

健神利水方对脑出血大鼠p38 MAPK表达的影响

农凤兰^{1*}, 何乾超², 高玉广^{3#}

¹广西中医药大学研究生院, 广西 南宁

²广西中医药大学第一附属医院脑病科一区, 广西 南宁

³广西中医药大学第一附属医院急诊科, 广西 南宁

收稿日期: 2024年5月14日; 录用日期: 2024年7月18日; 发布日期: 2024年7月30日

摘要

目的: 探究健神利水方对脑出血大鼠p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 Mitogen-Activated Protein Kinase, p38 MAPK)表达的影响。方法: 将50只SD大鼠随机分为假手术组(n = 10)和脑出血模型组(n = 40), 采用胶原酶制作脑出血大鼠模型, 假手术组以等量生理盐水代替胶原酶造模; 造模成功后, 脑出血模型组随机均分为脑出血组(n = 10)、健神利水方低剂量组(n = 10)、健神利水方中剂量组(n = 10)及健神利水方高剂量组(n = 10) 4个组。其中, 假手术组和脑出血组以等量生理盐水灌胃, 健神利水方低、中、高剂量组分别以等量低、中、高剂量健神利水方灌胃, 连续灌胃7天; 采用Longa评分法对大鼠的神经功能进行评分; 取大鼠脑组织, 采用蛋白免疫印迹法(Western Blot, WB)检测p38 MAPK表达, 采用反转录聚合酶链式反应(RT-PCR)检测大鼠脑组织p38 MAPK的mRNA表达水平。最后用统计软件SPSS 25.0对数据进行统计分析。结果: 脑出血组较假手术组Longa评分、p38 MAPK、p38 MAPK的mRNA表达水平均显著升高(均 $P < 0.01$); 低剂量组较脑出血组Longa评分、p38 MAPK、p38 MAPK的mRNA表达水平均升高(均 $P < 0.05$); 中剂量组较低剂量组p38 MAPK、p38 MAPK的mRNA表达水平均升高(均 $P < 0.05$); 高剂量组较中剂量组p38 MAPK、p38 MAPK的mRNA表达水平均升高(均 $P < 0.05$)。结论: 健神利水方能有效改善脑出血大鼠的神经损伤症状, 其作用机制与抑制p38 MAPK的表达相关。

关键词

脑出血, p38丝裂原活化蛋白激酶, 健神利水方, 反转录聚合酶链式反应

Effect of Jianshen Lishui Decoction on p38 MAPK Expression in Rats with Cerebral Hemorrhage

*第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 农凤兰, 何乾超, 高玉广. 健神利水方对脑出血大鼠 p38 MAPK 表达的影响[J]. 中医学, 2024, 13(7): 1626-1634.
DOI: 10.12677/tcm.2024.137250

Fenglan Nong^{1*}, Qianchao He², Yuguang Gao^{3#}

¹Graduate School of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning Guangxi

²Department of Encephalopathy, The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning Guangxi

³The First Section of Department of Emergency, The First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning Guangxi

Received: May 14th, 2024; accepted: Jul. 18th, 2024; published: Jul. 30th, 2024

Abstract

Objective: To explore the effect of Jianshen Lishui decoction on the expression of p38 Mitogen-Activated Protein Kinase (p38 MAPK) in rats with cerebral hemorrhage. **Methods:** Fifty SD rats were randomly divided into sham operation group (n = 10) and cerebral hemorrhage model group (n = 40). The cerebral hemorrhage rat model was made with collagenase, and the sham operation group was made with the same amount of normal saline instead of collagenase. After the successful modeling, the cerebral hemorrhage model group was randomly divided into 4 groups: cerebral hemorrhage group (n = 10), Jianshen Lishui decoction prescription low-dose group (n = 10), Jianshen Lishui decoction prescription medium-dose group (n = 10) and Jianshen Lishui decoction prescription high-dose group (n = 10). Among them, sham operation group and cerebral hemorrhage group were given the same amount of normal saline, while Jianshen Lishui decoction prescription low-, medium- and high-dose groups were given the same amount of low-, medium- and high-dose of Jianshen Lishui decoction prescription, respectively, for continuous 7 days. The neural function of rats was evaluated by Longa score. The expression of p38 MAPK in rat brain tissues was detected by Western Blot (WB), and the mRNA expression level of p38 MAPK in rat brain tissues was detected by Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction (RT-PCR). Finally, statistical software SPSS 25.0 was used to analyze the data. **Results:** Compared with sham operation group, Longa score, p38 MAPK and p38 MAPK mRNA expression levels in cerebral hemorrhage group were significantly increased (all $P < 0.01$). Compared with cerebral hemorrhage group, Longa score, p38 MAPK and p38 MAPK mRNA expression levels in low-dose group were increased (all $P < 0.05$). The mRNA expression levels of p38 MAPK and p38 MAPK in medium dose group were increased compared with those in low dose group (all $P < 0.05$). The mRNA expression levels of p38 MAPK and p38 MAPK in high-dose group were higher than those in medium-dose group (all $P < 0.05$). **Conclusion:** Jianshen Lishui decoction can effectively improve the symptoms of nerve injury in rats with cerebral hemorrhage, and its mechanism is related to inhibiting the expression of p38 MAPK.

