

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2022.04.014

葛根素对缺血性脑卒中模型大鼠神经损伤的防护作用*

于心洋,张贺齐,刘云平,尚淑玲

(河北省唐山市协和医院神经内科,河北 唐山 063000)

摘要:目的 探讨葛根素对缺血性脑卒中模型大鼠神经损伤的防护作用。方法 将90只雄性SD大鼠随机分为空白对照组(等体积生理盐水)、假手术组(等体积生理盐水)、模型组(等体积生理盐水)、尼莫地平组(12 mg/kg)及葛根素低、高剂量组(50 mg/kg, 100 mg/kg),各15只。除空白对照组外,其余各组均采用线栓法复制缺血性脑卒中大鼠模型。建模成功后,各组大鼠灌胃相应药物或生理盐水,每日1次,连续14 d。记录各组大鼠术后6 h及术后1, 4, 7, 14 d的Longa评分;2, 3, 5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色,测定大鼠脑组织梗死体积;Nissl染色,观察大鼠海马组织神经细胞形态学;采用酶联免疫吸附(ELISA)法检测大鼠血清神经元特异性烯醇化酶(NSE)及星形胶质源性蛋白(S100 β)水平,采用Western blot法检测大鼠海马组织匀浆中GSK-3 β , p-GSK-3 β , β -catenin蛋白表达水平。结果 与模型组比较,尼莫地平组及葛根素高剂量组大鼠术后4, 7, 14 d,葛根素低剂量组大鼠术后7, 14 d的Longa评分均明显降低,且各用药组大鼠脑梗死体积明显缩小,海马区神经细胞损伤明显改善,血清中NSE和S100 β 蛋白表达水平均明显降低,脑组织匀浆中GSK-3 β 蛋白表达水平明显降低, p-GSK-3 β 和 β -catenin蛋白表达水平均明显升高($P < 0.05$)。结论 葛根素能改善缺血性脑卒中模型大鼠的神经功能,减轻神经细胞损伤,其作用机制可能与调节Wnt/ β -catenin信号通路相关。

关键词:葛根素;缺血性脑卒中;神经细胞;Wnt/ β -catenin信号通路;作用机制;大鼠

中图分类号:R965;R971

文献标志码:A

文章编号:1006-4931(2022)04-0058-06

Protective Effect of Puerarin on Nerve Injury in Rats with Ischemic Stroke

YU Xinyang, ZHANG Heqi, LIU Yunping, SHANG Shuling

(Department of Neurology, Tangshan Union Hospital, Tangshan, Hebei, China 063000)

Abstract: Objective To investigate the protective effect of puerarin on nerve injury in rats with ischemic stroke. **Methods** A total

