

银杏二萜内酯葡胺注射液对缺血性脑卒中急性期损伤的保护作用

仲崇金¹, 华 骏¹, 陈 萌¹, 王 聪¹, 丁建花¹, 胡 刚^{1,2*}

1. 南京医科大学药理学系, 江苏 南京 211166

2. 南京中医药大学药学院, 江苏 南京 210023

摘 要: **目的** 探讨银杏二萜内酯葡胺注射液(DGMI)对缺血性脑卒中的保护作用、治疗时间窗及相关机制。**方法** 制备大鼠大脑中动脉阻塞(tMCAO)模型, 缺血1 h后ip不同剂量的DGMI(1.25、2.50、5.00、10.00 mg/kg), 缺血1.5 h后血流复灌, 再灌注24和72 h评价大鼠神经运动功能, 72 h时测定脑梗死体积、脑组织含水量以及氧化应激和IL-1 β 水平; 选取DGMI有效剂量5.0 mg/kg, 分别于再灌注前0.5 h、再灌注后1、2、3和6 h时给药, 3 d后取材研究药物治疗时间窗。**结果** 2.5、5.0 mg/kg剂量的DGMI改善大鼠再灌注24 h后的神经运动功能、减小脑梗死体积、减轻脑水肿、增强缺血脑组织的超氧化物歧化酶(SOD)的活力, 减弱肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)的活力, 降低丙二醛(MDA)、IL-1 β 水平。DGMI 5.0 mg/kg在tMCAO大鼠再灌注3 h内给药均改善神经运动功能障碍、减小脑梗死体积、减轻脑水肿。**结论** DGMI对大鼠缺血性脑卒中急性期损伤具有保护作用, 治疗时间窗少于缺血再灌注后6 h, 其机制与抗氧化应激、抑制炎症相关。

关键词: 银杏二萜内酯葡胺注射液; 缺血性脑卒中; 神经保护; 治疗时间窗; 氧化应激; 炎症

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-6376(2017)06-0752-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2017.06.004

Protection of Diterpene Ginkgolides Meglumine Injection on acute injury of ischemic stroke in rats

ZHONG Chong-jin¹, HUA Jun¹, CHEN Meng¹, Wang Cong¹, DING Jian-hua¹, HU Gang^{1,2}

1. Department of Pharmacology, Nanjing Medical University, Nanjing 211166, China

2. Department of Pharmacology, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China

Abstract: Objective To investigate the protective effect and therapeutic window of DGMI on ischemic stroke in rats, and to explore the related mechanism. **Method** The rats were subjected to middle cerebral artery occlusion (MCAO) for 90 min followed by 72 h of reperfusion. DGMI (i.p., 1.25, 2.5, 5.0, and 10.0 mg/kg, Bid) was administered at 1 h after the onset of ischemia. Neurological score was evaluated after 24 and 72 h of reperfusion respectively. In fact volume, cerebral water content, oxidative stress markers, and IL-1 β were evaluated after 72 h of reperfusion. The rats were treated with DGMI 5.0 mg/kg 0.5 h before reperfusion or 1 h, 2 h, 3 h, and 6 h after reperfusion to determined therapeutic window. **Result** Treatment with DGMI (2.5, 5.0 mg/kg) significantly ameliorated neurological deficit, infarct volume and cerebral water content after cerebral ischemia reperfusion. DGMI also reduced the content of malonaldehyde (MDA), IL-1 β , down-regulated the activities of creatine kinase (CK), lacticdehydrogenase (LDH), and up-regulated the activities of superoxide dISmutase (SOD). Treatment with DGMI 5.0 mg/kg exhibited protective effects when administered at all time points except for 6 h after reperfusion. **Conclusion** DGMI plays a certain protective role in ischemic stroke of rats, and the effect may be related to the improvement on the antioxidant capacity of brain tissue and the inhibition of overproduction of inflammatory cytokine. Moreover, the therapeutic window of DGMI is less than 6 h after reperfusion.

Key words Diterpene Ginkgolides Meglumine Injection; ischemic stroke; neuruprotection; therapeutic window; oxidative stress; inflammation

缺血性脑卒中是全球主要的致死性疾病,也是氧化应激、离子失衡、炎症和凋亡等^[1],研究表明,首要的致残因素,病理机制复杂,包括兴奋性毒性、调节氧化应激和炎症反应已经成为缺血性脑卒中的

