

【基础研究】

作者简介:侯立维(1973-),男,河南长垣人,硕士,副主任医师,主要从事神经内科学基础与临床研究。

hypoxic-ischemic brain injury. **Methods** Seventy-two 7-day-old male Wistar rats without specific pathogens were selected and randomly divided into sham operation group, model group, dexamethasone group, low dose exogenous bilirubin group, middle dose exogenous bilirubin group and high dose exogenous bilirubin group, with 12 rats in each group. The rats in each group were intraperitoneal injection of chloral hydrate for anesthesia, the left common carotid artery was separated, the external carotid artery was ligated with silk thread (sham operation group only wore thread without ligature). Four hours after the model prepared, the rats in dexamethasone group was injected intraperitoneally with dexamethasone ($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$); the rats in low, medium, and high dose exogenous bilirubin group were injected intraperitoneally with 5, 10, and 15 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ of exogenous bilirubin, respectively; the rats in the sham operation group and the model group were injected intraperitoneally with the same volume of normal saline; all rats were continuous administration for 2 weeks. The cognitive function of rats in each group was detected by water maze test; the apoptosis of hippocampal cells was detected by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling; the expressions of p-JAK2, p-STAT3 and Bcl-2 protein in hippocampus of rats in each group was detected by Western blot. **Results** The escape latency of rats in the model group was significantly prolonged than that in the sham operation group at 1, 2, 3, 4 days of Morris water maze test ($P < 0.05$). The number of crossing platforms and the speed of exploration platform of rats in the model group were significantly lower than those in the sham operation group at 1, 2, 3, 4 days of Morris water maze test ($P < 0.05$). The apoptotic rate and the expression levels of p-JAK2, p-STAT3 and Bcl-2 protein in hippocampal tissues of rats in the model group were significantly higher than those in the sham operation group at 1, 2, 3, 4 days of Morris water maze test ($P < 0.05$). Compared with the model group, the escape latency of rats in the dexamethasone group and low, medium and high dose exogenous bilirubin group was significantly shortened ($P < 0.05$), the number of crossing platforms and the speed of exploration platform were significantly increased ($P < 0.05$), the apoptotic rate and the expression levels of p-JAK2, p-STAT3 and Bcl-2 protein in hippocampal tissue were significantly decreased at 1, 2, 3, 4 days of Morris water maze test ($P < 0.05$). Compared with the dexamethasone group, the escape latency of rats in the low, medium dose exogenous bilirubin group was significantly prolonged ($P < 0.05$), the number of crossing platforms and the speed of exploration platform were significantly decreased ($P < 0.05$), the apoptotic rate and the expression levels of p-JAK2, p-STAT3 and Bcl-2 protein in hippocampal tissues were significantly increased at 1, 2, 3, 4 days of Morris water maze test ($P < 0.05$). There was no significant difference in the escape latency time, number of crossing platforms, and speed of exploring platform, apoptotic rate and expression levels of p-JAK2, p-STAT3, Bcl-2 protein in hippocampal tissues between the high dose exogenous bilirubin group and the dexamethasone group at 1, 2, 3, 4 days of Morris water maze test ($P > 0.05$). With the increase of the dose of exogenous bilirubin, the escape latency time of rats in the low, middle, and high dose exogenous bilirubin groups was shortened, the number of crossing platforms and the speed of exploration platform were increased, the apoptotic rate and the expression levels of p-JAK2, p-STAT3 and Bcl-2 protein in hippocampal tissue were decreased at 1, 2, 3, 4 days of Morris water maze test, the difference was statistically significant between the low dose exogenous bilirubin group and middle dose exogenous bilirubin group and high dose exogenous bilirubin group ($P < 0.05$). **Conclusion** Exogenous bilirubin can improve cognitive function and inhibit hippocampal cell apoptosis in rats with hypoxic-ischemic brain injury, which may be achieved by regulating the activity of JAK2/STAT3/Bcl-2 pathway.