*基金项目:河北省医学科学研究课题[20200342]。

第一作者:于心洋,女,硕士研究生,主治医师,研究方向为神经内科疾病的诊疗,(电子信箱)yellowsubmarinexj@163.com。

- dynamic in retinal and choroidal microcirculation[J]. Survey of Ophthalmology, 2018, 63(5): 646-664.
- [6] SAVINI G, BARBONI P, CARBONELLI M, et al. Comparison of optic nerve head parameter measurements obtained by time-domain and spectral-domain optical coherence tomography[J]. J Glaucoma, 2013, 22(5): 384-389.
- [7] LEE GCF, SMITH GT, AGRAWAL M, et al. Fabrication of healthy and disease-mimicking retinal phantoms with tapered foveal pits for optical coherence tomography[J]. Journal of Biomedical Optics, 2015, 20(8): 085004.
- [8] AGRAWAL A, CHEN CW, BAXI J, et al. Multilayer thin-film phantoms for axial contrast transfer function measurement in optical coherence tomography[J]. Biomedical Optics Express, 2013, 4(7): 1166-1175.
- [9] AGRAWAL A, PFEFER TJ, GILANI N, et al. Three-dimensional characterization of optical coherence tomography point spread functions with a nanoparticle-embedded phantom[J]. Optics Letters, 2010, 35(13): 2269-2271.
- [10] PAN Y, BIRNGRUBER R, ROSPERICH J, et al. Low-coherence optical tomography in turbid tissue: theoretical analysis[J]. Applied Optics, 1995, 34(28): 6564-6574.
- [11] SCHMITT J, LEE S, YUNG K. An optical coherence microscope with enhanced resolving power in thick tissue[J]. Optics Communications, 1997, 142(4/5/6): 203-207.
- [12] LAMOUCHE G, KENNEDY BF, KENNEDY KM, et al. Review of tissue simulating phantoms with controllable optical, mechanical and structural properties for use in optical coherence tomography[J]. Biomedical Optics Express, 2012, 3(6): 1381-1398.
- [13] 李修宇, 吴福宝, 胡志雄, 等. 眼科光学相干断层扫描成像设备关键参数计量技术研究[J]. 中国医疗设备, 2019, 34(11): 16-21.
- [14] CAO Z, DING Z, HU Z, et al. Model eyes with curved multi-layer structure for the axial resolution evaluation of an ophthalmic optical coherence tomography device[J]. Journal of Innovative Optical Health Sciences, 2018, 11(3): 1850013.
- [15] LEITGEB R, HITZENBERGER CK, FERCHER AF, et al. Performance of fourier domain vs. time domain optical coherence tomography[J]. Opt Express, 2003, 11: 889-894.
- [16] KOLB JP, KLEIN T, KUFNER CL, et al. Ultra-widefield retinal MHz-OCT imaging with up to 100 degrees viewing angle[J]. Biomedical Optics Express, 2015, 6(5): 1534-1552.
- [17] TAN B, MCNABB RP, ZHENG F, et al. Ultrawide field, distortion-corrected ocular shape estimation with MHz optical coherence tomography (OCT) [J]. Biomedical Optics Express, 2021, 12(9): 5770-5781.
- [18] MATSUMURA S, KUO AN, SAW SM. An update of eye shape and myopia[J]. Eye and Contact Lens, 2019, 45(5): 279-285.

(收稿日期: 2021-09-27)

of 90 male SD rats were randomly divided into the blank control group (equal volume of normal saline), sham operation group (equal volume of normal saline), model group (equal volume of normal saline), nimodipine group (12 mg/kg) and puerarin low- and high-dose groups (50 mg/kg, 100 mg/kg), with 15 rats in each group. In addition to the blank control group, the other groups used the thread suppository method to replicate the rat model of ischemic stroke. After successful modeling, rats in each group were gavaged with corresponding drugs or normal saline once a day for 14 d. The Longa scores of rats in each group were recorded at 6 h and 1, 4, 7 and 14 d after operation. The infarct volume of rat brain was measured by 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining. The morphology of neurons in rat hippocampus was observed by the Nissl staining. The levels of serum neuron-specific enolase (NSE) and astrocyte-derived protein (S100 β) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the expression levels of GSK-3 β , p-GSK-3 β and β -catenin protein in rat hippocampus homogenate were detected by the Western blot. **Results** Compared with those in the model group, the Longa scores of rats in the nimodipine group and puerarin high-dose group at 4, 7 and 14 d after operation and those in the puerarin low-dose group at 7 and 14 d after operation decreased significantly ($P < 0.05$). Compared with those in the model group, the volume of cerebral infarction decreased significantly, the damage of nerve cells in the hippocampus improved significantly, the expression levels of serum NSE and S100 β protein decreased significantly, the expression levels of GSK-3 β protein in brain homogenate decreased significantly, while the expression levels of p-GSK-3 β and β -catenin protein in brain homogenate increased significantly in the nimodipine group and the puerarin low- and high-dose groups ($P < 0.05$). **Conclusion** Puerarin can improve neural function and reduce nerve cell injury in model rats with ischemic stroke. Its mechanism may be related to the regulation of Wnt/ β -catenin signaling pathway.

