

银杏内酯 B 配伍右莰醇对大鼠缺血性脑卒中的保护作用及机制

陈玲玲¹, 王妍鱈², 王同丽², 王倩静¹, 王欣², 李良^{1,2*}, 王振中^{1,2}, 肖伟^{1,2*}

1. 中药制药过程控制与智能制造技术全国重点实验室 (江苏康缘药业股份有限公司/南京中医药大学), 江苏 南京 210000
2. 江苏康缘药业股份有限公司, 江苏 连云港 222001

摘要: 目的 探究银杏内酯 B (ginkgolide B, GB) 配伍右莰醇 (borneol, BO) 对脑缺血再灌注损伤大鼠模型的保护作用及机制。方法 采用线栓法建立大鼠大脑中动脉栓塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 模型。将大鼠随机分为假手术组、模型组、银杏内酯 B (10 mg/kg) 组、右莰醇 (2.5 mg/kg) 组、银杏内酯 B+右莰醇 (8:1、4:1、2:1) 组, 拔出线栓后 10 min 内、24 h、48 h 各给药 1 次, 考察大鼠神经功能损伤评分、脑梗死面积、脑组织含水量、脑组织病理损伤程度、脑组织炎症因子、氧化应激及凋亡相关蛋白表达的变化。结果 与假手术组比较, 模型组脑梗死面积、神经功能评分及脑组织含水量显著升高 ($P<0.001$), 脑组织病理损伤严重; 银杏内酯 B、右莰醇、银杏内酯 B+右莰醇 (4:1) 组的大鼠神经功能损伤评分、脑梗死面积、脑组织含水量、神经元结构损伤和尼氏小体丢失现象均得到不同程度改善, 其中银杏内酯 B+右莰醇 (4:1) 组大鼠神经行为学评分和脑含水量明显减少 ($P<0.01$), 且银杏内酯 B、右莰醇单独使用组的作用效果弱于银杏内酯 B+右莰醇 (4:1) 组 ($P<0.05, 0.01$)。与假手术组比较, 模型组缺血半脑组织中丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量显著增加 ($P<0.001$), 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 活性均显著降低 ($P<0.05, 0.01$), 大鼠高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1 protein, HMGB1)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-1 β (interleukin-1beta, IL-1 β) 分泌水平显著升高 ($P<0.05, 0.001$), B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)/Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2-associated X protein, Bax) 的值、核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)、血红素加氧酶-1 (hemeoxygenase-1, HO-1) 均显著降低 ($P<0.05, 0.01$), 剪切型半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (cleaved cysteine aspartate protease-3, cleaved Caspase-3) 蛋白表达显著上调 ($P<0.01$); 银杏内酯 B+右莰醇 (4:1) 组大鼠脑组织中 MDA 含量显著降低 ($P<0.01$), SOD 和 GSH-Px 活性均显著升高 ($P<0.05, 0.01$), HMGB1、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 分泌水平显著降低 ($P<0.01, 0.001$), Bcl-2/Bax 的值、Nrf2、HO-1 均显著上调 ($P<0.05, 0.01$), cleaved Caspase-3 蛋白表达显著降低 ($P<0.001$), 且银杏内酯 B、右莰醇单独使用组作用弱于银杏内酯 B+右莰醇 (4:1) 组 ($P<0.05, 0.01, 0.001$)。结论 银杏内酯 B、右莰醇、银杏内酯 B+右莰醇 (4:1) 具有神经保护作用, 且银杏内酯 B+右莰醇 (4:1) 的抗脑梗死效应优于银杏内酯 B、右莰醇单独使用, 其作用机制可能是通过介导 Nrf2/HO-1 信号通路, 进而减轻氧化应激损伤、抑制炎症反应, 减少细胞凋亡从而发挥的神经保护作用。

关键词: 缺血性脑卒中; 银杏内酯 B; 右莰醇; 氧化应激; 炎症; 细胞凋亡

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2025)04-1277-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2025.04.016

Protective effect and mechanism of ginkgolide B combined with borneol on ischemic stroke in rats

CHEN Lingling¹, WANG Yanxue², WANG Tongli², WANG Qianjing¹, WANG Xin², LI Liang^{1,2}, WANG Zhenzhong^{1,2}, XIAO Wei^{1,2}

1. State Key Laboratory on Technologies for Chinese Medicine Pharmaceutical Process Control and Intelligent Manufacture (Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., & Nanjing University of Chinese Medicine), Nanjing 210000, China
2. Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co., Ltd., Lianyungang 222001, China

收稿日期: 2024-10-01

基金项目: 江苏省基础研究计划自然科学基金-前沿引领技术基础研究专项 (BK20232014)

作者简介: 陈玲玲, 硕士研究生, 研究方向为中药药剂学。E-mail: chenlinglingx00@163.com

*通信作者: 肖伟, 中国工程院院士, 教授, 博士生导师, 研究方向为中药新药研发及过程质量控制研究。E-mail: kanionlunwen@163.com

李良, 高级工程师, 研究方向为中药及天然药物药理毒理学。E-mail: liliang198761@126.com

Abstract: Objective To explore the protective effect and mechanism of ginkgolide B (GB) combined with borneol (BO) on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. **Methods** The model of middle cerebral artery occlusion (MCAO) in rats was established by thread embolism method. Rats were randomly divided into sham group, model group, ginkgolide B (10 mg/kg) group, borneol (2.5 mg/kg) group and ginkgolide B + borneol (8 : 1, 4 : 1, 2 : 1) group, and the drug was given once at 10 min, 24 h and 48 h after the thread plug was pulled out. The changes of neurological impairment score, cerebral infarction area, water content of brain tissue, pathological injury degree of brain tissue, inflammatory factors, oxidative stress and expression of apoptosis-related proteins in brain tissue were investigated. **Results** Compared with sham group, the area of cerebral infarction, neurological function score and water content of brain tissue in model group were significantly increased ($P < 0.001$), and the pathological damage of brain tissue was serious. The neurological impairment score, cerebral infarction area, brain tissue water content, neuronal structure damage and Nissl's corpuscle loss of rats in ginkgolide B, borneol and ginkgolide B + borneol (4 : 1) groups were improved to varying degrees, and the neurobehavioral score and brain water content of rats in the ginkgolide B + borneol (4 : 1) group were significantly reduced ($P < 0.01$), and the effect of ginkgolide B and borneol alone was weaker than that of ginkgolide B + borneol (4 : 1) ($P < 0.05, 0.01$). Compared with sham group, the content of Malondialdehyde (MDA) in the ischemic hemisphere tissue of the model group increased significantly ($P < 0.001$), the activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) decreased significantly ($P < 0.05, 0.01$), and the secretion levels of High mobility group box 1 protein (HMGB1), Tumor necrosis factor- α (TNF- α), Interleukin-6 (IL-6) and Interleukin-1beta (IL-1 β) increased significantly ($P < 0.05, 0.001$), and the ratio of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2)/Bcl-2-associated X protein (Bax), Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) and Hemeoxygenase-1 (HO-1) decreased significantly ($P < 0.05, 0.01$), and the expression of cleaved cysteine aspartate protease-3 (cleaved Caspase-3) increased significantly ($P < 0.01$). In ginkgolide B + borneol (4 : 1) group, the content of MDA in brain tissue decreased significantly ($P < 0.01$), the activities of SOD and GSH-Px increased significantly ($P < 0.05, 0.01$), and the secretion levels of HMGB1, TNF- α , IL-6 and IL-1 β decreased significantly ($P < 0.01, 0.001$). The ratio of Bcl-2/Bax, Nrf2 and HO-1 were all significantly increased ($P < 0.05, 0.01$), and the expression of cleaved Caspase-3 was significantly decreased ($P < 0.001$). Moreover, the effect of ginkgolide B and borneol alone was weaker than that of ginkgolide B + borneol (4 : 1) ($P < 0.05, 0.01, 0.001$). **Conclusion** ginkgolide B, borneol and ginkgolide B + borneol (4 : 1) have neuroprotective effects, and the anti-cerebral infarction effect of ginkgolide B + borneol (4 : 1) is better than that of ginkgolide B and borneol alone, and its mechanism may be that it plays a neuroprotective role by mediating Nrf2/HO-1 signaling pathway, thus alleviating oxidative stress injury, inhibiting inflammatory reaction and reducing cell apoptosis.

