

本文引用: 范红娟, 康凯宁, 安伟乔, 等. 芹菜素通过激活 Nrf2/HO-1 通路改善血管性痴呆大鼠的认知功能[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(5): 383-390. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2023.05.003.

[文章编号] 1007-3949(2023)31-05-0383-08

· 实验研究 ·

芹菜素通过激活 Nrf2/HO-1 通路改善血管性痴呆大鼠的认知功能

范红娟¹, 康凯宁², 安伟乔¹, 陈彦辉³

(1. 邯郸市中心医院老年病一科, 2. 邯郸市中心医院保健科, 河北省邯郸市 056000;
3. 唐山曹妃甸医院急诊科, 河北省唐山市 063000)

[摘要] **[目的]** 研究芹菜素(APG)对血管性痴呆(VD)大鼠认知功能的保护作用及机制。**[方法]** 通过结扎双侧颈总动脉复制 VD 大鼠模型, 设置假手术组、模型组、APG 低剂量组、APG 高剂量组和尼莫地平(NMP)组, 每组 30 只。APG 低剂量组、高剂量组分别 1 次/天腹腔注射 20、40 mg/kg APG, NMP 组 1 次/天腹腔注射 2 mg/kg NMP, 假手术组和模型组给予生理盐水, 疗程 28 天。Morris 水迷宫实验检测大鼠的认知功能, HE 染色和 TUNEL 染色观察海马体 CA1 区神经元病理特点和凋亡状况, 通过电子显微镜观察神经元超微结构变化, 分光光度法检测海马体丙二醛(MDA)含量和超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性; RT-PCR 和 Western blot 检测海马体核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)、血红素加氧酶 1(HO-1)mRNA 和蛋白的表达。**[结果]** 与模型组相比, APG 高剂量组和 NMP 组大鼠的认知功能明显改善; 海马体 CA1 区神经元数量、形态结构病理学改变、超微结构改变和凋亡状况均明显改善, 病理分级和凋亡指数(AI)降低; 海马体 MDA 含量降低, SOD、GSH-Px 活性升高, Nrf2、HO-1 mRNA 和蛋白的表达升高。APG 高剂量组各指标的改善均优于 NMP 组。**[结论]** APG 对 VD 大鼠的认知功能具有明显改善作用, 可能与 APG 激活 Nrf2/HO-1 通路, 抑制氧化应激而减轻大脑海马体损伤有关。

[关键词] 芹菜素; 血管性痴呆; 认知功能; 海马体; Nrf2/HO-1 通路

[中图分类号] R285.5; R5

[文献标识码] A

Apigenin improves cognitive function in vascular dementia rats by activating Nrf2/HO-1 pathway

FAN Hongjuan¹, KANG Kaining², AN Weiqiao¹, CHEN Yanhui³

(1. First Department of Geriatrics, 2. Department of Health Care, Handan Central Hospital, Handan, Hebei 056000, China; 3. Department of Emergency, Tangshan Caofeidian Hospital, Tangshan, Hebei 063000, China)

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the protective effect and mechanism of apigenin (APG) on cognitive function in vascular dementia (VD) rats. **Methods** The VD rat model was replicated by ligating bilateral common carotid arteries, and the sham group, model group, APG low-dose group, APG high-dose group, nimodipine (NMP) group were setted, with 30 rats in each group. The rats in APG low-dose group and high-dose group were administered intraperitoneally once a day at doses of 20, 40 mg/kg APG respectively, the rats in the NMP group were administered intraperitoneally once a day at doses of 2 mg/kg NMP, the rats in the sham group and model group were given normal saline, the course of treatment was 28 days. The cognitive function was detected by Morris water maze test, the pathological characteristics and apoptosis of neurons in the CA1 region of the hippocampus were observed through HE staining and TUNEL staining, the ultra-structural changes of neurons was observed by electron microscopy. The content of malondialdehyde (MDA) and the activity of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) in hippocampal were detected by spectrophotometric method. The mRNA and protein expression of nuclear factor E2 related factor 2 (Nrf2) and heme oxygenase-1 (HO-1) were detected by RT-PCR and Western blot. **Results** Compared with the model group, the cognitive function was significantly improved of rats in the APG high-dose group and NMP group; the number of neurons of hippo-

[收稿日期] 2021-11-02

[修回日期] 2022-04-30

[基金项目] 河北省医学科学研究课题(20191829)

[作者简介] 范红娟, 硕士, 副主任医师, 主要从事老年心血管疾病研究, E-mail: lfsyry@163.com。

campus CA1 area, morphological and structural pathological changes, ultra-micromorphological changes and apoptosis were significantly improved, the pathological grade and apoptosis index (AI) were reduced; the content of MDA in the hippocampus was decreased, and the activity of SOD, GSH-Px were increased; the mRNA and protein expression of Nrf2, HO-1 were increased. The APG high-dose group had better effects on all indicators than those of NMP group. **Conclusion** APG can significantly improve the cognitive function of VD rats, which may be related to the activating Nrf2/HO-1 pathway by APG, inhibiting oxidative stress and reducing brain hippocampus damage.

