

银杏蜜环口服溶液对缺氧缺糖再灌注诱导脑微血管内皮细胞和 SH-SY5Y 细胞炎性损伤的保护作用与机制

郑咏秋¹ 张业昊¹ 刘建勋¹ 徐立¹ 李磊¹ 王益民² 王勇² 王光蕊¹

(1 中国中医科学院西苑医院,基础医学研究所,北京,100091; 2 西安步长中医心脑血管病医院,西安,710082)

摘要 目的:探讨银杏蜜环口服溶液对缺氧缺糖再灌注诱导脑微血管内皮细胞和神经胶质瘤细胞 SH-HY5Y 损伤的保护机制,以及其对 eNOs 介导的 Beclin-1 依赖的自噬通路的影响。方法:本研究采用缺氧缺糖再灌注诱导大鼠脑微血管内皮细胞和神经胶质瘤细胞 SH-HY5Y 构建糖氧剥离+复糖复氧模型,同时给予不同浓度的银杏蜜环口服溶液(5.15 mg/mL、2.575 mg/mL 和 1.545 mg/mL)及有效组分进行干预,通过观察细胞培养上清炎症因子 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 的浓度和自噬通路的活化,并采用 PI/Annexin V 双染色分析细胞凋亡率,探讨银杏蜜环有效成份的脑保护机制。结果:银杏蜜环口服溶液 5.15 mg/mL、2.575 mg/mL 和 1.545 mg/mL 3 个剂量组均可抑制脑微血管内皮细胞上清液 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量,银杏蜜环口服溶液 2.575 mg/mL 和 1.545 mg/mL 可抑制 Caspase3、LC3II 和 Beclin-1 表达。同时,银杏蜜环口服溶液 2.575 mg/mL 明显促进 eNOs 的磷酸化。其中对 IL-1 β 和 IL-6 的作用明显优于银杏叶提取物和天麻蜜环菌。银杏蜜环口服溶液 2.575 mg/mL 和 1.545 mg/mL 还可降低 SH-SY5Y 细胞的凋亡率(Annexin V + PI-细胞),差异有统计学意义。结论:银杏蜜环口服溶液可通过促进一氧化氮合酶 eNOs 的磷酸化来抑制缺糖缺氧再灌注引发的细胞凋亡和自噬。

关键词 银杏蜜环;缺氧缺糖再灌注;脑微血管内皮细胞;SH-SY5Y;自噬

Study on Protective Effects and Mechanisms of Yinxing Mihuan Oral Solution on Cerebral Microvascular Endothelial Cells and Inflammatory Injury of SH-SY5Y Cells Induced by Oxygen/Glucose Deprivation and Reperfusion

Zheng Yongqiu¹, Zhang Yehao¹, Liu Jianxun¹, Xu Li¹, Li Lei¹, Wang Yimin², Wang Yong², Wang Guangrui¹

(1 Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China; 2 Xi'an Buchang

Traditional Chinese Cardio-Cerebrovascular Disease Hospital, Xi'an 710082, China)

