

• 药理与临床 •

脑心通胶囊通过铁死亡机制减轻大鼠脑缺血再灌注损伤研究

黄贵金凤, 尚津锋, 文胤琏, 张晓璐, 王伯洪, 韦婉婷, 刘欣*

北京中医药大学中药学院, 北京 102488

摘要: **目的** 探讨脑心通胶囊通过抑制铁死亡减少大鼠脑缺血再灌注损伤。**方法** 雄性 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、脑心通 (110.0 mg/kg) 组、金纳多 (21.6 mg/kg) 组、p53 抑制剂 (25.0 mg/kg) 组和 p53 抑制剂 (25.0 mg/kg) + 脑心通 (110.0 mg/kg) 组。通过短暂性大脑中动脉闭塞制备脑缺血再灌注损伤大鼠模型, 术后 24 h 进行指标评定及取材, 评估各组大鼠神经功能评分检测神经功能; 2,3,5-三苯基氯化四氮唑 (2,3,5-triphenyltetrazolium chloride solution, TTC) 法检测脑梗死面积; 苏木素-伊红 (hematoxylin-eosin, HE) 染色观察海马形态结构; 透射电镜观察超微结构; 生化试剂检测海马组织亚铁、脂质过氧化物含量; 逆转录实时定量聚合酶链式反应 (real-time reverse transcription quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR)、Western blotting 和免疫组化检测海马组织 p53、SLC7A11、GPX4、ACSL4 的 mRNA 和蛋白表达量。**结果** 与模型组比较, 脑心通组大鼠神经功能评分减少, 脑梗死率显著降低 ($P < 0.01$), 海马组织病理学改变减轻, 海马组织中总铁、脂质过氧化物显著降低 ($P < 0.05$), SLC7A11、GPX4 的 mRNA 表达量和蛋白表达量显著增加 ($P < 0.01$), p53、ACSL4 的 mRNA 和蛋白表达量显著减少 ($P < 0.01$)。p53 抑制剂能够抑制 p53 表达, 恢复大鼠神经功能, 减少脑梗死率, 降低铁超载, 抑制铁死亡发生 ($P < 0.05$), 与脑心通胶囊有协同作用。**结论** 脑心通胶囊通过抑制 p53 进而减少大鼠脑缺血再灌注损伤中铁死亡。

关键词: 脑缺血再灌注损伤; 脑心通胶囊; 铁死亡; p53; SLC7A11

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2025)04-1224-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.04.011

Study on Naoxintong Capsules alleviating cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by ferroptosis mechanism

HUANG Guijinfeng, SHANG Jinfeng, WEN Yinlian, ZHANG Xiaolu, WANG Bohong, WEI Wanting, LIU Xin
School of Chinese Materia Medica, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 102488, China

Abstract: Objective To investigate how Naoxintong Capsule reduces cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by inhibiting ferroptosis. **Methods** Male SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, Naoxintong (110.0 mg/kg) group, Ginaton (21.6 mg/kg) group, p53 inhibitor (25.0 mg/kg) group and p53 inhibitor (25.0 mg/kg) + Naoxintong (110.0 mg/kg) group. The cerebral ischemia-reperfusion injury rat model was prepared by transient middle cerebral artery occlusion, and the parameters were evaluated and sampled 24 h after operation. Nerve function score was used to detect nerve function. The infarct size was measured by 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride solution (TTC). Hippocampal morphological structure was observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. The ultrastructure was observed by transmission electron microscope. The contents of ferrous and lipid peroxides in hippocampus were detected by biochemical reagents. The mRNA and protein expression levels of p53, SLC7A11, GPX4 and ACSL4 in hippocampus were detected by RT-qPCR, Western blotting and immunohistochemistry. **Results** Compared with the model group, the neurological function score and cerebral infarction rate of rats in Naoxintong group were decreased ($P < 0.01$), the histopathological changes in hippocampus were alleviated, the total iron and lipid peroxides in hippocampus were significantly decreased ($P < 0.05$), and the mRNA and protein expressions of SLC7A11 and GPX4 were significantly increased ($P < 0.01$). The mRNA and protein expression of p53 and

收稿日期: 2024-09-26

基金项目: 北京中医药大学基本科研业务费项目 (揭榜挂帅项目) (2022-JYB-JBZR-005); 国家自然科学基金面上项目 (81573726)

作者简介: 黄贵金凤, 硕士研究生, 从事脑缺血作用特点及药物干预研究。E-mail: hgjf2000@163.com

*通信作者: 刘欣, 博士, 教授, 硕士生导师, 从事脑缺血作用特点及药物干预研究。E-mail: liuxin1011@bucm.edu.cn

ACSL4 were significantly decreased ($P < 0.01$). p53 inhibitor can inhibit the expression of p53, restore the nervous function of rats, reduce the rate of cerebral infarction, reduce iron overload, and inhibit the occurrence of ferroptosis ($P < 0.05$), which has a synergistic effect with Naoxintong capsule. **Conclusion** Naoxintong Capsule can reduce ferroptosis in cerebral ischemia-reperfusion injury in rats by inhibiting p53.

Key words: cerebral ischemia-reperfusion injury; Naoxintong Capsule; ferroptosis; p53; SLC7A11

全球疾病负担报告显示, 脑梗死发病呈现年轻化趋势^[1]。在我国, 脑血管疾病情况不容乐观, 缺血性脑卒中发病率位居全球首位^[2]。临床中静脉溶栓加推注阿替普酶后输注是针对急性缺血性卒中患者的全球标准治疗方案, 但治疗时间窗短, 疗效随时间窗的延误而减弱, 而且再灌注治疗期间脑内微血管循环恢复困难较大^[3]。近年来, 国内外学者对于脑缺血再灌注损伤 (cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI) 的治疗设计神经保护剂以促进脑细胞再生和修复的治疗方法^[4]。然而, 迄今仍缺乏对大多数病人均有效且安全的治疗方法及药物。

铁死亡是细胞死亡的研究焦点, 已有研究证实脑缺血再灌注损伤诱导神经细胞氧化应激和铁死亡, 调控铁死亡相关靶点和分子机制能够减轻 CIRI^[5]。肿瘤蛋白 53 (tumor protein 53, p53) 是一种转录因子, 调节 DNA 稳定性和细胞生长, 在缺氧水平下诱导线粒体降解^[6]。药理学研究显示, 抑癌基因 p53/溶质载体家族 7 成员 11 (recombinant solute carrier family 7 member 11, SLC7A11) 诱导脑缺血时海马神经元的铁死亡^[7], 说明 p53 是铁死亡的调控因子之一。通过调控 p53 抑制神经元铁死亡, 可能是减少脑缺血再灌注损伤的潜在作用途径。

