

【DOI】 10.3969 / j. issn. 1671-6450. 2024. 07. 019

论著 · 基础

姜黄素改善缺氧缺血性脑损伤新生大鼠 远期神经行为缺陷的机制

唐佳欣, 耿佳庆, 严彩霞, 方成志, 方芳, 张丙宏



基金项目: 中央引导地方科技发展专项资金[鄂财教发(2016)109]; 湖北省自然科学基金(WJ2019M184)

作者单位: 430060 武汉大学人民医院新生儿科

通信作者: 张丙宏, E-mail: zbhong6288@whu.edu.cn

【摘要】 目的 探讨姜黄素减轻缺氧缺血性脑损伤新生大鼠相关神经炎症反应的作用机制并且评估其对缺氧缺血性脑损伤远期神经行为的影响。方法 2023 年 1—6 月在武汉大学人民医院中心实验室进行实验。选用 7 日龄新生 SD 大鼠 66 只, 采用随机数字表法分为假手术组($n=22$)、缺氧缺血性脑损伤组(HIBD 组, $n=22$)和缺氧缺血性脑损伤+姜黄素组(HIBD+姜黄素组, $n=22$)。造模后 24 h 采用 Longa 评分评估造模是否成功, 造模后 48 h 通过阴性趋地反射、翻正反射评估短期神经行为; 4 周后采用圆筒实验、水迷宫实验、转角实验、爬杆实验评估远期神经行为; 采用 ELISA 试剂盒检测脑组织炎症因子(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6)水平; 采用 Western-blot 法检测脑组织蛋白(STAT3、p-STAT3)水平。结果 造模 24 h 后, HIBD 组($n=18$)与 HIBD+姜黄素组($n=15$)新生大鼠 Longa 评分为 1~3 分提示造模成功。短期行为学评估表明, 与 HIBD 组比较, HIBD+姜黄素组阴性趋地反射和翻正反射时间缩短($P<0.05$)。远期神经行为学评估表明, 与 HIBD 组比较, HIBD+姜黄素组圆筒实验大鼠左前肢使用率明显增加、水迷宫实验穿越平台潜伏期缩短、穿越平台象限次数增加、转角实验右转得分率减少、爬杆实验中爬杆时间缩短($P<0.01$)。ELISA 检测显示, 与 HIBD 组比较, HIBD+姜黄素组脑组织中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平下降($P<0.05$)。蛋白免疫印迹技术显示, 与 HIBD 组比较, HIBD+姜黄素组脑组织中 p-STAT3/STAT3 水平降低($P<0.01$)。结论 姜黄素可通过抑制 STAT3 磷酸化介导的神经炎症反应并改善缺氧缺血性脑损伤新生大鼠神经行为学缺陷。

【关键词】 缺氧缺血性脑损伤; 姜黄素; STAT3; 肿瘤坏死因子- α ; 白介素-1 β ; 神经行为学

【中图分类号】 R722

【文献标识码】 A

The mechanism of curcumin improving long-term neurobehavioral deficits in neonatal rats with hypoxic-ischemic brain injury Tang Jiaxin, Geng Jiaqing, Yan Caixia, Fang Chengzhi, Fang Fang, Zhang Binghong. Department of Neonatology, Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei Province, Wuhan 430060, China

Funding program: The Central Government Guides the Special Fund for Local Scientific and Technological Development [EJ (2016) 109]; Hubei Provincial Natural Science Foundation (WJ2019M184)

Corresponding author: Zhang Binghong, E-mail: zbhong6288@whu.edu.cn

【Abstract】 Objective To investigate the pathogenesis of curcumin in reducing the neuroinflammatory and evaluate the effect of curcumin on the long-term neurobehavior in neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage (HIBD). **Methods**

