

松果体损伤大鼠模型制备方法的研究进展

赵华杰, 冯玛莉*

山西省中医药研究院 中心实验室, 山西 太原 030012

摘要: 松果体被认为是昼夜节律的神经内分泌转换器, 以高度昼夜节律的方式产生褪黑素, 发挥其抗氧化、抗肿瘤、延缓衰老等生物学功能, 传播昼夜节律的信息。当松果体受损后, 褪黑素分泌量下降, 会引起患者神经过度兴奋、免疫力降低、抗氧化能力降低等一系列表现。专门制备松果体损伤的动物模型的研究报道很少, 化学性因素、物理性因素和综合因素均可致大鼠松果体损伤, 可用于制备松果体损伤的动物模型。因此总结了松果体损伤动物模型的制备方法, 为建立方法简便、成模时间短的松果体损伤模型提供依据。

关键词: 松果体损伤; 褪黑素; 化学性因素; 物理性因素; 综合因素; 动物模型

中图分类号: R965.1 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2023)06-1525-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2023.06.039

Research progress on preparation and mechanism of pineal injury animal model

ZHAO Hua-jie, FENG Ma-li

Central Laboratory, Shanxi Institute of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030012, China

Abstract: Pineal is considered as the neuroendocrine converter of circadian rhythm. It produces melatonin in a highly circadian rhythm way, exerts its biological functions, such as anti-oxidation, anti-tumor, and anti-aging, and spreads the information of Circadian rhythm. When pineal is damaged, the secretion of melatonin decreases, which will cause a series of symptoms such as overexcitation of nerves, decreased immunity, and reduced antioxidant capacity. There are few studies on the specific preparation of pineal damage model. Chemical factors, physical factors, and comprehensive factors can cause damage to pineal of rats, which can be used to prepare animal models of pineal damage. In this paper, the preparation methods of animal models of pineal injury were summarized, which provided a basis for the establishment of a simple and rapid pineal injury model.

Key words: pineal injury; melatonin; chemical factor; physical factor; comprehensive factor; animal model

松果体作为机体调节生物钟节律的重要组成, 主要由松果体细胞、少量小胶质细胞和星形胶质细胞组成^[1], 被认为是昼夜节律的神经内分泌转换器, 以高度昼夜节律的方式产生褪黑素, 发挥其抗氧化、抗肿瘤、延缓衰老等生物学功能, 传播昼夜节律的信息。褪黑素在化学结构上属于吲哚杂环类化合物, 化学名为 *N*-乙酰基-5 甲氧基色胺, 具有镇静催眠、调控昼夜节律的作用, 还有抗氧化、抗衰老、抵抗自由基对细胞、细胞器的损伤, 维持神经胶质细胞功能等作用^[2]。随着年龄增长, 松果体细胞会变大, 有空泡改变, 合成分泌褪黑素的能力下降, 其调节昼夜节律作用减退^[3]。当松果体受损后, 褪

黑素分泌量下降, 会引起患者神经过度兴奋、免疫力降低、抗氧化能力降低等一系列表现, 严重影响了患者的健康和生活质量^[4]。专门制备松果体损伤的动物模型的研究报道很少, 多是在制备衰老、失眠、脑损伤、肿瘤等模型中发现松果体损伤的, 如有松果体肿瘤 (包括松果体区、松果体周边区肿瘤)、松果体退行性病变、衰老等疾病。可导致松果体损伤的动物模型有: 通过结扎颈总动脉的新生大鼠缺氧缺血性损伤模型, *D*-半乳糖诱导衰老大鼠松果体过氧化损伤模型; 对氯苯丙氨酸 (PCPA) 失眠大鼠模型, 以及本课题组尚在研究中的大鼠电刺激应激损伤模型等。其中 PCPA 腹腔注射是目前公认

收稿日期: 2023-02-09

基金项目: 山西省自然科学基金面上项目 (201901D111427); 山西省卫生健康委员会“四个一批”科技兴医创新计划项目 (2020SYS06)

作者简介: 赵华杰 (1996—), 男, 在读硕士研究生, 研究方向为中药有效性、安全性评价。E-mail: 1938305735@qq.com

*通信作者: 冯玛莉 (1963—), 女, 主任医师, 硕士生导师, 主要从事中药药理和内分泌疾病研究工作。E-mail: fengmali@163.com

的经典失眠动物模型^[4], PCPA 通过抑制色氨酸羟化酶合成, 减少 5-羟色胺 (5-HT) 的生成, 使睡眠-觉醒周期紊乱^[5]。化学性因素、物理性因素和综合因素均可致大鼠松果体损伤, 可用于制备松果体损伤的动物模型。因此本文总结了松果体损伤动物模型的制备方法, 为建立方法简便、成模时间短的松果体损伤模型提供依据。

