

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.23.004

## 小檗碱对缺血性脑梗死大鼠氧化应激 / 炎症反应、血管生成的作用研究 \*

欧阳海艳<sup>1</sup> 陈偶英<sup>1</sup> 张慧萍<sup>2</sup> 张长应<sup>2</sup> 单 辉<sup>3</sup> 吴石星<sup>2Δ</sup>

(1 湖南中医药大学 湖南长沙 410208; 2 湖南省脑科医院神经内科 湖南长沙 410007;

3 湖南省财贸医院麻醉手术科 湖南长沙 410011)

**摘要 目的:**探讨小檗碱对缺血性脑梗死大鼠氧化应激 / 炎症反应、血管生成的作用。**方法:**选取 60 只 SPF 级 SD 大鼠,随机分为对照组、模型组和小檗碱组各 20 只。建立大鼠脑缺血再灌注损伤模型。术后及给药后 7d 采用 Longa 标准评分评估大鼠神经功能。检测各组大鼠脑组织的抗氧化活性和炎症因子水平。采用免疫组化检测脑缺血再灌注皮质微血管密度(MVD)。采用实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测低氧诱导生长因子-1 (HIF-1)和血管内皮生长因子(VEGF) mRNA 表达水平。采用蛋白免疫印迹试验检测 VEGF 和 HIF-1 蛋白表达水平。**结果:**模型组和小檗碱组大鼠术后具有神经功能缺损症状表现,Longa 评分均高于对照组。给药 7 d 后,模型组和小檗碱组大鼠 Longa 评分均高于对照组( $P<0.05$ ),且小檗碱组大鼠 Longa 评分低于模型组( $P<0.05$ )。与对照组比较,模型组丙二醛(MDA)水平显著升高,而谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和超氧化物歧化酶(SOD)活性显著降低( $P<0.05$ )。与模型组比较,小檗碱组 MDA 水平显著降低,而 GSH-Px 和 SOD 活性显著升高( $P<0.05$ )。与对照组比较,模型组白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平显著升高( $P<0.05$ )。与模型组比较,小檗碱组 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 水平显著降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。给药 7 d 后,模型组和小檗碱组 MVD、VEGF mRNA 和 HIF-1 mRNA 表达水平均高于对照组( $P<0.05$ ),而小檗碱组 MVD、VEGF mRNA 和 HIF-1 mRNA 表达水平高于模型组 ( $P<0.05$ )。给药 7 d 后,小檗碱组和模型组 VEGF 和 HIF-1 蛋白表达水平均高于对照组( $P<0.05$ ),而小檗碱组 VEGF 和 HIF-1 蛋白表达水平高于模型组( $P<0.05$ )。**结论:**小檗碱通过抑制氧化应激 / 炎症反应、促进血管生成从而达到脑保护作用,其机制可能与激活 HIF-1 / VEGF 信号通路有关。

**关键词:**小檗碱;缺血性脑梗死;大鼠;氧化应激;炎症反应;血管生成

中图分类号:R-33;R743 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2022)23-4417-06

## Effect of Berberine on Oxidative Stress/Inflammatory Response and Angiogenesis in Rats with Ischemic Cerebral Infarction\*

OUYANG Hai-yan<sup>1</sup>, CHEN Ou-ying<sup>1</sup>, ZHANG Hui-ping<sup>2</sup>, ZHANG Chang-ying<sup>2</sup>, SHAN Hu<sup>3</sup>, WU Shi-xing<sup>2Δ</sup>

(1 Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha, Hunan, 410208, China; 2 Department of Neurology, Hunan Brain Hospital, Changsha, Hunan, 410007, China; 3 Department of Anesthesiology and Surgery, Hunan Finance and Trade Hospital, Changsha, Hunan, 410011, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the effect of berberine on oxidative stress/inflammation and angiogenesis in rats with ischemic cerebral infarction. **Methods:** Sixty SPF SD rats were randomly divided into control group, model group and berberine group with 20 rats each. To establish cerebral ischemia-reperfusion injury model in rats. The neurological function of rats was evaluated by Longa standard score after surgery and 7 d after administration. The levels of antioxidant activity and inflammatory factors in brain tissues of rats in each group were detected. Cortical microvascular density (MVD) was detected by immunohistochemistry. The mRNA expression levels of hypoxia-inducible factor-1 (HIF-1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) were detected by real-time quantitative polymerase chain reaction (QRT-PCR). The protein expression levels of VEGF and HIF-1 were detected by western blot assay. **Results:** The rats in the model group and the berberine group had postoperative neurological deficit symptoms, and the Longa score was higher than that in the control group ( $P<0.05$ ). After 7 days of administration, the Longa scores of the rats in the model group and the berberine group were higher than those in the control group ( $P<0.05$ ), and the Longa scores of the rats in the berberine group were lower than those in the model group ( $P<0.05$ ). Compared with control group, malondialdehyde (MDA) level in model group was significantly increased, while glutathioneperoxidase(GSH-Px) and superoxidedismutase(SOD) activities were significantly decreased ( $P<0.05$ ). Compared with model group, the level of MDA in berberine group was significantly decreased, while the activities of GSH-Px and SOD were significantly increased( $P<0.05$ ). Compared with control group, the levels of interleukin-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ ) and tumor necrosis factor- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ ) in model group were significantly increased ( $P<0.05$ ). Compared with model group, the levels of IL-1 $\beta$  and TNF- $\alpha$  in berberine group were significantly

