

纳米脂质体槲皮素对脑缺血再灌注损伤的神经保护作用及机制

康 瑜, 杨小芳

(四川省遂宁市中心医院神经内科, 遂宁 629000)

[摘要] 目的 研究纳米脂质体槲皮素(nLQ)对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的神经保护作用及机制。方法 80只雄性SD大鼠随机分为假手术组、模型组,以及nLQ低、中、高剂量组,每组16只。用改良线栓法制备大鼠中动脉脑缺血再灌注模型。各组大鼠脑缺血再灌注48 h后,采用神经功能缺损评分法观察大鼠的行为学评分;2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC)染色实验测定脑梗死体积,干湿重法测定脑组织含水量;酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素10(IL-10)含量;流式细胞术检测脑组织神经细胞凋亡情况;蛋白质印迹法(Western blotting)检测B淋巴细胞瘤-2基因(Bcl-2)和Bcl-2相关X蛋白(Bax)蛋白表达变化。结果 与模型组相比,nLQ低、中、高剂量组大鼠神经功能缺损症状明显改善,行为学评分显著降低,脑梗塞体积显著减小,脑水肿程度显著降低,血清TNF- α 和IL-10的含量显著降低,细胞凋亡率显著降低,凋亡相关蛋白Bcl-2表达水平显著升高,Bax表达水平显著降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),且具有剂量-效应关系。结论 nLQ对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤有很好的保护作用,其机制可能与nLQ能够改善神经功能缺损症状,减少神经细胞凋亡及降低血中炎症反应因子TNF- α 和IL-10的含量有关。

[关键词] 纳米脂质体槲皮素;脑缺血再灌注损伤;细胞凋亡;肿瘤坏死因子- α ;白细胞介素10

[中图分类号] Q95-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1674-5817(2020)02-0116-07

槲皮素(quercetin)是酪氨酸激酶特异性抑制剂,在绿色植物中广泛存在,属于黄酮类化合物。近年来研究发现,槲皮素具有清除自由基、抗氧化、抗病毒、抗炎性反应、抗肿瘤等广泛的生物学功能^[1-3]。槲皮素对心血管疾病也有较好的治疗效果^[4],并具有抗心肌缺血再灌注损伤的作用^[5]。然而槲皮素普通制剂具有难溶于水、靶向性差等特点,限制了其在疾病治疗中的应用。而以纳米脂质体为药物载体包裹槲皮素制成纳米脂质体槲皮素(nanoliposomal quercetin, nLQ),

可以提高槲皮素的生物利用度、靶向性,提高疗效,降低不良反应^[6,7]。本研究以槲皮素为原料,采用薄膜蒸发-高压均质法制备nLQ,然后通过腹腔注射作用于局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠模型,观察nLQ对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用,并对其机制进行探讨。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF级50 d龄雄性SD大鼠,体质量260~300 g,由四川中医药科学院实验动物中心提供[SCXK(川)2008-19],饲养于成都达硕生物科技有限公司实验室[SYXK(川)2019-189]。

1.2 主要试剂及仪器

槲皮素购自成都超人植化公司(HPLC含量 $\geq$

[收稿日期] 2019-07-10

[作者简介] 康 瑜(1978-),女,副主任医师,从事中西医结合脑血管疾病的基础和临床研究。

E-mail: 121341848@qq.com

98%, 产品规格 20 mg/支, 生产批号: 050602); 胆固醇购自北京化学试剂公司; 磷脂购自德国 Lipoid 公司; 红四氮唑(TTC)购自上海钰博生物科技有限公司; TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒购自美国 Roche 公司; 组织总蛋白提取试剂盒、二辛可宁酸(BCA)蛋白浓度检测试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司; 兔抗鼠 B 淋巴细胞瘤 -2 基因(Bcl-2)、Bcl-2 相关 X 蛋白(Bax)及甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)单克隆抗体购自美国 CST 公司; 辣根过氧化物标记的羊抗兔 IgG 购自英国 Abcam 公司; 肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素 10(IL-10) ELISA 试剂盒购自晶美生物工程有限公司。AUW120D 型电子分析天平购自日本岛津公司; 探针式超声仪购自美国 Branson 公司; 蛋白化学发光凝胶成像系统 FluorChem E 购自美国 Protein Simple 公司; Multiskan MK3 型酶标仪购自芬兰 Thermo Labsystems 公司; 显微镜购自美国 Thermo 公司。

