

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2022.07.005

网络首发 [https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211216.1136.005.html\(2021-12-16\)](https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211216.1136.005.html(2021-12-16))

普罗布考对高脂血症大鼠脑缺血再灌注的 脑保护作用及机制研究*

王建平¹, 张杰², 赵洪云¹

(河北省沧州市中心医院:1. 神经内科;2. CT 诊断科 061000)

[摘要] **目的** 探讨普罗布考对高脂血症大鼠脑缺血再灌注的脑保护作用及可能机制。**方法** 140 只 SD 大鼠随机分为普通组(20 只)和高脂组(120 只),分别给予普通饲料、高脂饲料喂养 8 周,全自动生化分析仪检测其血清总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白-胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白-胆固醇(HDL-C)水平以判断高脂血症大鼠造模成功与否。100 只造模成功的高脂血症大鼠采用随机数字表法分为假手术组、缺血再灌注组、低剂量普罗布考组、高剂量普罗布考组,每组各 25 只。普罗布考低剂量组、普罗布考高剂量组分别给予 0.5% 羧甲基纤维素(CMC)配制的普罗布考混悬液 100 mg/kg、500 mg/kg 灌胃,假手术组、缺血再灌注组同时给予相同剂量 0.5% CMC 灌胃,1 次/天,连续 4 周。缺血再灌注组、普罗布考低剂量组、普罗布考高剂量组采用改良 Longa 法建立大脑中动脉阻断模型,假手术组大鼠除不插鱼线外,其余手术步骤同前。造模成功大鼠缺血 2 h 后,于不同再灌注时间点(6、12、24、48、72 h)对大鼠进行神经功能缺损评分(mNSS);再灌注 24 h 后 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色法检测脑梗死体积;ELISA 检测缺血脑组织肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)水平;蛋白免疫印迹(Western blot)法检测缺血脑组织核转录因子- κ B(NF- κ B)通路相关蛋白表达水平。**结果** 与普通组比较,高脂组大鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平升高,HDL-C 水平降低($P < 0.05$)。与假手术组比较,缺血再灌注组大鼠再灌注不同时间点 mNSS 降低,脑梗死体积增大,缺血脑组织 TNF- α 、IL-1 β 、p-p65 水平升高($P < 0.05$);与缺血再灌注组比较,普罗布考低剂量组、普罗布考高剂量组大鼠再灌注不同时间点 mNSS 升高,脑梗死体积减小,缺血脑组织 TNF- α 、IL-1 β 、p-p65 蛋白水平降低($P < 0.05$);与普罗布考低剂量组比较,普罗布考高剂量组大鼠再灌注 6、48、72 h mNSS 升高,脑梗死体积减小,缺血脑组织 TNF- α 、IL-1 β 、p-p65 水平降低($P < 0.05$)。**结论** 普罗布考对高脂血症大鼠脑缺血再灌注具有脑保护作用,机制可能与调控 NF- κ B 通路有关。

[关键词] 高脂血症;缺血再灌注;普罗布考;脑保护;核转录因子- κ B 通路**[中图分类号]** R743.3**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2022)07-1106-06

Study on cerebral protective effect and mechanism of probucol on cerebral ischemia-reperfusion in hyperlipidemia rats*

WANG Jianping¹, ZHANG Jie², ZHAO Hongyun¹(1. Department of Neurology; 2. Department of CT Diagnosis, Cangzhou
Central Hospital, Cangzhou, Hebei 061000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the cerebral protective effect and possible mechanism of probucol on cerebral ischemia-reperfusion in hyperlipidemia rats. **Methods** A total of 110 SD rats were randomly divided into the normal group (10 rats) and the high-fat group (100 rats), and the rats were fed with normal diet and high-fat diet for 8 weeks, respectively. The levels of serum total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipid cholesterol (LDL-C) and high-density lipid cholesterol (HDL-C) were detected by automatic biochemical analyzer, to judge whether the hyperlipidemia rat models were successfully established or not. A total of 100 successfully hyperlipidemia rats-models were randomly divided into the sham operation group, the ischemia-reperfusion group, the low-dose probucol group and the high-dose probucol group, with 25 rats in each

