

加味补阳还五汤调节PINK1/Parkin信号通路介导的线粒体自噬对脑缺血再灌注小鼠的影响

郭丽¹, 陈恒文², 占存¹, 应真真¹, 吴作敏¹, 金少举³, 曹尚美¹,
黄圣明^{1,4}, 王瑾¹, 于晓涛^{1*}

(1. 漯河市中心医院, 河南中药制剂与加工中医药重点实验室,
河南省中药制剂现代化技术研发与临床应用工程研究中心, 河南漯河 462000;

2. 中国中医科学院 中药研究所, 北京 100700;

3. 漯河医学高等专科学校, 河南漯河 462002;

4. 天津医科大学总医院, 天津 300050)

[摘要] 目的:研究加味补阳还五汤通过PTEN诱导假定蛋白激酶1/E3泛素连接酶(PINK1/Parkin)信号通路介导线粒体自噬途径对脑缺血再灌注小鼠的影响,探讨加味补阳还五汤改善脑缺血再灌注的作用机制。方法:将72只C57BL/6J雄性小鼠随机分为6组,每组12只,包括假手术组、大脑中动脉闭塞再灌注(MCAO/R)模型组,加味补阳还五汤低、中、高剂量组(8.84、17.68、35.36 g·kg⁻¹·d⁻¹)和阿司匹林组(13.00 mg·kg⁻¹·d⁻¹)。采用Zea-Longa法评估神经功能缺损评分;2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色测定脑梗死体积比;苏木素-伊红染色(HE)和尼氏染色观察脑组织病理与神经元损伤;脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法(TUNEL)法观察细胞凋亡;透射电镜(TEM)观察小鼠脑组织线粒体超微结构;酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测血清中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)水平;实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)和蛋白免疫印迹法(Western blot)分别检测脑组织PINK1、Parkin、微管相关蛋白1轻链3B(LC3B)、LC3 II/LC3 I、p62 mRNA和蛋白表达。结果:与假手术组比较,模型组小鼠神经功能缺损评分、脑梗死体积比显著升高($P<0.01$),脑梗死侧皮层损伤严重,表现为神经元密度降低、胞体空泡化、核固缩,尼氏体数量显著减少,部分锥体细胞胞质内尼氏体溶解、边界模糊,TUNEL阳性细胞数量显著升高($P<0.01$),线粒体伴随嵴膜断裂和基质空泡化,线粒体外膜破裂,形成自噬体且数量显著增加,血清中SOD活性显著降低($P<0.01$),MDA含量显著升高,差异具有统计学意义($P<0.01$),模型组小鼠脑梗死组织中PINK1、Parkin、LC3B mRNA相对表达量和蛋白表达明显升高($P<0.05$, $P<0.01$),p62 mRNA和蛋白表达明显降低($P<0.05$, $P<0.01$);与模型组比较,各给药组神经功能缺损评分和脑梗死体积比显著降低,差异具有统计学意义($P<0.01$),神经元密度显著上升,胞体空泡化现象减轻,细胞核形态趋于规则,细胞核逐渐清晰,尼氏体分布密度显著升高,溶解现象减轻,轮廓清晰度提升,线粒体嵴膜结构部分重建,部分呈现自噬体包裹现象,线粒体破坏程度减轻,血清中SOD活性显著升高,差异具有统计学意义($P<0.01$),MDA含量显著降低;PINK1、Parkin、LC3 II/LC3 I mRNA和蛋白表达明显升高,差异具有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$),加味补阳还五汤低剂量组和中剂量组的p62 mRNA和蛋白表达明显降低,差异具有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$)。结论:加味补阳还五汤可上调PINK1、Parkin及LC3 II/LC3 I蛋白表达水平,下调p62蛋白表达,揭示其可能通过调节PINK1/Parkin信号通路相关蛋白表达,对脑缺血再灌注损伤产生改善作用,调控线粒体自噬通路可能是加味补阳还五汤缓解小鼠脑缺血再灌注损伤的作用途径之一。

[关键词] 加味补阳还五汤; 归芪通脉合剂; 脑缺血再灌注; 自噬; PTEN诱导假定蛋白激酶1/E3泛素连接酶(PINK1/Parkin)信号通路

[中图分类号] R256;R285;R743.3 [文献标识码] A [文章编号] 1005-9903(2026)11-0034-10

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20251329

[网络出版地址] <https://link.cnki.net/urlid/11.3495.R.20250613.1339.007>

[网络出版日期] 2025-06-13 15:54:40



[收稿日期] 2025-03-26

[基金项目] 北京市自然科学基金面上项目(7252257);国家自然科学基金面上项目(82074396);河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20240764);漯河市2022年度重大科技创新专项(揭榜挂帅)项目(漯科[2022]45号);漯河市2023年科技创新券项目(漯创体办[2023]1号)

[第一作者] 郭丽,硕士,主管药师,从事脑病发病机制及中医药防治研究,E-mail: guoliyy@163.com

[通信作者] * 于晓涛,主任药师,从事中药制剂研发与临床应用研究,E-mail: 346727649@qq.com

Effects of Modified Buyang Huanwu Tang on Mice with Cerebral Ischemia-reperfusion Injury by Regulating PINK1/Parkin Signaling Pathway-mediated Mitochondrial Autophagy

GUO Li¹, CHEN Hengwen², ZHAN Cun¹, YING Zhenzhen¹, WU Zuomin¹, JIN Shaoju³,
CAO Shangmei¹, HUANG Shengming^{1,4}, WANG Jin¹, YU Xiaotao^{1*}

