

网络出版时间:2024-10-21 11:07:26 网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/34.1065.R.20241018.0937.006

右美托咪定通过提高 GDNF 释放发挥抗缺血性卒中损伤作用

杨海燕,马晓梅,吴芳,王慧

(宁夏医科大学总医院麻醉与围术期医学科,银川 750004)

摘要 **目的** 探究右美托咪定(Dex)发挥抗缺血性卒中作用时对胶质细胞源性神经营养因子(GDNF)释放的影响。**方法** 将SD大鼠随机分为假手术组(Sham组),假手术+右美托咪定组(Sham+Dex组),缺血性卒中组(IS组),缺血性卒中+右美托咪定组(IS+Dex组),缺血性卒中+右美托咪定组+anti-GDNF(IS+Dex+anti-GDNF组),每组15只。采用Longa线栓法构建IS模型,24h后各组取大鼠开展神经功能评分,将大鼠处死,取脑脊液和外周血检测GDNF含量,取全脑进行氯化三苯基四氮唑(TTC)染色评估脑缺血梗死区域面积,取全脑组织包埋、切片,通过免疫荧光检测星形胶质细胞活化,取缺血核心区组织通过qRT-PCR检测星形胶质细胞活化表型。**结果** 与Sham组相比,Sham+Dex组各项指标没有明显变化,IS组大鼠神经功能评分增加($P < 0.05$),出现了明显的局部梗死区域,外周与中枢系统中GDNF释放增加($P < 0.05$),且IS造成小胶质细胞活化,神经毒性和神经保护性表型基因表达都明显升高($P < 0.05$);与IS组相比,IS+Dex组大鼠神经功能评分明显减少($P < 0.05$),局部梗死区域面积明显降低($P < 0.05$),且GDNF释放进一步增加($P < 0.05$),神经毒性星形胶质细胞表型基因表达明显减少($P < 0.05$),而神经保护性星形胶质细胞表型基因表达进一步升高($P < 0.05$)。然而,与IS+Dex组相比,anti-GDNF抗体的干预明显逆转了Dex的治疗作用。**结论** Dex通过抑制神经毒性星形胶质细胞表型,提高神经保护性星形胶质细胞表型占比,进一步促进GDNF释放,发挥抗IS作用。

关键词 右美托咪定;星形胶质细胞;极化;GDNF;缺血性卒中

中图分类号 R 743.33

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2024)10-1729-08

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.10.006

缺血性卒中(ischemia stroke, IS)属于中国常见的心脑血管疾病,具有较高的发病率与病死率^[1]。右美托咪定(dexmedetomidine, Dex)作为一类高选择性 α_2 受体激动剂,能够通过一些信号传导,发挥中枢神经系统(central nervous system, CNS)保护作用,减轻围术期脑组织缺血、缺氧损伤,降低继发性损伤风险^[2]。近期一份报告^[3]表明,将Dex应用于体外IS模型可减少神经元丢失,激活细胞存活途径,防止缺血诱导的神经突变性,并促进突触发生。然而,多数Dex研究主要集中于对神经元^[4]或小胶质细胞^[5]的影响,忽视了脑组织中存在的其他细胞群作用。缺血性卒中发展过程中,炎症反应会引发星形胶质细胞活化,且众多CNS疾病也有显示,神经炎症会诱发星形胶质细胞释放胶质细胞源性神经营养因子(glial-derived neurotrophic factor, GDNF)^[6],而已有研究^[7]报道Dex可以通过经典的PI3K/Akt/NF- κ B信号通路调控神经炎症反应。综

合这些报道提示GDNF可能在Dex发挥的抗IS治疗作用中发挥重要角色。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要试剂及抗体 右美托咪定(纯度 $\geq 99.0\%$,美国MCE公司,批号:HY-12719-97817); anti-GDNF抗体(纯度 $\geq 99.0\%$, $0.4 \mu\text{g/ml}$,美国Santa Cruz公司);缺血性卒中线栓(规格:L3200,广州佳灵生物公司);红四氮唑染色试剂盒(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC)(北京索莱宝科技有限公司);anti-rat GFAP、anti-rat C3d抗体(英国Abcam公司);cy3 goat anti-rabbit IgG(H+L)、alexa flour 488 goat anti-mouse IgG(H+L)二抗(美国Biolegend公司);GDNF试剂盒(杭州联科公司)。

1.1.2 主要仪器设备 荧光定量PCR仪(QS3)、荧光显微镜(EVOS M5000)、多功能酶标仪(Fc)(美国Thermo公司);冷冻切片机(3000A)(深圳达科为公司)。

1.2 方法

1.2.1 大鼠来源与分组 SPF级健康的雄性SD大鼠,由新疆医科大学动物实验中心提供。大鼠6周

2024-07-08 接收

基金项目:宁夏自然科学基金项目(编号:2021AAC03331)

作者简介:杨海燕,女,主治医师;

王慧,女,副主任医师,通信作者, E-mail: Annahuihui88@outlook.com

龄, 体质量 180 ~ 200 g, 共 75 只。入组后饲养于 SPF 级动物饲养室, 调节环境温度 (24 ± 2) °C, 湿度 (50 ± 10) %。大鼠饲养 1 周后, 按数字随机法分为假手术组 (Sham 组), 假手术 + 右美托咪定组 (Sham + Dex 组), 缺血性卒中组 (IS 组), 缺血性卒中 + 右美托咪定组 (IS + Dex 组), 缺血性卒中 + 右美托咪定组 + anti-GDNF (IS + Dex + anti-GDNF 组), 每组 15 只。动物实验伦理批号: 2020775。