Abstract Objective: To study the protective effects and mechanisms of Yinxing Mihuan Oral Solution for cerebral microvascular endothelial cells (CMEC) and SH-SY5Y cells on inflammatory induced by oxygen/glucose deprivation (OGD) and reperfusion, as well as the effects of Yinxing Mihuan oral solution on autophagy pathways mediated by endothelial nitric oxide synthase (eNOS) depended by Beclin-1. **Methods:** Oxygen/glucose deprivation and oxygen/glucose reintroduction model was established in murine cerebral microvascular endothelial cells and SH-SY5Y cells by (OGD) and reperfusion. Meanwhile, different concentrations of Yinxing Mihuan Oral Solution (5.15 mg/mL, 2.575 mg/mL and 1.545 mg/mL) were used, and efficient compositions were intervened. Through the observation of the concentrations of inflammatory factors IL-1 β , TNF- α and IL-6 in cell cultivated supernate and the excitation of autophagy pathways. Brain protective mechanism of Yinxing Mihuan active principles by apoptosis rate adopted the PI/Annexin V double staining analysis was discussed. **Results:** Yinxing Mihuan Oral Solution (5.15 mg/mL, 2.575 mg/mL and 1.545 mg/mL) could restrain the contents of TNF- α , IL-1 β and IL-6 in cell culture supernatant of CMEC. Yinxing Mihuan Oral Solution (2.575 mg/mL) significantly promoted the phosphorylation of eNOs and Yinxing Mihuan Oral Solution (2.575 mg/mL and 1.545 mg/mL) restrained the Caspase-3, LC3II and Beclin-1 expression. The effects of IL-1 β and IL-6 were significantly better than that of ginkgo biloba extract and mellea armillaria. Yinxing Mihuan Oral Solution (2.575 mg/mL and 1.545 mg/mL) also decreased SH-SY5Y cells apoptosis rate (Annexin V + PI-cells), with significant difference. **Conclusion:** Yinxing Mihuan oral solution could promote the eNOs phosphorylation, which may be the interventional targets in restraining the cells' apoptosis and autophagy induced by OGD and reperfusion.

Key Words Yinxing Mihuan Oral Solution; Oxygen/glucose deprivation and reperfusion; Cerebral microvascular endothelial cells; SH-SY5Y; Autophagy

中图分类号:R285.5 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.01.003

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2015CB554405);国家自然科学基金项目(81374036);中国中医科学院院内联合创新专项(ZZ11-026)

作者简介:郑咏秋(1973.06—),女,博士,副研究员,研究方向:药理学研究,E-mail:yongqiu@china.com

通信作者:刘建勋(1955.03—),男,博士,研究员,研究方向:药理学研究,E-mail:liujx0324@sina.com

银杏蜜环口服溶液的组为银杏叶提取物和蜜环菌提取物。其主要作用为:扩张冠状动脉和脑血管,增加冠脉血液流量或者脑部血液流量,同时改善局部微循环及细胞能量代谢,从而起到防止心脑血管的目的^[1-2]。在前期本研究团队对脑缺血/再灌注自噬信号通路调控的病理机制研究基础上^[3-4],本研究探讨了银杏蜜环口服溶液体外对缺氧缺糖再灌注诱导脑微血管内皮细胞和神经胶质瘤细胞损伤的保护机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞 大鼠脑微血管内皮细胞及专用培养液购自 Procell 公司;SH-SY5Y 细胞来自中科院上海细胞库,DEME 培养基和胎牛血清购自 Gibco 公司。

1.1.2 药物 银杏蜜环口服溶液,10 mL/支,批号:160312;银杏叶提取物溶液,10 mL/支,含 3 mg 银杏叶提取物/mL 和含 0.1 g 蜜环粉/mL,含 3 mg 银杏叶提取物/mL;蜜环菌溶液,10 mL/支,含 0.1 g 蜜环粉/mL;以上均由邛崃天银制药有限公司提供。研究试验中涉及银杏蜜环口服溶液加样高、中、低剂量分别为 50、25、15 $\mu\text{L}/\text{mL}$,折算成含药剂量分别为 5.15 mg/mL、2.575 mg/mL、和 1.545 mg/mL。同理,蜜环菌溶液,剂量 2.5 mg/mL;银杏叶提取物溶液,剂量 0.075 mg/mL。