Key words: ischemic stroke; ginkgolide B; borneol; oxidative stress; inflammation; apoptosis

缺血性脑卒中是指脑部血管狭窄或阻塞导致脑组织供血不畅, 缺血、缺氧造成部分脑组织变性坏死、神经功能损伤的一类脑血管疾病。这类疾病将导致患者语言、行动、感觉、认知等功能受损, 大大降低患者生活质量, 加重家庭负担^[1]。重组组织型纤溶酶原激活剂 (tissue-type plasminogen activator, t-PA) 是治疗缺血性脑卒中最常用溶栓药物之一, 但由于其治疗时间窗狭窄且伴随出血风险限制了临床使用^[2-3]。恢复血流供应是缺血性脑卒中的主要治疗目标, 但血液涌入缺血组织会引起能量代谢紊乱、兴奋性氨基酸毒性、氧化应激、神经炎症、神经元凋亡和坏死、神经胶质细胞活化等多个生物化学过程, 这些病理生理反应有一定程度的关联性, 相互影响, 形成恶性循环, 不断加重缺血性卒中患者神经元损伤^[4]。因此, 如何在恢复血流再灌注时期提供神经保护对治疗缺血性脑卒中有着重要意义。

氧化应激、炎症和细胞凋亡是缺血性脑卒中发

生后的关键过程, 且三者存在密不可分的联系。缺血组织恢复血流供应时, 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 异常增多, 超出机体抗氧化系统清除自由基能力而引发氧化应激。氧化应激不仅可直接引起细胞膜脂质过氧化、蛋白质和脱氧核糖核酸的氧化损伤, 诱导细胞损伤^[5], 还可通过激活细胞凋亡相关信号通路来诱导细胞凋亡^[6]。此外, 过量堆积的 ROS 可引起异常炎症反应, 加重脑损伤^[7]。因此, 减轻氧化应激、抑制炎症反应、减少神经细胞凋亡对缺血性脑卒中具有神经保护作用。

核因子 E2 相关因子 2 (nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2) / 血红素加氧酶-1 (hemeoxygenase-1, HO-1) 途径是细胞内重要的抗氧化防御系统, 能够调节众多细胞内源性抗氧化酶表达, 在保护神经元免受氧化应激损伤方面具有关键性作用^[8]。不仅如此, 活化的 Nrf2 还具有减轻炎症反应、抑制神经元凋亡的能力, 从而保护缺糖缺氧诱导的细胞损伤^[9]。早期研究表明, 当组织缺糖、

缺氧时, Nrf2/HO-1 通路在脑缺血再灌注早期就被激活, 启动细胞抑制氧化应激, 发挥抗凋亡、抗炎、抗氧化等作用, 从而减轻脑缺血再灌注损伤^[10]。

近年来, 中药单体通过干预多种机制来促进缺血性卒中后神经功能的恢复而受到广泛关注^[11]。银杏内酯 B 是从银杏叶中提取到的二萜内酯类化合物, 具有抗炎、抗氧化和防治中枢神经系统疾病等作用^[12], 对缺血性脑卒中有良好的治疗效果^[13]。右莰醇又称右旋龙脑、天然冰片, 是一种双环单萜类化合物, 其具有抗炎、抗氧化、抗细胞凋亡和保护血脑屏障等作用^[14-15], 常作为佐使药与其他药物配伍使用协同改善脑缺血再灌注损伤^[16-17]。目前, 尚未有关于右莰醇与银杏内酯 B 配伍使用的报道。本研究通过采用大脑中动脉闭塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 手术建立大鼠脑缺血再灌注损伤模型, 探究银杏内酯 B 与右莰醇在不同配伍比例下对脑损伤的保护作用及作用机制, 为相关急性脑卒中药物开发奠定基础。

1 材料

1.1 动物

SPF 级雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠, 体质量 210~230 g, 购自斯贝福 (苏州) 生物技术有限公司, 许可证号 SCXK (苏) 2022-0006, 饲养于江苏康缘药业股份有限公司动物房屏障环境内, 自由摄食与饮水, 适应性饲养 1 周。本研究动物实验经江苏康缘药业股份有限公司动物伦理委员会批准 (批准号 2023120502、2024040901、2024050209、2024051511)。

1.2 药品与试剂

银杏内酯 B (质量分数 98.5%, 批号 201101), 由江苏康缘药业股份有限公司提供; 右莰醇 (质量分数 97%, 批号 STBK1979)、2,3,5-三苯基氯化四氮唑 (2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC) (质量分数 ≥98.0%, 批号 BCCJ8277) 购自美国 Sigma 公司; 增强型 BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (批号 060723231122)、RIPA 裂解液 (批号 122123240117)、磷酸酶抑制剂混合物 C (批号 0202123240529)、PMSF Solution (批号 040924240517) 购自上海碧云天生物技术有限公司; 脱脂奶粉 (批号 K207BA0001)、即用型 PBS 片剂 (批号 J423KA9180)、大鼠高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1 protein, HMGB1) ELISA 试剂盒 (批号 K429AD0355)、丙二醛 (malondialdehyde,

MDA) 含量检测试剂盒微量法 (批号 K510AA2017)、超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 活性检测试剂盒微量法 (批号 K510AA2012) 购自生工生物工程 (上海) 股份有限公司; 谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 活性检测试剂盒 (批号 2404004) 购自北京索莱宝科技有限公司; 甲醇 (批号 20230804) 购自国药集团化学试剂有限公司; 4%多聚甲醛通用型组织固定液 (批号 24018549) 购自 Biosharp 公司; 0.9%氯化钠注射液 (批号 B23111406) 购自科伦药业; 大鼠白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) ELISA 试剂盒 (批号 377532-004)、大鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) ELISA 试剂盒 (批号 348779-002)、大鼠白细胞介素-1 β (interleukin-1 beta, IL-1 β) ELISA 试剂盒 (批号 400618-001)、Super Signal™ West Atto 超敏底物 (批号 YJ381496) 购自美国 Thermo Fisher Scientific 公司; B 淋巴细胞瘤-2 基因 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2) 抗体 (批号 1062021-1)、HO-1 抗体 (批号 1002474-9) 购自美国 Abcam 公司; Nrf2 抗体 (批号 YD3883204) 购自美国 Invitrogen 公司; 剪切型半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (cleaved cysteine aspartate protease-3, cleaved Caspase-3, 批号 47)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2-associated X protein, Bax, 批号 2)、HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体 (批号 31) 购自美国 CST 公司; 蛋白染色 marker (批号 64601809) 购自美国 BIO-RAD 公司; 舒泰 50 (批号 9AB4A) 购自法国 Virbac 公司; 盐酸赛拉嗪 (批号 20230410) 购自长沙拜特生物科技研究所; MCAO 栓线-0.36 mm 系列 (批号 A5-263650)、MCAO 栓线-0.38 mm 系列 (批号 A5-283850) 购自北京西浓科技有限公司。

