

- ting (J). *Nature Rev Genetics* 2016; 17(12): 718.
- 3 Minna E, Romeo P, Dugo M, et al. miR-451a is underexpressed and targets AKT/mTOR pathway in papillary thyroid carcinoma (J). *Oncotarget* 2016; 7(11): 12731-47.
  - 4 Kim D, Sung YM, Park J, et al. General rules for functional microRNA targeting (J). *Nature Genet* 2016; 48(12): 1517-26.
  - 5 Jonas S, Izaurralde E. Towards a molecular understanding of microRNA-mediated gene silencing (J). *Nat Rev Gene* 2015; 16(7): 421-33.
  - 6 Mueller AK, Lindner K, Hummel R, et al. MicroRNAs and their impact on radiotherapy for cancer (J). *Radiat Res* 2016; 185(6): 668-77.
  - 7 Macfarlane LA, Murphy PR. MicroRNA: biogenesis, function and role in cancer (J). *Curr Genomics* 2010; 11(7): 537-61.
  - 8 Zhu J, Zheng X, Yang X. Diagnostic and mechanistic values of microRNA-130a and microRNA-203 in patients with papillary thyroid carcinoma (J). *J Cell Biol* 2019; 10(2): 2137-41.
  - 9 Czajka AA, Wojcicka A, Kubiak A, et al. Family of microRNA-146 regulates rarbata in papillary thyroid carcinoma (J). *PLoS One* 2016; 11(3): e0151968.
  - 10 Fa Z, Min Z, Tang J, et al. MicroRNA-150 suppresses the growth and malignant behavior of papillary thyroid carcinoma cells via downregulation of MUC4 (J). *Exp Ther Med* 2018; 16(1): 45-52.
  - 11 Zhou L, Gao R, Wang Y, et al. Loss of BAX by miR-365 promotes cutaneous squamous cell carcinoma progression by suppressing apoptosis (J). *Int J Mol Sci* 2017; 18(6): 1741-7.
  - 12 Li M, Yang Y, Kuang Y, et al. miR-365 induces hepatocellular carcinoma cell apoptosis through targeting Bcl-2 (J). *Exp Ther Med* 2017; 13(5): 2279-85.
  - 13 Nie J, Liu L, Zheng W, et al. microRNA-365, down-regulated in colon cancer, inhibits cell cycle progression and promotes apoptosis of colon cancer cells by probably targeting Cyclin D1 and Bcl-2 (J). *Carcinogenesis* 2012; 33(1): 220-5.
- (2019-06-27 修回)  
(编辑 滕欣航)

## 珍宝丸预处理对心搏骤停大鼠脑缺血缺氧损伤的影响及机制

宋佰慧 宋晓环 孙冬梅 (长春医学高等专科学校 吉林 长春 130000)

**摘要** 目的 探讨珍宝丸预处理对心搏骤停大鼠脑缺血缺氧损伤的保护作用及机制。方法 选取清洁级雄性老年SD大鼠72只,随机分为对照组、模型组和珍宝丸预处理组,每组24只,且又分为3个时间点6h、12h和24h各8只。模型组和珍宝丸预处理组均给予心搏骤停脑缺血缺氧模型构建,其中预处理组构建模型前灌胃珍宝丸0.03g/kg,每天1次,共7d;对照组和模型组灌胃生理盐水3ml,每天1次,共7d;3组灌胃时间相同直至实验结束。采用物理烘干检测不同时间点(6h、12h和24h)各组脑组织含水量;采用生物化学方法和酶联免疫学法检测不同时间点(6h、12h和24h)各组脑组织丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、缺氧诱导因子(HIF)-1 $\alpha$ 及小泛素相关修饰蛋白(SUMO)1、2、3的表达水平;分析珍宝丸预处理对脑缺血缺氧损伤的保护机制。结果 与对照组比较,模型组和珍宝丸预处理组脑组织含水量、MDA含量均增加,6h较轻、12h明显、24h略有好转,且模型组各时间点较预处理组明显,两组各时间点差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与对照组比较,模型组和珍宝丸预处理组SOD含量均降低,且模型组较预处理组明显,两组各时间点差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与对照组比较,模型组和珍宝丸预处理组HIF-1 $\alpha$ 及SUMO1、2、3含量均升高,6h较高、12h达高峰、24h略降低,且预处理组较模型组升高显著,两组各时间点差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 珍宝丸预处理对心搏骤停大鼠脑缺血缺氧损伤具有明显保护作用,其作用机制可能与降低脑组织水肿和MDA含量,提高SOD含量及激活HIF-1 $\alpha$ 和SUMO1、2、3表达密切相关。