Key words: bilirubin; hypoxic-ischemic brain damage; cognitive function; Janus activated kinase-2; signal transducer and activator of transcription-3; B-cell lymphoma-2

缺血缺氧性脑损伤是围生期常见的疾病^[1-2],是造成新生儿死亡及神经系统损伤的主要原因之一,其致死率和致残率高,严重威胁新生儿的生命^[3-4]。地塞米松是治疗缺血缺氧性脑损伤的常用药物,但长期使用会引发肌无力、肌萎缩,甚至影响幼儿骨骼生长和发育^[5]。胆红素是一种抗氧化剂,对癌症、心脑血管疾病及神经性疾病具有防治作用^[6-7]。然而,外源性胆红素对缺血缺氧性脑损伤大鼠认知功能的影响尚未见报道。本研究以地塞米松为阳性对照药物,探讨外源性胆红素对缺血缺氧性脑损伤大鼠认知功能及海马组织中蛋白酪氨酸激酶 2 (janus activated kinase-2, JAK2)/信号转导子与激活子 3 (signal transducer and activator of transcription-3,

STAT3)/B 细胞淋巴瘤基因-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)/信号通路的影响,旨在为缺血缺氧性脑损伤的治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 无特定病原体级 7 日龄雄性 Wistar 大鼠 72 只,体质量 11.5 ~ 16.4 g,购自中国农业大学实验动物中心,许可证号:SYXK(京)2015-0045。采用随机数字表法将大鼠分为假手术组、模型组、地塞米松组、外源性胆红素低剂量组、外源性胆红素中剂量组、外源性胆红素高剂量组,每组 12 只,在室内温度 18 ~ 25 ℃、相对湿度为 40% ~ 50% 的动物实验房内饲养,自由进食、进水,食物为全价营养颗粒

饲料,2 d 更换垫料 1 次。

1.2 主要试剂与仪器 胆红素、地塞米松购自中国药品生物制品检验所,辣根过氧化物酶购自上海倍卓生物科技有限公司,兔抗鼠 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 多克隆抗体、辣根过氧化物酶标记羊抗兔 IgG 二抗购自武汉博士德生物工程有限公司,末端脱氧核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记 (terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end labeling, TUNEL) 试剂盒购自杭州碧云天生物技术有限公司,二氨基联苯胺 (diaminobenzidine, DAB) 显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司,甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 购自美国 Abcam 公司;3K15 超低温离心机购自德国 Sigma 公司;SW-CJ-2D2G2F2FD 双人净化工作台购自苏州净化设备有限公司,精密电子天平购自美国 Adventurer 公司,紫外分光光度计购自上海第三分析仪器厂。

1.3 动物模型制备 采用经典 Rice 法制备缺血缺氧性脑损伤大鼠模型^[8]:将各组大鼠腹腔注射 $40\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 水合氯醛进行麻醉,剪毛消毒后,将其固定于脑立体定位仪上,沿颈中线切口,分离左侧颈总动脉,用 5/0 丝线结扎颈外动脉(假手术组只穿线不结扎),缝合组织及皮肤,待大鼠苏醒后回笼饲养。模型制备 4 h 后,地塞米松组大鼠腹腔内注射 $10\text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 地塞米松^[9];外源性胆红素低、中、高剂量组大鼠分别腹腔内注射 5、10、15 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 外源性胆红素^[10],假手术组、模型组大鼠腹腔内注射等量的生理盐水,连续给药 2 周。

1.4 Morris 水迷宫实验检测各组大鼠认知功能 治疗 2 周后,采用 Morris 水迷宫实验检测各组大鼠空间位置学习记忆能力^[11],实验期间保持平台位置不变,环境安静,四周光照程度一样,水池壁上黄色胶布标记,室温和水温均控制在 $22 \sim 26\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。(1)定位航行实验:将大鼠置于圆形不锈钢水池,任意选 2 个与平台等距的入水点,将动物面朝池壁轻轻放入水中,记录大鼠 90 s 内寻找平台时间(逃避潜伏时间),实验第 1、2、3、4 天每天训练 2 次,2 次训练潜伏时间的平均值记为当天逃避潜伏时间。(2)空间探索实验:第 5 天撤走安全平台,随机选取入水点,将大鼠放入水中,记录大鼠 90 s 内找到目标象限穿越平台次数及探索平台的速度,实验只进行 1 次,并以此数据作为空间学习记忆能力的检测指标。

1.5 TUNEL 法检测各组大鼠海马组织中细胞凋亡情况 水迷宫实验结束后,每组随机选取 5 只大鼠,采用 $10\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 水合氯醛 ($4\text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) 腹腔注