(1. Luohe Central Hospital/Henan Key Laboratory of Traditional Chinese Medicine (TCM) Preparation and Processing/Henan Engineering Research Center of Modern Technology Development and Clinical Application of TCM Preparation, Luohe 462000, China; 2. Institute of Chinese Materia Medica, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700, China; 3. Luohe Medical College, Luohe 462002, China; 4. Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300050, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of modified Buyang Huanwu Tang on cerebral ischemia-reperfusion injury (CI/RI) in mice via the PTEN-induced putative kinase 1/E3 ubiquitin ligase (PINK1/Parkin) signaling pathway-mediated mitophagy, and to explore the underlying mechanism by which modified Buyang Huanwu Tang improves CI/RI. **Methods:** Seventy-two male C57BL/6J mice were randomly divided into six groups ($n = 12$ per group): Sham-operated group, middle cerebral artery occlusion/reperfusion (MCAO/R) model group, low-, medium-, and high-dose modified Buyang Huanwu Tang groups ($8.84, 17.68, 35.36 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$), and an aspirin group ($13.00 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$). Neurological deficit scores were assessed using the Zea-Longa method. Cerebral infarct volume ratio was measured by 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride (TTC) staining. Histopathological changes and neuronal injury in brain tissues were observed using hematoxylin-eosin (HE) staining and Nissl staining. Apoptosis was detected by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick-end labeling (TUNEL) assay. Mitochondrial ultrastructure in brain tissue was observed by transmission electron microscopy (TEM). Serum levels of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The mRNA and protein expression levels of PINK1, Parkin, microtubule-associated protein 1 light chain 3B (LC3B, LC3 II/I), and p62 in brain tissues were detected by real-time quantitative reverse transcription PCR (Real-time PCR) and Western blot, respectively. **Results:** Compared with the sham-operated group, the MCAO/R model group showed significantly increased neurological deficit scores and cerebral infarct volume ratios ($P < 0.01$). Severe cortical injury on the infarct side was observed, characterized by decreased neuronal density, cytoplasmic vacuolation, nuclear pyknosis, a marked reduction in Nissl bodies, dissolution of Nissl bodies in the cytoplasm of some pyramidal neurons, and blurred cellular boundaries. The number of TUNEL-positive cells increased significantly ($P < 0.01$). Mitochondria exhibited cristae membrane rupture and matrix vacuolation, with rupture of the outer mitochondrial membrane and formation of autophagosomes, the number of which increased significantly. Serum SOD activity decreased significantly ($P < 0.01$), while MDA content increased significantly ($P < 0.01$). In infarcted brain tissues of model mice, the relative mRNA expression and protein levels of PINK1, Parkin and LC3B were significantly increased ($P < 0.05, P < 0.01$), whereas p62 mRNA and protein expression were significantly decreased ($P < 0.05, P < 0.01$), showing statistical significance. Compared with the model group, all treatment groups showed significantly decreased neurological deficit scores and cerebral infarct volume ratios ($P < 0.01$). Neuronal density increased significantly, cytoplasmic vacuolation was alleviated, nuclear morphology tended to be more regular and clearer, Nissl body density increased significantly with reduced dissolution and improved contour clarity. The mitochondrial cristae structure was partially restored, with some mitochondria showing autophagosome encapsulation, and the degree of mitochondrial damage was alleviated. Serum SOD activity increased significantly ($P < 0.01$), while MDA content decreased significantly. The mRNA and protein expression levels of PINK1, Parkin, and LC3 II/I were significantly increased ($P < 0.05, P < 0.01$), while p62 mRNA and protein expression in the low- and medium-dose modified Buyang Huanwu Tang groups were significantly decreased ($P < 0.05, P < 0.01$), showing statistical significance. **Conclusion:** Modified Buyang Huanwu Tang can upregulate the protein expression levels of PINK1, Parkin, and LC3 II/I and downregulate p62 protein expression, suggesting that it may improve CI/RI by regulating the expression of proteins related to the PINK1/Parkin signaling pathway. Regulation of the mitophagy pathway may be one of the mechanisms by which modified Buyang Huanwu Tang alleviates CI/RI in mice.

[Keywords] modified Buyang Huanwu Tang; Guiqi Tongmai mixture; cerebral ischemia-reperfusion injury; autophagy; PTEN-induced putative kinase 1/E3 ubiquitin ligase (PINK1/Parkin) signaling pathway

缺血性脑卒中作为全球性重大公共卫生问题，是导致神经功能缺损的首要脑血管疾病类型^[1]。根

据全球疾病负担研究显示，该疾病在脑卒中亚型中占比达 65.3%^[2]。近年来其发病率呈现爆发式增长

和年轻化趋势,给家庭和社会带来了沉重的负担^[3]。目前,药物溶栓、机械取栓是缺血性脑卒中早期再灌注治疗的主要方法,然而,部分大血管开通后常发生脑缺血性再灌注损伤(CI/RI)导致神经功能进一步恶化^[4],成为制约患者预后改善的关键瓶颈^[5]。因此,及时减轻CI/RI对于疾病管理有着重要的意义。

清代医家王清任提出中风是由“气虚血瘀”所致,气虚血滞,因虚致瘀,瘀阻脑络。现代中医理论认为线粒体是细胞的能量工厂,线粒体功能障碍会导致三磷酸腺苷(ATP)生成减少,活性氧增加,引发氧化应激,进而导致细胞损伤和凋亡,在一定程度上反映了中医“气虚血瘀”中的能量代谢异常和气血运行障碍^[6]。线粒体自噬在脑缺血时被激活,并通过清除受损线粒体作用于其他相关病理过程,已成为干预CI/RI的新靶点^[7]。研究证实,通过调控PTEN诱导假定蛋白激酶1/E3泛素连接酶(PINK1/Parkin)信号通路介导线粒体自噬可有效减轻缺血性脑卒中再灌注治疗后继发性脑损伤^[8]。

加味补阳还五汤系在《医林改错》补阳还五汤^[9]经典名方的基础上,结合漯河市中心医院多年临床经验化裁而成,已成功申报为医院制剂归芪通脉合剂(GQTMM,豫药制备字Z20210112000),处方由黄芪36g、当归12g、川芎8g、赤芍8g、桃仁8g、红花8g、陈皮8g、白术8g、党参8g、茯苓8g、蜈蚣2条、地龙8g、白僵蚕8g、甘草4.8g组成。方中黄芪甘温,固表气,使气旺以促血行,瘀祛络通,为君药;其气既虚,营血易亏,故以当归为臣,补养营血,活血通络,且“血为气之宅”,可使所补之气有所依附;诸药合用,共奏理气活血,化瘀通脉之功。课题组前期突破传统水提工艺,引入挥发油提取^[10],建立多层次质量评价体系^[11-12],然而尚未阐明GQTMM是否具有改善神经缺损功能,能否通过线粒体自噬改善CI/RI,其发挥药效的机制是否与PINK1/Parkin信号通路的动态平衡有关。因此,本研究通过建立大脑中动脉闭塞再灌注(MCAO/R)小鼠模型,聚焦PINK1/Parkin信号通路介导的线粒体自噬,探讨GQTMM干预CI/RI的分子机制,以期为GQTMM的临床应用提供循证依据,为中药多靶点调控线粒体自噬的理论体系构建提供创新视角。

1 材料

1.1 动物与饲料 6~8周龄SPF级C57BL/6J雄性小鼠,体质量22~25g,由河南省实验动物中心提供,合格证号SCXK(豫)2022-0001,饲养于漯河市中心医院SPF级实验动物中心,动物使用许可证号

SYXK(豫)2022-0011,饲养温度(22±1)℃,相对湿度40%~70%,自由饮水进食,光照条件为(白昼)每12h交替,适应性观察1周。

1.2 伦理 动物实验通过漯河市中心医院实验动物伦理与福利委员会批准(批准号lhxyy2309001)。

1.3 药物 所有中药饮片均由河南鸿博药业有限公司提供,并经药品制剂科于晓涛主任药师鉴定均符合2020年版《中华人民共和国药典》要求,GQTMM(漯河市中心医院药品制剂科生产,批号20231121),阿司匹林肠溶片(德国Bayer公司,批号20230227),异氟烷(江苏恒丰强生物技术有限公司,批号20230901)。