**关键词** 珍宝丸;脑缺血缺氧;丙二醛;超氧化物歧化酶;缺氧诱导因子-1 $\alpha$ ;小泛素相关修饰蛋白

(中图分类号) R743 (文献标识码) A (文章编号) 1005-9202(2020)20-4427-03; doi: 10.3969/j.issn.1005-9202.2020.20.050

脑组织缺血缺氧发生在多种环境中,老年人常见的诱发因素有血管堵塞、酸中毒、低氧血症及代谢异常等<sup>[1,2]</sup>。常用大鼠做动静脉插管和气管插管,模拟窒息导致大鼠心搏骤停构建医学实验研究中脑缺血缺氧损伤模型<sup>[3,4]</sup>。珍宝丸是一种蒙药,对脑组织缺血缺氧的保护作用已有广泛研究,其中包括扩张微血管,抗血栓形成改善微循环系统等,但其作

用机制尚不清楚<sup>[5-7]</sup>。本实验预先给予口服珍宝丸,再建立脑缺血缺氧损伤模型,通过检测脑组织含水量、清除自由基能力及神经保护介质缺氧诱导因子(HIF)-1 $\alpha$ 及小泛素相关修饰蛋白(SUMO)1、2、3的表达水平,评估珍宝丸预处理对急性脑缺血缺氧损伤的保护作用,探究其作用机制,为珍宝丸广泛临床应用提供实验依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验动物及分组 选取清洁级雄性老年SD

第一作者:宋佰慧(1981-),女,硕士,讲师,主要从事基础医学形态学研究。

大鼠 72 只,体重(410±23)g,由辽宁省长生生物技术股份有限公司提供,许可证号 SCXK(辽)2015-0001。随机分为对照组、模型组和珍宝丸预处理组,每组 24 只,6 h、12 h 和 24 h 3 个时间点各 8 只。

**1.2 窒息心脏骤停脑缺血缺氧模型构建** 对照组做假手术不采取夹闭窒息;模型组和珍宝丸预处理组均采用窒息心脏骤停构建脑缺血缺氧模型<sup>[3]</sup>,有气管插管、窒息心脏骤停及心肺复苏等步骤。

**1.3 实验试剂及设备** 珍宝丸由内蒙古民族大学附属医院蒙药制剂室提供:哲卫准字(9804-15)号,珍宝丸浓度 0.03 g/kg;丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)生化试剂盒购于南京建成生物有限公司;兔抗鼠 HIF-1 $\alpha$  及 SUMO 1、2、3 酶联免疫试剂盒购于南京卡米洛生物工程有限公司。设备使用 Epoch 酶标仪(美国)检测严格遵循试剂盒操作。设备使用 Epoch 酶标仪(美国)检测严格遵循试剂盒操作。

**1.4 给药方法** 建模前对照组和模型组灌胃生理盐水 3 ml,每天 1 次,共 7 d,预处理组灌胃珍宝丸 0.03 g/kg,每天 1 次,共 7 d;第 8 天构建模型,3 组灌胃时间相同直至实验结束。

**1.5 干预不同时间点(6 h、12 h 和 24 h)各组脑组织含水量的检测** 采用物理烘干检测,取同侧大脑半球(本实验都取左侧),低温取下后称湿质量记录,然后放入含干燥剂的 80℃ 烤箱烘烤过夜,称其干质量记录,脑含水量(%) = [(大脑湿质量 - 大脑干质量) / 湿质量] × 100%。

