

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.18.005

心衰大鼠血脑屏障通透性改变对认知功能的影响及机制研究*

金文¹ 于巍² 王梓鉴³ 高大鹏² 戚思华^{2Δ}

(1 郑州大学附属儿童医院麻醉与围术期医学科 河南 郑州 450000;

2 哈尔滨医科大学附属第四医院麻醉科 黑龙江 哈尔滨 150000;3 黑龙江省医院麻醉科 黑龙江 哈尔滨 150000)

摘要 目的:观察大鼠心衰(HF)后血脑屏障通透性的改变,并探讨 HF 后认知功能障碍的可能机制。**方法:**本实验采用成年雄性 SD 大鼠 85 只,体重 300-350 g,将大鼠随机分为 5 组:假手术组、心力衰竭组、空白对照组、心力衰竭+TAK242 组、心力衰竭+抗生素组。造模 24 h 后采用 TTC 染色法检测大鼠心肌梗死面积,采用荧光素钠检测血脑屏障通透性的改变,采用蛋白印迹法检测大鼠海马和皮质中炎症蛋白 MMP-9 与 NF- κ B 表达情况。造模 4 周后采用超声检测大鼠心功能情况, Morris 水迷宫法检测大鼠行为学改变,采用 HE 染色法检测大鼠心脏组织病理学改变。**结果:**与 Sham 组相比, HF 组大鼠术中循环和血气分析无明显差异($P>0.05$)。与 Sham 组相比, HF 组大鼠术后 24 h 可见清晰的心肌梗死灶,荧光素钠通透性增加,大鼠海马和皮质内炎症蛋白 MMP-9 与 NF- κ B 表达升高。与 HF 组比较,给予 TAK242 的 HF 组大鼠认知功能得到改善,给予抗生素的 HF 大鼠认知功能降低。**结论:** NF- κ B /MMP-9 炎症通路激活诱导的血脑屏障通透性改变可能是 HF 后认知功能障碍的作用机制之一。

关键词:心力衰竭;血脑屏障通透性;认知功能;MMP-9;NF- κ B

中图分类号: R-33; R541.61; R614 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2022)18-3428-06

Effects of Altered Blood-brain Barrier Permeability in Heart Failure Rats on Cognitive Function and Its Mechanisms*

JIN Wen¹, YU Wei², WANG Zi-jian³, GAO Da-peng², QI Si-hua^{2Δ}

(1 Department of Anesthesia and Perioperative Medicine, Children's Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, 450000, China;

2 Department of Anesthesiology, Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150000, China;

3 Department of Anesthesiology, Heilongjiang Provincial Hospital, Harbin, Heilongjiang, 150000, China)

ABSTRACT Objective: To observe the changes of blood-brain barrier permeability after heart failure (HF) in rats and explore the possible mechanism of cognitive impairment after HF. **Methods:** In this experiment, 85 adult male SD rats weighing 300-350 g were randomly divided into 3 groups: sham group, HF group, Control group, HF+TAK242 group, HF+Anti group. After 24 hours of myocardial infarction, myocardial infarct size was measured by TTC staining, the expression of MMP-9 and NF- κ B in rat hippocampus and cortex was detected by western blotting, the changes in BBB permeability were detected by sodium fluorescein. After 4 weeks of modeling, the cardiac function of the rats was detected by ultrasound, the behavioral changes of the rats were detected by the Morris water maze method, and the histopathological changes of the rat hearts were detected by the HE staining method. **Results:** Compared with the sham group, there was no significant difference in intraoperative circulation and blood gas analysis in HF groups ($P>0.05$). After 24 hours of myocardial infarction, compared with the sham operation group, a clear infarct lesion was observed, and the permeability of sodium fluorescein was increased and the expression levels of MMP-9 and NF- κ B in the hippocampus and cortex of the rats were increased in the heart failure group. Compared with the HF group, cognitive function was improved in the HF group given TAK242, and the cognitive function of HF rats given antibiotics was reduced. **Conclusions:** The change of BBB permeability induced by the activation of NF- κ B /MMP-9 inflammatory pathway may be one of the mechanisms of cognitive impairment after HF.

Key words: Heart failure; Blood-brain barrier permeability; Cognitive function; MMP-9; NF- κ B

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R541.61; R614 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)18-3428-06

前言

心力衰竭(Heart failure, HF)是一种严重影响机体功能的全身性疾病^[1],常导致大脑等重要器官受到损伤。HF 患者认知

功能障碍的发生率较高^[2,3],且与患者的住院时间延长和死亡率升高相关。因此,探究 HF 患者认知功能障碍机制及其有效的防治方法具有重要意义。

血脑屏障(Blood-brain barrier, BBB)对维护大脑内环境稳

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81271456)

作者简介:金文(1991-),女,硕士研究生,主要研究方向:心脑综合症,电话:17630055766, E-mail: kim5786@126.com

Δ 通讯作者:戚思华(1965-),男,博士生导师,教授,主要研究方向:围手术期脑功能保护机制研究, E-mail: qisihua2007@163.com

(收稿日期:2021-12-23 接受日期:2022-01-25)

定及调控神经系统免疫反应至关重要^[4]。BBB一旦破坏外周炎症的炎症因子可经过受损 BBB 进入中枢神经系统并产生一系列炎症反应,可进一步加重脑组织损伤,并对认知功能产生一定影响。有研究表明, BBB 的破坏与金属基质蛋白-9 (Matrix metalloproteinase-9, MMP-9) 的酶蛋白激活密切相关。MMP-9 可严重破坏是 BBB 的血管基底膜和紧密连接,进而引起 BBB 通透性的增加^[5]。核转录因子 κ B (Nuclear factor- κ B, NF- κ B) 是调控炎症因子表达的重要核转录因子^[6], 可触发促炎症细胞因子基因的表达, 释放 TNF- α 、IL-1 β 和 MMP-9 等炎症因子^[7]。

