

丹酚酸 B 对 VaD 大鼠空间记忆及海马区 PSD95 突触相关蛋白影响

李小楠 舒刚明 高畅 张云霞 张莹

(解放军总医院第四医学中心干二科, 北京 100081)

【摘要】 目的 探讨丹酚酸 B(SalB)对血管性痴呆(VaD)大鼠海马神经元的保护作用及可能机制。方法 60 只雄性 Wistar 大鼠随机分为假手术组、模型组、治疗组及尼麦角林组 4 组, 每组 15 只。建模成功后第 7 天, 治疗组每天灌胃 SalB 20 mg/kg、尼麦角林组每天灌胃麦角林 7 mg/kg, 假手术组和模型组给予同体积生理盐水, 均连续治疗 6 周。采用水迷宫实验评价空间记忆力变化情况; 酶联免疫吸附法(ELISA)检测乳酸脱氢酶(LDH)和丙二醛(MDA)含量, DCFH-DA 法检测活性氧(ROS)含量; 尼氏染色法观察海马区形态变化; 透射电镜观察海马区超微结构; 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测海马区 NR2A/B、PSD95、PSD93、p-CREB、t-CREB 蛋白表达。结果 水迷宫试验发现, SalB 治疗可以逆转 VaD 大鼠的记忆障碍; 模型组 MDA、LDH 和 ROS 水平均高于假手术组($P < 0.01$), 经 SalB 治疗后, 大鼠 MDA、LDH 和 ROS 水平均明显下降($P < 0.05$); 尼氏染色观察显示, 模型组海马区锥体细胞丢失明显, 细胞层数和数量减少, 而治疗组和尼麦角林组排列较为整齐, 大部分细胞轮廓清晰; 透射电镜观察发现, 经 SalB 治疗后, 大鼠海马区突触凹型、数量增加, 活性带长度增加; Western blot 检测显示, 与假手术组比较, 模型组 PSD95、NR2A/B、PSD93 蛋白水平及 p-CREB/t-CREB 比值均明显下降($P < 0.01$), 而治疗组 PSD95、NR2A/B、PSD93 蛋白水平及 p-CREB/t-CREB 比值较模型组均明显上升($P < 0.01$)。结论 丹酚酸 B 对血管性痴呆大鼠神经具有保护作用, 其机制可能与减轻氧化应激和恢复突触蛋白有关。

【关键词】 丹酚酸 B; 大鼠; 慢性脑缺血; 血管性痴呆; 氧化应激

【中图分类号】 R969; R749.1+3 **【文献标志码】** A **DOI:** 10.3969/j.issn.1672-3511.2022.03.003

Effects of salvianolic acid B on spatial memory and PSD95 synapse related protein in hippocampus of VaD rats

LI Xiaonan, SHU Gangming, GAO Chang, ZHANG Yunxia, ZHANG Yin

(The Second Lead Department, The Fourth Medical Center, PLA General Hospital, Beijing 100081, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the protective effect of SalB on hippocampal neurons in vascular dementia (VaD) rats. **Methods** 60 male Wistar rats were randomly divided into sham group, model group, treatment group and nemergolin group, with 15 rats in each group. The change of spatial memory was evaluated by water maze test. The LDH and MDA were detected by ELISA. The ROS detected by DCFH-DA. The morphological changes of hippocampus were observed by Nissl staining method. The ultrastructure of hippocampus was observed by transmission electron microscopy. The expression of NR2A/B, PSD95, PSD93, p-CREB and t-creb were detected by Western blot. **Results** Water maze test showed that SalB treatment could reverse the spatial memory disorders of model rats. The levels of MDA, LDH and ROS in CCH group were higher than those in sham group ($P < 0.01$). After treatment with SalB, MDA, LDH and ROS levels decreased. Nissl staining showed that pyramidal cells in hippocampus of model group were lost obviously, and the number and number of cell layers were decreased. However, the arrangement of pyramidal cells in treatment group and nimergolin group was more orderly, and most of the cells were clear. Transmission electron microscopy showed that the number of synaptic pits and the length of active bands increased after SalB treatment. Western blot-

通信作者: 舒刚明, E-mail: 376462270@qq.com

引用本文: 李小楠, 舒刚明, 高畅, 等. 丹酚酸 B 对 VaD 大鼠空间记忆及海马区 PSD95 突触相关蛋白影响[J]. 西部医学, 2022, 34(3): 323-327,

334. DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2022.03.003

ting results that compared with sham group, the levels of PSD95, NR2A/B, PSD93 protein and p-CREB/t-creb ratio in model group decreased ($P < 0.01$). After treatment with SalB, the levels of PSD95, NR2A/B, PSD93 protein and p-CREB/t-creb ratio in treatment group increased ($P < 0.01$). **Conclusion** SalB plays a neuro-protective role in VaD, which may be related to the reduction of oxidative stress and the recovery of synaptic protein.

