栝楼桂枝颗粒对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能及突触可塑性的影响机制Δ

陈雯婷*，陈诗怡，李亚男，冯　怡，罗书萍，张玉琴#（福建中医药大学药学院，福州　350122）

中图分类号　R965；R285.5　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2024）16-1951-06
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2024.16.03

摘　要　目的　研究栝楼桂枝颗粒对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能和突触可塑性的影响机制。**方法**　大鼠随机分为假手术组、模型组、栝楼桂枝颗粒组（3.6 g/kg），每组6只。采用线栓法构建大鼠脑缺血再灌注损伤模型，造模后2 h灌胃相应药物或生理盐水，每日1次，连续7 d。末次给药后，评价大鼠神经功能[以改良神经功能缺损评分（mNSS）和转角百分率计]，检测大鼠缺血侧大脑皮层神经元凋亡率，生长相关蛋白43（GAP43）、微管相关蛋白2（MAP2）阳性表达情况，神经元核抗原（NeuN）、神经突触素1（Syn-1）、突触后致密蛋白95（PSD-95）、过氧化物酶体增殖物激活受体γ（PPARγ）、脑源性神经营养因子（BDNF）、原肌球蛋白激酶受体B（TrkB）蛋白以及NeuN、Syn-1、PSD-95 mRNA表达情况。**结果**　与模型组比较，栝楼桂枝颗粒组大鼠mNSS、转角百分率、神经元凋亡率均显著降低（$P<0.01$）；GAP43呈弱免疫反应性，MAP2呈中等免疫反应性；NeuN、Syn-1、PSD-95、PPARγ、BDNF、TrkB蛋白以及Syn-1、NeuN、PSD-95 mRNA表达量均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）。**结论**　栝楼桂枝颗粒可通过激活BDNF/TrkB信号通路来提高突触可塑性，从而减轻脑缺血再灌注损伤大鼠的神经功能损伤。

关键词　栝楼桂枝颗粒；脑缺血再灌注损伤；突触可塑性；脑源性神经营养因子

Effect mechanism of Gualou guizhi granule on neurological function and synaptic plasticity in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury

CHEN Wenting，CHEN Shiyi，LI Yanan，FENG Yi，LUO Shuping，ZHANG Yuqin（College of Pharmacy，Fujian University of Traditional Chinese Medicine，Fuzhou 350122，China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To investigate the effect mechanism of Gualou guizhi granule on neurological function and synaptic plasticity in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury. **METHODS** The rats were randomly divided into sham operation group，model group and Gualou guizhi granule group（3.6 g/kg），with 6 rats in each group. The cerebral ischemia-reperfusion injury model was established by the suture occlusion method. Two hours after modeling，the model rats were given relevant medicine or normal saline intragastrically，once a day，for 7 consecutive days. After the last medication，the neurological function of rats was evaluated [calculated by modified neurological severity scores（mNSS）and corner turning percentage]；the neuronal apoptosis rate of brain histiocyte in the ischemic side of rats was detected in each group；the positive expressions of growth associated protein 43（GAP43）and microtubule associated protein 2（MAP2）were detected；protein expressions of neuron-specific nuclear protein（NeuN），synaptophysin-1（Syn-1），postsynaptic density protein-95（PSD-95），peroxisome proliferators-activated receptor γ（PPARγ），brain-derived neurotrophic factor（BDNF）and tropomyosin receptor kinase B（TrkB），as well as mRNA expressions of NeuN，Syn-1 and PSD-95 were detected. **RESULTS** Compared with the model group，mNSS，corner turning percentage and neuronal apoptotic rate were decreased significantly in Gualou guizhi granule group（$P<0.01$）；GAP43 represented weak immunoreactivity，and MAP2 represented moderate immunoreactivity；protein expressions of NeuN，Syn-1，PSD-95，PPARγ，BDNF，TrkB and mRNA expressions of Syn-1，NeuN，PSD-95 were all increased significantly（$P<0.05$ or $P<0.01$）. **CONCLUSIONS** Gualou guizhi granule can promote synaptic plasticity by activating BDNF/TrkB signaling pathway，thus playing a protective role in cerebral ischemia-reperfusion injury in rats.

