

高倩,王建宇,孟伟建,等. 大豆皂苷 Bb 预处理对脑缺血再灌模型大鼠的神经保护作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32 (7): 74-80.

Gao Q, Wang JY, Meng WJ, et al. Neuroprotective effect of soyasaponin Bb pretreatment in cerebral ischemia/reperfusion model rats [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(7): 74-80.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.07.010

大豆皂苷 Bb 预处理对脑缺血再灌模型大鼠的神经保护作用

高倩,王建宇,孟伟建,李静,崔永健,魏琰*

(衡水市人民医院(哈励逊国际和平医院)神经内二科,河北衡水 053000)

【摘要】 目的 探讨大豆皂苷 Bb (soyasaponin Bb, SSBb) 预处理对脑缺血/再灌注 (ischemia/reperfusion, I/R) 大鼠的神经保护作用。**方法** 将 SD 大鼠分为假手术组、模型组 and 低、高剂量 SSBb 预处理组, 每组 15 只大鼠。通过线栓法建立大脑中动脉闭塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 大鼠模型, 并于闭塞后 2 h 实现再灌注, 用来模拟脑 I/R。低、高剂量 SSBb 预处理组在 MCAO 术前 1 h 分别灌胃 20 和 50 mg/kg SSBb。再灌注 24 h 后, 用改良神经损伤严重缺损评分表 (modified neurological severity score, mNSS) 评估神经功能缺陷, 用 2,3,5-三苯基氯化四氮唑 (2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC) 检测脑梗死体积, 用微管相关蛋白-2 (microtubule-associated protein-2, MAP-2) 染色法评估神经元损伤, 用干/湿称重法检测脑含水量, 用免疫荧光法检测缺血半暗带中肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 表达水平, 用 Western blot 检测突触后致密蛋白-95 (postsynaptic density-95, PSD-95)、突触素 I (synapsin I) 和突触结合蛋白 (synaptotagmin) 的表达水平。**结果** 与模型组比较, 低和高剂量 SSBb 预处理均能显著改善 MCAO 模型大鼠的神经功能缺陷, 减轻脑水肿和脑梗死, 并降低缺血半暗带中 TNF- α 的表达水平和 PSD-95、synapsin I 和 synaptotagmin 的表达水平 (均 $P < 0.01$ 和 $P < 0.001$); 其中高剂量组作用最为显著 ($P < 0.001$)。**结论** SSBb 预处理在脑 I/R 损伤大鼠中发挥的神经保护作用。

【关键词】 大豆皂苷 Bb; 脑缺血/再灌注; TNF- α ; 突触相关蛋白; 大鼠

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 07-0074-07

Neuroprotective effect of soyasaponin Bb pretreatment in cerebral ischemia/reperfusion model rats

GAO Qian, WANG Jianyu, MENG Weijian, LI Jing, CUI Yongjian, WEI Yan*

(No. 2 Department of Neurology, Hengshui People's Hospital (Harraison International Peace Hospital), Hengshui 053000, China)

【Abstract】 Objective To investigate the neuroprotective effect of soyasaponin Bb (SSBb) pretreatment in cerebral ischemia/reperfusion (I/R) rats. **Methods** SD rats were divided into sham, model, and low- and high-dose SSBb pretreatment groups with 15 rats each. A rat model of middle cerebral artery occlusion (MCAO) was established by suture occlusion, and reperfusion was performed 2 h after occlusion to simulate brain I/R. Low- and high-dose SSBb pretreatment groups were administered 20 and 50 mg/kg SSBb by gavage, respectively, at 1 h before MCAO. At 24 h after reperfusion, neurological deficits were assessed by the modified neurological severity score, and cerebral infarct volume was

【基金项目】 2018 年度河北省医学科学研究重点课题计划 (20181592)。

【作者简介】 高倩 (1986—), 女, 硕士, 主治医师, 研究方向: 脑血管病相关的临床与基础方面的研究。E-mail: gaoqian9622@tom.com

【通信作者】 魏琰 (1966—), 女, 硕士, 主任医师, 教授, 研究方向: 脑血管病相关的临床与基础方面的研究。E-mail: weiyan8366@126.com

measured by 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride staining. Microtubule-associated protein-2 staining was used to assess neuronal damage. Brain water content was measured by the dry/wet weight. Tumor necrosis factor- α (TNF- α) expression in ischemic penumbra was measured by immunofluorescence. Postsynaptic density-95 (PSD-95), synapsin I and synaptotagmin expression was detected by Western blot. **Results** Compared with the model group, low- and high-dose SSBb pretreatment significantly improved neurological dysfunction, alleviated cerebral edema and cerebral infarction in MCAO model rats, and decreased expression of TNF- α , PSD-95, synapsin I and synaptotagmin in ischemic penumbra ($P < 0.01$ or $P < 0.001$). The effects in the high-dose group were most significant ($P < 0.001$). **Conclusions** SSBb pretreatment has a neuroprotective effect in rats with cerebral I/R injury.

