

· 基础研究 ·

淫羊藿苷对创伤性脑损伤大鼠认知功能及 MAPK 通路的影响*

蔡锐¹, 韩忠刚¹, 穆昌珍¹, 杜安妮^{2△}

(1. 红花岗区人民医院药剂科, 贵州 遵义 563000; 2. 遵义医药高等专科学校, 贵州 遵义 563000)

[摘要] 目的 证明淫羊藿苷(ICA)通过抑制丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)途径发挥抗炎作用。

方法 通过 Feeney 法构建创伤性脑损伤(TBI)模型大鼠,以模仿 TBI 发病机制和认知功能损伤。将 60 只雄性 SD 大鼠分为 TBI+ICA 15 mg/kg 组、TBI+ICA 30 mg/kg 组和 TBI+ICA 60 mg/kg 组、阳性药奥拉西坦(TBI+oxira 40 mg/kg)组、假手术组及 TBI 组,每组 10 只。通过行为学和认知记忆功能检测评估大鼠的认知行为功能状态,利用尼氏染色技术观察海马区域神经元的损伤情况,大鼠海马组织提取蛋白使用 Western blot 法检测 MAPK 信号通路中炎症细胞因子的蛋白磷酸化水平。结果 给药后 7 d, TBI+ICA 30 mg/kg 组[(4.62±0.89)分]、TBI+ICA 60 mg/kg 组[(4.74±0.61)分]及 TBI+oxira 40 mg/kg 组[(4.81±0.82)分]与 TBI 组[(3.55±0.42)分]相比,大鼠运动行为功能评分均显著提高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。TBI+ICA 15 mg/kg 组[(76.26±5.79)次]、TBI+ICA 30 mg/kg 组[(68.85±6.78)次]、TBI+ICA 60 mg/kg 组[(69.74±7.12)次]及 TBI+oxira 40 mg/kg 组[(72.24±5.13)次]大鼠在学习和记忆任务中达到标准所需的次数均较 TBI 组显著减少,差异均有统计学意义($P<0.05$)。假手术组大鼠海马 CA1 区的神经元结构完整,排列有序,且尼氏体丰富。与假手术组大鼠相比,TBI 模型大鼠海马 CA1 区的神经元结构表现出明显的损伤特征,包括神经元排列紊乱、细胞结构萎缩及尼氏体数量减少。然而,给予 ICA 和奥拉西坦治疗后,正常神经元数量显著增加,细胞结构和排列恢复正常,尼氏体数量也显著增加,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 ICA 可能是一种通过减少 TBI 炎症反应改善神经行为及认知功能的有效治疗药物。

[关键词] 创伤性脑损伤; 淫羊藿苷; 神经炎症; MAPK 通路; 认知功能

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2026.02.015 中图法分类号:R96

文章编号:1009-5519(2026)02-0324-07 文献标识码:A

Impact of icariin on cognitive function and the MAPK pathway
in rats with traumatic brain injury*CAI Rui¹, HAN Zhonggang¹, MU Changzhen¹, DU Anni^{2△}

(1. Department of Pharmacy, People's Hospital of Honghuagang District, Zunyi, Guizhou 563000, China; 2. Zunyi Medical and Pharmaceutical College, Zunyi, Guizhou 563000, China)

[Abstract] **Objective** To demonstrate that icariin(ICA) exerts anti-inflammatory effects by inhibiting the mitogen activated protein kinase(MAPK) pathway. **Methods** A traumatic brain injury(TBI) model rat was constructed by the Feeney method to imitate the pathogenesis and cognitive function impairment of TBI. Sixty male SD rats were divided into the TBI+ICA 15 mg/kg group, the TBI+ICA 30 mg/kg group, the TBI+ICA 60 mg/kg group, the positive drug oxiracetam(40 mg/kg) group, the sham operation group and the TBI group, with 10 rats in each group. The cognitive and behavioral functional status of rats was evaluated through behavioral and cognitive memory function tests. The injury of neurons in the hippocampal region was observed using Nissl staining technology. Proteins extracted from rat hippocampal tissue were used to detect the protein phosphorylation levels of inflammatory cytokines in the MAPK signaling pathway by Western blot. **Results** Seven days after administration, Compared with the TBI group [(3.55±0.42) points], the TBI+ICA 30mg/kg group [(4.62±0.89)points], the TBI+ICA 60mg/kg group [(4.74±0.61)points] and the TBI+oxira 40 mg/kg group [(4.81±0.82)points], the motor behavior function scores of rats were significantly improved, and the differences were statistically significant($P<0.05$). The number of times required

* 基金项目:遵义市红花岗区科技计划项目(遵红科合医字[2022]11号)。

作者简介:蔡锐(1990—),硕士研究生,副主任药师,主要从事临床药学、神经药理学、药事管理研究。△ 通信作者, E-mail:275134786

@qq.com。

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1129.R.20250731.1112.002\(2025-07-31\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1129.R.20250731.1112.002(2025-07-31))

for rats in the TBI+ICA 15 mg/kg group [(76.26±5.79)times], TBI+ICA 30 mg/kg group [(68.85±6.78)times], TBI+ICA 60 mg/kg group [(69.74±7.12)times] and TBI+oxira 40 mg/kg group [(72.24±5.13)times] to reach the standard in learning and memory tasks was significantly lower than that in the TBI group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The neuronal structure in the CA1 area of the hippocampus of rats in the sham operation group was intact, orderly arranged, and rich in Nissl bodies. Compared with the rats in the sham operation group, the neuronal structure in the hippocampal CA1 region of the TBI model rats showed obvious injury characteristics, including disordered neuronal arrangement, atrophy of cell structure and reduced number of Nissl bodies. However, after treatment with ICA and oxiracetam, the number of normal neurons increased significantly, the cell structure and arrangement returned to normal, and the number of Nissl bodies also increased significantly, the differences were all statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** ICA may be an effective therapeutic drug that improves neurobehavioral and cognitive functions by reducing the inflammatory response of TBI.

