通窍活血汤对蛛网膜下腔出血大鼠的神经保护作用及机制研究

魏绪旺[1]，朱平[1]，郭志丽[1]，金敏艳[1]，沈斌[2]，孙长忠[1]，刘鹏鹏[1]，高晨琛[1]

1. 浙江中医药大学附属嘉兴中医院，浙江 嘉兴 314015；2. 嘉兴学院实验动物中心，浙江 嘉兴 314001

［摘要］**目的：**观察通窍活血汤对蛛网膜下腔出血（SAH）大鼠的神经保护作用，并探讨其作用机制。**方法：**将60只SD大鼠随机分为假手术组，模型组，通窍活血汤低、中、高（3、6、12 g/kg）剂量组各12只。采用改良二次枕大池注血法制作SAH大鼠模型。造模成功后，通窍活血汤低、中、高剂量组大鼠分别灌胃对应剂量的通窍活血汤溶液治疗，假手术组和模型组大鼠灌胃等量的0.9%氯化钠溶液，连续灌胃7 d。于治疗第1、3、5、7天评估各组大鼠Bederson神经功能评分；每组各取6只大鼠，在治疗第3、7天分批取材，采用酶联免疫吸附法检测各组大鼠海马组织肿瘤坏死因子-α（TNF-α）、白细胞介素-1β（IL-1β）水平；免疫组织化学法测定各组大鼠醌氧化还原酶1（NQO-1）、核因子E2相关因子2（Nrf2）蛋白表达。**结果：**与假手术组比较，模型组大鼠在治疗第1、3、5、7天的Bederson神经功能评分均升高（$P<0.05$）；通窍活血汤中、高剂量组大鼠在治疗第5、7天的Bederson神经功能评分均较模型组降低（$P<0.05$）。与假手术组比较，模型组大鼠治疗第3、7天海马组织中TNF-α、IL-1β含量明显升高（$P<0.01$），海马齿状回区NQO-1、Nrf2蛋白表达明显降低（$P<0.01$）；与模型组比较，通窍活血汤低、中、高剂量组大鼠治疗第3、7天海马组织中TNF-α、IL-1β含量降低（$P<0.01$），通窍活血汤低、中、高剂量组大鼠海马齿状回区NQO-1、Nrf2蛋白表达升高（$P<0.05$）。**结论：**通窍活血汤可通过抗氧化应激，减轻炎性反应来改善SAH大鼠神经功能，其机制与调节Nrf2-抗氧化反应元件（Nrf2-ARE）信号通路下游NQO-1、Nrf2蛋白水平有关。

［关键词］蛛网膜下腔出血；通窍活血汤；神经功能；核因子E2相关因子2-抗氧化反应元件；信号通路
［中图分类号］R743.35 ［文献标志码］A ［文章编号］0256-7415（2023）07-0015-06
DOI：10.13457/j.cnki.jncm.2023.07.003

Neuroprotective Effect and Mechanism of Tongqiao Huoxue Decoction on Rats with Subarachnoid Hemorrhage

WEI Xuwang, ZHU Ping, GUO Zhili, JIN Minyan, SHEN Bin, SUN Changzhong, LIU Pengpeng, GAO Chenchen

Abstract: Objective: To observe the neuroprotective effect of Tongqiao Huoxue Decoction on rats with subarachnoid hemorrhage (SAH) and to discuss its mechanism. **Methods:** A total of 60 SD rats were randomly divided into the sham-operation group, the model group, the low-dose, medium-dose and high-dose of Tongqiao Huoxue Decoction group (3, 6 and 12 g/kg), with 12 rats in each group. The SAH rat models were established by modified secondary blood injection into occipital cistern. After successful modeling, rats in the low-dose, medium-dose and high-dose of Tongqiao Huoxue Decoction groups were treated with Tongqiao Huoxue Decoction solution of corresponding dose respectively, and rats in the