我们推测 TLR4/ NF- κ B 信号通路激活导致的 BBB 破坏、是 HF 后认知功能障碍发生的机制之一。因此,本研究拟通过建立大鼠 HF 模型,观察术后 24 h BBB 通透性、中枢海马区的 MMP-9 及 NF- κ B 的表达;并观察采用 TLR4 抑制剂,是否能有效改善心衰后大鼠的认知功能。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

选用 85 只雄性成年清洁级 SD 大鼠,体重 300-350 g,全部由哈尔滨医科大学动物试验中心提供,将大鼠随机分为 5 组 ($n=17$) 并接受以下处理:心力衰竭组 (HF),假手术组 (Sham),空白对照组 (Control),心力衰竭 + TAK242 组 (HF+TAK242),心力衰竭 + 抗生素组 (HF+Anti)。

1.2 实验方法

1.2.1 大鼠心衰模型的建立及生理参数监测 参照之前相关文献及实验组之前建立 HF 模型的经验,建立大鼠急性心肌梗死模型^[8],术后正常进食饮水。造模 4 周后进行大鼠心脏超声检查,以左心室射血分数 (Left Ventricular Ejection Fractions, LVEF) $\leq 35\%$ 作为 HF 模型成功的标准^[9]。具体步骤如下:大鼠术前禁食 12 h,体重后给予 3%戊巴比妥钠 (30 mg/kg, ip) 腹腔注射麻醉。麻醉后给大鼠插管,插管插管后进行机械通气。将大鼠仰卧位固定于操作台上,进行鼠尾动脉穿刺并监测动脉血压后行冠脉结扎术。大鼠取右侧卧位,剪去心尖搏动最强点周围鼠毛,用碘伏进行简单消毒后以心尖搏动最强的点约第 4 肋间入胸,充分暴露心脏后撕开心包。用 5-0 缝合线在左心耳下方 2 mm 入针,深度 1.5 mm 左右,缝扎中点在左心耳和肺动脉圆锥相交的位置与心尖连线上,缝扎方向平行左心耳边缘。待循环稳定后关胸,拔除气管导管,麻醉苏醒。术中持续监测大鼠体温,血压及心率。并分别于术前,术毕两个时间点从尾动脉中抽取动脉血液用于动脉血气分析。

1.2.2 大鼠心肌 TTC 染色 术后 24 h 将大鼠用 3%的戊巴比妥钠 (30 mg/kg, ip) 麻醉后迅速开胸取心脏,将取下的心脏用生理盐水进行简单的冲洗,冲洗后置于冰板上并放 -20℃ 冰箱冻存 30 min 后取出,沿心脏长轴将心脏从心尖至结扎点切成五片,每片厚约 2 mm。切片后用 1%的 2,3,5- 氯化三苯四唑 (2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride, TTC) 染色,37℃ 避光染色 10 min。

1.2.3 大鼠心肌 HE 染色 将术后 5 周的大鼠用 3%的戊巴比妥钠 (30 mg/kg, ip) 进行麻醉后,迅速开胸取下心脏。放入 4%甲醛中固定,用不同浓度的酒精进行脱水。组织脱水后,用二甲苯和无水酒精 (1:1) 浸泡 2 h,再用纯二甲苯浸泡 2 次,每次

90 min,直至组织呈现出不同程度的透明状态。用石蜡进行包埋后切片,切片厚度为 6 μ m。将切好的片子放在有粘片剂的载玻片上,烘干后进行脱蜡和染色,分化和漂洗后进行脱水和复染再脱水和透明后将切片用中性树胶封存,贴上标签,并标记。在光学显微镜下观察心脏组织形态。

1.2.4 血脑屏障通透性检测 造模后 24 h 用 3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后,行股动脉穿刺后将 5 mL/kg 的 2%荧光素钠经股静脉缓慢输注^[10],循环 30 min 后给予致死剂量戊巴比妥钠 (超过 100 mg/kg, ip) 处死动物。经左心室灌注 100~150 mL 生理盐水,压力为 110 mmHg。与此同时,在右心房剪一小口,为了清除血管中的血液和示踪剂。灌注持续 15 min,直到右心室流出液体变为无色。灌注完成后断头取脑,去除脑膜和脉络丛,分离海马和皮质并称重。在每个脑组织中加入 2 mL PBS 均浆,并加入 2 mL 60%三氯乙酸涡旋 2 min,匀浆样本 4℃ 下保存 30 min,然后离心 18000 $\times$ g, 4℃, 10 min。离心后取 250 μ L 上清液用全自动定量绘图酶标仪 (DTX880, multimode Detector) 测量各脑组织内荧光素钠的浓度。