Key words: puerarin; ischemic stroke; nerve cells; Wnt/ β -catenin signaling pathway; mechanism; rat

保护神经细胞的结构和功能是促进脑卒中患者神经功能恢复的有效措施。研究显示,典型 Wnt/ β -catenin 信号通路能参与脑缺血及神经细胞死亡过程,与缺血性脑卒中的发生与发展关系密切^[1]。通过干预 Wnt/ β -catenin 通路能促进脑卒中神经损伤的修复。葛根素具有扩张脑血管、改善微循环等作用,对脑卒中等脑血管疾病疗效显著^[2]。有研究表明,葛根素能通过抑制神经细胞凋亡、调节自噬等途径减轻脑缺血所致神经功能损伤^[3-4],而其神经保护作用是否与 Wnt/ β -catenin 信号通路相关仍不明晰。本研究中观察了葛根素对缺血性脑卒中模型大鼠神经损伤的防护作用,并探讨其相关机制。现报道如下。

1 材料与方法

1.1 仪器、试剂与动物

仪器:Mirofuge 20 R 型低温高速离心机(美国 Thermo Fisher 公司);Infinite M20 Pro 型多功能酶标仪(瑞士 Tecan 公司);RM2245 型石蜡切片机、ChemTron KSW 型倒置光学显微镜(德国 Leica 公司);EC3 型基础电泳仪、电转仪、ChemiDoc XRS+ 凝胶成像分析系统(美国 Bio-Rad 公司)。

试剂:葛根素注射液(华北制药集团有限责任公司,批号为 19120903,规格为每支 0.2 g;临用前用生理盐水稀释);尼莫地平片(山东新华制药股份有限公司,批号为 2001032,规格为每片 20 mg);2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC,北京索莱宝科技有限公司,批号为 20200113);尼氏(Nissl)染色试剂盒(上海生工生物工程有限公司,批号为 0521S20);神经元特异性烯醇化酶(NSE)、血清星形胶质源性蛋白(S100 β)酶联免疫吸附

试验(ELISA)试剂盒(均购自南京森贝伽生物科技有限公司,批号分别为 20200108,20200117);糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)、磷酸化糖原合酶激酶 3 β (p-GSK3 β)、 β 连环蛋白(β -catenin)、 β -肌动蛋白(β -actin)鼠单克隆抗体(Santa Cruz 公司,批号分别为 0106123,0104325,0103328,0102216)。

动物:SPF 级 SD 大鼠 90 只,雄性,8 周龄,体质量(200 $\pm$ 20)g,由华北理工大学医学实验动物中心提供,实验动物使用许可证号 SYXK(冀)2020-007。于温度 20~25 $^{\circ}$ C、相对湿度 50%~65%的环境中适应性饲养 1 周。本实验经唐山市协和医院实验动物伦理委员会批准。

1.2 方法

1.2.1 分组、建模与给药

将大鼠按体质量随机分为空白对照组(等体积生理盐水)、假手术组(等体积生理盐水)、模型组(等体积生理盐水)、尼莫地平组(12 mg/kg)及葛根素低、高剂量组(50 mg/kg, 100 mg/kg),各 15 只。除空白对照组外,其余各组大鼠均采用血管内栓线阻断法以复制缺血性脑卒中大鼠模型^[5]。术前禁食 12 h,腹腔注射水合氯醛(400 mg/kg)麻醉,仰卧位固定,碘伏消毒颈部皮肤,于颈部正中纵行切开 1 cm 切口,钝性分离颈前肌肉,充分暴露左侧颈总、颈内及颈外动脉,分离颈总动脉及迷走神经,并用 4 号丝线结扎颈总动脉近心端,在距颈总动脉分支 0.8~1.0 cm 处结扎颈外动脉,将颈总动脉远心端用动脉夹暂时阻断,在距颈总动脉及颈内动脉、颈外动脉分叉约 5 mm 处剪一“V”型小口,将线栓插入颈内动脉,深度为 16~18 mm 时可有轻微阻力感,