1.2.2 缺血性卒中模型构建与给药 参考 Longa 线栓法构建可逆性缺血性卒中模型^[8]。将大鼠以戊巴比妥钠 (30 mg/kg) 麻醉, 仰卧位固定在手术台上。在颈部正中右侧 5 mm 处切口, 沿肌肉向下游离, 暴露出大鼠左侧颈外动脉、颈内动脉及颈总动脉。将颈总动脉封闭, 颈外动脉结扎, 沿颈外动脉插入硅涂层长丝线栓, 穿过颈内动脉到达大脑中动脉, 如图 1 所示。阻塞血流 120 min 后拔出线栓, 打开颈总动脉, 结扎颈外动脉。伤口抗感染处理, 缝合。IS 组与 IS + Dex 组、IS + Dex + anti-GDNF 组大鼠缺血期间, 分别尾静脉注射生理盐水或 Dex 溶液 (50 μ g/kg) 治疗^[9]。IS + Dex + anti-GDNF 组大鼠提前 3 d, 连续每天侧脑室注射 anti-GDNF 试剂溶液 (2 mg/ml, 5 μ l/只)^[10], 其他各组连续每天侧脑室注射 5 μ l 生理盐水。Sham 组与 Sham + Dex 组大鼠麻醉后分离出颈动脉, 但不插入线栓, 麻醉期间分别注射生理盐水与 Dex。

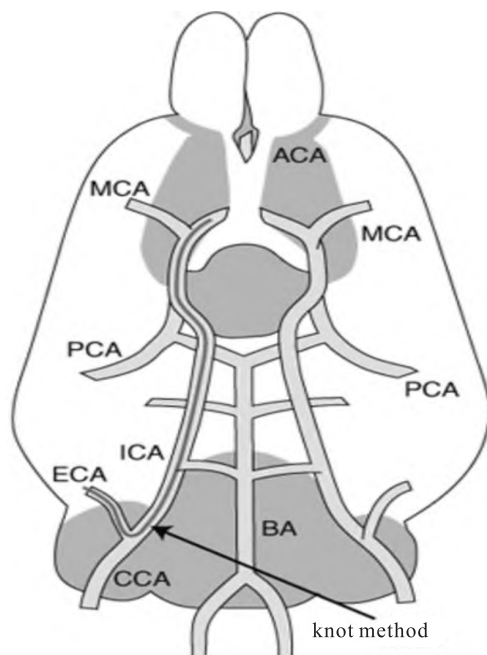


图 1 缺血性卒中模型构建示意图

Fig. 1 Schematic diagram of ischemic stroke model

1.2.3 神经功能评分 模型构建后 24 h, 参考改良的神经损伤严重程度评分标准^[8]开展神经功能评估。测试分为多项, 包括运动功能检测 (0 ~ 6 分)、感觉功能检测 (0 ~ 2 分)、平衡木检测 (0 ~ 6 分)、异常反射检测 (0 ~ 4 分)。所有评分与大鼠神经功能损伤程度呈正相关, 最终加权各项评分结果。其中 0 分代表正常, 分数增加表示神经损伤加剧, 最高分 18 分, 代表死亡。

1.2.4 脑缺血梗死区域染色 将大鼠麻醉后断头处死, 取完整脑组织, 冷冻后固定在切片机上, 沿冠状切片, 厚度约 1 cm。将冠状切片浸没在 TTC 染色试剂中, 37 °C 避光孵育 30 min, 期间每 5 min 翻动一次切片。待染色均匀, 将切片按顺序排列, 拍摄并保存。

1.2.5 ELISA 试剂盒检测 GDNF 因子含量 将大鼠处死, 抽取脑脊液作为样品。收集外周全血, 离心后获得血清作为样品。取预包被 anti-GDNF 抗体的 ELISA 试剂板, 每个样品孔中分别加入脑脊液样品、血清样品或标准品稀释液, 37 °C 静置孵育 2 h。清洗各个样品孔, 加入 anti-GDNF 一抗稀释液 (1 : 1 000), 37 °C 静置孵育 1 h。清洗各个样品孔, 加入 HRP 标记二抗稀释液 (1 : 1 000), 37 °C 静置孵育 1 h。清洗各个样品孔, 滴加反应底物, 5 min 后滴加反应终止液。450 nm 处扫描获得各个样品孔吸光度值, 根据标准品绘制浓度 - 吸光度值曲线, 根据标准曲线计算获得各个样品中 GDNF 含量。

1.2.6 免疫荧光检测 将大鼠处死, 使用生理盐水心脏灌流, 冲尽血液。取出完整脑组织, 放入 4% 多聚甲醛中固定过夜。使用梯度浓度乙醇脱水, 放入冷冻液中包埋, 沿冠状切片, 厚度约 8 μ m, 滴加山羊血清封闭。切片清洗后分别滴加 rabbit anti-rat GDNF 抗体稀释液 (1 : 100) 与 mouse anti-rat C3d 抗体稀释液 (1 : 100), 4 °C 冰箱中孵育过夜。清洗样品表面, 分别滴加 cy3 goat anti-rabbit IgG (H + L) 与 alexa flour 488 goat anti-mouse IgG (H + L) 二抗稀释液, 湿盒中低温避光过夜。PBST 清洗样品表面, 滴加 Hoechst 染料稀释液, 37 °C 孵育 5 min。通过荧光显微镜下观察各个激发光下荧光发光并拍照。

1.2.7 qRT-PCR 实验 将大鼠处死, 取缺血核心区组织, 加入 1.5 ml 无酶离心管中, 通过 TRIzol 试剂分离获得总 RNA, 检测各个样品中 RNA 纯度、浓度。根据逆转录试剂盒说明书将 RNA 逆转录获得环状 DNA。以环状 DNA 为模板开始 qPCR, 设置反应体系为 2 μ l cDNA 样品、5 μ l Master Mix、1 μ l 上下游引物, 补充 ddH₂O 至 10 μ l。设置反应条件为

