

三七总皂苷对脊髓损伤的保护作用及机制研究概况

林威, 祁文

(广西中医药大学, 广西南宁, 530001)

[关键词] 三七总皂苷; 脊髓损伤; 保护作用; 综述, 学术性

[中图分类号] R282.710.7 [文献标识码] A DOI:10.16808/j.cnki.issn1003-7705.2018.06.094

脊髓损伤(SCI)是一种严重的中枢神经系统疾病,具有高发率、高致残率、高耗费和青壮年多发等特点。据世界卫生组织调查显示,外伤性脊髓损伤的年发病率约为12.1~58.7/1000000/年^[1],而且呈逐年上升趋势,每年大约有50万新增患者^[2]。SCI给患者个人及其家庭乃至整个社会带来了沉重的负担,其治疗至今仍是医学界的难题之一。在治疗SCI的药物中,甲基强的松龙(MP)在临床上使用最为广泛,但由于MP可增加患者胃肠道出血、肺部感染、高血糖血症等并发症的发生率,故MP的临床使用率呈现出动态下降的趋势^[3]。此外,神经营养因子、神经节苷脂、降解胶质瘢痕药物、氧自由基清除剂和抗氧化剂等药物也常常被用于SCI的治疗,但这些药物作用较单一,疗效不能令人满意。因此,寻找疗效显著且毒副作用小的药物来满足临床治疗SCI的需要是当今基础和临床研究的焦点和热点。

三七是我国传统名贵中药材之一,具有化瘀止血、活血定痛、补虚强体的功效,可用于治疗各种出血证及跌打损伤所致的瘀血肿痛。三七总皂苷是三七的主要成分,具有消炎止痛、抗血栓形成、抗血小板聚集、保护脑神经等作用^[4],对改善心脑血管血液循环等效果显著。近年来,随着应用范围的扩大,三七总皂苷被较为广泛地应用于治疗SCI的实验研究中。杨慧等^[5]利用BBB评分法和运动诱发电位检查观察SCI大鼠后肢运动功能的恢复情况,发现三七总皂苷组比SCI组肢体运动功能恢复快。可见,三七总皂苷对SCI的修复是有促进作用的。现将三七总皂苷对SCI可能的保护作用及机制研究作如下综述。

1 改善神经修复的微环境

1.1 减轻SCI后大量氧自由基的生成 脊髓损伤后,脊髓神经细胞在缺血缺氧状态下会产生并释放大量的氧自由基^[6],自由基介导的脂质过氧化(LPO)可引起细胞膜的结构和功能改变,导致脊髓神经细胞变性、坏死,从而造成脊髓的继发性损害。因此,抑制和清除自由基是SCI早期治疗的关键。丙二醛(MDA)为过氧化脂质的代谢产物,而超氧

化歧化酶(SOD)为自由基清除剂,在自由基清除机制当中起着重要作用。尚建伟等^[7]通过生物化学方法检测急性SCI大鼠伤段脊髓MDA的含量及SOD活性,并在光镜下观察伤段脊髓组织的形态改变。结果显示伤后立即腹腔注射三七总皂苷溶液的治疗组伤段脊髓MDA含量明显低于给予等量0.9%氯化钠注射液的手术组;而SOD活性较手术组明显偏高($P < 0.05$)。光镜下显示术后2h手术组和治疗组均有水肿及中心性出血,但手术组较明显;术后6h观察发现治疗组脊髓组织的形态改变较手术组明显减轻,且有神经胶质细胞增生,呈现损伤修复的改变。说明在SCI早期,三七总皂苷能够有效地减少MDA的生成,提高SOD的活性,从而减少脊髓组织中氧自由基含量,进而对脊髓继发性损害起到抑制作用。

1.2 增加损伤脊髓血流量 血液流变学变化是诱导脊髓组织在缺血再灌注中发生继发性损伤的重要因素。相关研究表明,脊髓损伤后可激活凝血系统,在数小时内引发血液高凝^[8],出现血液黏度增高,红细胞变形能力下降,聚集性增加^[9],引起微循环障碍。龙在云等^[10]探讨脊髓损伤后三七总皂苷对脊髓血流量及神经功能的影响,研究发现与伤前比较,0.9%氯化钠注射液组和三七总皂苷组脊髓血流量均无明显改变,而在伤后1~24h,与0.9%氯化钠注射液组相比,三七总皂苷组脊髓血流量均明显优于0.9%氯化钠注射液组,差异有统计学意义($P < 0.05$);而且应用三七总皂苷治疗后的大鼠,其脊髓感觉诱发电位潜伏时明显较0.9%氯化钠注射液组缩短($P < 0.05$)。说明三七总皂苷能明显增加损伤脊髓血流量,改善损伤脊髓的微循环,保护脊髓的神经传导功能。