【Keywords】 soyasaponin Bb; cerebral ischemia/reperfusion; TNF- α ; synaptic associated proteins; rat

缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS)是一种因脑血管病变引起的脑供血不足而导致的具有严重并发症和高死亡率的亚急性或急性脑血管类疾病,目前其已经成为全球性首位残疾和第三致死的疾病^[1-2]。持续的脑缺血会造成脑神经的持续伤害,造成不良预后甚至死亡,因此,及早的恢复脑血灌注是治疗 IS 的主要治疗策略^[3]。而再灌注也会加重最初由缺血引起的脑损伤,其还能引起缺血区神经元继发性损伤,这种由再灌注引起的脑神经二次伤害严重影响患者的病后神经功能恢复^[4-5]。目前没有特异性抑制脑缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R)损伤的方法。如何改善脑 I/R 所致的神经损伤已成为目前急需解决的问题。

脑 I/R 损伤可导致神经元凋亡、氧化应激和炎症级联反应等一系列复杂的病理变化^[6-7]。大豆皂苷是一类主要从大豆中提取的三萜类齐墩果烷型皂苷,目前已确认了 18 种大豆皂苷,根据化学结构分成 A 类、B 类、E 类和 DDMP 类^[8-9]。其中,大豆皂苷 Bb(soyasaponin Bb, SSBb)是大豆皂苷中主要的活性化合物之一,已发现其在不同的疾病模型中具有抗氧化、抗凋亡、抗炎、神经保护和防治心血管等多种药理作用^[10-11]。根据 SSBb 的药理作用,推测其可能也会在脑 I/R 中发挥神经保护作用,而具体作用并不清楚。本研究以大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)大鼠模型观察 SSBb(灌胃给药)预处理对 MCAO 大鼠脑 I/R 所致的脑损伤是否具有神经保护作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物

60 只 SD 大鼠(6 周龄, SPF 级, 雄性, 体重: 220~240 g)由北京维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(京)2021-0011]提供,将大鼠饲养在河北医科大学新药安全评价研究中心维持 12 h/12 h 循环

光照、湿度(60±5)%和温度(22±3)℃的屏障环境动物房[SYXK(冀)2018-0005],大鼠可自由获取食物和水。本实验使用动物的程序经衡水市人民医院伦理委员会审查批准(2020-107),并符合实验动物护理和使用指南的 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

大豆皂苷 Bb(SSBb, 纯度:99%; #51330-27-9), 购自上海一基实业有限公司,使用时用生理盐水配置成混悬液;2,3,5-三苯基氯化四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC)染色液(#G3005)购自北京索莱宝生物科技有限公司;兔源微管相关蛋白-2(microtubule-associated protein-2, MAP-2)抗体(#AF4081)购自美国 Affinity Biosciences 公司;小鼠源肿瘤坏死因子- α (TNF- α)抗体(#sc-12744)购自美国 Santa Cruz Biotechnology 公司;Cy3 标记的羊抗兔 IgG(#BS10007)和 FITC 标记的羊抗小鼠 IgG(#BS50950)购自南京巴傲得生物科技有限公司;HRP 标记的羊抗兔 IgG(#CLGRHRP)购自北京达科为生物技术有限公司;兔源 β -actin 抗体(#WL01372)、RIPA 裂解液(#WLA017)和高敏 ECL 化学发光试剂盒(#WLA003)购自万类生物科技有限公司;兔源突触后致密蛋白-95(postsynaptic density-95, PSD-95)(#ab18258)、兔源突触素 I(synapsin I)(#ab64581)和兔源突触结合蛋白(synaptotagmin)(#ab131548)购自英国 Abcam 公司;OCT 冰冻切片包埋剂(#4583)购自美国 Tissue-Tek 公司。真空干燥箱(型号:LVO-0B6020;上海龙跃仪器设备有限公司);电子天平(型号:BA2204;澳大利亚 KEWLAB 公司);激光共焦荧光显微镜(型号:LSM 980 with Airyscan;德国 Carl Zeiss 公司);数码显微成像系统(型号:Moticam Pro 285C)(麦克奥迪实业集团有限公司);酶标仪(型号:EnVision;美国 PerkinElmer 公司);蛋白质免疫转印系统(型号:Tanon V8;上海天能科技有限公司)。