【Key words】 Salviaolic acid B; Rat; Chronic cerebral ischemia; Vascular dementia; Oxidative stress

血管性痴呆 (Vascular dementia, VaD) 的主要病因是由脑血管疾病如: 高血压、糖尿病和全身性动脉硬化等引起慢性脑缺血 (Chronic cerebral hypoperfusion, CCH) 导致的认知功能损害^[1-2]。CCH 会降低脑神经元能量, 导致神经退行性病变, 同时激活小胶质细胞产生活性氧和促炎性细胞因子, 这些细胞因子反过来又损害神经细胞, 导致脑损伤认知能力下降^[3]。因此, CCH 在 VaD 的发病机制中起着重要作用, 目前双侧颈动脉闭塞引起的 CCH 已广泛用于 VaD 模型。丹酚酸 B (Salviaolic acid B, SalB) 是丹参主要的水溶性组分之一, 具有抗炎和抗氧化活性等多种药理作用。SalB 对心肌梗死、高血压、动脉粥样硬化等心血管疾病和神经系统疾病具有保护作用^[4]。SalB 具有调节糖尿病大鼠、肥胖大鼠糖脂代谢的作用^[5]。然而, 目前关于 SalB 对大鼠认知功能作用的研究鲜少。本实验通过 Morris 实验观察 SalB 对 VaD 大鼠空间记忆的影响, 同时检测大鼠海马组织中 PSD95、NR2A/B 和 PSD93 等突触相关蛋白表达水平, 探讨 SalB 对 VaD 大鼠学习记忆障碍的影响及可能机制。

1 材料与方 法

1.1 药物与试剂 SalB (上海源叶生物科技有限公司, 纯度 $\geq 98\%$); DCFH-DA (美国, Sigma 公司); 丙二醛检测试剂盒和乳酸脱氢酶检测试剂盒 (南京建工科技有限公司)。Nissl 染色试剂盒 (武汉博士德生物工程公司); 多克隆抗体 PSD95 (1:1000)、多克隆抗体 PSD93 (1:1000) 和多克隆抗体 NR2B (美国, Bioworld Technology Inc 公司)。磷酸化 cAMP 反应元件结合蛋白 (p-CREB) (1:1000) 和总 CREB (t-CREB) (1:1000) (美国, Santa Cruz Biotechnology 公司)。

1.2 动物分组 60 只雄性 Wistar 大鼠, 体质量 (220 ± 10) g, 购自军事医学科学院实验动物中心, 动物合格证号为 SCXK (军) 2016-0002, 于室温下, 在 12/12 h 的光/暗循环 (上午 8:00 灯亮), 自由获取食物和水。将大鼠随机分为 4 组: 假手术组、模型组、治疗组 (SalB 20 mg/kg)、尼麦角林组 (7 mg/kg 尼麦角林, 阳性对照), 每组 15 只。本实验大鼠的处理符合动物伦理要求, 并经医院伦理委员会审核同意。

1.3 动物模型制备 模型组大鼠腹腔注射 10% 水合

氯醛麻醉, 固定在手术台上, 除去颈部毛, 暴露双侧颈总动脉, 使用动脉夹夹住双侧颈总动脉, 阻断颈总动脉血流 10 min, 灌通 10 min 后, 再夹闭阻断 10 min。血流再通后撤线, 所有的肌肉和腺体都被引导回原位, 切口缝合后放回笼中饲养。假手术组接受相同的手术, 无双侧颈总动脉闭塞。治疗组及尼麦角林组均按上述模型组方法建模, 术后第 7 天, 治疗组每天灌胃 SalB 20 mg/kg, 尼麦角林组每天灌胃尼麦角林 7 mg/kg, 假手术组和模型组给予同体积生理盐水, 均连续治疗 6 周。

1.4 水迷宫试验 迷宫是一个直径 150 cm、高 50 cm 的圆形水池, 它被分成四个想象的象限, 水温 20 ~ 21℃。大鼠经过训练, 在西南象限找到一个淹没在 1 ~ 2 cm 水中的平台。在每个试验中, 给大鼠最长 60 s 的时间来寻找隐藏的平台, 并允许其在平台上停留, 每天进行 4 个间隔试验, 连续 5 d 测试。用 MT-200 Morris 水迷宫视频分析系统自动记录各组大鼠的穿越站台次数 (1 min 内)、站台象限停留时间、上台潜伏期和上台总路程以评价其学习记忆能力。

