

银杏内酯B对癫痫大鼠血脑屏障保护作用的研究

鲁光辉*, 李新峰, 冯 亮, 罗 玲, 王海华

邯郸市第二医院, 河北 邯郸 056000

摘要: 目的 探讨银杏内酯B (GB) 对癫痫模型大鼠血脑屏障 (BBB) 通透性的保护作用及机制。方法 将180只雄性SD大鼠按随机数字表法分为对照组 (生理盐水)、模型组 (生理盐水)、丙戊酸钠 (VPA, 300 mg/kg) 组和GB低、中、高剂量 (2.5、5.0、10.0 mg/kg) 组, 每组30只。采用氯化锂-匹罗卡品诱导制备癫痫大鼠模型; sc匹罗卡品前1 h, 各组分别ip给药。观察各组大鼠癫痫发作潜伏期及持续时间; 干湿比质量法测定脑组织含水量, 伊文思蓝渗透法测定BBB通透性; 黄嘌呤氧化法和钼酸铵法分别检测脑组织超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 活力, 硫代巴比妥酸法检测丙二醛 (MDA) 含量, 酶联免疫吸附法检测肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6 (IL-6) 含量, Western blotting检测闭合蛋白 (Occludin)、闭锁连接蛋白-1 (ZO-1)、脑组织基质金属蛋白酶-2 (MMP-2)、脑组织基质金属蛋白酶-9 (MMP-9) 蛋白表达。结果 与模型组比较, VPA组 and GB中、高剂量组大鼠癫痫发作潜伏期显著延长、发作持续时间缩短 ($P < 0.01$); 脑组织含水量和伊文思蓝渗透量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); 脑组织SOD和CAT活性显著升高且MDA、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6含量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); Occludin、ZO-1表达显著上调且MMP-2、MMP-9表达显著下调 ($P < 0.01$); 且GB高剂量组作用优于VPA组。结论 GB对癫痫大鼠BBB通透性具有保护作用, 其机制可能与抑制氧化应激和炎症, 以及上调Occludin、ZO-1表达并下调MMP-2、MMP-9表达有关。

关键词: 银杏内酯B; 癫痫; 血脑屏障; 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 (2021) 10-2176-07

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.10.020

Protective effect of Ginkgolide B on the blood-brain barrier in epileptic rats

LU Guanghui, LI Xinfeng, FENG Liang, LUO Ling, WANG Haihua

Handan Second Hospital, Handan 056000, China

Abstract: Objective To investigate the protective effect of ginkgolide B (GB) on the permeability of blood-brain barrier (BBB) in rats with epilepticus (EP) and its mechanism. **Methods** Totally 180 male SD rats were randomly divided into normal control group (normal saline), model group (normal saline), sodium valproate (VPA) group (300 mg/kg) and GB low, medium and high dose groups (2.5, 5.0, 10.0 mg/kg). The EP rat models were produced by induction with lithium chloride and pilocarpine; 1h before pilocarpine injection, the drugs were given to rats in each group by administered intraperitoneally. The behavior of rats in each group was observed; the water content of brain tissue was detected by wet and dry specific gravity method, and the permeability of BBB was detected by Evans blue penetration method. The activity of SOD and CAT were detected by xanthine oxidation method and ammonium molybdate method, and the MDA content was detected by thiobarbituric acid method; the content of TNF- α , IL-1 β , IL-6 were detected by ELISA. The expression of Occludin, ZO-1, MMP-2, MMP-9 were detected by Western blotting method. **Results** Compared with model group, the number of seizures of the rats in VPA group and GB medium, high dose groups was reduced, the seizure duration was shortened ($P < 0.01$). The brain tissue water content and Evans blue penetration were reduced ($P < 0.05$ or 0.01). The activity of SOD, CAT in brain tissue were increased and MDA, TNF- α , IL-1 β , IL-6 content were decreased ($P < 0.05$ or 0.01); the expression of Occludin, ZO-1 were up-regulated and MMP-2, MMP-9 expression were down-regulated ($P < 0.01$). Compared with VPA group, the number of seizures of the rats in GB high dose group was reduced, and the seizure duration was shortened ($P < 0.05$ or 0.01). The Evans blue penetration were reduced ($P < 0.05$). The activity of SOD in brain tissue were increased and MDA, TNF- α , IL-6 content were decreased ($P < 0.05$ or 0.01); the expression of Occludin, ZO-1 were up-regulated

