

丹酚酸B对小鼠脑出血的神经保护作用研究

木艳玲^{1,2}, 刘扬^{1,2}, 李媛^{1,2}, 薛孟周^{1,2}

摘要 目的:探讨丹酚酸B(SalB)对小鼠脑出血(ICH)的神经保护作用及机制。**方法:**C57BL/6J 雄性小鼠 108 只随机分为 Sham 组, ICH+Vehicle 组, ICH+SalB 组, 每组 36 只。Ⅶ型胶原酶制备 ICH 模型, ICH+SalB 组术后 2 h 尾静脉注射 SalB 30 mg/kg, Sham 组和 ICH+Vehicle 组尾静脉注射等量生理盐水, 连续 3 d。术后第 3 天, 采用 mNSS 和转角实验观察行为学指标; HE 染色观察脑组织损伤情况; 脑含水量检测评估脑组织水肿; 伊文思蓝(EB)外渗试验评估血脑屏障通透性; Western blot 检测 ZO-1 和 Occludin 蛋白表达水平评估血脑屏障完整性, 检测 MMP-9 和 IL-1 β 蛋白表达水平评估炎症因子水平; TUNEL 染色评估凋亡细胞数量; Iba1 和 MPO 免疫荧光染色评估小胶质细胞活化和中性粒细胞渗出情况。**结果:**mNSS 评分结果显示 ICH+SalB 组神经功能缺损低于 ICH+Vehicle 组 ($P<0.05$); 转角实验结果显示 ICH+SalB 组右转次数低于 ICH+Vehicle 组 ($P<0.05$); HE 染色结果显示 ICH+SalB 组脑组织损伤、水肿面积较 ICH+Vehicle 组降低 ($P<0.05$); 脑含水量结果显示 ICH+SalB 组脑水肿程度轻于 ICH+Vehicle 组 ($P<0.05$); EB 外渗结果显示 ICH+SalB 组 EB 外渗低于 ICH+Vehicle 组 ($P<0.05$); Western blot 结果显示 ICH+SalB 组 MMP-9、IL-1 β 表达低于 ICH+Vehicle 组 ($P<0.05$), ICH+SalB 组 ZO-1、occludin 表达高于 ICH+Vehicle 组 ($P<0.05$); TUNEL 结果显示 ICH+SalB 组凋亡细胞数量低于 ICH+Vehicle 组 ($P<0.05$); 免疫荧光检测显示 ICH+SalB 组 Iba1 和 MPO 水平均低于 ICH+Vehicle 组 ($P<0.05$)。**结论:**SalB 可能通过减少小鼠 ICH 后的脑水肿、降低炎症因子、稳定血脑屏障的机制改善神经功能, 发挥神经保护作用。

关键词 脑出血; 丹酚酸B; 炎症; 神经保护; 血脑屏障

中图分类号 741; 741.02; 743 **文献标识码** A **DOI** 10.16780/j.cnki.sjssgncj.20230361

本文引用格式:木艳玲, 刘扬, 李媛, 薛孟周. 丹酚酸B对小鼠脑出血的神经保护作用研究[J]. 神经损伤与功能重建, 2023, 18(8): 435-440.

Neuroprotective Effect of Salvianolic Acid B on Intracerebral Hemorrhage in Mice MU Yan-ling^{1,2}, LIU Yang^{1,2}, LI Yuan^{1,2}, XUE Mengzhou^{1,2}. 1. Department of Cerebrovascular Diseases, The Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China; 2. Henan Medical Key Laboratory of Translational Cerebrovascular Diseases, Zhengzhou 450001, China

