

高压氧对脑缺血再灌注损伤后 Cx37 表达及血脑屏障的影响

佟雪^a, 张倩茹^a, 赵红^a, 陈学新^b

【摘要】 目的:研究高压氧(HBO)对大鼠脑缺血再灌注(CIR)损伤后缝隙连接蛋白 Cx37 表达及血脑屏障(BBB)通透性的影响。方法:选用 240 只雄性 Wistar 大鼠,随机分成假手术组、模型组、模型+HBO 组、HBO 组各 60 只。采用线栓法制作大鼠大脑中动脉局灶性栓塞(MCAO)模型,并于再灌注 1h、9h、21h、45h、69h 进入 HBO 舱,期间行 0.25MPa HBO 治疗 5 次。在处死动物前 1h 经尾静脉注射 2%伊文思兰(EB),采用比色法、实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)、Western Blot 法分别检测 CIR 后 0h、4h、12h、24h、48h、72h 脑组织 EB 的含量、Cx37mRNA 及蛋白的表达变化。结果:CIR 损伤后不同时间点模型组与假手术组相比较脑组织 EB 的含量显著增高($P<0.01$),其中 EB 的含量以 CIR 损伤后 4h 最为明显。模型+HBO 组脑组织中 EB 的含量与同时时间的模型组相比较显著降低($P<0.01$),HBO 组与同时时间假手术组相比较脑组织中 EB 的含量变化不明显。Cx37mRNA 及蛋白的表达与 CIR 损伤后 0h 相比于 CIR 损伤后 4h、12h、24h、48h、72h 表达显著增高($P<0.01$),以 CIR 损伤后 24h Cx37mRNA 及蛋白的表达增高最明显。CIR 损伤后 24h 模型+HBO 组与模型组相比较脑组织中 Cx37mRNA 及蛋白的表达水平明显减少($P<0.01$);CIR 损伤后 24h HBO 组与假手术组相比较脑组织中 Cx37mRNA 及蛋白的表达变化差异无统计学意义。结论:高压氧可以降低脑缺血再灌注后 BBB 通透性,其保护作用与抑制缝隙连接蛋白 Cx37 的表达有关。

【关键词】 高压氧;血脑屏障;脑缺血再灌注;缝隙连接蛋白 Cx37

【中图分类号】 R49;R743.3 **【DOI】** 10.3870/zgkf.2020.05.001

Effects of hyperbaric oxygen on expression of gap junctional protein Cx37 in brain and blood brain barrier after cerebral ischemia-reperfusion in rats Tong Xue, Zhang Qianru, Zhao Hong, et al. College of Basic Medical Sciences, China Medical University, Shenyang 110122, China

【Abstract】 Objective: To investigate the effects of hyperbaric oxygen (HBO) on the expression of gap junctional protein Cx37 in the brain and blood brain barrier (BBB) after cerebral ischemia-reperfusion (CIR) in rats. **Methods:** 240 male Wistar rats were randomly assigned into sham operation, model, model+HBO, and HBO groups ($n=60$ each). Using CIR models, 0.25 MPa HBO was applied 5 times during the reperfusion period, and 2% Evans blue (EB) was injected into tail veins 1 h before the animals were executed. The expression of Cx37 mRNA and protein, and the contents of EB were determined by RT-PCR, Western blotting and spectrophotometer, respectively. **Results:** In model group, the EB content in brain tissue was significantly increased as compared with the sham operation group, reaching its peak at 4 h post-CIR injury ($P<0.01$). The expression of Cx37 mRNA and protein significantly increased consecutively in different model group as compared with the 0 h group, reaching its highest level at 24 h. There was no significant difference in the expression of Cx37 mRNA and protein, and the content of EB between HBO group and sham operation group ($P>0.05$). The expression of Cx37 mRNA and protein in model+HBO group at CIR 24 h was significantly decreased as compared with model group ($P<0.01$). **Conclusion:** HBO intervention can decrease the permeability of BBB via reducing the expression level of Cx37 mRNA and protein.

