

· 实验研究 ·

异氟醚后处理对局灶性脑缺血-再灌注大鼠海马神经损伤的影响

张贵星 王胜 殷姜文 葛明月 代志刚 彭莉 李燕 司军强

【摘要】 目的 观察异氟醚后处理是否通过 Wnt/ β -catenin 信号通路减轻局灶性脑缺血-再灌注损伤(cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI)大鼠海马神经元损伤。**方法** 60 只雄性 SD 大鼠随机分为五组,每组 12 只。采用大脑中动脉栓塞法(middle cerebral artery occlusion, MCAO)缺血 90 min、再灌注 24 h 制备大鼠局灶性 CIRI 模型;假手术组(S 组)、模型组(M 组)、异氟醚后处理+模型组(MI 组)、Wnt/ β -catenin 拮抗剂 Dkk-1(DKK-1)+异氟醚后处理+模型组(MDI 组)、DKK-1+模型组(MD 组)。S 组仅分离暴露一侧颈内动脉,不插入线栓。MI 和 MDI 组于再灌注即刻行 1.5% 异氟醚后处理 60 min。MDI 组和 MD 组于建立模型前 30 min 行侧脑室注射 DKK-1(5 μ g/kg)。所有模型组大鼠在再灌注 24 h 后,采用 Longa 评分法进行神经行为学评分,HE 染色观察神经细胞形态学变化,免疫组化检测大鼠海马 CA1 区 β -catenin 的表达,Tunel 荧光检测大鼠海马 CA1 区神经细胞凋亡情况,Western Blot 检测 Bcl-2/Bax、 β -catenin 及 GSK-3 β 蛋白含量,并计算 Bcl-2/Bax 比值。**结果** 与 S 组比较,M 组大鼠神经行为学评分、神经细胞损伤及凋亡数目、Bax 以及 GSK-3 β 蛋白含量均明显增加($P < 0.05$),而 β -catenin 蛋白含量及 Bcl-2/Bax 比值明显减少($P < 0.05$)。与 M 组比较,MI 组大鼠神经行为学评分、神经细胞损伤及凋亡数目以及 Bax 蛋白含量明显减少($P < 0.05$),Bcl-2 和 β -catenin 蛋白含量以及 Bcl-2/Bax 比值明显增加($P < 0.05$)。与 MI 组比较,MDI 组大鼠神经行为学评分、神经细胞损伤及凋亡数目及 Bax、GSK-3 β 蛋白含量明显增加($P < 0.05$),而 Bcl-2、 β -catenin 蛋白含量及 Bcl-2/Bax 比值明显减小($P < 0.05$)。**结论** 异氟醚后处理可能是通过影响 Wnt/ β -catenin 信号通路,调控 Bcl-2 及 Bax 的表达,从而减轻局灶性 CIRI 大鼠海马神经元损伤。

【关键词】 异氟醚;Wnt/ β -catenin 信号通路;局灶性脑缺血-再灌注损伤;神经元

Effect of isoflurane post-conditioning on hippocampus neurons with cerebral ischemic reperfusion injury in rats ZHANG Guixing, WANG Sheng, YIN Jiangwen, GE Mingyue, DAI Zhigang, PENG Li, LI Yan, SI Junqiang. Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Shihezi University, Shihezi 832000, China

Corresponding author: WANG Sheng, Email: iamsheng2006@163.com

【Abstract】 Objective To investigate whether Wnt/ β -catenin signaling pathway mediating the neuroprotection of isoflurane post-conditioning in hippocampal neurons damage induced by ischemia/reperfusion injury in rats. **Methods** According to the randomized principle, 60 male Sprague-Dawley rats were randomly divided into five groups (12 rats in each group): sham group (group S), model group (group M), ISO+model group (group MI), ISO+model+DKK-1 group (group MDI) and model+DKK-1 group (group MD). A rat model of middle cerebral artery occlusion (MCAO) was established with 90 min ischemia followed by 24 h reperfusion. Group S was only exposed to one side of the internal carotid artery without fishing line. Isoflurane post-conditioning groups (group MI, MDI) were immediately treated with 1.5% isoflurane for 60 min at the onset of reperfusion. DKK-1 (5 μ g/kg) was injected intracerebroventricularly 30 min before the model established in group MDI and group MD. After reperfusion for 24 h, Longa score method was used for neurological deficit score. HE staining and Tunel fluorescence was employed to observe the morphological changes of neurons. Immunohistochemistry and Western Blot were applied to detect the expression of target protein in CA1 region. **Results** Compared with group S, the neurobehavioral score, the number of apoptosis and the expression of Bax and GSK-3 β protein in group M all increased ($P < 0.05$), while the expression of β -catenin and Bcl-2/Bax ratio decreased ($P < 0.05$); Compared with group M, the

