

· 综 述 ·

基于 AMPK 及下游靶点的黄连素防治缺血性脑卒中的研究进展

秦思茹^a, 唐慧玲^a, 李威^a, 李姗姗^a, 黄锦^a, 郭义^{a,b}, 徐枝芳^{a,c*} (天津中医药大学, a.实验针灸学研究中心, b.中医学院, c.针灸推拿学院, 天津 301617)

摘要: 从近些年的研究可知, 能量代谢障碍是造成缺血性脑损伤重要的始动因素, 继而出现氧化应激、神经炎症、谷氨酸受体的激活、钙超载、凋亡等病理事件的发生。实验性及临床研究发现黄连素可以治疗缺血性脑卒中, 其可能机制在于激活腺苷酸活化蛋白激酶及其下游靶点, 包括核因子相关因子-2, 核因子- κ B, 磷酸肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B 和雷帕霉素靶蛋白, 从而改善氧化应激、神经炎症、谷氨酸兴奋性毒性、凋亡, 促进自噬和血管生成等, 为黄连素防治缺血性脑卒中的临床应用提供有力依据。

关键词: 缺血性脑卒中; 黄连素; 腺苷酸活化蛋白激酶; 氧化应激; 神经炎症; 谷氨酸兴奋性毒性; 凋亡

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2021)04-0489-06

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2021.04.020

引用本文: 秦思茹, 唐慧玲, 李威, 等. 基于 AMPK 及下游靶点的黄连素防治缺血性脑卒中的研究进展[J]. 中国现代应用药学, 2021, 38(4): 489-494.

Research Progress of the Prevention and Treatment of Ischemic Stroke by Berberine Based on AMPK and Its Downstream Targets

QIN Siru^a, TANG Huiling^a, LI Wei^a, LI Shanshan^a, HUANG Jin^a, GUO Yi^{a,b}, XU Zhifang^{a,c*} (Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, a.Acupuncture Research Center, b.School of Traditional Chinese Medicine, c.School of Acupuncture & Moxibustion and Tuina, Tianjin 301617, China)

ABSTRACT: Recent studies showed that energy metabolism disorder was an important initiating factor of ischemic brain injury, which leads to oxidative stress, neuroinflammation, the activation of glutamate receptor, calcium overload, and apoptosis and other pathological events. Experimental and clinical studies have found that berberine can be used in the treatment of ischemic stroke, whose possible mechanism is to activate AMP-activated protein kinase and its downstream targets, including nuclear factor E2-related factor 2, nuclear factor- κ B, phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B and mammalian target of rapamycin, so as to improve oxidative stress, neuroinflammation, glutamate excitotoxicity, apoptosis, promote autophagy and angiogenesis, providing a strong basis for the clinical application of berberine in the prevention and treatment of ischemic stroke.

KEYWORDS: ischemic stroke; berberine; AMP-activated protein kinase; oxidative stress; neuroinflammation; glutamate excitotoxicity; apoptosis

缺血性脑卒中是脑卒中的一种常见类型, 其病理为血管阻塞导致血液不能流入大脑而引起脑组织损伤, 具有高发病率、高致残率和高死亡率的特点。传统西医疗法可有效降低患者死亡率, 但是容易引起不良反应以及相关并发症。近些年从传统中药中所提取的一些有效成分被研究者证明可以用来治疗缺血性脑卒中, 且不良反应小、价格便宜。缺血-再灌注损伤是缺血性脑卒中的共同特征, 即于缺血一段时间后恢复血液供应, 再灌注可以通过溶栓药物如组织纤溶酶原激活剂进

行溶栓和机械去除血栓来实现, 也有约 50%~70% 缺血性脑卒中患者会发生自发性再灌注^[1]。从近些年的研究可知, 能量代谢障碍是造成缺血性脑损伤重要的始动因素, 缺血性脑卒中发生后, 受损的脑组织可分为 2 个部分——缺血中心区和缺血半暗带, 缺血中心区的脑细胞由于血流供应中断和能量耗竭发生不可逆的坏死。对于缺血半暗带而言, 葡萄糖/能量代谢障碍所引发的瀑布级联反应以及病理变化才是导致脑损伤的主要原因。脑缺血发生后一方面引起神经轴突末端接收到缺