**1.6 干预不同时间点(6 h、12 h 和 24 h)各组脑组织 MDA 和 SOD 的检测** 采用黄嘌呤氧化酶和硫代巴比妥酸生物化学方法检测,取同侧大脑半球(本实验都取右侧),低温取下后 -80℃ 冻存,待检测。

**1.7 干预不同时间点(6 h、12 h 和 24 h)各组脑组织 HIF-1 $\alpha$  和 SUMO 1、2、3 的检测** 采用酶联免疫学法检测,取同侧大脑半球(本实验都取右侧),低温取下后 -80℃ 冻存,待检测。

**1.8 统计学方法** 应用 SPSS22.0 软件进行 *t* 检验、单因素方差分析。

**2 结果**

**2.1 干预不同时间点各组脑组织含水量、MDA 和 SOD 含量比较** 与对照组比较,模型组和珍宝丸预处理组脑组织含水量、MDA 含量均增加,6 h 较轻、12 h 明显、24 h 略有好转,且模型组各时间点较预处理组明显,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与对照组比较,模型组和珍宝丸预处理组 SOD 含量均降低,且模型组较预处理组明显,两组各时间点差异有统计学意义( $P < 0.05$ ) (见表 1)。

**2.2 干预不同时间点各组脑组织 HIF-1 $\alpha$  和 SUMO 1、2、3 表达水平比较** 与对照组比较,模型组和珍宝丸预处理组 HIF-1 $\alpha$  及 SUMO1、2、3 含量均升高,6 h 较高、12 h 达高峰、24 h 略降低,且预处理组较模型组升高显著,两组各时间点差异有统计学意义( $P < 0.05$ ) (见表 2)。

表 1 干预不同时间点各组脑组织含水量、MDA 和 SOD 含量比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	脑组织含水量(%)	MDA 含量(nmol/mg)	SOD 含量(U/mg)
对照组	6 h	75.83±0.95	10.31±0.65	185.19±7.25
	12 h	76.01±0.67	10.35±0.53	188.32±7.41
	24 h	75.91±0.82	10.28±0.76	186.81±6.94
模型组	6 h	78.19±0.76 <sup>1)</sup>	12.73±0.86 <sup>1)</sup>	127.26±4.23 <sup>1)</sup>
	12 h	82.13±0.62 <sup>1)2)</sup>	14.82±1.05 <sup>1)2)</sup>	103.18±3.95 <sup>1)2)</sup>
	24 h	77.09±0.58 <sup>1)2)3)</sup>	13.85±0.98 <sup>1)2)3)</sup>	116.09±3.52 <sup>1)2)3)</sup>
珍宝丸预处理组	6 h	76.96±0.78 <sup>1)2)</sup>	11.44±0.89 <sup>1)2)</sup>	167.15±6.38 <sup>1)2)</sup>
	12 h	77.92±0.63 <sup>1)3)5)</sup>	12.61±0.93 <sup>1)3)5)</sup>	153.29±6.17 <sup>1)3)5)</sup>
	24 h	76.01±0.56 <sup>4)5)6)</sup>	10.57±0.68 <sup>4)5)6)</sup>	177.28±7.52 <sup>1)4)5)6)</sup>

与对照组比较:1)  $P < 0.05$ ;与模型组 6 h 比较:2)  $P < 0.05$ ;与模型组 12 h 比较:3)  $P < 0.05$ ;与模型组 24 h 比较:4)  $P < 0.05$ ;与珍宝丸预处理组 6 h 比较:5)  $P < 0.05$ ;与珍宝丸预处理组 12 h 比较:6)  $P < 0.05$ ;下表同

表 2 干预不同时间点各组脑组织 HIF-1 $\alpha$  和 SUMO1、2、3 表达水平比较( $\bar{x} \pm s$  pg/ml)

组别	<i>n</i>	HIF-1 $\alpha$	SUMO1	SUMO2	SUMO3
对照组	6 h	0.99±0.05	5.82±0.46	6.18±0.72	8.91±0.85
	12 h	1.00±0.08	5.84±0.51	6.13±0.64	8.87±0.73
	24 h	0.99±0.09	5.82±0.39	6.15±0.76	8.92±0.71
模型组	6 h	1.21±0.11 <sup>1)</sup>	6.58±0.67 <sup>1)</sup>	7.32±0.81 <sup>1)</sup>	10.01±0.93 <sup>1)</sup>
	12 h	1.59±0.15 <sup>1)2)</sup>	8.27±0.56 <sup>1)2)</sup>	9.48±0.69 <sup>1)2)</sup>	12.76±1.02 <sup>1)2)</sup>
	24 h	1.43±0.12 <sup>1)2)3)</sup>	7.46±0.61 <sup>1)2)3)</sup>	8.51±0.84 <sup>1)2)3)</sup>	11.65±0.97 <sup>1)2)3)</sup>