KEYWORDS　Gualou guizhi granule；cerebral ischemia-reperfusion injury；synaptic plasticity；BDNF

Δ**基金项目**　国家自然科学基金项目（No.81803768）；福建省自然科学基金项目（No.2020J01731）；福建中医药大学基础类学科科研提升计划项目（No.XJC2022009）

＊**第一作者**　硕士研究生。研究方向：中药药理与临床应用。E-mail：493303863@qq.com

＃**通信作者**　副教授，硕士生导师，博士。研究方向：中药药理与临床应用。E-mail：2016003@fjtcm.edu.cn

缺血性脑卒中是一种严重危害神经系统的疾病，患者发病时脑部血管堵塞导致脑供血不足从而引起一系列病理损伤，近年来其发病率高且呈年轻化趋势[1]。目前国内外针对缺血性脑卒中主要使用重组组织型纤溶酶原激活剂进行溶栓治疗。该治疗方法对治疗时间窗（＜4.5 h）及患者身体素质有较高要求，仅有少数患者可以从中受益，且容易引起脑水肿等不良反应，因此探究缺血性脑卒中病理机制并寻找有效的治疗药物成为目前医疗领域的研究热点。栝楼桂枝颗粒来源于张仲景《金匮要略》中栝楼桂枝汤，由栝楼根、桂枝、白芍、生姜、甘草、大枣组成，用药比例为10∶3∶3∶3∶2∶3，有调和气血、柔润筋脉的功效。临床研究发现，该颗粒可以显著改善脑卒中引起的肢体痉挛、震颤等症状，针对脑卒中后肢体痉挛的治疗有效率达96.97%[2]。

突触是神经元间信息传递的关键渠道，神经元通过突触相连接以维持大脑的生物学功能。脑缺血发生后神经网络被破坏，从而导致神经功能受损，此时脑神经网络重新发育并发生结构性改变，这种在外界刺激后神经元及相关神经网络发生的适应性变化称为突触可塑性[3]。脑损伤后脑区间建立新的联系有利于大脑功能的恢复。脑源性神经营养因子（brain-derived neurotrophic factor，BDNF）是神经系统中重要的营养因子，在保障神经元正常生理功能中起重要作用。原肌球蛋白激酶受体B（tropomyosin receptor kinase B，TrkB）为BDNF的特异性受体，研究发现，脑缺血发生后，激活BDNF可诱导TrkB磷酸化，促进神经元轴突生长、改善突触可塑性，从而减轻脑缺血后神经功能损伤[4]。本课题组前期研究发现，栝楼桂枝颗粒可减小大脑中动脉闭塞模型大鼠脑梗死体积，改善大鼠大脑皮层病理变化，其作用机制与抑制内质网应激及未折叠蛋白反应、促进血管新生等多种途径有关[5—6]，但其是否能通过调控BDNF/TrkB信号通路提高突触可塑性从而起到抗脑缺血的作用尚不清楚。本研究探讨了栝楼桂枝颗粒对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能和突触可塑性影响的可能机制，旨在为栝楼桂枝颗粒的临床应用提供理论依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用主要仪器包括ChemiDoc XRS+型凝胶成像系统、C1000 Thermal Cycler型聚合酶链式反应（PCR）仪（美国Bio-Red公司），DMi8型倒置荧光显微镜（美国Leica公司），A28132型实时荧光定量PCR仪（美国Thermo Fisher Scientific公司）。

1.2 主要药品与试剂

栝楼桂枝颗粒（批号0087001）由福建中医药大学附属第二人民医院药学部提供；即用型免疫组化试剂盒（批号SA1020）购自武汉博士德生物工程有限公司；RIPA裂解液、蛋白浓度测定试剂盒（批号分别为P0013B、P0012）均购自上海碧云天生物技术有限公司；5×蛋白缓冲液（批号SD8320）购自生工生物工程（上海）股份有限公司；快速封闭液（批号12010020）购自美国Bio-Rad公司；Trizol试剂、反转录试剂盒（批号分别为15596026、K1622）均购自美国Thermo Fisher Scientific公司；兔源神经突触素1（synaptophysin-1，Syn-1）、突触后致密蛋白95（postsynaptic density protein-95，PSD-95）、过氧化物酶体增殖物激活受体γ（peroxisome proliferators-activated receptor γ，PPARγ）、生长相关蛋白43（growth associated protein 43，GAP43）、TrkB抗体（批号分别为#5297、#3409、2435s、#8945、#4603）均购自美国CST公司；兔源神经元核抗原（neuron-specific nuclear protein，NeuN）抗体、鼠源β-肌动蛋白（β-actin）抗体（批号分别为6975-1-AP、66009-1-lg）均购自美国Proteintech公司；兔源BDNF抗体（批号Ab108319）购自美国Abcam公司；羊源微管相关蛋白2（microtubule associated protein 2，MAP2）抗体（批号Sc-5359）购自美国Santa Cruz公司；TUNEL细胞凋亡试剂盒、山羊抗小鼠IgG二抗、山羊抗兔IgG二抗（批号分别为B0013-50T、S0100、S0101）均购自北京兰博利德生物技术有限公司。

