

牡荆素调控 PI3K/Akt 通路对脑外伤大鼠的神经保护作用研究

高亮¹, 陈瑞¹, 孙志华¹, 邱爽¹, 高利真¹, 王凌啸¹, 温世芳¹, 马丙祥², 杨扬^{3*}

1. 驻马店市中心医院 儿童重症医学科, 河南 驻马店 463000

2. 河南中医药大学实验室, 河南 郑州 450046

3. 驻马店市中心医院 神经外科, 河南 驻马店 463000

摘要:目的 通过磷脂酰肌醇 3-激酶 (PI3K)/蛋白激酶 B (Akt) 信号通路探讨牡荆素对脑外伤大鼠的神经保护作用。方法 选用 SD 大鼠 90 只, 随机分成假手术组, 模型组, 牡荆素假手术组 (12 mg/kg 牡荆素), 牡荆素低 (3 mg/kg 牡荆素)、高剂量组 (12 mg/kg 牡荆素) 和吡拉西坦组 (20 mg/kg 吡拉西坦), 每组 18 只。采用自由落体致伤法建立脑外伤大鼠模型; 采用神经功能评分法评价神经功能缺损程度; 测定脑组织的含水量; 苏木素伊红 (HE) 染色检测脑组织病理变化; TUNEL 法检测脑组织神经细胞的凋亡情况; ELISA 法检测脑组织丙二醛 (MDA)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 水平; Western blotting 法检测脑组织中 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR 蛋白水平。结果 与假手术组相比, 模型组大鼠神经元变性坏死, 毛细血管破裂, 可见大量出血、炎性细胞浸润, 神经功能受损评分、细胞凋亡指数、脑组织含水量及 MDA 含量显著升高 ($P < 0.05$), SOD、GSH-Px 含量及 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 蛋白水平显著降低 ($P < 0.05$)。与模型组相比, 牡荆素低、高剂量组和吡拉西坦组大鼠病理变化均有一定程度减轻, 神经功能受损评分、细胞凋亡指数、脑组织含水量及 MDA 含量显著降低 ($P < 0.05$), SOD、GSH-Px 含量及 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 蛋白水平均显著升高 ($P < 0.05$)。假手术组和牡荆素假手术组各项指标差异无统计学意义。牡荆素高剂量组和吡拉西坦组各项指标差异无统计学意义。结论 牡荆素可能通过激活 PI3K/Akt 信号通路, 发挥脑外伤大鼠的神经保护作用。

关键词: 牡荆素; 脑外伤; PI3K/Akt 通路; 神经保护; 细胞凋亡

中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2021)11-2224-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2021.11.002

Neuroprotective effect of vitexin in rats with traumatic brain injury by regulating PI3K/Akt pathway

GAO Liang¹, CHEN Rui¹, SUN Zhi-hua¹, QIU Shuang¹, GAO Li-zhen¹, WANG Ling-xiao¹, WEN Shi-fang¹, MA Bing-xiang², YANG Yang³

1. Department of Children Intensive Medicine, Zhumadian Central Hospital, Zhumadian 463000, China

2. Laboratory of Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China

3. Department of Neurosurgery, Zhumadian Central Hospital, Zhumadian 463000, China

Abstract: Objective To investigate the neuroprotective effect of vitexin on traumatic brain injury in rats through phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/ protein kinase B (Akt) signaling pathway. **Methods** The rat model of brain injury was established by free falling body injury. Ninety SD rats were randomly divided into mock surgical group, model group, low dose vitexin group (3 mg/kg vitexin), high dose vitexin group (12 mg/kg vitexin), piracetam group (20 mg/kg piracetam) and vitexin mock surgical group (12 mg/kg vitexin), with eighteen rats in each group. Neurological function score was used to evaluate the degree of neurological deficit; the water content of brain tissue was measured; hematoxylin eosin (HE) staining was used to detect the pathological changes of brain tissue; TUNEL method was used to detect the apoptosis of nerve cells in brain tissue; the levels of MDA, SOD and GSH-Px were detected by ELISA; the protein levels of PI3K, p-PI3K, Akt, p-Akt, mTOR and p-mTOR were detected by Western blotting. **Results** Compared with those in the sham operation group, neurons in the model group were degenerated and necrotic, and the capillaries were ruptured, massive hemorrhage and inflammatory cell infiltration were observed in the model group, the neurological impairment score, apoptosis index, brain water content and MDA content were significantly higher ($P < 0.05$), the contents of SOD and GSH-Px,