1 化学性因素

1.1 D-半乳糖致衰老大鼠松果体过氧化损伤

使用 4 月龄 Wistar 雄性大鼠, 在颈部注射 D-半乳糖溶液 125 mg/kg, 1 次/d, 连续 6 周^[6]。大鼠出现活动明显减少, 皮毛颜色暗淡无光、皮肤干燥且弹性减缩, 大便呈腥臭灰绿色稀便等表现, 表明造模成功。显微镜下观察 D-半乳糖模型大鼠松果体, 发现松果体细胞明显减少, 细胞排列较疏松, 细胞间质明显增多。在高倍镜下, 大鼠松果体细胞中出现大量大小不一的、散在的红色脂褐素颗粒, 部分脂褐素颗粒聚集成团, 形成巨大的大泡^[7]。自由基氧化损伤被认为是脂褐素形成的主要原因^[8], 自由基的缓慢积累会导致生物膜发生氧化反应, 生成脂质过氧化物, 脂质过氧化物会分解生成丙二醛, 其与蛋白质、核酸等交联生成的产物被溶酶体吞噬以后形成的残余物质累积, 就形成了脂褐素。当脂褐素在细胞内积聚到一定的程度的时候就会引起细胞生化的过程的失控, 细胞能量代谢功能逐渐降低, 直到不能维持正常的代谢活动而死亡^[9]。

另外, 梁欣^[8]发现 D-半乳糖致衰老大鼠松果体中超氧化物歧化酶 (SOD) mRNA 表达阳性细胞明显减少, 也证实了松果体抗氧化能力的下降。SOD 是体内抗氧化系统的重要组成, 它的功能发挥是以自由基为底物来特异性清除超氧阴离子自由基, 使机体氧化和抗氧化平衡。SOD 基因转录活性的降低可能是自由基直接与核酸反应引起 RNA 主链的断裂, 碱基降解、氢链破坏也可能由于氧化产物引起交联, 使遗传物质破坏, 从而影响了它传递信息的功能以及转录、复制的特性, 导致以为直接模板的蛋白质合成能力下降, 并产生合成差错, 从而引起酶的减少和失活^[10]。D-半乳糖致衰老大鼠松果体中热休克蛋白 70 (HSP70) 表达也存在明显减少现象。HSP70 蛋白是蛋白质平衡的核心枢纽, 是改善包括氧化应激在内的不同应激损伤的重要因素^[11-12], 在维持细胞内环境的稳定性, 特别是在调节蛋白质内部环境的稳定性, 维持蛋白质的自稳定性, 维持细

胞蛋白的自稳定性, 提高细胞对应激源的耐受性等方面起着关键作用^[13]。研究发现, 热休克蛋白活性的降低会导致细胞内氧化还原活性失衡, 变性受损蛋白的清除能力降低, 导致衰老引起的一系列病理改变^[14]。

半乳糖醇是 D-半乳糖的代谢产物, 半乳糖醇在细胞内积累会导致细胞内外的渗透压失衡, 出现肿胀、代谢障碍等生理功能紊乱表现, 这是松果体细胞损伤的关键因素; 另外, 氧化应激也是松果体损伤的原因之一, 这是因为 D-半乳糖在代谢过程中还会产生超氧阴离子自由基、H₂O₂ 等细胞衰老的启动因子, 对膜脂、DNA、RNA、蛋白质等造成过氧化和损伤。松果体在调节人体许多组织器官系统中起着先进的作用, 是最具活力的器官之一, 但它也容易衰老; 有学者认为松果体衰老可能是机体衰老的开始, 提出了松果体衰老理论。根据这一理论, 衰老是松果体形态和功能发生变化的结果, 它延伸到全身的组织 and 细胞, 表现出各种退化的迹象。松果体衰老在机体衰老中起主导作用, 随着松果体衰退、褪黑素合成逐渐减少, 分泌丧失稳定的节律性, 导致机体正常节律紊乱, 还出现免疫功能低下, 进而内环境紊乱, 各器官组织呈现一系列衰老特征^[15]。