收稿日期: 2017-03-14

作者简介: 仲崇金,男,硕士研究生,研究方向为神经药理学。E-mail: zhongchongjin2010@126.com

*通信作者 胡 刚,男,博士,教授,博士生导师,研究方向为神经药理学。E-mail: ghu@njmu.edu.cn

重要治疗策略^[2]。尽管相关病理机制研究取得了长足的进步,目前临床缺血性脑卒中急性期治疗仍以 iv 重组组织型纤溶酶原激活剂(rtPA)为主^[3],由于其治疗时间窗短和用药禁忌,仅有不足 5%的病人得以应用,而且伴随有出血转归的风险^[4]。因此,临床迫切需要开发缺血性脑卒中急性期用药。

银杏叶提取物是临床常用的防治缺血性心脑血管疾病的有效药物,其中银杏内酯(萜类内酯)是发挥神经保护作用的主要活性成分之一。银杏二萜内酯葡胺注射液(Diterpene Ginkgolides Meglumine Injection, DGMI)是目前为数不多的获批上市的银杏内酯化学单体注射液,主要成分为银杏内酯 A (34%)、银杏内酯 B (62%)和银杏内酯 K (4%)。目前,包括 DGMI、金纳多在内的银杏叶提取物具有活血化瘀、通络止痛的功效,在临床用于脑梗死恢复期治疗,或作为预防性用药。本研究应用大鼠大脑中动脉阻塞(tMCAO)制备局灶性脑缺血再灌注损伤模型,于缺血后或缺血再灌注后给药,观察 DGMI 对缺血性脑卒中急性期损伤是否具有保护作用及其治疗时间窗,为拓宽该药的临床应用提供学术基础。

1 材料

1.1 动物

雄性 SD 大鼠,2 月龄,体质量 220~240 g,清洁级,购自浙江大学实验动物中心,实验动物生产许可证号 SCXK(浙)2014-0001;上海杰思捷实验动物有限公司,实验动物生产许可证号 SCXK(沪)2013-0006。购回后常规饲养,室温 22~24 °C,昼夜照明各 12 h,适应性饲养至少 1 周,待体质量达到 250~300 g 用于实验。

1.2 药物及主要试剂

银杏二萜内酯葡胺注射液(DGMI),江苏康缘药业股份有限公司,产品批号 140609,每支 5 mL,含萜类内酯 25 mg;依达拉奉注射液(Edaravon, Eda),吉林省辉南长龙生化药业股份有限公司,产品批号 002141150,每支 20 mL,含 Eda 30 mg。

2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC),Sigma 公司,淡黄色粉末,临用前 0.9% NaCl 配成 1%染液,4 °C 避光保存;异氟烷,山东科源制药有限公司,产品批号 140502,全身麻醉诱导及维持用,100 mL/瓶,遮光、密闭、在阴凉处保存;超氧化物歧化酶(T-SOD)、肌酸激酶(CK)、乳酸脱氢酶(LDH)、丙二醛(MDA)试剂盒,南京建成生物工程研究所;

大鼠白细胞介素 1-1 β (IL-1 β)ELISA 试剂盒,ExCell ER008-96,上海吉泰依科赛生物科技有限公司;多聚甲醛,上海凌峰化学试剂有限公司;其他均为市售商品。

1.3 主要仪器

大鼠脑缺血尼龙栓线:4037(适用于 250~280 g 大鼠)、4039(适用于 280~330 g 大鼠),美国 Doccol Corporation 公司;VMR 小动物吸入麻醉机,Matrx,美国 MIDMARK 集团;XZ-150WA 冷光源,深圳市瑞沃德生命科技有限公司;TE124S 型电子天平,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司;G10 数码相机,日本 Canon;调温型电热台板,南昌太阳岛实业有限公司;Image-Pro Plus 5.0 图像分析软件,美国 IPP 图像分析软件有限公司;VARIOSKAN FLASH 多功能酶标仪,Thermo Fisher Scientific;IKA T10 basic 内切式匀浆机,德国 IKA 公司;SORVALL BIOFUGE STRATOS 台式高速冷冻离心机,美国 Thermo Electron;FY2405000 微孔板恒温振荡器,SWITCHING POWER SUPPLY;HH-2 型数显恒温水浴锅,国华电器有限公司;BT100-2J 型蠕动泵驱动器,保定兰格恒流泵有限公司。

2 方法

2.1 对 tMCAO 大鼠急性期损伤的影响

2.1.1 大鼠 tMCAO 模型的建立 采用 Longa 法制备 tMCAO 模型^[5]:SD 大鼠,实验日禁食 6~8 h,异氟烷气体吸入麻醉后,仰卧位固定四肢及头部,从颈外动脉插入栓线通过大脑中动脉起始处至大脑前动脉,结扎近心端丝线固定插入的栓线,解开大鼠四肢及头部,将其置于加热板,确保其肛温达 37 °C,缺血 1.5 h 后解开丝线,轻轻拔出栓线恢复血流,缝合切口,再以碘伏消毒后置于笼中,室温 25 °C 饲养。再灌注 24 h 观察神经运动功能^[6],出现明显障碍表明模型制备成功。

