

本文引用:涂鄂文,陈琼,宁敏,王照.槲皮素对脑出血大鼠神经细胞凋亡与 Bcl-2、Bax 蛋白表达的作用研究[J].湖南中医药大学学报,2020,40(5):555-560.

槲皮素对脑出血大鼠神经细胞凋亡与 Bcl-2、Bax 蛋白表达的作用研究

涂鄂文¹,陈琼²,宁敏¹,王照^{1*}

(1.湖南省第二人民医院,湖南长沙 410070;2.长沙市第四医院,湖南长沙 410006)

[摘要] **目的** 通过观察大鼠脑出血后神经细胞凋亡与 Bcl-2、Bax 蛋白表达的动态变化及槲皮素的干预作用,探讨槲皮素可能的神经保护作用及机制。**方法** 以雄性健康 SD 大鼠通过自体血注入法制备大鼠脑出血模型,并随机分为假手术组、脑出血模型组、槲皮素低剂量组、槲皮素高剂量组,共 4 组,每组 30 只;槲皮素低剂量组和槲皮素高剂量组分别给予槲皮素 10、50 mg/(kg·d)腹腔内注射,假手术组和脑出血模型组给予同等体积生理盐水腹腔内注射,每日 1 次,连续 7 d;各组大鼠分别在术后第 6 小时、1 天、2 天、3 天、7 天通过前肢放置试验评分法评估神经功能缺损,采用 TUNEL 法检测血肿周围神经细胞凋亡,采用 Western blot 法检测血肿周围 Bcl-2 和 Bax 蛋白的表达情况。**结果** 与模型组比较,槲皮素低剂量组在脑出血后第 3 天、7 天及槲皮素高剂量组在第 2 天、3 天、7 天的前肢放置试验评分和 Bcl-2 蛋白表达均明显增加($P<0.01$);与模型组比较,槲皮素低剂量组在第 3 天、7 天及槲皮素高剂量组在第 1 天、2 天、3 天、7 天的神经细胞凋亡率和 Bax 蛋白表达均明显降低($P<0.01$)。**结论** 槲皮素能减轻脑出血后神经功能损伤,其机制可能与上调 Bcl-2 蛋白表达,下调 Bax 蛋白表达,从而减少神经细胞凋亡有关。

[关键词] 脑出血;槲皮素;细胞凋亡;Bcl-2 蛋白;Bax 蛋白

[中图分类号]R285.5 [文献标志码]A [文章编号]doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2020.05.009

Effects of Quercetin on Neuronal Apoptosis and Bcl-2 and Bax Protein Expressions in Rats after Intracerebral Hemorrhage

TU Ewen¹, CHEN Qiong², NING Min¹, WANG Zhao^{1*}

(1. The Second People's Hospital of Hunan Province, Changsha, Hunan 410070, China; 2. The Fourth Hospital of Changsha, Changsha, Hunan 410006, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the possible neuroprotective mechanism of quercetin by observing the intervention effect of quercetin and the dynamic change of expressions of Bcl-2 and Bax and neural cell apoptosis in rats with intracerebral hemorrhage. **Methods** The models of intracerebral hemorrhage were prepared by autologous blood injection in male healthy SD rats and randomly divided into 4 groups, including a sham operation group, an intracerebral hemorrhage model group, a quercetin low-dose group, and a quercetin high-dose group, with 30 rats in each group. The quercetin low-dose group and the quercetin high-dose group were given quercetin 10 mg/(kg·d) and 50 mg/(kg·d) intraperitoneal injection, respectively. The sham operation group and the intracerebral hemorrhage model group were given the same volume of normal saline once a day for 7 consecutive days. Forelimb placing test score was designed to assess the nerve functional at 6 h, 1 d, 2 d, 3 d and 7 d respectively. The apoptosis index of peripheral tissues was analyzed by TUNEL staining, and the expressions of Bcl-2 and Bax were detected by the method of Western blot. **Results** Compared with the model group, the quercetin low-dose group

