◇ 基础研究 ◇

http://www.cjcpt.com
2026 Oct; 31(10): 1320-1329

芪红通络颗粒调节线粒体动力学紊乱改善脑缺血再灌注损伤作用机制

娄　奇[1]，郭安然[1]，袁淑婷[1]，王　婷[1]，贾会玉[2]，朱小雨[2]，杨冬梅[2]，杨满琴[3]，罗胜勇[1,2]

[1]安徽医科大学药学科学学院，合肥 230032，安徽；
[2]安徽省医学科学研究院，安徽第二医学院，合肥 230601，安徽；
[3]安徽中医药大学第二附属医院，合肥 230061，安徽

摘要　**目的**：研究芪红通络颗粒对脑缺血再灌注损伤后线粒体动力学紊乱的调节作用。**方法**：取SD大鼠108只，随机分为假手术组，模型组，金钠多片组（0.022 g/kg），芪红通络颗粒高（10.8 g/kg）、中（5.4 g/kg）、低剂量（2.7 g/kg）组，每组18只。线栓法建立大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤模型，缺血2 h后恢复再灌，各组大鼠术前连续2 d、术后连续3 d灌胃给药，每日1次。再灌72 h后，改良神经功能缺损评分（modified neurological severity score，mNSS）及转棒实验进行神经功能缺损评分；TUNEL法测定皮层组织细胞凋亡；酶标仪测定线粒体膜电位（MMP）及活性氧（ROS）水平，生化试剂盒测定ATP及线粒体呼吸链复合物Ⅰ~Ⅳ活性；电镜观察线粒体超微结构改变；Western blot测定脑组织中Caspase-3、Bax、Bcl-2、Drp1、Fis1、Opa1、Mfn1/2蛋白表达。**结果**：与模型组比较，芪红通络颗粒可明显降低mNSS评分值，增加大鼠在转棒上时间，抑制皮层组织细胞凋亡率，减少Caspase-3、Bax蛋白表达，促进Bcl-2蛋白表达；显著升高线粒体膜电位及ATP生成，降低ROS水平，增加呼吸链复合物Ⅰ~Ⅳ活性；明显改善线粒体损伤，抑制Drp1、Fis1蛋白表达，增加Opa1、Mfn1/2蛋白表达水平（$P<0.05$或$P<0.01$）。**结论**：芪红通络颗粒对大鼠脑缺血再灌注损伤有明显的保护作用，其机制可能与调节线粒体动力学平衡，从而减轻氧化应激及细胞凋亡有关。

关键词　芪红通络颗粒；缺血再灌注；氧化应激；凋亡；线粒体动力学

中图分类号：R965.2；R743.3
文献标志码：A
文 章 编 号：1009-2501(2026)10-1320-10
doi: 10.12092/j.issn.1009-2501.2026.10.003

缺血性脑卒中是临床常见疾病，其复发率、致残率和死亡率均较高，已成为全球性重大的公共卫生问题，是目前威胁人类健康的三大疾病之一[1]。缺血性脑卒中治疗的基本策略主要包括尽快恢复血流和神经保护。但脑血流再灌注后的各种因素可能导致神经细胞损伤进一步加重，反而出现更严重的脑功能障碍，产生脑缺血再灌注损伤（cerebral ischemia reperfusion injury，CIRI）。因此，抑制再灌注后引起的二次损伤，保护受损的神经细胞仍然是治疗缺血性脑卒中更为有效的策略。缺血再灌注损伤是一种多因素参与的复杂病理过程，众多的证据显示，线粒体动力学（线粒体融合与分裂）紊乱在脑缺血再灌注损伤的病理发展过程中起着至关重要的作用[2-6]。线粒体动力学紊乱后，线粒体分裂增加可引起钙超载、活性氧（reactive oxygen species，ROS）大量释放、细胞能量代谢障碍及细胞凋亡等，从而加重脑缺血再灌注损伤。因此，以调控线粒体动力学平衡为目标，寻找更为有效干预药物已成为治疗缺血性中风的关键，具有重要的临床意义。芪红通络颗粒

2025-10-14 收稿　2025-12-28 修回
安徽省自然科学基金项目（2108085MH322）；安徽省高等学校重大项目（2024AH040120）；安徽省高等学校重点项目（2024AH051013）
娄奇，女，硕士研究生，研究方向：心、脑血管药理。
E-mail: 2446063266@qq.com
罗胜勇，通信作者，男，博士，研究员，研究方向：心、脑血管药理。
E-mail: lsy770728@126.com

是由安徽中医药大学第二附属医院张道宗名老中医研制的临床经验方，其组成为红花、黄芪、全蝎、蜈蚣、当归、菊花、鸡血藤、水蛭、僵蚕、白附子共 10 味中药。本课题组前期研究表明芪红通络颗粒对脑缺血再灌注损伤具有较好的保护作用[7]，但其作用机制尚未明了。本研究通过建立大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤模型，重点探讨芪红通络颗粒对脑缺血再灌注损伤后线粒体动力学紊乱的影响，进一步阐明其作用机制，为中药治疗缺血性脑卒中提供新的理论依据。

1　材料与方法

1.1　药品与试剂　芪红通络颗粒，由安徽中医药大学第二附属医院药剂科研制，批号：20241223，10 g/每袋；金钠多片（银杏叶提取物），批号：2452717，由德国威玛舒培博士药厂提供；TUNEL 检测试剂盒（货号：C1089）、BCA 蛋白定量试剂盒（货号：P0010S）、RIPA 裂解液（货号：P0013B）、线粒体膜电位测定试剂盒（货号：C2003S-2），均由碧云天公司提供；呼吸链复合物Ⅰ~Ⅳ，货号：AKOP005-8M，由北京盒子生工科技有限公司提供；ATP 测定试剂盒，货号：A095-1-1，由南京建成生物工程研究所提供，ROS 试剂盒，货号：HY-D1055，由美国 MCE 公司提供；β-actin 内参（货号：AF6266）、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3（Caspase-3，货号：AF3311）、B 淋巴细胞瘤-2（Bcl-2，货号：AF6139）、Bcl-2 相关 X 蛋白（Bax，货号：AF0120）抗体，均由美国 Affinity 公司提供，动力相关蛋白 1（Drp1，货号：12957-1-AP）、裂变蛋白 1（Fis1，货号：66635-1-Ig）、视神经萎缩症蛋白 1（Opa1，货号：27733-1-AP）、线粒体融合蛋白 1（Mfn1，货号：66776-1-Ig）、线粒体融合蛋白 2（Mfn2，货号：12186-1-AP）抗体，均由美国 Protentech 公司提供。