脑心通胶囊在补阳还五汤的基础上加虫类药和活血化瘀药, 由黄芪、红花、丹参、当归、川芎、桃仁等 16 味中药组成, 具有益气活血、化瘀通络、醒脑开窍、宣痹止痛之功, 临床上主要用于治疗心肌梗死、缺血性中风等疾病^[8-9]。随机对照试验表明, 脑心通可有效预防缺血性脑卒中患者复发, 并可促进脑卒中后下肢训练康复^[10]。目前, 脑心通胶囊多成分由于作用在多个靶点和多条通路, 其作用机制尚未完全明晰。为研究脑心通胶囊的药理机制, 本研究运用大鼠短暂性大脑中动脉闭塞 (transient middle cerebral artery occlusion, tMCAO) 模型, 验证脑心通胶囊是否通过调节铁死亡发挥对 tMCAO 大鼠保护作用。

1 材料

1.1 动物

SPF 级 6~8 周龄雄性 SD 大鼠 98 只, 体质量 220~240 g, 购自北京斯贝福生物技术有限公司,

许可证号 SYXK (京) 2023-0011。所有动物于温度 22~25 °C, 湿度 50%~60%, 12 h 明暗交替的环境中适应饲养 5 d 后开始实验。本研究经北京中医药大学学术委员会实验动物伦理分委员会批准 (批准号 BUCM-2023122702-4242)。

1.2 药品与试剂

脑心通胶囊 (批号 230506, 国药准字 Z20025001) 购自陕西步长制药有限公司; 金纳多 (批号 8710120) 购自德国威玛舒培博士药厂; p53 抑制剂 pifithrin- α (PFT α , 质量分数 98.05%, 批号 228437) 购自美国 MedChemExpress 公司; 氯化钠注射液 (sodium chloride injection, NS, 批号 2301132006) 购自石家庄四药有限公司; 4%多聚甲醛固定液 (paraformaldehyde fix solution, PFA, 批号 22242687) 购自北京 biosharp 公司; 2,3,5-三苯基氯化四氮唑 (2,3,5-triphenyltetrazolium chloride solution, TTC, 批号 01223Z031) 染液购自北京索莱宝科技有限公司; 苏木素-伊红 (hematoxylin eosin, HE, 批号 20240112) 染色试剂盒, 购自北京索莱宝科技有限公司; 戊二醛固定液 (glutaric dialdehyde, GD, 批号 C13397109) 购自上海麦克林生化科技股份有限公司; 亚铁离子 (ferrous iron, Fe²⁺) 比色法试剂盒 (批号 JSZU5Y51N4) 购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司; 脂质过氧化物 (lipid peroxidation, LPO, 批号 20240831) 测定试剂盒购自南京建成生物工程研究所; 实时荧光定量聚合酶链式反应 (real-time quantitative polymerase chain reaction, RT-qPCR) 所需的引物购自上海生工生物工程股份有限公司; 染料法荧光定量预混试剂 (批号 Q30716)、单链合成试剂盒 (TransScript® All-in-One First-Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR, 批号 Q11122) 购自全北京全式金生物技术有限公司; RNA 提取试剂盒 (MiPure Cell/Tissue miRNA Kit, 批号 017E2251GA) 购自南京诺唯赞生物科技股份有限公司; 抑癌基因 p53 抗体 (批号 10016682)、溶质载体家族 7 成员 11 (solute carrier family 7 member 11, SLC7A11) 抗体 (批号 00115587)、兔抗 (批号 20001097) 均购自武汉三鹰生物技术有

限公司；酰基辅酶 A 合成酶长链家族成员 4 (acyl-CoA synthetase long chain family member 4, ACSL4) 抗体 (批号 GR1002422-28) 购自英国 abcam 公司；谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4) 抗体 (批号 GR100287-3) 购自英国 abcam 公司；鼠抗 (批号 9124230010) 购自北京索莱宝科技有限公司。

1.3 仪器

RM2235 型石蜡切片机、DM3000 型显微镜、LeicaUC7 型超薄切片机 (德国 Leica 公司)；Epoch2 型酶标仪 (美国 BioTek 公司)；HT7800/HT7700 型透射电子显微镜 (日本 Hitachi 公司)；CFX96 Optics Module 型实时荧光定量 PCR 仪 (美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 动物造模、分组与给药

大鼠禁食不禁水 12 h 后, ip 10%水合氯醛 (350 mg/kg) 对大鼠施以麻醉, 仰卧位固定。沿大鼠颈部中线剪开, 钝性分离出颈总动脉、颈内动脉和颈外动脉。暂时夹闭颈外动脉, 将线栓由颈总动脉的剪口处插入到颈内动脉, 进而堵塞大脑中动脉。整个手术过程在 10 min 内完成。堵塞 2 h 后拔出线栓, 并恢复血流 22 h^[11]。假手术组不插入线栓。脑缺血再灌注损伤 24 h 后取大鼠患侧大脑海马 CA1 区组织并检测各项指标。

对大鼠进行编号, 并随机分为假手术组、模型组、脑心通 (110.0 mg/kg) 组、金纳多 (21.6 mg/kg) 组、p53 抑制剂 (25.0 mg/kg) 组和 p53 抑制剂 (25.0 mg/kg) + 脑心通 110.0 mg/kg 组。本课题组前期研究和预实验已确定脑心通胶囊、金纳多和 p53 抑制剂的最佳给药剂量^[12]。各给药组大鼠 ig 给药 (10 mL/kg), 2 次/d (早晚各 1 次), 连续给药 5 d 后进行造模, 假手术组、模型组和 p53 抑制剂大鼠 ig 等体积蒸馏水。p53 抑制剂 (25 mg/kg) 组和 p53 抑制剂 (25 mg/kg) + 脑心通 110 mg/kg 组于造模前 24 h 尾 iv p53 抑制剂 (1.25 mL/kg), 其余组尾 iv 等体积生理盐水。金纳多在治疗缺血性中风方面效果显著, 并且常被用作体内实验评估药物药效的阳性对照药物^[13]。为此, 本研究选择金纳多作为阳性对照, 评估脑心通胶囊改善 tMCAO 模型大鼠的药效, 并以金纳多为参考, 根据神经功能评分、脑梗死率、病理染色结果评价脑心通胶囊的药效。

2.2 神经功能评分评价神经功能

采用 Longa 评分法, 于造模 24 h 后对各组大鼠的

神经功能损伤程度进行评价^[11], 0 分: 正常, 无神经功能损伤; 1 分: 患侧前爪不能完全伸展, 轻度神经功能缺损; 2 分: 行走时大鼠向患侧转圈, 中度神经功能缺损; 3 分: 行走时大鼠身体向患侧倾倒, 重度神经功能缺损。

2.3 TTC 法测定脑梗死率

造模 24 h 后处死大鼠, 取全脑做 2 mm 冠状切片均匀切成 5 片, 将取得的脑切片放入 2% TTC 置于深色盒子染色, 置于 4%多聚甲醛内固定后整齐排列, 扫描脑切片。红区为非梗死区, 白区为梗死区。梗死体积除以脑总体积为脑梗死率。

2.4 HE 染色观察病理改变

取材后用多聚甲醛迅速固定, 脱钙脱水、石蜡包埋、切片铺片, 石蜡切片烘烤、脱蜡和水化, 按照步骤进行 HE 染色, 脱水封片后于显微镜下观察海马 CA1 区组织部位病理形态学改变。此外, 统计 400 倍镜下海马 CA1 区组织的神经元数量, 并以假手术组为标准对照进行数据归一化, 定量分析各组正常神经元的相对数量。