2.1.2 分组及给药 试药 DGMI 推荐用于临床的使用方法为:50 mg/d,缓慢静脉滴注,每天给药 1 次,7~14 d。按动物间等效体表面积折算至大鼠的等效剂量约为 5.0 mg/kg,以此为基础,通过预试验确定本研究所用 DGMI 大鼠剂量分别设为 1.25、2.50、5.00、10.00 mg/kg, ip。

SD 大鼠随机分为模型组、Eda(阳性药,4.5 mg/kg)组, DGMI (1.25、2.50、5.00、10.00 mg/kg)组,各组分别有 13、13、13、11、13、15 只。药物临用前以无菌生理盐水稀释,于 tMCAO 模型缺血

1 h 时(即再灌前 0.5 h) ip 给予相应药物, 给药体积 3 mL/kg, 每天给药 2 次, 2 次给药间隔大于 8 h, 小于 16 h, 连续给药 3 d, 模型组同法给予等体积生理盐水, 实验过程中记录动物死亡数, 并计算存活率。

2.1.3 神经运动功能评分 采用改良的神经功能缺损评分法(modified neurological severity scores, mNSS)^[6], 在缺血再灌注 24 h 和 72 h 时经双人盲法评测。①提起大鼠尾巴, 损伤对侧前肢屈曲、损伤对侧后肢屈曲、30 s 内头转动偏离中轴大于 10 度各得 1 分; ②将大鼠放在平整的地板上 60 s, 正常行走得 0 分, 不能走直线得 1 分, 向偏瘫侧转圈得 2 分, 向偏瘫侧倾倒得 3 分; ③平衡木测试, 大鼠能正常保持平衡得 0 分, 四肢抓住木头边得 1 分, 可以抓住木头的边且有一只脚滑落得 2 分, 抓住木头边且有两只脚滑落或在平衡木上转圈得 3 分, 试图保持平衡超过 40 s 但仍掉落得 4 分, 试图保持平衡超过 20 s 但仍掉落得 5 分, 20 s 内掉落得 6 分。将 3 部分得分相加, 总分在 1~3 分为轻度损伤, 4~7 分为中度损伤, 8~12 分为重度损伤。

2.1.4 大鼠脑梗死体积测定 于缺血再灌注后 72 h, 戊巴比妥钠 40 mg/kg 麻醉大鼠, 断头取脑, 去掉嗅球、小脑和低位脑干, -20 °C 冰冻 10 min, 冠状位以 2 mm 厚度将脑切成 6 片, 脑片置于 1% TTC 染液中, 37 °C 染色, 每隔 2~3 min 翻转 1 次, 使其均匀接触染液, 待正常组织呈红色、梗死组织为白色时取出脑片, 10%多聚甲醛溶液固定 1 h 以上。微距拍照, 运用 Image-Pro Plus 5.0 软件检测脑片正反两面的健侧脑区、损伤侧非梗死脑区面积, 正反面面积均数×片厚(2 mm)即得每张脑片该脑区体积, 6 张脑片体积之和即为该脑区体积, 计算脑梗死体积比。

梗死体积比 = (健侧脑区体积 - 损伤侧非梗死脑区体积) / 健侧脑区体积^[5]

2.1.5 脑组织含水量测定 于缺血再灌注后 72 h, 戊巴比妥钠 40 mg/kg 麻醉大鼠, 断头取脑, 去掉嗅球、小脑和低位脑干, 称量脑湿质量, 将脑片置于 110 °C 烘箱烘烤 24 h, 称量脑干质量, 计算脑组织含水量。

脑组织含水量 = 1 - 脑组织干质量 / 脑组织湿质量^[7]

2.2 治疗时间窗研究

SD 大鼠随机分为模型组、DGMI (5.0 mg/kg) 组, 建立大鼠 tMCAO 模型, 分别于缺血再灌注前 0.5 h 及再灌注后 1、2、3、6 h 首次 ip 给予 DGMI

治疗, 每天给药 2 次, 连续给药 3 d, 模型给予等量生理盐水。模型组、DGMI 再灌注前 0.5 h 及再灌注后 1、2、3、6 h 组分别用大鼠 14、11、11、12、11、13 只, 于再灌注 24 和 72 h 检测大鼠神经运动功能评分; 72 h 处死大鼠, 检测脑梗死体积及脑组织含水量, 方法均同“2.1”项。

2.3 对大鼠脑组织氧化应激和 IL-1 β 水平的影响^[7]