收稿日期: 2021-06-17

基金项目: 河南省重点研发与推广专项 (1821023111069)

作者简介: 高亮 (1979—), 男, 硕士, 副主任中医师, 从事中医儿科相关研究。E-mail: gaomm3456@163.com

*通信作者: 杨扬 (1980—), 男, 医学博士, 副主任医师, 研究方向为干细胞治疗脑外伤的机制研究。

the protein levels of p-PI3K, p-Akt and p-mTOR were significantly lower ($P < 0.05$). Compared with those in the model group, the pathological changes in the low and high dose vitexin groups and piracetam groups were alleviated to some extent, the neurological impairment score, apoptosis index, brain water content and MDA content were significantly lower ($P < 0.05$), the contents of SOD and GSH-Px, the protein levels of p-PI3K, p-Akt and p-mTOR were significantly higher ($P < 0.05$). There was no significant difference between the mock surgical group and the vitexin sham operation group. And there was no significant difference between the high dose vitexin group and piracetam group. **Conclusion** Vitexin may play a neuroprotective role in traumatic brain injury rats by activating PI3K/Akt signaling pathway.

Key words: vitexin; traumatic brain injury; PI3K/Akt pathway; neuroprotection; apoptosis

脑外伤是创伤患者死亡和残疾的主要原因,通常由跌倒、机动车碰撞、运动相关损伤、虐待/攻击或压力爆炸引起的直接或传递的外力造成^[1]。脑外伤的发病过程比较复杂,涉及到原发性和继发性损伤。机械应激(原发性损伤)之后,几种细胞和生化病理事件(继发性损伤),包括氧化应激、炎症、线粒体功能障碍和细胞凋亡,在几分钟内发生,可能持续数小时至数天或数月,这些损伤可导致暂时或永久性神经功能障碍^[2-4]。牡荆素是从传统中草药山楂中发现的一种天然衍生的黄酮类化合物,具有抗肿瘤、抗氧化、抗炎、抗菌等生物活性^[5-7]。研究发现,牡荆素对戊四唑诱导的大鼠癫痫发作和谷氨酸诱导的神经元兴奋毒性都有一定的神经保护作用^[8]。磷脂酰肌醇 3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (protein kinase B, Akt) 信号通路在新陈代谢、炎症、细胞生长和存活的调节中发挥重要作用^[9]。已有研究发现,激活 PI3K/Akt 信号通路可减弱帕金森病小鼠和脑梗死小鼠的神经元凋亡^[10-11]。黄酮类化合物已被证明与 PI3K/Akt 信号通路特异性相互作用,发挥神经保护作用^[12]。因此,本研究通过构建脑外伤大鼠模型,分析牡荆素调控 PI3K/Akt 信号通路对脑外伤大鼠的神经保护作用,为脑外伤的临床治疗提供新思路。

1 材料及方法

1.1 动物

SD 大鼠,雌雄兼有,12 周龄,体质量 200~250 g,购自中国农业科学院北京畜牧兽医研究所,许可证号:SYXK(京)2019-0046。实验过程遵循“3R”原则。

1.2 主要试剂

牡荆素,质量分数>99.5%,批号 20181123,购自合肥七星医药科技有限公司,使用前生理盐水稀释至所需浓度。吡拉西坦片,国药准字 H12020667,批号 20190508,购自天津金世制药有限公司。丙二醛(malondialdehyde, MDA)试剂盒

(货号 S0131S)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)试剂盒(货号 S0109)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathion peroxidase, GSH-Px)试剂盒(货号 S0058)、HE 染色试剂盒(货号 C0105S)、TUNEL 试剂盒(货号 C0182),均购自上海碧云天生物有限公司。PI3K(4255)、p-PI3K(货号 17366)、Akt(货号 4685)、p-Akt(货号 9614)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR,货号 2983)、p-mTOR(货号 5536)、 β -actin(货号 4970)一抗及二抗(7074)均购自美国 Cell Signaling Technology 公司。

1.3 实验仪器

控制性皮层撞击仪,购自美国 Custom Design & Fabrication 公司,酶标仪购自美国 INStat 公司;蛋白凝胶成像仪、电泳仪均购自美国 Bio-Rad 公司。