1.3 仪器

Centrifuge 5425 R 型冷冻型离心机 (德国 Eppendorf 公司); Tissue lyser-24 型全自动样本快速研磨仪 (上海净信实业发展有限公司); ME104E 型电子天平 [梅特勒-托利多仪器 (上海) 有限公司]; Universal Hood II 型凝胶成像发光系统、Power Pac™ HC 型电泳仪、Trans-blot SD 型半干转印仪 (美国 BIO-RAD 公司); TS-200 型 Orbital Shaker (海门市其林贝尔仪器制造有限公司); Flex Station 3 钙流工作站 [美谷分子仪器 (上海) 有限公司]; DHG-9076A 型电热恒温鼓风干燥箱 (上海精宏实验设备有限公司)。

2 方法

2.1 MCAO 大鼠模型的建立

采用 0.2 mL/100 g 的舒泰和盐酸赛拉嗪联合麻醉大鼠，剃除颈部毛发，碘伏消毒，沿颈部正中中线用剪刀剪开皮肤，长度约 2 cm。用镊子沿大鼠左侧颈旁钝性分离肌肉组织和神经，暴露出左侧颈总动脉、颈外动脉、颈内动脉；结扎颈总动脉近心端，暂时夹闭颈内动脉和颈外动脉，将线栓从左侧颈总动脉插入，再缓慢轻轻推入颈内动脉直至大脑中动脉，稍有阻力立即停止进入，并记录时间。缺血 2 h 后缓慢地拔出线栓实现大脑中动脉再灌注^[17]。假手术组大鼠除不插入线栓外，其余操作同上。

2.2 动物分组及给药

课题组考察了银杏内酯 B+右苈醇不同配伍比例（8:1、4:1、2:1）抗脑损伤作用，研究结果表明，银杏内酯 B+右苈醇（4:1）抗脑损伤作用最佳，因此选择银杏内酯 B+右苈醇（4:1）进行后续药效试验。将动物随机分为假手术组、模型组、银杏内酯 B 组（10 mg/kg）、右苈醇组（2.5 mg/kg）和银杏内酯 B（10 mg/kg）+右苈醇（2.5 mg/kg）组，每组 8 只。所有动物均缺血 2 h 后拔出线栓，立即 ip 相应药物（5 mL/kg），假手术组和模型组给予等体积由 5%二甲基亚砷、25%聚乙二醇 400 及 70%的 30%羟丙基-β-环糊精组成的混合溶液，末次给药 24 h 后进行后续试验。

2.3 TTC 检测脑梗死面积

末次给药 24 h 后，安乐死动物快速取脑，去除嗅球、下丘脑、小脑和脑干，将脑置于-20 °C 冰箱内冷冻至脑组织变硬后取出，将大脑切成 2 mm 厚的切片，总共 6 片，分别放置于装有 2% TTC 溶液（PBS 配制）的 6 孔板格中，然后置于 37 °C 恒温箱中避光温孵 30 min，取出晾干后拍照。采用 Image-J 软件分析脑梗死面积，计算脑梗死率和缓解率。

脑梗死率=缺血侧梗死面积之和/全脑面积

缓解率=(模型组脑梗死率-各给药组脑梗死率)/模型组脑梗死率

2.4 神经功能学评分

末次给药 24 h 后，采用 Longa 法^[18]对所有大鼠进行神经功能评分：0 分，无神经功能缺损；1 分：偏瘫侧前肢屈曲；2 分，行走时向偏瘫侧自主转圈；3 分，行走时向偏瘫侧跌倒；4 分，无自主意识活动。

2.5 脑组织含水量测定

末次给药 24 h 后，安乐死动物快速取脑，去除

嗅球、下丘脑、小脑和脑干，生理盐水冲洗脑部表面血液并用滤纸吸干残余液体，镊子分离左右半脑，取左侧缺血半脑组织立即称定质量，即为湿质量。将脑组织放入 110 °C 烘箱内烘烤 24 h，再次称定脑组织质量，即为干质量。

脑组织含水量=(湿质量-干质量)/湿质量

2.6 脑组织病理形态检测

末次给药 24 h 后，安乐死动物快速取脑，去除嗅球、下丘脑、小脑和脑干，生理盐水冲洗脑部表面血液并用滤纸吸干残余液体。放入 4%多聚甲醛中固定，经不同梯度浓度的乙醇脱水，二甲苯清洗，石蜡包埋，切片，苏木精-伊红染色和尼氏染色，封片，于光学显微镜下观察脑组织病理形态变化。

2.7 脑组织中 MDA、SOD、GSH-Px 的检测

称取缺血半脑组织，加入适量预先加入磷酸酶抑制剂和蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液进行组织匀浆。匀浆液于冰上静置 30 min，每隔 10 min 涡旋 1 次，使组织充分裂解。4 °C、12 000 r/min 离心 15 min，吸取上清液至新的 EP 管内。按照试剂盒说明书操作要求检测缺血半脑组织中 MDA、SOD、GSH-Px 活性。

2.8 脑组织中 HMGB1、TNF-α、IL-6、IL-1β 的检测

称取缺血半脑组织，转移至预冷的 EP 管内，按照 1 g 组织加入 9 mL 的预先加入蛋白酶抑制剂的 PBS 缓冲液，进行组织匀浆。吸取匀浆液于新的 EP 管中，4 °C、5 000 r/min 离心 10 min，再次取上清液至新的 EP 管内。按照试剂盒说明书操作要求检测缺血半脑组织中 HMGB1、TNF-α、IL-6、IL-1β 水平。

2.9 脑组织中 Bcl-2、Bax、cleaved Caspase-3、Nrf2、HO-1 的检测

称取缺血半脑组织，加入适量预先加入磷酸酶抑制剂和蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液进行组织匀浆。匀浆液于冰上静置 30 min，每隔 10 min 涡旋 1 次，使组织充分裂解。4 °C、12 000 r/min 离心 15 min，吸取上清液至新的 EP 管内，BCA 法检测蛋白总浓度。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，5%脱脂牛奶摇床上封闭 2 h，分别加入一抗 β-actin（1:1 000）、Bcl-2（1:800）、Bax（1:800）、cleaved Caspase-3（1:500）、Nrf2（1:500）及 HO-1（1:1 000），4 °C 孵育过夜，TBST 洗涤 3 次，每次 10 min，加入二抗（1:10 000）室温孵育 2 h，TBST 洗涤 3 次，每次 10 min。加入显