Keywords

Cerebral Hemorrhage, p38 Mitogen-Activated Protein Kinase, Jianshen Lishui Decoction, Reverse Transcription Polymerase Chain Reaction

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

脑卒中为人类健康第二杀手，也是我国人口重要死因[1]-[4]。它是指脑内血管破裂，导致血液在脑实

质内聚集[5], 作为脑卒中第二高发病率类型, 约占所有中风的 10%至 20% [6], 但致残率和致死率高, 报告的病死率从 1 个月时的约 10%到 3 个月时的 25%和 1 年时的 30%不等, 约有一半的脑出血患者在 1 个月和 3 个月时死亡或残疾, 并且这一比例在 1 年内略有下降[7]-[11]。全国性的研究和定期的政府报告表明, 中风的负担很高, 而且还在不断增加[12] [13], 中国每年治疗脑血管病的费用高达 200 亿元, 为患者家庭乃至全社会造成了沉重的经济负担。研究证实[14]-[16], 中药通过多靶点、多途径的方式治疗脑出血, 起到减轻血脑屏障破坏、减少脑水肿、改善神经功能障碍、减少神经细胞凋亡等作用。p38 MAPK 作为 p38 MAPK 通路中的关键蛋白, 在脑出血后炎症产生及细胞凋亡中起重要作用, 为脑出血治疗研究的热点。我们前期的研究证实[14] [15], 健神利水方在脑出血治疗中起减少炎症反应、减轻脑水肿、减少细胞凋亡、改善神经功能损伤的作用。为了深入研究其炎症反应机制, 本项目拟构建脑出血模型, 观察健神利水方对脑出血大鼠 p38 MAPK 表达的影响, 具体汇报如下。

2. 资料与方法

2.1. 实验动物与材料

清洁级别健康 10 月龄雌性 SPF 级大鼠 50 只, 采购来源于长沙市天勤生物技术有限公司(许可证号: SCXK 湘 2019-001)。实验材料: p38 MAPK 抗体, Western blot 一抗稀释液(biosharp, lot: 70015829), 胶原蛋白酶(美国 Sigma 公司, lot: C0130), 内参 Antin (biosharp, lot: 69070015), ECL 化学发光试剂盒(biosharp, lot: 69070015, BL523A), SDS-PAGE 蛋白上样缓冲液 5X (biosharp, lot: 69078121c)。健神利水方组成: 丹参 15 g, 猪苓 15 g, 茯苓 15 g, 泽泻 10 g, 白术 10 g, 三七粉 3 g, 桂枝 6 g, 来自一方药业有限公司。实验器械: 脑立体定位仪(江苏赛昂斯生物科技有限公司, SA301), 5 μ L、100 μ L 微量注射器, 组织研磨仪(上海净信实业发展有限公司, 型号: KZ-II), 电子分析天平(上海右一仪器有限公司, 型号 BSA124S), 发光凝胶成像仪(美国 Bio-Rad 公司, 型号: 1708280)。

