

## 竹节参皂苷 IVa 对七氟醚麻醉后老年大鼠神经元凋亡及认知功能障碍的改善作用

刘荣林, 刘胜男, 徐 钊, 张 慧\* (陕西省人民医院麻醉科, 西安 710068; \*通讯作者, E-mail: 18192692178@163.com)

**摘要:** 目的 探讨竹节参皂苷 IVa (ChIV) 对七氟醚 (SEV) 麻醉后老年大鼠神经元凋亡和认知功能障碍的影响及其可能机制。方法 60 只老年 SD 大鼠按照数字随机表分为对照组、SEV 组、SEV+ChIV 组和 SEV+ChIV+EX527 (SIRT1 抑制剂) 组, 每组 15 只。对照组置于麻醉容器中连接监测仪, 仅吸入 20% O<sub>2</sub>; SEV 组吸入 4% SEV; SEV+ChIV 组和 SEV+ChIV+EX527 组吸入 SEV 前腹腔注射相应药物。采用 Morris 水迷宫实验检测大鼠逃逸潜伏期、跨越平台次数和目标象限停留时间; 新物体识别测试评估短期和长期记忆辨别指数; Y 迷宫实验检测自发交替行为百分比; ELISA 法检测海马组织中 IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  含量; HE 染色检测海马病理结构损伤; TUNEL 染色检测海马神经元凋亡; 试剂盒检测海马 ROS 水平; Western blot 检测凋亡 (Bax、Bcl-2 和 cleaved Caspase-3) 及 SIRT1/BDNF 通路 (SIRT1 和 BDNF) 相关蛋白表达。结果 与对照组相比, SEV 组大鼠逃逸潜伏期延长 ( $P < 0.05$ ), 跨越平台次数、目标象限停留时间、短期记忆辨别指数、长期记忆辨别指数和自发交替行为百分比均降低 ( $P < 0.05$ ), 海马组织中 IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平升高 ( $P < 0.05$ ), 神经元排列紊乱、轮廓模糊、结构松散并出现变形和缩小, ROS 水平、凋亡率及 cleaved Caspase-3 和 Bax 表达升高 ( $P < 0.05$ ), Bcl-2、SIRT1 和 BDNF 表达降低 ( $P < 0.05$ )。与 SEV 组比较, SEV+ChIV 组大鼠逃逸潜伏期缩短 ( $P < 0.05$ ), 跨越平台次数、目标象限停留时间、短期记忆辨别指数、长期记忆辨别指数和自发交替行为百分比均增多 ( $P < 0.05$ ), 海马组织中 IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平降低 ( $P < 0.05$ ), 海马组织形态结构明显得到改善, ROS 水平、神经元凋亡率及 cleaved Caspase-3 和 Bax 表达降低 ( $P < 0.05$ ), Bcl-2、SIRT1 和 BDNF 表达升高 ( $P < 0.05$ )。与 SEV+ChIV 组相比, SEV+ChIV+EX527 组大鼠逃逸潜伏期延长 ( $P < 0.05$ ), 跨越平台次数、目标象限停留时间、短期记忆辨别指数、长期记忆辨别指数和自发交替行为百分比均减少 ( $P < 0.05$ ), 海马组织中 IL-6、IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  水平升高 ( $P < 0.05$ ), 海马结构损伤明显, ROS 水平、神经元凋亡率及 cleaved Caspase-3 和 Bax 表达升高 ( $P < 0.05$ ), Bcl-2、SIRT1 和 BDNF 表达降低 ( $P < 0.05$ )。结论 ChIV 可能通过激活 SIRT1/BDNF 通路改善 SEV 麻醉后大鼠神经元凋亡、炎症和认知功能障碍。

**关键词:** 竹节参皂苷 IVa; 七氟醚; 认知功能障碍; SIRT1/BDNF 通路; 凋亡; 炎症

中图分类号: R614 文献标识码: A 文章编号: 1007-6611(2026)03-0285-09 DOI: 10.13753/j.issn.1007-6611.2026.03.006

### Ameliorating effect of Chikusetsu Saponin IVa on neuronal apoptosis and cognitive dysfunction in aged rats after Sevoflurane anesthesia

LIU Ronglin, LIU Shengnan, XU Zhao, ZHANG Hui\* (Department of Anesthesiology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China; \*Corresponding author, E-mail: 18192692178@163.com)

**Abstract:** *Objective* To explore the effect and its possible mechanism of Chikusetsu Saponin IVa (ChIV) on neuronal apoptosis and cognitive dysfunction in elderly rats after Sevoflurane (SEV) anesthesia. *Methods* Sixty elderly SD rats were randomly divided into control group, SEV group, SEV+ChIV group and SEV+ChIV+EX527 (SIRT1 inhibitor) group according to the random table, with 15 rats in each group. In control group, the rats were placed in an anesthesia chamber connected to a monitoring device and inhaled 20% O<sub>2</sub> only. The rats in SEV group inhaled 4% SEV. The rats in SEV+ChIV group and SEV+ChIV+EX527 group were intraperitoneally injected with the corresponding drugs before SEV anesthesia. Morris water maze test was used to detect the escape latency, the number of crossing the platform and the dwell time in the target quadrant. New object recognition (NOR) test was used to evaluate the discrimination index of short-term and long-term memory. Y maze test was used to detect the percentage of spontaneous alternation behavior. The contents of IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in hippocampus were detected by ELISA. HE staining was used to observe the pathological structural damage of hippocampus. TUNEL staining was used to detect the apoptosis of hippocampal neurons. The level of ROS in hippocampus was detected by kit. Western blot was used to detect the expressions of apoptosis (Bax, Bcl-2 and cleaved Caspase-3) and SIRT1/BDNF pathway (SIRT1 and BDNF) related proteins. *Results* Compared with control group, the escape latency of rats was prolonged in SEV group, the number of crossing the platform, the target quadrant residence time, the short-term and long-term

基金项目: 陕西省重点研发计划项目 (2024SF-YBXM-054, 2024SF-YBXM-401)