[**KEY WORDS**] apigenin; vascular dementia; cognitive function; hippocampal; Nrf2/HO-1 pathway

血管性痴呆 (vascular dementia, VD) 是脑血管病所引发的痴呆综合征, 学习记忆能力下降等认知功能障碍是其临床主要表现, 并可能伴有语言障碍、人格障碍等^[1]。海马体是负责学习记忆的脑功能区, 有研究发现持续血流低灌注所致海马体氧化应激损伤及继发性神经元过度凋亡与 VD 进展密切相关^[2]。因此, 靶向抑制氧化应激可作为防治 VD 新药研究的思路。

芹菜素 (apigenin, APG) 是天然存在于旱芹、洋甘菊、马鞭草等植物中的一种黄酮类化合物, 具有良好的抗氧化、抗凋亡活性^[3-4]。体外实验研究表明 APG 对缺氧复氧损伤的海马神经元具有保护作用^[5]。核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor E2 related factor 2, Nrf2) 能够与低氧反应原件结合而诱导抗氧化基因转录表达, 是维持机体氧化还原稳态的重要转录因子; 血红素加氧酶 1 (heme oxygenase-1, HO-1) 是 Nrf2 的下游靶基因, 具有抗氧化、抗炎等多种生理学作用^[6]。因此, Nrf2/HO-1 是氧化应激反应重要的信号通路。有研究发现药物活化 Nrf2/HO-1 通路能够有效减轻 VD 大鼠氧化应激损伤而改善认知功能^[7]。APG 能够活化 Nrf2/HO-1 通路而减轻妊娠期糖尿病大鼠肝损伤^[8], 但 APG 是否能够通过活化 Nrf2/HO-1 通路改善 VD 大鼠认知功能尚未见文献报道。本研究旨在探讨 APG 对 VD 大鼠认知功能的影响及其机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

150 只清洁级 8 周龄雄性 SD 大鼠, 体质量 230 ~ 260 g, 购自河北医科大学实验动物公共服务平台 [SYXK(冀)2020-001], 动物合格证号: 20200508007。分笼饲养 (室温 23 ~ 25 °C、相对湿度 55% ~ 65%、自由饮水进食), 本研究获得邯郸市中心医院伦理委员会批准 [批件号: HDZXLL(K)2020-013], 所有大鼠在实验过程中均按照 3R 原则给予人道主义关怀。

1.2 药物与试剂

APG (纯度 ≥ 98%) 购自陕西慧科植物开发有限公司 (批号: 191125); 尼莫地平 (nimodipine, NMP) 注射液购自济川药业集团有限公司 (批号: 202004011)。TUNEL 试剂盒、TriQuick Reagent 总 RNA 提取试剂盒购自北京索莱宝生物技术有限公司 (货号: SW2010、R1100); 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒购自南京建成生物工程研究所 (批号: 200127、200319、200114); 反转录试剂盒购自美国 Thermo Fisher 公司 (批号: 1841432); RT-PCR 试剂盒购自上海 Novoprotein 公司 (批号: 0511171); Nrf2、HO-1 抗体购自北京博奥森生物技术有限公司 (货号: bs-1074R、bs-23397R); β-actin 抗体购自美国 Abclonal 公司 (批号: AC026); IgG 二抗购自北京中杉金桥生物技术有限公司 (批号: 180511); ECL 试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司 (批号: P0018AS)。

1.3 主要仪器

ZH-Morris 型水迷宫及视频分析系统 (安徽正华生物仪器设备有限公司); JB-P5 型包埋机 (武汉俊杰电子有限公司); EMUC7 型超薄切片机 (德国 Leica 公司); DVM6 型透射电镜 (德国 Leica 公司); MK3 型酶标仪 (美国 Thermo 公司); DU640 型蛋白核酸分析仪 (美国 Beckman 公司); Rotor-Gene Q 型 real-time PCR 仪 (德国 Qiagen 公司); DYCZ-24DN 型电泳仪 (北京六一生物科技有限公司); S1000TM 型反转录仪 (美国 Bio-Rad 公司); JY200C 型电泳仪 (北京君意东方电泳设备有限公司); LF-ZY02 型转印仪 (北京龙方科技公司)。

1.4 分组、造模与给药

实验用大鼠适应性饲养 7 天后随机分为 5 组: 假手术组、模型组、APG 低剂量组、APG 高剂量组和 NMP 组, 每组 30 只。模型组、APG 低剂量组、APG 高剂量组和 NMP 组大鼠均参照文献^[9]报道的方法制备 VD 模型: 0.3 mg/kg 腹腔注射水合氯醛溶液实

施麻醉后,仰卧位固定,沿颈正中作切口,游离并结扎两侧颈总动脉,然后逐层缝合并消毒。造模完成后,APG 低剂量组、APG 高剂量组分别 1 次/天腹腔注射 APG 20 mg/kg、40 mg/kg^[10],NMP 组 1 次/天腹腔注射 NMP 2 mg/kg^[3],假手术组和模型组给予生理盐水,各组注射体积均为 5 mL/kg,疗程 28 天。

1.5 Morris 水迷宫实验检测大鼠的认知功能

Morris 水迷宫设 4 个象限,平台固定于第 4 象限的中心位置,水温 25 ℃。末次给药 24 h 后,按随机数字表法,从各组分别取 10 只大鼠,适应性训练 3 天,每天训练 4 次,分别从 4 个象限头朝器壁方向将大鼠放入水中并引导大鼠寻找第 4 象限平台。①定位航行实验:在第 4 天,将每只大鼠分别从第 1、2、3 象限头朝器壁置于水中,记录大鼠寻到第 4 象限平台的时间,即逃避潜伏期;②空间探索实验:在第 5 天,去除第 4 象限平台,将每只大鼠从第 2 象限头朝器壁方向放入水中,记录大鼠在 120 s 内穿越第 4 象限原平台位置的次数。

1.6 HE 染色法观察海马体 CA1 区神经元病理特点及病理分级

末次给药 24 h 后,颈椎脱臼处死大鼠,取大脑组织,10% 中性甲醛溶液固定 3 天,石蜡浸润包埋,5 μm 连续切片,脱蜡水化后进行 HE 染色,通过光学显微镜观察海马体 CA1 区神经元病理特点。参照文献^[11]报道的方法对神经元进行病理分级:神经元形态和结构正常为-,少量神经元形态改变为+,部分神经元胞核固缩、神经元排列疏松为++,大部分神经元胞核固缩或溶解、神经元层次紊乱为+++。