2.2. 研究方法

2.2.1. 脑出血大鼠模型

脑出血模型: 实验大鼠术前 4 h 禁水禁食。使用剂量为 45 mg/kg 的 3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉大鼠。麻醉成功后, 将大鼠放置于立体定位仪上, 确保前囟和后囟处于同一水平面。然后, 在前囟后 1 毫米、右侧 3 毫米的位置(即为右侧尾状核的位置)钻一个直径约为 1 毫米的小孔。使用立体定位仪上的微量注射器进针 6 毫米, 在 10 分钟内注射 0.5 单位的胶原酶 VII。注射结束后停针 5 分钟, 然后缓慢退针。假手术模型: 建立方法与胶原酶脑出血模型相同, 只是使用等量的生理盐水替代胶原酶。

2.2.2. 分组及造模

实验动物和分组: 取 50 只 10 月龄的成年雄性 SD 大鼠, 体重 500 ± 35 g, 分别两次采用 SPSS Statistics 25.0 产生随机序列。第一次随机分出假手术组($n = 10$, 注射等剂量生理盐水), 以及脑出血模型组($n = 40$, 注射胶原酶制备脑出血模型)。在脑出血模型建立后再次进行随机分组为 4 个组: 脑出血组、健神利水方低剂量组、健神利水方中剂量组及健神利水方高剂量组, 每个组 10 只大鼠。

2.2.3. 干预方法

在造模成功后, 假手术组及脑出血组均给予等剂量生理盐水灌胃, 健神利水方低、中、高剂量组分别给予等剂量低、中、高剂量健神利水方药液灌胃。其中, 健神利水方煎成生药量分别为 1 g/mL、2 g/mL、4 g/mL 的中药药液, 参考动物和人体表面积折算的对应等效药物剂量比率表, 按照人体的等效量来计算

大鼠的给药量。经换算，健神利水方低、中、高剂量组分别以 6.25 g/kg、12.50 g/kg、25.00 g/kg 的剂量给大鼠灌胃，每天 1 次，连续 7 天。治疗结束后，对大鼠神经功能进行评分。评分由两名人员按照双盲原则进行评估。

2.2.4. 取材及处理

在大鼠麻醉后，我们开胸，使用钝头灌注针穿入主动脉，固定针头并剪开心耳。然后，予生理盐水快速进行冲洗，直到流出的液体不再带有血水，且大鼠的上肢变得苍白。接着，我们换用 4% 多聚甲醛溶液进行心脏灌注固定。在固定过程中，多聚甲醛溶液的注入速度先快后慢，直到大鼠变得僵硬如板状。最后，迅速打开颅腔取出脑组织，并根据免疫印迹法的检测要求制作相应的标本以供保存。

2.3. 观察指标

2.3.1. 神经功能评分

以 Longa 评分法，对各组大鼠神经功能进行评分：正常为 0 分；脑出血部位对侧的前肢无法伸展记 1 分；脑出血部位对侧的前肢屈曲记 2 分；向脑出血部位对侧轻度转圈记 3 分；明显向脑出血对侧转圈记 4 分；爬行时向脑出血对侧倾倒记 5 分。

2.3.2. 免疫印迹(Western Blot, WB)检测 p38 MAPK 的表达水平

取各组大鼠一半脑组织放入 0.5 mL 印迹缓冲液中，并用超声波匀浆。将匀浆后的组织置于 1.5 mL 离心管中，使用电动组织研磨棒进行研磨。将研磨后的组织加入蛋白裂解液，裂解 5 分钟后在 4℃、1000 rpm 离心 10 分钟，去除沉淀并保留上清液。测量各样本的蛋白质浓度。然后进行电泳，使用 8% 胶浓度分离，每个泳道加入 50 μg 蛋白样品。等到溴酚蓝到达分离胶底部后转膜。转膜完成后，将 PVDF 膜放入含 5% 脱脂奶封闭液中，室温封闭 1 小时，然后加入一抗，在 4℃ 孵育过夜。次日使用 WB 洗涤液洗涤 PVDF 膜 3 次后，加入二抗，在室温孵育 1 小时。再次使用 WB 洗涤液洗涤 PVDF 膜 3 次后加入 3 mL 化学发光溶液(ECL)，随即进行光敏胶片显像。使用 ImagJ 图像分析系统测量蛋白信号的灰度值，以 Actin 作为内参蛋白，并对蛋白相对表达量进行统一处理。