1.4 试剂 4%多聚甲醛通用型组织固定液(北京兰杰柯科技有限公司,批号23257838);甲基紫法尼氏染色试剂盒(珠海贝索生物技术有限公司,批号20230719);苏木素-伊红(HE)染色试剂盒、2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC)染色液、SF488脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法(TUNEL)细胞凋亡试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,批号分别为20231128、240001001、20231201);电镜固定液、增强化学发光(ECL)试剂盒、放射免疫沉淀法(RIPA)裂解液(武汉赛维尔生物科技有限公司,批号分别为G1102、CR2405067、CR2404066);俄酸(美国Ted Pella Inc公司,批号18456);醋酸铀(美国SPI公司,批号02624-AB)、枸橼酸三钠(国药集团化学试剂有限公司,批号10019408);硝酸铅(美国Sigma公司,批号203580);小鼠超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)试剂盒(上海酶科生物科技有限公司,批号均为2024-06);三异硫氰酸胍-苯酚-三氯甲烷试剂(TRIzol)总RNA提取试剂(北京艾德莱生物科技有限公司,批号RN0102);焦碳酸二乙酯(DEPC)水(上海碧云天公司,批号2040828);ABSCRIPT III RT Master Mix for qPCR with gDNA Remover、SYBR Green Fast qPCR Mix(爱博泰克生物科技有限公司,批号分别为RK21203、RK202429);蛋白酶磷酸酶抑制剂混合液、PINK1、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体、辣根过氧化物酶(HRP)标记亲和纯化山羊抗兔二抗(武汉普洛麦格生物科技有限公司,批号分别为20034425、23274-1-AP、20536-1-AP、RGAR001);聚氨基丙氨酸正丁酯(BCA)蛋白测定试剂盒(北京碧云天生物技术有限公司,批号060723240507);Parkin、微管相关蛋白轻链3 II/I(LC3 II/I)、p62(英国Abcam公司,批号分别为AB77924、AB192890、AB314504)。

1.5 仪器 ZS-TS型电视显微镜、ZS-MV-IV型小动物麻醉机(北京众实迪科技发展有限公司);DM750M型光学显微镜、DM2500型荧光显微镜(德国Leica公司);HT7800型透射电子显微镜(日本Hitachi公司);CFX-96型实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)仪、PowerPac Basic型垂直电泳仪转印系统、ChemiDoc XRS+型凝胶成像分析仪(美国Bio-Rad公司);BioTek Epoch型多功能酶标仪(美国Agilent公司)。

2 方法

2.1 分组、造模及给药 将小鼠随机均分为6组,包括假手术组,模型组,GQTMM低、中、高剂量组和阿司匹林组,每组12只,按照 $0.01 \text{ mg}\cdot\text{g}^{-1}$ 灌胃体积灌胃。假手术组、模型组给予蒸馏水,参照GQTMM成人日剂量为 0.97 g生药/kg ,按照小鼠体表面积剂量换算,按照 $8.84、17.68、35.36 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量给药,相当于临床日用量的1、2、4倍;参照阿司匹林肠溶片成人剂量为 $100 \text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$,换算成小鼠给药剂量为 $13.00 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ [13]。连续灌胃给药14 d,末次给药后1 h对模型组和各给药组的小鼠进行MCAO/R造模手术[14]。整个手术过程在体视显微镜下操作。小鼠采用2%异氟烷诱导麻醉再用1.5%异氟烷维持麻醉,颈部脱毛,沿着颈部中线开口约1 cm,依次顿性分离左侧颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉,颈外动脉远端结扎,近端剪口插入线栓,将线栓缓慢地插入颈总动脉,剪断颈外动脉,向前推进进入颈内动脉,当感受到轻微阻力时即为线栓插入成功,记录线栓插入时间。线栓插入1 h后,缓慢向外拔出线栓实现再灌注并缝合切口。记录拔出时间,再灌注24 h进行指标检测并取材。假手术组除不进行结扎和插入线栓外,其他操作同上。术中监测体温,维持在 37°C 。

2.2 神经功能评分 采用Zea-Longa评分法进行小鼠神经功能评分[14]。评分标准:无神经缺陷体征,0分;不能充分屈曲对侧前爪,1分;向麻痹侧旋转,2分;向麻痹侧倾倒,3分;无法自发行走、丧失意识,4分。统计各组小鼠评分结果,分析其神经功能损伤情况。

2.3 TTC染色 麻醉并断头取脑,于脑槽中切出平均厚度约1 mm的冠状切片,放入2%TTC染液中, 37°C 避光孵育30 min,4%多聚甲醛固定24 h并拍照,使用Image J软件计算脑梗死体积比。脑梗死体积比=各切片白色缺血区域面积之和/各脑片面积之和 \times 脑片厚度 $\times 100\%$ 。

2.4 HE染色和尼式染色 取小鼠脑组织冠状面切

片3 mm,浸泡于4%多聚甲醛溶液固定24 h,石蜡包埋后分别进行HE染色和尼式染色,封片后于光学显微镜下观察脑组织病理形态的改变并拍照。

2.5 TUNEL染色 采用TUNEL进行细胞凋亡的检测。按照TUNEL试剂盒说明书操作,并在荧光显微镜下观察绿色荧光和蓝色荧光下的发光情况,计算细胞凋亡率。

2.6 透射电镜观察脑梗死侧线粒体超微结构 取小鼠大脑梗死侧海马组织,立即投入装有电镜固定液的培养皿中,将样本切割成为 1 mm^3 大小的组织块,2.5%戊二醛于 4°C 固定24 h,经磷酸盐缓冲液(PBS)漂洗、1%锇酸避光室温固定2 h、PBS漂洗,脱水,渗透包埋,聚合,定位、超薄切片,2%醋酸铀饱和乙醇溶液、2.6%枸橼酸铅溶液染色后,在透射电子显微镜下采集图像分析。

2.7 酶联免疫吸附测定法(ELISA)检测氧化应激水平 各组小鼠处死前进行眼底静脉丛取血,静置30 min,使用不含热原和内毒素的试管,收集血液后, $3\ 000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心(离心半径18 cm)15 min将血清和红细胞迅速小心地分离,血清分装保存置 -80°C 冰箱备用。根据SOD、MDA试剂盒说明书操作,用酶标仪测定450 nm处吸光度A。

2.8 Real-time PCR检测相关蛋白表达 取小鼠大脑梗死侧皮层,加入TRIzol 1 mL,匀浆机充分研磨,提取总RNA,逆转录为cDNA,并以此为模板进行扩增。逆转录条件: 37°C , 2 min; 55°C , 15 min; 85°C , 5 min; 4°C , Hold。扩增条件:预变性 95°C , 3 min; 95°C 变性5 s; 60°C 退火30 s,循环反应40次。所有数据采用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 方法处理,每个实验重复3次。引物由中国生工生物工程公司(上海)设计提供,见表1。