续表2 干预不同时间点各组脑组织 HIF-1 $\alpha$  和 SUMO1、2、3 表达水平比较( $\bar{x}\pm s$  pg/ml)

组别	n	HIF-1 $\alpha$	SUMO1	SUMO2	SUMO3	
珍宝丸预处理组	6 h	16	1.58 $\pm$ 0.09 <sup>1)2)</sup>	7.41 $\pm$ 0.63 <sup>1)2)</sup>	8.29 $\pm$ 0.76 <sup>1)2)</sup>	11.57 $\pm$ 0.82 <sup>1)2)</sup>
	12 h	16	2.14 $\pm$ 0.16 <sup>1)3)5)</sup>	10.92 $\pm$ 0.83 <sup>1)3)5)</sup>	12.49 $\pm$ 1.07 <sup>1)3)5)</sup>	15.37 $\pm$ 1.14 <sup>1)3)5)</sup>
	24 h	16	1.85 $\pm$ 0.14 <sup>1)4)5)6)</sup>	9.08 $\pm$ 0.67 <sup>1)4)5)6)</sup>	10.65 $\pm$ 0.98 <sup>1)4)5)6)</sup>	13.01 $\pm$ 1.09 <sup>1)4)5)6)</sup>

### 3 结果

近年来随着人口老龄化的不断增加,脑缺血缺氧性损伤的发病率也呈逐年上升趋势,其诱发因素多为血液循环障碍、急性应激及酸中毒等<sup>(2,8,9)</sup>。窒息导致的心脏骤停是脑缺血缺氧性损伤的氧化应激反应之一,这一过程伴随循环障碍、血管通透性增强及血脑屏障异常等,当经过心肺复苏后,继发反应是引起脑组织含水量增加即脑水肿、脑组织清除自由基能力下降及缺氧敏感因子表达增加<sup>(4,10)</sup>。

有研究证实脑缺血导致氧化应激损伤造成氧自由基增加,SOD活性降低、脂质过氧化反应增强、MDA活性增高<sup>(11~13)</sup>。HIF-1 $\alpha$ 是HIF-1的亚单位,是脑组织缺氧的重要表达信号之一,是对氧敏感的转录激活因子,因此对缺氧具有特异性感受<sup>(6,14,15)</sup>。SUMO能与蛋白质结合,人类已经分离出五种亚型,其中SUMO1、2、3在脑组织表达多见,其调节机体细胞生理活动,同时蛋白质的SUMO化是应激条件下机体的自我保护机制,当中枢神经系统受到缺血缺氧损伤时,SUMO1、2、3迅速增加,这是神经系统的内源性保护机制<sup>(16~19)</sup>。

珍宝丸是一种蒙药,由29味天然药材炼制而成,对脑组织缺血缺氧的保护作用已有广泛研究,但其明确的作用机制尚不十分清楚<sup>(5~7)</sup>。本实验结果提示,珍宝丸预处理对心搏骤停大鼠脑缺血缺氧损伤具有明显保护作用,其作用机制可能与降低脑组织水肿和MDA含量,提高SOD含量及激活HIF-1 $\alpha$ 和SUMO1、2、3表达密切相关。

### 4 参考文献

- Zhang Q, Liu B, Zhao L *et al.* Venoarterial extracorporeal membrane oxygenation increased immune function of spleen and decreased reactive oxygen species during post-resuscitation (J). *Artif Organs* 2019; 43(4): 377-85.
- Madathil RJ, Hira RS, Stoeckl M *et al.* Ischemia reperfusion injury as a modifiable therapeutic target for cardioprotection or neuroprotection in patients undergoing cardiopulmonary resuscitation (J). *Resuscitation* 2016; 105(1): 85-91.
- 丁旭东, 郑宁宁, 曹岩岩, 等. 右美托咪啶预处理对大鼠缺血缺氧性脑损伤的影响 (J). *中国现代神经疾病杂志* 2014; 14(5): 427-32.
- 王剑冰, 杨威, 赵明博, 等. Tempol 预处理在大鼠窒息后心跳骤停