1.3 动物

SPF级雄性SD大鼠18只，体重（260±20）g，由福州市仓山区吴氏实验动物中心提供。大鼠饲养于福建中医药大学实验动物中心SPF级动物房，实验动物使用许可证号为SYXK（闽）2019-0007。本研究操作严格遵循动物实验福利相关规定，并通过福建中医药大学动物伦理委员会审核批准，批准号为FJTCM IACUC2022024。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

将大鼠随机分为假手术组、模型组、栝楼桂枝颗粒组，每组6只。参照线栓法[7]，对模型组、栝楼桂枝颗粒组大鼠行左侧大脑中动脉阻塞再灌注手术构建脑缺血再灌注损伤模型，假手术组除不插入线栓外其余操作同模型组。根据Zea-Longa评分法[7]对模型组和栝楼桂枝颗粒组大鼠进行神经功能评分，1～3分视为造模成功。造模后2 h，栝楼桂枝颗粒组大鼠灌胃栝楼桂枝颗粒（3.6 g/kg，根据前期研究结果设置），假手术组和模型组大鼠灌胃等体积生理盐水，给药量为10 mL/kg，每日1次，连续7 d。

2.2 大鼠神经功能评价

末次给药后，采用改良神经功能缺损评分（modified neurological severity scores，mNSS）[8]法评价各组大鼠神经功能的损伤程度，然后采用转角实验评价各组大鼠的神经功能。转角实验操作：取两块板，两板边缘紧靠夹角为30 °，把大鼠放在两板开口处，大鼠进入角落后会向右或者向左转弯。每只大鼠测试10次，统计其向右转弯的次数，并计算转角百分率，转角百分率＝向右转次数/10×100%。

2.3 大鼠缺血侧大脑皮层神经元凋亡率检测

转角实验后，麻醉大鼠，打开胸腔，在心脏处剪一个小口进行灌注，待大鼠四肢发白后取脑，于4%多聚甲醛中浸泡24 h进行固定，然后脱水、石蜡包埋、切片、脱蜡复水，于室温下依次用蛋白酶K孵育10 min、平衡缓冲液孵育5 min，再滴加反应缓冲液，于37 ℃恒温箱中孵育2 h，加入TUNEL和4′，6-二脒基-2-苯基吲哚（DAPI）染色液染核，封片。使用倒置荧光显微镜观察各组大鼠缺血侧大脑皮层神经元凋亡情况，采用Image J软件分析，取不同视野记录阳性细胞数，并计算神经元凋亡率，神经元凋亡率＝阳性细胞数/细胞总数×100%。

2.4 大鼠缺血侧大脑皮层中GAP43、MAP2阳性表达检测

取“2.3”项下石蜡切片进行脱蜡复水，使用内源性过氧化物酶阻断液覆盖10 min，磷酸盐缓冲液（PBS）清洗3次。将配制好的柠檬酸钠抗原修复液用微波炉高火加热至微沸，放入切片后低火加热15 min进行抗原修复，冷却至室温，用5%牛血清白蛋白封闭2 h，加入GAP43、MAP2一抗（稀释比例均为1∶200），于4 ℃冰箱孵育过夜；次日加入相应二抗，室温孵育2 h，清洗后，使用链霉抗生物素蛋白-生物素-过氧化物酶复合物（streptavidin-biotin-peroxidase complex，SABC）于37 ℃孵育1 h，二氨基联苯胺（diaminobenzidine，DAB）染色，苏木素复染30 s，清洗20 s，封片。使用倒置荧光显微镜观察并拍摄缺血侧大脑皮层GAP43、MAP2阳性表达情况，采用Image J软件，以免疫组织化学评分（immunohistochemical score，IHS）法进行分级评价[9]。首先计算阳性细胞率（阳性细胞数/细胞总数×100%），根据阳性细胞率进行评级得到阳性细胞率分级（*A*），分级标准：阳性细胞率≤1%为0，＞1%～10%为1，＞10%～50%为2，＞50%～80%为3，＞80%～100%为4；再根据样本细胞核、胞质等部位的染色强度进行分级得到阳性细胞显色强度分级（*B*），评级标准：阴性为0，弱阳性为1，阳性为2，强阳性为3；最后按$A \times B$计算IHS，分级标准：IHS为9～12表示强免疫反应性，5～8表示中等免疫反应性，1～4表示弱免疫反应性，0表示阴性[9]。

