

黄体酮防治大鼠缺血再灌注脑损伤中神经功能缺失及细胞凋亡

李超, 卢娜¹, 李东亮¹, 张剑凯²新乡医学院第三附属医院眼科, ¹生理学教研室, 新乡 453003, 河南;²湛江医学院解剖学教研室, 湛江 524000, 广东

摘要 目的: 探讨黄体酮(progesterone, PROG)对脑缺血再灌注损伤的保护机制。方法: 采用SD大鼠局灶性脑缺血再灌注模型(transient middle cerebral artery occlusion, MCAO)。将大鼠随机分为6组: 假手术组、ischemia/reperfusion (I/R)组、溶剂(二甲基亚砜dimethyl sulfoxide, DMSO)对照组、PROG预防组、PROG治疗组、PROG预防并治疗组, 对各组动物脑缺血/再灌注后神经功能缺陷进行计分, 并应用细胞死亡原位末端标记(insitu end labeling, ISEL)法研究脑组织细胞凋亡情况。结果: (1) 缺血2h再灌注24h后神经功能缺陷计分: 假手术组为0分, I/R组为 1.38 ± 0.92 , DMSO组为 1.0 ± 0.53 , 预防组为 0.35 ± 0.51 , 治疗组为 0.62 ± 0.52 , 防治组为 0.25 ± 0.46 。(2) 高倍视野下调亡细胞数: 假手术组为 1.88 ± 0.25 , I/R组为 41.38 ± 3.85 , DMSO组为 38.13 ± 5.69 , 预防组为 22.88 ± 2.70 , 治疗组为 25.63 ± 2.93 , 防治组为 20.88 ± 2.30 。以上指标各药物处理组(预防组、治疗组及防治组)与I/R组、DMSO对照组之间差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论: PROG可减少局灶性缺血再灌注脑损伤动物模型神经功能缺失的发生, 减轻局灶性缺血再灌注脑损伤, 减少大鼠缺血再灌注后脑细胞凋亡。

关键词 黄体酮; 脑缺血; 再灌注损伤; 神经功能缺陷; 凋亡

目前脑血管病已成为人类三大病死原因之一^[1], 其中缺血性脑卒中约占70%~80%。中枢神经系统发生局灶性脑缺血再灌注后, 由于兴奋性氨基酸释放、 Ca^{2+} 超载及氧自由基形成等原因导致继发性损伤, 损伤形式主要为程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)^[2], 又称细胞凋亡, PCD可促使缺血损伤区扩大形成恶性循环。故寻找减少细胞坏死、抑制PCD发生、减轻脑缺血(ischemia, I)再灌注(reperfusion, R)损伤的有效神经保护剂已成为当前脑卒中防治研究的热点^[3]。黄体酮(progesterone, PROG)可在神经系统合成和分泌, 且具有活性作用^[4], 近年来它在脑缺血保护中的作用引起人们的极大关注, 研究表明外源性PROG处理脑缺血或挫伤的大鼠, 可降低脑组织的 H_2O 、 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 含量, 减轻脑水肿, 促进认知能力的恢复^[5,6]。此外, 亦有研究表明PROG可影响抑制性氨基酸^[7]和兴奋性氨基酸(EAA)递质系统^[8], 通过抑制兴奋性氨基酸受体的活性、降低兴奋性氨基酸的毒性反应起到对缺血脑的保护作用, 因此PROG有可能成为治疗脑缺血的有效制剂。本实验利用大鼠局灶性脑缺血再灌注(transient middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型, 原位缺口末端标记(ISEL)法, 进一步探讨PROG对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护机制。

1 材料与方法

1.1 动物 Sprague-Dewley (SD) 雄性大鼠 48 只, 体重 250~300 g, 新乡医学院实验动物中心提供(动物合格证号: 200208)。

1.2 试剂 PROG, Sigma 公司产品, 实验前溶于二甲基亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO, 配成 $8 \text{ mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ 浓度备用。Sigma 公司产品); 5% 氯胺酮针剂, 上海第一生化制药厂生产; 1% 多聚-L-赖氨酸溶液, Sigma 公司产品, 中山公司分装; DAB 显色系统, 北京中山