1.2.5 大鼠海马和皮质区域 MMP-9 和 NF- κ B 蛋白表达水平的检测 应用 western blotting 检测技术测定脑组织中 MMP-9 和 NF- κ B 蛋白表达水平,用 β -actin 作为内源性参照蛋白以确保上样量一致。从液氮中取出冰冻脑组织,用冰盐水研磨脑组织制成 10%组织匀浆。应用 BCA 法检测蛋白浓度后,制备蛋白样本并储存用于蛋白表达水平的检测。将脑组织蛋白提取物用十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳分离胶进行分离后,转移到聚偏二氯乙烯膜上。7.5%脱脂牛奶进行常温 2 h 封闭后,然后用 MMP-9 以及 NF- κ B 一抗 (1:1000) 4℃ 孵育过夜,然后用 MMP-9 以及 NF- κ B 二抗 (1:5000) 常温孵育 2 h。蛋白膜曝光于增强显色剂后,用 ImageJ 1.34 软件进行分析计算光密度积分灰度值。最终计算出 MMP-9 与 NF- κ B 蛋白表达情况。以 β -actin 作为内参蛋白。

1.2.6 各组大鼠认知功能的检测 水迷宫实验开始前 3 天,每天将实验大鼠从饲养室转运至实验房间,以适应实验环境^[11]。评估前 24 h,将实验大鼠由饲养室转运至认知功能评估实验室。迷宫直径 122 cm,高 51 cm。迷宫 NE 象限中心放有一个透明的平台,直径为 10 cm,浸入水面下约为 1 cm,水温控制在 20-22℃。让大鼠进行连续 5 天、每天 4 次的空间记忆学习。将大鼠分别由迷宫的 W、S、NW、SE 方向将大鼠面向水池壁放入迷宫中,记录大鼠运动轨迹。登台 5 s 即算登台成功,停止记录。如 60 s 后,大鼠仍未登上平台,同样停止记录,并引大鼠登台,停留 10 s。训练后,将大鼠擦干后放回鼠笼。分析潜伏期、游泳总路程、速度等指标,评估大鼠空间记忆学习能力。在最后一次空间记忆学习训练结束后 24 h 进行空间记忆检测,撤去平台,由 SW 方向将大鼠放入迷宫。记录大鼠入水后 30 s 的游泳轨迹。分析小鼠在 NE 象限的活动时间 / 路程百分比、穿台次数和目标区域 (以 NE 象限中心为中心直径 20 cm 的圆形区域) 活动时间,评估大鼠的空间记忆能力。

1.3 统计学分析

所有数据以平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。数据统计学分析应用 SPSS20.0 分析软件。组间多重比较采用单因素方差分析,重复测量数据采用重复测量方差分析。两组之间比较采用非配对 t- 检验统计分析方法, $P < 0.05$ 认为具有统计学差异。

2 结果

2.1 HF 组和 Sham 组大鼠的生理学参数

两组大鼠术前(T₁)血压无明显差异。与 Sham 组相比, HF

组的血压在术后(T₂)时间点有所下降($P<0.05$)。两组大鼠在 T₁、T₂ 两个时间点, 血气分析及体温监测结果无统计学差异(表1)。

表 1 生理学参数

Table 1 Physiological parameters

Parameters	Group	Time	
		T ₁	T ₂
MAP (mmHg)	Sham	125.9± 7.6	90.7± 9.3
	HF	127.0± 5.9	77.0± 9.4 ^Δ
PaO ₂ (mmHg)	Sham	96.0± 5.2	97.0± 6.8
	HF	95.0± 6.4	96.0± 7.5
PaCO ₂ (mmHg)	Sham	39.5± 4.1	39.0± 4.0
	HF	41.3± 4.5	40.2± 3.6
pH	Sham	7.39± 0.02	7.40± 0.02
	HF	7.37± 0.02	7.35± 0.02
Rectal temperature	Sham	36.5± 0.4	36.2± 0.3
	HF	36.8± 0.3	36.7± 0.3

Note: All values are presented as the $\bar{x} \pm s$. MAP, mean arterial pressure; PaO₂, partial pressure of arterial oxygen; PaCO₂, partial pressure of arterial carbon dioxide (n=17 for each group). ^Δ $P<0.05$ vs Sham group.

