

养血荣筋丸对紫杉醇诱导周围神经损伤大鼠的神经保护作用

张晓笛¹, 岳枫², 张志聪², 张思玉², 刘丹², 徐意¹, 李晋生², 靳冉^{1*}, 张蓓^{2*}

(1. 北京中研同仁堂医药研发有限公司, 北京 100079; 2. 北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂, 北京 100079)

摘要: **目的** 观察养血荣筋丸对紫杉醇诱导周围神经损伤大鼠模型的神经保护作用。**方法** 采用紫杉醇诱发化疗后周围神经损伤大鼠模型, 以行为学方法观察大鼠给药前后对机械刺激及热刺激的反应, 电生理方法检测给药前后大鼠神经传导速度, Western blot 法检测组织中核因子 E2 (Nrf2) 蛋白表达, 并通过组织形态学测定足背部表皮神经纤维密度, 观察坐骨神经、背根神经节细胞形态学变化, 综合评价养血荣筋丸对紫杉醇诱导神经损伤大鼠模型的保护作用。**结果** 与模型组比较, 养血荣筋丸可以提高 50% 缩足阈值; 对热缩足潜伏期有不同程度的延长; 对高、中剂量组大鼠的神经传导速度有一定升高, 但均无统计学意义; 对足背表皮神经纤维密度明显提高; 对背根神经节和坐骨神经组织形态的损伤有一定的改善作用; 对脊髓角中 Nrf2 蛋白的表达量升高。**结论** 养血荣筋丸对紫杉醇诱导周围神经损伤大鼠具有一定的神经保护作用。

关键词: 养血荣筋丸; 紫杉醇; 化疗; 周围神经损伤; 甲钴胺片

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)06-2069-05

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.06.050

紫杉醇作为临床一线抗肿瘤药物^[1-2], 常用于卵巢癌、乳腺癌、肺癌及胰腺癌的治疗, 但其在使用过程中表现出呈剂量依赖的神经毒性^[3], 即紫杉醇致周围神经毒性 (paclitaxel-induced peripheral neuropathy, PIPN), 病理机制尚不明确^[4-6]。临床上, 接受紫杉醇化疗的 58% 患者均会在治疗后 1~3 d 内出现周围神经病变症状, 主要表现为感觉神经相关症状, 包括感觉缺失、麻木、刺痛、感觉异常、袜套样分布的灼烧样疼痛、感觉神经病变等^[7], 目前尚无有效的药物来预防或治疗 PIPN。因此, PIPN 会明显降低患者的治疗依从性, 常导致患者面临被迫减量甚至停药的困境, 严重影响化疗效果, 最终导致化疗失败^[8-9]。

养血荣筋丸具有祛风通络之功效, 临床应用中发现, 除对筋骨疼痛、肢体麻木、肌肉萎缩、关节不利等症状有治疗作用外, 其对其他周围神经病变均有较好的治疗作用^[10]。本研究通过建立紫杉醇诱导周围神经损伤大鼠模型, 观察养血荣筋丸对模型组大鼠痛觉敏感度, 坐骨神经传导速度, 皮肤神经、坐骨神经、背根神经节病理变化, 以及神经组织氧化应激损伤通路相关因子表达等环节的影响, 综合评价养血荣筋丸对紫杉醇诱导周围神经损伤大鼠模型的保护作用, 为养血荣筋丸治疗紫杉醇诱导周围神经损伤提供参考依据。

1 材料

1.1 动物 健康 SD 大鼠 75 只, SPF 级, 雄性, 体质量

250~300 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司 [实验动物生产许可证号 SCXK (京) 2016-0006, 合格证编号 1100112011041941], 饲养于 SPF 级动物室内, 日光灯照明, 12 h/12 h 明暗周期, 自由饮水。本研究经北京中研同仁堂医药研发有限公司伦理委员会批准 (伦理号 YJY-2020-070701)。