作者简介: 刘荣林, 男, 1984-01 生, 硕士, 主治医师, E-mail: 17792536005@163.com

收稿日期: 2025-07-31

memory discrimination indexes, and the percentage of spontaneous alternation behavior decreased ( $P<0.05$ ), the levels of IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in hippocampus increased ( $P<0.05$ ), the neurons were disarranged, indistinct in outline, loosely structured, and showed distortion and shrinkage, and ROS level, the apoptosis rate and the expressions of cleaved Caspase-3 and Bax increased ( $P<0.05$ ), and the expressions of Bcl-2, SIRT1 and BDNF decreased ( $P<0.05$ ). Compared with SEV group, the escape latency of rats in SEV+ChIV group was shortened ( $P<0.05$ ), the number of crossing the platform, the target quadrant residence time, the short-term and long-term memory discrimination indexes, and the percentage of spontaneous alternation behavior increased ( $P<0.05$ ), the levels of IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in hippocampus decreased ( $P<0.05$ ), the morphological structure of hippocampus was significantly improved, ROS level, the neuronal apoptosis rate and the expressions of cleaved Caspase-3 and Bax decreased ( $P<0.05$ ), and the expressions of Bcl-2, SIRT1 and BDNF increased ( $P<0.05$ ). Compared with SEV+ChIV group, the escape latency of rats was prolonged in SEV+ChIV+EX527 group ( $P<0.05$ ), the number of crossing the platform, the target quadrant residence time, the short-term and long-term memory discrimination indexes, and the percentage of spontaneous alternation behavior decreased ( $P<0.05$ ), and the levels of IL-6, IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in hippocampus increased ( $P<0.05$ ), the hippocampal structure damage was more severe, ROS level, the neuronal apoptosis rate and the expressions of cleaved Caspase-3 and Bax increased ( $P<0.05$ ), and the expressions of Bcl-2, SIRT1 and BDNF decreased ( $P<0.05$ ). **Conclusion** ChIV may improve neuronal apoptosis, inflammation and cognitive dysfunction in rats after SEV anesthesia by activating the SIRT1/BDNF pathway.

**Keywords:** Chikusetsu Saponin IVa; Sevoflurane; cognitive dysfunction; SIRT1/BDNF pathway; apoptosis; inflammation

术后认知功能障碍(postoperative cognitive dysfunction, POCD)是麻醉手术后的常见并发症,以记忆力减退、注意力分散及执行功能受损为特征,在老年患者中发生率可达17%~40%<sup>[1]</sup>。七氟醚(Sevoflurane, SEV)作为临床常用吸入麻醉剂,其诱导的神经炎症反应与海马A $\beta$ 沉积、突触可塑性损伤密切相关,是POCD的重要诱因<sup>[2]</sup>。目前临床尚缺乏针对SEV诱导POCD的特异性干预策略,因此阐明其分子机制并开发神经保护剂迫在眉睫。竹节参皂苷IVa(Chikusetsu Saponin IVa, ChIV)是从五加科植物竹节参中分离的三萜皂苷类活性成分,具有抗氧化应激和抗神经炎症双重功效<sup>[3]</sup>,但其对中枢神经系统的作用机制尚未明确。沉默信息调节因子2同源蛋白1(silent information regulator 2 homolog 1, SIRT1)NAD<sup>+</sup>依赖的III类组蛋白去乙酰化酶,通过调控氧化应激、线粒体功能及炎症反应参与认知功能维持<sup>[4]</sup>。最新证据表明,SIRT1激活可逆转麻醉诱导的突触蛋白丢失,并通过去乙酰化修饰上调脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF)表达,通过参与长时程增强过程直接调控记忆合成与巩固<sup>[5]</sup>。此外,研究证实ChIV是一种天然的植物SIRT1激动剂<sup>[6]</sup>。基于上述证据,本研究提出假说:ChIV可能通过调控SIRT1/BDNF信号轴改善SEV诱导的认知损伤。为验证该机制,本研究拟通过构建SEV暴露老年大鼠模型,探讨ChIV是否可通过调节SIRT1/BDNF通路改善SEV诱导认知功能障碍。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康雄性老年SD大鼠60只(18月龄,体质量400~440 g),购自北京华阜康生物科技股份有限公司,实验动物生产许可资质编号:SCXK(京)2021-0004。所有大鼠均饲养于SPF级屏障环境,具体条件为:12 h/12 h昼夜节律循环,恒温(20 $\pm$ 2 $^{\circ}$ C)、恒湿(55% $\pm$ 5%)环境控制,自由摄取标准饲料及灭菌饮用水。动物入室后经标准饲养条件下适应性饲养1周,随后开展实验。

1.1.2 主要实验试剂 七氟醚(货号:28523-86-6,纯度98%)购自上海陶术生物科技有限公司;ChIV(货号:51415-02-2,纯度 $\geq$ 99%)和EX527(SIRT1抑制剂,货号:49843-98-3,纯度:99.87%)购自美国MCE公司;白细胞介素-6(IL-6)、IL-1 $\beta$ 和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒均购自上海茁业生物科技有限公司;活性氧(ROS)检测试剂盒购自美国Sigma-Aldrich公司;TUNEL凋亡染色试剂盒购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司;HE染色试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)、裂解型半胱天冬酶-3(cleaved-Caspase-3)、SIRT1和BDNF一抗均购自美国Abcam公司。

### 1.2 SEV暴露老年大鼠模型建立和分组处理

将60只老年大鼠按照数字随机表法分为对照组、SEV组、SEV+ChIV组和SEV+ChIV+EX527组,

各15只。除对照组外,其余大鼠均根据文献报道方法<sup>[7]</sup>,置于笼内装有被褥保暖材料的麻醉容器中,将麻醉机接入容器并连接Vamos气体监测仪,连续吸入4% SEV+20% O<sub>2</sub>,持续3 h,以翻正反射消失为模型构建成功标准。SEV+ChIV组和SEV+ChIV+EX527组在构建模型前12 h,依据文献报道的神经保护有效剂量<sup>[7]</sup>,分别给予ChIV(30 mg/kg)和ChIV(30 mg/kg)+EX527(5 mg/kg)腹腔注射。对照组置于麻醉容器中连接监测仪,仅吸入20% O<sub>2</sub>持续3 h(模拟SEV组操作压力但不接触麻醉剂)。

