doi:10.11659/jjssx.12E023050

·基础研究·

木犀草苷对缺氧缺血性脑病大鼠脑损伤的影响及机制

杨 畅,金海涛,张 雯 (武汉市中医医院脑病科,湖北 武汉 430014)

[摘 要] **目的** 探讨木犀草苷对缺氧缺血性脑病(HIE)大鼠脑损伤和Toll样受体4(TLR4)/核因子-κB(NF-κB)信号通路的影响。**方法** 将60只雄性大鼠随机分为正常对照(NC)组、模型组、低剂量组(25 mg/kg木犀草苷)、高剂量组(50 mg/kg木犀草苷)、高剂量+脂多糖(LPS)组(50 mg/kg木犀草苷+0.5 mg/kg TLR4激动剂LPS),每组12只。用颈总动脉结扎及缺氧手段构建HIE模型。采用神经功能缺损评分(NSS)检测各组大鼠脑部神经功能;ELISA法测量血清肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、脑源性神经营养因子(BDNF)水平;HE染色检测脑组织病理变化;试剂盒测定大鼠脑组织丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)水平;TTC染色检测大鼠脑梗死情况;Western blot检测脑组织TLR4、核因子-κB(NF-κB)、p-NF-κB、活化的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(Cleaved Caspase-3)蛋白表达。**结果** 与模型组比较,低剂量组、高剂量组大鼠NSS,TNF-α、MDA水平,脑梗死体积及TLR4、p-NF-κB/NF-κB、Cleaved Caspase-3表达降低/减少($P<0.05$),BDNF、SOD水平升高($P<0.05$),海马区组织病理损伤明显减轻,结构逐渐清晰,神经细胞数量正常;与高剂量组比较,高剂量+LPS组上述指标水平均相反表达($P<0.05$),海马区组织病理损伤加重。**结论** 木犀草苷可改善HIE大鼠脑损伤并抑制TLR4/NF-κB信号通路,且TLR4/NF-κB信号通路的抑制可能是木犀草苷改善脑损伤的作用机制。

[关键词] 木犀草苷;Toll样受体4;核因子-κB;缺氧缺血性脑病
[中图分类号] R722.1 [文献标志码] A [收稿日期] 2023-12-13

Effect and mechanism of luteolin on brain injury in rats with hypoxia-ischemia encephalopathy

YANG Chang, JIN Hai-tao, ZHANG Wen (Department of Encephalopathy, Wuhan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan Hubei 430014, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of luteolin on brain injury and Toll like receptor 4 (TLR4)/nuclear factor-kappa B (NF-κB) signaling pathway in rats with hypoxia-ischemia encephalopathy (HIE). **Methods** A total of 60 male rats were randomly divided into the normal control (NC) group, the model group, the low-dose group (25 mg/kg luteolin), the high-dose group (50 mg/kg luteolin), and the high-dose+lipopolysaccharide (LPS) group (50 mg/kg luteolin+0.5 mg/kg TLR4 agonist LPS), with 12 rats in each group. HIE model was constructed by ligation of common carotid artery and hypoxia. Neurological severity score (NSS) was used to detect the cerebral nerve function of rats in each group. Serum tumor necrosis factor-α (TNF-α) and brain-derived neurotrophic factor (BDNF) levels were detected by ELISA assay. HE staining was used to detect the pathological changes of brain tissue. The levels of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) in brain tissue of rats were detected by kit. TTC staining was used to detect cerebral infarction in rats.

[基金项目] 武汉市中医药科研项目(WZ22C65)
[通信作者] 金海涛,E-mail:ssc9fvw@163.com

[27] Apostolopoulou M, Gordillo R, Gancheva S, et al. Role of ceramide-to-dihydroceramide ratios for insulin resistance and non-alcoholic fatty liver disease in humans[J]. BMJ Open Diabetes Res Care, 2020,8(2):e001860. doi: 10.1136/bmjdrc-2020-001860.

[28] Jiang M, Li C, Liu Q, et al. Inhibiting ceramide synthesis attenuates hepatic steatosis and fibrosis in rats withnon-alcoholic fatty liver disease[J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2019, 10: 665. doi: 10.3389/fendo.2019.00665.

[29] 鲁 涛,曹梦舒,郑 云,等. 游泳运动预处理抑制钙蛋白酶活性减轻心肌细胞膜的缺血-再灌注损伤[J]. 空军军医大学学报, 2022, 43(2): 48-52. doi: 10.13276/j.issn.2097-1656.2022.01.010.

