

小檗碱通过激活 SIRT1 通路减轻脑缺血再灌注大鼠炎症及凋亡

王博¹, 孙亚男¹, 王继燕², 宋莉³

(1. 济宁医学院法医学与医学检验学院, 山东省济宁市 272067; 2. 济宁医学院基础医学院, 山东省济宁市 272067; 3. 济宁医学院附属医院神经内一科, 山东省济宁市 272029)

[关键词] 缺血再灌注; 小檗碱; SIRT1; 炎症反应; 细胞凋亡

[摘要] **目的** 研究小檗碱预处理对大鼠脑缺血再灌注(I/R)过程中炎症及凋亡的调节作用及分子机制。**方法** 选择40只SPF级成年雄性SD大鼠,随机分为假手术组(Sham组)、I/R组、小檗碱预处理组(BP组)、BP+SIRT1抑制剂EX527处理组(BP+EX组),BP组在造模前给予小檗碱100 mg/(kg·d)灌胃、连续14天,BP+EX组在造模前给予小檗碱100 mg/(kg·d)灌胃及SIRT1抑制剂EX527 5 mg/(kg·d)腹腔注射、连续14天,而后采用线栓法建立脑I/R模型。采用神经功能缺损评分、TUNEL染色、Nissl染色评价神经功能损伤程度,检测SIRT1通路基因、线粒体途径凋亡基因、炎症因子的表达。**结果** I/R组大鼠的神经功能缺损评分、TUNEL阳性率及脑组织中核因子κB(NF-κB)、P53、Bax、Caspase-9、Caspase-3、肿瘤坏死因子α(TNF-α)、白细胞介素1β(IL-1β)、IL-6、细胞间黏附分子1(ICAM-1)的表达水平均明显高于假手术组,Nissl阳性数目及脑组织中SIRT1、Bcl-xL的表达水平均明显低于假手术组($P < 0.05$);BP组大鼠的神经功能缺损评分、TUNEL阳性率及脑组织中NF-κB、P53、Bax、Caspase-9、Caspase-3、TNF-α、IL-1β、IL-6、ICAM-1的表达水平均明显低于I/R组,Nissl阳性数目及脑组织中SIRT1、Bcl-xL的表达水平均明显高于I/R组($P < 0.05$);BP+EX组大鼠脑组织中Bax、Caspase-9、Caspase-3、TNF-α、IL-1β、IL-6、ICAM-1的水平均明显高于BP组,Bcl-xL的表达水平明显低于BP组($P < 0.05$)。**结论** 小檗碱预处理能够通过激活SIRT1通路来减轻大鼠脑缺血再灌注过程中的炎症及凋亡。

[中图分类号] R741

[文献标识码] A

Berberine attenuates inflammation and apoptosis in rats with cerebral ischemia-reperfusion by activating SIRT1 pathway

WANG Bo¹, SUN Yanan¹, WANG Jiyan², SONG Li³

(1. School of Forensic Medicine and Medical Laboratory, Jining Medical University, Jining, Shandong 272067; 2. School of Basic Medical Sciences, Jining Medical University, Jining, Shandong 272067; 3. Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining, Shandong 272029, China)

[KEY WORDS] ischemia reperfusion; berberine; SIRT1; inflammation; apoptosis

[ABSTRACT] **Aim** To study the regulatory effect and molecular mechanism of berberine preconditioning on inflammation and apoptosis during cerebral ischemia reperfusion (I/R) in rats. **Methods** 40 SPF-grade adult male SD rats were randomly divided into sham group, I/R group, berberine pretreatment group (BP group), BP + SIRT1 inhibitor EX527 group (BP+EX group). Berberine 100 mg/(kg·d) was intragastrically administered to BP group for 14 days, berberine 100 mg/(kg·d) was intragastrically administered and SIRT1 inhibitor EX527 5 mg/(kg·d) as intraperitoneally administered to BP+EX group before modeling. After 14 days, the brain I/R model was established by thread embolization. Neurological impairment score, TUNEL staining and Nissl staining were used to evaluate the degree of neurological impairment. The expression of SIRT1 pathway genes, mitochondrial pathway apoptotic genes and inflammatory factors were detected. **Results** The neurological deficit score, TUNEL positive rate and the expression levels

[收稿日期] 2019-02-03

[修回日期] 2019-04-05

[基金项目] 济宁医学院教师科研扶持基金(JYFC2018KJ058);济宁医学院博士基金(600353002)