2.2 心脏组织病理学改变

与 Sham 组相比, HF 组心肌梗死 24 h 后可见清晰的梗死灶。与 Sham 组相比, HF 组心肌梗死 5 周后梗死区正常的心肌

细胞消失, 成纤维细胞、内皮细胞增多形成瘢痕, 梗死边缘区心肌细胞与正常组织界限不清(图 1)。

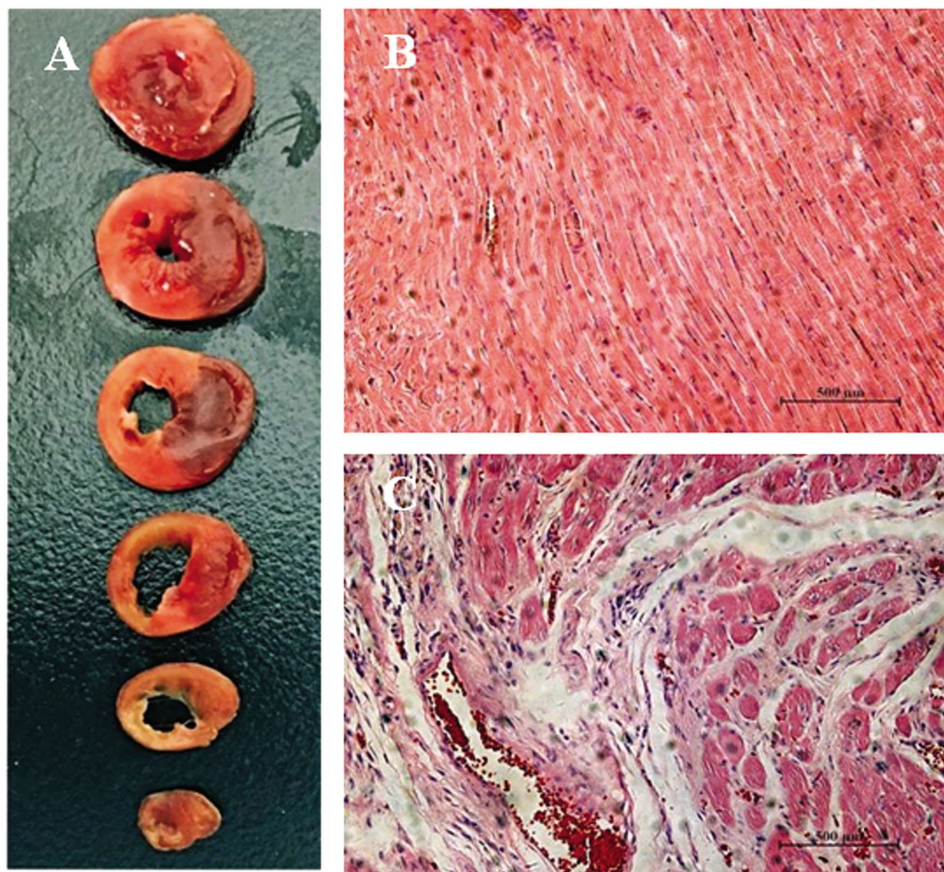


图 1 心脏组织病理学改变

Fig.1 Histopathological changes of heart tissue

2.3 血脑屏障通透性

与 Control 组相比, Sham 组和 HF 组脑海马组织内荧光素钠含量有所升高($P<0.05$)。与 Sham 组相比, HF 组海马组织内荧光素钠含量进一步增加($P<0.05$)。与 Sham 组相比, HF 组皮质内荧光素钠含量明显增多($P<0.05$)(图 2)。

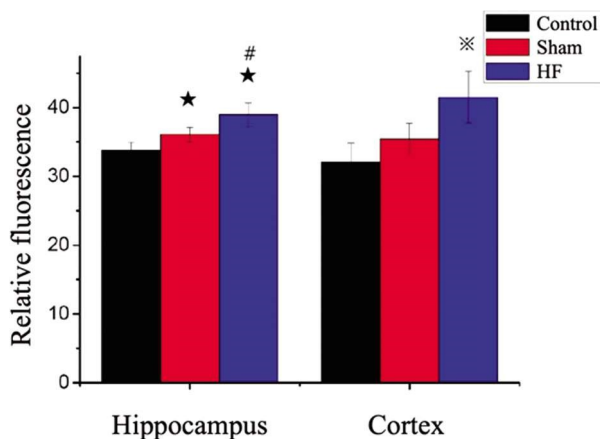


图 2 大鼠血脑屏障通透性的改变

Fig.2 Changes of blood-brain barrier permeability in rats

Note: Results are expressed as the $\bar{x} \pm s$. In the hippocampus, * $P<0.05$ vs Control group, # $P<0.05$ vs Sham group. In cortical tissue, * $P<0.05$ vs Sham group.

2.4 脑组织中 MMP-9 及 NF- κ B 蛋白表达水平

与 Sham 组相比, HF 组的脑海马和皮质内 MMP-9 蛋白表达水平显著升高($P<0.05$)(图 3)。与 Sham 组相比, HF 组的脑海马和皮质内 NF- κ B 蛋白表达水平显著升高($P<0.05$)(图 4)。

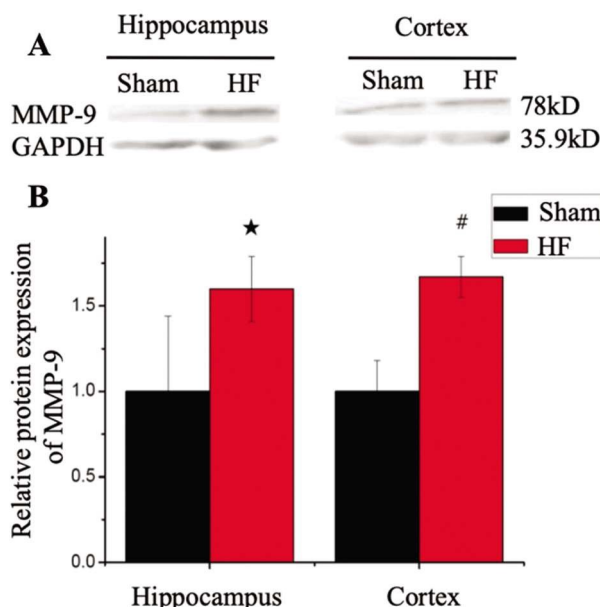


图 3 大脑皮质和海马内 MMP-9 蛋白表达水平

Fig.3 Expression levels of MMP-9 protein in cerebral cortex and hippocampus

Notes: (A) Representative Western blots revealed the levels of the MMP-9 protein and the Control β -actin protein. (B) Quantitatively analysis of the Western bolt. Results are expressed as the $\bar{x} \pm s$. In the hippocampus, * $P<0.05$ vs Sham group. In cortical tissue, * $P<0.05$ vs Sham group.

