

· 论 著 ·

板党硒多糖与氯氨酮对小鼠低氧耐受性的影响*

谭志鑫

(湖北民族学院医学院,湖北恩施 445000)

摘要:目的 探讨板党硒多糖对小鼠低氧耐受性和脑内氨基酸类递质含量的影响。方法 将小鼠随机分为 4 组:生理盐水对照组、氯氨酮组、板党硒多糖组和氯氨酮加板党硒多糖组,分别用生理盐水、氯氨酮、板党硒多糖和氯氨酮加板党硒多糖处理后,建立小鼠急性重复低氧耐受模型,观察各组小鼠低氧耐受时间和脑组织中谷氨酸(Glu)、天冬氨酸(Asp)、 γ -氨基丁酸(GABA)和甘氨酸(Gly)含量的变化。结果 与生理盐水对照组比较,板党硒多糖组小鼠各次低氧耐受时间明显延长($P < 0.05$),脑组织中 Glu 和 Asp 含量明显减少($P < 0.05$),GABA 和 Gly 无明显变化;氯氨酮组小鼠各次低氧耐受时间明显延长($P < 0.01$),脑组织中氨基酸无明显变化;氯氨酮加板党硒多糖组小鼠各次低氧耐受时间明显延长($P < 0.01$),且明显长于氯氨酮组和板党硒多糖组,脑组织中 Glu 和 Asp 含量明显减少($P < 0.05$),GABA 和 Gly 无明显变化。结论 板党硒多糖和氯氨酮都能明显提高小鼠对低氧的耐受性,板党硒多糖还能使脑组织兴奋性氨基酸 Glu 和 Asp 含量减少,但对抑制性氨基酸 GABA 和 Gly 的含量无明显影响。

关键词:氯氨酮;板党硒多糖;低氧耐受

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2011.10.004

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2011)10-0944-02

Effect of Se-PCP-B and ketamine on endurance of oxygen deficiency in mice*

Tan Zhixin

(Medical College of Hubei Institute for Nationalities, Enshi 445000, China)

Abstract: Objective To study the effect of Se-Polysaccharides in Codonopsis Pilosula from Banqiao (Se-PCP-B) on endurance of oxygen deficiency and amino acid in the brain tissue. Methods The mice were divided into four groups: control group, ketamine group, Se-PCP-B group and ketamine+Se-PCP-B group, respectively treated with 0.9% NaCl, ketamine, Se-PCP-B and ketamine+Se-PCP-B, then the endurance of oxygen deficiency experiment model was established. To observe the time of the endurance of oxygen deficiency, to measured the content of Glu, Asp, GABA and Gly in brain tissue. Results Compared with control group, the time of the endurance of oxygen deficiency obviously extended in the Se-PCP-B group, ketamine group and ketamine+Se-PCP-B group mice ($P < 0.05$); The content of Glu and Asp obviously decreased in the Se-PCP-B group and ketamine+Se-PCP-B group mice ($P < 0.05$). Conclusion Se-PCP-B and ketamine can increase the endurance of oxygen deficiency in mice; Se-PCP-B can decrease the content of Glu and Asp also.

Key words: ketamine; Se-polysaccharides in codonopsis pilosula from banqiao; endurance of oxygen deficiency

党参(codonopsis pilosula)为中国传统常用中草药,有着丰富的药用价值。研究表明党参具有免疫调节、抗缺氧、降糖等作用^[1-3]。湖北恩施的板桥镇盛产党参——板党,为药食两用植物,资源很丰富。党参主要含有多糖、党参苷、甾醇类、三萜类、生物碱、内酯类、豆素类等成分^[4-5]。板党中还含有丰富的硒,从而形成天然结合产物——板党硒多糖(Se-polysaccharides in codonopsis pilosula from banqiao, Se-PCP-B),经原子吸收法测定板党含硒量达 0.886 mg/kg^[6]。氯氨酮是一种兴奋性氨基酸的受体拮抗剂,有关临床麻醉应用的文献报道较多^[7-9]。机体在遭受缺氧后,其耐受性是不相同的,而耐受性跟脑内氨基酸类递质有一定关系^[10]。如何提高机体对缺氧的耐受性有着重要的意义。本研究探讨板党硒多糖和氯氨酮对小鼠低氧耐受性的影响,为进一步开展其药用及保健方面的应用开发奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 动物与分组 昆明种小鼠 40 只,体质量(20.5±3.2)g,雌雄各半,由湖北省实验动物中心提供,随机分为 4 组($n =$

