

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2023.24.006
文章编号: 1005-8982 (2023) 24-0029-07

实验研究·论著

右美托咪定对脓毒症小鼠认知功能 及HSP70表达的影响*

赵园园¹, 邱高林², 蔡雯¹, 周静文¹, 李元海¹, 夏晓琼¹, 张梦英¹

(1. 安徽医科大学附属巢湖医院 麻醉科, 安徽 巢湖 238000; 2. 安徽医科大学
第一附属医院 麻醉科, 安徽 合肥 230031)

摘要: **目的** 探讨右美托咪定(Dex)对脓毒症小鼠认知功能及热休克蛋白70 (HSP70) 表达的影响, 为其脑保护机制的研究提供参考。**方法** 将80只C57BL/6小鼠随机分为对照组(CON组)、单纯Dex组(Dex组)、脓毒血症组(LPS组)和Dex+脓毒血症组(D+L组), 每组20只。首先, Dex组和D+L组腹腔注射Dex 25 μg/kg, CON组和LPS组腹腔注射等剂量的生理盐水; 30 min后LPS组和D+L组腹腔注射5 mg/kg脂多糖(LPS)复制脓毒血症模型, CON组和Dex组腹腔注射等剂量的生理盐水。采用Morris水迷宫实验评估小鼠学习记忆能力, 酶联免疫吸附试验检测血清肿瘤坏死因子-α(TNF-α)和白细胞介素-1β(IL-1β)水平, 化学比色法检测海马组织过氧化物歧化酶(SOD)活性和谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)水平, 苏木精-伊红染色观察海马CA1区病理变化, 免疫组织化学染色和实时荧光定量聚合酶链反应检测海马HSP70蛋白、mRNA表达。**结果** 各组小鼠第1、2、3、4、5天逃避潜伏期比较, 经重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点的逃避潜伏期比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); ②各组小鼠的逃避潜伏期比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), LPS组较CON组延长, D+L组较LPS组缩短; ③各组小鼠逃避潜伏期变化趋势比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。各组小鼠游泳速度比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。LPS组目标象限停留时间短于CON组($P < 0.05$), D+L组长于LPS组($P < 0.05$); LPS组穿越平台次数少于CON组($P < 0.05$); D+L组多于LPS组($P < 0.05$)。LPS组血清TNF-α、IL-1β水平较CON组升高($P < 0.05$), D+L组较LPS组降低($P < 0.05$)。LPS组GSH、SOD水平较CON组降低($P < 0.05$), MDA水平较CON组升高($P < 0.05$), D+L组GSH、SOD水平较LPS组升高($P < 0.05$), MDA水平较LPS组下降($P < 0.05$)。LPS组HSP70蛋白阳性表达率较CON组升高($P < 0.05$), D+L组较LPS组升高($P < 0.05$), Dex组与CON组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。LPS组HSP70 mRNA相对表达量较CON组升高($P < 0.05$), D+L组较LPS组升高($P < 0.05$); Dex组与CON组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** Dex能够降低脓毒症小鼠体内炎症和氧化应激水平, 改善认知功能, 其机制可能与上调HSP70表达有关。

关键词: 脓毒症; 右美托咪定; 氧化应激; 认知功能; 热休克蛋白

中图分类号: R631.2

文献标识码: A

Effect of dexmedetomidine on cognitive function and HSP70 expression in mice models of sepsis*

Zhao Yuan-yuan¹, Qiu Gao-lin², Cai Wen¹, Zhou Jing-wen¹,
Li Yuan-hai¹, Xia Xiao-qiong¹, Zhang Meng-ying¹

(1. Department of Anesthesiology, Chaohu Hospital Affiliated to Anhui Medical University,
Chaohu, Anhui 238000, China; 2. Department of Anesthesiology, The First Affiliated
Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230031, China)

收稿日期: 2023-06-20

* 基金项目: 国家自然科学基金(No:82101349)

[通信作者] 李元海, E-mail: liyuanhai-1@163.com; Tel: 13505697561

Abstract: Objective To explore the effects of dexmedetomidine (Dex) on cognitive function and HSP70 expression in mice models of sepsis, and to provide a basis for researches on brain protection in the setting of sepsis.