95 °C/30 s, 95 °C/10 min, 40 个变性循环, 95 °C /2 s, 60 °C /20 s, 70 °C/10 s。结果中目的基因以 GAPDH 基因为内参, 用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算目的基因相对表达量。各个基因引物由广州锐博公司设计、提供, 具体序列见表 1。

表 1 基因引物序列

Tab. 1 Sequences of the genes

Target gene	Primer sequences(5'-3')
GAPDH	F:AGCTCGGTGTAACGGATTTC R:TGTAGACCATGTAGTTGAGGTCA
LIGP1	F:GGGCAATAGCTCATTGCTA R:ACCTCGAAGACATCCCCTTT
H2-T23	F:GGACCGCAATGACATAGC R:GCACCTCAGGCTGACTTCAT
PSMB8	F:CAGTCTGAAGAGGCCTACG R:CACITTCACCCAACCGTCTT
H2-D1	F:TCCGAGATTGTAAGCGTGAAGA R:ACAGGGCACTGCAGGGATAG
S100a10	F:CCTCTGGCTGTGGACAAAAT R:CTGCTCACAAGAAGCAGTGG
CD109	F:CACAGTCGGGAGCCCTAAAG R:GCAGCGATTTCGATGTCCAC
TGM1	F:CTGTTGGTCCCCTCCAAA R:GGACCTTCCATTGTGCCTGG

1.3 统计学处理 该研究所有结果均采用 Graph-Pad Prism 7.0 软件进行统计与分析, 数据均表述为 $\bar{x} \pm s$ 。定量资料以 Levene 检验验证方差齐性; 在满足正态分布或方差齐的条件下, 对各组数据比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-*t* 法检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 Dex 的抗缺血性卒中作用验证 Sham 组与 Sham + Dex 组大鼠全部存活, 脑组织中除了边缘部分染色不均, 未出现明显的梗死区域, 神经功能评分正常; 与 Sham 组相比, IS 组大鼠出现 3 只死亡, 存活大鼠脑组织中均出现明显梗死区域, 神经功能评分增加 ($P < 0.05$); 与 IS 组相比, IS + Dex 组大鼠仅有 1 只死亡, 脑组织中梗死区域面积占比明显减少 ($P < 0.05$), 神经功能评分降低 ($P < 0.05$); 与 IS + Dex 组相比, IS + Dex + anti-GDNF 组大鼠出现 1 只死亡, 剩余大鼠脑组织中梗死区域面积占比明显增加 ($P < 0.05$), 神经功能评分升高 ($P < 0.05$)。见图 2、3。

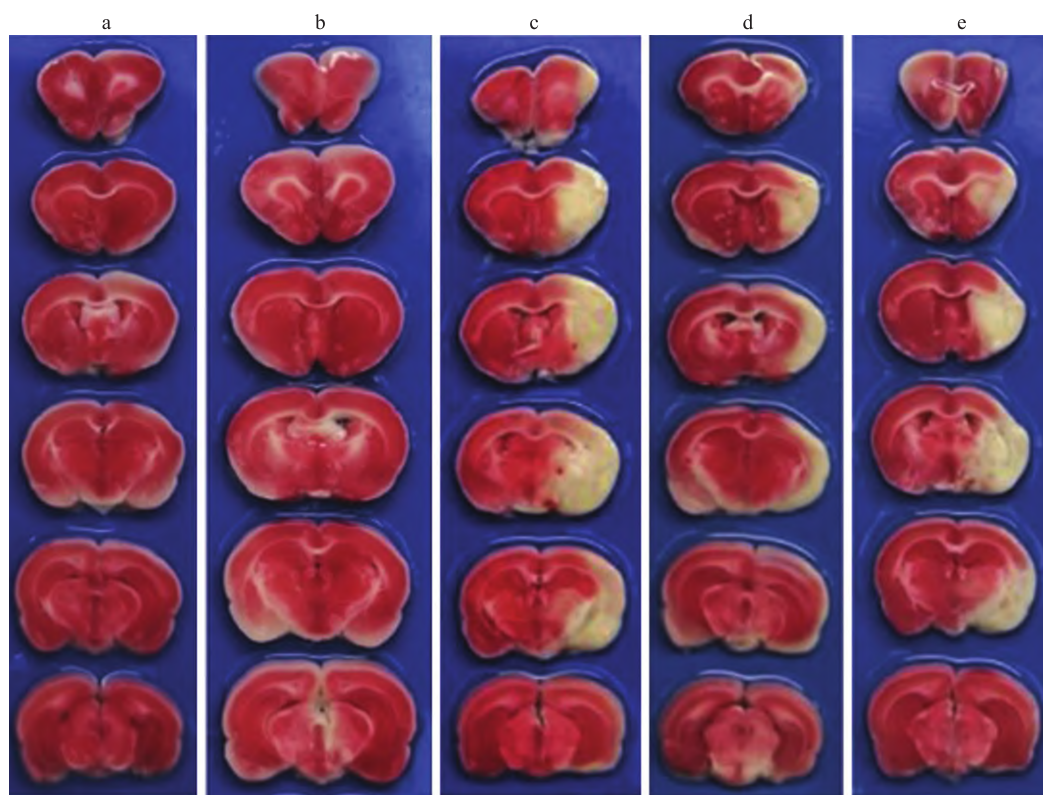


图 2 各组大鼠脑组织梗死区染色

Fig. 2 The staining of the infarct area in brain of rats in each group

a: Sham group; b: Sham + Dex group; c: IS group; d: IS + Dex group; e: IS + Dex + anti-GDNF group.