Abstract Objective: This aim of this study was to investigate the neuroprotective effect of salvianolic acid B (SalB) on intracerebral hemorrhage (ICH) in mice, and to elucidate the underlying mechanism. **Methods:** A total of 108 C57BL/6J male mice were randomly divided into the Sham, ICH+Vehicle, and ICH+SalB groups, with 36 mice per group. The ICH model was prepared with type Ⅶ collagenase. Mice in the ICH+SalB group were injected with 30 mg/kg SalB via the tail vein at 2 hours after operation, and mice in the Sham and ICH+Vehicle groups were similarly injected with the same amount of normal saline via the tail vein for 3 consecutive days. On the 3rd day after operation, the modified neurological severity score (mNSS) and corner turn test were conducted to assess behavioral indexes. Further, hematoxylin and eosin (HE) staining was used to observe injury to the brain tissues, brain water content was measured to evaluate cerebral edema, and Evens blue (EB) extravasation test was used to evaluate the permeability of the blood-brain barrier (BBB). In addition, western blot was performed to detect the expression levels of ZO-1 and Occludin to evaluate the integrity of the BBB and to detect the expression levels of MMP-9 and IL-1 β as exemplar inflammatory factors. Finally, TUNEL staining was performed to evaluate the number of apoptotic cells, and immunofluorescence staining using Iba1 and MPO was adopted to evaluate microglia activation and neutrophil exudation. **Results:** The results of mNSS testing showed that the neurologic deficit degree in the ICH+SalB group was lower than that in the ICH+Vehicle group ($P<0.05$), while in the corner turn test, the number of right turns in the ICH+SalB group was less than that in ICH+Vehicle group ($P<0.05$). HE staining showed that the degree of brain tissue injury and hematoma area in the ICH+SalB group were reduced compared to the ICH+Vehicle group ($P<0.05$). Brain water content analysis showed that the degree of cerebral edema in the ICH+SalB group was less than that in the ICH+Vehicle group ($P<0.05$), and the EB extravasation level in the ICH+SalB group was lower than that in ICH+Vehicle group ($P<0.05$). Further, the western blot results showed that the expression levels of MMP-9 and IL-1 β in ICH+SalB group were lower than those in the ICH+Vehicle group ($P<0.05$), while the expression levels of ZO-1 and Occludin in ICH+SalB group were higher than those in the ICH+Vehicle group ($P<0.05$). TUNEL staining showed

作者单位

1. 郑州大学第二附属医院脑血管病科

2. 郑州大学医学科学院

郑州 450001

基金项目

国家自然科学基金项目(No. 8207052870);

国家自然科学基金重点国际(地区)合作研究项目(No. 81520108011);

国家重点研发计划项目(No. 2018YFC1312200)

收稿日期

2022-05-18

通讯作者

薛孟周

xuemengzhou@

zzu.edu.cn

that the number of apoptotic cells in the ICH+SalB group was lower than that in ICH+Vehicle group ($P<0.05$). Finally, the immunofluorescence staining results showed that the Iba1 and MPO levels were lower in the ICH+SalB group than in the ICH+Vehicle group ($P<0.05$).
Conclusion: Overall, our results indicate that SalB may improve neurological function and play a neuroprotective role by reducing cerebral edema, the level of inflammatory factors, and stabilizing the blood-brain barrier in mice with ICH.

Keywords intracerebral hemorrhage; Salvianolic acid B; inflammatory; neuroprotection; blood-brain barrier

脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)是致死率最高的卒中类型^[1],常遗留不同程度的肢体残疾和功能障碍。ICH造成的脑损伤分为原发性和继发性^[2]。原发性脑损伤主要由血液聚集形成的血肿对周围组织的压迫,导致脑室内压力增加,破坏脑组织结构,继而出现脑疝^[3];血肿释放炎症因子,对周围脑组织形成炎症损伤级联反应^[4],造成继发性脑损伤。神经炎症是导致继发性脑损伤及炎症性级联反应的主要原因,因此,抗炎治疗对脑损伤具有重要意义^[2,5]。丹酚酸B(Salvianolic acid B, SalB)是丹参中水溶性活性最强的单体成分,具有抗炎抗氧化等生物学作用,SalB可以下调氧化应激分子的水平,对心、脑血管疾病^[6]具有保护作用。在脊髓损伤中,SalB可促进少突胶质细胞的成熟和分化,减少脊髓损伤后轴突周围髓鞘的损伤,抑制细胞凋亡,促进运动功能恢复^[7]。在创伤性脑损伤中,SalB通过降低脑血肿和炎症因子的表达改善神经功能缺损^[8]。本研究通过构建胶原酶小鼠ICH模型,研究SalB在脑水肿、抗炎、血脑屏障保护几个方面对神经功能的影响及其机制。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与材料

1.1.1 实验动物 8~10周雄性C57BL/6J小鼠118只,体质量20~25 g,购于北京维通利华[生产许可证号:SCXK(京)2021-0006]。排除死亡4只及Longa评分为0分6只,最终纳入108只的数据。本实验研究通过郑州大学伦理委员会批准【2023041】。

1.1.2 主要材料、试剂与仪器 VII型胶原酶(Sigma, C0773);SalB(江苏永健医药科技有限公司,HB0160);兔抗白介素1 β 多克隆抗体(Abcam, ab283818);兔抗小鼠ZO-1抗体(Abcam, ab307799);兔抗小鼠Occludin抗体(Abcam, ab216327);兔抗小鼠MMP-9抗体(Abcam, ab134455);兔抗小鼠GAPDH抗体(Abcam, ab9484);TUNEL试剂盒(Sigma, APT110);兔抗髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)多克隆抗体(Abcam, ab208670);兔抗小胶质标记物(IBA1)抗体(Wako, 019-19741);伊文思蓝(Evans blue, EB)