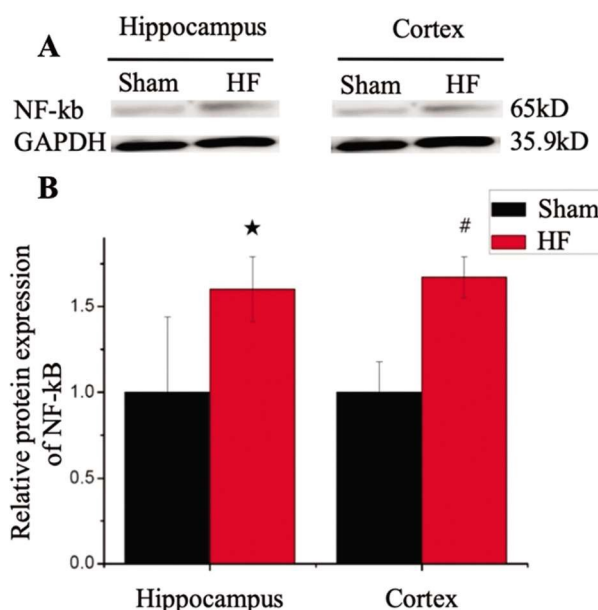


图 4 大脑皮质和海马内 NF- κ B 蛋白表达水平

Fig.4 Expression levels of NF- κ B protein in cerebral cortex and hippocampus.

Note: (A) Representative Western blots revealed the levels of the NF- κ B protein and the Control β -actin protein. (B) Quantitatively analysis of the Western bolt. Results are expressed as the $\bar{x} \pm s$. In the hippocampus, * $P<0.05$ vs Sham group. In cortical tissue, * $P<0.05$ vs Sham group.

2.5 TAK242 对心衰后大鼠认知功能的影响

Sham 组、HF 组、HF+TAK242 组、HF+Anti 组四组的空间探索试验总路程无明显差异。与 Sham 组相比, HF 组和 HF+Anti 组的平台穿梭次数显著减少($P<0.05$)。与 HF 组相比, HF+TAK242 组目标象限活动时间显著增加($P<0.05$)。与 Sham 组相比, HF+Anti 组目标象限活动时间显著减少($P<0.05$)(图 5)。

3 讨论

本实验发现在大鼠 HF 模型早期有 BBB 通透性的改变, 主要表现为小分子荧光素钠通透性增高, 脑组织中炎症蛋白 MMP-9 表达水平升高。这可能与脑组织内 NF- κ B/MMP-9 炎症通路激活有着密不可分的关系。另外使用 TLR4 抑制剂抑制 NF- κ B 激活后, 认知功能可得到明显改善。

BBB 的完整性对于保证中枢神经组织内环境的相对稳定方面有着不可或缺的作用^[12]。BBB 的破坏可导致免疫细胞的外渗增加、紧密连接破坏、转运过程受损, 使得大分子和离子穿过 BBB 的监管作用变弱^[13]。外周炎症的炎症因子可经过受损 BBB 进入中枢神经系统并产生一系列炎症反应, 因此由于 BBB 通透性的改变, 继而激发中枢神经炎症反应进一步加重脑组织损伤, 最后引起认知功能改变^[14,15]。根据本实验的脑组织中荧光素钠含量检测结果以及水迷宫结果显示, 我们可以推断 BBB 通透性改变与 HF 后认知功能障碍有着密切联系。

在以往的脑缺血再灌注损伤模型中已证实, MMP-9 的酶蛋白激活与 BBB 通透性的改变密切相关^[16]。MMP-9 在缺血脑组织中的表达呈现动态变化, 与 BBB 的开放、脑水肿的形成趋于一致并与脑缺血早期 BBB 通透性增加有密切关系^[17]。过表达的 MMP-9 的蛋白激酶可降解 BBB 血管基底膜内的 IV 型胶