收稿日期: 2021-03-11

基金项目: 河北省医学科学研究课题计划(20191789)

*通信作者: 鲁光辉(1980—), 女, 副主任医师, 从事神经内科疾病研究。E-mail: gzzy0310@163.com

and MMP-2, MMP-9 were down-regulated ($P < 0.05$ or 0.01). **Conclusion** GB has protective effect on the BBB permeability of EP rats; which may be related to the inhibition of oxidative stress and inflammation, as well as the up-regulation of Occludin, ZO-1 expression and down-regulation of MMP-2, MMP-9 expression.

Key words: ginkgolide B; epilepsy; blood-brain barrier; oxidative stress; inflammation

癫痫是一种较为常见的慢性神经系统疾病,我国癫痫患者约900万,每年新发病例约45万,发病率为25/10万~35/10万,并且具有反复性、自发性的特点,严重危害患者的身心健康^[1]。癫痫发作期间大量释放的谷氨酸能够诱导基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)表达并降低紧密连接蛋白(tight junction protein, TJP)水平,导致血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)结构受损^[2],并且癫痫引发的炎症和氧化应激反应也能够破坏BBB结构^[3-5],最终导致BBB通透性异常升高而引发脑组织水肿,而脑水肿是继发神经功能缺失、残疾甚至死亡的主要原因^[6]。因此,保护BBB对改善癫痫治疗预后具有重要意义。

银杏内酯B(ginkgolide B, GB)是从银杏叶中提取的一种倍半萜内酯化合物,具有良好的抗氧化和抗炎活性^[7-9],但GB是否对癫痫大鼠BBB结构和功能损伤具有保护作用尚未见文献报道。本实验通过制备癫痫大鼠模型并于造模前给予GB预处理,探讨GB对癫痫模型大鼠BBB的保护作用及其机制。

1 材料

1.1 实验动物

SPF级雄性SD大鼠180只,体质量220~250 g,由河北省实验动物中心提供,实验动物生产许可证号SCXK(冀)2018-004,适应性饲养7 d后开展实验。

1.2 药物与主要试剂

GB购自美国Sigma公司(批号BN90418);注射用丙戊酸钠(VPA)购自成都诺迪康生物制药有限公司(批号20190716);伊文思蓝购自国药集团化学试剂有限公司(批号190125);超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、白细胞介素-6(IL-6)试剂盒购自南京建成生物工程研究所(批号200113、200308、200326、191106、200224、191218);兔源闭合蛋白(Occludin)、闭锁连接蛋白-1(ZO-1)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)、基质金属蛋白酶-9(MMP-9)、 β -actin抗体和羊抗兔IgG二抗购自北京博奥森生物技术有限公司(批号bs-10011R、

bs-1329R、bs-20705R、bs-4593R、bs-0061R、bs-0295G);氯化锂购自北京索莱宝生物科技有限公司(批号C8380);匹罗卡品购自上海阿拉丁试剂有限公司(批号P129614)。

1.3 主要仪器

Synergy-HT型多功能酶标仪(美国BioTck公司);RM2125型石蜡切片机(德国Leica公司);TDK-BMB型石蜡包埋机(孝感泰康达医疗设备公司);SZ-1型组织匀浆器(江苏金坛市晶玻实验仪器厂);VE180型电泳槽、VE186型转膜仪(上海天能科技有限公司);UV2000型紫外-可见分光光度计(上海尤尼柯公司);GelDoc2000型凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司)。

2 方法

2.1 动物分组、造模与给药

按照随机数字表法将180只实验用大鼠分为对照组、模型组、VPA(300 mg/kg)^[10]和GB低、中、高剂量(2.5、5.0、10.0 mg/kg)组^[11],每组30只。除对照组外,其余各组大鼠均参照康云霄等^[12]报道的氯化锂-匹罗卡品法诱导制备癫痫大鼠模型:大鼠以127 mg/kg剂量ip氯化锂溶液,20 h后以15 mg/kg剂量大鼠背部sc匹罗卡品溶液,VPA组和GB各剂量组均在注射匹罗卡品前30 min ip给予相应剂量药物(模型组给予生理盐水);对照组各步骤均同步给予生理盐水。