1.4 实验方法

1.4.1 脑外伤大鼠动物模型制备 参照改良过的 Feeney's 自由落体致伤法^[13],制作脑外伤大鼠模型。首先 ip 1%戊巴比妥钠(30 mg/kg)将大鼠麻醉,麻醉成功后俯卧,头部固定于脑立体定位仪,头部消毒,正中矢状切开头皮,去除骨膜,暴露右侧颅骨,于冠状缝与人字缝 3 mm 处,用大鼠颅骨钻小心钻开颅骨,开一个直径为 4 mm 左右的圆形骨窗(注意保护硬膜完整)。应用控制性皮层撞击仪,将参数调整为速度:4.5 m/s,深度:1.5 mm,接触时间:200 ms,致顶叶脑挫裂伤。手术过程中,密切监测大鼠各项生命体征,若出现短暂四肢抽搐、呼吸暂停数秒,表明致伤成功。彻底止血,常规消毒,骨蜡封闭骨窗,逐层缝合头部皮肤。假手术组仅颅骨开窗,不予撞击,不造成皮层受损。

1.4.2 动物分组 将造模成功的 72 只 SD 大鼠随机分成 4 组:模型组,牡荆素低、高剂量组和吡拉西坦组,每组 18 只。另取 36 只大鼠做假手术处理,随机分为假手术组和牡荆素假手术组,每组 18 只。造模完成 1 h 后,假手术组和模型组 iv 生理盐水 2 mL;牡荆素低、高剂量组和牡荆素假手术组分别 iv

3、12、12 mg/kg 的牡荆素注射液（用生理盐水稀释）^[14]；吡拉西坦组 iv 20 mg/kg 吡拉西坦注射液（生理盐水溶解）^[15]，1 次/d，连续 7 d。末次给药 24 h 后，根据 Chen 等^[16]神经功能评分法，对各组大鼠自主运动、身体双侧触觉、体态对称性等方面进行神经受损程度评分，得分越高，神经受损程度越严重。

1.4.3 脑组织含水量的测定 从各组大鼠中随机选取 6 只，麻醉处死，取出损伤病灶周围全脑组织，滤纸吸干表面血迹，称量脑组织湿质量。再置于 100 °C 烘箱中烘烤 24 h，称量干质量。根据 Hatashita 法^[17]计算脑组织含水量。

$$\text{脑组织含水量} = (\text{湿质量} - \text{干质量}) / \text{湿质量}$$

1.4.4 脑组织病理学检测 从各组剩余大鼠中再随机选取 6 只，麻醉后取出大鼠损伤病灶周围的脑组织，置于 4% 甲醛中固定，脱水透明，石蜡包埋切片，使用 HE 染色试剂盒进行染色，在显微镜下观察病理学变化。

1.4.5 神经细胞凋亡的测定 取“1.4.4”项下大鼠脑组织病理切片，根据 TUNEL 法检测细胞凋亡情况。每个实验组分别随机选取 12 张切片，并从中选取 5 个具有代表性的高倍视野（×400），计算 500 个细胞中 TUNEL 染色的阳性细胞数，计算凋亡指数（AI）。AI = 凋亡细胞数/细胞总数

1.4.6 大鼠脑组织 MDA、SOD、GSH-Px 含量 取出各组剩余 6 只大鼠损伤病灶周围脑组织，液氮速冻研磨，匀浆化，根据 ELISA 试剂盒说明书操作，检测大鼠脑组织匀浆中 MDA、SOD、GSH-Px 含量。

1.4.7 PI3K-Akt 相关蛋白表达水平测定 提取“1.4.6”项下大鼠脑组织匀浆中的总蛋白，BCA 法检测蛋白含量。蛋白样品进行电泳（SDS-PAGE）分离，结束后转 PVDF 膜，脱脂奶粉封闭，加 PI3K、p-PI3K、Akt、p-Akt、mTOR、p-mTOR、β-actin 一抗（稀释倍数为 1：500），4 °C 孵育过夜，TBST 洗膜后，加二抗室温孵育 2 h，清洗后，显色，用 Gel-Pro-Analyzer 软件对条带进行灰度值分析。

1.5 统计学分析

本研究数据均采用 SPSS 22.0 软件进行统计分析，计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间比较采用单因素方差分析，进一步两两比较，采用 SNK-*q* 检验。