[作者简介] 王博,博士,讲师,研究方向为心血管免疫,E-mail为 wangbo414@163.com。通信作者宋莉,硕士,主治医师,研究方向为脑出血,E-mail为 sl00168@163.com。

of nuclear factor kappa B (NF- κ B), P53, Bax, Caspase-9, Caspase-3, tumor necrosis factor- α (TNF- α), interleukin-1beta (IL-1 β), IL-6, intercellular adhesion molecule -1 (ICAM-1) in brain tissue of I/R group were significantly higher than those in Sham group, the number of positive Nissl and the expression levels of SIRT1, Bcl-xL in brain tissue were significantly lower than those in Sham group ($P < 0.05$). The neurological deficit score, TUNEL positive rate and the expression levels of NF- κ B, P53, Bax, Caspase-9, Caspase-3, TNF- α , IL-1 β , IL-6, ICAM-1 in brain tissue of BP group were significantly lower than those in I/R group, the number of positive Nissl and the expression levels of SIRT1, Bcl-xL in brain tissue of BP group were significantly higher than those in I/R group ($P < 0.05$). The expression levels of Bax, Caspase-9, Caspase-3, TNF- α , IL-1 β , IL-6, ICAM-1 in brain tissue of BP+EX group were significantly higher than those in BP group, the expression levels of Bcl-xL in brain tissue of BP+EX group was significantly lower than those in BP group ($P < 0.05$). **Conclusion** Berberine preconditioning can alleviate inflammation and apoptosis in rats during cerebral ischemia-reperfusion by activating SIRT1 pathway.

缺血再灌注 (ischemia reperfusion, I/R) 是脑梗死患者接受再灌注治疗过程中必经的病理生理阶段, I/R 过程中炎症反应及细胞凋亡等病理环节的过度激活会引起或加重脑损伤, 进而在再灌注治疗后遗留神经功能缺损^[1-2]。Sirtuin1 (SIRT1) 是 SIRT 家族中参与炎症反应及细胞凋亡调控的重要成员, 参与脑 I/R 损伤的过程。SIRT1 一方面能够靶向抑制核因子 κ B (nuclear factor κ B, NF- κ B) 来阻碍下游多种炎症细胞因子的表达, 进而起到抑制炎症作用; 另一方面能够靶向 P53 来增强线粒体途径的细胞凋亡, 进而起到促凋亡作用。I/R 脑组织中低表达的 SIRT1 能够使其抗炎和抗凋亡作用减弱, 进而增强 I/R 过程中的炎症反应和细胞凋亡^[3-4]。小檗碱是近年来新发现具有抗炎、抗凋亡作用的药物。在心肌梗死动物模型中, 小檗碱被证实能够抑制心肌重塑; 在肝脏 I/R 动物模型中, 小檗碱被证实能够减轻肝脏的 I/R 损伤^[5-6]。为了明确小檗碱预处理在脑 I/R 损伤过程中的应用价值及机制, 本研究具体分析 SIRT1 通路是否介导小檗碱预处理减轻脑缺血再灌注大鼠炎症及凋亡。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选择 40 只 SPF 级成年雄性 SD 大鼠作为实验动物, 体质量 200 ~ 250 g。实验动物许可证号为 SCXK (鲁) 20190001, 购自山东大学实验动物中心。

1.2 实验试剂及仪器

小檗碱及 SIRT1 抑制剂 EX527 购自 Sigma 公司, TUNEL 染色试剂盒、BCA 蛋白定量检测试剂盒购自上海碧云天公司, 肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素 1 β (interleukin-1beta, IL-1 β)、IL-6、细胞间黏附分子 1 (intercellular adhesion molecule-1, ICAM-1) 的酶联免

疫吸附 (ELISA) 试剂盒购自上海西唐公司, SIRT1、核因子 κ B (nuclear factor kappa B, NF- κ B)、P53、B 细胞淋巴瘤因子 2 XL (B-cell leukemia 2 XL, Bcl-xL)、Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bcl-2 associated X protein, Bax)、含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶 (cysteinyll aspartate specific proteinase, Caspase)-9、Caspase-3、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ICAM-1 的一抗及对应的二抗均购自 CST 公司。荧光显微镜购自 Nikon 公司, 酶标仪购自 Bio-rad 公司。

