

网络出版时间: 2023-03-28 13:29:25 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.R.20230328.1033.020.html>

# 妊娠早期子痫前期大鼠模型的建立及其子代认知能力的观察

马岩团<sup>1,2,3</sup>, 张宇航<sup>1,2,3</sup>, 何秋月<sup>1,2,3</sup>, 徐彤<sup>1,2,3</sup>, 黄薇<sup>1,2,3</sup>, 苏洪<sup>4</sup>, 杨榆玲<sup>5</sup>, 何建萍<sup>6</sup>, 钱源<sup>1,2,3,4,6</sup>

**摘要** 目的 建立妊娠早期子痫前期(PE)大鼠模型,观察其表型、妊娠结局及其子代认知能力的变化。方法 将受孕成功的大鼠随机分为模型组及对照组,每组8只,在孕鼠妊娠第5天时一次性尾静脉分别注射超低剂量脂多糖(LPS)(0.5 μg/kg)和等体积的生理盐水,检测两组孕鼠血压、12 h尿液白蛋白、外周血凝血因子和胎盘细胞因子的水平,观察其胎盘病理变化、妊娠结局及子代认知能力。结果 模型组血压在妊娠第6天开始升高,尿蛋白在妊娠第9天开始升高,对照组的血压和尿蛋白在整个妊娠期间无显著变化。与对照组比较,模型组孕鼠外周血血小板、抗凝血酶Ⅲ(ATⅢ)降低,而D-二聚体增高。与对照组相比,模型组胎仔和胎盘的质量降低( $P < 0.001$ ),外周血白介素(IL)-6、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )及干扰素 $\gamma$ (INF- $\gamma$ )表达水平增高( $P < 0.01$ ),而转化生长因子 $\beta$ (TGF- $\beta$ )的表达水平降低( $P < 0.001$ )。水迷宫测试显示,模型组子代到达平台的潜伏期比对照组长( $P < 0.05$ ),而模型组的子代跨越平台象限的频率和在平台象限停留时间则短于对照组( $P < 0.05$ )。HE和PAS染色显示:模型组胎盘的基底炎症细胞浸润,迷路区血管数量明显减少,肾间质轻微水肿,局部肾小管上皮细胞变性;对照组胎盘和肾脏未出现以上病理改变。结论 妊娠早期一次性注射LPS可以成功建立PE大鼠模型,孕鼠出现PE症状,胎仔生长受限,且其子代认知能力下降。

**关键词** 子痫前期;脂多糖;大鼠;炎症反应;认知能力

中图分类号 R 714.24

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)04-0643-07

doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.04.020

子痫前期(preeclampsia, PE)严重影响母婴健康,每年全球的发病率在5%~8%<sup>[1]</sup>,主要表现为妊娠20周后出现高血压和蛋白尿( $\geq 300$  mg/24 h)、同时伴有肾功能不全和子宫胎盘功能障碍等并发症<sup>[2]</sup>。此外,PE还会对子代造成长期的不良影响。近年来研究<sup>[3]</sup>表明,PE患者缺血低氧的宫内环境会对子代的认知功能产生不利的影响。PE的病因较为复杂,目前认为胎盘的浅层滋养层细胞侵袭不足而导致的螺旋动脉血管重构异常是其发病的重要机制<sup>[4]</sup>。

LPS可通过增加抑癌因子(phosphate and tension homology deleted on chromosome ten, PTEN)部分通过激活蛋白1(activator protein-1, AP-1)和核因子 $\kappa$ B(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)途径起作用来抑制人滋养层细胞的重塑<sup>[5]</sup>。研究<sup>[6]</sup>表明,妊娠大鼠给予LPS可诱发母胎界面发生免疫和炎症反应,最终导致PE的发生。但大部分研究中,LPS的干预措施通常是在大鼠妊娠14 d左右,这时已经错过了胎盘早期发育的时间点,不利于模拟PE从早期开始发生的病理改变<sup>[7]</sup>。同时,为了解决血管内皮功能障碍PE模型的不稳定性和减少子宫灌注压(reduced uterine perfusion pressure, RUPP)模型不能用于研究PE早期机制的局限性<sup>[8]</sup>。该研究拟通过一次性尾静脉超低剂注射LPS建立PE模型大鼠,探讨其表型、妊娠结局和子代认知能力的变化。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物及分组** 清洁级SD大鼠[SCXK(滇)K2020-0004]购于昆明医科大学动物学部,选择8周龄雌鼠16只,体质量250~280 g,10周龄雄鼠8只,体质量300~350 g。饲养条件为清洁级,室温20~25℃,湿度为40%~70%,保持光线照射12 h,光线适中,环境安静清洁,提供无特定病原体

2023-02-21 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81760273,81360103);云南省生物资源数字化开发应用项目(编号:202002AA100007);云南省卫生健康委员会医学学科带头人培养计划(编号:D-2019016);云南省科技厅科技计划项目[编号:2019FE001(-486)];昆明市医学技术中心卫生科研课题(编号:2022-05-02-002);昆明市卫生科技人才培养项目[编号:2022-5W(技)-16];昆明医科大学2019年教改教改一般课题(编号:2019-JY-Y-036)

