

床应用中还应综合考虑远期疗效、用药安全性及病人治疗负担。这些都需要在今后进行更大量的文献检索,综合国内外更高质量的文献研究,对巴曲酶联合银杏注射液治疗突发性聋的临床疗效进行全面的系统评价。

参考文献

- [1] 王亚莉.银杏叶提取物联合巴曲酶治疗高海拔地区突发性耳聋临床疗效观察[J].青海医药杂志,2017,47(3):23-24.
- [2] 谢真杰.巴曲酶和银杏叶提取物注射液治疗高龄患者突发性耳聋的疗效[J].心理医生,2018,24(20):25-26.
- [3] 郑爱喜,胡蓉杰,魏正平.银杏达莫与巴曲酶联合治疗平坦型突发性聋的疗效观察[J].听力学及言语疾病杂志,2011,19(6):568-569.
- [4] 中华医学会耳鼻咽喉科学会,中华耳鼻咽喉科杂志编辑委员会.突发性聋诊断依据和疗效分级[J].中华耳鼻咽喉科杂志,1997,32(2):72.
- [5] 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编辑委员会,中华医学会耳鼻咽喉头颈外科学分会.突发性聋的诊断和治疗指南(2005年,济南)[J].中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2006,41(8):569.
- [6] 李晖,李俊.银杏达莫与巴曲酶联合治疗突发性聋的疗效观察[J].湖北中医药大学学报,2015,17(4):75-76.
- [7] HIGGINS JP, GREEN S. Cochrane handbook for systematic reviews of interventions[M]. NY: Wiley, 2006: 118.
- [8] HIGGINS JPT, GREEN S. Cochrane handbook for systematic re-

views of interventions verslon5.1.0 [EB/OL]. (updated March 2011)[2019-05-25].http://handbook.Cochrane.org/.

- [9] 唐莉,刘萍,王莹,等.巴曲酶注射液联合银杏达莫治疗老年突发性聋[J].长春中医药大学学报,2016,32(2):386-387.
- [10] 孙光炎.巴曲酶联合银杏达莫注射液治疗突发性耳聋的临床疗效及安全性分析[J].中国处方药,2017,15(2):96-97.
- [11] 贺志瑞.银杏达莫联合巴曲酶对突发性耳聋患者纤维蛋白原水平及血流动力学的影响[J].蛇志,2018,30(4):594-595+603.
- [12] 别国梁,付丽萍.巴曲酶治疗老年突发性耳聋的临床观察[J].中国药房,2017,28(12):1641-1644.
- [13] 梁好勇,张孟丽,王慎祥,等.巴曲酶注射液联合银杏叶提取物注射液对老年突发性耳聋患者纯音听阈变化及预后的影响[J].实用中西医结合临床,2017,17(4):93-94.
- [14] 汤剑芳,刘慧巧,傅江涛.巴曲酶联合银杏达莫注射液治疗对突发性耳聋患者血清ET、NO、SOD、sVCAM-1水平的影响[J].中国生化药物杂志,2017,37(4):210-212.
- [15] 张学红,梁小微,王鸿梅,等.巴曲酶联合银杏叶注射液治疗突发性耳聋的疗效及对患者凝血功能的影响[J].河北医学,2018,24(6):979-983.
- [16] 孟晓敏,李华瑞,刘峰,等.银杏叶提取物联合巴曲酶对突发性耳聋患者血液流变学及凝血功能的影响[J].现代中西医结合杂志,2018,27(27):3041-3044.
- [17] 李淦峰,李志海.巴曲酶联合银杏达莫注射液治疗突发性耳聋的临床疗效及安全性评价[J].中国临床药理学杂志,2016,32(8):675-677.