1.3 实验方法

1.3.1 实验方案设计

大鼠经 1 周的适应性喂养后,将其随机分为假手术组、MCAO 组和低、高剂量 SSBb 预处理组,每组 15 只大鼠。参照 Zhang 等^[12] 方法,用线栓法对 MCAO 组和低、高剂量 SSBb 预处理组的大鼠行左侧 MCAO 术处理。具体操作方式:大鼠麻醉后,仰卧位固定,颈部正中切口,结扎颈外动脉和颈总动脉近心端;用微血管夹夹闭颈总动脉远心端,将线栓沿颈总动脉、颈内动脉,送入大脑中动脉约 2 cm 处;并于缺血后 2 h 抽出线栓,实现再灌注。假手术组大鼠除不进行线栓结扎外,其余步骤程序同 MCAO 术。为研究 SSBb 预处理对脑 I/R 的影响,低、高剂量 SSBb 预处理组的大鼠在行 MCAO 术前 1 h,分别用灌胃针胃内注射 20 和 50 mg/kg SSBb (SSBb 的剂量参考大鼠实验的报道^[11]);假手术组和 MCAO 组的大鼠行 MCAO 术前 1 h 给予等体积生理盐水。

1.3.2 神经功能评估

在再灌注 24 h 后,由 1 名对分组不知情的实验人员按照 Zhang 等^[12] 的改良神经功能缺损评分量表(modified neurological severity score, mNSS)评估大鼠的神经功能缺陷。NSS 评分在 0~18 分之间,0 分表示无神经功能缺陷,评分较高表示神经功能缺陷越严重,18 分表示持续性昏迷或死亡。

1.3.3 脑含水量检测

用脑含水量法评估脑水肿^[13]。在神经功能缺损评分结束后,每组任选 5 只大鼠,麻醉后,用颈椎脱位法处死。然后迅速摘除大脑并称重以获得湿重。在烘箱中 60℃ 干燥 24 h 后,直到重量不变,再次称重以获得干重。脑含水量=(湿重-干重)/湿重×100%。

1.3.4 TTC 染色

每组任选 5 只大鼠,麻醉后,用颈椎脱位法处死。取全脑并快速在-20℃ 下保存 30 min。用大鼠脑切片器切出连续 11 个 2 mm 厚的冠状切片,然后浸入 2% TTC 染液中在 37℃ 下避光染色 15 min。取出切片,用 PBS 清洗 3 次,滤纸吸掉液体进行拍照。苍白的未染色区表示梗死区域,红色染色区表示正常组织。用 Image Pro Plus 测量每个切片的梗死面积;每切片梗死体积=各切片梗死面积×层厚(2 mm);总梗死体积为各切片的梗死体积之和。

1.3.5 免疫荧光

剩余大鼠经麻醉处死后,迅速切下大脑,在多

聚甲醛中固定 24 h,然后转移到 30% 蔗糖溶液在 4℃ 条件下放置 48 h,然后嵌入 OCT 冰冻切片包埋剂。然后用冰冻切片机将大脑组织切割成 6 μm 厚度的切片。用 PBS 冲洗 3 次,在室温下用 5% 山羊血清封闭 30 min,在 4℃ 下分别用兔抗 MAP-2(1:2000)和小鼠抗 TNF-α(1:500)在加湿室孵育过夜,用 PBS 冲洗 3 次,在室温下分别用 1:1000 稀释的 Cy3 标记的羊抗兔 IgG 和 FITC 标记的羊抗小鼠 IgG 的荧光二抗避光孵育 2 h,用 PBS 冲洗 3 次,用 DAPI 染细胞核 5 min。在激光共焦荧光显微镜下观察,并随机采集梗死和非梗死区域交界处的图像并进行定量研究。用 Image Pro Plus 测量荧光强度,阳性表达水平=积分光密度值(IOD)/视野面积×100%。

1.3.6 苏木素-伊红染色

将脑组织用石蜡包埋,并用石蜡切片机切为 6 μm 厚度的切片。脑切片经脱蜡至水后,按常规程序分别用苏木素和伊红染色液进行染色。脱水封片后,显微镜下观察脑组织形态表现。

1.3.7 蛋白质免疫印迹

收集缺血半暗带脑组织,用 RIPA 裂解法提取蛋白,用 BCA 法量化每样本蛋白浓度。将 80 μg 蛋白的样本行 SDS/PAGE 电泳分离并转移到 PVDF 膜上。然后,在室温下用 5% 脱脂牛奶封闭膜 1 h,并在 4℃ 下与适当稀释比例的初级抗体孵育过夜。抗体稀释浓度为:PSD95(1:3000)、synaptotagmin(1:2000)、synapsin I(1:1000)和 β-actin(1:10000)。TBST 洗膜 3 次,室温下与 1:1000 稀释的 HRP 标记的羊抗兔 IgG 孵育 2 h。用 TBST 洗膜 3 次,使用 ECL 增强化学发光系统观察蛋白带,并用 Image Pro Plus 进行定量光密度值 IOD。阳性表达水平=目的蛋白(IOD)/β-actin(10000)×100%。

