

凉血通瘀方对脑出血大鼠肠黏膜屏障修复及神经功能改善作用的研究

张子健^{1,2}, 李建香³, 周雨^{1,2}, 过伟峰^{1*}

(1. 南京中医药大学附属医院, 江苏 南京 210029; 2. 南京中医药大学代谢病中医研究重点实验室, 江苏 南京 210023; 3. 南京中医药大学附属南京中医院, 江苏 南京 210022)

摘要:目的:探究凉血通瘀方对脑出血大鼠肠黏膜屏障的组成结构、选择通透性以及神经功能的影响。方法:将30只SD大鼠随机分为正常组、假手术组、模型组、凉血通瘀组和益生菌组。除正常组和假手术组外,其余各组大鼠通过注射泵控制器注血/二次退针法建立脑出血模型。造模成功后,凉血通瘀组给予凉血通瘀方药液灌胃,益生菌组给予双歧杆菌三联活菌制剂灌胃,每日1次,连续3 d。治疗结束后,采用ELISA法检测肠黏膜屏障蛋白 Occludin、Claudin-1、ZO-1 的表达水平及血清中 LPS、DAO、DLA 的含量。结果:与模型组比较,凉血通瘀组行为学评分显著下降($P < 0.01$),益生菌组评分改变不明显($P > 0.05$)。与正常组比较,模型组 Occludin、Claudin-1、ZO-1 蛋白的表达水平显著降低($P < 0.01$),血清 LPS、DAO、DLA 的含量显著增加($P < 0.01$);凉血通瘀组和益生菌组 Claudin-1、ZO-1 蛋白的表达水平明显降低($P < 0.05$),血清 LPS、DAO、DLA 的含量明显增加($P < 0.05$)。与假手术组比较,模型组 Claudin-1、ZO-1 蛋白的表达水平显著降低($P < 0.01$),血清 LPS、DAO、DLA 的含量显著增加($P < 0.01$),凉血通瘀组 ZO-1 蛋白的表达水平明显降低($P < 0.05$),血清 LPS、DAO、DLA 的含量显著增加($P < 0.01$);益生菌组血清 LPS 的含量显著升高($P < 0.01$)。与模型组比较,凉血通瘀组 Claudin-1、ZO-1 蛋白的表达水平明显上升($P < 0.05$),益生菌组 Occludin、Claudin-1、ZO-1 蛋白的表达水平均显著上升($P < 0.01$)。与模型组比较,凉血通瘀组与益生菌组血清 LPS、DAO、DLA 的含量显著降低($P < 0.01$)。与凉血通瘀组比较,益生菌组血清 DLA 的含量显著降低($P < 0.01$)。结论:凉血通瘀方与益生菌制剂均可有效提高肠黏膜屏障紧密连接蛋白 Occludin、Claudin-1 和 ZO-1 的表达水平,改善肠黏膜通透性,减少 LPS、DAO 及 DLA 等有害物质入血,且益生菌制剂稍优于凉血通瘀方。但在改善脑出血后的神经功能缺损症状方面,凉血通瘀方疗效更为确切。**关键词:**脑出血;凉血通瘀方;益生菌;肠黏膜屏障;紧密连接蛋白;脂多糖;二胺氧化酶;D-乳酸
中图分类号:R285.5 **文献标识码:**A **DOI:**10.19656/j.cnki.1002-2406.XXXXXX01

引用格式

张子健,李建香,周雨,等.凉血通瘀方对脑出血大鼠肠黏膜屏障修复及神经功能改善作用的研究[J].中医药信息,XXXX,XX(X):1-6.

ZHANG Z J, LI J X, ZHOU Y, et al. Effect of Liangxue Tongyu Formula on repairing intestinal mucosal barrier and improving nerve function in rats with ICH[J]. Information on TCM, XXXX, XX(X):1-6.

