

·基础研究·

鸢尾素对新生大鼠高胆红素血症抗炎作用的研究*

黄信萍^{1,2} 李鑫^{1,2,3} 张博^{1,2} 庞伟^{1,2,3,6} 战玉军⁴ 孙瑞雪^{1,2,3} 曹树业⁵

摘要

目的:探讨鸢尾素干预高胆红素血症新生大鼠脑组织炎症反应的影响。

方法:将66只新生SD(Sprague-Dawley)大鼠,采用抽签法随机分为正常对照组(A组)和模型组(M组),于7日龄、10日龄采用腹腔注射胆红素溶液的方法建立高胆红素血症模型。末次注射后,从A组、M组中随机选取6只大鼠,用于验证模型建立成功,然后将M组随机分为B组与C组,C组大鼠侧脑室注射80 μ g/kg剂量鸢尾素溶液,余各组注射等量磷酸盐缓冲液。侧脑室注射后,根据不同处死点,将A、B、C各组进一步分为3个亚组,在各时间点进行神经行为学检测,苏木精-伊红染色(hematoxylin-eosin staining, HE)检测皮质或海马神经细胞形态,酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6(interleukin, IL-6)的浓度。

结果:平面翻正反射:12h时,3组大鼠所需时间无显著性差异($P>0.05$);24h时,B、C组大鼠长于A组大鼠($P<0.05$);48h时,B组大鼠长于A、C组大鼠($P<0.05$),A、C2组大鼠无显著性差异($P>0.05$)。各时间点3组大鼠方向趋向性试验均无显著性差异($P>0.05$)。HE:A组大鼠皮质神经元结构清晰完整,但海马神经元数量出现减少;B、C组大鼠皮质、海马等区域神经元数目减少,结构紊乱,可见不同程度病理损害,C组优于B组。Elisa:B组脑组织各时间点TNF- α 、IL-1 β 、IL-6的浓度均高于A组($P<0.05$);C组脑组织各时间点TNF- α 、IL-1 β 、IL-6的浓度均低于B组,差异具有显著性意义($P<0.05$);C组大鼠脑组织TNF- α 浓度在12h时高于A组大鼠($P<0.05$),在24h、48h低于A组大鼠($P<0.05$);C组大鼠脑组织IL-6的浓度在12h、24h均低于A组大鼠($P<0.05$),48h时,C组大鼠脑组织IL-6的浓度与A组大鼠无显著性差异($P>0.05$);C组大鼠脑组织IL-1 β 的浓度在3个时间点均与A组大鼠无显著性差异($P>0.05$)。

结论:鸢尾素可有效减少高胆红素血症新生大鼠脑组织TNF- α 、IL-1 β 、IL-6的释放,发挥抗炎作用。

关键词 高胆红素血症;大鼠;鸢尾素;炎症

中图分类号:R318;R744 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2024)-03-0320-06

The anti-inflammatory effect of irisin on hyperbilirubinemia in neonatal rats/HUANG Xinping, LI Xin, ZHANG Bo, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2024, 39(3): 320—325

Abstract

Objective: To investigate the effect of irisin on inflammatory response in brain tissue of neonatal rats with hyperbilirubinemia.

Method: Sixty-six neonatal SD rats were randomly divided into the normal control group (group A) and the model group (group M). Hyperbilirubinemia models were established by intraperitoneal injection of bilirubin solution at the age of 7 days and 10 days. After the last injection, 6 rats were randomly selected from group A and M to verify the success of the model establishment, and then group M was randomly divided into group B and group C. Rats in group C were injected with 80 μ g/kg irisin solution in lateral ventricles, and the other groups were injected with the same amount of PBS. After the injection into lateral ventricle, groups A, B and C were further divided into three subgroups according to different points of death. Neurobehavioral tests

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2024.03.003

*基金项目:佳木斯大学校级科技创新团队项目(Cxtd-2013-02);2022年度黑龙江省自然科学基金联合引导项目(LH2022H092)

1 佳木斯大学康复医学院,黑龙江省佳木斯市,154003; 2 佳木斯大学儿童康复神经实验室; 3 佳木斯大学附属第三医院; 4 深圳市大鹏新区妇幼保健院; 5 佳木斯市中心医院; 6 通讯作者

第一作者简介:黄信萍,女,硕士研究生; 收稿日期:2022-08-08

were performed at each time point. Morphology of cortical or hippocampal nerve cells was detected by HE staining, and the concentrations of TNF- α , IL-1 β and IL-6 were detected by ELISA.