### 1.3 行为学实验

**1.3.1 Morris水迷宫实验检测大鼠记忆与学习神经功能** 各组大鼠经ChIV预处理和SEV联合暴露后,饲养至第31天。采用Morris水迷宫法评估大鼠的认知和记忆功能<sup>[8]</sup>。具体而言:①采集训练阶段:连续4 d,每日进行4次训练(间隔≥15 min)。每次训练中,大鼠从4个不同象限(东、南、西、北)随机入水,隐藏平台固定置于目标象限中心(平台直径10 cm,水面下1.5 cm)。②单次训练流程:大鼠入水后,记录其找到隐藏平台所需时间(逃逸潜伏期,上限90 s);若90 s内未找到平台,引导其至平台并停留15 s。③探针测试:训练结束后第5天,移除平台,大鼠从对侧象限入水,自由游泳120 s,记录穿越原平台位置次数及在目标象限停留时间。水温维持(24±1)°C,实验期间避免外部视觉干扰。

**1.3.2 NOR测试评估大鼠记忆性能** 实验方法参照先前研究<sup>[7]</sup>,在熟悉期,大鼠置于空箱(60 cm×60 cm×30 cm)适应5 min,随后放入两个相同立方体陶瓷块(边长5 cm),自由探索10 min;熟悉期结束后1 h或24 h进入测试期,将其中一个物体替换为同材质圆锥体陶瓷新物体,大鼠自由探索5 min;然后进行行为判定,鼻子距物体≤2 cm或直接触碰记为探索行为,识别指数(DI)=(新物体探索时间-熟悉物体探索时间)/总探索时间。测试前用75%乙醇彻底清洁物体及箱体,避免嗅觉残留。

**1.3.3 Y迷宫实验评估大鼠即时空间工作记忆** 实验方法参照先前研究<sup>[7]</sup>,适应期:大鼠单独置于Y迷宫中央臂(臂长50 cm,臂宽16 cm,壁高30 cm),自由探索10 min适应环境;正式测试:将大鼠置于随机起始臂,自由探索8 min,记录总入臂次数、连续自发交替次数(A→B→C等三臂连续进入顺序)及自发交替百分比(%)=连续自发交替次数/(总入臂次

数-2)×100%;清洁程序:测试后用75%乙醇擦拭迷宫内壁及底面,消除气味干扰。

### 1.4 ELISA法检测海马组织中炎症因子表达

行为学检测后,脱颈处死大鼠,钝性分离收集海马组织,按照ELISA实验盒说明书检测海马组织中炎症因子(IL-6、IL-1 $\beta$ 和TNF- $\alpha$ )表达。

### 1.5 HE染色检测海马组织病理结构

将取出的海马组织浸入4%多聚甲醛中固定48 h,常规石蜡包埋后行4  $\mu$ m厚切片。对海马组织切片进行脱蜡和再水化,根据说明书使用HE染色试剂盒评估海马组织病理结构损伤。

### 1.6 TUNEL染色检测海马神经元凋亡

取大鼠海马组织切片,利用TUNEL染色试剂盒进行凋亡神经元检测。TUNEL阳性、染色质浓缩和碎片化的细胞核被认为代表细胞凋亡,Image J软件对TUNEL阳性细胞数进行计数并计算凋亡率。

### 1.7 ROS含量检测

取各组大鼠海马组织,按照ROS检测试剂盒说明书方法,检测ROS水平。

### 1.8 Western blot检测海马组织凋亡和SIRT1/BDNF通路相关蛋白表达

分离各组大鼠海马组织后,迅速转移至预冷PBS(冰浴)中保存;于4 °C环境加入RIPA裂解液及蛋白酶抑制剂,裂解处理1 h。以4 °C、12 000g条件离心10 min,收集上清液并转移至EP管;采用BCA蛋白定量试剂盒检测蛋白浓度。取40  $\mu$ g蛋白经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离后,转印至聚偏二氟乙烯膜(PVDF);随后以含0.1% Tween20、5%脱脂牛奶的TBS缓冲液封闭2 h。于4 °C条件下,将膜与凋亡相关蛋白(Bax、Bcl-2和cleaved Caspase-3)及SIRT1/BDNF通路相关蛋白(SIRT1和BDNF一抗,稀释度1:300)孵育过夜;次日,室温下与辣根过氧化物酶标记二抗孵育1 h。通过ECL化学发光法显影蛋白条带,采用Image-Pro Plus 6.0软件行灰度分析。

### 1.9 统计学分析

所有实验结果采用SPSS 22.0统计学软件进行分析。计量资料以均数±标准差( $\bar{X}$ ±S)表示。两组间比较采用独立样本t检验,多组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),组间两两比较采用Tukey's HSD检验。以P<0.05表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 ChIV对SEV诱导的记忆和学习神经功能障碍的影响

相较于对照组,SEV组大鼠逃逸潜伏期显著延长( $P<0.05$ ),跨越平台频次、目标象限停留时长均呈

降低趋势( $P<0.05$ );与SEV组比较,SEV+ChIV组大鼠逃逸潜伏期缩短( $P<0.05$ ),跨越平台频次、目标象限停留时长均增加( $P<0.05$ );较之SEV+ChIV组,SEV+ChIV+EX527组大鼠逃逸潜伏期延长,跨越平台频次、目标象限停留时长均减少( $P<0.05$ ,见图1、表1)。