[30] Gonçalves IO, Maciel E, Passos E, et al. Exercise alters liver mitochondria phospholipidomic profile and mitochondrial activity in non-alcoholic steatohepatitis[J]. Int J Biochem Cell Biol, 2014, 54: 163-173. doi: 10.1016/j.biocel.2014.07.011.

[31] Abdelbasset WK, Tantawy SA, Kamel DM, et al. Effects of high-intensity interval and moderate-intensity continuous aerobic exercise on diabetic obese patients with nonalcoholic fatty liver disease: a comparative randomized controlled trial[J]. Medicine (Baltimore), 2020,99(10):e19471. doi:10.1097/MD.0000000000019471.

[32] Charatcharoenwitthaya P, Kuljiratitikal K, Aksornchanya O, et al. Moderate-intensity aerobic vs resistance exercise and dietary modification in patients with nonalcoholic fatty liver disease: a randomized clinical trial[J]. Clin Transl Gastroenterol, 2021, 12(3): e00316. doi: 10.14309/ctg.0000000000000316.

(编辑:杨 颖)

Western blot was used to detect the expression of TLR4, nuclear factor-kappa B (NF-κB), p-NF-κB, activated cleaved cysteine aspartate proteinase 3 (Cleaved Caspase-3) protein in brain tissue. **Results** Compared with the model group, the NSS, levels of TNF-α and MDA, volume of cerebral infarction, and expression of TLR4, p-NF-κB/NF-κB and Cleaved Caspase-3 in low-dose group and high-dose group were decreased ($P<0.05$), BDNF and SOD levels were increased ($P<0.05$), the histopathological damage of hippocampus was obviously alleviated, the structure was gradually clear, and the number of nerve cells was normal. Compared with the high-dose group, the levels of the above indexes were inversely expressed in the high-dose+LPS group ($P<0.05$), and the histopathological damage in the hippocampus was aggravated. **Conclusion** Luteolin can improve brain injury and inhibit TLR4/NF-κB signaling pathway in HIE rats, and the inhibition of TLR4/NF-κB signaling pathway may be the mechanism of luteolin in improving brain injury.

Keywords: luteolin; Toll-like receptor 4; nuclear factor-kappa B; hypoxia-ischemia encephalopathy

缺氧缺血性脑病(hypoxia-ischemia encephalopathy, HIE)多见于新生儿,可导致神经系统损伤甚至死亡,致死率高达60%[1-2]。目前临床上对于HIE的有效治疗方法仍然有限,且限于HIE的早期治疗。因此,对HIE造成的脑部损伤的治疗成为了研究热点。木犀草苷是忍冬科植物金银花中的主要成分,属于黄酮类物质,可穿透血脑屏障,有抗病毒、抗炎症反应、抗氧化等药理活性[3-5]。研究显示,Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4)可激活核因子-κB(nuclear factor-kappa B, NF-κB)信号通路并触发级联反应,而木犀草苷则可通过TLR4/NF-κB相关通路影响家禽肠道炎症和氧化应激[6]。TLR4/NF-κB信号通路与脑缺血损伤大鼠的神经功能密切相关[7-8]。然而,对于木犀草苷与HIE大鼠脑损伤及TLR4/NF-κB通路的相互作用目前尚不明确。因此,本研究拟探讨木犀草苷对HIE大鼠脑损伤及TLR4/NF-κB通路的影响,以期为临床提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

60只7日龄雄性SD大鼠,体质量10~12 g,购自湖北贝恩特生物科技有限公司[使用许可证号:SYXK(鄂)2021-0119;生产许可证号:SCXK(鄂)2021-0027]。大鼠分笼饲养,饲养条件:湿度50%~65%,温度(20±2)℃,12 h光/暗循环,自由摄食饮水。本研究经本院动物伦理委员会批准(伦理批号:2208152)。

