

· 基础研究 ·

运动训练对大鼠脑梗死周边皮质脑红蛋白表达的影响及机制探讨

黄欢¹ 张逸仙² 郑谋炜¹ 陈艳¹ 梅爱农¹ 刘楠²¹福建省立医院干部特诊一科,福建医科大学省立临床医学院,福建省老年医学重点实验室,福州 350001;²福建医科大学附属协和医院康复科,福建省脑血管病研究所,福州 350001

通信作者:刘楠,Email:xieheliunan1984@sina.com

【摘要】 目的 观察运动训练对大鼠脑梗死周边皮质脑红蛋白(Ngb)表达、氧化应激水平以及神经轴突再生的影响,初步探讨运动训练促进脑梗死后神经功能恢复的相关机制。**方法** 采用随机数字表法将 36 只雄性 SD 大鼠分为假手术组、模型组及观察组,每组 12 只。模型组及观察组大鼠采用改良 Longa 线栓法制成大脑中动脉闭塞(MCAO)脑梗死模型,假手术组大鼠进行同样手术操作,但术中不插入线栓堵塞大脑中动脉。观察组大鼠于术后 24 h 采用跑台仪进行运动训练,每天训练 1 次,其余 2 组大鼠亦同期置于跑台仪上但不进行运动训练。于术后第 3,7,14 天时采用修订版神经功能缺损评分(mNSS)评定各组大鼠神经功能;于末次神经功能评定结束后断头取脑,检测各组大鼠脑梗死周边皮质 Ngb、氧化应激相关指标[如超氧化物歧化酶(SOD)、一氧化氮(NO)、丙二醛(MDA)]及神经轴突再生相关指标[神经丝蛋白-200(NF-200)]表达情况。**结果** 术后第 3 天时观察组 mNSS 评分与模型组间差异无统计学意义($P>0.05$);术后第 7,14 天时观察组 mNSS 评分[分别为(6.83±1.03)分和(5.08±0.79)分]均明显优于模型组($P<0.05$)。模型组 Ngb 表达水平高于假手术组($P<0.05$),观察组 Ngb 表达水平亦显著高于模型组($P<0.05$)。观察组 SOD 表达水平显著高于模型组($P<0.05$),NO、MDA 表达水平明显低于模型组($P<0.05$)。**结论** 运动训练有利于脑梗死大鼠神经功能恢复,其作用机制可能与上调脑梗死周边皮质 Ngb 表达、减轻氧化应激反应以及促进神经轴突再生有关。

【关键词】 脑梗死; 运动训练; 脑红蛋白; 氧化应激; 轴突再生**基金项目:**国家自然科学基金项目(81772452),福建省自然科学基金项目(2018J01309)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2021.07.001

The effect of rehabilitation training on the expression of neuroglobin in the peri-infarct cortex and its mechanismHuang Huan¹, Zhang Yixian², Zheng Mouwei¹, Chen Yan¹, Mei Ainong¹, Liu Nan²¹Department of Geriatric Medicine, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou 350001, China; ²Department of Rehabilitation, Fujian Medical University Union Hospital, Fuzhou 350001, China

Corresponding author: Liu Nan, Email: xieheliunan1984@sina.com

【Abstract】 Objective To study the effect of rehabilitation training on the expression of neuroglobin (Ngb), oxidative stress and axon regeneration in the cortex and explore possible mechanisms of functional recovery after cerebral infarction. **Methods** Thirty-six male Sprague-Dawley rats were randomly divided into a sham operation group, a model group and a rehabilitation group. Cerebral infarction was modelled in the model and rehabilitation groups using Longa's middle cerebral artery occlusion (MCAO) technique. The sham operation group received the same procedure except that no thread was inserted to block the middle cerebral artery. The rats in the rehabilitation group began treadmill training 24h after the operation, while the other two groups were left on the treadmill without training. On the 3rd, 7th and 14th days after the operation, all of the rats' neurological functioning was assessed using modified neurological severity scores (mNSSs). After the last mNSS test, all of the rats were sacrificed and peri-infarct brain tissue was resected to detect the expression of Ngb and oxidative stress indicators including superoxide dismutase (SOD), nitric oxide and malondialdehyde (MDA), as well as neurofilament-200 (NF-200) indicating axon regeneration. **Results** On the 3rd day after the surgery there was no significant difference between the average mNSS scores of the rehabilitation and model groups. On the 7th and 14th day the average mNSS score of the rehabilitation group was significantly better than that of the model group. The average expression of Ngb in the model group was significantly higher than in the sham operation group. After the intervention, the average expression of SOD in the rehabilitation group was significantly higher than in the model group, while NO and MDA expression were significantly lower.