作者单位:<sup>1</sup>云南省检验医学重点实验室,昆明 650032

<sup>2</sup>云南省医学检验临床医学研究中心,昆明 650032

<sup>3</sup>昆明医科大学第一附属医院医学检验科,昆明 650032

<sup>4</sup>普洱市人民医院生殖遗传中心,普洱 665000

<sup>5</sup>昆明医科大学基础医学院,昆明 650500

<sup>6</sup>昆明市妇幼保健院国家妇产疾病临床医学研究中心,云南联合重点实验室,昆明 650032

作者简介:马岩团,男,硕士研究生;

钱源,女,博士,主任技师,博士生导师,责任作者, E-mail: yuanqian2x@Hotmail.com

(specific pathogen free, SPF) 级颗粒状饲料和灭菌的酸化水。适应性饲养 1 周后,按雌雄 1:2 进行合笼。阴道涂片检查有无精子,若观察到有精子记为妊娠第 0 天 [gestational day (GD) 0]。将 16 只受孕大鼠随机分为对照组和模型组进行后续实验。

**1.2 实验材料和试剂** 鼠尾无创血压计(型号:BP2010)购自日本 Softron 公司;全自动血液分析仪(型号: XN-550)购自日本 Sysmex 公司;全自动凝血分析仪购自法国(型号: STAR Max) Stago 公司; LPS 和 TRIzol 试剂购自美国 Sigma 公司;逆转录试剂盒购自美国 Thermo 公司; SYBR Green Master Mix 购于美国 Roche 公司;尿蛋白定量试剂盒购于南京建成生物工程公司;白细胞介素(interleukin, IL)-6、肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、IL-4、 $\gamma$ -干扰素(interferon  $\gamma$ , INF- $\gamma$ )及转化生长因子 $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒购自杭州联科生物公司。

### 1.3 方法

**1.3.1 动物模型建立** 用生理盐水溶解 LPS 将其稀释至 0.2  $\mu$ g/ml。模型组于 GD5 尾静脉缓慢注射 1 ml 的 LPS 溶液(0.5  $\mu$ g/kg),对照组于 GD5 尾静脉缓慢注射等体积的生理盐水,注射完毕后观察大鼠一般状况 10 min。

**1.3.2 大鼠尾动脉血压及尿蛋白测定** 合笼前 1 周对大鼠进行尾动脉血压测定训练,以促使实验期间大鼠情绪的稳定。各组于 GD3、GD6、GD9、GD12、GD15、GD18 使用无创血压仪测定尾动脉血压,测定时间固定(08:00—12:00),重复测定 3 次取均值。相同时段并采用代谢笼收集 14 h(18:00 至次日 08:00)空腹尿,用尿蛋白定量试剂盒测定尿液中白蛋白的浓度。

**1.3.3 样本采集和凝血相关指标检测** 将大鼠于 GD19 上午 10:00 用 10% 水合氯醛溶液(3 ml/kg)腹腔注射麻醉,腹主动脉取血,剖宫产取胎盘和肾脏组织,并记录胎仔重、胎仔数及胎盘湿重,观察胎仔有无明显畸形及宫内死亡状况。使用全自动血液分析仪检测血小板数量,全自动凝血分析仪检测血浆中活化部分凝血活酶时间(activated partial thromboplastin time, APTT)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、纤维蛋白降解产物(fibrin degradation products, FDP)和 D-二聚体。

**1.3.4 HE 染色及 PAS 染色** 将胎盘组织和肾组织放入 4% 多聚甲醛溶液固定 48 h 后,脱水、透明、

浸蜡包埋,用石蜡切片机切成厚度为 5  $\mu$ m 的薄片,将切片脱蜡、水化后,分别进行 HE 染色及 PAS 染色,最后进行脱水、透明、中性树胶封片处理,置于显微镜下观察。

**1.3.5 RT-qPCR 实验** 用 TRIzol 试剂提取胎盘组织的总 RNA, Nanodrop 2000 对各组总 RNA 进行定量,参照 Thermo 逆转录试剂盒说明书合成 cDNA, SYBR Green Master Mix 进行 PCR 扩增,采用  $2^{-\Delta\Delta Ct}$  处理 PCR 数据。

**1.3.6 ELISA 实验** 按照 ELISA 试剂盒所述方法稀释标准品和检测抗体,加样,室温孵育 2 h,洗涤 6 次,加入稀释的酶标试剂,室温孵育 45 min,再次洗涤 6 次,加入底物显色剂,室温孵育 10 min。最后加入终止液,终止反应,轻轻振荡,以空白调零,用酶标仪在 450 nm 及 630 nm 波长依序测量各孔的吸光度值。根据标准曲线和样品吸光度值计算血清细胞因子 IL-6、TNF- $\alpha$ 、IL-4、INF- $\gamma$  和 TGF- $\beta$ 1 的水平。

**1.3.7 水迷宫实验** 两组妊娠大鼠子代标准条件下饲养 56 d 后,开始进行水迷宫实验。测试包括两个阶段:空间学习阶段和记忆测试阶段。在空间学习阶段,将一个圆形平台放置在水面下 1.5 cm 处。在不同的象限的把动物放入水池中,给予 60 s 的时间来寻找平台,如果动物找不到平台,就被引导到平台上,并允许它在平台上停留至时间结束。该训练过程持续 5 d。在记忆测试阶段,将平台移走。记录动物在 60 s 内在各象限停留的时间、到达平台区域的次数。水迷宫测试的所有数据都是由 ANY maze 系统记录。

