

枸杞多糖对血管性痴呆小鼠脑组织 BDNF 表达的影响

孙屹 朱程滢 向勤*

(长沙医学院 湖南长沙 410219)

摘要: 目的 探讨枸杞多糖对血管性痴呆小鼠脑组织 BDNF 表达的影响。方法 挑选雌性 KM 小鼠 60 只, 将造模成功的小鼠随机分为假手术组(生理盐水 10uL/g)、模型组(生理盐水 10uL/g)、LBP_s 组(400ug/g), 每组 20 只。给药 4 周后, 采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法检测 BDNF 测定及 RT-PCR 方法检测脑组织 BDNF mRNA 表达。结果 连续给药 4 周后, 与模型组相比 LBP_s 组显示, BDNF 及 BDNF mRNA 表达相对含量明显增强, 两组比较差异有统计学意义(P < 0.05)。结论 LBP_s 促进 VaD 模型小鼠 BDNF 的含量, 在修复和保护受损的神经元, 减轻脑缺血损伤的同时, 对神经退行性疾病具有预防作用。

关键词: 枸杞多糖; 血管性痴呆; 小鼠; BDNF 表达

枸杞为茄科落叶灌木植物枸杞的成熟果实^[1]。《本草纲目》记载:“枸杞, 补肾生精, 养肝, 明目, 强筋骨, 去疲劳, 易颜色, 变白, 明目安神, 令人长寿”。

枸杞含有糖类、氨基酸、微量元素、生物碱类、无机盐等多种化学成分, 其中枸杞多糖(Lycium barbarum Polysaccharide, LBP_s)是发挥药理作用的主要活性成分^[2]。

血管性痴呆(vascular dementia, VaD)是一种由脑血管因素引起的以高级皮层功能减退为主要表现的痴呆综合征, 是最常见的痴呆类型之一^[3]。研究表明^[4], 亚洲地区 65 岁以上人群中痴呆的患病率约为 5%, 而血管性痴呆占痴呆患者的 20%左右。目前, 有关血管性痴呆的发病机制尚未明确, 而有关其临床科研设计方面的动物模型亦无统一标准^[5]。因此, 本文构建 VaD 小鼠模型, 探讨枸杞多糖对血管性痴呆小鼠脑组织 BDNF 表达的影响。

1 动物与方法

1.1 实验动物及主要材料

挑选雌性 KM 小鼠 60 只, 清洁级, 8 周龄, 体质量 20 ~ 22 g, 小鼠饲养于长沙医学院动物实验室。温度 22 ~ 25 °C, 相对湿度 40% ~ 70%, 12 h 日夜交替照明。本研究项目中动物实验方案经长沙医学院实验动物使用与管理委员会审核批准。主要材料:LBP_s、BDNF 测定试剂盒、离心机、低温冰箱。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组

将 60 只小鼠随机分为假手术组给予生理盐水 15uL/g, 模型组给予生理盐水 15uL/g, LBP_s 组给予 400ug/g 计算, 每组 20 只。

1.2.2 VaD 小鼠模型制备

参考李巍^[6]等方法建模。各组手术后第 1 天均以腹腔注射方式给药(按体质量 10uL/g), 每日腹腔注射 1 次, 连续给药 4 周。

1.2.3 标本制作

制备 10%脑匀浆的、离心、取上层清液、-20°C冰箱保存待测。

1.3 检测指标

1.3.1 BDNF 测定:采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法^[7]。

1.3.2 BDNF mRNA 表达检测:采用 RT-PCR 方法检测脑组织 BDNF mRNA 表达^[8]。

1.4 统计学处理

应用 SPSS 23.0 软件包进行统计学处理。

2 结果

2.1 各组 VaD 模型小鼠脑组织中 BDNF 水平

连续给药 4 周后, 与模型组相比 LBP_s 组显示, BDNF 的表达明显增强, 两组比较差异有统计学意义(P < 0.05)。具体见表 1, 图 1。

表 1 各组 VaD 模型小鼠脑组织中 BDNF 水平比较 (x ± s)

组别	例数	BDNF (ng/g.prot)
假手术组	20	495.32 ± 81.08
模型组	20	795.77 ± 81.31
LBP _s 组	20	958.24 ± 175.84

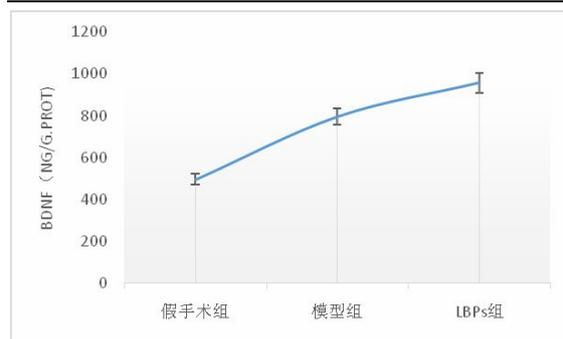


图 1 小鼠脑组织中 BDNF 水平趋势

2.2 各组小鼠脑组织 BDNF mRNA 表达水平

连续给药 4 周后, 与模型组相比 LBP_s 组 BDNF mRNA 表达相对含量明显增强, 两组比较差异有统计学意义(P < 0.05)。具体见表 2, 图 2。

表 2 各组小鼠脑组织 BDNF mRNA 表达水平比较 (x ± s)

组别	例数	BDNF mRNA
假手术组	20	0.249 ± 0.038
模型组	20	0.476 ± 0.071
LBP _s 组	20	0.780 ± 0.066