2.2 大鼠行为学观察

每组随机取10只大鼠,注射匹罗卡品后2 h内,观察并记录各组大鼠癫痫发作潜伏期及持续时间。

2.3 脑组织含水量检测

注射匹罗卡品24 h后,麻醉后脊椎脱臼处死大鼠,断头取脑组织并去除小脑、脑干后,生理盐水冲洗并拭干后称质量为湿质量(W_1),置95 °C烘箱24 h后称质量为干质量(W_2),计算脑组织含水量。

$$\text{脑组织含水量} = (W_1 - W_2) / W_1$$

2.4 BBB通透性检测^[13]

注射匹罗卡品24 h后,每组随机取10只大鼠,经尾iv给予浓度2%的伊文思蓝溶液(4 mL/kg);1 h后实施麻醉,开胸暴露心脏,经左心室-右心耳通路灌注300 mL生理盐水后断头取脑组织,研磨匀浆后

加入3倍量甲酰胺溶液,37℃孵育24h后3 000 r/min离心10 min取上清液,然后通过酶标仪测定610 nm波长处吸光度(A)值,根据标准曲线计算伊文思蓝含量,脑组织伊文思蓝含量能够反映BBB通透性。

2.5 脑组织生化指标检测

取各组剩余的10只大鼠,麻醉后脊椎脱臼处死,断头取脑组织,剪碎后加入9倍量冷裂解液、研磨匀浆,4℃、3 000 r/min离心10 min取上清液,然后采用黄嘌呤氧化法和钼酸铵法分别检测SOD、CAT活力,硫代巴比妥酸法检测MDA含量;ELISA法检测TNF- α 、IL-1 β 、IL-6水平。

2.6 Western blotting检测Occludin、ZO-1、MMP-2、MMP-9蛋白表达

取“2.5”项制备的脑组织匀浆液,4℃、12 000 r/min离心20 min取沉淀,BCA法检测总蛋白浓度、95℃水浴使蛋白变性后,SDS-PAGE胶电泳分离蛋白、湿法转PVDF膜、5%脱脂奶粉37℃封闭1 h后,滴加目标蛋白和 β -actin一抗后4℃孵育过夜,PBS溶液洗膜后滴加IgG二抗37℃孵育1 h,洗膜后滴加DAB显色,然后以 β -actin为内参半定量目标蛋白表达。

2.7 统计学处理

运用SPSS 15.0软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD检验。

3 结果

3.1 GB对癫痫大鼠行为学指标的影响

对照组大鼠未见癫痫发作。与模型组比较,GB中、高剂量组和VPA组大鼠癫痫发作潜伏期显著延长、发作持续时间显著缩短($P < 0.01$);与VPA组比较,GB高剂量组癫痫发作潜伏期显著延长、发作持续时间缩短($P < 0.05, 0.01$)。见表1。

3.2 GB对癫痫大鼠脑组织含水量的影响

与对照组比较,模型组大鼠脑组织含水量显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,GB中、高剂量组和VPA组大鼠脑组织含水量显著降低($P < 0.05, 0.01$)。见表2。

3.3 GB对癫痫大鼠脑组织伊文思蓝渗透量的影响

与对照组比较,模型组大鼠脑组织伊文思蓝渗透量显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,GB中、高剂量组和VPA组大鼠伊文思蓝渗透量显著降低($P < 0.01$);与VPA组比较,GB高剂量组伊文思蓝渗透量显著降低($P < 0.05$)。见表2。

表1 GB对癫痫大鼠行为学指标的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effects of GB on behavioral indexes of epileptic rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	癫痫发作 潜伏期/s	癫痫发作 持续时间/min
对照	—	—	—
模型	—	126.95±19.07	25.94±3.86
VPA	300	282.03±42.96 ^{##}	9.37±1.52 ^{##}
GB	2.5	143.04±21.93	23.42±4.11
	5.0	204.26±33.60 ^{##}	15.01±2.86 ^{##}
	10.0	328.53±45.38 ^{##△}	7.12±1.49 ^{##△△}

与模型组比较: ^{##} $P < 0.01$; 与VPA组比较: [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$

