

基于斑马鱼模型评价二甲基姜黄素、黄芩苷、紫檀芪对异烟肼导致神经损伤的保护作用

杨亚楠^{1, 2, 3}, 郭芳艳^{1, 2, 3}, 王西新^{1, 2}, 刘可春^{1, 2}, 柳 丽^{3*}, 张 云^{1, 2*}

1. 齐鲁工业大学(山东省科学院) 山东省科学院生物研究所, 山东 济南 250103

2. 山东省人类疾病斑马鱼模型与药物筛选工程技术研究中心, 山东 济南 250103

3. 常州大学药学院, 江苏 常州 213164

摘要: 目的 评价二甲基姜黄素、黄芩苷、紫檀芪对异烟肼导致斑马鱼神经损伤的保护作用。方法 挑选受精后2 h (2 hpf) 的斑马鱼胚胎, 设置对照组(胚胎培养用水处理)、异烟肼组(4 mmol/L)、二甲基姜黄素(0.5、1.0、2.0、4.0 $\mu\text{mol/L}$)组、黄芩苷(0.1、0.2、0.5、1.0 $\mu\text{mol/L}$)组、紫檀芪(0.5、1.0、2.0、4.0 $\mu\text{mol/L}$)组, 异烟肼分别与不同浓度的药物共处理120 h, 用Zebrafish斑马鱼行为分析仪分析斑马鱼幼鱼行为学轨迹变化, 荧光显微镜下观察斑马鱼幼鱼多巴胺神经元的发育情况。结果 与对照组比较, 异烟肼组运动轨迹明显减少, 运动总距离和低速、中速运动距离均显著下降($P < 0.01$), 运动速度明显降低; 神经节长度显著降低($P < 0.01$)。与异烟肼组比较, 二甲基姜黄素组运动轨迹明显增加, 斑马鱼运动状态主要为低速运动, 各浓度的二甲基姜黄素组斑马鱼总运动距离和低速运动距离均显著增加($P < 0.01$), 运动速度明显增加, 0.5、2.0、4.0 $\mu\text{mol/L}$ 的二甲基姜黄素组中速运动距离显著增加($P < 0.01$); 黄芩苷组运动轨迹明显增加, 0.1、0.2、0.5和1.0 $\mu\text{mol/L}$ 的黄芩苷组斑马鱼总运动距离和低速运动距离均显著增加($P < 0.01$), 运动速度明显增加; 0.5和1.0 $\mu\text{mol/L}$ 紫檀芪组运动轨迹明显增加, 紫檀芪0.5 $\mu\text{mol/L}$ 组的总运动距离和低速运动距离均显著增加($P < 0.01$), 紫檀芪0.5和1.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度组运动速度明显增加。与异烟肼组比较, 二甲基姜黄素和黄芩苷各浓度组多巴胺相对神经节长度显著增加($P < 0.01$); 紫檀芪1 $\mu\text{mol/L}$ 组相对神经节长度显著增加($P < 0.01$)。结论 二甲基姜黄素、黄芩苷和0.5、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 紫檀芪对异烟肼导致的斑马鱼神经损伤有明显保护作用。

关键词: 异烟肼; 二甲基姜黄素; 黄芩苷; 紫檀芪; 斑马鱼; 神经保护; 行为学; 多巴胺神经元

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)07-1377-08

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.07.003

Evaluation of protective effects of dimethylcurcumin, baicalin and pterostilbene on nerve injury induced by isoniazid based on zebrafish model

YANG Yanan^{1, 2, 3}, WU Fangyan^{1, 2, 3}, WANG Xixin^{1, 2}, LIU Kechun^{1, 2}, LIU Li³, ZHANG Yun^{1, 2}

1. Biology Institute, Qilu University of Technology (Shandong Academy of Sciences), Jinan 250103, China

2. Engineering Research Center of Zebrafish Models for Human Diseases and Drug Screening of Shandong Province, Jinan 250103, China

3. School of Pharmacy, Changzhou University, Changzhou 213164, China

Abstract: Objective To evaluate the protective effects of dimethyl curcumin, baicalin and pterostilbene on isoniazid induced nerve damage in zebrafish. **Methods** 2 hpf (hours post fertilization) zebrafish embryos were used in the experiments. These fish were respectively treated with control group, isoniazid group, and isoniazid along with different concentrations of dimethyl curcumin (0.5, 1.0, 2.0, 4.0 $\mu\text{mol/L}$), baicalin (0.1, 0.2, 0.5, 1.0 $\mu\text{mol/L}$) and pterostilbene (0.5, 1.0, 2.0, 4.0 $\mu\text{mol/L}$) co-treatment group. At 120 h, the Zebrafish was used to analyze the behavioral trajectory changes of zebrafish, and the development of dopaminergic neurons in

收稿日期: 2021-05-30

基金项目: 山东省优秀青年人才基金项目(ZR2020YQ60); 齐鲁工业大学(山东省科学院)科教产融合创新试点工程项目(2020KJC-ZD08); 济南市“高校20条”资助项目(2020GXRC053)

第一作者: 杨亚楠(1996—), 女, 硕士, 研究方向为基于斑马鱼模型的药物活性筛选与安全性评价。Tel: (0531)82605331 E-mail: yanan2416379818@163.com

