

Effect of Butylphthalide on Cerebral Infarction Rats and its Mechanism Based on AMPK/eNOS /NF- κ B (p65) Signal Pathway

Zongsheng CHEN¹, Xiangpan CHEN², Shizao FEI¹, Jun LI¹ & Hongpo PANG¹ *

¹ Neurology Department, Wuhu Second People's Hospital, China

² Department of Biochemistry and molecular biology, Wannan Medical College, China

SUMMARY. The aim of this study was to explore the effect and mechanism of butylphthalide on cerebral infarction rats based on AMPK/eNOS /NF- κ B(p65) signal pathway. The rat model of cerebral infarction was established by modified Longa method. Thirty successful modeling SD male rats were randomly divided into model control group, nimodipine group and butylphthalide group, with 10 rats in each group, and 10 rats without model as Normal group. The Normal group and model group were given the same volume of normal saline, the Nimodipine group was given 20 mg/(kg.d) nimodipine, and the butylphthalide group were given 5 mg/(kg.d) butylphthalide, respectively, for 14 consecutive days. Neurological changes were detected in rats; cerebral infarction area was measured by triphenyl tetrazolium chloride staining; levels of interleukin-10 (IL-10), interleukin-1 β , interleukin-6, and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay; cell apoptosis in ischemic penumbra of cerebral cortex was detected by TUNEL; the expressions of adenosine monophosphate activated protein kinase (AMPK), endothelial nitric oxide synthase (eNOS), and nuclear factor κ B (NF- κ B) (p65) mRNA were measured by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR); the protein expressions of p-AMPK, AMPK, peNOS, eNOS, and NF- κ B(p65) were detected by immunohistochemistry (IHC) assay. Butylphthalide could significantly improve neurological function and cerebral infarction area in rats with cerebral infarction ($P < 0.01$), inhibit the expression of pro-inflammatory factors IL-1 β , IL-6, and TNF- α , promote the expression of anti-inflammatory factor IL-10 ($P < 0.05$), reduce the cell apoptosis rate of cortical ischemic penumbra ($P < 0.01$), down-regulate the expressions of NF- κ B (p65) mRNA and protein, and promote phosphorylation of AMPK and eNOS ($P < 0.05$), but there was no significant difference in the expressions of AMPK, eNOS mRNA, and protein ($P > 0.05$). In conclusion, butylphthalide can significantly improve neurological function, cerebral infarction area, cell apoptotic rate of cortical ischemic penumbra, and serum cytokines in rats with cerebral infarction, and its mechanism may be closely related to AMPK/eNOS /NF- κ B(p65) signal pathway.

RESUMEN. El objetivo de este estudio fue explorar el efecto y el mecanismo del butilftalida en ratas con infarto cerebral basadas en la vía de señal AMPK/eNOS/NF- κ B (p65). El modelo de rata de infarto cerebral se estableció mediante el método Longa modificado. Se dividieron al azar treinta ratas macho SD que se distribuyeron en grupo de control modelo, el grupo de nimodipina y el grupo de butilftalida, con 10 ratas en cada grupo y 10 ratas sin modelo como grupo normal. El grupo normal y el grupo modelo recibieron el mismo volumen de solución salina normal, el grupo de nimodipina recibió 20 mg/(kg.d) de nimodipina y el grupo de butilftalida recibió 5 mg/(kg.d) de butilftalida, respectivamente, durante 14 días consecutivos. Se detectaron cambios neurológicos en ratas; el área de infarto cerebral se midió mediante tinción con cloruro de trifetil tetrazolio; los niveles de interleucina-10 (IL-10), interleucina-1 β , interleucina-6 y factor de necrosis tumoral α (TNF- α) se detectaron mediante ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas; mediante TUNEL se detectó la apoptosis celular en la zona isquémica de la corteza cerebral; las expresiones de proteína quinasa activada por monofosfato de adenosina (AMPK), óxido nítrico sintetasa endotelial (eNOS) y ARNm de factor nuclear κ B (NF- κ B) (p65) se midieron por reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT-PCR); las expresiones proteicas de p-AMPK, AMPK, peNOS, eNOS y NF- κ B (p65) se detectaron mediante ensayo inmunohistoquímico (IHC). Butilftalida podría mejorar significativamente la función neurológica y el área de infarto cerebral en ratas con infarto cerebral ($P < 0.01$), inhibir la expresión de factores proinflamatorios IL-1 β , IL-6 y TNF- α , promover la expresión del factor antiinflamatorio IL-10 ($P < 0.05$), reducir la tasa de apoptosis celular de la zona isquémica cortical ($P < 0.01$), re-

KEY WORDS: AMPK/eNOS /NF- κ B(p65) signal pathway. Astaxanthin. cerebral infarction. nerve regeneration.

* Author to whom correspondence should be addressed. E-mail: yujunfang0312@163.com

gular a la baja las expresiones de ARNm y proteína NF- κ B (p65) y promover la fosforilación de AMPK y eNOS ($P < 0,05$), pero no hubo diferencias significativas en las expresiones de AMPK, ARNm de eNOS y proteínas ($P > 0,05$). En conclusión, butilftalida puede mejorar significativamente la función neurológica, el área de infarto cerebral, la tasa de apoptosis celular de la penumbra isquémica cortical y las citocinas séricas en ratas con infarto cerebral, y su mecanismo puede estar estrechamente relacionado con la señal AMPK/eNOS/NF- κ B (p65).