DOI:10.12089/jca.2019.01.015

基金项目:国家自然科学基金(81860249,81360203)

作者单位:832000 新疆石河子大学医学院第一附属医院麻醉科(张贵星、殷姜文、葛明月、代志刚、彭莉、李燕);中国科学技术大学附属第一医院(王胜);石河子大学医学院生理教研室(司军强)

通信作者:王胜,Email:iamsheng2006@163.com

neurobehavioral score, the number of apoptosis and the expression of Bax protein were significantly decreased ($P < 0.05$), while the expression of Bcl-2, β -catenin protein and the Bcl-2/Bax ratio were significantly increased ($P < 0.05$) in group MI. Compared with group MI, the neurobehavioral score, the number of apoptosis, Bax and GSK-3 β protein in group MDI were significantly increased ($P < 0.05$), while the Bcl-2, β -catenin protein expression, and Bcl-2/Bax ratio were significantly decreased ($P < 0.05$).

Conclusion Isoflurane post-conditioning may protect the hippocampus neurons against cerebral ischemic reperfusion-induced damage via the way that the Wnt/ β -catenin signaling pathway regulates the expression levels of Bcl-2 and Bax proteins in rats.

【Key words】 Isoflurane postconditioning; Wnt/ β -catenin signaling pathway; Cerebral ischemia-reperfusion injury; Neuron

吸入性麻醉药异氟醚现已证实能够通过减轻脑缺血-再灌注损伤(cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI)发挥脑保护作用^[1-2]。本课题组前期研究发现异氟醚可通过减轻脑水肿^[3]、炎症反应及抑制神经细胞凋亡^[4]等途径改善脑缺血-再灌注后的神经损伤。目前有研究表明 Wnt/ β -catenin 信号通路在调控细胞凋亡途径方面如 Bcl-2/Bax 等具有重要作用^[5]。但异氟醚后处理是否也通过影响 Wnt/ β -catenin 通路来抑制 CIRI 所造成的神经细胞凋亡从而发挥脑保护作用尚未明确。本研究拟建立 MCAO 模型,探讨 Wnt/ β -catenin 信号通路在异氟醚后处理中抑制神经细胞凋亡方面的作用。

材料与方法

主要试剂 吸入用异氟醚(H20020267), Wnt/ β -catenin 拮抗剂 Dicckkopf-1, β -catenin 兔单克隆抗体, CyclinD1 兔单克隆抗体, Bcl-2 兔单克隆抗体, Bax 兔多克隆抗体, GSK-3 β 兔单克隆抗体。

实验动物与分组 清洁级健康雄性 SD 大鼠 60 只, 10~12 周龄, 体重 220~280 g, 采用随机数字表法分为五组, 每组 12 只: 假手术组(S 组)、模型组(M 组)、异氟醚后处理+模型组(MI 组)、Wnt/ β -catenin 拮抗剂 Dicckkopf-1(DKK-1 组)+异氟醚后处理+模型组(MDI 组)、DKK-1+模型组(MD 组)。异氟醚后处理组(MI、MDI 组)于再灌注即刻经 1.5% 异氟醚后处理 60 min。MDI 组及 MD 组于建立模型前 30 min 侧脑室注射 DKK-1(5 μ g/kg)。脑室内注射: 注射速度 1 μ l/min。脑室定位参数: 距离囟门后 0.8 mm, 横向 1.5 mm, 深度 4.0 mm^[6]。