(sigma, 206-252-5)。小鼠脑立体定位仪(安徽正华生物仪器设备有限公司, ZH-蓝星C/S型);正置光学显微镜(Zeiss, BX53);激光共聚焦显微镜(OLYMPUS, FV1000)。

1.2 方法

1.2.1 实验分组 入组的108只小鼠随机分为Sham组、ICH+Vehicle组、ICH+SalB组,每组36只。

1.2.2 ICH模型制备与用药 10%水合氯醛麻醉小鼠(4 mL/kg),俯卧位放置于脑立体定位仪,去毛,以前囟为原点,向前0.2 mm,中线右旁开2.0 mm,用颅骨钻钻取直径0.6 mm小孔,ICH+Vehicle组和ICH+SalB组用微量进样器从小孔表面垂直下降3.5 mm,以0.1 μ L/min给予VII型胶原酶0.75 μ L(0.1 U/ μ L)至纹状体诱导ICH,结束后留针5 min,防止胶原酶回流,以1 mm/min速度缓慢退针;Sham组纹状体内予等量生理盐水。术后将小鼠放置在37 $^{\circ}$ C恒温板上复温,ICH+SalB组在术后2 h尾静脉注射SalB 30 mg/kg(4 mg SalB/mL生理盐水),连续3 d;Sham组和ICH+Vehicle组尾静脉注射等量生理盐水。

1.2.3 小鼠神经功能观察 术后第3天,每组选择12只小鼠进行mNSS评分,评估运动、感觉、平衡木实验、反射丧失和不正常运动。mNSS评分为0~18分(1~6分轻度损伤,7~12分中度损伤,13~18分重度损伤)。转角实验:每组12只小鼠进行转角实验评估神经行为学。将小鼠放置在由2块硬纸板构成的30 $^{\circ}$ 夹角里,观察小鼠不受干扰的向左或向右转向的次数,每只小鼠重复10次,2次测试间隔30 s,右转百分比(%)=右转次数/所有转向次数 $\times$ 100%。

1.2.4 脑组织标本制备 造模后第3天,水合氯醛腹腔麻醉小鼠,先后给予200 mL生理盐水和200 mL多聚甲醛心脏灌注后,断头取脑浸泡于甲醛,石蜡包埋固定切片,用于HE、TUNEL、Iba1和MPO染色。

1.2.5 HE染色 造模后3 d进行,用于评估脑组织损伤,将切片置于50 $^{\circ}$ C恒温箱中干燥30 min后HE染色,使用显微镜在40 $\times$ 倍数下观察脑损伤面积。

1.2.6 脑含水量评估 造模后1 d、3 d,麻醉小鼠后快速断头取脑,分为左右大脑半球和脑干,分别称取湿

重,后放入100℃烘箱烘烤24 h,称取干重。脑含水量(%)=(湿重-干重)/湿重×100%。

1.2.7 EB外渗实验 用于评估血脑屏障完整性。脑出血3 d后,尾静脉注射2%EB溶液(4 mL/kg),体内循环4~6 h。小鼠麻醉完全后固定,剪开胸部,先后用200 mL生理盐水和200 mL多聚甲醛灌注。快速取大脑半球,并分为左右大脑半球。分别称重后与去离子化甲酰胺以1:20(1 g脑湿重:20 mL去离子甲酰胺)混成匀浆,置于60℃水浴中24 h。以20000 rpm离心30 min取上清液,分光光度计法测630 nm吸光值。计算脑组织EB含量(μg/g)=EB浓度(mg/L)×甲酰胺体积(mL)/脑组织湿重(g)。结果以同侧/对侧脑EB含量之比表示。

1.2.8 Western blot蛋白定量分析 ICH后3 d,取血肿周围1 mm脑组织,称重,RIPA裂解液裂解,研磨、离心、取上清液后BCA蛋白定量,分光光度计测562 nm的OD值,计算蛋白浓度,将蛋白体积与上样缓冲液按1:4配置并煮沸备用。孵育一抗,兔抗MMP-9抗体、兔抗IL-1β抗体、兔抗ZO-1抗体、兔抗occludin抗体(均为1:1000)。清洗后孵育二抗,兔IgG抗体室温下1 h。Image J分析光密度。