[Key words] Traumatic brain injury; Icariin; Neuroinflammation; Mitogen activated protein kinase pathway; Cognitive function

创伤性脑损伤(TBI)是由外力作用于头部引起的脑组织损伤,包括闭合性损伤和穿透性损伤^[1]。在美国,每年约有 530 余万人遭受 TBI^[2],其中约 140 余万人需要接受紧急治疗,23.5 余万人需要住院治疗^[3]。随着社会的发展,中国 TBI 患者主要由交通事故或高空坠落导致,其比例远高于其他国家^[4]。据相关研究报道,全球每年有 5 000 万至 1 亿人受到 TBI 的影响,这一数据表明 TBI 是全球范围内导致影响健康和致残的主要原因之一^[5]。尽管有动物研究和早期临床试验表明,黄体酮^[6]、米诺环素、褪黑素、他汀类药物和间充质干细胞移植^[3,7]对 TBI 治疗有一定的效果。但至今仍无一种安全有效的 TBI 治疗药物进入 III 期临床试验^[6]。TBI 的发病机制极为复杂,涉及原发性和继发性损伤 2 个阶段,其中继发性损伤过程可进一步加重原发性的损伤,是影响 TBI 患者难以恢复的重要因素^[8]。目前较多的研究表明,神经炎症是通过中枢神经系统周围炎症细胞介导的一种强大的免疫反应,是 TBI 病程发展过程中的关键因素^[9-11]。局部和全身炎症反应被认为是把双刃剑,随着损伤时间和严重程度^[12-14]的变化,其作用既有坏处也有益处。

据报道,60%的继发损伤是由 TBI 引发的炎症反应通过一系列病理生理反应诱导所致^[15]。因此,针对 TBI 后神经炎症的治疗备受关注。在当前 TBI 的研究中,动物实验多采用神经保护剂进行干预,以评估其对神经损伤的潜在治疗效果。然而,40 多项 II、III 期临床试验表明单药治疗对 TBI 患者并无显著效果,故仍未发现对 TBI 安全有效的治疗方法^[16-17]。由于 TBI 病理生理学特征较为复杂,针对多分子靶点需要多药联合进行治疗^[18]。在治疗 TBI 方面,由于中草药包含多种有效成分,因此针对 TBI 的多分子靶点有着巨大的潜力^[19]。

淫羊藿作为一种传统中药,其主要成分淫羊藿苷(ICA)已被证实具有抗神经炎症、抗氧化和抗凋亡等多种药理作用^[20]。研究表明,ICA 可通过抑制核因

子- κ B(NF- κ B)信号通路的激活来降低炎症细胞因子的释放,从而发挥神经保护作用^[21]。此外,ICA 还在肿瘤和心血管疾病的治疗中展现出潜在的应用价值。同时有研究发现,ICA 还可通过增加海马区域乙酰化蛋白改善 TBI 大鼠认知功能障碍。然而,ICA 治疗 TBI 具体的作用机制依然尚不明确,亦需进一步探索^[22]。

在 TBI 的病理过程中,炎症反应是导致继发性损伤的关键因素之一。NF- κ B 作为一种关键的转录因子,广泛影响了免疫和炎症相关基因的表达和调控,包括在继发性损伤中起着重要作用的肿瘤坏死因子 α (TNF- α)和环氧化酶 2(COX-2)^[23]。TBI 后,损伤的大脑中产生大量炎症介质,如 COX-2、TNF- α 、NF- κ B,这些炎症介质导致血脑屏障障碍、脑损伤、细胞凋亡^[24]。丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)信号通路介导炎症细胞因子 ERK、JNK、p38-MAPK 通路的激活,加重炎症反应,被公认为抗炎药物的靶向标志物,控制炎症反应有利于中枢神经系统的恢复^[25]。因此,本研究通过大鼠 TBI 模型来验证 ICA 是否通过抑制 MAPK 炎症细胞因子蛋白磷酸化水平来发挥神经保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料 ICA 购自南京泽朗医疗科技有限公司(纯度 $\geq 98\%$)。RIPA 裂解液(碧云天生物技术研究所)、5×上样缓冲液(碧云天生物技术研究所)、BCA 蛋白定量试剂盒(上海捷瑞生物工程有限公司)、彩色预染蛋白质 Marker(赛默飞世尔科技有限公司)、PVDF 膜(Millipore Trading Co. Ltd)。一抗包括:anti- β -actin(1:2 000, Abcam, UK)、anti-p-NF- κ B-p65(1:500, Cell Signalling Technology, USA)、anti-NF- κ B-p65(1:1 000, Cell Signalling Technology, USA)、anti-p-JNK(1:1000, Cell Signalling Technology, USA)、anti-JNK(1:1 000, Cell Signalling Technology, USA)、anti-p-ERK1/2(1:1 000, Cell