2 结果

2.1 牡荆素对脑外伤大鼠神经功能损伤的影响

与假手术组相比，模型组大鼠神经功能受损评

分显著升高（ $P < 0.05$ ）；与模型组相比，牡荆素低、高剂量组和吡拉西坦组大鼠神经功能受损评分显著降低（ $P < 0.05$ ）。假手术组和牡荆素假手术组差异无统计学意义。牡荆素高剂量组和吡拉西坦组差异无统计学意义，见表 1。

表 1 大鼠神经功能评分情况（ $\bar{x} \pm s, n=18$ ）

Table 1 Neurological function scores of rats ($\bar{x} \pm s, n=18$)

组别	剂量/(mg kg ⁻¹)	神经功能损伤评分
假手术	—	0.28 ± 0.07
模型	—	7.35 ± 0.43*
牡荆素假手术	12	0.30 ± 0.08
牡荆素	3	6.19 ± 0.37#
	12	4.42 ± 0.29# ^Δ
吡拉西坦	20	4.16 ± 0.25# ^Δ

与假手术组比较：* $P < 0.05$ ；与模型组比较：# $P < 0.05$ ；与牡荆素低剂量组比较：^Δ $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs sham operation group; # $P < 0.05$ vs model group; ^Δ $P < 0.05$ vs vitexin low-dose group

2.2 牡荆素对脑外伤大鼠脑组织含水量的影响

与假手术组相比，模型组大鼠脑组织含水量显著升高（ $P < 0.05$ ）；与模型组相比，牡荆素低、高剂量组和吡拉西坦组大鼠脑组织含水量显著降低（ $P < 0.05$ ）。假手术组和牡荆素假手术组差异无统计学意义，牡荆素高剂量组和吡拉西坦组差异无统计学意义，见表 2。

表 2 脑外伤大鼠脑组织含水量（ $\bar{x} \pm s, n=6$ ）

Table 2 Water content in brain tissue of traumatic brain rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/(mg kg ⁻¹)	脑组织含水量/%
假手术	—	76.04 ± 0.46
模型	—	80.67 ± 0.52*
牡荆素假手术	12	76.04 ± 0.51
牡荆素	3	78.59 ± 0.36#
	12	76.43 ± 0.43# ^Δ
吡拉西坦	20	76.24 ± 0.47# ^Δ

与假手术组比较：* $P < 0.05$ ；与模型组比较：# $P < 0.05$ ；与牡荆素低剂量组比较：^Δ $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs sham operation group; # $P < 0.05$ vs model group; ^Δ $P < 0.05$ vs vitexin low-dose group

2.3 牡荆素对脑外伤大鼠脑组织病理学的影响

假手术组和牡荆素假手术组大鼠脑组织结构正常，细胞排列紧密，未见组织水肿及神经元变性

坏死；模型组大鼠神经细胞肿胀坏死，毛细血管破裂，周围组织水肿，可见大量出血、炎性细胞浸润，神经元变性坏死，出现核固缩现象；牡荆素低、高剂量组和吡拉西坦组大鼠皮质水肿，偶见出血，部分神经元坏死液化，可见少量核固缩，相比模型组，病理变化均有一定程度减轻，见图 1。

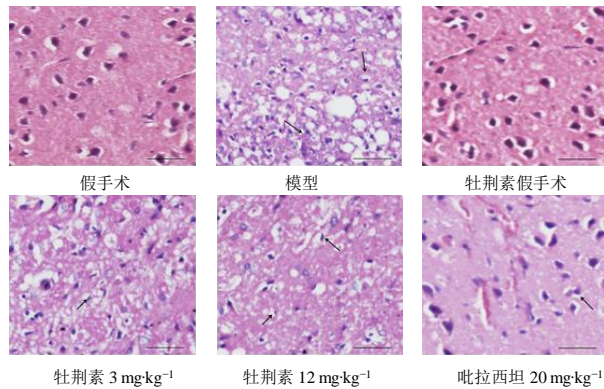


图 1 各组大鼠脑组织 HE 染色结果图 (×400)

Fig. 1 HE staining results of brain tissue of rats in each group (×400)

