

依达拉奉对脑梗死大鼠神经髓鞘再生、认知功能及 VEGF/Notch1 信号通路的影响

林怀印¹, 孟肖², 赵智东¹

1. 衡水市第二人民医院, 河北 衡水 053000

2. 衡水市中医医院, 河北 衡水 053000

摘要:目的 探讨依达拉奉对脑梗死大鼠神经髓鞘再生、认知功能及血管内皮生长因子(VEGF)/跨膜受体蛋白(Notch1)信号通路的影响。方法 50 只大鼠按照随机数字表法分为对照组、模型组、阿司匹林组和依达拉奉 1.5、3 mg/kg 组, 每组 10 只。除对照组外, 其余组大鼠均建立大脑中动脉梗死模型, 依达拉奉 1.5、3mg/kg 组分别尾 iv 依达拉奉注射液, 阿司匹林组注射 4 mg/kg 阿司匹林溶液。穿梭箱联合水迷宫实验观察各组大鼠认知功能; ELISA 法检测各组大鼠血清髓鞘碱性蛋白(MBP)含量; Pal-Weigert 染色观察各组大鼠神经髓鞘形态; TTC 染色测定各组大鼠脑梗死体积; 免疫印迹法检测各组大鼠 VEGF/Notch1 水平。结果 与模型组比较, 依达拉奉各剂量组能够主动逃避次数增加, 被电次数、学习和记忆潜伏时间减少 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 依达拉奉各剂量组血清 MBP 含量、梗死体积、Notch1 水平下降, VEGF 水平升高 ($P < 0.05$)。模型组髓鞘崩解、破坏、脱失严重, 髓鞘稀疏, 部分区域有髓鞘断裂缺失, 染色变浅; 依达拉奉各剂量组及阿司匹林组髓鞘形态改善。结论 依达拉奉可促进 VEGF 活性, 抑制炎症反应, 调控 Notch1 信号通路, 降低 MBP 蛋白表达, 促进神经髓鞘再生, 提升认知功能。

关键词: 依达拉奉; 脑梗死; 神经髓鞘; 认知功能; 内皮生长因子; 跨膜受体蛋白

中图分类号: R964

文献标志码: A

文章编号: 1674-5515(2023)12-2922-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.12.003

Effects of edaravone on neural myelin regeneration, cognitive function, and VEGF/Notch1 signaling pathway in rats with cerebral infarction

LIN Huai-yin¹, MENG Xiao², ZHAO Zhi-dong¹

1. The Second People's Hospital of Hengshui, Hengshui 053000, China

2. Hengshui Hospital of Traditional Chinese Medicine, Hengshui 053000, China

Abstract: Objective To investigate the effects of edaravone on neural myelin regeneration, cognitive function, and the VEGF/Notch1 signaling pathway in rats with cerebral infarction. **Method** 50 rats were randomly divided into control group, model group, aspirin group, and edaravone 1.5, 3 mg/kg group, with 10 rats in each group. Except for the control group, all other groups of rats established models of middle cerebral artery infarction. Edaravone 1.5, 3 mg/kg groups were injected with edaravone injection through the tail vein, while the aspirin group was injected with aspirin 4 mg/kg solution. Observation of cognitive function of rats in each group through shuttle box combined with water maze experiment. ELISA method was used to detect the serum MBP content of rats in each group, Pal Weigert staining was used to observe the morphology of nerve myelin sheaths in rats of each group. TTC staining was used to measure the volume of cerebral infarction in each group of rats. Immunoblotting was used to detect the levels of VEGF/Notch1 in each group of rats. **Results** Compared with the model group, edaravone groups showed an increase in the number of active evasions and a decrease in the number of charges, learning and memory latency ($P < 0.05$). Compared with the model group, edaravone groups showed a decrease in serum MBP content, infarct volume, and Notch1 level, while the VEGF level increased ($P < 0.05$). The myelin sheath of the nerve fibers in the inner capsule of the control group was stained dark blue and the color was clear, and the background was extremely light yellow. Myelin disintegration, destruction and loss were serious in the model group, myelin sheath was sparse, myelin sheath breakage and loss were found in some areas, and the staining was light. The myelin morphology of edaravone and

收稿日期: 2023-10-26

作者简介: 林怀印, 男, 副主任医师, 本科, 研究方向为脑血管疾病及急危重症救治。E-mail: ldwmtg4715@163.com

aspirin groups was improved. **Conclusion** Edaravone can promote VEGF activity, inhibit inflammatory response, regulate Notch1 signaling pathway, reduce MBP protein expression, promote nerve myelin regeneration, and enhance cognitive function.