Signalling Technology, USA)、anti-ERK1/2 (1 : 1 000, Cell Signalling Technology, USA)、anti-p-p38 (1 : 1 000, Cell Signalling Technology, USA)、anti-p38 (1 : 1 000, Cell Signalling Technology, USA)。

1.2 研究对象 成年雄性 SD 大鼠, 体重 250~300 g, 均购于贵州辉沆生物科技有限公司, 动物许可证号 SYXK(贵)2024-0003。所有大鼠均饲养于 SPF 级环境[(23±1)℃, 55%相对湿度, 12 h 明暗交替], 自由进食, 造模前大鼠适应性饲养 2 周。本研究已通过红花岗区人民医院动物实验伦理委员批准(审批号: 210612)。

1.3 方法

1.3.1 建立 TBI 大鼠模型 采用改良的 Feeney 法, 利用自由落体装置对大鼠大脑海马区域进行撞击, 构建 TBI 大鼠模型^[26]。实验步骤如下: 实验前, 将大鼠禁食 12 h; 术中通过腹腔注射 7% 水合氯醛(0.5 mL/100 g)进行麻醉, 随后将大鼠固定于立体定向仪上, 并剃除头顶毛发, 进行消毒处理。在头颅正中偏右作矢状切口, 切开皮肤以暴露右侧颅顶, 剥离骨膜后暴露颅骨。于矢状缝旁约 2.5 mm、冠状缝后 1.5 mm 处钻孔, 形成直径约 5 mm 的圆形骨窗, 暴露硬脑膜并保持其完整性。使用 40 g 砝码从 25 cm 高度处自由落体撞击大鼠头部右侧, 以诱导右侧大脑半球产生重度损伤。撞击后, 大鼠随即表现出短暂的四肢抽搐及数秒的呼吸暂停现象, 此现象表明实验模型构建成功。在假手术组中, 仅对大鼠实施颅骨开窗手术, 而不进行撞击处理。在实验全程中, 采用相应设备维持动物体温在 37℃ 左右。

1.3.2 实验分组给药 将 60 只雄性 SD 大鼠随机分为 6 组: 假手术组(sham 组)、奥拉西坦治疗组(TBI+oxira 40 mg/kg 组)、模型组(TBI 组)、ICA 低剂量组(TBI+ICA 15 mg/kg 组), ICA 中剂量组(TBI+ICA 30 mg/kg 组), ICA 高剂量组(TBI+ICA 60 mg/kg 组)^[27]。ICA 的处理: 将 ICA 经超声搅拌 8 min, 溶于双蒸水中。造模后开始灌胃给药, 每天 2 次, 连续给药 7 d, sham 组与 TBI 组给予等体积生理盐水灌胃, 自由饮水, 每日上午测量大鼠体重。

1.3.3 运动行为学评估 大鼠造模后, 分别在给药第 1 天与第 7 天对各组大鼠进行运动行为学评估。(1)平衡木法: 采用长 1.5 m、宽 1.5 cm 的方形木梁, 两端固定于支架上, 一端放置暗盒作为终点。0 分: 完全无法站立或立即跌落; 1 分: 可抱住木条但无法移动; 2 分: 可于木条上移动但无法到达终点; 3 分: 可在木条上自由行走, 到达终点。(2)悬吊鼠尾实验: 通过提起大鼠尾部, 观察其前后肢屈曲的情况, 并根据以下标准进行评分: 0 分(四肢下垂, 无法屈曲); 1 分(前肢在原位挣扎, 但无法屈曲); 2 分(前肢能够屈曲, 但无法触及后肢); 3 分(挣扎后前肢能够屈曲至后肢); 4 分(挣扎后前肢能够屈曲至尾部); 5 分(能够在 15 s

内屈曲至尾部)。将 2 项评估结果相加, 总分越高, 表明大鼠的行为学功能受损程度越轻。

1.3.4 认知与记忆功能检测 于大鼠给药后第 7 天开展 Y 迷宫实验。实验前 1 h, 将大鼠置于安静、恒温的测试环境中进行适应, 并对迷宫进行清洁。在迷宫中设置安全臂(配备灯光提示)。在实验过程中, 当实验大鼠受到电刺激后, 若其成功逃逸至安全臂, 或在 10 s 内到达安全区, 则该行为反应被记录为正确反应; 若大鼠跑向无灯光的其他区域, 则记录为错误反应。统计大鼠达到学习记忆标准所需的测试次数, 使用次数越少, 表明实验大鼠学习记忆能力越强。