1.1.3 试剂与仪器 HRP 标记的山羊抗兔 IgG、山羊抗鼠 IgG 购自 YUARIO 公司;兔抗磷酸化 (GR95280-7) 和非磷酸化 eNOs 多克隆抗体、兔抗 Caspase3、Beclin-1、LC3I/II 抗体购自 Abcam 公司,兔抗 GAPDH 抗体购自 Sigma-Aldrich 公司。IL-1 β 酶联免疫吸附测定 (Enzyme Linked Immunosorbent Assay, ELISA) 试剂盒,NEOBIO SCIENCE 产品,IL-6 ELISA 试剂盒,NEOBIO SCIENCE 产品,TNF α ELISA 试剂盒,MyBioSource 产品。氟化聚偏乙烯 (PVDF) 微孔转移膜购自 Millipore 公司。超敏感底物发光试剂盒 (SuperSignal West Femto kit),购自 Pierce 公司。Annexin V/PI 双标流式检测试剂盒购自 Beyotime Inc。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 脑微血管内皮细胞培养于含有 10% 胎牛血清,青、链霉素各 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的 Procell 脑微血管内皮细胞专用培养基,置 37 $^{\circ}\text{C}$ 饱和湿度含 5% CO_2 和 95% 空气的恒温箱中培养,0.25% 胰蛋白酶消化传代。选取对数生长期细胞进行实验。SH-SY5Y 细胞培养于含有 10% 胎牛血清,青、链霉

素各 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的高糖 DMEM 培养基,置 37 $^{\circ}\text{C}$ 饱和湿度含 5% CO_2 和 95% 空气的恒温箱中培养,0.25% 胰蛋白酶消化传代。选取对数生长期细胞进行实验。

1.2.2 细胞缺氧缺糖 (Oxygen Glucose Deprivation, OGD) 再灌注损伤模型的建立 细胞以每孔 1×10^6 个的浓度接种于直径 35 mm 小皿,贴壁 24 h 后,细胞以无糖 Earles 平衡盐溶液 [无糖 OGD 液 (g/L): NaCl 6.8, KCl 0.4, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.264, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.156, NaHCO_3 2.2] 洗涤 2 次,换成无糖 OGD 培养液,将细胞置于改良密闭 OGD 罐内,通以 95% N_2 -5% CO_2 气体,通气 30 min 后,置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 培养箱内继续培养。

脑微血管内皮细胞 6 h 氧糖剥离后,更换成无血清 DMEM 培养基再灌注。正常对照采用有糖 OGD 液 (g/L): NaCl 6.8, KCl 0.4, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.264, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.156, NaHCO_3 2.2, 葡萄糖 1.0 培养。SH-SY5Y 细胞经 4 h 氧糖剥离后,更换成无血清 DMEM 培养基再灌注。正常对照采用有糖 OGD 液 (g/L): NaCl 6.8, KCl 0.4, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.264, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.156, NaHCO_3 2.2, 葡萄糖 1.0 培养。

1.2.3 实验分组及处理 实验分为正常细胞对照组、模型组、各给药组。1) 正常对照组:实验时吸出正常培养基,加入正常无血清培养基。2) 模型组:吸出正常培养基,加入无血清培养基。3) 给药组 (不同剂量):模型组分别加入终浓度为 5.15 mg/mL (100 μL 银杏蜜环口服溶液 + 1.9 mL 无血清培养基)、2.575 mg/mL (50 μL 银杏蜜环口服溶液 + 1.95 mL 无血清培养基) 和 1.545 mg/mL (25 μL 银杏蜜环口服溶液 + 1.975 mL 无血清培养基) 的银杏蜜环口服溶液、0.075 mg/mL 的银杏提取物 (50 μL 银杏提取物溶液 + 1.95 mL 无血清培养基) 和 2.5 mg/mL 的蜜环提取物 (50 μL 蜜环菌溶液 + 1.95 mL 无血清培养基)。6 h 糖氧剥离后加入药品作用,并立即复糖复氧培养并在 24 h 后收集活细胞进行凋亡的含量测定。

1.2.4 ELISA 法测定细胞上清液 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 的含量 本实验采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法。用抗 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 单抗包被于酶标板上,标准品和样品中的 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 与单抗结合,加入生物素化的抗体,形成免疫复合物连接在板上,辣根过氧化物酶标记的 Streptavidin 与生物素

结合,加入酶底物 TMB,出现蓝色,加终止液硫酸,颜色变黄,在 450 nm 处测 OD 值,细胞因子浓度与 OD 值成正比,可通过绘制标准曲线求出标本中细胞因子浓度。

