

本文引用: 曾恒, 仇丽雅, 黄青青. 布托啡诺调节 PKA/CREB 信号通路对缺血性脑卒中大鼠神经元焦亡的影响[J]. 中国动脉硬化杂志, 2024, 32(1): 17-23. DOI: 10.20039/j.cnki.1007-3949.2024.01.003.

[文章编号] 1007-3949(2024)32-01-0017-07

· 实验研究 ·

布托啡诺调节 PKA/CREB 信号通路对缺血性脑卒中 大鼠神经元焦亡的影响

曾恒¹, 仇丽雅¹, 黄青青²

1. 广元市第一人民医院麻醉科, 四川省广元市 628000; 2. 中国人民解放军西部战区总医院麻醉科, 四川省成都市 610000

[摘要] **[目的]** 探讨布托啡诺对缺血性脑卒中大鼠神经元焦亡的影响及其在蛋白激酶 A(PKA)/环磷酸腺苷(cAMP)反应元件结合蛋白(CREB)通路中的作用。**[方法]** 使用 SD 大鼠建立缺血性脑卒中大鼠模型, 所有大鼠分为对照组、模型组、布托啡诺低剂量组(布托啡诺 L 组)、布托啡诺高剂量组(布托啡诺 H 组)、布托啡诺+PKA 抑制剂(H-89)组, 对大鼠行神经功能评分, TTC 染色检测脑梗死体积, HE 染色观察脑组织病理特征, 轴铅双染色海马区观察神经元焦亡, 免疫荧光检测 NOD 样受体热蛋白结构域相关蛋白 3(NLRP3)炎症小体、Caspase-1 的表达, 酶联免疫吸附法(ELISA)检测白细胞介素 1 β (IL-1 β)、IL-18、cAMP 的含量, Western blot 检测磷酸化 PKA(p-PKA)、PKA、p-CREB、CREB 蛋白表达水平。**[结果]** 与对照组比较, 模型组大鼠脑组织间隙变大, 神经元细胞膜缺损, 细胞核膜凹陷、固缩, 神经功能评分升高, 脑梗死体积增加, NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 和 IL-18 水平增加, cAMP、p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 蛋白表达水平下降($P < 0.05$); 与模型组比较, 布托啡诺 L、H 组脑组织结构较完整, 神经元细胞结构异常改善, 神经功能评分降低, 脑梗死体积减小, NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 和 IL-18 水平降低, cAMP、p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 蛋白表达水平升高($P < 0.05$); 与布托啡诺 H 组比较, 布托啡诺+H-89 组脑组织细胞空泡变性增加, 神经元结构异常, 神经功能评分升高, 脑梗死体积增加, NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 和 IL-18 水平增加, cAMP、p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 蛋白表达水平下降($P < 0.05$)。**[结论]** 布托啡诺显著抑制缺血性脑卒中大鼠神经元焦亡, 可能与激活 PKA/CREB 信号通路有关。

[关键词] 布托啡诺; 缺血性脑卒中; 蛋白激酶 A/环磷酸腺苷反应元件结合蛋白; 神经元焦亡

[中图分类号] R7;R5

[文献标识码] A

The effect of butorphanol on neuronal pyroptosis in ischemic stroke rats by regulating the PKA/CREB signaling pathway

ZENG Heng¹, CHOU Liya¹, HUANG Qingqing²

1. Department of Anesthesiology, the First People's Hospital of Guangyuan, Guangyuan, Sichuan 628000, China; 2. Department of Anesthesiology, General Hospital of Western Theater Command, PLA, Chengdu, Sichuan 610000, China

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of butorphanol on neuronal pyroptosis in ischemic stroke rats and its role in protein kinase A (PKA)/cyclic adenosine phosphate (cAMP) response element binding protein (CREB).

Methods A rat model of ischemic stroke was established using SD rats. All rats were divided into control group, model group, butorphanol low-dose group (butorphanol L group), butorphanol high-dose group (butorphanol H group) and butorphanol+PKA inhibitor (H-89) group. Neurological function was scored, TTC staining was used to detect cerebral infarction volume, and pathological characteristics of brain tissue were detected by HE staining. Neuronal pyroptosis was observed by uranium lead double staining in hippocampus. The expression of inflammasome NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3(NLRP3) and Caspase-1 were detected by immunofluorescence, and the contents of interleukin-1 β (IL-1 β), IL-18 and cAMP were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The expression levels of phosphorylated PKA (p-PKA), PKA, p-CREB and CREB protein were detected by Western blot. **Results**

Compared with the control group, the brain space of rats in the model group was enlarged, the neuron cell membrane was

[收稿日期] 2023-09-20

[修回日期] 2023-11-28

[基金项目] 广元市指导性科技计划项目(21ZDYF0064)

