

人参皂苷对脑缺血再灌注损伤的保护机制研究现状[△]

孔令提^{1,2*}, 宋春丽¹, 石庆平^{1,2#}(1.蚌埠医学院第一附属医院药剂科,安徽蚌埠 233004;2.蚌埠医学院药学院,安徽蚌埠 233000)

中图分类号 R285.5 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)17-2445-04
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.17.28

摘要 目的:综述人参皂苷对脑缺血再灌注损伤的保护机制,以期为后续人参皂苷的开发提供参考。方法:以“人参皂苷”“脑缺血再灌注损伤”“Ginsenoside”“Cerebral ischemia-reperfusion injury”等为关键词,组合查询1985年1月—2018年12月在中国知网、万方数据、维普网、PubMed等数据库中的相关文献,综述人参皂苷对脑缺血再灌注损伤的保护机制。结果与结论:共检索到相关文献2 158篇,其中有效文献41篇。目前人参皂苷活性成分约有112种(包括其水解产物、代谢产物),但现研究仅集中在少数易获取的人参皂苷活性成分,如人参皂苷Rb₁、Rb₂、Rb₃、Rd、Rg₁、Rg₂等,可通过抗炎、抗自由基、抑制神经细胞凋亡、改善能量代谢、拮抗兴奋性氨基酸受体、调节自噬和调节免疫等机制单独或协同起到改善脑缺血再灌注损伤的作用。其余人参皂苷活性成分是否具有类似活性尚不清楚。此外,由于脑缺血再灌注损伤是一个复杂的病理生理过程,诸多因素参与其中,因此人参皂苷对脑缺血再灌注损伤的保护机制仍有待于通过多靶点进一步深入研究,以明确其作用机制及药效基础。

关键词 人参皂苷;脑缺血再灌注损伤;保护作用;作用机制

近年来随着冠状动脉旁路移植术、溶栓疗法和经皮腔内冠脉血管成形术等方法在临床的推广应用,缺血后的组织器官重新得到血液再灌注,然而缺血后的血流恢复在某些情况下能导致更严重的组织损伤和功能障碍,这种情况称为缺血再灌注损伤^[1],其中常见的有心肌缺血再灌注损伤和脑缺血再灌注损伤。由于脑是人体对缺氧最敏感的器官,所以脑缺血再灌注损伤更严重。缺血性脑血管病变目前占脑血管性疾病的60%~80%,具有发病率高、致残率高和病死率高的特点^[2]。

缺血再灌注损伤是一个复杂的生理过程,能量代谢异常、离子代谢紊乱、自由基损伤、炎症反应和细胞凋亡等多种因素均参与其中^[3]。近年来治疗缺血性脑血管病药物不断问世,但多数药物只是改变脑缺血复杂病理生理过程中的某一环节,其疗效并不令人满意。

人参是五加科人参属植物人参(*Panax ginseng* C.A. Mey.)的干燥根和根茎,具有大补元气、补脾益肺、生津、安神益智等功效^[4]。人参皂苷是其主要活性成分,根据化学结构不同可分为原人参二醇型(主要有人参皂苷Rb₁、Rb₂、Rb₃、Rc、Rd和Rh₂等)、原人参三醇型(主要有人参皂苷Re、Rf、Rg₁、Rg₂和Rh₁等)和齐墩果酸型(主要有人参皂苷Ro、Rh₃、Ri和拟人参皂苷F₄等)^[5]。随着对人参皂苷研究的逐渐深入,其对脑缺血再灌注损伤的保护作用也受到越来越多的关注^[6]。为了明确人参皂苷对脑

缺血再灌注损伤的保护机制,笔者以“人参皂苷”“脑缺血再灌注损伤”“Ginsenoside”“Cerebral ischemia-reperfusion injury”等为关键词,组合查询1985年1月—2018年12月在中国知网、万方数据、维普网、PubMed等数据库中的相关文献。结果,共检索到相关文献2 158篇,其中有效文献41篇。现就人参皂苷活性成分及其对脑缺血再灌注损伤的保护机制进行综述,以期为后续人参皂苷的开发提供参考。