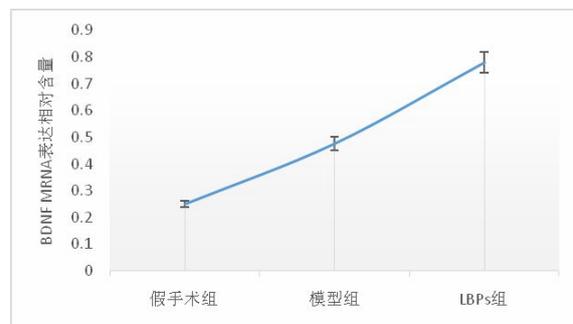


图 2 小鼠脑组织 BDNF mRNA 表达趋势

3 讨论

VaD 的发病机制虽尚未完全明确, 但有研究报道, 脑源性神经营养因子 (BDNF) 是由脑组织合成的多肽激素^[9]。BDNF 是第 2 种被鉴定的神经营养家族成员, 在神经系统的发育、功能维持和神经元群的形成以及脑损伤后神经干细胞(neural

(下转第 74 页)

(上接第 70 页)

stem cells NSC)的增殖、分化和移行等方面起着重要作用^[10]。BDNF 缺乏开始于 VaD 早期,最终导致其晚期神经元变性、细胞死亡和胆碱能神经传递丧失^[11]。BDNF 与学习记忆过程密切相关,分布于中枢神经系统之内,可通过多条信号途径在神经发育过程中促进分化、存活,从而保护神经元改善病理状态^[12]。冯云^[13]研究表明,LBPs 对癫痫模型大鼠进行干预后,大鼠海马齿状回颗粒层溴脱氧尿嘧啶核苷(BrdU)阳性细胞数、微管相关蛋白-2(MAP-2)和神经元核抗原(NeuN)阳性神经元细胞表达均出现一定改善,具有较好的神经保护作用;此外,LBPs 有显著保护高眼压大鼠模型的视网膜神经节细胞的作用,其作用可能是 LBPs 通过调节小神经胶质细胞(脑巨噬细胞)的活性而实现对视力的保护有关^[14]。本研究显示,与模型组相比 LBPs 组干预后,BDNF 的表达明显增强,两组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),提示 LBPs 促进 VaD 模型小鼠 BDNF 的含量,在修复和保护受损的神经元,减轻脑缺血损伤的同时,对神经退行性疾病具有预防作用。

参考文献:

[1]王生琳,宰清勇,陈华国等.5 种枸杞多糖生物活性的比较研究[J/OL].中国中药杂志:1-15[2023-11-04].<https://doi.org/10.19540/j.cnki.cjcm.20231025.301>.

[2]朱利威,张树墩,焦震.枸杞多糖缓解新生大鼠缺血缺氧性脑损伤的作用机制研究[J].中西医结合心脑血管病杂志,2023,21(17):3165-3169.

[3]卓桂锋,陈炜,朱健敏等.血管性痴呆铜死亡关键差异基因的生物信息学分析及防治中药筛选[J/OL].中草药:1-10[2023-11-04].<http://kns.cnki.net/kcms/detail/12.1108.R.20231101.1351.006.html>.

[4]赵见文.血管性痴呆概述[J].人人健康,2023(09):23.

[5]王家兴,聂皎.血管性痴呆的中医研究进展[J].内蒙古中医

药,2023,42(02):140-143.DOI:10.16040/j.cnki.cn15-1101.2023.02.017.

[6]李巍,姜立刚,徐忠信,等.实验性血管性痴呆小鼠中枢神经系统细胞凋亡与迟发型神经元坏死.中国组织工程研究,2005,9(28):133-135.

[7]莲花,麻春杰,呼日乐巴根等.额尔敦-乌日勒对 MCAO/R 大鼠脑前额叶皮质 BDNF 及 NGF 表达的影响[J].世界科学技术-中医药现代化,2016,18(07):1212-1218.

[8]吴彦,孙建宁,石任兵等.黄连解毒汤有效部位对多发性脑梗塞大鼠大脑 BDNF 与 trkB mRNA 表达的影响[C]//中国药理学学会.第十一届全国神经药理学学术会议论文摘要集.[出版者不详],2004:1.

[9]廖梓亘,陈慧.丁苯酞在大鼠脑缺血-再灌注损伤中的神经保护机制的研究.中南医学科学杂志,2016,44(3):275-278.

[10]张任飞,肖诗柔.神经营养素家族类细胞因子对神经干细胞分化影响的研究现状[J].中国科技信息,2011(02):176-178.

[11]Huang X W, Li H, Qin DL, et al. The model of VD rats was established by the method of ligation bilateral common carotid artery at two times. Chin J Gerontol,2010,30(14):2006-2007.

[12]Arnaoutoglou N A, Arnaoutoglou M, Nemtsas P, et al. Color perception differentiates Alzheimer's Disease (AD) from Vascular Dementia (VaD) patients. International Psychogeriatrics, 2017, 29(8):1

[13]冯云,刘津,唐海丹,等.枸杞多糖对癫痫大鼠神经的保护作用及机制.中国老年学杂志,2017,37:6036-6038.

[14]彭涛,于丹丹,谢美娜等.黄芪多糖对高眼压大鼠视网膜神经节细胞凋亡的影响[J].中国临床药理学杂志,2020,36(10):1344-1346.DOI:10.13699/j.cnki.1001-6821.2020.10.047.