1.3 动物分组

40 只 SD 大鼠随机分为假手术组 (Sham 组)、I/R 组、小檗碱预处理组 (berberine preconditioning, BP 组)、BP+SIRT1 抑制剂 EX527 处理组 (BP+EX 组), 每组各 10 只大鼠。

1.4 造模及给药方法

I/R 组、BP 组、BP+EX 组采用线栓法建立脑 I/R 模型。按照 50 mg/kg 剂量给予 3% 戊巴比妥钠腹腔注射麻醉, 分离右侧颈内动脉, 用动脉夹暂时夹闭近心端后在远心端做一小切口, 将线栓经切口插入, 遇到阻力后停止并缝合切口, 使脑组织缺血 90 min 后取出线栓, 再灌注 24 h 后进行神经功能评价及脑组织取材。假手术组进行颈内动脉分离及夹闭的操作, 夹闭时间同造模大鼠, 约 10 ~ 15 min, 但不进行线栓置入。BP 组在造模前 14 天开始给予小檗碱 100 mg/(kg · d) 灌胃, 连续 14 天; BP+EX 组在造模前 14 天开始给予小檗碱 100 mg/(kg · d) 灌胃以及 SIRT1 抑制剂 EX527 5 mg/(kg · d) 腹腔注射, 连续 14 天。假手术组和 I/R 组给予等剂量生理盐水灌胃及腹腔注射。

1.5 神经功能损害的评价

采用 ZeaLonga 评分法进行神经功能损害的评价, 具体标准如下: 0 分为无神经功能损伤症状, 1 分为 I/R 脑组织对侧前爪无法完全伸展, 2 分为行走时向 I/R 脑组织对侧旋转, 3 分为行走时向 I/R 脑

组织对侧倾斜,4分为意识丧失。

1.6 标本收集及保存

断头处死大鼠后留取血液标本,静置 30 min 后离心分离血清标本,放置在 -80°C 保存。解剖 I/R 脑组织并分为两份,一份用 10% 多聚甲醛固定过夜后石蜡包埋,放置蜡块常温保存;另一份用液氮冷冻后取出,放置在 -80°C 保存。

1.7 TUNEL 染色及 Nissl 染色

取蜡块并制作石蜡切片,按照 TUNEL 试剂盒的说明书进行操作,完成 TUNEL 染色和 DAPI 染色后在荧光显微镜下观察,计算 TUNEL 阳性染色细胞所占比例;另取石蜡切片,加入 1% 甲苯胺蓝溶液并在 50°C 条件下染色 20 min,脱水后在显微镜下观察 Nissl 阳性细胞数目。

1.8 Western blot 检测蛋白表达

取 -80°C 保存的经液氮冷冻的组织,采用 RIPA 裂解液分离组织中的蛋白质并采用 BCA 蛋白定量检测试剂盒测定总蛋白含量,每例组织对应的蛋白取 50 μg 用于 Western blot 检测,将蛋白样本加入 SDS-聚丙烯酰胺凝胶的点样槽内,进行垂直电泳后将凝胶上的蛋白质电转移至 NC 膜,NC 膜在 5% 脱脂牛奶中封闭 2 h 后用(1:1 000)~(1:2 000)稀释的 SIRT1、NF- κB 、P53、Bcl-xL、Bax、Caspase-9、Caspase-3、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ICAM-1、 β -actin 一抗孵育过夜(4°C),第 2 天取出 NC 膜并孵育 1:1 000 稀释二抗 1~2 h,最后加入显影液并在显影液中获取蛋白电泳图,以 β -actin 为内参,计算 SIRT1、NF- κB 、P53、Bcl-xL、Bax、Caspase-9、Caspase-3、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ICAM-1 的蛋白表达水平。

1.9 ELISA 检测细胞因子含量

取血清标本,按照 ELISA 试剂盒的说明书进行操作,测定血清中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ICAM-1 的

含量。

1.10 统计学方法

采用 SPSS21.0 软件进行统计学分析,计量资料符合方差齐性后采用方差分析进行多组间的比较, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小檗碱预处理对脑 I/R 大鼠神经功能损害的调节作用