Result: At 12h, there was no significant difference in the time of plane righting reflex among the three groups ($P>0.05$); At 24h, the rats in group B and C were longer than those in group A ($P>0.05$); At 48h, group B was longer than group A and C ($P<0.05$), and there was no significant difference between group A and C ($P>0.05$). There was no significant difference in tropism test among the three groups at each time point ($P>0.05$). Under the HE staining, the cortex neuron structure in group A were clear and complete but the number of hippocampal neurons was reduce; in group B and C, the number of neurons in cortex and hippocampus was decreased, the structure was disordered, and different degrees of pathological damage were observed. Group C was better than group B. Under the ELISA, the concentrations of TNF- α , IL-1 β and IL-6 in group B were higher than those in group A at each time point ($P>0.05$); the concentrations of TNF- α , IL-1 β and IL-6 in group C were significantly lower than those in group B at each time point ($P>0.05$); the concentration of TNF- α in the brain tissue of group C was higher than that of group A at 12h ($P>0.05$), and at 24h and 48h were lower than those in group A ($P>0.05$); the concentration of IL-6 in the brain tissue of group C was lower than that of group A at 12h and 24h ($P>0.05$); at 48h, there was no significant difference in the concentration of IL-6 between group C and group A ($P>0.05$); the concentration of IL-1 β in the brain tissue of group C was not significantly different from that of group A at the three time points ($P>0.05$).

Conclusion: Irisin can effectively reduce the release of TNF- α , IL-1 β and IL-6 in the brain tissue of neonatal rats with hyperbilirubinemia, and play an anti-inflammatory role.

Author's address Medical College of Rehabilitation, Jiamusi University, Jiamusi, Heilongjiang Province, 154003

Key word hyperbilirubinemia; rats; irisin; inflammation

当胆红素水平超过新生儿小时胆红素位列图95百分位时定义为高胆红素血症^[1]。一项多中心临床研究表明,我国足月儿及近足月儿中高胆红素血症的患病率为13.6%^[2]。胆红素的神经毒性除产生听觉障碍、脑性瘫痪等典型的核黄疸后遗症外^[3],还导致缺乏核黄疸典型临床表现的胆红素诱导的神经功能障碍(bilirubin-induced neurologic dysfunction, BIND),包括认知发育迟缓、注意力缺陷多动障碍(attention deficit hyperactivity disorder, ADHD)、特定学习障碍、孤独症谱系障碍(autism spectrum disorder, ASD)、语言障碍等^[4-5]。

Vodret S等^[6]提出应用具有抗炎和神经保护作用的药理学治疗,可改善新生儿高胆红素血症的管理,预防胆红素引起的神经损伤和死亡。鸢尾素(irisin)是一种新的肌肉因子,随着多领域的拓展与深入研究,发现鸢尾素有抗炎、神经保护等有益作用^[7]。因此,本实验聚焦探究鸢尾素对高胆红素血症神经毒性的抗炎作用,有利于全面认识鸢尾素的特点及其药理作用,深化鸢尾素在神经系统疾病方面的研究,为胆红素神经毒性的防治研究和临床康

复治疗提供新方向。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 主要药品及试剂:重组鸢尾素:AtaGenix(AT-AP00080);胆红素:上海吉至试剂(B-42750-500mg);苏木素-伊红染液:佰思诺(天津)生物科技有限公司;大鼠白介素1 β (IL-1 β)、白介素6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)ELISA和总胆红素检测试剂盒。