2.9 蛋白免疫印迹法(Western blot) 取小鼠大脑梗死侧组织,提蛋白,使用BCA蛋白浓度定量试剂盒测定蛋白浓度。取 $30 \mu\text{g}$ 蛋白质用8%和12%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)进行电泳分离,采用湿法转膜将目标蛋白转移到聚偏二氟乙烯膜(PVDF膜)上,转膜后用5%脱脂牛奶封闭2 h,洗膜,加入一抗PINK1(1:1 000)、Parkin(1:4 000)、p62(1:4 000)、LC3 II / I(1:4 000)及内参 β -actin(1:6 500), 4°C 下慢摇孵育过夜,洗膜,加入辣根过氧化物酶标记的二抗(羊抗兔)免疫球蛋白G(IgG)(1:8 000)室温慢摇孵育1.5 h,ECL试剂避光显影,使用Image J软件扫描条带灰度值。通过与 β -actin的比较,定量分析这些蛋白的表达水平。

表1 引物序列

Table 1 Primer sequences

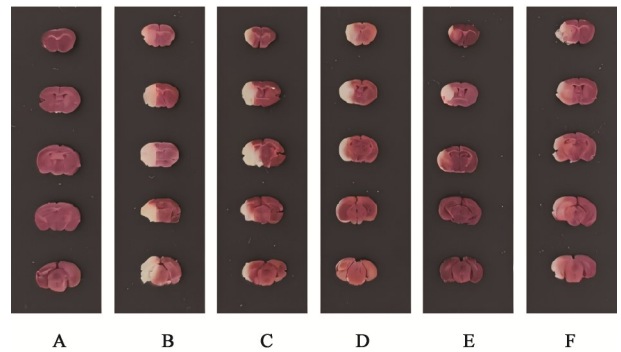
引物	序列(5'-3')	长度/bp
PINK1	上游 GAGGAGAAGCAGGCGGAAGG	113
	下游 TGCCAGCATCGAGTGTCAG	113
Parkin	上游 TTGACACGAGTGGACCTGAGC	105
	下游 ACCTCTGGCTGCTTCTGAATCC	105
LC3B	上游 GCGGGTGATTATAGAGCGATAAAG	117
	下游 CGCCGTCTGATTATCTTGATGAGC	117
p62	上游 GATGAAGGCGGCTGGCTCAC	101
	下游 CACAATGGTGGAGGGTCTTCG	101
β -actin	上游 GTGACGTTGACATCCGTAAAGA	174
	下游 GCCGGACTCATCGTACTCC	174

2.10 统计学处理 所有数据采用 GraphPad Prism 9.4.1 软件进行处理;统计数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间的比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA),组间的两两比较采用 *t* 检验方法进行, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 GQTM对MCAO/R小鼠神经功能和脑梗死体积的影响 与假手术组比较,模型组小鼠神经功能缺损评分和脑梗死体积比显著升高($P < 0.01$),提示造模成功;与模型组比较,各给药组神经功能缺损评分和脑梗死体积比显著降低($P < 0.01$)。表明GQTM在CI/RI早期具有神经保护功能。见图1和表2。

3.2 GQTM对MCAO/R小鼠脑组织形态学的影响 HE染色结果显示,假手术组皮层神经元胞体形态完整,细胞核清晰可见;与假手术组比较,模型组脑梗死侧皮层损伤严重,表现为神经元密度降低、胞体空泡化、核固缩,提示神经元变性坏死;与模型组比较,各给药组神经元密度显著上升,胞体空泡化现象减轻,细胞核形态趋于规则,细胞核逐渐清晰,提示经GQTM干预对CI/RI早期脑组织病理损



注:A.假手术组;B.模型组;C-E.GQTM低、中、高剂量组;F.阿司匹林组(图2-图5同)

图1 GQTM对MCAO/R小鼠脑梗死体积的影响

Fig. 1 Effect of GQTM on cerebral infarction volume in MCAO/R mice

表2 GQTM对MCAO/R小鼠神经功能评分和脑梗死体积比的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effect of GQTM on neurological function score and cerebral infarction volume in MCAO/R mice ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	神经功能缺损/分	脑梗死体积比/%
模型组		$2.67 \pm 0.47^{2)}$	$36.22 \pm 1.78^{2)}$
GQTM低剂量组	8.84	$2.17 \pm 0.37^{4)}$	$14.51 \pm 1.26^{4)}$
GQTM中剂量组	17.68	$2.00 \pm 0.58^{4)}$	$11.93 \pm 0.38^{4)}$
GQTM高剂量组	35.36	$1.67 \pm 0.47^{4)}$	$8.77 \pm 0.31^{4)}$
阿司匹林组	0.013	$1.50 \pm 0.50^{4)}$	$10.39 \pm 0.32^{4)}$

注:假手术组神经功能缺损及脑梗死体积比均为0;与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表3-表6同)

伤产生修复作用。尼氏染色结果显示,假手术组神经元内尼氏体分布密集,轮廓清晰;模型组梗死侧皮层尼氏体数量显著减少,部分锥体细胞胞质内尼氏体溶解、边界模糊,提示神经元蛋白质合成功能受损;与模型组比较,各给药组尼氏体分布密度显著升高,溶解现象减轻,轮廓清晰度提升,表明经过GQTM干预后可能通过维持尼氏体结构完整性促进CI/RI早期的神经元功能恢复。见图2。

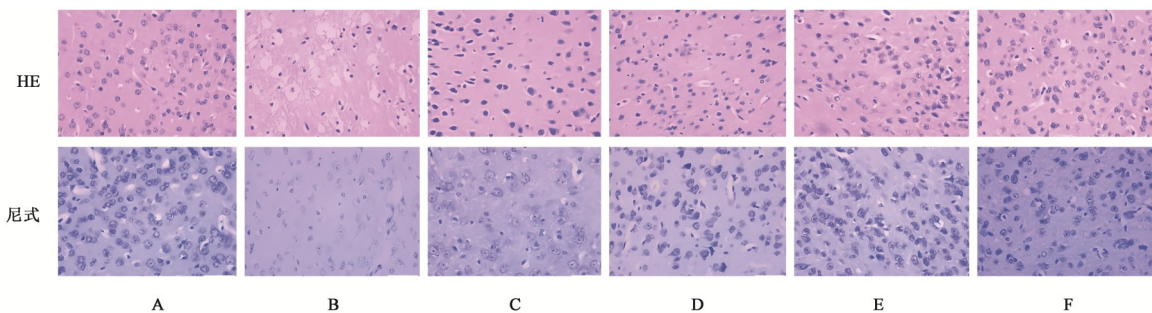


图2 GQTM对MCAO/R小鼠脑组织形态学的影响($\times 400$)