随后结扎颈总和颈内动脉远心端,缝合切口,再次碘伏消毒。术后将大鼠置37℃恒温箱以维持体温。假手术组仅分离上述血管而不结扎。建模成功(Longa^[6]得分1~4分)后,各组大鼠灌胃相应药物或生理盐水,每日1次,持续14 d。空白对照组大鼠正常饲养,不予处理。

1.2.2 观察指标

神经功能障碍:参照Longa法^[6]评判。0分,无神经功能异常症状;1分,提起鼠尾时大鼠缺血侧前肢不能完全伸展;2分,大鼠不能直行,行走时向对侧转圈;3分,大鼠行走困难,行走时向对侧倾斜;4分,大鼠出现意识障碍,无法自发行走。记录术后6 h及术后1,4,7,14 d大鼠的Longa评分。

脑梗死体积:末次给药后,各组分别随机选取5只大鼠,腹腔注射水合氯醛(400 mg/kg)麻醉后断头取脑,生理盐水冲洗2次后置滤纸上吸干,-20℃冰箱内冷冻20 min后取出,沿冠状面每隔2 mm将大脑切成5片,置避光保存的0.2% TTC染液中,37℃孵育30 min,每5 min翻动1次。磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗3次,4%多聚甲醛溶液中固定24 h。取出大脑切片,吸干并拍照,用Image-Pro Plus 6.0软件测量并计算脑梗死体积。白色或未被染色区域为脑梗死组织。脑梗死体积(%) = 脑梗死面积/脑切片面积×100%。

神经细胞形态学:末次给药后,各组分别随机选取5只大鼠,腹腔注射水合氯醛(400 mg/kg)麻醉,开胸,暴露心脏,用预冷的生理盐水冲洗血液,灌注4%多聚甲醛PBS溶液1 h,剥离脑组织,置4%多聚甲醛溶液中,4℃冰箱中固定72 h,将脑组织沿冠状面切成3段,取中间含海马段进行石蜡包埋,做5 μm厚连续冠状切片,并行Nissl染色,中性树胶封片,光镜下观察海马CA1区神经细胞形态学。

血清中NSE和S100β水平:采用ELISA法检测。末次给药后,各组大鼠腹主动脉取血,3 000 r/min离心,分离,得血清,置-20℃冰箱保存。取10 μL,加入样品稀释剂40 μL,抗体100 μL,加入样品孔,置37℃温箱孵育1 h,用洗涤液洗5次。每孔加入底物液A、底物液B各50 μL显色,37℃温箱中避光孵育15 min。加入终止液50 μL,于酶标仪450 nm波长处检测各反应孔的光密度(OD)值,建立标准曲线,计算各样本NSE和S100β的水平。

脑组织匀浆中GSK-3β,p-GSK-3β,β-catenin蛋白表达水平:采用Western blot法检测。末次给药后,各组分别随机选取5只大鼠的海马组织100~200 mg,剪碎后置RIPA裂解液中,冰上匀浆后12 000 r/min离心20 min,提取总蛋白,BCA法测定蛋白含量,进行制胶、上样、电泳、转膜和封闭后,一抗4℃孵育过夜,TBST洗膜;二抗37℃孵育1 h,TBST洗膜。ECL发光液孵育,凝胶成像系统

曝光后,计算OD值,检测海马脑组织匀浆中GSK-3β,p-GSK-3β,β-catenin的蛋白相对表达水平。

1.3 统计学处理

采用SPSS 20.0统计学软件分析。计量资料以 $\bar{X} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 神经功能评分

与假手术组比较,模型组大鼠Longa评分明显升高($P < 0.01$);与模型组比较,尼莫地平组及葛根素高剂量组术后4,7,14 d,葛根素低剂量组术后7 d和14 d的Longa评分均明显降低($P < 0.05$)。详见表1。

表1 各组大鼠术后Longa评分比较($\bar{X} \pm s$,分, $n = 15$)