基金项目: 国家自然科学基金项目(81704146)

作者简介: 秦思茹, 女, 硕士生 Tel: 16622912152 E-mail: siruacu@163.com *通信作者: 徐枝芳, 女, 副研究员, 博导 Tel: (022)59596290 E-mail: xuzhifangmsn@hotmail.com

中国现代应用药学 2021 年 2 月第 38 卷第 4 期

Chin J Mod Appl Pharm, 2021 February, Vol.38 No.4

· 489 ·

血信号后释放大量的兴奋性神经递质,与各自的受体作用引起兴奋性毒性。另一方面引起的能量代谢障碍会诱导线粒体的损伤和氧化自由基的发生,同时导致离子泵功能的障碍,大量 Na^+ 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 内流,离子稳态遭到破坏,诱导了蛋白酶,磷脂酶以及其他炎症因子的释放,导致细胞骨架的破坏和 DNA 的断裂。兴奋性毒性、氧化应激、神经炎症以及磷脂酶等的共同作用则导致了神经细胞死亡或凋亡^[2]。

腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)是一种异三聚体复合物,属丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,由 α 、 β 和 γ 亚基组成。 α 亚基包含一个在 Thr-172 磷酸化时激活的 N-末端激酶结构域,通常用于检测 AMPK 的激活。 β 和 γ 亚基在维持三聚体稳定性和作用底物特异性方面发挥重要作用, γ 亚单位包含 4 个串联的胱硫醚- β -合酶(cystathionine- β -synthase, CBS)序列重复序列,为 AMPK 创建了 2 个结合位点。当 AMP 与这 2 个位点结合时, γ 亚基的构象发生变化,使 α 亚基上的催化结构域暴露,从而使 Thr-172 磷酸化,即 AMPK 活化。任何导致 AMP/ATP 比值升高的因素,如缺血性脑卒中发生的重要事件,即缺血、缺氧,以及一些药物,即黄连素和二甲双胍均参与 AMPK 的激活。此外,AMPK 可以被上游激酶直接激活,包括丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶 11(serine/threonine protein kinase 11, STK11,也称为 LKB1)和钙离子/钙调素依赖性蛋白激酶(Ca^{2+} /calmodulin-dependent protein kinase, CaMKK)。活化的 AMPK 通过调节与代谢有关酶的基因转录及功能状态,增加 ATP 的生成途径,关闭 ATP 消耗性途径,从而使产能增多耗能减少,故 AMPK 被称为“细胞能量调控器”^[3]。

黄连素是从黄柏、黄芩、黄连等植物中提取而来的生物碱,又名小檗碱,临床广泛应用于痢疾杆菌等引起的肠道感染^[4],在调节糖脂代谢的临床疗效上亦得到了验证和认可,并因其不良反应发生率低,无细胞毒性,再加上可穿透血脑屏障、可被神经元摄取的特点成为神经保护的有效药物^[5],其可能机制在于黄连素通过抑制线粒体呼吸链复合体 I,从而激活 AMPK^[6]。当 AMPK 被激活后,通过调节其下游靶点,包括核因子相关因子-2(nuclear factor E2-related factor 2, Nrf-2),核因子- κB

(nuclear factor- κB , NF- κB),磷酸肌醇 3-激酶/蛋白激酶 B(phosphoinositide 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)和雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路^[7-8],从而维持细胞能量稳态,改善氧化应激、神经炎症、谷氨酸兴奋性毒性、凋亡,促进自噬和血管生成等。

1 AMPK 及其下游靶点在黄连素防治缺血性脑卒中的作用

1.1 通过 AMPK 调节钙稳态,减少兴奋性损伤

缺血会在几分钟内耗尽 ATP,从而使脑细胞的能量储备降低,直接导致膜电化学梯度和去极化的干扰,触发谷氨酸的过度释放^[2]。大量谷氨酸与 N-甲基-D-天冬氨酸(N-methyl-D-aspartic acid, NMDA)受体结合,产生兴奋性毒性,从而使 Ca^{2+} 通道反复开放,导致大量 Ca^{2+} 内流、超载及细胞内钙($[\text{Ca}^{2+}]_i$)稳态的破坏,随后线粒体解偶联,激活线粒体固有凋亡途径或坏死通路^[9]。