2.5 透射电镜观察超微结构

取大鼠患侧大脑海马 CA1 区组织部位 1 mm³, 经戊二醛固定、室温脱水、渗透包埋、聚合、超薄切片、染色, 于透射电子显微镜下观察神经元的线粒体结构, 采集图像。

2.6 生化试剂检测亚铁离子和 LPO 含量

造模 24 h 后, 取大鼠海马 CA1 区组织用生理盐水制备 10%组织匀浆。各组大鼠亚铁离子和 LPO 含量通过试剂盒进行检测, 具体实验步骤严格按照说明书操作。

2.7 RT-qPCR 检测相关 mRNA 相对表达量

根据 RNA 提取试剂盒说明提取患侧大脑海马 CA1 区组织总 RNA, 测定浓度和纯度, 将 A₂₆₀/A₂₈₀ 数值控制在 1.8~2.0。参照说明书合成第一链 cDNA, 以 cDNA 为模板进行 RT-qPCR, 设定程序为 94 °C 预变性 1 min, 94 °C 变性 5 s, 50~60 °C 退火 15 s, 72 °C 延伸 10 s, 共 40 个循环。以 GAPDH 为内参, 按 2^{-ΔΔCt} 法计算 p53、SLC7A11、ACSL4、GPX4 的 mRNA 相对表达水平。引物序列见表 1。

2.8 免疫组化法检测蛋白相对表达量

取大鼠患侧大脑海马 CA1 区组织后制备石蜡切片, 烘烤、脱蜡和水化, 分别加入 p53、SLC7A11、ACSL4、GPX4 抗体孵育, 增强液反应、二抗孵育, 进行显色、复染、分色、返蓝、脱水、透明、封片, 观察显色结果, 阳性的细胞质或细胞核呈棕黄色,

表1 引物序列
Table 1 Primer sequences

| 引物名称 | 引物序列 (5'-3') |
|---------|--|
| p53 | F: TGCCACACAGCACAAGCTC R: CAGCTCTCGGAACATCTCGAAG |
| SLC7A11 | F: AAATTCTCATTAGCAGTCCCGAT R: CAGCAAACACACCACCGTT |
| ACSL4 | F: TAAGTACAACCTTCCGCTTGTG R: ATAGGAAGCCTCAGACTCA |
| GPX4 | F: CCCATTCCCGAGCCTTCAACC R: ATCGATGTCCTGGCTGCGAAT |
| GAPDH | F: AAGATGGTGAAGGTCGGTGT R: GATCTCCTGGAAGATG |

用 Image-J 软件计算平均吸光度 (A) 值作为蛋白相对表达量。

2.9 Western blotting 检测蛋白相对表达量

将大鼠的大脑海马 CA1 区组织匀浆, 提取总蛋白, 测定蛋白质浓度, 蛋白样品经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳, 转至 PVDF 膜, 经封闭、洗膜后, 分别用一抗及 HRP 标记的二抗进行孵育、检测。以 GAPDH 作为内参, 用 Image-J 软件计算 p53、SLC7A11、ACSL4、GPX4 蛋白的相对表达水平。

2.10 统计学分析

数据结果以 $\bar{x} \pm s$ 的形式表示, 采用 SPSS 20.0 软件进行分析。若组间数据符合正态分布且方差齐, 采用单因素方差分析进行多组间数据比较, 事后多重比较采用最小显著性差异法检验。若不符合正态分布或方差不齐, 采用非参数检验。

3 结果

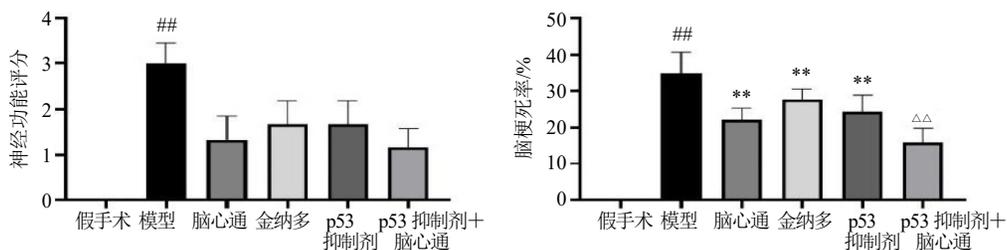
3.1 脑心通胶囊和 p53 抑制剂对大鼠脑梗死率和神经功能评分的影响

如图 1 所示, 假手术组大鼠的脑梗死率均为 0, 神经功能评分均为 0 分, 无脑损伤和神经功能障碍; 与假手术组比较, 模型组大鼠的脑梗死率和神经功

能评分显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 脑心通组、金纳多组和 p53 抑制剂组大鼠的脑梗死率显著降低 ($P < 0.01$), 神经功能评分呈下降趋势; 与 p53 抑制剂组比较, p53 抑制剂+脑心通组大鼠的脑梗死率显著降低 ($P < 0.01$), 神经功能评分有所下降。脑心通胶囊与阳性药金纳多的作用趋势相近, 且脑心通胶囊药效较好; 同时, p53 抑制剂与脑心通胶囊均能降低脑梗死率, 恢复神经功能, 具备协同增效作用。