1.4 统计学方法

用 SPSS 19.0 分析软件对所有数据进行统计学分析。所有数据表示为平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)。多组数据比较采用单因素方差分析法,组间均数两两比较采用事后 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 表示具有统计学意义。

2 结果

2.1 大豆皂苷 Bb 预处理降低脑 I/R 所致的神经功能障碍和脑水肿

通过 mNSS 评分表和脑含水量来分别评估大豆

皂苷 Bb 预处理对脑 I/R 诱导的神经功能障碍和脑水肿的影响。如图 1A 所示,与假手术组相比, MCAO 组 NSS 评分显著升高 ($P < 0.001$),提示神经功能障碍;而低、高剂量大豆皂苷 Bb 预处理均显著降低 MCAO 大鼠的 NSS 评分 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.001$),提示大豆皂苷 Bb 预处理降低 MCAO 大鼠神经功能障碍,其中高剂量效果更为显著 ($P < 0.001$)。脑含水量检测结果(图 1B)显示, MCAO 组脑含水量显著高于假手术组 ($P < 0.001$),而低、高剂量大豆皂苷 Bb 预处理的 MCAO 大鼠脑含水量均较 MCAO 组显著降低 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.001$),提示大豆皂苷 Bb 预处理降低 MCAO 大鼠的脑水肿,其中高剂量效果更为显著 ($P < 0.001$)。

2.2 大豆皂苷 Bb 预处理减轻脑 I/R 后的脑梗死

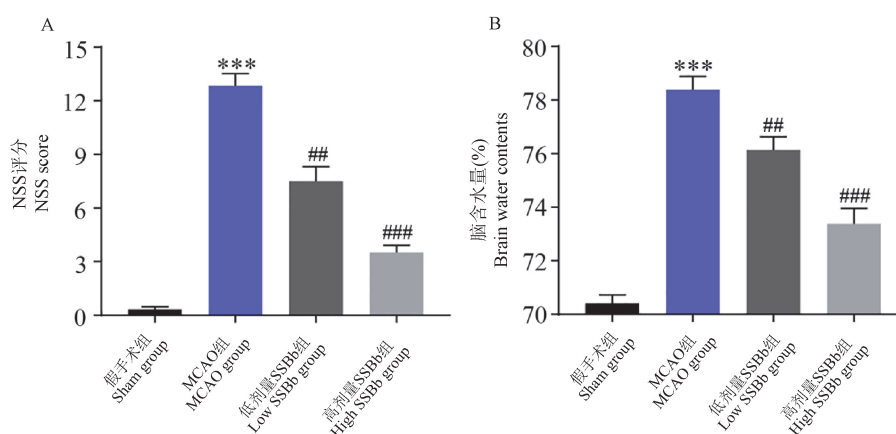
用 TTC 染色和 MAP-2 免疫荧光染色评估大豆皂苷 Bb 预处理对脑 I/R 诱导脑梗死的影响。TTC 染色(图 2A、2C)结果显示,与假手术组相比, MCAO 组梗死体积显著增加 ($P < 0.001$);与 MCAO 组相比,低、高剂量大豆皂苷 Bb 预处理组梗死体积均显著降低 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.001$),且高剂量组效果更显著 ($P < 0.001$)。MAP-2 免疫荧光染色(图 2B、2D)结果显示,与假手术组相比, MCAO 组 MAP-2 荧光强度显著降低 ($P < 0.001$);与 MCAO 组相比,低、高剂量大豆皂苷 Bb 预处理组 MAP-2 荧光强度均显著增加 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.001$),且高剂量组效果更显著 ($P < 0.001$)。这些结果提示,大豆皂苷 Bb 预处理可减轻脑 I/R 后的脑梗死。

2.3 大豆皂苷 Bb 预处理抑制脑 I/R 诱导的炎症反应

为明确大豆皂苷 Bb 预处理对脑 I/R 诱导的炎症的影响,采用 HE 染色法观察脑 I/R 后 24 h 脑组织形态,免疫荧光法检测脑组织中 TNF- α 的表达水平,并用 MAP-2 显示缺血半暗带。HE 染色结果(图 3A)表明,假手术组脑组织形态和细胞结构基本正常;MCAO 组脑组织显示水肿和炎性细胞浸润现象,组织中的部分细胞可见细胞核碎片、核固缩和凋亡小体;低、高剂量大豆皂苷 Bb 预处理组显示脑组织水肿和炎性细胞浸润现象减轻,组织中细胞形态也趋向正常。免疫荧光染色结果(图 3B~3D)表明,与假手术组比较, MCAO 组 TNF- α 荧光强度显著增高 ($P < 0.001$);与 MCAO 组比较,低、高剂量大豆皂苷 Bb 预处理组 TNF- α 荧光强度均显著降低 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.001$),且高剂量组效果更显著 ($P < 0.001$)。这些结果表明大豆皂苷 Bb 可以减轻脑 I/R 导致的炎症反应。