AMPK 可激活肌浆/内质网 Ca^{2+} ATPase (SERCA)泵,增强 Ca^{2+} 的隔离,降低 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ^[10]。作为中枢神经系统的髓鞘胶质细胞,少突胶质细胞极易受到缺血诱导的兴奋性损伤,Nadjafi 等^[11]发现黄连素在氧-葡萄糖剥夺/再灌注过程中显著减轻了由缺血引起的细胞内 Ca^{2+} 升高,并增加了未成熟大鼠少突胶质细胞 OLN-93 细胞系的活力,但使用谷氨酸受体拮抗剂则阻断了这些效应,提示黄连素可以保护少突胶质细胞免受细胞内 Ca^{2+} 超载介导的缺血性兴奋性损伤,其作用推测是通过 AMPK 起到降低 Ca^{2+} 浓度作用,但需进一步实验验证。

1.2 通过 Nrf2 通路抗氧化应激损伤

急性缺血性脑卒中发生后,自由基的大量生成和清除障碍导致其在体内发生堆积,使得细胞膜上不饱和脂肪酸发生脂质过氧化反应,造成生物膜结构乃至功能的破坏,导致过度的自由基破坏血脑屏障,造成脑水肿,加重神经损伤。丙二醛(malondialdehyde, MDA)作为脂质过氧化反应产物之一,毒性作用最大^[12],而抗氧化防御的主要成分是谷胱甘肽(glutathione, GSH)过氧化物酶、GSH 还原酶、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、GSH 和硫氧还蛋白^[13]。

不少临床研究将黄连素应用急性缺血性脑卒中患者,即治疗组是在常规对照组治疗基础上加

用黄连素(口服, 每次 0.3~0.5 g, 每日 3 次, 治疗周期为 14 d), 结果为治疗后较治疗前黄连素组、对照组血清 MDA 及 NIHSS 评分水平均有下降, 但黄连素组 MDA 及 NIHSS 评分均低于对照组; 而患者血清中 CAT、SOD 及 GSH-Px 水平较治疗前升高, 且治疗组高于对照组, 这些结果说明黄连素能明显改善急性缺血性脑卒中患者的神经功能缺损程度, 其作用机制可能与减轻机体的氧化应激损伤有关^[14-16]。

Nrf2 是一种抗氧化转录因子, 介导 SOD、GSH、血红素氧合酶-1、NADPH 氧化还原酶-1 的表达。Nrf2 通路在黄连素减轻氧化应激中起着重要作用, 黄连素可明显促进抗氧化相关蛋白 Nrf2 表达。首先, 黄连素可通过激活多种细胞信号通路, 包括 AMPK 诱导 Nrf2 核易位。第二, 核易位后, Nrf2 促进 SOD、血红素氧合酶-1 和 GSH 等抗氧化酶的转录和表达, 增加其在细胞中的含量, 减少活性氧生成及氧化应激。已经证实若阻断巨噬细胞和神经细胞中 Nrf2 通路, 黄连素的抗氧化活性就会减弱^[7,17]。

1.3 通过 NF- κ B 通路抑制炎性介质表达, 保护神经元

当血管发生阻塞时, 缺血局部会立即启动炎症反应。炎性细胞可以产生大量炎性细胞因子、自由基等, 损伤神经元, 成为缺血性脑卒中的病理机制之一^[2]。

Maleki 等^[18]在 Wistar σ 大鼠局灶性脑缺血 1 h 后给予 40 mg·kg⁻¹ 黄连素治疗, 结果显示黄连素可减少梗死体积, 减轻脑水肿, 显著恢复运动功能, 其机制可能为黄连素通过下调促炎细胞因子和上调抗炎细胞因子, 实现保护运动皮层神经元。Zhu 等^[19]进一步探讨黄连素对短暂性大脑中动脉闭塞小鼠神经保护作用的潜在机制, 证明黄连素预处理抑制了高迁移率族 Box1(high-mobility group box 1 protein, HMGB1)的核易位、Toll 样受体 4(Toll like receptor 4, TLR4)的表达以及缺血皮质组织中 NF- κ B 的胞质-核易位, 提示黄连素可以抑制 HMGB1/TLR4/NF- κ B 信号通路以抗炎, 从而保护大脑免受脑缺血-再灌注损伤, 且高剂量的黄连素比低剂量的黄连素具有更显著的神经保护作用。