影液,于凝胶成像系统显影并拍照,使用 Image-J 软件分析并统计条带灰度值。

2.10 统计学分析

实验数据均用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 GraphPad Prism 9.0.0 软件进行统计分析,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 *t* 检验分析。

3 结果

3.1 对大鼠脑梗死面积的影响

如图 1 和表 1 所示,与假手术组比较,模型组大鼠脑梗死面积显著增加 ($P < 0.001$),脑梗死率为 $(26.09 \pm 1.86)\%$;与模型组比较,银杏内酯 B+右莰醇不同配伍比例 (8:1、4:1、2:1) 组大鼠脑梗死面积均显著降低 ($P < 0.001$),脑梗死率分别为 $(19.13 \pm 1.32)\%$ 、 $(16.78 \pm 1.26)\%$ 、 $(18.12 \pm 0.99)\%$,梗死缓解率分别为 26.68%、35.66%、30.53%。脑梗死面积的大小反映了急性脑损伤的程度,是评估药物发挥神经保护作用的重要指标^[19]。与

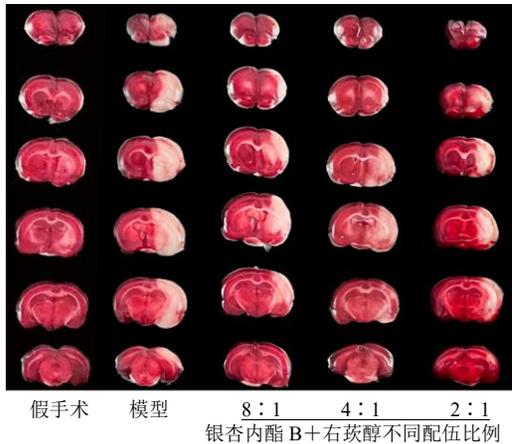


图 1 对大鼠脑梗死面积的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Fig. 1 Effect on cerebral infarction area in rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

表 1 对大鼠脑梗死面积的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect on cerebral infarction in rats ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/ ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	脑梗死率/%	缓解率/%
假手术	—	—	—
模型	—	$26.09 \pm 1.86^{***}$	—
银杏内酯 B+	10+1.25	$19.13 \pm 1.32^{###\Delta\Delta}$	26.68 ^{&}
右莰醇	10+2.50	$16.78 \pm 1.26^{###}$	35.66
	10+5.00	$18.12 \pm 0.99^{###\Delta}$	30.53 ^{&}

与假手术组比较: $^{***}P < 0.001$; 与模型组比较: $^{###}P < 0.001$; 与银杏内酯 B+右莰醇 (4:1) 组比较: $^{\Delta}P < 0.05$ $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ 。

$^{***}P < 0.001$ vs sham group; $^{###}P < 0.001$ vs model group; $^{\Delta}P < 0.05$ $^{\Delta\Delta}P < 0.01$ vs ginkgolide B + borneol (4:1) group.

银杏内酯 B+右莰醇 (4:1) 组比较,银杏内酯 B+右莰醇 (8:1) 和 (2:1) 组大鼠脑梗死面积显著增加 ($P < 0.05, 0.01$),梗死缓解率明显降低 ($P < 0.05, 0.01$),因此,选择银杏内酯 B+右莰醇 (4:1) 进行后续研究。

3.2 对大鼠神经功能评分和脑组织含水量的影响

如图 2 所示,与假手术组比较,模型组大鼠神经功能损伤评分和脑组织含水量显著升高 ($P < 0.001$),给药干预后神经功能损伤评分和脑组织含水量有所降低;与模型组比较,银杏内酯 B+右莰醇组大鼠神经功能评分和脑组织含水量显著降低 ($P < 0.01$),与银杏内酯 B+右莰醇组比较,银杏内酯 B 和右莰醇组神经功能评分和脑组织含水量明显增加 ($P < 0.05, 0.01$)。

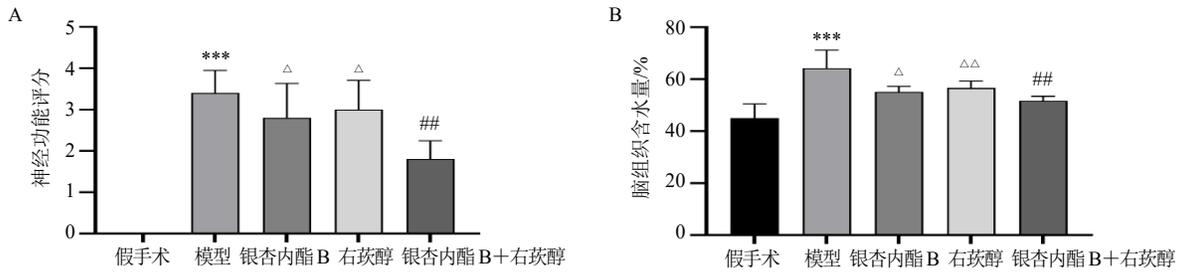
3.3 对大鼠脑组织病理形态的影响

3.3.1 苏木精-伊红染色结果 如图 3 所示,假手术组大鼠大脑皮质部细胞层次清晰,神经细胞大小较一致,核染色均匀,多数大鼠各部位未见明显病变。与假手术组比较,模型组大鼠大脑皮质部局部神经细胞体轻微或轻度皱缩,胞浆淡染,白质疏松,明显处似水泡样结构;给药干预后,大鼠大脑皮质部神经细胞病变程度减轻,与模型组比较神经元损伤得到改善,其中银杏内酯 B+右莰醇组改善组织病理损伤更为明显。

3.3.2 尼氏染色结果 如图 4 所示,假手术组大鼠大脑皮质部神经细胞排列整齐,大小较一致,尼氏体丰富,细胞质蓝染,核染色均匀,可见核仁;模型组大鼠大脑皮质部神经细胞细胞变小、形态不完整,局部神经细胞数目减少,胞浆蓝染变淡,尼氏小体减少;给药干预后神经细胞排列稍整齐,尼氏小体丢失减少,细胞质蓝染颜色变深,其中银杏内酯 B+右莰醇改善尼氏小体丢失减少更为明显。

3.4 对大鼠脑组织中 MDA、SOD、GSH-Px 的影响

如图 5 所示,与假手术组比较,模型组大鼠缺血半脑组织 MDA 水平显著升高 ($P < 0.001$),SOD 和 GSH-Px 含量显著降低 ($P < 0.05, 0.01$);与模型组比较,各给药组大鼠缺血半脑组织 MDA 水平均显著降低 ($P < 0.01$),银杏内酯 B+右莰醇组大鼠缺血半脑组织 SOD 含量显著增加 ($P < 0.01$),银杏内酯 B 组和银杏内酯 B+右莰醇组大鼠缺血半脑组织 GSH-Px 含量显著增加 ($P < 0.05$);与银杏内酯 B+右莰醇组比较,银杏内酯 B 组和右莰醇组 MDA 含量显著增加 ($P < 0.05, 0.01$),SOD 和 GSH-Px 活



与假手术组比较: * $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$; 与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$; 与银杏内酯 B+右莰醇组比较: △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$ △△△ $P < 0.001$; 下图同。
* $P < 0.05$ ** $P < 0.01$ *** $P < 0.001$ vs sham group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ ### $P < 0.001$ vs model group; △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$ △△△ $P < 0.001$ vs ginkgolide B + borneol group; same as below figures.