Methods Eighty C57BL/6 mice were randomly divided into control group (CON group), Dex-only group (DEX group), sepsis group (LPS group), and Dex + sepsis group (D + L group), with 20 mice in each group. Firstly, DEX group and D + L group received 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ of Dex via intraperitoneal injection, while CON group and LPS group were given the same volume of normal saline. Thirty minutes later, 5 mg/kg of lipopolysaccharide (LPS) was injected intraperitoneally in LPS group and D + L group to establish models of sepsis, while CON group and DEX group were given the same volume of normal saline. The Morris water maze was performed to assess the learning and memory of mice. The serum levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) were measured by ELISA, and levels of superoxide dismutase (SOD), glutathione (GSH) and malondialdehyde (MDA) in the hippocampus of mice were detected by chemical colorimetry. The hematoxylin-eosin (HE) staining was applied to observe the pathological changes in the hippocampal CA1 region, and the immunohistochemical assay and qPCR were used to determine the protein and mRNA expressions of heat shock protein 70 (HSP70) in the hippocampus.

Results The escape latency of mice in each group on the 1st, 2nd, 3rd, 4th and 5th day were compared via repeated measures ANOVA, and the results revealed that the escape latency was significantly different among the time points ($P < 0.05$) and the groups ($P < 0.05$), and that the escape latency in the LPS group was longer than that in the CON group while that in the D + L group was shorter than that in the LPS group. Besides, the change trends of the escape latency were different among the groups ($P < 0.05$). There was no statistically significant difference in swimming speed of mice among different groups ($P > 0.05$). The time spent in the target quadrant in the LPS group was shorter than that in the CON group ($P < 0.05$), and that in the D + L group was longer than that in the LPS group ($P < 0.05$). The number of platform crossings in the LPS group was lower than that in the CON group ($P < 0.05$), and that in the D + L group was higher than that in the LPS group ($P < 0.05$). The serum levels of TNF- α and IL-1 β in the LPS group were higher than those in the CON group ($P < 0.05$), and those in the D + L group were lower than those in the LPS group ($P < 0.05$). Compared with the control group, levels of GSH and SOD were decreased ($P < 0.05$), and the level of MDA was increased in the LPS group ($P < 0.05$). Compared with the LPS group, levels of GSH and SOD were increased ($P < 0.05$), and the level of MDA was decreased in the D + L group ($P < 0.05$). The positive expression rate of HSP70 protein in the LPS group was higher compared with that in the CON group ($P < 0.05$), while that in the D + L group was higher compared with that in the LPS group ($P < 0.05$). There was no statistically significant difference in the positive expression rate of HSP70 protein between the DEX group and the CON group ($P > 0.05$). The relative mRNA expression of HSP70 in the LPS group was higher than that in the CON group ($P < 0.05$), while that in the D + L group was even higher compared with that in the LPS group ($P < 0.05$). There was no statistically significant difference in the relative mRNA expression of HSP70 between the DEX group and the CON group ($P > 0.05$).

Conclusions Dex can reduce inflammation and oxidative stress in mice models of sepsis, and improve the cognitive function of the mice. The underlying mechanism may be related to the upregulation of HSP70 expression.

Keywords: dexmedetomidine; sepsis; oxidative stress; cognitive function; heat shock protein

脓毒症是机体对感染反应失调所致的脏器功能障碍综合征,脓毒症相关性脑病(sepsis-associated encephalopathy, SAE)是脓毒症的中枢系统并发症,与脑内炎症、氧化应激有关,病死率较高,幸存者多存在长期认知缺陷,但目前尚无有效的治疗方式^[1]。热休克蛋白 70(heat shock protein70, HSP70)是热休克蛋白家族的重要成员,是一种高度保守的蛋白,作用广泛,能协助蛋白正确地折叠、促进异常蛋白的降解、阻止 Tau 蛋白和 A β 聚集、抑制神经炎症与