Key words: edaravone; stroke; neuromyelin sheath; cognitive function; endothelial growth factor; transmembrane receptor protein

脑梗死是指脑局部供血障碍导致的脑组织缺血、缺氧引起的脑组织坏死、软化,从而产生相应脑功能缺损症状的综合征^[1]。多数患者是因为脑动脉粥样硬化、血管狭窄或闭塞所致,还可能是身体其它部位血栓脱落,阻塞脑血管所致。脑梗死又称缺血性脑卒中,主要因高血压、动脉瘤、动静脉畸形等原因引起脑血管破裂,形成脑血栓和脑栓塞。其病因包括血管壁病变,心脏病和血流动力学改变,血液成分和血液流变学改变以及脑血管痉挛,受压或外伤等,可引发高血压、心脏病、糖尿病及高血脂症等危险因素,降低认知功能,损伤血管内皮细胞受损,加重机体炎症反应,具有发病率高、死亡率高和致残率高的特点^[2]。神经髓鞘是包裹在神经细胞轴突周围的一层膜,可以防止轴突之间的干扰,增加传导速度,对轴突修复有促进作用^[3]。跨膜受体蛋白(Notch1)信号通路维持神经元,平衡正常生长发育的神经胶质细胞,而血管内皮生长因子(VEGF)促进内皮细胞分裂及血管生长,二者参与中枢神经系统病变,通过调节脑部炎症因子,参与脑缺血缺氧的损伤过程。随着医疗技术的发展进步,对脑卒中的靶向药物研究逐渐丰富,依达拉奉是一种新型自由基清除剂,能捕获新生的高活性自由基,减轻脑缺血引起的脑水肿以及脑组织损伤,目前用于临床治疗脑梗死等颅脑损伤疾病^[4]。临床缺乏采用依达拉奉治疗脑梗死髓鞘再生、认知功能及 VEGF/Notch1 信号通路的定向研究,故本研究主要讨论不同浓度的依达拉奉,对脑卒中大鼠神经髓鞘再生、认知功能及 VEGF/Notch1 信号通路的作用机制,为相关研究提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

50 只 SPF 级 SD 雄性大鼠,鼠龄 4~6 周,体重质量(220±20)g,由广西医科大学实验动物中心提供[动物许可证编号 SYKG(桂)2018-0005],大鼠于本院实验动物中心饲养,温度(24±2)℃,湿度 50%~80%,12 h 昼夜交替,正常饮食及饮水,该动物实验在河北医科大学动物实验室完成,按照《实验动物管理条例》规定进行实验。动物实验经河北医科大学实验动物伦理委员会批准(伦理批准号

2016-0106)。

1.2 药物、主要试剂与仪器

依达拉奉注射液由昆明积大制药有限公司提供,批号 2004L00488,规格:5 mL:10 mg;阿司匹林肠溶片购于拜耳医药保健有限公司,批号 BJ16177,规格:100 mg。

戊巴比妥钠(批号 57330)购于 BIOCAM 公司;苏木素-伊红(HE)染色液(批号 20190472)购于湖南金盛徕生物科学有限公司;DAB 试剂盒(货号 DA1010)购于北京索莱宝科技有限公司;二抗 IgG(货号 A21020-1)购于亚科因(武汉)生物技术有限公司;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)(批号 C1319-100)购于北京普利莱基因技术有限公司;VEGF 一抗(货号 K106558P)购于北京索莱宝科技有限公司 Notch1 一抗(货号 Sfk13818)购于上海士锋生物科技有限公司。

DY CZ-24DN 垂直电泳槽、DY CZ-40 电泳仪均购于中国北京六一仪器厂;TDZ4-WS 低速离心机购于上海卢湘仪离心机仪器有限公司;RT-6100 酶标分析仪购于 Rayto 公司;BX53 光学显微镜购于上海通灏光电科技有限公司;UNION-A 免疫分析仪购于深圳市亚辉龙生物科技有限公司。