2.5 大鼠缺血侧大脑皮层中神经可塑性及BDNF/TrkB信号通路相关蛋白表达检测

取大鼠缺血侧大脑皮层约100 mg，加1 mL裂解缓冲液，放入匀浆机匀浆，于冰上静置30 min，离心，取上清，测定蛋白浓度，按上样蛋白总量为30 μg计算上样体积。取适量蛋白原液，加入4倍量的5×蛋白缓冲液，于100 ℃变性10 min。将处理后的样品电泳、分离、转膜、封闭后，加入NeuN、Syn-1、PSD-95、PPARγ、BDNF、TrkB、β-actin一抗（除β-actin稀释比例为1∶10 000外，其余一抗稀释比例均为1∶1 000），于4 ℃冰箱过夜；次日用PBS清洗3次，加入相应二抗（稀释比例为1∶5 000），室温下孵育1.5 h，再用PBS清洗3次，曝光，显影。使用Image Lab 4.1软件进行分析，以目的蛋白与内参蛋白（β-actin）的灰度值比值表示目的蛋白的表达量，并以假手术组为参照进行归一化处理。

2.6 大鼠缺血侧大脑皮层中神经可塑性相关因子mRNA表达检测

取大鼠缺血侧大脑皮层约100 mg，加入1 mL Trizol试剂匀浆，于室温静置10 min，将其移至新的EP管中，加入0.2 mL氯仿，混匀离心，将上层水相吸入到新的EP管中，加入500 μL异丙醇，混匀离心，得到白色沉淀（RNA），测定RNA的浓度。采用反转录试剂盒合成cDNA，使用实时荧光定量PCR仪检测，按$2^{-\Delta\Delta Ct}$计算NeuN、Syn-1、PSD-95 mRNA表达量。反应条件：50 ℃预热2 min，95 ℃预热10 min；95 ℃变性15 s，60 ℃退火30 s，60 ℃延伸30 s，共40个循环。反应体系如下：扩增预混合溶液5 μL、无酶水3.4 μL、正反向引物各0.3 μL、cDNA 1 μL。引物由福州沃森生物技术有限公司设计、合计，序列与产物大小见表1。

表1 PCR引物序列与产物大小

引物名称	引物序列	产物大小/bp
GAPDH	正向引物：5′-GTTGGTGCTGAAGGAGTGGT-3′	148
	反向引物：5′-GCTGGTTGAGTGGAAAGAGC-3′	
NeuN	正向引物：5′-GTGCTGAGATTTATGGAGGCTATG-3′	160
	反向引物：5′-ATGGTTCCGATGCTGTAGGT-3′	
Syn-1	正向引物：5′-GGTGGATTCTCCGTGGACAT-3′	142
	反向引物：5′-GCAGCCCAATGACCAAACTG-3′	
PSD-95	正向引物：5′-CAGTGAGACCGACGACATTG-3′	178
	反向引物：5′-GATGATGGGACGAGCATAGTG-3′	

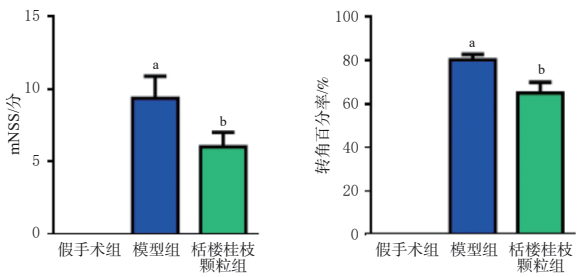
2.7 统计学处理

采用SPSS 20.0软件进行统计分析。本研究数据以$\bar{x} \pm s$表示，符合正态分布的数据多组间比较采用单因素方差分析，方差齐则进一步两两比较采用LSD-*t*检验，方差不齐则进一步两两比较采用Games-Howell检验；不符合正态分布的数据采用非参数Mann-Whitney *U*检验。检验水准α＝0.05。