[作者简介] 曾恒, 硕士, 主治医师, 研究方向为麻醉与器官保护, E-mail: a7ji6pk5@163.com。

defective, the nucleus and nuclear membrane were sunken and constricted, and the nerve function scores, cerebral infarction volume, NLRP3, Caspase-1, IL-1 β and IL-18 levels were increased; the expression levels of cAMP, p-PKA/PKA and p-CREB/CREB protein were decreased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the brain structure of butorphanol L and H groups was more complete, the neuronal cell structure was improved, the neural function scores, cerebral infarction volume, NLRP3, Caspase-1, IL-1 β and IL-18 levels were decreased, and the protein expression levels of cAMP, p-PKA/PKA and p-CREB/CREB were increased ($P < 0.05$). Compared with butorphanol H group, butorphanol+H-89 group increased vacuolar degeneration of brain tissue, abnormal neuronal structure, neural function scores, cerebral infarction volume, NLRP3, Caspase-1, IL-1 β and IL-18 levels; and the expression levels of cAMP, p-PKA/PKA and p-CREB/CREB protein were decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Butorphanol significantly inhibits neuronal pyroptosis in ischemic stroke rats, which may be related to the activation of PKA/CREB signaling pathway.

[**KEY WORDS**] butorphanol; ischemic stroke; protein kinase A/cAMP-response element binding protein; neuronal pyroptosis

由于大脑供血严重不足,导致大脑供氧不足,神经元死亡,极易引起缺血性脑卒中。炎症反应是缺血性损伤的基础,且上调了神经元细胞焦亡相关基因的表达,目前仍缺乏改善缺血性脑卒中后功能恢复的有效方法^[1-2]。布托啡诺(butorphanol)属于阿片受体部分激动剂,常用于缓解中、重度疼痛。已有研究指出,布托啡诺可以通过降低炎症因子的含量减轻脓毒症大鼠的脑损伤^[3];另有研究显示,布托啡诺还可以降低神经元炎症反应和细胞凋亡,从而促进神经功能的恢复^[4],但对缺血性脑卒中神经元焦亡的研究较少。环磷酸腺苷(cyclic AMP, cAMP)可以直接调控细胞生物学行为,蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)是cAMP的下游因子,cAMP反应元件结合蛋白(cAMP response element binding protein, CREB)是PKA的底物之一。Yan等^[5]发现激活PKA/CREB信号通路改善脑出血小鼠神经元细胞焦亡和神经功能缺损。布托啡诺对PKA/CREB轴的调控作用还不清楚。因此,本研究将构建缺血性脑卒中动物模型,探讨布托啡诺对缺血性脑卒中大鼠神经元焦亡的影响以及对PKA/CREB轴的调控作用,以期能为布托啡诺的临床应用提供理论参考。

1 材料和方法

1.1 实验动物

7~8周龄SD雄性大鼠,购自四川大学(许可证号:SCXK(川)2018-026),饲养环境为SPF级动物房。

1.2 药物和试剂

布托啡诺注射液(每毫升含布托啡诺1 mg;国药准字H20020454)购自江苏恒瑞;PKA抑制剂(H-89, HY-15979)购自美国MCE公司;戊二醛固定液(P1126)购自北京索莱宝;白细胞介素1 β

(interleukin-1 β , IL-1 β)(J22380)、IL-18(J22389)、cAMP(J22907)ELISA试剂盒购自吉利德生物;炎症小体NOD样受体热蛋白结构域相关蛋白3(NOD-like receptor thermal protein domain associated protein 3, NLRP3)一抗(AF2155)购自碧云天生物;半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶1(cysteiny aspartate specific proteinase-1, Caspase-1)一抗(22915-1-AP)、PKA(55382-1-AP)和CREB(12208-1-AP)一抗购自武汉三鹰。

1.3 建模及分组

参照Zea Longa线栓法建立缺血性脑卒中模型^[6]:大鼠禁食不禁水12 h,乙醚麻醉,仰卧位固定,暴露左侧颈总动脉,剥离颈内、外动脉,行动脉栓塞,结扎颈总和颈外动脉近心端,颈总动脉近分叉处剪一小口,向颈内动脉处插入线栓约16~18 mm,遇阻力时停止,结扎,留线栓尾部,缝合切口;缺血1 h后,拔出线栓。造模完成后,大鼠左侧肢疼痛回缩迟钝、行进中身体左倾/向左转圈、倒悬时左上肢屈曲以及神经损伤评分在1~3分之间,表示建模成功^[7]。