1.3.5 取材及尼氏染色分析 所有大鼠经 Y 迷宫实验检测后, 通过 7% 水合氯醛进行腹腔麻醉, 每组随机选取 4 只, 迅速取出其右侧大脑组织, 并精准分离出海马体区域用于后续的 Western blot 分析, 以检测特定蛋白表达水平。对于剩余的大鼠, 首先通过透心灌注 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液约 150 mL, 通过心脏灌注预冷的 4% 多聚甲醛溶液, 直至其尾部和四肢出现明显的僵硬反应, 表明灌注完成。快速取出大鼠的大脑, 并立即将其置于 4% 多聚甲醛溶液中进行固定, 固定时间设定为 3~4 d。固定处理完成后, 将大脑组织进行石蜡包埋。随后, 使用切片机将组织切成约 10 μm 厚的切片, 以供后续的尼氏染色分析使用。尼氏染色实验旨在观察大鼠海马 CA1 区和 DG 区神经元的损伤状况及尼氏小体的变化情况, 并对相关指标进行定量计数分析。预处理步骤如下: 将厚度为 10 μm 的石蜡切片依次置于二甲苯(10 min)、无水乙醇(5 min)、95%乙醇(5 min)、90%乙醇(5 min)、80%乙醇(5 min)、70%乙醇(5 min)中进行脱蜡和梯度水化处理, 最后用蒸馏水冲洗 2 次, 每次 5 min。染色步骤如下: 配制 1% 甲苯胺蓝溶液, 并去除其中的杂质。将切片置于 1% 甲苯胺蓝溶液中, 在 60℃ 烘箱内浸染 10 min, 随后用蒸馏水冲洗 2 次, 每次 5 min。将切片浸入 70% 乙醇溶液中进行分化处理, 分化时间 1~3 s, 分化后进行封片。使用光学显微镜对右侧大脑海马神经元的存活情况进行观察与评估。每只大鼠选取 3 张切片, 每张切片随机选取 3~4 个视野进行观察和分析, 以确保结果的准确性和可重复性。

1.3.6 Western blot 检测 海马组织蛋白提取, 称取适量右脑海马, 加入 RIPA 裂解液, 在冰上反复研磨至浆状, 进行蛋白提取, 而后用 BCA 法测定蛋白浓度, 加入 5× 上样缓冲液, 进行蛋白变性。免疫印记制备: 制胶→上样→电泳→电转→洗涤→封闭→洗涤→与一抗反应: 用 1% BSA 稀释一抗原液各 10 mL, PVDF 膜正面朝上放入 50 mL 离心管中, 而后一抗 4℃ 过夜→洗涤 10 min×3→放入相应二抗进行孵化→洗涤 10 min×3→滴加化学发光剂, 发光显色。

1.4 统计学处理 应用 SPSS22.0 软件进行数据分析。计量资料且呈正态分布以 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间比

较采用单因素方差分析(ANOVA 法)。组间两两比较,若方差齐,则使用最小显著差异法(LSD)进行检验;若方差不齐,则采用 Dunnett's T_3 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 ICA 对 TBI 诱导的大鼠模型运动行为功能评分的影响 与 sham 组相比,给药后 1 d, TBI 组及各给

药组大鼠运动行为功能评分均显著下降,差异均有统计学意义($P < 0.05$),说明模型构建成功。给药后 7 d, TBI+ICA 30 mg/kg 组、TBI+ICA 60 mg/kg 组及 TBI+oxira 40 mg/kg 组与 TBI 组相比,大鼠运动行为功能评分均显著提高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 给药后 1、7 d 各组大鼠运动行为功能评分($\bar{x} \pm s$, 分, $n=10$)

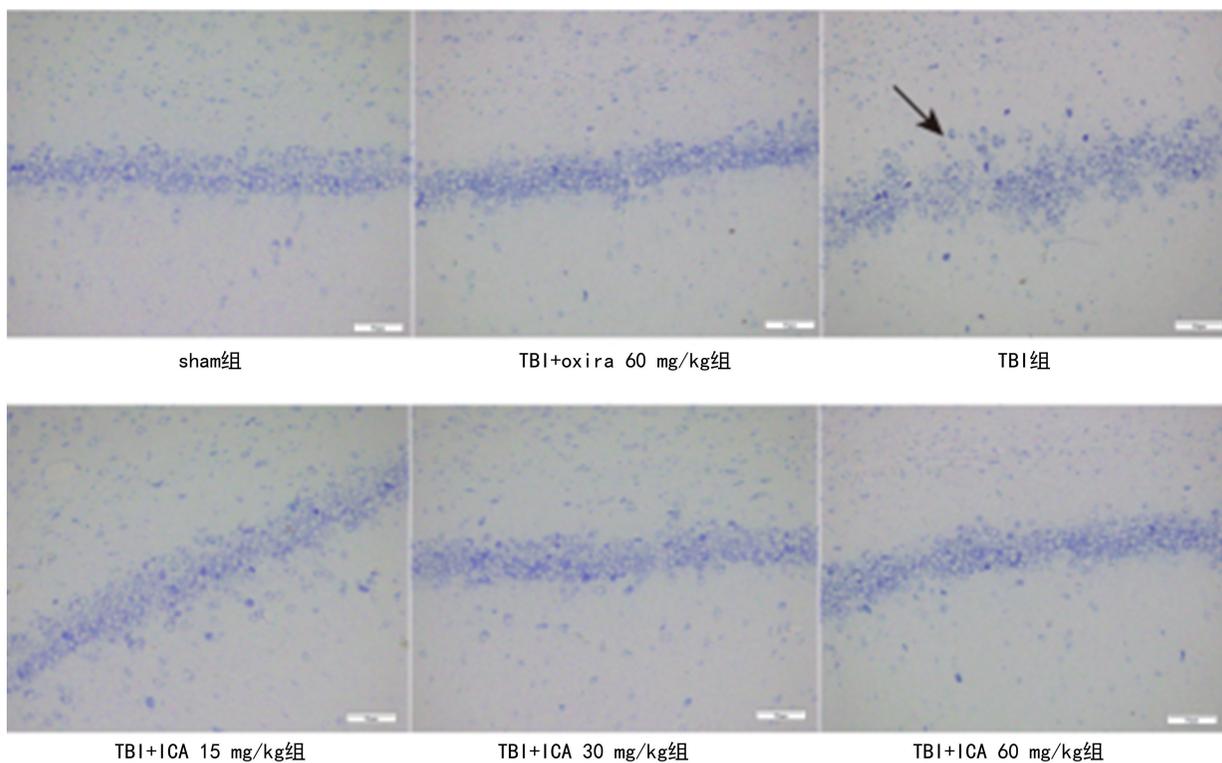
| 时间 | sham 组 | TBI+oxira 40 mg/kg 组 | TBI 组 | TBI+ICA 15 mg/kg 组 | TBI+ICA 30 mg/kg 组 | TBI+ICA 60 mg/kg 组 |
|---------|------------------------|-------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|
| 给药后 1 d | 5.20±0.73 | 3.18±0.42 ^a | 3.36±0.54 ^a | 3.27±0.38 ^a | 3.00±0.44 ^a | 3.54±0.63 ^a |
| 给药后 7 d | 5.43±0.75 ^b | 4.81±0.82 ^b | 3.55±0.42 | 3.68±0.48 | 4.62±0.89 ^b | 4.74±0.61 ^b |