2.4 牡荆素对脑外伤大鼠脑组织细胞凋亡的影响

与假手术组相比，模型组大鼠脑组织细胞凋亡指数显著升高 ($P < 0.05$)；与模型组相比，牡荆素低、高剂量组和吡拉西坦组大鼠脑组织细胞凋亡指数显著降低 ($P < 0.05$)。假手术组和牡荆素假手术组差异无统计学意义，牡荆素高剂量组和吡拉西坦组差异无统计学意义，见图 2、表 3。

2.5 牡荆素对脑外伤大鼠脑组织 MDA、SOD、GSH-Px 含量的影响

与假手术组相比，模型组大鼠脑组织 MDA 含量显著升高，SOD、GSH-Px 含量显著降低 ($P < 0.05$)；与模型组相比，牡荆素低、高剂量组和吡拉

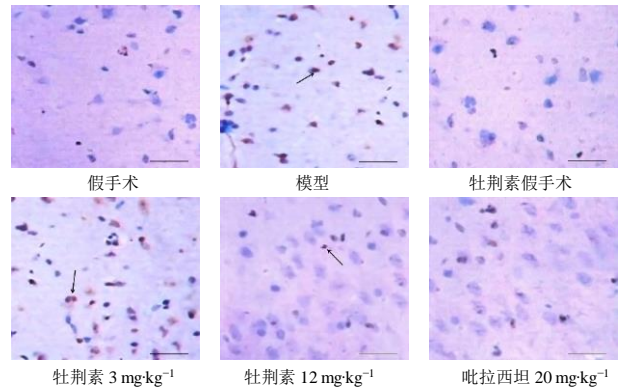


图 2 各组大鼠脑细胞凋亡图 (×400)

Fig. 2 Apoptosis of brain cells in each group (×400)

表 3 脑外伤大鼠脑组织细胞凋亡指数 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Apoptosis index of brain tissue in traumatic brain ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/(mg kg ⁻¹)	细胞凋亡指数/%
假手术	—	6.19 ± 1.23
模型	—	56.79 ± 3.41*
牡荆素假手术	12	5.93 ± 1.45
牡荆素	3	40.85 ± 2.97#
	12	21.38 ± 2.16# ^Δ
吡拉西坦	20	20.86 ± 2.35# ^Δ

与假手术组比较：* $P < 0.05$ ；与模型组比较：# $P < 0.05$ ；与牡荆素低剂量组比较：^Δ $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs sham operation group; # $P < 0.05$ vs model group; ^Δ $P < 0.05$ vs vitexin low-dose group

西坦组大鼠中 MDA 含量显著降低，SOD、GSH-Px 含量显著升高 ($P < 0.05$)。假手术组和牡荆素假手术组差异无统计学意义，牡荆素高剂量组和吡拉西坦组差异无统计学意义，见表 4。

表 4 外伤大鼠脑组织 MDA、SOD、GSH-Px 含量 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Content of MDA, SOD and GPx in brain of traumatic rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/(mg kg ⁻¹)	MDA/(nmol mg ⁻¹)	SOD/(U mg ⁻¹)	GSH-Px/(U mg ⁻¹)
假手术	—	4.38 ± 0.29	136.46 ± 10.94	107.43 ± 13.25
模型	—	6.75 ± 0.52*	95.87 ± 7.75*	46.59 ± 5.39*
牡荆素假手术	12	4.39 ± 0.30	137.12 ± 9.83	105.96 ± 11.27
牡荆素	3	5.82 ± 0.46#	110.39 ± 6.98#	62.75 ± 5.75#
	12	5.06 ± 0.39# ^Δ	127.53 ± 9.63# ^Δ	85.31 ± 8.69# ^Δ
吡拉西坦	20	4.97 ± 0.41# ^Δ	130.26 ± 8.79# ^Δ	94.86 ± 9.84# ^Δ

与假手术组比较：* $P < 0.05$ ；与模型组比较：# $P < 0.05$ ；与牡荆素低剂量组比较：^Δ $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs sham operation group; # $P < 0.05$ vs model group; ^Δ $P < 0.05$ vs vitexin low-dose group

2.6 牡荆素对脑外伤大鼠脑组织 PI3K/Akt 通路相关蛋白水平的影响

与假手术组相比，模型组大鼠脑组织 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 蛋白水平显著降低 ($P < 0.05$)；与模型组相比，牡荆素低、高剂量组和吡拉西坦组大鼠脑组织 p-PI3K、p-Akt、p-mTOR 蛋白水平显著升高 ($P < 0.05$)。假手术组和牡荆素假手术组差异无统计学意义，牡荆素高剂量组和吡拉西坦组差异无统计学意义，见图 3、表 5。