所有大鼠分为对照组、模型组、布托啡诺低剂量组(布托啡诺L组)、布托啡诺高剂量组(布托啡诺H组)、布托啡诺+PKA抑制剂(H-89)组,每组25只大鼠。除对照组外,其余组大鼠均构建缺血性脑卒中模型,对照组大鼠仅暴露颈总、内、外动脉,不插线栓。建模完成24 h后,布托啡诺L、H组大鼠分别静脉注射20 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 、50 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 布托啡诺^[8];布托啡诺+H-89组大鼠静脉注射50 $\mu\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ 布托啡诺及腹腔注射1 $\text{mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ H-89^[9];对照组和模型组静脉注射等量生理盐水。给药持续14天,建模和给药过程中损失动物及时补充。

1.4 神经功能评分

给药结束后,根据大鼠神经功能缺损评判标准对各组大鼠神经功能评分^[10]:0分表示无神经学损

伤症状;6分表示有明显意识障碍,无自发活动。根据大鼠神经功能损伤严重程度匹配0~6分,总分最大值18分。

1.5 TTC 染色检测脑梗死体积

神经功能评分结束后,每组取5只大鼠,用戊巴比妥钠麻醉迅速取脑,于-20℃冰箱速冻20 min,20 min后将脑组织行冠状切片(厚度2 mm),放入TTC染液中染色30 min,染色后4%多聚甲醛固定,拍照记录,Image J软件分析各组大鼠脑梗死体积,正常大脑区域被染成深红色,梗死区域被染成白色。相对脑梗死体积=切片苍白色缺血区体积/切片总体积×100%。

1.6 脑组织病理变化检测

每组取5只大鼠,麻醉,处死,采集脑组织,多聚甲醛固定,制作石蜡切片,HE染液染色后观察脑组织病理变化。

1.7 神经元焦亡观察

使用钼铅双染色海马区神经元。每组选取5只大鼠,断头取脑,使用2.5%戊二醛固定4 h;再置于1%锇酸中固定2 h;脱水,包埋,切片,钼铅双染色,电镜下观察缺血侧海马区神经元。

1.8 脑组织 NLRP3、Caspase-1 表达检测

每组取5只大鼠,心脏灌注,采集脑组织,多聚甲醛固定,制作冰冻切片;修复抗原,封闭30 min,滴加一抗NLRP3、Caspase-1孵育过夜,荧光二抗孵育1 h,DAPI染色5 min,显微镜下统计NLRP3、Caspase-1阳性染色细胞比例。

1.9 脑组织 IL-1β、IL-18、cAMP 的含量检测

取每组剩余5只大鼠,麻醉后处死,剪取脑梗死交界区域脑组织,匀浆后分装储存。取一份脑组织匀浆液,使用ELISA试剂盒检测焦亡标志蛋白IL-1β、IL-18、cAMP的含量。

1.10 脑组织 p-PKA、PKA、p-CREB、CREB 蛋白表达检测

取1.8脑组织匀浆液,定量总蛋白浓度;配制凝胶,上样10 μg,电泳,转膜,封闭PVDF膜,剪切目的条带,分别置于磷酸化PKA(phosphorylated PKA, p-PKA)、PKA、p-CREB、CREB抗体稀释液中过夜,二抗和ECL超敏化学发光液孵育,分析蛋白表达水平。

1.11 统计学分析

所有数据符合正态分布并以 $\bar{x} \pm s$ 表示,使用GraphPad Prism 8.0.2分析,多组间差异采用单因素方差分析比较,组间两两比较采用LSD-*t*检验, $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 神经功能评分和脑梗死体积

与对照组比较,模型组大鼠神经功能评分升高,脑梗死体积增加,差异有统计学意义(均 $P < 0.05$);与模型组比较,布托啡诺L、H组大鼠神经功能评分约减小33.24%、47.95%,脑梗死体积约减小37.19%、65.38%(均 $P < 0.05$);与布托啡诺H组比较,布托啡诺+H-89组大鼠神经功能评分约升高61.80%,脑梗死体积约增加126.24%(均 $P < 0.05$;图1和表1)。

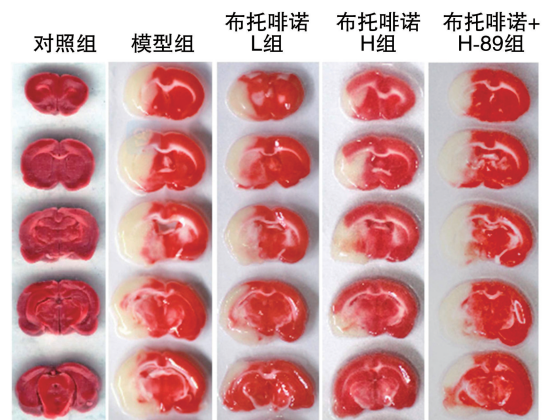


图1. 各组大鼠脑组织TTC染色结果

Figure 1. TTC staining results of brain tissue of rats in each group

表1. 各组大鼠神经功能评分和脑梗死体积比较
Table 1. Comparison of neural function scores and cerebral infarction volume in each group