1.2 试剂与药物 养血荣筋丸 (批号 18013148, 北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂); 弥可保 [甲钴胺片, 批号 1908028, 卫材 (中国) 药业有限公司]; 注射用紫杉醇 (规格 30 mg/5 mL, 批号 191102, 北京协和药厂)。Nrf2 抗体 (批号 9-30-23-02, 上海优宁维生物科技股份有限公司)。β-actin (13E5) 抗体 (批号 18, 美国 Cell Signaling Technology 公司); IRDye 680RD Goat anti-Rabbit925-68071 (批号 D00115-05, 美国 LI-COR 公司); 4%~15% 蛋白电泳预制胶 (批号 20200907, 北京索莱宝科技有限公司)。

1.3 仪器 Von Frey 纤维丝 (美国 Stoelting 公司); 生物信号采集处理系统, 配置 STM100C 刺激输出模块、STMISOC 刺激隔离器和 E2F 针式电极 (美国 Biopac 公司); BX61 光学显微镜 (日本奥林巴斯株式会社); TP1020 全自动组织脱水处理机、ST5010 全自动组织切片染色机 (德国 Leica 公司); odyssey FC 双色红外激光成像系统 (美国 LI-COR 公司); ZS-RCT-200 热刺痛仪 (北京众实迪创科技发

收稿日期: 2023-06-26

作者简介: 张晓笛, 女, 中级工程师, 从事中药药理学研究。Tel: (010) 87632553, E-mail: 601390584@qq.com

* 通信作者: 靳冉, 女, 副研究员, 从事中药药理学研究。Tel: (010) 87632553, E-mail: jr_sun82@126.com

张蓓, 女, 副研究员, 从事药品注册和新药开发研究。Tel: (010) 87632521, E-mail: zhangbei_zb@163.com

展有限责任公司)。

2 方法

2.1 紫杉醇诱导周围神经损伤模型的建立 将75只健康雄性SD大鼠适应性喂养5 d后,进行50%缩足阈的测定,筛选50%缩足阈不合格的大鼠(50%缩足阈指数 <8 或50%缩足阈指数 $=8$ 且终值 <10),选取60只合格大鼠随机分为空白组、模型组、弥可保组和养血荣筋丸高、中、低剂量组,每组10只。除空白组外,于实验第1、3、5、7天腹腔注射紫杉醇(0.2 mL/100 g 体重质量)2 mg/kg,制备大鼠紫杉醇诱发 PIPN 模型^[10],空白组注射等剂量生理盐水。造模第1天开始灌胃给药,灌胃体积为1 mL/100 g 体重质量,弥可保组灌胃给予0.15 mg/kg 弥可保,养血荣筋丸高、中、低剂量组灌胃给予7.2、3.6、1.8 g/kg 养血荣筋丸,空白组和模型组给予等体积水,每天1次,连续给药21 d。

2.2 50%缩足阈(50%PTW)测定 将大鼠置于透明塑料盒内,底部为悬空金属网,保持周围环境安静,使大鼠适应环境30 min,当大鼠安静后,用Von Frey 针进行50%缩足阈的测定^[11]。用Von Frey 针缓慢垂直刺激大鼠后足底,从2 g开始,使针弯曲成S形,与足底成30°,持续6 s,2次测量间隔不小于30 s。在刺激过程中,若大鼠出现缩足、抬腿、舔足等行为时,为阳性反应。每个折力连续测定5次,3次为阳性,若大鼠没有出现阳性反应,则选择其上的1个较大刻度的纤毛刺激足底部。若出现阳性反应,则继续选择其下的1个较小刻度的纤毛刺激,依此类推,进行测量。当出现反应交叉时(先阴性后阳性,或先阳性后阴性),继续测量6次,记录测量结果。若大鼠在测量过程始终未出现阳性反应,则该大鼠记为15 g。查刺激模式表,采用Dixon^[12]方法计算50%PWT,公式为 $50\%PWT = (10^{[Xf+K\delta]}) / 10\ 000$,其中Xf指第6次刺激时Von Frey 纤维针克数的对数值,K指查刺激模式表后的系数, δ 指此模式下为常数0.224。由此公式推算出50%PWT小于0.4 g的仍记为0.4 g。分别于造模前和造模后每周测定1次直至给药结束。