模型建立 戊巴比妥钠 50 mg/kg 腹腔注射麻醉大鼠, 将其仰卧位于恒温手术垫上。参照 Longa 等^[7]线栓法制备大鼠 MCAO 模型。中线皮肤切口暴露右侧颈总动脉(CCA)、颈内动脉和颈外动脉(ECA)。在距离颈内外动脉分叉处 5 mm 处的 CCA 挂线, 将血管剪一斜行切口, 置入一头端直径为

0.26~0.30 mm 的线栓直到距线栓标记处 16~20 mm 或出现阻力感时停止, 结扎固定线栓, 缝合皮肤。其中 S 组仅分离暴露一侧颈内动脉, 不插入线栓。90 min 后拔出线栓进行再灌注 24 h。术中使用恒温床使肛温维持在 37 $^{\circ}$ C, 放置鼠笼中单独饲养。

神经行为学监测 缺血-再灌注 24 h 后参照 Longa 等^[7]的方法采取 5 个等级制对大鼠进行神经功能评分: 0 分, 无神经功能缺损; 1 分, 左侧前爪不能完全伸展, 表示轻度神经功能缺损; 2 分, 行走时, 大鼠向左侧(瘫痪侧)转圈, 表示中度神经功能缺损; 3 分, 行走时, 大鼠向左侧(瘫痪侧)倾倒, 重度神经功能缺损; 4 分, 不能自发行走, 伴意识障碍。模型组 0 分剔除, 1 分以上为造模成功。

海马 CA1 区损伤神经元数测定 再灌注 24 h 后, 将大鼠麻醉后用 4% 多聚甲醛行心脏灌注, 待大鼠全身僵硬后取出脑组织放入 4% 多聚甲醛固定 1 周, 采用自动脱水机脱水、二甲苯透明后, 行石蜡包埋, 然后通过半自动低温切片机切成 4 mm 厚的切片, HE 染色, 中性树胶封片后在显微镜下观察。当出现细胞核收缩、细胞水肿、空泡形成和胞核变黑即为神经元受损^[8]。统计大鼠海马 CA1 区受损神经元数量。

目的蛋白阳性细胞数测定 石蜡切片经二甲苯梯度脱蜡、酒精浓度梯度脱水, 使用枸橼酸缓冲修复液微波高火修复, 滴加过氧化氢以消除内源性过氧化物酶的活性, 后放入封闭液中 37 $^{\circ}$ C 封闭, 滴加一抗 4 $^{\circ}$ C 过夜, 次日复温后滴加生物素标记山羊抗兔二抗, 37 $^{\circ}$ C 孵育, DAB 显色, 光学显微镜下控制染色程度, 苏木素复染, 常规脱水、透明, 中性树脂封片后, 置于 200 倍光镜视野下采集图像, 随机选 5 个不同视野采图, 采用 Image Pro Plus 6.0 图像分析软件对阳性细胞计数。

海马 CA1 区神经细胞凋亡数测定 石蜡切片经二甲苯梯度脱蜡、酒精浓度梯度脱水, 使用枸橼酸缓冲修复液微波修复, 滴加过氧化氢以消除内源

性过氧化物酶的活性,破膜后放入封闭液中 37 ℃ 封闭,每片滴加 50 μ l 配好的 Tunel 反应混合液,置入暗湿盒中 37 ℃ 孵育,甘油封片于共聚焦显微镜下拍照,并使用 Image J 测定凋亡细胞数。

目的蛋白含量检测 大鼠于缺血-再灌注 24 h 再次深麻醉后,断头取脑,于 1×PBS 冰溶液中快速剥离海马组织,常规提蛋白法提取海马组织总蛋白。取上述样品 6 μ l 常规进行电泳、转膜后常温下封闭,分别加入一抗(β -catenin、Bcl-2、Bax、GSK-3 β 抗体),4 ℃ 孵育过夜。次日加入二抗(山羊抗兔)室温孵育,进入暗室加入 ECL 超敏试剂依次进行曝光、显影、定影。用 Bio-Rad2000 型凝胶成像系统扫描后分析条带灰度值。以同一标本 β -actin 的产物灰度值为内参,用目的蛋白的灰度值与内参灰度值之比作为目的蛋白的相对含量。