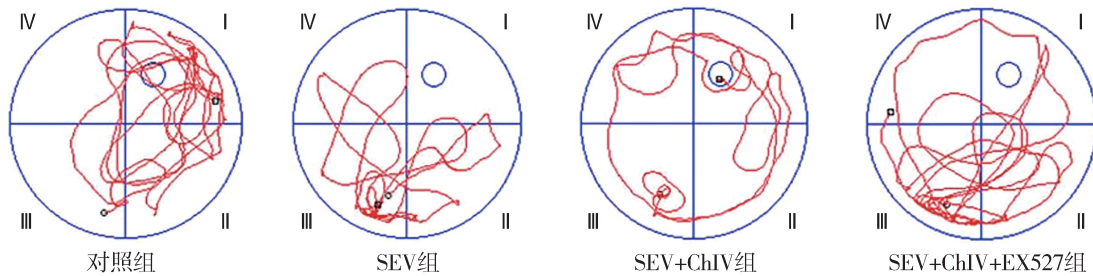


图1 各组大鼠Morris水迷宫轨迹图

Figure 1 Morris water maze trajectories of rats in each group

表1 ChIV对SEV诱导的大鼠记忆和学习神经功能障碍的影响 ( $n=15, \bar{X} \pm S$ )

Table 1 Effect of ChIV on memory and learning neurofunctional disorders in rats induced by SEV ( $n=15, \bar{X} \pm S$ )

组别	逃逸潜伏期(s)				跨越平台次数(次)	目标象限停留时间(s)
	第1天	第2天	第3天	第4天		
对照组	60.36±3.27	43.28±5.12	31.54±3.73	24.39±3.21	5.37±0.44	54.38±5.44
SEV组	61.31±2.47	57.66±6.54*	51.37±4.23*	46.27±4.88*	3.12±0.36*	35.48±5.67*
SEV+ChIV组	59.43±3.55	46.35±3.11#	33.56±3.84#	28.44±3.27#	4.79±0.47#	47.39±6.33#
SEV+ChIV+EX527组	60.34±4.37	55.43±3.81&	47.38±3.15&	42.31±3.89&	3.37±0.38&	37.29±4.35&

注:与对照组相比,\* $P<0.05$ ;与SEV组相比,# $P<0.05$ ;与SEV+ChIV组,& $P<0.05$ 。

### 2.2 ChIV对SEV诱导的记忆识别和空间工作记忆损伤的影响

与对照组相比,SEV组大鼠的短期或长期记忆辨别指数和自发交替行为百分比均降低( $P<0.05$ );与SEV组比较,SEV+ChIV组大鼠的短期或长期记忆辨别指数和自发交替行为百分比均增多( $P<0.05$ );与SEV+ChIV组相比,SEV+ChIV+EX527组大鼠的短期或长期记忆辨别指数和自发交替行为百分比均降低( $P<0.05$ ,见表2)。

表2 ChIV对SEV诱导的大鼠记忆识别和空间工作记忆损伤的影响 ( $n=15, \bar{X} \pm S$ )

Table 2 Effect of ChIV on memory recognition and spatial working memory impairment in rats induced by SEV ( $n=15, \bar{X} \pm S$ )

组别	短期记忆辨别指数	长期记忆辨别指数	自发交替行为百分比(%)
对照组	0.53±0.07	0.45±0.08	0.54±0.07
SEV组	0.26±0.05*	0.23±0.03*	0.24±0.04*
SEV+ChIV组	0.39±0.06#	0.38±0.05#	0.45±0.06#
SEV+ChIV+EX527组	0.29±0.04&	0.26±0.05&	0.27±0.05&

注:与对照组相比,\* $P<0.05$ ;与SEV组相比,# $P<0.05$ ;与SEV+ChIV组,& $P<0.05$ 。

### 2.3 ChIV对SEV诱导的神经炎症的影响

ELISA检测结果显示,相较于对照组,SEV组大鼠海马组织中IL-6、IL-1 $\beta$ 及TNF- $\alpha$ 表达水平显著升高( $P<0.05$ );与SEV组比较,SEV+ChIV组大鼠海马组织中IL-6、IL-1 $\beta$ 与TNF- $\alpha$ 含量降低( $P<0.05$ );与SEV+ChIV组比较,SEV+ChIV+EX527组大鼠海马

组织中IL-6、IL-1 $\beta$ 与TNF- $\alpha$ 表达水平上升( $P<0.05$ ,见表3)。

### 2.4 ChIV对SEV诱导的海马病理结构损伤的影响

对照组大鼠海马神经元轮廓清晰,排列规整,

表3 ChIV对SEV诱导的大鼠神经炎症的影响 ( $n=5, \bar{X} \pm S, \mu\text{mol/g}$ )

Table 3 Effect of ChIV on SEV-induced neuroinflammation in rats ( $n=15, \bar{X} \pm S, \mu\text{mol/g}$ )

组别	IL-6	IL-1 $\beta$	TNF- $\alpha$
对照组	15.33 $\pm$ 2.12	8.19 $\pm$ 1.32	23.24 $\pm$ 4.55
SEV组	183.33 $\pm$ 11.43*	121.74 $\pm$ 14.37*	153.27 $\pm$ 15.38*
SEV+ChIV组	32.36 $\pm$ 4.32#	26.38 $\pm$ 5.11#	43.27 $\pm$ 6.33#
SEV+ChIV+EX527组	153.28 $\pm$ 8.93 $\&$	113.26 $\pm$ 10.36 $\&$	138.37 $\pm$ 9.87 $\&$

注:与对照组相比,\* $P < 0.05$ ;与SEV组相比,# $P < 0.05$ ;与SEV+ChIV组, $\&P < 0.05$ 。

结构完整性良好;相较于对照组,SEV组海马组织呈现明显病理性结构损伤,神经元排列紊乱、轮廓欠

清、结构疏松,伴神经元变形与皱缩;与SEV组比较,SEV+ChIV组海马组织形态学损伤呈显著改善趋势;而SEV+ChIV+EX527组中ChIV介导的形态学改善效应被EX527拮抗(见图2)。

### 2.5 ChIV对SEV诱导的海马神经元凋亡的影响

相较于对照组,SEV组大鼠海马神经元凋亡率、cleaved Caspase-3、Bax表达水平显著升高,Bcl-2表达下调(均 $P < 0.05$ );与SEV组比较,SEV+ChIV组海马神经元凋亡率及cleaved Caspase-3、Bax表达水平降低,Bcl-2表达水平上升(均 $P < 0.05$ );与SEV+ChIV组比较,SEV+ChIV+EX527组大鼠海马神经元凋亡率、cleaved Caspase-3、Bax表达水平升高,Bcl-2表达水平则降低(均 $P < 0.05$ ,见图3)。