Effect of Liangxue Tongyu Formula on Repairing Intestinal Mucosal Barrier and Improving Nerve Function in Rats with ICH

ZHANG Zijian^{1,2}, LI Jianxiang³, ZHOU Yu^{1,2}, GUO Weifeng^{1*}

(1. Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, China; 2. Key Laboratory

基金项目:国家自然科学基金项目(81704017);中央本级重大增减支项目(2060302);江苏省科技项目(BK20191410, BK2021 待定);江苏省南京市卫生健康发展专项资金项目(JQX18006)

作者简介:张子健(1996-),男,硕士研究生在读,主要研究方向:中医内科神经系统疾病研究。

通讯作者:过伟峰(1962-),男,主任中医师,教授,博士研究生导师,主要研究方向:中医内科神经系统疾病研究。

for *Metabolic Diseases in Chinese Medicine*, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, China;

3. *Nanjing Hospital of Traditional Chinese Medicine Affiliated to Nanjing University of Chinese Medicine*, Nanjing 210022, China)

Abstract: Objective: To investigate the effects of Liangxue Tongyu Formula on intestinal mucosal barrier structure, selective permeability and nerve function in rats with intracerebral hemorrhage (ICH). Methods: 30 SD rats were randomly divided into the normal group, the sham operation group, the model group, the Liangxue Tongyu group and the probiotic group. ICH model was made by blood injection/secondary needle withdrawal by the injection pump controller. After the model was successfully established, the Liangxue Tongyu group and the probiotic group were given Liangxue Tongyu Formula and probiotic preparation by gavage respectively. The expression levels of intestinal mucosal barrier proteins of Occludin, Claudin - 1 and ZO - 1, as well as the serum contents of LPS, DAO and DLA were detected by ELISA. Results: In terms of the behavioral scores, they were significantly decreased in the Liangxue Tongyu group compared to those in the model group ($P < 0.01$); but there was no statistical difference between the model group and the probiotic group ($P > 0.05$). Compared to those in the normal group, the protein expressions of Occludin, Claudin - 1 and ZO - 1 were significantly decreased in the model group ($P < 0.01$), and the serum contents of LPS, DAO and DLA were significantly increased in the model group ($P < 0.01$); the protein expressions of Claudin - 1 and ZO - 1 were significantly decreased ($P < 0.05$), and the serum contents of LPS, DAO and DLA were significantly increased in the Liangxue Tongyu group and in the probiotics group ($P < 0.05$). Compared to those in the sham operation group, the protein expressions of Claudin - 1 and ZO - 1 were significantly decreased ($P < 0.01$), and the serum contents of LPS, DAO and DLA were significantly increased in the model group ($P < 0.01$); the protein expression of ZO - 1 was significantly decreased ($P < 0.05$), and the serum contents of LPS, DAO and DLA were significantly increased in the Liangxue Tongyu group ($P < 0.01$); the serum content of LPS was significantly increased in the probiotics group ($P < 0.01$). Compared to those in the model group, the protein expressions of Claudin - 1 and ZO - 1 were significantly increased in the Liangxue Tongyu group ($P < 0.05$), whereas the protein expressions of Occludin, Claudin - 1 and ZO - 1 were significantly increased in the probiotics group ($P < 0.01$). Compared to those in the model group, the serum contents of LPS, DAO and DLA were significantly decreased in the Liangxue Tongyu group and in the probiotics group ($P < 0.01$). Compared to those in the Liangxue Tongyu group, the serum content of DLA was significantly decreased in the probiotics group ($P < 0.01$). Conclusion: Both Liangxue Tongyu Formula and probiotics can effectively increase the expressions of intestinal mucosal barrier tight junction proteins of Occludin, Claudin - 1 and ZO - 1, it can improve intestinal mucosal permeability and reduce harmful substances, such as LPS, DAO and DLA, into the blood, and the probiotics was slightly better than Liangxue Tongyu Formula. However, the effect of Liangxue Tongyu Formula is more effective in the improvement of neurological impairment after ICH.

Key words: Intracerebral hemorrhage; Liangxue Tongyu Formula; Probiotics; Intestinal mucosal barrier; Tight junction protein; LPS; DAO; DLA

长期以来,依靠甘露醇脱水降低颅内压以及外科清除血肿等治疗方法,并不能为脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)患者带来令人满意的预后,其高病死率和高致残率的特点意味着ICH仍是困扰着医患双方的一大难题^[1]。脑实质自发性出血导致的后果并不局限于脑组织的直接损伤,还包括其他器官和组织的继发性损伤。普遍认为,肠道是重大应激后多种并发症