1 人参皂苷对脑缺血再灌注损伤的保护机制

1.1 抗炎作用

炎症反应是导致缺血再灌注脑损伤的重要病理机制之一^[7]。其中白细胞介素1β(IL-1β)、肿瘤坏死因子α(TNF-α)和细胞间黏附分子1(ICAM-1)等在此过程中发挥着重要作用。

刘俊伟等^[8]发现人参皂苷Rb₁可使大鼠神经缺损程度评分降低,脑组织IL-1β阳性细胞数减少,且血清中IL-1β含量降低,表明其可能通过下调IL-1β的表达从而缓解大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤。人参皂苷Rb₃和Rg₁也具有类似的作用机制,可明显降低脑组织中促炎症因子IL-1β、IL-6和TNF-α水平,从而起到改善脑缺血再灌注损伤的作用^[9-10]。

人参总皂苷同样表现出抗炎作用,如赵莹等^[11]发现西洋参叶中原人参三醇组皂苷可使大鼠脑缺血再灌注损伤后的神经缺陷症状得到明显改善,不仅显著抑制脑组织中IL-1β、IL-6和TNF-α的mRNA表达水平,与此同时可减少核转录因子κB(NF-κB)p65的蛋白表达水平,表明其保护作用机制可能与抑制炎症因子的产生有关。

近年来研究发现细胞因子高迁移率族蛋白B1(HMGB1)在脑缺血再灌注损伤中起到重要作用,其能

△基金项目:安徽省自然科学基金资助项目(No.1708085QH208);安徽省2019年度高校优秀青年骨干人才国外访问研修项目(No.gxgw-fx2019030)

*副主任药师,副教授,博士。研究方向:临床药学、药动学。电话:0552-3086297。E-mail:konglingti@163.com

#通信作者:主任药师,教授,硕士生导师。研究方向:临床药学。电话:0552-3086246。E-mail:sir_shi@126.com

被动地从坏死细胞中释放或主动从被炎症信号分子激活的免疫细胞内释放,从而诱发炎症反应,过表达的HMGB1还可导致神经元凋亡,从而加重脑损伤^[12]。李芳等^[13]研究发现人参总皂苷注射液在一定范围内可抑制HMGB1的表达,且呈剂量依赖效应,从而通过降低炎症反应达到改善脑缺血再灌注损伤的作用。Liu A等^[14]也发现人参皂苷Rb₁通过抑制HMGB1的表达可发挥对脑中动脉缺血(MCAO)模型大鼠的保护作用。

1.2 抗自由基作用

在脑缺血再灌注过程中,一氧化氮(NO)和氧自由基等的异常变化会对细胞造成损伤,其中超氧化物歧化酶(SOD)等内源性抗氧化物质的活性降低,丙二醛(MDA)升高,从而损伤细胞膜、内质网和线粒体等^[3]。

王巧云等^[15]发现,人参皂苷Rg₁可明显改善局灶性脑缺血再灌注模型大鼠神经功能症状,增加海马锥体细胞存活数,其机制可能与抑制NO合酶(NOS)表达而使NO含量降低有关。此外,人参皂苷Rg₁还可升高线粒体呼吸酶、SOD和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)水平,降低MDA含量,上调红细胞核因子相关因子2(Nrf2)和血红素氧合酶1(HO-1)蛋白表达,从而起到促进氧自由基清除和减少氧化应激损伤的作用^[16-17]。吕凤亚等^[18]发现人参总皂苷对脑缺血再灌注损伤模型大鼠也具有保护作用,可降低模型大鼠脑组织中MDA含量,升高SOD含量,表明其作用机制可能与抑制自由基损伤有关。

人参花蕾中所含人参皂苷与人参根中皂苷的药理效果类似,同样可通过上调SOD基因的表达,增加脑组织细胞SOD活性,抑制由脑缺血再灌注损伤引起的脂质过氧化物的产生和GSH的降低,减轻由脑缺血再灌注引起的脑组织细胞损伤^[19]。