(收稿日期:2019-06-05,修回日期:2019-08-18)

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2020.08.003

◇ 药学研究 ◇

纳洛酮对蛛网膜下腔出血大鼠海马区神经细胞自噬的影响

李小亮^{1,2},李君²,李林¹,孙林林³,陈扬¹,付爱军¹

作者单位:¹华北理工大学附属医院神经外科,河北 唐山 063000;²开滦总医院林西医院神经外科,河北 唐山 063000;³郑州市第七人民医院神经外科,河南 郑州 450000

通信作者:付爱军,男,主任医师,硕士生导师,研究方向为脑血管病,E-mail:tsfaj@sina.com

基金项目:河北省医学科学研究重点课题(20181455)

摘要:目的 探讨纳洛酮对蛛网膜下腔出血(SAH)大鼠海马区神经细胞自噬的影响。方法 将108只健康雄性清洁级SD大鼠按随机数字表法分为假手术组、SAH组、纳洛酮组,每组36只。假手术组只进行造模手术不刺破血管,SAH组利用颈内动脉穿刺法制成大鼠SAH动物模型,纳洛酮组在造模成功后立即给予纳洛酮(1 mg/kg 体质量)腹腔注射,每12小时注射1次,用药至处死的各时相点。假手术组和SAH组采用同样方法注射同体积的0.9%氯化钠溶液。每组又按6 h、24 h、72 h时间点分为3个亚组(每个亚组12只SD大鼠)。穿梭箱实验观察三组大鼠的行为学变化;苏木素-伊红(HE)染色观察海马区神经细胞形态变化;免疫组织化学检测自噬特异性标志物 Beclin-1 和微管相关蛋白1轻链3(LC3-II)在大鼠海马区神经细胞的表达。结果 与假手术组相比,SAH组6 h、24 h、72 h各时间点逃避反应次数减少[(24.83±3.24)次比(14.41±1.98)次,(25.33±2.64)次比(16.25±2.18)次,(25.16±2.82)次比(18.33±2.57)次]($P < 0.05$),逃避反应时间增加[(3.54±0.99)s比(9.09±1.38)s,(3.55±0.84)s比(8.73±1.13)s,(3.54±0.83)s比(8.00±1.04)s]($P < 0.05$),海马区正常神经细胞数量减少[(122.67±5.55)个比(84.25±12.63)个,(122.25±5.50)个比(75.58±11.11)个,(121.58±5.68)个比(67.75±10.55)个]($P < 0.05$),表达 Beclin-1 和 LC3-II 蛋白的阳性细胞数量增高[(20.50±3.45)个比(31.41±4.96)个,(20.33±2.77)个比(47.67±7.35)个,(20.50±3.59)个比(43.17±6.46)个;(17.08±3.00)个比(27.42±3.40)个,(17.50±2.31)个比(39.83±4.67)个,(17.41±2.57)个比(31.50±4.06)个]($P < 0.05$)。与SAH组比较,纳洛酮组各时间点逃避反应次数增多[(14.41±1.98)次比(16.50±1.93)次,(16.25±2.18)次比(19.25±2.30)次,(18.33±2.57)次比

(22.50±2.20)次]($P<0.05$),逃避反应时间减少[(9.09±1.38)s比(8.05±1.24)s,(8.73±1.13)s比(6.56±1.09)s,(8.00±1.04)s比(5.36±0.97)s]($P<0.05$),海马区正常神经细胞数量增多[(84.25±12.63)个比(94.75±11.06)个,(75.58±11.11)个比(84.50±9.21)个,(67.75±10.55)个比(77.33±9.88)个]($P<0.05$),表达 Beclin-1 和 LC3-II 蛋白的阳性细胞数量增高[(31.41±4.96)个比(36.17±4.06)个,(47.67±7.35)个比(57.58±6.68)个,(43.17±6.46)个比(52.75±7.35)个;(27.42±3.40)个比(30.92±4.19)个,(39.83±4.67)个比(48.33±5.66)个,(31.50±4.06)个比(38.58±5.40)个]($P<0.05$)。结论 纳洛酮的干预可适度激活 SAH 大鼠海马区神经细胞自噬的表达,并具有脑保护作用。

