

. 实验研究 .

金丝桃苷对大鼠颅脑损伤后炎症反应及血脑屏障通透性的影响

邱会斌 姜金利 李鹏强 单春格 王 超

【摘要】目的 探讨金丝桃苷对大鼠颅脑损伤(TBI)后炎症反应和血脑屏障损伤的影响及机制。**方法** 选取 60 只成年 SPF 级 SD 大鼠,按随机数字表法随机分为假手术组、模型组、低剂量金丝桃苷组、高剂量金丝桃苷组、脂多糖(LPS)组、高剂量金丝桃苷+LPS 组,每组 10 只。采用改良 Feeney 自由落体法建立 TBI 大鼠模型。低剂量、高剂量金丝桃苷组大鼠造模后以金丝桃苷药液灌胃,剂量分别为 60、120 mg/kg;LPS 组大鼠造模后以 LPS 药液灌胃,剂量为 0.4 mg/kg;金丝桃苷+LPS 组大鼠造模后以高剂量金丝桃苷和 LPS 药液灌胃;每天灌胃 1 次,持续 14 d。灌胃结束后 24 h,采用改良神经功能缺损评分(mNSS)评估神经功能,采用跳台实验检测认知功能;采用伊文思蓝(EB)定量法检测大鼠血脑屏障通透性;透射电镜观察大鼠血脑屏障结构损伤;采用 ELISA 检测大鼠血清及脑组织炎症介质[肿瘤坏死因子(TNF- α)、白细胞介素-17(IL-17)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)]水平;采用免疫印迹法检测脑组织 TNF- α /NF- κ B/caspase-3 蛋白表达水平。**结果** TBI 后,大鼠 mNSS 评分、跳台潜伏期显著降低($P<0.05$),跳台犯错次数、脑组织 EB 含量、血清及脑组织炎症介质(TNF- α 、IL-17、iNOS)水平、脑组织 TNF- α 和 caspase-3 蛋白表达及 p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 显著升高($P<0.05$);LPS 明显加重 TBI 大鼠神经损伤($P<0.05$),明显增高炎症介质水平($P<0.05$),明显增高 TNF- α /NF- κ B/caspase-3 蛋白表达水平($P<0.05$);金丝桃苷明显改善 TBI 大鼠脑损伤($P<0.05$),而且呈剂量依赖性($P<0.05$),高剂量金丝桃苷明显逆转 LPS 的作用($P<0.05$)。**结论** 金丝桃苷可通过抑制 TNF- α /NF- κ B/caspase-3 信号通路、抑制炎症反应,进而减轻 TBI 大鼠血脑屏障损伤,改善大鼠神经功能。

【关键词】 颅脑损伤;炎症反应;血脑屏障;金丝桃苷;TNF- α /NF- κ B/caspase-3;大鼠

【文章编号】 1009-153X(2024)01-0028-07 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 651.1⁺5

Effects of hyperoside on inflammatory response and blood-brain barrier permeability in rats after traumatic brain injury

QIU Hui-bin^{1,2}, JIANG Jin-li¹, LI Peng-qiang¹, SHAN Chun-ge¹, WANG Chao¹. 1. Department of Neurosurgery, The First Medical Center, PLA General Hospital, Beijing 100853, China; 2. Department of Neurosurgery, Anyang District Hospital, Puyang 455000, China

【Abstract】 Objective To investigate the effects of hyperoside on inflammatory response and blood-brain barrier (BBB) permeability in rats after traumatic brain injury (TBI) and its underlying mechanisms. **Methods** Sixty adult SPF SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, low-dose hyperoside group, high-dose hyperoside group, lipopolysaccharide (LPS) group, and high-dose hyperoside+LPS group, with 10 rats in each group. The TBI model was established by modified Feeney free fall method. Rats in the low-dose and high-dose hyperoside groups were given hyperoside solution by gavage after modeling, with doses of 60 and 120 mg/kg, respectively; rats in the LPS group were given LPS solution by gavage after modeling, with a dose of 0.4 mg/kg; rats in the hyperoside+LPS group were given hyperoside solution and LPS solution by gavage after modeling; once a day for 14 days. At 24 h after gavage, neurological function was evaluated by modified neurological severity scale (mNSS) score, cognitive function was detected by the platform jumping test, BBB permeability was detected by Evans blue (EB) quantitative method, structural damage of BBB was observed by transmission electron microscopy, levels of inflammatory mediators [tumor necrosis factor (TNF- α), interleukin-17 (IL-17), inducible nitric oxide synthase (iNOS)] in serum and brain tissues were measured by ELISA, and protein expression levels of TNF- α /NF- κ B/caspase-3 in brain tissue were detected by Western blotting. **Results** After TBI, the mNSS score and the platform latency were significantly decreased ($P<0.05$), while the number of platform errors, brain EB content, serum and brain inflammatory mediators, brain TNF- α and caspase-3 protein expression, and p-NF- κ B p65/NF- κ B p65 were significantly increased ($P<0.05$); LPS significantly aggravated the neurological injury of TBI rats ($P<0.05$), significantly increased the levels of inflammatory mediators ($P<0.05$), and significantly increased the TNF- α /NF- κ B/caspase-3 protein expression ($P<0.05$); hyperoside significantly improved the brain injury of TBI rats ($P<0.05$), with a dose-dependent manner; high dose hyperoside significantly reversed the effects of LPS ($P<0.05$). **Conclusions**

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2024.01.009

作者单位:100853 北京,解放军总医院第一医学中心神经外科医学部(邱会斌、姜金利、李鹏强、单春格、王 超);455000 河南安阳,濮阳市安阳地区医院神经外科(邱会斌)

通讯作者:姜金利,E-mail:jiangjl@163.com

Hyperoside can reduce the BBB injury and improve the neurological function of TBI rats by inhibiting the TNF- α /NF- κ B/caspase-3 signaling pathway and inhibiting inflammatory response.