氧化应激,在神经退行性疾病、血管性脑病中发挥脑保护作用^[2-5]。

右美托咪定(Dexmedetomidine, Dex)是一种高选择性的 α_2 受体激动剂,兼具镇静与镇痛作用,广泛用于临床麻醉和重症监护室镇静。有研究显示, Dex 定能通过抗炎、抗氧化、抗交感、降低氨基酸毒性、减少神经元凋亡等机制改善脓毒症患者认知功能^[6-7],但 HSP70 是否参与其脑保护过程目前尚不清楚。本研究以脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)复制

脓毒血症相关的认知障碍模型, 探讨 Dex 对脓毒症小鼠认知功能的影响和 HSP70 表达的调控, 为其脑保护机制的研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 C57BL/6 小鼠[实验动物生产许可证号: SCXK(皖)2022-001, 实验动物使用许可证号: SYXK(皖)2020-001]80 只, 周龄 7~8 周, 体重 20~25 g, 购于安徽医科大学实验动物中心。本研究经医院医学伦理委员会批准。

1.2 试剂与仪器

1.2.1 主要试剂 盐酸右美托咪定注射液(扬子江药业集团有限公司, 批号: 22041031), LPS(上海优宁维生物科技股份有限公司, 批号: abs42020800), BCA 蛋白定量试剂盒(爱必信生物科技股份有限公司, 批号: abs9232), 过氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性、谷胱甘肽(Glutathione, GSH)和丙二醛(Malondialdehyde, MDA)试剂盒(南京建成生物工程研究所, 批号: A001-1-3-2、A006-2-1、A003-1-2), 肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (Interleukin-1 β , IL-1 β)酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司, 批号: PI303、PT512), RNA 提取液、Synthesis Super Mix for qPCR 和 2 \times SYBR Green qPCR Master Mix(武汉赛维尔科技有限公司, 批号: G3013、G3337、G3320), HSP70 单克隆抗体、免疫组织化学染色试剂盒(武汉三鹰生物技术有限公司, 批号: 66183-1-Ig、PK10018)。

1.2.2 主要仪器 低速冷冻离心机(型号: KDC-2046, 安徽中科中佳科学仪器有限公司), 酶标仪[型号: Multiskan FC, 赛默飞世尔(上海)仪器有限公司], 荧光定量 PCR 仪[型号: CPX96 Touch, 伯乐生命科学产品(上海)有限公司], 生物显微镜(型号: DM2500, 德国徕卡公司)。

1.3 方法

1.3.1 动物分组与模型复制 将 C57BL/6 小鼠随机分为对照组(CON 组)、单纯 Dex 组(Dex 组)、脓毒血症组(LPS 组)和 Dex + 脓毒血症组(D + L 组), 每组

20 只。首先, Dex 组和 D + L 组按照参考文献[8]方法, 腹腔注射 Dex 25 μ g/kg, CON 组和 LPS 组腹腔注射等剂量的生理盐水; 30 min 后 LPS 组和 D+L 组参照文献[9]腹腔注射 5 mg/kg 脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)复制脓毒血症模型, CON 组和 Dex 组腹腔注射等剂量的生理盐水。

1.3.2 Morris 水迷宫实验 每组给药后 24 h 随机选 8 只小鼠进行实验。Morris 水迷宫为直径 100 cm, 深 30 cm 的圆形水池, 水温控制在(22 \pm 1) $^{\circ}$ C, 将直径 10 cm 的圆形平台放入目标象限, 并隐匿于水面下 1 cm。第 1~5 天进行定位航行实验, 每日将小鼠面向池壁从 4 个象限依次放入水中, 记录每次爬上平台的时间(逃避潜伏期), 若 60 s 内未爬上平台则按 60 s 计算, 并引导其至平台上停留 30 s。第 6 天进行空间探索实验, 撤离平台, 将小鼠从原平台对侧的象限放入水中, 记录小鼠 60 s 内在目标象限的停留时间及穿越平台的次数。

1.3.3 ELISA 检测血清 TNF- α 和 IL-1 β 水平 每组给药后 24 h 取 8 只小鼠眼球取血, 室温静置 2 h, 4 $^{\circ}$ C、3 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 按照试剂盒说明书操作, 采用 ELISA 检测小鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 水平。处死小鼠取海马组织, 置入-80 $^{\circ}$ C 冰箱冷冻保存备用。