中图分类号: R977.12; R965

文献标识码: A

文章编号: 1009-2501(2004)09-1045-05

2004-06-12 收稿 2004-07-20 修回

河南省教育厅资助项目 (No20013100005)

李超, 通讯作者, 男, 硕士, 讲师, 主治医师, 研究方向: 神经缺血再灌注损伤与防治。

Tel: 0373-5289582 E-mail: lichao1973@etang.com

公司产;原位缺口末端标记(in situ cell detection kit, AP)试剂盒,德国宝灵曼公司产品。

1.3 分组 SD大鼠随机分成6组(每组8只):假手术组仅切开颈部皮肤,暴露左侧颈总动脉;缺血再灌注对照组(I/R):只作缺血再灌注,不作药物处理;溶剂对照组(DMSO):缺血前30 min和缺血后2 h分别ip相当体积的DMSO;预防组:术前30 min ip PROG $4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;治疗组:术后2 h ip PROG $4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$;防治组:缺血前30 min和缺血后2 h分别ip PROG $4\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。

1.4 动物模型制作 直径0.175~0.24 mm尼龙鱼线,其末端靠近火焰烧圆,并于2.0 cm处用记号笔标记,于肝素中浸泡2 h, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烤箱1 h烤干备用。参照Zea-Longa氏^[9]线栓改进^[21]法制作脑缺血动物模型。5%氯胺酮($0.1\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)腹腔注射麻醉后,做约2 cm颈部正中切口,在左侧的肩胛舌骨和胸锁乳突肌形成的三角处分离,暴露颈总动脉(CCA)及其分支颈外动脉(ECA)和颈内动脉(ICA),夹闭CCA、ICA、ECA,结扎ECA的分支枕动脉、甲状腺上动脉及ECA终末支,ICA的颅外分支翼突腭动脉。游离左ECA主干一段,用0~4外科手术线将左CCA近心端结扎,在左CCA近分叉处做一松结,剪一“V”形切口,尼龙线自切口处由CCA处轻送栓线经CCA分叉处进入ICA,入颅至大脑前动脉内,插入的尼龙线长约为20 mm即可阻断MCA,引起左侧大脑中动脉阻断(middle cerebral artery occlusion, MCAO),造成局灶性脑缺血。术后缝合皮肤,将栓线另一端置于切口外。缺血2 h后再灌注,抽出尼龙线,使其头端退回到ECA主干内,恢复大脑中动脉血供。

1.5 缺血判定标准及评分 缺血动物右侧上下肢体瘫痪,围绕右侧呈顺时针绕圈(追尾现象)。而有痉挛和意识障碍的大鼠则剔除。缺血和再灌注后,在不同时间点(I 0.5、I 1、I 2 h、R 0.5、R 1、R 4、R 8、R 24 h)对大鼠进行神经体征的观察。参照Zea-Longa氏^[9]神经功能损失评分标准:0分:正常;1分:不能完全伸展前肢;2分:行走时转圈;3分:行走时跌倒;4分:不能行走及意识减弱。

1.6 取材 实验动物于再灌注24 h后开胸, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、4%多聚甲醛磷酸盐缓冲液灌注固定左心室,断头取脑,将鼠脑自额极至枕叶均分为A、B、C、D、E 5等分脑片,将C脑片置于同样固定液后固定过夜,系列酒精脱水;二甲苯透明; $56\sim 58\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烤箱浸腊;软蜡包埋。

1.7 细胞凋亡检测 将制成的石蜡包埋组织,连续冠状切片(片厚 $4\sim 6\text{ }\mu\text{m}$) 5张进行HE染色。使用

原位细胞死亡检测药盒,采用原位末端标记法(In situ end labeling, ISEL)标记凋亡细胞,光镜下对阳性凋亡细胞数进行检测。阳性凋亡细胞呈棕黄色,阴性细胞为蓝色。对照组染色中,用不含TdT的TUNEL反应液代替。

