

·基础研究·

奥扎格雷钠对脑梗死大鼠的治疗作用研究

李琳峰¹,高红雨²,平会娜³

作者单位
1. 北京朝阳急诊抢救中心急诊科
北京 100020
2. 河北保定市第一人民医院心内科
河北 保定 071000
3. 河北保定恒兴中西医结合医院妇产科
河北 保定 071051
收稿日期
2019-12-24
通讯作者
平会娜
lameona@163.com

摘要 目的:研究奥扎格雷钠治疗对脑梗死大鼠的疗效及可能的作用机制。方法:SPF级SD健康雄性大鼠30只,随机分为假手术组、模型组和奥扎格雷钠组,各10只。模型组和奥扎格雷钠组构建脑梗死模型,奥扎格雷钠组腹腔注射奥扎格雷钠(2 mg/kg),其余2组注射等量生理盐水。比较各组神经功能评分、脑梗死体积、Rho/Rho-kinase信号通路相关蛋白表达。**结果:**奥扎格雷钠组脑梗死体积、神经功能评分均低于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$)。与假手术组比较,模型组和奥扎格雷钠组eNOS蛋白表达降低,RhoA、MLCP、p-MYPT-1蛋白表达升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,奥扎格雷钠组eNOS蛋白表达升高,RhoA、MLCP、p-MYPT-1蛋白表达降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**奥扎格雷钠可能通过调控Rho/Rho-kinase信号通路相关因子,促进脑梗死大鼠神经功能恢复。
关键词 奥扎格雷钠;Rho/Rho-kinase信号通路;脑梗死;神经功能
中图分类号 R741;R741.05;R743.3 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20191757
本文引用格式:李琳峰,高红雨,平会娜.奥扎格雷钠对脑梗死大鼠的治疗作用研究[J].神经损伤与功能重建,2020,15(9):528-529.

脑梗死具有高发病率、高致残率和高病死率的特点,寻找有效的治疗手段具有重要意义^[1]。研究显示,Rho/Rho-kinase信号通路参与脑梗死发病过程,Rho-kinase抑制剂有望成为治疗神经系统疾病的靶点药物^[2]。奥扎格雷钠为血栓素合成酶抑制剂,特异性较高,奥扎格雷钠能提高脑血流量,有助于神经功能恢复^[3,4]。本文旨在研究奥扎格雷钠对脑梗死大鼠的干预作用与Rho/Rho-kinase信号通路的关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物
SPF级SD健康雄性大鼠30只,体质量180~200 g,由广州中医药大学实验动物中心提供[合格证号:SCXK(粤)2013-0020],标准环境下饲养。

1.2 方法

1.2.1 造模及分组 选取20只大鼠建立脑梗死模型^[5](造模成功者随机纳入模型组和奥扎格雷钠组):将大鼠腹腔麻醉后切开右侧颈部皮肤,分离右侧颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉;微动脉夹暂时夹闭颈内动脉,近心端暂时结扎颈总动脉,距离颈总动脉分叉处4 mm处加开小口,插入线栓,深度约18 mm;2 h后抽出线栓,结扎颈总动脉。选取10只大鼠纳入假手术组,只分离动脉,不进行结扎。如有大鼠死亡,补齐只数。

1.2.2 药物干预 于缺血前30 min和缺血完成后,奥扎格雷钠组大鼠给予奥扎格雷钠腹腔注射(2 mg/kg),模型组和假手术组腹腔注射等体积的无菌生理盐水。

1.2.3 神经功能评分 造模结束后,采用改良Zea Longa标准对大鼠神经功能进行评估^[6],得分越高,神经功能损伤越重。

1.2.4 梗死体积 造模完成后24 h,各组取5只大

鼠,快速断头取脑,制备2 mm厚的连续切片,放入1%TTC(避光,37℃水浴)染色30 min,再用4%对聚甲醛固定后,通过图像处理软件(Elements)测量脑梗死体积,计算梗死体积占脑组织的百分比。