Fig. 2 Effect of GQTM on brain tissue morphology in MCAO/R mice ($\times 400$)

3.3 GQTMM对MCAO/R小鼠脑梗死侧细胞凋亡的影响 假手术组脑组织中仅见零星TUNEL阳性细胞,胞核形态完整,染色均匀;与假手术组比较,模型组脑梗死侧皮层TUNEL阳性细胞数量显著升高($P<0.01$),表现为核固缩、碎裂,提示CI/RI

可能激活神经元凋亡通路;与模型组比较,各给药组TUNEL阳性细胞密度显著降低,差异具有统计学意义($P<0.01$),提示经过GQTMM干预后可能通过抑制凋亡级联反应减轻CI/RI早期的脑损伤。见图3、表3。

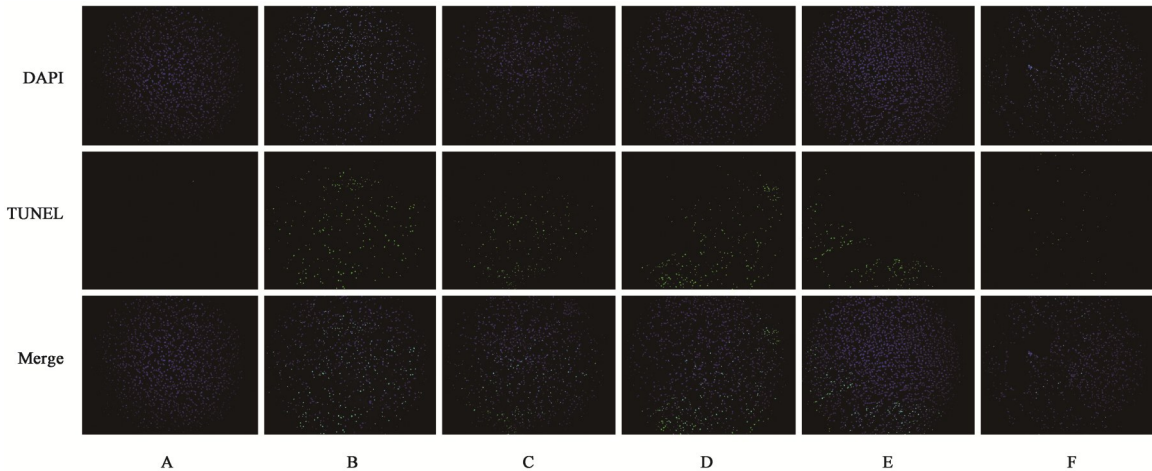


图3 GQTMM对MCAO/R小鼠脑梗死侧细胞凋亡的影响(TUNEL,×200)

Fig. 3 Effect of GQTMM on apoptosis of cells on infarcted side of MCAO/R mice (TUNEL,×200)

表3 GQTMM对MCAO/R小鼠TUNEL染色细胞凋亡的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Effect of GQTMM on apoptosis of TUNEL stained cells in MCAO/R mice ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	细胞凋亡率/%
假手术组		0.15±0.04
模型组		50.18±0.66 ²⁾
GQTMM低剂量组	8.84	45.14±0.22 ⁴⁾
GQTMM中剂量组	17.68	28.83±0.53 ⁴⁾
GQTMM高剂量组	35.36	10.86±0.31 ⁴⁾
阿司匹林组	0.013	11.19±0.21 ⁴⁾

3.4 GQTMM对MCAO/R小鼠脑梗死侧线粒体超微结构的影响 假手术组线粒体等细胞器结构完整,形态规则,线粒体嵴结构清晰,基质致密,内外膜完整;与假手术组比较,模型组线粒体伴随嵴膜断裂和基质空泡化,线粒体外膜破裂,形成自噬体且数量显著增加,提示CI/RI触发线粒体自噬以清除不可逆损伤细胞器;与模型组比较,各给药组线粒体嵴膜结构部分重建,部分呈现自噬体包裹现象,线粒体破坏程度减轻,提示经过GQTMM干预后可改善线粒体超微结构,调控线粒体自噬维持其稳态。见图4。

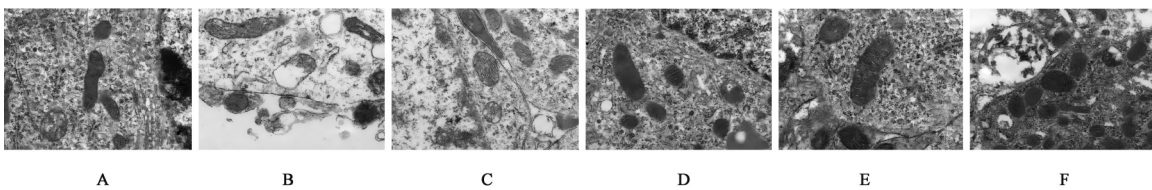


图4 GQTMM对MCAO/R小鼠脑梗死侧线粒体超微结构的影响(透射电镜,×20 000)

Fig. 4 Effect of GQTMM on ultrastructure of mitochondria on cerebral infarction side of MCAO/R mice (TEM,×20 000)

3.5 GQTMM对MCAO/R小鼠氧化应激的影响 与假手术组比较,模型组小鼠血清中SOD活性显著降低($P<0.01$),MDA含量显著升高($P<0.01$);与模型组比较,各给药组小鼠血清中SOD活性显著升高($P<0.01$),MDA含量显著降低($P<0.01$)。提示MCAO/R小鼠脑组织中存在氧化应激现象,经过GQTMM干预后可提高MCAO/R小鼠抗氧化能力。

见表4。

3.6 对小鼠脑梗死侧中PINK1、Parkin、LC3B、p62 mRNA相对表达量的影响 与假手术组比较,模型组小鼠脑梗死组织中PINK1、Parkin、LC3B mRNA相对表达量明显升高($P<0.05, P<0.01$),p62 mRNA相对表达量明显降低($P<0.05$);与模型组比较,各给药组PINK1、Parkin、LC3B mRNA表达水平显著升

表4 GQTMM对MCAO/R小鼠氧化应激的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 4 Effect of GQTMM on oxidative stress in MCAO/R mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	SOD/ng·L ⁻¹	MDA/ μ mol·L ⁻¹
假手术组		655.12±0.53	10.42±0.05
模型组		527.68±1.12 ²⁾	14.37±0.12 ²⁾
GQTMM低剂量组	8.84	552.18±1.70 ⁴⁾	13.30±0.05 ⁴⁾
GQTMM中剂量组	17.68	575.47±1.59 ⁴⁾	12.77±0.12 ⁴⁾
GQTMM高剂量组	35.36	591.65±1.06 ⁴⁾	11.90±0.22 ⁴⁾
阿司匹林组	0.013	605.22±2.01 ⁴⁾	12.02±0.38 ⁴⁾

