

κ 阿片受体激动剂(U50488H)对缺血性脑卒中大鼠神经元自噬、迟发性神经元损伤及 NOTCH 表达水平的影响

冯庆琪 李昂 王巍

【摘要】 目的 探讨 κ 阿片受体激动剂(U50488H)对缺血性脑卒中大鼠神经元自噬、迟发性神经元损伤及 NOTCH 表达水平的影响。**方法** 选取 40 只清洁级(Specific pathogen free, SPF)级 Sprague Dawley (SD)雄性大鼠,随机分为正常(N)组、模型(M)组、丁苯酞(B)组、U50488H(U)组,每组各 10 只,对 M,B,U 组采用线栓法建立缺血性脑卒中模型,N 组不建立该模型,建模成功后对 B 组给予灌胃 4.5 mg/kg 的丁苯酞,对 U 组给予脑内注射 1.5 mg/kg 的 U50488H,N,M 组同期给予灌胃同体积生理盐水,生物机能实验系统检测大鼠脑血流动力学,Zea longa 评分及神经症状评分(Neurosymptom score,NSS)评分检测大鼠迟发性神经损伤,HE 染色法检测脑组织病理形态,免疫印迹法检测脑组织中自噬相关蛋白表达水平,免疫组化法检测 NOTCH 表达水平。**结果** 与 N 组比较,M 组心率(Heart rate,HR)、收缩压(Systolic blood pressure,SBP)、舒张压(Diastolic blood pressure,DBP)均显著升高($P<0.05$);与 M 组比较,B,U 组大鼠 HR,SBP,DBP 均显著降低($P<0.05$),且 U 组比 B 组降低显著($P<0.05$)。与 N 组比较,M 组 Zea longa 评分、NSS 评分均显著升高($P<0.05$);与 M 组比较,B,U 组大鼠 Zea longa 评分、NSS 评分均显著降低($P<0.05$),且 U 组比 B 组降低显著($P<0.05$)。N 组大鼠脑组织及皮质结构完整且致密均匀,神经细胞核形态正常完整,核仁清晰,神经细胞排列整齐,未见细胞周围间隙水肿;M 组脑组织结构遭到破坏,细胞排列紊乱且着色变浅,核仁及结构消失,出现蹄网状结构,并可见大量空泡;与 M 组比较,B,U 组病理状态明显,细胞体积明显缩小,细胞排列少且散乱。与 N 组比较,M 组脑组织中 LC3,Beclin1 蛋白表达水平显著升高($P<0.05$);与 M 组比较,B,U 组脑组织中 LC3,Beclin1 蛋白表达水平显著降低($P<0.05$),且 U 组比 B 组降低显著($P<0.05$)。与 N 组比较,M 组脑组织 NOTCH 蛋白表达水平显著升高($P<0.05$);与 M 组比较,B,U 组脑组织 NOTCH 蛋白表达水平显著降低($P<0.05$),且 U 组比 B 组降低显著($P<0.05$)。**结论** κ 阿片受体激动剂可显著降低缺血性脑卒中大鼠神经元自噬及 NOTCH 表达水平,并有效改善迟发性神经元损伤。

【关键词】 κ 阿片受体激动剂 缺血性脑卒中 神经元自噬 迟发性神经损伤 NOTCH

【中图分类号】 R743.3 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1007-0478(2022)04-0311-06

【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2022.04.002

Effects of κ opioid receptor agonist (U50488H) on autophagy, delayed nerve injury and NOTCH expression in ischemic stroke rats Feng Qingqi*, Li Ang*, Wang Wei. *Department of Neurosurgery, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032