I/R 组大鼠的神经功能缺损评分及脑组织 TUNEL 阳性率较假手术组明显增加,Nissl 阳性数目较假手术组明显减少($P<0.05$);BP 组大鼠神经功能缺损评分及脑组织 TUNEL 阳性率较 I/R 组明显下降,Nissl 阳性数目较 I/R 组明显增加($P<0.05$);BP+EX 组大鼠的神经功能缺损评分及脑组织 TUNEL 阳性率较 BP 组明显增加,Nissl 阳性数目较 BP 组明显减少($P<0.05$;表 1 和图 1)。

表 1. 各组大鼠神经功能缺损评分、TUNEL 阳性率、Nissl 阳性数目的比较

Table 1. Comparison of neurological deficit score, TUNEL positive rate and Nissl positive number in rats of each group

| 分 组 | <i>n</i> | 神经功能 缺损评分 | TUNEL 阳性率 | Nissl 阳性数目 |
|---------|----------|------------------------|-------------------------|---------------------------|
| 假手术组 | 10 | 0.31±0.09 | 2.41±0.62 | 172.93±28.69 |
| I/R 组 | 10 | 3.12±0.52 ^a | 16.68±3.48 ^a | 54.47±8.16 ^a |
| BP 组 | 10 | 1.68±0.28 ^b | 6.03±0.96 ^b | 101.33±17.67 ^b |
| BP+EX 组 | 10 | 2.52±0.42 | 12.12±2.03 ^c | 84.51±14.51 ^c |

a 为 $P<0.05$,与假手术组比较;b 为 $P<0.05$,与 I/R 组比较;c 为 $P<0.05$,与 BP 组比较。

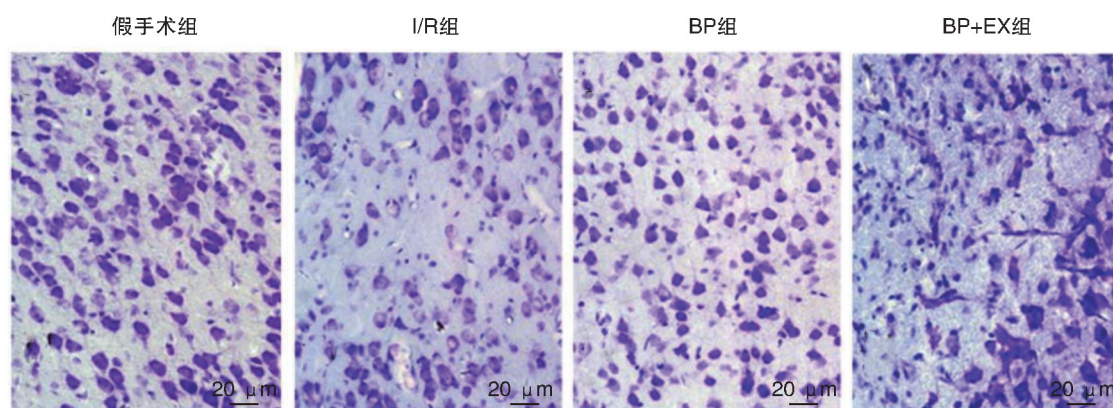


图 1. 各组脑组织 Nissl 染色图

Figure 1. Nissl staining image of brain tissues in each group

2.2 小檗碱预处理对脑 I/R 大鼠 SIRT1 通路的调节作用

与假手术组比较, I/R 组大鼠脑组织中 SIRT1/ β -actin 的水平明显下降, NF- κ B p65/ β -actin、P53/ β -actin 的水平明显增加 ($P < 0.05$); 与 I/R 组比较, BP 组大鼠脑组织中 SIRT1/ β -actin 的水平明显增加, NF- κ B p65/ β -actin、P53/ β -actin 的水平明显下降 ($P < 0.05$); 与 BP 组比较, BP+EX 组大鼠脑组织中 SIRT1/ β -actin 的水平明显下降, NF- κ B p65/ β -actin、P53/ β -actin 的水平明显增加 ($P < 0.05$; 图 2)。