\* 基金项目:湖南省卫生健康委科研计划项目(20200919)

作者简介:欧阳海艳(1990-),女,硕士研究生,从事神经内科方向的研究,E-mail: oyhy2022@163.com

Δ 通讯作者:吴石星(1982-),女,硕士,副主任医师,从事神经内科方向的研究,E-mail: sjbqc2022@163.com

(收稿日期:2022-03-23 接受日期:2022-04-18)

decreased ( $P<0.05$ ). After 7 days of administration, the expression levels of MVD, VEGF mRNA and HIF-1 mRNA in berberine group and model group were higher than those in control group ( $P<0.05$ ), and the expression levels of MVD, VEGF mRNA and HIF-1 mRNA in berberine group were significantly higher than those in model group ( $P<0.05$ ). After 7 days of administration, the expression levels of VEGF and HIF-1 protein in berberine group and model group were higher than those in control group ( $P<0.05$ ), and the expression levels of VEGF and HIF-1 protein in berberine group were significantly higher than that in model group ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** Berberine inhibits oxidative stress/inflammation and promotes angiogenesis to achieve brain protection, which may be related to the activation of HIF-1/VEGF signaling pathway.

**Key words:** Berberine; Ischemic cerebral infarction; Rat; Oxidative stress; Inflammatory response; Angiogenesis

**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; R743 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2022)23-4417-06

## 前言

急性缺血性脑梗死是较常见的卒中类型,占全部脑卒中的60%-80%,具有较高的致死率和致残率<sup>[1,2]</sup>。因此早发现、早诊断、早治疗及早期预防再发极为重要,特别是急性缺血性脑梗死1 h以后,缺血缺氧脑组织会存在缺血半暗带,在此时间窗内及时治疗可减少细胞凋亡的发生,能减轻脑梗死的范围和程度<sup>[3]</sup>。而临床上治疗急性缺血性脑梗死主要采用静脉溶栓等方法恢复血液再灌注,治疗过程中常常会出现脑缺血再灌注损伤,如何减轻脑缺血再灌注损伤这一病理生理过程则显得尤为重要<sup>[4,5]</sup>。小檗碱主要从黄连中提取得到,是一种异喹啉类生物碱,因其具有多种生化和药理作用,在临床上广泛应用<sup>[6]</sup>。氧化应激时脑组织中氧自由基和脂质过氧化物更容易堆积,同时有害物质的清除能力会降低,致使这些物质损伤神经元细胞,导致细胞凋亡<sup>[7]</sup>。缺血性脑梗死初期大量脑细胞坏死会伴随有炎症细胞因子的过表达,激活炎症的级联反应进而损伤脑组织<sup>[8]</sup>。在低氧或缺血条件下,低氧诱导生长因子-1(hypoxia-inducible factor-1, HIF-1)可促进血管内皮细胞生长因子基因转录,增加氧输送能力,能够调节血管生成,在神经细胞修复及成活中发挥重要作用<sup>[9]</sup>。既往有研究显示小檗碱可显著减少脑梗死区细胞凋亡,减轻脑缺血再灌注损伤<sup>[10]</sup>,但小檗碱对脑组织的保护机制尚未完全阐明,对脑缺血再灌注损伤的氧化应激/炎症反应、血管生成作用的影响鲜有报道。因此,本实验通过小檗碱对缺血性脑梗死大鼠氧化应激/炎症反应、血管生成的作用进行研究,探讨其可能的作用机制,以期对缺血性脑梗死的临床治疗提供新方向。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及分组