射麻醉,于无菌条件下打开胸腔,暴露心脏,使用 $40\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 多聚甲醛灌注固定,直至心脏变白、四肢僵硬,迅速断头取脑,一部分脑组织保存于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中,另一部分脑组织置于体积分数 10% 的中性甲醛溶液中固定 4 h。参照文献中大鼠脑立体定位图谱取其海马组织^[12],制作石蜡切片,脱蜡、脱水后添加 DNA 断裂的 TUNEL 反应液, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 1 h,清洗后添加 $50\text{ }\mu\text{L}$ 辣根过氧化物酶, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 30 min,清洗后添加 DAB 显色液,室温孵育 5 min,期间观察组织切片染色情况,用单蒸水终止显色。经梯度乙醇水合、二甲苯透明、中性树胶封片,光学显微镜下观察各组切片显色情况。正常神经元经苏木精复染后细胞核呈蓝黑色, TUNEL 阳性细胞的细胞体缩小,核固缩,染色质凝聚,呈棕黄色或黄褐色颗粒,表现出凋亡的特征。采用 Image ProPlus 5.1 软件分析每张照片,计算凋亡细胞数,每张切片取 5 个不同视野进行观察,计算细胞凋亡率,细胞凋亡率 = TUNEL 阳性细胞数量/总细胞数量 $\times 100\%$ 。

1.6 Western blot 法检测各组大鼠海马组织中 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 蛋白表达 取脑组织,研磨后加入裂解液提取海马组织总蛋白,以 GAPDH 为内参,进行聚丙烯酰胺凝胶电泳,每孔上样体积 $20\text{ }\mu\text{L}$,电泳结束后,半干转膜仪转膜 50 min,分别滴加一抗兔抗鼠 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 多克隆抗体, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 过夜,滴加二抗, $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置 1 h。显影后采集图像,以 β -actin 为内参蛋白,采用 Gel-Pro analyzer 4 软件定量分析 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 蛋白表达水平。

1.7 统计学处理 应用 SPSS 20.0 软件进行统计分析,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析,2 组间比较采用最小显著性差异法 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 6 组大鼠逃避潜伏时间比较 结果见表 1。与假手术组比较,模型组大鼠第 1、2、3、4 天逃避潜伏时间均显著延长,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与模型组比较,地塞米松组和外源性胆红素低、中、高剂量组大鼠第 1、2、3、4 天逃避潜伏时间均显著缩短,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与地塞米松组比较,外源性胆红素低、中剂量组大鼠第 1、2、3、4 天逃避潜伏时间显著延长 ($P < 0.05$)。外源性胆红素高剂量组大鼠第 1、2、3、4 天逃避潜伏时间与地塞米松组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。随着外源性胆红素剂量增加,外源性胆红素低、中、高剂量组

大鼠第 1、2、3、4 天逃避潜伏时间呈缩短趋势,组间两两比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 6 组大鼠逃避潜伏时间比较

Tab.1 Comparison of escape latency of rats in the six groups ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | 逃避潜伏时间/s | | | |
|------------|----|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| | | 第 1 天 | 第 2 天 | 第 3 天 | 第 4 天 |
| 假手术组 | 12 | 45.16 ± 4.36 | 34.18 ± 4.13 | 21.32 ± 3.43 | 13.58 ± 3.02 |
| 模型组 | 12 | 121.43 ± 8.56 ^a | 108.13 ± 8.35 ^a | 101.75 ± 8.06 ^a | 85.26 ± 7.73 ^a |
| 地塞米松组 | 12 | 57.71 ± 5.73 ^b | 48.52 ± 6.12 ^b | 40.16 ± 4.02 ^b | 25.43 ± 3.56 ^b |
| 外源性胆红素低剂量组 | 12 | 99.54 ± 8.15 ^{bc} | 86.72 ± 7.82 ^{bc} | 80.71 ± 7.63 ^{bc} | 63.21 ± 5.45 ^{bc} |
| 外源性胆红素中剂量组 | 12 | 77.43 ± 7.41 ^{bcd} | 66.03 ± 5.61 ^{bcd} | 59.36 ± 5.24 ^{bcd} | 42.53 ± 4.03 ^{bcd} |
| 外源性胆红素高剂量组 | 12 | 58.78 ± 6.52 ^{bde} | 47.21 ± 4.32 ^{bde} | 38.87 ± 3.91 ^{bde} | 24.46 ± 3.75 ^{bde} |

注:与假手术组比较^a $P < 0.05$;与模型组比较^b $P < 0.05$;与地塞米松组比较^c $P < 0.05$;与外源性胆红素低剂量组比较^d $P < 0.05$;与外源性胆红素中剂量组比较^e $P < 0.05$ 。