1.3 抑制神经细胞凋亡

细胞凋亡在多种疾病进程中均可以发生,脑缺血再灌注损伤过程中多种因素均可能导致细胞凋亡的发生。缺血再灌注损伤发生后,机体会产生一系列的自我保护性反应,其中如何抑制神经细胞的凋亡在其中起着重要作用;神经细胞凋亡与多种基因的调控有关,包括一些与细胞增殖有关的原癌基因和抑癌基因。目前研究比较多的有B细胞淋巴瘤因子2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)、钙激活蛋白酶I(Calpain I)、半胱氨酸蛋白酶3(Caspase-3)和细胞周期蛋白D1(Cyclin D1)等^[20]。

人参皂苷Rb₁能减轻脑缺血再灌注损伤模型大鼠中缺血侧脑组织的病理改变,减少神经细胞凋亡数,上调神经元凋亡抑制蛋白(NAIP)、Nogo-66受体(NgR)和Bcl-2表达和抑制Bax表达,从而发挥对受损脑组织的保护作用^[21-23]。人参皂苷Rg₁可使脑缺血再灌注损伤模型大鼠脑组织内海马锥体细胞存活数增加,海马CA1区磷酸化c-Jun氨基末端激酶表达降低,磷酸化细胞外信号

调节蛋白激酶1/2表达升高,促进顶颞叶皮质金属蛋白酶抑制因子(TIMP1)表达,从而抑制神经元凋亡^[24-25]。此外,人参皂苷Rg₃可明显减少脑缺血再灌注损伤模型大鼠神经细胞凋亡数目,显著改善大鼠的行为障碍,其机制与抑制Calpain I和Caspase-3 mRNA的表达密切相关,且呈一定的剂量依赖性^[26]。

任德启等^[27]发现人参总皂苷也能明显抑制体外缺血再灌注损伤模型大鼠星形胶质细胞的凋亡,显著升高Bcl-2和Cyclin D1的蛋白表达,降低Bax的蛋白表达,表明其可能通过影响凋亡相关蛋白的表达而发挥作用。

1.4 改善能量代谢

脑组织代谢非常活跃,所需能量消耗极大,但脑自身无能量储备能力,故从血液循环中持续获取葡萄糖对维持其正常生理功能尤为重要,且获取过程需要在葡萄糖转运体的介导下完成^[28]。脑组织中的葡萄糖转运体主要为葡萄糖转运体1(GLUT1)和GLUT3,葡萄糖需先经GLUT1转运到脑细胞外间隙后才能经GLUT3完成跨神经细胞膜的转运,而脑缺血再灌注损伤后该转运途径受到破坏,从而导致脑功能的缺失^[28]。

李方成等^[28]研究了人参皂苷Rb₁对脑缺血再灌注损伤模型大鼠中缺血半影区GLUT3 mRNA、蛋白表达以及脑梗死体积的影响,以期从能量代谢角度探讨人参皂苷Rb₁的神经保护机制。结果发现,人参皂苷Rb₁干预后脑缺血再灌注损伤模型大鼠脑梗死体积明显缩小,其机制可能与上调缺血半影区GLUT3蛋白表达以维持脑组织的能量供给有关。

Huang XP等^[29]研究了人参皂苷Rg₁和Rb₁对C57BL/6脑缺血再灌注损伤模型小鼠中脑组织能量代谢的影响,结果发现二者均可显著增加脑组织中腺苷三磷酸(ATP)、腺苷二磷酸(ADP)和腺苷-磷酸(AMP)的水平,同时可增强GLUT3 mRNA和蛋白的表达,且与黄芪甲苷配伍后此效应增强。

1.5 拮抗兴奋性氨基酸受体

在发生缺血再灌注期间,脑组织内谷氨酸(Glu)和天冬氨酸(Asp)等兴奋性氨基酸水平升高,导致的兴奋毒性在神经细胞损伤及引发的脑功能障碍中起重要而关键的作用,故降低兴奋性氨基酸含量可能是改善缺血再灌注损伤的一个有效治疗手段^[3]。

相关研究发现,与脑缺血再灌注损伤模型组大鼠比较,人参皂苷Rg₁可降低大鼠神经行为学评分和脑梗死面积,作用机制可能与降低脑组织中Glu和Asp水平有关^[30-31]。李爱红等^[32]发现人参皂苷Rb₁、Rb₃和Rg₁对培养的小鼠皮层神经细胞在糖氧剥离损伤中均具有保护作用,其机制可能也与拮抗兴奋性氨基酸毒性有关。