图 2 对大鼠神经功能评分 (A) 和脑组织含水量 (B) 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

Fig. 2 Effect on neurological function score (A) and brain water content (B) in rats ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

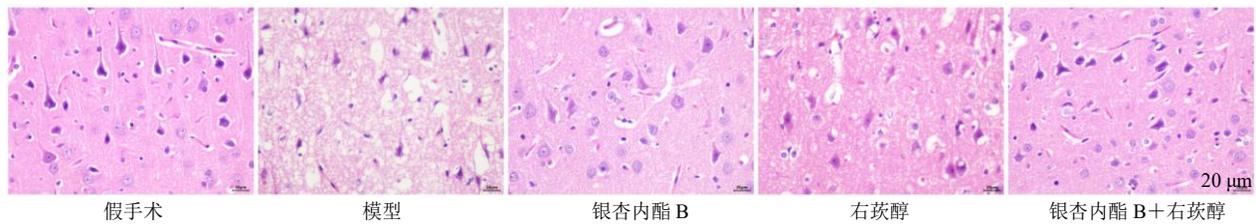


图 3 对大鼠缺血皮质神经细胞的影响 (HE, ×400)

Fig. 3 Effect on ischemic cortical neurons in rats (HE, × 400)

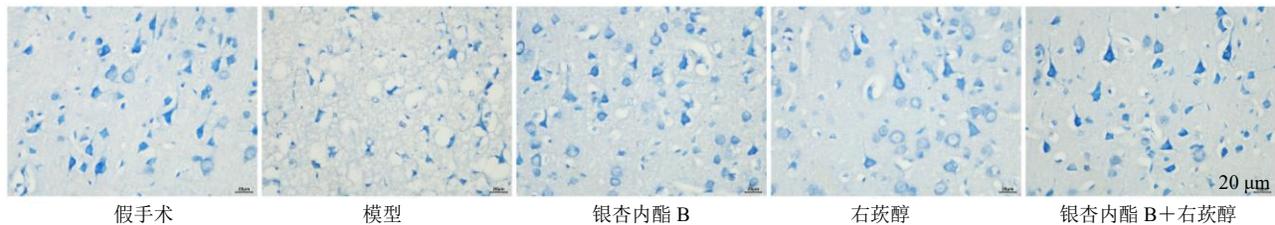


图 4 对大鼠缺血皮质尼氏小体的影响 (×400)

Fig. 4 Effect on Nissl bodies in ischemic cortex of rats (× 400)

性显著降低 ($P < 0.05$)。

3.5 对大鼠脑组织中 HMGB1、TNF- α 、IL-6、IL-1 β 的影响

如图 6 所示,与假手术组比较,模型组大鼠缺血半脑组织炎症因子 HMGB1、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 显著升高 ($P < 0.05, 0.001$);与模型组比较,各给药组大鼠缺血半脑组织 HMGB1、TNF- α 和 IL-6 分泌水平均显著降低 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$),银杏内酯 B 组和银杏内酯 B+右莰醇组大鼠缺血半脑组织 IL-1 β 分泌水平显著降低 ($P < 0.001$);与银杏内酯 B+右莰醇组比较,银杏内酯 B 组和右莰醇组 HMGB1、TNF- α 和 IL-1 β 含量显著升高 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$);银杏内酯 B 组 IL-6 显著增加 ($P < 0.01$)。

3.6 对大鼠脑组织中 Bcl-2、Bax、cleaved Caspase-3 的影响

如图 7 所示,与假手术组比较,模型组大鼠缺血半脑组织 cleaved Caspase-3 蛋白表达水平显著上调 ($P < 0.01$),Bcl-2/Bax 值显著降低 ($P < 0.05$);与模型组比较,各给药组大鼠缺血半脑组织凋亡蛋白 cleaved Caspase-3 表达均明显降低 ($P < 0.05, 0.01, 0.001$),Bcl-2/Bax 值显著升高 ($P < 0.05, 0.01$);与银杏内酯 B+右莰醇组比较,银杏内酯 B 组和右莰醇组 cleaved Caspase-3 蛋白表达升高 ($P < 0.05, 0.001$),Bcl-2/Bax 比值降低 ($P < 0.05$)。

3.7 对 Nrf2/HO-1 信号通路蛋白表达的影响

如图 8 所示,与假手术组比较,模型组大鼠缺血

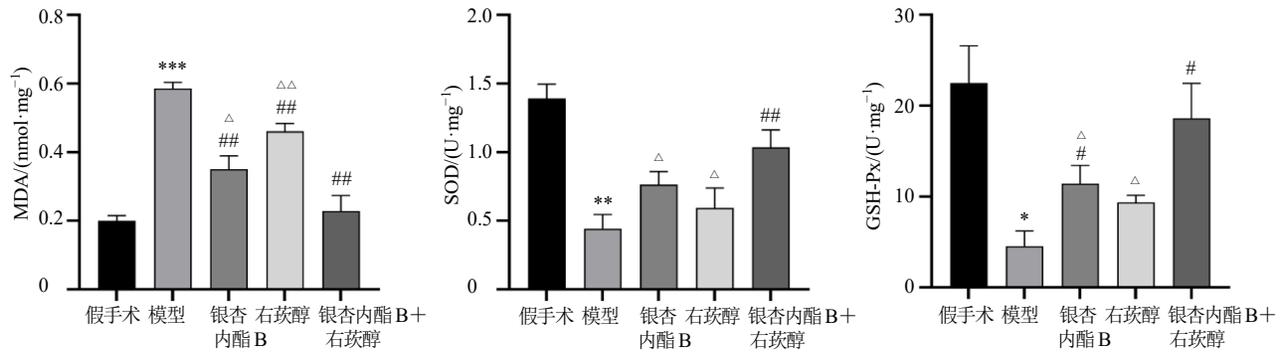


图5 对大鼠脑组织中MDA、SOD、GSH-Px的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Effect on MDA, SOD and GSH-Px in rat brain ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

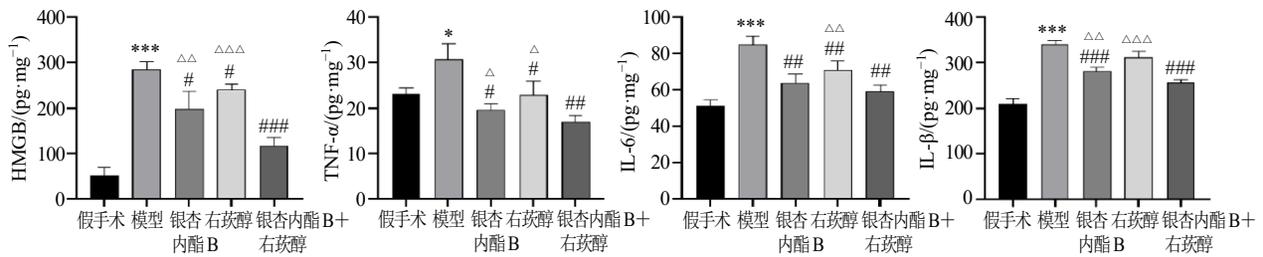


图6 对大鼠脑组织中HMGB1、TNF-α、IL-6、IL-1β的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