无特定病原体动物(SPF)级SD大鼠60只,190-210 g,平均体重( $200\pm 5$ )g,由广西医科大学动物实验中心提供。大鼠每日自由作息与饮食,光照/黑暗周期为12 h,光照适度,通风良好。实验室适应喂养一周后,60只大鼠随机分为对照组、模型组和小檗碱组各20只。

### 1.2 大鼠脑缺血再灌注损伤模型

建立大鼠脑缺血再灌注损伤模型主要步骤为:对照组大鼠不做任何处理。模型组和小檗碱组大鼠均采用腹腔注射10%水合氯醛(350 mg/kg)麻醉,仰卧位固定大鼠,从颈部正中切开皮肤,分离肌肉和筋膜组织,暴露右侧颈总动脉,剪开颈动脉鞘,

分离颈内外动脉并结扎颈总动脉和颈内动脉干,颈内动脉近端用消毒线结扎,在结扎的颈内动脉上切开一个小切口。同时,将一根线置于颈内动脉下备用,缝合入切口,松结收紧,取出颈内动脉夹钳,沿颈内动脉插入18 mm或遇阻力停止缝合。插入位置保持静止45 min后拔线,取小动脉钳45 min后再通,45 min后再行类似堵塞,重复3次,缝合伤口并消毒。术后24 h,两组大鼠均出现左前肢内收,尾悬吊时左前爪不能伸展,行走时左旋,可判定建模成功。建模成功后小檗碱组给予小檗碱2 mg/(kg·d)稀释至4 mL腹腔注射,每日1次,连用7 d。对照组和模型组则腹腔注射等量的0.9%氯化钠注射液。

### 1.3 神经功能评分

对3组大鼠进行神经功能评分,术后及连续给药7 d后采用Longa标准评分<sup>[11]</sup>。评分标准:0分:大鼠无神经功能缺损症状;1分:前爪不能完全伸展;2分:向对侧转圈循环行走;3分:行走时向对侧倾斜;4分:失去知觉,不能爬行。分数越高,损害越严重,Longa评分1-4分提示建模成功。

### 1.4 脑组织抗氧化活性、炎症因子水平的检测

末次腹腔注射后1 h,每组取5只大鼠,腹腔注射10%水合氯醛麻醉(350 mg/kg)后断头取脑,将部分脑组织称重后加入10倍量预冷生理盐水,匀浆后制备10%脑组织匀浆液,在3000 r/min、4℃条件下离心5 min后取上清液并置于冰箱中保存。按试剂盒操作步骤,脑组织丙二醛(MDA)水平及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和超氧化物歧化酶(SOD)活性采用分光光度法测定,白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )水平采用放射免疫法测定。

### 1.5 免疫组化检测脑缺血再灌注皮质微血管密度(MVD)

末次腹腔注射后1 h,每组取5只大鼠,腹腔注射10%水合氯醛麻醉(350 mg/kg),麻醉后取出脑组织,10%甲醛固定,石蜡包埋,切片,脱蜡,热固定, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>密封。加入CD34(1:800)、VEGF(1:800)和HIF-1(1:800)抗体后,在4℃条件下孵化一夜。第二抗体室温孵育30 min,显影,再染色,恢复蓝色,脱水,裱片,成膜。采用WEIDNER法<sup>[12]</sup>计算右侧大脑前、中动脉支配皮层MVD。

### 1.6 实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR)检测

采用qRT-PCR检测HIF-1和VEGF mRNA表达水平。末次腹腔注射后1 h,每组取5只大鼠,腹腔注射10%水合氯醛(350 mg/kg)麻醉,提取脑缺血再灌注损伤脑组织总RNA。按照说明书使用Trizol试剂提取总RNA,将提取的总RNA反转录成互补cDNA,以cDNA为模板进行扩增。一个反应周期为:

95℃变性 5 min, 94℃变性 30 s, 56-60℃梯度退火 30 s, 72℃延伸 40 s。按照上述反应条件,每反应一个循环,连续进行 35 个循环。反应得到的产物经琼脂糖凝胶电泳分离,扫描分离凝胶带的吸光度,并将各自 mRNA 的相对含量与参考吸光度值进行比较。HIF-1 上游引物: AACAAACAG AATCTGTCCT-CAAACC, 下游引物: CAGGTAATGGAGACATTGCCAG。VEGF 上游引物: GGCCTCTGAAACCATGAACT, 下游引物: ATGCTGCAGGAAGCTCATCT。β-actin 上游引物: AGTGTGACGTGGACATCCGAAAG, 下游引物: ACTCACATCTGCTGGAAGGTGGAC。