The experiment was conducted in the Central Laboratory of Renmin Hospital of Wuhan University from January to June 2023. A total of 59 seven-day-old Sprague-Dawley (SD) rats were selected and randomly divided into sham surgery group ($n=15$), hypoxic-ischemic brain damage group (HIBD, $n=22$), and hypoxic-ischemic brain damage + curcumin group (HIBD + curcumin, $n=22$) using a random number table method. The Longa score was to assess whether or not the model was successfully established. Short-term neurobehavioral tests were assessed by negative geotaxis reflex and righting reflex at 48 h after modeling. The long-term neurobehavior were assessed by the cylinder test, morris water maze, corner turn test, and pole-climbing test at 4 weeks after modeling. The brain tissues were collected to detect the levels of inflammatory factors (TNF- α , IL-1 β , and IL-6) were detected by Elisa kit and the protein levels (STAT3 and p-STAT3) were detected by Western blot. **Results** The Longa scores of 1-3 in neonatal rats in the HIBD group ($n=18$) and the HIBD + curcumin group ($n=15$) suggested successful modeling. The short-term neurobehavior tests showed that compared to the HIBD group, the HIBD + curcumin group had a shorter negative geotaxis reflex and righting reflex time ($F/P=135.037/ <0.001, 86.711/ <0.$

001). The long-term neurobehavioral tests revealed significant improvements in the HIBD + curcumin group compared to the HIBD group. The HIBD + curcumin group exhibited increased utilization of the left forelimb in the cylinder test, shortened latency stage to cross the platform in the water maze test, increased number of crossings in the platform quadrant, decreased scores in the corner test, and reduced climbing time in the pole test ($F/P = 55.671 / <0.001, 102.160 / <0.001, 61.455 / <0.001, 28.526 / <0.001, 51.643 / <0.001$). ELISA detection showed that compared with the HIBD group, the HIBD + curcumin group exhibited a significant decrease in the levels of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 in the brain ($F/P = 424.753 / <0.001, 637.606 / <0.001, 361.432 / <0.001$). Protein immunoblotting technology showed that compared with the HIBD group, the HIBD + curcumin group significantly decreased the expression levels of p-STAT3/STAT3 in the brain ($F/P = 26.473 / <0.001$). **Conclusion** Curcumin can relieve neuroinflammation and improve the long-term neurobehavioral dysfunction by inhibiting STAT3 phosphorylation in HIBD neonatal rat.

【Key words】 Hypoxic-ischemic brain damage; Curcumin; STAT3; TNF- α ; IL-1 β ; Neurobehavioral

缺氧缺血性脑损伤(hypoxic-ischemic brain damage, HIBD)是由围产期各种因素导致窒息缺氧、脑血流改变而引起的一系列脑神经功能障碍。其中,中重度 HIBD 患儿的病死率及不良神经发育结局给家庭、社会带来严重负担,积极寻找有效且安全的治疗药物或手段对 HIBD 意义重大^[1-2]。姜黄素(curcumin, Cur)是从姜黄中提取的具有明确化学结构的二芳基庚烷类化合物,广泛应用于现代和传统医学^[3]。已有证据表明姜黄素在神经系统疾病中发挥神经保护作用。姜黄素可以减轻神经退行性疾病中神经炎症反应^[4];姜黄素通过 p62/keap-1/Nrf2 和 PI3K/AKT 通路在脑缺血再灌注损伤中调节自噬^[5];姜黄素改善环境颗粒物暴露大鼠的认知障碍和神经行为缺陷^[6];除此之外,姜黄素还可以在胶质母细胞瘤中调节细胞周期、抑制血管生成、促进肿瘤细胞凋亡或自噬^[7]。但是在 HIBD 中关于姜黄素的相关研究较少,为此,本研究建立新生大鼠 HIBD 模型,研究姜黄素对新生大鼠 HIBD 模型神经炎症反应的调节,并初步探究其保护机制,报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 (1) 动物:妊娠 SD 大鼠购自华中科技大学动物实验中心,大鼠饲养在温度(25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 55% ~ 60%、12 h 固定昼夜节律、通风良好的 SPF 环境中,自由进食饮水。采用体质量 15 ~ 18 g 的 7 日龄 SD 新生大鼠 66 只。本研究通过武汉大学人民医院动物实验伦理委员会批准(WDRM20190315)。(2) 试剂:异氟烷购于深圳市瑞沃德生命科技有限公司;姜黄素购于 Sigma 公司;NP-40 裂解液、ELISA 试剂盒(TNF- α 、IL-1 β 、IL-6)购于上海碧云天生物技术有限公司;一抗抗体(STAT3、p-STAT3、 β -actin)购于江苏亲科生物研究中心有限公司,辣根过氧化物酶耦联二抗购于武汉三鹰生物技术有限公司。(3) 仪器设备:酶标仪购于美谷生物科技有限公司;化学发光仪购于伯