1.2.9 TUNEL染色 造模后3 d,石蜡切片二甲苯脱蜡,梯度乙醇水化后,PBS洗涤。蛋白酶K通透,PBS再洗涤后,使用TdT标记反应缓冲液37℃孵育60 min,洗涤后封片。在200倍荧光显微镜下,计数4个视野里的凋亡细胞数。

1.2.10 免疫荧光染色 造模后3 d,采用Iba1和MPO染色评估血肿周围炎性细胞活化和渗出情况。将石蜡切片标本用二甲苯和梯度乙醇处理脱蜡至水,柠檬酸钠抗原修复,PBS冲洗,室温封闭,兔抗Iba1多克隆抗体(1:200)和兔抗髓过氧化物酶(MPO)单克隆抗体(1:200)分别孵育过夜,清洗后选择二抗山羊抗兔IgG H&L(Alexa Fluor®488)孵育。在200倍荧光显微镜下,计数4个视野里的小胶质细胞和中性粒细胞。

1.3 统计学处理

使用SPSS 26.0软件进行统计分析。计量资料以($\bar{x}\pm s$)表示,偏态分布的资料以中位数和四分位数[M(Q₂₅, Q₇₅)]表示。多组组间比较采用单因素方差分析,并使用Tukey检验进行多重比较。 $P<0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠神经行为学结果

术前所有小鼠神经行为学表现均正常。造模后

3 d, Sham组小鼠无神经缺损症状,mNSS评分0分; ICH组出现明显神经功能缺损,ICH+SalB组较ICH+Vehicle组神经缺损降低($P<0.05$);转角实验结果显示ICH+SalB组右转次数低于ICH+Vehicle组($P<0.05$),见表1。

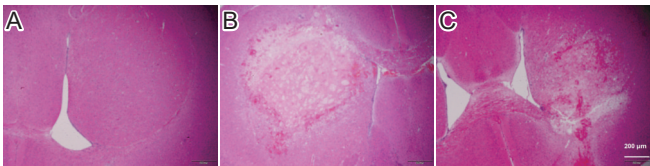
表1 各组小鼠造模后3 d mNSS评分和转角试验结果

[M(Q ₂₅ , Q ₇₅)]			
组别	只数	mNSS评分/分	转角实验/%
Sham组	12	0 [0, 1]	45.0 [30.0, 57.5]
ICH+Vehicle组	12	11.0 [11.0, 11.8] ^①	80.0 [72.5, 90.0] ^①
ICH+SalB组	12	8.0 [6.3, 9.0] ^②	55.0 [40.0, 60.0] ^②
F值		331.10	22.85
P值		<0.0001	<0.0001

注:与sham组比较,^① $P<0.05$;与ICH+Vehicle组比较,^② $P<0.05$ 。

2.2 HE染色结果

造模后3 d, sham组、ICH+Vehicle组和ICH+SalB组的HE染色脑损伤面积分别为(0.10±0.01) mm²、(0.82±0.09) mm²和(0.55±0.08) mm²,3组差异有统计学意义($n=4$, $F=397.20$, $P<0.0001$); ICH+Vehicle组血肿面积> sham组($P<0.05$), ICH+SalB组< ICH+Vehicle组($P<0.05$),见图1。



注:(A) sham组;(B) ICH+Vehicle组;(C) ICH+SalB组
图1 各组小鼠造模后3 d脑组织HE染色结果
(光学显微镜,40×)

2.3 脑含水量结果

ICH后脑细胞损伤,脑组织水肿、含水量增加,SalB减轻ICH后脑水肿。造模后1 d和3 d, ICH+Vehicle组的脑含水量均高于sham组($P<0.05$), ICH+SalB组的脑含水量均低于ICH+Vehicle组($P<0.05$),见表2。

2.4 EB外渗实验结果

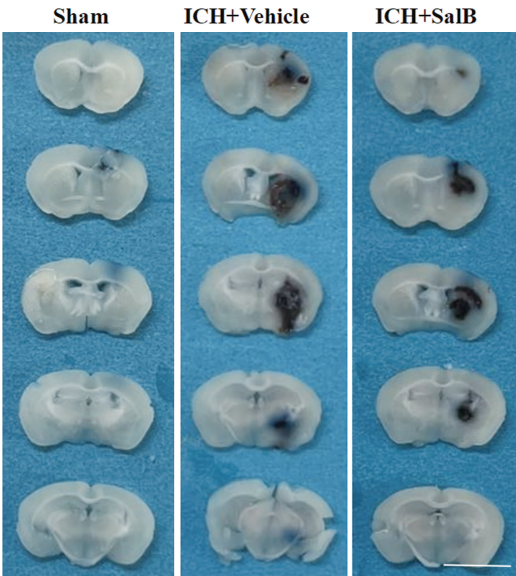
术后3 d, sham组、ICH+Vehicle组和ICH+SalB组的EB含量占比(右脑/左脑)分别为1.42±0.07、4.31±0.25和3.44±0.31,3组间差异有显著统计学意义($n=4$, $F=163.80$, $P<0.0001$); ICH+Vehicle组EB外渗量高于sham组, ICH+SalB组EB外渗量低于ICH+Vehicle组($P<0.05$),见图2。