2.3.3. RNA 提取与反转录聚合酶链反应(RT-PCR)

取各组大鼠另一半脑组织匀浆，TRIzol 法提总 RNA，逆转录试剂盒得 cDNA。SYBR Green 法行 PCR 扩增，反应条件：95℃，30 s；95℃，5 s；62℃，34 s；40 个循环；3 个复孔；2-ΔΔCt 法计算相对表达量。

2.4. 统计学方法

用统计软件 SPSS 25.0 进行统计分析正态分布的计量资料，两组组间进行比较，采用 t 检验，5 组组间比较采用方差分析；非正态分布的计量资料组间比较则采用非参数法，以 $P < 0.05$ 视为差异有统计学意义。

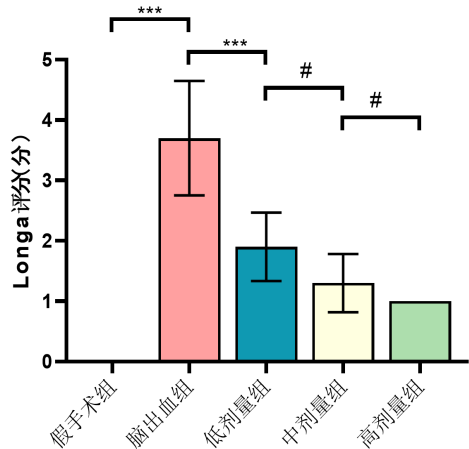
3. 结果

3.1. Longa 评分结果

假手术组、模型组和低、中、高剂量实验组的 Longa 评分分别为 0、(3.70 ± 0.95)、(1.90 ± 0.57)、(1.30 ± 0.48) 和 (1.00 ± 0.00) 分。与脑出血组相比，低、中、高剂量组的 Longa 评分均显著降低(均 $P < 0.01$)。详见表 1、图 1。

Table 1. Longa scores of rats in each group
表 1. 各组大鼠 Longa 评分

组别	例数(只)	Longa 评分(分)
假手术组	10	0
脑出血组	10	3.70 ± 0.95
低剂量组	10	1.90 ± 0.57
中剂量组	10	1.30 ± 0.48
高剂量组	10	1.00 ± 0.00



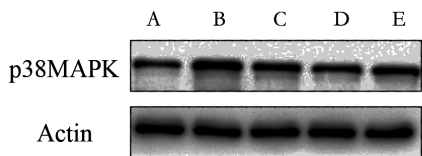
注: ***表示 $P < 0.01$, #表示 $P > 0.05$ 。

Figure 1. Comparison of Longa scores in each group

图 1. 各组大鼠 Longa 评分比较

3.2. p38 MAPK 的免疫印记表达

与假手术组对比,脑出血组大鼠脑组织中 p38 MAPK 的表达水平显著升高($P < 0.01$),健神利水方低、中、高剂量组大鼠脑组织中 p38 MAPK 的表达水平均升高($P < 0.05$);与脑出血组对比,健神利水方低、中、高剂量组大鼠的脑组织中 p38 MAPK 的表达水平均下降($P < 0.05$),其中,高剂量健神利水方组大鼠的脑组织中 p38 MAPK 的表达水平低于中剂量健神利水方组($P < 0.05$),中剂量健神利水方组大鼠的脑组织中 p38 MAPK 的表达水平低于低剂量健神利水方组($P < 0.05$)。详见表 2、图 2、图 3。



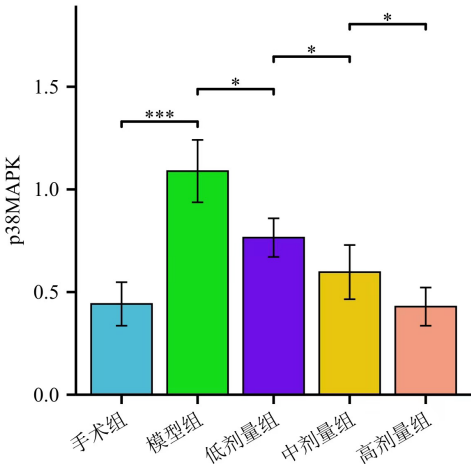
A.假手术组 B.脑出血组 C.低剂量组 D.中剂量组 E.高剂量组

Figure 2. Expression of p38 MAPK in brain tissue of rats in each group

图 2. 各组大鼠脑组织中 p38 MAPK 的表达量

Table 2. Expression level of p38 MAPK in brain tissue of rats in each group
表 2. 各组大鼠脑组织中 p38 MAPK 的表达水平