［收稿日期］2022-04-20
［修回日期］2023-01-30
［基金项目］浙江省中医药科技计划项目（2021ZB285）；嘉兴市科技计划民生科技创新研究项目（2021AD300222）
［作者简介］魏绪旺（1990-），男，主治中医师，E-mail：weixvwang@sina.com。
［通信作者］朱平（1981-），男，副主任医师，E-mail：zhuping168@163.com。

sham-operation group and the model group were treated with 0.9% sodium chloride solution of the same amount by gavage for consecutive day. The Bederson neurological function scores of rats in each group were evaluated on the first, third, fifth and seventh day of treatment; six rats in each group were taken in batches on the third and seventh day of treatment, and levels of tumor necrosis factor-α (TNF-α) and interleukin-1β (IL-1β) in the hippocampus of rats in each group were detected by enzyme-linked immunosorbent assay; the protein expressions of quinone oxidoreductase (NQO-1) and nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) were determined by immunohistochemistry. **Results:** Compared with those in the sham-operation group, the Bederson neurological function scores in the model group were higher on the first, third, fifth and seventh day of treatment ($P<0.05$); the Bederson neurological function scores of rats in the Tongqiao Huoxue Decoction group of of medium-dose and high-dose were decreased when compared with those in the model group on the fifth and seventh day of treatment ($P<0.05$). Compared with those in the sham-operation group, the levels of TNF-α and IL-1β in the hippocampus of rats in the model group were significantly increased on the third and seventh day of treatment ($P<0.01$), the protein expressions of NQO-1 and Nrf2 in the hippocampal dentate gyrus were significantly decreased ($P<0.01$); compared with those in the model group, the levels of TNF-α and IL-1β in the hippocampus of rats in the low-dose, medium-dose and high-dose of Tongqiao Huoxue Decoction group were decreased on the third and seventh day after treatment ($P<0.01$), and the protein expressions of NQO-1 and Nrf2 in the hippocampal dentate gyrus in the low-dose, medium-dose and high-dose of Tongqiao Huoxue Decoction group were increased ($P<0.05$). **Conclusion:** Tongqiao Huoxue Decoction can improve the neurological function of SAH rats by resisting oxidative stress and reducing the inflammatory reactions. Its mechanism is related to regulating the protein levels of NQO-1 and Nrf2 downstream of the Nrf2 to antioxidant responsive element (Nrf2-ARE) signal pathway.

Keywords: Subarachnoid hemorrhage; Tongqiao Huoxue Decoction; Neurological function; Nuclear factor erythroid 2-related factor 2 antioxidant responsive element; Signal pathway

蛛网膜下腔出血(SAH)具有高发病率、高病死率和高致残率等特点，其中动脉瘤破裂是其发病的主要原因之一[1]。脑血管痉挛引起早期脑损伤是导致SAH患者致残及死亡的主要原因[2-4]。氧化应激是SAH后脑损伤的主要发病机制[5]。SAH后，氧自由基含量显著增加，出现自由基瀑布样反应，释放大量的炎性因子，如肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、白细胞介素-β(IL-β)，诱发脑细胞死亡，加重脑损伤[6-7]。核因子E2相关因子2(Nrf2)-抗氧化反应元件(ARE)是体内经典的内源性抗氧化信号通路，在抑制氧化应激，减轻机体炎性反应起主导作用。醌氧化还原酶1(NQO-1)、Nrf2为Nrf2-ARE信号通路的下游靶向基因，激活Nrf2-ARE通路能发挥抗氧化应激，抑制炎性反应的作用。中医认为SAH后脑血管痉挛的发病机制主要为气血逆乱、脏腑功能失调，使血行瘀滞，脉络受阻，当以行气化瘀通络为主治疗。通窍活血汤源自于《医林改错》，有活血化瘀、通窍活络的功效。既往研究发现通窍活血汤具有抗氧化应激、减轻炎症反应、改善大脑微循环来发挥保护神经细胞的作用[8-9]。本研究观察通窍活血汤对SAH大鼠的干预效果，并探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 动物 健康SD大鼠60只，体质量200~250 g，购自嘉兴学院实验动物中心[动物许可证号：SYXK(浙)2020-0007]。大鼠饲养于嘉兴学院实验动物中心SPF级动物房，均在无菌洁净环境下适应性饲养7 d，室