1.2　动物　雄性 SD 大鼠，体质量 180 ~ 220 g，由辽宁长生生物技术股份有限公司提供，质量合格证号：210726250100775246，实验动物通过安徽省医学科学研究院动物伦理会批准（编号：AAMS-AER-2025-0002），自由饮食，温度恒定为（22±2）℃，湿度保持为（50±20）%，自然采光，适应性饲养 1 周后进行分组造模。

1.3　实验仪器　MODEL 550 酶标仪，由美国 BIO-RAD 公司生产；AxioscopeA1 病理成像系统，由德国蔡司公司生产；TGL18W 台式高速冷冻离心机，由长沙英泰仪器有限公司生产；Analytik Jena UVP Chemstudio 多功能凝胶成像仪，由德国耶拿分析仪器股份公司生产；大鼠转棒仪，由江苏赛昂斯生物科技有限公司生产；JEM-1230 型透射电镜，由日本 JEOL 公司生产。

1.4　分组给药及脑缺血再灌注损伤模型制作　实验随机分为假手术组，模型组，金钠多片组（Ginadol，0.022 g/kg），芪红通络颗粒高（10.8 g/kg）、中（5.4 g/kg）、低剂量（2.7 g/kg）组。各组动物建立模型前灌胃给予相应药物 2 d，模型建立后继续给药 3 d，每日 1 次，末次给药 1 h 后进行相关指标检测，假手术组及模型组给予等容积生理盐水。大鼠腹腔注射 3% 戊巴比妥钠进行麻醉，仰卧位固定，剪去颈部毛发，纵向剪开切口，暴露出右颈外动脉、右颈内动脉和右侧颈总动脉。颈外动脉距离颈总动脉分叉部 1 cm 处结扎并剪断，距颈外动脉和颈总动脉分叉部 0.5 cm 处剪开一小切口，用线栓（直径 0.24 mm）经切口插入颈内动脉至有轻微阻力感时停止，阻塞 2 h 后，拔出血管内线栓，使血流恢复再灌注建立脑缺血再灌注损伤模型。动物苏醒后，手术对侧肢体出现运动障碍作为模型制备成功的判断标准[8]。假手术组大鼠除不插入线栓外，其余操作与模型组相同。

1.5　神经功能缺损症状评分　各组大鼠再灌注损伤 3 d 后进行神经功能缺损测定，用改良的神经功能严重程度评分法（modified neurological severity scores，mNSS）和转棒实验进行评价。mNSS 实验分别从运动、感觉、平衡、反射丧失或不正常运动共 4 个方面进行评分，分数越高表明神经功能受损越严重，最高分为 18 分[9]。转棒实验中，所有动物在造模前接受 3 d 训练，每天进行 3 次训练，每次持续 5 min。转棒的转速固定为每分钟 16 转（16 r/min）。再灌注 72 h 后，大鼠进行正式测试。测量每只动物在转盘上行走且未掉落的时间，每次测量记录 3 次，每次试验之间的间隔为 15 min。计算每只动物 3 次测定时间的平均值[10]。

1.6　TUNEL 法检测大鼠皮层组织中细胞凋亡率　将右侧大脑皮层组织切片浸泡于 4% 的多聚甲醛溶液中 30 min，然后用 0.3% 的 Triton X-100 处理 5 min。PBS 缓冲液清洗后，将组织切片放置在湿润培养箱中与 TUNEL 反应混合物一起孵育 1 h，

温度为 37 ℃。随后，用 4’, 6-二脒基-2-苯基吲哚（DAPI）对细胞核进行标记。荧光显微镜观察并拍摄 TUNEL 阳性（绿色）和 DAPI 阳性（蓝色）染色结果，在放大 200 倍视野随机选择 5 个不重叠的视野计数 TUNEL 阳性细胞和总细胞数的比例，以 TUNEL 阳性细胞率代表细胞凋亡率[11]。

1.7　线粒体膜电位及 ROS 测定　取新鲜皮层脑组织，经预冷的 PBS 冲洗、称重并剪碎后，参照线粒体分离及蛋白提取试剂盒说明书进行后续操作。每 100 mg 组织加入 1 mL 预冷的线粒体分离试剂 A，在冰浴条件下进行机械匀浆（约 10 次）。匀浆液经 700 *g*、4 ℃ 离心 10 min 后，收集上清；再于 10 000 *g*、4 ℃ 条件下离心 10 min，收集沉淀，即得粗线粒体组分。用预冷的线粒体保存缓冲液重悬线粒体沉淀，采用 BCA 法测定蛋白浓度，并将所有样本统一调整至相同蛋白浓度，置冰上备用。随后，分别进行线粒体膜电位与活性氧检测。膜电位检测：参照 JC-1 试剂盒说明书，取 0.9 mL JC-1 染色工作液，加入 0.1 mL 线粒体蛋白悬液（含 10 ~ 100 μg 蛋白），混匀后于 37 ℃ 避光孵育 20 min，使用荧光酶标仪检测相对荧光单位（relative fluorescence unit, RFU），激发波长 485 nm，发射波长 590 nm。活性氧检测：参照 MitoSOX Red 试剂盒说明书，将线粒体蛋白悬液与 5 μmol/L MitoSOX Red 探针在 37 ℃ 避光共孵育 30 min，随后使用荧光酶标仪检测 RFU，激发波长 488 nm，发射波长 525 nm[12]。

1.8　ATP 测定　准确称取皮层脑组织重量，按重量（g）:体积（mL）=1:9 的比例，加入 9 倍体积的冷双蒸水，冰水浴匀浆，制成 10% 的匀浆液（取出部分 3 500 r/min 离心 10 min，取上清测定蛋白浓度），再置于沸水浴中煮 10 min，取出混匀抽提 1 min，3 500 r/min 离心 10 min，取上清液待测。按照 ATP 检测试剂盒说明书进行下一步操作，最后混匀，37 ℃，静置 5 ~ 10 min，636 nm，光径 0.5 cm，双蒸水调零，分光光度计测各管吸光度值并计算出各组的 ATP 含量[13]。

1.9　线粒体呼吸链复合物测定　分别称取约 0.1 g 皮层脑组织，加入 1 mL 提取液 A，冰浴研磨至匀浆，4 ℃ 条件下，600 *g* 离心 10 min，取上清，4 ℃ 12 000 *g* 离心 15 min；离心后沉淀中分别加入 200 μL 提取液 A 和 200 μL 提取液 B，冰浴超声破碎（功率 20% 或 200 W，超声 5 s，间隔 10 s，重复 15 次）即为待测样本，按照操作说明书依次加入检测试剂，最后充分混匀，用酶标仪测各组的吸光值，按照所给公式计算出呼吸链复合物Ⅰ~Ⅳ活性[14]。