1.5 SalB 对海马组织氧化损伤的影响 行为学试验后, 每组取 6 只大鼠处死, 取出海马组织, 用 PBS 缓冲液 (pH7.4) 研磨成 10% 的组织匀浆, 4℃ 离心 10 min, 然后根据酶联免疫吸附 (ELISA) 试剂盒说明, 收集上清液用于检测丙二醛 (MDA) 含量和乳酸脱氢酶 (LDH) 水平。使用 DCFH-DA 法测量活性氧 (ROS) 含量。

1.6 尼氏染色法观察海马区形态变化 行为学测试后, 每组选取 6 只大鼠处死, 将含有海马的中段脑组织置于 10% 多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 4 μm 切片, 二甲苯脱蜡至水, 经 Nissl 染色 (50℃ 下于甲苯胺蓝溶液中染色 30 min), 蒸馏水冲洗, 1% HCL 乙醇分化 30 s, 乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 显微镜下拍照, 观察大鼠海马组织 CA1 区神经元形态。

1.7 透射电镜观察海马区超微结构 各组随机选取 2 只大鼠, 经腹腔麻醉后, 断头, 在冰上快速分离海马, 切取 1 mm³ 海马 CA1 区组织块, 2.5% 戊二醛溶液 4℃ 固定 24 h, 按常规制作电镜标本, 以透射电镜观察海马 CA1 区超微结构改变。

1.8 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测海马中记

忆相关蛋白水平 行为学测试后,每组选取 6 只大鼠处死,取出海马组织,加入 RIPA 裂解液制备组织匀浆,4℃离心取上清(蛋白提取液),分装后-20℃保存。使用 BCA 试剂盒测量蛋白质浓度后,煮沸 10 min,进行 SDS-PAGE 凝胶电泳分离,转移到硝化纤维素膜上,5% 脱脂牛奶封闭,一抗(NR2A/B, PSD95、PSD93、p-CREB、t-CREB 和 β -actin)4℃孵育过夜,将膜清洗 3 次,然后二抗室温孵育 2 h。通过凝胶图像分析系统 Quantity one 对蛋白质条带进行定量分析,目的蛋白相对表达量=目的蛋白 IOD 值/内参 β -actin IOD 值,以假手术组相对表达量为 100%。

1.9 统计学分析 采用 SPSS 18.0 进行数据分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行显著性检验,多组间两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 SalB 对各组大鼠空间记忆障碍影响 与假手术组比较,模型组大鼠穿越站台次数下降、上台潜伏期

和上台总路程增加($P<0.05$);与模型组比较,治疗组或尼麦角林组穿越站台次数增加、上台潜伏期和上台总路程下降($P<0.05$);各组大鼠站台象限停留时间无明显差异($P>0.05$),见表 1。

表 1 各组大鼠水迷宫试验指标比较($\bar{x}\pm s, n=15$)

Table 1 Comparison of Morris test indexes of rats in each group

组别	穿越站台次数(N/min)	站台象限停留时间(s)	上台潜伏期(s)	上台总路程(cm)
假手术组	3.7±0.9	24.6±7.3	30.5±6.8	14.4±3.1
模型组	1.7±0.7 ^①	24.9±6.8	36.7±7.9 ^①	17.8±3.7 ^①
治疗组	3.2±1.1 ^②	25.2±4.4	28.4±6.6 ^②	10.2±1.9 ^②
尼麦角林组	3.5±1.5 ^②	25.4±5.2	29.6±5.5 ^②	11.4±2.2 ^②

注:与假手术组相比,① $P<0.05$;与模型组相比,② $P<0.05$

2.2 各组大鼠海马组织中氧化应激指标水平变化 与假手术组比较,模型组 MDA、LDH 和 ROS 水平显著升高(均 $P<0.01$)。经 SalB 治疗后,大鼠 MDA、LDH 和 ROS 水平均明显下降($P<0.05$)。而假手术组和尼麦角林组间各指标水平无明显差异($P>0.05$),见图 1。