内温度维持在(22±1)℃恒温条件下饲养，每隔3 d换垫料1次，自由活动及进食水，室内湿度维持在30%～40%。动物实验设施由嘉兴学院实验动物中心提供。

1.2 药物 通窍活血汤处方：川芎20 g，赤芍15 g，生姜、桃仁、红花、石菖蒲、白芷各10 g，大枣5个，老葱3根，炙甘草6 g，中药饮片由浙江中医药大学附属嘉兴中医院药剂室提供。舒泰-50、赛拉嗪由嘉兴学院实验动物中心提供，0.5%碘伏消毒液(嘉兴市吉力消毒卫生厂，批准文号浙卫消证字2018第0030号)。

1.3 实验试剂 TNF-α(生产批号：SCA133Ra)、IL-1β(生产批号：SEA563Ra)ELISA检测试剂盒购自武汉云克隆科技股份有限公司。免疫组化试剂盒(生产批号：Ab64259)、Nrf2抗体(生产批号：Ab31163)、NQO-1抗体(生产批号：Ab219169)均购自Abcam公司。

1.4 实验仪器 BMJ-Ⅲ型包埋机(湖北泰康医疗设备有限公司)；转轮式切片机(深圳瑞沃德科技有限公司)；全自动封闭式组织脱水机(河北德科机械科技有限公司)；TGL-16c型台式离心机(中国上海安亭科技仪器厂)；POLAR star OPTIMA型酶标仪(德国BMG公司)；XLCU-PHY-III病理组织漂烘仪(常州派斯杰医疗设备有限公司)；DMBA400测量显微镜(麦克奥迪实业集团有限公司)；Image Pro Plus 6.0软件(美国Media CyberneHics公司)。

1.5 SAH大鼠动物模型的建立 采用改良二次枕大池注血法[10]进行SAH大鼠模型制备。具体操作步骤如下：大鼠予舒泰-50联合赛拉嗪(80 mg/kg+20 mg/kg)腹腔注射麻醉，待大鼠麻醉好后，头颅枕部剃毛消毒，取仰卧位，尾动脉区消毒后，尾部正中行2 cm切口，钝性分离尾动脉抽取动脉血0.3 mL，将大鼠改俯卧位后，切开枕部皮肤，钝性分离肌肉暴露枕骨，在2 min内用1 mL注射器穿刺入枕大池注入0.3 mL动脉血，缝合伤口并使大鼠保持仰卧位。48 h后，用相同的方法取尾动脉血0.3 mL再次注入枕大池，制成大鼠SAH动物模型。假手术组只做开颅动作，不穿透硬脑膜，SAH大鼠模型造成后，以Berderson神经功能评分[11]确定是否造模成功，选取评分＜4分的SAH大鼠纳入实验。

1.6 分组与给药方法 假手术组和模型组予等量0.9%氯化钠溶液灌胃，每天灌胃1次，连续7 d；通窍活血汤高、中、低剂量组灌胃剂量按动物与人的体表面积换算方法计算出通窍活血汤高、中、低剂量灌胃剂量为12 g/kg、6 g/kg和3 g/kg，每天灌胃1次，连续给药7 d。分别在治疗第3、7天2个时间节点，每组各取6只大鼠处死取材。