2.5 Western blot结果

表2 各组造模后患侧不同时间点脑含水量比较(% , $\bar{x}\pm s$)

组别	只数	造模后1 d	造模后3 d
Sham组	4	78.86±0.42	76.88±0.71
ICH+Vehicle组	4	81.40±0.30 ^①	80.52±0.17 ^①
ICH+SalB组	4	79.74±0.88 ^②	79.18±0.29 ^②
F值		7.00	65.74
P值		<0.01	<0.0001

注：与 sham 组比较，^①*P*<0.05；与 ICH+Vehicle 组比较，^②*P*<0.05。



注：EB 外渗脑大体切片（标尺=5 mm）。
图2 造模后3 d 各组EB外渗实验结果

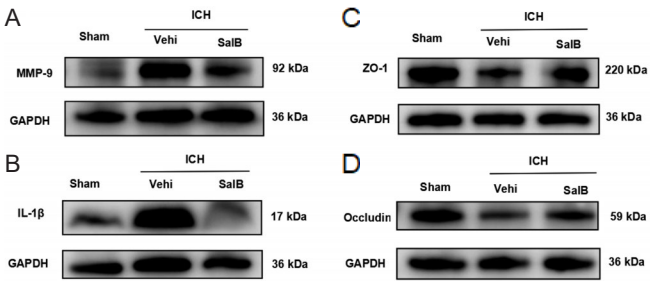
造模后3 d, 3 组小鼠 MMP-9、IL-1 β 、ZO-1 和 Occludin 表达水平差异有统计学意义(*P*<0.05)；其中 ICH+Vehicle 组 MMP-9、IL-1 β 高于 ICH+SalB 组 (*P*<0.05), ZO-1、Occludin 低于 ICH+SalB 组 (*P*<0.05), 见图3、表3。

2.6 TUNEL 免疫荧光染色结果

TUNEL 染色凋亡细胞呈现绿色。造模后3 d, 3 组小鼠凋亡细胞数量差异有统计学意义(*P*<0.05), ICH+Vehicle 组凋亡细胞数量高于 Sham 组, ICH+SalB 组凋亡细胞数量低于 ICH+Vehicle 组 (*P*<0.05), 见图4、表4。

2.7 Iba1 和 MPO 免疫荧光染色结果

造模后3 d, 3 组小鼠小胶质细胞/巨噬细胞激活



注：(A)MMP-9；(B)IL-1 β ；(C)ZO-1；(D)Occludin。
图3 造模后3 d 各组小鼠MMP-9、IL-1 β 、ZO-1、Occludin 蛋白表达水平

(Iba1)以及中性粒细胞渗出(MPO)数量差异有统计学意义(*P*<0.05), 其中 ICH+Vehicle 组高于 Sham 组, ICH+SalB 组低于 ICH+Vehicle 组 (*P*<0.05), 见图5、表4。

3 讨论

ICH 后3 d, SalB 治疗组 mNSS 评分降低、右转次数增加提示神经功能缺损改善；HE 结果显示脑损伤面积降低；脑含水量结果显示 SalB 减轻了脑水肿；EB 渗出实验结果显示渗出减少；Western Blot 结果显示 SalB 组紧密连接蛋白 ZO-1 和 Occludin 表达增加，炎症因子 MMP-9 和 IL-1 β 的表达降低；TUNEL 结果显示血肿周围凋亡细胞数量降低；Iba1 免疫荧光显示活化的小胶质细胞/巨噬细胞数量降低，MPO 免疫荧光显示中性粒细胞渗出减少。

SalB 具有抗氧化、清除自由基、抑制细胞凋亡以及抗动脉粥样硬化等多种功能^[9]；可以在创伤性脑损伤后抑制炎症反应，保护神经元^[8]，对心脏缺血再灌注损伤、脊髓损伤及小血管疾病均有一定程度的保护作用^[10-12]。SalB 常用于脑缺血再灌注损伤及各种缺血性疾病中，本研究首次采用动物实验探讨 SalB 在 ICH 中神经保护作用。在创伤性脑损伤中，25 mg/kg 的 SalB 降低运动功能缺损，抑制中性粒细胞渗出和小胶质细胞激活，改善神经功能缺损^[8]。在动脉粥样硬化性疾病中，25 mg/kg 的 SalB 显示较好的抗炎和抗动脉粥样硬化效果^[13]。在脊髓缺血再灌注损伤中，1、10、50 mg/kg 的剂量梯度实验结果显示 50 mg/kg 在降低神经损伤和氧化

