

# 基于 SIRT1/FoxO1 信号通路探讨高压氧对脑缺血再灌注损伤大鼠血脑屏障的影响

佟雪<sup>1</sup> 张倩茹<sup>1</sup> 赵红<sup>1</sup> 陈学新<sup>2</sup>

<sup>1</sup>中国医科大学基础医学院机能实验中心, 沈阳 110122; <sup>2</sup>中国医科大学附属第一临床医院  
高压氧科, 沈阳 110122

通信作者: 佟雪, Email: 2572058115@qq.com

**【摘要】** 目的 基于沉默信息调节因子 1/叉头转录因子 O1 (SIRT1/FoxO1) 信号通路探讨高压氧 (HBO) 对脑缺血再灌注 (CIR) 大鼠血脑屏障 (BBB) 的保护作用。方法 选取雄性 Wistar 大鼠 40 只, 按照随机数字表法将其分成假手术组 (Sham 组)、模型组 (CIR 组)、CIR+HBO 组、CIR+HBO+SIRT1 抑制剂 (EX527) 组, 每组 10 只。采用改良线栓法建立大鼠右侧大脑中动脉栓塞模型, Sham 组大鼠不进行结扎和线栓导入, CIR+HBO 组和 CIR+HBO+EX527 组予以 HBO 干预, CIR+HBO+EX527 组在此基础上再予以 EX527 处理。CIR+HBO 组和 CIR+HBO+EX527 组于再灌注 1 h、9 h、21 h、45 h、69 h 进入 HBO 舱, 期间行 HBO 治疗 5 次。在处死动物前 1 h, 经尾静脉注射 2% 伊文思兰 (EB), 采用比色法、逆转录-聚合酶链 (RT-PCR) 和 Western blot 法分别检测再灌注 72 h 大鼠海马区脑组织 EB 含量, SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 mRNA 及蛋白表达变化。结果 CIR 72 h, CIR 组、CIR+HBO 组和 CIR+HBO+EX527 组大鼠海马区脑组织 EB 含量均较 Sham 组明显增加 ( $P<0.05$ ), CIR+HBO+EX527 组大鼠海马区脑组织 EB 的含量较 CIR+HBO 组显著增加 ( $P<0.05$ )。CIR 72 h, CIR 组、CIR+HBO 组和 CIR+HBO+EX527 组大鼠海马区脑组织 SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 mRNA 表达及其相应蛋白表达较 Sham 组均显著降低 ( $P<0.05$ ), CIR+HBO+EX527 组大鼠海马区脑组织 SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 mRNA 表达及其相应蛋白表达较 CIR+HBO 组显著降低 ( $P<0.05$ )。结论 HBO 可以通过 SIRT1/FoxO1 通路增加紧密连接蛋白的表达, 从而在 CIR 损伤中对 BBB 起到保护作用。

**【关键词】** 高压氧; 血脑屏障; 脑缺血再灌注; SIRT1; FoxO1; 紧密连接蛋白

**基金项目:** 辽宁省科技厅博士启动基金资助项目 (20101149)

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2022.01.002

## Effects of hyperbaric oxygen on the blood-brain barrier via the SIRT1/FoxO1 signaling pathway after cerebral ischemia and reperfusion

Tong Xue<sup>1</sup>, Zhang Qianru<sup>1</sup>, Zhao Hong<sup>1</sup>, Chen Xuexin<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Functional Experimentation Center, College of Basic Medical Science, China Medical University, Shenyang 110122, China; <sup>2</sup>Hyperbaric Oxygen Department, The First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China