1.7 检测指标 ①Bederson神经功能评分。分别在造模成功后，于治疗第1、3、5、7天各时间点进行Bederson神经功能评分检测，由2名实验人员同时观察，每只大鼠观察记录1次。②TNF-α、IL-1β水平。每组取3只大鼠，将各组大鼠海马组织分装于0.5 mL离心管中，20 X洗涤稀释液稀释备用。ELISA检测大鼠海马组织中TNF-α、IL-1β浓度，检测步骤严格按照ELISA试剂盒说明书进行。③NQO-1、Nrf2蛋白表达。于治疗第3、7天，每组取3只大鼠进行处死，4%多聚甲醛灌注取脑，冰冻切片机连续冠状切片，切片厚18 μm。取大脑左侧海马齿状回区组织平面，胰蛋白酶修复15 min，2 mol/L的盐酸37 ℃孵育30 min，5%羊血清室温封闭30 min，加入Nrf2抗体(1∶100)、NQO-1抗体(1∶100)，4 ℃冰箱孵育过夜，复温30 min，PBS每次洗5 min，洗3次，免疫组化检测严格按照试剂盒说明操作。每张切片随机选取左侧海马齿状回区5个400倍高倍镜视野，检测NQO-1、Nrf2蛋白表达。

1.8 统计学方法 采用SPSS26.0统计学软件对本实验相关实验数据进行统计学分析，数据经正态性检验，均服从正态分布，采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示，多组间比较采用双因素重复方差分析，以$P<0.05$为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠治疗不同时间点Bederson神经功能评分比较 见表1。与假手术组比较，模型组大鼠治疗第1、3、5、7天Bederson神经功能评分均升高，差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组比较，治疗第5、7天通窍活血汤中、高剂量组大鼠的Bederson神经功能评分均降低($P<0.05$)，通窍活血汤低剂量组大鼠仅治疗第7天Bederson神经功能评分低于模型组($P<0.05$)。

2.2 各组大鼠治疗不同时间点海马组织中TNF-α、IL-1β含量比较 见表2。与假手术组比较，模型组大鼠治疗第3、7天海马组织中TNF-α、IL-1β含量

明显升高（$P<0.05$）；与模型组比较，通窍活血汤低、中、高剂量组大鼠海马组织中 TNF-α、IL-1β 含量低于模型组（$P<0.05$）。

2.3　各组大鼠治疗不同时间点海马区 NQO-1、Nrf2 蛋白表达比较　见表 3、图 1、图 2。与假手术组比较，模型组大鼠治疗第 3、7 天大鼠海马齿状回区 NQO-1、Nrf2 蛋白表达明显降低（$P<0.05$）；与模型组比较，通窍活血汤低、中、高剂量组大鼠海马齿状回区 NQO-1、Nrf2 蛋白表达升高（$P<0.05$）。

表 1　各组大鼠治疗不同时间点 Bederson 神经功能评分比较（$\bar{x}\pm s$）　分

组　别	鼠数	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
假手术组	12	0.22±0.03	0.34±0.05	0.18±0.06	0.21±0.01
模型组	12	3.27±0.49①	3.33±0.48①	3.14±0.32①	3.23±0.21①
通窍活血汤低剂量组	12	3.38±0.58	2.98±0.56	1.95±0.16	1.01±0.13②
通窍活血汤中剂量组	12	3.37±0.33	2.95±0.38	1.42±0.01②	0.63±0.25②
通窍活血汤高剂量组	12	3.35±0.34	1.76±0.02②	0.82±0.02②	0.51±0.12②

注：①与同期假手术组比较，$P<0.01$；②与同期模型组比较，$P<0.05$

表 2　各组大鼠治疗不同时间点海马组织中 TNF-α、IL-1β 含量比较（$\bar{x}\pm s$）　pg/mL

组　别	鼠数	第 3 天		第 7 天	
		TNF-α	IL-1β	TNF-α	IL-1β
假手术组	3	5.36±0.12	6.22±0.23	5.11±0.87	5.97±0.23
模型组	3	9.11±0.98①	10.56±0.23①	8.86±0.16①	9.98±0.18①
通窍活血汤低剂量组	3	8.02±0.12②	9.21±0.11②	7.91±0.41②	8.67±0.32②
通窍活血汤中剂量组	3	7.01±0.26②	8.11±0.32②	6.33±0.15②	7.29±0.31②
通窍活血汤高剂量组	3	6.92±0.14②	6.76±0.68②	5.94±0.22②	6.03±0.18②