1.3.4 化学比色法检测海马组织 SOD 活性和 GSH、MDA 水平 取备用的海马组织清洗称重, 按质量: 体积=1:9 加入生理盐水, 用组织匀浆器在冰上充分研磨制备 10% 海马组织匀浆, 4 $^{\circ}$ C、3 000 r/min 离心 10 min 后取上清液, 采用 BCA 法测定海马组织蛋白浓度, 化学比色法测定 SOD 活性和 GSH、MDA 水平。

1.3.5 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色观察小鼠海马组织病理变化 每组给药后 24 h 取 4 只小鼠断颈处死, 冰上分离出完整的海马组织, 用 4% 多聚甲醛固定, 经脱水、石蜡包埋和切片制备成 4 μ m 厚的切片, 烘干备用。每只取 3 张切片, 经二甲苯和酒精脱蜡至水后进行 HE 染色, 于 400 倍显微镜下观察海马 CA1 区组织形态变化。

1.3.6 免疫组织化学染色检测海马组织 HSP70 蛋白的表达 取制备的海马切片, 每只 3 张切片, 常规脱蜡和水化后抗原热(96~98 $^{\circ}$ C)修复 20 min, ddH₂O 润洗、缓冲液浸泡; 滴加封闭液湿盒内封闭 30 min; 滴加 2 μ g/mL 的 HSP70 一抗 50 μ L 湿盒中孵育 1 h,

缓冲液洗涤 2 次, 1 min/次; 滴加 2~4 滴二抗湿盒中孵育 30 min, 缓冲液洗涤 3 次, 1 min/次; 滴加 DAB, 变色后缓冲液冲洗, ddH₂O 浸泡 3~4 次、30 s/次; 滴加信号加强液, 孵育 5 min, 缓冲液润洗, 复染、封片。显微镜下观察海马 CA1 区, 应用 Image J 软件分析免疫组织化学染色结果, 阳性细胞率=视野内阳性细胞数/细胞总数×100%。

1.3.7 实时荧光定量聚合酶链反应(quantitative real-time polymerase chain reaction, qRT-PCR)检测海马组织 HSP70 mRNA 表达 取适量海马组织, 按 10 mg 组织中加 100 μL RNA 提取液的比例研磨均匀, 提取总 RNA, 根据试剂盒说明书进行逆转录和 qRT-PCR。HSP70 正向引物: 5'-CCGACAAGGAGGAGTTCGTG-3', 反向引物: 5'-ACAGTAATCGGTGCCCAAGC-3', 长度均为 249 bp; GAPDH 正向引物: 5'-CCTCGTCCCGTAGACAAAATG-3', 反向引物: 5'-TGAGGTCAATGAAGGGGTCGT-3', 长度均为 133 bp。反应条件: 95 °C 预变性 30 s、95 °C 变性 15 s、60 °C 退

火并延伸 30 s, 共 40 个循环。以 GAPDH 为内参, 采用 2^{-ΔΔCt} 法计算 HSP70 mRNA 相对表达量。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用单因素方差分析或重复测量设计的方差分析, 两两比较用 LSD-t 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠 Morris 水迷宫实验指标比较

各组小鼠第 1、2、3、4、5 天逃避潜伏期比较, 经重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点的逃避潜伏期比较, 差异有统计学意义 ($F = 206.485, P = 0.000$); ②各组小鼠的逃避潜伏期比较, 差异有统计学意义 ($F = 14.576, P = 0.000$), LPS 组较 CON 组延长, D+L 组较 LPS 组缩短; ③各组小鼠逃避潜伏期变化趋势比较, 差异有统计学意义 ($F = 3.877, P = 0.020$)。见表 1。

表 1 各组小鼠不同时间点逃避潜伏期比较 ($n = 8, s, \bar{x} \pm s$)