1.3 nLQ 的制备

采用薄膜蒸发-高压均质法^[8]制备。按处方准确称量槲皮素、胆固醇、卵磷脂、脑磷脂和聚乙二醇-4000, 以质量比 6:4:9:5:1 混匀, 用氯仿和二甲基亚砜(DMSO)(体积比 3:1)完全溶解。将混匀后的溶液倒入烧瓶中, 37 °C 水浴减压旋转蒸发 4~8 h。PBS 水化后, 置于超声破碎仪中反复破碎, 待脂质体槲皮素可通过 80 nm 滤膜后, 即获得 nLQ。

1.4 实验分组

80 只大鼠随机分为 5 组, 每组 16 只: 假手术组, 模型组, nLQ 低、中、高剂量组。nLQ 质量浓度均为 5 mg/mL, 采用腹腔注射给药。低、中、高剂量组给药量分别为 5 mg/kg、7.5 mg/kg 和 10 mg/kg, 在造模前 7 d 及术前 1 h 分别腹腔注射给药。假手术组及模型组注射等体积生理盐水。

1.5 大鼠局灶性脑缺血/再灌注损伤模型制备

参照 Longa 等^[9]改良线栓法制备大鼠中动脉栓塞模型: 用 7% 水合氯醛按 5 mL/kg 的剂量腹腔注射麻醉大鼠, 仰卧固定于手术台上, 75% 乙醇溶液消毒颈部皮肤, 颈部正中纵行切开皮肤, 分离左侧颈总动脉(CCA)、颈内动脉(ICA)和颈外动脉(ECA)。在 ICA 和 ECA 分叉处用手术线结扎 ECA 主干, 用动脉夹暂时阻断 CCA 和 ICA 近心端血流,

远心端用一手术线轻轻拉起, 在 ECA 结扎点近端用 1 mL 注射器针头刺一小口, 将一段头端烧圆的尼龙线插入 ICA, 至大脑中动脉起始部以完全阻断供血, 插入深度约为 18 mm, 可感到阻力, 扎紧颈内动脉的手术线, 缝合伤口阻断左侧大脑中动脉血流。阻断 2 h 后, 抽出栓线, 进行再灌注。假手术组除不导入线栓, 其余操作均同模型组。

1.6 神经功能缺损评分

大鼠在脑缺血 2 h 再灌注 48 h 后, 按照 5 分制评分标准, 对大鼠神经功能缺失症状进行分级评分: 可以自由活动, 无明显神经功能损伤症状, 记为 0 分; 病灶对侧前爪不能完全伸直, 记为 1 分; 行走时向病灶对侧不自主旋转, 记为 2 分; 向病灶对侧倾倒, 记为 3 分; 意识丧失, 不能自发活动, 记为 4 分。评分越高, 说明神经功能缺损越严重。

1.7 脑梗塞体积及脑含水量测定

大鼠脑缺血再灌注 48 h 后, 每组随机选取 6 只, 用 10% 水合氯醛麻醉后快速处死取脑, 去除小脑、嗅脑及低位脑干, 用电子分析天平准确称量脑组织湿重。置于 -20 °C 冰箱中冷冻 30 min 后, 将脑组织以 2 mm 间距做冠状切片, 并立即浸泡在 2% TTC 磷酸缓冲液中, 37 °C 避光孵育 30 min, 以质量分数 4% 的多聚甲醛溶液固定 24 h。正常脑组织经染色后为红色, 脑梗死组织经染色后为白色, 脑切片经拍照采集图像后用 Image J 1.37 图像分析软件测量红、白区域体积, 计算梗死体积百分比。脑梗死体积百分比 = (脑梗死体积 / 总脑片体积) × 100%。

将染色后的脑组织置于 120 °C 烤箱中烘干至恒重, 记录干重。结合称量的大脑湿重, 计算脑组织含水率。脑含水率 = (1 - 脑组织干重 / 脑组织湿重) × 100%。

1.8 ELISA 测定血清 TNF- α 和 IL-10 含量

大鼠脑缺血再灌注 48 h 后, 每组选取 6 只。用 7% 水合氯醛麻醉后打开胸腔, 用 5 mL 注射器抽取心脏血 2 mL, 待常温凝固后, 2500 r/min 离心 15 min。抽取上清液, 采用 ELISA 法测定血清中 TNF- α 和 IL-10 含量, 按照试剂盒说明书操作步骤进行。用酶标仪测定 450 nm 处的吸光度(A)值, 通过绘制标准曲线求出样品中 TNF- α