当各种因子刺激细胞时, 级联信号迅速激活 IkB 激酶(IkB kinase, IKK)复合物, 即 IKK α 、IKK β 、IKK γ /NF- κ B 必须调节蛋白(NF- κ B essential modulator,

NEMO)。活化的 IKK 使 IkB N 端的 32, 36 位丝氨酸磷酸化, 磷酸化的 IkB α 第 21, 22 位赖氨酸发生泛素化降解使 NF- κ B 的核定位信号区暴露, 促进 NF- κ B 磷酸化、核转录, 进入细胞核, 介导特异基因的转录表达及细胞因子释放。研究表明非洲绿猴肾细胞及内皮细胞中 AMPK α 2 的持续性激活导致 IKK β 的过磷酸化, 进而抑制 IkB α 的磷酸化降解及 NF- κ B 核转位, 提示 AMPK 主要通过调节 IKK 的活性调节 NF- κ B 信号通路, 又有研究证实黄连素可以抑制 IKK β 从而保持 IkB α 的稳定^[7,20], 推测黄连素通过激活 AMPK 间接抑制 NF- κ B 信号, 从而抑制 TNF- α 、IL-6、iNOS 和 COX2 等炎症因子的表达, 减轻神经炎症。

1.4 通过 PI3K/Akt 通路调节细胞凋亡

缺血性脑卒中后的神经元死亡方式包括凋亡和坏死, 半暗带内的神经元死亡以凋亡为主, 缺血核心区则以坏死为主。脑缺血发生后, 在致死区和正常区之间存在半暗带, 这个区域可保持一定量的血流以维持新陈代谢, 而神经保护的最终目的即是挽救半暗带, 但是如不及时治疗, 某些以细胞凋亡为主的继发性损害过程会使该区域迅速发展成梗死灶^[21]。Caspase、Bcl-2 蛋白家族(Bad、Bcl-x1 和 Bcl-2 等)在细胞凋亡的信号转导中起着重要作用。Bad 蛋白含有 204 个氨基酸, 其中第 112, 136 和 155 位丝氨酸为磷酸化位点, 这些位点经磷酸化后将通过阻止 Bad 蛋白与凋亡抑制相关蛋白 Bcl-2 和 Bcl-x1 的结合或调节其亚细胞位点定位, 从而使 Bad 蛋白促进凋亡的作用丧失^[22]。在实验性脑缺血小鼠模型中, 脑匀浆 Caspase 活性在再灌注后 0~3 h 开始增加, 30~60 min 后达到峰值^[23]。

Hu 等^[24]证明黄连素对缺血的抗凋亡作用是通过增加 Akt 的磷酸化来介导的, 从而导致 Bad 的磷酸化增强和促凋亡蛋白酶 Caspase-3 的分裂减少, 同时发现黄连素增强了 PI3Kp55 γ 启动子的活性。Amato 等^[8]的实验结果进一步表明, AMPK 激活后 Akt 磷酸化明显增加, 此效应被 PI3K 抑制剂阻断, 而对 AMPK 活性无明显影响, 表明 PI3K 在 AMPK 下游具有调节 Akt 活性的作用。

据报道, 脑源性神经营养因子 BDNF 与 TrkB 结合可激活下游的 PI3K/Akt 通路。Yang 等^[25]将黄连素应用于大鼠中动脉闭塞(MCAO)模型抗脑缺血损伤, 结果表明 BDNF、TrkB 和 p-Akt 的表达增加, 推测黄连素可能通过 BDNF-TrkB-PI3K/Akt