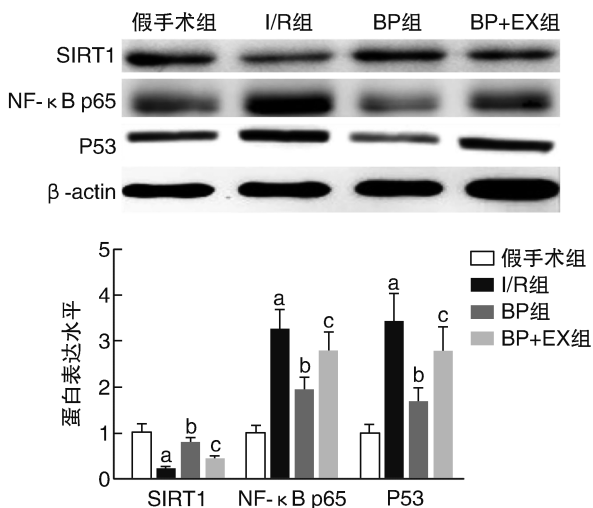


图 2. 各组脑组织中 SIRT1、NF- κ B、P53 的蛋白表达水平 ($n = 10$) a 为 $P < 0.05$, 与假手术组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 I/R 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 BP 组比较。

Figure 2. Protein expression levels of SIRT1, NF- κ B, P53 in brain tissues of each group ($n = 10$)

2.3 SIRT1 通路在小檗碱预处理调节脑 I/R 大鼠凋亡基因中的作用

与假手术组比较, I/R 组大鼠脑组织中 Bax/ β -actin、Caspase-9/ β -actin、Caspase-3/ β -actin 的水平明显增加, Bcl-xL/ β -actin 的水平明显下降 ($P < 0.05$); 与 I/R 组比较, BP 组大鼠脑组织中 Bax/ β -actin、Caspase-9/ β -actin、Caspase-3/ β -actin 的水平明显下降, Bcl-xL/ β -actin 的水平明显增加 ($P < 0.05$); 与 BP 组比较, BP+EX 组大鼠脑组织中 Bax/ β -actin、

表 2. 各组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ICAM-1 含量的比较

Table 2. Comparison of serum contents of TNF-alpha, IL-1beta, IL-6 and ICAM-1 in rats of each group

| 分 组 | n | TNF- α (μ g/L) | IL-1 β (ng/L) | IL-6 (ng/L) | ICAM-1 (μ g/L) |
|---------|----|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|-------------------------------|
| 假手术组 | 10 | 17.42 \pm 2.46 | 54.29 \pm 8.79 | 73.40 \pm 9.39 | 3.31 \pm 0.62 |
| I/R 组 | 10 | 34.29 \pm 6.15 ^a | 98.31 \pm 12.31 ^a | 127.62 \pm 17.62 ^a | 8.71 \pm 10.38 ^a |
| BP 组 | 10 | 23.14 \pm 5.23 ^b | 67.61 \pm 9.28 ^b | 89.94 \pm 12.12 ^b | 5.03 \pm 0.79 ^b |
| BP+EX 组 | 10 | 29.71 \pm 4.69 ^c | 84.51 \pm 11.29 ^c | 108.51 \pm 15.52 ^c | 7.31 \pm 0.94 ^c |

a 为 $P < 0.05$, 与假手术组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 I/R 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 BP 组比较。

Caspase-9/ β -actin、Caspase-3/ β -actin 的水平明显增加, Bcl-xL/ β -actin 的水平明显下降 ($P < 0.05$; 图 3)。

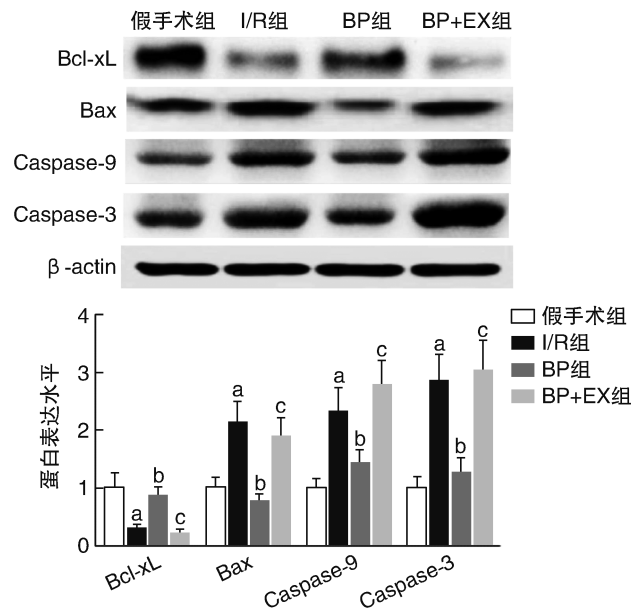


图 3. 各组大鼠脑组织中 Bcl-xL、Bax、Caspase-9、Caspase-3 的蛋白表达水平 ($n = 10$) a 为 $P < 0.05$, 与假手术组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 I/R 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 BP 组比较。