* 基金项目:河北省医学科学研究课题计划(20200305)。 作者简介:王建平(1980-),主治医师,硕士,主要从事脑血管病临床诊断与治疗研究。

group. The probucol low-dose group and high-dose group were given probucol suspension mad with 0.5% carboxymethyl cellulose (CMC) at the dose of 100 mg/kg, 500 mg/kg gavage, respectively; the sham operation group and the ischemia-reperfusion group were given the same dose of 0.5% CMC gavage, 1 time/d, for 4 weeks. The middle cerebral artery occlusion model was established by the modified Longa method in the ischemia-reperfusion group, the low-dose probucol group and the high-dose probucol group. The rats in the sham operation group were treated with the same procedure as those in the operation group before except that no fish line was inserted. After 2 h of ischemia, neurological deficit scores (mNSS) were evaluated at different reperfusion time points (6, 12, 24, 48, 72 h). Cerebral infarction volume was detected by 3,5-triphenyltetrazole chloride (TTC) staining after 24 h reperfusion. The levels of tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) in ischemic brain tissue were detected by ELISA. Western blot was used to detect the expression levels of nuclear transcription factor κ B (NF- κ B) pathway-related proteins in the ischemic brain tissue. **Results** Compared with the normal group, the serum levels of TC, TG and LDL-C of rats in the the high-fat group were increased, while HDL-C serum levels was decreased ($P < 0.05$). Compared with the sham operation group, the mNSS of rats in the model group at different time points after reperfusion decreased, the volume of cerebral infarction increased, and the levels of TNF- α , IL-1 β and p-p65 protein in the ischemic brain tissue increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, the mNSS of rats in the low-dose probucol group and the high-dose probucol group at different time points of reperfusion increased, the volume of cerebral infarction decreased, and the levels of TNF- α , IL-1 β and p-p65 protein in the ischemic brain tissue decreased ($P < 0.05$). Compared with the low-dose probucol group, the mNSS of rats in the high-dose probucol group at 6, 48, 72 h after reperfusion were increased, the volume of cerebral infarction was decreased, and the levels of TNF- α , IL-1 β and p-p65 protein in ischemic brain tissue were decreased ($P < 0.05$). **Conclusion** Probucol has a cerebral protective effect on cerebral ischemia-reperfusion in hyperlipidemia rats, and the mechanism may be related to the regulation of NF- κ B pathway.

[Key words] hyperlipidemia; ischemia reperfusion; probucol; cerebral protection; NF- κ B pathway

脑卒中亦称“中风”，是 1 种急性脑血管疾病，包括出血性脑卒中和缺血性脑卒中，其中，缺血性脑卒中占全部脑血管疾病的 70%~80%，具有高发病率、高致残率、高死亡率、高复发率等特征^[1]。大动脉粥样硬化狭窄是缺血性脑卒中最常见的亚型，高脂血症是脑动脉狭窄的高危因素^[2-3]。目前，临床上有效治疗缺血性脑卒中的手段是在时间窗内通过溶栓或取栓等恢复半暗带的血氧供应，使闭塞血管血液得到再灌注，减轻脑组织缺血缺氧的损伤，改善患者预后^[4]。但再灌注同时会加重缺血细胞损伤，甚至发展为不可逆损伤即脑缺血再灌注损伤^[5]。因此，寻找有效减轻脑缺血再灌注损伤的药物对提高缺血性脑卒中的治疗效果，改善患者预后具有重要意义。普罗布考是 1 种新型降脂药物，具有抗氧化、抗炎，抑制动脉粥样硬化因子表达，减少动脉粥样硬化斑块及提高血管内皮舒张功能等作用^[6-7]。近年研究显示，普罗布考在脑出血高风险的缺血性脑卒中患者治疗中发挥了重要作用^[8]。本研究拟通过建立高脂血症大鼠中动脉阻断大鼠模型经普罗布考治疗并检测相关指标，探讨普罗布考对其脑缺血再灌注的脑保护作用及可能的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