关键词:蛛网膜下腔出血; 纳洛酮; 自噬; 海马; 大鼠

Effect of naloxone on autophagy in hippocampus of rats with subarachnoid hemorrhage

LI Xiaoliang^{1,2}, LI Jun², LI Lin¹, SUN Linlin³, CHEN Yang¹, FU Aijun¹

Author Affiliations: ¹Department of Neurosurgery, North China University of Science and Technology Affiliated Hospital, Tangshan, Hebei 063000, China; ²Department of Neurosurgery, Kailuan General Hospital Linxi Hospital, Tangshan, Hebei 063000, China; ³Department of Neurosurgery, Zhengzhou Seventh People's Hospital, Zhengzhou, Henan 450000, China

Abstract: Objective To investigate the effect of naloxone on autophagy in hippocampus of rats with subarachnoid hemorrhage (SAH). **Methods** 108 healthy male clean grade SD rats were randomly divided into sham operation group, SAH group, SAH combined with naloxone treatment group (naloxone group), 36 rats in each group. The sham operation group only performed the modeling operation without puncturing the blood vessels. The SAH group was made into the rat SAH animal model by internal carotid artery puncture. The naloxone group was given naloxone (1 mg/kg Body mass) intraperitoneally after the successful modeling, Inject once every 12 hours, from medication to the point of death. The same method was used to inject the same volume of normal saline in the sham operation group and the SAH group. Each group was further divided into 3 subgroups (12 SD rats in each subgroup) at 6 h, 24 h, and 72 h. The behavioral changes of the three groups were observed in the shuttle box. HE staining was used to observe the morphological changes of neurons in the hippocampus. Immunohistochemistry was used to detect the expression of autophagy-specific markers Beclin-1 (Autophagy related protein) and LC3-II (Microtubule associated protein 1 light chain 3) in the hippocampus of rats. **Results** Compared with the sham operation group, the number of escape response decreased [(24.83±3.24) vs. (14.41±1.98), (25.33±2.64) vs. (16.25±2.18), (25.16±2.82) vs. (18.33±2.57)] ($P<0.05$), the time of escape response increased [(3.54±0.99)s vs. (9.09±1.38)s, (3.55±0.84)s vs. (8.73±1.13)s, (3.54±0.83)s vs. (8.00±1.04)s] ($P<0.05$), the number of normal nerve cells in the hippocampus decreased [(122.67±5.55) vs. (84.25±12.63), (122.25±5.50) vs. (75.58±11.11), (121.58±5.68) vs. (67.75±10.55)] ($P<0.05$), and the expressions of Beclin-1 and LC3-II increased [(20.50±3.45) vs. (31.41±4.96), (20.33±2.77) vs. (47.67±7.35), (20.50±3.59) vs. (43.17±6.46); (17.08±3.00) vs. (27.42±3.40), (17.50±2.31) vs. (39.83±4.67), (17.41±2.57) vs. (31.50±4.06)] ($P<0.05$) at each time point in the SAH group. Compared with the SAH group, the number of escape response increased [(14.41±1.98) vs. (16.50±1.93), (16.25±2.18) vs. (19.25±2.30), (18.33±2.57) vs. (22.50±2.20)] ($P<0.05$), the time of escape response decreased [(9.09±1.38)s vs. (8.05±1.24)s, (8.73±1.13)s vs. (6.56±1.09)s, (8.00±1.04)s vs. (5.36±0.97)s] ($P<0.05$), the number of normal nerve cells in the hippocampus increased [(84.25±12.63) vs. (94.75±11.06), (75.58±11.11) vs. (84.50±9.21), (67.75±10.55) vs. (77.33±9.88)] ($P<0.05$), and the expressions of Beclin-1 and LC3-II increased [(31.41±4.96) vs. (36.17±4.06), (47.67±7.35) vs. (57.58±6.68), (43.17±6.46) vs. (52.75±7.35); (27.42±3.40) vs. (30.92±4.19), (39.83±4.67) vs. (48.33±5.66), (31.50±4.06) vs. (38.58±5.40)] ($P<0.05$) at each time point in the naloxone group. **Conclusion** The intervention of naloxone can moderately activate the expression of autophagy in the hippocampus of SAH rats and have a protective effect on the brain.