的起始部位,在受到诸如脑事件、器官移植、重大烧伤等严重损伤后,人体内环境剧烈变化,肠道应激性受创,肠黏膜结构完整性缺失,通透性增高,黏膜表面的病原体及有害物质透过肠黏膜屏障进入血液循环,进而诱发菌血症、毒血症,甚至出现全身炎症反应和多器官功能障碍等一系列严重并发症^[2]。肠黏膜屏障(intestinal mucosal barrier, IMB)主要包括机械屏障、生

物屏障、化学屏障以及免疫屏障,其中机械屏障被认为是最重要的部分,主要由肠黏膜上皮细胞和细胞间紧密连接构成,以此阻断外来病原体的定植和入侵,维持肠黏膜的选择通透性^[3]。紧密连接蛋白主要包括闭合蛋白(Occludin)、密封蛋白(Claudin)和闭锁连接蛋白(ZO),多项研究表明,紧密连接蛋白表达的上调会导致肠黏膜通透性降低^[4]。当肠黏膜损伤时,紧密连接蛋白Occludin、Claudin-1和ZO-1表达水平下降,肠黏膜通透性增大,从而导致内毒素脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)易位,二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)、D-乳酸(D-lactic acid, DLA)等有害物质随之进入血循环^[5-6],其中外周血LPS水平升高是IMB功能障碍的关键特征之一^[7],也是肠道通透性增加的间接指标^[8]。

ICH在中医学中属“出血性中风”范畴,急性期多以标实为主,常表现出风阳痰火郁闭之象。国医大师周仲瑛认为,中风急性期之风火相煽、痰瘀闭阻,究其根本,乃瘀热为患,由瘀血同火热搏结所致^[9],由此创制凉血通瘀方,以奏凉血散瘀、通腑泄热之效。经前期观察评价,本方临床疗效确切^[10],但其改善神经功能缺损的作用机制目前仍不明确。本实验通过构建ICH动物模型,研究凉血通瘀方对ICH大鼠IMB的组成结构、选择通透性以及神经功能的影响,以期对ICH的中医药治疗提供思路与方法。

1 材料

1.1 动物

SPF级SD大鼠,雄性,30只,体质量(200±20)g,由江苏省青龙山动物繁育中心提供,许可证号:SCXK(苏)2017-0001,饲养于南京中医药大学实验动物中心,许可证号:SYXK(苏)2018-0049。实验方案由南京中医药大学实验动物伦理委员会审核通过(审批号:201905A041)。

1.2 药物

凉血通瘀方由大黄10g,水牛角30g,生地黄20g,赤芍15g,牡丹皮10g,石菖蒲10g组成,中药材由南京中医药大学附属南京中医院提供并代为煎制。10倍水浸泡2h,水牛角先煎30min后下入其他药材煮沸,过滤后再次加水煮沸,合并2次滤液,浓缩后药液中生药含量为1.15g/mL。双歧杆菌三联活菌胶囊(上海信谊药厂有限公司,批号:S10950032)。

1.3 主要试剂与仪器

异氟烷(深圳市瑞沃德生命科技有限公司,规格:100mL);Occludin、Claudin-1、ZO-1、脂多糖/内毒素LPS、二胺氧化酶DAO、D-乳酸酶联免疫吸附测定

(ELISA)检测试剂盒(上海酶联生物科技有限公司,批号分别为20200119Y6、20200120Z7、20200118S5、20200121F6、20200117W2和20190102C5)。

脑立体定位仪(深圳市瑞沃德生命科技有限公司,型号:68045);小动物麻醉机(深圳市瑞沃德生命科技有限公司,型号:R540);微型正反转调速电磨(上海美耐特实业有限公司,型号:MNT-070400);微量进样器(上海高鸽工贸有限公司,规格:50μL,尖头);实验室微量单推注射泵(保定兰格恒流泵有限公司,型号:TJ-1A);电子精密天平(德国Sartorius公司,型号:CPA1003P、CPA225D、CPA224S);球磨仪(德国Retsch公司,型号:MM400);多功能酶标仪(美国PerkinElmer公司,型号:EnSpire)。