1.7 蛋白免疫印迹试验 (Western Blot)

采用 Western Blot 检测 VEGF 和 HIF-1 蛋白表达水平。末次腹腔注射后 1 h, 每组取 5 只大鼠, 腹腔注射 10%水合氯醛 (350 mg/kg)麻醉,然后取出大鼠脑组织并匀浆。提取总蛋白,变性后将样品加入到 SDS-PAGE 凝胶中,进行电泳(间隔液凝胶 100V,分离凝胶 120V)和膜转移(200 mA, 80 min)到醋酸纤

维素膜上。2 h 后堵塞,VEGF 和 HIF-1 主要抗体在 4℃条件下孵育一夜,二级抗体在室温下孵育 60 min,涂上 ECL 发光试剂。化学发光剂显影曝光,以 GAPDH 为内参,扫描各带的吸光度,采用 Image J 18.0 软件分析条带灰度值。

1.8 统计学方法

采用 SPSS26.0 统计分析软件。神经功能、氧化应激 / 炎症反应指标等计量资料采用均数± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示及 t 检验。多组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组大鼠神经功能评分

对照组大鼠术后及给药 7 d 后均无神经功能缺损症状,模型组和小檗碱组大鼠术后具有神经功能缺损症状表现,Longa 评分均高于对照组( $P < 0.05$ )。给药 7 d 后,模型组和小檗碱组大鼠 Longa 评分均高于对照组 ( $P < 0.05$ ),且小檗碱组大鼠 Longa 评分低于模型组( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 三组大鼠 Longa 评分比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of Longa score of three groups of rats( $\bar{x} \pm s$ )

Groups	n	After operation	After 7 days of administration
Control group	20	0.00± 0.00	0.00± 0.00
Model group	20	2.24± 0.17*	3.10± 0.34*
Berberine group	20	2.27± 0.20*	1.22± 0.16**
F value		2.064	83.149
P value		1.308	0.000

Note: \*indicates comparison with the control group at the same time,  $P < 0.05$ ; #indicates comparison with the model group after 7 days of administration,  $P < 0.05$ .

2.2 三组大鼠氧化应激水平比较

与对照组比较,模型组 MDA 水平显著升高,而 GSH-Px 和 SOD 活性显著降低( $P < 0.05$ )。与模型组比较,小檗碱组 MDA

水平显著降低,而 GSH-Px 和 SOD 活性显著升高( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 三组大鼠氧化应激水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 2 Comparison of oxidative stress levels in three groups of rats( $\bar{x} \pm s$ )

Groups	n	MDA(nmol·mg prot <sup>-1</sup> )	GSH-Px(U·mg prot <sup>-1</sup> )	SOD(U·mg prot <sup>-1</sup> )
Control group	5	10.56± 1.30	96.24± 10.77	234.56± 27.49
Model group	5	19.64± 2.71*	38.49± 5.39*	114.68± 13.05*
Berberine group	5	15.22± 1.58**	73.46± 8.19**	187.35± 18.54**
F value		26.824	59.835	43.082
P value		<0.001	<0.001	<0.001

Note: \*indicates model group and berberine group compared with the control group,  $P < 0.05$ ; #indicates berberine group compared with the model group,  $P < 0.05$ .

2.3 三组大鼠炎症反应水平比较

与对照组比较,模型组 IL-1β、TNF-α 水平显著升高 ( $P < 0.05$ )。与模型组比较,小檗碱组 IL-1β、TNF-α 水平显著降低 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

2.4 三组大鼠 MVD、VEGF mRNA 和 HIF-1 mRNA 表达水平

给药 7 d 后,三组大鼠脑缺血再灌注组织中 MVD、VEGF mRNA 和 HIF-1 mRNA 表达水平差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。模型组和小檗碱组 MVD、VEGF mRNA 和 HIF-1 mRNA 表达水平均高于对照组( $P < 0.05$ ),而小檗碱组 MVD、VEGF mRNA 和 HIF-1 mRNA 表达水平高于模型组( $P < 0.05$ )。见表 4。

表 3 三组大鼠炎症反应水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 3 Comparison of inflammatory response levels in three groups of rats( $\bar{x} \pm s$ )

Groups	n	IL-1 $\beta$ (pg·mg prot <sup>-1</sup> )	TNF- $\alpha$ (mg·mg prot <sup>-1</sup> )
Control group	5	23.57 $\pm$ 3.11	131.47 $\pm$ 15.68
Model group	5	55.68 $\pm$ 7.14*	226.38 $\pm$ 26.97*
Berberine group	5	35.27 $\pm$ 5.44**	167.85 $\pm$ 20.15**
F value		43.895	24.936
P value		<0.001	<0.001

Note: \*indicates model group and berberine group compared with the control group,  $P < 0.05$ ; \*\*indicates berberine group compared with the model group,  $P < 0.05$ .