3 讨论

作为一种常见脑组织损伤，脑外伤具有高死亡率和高发病率，脑外伤可导致线粒体功能障碍、兴奋性损伤、氧化应激、炎症和血管通透性增加^[18-19]。

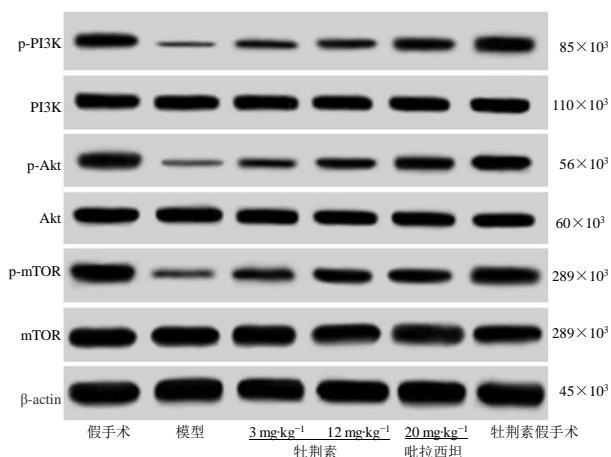


图 3 各组大鼠脑组织 WB 检测结果

Fig. 3 WB test results of brain tissue of rats in each group

表 5 脑外伤大鼠脑组织 PI3K/Akt 通路相关蛋白水平 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 5 Levels of PI3K/Akt pathway related proteins in brain tissue of traumatic brain rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/(mg kg ⁻¹)	p-PI3K/PI3K	p-Akt/Akt	p-mTOR/mTOR
假手术	—	1.02 ± 0.13	1.08 ± 0.11	1.05 ± 0.09
模型	—	0.14 ± 0.05*	0.16 ± 0.06*	0.14 ± 0.04*
牡荆素	3	0.38 ± 0.08 [#]	0.45 ± 0.06 [#]	0.34 ± 0.06 [#]
	12	0.83 ± 0.09 ^{#Δ}	0.81 ± 0.09 ^{#Δ}	0.89 ± 0.12 ^{#Δ}
吡拉西坦	20	0.93 ± 0.10 ^{#Δ}	0.95 ± 0.12 ^{#Δ}	1.03 ± 0.11 ^{#Δ}
牡荆素假手术	12	1.12 ± 0.11	1.06 ± 0.13	1.06 ± 0.10

与假手术组比较: * $P < 0.05$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$; 与牡荆素低剂量组比较: ^Δ $P < 0.05$

^{*} $P < 0.05$ vs sham operation group; [#] $P < 0.05$ vs model group; ^Δ $P < 0.05$ vs vitexin low-dose group

目前迫切需要寻找阻止神经损伤的有效干预措施，因此使用可靠的动物模型来研究和了解脑外伤各个方面的病理变化，对于治疗脑外伤相关并发症的药物开发极其重要。本研究利用控制性皮层撞击仪对大鼠脑组织造成机械性损伤，构建脑外伤模型，结果发现模型组大鼠脑组织神经元变性坏死，毛细血管破裂，周围组织水肿，可见大量出血、炎性细胞浸润，神经功能受损评分、脑组织含水量、细胞凋亡指数显著高于假手术组大鼠，揭示脑外伤大鼠模型成功建立。大脑是氧的主要代谢器官，具有相对较弱的保护性抗氧化系统，特别容易受到氧化应激的影响^[20]。脑外伤大鼠脑组织中 MDA 含量升高，SOD、GSH-Px 含量降低，表明脂质过氧化作用增强，同时缺乏抗氧化保护，导致组织细胞毒性，造成神经损伤。