分组	神经功能评分/分 (n=25)	脑梗死体积/% (n=5)
对照组	0.00±0.00	0.00±0.00
模型组	6.84±0.72 ^a	32.70±2.89 ^a
布托啡诺L组	4.60±0.54 ^b	20.54±2.16 ^b
布托啡诺H组	3.56±0.43 ^{bc}	11.32±1.77 ^{bc}
布托啡诺+H-89组	5.76±0.56 ^d	25.61±2.40 ^d
<i>F</i>	527.346	185.518
<i>P</i>	<0.001	<0.001

注:a为 $P < 0.05$,与对照组比较;b为 $P < 0.05$,与模型组比较;c为 $P < 0.05$,与布托啡诺L组比较;d为 $P < 0.05$,与布托啡诺H组比较。

2.2 脑组织病理变化

对照组脑组织结构完整,细胞排列整齐;模型组脑组织间隙变大,可见细胞空泡变性;与模型组

比较,布托啡诺 L、H 组大鼠脑组织结构较完整,细胞间隙减少;与布托啡诺 H 组比较,布托啡诺+H-89 组细胞空泡变性增加(图 2)。

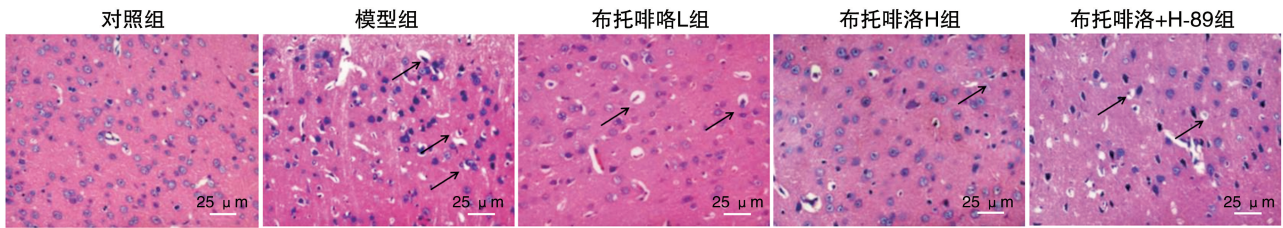


图 2. 各组大鼠脑组织 HE 染色结果($n=5$)

箭头表示细胞空泡变性。

Figure 2. HE staining results of brain tissue of rats in each group($n=5$)

2.3 神经元焦亡变化

对照组神经元细胞形态结构正常;模型组细胞膜缺损,细胞核核膜凹陷模糊、固缩增多,线粒体及粗面内质网明显扩张;与模型组比较,布托啡诺 L、H

组细胞膜较完整,细胞核核膜凹陷和固缩减少,线粒体及粗面内质网明显扩张得到改善;布托啡诺+H-89 组细胞超微结构形态发生改变,染色结果与模型组类似(图 3)。

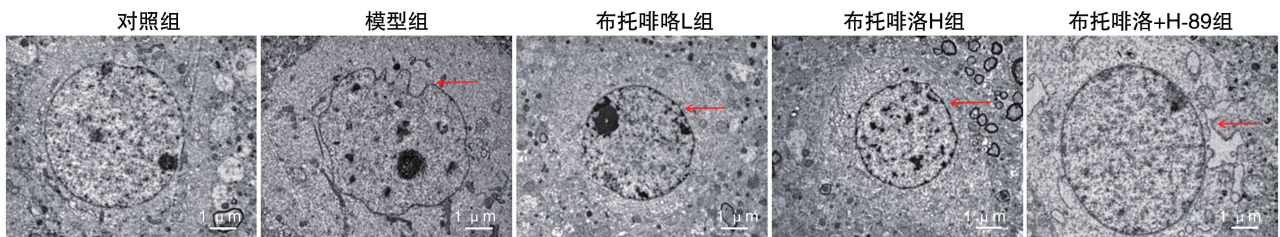


图 3. 各组大鼠神经元焦亡电镜图($n=5$)

箭头表示细胞核核膜凹陷模糊、固缩。

Figure 3. Electron microscopic images of neuronal pyroptosis in each group($n=5$)

2.4 脑组织 NLRP3、Caspase-1 表达水平

与对照组比较,模型组 NLRP3、Caspase-1 表达增加近 10 倍($P<0.05$);与模型组比较,布托啡诺 L、H 组 NLRP3 表达约减少 14.36%、37.43%, Caspase-1 表达约减少 20.51%、35.62% ($P<0.05$);与布托啡诺 H 组比较,布托啡诺+H-89 组 NLRP3、Caspase-1 表达约增加 52.04%、48.83% ($P<0.05$;图 4)。