组别	例数(只)	p38 MAPK
假手术组	10	0.41 ± 0.09
脑出血组	10	1.01 ± 0.16
低剂量组	10	0.70 ± 0.11
中剂量组	10	0.63 ± 0.10
高剂量组	10	0.55 ± 0.12



注：*表示 $P < 0.05$ ，***表示 $P < 0.01$ 。

Figure 3. Comparison of p38 MAPK expression levels in brain tissues of rats in each group

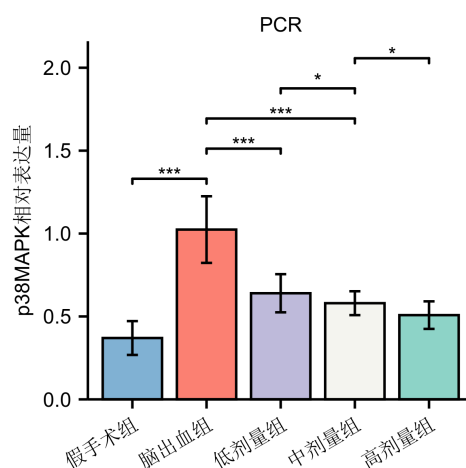
图 3. 各组大鼠脑组织中 p38 MAPK 的表达水平比较

3.3. 各组 PCR 分析

与假手术组对比，脑出血组大鼠脑组织中 p38 MAPK 的 mRNA 表达水平显著升高($P < 0.01$)，健神利水方低、中、高剂量组大鼠脑组织中 p38 MAPK 的 mRNA 表达水平均升高($P < 0.05$)；与脑出血组对比，健神利水方低、中、高剂量组大鼠的脑组织中 p38 MAPK 的 mRNA 表达水平均明显下降($P < 0.01$)，其中，高剂量健神利水方组大鼠的脑组织中 p38 MAPK 的 mRNA 表达水平低于中剂量健神利水方组($P < 0.05$)，中剂量健神利水方组大鼠的脑组织中 p38 MAPK 的 mRNA 表达水平低于低剂量健神利水方组($P < 0.05$)。详见表 3、图 4。

Table 3. mRNA expression of p38 MAPK in brain tissues of rats in each group
表 3. 各组大鼠脑组织中 p38 MAPK 的 mRNA 表达量

组别	例数(只)	p38 MAPK
假手术组	10	0.37 ± 0.14
脑出血组	10	1.02 ± 0.17
低剂量组	10	0.64 ± 0.10
中剂量组	10	0.56 ± 0.08
高剂量组	10	0.51 ± 0.11



注: *表示 $P < 0.05$, ***表示 $P < 0.01$ 。

Figure 4. Comparison of mRNA expression of p38 MAPK in brain tissues of rats in each group

图 4. 各组大鼠脑组织中 p38 MAPK 的 mRNA 表达量比较

4. 讨论

脑出血属于中医领域的“中风”范畴。健神利水方由广西名中医刘泰教授创立，他认为脑出血的病机关键为“脑内蓄血”及“瘀水内阻”[17]，导致神明失司，出现突然昏仆、不省人事；瘀水阻络，气血运行不畅，不能濡养肢体，则半身不遂、肢体麻木、失语。其治法当以利水行瘀为法，故以利水行瘀之经方五苓散为基础，加上丹参和三七，创立了健神利水方。本方以泽泻为君药，取其甘淡直达肾与膀胱，利水渗湿；以茯苓、猪苓为臣，加之淡渗加强利水渗湿之力；佐以白术健脾补气，运化水湿，合茯苓健脾利水；又佐以辛温之桂枝，温阳化气，以助利水；加三七散瘀止血而不留瘀，丹参活血祛瘀，疏通经络。本研究中，健神利水方低、中、高剂量组脑出血大鼠神经功能评分均较脑出血模型组低，且高剂量健神利水方神经功能评分最低，证明健神利水方能有效改善脑出血导致的神经损伤，且高剂量健神利水方效果更佳。