牡荆素是一种重要的生物活性黄酮类化合物，来源于山楂干燥叶，多项研究发现其具有神经保护作用。牡荆素可通过抑制炎症和改善血脑屏障的完

整性治疗癫痫^[21]。脑缺血/再灌注小鼠损伤模型中，牡荆素可明显减轻神经功能缺损和神经元损伤^[22]。Lyu 等^[23]研究发现，牡荆素可抑制七氟醚诱导的神经元凋亡，从而发挥保护作用。在本研究中，TBI 大鼠在牡荆素作用下，大鼠脑组织神经元坏死程度减轻，神经细胞凋亡指数降低，表明牡荆素可减少大鼠脑组织神经细胞凋亡，减轻神经损伤，与前人研究结果一致。在探讨牡荆素对阿霉素所致大鼠急性心脏毒性的保护作用中发现，牡荆素可抑制脂质过氧化作用和提高抗氧化酶活性，明显改善氧化应激损伤^[24]。与其一致，本研究中牡荆素处理组的大鼠脑组织中 MDA 含量显著降低，SOD、GSH-Px 含量显著升高，结果说明牡荆素可明显抑制氧化应激反应，减少脑组织损伤。

PI3K/Akt 信号转导途径是细胞内膜受体信号转导的重要途径。它是维持细胞存活和抑制细胞凋亡的关键^[25]。它可以影响效应分子的激活，包括下游凋亡相关蛋白和细胞周期调节蛋白。PI3K/Akt 对

脑组织损伤具有明确的抗凋亡保护作用,抑制这种途径可增强神经细胞凋亡^[26]。He等^[27]研究发现,七氟醚处理可诱导脑外伤大鼠的PI3K/Akt信号激活,抑制神经元凋亡,减轻脑水肿,改善神经功能。右美托咪定可激活PI3K/Akt/mTOR信号通路,发挥脑外伤大鼠的神经保护作用^[28]。本研究中,脑外伤大鼠脑组织p-PI3K、p-Akt、p-mTOR蛋白水平显著降低,说明PI3K/Akt/mTOR通路蛋白的磷酸化程度减弱,促进神经元凋亡坏死,影响神经功能。在帕金森小鼠模型的研究过程中了解到,牡荆素可通过激活PI3K/Akt信号通路,保护多巴胺能神经元,减轻损伤^[29]。脑外伤大鼠在牡荆素的治疗下,脑组织p-PI3K、p-Akt、p-mTOR蛋白水平显著升高,表明牡荆素可激活PI3K/Akt/mTOR信号通路,抑制细胞凋亡,保护神经功能。