3.2 脑心通胶囊和 p53 抑制剂对大鼠海马组织形态和超微结构的影响

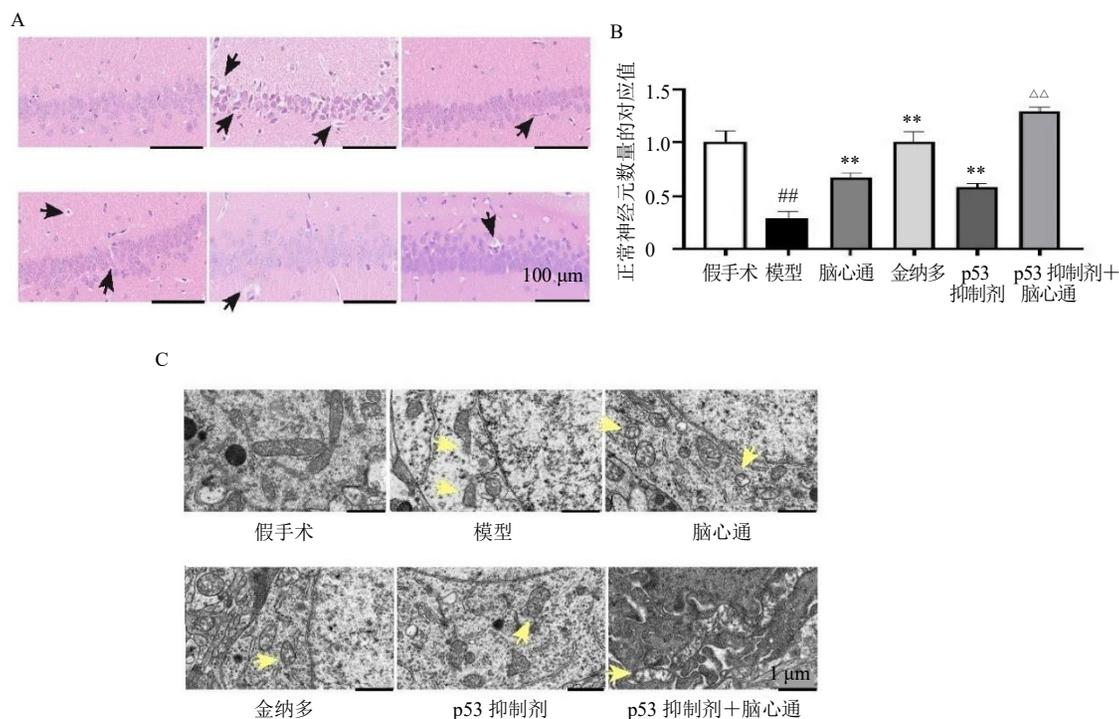
HE 染色如图 2-A 所示, 假手术组大鼠海马 CA1 区的细胞形态结构正常, 神经元丰富, 无明显病理变化; 模型组大鼠海马神经元出现细胞核固缩、核仁消失、空泡样改变、细胞间隙增大、细胞肿胀等病理变化, 且正常神经元数量减少; 与模型组比较, 脑心通组、金纳多组、p53 抑制剂组和 p53 抑制剂+脑心通组海马 CA1 区正常神经细胞有所增多, 细胞损伤程度有所降低, 神经元病理损伤现象减少, 脑组织损伤较轻, 且 p53 抑制剂+脑心通组的病理损伤更轻。如图 2-B 所示, 与假手术组比较, 模型组大鼠的正常神经元数量显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 脑心通组、金纳多组和 p53 抑制剂组大鼠的正常神经元数量显著增加 ($P < 0.01$); 与 p53 抑制剂组比较, p53 抑制剂+脑心通组大鼠的正常神经元数量显著升高 ($P < 0.01$)。透射电镜结果如图 2-C 所示, 假手术组大鼠脑组织的细胞内线粒体外膜完整, 嵴丰富, 无明显病理状态; 模型组大鼠的细胞内发现线粒体外膜破裂, 线粒体萎缩、线粒体膜密度增加及线粒体嵴缩小或消失的现象; 脑心减小, 有轻微肿胀但无明显破裂, 损伤较模型组较



与假手术组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$; 与模型组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$; 与 p53 抑制剂组比较: △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$; 下图同。
* $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs sham group; * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ vs model group; △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$ vs p53 inhibitor group; same as below figures.

图 1 脑心通胶囊、金纳多和 p53 抑制剂对大鼠脑梗死率、神经功能评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Effect of Naoxintong Capsule, ginaton and p53 inhibitor on cerebral infarction rate and neurological deficit score of rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



A-HE 染色结果 (×400); B-正常神经元数量; C-电镜 (×6 000); 黑色箭头指示病理改变, 黄色箭头指示损伤线粒体。
A-HE staining results (×400); B-number of normal neurons; C-electron microscope (× 6 000); black arrows indicate pathological changes, yellow arrows indicate mitochondrial damage.

图 2 脑心痛胶囊和 p53 抑制剂对大鼠海马组织形态、超微结构和正常神经元数量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 2 Effect of Naoxintong Capsule and p53 inhibitor on morphology, ultrastructure and number of normal neurons in hippocampus of rats ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

轻。上述结果表明, 脑心痛胶囊与阳性药金纳多作用趋势相近, 与 p53 抑制剂有协同增效作用。

3.3 脑心痛胶囊和 p53 抑制剂对大鼠海马组织铁水平和氧化水平的影响

如图 3 所示, 与假手术组比较, 模型组大鼠海马组织的 Fe²⁺和 LPO 含量显著升高 ($P < 0.05$ 、 0.01); 与模型组比较, 脑心痛组和 p53 抑制剂组海马组织的 Fe²⁺含量和 LPO 含量显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01); 与 p53 抑制剂组比较, p53 抑制剂+脑心痛组大鼠海马组织的 Fe²⁺含量和 LPO 含量显著降低

($P < 0.05$ 、 0.01)。以上结果表明, 脑心痛胶囊和 p53 抑制剂能通过降低铁水平和 LPO 含量从而改善 tMCAO 大鼠脑损伤。

3.4 脑心痛胶囊和 p53 抑制剂对大鼠海马组织铁死亡相关靶点 mRNA 表达水平的影响

脑心痛胶囊和 p53 抑制剂对大鼠 p53、SLC7A11、GPX4、ACSL4 的 mRNA 表达水平的影响见表 2, 与假手术组比较, 模型组大鼠 p53、ACSL4 的 mRNA 表达量显著增加 ($P < 0.01$), SLC7A11 的 mRNA 表达量显著降低 ($P < 0.01$), GPX4 的 mRNA

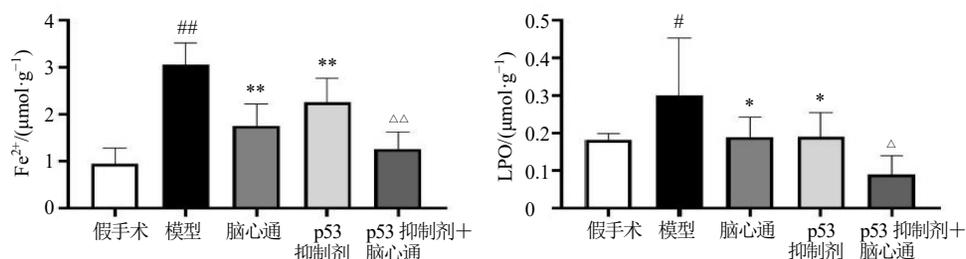


图 3 脑心痛胶囊和 p53 抑制剂对大鼠海马组织铁水平和氧化水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 3 Effect of Naoxintong Capsule and p53 inhibitor on iron level and oxidation level in hippocampus of rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

表2 脑心通胶囊和 p53 抑制剂对大鼠海马组织铁死亡相关基因 mRNA 表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)
Table 2 Effect of Naoxintong Capsule and p53 inhibitor on mRNA expression of ferroptosis-associated genes of hippocampus in rats ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| 组别 | 剂量/(mg·kg ⁻¹) | p53 | SLC7A11 | GPX4 | ACSL4 |
|-------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 假手术 | — | 1.005 ± 0.122 | 1.012 ± 0.185 | 1.031 ± 0.077 | 1.001 ± 0.042 |
| 模型 | — | 4.943 ± 0.382 ^{##} | 0.676 ± 0.110 ^{##} | 0.619 ± 0.198 | 5.842 ± 0.297 ^{##} |
| 脑心通 | 110 | 1.767 ± 0.270 ^{**} | 1.782 ± 0.225 ^{**} | 1.535 ± 0.359 ^{**} | 2.221 ± 1.055 ^{**} |
| p53 抑制剂 | 25 | 0.719 ± 0.116 ^{**} | 1.434 ± 0.423 ^{**} | 1.426 ± 0.079 ^{**} | 1.581 ± 0.042 ^{**} |
| p53 抑制剂+脑心通 | 25+110 | 0.263 ± 0.156 [△] | 2.420 ± 0.174 ^{△△} | 2.778 ± 0.464 ^{△△} | 1.105 ± 0.049 |

与假手术组比较: [#]*P*<0.05 ^{##}*P*<0.01; 与模型组比较: ^{*}*P*<0.05 ^{**}*P*<0.01; 与 p53 抑制剂组比较: [△]*P*<0.05 ^{△△}*P*<0.01; 下表同。
[#]*P*<0.05 ^{##}*P*<0.01 vs sham group; ^{*}*P*<0.05 ^{**}*P*<0.01 vs model group; [△]*P*<0.05 ^{△△}*P*<0.01 vs p53 inhibitor group; same as below tables.