*通信作者: 张 云, 女, 博士, 研究员, 主要从事基于斑马鱼模型的药物活性筛选与安全性评价。Tel: (0531)82605331 E-mail: xiaohan_0818@163.com
柳 丽, 女, 博士, 副教授, 主要从事神经药理学研究。Tel: (0519)86330225 E-mail: liulily@cczu.edu.cn

zebrafish larvae was observed under a fluorescence microscope. **Results** Compared with control group, the movement track of isoniazid group was significantly reduced, the total movement distance and the low and medium speed movement distance were significantly decreased ($P < 0.01$), and the movement speed was significantly reduced, and the ganglion length was significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with isoniazid group, the movement track of dimethylcurcumin group was significantly increased, and the zebrafish movement state was mainly low speed movement. The total movement distance and low speed movement distance of each concentration of dimethylcurcumin group were significantly increased ($P < 0.01$), and the movement speed was significantly increased, the distance of middle speed movement was significantly increased in dimethylcurcumin 0.5, 2.0, 4.0 $\mu\text{mol/L}$ group ($P < 0.01$). In the baicalin group, the trajectories increased significantly, the total movement distance and low speed movement distance of zebrafish were significantly increased ($P < 0.01$) and the movement speed was significantly increased ($P < 0.01$). The trajectories increased significantly in pterostilbene 0.5 and 1.0 $\mu\text{mol/L}$ group, the total movement distance and low speed movement distance of pterostilbene 0.5 $\mu\text{mol/L}$ group were significantly increased ($P < 0.01$) and the movement speed was significantly increased in pterostilbene 0.5 and 1.0 $\mu\text{mol/L}$ group. Compared with isoniazid group, the relative ganglion length of dopamine in dimethylcurcumin, baicalin and pterostilbene 1 $\mu\text{mol/L}$ groups was significantly increased ($P < 0.01$). **Conclusion** Dimethylcurcumin, baicalin and lower-concentration pterostilbene have obvious protective effects on isoniazid-caused zebrafish nerve injury.

Key words: isoniazid; dimethylcurcumin; bacitracin; pterostilbene; zebrafish; neuroprotection; behaviorism; dopamine neurons

异烟肼具有良好的抗结核杆菌作用^[1-2],是治疗结核病的一线药物^[3]。但随着异烟肼的广泛使用,其不良反应也日益凸显,包括肝毒性^[4]、免疫系统反应^[5]、中枢神经系统损伤^[6-7]等,其中中枢神经系统损伤是异烟肼的主要不良反应之一。中枢神经系统损伤临床表现以癫痫、周围神经炎、昏迷等为主^[8],损伤程度与剂量有关^[9]。勇彤^[10]研究发现异烟肼治疗结核病患者后可诱发癫痫样症状,引起患者神经损伤。Liu等^[11]研究表明,异烟肼对斑马鱼胚胎有明显的神经毒性,异烟肼可导致斑马鱼自主运动能力显著降低,多巴胺神经元长度显著减少,脑部发育受到抑制。

二甲基姜黄素是从姜黄根茎中提取的一种多酚类物质,已有研究证实其在神经系统疾病的治疗中有较好效果。二甲基姜黄素主要通过调节体内氧化还原平衡,减少氧化应激造成的损伤发挥神经保护作用^[12]。也有研究发现其可能主要通过抑制Caspase-3蛋白的表达发挥神经保护作用^[13]。黄芩苷是黄芩中主要的活性物质,刘萍等^[14]发现黄芩苷可通过促进热休克蛋白70(HSP-70)的表达,抑制Caspase-3的表达,对大鼠缺血性脑损伤发挥保护作用。紫檀芪是一种植物雌激素,主要来源于蓝莓和葡萄籽,有动物实验证实脑缺血大鼠服用紫檀芪后,其脑组织内存活神经元的数量显著增加^[15]。给予衰老大鼠紫檀芪后,大鼠学习和记忆能力均明显提高^[16]。

斑马鱼与哺乳动物一样,具有所有主要的神经介质系统,包括神经递质受体、转运蛋白以及合成和代谢的酶^[17]。研究人员对斑马鱼基因组测序发现斑马鱼与人类基因相似度高达87%^[18]。斑马鱼

具有体型小、发育快、繁殖率高、胚胎透明等特点^[19],适合药物活性成分的快速筛选^[20]。因此,本实验以新型模式生物斑马鱼为模型,评价二甲基姜黄素、黄芩苷、紫檀芪对异烟肼导致斑马鱼神经损伤的保护作用,为这3种化合物在神经保护方面的应用提供数据参考。

1 材料

1.1 试剂

二甲基姜黄素、黄芩苷、紫檀芪、异烟肼由美国Fluka公司提供;三卡因由美国Sigma公司提供(使用双蒸水配成质量分数0.16%的溶液,4℃冰箱保存备用);胚胎培养用水(5 mmol/L NaCl、0.17 mmol/L KCl、0.4 mmol/L CaCl₂、0.16 mmol/L MgSO₄)。

1.2 主要仪器

斑马鱼饲养养殖系统(北京爱生有限公司);Zebrabox斑马鱼行为分析仪(法国Viewpoint公司);体视荧光显微镜(德国ZEISS公司);CO₂培养箱(美国Forma公司)。

1.3 实验动物

野生AB品系斑马鱼、绿色荧光标记多巴胺神经元的转基因斑马鱼Tg(vmat:GFP)由山东省科学院生物研究所斑马鱼药物筛选平台提供,其饲养和繁殖方法可参考文献报道的成熟方法^[21]。成鱼在斑马鱼养殖系统中饲养,实验前1天取健康斑马鱼按照雌雄比例为1:1或1:2放入缸中交配,次日获得受精卵,将受精卵清洗3遍后,将其置于含有0.02%亚甲基蓝的胚胎培养用水,28.5℃条件下生化培养箱中孵育(照明14 h/黑暗10 h)。定期更换胚胎培养用水。

2 方法

2.1 处理斑马鱼胚胎方法

邬芳艳等^[22]评价了异烟肼对斑马鱼胚胎的神经发育毒性,其中4、8 mmol/L异烟肼神经毒性较为明显,且4 mmol/L异烟肼致死率较低。因此,选取4 mmol/L异烟肼作为本实验的造模浓度。在显微镜下随机挑选发育至正常的受精后2 h(2 h post fertilization, 2 hpf)斑马鱼胚胎,每孔30枚,放于6孔板中。实验设置对照组(胚胎培养用水处理)、异烟肼组(4 mmol/L)、二甲基姜黄素(0.5、1.0、2.0、4.0 $\mu\text{mol/L}$)组、黄芩苷(0.1、0.2、0.5、1.0 $\mu\text{mol/L}$)组、紫檀芪(0.5、1.0、2.0、4.0 $\mu\text{mol/L}$)组,异烟肼分别与不同浓度的药物共处理。每个浓度设置3个复孔,溶液终体积均为5 mL,置于恒温(28.5 $^{\circ}\text{C}$)培养箱中继续光控培养至120 h。每24小时更换药液,实验重复3次。