1.1.2 主要仪器:日本尼康正置荧光显微镜和成像系统;成都泰盟脑立体定位仪。

1.1.3 实验动物:健康成年SD大鼠,由吉林省长春市购入,长春许可证号:SCXK(吉)-2020-0002,雄鼠4只,雌鼠6只,体重180—220g,于佳木斯大学实验动物饲养中心清洁级大鼠饲养室适应性饲养1周,按照清洁级动物标准饲养,供给充足的饲料与饮水,饲养环境安静,室温25℃左右,12h:12h循环光照。将雄鼠与雌鼠以1:3的比例合笼,待雌鼠体重明显增加后,将雄鼠、雌鼠分笼单独饲养。雌鼠产下的新

生大鼠于7日龄时用于实验。

1.2 实验方法

1.2.1 注射用胆红素溶液配制:避光下称取胆红素,每10mg溶于0.1ml浓度为0.5mol/L的NaOH溶液中,加入三蒸水0.9ml,用0.5mol/L的HCl调节pH至8.5,现配现用。

1.2.2 PBS溶液的配制:每50gPBS干粉加入2L三蒸水,溶解后尽快使用。

1.2.3 鸢尾素溶液的配制:室温解冻存于超低温冰箱分装好的重组鸢尾素溶液,将分装的微量离心管以3000r/min的转速离心5min,保证管口、管壁的鸢尾素溶液全部离心至管底。每10 μ l鸢尾素溶液(1.05 μ g/ μ l)中加入20 μ l PBS溶液,避免反复多次吹打溶液,现配现用。

1.2.4 新生大鼠高胆红素血症模型的制备与分组:7日龄SD大鼠按照抽签法随机分为A组(24只)和M组(42只),于7日龄和10日龄分别进行腹腔注射,M组腹腔注射80mg/kg体重的胆红素,A组注射等量生理盐水,其余条件相同。末次注射后,从A组、M组中随机选取6只大鼠用于模型鉴定。再将M组随机分为B组(18只)与C组(18只),C组大鼠侧脑室注射80 μ g/kg剂量鸢尾素溶液,余各组注射等量PBS。根据不同处死时间点(12h、24h、48h),将A、B、C各组进一步分为3个亚组。在各时间点进行神经行为学检测,HE染色检测皮质或海马神经细胞形态,ELISA检测TNF- α 、IL-1 β 、IL-6的浓度。

1.2.5 侧脑室注射:按3ml/kg体重的10%水合氯醛腹腔注射麻醉大鼠;将大鼠固定于脑立体定位仪上;75%酒精进行颅顶皮肤消毒,以前囟为原点坐标X,Y,Z(1.2mm,0.9mm,5mm)处进针;缓慢给药和退针,以2 μ l/min的速度注射。

1.2.6 一般生长状况:观察各组大鼠的一般生长状况:皮肤颜色、呼吸、摄食、运动、对外界刺激反应等。

1.2.7 体重:于7日龄与10日龄腹腔注射之前,各时间点取材之前称量并记录各组大鼠体重。

1.2.8 胆红素测定与病理学检测:于末次腹腔注射后12h时,从A、M组里各随机选取6只大鼠,先心尖取血0.3ml,再断头取脑,进行血清、脑组织胆红素含量的测定。

1.2.9 神经行为学评价:平面翻正反射试验:将大鼠

翻转固定在平面上5s,松手并记录其翻身至四肢着地的时间,每只大鼠重复3次,取平均值。

1.2.10 检测:①HE染色:心脏灌注多聚甲醛固定取脑后常规石蜡包埋,4 μ m厚度切片,石蜡切片脱蜡,梯度酒精水化,苏木素染胞核,伊红染胞质,脱水封片,镜下观察脑皮质和海马的病理变化。②Elisa检测:大鼠麻醉后,断头取脑,将全脑装入冻存管里,置于超低温冰箱保存。每组至少3个样本,操作步骤严格参照Elisa检测试剂盒说明书检测TNF- α 、IL-1 β 、IL-6浓度。

1.3 图像处理

使用正置荧光显微镜观察每张脑组织病理切片皮质、海马组织,采用成像系统采集图像或使用优纳医疗数字扫描仪进行扫描,免疫组化结果使用Image-Pro Plus 6.0软件进行平均光密度分析,平均光密度=总IOD/总面积。