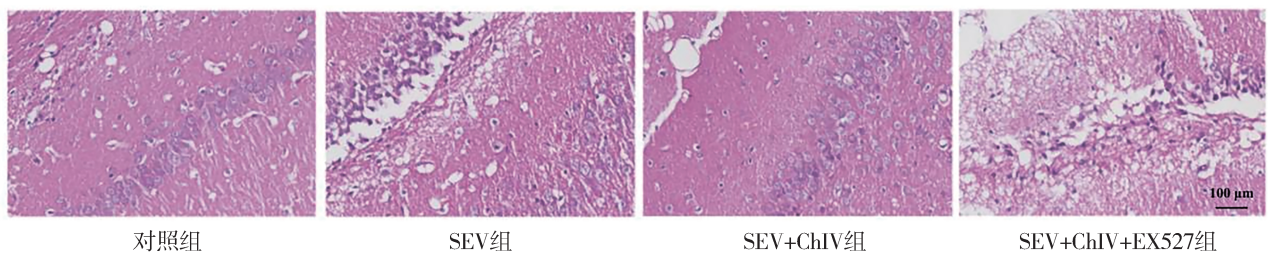


图2 HE染色检测ChIV对SEV诱导的海马病理结构损伤的影响( $\times 200$ )

Figure 2 Effect of ChIV on SEV-induced hippocampal pathological structural damage in rats (HE staining,  $\times 200$ )

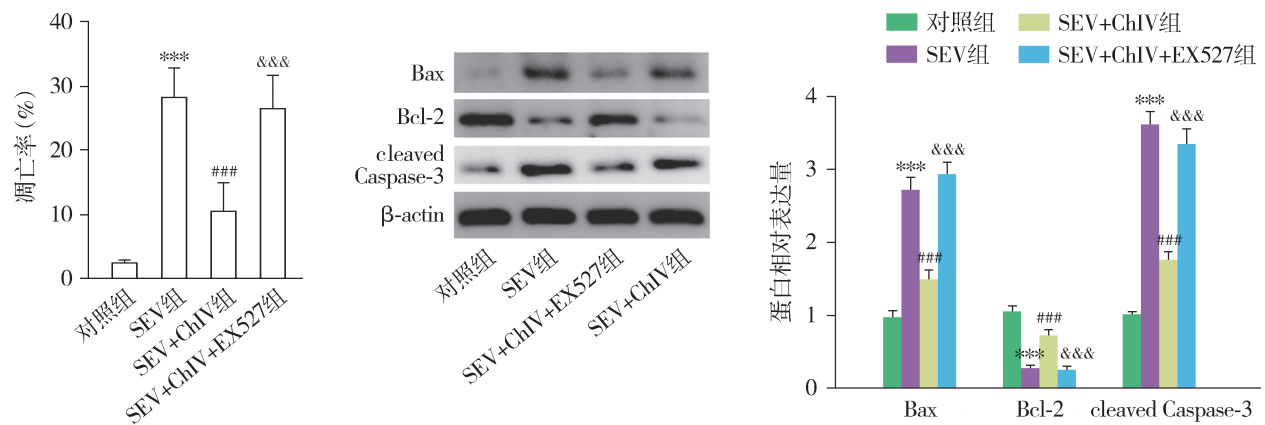
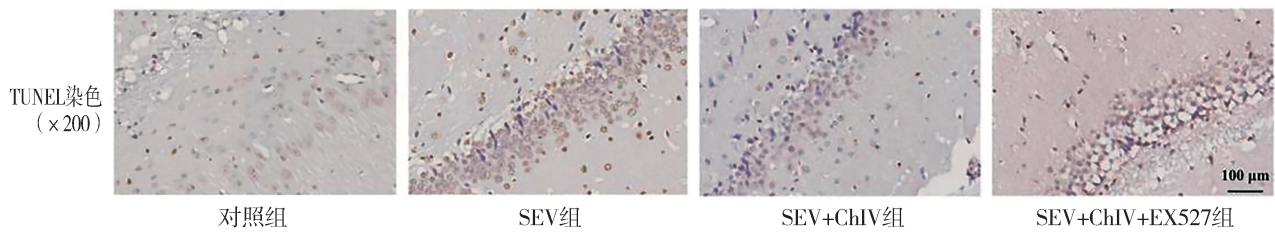


图3 ChIV对SEV诱导的海马神经元凋亡的影响

Figure 3 Effects of ChIV on SEV-induced apoptosis of hippocampal neurons in rats

### 2.6 ChIV 对 SEV 诱导海马组织氧化应激的调控效应

相较于对照组,SEV 组大鼠海马组织 ROS 水平显著升高 ( $P < 0.05$ );对比 SEV 组,SEV+ChIV 组海马组织 ROS 水平降低 ( $P < 0.05$ );较之 SEV+ChIV 组,SEV+ChIV+EX527 组海马组织 ROS 水平上升 ( $P < 0.05$ ,见图 4)。

### 2.7 ChIV 对 SEV 诱导的海马组织中 SIRT1 和 BDNF 表达的影响

相较于对照组,SEV 组大鼠海马组织中 SIRT1、BDNF 表达下调 ( $P < 0.05$ );对比 SEV 组,SEV+ChIV 组上述蛋白表达水平上升 ( $P < 0.05$ );较之 SEV+ChIV 组,SEV+ChIV+EX527 组海马组织中 SIRT1、BDNF 表达水平降低 ( $P < 0.05$ ,见图 5)。

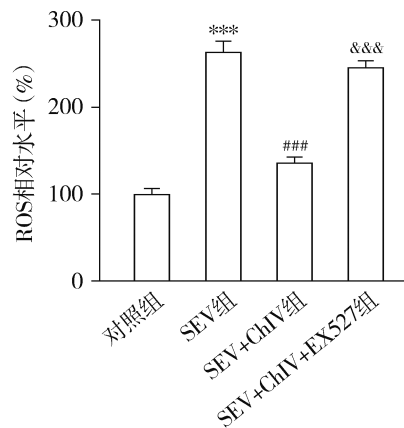


图 4 ChIV 对 SEV 诱导的大鼠海马组织氧化应激的调控效应

Figure 4 Regulatory effect of ChIV on oxidative stress in hippocampal tissue in rats induced by SEV