1.10　电镜观察线粒体超微结构　取右侧大脑皮层组织，迅速置于预冷的戊二醛固定液中，于 4 ℃ 条件下进行前固定。随后使用磷酸缓冲液（PBS）漂洗 4 次，每次 1 h。完成后，采用 1% 锇酸在 4 ℃ 下进行后固定 2 h，再用双蒸水（ddH_2O）漂洗 3 次，每次 10 min。接下来，使用 2% 醋酸铀水溶液对组织块进行快染 2 h。随后进行梯度脱水处理：依次经过 50%、70%、90%、100% 酒精各一次，每次 15 min；再使用 100% 丙酮处理两次，每次 20 min。脱水完成后，进行渗透处理：首先在室温下使用 100% 丙酮与包埋剂按 1:1 比例配制的混合液渗透 2 h，随后转入纯包埋剂中，于 30 ℃ 条件下过夜渗透。最后，将样本进行包埋、聚合，并制备厚度为 70 ~ 100 nm 的超薄切片。切片经柠檬酸铅染色、室温晾干后，置于透射电子显微镜下观察[15]。

1.11　Western blot 检测皮层组织中相关蛋白表达　取大鼠缺血区半暗带组织样本，采用 RIPA 缓冲液裂解（冰上处理 30 min），随后以 12 000 *g* 离心 15 min（4 ℃）。使用 BCA 法测定蛋白浓度。取 20 ~ 40 μg 蛋白/道的样品进行变性（95 ℃，8 min），经 SDS-PAGE 分离后转印至 PVDF 膜。用 5% 脱脂牛奶封闭后，将膜与以下一抗在 4 ℃ 孵育过夜：Procaspase-3（1:1 000）、Bcl-2（1:1 000）、Bax（1:2 000）、cleaved-caspase-3（1:10 000）、Drp1（1:5 000）、Fis1（1:20 000）、Opa1（1:2 000）、Mfn1（1:5 000）、Mfn2（1:20 000）、β-actin（1:2 000），经 3 次 10 min PBST 洗涤后，二抗在室温下孵育 1 h。最后，使用增强化学发光（ECL）试剂显影，检测目标蛋白条带信号[16]。

1.12　统计学处理　采用 SPSS 16.0 软件系统进行统计学处理，计量资料均以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。组间比较采用单因素方差分析（one-way ANOVA），经方差齐性检验，方差齐时采用 *t* 检验，方差不齐时采用 Dunnett’s T3 检验，$P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2　结果

2.1　芪红通络颗粒对大鼠神经功能缺损的影响　使用 mNSS 及转棒实验评价大鼠神经功能。

mNSS 结果显示，假手术组大鼠神经功能正常，未见明显神经功能缺损，评分为 0；与假手术组比较，模型组大鼠出现明显神经缺损症状，评分值显著增高（*P*<0.01）；与模型组比较，金钠多片组及芪红通络颗粒低、中、高剂量均可明显降低大鼠神经缺损的分值（*P*<0.05 或 *P*<0.01）；此外，芪红通络颗粒中、高剂量组效果与金钠多片组基本相当，其中高剂量组效果更为明显，但差异无统计学意义。转棒实验结果显示，与假手术组比较，模型组大鼠停留时间明显缩短（*P*<0.01）；与模型组比较，金钠多片组及芪红通络颗粒低、中、高剂量均可显著增加大鼠在转棒上停留时间（*P*<0.05 或 *P*<0.01）；与金钠多片组比较，芪红通络颗粒中、高剂量组效果基本相当，其中高剂量组效果更为明显，但差异无统计学意义。见 Fig.1。

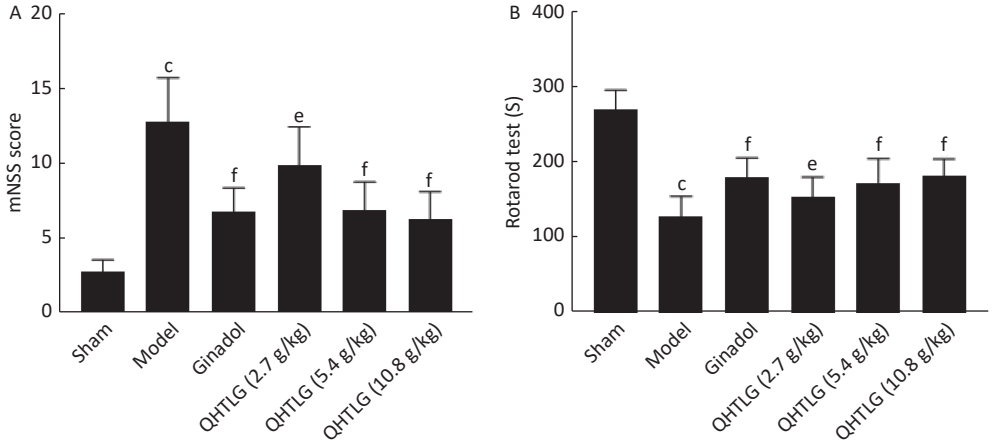


Fig.1　Effect of QHTLG on the neurological functional impairment in rats ($\bar{x}\pm s$, n=8)

[c]*P*<0.01, compared with sham group; [e]*P*<0.05, [f]*P*<0.01, compared with model group.

2.2　芪红通络颗粒对皮层组织细胞凋亡的影响　采用 TUNEL 法测定皮层组织中细胞凋亡率。结果显示，与假手术组比较，模型组 TUNEL 阳性细胞比例明显增加（*P*<0.01）；与模型组比较，芪红通络颗粒低、中、高剂量均可明显降低 TUNEL 阳性细胞比例（*P*<0.05 或 *P*<0.01）。见 Fig.2。

2.3　芪红通络颗粒对皮层组织凋亡相关蛋白的影响　与假手术组比较，模型组皮层组织中 Cl-Caspase-3 和 Bax 蛋白表达明显增加（*P*<0.01），Bcl-2 蛋白表达明显降低；与模型组比较，芪红通络颗粒低、中、高剂量均可明显降低 Cl-caspase-3、Bax 蛋白表达，显著升高 Bcl-2 蛋白表达水平（*P*<0.05 或 *P*<0.01）。见 Fig.3。

2.4　芪红通络颗粒对皮层组织中 MMP、ATP 及 ROS 的影响　与假手术组比较，模型组皮层组织中 MMP 和 ATP 明显降低（*P*<0.01），而 ROS 产生明显增加（*P*<0.01）。与模型组比较，芪红通络颗粒低、中、高剂量均可明显增加 MMP 水平和 ATP 生成，显著抑制 ROS 的产生（*P*<0.05 或 *P*<0.01）。见 Tab.1。

2.5　芪红通络颗粒对皮层组织中线粒体呼吸链复合体活性的影响　与假手术组比较，模型组皮层组织中呼吸链复合体Ⅰ~Ⅳ活性明显降低（*P*<0.01）。与模型组比较，芪红通络颗粒中、高剂量均可明显增加复合体Ⅰ~Ⅲ活性（*P*<0.05），低、中、高剂量则对复合体Ⅳ活性均有明显升高作用（*P*<0.05 或 *P*<0.01）。见 Fig.4。