1.4 统计学分析

应用SPSS 19.0统计学软件分析数据。符合正态分布的数据以均数 $\pm$ 标准差的形式表示。满足正态分布或近似正态分布及方差齐性,采用单因素方差分析进行多组数据的比较,两两比较采用LSD检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 发育及行为学观察

2.1.1 一般生长状况:第一次腹腔注射胆红素后,M组大鼠心率减慢,约90次/min。10日龄可观察到M组大鼠毛发较A组稀疏,尾部变白,腹侧皮肤较A组变黄,尿液呈黄色。末次注射胆红素12h时,出现震颤、俯伏,对外界刺激反应变慢等异常神经行为学表现,并持续到24h、48h时,C组大鼠精神状态、活动量与对外界刺激反应均优于B组,B组出现死亡。

2.1.2 体重:7日龄A组大鼠体重与M组大鼠体重总体均数无显著性差异($P>0.05$)(表1)。

10日龄A组大鼠体重与M组大鼠体重总体均数存在显著性差异($P<0.05$)(表2)。

12h时,3组大鼠体重总体均数无显著性差异($P>0.05$);24h时,B组大鼠体重低于A组,差异有显著性意义($P<0.05$);48h时,3组体重总体均数存在显著性差异($P<0.05$)。其中,B、C2组大鼠体重均低

于A组,差异有显著性意义($P<0.05$)(表3)。

2.1.3 平面翻正反射试验:12h时,A、B、C3组大鼠平面翻正所需时间之间无显著性差异($P>0.05$)。24h时,B、C2组大鼠平面翻正所需时间多于A组,差异有显著性意义($P<0.05$),B、C2组之间无显著性差异($P>0.05$)。48h时,B组大鼠平面翻正所需时间多于A组,差异具有显著性意义($P<0.05$);C组大鼠平面翻正所需时间少于B组,差异具有显著性意义($P<0.05$),与A组无显著性差异($P>0.05$)(表4)。

2.2 血清与脑组织胆红素含量

M组大鼠血清和脑组织总胆红素含量高于A组大鼠,差异具有显著性意义($P<0.05$)(表5)。

2.3 HE染色

A组大鼠皮质神经元排列密集整齐,结构清晰完整,胞浆丰富、淡染,细胞核居中,核仁清楚,但在海马部位,出现了神经元数量减少的情况。B、C组大鼠皮质、海马神经元等部位神经元数目减少,结构紊乱,可见不同程度的核固缩、胞浆空泡化(图1)。

2.4 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6浓度

12h、24h、48h时,3组TNF- α 、IL-1 β 、IL-6浓度总体均数均存在显著性差异($P<0.05$)(表6—8)。

12h:其中,B组的TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度高于A组($P<0.001$),C组的TNF- α 浓度高于A组、低于B组($P=0.001$, $P=0.003$);C组IL-6浓度低于A、B组($P=0.002$, $P<0.001$);C组的IL-1 β 浓度低于B组($P<0.001$),C组与A组的IL-1 β 浓度无显著性差异($P=0.246$)。

24h:B组的TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度高于A组($P<0.001$),C组的TNF- α 、IL-6浓度低于A、B组的TNF- α 、IL-6浓度($P=0.006$, $P<0.001$, $P<0.001$, $P<0.001$)。B组TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度高于12h、48h时B组的TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度($P=0.008$, $P=0.03$, $P=0.002$, $P=0.005$, $P=0.034$, $P=0.017$)。C组TNF- α 浓度低于12h的TNF- α 浓度($P=0.003$);24h时的C组IL-6浓度高于12h的C组IL-6浓度,存在显著性差异($P=0.019$),与48h时的IL-6浓度无显著性差异($P=0.627$)。C组的IL-1 β 浓度低于B组的IL-1 β 浓度,存在显著性差异($P<0.001$),C组与A组的IL-1 β 浓度无显著性差异($P=0.385$)。24h时的C组IL-1 β 浓度与12h时C组IL-1 β 浓度无显著性差异($P=0.253$)。