2.4 大豆皂苷 Bb 预处理抑制脑 I/R 诱导的突触相关蛋白的表达

Western blot 结果(图 4)显示,与假手术组相比, MCAO 组 PSD95、synaptotagmin 和 synapsin I 的表达水平均显著降低 ($P < 0.001$);与 MCAO 组相比,低、高剂量大豆皂苷 Bb 预处理组上述蛋白表达水平均显著增加 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.001$),且高剂量组效果更显著 ($P < 0.001$),这表明大豆皂苷 Bb 抑制脑 I/R 诱导的神经细胞的轴突损伤。

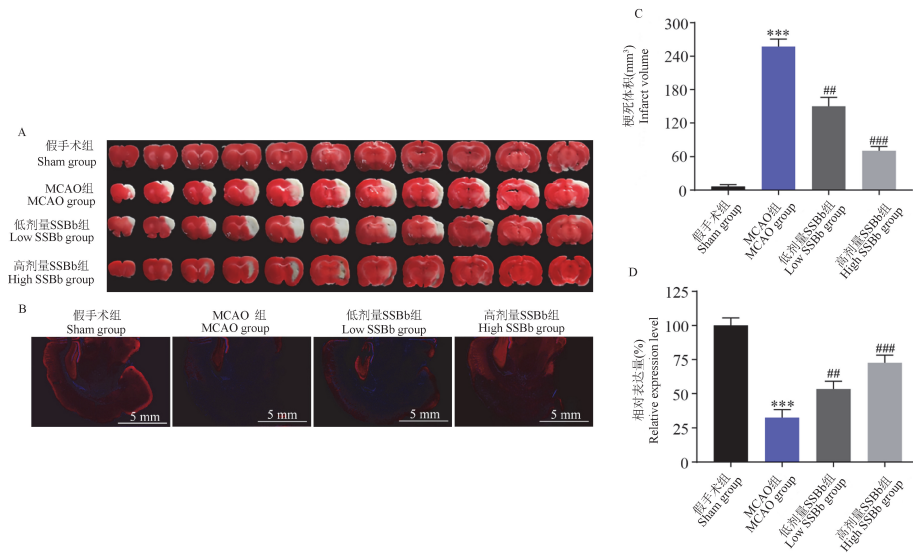


注:A:各组大鼠的 NSS 评分;B:各组大鼠的脑含水量。与假手术组相比,*** $P < 0.001$;与 MCAO 组相比,## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$ 。

图 1 大豆皂苷 Bb 预处理可以降低脑 I/R 所致的神经功能障碍和脑水肿 ($n = 5$)

Note. A, NSS scores of rats in various groups. B, Brain water contents of rats in various groups. Compared with sham group, *** $P < 0.001$. Compared with MCAO group, ## $P < 0.01$, ### $P < 0.001$.

Figure 1 SSBb pretreatment reduces neurological dysfunction and brain edema caused by brain I/R

