

·基础研究·

瑞舒伐他汀可通过HIF-1 α /AQP4途径减轻兔蛛网膜下腔出血后脑水肿

张秀峰,刘宏,王静辉

作者单位

河北北方学院附属
第一医院

河北 张家口 075000

基金项目

张家口市科技计划
项目(No. 1521084

D)

收稿日期

2018-12-15

通讯作者

王静辉

zxf1781@163.com

摘要 目的:探讨瑞舒伐他汀治疗蛛网膜下腔出血(SAH)后早期脑水肿的作用机制。**方法:**应用二次注血的方法制作SAH白兔模型。应用干湿法检测脑组织水肿,Western-blot法检测水通道蛋白4(AQP4)和缺氧诱导因子蛋白(HIF-1 α)表达水平。**结果:**SAH组和治疗组的行为学评分和脑组织含水量显著高于假手术组($P<0.05$),同时治疗组以上各指标均低于SAH组($P<0.05$)。SAH组和治疗组AQP4和HIF-1 α 蛋白表达均高于假手术组($P<0.05$),且治疗组低于SAH组($P<0.05$)。HIF-1 α 抑制剂雌二醇降低了SAH白兔HIF-1 α 和AQP4蛋白的表达水平。**结论:**瑞舒伐他汀能显著改善兔SAH后脑水肿,其机制可能是通过瑞舒伐他汀抑制HIF-1 α 进而抑制AQP4表达。

关键词 瑞舒伐他汀;蛛网膜下腔出血;脑水肿;水通道蛋白4;缺氧诱导因子蛋白

中图分类号 R741;R741.03;R743 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.2019.12.010

张秀峰,刘宏,王静辉.瑞舒伐他汀可通过HIF-1 α /AQP4途径减轻兔蛛网膜下腔出血后脑水肿[J].神经损伤与功能重建,2019,14(12):632-633.

自发性蛛网膜下腔出血(subarachnoid hemorrhage, SAH)后早期脑损伤通常于SAH后72 h内发生,机制包括颅内压升高、氧化应激反应、血脑屏障破坏和脑缺血等^[1]。这些因素共同导致神经元细胞死亡和脑水肿^[2]。他汀类药物是羟甲基戊二酸单酰辅酶A还原酶抑制剂,除降低胆固醇外,还有抗炎^[3]、抗氧化^[4]、抗脑血管痉挛及抑制血小板聚集^[5]的作用。但他汀类药物对SAH后脑水肿的作用和机制尚未阐明。本研究将探讨瑞舒伐他汀对SAH后脑水肿的作用和机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

新西兰白兔63只,体质量(2.35 \pm 0.41)kg,雌雄各半,购自无锡太湖医院动物中心。实验前于标准条件下饲养。63只白兔随机分为4组:假手术组18只,SAH组18只,治疗组18只,雌二醇组9只。

1.2 方法

1.2.1 SAH模型制作 10%的水合氯醛麻醉白兔,无菌条件下,用23号蝴蝶针穿刺至小脑延髓池,释放脑脊液1 mL后,注入未抗凝自体血液2 mL。保持低头30°体位30 min,以确保血液从小脑延髓池顺利进入基底池。48 h后进行第2次注血,方法同前^[6]。

1.2.2 各组处理 假手术组只给予脑室穿刺。SAH组、治疗组和雌二醇组均按上述方法造模。治疗组于SAH造模前3 d和造模后22 h给予瑞舒伐他汀灌胃,5 mg/kg,1次/日。雌二醇组于第1次注血24 h后,给予低氧诱导因子(hypoxia inducible factor, HIF)-1 α 阻断剂2-甲氧雌二醇2.5 mg/kg,溶解于0.25 mL生理盐水中,静脉输注。

1.2.3 指标检测 SAH造模后24 h评价白兔神

经损伤状况,之后立即处死白兔。各组随机取9只白兔取出脑组织,干燥冷冻,用于检测相关生化指标;假手术组、SAH组和治疗组各取剩余的9只白兔,进行脑组织含水量检测。

行为评分标准:①食欲:0分为“吃完所有食物”;1分为“吃完部分食物”;2分为“很少进食”。②活动:0分为“活动状态,自发行走和站立”;1分为“卧倒状态,刺激可行走和站立”;2分为“几乎一直处于卧倒状态”。③缺陷:0分为“无缺陷”;1分为“由于共济失调或瘫痪不能较好行走”;2分为“由于共济失调和瘫痪完全不能行走和站立”。