2.5 脑组织 IL-1 β 、IL-18、cAMP 含量比较

与对照组比较,模型组 IL-1 β 、IL-18 含量升高约 3.58 倍、2.80 倍,cAMP 含量下降约 71.71% (均 $P<0.05$);与模型组比较,布托啡诺 L、H 组 IL-1 β 含量约降低 32.92%、60.38%, IL-18 含量约降低 25.85%、51.85%, cAMP 含量升高约 1.96 倍、3.26 倍 (均 $P<0.05$);与布托啡诺 H 组比较,布托啡诺+H-89 组 IL-1 β 、IL-18 含量升高约 2.43 倍、1.91 倍,cAMP 含量约降低 68.55% ($P<0.05$;表 2)。

表 2. 各组大鼠脑组织 IL-1 β 、IL-18、cAMP 含量比较($n=5$)

Table 2. Comparison of IL-1 β , IL-18 and cAMP contents in brain tissues of rats in each group($n=5$)

分组	IL-1 β /(ng/L)	IL-18/(ng/L)	cAMP/(nmol/L)
对照组	21.26 \pm 2.85	58.92 \pm 4.85	8.52 \pm 0.91
模型组	76.13 \pm 6.74 ^a	164.86 \pm 16.78 ^a	2.45 \pm 0.24 ^a
布托啡诺 L 组	51.07 \pm 5.15 ^b	122.25 \pm 13.47 ^b	4.81 \pm 0.45 ^b
布托啡诺 H 组	30.16 \pm 2.76 ^{bc}	79.38 \pm 7.66 ^{bc}	7.98 \pm 0.83 ^{bc}
布托啡诺+H-89 组	73.14 \pm 6.28 ^d	151.34 \pm 14.56 ^d	2.51 \pm 0.28 ^d
<i>F</i>	119.877	68.280	113.470
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001

注:a 为 $P<0.05$,与对照组比较;b 为 $P<0.05$,与模型组比较;c 为 $P<0.05$,与布托啡诺 L 组比较;d 为 $P<0.05$,与布托啡诺 H 组比较。

2.6 细胞蛋白表达水平

与对照组相比,模型组 p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 蛋白表达水平约降低 60.71%、61.22% ($P<$

0.05);与模型组比较,布托啡诺 L、H 组 p-PKA/ PKA 蛋白表达水平约升高 75.76%、139.39%, p-CREB/CREB 蛋白表达水平约升高 60.53%、

128.95% ($P < 0.05$);与布托啡诺 H 组比较,布托啡诺+H-89 组 p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 蛋白表达水平约降低 50.63%、36.78% ($P < 0.05$;图 5)。