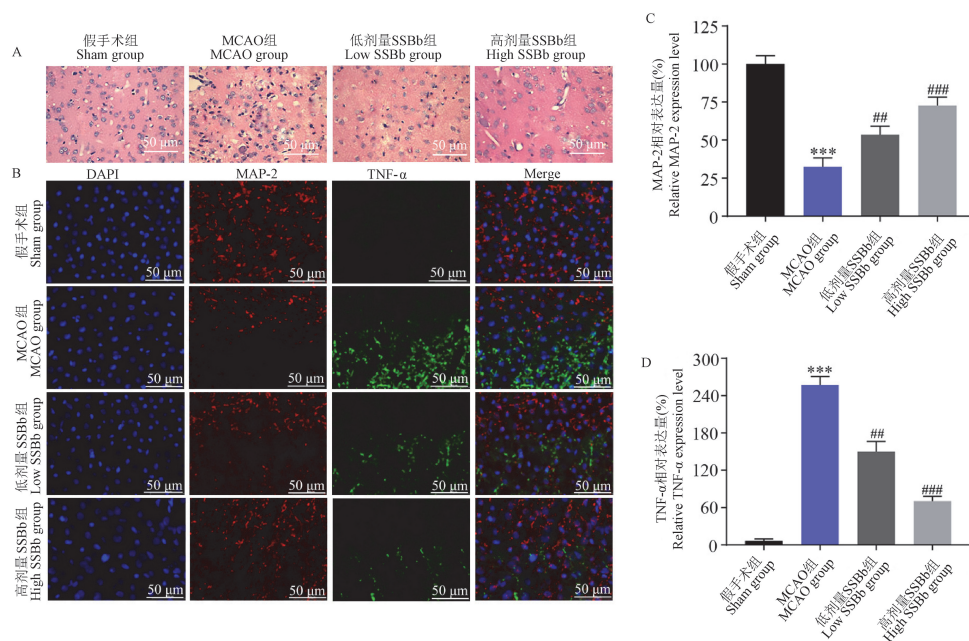


注:A:代表性的 TTC 染色图像;B:代表性 MAP-2 染色切片的荧光显微图像显示的脑梗死区域 (MAP-2 为亮红色点,细胞核为亮蓝色点);C:各组梗死体积;D:各组 MAP-2 的相对荧光强度。与假手术组相比,*** $P<0.001$;与 MCAO 组相比,## $P<0.01$,### $P<0.001$ 。

图 2 大豆皂苷 Bb 预处理减轻大鼠脑 I/R 后的脑梗死 ($n=5$)

Note. A, Representative images of TTC staining. B, Representative fluorescence microscopy images of MAP-2 stained sections showing the infarction areas in the brain (MAP-2 appears as bright red dots, while the nucleus is represented as bright blue spots). C, Infarct volume in various groups. D, Relative fluorescence intensity of MAP-2 in various groups. Compared with sham group, *** $P<0.001$. Compared with MCAO group, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$.

Figure 2 SSBb pretreatment alleviates cerebral infarction after cerebral I/R in rats

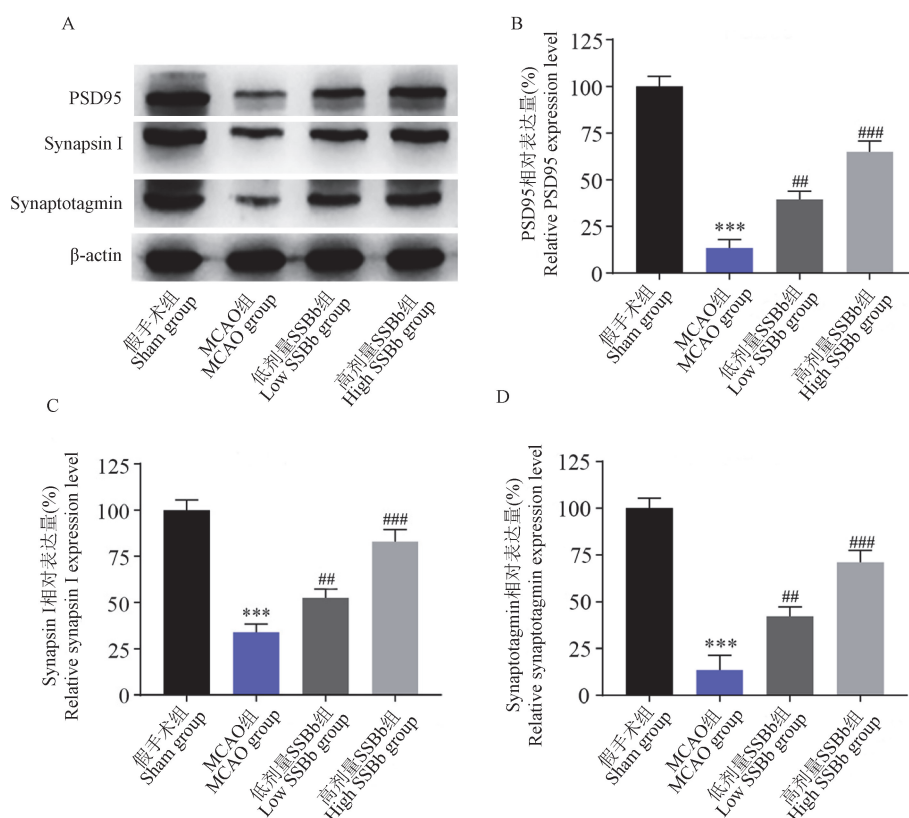


注:A:各组脑组织代表性 HE 染色图像;B:缺血半暗带中 MAP-2 和 TNF-α 免疫荧光定位图像;C、D:半暗带中 MAP-2 和 TNF-α 的相对荧光强度。与假手术组相比,*** $P<0.001$;与 MCAO 组相比,## $P<0.01$,### $P<0.001$ 。

图 3 大豆皂苷 Bb 预处理抑制脑 I/R 诱导的炎症反应 ($n=5$)

Note. A, Representative HE staining images of brain tissues in each group. B, Immunofluorescence localization of MAP-2 and TNF-α in ischemic penumbra area. C, D, Relative fluorescence intensity of MAP-2 and TNF-α in the penumbra region. Compared with sham group, *** $P<0.001$. Compared with MCAO group, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$.