【Key words】 hyperbaric oxygen; blood brain barrier; ischemia-reperfusion; Connexin37

收稿日期:2019-07-01

作者单位:中国医科大学 a. 基础医学院机能中心, b. 附属第一临床医院 高压氧科, 沈阳 110122

作者简介:佟雪(1992-),女,硕士,主要从事脑缺血再灌注损伤方面的研究。

高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)是当前脑科无创性治疗的新兴手段,通过采用压力较强的氧气予以治疗,迅速提升患者体内血氧含量,起到对患者脑部组织细胞血液及氧气再灌注的效果,以防止长时间缺氧

状态下患者脑部神经进一步损伤,其应用效果较好^[1-2]。但其在脑缺血再灌注(cerebral ischemia/reperfusion, CIR)损伤后对血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)保护性作用的分子机制尚不明确。BBB的改变是CIR损伤后主要的病理生理变化。BBB是由四个部分组成:血管内皮细胞及其间紧密连接、内皮基膜、星形胶质细胞终足和周细胞^[3]。缝隙连接蛋白37(Connexin37, Cx37)是构成细胞间缝隙连接(gap junction, GJ)通道最主要的膜蛋白,表达于脑血管内皮细胞上,是构成BBB的精细结构,对维持BBB内环境稳定有重要意义。CIR损伤后BBB的通透性的改变与神经细胞上GJ通道的异常变化密切相关^[4]。本研究通过观察CIR损伤后高压氧治疗后脑组织Cx37mRNA及蛋白的变化,进一步阐明高压氧降低BBB通透性的作用机理,为临床上应用HBO治疗脑血管疾病提供新的思路和方法。

1 材料与方 法

1.1 实验动物及分组 选取成年健康雄性Wistar大鼠240只,3~4月龄,体质量为(250±30)g(由中国医科大学动物部提供)。240只大鼠随机分为假手术组、模型组、模型+HBO组、HBO组(假手术组只进行了HBO处理)各60只。

1.2 方法 脑缺血再灌注动物模型的复制^[5]:采用大鼠中动脉线栓法,大鼠以10%水合氯醛腹腔麻醉,麻醉后固定于脑立体定位仪上,于颅内置入激光多普勒血流仪探头以监测右侧大脑中动脉供血区组织内血流量情况;在右侧颈部切开,暴露右侧颈总动脉,分离迷走神经。结扎翼腭动脉和颈外动脉,将末端圆钝的420尼龙丝线依次通过颈外动脉和颈内动脉小心插至大脑前交通动脉,插入约118~210cm,阻塞右侧大脑中动脉,120min后,拔出尼龙线形成再灌注。对照组为假手术组,仅结扎颈外动脉,造成与实验组同样的手术损伤。实验鼠的高压氧处理:HBO组与模型+HBO组于术后1h、9h、21h、45h、69h进入HBO舱内(动物氧气加压舱,产地:北京,型号:GB12130-1995,舱的直径:600×600×900mm),待动物进舱后,先用纯氧洗舱10min,使舱内O₂浓度>90%,加压速率为0.0125Mpa/min,加压至0.25Mpa,在高压氧状态下停留60min,其间用纯氧通气10min。停留毕,以20min匀速减至常压。假手术组与模型组亦置于舱内,模拟除压力,氧浓度外的类同模型+HBO组和HBO组的其它处理过程和环境条件。