1.7 透射电子显微镜观察海马体 CA1 区超微结构

末次给药 24 h 后,按随机数字表法,从各组分别取 10 只大鼠,麻醉后颈椎脱臼处死,取脑组织并剥取海马体,切取海马体 CA1 区域修饰成 1 mm³ 小块,置于 4 ℃、3% 戊二醛中固定 2 h,梯度乙醇脱水、环氧丙烷置换、环氧树脂浸润包埋,通过超薄切片机行 60 nm 切片,依次行醋酸铀和柠檬酸铅染色处理后,通过透射电子显微镜观察海马体 CA1 区神经元超微结构变化。

1.8 TUNEL 法观察海马体 CA1 区神经元凋亡

取制备的大脑组织石蜡切片,梯度乙醇脱蜡水化,按照试剂盒说明进行 TUNEL 染色,通过光学显微镜观察海马体 CA1 区神经元凋亡状况,凋亡细胞核着黄褐色。在显微镜下计数细胞数和凋亡指数(apoptosis index, AI),AI=(凋亡细胞数/细胞总数)×100%。

1.9 分光光度法检测海马体 MDA 含量和 SOD、GSH-Px 活性

从各组分别取 10 只大鼠,麻醉后颈椎脱臼处死,冰上取脑组织并剥取海马体,加 6 倍量裂解液后进行研磨匀浆,4 ℃、2 000 r/min 离心 5 min,取上清,按照试剂盒说明进行处理后,通过酶标仪检测 MDA 含量和 SOD、GSH-Px 活性。

1.10 RT-PCR 检测海马体 Nrf2、HO-1 mRNA 表达

取制备的海马体裂解匀浆液 100 mg,提取总 RNA 后检测 RNA 浓度和纯度,严格按照试剂盒说明将 RNA 反转录成 cDNA,行 RT-PCR 扩增,程序设置为 94 ℃ 30 s,60 ℃ 30 s,72 ℃ 60 s,共进行 40 个循环,然后通过凝胶分析仪成像。基因表达量采用 2^{-ΔΔCt} 法计算(以 β-actin 为内参)。RT-PCR 引物序列见表 1。

表 1. RT-PCR 引物序列
Table 1. RT-PCR primer sequences

名称	引物序列	产物长度/bp
Nrf2	上游:5'-ATATACGCAGGAGAGGGAAG-3' 下游:5'-GTCTTCTGAGTGGCAGTGAT-3'	177
HO-1	上游:5'-TCCCATCCTCATCACGTAAC-3' 下游:5'-CCAGGCATCTCCTTCCATTG-3'	122
β-actin	上游:5'-TCAGGTCATCACTATCGGCAAT-3' 下游:5'-AAAGAAAGGGTGTAAAACGCA-3'	262

1.11 Western blot 检测海马体 Nrf2、HO-1 蛋白表达

取制备的海马体裂解匀浆液,4 ℃、6 000 r/min 离心 5 min,取上清液,于 4 ℃、12 000 r/min 离心 30 min,取上清液,BCA 法测定总蛋白含量。沸水浴变性,经 SDS-PAGE 电泳分离蛋白、转 PVDF 膜、5% 脱脂奶粉封闭处理后,滴加 Nrf2 抗体(1:500)、HO-1 抗体(1:500)、β-actin 抗体(1:1 000),4 ℃ 孵育过夜,滴加 IgG 二抗(1:2 000),室温孵育 2 h,滴加 ECL 显影后通过 Image J 软件计算蛋白条带灰度值。

1.12 统计学分析

所有实验数据均采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,方差齐时,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-t 法;方差不齐时,采用 Welch 法校正,组间两两比较采用 Tamhane's T3 法;不符合正态分布时,采用 Kruskal-Wallis 非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 APG 对 VD 大鼠认知功能的影响

2.1.1 定位巡航实验结果 与假手术组相比,模型组大鼠逃逸潜伏期显著延长($P<0.05$);与模型组相比,APG 高剂量组和 NMP 组逃逸潜伏期分别缩短了 42.26%、33.09% ($P<0.05$);与 NMP 组相比,APG 高剂量组逃逸潜伏期缩短了 13.71% ($P<$

0.05;图 1)。

2.1.2 空间探索实验结果 与假手术组相比,模型组大鼠穿越平台次数显著减少($P<0.05$);与模型组相比,APG 高剂量组和 NMP 组穿越平台次数分别增多了 78.26%、52.17% ($P<0.05$);与 NMP 组相比,APG 高剂量组穿越平台次数增多了 14.63% ($P<0.05$;图 1)。