48h:B组的TNF- α 、IL-6、IL-1 β 浓度高于A组,

表1 7日龄A组与M组大鼠体重

组别	鼠数	体重($\bar{x}\pm s$,g)	差值及95%CI	t 值	P 值
A组	24	14.05 $\pm$ 2.82	-1.00(-2.43—-0.43)	-1.40	0.17
M组	42	15.06 $\pm$ 2.79			

表2 10日龄A组与M组大鼠体重

组别	鼠数	体重($\bar{x}\pm s$,g)	差值及95%CI	t 值	P 值
A组	24	18.72 $\pm$ 3.38	2.29(0.58—3.99)	2.68	0.009
M组	42	16.43 $\pm$ 3.31			

表3 各组大鼠在各时间点的体重情况

时间点	A组	B组	C组	F 值	P 值
12h	18.63 $\pm$ 4.76	16.51 $\pm$ 1.67	16.04 $\pm$ 1.14	1.278	0.307
24h	19.12 $\pm$ 2.63	15.84 $\pm$ 2.11 ^①	16.50 $\pm$ 2.74	2.870	0.088
48h	20.92 $\pm$ 1.64	17.35 $\pm$ 1.84 ^①	17.01 $\pm$ 3.83 ^①	4.068	0.025

注:①与A组比较 $P<0.05$ 。

表4 各时间点各组大鼠平面翻正反射所需时间

时间点	A组	B组	C组	F 值	P 值
12h	1.50 $\pm$ 0.49	2.89 $\pm$ 1.24	2.03 $\pm$ 1.43	2.32	0.132
24h	0.92 $\pm$ 0.18	2.65 $\pm$ 0.66 ^①	2.43 $\pm$ 0.87 ^①	13.18	<0.001
48h	1.17 $\pm$ 0.38	2.21 $\pm$ 0.59 ^①	1.51 $\pm$ 0.45 ^②	7.24	0.06

注:①与A组比较 $P<0.05$;②与B组比较 $P<0.05$ 。

表5 血清和脑组织总胆红素含量 ($\bar{x}\pm s$)

组别	数量	总胆红素含量($\bar{x}\pm s$, μ mol/L)	差值及95%CI	t 值	P 值
A组	6	13.31 $\pm$ 0.34	(-242.18—-178.78)	-17.07	<0.001
M组	6	223.78 $\pm$ 30.21			
A组	6	13.50 $\pm$ 0.90	(-255.81—-232.51)	-53.66	<0.001
M组	6	257.67 $\pm$ 11.11			

表6 各时间点各组大鼠脑组织TNF- α 浓度 ($\bar{x}\pm s$,pg/ml)

时间点	A组	B组	C组	F 值	P 值
12h	144.55 $\pm$ 11.28	228.28 $\pm$ 7.53 ^①	190.47 $\pm$ 9.59 ^{①②}	58.143	<0.001
24h	181.19 $\pm$ 3.45	258.82 $\pm$ 9.48 ^①	157.93 $\pm$ 6.30 ^{①②}	177.78	<0.001
48h	153.67 $\pm$ 11.20	236.71 $\pm$ 11.22 ^①	103.87 $\pm$ 8.16 ^{①②}	127.40	<0.001

注:①与A组比较 $P<0.05$;②与B组比较 $P<0.05$ 。

表7 各时间点各组大鼠脑组织IL-6浓度 ($\bar{x}\pm s$,pg/ml)

时间点	A组	B组	C组	F 值	P 值
12h	76.6 $\pm$ 5.06	88.50 $\pm$ 4.36 ^①	53.63 $\pm$ 1.93 ^{①②}	56.50	<0.001
24h	83.35 $\pm$ 4.97	104.75 $\pm$ 1.71 ^①	57.21 $\pm$ 0.71 ^{①②}	181.07	<0.001
48h	62.16 $\pm$ 6.47	90.92 $\pm$ 4.77 ^①	57.79 $\pm$ 1.17 ^②	44.15	<0.001