1.6 调节自噬

自噬是细胞自我保护的一种重要机制,在缺血再灌

注的应激条件下,自噬可以加强损伤蛋白的清除及能源物质的回收,以使细胞适应不同的应激状态。研究发现,人参皂苷可通过自噬对脊髓损伤和心脏损伤发挥保护作用^[33-34],但目前细胞自噬在脑缺血再灌注损伤中的具体作用及机制研究尚不多见。

李丹丹^[35]研究发现,人参皂苷 Rg₁可能通过调节大鼠局灶性缺血再灌注模型大鼠中大脑顶叶自噬效应蛋白(Beclin-1)、微管相关蛋白轻链3(LC3)和哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)等自噬相关蛋白的表达水平,从而对大鼠局灶性脑缺血再灌注神经元起到保护作用。

Liu YY等^[36]研究了拟人参皂苷 F₁₁对大鼠局灶性缺血再灌注模型大鼠的影响,发现其可以显著改善大鼠缺血再灌注损伤症状,原因可能与其可逆转损伤后脑组织中微管相关蛋白轻链3 II(LC3-II)、死骨片1(SQSTM1)和泛素等的异常聚集有关。

1.7 其他

人参皂苷 Rb₁能够明显减少MCAO模型小鼠的脑坏死面积的比例,原因可能与其可抑制模型小鼠的胸腺和脾脏的萎缩有关^[37]。

Liu XY等^[38]研究了人参皂苷 Rd对大鼠局灶性缺血再灌注模型大鼠的影响,发现其可通过激活磷脂酰肌醇三激酶/蛋白质丝氨酸苏氨酸激酶(PI3K/Akt)和细胞外调节蛋白激酶(ERK1/2)两条信号通路使血管内皮生长因子(VEGF)和脑源性神经营养因子(BDNF)表达增加,从而起到促进神经细胞生成的作用^[39]。

2 结语

脑缺血再灌注损伤机制是一个复杂的病理生理过程,人参皂苷可通过抗炎、抗自由基、抑制神经细胞凋亡、改善能量代谢、拮抗兴奋性氨基酸和调节自噬等不同途径发挥改善脑缺血再灌注损伤的作用,且各种因素之间相互影响。此外,近年来研究发现人参皂苷在体内经胃肠道代谢后去糖基化生成的代谢产物,即次苷及其苷元,相对于天然皂苷更容易吸收入血,且具有更好的药理活性,提示人参皂苷在体内的代谢产物可能是其药效物质的基础^[40-41]。

总之,目前已经发现的人参皂苷类活性成分约有112种(包括其水解产物、代谢产物)^[9],但目前研究较多仅人参皂苷 Rb₁、Rb₃、Rd、Rg₁、Rg₃和拟人参皂苷 F₁₁等。目前人参皂苷类对脑缺血再灌注损伤的研究仍处于初级阶段,后续随着对脑和心肌等组织缺血再灌注损伤的保护机制研究的不断深入,人参皂苷及其代谢产物对脑缺血再灌注损伤的保护作用机制尚有待于通过多通道和多靶点进一步分析。

参考文献

[1] FRANK A, BONNEY M, BONNEY S, et al. Myocardial ischemia reperfusion injury: from basic science to clinical

bedside[J]. *Semin Cardiothorac Vasc Anesth*, 2012, 16(3):123-132.

[2] 张梅.中国成人心脑血管疾病发病风险研究[D].北京:中国疾病预防控制中心,2017.

[3] 杨鹏飞,宋修云,陈乃宏.三七总皂苷抗脑缺血再灌注损伤的药理研究进展[J]. *药科学报*, 2016, 51(7):1039-1046.

[4] 国家药典委员会.中华人民共和国药典:一部[S]. 2015年版.北京:中国医药科技出版社,2015:8.

[5] SHIN BK, KWON SW, PARK JH. Chemical diversity of ginseng saponins from *Panax ginseng*[J]. *J Ginseng Res*, 2015, 39(4):287-298.