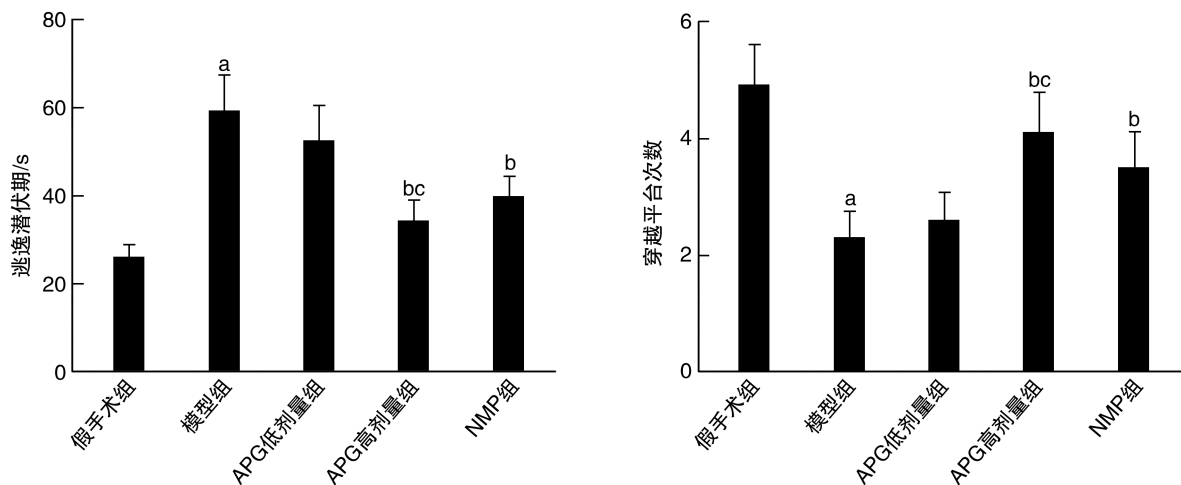


图 1. APG 对 VD 大鼠认知功能的影响($n=10$)

a 为 $P<0.05$,与假手术组比较;b 为 $P<0.05$,与模型组比较;c 为 $P<0.05$,与 NMP 组比较。

Figure 1. Effects of APG on cognitive function of VD rats($n=10$)

2.2 APG 对 VD 大鼠海马体 CA1 区神经元病变及病理分级的影响

假手术组海马体 CA1 区神经元呈椭圆形或圆形,排列整齐,层次清晰;模型组海马体 CA1 区神经元数量减少,排列紊乱,层次不清,胞核固缩或消失,核膜边界不清;与模型组比较,APG 低剂量组、APG 高剂量组和 NMP 组海马体 CA1 区神经元形态

结构病变不同程度减轻,且 APG 高剂量组效果优于 APG 低剂量组和 NMP 组。与假手术组相比,模型组病理分级显著升高($P<0.05$);与模型组相比,APG 高剂量组和 NMP 组病理分级显著降低($P<0.05$);与 NMP 组相比,APG 高剂量组病理分级显著降低($P<0.05$;图 2 和表 2)。

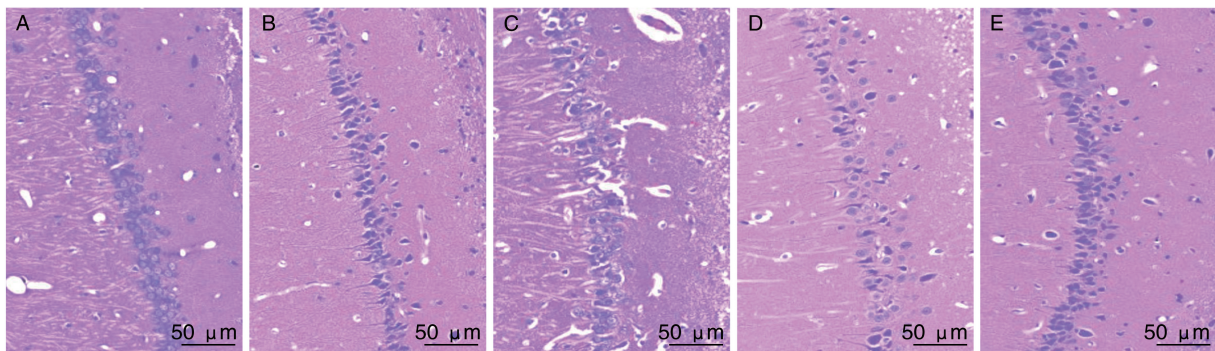


图 2. APG 对 VD 大鼠海马体 CA1 区神经元病变的影响

A 为假手术组,B 为模型组,C 为 APG 低剂量组,D 为 APG 高剂量组,E 为 NMP 组。

Figure 2. Effects of APG on neuronal lesions in hippocampal CA1 region of VD rats

表 2. APG 对 VD 大鼠海马体 CA1 区神经元病理分级的影响($n=10$)

Table 2. Effects of APG on pathological grading of neurons in hippocampal CA1 region of VD rats($n=10$)

分组	单位:例				平均秩
	-	+	++	+++	
假手术组	10	0	0	0	10.47
模型组	0	1	5	4	23.15 ^a
APG 低剂量组	1	3	4	2	20.84
APG 高剂量组	4	4	2	0	14.26 ^{bc}
NMP 组	3	2	4	1	18.73 ^b

注:a为 $P<0.05$,与假手术组比较;b为 $P<0.05$,与模型组比较;c为 $P<0.05$,与NMP组比较。

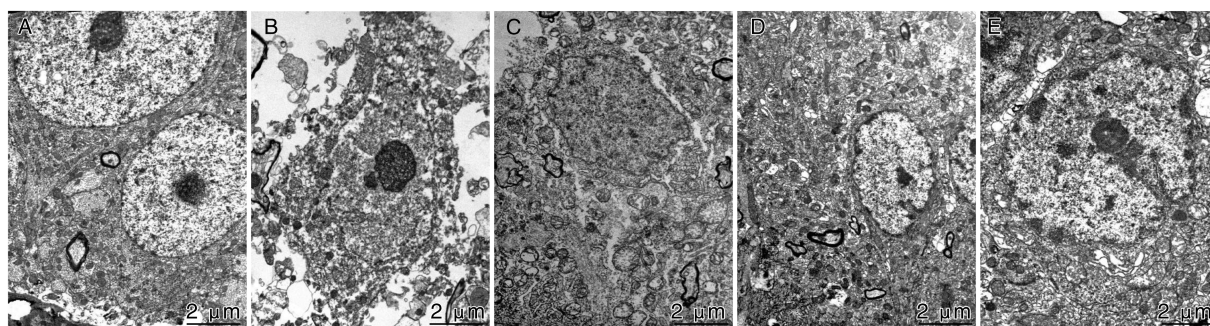


图 3. APG 对 VD 大鼠海马体 CA1 区神经元超微结构病变的影响

A 为假手术组,B 为模型组,C 为 APG 低剂量组,D 为 APG 高剂量组,E 为 NMP 组。

Figure 3. Effects of APG on ultrastructural lesions of neurons in hippocampal CA1 region of VD rats