[收稿日期]2019-11-18

[基金项目]湖南省财政厅产业研发项目(2060403)。

[作者简介]涂鄂文,女,主任医师,硕士研究生导师,研究方向:脑血管病的神经保护基础研究及自身免疫性脑炎的神经保护基础研究。

[通讯作者]*王照,男,副主任医师,E-mail:125213200@qq.com。

and the quercetin high-dose group, respectively in 3 d, 7 d and 2 d, 3 d, 7 d after intracerebral hemorrhage had significantly increased the forelimbs placement test scores and the Bcl-2 protein expressions ($P<0.01$); compared with the model group, the quercetin low-dose group and the quercetin high-dose group respectively in 3 d, 7 d and 1 d, 2 d, 3 d, 7 d, had significantly decreased apoptosis rate of nerve cells and the Bax proteins expressions ($P<0.01$). **Conclusion** Quercetin can relieve the neurologic impairment after cerebral hemorrhage, and its mechanism may be related to the up-regulation of Bcl-2 protein expressions and down-regulation of Bax protein expressions, thus reducing the apoptosis of nerve cells.

[**Keywords**] intracerebral hemorrhage; quercetin; apoptosis; Bcl-2 protein; Bax protein

脑出血 (intracerebral hemorrhage, ICH) 指脑实质内自发性、非创伤性血管破裂, 导致血液在脑实质内聚集, 是常见的难治性脑血管疾病之一。目前针对 ICH 的治疗方法有限, 且大多患者在接受治疗后仍然遗留有不同程度的神经功能损伤。神经细胞的凋亡、血管源性脑水肿以及血脑屏障破坏是 ICH 后 3 种明显的病理变化, 其中神经细胞凋亡被认为是主要继发性脑损伤的病理变化之一, 能够促进神经功能损伤进行性发展^[1]。通过降低神经细胞凋亡从而减轻 ICH 后继发性神经功能损伤的治疗策略受到了越来越多研究者的关注。槲皮素是一种天然黄酮类化合物, 在自然界各种植物的花、叶之中有着极为广泛分布。有研究表明槲皮素能通过抗炎^[2]、抗氧化^[3]、抗血栓^[4]等作用减轻脑卒中后继发性脑损伤。本研究通过观察大鼠 ICH 后不同时间点神经细胞凋亡与 Bcl-2、Bax 蛋白表达情况以及给予不同剂量槲皮素干预后的变化, 探讨槲皮素可能的神经保护作用及机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

采用 8~12 周龄、体质量 250~300 g 健康雄性成年清洁级 SD 大鼠 (由湖南斯莱克景达实验动物有限公司提供, 生产许可证号: SCXK(湘)2016-0002) 建立脑出血模型, 实验动物给予标准颗粒饲料和自来水分笼饲养, 昼夜自然节律, 将环境温度控制在 $(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度控制在 $60\%\pm 10\%$ 。

1.2 主要药物与试剂

Bcl-2 多克隆抗体 (货号: A00040-2)、Bax 多克隆抗体 (货号: A00183)、TUNEL 试剂盒 (货号: MK1022)、BCA 蛋白浓度测定试剂盒 (货号: AR0146)、 β -actin 内参抗体 (货号: BA2305), 以上均由武汉博士德生物工程有限公司提供; 槲皮素 (批号: wq16063005, 质量分数 $\geq 98\%$), 由四川省维克奇生物科技有限公司提供。

1.3 主要仪器

Stoelting TL-2 鼠脑定位仪、石蜡切片机 (美国 AO 公司); 显微外科手术器材、牙科钻 (上海手术器械厂); TG 16-WS 型台式高速离心机 (长沙湘仪仪器有限公司); 水平电泳槽、DYY-5 型稳压温流电泳仪、恒温水浴摇床、多用脱色摇床 (北京六一仪器厂提供); 光学显微镜 (日本 OLYMPUS 公司); 图像采集系统 (德国 Leica 显微成像系统); Image-Pro Plus 6.0 图像分析系统 (美国 MediaCybernetics 公司)。