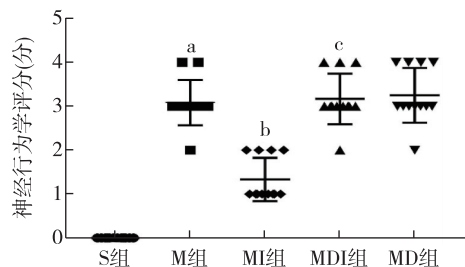
统计分析 采用 SPSS 20.0 软件进行统计学分析。正态分布计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析;非正态分布计量资料采用非参数检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

MCAO 模型制备结果 本实验共造模 89 只,其中 60 只大鼠 MCAO 模型成功,模型成功率为 67.4%。剔除大鼠原因:6 只死于呼吸衰竭;5 只死于术中呼吸心跳骤停;5 只发生颅内出血;7 只非假手术组大鼠术后未见神经功能缺陷,行动自如;6 只死于术中大出血。

神经行为学评分 大鼠术前评分均为 0 分;与 S 组比较,M 组大鼠神经行为学评分明显升高($P<0.01$);与 M 组比较,MI 组神经行为学评分明显降低($P<0.01$);与 MI 组比较,MDI 组神经行为学评分明显升高($P<0.01$)(图 1)。

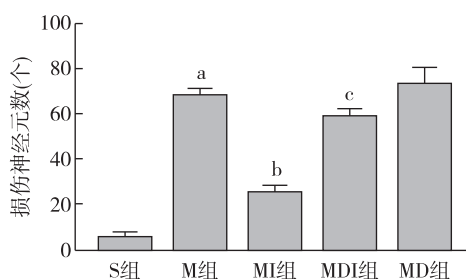
海马 CA1 区神经细胞损伤数 S 组海马 CA1 区神经元形态正常、排列整齐、密集,细胞形态完



注:与 S 组比较,^a $P<0.01$;与 M 组比较,^b $P<0.01$;与 MI 组比较,^c $P<0.01$

图 1 五组大鼠神经行为学评分的比较

整,胞浆丰富、着色均匀,细胞核呈圆形、椭圆形,无固缩或溶解现象,胞浆被染成淡红色,胞核被染成蓝色,部分细胞可见核仁。M 组海马 CA1 区神经元细胞数量明显减少,部分残存神经元轮廓模糊,排列紊乱,可见神经元间隙增宽,胞浆肿胀,胞体皱缩,胞核固缩溶解消失,有空腔形成。MI 组大鼠海马 CA1 区神经元细胞形态相对正常,排列相对整齐,水肿较轻,胞核深染细胞较少。与 S 组比较,M 组 CA1 区损伤神经元数明显增加($P<0.01$);与 M 组比较,MI 组海马 CA1 区损伤神经元数明显减少($P<0.01$);与 MI 组比较,MDI 组海马组织 CA1 区的损伤神经元数明显增加($P<0.01$)(图 2)。



注:与 S 组比较,^a $P<0.01$;与 M 组比较,^b $P<0.01$;与 MI 组比较,^c $P<0.05$

图 2 五组大鼠海马 CA1 区损伤神经元数的比较

大鼠海马 CA1 区 β -catenin 阳性细胞数 与 S 组比较,M 组大鼠海马 CA1 区 β -catenin 阳性细胞数明显减少($P<0.05$);与 M 组比较,MI 组 β -catenin 阳性细胞数明显增多($P<0.05$);与 MI 组比较,MDI 组 β -catenin 阳性细胞数明显减少($P<0.05$)(图 3-4)。

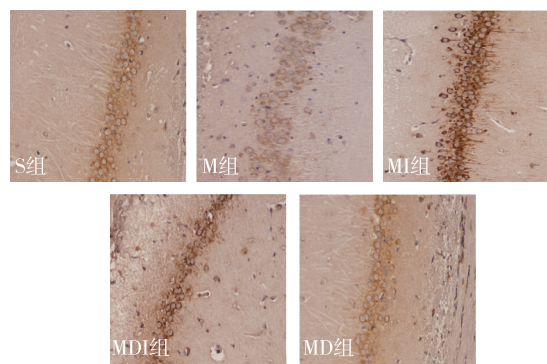
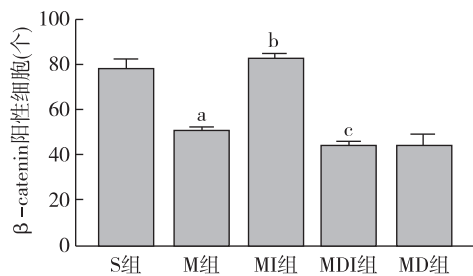