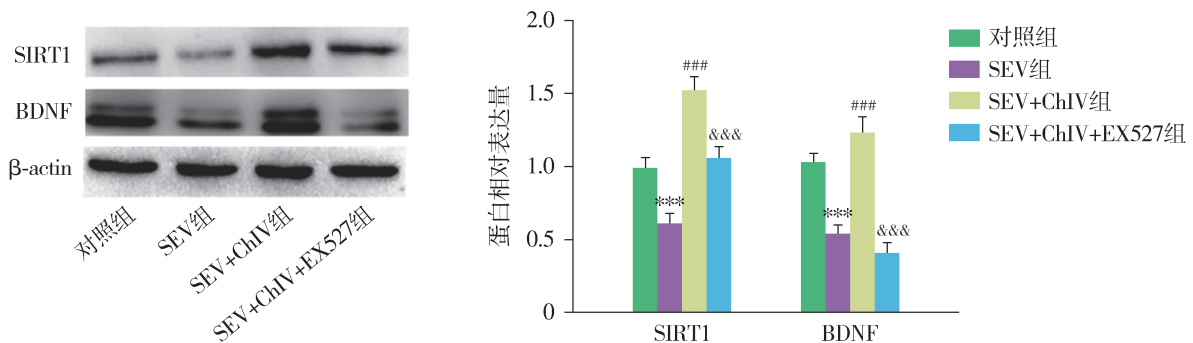


图 5 Western blot 检测 ChIV 对 SEV 诱导的海马组织中 SIRT1 和 BDNF 表达的影响

Figure 5 Effects of ChIV on expressions of SIRT1 and BDNF in hippocampal tissues of SEV-induced rats by Western blot

## 3 讨论

POCD 系指麻醉术后患者记忆、抽象思维及定向能力呈持续性损害,且伴发术后人格、社交、认知及技能等社会功能减退,已成为术后关键健康难题<sup>[1]</sup>。近年研究表明,SEV 麻醉与术后早期认知障碍密切相关,但具体机制尚不明确,且缺乏有效防治药物<sup>[2]</sup>。深入探究麻醉与 POCD 的关联机制并开发靶向干预策略具有重要临床意义。

许多研究表明,手术和麻醉可能与认知功能的短暂或永久性损害相关,而这些疾病的病因在很大程度上仍不明确<sup>[1]</sup>。神经炎症和氧化应激被认为是 POCD 的关键因素。一方面,神经炎症是中枢神经系统中 ROS、自由基和活性氮的主要来源。反过来,过量产生的 ROS 会破坏生物分子,改变细胞功能,从而进一步促进炎症反应<sup>[9]</sup>。海马作为认知功

能的关键脑区,是研究 POCD 机制的重要靶区域<sup>[10]</sup>。Peng 等<sup>[11]</sup>证实,SEV 暴露可通过激活促炎反应损伤老年大鼠空间记忆功能;且在成年大鼠海马区能显著上调 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  等促炎细胞因子释放,并增强 NF- $\kappa$ B 信号通路激活水平。另一方面,在接受 SEV 麻醉的儿童血液样本中也观察到抗氧化防御机制减弱及细胞凋亡状态升高<sup>[12]</sup>。研究还表明,围手术期广泛使用的药物(如地塞米松)能够有效抑制炎症反应,阻止 IL-6 的产生,并对学习和记忆过程产生积极影响<sup>[13]</sup>。Huang 团队<sup>[14]</sup>报道,橘皮苷可通过调节海马区域的神经炎症和氧化应激,缓解手术/麻醉诱导的小鼠认知功能障碍。这些研究强调了抑制 SEV 诱导的神经炎症和氧化应激可能是改善神经功能障碍的有效策略。

近年研究表明,多种中药活性成分在麻醉诱导的神经毒性及认知功能障碍中具有潜在的干预价

值。ChIV作为中药竹节参的重要活性成分,已被证实具有抗肿瘤、抗氧化、免疫调节、心血管保护及抗肥胖等多重药理活性<sup>[3]</sup>。本研究结果发现,SEV麻醉可诱导老年大鼠出现显著的认知功能障碍,表现为Morris水迷宫逃逸潜伏期延长、目标象限停留时间缩短、跨越平台次数减少,以及Y迷宫短期/长期记忆辨别指数和自发交替行为百分比降低。同时,海马组织呈现明显的病理损伤,包括神经元排列紊乱、结构疏松、变形皱缩。而ChIV预处理能有效逆转上述SEV诱导的认知功能损害和神经病理改变。既往研究表明,ChIV可通过激活SIRT1/ERK1/2信号通路,减轻异氟醚诱导的发育期大鼠的神经毒性和认知缺陷<sup>[6]</sup>,且其对SEV诱导的神经毒性和认知功能损伤亦具有保护作用<sup>[7]</sup>。TNF- $\alpha$ 作为脑损伤早期的关键促炎细胞因子,在脑组织中过度表达可介导神经毒性效应并诱导神经细胞凋亡;IL-1 $\beta$ 和IL-6则通过激活胶质细胞促炎表型,放大炎症反应和氧化应激级联,导致神经元丢失并加重继发性脑损伤<sup>[15]</sup>。此外,研究证实ChIV可显著抑制脂多糖(LPS)诱导的氧化应激和炎症细胞因子分泌<sup>[16]</sup>。与此一致,本研究中ChIV显著降低了SEV暴露大鼠海马区ROS水平及IL-1 $\beta$ 、IL-6和TNF- $\alpha$ 的表达,进一步表明ChIV可能通过抑制氧化应激和神经炎症反应发挥对SEV诱导神经损伤的保护作用。