表3 造模后3 d 各组小鼠MMP-9、IL-1 β 和ZO-1、Occludin 蛋白表达水平($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	MMP-9	IL-1 β	ZO-1	Occludin
Sham组	4	0.68±0.20	0.51±0.12	0.88±0.15	1.16±0.10
ICH+Vehicle组	4	1.20±0.29 ^①	1.55±0.24 ^①	0.48±0.14 ^①	0.77±0.06 ^①
ICH+SalB组	4	0.85±0.30 ^②	1.09±0.19 ^②	0.70±0.20 ^②	0.94±0.09 ^②
F值		11.37	88.89	16.74	61.90
P值		<0.001	<0.0001	<0.0001	<0.0001

注：与 sham 组比较，^①*P*<0.05；与 ICH+Vehicle 组比较，^②*P*<0.05。

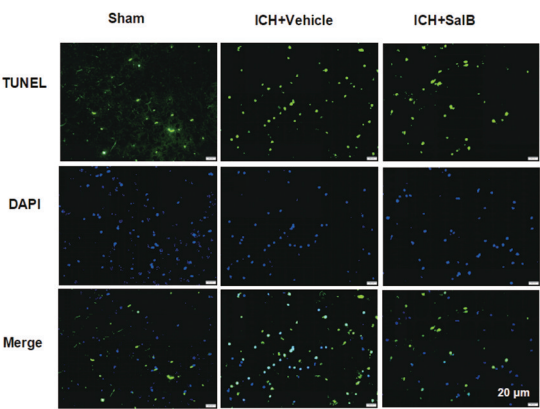
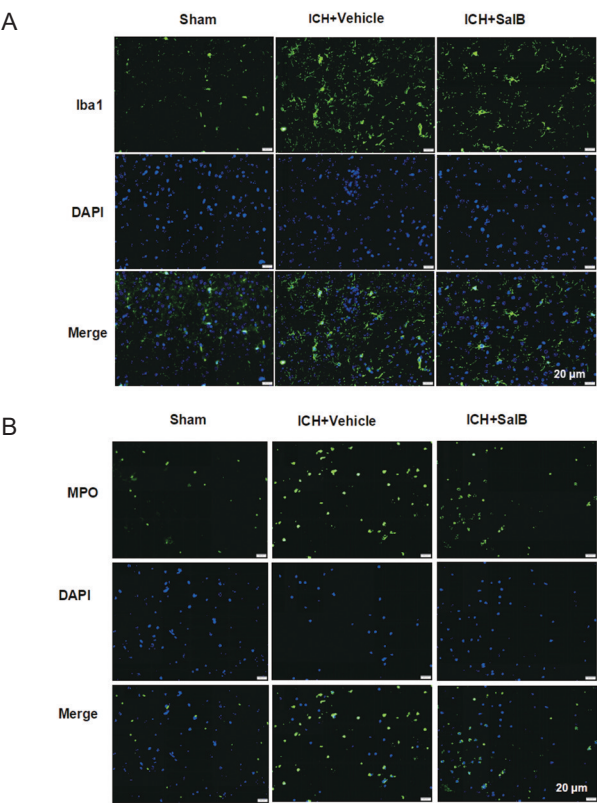


图4 造模后3 d各组小鼠凋亡细胞数量(TUNEL,400×)



注:(A)Iba1 免疫荧光染色(荧光显微镜,400×);(B)MPO 免疫荧光染色(荧光显微镜,400×)。

图5 造模3 d后小胶质细胞活化和中性粒细胞渗出情况

应激方面效果优于1、10 mg/kg^[12]。在本研究的预实验中,我们选择5、10、30 mg/kg 的SalB观察造模后1 d脑含水量,结果显示30 mg/kg 脑含水量低于1、10 mg/kg。因此,本实验选择30 mg/kg 的SalB探究在ICH中作用