[Key words] Traumatic brain injury; Inflammatory response; Blood-brain barrier permeability; Rats; TNF- α /NF- κ B/caspase-3 pathway

颅脑损伤(trumatic brain injury, TBI)可导致神经元变性死亡和血脑屏障破坏,从而造成病人出现神经功能缺损,也是导致病人残疾和死亡的主要原因之一^[1,2]。TBI后,因巨噬细胞、中性粒细胞和淋巴细胞激活而启动的炎症反应是引发继发性脑损伤的关键因素,使用抗炎药物是减轻TBI后继发性脑损伤的有效方法^[3,4]。肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)/核 转 录 因 子 - κ B (nuclear transcription factor- κ B, NF- κ B)途径可介导中枢神经系统疾病(包括TBI)的发生、发展。据报道,阻断TNF- α /NF- κ B信号传导可下调天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶3(cysteine- containing aspartate-specific proteases 3, caspase-3)的表达,减轻炎症反应和神经元凋亡,进而减轻脑水肿、改善蛛网膜下腔出血后神经功能障碍^[5]。此外,抑制NF- κ B磷酸化和TNF- α 、caspase-3表达可减轻TBI导致的炎症反应和神经细胞凋亡,减轻脑损伤^[6]。金丝桃苷具有抗氧化应激、抗凋亡、抗炎等多种生物活性^[7],可通过抑制炎症反应来减轻蛛网膜下腔出血大鼠早期脑损伤,并促进其神经功能恢复^[8];还可抑制TNF- α /NF- κ B/caspase-3信号通路激活,进而通过抗氧化、抗炎和抗凋亡作用减轻糖尿病诱导的大鼠认知功能障碍和炎症反应损伤^[9]。本文探讨金丝桃苷对大鼠TBI后炎症反应及血脑屏障损伤的影响及机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组 SPF级SD大鼠购自上海南方模式生物科技股份有限公司,生产许可证号SCXK(沪)2017-0010,雄性,约6周龄,体重210~240 g,饲养房保持屏障环境,分笼饲养(4只/笼),饲养及使用严格遵守《实验动物管理条例》要求,且所有实验操作均符合3R原则。本研究方案经濮阳市安阳地区医院伦理委员会批准(批号为2024-14B-01)。

按随机数字表法随机分为假手术组、模型组、低剂量金丝桃苷组、高剂量金丝桃苷组、LPS组、高剂量金丝桃苷+LPS组,每组10只。

1.2 主要试剂 金丝桃苷(纯度 \geq 98%)、脂多糖(lipopolysaccharides, LPS; 纯度 \geq 98%)、伊文思蓝(evan blue, EB)、大鼠TNF- α 酶联免疫吸附试验

(enzyme linked immunosorbent assay, ELASA)试剂盒、大鼠白细胞介素-17(interleukin- 17, IL- 17)ELASA试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司;大鼠诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)ELASA试剂盒购自上海生工生物工程股份有限公司;兔源抗大鼠Anti- β -actin、Anti-caspase-3、p-NF- κ B p65、Anti-TNF- α 、NF- κ B p65一抗以及HRP偶联羊抗兔二抗购自Abcam公司。

1.3 TBI大鼠模型的制备 参照文献[10]中方法制备TBI模型。腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)深度麻醉大鼠,并固定在脑立体定位仪上。切开头皮并分离骨膜,暴露右侧矢状缝和冠状缝。于矢状缝右侧1.5 mm、冠状缝后2.0 mm处取直径5 mm的骨窗,暴露脑膜并保持其完整性,采用改良Feeney自由落体法建立TBI模型。大鼠出现抽搐、呼吸暂停症状即可判定为造模成功。假手术组只暴露脑膜。

1.4 药物干预方法 将金丝桃苷和LPS溶于生理盐水,制成6、12 mg/ml金丝桃苷药液和0.04 mg/ml LPS药液。低剂量、高剂量金丝桃苷组大鼠分别用6、12 mg/ml金丝桃苷药液灌胃(10 ml/kg),使金丝桃苷剂量分别达到60、120 mg/kg^[11],同时尾静脉注射10 ml/kg生理盐水。LPS组大鼠尾静脉注射10 ml/kg的0.04 mg/ml LPS药液,使LPS剂量达到0.4 mg/kg^[12],同时生理盐水(10 ml/kg)灌胃。高剂量金丝桃苷+LPS组大鼠以12 mg/ml金丝桃苷药液灌胃,使金丝桃苷剂量达到120 mg/kg,同时尾静脉注射10 ml/kg的0.04 mg/ml LPS药液,使LPS剂量达到0.4 mg/kg。假手术组、模型组大鼠以生理盐水(10 ml/kg)灌胃,同时尾静脉注射生理盐水(10 ml/kg)。各组大鼠每天处理1次,持续处理14 d。