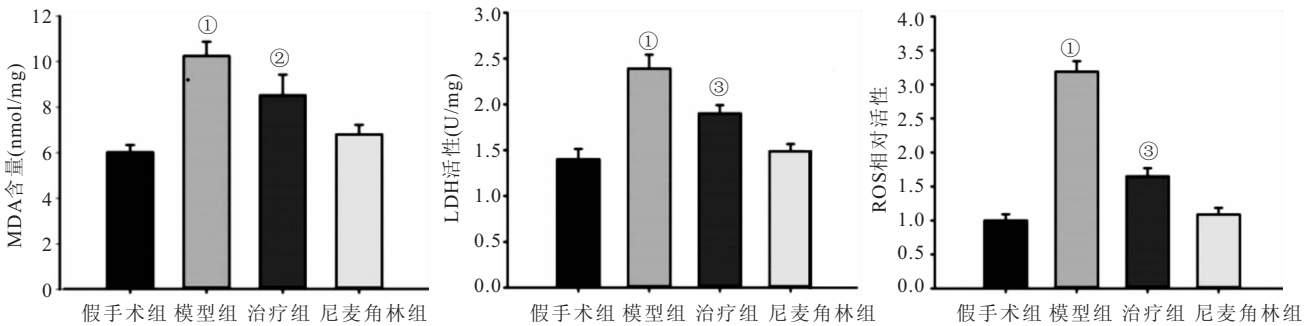


图 1 SalB 对各组大鼠海马组织氧化应激的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Figure 1 Effect of salvianolic acid B on oxidative stress in hippocampus of rats

注:与假手术组相比,① $P<0.01$;与模型组相比,② $P<0.05$,③ $P<0.01$

2.3 各组大鼠脑组织中海马区形态变化 尼氏染色法观察显示,假手术组海马神经元形态正常,排列整齐,胞体完整,界线清晰。模型组海马区神经元丢失明显,数量减少,排列紊乱、松散,尼氏小体数量减少、

体积固缩。治疗组和尼麦角林组神经元排列较为整齐,大部分细胞轮廓清晰,但仍可见少量固缩不规则细胞,见图 2。

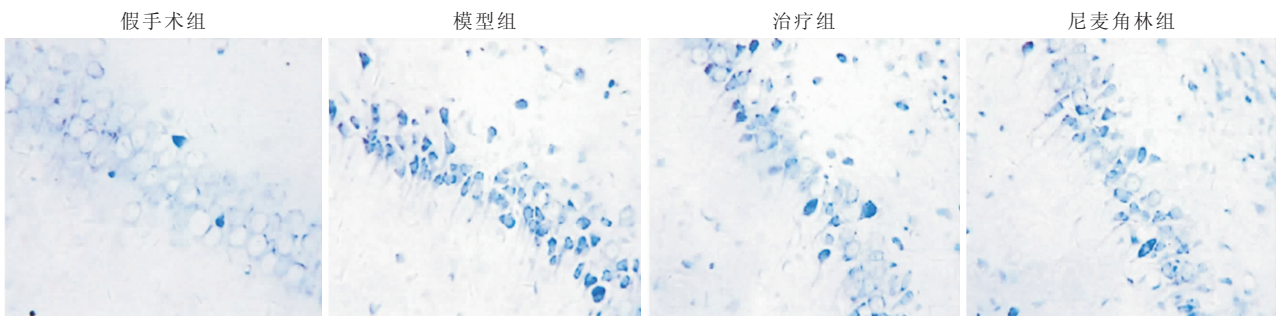


图 2 各组大鼠海马 CA1 区尼氏染色(200×)

Figure 2 Nissl staining in hippocampal CA1 region of rats in each group

2.4 透射电镜观察海马区超微结构 与假手术组相比,模型组大鼠突触凹型、数量减少,活性带长度缩短,突触变的平坦;与模型组相比,经 SalB 治疗后大鼠

突触凹型、数量增加,活性带长度增加,突触变得弯曲,与尼麦角林组基本相似,见图 3。

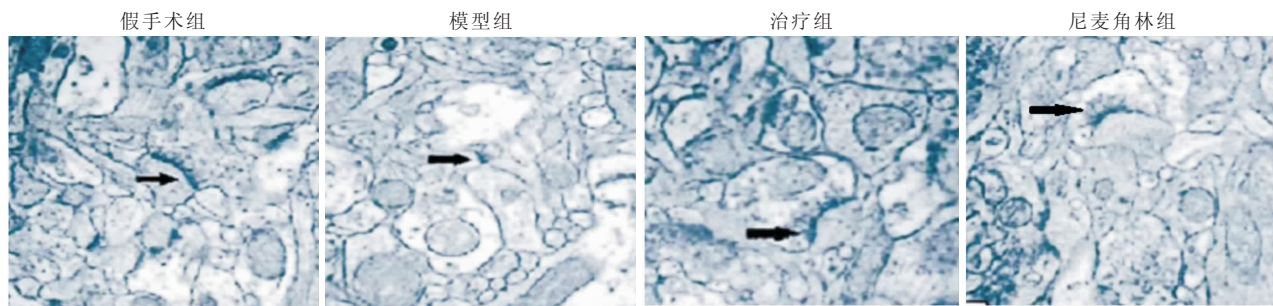


图 3 各组大鼠海马 CA1 区超微电镜(30000×)