After the intervention the average expression of NF-200 in the rehabilitation group was also significantly higher than in the model group. **Conclusions** Rehabilitation training benefits the recovery of neurological function after cerebral infarction, at least in rats. The mechanism may be related to the upregulation of Ngf, alleviation of oxidative stress and enhancement of axonal regeneration in the peri-infarct cortex.

【Key words】 Cerebral infarction; Exercise training; Neuroglobin; Oxidative stress; Axon regeneration

Funding: National Natural Science Foundation of China (81772452); Natural Science Foundation of Fujian Province (2018J01309)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2021.07.001

相关动物及临床研究均表明:康复运动训练能促进脑梗死后神经功能恢复^[1-2],但其中的分子机制尚未完全明确。脑红蛋白(neuroglobin,Ngf)是一种新型携氧球蛋白,广泛分布在大脑皮质、海马、丘脑及小脑等代谢活跃、耗氧剧烈的脑组织中,具有内源性神经保护作用,如减轻氧化应激反应、抑制凋亡以及促进神经轴突再生等^[3-5]。有研究表明,缺血性脑卒中后氧化应激反应增强会加重神经损伤,其中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)以及一氧化氮(nitric oxide, NO)等是反映机体氧化应激水平的重要指标,也是评价脑卒中病情变化的重要参考因素^[6-7]。神经轴突再生是脑卒中后神经功能恢复的重要基础^[3,8],作为神经元特有的细胞骨架蛋白,神经丝蛋白-200(neurofilament-200, NF-200)主要表达于神经轴突中,在神经元分化、轴突再生以及神经结构及功能重塑过程中均发挥重要作用^[9-10]。本实验以大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)脑梗死模型大鼠为实验对象,通过检测脑梗死周边皮质相关指标(如 Ngf、SOD、NO、MDA、NF-200)变化,初步探讨运动训练促进神经功能恢复的可能机制。

材料与方 法

一、实验动物、试剂及仪器

1. 实验动物:选取 36 只清洁级、健康、雄性 Sprague-Darley (SD) 大鼠(购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,许可证号:SCXK 沪 2007-0005),体重 250~280 g。

2. 主要试剂:包括放射免疫沉淀实验(radio immunoprecipitation assay, RIPA)裂解液、二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)试剂盒、电化学发光液(electrochemical luminescence, ECL)液(上海碧云天公司)、聚偏二氟乙烯(polyvinylidene fluoride, PVDF)膜(美国 Millipore 公司)、小鼠抗 NF-200、小鼠抗 3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体、兔抗神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)抗体(武汉博士德公司)、小鼠抗 Ngf 抗体(美国 Santa Cruz 公司)、辣根过氧化物酶标

记的羊抗小鼠二抗(北京中杉金桥公司)、聚乙二醇辛基苯基醚(Triton X-100)(美国 Amresco 公司)、Cy3 标记的驴抗小鼠二抗、Dylight 488 标记的驴抗兔二抗(美国 Jackson 公司)、SOD、NO、MDA 检测试剂盒(南京建成公司)等。

3. 主要仪器:包括电动跑台仪(美国哥伦比亚仪器公司)、Western blot 仪(美国 Bio-Rad 公司)、冰冻切片机(德国 Leica 公司)及荧光显微镜(日本 Nikon 公司)等。

二、大鼠分组及制模

采用随机数字表法将上述大鼠分为假手术组、模型组及观察组,每组 12 只。参考改良 Longa 线栓法^[3]制备大鼠 MCAO 模型,大鼠制模成功标准参考 Longa 等^[11]介绍的方法。制模成功且神经功能评分为 1~3 分^[11]的大鼠入选本研究模型组及观察组,假手术组大鼠给予相同手术处理,但术中不插入线栓堵塞大脑中动脉。