无特定病原体 (SPF) 级 SD 大鼠 140 只，雌雄各半，7 周龄，体重 (220±20 g)，购自北京维通利华实验动物技术有限公司，合格证号：SCXK(京)2016-0011。饲养环境：温度 20~25℃，相对湿度 45%~55%，光照周期 12 h，根据国家实验动物管理条例进行喂养。本研究经医院伦理委员会审核批准。

1.1.2 药品、主要试剂和仪器

普罗布考 0.25 克/片 (承德颈复康药业集团有限公司)；TTC (美国 Sigma 公司)；大鼠肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β) ELISA 试剂盒 (美国 R&D 公司)；兔抗鼠 p-p65、NF- κ B p65、 β -actin 抗体 (美国 Santa Cruz 公司)；辣根过氧化物酶 (horse radish peroxidase, HRP) 标记的山羊抗兔二抗 (英国 Abcam 公司)；全自动生化分析仪及配套试剂 (山东科生物产业有限公司)；多功能酶标仪 (美国 Molecular Device 公司)；蛋白凝胶电泳仪 (上海天能科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与模型制备^[9]

140 只 SD 大鼠分为:普通组(20 只),高脂组(120 只),采用自然进食法制备高脂血症模型。普通组给予普通饲料喂养,高脂组给予高脂饲料(基础饲料 79.3%、蛋黄粉 10%、胆固醇 5%、猪油 5%、猪胆盐 0.5%、丙硫氧嘧啶 0.2%)喂养 8 周,空腹 12 h 后取大鼠尾尖静脉血,全自动生化分析仪及配套试剂检测其血脂四项:总胆固醇(total cholesterol, TC)、甘油三酯(triglyceride, TG)、低密度脂蛋白-胆固醇(low-density lipid cholesterol, LDL-C)、高密度脂蛋白-胆固醇(high-density lipid cholesterol, HDL-C)。

1.2.2 分组及干预

120 只造模成功的高脂血症大鼠采用随机数字表法分为:高脂组、缺血再灌注组、低剂量普罗布考组、高剂量普罗布考组,每组 30 只。普罗布考低剂量组、普罗布考高剂量组分别给予 0.5% 羧甲基纤维素(CMC)配制的普罗布考混悬液 100 mg/kg、500 mg/kg 灌胃,高脂组、缺血再灌注组同时给予相同剂量不含普罗布考的 0.5% CMC 灌胃,1 次/天,连续 4 周。

1.2.3 建立大脑中动脉阻断模型^[10]

缺血再灌注组、普罗布考低剂量组、普罗布考高剂量组采用改良 Longa 法建立大脑中动脉阻断模型,10%水合氯醛腹腔麻醉后,经颈正中切口,依次分离右侧颈总动脉、颈外动脉及颈内动脉,结扎颈外动脉及颈总动脉近心端,在距颈总动脉分叉 5 mm 处剪一“V”形切口,将处理好的鱼线插入颈总动脉,深度约 18 mm,至大脑中动脉,结扎并固定鱼线,缝合皮肤,阻断血流 2 h 后,分别拔出鱼线进行再灌注。假手术组大鼠除不插鱼线外,其余步骤同前,根据 Longa 评分标准判断造模是否成功。评分原则,0 分:表现正常,无明显神经功能缺损症状和体征;1 分:左前肢屈曲无力,不能完全伸直;2 分:行走向左侧旋转;3 分:行走时向左侧倾倒,站立不稳;4 分:不能自行行走,意识障碍。1~3 分大鼠为造模成功。缺血再灌注组术后死亡 2 只,蛛网膜下腔出血死亡 1 只;普罗布考低剂量组和普罗布考高剂量组分别因蛛网膜下腔出血死亡 1 只。