^{##} $P < 0.01$ vs model group; [△] $P < 0.05$ ^{△△} $P < 0.01$ vs VPA group

表2 GB对癫痫大鼠脑组织含水量和伊文思蓝渗透量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 2 Effects of GB on brain water content and Evans blue osmosis in epileptic rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/ (mg·kg ⁻¹)	脑组织 含水量/%	伊文思蓝渗透量/ ($\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$)
对照	—	77.95±1.58	1.31±0.20
模型	—	82.86±1.83 ^{**}	13.16±1.62 ^{**}
VPA	300	79.08±1.85 ^{##}	7.08±1.22 ^{##}
GB	2.5	82.59±1.97	11.79±1.71
	5.0	81.07±1.84 [#]	8.50±1.36 ^{##}
	10.0	78.61±1.79 ^{##}	5.92±1.14 ^{##△}

与对照组比较: ^{**} $P < 0.01$; 与模型组比较: [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$; 与VPA组比较: [△] $P < 0.05$

^{**} $P < 0.01$ vs control group; [#] $P < 0.05$ ^{##} $P < 0.01$ vs model group; [△] $P < 0.05$ vs VPA group

3.4 GB对癫痫大鼠脑组织SOD、CAT活性和MDA含量的影响

与对照组比较,模型组大鼠脑组织SOD、CAT活性显著降低且MDA含量显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,GB中、高剂量组和VPA组SOD、CAT活性显著升高而MDA含量显著降低($P < 0.05, 0.01$);与VPA组比较,GB高剂量组SOD活性显著升高且MDA含量显著降低($P < 0.05, 0.01$)。见表3。

3.5 GB对癫痫大鼠脑组织TNF- α 、IL-1 β 、IL-6含量的影响

与对照组比较,模型组大鼠脑组织TNF- α 、IL-1 β 、IL-6含量显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,GB中、高剂量组和VPA组TNF- α 、IL-1 β 、IL-6含量显著降低($P < 0.01$);与VPA组比较,GB高剂量组TNF- α 、IL-6含量显著降低($P < 0.01$)。见表4。

表3 GB对癫痫大鼠脑组织SOD、CAT活性和MDA含量的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)Table 3 Effect of GB on activity of SOD, CAT and content of MDA in brain tissue of epileptic rat ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	CAT/(U·mg ⁻¹)	MDA/(nmol·mg ⁻¹)
对照	—	2.68±0.27	54.94±6.62	7.19±1.36
模型	—	1.40±0.16**	44.81±4.68**	26.94±3.75**
VPA	300	1.79±0.20 [#]	51.16±6.01 [#]	16.27±3.11 [#]
GB	2.5	1.51±0.18	46.93±5.47	25.32±3.70
	5.0	1.85±0.19 [#]	49.46±5.69 [#]	19.75±3.20 [#]
	10.0	2.20±0.24 ^{#△△}	52.51±6.34 [#]	13.39±2.68 ^{#△△}

与对照组比较:** $P<0.01$;与模型组比较:[#] $P<0.05$ [#] $P<0.01$;与VPA组比较:[△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$ ** $P<0.01$ vs control group; [#] $P<0.05$ [#] $P<0.01$ vs model group; [△] $P<0.05$ ^{△△} $P<0.01$ vs VPA group表4 GB对癫痫大鼠脑组织TNF- α 、IL-1 β 、IL-6含量的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)Table 4 Effect of GB on contents of TNF- α , IL-1 β , IL-6 in brain tissue of epileptic rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	TNF- α /(pg·mL ⁻¹)	IL-1 β /(pg·mL ⁻¹)	IL-6/(pg·mL ⁻¹)
对照	—	449.27±51.80	28.20±3.81	43.13±5.29
模型	—	1 139.45±133.28**	48.85±6.23**	98.52±11.12**
VPA	300	675.78±84.01 [#]	36.60±4.24 [#]	58.38±5.68 [#]
GB	2.5	1 018.37±127.92	45.76±5.49	88.71±10.29
	5.0	764.89±96.48 [#]	39.68±4.78 [#]	67.62±7.41 [#]
	10.0	494.62±55.13 ^{#△△}	34.65±4.11 [#]	50.37±4.79 ^{#△△}

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

3.6 GB对癫痫大鼠脑组织Occludin、ZO-1、MMP-2、MMP-9蛋白表达的影响

与对照组比较,模型组大鼠脑组织Occludin、ZO-1表达显著下调且MMP-2、MMP-9表达显著上调($P<0.01$);与模型组比较,GB中、高剂量组和VPA组Occludin、ZO-1表达显著上调且MMP-2、MMP-9表达显著下调($P<0.01$);与VPA组比较,GB高剂量组Occludin、ZO-1表达显著上调且MMP-2、MMP-9表达显著下调($P<0.05, 0.01$)。见图1和表5。