乐生命医学产品有限公司。

1.2 分组与造模 2023 年 1—6 月于武汉大学人民医院中心实验室进行实验。新生大鼠 66 只按随机数字表法分为假手术组($n = 22$)、缺氧缺血脑损伤组(HIBD 组, $n = 22$)和缺氧缺血脑损伤 + 姜黄素组(HIBD + 姜黄素组, $n = 22$)。HIBD + 姜黄素组给予姜黄素(40 mg/kg)^[8]腹腔注射预处理 30 min 后造模,其余 2 组腹腔注射等体积 PBS 缓冲液。HIBD 组、HIBD + 姜黄素组根据改良 Rice-Vannucci 法构建 HIBD 模型^[9]:用 3% 异氟烷麻醉新生 SD 大鼠,手术期间维持 1.5% 异氟烷麻醉。将新生大鼠仰卧固定在小动物体温维持仪上,75% 乙醇消毒颈部皮肤后,于颈部正中切口,仔细分离左颈总动脉和伴行的迷走神经,用 5-0 号外科缝线双重结扎并离断血管,缝合切口并消毒。手术完成后新生大鼠自然恢复 1 h,随后置于 37 $^{\circ}\text{C}$ 的缺氧箱(含 8% O_2 和 92% N_2)内维持缺氧 2 h,最后放回母鼠身边,在正常环境下进行复氧。假手术组仅分离左侧颈总动脉且不结扎也不进行缺氧处理。Longa 得分 1 ~ 3 分提示造模成功,评分细则:0 分,正常,无神经功能缺损;1 分,左前爪不能完全伸展;2 分,爬行时向左盘旋;3 分,爬行时向左倾倒;4 分,意识丧失或无法行走。

1.3 观测指标与方法

1.3.1 神经行为检测:

1.3.1.1 短期神经行为评估 在造模后第 48 h 进行。(1) 负性趋地反射(negative geotaxis reflex):将 SD 新生大鼠头部朝下放于 45 $^{\circ}$ 倾斜木板的中央,记录其旋转身体 180 $^{\circ}$ 变为头部朝上时所需的时间,最大测试时间 120 s。(2) 翻正反射(righting reflex):将 SD 新生大鼠置于仰卧位后记录其完全翻转到四肢朝下恢复正常姿势所需的时间,每只测试 3 次,最大测试时间为 30 s。

1.3.1.2 远期神经行为评估 在造模后第 4 周进行。

(1) 圆筒实验(cylinder test): 将大鼠放入透明圆筒内, 记录大鼠受损侧前爪(左前爪 L)、健侧前爪(右前爪 R) 以及两侧前爪(A) 同时触碰筒壁的次数, 左前爪使用率 = $(L + 0.5 \times A) / (L + R + A) \times 100\%$ 。(2) 水迷宫实验(Morris water maze test): 所有大鼠首先连续 4 d 进行定位航行训练, 记录每只大鼠寻找隐匿平台时间, 第 5 天移去平台并从原平台位置对侧象限放入待测大鼠, 记录第一次穿过平台的潜伏期和穿越平台位置的次数, 记录时间最长 60 s。(3) 转角实验(corner turn test): 将大鼠放入 30° 的角落, 记录大鼠左转及右转次数, 每只大鼠测试 10 次, 测试间隔 30 s, 计算公式: 右转次数 / (右转次数 + 左转次数) × 100%。(4) 爬杆实验(pole-climbing test): 所有大鼠提前 2 d 进行爬杆训练, 每天 2 次。将大鼠置于一个竖直放置的直径 10 mm、高度 50 cm 长杆顶部, 记录大鼠从顶部开始爬至地面的时间, 每只大鼠测试 3 次, 测试间隔 2 min。所有神经行为学评估均由 3 位专业人员以双盲方式进行评估。