Corresponding author: Tong Xue, Email: 2572058115@qq.com

**【Abstract】 Objective** To explore the effect of hyperbaric oxygen (HBO) on the blood-brain barrier via the silent information regulator 1 (SIRT1)/Forkhead box O1 (FoxO1) signaling pathway after cerebral ischemia and reperfusion using a rat model. **Methods** Forty Wistar rats were randomly assigned into sham, cerebral ischemia-reperfusion (CIR), CIR+HBO and CIR+HBO+EX527 groups, each of 10. The cerebral ischemia-reperfusion model was established in all groups except the sham group by right middle cerebral artery occlusion using the modified thread-occlusion method. The sham group was not ligated. Both the CIR+HBO and CIR+HBO+EX527 groups were given HBO 1, 9, 21, 45 and 69 hours after the reperfusion. The CIR+HBO+EX527 group was additionally injected with 5mg/kg of EX527 (a SIRT1 inhibitor) peritoneally 4, 12, 24, 48 and 72 hours after the reperfusion. Then 2% Evans blue (EB) was injected into the tail vein an hour before the rats were sacrificed. The content of EB and the expression of SIRT1, FoxO1, ZO-1, Occludin, Claudin-5 mRNA and their proteins were determined using spectrophotometry, reverse transcription-polymerase chain reactions and Western blotting. **Results** The average EB content of the hippocampal brain tissue from the CIR, CIR+HBO and CIR+HBO+EX527 rats was significantly greater than the Sham group's average 72h after reperfusion. The average expression of SIRT1, FoxO1, ZO-1, Occludin and Claudin-

5 mRNA and their proteins was significantly lower, with the CIR +HBO +EX 527 group's average significantly lower than that of the CIR+HBO group. **Conclusions** HBO can increase the expression of tight junction protein via the SIRT1/FoxO1 pathway. It helps to protect the blood-brain barrier in CIR injury situations.

**【Key words】** Hyperbaric oxygen; Blood-brain barrier; Cerebral ischemia and reperfusion; Silent information regulator 1; Forkhead box O1; Tight junction protein

**Funding:** The doctoral program of the Liaoning Province Science and Technology Department (20101149)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2022.01.002

缺血性脑血管疾病是威胁人类健康的疾病之一, 尽早恢复脑组织的供血供氧是治疗该疾病的有效手段, 但脑缺血再灌注 (cerebral ischemia-reperfusion, CIR) 会导致不同程度的损伤<sup>[1]</sup>。其中, 血脑屏障 (blood-brain barrier, BBB) 通透性改变是 CIR 损伤的主要病理生理变化之一<sup>[2]</sup>。BBB 是存在于脑组织和血液之间的一个复杂的屏障系统, 主要由血管内皮细胞、星形胶质细胞、周细胞、细胞外连续的基底膜、细胞外基质及神经构成<sup>[3]</sup>。血管内皮细胞的完整性在保证 BBB 发挥正常屏障功能中起着重要作用。脑血管内皮细胞及细胞间的紧密连接是构成 BBB 的主要结构, 紧密连接是由相邻细胞膜外层通过特异性的跨膜蛋白彼此融合构成的闭锁结构, 位于脑血管内皮细胞间, 主要由跨膜蛋白构成, 包括闭合蛋白 Claudins 家族、咬合蛋白 Occludin 家族、连接黏附分子、胞质附着蛋白 ZO 家族、细胞骨架蛋白等<sup>[4]</sup>。紧密连接相关蛋白的结构、分布和表达水平的变化, 都会影响紧密连接的开放或关闭, 从而改变 BBB 的通透性。

沉默信息调节因子 1 (silent information regulator protein, SIRT1) 属于烟酰胺嘌呤二核苷酸依赖的类组蛋白去乙酰化酶, 广泛存在于人类组织细胞中。SIRT1 通过去乙酰化调节下游叉头蛋白 O1 (forkhead box O1 protein, FoxO1) 信号通路, 在调节脂肪细胞代谢、改善胰岛功能等方面发挥着重要作用<sup>[5]</sup>。有研究表明, SIRT1/FoxO1 信号通路在改善 CIR 损伤中起着重要作用<sup>[6]</sup>。然而, 基于 SIRT1/Foxo1 信号通路探讨 CIR 损伤大鼠 BBB 通透性的相关研究较少。高压氧 (hyperbaric oxygen, HBO) 是临床上治疗脑血管疾病的一种重要手段, 其可增加脑组织内氧分压, 改善患者脑缺血症状, 有助于神经功能的恢复与重建<sup>[7]</sup>。因此, 本研究基于 SIRT1/FoxO1 信号通路, 从分子水平进一步探讨 HBO 对 CIR 损伤大鼠 BBB 的影响及可能机制。

## 材料与方法

### 一、实验动物及分组

选取成年健康雄性 Wistar 大鼠 40 只, 3~4 月龄, 体重 (250±30) g, 由中国医科大学动物部提供 (SCXK 1999045)。按照随机数字表法将大鼠分为假手术组 (Sham 组)、模型组 (CIR 组)、CIR+HBO 组、CIR+HBO