表达量有所降低;与模型组比较,脑心通组和 p53 抑制剂组大鼠 p53、ACSL4 的 mRNA 表达量显著降低 (*P*<0.01), SLC7A11、GPX4 的 mRNA 表达量显著增加 (*P*<0.01);与 p53 抑制剂组比较, p53 抑制剂+脑心通组大鼠 p53 的 mRNA 表达量显著降低 (*P*<0.05), ACSL4 的 mRNA 表达量也有所降

低; SLC7A11、GPX4 的 mRNA 表达量显著增加 (*P*<0.01)。

3.5 脑心通胶囊和 p53 抑制剂对大鼠海马组织铁死亡相关靶点蛋白表达水平的影响

免疫组化结果如图 4 和表 3 所示,与假手术组比较,模型组大鼠 p53、ACSL4 的蛋白相对表达

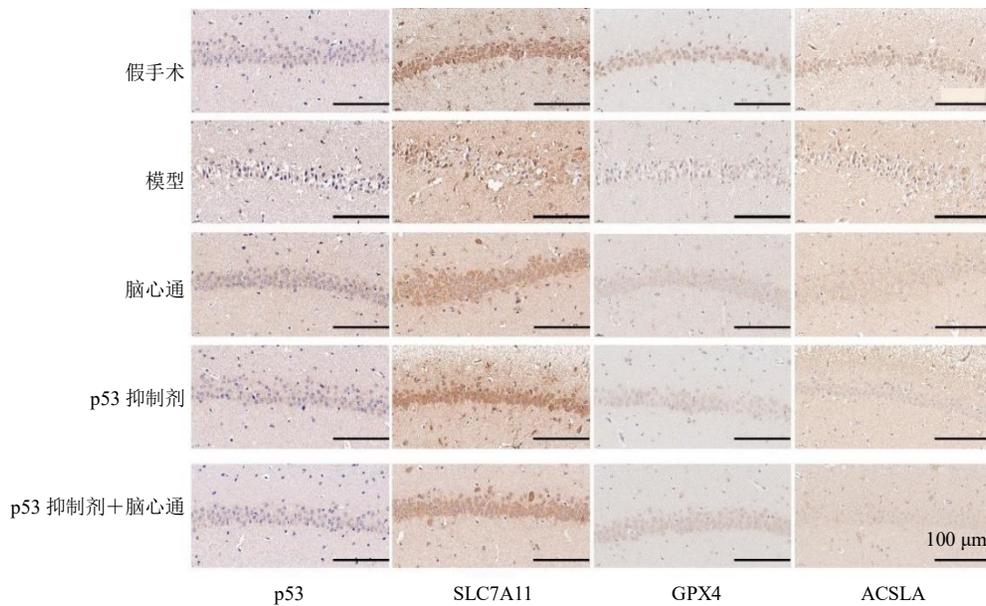


图4 各组大鼠海马铁死亡相关蛋白免疫组化结果 (×400; n = 3)

Fig. 4 Immunohistochemical results of ferroptosis related proteins in hippocampus of rats in each group (× 400; n = 3)

表3 脑心通胶囊和 p53 抑制剂对大鼠海马组织铁死亡相关靶点蛋白表达水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Table 3 Effect of Naoxintong Capsule and p53 inhibitor on protein expression of ferroptosis-associated targets of hippocampus in rats ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

| 组别 | 剂量/(mg·kg ⁻¹) | p53 | SLC7A11 | GPX4 | ACSL4 |
|-------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 假手术 | — | 0.071 ± 0.025 | 0.314 ± 0.006 | 0.114 ± 0.006 | 0.155 ± 0.013 |
| 模型 | — | 0.332 ± 0.015 ^{##} | 0.211 ± 0.009 ^{##} | 0.075 ± 0.012 ^{##} | 0.301 ± 0.026 ^{##} |
| 脑心通 | 110 | 0.235 ± 0.016 ^{**} | 0.305 ± 0.010 ^{**} | 0.110 ± 0.003 ^{**} | 0.146 ± 0.009 ^{**} |
| p53 抑制剂 | 25 | 0.116 ± 0.003 ^{**} | 0.327 ± 0.010 ^{**} | 0.138 ± 0.008 ^{**} | 0.133 ± 0.002 ^{**} |
| p53 抑制剂+脑心通 | 25+110 | 0.104 ± 0.006 | 0.362 ± 0.006 ^{△△} | 0.189 ± 0.009 ^{△△} | 0.118 ± 0.002 |

量显著升高 ($P < 0.01$), SLC7A11、GPX4 的蛋白相对表达量显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 脑心通组和 p53 抑制剂组大鼠 p53、ACSL4 的蛋白相对表达量显著降低 ($P < 0.01$), SLC7A11、GPX4 的蛋白相对表达量显著升高 ($P < 0.01$); 与 p53 抑制剂组比较, p53 抑制剂+脑心通组大鼠 p53 和 ACSL4 的蛋白相对表达量降低, SLC7A11、GPX4 的蛋白相对表达量显著增加 ($P < 0.01$)。

WB 结果如图 5 所示, 与假手术组比较, 模型组

大鼠 p53、ACSL4 的蛋白相对表达量显著升高 ($P < 0.01$), SLC7A11、GPX4 的蛋白相对表达量显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 脑心通组和 p53 抑制剂组大鼠 p53、ACSL4 的蛋白相对表达量显著降低 ($P < 0.01$), SLC7A11、GPX4 的蛋白相对表达量显著升高 ($P < 0.01$); 与 p53 抑制剂组比较, p53 抑制剂+脑心通组大鼠 p53 和 ACSL4 的蛋白相对表达量显著降低 ($P < 0.01$), SLC7A11、GPX4 的蛋白相对表达量显著增加 ($P < 0.01$)。