1.3.2 ELISA 检测新生大鼠脑组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平: 收集新生大鼠脑组织后制成组织匀浆, 离心留取上清液, 根据 ELISA 试剂盒说明书操作, 最后在 450 nm 处通过酶标仪检测 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平。

1.3.3 Western-blot 检测新生大鼠脑组织 STAT3 及 p-STAT3 蛋白水平: 收集新生大鼠脑组织后加入 NP-40 裂解液, 置于研磨仪中裂解。离心后取上清液提取总蛋白, 并使用 BCA 试剂盒进行定量。10% SDS-PAGE 凝胶电泳分离蛋白并将蛋白转至 NC 膜上, 随后 5% BSA 溶液室温封闭 NC 膜 1 h, 并加入 STAT3、p-STAT3、 β -actin 一抗在 4℃ 摇床孵育过夜。次日 TBST 清洗 NC 膜 3 次后, 加入二抗室温下摇床孵育 1 h。最后通过 Image J 软件分析蛋白条带灰度值。

1.4 统计学方法 采用 GraphPad Prism 6.0 软件统计分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 2 组比较采用独立样本 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA) 然后行 Tukey 检验比较 2 组间差

别。P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 新生大鼠 HIBD 模型 Longa 评分比较 新生大鼠建模 24 h 后进行 Longa 评分, HIBD 组与 HIBD + 姜黄素组新生大鼠 Longa 评分 1 ~ 3 分提示造模成功, 其中 HIBD 组 Longa 评分为 1 ~ 3 分共 18 只, HIBD + 姜黄素组评分为 1 ~ 3 分 15 只。

2.2 3 组新生大鼠短期神经行为学比较 负性趋地反射: 与假手术组 (*n* = 5) 新生大鼠比较, HIBD 组 (*n* = 5) 新生大鼠负性趋地反射时间延长 (*P* < 0.05); 与 HIBD 组 (*n* = 5) 比较, HIBD + 姜黄素组 (*n* = 5) 负性趋地反射时间缩短 (*P* < 0.05)。翻正反射: 与假手术组 (*n* = 5) 新生大鼠比较, HIBD 组 (*n* = 5) 新生大鼠翻正反射时间延长 (*P* < 0.05); 与 HIBD 组比较, HIBD + 姜黄素组翻正反射时间缩短 (*P* < 0.05), 见表 1。

表 1 姜黄素对 HIBD 新生大鼠短期神经行为的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Tab. 1 Effects of Curcumin on Short term Neurobehavior in HIBD Newborn Rats

组别	<i>n</i>	负性趋地反射 (s)	翻正反射 (s)
假手术组	5	9.52 ± 0.96	2.28 ± 0.38
HIBD 组	5	20.00 ± 1.00	5.86 ± 0.60
HIBD + 姜黄素组	5	14.76 ± 1.06	4.80 ± 0.27
<i>F/P</i> 值		135.037 / < 0.001	86.711 / < 0.001

2.3 3 组新生大鼠远期神经行为学比较 造模 4 周后评估 HIBD 大鼠远期神经行为: 与假手术组 (*n* = 5) 比较, HIBD 组 (*n* = 5) 圆筒实验大鼠左前肢使用率明显减少、水迷宫实验潜伏期延长、穿越平台象限次数减少、转角实验分数升高、爬杆实验中爬杆时间延长, 差异均有统计学意义 (*P* < 0.01); 与 HIBD 组 (*n* = 5) 比较, HIBD + 姜黄素组 (*n* = 5) 圆筒实验大鼠左前肢使用率明显升高、水迷宫实验潜伏期缩短、穿越平台象限次数增加、转角实验右转得分率减少、爬杆实验中爬杆时间缩短, 差异均有统计学意义 (*P* < 0.01), 见表 2。