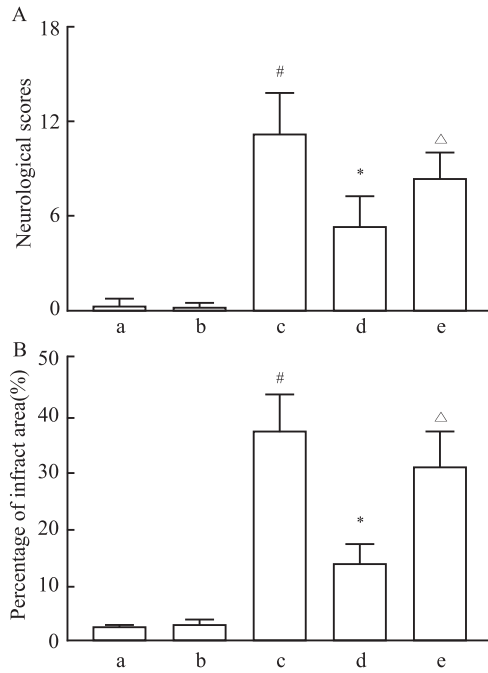


图3 各组大鼠神经功能评分 ($n=12$) 与梗死区面积占比 ($n=4$)
 Fig.3 Neurological score ($n=12$) and proportion of infarct area ($n=4$) of rats in each group

A: Neurological score; B: Proportion of infarct area; a: Sham group; b: Sham + Dex group; c: IS group; d: IS + Dex group; e: IS + Dex + anti-GDNF group; # $P < 0.05$ vs Sham group; * $P < 0.05$ vs IS group; Δ $P < 0.05$ vs IS + Dex group.

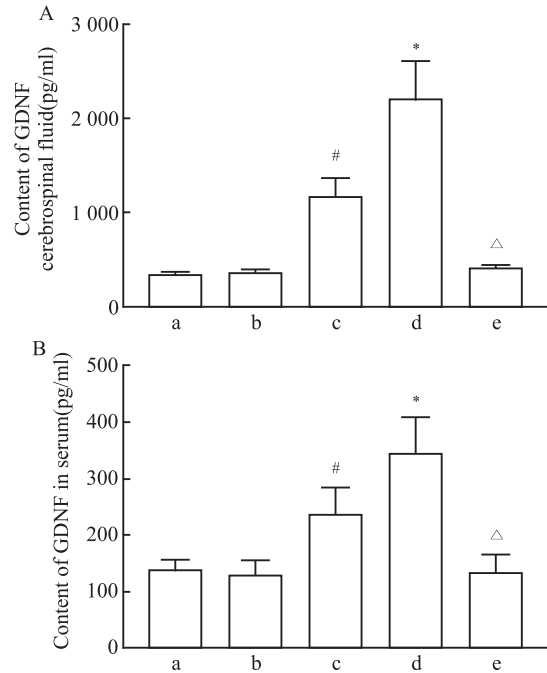


图4 各组大鼠脑脊液与血清中 GDNF 含量 ($n=6$)
 Fig.4 Content of GDNF in cerebrospinal fluid and serum of rats in each group ($n=6$)

A: Content of GDNF in cerebrospinal fluid; B: Content of GDNF in serum; a: Sham group; b: Sham + Dex group; c: IS group; d: IS + Dex group; e: IS + Dex + anti-GDNF group; # $P < 0.05$ vs Sham group; * $P < 0.05$ vs IS group; Δ $P < 0.05$ vs IS + Dex group.

2.2 脑脊液和血清中 GDNF 含量变化 与 Sham 组相比, Sham + Dex 组大鼠血清中 GDNF 含量没有明显变化, IS 组大鼠血清中 GDNF 含量明显增加 ($P < 0.05$); 与 IS 组相比, IS + Dex 组大鼠血清中 GDNF 含量明显增加 ($P < 0.05$); 与 IS + Dex 组相比, IS + Dex + anti-GDNF 组大鼠血清中 GDNF 含量明显减少 ($P < 0.05$)。见图 4。

2.3 GFAP 与 C3 基因在 Dex 治疗缺血性卒中时的变化 与 Sham 组相比, Sham + Dex 组大鼠脑组织缺血核心区 GFAP 与 C3d 表达没有明显变化, IS 组大鼠脑组织缺血核心区 GFAP 与 C3d 表达明显增加 ($P < 0.05$); 与 IS 组相比, IS + Dex 组大鼠脑组织缺血核心区 GFAP 与 C3d 表达明显减少 ($P < 0.05$); 与 IS + Dex 组相比, IS + Dex + anti-GDNF 组大鼠脑组织缺血核心区 GFAP 与 C3d 表达明显增加 ($P < 0.05$)。见图 5、6。

2.4 星形胶质细胞活化基因在右美托咪定治疗缺血性卒中时的变化 与 Sham 组相比, Sham + Dex 组大鼠脑组织缺血核心区 LIGP1、H2-T23、PSMB38 与 H2-D1 基因 mRNA 表达没有明显变化, IS 组明显

增加 ($P < 0.05$), 即神经毒性反应性星形胶质细胞被激活; 与 IS 组相比, IS + Dex 组大鼠脑组织缺血核心区 LIGP1、H2-T23、PSMB38 与 H2-D1 基因 mRNA 表达明显减少 ($P < 0.05$); 此外, 与 IS + Dex 组相比, IS + Dex + anti-GDNF 组各个基因 mRNA 表达明显增加 ($P < 0.05$)。

与 Sham 组相比, Sham + Dex 组大鼠脑组织缺血核心区 S100α10、CD109 与 TGM1 基因 mRNA 表达没有明显变化, 但 IS 组明显增加 ($P < 0.05$), 即神经保护性星形胶质细胞表型明显增加; 此外, 与 IS 组相比, IS + Dex 组大鼠脑组织缺血核心区 S100α10、CD109 与 TGM1 基因 mRNA 表达进一步升高 ($P < 0.05$), 提示神经保护性星形胶质细胞在 Dex 发挥抗 IS 作用中扮演重要角色; 然而, 与 IS + Dex 组相比, IS + Dex + anti-GDNF 组各个基因 S100α10、CD109 与 TGM1 基因表达明显减少 ($P < 0.05$)。见图 7、8。