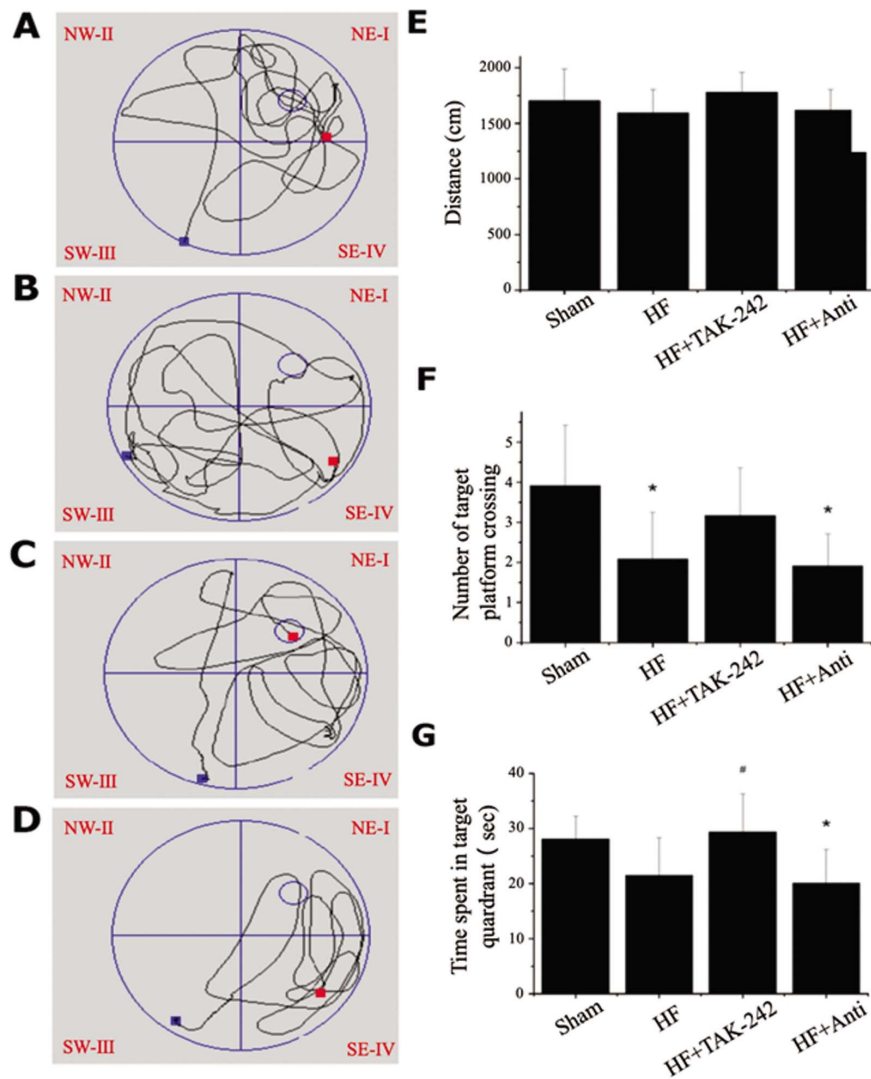


图 5 大鼠认知功能的改变

Fig. 5 Changes in cognitive function in rats.

Note: (A) Sham group spatial probe route. (B) HF group spatial probe route. (C) HF+TAK242 group spatial probe route. (D) HF+Anti group spatial probe route. (E) Analysis of the total distance of the spatial probe in each group of rats. (F) Analysis of the number of target platform crossing in each group of rats. (G) Analysis of the time spend in target quadrants in each group of rats. Results are expressed as the $\bar{x} \pm s$. Compared with the Sham group, the number of target platform crossing in the both HF and HF+Anti groups were significantly reduced ($*P < 0.05$). Compared with HF group, the time spend in target quadrants in HF+TAK242 group was significantly increased ($*P < 0.05$). Compared with the sham group, the time spend in target quadrants in the HF+Anti group was significantly reduced ($*P < 0.05$).

原等细胞外基质^[18],使内皮细胞间的紧密连接受到严重的破坏,进而引起 BBB 通透性的增加,反之下调或阻断 MMP-9 的过表达,将有效减轻脑缺血引起的 BBB 损伤。与这些实验结果一致的是,本实验证明 HF 组脑组织的 MMP-9 蛋白激酶的活性较 Sham 组显著升高,同时伴有 BBB 通透性改变。将本实验的研究成果与以前的实验结果相结合,充分证实了 MMP-9 蛋白激酶激活在 BBB 功能破坏过程中起到至关重要的作用。

NF- κ B 是调控炎症因子表达的重要核转录因子^[19],激活 NF- κ B 是诱导 MMP-9 表达所引起的神经炎症反应和认知功能障碍的关键步骤^[20]。MMP-9 基因的启动子区内含有一个激活蛋白 -1 区和 NF- κ B 区^[21],在静息状态下,NF- κ B 二聚体与它的抑制蛋白 I κ B 相互结合形成三聚体复合物存在于细胞浆内,无生物活性。脑缺血后 I κ B 和 NF- κ B 发生解聚, NF- κ B 激活并进

入核内启动 MMP-9 的 mRNA 转录。TNF- α 和 Fos / Jun dimer (二聚体)等可以与 MMP-9 的 AP-1 启动子区域结合。TNF- α 亦可通过 Fos / Jun dimer 作用于 MMP-9 的基因,进而促进其转录^[22]。有研究表明^[23],当大脑缺血缺氧时即早反应基因 c-fos、c-jun 启动,其表达产物可作用于细胞因子基因的转录位点,引起 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等促炎因子表达的增加^[24]、自由基的增多以及钙离子超载等,诱导炎症蛋白 MMP-9 基因转录和表达。

Toll 样受体是一类跨膜信号转导分子,属于白介素受体超家族成员,通过识别外源性配体和内源性配体^[25],导致下游的接头信号分子 MyD88 或 TRIF 活化,继而引起 NF- κ B 的激活。其中以对 TLR4 的研究较多,有研究表明,TLR4 对脂多糖识别的胞内信号转导通路有接头依赖 MyD88 的信号通路和非依赖 MyD88 的信号通路^[26],这两条通路之间又相互依赖、相互作用,

共同完成 NF- κ B 活化的信号转导^[27]。TRL4 抑制剂 TAK242 又名瑞沙托维,是一种新型的选择性的小分子抑制剂^[28],能迅速分布到组织达到抑制炎症反应的作用。TAK242 是 TLR4 信号通路抑制剂^[29],能特异性的结合 TLR4 胞内区域抑制脂多糖诱导 NF- κ B 活化^[30]。在本实验中术前给予多种抗生素组造成大鼠肠道菌群紊乱而引起炎症反应增加,并进一步加重 HF 后认知功能障碍,而抑制 NF- κ B/MMP-9 炎症通路激活后,大鼠认知功能明显得到改善。

综上所述,NF- κ B/MMP-9 炎症通路激活诱导的血脑屏障通透性改变可能是 HF 后认知功能障碍的作用机制之一,为临床预防和延缓 HF 患者的认知功能障碍,提供重要的理论依据。

参考文献(References)