2 方法

2.1 动物分组及处理

SD大鼠适应性饲养1周后,随机分正常组、假手术组、模型组、凉血通瘀组和益生菌组。正常组大鼠继续正常饲养;模型组、凉血通瘀组和益生菌组大鼠采用注射泵控制器注血/二次退针法^[11]制备ICH模型;假手术组大鼠空针留置于右侧尾状核,其余操作同模型组。造模完成后3h,凉血通瘀组和益生菌组分别给予凉血通瘀方药液(剂量为12g/kg)和双歧杆菌三联活菌(剂量为175mg/kg)灌胃,每天1次,连续3d。给药剂量按成人与大鼠体表面积换算所得,给药体积均为1.0mL/100g,其余各组则分别给予等体积生理盐水灌胃。

2.2 ICH大鼠模型制备方法

采用注射泵控制器注血/二次退针法^[11]制备ICH模型。术前禁食;调整定位仪门齿钩,使其低于耳间线2.4mm;大鼠由异氟烷吸入麻醉后固定,备皮、消毒,沿头正中线纵切,定位前囟点,向右旁开3mm,冠状缝前0.2mm下6mm即是右侧尾状核;电磨钻通颅骨;于尾部纵切暴露动脉,微量进样器抽取50μL动脉血后固定于注射泵上,沿钻孔缓慢进针,以5μL/min的速度向颅内注血,完成后留针10min,退针2mm随即再次留置5min,结束后缓慢退出颅腔;骨蜡封闭钻孔,缝合,消毒。按照Longa五级评分法^[12],留取评分为1~3分的动物进行后续实验。

2.3 行为学评分

依据Longa五级评分法,由2名研究人员进行评分后取平均值^[13]。评分标准如下:无神经功能障碍计0分;对侧前爪不能完全伸展计1分;轻摇尾巴,向对侧转圈计2分;向对侧倾倒计3分;不能自发行走,有意识丧失计4分。

2.4 ELISA法检测肠组织中IMB蛋白Occludin、Claudin-1、ZO-1的表达水平

切割肠组织标本,球磨仪匀浆,离心后取上清。按说明书操作,于酶标包被板中稀释待测样本,加入酶标试剂,孵育,洗涤,避光显色,终止反应后于酶标仪450 nm波长测得各孔光密度值,计算样品浓度。

2.5 ELISA法检测血清LPS、DAO、DLA的含量

血液于室温下自然凝固,离心后取上清。按说明书操作,步骤如前。

2.6 统计学方法

数据采用SPSS 25.0软件分析;计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多重比较,满足正态分布及方差齐性的样本采用LSD-单因素ANOVA检验,不满足则采用秩和检验,以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠行为学评分比较

正常组与假手术组大鼠行为学评分均为0,无神经功能障碍。与模型组比较,凉血通瘀组评分显著降低($P < 0.01$),益生菌组评分改变不明显($P = 0.070$);凉血通瘀组与益生菌组评分差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表1 各组大鼠行为学评分比较($\bar{x} \pm s$,分)

组别	n	Longa 五级评分
正常组	5	0
假手术组	5	0
模型组	5	1.90 ± 0.42
凉血通瘀组	5	1.00 ± 0.35 [#]
益生菌组	5	1.40 ± 0.42

注:与模型组比较,[#] $P < 0.01$ 。

3.2 各组大鼠IMB蛋白Occludin、Claudin-1、ZO-1的表达水平比较

与正常组比较,模型组Occludin、Claudin-1、ZO-

1蛋白的表达水平显著降低($P < 0.01$),凉血通瘀组和益生菌组Claudin-1、ZO-1蛋白的表达水平明显降低($P < 0.05$);与假手术组比,模型组Claudin-1、ZO-1蛋白的表达水平显著降低($P < 0.01$),凉血通瘀组ZO-1蛋白的表达水平明显降低($P < 0.05$);与模型组比较,凉血通瘀组Claudin-1、ZO-1蛋白的表达水平明显上升($P < 0.05$),益生菌组Occludin、Claudin-1、ZO-1蛋白的表达水平均显著上升($P < 0.01$)。由于Occludin蛋白表达水平的检测结果方差不齐,经秩和检验后,模型组与假手术组之间差异不显($P = 0.078$),与凉血通瘀组之间差异也不明显($P = 0.078$)。见表2。

表2 各组大鼠IMB蛋白Occludin、Claudin-1、ZO-1的表达水平比较($\bar{x} \pm s$,ng/mL)