注：①与同期假手术组比较，$P<0.01$；②与同期模型组比较，$P<0.05$

表 3　各组大鼠治疗不同时间点海马齿状回区 NQO-1、Nrf2 蛋白表达比较（$\bar{x}\pm s$）　%

组　别	鼠数	第 3 天		第 7 天	
		NQO-1	Nrf2	NQO-1	Nrf2
假手术组	3	27.82±1.14	38.65±1.47	38.65±1.47	70.12±1.53
模型组	3	20.42±1.53①	22.54±0.83①	22.54±0.83①	44.37±2.47①
通窍活血汤低剂量组	3	22.92±1.41	30.96±2.58②	30.96±2.58②	63.75±3.22②
通窍活血汤中剂量组	3	23.04±2.05②	31.88±2.38②	31.88±2.38②	64.46±4.14②
通窍活血汤高剂量组	3	28.06±1.21②	38.24±1.62②	38.24±1.62②	69.21±3.26②

注：①与同期假手术组比较，$P<0.01$；②与同期模型组比较，$P<0.05$

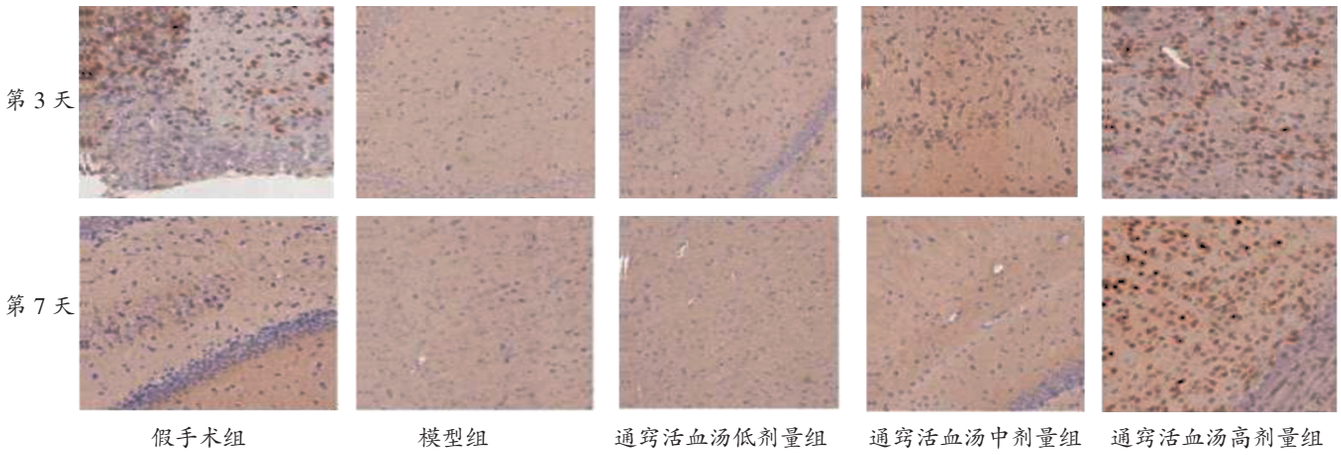


图 1　各组大鼠治疗不同时间点海马齿状回区 NQO-1 蛋白表达比较（×400）

3　讨论