Fig. 6 Effect on HMGB1, TNF-α, IL-6 and IL-1β in rat brain ($\bar{x} \pm s, n = 4$)

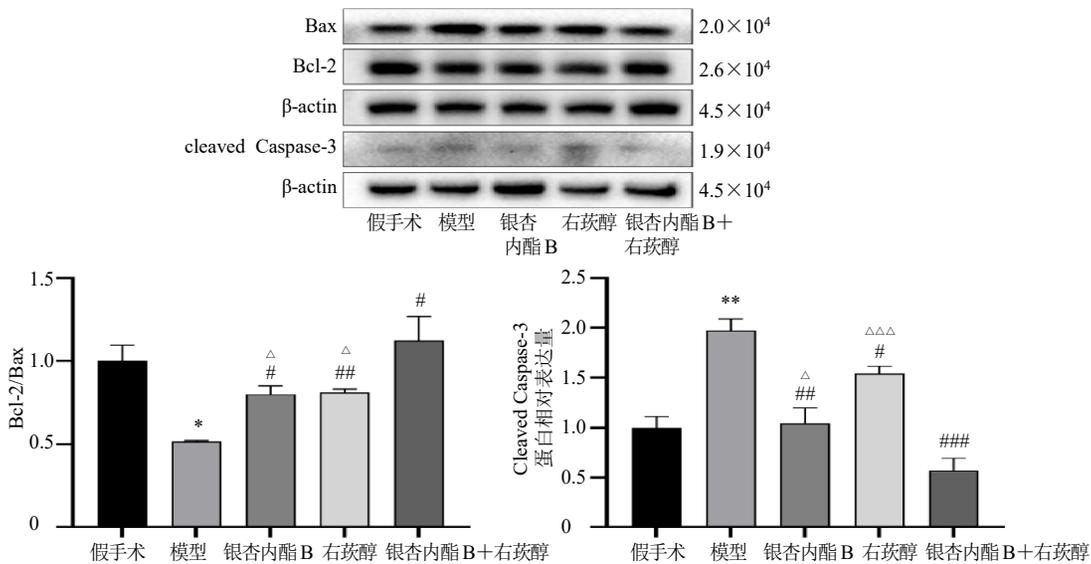


图7 对大鼠脑组织中Bcl-2、Bax、cleaved Caspase-3的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 7 Effect on Bcl-2, Bax and cleaved Caspase-3 in rat brain ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

血半脑组织 Nrf2、HO-1 蛋白表达均显著降低 ($P < 0.05$ 、 0.01)；与模型组比较，各给药组大鼠缺血半脑组织 Nrf2、HO-1 蛋白表达水平均显著上调 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)；与银杏内酯 B 组比较，

银杏内酯 B 组和右苈醇组 Nrf2、HO-1 蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$ 、 0.01 、 0.001)。

4 讨论

脑卒中是全球范围内导致死亡和残疾的第 3

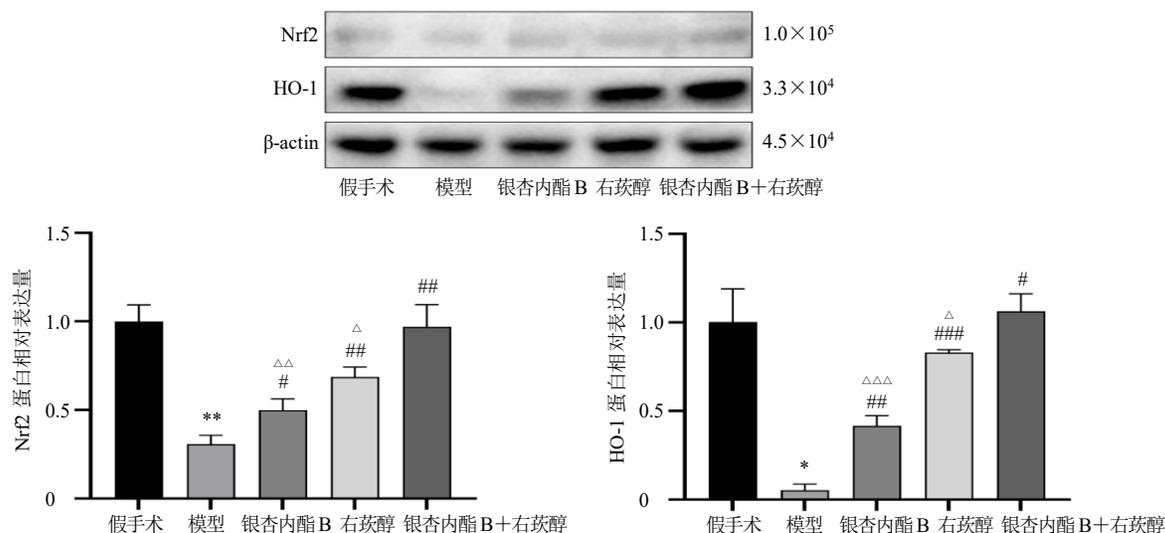


图 8 对 Nrf2/HO-1 信号通路蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 8 Effect on expression of Nrf2/HO-1 signaling pathway protein ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

大原因，也是我国成人致死、致残的首要病因。缺血性脑卒中是我国最常见的卒中类型，约占所有脑卒中病例的 87%，且我国缺血性脑卒中发病率和患病率仍呈现不断上升趋势^[20]，给患者家庭和社会带来沉重的经济负担。本研究结果显示，经药物干预治疗后，大鼠脑梗死面积显著减少，提示不同配伍比例银杏内酯 B+右蒺藜醇具有良好的抗脑梗死效应，以银杏内酯 B+右蒺藜醇的配伍比例为 4：1 时效果最为显著。脑缺血后，血液供应不足的细胞受损，恢复血液供应后进一步加重细胞损伤，导致神经功能缺损^[21]，同时缺血后产生的活性氧会直接损伤血脑屏障的内皮细胞，增加血脑屏障通透性，导致蛋白和其他大分子物质进入细胞外间隙，从而导致细胞外液容量增加，发生水肿^[22]，加重神经细胞损伤。本研究结果显示，模型组大鼠神经功能缺损评分、脑组织含水量显著增加，神经细胞损伤严重，尼氏小体丢失；给药干预后能不同程度降低大鼠神经功能缺损评分和脑组织含水量，改善神经细胞损伤和尼氏小体丢失等现象，且银杏内酯 B+右蒺藜醇作用优于银杏内酯 B、右蒺藜醇单独使用，表明银杏内酯 B 与右蒺藜醇配伍能增强抗脑损伤作用。

氧化应激在缺血性脑卒中的病理过程中起着重要作用。MDA 是脂质过氧化物产物，其含量可以直接反应氧化损伤程度^[23]。SOD 和 GSH-Px 作为抗氧化酶，能够清除细胞内自由基，减轻氧化损伤，在机体氧化与抗氧化系统平衡中起重要作用^[24-25]。