组别	第 1 天	第 2 天	第 3 天	第 4 天	第 5 天
CON 组	46.66 ± 9.27	29.47 ± 4.49	22.30 ± 4.78	11.33 ± 2.93	5.23 ± 1.49
Dex 组	46.86 ± 10.04	30.88 ± 3.76	21.31 ± 5.97	14.53 ± 5.79	6.67 ± 2.09
LPS 组	48.92 ± 11.24	33.56 ± 4.47	30.21 ± 3.72	22.69 ± 2.56	20.05 ± 2.34
D + L 组	47.98 ± 9.52	33.45 ± 3.18	24.78 ± 2.93	17.18 ± 6.08	11.18 ± 2.95

空间探索实验结果显示, 各组小鼠游泳速度比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。各组小鼠目标象限停留时间、穿越平台次数比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), LPS 组目标象限停留时间短于 CON 组, D+L 组长于 LPS 组; LPS 组穿越平台次数少于 CON 组, D+L 组多于 LPS 组。见表 2。

2.2 各组小鼠血清 TNF-α、IL-1β 水平比较

各组小鼠血清 TNF-α、IL-1β 水平比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), LPS 组较 CON 组升高, D+L 组较 LPS 组降低。见表 3。

2.3 各组小鼠海马组织 SOD、GSH、MDA 水平比较

各组小鼠海马组织中 SOD、GSH、MDA 水平比较, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), LPS 组 GSH、SOD 水平较 CON 组降低, MDA 水平较 CON 组升高, D+L 组 GSH、SOD 水平较 LPS 组升高, MDA 水平较 LPS 组降低。见表 4。

表 2 各组小鼠空间探索结果比较 ($n = 8, \bar{x} \pm s$)

组别	游泳速度/ (cm/s)	目标象限停留 时间/s	穿越平台 次数
CON 组	23.99 ± 2.67	31.65 ± 5.63	8.13 ± 1.55
Dex 组	23.10 ± 1.66	29.06 ± 5.96	6.75 ± 2.12
LPS 组	24.59 ± 2.17	20.33 ± 3.74 ^①	4.13 ± 1.13 ^①
D + L 组	23.24 ± 2.27	28.05 ± 4.28 ^②	6.38 ± 1.19 ^②
F 值	0.779	7.632	9.190
P 值	0.515	0.001	0.000

注: ①与 CON 组比较, $P < 0.05$; ②与 LPS 组比较, $P < 0.05$

2.4 各组小鼠海马 CA1 区病理变化

HE 染色结果显示, CON 组和 Dex 组海马 CA1 区神经元结构完整, 排列整齐, 核染色清晰; LPS 组海马 CA1 区神经元数量减少, 排列紊乱, 大量细胞染色加深、核固缩; D+L 组海马 CA1 区上述病理改变较

表 3 各组小鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 水平比较
($n=8$, pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α	IL-1 β
CON 组	57.12 \pm 12.29	25.50 \pm 5.90
Dex 组	57.38 \pm 15.07	26.26 \pm 6.58
LPS 组	154.80 \pm 17.50 ^①	65.85 \pm 9.05 ^①
D + L 组	86.13 \pm 9.15 ^②	41.94 \pm 4.58 ^②
F 值	88.232	63.101
P 值	0.000	0.000

注: ①与 CON 组比较, $P < 0.05$; ②与 LPS 组比较, $P < 0.05$ 。

表 4 各组海马组织中氧化应激水平比较 ($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

组别	SOD/ (u/mg \cdot prot)	GSH/ (nmol/mg \cdot prot)	MDA/ (nmol/mg \cdot prot)
CON 组	127.41 \pm 17.22	26.72 \pm 4.62	1.11 \pm 0.27
Dex 组	126.21 \pm 15.98	23.60 \pm 4.74	1.25 \pm 0.24
LPS 组	56.58 \pm 6.80 ^①	9.75 \pm 2.29 ^①	2.60 \pm 0.32 ^①
D + L 组	97.79 \pm 8.42 ^②	16.50 \pm 3.02 ^②	1.85 \pm 0.26 ^②
F 值	52.816	31.614	49.576
P 值	0.000	0.000	0.000