1.2.4 各组大鼠神经功能缺损评分

造模成功大鼠根据再灌注不同时间点(6、12、24、48、72 h)分为 5 个亚组,每组取 5 只,对大鼠进行提尾反射测试、行走测试、感觉测试、平衡性测试、反常运动和反射缺失测试。根据 Garcia 评分细则^[11]进行神经功能缺损评分(modified neurological severity score, mNSS),得分最低 3 分,最高 18 分,分数越低表示神经功能障碍越重。

1.2.5 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色法检测

各组大鼠脑梗死体积

造模成功大鼠缺血再灌注后 24 h 每组取 5 只,10%水合氯醛腹腔麻醉大鼠,快速断头取脑,将新鲜脑组织置于-20℃冰箱 20 min,脑组织切去小脑及低位脑干,沿脑组织冠状面依次切成 2 mm 厚的切片,立即放于 2% TTC 磷酸缓冲液中,37℃避光染色 30 min,4%甲醛固定,将已染色的脑组织规律摆放,进行照相后采用 Image Pro Plus 6.0 图像处理软件进行分析,计算脑梗死体积比(V)。计算公式: $V = [(A1 + A2) / (2 \times t)] / [(A3 + A4) / (2 \times t)] \times 100\%$,其中,A1 和 A2 为各脑片正反面梗死面积(mm²),A3 和 A4 为各脑片正反面面积(mm²),t 为切片厚度(mm)。

1.2.6 ELISA 检测缺血脑组织 TNF- α 、IL-1 β 水平

取部分缺血脑组织,匀浆器将其充分匀浆,3 000 r/min(离心半径 8 cm)离心 20 min,收集上清液。设置空白孔、标准品孔及样品孔,标准品孔加 50 μ L 梯度稀释的标准品,样品孔先加 40 μ L 样品稀释液,再加 10 μ L 样品,振荡混匀后封板,37℃孵育 30 min,洗涤液清洗 5 次,除空白孔外每孔加 50 μ L 酶标试剂,混匀后封板,37℃孵育 1 h,洗涤液清洗 5 次,每孔加 100 μ L 显色液,混匀后 37℃避光显色 20 min,标准品孔出现颜色梯度变化时,每孔加 50 μ L 终止液,15 min 内以空白孔调零,酶标仪 450 nm 波长外测量各孔光密度(OD)值,以标准品的浓度为横坐标,OD 值为纵坐标,采用 CurveExpert 软件绘制标准曲线,计算样品中 TNF- α 、IL-1 β 水平,实验重复 3 次。

1.2.7 Western blot 检测缺血脑组织 NF- κ B 通路相关蛋白表达水平

取 120 mg 冷冻缺血脑组织,液氮研磨后加 RIPA 裂解液提取总蛋白,BCA 法测蛋白浓度,蛋白煮沸变性,取等量总蛋白行 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)电泳,电泳条件:80 V 恒压电泳浓缩蛋白 20 min,100 V 恒压电泳分离蛋白约 1 h 至溴酚蓝接近蛋白胶板底端,转膜仪将蛋白转至聚偏氟乙烯(PVDF)膜,转膜条件:300 mA 恒流转膜 1 h,5%脱脂牛奶室温封闭 1 h,分别用 1:1 000 稀释的 p-p65、NF- κ B p65、 β -actin 一抗 4℃孵育过夜, TBST 洗膜 3 次,每次 10 min,再用 1:2 000 稀释的过氧化物酶(HRP)标记的二抗室温孵育 1 h, TBST 洗膜 3 次,每次 10 min, ECL 化学发光液浸膜,暗室曝光显影, Image J 软件分析蛋白条带灰度值,以目的蛋白条带灰度值/内参 β -actin 蛋白条带灰度值的比值作为目的蛋白表达水平,实验重复 3 次。

1.3 统计学处理

采用 SPSS24.0 软件对实验数据进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,2 组间比较采用 *t* 检验,多

组间比较采用单因素方差分析,进一步两两间比较采用 LSD-*t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 普通组与高脂血症组大鼠血脂四项