1.2 PCPA 致失眠大鼠松果体损伤

采用 6~7 周龄 SD 大鼠 ip PCPA 450 mg/kg, 1 次/d, 连续给药 2 d 后, 大鼠出现反应迟缓、颤抖、易跌倒、直立洗脸、频繁走跳、昼夜节律逐渐消失、兴奋性增加、易怒、打架、嘶叫、多处皮肤咬伤、头部出血等变化。病理切片显示 PCPA 失眠大鼠松果体细胞数量明显减少, 细胞边界模糊, 细胞体积变小, 排列紊乱松散, 无明显规律性; 胞质内存在较多大小不一的脂滴, 空泡变性明显增多, 细胞核固缩并向周边移动, 出现少量凋亡小体, 胶质细胞减少^[16]。电镜下可以观察到松果体细胞有较多线粒体肿胀、嵴断裂、固缩, 游离核糖体较多、粗面内质网、高尔基体、溶酶体增多^[17]。

PCPA 法是目前公认制备失眠动物模型的经典方法, PCPA 是一种选择性很高的脑内色氨酸羟化酶 (TPH) 的抑制剂, 并且 TPH 是褪黑素合成的必要酶之一, 色氨酸经 TPH 合成 5-HT, 进而合成褪黑素。ip PCPA, TPH 活性受到抑制, 会阻滞脑内 5-HT 的生物合成, 使脑内的 5-HT 含量显著下降, 进而影响褪黑素的合成^[18]。前期研究表明 PCPA 大鼠在旷场实验、高架十字迷宫中表现出兴奋性下降、认知能力下降, 并出现一定程度的焦虑情绪。PCPA

失眠大鼠血清褪黑素水平显著下降^[19],褪黑素水平可准确反映松果体合成分泌能力^[20]。除了 TPH 受到抑制,PCPA 失眠大鼠松果体病理、超微结构受损,也可能是血清褪黑素水平降低的因素之一。

前期经流式细胞仪检测松果体细胞凋亡率,发现松果体细胞凋亡在 PCPA 大鼠失眠模型中广泛存在,同时发现抑制细胞凋亡基因 *Bcl-2* 蛋白表达显著降低,促进凋亡基因 *Bax* 蛋白表达显著升高^[21],这两对功能相反的基因关系极为密切,其表达的平衡决定着相关细胞存活和特定细胞的死亡^[22]。在 PCPA 失眠大鼠模型中,*Bax/Bcl-2* 基因比例增大,说明细胞凋亡的增多,这和经流式细胞仪检测松果体细胞凋亡率增多相吻合。需要注意的是,线粒体也是细胞凋亡的中心,当细胞受到各种刺激因子作用时,凋亡促进基因 *Bax* 会从胞质转移到线粒体膜上,通过改变线粒体通透性、破坏氧化磷酸化和 ATP 的合成能力,使线粒体释放细胞色素 C (Cyt C),释放的 Cyt C 结合凋亡相关因子 1 (Apaf-1) 和 Caspase-9 形成“凋亡体”,进而激活 Caspase-3 最终引起细胞凋亡。结合电镜下观察到的线粒体损伤以及 *Bax/Bcl-2* 比例失衡,推测松果体细胞的凋亡中也有线粒体促凋亡机制的参与。

另外,发现 PCPA 失眠大鼠松果体 5-羟色胺-*N*-乙酰基转移酶 (AANAT) 表达量显著下降^[23],AANAT 是褪黑素生物合成路线的关键限速酶之一;PCPA 可能通过降低大鼠 AANAT mRNA 和蛋白表达,降低褪黑素的正常合成,造成褪黑素含量下降,进而影响松果体正常生理功能的发挥。此外,发现 PCPA 失眠大鼠模型松果体中生物钟基因存在不同程度的上调和下调,具体表现为 *Bmal1*、*Per1* mRNA 表达显著降低,*Per3* mRNA 表达显著升高^[24-25]。目前哺乳动物所研究的生物钟基因分别是 *Clock*、*Bmal1*、*Per1*、*Per2*、*Per3*、*Cry1*、*Cry2* 等^[26],其中 *Clock*、*Bmal1* 为正向调节因子,*Per1*、*Per2*、*Per3*、*Cry1*、*Cry2* 为负向调节因子^[27]。ip PCPA, *Bmal1* 表达下降,激活昼夜节律钟基因表达下降,*Per1* 表达下降,昼夜偏好紊乱。PCPA 失眠大鼠生物钟基因的调节可能与模型大鼠出现昼夜节律紊乱有一定的关系。