注:与 sham 组比较,^a $P < 0.05$;与 TBI 组比较,^b $P < 0.05$ 。

2.2 ICA 对 TBI 诱导的大鼠模型学习记忆能力的影响 TBI 组大鼠学习记忆能力达标次数[(80.91±4.58)次]较 sham 组[(65.82±4.72)次]显著增加,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明 TBI 模型造模稳定。TBI+ICA 15 mg/kg 组[(76.26±5.79)次]、TBI+ICA 30 mg/kg 组[(68.85±6.78)次]、TBI+ICA 60 mg/kg 组[(69.74±7.12)次]及 TBI+oxira 40 mg/kg 组[(72.24±5.13)次]大鼠在学习和记忆任务中达到标准所需的次数均较 TBI 组显著减少,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。TBI+ICA 30 mg/kg 组及 TBI+ICA 60 mg/kg 组大鼠相较于 TBI+oxira

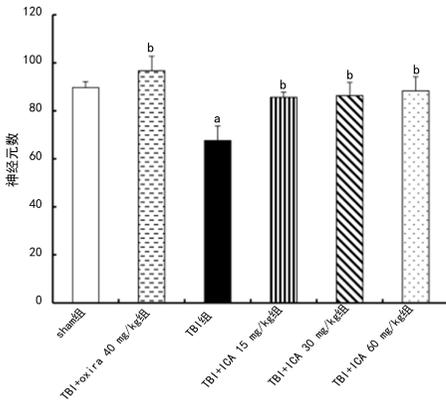
40 mg/kg 组大鼠学习和记忆达标所用的次数明显减少,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 ICA 对 TBI 诱导的大鼠海马区域神经元损失的影响 Sham 组大鼠海马 CA1 区的神经元结构完整,排列有序,且尼氏体丰富。与 sham 组大鼠相比较, TBI 模型大鼠海马 CA1 区的神经元结构表现出明显的损伤特征,包括神经元排列紊乱、细胞结构萎缩及尼氏体数量减少。然而,给予 ICA 和奥拉西坦治疗后,正常神经元数量显著增加,细胞结构和排列恢复正常,尼氏体数量也显著增加,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 1、2。



注:箭头表示受损区域;标尺=50 μm ,切片厚度=10 μm 。

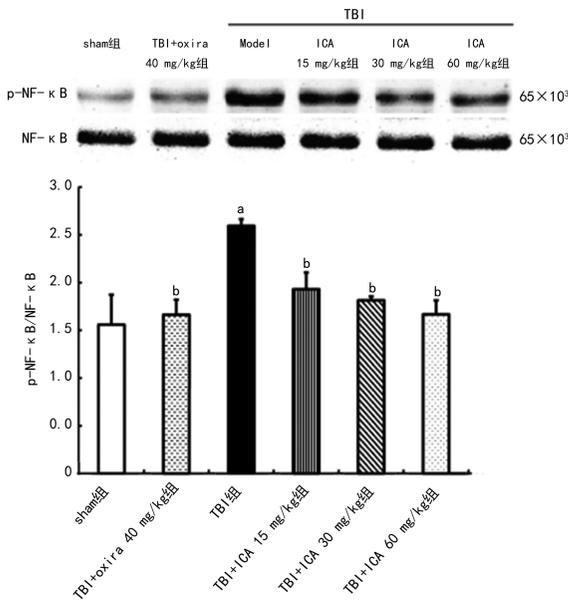
图 1 各组大鼠海马组织 CA1 区尼氏染色情况(200 \times)



