

网络出版时间: 2018-12-11 15:01 网络出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/34.1086.r.20181210.0951.034.html>

13-甲基十四烷酸对大鼠脑缺血后脑水肿的影响

冯晓^{1,3} 陈世妹² 张文荣¹

(1. 厦门大学附属第一医院思明分院大内科 福建 厦门 361000; 2. 厦门市社会福利中心 福建 厦门 361000;

3. 三明医学科技职业学院基础医学部 福建 三明 365000)

doi: 10.3969/j.issn.1001-1978.2019.01.016

文献标志码: A 文章编号: 1001-1978(2019)01-0078-07

中国图书分类号: R-332; R322.81; R341; R742.022; R743.310.22; R977.6

摘要:目的 研究 13-甲基十四烷酸(13-methyltetradecanoic acid, 13-MTD)对脑缺血后脑水肿的影响及其机制。方法 线栓法制备大鼠大脑中动脉闭塞模型,于插入栓线前 30 min 分别尾静脉注射 13-MTD 40、80、120 mg·kg⁻¹ (M40、M80、M120) 阴性对照组给予等体积脂质体。于缺血 6、12、24 h,以 Longa 神经功能缺失评分观察神经功能缺失症状; TTC 染色观察脑梗死体积大小; AutoCAD 图像分析软件计算脑水肿程度; 脑干湿重测定脑含水量; 伊文思蓝(EB)检测血脑屏障通透性; RT-PCR 检测损伤侧脑组织 AQP4 mRNA 表达; 免疫组化法检测损伤侧脑组织 AQP4 蛋白表达。结果 13-MTD 可明显改善脑缺血大鼠神经功能缺失症状,使脑梗死体积明显缩小,使脑含水量和脑水肿程度明显减轻,EB 渗出减少,明显改善缺血侧脑组织 AQP4 表达。结论 13-MTD 能通过调控 AQP4 表达,减轻大鼠脑缺血后脑水肿。

关键词: 13-甲基十四烷酸; 脑缺血损伤; 神经功能评分; 脑水肿; 血脑屏障; 水通道蛋白 4

恶性脑缺血中风在脑血管疾病中以高死亡率(80%)和严重临床症状为特点,而缺血后脑水肿的形成使神经功能损伤加速恶化,颅内压升高,脑血流量减少,最终导致脑疝和病人死亡^[1]。然而脑缺血后脑水肿发生的机制尚不十分清楚,因此,目前临床治疗仅限于对症处理。现有研究认为,脑缺血后脑水肿的发生机制有脑微循环障碍、脑能量代谢障碍、血脑屏障(blood brain barrier, BBB)障碍、自由基增加、钙超载、膜分子结构紊乱等学说。脑缺血后造成 BBB 结构的完整性破坏,使其通透性增加,引发脑

水肿,导致 BBB 进一步破坏,扩大脑梗死体积,造成严重的神经功能损伤,这是缺血性脑损伤的重要病理基础^[2]。13-甲基十四烷酸(13-methyltetradecanoic acid, 13-MTD)是一种末端支链饱和脂肪酸,天然存在于细菌和某些真菌的细胞膜上,是细菌胞膜的重要成分^[3]。13-MTD 被首次发现存在于 *Bacillus subtilis* 菌属胞膜的脂肪酸组成成分中,有维持膜的流动性和膜功能作用。13-MTD 作为细胞膜成分嵌入膜脂质结构中,可通过调节膜的组成而影响细胞功能,在脂质双分子层中脂肪酸含量较高时,对哺乳动物细胞膜有膜稳定作用。然而,13-MTD 对脑缺血后大鼠 BBB 是否也具有膜稳定作用,从而抑制脑缺血后脑水肿的形成,进而抑制大鼠脑缺血后神经功能损伤尚不清楚。本研究拟通过观察 13-MTD 对大鼠脑缺血后脑水肿的形成和 BBB 功能改变相关蛋白表达的影响,从水通道蛋白 4(aquaporin 4, AQP4)角度探讨其机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 Sprague-Dawley (SD) 大鼠,♂,体质量 230~270 g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,动物合格证号: SCXK(沪)2007-0005。

1.1.2 试剂 13-MTD 由厦门大学药学院合成,浓度 10 g·L⁻¹,以脂质体包裹;伊文思蓝(Evan's blue, EB),厦门泰京生物技术有限公司;2,3,5-氯化三苯基四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC)分析纯,上海化学试剂公司生产,用 PBS 配制成 2% TTC 工作液,4℃避光保存;AQP4 多克隆抗体(H-19),Santa Cruz 公司;SABC-羊抗兔 IgG 试剂盒,武汉博士德公司;引物由上海生工生物工程技术公司合成;TRIzol,Invitrogen 公司;免疫组化试剂盒,福州迈新。

1.1.3 仪器 光学显微镜及摄像系统(日本 Olympus 公司);LGR16-W 型低温高速离心机(北京医用离心机厂);超低温冰箱(日本 SANYO);酶标仪(美国 Bio-Rad 公司);凝胶成像分析系统(Syngene Gen-

收稿日期: 2018-07-17 修回日期: 2018-09-16

基金项目: 福建省教育厅中青年教育科研资助项目(No. JA15861)

作者简介: 冯晓(1990-),女,实习研究员,研究方向:神经药理学, E-mail: fengxiaosm@sina.com;