2.3 热缩足反射潜伏期(TWL)测定 利用热痛仪测定大鼠的热刺痛反应时间^[13]。每只大鼠左右脚轮流各测5次,为避免持续热灼伤和热敏感,同一足测试的间隔时间为10 min,5次结果中去除最大值和最小值,取余下3次反应时间的平均值为其热刺痛潜伏期(TWL)。对造模前各组动物进行热刺痛潜伏期测定,并持续每周测定1次,直至给药结束。

2.4 坐骨神经传导速度(MNCV)测定 末次给药后各组大鼠分别腹腔注射10%水合氯醛(0.35 g/kg)进行麻醉,将刺激双针电极置于其右侧坐骨切迹处,右足底第2趾间放置记录电极,参考电极在刺激电极与记录电极之间,距离记录电极约1 cm。采用波宽0.1 m/s,刺激强度阈值1.5倍,刺激间隔5 s以上的单脉冲方波刺激后,记录测定的肌电图,计算MNCV,公式为 $MNCV = \text{刺激电极与记录电极之间的距离} / \text{潜伏期}$ ^[14]。

2.5 足部表皮神经纤维密度(IENFD)定量分析 选取大鼠足背部足趾上端1 cm 区域直径约3 mm的全层皮肤在4%多聚甲醛固定液中常规固定。制作组织切片,将PIP N 模型动物的足底皮肤样本切片至50 μm ,用PGP9.5 抗体进行IHC 染色。于400倍光学显微镜下观察,进行 IENFD 的定量分析。每个标本至少3张切片,每个切片所计算的轴突数量需在6个视野下完成。单位长度内的PGP9.5 阳性的纤维数量用 IENFD 表示,公式为 $IENFD = \text{切片的神经纤维数目} / \text{切片的表皮长度}$,以 IENFD 评估各组大鼠周围神经损伤程度^[15]。具体计数原则为①在穿过表皮基底膜之前的分支和表皮基底膜处有分支的神经纤维,按2根计算;②在穿过表皮基底膜之后的分支和穿过表皮基底膜的神经纤维的断端部分均按1根计算;③靠近表皮基底膜处但没有穿过的,则为0根(穿过基底膜至表皮层分叉的神经纤维计为1根;未穿过基底膜的神经纤维不作计数)。

2.6 背根神经结及坐骨神经病理观察 对大鼠进行背根神经L4~L5和坐骨神经取材,组织固定后制片进行HE染色,观察大鼠外周神经损伤情况及药效作用。

2.7 脊髓角组织中Nrf2 蛋白表达检测 取大鼠脊髓角后立即放入液氮中,随后于-80 $^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱中保存。检测前,将组织先进行匀浆,提取总蛋白,采用BCA法检测蛋白浓度,将上述蛋白进行变性,保存于-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱,制备SDS-PAGE 凝胶进行电泳和转膜,然后进行封闭、抗体孵育及显影成像,最后将NC膜置于双色红外激光成像系统中,记录结果。