1.2 试剂与仪器

木犀草苷(纯度>98%;批号:nkl-00090)购自江苏永健医药科技有限公司;TLR4激动剂脂多糖(lipopolysaccharide, LPS;批号:S1732-5mg)购自上海碧云天生物公司;脑源性神经营养因子(brain-derived neurotrophic factor, BDNF;批号:IPD20009R)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis faction-α, TNF-α)检测试剂盒(批号:IPD20021R)购自湖北艾普蒂生物工程有限公司;TTC染色试剂盒(批号:8342)购自上海和序生物科技有限公司;RIPA裂解缓冲液(批号:89901)、化学发光底物ECL(批号:34579)购自美国Thermo Fisher Scientific公司;大鼠超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒(批号:SP12914、SP30131)购自武汉赛培生物公司;兔源一抗TLR4(批号:LM870643R)、NF-κB(批号:LM860312R)、磷酸化的NF-κB(phosphorylated NF-κB, p-NF-κB;批号:LM3543R)购自上海联迈生物工程有限公司;苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色试剂盒(批号:MB9898)购自大连美仑生物公司;兔源一抗活化的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶3(cleaved cysteine aspartate proteinase 3, Cleaved Caspase-3;批号:MAB835)购自安迪生物科技(上海)有限公司;β-actin(批号:IPD-ANM2224)及辣根过氧化物酶偶联的山羊抗兔二抗(批号:GARTHRP-015)购自湖北艾普蒂生物工程有限公司。多功能酶标仪(型号:Varioskan LUX)购自美国Thermo Fisher Scientific公司;光学显微镜(型号:IX73)购自南京瞭望光电技术有限公司。

1.3 HIE大鼠模型的构建及分组

将其中48只大鼠随机分为模型组、低剂量组、高剂量组、高剂量+LPS组,每组12只。根据文献[9]构建HIE大鼠模型。用乙醚麻醉大鼠,固定并暴露颈部,切开并暴露左侧颈总动脉,结扎后缝合。1 h后将大鼠放入含8%氧气和92%氮气的密闭环境中使之缺氧,2 h后评估模型构建情况,Longa评分为2~3分则表示建模成功。剩余12只大鼠仅暴露颈总动脉,不予结扎且不进行缺氧处理,作为正常对照(normal control, NC)组。造模后,低剂量组、高剂量组大鼠分别以25 mg/kg、50 mg/kg木犀草苷进行腹腔注射[10],高剂量+LPS组大鼠腹腔注射50 mg/kg木犀草苷和0.5 mg/kg TLR4激动剂LPS[11],NC组、模型组大鼠腹腔注射等体积生理盐水,每天1次,连续3 d。

1.4 神经功能缺损评分(neurological severity score,NSS)评估脑部神经功能

药物干预3 d后,采用NSS评估大鼠脑神经功能[12]:神经功能正常,0分;轻度神经功能缺损(提尾时左前肢屈曲),1分;中度神经功能缺损(行走时向左侧转圈),2分;重度神经功能缺损(行走时向左侧转圈),3分;无法自主行走,意识减退,4分。

1.5 ELISA法检测血清BDNF、TNF-α水平

NSS结束后,收集每组大鼠主动脉血,3 000 r/min离心10 min得到血清,按照ELISA试剂盒说明书分别检测血清BDNF、TNF-α水平。用多功能酶标仪检测光密度(optical density,OD)值。

1.6 HE染色检测脑组织病理变化

血液收集完成后,每组随机处死6只大鼠,收集脑组织,4%多聚甲醛固定,常规脱水、石蜡包埋。然后取脑组织的海马区行冠状位切成5 μm薄片,常规脱蜡、水合后,将脑部切片用HE溶液染色,用光学显微镜对脑部海马区组织进行病理学观察。

1.7 试剂盒检测脑组织氧化应激指标SOD、MDA水平

血液收集完成后,取每组剩余6只大鼠脑部组织,剪碎后加入裂解液进行匀浆,一部分匀浆以10 000 g离心10 min取上清液。按照试剂盒说明书检测脑组织匀浆SOD、MDA水平。剩余脑组织匀浆于-80℃冷冻保存。

1.8 TTC染色检测脑梗死情况

选取25只大鼠,根据1.3重新进行饲养、HIE造模及分组干预,每组5只,给药结束后收集其脑组织,处理、切片,用2%的TTC溶液进行染色,在37 ℃下避光孵育15 min。最后观察记录脑组织切片,并计算脑梗死体积比(白色区域为梗死组织)。

1.9 Western blot检测脑组织TLR4、NF-κB、p-NF-κB、Cleaved Caspase-3蛋白表达

取1.7中剩余脑组织匀浆,用RIPA裂解缓冲液提取总蛋白样品,依次将蛋白进行定量,10%的SDS-PAGE分离,转至PVDF膜,封闭,然后将其与一抗TLR4(1∶1 000)、NF-κB(1∶1 000)、p-NF-κB(1∶1 000)、Cleaved Caspase-3(1∶1 000)、β-actin(1∶1 000)在4 ℃下孵育过夜,次日,膜与二抗室温孵育2 h,洗膜。加入ECL显色试剂检测蛋白质成像,用Image J软件分析蛋白水平。