2 物理性因素

2.1 缺血缺氧致脑损伤新生大鼠松果体损伤

选用 7 日龄新生大鼠,分离左侧的颈总动脉并结扎,随后恒温恢复并给予 8% 氮氧混合气 2 h^[28]。电镜下观察松果体细胞超微结构,可见松果体细胞

线粒体体积增大,呈肿胀性改变;基质颜色变淡,嵴变短变少。研究表明缺氧缺血性脑损伤 (HIBD) 可有效降低松果体中褪黑素合成的关键酶 AANAT 的基因表达,HIBD 后 12~24 h 降至低峰,48 h 回升,72 h 恢复正常。HIBD 早期松果体功能下降,可以推测是与 AANAT 的基因表达下调有关。

HIBD 后诱导型一氧化氮合酶 (iNOS) 表达先升高后降低,最后恢复到正常水平。HIBD 大鼠松果体细胞凋亡率增加,且凋亡率与 iNOS 表达同步变化,推测 iNOS 表达可促进松果体细胞的凋亡。iNOS 表达和细胞凋亡参与了新生大鼠 HIBD 后松果体细胞的形态变化^[28]。HIBD 新生大鼠松果体中 *Clock* 和 *Bmal1* 蛋白的同步性在 48 h 后显著增加,提示这两种蛋白可能参与了缺氧、缺血时昼夜节律紊乱的发生^[29]。

缺氧缺血可能影响松果体的能量代谢,降低腺苷酸环化酶的活性,使得介导的基因表达降低。下丘脑-垂体-肾上腺 (HPA) 轴亦是人体的一个生物节律系统,已有证据表明 HPA 轴与松果体之间有相互调节的作用,HIBD 后能量生成和消耗失去平衡,产生过量的自由基,而自由基的清除减少,使得自由基过多的在细胞内聚集,产生细胞损伤,会加重脑屏障的破坏和脑水肿,使脑损伤加重^[30]。短时间的缺氧缺血会导致细胞凋亡率增多,而长时间的缺氧缺血会导致细胞的坏死。缺氧缺血损伤的程度及其持续时间决定细胞死亡的形式。在 HIBD 中细胞的凋亡和坏死是共存的。

缺氧缺血早期一氧化氮 (NO) 增多还有对抗脑缺血的积极作用,其机制是 NO 可以使脑血管扩张,增加脑部血流量,可以在一定程度上缓解脑缺血造成的损伤^[31-32]。NO 在脑缺血中后期细胞凋亡中起重要作用,可以直接使 DNA 链的相关碱基脱失,从而启动凋亡过程。也有学者认为,NO 可以在细胞核中启动核酶降解染色质 DNA,还可以通过 cGMP 途径影响 *BD-2*、*P53* 等凋亡相关基因蛋白的表达和合成,从而影响细胞凋亡的发生、发展。在脑缺血中后期,一氧化氮合酶神经元受损,cNOS 活性降低,巨噬细胞可诱导大量 iNOS mRNA 的表达。NO 的积累不仅会抑制线粒体中正常的细胞呼吸,导致 ATP 合成的减少^[33],还会激活鸟苷酸环化酶,产生大量的环磷酸鸟苷,介导谷氨酸的释放。它具有很强的神经毒性,还能进一步激活 *N*-甲基-*D*-天冬氨酸受体,导致钙通道打开,细胞外钙离子大量

涌入, 导致细胞内钙超载^[34]。大量实验表明, 在 HIBD 发生时, 细胞出现明显的凋亡峰值, 可能与 NO 过度参与、钙超载、蛋白激酶 C 缺乏有关

2.2 穿梭电刺激致大鼠松果体损伤

大鼠穿梭实验视频系统使用噪声发射装置产生条件刺激, 随后使用电流刺激大鼠足底。将大鼠置于穿梭箱并给予穿梭电刺激, 穿梭电刺激方法为电压 30 V, 电流为 0.8 A, 刺激时间为 30 s, 循环 60 次, 同一时间连续穿梭电刺激 5 d。电刺激大鼠白天夜晚活动不停, 被毛战栗, 头部震颤, 放置穿梭箱时有对抗行为, 对穿梭箱有抵抗; 出现皮毛欠光泽, 睡眠节律紊乱, 精神萎靡且极易受惊, 易激惹、嘶叫、攻击等行为则表明造模成功。镜下显示电刺激大鼠松果体细胞排列紊乱, 数目稍减少, 空泡变性稍增多, 细胞核固缩, 细胞核向周围移动, 细胞界限模糊。