2.8 统计学分析 通过SPSS 25.0 软件进行处理,数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 养血荣筋丸对紫杉醇诱导周围神经损伤大鼠50%缩足阈值的影响 如表1所示,与空白组比较,模型组大鼠腹腔注射紫杉醇后2周和3周50%缩足阈值降低($P < 0.01$);与模型组比较,养血荣筋丸中剂量组大鼠50%缩足阈值在给药后2周和3周升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),养血荣筋丸高、低剂量组大鼠50%缩足阈值有一定的上升趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3.2 养血荣筋丸对紫杉醇诱导周围神经损伤大鼠热痛觉过敏反应的影响 如表2所示,与空白组比较,造模后2周和3周模型组大鼠缩爪反应潜伏期降低($P < 0.05$, $P < 0.01$);与模型组比较,在给药后2周养血荣筋丸高剂量组大鼠缩爪反应潜伏期延长($P < 0.01$),给药后3周养血荣筋丸高、中剂量组大鼠热辐射缩爪反应潜伏期均延长($P < 0.05$, $P < 0.01$),养血荣筋丸低剂量组大鼠热辐射缩爪反应潜伏期有一定的延长,但差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3.3 养血荣筋丸对紫杉醇诱导周围神经损伤大鼠坐骨神经传导速度(MNCV)的影响 如表3所示,与空白组比较,模型组大鼠坐骨神经传导速度有一定的降低,但差异无统计学意义($P > 0.05$);与模型组比较,养血荣筋丸高、中

表1 养血荣筋丸对紫杉醇诱导周围神经损伤大鼠50%缩足阈值的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量	50%缩足阈值/g			
		造模0周	造模后1周	造模后2周	造模后3周
空白组	—	14.2±2.20	10.18±4.20	10.13±4.15	9.31±3.70
模型组	—	14.1±2.02	8.29±4.40	3.87±3.21**	2.58±1.17**
弥可保组	0.15 mg/kg	14.3±1.89	10.27±3.93	10.20±5.01##	5.45±4.14
养血荣筋丸高剂量组	7.2 g/kg	14.1±2.18	10.12±3.88	4.80±4.17	5.52±4.78
养血荣筋丸中剂量组	3.6 g/kg	14.0±2.16	8.98±5.66	9.37±3.90##	6.31±3.16#
养血荣筋丸低剂量组	1.8 g/kg	14.1±1.91	7.01±3.27	4.87±5.33	4.32±4.41

注：与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

表2 养血荣筋丸对紫杉醇诱导周围神经损伤大鼠热痛觉过敏反应的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量	热缩足潜伏期/s			
		造模0周	造模后1周	造模后2周	造模后3周
空白组	—	3.66±0.23	3.81±0.45	3.36±0.34	3.47±0.32
模型组	—	3.62±0.16	3.37±0.32	3.06±0.20*	2.96±0.17**
弥可保组	0.15 mg/kg	3.63±0.25	3.63±0.29	3.26±0.23	3.20±0.17#
养血荣筋丸高剂量组	7.2 g/kg	3.73±0.14	4.03±1.70	3.60±0.20##	3.46±0.19##
养血荣筋丸中剂量组	3.6 g/kg	3.60±0.19	3.35±0.41	3.23±0.32	3.21±0.27#
养血荣筋丸低剂量组	1.8 g/kg	3.70±0.27	3.23±0.34	3.26±0.18	3.13±0.30

注：与空白组比较，* $P<0.05$ ，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

剂量组大鼠坐骨神经传导速度呈升高趋势，但差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

表3 养血荣筋丸对紫杉醇诱导周围神经损伤大鼠坐骨神经传导速度的影响 ($\bar{x}\pm s, n=9\sim 10$)

组别	剂量	坐骨神经传导速度/ ($m\cdot s^{-1}$)
空白组	—	42.25±18.65
模型组	—	37.72±15.41
弥可保组	0.15 mg/kg	36.61±13.96
养血荣筋丸高剂量组	7.2 g/kg	40.99±13.49
养血荣筋丸中剂量组	3.6 g/kg	40.85±15.66
养血荣筋丸低剂量组	1.8 g/kg	36.04±17.83