和 IL-10 含量。

1.9 流式细胞术检测脑组织神经细胞凋亡情况

将脑缺血再灌注 48 h 后的大鼠用 7% 水合氯醛麻醉, 抽血后分离缺血侧脑组织, 用 PBS 漂洗去除血细胞, 手术剪碎后加入 1.25 g/L 的胰蛋白酶溶液, 于 37 °C 消化 30 min 左右, 然后用 200 目细胞筛过滤, 滤液经 1500 r/min 离心 10 min, 细胞沉淀用 PBS 冲洗 2 次制成单细胞悬液(细胞密度为 1×10^6 个/mL)。取 1 mL 细胞悬液离心并收集沉淀, PBS 清洗 2 次后, 加入 500 μ L 结合缓冲液重悬细胞, 然后加入 10 μ L Annexin V -FITC 和 10 μ L 碘化丙啶(PI)混匀, 室温避光孵育 15 min, 用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.10 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达水平检测

取大鼠再灌注损伤 48 h 后的脑组织, 剪碎后放置于研钵中, 加入液氮充分研磨。按照蛋白提取试剂盒说明书提取组织总蛋白, 用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。取蛋白样品与 Loading buffer 充分混合后, 100 °C 煮沸 5 min 变性。将变性蛋白样品以每孔 50 μ L 的量加入到 SDS-PAGE 凝胶上样孔中, 80 V 电压电泳 30 min 后, 调整电压为 120 V 至电泳结束。按照常规方法将蛋白转印至 PVDF 膜上, 转膜电压为 90 V。取出 PVDF 膜, 经 5% 脱脂奶粉溶液封闭 2 h 后, 依次与兔抗鼠 Bcl-2、Bax 和 GAPDH 单克隆抗体(500 倍稀释) 4 °C 孵育过夜, 然后与辣根过氧化物标记的羊抗兔 IgG(1 000 倍稀释)室温孵育 1 h, PBST 洗涤 3 次后, 滴加电化学发光(ECL)显色液, 显影, 定影, 曝光。用蛋白化学发光凝胶成像系统采集图像, 分析蛋白表达水平。

1.11 统计学分析

所有实验数据的统计分析均在 SPSS 22.0 统计学软件上进行, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组比较用单因素方差分析, 两组比较用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠行为学评分

如表 1 所示, 模型组大鼠表现出明显的神经功能缺损症状, 术后行为学评分显著高于假手术组($P < 0.01$), 说明造模成功; 与模型组比较,

nLQ 低剂量组大鼠行为学评分明显降低($P < 0.05$), nLQ 中剂量组和 nLQ 高剂量组大鼠行为学评分显著降低($P < 0.01$)。结果说明 nLQ 能够显著改善脑缺血再灌注损伤大鼠的神经功能缺损状况, 且作用剂量越高, 对神经功能的改善效果越好, 具有剂量 - 效应关系。

表 1 大鼠脑缺血再灌注后行为学评分

Table 1 The behavioral score of rats after cerebral ischemia reperfusion

组别	术后神经功能评分
假手术组	0
模型组	$3.12 \pm 0.73^{##}$
nLQ 低剂量组	$2.51 \pm 0.65^*$
nLQ 中剂量组	$1.82 \pm 0.57^{**}$
nLQ 高剂量组	$1.08 \pm 0.42^{**}$

注: 与假手术组比较, $^{##}P < 0.01$; 与模型组比较, $^*P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$; $n = 16$

2.2 大鼠脑梗死体积与脑含水量

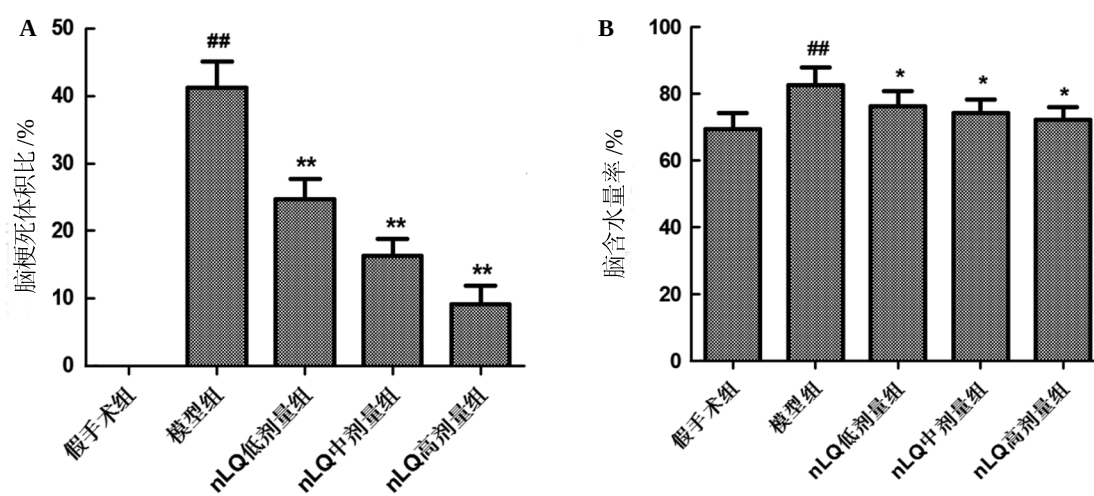
如图 1 所示, 与假手术组相比, 模型组大鼠脑梗死体积比与脑含水率均显著升高($P < 0.01$)。与模型组相比, nLQ 低、中、高剂量组大鼠脑梗死体积比均显著降低($P < 0.01$), 脑含水率均明显降低($P < 0.05$), 且具有剂量 - 效应关系。