**1.4 统计学处理** 实验数据均使用 SPSS 22.0 软件处理。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示。组间数据比较采用独立样本  $t$  检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 妊娠期 SD 大鼠血压和尿蛋白的变化** 两组孕鼠在 GD3 时血压、尿蛋白组间差异均无统计学意义。模型组血压在 GD6、GD9、GD12、GD15 和 GD18 高于对照组,差异有统计学意义(GD12:  $t = -11.44$ ,  $P < 0.001$ ) (图 1A)。模型组的尿蛋白在 GD9、GD12、GD15、GD18 高于对照组,差异有统计学意义(GD12:  $t = -8.14$ ,  $P < 0.001$ ) (图 1B)。

**2.2 妊娠期 SD 大鼠凝血功能指标的变化** 与对照组相比,模型组孕鼠外周血血小板、ATIII 降低,其中组间血小板的差异有统计学意义( $t = 2.94$ ,  $P <$

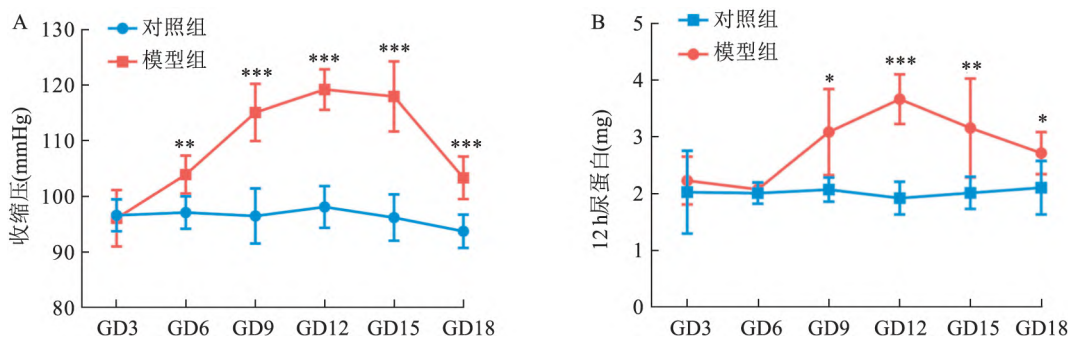


图1 妊娠期不同阶段孕鼠的平均收缩压和尿蛋白水平

A: 平均收缩压; B: 12 h 尿蛋白; 与对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$

表1 两组孕鼠凝血功能相关指标的变化( $\bar{x} \pm s$   $n=8$ )

指标	模型组 ( $n=8$ )	对照组	$t$ 值	$P$ 值
血小板 ( $\times 10^9$ )	$976.1 \pm 59.8$	$1042.5 \pm 63.0$	2.94	0.04
ATⅢ (%)	$97.3 \pm 8.3$	$107.4 \pm 11.8$	1.98	0.06
D二聚体 ( $\mu\text{g/ml}$ )	$0.18 \pm 0.02$	$0.15 \pm 0.03$	-2.32	0.03
FDP ( $\mu\text{g/ml}$ )	$2.09 \pm 0.71$	$2.05 \pm 0.96$	0.09	0.92

0.05)。模型组中 D-二聚体高于对照组, 差异有统计学意义 ( $t = -2.32, P < 0.05$ )。见表 1。

**2.3 妊娠期 SD 大鼠的妊娠结局** 模型组的平均胎仔数 ( $12.5 \pm 2.0$ ) 与对照组 ( $13.0 \pm 3.0$ ) 相比, 差异无统计学意义。如图 2C 所示, LPS 模型组的胎仔身长值和胎盘直径均比对照组小。与对照组相比, 模型组胎仔湿重、胎盘湿重降低 ( $t = 10.94, P < 0.001$ ), 差异有统计学意义。两组妊娠期大鼠均未观察到胚胎吸收、死胎等现象。见图 2。

**2.4 两组妊娠大鼠子代的学习和记忆能力** 对出生 56 d 后的子鼠进行了水迷宫测试显示: 在训练阶段, 对照组的子代到达平台的潜伏期比模型组更短 ( $P < 0.05$ ) (图 3A), 两组子代的游泳速度差异无统

计学意义 ( $t = 0.32, P > 0.05$ ) (图 3C); 在记忆测试阶段, 模型组的子代跨越平台象限的频率和在平台象限停留的时间低于对照组 ( $t = 2.69, 3.12, P < 0.05$ ) (图 3B、D)。这些变化表明 LPS 诱导的 PE 大鼠的子代可能存在着学习和记忆功能障碍。

**2.5 胎盘组织细胞因子 mRNA 表达情况** 如图 4A 所示, 与对照组相比, 模型组胎盘炎症因子 IL-6、TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$  的 mRNA 表达水平增加 ( $t = -3.02, -3.23, -3.19, P < 0.01$ ), 而炎症调节因子 TGF- $\beta 1$  和血管生成相关因子 VEGF、胎盘生长因子 (PEGF) 的 mRNA 表达水平降低 ( $t = 5.84, 3.46, 4.66, P < 0.01$ ), 但是 IL-4 和 IL-10 的 mRNA 表达差异无统计学意义 ( $t = 0.69, 0.57, P > 0.05$ )。