研究发现电刺激大鼠比起正常大鼠要多花 25.47% 的时间用于快速眼动睡眠^[35]。电刺激大鼠病理松果体细胞损伤, 昼夜节律消失, 与应激密切相关。应激对动物的影响持久、广泛、整体、全面, 尤其影响内分泌相关功能, 目前已经证实应激可以导致免疫能力下降, 神经系统紊乱甚至损伤。应激状态下的动物攻击性行为增多, 急性应激状态下动物活动增加, 随着应激时间的延长, 活动由多变少, 行为表现为由兴奋、焦虑状态转变为抑制、抑郁状态^[36-38]。应激可以导致糖皮质激素增高, 透过血脑屏障产生神经毒性。而且会引起脑组织中的糖皮质激素受体下降, 糖皮质激素含量反射性升高, HPA 轴持续亢进, 导致 HPA 轴昼夜节律消失, 分泌糖皮质激素增加, 最终形成 HPA 亢进到脑组织损伤的恶性循环^[39-40]。高通量 mRNA 转录组测序分析松果体差异基因表达, 发现电刺激致大鼠松果体损伤模型中, 穿梭电刺激与正常大鼠松果体差异基因主要富集在 PI3K-Akt、AGEs-RAGE、Relaxin 等通路, 说明穿梭电刺激大鼠松果体损伤过程中氧化应激、细胞凋亡起着重要作用。

2.3 慢性应激致抑郁大鼠松果体损伤

慢性不可预知性温和应激是复制抑郁模型的常用方法, 选用 7 种不同的刺激, 包括禁食 (24 h)、禁水 (24 h)、潮湿饲养 (将 200 mL 水加入有锯末的笼底, 24 h)、冷水游泳 (4 ℃, 5 min)、昼夜颠倒 (24 h)、夹尾 (距尾尖 2 cm, 3 min)、电击足底 (30 V, 每次持续 5 s)^[41]。每种刺激随机进行 3 次,

造模时间共 21 d, 随机的目的在于避免大鼠对单一或有规律的应激刺激产生耐受性。

敞箱实验表明慢性应激抑郁模型大鼠的兴趣缺乏、快感消失, 抑郁、焦虑状态出现。这与 PCPA 失眠模型中大鼠行为学表现有相似之处, 都表现出焦虑不安的行为。经典的单胺假说认为抑郁症主要是由于脑中 5-HT、多巴胺、去甲肾上腺素等单胺递质缺乏导致, 有研究证实抑郁症患者多伴有 5-HT 含量下降, 而 5-HT 又是褪黑素合成路线上的必要中间产物, 5-HT 含量的多少直接影响褪黑素合成和含量, 而褪黑素是松果体发挥生理功能中必要的物质, 褪黑素的多寡最能体现出松果体的功能, 所以抑郁症的发展过程中可能伴随着松果体功能的下降。

宋洪涛等^[41]发现抑郁模型大鼠血清中褪黑素含量下降, 松果体 AANAT mRNA、HIOMT mRNA 表达水平下降, 说明慢性长周期的应激刺激, 会导致褪黑素合成关键酶基因表达下降, 表明松果体成分分泌褪黑素功能减退。此外, 实验证明, 慢性应激可以导致大鼠机体的氧化应激血清中 MDA 水平升高, SOD 活力下降, 证明慢性应激状态下大鼠体内的抗氧化能力降低, 氧化应激的发生可能会促进抑郁大鼠的机体其他病理损伤。松果体在抗氧化方面起重要作用, 松果体生理功能的降低往往伴随着机体抗氧化能力的下降, 而慢性应激抑郁大鼠的抗氧化能力下降, 此过程可能与松果体功能下降有关。

3 综合因素

3.1 PCPA 联合穿梭电刺激致大鼠松果体损伤

将大鼠置于穿梭箱并给予电刺激, 电刺激方法为电压 30 V、电流 0.8 A、刺激时间 30 s、间隔时间 30 s、循环 60 次, 同一时间连续电刺激 5 d。在实验第 4 天开始 ip 45 g/L PCPA 混悬液, 10 mL/kg, 连续 2 d。PCPA 联合电刺激大鼠白天夜晚活动不停, 被毛战栗, 易惊吓, 互相打斗, 头部震颤, 对穿梭箱有抵抗。前期实验结果表明, PCPA 联合穿梭电刺激大鼠在旷场实验中活动总距离明显减少, 表明其兴奋性下降; 在中央区时间明显增多, 表明其认知能力下降。戊巴比妥钠协同睡眠实验中, PCPA 组大鼠入睡潜伏期明显延长, 说明 PCPA 具有兴奋中枢的作用^[42]。