2.2 斑马鱼幼鱼行为学分析

连续给药处理120 h后,将幼鱼用胚胎培养用水清洗2~3遍。分别在各组中随机挑选12条幼鱼并将其置于48孔板中,每孔1条,胚胎培养用水600 μL /孔。将孔板放入斑马鱼行为学分析暗箱中,让幼鱼适应15 min,在安静的环境下使用Zebralab采集30 min内各组斑马鱼的运动轨迹^[23]。根据斑马鱼幼鱼的游动速率将运动划分为3个速度范围:低速(<2 cm/s)、中速(2~5 cm/s)和高速(>5 cm/s)^[24]。计算斑马鱼运动总距离、分时速度以及运动的低速和中速距离。实验重复3次。

2.3 斑马鱼幼鱼多巴胺神经元检测

连续给药处理120 h后,每个浓度组随机挑选10条绿色荧光标记多巴胺神经元的转基因斑马鱼Tg(vmat:GFP),将其用甲基纤维素固定于载玻片上(背部朝上),荧光显微镜下拍摄各浓度组斑马鱼幼鱼多巴胺神经节,使用Image-Pro Plus 5.1软件(Media Cybernetics Inc, Rockville, MD)统计多巴胺神经节的长度,计算相对对照组神经节长度。

2.4 统计学分析

数据统计使用 $\bar{x}\pm s$ 表示,所有结果均通过SPSS 16.0统计软件进行分析,样本差异通过One-way ANOVA计算。

3 结果

3.1 二甲基姜黄素、黄芩苷、紫檀芪对异烟肼引起的斑马鱼行为学变化的影响

3.1.1 二甲基姜黄素对异烟肼引起的斑马鱼行为学变化的影响 如图1-A所示,异烟肼组较对照组

运动轨迹明显减少,连续给药120 h后,二甲基姜黄素组运动轨迹较异烟肼组明显增加。如图1-B、C所示,斑马鱼运动状态主要为低速运动,与对照组比较,异烟肼组运动总距离和低速、中速运动距离均显著下降($P<0.01$);与异烟肼组比较,0.5、1.0、2.0、4.0 $\mu\text{mol/L}$ 二甲基姜黄素组斑马鱼总运动距离和低速运动距离均显著增加($P<0.01$),0.5、2.0、4.0 $\mu\text{mol/L}$ 二甲基姜黄素组中速运动距离显著增加($P<0.01$)。如图1-D所示,异烟肼组较对照组运动速度明显减少,二甲基姜黄素组运动速度较异烟肼组明显增加。4 $\mu\text{mol/L}$ 组斑马鱼运动能力恢复效果较好,基本与对照组相同。

3.1.2 黄芩苷对异烟肼引起的斑马鱼行为学变化的影响 如图2-A所示,异烟肼组较对照组运动轨迹明显减少,连续给药120 h后,黄芩苷组运动轨迹较异烟肼组明显增加。如图2-B、C所示,与对照组比较,异烟肼组运动总距离和低速运动距离均显著下降($P<0.01$);与异烟肼组比较,0.1、0.2、0.5、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 的黄芩苷组斑马鱼总运动距离和低速运动距离均显著增加($P<0.01$),且作用呈剂量相关性。如图2-D所示,异烟肼组较对照组运动速度明显减少,黄芩苷组运动速度较异烟肼组明显增加。

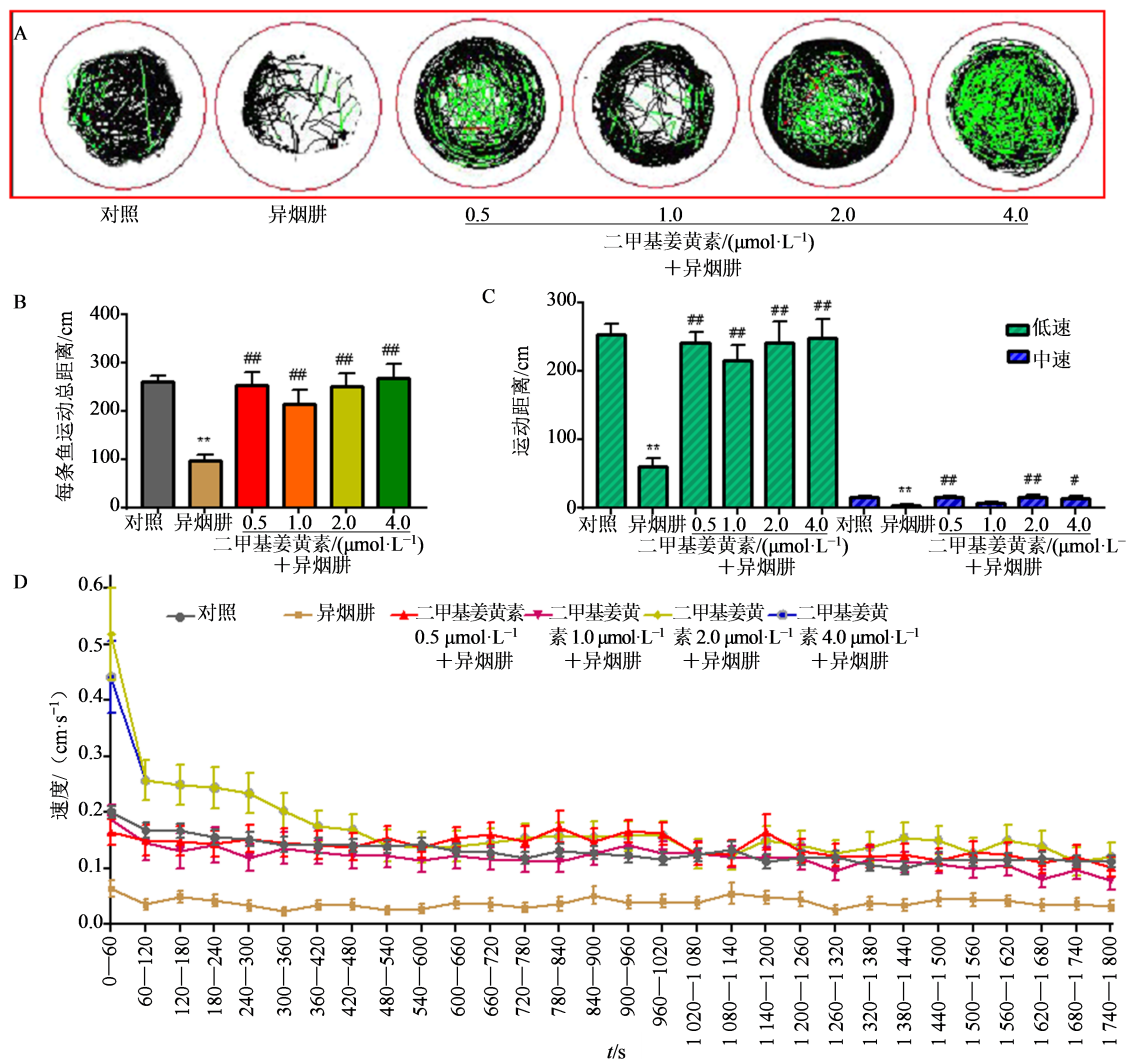
3.1.3 紫檀芪对异烟肼引起的斑马鱼行为学变化的影响 如图3-A所示,异烟肼组较对照组运动轨迹明显减少,连续给药120 h后,0.5、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 紫檀芪组运动轨迹较异烟肼组明显增加。如图3-B、C所示,与对照组比较,异烟肼组运动总距离和低速、中速运动距离均显著下降($P<0.01$);与异烟肼组比较,紫檀芪0.5 $\mu\text{mol/L}$ 组的总运动距离和低速运动距离均显著增加($P<0.01$),如图3-D所示,异烟肼组较对照组运动速度明显减少,紫檀芪0.5、1.0 $\mu\text{mol/L}$ 浓度组运动速度较异烟肼组明显增加。