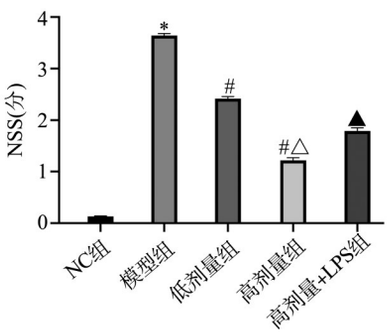
1.10 统计分析

使用SPSS 25.0软件分析数据,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。数据若符合正态分布和方差齐性,用单因素方差分析比较多组间差异,进一步两组间比较行*Tukey*检验;若不符合正态分布和方差齐性,则用*Kruskal-Wallis H*秩和检验比较多组间差异。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠NSS比较

与NC组大鼠比较,模型组大鼠NSS升高($P<0.05$);与模型组比较,低剂量组、高剂量组大鼠NSS降低($P<0.05$);与高剂量组比较,高剂量+LPS组大鼠NSS升高($P<0.05$),见图1。

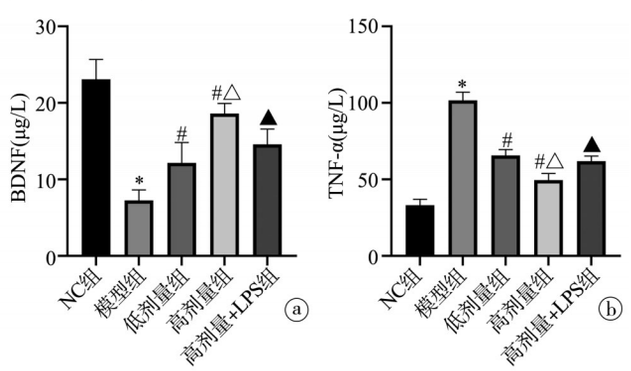


*:与NC组比较,$P<0.05$;#:与模型组比较,$P<0.05$;△:与低剂量组比较,$P<0.05$;▲:与高剂量组比较,$P<0.05$

图1 各组大鼠NSS比较

2.2 各组大鼠血清TNF-α、BDNF水平比较

与NC组比较,模型组大鼠TNF-α水平增加($P<0.05$),BDNF水平下降($P<0.05$);与模型组比较,低剂量组、高剂量组大鼠TNF-α水平下降($P<0.05$),BDNF水平增加($P<0.05$);与高剂量组比较,高剂量+LPS组大鼠TNF-α水平增加($P<0.05$),BDNF水平下降($P<0.05$),见图2。



a:BDNF水平;b:TNF-α水平 *:与NC组比较,$P<0.05$;#:与模型组比较,$P<0.05$;△:与低剂量组比较,$P<0.05$;▲:与高剂量组比较,$P<0.05$

图2 各组大鼠血清BDNF、TNF-α水平比较

2.3 各组大鼠脑组织病理损伤观察

NC组大鼠脑部海马区组织神经细胞结构清晰,排列有序整齐,数目正常无损伤;模型组大鼠脑部海马区组织结构紊乱,神经细胞数量明显减少,间隙加大,核固缩,细胞出现坏死;与模型组比较,低剂量组大鼠脑部海马区组织病理损伤有些许改善,高剂量组大鼠脑部海马区组织病理损伤明显减轻,结构逐渐清晰,神经细胞数量正常;与高剂量组比较,高剂量+LPS组大鼠脑部海马区组织病理损伤则加重,见图3。

2.4 各组大鼠脑部氧化应激水平比较

与NC组比较,模型组大鼠SOD水平下降($P<0.05$),MDA水平增加($P<0.05$);与模型组比较,低剂量组、高剂量组大鼠SOD水平增加($P<0.05$),MDA水平下降($P<0.05$);与高剂量组比较,高剂量+LPS组大鼠SOD水平下降($P<0.05$),MDA水平增高($P<0.05$),见图4。