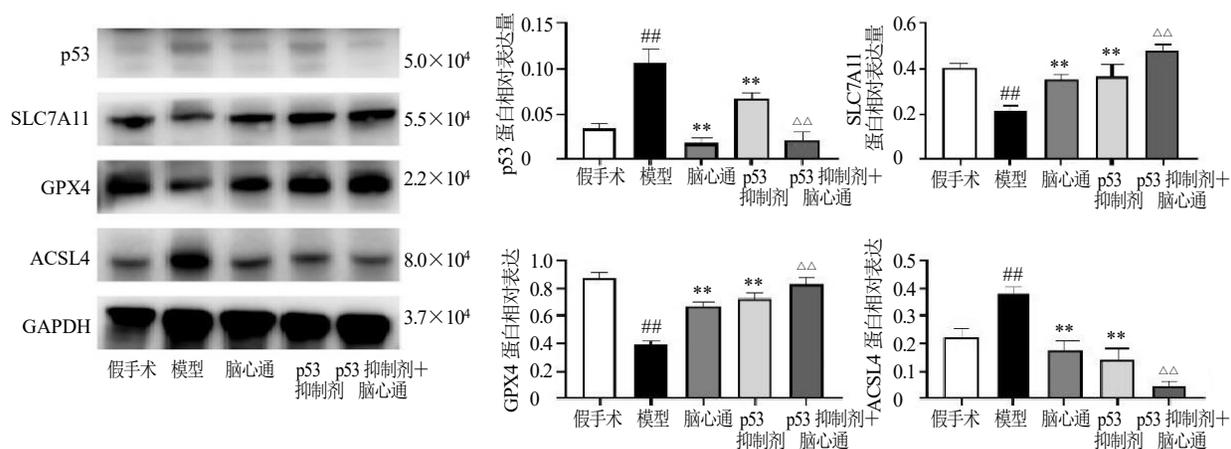


图 5 各组大鼠海马铁死亡相关蛋白表达结果 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Results of ferroptosis related proteins in hippocampus of rats in each group ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

4 讨论

脑缺血在中医学中归属于“中风”的范围, 以猝然昏仆、言语不利、半身不遂、偏身麻木为主要症状, 具有发病急剧、病势多端的特点。中医络病学提到, 气为血之帅, 血为气之母, 机体“元气不足”, 气不足则血行无力, 瘀血阻滞脑络、经脉, 而致中风^[14]。“上气不足, 脑为之不满”, 指宗气不能贯心脉以助血上行, 而致脑窍失于濡养, 此为气虚血瘀理论形成的重要依据, 清代医家王清任首次提出中风病病因病机为“气虚血瘀”之理论^[15]。因此, 气虚血瘀是贯穿脑缺血整个病程的病理基础, 以益气活血法为主治疗缺血性中风具备可行性。脑心通方中重用黄芪, 以黄芪为君药, 取其补气行血之功, 为益气活血代表方。丹参与川芎配伍, 强活血化瘀之效, 加赤芍增化瘀止痛之功。桃仁、红花合用, 使瘀血阻滞部位的经络畅通。水蛭破血逐瘀力强, 地龙通经活络, 全蝎搜风通络止痛。此三味虫类药对于久病入络、瘀血顽痹等疗效独特。上述皆为臣药。牛膝引瘀血下行, 补肝肾, 强筋骨, 桂枝、桑

枝温通经络, 皆为佐药。方中诸药合用, 补气活血, 化瘀通脉。从脑心通胶囊组方中可见, 脑心通胶囊具有缓解脑络阻塞、益气活血的效用^[16]。本研究基于脑缺血再灌注损伤大鼠模型, 发现脑心通胶囊能够减少脑梗死体积, 恢复神经功能, 缓解病理损伤, 与阳性药的作用趋向相近, 药效良好。

缺血再灌注损伤以能量代谢障碍为起始, 进而通过氧化应激、炎症因子等方式造成大脑病理学改变。再灌注期, 由黄嘌呤氧化酶途径、线粒体电子传递系统途径产生的脂类过氧化物自由基、活性氧过量表达会造成组织过氧化、激活趋化因子等^[17]。脑缺血状态下机体产生的炎症介质及趋化因子, 能够富集中性粒细胞于缺血部分并进行激活, 以快速消耗氧气的方式进一步形成大量活性氧。另一方面, 机体在生理状态下存在各种抗氧化酶, 这些酶能够利用胱氨酸/谷氨酸逆向转运体通路产生的半胱氨酸还原 LPO, 从而防止活性氧造成的损伤^[18-19]。与之类似用于维持细胞氧化稳态的关键调解因子还包括核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid

2-related factor 2, NRF2) 和超氧化物歧化酶^[20]。氧化应激状态下, 活性氧的过量增加导致抗氧化体系的失衡, 造成脑缺血再灌注损伤。而海马组织的 CA1 区对于缺血性损伤最为敏感, 是脑缺血病理改变的关键位置之一^[21]。本研究设计观测海马 CA1 区组织变化的药理实验, 以脑心通胶囊的药理作用机制为研究核心。药效研究结果显示, tMCAO 大鼠海马 CA1 区神经元损伤较重, 不仅出现核固缩现象, 而且出现线粒体体积减小、线粒体破裂等现象, 表明 CIRI 诱发海马组织损伤。而脑心通胶囊和金纳多均可以改善上述病理损伤。这些结果表明, 脑心通胶囊与阳性药金纳多均能够作用于大鼠大脑海马 CA1 区, 减轻 CIRI 诱导的组织病理损伤。

本研究结果显示, 脑心通胶囊恢复 CIRI 导致的大鼠行为学、组织病理改变, 其机制可能与抑制过氧化物含量、减少铁超载等关系密切。本课题组基于心脑同治理念, 对脑心通胶囊治疗心肌缺血和脑缺血的作用机制已进行深入探讨^[22-23]。目前, 也有很多药理学研究报道脑心通及其主要成分抗脑缺血再灌注损伤的作用机制。黄芪中的有效成分黄芪甲苷 IV 可通过激活 NRF2 并促进 NRF2 的核移位, 抑制炎症小体介导的焦亡来缓解脑缺血再灌注损伤^[24]。羟基红花黄色素 A 是红花中的有效成分, 具有抗炎和抗氧化作用, 并可通过激活 HIF1A/BNIP3 信号通路诱导自噬对神经元起保护作用^[25]。另外羟基红花黄色素 A 可显著降低血小板聚集、血液黏度和血栓形成, 还可通过扩张脑血管和改善脑血管通透性来预防缺血性中风^[26]。作为多效性神经保护剂, 丹参酮 II_A 具有抗炎、抗氧化、抗凋亡等作用, 并通过抑制氧化应激和炎症反应降低血脑屏障的通透性^[27-28]。川芎、当归中的有效成分之一阿魏酸具有较强的抗氧化性, 是天然的自由基清除剂, 还可通过抑制脂质过氧化物丙二醛的生成, 清除体内过多的活性氧, 抑制氧化应激^[29]。川芎嗪联合神经干细胞移植也能够减少脑缺血再灌注大鼠的神经功能损伤^[30]。现代临床和实验研究证明, 脑心通具有抗血栓、改善血液流变行等药理作用, 有效对抗缺血性中风^[31]。上述实验的药效和生化试剂检测结果与本研究结果相符, 但仍需进一步的脑心通胶囊药效物质基础研究以明确其药效成分。