【Abstract】 Objective To investigate the effects of κ opioid receptor agonist (U50488H) on autophagy, delayed nerve injury, and NOTCH expression in ischemic stroke rats. **Methods** Forty male Sprague Dawley (SD) rats of specific pathogen free (SPF) were randomly divided into normal (N) group, model (M) group, butylphthalide (B) group, and U50488H (U) group with 10 animals in each group. The ischemic stroke model was established for the M, B, and U groups by suture method. After the modeling was successful, the B group was given 4.5 mg/kg butylbenzene Phthaloin, the U group was injected with U50488H into the brain at 1.5 mg/kg, and the N and M groups were given the same volume of normal saline by gavage at the same time. Neurosymptom score (NSS) was used to detect delayed nerve injury in rats. HE staining was used to detect the pathological morphology of brain tissue. Western blotting was used to detect the expression level of auto-

phagy-related proteins in brain tissue. Immunohistochemistry was used to detect the expression level of NOTCH. **Results** Compared with the N group, the heart rate (HR), systolic blood pressure (SBP), diastolic blood pressure (DBP), Zea longa score and NSS score of the M group were significantly increased ($P<0.05$). Compared with the M group, the Zea longa score and the NSS score of the B and U groups were significantly decreased ($P<0.05$). HR, SBP, DBP, Zea longa score and the NSS score of U group were significantly decreased ($P<0.05$), and U group was significantly lower than B group ($P<0.05$). The brain tissue and cortex of the rats were intact, dense and uniform; the nerve cell nucleus was normal and complete; the nucleoli were clear; the nerve cells were arranged neatly, and there was no edema in the space around the cells in the N group. The brain structure was destroyed; the cell arrangement was disordered and colored in the M group. Compared with the M group, the pathological state of the B and U groups was obvious, the cell volume was reduced, and the cell arrangement was less scattered. Compared with the N group, the levels of LC3, Beclin1 and NOTCH in the brain tissue of the M group were significantly increased ($P<0.05$). Compared with the M group, the levels of LC3, Beclin1 and NOTCH in the brain tissue of the B and U groups were significantly decreased ($P<0.05$), and group U was significantly lower than group B ($P<0.05$). **Conclusion** κ opioid receptor agonists can significantly reduce neuronal autophagy and NOTCH expression in rats with ischemic stroke, and effectively improve delayed neuronal damage.

【Key words】 κ opioid receptor agonist Ischemic stroke Neuronal autophagy Delayed nerve injury NOTCH

脑卒中是中枢神经系统急性脑血流循环障碍性疾病,一般可分为两类,即脑缺血、脑出血,其中缺血性脑卒中是该病的主要类型,可占60%以上^[1]。脑卒中的发病率、致残率、致死率都较高,据调查显示其已经成为我国残疾及死亡的首位原因,同时其也被世界公认为第三大致死性疾病,这对患者的生命及健康造成了较大的威胁,因此探寻一种有效的治疗手段就显得尤为重要^[2]。缺血性脑卒中的梗死区及周围半暗带残存的神经元通常会受到炎症因子、毒性因子等的影响,进而导致迟发性神经元损伤的出现,最终进一步加重患者认知、运动、学习能力等障碍,故迟发性神经元损伤程度可直接决定缺血性脑卒中的预后^[3]。自噬是细胞程序性死亡的一种,是细胞自我保护的重要机制,在维持机体内环境稳态及细胞存活、更新等方面发挥着重要作用;同时有研究表明自噬在中枢神经系统中也起着重要作用,但在缺血性脑卒中的作用目前仍存在争议,因此近年来自噬的作用是临床研究的焦点之一^[4]。NOTCH是一种跨膜蛋白受体,在物种间进化上呈高度保守状态,其可通过与相邻的配体结合参与正常组织的发育调控、血管新生、神经发生及细胞的凋亡、增殖、分化等多种病理生理过程^[5]。目前临床上治疗缺血性脑卒中的方法并不多,且均具有一定缺点,但近年来研究发现 κ 阿片受体激动剂在神经内分泌和免疫调节中扮演着重要角色,其可有效抑制免疫反应,并对神经系统起到一定保护作用,且安全

性相对较高^[6]。但其在缺血性脑卒中的作用机制目前尚不明确,因此本研究就 κ 阿片受体激动剂(U50488H)对缺血性脑卒中大鼠神经元自噬、迟发性神经元损伤及NOTCH表达水平的影响进行探讨,为脑卒中的治疗、改善预后提供新靶点。