2.6　芪红通络颗粒对皮层组织中线粒体超微结构的影响　假手术组大鼠皮质神经元内观察到大量线粒体，双层膜结构完整，线粒体嵴正常排列，无空泡。模型组大鼠皮质神经元中线粒体损伤较重，表现为线粒体肿胀，双层膜结构消失，线粒体嵴断裂，并有空泡样变，细胞器数量减少。金钠多片组及芪红通络颗粒中、高剂量可明显减轻缺血再灌注引起的线粒体形态破坏，线粒体内外膜结构较完整，线粒体肿胀及空泡状改变减轻，线粒体嵴的数目和形态趋于正常。见 Fig.5。

2.7　芪红通络颗粒对皮层组织中线粒体动力学相关蛋白表达的影响　与假手术组比较，模型组皮层组织中线粒体分裂相关蛋白 Drp1、Fis1 表达明显增加（*P*<0.01），融合相关蛋白 Opa1、Mfn1/Mfn2 表达明显下降（*P*<0.01）。与模型组比较，芪红通络颗粒中、高剂量可显著抑制 Drp1、Fis1 蛋白表达水平（*P*<0.05），但低剂量作用不明显（*P*>

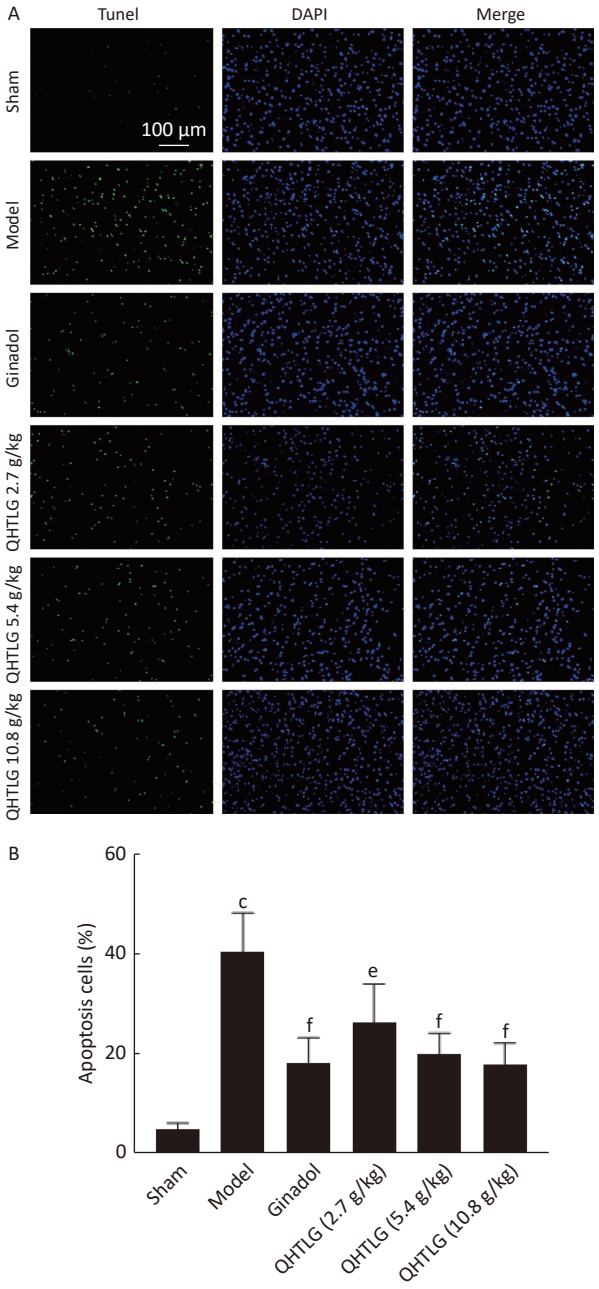


Fig.2 Effect of QHTLG on the apoptosis rate in cortical tissue ($\bar{x}\pm s$, n=5)

A: representative TUNEL immunofluorescence staining images (green); B: quantification of apoptotic neurons. ^{c}P<0.01, compared with sham group; ^{e}P<0.05, ^{f}P<0.01, compared with model group.

0.05)；低、中、高 3 个剂量均可显著增加 Opa1 蛋白表达，中、高剂量对 Mfn1/2 蛋白有明显促进作用（P<0.05），但低剂量作用不明显（P>0.05）。见 Fig.6。

3 讨论

中药具有多靶点、多方向及多途径等优点，并且不良反应小，因此充分发掘中医药宝库，从中筛选具有神经保护作用的药物具有重要意义。本课题组前期研究表明，芪红通络颗粒可明显减少缺血再灌注损伤后的脑梗死体积，改善神经细胞水肿、溶解及神经胶质细胞淡染等病理改变。缺血性中风治疗的最终目的是改善患者的神经功能[17]，本研究采用了两种行为学测试评价芪红通络颗粒对大鼠脑缺血再灌注后神经功能缺损的影响。结果显示，与模型组比较，芪红通络颗粒低、中、高剂量均可明显降低大鼠神经缺损的分值，并显著增加动物在转棒上停留时间，以上结果进一步确认芪红通络颗粒对大鼠脑缺血再灌注损伤有明显的保护作用。

能量代谢失常是脑缺血后神经元死亡的始动因子，而再灌注后引起的线粒体损伤及功能紊乱是造成细胞能量代谢障碍的主要因素，因此线粒体功能障碍已被认为是缺血再灌注损伤的关键事件。功能障碍的线粒体可产生大量 ROS，ROS 又以线粒体自身为首要攻击目标，导致线粒体呼吸链复合物活性下降，三羧酸循环受阻，ATP 合成减少，同时也引起更多电子漏和多种自由基的释放，造成 DNA、蛋白质和脂质过氧化[18]。MMP 是由三羧酸循环产生的能量传递给电子并经呼吸链传递过程中，将质子从线粒体内膜的基质侧泵到内膜外所形成的跨膜电位差，MMP 下降是线粒体反映线粒体功能障碍的重要指标[19]。细胞凋亡主要有线粒体通路和死亡受体通路两种形式，其中线粒体通路是启动凋亡程序的关键。线粒体受损后，MMP 降低，线粒体中的细胞色素 C 释放入胞质，在多种级联反应后启动细胞凋亡的关键酶 caspase-3，引起促凋亡因子 Bax 上调及抑凋亡因子 Bcl-2 的下降，最终触发凋亡程序，引发细胞凋亡，加重神经元损伤[20]。本研究显示，与模型组比较，芪红通络颗粒可明显降低脑组织中 ROS 产生，增加 ATP 含量及 MMP 水平，升高呼吸链复合物Ⅰ~Ⅳ活性；显著降低 caspase-3、Bax 蛋白表达，增加 Bcl-2 蛋白表达水平，并抑制神经细胞凋亡率。电镜观察线粒体超微结构也发现芪红通络颗粒可明显减轻缺血再灌注引起的线粒体形态破坏，表现为线粒体内外膜结构较完整，线粒体肿胀及空泡状改变减轻，线粒体嵴的数目和形态趋于正常。以上结果表明，芪红通络颗粒可明显减轻