注:①与A组比较 $P<0.05$;②与B组比较 $P<0.05$ 。

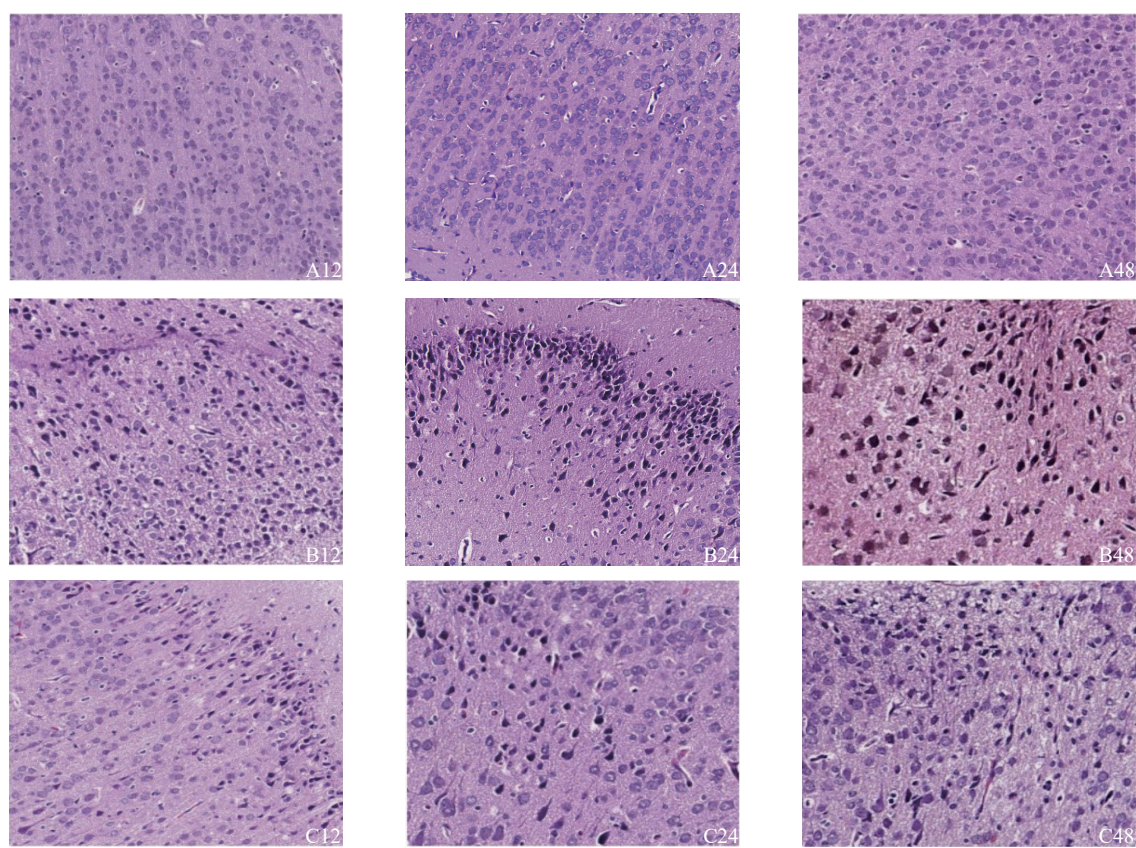
表8 各时间点各组大鼠脑组织IL-1 β 浓度 ($\bar{x}\pm s$,pg/ml)

时间点	A组	B组	C组	F 值	P 值
12h	15.04 $\pm$ 1.19	28.17 $\pm$ 1.63 ^①	16.27 $\pm$ 0.17 ^②	115.56	<0.001
24h	16.36 $\pm$ 0.49	24.09 $\pm$ 0.99 ^①	15.75 $\pm$ 0.81 ^②	102.93	<0.001
48h	17.16 $\pm$ 0.66	28.94 $\pm$ 2.52 ^①	19.31 $\pm$ 0.26 ^②	51.58	<0.001

注:①与A组比较 $P<0.05$;②与B组比较 $P<0.05$ 。

存在显著性差异($P<0.001$),C组的TNF- α 浓度低于A、B2组,均存在显著性差异($P=0.001,P<0.001$)。C组TNF- α 浓度继续降低,且低于24h时的TNF- α 浓度,存在显著性差异($P<0.001$)。C组的IL-6、IL-1 β 浓度低于B组,存在显著性差异($P<0.001$),C组与A组的IL-6、IL-1 β 浓度无显著性差异($P=0.298,P=0.131$)。C组IL-1 β 浓度高于12h、24h时的C组IL-1 β 浓度,存在显著性差异($P<0.001,P<0.001$)。