为研究脑心通胶囊抑制氧化应激和铁过载的药理机制, 本研究选择了 SLC7A11、GPX4、ACSL4 3 个与铁死亡关系密切的靶标进行检测。本研究发

现, 在转录和翻译层面, 脑心通胶囊促进 tMCAO 大鼠 SLC7A11、GPX4 表达, 抑制 ACSL4 表达。SLC7A11 是一种溶质载体家族成员, 主要参与胱氨酸-谷氨酸逆向转运系统。该转运系统对于维持细胞内的氧化还原平衡至关重要, 能够将细胞外的胱氨酸转运到细胞内, 而胱氨酸是合成谷胱甘肽的重要原料。谷胱甘肽则是一种重要的抗氧化剂, 可以清除细胞内的活性氧, 保护细胞免受氧化应激的损伤。SLC7A11 就是通过转运胱氨酸来调节细胞内谷胱甘肽的合成^[29]。当 SLC7A11 功能受到抑制时, 细胞内胱氨酸摄入减少, 谷胱甘肽合成不足, 导致细胞抗氧化能力下降。这使得细胞更容易受到氧化应激的影响, 从而增加了铁死亡的敏感性^[32]。在脑缺血再灌注损伤过程中, SLC7A11 的表达下调, 细胞内胱氨酸摄取减少, 谷胱甘肽合成不足, 神经元的抗氧化能力降低, 增加铁死亡的风险, 从而加重脑缺血再灌注损伤^[33]。GPX4 是一种硒蛋白, 在细胞内抗氧化防御系统中发挥着至关重要的作用。它能够利用谷胱甘肽作为还原剂, 将细胞内的过氧化氢和有机过氧化物还原为相应的醇类, 从而防止这些过氧化物对细胞成分的氧化损伤。在正常生理状态下, GPX4 及时清除活性氧, 维持细胞内氧化还原平衡^[34]。GPX4 是铁死亡的关键抑制因子, 通过将脂质过氧化物还原为无毒的脂醇, 抑制脂质过氧化反应的过度进行, 从而防止细胞发生铁死亡。GPX4 表达较高的区域, 神经元损伤程度相对较轻^[35]。这表明 GPX4 通过其抗氧化功能, 抑制了再灌注损伤中的氧化应激反应, 保护神经元免受氧化损伤。ACSL4 是长链脂酰辅酶 A 合成酶家族成员之一, 负责将长链脂肪酸活化为长链脂酰辅酶 A, 这一活化过程是脂肪酸进行后续代谢的起始步骤。在缺血再灌注损伤过程中, ACSL4 表达增加, 会促进含有 PUFAs 的磷脂合成, 而这些磷脂更容易受到活性氧的攻击, 从而增加脂质过氧化的敏感性。ACSL4 通过调节细胞膜上的脂质组成, 为铁死亡过程中的脂质过氧化提供了底物^[36]。由此说明, 脑心通胶囊可能通过调节 SLC7A11、GPX4、ACSL4 的转录和翻译层面表达水平发挥抑制脑缺血再灌注损伤中铁死亡的药理作用。

p53 是一种转录因子, 它可以结合到特定的 DNA 序列上, 调控众多下游基因的表达。当细胞受到 DNA 损伤时, p53 蛋白会被激活, 诱导细胞周期停滞在 G₁ 期。在脑缺血再灌注损伤过程中, 大量的

活性氧直接损伤细胞内的 DNA，从而激活 p53 蛋白^[37]。有研究表明 p53 可能与铁死亡相关基因存在相互作用。p53 可以直接结合到 SLC7A11 基因的启动子区域，抑制 SLC7A11 的转录表达。这种抑制作用能够维持细胞内适当的胱氨酸摄取水平，从而调控谷胱甘肽的合成以及细胞内的氧化还原状态^[38]。根据前期转录组学、蛋白质组学筛选结果^[39-40]及 p53 与铁死亡间的密切联系，本研究选择 p53 抑制剂探讨 p53 在脑心通胶囊抑制铁死亡中的关键作用。研究发现，抑制 p53 的活化有助于缓解 CIRI。pifithrin- α 是一种 p53 抑制剂，可逆性抑制 p53 依赖性应答基因的转录活性。已有研究显示，pifithrin- α 能够通过抑制 p53 核易位增加神经干细胞存活^[41]。本研究结果显示，p53 抑制剂能够改善 tMCAO 大鼠的神经功能损伤，降低脑梗死率，恢复线粒体功能，回调 CIRI 导致的铁超载和过氧化水平，与脑心通胶囊的药理作用相近，属协同增效关系。以上结果表明 p53 为 SCL7A11 的上游，抑制 p53 活化能够促进 SLC7A11 表达并减轻 CIRI，验证了脑心通胶囊是通过抑制 p53 从而调控 SLC7A11、GPX4、ACSL4 的表达，最后发挥抗 CIRI 中铁死亡的药理作用。

综上，本研究以中医经典理论为基础，开展了体内动物实验，选择脑梗死率、组织染色、线粒体形态、mRNA 和蛋白相对表达量等多种关键指标，说明脑心通胶囊通过抑制 p53 促进 SLC7A11、GPX4 的表达，抑制 ACSL4 的表达，发挥抗氧化、抗铁死亡的药理作用，进而减轻大鼠脑缺血再灌注损伤。然而，本研究仅为单模型、单时间点，研究层次还需拓展，同时，对 p53 的核易位与铁死亡关系、CIRI 中细胞谷胱甘肽和铁转运蛋白含量变化需要进一步开展深层次的药理机制实验验证。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Collaborators G 2 S. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990—2019: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20(10): 795-820.
- [2] 《中国脑卒中防治报告》编写组. 《中国脑卒中防治报告 2019》概要 [J]. *中国脑血管病杂志*, 2020, 17(5): 272-281.
- [3] Wollenweber F A, Tiedt S, Alegiani A, et al. Functional outcome following stroke thrombectomy in clinical practice [J]. *Stroke*, 2019, 50(9): 2500-2506.
- [4] Barthels D, Das H. Current advances in ischemic stroke research and therapies [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2020, 1866(4): 165260.
- [5] Zhang M, Liu Q, Meng H, et al. Ischemia-reperfusion injury: Molecular mechanisms and therapeutic targets [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2024, 9(1): 12.
- [6] Wang H L, Guo M, Wei H D, et al. Targeting p53 pathways: Mechanisms, structures, and advances in therapy [J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2023, 8(1): 92.
- [7] Chen W, Jiang L F, Hu Y Q, et al. Ferritin reduction is essential for cerebral ischemia-induced hippocampal neuronal death through p53/SLC7A11-mediated ferroptosis [J]. *Brain Res*, 2021, 1752: 147216.
- [8] 黄鹂丽. 脑心通胶囊联合阿司匹林治疗老年短暂性脑缺血发作眩晕患者的效果及对椎-基底动脉血流动力学、MMP-2、MMP-9 水平的影响 [J]. *临床医学研究与实践*, 2021, 6(5): 153-154.
- [9] 张金刚, 潘强强, 茅魁. 脑心通胶囊联合阿司匹林治疗急性心肌梗死的临床研究 [J]. *药物评价研究*, 2021, 44(8): 1737-1741.
- [10] Yu Y N, Tang L, Cui F Y, et al. Effect of Qizhitongluo Capsule on lower limb rehabilitation after stroke: A randomized clinical trial [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 165: 105464.
- [11] Li Y, Tan L, Yang C, et al. Distinctions between the Koizumi and Zea Longa methods for middle cerebral artery occlusion (MCAO) model: A systematic review and meta-analysis of rodent data [J]. *Sci Rep*, 2023, 13(1):10247.
- [12] Shang J F, Wen Y L, Zhang X L, et al. Naoxintong Capsule accelerates mitophagy in cerebral ischemia-reperfusion injury via TP53/PINK1/PRKN pathway based on network pharmacology analysis and experimental validation [J]. *J Ethnopharmacol*, 2025, 336: 118721.
- [13] Tan D, Wu J R, Liu S, et al. Injections of Ginkgo in the treatment of cerebral infarction: A systematic review and network Meta-analysis [J]. *J Tradit Chin Med*, 2018, 38(1): 1-11.
- [14] 单婷, 赵见文. 基于“血瘀-浊毒”论治缺血性脑卒中 [J]. *河南中医*, 2024, 44(12): 1818-1821.
- [15] 柳娇. 刘完素与王清任论治中风病学术思想的比较 [J]. *中国中医药现代远程教育*, 2021, 19(21): 144-146.
- [16] 谢丽荣. 基于“脑心同治”理论的脑心通方抗心肌缺血的蛋白表达研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2021.
- [17] Schlag M G, Harris K A, Potter R F. Role of leukocyte accumulation and oxygen radicals in ischemia-reperfusion-induced injury in skeletal muscle [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2001, 280(4): H1716-H1721.