组别	6 h	1 d	4 d	7 d	14 d
空白对照组	0	0	0	0	0
假手术组	0	0	0	0	0
模型组	2.67±1.07**	2.60±1.06**	2.47±0.99**	2.40±0.91**	2.27±0.80**
尼莫地平组	2.80±1.08	2.67±1.05	1.67±0.62*	1.47±0.52*	1.20±0.41**
葛根素低剂量组	2.73±1.03	2.53±0.99	1.93±0.80	1.60±0.51**	1.40±0.51**
葛根素高剂量组	2.67±1.05	2.47±1.06	1.60±0.51*	1.40±0.51*	1.13±0.35**

注:与假手术组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与模型组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。表2、表3、图3同。

Note:Compared with those in the sham operation group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ (for Tab. 1-3 and Fig. 3);Compared with those in the model group,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ (for Tab. 1-3 and Fig. 3)。

2.2 脑梗死体积

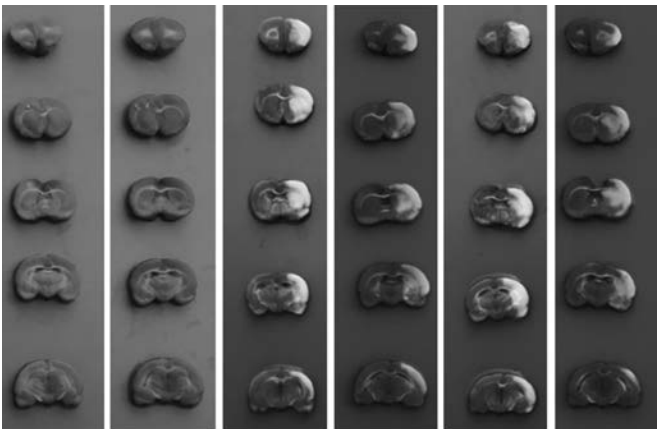
空白对照组、假手术组大鼠脑组织中均未见梗死灶。模型组、尼莫地平组及葛根汤低、高剂量组可见不同程度脑组织坏死,尼莫地平组及葛根素低、高剂量组大鼠脑组织梗死体积较模型组显著减小($P < 0.05$, $P < 0.01$)。详见图1、表2。

2.3 脑组织神经细胞形态

空白对照组及假手术组大鼠海马CA1区神经细胞排列整齐,密度高,尼氏体丰富;模型组大鼠神经细胞损伤明显,可见细胞间隙扩大,结构紊乱,细胞核固缩,尼氏体数量减少;尼莫地平组及葛根素低、高剂量组大鼠神经细胞排列较规律,异常神经细胞数量较模型组明显减少,尼氏体数量增加,神经细胞形态明显改善。详见图2。

2.4 血清中NSE和S100β水平

与假手术组比较,模型组大鼠血清中NSE和S100β水平均明显升高($P < 0.01$);与模型组比较,尼莫地平组及葛根素低、高剂量组大鼠的NSE和S100β水平均显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)。详见表2。



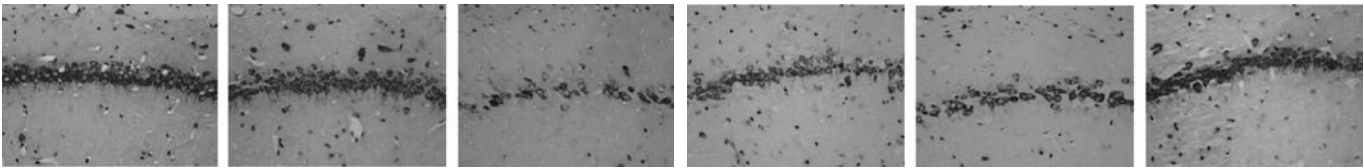
A. 空白对照组 B. 假手术组 C. 模型组 D. 尼莫地平组
E. 葛根素低剂量组 F. 葛根素高剂量组

图1 大鼠脑组织病理形态(TTC)
A. Blank control group B. Sham operation group C. Model group
D. Nimodipine group E. Puerarin low - dose group F. Puerarin high - dose group