1.4 造模与分组

参照 RosenBerg 等^[5]的脑出血大鼠造模方法制备模型, 大鼠经 10% 水合氯醛 (400 mg/kg) 腹腔注射麻醉后, 俯卧位固定于 Stoelting TL-2 鼠脑定位仪上, 使其前、后囟位于同一水平线上, 沿头皮正中线上切一长约 10 mm 的纵切口, 充分暴露前囟, 然后定位于前囟前 0.2 mm, 正中线上向右旁开 3 mm 处钻一小孔, 直径为 0.5 mm, 进针约 5.5 mm。斩断鼠尾取血 100 μL , 用微量进样器以 10 $\mu\text{L}/\text{min}$ 的速度缓慢注入, 注血结束后留针 15~20 min, 缓慢退针, 用骨蜡封闭颅骨, 缝合皮肤。假手术组 (30 只) 于相同部位注入等量无菌 0.9% 氯化钠注射液。所有操作均在无菌条件下完成, 术毕用 60 w 的白炽灯在距离大鼠 50 cm 高度持续照射直到大鼠清醒。大鼠清醒后进行前肢放置试验评分, 评分低于 80 及出现对侧上肢向胸前屈曲和行走时对侧倾倒或向对侧转圈行为, 说明造模成功。将造模成功的大鼠随机分为脑出血模型组、槲皮素低剂量组、槲皮素高剂量组, 每组 30 只。根据实验取材的不同时间点, 将上述 4 组组内大鼠各又随机分成 6 h、1 d、2 d、3 d、7 d 5 个亚组, 每个亚组 6 只。

于造模成功 1 h 后槲皮素低、高剂量组分别给予槲皮素 10 mg/kg、50 mg/kg 腹腔内注射, 假手术组及脑出血组则用等量生理盐水代替处理, 每天 1 次。

1.5 指标检测

1.5.1 神经功能缺损评估 参照 Schallert 等^[6]的前

肢放置试验评分法评估神经功能缺损:在实验台前抓住大鼠躯体,让其前肢自由悬挂在实验台上,用小刷子刺激大鼠手术侧的触须,未受损者可将对侧前肢迅速放到桌面,脑损伤时此动作有不同程度的损害。每只大鼠受测 10 次,对侧前肢正确放置于桌面次数的百分率即为该大鼠的评分。

1.5.2 神经细胞凋亡检测 前肢放置试验评分完成后,采用 10%水合氯醛(400 mg/kg)腹腔内注射对大鼠进行麻醉,仰卧位固定,用生理盐水和多聚甲醛进行心脏灌流,断头取脑。以血肿穿刺针点为中心分别向前、后各移 1.0 mm 将脑组织冠状切开,取脑组织 2 块,1 块放入-80 °C 冰箱保存备用,作 Western blot 检测,另 1 块常规石蜡包埋,切片,作 TUNEL 检测。

采用 TUNEL 法检测神经细胞凋亡:取上述脑组织切片,经脱蜡、脱水后,采用 TUNEL 法检测细胞凋亡,具体操作按试剂盒说明书进行。经过高倍镜($\times 400$ 计数)显微镜观察。每只大鼠同一部位的脑组织切片取 3 张,然后每张脑组织切片再取 2 个不重叠的视野查看阳性细胞数,细胞核中有棕黄色颗粒者为阳性细胞,即凋亡细胞。凋亡细胞率=(凋亡细胞数/计数细胞总数) $\times 100\%$ 。

1.5.3 采用 Western blot 法检测 Bcl-2、Bax 蛋白表达 将-80 °C 保存的脑组织置于预冷的 PBS 中漂洗除尽组织表面血迹,称质量后放入机械匀浆器中,加入 5 倍体积量的裂解液,裂解完全,4 °C 离心收集上清液,采用 BCA 蛋白定量法测定裂解蛋白浓度。采用 SDS-PAGE 凝胶电泳,将电泳后的蛋白转移至经甲醇活化的 PVDF 膜上,加入封闭缓冲液室

温振荡 1 h,依次孵育一抗、二抗,化学发光法曝光显色。胶片用扫描仪将图像输入电脑,ImagePro-plus 6.0 图像分析软件, β -actin 蛋白作为内参照,计算 Bcl-2 蛋白和 Bax 蛋白吸光度值/内参照蛋白吸光度值的比值。

1.6 统计学方法

实验数据用 SPSS 22.0 统计软件分析,数据均以“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,多组计量资料均数方差齐时应用 ONE-WAY-ANOVA 中 LSD 检验进行方差分析,方差不齐时应用非参数秩和检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 槲皮素对脑出血大鼠神经功能损伤的影响