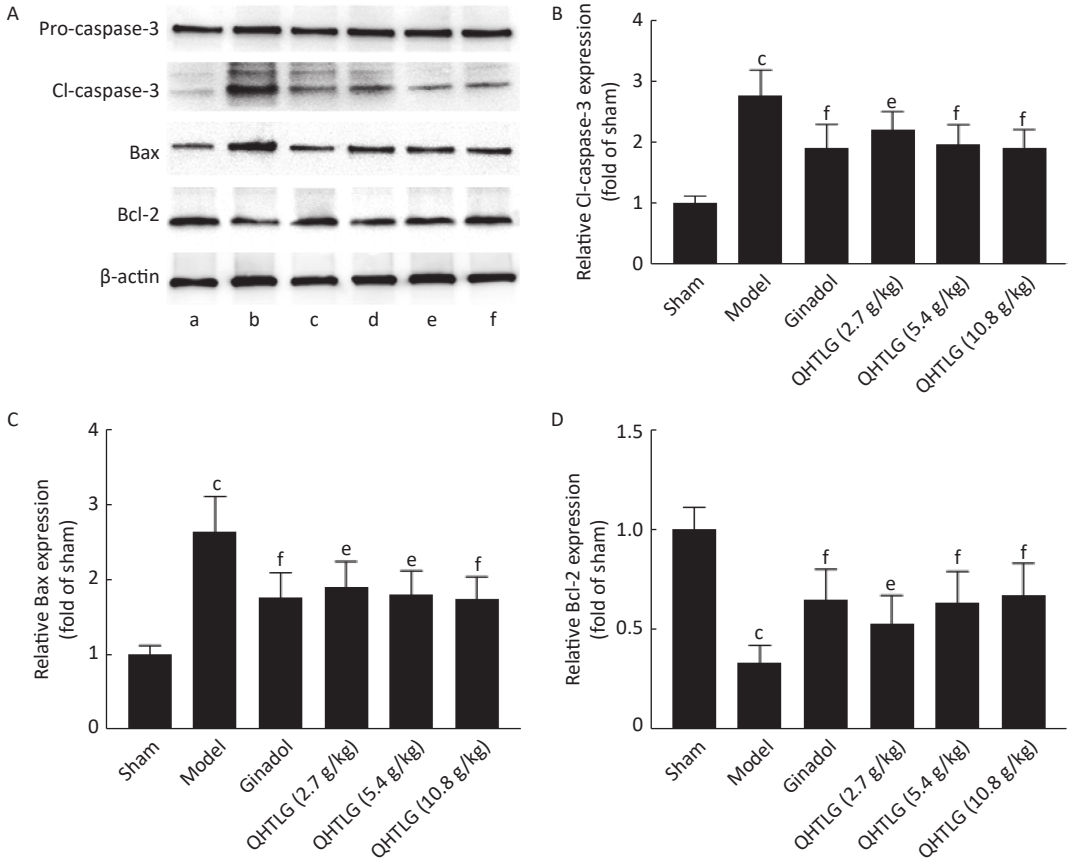


Fig.3　Effect of QHTLG on apoptosis-related proteins in the cortical tissue ($\bar{x}\pm s$, n=5)

A: Western blotting bands of apoptosis-related proteins; a: Sham; b: Model; c: Ginadol; d: QHTLG 2.7 g/kg; e: QHTLG 5.4 g/kg; f: QHTLG 10.8 g/kg; B-D: densitometric analysis of Cl-caspase-3, Bax and Bcl-2 expression. ^{c}P<0.01, compared with sham group; ^{e}P<0.05, ^{f}P<0.01, compared with model group.

Tab.1　Effects of QHTLGs on MMP, ATP and ROS in the cortical tissue ($\bar{x}\pm s$, n=5)

Group	Dose (g/kg)	MMP (RFU)	ROS (RFU)	ATP (μmol/g prot)
Sham	-	5.64±0.76	474.80±75.22	391.80±35.77
Model	-	2.06±0.62^{c}	755.20±87.11^{c}	228.20±25.07^{c}
Ginadol	0.022	4.16±0.87^{f}	552.60±78.41^{f}	331.20±39.78^{f}
QHTLG	2.7	3.18±0.81^{e}	613.20±100.51^{e}	283.40±42.07^{e}
	5.4	4.08±0.85^{f}	561.40±79.53^{f}	324.40±40.53^{f}
	10.8	4.24±0.92^{f}	544.80±70.11^{f}	334.80±37.86^{f}

^{c}P<0.01, compared with sham group; ^{e}P<0.05, ^{f}P<0.01, compared with model group.

脑缺血再灌注后由线粒体功能障碍诱导的氧化应激及细胞凋亡。

线粒体动力学包括线粒体分裂与融合，动力学平衡在维持线粒体功能方面起着关键作用。脑缺血再灌注损伤会引起线粒体动力学紊乱，表现为过度分裂和融合受损。线粒体分裂主要受 Drp1 和分裂蛋白 Fis1 调控。Drp1 存在于胞质中，Fis1 则定位于线粒体外膜，以受体形式将 Drp1 招募到线粒体上，形成环状结构，逐渐收缩致使线粒体分裂。研究证实，高表达 Drp1 可使线粒体分裂加速，继而产生碎片化，碎片化的线粒体使生物能量能力受损，呼吸链复合物组装减少、MMP 降低、ATP 合成减少以及 ROS 生成增加[21-22]，并可激活内在凋亡途径，引发神经元程序性死亡，而抑制 Drp1 表达则可抑制上述改变[23]。线粒体融合是由融合蛋白 Mfn1、Mfn2 以及视神经萎缩蛋白 OPA1 介导。Mfn1/2 位于线粒体外膜，在 GTP 酶催化下，最终使两线粒体的外膜融合。在 Mfn1 或 Mfn2 缺乏的细胞中，线粒体融合显著抑制；而当 Mfn1 和 Mfn2 同时缺乏时，线粒体融合完全消失，线粒体功能严重受损；OPA1 位于线粒体内膜，介导内膜融合形成网状结构以提高其能量合成的速度。促进线粒体融合在多种疾病模型中表现出