1.3 检测指标 脑组织伊文思兰(Evans Blue, EB)测定:参考Hawkins^[6]用甲酰胺测定皮肤EB含量的

方法加以改进。大鼠于再灌注后0h、4h、12h、24h、48h、72h检测脑组织EB的含量。在处死动物前1h经尾静脉注入2%EB生理盐水(1ml/kg),在摘取脑组织前20min经心脏灌注生理盐水而直至流出清亮的液体为准。处死大鼠冰盘取脑组织用电子天平精确称其湿重后,投入中试管中,分别加入3ml甲酰胺,加盖后于45℃水浴箱孵育48h轻轻摇匀,离心15min(3000r/min),取上清液在分光光度计比色($r=623\text{nm}$)。Western Blot检测CIR损伤后脑组织Cx37蛋白的表达;按照说明书进行组织总蛋白的提取及定量,取含同等蛋白量(50ug)样本稀释至等体积,和2×sample buffer(100mmol/L Tris-HCL, 200 mmol/L DTT, 4% SDS, 0.2%溴酚蓝, 20%甘油)等体积混匀,100℃水浴5min,趁热加样,每孔10ul,进行电泳。电泳后凝胶用于考马斯亮蓝染色和电转移。电转移:SDS聚丙烯酰胺胶卸下,浸入转移液中,在转移液中平衡10min,然后加于转模装置中,100mA×60min转模。电泳及电转后,将膜取出,加Cx37一抗(Cell Signaling Technology公司, Cx37兔抗浓度为1:1000)及GADPH一抗(武汉博士德公司, GADPH鼠抗浓度为1:1000),4℃冰箱中过夜。取出膜, TBST漂洗,加偶联辣根过氧化物酶(HRP)的二抗(武汉博士德公司),用封闭液稀释,抗兔二抗浓度为1:5000,抗鼠二抗浓度为1:2000,室温下作用2h,用ImageJ图像处理软件分析目的条带的净光密度值。RT-PCR检测CIR损伤后脑组织Cx37mRNA的表达:组织总RNA提取和反转录反应:采用异硫氰酸胍一步法,取上述各组脑组织,加入预冷的Trizol变性液1ml,在玻璃匀浆器中冰上匀浆,静置5min,其余步骤严格按Trizol提取液说明书进行。所得总RNA溶解于无RNA酶抑制剂水中。取部分总RNA用紫外分光光度计测定RNA样品,在波长260、280 nm处的吸光度(A)的比值以检测其纯度,当比值在1.8~2.0表明RNA纯度较高。用凝胶电泳检查其完整性,其余-80℃保存待进行反转录。取总RNA 5ul,在20ul体系中以随机六聚体为引物,应用AMV反转录酶合成第1链cDNA。反应完后,迅速冰上冷却,室温高速离心5min, -20℃保存。PCR扩增反应:取5ml反转录产物为模板,依次加入下述组分:10×PCR反应缓冲液5ul, dNTP混合液(2.5mmol/L)4ul, Taq DNA聚合酶ul, Cx37上、下游引物各0.5ul, β -actin上、下游引物各0.5ul,加无菌双蒸水至50ul,在PCR合成仪中进行。实验所用引物序列为:GJ蛋白Cx37:上游为5'-GACTGGGACTRACTGGAGAAG-3'。下游为5'-GCTACTGAGATCCTGGTCATC-3'。片段长度为

413 bp;-actin: 上游为 5'-CATCAGTAGCTCG-GAGTCCA-3', 下游为 5'-ATAGTGTATGAGACT-GTCAACA-3', 片段长度为 308bp。热启动 94℃ 2min, 反应条件为 94℃ 55s, 58℃ 45s, 72℃ 55s, 共 30 个循环, 最后一个循环在 72℃ 延伸 7min。扩增产物的电泳分析: IOuPCR 反应液在 2.0% 琼脂糖凝胶中电泳分离, 紫外透射分析仪观察后照相。凝胶图象分析系统对 PCR 的产物进行半定量分析, 以 Cx37mRNA 扩增带的光密度与 β -actin 扩增带的光密度的比值代表细胞中 mRNA 的表达水平。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 19.0 统计学软件进行统计学处理, 定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间均数比较采用重复测量方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HBO 对大鼠 CIR 损伤后不同时间脑组织中 EB 含量的影响 模型组干预 4h、12h、24h、48h 及 72h 脑组织 EB 的含量与同时间点假手术组比较明显增加 ($P < 0.01$), 并以 CIR 损伤后 4h 渗出最多。模型 + HBO 组于 CIR 后 4h、12h、24h、48h 及 72h 脑组织 EB 的含量明显低于同时间点模型组 ($P < 0.01$)。HBO 组各时间点脑组织 EB 的含量与同一时间点假手术组比较差异无统计学意义。见表 1。

2.2 Western Blot 结果 模型组 CIR 损伤后 4h、12h、24h、48h、72h 脑组织 Cx37 蛋白的表达与 0h 相比明显增加 ($P < 0.01$), CIR 损伤后 24h Cx37 蛋白表达水平最高。见图 1, 表 2。