Key words: Subarachnoid hemorrhage; Naloxone; Autophagy; Hippocampus; Rats

自发性蛛网膜下腔出血(SAH)是严重威胁人类健康的一种疾病,由于其发病突然、变化迅猛,给救治带来很大的挑战,绝大多数SAH为动脉瘤破裂所致^[1],据不完全统计SAH发病率约为每年10.5/10万人口^[2],并且呈逐年上升趋势。随着显微脑血管外科、高分辨率影像后处理技术、麻醉理论及血管内

介入水平的不断发展及提高,其病死率较前有所下降,但致残率一直处于较高水平^[3],治疗后大概33%的SAH病人遗留严重的神经功能缺失并需长期护理^[4],给病人和家庭带来沉重的经济负担以及身心上的双重创伤^[5]。既往的学者认为,导致SAH病人神经功能缺失的主要因素为脑血管痉挛(CVS)^[6],

但是应用药物拮抗 CVS 的发生后,并未显著改善 SAH 病人的神经功能缺失。近年来文献报道,应用药物或其它措施对 SAH 早期脑损伤的尽早干预,可以减轻神经功能缺失^[7]。目前对 SAH 早期脑损伤的机制研究中,自噬被广泛关注,适当活化的自噬可以减轻大鼠 SAH 模型早期脑损伤的损害性发展,从而保护神经功能^[8]。纳洛酮注射液是阿片类受体阻滞剂,在临床上普遍使用,并取得了不错的疗效。有研究报道纳洛酮注射液在治疗 SAH 所致的脑损伤方面具有积极的意义^[9],但相关机制尚不明确。

本研究于 2016 年 10 月至 2018 年 10 月采取刺破颈内动脉的方法制作 SAH 大鼠模型,观察纳洛酮注射液对大鼠行为学功能及自噬相关蛋白 Beclin-1 及微管相关蛋白 1 轻链 3(LC3-Ⅱ)的影响,探讨纳洛酮注射液对 SAH 的可能作用机制,为临床治疗提供丰富的基础医学支持。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 108 只健康雄性清洁级 SD 大鼠,周龄范围为 9~12 周,体质量(350 ± 30)g,购于北京华阜康生物科技股份有限公司,生产许可证号 SCXK(京)2014-0004。饲养于华北理工大学动物实验中心动物饲养室,正常通风光照,维持室温于(23 ± 2)℃,湿度控制于(50 ± 15)%,自由活动并正常饮水进食,避免不良刺激。在实验开始前 1 周进行环境适应。采用随机数字表法将 108 只大鼠分为三组,依次为假手术组、SAH 组、纳洛酮组,每组 36 只,并相应做好标记,每组再依次分为 6 h、24 h、72 h 三个亚组,每个亚组 12 只。本研究符合一般动物实验伦理学原则。

1.1.2 药物和试剂 纳洛酮注射液(1 mL:0.4 mg);Beclin-1(ABclonal 生物技术有限公司)和 LC3-Ⅱ抗体(GeneTex 生物技术有限公司);内参微管蛋白(tubulin)(美国 Abcam 公司);二抗及显色用品(美国 KPL 公司)。

1.1.3 主要仪器 820-Ⅱ型切片机(德国 Leica 公司);OLYMPUS 摄像显微镜(日本奥林巴斯公司);凝胶成像分析系统;图像采集及分析系统。

1.2 方法

1.2.1 模型建立 根据文献采用颈动脉刺破法制作 SAH 大鼠模型^[10]:腹腔内注射 10% 水合氯醛(300 mg/kg)麻醉大鼠,刺激无反应后将其仰卧并固定,颈部术前无菌处理,纵行剪开,沿组织间隙进行分离,暴露并解剖颈总动脉及颈内外动脉,远心端