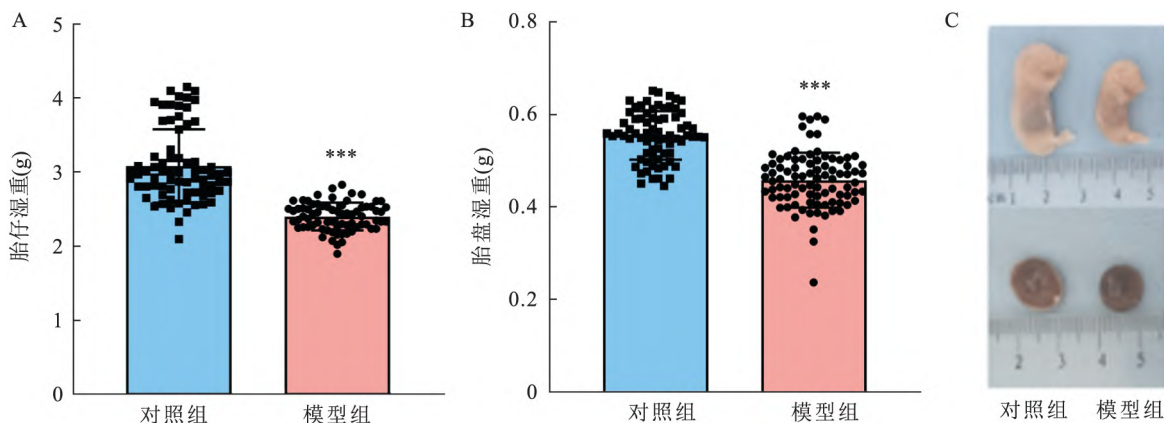


图2 两组孕鼠胎仔和胎盘的情况

A: 胎仔湿重; B: 胎盘湿重; C: 胎仔和胎盘形态; 与对照组比较: \*\*\*  $P < 0.001$

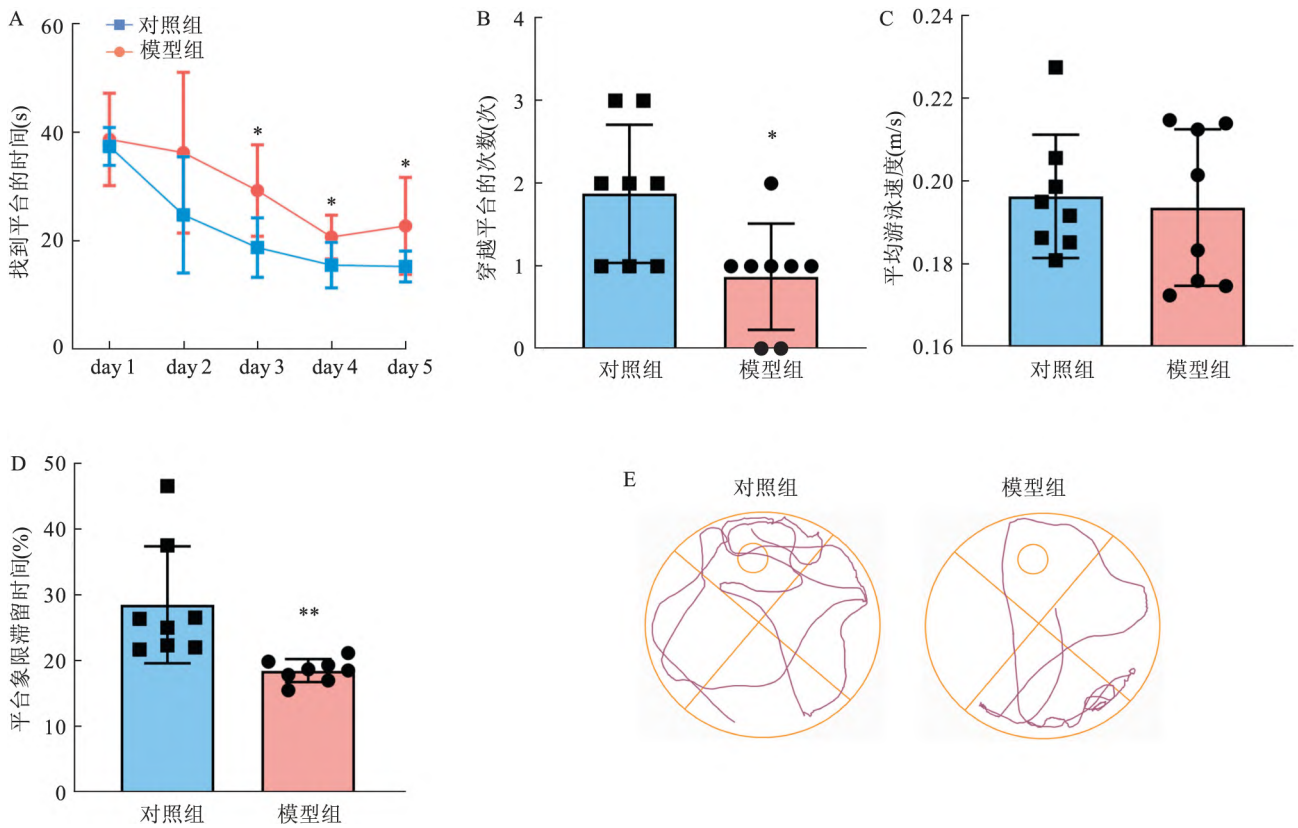


图3 子代的空间学习和记忆能力

A: 找到平台的时间; B: 穿越平台的次数; C: 平均游泳速度; D: 平台象限滞留时间; E: 行为轨迹; 与对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