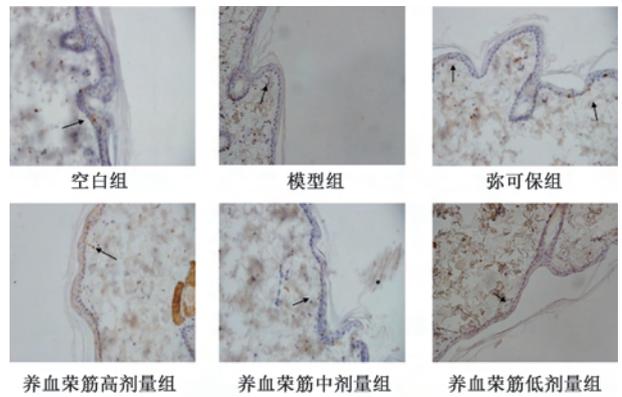
3.4 养血荣筋丸对紫杉醇诱导周围神经损伤大鼠足表皮神经纤维密度 (IENFD) 的影响 如表4、图1所示，与空白组比较，模型组大鼠足背表皮神经纤维密度降低 ($P<0.01$)；与模型组比较，弥可保组和养血荣筋丸高、低剂量组大鼠足背表皮神经纤维密度升高 ($P<0.05, P<0.01$)。

表4 养血荣筋丸对紫杉醇诱导神经损伤大鼠足背表皮神经纤维密度表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量	足背表皮神经纤维密度/ ($根\cdot mm^{-1}$)
空白组	—	30.81±8.97
模型组	—	9.59±3.45**
弥可保组	0.15 mg/kg	15.58±5.71#
养血荣筋丸高剂量组	7.2 g/kg	13.32±1.04##
养血荣筋丸中剂量组	3.6 g/kg	11.22±1.57
养血荣筋丸低剂量组	1.8 g/kg	15.01±4.43##

注：与空白组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.05$ ，## $P<0.01$ 。

3.5 养血荣筋丸对紫杉醇诱导周围神经损伤大鼠背根神经节和坐骨神经病理学的影响 如图2~3所示，紫杉醇能够导致大鼠外周神经组织病理损伤，模型组背根神经节细胞



注：黑色箭头指示阳性表达。

图1 各组大鼠足背表皮神经纤维密度 ($\times 400$)

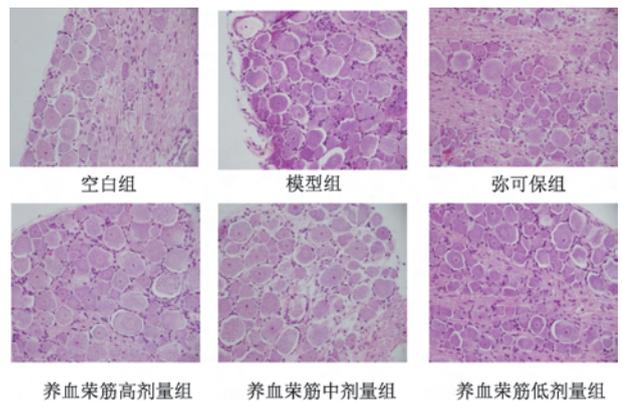


图2 各组大鼠背根神经节形态学 ($\times 400$)

核增大，双核仁和偏位核细胞数量增多，坐骨神经可见神经纤维排列紊乱，髓鞘肿胀破坏，郎飞结扩张；养血荣筋丸组神经节细胞胞核结构较清晰完整，偶见双核仁和偏位核，双核仁和偏位核细胞数量明显减少，坐骨神经纤维排列较规则，偶见髓鞘轻微肿胀，郎飞结轻微扩张，神经节

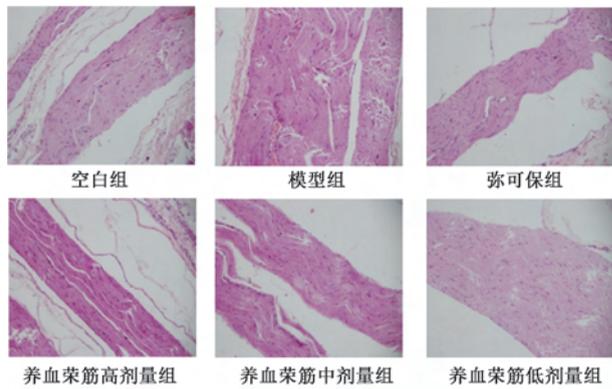


图3 各组大鼠坐骨神经形态学 (×200)