氧化应激和炎症反应持续增强可诱导多种组织和器官发生细胞死亡及长期功能损伤,其中神经元凋亡被认为是加重神经系统疾病进展的重要病理基础。本研究发现,ChIV可通过下调cleaved-Caspase-3和Bax等促凋亡蛋白的表达,并上调抗凋亡蛋白Bcl-2水平,从而显著抑制SEV诱导的老年大鼠海马神经元凋亡过程。在体研究表明,SEV麻醉可显著降低老年大鼠海马区神经发生率与神经元存活率,从而导致神经毒性及认知功能障碍<sup>[17]</sup>。体外研究亦证实,SEV暴露可升高 $\beta$ -淀粉样蛋白(A $\beta$ )水平,诱导Caspase激活和细胞凋亡,从而促进阿尔茨海默病相关病理进展<sup>[18]</sup>。此外,高胆固醇血症可通过增强神经炎症和细胞凋亡反应,加重SEV诱导的老年大鼠认知功能障碍<sup>[19]</sup>。上述研究共同提示,在成年和老年动物中,由炎症反应和氧化应激失衡所触发的神经元凋亡,是SEV诱导认知障碍和神经毒性的重要病理机制。在此基础上,进一步

探讨凋亡上游的调控机制具有重要意义。

SIRT1是SIR2的同源蛋白,已被证实在多种中枢神经退行性疾病中发挥神经保护作用,并可通过调节突触可塑性参与学习和记忆形成<sup>[4]</sup>。研究表明,麻醉/手术可显著下调SIRT1表达水平<sup>[20]</sup>。而在小鼠模型中应用SIRT1激动剂SRT1720可明显降低炎症细胞因子水平,改善突触可塑性损伤并减轻POCD<sup>[21]</sup>。本研究同样观察到SEV麻醉后海马区SIRT1表达显著降低;而在给予SIRT1特异性抑制剂EX527后,SIRT1及其下游BDNF表达均明显下降,同时ChIV对海马组织结构和神经功能损伤的保护作用被显著抑制。因此,推测ChIV可能通过上调SIRT1和BDNF表达来显著改善POCD。既往研究表明,SIRT1可通过去乙酰化修饰调控甲基化CpG结合蛋白2(MeCP2),从而影响BDNF的转录水平;在SIRT1敲低模型中,BDNF启动子区域MeCP2结合增加,BDNF表达显著下降<sup>[20]</sup>。结合文献报道,SIRT1可能通过去乙酰化修饰调控MeCP2等靶点影响BDNF转录。结合本研究结果,EX527抑制SIRT1活性后BDNF表达显著下调,提示ChIV可能通过激活SIRT1的去乙酰化功能促进BDNF表达。值得注意的是,EX527通过占据SIRT1催化结构域抑制其酶活性,而非直接降低蛋白表达水平;本研究中SEV+ChIV+EX527组SIRT1蛋白表达量虽高于SEV组,但BDNF表达仍明显降低,进一步表明SIRT1功能受抑而非表达下降是BDNF下调的关键原因。未来可通过检测MeCP2或PGC-1 $\alpha$ 等下游靶点的乙酰化水平,以更直接验证SIRT1酶活性变化。

BDNF作为广泛分布于中枢神经系统的重要神经营养因子,在谷氨酸能和 $\gamma$ -氨基丁酸能(GABAergic)突触的发育和可塑性中发挥关键作用,是维持海马长时程增强(long-term potentiation, LTP)的核心分子<sup>[5]</sup>。现有研究表明,BDNF在中枢神经系统疾病的治疗中发挥重要作用。例如,BDNF的过表达能够显著改善阿尔茨海默病小鼠模型的认知功能和突触可塑性损伤<sup>[22]</sup>。此外,多项研究发现,麻醉/手术引起的神经炎症会降低BDNF水平,从而导致突触可塑性损伤和海马依赖性认知功能障碍<sup>[23]</sup>。而麻醉/手术后BDNF表达减少,伴随突触可塑性受损和神经元兴奋性降低,最终导致小鼠POCD的发生<sup>[23]</sup>。此外,BDNF被认为是神经炎症诱导的认知

功能障碍的重要调节因子<sup>[24]</sup>。有报道称,麻醉/手术诱导的神经炎症可显著抑制海马区 BDNF 的表达,导致术后认知功能障碍,而 IL-1 受体拮抗剂减轻神经炎症可通过增加 BDNF 的表达改善术后认知功能<sup>[25]</sup>。本研究中,ChIV 通过激活 SIRT1 并上调 BDNF 表达改善认知功能,而抑制 SIRT1 可显著逆转其保护作用,进一步支持 SIRT1/BDNF 轴在术后认知功能调控中的关键地位。值得注意的是,尽管 SEV 代谢半衰期短(15~30 min),但其触发的神经炎症级联反应和突触可塑性损伤可持续数周。研究表明,SEV 通过激活小胶质细胞、促进 A $\beta$  沉积及抑制 BDNF 表达,导致海马依赖性记忆通路长期功能障碍<sup>[18,19]</sup>。Wu 等<sup>[20]</sup>发现,SEV 暴露后 SIRT1/BDNF 信号下调可持续至第 28 天,并伴随突触蛋白丢失。这为本研究选择 31 d 检测时间点提供了理论和文献支持,符合临床 POCD 的慢性化特征。不过,本研究在实验设计上仍存在不足:未设置单独的 SEV+EX527 对照组(即仅给予 SEV 麻醉联合 EX527 干预,未添加 ChIV),导致无法完全排除 EX527 本身可能存在的独立加重 SEV 诱导神经损伤的潜在作用,难以精准区分其观察到的效应是源于对 SIRT1 通路的特异性阻断,还是自身的非特异性毒性。为解决这一疑问,未来研究需补充设置该对照,通过直接对比分析,明确 EX527 的独立生物学效应,从而更严谨地验证本研究提出的 SIRT1/BDNF 通路依赖机制的特异性。

综上所述,ChIV 预干预可缓解 SEV 麻醉诱导的大鼠认知功能损伤,拮抗氧化应激和神经炎症反应,减少海马神经元凋亡;其保护效应或与 SIRT1/BDNF 通路激活密切相关,而 SIRT1 特异性抑制剂 EX527 可部分逆转上述作用,反向佐证该通路依赖机制。后续研究将完善分组设计,明确 EX527 对 SEV 损伤的独立影响。