扎闭并剪断颈外动脉,牵拉使其与颈内动脉进入颅内的方向一致,将锐化并标记好的纤芯自远心端穿入颈外动脉并沿颈内动脉直至颅内,刺破血管,造成 SAH 模型。然后将伤口消毒后缝合,正常饲养。以取脑时环池、基底池有血凝块为模型制备成功的标准。假手术组只将纤芯沿血管穿入颅内,避免刺穿血管,其它操作步骤与 SAH 组相同。

1.2.2 给药方法 纳洛酮组刺破颅内血管后立即给予腹腔内注射纳洛酮注射液(1 mg/kg),每 12 小时 1 次,用药至处死的各时相点。假手术组和 SAH 组采用同样方法给予同等体积的 0.9% 氯化钠溶液。

1.2.3 穿梭箱实验 各组实验大鼠于造模前 2 d 开始进行训练,每天练习 2 次,以培养条件反射。术后于预设时间,首先在穿梭箱内让实验大鼠进行环境适应 5 min,达到去除条件反射的目的,然后给予 5 s 声光刺激,再给予 20 s 电刺激(电击强度 30 V,50 Hz)。观察大鼠的逃避情况,每间隔 20 s 训练 1 次,共计 30 次。视频分析实验大鼠的逃避情况。统计逃避次数及逃避反应时间(大鼠受到刺激至逃到安全区的平均次数与时间)。

1.2.4 苏木精-伊红(HE)染色 于造模成功后的各个时间点,采取腹腔内注射 10% 水合氯醛(300 mg/kg)将大鼠深度麻醉,待其无反应后进行左心室穿刺灌注,先灌注 0.9% 氯化钠溶液 500 mL、再灌注 4% 多聚甲醛 250 mL,在冰上解剖取出脑组织,并置于 4% 多聚甲醛中固定 3 d。对固定好的脑组织进行常规石蜡包埋,层厚 5 μ m 做连续冠状位切片(包含海马组织),每只大鼠脑标本蜡块取 3 张进行 HE 染色。光学显微镜($\times 400$)观察海马 CA1 区神经细胞形态及结构,按随机数字表法保存 6 个不同视野的照片,并用 Motic-6.0 分析系统统计结构无异常的神经细胞数量。

1.2.5 免疫组织化学染色 每只大鼠脑标本蜡块取 6 张切片,进行常规脱蜡、水化、高压修复、室温孵育。按随机数字表法等分成 2 组,一组滴加 Beclin-1 抗体(1:100),另一组滴加 LC3-Ⅱ抗体(1:100),将滴加抗体的切片放入 4℃ 冰箱过夜(超过 12 h),滴加组化二抗,孵育、脱水、透明、显色、封固。光学显微镜($\times 400$)观察海马 CA1 区神经细胞,按随机数字表法保存 6 个不同视野的照片,并用 Motic-6.0 分析系统统计阳性细胞数量。

1.3 统计学方法 使用 Excel 2007 收集计量资料,所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析,采用 LSD-*t* 检验进行多组间的两两比较。显著性水平 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 穿梭箱实验 与假手术组对比,SAH组6 h、24 h、72 h大鼠躲到安全区的次数均减少,躲到安全区的时间均延长($P < 0.05$);与SAH组对比,纳洛酮组6 h、24 h、72 h躲到安全区的次数均增多,躲到安全区的时间均缩短($P < 0.05$)。见表1,2。