大鼠血清 TC、TG、LDL-C 和 HDL-C 水平组间比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与普通组比较,高脂血症组大鼠血清 TC、TG、LDL-C 水平升高, HDL-C 水平降低 ($P < 0.05$),见表 1。

2.2 各组大鼠 mNSS

大鼠 mNSS 组间比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与假手术组比较,缺血再灌注组大鼠再灌注

不同时间点 mNSS 降低 ($P < 0.05$);与模型组比较,普罗布考低剂量组、普罗布考高剂量组大鼠再灌注不同时间点 mNSS 升高 ($P < 0.05$);与普罗布考低剂量组比较,普罗布考高剂量组大鼠再灌注 6、48、72 h mNSS 升高 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 各组大鼠血脂四项水平比较 ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

组别	<i>n</i>	TC	TG	LDL-C	HDL-C
普通组	20	1.42±0.13	0.39±0.04	0.42±0.05	1.37±0.11
高脂血症组	120	2.61±0.16	0.65±0.05	0.69±0.07	1.21±0.09
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

表 2 各组大鼠再灌注后不同时间点神经功能缺损评分 ($\bar{x} \pm s$, 分, $n=5$)

组别	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h
假手术组	17.12±0.81	16.81±0.84	17.03±1.17	17.24±0.85	17.45±0.92
缺血再灌注组	11.54±0.96 ^a	10.61±0.95 ^a	8.25±0.85 ^a	8.78±0.72 ^a	9.87±0.73 ^a
普罗布考低剂量组	12.35±0.79 ^{ab}	12.12±0.71 ^{ab}	11.07±0.92 ^{ab}	10.98±0.77 ^{ab}	11.85±0.84 ^{ab}
普罗布考高剂量组	13.63±0.86 ^{abc}	12.45±0.89 ^{ab}	11.21±0.87 ^{ab}	12.06±0.81 ^{abc}	13.67±0.95 ^{abc}
<i>F</i>	41.212	48.905	73.626	103.322	69.613
<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

^a: $P < 0.05$, 与假手术组比较; ^b: $P < 0.05$; 与缺血再灌注组比较; ^c: $P < 0.05$, 与普罗布考低剂量组比较。

2.3 各组大鼠脑梗死体积

大鼠脑梗死体积组间比较,差异有统计学意义 ($F = 305.905, P < 0.001$)。与缺血再灌注组 [$(178.59 \pm 15.53) \text{ mm}^3$] 比较,普罗布考低剂量组 [$(119.82 \pm 10.42) \text{ mm}^3$]、普罗布考高剂量组 [$(97.34 \pm 11.61) \text{ mm}^3$] 大鼠脑梗死体积减小 ($P < 0.05$);与普罗布考低剂量组比较,普罗布考高剂量组大鼠脑梗死体积减小 ($P < 0.05$)。

2.4 各组大鼠缺血脑组织 TNF- α 、IL-1 β 水平

大鼠缺血脑组织 TNF- α 、IL-1 β 水平组间比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与假手术组比较,缺血再灌注组大鼠缺血脑组织 TNF- α 、IL-1 β 水平升高 ($P < 0.05$);与缺血再灌注组比较,普罗布考低剂量组、普罗布考高剂量组大鼠缺血脑组织 TNF- α 、IL-1 β 水平降低 ($P < 0.05$);与普罗布考低剂量组比较,普罗布考高剂量组大鼠缺血脑组织 TNF- α 、IL-1 β 水平降低 ($P < 0.05$)。见表 3。

2.5 各组大鼠缺血脑组织 NF- κ B 通路相关蛋白表达水平

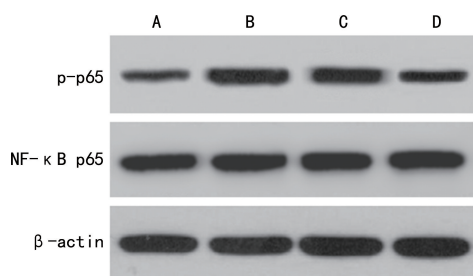
大鼠缺血脑组织 p-p65 蛋白表达水平组间比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。与假手术组比较,缺血再灌注组大鼠缺血脑组织 p-p65 蛋白表达水平升高 ($P < 0.05$);与缺血再灌注组比较,普罗布考低剂量组、普罗布考高剂量组大鼠缺血脑组织 p-p65 蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$);与普罗布考低剂量组比较,普