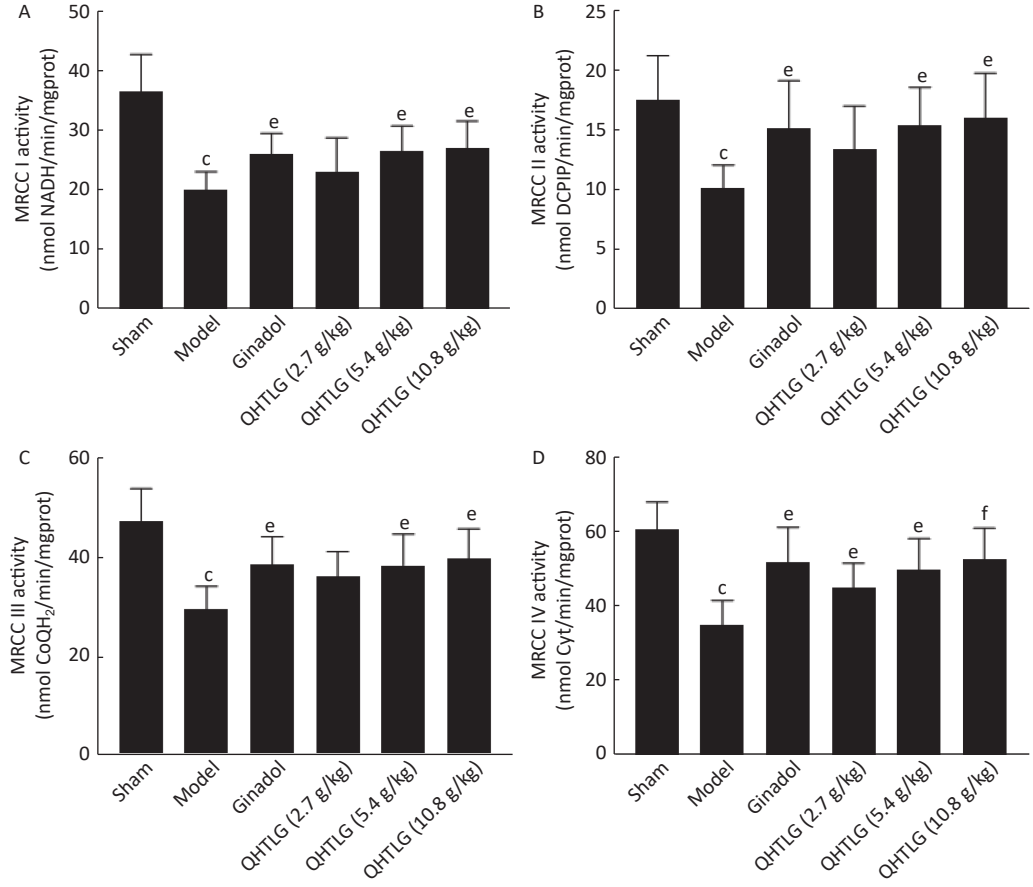


Fig.4 Effect of QHTLG on the activity of mitochondrial respiratory chain complexes in the cortical tissue ($\bar{x}\pm s$, n=5)

[c]P<0.01, compared with sham group; [e]P<0.05, [f]P<0.01, compared with model group.

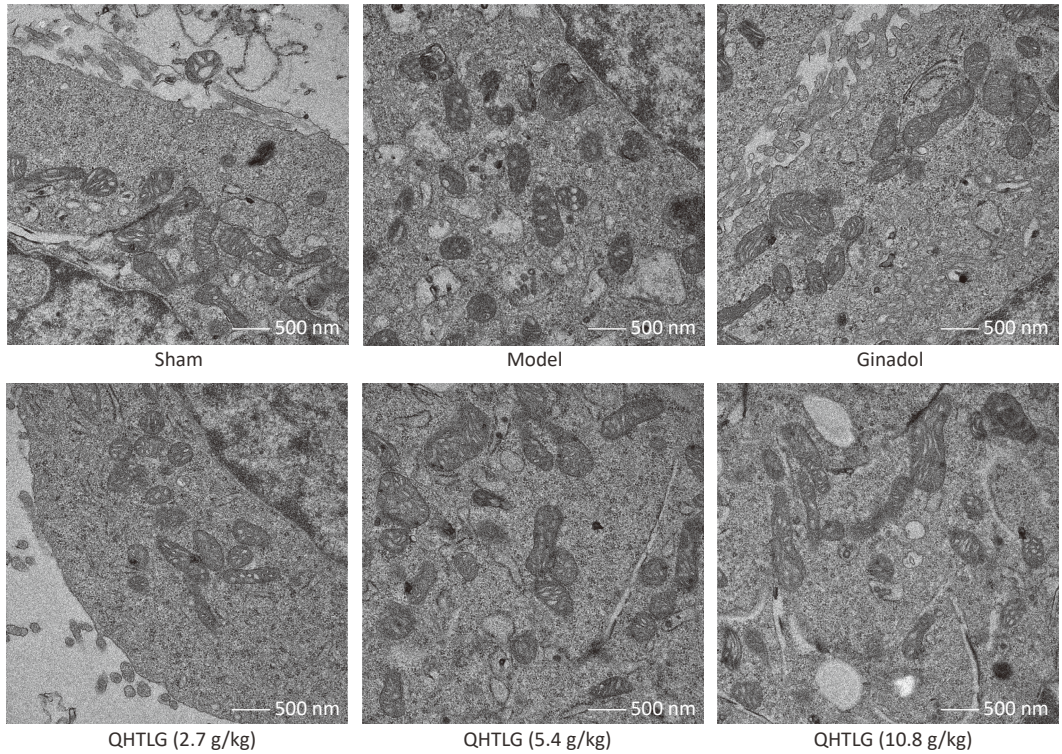


Fig.5 Effect of QHTLG on the ultrastructure of mitochondria in the cortical tissue