1.2.5 Western-blot 法检测 eNOS 磷酸化和自噬蛋白表达 采用蛋白裂解液提取胞质蛋白组织于 4 ℃,3 000 r/min 离心 4 min,收集上清,进行 Western Blot 检测。BCA 法测定蛋白含量并定浓度至 0.5 mg protein/mL,进行聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE),采用相关抗体进行磷酸化和非磷酸化相关蛋白表达检测。增强化学发光(Enhanced Chemiluminescence,ECL)显色。底片曝光。

1.2.6 流式细胞仪检测细胞凋亡 收集细胞,每样品配制成 5×10^5 /mL 悬液,离心去上清,加入 195 μ L AnnexinV-FITC 结合液重悬细胞,加入 10 μ L PI 染色液和 5 μ L FITC-conjugated Annexin-V 进行双重染色 20 min。然后在 Epic XL 流式细胞仪上在 488 nm 处检测,应用 Expo32 软件分析数据。

1.3 统计学方法 所有 OD 值都应减除空白值后再行计算。以标准品 1 000、500、250、100、50、25 pg/mL 之 OD 值在半对数纸上作图,画出标准曲线。将浓度作为 X 轴(对数轴),OD 值作为 Y 轴(线性轴)。曲线应为一光滑曲线。根据样品 OD 值在该曲线图上查出相应细胞因子含量。实验结果以平均值 $\pm$ 标准差表示,数据组件比较采用方差检验,Western Blot 图像分析结果采用 SPSS 软件(Version 11.0)进行非参数检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 银杏蜜环口服溶液对缺氧缺糖/复氧复糖诱导脑微血管内皮细胞上清液炎症反应因子含量的影响 脑微血管内皮细胞在 6 h 的缺糖缺氧损伤和 24 h 的再灌注后与对照组比较,其上清液 IL-1 β 、

TNF- α 和 IL-6 含量明显升高($P < 0.05$);分别给予 5.15 mg/mL、2.575 mg/mL、和 1.545 mg/mL 的银杏蜜环口服溶液、0.075 mg/mL 的银杏提取物和的 2.5 mg/mL 蜜环提取物后,发现银杏蜜环口服溶液高、中、低 3 个剂量组、银杏提取物 0.075 mg/mL 和蜜环提取物 2.5 mg/mL 均可抑制上清液 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量,其中银杏蜜环口服溶液中剂量(2.575 mg/mL)对 IL-1 β 和 IL-6 含量的抑制明显优于银杏提取物(0.075 mg/mL)和蜜环提取物(2.5 mg/mL)。比较之下,银杏蜜环口服溶液大、低剂量组(5.15 mg/mL、1.545 mg/mL)作用较弱,所以在接下来的试验中,将银杏蜜环剂量定为 2.575 mg/mL、1.545 mg/mL 2 个剂量。见表 1。

2.2 银杏蜜环口服溶液对缺氧缺糖/复氧复糖诱导脑微血管内皮细胞自噬信号通路活化的影响 6 h 的缺糖缺氧损伤和 24 h 的再灌注可引起脑微血管内皮细胞凋亡蛋白 Caspase3 和自噬蛋白 Beclin-1 表达升高,银杏蜜环口服溶液(1.545、2.575 mg/mL)可明显抑制 Caspase3 和 Beclin-1 表达,同时银杏提取物也可抑制 Beclin-1 表达。模型组 eNOS 磷酸化水平降低,LC3II/LC3I 水平升高,但无统计学意义,其中银杏蜜环口服溶液(1.545、2.575 mg/mL)和其有效组分银杏提取物、蜜环提取物均可明显抑制 LC3II/LC3I,银杏蜜环口服溶液(2.575 mg/mL)还可有效提升 eNOS 磷酸化水平。可见银杏蜜环口服溶液疗效要优于其有效组分银杏提取物、蜜环提取物。见图 1~5。