SD 大鼠随机分为对照组、模型组、Eda (4.5 mg/kg) 组及 DGMI 高、中、低 (1.25、2.50、5.00 mg/kg) 组, 造模方法同“2.1.1”项, 对照组不插入线栓, 其余同模型大鼠; 给药方法同“2.1.2”项, 对照组给予等量生理盐水。

再灌注 72 h 时, 戊巴比妥钠 40 mg/kg 麻醉大鼠, 取损伤侧半脑, 去除嗅球、小脑、脑干, 称质量, 每毫克加入 10 μ L 无菌生理盐水后匀浆, 留取 300 μ L 用于 MDA 水平测定, 其余匀浆液 2 000 r/min 离心 10 min, 取上清保存于 -80 °C 冰箱中待测 T-SOD、CK、LDH 和 IL-1 β 含量。实验时取出解冻后, 按照试剂盒所述方法测定相应物质浓度, 以 BCA 法标定试样蛋白浓度, 计算每毫克蛋白中 MDA、IL-1 β 水平和 T-SOD、CK、LDH 的活力。

2.4 数据处理

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 所有数据用 SPSS 19.0 软件进行分析, 神经功能评分采用秩和检验(Kruskal-Wallis Tests), 其余均采用单因素方差(one-way ANOVA)分析判断差异的显著性。

3 结果

3.1 对 tMCAO 大鼠急性期损伤的影响

tMCAO 造模后, 大鼠表现出活动减少, 提起尾巴左前肢内收, 不能伸展, 身体向左侧扭曲, 放在地上身体偏向左侧、偏侧行走转圈, 在平衡木上转圈甚至滑落等特征。个别大鼠因损伤过重或操作失误中途死亡, 各组最终均存活 9 只大鼠, 模型组、Eda 组、DGMI (1.25、2.50、5.00、10.00 mg/kg) 组存活率分别为: 69.2%、69.2%、69.2%、81.8%、69.2%、60.0%, DGMI 5.00 mg/kg 组存活率最高。

TTC 染色显示缺血脑区大片白色梗死区域, 给予 DGMI 1.25、2.50、5.00、10.00 mg/kg 以及 Eda 4.5 mg/kg 后, 与模型组比较, 大鼠脑梗死体积均减少, 各组脑梗死体积分别减少 14.3%、23.6%、26.1%、14.8%、23.0%, 其中 DGMI 2.5、5.0 mg/kg 及 Eda 4.5 mg/kg 差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01); 与梗死体积结果相似, 与模型组比较, DGMI 2.5、5.0 mg/kg 及 Eda 4.5

mg/kg 显著降低脑含水量、改善再灌注 24 h 神经运动功能 ($P < 0.05$ 、 0.01)。再灌注 72 h, 包括模型组在内的各组 mNSS 评分无统计学差异, 与 tMCAO