- [18] Alim I, Caulfield J T, Chen Y X, *et al.* Selenium drives a transcriptional adaptive program to block ferroptosis and treat stroke [J]. *Cell*, 2019, 177(5): 1262-1279.
- [19] Doll S, Freitas F P, Shah R, *et al.* FSP1 is a glutathione-independent ferroptosis suppressor [J]. *Nature*, 2019, 575(7784): 693-698.
- [20] Loboda A, Damulewicz M, Pyza E, *et al.* Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: An evolutionarily conserved mechanism [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(17): 3221-3247.
- [21] Ganesana M, Jill Venton B. Spontaneous, transient adenosine release is not enhanced in the CA1 region of hippocampus during severe ischemia models [J]. *J Neurochem*, 2021, 159(5): 887-900.
- [22] 尚津锋, 焦家康, 路颖慧, 等. 脑心通胶囊“脑心同治”的免疫和炎症标志物研究 [J]. *中草药*, 2024, 55(6): 2013-2026.
- [23] 李倩楠, 尚津锋, 姜婷月, 等. 基于 Toll 样受体信号通路探讨脑心通胶囊“脑心同治”的作用机制 [J]. *中国中药杂志*, 2022, 47(15): 4110-4118.
- [24] Xiao L, Dai Z W, Tang W J, *et al.* Astragaloside IV alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury through NLRP3 inflammasome-mediated pyroptosis inhibition via activating Nrf2 [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2021, 2021: 9925561.
- [25] Wei R H, Song L J, Miao Z Y, *et al.* Hydroxysafflor yellow A exerts neuroprotective effects via HIF-1 α /BNIP3 pathway to activate neuronal autophagy after OGD/R [J]. *Cells*, 2022, 11(23): 3726.
- [26] Sun Y, Xu D P, Qin Z, *et al.* Protective cerebrovascular effects of hydroxysafflor yellow A (HSYA) on ischemic stroke [J]. *Eur J Pharmacol*, 2018, 818: 604-609.
- [27] Subedi L, Gaire B P. Tanshinone II_A: A phytochemical as a promising drug candidate for neurodegenerative diseases [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 169: 105661.
- [28] Wang X, Wang W M, Han H, *et al.* Tanshinone II_A protected against lipopolysaccharide-induced brain injury through the protective effect of the blood-brain barrier and the suppression of oxidant stress and inflammatory response [J]. *Food Funct*, 2022, 13(15): 8304-8312.
- [29] Koppula P, Zhuang L, Gan B Y. Cystine transporter SLC7A11/xCT in cancer: Ferroptosis, nutrient dependency, and cancer therapy [J]. *Protein Cell*, 2021, 12(8): 599-620.
- [30] 戚明珠, 王艳秋, 王栋, 等. 川芎嗪联合神经干细胞移植干预脑缺血再灌注大鼠的作用机制研究 [J]. *中国中药杂志*, 2024, 49(9): 2316-2325.
- [31] 戴璇, 袁震, 马彬, 等. 脑心通胶囊对缺血性脑卒中二级预防作用的 meta 分析 [J]. *中国医药导报*, 2024, 21(14): 65-69.
- [32] Liu H, Zhang T A, Zhang W Y, *et al.* Rhein attenuates cerebral ischemia-reperfusion injury via inhibition of ferroptosis through NRF2/SLC7A11/GPX4 pathway [J]. *Exp Neurol*, 2023, 369: 114541.
- [33] Yuan Y, Zhai Y Y, Chen J J, *et al.* Kaempferol ameliorates oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced neuronal ferroptosis by activating Nrf2/SLC7A11/GPX4 axis [J]. *Biomolecules*, 2021, 11(7): 923.
- [34] Liu Y, Wan Y C, Jiang Y, *et al.* GPX4: The hub of lipid oxidation, ferroptosis, disease and treatment [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2023, 1878(3): 188890.
- [35] Ursini F, Maiorino M. Lipid peroxidation and ferroptosis: The role of GSH and GPx4 [J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 152: 175-185.
- [36] Li Y, Feng D C, Wang Z Y, *et al.* Ischemia-induced ACSL4 activation contributes to ferroptosis-mediated tissue injury in intestinal ischemia/reperfusion [J]. *Cell Death Differ*, 2019, 26(11): 2284-2299.
- [37] Jiang L, Kon N, Li T Y, *et al.* Ferroptosis as a p53-mediated activity during tumour suppression [J]. *Nature*, 2015, 520(7545): 57-62.
- [38] Yang Y J, Ma Y, Li Q M, *et al.* STAT6 inhibits ferroptosis and alleviates acute lung injury via regulating P53/SLC7A11 pathway [J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(6): 530.
- [39] Liu X, Wang Q, Cui Y R, *et al.* Multiple protein and mRNA expression correlations in the rat cerebral cortex after ischemic injury and repair due to buchang Naoxintong Jiaonang (BNJ) intervention [J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 125: 109917.
- [40] Cui Y R, Liu X, Li X Y, *et al.* In-depth proteomic analysis of the hippocampus in a rat model after cerebral ischaemic injury and repair by Danhong Injection (DHI) [J]. *Int J Mol Sci*, 2017, 18(7): 1355.
- [41] Lei X H, Zhao D, Li Y L, *et al.* Pifithrin- α enhances the survival of transplanted neural stem cells in stroke rats by inhibiting p53 nuclear translocation [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2013, 19(2): 109-116.

[责任编辑 罗 曦]