表1 各组大鼠各时间点逃避反应次数比较/(次, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	6 h	24 h	72 h
假手术组	36	24.83±3.24	25.33±2.64	25.16±2.82
SAH组	36	14.41±1.98 ^a	16.25±2.18 ^a	18.33±2.57 ^a
纳洛酮组	36	16.50±1.93 ^b	19.25±2.30 ^b	22.50±2.20 ^b
<i>F</i> 值		60.282	45.317	22.017
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与SAH组比较,^b $P < 0.05$,SAH为蛛网膜下腔出血

表2 各组大鼠各时间点逃避反应时间比较/(s, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	6 h	24 h	72 h
假手术组	36	3.54±0.99	3.55±0.84	3.54±0.83
SAH组	36	9.09±1.38 ^a	8.73±1.13 ^a	8.00±1.04 ^a
纳洛酮组	36	8.05±1.24 ^b	6.56±1.09 ^b	5.36±0.97 ^b
<i>F</i> 值		70.948	76.479	66.653
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与SAH组比较,^b $P < 0.05$,SAH为蛛网膜下腔出血

2.2 HE染色 假手术组6 h、24 h、72 h海马CA1区神经细胞绝大部分形态正常,细胞质均一,细胞核结构完整,染色适中。SAH组海马CA1区神经细胞情况:6 h亚组镜下显示少量细胞的细胞核染色加深、梭形固缩;24 h亚组细胞核深染、梭形固缩情况明显增多,并出现核破碎;72 h亚组细胞核深染、梭形固缩、核破碎情况进一步加剧。纳洛酮组对比SAH组,6 h、24 h、72 h细胞核深染、梭形固缩、核破碎等情况均相对减少。见表3。

2.3 免疫组织化学染色 选取自噬的特异性标志物Beclin-1和LC3-II,经染色及显色后,胞质中出现棕黄、黄褐色颗粒样物质既表明该细胞发生了自噬。假手术组各个时间点可见少数细胞阳性表达。SAH组:6 h亚组胞质中出现棕黄、黄褐色颗粒样物质的细胞数较假手术组增多;24 h亚组胞质中出现棕黄、黄褐色颗粒样物质的细胞数明显增多;72 h亚组胞质中出现棕黄、黄褐色颗粒样物质的细胞数仍很多。纳洛酮组各个时间点胞质中出现棕黄、黄褐色颗粒样物质的细胞数均比SAH组各个时间点增多。见表4,5。

表3 各组各时间点大鼠海马区结构无异常的神经细胞数量/(个, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	6 h	24 h	72 h
假手术组	36	122.67±5.55	122.25±5.50	121.58±5.68
SAH组	36	84.25±12.63 ^a	75.58±11.11 ^a	67.75±10.55 ^a
纳洛酮组	36	94.75±11.06 ^b	84.50±9.21 ^b	77.33±9.88 ^b
<i>F</i> 值		45.394	92.685	126.258
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与SAH组比较,^b $P < 0.05$,SAH为蛛网膜下腔出血

表4 各组各时间点大鼠海马区Beclin-1蛋白阳性细胞数量/(个, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	6 h	24 h	72 h
假手术组	36	20.50±3.45	20.33±2.77	20.50±3.59
SAH组	36	31.41±4.96 ^a	47.67±7.35 ^a	43.17±6.46 ^a
纳洛酮组	36	36.17±4.06 ^b	57.58±6.68 ^b	52.75±7.35 ^b
<i>F</i> 值		43.788	125.938	92.324
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与SAH组比较,^b $P < 0.05$,SAH为蛛网膜下腔出血

表5 各组各时间点大鼠海马区LC3-II蛋白阳性细胞数量/(个, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	6 h	24 h	72 h
假手术组	36	17.08±3.00	17.50±2.31	17.41±2.57
SAH组	36	27.42±3.40 ^a	39.83±4.67 ^a	31.50±4.06 ^a
纳洛酮组	36	30.92±4.19 ^b	48.33±5.66 ^b	38.58±5.40 ^b
<i>F</i> 值		48.921	154.197	79.974
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与SAH组比较,^b $P < 0.05$,SAH为蛛网膜下腔出血

