后再灌注损伤会加重组织损伤的程度^[13-14]。因此,积极寻找治疗脑缺血再灌注损伤的新型药物及适宜治疗方法对恢复患者神经功能具有重要意义。

本研究结果显示,脑缺血再灌注损伤大鼠的神经功能缺损评分显著高于假手术组,经运动训练后,大鼠的神经功能缺损评分显著改善,而运动训练与地黄多糖联合干预的疗效亦显著优于单纯的运动训练。有研究表明,地黄多糖可通过改善抗氧化酶活性而抑制氧化应激损伤进而改善心肌缺血再灌注大鼠的氧化损伤程度,还可对脑缺血再灌注损伤大鼠发挥保护作用^[15]。彭辉等^[16]的研究表明,地黄多糖可通过抑制小鼠心肌细胞氧化应激损伤及调控细胞凋亡相关蛋白表达进而有效保护心肌细胞。本研究结果提示,运动

训练与地黄多糖应用可显著改善脑缺血再灌注损伤大鼠的神经功能,且使其学习与记忆能力均显著提高,这与相关文献报道相似^[17]。本研究进一步探究了其可能作用机制,结果发现,运动训练联合地黄多糖可显著降低脑缺血再灌注损伤大鼠大鼠血清中 IL-6、IL-1β、TNF-α 的水平,这也与相关文献报道结果相似^[18]。该结果说明,运动训练联合地黄多糖可明显缓解脑缺血再灌注大鼠体内炎症反应。提示运动训练联合地黄多糖可能通过抑制脑缺血再灌注大鼠炎症反应进而恢复受损的神经细胞功能。

本研究结果还显示,大鼠缺血再灌注后的 SOD 活性显著降低,MDA 和 NO 含量显著升高,经运动训练联合地黄多糖干预后,SOD 活性显著升高,MDA 和 NO 含量则显著降低。有研究表明,SOD 属于抗氧化酶类并可清除体内氧自由基,MDA 含量越高表示机体氧化损伤程度越严重,脑缺血再灌注损伤过程中,NO 含量的持续性增加可诱导神经细胞凋亡,进而加重机体氧化损伤程度^[19]。本研究结果提示,运动训练联合地黄多糖可明显减轻氧化损伤程度,并保护神经细胞。NF-κB 通路可调节机体炎症反应或氧化应激反应,机体处理炎症状态时可促使 p65 与 IκBα 磷酸化,进而加重机体炎症反应^[20]。炎症、氧化应激与脑缺血再灌注损伤密切相关,NF-κB 通路激活可促进炎症反应恶性循环^[21]。本研究结果显示,脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织中 p-p65、p-IκBα 蛋白水平均显著增加,而运动训练联合地黄多糖可显著降低 p-p65、p-IκBα 蛋白水平,提示运动训练联合地黄多糖可能通过抑制 NF-κB 通路激活来降低炎症因子的释放,并有效地减缓氧化应激反应,对受损的神经细胞发挥保护作用。

综上所述,运动训练联合地黄多糖可修复脑缺血再灌注损伤大鼠的神经功能,并提高其学习和记忆能力,有效地改善大鼠脑缺血再灌注对脑组织的损伤程度,其作用机制可能与运动训练联合地黄多糖可抑制氧化应激反应和抑制 NF-κB 通路激活,从而降低炎症反应程度有关。目前,关于运动训练联合地黄多糖在临床脑缺血再灌注损伤治疗中的作用尚未明确,仍需进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 崔玉环,董利平,赵宝民,等. 柴胡皂苷 d 联合黄芩苷对脑缺血再灌注损伤大鼠抗氧化酶的影响[J]. 河北北方学院学报(自然科学版), 2017, 33(2): 11-14. DOI: 10.3969/j.issn.1673-1492.2017.02.002.
- [2] 丁娜,黄月,田龙. miRNA-210-3p 对缺氧诱导海马神经细胞 HT22 凋亡的影响[J]. 郑州大学学报(医学版), 2019, 54(2): 275-279. DOI: 10.13705/j.issn.1671-6825.2018.08.103.
- [3] 李更生,于震王,慧森. 地黄化学成分与药理研究进展[J]. 国际