脑出血模型组在手术后 6 h 即出现严重的神经功能损伤,第 3 天评分最低,第 3 天至第 7 天损伤减轻,其在各时间点的评分均明显低于假手术组($P<0.01$);槲皮素低、高剂量组的评分分别在术后第 3 天、7 天和第 2 天、3 天、7 天均明显高于脑出血模型组($P<0.01$)。结果见表 1。

2.2 槲皮素对脑出血大鼠神经细胞凋亡的影响

脑出血模型组在手术后第 6 小时检测到大量凋亡神经细胞,第 3 天凋亡率达到高峰,第 3 天和第 7 天下降,各检测时间点的凋亡率均明显高于假手术组($P<0.01$);槲皮素低、高剂量组的凋亡率分别在第 2 天、3 天、7 天和第 1 天、2 天、3 天、7 天均明显低于脑出血模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结果见表 2 和图 1。

表 1 不同时间点各组大鼠前肢放置试验评分($n=6,\bar{x}\pm s, \%$)

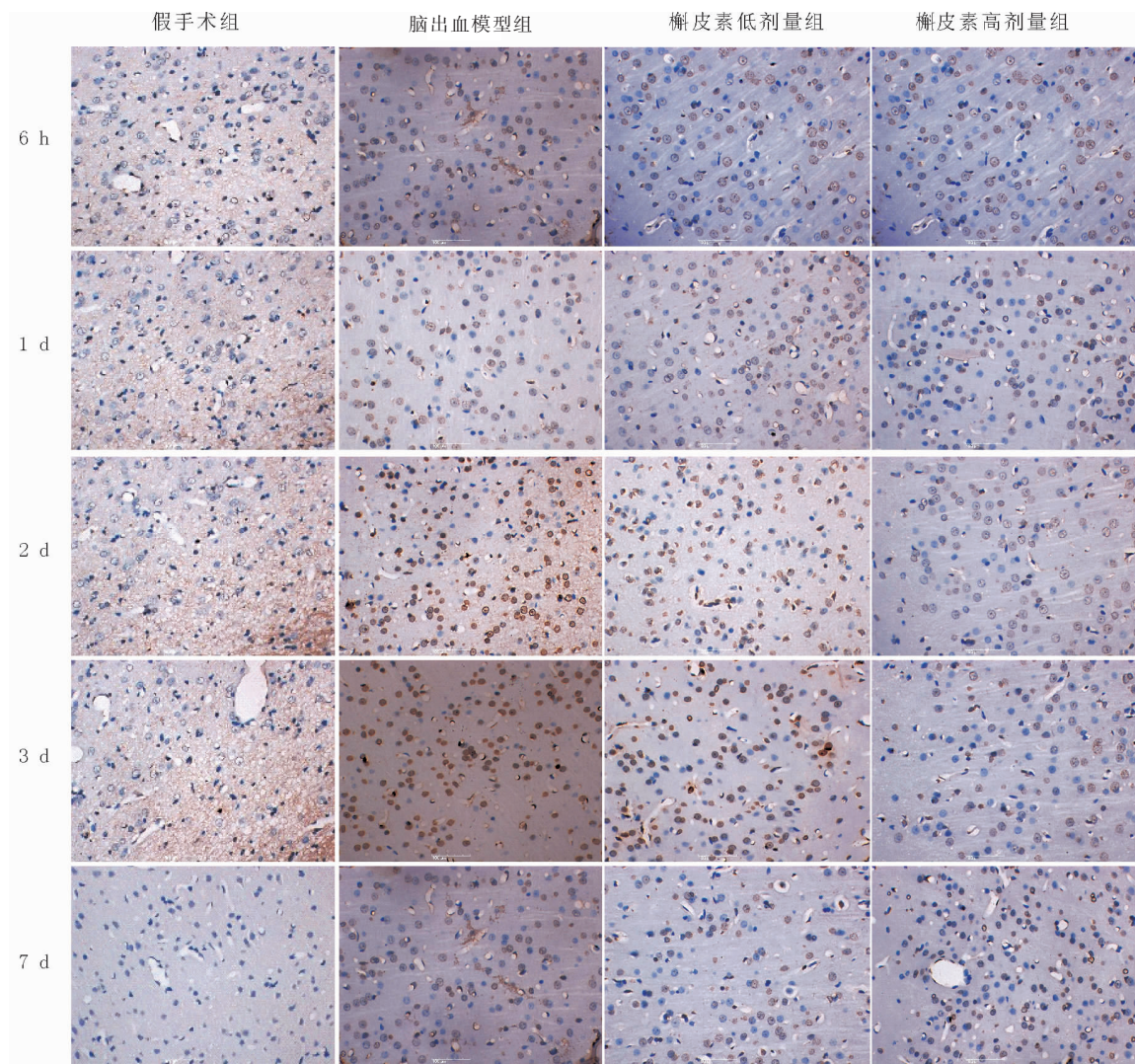
组别	6 h	1 d	2 d	3 d	7 d
假手术组	96.00 \pm 4.29	92.83 \pm 5.00	93.17 \pm 3.66	93.83 \pm 4.67	90.17 \pm 5.47
脑出血模型组	40.33 \pm 5.01**	32.50 \pm 3.02**	21.67 \pm 3.98**	13.33 \pm 3.67**	40.83 \pm 4.17**
槲皮素低剂量组	38.83 \pm 3.73	29.33 \pm 5.61	21.33 \pm 4.32	20.00 \pm 3.85 ^{##}	56.33 \pm 3.78 ^{##}
槲皮素高剂量组	42.33 \pm 4.27	27.67 \pm 4.45	29.83 \pm 3.39 ^{##}	39.67 \pm 2.73 ^{##}	61.83 \pm 4.12 ^{##}