1.8 缺血侧区凋亡细胞的定量分析 采用显微镜计数法:每张切片均按照缺血侧皮质到髓质的顺序随机观察10个视野(40×10),计数视野内TUNEL染色的阳性细胞,以平均值做为阳性细胞数。

1.9 统计学处理 数据以均数 \pm 标准差表示,同一时间点神经功能缺失计分、组化及凋亡染色阳性细胞数的比较采用单因素方差分析(SLD法、Newman-keuls法),方差不齐时采用秩和检验。应用SPSS for Windows 10.0软件包处理,取 $\alpha=0.05$ 作为检验水准。

2 结果

2.1 神经行为观察及神经功能缺陷计分比较 各组实验动物在MCAO术后约30~40 min苏醒,恢复翻身反射和自发活动,除假手术组动物无神经功能缺失症状外,其余各组动物活动明显增多,有31只(77.5%)发生向MACO侧的旋转,而这种旋转在2 h后消失,之后向MACO对侧旋转。

除假手术组动物外,其余各组有37只(92.5%)出现右侧肢体瘫痪,尤其是前肢,表现为动物右旋时右前肢托于腹下,于左前肢交叉成剪刀状;左旋时右前肢掌面朝上,拖于身体右侧;提尾试验时右前肢内收,头弯向右;缺血后动物不饮水不进食,活动增多,再灌注后神经功能缺失症状无明显改善或恶化,28只(75.7%)拔线再灌注后动物活动明显增多,兴奋性增高,可能与再灌注后损伤加重有关。

各组神经功能缺陷计分随时间推移而逐渐降低,药物处理各组与对照组(I/R或DMSO)计分缺陷的显著差异出现于I 1 h和I 2 h或R 4 h后。

各组各时间段神经功能缺陷计分比较:预防组、治疗组、防治组各组神经功能缺陷计分均小于对照组(DMSO、I/R组)。预防组、治疗组、防治组各組间无显著差异。再灌注4、8、24 h神经功能缺陷计分,各用药组均显著低于与I/R组($P<0.05$,表1)。

2.2 大鼠脑组织观察结果 缺血侧脑组织颜色苍白,呈局灶性与大脑中动脉供应区相适应,冠状切面可见左侧缺血区脑组织较右侧体积增大,脑组织苍白(图1)。整体观察预防组、治疗组、防治组较DMSO和I/R组病变范围局限。

表 1 各组不同时间段神经功能缺陷计分比较($\bar{x}\pm s$, $n=8$)

组别	缺血			再灌注				
	0.5 h	1 h	2 h	0.5 h	1 h	2 h	8 h	24 h
假手术组	0	0	0	0	0	0	0	0
缺血再灌注组	3.8±0.5	3.6±0.3	2.8±0.6	2.7±0.8	2.6±0.9	2.4±0.6	2.1±0.3	1.4±0.9
溶剂对照组	3.6±0.8	3.5±0.7	2.6±0.8	2.4±0.4	2.4±0.7	1.8±0.4	2.0±0.1	1.0±0.5
预防组	3.6±0.7	3.2±0.5	2.6±0.5	2.4±1.9	2.0±0.9	1.7±0.7 ^b	1.5±0.7 ^b	0.4±0.5 ^{bc}
治疗组	3.6±0.6	3.3±0.9	2.8±0.3	2.5±0.5	2.5±0.8	1.4±0.7 ^{bc}	1.1±0.6 ^{bc}	0.6±0.5 ^b
防治组	3.5±0.5	2.8±0.7 ^{bc}	2.4±0.4 ^b	2.4±0.5	2.2±0.6	1.0±0.6 ^{bc}	0.7±0.4 ^{bc}	0.2±0.5 ^{bc}