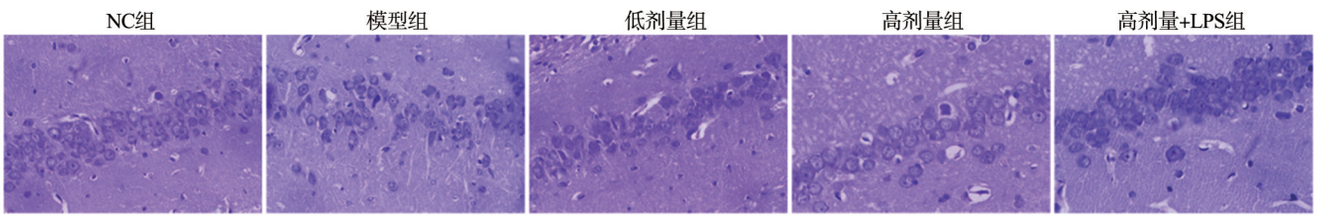
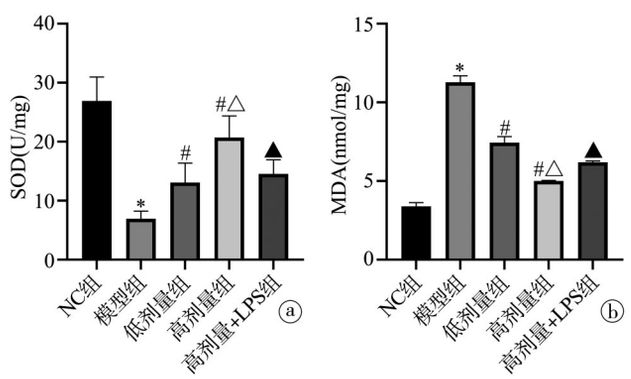
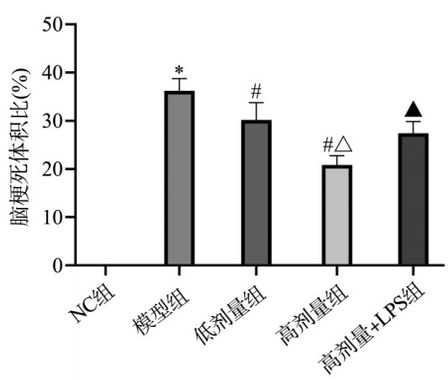


图3 HE染色检测脑组织病理变化(×400)



a:SOD水平;b:MDA水平 *:与NC组比较,$P<0.05$;#:与模型组比较,$P<0.05$;△:与低剂量组比较,$P<0.05$;▲:与高剂量组比较,$P<0.05$

图4 各组大鼠脑组织中SOD、MDA比较



*:与NC组比较,$P<0.05$;#:与模型组比较,$P<0.05$;△:与低剂量组比较,$P<0.05$;▲:与高剂量组比较,$P<0.05$

图5 各组大鼠脑梗死体积比较

2.5 各组大鼠脑梗死体积比较

与NC组比较,模型组大鼠脑梗死体积增加($P<0.05$);与模型组比较,低剂量组、高剂量组大鼠脑梗死体积减少($P<0.05$);与高剂量组比较,高剂量+LPS组大鼠脑梗死体积增加($P<0.05$),见图5、6。

2.6 各组大鼠脑组织中TLR4、NF-κB、p-NF-κB、Cleaved Caspase-3蛋白表达比较

与NC组比较,模型组大鼠TLR4、p-NF-κB/NF-κB、Cleaved Caspase-3蛋白表达升高($P<0.05$);与模型组比较,低剂量组、高剂量组大鼠TLR4、p-NF-κB/NF-κB、Cleaved Caspase-3蛋白表达降低($P<0.05$);与高剂量组比较,高剂量+LPS组大鼠TLR4、p-NF-κB/NF-κB、Cleaved Caspase-3蛋白表达升高($P<0.05$),见图7。

3 讨论

HIE是由大脑缺氧以及血液供应不足引起,与氧化应激、炎症、细胞凋亡等有关,其中炎症是HIE的关键[13-15]。HIE模型构建通常采用颈总动脉结扎以及缺氧的方法,本研究利用上述方法构建HIE大鼠模型,结果显示,造模大鼠NSS升高,表明HIE大鼠脑部神经受损。由于炎症以及氧化应激相关反应与HIE密切相关,因此HIE大鼠的炎症因子以及抗氧化能力会表现异常。BDNF、TNF-α与炎症相关,而SOD和MDA作为评估氧化应激常用的指标,在HIE大鼠中同样发生变化,且大鼠脑部出现明显的脑梗死现象。本研究结果显示,模型组大鼠海马组织病理损伤严重,血清BDNF水平及脑组织SOD水平均降低,TNF-α水平及MDA水平升高,脑梗死体积明显增加,表明HIE大鼠脑部受损,HIE大鼠造模成功。

木犀草苷在金银花、菊花、青兰、鸡眼草、忍冬等中草药中广泛存在,其中金银花、菊花、锦灯笼是以木犀草苷含量为质控的中药材。在薏苡附子败酱散中,木犀草苷可通过调节抗炎信号和TLR4/NF-κB信号通