- [1] Snipelisky D, Chaudhry SP, Stewart GC. The Many Faces of Heart Failure[J]. Card Electrophysiol Clin, 2019, 11(1): 11-20
- [2] Jinawong K, Apaijai N, Chattipakorn N, et al. Cognitive impairment in myocardial infarction and heart failure [J]. Acta Physiologica, 2021, 32(1): e13642
- [3] Toledo C, Andrade DC, HS DÍ az, et al. Neurocognitive Disorders in Heart Failure: Novel Pathophysiological Mechanisms Underpinning Memory Loss and Learning Impairment[J]. Molecular Neurobiology, 2019, 56(12): 1-17
- [4] Profaci CP, Munji RN, Pulido RS, et al. The blood-brain barrier in health and disease: Important unanswered questions [J]. J Exp Med, 2020, 217(4): e2019006
- [5] Wu J, He J, Tian X, et al. microRNA-9-5p alleviates blood-brain barrier damage and neuroinflammation after traumatic brain injury [J]. J Neurochem, 2020, 153(6): 710-726
- [6] Kunnumakkara AB, Shabnam B, Girisa S, et al. Inflammation, NF- κ B, and Chronic Diseases: How are They Linked?[J]. Critical Reviews in Immunology, 2020, 40(1): 1-39
- [7] Chen T, Wang W, Li J R, et al. PARP inhibition attenuates early brain injury through NF- κ B/MMP-9 pathway in a rat model of subarachnoid hemorrhage[J]. Brain Research, 2016, 1644: 32-38
- [8] Hundahl LA, Tfelt-Hansen J, Jespersen T. Rat Models of Ventricular Fibrillation Following Acute Myocardial Infarction[J]. Journal of Cardiovascular Pharmacology & Therapeutics, 2017, 22(6): 514-528
- [9] Couto GK, Paula SM, Gomes-Santos I L, et al. Exercise training induces eNOS coupling and restores relaxation in coronary arteries of heart failure rats[J]. AJP Heart and Circulatory Physiology, 2018, 314(4): H878-H887
- [10] Sun H, Hu H, Liu C, et al. Methods used for the measurement of blood-brain barrier integrity[J]. Metabolic Brain Disease, 2021, 36(5): 723-735
- [11] Lissner LJ, Wartchow KM, Toniazio AP, et al. Object recognition and Morris water maze to detect cognitive impairment from mild hippocampal damage in rats: A reflection based on the literature and experience - ScienceDirect [J]. Pharmacology Biochemistry and Behavior, 2021, 210: 173273
- [12] Abbott NJ, Pizzo ME, Preston JE, et al. The role of brain barriers in fluid movement in the CNS: is there a 'glymphatic' system?[J]. Acta Neuropathologica, 2018, 35(3): 387-407
- [13] Huang X, Hussain B, Chang J. Peripheral inflammation and blood-brain barrier disruption: Effects and mechanisms [J]. CNS neuroscience & therapeutics, 2021, 27(1): 36-47
- [14] Rutkowski J M, Lee L L, Puchowicz M, et al. Reduced cognitive function, increased blood-brain-barrier transport and inflammatory responses, and altered brain metabolites in LDLr-/-and C57BL/6 mice fed a western diet[J]. PLoS One, 2018, 13(2): e0191909
- [15] Cai Z, Qiao P F, Wan C Q, et al. Role of blood-brain barrier in Alzheimer's disease [J]. Journal of Alzheimer's Disease, 2018, 63(4): 1223-1234
- [16] Rempe R G, Hartz A M S, Bauer B. Matrix metalloproteinases in the brain and blood-brain barrier: versatile breakers and makers [J]. Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism, 2016, 36(9): 1481-1507
- [17] Reszec J, Hermanowicz A, Rutkowski R, et al. Expression of MMP-9 and VEGF in meningiomas and their correlation with peritumoral brain edema[J]. BioMed Research International, 2015, 2015: 646853
- [18] Singh S, Houg A K, Reed G L. Matrix metalloproteinase-9 mediates the deleterious effects of α 2-antiplasmin on blood-brain barrier breakdown and ischemic brain injury in experimental stroke [J]. Neuroscience, 2018, 376: 40-47
- [19] Barnabei L, Laplantine E, Mbongo W, et al. NF- κ B: at the borders of autoimmunity and inflammation [J]. Frontiers in Immunology, 2021, 12: 716469
- [20] Wu X, Fu S, Liu Y, et al. NDP-MSH binding melanocortin-1 receptor ameliorates neuroinflammation and BBB disruption through CREB/Nr4a1/NF- κ B pathway after intracerebral hemorrhage in mice [J]. Journal of neuroinflammation, 2019, 16(1): 1-13
- [21] Liu D, Zhang R, Wu J, et al. Interleukin-17A promotes esophageal adenocarcinoma cell invasiveness through ROS-dependent, NF- κ B-mediated MMP-2/9 activation[J]. Oncology Reports, 2017, 37(3): 1779-1785
- [22] Waheed Roomi M, Kalinovsky T, Rath M, et al. Failure of matrix metalloproteinase-9 dimer induction by phorbol 12-myristate 13-acetate in normal human cell lines [J]. Oncology letters, 2015, 9(6): 2871-2873
- [23] Gupta S, Kumar P, Kaur H, et al. Constitutive activation and overexpression of NF- κ B/c-Rel in conjunction with p50 contribute to aggressive tongue tumorigenesis[J]. Oncotarget, 2018, 9(68): 33011
- [24] Chan L P, Liu C, Chiang F Y, et al. IL-8 promotes inflammatory mediators and stimulates activation of p38 MAPK/ERK-NF- κ B pathway and reduction of JNK in HNSCC[J]. Oncotarget, 2017, 8(34): 56375
- [25] Mohamed M E, Kandeel M, Abd El-Lateef H M, et al. The Protective Effect of Anethole against Renal Ischemia/Reperfusion: The Role of the TLR2, 4/MYD88/NF κ B Pathway [J]. Antioxidants, 2022, 11(3): 535
- [26] Rahimifard M, Maqbool F, Moeini-Nodeh S, et al. Targeting the TLR4 signaling pathway by polyphenols: a novel therapeutic strategy for neuroinflammation[J]. Ageing research reviews, 2017, 36: 11-19
- [27] Zhang J, Peng K, Zhang J, et al. Dexmedetomidine preconditioning may attenuate myocardial ischemia/reperfusion injury by down-regulating the HMGB1-TLR4-MyD88-NF- κ B signaling pathway[J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0172006