本研究结果显示，模型组大鼠缺血半脑组织 MDA 含量显著增加，抗氧化因子 SOD 和 GSH-Px 活性显著降低；银杏内酯 B+右蒺藜醇能显著降低大鼠缺血半脑组织 MDA 含量，增强抗氧化酶 SOD 和 GSH-Px 活性，且比银杏内酯 B、右蒺藜醇单独使用的效果更为优异，表明银杏内酯 B 与右蒺藜醇配伍可减轻脑缺血再灌注损伤大鼠的氧化应激损伤，增强神经保护作用。

炎症反应是缺血性脑卒中的重要病理损伤机制。TNF- α 、IL-6、IL-1 β 是炎症反应中常见的炎症因子。TNF- α 是调节细胞增殖、细胞死亡、免疫和代谢的多效性分子，是脑卒中后神经炎症的重要细胞因子^[26]。IL-6 是一种具有多效性的细胞因子，是卒中后炎症的标志物，能激活 Janus 激酶-信号转导及转录激活因子信号通路促进神经炎症并破坏血脑屏障完整性^[27]。IL-1 β 在缺血性脑卒中中发挥重要作用，其能刺激小胶质细胞活化，释放炎症介质，加重炎症反应，激活凋亡途径促进细胞凋亡，导致继发性脑损伤^[28]。HMGB1 是一种高度保守的核蛋白，主要存在于细胞核和细胞质。脑部血流供应受阻时，细胞因氧糖缺乏而发生坏死、变性，损伤的神经元细胞主动分泌 HMGB1 至细胞外间隙，HMGB1 随后与受体 Toll 样受体 4(Toll-like receptor, TLR4) 结合，激活下游核因子 κ B(nuclear factor κ B, NF- κ B) 信号通路，促进炎症细胞分泌 TNF- α 、IL-6、IL-1 β ，诱导一系列炎症级联反应的发生^[29-30]。

有研究表明,缺血性卒中患者血浆中 HMGB1 的表达水平随脑缺血时间的延长而逐渐上升,因此 HMGB1 可作为缺血性卒中良好预后的检测指标^[31]。本研究表明,模型组大鼠缺血半脑组织 HMGB1、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 分泌水平显著增加,表明缺血再灌注可加剧炎症反应;银杏内酯 B+右蒺藜醇能明显抑制大鼠缺血半脑组织 HMGB1、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 表达,且作用优于银杏内酯 B、右蒺藜醇单独使用,表明银杏内酯 B 与右蒺藜醇配伍进一步抑制脑缺血再灌注损伤诱导炎症反应,增强神经保护作用。

细胞凋亡与脑缺血再灌注损伤有着密切关系。脑缺血损伤持续时间较短时,缺血中心区周围神经细胞多处于凋亡状态。细胞凋亡途径包括死亡受体介导的外源性途径和线粒体介导的内源性途径^[32]。半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3 (cysteine aspartate protease-3, Caspase-3) 在线粒体介导的内源性凋亡途径中起着不可替代的作用。脑缺血再灌注发生时,线粒体释放细胞色素 C 至细胞浆中,细胞色素 C 进一步激活半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶, Caspase-3 作为效应性蛋白酶在多种蛋白水解酶作用下活化为 cleaved Caspase-3, 继续启动凋亡级联反应^[33-34]。Bcl-2 蛋白家族中抗凋亡蛋白 Bcl-2 和促凋亡蛋白 Bax 是调节细胞凋亡的关键要素。卒中发生时,神经元内促凋亡蛋白 Bax 显著增多,引起线粒体外膜渗透性,随后释放细胞色素 C 到胞质中,激活 Caspase 依赖性凋亡途径,而抗凋亡蛋白 Bcl-2 减少,抑制细胞凋亡能力减弱,最终导致神经元死亡^[6]。本研究表明,模型组大鼠缺血半脑组织 Bcl-2/Bax 值明显降低,cleaved Caspase-3 蛋白表达水平显著增加,表明缺血后恢复血流供应可降低 Bcl-2/Bax 值,促使凋亡蛋白 cleaved Caspase-3 表达;银杏内酯 B+右蒺藜醇能显著提高大鼠缺血半脑组织 Bcl-2/Bax 比值,降低 cleaved Caspase-3 蛋白表达量,且作用效果优于银杏内酯 B、右蒺藜醇单独使用,表明银杏内酯 B 与右蒺藜醇配伍可减少神经细胞凋亡,增强神经保护作用。

Nrf2 是体内关键的抗氧化转录因子,正常情况下,其与 Kelch 样环氧丙烷相关蛋白 1 (Kelch-like ECH-associated protein1, Keap1) 相结合成复合物稳定存在于细胞质中。当细胞受到氧化应激刺激时, Nrf2 迅速与 Keap1 解离,并转移至细胞核内与抗氧化反应元件 (antioxidant response element, ARE) 结合,激活下游抗氧化蛋白酶的表达^[35]。此

外,有研究发现 Nrf2 的激活会增加抗凋亡蛋白 Bcl-2 水平,抑制促凋亡蛋白 Bax 水平,促进小胶质细胞向 M2 型极化,达到减弱神经炎症和细胞凋亡的目的^[36]。HO-1 是 Nrf2 下游信号蛋白,也是一种细胞内源性保护酶,具有清除自由基,发挥抗氧化、抗炎和抗细胞凋亡等作用^[37-38]。研究发现,脑缺血再灌注 72 h 后,缺血梗死区域总 Nrf2 蛋白表达水平显著降低^[39]。本研究表明,模型组大鼠缺血半脑组织 Nrf2、HO-1 蛋白表达量明显降低;银杏内酯 B+右蒺藜醇能显著提高大鼠缺血半脑组织 Nrf2、HO-1 蛋白表达量,且作用效果强于银杏内酯 B、右蒺藜醇单独使用,表明银杏内酯 B 与右蒺藜醇配伍发挥神经保护作用机制可能与其通过介导 Nrf2/HO-1 信号通路,从而减轻氧化应激、抑制炎症、减少细胞凋亡,增强抗脑损伤作用。

综上,银杏内酯 B 配伍右蒺藜醇对大鼠急性缺血性脑卒中具有保护作用,其最佳配伍比例为 4:1。本研究表明,银杏内酯 B+右蒺藜醇 (4:1) 的抗脑梗死效应优于银杏内酯 B、右蒺藜醇单独使用,其作用机制可能是通过介导 Nrf2/HO-1 信号通路,进而减轻氧化应激损伤、抑制炎症反应,减少细胞凋亡从而发挥的神经保护作用。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 段懿函,田志禾,陈玉兰. 卒中患者症状群的研究进展 [J]. 中国老年保健医学, 2024, 22(4): 119-122.
- [2] Khatri P. Intravenous thrombolysis before thrombectomy for acute ischaemic stroke [J]. *Lancet*, 2022, 400(10346): 76-78.
- [3] Rust R, Gantner C, Schwab M E. Pro- and antiangiogenic therapies: Current status and clinical implications [J]. *FASEB J*, 2019, 33(1): 34-48.
- [4] Steliga A, Kowiański P, Czuba E, et al. Neurovascular unit as a source of ischemic stroke biomarkers-limitations of experimental studies and perspectives for clinical application [J]. *Transl Stroke Res*, 2020, 11(4): 553-579.
- [5] Guo C, Yin Y, Ma Z Y, et al. Astilbin exerts a neuroprotective effect by upregulating the signaling of nuclear NF-E2-related factor 2 *in vitro* [J]. *Heliyon*, 2024, 10(17): e37276.
- [6] Zhang B B, Li J, Chen J Y. The effect of nursing and rehabilitation measures on quality of life and expression of Bax/Bcl2 genes in patients with stroke [J]. *Cell Mol Biol*, 2022, 68(5): 111-116.
- [7] Morgan M J, Liu Z G. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- κ B signaling [J]. *Cell Res*, 2011, 21(1): 103-115.
- [8] Lin X Y, Bai D P, Wei Z X, et al. Curcumin attenuates