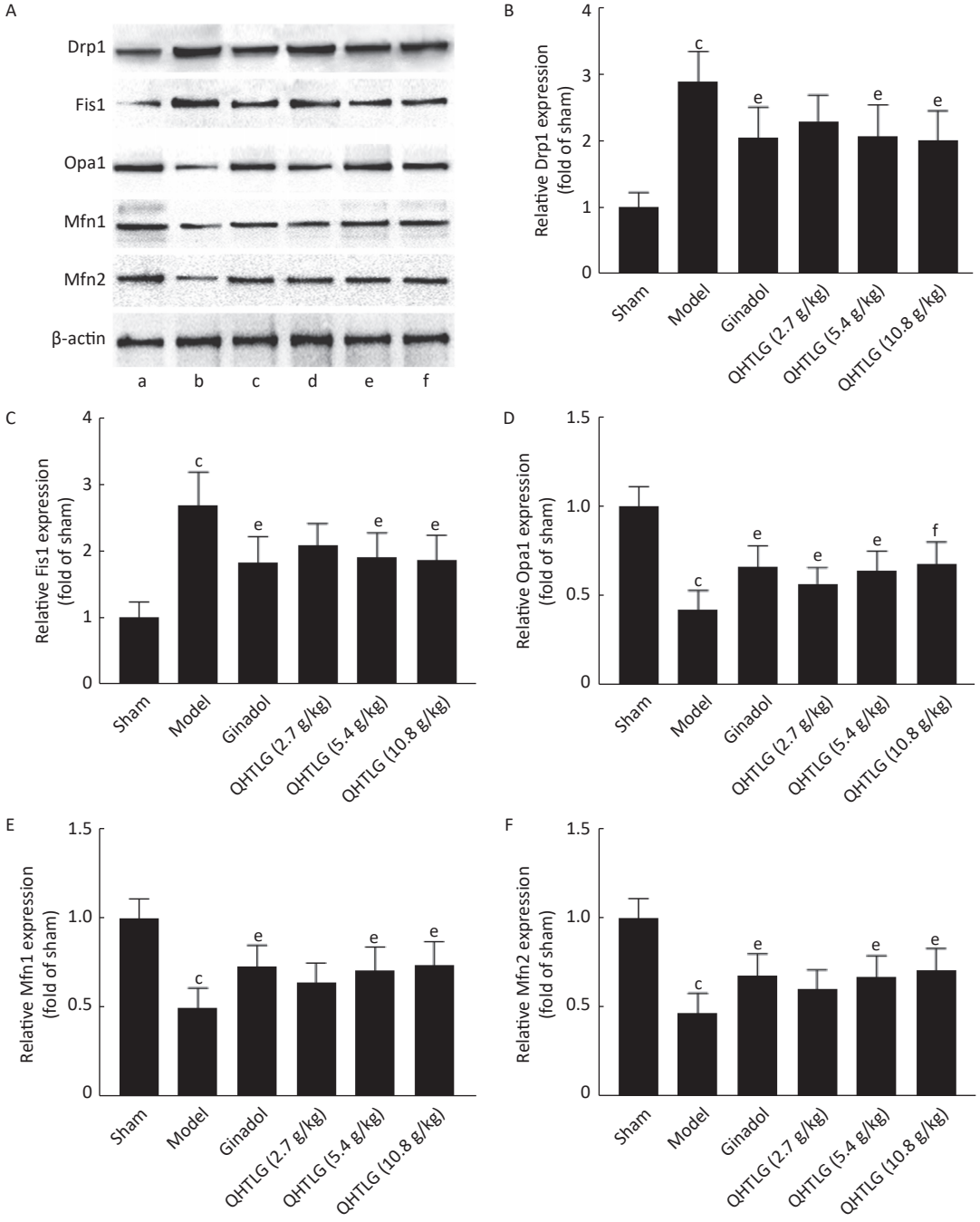


Fig.6　Effect of QHTLG on the expression of mitochondrial dynamics-related proteins in the cortical tissue ($\bar{x}\pm s$, n=5)

A: Western blotting bands of mitochondrial dynamics-related proteins; a: Sham; b: Model; c: Ginadol; d: QHTLG 2.7 g/kg; e: QHTLG 5.4 g/kg; f: QHTLG 10.8 g/kg; B-F: densitometric analysis of the expression of mitochondrial dynamics-related proteins. ^{c}P<0.01, compared with sham group; ^{e}P<0.05, ^{f}P<0.01, compared with model group.

保护作用[24-26]。本研究结果显示，模型组大鼠脑组织中 Drp1、Fis1 表达明显增加，Opa1、Mfn1/2 显著降低，应用芪红通络颗粒干预后，则可明显逆转上述蛋白的表达，表明其可抑制线粒体分裂、促进线粒体融合，从而减轻线粒体功能障碍。此外，在行为学、凋亡检测及分子指标检测的多数结果中，低剂量组均有一定效果，随着剂量的提高，中剂量效果明显增强，显示药效有一定剂量依赖性，但随着剂量进一步增加，高剂量作用与中剂量相比，药效仅有增加的趋势，但无统计学差异，中、高剂量药效作用基本相当。考虑到药物剂量越大，其产生毒性反应的可能性也会增加，再结合药物经济学综合评价，临床推荐剂量应该以中剂量为宜。

综上所述，芪红通络颗粒对缺血性脑卒中有明显的保护作用，其机制可能与调节线粒体动力学平衡，减轻由线粒体功能障碍诱导的氧化应激及细胞凋亡有关。

参考文献

[1] 余孝海, 金宇, 孙敏琼, 等. 杜鹃花总黄酮对脑缺血再灌注大鼠脑氧化应激损伤的改善作用 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2025, 30(2): 216-221.

[2] Emaus JK, Fogo MG, Wider MJ, et al. The role of cardiolipin in mitochondrial dynamics and quality control in neuronal ischemia/reperfusion injury [J]. Cell Death Dis, 2025, 16(1): 494.

[3] Liu M, Yin Z, Li B, et al. Targeting Drp1 in cerebral ischemia–reperfusion injury: mechanisms and therapeutic implications [J]. CNS Neurosci Ther, 2025, 31(8): e70590.

[4] Fogo GM, Raghunayakula S, Emaus KJ, et al. Mitochondrial dynamics and quality control regulate proteostasis in neuronal ischemia-reperfusion [J]. Autophagy, 2025, 21(7): 1492-1506.

[5] Ge S, Wang L, Jin C, et al. Unveiling the neuroprotection effects of Volvalerenic acid A: mitochondrial fusion induction via IDO1-mediated Stat3-Opa1 signaling pathway [J]. Phytomedicine, 2024, 129: 155555.

[6] Modi J, Menzie-Suderam J, Xu H, et al. Mode of action of granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) as a novel therapy for stroke in a mouse model [J]. J Biomed Sci, 2020, 27(1): 19.

[7] 高玉菊, 杨满琴, 王丽, 等. 芪红通络颗粒对大鼠脑缺血再灌注损伤保护作用及其机制研究 [J]. 安徽中医药大学学报, 2021, 40(3): 64-69.

[8] Chen C, Li C, Lan X, et al. Huang-Lian-Jie-Du decoction inhibits $CD4^+$ T cell infiltration into CNS in MCAO rats by regulating BBB [J]. Phytomedicine, 2025, 141: 156607.

[9] Qian Y, Yang L, Chen J, et al. SRGN amplifies microglia-mediated neuroinflammation and exacerbates ischemic brain injury [J]. J Neuroinflammation, 2024, 21(1): 35.

[10] Liu R, Yu Y, Ge Q, et al. Genistein-3'-sodium sulfonate promotes brain functional rehabilitation in ischemic stroke rats by regulating astrocyte polarization through NF-κB signaling pathway [J]. Chem Biol Interact, 2024, 400: 111159.