2.3 RT-PCR 结果 所有样品的 A260/A280 值均在 1.8~2.0, 表明总 RNA 纯度较高, 没有蛋白质的残余,

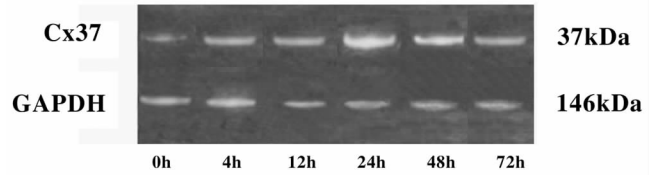


图 1 CIR 损伤后不同时间模型组脑组织 GJ 蛋白 Cx37 与 GAPDH 灰度值的比较(%)

质量可靠。总 RNA 变性琼脂糖电泳结果显示 28S、18S、5S 条带均较为清楚, 提示 RNA 提取较为完整、无降解。RT-PCR 结果显示, 模型组 CIR 损伤后 4h、12h、24h、48h、72h Cx37mRNA 的表达较 0h 明显增加 ($P < 0.01$), 以 CIR 损伤后 24h 表达最明显。见图 2, 表 3。

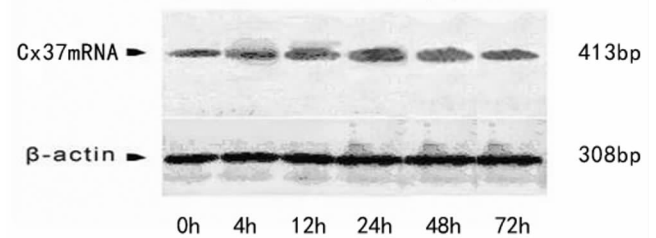


图 2 CIR 损伤后不同时间点模型组脑组织 GJ 蛋白 Cx37mRNA 的表达(%)

2.4 HBO 对 CIR 损伤后 24h 大鼠脑组织 Cx37mRNA 及蛋白表达的影响 RT-PCR 和 Western blot 结果显示, CIR 损伤后 24h 模型组与假手术组相比脑组织 Cx37mRNA 及蛋白表达水平显著增加 ($P < 0.01$); 模型 + HBO 组与 CIR 损伤后 24h 模型组相比 Cx37mRNA 及蛋白表达水平显著降低 ($P < 0.01$); CIR 损伤后 24h HBO 组与假手术组相比 Cx37mRNA 及蛋白表达差异无统计学意义。见图 3, 表 4。

表 1 4 组大鼠再灌注后各时间点脑组织中 EB 含量的比较

组别	n	0h	4h	12h	24h	48h	72h
假手术组	60	0.11±0.02	0.11±0.01	0.11±0.02	0.11±0.02	0.11±0.02	0.11±0.02
模型组	60	0.12±0.01	1.14±0.07 ^a	0.78±0.06 ^a	0.61±0.06 ^a	0.52±0.05 ^a	0.38±0.06 ^a
模型+HBO组	60	0.10±0.02	0.76±0.06 ^{bc}	0.63±0.04 ^{bc}	0.52±0.04 ^{bc}	0.41±0.03 ^{bc}	0.21±0.03 ^{bc}
HBO组	60	0.11±0.01	0.11±0.02	0.11±0.01	0.11±0.02	0.11±0.01	0.11±0.01

与同时间假手术组比较, ^a $P < 0.01$; 与同时间模型组比较, ^b $P < 0.01$; 与同时间 HBO 组比较, ^c $P < 0.01$

表 2 CIR 损伤后不同时间点模型组脑组织 GJ 蛋白 Cx37 与 GAPDH 灰度值的比较

组别	n	0	4	12	24	48	72
模型组	60	2.49±0.34	3.46±0.26 ^a	4.51±0.32 ^a	8.41±0.62 ^{ab}	5.41±0.24 ^a	3.43±0.21 ^a

与 0h 比较, ^a $P < 0.01$; 与 4h、12h、48h 及 72h 比较, ^b $P < 0.01$

表 3 模型组 CIR 损伤后不同时间点脑组织 GJ 蛋白 Cx37mRNA 表达的比较

组别	n	0	4	12	24	48	72
模型组	60	0.29±0.01	0.33±0.01 ^a	0.49±0.02 ^a	0.63±0.02 ^{ab}	0.41±0.01 ^a	0.32±0.01 ^a