注:与 sham 组比较, ^a $P < 0.05$;与 TBI 组比较, ^b $P < 0.05$ 。

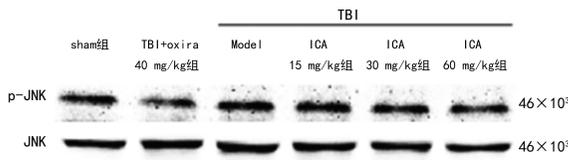
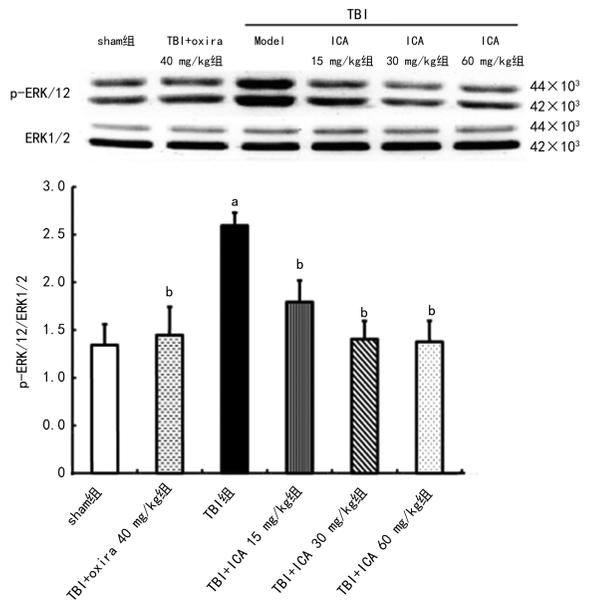
图 2 各组大鼠海马组织 CA1 区神经元数比较

2.4 ICA 对 TBI 大鼠海马组织中 NF- κ B-p65、ERK1/2、p38 及 JNK 蛋白磷酸化水平的影响 与 sham 组相比, TBI 模型组大鼠海马组织中 ERK1/2、JNK 和 p38 磷酸化水平显著升高, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。然而, 经过 ICA 及奥拉西坦治疗后, TBI 诱导的上述 3 种 MAPK 成员的磷酸化水平显著降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。TBI 组大鼠海马组织中 NF- κ B-p65 的磷酸化水平显著升高, 而 ICA 及奥拉西坦治疗后, NF- κ B-p65 的磷酸化水平显著降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 3、4。



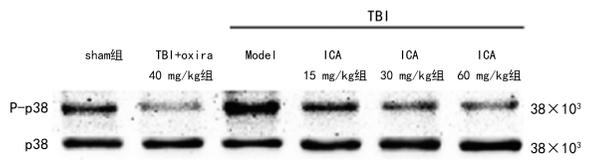
注:与 sham 组比较, ^a $P < 0.05$;与 TBI 组比较, ^b $P < 0.05$ 。

图 3 ICA 对 TBI 大鼠海马 ERK1/2、JNK 和 p38 磷酸化水平的影响



注:与 sham 组比较, ^a $P < 0.05$;与 TBI 组比较, ^b $P < 0.05$ 。

图 4 ICA 对 TBI 大鼠海马 NF- κ B 信号通路的影响



3 讨 论

炎症在疾病进程中呈现出复杂的双面性。一方面,适度的炎症反应是组织修复和再生的必要条件;另一方面,过度的炎症反应可能引发继发性损伤^[28]。在 TBI 的恢复阶段,炎症反应是导致继发性损伤的关键因素之一,特别是在脑损伤情况下,炎症反应对神经组织的破坏作用尤为显著。目前,针对 TBI 的有效治疗方法和药物仍处于探索阶段,需要进一步的研究来开发针对性的治疗策略。ICA 作为一种具有多种药理活性的化合物,已被证实具有抗炎、抗氧化、抗癌和抗衰老等多种潜在的药用价值^[22],其抗炎机制可能通过调节下丘脑-垂体-肾上腺轴来抑制炎症反应^[29]。尽管已有研究报道,ICA 能够改善 TBI 小鼠的行为功能^[30],但其在 TBI 中的具体作用机制尚未完全明确。本研究发现,ICA 能够显著促进 TBI 大鼠神经功能损伤的恢复及认知功能的改善。

有文献报道,TBI 可导致脑组织神经元死亡,进而引起功能障碍^[31]。TBI 后出现的功能障碍可能是由于早期炎症因子继发病理机制导致。本研究使用改良的 Feeney 法制备 TBI 大鼠模型,通过运动行为学及学习记忆检测 ICA 对 TBI 模型大鼠运行行为及学习记忆功能的改善作用。通过尼氏染色观察 TBI 大鼠神经元细胞受损情况,通过 Western blot 检测大鼠海马组织中 MAPK 介导 NF- κ B-p65、ERK1/2、p38 及 JNK 蛋白磷酸化水平,观察 ICA 改善 TBI 大鼠行为学功能及组织生物学结构,是不是通过减轻炎症细胞因子 NF- κ B-p65、ERK1/2、p38 及 JNK 蛋白磷酸化水平的原由。与之前的研究一致,TBI 模型大鼠出现了功能障碍、神经元退化和死亡。30 mg/kg 和 60 mg/kg 剂量 ICA 治疗的 TBI 大鼠可显著减轻其功能障碍,并挽救 TBI 引起的神经元细胞死亡,但 15mg/kg 剂量 ICA 治疗的 TBI 大鼠并无显著差异。与 TBI 组比较,ICA 给药 7 d 后大鼠神经元损害显著减少和功能恢复显著增加。对于 TBI 潜在的炎症恢复治疗,进一步探索 ICA 治疗的具体机制是必要的。