2.3 银杏蜜环口服溶液对缺氧缺糖/复氧复糖诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡的影响 模型组分别加入终浓度为 25 μ L/mL、15 μ L/mL 的银杏蜜环口服溶液、25 μ L/mL 的银杏提取物和 25 μ L/mL 的蜜环提取物。4 h 糖氧剥离后加入药品作用,并立即复糖复氧培养并在 10 h 后收集活细胞进行凋亡的含量测定。

表 1 银杏蜜环口服溶液对缺氧缺糖/复氧复糖诱导脑微血管内皮细胞上清液细胞因子的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量(mg/mL)	TNF- α (pg/mL)	IL-6(pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)
正常对照组	—	19.78 $\pm$ 0.39	0.79 $\pm$ 0.49	59.18 $\pm$ 2.37
模型组	—	91.01 $\pm$ 8.17**	13.34 $\pm$ 0.89**	989.06 $\pm$ 66.11**
银蜜低剂量组	1.545	70.55 $\pm$ 2.41 $\Delta\Delta$	9.49 $\pm$ 1.62 Δ	649.19 $\pm$ 60.32 $\Delta\Delta$
银蜜中剂量组	2.575	42.55 $\pm$ 5.32 $\Delta\Delta$	2.57 $\pm$ 0.45 $\Delta\Delta\blacktriangle\blacktriangle\Box\Box$	1116.68 $\pm$ 23.88 $\Delta\Delta\blacktriangle\blacktriangle\Box\Box$
银蜜高剂量组	5.15	68.83 $\pm$ 5.74 $\Delta\Delta$	9.69 $\pm$ 0.58 $\Delta\Delta$	592.71 $\pm$ 41.63 $\Delta\Delta$
银杏提取物组	0.075	52.28 $\pm$ 4.67 $\Delta\Delta$	5.91 $\pm$ 0.61 $\Delta\Delta$	391.04 $\pm$ 60.93 $\Delta\Delta$
蜜环提取物组	2.5	58.81 $\pm$ 0.73 $\Delta\Delta$	4.93 $\pm$ 0.27 $\Delta\Delta$	354.69 $\pm$ 35.68 $\Delta\Delta$

注:与假手术组(正常对照组)比较,** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$;与银杏提取物比较, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$;与蜜环提取物比较, $\Box\Box P < 0.01$

根据 PI/Annexin V 双染色采用流式细胞仪分析细胞凋亡率,结果见以下图表所示。从图中可以看出,当采用缺氧缺糖处理细胞后,细胞的凋亡率明显提高(Annexin V +/PI-细胞),其差距具有显著性意义,这说明缺氧缺糖能够促进细胞的凋亡过程。25 μ L/mL、15 μ L/mL 的银杏蜜环口服溶液、25 μ L/mL 的银杏提取物和 25 μ L/mL 的蜜环提取物可有效减轻缺氧缺糖引发的细胞凋亡,各给药组之间差异无统计学意义。见表 2、图 6。