- 全脑缺血缺血脑损伤模型中的保护作用及机制研究 (J). *临床和实验医学杂志* 2019; 18(20): 2154-7.
- 张艳, 石搏, 黄可欣, 等. 蒙药珍宝丸对新生大鼠缺血性脑损伤组织的保护作用研究 (J). *中国妇幼保健* 2014; 29(16): 2596-8.
- 常笑语, 温晓婷, 赵本正, 等. 蒙药珍宝丸预处理对新生大鼠缺血性脑损伤 HIF-1 $\alpha$  表达的影响 (J). *中国妇幼保健* 2015; 30(13): 2080-2.
- 张艳, 黄可欣, 马洪喜. 珍宝丸预处理对新生大鼠缺血性脑损伤 Fas 和 Fas L 影响的实验研究 (J). *中国免疫学杂志* 2014; 30(8): 1051-4.
- 江山, 李娅娜, 王会会, 等. 低频经颅磁刺激对缺血缺氧脑损伤大鼠学习记忆及体外培养缺血缺氧神经元谷氨酸释放的影响 (J). *中国康复医学杂志* 2019; 34(12): 1397-402.
- 宋名杨, 朱路文, 叶涛, 等. 丰富环境对缺血缺氧脑损伤新生大鼠海马源性神经营养因子表达及细胞凋亡的影响 (J). *中国康复医学杂志* 2017; 3(7): 750-5.
- Hayman EG, Patel AP, Kimberly WT *et al.* Cerebral edema after cardiopulmonary resuscitation: a therapeutic target following cardiac arrest (J). *Neurocrit Care* 2018; 28(3): 276-87.
- 朱怡, 陈霞, 黄屏, 等. 丹参川穹嗉对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用 (J). *现代中西医结合杂志* 2011; 20(7): 802-4.
- Sasaki T, Shimizu T, Koyama T *et al.* Superoxide dismutase deficiency enhances superoxide levels in brain tissues during oxygenation and hypoxia-reoxygenation (J). *J Neurosci Res* 2011; 89(4): 601-10.
- 高伟, 张会鲜, 孙建云, 等. 珍龙醒脑胶囊对小鼠脑缺血及脑缺血再灌注损伤的保护作用 (J). *中国老年学杂志* 2012; 32(22): 4958-60.
- Guo Y, Feng L, Zhou Y *et al.* Systematic review with meta-analysis: HIF-1 $\alpha$  attenuates liver ischemia-reperfusion injury (J). *Transplant Rev (Orlando)* 2015; 29(3): 127-34.
- Li Y, Zhou C, Calvert JW *et al.* Multiple effects of hyperbaric oxygen on the expression of HIF-1 $\alpha$  and apoptotic genes in a global ischemia-hypotension rat model (J). *Exp Neurol* 2005; 191(1): 198-210.
- 刘毅, 白耀武, 马晓芳, 等. SUMO 化修饰在脑缺血、缺氧中的作用 (J). *华北理工大学学报(医学版)* 2019; 21(6): 500-4.
- Gu JM, Fan YQ, Liu XB. SENP1 protects against myocardial ischemia/reperfusion injury via a HIF1 $\alpha$ -dependent pathway (J). *Eur Society Cardiol* 2014; 104(1): 83-92.
- Lee YJ, Hallenbeck JM. Insights into cytoprotection from ground squirrel hibernation: a natural model of tolerance to profound brain oligemia (J). *Biochem Soc Trans* 2006; 34(6): 1295-8.
- Lyst MJ, Stancheva I. A role for SUMO modification in transcriptional repression and activation (J). *Biochem Soc Trans* 2007; 35(6): 1389-92.

(2019-11-11 修回)

(编辑 滕欣航)