图 3 大鼠海马 CA1 区 β -catenin 阳性细胞($\times 200$)

海马 CA1 区细胞凋亡数 与 S 组比较,M 组的凋亡细胞数明显增加($P<0.01$);与 M 组比较,MI 组的凋亡细胞数明显减少($P<0.05$);与 MI 组比较,

MDI 组的凋亡细胞数明显增加 ($P < 0.05$) (图 5-6)。



注:与 S 组比较,^a $P < 0.05$;与 M 组比较,^b $P < 0.05$;与 MI 组比较,^c $P < 0.05$

图 4 大鼠海马 CA1 区 β -catenin 阳性细胞数的比较

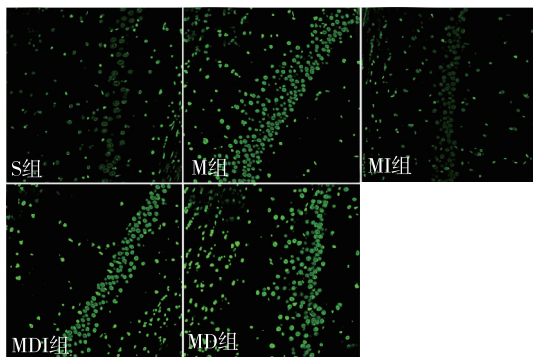
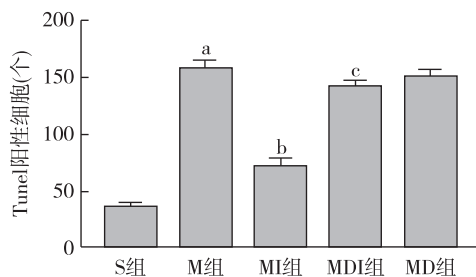


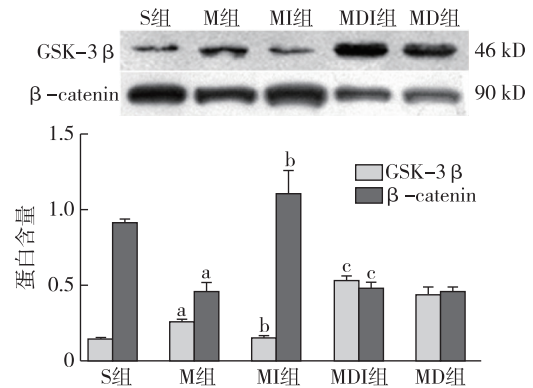
图 5 五组大鼠海马 CA1 区凋亡细胞 ($\times 200$)