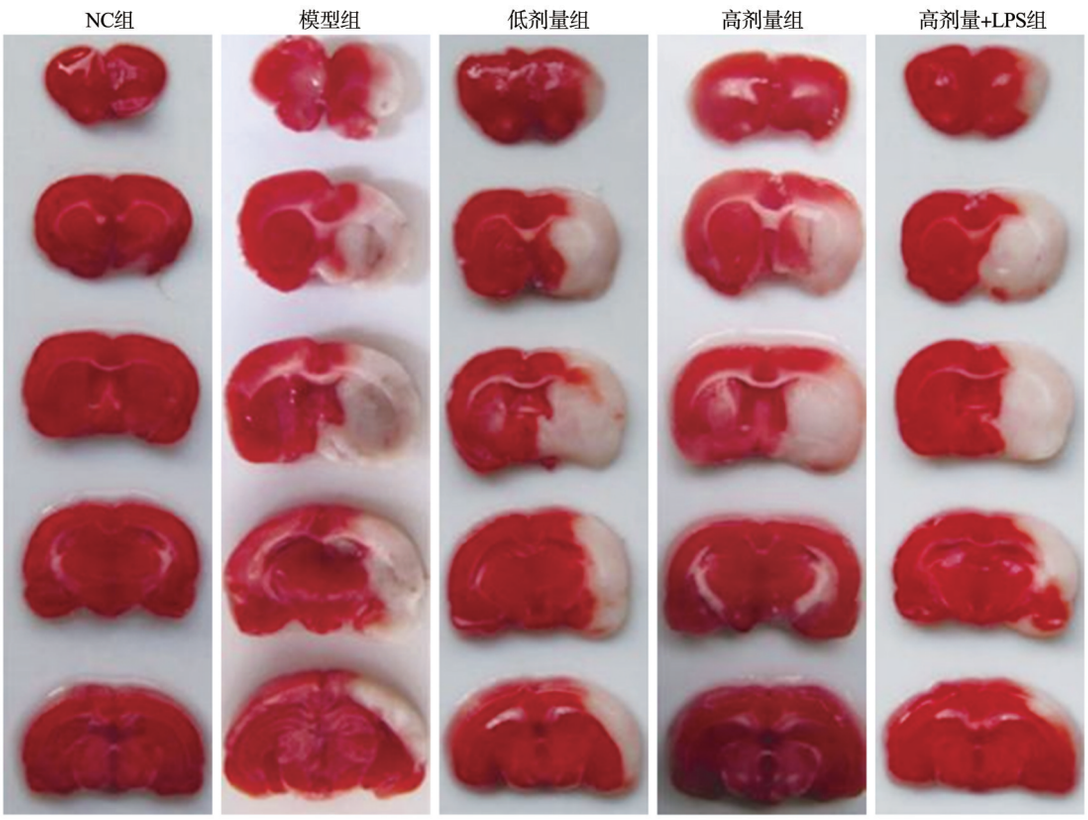
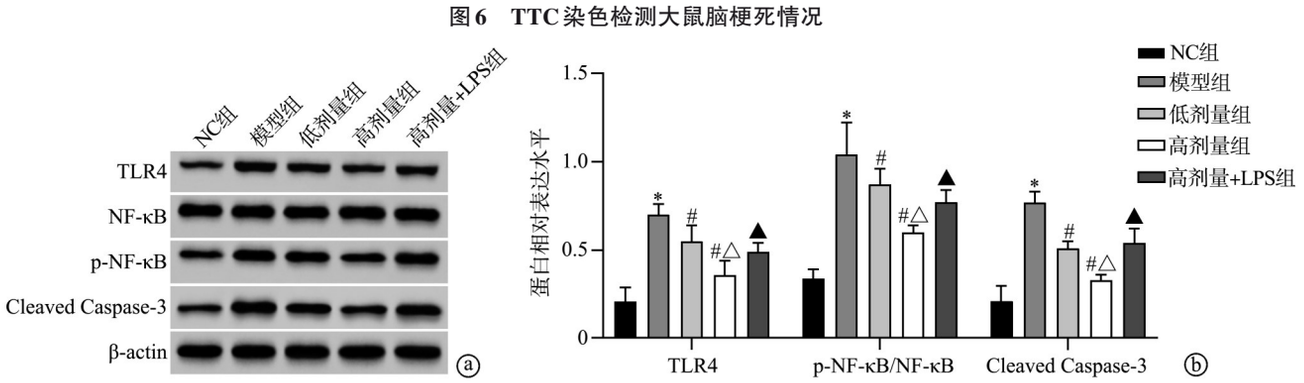