[6] 鲁婵婵,戴彦成,王蓓,等.人参皂苷对脑缺血保护作用的研究进展[J]. *上海医药*, 2015, 36(3):69-71.

[7] 郑伟,海军,宋晓雪,等.甲基莲心碱对肝缺血再灌注损伤模型小鼠氧化应激和炎症反应的影响[J]. *中国药房*, 2018, 29(15):2068-2072.

[8] 刘俊伟,任治龙,刘旭玲,等.人参皂苷 Rb₁对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤后脑梗死体积及脑组织和血清IL-1 β 的影响[J]. *中国中西医结合杂志*, 2013, 33(12):1696-1700.

[9] 曲莉,于晓风,徐华丽,等.人参皂苷 Rb₃对大鼠脑缺血再灌注损伤的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2016, 36(23):5791-5793.

[10] WANG L, ZHAO H, ZHAI ZZ, et al. Protective effect and mechanism of ginsenoside Rg₁ in cerebral ischaemia-reperfusion injury in mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018. DOI:10.1016/j.biopha.2018.01.136.

[11] 赵莹,宋岐,金芳,等.西洋参叶20S-原人参三醇组皂苷对大鼠脑缺血再灌注损伤炎症反应的影响[J]. *中国药师*, 2018, 21(1):28-32.

[12] QIU J, NISHIMURA M, WANG Y, et al. Early release of HMGB-1 from neurons after the onset of brain ischemia [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2008, 28(5):927-938.

[13] 李芳,马风杰,丁绪平.人参总皂苷对大鼠脑缺血再灌注损伤后神经血管单元的保护作用[J]. *潍坊医学院学报*, 2014, 36(1):76-78, 82.

[14] LIU A, ZHU W, SUN L, et al. Ginsenoside Rb₁ administration attenuates focal cerebral ischemic reperfusion injury through inhibition of HMGB1 and inflammation signals [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(4):3020-3026.

[15] 王巧云,吴峰阶.人参皂苷 Rg₁对局灶性脑缺血再灌注大鼠脑组织NOS活性及蛋白表达的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2011, 27(12):2328-2332.

[16] 胡霞敏,严常开,胡先敏,等.人参皂苷 Rg₁对脑缺血再灌注损伤大鼠脑线粒体功能的影响[J]. *中国新药杂志*, 2006, 15(7):514-517.

[17] 边立功,钟莲梅,艾青龙,等.人参皂苷 Rg₁调控Nrf2在SD大鼠脑缺血再灌注损伤后的抗氧化作用[J]. *昆明医*

科大学学报,2018,39(6):35-38.