3 结果

3.1 栝楼桂枝颗粒对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能的影响

与假手术组比较，模型组大鼠mNSS和转角百分率均显著升高（$P<0.01$）；与模型组比较，栝楼桂枝颗粒组大鼠mNSS和转角百分率均显著降低（$P<0.01$）。结果见图1。



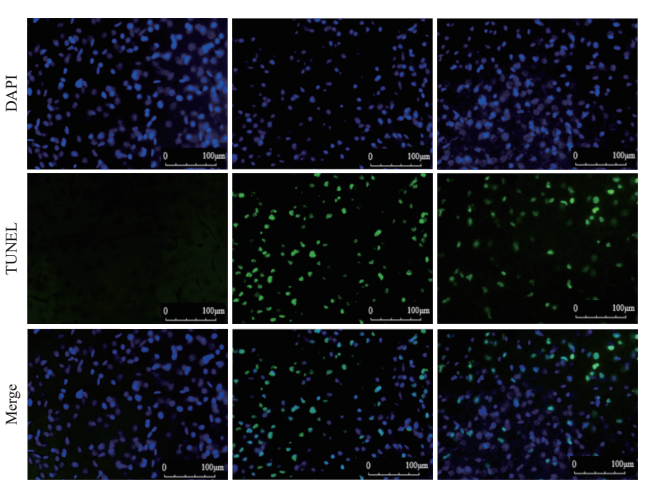
A. mNSS　　B.转角百分率

a：与假手术组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$。

图1　栝楼桂枝颗粒对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能的影响（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

3.2 栝楼桂枝颗粒对脑缺血再灌注损伤大鼠缺血侧大脑皮层神经元凋亡率的影响

假手术组、模型组、栝楼桂枝颗粒组大鼠缺血侧大脑皮层神经元凋亡率分别为0、(56.11±4.43)%、(37.36±3.29)%。与假手术组比较，模型组大鼠缺血侧大脑皮层神经元凋亡率显著升高（$P<0.01$）；与模型组比较，栝楼桂枝颗粒组大鼠缺血侧大脑皮层神经元凋亡率显著降低（$P<0.01$）。结果见图2。

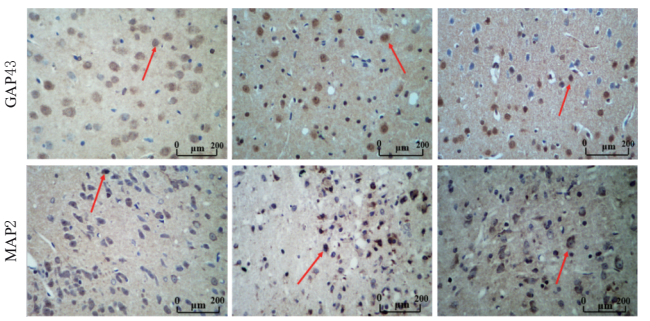


A.假手术组　　B.模型组　　C.栝楼桂枝颗粒组

图2　各组大鼠缺血侧大脑皮层神经元凋亡的显微图

3.3 栝楼桂枝颗粒对脑缺血再灌注损伤大鼠缺血侧大脑皮层中GAP43、MAP2阳性表达的影响

与假手术组比较，模型组大鼠缺血侧大脑皮层中GAP43、MAP2阳性细胞率、显色强度分级、IHS均显著降低（$P<0.01$）；与模型组比较，栝楼桂枝颗粒组大鼠缺血侧大脑皮层中GAP43、MAP2阳性细胞率、显色强度分级、IHS均显著升高（$P<0.01$）。根据IHS分级标准可知，假手术组GAP43、MAP2均呈中等免疫反应性，模型组GAP43、MAP2均呈弱免疫反应性，栝楼桂枝颗粒组GAP43呈弱免疫反应性、MAP2呈中等免疫反应性。结果见图3和表2。



A.假手术组　　B.模型组　　C.栝楼桂枝颗粒组

红色箭头：阳性细胞。

图3　各组大鼠缺血侧大脑皮层中GAP43、MAP2阳性表达的显微图

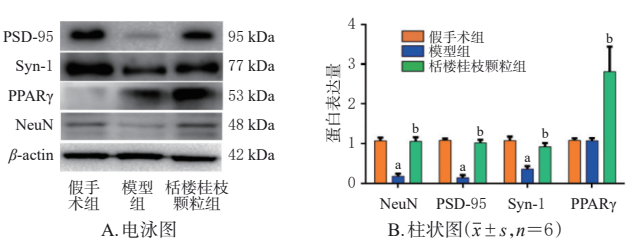
表2　各组大鼠缺血侧大脑皮层中GAP43、MAP2阳性表达比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