与缺血再灌注组相比^b $P<0.05$;与溶剂对照组相比^c $P<0.05$



图 1 冠状切可见左侧缺血区脑组织较右侧体积增大,脑组织苍白

2.3 HE 染色组织学观察结果 脑缺血损伤 HE 染色的镜下组织学特征参照 Crcia^[10] 等人评价神经缺血性病变的标准。假手术组大鼠左侧脑组织神经细胞排列致密,神经元核仁及核周围质着色深,神经细胞周围的神经纤维无空泡。缺血再灌注各组缺血区中心神经组织结构完全破坏,神经元、神经胶质细胞和纤维血管内皮细胞大部坏死,细胞数量明显减少,坏死细胞留下许多腔隙,细胞间隙明显增宽。缺血边缘区神经元肿胀、着色淡,形态变为角形或扇形,神经元周神经纤维呈空泡状或海绵状,神经胶质细胞肿胀。缺血侧大脑皮质大部分神经元表现为:神经元细胞数量明显减少,核固缩深染、核仁、尼氏体消失,胞质少着色深,呈杆状或梭形,与周围神经组织有较大间隙(图 2)。

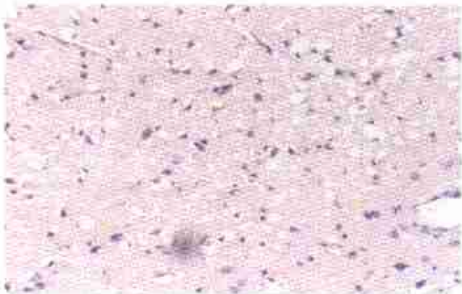


图 2 I/R 组缺血侧 HE 染色(10×10)

神经元、神经体体积增大,脑组织苍白,胶质细胞和纤维血管内皮细胞大部坏死,细胞数量明显减少,坏死细胞留下许多腔隙,细胞间隙明显增宽

缺血损伤程度以视前区、纹状体为最重,其次是皮质,海马区变化不明显。预防组、治疗组、防治组

损伤程度轻于 DMSO 和 I/R 组。在缺血区可发现红神经元(细胞质强嗜酸性,核固缩深染)和鬼影细胞(细胞核的嗜酸性物质丧失对苏木素的亲和力,仅显示细胞核轮廓或完全不显示细胞核)(图 3)。

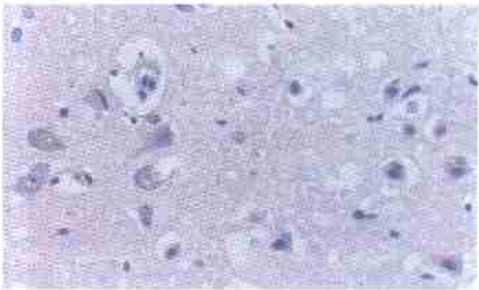


图 3 I/R 组缺血侧 HE 染色(40×10)

显示红神经元(细胞质强嗜酸性,核固缩深染)和鬼影细胞(细胞核的嗜酸性物质丧失对苏木素的亲和力,仅显示细胞核轮廓或完全不显示细胞核)

2.4 各组 TUNEL 染色观察及细胞凋亡情况 假手术组大脑半球极少检测到凋亡细胞(1.88±0.25 个/HP)。DMSO 组和 I/R 组的缺血大脑半球皮质、基底节区可见凋亡细胞,缺血中心区散在,缺血区边缘内侧成簇,阳性细胞呈黄褐色,胞质均质浓缩,胞核深染,轮廓清晰,细胞体积小,边集于核周呈新月形或环形,且可见少量大小不等深染成黄褐色的圆形小体,形似凋亡小体(图 4)。治疗组、防治组在缺血半球亦可监测到凋亡细胞,右侧均为阴性。凋亡细胞形态与溶剂对照组和缺血再灌注组相似,但数量显著少于对照组($P<0.05$)。预防组、治疗组、防治组各组间无显著统计学意义($P>0.05$,表 2)。

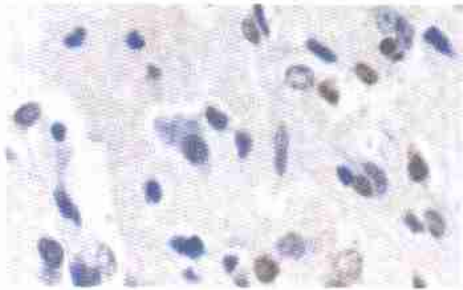


图 4 I/R 组纹状体 ISEL 法凋亡细胞染色(40×10)