表 2 姜黄素对 HIBD 新生大鼠远期神经行为的影响 ($\bar{x} \pm s$)
Tab. 2 Effects of Curcumin on Long term Neurobehavior in HIBD Newborn Rats

组别	<i>n</i>	圆筒实验 (%)	水迷宫实验		转角实验 (%)	爬杆实验 (s)
			穿越平台潜伏期 (s)	穿越平台象限 (次)		
假手术组	5	49.00 ± 4.18	14.30 ± 2.47	8.00 ± 1.00	50.00 ± 7.07	9.28 ± 0.72
HIBD 组	5	23.00 ± 4.81	48.84 ± 5.62	2.00 ± 0.71	88.00 ± 8.37	23.50 ± 3.67
HIBD + 姜黄素组	5	35.60 ± 2.22	24.72 ± 2.90	4.80 ± 0.84	68.00 ± 8.37	14.78 ± 0.97
<i>F/P</i> 值		55.671 / < 0.001	102.160 / < 0.001	61.455 / < 0.001	28.526 / < 0.001	51.643 / < 0.001

2.4 3 组新生大鼠脑组织炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平比较 与假手术组 ($n = 6$) 比较 ,HIBD 组 ($n = 6$) 新生大鼠脑组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平升高 ($P < 0.05$) ; 而与 HIBD 组 ($n = 6$) 比较 ,HIBD + 姜黄素组 ($n = 6$) 新生大鼠脑组织 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平下降 ($P < 0.05$) ,见表 3。

表 3 姜黄素对 HIBD 新生大鼠脑组织炎症因子的影响 ($\bar{x} \pm s$,ng/L)

Tab. 3 Effects of Curcumin on Inflammatory Factors in Brain Tissue of HIBD Newborn Rats

组 别	<i>n</i>	TNF- α	IL-1 β	IL-6
假手术组	6	43.62 \pm 4.67	66.46 \pm 4.28	60.79 \pm 5.04
HIBD 组	6	146.72 \pm 5.75	188.83 \pm 6.53	173.60 \pm 5.68
HIBD + 姜黄素组	6	81.97 \pm 7.76	127.86 \pm 6.69	107.53 \pm 10.12
<i>F/P</i> 值		424.753 / <0.001	637.606 / <0.001	361.432 / <0.001

2.5 3 组新生大鼠脑组织 STAT3 及 p-STAT3 表达比较 与假手术组 ($n = 3$) 比较 ,HIBD 组 ($n = 3$) STAT3/ β -actin 差异无统计学意义 ($P > 0.05$) ,但 p-STAT3/STAT3 水平升高 ($P < 0.05$) ; 与 HIBD 组 ($n = 3$) 比较 ,HIBD + 姜黄素组 ($n = 3$) STAT3/ β -actin 差异无统计学意义 ($P > 0.05$) ,但 p-STAT3/STAT3 水平下降 ($P < 0.01$) ,见表 4。

表 4 姜黄素对 HIBD 新生大鼠 STAT3、p-STAT3 蛋白水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 4 Effects of Curcumin on STAT3 and p-STAT3 Protein Levels in HIBD Newborn Rats

组 别	<i>n</i>	STAT3/ β -actin	p-STAT3/STAT3
假手术组	3	1.00 \pm 0.00	1.00 \pm 0.00
HIBD 组	3	0.94 \pm 0.05	1.50 \pm 0.15
HIBD + 姜黄素组	3	0.97 \pm 0.05	1.22 \pm 0.01
<i>F/P</i> 值		1.590 / 0.279	26.473 / <0.001