罗布考高剂量组大鼠缺血脑组织 p-p65 蛋白表达水平降低 ($P < 0.05$),各组大鼠缺血脑组织 NF- κ B p65 蛋白表达水平比较,差异无统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 1,表 4。

表 3 各组大鼠缺血脑组织 TNF- α 、IL-1 β 水平 ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	TNF- α (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)
假手术组	174.52±26.51	79.68±8.97
缺血再灌注组	629.41±37.08 ^a	230.51±16.72 ^a
普罗布考低剂量组	394.12±28.13 ^{ab}	149.37±11.13 ^{ab}
普罗布考高剂量组	287.26±24.57 ^{abc}	124.06±10.57 ^{abc}
<i>F</i>	724.763	562.041
<i>P</i>	<0.001	<0.001

^a: $P < 0.05$, 与假手术组比较; ^b: $P < 0.05$; 与缺血再灌注组比较; ^c: $P < 0.05$, 与普罗布考低剂量组比较。



A: 假手术组; B: 缺血再灌注组; C: 普罗布考低剂量组; D: 普罗布考高剂量组。

图 1 大鼠缺血脑组织 NF- κ B 通路相关蛋白表达水平

表 4 各组大鼠缺血脑组织 NF- κ B p65、p-p65 蛋白表达水平($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	NF- κ B p65	p-p65
假手术组	1.01 \pm 0.10	0.34 \pm 0.04
缺血再灌注组	1.05 \pm 0.11	0.97 \pm 0.07 ^a
普罗布考低剂量组	0.99 \pm 0.08	0.62 \pm 0.06 ^{ab}
普罗布考高剂量组	1.02 \pm 0.09	0.49 \pm 0.05 ^{abc}
F	0.205	68.857
P	0.890	<0.001

^a: $P < 0.05$, 与假手术组比较; ^b: $P < 0.05$; 与缺血再灌注组比较; ^c: $P < 0.05$, 与普罗布考低剂量组比较。

3 讨论

脑血管病是全球主要的健康问题之一,包括脑动脉粥样硬化、脑动脉炎、脑动脉损伤、脑动脉瘤、颅内血管畸形和脑动静脉瘘等,大、小脑血管病变均可触发卒中^[12]。目前,我国每年脑血管病新发病例约 250 万,死亡人数约 150 万,而大概 75% 幸存患者留有不同程度的后遗症^[6]。其中,缺血性脑卒中是由于颈动脉和椎动脉等脑部供血动脉狭窄、闭塞引起脑组织缺血缺氧及缺血再灌注导致的炎症反应、酸中毒、自由基生成等一系列病理变化^[13-15]。脑缺血再灌注损伤包括血管通透性增加、血脑屏障破坏和脑水肿等,是导致缺血性脑卒中患者预后不良的关键因素^[16]。缺血性脑卒中患者死亡的脑细胞周围存在大量神经元,因此有效恢复血氧供应,减小动脉斑块面积,减轻神经细胞损伤及降低血脂可以显著改善患者的神经功能。临床上常以静脉溶栓和血管内血栓切除术进行快速再灌注,以及血压控制、胆固醇管理和抗血栓药物等二级预防方式^[17]进行处理。