大鼠自身神经运动功能修复较强有关。结果表明, DGMI 2.5、5.0 mg/kg 改善 tMCAO 模型所致大鼠缺血性脑卒中急性期损伤。结果见图 1。

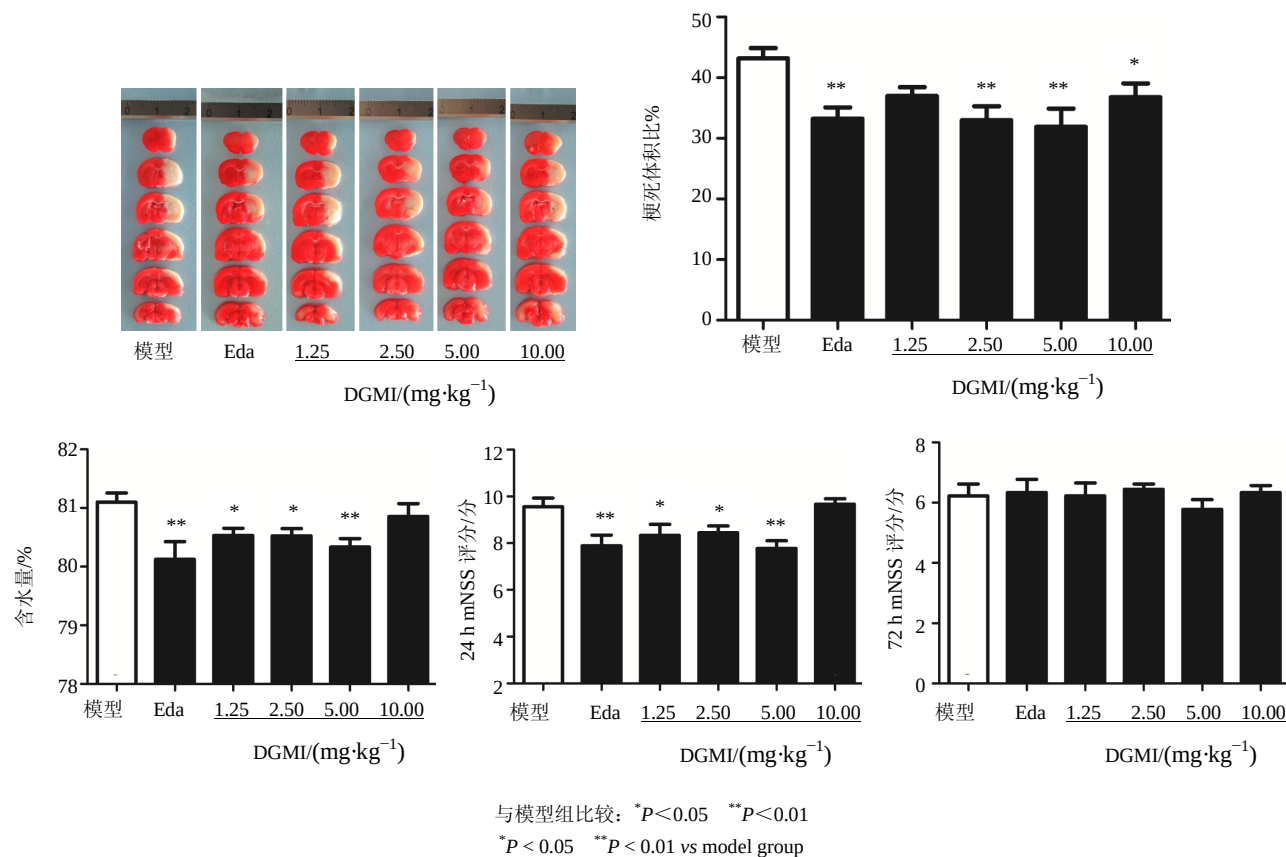


图1 DGMI 对 tMCAO 模型大鼠脑梗死、脑含水量、mNSS 评分的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 9$)

Fig. 1 Effects of DGMI on cerebral infarction, brain water content and mNSS score in tMCAO model rats ($\bar{x} \pm s$, $n = 9$)

3.2 对 tMCAO 大鼠保护作用治疗时间窗研究

个别大鼠因损伤过重或操作失误中途死亡, 最终模型组、DGMI 再灌注前 0.5 h、再灌注后 1、2、3、6 h 组动物数分别为 10、9、8、8、9、10。与模型组比较, 脑缺血再灌注前 0.5 h, 再灌注后 1、2、3 h 给予 DGMI, 大鼠脑梗死体积显著减少 ($P < 0.05$ 、 0.01), 再灌注后 6 h 给药不能减小梗死体积。同样的, 脑含水量、24 h mNSS 评分除再灌注 6 h 给药组外, 各组与模型组比较均差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01)。各给药组的 72 h mNSS 评分与模型组比较均差异不显著。提示 DGMI 对 tMCAO 大鼠缺血性脑卒中急性期保护作用与再灌注后首次给药时间有关, 缺血再灌注后及早给药有利于减轻缺血性脑卒中损伤, 其治疗时间窗小于再灌注后 6 h。结果见图 2。