3 讨论

该研究结果显示, Sham 组与 Sham + Dex 组大

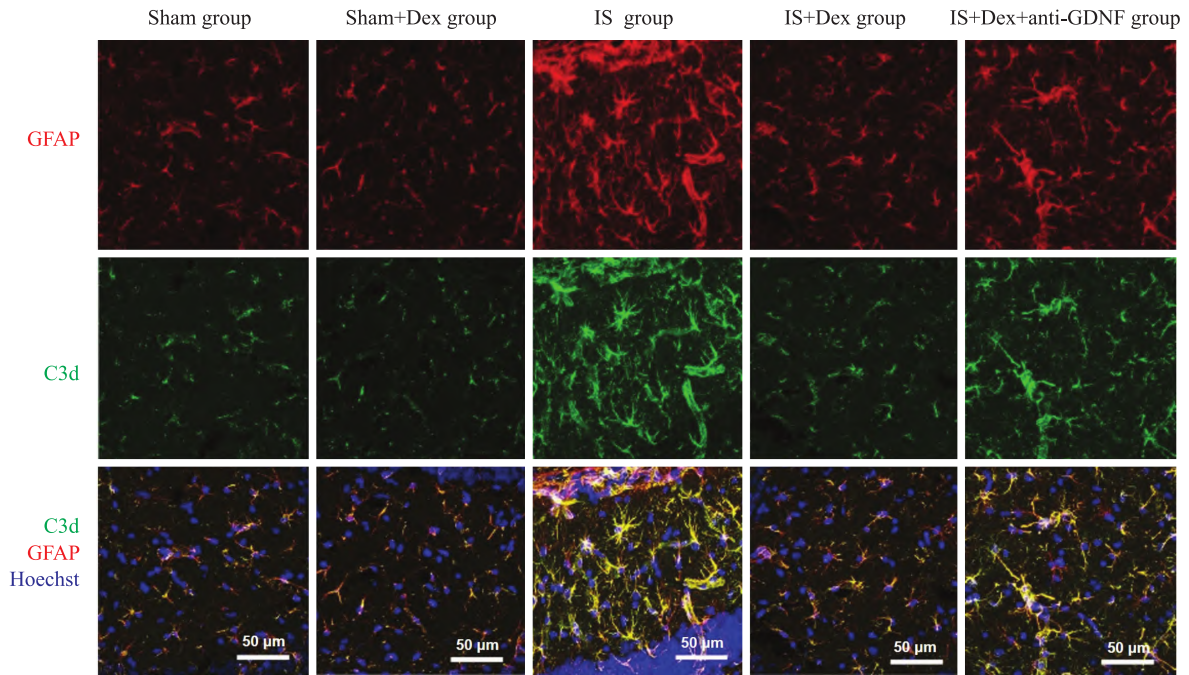


图5 各组大鼠脑组织中 GFAP 与 C3d 蛋白免疫荧光染色图 ×200

Fig. 5 Immunofluorescence staining of GFAP and C3d proteins in brain of rats in each group ×200

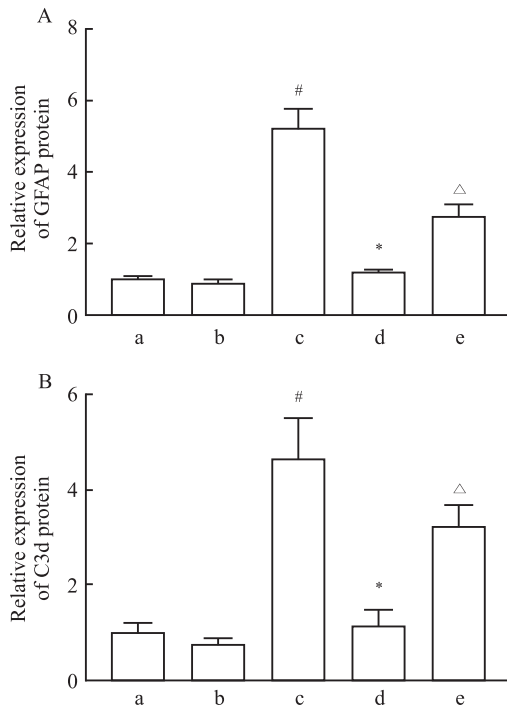


图6 各组大鼠脑组织中 GFAP 与 C3d 蛋白表达量统计 (n=4)

Fig. 6 Quantitation of GFAP and C3d protein in brain of rats in each group (n=4)

A: Relative expression of GFAP protein; B: Relative expression of C3d protein; a: Sham group; b: Sham + Dex group; c: IS group; d: IS + Dex group; e: IS + Dex + anti-GDNF group; [#]P < 0.05 vs Sham group; ^{*}P < 0.05 vs IS group; [△]P < 0.05 vs IS + Dex group.

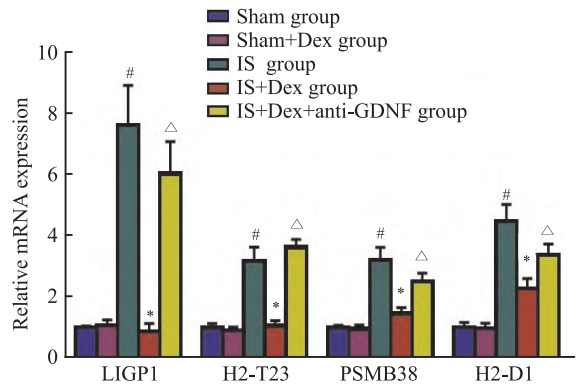


图7 各组大鼠脑组织中神经毒性星形胶质细胞活化标记基因 mRNA 相对表达 (n=4)

Fig. 7 Relative mRNA expression of neurotoxic astrocyte activation markers in brain of rats in each group (n=4)

[#]P < 0.05 vs Sham group; ^{*}P < 0.05 vs IS group; [△]P < 0.05 vs IS + Dex group.