注:同一时间点,与假手术组比较,** $P<0.01$;与脑出血模型组比较,## $P<0.01$

表 2 不同时间点各组大鼠神经细胞凋亡率($n=6,\bar{x}\pm s, \%$)

组别	6 h	1 d	2 d	3 d	7 d
假手术组	5.61 \pm 1.02	3.62 \pm 2.32	4.99 \pm 1.96	4.12 \pm 1.85	3.89 \pm 2.03
脑出血模型组	38.17 \pm 5.02**	47.61 \pm 4.40**	59.89 \pm 3.34**	76.57 \pm 4.03**	48.53 \pm 6.19**
槲皮素低剂量组	40.12 \pm 4.10	45.59 \pm 2.51	55.40 \pm 3.74 [#]	60.52 \pm 4.90 ^{##}	38.51 \pm 3.35 ^{##}
槲皮素高剂量组	35.86 \pm 3.32	41.12 \pm 4.05 ^{##}	50.12 \pm 3.38 ^{##}	42.18 \pm 5.03 ^{##}	26.74 \pm 2.93 ^{##}

注:相应时间点,与假手术组比较,** $P<0.01$;与脑出血模型组比较,## $P<0.05$,### $P<0.01$



注:细胞核被染成棕黄色或棕黑色者为 TUNEL 阳性细胞;细胞核呈蓝色、浅蓝色者为阴性细胞

图 1 各组大鼠神经细胞凋亡 TUNEL 法检测结果(TUNEL 染色, $\times 400$)

2.3 Western blot 法检测槲皮素对脑出血大鼠 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响

脑出血模型组手术后第 6 小时至第 2 天 Bcl-2 蛋白的表达持续减少,第 2 天达到低峰,第 2 天至第 7 天表达增加,第 1 天、2 天、3 天、7 天较假手术组表达明显偏低($P < 0.01$);在手术后第 1 天、2 天、3 天、7 天 4 个时间点槲皮素低、高剂量组的表达均明显高于脑出血模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结果见表 3 和图 2(A)。

脑出血模型组在手术后第 6 小时即检测到大量 Bax 蛋白表达,第 3 天达到高峰,第 3 天至第 7 天表达减少,各检测时间点的表达均明显高于假手术组($P < 0.01$);槲皮素低、高剂量组的表达分别在第 3 天、7 天和第 1 天、2 天、3 天、7 天明显低于脑出血模型组($P < 0.01$)。结果见表 4 和图 2(B)。