张文荣(1965-),女,主任医师,研究方向:心脑血管内科学,通讯作者, E-mail: zwrxiamen@sina.com

ius 公司); 9700 型 PCR 扩增仪(ABI 公司)。

1.2 制备大鼠大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型 线栓法制备大鼠 MCAO 模型^[4-5]。动物术前禁食 12 h, 自由饮水。10% 水合氯醛 0.3 mL · kg⁻¹ 腹腔麻醉, 仰卧固定后颈部酒精消毒, 正中切口约 3 cm, 分离两侧甲状腺, 暴露右侧胸锁乳突肌和胸骨舌骨肌间的三角区, 钝性分离颈总动脉、颈内动脉及颈外动脉, 并小心分离迷走神经。分离颈外动脉分支甲状腺上动脉, 颈内动脉分支枕动脉, 分别电凝。充分游离颈外动脉, 将颈外动脉吊线, 在距离颈总动脉分叉大约 1 cm 处结扎近心端, 电凝远心端。用无创小动脉夹夹闭颈总动脉和颈内动脉远心端, 将颈外动脉残端牵向外下方, 使之与颈内动脉呈一条直线, 在颈外动脉残端距颈总动脉分支约 3 mm 处剪一小口, 将栓线自颈外动脉插入颈内动脉, 将栓线与血管稍作结扎防止血液溢出, 打开颈内动脉上的动脉夹, 轻柔缓慢的将栓线向前推进约(18.5 ± 0.5) mm(自分叉处计), 遇阻力时即停止进线, 再次将栓线与颈外动脉共同结扎以固定栓线, 松开颈总动脉上的动脉夹, 缝合切口。此时封闭了大脑中动脉(middle cerebral artery, MCA)开口, 阻断了 MCA 的血流, 制成 MCAO 模型。动物在手术中及手术后注意保温。模型成功的标志为动物清醒后出现以左前肢为主的偏瘫和行走时的追尾症。

1.3 实验设计与分组 大鼠适应性喂养 7 d 后, 随机分为假手术组(Sham)、空白脂质体对照组(Vehicle)、13-MTD 40、80、120 mg · kg⁻¹ 组(M40、M80、M120)。按缺血时间分为 6、12、24 h 组, 即 Sham-6、12、24 h 组, Veh-6、12、24 h 组, M40-6、12、24 h 组, M80-6、12、24 h 组, M120-6、12、24 h 组, 每组 5 只。Sham 组除不插入线栓, 其它相同。插入栓线前 30 min 分别尾静脉注射脂质体包裹的 13-MTD 40、80、120 mg · kg⁻¹, Vehicle 组给予等体积空白脂质体。各组大鼠均于相应缺血时间处死取材。

1.4 神经功能缺失评分 参照 Longa 等^[6] 建立的神经功能缺失评分标准, 判断模型是否成功。0 分: 无明显神经缺损症状, 活动正常; 1 分: 垂直提起时不能完全伸展对侧前肢(轻度局灶性神经功能缺损); 2 分: 行走时身体向偏瘫侧转圈(中度局灶性神经功能缺损); 3 分: 行走时向偏瘫侧倾倒(重度局灶性神经功能缺损); 4 分: 不能自发行走或有意识障碍。缺血术后评 1~3 分者为手术成功的标志, 手术中出血过多的动物弃去。

1.5 脑梗死体积测定 于相应的缺血时间迅速断头取脑, 将脑组织置于生理盐水冰盘上去除嗅球、小脑和低位脑干, 冠状切片, 每片厚约 2 mm。切 4 刀, 成 5 片。第 1 刀在脑前极与视交叉连线中点处; 第 2 刀在视交叉部位; 第 3 刀在漏斗柄部位; 第 4 刀在漏斗柄与叶尾极之间。迅速将脑片置 2% TTC 磷酸盐缓冲液(pH 7.4)中避光染色, 37 °C 温孵 30 min, 其间每隔 7~8 min 翻动 1 次。温孵完毕后, 将脑片置 10% 福尔马林中避光保存过夜。将固定后的染色结果拍照输入计算机, 利用 AutoCAD 图像处理软件求出梗死区域(白色)占大脑总体积的百分比(梗死灶体积不包括其周边的缺血半暗带), 以此作为统计参数。

1.6 脑水肿测定

1.6.1 AutoCAD 软件测定脑水肿程度 于相应缺血时间, 处死大鼠, 迅速取出脑组织, 切成等厚度的 5 片脑冠状切片拍照后输入计算机, 利用图像处理软件 AutoCAD, 计算损伤侧脑水肿程度: 脑水肿 = (损伤侧脑半球体积 - 非损伤侧脑半球体积) / 非损伤侧脑半球体积 × 100%^[7]。

1.6.2 脑干湿重测定脑含水量 于相应缺血时间, 处死大鼠, 迅速取出脑组织, 切成等厚度的 5 片, 准确称量湿重后, 将脑片放入烤箱内 110 °C 烤 24 h, 将脑片烤至恒重, 取出称量脑片干重。公式: 脑水肿 = (湿重 - 干重) / 湿重 × 100%^[7]。