鼠虽然开展了脑室注射操作与颈动脉血管的分离,但未栓塞血管,神经功能未见影响。IS 模型大鼠出现神经功能障碍与局灶性缺血梗死区域。与临床上患者运动功能损伤、脑组织局部出现缺血病灶情况^[11-12]一致。因此,该研究缺血性卒中模型构建成功。

有研究^[6]显示,星形胶质细胞对维持神经血管

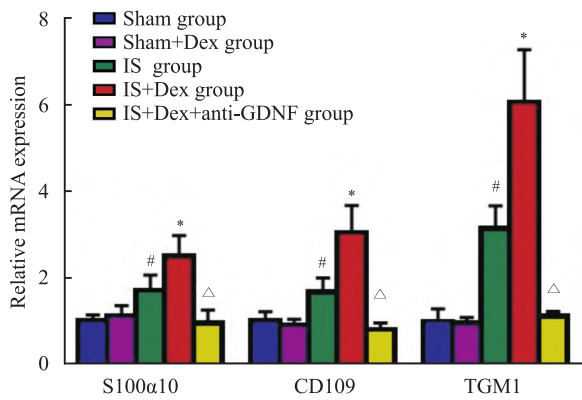


图8 各组大鼠脑组织中神经保护性星形胶质细胞活化标记基因 mRNA 相对表达 (n=4)

Fig.8 Relative mRNA expression of protective astrocyte activation markers in brain of rats in each group (n=4)

$P < 0.05$ vs Sham group; * $P < 0.05$ vs IS group; $\Delta P < 0.05$ vs IS + Dex group.

单元结构具有多重稳定功能。其机制涉及代谢支持、预防神经元死亡、控制氧化应激等。星形胶质细胞已成为受缺血影响组织中诱导神经保护和神经修复作用的候选细胞。该研究结果显示,IS 模型大鼠缺血核心区存在明显的固有免疫反应。IS 明显增加了星形胶质细胞活化标记 GFAP 与 C3d 蛋白表达,且神经毒性反应性星形胶质细胞被激活。然而,Dex 治疗不仅降低了 GFAP 与 C3d 蛋白表达,而且 LIG1、H2-T23、PSMB38 与 H2-D1 基因含量明显降低,提示 Dex 对神经毒性星形胶质细胞具有明显抑制作用。

与小胶质细胞类似,星形胶质细胞不仅存在神经毒性表型,而且存在神经保护性表型,两种表型之间可以相互转化,与 CNS 疾病进程中神经保护性胶质细胞适应性活化现象一致^[13]。IS 组大鼠脑组织中神经保护性星形胶质细胞表型基因 S100α10、CD109 与 TGM1 表达升高。然而,IS 模型主要是机械损伤诱导,血脑屏障的破坏造成外周炎症的涌入,在 CNS 中逐级放大,神经毒性胶质细胞表型占主要^[14]。因此,神经毒性掩盖了神经保护性作用,造成局部梗死。此外,该研究结果显示,Dex 不仅明显抑制了神经毒性表型基因表达,而且促进了神经保护性星形胶质细胞表型基因表达进一步升高。然而,该研究表明正常生理情况下,Dex 并不会活化正常大鼠脑组织中星形胶质细胞,且对神经保护性星形胶质细胞表型也没有明显影响。

GDNF 主要在神经元发育过程中表达、分泌。健康成人脑中,GDNF 分泌水平较低,且仅局限于

特定区域^[15]。众多 CNS 疾病模型中,GDNF 表达、分泌增加往往是由神经炎症反应诱导,这种与疾病相关的 GDNF 过度表达往往会表现出保护性作用^[16-17]。在帕金森模型中,CNS 保护药物主要是通过诱导黑质纹状体中星形胶质细胞过量释放 GDNF 实现,且该模型中显示,敲除星形胶质细胞中 GDNF 基因会逆转该药物的神经保护作用^[18]。该研究结果显示,Sham 组脑脊液和外周血液中 GDNF 表达较低,与 Sham 组相比,IS 组 GDNF 表达明显升高,Dex 治疗进一步提高了 GDNF 释放,该结果与神经保护性星形胶质细胞表型变化结果一致。因此,该研究推测 GDNF 主要由神经保护性星形胶质细胞释放。此外,IS + Dex + Anti-GDNF 组结果也表明,Anti-GDNF 不仅中和了外周和脑脊液中 GDNF,也逆转了 Dex 对 IS 模型大鼠损伤的治疗作用。与此同时,Anti-GDNF 还负反馈调控了 Dex 对星形胶质细胞的影响,导致神经保护性星形胶质细胞表型减少,而神经毒性星形胶质细胞表型增加,这进一步反映了 GDNF 与缺血性卒中损伤明显相关。

综上所述,IS 模型会激活星形胶质细胞,促进 GDNF 释放,但此时星形胶质细胞主要发挥神经毒性作用,造成缺血局部梗死。然而该研究也存在一定局限性,神经元再生往往伴随着神经血管单元的重构,但该研究关于 GDNF 在血管神经元发育过程中血管重构方面的协同影响却未有探索。Dex 通过抑制神经毒性星形胶质细胞表型,提高神经保护性星形胶质细胞表型占比,进一步促进 GDNF 释放,发挥抗缺血性卒中作用。