1 材料与方法

1.1 动物 本实验选取北京维通利华实验动物技术有限公司提供的40只SPF级SD雄性大鼠[合格证书为SCXK(京)2020-0018],体重200~250 g,大鼠单笼喂养,室温生长,模拟12 h昼夜交替,在常温下进行无菌自由进食、饮水2周,按照《实验动物管理条例》规定进行实验。

1.2 仪器与试剂

所用到的仪器及试剂见表1。

1.3 实验步骤

1.3.1 分组与模型制备

(1)选取40只SPF级SD雄性大鼠,随机分为正常(N)组、模型(M)组、丁苯酞(B)组, U50488H(U)组,每组各10只;(2)对M,B,U组进行缺血性脑卒中建模,首先10%的水合氯醛对大鼠进行腹腔注射麻醉,然后将其仰卧位固定,暴露出前部皮肤并消毒,颈部正中切开约2 cm的切口以暴露出右侧颈总动脉,然后用扩颈器撑开手术区,依次分离颈外动脉(External carotid artery, ECA)、颈内动脉(Internal carotid artery, ICA)、翼腭动脉,将颈总动脉、颈

表 1 仪器及试剂

仪器/试剂	型号/批号	生产厂家
丁苯酞	ESSMB00312	北京德航五洲科技有限公司
U50488H	/	美国 Sigma 公司
生物机能实验系统	JD-SMUP-U	上海继德教学实验器械厂
自动包埋机	EG1150	德国 Leica 公司
多聚甲醛	158127	Sigma-AldrichLLC. 公司
苏木素染液	H9627	美国 Sigma 公司
伊红染液	AG1100-100 ml	上海吉至生化科技有限公司
光学显微镜	CX-60	日本 OLYMPUS 公司
细胞快速裂解液(Radio-immunoprecipitation assay,RIPA)裂解液	SY4680	北京伊塔生物科技有限公司
二喹啉甲酸(Bicinchoninic acid,BCA)蛋白水平测定试剂盒	E112-01	南京诺唯赞生物科技股份有限公司
聚丙烯酰胺(Sodium salt-Polyacrylamide gel electrophoresis, SDS-PAGE)凝胶电泳试剂盒	KGP113	凯基生物科技发展有限公司
电化学发光(Electrochemiluminescence,ECL)检测试剂盒	KGP1123	凯基生物科技发展有限公司
LC3 抗体	FNab04716	武汉菲恩生物科技有限公司
Beclin1 抗体	PL0402489	深圳市豪地华拓生物科技有限公司
甘油醛-3-磷酸脱氢酶(Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体	FNab03343	武汉菲恩生物科技有限公司
免疫组化试剂盒	ZC-53964	上海苗彩生物科技有限公司
双花扁豆凝集素(Dolichos bifows agglutinin ,DBA)试剂盒	1532606650	上海将来实业股份有限公司
NOTCH 抗体	ATP397	武汉益普生物科技有限公司
生理盐水	YT3740	北京伊塔生物科技有限公司

外动脉进行结扎,同时在颈总动脉结扎的近心端备活结,用无损动脉夹分别夹闭颈内动脉和翼腭动脉,然后在总动脉结扎线与活结中间处剪一楔形小口,从切口处轻推包被了多聚赖氨酸的栓线,使其由颈总动脉通过分叉处进入颈内动脉,再沿着颈内动脉方向,缓慢轻柔地推至大脑中动脉的起点处,然后将颈总动脉上的活结打成死结,减掉多余栓线和结扎线,移开扩颈器,在切口处撒少许青霉素粉后逐层缝合并消毒,待大鼠苏醒后如出现眼睑闭合不全和肢体偏瘫等症状则视为建模成功,N 组不建立该模型,同期给予同体积生理盐水;(3)建模成功后 B 组给予灌胃 4.5 mg/kg 的丁苯酞,U 组给予脑内注射 1.5 mg/kg 的 U50488H,2 组均 1 次/d,持续 28 d,N,M 组同期给予灌胃同体积生理盐水。