表 4 三组大鼠 MVD、VEGF mRNA 和 HIF-1 mRNA 表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 4 Comparison of the expression levels of MVD, VEGF mRNA and HIF-1 mRNA of three groups of rats( $\bar{x} \pm s$ )

Groups	n	MVD(strips/mm <sup>2</sup> )	VEGF mRNA	HIF-1 $\alpha$ mRNA
Control group	5	6.82 $\pm$ 0.53	0.251 $\pm$ 0.040	0.174 $\pm$ 0.040
Model group	5	12.30 $\pm$ 1.47*	0.408 $\pm$ 0.090*	0.325 $\pm$ 0.080*
Berberine group	5	17.06 $\pm$ 1.92**	0.685 $\pm$ 0.100**	0.512 $\pm$ 0.090**
F value		92.183	88.064	77.346
P value		0.000	0.000	0.000

Note: \*indicates model group and berberine group compared with the control group,  $P < 0.05$ ; \*\*indicates berberine group compared with the model group,  $P < 0.05$ .

### 2.5 三组大鼠 VEGF 和 HIF-1 蛋白表达水平

给药 7 d 后, 三组大鼠脑缺血再灌注组织中 VEGF 和 HIF-1 蛋白表达水平差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。小檗碱组和

模型组 VEGF 和 HIF-1 蛋白表达水平均高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 而小檗碱组 VEGF 和 HIF-1 蛋白表达水平高于模型组 ( $P < 0.05$ )。见表 5、图 1。

表 5 三组大鼠 VEGF 和 HIF-1 蛋白表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 5 Comparison of VEGF and HIF-1 protein expression levels of three groups of rats( $\bar{x} \pm s$ )

Groups	n	VEGF protein	HIF-1 protein
Control group	5	0.384 $\pm$ 0.060	0.126 $\pm$ 0.020
Model group	5	0.593 $\pm$ 0.080*	0.307 $\pm$ 0.050*
Berberine group	5	0.812 $\pm$ 0.100**	0.731 $\pm$ 0.090**
F value		70.184	81.642
P value		0.000	0.000

Note: \*indicates model group and berberine group compared with the control group,  $P < 0.05$ ; \*\*indicates berberine group compared with the model group,  $P < 0.05$ .

## 3 讨论

由于局部脑组织区域血液供应障碍, 急性缺血性脑梗死患者脑组织中的神经细胞因缺血缺氧而发生变性、坏死、凋亡, 出现一系列生理改变, 炎症反应、氧化应激、细胞程序性死亡等, 从而引起神经功能受到严重损害, 具有致死、致残的风险<sup>[13,14]</sup>。若缺血脑组织血供能得到恢复, 则受损的脑功能可得到很大程度的恢复。氧化应激和炎症反应在缺血再灌注的脑组织损伤中具有关键作用。氧化应激会引起活性氧过度激活、自由基异常增多, 致使核酸、脂质和蛋白质等过度氧化, 但脑组织自身缺少

抗氧化物质, 从而引起 DNA 氧化损伤进而促进细胞凋亡<sup>[15,16]</sup>。炎症反应在脑缺血再灌注损伤中会导致毒性酶激活、自由基超载等, 从而引起大量炎症细胞因子的释放, 加重脑组织损伤<sup>[17,18]</sup>。而血管新生可增加缺血部位供血, 改善缺血缺氧状态, 减轻脑缺血再灌注损伤<sup>[19]</sup>。因此在临床应用中通过外部因素刺激缺血部位的血管生成、同时抑制氧化应激和炎症反应, 可有效改善缺血部位脑组织的损伤。小檗碱是一种临床使用非常安全的中药, 其药理作用可靠, 较多研究证实小檗碱直接应用于临床治疗缺血性脑梗死已取得较好的效果, 具有保护神经的作用, 可能通过抑制神经元凋亡或者死亡, 促进血管生成, 保护缺血