参考文献

- [1] 王静茹,姜永根,吴毅凌,等. 不同年龄段生活方式对脑卒中影响的差异研究[J]. 中华疾病控制杂志, 2024, 28(1): 1-7. doi:10.16462/j.cnki.zhjbkz.2024.01.001.
- [1] Wang J R, Jiang Y G, Wu Y L, et al. Age-related differences in the role of lifestyle for stroke[J]. Chin J Dis Contr Prev, 2024, 28(1): 1-7. doi:10.16462/j.cnki.zhjbkz.2024.01.001.
- [2] Zhao Q, Yu S, Ling Y, et al. The protective effects of dexmedetomidine against hypoxia/reoxygenation-induced inflammatory injury and permeability in brain endothelial cells mediated by sigma-1 receptor[J]. ACS Chem Neurosci, 2021, 12(11): 1940-7. doi:10.1021/acscchemneuro.1c00032.
- [3] Mei B, Li J, Zuo Z. Dexmedetomidine attenuates sepsis-associated inflammation and encephalopathy via central α2A adrenoceptor[J]. Brain Behav Immun, 2021, 91: 296-314. doi:10.1016/j.bbi.2020.10.008.
- [4] Liu W, Zhou X, Wang Y, et al. Dexmedetomidine prevents desflurane-induced motor neuron death through NF-KappaB pathway[J]. Cell Biochem Funct, 2020, 38(1): 21-7. doi:10.1002/

- cbf. 3439.
- [5] Bao Y, Zhu Y, He G, et al. Dexmedetomidine attenuates neuroinflammation in LPS-stimulated BV2 microglia cells through up-regulation of miR-340[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2019, 13: 3465 - 75. doi:10.2147/DDDT.S210511.
- [6] Wang M, Han X, Zha W, et al. GDNF promotes astrocyte abnormal proliferation and migration through the GFR α 1/RET/MAPK/pCREB/LOXL2 signaling axis [J]. *Mol Neurobiol*, 2022, 59(10): 6321 - 40. doi:10.1007/s12035-022-02978-1.
- [7] Li Y, Ding Q, Gao J, et al. Novel mechanisms underlying inhibition of inflammation-induced angiogenesis by dexamethasone and gentamicin *via* PI3K/AKT/NF- κ B/VEGF pathways in acute radiation proctitis[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 14116. doi:10.1038/s41598-022-17981-8.
- [8] 朱东亚. 卒中治疗药物或治疗方法临床前评价的动物模型[J]. *中国卒中杂志*, 2017, 12(8): 735 - 41. doi: 10.3969/j.issn.1673-5765.2017.08.018.
- [8] Zhu D Y. Animal model for preclinical evaluation of stroke drugs or treatment methods[J]. *Chin J Stroke*, 2017, 12(8): 735 - 41. doi: 10.3969/j.issn.1673-5765.2017.08.018.
- [9] Fang H, Li H F, Yan J Y, et al. Dexmedetomidine-up-regulated microRNA-381 exerts anti-inflammatory effects in rats with cerebral ischaemic injury *via* the transcriptional factor IRF4[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(4): 2098 - 109. doi:10.1111/jcmm.16153.
- [10] Gava-Junior G, Ferreira S A, Roque C, et al. High-frequency repetitive magnetic stimulation rescues ischemia-injured neurons through modulation of glial-derived neurotrophic factor present in the astrocyte's secretome[J]. *J Neurochem*, 2023, 164(6): 813 - 28. doi:10.1111/jnc.15740.
- [11] Luo Y J, Zhu H, Zhang W J, et al. Plain computed tomography with spectral imaging findings of early cerebral ischemia [J]. *J Craniofac Surg*, 2020, 31(1): 125 - 9. doi:10.1097/SCS.0000000000005938.
- [12] 张 艳, 周 霞, 王幼萌, 等. 急性缺血性脑卒中机械取栓术后出血转化及其对预后的影响[J]. *安徽医科大学学报*, 2022, 57(6): 987 - 90. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.06.027.
- [12] Zhang Y, Zhou X, Wang Y M, et al. Hemorrhagic transformation after mechanical thrombectomy for acute ischemic stroke and its effect on prognosis [J]. *Acta Univ Med Anhui*, 2022, 57(6): 987 - 90. doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2022.06.027.
- [13] Clarke P, Zhuang Y, Berens H M, et al. Interferon beta contributes to astrocyte activation in the brain following reovirus infection [J]. *J Virol*, 2019, 93(10): e02027 - 18. doi:10.1128/JVI.02027-18.
- [14] Fu C, Wu Y, Liu S, et al. Rehmannioside A improves cognitive impairment and alleviates ferroptosis *via* activating PI3K/AKT/Nrf2 and SLC7A11/GPX4 signaling pathway after ischemia[J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 289: 115021. doi:10.1016/j.jep.2022.115021.
- [15] Duarte Azevedo M, Sander S, Tenenbaum L. GDNF, A neuron-derived factor upregulated in glial cells during disease[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(2): 456. doi:10.3390/jcm9020456.
- [16] Zhao Y Z, Jiang X, Lin Q, et al. Thermosensitive heparin-polyoxamer hydrogels enhance the effects of GDNF on neuronal circuit remodeling and neuroprotection after spinal cord injury [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2017, 105(10): 2816 - 29. doi:10.1002/jbm.a.36134.
- [17] Ding J, Wang J, Li Q Y, et al. Neuroprotection and CD131/GDNF/AKT pathway of carbamylated erythropoietin in hypoxic neurons[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(7): 5051 - 60. doi:10.1007/s12035-016-0022-0.
- [18] Patel D, Jana A, Roy A, et al. Cinnamon and its metabolite protect the nigrostriatum in a mouse model of Parkinson's disease *via* astrocytic GDNF[J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2019, 14(3): 503 - 18. doi:10.1007/s11481-019-09855-0.