3.2 二甲基姜黄素、黄芩苷、紫檀芪对异烟肼引起的斑马鱼多巴胺神经元发育毒性的影响

如图4所示,与对照组比较,异烟肼组多巴胺相对神经节长度显著降低($P<0.01$);与异烟肼组比较,二甲基姜黄素和黄芩苷各剂量组多巴胺相对神经节长度显著增加($P<0.01$);紫檀芪1 $\mu\text{mol/L}$ 组相对神经节长度显著增加($P<0.01$)。

4 讨论

异烟肼是一种具有强效抗菌作用的药物,分子量小,脂溶性高,易于透过血脑屏障。异烟肼进入脑内,可通过干扰多巴胺信号通路的传导与表达造成神经元细胞的损坏和凋亡^[22]。目前,临床上防治



A-行为学轨迹图;B-斑马鱼运动总距离;C-低、中速状态下的平均运动距离;D-斑马鱼在不同时间段平均分时速度;与对照组比较:** $P<0.01$;与异烟肼组比较:## $P<0.05$ ### $P<0.01$

A-behavioral trajectory map; B - total distance of zebrafish; C - average moving distance at low and medium speed; D-average time-sharing velocity of zebrafish in different time periods;** $P<0.01$ vs control group;## $P<0.05$ ### $P<0.01$ vs isoniazid group

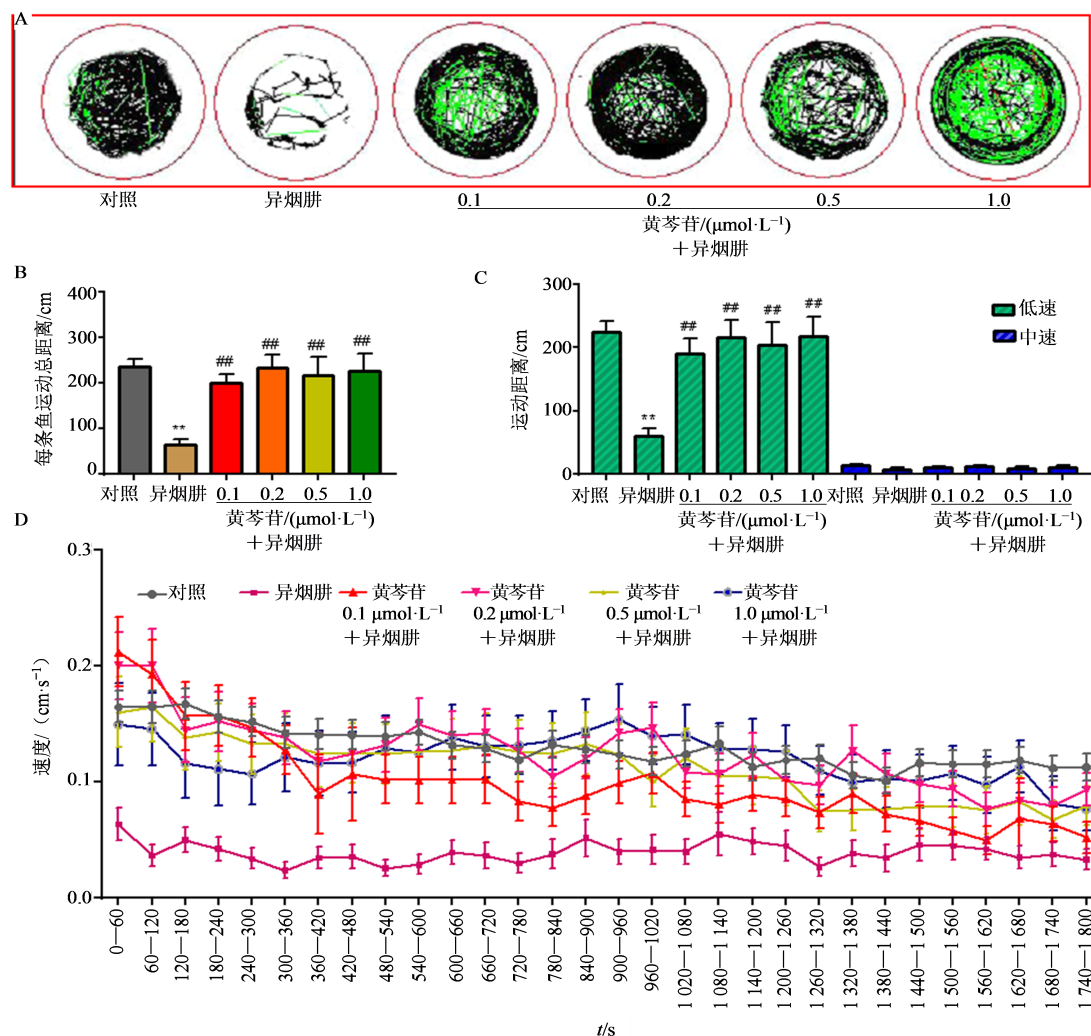
图1 二甲基姜黄素对斑马鱼行为能力的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Fig. 1 Effect of dimethyl curcumin on zebrafish behavior($\bar{x}\pm s, n=10$)