2.4 APG 对 VD 大鼠海马体 CA1 区神经元凋亡的影响

与假手术组相比,模型组海马体 CA1 区神经元凋亡数量增多,AI 显著升高[(28.57%±2.36%)比(3.01%±0.28%), $P<0.05$];与模型组相比,APG 低剂量组、APG 高剂量组、NMP 组海马体 CA1 区神

2.3 APG 对 VD 大鼠海马体 CA1 区神经元超微结构病变的影响

假手术组海马体 CA1 区神经元胞膜和核膜界限清晰,染色质分布均匀,粗面内质网、高尔基体、线粒体等细胞器结构正常、数量丰富;模型组可见胞膜破裂,核膜消失,染色质凝集或溶解,线粒体肿胀、部分破裂、脊断裂,粗面内质网扩张,高尔基体肿胀呈泡状;与模型组相比,APG 低剂量组、APG 高剂量组和 NMP 组海马体 CA1 区神经元超微结构及各细胞器损伤呈不同程度减轻,且 APG 高剂量组效果优于 APG 低剂量组和 NMP 组(图 3)。

经元凋亡数量均明显减少,AI 显著降低[(24.09%±2.17%)、(7.41%±0.53%)、(15.68%±1.49%)比(28.57%±2.36%), $P<0.05$];与 NMP 组相比,APG 高剂量组 AI 显著降低[(7.41%±0.53%)比(15.68%±1.49%), $P<0.05$];图 4)。

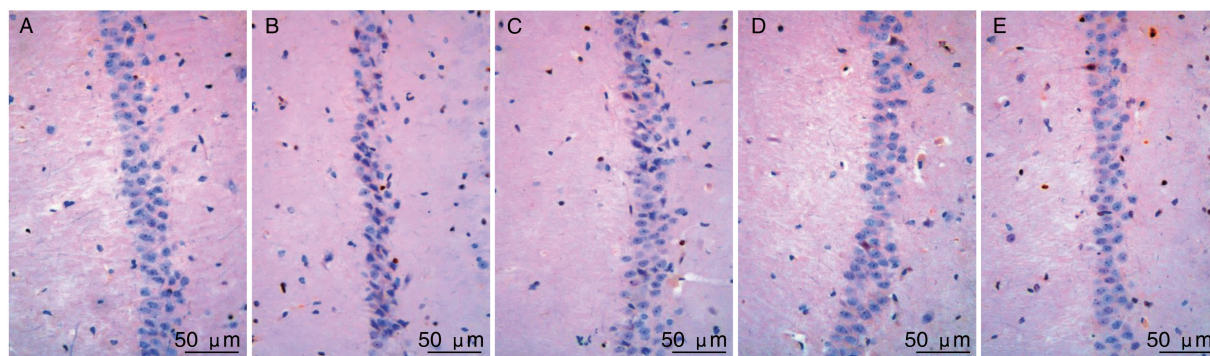


图 4. APG 对 VD 大鼠海马体 CA1 区神经元凋亡的影响

A 为假手术组,B 为模型组,C 为 APG 低剂量组,D 为 APG 高剂量组,E 为 NMP 组。

Figure 4. Effects of APG on neuronal apoptosis in hippocampal CA1 region of VD rats

2.5 APG 对 VD 大鼠海马体 MDA 含量和 SOD、GSH-Px 活性的影响

与假手术组相比,模型组海马体 MDA 含量显著升高,SOD、GSH-Px 活性显著降低($P<0.05$);与

模型组相比,APG 高剂量组和 NMP 组 MDA 含量显著降低,SOD、GSH-Px 活性显著升高($P<0.05$);与 NMP 组相比,APG 高剂量组 MDA 含量显著降低,SOD、GSH-Px 活性显著升高($P<0.05$;图 5)。