3 讨论

细胞凋亡亦称程序性细胞死亡,与细胞的正常

发育有关,使得损坏细胞或者机能紊乱细胞的自我毁损能够在一种可控的方式下进行,是机体在生长、发育和受到外来刺激时,清除衰老和受损伤细胞以保持机体内环境平衡的一种自我调节机制^[7]。近 10 余年来,有一系列针对 ICH 动物模型及人脑组织标本的研究均证实了 ICH 后血肿周围组织中存在大量凋亡的神经细胞^[8-9]。神经细胞凋亡是血肿周围神经细胞死亡的主要方式,也是继发性神经功能损害的主要表现形式,能诱发神经功能损伤的进行性发展。揭示脑出血后神经细胞凋亡的时相变化规律,是实施药物治疗的基础和依据。本研究发现,大鼠脑出血后第 6 小时即检测出较多凋亡的神经细胞,并于第 1 天、2 天呈进行性加重,第 3 天细胞凋亡率达高峰,第 3 天至第 7 天缓慢降低,研究结果与 CHEN 等^[10]研究的结果较一致。在测定 ICH 大鼠前肢放置试验评分和血肿周围神经细胞凋亡率的基础上采用双变

表3 不同时间点各组大鼠 Bcl-2 蛋白表达 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	6 h	1 d	2 d	3 d	7 d
假手术组	0.379±0.054	0.407±0.032	0.404±0.032	0.426±0.043	0.393±0.026
脑出血模型组	0.374±0.024	0.255±0.033**	0.175±0.042**	0.253±0.028**	0.354±0.036*
槲皮素低剂量组	0.361±0.041	0.305±0.053#	0.235±0.027##	0.328±0.034##	0.456±0.028##
槲皮素高剂量组	0.385±0.025	0.342±0.032##	0.393±0.027##	0.448±0.037##	0.518±0.024##

注:相应时间点,与假手术组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与脑出血模型组比较,# $P<0.05$,## $P<0.05$

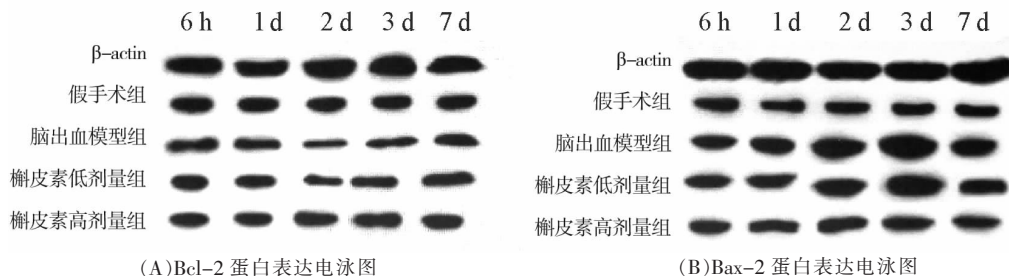


图2 不同时间点各组大鼠 Bcl-2、Bax 蛋白表达电泳图

表4 不同时间点各组大鼠 Bax 蛋白表达 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	6 h	1 d	2 d	3 d	7 d
假手术组	0.274±0.043	0.303±0.023	0.299±0.017	0.322±0.037	0.280±0.026
脑出血模型组	0.455±0.036**	0.581±0.045**	0.853±0.103**	1.304±0.122**	0.694±0.041**
槲皮素低剂量组	0.464±0.034	0.545±0.035	0.737±0.080	0.940±0.077##	0.577±0.046##
槲皮素高剂量组	0.442±0.029	0.495±0.037##	0.568±0.050##	0.515±0.028##	0.428±0.030##

注:相应时间点,与假手术组比较,** $P<0.01$;与脑出血模型组比较,## $P<0.01$

量 Pearson 相关系数分析法对二者进行相关性分析发现,二者呈负相关关系 ($r=0.939, P<0.05$),即 ICH 后神经功能缺损程度与神经细胞的凋亡率呈正相关关系。研究结果进一步证实,神经细胞凋亡参与了 ICH 后继发性脑损伤过程,降低神经细胞凋亡可作为 ICH 临床治疗的一种治疗策略。从降低 ICH 后神经细胞凋亡的治疗角度,结合 ICH 后神经细胞凋亡的变化规律分析,ICH 后越早进行药物干预所取得治疗效果越理想。