Figure 3. Protein expression levels of Bcl-xL, Bax, Caspase-9, Caspase-3 in brain tissues of each group ($n = 10$)

2.4 SIRT1 通路在小檗碱预处理调节脑 I/R 大鼠炎症细胞因子中的作用

与假手术组比较, I/R 组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ICAM-1 含量及脑组织中 TNF- α / β -actin、IL-1 β / β -actin、IL-6/ β -actin、ICAM-1/ β -actin 的水平均明显增加 ($P < 0.05$); 与 I/R 组比较, BP 组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ICAM-1 含量及脑组织中 TNF- α / β -actin、IL-1 β / β -actin、IL-6/ β -actin、ICAM-1/ β -actin 的水平明显下降 ($P < 0.05$); 与 BP 组比较, BP+EX 组大鼠血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ICAM-1 含量及脑组织中 TNF- α / β -actin、IL-1 β / β -actin、IL-6/ β -actin、ICAM-1/ β -actin 的水平明显增加 ($P < 0.05$; 表 2 和图 4)。

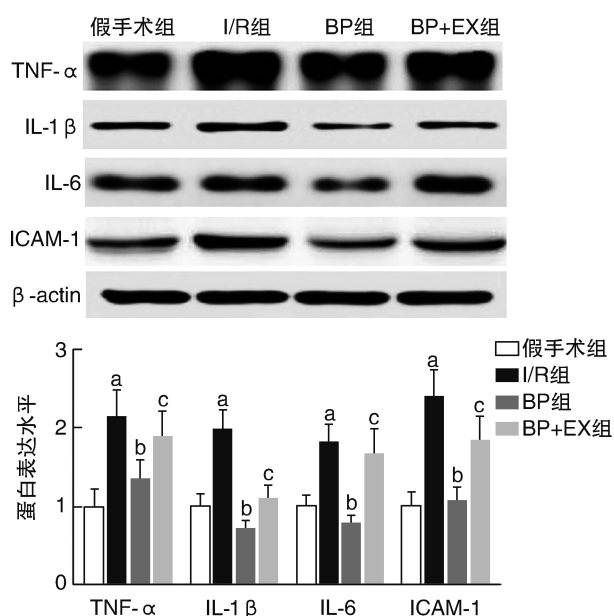


图 4. 各组脑组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ICAM-1 的蛋白表达水平 ($n=10$) a 为 $P<0.05$, 与假手术组比较; b 为 $P<0.05$, 与 I/R 组比较; c 为 $P<0.05$, 与 BP 组比较。

Figure 4. Protein expression levels of TNF- α , IL-1 β , IL-6, ICAM-1 in brain tissues of each group ($n=10$)

3 讨论

脑 I/R 损伤是影响脑梗死患者再灌注治疗效果的重要病理生理过程,也是造成脑梗死患者遗留神经功能缺损的重要原因。为了探究脑 I/R 的防治手段,本研究首先通过线栓法建立了大鼠脑 I/R 模型,通过神经功能缺损评分、TUNEL 染色、Nissl 染色评价神经损害程度,发现 I/R 组大鼠的神经功能缺损评分及脑组织的 TUNEL 阳性率均明显增加,而 Nissl 阳性数目明显减少,提示脑 I/R 大鼠出现明显的神经功能损害且脑组织中的细胞出现损伤、凋亡数目增多。小檗碱是从植物黄连的根状茎中提取的主要有效成分,已经被证实能够减轻大鼠心脏及肝脏 I/R 损伤的程度^[6-7]。本研究将小檗碱用于脑 I/R 的干预,在制作脑 I/R 模型前连续 14 天给予小檗碱预处理后观察到:BP 组大鼠的神经功能缺损评分及脑组织的 TUNEL 阳性率均明显减少,而 Nissl 阳性数目明显增加,提示小檗碱预处理能够减轻脑 I/R 损伤的程度,具有神经保护作用。

炎症反应和细胞凋亡是与脑 I/R 损伤密切相关的病理环节,SIRT1 是细胞内调节炎症反应和细胞凋亡的信号分子,通过抑制 NF- κ B 的活化能够抑制炎症反应、抑制 P53 的表达而阻碍细胞凋亡。在中