1.3 大鼠分组及动物模型建立

对参与实验的大鼠常规饲养,设立对照组、模型组、阿司匹林组和依达拉奉 1.5、3 mg/kg 组,每组 10 只。除对照组外,其余大鼠均建立大脑中动脉梗死模型^[5]。用 40 mg/kg 剂量 2%戊巴比妥钠对大鼠进行 ip 麻醉后,将大鼠固定于动物手术台消毒,确保术区的无菌状态,于颈部皮肤行正中纵向切口,暴露并钝性分离左侧颈总动脉,用动脉夹暂夹闭。颈外动脉远端结扎并切断,颈外动脉残端系丝线以阻止血液流出,而后松开夹闭颈总动脉的动脉夹。线栓由颈外动脉残端插入颈内动脉,插入距颈总动脉分叉约 18 mm 处,遇阻力则停止插入。大鼠向对侧转弯、同侧眼裂减小和对侧肢体瘫痪,提示脑卒中大鼠模型复制成功。造模期间动物膝关节无破损症状,动物无死亡,实验数据完整无脱落。

1.4 给药方法^[6]

建模成功后,将依达拉奉注射液用生理盐水稀

释成 0.5 mg/mL 浓度备用, 依达拉奉 1.5、3 mg/kg 组大鼠分别尾 iv 1.5、3 mg/kg 依达拉奉注射液, 2 次/d, 连续 7 d。阿司匹林组将阿司匹林以生理盐水配成 10 mg/mL 混悬液, 造模后第 7 天注射 4 mg/kg 的阿司匹林溶液, 给药 1 次, 其余大鼠尾 iv 等量 (约 2 mL) 的生理盐水。

1.5 穿梭箱联合水迷宫实验观察大鼠认知功能

在穿梭箱的顶部装置蜂鸣报警器, 在底部在穿梭箱的铺一层电栅。用食物将大鼠引导至穿梭箱内部的任一侧 10 s 后, 打开蜂鸣报警, 待警报铃声响 5 s 后, 经过穿梭箱底部的电栅给电刺激大鼠, 大鼠逃到箱内另一侧时, 蜂鸣自动停止。观察大鼠蜂鸣期间主动逃避次数以及被电次数, 1 次/d, 10 个循环/次。

设置水深 52 cm、水温 25 °C 的水迷宫, 安全岛高度低于液面, 设置成 50 cm。记录各组大鼠游到安全岛的时间, 在第 20 天时统计训练所用的时间结果, 比较学习潜伏期及记忆潜伏期所用时间, 时间越长表明认知功能损伤越重。

1.6 ELISA 法检测各组大鼠血清髓鞘碱性蛋白 (MBP) 含量

大鼠尾静脉采血 1 mL, 收集血清备用。待血液凝固离心 5 min 后, 取塑料 EP 管, 将凝固血液倒入管中封口, 于 -20 °C 冰箱保存。按照试剂盒说明书操作。

1.7 Pal-Weigert 染色观察大鼠神经髓鞘形态

麻醉大鼠, 切开胸膛暴露心脏, 从心尖插入灌注针至主动脉, 灌注 100 mL、4 °C 的 4% 多聚甲醛。然后对大鼠开颅取脑, 参照大鼠脑立体定位图谱, 切取大鼠内囊前凶尾侧大约 2.5 mm 的脑组织, 放入 4 °C 的 4% 多聚甲醛进行固定, 12 h 后将脑组织经蔗糖脱水, 切片机切取厚冠状切片 (厚 30 mm), 重铬酸钾水溶液预染 3 d, 0.5% 的铬酸中放置 1 h, 蒸馏水再次漂洗后, 放入染液 (用 10% 苏木素醇 10 mL + 冰醋酸 1 mL + 蒸馏水 100 mmL 混匀调配) 6 h 进行染色, 用 4% 的高锰酸钾水溶液分色 30 s, 看见清晰的灰白质后再放入 0.01 mol/L 的 PBS 中, 再用脱色液 (1% 草酸 + 1% 亚硫酸钾混匀调配) 分色 5 min 至白质清晰可见, 用饱和碳酸锂 1 mL + 500 mL 蒸馏水返蓝, 正常神经髓鞘呈深蓝色, 于 0.01 mol/L PBS 中漂洗 20 min 后, 用 2% 伊红水溶液复染 5 min, 乙醇脱水 3 min 后, 光镜下观察 Pal-Weigert 髓鞘染色。