氧化应激是 SAH 后继发脑损伤过程中的重要环节之一。SAH 后，大量富含高血氧饱和度动脉血进入蛛网膜下隙，脑组织受到刺激，引起脑血管痉挛，释放炎性因子，造成脑细胞缺血缺氧，引起脑神经元去极化，血脑屏障被破坏，最终引起不可逆的脑损伤[12-14]。中医将 SAH 归属于中风范畴，其病机为血溢脉外，离经之血积于脑腑，治疗当以通窍祛瘀、行气活血通络为主。既往研究证实，通窍活血汤治疗中风、颅脑损伤、失眠、头痛、头晕等疾病的疗效已得到肯定[15-17]。前期研究发现，通窍活血汤加味联合耳穴放血不仅能够促进脑血流，改善微循环，而且能缓解脑外伤后头痛症状，改善患者预后[18]。金正龙等[19]研究表明，通窍活血汤可以改善脑

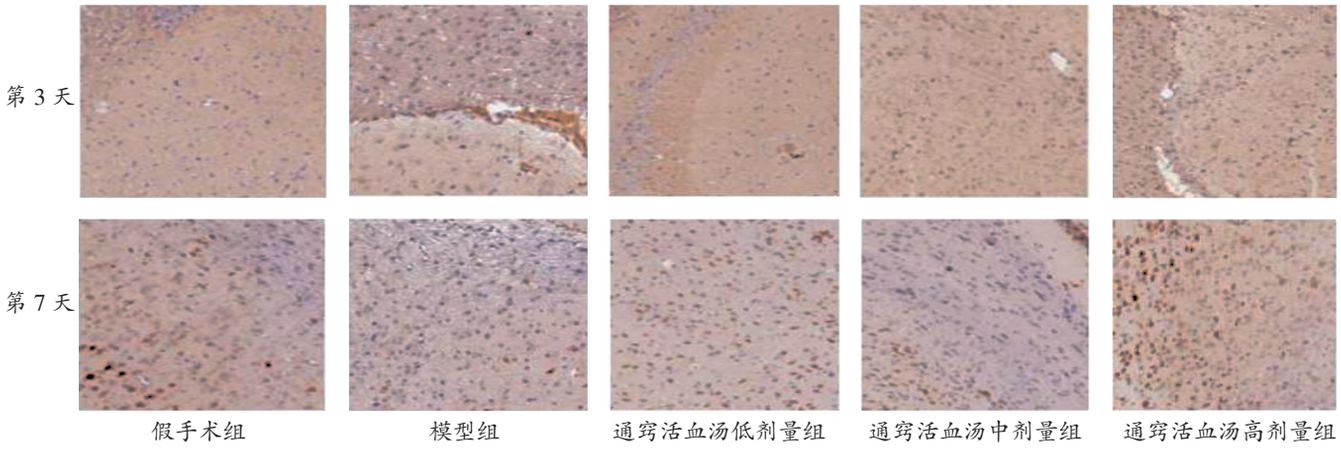


图2 各组大鼠治疗不同时间点海马齿状回区 Nrf2 蛋白表达比较(×400)

缺血患者脑血流，抑制炎性反应，保护神经细胞，改善认知功能。通窍活血汤中有效成分能减少氧自由基，抑制氧化应激反应，保护内皮细胞功能，改善局部脑循环[20]。研究发现，改良二次枕大池注血法制作 SAH 大鼠模型主要用于研究急性和迟发性脑变化，其注血量和注射速度均可控，造模死亡率低，损伤程度较轻[21]。故本研究 SAH 选择改良二次枕大池注血法制作 SAH 大鼠模型。