ICH 后继发性脑损伤导致神经细胞凋亡的机制非常复杂,其中,分别由线粒体和死亡受体介导的“内源性”及“外源性”凋亡途径,是目前被普遍接受的细胞凋亡的两条途径^[1]。线粒体介导的内源性凋亡途径是哺乳动物细胞凋亡的主要途径,也是目前研究凋亡的热点;在该途径中,Bcl-2 家族蛋白中促凋亡和抗凋亡蛋白相互作用,调控着线粒体结构及功能的稳定性,在细胞凋亡的进程中起着至关重要的作用^[2]。当细胞受到损伤因素刺激后,Bax 蛋白转移至线粒体的外膜上,通过形成 Bax/Bax 同源二聚体在线粒体平面脂双层中能形成孔道及参与线粒体通透性转变孔道(permeability transition pore, PTP)

的开放,引起 Cyt C、凋亡诱导因子和核酸内切酶 G 等被释放到细胞质中,诱发细胞凋亡^[13-14]。Bcl-2 蛋白可与 Bax 蛋白结合形成稳定的 Bcl-2/Bax 异源二聚体,从而维持 Bax 等促凋亡蛋白在细胞内的定位与分布,维持线粒体膜稳定,防止促凋亡相关蛋白、Cyt C 等泄漏至细胞质,阻断细胞发生凋亡^[15]。Bax 蛋白、Bcl-2 蛋白对细胞凋亡的调控不仅与其自身表达量有关,也与两者之间的比值变化密切相关,Bcl-2/Bax 蛋白比值增加,细胞趋向于存活;Bcl-2/Bax 蛋白比值降低,细胞趋向于凋亡。本研究发现,大鼠脑出血后第 6 小时至第 2 天 Bcl-2 蛋白的表达持续减少,第 2 天达到低峰;同时在出血后第 6 小时即检测到大量 Bax 蛋白表达,第 3 天达到高峰;第 6 小时至第 2 天血肿周围 Bcl-2/Bax 蛋白的比值降低,第 3 小时至第 7 天比值升高,结果与 Lu 等^[6]和 Chen 等^[17]研究结果较一致。进一步的采用双变量 Pearson 相关系数分析法对神经细胞凋亡率与 Bcl-2/Bax 蛋白比值之间进行相关性分析发现,二者呈负相关关系 ($r=0.880, P<0.05$)。研究提示,Bcl-2、Bax 蛋白表达改变可能是脑出血后导致神经细胞凋亡的机制之一;干预 Bcl-2、Bax 蛋白表达,有望降低脑出血后神

经细胞凋亡,减轻继发性神经功能损伤。

研究表明,槲皮素可通过降低脂质过氧化产物丙二醛含量和提高超氧化物歧化酶活性,减少氧化诱导的细胞凋亡^[18];可通过增加抗凋亡 Bcl-2 蛋白表达、降低促凋亡 Bax 蛋白表达及 Caspase-3 活性,减少经线粒体途径介导的细胞凋亡^[19]。本研究以槲皮素干预后对 ICH 大鼠血肿周围神经细胞凋亡与 Bcl-2、Bax 蛋白表达的影响为切入点展开研究。结果显示,与脑出血模型组相比,不同剂量槲皮素干预后 Bcl-2 蛋白表达增加,Bax 蛋白表达下降,Bcl-2/Bax 蛋白比值增加,神经细胞凋亡率下降,神经功能缺损评分降低,且在较多的检测时间点上高剂量组各指标均明显优于低剂量组,表现出一定的量效关系。综上所述,槲皮素对脑出血大鼠干预后可通过提高 Bcl-2 蛋白表达、降低 Bax 蛋白表达,使 Bcl-2/Bax 蛋白比值增加,从而降低神经细胞凋亡,减轻神经功能损伤,对脑出血表现出一定的治疗效果和应用前景。