1.3.2 检测步骤

(1)血流动力学测定:实验完成后用生物机能实验系统测量各组大鼠心率(Heart rate,HR)、收缩压(Systolic blood pressure,SBP)、舒张压(Diastolic blood pressure,DBP)等血流动力学参数;(2)大鼠迟发性神经元损伤检测:采用 Zea longa 评分及 NSS 评分进行评价,Zea longa 评分评定标准为总分共 4 分,0 分为无神经功能缺损,4 分为不能自发行走,有意识丧失,分值越高,则神经损伤越严重;NSS 评分标准为总分 18 分,0 分为功能正常,18 分为最

大神经功能损伤评分;(3)标本采集:大鼠神经损伤评分结束后使其安乐死,断头取脑,在冰上将完整脑组织剥离出来,洗净后进行常规脱水、透明、石蜡包埋、切片、烤片处理,然后用 4%多聚甲醛固定 96 h,磷酸盐缓冲液(Phosphate buffer salt solution,PBS)洗涤后放入冰箱中密封保存;(4)大鼠脑组织 HE 染色:取大鼠脑组织,进行二甲苯、乙醇脱蜡处理,然后用苏木素染色 10 min,自来水冲洗 5 min,1%盐酸酒精分化后自来水冲洗 1 min,1%氨水返蓝,自来水冲洗 1 min 后用伊红染液染色 1 min,自来水冲洗 1 min 后用乙醇及二甲苯进行透明,中性树胶封片后用光学显微镜进行组织病理学观察;(5)大鼠脑组织中自噬相关蛋白水平检测:采用免疫印迹法检测 LC3,Beclin1 的蛋白表达水平,取各组脑组织清洗、剪碎后加入 1 mL RIPA 裂解液研磨成匀浆,在冰上充分裂解 10 min,在 4℃、12 000 r/min 的条件下离心 30 min 后取上清液用聚氰基丙烯酸正丁酯(Bicinchoninic acid,BCA)法测定,首先取等浓度的上清液加入等体积的加样缓冲液,沸水浴 3 min,同时配置分离胶,完成后用电泳仪进行电泳,待溴酚兰至胶边缘时结束,然后进行转膜 1.5 h,洗膜后封闭 2 h,然后按照 1:1 000 的比例稀释 LC3,Beclin1 一抗,加入稀释的一抗,4℃孵育过夜,洗膜后加入按照 1:5 000 稀释的辣根过氧化物酶二抗,

37℃轻摇室温孵育2 h;洗膜后用 ECL 荧光试剂盒测定,计算与 GAPDH 比值以求得 LC3, Beclin1 蛋白的相对表达水平;(6)大鼠脑组织 NOTCH 蛋白表达水平检测:采用免疫组化法检测,取各组脑组织,脱蜡1 h、进行乙醇梯度水化,PBS 洗涤 3 次后加入枸橼酸钠,放入微波炉中进行组织抗原修复,微波炉温度为900℃,火力为 60,修复10 min,温室冷却后 PBS 洗涤 3 次,加入 3%的过氧化氢甲醇溶液避光孵育 30 min,PBS 洗涤 3 次后加入稀释的一抗(1:100),4℃过夜孵育,回温后 PBS 洗涤 3 次,加入生物素标记的二抗(1:500),室温孵育 60 min,PBS 洗涤 3 次,加入稀释的三抗(1:500),PBS 洗涤 3 次,用 DBA 试剂盒进行显色 10 min,自来水洗涤 3 次后进行梯度乙醇脱水、二甲苯透明处理,中心树胶封片后用光学显微镜进行观察。

1.4 统计学处理

采用 GraphPad Prism 8.0,符合正态分布的实验数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血流动力学

与 N 组比较,M 组大鼠 HR,SBP,DBP 均显著升高($P < 0.05$);与 M 组比较,B,U 组大鼠 HR,SBP,DBP 均显著降低($P < 0.05$),且 U 组比 B 组降低显著($P < 0.05$)(表 2)。

2.2 各组大鼠迟发性神经元损伤评定

与 N 组比较,M 组大鼠 Zea longa 评分、NSS 评分均显著升高($P < 0.05$);与 M 组比较,B,U 组大鼠 Zea longa 评分、NSS 评分均显著降低($P < 0.05$),且 U 组比 B 组降低显著($P < 0.05$)(表 3)。