Nrf2-ARE 信号通路是体内经典的内源性抗氧化反应信号通路之一，当机体受到各种损伤后，内源性抗氧化系统的核心调控枢纽 Nrf2 通路被广泛激活，诱导下游靶向基因的大量转录，上调抗氧化酶表达；通过负反馈调节，抑制炎性因子释放，减轻氧化应激反应，修复细胞损伤和延缓细胞凋亡[22-23]。李桃等[24]研究表明，Nrf2 基因敲除小鼠炎性因子 TNF-α、IL-1β 浓度表达上升，加重炎性反应与脑损伤，进一步说明 Nrf2-ARE 信号通路具有抗氧化应激，减轻炎性反应作用。NQO-1 在正常组织中呈低表达，在氧化应激状态下时，会被大量诱导表达，以增加机体抗氧化能力，减少炎性因子释放，保护脏器功能平衡，发挥机体抗氧化应激损伤作用。本实验结果显示，通窍活血汤高、中、低剂量灌胃干预 SAH 大鼠后，治疗第 3、5、7 天通窍活血汤高、中剂量组大鼠 Bederson 神经功能评分均低于模型组；治疗第 3、7 天，通窍活血汤高、中、低剂量组海马组织 TNF-α、IL-1β 浓度明显低于模型组，NQO-1、Nrf2 蛋白表达均高于模型组。提示通窍活血汤可以通过降低 SAH 大鼠海马组织 TNF-α、IL-1β 浓度，提高 NQO-1、Nrf2 蛋白表达，发挥抗氧化应激损伤，减轻炎性反应，从而提高大鼠神经保护功能。常红恩等[25]研究表明，通窍活血汤可以降低脑缺血再灌注损伤大鼠血清中 TNF-α、白细胞介素-6 水平，减轻脑缺血大鼠再灌注损伤，从而保护大鼠神经功能。现代药理研究证实，当归可扩张血管，降低毛细血管通透性，改善细胞缺氧状态；赤芍、川芎可调节血液流变学，降低血小板黏附性，减少血栓形成，改善脑微循环与局部微循环，增强神经再生功能，促进海马及皮质神经元损伤后再生修复[26]。

综上所述，通窍活血汤可以发挥抗氧化应激损伤作用，减轻炎性反应，改善 SAH 大鼠神经功能，其机制可能与通过上调 Nrf2-ARE 信号通路下游靶向基因 NQO-1、Nrf2 蛋白表达有关。

[参考文献]

[1] MACDONALD R L, SCHWEIZER T A. Spontaneous subarachnoid haemorrhage[J]. Lancet, 2017, 389(10069): 655-666.

[2] 马景鑑，王东，张建军，等. 法舒地尔治疗蛛网膜下腔出血后脑血管痉挛有效性和安全性的临床评价——Ⅳ期临床试验报告[J]. 中华神经外科杂志，2011，27(11)：1117-1122.

[3] CHEN Y, WRIGHT N, GUO Y, et al. Mortality and recurrent vascular events after first incident stroke: a 9-year community-based study of 0.5 million Chinese adults[J]. The Lancet Global Health, 2020, 8(4): e580-e590.

[4] WASHINGTON C W, DERDEYN C P, DHAR R, et al. A Phase I proof-of-concept and safety trial of sildenafil to treat cerebral vasospasm following subarachnoid hemorrhage[J]. Journal of Neurosurgery, 2015, 124(2): 1-10.

[5] ANSARI N, KHODAGHOLI F, AMINI M. 2-Ethoxy-4,5-diphenyl-

1,3-oxazine-6-one activates the Nrf2/HO-1 axis and protects against oxidative stress- induced neuronal death[J]. Eur J Pharmacol, 2011, 658(2-3): 84-90.

[6] AYER R E, ZHANG J H. Oxidative stress in subarachnoid haemorrhage: significance in acute brain injury and vasospasm[J]. Springer Vienna, 2008, 104: 33-41.

[7] 包翼亨. CGRP抑制对SAH早期脑损伤中炎症反应的影响[D]. 福州：福建医科大学，2021.

[8] 林存兰. 通窍活血汤对蛛网膜下腔出血的血液流变学影响[D]. 广州：广州中医药大学，2021.

[9] 崔佳佳. 通窍活血汤联合针刺治疗阿尔茨海默病气滞血瘀证临床研究[J]. 新中医，2021，53(1)：27-30.