1.7 脑组织 EB 含量测定 BBB 通透性 EB 是一种常用的脑血管通透性指示剂, 正常情况下 EB 与血清白蛋白结合而不能通过 BBB。BBB 受损时, EB-白蛋白可通过内皮细胞的吞饮作用或经细胞间隙, 从血管内进入脑组织。因此, 通过计算脑组织 EB 的含量可以了解 BBB 的损伤程度。本实验观察 MCAO 各缺血时间点, 各组大鼠脑组织 EB 的渗出情况, 并计算其含量。于处死时间点, 以 10% 水合氯醛半量麻醉动物后将线栓取出, 从尾静脉注射 2% EB 2 mL · kg⁻¹, 几秒钟后, 大鼠眼球结膜、四肢等处显示蓝色, 表示注入成功。用生理盐水 250 mL 从左心室灌注冲洗直至流出清亮液体, 迅速断头取脑, 在电子分析天平上称湿重, 损伤侧置于装有 3 mL 甲酰胺的匀浆器进行匀浆, 54 °C 水浴孵育 24 h 后 3 000 r · min⁻¹ 离心 30 min, 取 200 μL 上清置于 96 孔板, 用酶标仪(λ = 630 nm) 测定各组的光密度值。根据标准曲线, 计算出 EB 含量, 依据所测得浓度计算出 BBB 对 EB 的通透率, 以每克湿重脑组织内所含 EB 的量(mg · kg⁻¹) 来表示。

1.8 RT-PCR 检测脑组织 AQP4 mRNA 表达 取冻存于 -80 °C 冰箱的各組脑组织,取脑皮层处 100 mg 组织液氮研磨,TRIzol 法提取总 RNA,TaKaRa 公司 PrimeScript™ RT reagent Kit 逆转录合成 cDNA。AQP4 引物: 256 bp,上游引物: 5'-AGAACCAAG-GCGTAAACCG-3',下游引物: 5'-TCCCTGGAAT-GACTGAGAAA-3'; β-actin: 698 bp,上游引物: 5'-AC-CTCCAACACCCCAGCCATG-3',下游引物: 5'-CT-GATCCACATCTGCTGGAAGGTGG-3'。取 1 μL cDNA 进行 PCR 反应,反应条件: 94 °C 30 s,60 °C 30 s,72 °C 30 s,28 个循环;循环后均 72 °C 终延伸 7 min,4 °C 保存。PCR 产物用 2% 琼脂凝胶电泳分析。电泳后在紫外灯下拍摄照片,用图像处理软件 Phoretix 1D 分析目标条带的灰度值。

1.9 免疫组化检测脑组织 AQP4 蛋白表达 脑组织常规制备石蜡切片,58 °C ~ 60 °C 烤片 1 h,二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化,抗原修复,3% H₂O₂ 室温孵育 10 min,PBS 冲洗,正常山羊血清封闭 10 min,一抗 4 °C 过夜,PBS 冲洗,加入二抗,37 °C 孵育 10 min,PBS 冲洗,加入 SP 复合物孵育 10 min,PBS 冲洗,DAB 显色,苏木精复染,梯度乙醇脱水,中性树胶封片。使用同等对比度和曝光时间,在 40 × 10 倍普通显微镜下观察并拍照。

1.10 统计学分析 实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 13.0 统计分析。多组间均数比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),两两组间均数比较采用 LSD-*t* 检验。

2 结果

2.1 13-MTD 对大鼠脑缺血后神经功能的影响

各組大鼠于脑缺血 6、12、24 h 时分别处死,并进行神经功能缺失评分比较。如图 1 所示,Sham 组评

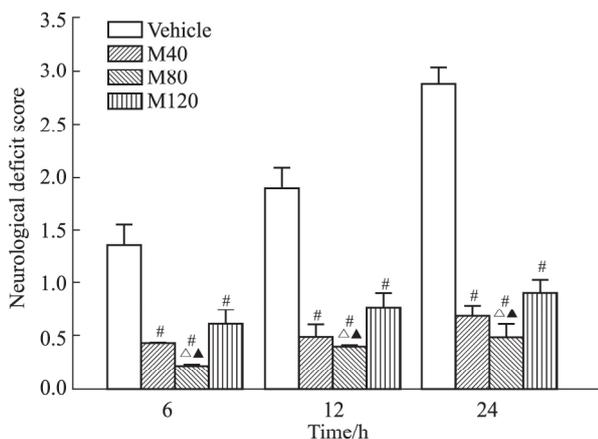


Fig 1 Effect of 13-MTD on neurological deficit score in different groups after 6, 12 and 24 h MCAO in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
P < 0.05 vs vehicle; Δ *P* < 0.05 vs M40; ▲ *P* < 0.05 vs M120

0 分,不同缺血时间组均有不同程度的神经功能缺失症状,表现为右侧眼睑下垂,提尾悬空时左前肢内收及躯干向左侧扭转,运动时出现向左侧转圈式行走为追尾征,神经功能缺失严重时向左侧倾倒,各缺血时段神经功能评分有明显差异(*P* < 0.05);与 Vehicle 组比较,13-MTD 40、80、120 mg · kg⁻¹ 均可降低各缺血时段的神经功能缺失评分(*P* < 0.05),且存在剂量依赖性(*P* < 0.05),以 M80 组改善最为明显(*P* < 0.05)。