[11] Shuai Y, Xu D, Yang J, et al. Disulfiram downregulates ferredoxin 1 to maintain copper homeostasis and inhibit inflammation in cerebral ischemia/reperfusion injury [J]. Sci Rep, 2024, 14(1): 15175.

[12] Yingmin Z, Xinhua Q, Lihui L, et al. Long noncoding RNA MAGI2-AS3 regulates the H_2O_2 level and cell senescence via HSPA8 [J]. Redox Biol, 2022, 54: 102383.

[13] Yang W, Lei X, Liu F, et al. Meldonium, as a potential neuroprotective agent, promotes neuronal survival by protecting mitochondria in cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. J Transl Med, 2024, 22(1): 771.

[14] van der Munnik SHM, Franken MCJ, Braakman MHT, et al. The hibernation-derived compound SUL-138 shifts the mitochondrial proteome towards fatty acid metabolism and prevents cognitive decline and amyloid plaque formation in an Alzheimer's disease mouse model [J]. Alzheimers Res Ther, 2022, 14(1): 183.

[15] Li X, Li H, Xu Z, et al. Author correction: ischemia-induced cleavage of OPA1 at S1 site aggravates mitochondrial fragmentation and reperfusion injury in neurons [J]. Cell Death Dis, 2024, 15(9): 653.

[16] Zeng X, Zhang Y, Ma R, et al. Activated Drp1 regulates p62-mediated autophagic flux and aggravates inflammation in cerebral ischemia-reperfusion via the ROS-RIP1/RIP3-exosome axis [J]. Mil Med Res, 2022, 9(1): 68.

[17] Howard JD, Naomi SO, Charles KO, et al. Inflammatory responses after ischemic stroke [J]. Semin Immunopathol, 2022, 44(5): 625-648.

[18] 岑娟, 张峰, 姬汴生. 缺血性中风抗氧化治疗的临床问题及研究进展 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2013, 18(4): 448-454.

[19] Jie H, Lei C, Yang ZM, et al. The role of mitochondrial dynamics in cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. Biomed Pharmacother, 2023, 162: 114671.

[20] 张传武, 朱芸燕, 陈靖, 等. 线粒体在脑缺血再灌注损伤中的作用研究进展 [J]. 河北医药, 2025, 47(7): 1197-1201.

[21] Yuanyuan S, Lijian H, Xianxian Z, et al. Selenium alleviates cerebral ischemia/reperfusion injury by regulating oxidative stress, mitochondrial fusion and ferroptosis [J]. Neurochem Res, 2022, 47(10): 2992-3002.

[22] Qian W, Jiao L, Zhiguo M, et al. Ligustilide attenuates ischemic stroke injury by promoting Drp1-mediated mitochondrial fission via activation of AMPK [J]. Phytomedicine, 2022, 95: 153884.

[23] Yuan JY, Chen T, Yang LY, et al. E2F1/CDK5/DRP1 axis mediates microglial mitochondrial division and autophagy in the pathogenesis of cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. Clin Transl Med, 2025, 15(2): e70197.

[24] Liu X, Li T, Tu X, et al. Mitochondrial fission and fusion in neurodegenerative diseases: Ca^{2+} signalling [J]. Mol

Cell Neurosci, 2025, 132: 103992.
[25] 齐格格, 董新刚, 李伟峰, 等. 视神经萎缩蛋白 1 介导的线粒体动力学在中枢神经系统疾病发生发展中的作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2025, 35(4): 104-113,134.
[26] Liang GF, Zandkarimi F, Lee J, et al. OPA1 promotes ferroptosis by augmenting mitochondrial ROS and suppressing an integrated stress response [J]. Mol Cell, 2024, 84(16): 3098-3114.

The mechanism of Qihong Tongluo Granule in regulating mitochondrial dynamics disorder and improving cerebral ischemia-reperfusion injury

LOU Qi[1], GUO Anran[1], YUAN Shuting[1], WANG Ting[1], JIA Huiyu[2], ZHU Xiaoyu[2], YANG Dongmei[2], YANG Manqin[3], LUO Shengyong[1,2]

[1] Academy of Pharmacy, Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui, China; [2] Anhui Academy of Medical Sciences, Anhui Second Medical College, Hefei 230601, Anhui, China; [3] The Second Affiliated Hospital of Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230061, Anhui, China

ABSTRACT **AIM**: To investigate the regulatory effect of Qihong Tongluo Granule on mitochondrial dynamics disorder after cerebral ischemia-reperfusion injury. **METHODS**: One hundred and eight SD rats were selected and randomly divided into six groups: sham, model, ginadol (0.022 g/kg), and high-, middle- and low-dose Qihong Tongluo Granule group (10.8, 5.4, 2.7 g/kg). The occlusion model of middle cerebral artery (MCAO) was established by thread embolism method. Reperfusion was resumed after 2 h of ischemia, and the rats were administered once a day by gavage for 2 consecutive days before the surgery and for 3 consecutive days after the surgery. After 72 hours of reperfusion, the mNSS and the rotarod test were used to assess the neurological function impairment; the Terminal-deoxynucleoitidyl Transferase Mediated Nick End Labeling (TUNEL) method was used to determine the apoptosis of cortical tissue cells; using fluorescence microplate to measure the mitochondrial membrane potential (MMP) and reactive oxygen species (ROS) levels; the biochemical kit was used to detect the ATP and the activities of mitochondrial respiratory chain complexes I-IV; the ultrastructural changes of mitochondria were observed through transmission electron microscope (TEM) ; western-blot was used to measure the protein expressions of cystein-asparate protease-3 (Caspase-3), B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax), dynamin-related protein 1 (Drp1), fission protein 1 (Fis1), optic atrophy 1 (Opa1), mitofusin 1 (Mfn1), mitofusin 2 (Mfn2). **RESULTS**: Compared with the model group, QHTLG could significantly reduce the mNSS score, increase the time rats spent on the rotating rod, inhibit the apoptosis rate of cortical tissue cells, reduce the expression of Caspase-3 and Bax proteins, and promote the expression of Bcl-2 protein; obviously increase MMP and ATP production, reduce ROS levels, and increase the activity of respiratory chain complexes I-IV; remarkedly alleviate mitochondrial damage, inhibit the expression of Drp1 and Fis1 proteins, and increase the expression levels of Opa1 and Mfn1/2 proteins. **CONCLUSION**: QHTLG has a significant protective effect on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. The mechanism may be related to regulating mitochondrial dynamic balance, thereby reducing oxidative stress and cell apoptosis.

KEYWORDS Qihong Tongluo Granule; ischemia-reperfusion; oxidative stress; apoptosis; mitochondrial dynamics