3 讨论

纳洛酮注射液作为经典的阿片类受体阻滞剂,具有很高的脂溶性,能够很好地透过血脑屏障进而作用于中枢神经系统。纳洛酮注射液最早在临床上应用是能够对抗阿片类药物复合麻醉恢复期或阿片类药物过量所致的呼吸功能减弱^[11]。随着对病理生理学认识的不断深入,学者们检测到急性颅脑损伤病人和脑损伤模型动物的脑组织内源性阿片肽(β -内啡肽和强啡肽等)的数值均显著上升,内源性阿片肽的毒性作用会导致神经细胞损害的进一步加重^[12]。纳洛酮注射液可阻断内源性阿片肽的毒性作用进而可以减轻脑水肿、降低颅内压、改善脑代谢,并可以逆转呼吸抑制^[13]。临床试验亦表明纳洛酮注射液对SHA病人^[8]、高血压脑出血病人^[14]、重度颅脑损伤病人^[15]、急性脑梗死病人^[16]均具有脑保护作用。研究显示,SAH

模型大鼠的行为能力及其海马CA1区神经细胞会受到损害,其可能的原因被认为是SAH后脑组织及蛛网膜下腔内源性阿片肽含量增多,导致神经细胞损伤^[13]。

自噬是真核细胞的程序性死亡方式之一,也是细胞面对损伤性刺激的保护机制^[17]。通过溶酶体蛋白降解途径能够有效地清除受损的细胞器和细胞内的毒性物质,并能够为蛋白质的合成和细胞器的更新提供相应的原料,通过上述反应的发生可以很好地保持细胞的功能及结构,进而达到对抗损伤性刺激的目的^[18]。在一定程度内发生的自噬可以有效地稳定细胞功能并能够降低致死率;自噬程度不足则会损伤细胞功能与结构,进而导致损伤性结果的发生^[19]。既往学者实验结果显示,给予SAH动物模型药物处理能够在一定程度上增强实验动物海马区神经细胞自噬,经检测胞内出现自噬相关蛋白Beclin-1及LC3-Ⅱ的细胞数量升高,神经细胞死亡明显减少^[20];应用药物降低自噬程度后,在一定程度上增加了细胞致死率^[21]。

现阶段对于纳洛酮注射液对SAH神经保护作用的文献报道主要在临床,基础实验很少,在自噬方面的实验结果鲜有报道。该实验经过精心设计,参考文献采取颅内动脉刺破法制作SAH大鼠模型,并给予SAH大鼠药物干预,结果显示SAH后大鼠行为学功能减退,胞内出现自噬相关蛋白Beclin-1及LC3-Ⅱ的细胞数量升高,给予纳洛酮注射液处理后行为学功能得到改善,胞内出现自噬相关蛋白Beclin-1及LC3-Ⅱ的细胞数量进一步升高,这与以往相关文献^[22]报道一致。

通过以上实验,我们得到结论,纳洛酮注射液能够恢复SAH大鼠的行为学功能,其机制可能是在一定程度上增强了SAH大鼠海马区神经细胞自噬,稳定了细胞的结构与功能。纳洛酮注射液对SAH的神经保护功效,涉及相当复杂的分子机制,尚需学者不断努力、深入探讨。