1.5 大鼠神经损伤的检测 ①改良神经功能缺损量表(modified neurological severity scale, mNSS):第14天给药结束后24 h,从运动、平衡、感知和反射等几个方面评定大鼠神经功能,总分为18分,得分越低表示大鼠神经功能缺损越轻微,1~6分表示神经功能缺损不太严重,7~12分表示神经功能缺损一般,13~18分表示神经功能缺损非常严重^[10]。②跳台实验检测大鼠认知功能:将大鼠提前放入接通电源的跳台装置中适应训练5 min,休息4 h后将大鼠再次

放入跳台装置中进行实验,记录大鼠跳台时第一次出现错误所用时间作为跳台潜伏期,并计数大鼠在 5 min 内犯错的次数作为跳台犯错次数^[13]。

1.6 大鼠血脑屏障通透性的检测 EB 定量法检测大鼠血脑屏障通透性。大鼠神经损伤检测结束后,每组取 5 只大鼠,以乙醚进行麻醉,自尾静脉注射剂量为 2 ml/kg 的 2% EB 溶液,2 h 后以生理盐水(100 ml)经心脏灌注固定,迅速断头取出大脑,生理盐水冲洗并吸干水分,精确称取损伤侧脑组织 100 mg,加入 3 ml 甲酰胺溶液匀浆后于 60 ℃水浴中孵育 48 h,以 12 000 转/min(离心半径 13.5 cm)的转速离心匀浆液 20 min,取上清液 200 μl 分置于 96 孔板,放入酶标仪中测量 630 nm 处吸光度,根据标准曲线计算 EB 浓度,计算各组大鼠脑组织 EB 含量(μg/g)=EB 浓度(μg/ml)×甲酰胺体积(ml)/脑组织质量(g)。

1.7 标本的采集 每组剩余的 5 只大鼠以乙醚进行麻醉后采集颈动脉血,以 3000 转/min(离心半径 13.5 cm)离心 10 min,取上清,-80 ℃保存备用。取血后,断头处死大鼠,取出大脑,剪下 0.9 g 脑组织冻存在液氮中,以备 ELISA 和免疫印迹法检测使用。剩余脑组织进行电镜观察。

1.8 血清、脑组织炎性介质的检测 将冻存的血清取出并放入冰水浴中缓慢解冻;将液氮冻存的脑组织取出、剪碎,以 RIPA 裂解液匀浆提取总蛋白,使用 BCA 法测浓度。每只大鼠取含 100 μg 总蛋白的脑组织样品液和 300 μl 血清,采用 ELISA 试剂盒检测

炎性介质 TNF-α、白细胞介素(interleukin, IL)-17、诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide sythase, iNOS)水平,具体方法参照试剂盒说明书。

1.9 免疫印迹法检测大鼠脑组织 TNF-α/NF-κB/caspase-3 蛋白表达水平 取 20 μg 总蛋白,加热变性后采用 SDS-PAGE 电泳分离,转膜、封闭后,兔源抗大鼠 Anti-TNF-α(1:1 000)、NF-κB(1:1 000)、caspase-3(1:1 000)、β-actin(1:2 000)一抗 4 ℃孵育过夜,洗膜后,HRP 偶联羊抗兔二抗(1:2 000)室温孵育 2 h,洗膜、显色后采集蛋白条带图像,运用 Image J 软件分析。

1.10 透射电子显微镜检测大鼠血脑屏障超微结构 将脑组织分别浸入 2.5%戊二醛和 2%四氧化锇中固定,随后在 50%、70%、80%、90%、100%乙醇中分别浸泡脱水 15 min,浸透、包埋、聚合固定后,超薄切片,厚约 80 nm。选出无刀痕及褶皱的切片进行醋酸铀与枸橼酸铅双重染色,然后,透射电子显微镜下观察脑组织血脑屏障超微结构并拍照。

1.11 统计学处理 采用 SPSS 26.0 软件分析;正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行 *t* 检验、单因素方差分析,以及 SNK-*q* 检验;*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 金丝桃苷对 TBI 大鼠神经功能的影响 TBI 后,大鼠 mNSS 评分、跳台潜伏期显著降低(*P* < 0.05),跳台