2.2 6 组大鼠探索平台情况比较 结果见表 2。与假手术组比较,模型组大鼠穿越平台次数及探索平台速度均显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组比较,地塞米松组和外源性胆红素低、中、高剂量组大鼠穿越平台次数及探索平台速度显著增加,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与地塞米松组比较,外源性胆红素低、中剂量组大鼠穿越平台次数及探索平台速度均显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。外源性胆红素高剂量组与地塞米松组大鼠穿越平台次数及探索平台速度比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。随着外源性胆红素剂量增加,外源性胆红素低、中、高剂量组大鼠穿越平台次数及探索平台速度呈增加趋势,组间两两比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 6 组大鼠海马组织中细胞凋亡情况比较 假手术组、模型组、地塞米松组及外源性胆红素低、中、高剂量组大鼠海马组织中细胞凋亡率分别为 $(7.32 \pm 1.78)\%$ 、 $(58.42 \pm 2.78)\%$ 、 $(15.13 \pm 1.93)\%$ 、 $(42.36 \pm 2.54)\%$ 、 $(27.53 \pm 2.23)\%$ 、 $(15.42 \pm 1.97)\%$ 。与假手术组比较,模型组大鼠海马组织中细胞凋亡率显著增高,差异有统计学意义

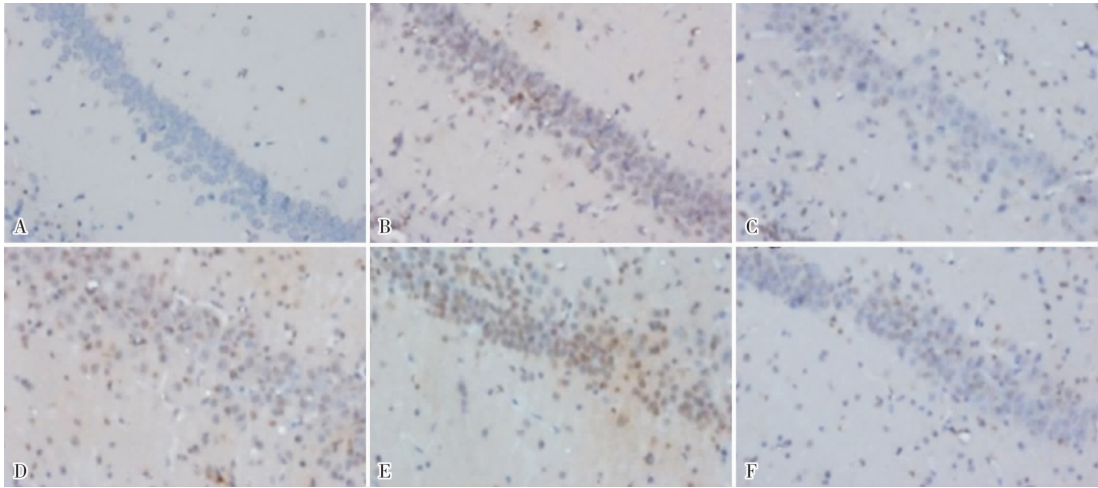
($P < 0.05$)。与模型组比较,地塞米松组和外源性胆红素低、中、高剂量组大鼠海马组织中细胞凋亡率均显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与地塞米松组比较,外源性胆红素低、中剂量组大鼠海马组织中细胞凋亡率均显著增高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。高剂量组与地塞米松组大鼠海马组织中细胞凋亡率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。随着外源性胆红素剂量增加,外源性胆红素低、中、高剂量组大鼠海马组织中细胞凋亡率呈降低趋势,组间两两比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1。

表 2 6 组大鼠探索平台情况比较

Tab.2 Comparison of exploration platforms of rats in the six groups ($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | n | 穿越平台次数 | 探索平台速度/($\text{cm} \cdot \text{s}^{-1}$) |
|------------|----|----------------------------|--|
| 假手术组 | 12 | 8.94 ± 1.13 | 28.76 ± 1.41 |
| 模型组 | 12 | 3.02 ± 0.63 ^a | 23.42 ± 0.61 ^a |
| 地塞米松组 | 12 | 7.56 ± 1.06 ^b | 27.36 ± 1.03 ^b |
| 外源性胆红素低剂量组 | 12 | 4.52 ± 0.78 ^{bc} | 24.07 ± 0.76 ^{bc} |
| 外源性胆红素中剂量组 | 12 | 6.11 ± 0.86 ^{bcd} | 25.13 ± 0.83 ^{bcd} |
| 外源性胆红素高剂量组 | 12 | 7.53 ± 1.03 ^{bde} | 27.24 ± 0.97 ^{bde} |