Figure 3 SSBb pretreatment inhibits inflammatory response induced by cerebral I/R



注:A:各组代表性 PSD95、synapsin I 和 synaptotagmin 的 Western blot;B~D:各组 PSD95、synapsin I 和 synaptotagmin 的蛋白表达的定量分析。与假手术组相比,*** $P<0.001$;与 MCAO 组相比,## $P<0.01$,### $P<0.001$ 。

图 4 大豆皂苷 Bb 预处理对脑 I/R 后突触相关蛋白表达的影响 ($n=5$)

Note. A, Representative Western blot electrophoregrams of PSD95, synapsin I and synaptotagmin in each group. B~D, Quantification analysis of the expression levels of PSD95, synapsin I and synaptotagmin proteins in various groups. Compared with sham group, *** $P<0.001$. Compared with MCAO group, ## $P<0.01$, ### $P<0.001$.

Figure 4 Effect of SSBb pretreatment on the expression of synaptic-associated proteins after cerebral I/R

3 讨论

脑卒中是导致死亡和神经功能障碍的主要原因^[1-2],而 IS 在所有类型的脑卒中病例中约占 80%~85%^[14]。先前的研究已经证实,脑 I/R 会导致脑血管损伤和血脑屏障的破坏,以及神经元损伤的级联效应^[6-7,15]。目前还没有阻断脑 I/R 的有效策略,因此,关于如何减少脑 I/R 损伤的不良影响,仍需要做大量的工作。本研究显示 SSBb 预处理能减轻脑 I/R 后神经功能损伤、脑水肿和脑梗死,提示其可能是潜在的用于 IS 的神经保护剂。

脑 I/R 损伤会加重脑缺血引发促炎介质的释放、细胞死亡、轴突损伤和再生抑制^[4-5]。抗炎、抗凋亡和维持损伤神经元的存活是神经系统保护和再生的重要过程。各种促炎细胞因子的释放引起的炎症级联反应是脑 I/R 炎症损伤的主要机制^[16]。TNF- α 是一种强促炎细胞因子,在缺血性脑损伤中

发挥多效性功能^[17]。在先前不同疾病类型的研究中显示 SSBb 具有抑制炎症作用^[10-11]。在本研究中,也证明了 SSBb 预处理能减少缺血半暗带中 TNF- α 的表达,提示其在脑 I/R 模型大鼠中也具有抗炎作用。

突触是中枢神经系统神经元之间的接触位点,有助于信息的处理、传递和存储。树突棘是一种分散在许多类型神经元的树突上的微小突起,是兴奋性突触的主要靶点^[18]。大脑中血流减少 90%,10~20 min 内就会导致树突棘丢失和不可逆的树突损伤^[19]。在急性 MCAO 模型中,缺血性卒中不仅会导致梗死缺血区的神经元死亡,还会损害缺血半暗带区域的神经元结构^[20]。中枢神经元的棘和树突是突触信号传导的重要位点,其也是缺血后最易损伤的结构,其结构破坏会中断神经元回路和损害大脑突触发生的功能。为增加突触发生,神经元会增加树突分枝的形态学改变,使大脑能够重组神经元回

路,增加与突触调节相关的神经递质释放。synaptotagmin 是突触囊泡的对接和与神经元膜的融合的关键蛋白^[21]。Synapsin I 是一种促进突触囊泡形成、突触发生和调节神经递质释放的蛋白^[22]。PSD-95 是树突棘突触后密度中的一种主要支架蛋白^[23]。本研究结果表明,SSBb 预处理可以明显增加脑 I/R 损伤后 synaptotagmin、synapsin I 和 PSD-95 的表达,表明 SSBb 预处理在突触发生中的潜在作用。

本研究结果表明,SSBb 预处理能够减轻大鼠脑 I/R 损伤引起的神经功能缺陷、脑水肿及脑梗死,并且能够促进突触相关蛋白的表达,具有神经保护作用。

参考文献:

- [1] Katan M, Luft A. Global burden of stroke [J]. *Semin Neurol*, 2018, 38(2): 208–211.
- [2] Krishnamurthi RV, Ikeda T, Feigin VL. Global, regional and country-specific burden of ischaemic stroke, intracerebral haemorrhage and subarachnoid haemorrhage: a systematic analysis of the global burden of disease study 2017 [J]. *Neuroepidemiology*, 2020, 54(2): 171–179.
- [3] Herpich F, Rincon F. Management of acute ischemic stroke [J]. *Crit Care Med*, 2020, 48(11): 1654–1663.
- [4] Hervella P, Rodríguez-Castro E, Rodríguez-Yáñez M, et al. Intra- and extra-hospital improvement in ischemic stroke patients: influence of reperfusion therapy and molecular mechanisms [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 3513.
- [5] Jiao L, Zhang J, Li Z, et al. Edaravone alleviates delayed neuronal death and long-dated cognitive dysfunction of hippocampus after transient focal ischemia in wistar rat brains [J]. *Neuroscience*, 2011, 182: 177–183.
- [6] Orellana-Urzuá S, Rojas I, Lábano L, et al. Pathophysiology of ischemic stroke: role of oxidative stress [J]. *Curr Pharm Des*, 2020, 26(34): 4246–4260.
- [7] Lv J, Guan W, You Q, et al. RIPC provides neuroprotection against ischemic stroke by suppressing apoptosis via the mitochondrial pathway [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 5361.
- [8] Nagano T, Katase M, Tsumura K. Dietary soyasaponin attenuates 2,4-dinitrofluorobenzene-induced contact hypersensitivity via gut microbiota in mice [J]. *Clin Exp Immunol*, 2019, 195(1): 86–95.
- [9] Fujimatsu T, Endo K, Yazaki K, et al. Secretion dynamics of soyasaponins in soybean roots and effects to modify the bacterial composition [J]. *Plant Direct*, 2020, 4(9): e00259.
- [10] Zhu LJ, Fu RR, Liu XY, et al. Soyasaponin Bb protects rat hepatocytes from alcohol-induced oxidative stress by inducing heme oxygenase-1 [J]. *Pharmacogn Mag*, 2016, 12(48): 302–306.
- [11] Hong SW, Heo H, Yang JH, et al. Soyasaponin I improved neuroprotection and regeneration in memory deficient model rats [J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e81556.
- [12] Zhang B, Deng F, Zhou C, et al. CLC-3 induction protects against cerebral ischemia/reperfusion injury through promoting beclin1/vps34-mediated autophagy [J]. *Hum Cell*, 2020, 33(4): 1046–1055.
- [13] Zhao Y, Xue Y, Liu Z, et al. Role of the Janus kinase 2/signal transducers and activators of transcription 3 pathway in the protective effect of remote ischemia preconditioning against cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Neuroreport*, 2019, 30(9): 664–670.
- [14] Allen CL, Bayraktutan U. Oxidative stress and its role in the pathogenesis of ischaemic stroke [J]. *Int J Stroke*, 2009, 4(6): 461–470.
- [15] Pan J, Konstas AA, Bateman B, et al. Reperfusion injury following cerebral ischemia: pathophysiology, MR imaging, and potential therapies [J]. *Neuroradiology*, 2007, 49(2): 93–102.
- [16] Jin R, Yang G, Li G. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells [J]. *J Leukoc Biol*, 2010, 87(5): 779–789.
- [17] Ye XC, Hao Q, Ma WJ, et al. Dectin-1/Syk signaling triggers neuroinflammation after ischemic stroke in mice [J]. *J Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 17.
- [18] Gipson CD, Olive MF. Structural and functional plasticity of dendritic spines-root or result of behavior? [J]. *Genes Brain Behav*, 2017, 16(1): 101–117.
- [19] McLeod DD, Parsons MW, Hood R, et al. Perfusion computed tomography thresholds defining ischemic penumbra and infarct core: studies in a rat stroke model [J]. *Int J Stroke*, 2015, 10(4): 553–559.
- [20] Brown CE, Murphy TH. Livin' on the edge: imaging dendritic spine turnover in the peri-infarct zone during ischemic stroke and recovery [J]. *Neuroscientist*, 2008, 14(2): 139–146.
- [21] Stein A, Radhakrishnan A, Riedel D, et al. Synaptotagmin activates membrane fusion through a Ca^{2+} -dependent trans interaction with phospholipids [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2007, 14(10): 904–911.
- [22] Brenes O, Giachello CN, Corradi AM, et al. Synapsin knockdown is associated with decreased neurite outgrowth, functional synaptogenesis impairment, and fast high-frequency neurotransmitter release [J]. *J Neurosci Res*, 2015, 93(10): 1492–506.
- [23] Vickers CA, Stephens B, Bowen J, et al. Neurone specific regulation of dendritic spines *in vivo* by post synaptic density 95 protein (PSD-95) [J]. *Brain Res*, 2006, 1090(1): 89–98.

[收稿日期] 2021-09-28