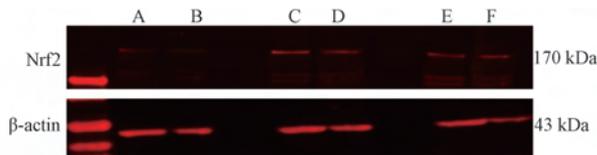
细胞和坐骨神经病理形态较模型组病理损伤有一定的改善,提示养血荣筋丸能够缓解紫杉醇导致的背根神经节和坐骨神经的病理形态学损伤,对于大鼠周围神经具有一定的保护作用。

3.6 养血荣筋丸对紫杉醇诱导周围神经损伤大鼠脊髓角中 Nrf2 蛋白表达的影响 如表5、图4所示,与空白组比较,模型组大鼠脊髓角中 Nrf2 蛋白表达降低 ($P < 0.05$);与模型组比较,弥可保组和养血荣筋丸中剂量组大鼠脊髓角中 Nrf2 蛋白表达升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。

表5 养血荣筋丸对紫杉醇诱导周围神经损伤大鼠脊髓角 Nrf2 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s$, $n = 3$)

组别	剂量	Nrf2
空白组	—	0.14 ± 0.02
模型组	—	0.05 ± 0.02*
弥可保组	0.15 mg/kg	0.25 ± 0.01 ^{##}
养血荣筋丸高剂量组	7.2 g/kg	0.22 ± 0.08
养血荣筋丸中剂量组	3.6 g/kg	0.19 ± 0.04 [#]
养血荣筋丸低剂量组	1.8 g/kg	0.16 ± 0.04

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$ 。



注:A为空白组,B为模型组,C为弥可保组,D~F分别为养血荣筋丸高、中、低剂量组。

图4 各组大鼠脊髓角 Nrf2 蛋白条带图

4 讨论

50%缩足阈 (PTW) 为国内外评价机械性诱发疼痛的经典方法,可判断养血荣筋丸对紫杉醇导致的周围神经病变的药效学作用。结果表明,模型组大鼠 50% 缩足阈值降低,而养血荣筋丸可提高模型组大鼠的 50% 缩足阈值,减轻化疗后周围神经损伤大鼠的机械刺激痛敏感度。紫杉醇造成的 PIPN 临床表现主要为双手和足麻木、刺痛、感觉异常、袜套样分布的灼烧样疼痛以及痛温觉减弱。本研究通

过对 PIPN 大鼠热痛觉过敏行为学检测养血荣筋丸对紫杉醇致周围神经损伤的保护作用^[16]。结果表明,模型组大鼠热缩足潜伏期缩短,养血荣筋丸给药后大鼠的热缩足潜伏期均有不同程度的延长,改善了模型组大鼠对热刺激的过敏反应。神经传导速度从电生理角度评价神经的生物电行为,可反映神经纤维的连续性和完整性^[17]。神经传导速度的测定极易受实验环境温度和动物麻醉状态影响,需结合其他指标进行综合判断。表皮神经纤维密度多用于量化神经损伤程度,皮肤神经纤维中 90% 以上为直径小于 7 μm 的小直径无髓神经纤维和髓鞘稀疏神经纤维,准确率及特异性达 90%^[18-19]。本研究结果发现,紫杉醇诱导周围神经损伤模型组大鼠的足背表皮神经纤维密度降低,而养血荣筋丸能提高模型大鼠足背表皮神经纤维密度。紫杉醇所诱发周围神经病变的感觉神经元胞体位于脊神经后根的背根神经节,并可引起神经传导阻滞和脱髓鞘病变,这种病变可能是产生痛觉的主要原因^[20]。本研究结果显示,养血荣筋丸能够改善紫杉醇所导致的背根神经节和坐骨神经的病理形态。