注:与假手术组比较^a $P < 0.05$;与模型组比较^b $P < 0.05$;与地塞米松组比较^c $P < 0.05$;与外源性胆红素低剂量组比较^d $P < 0.05$;与外源性胆红素中剂量组比较^e $P < 0.05$ 。



A:假手术组;B:模型组;C:地塞米松组;D:外源性胆红素低剂量组;E:外源性胆红素中剂量组;F:外源性胆红素高剂量组。

图 1 6 组大鼠海马组织中细胞凋亡情况 (TUNEL 法, ×400)

Fig.1 Apoptosis in hippocampus of rats in the six groups (TUNEL, ×400)

2.4 6 组大鼠海马组织中 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 蛋白表达水平比较 结果见表 3 和图 2。与假手术组比较,模型组大鼠海马组织中 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 表达水平均显著升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与模型组比较,地塞米松组和外源性胆红素低、中、高剂量组大鼠海马组织中 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 表达水平均显著降低,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与地塞米松组比较,外源性胆红素低、中剂量组大鼠海马组织中 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 表达水平均显著升高,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。外源性胆红素高剂量组与地塞米松组大鼠海马组织中 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 表达水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。随着外源性胆红素剂量增加,外源性胆红素低、中、高剂量组大鼠海马组织中 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 表达水平呈现降低趋势,组间两两比较差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 3 6 组大鼠海马组织中 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 蛋白表达比较

| Tab.3 Expression of p-JAK2,p-STAT3 and Bcl-2 protein in hippocampus of rats in the six groups ($\bar{x} \pm s$) | | | | |
|---|---|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| 组别 | n | p-JAK2 | p-STAT3 | Bcl-2 |
| 假手术组 | 5 | 0.28 ± 0.03 | 0.42 ± 0.04 | 0.21 ± 0.01 |
| 模型组 | 5 | 0.92 ± 0.08 ^a | 1.15 ± 0.12 ^a | 0.98 ± 0.10 ^a |
| 地塞米松组 | 5 | 0.32 ± 0.03 ^b | 0.52 ± 0.05 ^b | 0.40 ± 0.03 ^b |
| 外源性胆红素低剂量组 | 5 | 0.73 ± 0.07 ^{bc} | 0.94 ± 0.09 ^{bc} | 0.79 ± 0.08 ^{bc} |
| 外源性胆红素中剂量组 | 5 | 0.54 ± 0.06 ^{bcd} | 0.73 ± 0.07 ^{bcd} | 0.59 ± 0.06 ^{bcd} |
| 外源性胆红素高剂量组 | 5 | 0.34 ± 0.04 ^{bde} | 0.51 ± 0.05 ^{bde} | 0.38 ± 0.06 ^{bde} |

注:与假手术组比较^a $P < 0.05$;与模型组比较^b $P < 0.05$;与地塞米松组比较^c $P < 0.05$;与外源性胆红素低剂量组比较^d $P < 0.05$;与外源性胆红素中剂量组比较^e $P < 0.05$ 。

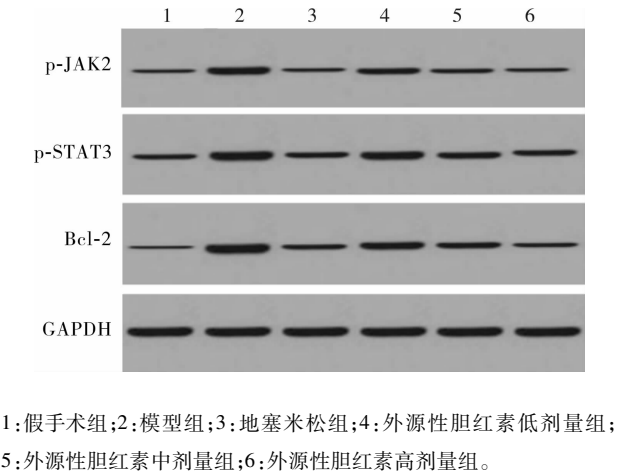


图 2 6 组大鼠海马组织中 p-JAK2、p-STAT3 和 Bcl-2 蛋白的表达 (Western blot)