PCPA 联合穿梭电刺激的损伤是化学性因素和物理性因素的综合, 一方面 PCPA 可以抑制脑内 TPH, 使得 5-HT 减少, 进而降低褪黑素水平, 造成昼夜节律紊乱, 影响松果体生理功能的发挥, 大鼠

松果体细胞也会受到损伤,松果体细胞排列紊乱,数目明显减少,空泡变性增多,细胞核固缩且向周边移动,细胞界限模糊等病理损伤。同时电刺激也会对大鼠造成应激损伤,导致大鼠交感神经兴奋和垂体-肾上腺皮质分泌增多,糖皮质激素水平升高,透过血脑屏障产生神经毒性,同时脑组织糖皮质激素受体下降,导致 HPA 轴昼夜节律消失,HPA 轴持续亢进,最终致脑组织损伤。

3.2 年龄对衰老大鼠松果体结构生理的影响

研究发现成年哺乳动物的松果体呈增龄性变化,随着年龄的增长,松果体会逐渐的衰老,体积和质量会变小,腺体也会萎缩,同时伴有松果体细胞数目的减少。苏文荣等^[43]对比 3 月龄和 34 月龄 SD 大鼠松果体形态学变化,采用光镜和电镜结合形态计量学方法,观察衰老大鼠松果体变化,发现衰老大鼠松果体细胞中细胞核呈衰老性改变,细胞核形状不规则,核膜皱褶增多和加深;线粒体出现嵴断裂、肿胀、空泡化等变化;内质网同样出现结构的变化,具体表现为内质网减少,排列紊乱,分散,脱颗粒明显等。松果体细胞密度也减少,而神经胶质细胞密度增加,可见老年大鼠松果体超微结构发生明显衰老性变化。

衰老大鼠松果体细胞的细胞核形状上呈现明显不规则,细胞核皱褶变多变深,这是细胞衰老时比较普遍的改变;衰老松果体细胞密度下降,可能与松果体细胞凋亡增多有关系,这也是松果体功能降低的原因之一^[44]。线粒体是细胞呼吸和氧化的中心,与细胞衰老关系密切;随着年龄的增加,线粒体数量不断减少,而体积却因为线粒体的肿胀越来越大,线粒体内部逐渐出现空泡化、嵴断裂等现象,线粒体正常结构的变化必然会引起功能的减退。

4 结语

化学性模型中,大鼠机体代谢紊乱和半乳糖在代谢过程中引起过氧化效应是 D-半乳糖致衰老大鼠松果体损伤的重要原因,此模型造模时间较长;ip PCPA 间接导致褪黑素合成减少松果体功能紊乱以及松果体细胞凋亡是 PCPA 引起松果体损伤的重要机制,此模型造模方式简便、用时较短,模型易于复制。物理性模型中,HIBD 模型中 NO 过度生成引起的细胞毒作用以及过氧化损伤与细胞凋亡和坏死在 HIBD 引起的松果体损伤模型中都有参与,此模型机制明确,但造模时间较长,手术难度较大。电刺激和慢性应激模型中,应激引起的 HPA

轴亢进、糖皮质激素升高引起神经毒性导致脑组织中松果体损伤显著,此模型能较好地模拟自然条件下应激,对机体尤其是松果体的影响。生理性衰老松果体损伤模型中,松果体超微结构发生衰老性的变化,氧化应激损伤在损伤中占有重要地位。