[10] 马朝晖，李贵福，罗望池，等. 改良“二次枕大池注血法”构建Wistar大鼠蛛网膜下腔出血模型[J]. 中国神经精神疾病杂志，2012，38(3)：190-193.

[11] ROSAND J, ESKEY C, CHANG Y, et al. Dynamic Single-Section CT Demonstrates Reduced Cerebral Blood Flow in Acute Intracerebral Hemorrhage[J]. Cerebrovascular Diseases, 2002, 14(3/4): 214-220.

[12] 廖艺斐，张慧，邹良玉. 神经炎症在动脉瘤性蛛网膜下腔出血后早期脑损伤中的作用[J]. 中国卒中杂志，2021，16(1)：92-96.

[13] 梁兆俊，冯娅妮，石强. 右美托咪定在大鼠蛛网膜下腔出血后对海马神经元炎性细胞因子的影响[J]. 中国药理学通报，2020，36(6)：157-158.

[14] 李剑敏，孙亦明，邱志华，等. 丁苯酞对外伤性蛛网膜下腔出血患者脑循环及海马组织炎症因子水平的影响分析[J]. 中国实用医药，2022，17(2)：159-162.

[15] 陈青微，姚奏英，张胜娟，等. 通窍活血汤对脑出血急性期神经功能和生活质量的影响[J]. 中华中医药学刊，2021，39(5)：229-232.

[16] 陈银星，陈水安，陈伟丽. 通窍活血汤加减贴敷涌泉穴辅助治疗突发性耳聋气滞血瘀证临床研究[J]. 新中医，2021，53(11)：202-204.

[17] 杜勇，张淑敏，王雷，等. 基于网络药理学探讨通窍活血汤治疗颅脑损伤的作用机制[J]. 世界中医药，2021，16(15)：2282-2288，2292.

[18] 魏绪旺，朱平，孙长忠，等. 通窍活血汤加味联合耳穴放血疗法治疗脑外伤综合征临床研究[J]. 新中医，2021，53(3)：21-24.

[19] 金正龙，余涛，梁敏莹，等. 通窍活血汤联合丁苯酞对老年慢性脑缺血患者海马组织S100β、HMGB1、sICAM-1、CXCL12、Lp-PLA_2的影响[J]. 中药材，2021，44(5)：1242-1246.

[20] 戴纪恒，吴思鹏，汪宁，等. 通窍活血汤含药脑脊液对OGD/R损伤大鼠BMECs的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志，2020，26(14)：42-52.

[21] QIN Y, GU J W, LI G L, et al. Cerebral vasospasm and corticospinal tract injury induced by a modified rat model of subarachnoid hemorrhage[J]. Journal of the Neurological Sciences, 2015, 358(1/2): 193-200.

[22] 肖丽君，周燕，汤宇飞. 银杏叶提取物对间歇性低氧小鼠氧化应激及胰腺Nrf2-ARE通路蛋白表达的干预作用[J]. 山东医药，2020，60(8)：19-23.

[23] 李奕. 破血化瘀、填精补髓中药汤剂对实验性脑出血小鼠Keap1-Nrf2-ARE信号通路影响的研究[D]. 长春：长春中医药大学，2021.

[24] 李桃，王汉东，丁宇，等. Nrf2基因敲除对小鼠蛛网膜下腔出血后脑损伤的作用[J]. 医学研究生学报，2014，27(11)：1128-1132.

[25] 常红恩，郑娜，安红伟，等. 通窍活血汤对大鼠脑缺血再灌注损伤后血清中TNF-α及IL-6水平的影响[J]. 成都中医药大学学报，2018，41(3)：18-20.

[26] 张立娟，张蔷，娄原，等. 通窍活血汤通过调节星形胶质细胞Glu-Gln循环降低Glu兴奋性毒性改善CIRI大鼠的神经功能[J]. 中国实验方剂学杂志，2021，27(22)：31-40.

（责任编辑：冯天保，沈棠坤）