综上所述,牡荆素可能通过激活PI3K/Akt/mTOR信号通路对脑外伤大鼠起到神经保护作用,有望成为治疗脑外伤的新方法。但目前,由于脑外伤的发病机制比较复杂,牡荆素的药效作用仍需进一步分析研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Wang K K, Yang Z, Zhu T, *et al.* An update on diagnostic and prognostic biomarkers for traumatic brain injury [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2018, 18(2): 165-180.
- [2] Jha R M, Kochanek P M, Simard J M. Pathophysiology and treatment of cerebral edema in traumatic brain injury [J]. *Neuropharmacology*, 2019, 145(pt b): 230-246.
- [3] Leikin J B. Traumatic brain injury [J]. *Dis Mon*, 2019, 65(10): 100857.
- [4] Khellaf A, Khan D Z, Helmy A. Recent advances in traumatic brain injury [J]. *J Neurol*, 2019, 266(11): 2878-2889.
- [5] He M, Min J W, Kong W L, *et al.* A review on the pharmacological effects of vitexin and isovitexin [J]. *Fitoterapia*, 2016, 115: 74-85.
- [6] 董六一, 邵旭, 江勤, 等. 牡荆素对大鼠实验性心肌缺血损伤的保护作用及其机制 [J]. *中草药*, 2011, 42(7): 1378-1383.
- [7] 段听雅, 王素娟, 戴晶晶, 等. 紫花牡荆素对大鼠颈动脉细胞凋亡和侵袭迁移的影响 [J]. *药物评价研究*, 2016, 39(3): 372-376.
- [8] Abbasi E, Nassiri-Asl M, Shafeei M, *et al.* Neuroprotective effects of vitexin, a flavonoid, on pentylentetrazole-induced seizure in rats [J]. *Chem Biol Drug Des*, 2012, 80(2): 274-278.
- [9] Li Y X, Yang W Y, Quinones-Hinojosa A, *et al.* Interference with protease-activated receptor 1 alleviates neuronal cell death induced by lipopolysaccharide-stimulated microglial cells through the PI3K/Akt pathway [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 38247.
- [10] Dong W W, Luo B, Qiu C, *et al.* TRIM3 attenuates apoptosis in Parkinson's disease via activating PI3K/AKT signal pathway [J]. *Aging (Albany NY)*, 2020, 13(1): 735-749.
- [11] Chen J, Zhang W, Wu Y Q, *et al.* LncRNA SNHG1 inhibits neuronal apoptosis in cerebral infarction rats through PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(12): 5366-5373.
- [12] Ayaz M, Sadiq A, Junaid M, *et al.* Flavonoids as prospective neuroprotectants and their therapeutic propensity in aging associated neurological disorders [J]. *Front Aging Neurosci*, 2019, 11: 155.
- [13] Feeney D M, Boyeson M G, Linn R T, *et al.* Responses to cortical injury: I. Methodology and local effects of contusions in the rat [J]. *Brain Res*, 1981, 211(1): 67-77.
- [14] 王亚男, 彭成凤, 甄毅岚, 等. 注射用牡荆素与葛根素注射液抗大鼠心肌缺血/再灌注损伤量效关系的研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2015, 50(3): 314-318.
- [15] 温书景. 吡拉西坦对脑出血后认知功能障碍患者血清S-100 β 蛋白、NSE水平及认知功能的影响 [J]. *实用中西医结合临床*, 2020, 20(9): 94-95.
- [16] Chen Y, Constantini S, Trembovler V, *et al.* An experimental model of closed head injury in mice: pathophysiology, histopathology, and cognitive deficits [J]. *J Neurotrauma*, 1996, 13(10): 557-568.
- [17] Hatashita S, Hoff J T, Salamat S M. Ischemic brain edema and the osmotic gradient between blood and brain [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1988, 8(4): 552-559.
- [18] Greve M W, Zink B J. Pathophysiology of traumatic brain injury [J]. *Mt Sinai J Med*, 2009, 76(2): 97-104.
- [19] Khellaf A, Khan D Z, Helmy A. Recent advances in traumatic brain injury [J]. *J Neurol*, 2019, 266(11): 2878-2889.
- [20] Khatri N, Thakur M, Pareek V, *et al.* Oxidative stress: major threat in traumatic brain injury [J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2018, 17(9): 689-695.
- [21] Luo W D, Min J W, Huang W X, *et al.* Vitexin reduces epilepsy after hypoxic ischemia in the neonatal brain via inhibition of NKCC1 [J]. *J Neuroinflammation*, 2018, 15(1): 186.
- [22] Wang Y, Zhen Y, Wu X, *et al.* Vitexin protects brain against ischemia/reperfusion injury via modulating mitogen-activated protein kinase and apoptosis signaling in mice [J]. *Phytomedicine*, 2015, 22(3): 379-384.

- [23] Lyu Z P, Cao J, Wang J, *et al.* Protective effect of vitexin reduces sevoflurane-induced neuronal apoptosis through HIF-1 α , VEGF and p38 MAPK signaling pathway in vitro and in newborn rats [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(3): 3117-3123.
- [24] Sun Z, Yan B, Yu W Y, *et al.* Vitexin attenuates acute doxorubicin cardiotoxicity in rats via the suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis and the activation of FOXO3a [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 12(3): 1879-1884.
- [25] Liang K, Ye Y, Wang Y, *et al.* Formononetin mediates neuroprotection against cerebral ischemia/reperfusion in rats via downregulation of the Bax/Bcl-2 ratio and upregulation PI3K/Akt signaling pathway [J]. *J Neurol Sci*, 2014, 344(1/2): 100-104.
- [26] Liu X Y, Zhou X Y, Hou J C, *et al.* Ginsenoside Rd promotes neurogenesis in rat brain after transient focal cerebral ischemia via activation of PI3K/Akt pathway [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2015, 36(4): 421-428.
- [27] He H F, Liu W F, Zhou Y Y, *et al.* Sevoflurane post-conditioning attenuates traumatic brain injury-induced neuronal apoptosis by promoting autophagy via the PI3K/AKT signaling pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 629-638.
- [28] Shen M, Wang S, Wen X, *et al.* Dexmedetomidine exerts neuroprotective effect via the activation of the PI3K/Akt/mTOR signaling pathway in rats with traumatic brain injury [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 95: 885-893.
- [29] Hu M, Li F M, Wang W D. Vitexin protects dopaminergic neurons in MPTP-induced Parkinson's disease through PI3K/Akt signaling pathway [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 565-573.

[责任编辑 高源]