通过对比可以看出大鼠松果体损伤是多途径多通路的,不同模型制备方法导致大鼠松果体损伤的因素各有侧重,但都影响了松果体正常生理功能的发挥,各造模方法特点不同,各有优势,可根据实际需要做出合理的选择。目前专门制备大鼠松果体损伤模型方法较少,模型制备方法尚无统一的规范和标准,且大多数研究对其损伤机制的探讨在相关指标性的变化上,其清晰的损伤机制尚不够清晰;规范化的造模方法和更清晰的损伤机制探讨是大鼠松果体损伤模型研究中的一个重要目标,不仅可以提高造模的成功率和可重复性,还有利于大鼠松果体损伤相关药理作用机制的探索。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Peruri A, Morgan A, D'Souza A, et al. Pineal gland from the cell culture to animal models: A review [J]. *Life (Basel)*, 2022, 12(7): 1057.
- [2] Shi Y, Cai E L, Yang C, et al. Protection of melatonin against acidosis-induced neuronal injuries [J]. *J Cell Mol Med*, 2020, 24(12): 6928-6942.
- [3] 朱俊德, 龚明. 老年大鼠 PG 中 MT 含量的测定 [J]. *四川解剖学杂志*, 2006(4): 21-23.
- [4] Luo F, Sandhu A F, Rungratanawanich W, et al. Melatonin and autophagy in aging-related neurodegenerative diseases [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(19): 7174.
- [5] Gobbi G, Comai S. Sleep well. untangling the role of melatonin MT1 and MT2 receptors in sleep [J]. *J Pineal Res*, 2019, 66(3): e12544.
- [6] 徐智, 吴国明, 钱桂生, 等. 大鼠衰老模型的初步建立 [J]. *第三军医大学学报*, 2003, 25(4): 312-315.
- [7] Gheban B A, Colosi H A, Gheban-Rosca I A, et al. Age-related changes of the pineal gland in humans: A digital anatomo-histological morphometric study on autopsy cases with comparison to predigital-era studies [J]. *Medicina (Kaunas)*, 2021, 57(4): 383.
- [8] 梁欣. 艾灸对 D-半乳糖致衰老大鼠 PG 氧化损伤影响的实验研究 [D]. 成都: 成都中医药大学, 2008.
- [9] 赵珺琦, 叶田园, 齐冬梅, 等. 细胞衰老在阿尔茨海默病发病机制及防治中的作用研究进展 [J]. *中国现代应用药学*, 2022, 39(9): 1235-1246.
- [10] 高春燕, 郭琦, 李媛丽, 等. 不同采收期虫草参多酚对羟基自由基介导的 DNA 氧化损伤保护作用的研究 [J]. *食品工业科技*, 2023, 44(1): 119-127.
- [11] Zhang H, Gong W, Wu S, et al. Hsp70 in redox homeostasis [J]. *Cells*, 2022, 11(5): 829.