+SIRT1 抑制剂 (EX527) 组, 每组 10 只。

### 二、CIR 动物模型的制备

采用大脑中动脉线栓法制备动物模型。大鼠采用 10% 水合氯醛 (3.5 ml/kg) 腹腔麻醉, 于右侧颈部切开, 暴露右侧颈总动脉, 分离迷走神经。结扎翼腭动脉和颈外动脉, 将末端圆钝的 420 尼龙丝线依次通过颈外动脉和颈内动脉、小心插至大脑前交通动脉, 丝线插入长度约 118~210 cm, 阻塞右侧大脑中动脉, 120 min 后拔出尼龙线, 形成再灌注。Sham 组大鼠除不进行结扎和线栓的导入, 其余操作同其它组。改良 Longa 评分 1~3 分提示造模成功。

### 三、干预方法

1. HBO 干预: 术后 1 h、9 h、21 h、45 h、69 h, 对 CIR +HBO 组和 CIR+HBO+EX527 组大鼠予以 HBO 干预。采用北京产 GB12130-1995 型动物氧气加压舱, 待动物进舱后, 先用纯氧洗舱 10 min, 使舱内氧浓度 >90%, 加压速率为 0.0125 MPa/min, 加压至 0.25 MPa, 停留 60 min, 其间用纯氧通气 10 min。之后在 20 min 内匀速减至常压。

2. EX527 处理: 术后 4 h、12 h、24 h、48 h、72 h, 对 CIR+HBO+EX527 组大鼠予以 EX527 腹腔注射, 剂量为 5 mg/kg。

### 四、大鼠海马区脑组织伊文思兰 (Evans blue, EB) 含量测定

参考 Hawkins 等<sup>[8]</sup>用甲酰胺测定皮肤 EB 含量的方法, 于 CIR 72 h 后检测大鼠海马区脑组织 EB 的含量。在处死大鼠前 1h 经尾静脉注入 2% EB 生理盐水 (1 ml/kg), 摘取海马区脑组织前 20 min 经心脏灌注生理盐水, 直至流出清亮的液体。处死大鼠, 取海马区脑组织用电子天平精确称其湿重后, 投入试管中, 加入 3 ml 甲酰胺, 加盖后于 45 °C 水浴箱孵育 48 h, 轻轻摇匀, 离心 15 min (3000 r/min), 取上清液于分光光度计比色。

### 五、RT-PCR 检测大鼠海马区脑组织 SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5mRNA 的表达

取海马区脑组织 50~100 mg, 剪碎, 液氮研磨, 在 4 °C 环境下分别加入 1 ml Trizol、氯仿、异丙醇、DEPC 水后离心, 制备目的细胞总 RNA。以该 RNA 为模板, 在适当引物下, 由反转录酶生成 cDNA。取出 cDNA 作

为荧光定量的模板,经历 40 次热循环,扩增后收集荧光信号,采用相对量化研究方法分析数值,计算方法为  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ,见表 1。

表 1 RT-PCR 引物序列及产物片段

靶基因	引物序列(5'-3')
$\beta$ -actin	正义链:TCAATCTATGAGGGTTATGC 反义链:TTTAGTGTATGCACGATTC
SIRT1	正义链:TGTGTGTGGAATCTATGCTT 反义链:ACTGCATTACCATGTACTTT
FoxO1	正义链:GATATTGAGACTCACCTGTC 反义链:CTAGATTATGGTCGAGTGAA
ZO-1	正义链:CATTCAGTGAGTACGATAGC 反义链:CTTGATCAATGTTGACATGT
Occludin	正义链:TTGATACAGCGTCAATGTCA 反义链:AAATCATGCTAGGAGTTACA
Claudin-5	正义链:TGAGTACCTGAACCGGCATC 反义链:CCGTAATGGACAGTGTCTGA

六、Western blot 法检测海马区脑组织 SIRT1、Foxo1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 的表达

分离 CIR 大鼠海马区脑组织,加入裂解液后匀浆,4 °C,离心 15 min,取上清 20  $\mu$ l,用考马斯亮蓝 G-250 结合法进行蛋白定量,10% 十二烷基磺酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)-聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gelelectrophoresis, PAGE)分离后,转印到硝酸纤维素膜上, SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 一抗稀释度均为 1 : 500,  $\beta$ actin 抗体的稀释度为 1 : 5000,4 °C 孵育过夜,相应二抗室温孵育 3 h,使用增强化学发光法(enhanced chemiluminescence, ECL)试剂盒检测蛋白。以  $\beta$ -actin 为内参,采用 Chemi Imager 5500v2.03 软件扫描胶片,利用 Fluor Chem 2.0 图像分析仪对条带积分光密度进行定量分析。