表 2 各组缺血侧细胞凋亡数比较($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

分组	细胞凋亡数
假手术组	1.88 ± 0.25^{1a}
缺血再灌注组	41.38 ± 3.85
溶剂对照组	38.13 ± 5.69
预防组	22.88 ± 2.70^{1b}
治疗组	25.63 ± 2.93^{1b}
防治组	20.88 ± 2.30^{1b}

与缺血再灌注组相比¹ $P < 0.05$, ² $P < 0.01$

3 讨论

细胞凋亡是细胞按自身程序主动死亡的过程^[11],而细胞坏死则是被动死亡过程,所以凋亡又称为程序性细胞死亡(programmed cell death, PCD)。细胞凋亡在形态学和生化特征上表现为细胞皱缩,细胞核染色质浓缩, DNA 片断化,而细胞的膜结构和细胞器仍完整。1990 年 Shigeno 等^[12]报告在短暂性脑缺血后使用蛋白合成阻滞剂亚环己酮能抑制迟发性神经细胞死亡的发生,首先提出了缺血性神经细胞死亡可能与细胞凋亡有关。PCD 最突出的生化改变是细胞染色质 DNA 的有控裂解,裂解后的 DNA 断片(fragments)在琼脂糖电泳图谱上呈现梯状,称为梯状 DNA^[13]。利用这一特性,Mac Mans 等^[14]在阻断大鼠双侧颈总动脉形成的不完全脑缺血模型上观察到:在缺血 16 min 再灌注 48 h 后,大鼠脑海马、纹状体细胞 DNA 分别有 25%、35% 产生了裂解,在琼脂糖电泳图谱上呈梯状,皮层细胞的 DNA 未见有裂解。这说明神经元在经历了短暂轻度缺血后会发 PCD,并且发生的区域是对缺血最为敏感的部位。以后,许多学者在局灶和全脑缺血等不同的脑缺血模型上,先后证实脑缺血后可诱发 PCD。在缺血再灌注各组(I/R、DMSO、预防组、治疗组、防治组)均可见明显神经细胞凋亡,提示缺血再灌注损伤可诱导细胞凋亡,这与以往结果相符^[14]。

近几年来,人们对神经元的迟发性损伤机制作了深入研究,许多实验证实重度缺血诱发坏死,轻度缺血诱导凋亡,进而造成迟发性神经元死亡。这解释了为什么在本实验中脑缺血中心区发生坏死(梗死),而半暗区则以细胞凋亡为主。若能减少半暗区细胞凋亡,将会有效抑制坏死区的扩大,从而减轻迟发性脑损伤。本实验发现:药物干预各组细胞凋亡数目均少于对照组(I/R 或 MDSO),且差异有显著性。说明 PROG 可有效减少脑缺血再灌注后细胞凋亡的发生,减轻脑损伤,结果与既往研究显示 PROG 的神经保护作用相符^[15-17]。

结合本实验结果和既往研究推测 PROG 抑制细胞凋亡的机制可能为:(1)PROG 下调促凋亡基因的表达而起到保护作用;(2)有研究^[5]显示 PROG 可明显减少大鼠 MCAO 纹状体钙含量,减轻细胞内“钙超载”而对缺血脑有神经保护作用。钙超载是导致神经细胞损伤和死亡的最后通路,脑缺血时兴奋性氨基酸和氧自由基过度释放、细胞水肿、酸中毒等均可造成钙进入细胞;(3)有研究表明^[18,19] PROG 可通过增强 GABA 受体亚单位的活性,抑制兴奋性氨基酸受体活性,使 GABA 系统的抑制功能占优势,降低兴奋性氨基酸的毒性反应,从而一方面降低 NMDA 过度兴奋所介导的 Ca^{2+} 内流引起神经细胞迟发性损伤,另一方面通过降低 Na-K-ATP 酶调控的离子运输使 Ca^{2+} 通道延迟开放,有可能防止膜机能衰竭和缺血脑损伤的发生发展,减轻脑缺血损伤。