氧化应激在缺血再灌注损伤、神经退行性疾病、肿瘤及慢性疼痛中发挥重要的作用,氧化应激清除剂可缓解动物模型的机械性痛觉异常。Nrf2 是一种核转录因子,被认为是细胞抗氧化机制中的最重要通路^[21-22]。本研究结果显示,模型组大鼠脊髓角中 Nrf2 蛋白表达降低,而养血荣筋丸可提高模型大鼠脊髓角中 Nrf2 蛋白表达,推测其可能通过激活 Nrf2 蛋白进而发挥缓解 PIPN 的作用。

综上所述,养血荣筋丸能减轻紫杉醇诱导周围神经损伤大鼠的痛行为反应,缓解机械刺激和热刺激敏感痛,增加表皮神经纤维密度,改善背根神经节细胞和坐骨神经的病理形态,其可能通过激活 Nrf2 蛋白表达缓解 PIPN,说明养血荣筋丸对紫杉醇诱导大鼠周围神经损伤具有一定的保护作用。

参考文献:

- [1] 史超,张香梅,刘运江.三阴性乳腺癌免疫及靶向治疗研究进展[J].肿瘤防治研究,2023,50(7):710-716.
- [2] 周国亮,韩滨,宋翼升,等.注射用紫杉醇胶束体内抗肿瘤作用[J].中国新药与临床杂志,2014,33(8):582-587.
- [3] Imai S, Koyanagi M, Azimi Z, et al. Taxanes and platinum derivatives impair Schwann cells via distinct mechanisms[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 5947.
- [4] 吕盼盼.参附注射液防治紫杉醇化疗所致外周神经损伤的临床及机制研究[D].成都:成都中医药大学,2020.
- [5] Cavaletti G. Chemotherapy-induced peripheral neurotoxicity (CIPN): what we need and what we know[J]. J Peripher Nerv Syst, 2014, 19(2): 66-76.
- [6] Carozzi V A, Canta A, Chiorazzi A, et al. Chemotherapy-induced peripheral neuropathy: What do we know about mechanisms? [J]. Neurosci Lett, 2015, 596: 90-107.
- [7] 曹雯,魏国利,李灵常,等.化疗相关周围神经毒性的治疗进展及中医药防治策略[J].世界科学技术(中医药现

- 代化), 2019, 21(7): 1458-1466.
- [8] 谢艳妮, 姚平, 杨朝晖, 等. 达英-35 联合利拉鲁肽对多囊卵巢综合征患者内分泌代谢指标的影响[J]. 中国妇幼保健, 2019, 34(22): 5271-5274.
- [9] 黄湘妃, 池蓉蓉. 揸针配合功能锻炼治疗肩关节周围炎的疗效观察[J]. 中国中医药科技, 2019, 26(4): 610-612.
- [10] Ba X Y, Wang J L, Zhou S Y, et al. Cinobufacini protects against paclitaxel-induced peripheral neuropathic pain and suppresses TRPV1 up-regulation and spinal astrocyte activation in rats[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: 76-84.
- [11] 王之遥, 李璋珊, 李艾伦, 等. 二甲双胍治疗坐骨神经结扎诱发大鼠神经病理性疼痛的效应[J]. 中国临床医学, 2019, 26(2): 200-204.
- [12] Dixon W J. Efficient analysis of experimental observations[J]. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 1980, 20: 441-462.
- [13] 徐利娟, 冯程程, 阿曼古丽·苏力唐, 等. 温通活血乳膏对2型糖尿病周围神经病变模型大鼠背根神经节 ERK1/2 及 p-ERK1/2 的影响[J]. 中华中医药学刊, 2019, 37(1): 112-115; 261.
- [14] 王双, 张生, 陈玉芹. 肌电图在糖尿病周围神经病变诊断中的临床应用及价值体会[J]. 国际感染病学(电子版), 2020, 9(2): 54-55.
- [15] Mccarthy B G, Hsieh S T, Stocks A, et al. Cutaneous innervation in sensory neuropathies: evaluation by skin biopsy[J]. *Neurology*, 1995, 45(10): 1848-1855.
- [16] 张玲, 朱静. 紫杉醇所致周围神经病变的机制研究进展[J]. 中国疼痛医学杂志, 2022, 28(3): 204-209.
- [17] 刘强, 梁健, 陈燕. 早期神经肌电图、震动感觉阈值测定及双下肢血管彩超检查对2型糖尿病周围神经病变的诊断价值[J]. 海南医学, 2021, 32(15): 1950-1954.
- [18] 邓宇童, 蔡玲玲, 任雪雯, 等. 青石止痒软膏对特异性皮炎小鼠信号素3A/神经生长因子及相关信号分子的影响[J]. 环球中医药, 2021, 14(11): 1958-1965.
- [19] 简娇敏, 陈冲, 朱涛. FABP7 与 TLR4 在糖尿病周围神经病变模型小鼠脊髓中的表达[J]. 南昌大学学报(医学版), 2021, 61(4): 18-23.
- [20] 唐春颖, 冷锦红. 论痛性糖尿病周围神经病变相关电压门控离子通道[J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(1): 157-161.
- [21] 曹志龙, 李德龙, 陈冰婷, 等. 牛磺酸对胰岛素抵抗 HepG2 细胞氧化应激的保护作用及机制研究[J]. 现代医药卫生, 2021, 37(13): 2157-2160; 2165.
- [22] Kim H K, Hwang S H, Abdi S. Tempol ameliorates and prevents mechanical hyperalgesia in a rat model of chemotherapy-induced neuropathic pain[J]. *Front Pharmacol*, 2016, 1(7): 532.