- [18] 吕凤亚.人参总皂苷对大鼠脑缺血再灌注后MDA、SOD及细胞凋亡的影响[J].脑与神经疾病杂志,2005,13(3):189-191.
- [19] 张丽君,吕文伟,王志,等.人参花蕾皂苷对脑缺血-再灌注损伤大鼠的抗氧化作用及其机制[J].中草药,2005,36(11):1693-1694.
- [20] 彭智远,刘旺华,曹雯.脑缺血再灌注损伤细胞凋亡机制的研究进展[J].中华中医药学刊,2017,35(8):1957-1961.
- [21] 任庆华,罗江兵,李长清.人参皂苷单体Rb₁对大鼠脑缺血损伤保护作用的实验研究[J].卒中与神经疾病,2015,22(4):203-206.
- [22] 孙德旭,萧洪文,袁琼兰,等.人参皂苷Rb₁对大鼠脑缺血再灌注损伤中NAIP表达的影响[J].解剖与临床,2007,12(4):250-253.
- [23] 杨朝鲜,刘军祥,孙珠蕾,等.人参皂苷Rb₁对大鼠脑缺血再灌注时神经元凋亡及Bcl-2和Bax表达的影响[J].四川大学学报:医学版,2008,39(2):214-217.
- [24] 王巧云,刘凤,吴峰阶,等.人参皂苷Rg₁对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠海马p-ERK1/2与p-JNK表达的影响[J].中国中西医结合杂志,2013,33(2):229-234.
- [25] 李亮,邓文祥,何军锋,等.人参皂苷Rg₁对局灶性脑缺血再灌注大鼠的神经保护作用[J].神经损伤与功能重建,2016,11(2):95-98.
- [26] HE B, CHEN P, YANG J, et al. Neuroprotective effect of 20(R)-ginsenoside Rg(3) against transient focal cerebral ischemia in rats[J]. *Neurosci Lett*, 2012, 526(2): 106-111.
- [27] 任德启,孟毅,郑伟峰,等.人参皂苷对脑缺血再灌注损伤星形胶质细胞增殖的影响及机制[J].中国老年学杂志,2018,38(12):2991-2994.
- [28] 李方成,陶宗玉,刘安民,等.人参皂苷Rb₁对脑缺血半影区葡萄糖转运体3表达的影响[J].中华神经外科杂志,2005,21(9):571-573.
- [29] HUANG XP, DING H, WANG B, et al. Effects of the main active components combinations of astragalus and panax notoginseng on energy metabolism in brain tissues after cerebral ischemia-reperfusion in mice[J]. *Pharmacogn Mag*, 2015, 11(44): 732-739.
- [30] 周媛媛,李超彦,李立.人参皂苷Rg₁对老龄脑缺血再灌注损伤大鼠脑功能的保护及谷氨酸、天冬氨酸含量的影响[J].中国老年学杂志,2014,34(23):6738-6739.
- [31] WANG L, ZHAO H, ZHAI ZZ, et al. Protective effect and mechanism of ginsenoside Rg₁ in cerebral ischaemia-reperfusion injury in mice[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018. DOI: 10.1016/j.biopha.2018.01.136.
- [32] 李爱红,柯开富,吴小梅,等.人参皂苷对培养小鼠皮层神经细胞在糖氧剥离损伤中的保护作用[J].江苏医药,2005,31(11):834-836.
- [33] WANG P, LIN CW, WU SY, et al. Inhibition of autophagy is involved in the protective effects of ginsenoside Rb₁ on spinal cord injury[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2018, 38(3): 679-690.
- [34] XU ZM, LI CB, LIU QL, et al. Ginsenoside Rg₁ prevents doxorubicin-induced cardiotoxicity through the inhibition of autophagy and endoplasmic reticulum stress in mice[J]. *Int J Mol Sci*, 2018. DOI: 10.3390/ijms19113658.
- [35] 李丹丹.人参皂苷Rg₁对局灶性脑缺血再灌注自噬及其相关基因Beclin-1、LC3、mTOR表达的影响[D].锦州:锦州医科大学,2018.
- [36] LIU YY, ZHANG TY, XUE X, et al. Pseudoginsenoside-F11 attenuates cerebral ischemic injury by alleviating autophagic/lysosomal defects[J]. *CNS Neurosci Ther*, 2017, 23(7): 567-579.
- [37] 吕梦捷.人参皂苷Rb₁对小鼠免疫细胞行为影响和脑缺血再灌注损伤小鼠的免疫调节作用[D].广州:暨南大学,2011.
- [38] LIU XY, ZHOU XY, HOU JC, et al. Ginsenoside Rd promotes neurogenesis in rat brain after transient focal cerebral ischemia via activation of PI3K/Akt pathway[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2015, 36(4): 421-428.
- [39] YU S, ZHOU X, LI F, et al. Microbial transformation of ginsenoside Rb₁, Re and Rg₁ and its contribution to the improved anti-inflammatory activity of ginseng[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 138.
- [40] PARK SM, JUNG EH, KIM JK, et al. 20S-protopanaxadiol, an aglycosylated ginsenoside metabolite, induces hepatic stellate cell apoptosis through liver kinase B1-AMP-activated protein kinase activation[J]. *J Ginseng Res*, 2017, 41(3): 392-402.
- [41] LEE SY, JEONG JJ, EUN SH, et al. Anti-inflammatory effects of ginsenoside Rg₁ and its metabolites ginsenoside Rh₁ and 20(S)-protopanaxatriol in mice with TNBS-induced colitis[J]. *Eur J Pharmacol*, 2015. DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.06.011.

(收稿日期:2019-03-05 修回日期:2019-05-24)

(编辑:唐晓莲)