脑出血为常见的神经系统疾病，最常见的病因是高血压合并动脉粥样硬化。脑出血后的损伤机制，包括血肿形成、压迫周围组织加重脑缺血、氧化应激、炎症反应及神经元凋亡等[18]。我们前期研究[14][15][17]已经证实，健神利水方能抑制水通道蛋白 4 的表达，减少脑出血大鼠脑组织含水量，减轻脑水肿，减少神经元凋亡数量，同时可有效降低脑出血患者 C 反应蛋白、降钙素原水平，减轻炎症反应，改善神经损伤症状。

MAPK 是一组分化保守的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶，包含 p38 MAPK、胞外信号调节激酶、c-Jun 氨基端激酶和胞外信号调节激酶 5 [19]。p38 MAPK 通路是其中的促凋亡信号通路，可通过增加 c-Myc 的表达、诱导 BAX 转位、磷酸化 p53 等通路诱导细胞凋亡[20][21]，同时在轴突的生长、自噬过程、氧化应激以及维持神经元存活等方面扮演着至关重要的角色[22]。在神经系统，p38 MAPK 通路可通过多种刺激因素被激活，如神经递质、细胞因子、谷氨酸等。激活后的 p38 MAPK 通路，通过影响不同的细胞类型，引发特定的生物学效应。在神经细胞内，当代谢性谷氨酸受体被激活时，磷脂酶 C 的活化会促进 MAPKK3/6 的磷酸化，进而激活 p38 MAPK 信号通路[23]。这一过程会导致 p38 的不同亚型产生不同的生物学效应：p38 α 和 p38 β 能够影响突触可塑性相关蛋白的表达，而 p38 γ 和 p38 δ 则参与突触相关蛋白的

调节[24]。过量的谷氨酸和 $A\beta$ 能够激活 p38 α 和 p38 β 。p38 α 的激活会增强其下游信号分子核因子 κB (Nuclear Factor- κB , NF- κB) 的表达, 导致活性氧累积及星形胶质细胞活化, 引起细胞炎症; 与此同时, p38 β 的激活则有助于抑制星形胶质细胞的凋亡过程[25]。

方中的活血化瘀药丹参, 其主要成分中的丹参酮IIA 可以通过抑制 MAPK 通路, 减少氧化还原反应, 减轻对上皮细胞的损伤[26]。同时, 有学者通过分析丹参酮IIA 对小鼠的非编码 RNA (ncRNA) 表达谱, 发现其主要参与 MAPK 等通路, 通过减轻细胞炎症调控 ncRNA 表达[27]。研究发现, 大鼠脑出血部位的磷酸化 p38 MAPK 水平升高, 通过小干扰 RNA 抑制 p38 MAPK 的表达, 可缩小脑出血诱导的脑部血肿, 减少神经元凋亡, 改善神经功能[28]。董西朝[27]等人的研究也证实, 脑出血大鼠 p38 MAPK 升高, 降低 p38 MAPK 后, 神经功能改善。同样地, 本研究证明, 脑出血大鼠 p38 MAPK 水平升高, 对应的 mRNA 高表达; 经健神利水方干预, 脑出血大鼠 p38 MAPK 水平及 mRNA 表达均下降, 神经功能评分也下降, 神经功能改善。

综上, 本研究证明, 脑出血大鼠 p38 MAPK 升高, 在健神利水方的干预下, 脑出血模型大鼠的 p38 MAPK 下降, 同时神经功能改善。健神利水方治疗脑出血的作用机制与抑制 p38 MAPK 的表达相关。近几年来, 关于 p38 MAPK 与脑出血的实验研究[29]-[31]多在蛋白表达水平, 本研究结合 RT-PCR 技术, 将蛋白与基因联合研究, 研究内容更深入, 更具实验依据。同时, 以健神利水方为干预药物, 为进一步研究健神利水方治疗脑出血的作用机制提供试验依据。不足之处在于健神利水方为复方制剂, 其作用靶点有待进一步研究, 作用机制也有待深入阐明。

基金项目

广西壮族自治区教育厅高校中青年教师科研基础能力提升项目(2020KY07015): 健神利水颗粒对大鼠脑出血后脑组织水肿标志物 AQP-4、MMP-9 的影响, 负责人: 高玉广。