1.8 2,3,5-氯化三苯基四氮唑 (TTC) 染色测定各组大鼠脑梗死体积

大鼠于给药后 12 h 做深度麻醉, 0.9% 氯化钠注射液 200 mL 心脏灌注后, 断头取脑, -20 °C 快速冷冻 15 min, 由前向后每隔 2 mm 冠状行脑组织切片, 将脑片置于 2% TTC 生理盐水溶液中 (对照组组织染成红色, 模型组织苍白), 37 °C 避光孵育 30 min, 期间每隔 8 min 翻动 1 次, 显色完毕后 10% 福尔马林固定 3~5 h, 数码相机拍照。用 Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统计算脑梗死体积。

1.9 免疫印迹法检测各组大鼠 VEGF/Notch1 水平

将组织样品剪切为细小碎片, 加入裂解液, 于 12 000 r/min 离心 10 min, 留取上清液, 收集蛋白, 采用 Bradford 法检测。每 100 μ L 的蛋白混合等体积 5 $\times$ 上样缓冲液, 100 浴箱中 100 °C 加热 5 min, 待变性发生后, 进行 10% SDS-PAGE 凝胶电泳, 通过转膜、封闭及洗膜后加一抗 VEGF (1:500)、Notch1 (1:500), 4 °C 孵育过夜, 过氧化物酶抗兔 IgG 二抗 (1:2 500), 2 h 封闭完成后加入洗涤液进行洗涤, 10 min/次, 重复 3 次。用 DAB 显色试剂盒在 X 胶片感光、显影、定影完成后在暗室中完成显色。以 GAPDH 蛋白为内参, IPP 6.0 软件检测蛋白电泳带灰度值与 GAPDH 条带灰度值比值, 比较对比值。

1.10 统计学分析

采用 GraphPad Prism 软件进行分析, 所有数据符合正态分布, 采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间采用独立样本 *t* 检验, 多组间采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠认知功能比较

与对照组比较, 模型组主动逃避次数减少, 被电次数、学习和记忆潜伏时间增加 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 依达拉奉 1.5、3 mg/kg 组主动逃避次数增加, 被电次数、学习和记忆潜伏时间减少 ($P < 0.05$), 且呈剂量相关性, 见表 1。

2.2 各组大鼠血清 MBP 含量比较

与对照组比较, 模型组血清 MBP 含量显著升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 依达拉奉 1.5、3 mg/kg 组血清 MBP 含量均显著下降 ($P < 0.05$), 且呈剂量相关性, 见图 1。

2.3 各组大鼠神经髓鞘形态比较

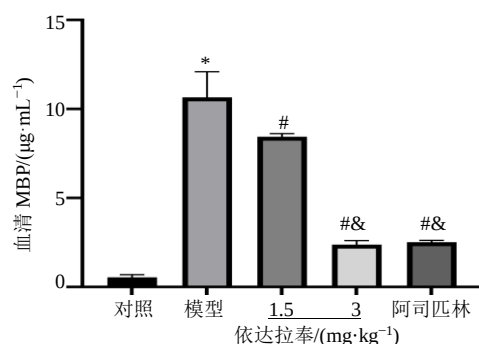
对照组内囊神经纤维髓鞘染成深蓝色, 且着色

表 1 各组大鼠认知功能比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)Table 1 Comparison of cognitive function in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	主动逃避次数/(次·min ⁻¹)	电击次数/(次·min ⁻¹)	学习潜伏时间/s	记忆潜伏时间/s
对照	—	68.24 ± 5.15	41.46 ± 4.35	66.65 ± 8.57	59.82 ± 8.75
模型	—	35.61 ± 3.58*	92.65 ± 8.58*	118.59 ± 9.46*	106.74 ± 9.66*
依达拉奉	1.5	45.46 ± 5.32 [#]	72.34 ± 5.27 [#]	93.38 ± 8.29 [#]	89.45 ± 6.34 [#]
	3	53.33 ± 6.28 ^{#&}	52.52 ± 3.33 ^{#&}	79.44 ± 6.35 ^{#&}	68.28 ± 4.17 ^{#&}
阿司匹林	4	52.72 ± 5.61 ^{#&}	53.25 ± 3.46 ^{#&}	78.58 ± 5.46 ^{#&}	69.15 ± 4.10 ^{#&}

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与依达拉奉 1.5 mg·kg⁻¹ 组比较: [&] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [&] $P < 0.05$ vs edaravone 1.5 mg·kg⁻¹ group



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与依达拉奉 1.5 mg·kg⁻¹ 组比较: [&] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [&] $P < 0.05$ vs edaravone 1.5 mg·kg⁻¹ group