信号通路减少纹状体细胞凋亡而发挥神经保护作用。总之, PI3K/AKT 的激活可抑制缺血相关凋亡细胞的增加, 是黄连素治疗脑缺血的潜在靶点, 可用于治疗缺血性脑卒中。

1.5 通过 mTOR 通路促进自噬

脑缺血再灌注损伤过程中发生的一系列事件, 如氧化应激、钙超载、兴奋性毒性和炎症反应不同程度地导致脑组织中细胞受损及降解异物的堆积, 进而可能诱导自噬的发生以实现细胞本身的代谢需要和某些细胞器的更新。最新研究显示, 缺血脑卒中所激发的“适度自噬”对细胞起保护作用^[26], 这可能是通过清除受损的线粒体、清除异常聚集的蛋白质和补偿能量剥夺来实现的。因此, 自噬是抵抗缺血等营养缺乏的关键特征之一^[27]。LC3 和 p62 是 2 个关键的自噬蛋白, 其中细胞质型 LC3(LC3-I)会转化为自噬体膜 LC3(LC3-II), 从而导致 LC3-II 相对于 LC3-I 增加^[28]。

研究表明, 自噬起始激酶 ULK1 是通过 AMPK 和 mTOR 的反磷酸化调节的, mTORC1 和 AMPK 的 ULK1 磷酸化使细胞能够对多种刺激做出适当的反应。当营养丰富时, 活性 mTORC1 磷酸化 ULK1, 破坏 ULK1-AMPK 相互作用, 从而使 ULK1 保持非活性状态。一旦细胞能量耗尽, AMPK 被激活, 通过 TSC2 和 raptor 的磷酸化抑制 mTORC1, 从而减少 ULK1 上的 S757 磷酸化。S757 未磷酸化的 ULK1 能够与 AMPK 结合并被 AMPK 激活^[29]。

在脑缺血大鼠模型中, Zhang 等^[30]观察到黄连素升高了 LC3-II/LC3-I、beclin-1、ATG-3、ATG-5、ATG-7 和 ATG-12 水平, 降低了 p62 的表达并抑制了 mTOR 的激活, 再灌注后 24 h AKT 及其相关底物 GSK-3 β 磷酸化上调, 其结论为黄连素通过增加 LC3-II/LC3-I、beclin-1 和 ATG 表达, 降低 p62 表达, 激活 Akt/GSK3 β 信号通路, 抑制 mTOR 的磷酸化以促进自噬。

1.6 通过 AMPK 促进血管生成

血管生成是缺血性脑卒中的一种重要的补偿途径, 是通过再生血管从而有效地满足局部组织的生物学功能^[31]。有文献强调缺血边缘较高的微血管密度与脑卒中患者较好的长期预后有关^[32]。因此, 促血管生成可能是缺血性脑卒中后长期恢复的有效治疗策略之一。

临床及实验研究结果提示 M2 小胶质细胞/巨

噬细胞参与血管生成、发展和转移^[33-34]。Zhu 等^[35]的结果表明黄连素能增加 M2 中抗炎介质的分泌, 且用黄连素治疗后 P-AMPK 水平明显升高, 遂推测黄连素可能通过 AMPK 信号途径调节小胶质细胞向 M2 型的极化, 从而促进缺血性脑卒中的血管生成。