3 讨 论

缺氧缺血性脑损伤是一种复杂的病理生理学过程 ,是导致神经元受损坏死的主要因素 ,是导致脑损伤的重要原因^[10]。新生儿 HIBD 常采用亚低温治疗 ,但其治疗时间窗窄 ,疗效相对局限 ,迫切需要新的且有效的代替治疗或辅助治疗途径。目前 HIBD 治疗原则是希望通过阻止脑损伤发生发展 ,促进神经元自身修复 ,重建神经功能。研究表明 ,姜黄素能穿过血脑屏障进入大脑 ,缓解缺氧缺血大鼠的脑损伤并减少脑水肿^[11]。Rocha-Ferreira 等^[12]发现姜黄素能降低神经功能评分、脑缺血再灌注后的梗死面积、海马中磷酸化的

STAT3 ,减轻缺氧缺血后的脑损伤。在本研究中 ,姜黄素能缩短负性趋地反射、翻正反射时间 ,降低脑组织中磷酸化 STAT3 蛋白水平 ,与以往研究结果一致。

HIBD 的预后与神经功能缺损密切相关。结果显示 ,脑缺氧缺血处理后 ,大鼠逃避潜伏期延长 ,穿越平台象限次数减少 ,表明缺氧缺血性脑损伤会导致大鼠认知功能障碍 ,与蔡群等^[13]的结果一致 ; HIBD 大鼠经过姜黄素治疗后神经功能缺损评分降低 ,逃避潜伏期缩短 ,穿越平台象限次数增多 ,提示姜黄素可以改善 HIBD 大鼠远期神经行为缺陷 ,具有远期神经保护作用。

神经炎症反应是 HIBD 初始炎症阶段和继发性神经元损伤阶段病理生理学主要表现^[14]。当缺氧缺血性损伤发生时 ,小胶质细胞显著激活 ,通过释放多种促炎因子 ,如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 ,从而引起神经元功能障碍^[15]。本研究中新生大鼠 HIBD 模型脑组织中炎症因子水平升高 ,而姜黄素可以减少缺氧缺血引起的炎症因子水平 ,Zhou 等^[16]研究结果也表明 HIBD 新生大鼠脑组织中 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 表达上调。此外 ,TNF- α 是重要的炎症趋化因子 ,能诱导白细胞在炎症部位大量聚集 ,刺激中性粒细胞等炎症细胞 ,从而进一步刺激 IL-1 β 、IL-6 的表达和 STAT3 的磷酸化^[17]。STAT3 是一种脱核苷酸结合蛋白 ,广泛分布在整个大脑神经系统 ,在神经炎症反应、胚胎发育、细胞增殖、抗凋亡、血管生成等方面发挥重要作用^[18]。Hristova 等^[19]研究结果表明 ,当缺氧缺血后 ,STAT3 在未成熟脑组织中明显升高 ,抑制 STAT3 可以减少脑损伤和神经炎症反应。本研究显示姜黄素可以逆转缺氧缺血引起的 HIBD 新生大鼠脑组织 p-STAT3 蛋白水平升高 ,而 STAT3 总蛋白无明显变化。这提示姜黄素可能通过抑制 STAT3 磷酸化减轻 HIBD 新生大鼠的神经炎症反应 ,从而达到改善 HIBD 大鼠脑组织损伤的作用。

综上所述 ,姜黄素减少 HIBD 新生大鼠脑组织炎症因子水平 ,改善大鼠短期及远期神经行为 ,其作用机制可能是与抑制 STAT3 磷酸化相关。然而本研究仍存在一定的局限性 ,HIBD 的生理机制是错综复杂的 ,未对其他靶点、途径进行验证 ,这也需要未来进一步研究来阐明其中的确切细胞分子机制。

利益冲突: 所有作者声明无利益冲突

作者贡献声明

唐佳欣: 设计研究方案 ,实施研究过程 ,分析实验数据 ,论文撰写 ; 耿佳庆: 实施研究过程 ,进行统计学分析 ,论文修改 ; 严彩霞、方成志: 论文审核 ; 方芳: 提出研究思路 ,资料搜集整理 ; 张丙宏: 课题设计 ,论文审核