参考文献

- [1] LI L, KE K, TAN X, et al. Up-regulation of NFATc4 involves in neuronal apoptosis following intracerebral hemorrhage[J]. Cellular and Molecular Neurobiology, 2013, 33(7):893-905.
- [2] ZHANG Y, YI B, MA J, et al. Quercetin promotes neuronal and behavioral recovery by suppressing inflammatory response and apoptosis in a rat model of intracerebral hemorrhage[J]. Neurochemical Research, 2015, 40(1):195-203.
- [3] BAHAR E, KIM J Y, YOON H. Quercetin attenuates manganese-induced neuroinflammation by alleviating oxidative stress through regulation of apoptosis, iNOS/NF- κ B and HO-1/Nrf2 pathways[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(9):1-19.
- [4] HUBBARD G P, WOLFFRAM S, LOVEGROVE J A, et al. Ingestion of quercetin inhibits platelet aggregation and essential components of the collagen-stimulated platelet activation pathway in humans[J]. Journal of Thrombosis Haemostasis: JTH, 2004, 2(12): 2138-2145.
- [5] ROSENBERG G A, MUN-BRYCE S, WESLEY M, et al. Collagenase induced intracerebral hemorrhage in rats[J]. Stroke, 1990, 21(5):801-807.
- [6] SCHALLERT T, FLEMING S M, LEASURE J L, et al. CNS plasticity and assessment of forelimb sensorimotor outcome in unilateral rat models of stroke, cortical ablation, parkinsonism and spinal cord injury[J]. Neuropharmacology, 2000, 39(1):777-787.
- [7] HENGARTNER M O. The biochemistry of apoptosis[J]. Nature, 2000, 407(6805):770-776.
- [8] LIU Z C, MENG L Q, SONG J H, et al. Dynamic protein expression of NF- κ B following rat intracerebral hemorrhage and its association with apoptosis[J]. Experimental and Therapeutic Medicine, 2018, 16(5): 3903-3908.
- [9] WANG Z, ZHOU F, DOU Y, et al. Melatonin alleviates intracerebral hemorrhage-Induced secondary brain Injury in rats via suppressing apoptosis, inflammation, oxidative stress, DNA damage, and mitochondria injury[J]. Translational Stroke Research, 2018, 9(1): 74-91.
- [10] CHEN J C. The effects of acupuncture and traditional Chinese medicines on apoptosis of brain tissue in a rat intracerebral hemorrhage model[J]. Physiology & Behavior, 2015,1(151): 421-425.
- [11] SAVITSKAYA M A, ONISHCHENKO G E. Mechanisms of Apoptosis[J]. Biochemistry(Moscow), 2015, 80(11):1393-1405.
- [12] VOLKMANN N, MARASSI F M, NEWMeyer D D, et al. The rheostat in the membrane: BCL-2 family proteins and apoptosis[J]. Cell Death and Differentiation, 2014, 21(2):206-215.
- [13] KUMARI A, KAKKAR P, et al. Lupeol prevents acetaminophen-induced in vivo hepatotoxicity by altering the Bax/Bcl-2 and oxidative stress-mediated mitochondrial signaling cascade[J]. Life Sciences, 2012, 90(15/16):561-570.
- [14] WANG X. The expanding role of mitochondria in apoptosis[J]. Genes & Development, 2001, 15(22):922-933.
- [15] CHENG E H, WEI M C, WEILER S, et al. BCL-2, BCL-X(L) sequester BH3 domain-only molecules preventing BAX- and BAK-mediated mitochondrial apoptosis[J]. Molecular Cell, 2001, 8(3):705-711.
- [16] LU H, SHEN J, SONG X, et al. Protective effect of pyrroloquinoline quinone (PQQ) in rat model of intracerebral hemorrhage[J]. Cellular and Molecular Neurobiology, 2015,35(7):921-930.
- [17] CHEN J C. The effects of acupuncture and traditional Chinese medicines on apoptosis of brain tissue in a rat intracerebral hemorrhage model[J]. Physiology & Behavior, 2015,1(151): 421-425.
- [18] ZHI G C, QIAO L Y, GUANG R X, et al. Effects of quercetin on proliferation and H₂O₂-Induced apoptosis of intestinal porcine enterocyte cells[J]. Molecules, 2018, 23(8):1-25.
- [19] BAHAR E, KIM J Y, YOON H. Quercetin attenuates manganese-induced neuroinflammation by alleviating oxidative stress through regulation of apoptosis, iNOS/NF- κ B and HO-1/Nrf2 pathways[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2017, 18(9):1-19.

(本文编辑 苏 维)