注: ①与 CON 组比较, $P < 0.05$; ②与 LPS 组比较, $P < 0.05$ 。

LPS 组减轻, 受损细胞明显减少。见图 1。

2.5 各组小鼠海马组织 HSP70 蛋白阳性表达率比较

CON 组、Dex 组、LPS 组、D + L 组小鼠海马 CA1 区 HSP70 蛋白阳性表达率分别为 (15.55 \pm 1.67)%、

(17.80 \pm 3.13)%、(43.13 \pm 2.55)%、(63.63 \pm 3.17)%，经单因素方差分析，差异有统计学意义 ($F = 285.419$, $P = 0.000$)，LPS 组较 CON 组升高 ($P < 0.05$)，D+L 组较 LPS 组升高 ($P < 0.05$)，Dex 组与 CON 组比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见图 2。

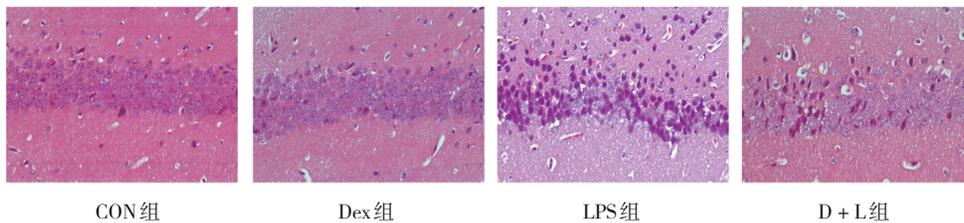


图 1 各组小鼠海马 CA1 区病理变化 (HE 染色 $\times 400$)

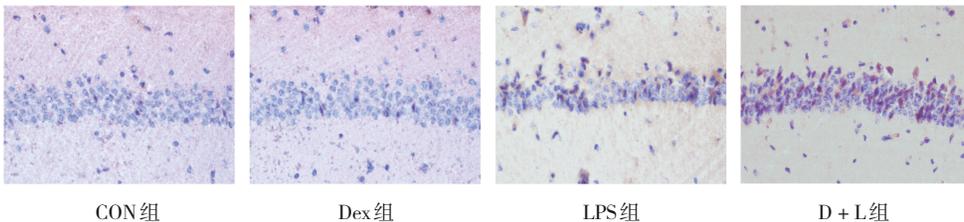


图 2 各组小鼠海马 CA1 区 HSP70 蛋白阳性表达情况 (免疫组织化学 $\times 400$)

2.6 各组小鼠海马组织 HSP70 mRNA 相对表达量比较

CON 组、Dex 组、LPS 组、D+L 组小鼠海马组织 HSP70 mRNA 相对表达量分别为 (1.03 \pm 0.29)、(1.30 \pm 0.19)、(1.97 \pm 0.11)、(3.24 \pm 0.54)，经单因素方差分析，差异有统计学意义 ($F = 73.024$, $P = 0.000$)，LPS 组较 CON 组升高 ($P < 0.05$)，D+L 组较 LPS 组升高 ($P < 0.05$)，Dex 组与 CON 组比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

SAE 是脓毒血症最常见的器官功能障碍之一，

病理机制复杂，主要表现为认知功能和意识受损。据统计，9% ~ 71% 脓毒症患者伴有不同程度的 SAE，给患者及其家庭造成极大痛苦^[10]。HSP70 是细胞在应激刺激下分泌的自我保护性蛋白，细胞内的 HSP70 能降低脓毒症的氧化应激水平，减少 LPS 诱导的小胶质细胞活化，降低活性氧和 TNF- α 生成，减少神经细胞坏死和凋亡，缓解脓毒症相关的中枢炎症与认知能力下降^[5,11-13]。研究显示，Dex 对 SAE 具有脑保护作用，但具体作用机制不详^[14]。ZHANG 等^[8]发现 Dex 可通过上调海马组织 HSP70，抑制神经元凋亡，改善脑缺血大鼠的认知障碍；LU 等^[15]发现，使用常规药物联合腹腔注射 Dex 进行 CPR 时，显著