三、运动训练

本研究采用跑台仪对大鼠进行运动训练,所有大鼠在术前先进行 3 d 适应性训练,剔除不配合训练大鼠并予以补充。观察组大鼠在术后 24 h 开始进行跑台运动(跑台平板斜度为 0 度),持续至术后第 14 天。本研究跑台运动方案参照文献^[12],术前 3 d 跑台速度设置为 12 m/min,术后第 1 天为 4 m/min,术后第 2 天为 8 m/min,从术后第 3 天开始,跑台速度一直保持 12 m/min;术前每天跑台训练时间为 5 min,术后每天为 30 min。假手术组及模型组大鼠同样每日置于跑台上 30 min,但跑台速度均为 0 m/min。

四、大鼠神经功能评定

于术后第 3, 7, 14 天时采用修订版神经功能缺损评分(modified neurological severity scores, mNSS)对各组大鼠进行神经功能评定,mNSS 评分内容包括运动、感觉、反射及平衡功能 4 部分,分值范围 0~18 分,0 分表示神经功能正常,分值越大表示神经功能缺损程度越严重^[13]。

五、Western blot 法检测 Ngf、NF-200 表达

各组大鼠均于术后第 14 天神神经功能评定结束后断头处死,取脑梗死周边皮质约 100 mg 匀浆打碎,加

入 RIPA 裂解液 1 ml 提取蛋白,然后采用 BCA 法检测蛋白浓度。取 30 μ g 蛋白,变性后于 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶中垂直电泳,然后电转移至 PVDF 膜上。上述含蛋白的 PVDF 膜经 10% 脱脂奶粉封闭后,加入 1 : 1000 稀释的一抗 NgB 抗体、NF-200 抗体和 GAPDH 抗体;于 4 $^{\circ}$ C 环境下孵育过夜,经洗膜后加入 1 : 5000 稀释的辣根过氧化物酶标记二抗,室温孵育 1 h;经再次洗膜后采用 ECL 液显色,在暗室里进行 X 胶片显影、定影。采用 Image J 图像分析软件测定 Western blot 条带灰度值,并计算 NgB、NF-200 与内参照物 GAPDH 的比值,然后再参照假手术组值进行标准化,得出其它组 NgB、NF-200 相对表达水平。

六、免疫荧光法检测 NgB、NF-200 表达

制备大鼠脑组织冰冻切片,滴加多聚甲醛固定 15 min,再经磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered solution, PBS) 浸洗 5 min $\times$ 3 次,滴加封闭血清室温封闭 1 h,倾去血清。滴加 0.25% Triton-X100 破膜 20 min,倾去 Triton-X100;再滴加 1 : 100 稀释的一抗 NgB 抗体、NF-200 抗体以及用于标记神经元细胞的 NSE 抗体,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。经 PBS 浸洗 5 min $\times$ 3 次,然后滴加 1 : 400 稀释的 Cy3 和 Dylight 荧光素标记的二抗,避光室温孵育 1 h;再经 PBS 浸洗 5 min $\times$ 3 次,甘油封片,于荧光显微镜下观察并拍照。

七、脑梗死周边皮质氧化应激指标检测

将大鼠断头取脑,分离脑梗死灶周边皮质并测量称重,加入 9 倍体积的生理盐水 (0~4 $^{\circ}$ C),在冰水浴中用玻璃匀浆器研磨制成脑组织匀浆。将制备好的大鼠脑组织匀浆液在 4 $^{\circ}$ C 环境下以 3000 r/min 离心 10 min,取上清液置于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中冻存待测。按照试剂盒说明书操作步骤,检测各组大鼠脑组织 SOD、NO 及 MDA 含量。

八、统计学分析

本研究所得计量资料以 ($\bar{x}\pm s$) 表示,采用 IBM SPSS Statistics 25.0 版统计学软件包进行数据分析,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用独立样本 *t* 检验, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、各组大鼠神经功能缺损评分比较

假手术组大鼠术后各个时间点其 mNSS 评分均为 0 分,与同期模型组及观察组间差异均具有统计学意义 ($P<0.05$),提示 MCAO 模型制模成功。术后第 3 天时观察组 mNSS 评分与模型组间差异无统计学意义 ($P>0.05$),提示入选时观察组及模型组大鼠基线神经功能无显著差异。术后第 7 天、第 14 天时观察组 mNSS 评分均显著低于模型组水平,差异均具有统计