10):(1)生理盐水对照组;(2)氯氨酮组;(3)板党硒多糖组;(4)氯氨酮加板党硒多糖组。各组小鼠分别用生理盐水(100 mL/kg)、氯氨酮(100 mg/kg)、板党硒多糖(100 mL/kg)和氯氨酮(50 mg/kg)加板党硒多糖(50 mL/kg)腹腔注射处理。

1.2 仪器与药品 谷氨酸(glutamic acid, Glu)、天冬氨酸(aspartic acid, Asp)、 γ -氨基丁酸(gama-aminobutyric acid, GABA)、甘氨酸(glycine, Gly)标准品及氯氨酮(ketamine, 50 g/L)均为美国 Sigma 公司产品,其他试剂均为国产分析纯。TG328A 型电子分析天平;RE-52 型旋转蒸发器;DL-50 型超级恒温器;GL-20G 高速冷冻离心机;UV-756MC 型紫外可见分光光度计;LC-6A 高效液相色谱仪(日本岛津)。板党由湖北恩施峰岚板党参有限公司提供。板党硒多糖的提取方法参考文献^[6],由本院中药实验室进行:精密称取药材 100 g,置索氏提取器中,依次用石油醚(60~90 °C)、乙醚和 85%乙醇回流提取 4 h,残渣挥干溶剂后,再继续以水回流 4 h,减压浓缩至 50%体积,加入 0.1%活性炭,脱色,滤过。滤液加入 95%乙醇,使溶液含醇 85%,静置过夜,滤过。残渣用乙醚、无水乙

* 基金项目:湖北省教育厅技术创新基金资助项目(J200529001)。

表 1 各组小鼠低氧耐受性的变化 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	各次低氧标准耐受时间(min)			
	第 1 次	第 2 次	第 3 次	第 4 次
生理盐水对照组	13.78±1.45	29.36±3.38	40.86±4.08	57.82±5.04
氯氮酮组	16.61±1.38**	40.48±3.44**	76.56±5.78**	82.20±7.99**
板党硒多糖组	15.42±1.87*	35.66±3.51**	62.49±6.99**	68.36±3.64**
氯氮酮加板党硒多糖组	17.60±1.40**	45.84±3.21**	80.30±3.66**	91.10±7.61**

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$, 与生理盐水对照组比较。

表 2 各组小鼠脑组织 Glu、Asp、GABA 和 Gly 含量的变化 ($\mu\text{mol/g}, \bar{x} \pm s, n=10$)

组别	Glu	Asp	GABA	Gly
生理盐水对照组	6.37±0.91	2.08±0.34	2.03±0.33	3.02±0.35
氯氮酮组	6.36±0.91	2.09±0.33	2.06±0.34	3.03±0.35
板党硒多糖组	4.17±0.88**	1.72±0.29*	2.06±0.35	2.94±0.49
氯氮酮加板党硒多糖组	5.21±0.97*	1.74±0.33*	2.03±0.34	3.07±0.40

*: $P < 0.05$; **: $P < 0.01$, 与生理盐水对照组比较。

醇反复洗涤得多糖, 60℃烘干。用时配制成 2% 的液体。

1.3 实验方法 将小鼠分别腹腔注射给药后 30 min, 按肖本见等^[11]的急性重复缺氧方法, 将小鼠置于含有新鲜空气, 经过标定的 150 mL 广口瓶(内放 10 g 钠石灰)内, 密闭并计时, 一旦出现喘呼吸, 立即转移到另一相同广口瓶内, 密闭并计时。按此方法倒瓶 4 次。各次倒瓶中, 从密闭开始到喘呼吸出现时间为“原始耐受时间”, 再依下式算出相当于 100 mL 有效空气量下的“标准耐受时间”。4 次低氧处理后, 将各组小鼠处死, 取出双侧脑组织, 在冰台上迅速分离双侧前脑皮质和海马, 以冰生理盐水冲洗后除去残血, 吸干后称质量, 按 1:9 比例加入无水乙醇, 以高速匀浆机在冰浴下制成 10% 脑匀浆液。匀浆条件为每次 10 s, 隔 5 s, 共计 4 次。将匀浆液于 3 500 r/min(4℃)离心 5 min, 分离上清液, 于 -30℃ 保存待测。测试前标本复溶, 再 1 000 r/min(4℃)离心 10 min, 取上清液, 检测条件及方法按肖本见等^[11]的高效液相色谱仪法进行, 进样量为 100 μL 。检测小鼠脑组织中 Glu、Asp、GABA 和 Gly 的含量。

$$(1) t = \frac{t_1 - t_0}{\frac{v_0 - w_0}{0.94}} \times 100$$

t 为标准耐受时间, t_1 为开始出现喘呼吸的时间, t_0 为开始密闭的时间, v_0 为缺氧瓶的体积, w_0 为小白鼠的体质量。

1.4 统计学处理 实验数据都以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS10.0 统计学软件进行 t 检验。