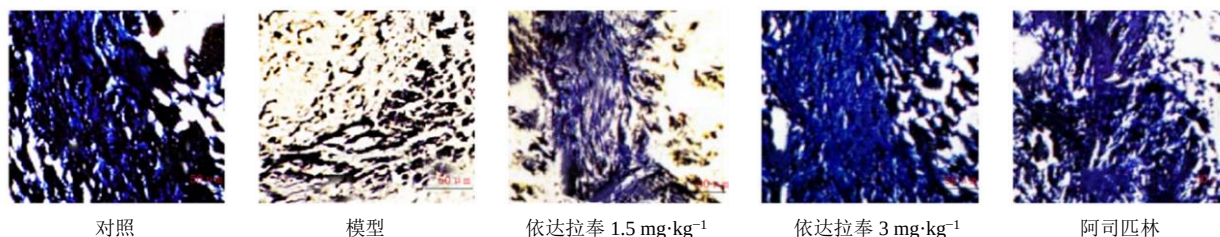
图 1 各组大鼠血清 MBP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)Fig. 1 Comparison of serum MBP levels in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

图 2 各组大鼠神经髓鞘形态比较 (×200)

Fig. 2 Comparison of nerve myelin morphology of rats in each group (×200)

3 讨论

我国属于脑梗死高发病率国家, 有较高的致死率和致死率, 对人类健康产生威胁, 降低人类生活质量^[7]。临床对脑梗死的治疗多从抑制神经元凋亡、清除自由基及降低神经炎症反应等进行溶栓, 但因大部分患者去医院就诊的时效性影响, 致使疗效不明显^[8]。依达拉奉作为一种神经保护剂在脑梗死治疗中开始广泛, 本研究发现依达拉奉调控 Notch 信

清晰, 背景为极浅的淡黄色; 模型组髓鞘崩解、破坏、脱失严重, 髓鞘稀疏, 部分区域有髓鞘断裂缺失, 染色变浅; 依达拉奉 1.5、3 mg/kg 组及阿司匹林组内囊的髓鞘脱失明显减少, 髓鞘分布较致密, 染色较深, 且以依达拉奉 3 mg/kg 组尤其明显, 见图 2。

2.4 各组大鼠脑梗死体积比较

与对照组比较, 模型组脑梗死体积升高 ($P < 0.05$), 与模型组比较, 依达拉奉 1.5、3 mg/kg 组梗死体积均显著下降 ($P < 0.05$), 见表 2、图 3。

2.5 各组大鼠 VEGF/Notch1 水平比较

与对照组比较, 模型组 VEGF 水平下降, Notch1 水平升高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 依达拉奉 1.5、3 mg/kg 组 VEGF 水平升高, Notch1 水平下降 ($P < 0.05$), 见表 3、图 4。

号通路促使血管新生, 改善脑认知功能。

本研究结果显示, 通过水迷宫联合穿梭箱实验, 与模型组比较, 依达拉奉干预后, 大鼠主动逃避次数增加, 被电次数、学习和记忆潜伏时间减少, 说明依达拉奉治疗组大鼠的学习、记忆、行为能力提升, 改善认知功能。当患者发生脑出血时, 依达拉奉发挥清除氧自由基的生物活性, 控制脂质过氧化物的产生, 对神经细胞及内皮细胞产生的氧化作用

表 2 各组大鼠脑梗死体积比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)Table 2 Comparison of cerebral infarction volume of rats in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	梗死体积/%
对照	—	0.00 ± 0.00
模型	—	44.35 ± 5.22*
依达拉奉	1.5	31.41 ± 3.34 [#]
	3	19.36 ± 1.28 ^{#&}
阿司匹林	4	20.21 ± 1.14 ^{#&}

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与依达拉奉 1.5 mg·kg⁻¹ 组比较: [&] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [&] $P < 0.05$ vs edaravone 1.5 mg·kg⁻¹ group