已有报道在 TBI 中 NF- κ B 及白细胞介素-1 β (IL-1 β)和 TNF- α 水平的升高,与不良事件有关,并可能导致继发性神经元损伤^[32-33]。TBI 后所产生慢性神经炎症,会使 TNF- α 、IL-1 β 蛋白显著增加,可能破坏认知功能相关突触可塑性。ICA 介导的 COX-2、IL-1 β 和 TNF- α 的抑制作用可能通过抑制 MAPK 信号通路来调节。MAPK 和 NF- κ B 信号通路主要参与神经炎症反应,并在 TBI 中发挥多种作用^[34-35],证实了这一假设^[36-37]。本研究结果表明,TBI 刺激的海马促炎性细胞因子 p38 MAPK、ERK1/2、JNK 和 NF- κ B 的磷酸化表达增加,表明了 MAPK 和 NF- κ B 通路激活在 TBI 发病机制中的重要性。值得注意的是,本研究结果表明,ICA 15、30 mg/kg 和 60 mg/kg 治疗组显著降低了 TBI 诱导的海马中 ERK1/2、JNK 和 p38

的磷酸化水平,说明 ICA 可能通过调节 MAPK 和 NF- κ B 信号通路,对 TBI 引起的神经炎症发挥保护作用。MAPK 信号通路在调控细胞增殖、分化、凋亡及应激反应中起关键作用,而 NF- κ B 信号通路则在炎症反应和免疫调节中发挥重要作用。因此,推测 ICA 介导的神经保护作用可能与其对 MAPK 和 NF- κ B 信号通路的抑制作用密切相关。这一发现为 ICA 治疗 TBI 引起的神经炎症提供了理论依据及潜在的应用。

本研究发现,TBI 模型大鼠给予 ICA 后,有助于神经功能的恢复和认知功能的改善,以及体重的增加有助于愈后康复。此外,在 TBI 大鼠的大脑海马组织中观察到磷酸化 NF- κ B、ERK1/2、JNK、p38 表达的逆转。这些结果表明,ICA 通过抑制活化的 MAPK 信号通路和减少促炎因子产生的抗炎作用,对 TBI 提供了显著的神经保护作用。

参考文献

- [1] PAVLOVIC D, PEKIC S, STOJANOVIC M, et al. Traumatic brain injury: neuropathological, neurocognitive and neurobehavioral sequelae[J]. Pituitary, 2019, 22(3): 270-282.
- [2] ARMSTRONG T, MURTAUGH B M. Hope after TBI begins with rehabilitation[J]. J Christ Nurs, 2020, 37(3): 144-152.
- [3] LOZANO D, GONZALES-PORTILLO G S, ACOSTA S, et al. Neuroinflammatory responses to traumatic brain injury: etiology, clinical consequences, and therapeutic opportunities[J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2015, 11(1): 97-106.
- [4] KOU K, HOU X Y, SUN J D, et al. Current pre-hospital traumatic brain injury management in China[J]. World J Emerg Med, 2014, 5(4): 245-254.
- [5] ALLURI H, WIGGINS-DOHLVIK K, DAVIS M L, et al. Blood-brain barrier dysfunction following traumatic brain injury [J]. Metab Brain Dis, 2015, 30(5): 1093-1104.
- [6] HAARBAUER-KRUPA J, PUGH M J, PRAGER E M, et al. Epidemiology of chronic effects of traumatic brain injury[J]. J Neurotrauma, 2021, 38(23): 3235-3247.
- [7] CHENG T, YANG B, LI D P, et al. Wharton's jelly transplantation improves neurologic function in a rat model of traumatic brain injury[J]. Cell Mol Neurobiol, 2015, 35(5): 641-649.
- [8] MUEHLSCHLEGEL S, RAJAJEE V, WARTENBERG K E, et al. Guidelines for neuroprognostication in critically ill adults with moderate-severe traumatic brain injury [J]. Neurocrit Care, 2024, 40(2): 448-476.
- [9] MORGANTI J M, JOPSON T D, LIU S, et al. CCR2 antagonism alters brain macrophage polarization and ameliorates cognitive dysfunction induced by traumatic brain injury[J]. J Neurosci, 2015, 35(2): 748-760.
- [10] KALRA S, MALIK R, SINGH G, et al. Pathogenesis and management of traumatic brain injury(TBI): role of neuroinflammation and anti-inflammatory drugs[J]. Inflamm

mopharmacology, 2022, 30(4): 1153-1166.