枢神经系统中,SIRT1 广泛表达于皮质、海马、小脑等组织^[8];缺血缺氧、缺血再灌注、外伤等病理刺激能够使 SIRT1 受到抑制,进而造成 SIRT1 介导的抗炎及抗凋亡作用减弱,最终导致炎症反应和细胞凋亡过度激活^[9-10]。本研究对 I/R 脑组织中 SIRT1 及下游信号分子表达的分析显示,I/R 组大鼠脑组织中 SIRT1 的表达水平明显降低而 NF- κ B 和 P53 的表达水平明显增多,提示 SIRT1 受抑制及下游 NF- κ B 和 P53 的过度活化参与脑 I/R 损伤的过程。用小檗碱对脑 I/R 大鼠预处理后观察到,BP 组大鼠脑组织中 SIRT1 的表达水平明显增加而 NF- κ B 和 P53 的表达水平明显减少,提示小檗碱预处理能够促进脑 I/R 过程中 SIRT1 的激活,进而通过 SIRT1 的激活来起到抗炎和抗凋亡作用。

SIRT1 的抗炎作用通过抑制 NF- κ B 的活化来介导,活化的 NF- κ B 能够进入细胞核并启动炎症细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ICAM-1 的表达^[11]。TNF- α 、IL-1 β 具有促炎活性,能够促进多种炎症细胞发生活化并在 I/R 脑组织局部浸润;IL-6 具有调节炎症及免疫的多种活性,能够促进脑 I/R 局部发生炎症和免疫损伤;ICAM-1 具有促进细胞黏附的作用,能够促进炎症细胞向神经元、神经胶质黏附并介导 I/R 脑组织的炎症反应^[12-14]。本研究对上述炎症细胞因子的分析发现,I/R 组大鼠脑组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ICAM-1 的表达水平及血清中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ICAM-1 的含量均明显增多,提示炎症反应的过度激活参与脑 I/R 损伤的过程。用小檗碱对脑 I/R 大鼠预处理后观察到,BP 组大鼠脑组织及血清中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、ICAM-1 水平均明显减少,而在联合使用 SIRT1 抑制剂 EX527 后小檗碱预处理减少炎症细胞因子表达的作用被削弱。提示小檗碱预处理能够抑制脑 I/R 过程中炎症细胞因子的表达和释放,并且该作用由 SIRT1 的活化所介导。

SIRT1 的抗凋亡作用通过抑制 P53 的表达来介导,P53 能够靶向调节线粒体途径凋亡基因的表达来促进细胞凋亡的发生^[15]。Bcl-2 是线粒体途径凋亡的抑制基因,Bax 是线粒体途径凋亡的促进基因,P53 通过抑制 Bcl-2 表达、增加 Bax 表达来促进线粒体内的细胞色素 C 向细胞质释放,进而通过细胞色素 C 的活性来依次激活 Caspase-9、Caspase-3 并最终促进细胞凋亡^[16-18]。本研究对上述凋亡基因的分析发现,I/R 组大鼠脑组织中 Bcl-2 的表达水平明显减少,Bax、Caspase-9、Caspase-3 的表达水平明显增多,提示线粒体途径凋亡的过度激活参与脑 I/R 损伤的过程。用小檗碱对脑 I/R 大鼠预处理后观察

到, BP 组大鼠脑组织中 Bcl-2 的表达水平明显增多, Bax、Caspase-9、Caspase-3 的表达水平明显减少, 而在联合使用 SIRT1 抑制剂 EX527 后小檗碱预处理调节凋亡基因表达的作用被削弱。提示小檗碱预处理能够抑制脑 I/R 过程中的线粒体凋亡, 并且该作用由 SIRT1 的活化所介导。

综上所述, 小檗碱预处理能够减轻大鼠脑 I/R 损伤的程度并使 SIRT1 通路激活, 炎症及凋亡受抑制, 并且小檗碱预处理调节炎症及凋亡的效应能够被 SIRT1 的抑制剂削弱, 表明 SIRT1 通路的活化介导了小檗碱预处理减轻大鼠脑 I/R 损伤的作用。

[参考文献]