Fig.2 Expression of p-JAK2,p-STAT3 and Bcl-2 protein in hippocampus of rats in the six groups (Western blot)

3 讨论

缺血缺氧性脑损伤是临床常见的神经系统疾病,常引发脑水肿、脑组织坏死以及神经损伤,导致患者认知功能障碍,如记忆力减退、运动功能及学习能力减退等^[13-14],甚至危及患者生命。因此,探寻安全、高效的药物治疗缺血缺氧性脑损伤具有重要意义。

胆红素是哺乳动物体内的代谢终产物,研究显示,胆红素具有抗菌消炎、抗癌、抗氧化、抗神经细胞凋亡等多种药理功能^[15]。MIRELES 等^[16]研究表明,外源性胆红素可避免红细胞氧化反应时结构损伤。万英等^[10]研究表明,外源性胆红素能够减轻急性肾缺血再灌注损伤,发挥对肾组织的保护作用。侯立维等^[17]研究表明,外源性胆红素能够减轻缺血缺氧性脑损伤大鼠神经细胞凋亡,对缺血缺氧性脑损伤神经起保护作用。ADIN 等^[18]研究表明,外源性胆红素在胰岛分离和低氧应激小鼠中表现出细胞保护和抗氧化作用。然而,胆红素对缺血缺氧性脑损伤大鼠认知功能及海马神经细胞凋亡的影响尚未见报道。

本研究结果显示,与模型组比较,地塞米松组和外源性胆红素低、中、高剂量组大鼠逃避潜伏时间显著缩短,穿越平台次数、探索平台速度显著提高,海马组织中细胞凋亡率显著降低;与地塞米松组比较,外源性胆红素低、中剂量组大鼠逃避潜伏时间显著延长,穿越平台次数及探索平台速度均显著降低,海马组织中细胞凋亡率显著升高,而外源性胆红素高剂量组大鼠与地塞米松组比较逃避潜伏时间、穿越平台次数、探索平台的速度以及海马组织中细胞凋亡率差异均无统计学意义;且随着外源性胆红素剂量增加,外源性胆红素低、中、高剂量组大鼠各时间点大鼠逃避潜伏时间呈缩短趋势,穿越平台次数及探索平台速度呈增加趋势,海马组织中细胞凋亡率呈现降低趋势,组间两两比较差异均有统计学意义。以上结果提示,外源性胆红素能够改善缺血缺氧性脑损伤大鼠的认知功能,并抑制海马组织中细胞凋亡,且具有一定的剂量依赖性。

外源性胆红素能够抑制海马细胞凋亡,但具体的作用机制尚未完全明确。JAK2、STAT3、Bcl-2 是与细胞凋亡密切相关的蛋白,JAK2/STAT3/Bcl-2 通路在细胞凋亡过程中发挥着重要作用。有研究显示,胆红素可下调凋亡蛋白表达水平,增强 Bcl-2 活

性,增大 Bcl-2/Bax 比值,在缺血再灌注过程中抑制神经元凋亡^[19]。邓士兵等^[20]研究表明,通过调控 JAK2/STAT3/Bcl-2 信号通路的活性,能够抑制心肌细胞凋亡。鲍天昊等^[21]研究表明,上游的 JAK2 蛋白分子与细胞表面的受体结合后,能够诱导受体和 JAK2 磷酸化,活化的 JAK2 分子能够诱导下游的 STAT3 发生磷酸化,STAT3 被活化后进入到细胞核内,激活转录的发生,进而调控抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达。本研究结果显示,与模型组比较,地塞米松组和外源性胆红素低、中、高剂量组大鼠海马组织中 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 蛋白表达水平显著降低;与地塞米松组比较,外源性胆红素低、中剂量组大鼠海马组织中 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 表达水平均显著升高,而大鼠高剂量组海马组织中 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 表达差异均无统计学意义,且随着外源性胆红素剂量增加,外源性胆红素低、中、高剂量组大鼠海马组织中 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 表达水平呈下降趋势,组间两两比较差异均有统计学意义。以上结果提示,外源性胆红素通过调控 p-JAK2、p-STAT3、Bcl-2 表达来调控海马细胞凋亡。

综上所述,外源性胆红素能够提高缺血缺氧性脑损伤大鼠的认知功能,抑制海马组织细胞凋亡,这一作用可能是通过调控 JAK2/STAT3/Bcl-2 通路的活性而实现。

参考文献:

[1] 柴妍楠,尹晓娟. 新生儿缺氧缺血性脑损伤神经功能障碍及神经再生新认识[J]. 中国儿童保健杂志,2015,23(1):46-48.