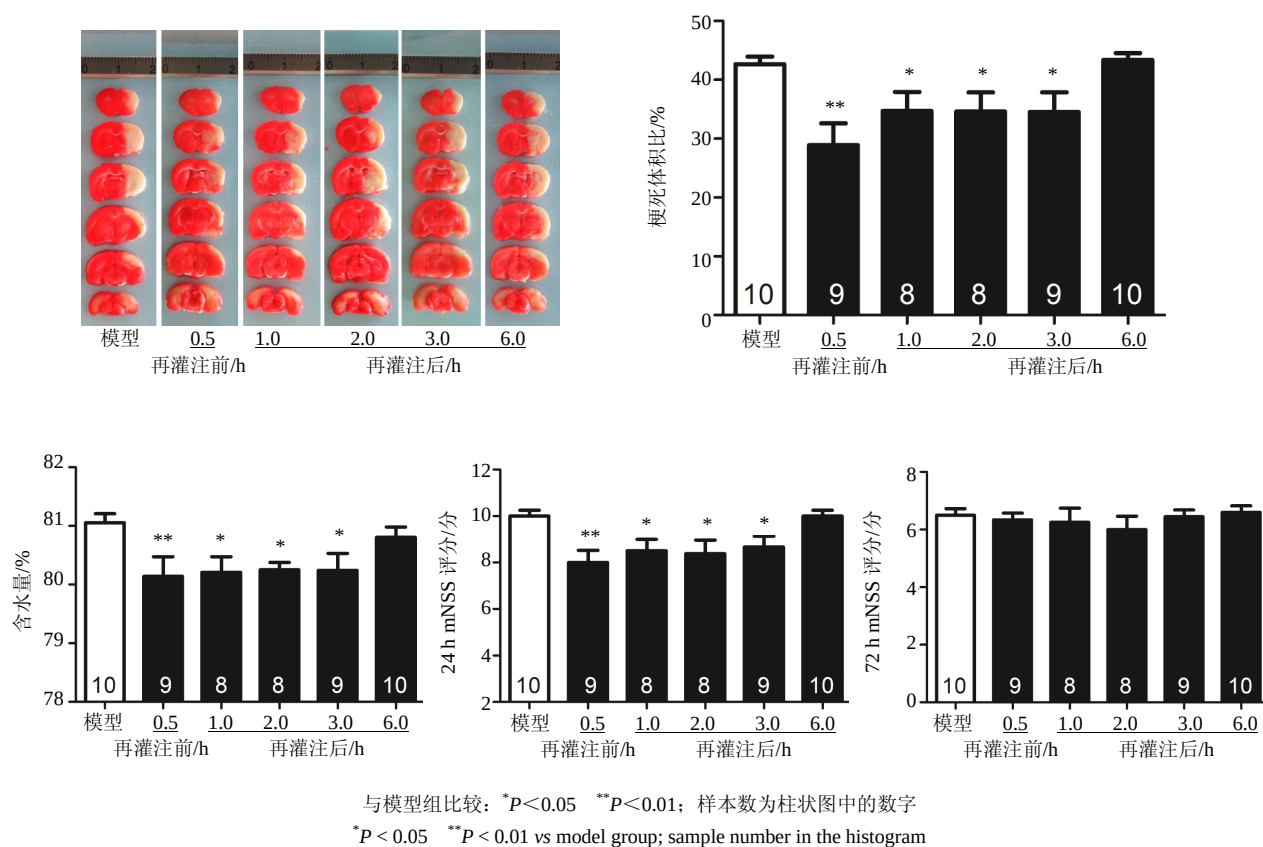
3.3 对氧化应激和 IL-1 β 表达水平的影响

与对照组比较, tMCAO 造模显著降低大鼠缺血侧脑组织 T-SOD, 增强缺血脑组织 CK、LDH 的

活力, 提高 MDA 和炎症因子 IL-1 β 的水平 ($P < 0.05$ 、 0.001)。与阳性药 Eda 相似, DGMI 1.25、2.50、5.00 mg/kg 升高损伤侧脑组织中 T-SOD 活力, 降低 CK、LDH 的活力和 MDA、IL-1 β 的水平, 且呈一定的剂量相关性, 与模型组比较, 高、中剂量组均差异显著 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。结果提示, DGMI 可剂量依赖性地增强脑组织抗氧化应激能力, 降低炎症因子 IL-1 β 的表达水平。结果见表 1。

4 讨论

银杏是传统的活血化瘀中药, 1966 年德国科学家 Willmar Schwabe 首先应用银杏叶提取物 (Extract of Ginkgo biloba, EGb761) 治疗心脑血管疾病和神经系统疾病, 其主要有效成分为 24% 黄酮和 6% 银杏内酯^[8]。EGb761 包含 170 多种药用成分, 相互作用复杂, 其中烷基酚和烷基酚酸类具有致过敏、致畸变的作用。金纳多、舒血宁是其典型代表, 目前仍广泛应用于治疗缺血性脑血管病。近年来随

图2 DGMI对tMCAO模型大鼠急性期损伤保护作用的治疗时间窗研究($\bar{x} \pm s$)Fig. 2 Therapeutic time window of DGMI in protection of acute phase injury of tMCAO model rats ($\bar{x} \pm s$)表1 DGMI对tMCAO模型大鼠缺血脑组织氧化应激和炎症因子的影响($\bar{x} \pm s$)Table 1 Effects of DGMI on oxidative stress and inflammatory factors in ischemic brain tissue of tMCAO rats ($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	n/只	T-SOD/(U·mg ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)	CK/(U·mg ⁻¹)	LDH/(U·mg ⁻¹)	IL-1β/(pg·mg ⁻¹)
对照	—	9	145.6±5.3	5.81±0.36	4.57±0.14	11072±534	0.63±0.04
模型	—	7	124.4±4.3*	7.23±0.39*	5.82±0.25***	14953±1083***	1.09±0.12***
Eda	4.5	8	157.3±7.6 ^{##}	5.56±0.53 ^{##}	4.74±0.21 ^{##}	11872±532 ^{##}	0.67±0.04 ^{###}
DGMI	1.25	7	140.5±6.1	6.67±0.21	6.67±0.21***	12929±778*	0.77±0.03 ^{##}
	2.50	7	144.9±5.2 [#]	5.75±0.35 [#]	5.75±0.35 [#]	12611±532 [#]	0.56±0.04 ^{###}
	5.00	7	152.8±5.2 ^{##}	5.45±0.36 ^{##}	5.45±0.36 ^{##}	11954±662 ^{##}	0.73±0.06 ^{###}