组别	n	Occludin	Claudin-1	ZO-1
正常组	5	7.09 ± 0.16	1.09 ± 0.05	148.49 ± 13.59
假手术组	5	6.90 ± 0.31	1.00 ± 0.16	144.19 ± 16.84
模型组	5	5.78 ± 0.66 ^{**}	0.71 ± 0.10 ^{**&&}	92.68 ± 16.29 ^{**&&}
凉血通瘀组	5	6.74 ± 0.84	0.90 ± 0.11 [#]	116.01 ± 18.87 ^{#&}
益生菌组	5	7.18 ± 0.18 ^{##}	0.94 ± 0.10 ^{##}	124.90 ± 13.61 ^{###}

注:与正常组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与假手术组比较,[&] $P < 0.05$,^{&&} $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$ 。

3.3 各组大鼠血清LPS、DAO、DLA的含量比较

与正常组比较,模型组、凉血通瘀组大鼠血清LPS、DAO、DLA的含量均显著上升($P < 0.01$),益生菌组LPS、DLA含量显著上升($P < 0.01$),DAO含量明显上升($P < 0.05$);与假手术组比较,模型组、凉血通瘀组血清LPS、DAO、DLA的含量显著上升($P < 0.01$),益生菌组血清LPS显著上升($P < 0.01$);与模型组比较,凉血通瘀组与益生菌组血清LPS、DAO、DLA的含量显著降低($P < 0.01$);益生菌组血清DLA水平显著低于凉血通瘀组($P < 0.01$)。见表3。

表3 各组大鼠血清LPS、DAO、DLA的含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	LPS(EU/L)	DAO(ng/mL)	DLA(μmol/L)
正常组	5	303.59 ± 34.24	11.39 ± 1.35	22.87 ± 2.75
假手术组	5	307.14 ± 32.80	12.47 ± 0.94	25.24 ± 2.41
模型组	5	630.54 ± 66.33 ^{**&&}	21.20 ± 1.17 ^{**&&}	40.56 ± 2.36 ^{**&&}
凉血通瘀组	5	406.91 ± 24.73 ^{**&&##}	14.97 ± 0.32 ^{**&&##}	33.01 ± 2.08 ^{**&&##}
益生菌组	5	437.00 ± 46.56 ^{**&&##}	13.43 ± 1.81 ^{###}	28.05 ± 2.49 ^{**###}

注:与正常组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与假手术组比较,^{&&} $P < 0.01$;与模型组比较,^{##} $P < 0.01$;与凉血通瘀组比较,^{##} $P < 0.01$ 。

4 讨论

ICH是临床常见的脑血管病亚型,虽然其发病率较缺血性脑卒中低,但通常骤然发病且迅速进展,急性期致死率高达30%~40%,是急性脑血管意外中病死

率最高的一种^[14]。目前ICH的治疗方法较为单一,治疗费用高昂但临床疗效却不尽如人意,肢体偏瘫等后遗症亦是向患者家庭及社会施加的重担,而中医药治疗简便验廉的特点不应被忽视。“脑肠同病”是中风阳

明腑实证的重要特征,中风后便秘的发生率达29%~76%,在出血性中风患者中尤为常见^[15]。运用通腑泄热法治疗中风肇始于金元,以三化汤为代表,后世应用广泛。周仲瑛教授集众家所长,针对出血性中风急性期瘀血与火热搏结的特点创制凉血通瘀方,方以大黄、水牛角为君,大黄通腑泻热逐瘀,“上病下取,以下为清”,加之水牛角清热凉血,两药相合重在凉血通瘀;生地黄为臣,以助君药凉血清热;佐以赤芍、牡丹皮,加强凉血活血散瘀之功;石菖蒲为使,开窍豁痰,引药上行。通下瘀热,顺降气血,给邪以出路,是本方的功效特点^[16]。

肠黏膜结构的完整性是IMB防御功能的保障,CHENG等^[17]的研究表明,ICH的发生会造成肠黏膜组织结构改变、紧密连接蛋白表达水平降低、IMB功能障碍、通透性增高,以致血清肠源性内毒素水平上升。本实验结果表明,凉血通瘀方与益生菌制剂均可有效提高IMB紧密连接蛋白Occludin、Claudin-1和ZO-1的表达水平(Occludin蛋白表达检测样本间方差不齐,组内标准差较大, $P=0.078$,考虑模型组与凉血通瘀组间差异不显是由操作误差所致,结合相关文献^[2,17],笔者认为该差异应具有显著性),改善肠黏膜通透性,减少LPS、DAO及DLA等有害物质入血,从而达到减轻ICH并发症的目的,且益生菌制剂在恢复IMB功能的效果上甚至强于凉血通瘀方。但行为学评分结果提示,凉血通瘀方可以明显改善ICH后神经功能缺损症状,益生菌制剂对此疗效不显($P=0.070$),而两组间却并不存在明显差异($P=0.138$)。由于实验中各组动物的数量较少,个体差异客观存在,且行为学评分具有一定的主观性,故益生菌组大鼠的行为学评分与模型组和凉血通瘀组之间是否存在显著差异,笔者查阅相关文献后做出如下讨论。