表 2 各组大鼠血流动力学 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	HR(次/min)	SBP(mmHg)	DBP(mmHg)
N 组	10	347.44 ± 12.45	125.47 ± 7.26	99.01 ± 5.47
M 组	10	365.15 ± 13.74*	183.37 ± 8.57*	157.79 ± 8.67*
B 组	10	358.41 ± 12.24*#	164.01 ± 7.41*#	124.51 ± 6.58*#
U 组	10	350.12 ± 12.01*#△	130.08 ± 7.28*#△	108.22 ± 5.89*#△

注:与 N 组比较,* $P < 0.05$;与 M 组比较,# $P < 0.05$;与 B 组比较,△ $P < 0.05$

表 3 各组大鼠迟发性神经元损伤评定 ($\bar{x} \pm s$,分)

组别	<i>n</i>	Zea longa 评分	NSS 评分
N 组	10	0 ± 0	0 ± 0
M 组	10	3.54 ± 0.15*	16.44 ± 1.25*
B 组	10	2.11 ± 0.14*#	10.42 ± 1.05*#
U 组	10	1.12 ± 0.12*#△	3.12 ± 1.02*#△

注:与 N 组比较,* $P < 0.05$;与 M 组比较,# $P < 0.05$;与 B 组比较,△ $P < 0.05$

2.3 各组大鼠脑组织 HE 染色

N 组大鼠脑组织及皮质结构完整且致密均匀,神经细胞核形态正常完整,核仁清晰,神经细胞排列整齐,未见细胞周围间隙水肿;M 组脑组织结构遭到破坏,细胞排列紊乱且着色变浅,核仁及结构消失,出现蹄网状结构,并可见大量空泡;与 M 组比较,B,U 组病理状态明显,细胞体积明显缩小,细胞排列少且散乱(图 1)。

2.4 各组大鼠脑组织自噬相关蛋白表达水平

与 N 组比较,M 组大鼠脑组织中 LC3, Beclin1 蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$);与 M 组比较,B,U 组大鼠脑组织中 LC3, Beclin1 蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$),且 U 组比 B 组降低显著($P < 0.05$)(图 2)。

2.5 各组大鼠脑组织 NOTCH 蛋白表达水平

与 N 组比较,M 组大鼠脑组织 NOTCH 蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$);与 M 组比较,B,U 组大鼠脑组织 NOTCH 蛋白表达水平显著降低($P < 0.05$),且 U 组比 B 组降低显著($P < 0.05$)(图 3)。

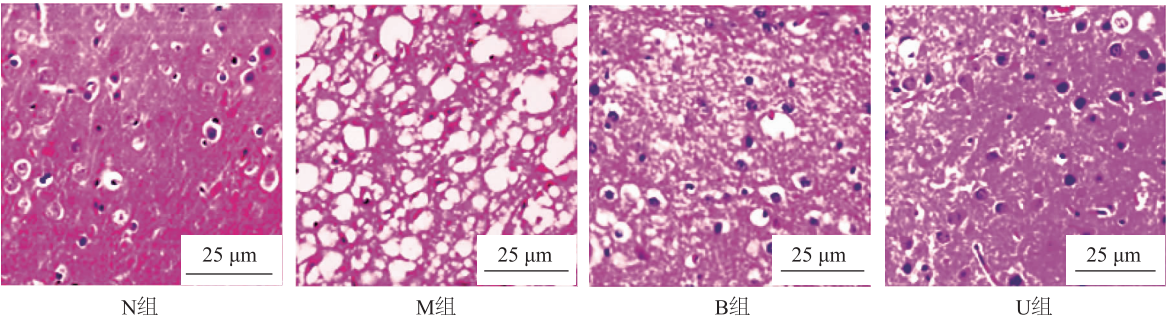


图 1 各组大鼠脑组织 HE 染色(×400 倍)