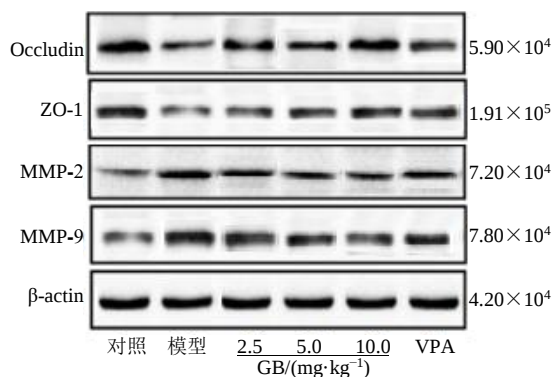


图1 GB对癫痫大鼠脑组织Occludin、ZO-1、MMP-2、MMP-9蛋白表达的影响

Fig. 1 Effect of GB on expression of Occludin, ZO-1, MMP-2, and MMP-9 protein in brain tissue of epileptic rats

4 讨论

癫痫是一种慢性神经系统疾病,长期反复发作严重影响着患者的身心健康。大部分患者经药物治疗能够有效控制癫痫发作,但仍有约30%的患者疗效不佳而逐渐发展为难治性癫痫。癫痫反复发作所致BBB结构和功能受损是导致癫痫疾病进行性加重甚至致残、致死的重要原因^[14-15]。因此,寻找靶向保护BBB的新型药物或许是改善癫痫患者预后的有效途径。

GB是从中药银杏叶中提取的一种小分子活性单体化合物,具有抗氧化、抗炎等药理学作用,较易通过BBB,宋先兵等^[16]和刘晖等^[17]研究发现GB能够通过抑制氧化应激和炎症反应减轻大鼠缺血性脑损伤。VPA是一种广泛应用于临床的广谱抗癫痫药,也是新型抗癫痫药研究动物实验的常用阳性对照药物。临床上以颞叶癫痫最为常见,癫痫实验动物模型的制备方法主要有电点燃和化学点燃2大类,其中氯化锂-匹罗卡品化学点燃法制备的癫痫大鼠模型为颞叶癫痫,与人类癫痫病理特点一致,并且操作简便、重复性高,是最公认的癫痫大鼠模型制作方法^[18]。Librizzi等^[19]研究发现癫痫所致BBB损伤与其发作程度、发作持续时间密切相关,因此

表5 GB对癫痫大鼠脑组织Occludin、ZO-1、MMP-2、MMP-9蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 5 Effect of GB on expression of Occludin, ZO-1, MMP-2, and MMP-9 protein in brain tissue of epileptic rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	Occludin/ β -actin	ZO-1/ β -actin	MMP-2/ β -actin	MMP-9/ β -actin
对照	—	1.02±0.19	0.87±0.15	0.08±0.03	0.10±0.03
模型	—	0.18±0.06**	0.07±0.03**	0.60±0.15**	0.93±0.17**
VPA	300	0.59±0.13 [#]	0.53±0.11 [#]	0.24±0.08 [#]	0.41±0.10 [#]
GB	2.5	0.24±0.09	0.10±0.04	0.49±0.11	0.84±0.15
	5.0	0.31±0.10 [#]	0.24±0.07 [#]	0.35±0.09 [#]	0.65±0.16 [#]
	10.0	0.86±0.17 ^{#△△}	0.67±0.12 ^{#△}	0.14±0.06 ^{#△△}	0.20±0.07 ^{#△△}

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

通过观察癫痫行为学变化能够间接了解BBB损伤程度。脑组织含水量是监测脑组织水肿程度的常用指标,也能够间接反映BBB通透性^[20]。本实验采用氯化锂-匹罗卡品诱导制备癫痫大鼠模型,以VPA做为阳性对照药物,研究发现经GB干预能够显著延长氯化锂-匹罗卡品所致大鼠癫痫发作潜伏期,缩短发作持续时间,显著抑制癫痫大鼠脑组织水肿,降低脑组织伊文思蓝渗透量,并且GB高剂量组上述效应优于VPA组,提示GB对癫痫大鼠具有抗痫和BBB通透性的保护作用。