- [1] Kaesmacher J, Chaloulos-Iakovidis P, Panos L, et al. Clinical effect of successful reperfusion in patients presenting with NIHSS <8: data from the BEYOND-SWIFT registry [J]. *J Neurol*, 2019, 266(3): 598-608.
- [2] Gariel F, Lapergue B, Bourcier R, et al. Mechanical thrombectomy outcomes with or without intravenous thrombolysis [J]. *Stroke*, 2018, 49(10): 2383-2390.
- [3] Tian F, Yuan C, Yue H. MiR-138/SIRT1 axis is implicated in impaired learning and memory abilities of cerebral ischemia/reperfusion injured rats [J]. *Exp Cell Res*, 2018, 367(2): 232-240.
- [4] 马毓, 巩莉, 党辉, 等. 脑缺血再灌注后大鼠缺血侧脑组织中 SIRT1 的表达 [J]. *贵州医科大学学报*, 2017, 42(9): 1028-1032.
- [5] Lin Y, Sheng M, Weng Y, et al. Berberine protects against ischemia/reperfusion injury after orthotopic liver transplantation via activating Sirt1/FoxO3 α induced autophagy [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2017, 483(2): 885-891.
- [6] Martins RM, Pinto Rolo A, Soeiro Teodoro J, et al. Addition of berberine to preservation solution in an animal model of ex vivo liver transplant preserves mitochondrial function and bioenergetics from the damage induced by ischemia/reperfusion [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(1): 284.
- [7] 于立明, 段维勋, 赵国龙, 等. 小檗碱减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤 [J]. *基础医学与临床*, 2016, 36(4): 433-438.
- [8] Ding P, Ren D, He S, et al. Sirt1 mediates improvement in cognitive defects induced by focal cerebral ischemia following hyperbaric oxygen preconditioning in rats [J]. *Physiol Res*, 2017, 66(6): 1029-1039.
- [9] Lu H, Wang B. SIRT1 exerts neuroprotective effects by attenuating cerebral ischemia/reperfusion-induced injury via targeting p53/microRNA-22 [J]. *Int J Mol Med*, 2017, 39(1): 208-216.
- [10] Kaur H, Kumar A, Jaggi AS, et al. Pharmacologic investigations on the role of Sirt-1 in neuroprotective mechanism of postconditioning in mice [J]. *J Surg Res*, 2015, 197(1): 191-200.
- [11] Sun WH, He F, Zhang NN, et al. Time dependent neuroprotection of dexamethasone in experimental focal cerebral ischemia: the involvement of NF- κ B pathways [J]. *Brain Res*, 2018, 15(1701): 237-245.
- [12] Lv Z, Liu C, Zhai M, et al. LPS pretreatment attenuates cerebral ischaemia/reperfusion injury by inhibiting inflammation and apoptosis [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 45(6): 2246-2256.
- [13] Xu G, Gu H, Hu B, et al. PEG-b-(PELG-g-PLL) nanoparticles as TNF- α nanocarriers: potential cerebral ischemia/reperfusion injury therapeutic applications [J]. *Int J Nanomedicine*, 2017, 23(12): 2243-2254.
- [14] Yang M, Chen Y, Wu Z, et al. The impact of chronic intermittent hypoxia on the expression of intercellular cell adhesion molecule-1 and vascular endothelial growth factor in the ischemia-reperfusion rat model [J]. *Folia Neuro-pathol*, 2018, 56(3): 159-166.
- [15] Li J, Chen G, Gao X, et al. p53 participates in the protective effects of ischemic post-conditioning against OGD-reperfusion injury in primary cultured spinal cord neurons [J]. *Neurosci Lett*, 2017, 18(638): 129-134.
- [16] Badr R, Hashemi M, Javadi G, et al. Assessment of global ischemic/reperfusion and Tacrolimus administration on CA1 region of hippocampus: gene expression profiles of Bax and Bcl2 genes [J]. *Bratisl Lek Listy*, 2016, 117(6): 358-362.
- [17] Xie YL, Zhang B, Jing L. MiR-125b blocks Bax/Cytochrome C/Caspase-3 apoptotic signaling pathway in rat models of cerebral ischemia-reperfusion injury by targeting p53 [J]. *Neurol Res*, 2018, 40(10): 828-837.
- [18] Zhang ZL, Qin P, Liu Y, et al. Alleviation of ischaemia-reperfusion injury by endogenous estrogen involves maintaining Bcl-2 expression via the ER α signalling pathway [J]. *Brain Res*, 2017, 15(1661): 15-23.

(此文编辑 许雪梅)