与模型组 CIR 损伤后 0h 比较, ^a $P < 0.01$; 与模型组 CIR 损伤后 4h、12h、48h 及 72h 比较, ^b $P < 0.01$

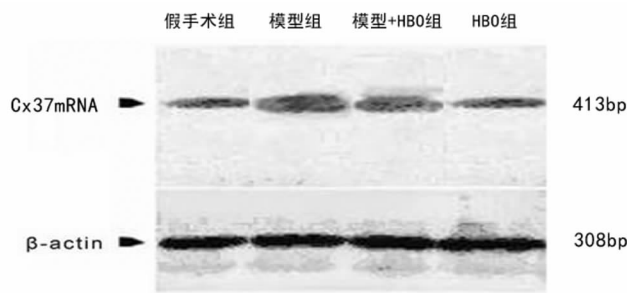


图3 4组大鼠CIR损伤后24h脑组织GJ蛋白Cx37mRNA表达比较(%)

表4 4组大鼠CIR损伤后24h脑组织Cx37mRNA及蛋白表达影响的比较

组别	n	CX37 蛋白	CX37mRNA
假手术组	10	2.49±0.34	0.29±0.01
模型组	10	8.41±0.61 ^a	0.63±0.02 ^a
模型+HBO组	10	4.36±0.21 ^b	0.43±0.02 ^b
HBO组	10	2.48±0.32	0.28±0.01

与假手术组比较,^a $P<0.01$;与模型组比较,^b $P<0.05$

3 讨论

脑缺血再灌注损伤是一个复杂的级联反应,包括自由基损伤、钙超载、炎症反应等,最终导致神经细胞凋亡与坏死,引起脑功能障碍^[7-9]。近年来研究表明,BBB完整性的破坏是缺血再灌注损伤造成重大危害的重要一环^[10]。BBB是指脑毛细血管壁与神经胶质细胞形成的血浆与脑细胞之间的屏障和由脉络丛形成的血浆与脑脊液之间的屏障。BBB的完整性在维持中枢神经系统内环境的稳定中具有重要作用^[11]。本实验通过观察脑组织中EB的含量来评价BBB的通透性。实验观察到CIR损伤后4h、12h、24h、48h、72h脑组织EB的含量与CIR损伤后0h相比明显增加,以CIR损伤后4h脑组织EB的渗出量最多,说明此时BBB受损最严重。

Cx37基因位于人类染色体1p35.1,全长2727bp,由2个外显子与1个内含子构成,编码具有333个氨基酸的Cx37蛋白,起间隙连接作用,即6个Cx37在细胞膜上形成一个半通道,与相邻细胞膜上的另一个半通道对接、装配形成一个完整的通道,通过该通道完成邻近间的同步应答^[12-13]。Cx37作为机体一类重要的GJ蛋白,可通过介导平滑肌细胞与内皮细胞间的信号转导通路来调控血管内皮细胞的生长、增殖、衰老以及损伤后的再生等过程^[14];近年来,有研究表明Cx37在动脉粥样硬化的发生和发展中起着重要的作用^[15]。还有研究显示,机械损伤可引起大鼠血管内皮细胞上Cx37表达下调,血管紧张素受体阻断剂可以逆转这种改变^[16]。黄芬等^[17]研究表明,自发性高血压大鼠脑底动脉Cx37表达的变化与高血压性脑血管疾病的发生密切相关。

Cx37是脑组织中GJ通道的主要组成蛋白,其表达增加可加速细胞间信号传导,促使GJ通道开放,是大量有害物质进入细胞,从而加速神经细胞损伤^[18]。研究结果显示,CIR损伤后CIR后脑组织GJ蛋白Cx37mRNA及蛋白的表达显著增加,以再灌注24h表达最高,同时伴有BBB通透性的增加,此结果提示GJ蛋白Cx37在CIR损伤后导致初期BBB通透性增加的过程中发挥重要的作用。其作用机理可能是一方面增强表达的Cx37mRNA及蛋白可使脑血管内皮细胞发生离子点位的改变,诱导脑血管组织结构的损伤,导致BBB的通透性增加。另一方面脑血管内皮细胞GJ蛋白Cx37mRNA及蛋白在CIR损伤后形成的半通道被激活开放,影响血管内皮细胞、平滑肌细胞及基质等相互间进行正常的化学和电信号交换,进一步加重BBB的损伤,造成BBB通透性进一步增加。