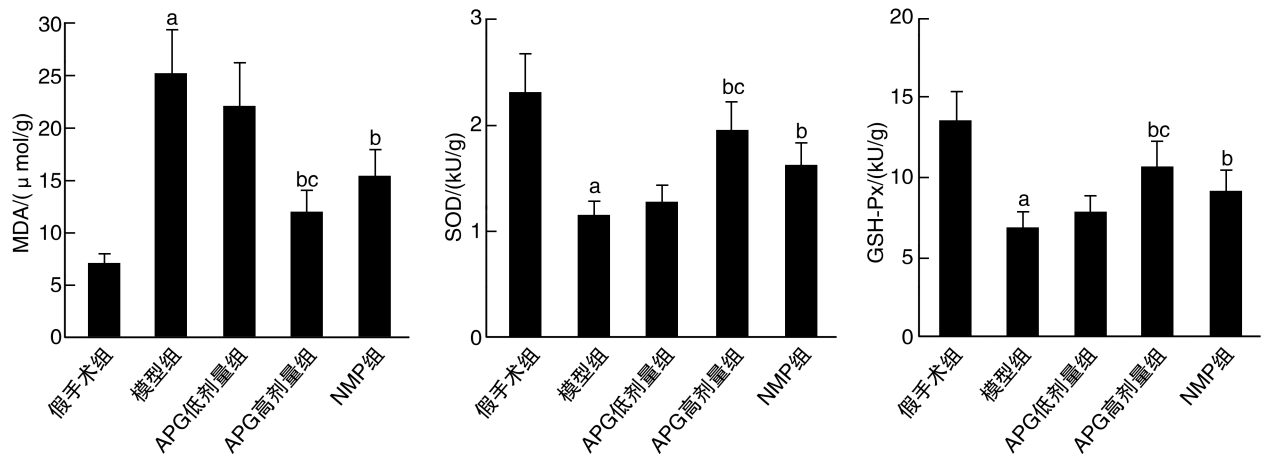


图 5. APG 对 VD 大鼠海马体 MDA 含量和 SOD、GSH-Px 活性的影响($n=10$)

a 为 $P<0.05$,与假手术组比较;b 为 $P<0.05$,与模型组比较;c 为 $P<0.05$,与 NMP 组比较。

Figure 5. Effects of APG on MDA content and activities of SOD and GSH-Px in hippocampus of VD rats($n=10$)

2.6 APG 对 VD 大鼠海马体 Nrf2、HO-1 mRNA 和蛋白表达的影响

与假手术组相比,模型组海马体 Nrf2、HO-1 mRNA 和蛋白的表达显著降低($P<0.05$);与模型组

相比,APG 高剂量组和 NMP 组 Nrf2、HO-1 mRNA 和蛋白的表达显著升高($P<0.05$);与 NMP 组相比,APG 高剂量组 Nrf2、HO-1 mRNA 和蛋白的表达显著升高($P<0.05$;图 6)。

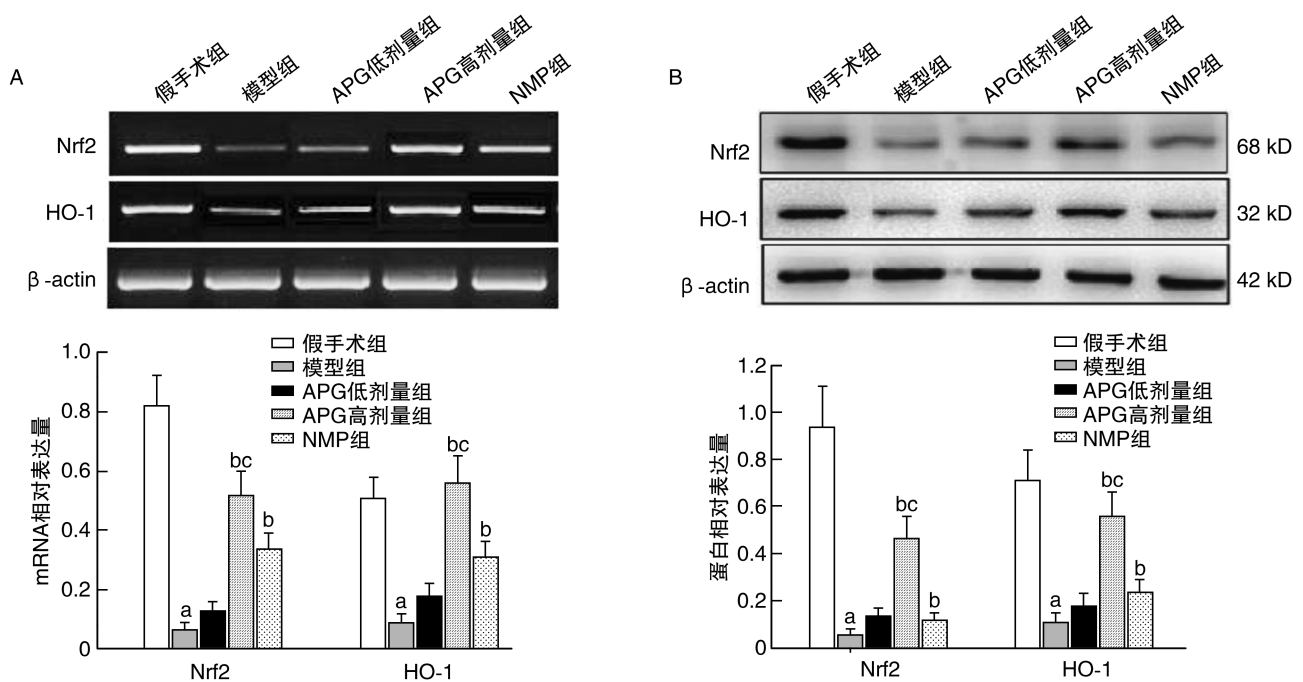


图 6. APG 对 VD 大鼠海马体 Nrf2、HO-1 mRNA 和蛋白表达的影响($n=10$)

A 为 Nrf2、HO-1 mRNA 的表达,B 为 Nrf2、HO-1 蛋白的表达。

a 为 $P<0.05$,与假手术组比较;b 为 $P<0.05$,与模型组比较;c 为 $P<0.05$,与 NMP 组比较。

Figure 6. Effects of APG on the expression of Nrf2, HO-1 mRNA and protein in the hippocampus of VD rats($n=10$)

3 讨论

VD 是仅次于阿尔茨海默病的第二大致痴呆因素,严重影响患者的生活质量,给家庭和社会造成沉重负担^[12]。目前,尚无治疗 VD 的特效药物,临床上主要采取钙离子拮抗剂、氨基酸兴奋拮抗剂等药物治疗,预后不甚理想^[13]。病理生理学研究发现,缺血性、出血性脑血管病等所致脑血流供应不足引发大脑海马体氧化应激损伤是导致 VD 发病和进行性加重的关键因素^[14-15]。因此,以抑制氧化应激损伤为治疗靶点的新型药物研究,对改善 VD 预后具有重要的意义。