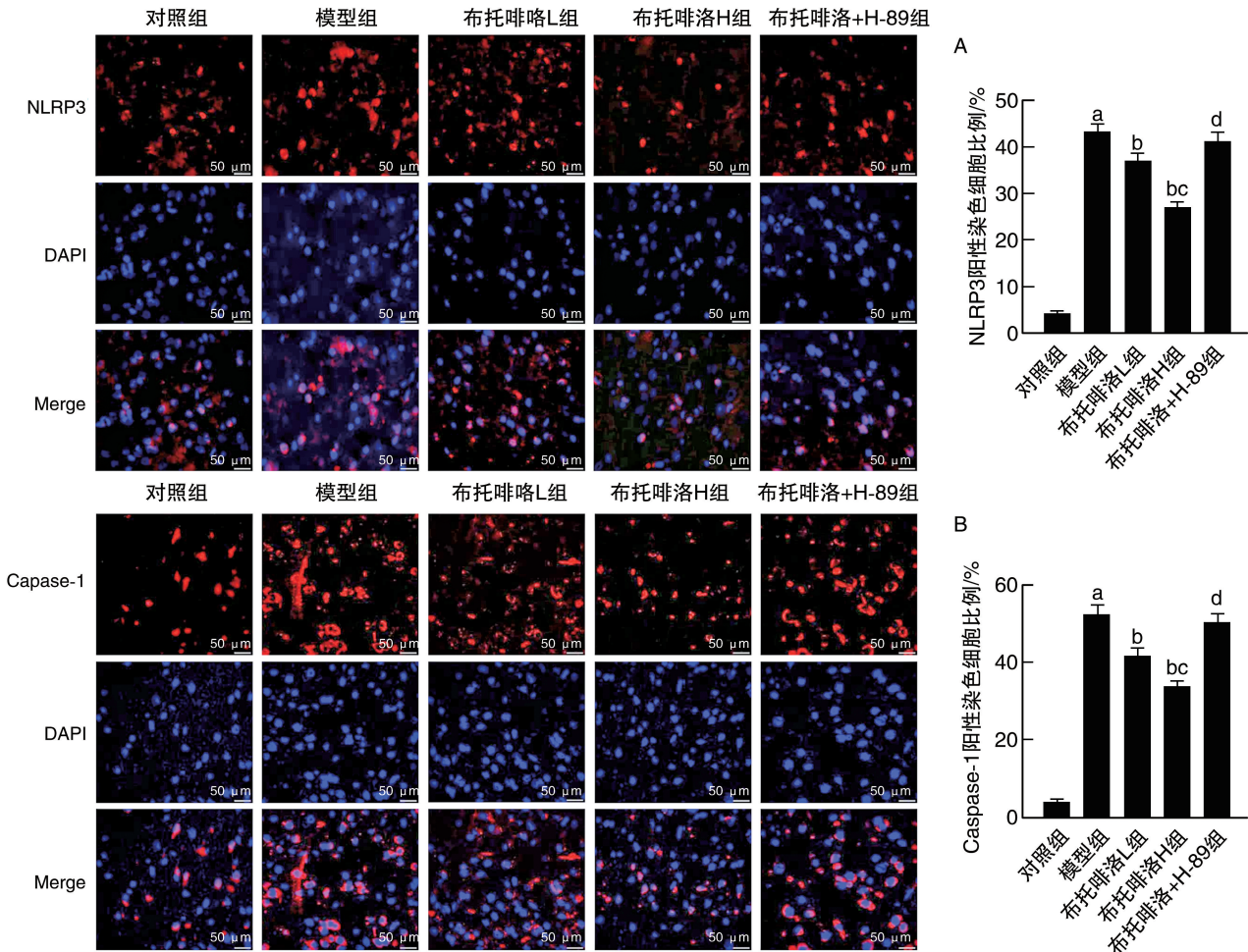


图 4. 各组大鼠脑组织 NLRP3、Caspase-1 表达水平 ($n=5$)

a 为 $P < 0.05$,与对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与模型组比较;c 为 $P < 0.05$,与布托啡诺 L 组比较;d 为 $P < 0.05$,与布托啡诺 H 组比较。

Figure 4. The expression levels of NLRP3 and Caspase-1 in brain tissue of rats in each group ($n=5$)

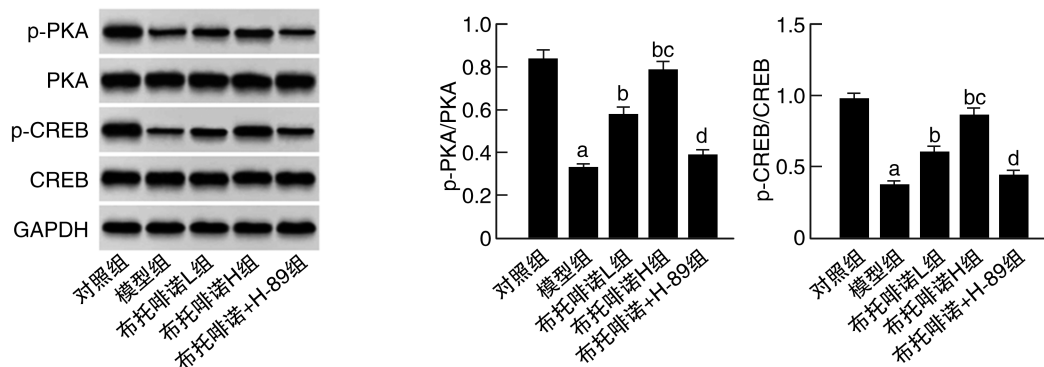


图 5. Western blot 检测 p-PKA、PKA、p-CREB、CREB 蛋白表达水平 ($n=5$)

a 为 $P < 0.05$,与对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与模型组比较;c 为 $P < 0.05$,与布托啡诺 L 组比较;d 为 $P < 0.05$,与布托啡诺 H 组比较。

Figure 5. The protein expression levels of p-PKA, PKA, p-CREB and CREB were detected by Western blot ($n=5$)

3 讨论

缺血性脑卒中是全球第二大死亡原因和后天性长期残疾的第一大原因,给全球造成严重的经济负担^[11]。临床研究指出,缺血性脑卒中患者发病后神经功能损伤,脑皮质呈层状分布的坏死形式^[12-13]。本研究建立缺血性脑卒中大鼠模型,与既往研究结果一致,大鼠脑组织细胞间隙变大,神经功能评分升高,脑梗死体积增加,说明建模成功,可以在此基础上进行下一步实验。已被证明,布托啡诺可以调节心肌缺血再灌注大鼠受损伤心肌的恢复,具有潜在的神经保护作用^[14]。本研究使用布托啡诺干预缺血性脑卒中大鼠,显著减少大鼠脑组织细胞空泡变性,降低神经功能评分并减小脑梗死体积,说明布托啡诺对缺血性脑卒中大鼠具有保护作用。