Figure 3 Ultrastructure of hippocampal CA1 area in each group

2.5 SalB 对各组大鼠海马组织中突触蛋白影响 Western blot 检测显示,与假手术组比较,模型组 PSD95、NR2A/B、PSD93 蛋白水平及 p-CREB/t-CREB 比值明显降低(均 $P < 0.01$);经 SalB 治疗后 PSD95、

NR2A/B 和 PSD93 蛋白水平及 p-CREB/t-CREB 比值较模型组明显上升(均 $P < 0.01$)。而假手术组与尼麦角林组比较,各蛋白水平无明显差异($P > 0.05$),见图 4。

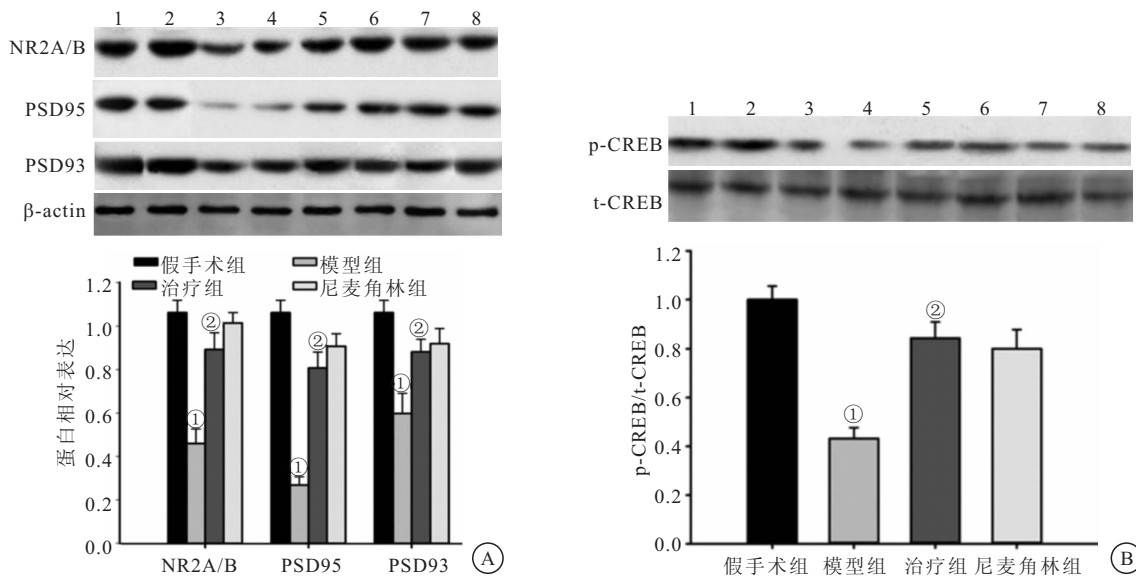


图 4 SalB 对各组大鼠海马组织中突触相关蛋白影响($\bar{x} \pm s$)

Figure 4 Effect of salvanolic acid B on synaptic related proteins in hippocampus of rats

注:A. SalB 对 PSD95、NR2A/B 和 PSD93 蛋白表达影响;B. SalB 对 p-CREB/t-CREB 影响。1~2 为假手术组;3~4 为模型组;5~6 为治疗组;7~8 为尼麦角林组。与假手术组相比,① $P < 0.01$;与模型组相比,② $P < 0.01$

3 讨论

VaD 通常被认为是由脑内血管疾病引起的记忆及其他脑功能障碍而产生的获得性智能损害综合征[6],也是继阿尔茨海默病(Alzheimer's disease, AD)之后第 2 位最常见的痴呆原因[7],被称为“二十一世纪无声的流行病”。尽管 VaD 患者常出现与 AD 患者相似的症状,但 VaD 患者大脑中的相关变化并非归因于 AD 的病理学,而是大脑内血流的慢性减少。