血脑屏障(Blood brain barrier, BBB)的破坏是ICH发生后的一个普遍而重要的病理生理变化,可引起血管源性脑水肿,造成水肿区域大量神经元的死亡^[18]。有研究报道,BBB的破坏被认为是由LPS所诱导的^[19],LPS可与广泛分布在小胶质细胞膜上的Toll样受体-4(TLR4)结合,使小胶质细胞通过TLR4/MyD88途径激活,释放炎症因子,进而导致脑损伤^[20]。NING等^[21]研究表明,在LPS处理后8h的小鼠脑组织中,促炎细胞因子TNF- α 、TNF- β 和IL-1细胞因子水平明显升高。根据LUKIW^[22]报道,胃肠道和神经生物屏障的通透性降低以及LPS通过受损的胃肠道和BBB转运,在中枢神经系统炎症中发挥着重要作用。据ZHAO等^[23]研究,在AD动物模型的大脑新皮质和海马提取物中

发现了大量LPS存在,而这些区域正是疾病过程中发生严重神经炎症的靶区。上述证据表明,ICH后BBB功能障碍,通透性增加,LPS在加剧屏障结构破坏的同时还能够穿透BBB,从而引发或加重脑损伤后的神经炎症反应,对脑组织造成二次打击。根据本课题组前期实验结果^[24],凉血通瘀方能抑制TLR4和NF- κ B p65蛋白的表达,减轻中枢神经系统炎症反应。笔者根据上述证据进一步推测,凉血通瘀方能够明显改善ICH大鼠神经功能的原因主要在于其不仅能修复IMB紧密连接结构,阻挡LPS、DAO、DLA等有害物质进入血液,还可以改善BBB受损所致的LPS的渗透,抑制炎症反应对脑组织的进一步损害;与之比较,益生菌制剂的作用靶点主要在肠道,可以更为有效地恢复IMB功能、抑制LPS等有害物质易位入血,间接发挥神经保护作用。因此,笔者认为,凉血通瘀方与益生菌制剂均可以改善ICH后的神经功能缺损症状,且凉血通瘀方疗效更为显著,即益生菌组大鼠的行为学评分与模型组和凉血通瘀组之间均存在差异,而这有待于进一步实验研究给予验证。

参考文献:

- [1] WU J, CHEN J, GUO H, et al. Effects of high-pressure oxygen therapy on brain tissue water content and AQP4 expression in rabbits with cerebral hemorrhage[J]. Cell Biochem Biophys, 2014, 70(3): 1579-1584.
- [2] CHENG Y J, ZAN J Y, SONG Y Y, et al. Evaluation of intestinal injury, inflammatory response and oxidative stress following intracerebral hemorrhage in mice[J]. Int J Mol Med, 2018, 42(4): 2120-2128.
- [3] 王丽姣, 周国华. 肠黏膜机械屏障的研究进展[J]. 医学综述, 2011, 17(24): 3702-3704.
- [4] COSTANTINI T W, DEREJ J, LOOMIS W, et al. Phosphodiesterase inhibition attenuates alterations to the tight junction proteins occludin and ZO-1 in immunostimulated Caco-2 intestinal monolayers[J]. Life Sci, 2009, 84(1/2): 18-22.
- [5] BELTINGER J, MCKAIG B C, MAKH S, et al. Human colonic sub-epithelial myofibroblasts modulate transepithelial resistance and secretory response[J]. Am J Physiol, 1999, 277(2): C271-C279.
- [6] ZHANG Q, LI Q, WANG C, et al. Enteropathogenic Escherichia coli changes distribution of occludin and ZO-1 in tight junction membrane microdomains in vivo[J]. Microb Pathog, 2010, 48(1): 28-34.
- [7] JIN W, WANG H D, HU Z G, et al. Transcription factor Nrf2 plays a pivotal role in protection against traumatic brain injury-induced acute intestinal mucosal injury in mice[J]. J Surg Res, 2009, 157(2): 251-260.
- [8] LIPPAI D, BALA S, CATALANO D, et al. Micro-RNA-155 deficiency prevents alcohol-induced serum endotoxin increase and small bowel inflammation in mice[J]. Alcoholism - Clinical and Experimental Research, 2014, 38: 2217-2224.