2 小结与展望

综上所述, 黄连素对缺血性脑卒中的防治作用机制是多方面、多层次的。黄连素作为安全有效的天然药物, 通过 AMPK 及其下游靶点为主的相互交叉重叠途径充分发挥抗氧化、清除自由基、抑制炎症、减轻兴奋性毒性损伤、调解钙稳态、调节凋亡、促进自噬和血管生成的作用从而保护神经元。另外, 近年来关于黄连素降血糖、降血脂等药理作用的报道亦越来越多, 而高血糖、高血脂这些危险因素将导致缺血性脑卒中的直接原因—颅内动脉粥样硬化的发生及进展, 最近研究表明肠道微生物失调也可以影响其进展速度。大面积的脑损伤通过应激性肠麻痹介导从而使肠道微生物群失调, 进而影响以 T 调节细胞(Treg)/T 辅助细胞(Th17)比值变化为主的 T 细胞稳态改变, 对脑卒中预后产生影响^[36]。Cui 等^[37]以葡聚糖硫酸钠(dextran sulfate sodium salt, DSS)诱导的溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)小鼠为研究对象, 结果表明黄连素能改善 DSS 诱导 UC 模型的 Treg/Th17 平衡, 却不影响肠道菌群耗竭后 Treg/Th17 的平衡, 这说明黄连素可以通过改变肠道微生物群来调节 Treg/Th17 平衡, 从而改善脑卒中预后。这些作用均表明黄连素在治疗缺血性脑卒中方面有着较好的前景, 为神经系统疾病药物的开发提供新的思路和策略。

治疗窗对于缺血性脑卒中的治疗尤为重要, 给药的时机与神经保护作用高度相关。研究证明使用黄连素、黄芩苷和栀子苷组成的新配方治疗啮齿动物短暂性大脑中动脉闭塞, 其有效治疗时间窗为再灌注后 5 h, 超过这个时间窗的治疗是无效的, 这对于确定黄连素在发生卒中后的给药时间具有重要的参考意义^[38]。将黄连素溶于 0.5%羧甲基纤维素钠中, 对 MCAO 大鼠灌胃给药, 然后用 HPLC-QTOF-MS/MS 分别于给药后 15 min 和再灌注后 1, 3, 7 d 测定血、脑组织中的黄连素含量。结果发现灌胃后血内药峰时间($T_{\max}$)为用药后 15 min, 浓度为 18 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$; 脑内 $T_{\max}$ 为用药后 24 h,

浓度为 $4.4 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$, 血内和脑内浓度均于给药后 72 h 降为 0。从动物实验可知, 黄连素在脑内作用的时间为给药后 15 min 到 72 h, 这对指导临床给药频率具有重要的参考意义^[30]。

黄连素作为一种天然的提取物, 具有广泛的药理作用, 是治疗肠道感染及腹泻的经典药物。近年来对治疗肿瘤、糖尿病、肾病和心脑血管病等多种疾病具有一定的疗效。口服的黄连素到达胃肠道被吸收后在全身脏器重新分布并且发生相应的代谢作用, 许多黄连素的代谢中间产物都被证实具有抗氧化应激、抗炎等作用, 同时黄连素价格便宜、不良反应小等优点也显示了更广泛的应用前景^[39]。尽管如此, 仍有许多问题亟待解决, 如黄连素口服利用率较低、在缺血性脑卒中发病后什么时间给药、怎样的频率进行给药、最适给药剂量或浓度是多少、给药持续时间等问题仍没有明确的答案, 相信未来有更多高质量的临床和实验研究可以对以上问题及黄连素代谢过程、作用机制进行全面研究和深入挖掘, 从而为黄连素作为神经保护用药提供理论依据和指导, 为缺血性脑卒中危险人群的治疗及预后提供更多的可能性。