机制。
ZO-1 和 occludin 是构成紧密连接的基本结构蛋白^[14,15]。血脑屏障是维持脑内环境稳态平衡的重要基础。炎症细胞过度激活及炎性细胞因子会引起血脑屏障损伤,加重炎症反应,继而损伤内皮细胞和结构蛋白,导致血脑屏障通透性增加^[16-18]。Western blot 分析结果显示 ZO-1 和 occludin 在 SalB 组中表达量较 ICH 组多。说明 SalB 有助于维持血脑屏障的结构完整。ICH 后 MMP-9 不仅可以降解细胞外基质的成分,破坏血脑屏障,还能破坏血脑屏障的微血管内皮细胞之间的紧密连接而增加血脑屏障的通透性^[19]。

在脑损伤进程中,炎症细胞及炎症因子共同作用是引起继发性脑损伤^[20]的重要原因。炎症细胞主要有小胶质细胞、巨噬细胞、中性粒细胞,其中小胶质细胞和中性粒细胞是脑出血后最早被激活的炎症细胞,激活后迁移到损伤区域,在继发性脑损伤中发挥免疫作用^[21],其损伤包括氧化应激、神经细胞毒性、血脑屏障损伤^[22,23]。炎症因子^[24]主要来源于炎症细胞活化、红细胞溶血及活性氧物质,过度累积会引起细胞毒性反应并最终导致细胞损伤、组织水肿、脑组织损伤^[22],继而导致血脑屏障破坏,水肿加重和细胞死亡^[25]。继发性脑损伤后的促炎级联反应和血脑屏障损伤是导致神经功能障碍加重的重要原因。抗氧化应激^[26,27]、减少神经元凋亡、抑制自噬可能是治疗的关键靶标。尤其是炎症反应导致细胞水肿及死亡^[25],血脑屏障损伤后通透性增加,而 SalB 具有抗炎、抗氧化及通过血脑屏障等作用,推测 SalB 的神经保护作用可能是通过抑制炎症及稳定血脑屏障来实现的。SalB 抑制小胶质细胞的活化和中性粒细胞的渗出,抑制 ICH 后炎症因子 MMP-9 和 IL-1 β 的表达,由此推测其神经保护功能可能是通过抗炎作用实现的。

综上所述,在小鼠 ICH 后,脑血肿面积增加,脑水肿加重,炎症因子分泌水平增加,各种炎症细胞增多,血脑屏障破坏,导致继发性脑损伤加重。本研究通过小鼠 ICH 模型,发现 SalB 改善脑出血后的神经功能,降低脑出血面积,减轻脑水肿,减少神经细胞凋亡及神

表4 各组小鼠造模后3 d的凋亡细胞、小胶质细胞、中性粒细胞数量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	只数	凋亡细胞/个	小胶质细胞/个	中性粒细胞/个
Sham组	4	1.17±0.99	11.56±6.06	4.39±0.38
ICH+Vehicle 组	4	65.78±8.24 ^①	53.49±4.93 ^①	69.83±8.98 ^①
ICH+SalB 组	4	53.31±1.82 ^②	31.74±3.54 ^②	47.36±11.79 ^②
F值		195.20	73.62	80.60
P值		<0.0001	<0.0001	<0.0001