2.3 血清中 TNF- α 和 IL-10 含量

如图 2 所示, 与假手术组相比, 模型组大鼠血清中 TNF- α 和 IL-10 的含量均显著升高($P < 0.01$)。与模型组相比, nLQ 低、中、高剂量组大鼠血清中 TNF- α 和 IL-10 的含量均显著降低($P < 0.01$), 且具有剂量 - 效应关系。

2.4 脑组织神经细胞凋亡情况

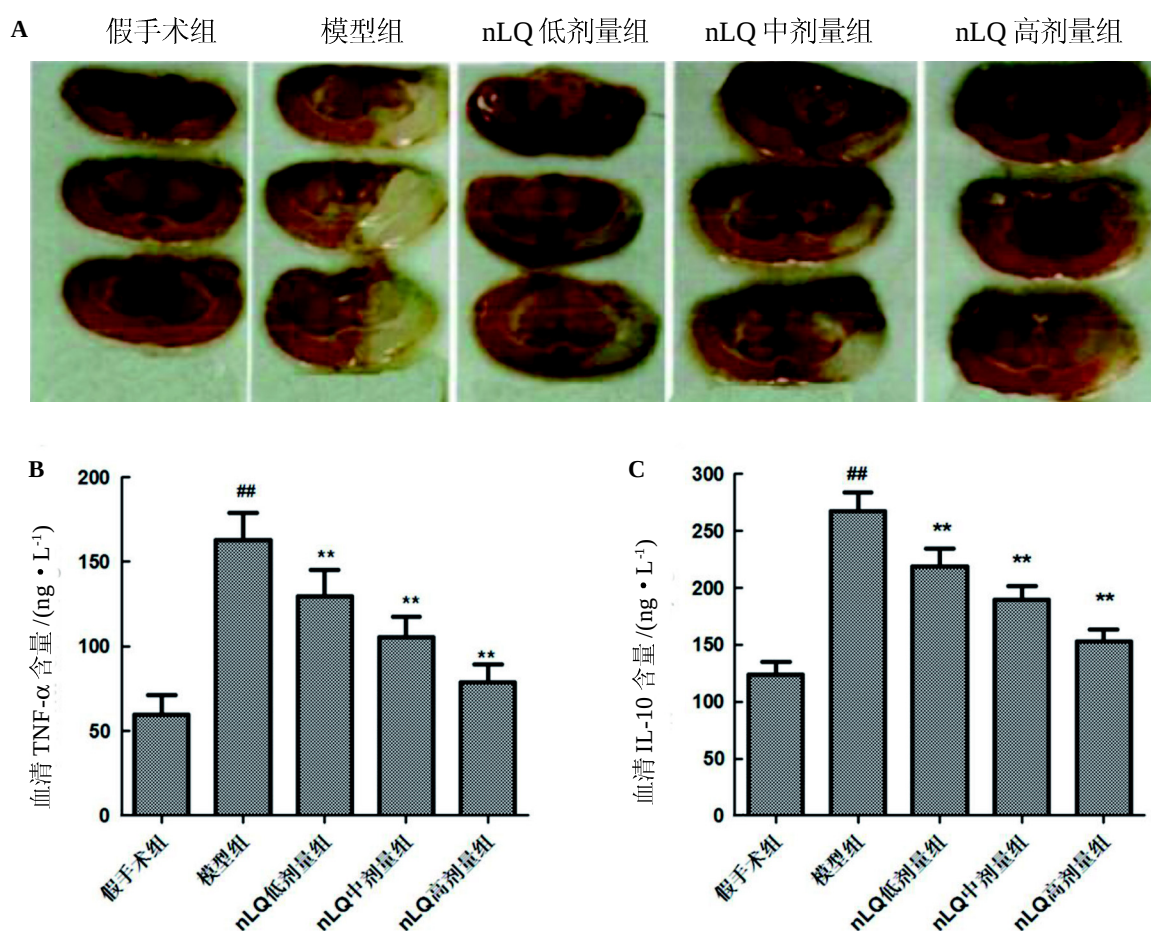
大鼠脑缺血再灌注 48 h 后, 用流式细胞术检测脑组织神经细胞凋亡情况, 并用 Western blotting 检测凋亡相关蛋白 Bcl-2 和 Bax 的表达情况。结果如图 3 所示, 与假手术组相比, 模型组大鼠脑组织神经细胞凋亡率显著升高($P < 0.01$), Bcl-2 蛋白表达水平显著降低($P < 0.01$), Bax 蛋白表达水平显著升高($P < 0.01$)。与模型组相比, nLQ 低、中、高剂量组大鼠脑组织神经细胞凋亡率均显著降低($P < 0.01$); nLQ 低剂量组 Bcl-2 蛋白表达水平明显升高($P < 0.05$), Bax 蛋白表达水平明显降低($P < 0.05$); nLQ 中、高剂量组 Bcl-2 蛋白表达水平显著升高($P < 0.01$), Bax 蛋白表达水平显著降低($P < 0.01$)。