2.2 13-MTD 对大鼠脑缺血后脑梗死面积的影响

如图 2 所示,各缺血时间 Sham 组切片经 2% TTC 染色后脑片全红,色泽均匀;Vehicle 组、缺血 6 h 损伤侧脑组织尚可色泽度,整体完整,切片经 2% TTC 染色后,缺血侧脑片可见皮层部分有白色梗死灶,缺血 12 h 组白色梗死灶明显,累及整个缺血侧的大脑皮层,缺血 24 h 组白色梗死灶最为明显,可累及到整个缺血侧脑半球,并伴有轻度的糜烂;13-MTD 40、80、120 mg · kg⁻¹ 组损伤侧脑组织外观均有所改善,白色梗死灶范围均有所减少(*P* < 0.05),尤其以 M80 组治疗效果最好(*P* < 0.05),各剂量组间存在剂量依赖性(*P* < 0.05)。

2.3 13-MTD 对大鼠脑缺血后脑水肿的影响

2.3.1 13-MTD 对大鼠脑缺血后脑组织体积的影响

如图 3 所示,各缺血时间 Sham 组大脑体积均匀;Vehicle 组两侧脑组织体积不均等,缺血侧脑组织体积稍大,与 Sham 组比较水肿明显(*P* < 0.05);与 Vehicle 组相比,M40、M80、M120 组脑组织水肿减轻(*P* < 0.05),以 M80 组效果最好(*P* < 0.05),各剂量组之间差异有显著性(*P* < 0.05)。

2.3.2 13-MTD 对大鼠脑缺血后脑组织含水量的影响

如图 4 所示,与 Sham 组比较,各缺血时间 Vehicle 组脑组织含水量明显增加(*P* < 0.05)。与 Vehicle 组相比,M40、M80、M120 组脑组织含水量均明显下降(*P* < 0.05),并有量效差异,以 M80 组效果最好(*P* < 0.05)。

2.4 13-MTD 对大鼠脑缺血后 BBB 通透性的影响

如图 5 所示,与 Sham 组比较,各缺血时间 Vehicle 组可见明显的蓝色区域(*P* < 0.01)。与 Vehicle 组相比,M40、M80、M120 组损伤侧 EB 渗出明显减少(*P* < 0.05),以 M80 组效果最好,并有量效差异(*P* < 0.05)。

2.5 13-MTD 对大鼠脑缺血后 AQP4 表达的影响

Fig 6 的 RT-PCR 结果显示,脑缺血 12 h 后,Sham 组有极少量的 AQP4 mRNA 表达,Vehicle 组脑组织

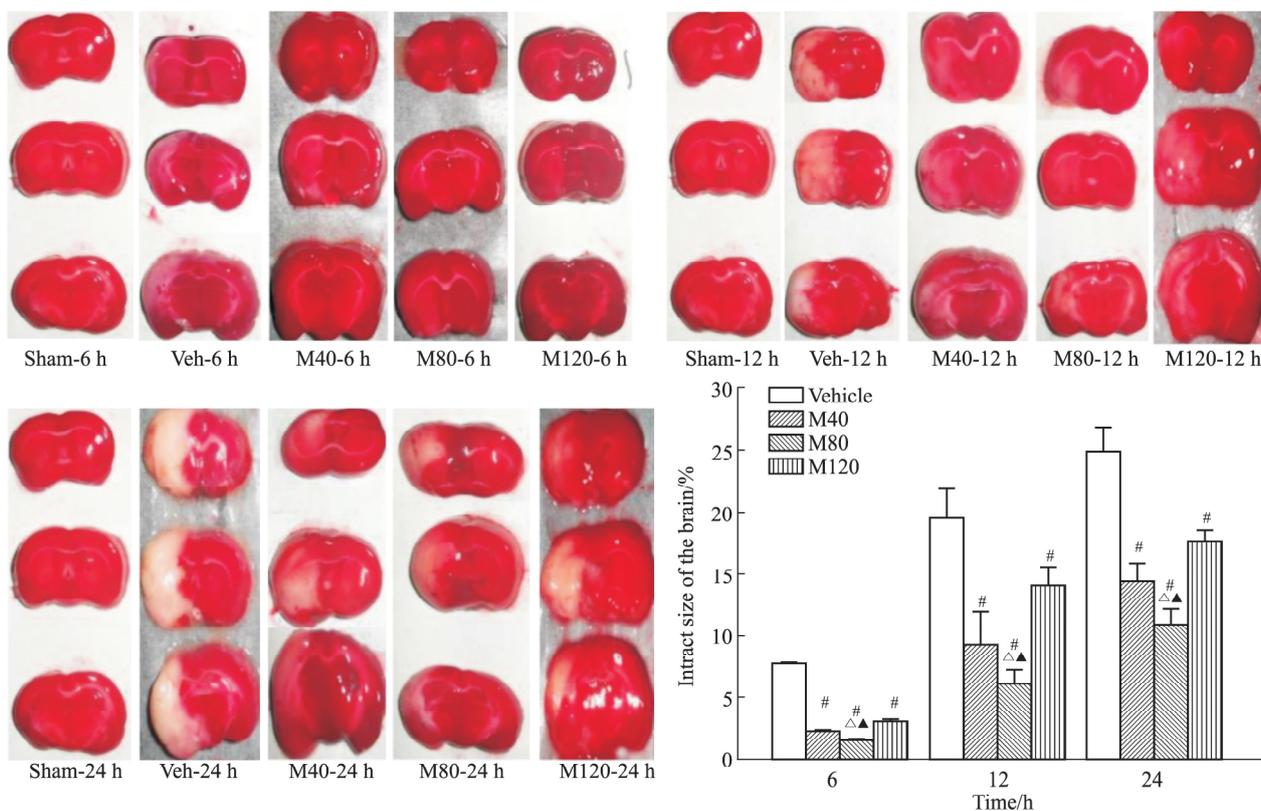


Fig 2 Comparison effect of 13-MTD on infarct size in different groups after MCAO 6, 12 and 24 h in rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