双侧颈总动脉阻断法制备的 VD 大鼠模型具有操作简单、重复率高、接近人类 VD 病理特点等优势,是国内外普遍认可的造模方法^[16]。NMP 是一种钙离子拮抗剂,对 VD 具有较好的疗效,常用于 VD 新型药物实验研究的阳性对照药物。APG 已被国内外大量研究证实具有抗氧化、提高机体免疫力等多种药理学作用。本研究发现,VD 模型大鼠的认知功能明显下降,大脑海马体 CA1 区呈现神经元数量减少、排列紊乱、层次不清、胞核固缩或消失等病理改变,可见染色质、粗面内质网、线粒体等细胞器的超微结构病变,神经元凋亡数量明显增多,与高玲等^[17]研究报道一致。经 APG 治疗则能够明显提高 VD 大鼠的认知功能,改善海马体 CA1 区神经元病变及染色质、细胞器等超微结构病变,降低神经元凋亡数量,且 APG 高剂量组的作用优于 NMP 组,提示 APG 能够改善 VD 大鼠的认知功能,其机制可能与减轻大脑海马体损伤有关。

海马体 CA1 区是空间学习和记忆形成、转存过程的关键部位,该部位对缺血缺氧非常敏感,极易受到脑血流低灌注损伤。血供不足导致 ATP 合成过程中电子传递链受阻,致使 ATP 供应不足和活性氧(reactive oxygen species, ROS)大量生成。体内 ROS 清除依赖 SOD、GSH-Px 等抗氧化酶的催化还原,病理状态下 ROS 过度生成导致抗氧化酶过度消耗,过剩的 ROS 攻击生物膜和生物大分子引发氧化应激损伤,并且 ROS 破坏 DNA、蛋白质等诱发细胞凋亡^[18-19]。Nrf2 普遍存在于真核细胞中,能够诱导 SOD、GSH-Px 等抗氧化酶表达而抑制氧化应激,并且 Nrf2 能够调控其下游基因 HO-1 的转录与表达,HO-1 则能够催化血红素分解成亚铁、一氧化碳、胆绿素,胆绿素对 ROS 具有较强的还原活性,从而降低氧化应激损伤^[2,20-21]。本研究发现,APG 能够显著降低 VD 大鼠大脑海马体 MDA 含量并提高 SOD、

GSH-Px 活性,显著提高 Nrf2、HO-1 mRNA 和蛋白的表达量,且 APG 高剂量组对各指标的作用优于 NMP 组,提示 APG 能够抑制 VD 大鼠大脑海马体氧化应激损伤,其作用机制可能与激活 Nrf2/HO-1 通路有关。

综上所述,APG 对 VD 大鼠的认知功能具有明显改善作用,其作用机制可能与 APG 激活 Nrf2/HO-1 通路而抑制氧化应激、减轻大脑海马体损伤有关。本研究结果为 APG 可作为 VD 治疗的潜在开发药物提供了理论依据。本研究的不足之处在于未设置 Nrf2/HO-1 通路抑制剂或激活剂组,本课题组下一步将继续深入研究。

[参考文献]

- [1] 庞振阳. 血管性痴呆的危险因素及发病机制的研究进展[J]. 吉林医学, 2019, 40(12): 2890-2892.
PANG Z Y. Research progress in risk factors and pathogenesis of vascular dementia[J]. Jilin Med J, 2019, 40(12): 2890-2892.
- [2] 房娉平, 阚敏宸, 郭立静, 等. 灯盏花素对血管性痴呆大鼠海马 CA1 区病理改变及 Nrf2/HO-1 通路的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2021, 19(16): 2751-2756.
FANG P P, KAN M C, GUO L J, et al. Effects of breviscapine on pathological changes and Nrf2/HO-1 pathway in hippocampal CA1 region of vascular dementia rats[J]. Chin J Integr Med Cardio-cerebrovasc Dis, 2021, 19(16): 2751-2756.
- [3] WANG D T, YANG Y J, ZOU X H, et al. Antioxidant apigenin relieves age-related muscle atrophy by inhibiting oxidative stress and hyperactive mitophagy and apoptosis in skeletal muscle of mice[J]. J Gerontol A Biol Sci Med Sci, 2020, 75(11): 2081-2088.
- [4] ZARE M F R, RAKHSHAN K, ABOUTALEB N, et al. Apigenin attenuates doxorubicin induced cardiotoxicity via reducing oxidative stress and apoptosis in male rats[J]. Life Sci, 2019, 232: 116623.
- [5] DING Y M, LIN J T, FANG L M, et al. The neuroprotective effect of apigenin against OGD/R injury in rat hippocampal neurons[J]. Pak J Pharm Sci, 2020, 33(4): 1527-1533.
- [6] SHEN K, JIA Y H, WANG X J, et al. Exosomes from adipose-derived stem cells alleviate the inflammation and oxidative stress via regulating Nrf2/HO-1 axis in macrophages[J]. Free Radic Biol Med, 2021, 165: 54-66.
- [7] 胡久略, 赵森, 商健, 等. 温肾醒脑方干预对血管性痴呆大鼠氧化应激的影响[J]. 中国临床药理学杂志, 2020, 36(15): 2277-2281.
HU J L, ZHAO M, SHANG J, et al. Effect of Wenshen Xingnao formula on oxidative stress in vascular dementia rats[J]. Chin J Clin Pharmacol, 2020, 36(15): 2277-2281.