- [12] Johnson O T, Gestwicki J E. Multivalent protein-protein interactions are pivotal regulators of eukaryotic Hsp70 complexes [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2022, 27(4): 397-415.
- [13] 凌忠满, 罗维贵. 热休克蛋白 70 与慢性阻塞性肺疾病相关性研究进展 [J]. *中国医学创新*, 2022, 19(21): 179-184.
- [14] 陈智暹, 戴斌, 王利强, 等. Hsp70 在神经退行性疾病中的作用机制研究进展 [J]. *生命科学*, 2021, 33(8): 931-938.
- [15] 田英姿, 胡飞雪, 王文博, 等. 蛇麻草精油香薰法对氯苯丙氨酸诱导失眠大鼠的助眠作用研究 [J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(21): 39-45.
- [16] 王丹妮, 杨铃, 仲启明, 等. 异虎耳草素对 PCPA 致松果体损伤模型大鼠的改善作用及生物钟基因表达的影响 [J]. *中国药房*, 2020, 31(17): 2081-2086.
- [17] Qureshi Y H, Baez P, Reitz C. Endosomal trafficking in Alzheimer's disease, Parkinson's disease, and neuronal ceroid lipofuscinosis [J]. *Mol Cell Biol*, 2020, 40(19): e00262-20.
- [18] Pereira N, Naufel M F, Ribeiro E B, et al. Influence of dietary sources of melatonin on sleep quality: A review [J]. *J Food Sci*, 2020, 85(1): 5-13.
- [19] 郭晋良, 杨铃, 王若瑜, 等. 蛇床子催眠活性组分对 PCPA 失眠大鼠 PG 细胞凋亡和相关 Bcl-2/Bax 蛋白表达的影响 [J]. *中医药学报*, 2022, 50(1): 23-27.
- [20] 谢术欢, 冯玛莉. 褪黑素降血糖作用机制的研究进展 [J]. *现代药物与临床*, 2021, 36(4): 852-856.
- [21] 郭晋良. 蛇床子催眠活性组分对 PCPA 失眠大鼠松果体细胞凋亡及褪黑素合成的影响 [D]. 太原: 山西省中医药研究院, 2021.
- [22] 王君丽, 谢汝佳, 梁猜, 等. QRICH1 介导 NF- κ B p65 调控 Bcl-2、Bax 在神致肝癌细胞凋亡中的作用研究 [J]. *现代肿瘤医学*, 2023, 31(2): 235-241.
- [23] 郭晋良, 仲启明, 吉海杰, 等. 探讨蛇床子催眠活性组分对 PCPA 失眠大鼠 MT 合成限速酶 AANAT 的调控作用 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2021, 27(14): 47-52.
- [24] 王丹妮, 郭晋良, 仝立国, 等. 蛇床子催眠活性组分对 PCPA 损伤大鼠 PG 细胞的保护作用及钟基因表达调控机制 [J]. *中药材*, 2021(1): 182-185.
- [25] 杨阳, 杨晓敏, 胡秀华, 等. PCPA 致失眠大鼠的时钟基因表达变化 [J]. *医学研究杂志*, 2021, 50(3): 91-94.
- [26] 梅龙, 桑迪, 张二荃. 生物钟研究方法综述: 追求长程、实时的记录 [J]. *中国生物化学与分子生物学报*, 2018, 34(10): 1021-1029.
- [27] Costello H M, Gumz M L. Circadian rhythm, clock genes, and hypertension: Recent advances in hypertension [J]. *Hypertension*, 2021, 78(5): 1185-1196.
- [28] 冯星. 新生大鼠缺氧缺血性脑损伤对 PG 功能的影响及外源性 MT 的神经保护作用研究 [D]. 苏州: 苏州大学, 2009.
- [29] 李永富, 金美芳, 孙斌, 等. 缺氧缺血性脑损伤新生大鼠松果体钟基因表达的变化 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2013, 15(1): 62-66.
- [30] Zhu K, Zhu X, Liu S, et al. Glycyrrhizin attenuates hypoxic-ischemic brain damage by inhibiting ferroptosis and neuroinflammation in neonatal rats via the HMGB1/GPX4 pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022: 8438528.
- [31] Motwani K, Dodd W S, Laurent D, et al. Delayed cerebral ischemia: A look at the role of endothelial dysfunction, emerging endovascular management, and glymphatic clearance [J]. *Clin Neurol Neurosurg*, 2022, 218: 107273.
- [32] Chittora R, Jain A, Shukla S D, et al. Cytomorphological analysis and interpretation of nitric oxide-mediated neurotoxicity in sleep-deprived mice model [J]. *Ann Neurosci*, 2022, 29(1): 7-15.
- [33] Hawrysh P J, Myrka A M, Buck L T. Review: A history and perspective of mitochondria in the context of anoxia tolerance [J]. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 2022, 260: 110733.
- [34] 赵芳, 王洪新, 鲁美丽, 等. 黄芪甲苷对慢性间歇性缺氧诱导血管内皮功能障碍的保护作用 [J]. *中成药*, 2022, 44(10): 3145-3150.
- [35] Datta S. Avoidance task training potentiates phasic pontine-wave density in the rat: A mechanism for sleep-dependent plasticity [J]. *J Neurosci*, 2000, 20(22): 8607-8613.
- [36] 梁媛, 岳利峰, 张欢润, 等. 慢性轻度不可预见应激模型大鼠下丘脑食欲调节因子的变化及逍遥散的作用研究 [J]. *北京中医药大学学报*, 2021, 44(5): 428-435.
- [37] Pentkowski N S, Bouquin S J, Maestas-Olguin C R, et al. Differential effects of chronic stress on anxiety-like behavior and contextual fear conditioning in the TgF344-AD rat model of Alzheimer's disease [J]. *Behav Brain Res*, 2022, 418: 113661.
- [38] Yamanishi K, Doe N, Mukai K, et al. Acute stress induces severe neural inflammation and overactivation of glucocorticoid signaling in interleukin-18-deficient mice [J]. *Transl Psychiatry*, 2022, 12(1): 404.
- [39] Jovicic M J, Lukic I, Radojic M. Modulation of c-Jun N-terminal kinase signaling and specific glucocorticoid receptor phosphorylation in the treatment of major depression [J]. *Med Hypotheses*, 2015, 85(3): 291-294.
- [40] Chen Y, Cai W, Li C, et al. Sex differences in peripheral monoamine transmitter and related hormone levels in chronic stress mice with a depression-like phenotype [J]. *PeerJ*, 2022, 10: e14014.
- [41] 宋洪涛, 姚海江, 莫雨平, 等. 慢性应激对大鼠血清活性肾素与血管紧张素 II 的影响及电针的干预作用 [J]. *中国中医急症*, 2014, 23(1): 1-2.
- [42] 王丹妮, 宋美卿, 杨铃, 等. 松果体损伤大鼠模型 3 种制备方法的比较研究 [J]. *实验动物与比较医学*, 2021, 41(3): 215-219.
- [43] 苏文荣, 袁群芳, 陈以慈, 等. 大鼠松果体衰老的形态学研究 [J]. *解剖学研究*, 2004, 26(2): 95-99.
- [44] Fernández A, Ordóñez R, Reiter R J, et al. Melatonin and endoplasmic reticulum stress: Relation to autophagy and apoptosis [J]. *J Pineal Res*, 2015, 59(3): 292-307.

【责任编辑 解学星】