- oxidative stress in RAW264.7 cells by increasing the activity of antioxidant enzymes and activating the Nrf2-Keap1 pathway [J]. *PLoS One*, 2019, 14(5): e0216711.
- [9] Sun Y, Yang X, Xu L J, *et al.* The role of Nrf2 in relieving cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Curr Neuropharmacol*, 2023, 21(6): 1405-1420.
- [10] 高原, 于文慧, 张美君, 等. Nrf2/HO-1 信号通路及缺血再灌注损伤的研究进展 [J]. 中国中西医结合外科杂志, 2020, 26(4): 776-778.
- [11] Zheng T, Jiang T T, Huang Z L, *et al.* Role of traditional Chinese medicine monomers in cerebral ischemia/reperfusion injury: A review of the mechanism [J]. *Front Pharmacol*, 2023, 14: 1220862.
- [12] 杨鹏飞, 陈卫东. 银杏内酯 B 药理作用研究进展 [J]. 安徽中医学院学报, 2012, 31(5): 86-90.
- [13] Nabavi S M, Habtemariam S, Daglia M, *et al.* Neuroprotective effects of ginkgolide B against ischemic stroke: A review of current literature [J]. *Curr Top Med Chem*, 2015, 15(21): 2222-2232.
- [14] 赵昭, 侯倩. 冰片对缺血性脑卒中的药理作用研究进展 [J]. 临床医学研究与实践, 2023, 8(8): 174-177.
- [15] 高雅, 李友明, 罗燕, 等. 右旋龙脑的药理作用研究进展 [J]. 现代药物与临床, 2021, 36(7): 1537-1540.
- [16] Wu H Y, Tang Y, Gao L Y, *et al.* The synergetic effect of edaravone and borneol in the rat model of ischemic stroke [J]. *Eur J Pharmacol*, 2014, 740: 522-531.
- [17] 欧阳波, 刘晓丹, 杨筱倩, 等. 冰片配伍黄芪甲苷和三七总皂苷通过 Notch 信号通路对大鼠脑缺血再灌注损伤模型的神经保护作用 [J]. 中草药, 2020, 51(23): 5990-5997.
- [18] Liu J J, Yang L L, Niu Y, *et al.* Potential therapeutic effects of mi-Jian-Chang-Pu decoction on neurochemical and metabolic changes of cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 7319563.
- [19] 张田田, 王瑾茜, 毛果, 等. 益气活血方对脑缺血再灌注损伤模型大鼠脑组织细胞自噬及 PI3K/Akt/mTOR 信号通路的影响 [J]. 中国病理生理杂志, 2024, 40(11): 1993-2004.
- [20] 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.
- [21] 高延玲, 郝少君, 谢国旗, 等. 清脑片对沙鼠脑缺血再灌注模型血浆 ET 和 CGRP 含量及脑组织病理变化的影响 [J]. 实用医药杂志, 2018, 35(1): 47-50.
- [22] Jiang X Y, Andjelkovic A V, Zhu L, *et al.* Blood-brain barrier dysfunction and recovery after ischemic stroke [J]. *Prog Neurobiol*, 2018, 163/164: 144-171.
- [23] Grzeszczak K, Łanocha-Arendarczyk N, Malinowski W, *et al.* Oxidative stress in pregnancy [J]. *Biomolecules*, 2023, 13(12): 1768.
- [24] Flohé L, Toppo S, Orian L. The glutathione peroxidase family: Discoveries and mechanism [J]. *Free Radic Biol Med*, 2022, 187: 113-122.
- [25] Nguyen N H, Tran G B, Nguyen C T. Anti-oxidative effects of superoxide dismutase 3 on inflammatory diseases [J]. *J Mol Med*, 2020, 98(1): 59-69.
- [26] Zhao Y, Zhu Q H, Bi C, *et al.* Bibliometric analysis of tumor necrosis factor in post-stroke neuroinflammation from 2003 to 2021 [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 1040686.
- [27] Khan A W, Farooq M, Hwang M J, *et al.* Autoimmune neuroinflammatory diseases: Role of interleukins [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(9): 7960.
- [28] Zhu H, Hu S P, Li Y T, *et al.* Interleukins and ischemic stroke [J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 828447.
- [29] Xu Y Y, Zhang J, Gao F, *et al.* Engeletin alleviates cerebral ischemia reperfusion-induced neuroinflammation via the HMGB1/TLR4/NF- κ B network [J]. *J Cell Mol Med*, 2023, 27(12): 1653-1663.
- [30] 奥婷, 张芹, 肖淑英, 等. HMGB1 与缺血性脑卒中关系的研究进展 [J]. 医学综述, 2018, 24(9): 1681-1686.
- [31] Wang J, Jiang Y, Zeng D, *et al.* Prognostic value of plasma HMGB1 in ischemic stroke patients with cerebral ischemia-reperfusion injury after intravenous thrombolysis [J]. *J Stroke Cerebrovasc Dis*, 2020, 29(9): 105055.
- [32] Zhao N, Gao Y H, Jia H T, *et al.* Anti-apoptosis effect of traditional Chinese medicine in the treatment of cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *Apoptosis*, 2023, 28(5/6): 702-729.
- [33] 熊康, 张美玲, 王祯芝, 等. 从细胞凋亡角度探讨针刺干预蛛网膜下腔出血认知障碍的机制之研究进展 [J]. 环球中医药, 2023, 16(5): 1044-1050.
- [34] 程雪赟, 原大江. 半胱氨酸-天冬氨酸蛋白酶参与细胞凋亡的机制与进展 [J]. 临床医药实践, 2018, 27(8): 616-620.
- [35] Tanase D M, Gosav E M, Anton M I, *et al.* Oxidative stress and NRF2/KEAP1/ARE pathway in diabetic kidney disease (DKD): New perspectives [J]. *Biomolecules*, 2022, 12(9): 1227.
- [36] 朱健平, 李运曼. Nrf2 在缺血性脑损伤中的关键性作用 [J]. 医学研究与教育, 2022, 39(2): 1-9.
- [37] Ryter S W. Heme oxygenase-1, a cardinal modulator of regulated cell death and inflammation [J]. *Cells*, 2021, 10(3): 515.
- [38] Lianos E A, Detsika M G. Immune-related functions of heme oxygenase-1 [J]. *Antioxidants*, 2023, 12(7): 1322.
- [39] Yang Y, He B, Zhang X C, *et al.* Geraniin protects against cerebral ischemia/reperfusion injury by suppressing oxidative stress and neuronal apoptosis via regulation of the Nrf2/HO-1 pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2022, 2022: 2152746.