参考文献

- [1] World Health Organization (2020) The Top 10 Causes of Death. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>
- [2] Naghavi, M., Abajobir, A.A., Abbafati, C., Abbas, K.M., Abd-Allah, F., Abera, S.F., et al. (2017) Global, Regional, and National Age-Sex Specific Mortality for 264 Causes of Death, 1980-2016: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2016. *The Lancet*, **390**, 1151-1210. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(17\)32152-9](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(17)32152-9)
- [3] Zhou, M., Wang, H., Zhu, J., Chen, W., Wang, L., Liu, S., et al. (2016) Cause-Specific Mortality for 240 Causes in China during 1990-2013: A Systematic Subnational Analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. *The Lancet*, **387**, 251-272. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(15\)00551-6](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(15)00551-6)
- [4] Feigin, V.L., Forouzanfar, M.H., Krishnamurthi, R., Mensah, G.A., Connor, M., Bennett, D.A., et al. (2014) Global and Regional Burden of Stroke during 1990-2010: Findings from the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet*, **383**, 245-255. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(13\)61953-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(13)61953-4)
- [5] 中华医学会神经病学分会, 中华医学会神经病学分会脑血管病学组. 中国脑出血诊治指南(2019) [J]. 中华神经科杂志, 2019, 52(12): 994-1005.
- [6] Garg, R. and Biller, J. (2019) Recent Advances in Spontaneous Intracerebral Hemorrhage. *F1000Research*, **8**, Article No. 302. <https://doi.org/10.12688/f1000research.16357.1>
- [7] Gross, B.A., Jankowitz, B.T. and Friedlander, R.M. (2019) Cerebral Intraparenchymal Hemorrhage. *JAMA*, **321**, 1295-1303. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.2413>
- [8] Wang, D., Liu, J., Liu, M., Lu, C., Brainin, M. and Zhang, J. (2017) Patterns of Stroke between University Hospitals and Nonuniversity Hospitals in Mainland China: Prospective Multicenter Hospital-Based Registry Study. *World Neurosurgery*, **98**, 258-265. <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2016.11.006>
- [9] Gu, H., Li, Z., Zhao, X., Liu, L., Li, H., Wang, C., et al. (2018) Insurance Status and 1-Year Outcomes of Stroke and Transient Ischaemic Attack: A Registry-Based Cohort Study in China. *BMJ Open*, **8**, e021334.