学意义 ($P<0.05$),上述结果提示运动训练能促进脑梗死大鼠受损神经功能恢复。具体数据见表 1。

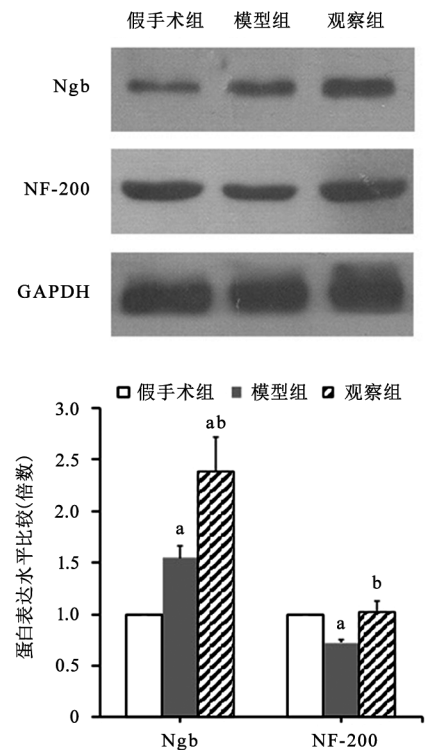
表 1 术后不同时间点各组大鼠 mNSS 评分比较 (分, $\bar{x}\pm s$)

组别	只数	术后第 3 天	术后第 7 天	术后第 14 天
假手术组	12	0	0	0
模型组	12	8.92 $\pm$ 1.08 ^a	8.08 $\pm$ 0.99 ^a	6.58 $\pm$ 1.24 ^a
观察组	12	8.67 $\pm$ 1.07 ^a	6.83 $\pm$ 1.03 ^{ab}	5.08 $\pm$ 0.79 ^{ab}

注:与假手术组相同时间点比较,^a $P<0.05$;与模型组相同时间点比较,^b $P<0.05$

二、术后各组大鼠脑梗死周边皮质 NgB 表达比较

经 Western blot 检测发现,术后第 14 天时假手术组脑梗死周边皮质中 NgB 呈中等程度表达;与假手术组比较,模型组及观察组 NgB 表达水平均明显升高 ($P<0.05$);并且观察组 NgB 表达水平亦显著高于模型组,组间差异具有统计学意义 ($P<0.05$),具体情况见图 1。本研究免疫荧光检测结果与 Western blot 检测结果基本一致,可见模型组及观察组脑梗死周边皮质 NgB 阳性细胞数量均较假手术组明显增多,并以观察组增加幅度尤为显著,具体情况见图 2。通过双重免疫荧光检查进一步发现,在脑梗死周边皮质中 NgB 蛋白主要分布于 NSE 阳性神经元细胞胞质中,具体情况见图 3。



注:与假手术组同时时间点比较,^a $P<0.05$;与模型组同时时间点比较,^b $P<0.05$

图 1 各组大鼠脑梗死周边皮质 NgB 和 NF-200 蛋白表达水平比较 (Western blot 检测)

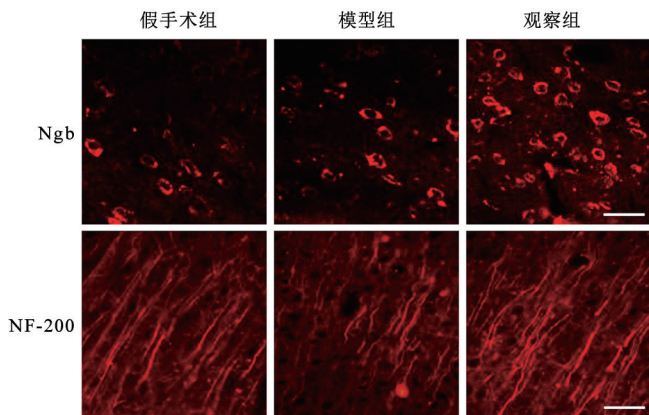


图2 各组大鼠脑梗死周边皮质 Ng2、NF-200 阳性表达比较 (免疫荧光染色, $\times 400$, 标尺 = $50\ \mu\text{m}$)

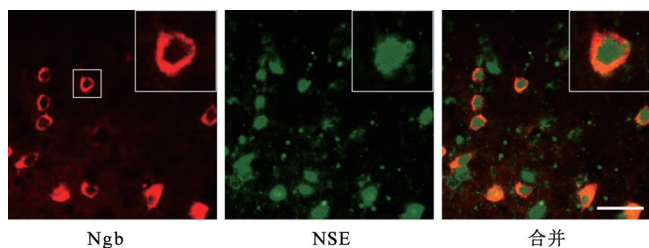


图3 实验大鼠脑梗死周边皮质 Ng2 与 NSE 共表达情况观察 (免疫荧光染色, $\times 400$, 标尺 = $50\ \mu\text{m}$)