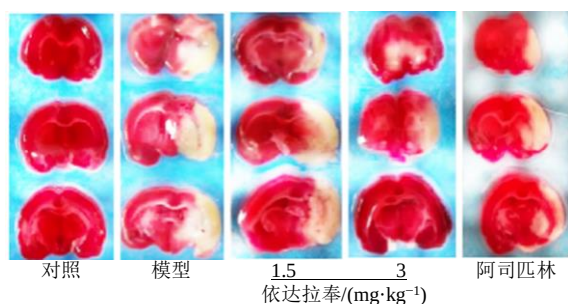


图 3 各组大鼠脑梗死体积比较

Fig. 3 Comparison of cerebral infarction volume in each group

表 3 各组大鼠 VEGF/Notch1 水平比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)Table 3 Comparison of VEGF/Notch1 levels in each group ($\bar{x} \pm s$, $n = 10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Notch1	VEGF
对照	—	0.45 ± 0.03	2.44 ± 0.35
模型	—	5.38 ± 1.25*	0.23 ± 0.06*
依达拉奉	1.5	3.14 ± 0.10 [#]	0.77 ± 0.10 [#]
	3	1.12 ± 0.06 ^{#&}	1.68 ± 0.21 ^{#&}
阿司匹林	4	1.20 ± 0.04 ^{#&}	1.55 ± 0.32 ^{#&}

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与依达拉奉 1.5 mg·kg⁻¹ 组比较: [&] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs model group; [&] $P < 0.05$ vs edaravone 1.5 mg·kg⁻¹ group

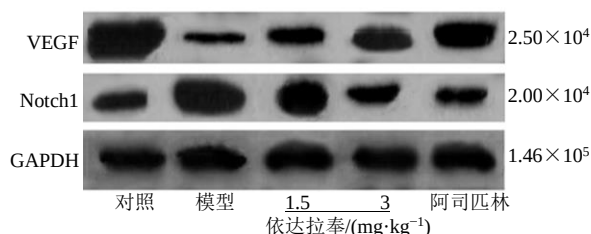


图 4 各组大鼠 VEGF/Notch1 水平

Fig. 4 VEGF/Notch1 levels in each group

进行有效抑制,降低发生脑水肿发生几率,保护神经系统及神经元结构。有研究证实,当对机体静脉注射依达拉奉时,大部分药物都会通过血脑屏障发挥作用,降低钙离子、镁离子水平紊乱水平,恢复脑组织正常供血,抑制神经炎症反应,从多方面改善神经认知功能^[9]。对血管性痴呆大鼠进行迷宫、穿梭箱实验研究发现,依达拉奉组大鼠电击次数明显减少,动逃避次数增加,说明依达拉奉组大鼠能改善血管性痴呆大鼠包括记忆、学习和行为方面的认知能力,发挥对大鼠的脑保护作用^[10]。有研究表明,通过定位航行及空间探索的水迷宫实验,依达拉奉组大鼠逃避潜伏期明显缩短,在原平台象限内的游泳时间明显延长,穿环数明显增多,说明经依达拉奉干预后,可部分改善由于长期、反复的慢性病性发作引起的认知功能减退,学习记忆能力下降情况,减少认知功能障碍^[11]。

本研究结果显示,与模型组相比,依达拉奉各剂量组血清 MBP 含量显著逐渐降低,对神经髓鞘 Pal-Weigert 染色后发现,对照组内囊神经纤维髓鞘染成深蓝色,且着色清晰,模型组染色变浅,存在髓鞘稀疏有缺失情况,经药物干预后,髓鞘脱失缓解,染色加深,以依达拉奉 3 mg/kg 组更为明显,说明经依达拉奉可调控 MBP 蛋白含量,改善神经髓鞘形态。正常生理下的髓鞘结构紧凑,对有神经纤维起到高膜阻抗和低电容作用,有利于跳跃式神经冲动传导的正常发生。MBP 属于强碱性膜蛋白中的神经髓鞘所特有的、重要的脂蛋白,主要由少突胶质细胞分泌^[12]。在正常情况下 MBP 蛋白在血液中的含量非常少,脑卒中时,脑组织缺氧,少突胶质细胞开始凋亡,MBP 脱落于脑脊液并从血脑屏障漏到血液,使得血清 MBP 蛋白水平异常升高。有研究显示,缺血性脑卒中的发生,会造成脑组织缺血损伤和出现过量氧自由基,髓鞘脱失,MBP 穿过血脑屏障于脑脊液中大量释放,升高血清 MBP 水平,说明未经治疗的大鼠在脑缺血早期髓鞘和血脑屏障破坏严重^[13]。依达拉奉具有捕获自由基的优势,调控机体内黄嘌呤氧化酶和次黄嘌呤氧化酶活性,对缺血再灌注损伤中产生自由基进行有效清除,抑制神经细胞过氧化,降低神经细胞的死亡率,减轻机体因脑缺血或脑缺血引起的脑水肿及神经细胞损伤。脑的缺血缺氧性损伤通过依达拉奉干预,使位于前脑室下区的神经干细胞激活,出现少突胶质祖细胞,再迁移到内囊区分化为成熟的少突