保护血脑屏障免遭缺血再灌注损伤的影响,促进神经发生、血管再生,已被用于心脑血管疾病的治疗[8-10]。但目前还没有关于 SalB 改善大鼠认知功能作用的研究报道,因此本研究通过建立大鼠脑缺血再灌注模型,观察 SalB 对改善大鼠认知的作用效果,并探究其可能机制。

文献报道,SalB 可以减轻创伤性脑损伤和 Aβ25-35 肽诱导的 AD 小鼠的认知能力下降[11]。若 SalB 能改善 CCH 所致的认知功能障碍,将可能成为 VaD 的

SalB 生物毒性低,具有抗氧化活性,在体内能够

治疗药物。本研究水迷宫试验显示,与模型组比较,治疗组或尼麦角林组穿越站台次数增加,上台潜伏期和上台总路程下降,说明 SalB 治疗能够缓解大鼠的空间记忆缺陷,这为 SalB 可能用于治疗 CCH 相关性痴呆记忆障碍提供了直接证据;尼氏染色观察显示,与假手术组相比,模型组海马区锥体细胞丢失明显,细胞层数和数量减少,提示 VaD 大鼠模型制作成功。治疗组和尼麦角林组排列较为整齐、细胞轮廓清晰,说明 SalB 具有促进 VaD 大鼠海马区神经细胞再生作用。

CHH 被认为是 VaD 的一个危险因素,与 ROS 的产生密切相关^[9,12]。氧化应激是促氧化剂与抗氧化剂内环境平衡失调,导致组织损害^[13]。研究表明,CHH 可诱导产生大量 ROS,引起氧化应激反应,造成细胞损伤^[10],因此抑制氧化应激可能是 VaD 潜在治疗方法。研究报道^[14],SalB 可以减少氧化应激,对大鼠肝损伤起到保护作用。本研究中,ELISA 和 DCFH-DA 法检测发现模型组 MDA、LDH 和 ROS 水平均高于假手术组,提示大脑中的氧化应激可能会导致神经系统的功能障碍,包括记忆丧失。而经 SalB 治疗后,大鼠 MDA、LDH 和 ROS 水平下降,说明丹酚酸 B 可能通过抑制海马组织中氧化应激反应,减轻 CCH 大鼠的记忆障碍,从而发挥神经保护作用。

在 AD 及非 AD 痴呆患者脑中,突触和突触蛋白的丢失起着重要作用^[15-18]。VaD 患者颞叶皮质突触前蛋白显著减少(包括 SNAP-25 显著减少)^[19]。NMDA 受体是介导突触可塑性的主要突触后谷氨酸受体^[20],NR2A/B 为 NMDA 受体亚单位,而 PSD93 和 PSD95 是突触后膜的关键组成部分。CREB 是细胞内重要的转录因子,Ser133 处 CREB 的磷酸化被认为是记忆过程的关键,继而激活相应基因的启动子、调节基因转录表达^[21]。透射电镜观察发现,模型组大鼠突触凹型、数量减少,活性带长度缩短,突触变的平坦,同时 Western blot 检测显示,与假手术组相比,模型组 PSD95、NR2A/B 和 PSD93 蛋白水平及 p-CREB/ t-CREB 比值均降低,提示当发生 VaD 时大鼠海马突触蛋白发生丢失;经 SalB 治疗后,PSD95、NR2A/B 和 PSD93 蛋白水平及 p-CREB/ t-CREB 比值较模型组均上升,说明 SalB 可能通过激活 p-CREB,上调 PSD95、PSD93、NR2A/B 的表达促进脑缺血大鼠神经突触的重塑,这与透射电镜观察发现治疗组大鼠突触数量,活性带长度增加的结果基本一致。同时,SalB 对这些突触蛋白的解救作用还可以维持 CCH 大鼠的突触功能,减轻记忆障碍。

4 结论与启示

丹酚酸 B 治疗能够减轻慢性脑出血大鼠的记忆

损伤,其机制可能与抑制氧化应激,恢复突触蛋白有关。本研究发现 SalB 对突触蛋白具有解救作用,为进一步研究奠定了基础,下一步我们将对是否有其它作用机制进行探讨。