REFERENCES

- [1] MA J Y, CHU S L. Mechanism of hydroxysafflor yellow A meliorating ischemia stroke: A literature review[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2019, 36(8): 1012-1017.
- [2] PUNDIK S, XU K, SUNDARARAJAN S. Reperfusion brain injury: Focus on cellular bioenergetics[J]. *Neurology*, 2012, 79(13 Suppl 1): S44-S51.
- [3] LI Y Y, ZHANG Y. Research progress on the pro-apoptotic mechanisms of AMP-activated protein kinase in islet beta cells[J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2018, 35(1): 143-147.
- [4] YIN J, ZHANG H J, YE J P. Traditional Chinese medicine in treatment of metabolic syndrome[J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2008, 8(2): 99-111.
- [5] 周希乔. 黄连素对成年鼠神经再生的影响及其对缺血性脑卒中神经保护的作用机制[D]. 南京: 南京医科大学, 2008.
- [6] TURNER N, LI J Y, GOSBY A, et al. Berberine and its more biologically available derivative, dihydroberberine, inhibit mitochondrial respiratory complex I: A mechanism for the action of berberine to activate AMP-activated protein kinase and improve insulin action[J]. *Diabetes*, 2008, 57(5): 1414-1418.
- [7] XU Z F, FENG W, SHEN Q, et al. Rhizoma coptidis and berberine as a natural drug to combat aging and aging-related diseases via anti-oxidation and AMPK activation[J]. *Aging Dis*, 2017, 8(6): 760-777.
- [8] AMATO S, LIU X X, ZHENG B, et al. AMP-activated protein kinase regulates neuronal polarization by interfering with PI 3-kinase localization[J]. *Science*, 2011, 332(6026): 247-251.
- [9] RIVERO-SEGURA N A, FLORES-SOTO E, GARCÍA DE LA CADENA S, et al. Prolactin-induced neuroprotection against glutamate excitotoxicity is mediated by the reduction of $[\text{Ca}^{2+}]_i$ overload and NF- κ B activation[J]. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0176910. Doi: 10.1371/journal.pone.0176910.
- [10] SCHNEIDER H, SCHUBERT K M, BLODOW S, et al. AMPK dilates resistance arteries via activation of SERCA and BKCa channels in smooth muscle[J]. *Hypertens Dallas Tex*, 2015, 66(1): 108-116.
- [11] NADJAFI S, EBRAHIMI S A, RAHBAR-ROSHANDEL N. Protective effects of berberine on oxygen-glucose deprivation/reperfusion on oligodendrocyte cell line (OLN-93)[J]. *Int J Prev Med*, 2014, 5(9): 1153-1160.
- [12] CHAI M J, WANG P. Effect of berberine hydrochloride on neurological function and serum malondialdehyde in patients with acute ischemic stroke[J]. *Clin Focus*(临床荟萃), 2016, 31(10): 1092-1095.
- [13] HE L, HE T, FARRAR S, et al. Antioxidants maintain cellular redox homeostasis by elimination of reactive oxygen species[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44(2): 532-553.
- [14] CHAI M J, LI X, YANG F, et al. Effects of berberine on oxidative stress and neurological function in patients with acute ischemic stroke[J]. *Acta Univ Tradit Med Sin Pharmacol Shanghai*(上海中医药大学学报), 2017, 31(3): 26-29.
- [15] 刘晓琳. 盐酸小檗碱对急性脑梗死患者血清超氧化物歧化酶及丙二醛水平的影响[D]. 大连: 大连医科大学, 2011.
- [16] 柴美静, 王佩, 李迎, 等. 小檗碱对急性脑梗死患者神经功能及血清丙二醛和过氧化氢酶的影响[J]. *现代仪器与医疗*, 2017, 23(5): 91-92, 122.
- [17] WANG S H, CHE Y H, CHEN J. Effects of berberine on the expression of Nrf2/Keap1 in hypoxia reoxygenation induced myocardial cells[J]. *Chin J Clin Anat*(中国临床解剖学杂志), 2017, 35(3): 282-285.
- [18] MALEKI S N, 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.
- [19] ZHU J R, LU H D, GUO C, et al. Berberine attenuates ischemia-reperfusion injury through inhibiting HMGB1 release and NF- κ B nuclear translocation[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(11): 1706-1715.
- [20] BESS E, FISSLTHALER B, FRÖMEL T, et al. Nitric oxide-induced activation of the AMP-activated protein kinase α 2 subunit attenuates I κ B kinase activity and inflammatory responses in endothelial cells[J]. *PLoS One*, 2011, 6(6): e20848. Doi: 10.1371/journal.pone.0020848.
- [21] AN Y T, XIA Y Y, MIN Y. The pathogenesis of cerebral ischemia and its treatment[J]. *World Clin Drugs*(世界临床药物), 2010, 31(1): 35-39.
- [22] YU B, SUN Z J. Apoptosis related gene Bcl-2, Bax, Bad and breast cancer[J]. *Chin J Bases Clin Gen Surg*(中国普外基础与临床杂志), 2007, 14(6): 739-742.