表5 GQTMM对各组小鼠脑梗死组织mRNA相对表达量的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 5 Effect of GQTMM on relative expression of mRNA in MCAO/R mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	PINK1	Parkin	LC3B	p62
假手术组		0.28±0.01	0.38±0.05	0.49±0.09	1.22±0.02
模型组		1.00±0.09 ²⁾	1.00±0.13 ²⁾	1.00±0.10 ¹⁾	1.03±0.09 ¹⁾
GQTMM低剂量组	8.84	1.30±0.06 ³⁾	1.48±0.02 ⁴⁾	1.74±0.21 ⁴⁾	0.83±0.04 ⁴⁾
GQTMM中剂量组	17.68	1.56±0.04 ⁴⁾	1.61±0.16 ⁴⁾	1.82±0.18 ⁴⁾	0.79±0.05 ⁴⁾
GQTMM高剂量组	35.36	1.71±0.09 ⁴⁾	1.81±0.12 ⁴⁾	1.75±0.16 ⁴⁾	1.20±0.04 ³⁾
阿司匹林组	0.013	1.70±0.14 ⁴⁾	1.51±0.05 ⁴⁾	2.17±0.13 ⁴⁾	0.62±0.08 ⁴⁾

表6 GQTMM对MCAO/R小鼠蛋白表达的影响($\bar{x}\pm s, n=3$)

Table 6 Effect of GQTMM on protein expression in MCAO/R mice ($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	PINK1/ β -actin	Parkin/ β -actin	LC3 II / I / β -actin	p62/ β -actin
假手术组		0.99±0.03	1.03±0.04	0.94±0.04	0.95±0.07
模型组		2.70±0.04 ²⁾	0.91±0.01 ²⁾	1.46±0.05 ²⁾	0.73±0.07 ²⁾
GQTMM低剂量组	8.84	3.09±0.03 ⁴⁾	1.09±0.03 ⁴⁾	1.83±0.09 ⁴⁾	0.59±0.06 ⁴⁾
GQTMM中剂量组	17.68	3.25±0.01 ⁴⁾	1.15±0.02 ⁴⁾	2.00±0.13 ⁴⁾	0.60±0.08 ³⁾
GQTMM高剂量组	35.36	3.55±0.04 ⁴⁾	1.02±0.01 ⁴⁾	1.75±0.12 ⁴⁾	0.88±0.05 ⁴⁾
阿司匹林组	0.013	3.54±0.07 ⁴⁾	1.00±0.01 ⁴⁾	1.68±0.04 ³⁾	0.61±0.02 ³⁾

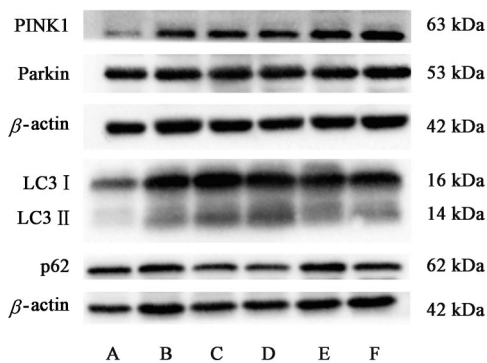


图5 各组小鼠脑组织PINK1/Parkin及线粒体自噬蛋白表达电泳
Fig. 5 Electrophoresis of PINK1/Parkin and autophagy protein in brain tissues of mice in each group

4 讨论

CI/RI是继血流和再氧化恢复后发生的复杂病理生理过程,是缺血性脑血管病治疗中的关键难

高($P<0.01$), p62 mRNA表达明显降低($P<0.05$, $P<0.01$)。见表5。

3.7 对小鼠脑梗死侧中PINK1、Parkin及线粒体自噬相关蛋白LC3 II/I、p62表达的影响 与假手术组比较,模型组PINK1、Parkin、LC3 II/I蛋白表达显著升高($P<0.01$), p62表达显著降低($P<0.01$);与模型组比较,各给药组PINK1、Parkin、LC3 II/I蛋白表达明显升高($P<0.05$, $P<0.01$),各给药组p62表达明显降低($P<0.05$, $P<0.01$),见表6、图5。

题,其病理机制涉及能量障碍、神经炎症、兴奋性氨基酸毒性及细胞程序性死亡(如铁死亡、自噬、凋亡)等多重复杂环节^[15-16]。其中线粒体功能障碍是导致CI/RI神经细胞损伤的重要病理基础^[17]。PINK1/Parkin途径作为介导线粒体自噬的关键通路,通过选择性清除受损线粒体维持细胞稳态,对CI/RI的治疗和预后起到积极作用^[18-19]。

气虚血瘀型中风是中医理论中中风病的重要证型之一,其本质是“因虚致瘀,瘀久伤正”。气虚导致血瘀,血瘀进一步耗气,气不摄血,血行迟滞,瘀阻脑络。加味补阳还五汤以补气活血、化瘀通络为主,由黄芪、当归、川芎等14味中药组成。黄芪是诸多治疗缺血性脑卒中的中药方剂中的首选药物,补气活血。当归-川芎药对发挥养血补血、活血祛瘀的功效。现代药理研究发现,黄芪中活性成分黄芪

甲苜、当归-川芎中有效成分藁本内酯可激活CI/RI大鼠脑组织PINK1/parkin信号通路,进一步激活线粒体自噬,抑制氧化应激反应,改善CI/RI所致的神经元损伤,从而减轻脑缺血再灌注损伤^[20-21];藁本内酯可以通过减少神经元中活性氧聚集和Ca²⁺超载,增强线粒体膜电位(MMP),促进线粒体分裂,从而激活线粒体自噬,保护脑缺血再灌注的海马神经元损伤^[22]。阿司匹林作为经典的非甾体抗炎药,具有多靶点作用机制和良好的血脑屏障穿透能力,在临床中被广泛应用于心脑血管疾病防治。近年研究表明,该药物除传统解热镇痛功能外,其通过调节炎症通路、促进神经细胞发生线粒体自噬、抑制神经细胞凋亡等多重途径,在神经系统损伤模型中表现出明确的保护效应^[23-25]。

线粒体自噬是一个具有高度动态的过程^[26-27]。线粒体损伤触发膜通透性转换孔(mPTP)开放,使线粒体膜电位去极化,导致PINK1在线粒体外膜稳定聚集,并激活Parkin泛素连接酶,启动自噬信号级联;泛素化修饰的损伤线粒体通过受体蛋白(如p62/SQSTM1)与LC3 II结合,被双层膜结构包裹形成线粒体自噬体;自噬体与溶酶体融合,形成成熟的自噬溶酶体;最后,通过线粒体自噬-溶酶体途径实现受损细胞器的清除^[28-29]。因此,通过调控线粒体自噬维持线粒体功能正常可能是治疗CI/RI的关键。调控线粒体自噬动态平衡可能成为治疗CI/RI的潜在靶点。