各组神经功能缺陷计分随时间推移而逐渐降低,药物处理各组与对照组计分缺陷差异出现于再灌注 4 h 后。各组不同时间段神经功能缺陷计分比较,用药各组神经功能缺陷计分较 DMSO 和 I/R 组较低,统计分析有显著性差异,提示 PROG 可减少大鼠 MACO 后神经功能的缺失。这与 Alkayed^[20]的研究相符。

从各组死亡率,药物预防组、治疗组动物死亡率与对照组(I/R 或 MDSO)无差异,而防治组为 0%则明显低于对照组。加大外源性 PROG 剂量是否可降低脑缺血再灌注损伤模型动物的死亡率尚需进一步研究。另在实验中发现:术后动物旋转呈时相性,这一现象在以往的文献中罕见报告。分析其机制可能与缺血大脑半球间兴奋性神经递质的不平衡有关:推测在缺血 2 h 内,MACO 侧大脑半球兴奋性氨基酸大量释放导致 MACO 对侧肢体肌张力增高,出现左旋;2 h 后 MACO 侧大脑半球兴奋性氨基酸耗竭,出现缺血坏死,导致 MACO 对侧肢体瘫痪,出现右旋。其真正机理还需进一步研究证实。

综上所述,通过本实验可知:缺血再灌注损伤可引起大鼠脑细胞凋亡增加,外源性 PROG 可减少脑缺血再灌注损伤模型动物神经功能缺陷损失;外源性 PROG 可减轻局灶性缺血再灌注流脑损伤,减少大鼠脑缺血再灌注后的脑细胞凋亡。

参考文献

- 1 王文志,李世绅,程学铭.中国脑卒中流行病学研究[J].上海预防医学杂志,1996;8(1):6-7
- 2 Li Y, Chopp M, Powers C, Griffin JW. Apoptosis and protein expression after cerebral ischemia in rat[J]. Brain Res, 1997; 765(2): 301-12

- 3 Johnson EM Jr, Greenlund LJ, Akins PT, Hsu CY. Neuronal apoptosis: current understanding of molecular mechanisms and potential role in ischemic brain injury [J]. J Neurotrauma, 1995; 12(5): 843—52
- 4 Baulieu EE, Robel P. Neurosteroids: A new brain function [J]. J Steroid Biochem Molec Biol, 1990; 37(3): 395—403
- 5 李东亮, 赵宏岗, 王东霞, 祈英杰, 周素凤, 席景砖. 孕酮对脑缺血再灌注大鼠纹状体水、钠、钾及钙含量的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2001; 17(10): 1012—5
- 6 Roof RL, Duvdevani R, Braswell L, Stein DG. Progesterone facilitates cognitive recovery and reduces secondary neuronal loss caused by cortical contusion injury in male rats [J]. Exp Neurol, 1994; 129(1): 64—9
- 7 Kokate TG, Svensson BE, Rogawski MA. Anticonvulsant activity of neurosteroids: correlation with gamma-aminobutyric acid-evoked chloride current potentiation [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1994; 270(3): 1223—9
- 8 Smith SS. Progesterone administration attenuates excitatory amino acid responses of cerebellar Purkinje cells [J]. Neuroscience, 1991; 42(2): 309—20
- 9 Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, Cummins R. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989; 20(1): 84—91
- 10 Garcia JH, Yoshida Y, Chen H, Li Y, Zhang ZG, Lian J, *et al.* Progression from ischemic injury to infarct following middle cerebral artery occlusion in the rat [J]. Am J Pathol, 1993; 142(2): 623—35
- 11 MacManus JP, Linnik MD. Gene expression induced by cerebral ischemia: an apoptotic perspective [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1997; 17(8): 815—32
- 12 Shigeno T, Yamasaki Y, Kato G, Kusaka K, Mima T, Takakura K, *et al.* Reduction of delayed neuronal death by inhibition of protein synthesis [J]. Neurosci Lett, 1990; 120(1): 117—9
- 13 Martin SJ, Green DR, Cotter TG. Dicing with death: dissecting the components of the apoptosis machinery [J]. Trends Biochem Sci, 1994; 19(1): 26—30
- 14 MacManus JP, Buchan AM, Hill IE, Rasquinha I, Preston E. Global ischemia can cause DNA fragmentation indicative of apoptosis in rat brain [J]. Neurosci Lett, 1993; 164(1—2): 89—92
- 15 Cervantes M, Gonzalez-Vidal MD, Ruelas R, Escobar A, Morali G. Neuroprotective effects of progesterone on damage elicited by acute global cerebral ischemia in neurons of the caudate nucleus [J]. Arch Med Res, 2002; 33(1): 6—14
- 16 Kumon Y, Kim SC, Tompkins P. Neuroprotective effect of post-ischemic administration of progesterone in spontaneously hypertensive rats with focal cerebral ischemia [J]. J Neurosurg, 2000; 92(5): 848—52
- 17 Boise LH, Gonzalez-Garcia M, Postema CE, Ding L, Lindsten T, Turkula La, *et al.* Bcl-2 dominant regulator of apoptosis cell death [J]. Cell, 1993; 74(4): 597
- 18 Betz AL, Ennis SR, Schielke GP. Blood-brain barrier sodium transport limits development of brain edema during partial ischemia in gerbils [J]. Stroke, 1989; 20(9): 1253—9
- 19 Alkayed NJ, Murphy SJ, Traystman RJ, Hurn PD, Miller VM. Neuroprotective effects of female gonadal steroids in reproductively senescent female rats [J]. Stroke, 2000; 31(1): 161—8
- 20 李东亮, 程晓虹, 申虹, 华仲蔚, 李玉书. 大鼠大脑中动脉可逆性阻塞的实验研究 [J]. 动物学报, 1993; 39(2): 176—80