胶质细胞,调控 MBP 蛋白含量,促进髓鞘再生,减轻脑损害。相关研究表明,依达拉奉在脑梗死的治疗中,通过调节花生四烯酸代谢水平,实现抑制脑缺血所致的脑水肿及大脑皮质水肿的目的,清除自由基,降低 MBP 含量,实现维持中枢神经系统髓鞘结构和功能的稳定^[14]。研究发现,依达拉奉联合相关神经因子联合治疗脑出血,能有效清除氧自由基,降低 MBP 蛋白水平,改善神经功能缺损^[15]。

Notch 信号通路维持神经元和神经胶质细胞的正常生长发育,调节微血管形成,在 γ -分泌酶作用下激活,裂解释放出 Notch1 受体胞内活性片段(NICD),可不经其他信号转导分子的作用而直接进入细胞核,与转录因子或其他调节子结合,从而调节各种细胞活动。VEGF 是近年来发现的生长因子,具有促内皮细胞分裂的作用,正常情况下 VEGF 并不在脑内表达,多数血管新生处于静息状态,在梗死发生后,VEGF 开始大量合成分泌,促进内皮细胞的分裂和血管生长,建立起梗死后的侧支循环结构。本文研究结果显示,与模型组相比,依达拉奉组 VEGF 升高,Notch1 水平下降,脑梗死体积减少,并有浓度有相关性,说明依达拉奉可通过下调 Notch 信号通路,促进 VEGF 活性,改善脑梗死体积。依达拉奉利用分子量小、脂溶性高的特点,可快速穿透血脑屏障进行氧自由基的清除,保护细胞膜免受损伤,对小胶质细胞的活化进行抑制,减少炎症介质释放,实现治疗缺血性脑损伤的作用,缩小脑梗死后半暗带范围,减少梗死体积,改善血管修复功能^[16]。动物实验证实,依达拉奉对 VEGF 的生物活性进行促进,通过分泌 VEGF 抑制神经炎症,修复血管功能,发挥脑保护作用^[17]。相关研究表明,经依达拉奉干预后,慢性脑缺血大鼠 VEGF 活性升高,抑制炎症反应,降低白细胞介素(IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)水平,提高血管修复的功能,发挥脑保护作用^[18]。研究显示,Notch 通路的激活会促进活化小胶质细胞,导致炎性介质浸润组织,损伤神经元,在脑缺血发生早期对 Notch 通路进行抑制,可大大降低炎症损伤,有利于组织的修复^[19]。有研究表明,依达拉奉干预后,通过抑制 Notch 信号通路表达,影响小胶质细胞的激活,调控核因子- κ B(NF- κ B)介导,减少炎性因子的产生,进而引起 Notch1 信号通路下游 NICD 水平下调,减轻激活小胶质细胞介导的炎性反应,减轻神经损伤^[20]。有研究发现,依达拉奉治疗缺血性脑损伤大鼠,其机

制可能是通过抑制 Notch 信号通路的表达,降低小胶质细胞的活化性,减少 Notch1、NICD、转录因子(Hes-1)及小胶质细胞标记物离子钙接头蛋白(Iba1)水平,从而降低白细胞介素(IL-6)、IL-1 β 、TNF- α 水平,减少炎症因子释放,改善神经损伤^[21]。