HBO因其能提高血氧分压,增加血氧含量及毛细血管血氧弥散距离,改善局部组织的缺氧状态;促进抑制机体的氧化应激反应;能够抑制局部缺氧缺血性炎症损伤,被广泛应用于临床上脑血管疾病的治疗^[19]。前期的研究表明高压氧在CIR损伤中通过增加GJ蛋白的表达具有降低BBB通透性的作用^[20]。本研究在前期研究的基础上进一步探讨HBO在CIR损伤中降低BBB通透性的作用机理。本实验通过观察高压氧对CIR损伤后24h脑组织GJ蛋白Cx37mRNA、蛋白的表达及BBB通透性作用的结果表明,CIR损伤后24hHBO能显著降低脑组织GJ蛋白Cx37mRNA及蛋白的表达,从而降低BBB的通透性,这可能是HBO降低CIR损伤后BBB通透性的机制之一。

综上所述,HBO能有效降低CIR后BBB的通透性,其作用可能与下调脑组织Cx37mRNA及蛋白表达,从而增加GJ蛋白表达密切相关,此研究为临床上应用HBO治疗脑血管疾病提供了实验依据。

【参考文献】

- [1] 虎志涛. 高压氧联合亚低温治疗重型颅脑损伤的临床研究[J]. 中外医学研究, 2018, 16(5): 67-69.
- [2] Yu M, Xue Y, Liang W, et al. Protection mechanism of early hyperbaric oxygen therapy in rats with permanent cerebral ischemia[J]. J Phys Ther Sci, 2015, 27(10): 3271-3274.
- [3] Thurman DJ. The Epidemiology of Traumatic Brain Injury in Children and Youths: A Review of Research Since 1990[J]. J Child Neurol, 2016, 31(1): 20-27.
- [4] Anne B, Jerome G, Geri M, et al. A common African variant of human connexin 37 is associated with Caucasian primary ovarian insufficiency and has a deleterious effect in vitro[J]. Int J Mol Med, 2017, 41(2): 640-648.
- [5] 田莹, 余化霖. 线栓法大鼠局灶性脑缺血模型制作要点及进展[J].