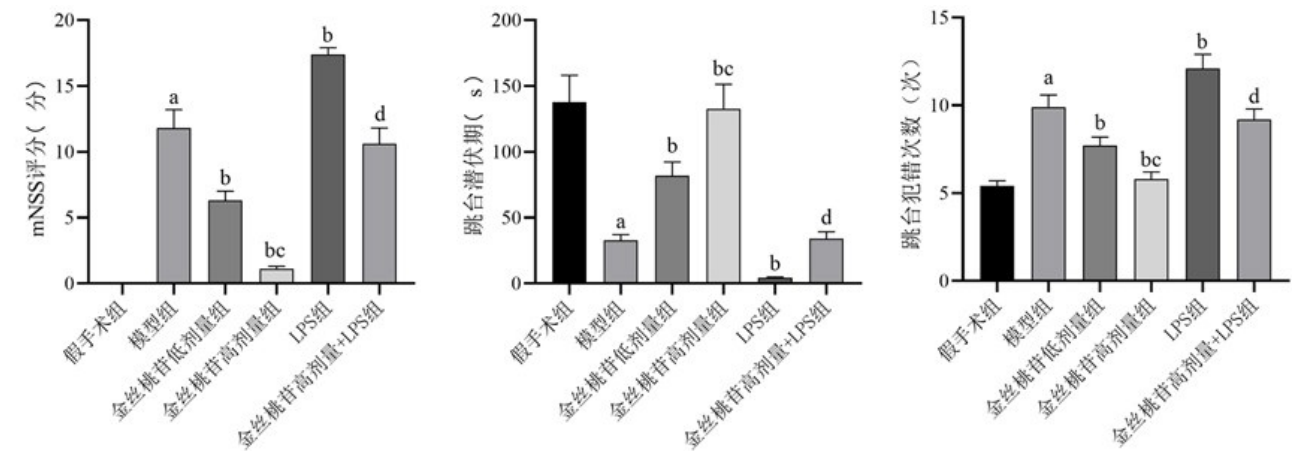


图1 金丝桃苷对TBI大鼠mNSS评分与跳台实验结果的影响

a. 与假手术组相应值比,*P* < 0.05; b. 与模型组相应值比,*P* < 0.05; c. 与金丝桃苷低剂量组相应值比,*P* < 0.05; d. 与 LPS 组相应值比,*P* < 0.05; TBI. 颅脑损伤; mNSS. 改良神经功能缺损量表; LPS. 脂多糖

Figure 1 Effects of hyperoside on mNSS score and results of the platform hopping test in rats after TBI

a: showing *P* < 0.05 vs. sham operation group. b: showing *P* < 0.05 vs. model group. c: showing *P* < 0.05 vs. low-dose hyperoside group. d: showing *P* < 0.05 vs. LPS group. TBI: Traumatic brain injury. mNSS: Modified neurological severity scale. LPS: Lipopolysaccharide.

犯错次数显著升高($P<0.05$)。金丝桃苷干预后,大鼠 mNSS 评分、跳台潜伏期均明显升高($P<0.05$),跳台犯错次数均明显降低($P<0.05$),而且呈剂量依赖性($P<0.05$)。TBI 后,给予 LPS 干预,明显加重神经功能损伤($P<0.05$),金丝桃苷明显逆转 LPS 的作用($P<0.05$)。见图 1。

2.2 金丝桃苷对 TBI 大鼠血脑屏障损伤的影响 TBI 后,大鼠脑组织 EB 含量显著升高($P<0.05$),金丝桃苷明显降低 TBI 大鼠脑组织 EB 含量($P<0.05$),而且呈剂量依赖性($P<0.05$)。LPS 明显增加 TBI 大鼠脑组织 EB 含量($P<0.05$),金丝桃苷明显逆转 LPS 的作用($P<0.05$)。见图 2。

2.3 金丝桃苷对 TBI 大鼠血脑屏障超微结构的影响 TBI 后,大鼠脑血管内皮细胞肿胀,细胞壁受损,紧密连接开放,血脑屏障结构发生损伤;金丝桃苷显著减轻大鼠血脑屏障结构损伤;LPS 明显加重 TBI 大鼠血脑屏障结构损伤,金丝桃苷明显逆转 LPS 的作用。见图 3。

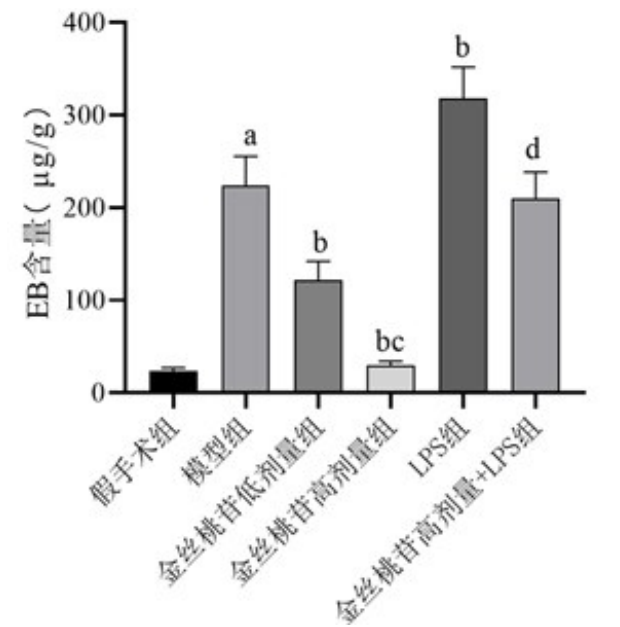


图 2 金丝桃苷对 TBI 大鼠 BBB 通透性的影响
a. 与假手术组相应值比, $P<0.05$; b. 与模型组相应值比, $P<0.05$; c. 与金丝桃苷低剂量组相应值比, $P<0.05$; d. 与 LPS 组相应值比, $P<0.05$; TBI. 颅脑损伤; mNSS. 改良神经功能缺损量表; LPS. 脂多糖; EB. 伊文思蓝

Figure 2 Effects of hyperoside on BBB permeability in TBI rats
a: showing $P<0.05$ vs. sham operation group. b: showing $P<0.05$ vs. model group. c: showing $P<0.05$ vs. low-dose hyperoside group. d: showing $P<0.05$ vs. LPS group. TBI: Traumatic brain injury. BBB: Blood-brain barrier. mNSS: Modified neurological severity scale. LPS: Lipopolysaccharide. EB: Evans blue.