Dexmedetomidine plays an anti-ischemic stroke role by increasing the release of GDNF

Yang Haiyan, Ma Xiaomei, Wu Fang, Wang Hui

(Dept of Anesthesiology and Perioperative Medicine, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004)

Abstract Objective To investigate the effect of dexmedetomidine (Dex) on the release of glial cell line-derived neurotrophic factor (GDNF) during the anti-ischemic stroke. **Methods** SD rats were randomly divided into sham group (Sham group), sham + dexmedetomidine group (Sham + Dex group), ischemic stroke group (IS group), ischemic stroke + dexmedetomidine group (IS + Dex group), ischemic stroke + dexmedetomidine group + anti-GDNF (IS + Dex + anti-GDNF group), with 15 rats in each group. IS model was established by Longa's methods. 24 hours later, the neurological scores were evaluated. Then, the rats were sacrificed and the cerebral spinal fluid, as well as the peripheral blood, were collected to detect the content of GDNF. In addition, TTC staining was used to evaluate the area of cerebral ischemic infarction, and immunofluorescence was applied to detect the activation of astrocytes. Furthermore, the activation phenotype of astrocytes was detected by qRT-PCR. **Results** Compared with Sham group, there were no significant changes in all indexes of rats in Sham + Dex group. In IS group, the

拮抗 P2X7 受体在减轻子痫抽搐大鼠海马损伤中的作用

李晓晶^{1,2}, 李晓兰^{1,2}¹ 安徽医科大学第一附属医院妇产科, 合肥 230022;² 国家卫生健康委配子及生殖道异常研究重点实验室, 合肥 230022)

摘要 目的 研究干预嘌呤能离子通道型受体7(P2X7)受体可减轻子痫抽搐海马损伤的作用机制。方法 SD 雌鼠28只按随机数字表法分为4组(每组n=7),将雌雄鼠进行2:1合笼,第2天阴道涂片镜下观察到精子细胞记为妊娠第0天(GD0),通过GD14尾静脉注射LPS、GD16~18连续腹腔注射PTZ的方式制备子痫抽搐孕鼠模型。于GD18腹腔注射PTZ后立即腹腔注射P2X7抑制剂(A-438079)制备抑制剂组。即分为:①正常妊娠组(P组);②类子痫抽搐组(LPS+PTZ组);③P2X7抑制剂组(LPS+PTZ+A-438079组);④类子痫对照组(LPS+PTZ+NS组)。根据Racine评分标准判断大鼠癫痫发作时等级以此评估各组孕鼠抽搐程度记录各期持续时间;Western blot检测孕鼠海马P2X7、NLRP3蛋白表达水平;ELISA测定孕鼠血清中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-1 β 、胎盘生长因子(PIGF)、可溶性fms样酪氨酸激酶1(sFlt-1)炎症因子表达情况。结果 LPS+PTZ组、LPS+PTZ+NS组大鼠与P组大鼠相比,抽搐行为学评分显著增高;LPS+PTZ组、LPS+PTZ+NS组大鼠与LPS+PTZ+A-438079组大鼠相比,1期癫痫发作潜伏期、5期癫痫发作潜伏期、1-4期癫痫发作持续时间减少;5期癫痫发作比率和5期癫痫发作持续时间均延长。Western blot结果显示,与LPS+PTZ组和LPS+PTZ+NS组相比,LPS+PTZ+A-438079组孕鼠海马P2X7、NLRP3表达升高。ELISA结果显示,与P组相比,LPS+PTZ组、LPS+PTZ+NS组孕鼠血清炎症因子标志物TNF- α 和IL-1 β ;先兆子痫标志物sFlt-1;PIGF升高,而给予P2X7受体抑制剂后,各项指标均有所降低。结论 干预P2X7受体可能通过降低类子痫抽搐孕鼠的全身炎症反应,减轻神经海马损伤,提高抽搐阈值,抑制子痫抽搐的发生。

关键词 P2X7受体;子痫抽搐;海马损伤;炎症;炎症因子**中图分类号** R 714.7**文献标志码** A **文章编号** 1000-1492(2024)10-1736-06

doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2024.10.007

2024-08-07 接收

基金项目:国家自然科学基金项目(编号:81801477)

作者简介:李晓晶,女,硕士研究生;

李晓兰,女,副教授,硕士生导师,通信作者,E-mail: xiaolanli201410@163.com

子痫是子痫前期基础上发生的强直阵挛性或局灶性癫痫发作(除外其他原因)的妊娠期高血压疾病。在全球发病率约1.6%~15.1%^[1]。该病的发病机制尚不明确,但目前有研究^[2]指出子痫患者明显的全身炎症可导致中枢神经系统局部炎症反应。

neurological score increased ($P < 0.05$), the local infarction area appeared, the release of GDNF in peripheral and central system increased ($P < 0.05$), and the microglia activation was induced by IS, and the expression of neurotoxic and neuroprotective phenotype genes increased significantly ($P < 0.05$). Compared with the IS group, the neurological function score of the rats in the IS + Dex group significantly decreased ($P < 0.05$), the local infarct area was significantly reduced ($P < 0.05$), and the release of GDNF further increased ($P < 0.05$). The expression of neurotoxic astrocyte phenotype genes significantly decreased ($P < 0.05$), while the expression of neuroprotective astrocyte phenotype genes further increased ($P < 0.05$). However, intervention with anti-GDNF antibody obviously reversed the therapeutic effect of Dex compared with the IS + Dex group. **Conclusion** Dex can inhibit the phenotype of neurotoxic astrocytes, increase the proportion of neuroprotective astrocytes, further promote the release of GDNF, and play an anti-ischemic stroke role.

Key words dexmedetomidine; astrocytes; polarization; GDNF; ischemic stroke**Fund program** Natural Science Foundation of Ningxia (No. 2021AAC03331)**Corresponding author** Wang Hui, E-mail: Annahuihui88@outlook.com