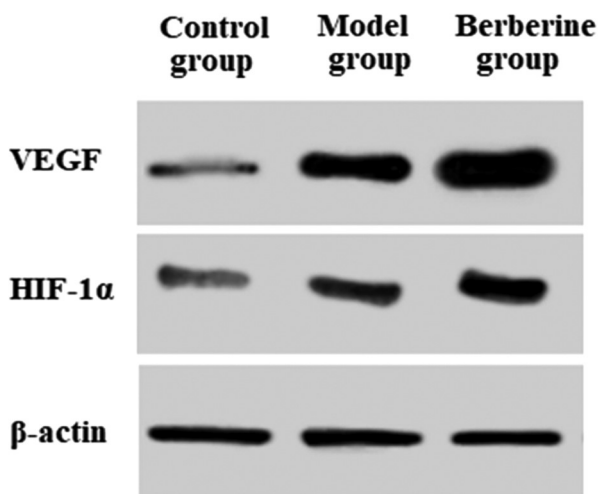


图1 三组大鼠 VEGF 和 HIF-1 蛋白表达的 Western Blot 图

Fig.1 Western Blot of VEGF and HIF-1 protein expression of three groups of rats

半暗带而达到治疗的作用<sup>[20-22]</sup>。此外,小檗碱能穿透血脑屏障直接作用于神经细胞,因此在脑缺血的保护中受到越来越多的关注<sup>[23]</sup>。但其具体信号途径作用机制尚不清晰,因此本实验旨在通过小檗碱对缺血性脑梗死大鼠氧化应激/炎症反应、血管生成的作用进行研究,探讨其可能的作用机制。

本研究结果显示,小檗碱组给药后大鼠脑缺血再灌注损伤的神经功能评分低于模型组,MDA 水平降低,而 GSH-Px 和 SOD 活性升高,IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  水平降低,MVD 升高,VEGF、HIF-1 的 mRNA 和蛋白表达水平均高于模型组,提示小檗碱能有效恢复大鼠脑缺血再灌注损伤的神经功能,抑制氧化应激和炎症反应水平,促进血管生成,并通过上调 HIF-1,促进 VEGF 表达,从而在脑缺血再灌注损伤起到保护作用。分析认为小檗碱作为一种天然的提取物,具有广泛的药理作用。研究表明,低剂量小檗碱能显著提高 PC12 细胞活力,保护 PC12 细胞免受 6-ohda 诱导的细胞毒性和凋亡,其机制是通过上调 PI3K/Akt/Bcl-2 细胞存活和 Nrf2/HO-1 抗氧化信号通路来发挥神经的保护作用,而高剂量小檗碱能抑制细胞活力<sup>[24]</sup>。孙胜男等<sup>[25]</sup>研究小檗碱对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 损伤大鼠神经干细胞增殖的影响,结果显示,小檗碱组(5  $\mu$ mol $\cdot$ L<sup>-1</sup>)明显增强细胞活力,提高 NSCs 的平均直径,上调 Ki67、Notch1、Hes1 蛋白表达水平,发挥促增殖的作用可能是通过调节 Notch 信号通路实现的。脑缺血再灌注损伤的主要作用机制是氧化应激,MDA 作为氧化反应的终产物直接反应了氧化应激的程度,GSH-Px 和 SOD 则是抗氧化物酶,具有保护细胞免受氧化损伤的作用<sup>[26]</sup>。在脑缺血再灌注损伤时,脑组织内会分泌大量的炎性细胞(如 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$  等),直接或间接加重脑组织损伤<sup>[27]</sup>。在机体缺血缺氧状态时,刺激机体产生和分泌 HIF-1、VEGF,VEGF 可促进血管内皮细胞增殖,VEGF 表达水平的增加,对血管内皮细胞表面的 VEGFR1 和 VEGFR2 形成作用,激活一系列缺氧转导通路,造成新生血管生成<sup>[28,29]</sup>。而 VEGF 是 HIF-1 的下游靶基因,HIF-1 的过度表达,对于下游靶基因 VEGF 的表达也起到诱发作用,HIF-1 通过上调其下游的靶基因 VEGF,参与了急性缺血性脑梗死导致的神经细胞损伤,致使 VEGF 表达进一步增强,活化的

HIF-1 与靶基因上的 HIF-1 结合位点结合,形成转录起始复合物,从而启动靶基因转录和相应的蛋白产物增加<sup>[30,31]</sup>。因此小檗碱对中枢神经系统具有较好的保护作用,具有良好的应用前景。

综上所述,小檗碱通过抑制氧化应激/炎症反应,促进血管生成,促进大鼠缺血性脑梗死后血管生成和神经细胞修复,从而达到脑保护作用,其机制可能与激活 HIF-1/VEGF 信号通路有关。