2.4 金丝桃苷对 TBI 大鼠脑组织和血清炎性介质 TNF- α 、IL-17、iNOS 水平的影响 TBI 后,大鼠脑组织和血清 TNF- α 、IL-17、iNOS 水平显著升高($P<0.05$)。金丝桃苷明显降低 TBI 大鼠脑组织和血清 TNF- α 、IL-17、iNOS 水平($P<0.05$),而且呈剂量依赖性($P<0.05$)。LPS 明显增加脑组织和血清 TNF- α 、IL-17、iNOS 水平($P<0.05$),金丝桃苷明显逆转 LPS 的作用($P<0.05$)。见图 4。

2.5 金丝桃苷对 TBI 大鼠脑组织 TNF- α 、NF- κ B、caspase-3 蛋白表达的影响 TBI 后,大鼠脑组织 TNF- α 、caspase-3 蛋白表达水平以及 NF- κ B 活性显著升高($P<0.05$)。金丝桃苷明显降低 TBI 大鼠脑组织 TNF- α 、caspase-3 蛋白表达水平以及 NF- κ B 活性($P<0.05$),而且呈剂量依赖性($P<0.05$)。LPS 明显降低 TBI 大鼠脑组织 TNF- α 、caspase-3 蛋白表达水平

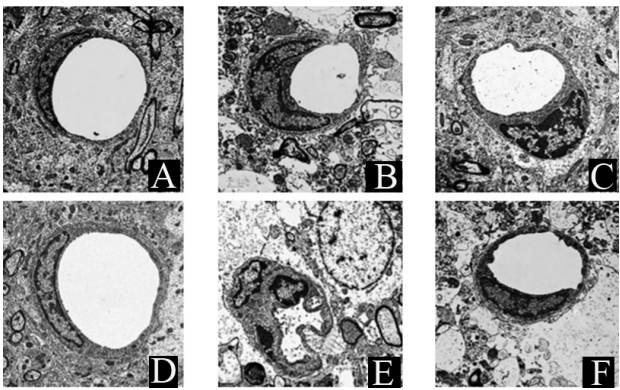


图 3 透射电镜观察金丝桃苷对 TBI 大鼠 BBB 超微结构的影响($\times 15\ 000$)
A. 假手术组,大鼠脑血管内皮细胞形态结构正常;B. 模型组,大鼠脑血管内皮细胞肿胀,细胞壁受损,紧密连接开放;C、D. 金丝桃苷低、高剂量组,大鼠脑血管内皮细胞肿胀减轻,细胞壁受损减少;E. LPS 组,大鼠血脑屏障结构损伤情况较模型组进一步加重;F. 金丝桃苷高剂量+LPS 组,大鼠血脑屏障结构损伤情况较 LPS 组减轻;TBI. 颅脑损伤;BBB. 血脑屏障;LPS. 脂多糖

Figure 3 Effects of hyperoside on ultrastructure of BBB in TBI rats observed by transmission electron microscopy ($\times 15\ 000$)

A: showing normal morphology and structure of cerebral vascular endothelial cells in sham operation group. B: showing swelling of cerebral vascular endothelial cells, damage to cell wall, tight junction opening in model group. C-D: showing reduction of swelling of cerebral vascular endothelial cells and damage to cell wall in low-dose and high-dose hyperoside groups. E: showing aggravated damage to the BBB structure in LPS group with comparison to model group. F: showing reduction of BBB structure damage in high-dose hyperoside+LPS group with comparison to LPS group. TBI: Traumatic brain injury. BBB: Blood-brain barrier. LPS: Lipopolysaccharide.