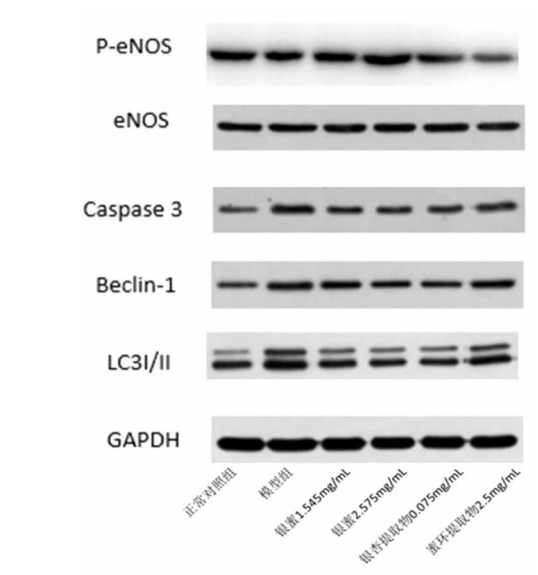


图 1 银杏蜜环口服溶液对缺氧缺糖/复氧复糖诱导脑微血管内皮细胞自噬蛋白表达的影响

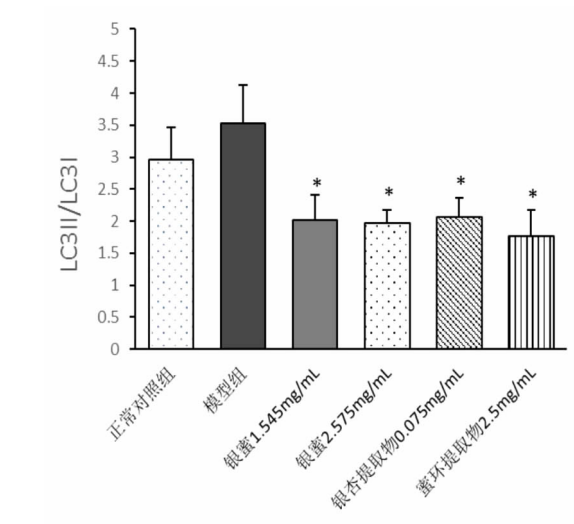


图 2 银杏蜜环口服溶液对缺氧缺糖/复氧复糖诱导脑微血管内皮细胞自噬蛋白 LC3II/LC3I 的影响

注:与模型组比较, * $P < 0.05$

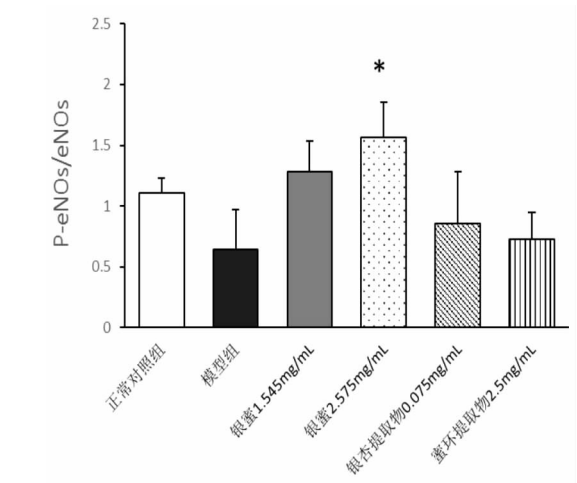


图 3 银杏蜜环口服溶液对缺氧缺糖/复氧复糖诱导脑微血管内皮细胞 eNOS 磷酸化的影响

注:与模型组比较, * $P < 0.05$

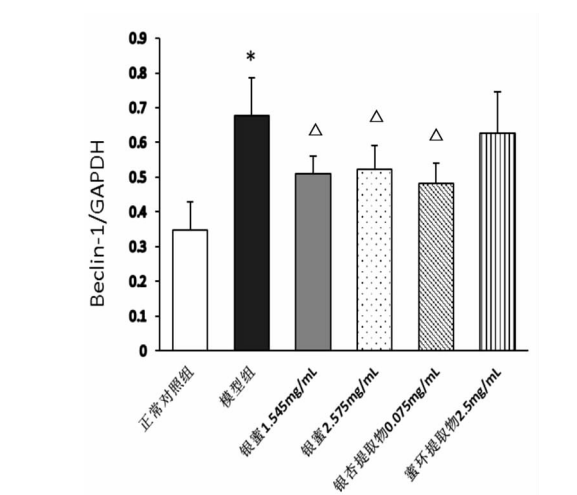


图 4 银杏蜜环口服溶液对缺氧缺糖/复氧复糖诱导脑微血管内皮细胞自噬蛋白 Beclin-1 的影响

注:与假手术组(正常对照组)比较, * $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

表 2 银杏蜜环口服溶液对缺氧缺糖/复氧复糖诱导 SH-SY5Y 细胞凋亡后各亚群细胞数的影响($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	剂量 (mg/mL)	Annexin V ⁻ /PI ⁻ (%)	Annexin V ⁺ /PI ⁻ (%)	Annexin V ⁺ / PI ⁺ (%)
正常对照组	—	93.41 $\pm$ 2.35	3.96 $\pm$ 2.40	2.215 $\pm$ 0.6
模型组	—	86.22 $\pm$ 3.14 **	11.8 $\pm$ 3.16 **	1.96 $\pm$ 1.53
银蜜低剂量组	1.545	95.57 $\pm$ 0.41 $\Delta\Delta$	2.01 $\pm$ 0.32 $\Delta\Delta$	2.30 $\pm$ 0.32
银蜜高剂量组	2.575	96.91 $\pm$ 0.38 $\Delta\Delta$	1.41 $\pm$ 0.28 $\Delta\Delta$	1.46 $\pm$ 0.24
银杏提取物组	0.075	98.07 $\pm$ 0.16 $\Delta\Delta$	0.66 $\pm$ 0.10 $\Delta\Delta$	1.34 $\pm$ 1.01
蜜环提取物组	2.5	96.5 $\pm$ 0.38 $\Delta\Delta$	1.47 $\pm$ 0.22 $\Delta\Delta$	2.71 $\pm$ 0.95