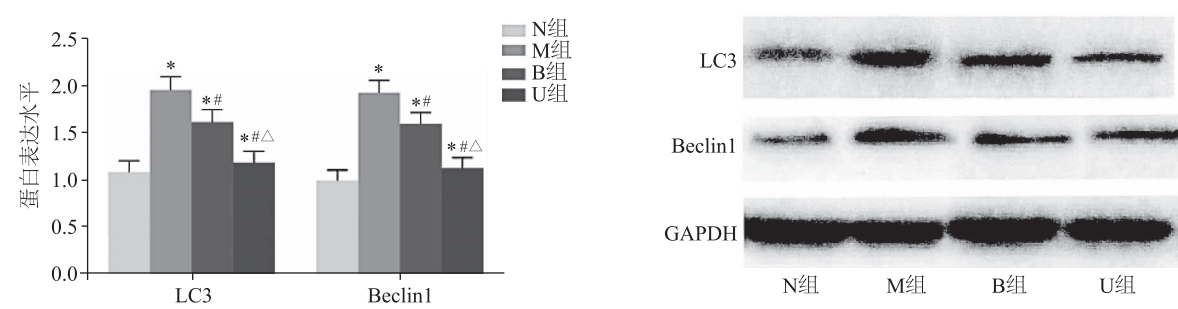


图2 各组大鼠脑组织中 LC3, Beclin1 蛋白表达水平 与 N 组比较, * $P<0.05$; 与 M 组比较, # $P<0.05$; 与 B 组比较, $\Delta P<0.05$

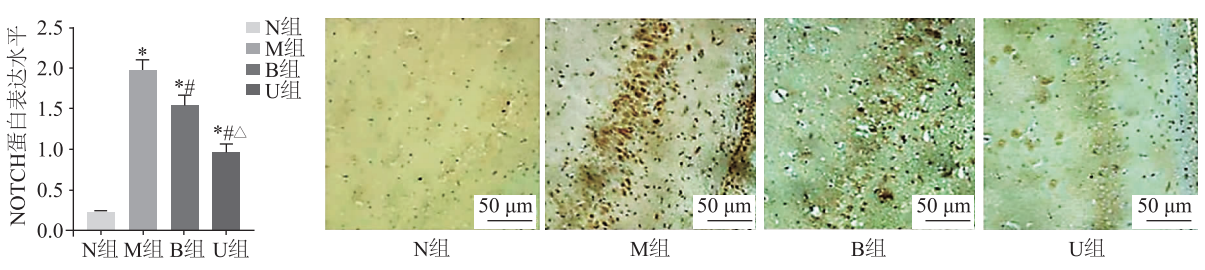


图3 各组大鼠脑组织 NOTCH 蛋白表达水平($\times 200$ 倍) 与 N 组比较, * $P<0.05$; 与 M 组比较, # $P<0.05$; 与 B 组比较, $\Delta P<0.05$

3 讨论

缺血性脑卒中是临床中常见的疾病,多发于 40 岁以上人群,且男性发病率多于女性,严重时甚至会造成死亡,这对患者的生产、生活造成严重影响^[7]。目前临床上对于该病的治疗手段缺乏令人满意的效果及干预措施,因此探寻一种新型、有效的治疗手段对降低该病死亡率,提高患者生活质量具有积极意义^[8]。近年来,有研究表明 κ 阿片受体激动剂在缺血性疾病中发挥着重要作用,其可对损伤器官起到一定保护作用,因此本研究就 κ 阿片受体激动剂(U50488H)对缺血性脑卒中大鼠神经元自噬、迟发性神经损伤及 NOTCH 蛋白表达水平的影响进行探讨,以为临床治疗提供理论基础^[9]。

本研究发现,U50488H 可显著改善大鼠血流动力学及病理状态,并降低 Zea longa 评分、NSS 评分,这说明其具有显著疗效,可有效改善迟发性神经元损伤。丁苯酞是近年来治疗脑梗死的新药,经临床证明其可通过多个环节阻断缺血性脑损伤,因此对缺血性脑梗死的治疗效果比较显著,已被广泛应用于临床^[10]。U50488H 是一种高选择特异性 κ 阿片受体激动剂,有研究表明其可有效改善缺氧、缺血造成的中枢神经系统病变,并对脑功能的恢复起到加速作用^[11]。缺血性脑卒中患者在治疗后多数仍会存在机体功能损伤如失语、日常生活障碍、运动以