- fusion injury by daucosterol palmitate-induced neuronal apoptosis inhibition via PI3K/Akt/mTOR signaling pathway[J]. *Metab Brain Dis*, 2020, 35(6): 1035-1044
- [13] Suzuki H, Kanamaru H, Kawakita F, et al. Cerebrovascular pathophysiology of delayed cerebral ischemia after aneurysmal subarachnoid hemorrhage[J]. *Histol Histopathol*, 2021, 36(2): 143-158
- [14] Sandroni C, Cronberg T, Sekhon M. Brain injury after cardiac arrest: pathophysiology, treatment, and prognosis. *Intensive Care Med* [J]. 2021, 47(12): 1393-1414
- [15] 袁鑫茹, 张丹参, 景永帅. PI3K/Akt 信号通路对脑缺血再灌注损伤的作用机制[J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2021, 35(9): 672
- [16] 王钢, 陈琼芳, 杨秀芬. 大鼠脑缺血再灌注损伤模型的研究进展 [C]. // 第十二届中国实验动物科学年会论文集, 2016: 168-168
- [17] 李娜, 王平, 孙铁锋, 等. 半枝莲化学成分, 药理作用及质量控制研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2020, 45(21): 5117-5128
- [18] 袁文婷, 肖茂良, 肖锋. 半枝莲提取物通过 PI3K-Akt 信号通路抑制胰腺癌模型大鼠肿瘤生长的机制研究 [J]. *陕西中医*, 2021, 42(12): 1676-1679
- [19] 张立波, 姚袁媛, 王清勇, 等. 半枝莲总黄酮调控 RIP1/RIP3 通路减轻急性脑梗死缺血再灌注大鼠大脑皮层神经元的损伤[J]. *中医学报*, 2020, 35(7): 1476-1484
- [20] Li X, Cheng S, Hu H, et al. Progranulin protects against cerebral ischemia-reperfusion (I/R) injury by inhibiting necroptosis and oxidative stress[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2020, 521(3): 569-576
- [21] Meng L, Zhang Y, Li D, et al. TIMP3 attenuates cerebral ischemia/reperfusion-induced apoptosis and oxidative stress in neurocytes by regulating the AKT pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2021, 22(3): 973
- [22] Wanchao S, Chen M, Zhiguo S, et al. Protective effect and mechanism of *Lactobacillus* on cerebral ischemia reperfusion injury in rats [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2018, 51(7): e7172
- [23] Ji Y, Gao Y, Chen H, et al. Indole-3-Acetic Acid Alleviates Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Mice via Attenuation of Hepatic Lipogenesis, and Oxidative and Inflammatory Stress [J]. *Nutrients*, 2019, 11(9): 2062
- [24] 王桂玲, 费洪荣, 赵雪梅, 等. 半枝莲和白花蛇舌草药对总黄酮的富集及其抗氧化和抑菌作用 [J]. *华西药学杂志*, 2021, 36(3): 268-275
- [25] Xu Z, Han X, Ou D, et al. Targeting PI3K/AKT/mTOR-mediated autophagy for tumor therapy [J]. *Appl Microbiol Biotechnol*, 2020, 104(2): 575-587
- [26] Xian M, Cai J, Zheng K, et al. Aloe-emodin prevents nerve injury and neuroinflammation caused by ischemic stroke via the PI3K/AKT/mTOR and NF- κ B pathway[J]. *Food Funct*, 2021, 12(17): 8056-8067
- [27] 田庆鑫, 张明晓, 刘建龙. 大黄酒酸对脑缺血再灌注损伤的影响及潜在机制研究[J]. *浙江医学*, 2021, 43(21): 2316-2321
- [28] 罗苑, 段小花, 杨丽萍, 等. 线粒体自噬相关信号通路和蛋白在脑缺血再灌注损伤中的作用及机制研究进展[J]. *山东医药*, 2022, 62(14): 112-115
- [29] 崔江波, 杨静, 王培福, 等. 蒿本内酯介导 PI3K/AKT/mTOR 信号通路对脑缺血再灌注损伤大鼠的神经保护机制研究[J]. *川北医学院学报*, 2021, 36(7): 826-831
- (上接第 3433 页)
- [28] Jing N, Fang B, Li Z, et al. Exogenous activation of cannabinoid-2 receptor modulates TLR4/MMP9 expression in a spinal cord ischemia reperfusion rat model[J]. *Journal of Neuroinflammation*, 2020, 17(1): 1-14
- [29] Zhong X, Xiao Q, Liu Z, et al. TAK242 suppresses the TLR4 signaling pathway and ameliorates DCD liver IRI in rats [J]. *Molecular Medicine Reports*, 2019, 20(3): 2101-2110
- [30] Wang X, Lu Y, Sun Y, et al. TAK-242 protects against apoptosis in coronary microembolization-induced myocardial injury in rats by suppressing TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2017, 41(4): 1675-1683