1.2.5 Rho/Rho-kinase信号通路相关蛋白表达比较 造模完成后24 h,各组取5只大鼠,快速断头取脑,提取梗死部位脑组织总蛋白,BCA法进行蛋白定量检测,常规Western Blot法检测内皮型一氧化氮合酶(endothelial nitricoxide synthase, eNOS)、RhoA、肌球蛋白轻链磷酸酯酶(myosin light chain phosphatase, MLCP)和p-MYPT-1(一抗为1:1000稀释)蛋白表达量。DAB显色,以GAPDH为内参。

1.3 统计学处理
采用SPSS 20.0软件处理数据。符合正态分布及方差齐性的计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用方差分析,两两比较采用SNK-q检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脑梗死体积和神经功能评分比较
奥扎格雷钠组脑梗死体积、神经功能评分均低于模型组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表1。

表1 各组大鼠脑梗死体积、神经功能评分比较($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	脑梗死面积/%	神经功能/分
模型组	5	40.06±5.86	3.89±1.16
奥扎格雷钠组	5	32.21±3.35 ^①	2.45±1.02 ^①

注:与模型组比较,^① $P<0.05$

2.2 Rho/Rho-kinase信号通路相关蛋白表达
与假手术组比较,模型组和奥扎格雷钠组eNOS蛋白表达降低,RhoA、MLCP、p-MYPT-1蛋白

表达升高,差异均有统计学意义($P<0.05$);与模型组比较,奥扎格雷钠组eNOS蛋白表达升高,RhoA、MLCP、p-MYPT-1蛋白表达降低,差异均有统计学意义($P<0.05$);见表2、图1。

表2 各组大鼠 Rho/Rho-kinase 信号通路
相关蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	eNOS	RhoA
假手术组	5	24.42±2.55	0.50±0.11
模型组	5	0.41±0.08 ^①	0.73±0.15 ^①
奥扎格雷钠组	5	23.10±1.72 ^{①②}	0.58±0.13 ^{①②}

组别	MLCP	p-MYPT-1
假手术组	0.43±0.06	0.50±0.18
模型组	0.61±0.12 ^①	1.70±0.50 ^①
奥扎格雷钠组	0.48±0.09 ^{①②}	0.73±0.20 ^{①②}

注:与假手术组比较,^① $P<0.05$;与模型组比较,^② $P<0.05$

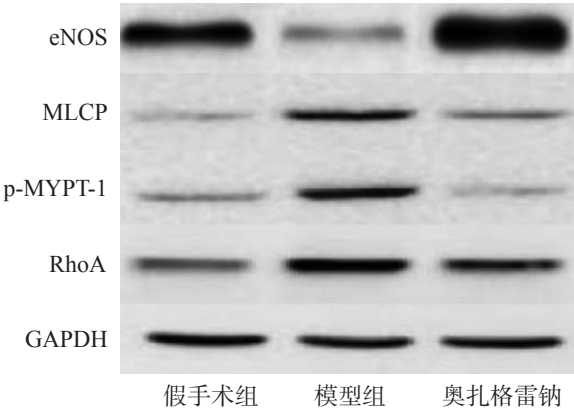


图1 Rho/Rho-kinase信号通路相关蛋白表达比较

3 讨论

急性脑梗死病灶主要包括中心坏死区域及周围缺血半暗带等区域,缺血半暗带有神经元存活^[8]。及时恢复缺血半暗带的血供,可挽救该区域的神经元,减轻神经功能损伤^[9]。奥扎格雷钠通过调节前列环素的表达水平,抑制血小板聚集,降低血液粘度,提高脑血流量,抑制血栓形成^[10]。奥扎格雷钠能明显降低大鼠脑梗死体积,促进神经功能恢复^[11]。本研究结果显示,奥扎格雷钠组脑梗死体积、神经功能评分降低,说明奥扎格雷钠能缩小模型大鼠脑梗死面积,降低神经功能评分,促进大鼠神经功能恢复。

eNOS是一种合成一氧化氮酶,参与血管舒张,对血小板聚集、血管平滑肌细胞增殖有抑制作用,能维持内皮细胞结构、功能稳定和完整^[12]。Rho激酶拥有较多的下游底物,其中MLCP