图6　TTC染色检测大鼠脑梗死情况



a:Western blot检测蛋白表达;b:蛋白相对表达水平　*:与NC组比较,$P<0.05$;#:与模型组比较,$P<0.05$;△:与低剂量组比较,$P<0.05$;▲:与高剂量组比较,$P<0.05$

图7　各组大鼠脑组织TLR4、NF-κB、p-NF-κB、Cleaved Caspase-3蛋白表达比较

路发挥抗肿瘤作用[16];木犀草苷外周给药时可穿透血脑屏障,对脑损伤引发的神经损伤有保护作用,可对抗缺血和再灌注损伤,减少梗死[17]。本研究结果显示,低、高剂量的木犀草苷治疗HIE大鼠均可减轻海马组织病理损伤,降低炎症因子水平和脑梗死体积,抑制氧化应激,且高剂量效果更显著。表明木犀草苷可以改善HIE大鼠脑损伤,减轻炎症反应与氧化应激反应。提示木犀草苷可能是治疗HIE的潜在药物。

有研究显示,首荟通便胶囊中含有木犀草苷成分,其可抑制TLR4/NF-κB信号通路从而减少促炎细胞,缓解炎症[18]。TLR4/NF-κB信号通路参与炎症反应的调控,并与细胞凋亡有关,而且TLR4/NF-κB通路的抑制可改善脑缺血再灌注大鼠脑部损伤,并减轻肠道炎症[19-21]。本研究结果显示,HIE大鼠脑组织中TLR4、p-NF-κB/NF-κB、Cleaved Caspase-3蛋白表达升高,说明TLR4/NF-κB通路在HIE进展中处于激活状态[22]。低、高剂量木犀草苷治疗可降低HIE大鼠脑组织中TLR4、p-NF-κB/NF-κB、Cleaved Caspase-3蛋白表达,且对TLR4、p-NF-κB/NF-κB、Cleaved Caspase-3蛋白表达的抑制作用随木犀草苷浓度的增加而增强,这与木犀草苷对脓毒症小鼠TLR4/NF-κB通路的抑制作用一致[23],说明木犀草苷在不同疾病中对TLR4/NF-κB通路

的作用是相同的。而TLR4/NF-κB通路激活剂LPS减弱了高剂量木犀草苷对HIE大鼠脑组织氧化应激、脑损伤的抑制作用,证实了木犀草苷可能通过抑制TLR4/NF-κB通路改善HIE大鼠脑损伤,减轻炎症与氧化应激反应。

综上所述,木犀草苷可改善HIE大鼠脑损伤并抑制TLR4/NF-κB通路,且TLR4/NF-κB通路的下调可能是木犀草苷改善脑损伤的作用机制。然而本研究尚存在不足之处,木犀草苷对HIE大鼠脑损伤的影响测定检验相对较少,并且对于相关TLR4/NF-κB通路的研究较浅,后续将增加实验深入探究木犀草苷改善HIE的作用机制。

[参考文献]

[1] Bonifacio SL, Hutson S. The term newborn: evaluation for hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. Clin Perinatol, 2021, 48(3): 681-695. doi:10.1016/j.clp.2021.05.014.

[2] Papazian O. Neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy[J]. Medicina (B Aires), 2018, 78(2): 36-41.

[3] 赵 孟,王玉婷,戢汉斌. 金银花木樨草苷对大鼠抑郁及中枢海马神经递质调控的影响[J]. 中成药,2020,42(10):2751-2755. doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2020.10.041.

[4] 陈 建,曾智锐,雷 珊,等. 木犀草苷对MCF-7细胞增殖、迁移、侵袭的影响及其机制[J]. 中成药,2022,44(2):587-592. doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2022.02.048.

[5] 吕 蕊,徐 文. 金银花不同花期有机酸、木犀草苷、花青素与抗氧化活性关系[J]. 分子植物育种,2021,19(22):7579-7587. doi:10.13271/j.mpb.019.007579.

[6] Cao Z, Xing C, Cheng X, et al. Luteolin attenuates APEC-induced oxidative stress and inflammation via inhibiting the HMGB1/TLR4/NF-κB signal axis in the ileum of chicks[J]. Animals (Basel), 2022, 13(1): 83. doi:10.3390/ani13010083.

[7] Li Y, Liang W, Guo C, et al. RenshenShouwu extract enhances neurogenesis and angiogenesis via inhibition of TLR4/NF-κB/NLRP3 signaling pathway following ischemic stroke in rats[J]. J Ethnopharmacol, 2020, 253: 112616. doi:10.1016/j.jep.2020.112616.