蛋白	组别	阳性细胞率/%	显色强度分级	IHS
GAP43	假手术组	36.83±4.30	2.67±0.47	5.33±0.94
	模型组	16.83±3.80[a]	1.17±0.37[a]	2.33±0.75[a]
	栝楼桂枝颗粒组	24.33±1.97[b]	2.00±0.00[b]	4.00±0.00[b]
MAP2	假手术组	35.67±5.79	3.00±0.00	6.00±0.00
	模型组	25.50±5.88[a]	1.83±0.37[a]	3.67±0.75[a]
	栝楼桂枝颗粒组	36.33±5.37[b]	2.50±0.76[b]	5.00±1.53[b]

a：与假手术组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$。

3.4 栝楼桂枝颗粒对脑缺血再灌注损伤大鼠缺血侧大脑皮层神经可塑性相关蛋白表达的影响

与假手术组比较，模型组大鼠缺血侧大脑皮层中NeuN、PSD-95、Syn-1蛋白表达量均显著降低（$P<0.01$），PPARγ蛋白表达无明显变化（$P>0.05$）；与模型组比较，栝楼桂枝颗粒组大鼠缺血侧大脑皮层中NeuN、PSD-95、Syn-1、PPARγ蛋白表达量均显著升高（$P<0.01$）。结果见图4。



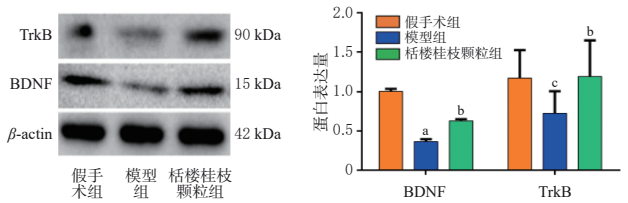
A.电泳图　　B.柱状图（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

a：与假手术组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$。

图4　各组大鼠缺血侧大脑皮层中神经可塑性相关蛋白表达比较

3.5 栝楼桂枝颗粒对大鼠缺血侧大脑皮层中BDNF/TrkB信号通路相关蛋白表达的影响

与假手术组比较，模型组大鼠缺血侧大脑皮层中BDNF、TrkB蛋白表达量均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）；与模型组比较，栝楼桂枝颗粒组大鼠缺血侧大脑皮层中BDNF、TrkB蛋白表达量均显著升高（$P<0.05$）。结果见图5。



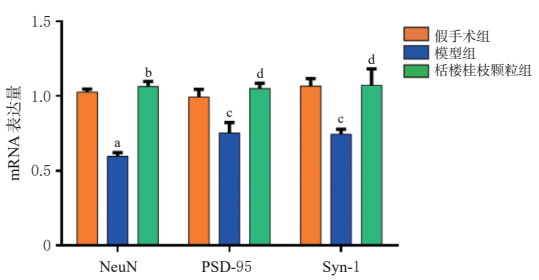
A. 电泳图　　B. 柱状图（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

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

图5　各组大鼠缺血侧大脑皮层中BDNF/TrkB信号通路相关蛋白表达比较

3.6 栝楼桂枝颗粒对大鼠缺血侧大脑皮层中神经可塑性相关因子mRNA表达的影响

与假手术组比较，模型组大鼠缺血侧大脑皮层中NeuN、PSD-95、Syn-1 mRNA表达量均显著降低（$P<0.05$或$P<0.01$）；与模型组比较，栝楼桂枝颗粒组大鼠缺血侧大脑皮层中NeuN、PSD-95、Syn-1 mRNA表达量均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$）。结果见图6。



a：与假手术组比较，$P<0.01$；b：与模型组比较，$P<0.01$；c：与假手术组比较，$P<0.05$；d：与模型组比较，$P<0.05$。

图6　各组大鼠缺血侧大脑皮层中神经可塑性相关因子mRNA表达比较（$\bar{x}\pm s$，$n=6$）

4　讨论

栝楼桂枝颗粒源自《金匮要略》中栝楼桂枝汤，是该汤剂的颗粒制剂。本课题组前期实验结果显示，栝楼桂枝汤中瓜氨酸、芍药内酯苷、芍药苷、芹糖甘草苷、芹糖异甘草苷、异甘草苷等主要成分可通过血脑屏障，改善血脑屏障通透性，与其药效发挥息息相关；同时还发现，芍药内酯苷可以缩小新生缺氧缺血性脑损伤小鼠脑梗死面积，芍药苷可以减少急性脑梗死大鼠海马神经元凋亡，改善其认知功能[10-11]。本研究结果发现，栝楼桂枝颗粒可以降低脑缺血再灌注损伤大鼠的mNSS和转角百分率，表明栝楼桂枝颗粒可以改善脑缺血再灌注所致的神经、感觉和运动功能障碍。