参考文献

- [1] JAJA BN, ATTALLA D, MACDONALD RL, et al. The subarachnoid hemorrhage international trialists (SAHIT) repository: advancing clinical research in subarachnoid hemorrhage [J]. *Neurocrit Care*, 2014, 21(3): 551-559.
- [2] 孙林林, 刘振刚, 张志勇, 等. 盐酸法舒地尔对蛛网膜下腔出血大鼠学习记忆功能及海马CA1区自噬的影响[J]. *中国康复理论与实践*, 2017, 23(3): 257-262.
- [3] AL-TAMIMI YZ, ORSI NM, QUINN AC, et al. A review of delayed ischemic neurologic deficit following aneurysmal subarachnoid hemorrhage: historical overview, current treatment, and pathophysiology [J]. *World Neurosurg*, 2010, 73(6): 654-667.
- [4] 李朝霞, 赵性泉. 蛛网膜下腔出血早期脑损伤发病机制综述[J]. *中国卒中杂志*, 2014, 9(3): 241.
- [5] 朱家琦, 唐慕菲, 邵国虎. 蛛网膜下腔出血引起的脑脊液红细胞增高与脑积水的关系[J]. *安徽医药*, 2019, 23(5): 917-919.
- [6] 黄永鹏, 伍增龙, 庞荣锋, 等. 血清维生素D与蛛网膜下腔出血及其脑血管痉挛的关系[J]. *安徽医药*, 2015, 19(6): 1189-1191.
- [7] 雷剑伟. 硫化氢在大鼠蛛网膜下腔出血后早期脑损伤中的保护作用及机制研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2018.
- [8] ZHAO H, JI Z, TANG D, et al. Role of autophagy in early brain injury after subarachnoid hemorrhage in rats [J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40(2): 819-827.
- [9] 李忠国, 朱从栋. 纳洛酮注射液结合脑脊液置换术治疗蛛网膜下腔出血的临床观察[J]. *山西医药杂志*, 2011, 40(5): 494-495.
- [10] MUROI C, FUJIOKA M, MARBACHER S, et al. Mouse model of subarachnoid hemorrhage: technical note on the filament perforation model [J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2015, 120: 315-320.
- [11] 肖铁铮. 从纳洛酮的药物作用机制谈临床应用新进展[J]. *中国实用医药*, 2017, 12(36): 148-149.
- [12] 陈武. 大剂量纳洛酮治疗重型脑外伤临床疗效观察[J]. *中国实用医药*, 2017, 12(7): 146-147.
- [13] 杨建立, 于耀杰. 纳洛酮辅助治疗脑出血的临床疗效观察[J]. *临床合理用药杂志*, 2016, 9(22): 73-74.
- [14] 周泽华, 刘国平, 孟小鹏. 纳洛酮治疗高血压性脑出血的临床疗效观察[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2014, 22(4): 107-108.
- [15] 张宏明, 董霞. 纳洛酮治疗重度颅脑损伤的疗效观察[J]. *临床医药文献电子杂志*, 2017, 4(3): 541, 544. DOI: 10.3877/j.issn.2095-8242.2017.03.108.
- [16] 梁文俊. 纳洛酮对急性脑梗死的临床疗效[J]. *黑龙江医学*, 2017, 41(10): 982-983.
- [17] LEVINE B, MIZUSHIMA N, VIRGIN HW. Autophagy in immunity and inflammation [J]. *Nature*, 2011, 469(7330): 323-325.
- [18] KOMATSU M. Liver autophagy: physiology and pathology [J]. *J Biochem*, 2012, 152(1): 5-15.
- [19] SHINTANI T, KLIONSKY D. Autophagy in health and disease: a double-edged sword [J]. *Science*, 2004, 306(5698): 990-995.
- [20] Sun L, Ma Y, Zhang Z, et al. ROCK2 regulates autophagy in the hippocampus of rats after subarachnoid hemorrhage [J]. *Neuroreport*, 2018, 29(18): 1571-1577.
- [21] 刘俊杰, 赵雅宁, 陈禹廷, 等. ERK信号通路抑制剂U0126对蛛网膜下腔出血大鼠早期脑损伤及神经元自噬的影响[J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2017, 38(1): 18-23, 28.
- [22] 安朝旺, 王峥, 李建民, 等. 依达拉奉联合雷帕霉素对蛛网膜下腔出血大鼠神经细胞自噬及学习记忆的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(19): 4738-4741.

(收稿日期: 2019-02-25, 修回日期: 2019-05-09)