[8] Song W, Wang T, Shi B, et al. Neuroprotective effects of microRNA-140-5p on ischemic stroke in mice via regulation of the TLR4/NF-κB axis[J]. Brain Res Bull, 2021, 168: 8-16. doi: 10.1016/j.brainresbull.2020.10.020.

[9] 张 赟,李 珂,补王珍. 电针调控Nrf2/HO-1通路对缺血缺氧性脑损伤大鼠小胶质细胞活化的影响[J]. 天津医药,2023,51(2):149-154. doi:10.11958/20220792.

[10] 王明鹤,杨 峰,常 成,等. 木犀草素对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠的神经保护作用[J]. 中国病理生理杂志,2022,38(6):993-1000. doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2022.06.005.

[11] 李晓蕾,朱海生,麻瑞娟,等. 基于TLR4/NF-κB通路探讨藏红花素对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠的神经保护作用[J]. 康复学报,2022,32(6):518-526. doi:10.3724/SP.J.1329.2022.06007.

[12] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91. doi:10.1161/01.str.20.1.84.

[13] Yu S, Doycheva DM, Gamdzyk M, et al. Activation of MC1R with BMS-470539 attenuates neuroinflammation via cAMP/PKA/Nurr1 pathway after neonatal hypoxic-ischemic brain injury in rats[J]. J Neuroinflammation, 2021, 18(1): 26. doi: 10.1186/s12974-021-02078-2.

[14] Turlova E, Wong R, Xu B, et al. TRPM7 mediates neuronal cell death upstream of calcium/calmodulin-dependent protein kinase Ⅱ and calcineurin mechanism in neonatal hypoxic-ischemic brain injury[J]. Transl Stroke Res, 2021, 12(1): 164-184. doi: 10.1007/s12975-020-00810-3.

[15] Altamentova S, Rumajogee P, Hong J, et al. Methylprednisolone reduces persistent post-ischemic inflammation in a rat hypoxia-ischemia model of perinatal stroke[J]. Transl Stroke Res, 2020, 11(5): 1117-1136. doi:10.1007/s12975-020-00792-2.

[16] Xiang B, Geng R, Zhang Z, et al. Identification of the effect and mechanism of YiyiFuziBaijiang powder against colorectal cancer using network pharmacology and experimental validation[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 929836. doi:10.3389/fphar.2022.929836.

[17] Dong R, Huang R, Shi X, et al. Exploration of the mechanism of luteolin against ischemic stroke based on network pharmacology, molecular docking and experimental verification[J]. Bioengineered, 2021, 12(2): 12274-12293. doi:10.1080/21655979.2021.2006966.

[18] Sun C, Zhang Y, Liu M, et al. ShouhuiTongbian Capsules induce regression of inflammation to improve intestinal barrier in mice with constipation by targeted binding to Prkaa1: with no obvious toxicity[J]. Biomed Pharmacother, 2023, 161: 114495. doi: 10.1016/j.biopha.2023.114495.

[19] Chen J, Yang C, Xu X, et al. The effect of focal cerebral ischemia-reperfusion injury on TLR4 and NF-κB signaling pathway[J]. Exp Ther Med, 2018, 15(1): 897-903. doi: 10.3892/etm.2017.5463.

[20] Chen X, Yao Z, Peng X, et al. Eupafolin alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury in rats via blocking the TLR4/NF-κB signaling pathway[J]. Mol Med Rep, 2020, 22(6): 5135-5144. doi: 10.3892/mmr.2020.11637.

[21] 肖 杰,杨立基,赵琳娜,等. 舒脑欣滴丸对脑缺血再灌注大鼠肠道炎症微环境及TLR4/NF-κB信号通路的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2023,43(1):83-89. doi:10.7661/j.cjim.20220707.056.

[22] Yang F, Li Y, Sheng X, et al. Paeoniflorin treatment regulates TLR4/NF-κB signaling, reduces cerebral oxidative stress and improves white matter integrity in neonatal hypoxic brain injury[J]. Korean J Physiol Pharmacol, 2021, 25(2): 97-109. doi: 10.4196/kjpp.2021.25.2.97.

[23] Wang Z, Chen W, Li Y, et al. Reduning injection and its effective constituent luteoloside protect against sepsis partly via inhibition of HMGB1/TLR4/NF-κB/MAPKs signaling pathways[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 270: 113783. doi: 10.1016/j.jep.2021.13783.

(编辑:贺绍梅)