普罗布考是 1 种具有抗氧化和抗炎特性的酚类化合物降脂剂,已用于临床治疗和预防心血管疾病^[18]。NAKAGAWA 等^[19]研究表明,普罗布考在体外血脑屏障模型中可减轻氧糖剥夺/复氧引起的跨内皮电阻降低和通透性增加;在小鼠大脑中动脉阻断再灌注模型中可减小术后脑梗死面积和血管渗漏并保持紧密连接蛋白的完整性。杨成等^[20]研究发现,普罗布考可以提高缺血再灌注损伤大鼠血及肾组织中超氧化物歧化酶活性,改善肾功能,降低血脂水平,减轻肾组织病理损伤,发挥肾脏保护作用。曾洪艳等^[21]研究显示,普罗布考可通过转化生长因子 β 1/Smad2/3 通路减轻大鼠脑缺血再灌注的炎症损伤。本研究建立高脂血症大鼠中动脉阻断大鼠模型,经普罗布考治疗后发现大鼠脑缺血再灌注不同时间点 mNSS 升高、脑梗死体积减小,缺血脑组织 TNF- α 、IL-1 β 水平降低,提示普罗布考可减轻高脂血症大鼠脑缺血再灌注损伤,发挥脑保护作用。

NF- κ B 是 1 种早期核转录因子,通过与靶基因启动子/增强子区域的特定序列结合并启动基因转录。静息状态下,NF- κ B 通常以 p50/p65 二聚体形式与 NF- κ B 抑制剂(I κ B)结合形成无活性异源复合体存在于细胞质中,细胞外信号刺激下,I κ B 激酶复合体将 I κ B 磷酸化,复合体解离并释放 NF- κ B,游离的 NF- κ B 从细胞质转移至细胞核,p65 亚基与靶基因 κ B 结合位点结合启动或增强基因如 TNF- α 、IL-1 β 等的转录,导致炎症反应^[22]。LIANG 等^[23]研究发现,远程缺血预处理可通过调控 NF- κ B 通路减轻大鼠脑缺血再灌注损伤,发挥神经保护作用。WU 等^[24]研究表明,长春西汀通过调控 Toll 样受体 4/髓样分化因子 88/NF- κ B 通路抑制炎症反应,减轻脑缺血再灌注损伤。本研究结果显示,经普罗布考治疗后,高脂血症大鼠中动脉阻断大鼠缺血脑组织 p-p65 蛋白表达水平降低,提示普罗布考可能通过调控 NF- κ B 通路发挥对高脂血症大鼠中动脉阻断大鼠缺血再灌注的脑保护作用。

综上所述,普罗布考对高脂血症大鼠脑缺血再灌注具有脑保护作用,其机制可能与调控 NF- κ B 通路及下游相关炎症因子的表达有关。本研究为普罗布考应用于高脂血症合并缺血性脑卒中的临床治疗提供理论支持。

参考文献

- [1] BOURSIN P, PATERNOTTE S, DERCY B, et al. Semantics, epidemiology and semiology of stroke[J]. Soins, 2018, 63(828): 24-27.
- [2] WANG Y, LU Z, SUN S, et al. Risk factors, topographic patterns and mechanism analysis of intracranial atherosclerotic stenosis ischemic stroke[J]. Int J Neurosci, 2017, 127(3): 267-275.
- [3] KANG K, WANG Y, WU J, et al. Association between cumulative exposure to increased low-density lipoprotein cholesterol and the prevalence of asymptomatic intracranial atherosclerotic stenosis [J]. Front Neurol, 2020, 11: 555274.
- [4] BHASKAR S, STANWELL P, CORDATO D, et al. Reperfusion therapy in acute ischemic stroke: dawn of a new era? [J]. BMC Neurology, 2018, 18(1): 8.
- [5] HE J, ZHOU D, YAN B. Eriocitrin alleviates oxidative stress and inflammatory response in cerebral ischemia reperfusion rats by regulating phosphorylation levels of Nrf2/NQO-1/HO-1/