- <https://doi.org/10.1136/bmjopen-2017-021334>
- [10] Zhou, J., Zhang, Y., Arima, H., Zhao, Y., Zhao, H., Zheng, D., *et al.* (2014) Sex Differences in Clinical Characteristics and Outcomes after Intracerebral Haemorrhage: Results from a 12-Month Prospective Stroke Registry in Nanjing, China. *BMC Neurology*, **14**, Article No. 172. <https://doi.org/10.1186/s12883-014-0172-5>
- [11] Liu, J., Wang, D., Yuan, R., Xiong, Y. and Liu, M. (2016) Prognosis of 908 Patients with Intracerebral Hemorrhage in Chengdu, Southwest of China. *International Journal of Neuroscience*, **127**, 586-591. <https://doi.org/10.1080/00207454.2016.1216414>
- [12] Wang, W., Jiang, B., Sun, H., Ru, X., Sun, D., Wang, L., *et al.* (2017) Prevalence, Incidence, and Mortality of Stroke in China: Results from a Nationwide Population-Based Survey of 480 687 Adults. *Circulation*, **135**, 759-771. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.116.025250>
- [13] Guan, T., Ma, J., Li, M., Xue, T., Lan, Z., Guo, J., *et al.* (2017) Rapid Transitions in the Epidemiology of Stroke and Its Risk Factors in China from 2002 to 2013. *Neurology*, **89**, 53-61. <https://doi.org/10.1212/wnl.0000000000004056>
- [14] 高玉广, 黄德庆, 刘泰, 等. 健神利水方对脑出血大鼠水通道蛋白 AQP-4 表达的影响[J]. 中国民族民间医药, 2021, 30(5): 17-20.
- [15] 高玉广, 黄德庆, 刘泰, 等. 健神利水方对急性脑出血患者 C 反应蛋白、降钙素原的影响研究[J]. 海南医学院学报, 2021, 27(13): 978-982.
- [16] Li, X., Huang, X., Tang, Y., Zhao, F., Cao, Y., Yin, L., *et al.* (2018) Assessing the Pharmacological and Therapeutic Efficacy of Traditional Chinese Medicine Liangxue Tongyu Prescription for Intracerebral Hemorrhagic Stroke in Neurological Disease Models. *Frontiers in Pharmacology*, **9**, Article 1169. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01169>
- [17] 陈炜, 黄树武, 高玉广, 等. 健神利水颗粒对脑出血大鼠神经功能损害及神经元细胞凋亡的影响[J]. 药学研究, 2015, 34(9): 497-499, 516.
- [18] 刘双岭, 孔菲, 刘刚, 等. 脑出血后脑损伤病理机制的研究进展[J]. 医学综述, 2020, 26(14): 2807-2813.
- [19] Arthur, J.S.C. and Ley, S.C. (2013) Mitogen-Activated Protein Kinases in Innate Immunity. *Nature Reviews Immunology*, **13**, 679-692. <https://doi.org/10.1038/nri3495>
- [20] 张晓璇, 马征, 于宁, 等. 丁苯酞对缺血性脑卒中大鼠海马神经元凋亡的抑制作用及其对 p38 MAPK 信号通路的影响[J]. 吉林大学学报(医学版), 2019, 45(5): 1086-1091.
- [21] 谢君, 张智博. 细胞内丝裂原活化蛋白激酶信号通路与脑缺血后神经元凋亡[J]. 国际脑血管病杂志, 2015, 23(6): 464-468.
- [22] Yao, L., Zhu, Z., Wu, J., Zhang, Y., Zhang, H., Sun, X., *et al.* (2019) MicroRNA-124 Regulates the Expression of p62/p38 and Promotes Autophagy in the Inflammatory Pathogenesis of Parkinson's Disease. *The FASEB Journal*, **33**, 8648-8665. <https://doi.org/10.1096/fj.201900363r>
- [23] 丁志敏, 高静, 苏凯奇, 等. p38 MAPK 信号通路在脑卒中后认知障碍中的作用及在中药防治中的药理研究进展[J]. 中国药房, 2022, 33(8): 1014-1020.
- [24] Falcicchia, C., Tozzi, F., Arancio, O., Watterson, D.M. and Origlia, N. (2020) Involvement of p38 MAPK in Synaptic Function and Dysfunction. *International Journal of Molecular Sciences*, **21**, Article 5624. <https://doi.org/10.3390/ijms21165624>
- [25] Asih, P.R., Prikas, E., Stefanoska, K., Tan, A.R.P., Ahel, H.I. and Ittner, A. (2020) Functions of p38 MAP Kinases in the Central Nervous System. *Frontiers in Molecular Neuroscience*, **13**, Article 570586. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2020.570586>
- [26] Zhou, W.J., Gui, Q.F., Wu, Y., *et al.* (2015) Tanshinone IIA Protects against Methylglyoxal-Induced Injury in Human Brain Microvascular Endothelial Cells. *International Journal of Clinical and Experimental Medicine*, **8**, 1985-1992.
- [27] Chen, W., Guo, S., Li, X., Song, N., Wang, D. and Yu, R. (2020) The Regulated Profile of Noncoding Rnas Associated with Inflammation by Tanshinone IIA on Atherosclerosis. *Journal of Leukocyte Biology*, **108**, 243-252. <https://doi.org/10.1002/jlb.3ma0320-327rrr>
- [28] 李丹, 徐沙丽, 周志林. 基于 p38 MAPK/Drosha 信号通路探讨脑出血患者继发性脑损伤及神经细胞凋亡的机制[J]. 华南国防医学杂志, 2021, 35(11): 786-791, 795.
- [29] 董西朝, 王林林, 张亮, 等. 烟酰胺经调控 p38 MAPK 信号通路对高血压脑出血大鼠的脑保护作用机制分析[J]. 现代生物医学进展, 2023, 23(18): 3431-3435, 3444.
- [30] 杨树升, 林丽. 大承气汤对脑出血模型大鼠小胶质细胞的作用及机制探讨[J]. 华中科技大学学报(医学版), 2021, 50(6): 728-733, 749.
- [31] 朝博, 任君浩, 苏优勒. 塞来昔布通过 MAPK/ERK 信号通路抑制炎症反应改善急性脑出血大鼠神经功能的机制研究[J]. 中国药师, 2023, 26(11): 181-188.