2 结 果

2.1 对小鼠低氧耐受时间的影响 与生理盐水对照组比较, 氯氮酮组、板党硒多糖组和氯氮酮加板党硒多糖组小鼠各次低氧耐受时间均明显延长 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 对脑组织 Glu、Asp、GABA 和 Gly 含量的影响 与生理盐水对照组比较, 板党硒多糖组和氯氮酮加板党硒多糖组小鼠 Glu、Asp 明显减少 ($P < 0.01, P < 0.05$), 而氯氮酮组却无变化; 各组 GABA 和 Gly 都无明显变化, 见表 2。

3 讨 论

缺氧导致组织损伤, 其中兴奋性氨基酸起到了很大的作用, 缺氧导致突触间隙 Glu 等兴奋性氨基酸大量积累, 随后引起神经元胞内 Ca^{2+} 超载, 是造成神经元损伤乃至死亡的重要

因素之一, 而抑制性氨基酸则能减轻神经元缺氧损伤。研究表明, GABA 通过激活受体提高 Cl^- 电导, 抑制缺氧后胞外 Ca^{2+} 大量涌入胞内, 在一定程度上保护了神经元缺氧损伤^[12]。

兴奋性氨基酸的 N-甲基-D-天门冬氨酸(NMDA)受体阻断剂氯氮酮, 有较高的脂溶性, 易通过血脑屏障。氯氮酮与 NMDA 受体-通道复合物的调节位点结合, 干扰了兴奋性氨基酸与 NMDA 受体的正常结合, 从而阻断了神经元胞内 Ca^{2+} 超载, 起到了一定的神经保护作用。

本实验观察到板党硒多糖和氯氮酮都能明显延长小鼠低氧耐受时间, 板党硒多糖还可以减少脑组织兴奋性氨基酸 Glu 和 Asp 的含量, 但对抑制性氨基酸 GABA 和 Gly 没有明显影响, 提示板党硒多糖可以提高机体低氧耐受性, 这种作用可能与减少脑内兴奋性氨基酸的含量有关。氯氮酮不能改变兴奋性氨基酸含量, 但可以阻断兴奋性氨基酸与受体结合, 从而提高低氧耐受性, 这与刘宏雁^[10]等的报道一致。脑缺氧时, 自由基反应也是引起脑损伤的另一个重要因素, 在正常情况下, 不致引起病理效应, 但在脑低氧情况下, 自由基产生过多, 可引起细胞损伤^[13-14]。另有研究表明, 党参多糖具有明显清除体内自由基的作用^[15], 故推测, 板党硒多糖能明显延长小鼠低氧耐受时间、减少脑组织兴奋性氨基酸含量的作用机制可能与清除过多自由基等有关。脑内兴奋性氨基酸的作用机制极为复杂, 各种影响因素又密切相关, 这为中医药的多靶点研究提供了极为广阔的思路。本研究发现板党硒多糖和氯氮酮合用时效果更显著, 具有明显的协同效应, 具体机制还有待进一步研究。

参考文献:

[1] Zhuang SR, Chen SL, Tsai JH, et al. Effect of citronellol and the Chinese medical herb complex on cellular immunity of cancer patients receiving chemotherapy/radiotherapy [J]. *Phytother Res*, 2009, 23(6): 785-790.
 [2] 陈敏, 熊元君, 李晓瑾, 等. 新疆党参和潞党参对小鼠脑 SOD、MDA 的影响[J]. *中草药*, 2000, 31(4): 280-281.
 [3] 徐勤, 陈晓军, 刘布鸣, 等. 轮叶党参乙醇提取物益气活血化痰及抗衰老作用的初步研究[J]. *广西(下转第 948 页)*