异烟肼神经毒性的药物种类较少,筛选出具有神经保护功能的化合物将为临床上防治异烟肼引起的神经损伤提供新的解决方案。

斑马鱼作为模式生物在神经表型研究、神经系统药物筛选及神经系统疾病的研究中有明显优势^[24]。斑马鱼在5 dpf即可自主运动,利用斑马鱼行为检测仪可以分析化合物对斑马鱼行为能力的影响。徐彤等^[25]通过分析斑马鱼行为证明了四溴双酚醚(-羟基乙基)醚(TBBPA-DHEE)对胚胎自主运动的抑制作用。王荣春等^[26]利用 Zebrafish 分析斑马鱼行为能力,评估了芪智消渴颗粒对1-甲基-4-苯基-1,2,3,6-四氢吡啶(MPTP)诱导的神经损伤的保护作用。因此,斑马鱼行为能力可作为反映神经损

伤和恢复的指标之一^[25]。本实验中,异烟肼处理的斑马鱼表现出行为能力降低的特点,给予二甲基姜黄素后发现斑马鱼运动能力明显恢复,游泳距离增加,平均速度变快且主要以低速运动。随着二甲基姜黄素浓度的增加和作用时间的延长,1、2、4 $\mu\text{mol/L}$ 组呈现一定的剂量相关性。同样,黄芩苷也表现出明显的神经保护作用,可以使异烟肼诱导的斑马鱼运动能力、平均速度得到恢复。以上各检测结果均与之前的报道一致^[27]。但是,本实验中紫檀芪对斑马鱼神经保护效果明显低于相同浓度的二甲基姜黄素和黄芩苷(0.5、1 $\mu\text{mol/L}$),且2和4 $\mu\text{mol/L}$ 浓度的紫檀芪没有对异烟肼造成的斑马鱼神经损伤起到保护作用,所以紫檀芪浓度范围还需进一步摸索。



A-行为学轨迹图;B-斑马鱼运动总距离;C-低、中速状态下的平均运动距离;D-斑马鱼在不同时间段平均分时段速度;与对照组比较:** $P < 0.01$;与异烟肼组比较:### $P < 0.01$

A-behavioral trajectory map; B - total distance of zebrafish; C - average moving distance at low and medium speed; D-average time-sharing velocity of zebrafish in different time periods; ** $P < 0.01$ vs control group; ### $P < 0.01$ vs isoniazid group

图2 黄芩苷对斑马鱼行为能力的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

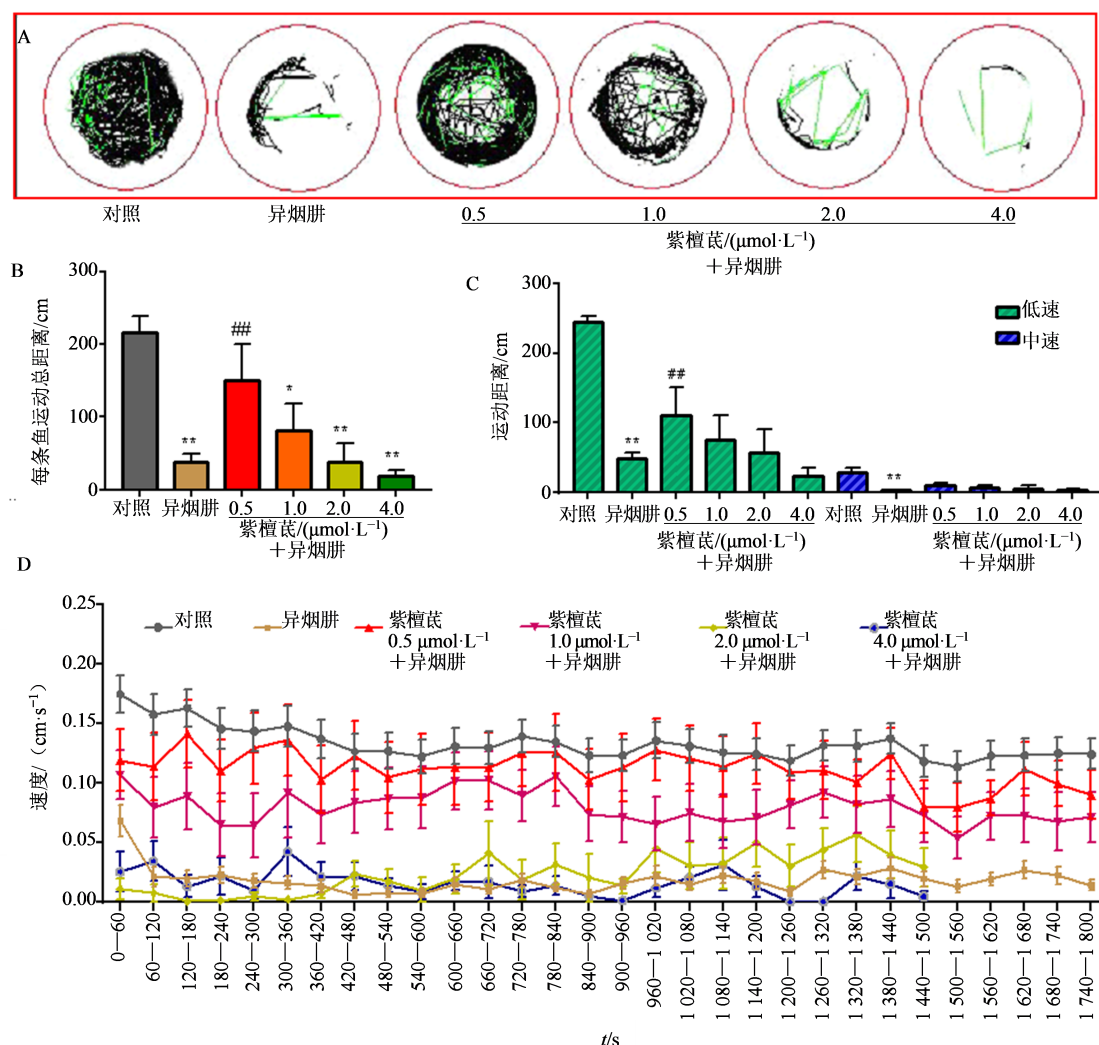
Fig. 2 Effect of baicalin on zebrafish behavior($\bar{x} \pm s, n=10$)