- [8] 杨丽, 赵岗, 樊秀梅, 等. 基于Nrf2/HO-1通路研究芹菜素改善妊娠期糖尿病大鼠氧化应激损伤[J]. 中国医药导报, 2020, 17(13): 27-31.
YANG L, ZHAO G, FAN X M, et al. Study on apigenin improvement of oxidative stress injury in diabetic rats based on Nrf2/HO-1 pathway[J]. Chin Med Herald, 2020, 17(13): 27-31.
- [9] FARKAS E, LUITEN P G, PERMANENT B F. Bilateral common carotid artery occlusion in the rat; a model for chronic cerebral hypoperfusion-related neurodegenerative diseases[J]. Brain Res Rev, 2007, 54(1): 162-180.
- [10] 涂丰霞, 张惠梅, 谢庆凤, 等. 芹菜素介导 Caveolin-1 对脑缺血大鼠认知功能的改善作用[J]. 浙江医学, 2018, 40(11): 1186-1190, 1198.
TU F X, ZHANG H M, XIE Q F, et al. Apigenin improve cognitive function of rats after cerebral ischemic injury via Caveolin-1 pathway [J]. Zhejiang Med J, 2018, 40(11): 1186-1190, 1198.
- [11] 周雨慧, 苗明三, 李晓宁, 等. 地黄饮子加减方对血管性痴呆模型大鼠行为学及神经保护作用的影响[J]. 中药药理与临床, 2020, 36(1): 46-51.
ZHOU Y H, MIAO M S, LI X N, et al. Effects of Dihuangyinzi modified recipe on behavior and neuroprotective effect on vascular dementia in rats[J]. Pharmacol Clin Chin Mat Med, 2020, 36(1): 46-51.
- [12] GORELICK P B, COUNTS S E, NYENHUIS D. Vascular cognitive impairment and dementia[J]. Biochim Biophys Acta, 2016, 1862(5): 860-868.
- [13] 王菲. 血管性痴呆的分子机制及治疗学研究进展[J]. 中国神经精神疾病杂志, 2014, 40(5): 317-320.
WANG F. Advances in molecular mechanisms and therapeutics of vascular dementia[J]. Chin J Nerv Ment Dis, 2014, 40(5): 317-320.
- [14] 李琨, 裴卉, 曹宇, 等. 参麻益智方对血管性痴呆模型大鼠海马形态及氧化应激的影响[J]. 北京中医药, 2017, 36(5): 397-400.
LI K, PEI H, CAO Y, et al. Effects of Shenma Yizhi prescription on morphology and oxidative stress of hippocampus in rats with vascular dementia [J]. Beijing J Tradit Chin Med, 2017, 36(5): 397-400.
- [15] 许侃, 胡光菊. 银杏叶提取物对老年血管性痴呆患者认知功能及血液流变学参数的影响[J]. 中南医学科学杂志, 2019, 47(6): 621-624.
XU K, HU G J. Effect of Ginkgo Biloba extract on cognitive function and hemorheology in elderly patients with vascular dementia [J]. Med Sci J Central South Chin, 2019, 47(6): 621-624.
- [16] 谭洁, 韩国栋, 张泓, 等. 改良大鼠双侧颈总动脉结扎方式建立血管性痴呆模型的评价研究[J]. 中国康复医学杂志, 2017, 32(3): 264-268.
TAN J, HAN G D, ZHANG H, et al. Evaluation of vascular dementia rat model established by modified bilateral carotid artery ligation way[J]. Chin J Rehab Med, 2017, 32(3): 264-268.
- [17] 高玲, 赵建军, 胡亚男, 等. 基于PI3K/Akt/Bad信号通路探讨益髓解毒方对血管性痴呆大鼠海马神经元凋亡的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2020, 26(18): 58-63.
GAO L, ZHAO J J, HU Y N, et al. Effect of Yisui Jiedu prescription on apoptosis of hippocampal neurons based on PI3K/Akt/Bad signal pathway in rats with vascular dementia [J]. Chin J Exp Trad Med Form, 2020, 26(18): 58-63.
- [18] 黄紫霞, 吴明月, 许峰, 等. 柴胡皂苷A通过抑制氧化应激和铁死亡减轻过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞损伤[J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(1): 43-48.
HUANG Z X, WU M Y, XU F, et al. Saikosaponin A inhibits oxidative stress and ferroptosis and reduces the injury of human umbilical vein endothelial cells induced by hydrogen peroxide[J]. Chin J Arterioscler, 2022, 30(1): 43-48.
- [19] HABASHY W S, MILFORT M C, REKAYA R, et al. Cellular antioxidant enzyme activity and biomarkers for oxidative stress are affected by heat stress[J]. Int J Biometeorol, 2019, 63(12): 1569-1584.
- [20] 黄勇, 李蔚华, 尹虹, 等. 氧化槐定碱通过Nrf2/HO-1通路抑制大鼠急性心肌梗死后心肌细胞凋亡[J]. 中国动脉硬化杂志, 2020, 28(3): 207-212.
HUANG Y, LI W H, YIN H, et al. Study on oxysophoridine inhibiting cardiomyocyte apoptosis after acute myocardial infarction via Nrf2/HO-1 pathway in rats [J]. Chin J Arterioscler, 2020, 28(3): 207-212.
- [21] DESHMUKH P, UNNI S, KRISHNAPPA G, et al. The Keap1-Nrf2 pathway: promising therapeutic target to counteract ROS-mediated damage in cancers and neurodegenerative diseases[J]. Biophys Rev, 2017, 9(1): 41-56.

(此文编辑 文玉珊)