注:与 sham 组比较,^① $P<0.05$;与 ICH+Vehicle 组比较,^② $P<0.05$ 。

经炎症,降低血脑屏障的通透性,起到神经保护作用。SalB 对小鼠 ICH 具有保护作用,其脑保护作用可能是通过抑制炎症因子实现的。

参考文献

- [1] Wu S, Wu B, Liu M, et al. Stroke in China: advances and challenges in epidemiology, prevention, and management[J]. *Lancet Neurol*, 2019, 18(4): 394-405.
- [2] Shao ZW, Tu S, Shao AW. Pathophysiological Mechanisms and Potential Therapeutic Targets in Intracerebral Hemorrhage[J]. *Frontiers Pharmacol*, 2019, 10: 1079.
- [3] Dowlatshahi D, Demchuk AM, Flaherty ML, et al. Defining hematoma expansion in intracerebral hemorrhage: relationship with patient outcomes[J]. *Neurology*, 2011, 76(14): 1238-1244.
- [4] Duan XC, Wen ZJ, Shen HT, et al. Intracerebral Hemorrhage, Oxidative Stress, and Antioxidant Therapy[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 1203285.
- [5] Keep RF, Hua Y, Xi G. Intracerebral haemorrhage: mechanisms of injury and therapeutic targets[J]. *Lancet Neurol*, 2012, 11(8): 720-731.
- [6] Tao S, Duan R, Xu T, et al. Salvianolic acid B inhibits the progression of liver fibrosis in rats via modulation of the Hedgehog signaling pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2022, 23(2): 116.
- [7] Fu J, Fan HB, Guo Z, et al. Salvianolic acid B attenuates spinal cord ischemia-reperfusion-induced neuronal injury and oxidative stress by activating the extracellular signal-regulated kinase pathway in rats[J]. *J Surg Res*, 2014, 188(1): 222-230.
- [8] 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.
- [9] Wang QQ, Wang M, Li Y, et al. Attenuation of Oxidative Stress-Induced Cell Apoptosis and Pyroptosis in RSC96 Cells by Salvianolic Acid B[J]. *Chin J Integr Med*, 2022, 28(3): 243-248.
- [10] Wang W, Hu W. Salvianolic acid B recovers cognitive deficits and angiogenesis in a cerebral small vessel disease rat model via the STAT3/VEGF signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2018, 17(2): 3146-3151.
- [11] Li CL, Liu B, Wang ZY, et al. Salvianolic acid B improves myocardial function in diabetic cardiomyopathy by suppressing IGFBP3[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2020, 139: 98-112.
- [12] Fu J, Fan HB, Guo Z, et al. Salvianolic acid B attenuates spinal cord ischemia-reperfusion-induced neuronal injury and oxidative stress by activating the extracellular signal-regulated kinase pathway in rats[J]. *J Surg Res*, 2014, 188(1): 222-230.
- [13] Zhang Y, Feng X, Du M, et al. Salvianolic acid B attenuates the inflammatory response in atherosclerosis by regulating MAPKs/NF-kappaB signaling pathways in LDLR^{-/-} mice and RAW264.7 cells[J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2022, 36: 3946320221079468.
- [14] Gray KM, Katz DB, Brown EG, et al. Quantitative Phenotyping of Cell-Cell Junctions to Evaluate ZO-1 Presentation in Brain Endothelial Cells[J]. *Ann Biomed Eng*, 2019, 47(7): 1675-1687.
- [15] Ranadewa D, Wu J, Subramanianbalachandar VA, et al. Variable fluid flow regimes alter human brain microvascular endothelial cell-cell junctions and cytoskeletal structure[J]. *Cytoskeleton (Hoboken)*, 2021, 78(6): 323-334.
- [16] Stamatovic SM, Keep RF, Andjelkovic AV. Brain endothelial cell-cell junctions: how to "open" the blood brain barrier[J]. *Curr Neuroparmacol*, 2008, 6(3): 179-192.
- [17] Zhang W, Zhu L, An C, et al. The blood brain barrier in cerebral ischemic injury - Disruption and repair[J]. *Brain Hemorrhages*, 2020, 1: 34-53.
- [18] Jiang XY, Andjelkovic AV, Zhu L, et al. Blood-brain barrier dysfunction and recovery after ischemic stroke[J]. *Prog Neurobiol*, 2018, 163: 144-171.
- [19] Lattanzi S, Di Napoli M, Ricci S, et al. Matrix Metalloproteinases in Acute Intracerebral Hemorrhage[J]. *Neurotherapeutics*, 2020, 17(2): 484-496.
- [20] Wu J, Hua Y, Keep RF, et al. Oxidative brain injury from extravasated erythrocytes after intracerebral hemorrhage[J]. *Brain Res*, 2002, 953(1-2): 45-52.
- [21] Zhang Z, Zhang Z, Lu H, et al. Microglial Polarization and Inflammatory Mediators After Intracerebral Hemorrhage[J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(3): 1874-1886.
- [22] Aronowski J, Zhao XR. Molecular Pathophysiology of Cerebral Hemorrhage Secondary Brain Injury[J]. *Stroke*, 2011, 42(6): 1781-1786.
- [23] Keep RF, Zhou N, Xiang J, et al. Vascular disruption and blood-brain barrier dysfunction in intracerebral hemorrhage[J]. *Fluids Barriers CNS*, 2014, 11: 18.
- [24] Zhou Y, Wang YC, Wang J, et al. Inflammation in intracerebral hemorrhage: From mechanisms to clinical translation[J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 115: 25-44.
- [25] Sekerdag E, Solaroglu I, Gursay-Ozdemir Y. Cell Death Mechanisms in Stroke and Novel Molecular and Cellular Treatment Options[J]. *Curr Neuroparmacol*, 2018, 16(9): 1396-1415.
- [26] Yao Z, Bai Q, Wang G. Mechanisms of Oxidative Stress and Therapeutic Targets following Intracerebral Hemorrhage[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 8815441.
- [27] Zhang Y, Khan S, Liu Y, et al. Oxidative Stress Following Intracerebral Hemorrhage: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Targets[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 847246.

(本文编辑:唐颖馨)