TJPs是BBB的基本结构单元,由跨膜蛋白、胞质附着蛋白、细胞骨架蛋白等相互作用形成。ZO-1是一种胞质附着蛋白,在TJPs细胞骨架、细胞极性、胞旁屏障形成等环节均具有重要作用,ZO-1缺失将直接影响TJPs生成,导致细胞间缝隙增大而使BBB通透性升高^[21]。Occludin属于跨膜蛋白能够封闭内皮细胞间隙,作为TJPs的主要组成部分能够与ZO-1共同组成TJPs的基础结构,Occludin缺失将导致细胞骨架破坏和细胞突起减少,Occludin对维持BBB结构和功能完整性具有至关重要的作用^[22]。另一方面,MMP系中MMP-2、MMP-9能够消化降解Occludin蛋白、消化脑血管内皮细胞基底层,从而在破坏BBB过程中发挥重要作用。本研究发现,经GB干预能够显著上调Occludin、ZO-1蛋白表达并下调MMP-2、MMP-9表达,并且GB高剂量组上述效应优于VPA组,这可能是GB保护癫痫大鼠BBB通透性的重要分子机制。

活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS)代谢失衡是导致机体氧化应激损伤的基础。癫痫发作时神经元过度兴奋和异常放电导致ROS大量生成与释放,以ROS为底物的抗氧化酶(SOD、CAT)被过度消耗致使ROS过剩,ROS攻击破坏核酸、蛋白质及生物膜脂质发生氧化应激反应,生成具有生

物毒性的MDA,因此SOD、CAT活力和MDA含量能够反映机体氧化应激反应程度;此外,ROS将攻击细胞膜而破坏细胞骨架,破坏构成BBB的TJPs,从而破坏BBB完整性^[23]。癫痫发病过程大脑神经元过度兴奋与异常同步放电刺激炎症细胞因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6)大量释放,引发系列炎症反应进而导致海马神经元损伤。并且TNF- α 、IL-1 β 作为炎性趋化因子能够刺激粒细胞而进一步释放炎症因子,形成炎症级联反应而加重炎症损伤^[24];IL-6则能够刺激细胞大量产生ROS而加重氧化应激损伤。此外,TNF- α 、IL-1 β 、IL-6能够直接破坏TJPs结构,激活核因子- κ B(NF- κ B)而导致内皮细胞黏附分子表达上调,与内皮细胞黏附而增加BBB通透性^[25]。本研究发现,经GB干预能够明显提高癫痫大鼠脑组织SOD、CAT活性并降低MDA含量,降低TNF- α 、IL-1 β 、IL-6含量,并且GB高剂量组上述效应优于VPA组,提示GB对癫痫大鼠脑组织氧化应激和炎症反应具有抑制作用,这可能是GB保护BBB通透性的另一重要分子机制。

GB对癫痫大鼠BBB通透性具有保护作用,其机制可能与抑制氧化应激和炎症,上调Occludin、ZO-1表达并下调MMP-2、MMP-9表达有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 洪震. 癫痫病学研究热点[J]. 中华神经科杂志, 2017, 50(4): 245-249.
Hong Z. Research hotspots of epilepsy[J]. Chin J Neurol, 2017, 50(4): 245-249.
- [2] Rempe R G, Hartz A M S, Soldner E L B, et al. Matrix metalloproteinase-mediated blood-brain barrier dysfunction in epilepsy[J]. J Neurosci, 2018, 38(18): 4301-4315.
- [3] 张菲菲, 程艳伟, 石向群. 炎症与癫痫[J]. 国际神经病