1.3 降低谷氨酸的兴奋性毒性 谷氨酸是神经系统中主要的兴奋性神经递质,在脊髓损伤时,突触间隙的谷氨酸浓度持续升高,会对神经元造成兴奋性毒性损伤^[11]。谷氨酰胺合成酶(GS)具有降低谷氨酸的兴奋性毒性的作用,是重吸收谷氨酸使其转变为谷氨酰胺的关键酶。李花等^[12]

第一作者:林威,男,2015级硕士研究生,研究方向:脊柱脊髓疾病的基础与临床研究

通讯作者:祁文,男,医学博士,副主任医师,硕士研究生导师,研究方向:脊柱脊髓疾病的基础与临床研究, E-mail:

630179114@qq.com

采用免疫生物化学方法检测脊髓损伤远侧端 GS 表达的变化,结果显示三七总皂苷组和溶媒对照组相比,GS 的表达在相同时间点优于对照组,尤其是第 3 天和第 7 天;BBB 评分表明三七总皂苷组大鼠运动功能恢复程度明显高于溶媒对照组。提示三七总皂苷能显著增强 GS 的表达,加强对谷氨酸递质的清除作用,从而有效改善 SCI 后的微环境。

1.4 抑制 SCI 后星形胶质细胞(AST)的活化 AST 参与脊髓微环境的构成,被认为是调节脊髓微环境的关键因素。SCI 后 AST 过度增生,形成胶质瘢痕,从而阻碍损伤神经元的修复以及再生轴突的延伸,严重影响肢体功能的改善^[13]。胶质纤维酸性蛋白(GFAP)是 AST 的特异性标志骨架蛋白,其数量和表达的高低可以说明反应性胶质化的程度。李花等^[14]探讨三七总皂苷对脊髓损伤后的保护作用以及对 GFAP 表达变化的影响,BBB 评分显示三七总皂苷能明显促进 SCI 后运动功能的恢复,其中损伤后第 7 天和第 14 天的评分明显高于溶媒对照组,免疫组化结果显示三七总皂苷组与溶媒对照组 GFAP 表达的时间趋势相同,都呈现出第 1 天、3 天逐渐增强,第 7 天达高峰的趋势,随后逐渐下降,至第 28 天时 GFAP 的表达仍强于正常组,但相同时间三七总皂苷组 GFAP 的表达弱于对照组,尤其是第 3 天、7 天。提示三七总皂苷能够抑制 SCI 后 AST 的活化,减轻胶质瘢痕的形成,从而改善神经再生的微环境,促进损伤后运动功能的恢复。

2 促进神经元再生

2.1 促进神经生长因子(NGF)、脑源性神经营养因子(BDNF)的表达 NGF 对脊髓损伤的重建具有重要作用,研究发现,NGF 不仅可支持神经元存活并促进轴突生长^[15],还可促进感觉神经元轴突的丝状伪足和分支形成^[16]。BDNF 能促进皮质脊髓神经元与残存的下行性中间神经元形成突触连接^[17],对多种神经元轴索及髓鞘的再生均有促进作用^[18]。黄纯海等^[19]实验检测到脊髓全横断损伤后,NGF 和 BDNF 的表达在第 3 天尚未出现明显增加,而到第 7 天时表达明显升高,经三七总皂苷治疗后,NGF 和 BDNF 表达的增加在伤后第 3 天即已明显,这种作用一直持续至第 7 天达高峰,并且镜下可见 SCI 后水肿坏死、炎性浸润等病理变化减轻。李花等^[20]研究亦证实三七总皂苷能增强脊髓半横断损伤后 BDNF 的表达,尤其是在伤后第 3 天、7 天;BBB 评分及斜板实验结果显示三七总皂苷能明显促进 SCI 后运动功能的恢复。由此可见,三七总皂苷可以通过增加 NGF 和 BDNF 的表达量及提前这 2 种因子表达的时间来使受损神经元得到修复,从而促进 SCI 的恢复。

2.2 促进突触分化诱导基因 1(SynDIG1)的表达 SynDIG1 可以调整神经突触的分化发育过程^[21],徐纪伟等^[22]研究发现,脊髓损伤后中期神经元大量表达 SynDIG1,激活了神经

生长因子,促进神经元再生,有利于神经系统的修复。该研究组采取三七总皂苷治疗 SCI 大鼠,结果显示能有效增加 SynDIG1 的表达,提升 SCI 大鼠 BBB 运动功能及斜板实验评分,促进大鼠肢体运动功能恢复^[23]。