多巴胺神经元是评价神经发育的一个关键指标^[28]。郝广萍等^[29]在研究牡丹籽油微囊粉的抗帕金森病活性时,以多巴胺神经元缺失症状的减轻说明牡丹籽油微囊粉可以缓解帕金森病症状。朱晓宇等^[30]在选用如意珍宝丸治疗吗替麦考酚酯诱导的斑马鱼中枢神经损伤时,以多巴胺神经元长度作为检测指标,对神经元长度的延长说明如意珍宝丸对斑马鱼神经损伤的保护作用。斑马鱼多巴胺神经元在斑马鱼发育24 h时开始形成,30 h时开始分化,利用荧光标记的多巴胺神经元转基因斑马鱼,可在荧光显微镜下直接观察药物对多巴胺神经元生长的影响^[30]。本实验以绿色荧光标记多巴胺神经元的转基因斑马鱼为实验对象,观察斑马鱼神经

元发育情况,结果表明二甲基姜黄素、黄芩苷、紫檀芪可以有效改善异烟肼导致斑马鱼多巴胺神经元长度的缺失,表明这3种化合物对异烟肼导致的斑马鱼神经损伤有一定的保护作用。

本实验以斑马鱼运动行为、多巴胺神经元发育情况为指标,评价了二甲基姜黄素、黄芩苷和紫檀芪对异烟肼导致的斑马鱼神经损伤的保护作用。其中二甲基姜黄素(0.5、2.0、4.0 μmol/L)与黄芩苷(0.1、0.2、1.0 μmol/L)对神经保护效果较好,安全性较高。这将为筛选防治异烟肼神经损伤的化合物提供科学依据,但是这3种化合物对异烟肼导致斑马鱼神经损伤的保护机制还需进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突



A-行为学轨迹图;B-斑马鱼运动总距离;C-低、中速状态下的平均运动距离;D-斑马鱼在不同时间段平均分时段速度;与对照组比较:** $P<0.01$;与异烟肼组比较:## $P<0.01$

A-behavioral trajectory map; B - total distance of zebrafish; C - average moving distance at low and medium speed; D-average time-sharing velocity of zebrafish in different time periods; ** $P<0.01$ vs control group; ## $P<0.01$ vs isoniazid group

图3 紫植芪对斑马鱼行为能力的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Fig. 3 Effect of pterostilbene on zebrafish behavior ($\bar{x}\pm s, n=10$)

参考文献

- [1] 贾 忠, 吴 晶, 马建军, 等. 一线抗结核药物肝损害的研究现状 [J]. 中国防痨杂志, 2013, 35(6): 468-471.
Jia Z, Wu J, Ma J J, et al. Current status of liver damage with first-line anti-tuberculosis drugs [J]. J Chin Antituberc Assoc, 2013, 35(6): 468-471.
- [2] 袁 苗. 异烟肼, 利福平, 吡嗪酰胺, 盐酸乙胺丁醇联合治疗结核分枝杆菌的疗效评价 [J]. 北方药学, 2014, 11(10): 22-23.
Yuan M. Efficacy evaluation of isoniazid, rifampicin, pyrazinamide, ethambutol hydrochloride in the treatment of *Mycobacterium tuberculosis* [J]. North Pharm, 2014, 11(10): 22-23.
- [3] 梁艳文. 观察异烟肼, 利福平, 吡嗪酰胺和盐酸乙胺丁醇联合治疗肺结核的疗效 [J]. 海峡药学, 2021, 33(2): 140-142.
- [4] Liang Y W. Observation of the efficacy of isoniazid, rifampicin, pyrazinamide and ethambutol hydrochloride in the treatment of tuberculosis [J]. Strait Pharm J, 2021, 33(2): 140-142.
- [5] 马瑞娇, 贾智莉, 王学芳, 等. 基于斑马鱼模型的抗结核药物肝脏毒性比较研究 [J]. 中国抗生素杂志, 2020, 45(9): 953-959.
Ma R J, Jia Z L, Wang X F, et al. Comparative study on liver toxicity of antituberculosis drugs based on zebrafish model [J]. J Chin Antibiot, 2020, 45(9): 953-959.
- [6] 李 娜, 陈 洁, 罗 季, 等. 抗结核药物不良反应376例分析 [J]. 昆明医科大学报, 2021, 42(4): 117-121.
Li N, Chen J, Luo J, et al. Analysis of 376 cases of adverse reactions of antituberculosis drugs [J]. J Kunming Med Univ, 2021, 42(4): 117-121.