- 中医中药杂志, 2004, 26(2): 74-78. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4246.
- [4] 李文波. 酶-超声提取地黄多糖及其抗氧化性研究[J]. 德州学院学报, 2009, 25(4): 46-50. DOI: 10.3969/j.issn.1004-9444.2009.04.014.
- [5] 杨兵, 夏先林, 施晓丽, 等. 熟地黄多糖对断奶仔猪抗氧化性能和免疫性能的影响[J]. 江苏农业学报, 2012, 28(4): 787-791. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4440.2012.04.019.
- [6] 韩超, 王强, 蔡明珠. 强化运动治疗对脑卒中偏瘫患者上肢功能恢复的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2011, 33(5): 377-379. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2011.05.018.
- [7] Michelini LC, Stern JE. Exercise-induced neuronal plasticity in central autonomic networks: role in cardiovascular control[J]. Exp Physiol, 2009, 94(9): 947-960. DOI: 10.1113/expphysiol.2009.047449.
- [8] 刘丽, 赵玲, 李林. 二苯乙炔苷对慢性脑缺血致痴呆模型大鼠的保护作用[J]. 中国药理学杂志, 2006, 41(5): 354-356. DOI: 10.3321/j.issn:1001-2494.2006.05.012.
- [9] 高晶晶, 王玉阳, 石浩, 等. 强化运动训练对脑缺血再灌注大鼠神经功能恢复及 kalirin-7 表达的影响[J]. 中华物理医学与康复杂志, 2015, 37(6): 406-410. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2015.06.002.
- [10] 彭辉. 地黄多糖对心肌缺血再灌注损伤模型大鼠心肌细胞凋亡的影响[J]. 国际中医中药杂志, 2016, 38(10): 918-921. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4246.2016.10.015.
- [11] 何前松, 况时祥, 王少峡, 等. 丹参多酚酸对脑缺血再灌注损伤糖尿病大鼠神经功能及微管相关蛋白 2 表达的影响[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2015, 24(10): 877-881. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-6554.2015.10.004.
- [12] 肖坤. 地黄饮子汤对大鼠脑缺血再灌注损伤的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2018, 16(11): 1502-1504. DOI: 10.12102/j.issn.1672-1349.2018.11.009.
- [13] 赵会颖, 杨永刚, 张建平, 等. 无创性延迟肢体缺血预适应对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 河北医科大学学报, 2017, 38(11): 1244-1247. DOI: 10.3969/j.issn.1007-3205.2017.11.002.
- [14] 李郑琛, 贾英萍, 王媛, 等. 右美托咪定后处理对大鼠脑缺血再灌注损伤组织的保护作用[J]. 郑州大学学报(医学版), 2019, 54(3): 439-442. DOI: 10.13705/j.issn.1671-6825.2018.08.087.
- [15] 朱敏丰. 地黄多糖对局灶性脑缺血小鼠线粒体过氧化损伤的影响[J]. 中药药理与临床, 2015, 31(2): 40-43. DOI: CNKI: SUN: ZYYL.0.2015-02-015.
- [16] 彭辉, 张华龙. 地黄多糖对乳鼠心肌细胞缺氧/复氧损伤后氧化应激和细胞凋亡的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(23): 155-160. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.2016230155.
- [17] 廖杨平, 程道宾, 苏丽, 等. 运动训练对大鼠脑缺血再灌注后神经修复及 GAP-43 和 Neurocan 表达的影响[J]. 中风与神经疾病杂志, 2011, 28(4): 303-306. DOI: 10.7666/d.Y3250813.
- [18] 刘亭, 刘香香, 陈亭亭, 等. 灯盏细辛和赤芍配伍组方对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用及对 NF- κ B 通路的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2018, 24(9): 111-115. DOI: 10.13422/j.cnki.syfjx.20180930.
- [19] 万浩芳, 万海同, 周惠芬, 等. 大黄总蒽醌提取物对脑缺血再灌注损伤的保护作用及其机制[J]. 中成药, 2018, 40(4): 771-776. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2018.04.002.
- [20] Cao L, Li R, Chen X, et al. Neogonin a inhibits lipopolysaccharide induced inflammatory responses via downregulation of the NF- κ B signaling pathway in RAW 264.7 Macrophages[J]. Inflammation, 2016, 39(6): 1939-1948. DOI: 10.1007/s10753-016-0429-9.
- [21] 王萍, 张密霞, 庄朋伟, 等. 脑缺血再灌注损伤的炎症反应机制研究进展[J]. 天津中医药大学学报, 2014, 33(5): 317-320. DOI: 10.11656/j.issn.1673-9043.2014.05.17.

(修回日期: 2020-03-16)

(本文编辑: 阮仕衡)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对论文中实验动物描述的要求

根据国家科学技术部 1988 年颁布的《实验动物管理条例》和卫生部 1998 年颁布的《医学实验动物管理实施细则》,《中华物理医学与康复杂志》对论文中有关实验动物的描述,要求写清楚以下事项:①品种、品系及亚系的确切名称;②遗传背景或其来源;③微生物检测状况;④性别、年龄、体重;⑤质量等级及合格证书编号;⑥饲养环境和实验环境;⑦健康状况;⑧对实验动物的处理方式。

医学实验动物分为四级:一级为普通级;二级为清洁级;三级为无特定病原体(SPF)级;四级为无菌级。卫生部课题及研究生毕业论文等科研实验必须应用二级以上的实验动物。