- tials due to motion contrast in the blind hemifield[J]. Neuroreport, 1999, 10(17): 3595-3599.
- [2] Yamagishi N, Gods N, Callan DE, et al. Attentional shifts towards an expected visual target alter the level of alpha-band oscillatory activity in the human calcarine cortex[J]. Brain Res Cogn Brain Res, 2005, 25: 799-806.
- [3] Perin C, Schwartz S, Seghier M, et al. Hemispheric specialization of human inferior temporal cortex during coarse-to-fine and fine-to-coarse analysis of natural visual scenes[J]. Neuroimage, 2005, 28: 467-472.
- [4] Schroeter ML, Kupka T, Mildner T, et al. Investigating the post stimulus undershoot of the BOLD signal—a simultaneous fMRI and fNIRS study[J]. Neuroimage, 2006, 30: 349-354.
- [5] Pourtois G, Schwartz S, Seghier ML, et al. View-independent coding of face identity in frontal and temporal cortices modulated by familiarity: all event-related fMRI study[J]. Neuroimage, 2005, 24: 1214-1220.
- [6] Eger E, Schweinberger SR, Dolan RL, et al. Familiarity enhances invariance of face representations in human ventral visual cortex: fMRI evidence[J]. Neuroimage, 2005, 26: 1128-1134.
- [7] Pen C, Schwartz S, Seghier M, et al. Hemispheric specialization of human inferior temporal cortex during coarse-to-fine and fine-to-coarse analysis of natural visual scenes[J]. Neuroimage, 2005, 28(4): 464-470.
- [8] Goodyear BG, Menon RS. Effect of luminance contrast on BOLD Fmri response in human primary visual areas[J]. J Neurophysiol, 1998, 79: 2204-2209.
- [9] Schroeter ML, Kupka T, Mildner T, et al. Investigating the post stimulus undershoot of the BOLD signal—a simultaneous fMRI and fNIRS study[J]. Neuroimage, 2006, 30: 349-355.
- [10] Bartels A, Zeki S. The architecture of the colour centre in the human visual brain; new results and a review[J]. Eur J Neuro Sci, 2000, 12(1): 172-177.
- [11] Le Bihan D, Jezzard P, Haxby J, et al. Functional magnetic resonance imaging[J]. Science, 1991, 268(5212): 296-301.
- [12] Sereno MI, Dale AM, Reppas JB, et al. Borders of multiple visual areas in humans revealed by functional magnetic resonance imaging[J]. Science, 1995, 268(5212): 889-894.
- [13] 刘虎, 张权, 张云亭, 等. BOLD-fMRI 在视觉研究中的应用[J]. 国外医学临床放射学分册, 2004, 27(4): 209-214.
- [14] 孙学军, 刘买利, 叶朝辉. 脑功能磁共振成像研究进展[J]. 中国神经科学杂志, 2010, 17(3): 270-276.
- [15] Eger E, Schweinberger SR, Dolan IU, et al. Familiarity enhances invariance of face representations in human ventral visual cortex: fMRI evidence[J]. Neuroimage, 2005, 26(14): 1128-1133.

(收稿日期: 2010-09-23 修回日期: 2010-11-17)

(上接第 945 页)

- 医学, 2008, 30(12): 1834-1837.
- [4] Liu EL, Qin XM. Advance in Codonopsis pilosula[J]. J Shanxi Med Univ, 2002, 33(6): 567-569.
- [5] Zhu EY, He Q, Wang ZT, et al. Chemical study on the root of codonopsis pilosula[J]. J China Pharm Univ, 2001, 32(2): 94-95.
- [6] 张驰, 刘信平, 周大寨, 等. 中国板党中硒多糖提取分离技术研究[J]. 食品科学, 2006, 27(10): 314-318.
- [7] 肖海, 赵瑞娟. 喉罩-丙泊酚复合氯胺酮麻醉在乳腺癌根治术中的应用[J]. 山西医药杂志, 2009, 38(1): 47-48.
- [8] 万兆星, 刘晶涛, 康红灿, 等. 丙泊酚、氯胺酮复合芬太尼用于人工流产术中镇痛效果比较[J]. 山东医药, 2007, 47(21): 105-106.
- [9] 谢慧玲. 长托宁、阿托品、氯胺酮在小儿麻醉前用药比较[J]. 海南医学, 2006, 17(4): 95-96.
- [10] 刘宏雁, 吴迪, 吕国蔚, 等. 兴奋性氨基酸在缺氧耐受形成中的变化[J]. 中国应用生理学杂志, 2000, 16(4): 342-346.
- [11] 肖本见, 陈国栋, 谭志鑫, 等. 富硒板党对低氧耐受小鼠兴奋性氨基酸的影响[J]. 中国应用生理学杂志, 2006, 22(2): 151-152.
- [12] 吴丽颖, 王福庄, 范明. 低氧预适应提高脑缺氧耐受性的研究进展[J]. 国外医学生理、病理科学与临床分册, 2001, 21(4): 315-316.
- [13] 王文益, 赵聪敏, 廖伟, 等. EPO 基因修饰 MSCs 对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤的治疗作用[J]. 重庆医学, 2009, 38(22): 2787-2792.
- [14] 张雨平, 赵聪敏, 王丽雁, 等. Caspase-3 特异性肽类抑制剂抗新生鼠缺氧缺血性脑损伤量效研究[J]. 重庆医学, 2006, 35(19): 1762-1763.
- [15] 陈克克, 王拮之. 党参多糖的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2007, 7(4): 635-637.

(收稿日期: 2010-10-22 修回日期: 2010-11-03)