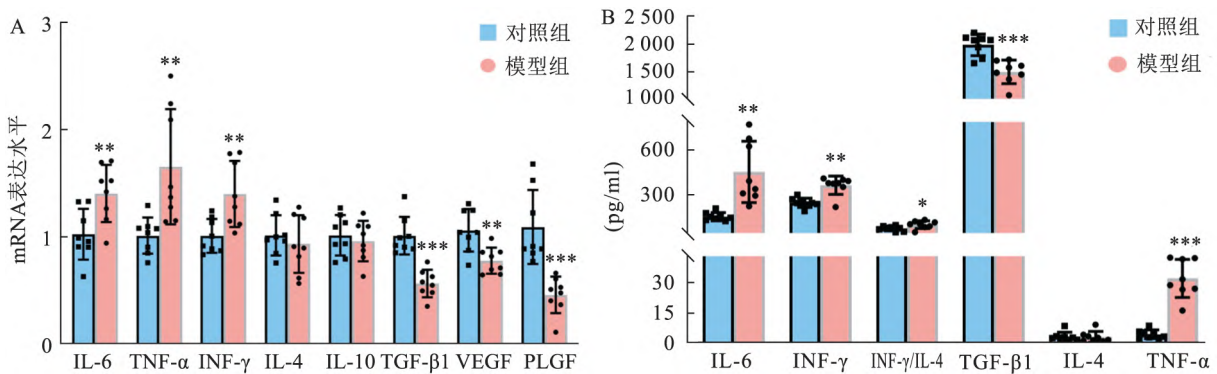


图4 两组孕鼠细胞因子表达水平

A: 孕鼠胎盘细胞因子的 mRNA 表达水平; B: 孕鼠血清细胞因子的蛋白表达水平; 与对照组比较: \*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ , \*\*\*  $P < 0.001$

**2.6 ELISA 检测外周血细胞因子表达水平** 如图 4B 所示 模型组 IL-6、TNF- $\alpha$  和 INF- $\gamma$  的表达水平比对照组高( $t = -4.10$ 、 $-8.12$ 、 $-4.87$   $P < 0.01$ ); 而模型组 TGF- $\beta$ 1 的表达水平比对照组低( $t = 4.83$ ,  $P < 0.01$ ), INF- $\gamma$ /IL-4 在模型组中也有下降趋势, 差异有统计学意义( $t = -2.39$   $P < 0.05$ )。

**2.7 观察胎盘 HE 和 PAS 染色情况** 胎盘 HE 染色镜下观察显示 模型组胎盘组织中蜕膜层细胞出

现水肿和空泡现象(图 5A), 基底层有免疫细胞浸润(图 5B), 迷路区可见滋养巨细胞增多, 纤维蛋白沉积 血管减少 血管管径较小; 对照组未见明显异常(图 5C)。PAS 染色镜下观察显示: 模型组蜕膜血管壁纤维素沉积高于妊娠大鼠对照组(图 5D)。

**2.8 两组大鼠肾组织 HE 染色情况观察** 如图 6 所示: 模型组肾间质轻微水肿, 局部肾小管上皮细胞变性, 毛细血管内皮细胞肿胀, 血管管腔狭小; 对照

组未观察到明显的病理改变。

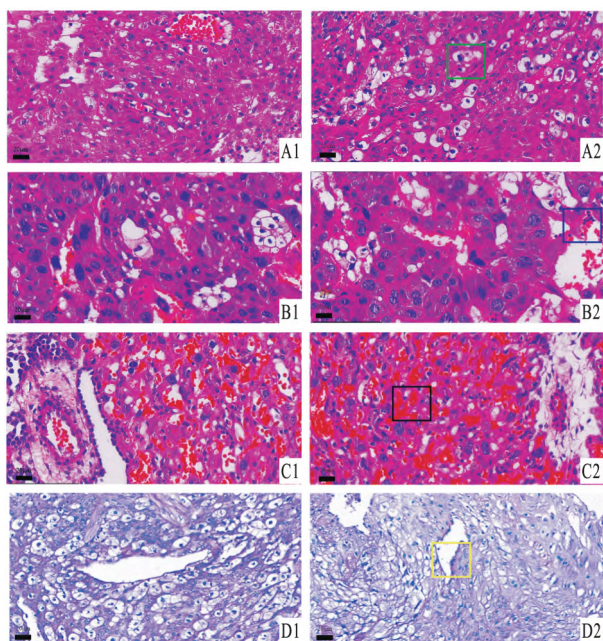


图5 胎盘组织 HE 和 PAS 染色情况  $\times 200$

A、D: 蜕膜层; B: 基底层; C: 迷路区; 1: 对照组; 2: 模型组; A ~ C: HE 染色; D: PAS 染色; 绿框: 空泡; 蓝框: 免疫细胞聚集; 黑框: 血管腔变小; 黄框: 管壁纤维素沉淀