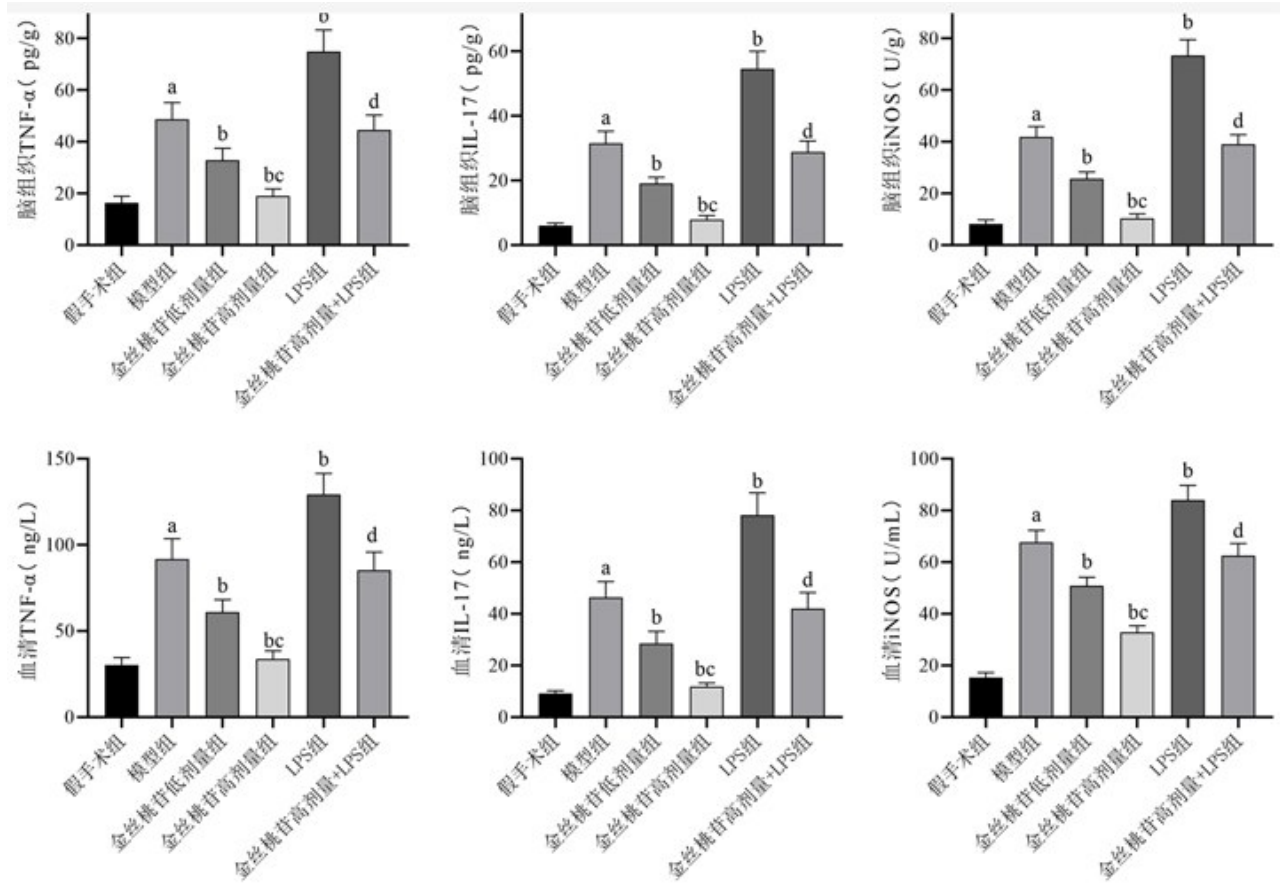


图4 金丝桃苷对TBI大鼠脑组织和血清TNF-α、IL-17、iNOS水平的影响

a. 与假手术组相应值比, $P<0.05$; b. 与模型组相应值比, $P<0.05$; c. 与金丝桃苷低剂量组相应值比, $P<0.05$; d. 与LPS组相应值比, $P<0.05$; TBI: 颅脑损伤; LPS: 脂多糖

Figure 4 Effects of hyperoside on expression levels of TNF-α, IL-17, and iNOS in brain tissues and serum of TBI rats
a: showing $P<0.05$ vs. sham operation group. b: showing $P<0.05$ vs. model group. c: showing $P<0.05$ vs. low-dose hyperoside group. d: showing $P<0.05$ vs. LPS group. TBI: Traumatic brain injury. LPS: Lipopolysaccharide.

以及NF-κB活性($P<0.05$), 金丝桃苷明显逆转LPS的作用($P<0.05$)。见图5。

3 讨论

如今, 随着社会发展及交通工具的普及, TBI的发病率逐年增加, 极大威胁人们的身心健康, 已成为亟待解决的严重医学问题^[1, 2, 14]。本文采用改良Feeney自由落体法建立TBI大鼠模型, 发现大鼠伤后血清及脑组织炎症因子TNF-α、IL-17、iNOS水平显著升高, 引发严重炎症反应, 导致血脑屏障超微结构发生损伤, 通透性增加, 最终引发神经功能障碍, 造成大鼠跳台潜伏期降低, 跳台犯错次数升高。

研究表明炎症反应在TBI后继发性脑损伤中起关键作用, 抑制炎症反应可显著减轻TBI所致的神经损伤, 并缓解神经退行性病变^[15, 16]。金丝桃苷是金丝桃科、唇形科等很多药用植物中含有的黄酮类化

合物, 可作为天然抗炎剂使用^[7], 可清除高糖诱导的神经细胞活性氧, 抑制氧化应激, 提高细胞存活率^[17], 还可明显减轻脑缺血再灌注损伤所致的BBB损伤, 抑制神经元死亡, 改善神经功能^[18]。本文发现金丝桃苷明显提高TBI大鼠mNSS评分、跳台潜伏期, 降低跳台犯错次数、脑组织EB含量、血清和脑组织炎症因子(TNF-α、IL-17、iNOS)水平, 减轻BBB结构损伤, 表明金丝桃苷可降低炎症因子表达, 抑制炎症反应, 减轻BBB损伤并维持其正常通透性, 改善神经功能。

TNF-α作为一种炎症介质, 可激活NF-κB, 促进caspase-3表达, 进而介导TBI的病理过程; 因此, 降低TNF-α水平, 并抑制NF-κB p65磷酸化和caspase-3表达, 可抑制小胶质细胞激活诱导的炎症反应, 减轻神经元死亡, 改善BBB完整性, 发挥神经保护作用^[19, 20]。研究显示金丝桃苷可抑制高血糖诱