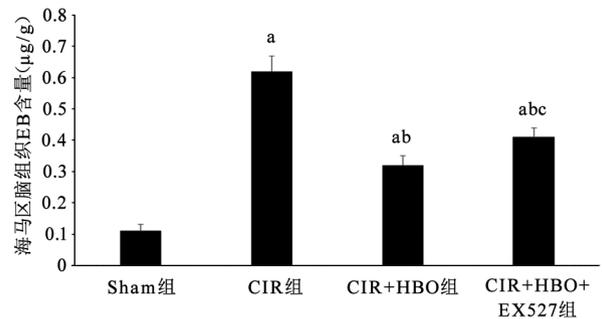
### 七、统计学方法

采用 SPSS 23.0 版统计学软件进行数据处理,计量资料以( $\bar{x}\pm s$ )形式表示,组间不同时间点比较采用  $t$  检验,多组间均数比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 结 果

### 一、各组大鼠 CIR 72 h 海马区脑组织 EB 含量比较

CIR 72 h, CIR 组、CIR + HBO 组和 CIR + HBO + EX527 组大鼠海马区脑组织 EB 含量均较 Sham 组明显增加( $P < 0.05$ )。与 CIR 组比较,CIR + HBO 组和 CIR + HBO + EX527 组大鼠海马区脑组织 EB 含量均较低( $P < 0.05$ )。CIR + HBO + EX527 组海马区脑组织 EB 的含量较 CIR + HBO 组显著增加( $P < 0.05$ )。详见图 1。

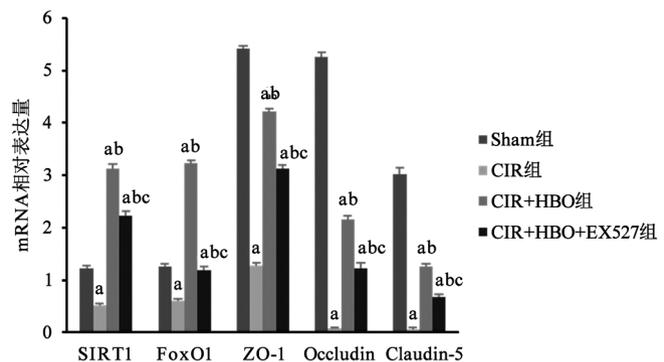


注:与 Sham 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 CIR 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 CIR+HBO 组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

图 1 各组大鼠 CIR 72 h 海马区脑组织 EB 含量比较

### 二、各组大鼠 CIR 72 h 海马区脑组织 SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 mRNA 的表达

CIR 72 h, CIR 组、CIR + HBO 组和 CIR + HBO + EX527 组大鼠海马区脑组织 SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 mRNA 的表达较 Sham 组均显著降低( $P < 0.05$ )。与 CIR 组比较,CIR + HBO 组和 CIR + HBO + EX527 组大鼠海马区脑组织 SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 mRNA 的表达均显著增加。CIR + HBO + EX527 组较 CIR + HBO 组海马区脑组织 SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 mRNA 的表达显著降低( $P < 0.05$ )。详见图 2。