- 学神经外科学杂志, 2016, 43(6): 582-586.
- Zhang F F, Cheng Y W, Shi X Q. Inflammation and epilepsy [J]. J Inter Neurol Neurosur, 2016, 43(6): 582-586.
- [4] 夏顺刚, 卢红. 奥卡西平对儿童病毒性脑炎继发癫痫患者的炎症因子、免疫功能及氧化应激的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(9): 1122-1125.
- Xia S G, Lu H. Effect of oxcarbazepine on immune function, inflammatory factor and oxidative stress of children patient with epilepsy secondary to viral encephalitis [J]. Chin J Immunol, 2019, 35(9): 1122-1125.
- [5] 肖刚, 罗超, 彭形, 等. 甘草甜素通过抑制炎症反应和氧化应激改善大鼠蛛网膜下腔出血后血脑屏障损伤 [J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(7): 811-818.
- Xiao G, Luo C, Peng X, et al. Glycyrrhizin improves blood brain barrier after subarachnoid hemorrhage by inhibiting inflammatory reaction and oxidative stress reaction [J]. Chin J Immunol, 2019, 35(7): 811-818.
- [6] 靳洪波, 韩枫, 王元朔, 等. 大鼠癫痫持续状态性脑水肿后脑水通道蛋白-4表达及其与脑水肿的关系 [J]. 疑难病杂志, 2018, 17(11): 1261-1265, 1297.
- Jin H B, Han F, Wang Y S, et al. The expression of AQP4 following status epilepticus in rats and the relationship of AQP4 expression and brain edema [J]. Chin J Diffic Compl Cas, 2018, 17(11): 1261-1265, 1297.
- [7] Wang L, Shi Q H, Li K, et al. Oral administration of Ginkgolide B alleviates hypoxia-induced neuronal damage in rat hippocampus by inhibiting oxidative stress and apoptosis [J]. Iran J Basic Med Sci, 2019, 22(2): 140-145.
- [8] 龙思琴, 喻秀峰, 葛宇黎, 等. 银杏内酯B改善高脂饮食诱导的小鼠肝脏脂肪变性和炎症 [J]. 世界华人消化杂志, 2020, 28(13): 519-525.
- Long S Q, Yu X F, Ge Y L, et al. Ginkgolide B ameliorates high-fat diet-induced hepatic steatosis and inflammation in mice [J]. World Chin J Digestol, 2020, 28(13): 519-525.
- [9] 颜艺, 马莉. 银杏内酯注射液对缺血性血管性认知障碍患者认知功能及血清SOD、GSH的影响 [J]. 药物评价研究, 2020, 43(9): 1840-1843.
- Yan Y, Ma L. Effects of Ginkgolide Injection on cognitive function and serum SOD and GSH in patients with ischemic vascular cognitive impairment [J]. Drug Eval Res, 2020, 43(9): 1840-1843.
- [10] 吴琼, 袁裕钧, 王华. 大麻素2型受体对癫痫持续状态大鼠海马CA1区自噬相关蛋白LC3、Beclin-1表达的影响 [J]. 中国小儿急救医学, 2019, 26(7): 486-491.
- Wu Q, Yuan Y J, Wang H. Effect of cannabinoid receptor type 2 on the expression of autophagy-related proteins LC3 and Beclin-1 in the hippocampal CA1 region of rats with status epilepticus [J]. Chin Pediatr Emerg Med, 2019, 26(7): 486-491.
- [11] 孙康钦, 袁宝强, 刘娜, 等. 银杏内酯B对发育期癫痫大鼠海马中低氧诱导因子-1 α 及PI3K/Akt信号通路的影响 [J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2015, 24(3): 208-211.
- Sun K Q, Yuan B Q, Liu N, et al. Effect of Ginkgolide B on hypoxia inducible factor-1 α and PI3K/Akt signaling pathway in hippocampus of rats with developmental epilepsy [J]. Chin J Behav Med & Brain Sci, 2015, 24(3): 208-211.
- [12] 康云霄, 李颖昆, 纪晓明, 等. 己酮可可碱预处理对癫痫发作大鼠海马损伤的影响 [J]. 脑与神经疾病杂志, 2017, 25(6): 335-339.
- Kang Y X, Li Y K, Ji X M, et al. The effect of pentocifylline pretreatment on the damage of hippocampus in epileptic rats [J]. J Brain Nerv Dis, 2017, 25(6): 335-339.
- [13] 邱珂, 邓淑文, 刘慧, 等. 丁苯酞对SD大鼠脑出血后血脑屏障的影响及其机制 [J]. 中南大学学报: 医学版, 2019, 44(12): 1321-1328.
- Qiu K, Deng S W, Liu H, et al. Effect of butylphthalide on blood-brain barrier after cerebral hemorrhage in SD rats and the mechanisms [J]. J Cent South Univ: Med Sci, 2019, 44(12): 1321-1328.
- [14] 范真, 陈程, 孙红斌. 血脑屏障与癫痫的相互作用及机制研究进展 [J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2015, 42(3): 276-279.
- Fan Z, Chen C, Sun H B. Research progress on the interaction between blood-brain barrier and epilepsy and its mechanism [J]. J Inter Neurol Neurosur, 2015, 42(3): 276-279.
- [15] 曲扬, 丁婧, 赵琳琳, 等. 血脑屏障与癫痫相关性的研究进展 [J]. 中国实验诊断学, 2020, 24(2): 330-332.
- Qu Y, Ding J, Zhao L L, et al. Research progress on the relationship between blood-brain barrier and epilepsy [J]. Chin J Lab Diagn, 2020, 24(2): 330-332.
- [16] 宋先兵, 陈晓宇. 银杏内酯B对大鼠脑缺血-再灌注的保护作用研究 [J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2014, 35(8): 1097-1099.
- Song X B, Chen X Y. Research on effect of Ginkgolide B Injection on rat cerebral ischemia reperfusion model [J]. J Qiqihaer Med Coll, 2014, 35(8): 1097-1099.
- [17] 刘晖, 张嘉伟, 林宇, 等. 银杏内酯B对老龄大鼠局灶性脑缺血-再灌注损伤炎症反应的作用 [J]. 中国老年学杂志, 2013, 33(13): 3139-3140.
- Liu H, Zhang J W, Lin Y, et al. Effect of Ginkgolide B on inflammatory response of focal cerebral ischemia-