#### 参考文献(References)

- [1] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2018 [J]. 中华神经科杂志, 2018, 51(9): 666-682
- [2] Tian Y, Su G, Liu JF, et al. Rodent models for intravascular ischemic cerebral infarction: a review of influencing factors and method optimization[J]. Neuroreport, 2020, 31(16): 1154-1160
- [3] 张爱萍,吕进,张莹莹,等.神经元限制性沉默因子在缺血再灌注脑损伤中的机制研究进展 [J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2020, 22(1): 103-105
- [4] Wu MY, Yang GT, Liao WT, et al. Current Mechanistic Concepts in Ischemia and Reperfusion Injury [J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 46(4): 1650-1667
- [5] 刘刚,门运政,童旭辉,等.线粒体融合与裂变在右美托咪定减轻小鼠脑缺血再灌注损伤中的作用及其机制 [J]. 南方医科大学学报, 2020, 40(4): 463-468
- [6] 邢宇,刘鑫,林园,等.小檗碱药理作用及其临床应用研究进展[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2017, 31(6): 491-502
- [7] 薛芳,王娟,彭立威,等.缺血性脑梗死再灌注损伤的作用机制的研究进展[J]. 川北医学院学报, 2021, 36(1): 133-136
- [8] 郭苏兰,李佳娜,肖水秀. 贝母素甲对小鼠脑缺血再灌注损伤炎症反应及自噬的影响[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(21): 5347-5350
- [9] Simental-Mendoza M, Sánchez-García A, Vilchez-Cavazos F, et al. Effect of glucosamine and chondroitin sulfate in symptomatic knee osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis of randomized placebo-controlled trials[J]. Rheumatol Int, 2018, 38(8): 1413-1428
- [10] 符芸琦,邱晓堂,杨文奎,等.小檗碱干预 2 型糖尿病模型大鼠脑缺血再灌注损伤[J].中国组织工程研究, 2020, 24(2): 230-235
- [11] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91
- [12] Weidner N, Folkman J, Pozza F, et al. Tumor angiogenesis: a new significant and independent prognostic indicator in early-stage breast carcinoma[J]. J Natl Cancer Inst, 1992, 84(24): 1875-1887
- [13] 李如静,金香兰.急性缺血性脑卒中氧治疗的研究进展[J].医学综述, 2020, 26(2): 306-310
- [14] Raychev R, Saber H, Saver JL, et al. Impact of eloquent motor cortex-tissue reperfusion beyond the traditional thrombolysis in cerebral infarction (TICI) scoring after thrombectomy[J]. J Neurointerv Surg, 2021, 13(11): 990-994
- [15] 周林甫,石亚军,焦亚楠,等.红景天苷对大鼠脑缺血再灌注氧化应激损伤的保护作用[J].神经解剖学杂志, 2018, 34(5): 561-566
- [16] 韩亚非,余婷. 苦参素对脑缺血再灌注模型大鼠氧化应激和炎症反应的影响[J]. 国际中医中药杂志, 2018, 40(8): 727-732
- [17] 郭苏兰,李佳娜,肖水秀. 贝母素甲对小鼠脑缺血再灌注损伤炎症反应及自噬的影响[J]. 中国老年学杂志, 2019, 39(21): 5347-5350