$P < 0.05$ vs vehicle; $\Delta P < 0.05$ vs M40; $\blacktriangle P < 0.05$ vs M120

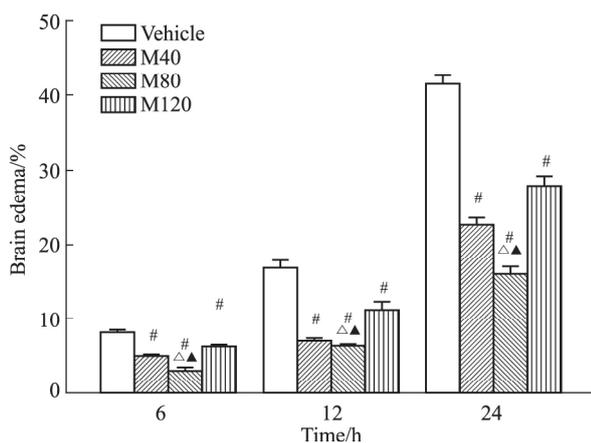


Fig 3 Effect of 13-MTD on cerebral edema in different groups caused by cerebral ischemia after MCAO 6, 12 and 24 h in rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

$P < 0.05$ vs vehicle; $\Delta P < 0.05$ vs M40; $\blacktriangle P < 0.05$ vs M120

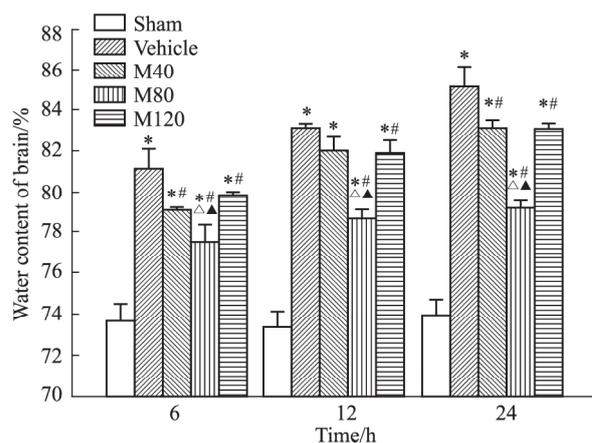


Fig 4 Effect of 13-MTD on dry and wet weight in different groups caused by cerebral ischemia after MCAO 6, 12 and 24 h in rats ($\bar{x} \pm s, n=5$)

* $P < 0.05$ vs sham; # $P < 0.05$ vs vehicle; $\Delta P < 0.05$ vs M40; $\blacktriangle P < 0.05$ vs M120

AQP4 mRNA 表达水平升高 ($P < 0.05$), M40、M80 组均可使脑组织 AQP4 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$), 各剂量之间差异有显著性 ($P < 0.05$), 以 M80 组效果最好。

Fig 7 的免疫组化结果显示, 脑内 AQP4 蛋白表达呈阳性的细胞, 胞膜上呈均匀分布的棕黄色颗粒。

AQP4 蛋白主要表达于星形胶质细胞 (astroglia, AST) 胞膜上。Sham 组有少量 AQP4 表达; Veh-6、12、24 h 组 AQP4 表达升高; M80-6、12、24 h 组 AQP4 蛋白表达下降。