注:与正常对照组比较, ** $P < 0.01$;与模型组比较, $\Delta\Delta P < 0.01$

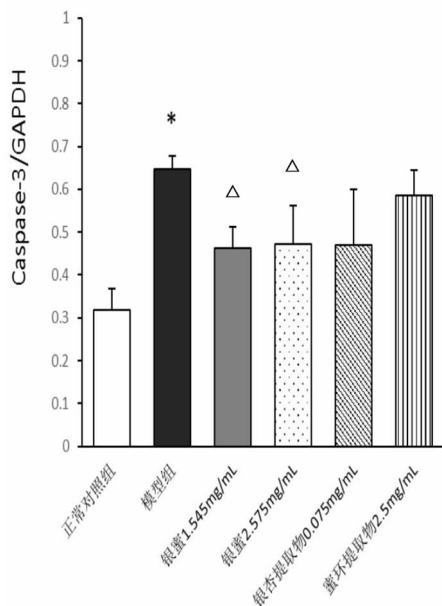


图5 银杏蜜环口服溶液对缺氧缺糖/复氧复糖诱导脑微血管内皮细胞凋亡蛋白 Caspase-3 的影响

注:与假手术组(正常对照组)比较,* $P < 0.05$;与模型组比较, $\Delta P < 0.05$

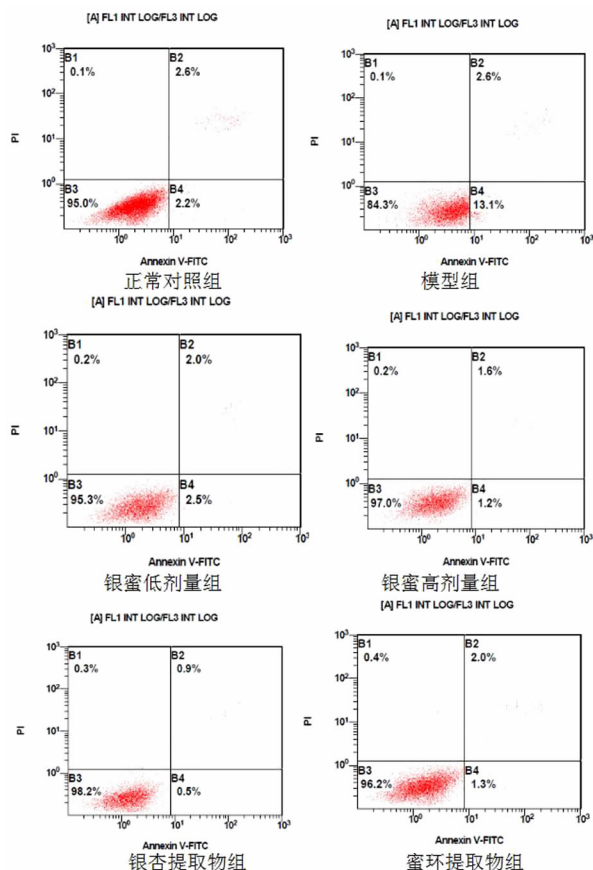


图6 流式细胞术测定 PI/Annexin V 每组典型图片

3 讨论

脑缺血引起的神经元死亡形式主要包括自噬、凋亡和坏死。自噬是溶酶体对细胞内的部分细胞

质、细胞等进行的一系列降解过程的统称。适度的自噬是细胞正常生长发育和稳态维持的重要途径^[5]。另一方面,自噬可引起Ⅱ型程序性死亡(Programmed Cell Death Ⅱ,PCD Ⅱ),又称自噬性细胞死亡(Autophagic Cell Death,ACD),为一种半胱天冬酶(caspase)相关性死亡^[6]。本研究深入评价了银杏蜜环口服溶液对缺氧缺糖再灌注诱导脑微血管内皮细胞中 eNOs 介导的 Beclin-1 依赖的自噬通路的影响。脑损伤后产生的炎性因子 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 在神经元坏死、炎性凋亡和接下来的继发性损伤中发挥重要作用,也和细胞自噬过程密不可分。缺血缺氧再灌注后神经元、胶质细胞和脑微血管内皮细胞均可产生炎性因子。本研究采用缺氧缺糖再灌注诱导脑微血管内皮细胞构建糖氧剥离+复糖复氧模型,同时给予不同浓度的银杏蜜环口服溶液及有效组分进行干预,并且通过观察细胞培养上清炎性因子 IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 的浓度和自噬通路的活化,来探讨银杏蜜环口服溶液的脑保护机制。