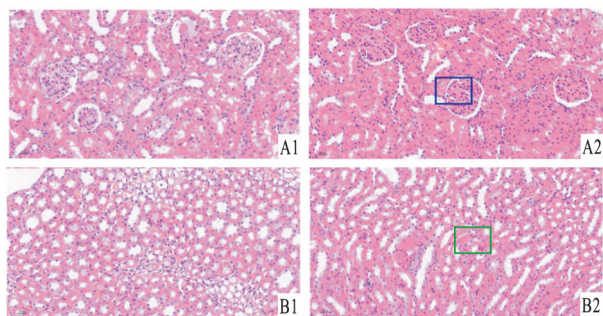


图6 肾组织 HE 染色  $\times 200$

A: 皮质区; B: 髓质区; 1: 对照组; 2: 模型组; 蓝框: 毛细血管管腔变小; 绿框: 肾间质轻微水肿

### 3 讨论

理想的 PE 动物模型应该表现出高血压、蛋白尿、宫内生长受限等症状,而这些症状都是由于妊娠早期胎盘绒毛膜外滋养细胞侵袭不足及胎盘螺旋动脉重塑障碍引起的。小鼠和大鼠等啮齿类动物的胎盘结构与人类近似,目前 RUPP 模型是可重复性比较高的 PE 啮齿动物模型<sup>[9]</sup>。此模型是模拟 PE 发病中子宫动脉的灌注压力和血流量减少建立的<sup>[10]</sup>。但这种方法很大的局限性是不能用于妊娠早期滋养层细胞侵袭和血管重塑的研究,同时一定程度上影响了心排血量和血流动力学<sup>[11]</sup>。血管内皮功能障碍是 PE 的典型特征,其中 LPS 引起的炎症反应

在 PE 模型的应用逐渐受到了关注。有研究<sup>[12]</sup>报道,在妊娠第 13 天开始腹腔注射剂量为 20  $\mu\text{g}/\text{kg}$  LPS,每天增加 10  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ,可造成孕鼠血清 IL-6、TNF- $\alpha$  等炎症因子水平升高,并出现高血压、蛋白尿等 PE 典型症状。但以上的干预措施却忽视了对妊娠早期病理改变的研究。本研究通过对妊娠早期 (GD5) 的孕鼠给予一次性 LPS (0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) 的刺激,使其出现与人 PE 患者相似的表现症状及病理改变,这种症状一直持续到妊娠晚期,而在对照组中未观察到这种现象。同时 HE 染色也观察到了模型组孕鼠出现了肾间质水肿和肾小管上皮细胞变性等病理改变。这些结果都提示了高血压和蛋白尿可能是 LPS 诱导免疫和炎症反应引起胎盘血管内皮功能障碍和肾脏损伤所致。

大鼠胎盘是在妊娠第 4 ~ 5 天之间囊胚植入后形成的<sup>[12]</sup>,因此,在妊娠第 5 天对孕鼠注射 LPS,诱发母胎界面的发生炎症反应引起 PE 表型,这与人先兆子痫患者的临床表现是在妊娠 20 周或之后是相似的<sup>[1]</sup>。研究<sup>[13]</sup>表明,PE 会引起凝血功能发生改变,这可能也是 PE 症状的表型之一。本研究建立的 PE 模型出现了血小板和 ATIII 减少, D-二聚体增加,这提示了该模型的凝血系统被激活。尾静脉注射可使孕鼠全身暴露于 LPS,最终引起包括细胞因子在内的多炎症介质的释放<sup>[14]</sup>。其中由 TLR4 介导的几种细胞因子参与了母胎交界处微妙免疫系统的平衡<sup>[15]</sup>。本研究结果显示,模型组外周血 IL-6、TNF- $\alpha$  等炎症因子明显升高。这些指标与 Fass et al<sup>[16]</sup>建立的模型中显示的结果是一致的。此外,该研究结果显示,由 Th1 细胞分泌的 INF- $\gamma$  水平升高,而 Th2 细胞分泌的 IL-4 表达水平有降低的趋势,表明妊娠期母胎界面 Th1/Th2 型细胞因子的平衡失调,可能导致胎盘滋养层细胞的损伤和胎儿生长受限的发生,此结果也与模型组的胎仔和胎盘重量明显低于对照组是相符合的。由胎盘过度炎症反应引起子宫缺血低氧的环境,会对胎儿器官发育产生不可逆转的影响。此外,研究<sup>[17]</sup>表明,由 L-NAMEY 急性诱导的 PE 样大鼠的子代存在认知障碍风险。本研究结果显示 PE 模型大鼠子代学习和记忆能力明显低于对照组,表明妊娠早期胎盘过度炎症反应对子代神经发育可能产生出生后的影响。这是首次在 LPS 诱导的 PE 模型中观察到的现象。