- [9] 周仲璞. 凉血通瘀法治疗出血/缺血两类中风的浅识[J]. 南京中医药大学学报, 2011, 27(2): 101 - 104, 123.
- [10] 过伟峰, 张兰坤, 吴勉华, 等. 凉血通瘀中药治疗脑出血急性期 168 例疗效观察[J]. 北京中医药大学学报, 2012, 35(9): 603 - 606, 619.
- [11] 李建香, 袁梦果, 刘云芳, 等. 注射泵控制器注血/二次退针法改良大鼠脑出血模型[J]. 中华实验外科杂志, 2019, 36(6): 1015.
- [12] XIANG J, LAN R, TANG Y P, et al. Apocynum venetum leaf extract attenuates disruption of the blood - brain barrier and upregulation of matrix metalloproteinase - 9/ - 2 in a rat model of cerebral ischemia - reperfusion injury[J]. Neurochem Res, 2012, 37 (8) : 1820 - 1828.
- [13] 李建香, 赵杨, 过伟峰, 等. 凉血通瘀方对脑出血模型大鼠脑组织、肠组织、血清胆囊收缩素 8 的影响[J]. 中医杂志, 2019, 60(8): 684 - 688.
- [14] 孟庆莉, 孙路路. 基于临床路径及治疗指南的脑出血住院患者用药分析和评价[J]. 中国医院药学杂志, 2018, 38(6): 665 - 669.
- [15] LI J X, YUAN M G, LIU Y F, et al. Incidence of constipation in stroke patients A systematic review and meta - analysis [J]. Medicine, 2017, 96(25): e7225.
- [16] 顾恒. 凉血通瘀方调节肠道微生物治疗脑出血的神经保护机制[D]. 南京: 南京中医药大学, 2019: 41 - 46.
- [17] CHENG Y J, WEI Y X, YANG W L, et al. Ghrelin attenuates intestinal barrier dysfunction following intracerebral hemorrhage in mice[J]. Int J Mol Sci, 2016, 17(12): 2032.
- [18] 李兵. 脑出血后血脑屏障紧密连接蛋白变化的初步研究[D]. 广州: 南方医科大学, 2012: 49 - 54.
- [19] LI H, WANG P, HUANG F, et al. Astragaloside IV protects blood - brain barrier integrity from LPS - induced disruption via activating Nrf2 antioxidant signaling pathway in mice[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2018, 340: 58 - 66.
- [20] ZHOU X J, SUN X B, GONG X X, et al. Astragaloside IV from Astragalus membranaceus ameliorates renal interstitial fibrosis by inhibiting inflammation via TLR4/NF - kappa B in vivo and in vitro[J]. International Immunopharmacology, 2017, 42: 18 - 24.
- [21] NING Q Q, LIU Z G, WANG X H, et al. Neurodegenerative changes and neuroapoptosis induced by systemic lipopolysaccharide administration are reversed by dexmedetomidine treatment in mice[J]. Neurological Research, 2017, 39: 357 - 366.
- [22] LUKIW W J. Bacteroides fragilis lipopolysaccharide and inflammatory signaling in Alzheimer's disease[J]. Frontiers in Microbiology, 2016, 7: 1544.
- [23] ZHAO Y H, JABER V, LUKIW W J. Secretory products of the human GI tract microbiome and their potential impact on Alzheimer's disease (AD): detection of lipopolysaccharide (LPS) in AD hippocampus[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2017, 7: 318.
- [24] 王君君, 李建香, 张子健, 等. 凉血通瘀方对脑出血大鼠脑组织 TLR4 和 NF - kappa B p65 的影响[J]. 中医药信息, 2021, 38(6): 21 - 24.

(收稿日期: 2021 - 08 - 21)