神经元是脑部核心组成部分，脑缺血再灌注发生后，神经元凋亡使神经元间连接被破坏、突触数目减少。本研究采用TUNEL染色观察各组大鼠缺血侧大脑皮层神经元凋亡情况，结果显示，模型组大鼠神经元凋亡率显著高于假手术组，栝楼桂枝颗粒组大鼠神经元凋亡率显著低于模型组。同时本研究还发现，栝楼桂枝颗粒组大鼠缺血侧大脑皮层中神经元成熟标志物NeuN蛋白及mRNA表达量均显著高于模型组，说明栝楼桂枝颗粒可显著减少脑缺血引起的神经元凋亡，改善神经元损伤。

突触前、后膜存在多种信号分子，在调节突触可塑性中起到重要作用。Syn-1广泛分布于突触前膜的突触囊泡上，主要作用是调控神经递质的释放；GAP43同样分布于突触前膜，对突触系统重构起着重要作用；PSD-95是位于突触后膜的支架蛋白，主要通过调节突触神经信号传递以维持突触结构紧密；MAP2广泛分布于神经元分支，其在突触形成中起着关键作用，被认为是突触可塑性的重要标志物；PPARγ是核转录因子，可改善原代神经元突触功能障碍[12-14]。本研究结果显示，与模型组比较，栝楼桂枝颗粒组大鼠缺血侧大脑皮层中MAP2和GAP43阳性表达，以及Syn-1、PSD-95、PPARγ蛋白和/或mRNA表达量均显著升高，说明栝楼桂枝颗粒可以提高神经可塑性，减轻神经功能损伤。

BDNF/TrkB信号通路与突触上重要信号分子关系密切。喻晓路等[12]研究发现，BDNF可增加缺氧缺糖条件下小鼠伏隔核脑片中Syn-1蛋白表达，从而对神经元突触起到保护作用；Wang等[15]发现激活BDNF/TrkB信号通路可以使脑缺血再灌注损伤大鼠海马中PSD-95表达升高，提高其突触可塑性，改善认知功能；Zheng等[16]研究发现，补肾益髓方可提高低浓度血清培养的SH-SY5Y细胞中GAP43蛋白表达，促进轴突再生，其作用机制与激活BDNF/TrkB信号通路有关。这些实验都说明激活BDNF/TrkB信号通路可以增强突触上关键信号分子表达，提高突触可塑性。本研究结果显示，与模型组比较，栝楼桂枝颗粒组大鼠缺血侧大脑皮层中BDNF、TrkB蛋白表达量均显著升高。

综上，栝楼桂枝颗粒可以通过激活BDNF/TrkB信号通路来提高突触可塑性，从而减轻脑缺血再灌注损伤大鼠的神经功能损伤。

参考文献

[1] 习婧媛，韩颖，陈湘. 30 798例心脑血管疾病住院病例的流行特征及变动趋势研究[J]. 护理研究，2022，36(12)：

2225-2230.
XI J Y, HAN Y, CHEN X. Epidemiological characteristics and changing trend of 30 798 inpatients with cardiovascular and cerebrovascular diseases[J]. Chin Nurs Res, 2022, 36(12): 2225-2230.

[2] 丁千. 栝楼桂枝汤辅治脑卒中后下肢痉挛患者的临床效果及对提高日常生活与活动能力的作用[J]. 临床合理用药杂志, 2021, 14(32): 45-47.
DING Q. Clinical effect of Gualou guizhi decoction on patients with lower limb spasm after stroke and its effect on improving daily life and activity ability[J]. Chin J Clin Ration Drug Use, 2021, 14(32): 45-47.

[3] HERBET G, DUFFAU H. Revisiting the functional anatomy of the human brain: toward a meta-networking theory of cerebral functions[J]. Physiol Rev, 2020, 100(3): 1181-1228.