3 抑制细胞凋亡

3.1 抑制半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)及诱导型一氧化氮合酶(iNOS)的表达 Caspase-3 在脊髓继发性损伤的细胞凋亡过程中发挥了重要作用,相关研究表明,Caspase-3 是细胞凋亡中的关键蛋白酶,控制着凋亡的启动,被称为凋亡的“分子开关”^[24]。此外,当脊髓损伤区的一氧化氮(NO)过量生成时,可通过氧化应激及其他多种途径诱导神经细胞凋亡。由于 iNOS 的活性为非钙依赖性,一旦合成,持续催化生成大量的 NO^[25]。因此,可以通过有效抑制 iNOS 的表达,从而阻断损伤区 NO 过量产生引起的神经细胞凋亡^[26]。赵玉鑫等^[27]采用免疫组化法对 SCI 大鼠的脊髓组织进行检测发现,三七总皂苷组大鼠脊髓神经细胞 iNOS 及 Caspase-3 阳性细胞表达均较损伤组低,2 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),并且在光镜下观察发现三七总皂苷组大鼠的脊髓组织病理学改变明显轻于损伤。说明三七总皂苷可通过抑制 SCI 后 iNOS 及 Caspase-3 的表达,从而减轻神经细胞的凋亡,发挥对损伤神经元的保护和治疗作用。

3.2 促进热休克蛋白 70(Hsp70)的表达 Hsp70 是 SCI 病理过程中的重要参与者,其高表达有助于蛋白的折叠,抑制异常蛋白的聚集,减少细胞毒性,从而抑制细胞的凋亡^[28]。李志强等^[29]采取免疫细胞化学方法观察 SCI 大鼠脊髓组织 Hsp70 阳性神经元的表达变化,镜下观察发现空白组和假手术组 Hsp70 呈低水平表达,散在分布;溶媒对照组和三七总皂苷组则明显表达增强,大部分着色均匀,边界清楚。三七总皂苷组 Hsp70 的表达显著高于其他 3 组($P < 0.01$)。提示三七总皂苷可通过诱导脊髓组织 Hsp70 神经元的表达而起保护作用。

4 结 语

综上所述,三七总皂苷主要是通过改善神经修复的微环境、促进轴突再生、抑制细胞凋亡等途径减轻 SCI 所导致的一系列病理生理损伤,进而对 SCI 起到一定的保护作用。尽管三七总皂苷治疗 SCI 的疗效得到了一定的验证,但其确切的作用机制及治疗方案还有待进一步的研究及规范。同时目前对三七总皂苷治疗 SCI 的研究还主要集中在动物实验中,临床上应用三七总皂苷治疗 SCI 的研究比较少见,而 SCI 动物模型的实验结果并不一定适用于人类,能否在临床中也取得相同的效果还有待进一步的研究。因此,在今后的科研工作中应增加临床试验的研究,以便提供更多的科学依据,从而更好地为 SCI 患者服务。