脑组织含水量检测:处死白兔后获取脑组织立即称重,之后将脑组织至于100℃下24 h,再次称重。脑组织含水量%=(湿重-干重)/湿重 \times 100%。

生化指标检测:采用Western blot法检测各组白兔脑组织中水通道蛋白4(aquaporins 4, AQP4)和HIF-1 α 的表达情况。

1.3 统计学处理

采用SPSS 19.0软件处理数据。符合正态分布以及方差齐性的计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,方差分析; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般状况

假手术组无死亡,SAH组为33.3%(6/18),治疗组为16.7%(3/18),治疗组死亡率低于SAH组($P<0.05$)。在构建模型的过程中,根据死亡数据补充新的白兔进行造模。

2.2 行为评分

假手术组、SAH组和治疗组的行为评分分别为(0.33 \pm 0.12)分、(2.22 \pm 1.03)分和(1.55 \pm 0.89)分;

SAH组和治疗组均显著高于假手术组($P < 0.01$),治疗组低于SAH组($P < 0.05$)。

2.3 脑组织水含量

假手术组、SAH组和治疗组的脑组织水含量分别为(79.08±0.25)%、(82.23±0.07)%和(80.45±0.34)%;SAH组和治疗组高于假手术组($P < 0.05$),治疗组低于SAH组($P < 0.05$)。

2.4 各组AQP4蛋白表达水平

假手术组、SAH组和治疗组的AQP4蛋白相对表达量分别为(0.98±0.04)、(1.87±0.03)和(1.48±0.05);SAH组和治疗组高于假手术组($P < 0.05$),治疗组低于SAH组($P < 0.05$),见图1。

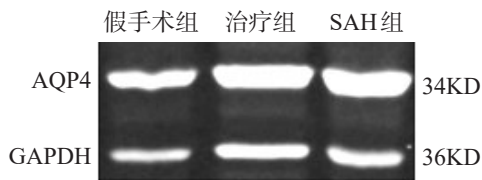


图1 各组AQP4蛋白Western Blot电泳图

2.5 各组HIF-1alpha蛋白表达水平

假手术组、SAH组和治疗组的AQP4蛋白相对表达量分别为(0.18±0.01)、(0.86±0.02)和(0.48±0.01);SAH组和治疗组高于假手术组($P < 0.05$),治疗组低于SAH组($P < 0.05$),见图2。

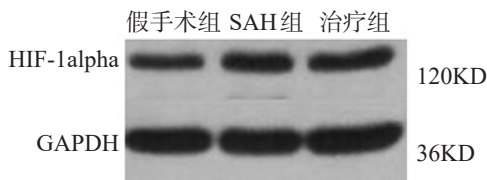


图2 各组HIF-1alpha蛋白Western Blot电泳图

2.6 抑制HFI-1alpha表达后AQP4蛋白的表达

SAH组和雌二醇组HIF-1alpha蛋白相对表达水平分别为(0.92±0.02)和(0.38±0.01),雌二醇显著减少了HIF-1alpha蛋白的表达($P < 0.05$);同时SAH组和雌二醇组AQP4蛋白相对表达水平分别为(1.00±0.05)和(0.42±0.03),雌二醇显著减少了AQP4蛋白的表达($P < 0.05$),见图3-4。