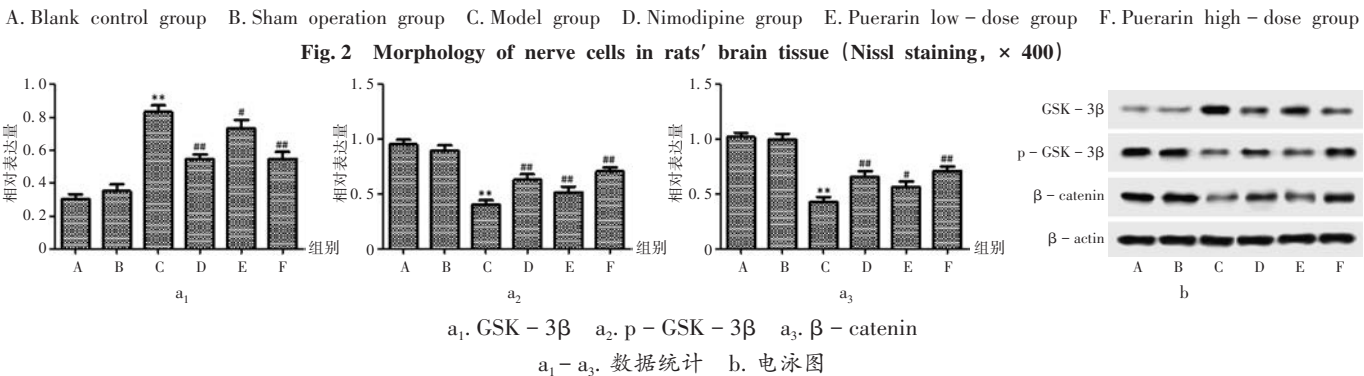
Fig.1 Pathological morphology of rats' brain tissue (TTC staining)

2.5 海马组织 GSK - 3 β , p - GSK - 3 β , β - catenin 蛋白表达水平

与假手术组比较,模型组大鼠 GSK - 3 β 的蛋白表达水平显著升高, p - GSK - 3 β 和 β - catenin 的蛋白表达水平均显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,尼莫地平组及葛根素低、高剂量组大鼠 GSK - 3 β 的表达水平



A. 空白对照组 B. 假手术组 C. 模型组 D. 尼莫地平组 E. 葛根素低剂量组 F. 葛根素高剂量组
图2 大鼠脑组织神经细胞形态学(Nissl, $\times 400$)
A. Blank control group B. Sham operation group C. Model group D. Nimodipine group E. Puerarin low - dose group F. Puerarin high - dose group



A. 空白对照组 B. 假手术组 C. 模型组 D. 尼莫地平组 E. 葛根素低剂量组 F. 葛根素高剂量组
图3 大鼠脑组织匀浆中 GSK - 3 β , p - GSK - 3 β , β - catenin 的蛋白表达水平
a₁. GSK - 3 β a₂. p - GSK - 3 β a₃. β - catenin
a₁ - a₃. Data statistics b. Electrophoretogram

A. Blank control group B. Sham operation group C. Model group D. Nimodipine group E. Puerarin low - dose group F. Puerarin high - dose group
Fig.3 Expression level of GSK - 3 β , p - GSK - 3 β and β - catenin protein in hippocampus of rats

表2 各组大鼠脑梗死体积及NSE和S100 β 水平比较($\bar{X} \pm s, n = 5$)

Tab.2 Comparison of cerebral infarction volume, NSE and S100 β levels in each group($\bar{X} \pm s, n = 5$)