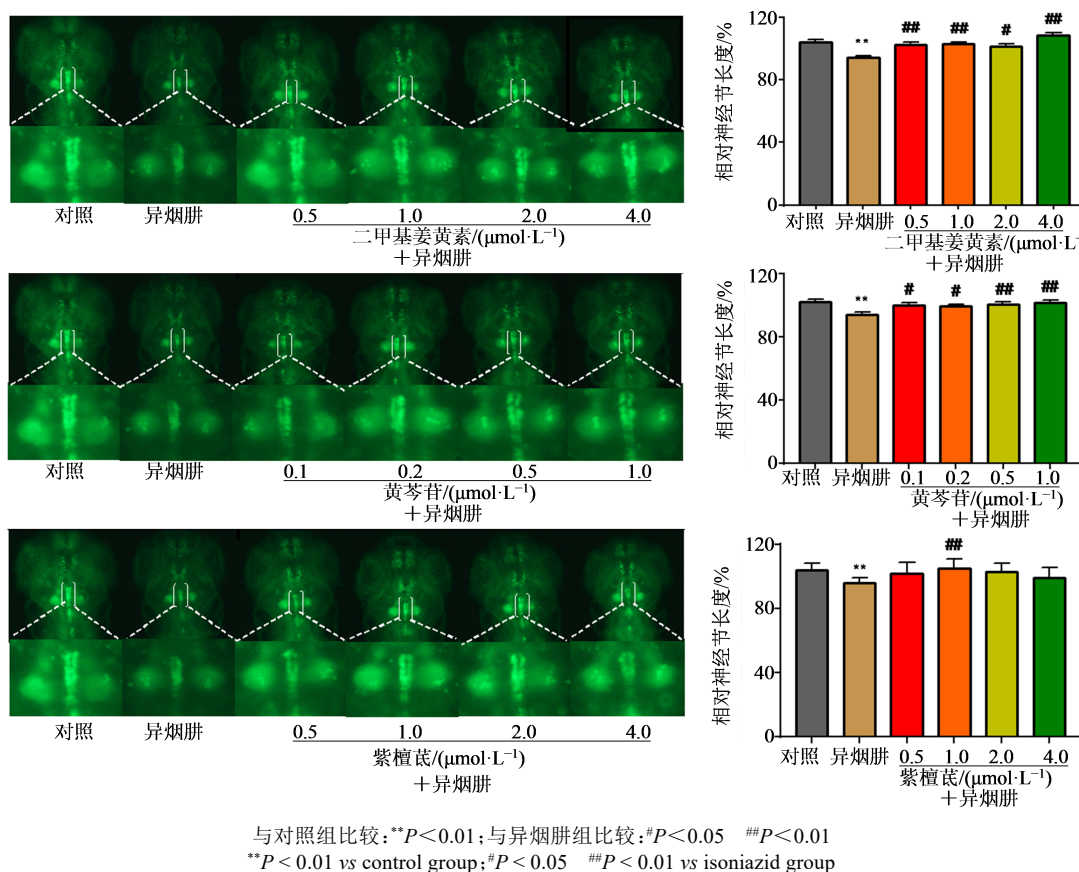


图4 二甲姜黄素、黄芩苷和紫檀芪对多巴胺神经元的保护作用($\bar{x} \pm s, n=10$)

Fig. 4 Protective effects of dimethyl curcumin, baicalidin and pterostilbene on dopamine neurons($\bar{x} \pm s, n=10$)

- [6] Erwin E R, Addison A P, John S F, et al. Pharmacokinetics of isoniazid: The good, the bad, and the alternatives[J]. Tuberculosis (Edinb), 2019, 116S: S66-S70.
- [7] Ruan L Y, Fan J T, Hong W, et al. Isoniazid-induced hepatotoxicity and neurotoxicity in rats investigated by 1H NMR based metabolomics approach [J]. Toxicol Lett, 2018, 295: 256-269.
- [8] Skinner K, Saiao A, Mostafa A, et al. Isoniazid poisoning: Pharmacokinetics and effect of hemodialysis in a massive ingestion [J]. Hemodial Int, 2015, 19(4): E37-E40.
- [9] Schmid D R, Lee J A, Wismer T A, et al. Isoniazid toxicosis in dogs: 137 cases (2004-2014) [J]. J Am Vet Med Assoc, 2017, 251(6): 689-695.
- [10] 勇 彤. 异烟肼引发癫痫样发作1例分析 [J]. 中国误诊学杂志, 2011, 11(10): 2402.
- Yong T. A case of epileptiform seizures caused by isoniazid [J]. Chin J Misdiag, 2011, 11(10): 2402.
- [11] Liu L, Wu F Y, Zhu C Y, et al. Involvement of dopamine signaling pathway in neurodevelopmental toxicity induced by isoniazid in zebrafish [J]. Chemosphere, 2021, 265: 129109.
- [12] 李高文, 徐 英, 库宝善, 等. 姜黄素的中枢药理作用研究进展 [J]. 神经药理学报, 2011, 1(2): 48-57.
- Li G W, Xu Y, Ku B S, et al. Research progress on central pharmacological effects of curcumin [J]. Chin J Neuropharm, 2011, 1(2): 48-57.
- [13] 杨 柳, 张 敏, 贺 曦, 等. 姜黄素对大鼠慢性脑缺血诱发脑损伤的保护作用及分子机制研究 [J]. 中国药业, 2015, 24(4): 31-33.
- Yang L, Zhang M, He X, et al. The protective effect of curcumin on brain injury induced by chronic cerebral ischemia in rats and its molecular mechanism [J]. China Pharm, 2015, 24(4): 31-33.
- [14] 刘 萍, 李 倩, 刘兆平, 等. 黄芩苷对脑缺血再灌注损伤大鼠神经细胞凋亡及相关基因表达的影响 [J]. 中国新药与临床杂志, 2007, 26(2): 109-112.
- Liu P, Li Q, Liu Z P, et al. Effects of baicalin on neuronal apoptosis and related gene expression in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. Chin J New Drugs Clin, 2007, 26(2): 109-112.
- [15] 周 宇, 张雪梅, 马 昂, 等. 紫檀芪抗小鼠局灶性脑缺血损伤作用 [A]//中国药理学会会议论文集 [C]. 南京: 全国中药药理学会联合会学术交流大会, 2012.
- Zhou Y, Zhang X M, Ma A, et al. The effect of pterostilbene on focal cerebral ischemia injury in mice [A]//Proceedings of the Chinese Pharmacological Society