3 讨论

脑缺血后脑水肿的发生主要涉及两个类型: 细

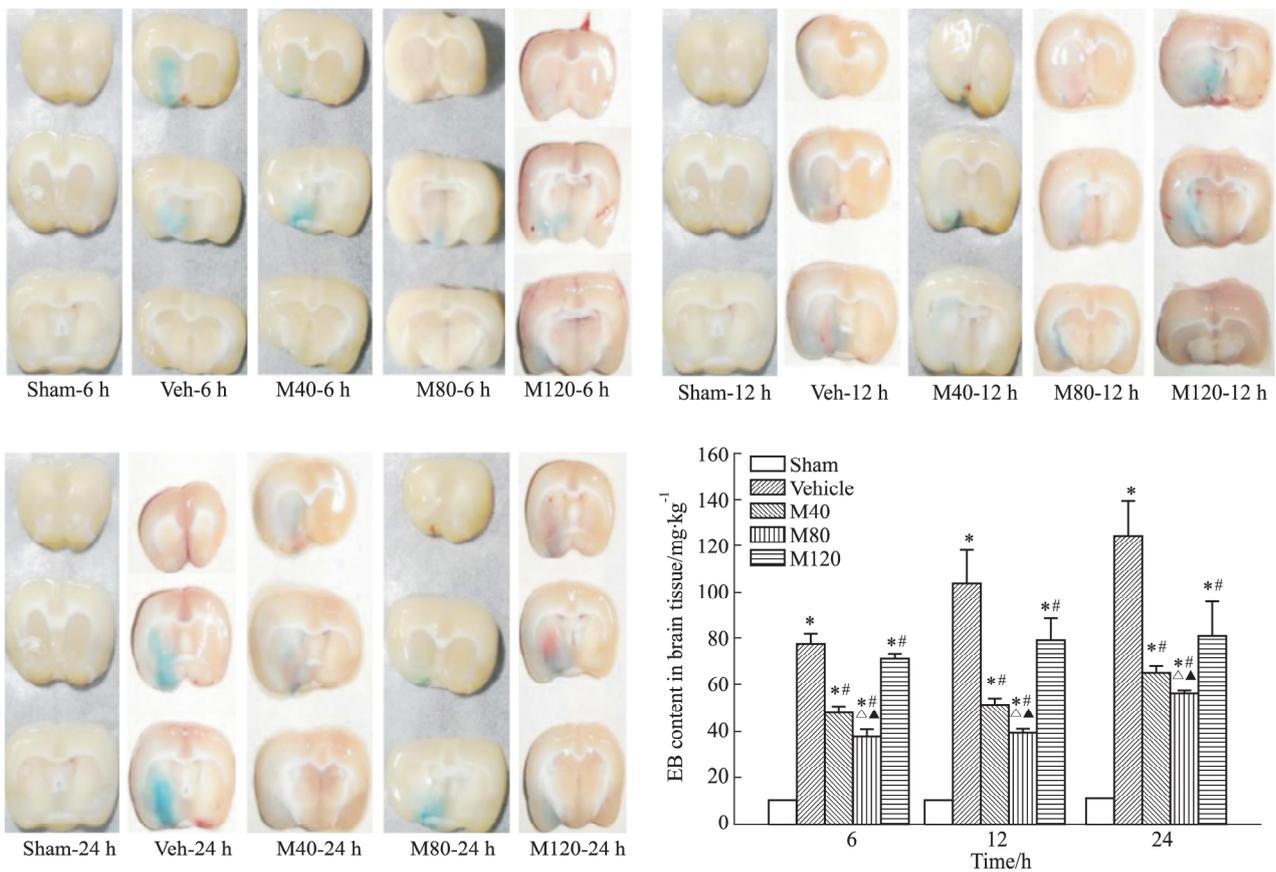


Fig 5 Effect of 13-MTD on EB in different groups caused by cerebral ischemia after MCAO 6, 12 and 24 h in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
 * $P < 0.05$ vs sham; # $P < 0.05$ vs vehicle; $\Delta P < 0.05$ vs M40; $\blacktriangle P < 0.05$ vs M120

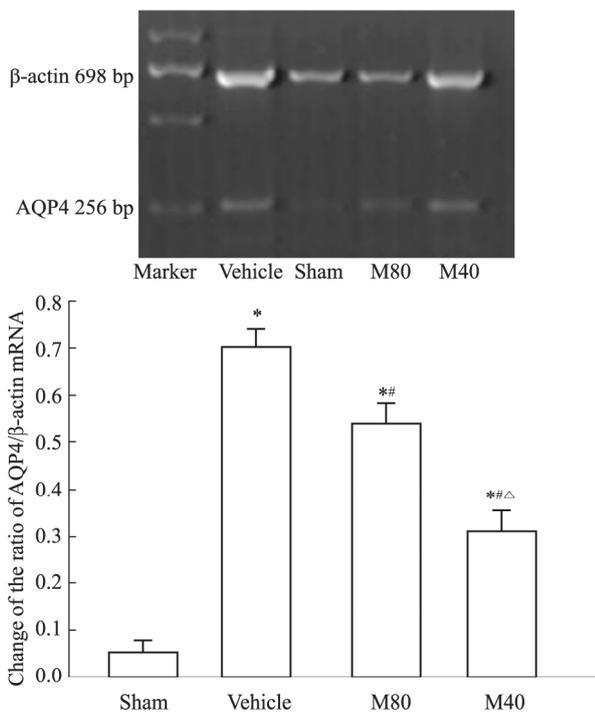


Fig 6 Change of ratio of AQP4/ β -actin mRNA in different groups after MCAO 12h in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
 * $P < 0.001$ vs sham; # $P < 0.01$ vs vehicle; $\Delta P < 0.01$ vs M40

胞毒性脑水肿和血管源性脑水肿。细胞毒性脑水肿产生于脑缺氧或者是水中毒,脑细胞缺氧后能量代谢发生障碍,故不能维持细胞内外离子平衡,使水和离子进入细胞而产生脑水肿。细胞膜 Na^+ 的主动迁移过程依赖于 $\text{Na}^+ \text{K}^+ \text{-ATP}$ 酶(钠泵),对细胞容量起到维持作用,任何影响三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)代谢的化合物都会导致钠泵的调节障碍,使 Na^+ 和水内流,细胞发生肿胀^[8]。 Ca^{2+} 稳态失衡也是细胞毒性脑水肿的重要原因,亦可使细胞肿胀和死亡, Ca^{2+} 浓度升高可激活磷脂酶类,促进膜磷脂的分解,使细胞膜及细胞器膜结构受损^[9]。血管源性脑水肿主要是 BBB 受损,导致水分子由血管内向细胞外间隙移动,与血管通透性增高有关,水肿液为富含血浆蛋白的血浆滤液。其在白质是细胞外间隙扩大,在灰质则是细胞容积增大,细胞组分中变化最突出的是星形胶质细胞(AST),AST 有明显的胞饮现象。过去认为中枢神经系统中信息的整合与传递是由神经元承担的,胶质细胞只是起到被动的辅助角色,但近来研究发现,AST 在神经系统中不仅是支持、提供营养及代谢等作用,其在