细胞焦亡是一种由消皮素 D (gasdermin D, GSDMD) 介导的调节细胞死亡形式,其特征是细胞膜破裂,释放内容物并引起强烈的炎症反应。Caspase-1 依赖性通路是细胞焦亡的主要机制之一:病原体相关的模式分子被模式识别受体识别后组装成 NLRP3 炎症小体,募集 Caspase-1 进行自我剪接;激活的 Caspase-1 裂解 GSDMD,形成 GSDMD 氮端和碳端,与细胞膜上的磷脂蛋白结合形成孔,释放内容物,诱导细胞焦亡;活化的 Caspase-1 还裂解 pro-IL-1 β 和 pro-IL-18,形成活性 IL-1 β 和 IL-18,并将它们释放到细胞外,引起炎症反应。因此,NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 和 IL-18 是细胞焦亡的标志蛋白^[15]。研究发现,降低细胞焦亡蛋白的表达与缺血性脑卒中后大鼠相关症状的改善有关^[16]。本研究显示,缺血性脑卒中大鼠脑组织神经元细胞膜缺损,细胞核核膜凹陷,NLRP3、Caspase-1、IL-1 β 和 IL-18 表达水平升高,说明神经细胞焦亡程度增加;布托啡诺能够降低缺血性脑卒中大鼠焦亡蛋白的表达,其可能通过抑制神经元焦亡,保护神经,进而降低神经功能评分和减小脑梗死体积,但其作用机制需进一步讨论。

cAMP 直接调控细胞代谢、分化、生长、焦亡和基因表达等生物学行为^[17]。cAMP 可以通过调节多种靶基因的转录,PKA 是 cAMP 的下游因子,CREB 是 PKA 的底物,通过诱导细胞内 cAMP 的表达以及 PKA、CREB 的磷酸化可以预防缺血性脑损伤和神经损伤^[18]。本研究发现缺血性脑卒中大鼠 cAMP、p-PKA/PKA、p-CREB/CREB 表达水平下降,说明 PKA/CREB 信号通路被抑制,布托啡诺干预可

以激活缺血性脑卒中大鼠 PKA/CREB 轴,而使用 PKA 抑制剂 H-89 可显著逆转布托啡诺对缺血性脑卒中大鼠神经元焦亡的抑制作用,验证了布托啡诺可能通过激活 PKA/CREB 轴抑制神经元焦亡。

综上,布托啡诺显著抑制缺血性脑卒中大鼠神经元焦亡,这可能与其激活 PKA/CREB 信号通路有关。影响缺血性脑卒中神经元焦亡及神经功能的机制比较复杂,本文仅讨论了 PKA/CREB 的调控作用,后续需要更加广泛、深入的探索。

[参考文献]

- [1] ZHU H, HU S P, LI Y T, et al. Interleukins and ischemic stroke[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 828447.
- [2] 严啸东. 菸花昔对缺血性脑卒中动物的长期保护作用研究[D]. 上海: 中国人民解放军海军军医大学, 2022.
YAN X D. Long-term protective effect of nicotiflorin on ischemic stroke animals[D]. Shanghai: PLA Navy Medical University, 2022.
- [3] MENG J, JIANG S J, JIANG D, et al. Butorphanol attenuates inflammation via targeting NF- κ B in septic rats with brain injury[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(3 Suppl): 161-170.
- [4] HUANG Y S, LI S H, CHEN H X, et al. Butorphanol reduces the neuronal inflammatory response and apoptosis via inhibition of p38/JNK/ATF2/p53 signaling[J]. *Exp Ther Med*, 2022, 23(3): 229.
- [5] YAN J, XU W L, LENAHAN C, et al. CCR5 activation promotes NLRP1-dependent neuronal pyroptosis via CCR5/PKA/CREB pathway after intracerebral hemorrhage[J]. *Stroke*, 2021, 52(12): 4021-4032.
- [6] 孙玥, 范洋溢, 高旭光. 基于 IL-33/ST2L 通路研究黄芩苷对缺血性脑卒中大鼠的神经保护作用[J]. *中国免疫学杂志*, 2023, 39(6): 1258-1263.
SUN Y, FAN Y Y, GAO X G. Study on neuroprotective effect of baicalin on rats with ischemic stroke based on IL-33/ST2L pathway[J]. *Chin J Immunol*, 2023, 39(6): 1258-1263.
- [7] 谢涛波, 钟纯正, 符尧天, 等. 银杏叶提取物对急性脑梗死模型大鼠血脑屏障功能及 PI3K/AKT 信号通路的影响及作用机制[J]. *中国老年学杂志*, 2021, 41(20): 4467-4471.
XIE T B, ZHONG C Z, FU Y T, et al. Effects and mechanism of ginkgobiloba extract on blood-brain barrier function and PI3K/AKT signaling pathway in model rats with acute cerebral infarction[J]. *Chin J Gerontol*, 2021, 41(20): 4467-4471.
- [8] 赵莹, 赵晶. 酒石酸布托啡诺基于 JNK/NF- κ B 信号通路对大鼠脑缺血再灌注损伤的改善作用[J]. *河北医*