结果表明,银杏蜜环口服溶液高、中、低 3 个剂量组均可抑制上清液 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 含量,可明显抑制 Caspase3 和 Beclin-1 表达,其中对 IL-1 β 和 IL-6 的作用明显优于银杏叶提取物和天麻蜜环菌。本实验发现银杏蜜环口服溶液可通过促进一氧化氮合酶 eNOs 的磷酸化来抑制缺糖缺氧再灌注引发的细胞凋亡和自噬。同时其中银杏蜜环口服溶液中剂量(2.575 mg/mL)对 IL-1 β 和 IL-6 含量的抑制明显优于银杏提取物(0.075 mg/mL)和蜜环提取物(2.5 mg/mL)。

参考文献

- [1]李广宣. 银杏蜜环口服溶液治疗风痰瘀血证脑梗死临床研究[J]. 中医学报,2013,28(5):737-738.
- [2]韩永鹏,徐佳,朱树建. 冠状动脉粥样硬化性心脏病心绞痛银杏蜜环口服溶液治疗分析[J]. 现代养生(下半月版),2017,32(7):69.
- [3]郑咏秋,刘建勋,徐立,等. 维脑康及银杏总内酯对局灶性脑缺血再灌注自噬和神经发生作用研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(13):2182-2186.
- [4]郑咏秋,姚明江,刘建勋,等. 华佗再造浸膏对大鼠局灶性脑缺血/再灌注血脑屏障损伤的保护作用及机制研究[J]. 中国中药杂志,2013,38(4):585-590.
- [5]Zhao J,Zhao Y,Zheng W, et al. Neuroprotective effect of curcumin on transient focal cerebral ischemia in rats[J]. Brain Res,2008,1229:224-232.
- [6]Zheng YQ,Liu JX,Li XZ, et al. RNA interference-mediated downregulation of Beclin1 attenuates cerebral ischemic injury in rats[J]. Acta Pharmacol Sin,2009,30(7):919-927.

(2017-12-20 收稿 责任编辑:王明)