提高了复苏大鼠的神经功能,并且证实与Dex增加海马组织HSP70的表达有关。这些研究提示Dex可能通过HSP70改善SAE的认知功能。

海马是学习和记忆形成的重要位置,CA1区是海马中的缺血缺氧脆弱区,与空间学习记忆密切相关,LPS是G-杆菌细胞壁主要成分,腹腔注射后能迅速提高血清炎症因子,并诱发海马组织出现氧化应激迹象,导致神经元萎缩和降低损伤空间认知能力^[16-18],因此笔者选择腹腔注射LPS复制SAE模型。结果显示,LPS组小鼠腹腔注射LPS后血清中IL-6、TNF- α 明显升高,海马组织中SOD活性和GSH水平降低、MDA水平升高,海马CA1区出现神经元损伤,并且在Morris水迷宫实验中逃避潜伏期延长,目标象限停留时间和穿越平台次数减少,说明SAE模型复制成功。而D+L组预先给予Dex降低脓毒症小鼠体内的炎症和氧化应激水平,减轻海马CA1区的神经元损伤,缩短了逃避潜伏期,增加目标象限停留时间和穿越平台次数,说明Dex在脓毒症中具有一定的脑保护作用,但是否与HSP70相关尚不清楚。本研究通过qRT-PCR和免疫组织化学实验检测了各组小鼠海马组织内HSP70 mRNA和蛋白的表达,结果显示,与对照组比较,LPS组小鼠海马组织HSP70 mRNA相对表达量及蛋白阳性表达率升高,这可能与LPS的刺激有关^[19]。文献显示,LPS暴露2~6 h后细胞内HSP70表达增加,但增加量相对较少并且多在12 h后开始下降,不足以抵抗LPS所致的损伤^[20-21],故可解释LPS组小鼠体内炎症和氧化应激水平的升高及SAE的发生。而与LPS组比较,D+L组小鼠海马组织HSP70 mRNA、蛋白表达被进一步上调,说明预先腹腔注射Dex可增加脓毒症小鼠海马内的HSP70转录与表达。有研究发现,HSP70能通过抑制核因子- κ B,降低炎症因子释放、干扰诱导型一氧化氮合酶合成与提高核转录因子E2相关因子2/血红素氧合酶1,减少活性氧产生,从而提高细胞应激耐受能力,减少神经细胞损伤^[3,22],与本研究结果一致。因此,笔者推测Dex可能通过上调HSP70改善SAE小鼠的认知功能。

综上所述,本研究初次在脓毒症模型中探讨Dex的认知保护作用与海马组织HSP70表达的关系,推断Dex可能通过上调HSP70缓解脓毒症小鼠的炎症反应和氧化应激水平,减轻海马组织损伤程

度,改善脓毒症小鼠的认知障碍,为探讨Dex脑保护的新机制提供参考。但是,本研究未就Dex调控HSP70表达做剂量相关性研究,且未对其具体过程进一步探究,将在后期的实验中继续补充。

参 考 文 献 :