本研究提示,加味补阳还五汤可能通过调节PINK1/Parkin信号通路相关蛋白表达,对脑缺血再灌注损伤产生改善作用。实验结果显示,加味补阳还五汤显著降低MCAO/R小鼠的神经功能缺损评分和脑梗死体积,促进神经元功能恢复,减少细胞凋亡,改善线粒体超微结构,SOD酶活性及MDA水平上升,能够上调PINK1、Parkin及LC3 II/I蛋白表达水平,降低p62蛋白表达,这些变化提示其潜在作用机制可能与激活线粒体自噬过程有关。综合实验数据推测,调控线粒体自噬通路可能是加味补阳还五汤缓解小鼠脑缺血再灌注损伤的作用途径之一。但本实验也存在一定的局限性,加味补阳还五汤高剂量组出现的p62与LC3 II/I同步升高现象,表明该剂量下p62不能被有效地降解,可能提示自噬体-溶酶体融合环节受阻^[30-32],在一定程度上抑制线粒体自噬,从而改善CI/RI。后续将采用线粒体靶向激动剂作为阳性对照药,并检测线粒体膜电位的机制验证实验。GQTMM防治CI/RI的其他分子生

物学机制也有待进一步探讨。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突。

[参考文献]

- [1] TU W J, WANG L D. Special writing group of china stroke surveillance report 2021. China stroke surveillance report 2021[J]. Mil Med Res, 2023, 10(1): 33-58.
- [2] GBD 2021 Stroke Risk Factor Collaborators. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990-2021: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2021 [J]. Lancet Neurol, 2024, 23(10): 973-1003.
- [3] XU Q, ZHAO B, YE Y, et al. Relevant mediators involved in and therapies targeting the inflammatory response induced by activation of the NLRP3 inflammasome in ischemic stroke [J]. J Neuroinflammation, 2021, 18(1): 123-146.
- [4] SAINI V, GUADA L, YAVAGAL D R. Global epidemiology of stroke and access to acute ischemic stroke interventions [J]. Neurology, 2021, 97(20 Suppl 2): S6-S16.
- [5] XU S, HUANG P, YANG J, et al. Calycosin alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by repressing autophagy via STAT3/FoxO3a signaling pathway [J]. Phytomedicine, 2023, 115: 154845.
- [6] 杨璐平. 基于线粒体能量代谢探讨补阳还五汤及拆方治疗缺血性中风的机制[D]. 北京:北京中医药大学, 2022.
YANG L P. Mechanistic exploration of Buyang Huanwu decoction and its disassembled formulae in ischemic stroke treatment: A focus on mitochondrial energy metabolism [D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2022.
- [7] 叶益财, 朱文宗. PINK1/Parkin介导线粒体自噬对缺血性脑卒中作用机制的研究进展[J]. 浙江中西医结合杂志, 2024, 34(6): 574-577.
YE Y C, ZHU W Z. Research advances on PINK1/Parkin-mediated mitophagy in ischemic stroke: Mechanisms and therapeutic perspectives [J]. Zhejiang J Inter Tradit Chin West Med, 2024, 34(6): 574-577.
- [8] 刘爱华, 冷锦红, 刘子英, 等. 加味桂枝茯苓汤通过PINK1/Parkin信号通路调控线粒体自噬途径减轻PDPN大鼠坐骨神经损伤的作用机制[J]. 中国实验方剂学杂志, 2024, 30(21): 42-51.
LIU A H, LENG J H, LIU Z Y, et al. Mechanism of Jiawei Guizhi Fuling decoction in alleviating sciatic nerve injury in PDPN rats by regulating mitophagy through PINK1/Parkin signaling pathway [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2024, 30(21): 42-51.
- [9] 林子越, 陆允, 李慢中, 等. 补阳还五汤对局灶性脑缺血大鼠海马神经可塑性蛋白表达的影响[J]. 中国中医药信息杂志, 2024, 31(12): 99-104.
LIN Z Y, LU Y, LI M Z, et al. Effect of Buyang Huanwu decoction on the expressions of hippocampal neuroplasticity proteins in rats with focal cerebral ischemia