- [11] CORPS K N, ROTH T L, MCGAVERN D B. Inflammation and neuroprotection in traumatic brain injury [J]. *JAMA Neurol*, 2015, 72(3): 355-362.
- [12] SANTARSIERI M, KUMAR R G, KOCHANNEK P M, et al. Variable neuroendocrine-immune dysfunction in individuals with unfavorable outcome after severe traumatic brain injury [J]. *Brain Behav Immun*, 2015, 45(1): 15-27.
- [13] DI BATTISTA A P, RHIND S G, HUTCHISON M G, et al. Inflammatory cytokine and chemokine profiles are associated with patient outcome and the hyperadrenergic state following acute brain injury [J]. *J Neuroinflammation*, 2016, 13(1): 40-43.
- [14] CASH A, THEUS M H. Mechanisms of blood-brain barrier dysfunction in traumatic brain injury [J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(9): 3344.
- [15] MUEHLSCHLEGEL S, RAJAJEE V, WARTENBERG K E, et al. Guidelines for neuroprognostication in critically ill adults with moderate-severe traumatic brain injury [J]. *Neurocrit Care*, 2024, 40(2): 448-476.
- [16] STEIN D G, GEDDES R I, SRIBNICK E A. Recent developments in clinical trials for the treatment of traumatic brain injury [J]. *Handb Clin Neurol*, 2015, 127(3): 433-451.
- [17] MCCONEGHY K W, HATTON J, HUGHES L, et al. A review of neuroprotection pharmacology and therapies in patients with acute traumatic brain injury [J]. *CNS Drugs*, 2012, 26(7): 613-636.
- [18] BERGQUIST T F, KEW C L, WISINGER A M. Traumatic brain injury [J]. *Neurol Clin*, 2024, 42(4): 863-874.
- [19] WANG W Z, LI H G, YU J T, et al. Protective effects of Chinese herbal medicine rhizoma drynariae in rats after traumatic brain injury and identification of active compound [J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(7): 4809-4820.
- [20] BI Z Y, ZHANG W, YAN X Y. Anti-inflammatory and immunoregulatory effects of icariin and icaritin [J]. *Biomed Pharmacother*, 2022, 151: 113180.
- [21] ZHANG B, WANG G Q, HE J Y, et al. Icariin attenuates neuroinflammation and exerts dopamine neuroprotection via an Nrf2-dependent manner [J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 92-95.
- [22] ZHANG Z G, WANG X, ZAI J H, et al. Icariin improves cognitive impairment after traumatic brain injury by enhancing hippocampal acetylation [J]. *Chin J Integr Med*, 2018, 24(5): 366-371.
- [23] LI L M, HESLEGRAVE A, SOREQ E, et al. Investigating the characteristics and correlates of systemic inflammation after traumatic brain injury: the TBI-BraIN-FLAMM study [J]. *BMJ Open*, 2023, 13(5): e069594.
- [24] RISBROUGH V B, VAUGHN M N, FRIEND S F. Role of inflammation in traumatic brain Injury-Associated risk for neuropsychiatric disorders; state of the evidence and where do we go from here [J]. *Biol Psychiatry*, 2022, 91(5): 438-448.
- [25] SHAO J X, LIU T Y, XIE Q R, et al. Adjudin attenuates lipopolysaccharide(LPS)- and ischemia-induced microglial activation [J]. *J Neuroimmunol*, 2013, 254(1/2): 83-90.
- [26] FEENEY D M, BOYESON M G, LINN R T, et al. Responses to cortical injury; I. Methodology and local effects of contusions in the rat [J]. *Brain Res*, 1981, 211(1): 67-77.
- [27] 蔡锐, 刘波, 龚其海, 等. 淫羊藿苷通过促血管新生改善双侧颈总动脉结扎大鼠的学习记忆功能 [J]. *中国新药与临床杂志*, 2016, 35(4): 287-293.
- [28] BUCKLEY C D, GILROY D W, SERHAN C N. Proresolving lipid mediators and mechanisms in the resolution of acute inflammation [J]. *Immunity*, 2014, 40(3): 315-327.
- [29] KONG L, LIANG X, LIU A, et al. Icariin inhibits inflammation via immunomodulation of the cutaneous hypothalamus-pituitary-adrenal axis in vitro [J]. *Clin Exp Dermatol*, 2019, 44(2): 144-152.
- [30] JOO H, BAE J, LEE J S, et al. Icariin improves functional behavior in a mouse model of traumatic brain injury and promotes synaptic plasticity markers [J]. *Planta Med*, 2019, 85(3): 231-238.
- [31] ROSI S, RAMIREZ-AMAYA V, VAZDARJANOVA A, et al. Neuroinflammation alters the hippocampal pattern of behaviorally induced arc expression [J]. *J Neurosci*, 2005, 25(3): 723-731.
- [32] BARATZ R, TWEEDIE D, WANG J Y, et al. Transiently lowering tumor necrosis factor- α synthesis ameliorates neuronal cell loss and cognitive impairments induced by minimal traumatic brain injury in mice [J]. *J Neuroinflammation*, 2015, 12(1): 45-48.
- [33] BROUGH D, TYRRELL P J, ALLAN S M. Regulation of interleukin-1 in acute brain injury [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2011, 32(10): 617-622.
- [34] HUBBARD W B, DONG J F, CRUZ M A, et al. Links between thrombosis and inflammation in traumatic brain injury [J]. *Thromb Res*, 2021, 198(1): 62-71.
- [35] MAO X, MIAO G Z, TAO X G, et al. Saikosaponin a protects TBI rats after controlled cortical impact and the underlying mechanism [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(1): 133-141.
- [36] ARUNSUNDAR M, SHANMUGARAJAN T S, RAVICHANDRAN V. 3, 4-dihydroxyphenylethanol attenuates spatio-cognitive deficits in Alzheimer's disease mouse model; modulation of the molecular signals in neuronal survival-apoptotic programs [J]. *Neurotox Res*, 2015, 27(2): 143-155.
- [37] WANG Q H, WANG C F, SHU Z P, et al. Valeriana amurensis improves amyloid-beta 1-42 induced cognitive deficit by enhancing cerebral cholinergic function and protecting the brain neurons from apoptosis in mice [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 153(2): 318-325.