- 药, 2023, 45(3): 325-329.
- ZHAO Y, ZHAO J. Improvement effect of butorphanol tartrate on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats via JNK/NF- κ B signaling pathway[J]. Hebei Med J, 2023, 45(3): 325-329.
- [9] 陈敬君, 马贤聪, 杨泉, 等. 芍药苷调控环磷酸腺苷/蛋白激酶 A/环磷酸腺苷反应元件结合蛋白通路对脑卒中大鼠的影响[J]. 安徽医药, 2022, 26(6): 1073-1078.
- CHEN J J, MA X C, YANG Q, et al. The effect of paeoniflorin on stroke rats by regulating cAMP/PKA/CREB pathway[J]. Anhui Med Pharm J, 2022, 26(6): 1073-1078.
- [10] 陈锋, 徐颖, 邹晓慧. 基于 Sema3E/PlexinD1 和 Sema4D/PlexinB1 途径探讨黄芪甲苷促进脑梗死大鼠血管新生及改善血脑屏障受损的机制[J]. 中药新药与临床药理, 2021, 32(8): 1079-1084.
- CHEN F, XU C Y, ZOU X H. Mechanism of astragaloside IV in promoting angiogenesis and alleviating blood-brain barrier in cerebral infarction rats based on the Sema3E/PlexinD1 and Sema4D/PlexinB1 signaling[J]. Tradit Chin Drug Res Clin Pharmacol, 2021, 32(8): 1079-1084.
- [11] HERPICH F, RINCON F. Management of acute ischemic stroke[J]. Crit Care Med, 2020, 48(11): 1654-1663.
- [12] 鲍婕妤, 刘娜, 张静, 等. 脑梗死后皮质层状坏死的临床和影像特点[J]. 中风与神经疾病杂志, 2022, 39(10): 882-886.
- BAO J Y, LIU N, ZHANG J, et al. Clinical and imaging characteristics of cortical laminar necrosis after cerebral infarction[J]. J Apoplexy Nerv Dis, 2022, 39(10): 882-886.
- [13] 张静, 钱倩, 白艳梅. 依达拉奉右莰醇通过 PKC/ERK 通路对脑缺血再灌注大鼠发挥脑保护作用[J]. 中国动脉硬化杂志, 2023, 31(5): 391-398.
- ZHANG J, QIAN Q, BAI Y M. Edaravone dexborneol exerts cerebral protective effect on cerebral ischemia-reperfusion rats through PKC/ERK pathway[J]. Chin J Arterioscler, 2023, 31(5): 391-398.
- [14] WANG H, WANG J L, REN H W, et al. Butorphanol protects on myocardial ischemia/reperfusion injury in rats through MAPK signaling pathway[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(23): 10541-10548.
- [15] MCKENZIE B A, DIXIT V M, POWER C. Fiery cell death: pyroptosis in the central nervous system[J]. Trends Neurosci, 2020, 43(1): 55-73.
- [16] 李述捷, 李华玲, 陈晓玲, 等. 丹蒞片对痰瘀互结型缺血性脑卒中后大鼠 NLRP3/GSDMD 细胞焦亡通路的影响[J]. 中华中医药杂志, 2022, 37(8): 4708-4714.
- LI S J, LI H L, CHEN X L, et al. Effects of danlou tablets on NLRP3/GSDMD pathway about pyroptosis in rats after cerebral ischemia with phlegm and blood stasis[J]. Chin J Tradit Chin Med Pharm, 2022, 37(8): 4708-4714.
- [17] ZACCOLO M, ZERIO A, LOBO M J. Subcellular organization of the cAMP signaling pathway[J]. Pharmacol Rev, 2021, 73(1): 278-309.
- [18] BAI H, ZHAO L, LIU H X, et al. Adiponectin confers neuroprotection against cerebral ischemia-reperfusion injury through activating the cAMP/PKA-CREB-BDNF signaling[J]. Brain Res Bull, 2018, 143: 145-154.

(此文编辑 许雪梅)