A: 脑梗死体积比; B: 脑含水量; 与假手术组比较, ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$; $n=6$

图 1 大鼠脑缺血再灌注后脑梗死体积与脑含水量测定结果

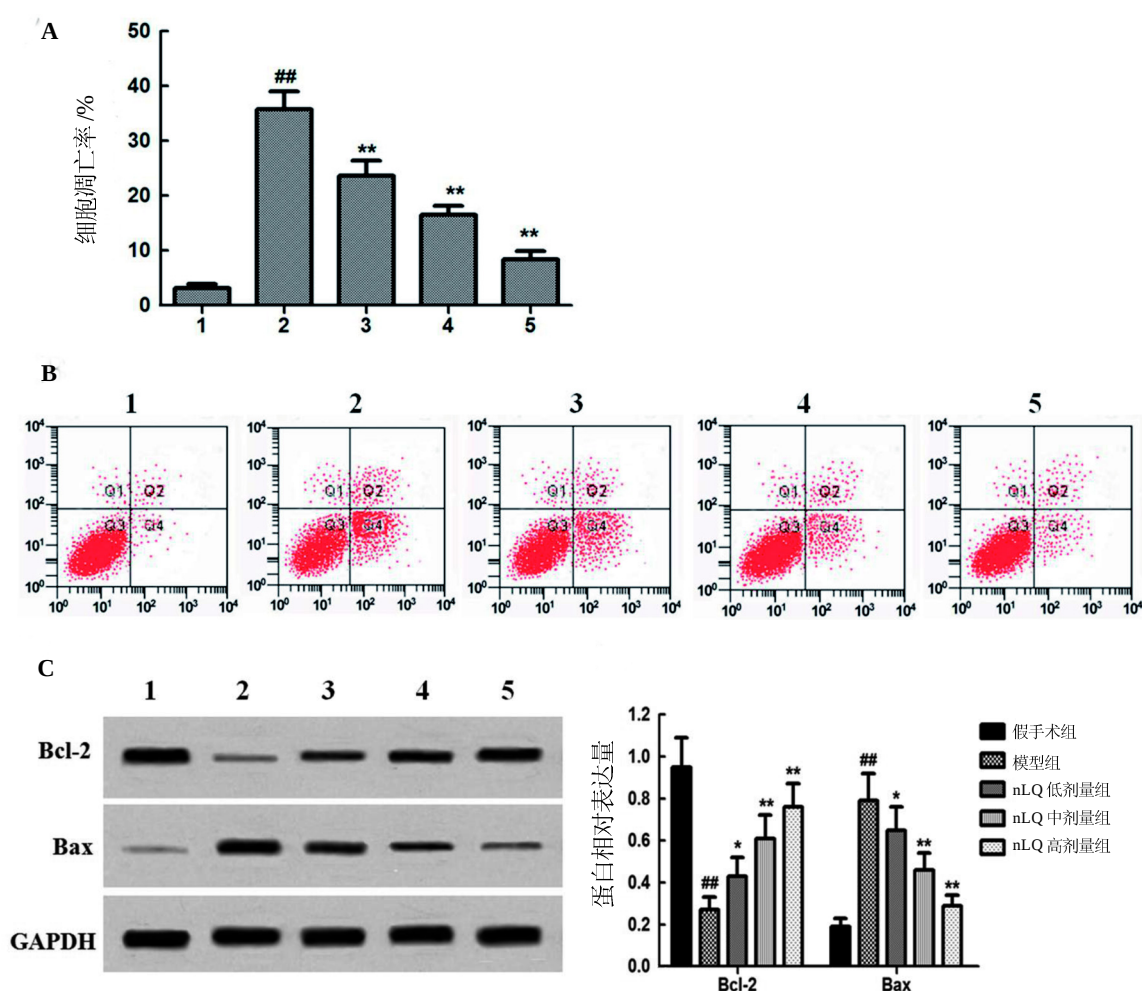
Figure 1 Cerebral infarct volume and brain water content after cerebral ischemia reperfusion in rats