参考文献

- [1] Toorell H ,Carlsson Y ,Hallberg B ,et al. Neuro-specific and immuno-inflammatory biomarkers in umbilical cord blood in neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy [J]. *Neonatology* ,2024 ,121 (1) : 25-33. DOI: 10. 1159/000533473.
- [2] 翟丽娜 ,闫丽娟 ,张晓丽 ,等. 早产儿缺血缺氧性脑病的 CT、MR 影像表现及其与 D-二聚体、脂蛋白 a 水平的相关性 [J]. *疑难病杂志* ,2021 ,20 (2) : 139-143 ,147. DOI: 10. 3969/j. issn. 1671-6450. 2021. 02. 007.
- [3] Tang F ,Liu D ,Zhang L ,et al. Targeting endothelial cells with golden spice curcumin: A promising therapy for cardiometabolic multimorbidity [J]. *Pharmacological Research* ,2023 ,197: 106953. DOI: 10. 1016/j. phrs. 2023. 106953.
- [4] Garodia P ,Hegde M ,Kunnumakkara AB ,et al. Curcumin ,inflammation and neurological disorders: How are they linked [J]. *Integrative medicine research* ,2023 ,12 (3) : 100968. DOI: 10. 1016/j. imr. 2023. 100968.
- [5] Li X ,Sung P ,Zhang D ,et al. Curcumin in vitro neuroprotective effects are mediated by p62/keap-1/Nrf2 and PI3K/AKT Signaling pathway and autophagy inhibition [J]. *Physiological Research* , 2023 ,72(4) : 497-510. DOI: 10. 33549/physiolres. 935054.
- [6] Vastegani SM ,Hajipour S ,Sarkaki A ,et al. Curcumin ameliorates neurobehavioral deficits in ambient dusty particulate matter-exposure rats: The role of oxidative stress [J]. *Neurochemical Research* ,2023 , 48(6) : 1798-1810. DOI: 10. 1007/s11064-023-03877-0.
- [7] Bulnes S ,Picó-Gallardo M ,Bengoetxea H ,et al. Effects of curcumin nanodelivery on schizophrenia and glioblastoma [J]. *International Review of Neurobiology* ,2023 ,171: 163-203. DOI: 10. 1016/bs. im. 2023. 05. 013.
- [8] Li J ,An Y ,Wang JN ,et al. Curcumin targets vascular endothelial growth factor via activating the PI3K/Akt signaling pathway and improves brain hypoxic-ischemic injury in neonatal rats [J]. *The Korean Journal of Physiology & Pharmacology: Official journal of the Korean Physiological Society and the Korean Society of Pharmacology* , 2020 ,24(5) : 423-431. DOI: 10. 4196/kjpp. 2020. 24. 5. 423.
- [9] Rocha Ferreira E ,Phillips E ,Francesch Domenech E ,et al. The role of different strain backgrounds in bacterial endotoxin-mediated sensitization to neonatal hypoxic-ischemic brain damage [J]. *Neuroscience* ,2015 ,311: 292-307. DOI: 10. 1016/j. neuroscience. 2015. 10. 035.
- [10] 朱凯驿. 铁死亡在新生儿缺氧缺血性脑损伤中的研究进展 [J]. *中国当代儿科杂志* ,2021 ,23(5) : 536-541. DOI: 10. 7499/j. issn. 1008-8830. 2102045.
- [11] Yu L ,Yi J ,Ye G ,et al. Effects of curcumin on levels of nitric oxide synthase and AQP-4 in a rat model of hypoxia-ischemic brain damage [J]. *Brain Research* ,2012 ,1475: 88-95. DOI: 10. 1016/j. brainres. 2012. 07. 055.
- [12] Rocha-Ferreira E ,Sisa C ,Bright S ,et al. Curcumin: Novel treatment in neonatal hypoxic-ischemic brain injury [J]. *Frontiers in Physiology* ,2019 ,10: 1351. DOI: 10. 3389/fphys. 2019. 01351.
- [13] 蔡群 ,张晓群 ,张志军 ,等. $\alpha 7nAChR$ 激动剂经内质网应激调控 NLRP3 炎症小体改善缺氧缺血性脑损伤的分子机制研究 [J]. *中国现代医学杂志* ,2023 ,33(5) : 37-42. DOI: 10. 3969/j. issn. 1005-8982. 2023. 05. 006.
- [14] Hagberg H ,Mallard C ,Ferrero DM ,et al. The role of inflammation in perinatal brain injury [J]. *Nature Reviews Neurology* ,2015 ,11(4) : 192-208. DOI: 10. 1038/nrneurol. 2015. 13.
- [15] Wang R ,Jaw JJ ,Stutzman NC ,et al. Natural killer cell-produced IFN- γ and TNF- α induce target cell cytotoxicity through up-regulation of ICAM-1 [J]. *Journal of Leukocyte Biology* ,2012 ,91(2) : 299-309. DOI: 10. 1189/jlb. 0611308.
- [16] Zhou R ,Wu L ,Jin N ,et al. L-F001 ,a multifunctional fasudil-lipoic acid dimer ,antagonizes hypoxic-ischemic brain damage by inhibiting the TLR4/MyD88 signaling pathway [J]. *Brain and Behavior* ,2023 , 13(12) : e3280. DOI: 10. 1002/brb3. 3280.
- [17] Liddelow SA ,Guttenplan KA ,Clarke LE ,et al. Neurotoxic reactive astrocytes are induced by activated microglia [J]. *Nature* ,2017 ,541(7638) : 481-487. DOI: 10. 1038/nature21029.
- [18] Butturini E ,Carcereri De Prati A ,Mariotto S. Redox regulation of STAT1 and STAT3 signaling [J]. *International Journal of Molecular Sciences* ,2020 ,21(19) : 7034. DOI: 10. 3390/ijms21197034.
- [19] Hristova M ,Rocha Ferreira E ,Fontana X ,et al. Inhibition of signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) reduces neonatal hypoxic-ischaemic brain damage [J]. *Journal of neurochemistry* , 2016 ,136(5) : 981-994. DOI: 10. 1111/jnc. 13490.