- [1] 张梦芹,杨洋,蒋永波,等.脓毒症相关性脑病的研究进展[J].浙江医学,2019,41(19):2121-2124.
- [2] 陈智暹,戴斌,王利强,等.Hsp70在神经退行性疾病中的作用机制研究进展[J].生命科学,2021,33(8):931-938.
- [3] 余文雯,鲍秀琦,孙华,等.热休克蛋白70对神经炎症的调节作用[J].药学报,2015,50(8):945-950.
- [4] KIM J Y, KIM J W, YENARI M A. Heat shock protein signaling in brain ischemia and injury[J]. Neurosci Lett, 2020, 715: 134642.
- [5] JIANG S F, BAI L, ZHANG X X, et al. Preexposure to heat stress attenuates sepsis-associated inflammation and cognitive decline in rats[J]. Neurosci Lett, 2022, 780: 136647.
- [6] 陈社林,李跃祥.右美托咪定脑保护作用及机制的研究进展[J].中国处方药,2020,18(2):20-22.
- [7] LANKADEVA Y R, SHEHABI Y, DEANE A M, et al. Emerging benefits and drawbacks of α 2-adrenoceptor agonists in the management of sepsis and critical illness[J]. Br J Pharmacol, 2021, 178(6): 1407-1425.
- [8] ZHANG M H, ZHOU X M, CUI J Z, et al. Neuroprotective effects of dexmedetomidine on traumatic brain injury: Involvement of neuronal apoptosis and HSP70 expression[J]. Mol Med Rep, 2018, 17(6): 8079-8086.
- [9] ANDERSON S T, COMMINS S, MOYNAGH P N, et al. Lipopolysaccharide-induced sepsis induces long-lasting affective changes in the mouse[J]. Brain Behav Immun, 2015, 43: 98-109.
- [10] BIRCAK-KUCHTOVA B, CHUNG H Y, WICKEL J, et al. Neurofilament light chains to assess sepsis-associated encephalopathy: are we on the track toward clinical implementation?[J]. Crit Care, 2023, 27(1): 214.
- [11] SULZBACHER M M, LUDWIG M S, HECK T G. Oxidative stress and decreased tissue HSP70 are involved in the genesis of sepsis: HSP70 as a therapeutic target[J]. Rev Bras Ter Intensiva, 2020, 32(4): 585-591.
- [12] KACIMI R, YENARI M A. Pharmacologic heat shock protein 70 induction confers cytoprotection against inflammation in gliovascular cells[J]. Glia, 2015, 63(7): 1200-1212.
- [13] YURINSKAYA M M, GARBUZ D G, EVGEN'EV M B, et al. Exogenous HSP70 and signaling pathways involved in the inhibition of LPS-induced neurotoxicity of neuroblastoma cells[J]. Mol Biol (Mosk), 2020, 54(1): 128-136.
- [14] 徐猛,王子文,谢叙,等.不同剂量右美托咪定对脓毒症相关性脑病患者炎症反应、免疫功能及脑功能的影响[J].实用医学杂志,2022,38(20):2580-2584.
- [15] LU J, LIU L J, ZHU J L, et al. Hypothermic properties of dexmedetomidine provide neuroprotection in rats following

- cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(1): 817-825.
- [16] LANA D, UGOLINI F, GIOVANNINI M G. An overview on the differential interplay among neurons-astrocytes-microglia in CA1 and CA3 hippocampus in hypoxia/ischemia[J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14: 585833.
- [17] JEONG N, SINGER A C. Learning from inhibition: functional roles of hippocampal CA1 inhibition in spatial learning and memory[J]. *Curr Opin Neurobiol*, 2022, 76: 102604.
- [18] SEEMANN S, ZOHLES F, LUPP A. Comprehensive comparison of three different animal models for systemic inflammation[J]. *J Biomed Sci*, 2017, 24(1): 60.
- [19] 陈世华, 付绪华, 袁丹桂, 等. 川芎嗪对感染性休克大鼠脑组织 PI3K/AKT 信号通路及热休克蛋白 70 的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2021, 19(12): 2010-2015.
- [20] TULAPURKAR M E, RAMARATHNAM A, HASDAY J D, et al. Bacterial lipopolysaccharide augments febrile-range hyperthermia-induced heat shock protein 70 expression and extracellular release in human THP1 cells[J]. *PLoS One*, 2015, 10(2): e0118010.
- [21] KANG Q X, CHEN Y, ZHANG X, et al. Heat shock protein A12B protects against sepsis-induced impairment in vascular endothelial permeability[J]. *J Surg Res*, 2016, 202(1): 87-94.
- [22] 税晓平, 李春莹, 李明娟, 等. 有氧和抗阻运动干预 2 型糖尿病模型大鼠海马抗氧化应激指标和脑源性神经营养因子表达的变化[J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(2): 264-269.
- (李科 编辑)
- 本文引用格式:** 赵园园, 邱高林, 蔡雯, 等. 右美托咪定对脓毒症小鼠认知功能及 HSP70 表达的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2023, 33(24): 29-35.
- Cite this article as:** ZHAO Y Y, QIU G L, CAI W, et al. Effect of dexmedetomidine on cognitive function and HSP70 expression in mice models of sepsis[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2023, 33(24): 29-35.