【参考文献】

- [1] VINTERS H V, ZAROW C, BORYS E, *et al.* REVIEW: Vascular dementia: clinicopathologic and genetic considerations [J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2018, 44(3): 247-266.
- [2] KALARIA R N. The pathology and pathophysiology of vascular dementia[J]. *Neuro-pharmacology*, 2018, 134(Pt B): 226-239.
- [3] 张跃奇,王媛,张志强,等.白藜芦醇对慢性脑缺血大鼠认知损伤和海马 MMP-9 和 TIMP-1 表达的影响研究[J]. *重庆医学*, 2019, 48(5):742-747.
- [4] 王定珍,陈元鸿,金娜,等.丹酚酸 B 介导 AMPK 活化加剧氧化应激诱导的甲状腺腺细胞凋亡和自噬[J]. *西部医学*, 2020, 32(9):1272-1278.
- [5] HUANG M, WANG P, XU S, *et al.* Biological activities of salvianolic acid B from *Salvia miltiorrhiza* on type 2 diabetes induced by high-fat diet and streptozotocin[J]. *Pharm Biol*, 2015, 53(7):1058-1065.
- [6] 吕立峰,亓爱芹,李秀芹.温脾通络开窍汤联合丁苯酞治疗老年血管性痴呆的疗效及对高血浆同型半胱氨酸、炎症因子的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2018, 36(5):1262-1265.
- [7] LEE E S, YOON J H, CHO J, *et al.* A mouse model of subcortical vascular dementia reflecting degeneration of cerebral white matter and microcirculation[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2019, 39(1):44-57.
- [8] LING C L, LIANG J M, ZHANG C, *et al.* Synergistic Effects of Salvianolic Acid B and Puerarin on Cerebral Ischemia Reperfusion Injury[J]. *Molecules*, 2018, 23(3): 564.
- [9] Li Y M, Wang L L, Dong Z H, *et al.* Cardioprotection of salvianolic acid B and ginsenoside Rg1 combination on subacute myocardial infarction and the underlying mechanism[J]. *Phytomedicine*, 2019, 57:255-261.
- [10] YE T T, QU H B, GONG X C. Preparation of Salvianolic Acid B Disodium Salt Considering the Water Extract Quality Standard [J]. *Molecules*, 2019, 24(7): 1269.
- [11] CHEN T, LIU W, CHAO X, *et al.* Salvianolic acid B attenuates brain damage and inflammation after traumatic brain injury in mice[J]. *Brain Res Bull*, 2011, 84(2):163-168.
- [12] 邵东梅,樊立林,高原,等.眼针与体针对脑缺血再灌注损伤大鼠 3h 脑组织 AQP4 表达的差异研究[J]. *中华中医药学刊*, 2018, 36(6):1327-1330.
- [13] DULULL N K, DIAS D A, THRIMAWITHANA T R, *et al.* L-Sulforaphane Confers Protection Against Oxidative Stress in an In Vitro Model of Age-Related Macular Degeneration[J]. *Curr Mol Pharmacol*, 2018, 11(3): 237-253.
- [14] WANG L, WANG J Y, WANG F Q, *et al.* VEGF-Mediated Cognitive and Synaptic Improvement in Chronic Cerebral Hypoperfusion Rats Involves Autophagy Process[J]. *Neuromolecular Med*, 2017, 19(2-3):423-435.