(收稿日期: 2023 - 10 - 31)

(上接 860 页)

- [17] Beheshtizadeh N ,Gharibshahian M ,Bayati M ,et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) delivery approaches in regenerative medicine [J]. *Biomed Pharmacother* ,2023 ,166: 115301. DOI: 10. 1016/j. biopha. 2023. 115301.
- [18] Yu W ,Hegarty JP ,Berg A ,et al. NKX2-3 transcriptional regulation of endothelin-1 and VEGF signaling in human intestinal microvascular endothelial cells [J]. *PLoS One* ,2011 ,6(5) : e20454. DOI: 10. 1371/journal. pone. 0020454.
- [19] Lindkvist M ,Zegeye MM ,Grenegard M ,et al. Pleiotropic ,unique and shared responses elicited by IL-6 family cytokines in human vascular endothelial cells [J]. *Int J Mol Sci* ,2022 ,23(3) : 1448. DOI: 10. 3390/ijms23031448.
- [20] Ala M ,Mohammad Jafari R ,Dehpour AR. Sildenafil beyond erectile dysfunction and pulmonary arterial hypertension: Thinking about new indications [J]. *Fundam Clin Pharmacol* ,2021 ,35(2) : 235-259. DOI: 10. 1111/fcp. 12633.
- [21] Theofilis P ,Sagris M ,Oikonomou E ,et al. Inflammatory mechanisms contributing to endothelial dysfunction [J]. *Biomedicines* ,2021 ,9(7) : 781. DOI: 10. 3390/biomedicines9070781.
- [22] Fujita N ,Momota M ,Ishida M ,et al. Association of oxidative stress with erectile dysfunction in community-dwelling men and men on dialysis [J]. *Aging Male* ,2022 ,25(1) : 193-201. DOI: 10. 1080/13685538. 2022. 2103113.

(收稿日期: 2024 - 04 - 14)