- reperfusion injury in aged rats [J]. Chin J Gerontol, 2013, 33(13): 3139-3140.
- [18] 陈姝璇, 王丽琨, 伍国锋. 应用2种方法建立大鼠癫痫模型对比研究 [J]. 中华实用诊断与治疗杂志, 2017, 31(1): 29-32.
- Chen S X, Wang L K, Wu G F. Comparative study on the establishment of rat epilepsy models by two methods [J]. J Chin Prac Diag and Thera, 2017, 31(1): 29-32.
- [19] Librizzi L, Noe F, Vezzani A, et al. Seizure-induced brain-borne inflammation sustains seizure recurrence and blood-brain barrier damage [J]. Ann Neurol, 2012, 72(1): 82-90.
- [20] 张亚红, 刘重霄, 周 任, 等. 大鼠脑出血模型中血脑屏障开放规律及应用脑血疏口服液治疗脑水肿的实验研究 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2016, 14(14): 1613-1615.
- Zhang Y H, Liu C X, Zhou R, et al. The opening regularity of the blood-brain barrier in the rat model of cerebral hemorrhage and experimental study on the treatment of cerebral edema with naoxueshu oral liquid [J]. Chin J Integr Med Cardio/Cerebrovasc Dis, 2016, 14(14): 1613-1615.
- [21] Duan X, Wen Z, Shen H, et al. Intracerebral hemorrhage, oxidative stress, and antioxidant therapy [J]. Oxid Med Cell Longev, 2016(12): 32-38.
- [22] Ayer R E, Zhang J H. Oxidative stress in subarachnoid haemorrhage: significance in acute brain injury and vasospasm [J]. Acta Neurochi Suppl, 2008, 104: 33-34.
- [23] 刘慧芳, 姜 敏, 马红霞. 哮喘大鼠肺组织线粒体功能变化及其对氧化应激水平的影响 [J]. 新乡医学院学报, 2018, 35(8): 662-665.
- Liu H F, Jiang M, Ma H X. Changes of mitochondrial function in lung tissues of asthmatic rats and their effects on oxidative stress levels [J]. J Xinxiang Med Coll, 2018, 35(8): 662-665.
- [24] 曹 莉. 脓毒症炎症级联反应及分子学干预研究进展 [J]. 内科, 2019, 14(3): 317-320.
- Cao L. Research progress of sepsis inflammatory cascade and molecular intervention [J]. Inter Med, 2019, 14(3): 317-320.
- [25] 陆正齐. 血脑屏障在缺血性卒中病程中的破坏与保护策略 [J]. 中山大学学报: 医学版, 2019, 40(5): 641-647.
- Lu Z Q. Destruction and protection strategy of blood-brain barrier during ischemic stroke [J]. J Sun Yat-sen Univ: Med Sci, 2019, 40(5): 641-647.

[责任编辑 兰新新]