- NF- κ B p65 proteins[J]. *Ann Transl Med*, 2020, 8(12):757.
- [6] 宗艳杰, 谷玉静, 钱娜, 等. 普罗布考联合阿托伐他汀治疗老年脑梗死的疗效观察[J]. *神经损伤与功能重建*, 2020, 15(1):44-46.
- [7] HUANG J L, YU C, SU M, et al. Probucol, a “non-statin” cholesterol-lowering drug, ameliorates D-galactose induced cognitive deficits by alleviating oxidative stress via Keap1/Nrf2 signaling pathway in mice [J]. *Aging (Albany NY)*, 2019, 11(19):8542-8555.
- [8] KIM B J, LEE E J, KWON S U, et al. Prevention of cardiovascular events in Asian patients with ischaemic stroke at high risk of cerebral haemorrhage (PICASSO): a multicentre, randomised controlled trial [J]. *Lancet Neurol*, 2018, 17(6):509-518.
- [9] 林玲, 刘芷君, 雷郑延, 等. 茶籽皂苷对高脂血症大鼠肠道菌群的影响研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2020, 32(2):173-181.
- [10] 王国佐, 龚盛强, 兰斌, 等. 大脑中动脉阻断模型大鼠血浆差异蛋白筛选及其生物信息学分析[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2019, 17(7):997-1000.
- [11] SUN S, GAO N, HU X, et al. SOD3 overexpression alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Mol Genet Genomic Med*, 2019, 7(10):e00831.
- [12] HU X, DE SILVA T M, CHEN J, et al. Cerebral vascular disease and neurovascular injury in ischemic stroke [J]. *Circ Res*, 2017, 120(3):449-471.
- [13] FOX K A A, LUCAS J E, PIEPER K S, et al. Improved risk stratification of patients with atrial fibrillation: an integrated GARFIELD-AF tool for the prediction of mortality, stroke and bleed in patients with and without anticoagulation [J]. *BMJ Open*, 2017, 7(12):e017157.
- [14] EITRINGHAM S A, KILNER K, GEE M, et al. Impact of dysphagia assessment and management on risk of stroke-associated pneumonia: a systematic review [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2018, 46(3/4):99-107.
- [15] PICCARDI B, GIRALT D, BUSTAMANTE A, et al. Blood markers of inflammation and endothelial dysfunction in cardioembolic stroke: systematic review and meta-analysis [J]. *Biomarkers*, 2017, 22(3/4):200-209.
- [16] ZUO G, ZHANG D, MU R, et al. Resolvin D2 protects against cerebral ischemia/reperfusion injury in rats [J]. *Mol Brain*, 2018, 11(1):9.
- [17] CAMPBELL B C V, DE SILVA D A, MACLEOD M R, et al. Ischaemic stroke [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1):70.
- [18] SANTOS D B, COLLE D, MOREIRA E L G, et al. Probucol protects neuronal cells against peroxide-induced damage and directly activates glutathione peroxidase-1 [J]. *Mol Neurobiol*, 2020, 57(8):3245-3257.
- [19] NAKAGAWA S, ARUGA J. Sphingosine 1-phosphate signaling is involved in impaired blood-brain barrier function in ischemia-reperfusion injury [J]. *Mol Neurobiol*, 2020, 57(3):1594-1606.
- [20] 杨成, 任星峰, 彭隽. 普罗布考对肾脏缺血再灌注损伤大鼠的保护作用及机制 [J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2017, 46(6):660-664.
- [21] 曾洪艳, 彭宇婕, 保丽玲. 普罗布考通过 TGF- β 1/Smad 2/3 通路减轻大鼠脑缺血再灌注损伤 [J]. *解剖学杂志*, 2017, 40(3):278-282, 291.
- [22] ZHANG Y, ZHOU X, ZHANG M M, et al. ZBTB20 promotes cell migration and invasion of gastric cancer by inhibiting I κ B α to induce NF- κ B activation [J]. *Artificial Cells*, 2019, 47(1):3862-3872.
- [23] LIANG W, LIN C, YUAN L, et al. Preactivation of Notch1 in remote ischemic preconditioning reduces cerebral ischemia-reperfusion injury through crosstalk with the NF- κ B pathway [J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1):181.
- [24] WU L R, LIU L, XIONG X Y, et al. Vinpocetine alleviate cerebral ischemia/reperfusion injury by down-regulating TLR4/MyD88/NF- κ B signaling [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(46):80315-80324.