含量最丰富,是一种球蛋白轻链磷酸化酶,MYPT-1是其中的一种调节亚基^[13,14]。有研究指出,在心肌缺血再灌注模型中Rho/Rho激酶信号通路激活,MLCP、PMYPT1蛋白表达增加^[15]。本研究中,模型组eNOS蛋白表达降低,RhoA、MLCP、p-MYPT-1蛋白表达升高,说明脑梗死模型建立,Rho/Rho-kinase信号通路被激活。奥扎格雷钠组eNOS蛋白表达升高,RhoA、MLCP、p-MYPT-1蛋白表达降低,说明奥扎格雷钠能调控Rho/Rho-kinase信号通路相关因子,起到保护脑梗死大鼠的作用。

综上所述,奥扎格雷钠可能通过调控Rho/Rho-kinase信号通路相关因子,促进脑梗死大鼠神经功能恢复。

参考文献

[1] 王珊珊,张艳,刘洁.急性脑梗死病人功能恢复影响因素分析[J].护理研究,2019,33:4117-4120.

[2] 刘兵,常荣. Rho/Rho-kinase 通路在低氧性肺动脉高压发病中作用的研究进展[J]. 山东医药,2017,57:101-103.

[3] 张卫静. 尤瑞克林联合奥扎格雷钠治疗急性脑梗死的疗效观察[J]. 军事医学,2017,41:230-232,248.

[4] 陈松芳,邹明,何志勇,等. 奥扎格雷钠注射液联合亚低温治疗颅脑外伤急性脑梗死的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志,2018,34:206-208.

[5] 林芬,张云峰. 阿替普酶静脉溶栓治疗急性脑梗死大鼠的疗效及对脑组织炎性因子表达的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2019,35:750-752.

[6] 秦秀德,张丽娜,刘琛,等. 通过调节GRP78/CHOP抗内质网应激研究红花注射液治疗急性脑梗死的作用机制[J]. 中国比较医学杂志,2019,29:51-57.

[7] Ono H, Nishijima Y, Ohta S, et al. Hydrogen Gas Inhalation Treatment in Acute Cerebral Infarction: A Randomized Controlled Clinical Study on Safety and Neuroprotection[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2017, 26:2587-2594.

[8] 禹萌,任雅芳,王煜妹,等. 急性脑梗死患者血清中CyPA、Lp-PLA2含量与动脉粥样硬化、神经损伤的相关性[J]. 中国现代医学杂志,2018,28:44-47.

[9] Lin PC, Lee CW, Liu HM, et al. Acute Infarction in the Artery of Percheron Distribution during Cerebral Angiography: A Case Report and Literature Review[J]. J Radiol Case Rep, 2018, 12:1-9.

[10] 史楠,张丹丹,张岩,等. 奥扎格雷钠注射液联合阿托伐他汀钙片治疗2型糖尿病合并腔隙性脑梗死的临床研究[J]. 中国临床药理学杂志,2019,35:836-839.

[11] 孟庆春,王玲玲,孔小燕,等. 奥扎格雷钠对大鼠肢体缺血再灌注所致肺损伤的保护作用[J]. 天津医药,2012,40:60-63.

[12] 胡梅,尚芙蓉. 尤瑞克林对急性脑梗死病人急诊支架取栓术后血清eNOS的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2018,16:2233-2235.

[13] 郑辉,郭富强. Rho/Rho激酶信号通路与支架内再狭窄的研究[J]. 介入放射学杂志,2012,21:172-175.

[14] 闵凤,贾贤杰,时红杰,等. Rho激酶在远距缺血后处理抗心肌缺血/再灌注损伤中的作用[J]. 中国药理学通报,2017,33:1387-1392.

[15] 李晓辉,LI Hong-wei, ZHAO Shu-mei. Rho/Rho激酶信号通路与冠心病[J]. 心血管病学进展,2011,32:792-795.

(本文编辑:王晶)