与对照组比较: * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ * $P < 0.05$ *** $P < 0.001$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ ^{###} $P < 0.001$ vs model group

着制药技术的发展,银杏类药物由混合制剂向组分明确,且高纯度的注射液改进,在提高疗效的基础上减少不良反应发生率。DGMI是目前为数不多的获批上市的银杏内酯化学单体注射液,有效成分银杏内酯A、B、K达99%以上。银杏黄酮在银杏叶提取物中水平较高,主要药理作用是清除自由基、抗氧化,而银杏内酯,尤其银杏内酯B是公认的高效特异的PAF受体拮抗剂^[9],能拮抗PAF引起的血

小板异常聚集和血栓形成,从而降低血浆黏度和全血黏度^[10]。研究表明银杏内酯A通过STAT3通路抑制高糖刺激引起的人脐静脉细胞炎症^[11]。脑缺血时给予银杏内酯A和银杏内酯B通过减少细胞凋亡,对永久性缺血大鼠发挥保护效用^[12],而且在小鼠脑缺血后尾iv银杏内酯B保护tMCAO小鼠缺血性脑卒中急性期损伤^[13]。银杏内酯K可以减轻过氧化氢引起的PC12细胞的氧化应激水平^[14],预给药

银杏内酯K对大鼠缺血性脑卒中神经损伤具有保护作用^[15]。由此推测,含银杏内酯A、B、K达99%以上的DGMI除在缺血性损伤恢复期发挥神经保护及修复功能外,在缺血性脑卒中急性期也可能具有保护作用。

有研究发现,大鼠缺血前2天尾iv预给药DGMI,缺血后3h再次给药对大鼠缺血性脑卒中急性期损伤具有保护作用^[16];临床研究中与舒血宁相比较,DGMI的调节血压、中枢镇静作用的药理活性更强^[17]。Eda是全球首个用于脑卒中病人临床治疗的神经保护药物,主要作用是清除极性和非极性状态的羟基自由基,与阿替普酶溶栓治疗联合效应显著^[18],本研究以Eda为阳性对照药。与Eda类似,脑缺血后给予DGMI减轻大鼠缺血性脑卒中急性期损伤,包括改善神经运动功能、减小梗死体积、降低脑水肿程度。

Pulsinell认为在脑缺血后,一定时间内可以通过治疗减轻脑损伤的程度、促进机能恢复,这个允许的时间称为治疗时间窗^[19]。缺血性脑卒中后及时恢复适量的血流或采用有效的药物治疗,可逆转缺血半暗带的损伤,否则缺血半暗带将转变为实质性不可逆性损伤^[20]。近年来研究表明,不同药物的治疗时间窗不同,国际中风治疗临床前研究指南非常重视时间窗的研究^[21]。本研究发现DGMI在缺血1h,缺血再灌注后1、2、3h给药,均能改善tMCAO大鼠神经运动功能、减少脑梗死体积、降低脑含水量,而在缺血再灌注后6h给药效应不明显。表明DGMI具有用于临床治疗缺血性脑卒中急性期损伤的可能,其治疗时间窗少于再灌注后6h。

氧化应激和炎症是诱导缺血再灌注损伤的重要机制。包括SOD在内的抗氧化酶在氧化应激中对神经元发挥保护作用^[22],MDA是脂质过氧化产物,反映组织氧化应激的水平^[23],LDH、CK的活性同样是表明缺血脑组织氧化应激的重要因素。IL-1 β 是脑组织中白细胞介素的主要形式,一方面可以协同其他的细胞因子促进T细胞和B细胞的活化,另一方面诱导其他炎症因子生成进而促进白细胞对内皮细胞的黏附,促进TNF- α 的生成^[24]。本研究结果显示DGMI升高损伤侧脑组织中T-SOD活力,降低CK、LDH的活力和MDA、炎症因子IL-1 β 的水平。表明,DGMI保护A缺血性脑卒中急性期损伤作用与增强缺血脑组织抗氧化应激能力、抑制脑内氧化应激和炎症有关。