综上所述,依达拉奉可促进 VEGF 活性,抑制炎症反应,调控 Notch1 信号通路,影响小胶质细胞的激活,降低 MBP 蛋白表达,促进神经髓鞘再生,提升认知功能。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李静,尉娜,刘亚美,等. γ -分泌酶抑制剂 DAPT 阻断 Notch 通路并纠正脑卒中后抑郁大鼠 Th17/Treg 失衡[J]. 中国病理生理杂志, 2021, 37(3): 393-399.
- [2] Liu H, Jiang Y, Wang N, et al. Scalp acupuncture enhances local brain regions functional activities and functional connections between cerebral hemispheres in acute ischemic stroke patients [J]. *Anat Rec (Hoboken)*. 2021, 304(11): 2538-2551.
- [3] 单楠,谭子虎,杨冰,等. 逍遥散通过 PI3K/AKT/mTOR 通路调节 mPFC-BLA 髓鞘功能改善 VaD 小鼠焦虑抑郁行为 [J]. 南京中医药大学学报, 2022, 38(3): 212-219.
- [4] 李雪莉,杨清武. 依达拉奉对急性缺血性卒中患者外周血自噬及氧化应激水平的影响 [J]. 重庆医学, 2021, 50(21): 3682-3686.
- [5] 张楠楠,陈会生. 依达拉奉对脑梗死大鼠神经保护作用最佳治疗时间窗的探讨 [J]. 解放军医药杂志, 2016, 28(3): 18-21.
- [6] 焦光美,单海雷,马征,等. 依达拉奉对急性脑梗死大鼠的保护作用及生长分化因子 15 的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(1): 26-30.
- [7] Camargos Q M, Silva B C, Silva D G, et al. Minocycline treatment prevents depression and anxiety-like behaviors and promotes neuroprotection after experimental ischemic stroke [J]. *Brain Res Bull*, 2020, 155: 1-10.
- [8] Vishnyakova A Y, Berdalin A B, Nikogosova A K, et al. Interrelations of cerebral hemodynamics with parameters of cardiac function and brain tissue in patients with ischemic stroke [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2021, 171(3): 317-321.
- [9] 王玲,王袁,黄超,等. 依达拉奉对间歇低氧大鼠神经细胞 Apaf-1、Survivin 蛋白表达及认知功能的影响 [J]. 中国老年学杂志, 2022, 42(15): 3757-3760.
- [10] 全凤英,谭家泽,王咏龙. 依达拉奉对血管性痴呆大鼠认知功能损害的保护作用 [J]. 重庆医学, 2010, 39(21): 2892-2894.

- [11] 韩晓庆, 张盼盼, 李琳, 等. 依达拉奉对重度间歇低氧大鼠认知功能及 Nogo-A 表达的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2017, 24(6): 570-574.
- [12] 陈溪, 马登磊, 李林. 淫羊藿苷对 cuprizone 诱导精神分裂症样小鼠模型行为学变化、髓鞘脱失及神经炎性反应的影响 [J]. 首都医科大学学报, 2021, 42(5): 761-767.
- [13] 韦仕菊, 黄晚日. AIS 患者血清 MBP、MMP-9 水平与脑白质疏松的相关性 [J]. 脑与神经疾病杂志, 2022, 30(11): 680-683.
- [14] 郑国红. 依达拉奉对急性脑梗死患者神经功能及髓鞘碱性蛋白水平的影响 [J]. 山西医药杂志, 2013, 42(1): 71-72.
- [15] 郝攀, 王玉梅, 陈德鹏, 等. 鼠神经生长因子联合依达拉奉治疗脑出血疗效及对血清 MBP、S100 β 和 NSE 水平的影响 [J]. 医药论坛杂志, 2018, 39(12): 114-116.
- [16] 钟芳芳, 吴承龙, 孙新芳, 等. 补阳还五汤联合依达拉奉对脑缺血再灌注小鼠的神经功能与脑梗死体积的影响 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2016, 18(12): 1312-1314.
- [17] 宋桂萍. 尤瑞克林联合依达拉奉对进展性脑梗死患者血清 VEGF、hs-CRP 的影响 [J]. 山东医药, 2011, 51(49): 70-71.
- [18] 蔡志友, 晏勇, 张骏, 等. 依达拉奉对血管性认知功能损害大鼠 IL-1 β 、TNF- α 与 VEGF 表达的影响 [J]. 重庆医科大学学报, 2009, 34(1): 66-70.
- [19] 陶一凡, 张小强, 李琪, 等. 纳米二氧化钛对小胶质细胞 Notch 信号通路及炎症因子分泌水平的影响 [J]. 生态毒理学报, 2021, 16(2): 212-218.
- [20] 曾洪艳, 李璠, 赵晓姝, 等. 依达拉奉对脑缺血大鼠大脑皮质 Notch-1 表达的影响 [J]. 神经解剖学杂志, 2018, 34(1): 27-33.
- [21] 袁云, 李璠, 韩宏, 等. 依达拉奉通过 Notch 信号通路调节 BV-2 小胶质细胞激活的研究 [J]. 神经解剖学杂志, 2017, 33(5): 560-566.

[责任编辑 高源]