- Conference [C]. Nanjing: Academic Exchange Conference of National Association of Chinese medicine pharmacology, 2012.
- [16] 王 珍. 紫檀芪对神经细胞损伤模型的保护作用研究 [D]. 济南: 山东大学, 2014.
- Wang Z. Study on the protective effect of Pterostilbene on nerve cell injury model [D]. Jinan: Shandong University, 2014.
- [17] 姚 瑶. DhhC2在斑马鱼神经系统发育过程中的作用及机制研究 [D]. 济南: 山东大学, 2015.
- Yao Y. The role and mechanism of DhhC2 in the development of zebrafish nervous system [D]. Jinan: Shandong University, 2015.
- [18] Tsang B, Zahid H, Ansari R, et al. Breeding Zebrafish: A review of different methods and a discussion on standardization [J]. Zebrafish, 2017, 14(6): 561-573.
- [19] 李 懿, 刘夏进, 宿树兰. 模式生物斑马鱼在中药活性筛选和毒性评价中的应用进展与展望 [J]. 南京中医药大学学报, 2020, 36(5): 715-720.
- Li Y, Liu X J, Su S L. The application progress and prospect of model organism zebrafish in activity screening and toxicity evaluation of traditional Chinese medicine [J]. J Nanjing Univ Tradit Chin Med, 2020, 36(5): 715-720.
- [20] Kalueff A V, Gebhardt M, Stewart A M, et al. Towards a comprehensive catalog of zebrafish behavior 1.0 and beyond [J]. Zebrafish, 2013, 10(1): 70-86.
- [21] 张 云, 吴 媛, 陈维云, 等. 异烟肼对斑马鱼胚胎发育量-毒关系的研究 [J]. 山东科学, 2015, 28(5): 14-21.
- Zhang Y, Wu Y, Chen W Y, et al. Research on the relationship between isoniazid on zebrafish embryo development and toxicity [J]. Shandong Sci, 2015, 28(5): 14-21.
- [22] 郭芳艳, 马瑞娇, 贾智莉, 等. 异烟肼对斑马鱼胚胎的神经发育毒性及其作用机制研究 [A]//中国毒理学会第九次全国毒理学大会论文集 [C]. 太原: 中国毒理学会第九次全国毒理学大会, 2019: 47-48.
- Wu F Y, Ma R J, Jia Z L, et al. The neurodevelopmental toxicity of isoniazid on zebrafish embryos and its mechanism of action [A]//Proceedings of the Ninth National Congress of Toxicology [C]. Taiyuan: The Ninth National Congress of toxicology of Chinese society of Toxicology, 2019: 47-48.
- [23] 陈锡强, 侯海荣, 刘可春, 等. 苍耳子提取物对斑马鱼的发育及运动行为的毒性研究 [J]. 山东科学, 2015, 28(5): 14-21.
- Chen X Q, Hou H R, Liu K C, et al. Toxicity of Xanthium xanthii extract on the development and locomotion behavior of zebrafish [J]. Shandong Sci, 2015, 28(5): 14-21.
- [24] 李娟娟, 韩利文, 邱昌辉. 吡嗪酰胺对斑马鱼胚胎发育和氧化应激效应的影响 [J]. 中国抗生素杂志, 2018, 43(11): 1419-1425.
- Li J J, Han L E, Qiu C H. Effects of pyrazinamide on zebrafish embryo development and oxidative stress [J]. J Chin Antibiot, 2018, 43(11): 1419-1425.
- [25] 徐 彤, 冯伟伟, 丁阳阳, 等. TBBPA-DHEE暴露对斑马鱼的神经毒性及机制研究 [J]. 江苏大学学报(医学版), 2021, 31(3): 227-233, 26.
- Xu T, Feng W W, Ding Y Y, et al. Neurotoxicity and mechanism of TBBPA-DHEE exposure to zebrafish [J]. J Jiangsu Univ (Med Edit), 2021, 31(3): 227-233, 26.
- [26] 王荣春, 程丽芳, 韩利文, 等. 芪智消渴颗粒对MPTP诱导斑马鱼神经损伤的保护作用 [J]. 中国药理学通报, 2018, 34(6): 873-878.
- Wang R C, Cheng L F, Han L W, et al. Protective effects of Qizhi Xiaoke Granules on MPTP-induced zebrafish nerve damage [J]. Chin Pharmacol Bull, 2018, 34(6): 873-878.
- [27] 党 姣, 张姗姗, 季秀娜, 等. 基于斑马鱼模型研究抗氧化活性十肽YSQLENEFDR的抗帕金森症活性 [J]. 中国药理学通报, 2020, 36(12): 1710-1716.
- Dang J, Zhang S S, Ji X N, et al. Study on the anti-parkinsonian activity of the antioxidant decapeptide YSQLENEFDR based on the zebrafish model [J]. Chin Pharmacol Bull, 2020, 36(12): 1710-1716.
- [28] 兰小红, 朱晓宇, 张 勇, 等. 以斑马鱼模型评价6种药物的神经毒性 [J]. 实验科学, 2016, 33(5): 28-32.
- Lan X H, Zhu X Y, Zhang Y, et al. Evaluation of the neurotoxicity of six drugs with zebrafish model [J]. Exp Sci, 2016, 33(5): 28-32.
- [29] 郝广萍, 靳 梦, 张珊珊, 等. 基于斑马鱼模型研究牡丹籽油微囊粉的抗帕金森病活性 [J]. 中国油脂, 2020, 45(8): 45-50.
- Hao G P, Jin M, Zhang S S, et al. Study on the anti-Parkinson's disease activity of peony seed oil microcapsule powder based on zebrafish Parkinson's model [J]. China Oils Fats, 2020, 45(8): 45-50.
- [30] 朱晓宇, 王红月, 李怀平, 等. 如意珍宝丸对斑马鱼神经损伤的保护及促再生作用研究 [J]. 药物评价研究, 2017, 40(3): 307-313.
- Zhu X Y, Wang H Y, Li H P, et al. Study on the protection and regeneration promoting effects of Ruyi Zhenbao Pills on zebrafish nerve injury [J]. Drug Eval Res, 2017, 40(3): 307-313.

[责任编辑 兰新新]