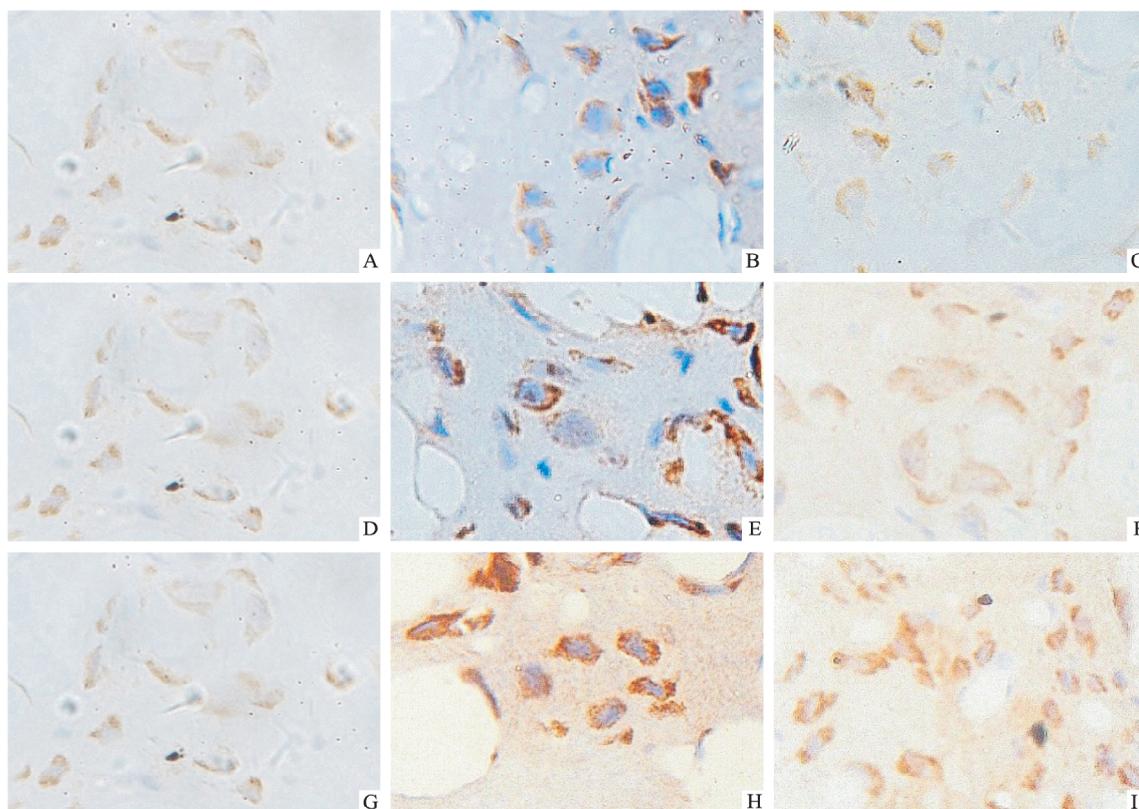


Fig 7 Comparison of expression of AQP4 protein in cerebral cortex detected by immunohistochemistry after MCAO 6, 12 and 24 h in rats ($\times 400$)

A: Sham-6 h; B: Veh-6 h; C: M80-6 h; D: Sham-12 h; E: Veh-12 h; F: M80-12 h; G: Sham-24 h; H: Veh-24 h; I: M80-24 h.

神经元的保护、BBB 的形成、疼痛机制的调节过程中也发挥着积极作用,并参与免疫功能和神经干细胞功能^[10]。脑缺血发生早期,缺血区域毛细血管内皮细胞和周围的 AST、神经元开始肿胀,随着缺血时间延长,AST 上的 AQP4 大量表达,使 AST 持续肿胀,并引起 BBB 的破坏和毛细血管通透性的增加^[11-12]。脑缺血后脑水肿发生时,MAPK 信号通路激活能够诱导 AQP4 表达^[13]。研究发现,13-MTD 可作为细胞膜成分嵌入膜脂质结构中,通过调节膜的组成而抑制 MAPK 信号激活^[14]。

本实验采用 MCAO 模型复制大鼠局灶性脑缺血 6、12、24 h,证实 13-MTD 40、80、120 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 尾静脉给药可明显减轻各时段 MCAO 后的脑损伤,以脑缺血 12 h 以内的保护作用最好,各时段均以 M80 组改善更好,13-MTD 能够抑制大鼠脑缺血后脑水肿的形成。同时我们在实验中发现,13-MTD 的保护作用与脑内 AQP4 表达相关。其机制可能与 13-MTD 抑制 MAPK 信号激活,进而下调脑内 AST 中 AQP4 基因和蛋白表达,改善细胞性脑水肿有关。

(致谢:感谢厦门大学药学院、实验动物中心和附属第一医院中心实验室提供的实验条件和技术支持!)