A: 脑梗死面积图; B: 血清 TNF-α 含量; C: 血清 IL-10 含量; 与假手术组比较, ^{##} $P<0.01$; 与模型组比较, ^{**} $P<0.01$; $n=6$

图 2 大鼠血清中 TNF-α 和 IL-10 含量检测结果

Figure 2 TNF-α and IL-10 content detected in serum of rats



A: 细胞凋亡率统计结果; B: 流式细胞图; C: Western blotting 结果图; 1: 假手术组, 2: 模型组, 3: nLQ 低剂量组, 4: nLQ 中剂量组, 5: nLQ 高剂量组; 与假手术组比较, ^{##} $P < 0.01$; 与模型组比较, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$; $n = 6$

图3 大鼠脑组织神经细胞凋亡及 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达情况

Figure 3 Neuron apoptosis and the expressions of Bcl-2 and Bax proteins in brain tissues of rats

3 讨论

在中国, 脑血管疾病居三大死因之首, 其中缺血性脑血管病占 60%~80%, 致死致残率高, 严重威胁人类健康。对缺血性脑血管病, 目前强调早期溶栓治疗, 以实现血管再通^[10], 但由此也会导致缺血再灌注损伤的发生, 加重组织、器官的结构损伤和功能障碍, 进而导致患者病情加重^[11]。所以, 如何保护脑组织和神经细胞免受损伤, 抑制缺血梗死区扩大, 以及促进神经元结构和功能恢复等, 是研究的热点。

槲皮素具有清除体内自由基、抗氧化、抗病毒、抗炎性反应和抗肿瘤等广泛的生物学功能。有研究报道, 槲皮素对心肌损伤及脑损伤的

保护作用与其抗氧化能力相关^[12-13]。并且槲皮素在肝脏疾病治疗中的应用比较多, 体内氧自由基堆积是造成肝脏损伤的主要原因, 研究显示, 槲皮素能够通过抗氧化及清除氧自由基对肝损伤产生保护作用^[14]。相关研究也表明, 槲皮素安全、无毒副作用^[15]。但槲皮素难溶于水, 极大地限制了其在体内的吸收。而脂质体是一种新型的药物载体, 用其包裹药物能够增加增加药物的水溶性及在体内的循环时间。因此, 本实验采用脂质体作为载体包裹槲皮素, 并将粒径控制在 80 nm 以内, 制备 nLQ。然后用线栓法构建大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤模型, 通过腹腔注射不同剂量的 nLQ, 观察其对脑损伤的保护作用。结果显示, nLQ 能够显著改善脑缺血再灌注损伤大鼠的神经

功能,降低脑梗塞体积和脑水肿程度,且具有剂量-效应关系。说明 nLQ 对大鼠脑缺血再灌注损伤具有良好的神经保护作用。

脑缺血再灌注损伤是多种因素参与的复杂反应,在损伤组织周围也存在着继发性损伤^[16]。研究显示,在脑缺血再灌注过程中,炎症反应细胞因子的过量表达起着重要的作用^[17-18]。在脑缺血早期阶段, TNF- α 分泌增多是脑梗死形成的主要原因,脑缺血再灌注过程中, TNF- α 过度表达会导致脑梗死范围扩大,神经功能损伤加重,缺血脑组织血流量减少,进一步加重血脑屏障的损害^[19]。因此阻断 TNF- α 表达可减少缺血性神经元损伤。IL-10 主要由 Th2 细胞产生,是很强的抗炎性反应细胞因子,能够抑制促炎性反应细胞因子的过度表达,维持机体内环境的稳定^[20]。在脑缺血再灌注损伤过程中, IL-10 可下调炎症反应细胞因子的表达,抑制炎症级联反应的发生,发挥神经保护作用^[21]。因此,检测血清或脑组织中 TNF- α 和 IL-10 含量对衡量脑损伤程度具有重要意义。本研究结果显示,模型组大鼠血清中 TNF- α 和 IL-10 含量均显著高于假手术组, nLQ 低、中、高剂量组大鼠血清中 TNF- α 和 IL-10 含量均显著低于模型组,且具有剂量-效应关系。以上结果提示 nLQ 对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用可能与其能够降低炎症反应相关。