注:与 S 组比较,^a $P < 0.01$;与 M 组比较,^b $P < 0.05$;与 MI 组比较,^c $P < 0.05$

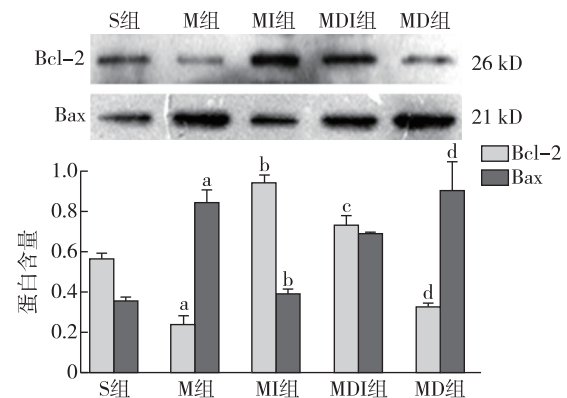
图 6 五组大鼠海马 CA1 区凋亡细胞数的比较

目的蛋白含量 与 S 组比较, M 组大鼠 Bcl-2/Bax 比值、Bcl-2 及 β -catenin 蛋白含量显著降低, GSK-3 β 、Bax 蛋白含量明显升高 ($P < 0.05$); 与 M 组比较, MI 组 Bcl-2、 β -catenin、蛋白含量及 Bcl-2/Bax 明显升高, GSK-3 β 、Bax 蛋白含量明显降低 ($P < 0.05$); 与 MI 组比较, MDI 组 Bcl-2、 β -catenin 蛋白含量及 Bcl-2/Bax 明显降低, GSK-3 β 、Bax 蛋白含量明显升高 ($P < 0.05$) (图 7—9)。



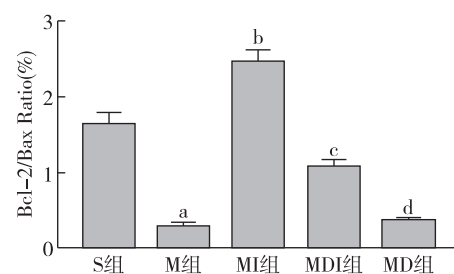
注:与 S 组比较,^a $P < 0.05$;与 M 组比较,^b $P < 0.05$;与 MI 组比较,^c $P < 0.05$

图 7 五组大鼠 GSK-3 β 和 β -catenin 蛋白含量的比较



注:与 S 组比较,^a $P < 0.05$;与 M 组比较,^b $P < 0.05$;与 MI 组比较,^c $P < 0.05$;与 MDI 组比较,^d $P < 0.05$

图 8 五组大鼠 Bcl-2 和 Bax 蛋白含量的比较



注:与 S 组比较,^a $P < 0.05$;与 M 组比较,^b $P < 0.05$;与 MI 组比较,^c $P < 0.05$;与 MDI 组比较,^d $P < 0.05$

图 9 五组大鼠 Bcl-2/Bax 比值的比较

讨论

本研究结果显示,异氟醚后处理能够激活缺血、缺氧性损伤后海马神经元中的 Wnt/ β -catenin 信号通路并上调 Bcl-2 蛋白的表达水平,下调 Bax 蛋

白的表达水平,以减轻神经元细胞凋亡。而 Wnt/ β -catenin 信号通路的特异性抑制剂 DKK-1 时可逆转异氟醚后处理诱导的抗凋亡作用,这表明异氟醚后处理诱导的海马神经元保护作用可能与激活 Wnt/ β -catenin 信号通路并调控凋亡蛋白 Bcl-2 及 Bax 的表达水平的过程有关。

异氟醚由于其脑保护作用得到广泛关注^[2],且本课题组前期研究发现 1 MAC (1.5%) 异氟醚后处理可呈现较好的脑保护作用^[4]。在脑缺血-再灌注损伤中,海马组织被证实对缺血缺氧较为敏感^[9]。因此,本课题选用 1 MAC (1.5%) 异氟醚对 MCAO 模型大鼠进行后处理,并观察缺血缺氧后海马区的神经细胞凋亡情况及 Wnt/ β -catenin 信号通路相关蛋白表达情况。

有研究表明,Wnt/ β -catenin 信号通路在细胞增殖、分化和凋亡过程中具有重要的作用^[10],GSK-3 β 及 β -catenin 是 Wnt/ β -catenin 通路下游的重要蛋白,其中 GSK-3 β 是其下游一个重要的负调控因子参与了细胞膜信号,神经元极性,凋亡和炎症调控^[11]。而未被磷酸化的 β -catenin 则可转移到细胞核内启动下游靶基因的表达发挥相应作用^[12]。本研究结果显示,缺血缺氧损伤可下调 β -catenin 的表达水平同时上调 GSK-3 β 的表达水平,从而加重了大鼠的神经功能损伤及神经细胞凋亡。先前有研究报道,缺血缺氧可下调 Wnt/ β -catenin 信号通路,抑制许多靶基因的转录^[13],从而加重细胞凋亡,这与本研究结果一致。行异氟醚后处理能够上调 β -catenin 的表达水平并下调 GSK-3 β 的表达水平,亦可减轻大鼠的神经功能损伤及神经细胞凋亡,这提示异氟醚后处理诱导的神经保护作用可能与激活 Wnt/ β -catenin 信号通路有关。进一步研究发现,Wnt/ β -catenin 信号通路的特异性抑制剂 DKK-1 可逆转异氟醚后处理诱导的神经保护作用,说明 Wnt/ β -catenin 信号通路可能介导了异氟醚后处理的神经保护作用。