图1 各时间点各组大鼠皮质神经元HE染色结果 (×200)



3 讨论

本实验初步研究将鸢尾素用于新生大鼠高胆红素血症神经毒性的治疗,从高胆红素血症对新生大鼠的炎症反应动态变化切入,探索外源性鸢尾素的药理作用,又研究了在高胆红素血症中炎症反应的作用规律。结果表明,鸢尾素对新生大鼠高胆红素血症具有良好的抗炎作用。此研究结果可在一定程度上对临床治疗新生儿高胆红素血症提供理论指导意义。

3.1 高胆红素血症模型的建立

胆红素具有神经毒性,会对中枢神经系统造成不同程度的损伤,影响神经的发育。本实验采用新生大鼠腹腔注射胆红素方法进行造模。新生大鼠腹

腔注射胆红素后毛发稀疏,腹侧皮肤和尿液变黄,甚至出现震颤,对外界刺激反应减弱等异常神经行为学表现。血清和脑组织胆红素浓度测定结果>3mg/dl,表明大鼠存在高胆红素血症^[9-10]。以及出现皮质神经元核固缩、胞浆空泡化;海马神经元排列紊乱,数量减少等神经病理变化。本实验结果与郭爽^[8]和Gökdoğan Ç等^[11]研究结果相一致,说明高胆红素血症模型鼠建立成功。

3.2 鸢尾素对高胆红素血症模型大鼠体重的影响

本研究结果显示:24h时,B组大鼠体重低于A组;48h时,B、C2组大鼠体重均低于A组。其余各时间点组间无显著性差异。分析其原因,一方面可能是腹腔注射胆红素导致腹腔内组织粘连,影响胃

肠道功能^[9];另一方面可能是胆红素所致脑损伤导致大鼠活动减少,进食主动性降低。此外,Zhang W等^[12]发现第三脑室给予鸢尾素会使大鼠的O₂消耗量增加,CO₂产生和热量显著增加,代谢活动增强,这可能也会导致大鼠体重降低。故在本实验中未发现C组大鼠体重较B组有明显增加。

3.3 鸢尾素对高胆红素血症模型神经行为学的影响

本研究显示,C组大鼠平面翻正所需时间少于B组($P<0.05$)。说明鸢尾素在一定程度上减轻了胆红素对神经系统的损伤,促进高胆红素血症模型大鼠的神经发育。方向趋向性实验通常检测前庭或本体感觉功能,大鼠在倾斜平面测试中通过正常直立作为方向趋向性反射来显示姿势反应。但在本实验中,各时间点各组大鼠完成方向趋向性实验所需的时间均无显著性差异,这可能与大鼠的日龄有关。

3.4 鸢尾素对高胆红素血症模型大鼠炎症反应的影响

神经炎症的标志是神经胶质细胞的激活和细胞因子与炎症介质的产生,从而触发神经损伤^[13]。在临床相关情况下,UCB可激活胶质细胞,如星形胶质细胞、小胶质细胞,随后释放促炎细胞因子,包括TNF- α 、IL-1 β 和IL-6^[14]。本研究结果与其一致,B组大鼠脑组织TNF- α 、IL-1 β 和IL-6含量均高于A组大鼠,说明高胆红素血症模型大鼠脑组织炎症因子的释放增加。