三、各组大鼠脑梗死周边皮质氧化应激指标比较

模型组及观察组大鼠脑梗死周边皮质抗氧化酶 SOD 含量均显著低于假手术组 ($P < 0.05$), 但观察组 SOD 含量明显高于模型组 ($P < 0.05$)。模型组大鼠脑梗死周边皮质 NO 及 MDA 含量均高于假手术组 ($P < 0.05$), 观察组 NO 含量虽高于假手术组 ($P < 0.05$), 但显著低于模型组 ($P < 0.05$); 另外观察组 MDA 含量明显低于模型组 ($P < 0.05$), 与假手术组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具体数据见表 2。上述结果提示运动训练能减轻脑梗死周边皮质氧化应激反应。

表2 各组大鼠脑梗死周边皮质氧化应激指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	SOD (U/mg)	NO ($\mu\text{mol/g}$)	MDA ($\mu\text{mol/g}$)
假手术组	3	70.62 ± 4.27	71.75 ± 5.97	2.43 ± 0.33
模型组	3	32.61 ± 3.63^a	128.13 ± 9.20^a	4.85 ± 0.35^a
观察组	3	52.69 ± 2.85^{ac}	92.52 ± 7.13^{bc}	3.14 ± 0.27^c

注: 与假手术组比较, $^a P < 0.01$, $^b P < 0.05$; 与模型组比较, $^c P < 0.05$

四、各组大鼠脑梗死周边皮质神经轴突再生情况比较

经 Western blot 检测发现, 假手术组大鼠脑梗死周边皮质 NF-200 呈显著高表达; 与假手术组比较, 模型组 NF-200 表达水平有所降低 ($P < 0.05$); 而观察组 NF-200 表达水平明显高于模型组 ($P < 0.05$), 与假手术组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具体情况见图 1。通过免疫荧光检测发现 NF-200 主要呈条索样分布于

神经元轴突中, 并且模型组 NF-200 阳性表达弱于假手术组及观察组, 而观察组 NF-200 阳性表达水平与假手术组基本一致, 具体情况见图 2。上述结果表明运动训练可促进脑梗死周边皮质神经轴突再生。

讨 论

缺血性脑卒中是导致人类死亡和残疾的重要病因之一, 虽然发病后 1 年的存活率可达到 85% 左右, 但这部分患者中遗留神经功能障碍的比例高达 70% 以上, 对其工作、日常生活、学习均造成不同程度影响^[14]。大量基础及临床研究均表明康复运动训练对受损神经功能具有改善作用^[1,15]; 本研究也获得类似结果, 如 MCAO 模型大鼠经 2 周跑台训练后, 其受损神经功能较未给予跑台训练的对照组明显改善。

作为一种携氧球蛋白和氧感受器, Ng2 在中枢神经系统中广泛表达, 具有内源性神经保护作用^[3-5], 可减轻缺氧、缺血等病理条件下脑损伤程度。Wen 等^[16]研究表明, 通过缺氧预处理可上调大鼠海马区神经元细胞 Ng2 表达, 并进一步减轻短暂性全脑缺血对神经元细胞的损伤作用。Liu 等^[17]通过敲除实验大鼠 Ng2 基因, 发现 Ng2 能减轻三氧化二砷对大鼠神经元细胞的损伤作用。上述多项研究表明, Ng2 的保护作用主要是通过促进抗氧化酶 (如 SOD、过氧化氢酶等) 活化, 抑制氧自由基 (如 NO、ROS 等) 堆积、促炎因子 (如白介素-6、33 等) 表达及促凋亡因子 (如半胱氨酸蛋白酶-3、9) 活化, 从而维持线粒体膜完整性及正常功能, 改善细胞能量代谢, 并抑制细胞凋亡^[18-19]。本研究检测到大鼠脑梗死周边皮质 Ng2 表达在 MCAO 后明显升高, 与既往报道结果相符, 而运动训练可进一步提高 Ng2 表达。同时本研究还进一步检测了各组大鼠脑缺血周边皮质氧化应激相关指标 (如 SOD、NO、MDA) 表达情况, 发现跑台训练可上调 MCAO 大鼠 SOD 含量, 并抑制 NO、MDA 合成, 提示运动训练可减轻脑缺血周边皮质氧化应激反应。故本研究推测康复运动训练上调 Ng2 表达与减轻脑梗死周边皮质氧化应激反应具有一定相关性。