综上所述,该研究通过尾静脉超低剂量注射 LPS 成功建立了 PE 大鼠模型。研究表明 LPS 诱导的胎盘炎症反应可能导致绒毛膜外滋养层细胞损伤

和子宫螺旋动脉的重塑不良,最终导致 PE 发生。这为 PE 早期发病机制研究提供了新依据。

### 参考文献

- [1] Khan K S, Wojdyla D, Say L, et al. WHO analysis of causes of maternal death: a systematic review [J]. *Lancet* ( London, England), 2006, 367( 9516): 1066 – 74.
- [2] Tranquilli A L, Dekker G, Magee L, et al. The classification, diagnosis and management of the hypertensive disorders of pregnancy: a revised statement from the ISSHP [J]. *Pregnancy Hypertens*, 2014, 4( 2): 97 – 104.
- [3] Gumusoglu S B, Chilukuri A S S, Santillan D A, et al. Neurodevelopmental outcomes of prenatal preeclampsia exposure [J]. *Trends Neurosci*, 2020, 43( 4): 253 – 68.
- [4] 曾珊珊,陈敦金,陈兢思,等. 妊娠期子宫螺旋动脉重塑异常与妊娠并发症的研究进展 [J]. *国际妇产科学杂志*, 2021, 48( 4): 376 – 9.
- [5] Xue P, Fan W, Diao Z, et al. Up-regulation of PTEN via LPS/AP-1/NF- $\kappa$ B pathway inhibits trophoblast invasion contributing to preeclampsia [J]. *Mol Immunol*, 2020, 118( null): 182 – 90.
- [6] Xue P, Zheng M, Gong P, et al. Single administration of ultra-low-dose lipopolysaccharide in rat early pregnancy induces TLR4 activation in the placenta contributing to preeclampsia [J]. *PLoS one*, 2015, 10( 4): e0124001.
- [7] Lyall F, Robson S C, Bulmer J N. Spiral artery remodeling and trophoblast invasion in preeclampsia and fetal growth restriction: relationship to clinical outcome [J]. *Hypertension* ( Dallas, Tex: 1979), 2013, 62( 6): 1046 – 54.
- [8] 尹淩轩,司延如,曹占鑫,等. 子痫前期动物模型的特点及其局限性 [J]. *医学综述*, 2021, 27( 17): 3434 – 8.
- [9] Wat J M, Baczyk D, Kingdom J C. The antithrombin binding regions of heparin mediate fetal growth and reduced placental damage in the RUPP model of preeclampsia? [J]. *Biol Reprod*, 2020, 102( 5): 1102 – 10.
- [10] Bakrania B A, Hall M E, Shahul S, et al. The reduced uterine perfusion pressure ( RUPP) rat model of preeclampsia exhibits impaired systolic function and global longitudinal strain during pregnancy [J]. *Pregnancy Hypertens*, 2019, 18: 169 – 72.
- [11] Doğanlar O, Doğanlar Z B, Ovalı M A, et al. Melatonin regulates oxidative stress and apoptosis in fetal hearts of pinealectomised RUPP rats [J]. *Hypertens Pregnancy*, 2020, 39( 4): 429 – 43.
- [12] Hu J, Zhang J, Chan Y, et al. A rat model of placental inflammation explains the unexplained elevated maternal serum alpha-feto-protein associated with adverse pregnancy outcomes [J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2019, 45( 10): 1980 – 8.
- [13] Samejima T, Yamashita T, Takeda Y, et al. Low antithrombin levels accompanied by high urine protein/creatinine ratios are predictive of acute kidney injury among CS patients with preeclampsia [J]. *J MaternFetal Neonatal Med*, 2021, 34( 10): 1550 – 6.
- [14] Olson N C, Hellyer P W, Dodam J R. Mediators and vascular effects in response to endotoxin [J]. *Br Vet J*, 1995, 151( 5): 489 – 522.
- [15] Riley J K, Nelson D M. Toll-like receptors in pregnancy disorders and placental dysfunction [J]. *Clin Rev Allerg Immu*, 2010, 39( 3): 185 – 93.
- [16] Faas M M, Schuiling G A, Baller J F, et al. A new animal model for human preeclampsia: ultra-low-dose endotoxin infusion in pregnant rats [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 1994, 171( 1): 158 – 64.
- [17] Ijomone O K, Shallie P D, Naicker T. N-nitro-L-arginine methyl model of pre-eclampsia elicits differential IBA1 and EAAT1 expressions in brain [J]. *J Chem Neuroanat*, 2019, 100: 101660.

## Establishing a rat model of preeclampsia in early pregnancy and observing its behavior and cognitive effects on the offspring

Ma Yantuanjin<sup>1 2 3</sup>, Zhang Yuhang<sup>1 2 3</sup>, He Qiuyue<sup>1 2 3</sup>, Xu Tong<sup>1 2 3</sup>,

Huang Wei<sup>1 2 3</sup>, Su Hong<sup>4</sup>, Yang Yuling<sup>5</sup>, He Jianping<sup>6</sup>, Qian Yuan<sup>1 2 3 4 6</sup>

(<sup>1</sup>Yunnan Key Laboratory of Laboratory Medicine, Kunming 650032; <sup>2</sup>Yunnan Medical Laboratory Clinical Medical Research Center, Kunming 650032; <sup>3</sup>Dept of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032; <sup>4</sup>Reproductive Genetics Center of Pu'er People's Hospital, Pu'er 665000; <sup>5</sup>Dept of Basic Medicine, Kunming Medical University Kunming 650500; <sup>6</sup>Kunming Maternal and Child Health Hospital National Clinical Medical Research Center for Maternity Diseases, Yunnan Joint Key Laboratory, Kunming 650032)