细胞凋亡是脑缺血-再灌注损伤的重要致病机制^[14]。Bcl-2 家族在细胞凋亡过程中具有重要的地位。其中,Bcl-2 可抑制细胞凋亡,而 Bax 作为 Bcl-2 的同源性蛋白却呈现促凋亡作用^[15]。正常细胞中,Bcl-2 和 Bax 蛋白处于一种动态平衡状态,当细胞受到损害时这种平衡被破坏,Bcl-2 抑制凋亡作用与 Bax 促凋亡作用的平衡性将消失。因此 Bcl-2/Bax 的比值常被用来衡量细胞的损伤程度^[16]。同时据报道,缺血缺氧可下调 Wnt/ β -catenin 信号通路,抑

制许多靶基因包括凋亡基因和炎症因子的转录^[17]。基于此,本研究选择 Bcl-2/Bax 的比值来评估神经细胞凋亡程度,同时探讨在异氟醚后处理诱导的保护作用中 Wnt/ β -catenin 信号通路与凋亡蛋白 Bcl-2 及 Bax 的关系。本研究显示,对 MCAO 模型大鼠行异氟醚后处理后其神经细胞凋亡程度明显减轻,Bcl-2/Bax 比值增加,当预先侧脑室给予 Wnt/ β -catenin 信号通路抑制剂 DKK1,Bcl-2/Bax 比值明显降低,细胞损伤及凋亡程度明显增加,这显示 Wnt/ β -catenin 信号通路通过调控凋亡蛋白 Bcl-2 及 Bax 的表达水平介导异氟醚的脑保护作用。

有研究表明,当 Wnt/ β -catenin 信号通路被激活时,未被磷酸化的 β -catenin 则可转移到细胞核内启动下游靶基因如细胞周期蛋白 (CyclinD1)、血管转化因子 (VEGF) 等基因的表达促进神经再生从而发挥神经保护作用^[12,18]。而异氟醚后处理通过 Wnt/ β -catenin 信号通路对凋亡蛋白 Bcl-2 及 Bax 的调控诱发的脑保护作用是否与下游的靶基因 CyclinD1 及 VEGF 有关还有待进一步探究。同时如果能够采用遗传学方法干扰脑组织中 β -catenin 基因的表达,再观察异氟醚后处理对 CIRI 大鼠的脑保护作用变化,就能进一步证实该结论,这是本实验的不足之处。

综上所述,异氟醚后处理可能通过激活 Wnt/ β -catenin 信号通路,调控凋亡蛋白 Bcl-2 及 Bax 的表达,从而改善局灶性 CIRI 大鼠海马神经元损伤。若能进一步研究其具体的调控机制,那么就可将 Wnt/ β -catenin 信号通路作为缺血性脑病治疗的新靶点,为临床上治疗缺血缺氧性脑病提供新思路。

参 考 文 献

- [1] Bedirli N, Bagriacik EU, Emmez H, et al. Sevoflurane and isoflurane preconditioning provides neuroprotection by inhibition of apoptosis-related mRNA expression in a rat model of focal cerebral ischemia. *J Neurosurg Anesthesiol*, 2012, 24(4): 336-344.
- [2] Cao L, Feng C, Li L, et al. Contribution of microRNA-203 to the isoflurane preconditioning-induced neuroprotection. *Brain Res Bull*, 2012, 88(5): 525-528.
- [3] Yuan M, Ge M, Yin J, et al. Isoflurane post-conditioning down-regulates expression of aquaporin 4 in rats with cerebral ischemia/reperfusion injury and is possibly related to bone morphogenetic protein 4/smad1/5/8 signaling pathway. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 428-438.
- [4] Wang S, Yin J, Ge M, et al. Transforming growth-beta 1 contributes to isoflurane postconditioning against cerebral ischemia-reperfusion injury by regulating the c-jun N-terminal kinase signa-