近期有研究通过观察 MCAO 小鼠模型发现, 增强的 Ng2 表达明显分布于受损神经元生长锥部位, 提示 Ng2 表达与受损轴突再生有关^[3]。经体外氧糖剥夺模型进一步证明, 通过基因敲除技术使原代皮质神经元细胞低表达 Ng2, 可显著抑制神经轴突再生, 反之通过病毒转染技术使皮质神经元细胞过表达 Ng2, 则可促进神经轴突再生^[3,20]。NF-200 作为神经轴突骨架蛋白重要组成部分, 在缺血缺氧环境下可出现崩解、解聚, 表达水平降低, 导致神经轴突受损、断裂, 使神经联络中断, 表现为神经功能缺损^[21-22], 而在受损神经轴

突再生或功能恢复时可检测到 NF-200 表达水平升高^[22-23]。因此,本研究通过检测大鼠脑梗死周边皮质 NF-200 表达水平以评估神经轴突再生情况,结果发现由于缺血缺氧性损伤,术后第 14 天时模型组大鼠脑梗死周边皮质 NF-200 表达仍低于正常水平,与既往报道结果一致^[22];而跑台训练能上调该区域 NF-200 表达,提示大鼠神经轴突再生增强。经免疫荧光检查发现,Ngf 主要分布于缺血周边皮质神经元细胞中。由于 Ngf 具有减轻氧化应激损伤、维持线粒体稳态、促进 ATP 产生以及抑制细胞凋亡等作用^[5,24],因此推测 Ngf 表达上调有利于神经轴突再生可能与改善病理状态下神经元细胞内、外环境有关。

综上所述,本研究结果表明运动训练可促进脑梗死大鼠神经功能恢复,其作用机制可能与上调脑梗死周边皮质 Ngf 表达、减轻氧化应激反应以及促进神经轴突再生有关。Ngf 作为潜在治疗靶点,有望为缺血性脑卒中患者的临床治疗提供新思路。

参 考 文 献

- [1] Han P, Zhang W, Kang L, et al. Clinical evidence of exercise benefits for stroke[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 1000: 131-151. DOI: 10.1007/978-981-10-4304-8-9.
- [2] Thomas LJ, Nelson P, Karthikeyan S, et al. Exercise and environmental enrichment as enablers of task-specific neuroplasticity and stroke recovery[J]. *Neurotherapeutics*, 2016, 13(2): 395-402. DOI: 10.1007/s13311-016-0423-9.
- [3] Xiong XX, Pan F, Chen RQ, et al. Neuroglobin boosts axon regeneration during ischemic reperfusion via p38 binding and activation depending on oxygen signal[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2): 163. DOI: 10.1038/s41419-017-0260-8.
- [4] Li Y, Dai YB, Sun JY, et al. Neuroglobin attenuates beta amyloid-induced apoptosis through inhibiting caspases activity by activating PI3K/Akt signaling pathway[J]. *J Mol Neurosci*, 2016, 58(1): 28-38. DOI: 10.1007/s12031-015-0645-z.
- [5] Van Acker ZP, Luyckx E, Dewilde S. Neuroglobin expression in the brain: a story of tissue homeostasis preservation[J]. *Mol Neurobiol*, 2019, 56(3): 2101-2122. DOI: 10.1007/s12035-018-1212-8.
- [6] Orellana-Urzu S, Rojas I, Libano L, et al. Pathophysiology of ischemic stroke: role of oxidative stress[J]. *Curr Pharm Des*, 2020, 26(34): 4246-4260. DOI: 10.2174/1381612826666200708133912.
- [7] Shao A, Lin D, Wang L, et al. Oxidative stress at the crossroads of aging, stroke and depression[J]. *Aging Dis*, 2020, 11(6): 1537-1566. DOI: 10.14336/AD.2020.0225.
- [8] Gao X, Zhang X, Cui L, et al. Ginsenoside Rb1 promotes motor functional recovery and axonal regeneration in post-stroke mice through cAMP/PKA/CREB signaling pathway[J]. *Brain Res Bull*, 2020, 154: 51-60. DOI: 10.1016/j.brainresbull.2019.10.006.
- [9] Boumil EF, Vohnoutka R, Lee S, et al. Assembly and turnover of neurofilaments in growing axonal neurites[J]. *Biol Open*, 2018, 7(1): bio028795. DOI: 10.1242/bio.028795.
- [10] Mages B, Aleithe S, Altmann S, et al. Impaired neurofilament integrity