组别	剂量(mg/kg)	梗死体积(%)	NSE(ng/mL)	S100 β (pg/mL)
空白对照组		0	0.64 $\pm$ 0.09	30.19 $\pm$ 8.38
假手术组		0	0.74 $\pm$ 0.18	32.23 $\pm$ 5.95
模型组		22.75 $\pm$ 4.85**	4.53 $\pm$ 0.86**	133.49 $\pm$ 20.41**
尼莫地平组	12	15.08 $\pm$ 3.28**	2.23 $\pm$ 0.47**	76.80 $\pm$ 10.56**
葛根素低剂量组	50	18.43 $\pm$ 2.96*	3.37 $\pm$ 0.95*	95.14 $\pm$ 28.80**
葛根素高剂量组	100	14.51 $\pm$ 2.41**	2.01 $\pm$ 0.52**	72.63 $\pm$ 12.28**

显著降低($P < 0.01$), p - GSK - 3 β 和 β - catenin 表达水平均显著升高($P < 0.01$)。详见图3。

3 讨论

脑血管疾病是中老年人的常见病及多发病,也是全球人类第二大死因,近年来发病率呈明显上升趋势^[7]。该病以脑卒中为主,尤以缺血性脑卒中最常见,脑卒中可导致脑供血不足,脑组织坏死,并引起脑神经功能损伤的临床症状和体征^[8]。发病早期,局部神经细胞的电活动停止,而细胞结构基本完好,尽早恢复血供,仍可恢复神经功能,随着缺血时间的延长,脑胶质细胞及局部微血管增生,进而导致脑组织水肿,神经细胞变性、坏死^[9]。保护神经细胞的结构和功能,是促进脑卒中患者神经功能恢复的有效措施。

Wnt / β - catenin 信号通路在细胞增殖、凋亡、衰老等

多种生理病理过程中发挥重要调控作用^[10]。Wnt/ β -catenin 通路能参与脑缺血及缺血所致神经细胞损伤、坏死过程,与缺血性脑卒中的发生与发展关系密切^[11]。其中,GSK-3 β 的调节起主导作用。GSK-3 β 为Wnt通路下游的负调控因子,参与细胞凋亡,炎症反应,神经细胞极性等多种细胞生理病理过程的调控,并能通过调节下游蛋白 β -catenin维持细胞核质的稳定性^[12-13]。在大鼠脑缺血-再灌注模型中,PI3K/Akt信号能通过GSK-3 β 调节 β -catenin的表达^[14]。脑缺血-再灌注损伤模型小鼠Wnt/ β -catenin通路被激活,增加了 β -catenin的表达^[15]。WANG等^[16]研究发现,脑卒中模型小鼠缺血局部神经干细胞中 β -catenin的表达水平降低,经过GSK-3 β 抑制剂TWS119处理后,GSK-3 β 的蛋白表达被抑制, β -catenin的表达水平升高,同时增加了脑卒中区域神经干细胞的数量及活性,促进了神经修复。表明Wnt/ β -catenin信号通路参与脑卒中神经细胞的死亡过程,通过干预Wnt/ β -catenin通路将有助于脑卒中神经损伤的修复。

中药在脑卒中的预防及急性期、恢复期的临床治疗中得到了广泛应用,其所含多种有效成分,可通过多途径、多靶点综合作用,防护脑缺血损伤,且更有助于作用机制的研究。葛根素为葛根中的一种异黄酮类单体,具有扩张脑血管、改善微循环等作用,对脑卒中、动脉粥样硬化等脑血管疾病有益^[17-18]。葛根素能显著抑制脑卒中大鼠海马组织中人半胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3)的活性,通过抑制神经细胞凋亡发挥神经细胞保护作用^[6]。黄亚光等^[4]的研究表明,葛根素能通过抑制细胞自噬,减轻脑缺血-再灌注大鼠的神经功能损伤。然而其神经保护作用是否与Wnt/ β -catenin信号通路相关尚不明晰。