#### 参考文献:

- [1] Varpaei HA, Farhadi K, Mohammadi M, *et al.* Postoperative cognitive dysfunction: a concept analysis[J]. *Aging Clin Exp Res*, 2024, 36(1): 133.
- [2] Wang CM, Chen WC, Zhang Y, *et al.* Update on the mechanism and treatment of sevoflurane-induced postoperative cognitive dysfunction[J]. *Front Aging Neurosci*, 2021, 13(8): 702231.
- [3] 吴忻晶, 关月. 竹节参皂苷 IVa 及其衍生物的药理活性及作用机制研究进展[J]. *中国药房*, 2018, 29(18): 2560-2564.
- [4] You Y, Liang W. SIRT1 and SIRT6: the role in aging-related diseases[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2023, 1869(7): 166815.
- [5] Colucci-D'amato L, Speranza L, Volpicelli F. Neurotrophic factor BDNF, physiological functions and therapeutic potential in depression, neurodegeneration and brain cancer[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(20): 7777.
- [6] Fang X, Han Q, Li S, *et al.* Chikusetsu saponin IVa attenuates isoflurane-induced neurotoxicity and cognitive deficits via SIRT1/ERK1/2 in developmental rats[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(9): 4288-4299.
- [7] Shao A, Fei J, Feng S, *et al.* Chikusetsu saponin IVa alleviated sevoflurane-induced neuroinflammation and cognitive impairment by blocking NLRP3/caspase-1 pathway[J]. *Pharmacol Rep*, 2020, 72(4): 833-845.
- [8] 刘海英, 杨进国, 曾文强, *et al.* 银杏叶提取物注射液对七氟醚麻醉后大鼠认知功能的影响[J]. *世界中医药*, 2020, 15(14): 2068-2071.
- [9] Jurcau A. Insights into the pathogenesis of neurodegenerative diseases: focus on mitochondrial dysfunction and oxidative stress [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 11847.
- [10] Han L, Zhao S, Xu F, *et al.* Sevoflurane increases hippocampal theta oscillations and impairs memory via TASK-3 channels[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12(28): 728300.
- [11] Peng S, Li P, Liu P, *et al.* Cistanches alleviates sevoflurane-induced cognitive dysfunction by regulating PPAR- $\gamma$ -dependent antioxidant and anti-inflammatory in rats[J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(2): 1345-1359.
- [12] Zhou X, Lu D, Li WD, *et al.* Sevoflurane affects oxidative stress and alters apoptosis status in children and cultured neural stem cells[J]. *Neurotox Res*, 2018, 33(4): 790-800.
- [13] Karaman T, Karaman S, Doğru S, *et al.* Short-term and long-term effects of dexamethasone on cognitive dysfunction induced by sevoflurane in adult rats [J]. *Turk J Anaesthesiol Reanim*, 2017, 45(3): 158-163.
- [14] Huang H, Hu C, Xu L, *et al.* The effects of hesperidin on neuronal apoptosis and cognitive impairment in the sevoflurane anesthetized rat are mediated through the PI3/Akt/PTEN and Nuclear Factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) signaling pathways [J]. *Med Sci Monit*, 2020, 26(16): e920522.
- [15] 张树峰, 李曼, 刘晶晶. 神经炎症作为术后认知功能障碍的潜在机制和治疗策略研究进展[J]. *转化医学杂志*, 2025, 14(2): 262-268.
- [16] Liang Y, Fan T, Bai M, *et al.* Chikusetsu Saponin IVa liposomes modified with a retro-enantiop peptide penetrating the blood-brain barrier to suppress pyroptosis in acute ischemic stroke rats [J]. *J Nanobiotechnology*, 2024, 22(1): 393.
- [17] Li Q, Zhang X, Li S, *et al.* Carnosol alleviates sevoflurane-induced cognitive dysfunction by mediating NF- $\kappa$ B pathway in aged rats[J]. *Drug Dev Res*, 2022, 83(6): 1342-1350.

- [18] He K, Li Y, Xiong W, *et al.* Sevoflurane exposure accelerates the onset of cognitive impairment via promoting p-Drp1(S616)-mediated mitochondrial fission in a mouse model of Alzheimer's disease[J]. *Free Radic Biol Med*, 2024, 225(20): 699-710.
- [19] Liu L, Zhang X, Wang C, *et al.* Hypercholesterolemia aggravates sevoflurane-induced cognitive impairment in aged rats by inducing neurological inflammation and apoptosis[J]. *J Biochem Mol Toxicol*, 2022, 36(5): e23009.
- [20] Wu WF, Chen C, Lin JT, *et al.* Impaired synaptic plasticity and decreased glutamatergic neuron excitability induced by SIRT1/BDNF downregulation in the hippocampal CA1 region are involved in postoperative cognitive dysfunction[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2024, 29(1): 79-106.
- [21] Sun Y, Wang Y, Ye F, *et al.* SIRT1 activation attenuates microglia-mediated synaptic engulfment in postoperative cognitive dysfunction[J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14(10): 943842.
- [22] Lou S, Gong D, Yang M, *et al.* Curcumin improves neurogenesis in Alzheimer's disease mice via the upregulation of Wnt/ $\beta$ -Catenin and BDNF[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(10): 5123.
- [23] Wang J, Zhou Y, Li K, *et al.* A noradrenergic lesion attenuates surgery-induced cognitive impairment in rats by suppressing neuroinflammation[J]. *Front Mol Neurosci*, 2021, 14(30): 752838.
- [24] Li Y, Liu A, Chen K, *et al.* Sodium butyrate alleviates lead-induced neuroinflammation and improves cognitive and memory impairment through the ACS2/H3K9ac/BDNF pathway[J]. *Environ Int*, 2024, 184(2): 108479.
- [25] Rump K, Adamzik M. Epigenetic mechanisms of postoperative cognitive impairment induced by anesthesia and neuroinflammation[J]. *Cells*, 2022, 11(19): 2954.

(责任编辑: 阮爱萍)