如前所述,炎症因子的释放呈现出时间依赖性,但现有研究多为原代细胞培养的体外实验,体外实验与体内实验存在差异,除了腹腔注射胆红素使得胆红素发挥神经毒性作用需要更长时间外,体内实验还涉及神经细胞与神经胶质细胞之间的作用以及神经胶质细胞之间的相互作用,故需探索炎症因子在体内的时间依赖性变化。本研究显示,B组大鼠脑组织TNF- α 、IL-6和IL-1 β 浓度在24h时最高。在C组中,TNF- α 的浓度呈现出持续下降的趋势;与12h、24h相比,48h时C组大鼠脑组织的IL-1 β 浓度显著增加;与12h相比,24h、48h时C组大鼠脑组织的IL-6含量显著增加,但本实验尚未显示出明确的鸢尾素对炎症因子释放的动态影响,未来需设置更多的时间点进行研究。从整体来看,C组大鼠脑组织炎症因子的释放均少于B组,所以可以认为鸢尾

素可抑制炎症因子的释放。此外,鸢尾素对高胆红素血症新生大鼠脑组织炎症反应的动态影响尚不明确,有待进一步研究。

综上所述,鸢尾素能减少高胆红素血症新生大鼠脑组织TNF- α 、IL-1 β 和IL-6的释放,从而发挥抗炎作用,减轻胆红素对神经系统的损害。鸢尾素对高胆红素血症的抗炎作用可为临床康复过程中提供药物治疗理论参考,并预防产生神经功能障碍,如脑性瘫痪、发育障碍、学习障碍等神经发育障碍疾病。

参考文献

- [1] 新生儿高胆红素血症临床研究协作组. 新生儿小时经皮胆红素百分位曲线图预测高胆红素血症价值的多中心临床研究[J]. 中华儿科杂志, 2015, 53(11): 830—834.
- [2] 中华医学会儿科学分会新生儿学组, 中国新生儿胆红素脑病研究协作组. 中国新生儿胆红素脑病的多中心流行病学调查研究[J]. 中华儿科杂志, 2012, 50(5): 331—335.
- [3] 王卫平. 儿科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2017: 119—123.
- [4] 胡媛, 史源. 新生儿胆红素脑损伤的研究进展[J/OL]. 发育医学电子杂志, 2020, 8(4): 365—369.
- [5] Amin SB, Smith T, Timler G. Developmental influence of unconjugated hyperbilirubinemia and neurobehavioral disorders[J]. *Pediatr Res*, 2019, 85(2): 191—197.
- [6] Vodret S, Bortolussi G, Iaconig A, et al. Attenuation of neuro-inflammation improves survival and neurodegeneration in a mouse model of severe neonatal hyperbilirubinemia[J]. *Brain Behav Immun*, 2018(70): 166—178.
- [7] Rabiee F, Lachinani L, Ghaedi S, et al. New insights into the cellular activities of Fndc5/Irisin and its signaling pathways[J]. *Cell Biosci*, 2020(10): 51.
- [8] 郭爽. 布拉氏酵母菌联合早期干预对高胆红素血症仔鼠作用的研究[D]. 佳木斯: 佳木斯大学, 2018.
- [9] Luo Y, Peng M, Wei H. Melatonin promotes brain-derived neurotrophic factor (BDNF) expression and anti-apoptotic effects in neonatal hemolytic hyperbilirubinemia via a phospholipase (PLC)-mediated mechanism[J]. *Med Sci Monit*, 2017(23): 5951—5959.
- [10] Domínguez Ortega F, González Azpeitia G, Cidrás Pidre M, et al. Hypercapnia induced reversible opening of the blood-brain barrier in experimental hyperbilirubinemia[J]. *An Esp Pediatr*, 1997, 46(4): 374—377.
- [11] Gökdoğan Ç, Genç A, Gülbahar Ö, et al. Auditory evoked potentials in a newborn Wistar rat model of hyperbilirubinemia[J]. *Braz J Otorhinolaryngol*, 2016, 82(2): 144—150.
- [12] Zhang W, Chang L, Zhang C, et al. Irisin: a myokine with locomotor activity[J]. *Neurosci Lett*, 2015(595): 7—11.
- [13] 李思宇. A1型星形胶质细胞在胆红素诱导的神经毒性作用中的机制研究[D]. 重庆: 重庆医科大学, 2021.
- [14] Fernandes A, Brites D. Contribution of inflammatory processes to nerve cell toxicity by bilirubin and efficacy of potential therapeutic agents[J]. *Curr Pharm Des*, 2009, 15(25): 2915—2926.