脑组织神经元细胞凋亡也是造成脑缺血再灌注损伤的重要机制之一^[22],本研究用流式细胞术检测了大鼠脑组织神经细胞凋亡情况,结果显示 nLQ 能够降低脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织的神经细胞凋亡率,并呈浓度依赖性。细胞凋亡是受多种因素调节的细胞程序性死亡过程。Bcl-2 蛋白家族是目前已知的细胞凋亡中最重要的调控因子之一,根据作用不同,分为促凋亡基因和抑凋亡基因两类,其中 Bcl-2 可抑制细胞凋亡, Bax 可促进细胞凋亡^[23]。研究显示, Bcl-2 和 Bax 表达变化与脑缺血再灌注损伤引起的神经细胞凋亡增多相关^[24]。本研究结果显示,与模型组相比, nLQ 低、中、高剂量组大鼠脑组织中 Bcl-2 蛋白表达水平明显升高, Bax 蛋白表达水平明显降低。提示 nLQ 对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用可能与其能够调控凋亡相关蛋白的表达,进而有效抑制脑组织神经细胞凋亡相关。

综上所述, nLQ 对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤有很好的保护作用,其机制可能与 nLQ 能够改善神经功能缺损症状,减少神经细胞凋亡及降低血中炎症反应因子 TNF- α 和 IL-10 的含量有关。本实验结果为脑缺血再灌注损伤的有效预防及治疗提供了新的思路。

参考文献:

- [1] 马纳,李亚静,范吉平. 槲皮素药理作用研究进展[J]. 辽宁中医药大学学报, 2018, 20(8):221-224.
- [2] Nikfarjam BA, Hajiali F, Adineh M, et al. Anti-inflammatory effects of quercetin and vitexin on activated human peripheral blood neutrophils [J]. J Pharmacopuncture, 2017, 20 (2):127-131.
- [3] Jin Z, Li F, Liao J, et al. Investigation of the anti-cancer effect of quercetin on HepG2 cells *in vivo*[J]. PLoS One, 2017, 12 (3):e0172838.
- [4] 陈振华,胡晓艳,赵滕,等. 槲皮素对心血管系统疾病的影响及其新剂型研究进展[J]. 时珍国医国药, 2019, 30 (2):440-443.
- [5] 匡维新,曹海平,张晓旭,等. 槲皮素对大鼠心肌缺血再灌注内质网应激的影响[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(41):128-129.
- [6] Zheng NG, Mo SJ, Li JP, et al. Anti-CSC effects in human esophageal squamous cell carcinomas and Eca109/9706 cells induced by nanoliposomal quercetin alone or combined with CD 133 antiserum[J]. Asian Pac J Cancer Prev, 2014, 15(20):8679-8684.
- [7] Han Q, Wang XH, Cai SF, et al. Quercetin nanoparticles with enhanced bioavailability as multifunctional agents toward amyloid induced neurotoxicity[J]. J Mater Chem B, 2018, 6(9):1-8.
- [8] 姜素芳,姚瑶,丁燕飞,等. 反相高效液相色谱法测定盐酸青藤碱纳米脂质体药物含量及包封率[J]. 中南药业, 2005, 3(4):213-215.
- [9] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1):84-91.
- [10] 彭俊亮,祝美珍. 中医药治疗缺血性脑中风的研究概况[J]. 湖南中医杂志, 2019, 25(6):145-147.
- [11] Zhao YN, Guo XF, Li JM, et al. mTOR/autophagy pathway in the hippocampus of rats suffering intermittent hypoxia preconditioning and global cerebral ischemia-reperfusion[J]. Oncotarget, 2017, 8(14):23353-23359.
- [12] 冯亚莉,吕小改,翟广玉. 槲皮素酯的合成及清除自由基活性研究[J]. 化学与黏合, 2018, 40(6):415-419.
- [13] 雷晓鸣,孟丽华,蒋文军,等. 槲皮素对大鼠全脑缺血/再灌注损伤的保护作用[J]. 山西医科大学学报, 2019(9): 1254-1261.
- [14] 肖洁,尹松梅,谢双锋,等. 槲皮素调控 AMPK 活性诱