综上所述,DGMI具有治疗缺血性脑卒中急性期损伤的可能,脑缺血、及缺血再灌注后尽早给药有利于发挥更好的保护作用,抗氧化应激及抗炎是其作用机制之一。

参考文献

- [1] Yenari M A, Han H S. Neuroprotective mechanisms of hypothermia in brain ischaemia [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2012, 13(4): 267-278.
- [2] Ángel C. Neuroprotection in acute stroke: targeting excitotoxicity, oxidative and nitrosative stress, and inflammation [J]. *Lancet Neurol*, 2016, 15(8): 869-881.
- [3] Prabhakaran S, Ruff I, Bernstein R A. Acute Stroke Intervention A Systematic Review [J]. *JAMA*, 2015, 313(14): 1451-1462.
- [4] Kanazawa M, Takahashi T, Nishizawa M Therapeutic strategies to attenuate hemorrhagic transformation after tissue plasminogen activator treatment for acute ischemic stroke [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2017, 24(3): 240-253.
- [5] Sun M, Deng B, Zhao X, et al. Isoflurane preconditioning provides neuroprotection against stroke by regulating the expression of the TLR4 signalling pathway to alleviate microglial activation [J]. *Sci Rep*. 2015, 5: 11445.
- [6] Ma Y, Li Y, Jiang L, et al. Macrophage depletion reduced brain injury following middle cerebral artery occlusion in mice [J]. *J Neuroinflammation*, 2016, 13: 38.
- [7] Yang Z, Weian C, Susu H, et al. Protective effects of mangiferin on cerebral ischemia-reperfusion injury and its mechanisms [J]. *Eur J Pharmacol*, 2016, 771: 145-151.
- [8] 张鸿金. 金纳多注射液对局灶性脑缺血再灌注后神经细胞凋亡及相关蛋白的动态影响[J]. *中国医科大学学报*. 2004, 33(6): 504-506.
- [9] Singh P, Singh I N, Mondal S C, et al. Platelet-activating factor (PAF)-antagonists of natural origin [J]. *Fitoterapia*, 2013, 84: 180-201.
- [10] Zhao Q, Gao C, Cui Z, et al. Ginkgolide A reduces inflammatory response in high-glucose-stimulated human umbilical vein endothelial cells through STAT3-mediated pathway [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 25(2): 242-248.
- [11] 刘皋林. 银杏制剂的药理作用与临床应用[J]. *上海医药*. 2016, (03): 8-22.
- [12] Wang X. Neuroprotection against permanent focal cerebral ischemia by ginkgolides A and B is associated with obstruction of the mitochondrial apoptotic pathway via inhibition of c-Jun N-terminal kinase in rats [J]. *J Neurosci Res*, 2014, 92(2): 232-242.
- [13] Gu JH. Inhibition of NF- κ B activation is associated with

- anti-inflammatory and anti-apoptotic effects of Ginkgolide B in a mouse model of cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. *Eur J Pharm Sci*, 2012, 47(4): 652-660.
- [14] Ma S. Neuroprotective effect of Ginkgolide K against H₂O₂-induced PC12 cell cytotoxicity by ameliorating mitochondrial dysfunction and oxidative stress [J]. *Biol Pharm Bull*, 2014, 37(2): 217-225.
- [15] Ma S. Neuroprotective effect of ginkgolide K against acute ischemic stroke on middle cerebral ischemia occlusion in rats [J]. *J Nat Med*, 2012, 66(1): 25-31.
- [16] 陈春苗. 银杏二萜内酯葡胺注射液对大鼠急性脑缺血再灌注损伤的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*. 2014, 17: 141-144.
- [17] 房利勤. 舒血宁和银杏二萜内酯葡胺注射液药理作用比较研究 [J]. *药物研究*. 2015, 24(21): 92-94.
- [18] Abe K. Therapeutic time window for ischemic stroke [J]. *Rinsho Shinkeigaku*, 2011, 51(11): 1182-1184.
- [19] Pulsinelli W A. The therapeutic window in ischemic brain injury [J]. *Curr Opin Neurol*, 1995, 8(1): 3-5.
- [20] Candelario J E. Post-ischemic treatment with the cyclooxygenase-2 inhibitor nimesulide reduces blood-brain barrier disruption and leukocyte infiltration following transient focal cerebral ischemia in rats [J]. *J Neurochem*, 2007, 100(4): 1108-1120.
- [21] Fisher M. Update of the stroke therapy academic industry roundtable preclinical recommendations [J]. *Stroke*, 2009, 40(6): 2244-2250.
- [22] Wang T F. Oxysophoridine protects against focal cerebral ischemic injury by inhibiting oxidative stress and apoptosis in mice [J]. *Neurochem Res*, 2013, 38(11): 2408-2417.
- [23] Cojocaru I M. Evaluation of oxidative stress in patients with acute ischemic stroke [J]. *Rom J Intern Med*, 2013, 51(2): 97-106.
- [24] Castellanos M. Inflammation-mediated damage in progressing lacunar infarctions: a potential therapeutic target [J]. *Stroke*, 2002, 33(4): 982-987.