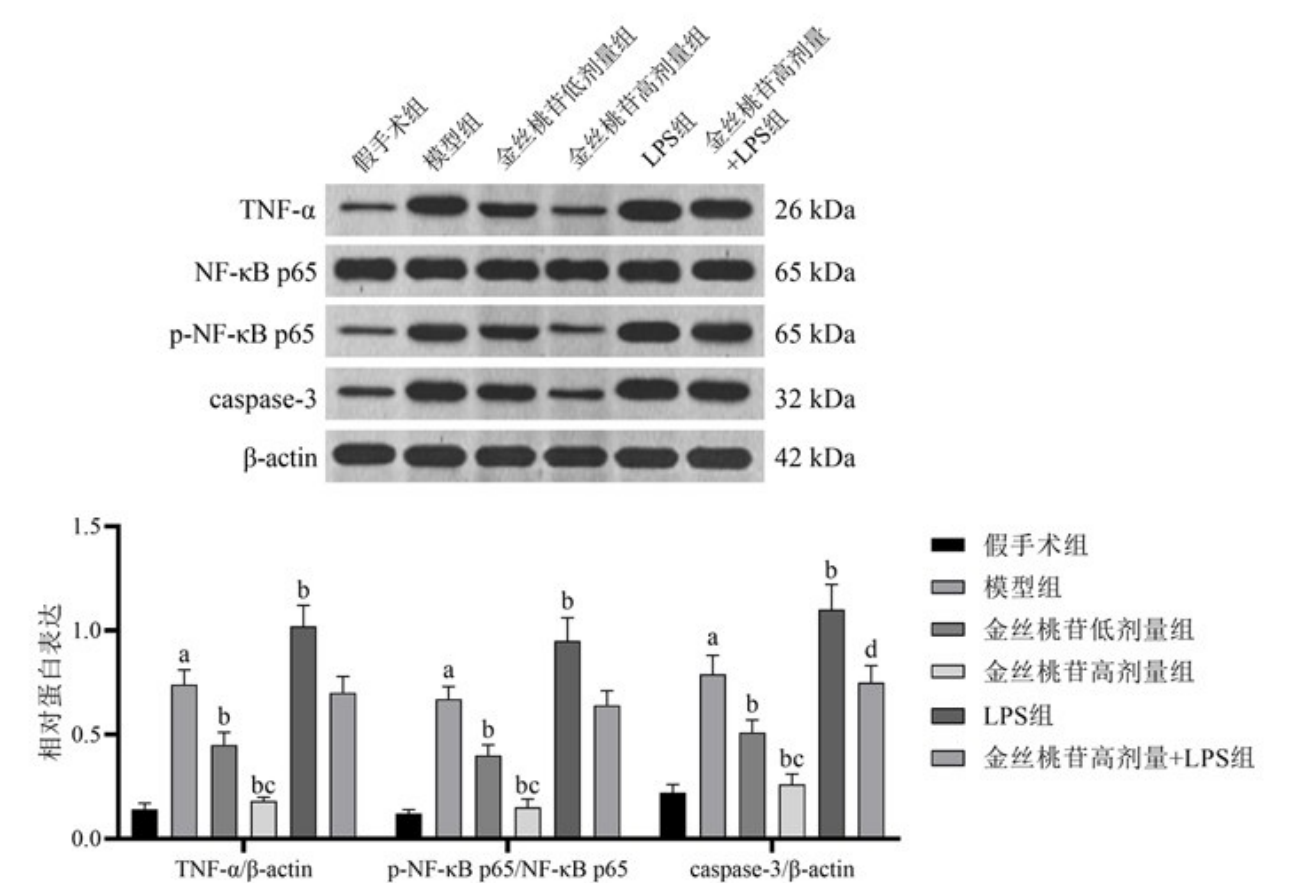


图5 金丝桃苷对TBI大鼠脑组织TNF-α/NF-κB/caspase-3通路蛋白表达的影响
a. 与假手术组相应值比, $P<0.05$;b. 与模型组相应值比, $P<0.05$;c. 与金丝桃苷低剂量组相应值比, $P<0.05$;d. 与LPS组相应值比, $P<0.05$;TBI. 颅脑损伤;LPS. 脂多糖

Figure 5 Effects of hyperoside on protein expression of TNF-α/NF-κB/caspase-3 signaling pathway in brain tissues of TBI rats
a: showing $P<0.05$ vs. sham operation group. b: showing $P<0.05$ vs. model group. c. showing $P<0.05$ vs. low-dose hyperoside group. d: showing $P<0.05$ vs. LPS group. TBI: Traumatic brain injury. LPS: Lipopolysaccharide.

导的TNF-α/NF-κB/caspase-3信号激活,减轻糖尿病诱导的大鼠炎症反应和认知功能损伤^[9]。本研究结果显示,金丝桃苷明显降低TBI大鼠脑组织TNF-α、caspase-3蛋白表达,抑制NF-κB活性,以TNF-α/NF-κB/caspase-3通路激活剂LPS处理TBI大鼠,可促进炎症反应进展,加重BBB损伤,表明TNF-α/NF-κB/caspase-3通路介导大鼠TBI后BBB损伤和炎症反应过程,金丝桃苷对TBI大鼠BBB损伤和炎症反应具有保护作用,是通过激活TNF-α/NF-κB/caspase-3信号实现的。

综上所述,金丝桃苷可促进NF-κB p65磷酸化和TNF-α、caspase-3表达,进而减少炎症因子TNF-α、IL-17、iNOS表达释放,阻止炎症反应发展,减轻TBI大鼠BBB超微结构损伤,减轻BBB通透性,发挥神经保护作用。

【参考文献】

[1] ROBINSON CP. Moderate and severe traumatic brain injury [J]. Continuum (Minneapolis), 2021, 27(5): 1278-1300.

[2] GODOY DA, RABINSTEIN AA. How to manage traumatic brain injury without invasive monitoring [J]. Curr Opin Crit Care, 2022, 28 (2): 111-122.

[3] KALRA S, MALIK R, SINGH G, *et al.* Pathogenesis and management of traumatic brain injury (TBI): role of neuroinflammation and anti-inflammatory drugs [J]. Inflammopharmacology, 2022, 30(4): 1153-1166.

[4] WITCHER KG, BRAY CE, CHUNCHAI T, *et al.* Traumatic brain injury causes chronic cortical inflammation and neuronal dysfunction mediated by microglia [J]. J Neurosci, 2021, 41(7): 1597-1616.

[5] WANG Y, YANG Y, NA S, *et al.* Melatonin attenuates early brain injury via regulating miR-181a/TNF- α /NF- κ B signaling pathway following subarachnoid hemorrhage in rat [J]. *Acta Medica Mediterranea*, 2020, 36(6): 3377-3383.