本研究结果显示,葛根素能显著改善模型大鼠的神经功能,减小脑梗死体积,并改善大鼠海马CA1区神经细胞损伤。S100 β 在生理状况下不能通过血脑屏障,脑损伤发生后,其过度表达和释放使血清中的S100 β 水平迅速上升,根据其升高的幅度可判断脑损伤的严重程度^[19]。NSE仅存在于神经细胞的胞浆中,其分泌水平与神经细胞的死亡量呈显著正相关,是神经细胞损伤的敏感生化指标^[20]。ELISA检测结果显示,葛根素不同剂量组大鼠血清中NSE和S100 β 的水平均较模型组显著降低,提示葛根素能减轻模型大鼠的神经细胞损伤,对模型大鼠的神经功能具有明显改善作用。Western blot检测结果显示,模型组大鼠脑组织匀浆中GSK-3 β 的表达水平较假手术组明显升高,p-GSK-3 β 和 β -catenin的表达水平均显著降低;与模型组比较,葛根素不同剂量组大鼠GSK-3 β 的蛋白表达水平明显降

低,p-GSK-3 β 和 β -catenin的蛋白表达水平均明显上升。

综上所述,葛根素能显著改善缺血性脑卒中模型大鼠的神经功能,减轻大鼠神经细胞损伤,其作用机制可能与调节Wnt/ β -catenin信号通路相关。

参考文献

- [1] WANG T, DUAN YM, FU Q, et al. IM-12 activates the Wnt- β -catenin signaling pathway and attenuates rtPA-induced hemorrhagic transformation in rats after acute ischemic stroke[J]. *Biochem Cell Biol*, 2019, 97(6): 702-708.
- [2] ZHOU YX, ZHANG H, PENG C, et al. Puerarin: a review of pharmacological effects[J]. *Phytother Res*, 2014, 28(7): 961-975.
- [3] WANG N, ZHANG Y, WU L, et al. Puerarin protected the brain from cerebral ischemia injury via astrocyte apoptosis inhibition[J]. *Neuropharmacology*, 2014, 4(79): 282-289.
- [4] 黄亚光, 王金凤, 杜利鹏, 等. 葛根素调节 AMPK-mTOR 信号通路抑制自噬改善大鼠脑缺血再灌注损伤研究[J]. *中草药*, 2019, 50(13): 3127-3133.
- [5] WOITZIK J, SCHNEIDER UC, THOMÉ C, et al. Comparison of different intravascular thread occlusion models for experimental stroke in rats[J]. *J Neurosci Methods*, 2006, 151(2): 224-231.
- [6] CAI ZL, ZHANG HD, SONG HS, et al. Edaravone combined with cinezapide maleate on neurocyte autophagy and neurological function in rats with subarachnoid hemorrhage[J]. *Exp Ther Med*, 2020, 19(1): 646-650.
- [7] MAGALHÃES JE, ROCHA-FILHO PAS. Migraine and cerebrovascular diseases: Epidemiology, pathophysiological, and clinical considerations[J]. *Headache*, 2018, 58(8): 1277-1286.
- [8] BOULANGER M, BÉJOT Y, ROTHWELL PM, et al. Long-Term Risk of Myocardial Infarction Compared to Recurrent Stroke After Transient Ischemic Attack and Ischemic Stroke: Systematic Review and Meta-Analysis[J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(2): e007267.
- [9] RADAK D, KATSIKI N, RESANOVIC I, et al. Apoptosis and Acute Brain Ischemia in Ischemic Stroke[J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2017, 15(2): 115-122.
- [10] NUSSE R, CLEVERS H. Wnt/ β -Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities[J]. *Cell*, 2017, 169(6): 985-999.
- [11] SONG DG, ZHANG XJ, CHEN JM, et al. Wnt canonical pathway activator TWS119 drives microglial anti-inflammatory activation and facilitates neurological recovery following experimental stroke[J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 256.
- [12] YANG K, CHEN ZX, GAO JJ, et al. The Key Roles of GSK-3 β in Regulating Mitochondrial Activity[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44(4): 1445-1459.
- [13] KIM JG, KIM MJ, CHOI WJ, et al. Wnt3A Induces GSK-3 β Phosphorylation and β -Catenin Accumulation Through RhoA/ROCK[J]. *J Cell Physiol*, 2017, 232(5): 1104-1113.
- [14] XING XS, LIU F, HE ZY. Akt regulates β -catenin in a rat