- 齐齐哈尔医学院学报,2011,32(2):256-258.
- [6] Hawkins BT, Davis TP. The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease[J]. *Pharmacol Rev*, 2005, 57(2): 173-185.
- [7] Han Z W, Chang Y C, Zhou Y, et al. GPER agonist G1 suppresses neuronal apoptosis mediated by endoplasmic reticulum stress after cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Neural Regen Res*, 2019, 14(7): 1221-1227.
- [8] 李威,李丹,赵宜莲,等. 肌肉效贴结合肩部强化训练对脑卒中后偏瘫痉挛期患者肩痛的影响[J]. *中国康复*, 2018, 33(8): 279-282.
- [9] Zhang H, Park JH, Maharjan S, et al. Sac-1004, a vascular leakage blocker, reduces cerebral ischemia-reperfusion injury by suppressing blood-brain barrier disruption and inflammation[J]. *J Neuro Inflammation*, 2017, 14(1): 122-126.
- [10] Durggraf D, Martens HK, Dichgans M, et al. rt-PA causes a dose-dependent increase in the extravasation of cellular and non-cellular blood elements after focal cerebral ischemia[J]. *Brain Res*, 2007, 116(4): 55-62.
- [11] Rossi V, Lispi M, Longobardi S, et al. LH prevents cisplatin-induced apoptosis in oocytes and preserves female fertility in mouse[J]. *Cell Death Differ*, 2017, 24(1): 72-82.
- [12] Osta-Ribeiro A, Maux A, Bosford T, et al. Dopamine-independent effects of combining transcranial directcurrent stimulation with cued gait training on cortical excitability and functional mobility in Parkinson's disease[J]. *Rehabil Med*, 2016, 48(9): 819-823.
- [13] Wang YR, Chang Q, Sun J, et al. Effects of HMG on revascularization and follicular survival in autotrans-plant mouse ovarian tissue[J]. *Reproductive BioMedicine Online*, 2012, 24(6): 646-653.
- [14] Guruvaiah P, Govatati S, Reddy TV, et al. Analysis of Connexin37 gene C1019T polymorphism and PCOS susceptibility in South Indian population: case-control study[J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2016, 196(1): 17-20.
- [15] 冯崑,王洪巨,王寅. 间隙连接蛋白37基因C1019T多态性和冠心病的关系[J]. *心血管康复医学杂志*, 2010, 19(2): 33-36.
- [16] Heyboer RM, Wojcik SM, Smith G, et al. Effect of hyperbaric oxygen therapy on blood pressure in patients undergoing treatment[J]. *Undersea & Hyperbaric Medicine Journal of the Undersea & Hyperbaric Medical Society Inc*, 2017, 44(2): 93-99.
- [17] 黄芬,汤长林,陈斌. 自发性高血压大鼠脑底动脉 Cx37 和 Cx43 表达的变化[J]. *宜春学院学报*, 2014, 36(12): 68-70.
- [18] Khan NI, Siddiqui FM, Goldstein JN, et al. Association between previous use of antiplatelet therapy and intracerebral hemorrhage outcomes[J]. *Stroke*, 2017, 48(7): 1810-1817.
- [19] 徐天阳,徐挺立. 高压氧治疗对高血压脑出血患者神经功能恢复及脑水肿的影响分析[J]. *心脑血管病防治*, 2019, 19(6): 267-269.
- [20] Hong Z, Qian RZ, Yi XX, et al. Effect of hyperbaric oxygen on the expression of claudins after cerebral ischemia-reperfusion in rats[J]. *Exp Brain Res*, 2011, 212(1): 109-117.

· 外刊拾粹 ·

多核苷酸和透明质酸膝关节注射

透明质酸(HA)是结缔组织的天然成分,具有恢复关节滑液(SF)粘弹性和润滑关节的能力。它还具有抗凋亡、抗炎、抗血管生成和抗纤维化的特性。此外,多核苷酸(PNs)是一种嘌呤、嘧啶和脱氧核糖核苷的混合物,可在肌肉骨骼组织再生中发挥正向的作用。这项研究将膝关节内注射多核苷酸和透明质酸混合液(PNHA)与单独注射透明质酸(HA)的疗效进行了比较。

该研究共纳入 100 例诊断为膝关节炎(OA)的患者,随机分为两组接受膝内注射,注射物分别是单独的 HA(生物技术合成,10mg/ml)和 PNs 与 HA 的混合液(混合液中 PNs 为天然鱼白来源,10mg/ml,HA 为生物技术合成,10mg/ml,总有效成分含量为 40mg/2ml)。受试者每周接受 2 mL PNHA 或 HA 膝关节内注射,总共注射 3 次。在基线和首次治疗的五个月后,通过 WOMAC 评分和膝关节评分(KSS)评估临床功能和疼痛情况。在基线和治疗后两周时进行生化和免疫酶分析。

在随访的第三、四周($P < 0.05$)和第五周($P = 0.009$)时,PNHA 组的 KSS 总分明显优于 HA 组。随访期内,两组间的 WOMAC 评分未见明显差异。生化评估表明,所有患者的关节滑液颜色、清晰度和密度(粘蛋白凝块试验)均正常。

结论:这些发现表明,与单独的 HA 注射相比,PNs 与 HA 联合注射可更有效地改善膝关节炎患者的膝关节功能和疼痛。

(朱姝译,元香南校)

Dallari D, et al. Efficacy of IntraArticular Polynucleotides Associated with Hyaluronic Acid Versus Hyaluronic Acid Alone in the Treatment of Knee Osteoarthritis: A Randomized, Double-Blind, Controlled Clinical Trial. *Clin J Sport Med*. 2020, January; 30(1):1-7,1.

中文翻译 由 WHO 康复培训与研究合作中心(武汉)组织
本期由中国医科大学盛京医院 张志强教授主译编