[6] AHMAD R, KHAN A, REHMAN IU, *et al.* Lupeol treatment attenuates activation of glial cells and oxidative-stress-mediated neuropathology in mouse model of traumatic brain injury [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(11): 6086-6106.

[7] YANG ST, WANG XQ, LIAO GH. Advances in pharmacological effects of hyperoside [J]. *Chin J Modern Applied Pharm*, 2018, 35(6): 947-951.

杨婷婷, 王晓倩, 廖广辉. 金丝桃苷的药理作用机制研究进展[J]. *中国现代应用药学*, 2018, 35(6): 947-951.

[8] YU Y, CAI J. Hypericin alleviates early brain injury following subarachnoid hemorrhage through regulating Akt/GSK-3 β signaling pathway in rats [J]. *Zhejiang Med J*, 2020, 42(19): 2030-2036.

俞越, 蔡菁. 金丝桃苷在大鼠蛛网膜下腔出血后早期脑损伤中的神经保护作用及机制研究[J]. *浙江医学*, 2020, 42(19): 2030-2036.

[9] CHEN X, FAMUREWA AC, TANG J, *et al.* Hyperoside attenuates neuroinflammation, cognitive impairment and oxidative stress via suppressing TNF- α /NF- κ B/caspase-3 signaling in type 2 diabetes rats [J]. *Nutr Neurosci*, 2022, 25(8): 1774-1784.

[10] CUI LX, JIANG WK, LU DH, *et al.* Clinical-grade human umbilical cord mesenchymal stem cells affect the improvement of neurological function in rats with traumatic brain injury [J]. *Chin J Tissue Engin Res*, 2023, 27(6): 835-839.

崔连旭, 江文康, 陆大鸿, 等. 临床级人脐带间充质干细胞对创伤性脑损伤大鼠神经功能的改善作用[J]. *中国组织工程研究*, 2023, 27(6): 835-839.

[11] JIANG FF, CHEN ZZ, XU YW, *et al.* Study on mechanism of hyperoside protecting cerebral ischemia reperfusion injury in rats [J]. *Chin J Modern Applied Pharm*, 2021, 38(12): 1448-1453.

江飞飞, 陈志志, 徐晏雯, 等. 金丝桃苷保护大鼠脑缺血再灌注损伤的机制研究[J]. *中国现代应用药学*, 2021, 38(12): 1448-1453.

[12] LAI GX, ZHU GD, HE HM. Geniposide attenuates cognitive dysfunction in sleep-deprived rats by inhibiting TLR4/NF- κ B signaling pathway [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2020, 36(10): 1810-1817.

赖根祥, 朱桂东, 何慧明. 栀子苷通过抑制 TLR4/NF- κ B 信号通路减轻睡眠剥夺大鼠认知功能障碍[J]. *中国病理生理杂志*, 2020, 36(10): 1810-1817.

[13] ZHENG MH, BAI JQ. Impacts of genistein on the apoptosis and autophagy of hippocampal neurons in epileptic rats based on LKB1/AMPK signaling pathway [J]. *China Pharm*, 2022, 25(11): 1904-1910.

郑明慧, 白建强. 基于 LKB1/AMPK 信号通路探究金雀异黄酮对癫痫大鼠海马神经元凋亡和自噬的影响[J]. *中国药师*, 2022, 25(11): 1904-1910.

[14] CORRIGAN JD. Traumatic brain injury and treatment of behavioral health conditions [J]. *Psychiatr Serv*, 2021, 72(9): 1057-1064.

[15] WANG J, HOU Y, ZHANG L, *et al.* Estrogen attenuates traumatic brain injury by inhibiting the activation of microglia and astrocyte-mediated neuroinflammatory responses [J]. *Mol Neurobiol*, 2021, 58(3): 1052-1061.

[16] DELAGE C, TAIB T, MAMMA C, *et al.* Traumatic brain injury: an age-dependent view of post-traumatic neuroinflammation and its treatment [J]. *Pharmaceutics*, 2021, 13(10): 1624-1670.

[17] ZHANG T, SONG XF, DU XN, *et al.* Protective effects of Chinese hawthorn leaf hyperoside against high glucose-induced injury in SH-SY5Y cells [J]. *Nat Prod Res Dev*, 2019, 31(1): 142-146, 68.

张婷, 宋小锋, 杜晓娜, 等. 山楂叶金丝桃苷对高糖诱导 SH-SY5Y 细胞损伤的保护作用及机制[J]. *天然产物研究与开发*, 2019, 31(1): 142-146, 68.

[18] LIU JJ, ZHANG DX, CAO JW, *et al.* Neuroprotective effect and mechanism of hyperoside pretreatment on mice with cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Shandong Med J*, 2021, 61(20): 15-19.

刘佳佳, 张栋旭, 曹建文, 等. 金丝桃苷预处理对脑缺血再灌注损伤小鼠的神经保护作用及机制探讨[J]. *山东医药*, 2021, 61(20): 15-19.

[19] PEROVI M, JOVI M, TODOROVIS, *et al.* Neuroprotective effects of food restriction in a rat model of traumatic brain injury - the role of glucocorticoid signaling [J]. *Nutr Neurosci*, 2022, 25(3): 537-549.

[20] XU J, ZHAN T, ZHENG W, *et al.* Hydroxysafflor yellow A acutely attenuates blood-brain barrier permeability, oxidative stress, inflammation and apoptosis in traumatic brain injury in rats [J]. *Acta Cir Bras*, 2021, 35(12): e351202-e351209.

(2023-07-06 收稿, 2023-09-12 修回)