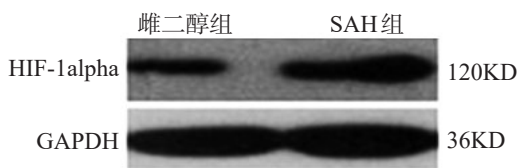


图3 各组HIF-1alpha蛋白Western Blot电泳图

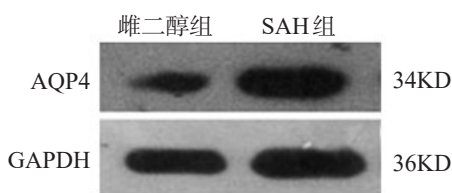


图4 各组AQP4蛋白Western Blot电泳图

3 讨论

他汀类药物具有对抗炎症、抗氧化、抗脑血管痉挛及抑制

血小板聚集的作用。HIF-1 α 是调节HIF-1活性的功能亚单位之一,低氧状态下,可介导低氧反应,使细胞能够耐受低氧状态而存活下来。AQP4是脑组织水调节的重要单位,维持大脑的水平衡。低氧条件下HIF-1alpha可能通过对下游相关靶基因的调节上调AQP4的表达引起脑水肿。因此,治疗SAH后脑水肿的分子机制与HIF-1alpha介导的AQP4的表达密切相关。本研究中,我们探讨了瑞舒伐他汀抑制HIF-1alpha/AQP4途径对SAH后脑水肿的作用和分子机制。

本研究造模过程中,治疗组死亡率低于SAH组($P < 0.05$),提示瑞舒伐他汀能够增加SAH白兔的耐受性,降低死亡率。行为学评分显示治疗组低于SAH组($P < 0.05$),提示瑞舒伐他汀能改善SAH导致的神经功能障碍。治疗组和SAH组的脑组织含水量高于假手术组,且治疗组脑低于SAH组,提示SAH后出现显著脑水肿,瑞舒伐他汀能减轻脑水肿,改善神经功能。

本研究探讨了瑞舒伐他汀改善SAH早期脑损伤的分子机制。相关研究证实,AQP4促进脑水肿过程中的水聚集,加重脑水肿症状^[7]。血管内皮生长因子、乏氧诱导因子1alpha及AQP4是SAH后脑水肿和血脑屏障损害重要的诱导因子,并可能成为脑损伤治疗中的重要靶点^[8]。而本研究中,瑞舒伐他汀显著降低了SAH白兔的脑组织HIF-1alpha蛋白和AQP4表达。给予SAH组白兔HIF-1alpha抑制剂雌二醇后,HIF-1alpha表达水平显著降低,同时AQP4的表达水平也显著降低,表明AQP4可能是HIF-1alpha的下游蛋白。提示瑞舒伐他汀可能通过抑制HIF-1alpha的表达,降低AQP4的表达,从而减轻SAH后脑水肿。

尽管本研究探讨了瑞舒伐他汀能够通过抑制HIF-1alpha/AQP4表达改善脑水肿,进而对神经系统起到保护作用,但关于瑞舒伐他汀作用于HIF-1alpha/AQP4的具体途径,HIF-1alpha影响AQP4的具体方式均需进一步探讨。

参考文献

[1] Steiner T, Juvela S, Unterberg A, et al. European Stroke Organization guidelines for the management of intracranial aneurysms and subarachnoid haemorrhage[J]. Cerebrovasc Dis, 2013, 35: 93-112
 [2] Budohoski KP, Czosnyka M, Kirkpatrick PJ, et al. Clinical relevance of cerebral autoregulation following subarachnoid haemorrhage[J]. Nat Rev Neurol, 2013, 9: 152-163.
 [3] 王珏, 黄文彬. 创伤性脑水肿的治疗现状与进展[J]. 中国医学创新, 2015, 31: 130-136.
 [4] Tousoulis D, Antoniadis C, Katsi V, et al. The impact of early administration of low-dose atorvastatin treatment on inflammatory process, in patients with unstable angina and low cholesterol level[J]. Int J Cardiol, 2006, 109: 48-52.
 [5] Lee YM, Chen WF, Chou DS, et al. Cyclic nucleotides and mitogen-activated protein kinase: regulation of simvastatin in platelet[J]. J Biomed Sci, 2010, 17: 45.
 [6] 夏建学, 沈冰, 杨卫东, 等. 大鼠枕大池二次注蛛网膜下腔出血延迟性脑血管痉挛模型的建立[J]. 宁夏医学杂志, 2006, 28: 410-413.
 [7] Luzak B, Boncler M, Rywaniak J, et al. The effect of a platelet cholesterol modulation on the acetylsalicylic acid-mediated blood platelet inhibition in hypercholesterolemic patients[J]. Eur J Pharmacol, 2011, 658: 91-97.
 [8] 林琅, 黎红华, 武强, 等. 慢性低灌注对大鼠脑白质血管生成与血脑屏障的影响[J]. 神经损伤与功能重建, 2016, 11: 9-11.

(本文编辑:唐颖馨)