Effects of progesterone on apoptosis and neuroprotective in rats during focal cerebral ischemia/reperfusion injury

LI Chao, DONG Liang-Li¹, LU-Na¹, ZHANG Jian-Kai²

Department of Ophthalmology, the Third Affiliated Hospital, ¹Department of Physiology, Xingxiang Medical College, Xingxiang 453003, Henan, China; ²Department of anatomy, Zhanjiang Medical College, Zhanjiang 524000, Guangdong, China

ABSTRACT **AIM:** To study the effects of neuroprotective and molecular mechanism of progesterone on ischemia reperfusion injury. **METHODS:** The rats with transient middle cerebral artery occlusion (MACO) were treated by Zea-Longa for 2 h and reperused for 24 h. 48 male rats were divided into 6 group randomly. There were the sham group, ischemia/reperfusion (I/R), dimethyl sulfoxide (DMSO), and pretreatment, posttreatment, pre+posttreatment with PROG. The score of neurological deficit was measured by Zea-Longa method and insitu end labeling (ISEL) was used to investigate apoptosis in the brain tissues. **RESULTS:** The score of neurological deficit was 0 in the sham operation after reperfusion 24 h, 1.38 ± 0.92 in the I/R group, 1.0 ± 0.53 in the DMSO group, 0.35 ± 0.51 in the pretreatment group, 0.62 ± 0.52 in the

posttreatment group, and 0.25 ± 0.46 in the pre+posttreatment group. The number of apoptotic cells was 1.88 ± 0.25 in the sham group, 41.38 ± 3.85 in the I/R group, 38.13 ± 5.69 in the DMSO group, 22.88 ± 2.70 in the pretreatment group, 25.63 ± 2.93 in the posttreatment group, and 20.88 ± 2.30 in the pre+posttreatment group. There were significant differences in pretreatment, posttreatment, pre+posttreatment and control groups (I/R or DMSO) ($P < 0.05$). **CONCLUSION:** PROG may protect the focal ischemia brain on reperfusion injury and reduce the expression of apoptosis and the neurological deficit.

KEY WORDS progesterone; ischemia; reperfusion injury; neurological deficit; apoptosis