[4] 范红波, 黄欣媛. 蝎毒注射液对阿尔茨海默病模型大鼠学习记忆能力及海马BDNF/TrkB表达的影响[J]. 中国医院药学杂志, 2021, 41(21): 2192-2195.
FAN H B, HUANG X Y. Effects of scorpion venom injection on learning and memory capabilities and expression of BDNF/TrkB in hippocampus of Alzheimer's model rats [J]. Chin J Hosp Pharm, 2021, 41(21): 2192-2195.

[5] 曹亚俊, 陈亚萍, 黄枚, 等. 栝楼桂枝汤对大鼠脑缺血/再灌注损伤后血管新生的影响[J]. 中药药理与临床, 2022, 38(2): 2-6.
CAO Y J, CHEN Y P, HUANG M, et al. Effect of Gualou guizhi decoction on angiogenesis after cerebral ischemia/reperfusion injury in rats[J]. Pharmacol Clin Chin Mater Med, 2022, 38(2): 2-6.

[6] 罗书萍, 方雅玲, 常小娜, 等. 栝楼桂枝颗粒对脑缺血再灌注损伤模型大鼠缺血区脑组织内质网应激及细胞凋亡的影响[J]. 中医杂志, 2022, 8(1): 72-77.
LUO S P, FANG Y L, CHANG X N, et al. Effects of Gualou guizhi granules on endoplasmic reticulum stress and apoptosis in brain tissue of the cerebral ischemic area of cerebral ischemia-reperfusion injury model rats[J]. J Tradit Chin Med, 2022, 8(1): 72-77.

[7] 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.

[8] JIA J, HU Y S, WU Y, et al. Treadmill pre-training suppresses the release of glutamate resulting from cerebral ischemia in rats[J]. Exp Brain Res, 2010, 204(2): 173-179.

[9] SOSLOW R A, DANNENBERG A J, RUSH D, et al. COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors[J]. Cancer, 2000, 89(12): 2637-2645.

[10] 阳梅, 李明玉, 李德渊. 芍药内酯苷对新生缺氧缺血性脑损伤小鼠的神经保护的实验研究[J]. 河北医学, 2022, 28(9): 1414-1420.
YANG M, LI M Y, LI D Y. Experimental study on the neuroprotection of albiflorin in mice with neonatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. Hebei Med, 2022, 28(9): 1414-1420.

[11] 赵霞, 薛娣, 师少军. 芍药苷通过激活LKB1/AMPK信号通路对急性脑梗死大鼠神经损伤的保护作用[J]. 中国实验动物学报, 2022, 30(5): 671-678.
ZHAO X, XUE D, SHI S J. Protective effect of paeoniflorin on nerve injury in rats with acute cerebral infarction by activating the LKB1/AMPK signaling pathway[J]. Acta Lab Animalis Sci Sin, 2022, 30(5): 671-678.

[12] 喻晓路, 傅慧. BDNF对缺糖缺氧小鼠伏隔核中突触前膜蛋白Synapsin-1的影响[J]. 系统医学, 2018, 3(7): 13-16.
YU X L, FU H. Effect of BDNF on Synapsin-1 in NAc slices of mice with oxygen-glucose deprivation[J]. Syst Med, 2018, 3(7): 13-16.

[13] ZHAO H, LIU Z D, ZHANG Y B, et al. NEP1-40 promotes myelin regeneration via upregulation of GAP-43 and MAP-2 expression after focal cerebral ischemia in rats[J]. Mol Med Rep, 2021, 24(6): 844.

[14] LV H, LI Y, CHENG Q, et al. Neuroprotective effects against cerebral ischemic injury exerted by dexmedetomidine via the HDAC5/NPAS4/MDM2/PSD-95 axis[J]. Mol Neurobiol, 2021, 58(5): 1990-2004.

[15] WANG W Z, LIU X, YANG Z Y, et al. Levodopa improves cognitive function and the deficits of structural synaptic plasticity in hippocampus induced by global cerebral ischemia/reperfusion injury in rats[J]. Front Neurosci, 2020, 14: 586321.

[16] ZHENG Q, LIU L, LIU H L, et al. The Bu Shen Yi Sui formula promotes axonal regeneration via regulating the neurotrophic factor BDNF/TrkB and the downstream PI3K/Akt signaling pathway[J]. Front Pharmacol, 2019, 10: 796.

（收稿日期：2024-04-03　修回日期：2024-07-24）
（编辑：邹丽娟）