- 导 HL-60 细胞自噬与凋亡[J]. 中山大学学报: 医学版, 2018, 39(4):501-509.
- [15] 孙卉, 滕浩, 杜密英, 等. 槲皮素降脂减肥机制研究进展[J]. 食品工业科技, 2019, 40(16):349-353, 362.
- [16] 余浩佳, 冯向营, 辛世萌, 等. 丁苯酞注射液预处理通过 NF- κ B 信号通路对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 中风与神经疾病杂志, 2015, 32(12):1119-1121.
- [17] Maleki SN, Aboutaleb N, Sourfi F. Berberine confers neuroprotection in coping with focal cerebral ischemia by targeting inflammatory cytokines[J]. J Chem Neuroanat, 2018, 87:54-59.
- [18] Hu QY, Ren HJ, Ren J, et al. Released mitochondrial DNA following intestinal ischemia reperfusion induces the inflammatory response and gut barrier dysfunction[J]. Sci Rep, 2018, 8(1):7350.
- [19] 贾栋. 贝前列素钠对脑缺血再灌注损伤大鼠血清 IL-6、TNF- α 水平及 MPO 活性影响[J]. 中国医院药学杂志, 2015, 35(20):1874-1875.
- [20] 吴建龙, 巨积辉, 周广良, 等. SB202190 对皮瓣缺血再灌注损伤时 TNF- α 和 IL-10 影响的实验研究[J]. 中国临床解剖学杂志, 2014, 32(6):698-703.
- [21] Wan X, Huang WJ, Chen W, et al. IL-10 deficiency increases renal ischemia-reperfusion injury[J]. Nephron Exp Nephrol, 2014, 128(1/2): 37-45.
- [22] 郭生龙, 陈瑞利, 雷琦, 等. 丁苯酞对小鼠脑缺血再灌注损伤细胞坏死性凋亡的影响[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2019, 28(2):122-126.
- [23] Zhao T, Fu Y, Sun H, et al. Ligustrazine suppresses neuron apoptosis via the Bax/Bcl-2 and caspase-3 pathway in PC12 cells and in rats with vascular dementia[J]. IUBMB Life, 2018, 70(1):60-70.
- [24] Liu R, Zhong X, Zeng J, et al. 3'-Daidzein sulfonate sodium inhibits neuronal apoptosis induced by cerebral ischemia-reperfusion[J]. Int J Mol Med, 2017, 39(4):1021-1028.

Protective Effect and Mechanism of Nanoliposomal Quercetin on Focal Cerebral Ischemia-reperfusion Injury in Rats

KANG Yu, YANG Xiaofang

(Department of Neurology, Suining Central Hospital, Suining 629000, China)

[Abstract] **Objective** To study the neuroprotective effects and mechanism of nanoliposomal quercetin (nLQ) on focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. **Methods** Eighty male SD rats were randomly divided into sham-operation group, model group, nLQ low-dose group, nLQ middle-dose group and nLQ high-dose group, with 16 rats in each group. The middle cerebral artery occlusion model was established by modified suture method. Forty-eight hours after cerebral ischemia-reperfusion, the behavioral score was observed by using neurological deficit score method, the cerebral infarction volume was measured by TTC staining test, the water content of brain tissue was measured by wet and dry weight method, the contents of tumor necrosis factor α (TNF- α) and interleukin-10 (IL-10) in serum were determined by ELISA assay, the neuronal apoptosis was detected by flow cytometry, and the expressions of Bcl-2 and Bax in brain tissue were detected by Western blotting. **Results** Compared with the model group rats, nLQ low, middle and high dose groups could significantly improve the neurological deficit symptoms, reduce the behavioral score, decrease the cerebral infarction volume and alleviate cerebral edema, reduce the contents of TNF- α and IL-10 in serum, reduce the rate of neuronal apoptosis, decrease Bax protein expression and increase Bcl-2 protein expression in brain tissue. The differences were statistically significant ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), also with a dose-dependent manner. **Conclusion** The nLQ has a significant protective effect on the focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. The nLQ may improve the neurological function, reduce the apoptosis of neuronal cells and decrease the content of inflammatory factors TNF- and IL-10 in blood.

[Key words] Nanoliposomal quercetin; Cerebral ischemia-reperfusion injury; Apoptosis; Tumor necrosis factor α ; Interleukin 10