- [J]. *Chin J Inf Tradit Chin Med*, 2024, 31(12):99-104.
- [10] 郭丽,陈皓,贾明璐,等. 层次分析法及多指标正交试验优化归芪通脉合剂水提工艺[J]. *中国现代中药*, 2021, 23(6):1068-1075.
- GUO L, CHEN H, JIA M L, et al. Optimization of water extraction process of Guiqi Tongmai mixture by analytic hierarchy process and multi-index orthogonal test [J]. *Mod Chin Med*, 2021, 23(6):1068-1075.
- [11] 郭丽,陈皓,吴作敏,等. 归芪通脉颗粒的质量标准研究[J]. *食品与药品*, 2022, 24(3):204-209.
- GUO L, CHEN H, WU Z M, et al. Study on quality standard for Guiqi Tongmai granules [J]. *Food Drug*, 2022, 24(3):204-209.
- [12] 王韵旨,郭丽,吴作敏,等. 基于指纹图谱及化学模式识别的归芪通脉合剂质量评价[J]. *中国药房*, 2022, 33(20):2503-2507.
- WANG Y Z, GUO L, WU Z M, et al. Quality evaluation of Guiqi Tongmai mixture based on fingerprint and chemical pattern recognition [J]. *China Pharm*, 2022, 33(20):2503-2507.
- [13] 杨鑫勇,王凯华,刘丹宁,等. 壮通饮对脑缺血再灌注小鼠神经细胞损伤的影响及其作用机制[J]. *湖南中医药大学学报*, 2023, 43(7):1155-1164.
- YANG X Y, WANG K H, LIU D N, et al. Effects of Zhuangtong drink on cerebral ischemia-reperfusion induced nerve cell injury in mice and its mechanism [J]. *J Hunan Univ Chin Med*, 2023, 43(7):1155-1164.
- [14] LONGA E Z, WEINSTEIN P R, CARLSON S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1):84-91.
- [15] 赵文举,付海鑫,应春苗,等. 中药调控铁死亡抑制脑缺血再灌注损伤的研究进展[J]. *中草药*, 2024, 55(8):2812-2819.
- ZHAO W J, FU H X, YING C M, et al. Research progress on regulating ferroptosis and inhibiting cerebral ischemia reperfusion injury by traditional Chinese medicine [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(8):2812-2819.
- [16] 徐浩群,张文静,娄原,等. 红景天苷对脑缺血损伤的保护作用及机制研究进展[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2023, 29(15):256-266.
- XU H Q, ZHANG W J, LOU Y, et al. Research progress on protective effect and mechanism of salidroside on cerebral ischemia injury: A review [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2023, 29(15):256-266.
- [17] 李婷婷,王钦鹏,刘晓庆,等. 线粒体自噬对缺血性脑卒中的作用及其机制研究进展[J]. *中风与神经疾病杂志*, 2024, 41(1):41-46.
- LI T T, WANG Q P, LIU X Q, et al. Research advances in the role and mechanism of mitophagy in ischemic stroke [J]. *J Apoplexy Nerv Dis*, 2024, 41(1):41-46.
- [18] 孙阔,霍瑞卿,韩宇帆,等. 化浊解毒活血通络方对脑缺血再灌注损伤大鼠线粒体自噬相关蛋白PINK1和Parkin的影响[J]. *中华中医药杂志*, 2023, 38(3):1014-1019.
- SU K, HUO R Q, HAN Y F, et al. Effects of Huazhuo Jiedu Huoxue Tongluo formula on mitochondrial autophagy related protein PINK1 and Parkin in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. *China J Tradit Chin Med Pharm*, 2023, 38(3):1014-1019.
- [19] 曾红雨,谭开媚,邱峰,等. 基于PINK1/LETM1信号通路探讨何首乌苷减轻脑缺血再灌注损伤的作用机制[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2025, 31(11):145-154.
- ZENG H Y, TAN K M, QIU F, et al. Mechanism of THSG attenuating cerebral ischemia-reperfusion injury by PINK1/LETM1 pathway [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*, 2025, 31(11):145-154.
- [20] 马莉,赵俊杰,王鹏,等. 黄芪甲苷通过PINK1/parkin通路介导的线粒体自噬途径减轻大鼠脑缺血再灌注损伤[J]. *中国病理生理杂志*, 2025, 41(3):501-508.
- MA L, ZHAO J J, WANG P, et al. Astragaloside IV protects against rat cerebral ischemia-reperfusion injury via PINK1/parkin mitophagy-associated pathway [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2025, 41(3):501-508.
- [21] 李晓雨,李双凤,刘晓美,等. 当归-川芎药对的化学成分、药理作用及临床应用研究进展[J]. *中草药*, 2024, 55(4):1415-1426.
- LI X Y, LI S F, LIU X M, et al. Research progress on chemical constituents, pharmacological effects and clinical applications of *Angelicae Sinensis Radix* and *Chuanxiong Rhizoma* drug pairs [J]. *Chin Tradit Herb Drugs*, 2024, 55(4):1415-1426.
- [22] SHEN Z, ZHENG Y R, WU J Y, et al. PARK2-dependent mitophagy induced by acidic postconditioning protects against focal cerebral ischemia and extends the reperfusion window [J]. *Autophagy*, 2017, 13(3):473-485.
- [23] 李玲玲,唐兴江,牛智领. 阿司匹林预处理对大鼠局灶性脑缺血/再灌注后IL-6、SOCS-3 mRNA表达的影响[J]. *西部医学*, 2012, 24(10):1858-1862.
- LI L L, TANG X J, NIU Z L. Effect of aspirin pretreatment on IL-6 and SOCS-3 mRNA expression levels in focal cerebral ischemia/reperfusion [J]. *Med J West China*, 2012, 24(10):1858-1862.
- [24] 谢宝明,刘瑞珍,刘雅妮. 阿司匹林对缺氧/缺糖大鼠皮质神经元细胞线粒体膜电位的影响[J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2008, 6(2):180-182.
- XIE B M, LIU R Z, LIU Y N. Effects of aspirin on cortical neuron mitochondrial membrane potential in rats with oxygen/glucose deprivation [J]. *Chin J Integr Med Cardio/Cerebrovasc Dis*, 2008, 6(2):180-182.
- [25] 谢宝明,陈苗苗,鞠晓华. 神经细胞缺氧/缺糖损伤后阿司匹林的线粒体保护研究[J]. *中国药物与临床*, 2014, 14(11):1488-1490.
- XIE B M, CHEN M M, JU X H. Neuroprotective effect of aspirin on neuronal mitochondria following oxygen/glucose deprivation-induced injury [J]. *Chin Rem Clin*, 2014, 14(11):1488-1490.

- [26] 蒋蓉,徐琳杰,隋世燕. 线粒体自噬介导的细胞凋亡在动物病理生理中的作用机制研究进展[J]. 动物医学进展,2025,46(3):108-113.
JIANG R, XU L J, SUI S Y. Research progress on the mechanism of mitochondrial autophagy-mediated apoptosis in animal pathophysiology [J]. Prog Vet Med, 2025, 46 (3) : 108-113.
- [27] XU Y, SHEN J, RAN Z. Emerging views of mitophagy in immunity and autoimmune diseases[J]. Autophagy, 2020, 16 (1):3-17.
- [28] 陈璐,李瑞,沈志强. 线粒体自噬调控脑缺血再灌注损伤及天然产物研究进展[J]. 医学研究杂志,2024,53(2):178-183.
CHEN L, LI R, SHEN Z Q. Research progress on mitochondrial autophagy regulating cerebral ischemia-reperfusion injury and natural products[J]. J Med Res, 2024, 53(2):178-183.
- [29] 赵敏菡,储心乔,曹晓慧,等. 基于JNK信号通路调控细胞自噬探讨化浊解毒活血通络方对脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2023,29(7):115-125.
ZHAO M H, CHU X Q, CAO X H, et al. Protective effect of Huazhuo Jiedu Huoxue Tongluo prescription on cerebral ischemia-reperfusion injury via regulating autophagy based on JNK signaling pathway[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2023, 29(7):115-125.
- [30] 向韵,黄丹,雷昌,等. 何首乌苷对大鼠中动脉栓塞再灌注模型大鼠皮层线粒体自噬的调控作用及神经保护机制[J]. 中草药,2024,55(14):4771-4781.
XIANG Y, HUANG D, LEI C, et al. Regulation and neuroprotective mechanism of 2, 3, 5, 4'-tetrahydroxydiphenylethylene-2-O-glucoside on mitochondrial autophagy in cortex of rats with middle cerebral artery occlusion/reperfusion model [J]. Chin Tradit Herb Drugs, 2024, 55(14):4771-4781.
- [31] 王凯玲,荆翊宸,王桂云,等. 补肾活血方调节PINK1/Parkin通路对卵巢早衰模型大鼠的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2025,31(12):150-158.
WANG K L, JING Y C, WANG G Y, et al. Effect of bushen huoxue recipe on regulating PINK1/Parkin pathway in a rat model of premature ovarian failure[J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2025, 31(12):150-158.
- [32] 吕晓希,胡卓伟. 自噬流的检测方法[J]. 药学报,2016,51(1):45-51.
LYU X X, HU Z W. New methods to detect autophagic flux [J]. Acta Pharm Sin, 2016, 51(1):45-51.

[责任编辑 张丰丰]