及睡眠功能障碍等,而出现这种状况的主要原因是机体出现了迟发性神经元损伤,这对患者的生活质量造成了较大的影响,因此如何抑制或减轻迟发性神经元损伤是目前临床工作的重点之一^[12]。对于缺血性脑卒中大鼠,U50488H 可能是通过促进 κ 阿片受体的分泌来促进其与配体结合并重构缺血区域微循环,从而调节缺血区域血流量、抑制神经体液细胞因子激活、抑制血管收缩、抑制醛固酮的分泌,进而增加脑组织能量代谢、减轻神经细胞凋亡,改善血流动力学,最终到达修复缺血性脑损伤的目的。丁俊云等^[13]研究表明, κ 阿片受体激动剂对缺血性脑卒中大鼠具有显著疗效,其可显著改善大鼠神经功能损伤及脑血管内皮损伤,这与本研究结果类似。

本研究结果表明,与 M 组比较,B,U 组脑组织中 LC3, Beclin1 蛋白表达水平显著降低,且 U 组比 B 组降低显著,这说明 U50488H 可显著抑制神经元自噬。自噬是真核细胞中一种高度保守的溶酶体依赖性降解途径,其在机体中的作用有利有弊,当其被适当的激活时可有效清除机体内产生的有害物质,促进细胞存活,但相反其就会对细胞产生毒害作用,导致细胞裂解死亡,而 LC3, Beclin1 是自噬所必须的标记蛋白,其表达可估计自噬水平的高低^[14]。目前对于自噬在缺血性脑卒中的作用临床尚存在争议,一方面认为自噬在脑缺血后被激活可减轻脑损伤,并起到脑保护作用;另一方面则认为自噬在缺

血/低氧性脑病发病机理中加重脑损伤,故对于自噬的作用还需要进一步的深入研究,以期为临床治疗提供更多的理论依据^[15]。本研究结果显示,U50488H可能是通过调节神经元内环境来促进自噬相关蛋白降解、促进自噬溶酶体形成,从而有效维持机体内环境稳定、抑制神经元自噬、防止错误蛋白质积累,进而达到减轻大鼠缺血性脑损伤的目的,最终有效改善病理状况。李鲁博^[16]研究发现,缺血性脑卒中 LC3, Beclin1 蛋白表达水平显著升高,给予治疗后水平显著降低,脑组织损伤也明显改善,这与本研究结果类似。

本研究发现,与 M 组比较,B, U 组脑组织 NOTCH 蛋白表达水平显著降低,且 U 组比 B 组降低显著,这说明 U50488H 可显著降低 NOTCH 蛋白表达水平。NOTCH 是一类高度保守的细胞表面受体,其可影响细胞正常形态发生的多个过程,包括多能祖细胞的分化、细胞增殖及凋亡、细胞边界的形成等^[17]。有研究表明,NOTCH 在成年中枢神经系统中起着重要的调控作用,可以介导缺血性脑损伤,因此阻断 NOTCH 是治疗缺血性脑卒中的 1 个可能靶点^[18]。缺血性脑卒中的病死率较高,有调查显示其病死率可达 30%,但目前该病并没有有效的治疗方法,因此最好的措施就是预防,同时应加强对全民普及脑卒中危险因素及先兆症状的教育,才能真正地防治脑卒中^[19]。对于缺血性脑卒中大鼠,U50488H 可能是通过促进相关配体的分泌来促进 NOTCH 与配体的结合,从而促进神经干细胞的存活、提高新生神经前体细胞的数量,进而抑制神经元凋亡、促进神经元的增殖活性,最终到达修复神经功能,改善疾病症状的目的。温艺超等^[20]研究发现,阻断 Notch 通路可有效改善缺血性脑卒中大鼠病理状况,同时改善血脂水平及炎症反应,这与本研究结果类似。

综上所述, κ 阿片受体激动剂可显著降低缺血性脑卒中大鼠神经元自噬及 NOTCH 表达水平,并有效改善迟发性神经元损伤。

参 考 文 献

[1] 王飞,陈姝. 脑血疏口服液辅助治疗急性缺血性脑卒中临床研究[J]. 新中医,2021,53(20):50-53.
[2] Alper BS, Foster G, Thabane L, et al. Thrombolysis with alteplase 3-4.5 hours after acute ischaemic stroke: trial reanalysis adjusted for baseline imbalances[J]. BMJ Evid Based Med,

2020, 25(5): 168-171.