- [23] NAMURA S, ZHU J, FINK K, et al. Activation and cleavage of caspase-3 in apoptosis induced by experimental cerebral ischemia[J]. *J Neurosci*, 1998, 18(10): 3659-3668.
- [24] HU J, CHAI Y S, WANG Y G, et al. PI3K p55 γ promoter activity enhancement is involved in the anti-apoptotic effect of berberine against cerebral ischemia-reperfusion[J]. *Eur J Pharmacol*, 2012, 674(2/3): 132-142.
- [25] YANG J, YAN H, LI S M, et al. Berberine ameliorates MCAO induced cerebral ischemia/reperfusion injury via activation of the BDNF-TrkB-PI3K/Akt signaling pathway[J]. *Neurochem Res*, 2018, 43(3): 702-710.
- [26] ZHOU H Q, LI X, HUANG Z H. Advances in the role and molecular mechanism of autophagy in ischemic stroke[J]. *J Gannan Med Univ(赣南医学院学报)*, 2018, 38(2): 117-122.
- [27] ZHANG Q C, BIAN H M, GUO L W, et al. Pharmacologic preconditioning with berberine attenuating ischemia-induced apoptosis and promoting autophagy in neuron[J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(2): 1197-1207.
- [28] TIAN F F, DEGUCHI K, YAMASHITA T, et al. *In vivo* imaging of autophagy in a mouse stroke model[J]. *Autophagy*, 2010, 6(8): 1107-1114.
- [29] EGAN D, KIM J, SHAW R J, et al. The autophagy initiating kinase ULK1 is regulated via opposing phosphorylation by AMPK and mTOR[J]. *Autophagy*, 2011, 7(6): 643-644.
- [30] ZHANG Q, FU X W, WANG J S, et al. Treatment effects of ischemic stroke by berberine, baicalin, and jasminoidin from Huang-Lian-Jie-du-decoction(HLJDD) explored by an integrated metabolomics approach[J]. *Oxidative Med Cell Longev*, 2017, 2017: 9848594. Doi: 10.1155/2017/9848594.
- [31] SETO S W, CHANG D, JENKINS A, et al. Angiogenesis in ischemic stroke and angiogenic effects of Chinese herbal medicine[J]. *J Clin Med*, 2016, 5(6): 56. Doi: 10.3390/jcm5060056.
- [32] KRUPINSKI J, KALUZA J, KUMAR P, et al. Role of angiogenesis in patients with cerebral ischemic stroke[J]. *Stroke*, 1994, 25(9): 1794-1798.
- [33] SUAREZ-LOPEZ L, SRIRAM G, KONG Y W, et al. MK2 contributes to tumor progression by promoting M2 macrophage polarization and tumor angiogenesis[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2018, 115(18): E4236-E4244.
- [34] HU X M, LEAK R K, SHI Y J, et al. Microglial and macrophage polarization—new prospects for brain repair[J]. *Nat Rev Neurol*, 2015, 11(1): 56-64.
- [35] ZHU J R, CAO D W, GUO C, et al. Berberine facilitates angiogenesis against ischemic stroke through modulating microglial polarization via AMPK signaling[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2019, 39(6): 751-768.
- [36] BENAKIS C, BREA D, CABALLERO S, et al. Commensal microbiota affects ischemic stroke outcome by regulating intestinal $\gamma\delta$ T cells[J]. *Nat Med*, 2016, 22(5): 516-523.
- [37] CUI H T, CAI Y Z, WANG L, et al. Berberine regulates treg/Th17 balance to treat ulcerative colitis through modulating the gut microbiota in the colon[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 571.
- [38] FU X W, WANG J S, LIAO S T, et al. ¹H NMR-based metabolomics reveals refined-Huang-Lian-Jie-du-decoction (BBG) as a potential ischemic stroke treatment drug with efficacy and a favorable therapeutic window[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 337. Doi: 10.3389/fphar.2019.00337.
- [39] 万瑾舒, 张孟仁. 小檗碱的神经保护作用及其相关机制的研究进展[J]. *医学研究杂志*, 2018, 47(6): 197-200.

收稿日期: 2020-02-21
(本文责编: 李艳芳)