参考文献:

- [1] Creutzfeldt C J, Tirschwell D L, Kim L J, et al. Seizures after decompressive hemicraniectomy for ischaemic stroke [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2014, **85**(7): 721-5.
- [2] 许淑红, 康辰, 陈美灵, 等. 大鼠脑缺血/再灌注后早期 AQP4 的动态表达及其与脑水肿关系的研究 [J]. *中国药理学通报*, 2016, **32**(10): 1433-41.
- [2] Xu S H, Kang C, Chen M L, et al. Dynamic expression of AQP4 in early stage of ischemia/reperfusion rats and cerebral edema [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2016, **32**(10): 1433-41.
- [3] Faung S T, Chiu L, Wang C T. Platelet lysis and functional perturbation by 13-methyl myristate. The major fatty acid in *Flavobacterium ranacida* [J]. *Thromb Res*, 1996, **81**(1): 91-100.
- [4] 宋百颖, 赖文芳, 苏燕青, 等. 红景天苷通过抑制补体 C3 的表达对 MCAO 大鼠缺血侧 NeuN、Egr4 影响的研究 [J]. *中国药理学通报*, 2017, **33**(11): 1579-84.
- [4] Song B Y, Lai W F, Su Y Q, et al. Effects of salidroside on expression of NeuN and Egr4 in ischemic side of MCAO rats by inhibiting expression of C3 [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2017, **33**(11): 1579-84.
- [5] 文静, 王建, 陈念, 等. 安息香对永久性大脑中动脉栓塞大鼠模型的保护作用及其机制研究 [J]. *中国药理学通报*, 2016, **33**(12): 1683-7.
- [5] Wen J, Wang J, Chen N, et al. Study of protective effects and

- mechanism of benzoinum against permanent focal cerebral ischemia injury in rats [J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2016, **33**(12): 1683 – 7.
- [6] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, **20**(1): 84 – 91.
- [7] 徐慧敏, 魏尔清, 张世红, 等. 脑表面大体摄影评价小鼠局灶性脑缺血后脑水肿变化 [J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2003, **32**(6): 37 – 41.
- [7] Xu H M, Wei E Q, Zhang S H, et al. Macrophotographic measurement of brain surface area for evaluating brain edema after focal cerebral ischemia in mice [J]. *J Zhejiang Univ (Med Sci)*, 2003, (6): 37 – 41.
- [8] Pirici I, Balsanu T A, Bogdan C, et al. Inhibition of aquaporin-4 improves the outcome of ischaemic stroke and modulates brain paravascular drainage pathways [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, **19**(1): 46.
- [9] Hosomi N, Lucero J, Heo J H, et al. Rapid differential endogenous plasminogen activator expression after acute middle cerebral artery occlusion [J]. *Stroke*, 2001, **32**(6): 1341 – 8.
- [10] Truong D T, Venna V R, McCullough L D, et al. Deficits in auditory, cognitive, and motor processing following reversible middle cerebral artery occlusion in mice [J]. *Exp Neurol*, 2012, **238**(2): 114 – 21.
- [11] Zador Z, Stiver S, Wang V, et al. Role of aquaporin-4 in cerebral edema and stroke [J]. *Handb Exp Pharmacol*, 2009, **2009**(190): 159 – 70.
- [12] 符师宁, 胡丹辰, 闫军浩. 水通道蛋白 4 在脑缺血后脑水肿中的作用 [J]. *生理科学进展*, 2016, **47**(5): 361 – 4.
- [12] Fu S N, Hu D C, Yang J H. The role of aquaporin 4 in cerebral edema after cerebral ischemia [J]. *Prog Physiol Sci*, 2016, **47**(5): 361 – 4.
- [13] Cai L, Lei C, Li R, et al. Aquaporin-4 blockage by siRNA protects rat articular chondrocytes from IL-1 β -induced apoptosis by inhibiting p38 MAPK signal pathway [J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2017, **47**(5): 563 – 71.
- [14] Lin, Yin X, Cai Q, et al. 13-Methyltetradecanoic acid induces mitochondrial-mediated apoptosis in human bladder cancer cells [J]. *Urol Oncol*, 2012, **30**(3): 339 – 45.

Effect of 13-methyltetradecanoic acid on brain edema after cerebral ischemia in rats

FENG Xiao^{1,3}, CHEN Shi-mei², ZHANG Wen-rong¹

(1. First Affiliated Hospital of Xiamen University, Siming Branch of Internal Medicine, Xiamen Fujian 361000, China;

2. Xiamen Social Welfare Center, Xiamen Fujian 361000, China;

3. Basic Medicine Dept, Sanming College of Medical Science and Technology, Sanming Fujian 365000, China)

Abstract: Aim To investigate the effect of 13-methyltetradecanoic acid (13-MTD) on brain edema after cerebral ischemia in rats and its mechanism. **Methods**

The model of middle cerebral artery occlusion (MCAO) was prepared by suture embolization method. Thirty minutes prior to the insertion of the embolus, tail vein injection of 13-MTD 40, 80, 120 mg · kg⁻¹ (M40, M80, M120) was respectively performed. The negative control group was given an equal volume of liposomes. 6, 12 and 24 h after ischemia, neurological deficits were observed with Longa neurological deficit scores; brain infarct volume was observed with TTC staining; brain edema was calculated with AutoCAD image analysis software; brain water content was measured with brain dry weight; the blood-brain barrier (BBB) permeability was measured by Evans blue

(EB). AQP4 mRNA expression in the injured brain tissue was detected by RT-PCR. The expression of AQP4 protein in the injured brain tissues was detected by immunohistochemistry. **Results** 13-MTD could significantly improve the symptoms of neurological deficits in rats with cerebral ischemia, reduce the volume of cerebral infarction, decrease brain water content and cerebral edema, and down-regulate EB leakage, and up-regulate the expression of AQP4 in the ischemic brain tissues. **Conclusion** 13-MTD can reduce brain edema after cerebral ischemia in rats by regulating AQP4 expression.

Key words: 13-MTD; cerebral ischemia; neurological function score; cerebral edema; blood brain barrier; AQP4