[3] 张文,董斌,席春华. 远隔缺血处理在急性缺血性卒中患者的应用[J]. 国际脑血管病杂志,2021,29(5):370-377.
[4] Ajoalabady A, Wang S, Kroemer G, et al. Targeting autophagy in ischemic stroke: From molecular mechanisms to clinical therapeutics[Z],2021:107848.
[5] 房裕钞,王黎洲,黄学卿,等. 微小 RNA-155 通过 Notch 信号通路对脑缺血-再灌注损伤的影响[J]. 介入放射学杂志,2019,28(7):661-668.
[6] 金强,刘冬,刁玉刚,等. κ 阿片受体激动剂 U5088 H 对大鼠体外循环后认知功能及 PKA-CREB 信号通路影响[J]. 临床军医杂志,2020,48(2):133-136.
[7] Herpich F, Rincon F. Management of acute ischemic stroke [J]. Crit Care Med, 2020, 48(11): 1654-1663.
[8] Rabinstein AA. Update on treatment of acute ischemic stroke [J]. Continuum (Minneapolis), 2020, 26(2): 268-286.
[9] 鲍宏刚,苏芳菊,徐志勇,等. κ 阿片受体选择性激动剂 U50488H 对大鼠心室纤维化及缝隙连接蛋白 43 重构的影响[J]. 现代生物医学进展,2020,20(10):1824-1828, 1888.
[10] 朱金,杜宇平. 丁苯酞软胶囊联合双联抗血小板治疗急性缺血性脑卒中疗效及对血清 β 2-MG HCY CysC 和神经功能的影响[J]. 河北医学,2021,27(10):1734-1739.
[11] Fan J, Li L, Qu P, et al. κ opioid receptor agonist U50488H attenuates postoperative cognitive dysfunction of cardiopulmonary bypass rats through the PI3K/AKT/Nrf2/HO-1 pathway [J]. Mol Med Rep, 2021, 23(4): 293.
[12] 曾芳芳,余丽红,王丽君. 穴位贴敷与针刺联合常规疗法治疗缺血性脑卒中后失眠临床研究[J]. 新中医,2021,53(20):156-160.
[13] 丁俊云,陈维英,王震虹,等. salvinorin A 上调 MALAT1 表达减轻缺血性脑卒中大鼠的脑血管内皮损伤[J]. 国际麻醉学与复苏杂志,2020,41(12):1124-1130.
[14] Lamark T, Svenning S, Johansen T. Regulation of selective autophagy: the p62/SQSTM1 paradigm[J]. Essays Biochem, 2017, 61(6): 609-624.
[15] 周大旺,张晨禹,黎博,等. 转录因子 EB 通过激活自噬及溶酶体功能改善缺血性卒中小鼠神经功能[J]. 中国病理生理杂志,2021,37(7):1178-1186.
[16] 李鲁博. 尼莫地平对缺血性脑卒中自噬相关蛋白 Beclin1、LC3 表达的影响[D]. 镇江:江苏大学,2018.
[17] Wang H, Zang C, Liu XS, et al. The role of Notch receptors in transcriptional regulation[J]. J Cell Physiol, 2015, 230(5): 982-988.
[18] 田会玲,李庆盟,孙新月,等. 中医药对缺血性脑卒中神经修复中 Notch 信号通路的调控机制研究进展[J]. 世界中西医结合杂志,2017,12(10):1477-1480.
[19] Maida CD, Norrito RL, Daidone M, et al. Neuroinflammatory mechanisms in ischemic stroke: focus on cardioembolic stroke, background, and therapeutic approaches[J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(18): 6454.
[20] 温艺超,陈伟燕,谢富华,等. DAPT 阻断 Notch 通路对动脉粥样硬化型缺血性脑卒中大鼠的保护作用[J]. 中国病理生理杂志,2018,34(11):2031-2036.

(2022-02-08 收稿)