基于非靶向代谢组学研究毛蕊异黄酮对氯化血红素诱导的 PC12 细胞损伤的保护机制

张雪阳¹, 吕全军^{1*}, 熊玉清², 黄佳敏³, 李鹏飞¹

(1. 郑州大学第一附属医院, 河南 郑州 450052; 2. 郑州大学公共卫生学院, 河南 郑州 450000; 3. 河南省疾病预防控制中心, 河南 郑州 450000)

摘要: 目的 基于非靶向代谢组学研究毛蕊异黄酮对氯化血红素诱导的 PC12 细胞损伤的保护作用及机制。方法 采用氯化血红素构建 PC12 细胞损伤模型。CCK-8 法检测细胞增殖及凋亡情况, LC-MS 法检测细胞非靶代谢组学。通过单变量统计分析、多维统计分析进行差异代谢物的筛选, 通过 KEGG 通路富集分析找出差异代谢物可能参与的代谢通路。结果 与对照组比较, 毛蕊异黄酮组 PC12 细胞存活率升高 ($P < 0.05$), 细胞凋亡率降低 ($P < 0.05$), *Bcl-2* mRNA 表达升高 ($P < 0.05$), *Bax* mRNA 表达降低 ($P < 0.05$)。通过非靶代谢组学研究发现了 10 个特异性代谢物, 通路富集分析发现嘌呤代谢可能是毛蕊异黄酮保护氯化血红素所致细胞凋亡的主要通路。结论 毛蕊异黄酮可能通过调控嘌呤代谢抑制氯化血红素所致 PC12 细胞的凋亡从而发挥保护作用。

关键词: 毛蕊异黄酮; 脑出血; PC12 细胞; 嘌呤代谢

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2024)06-2073-07

doi: 10.3969/j.issn.1001-1528.2024.06.051

收稿日期: 2024-02-29

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目(82104642); 河南省医学科技攻关计划联合共建项目(LHGJ20200275)

作者简介: 张雪阳(1998—), 女, 硕士生, 从事临床营养学研究。Tel: (0371) 66295072, E-mail: zhangxueyang0111@163.com

* 通信作者: 吕全军(1962—), 男, 博士, 教授, 从事临床营养学研究。Tel: (0371) 66295072, E-mail: lqjnutr@zzu.edu.cn