and neuronal morphology in different models of focal cerebral ischemia and human stroke tissue[J]. *Front Cell Neurosci*, 2018, 12: 161. DOI: 10.3389/fncel.2018.00161.

- [11] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [12] Liu N, Huang H, Lin F, et al. Effects of treadmill exercise on the expression of netrin-1 and its receptors in rat brain after cerebral ischemia[J]. *Neuroscience*, 2011, 194: 349-358. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2011.07.037.
- [13] Chen J, Li Y, Wang L, et al. Therapeutic benefit of intravenous administration of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats[J]. *Stroke*, 2001, 32(4): 1005-1011. DOI: 10.1161/01.str.32.4.1005.
- [14] Steinberg GK, Kondziolka D, Wechsler LR, et al. Clinical outcomes of transplanted modified bone marrow-derived mesenchymal stem cells in stroke: a phase 1/2a study[J]. *Stroke*, 2016, 47(7): 1817-1824. DOI: 10.1161/STROKEAHA.116.012995.
- [15] Xing Y, Yang SD, Dong F, et al. The beneficial role of early exercise training following stroke and possible mechanisms[J]. *Life Sci*, 2018, 198: 32-37. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.02.018.
- [16] Wen H, Liu L, Zhan L, et al. Neuroglobin mediates neuroprotection of hypoxic postconditioning against transient global cerebral ischemia in rats through preserving the activity of Na(+)/K(+) ATPases[J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(6): 635. DOI: 10.1038/s41419-018-0656-0.
- [17] Liu X, Gao Y, Liu Y, et al. Neuroglobin alleviates arsenic-induced neuronal damage[J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2021, 84: 103604. DOI: 10.1016/j.etap.2021.103604.
- [18] Dai JL, Lin Y, Yuan YJ, et al. Regulatory effect of neuroglobin in the recovery of spinal cord injury[J]. *J Spinal Cord Med*, 2019, 42(3): 371-377. DOI: 10.1080/10790268.2017.1397874.
- [19] Amri F, Ghouli I, Amri M, et al. Neuroglobin protects astroglial cells from hydrogen peroxide-induced oxidative stress and apoptotic cell death[J]. *J Neurochem*, 2017, 140(1): 151-169. DOI: 10.1111/jnc.13876.
- [20] Li L, Liu QR, Xiong XX, et al. Neuroglobin promotes neurite outgrowth via differential binding to PTEN and Akt[J]. *Mol Neurobiol*, 2014, 49(1): 149-162. DOI: 10.1007/s12035-013-8506-7.
- [21] Zhang T, Gu J, Wu L, et al. Neuroprotective and axonal outgrowth-promoting effects of tetramethylpyrazine nitron in chronic cerebral hypoperfusion rats and primary hippocampal neurons exposed to hypoxia[J]. *Neuropharmacology*, 2017, 118: 137-147. DOI: 10.1016/j.neuropharm.2017.03.022.
- [22] Ueno Y, Chopp M, Zhang L, et al. Axonal outgrowth and dendritic plasticity in the cortical peri-infarct area after experimental stroke[J]. *Stroke*, 2012, 43(8): 2221-2228. DOI: 10.1161/STROKEAHA.111.646224.
- [23] Huang H, Lin F, Jiang J, et al. Effects of intra-arterial transplantation of adipose-derived stem cells on the expression of netrin-1 and its receptor DCC in the peri-infarct cortex after experimental stroke[J]. *Stem Cell Res Ther*, 2017, 8(1): 223. DOI: 10.1186/s13287-017-0671-6.
- [24] Guidolin D, Tortorella C, Marcoli M, et al. Neuroglobin, a factor playing for nerve cell survival[J]. *Int J Mol Sci*, 2016, 17(11): 1817. DOI: 10.3390/ijms17111817.

(修回日期: 2021-03-15)

(本文编辑: 易 浩)