- [7] E-Z LONGA, WEINSTEIN P-R, CARLSON S, *et al.* Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [8] 于潇,王贵阳,侯宇东,等. 中药抗脑缺血再灌注损伤的作用及其机制的研究进展[J]. *中草药*, 2021, 52(5): 1471-1484.
- [9] 胡跃强,毛丹凤,甘业贤,等. 清热化痰方联合 HP-BMSCs 移植对脑缺血损伤大鼠 PI3K/Akt 表达影响[J]. *辽宁中医药大学学报*, 2018, 20(4): 8-11.
- [10] 王洪海,周颖臻,周德生,等. JAK2/STAT 3 通路在脑缺血再灌注损伤炎症反应中的作用[J]. *西部医学*, 2017, 29(2): 172-178.
- [11] M-Y WU, YIANG G-T, LIAO W-T, *et al.* Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(4): 1650-1667.
- [12] 张巧莲,李双英,孙艳,等. 氧化应激与缺血性脑卒中神经功能评分及神经功能恢复的相关性研究[J]. *现代医学*, 2019, 47(3): 287-291.
- [13] R RODRIGO, FERNANDEZ-GAJARDO R, GUTIERREZ R, *et al.* Oxidative stress and pathophysiology of ischemic stroke: novel therapeutic opportunities[J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2013, 12(5): 698-714.
- [14] S-P GRAY, JANDELEIT-DAHME K. The pathobiology of diabetic vascular complications--cardiovascular and kidney disease [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2014, 92(5): 441-452.
- [15] Q-Y ZHANG, WANG Z-J, SUN D-M, *et al.* Novel Therapeutic Effects of Leonurine On Ischemic Stroke: New Mechanisms of BBB Integrity [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 20177150376.
- [16] H LIU, WEI X, KONG L, *et al.* NOD2 is involved in the inflammatory response after cerebral ischemia-reperfusion injury and triggers NADPH oxidase 2-derived reactive oxygen species [J]. *Int J Biol Sci*, 2015, 11(5): 525-535.
- [17] C-A SILVA-ISLAS, CHANEZ-CARDENAS M-E, BARRERA-OVIEDO D, *et al.* Diallyl Trisulfide Protects Rat Brain Tissue against the Damage Induced by Ischemia-Reperfusion through the Nrf2 Pathway[J]. *Antioxidants (Basel)*, 2019, 8(9): 410.
- [18] 邱文娟,王建红,郭富强. 血红素加氧酶-1 在脑缺血再灌注损伤中的作用和机制[J]. *国际脑血管病杂志*, 2018, 26(6): 464-467.
- [19] G-E YANG, TAE H-J, LEE T-K, *et al.* Risperidone Treatment after Transient Ischemia Induces Hypothermia and Provides Neuroprotection in the Gerbil Hippocampus by Decreasing Oxidative Stress[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): 4621.
- [20] S GUO, ZHANG Y-Y, PENG J-J, *et al.* Natural compound methyl protodioscin protects rat brain from ischemia/reperfusion injury through regulation of Mul1/SOD2 pathway [J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 84950-849558.
- [21] Q LIU, JIN Z, XU Z, *et al.* Antioxidant effects of ginkgolides and bilobalide against cerebral ischemia injury by activating the Akt/Nrf2 pathway in vitro and in vivo[J]. *Cell Stress Chaperones*, 2019, 24(2): 441-452.
- [22] X CHENG, ZHANG F, LI J, *et al.* Galuteolin attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury in rats via anti-apoptotic, antioxidant, and anti-inflammatory mechanisms [J]. *Neuropsychiatr Dis Treat*, 2019, 152671-2680.
- [23] 阚桐,王越,王瑞刚. 金钱草提取物通过调控 miR-129-5p 表达对脑缺血再灌注大鼠脑损伤的保护作用[J]. *中国药师*, 2021, 24(1): 12-15.
- [24] R HUANG, MA J, NIU B, *et al.* MiR-34b Protects Against Focal Cerebral Ischemia-Reperfusion (I/R) Injury in Rat by Targeting Keap1 [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2019, 28(1): 1-9.
- [25] S-F CHU, ZHANG Z, ZHOU X, *et al.* Ginsenoside Rg1 protects against ischemic/reperfusion-induced neuronal injury through miR-144/Nrf2/ARE pathway [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2019, 40(1): 13-25.

(收稿日期:2021-01-28;修回日期:2021-12-08;编辑:郭翠)



(上接第 327 页)

- [15] 邱璐璐,蔡利萌,张宁. 丹酚酸 B 对慢性酒精性肝损伤大鼠肝脏的保护作用[J]. *中国临床药理学杂志*, 2020, 36(16): 2419-2421.
- [16] HESSE R, LAUSSER L, GUMMERT P, *et al.* Reduced cGMP levels in CSF of AD patients correlate with severity of dementia and current depression[J]. *Alzheimers Res Ther*, 2017, 9(1):17.
- [17] ZHENG J J, LI W X, LIU J Q, *et al.* Low expression of aging-related NRXN3 is associated with Alzheimer disease: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2018, 97(28): e11343.
- [18] BATE C, WILLIAMS A. Monomeric amyloid- β reduced amyloid- β oligomer-induced synapse damage in neuronal cultures[J]. *Neurobiol Dis*, 2018, 111:48-58.
- [19] SINCLAIR L I, TAYLER H M, LOVE S. Synaptic protein levels altered in vascular dementia[J]. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 2015, 41(4): 533-543.
- [20] IACOBUCCI G J, POPESCU G K. NMDA receptors: linking physiological output to biophysical operation[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2017, 18(4):236-249.
- [21] DENG W W, HU Q, LIU Z R, *et al.* KDM4B promotes DNA damage response via STAT3 signaling and is a target of CREB in colorectal cancer cells[J]. *Mol Cell Biochem*, 2018, 449(1-2): 81-90.

(收稿日期:2021-04-13;修回日期:2021-10-12;编辑:刘灵敏)