- ling pathway. Biomed Pharmacother, 2016, 78: 280-290.
- [5] Zu G, Guo J, Che N, et al. Protective effects of ginsenoside rg1 on intestinal ischemia/reperfusion injury-induced oxidative stress and apoptosis via activation of the wnt/ β -catenin pathway. Sci Rep, 2016, 6: (38480).
- [6] Khazipov R, Zaynutdinova D, Ogievetsky E, et al. Atlas of the postnatal rat brain in stereotaxic coordinates. Front Neuroanat, 2015, 9(12): 161.
- [7] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.
- [8] Bak IJ, Mischel U, Weiler M, et al. The preservation of nerve cells in rat neostriatal slices maintained in vitro: a morphological study. Brain Res, 1980, 197(2): 341-353.
- [9] Abe K, Aoki M, Kawagoe J, et al. Ischemic delayed neuronal death. A mitochondrial hypothesis. Stroke, 1995, 26(8): 1478-1489.
- [10] Bielen H, Houart C. The wnt cries many: wnt regulation of neurogenesis through tissue patterning, proliferation, and asymmetric cell division. Dev Neurobiol, 2014, 74(8): 772-780.
- [11] Yang Y, Li Z, Chen G, et al. Gsk3 β regulates ameloblast differentiation via wnt and tgf- β pathways. J Cell Physiol, 2018, 233(7): 5322-5333.
- [12] Zheng W, Lin P, Ma Y, et al. Psoralen promotes the expression of cyclin d1 in chondrocytes via the wnt/ β -catenin signaling pathway. Int J Mol Med, 2017, 40(5): 1377-1384.
- [13] Tao J, Abudoukelimu M, Ma YT, et al. Secreted frizzled related protein 1 protects h9c2 cells from hypoxia/re-oxygenation injury by blocking the wnt signaling pathway. Lipids Health, 2016, 15: 72.
- [14] García de la Cadena S, Massieu L. Caspases and their role in inflammation and ischemic neuronal death. Focus on caspase-12. Apoptosis, 2016, 21(7): 763-777.
- [15] Wang Q, Zhang L, Yuan X, et al. The relationship between the bcl-2/bax proteins and the mitochondria-mediated apoptosis pathway in the differentiation of adipose-derived stromal cells into neurons. Plos One, 2016, 11(10): e0163327.
- [16] Chuffa LG, Lupi Júnior LA, Maia Lima AF. Sex steroid receptors and apoptosis-related proteins are differentially expressed in polycystic ovaries of adult dogs. Tissue Cell, 2016, 48(1): 10-17.
- [17] Zhang BQ, Zheng GY, Han Y, et al. Ilexonin A promotes neuronal proliferation and regeneration via activation of the canonical wnt signaling pathway after cerebral ischemia reperfusion in rats. Evid Based Complement Alternat Med, 2016, 2016: 9753189.
- [18] Huang C, Fu XH, Zhou D, et al. The role of wnt/ β -catenin signaling pathway in disrupted hippocampal neurogenesis of temporal lobe epilepsy: a potential therapeutic target? Neurochem Res, 2015, 40(7): 1319-1332.

(收稿日期:2018-07-01)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《临床麻醉学杂志》关于学术不端行为的声明

为维护学术期刊的严肃性和科学性,并向广大读者负责,本刊编辑部重申坚决反对抄袭、剽窃、一稿两投、一稿两用等学术不端行为,并采取以下预防和惩处措施:(1)稿件刊出前所有作者须在校样首页亲笔签名,并加盖公章;稿件文责自负。(2)投稿后3个月内未收到稿件处理意见,稿件可能仍在审阅中;作者欲投他刊,请先与编辑部联系撤稿,切勿一稿两投。(3)来稿如有学术不端行为嫌疑时,编辑部在认真收集有关资料和仔细核对后将通知第一作者,作者须对此作出解释。(4)如稿件被证实系一稿两用,本刊将在杂志和网站上刊登撤销该文的声明,并向作者所在单位通报;2年内拒绝发表该作者的任何来稿。