[2] YU Q,ZHOU L,LIU L,*et al.* Stromal cell-derived factor-1 α alleviates hypoxic-ischemic brain damage in mice[J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2015,464(2):447-452.

[3] 吴馥鸾,陈蓉,殷杰. 促红细胞生成素对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠海马组织整合素 β 1 表达的影响[J]. 中华实用儿科临床杂志,2017,32(12):908-911.

[4] 赵云霞,牛国辉,王军,等. 缺氧缺血性脑损伤新生大鼠早期缺氧诱导因子-1 表达的意义[J]. 中华实用儿科临床杂志,2017,32(17):1321-1325.

[5] 马景斌. 不同剂量地塞米松对新生儿缺血缺氧性脑病的疗效观察[J]. 现代诊断与治疗,2015,26(18):4188-4189.

[6] 王杨,陈贻骥. 胆红素抗氧化作用在新生儿领域的研究进展

[J]. 儿科药科学杂志,2015,21(3):57-60.

[7] ZELENKA J,MUCHOVA L,ZELENKOVA M,*et al.* Intracellular accumulation of bilirubin as a defense mechanism against increased oxidative stress[J]. *Biochimie*,2012,94(8):1821-1827.

[8] RICE J E,VANNUCCI R C,BRIERLEY J B. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat[J]. *Ann Neurol*,1981,9(2):131-141.

[9] 曲书强,张凤蕴,赵霞霞,等. DXM 对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠脑组织 AQP-4 表达的研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2014,22(7):24-26.

[10] 万英,李著华,吴劲波,等. 外源性胆红素对大鼠肾缺血再灌注损伤的作用[J]. 实用医药杂志,2008,25(12):1494-1496.

[11] 纪国余,薛杭,于威威,等. 异氟醚后处理对缺血缺氧性脑损伤新生大鼠远期认知功能的影响[J]. 中华麻醉学杂志,2014,34(7):869-872.

[12] BRODAL P. A stereotaxic atlas of the rat brain[J]. *Neurosci*,1980,5(8):1507-1507.

[13] 陈宏琼. 新生儿缺氧缺血性脑损伤的治疗进展[J]. 医学理论与实践,2015,28(7):871-873.

[14] 李宏,郑妮,舒斯云. 新生儿缺氧缺血性脑损伤的病理机制与牛磺酸的生物学功能[J]. 解剖学研究,2015,37(2):146-150.

[15] 李建强,井军虎,赵卉,等. 胆红素对大鼠肺脏缺血再灌注损伤保护作用的研究[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志,2008,17(3):283-288.

[16] MIRELES L C,LUM M A,DENNERY P A. Antioxidant and cytotoxic effects of bilirubin on neonatal erythrocytes[J]. *Pediatr Res*,1999,45(3):355-362.

[17] 侯立维,孔丽娜. 外源性胆红素在缺血缺氧性脑损伤大鼠中的作用研究[J]. 中国实用神经疾病杂志,2017,20(22):5-8.

[18] ADIN C A,VANGUNDY Z C,PAPENFUSS T L,*et al.* Physiologic doses of bilirubin contribute to tolerance of islet transplants by suppressing the innate immune response[J]. *Cell Transplantat*,2017,26(1):11-21.

[19] 张仁伟,刘煜敏,封红亮,等. 胆红素对脑缺血再灌注大鼠半暗带区神经保护作用实验研究[J]. 中华实用诊断与治疗杂志,2016,30(4):343-345.

[20] 邓士兵,夏豪,周忠泉. 姜黄素通过调控 JAK2/STAT3 信号通路对高糖环境下心肌细胞生物学特性的影响[J]. 中国老年学,2017,37(22):5490-5492.

[21] 鲍天昊,韩剑虹,朱榆红. 缺血后适应激活 JAK2-STAT3-BCL 通路抑制缺血再灌注损伤海马组织细胞的凋亡[J]. 临床神经外科杂志,2015,12(5):358-362.

(本文编辑:李胜利 英文编辑:孟 月)