参考文献

- [1] Berg MELVD, Castellote JM, Mahillo - fernandez I, et al. Incidence of Spinal Cord Injury Worldwide: A Systematic Review [J]. *Neuroepidemiology*, 2010, 34(3): 184 - 192.
- [2] Cripps RA, Lee BB, Wing P, et al. A global map for traumatic spinal cord injury epidemiology: towards a living data repository for injury prevention [J]. *Spinal Cord*, 2010, 49(4): 493 - 501.
- [3] 曹鹏, 石长贵, 袁文. 甲基强的松龙在急性脊髓损伤中的应用进展 [J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2015, 25(2): 174 - 178.
- [4] Gui QF, Yang YM, Ying SH, et al. Xueshuantong improves cerebral blood perfusion in elderly patients with lacunar infarction [J]. *Neural Regeneration Research*, 2013, 8(9): 792 - 801.
- [5] 杨慧, 张余, 陈旭义, 等. 三七总皂苷对脊髓损伤大鼠运动功能恢复的作用 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2016, 32(2): 142 - 145.
- [6] Araceli DR, Mireya AZ, Valente M, et al. Differential time - course of the increase of antioxidant thiol - defenses in the acute phase after spinal cord injury in rats [J]. *Neuroscience Letters*, 2009, 452(1): 56 - 59.
- [7] 尚建伟, 孔抗美, 齐伟力, 等. 三七总皂甙对大鼠脊髓损伤作用的实验研究 [J]. *汕头大学医学院学报*, 2005, 18(4): 200 - 201, 205, 190.
- [8] Stratman RC, Wiesner AM, Smith KM, et al. Hemodynamic Management After Spinal Cord Injury [J]. *Orthopedics (Online)*, 2008, 31(3): 102 - 116.
- [9] 范萍, 苗军, 张蕾. 脊髓损伤患者围手术期血液流变学改变与护理对策 [J]. *护士进修杂志*, 2010, 25(15): 1426 - 1427.
- [10] 龙在云, 伍亚民, 曾琳, 等. 三七总皂甙对脊髓损伤后脊髓血流量和感觉诱发电位的影响 [J]. *第三军医大学学报*, 2004, 26(3): 212 - 213.
- [11] Kasatkina L, Borisova T. Impaired Na⁺ - dependent glutamate uptake in platelets during depolarization of their plasma membrane [J]. *Neurochemistry International*, 2010, 56(5): 711 - 719.
- [12] 李花, 陈安, 李亮, 等. 三七总皂苷对大鼠脊髓损伤后 GS 的表达及运动功能恢复的影响 [J]. *湖南中医药大学学报*, 2012, 32(1): 23 - 26, 30.
- [13] Park YM, Lee W, Bokara KK, et al. The Multifaceted Effects of Agmatine on Functional Recovery after Spinal Cord Injury through Modulations of BMP - 2/4/7 Expressions in Neurons and Glial Cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e53911.
- [14] 李花, 赵子进, 潘丁, 等. 三七总皂苷对脊髓损伤后的保护作用及 GFAP 相关机制 [J]. *现代生物医学进展*, 2010, 10(10): 1825 - 1827, 1835.
- [15] Bodmer D, Richmond A, Hirsh S, et al. Wnt5a mediates nerve growth factor - dependent axonal branching and growth in developing sympathetic neurons [J]. *The Journal of Neuroscience*, 2009, 29(23): 7569 - 7581.
- [16] Ketschek A, Gallo G. Nerve growth factor induces axonal filopodia through localized microdomains of phosphoinositide 3 - kinase activity that drive the formation of cytoskeletal precursors to filopodia [J]. *The Journal of Neuroscience*, 2010, 30(36): 12185 - 12197.
- [17] Vavrek R, Girgis J, Tetzlaff W, et al. BDNF promotes connections of corticospinal neurons onto spared descending interneurons in spinal cord injured rats [J]. *Brain: a journal of neurology*, 2006, 129(Pt 6): 1534 - 1545.
- [18] Obata K, Noguchi K. BDNF in sensory neurons and chronic pain [J]. *Neuroscience Research*, 2006, 55(1): 1 - 10.
- [19] 黄纯海, 王廷华, 李群. 脊髓全横断大鼠神经生长因子和脑源性神经营养因子表达及三七皂苷的干预效应 [J]. *中国组织工程研究与临床康复*, 2007, 11(41): 8276 - 8279.
- [20] 李花, 陈安, 李亮, 等. 三七总皂苷对脊髓损伤后 BDNF 的表达及运动功能的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(12): 2268 - 2271, 2281.
- [21] Siddiqui TJ, Craig AM. Synaptic organizing complexes [J]. *Current Opinion in Neurobiology*, 2011, 21(1): 132 - 142.
- [22] 徐纪伟, 孙丹华, 陈旭东. 大鼠脊髓半切损伤后突触分化诱导基因产物 SynDIG1 达增强 [J]. *医学研究杂志*, 2016, 45(3): 83 - 86.
- [23] 徐纪伟, 孙丹华, 陈旭东. 大鼠脊髓损伤后三七总皂苷治疗增强脊髓损伤区突触分化诱导基因 1 (SynDIG1) 的表达 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2016, 32(3): 356 - 359.
- [24] Hua P, Liu J, Tao J, et al. Influence of caspase - 3 silencing on the proliferation and apoptosis of rat bone marrow mesenchymal stem cells under hypoxia [J]. *International journal of clinical and experimental medicine*, 2015, 8(2): 1624 - 1633.
- [25] 谭秋翔, 程博, 张永辉, 等. 瘫立定对脊髓损伤大鼠运动功能和 iNOS 的影响 [J]. *中医临床研究*, 2013, 5(14): 3 - 5.
- [26] Hall ED, Wang JA, Miller DM. Relationship of nitric oxide synthase induction to peroxynitrite - mediated oxidative damage during the first week after experimental traumatic brain injury [J]. *Experimental neurology*, 2012, 238(2): 176 - 182.
- [27] 赵玉鑫, 王洪, 杨述华, 等. 三七总皂苷干预脊髓损伤大鼠诱导型一氧化氮合酶及半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 表达的变化 [J]. *中国临床康复*, 2006, 10(31): 31 - 33.
- [28] Ouyang YB, Xu LJ, Sun YJ, et al. Overexpression of inducible heat shock protein 70 and its mutants in astrocytes is associated with maintenance of mitochondrial physiology during glucose deprivation stress [J]. *Cell stress & chaperones*, 2006, 11(2): 180 - 186.
- [29] 李志强, 雷君, 陈泽斌, 等. 三七总皂甙对大鼠脊髓损伤后 HSP70 阳性神经元表达的影响 [J]. *中国中医骨伤科杂志*, 2001, 9(3): 20 - 22. (收稿日期: 2017 - 06 - 21)