**Abstract Objective** To establish a rat model of preeclampsia ( PE) in early pregnancy and to observe the changes in phenotype, pregnancy outcome and cognitive ability of offspring. **Methods** The pregnant rats were randomly divided into model group and control group. Ultra-low dose lipopolysaccharide ( LPS) ( 0.5  $\mu$ g/kg) and an equal volume of normal saline were injected into the tail vein of pregnant rats on the fifth day of pregnancy. The levels of blood pressure, 12-hour urinary protein, peripheral blood coagulation factors and placental cytokines in the two

网络出版时间: 2023-03-31 16:32:21 网络出版地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1065.r.20230331.1334.001.html>

## 异甘草素对大鼠肝纤维化的治疗作用及其机制

张 畦<sup>1</sup>, 安祯祥<sup>1,2</sup>, 何远利<sup>3</sup>

**摘要** 目的 探讨异甘草素 (ISL) 对肝纤维化 (HF) 的治疗作用及其机制。方法 将 45 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、秋水仙碱组 (阳性对照 0.1 mg/kg)、ISL 高、低剂量组 (ISL 40、10 mg/kg)。除正常组外,其余各组采用 50% 四氯化碳 (CCl<sub>4</sub>) 橄榄油溶液 (1.5 ml/kg) 腹腔注射建立 HF 模型,每周 2 次,持续 8 周。造模结束后各组大鼠按照每天 10 ml/kg 灌胃相应药物,共 4 周。末次给药后,测定大鼠血清中丙氨酸氨基转移酶 (ALT)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 含量;计算肝脏指数;HE 及 Masson 染色观察肝组织病理变化;实时荧光定量 PCR 检测低氧诱导因子-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) 和血管内皮生长因子 (VEGF) 的 mRNA 表达水平;免疫组化、Western blot 检测肝组织中 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 蛋白的表达情况。

**结果** 与正常组相比:模型组大鼠血清中 ALT、AST 含量上升 ( $P < 0.01$ ),肝脏指数升高 ( $P < 0.01$ ),大鼠纤维组织增生胶原容积分数增加 ( $P < 0.01$ ),肝组织内 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF mRNA 表达水平上升 ( $P < 0.01$ );免疫组化及 Western blot 检测均表明模型组 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 蛋白表达水平上升 ( $P < 0.01$ )。与模型组相比:ISL 高、低剂量组血清中 ALT、AST 水平降低 ( $P < 0.01$ ),肝脏指数下降 ( $P < 0.01$ ),纤维化组织增生减轻,胶原容积分数下降 ( $P < 0.05$ ),HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 基因表达水平下调 ( $P < 0.01$ );免疫组化检测表明 ISL 高、低剂量组 HIF-1 $\alpha$  蛋白水平降低 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ),VEGF 蛋白表达水平降低 ( $P < 0.01$ );Western blot 检测表明 ISL 高剂量组 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 蛋白表达水平降低 ( $P < 0.05$ )。结论 ISL 对 CCl<sub>4</sub> 诱导 HF 模型大鼠有显著的治疗效果,其作用机制可能与调节 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 蛋白表达水平有关。

**关键词** 肝纤维化;低氧诱导因子-1 $\alpha$ ;血管内皮生长因子;异甘草素

中图分类号 R 256.42

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2023)04-0649-06  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.04.021

2023-02-22 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:82160893、81760865);国家中医药管理局第五批全国中医临床优秀人才研修项目(编号:国中医药人教函(2022)1号)

作者单位:<sup>1</sup> 贵州中医药大学第一临床医学院,贵阳 550002  
<sup>2</sup> 贵州中医药大学第一附属医院<sup>2</sup> 消化内科、<sup>3</sup> 老年病科,贵阳 550001

作者简介:张 畦,女,硕士研究生;  
安祯祥,男,主任医师,教授,博士生导师,责任作者,E-mail: 407206115@qq.com

肝纤维化 (hepatic fibrosis, HF) 是指肝脏受多种致病因素的影响,引起肝组织损伤伴纤维结缔组织

groups were measured. Furthermore, placental pathology, pregnancy outcomes, and cognitive abilities of offspring were observed. **Results** Blood pressure and urinary protein levels of model group were significantly higher than those of control group levels. Compared with the control group, the levels of platelet and antithrombin III (AT III) in the peripheral blood of pregnant rats in the model group were lower than those in the control group, while D-dimer was higher than that in the control group, the weight of the fetus and placenta in the model group decreased ( $P < 0.001$ ), the expression levels of interleukin (IL)-6, tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interferon gamma (INF- $\gamma$ ) in peripheral blood increased, while the expression level of transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) decreased ( $P < 0.001$ ). The water maze test showed that the latency of the offspring of the model group to the platform was longer than that of the control group ( $P < 0.05$ ), while the frequency of crossing the platform quadrant and the time of staying in the platform quadrant of the model group were lower than those of the control group ( $P < 0.05$ ). HE and PAS staining showed that there were infiltration of inflammatory cells in the basal layer of placenta, obvious decrease of blood vessels in labyrinthine area, slight edema of renal interstitium and degeneration of local renal tubular epithelial cells in the model group, while there were no above pathological changes in placenta and kidney in the control group. **Conclusion** A single injection of LPS in early pregnancy can successfully induce PE-related symptoms and adverse pregnancy outcomes such as fetal growth restriction and lead to the decline of cognitive ability of offspring.

**Key words** preeclampsia; lipopolysaccharide; rat; inflammatory reaction; cognitive ability