- [18] 邓之婧,陈家欢,黄志明,等. 二氢杨梅素对小鼠局灶性脑缺血再灌注损伤炎症反应的影响 [J]. 中风与神经疾病杂志, 2016, 33(11): 973-975
- [19] 鄢午龙,张艳明,傅燕飞,等. 超声造影评估脑梗死患者颈动脉滋养血管新生的特点[J]. 临床超声医学杂志, 2017, 19(12): 827-830
- [20] 刘鹏,张敬伟,王尚珍,瑞舒伐他汀联合盐酸小檗碱对急性缺血性脑梗死患者相关指标的影响[J]. 中国药房, 2017, 28(24): 3383-3386
- [21] 柴美静,王欢,李迎,等. 小檗碱对脑梗死患者颈动脉粥样硬化斑块稳定性及血清基质金属蛋白酶-9和氧化低密度脂蛋白的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2017, 27(5): 47-53
- [22] 陈春花,胡琴,杨磊,等. 小檗碱对局部脑缺血组织中 HIF-1 $\alpha$  表达的影响[J]. 解剖学报, 2007, 38(4): 394-399
- [23] Yang J, Yan H, Li S, et al. Berberine Ameliorates MCAO Induced Cerebral Ischemia/Reperfusion Injury via Activation of the BD-NF-TrkB-PI3K/Akt Signaling Pathway [J]. Neurochem Res, 2018, 43(3): 702-710
- [24] Zhang C, Li C, Chen S, et al. Berberine protects against 6-OHDA-induced neurotoxicity in PC12 cells and zebrafish through hormetic mechanisms involving PI3K/AKT/Bcl-2 and Nrf2/HO-1 pathways[J]. Redox Biol, 2017, 11: 1-11
- [25] 孙胜男,刘欣,佟苗苗,等. 小檗碱对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 损伤大鼠神经干细胞增殖的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(5): 60-64
- [26] 马历历,李浩,孙立明,等. 黄芪总黄酮对脑缺血再灌注损伤大鼠氧化应激、炎症、凋亡的影响[J]. 中成药, 2019, 41(8): 1811-1815
- [27] 赵军,武月娥,张健敏,等. 银杏叶提取物对脑缺血再灌注损伤模型大鼠氧化应激和炎症的治疗作用[J]. 包头医学院学报, 2019, 35(1): 61-63,92
- [28] Sheldon RA, Lee CL, Jiang X, et al Hypoxic preconditioning protection is eliminated in HIF-1 $\alpha$  knockout mice subjected to neonatal hypoxia-ischemia[J]. Pediatr Res, 2014, 76(1): 46-53
- [29] 郭银玲. 小檗碱对脑出血大鼠脑水肿和血肿周围脑组织中 HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 表达水平的影响[J]. 中国医学前沿杂志(电子版), 2016, 8(7): 54-57
- [30] 曹辉琼,蔡清红. 缺氧诱导因子-1 $\alpha$  及血管内皮生长因子的表达与胃癌血管生成的关系[J]. 吉林医学, 2020, 41(1): 184-185
- [31] 李军涛,张恒伟,郭旭辉,等. 合并糖尿病的乳腺癌组织中缺氧诱导因子-1 $\alpha$  的表达及其与微血管生成的关系[J]. 中华医学杂志, 2015, 95(4): 252-255

(上接第 4464 页)

- [22] Lavitola G, Corte L D, Rosa N D, et al. Effects on Vaginal Microbiota Restoration and Cervical Epithelialization in Positive HPV Patients Undergoing Vaginal Treatment with Carboxy-Methyl-Beta-Glucan[J]. Biomed Res Int, 2020, 2020(3b): 1-8
- [23] Guo X, Qiu L, Wang Y, et al. A randomized open-label clinical trial of an anti-HPV biological dressing (JB01-BD) administered intravaginally to treat high-risk HPV infection[J]. Microbes Infect, 2016, 18(2): 148-152
- [24] 钟云岚,沈伟生,殷华芳,等. 健脾解毒方联合保妇康栓对宫颈 HPV 感染患者免疫功能及血清 hs-CRP、TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平的影响[J]. 现代医学与健康研究电子杂志, 2020, 67(12): 78-80
- [25] Gupta S, Kumar P, Das BC. HPV: Molecular pathways and targets[J]. Curr Probl Cancer, 2018, 42(2): 161-174
- [26] Egloff C, Mergui JL, Uzan C, et al. Prise en charge des lésions cervicales HPV induites chez les patientes immunodéprimées - Revue de la littérature [Management of HPV-induced cervical lesions in immunosuppressed patients - Review of the literature][J]. Gynecol Obstet Fertil Senol, 2022, 50(1): 82-92
- [27] Wei Lin, Hua-Ling Zhang, Zhao-Yuan Niu, et al. The disease stage-associated imbalance of Th1/Th2 and Th17/Treg in uterine cervical cancer patients and their recovery with the reduction of tumor burden[J]. BMC women's health, 2020, 20(1): 126
- [28] Kaliyamurthi S, Selvaraj G, Kaushik AC, et al. Designing of CD8<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>-overlapped CD4<sup>+</sup> epitope vaccine by targeting late and early proteins of human papillomavirus[J]. Biologics, 2018, 12(1): 107-125
- [29] Bermúdez-Morales VH, Fierros-Zarate G, García-Meléndrez C, et al. In vivo Antitumor Effect of an HPV-specific Promoter driving IL-12 Expression in an HPV 16-positive Murine Model of Cervical Cancer [J]. J Cancer, 2016, 7(14): 1950-1959
- [30] Liu H, Zhou S, Liu J, et al. Lirilumab and Avelumab Enhance Anti-HPV+ Cervical Cancer Activity of Natural Killer Cells via Vav1-Dependent NF- $\kappa$ B Disinhibition [J]. Front Oncol, 2022, 12(1): 747482