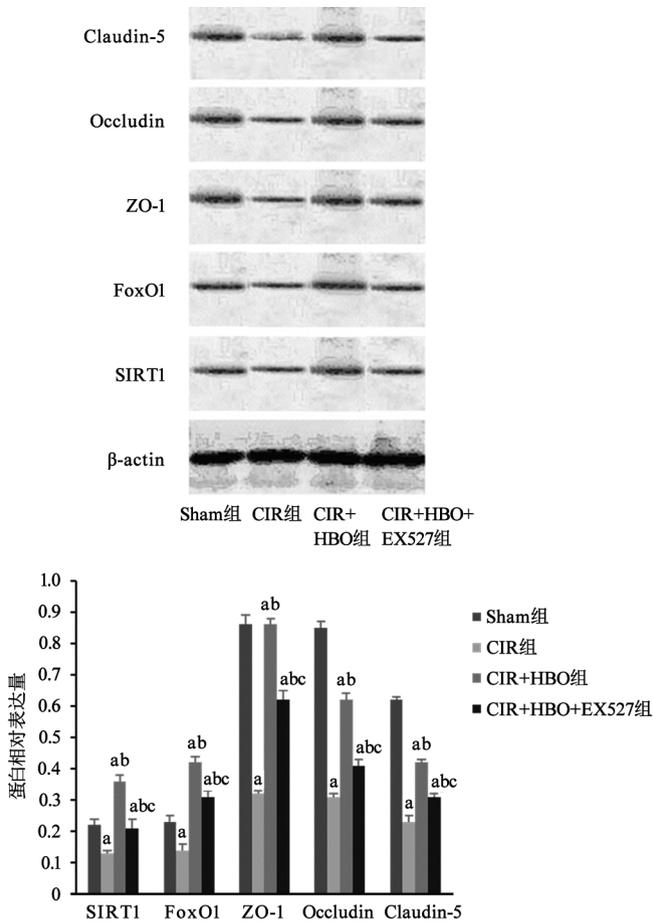
注:与 Sham 组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与 CIR 组比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 CIR+HBO 组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$

图 2 各组大鼠 CIR 72 h 海马区脑组织 SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 mRNA 的表达

### 三、各组大鼠 CIR 72 h 海马区脑组织 SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 蛋白的表达

CIR 72 h, CIR 组、CIR + HBO 组和 CIR + HBO + EX527 组大鼠海马区脑组织 SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 mRNA 蛋白的表达较 Sham 组显著降低( $P < 0.05$ )。CIR + HBO 组和 CIR + HBO + EX527 组较 CIR 组海马区脑组织 SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 蛋白表达显著增加( $P < 0.05$ )。CIR + HBO + EX527 组较 CIR + HBO 组海马区脑组织 SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 蛋白表达显著降低( $P <$

0.01)。详见图 3。



注:与 Sham 组相比, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ; 与 CIR 组相比, <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 与 CIR+HBO 组相比, <sup>c</sup> $P < 0.01$

图 3 各组大鼠 CIR 72 h 海马区脑组织 SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 蛋白的表达

### 讨 论

CIR 损伤引起的 BBB 变化会加重脑损伤<sup>[9-10]</sup>。CIR 后 BBB 的通透性增加既是损伤结果,也是进一步触发损伤的主要原因,是 CIR 引起级联损伤的重要病理生理过程。本实验通过检测海马区脑组织 EB 含量来评价 BBB 通透性,结果显示,CIR 72 h 后大鼠 EB 含量较 Sham 组显著增加,提示 CIR 72 h 后大鼠 BBB 的通透性增加。

脑血管内皮细胞之间的紧密连接是细胞间的通透屏障,通过细胞旁路径调控水、离子和大分子物质的跨膜转运<sup>[11]</sup>。紧密连接由 ZO-1、Occludin、Claudin-5 及细胞骨架蛋白等相连而成。ZO-1、Occludin、Claudin-5 是内皮细胞紧密连接的主要结构蛋白,ZO-1、Occludin、Claudin-5 在紧密连接的组成中居于核心地位<sup>[12]</sup>。有多项研究表明,紧密连接蛋白表达量及其位置分布的变化或结构功能的异常均可能破坏紧密连接的完整

性,引起细胞间连接的开放,进而导致 BBB 通透性改变<sup>[12]</sup>。本研究结果显示,CIR 72 h 后 CIR 组海马区脑组织 ZO-1、Occludin、Claudin-5 mRNA 和蛋白表达明显下降,表明 CIR 72 h 后 BBB 的结构基础被破坏,导致 BBB 通透性显著增加。

SIRT1 是 Sir2 超蛋白家族的成员之一,能够催化组蛋白底物和非组蛋白底物的乙酰赖氨酸进行去乙酰化反应<sup>[14]</sup>。SIRT1 激活后,可引起 FoxO1 激活<sup>[15]</sup>。FoxO1 是 O-box 子家族中叉头转录因子的成员之一,是起调节作用的主要结构<sup>[16]</sup>。SIRT1/FoxO1 作为其信号通路的共同作用靶点,参与机体的氧化应激、凋亡、自噬和内质网应激等反应。有研究发现,SIRT1/FoxO1 信号通路在糖尿病心肌缺血再灌注损伤中发挥重要作用<sup>[17]</sup>。多项证据显示<sup>[18]</sup>,SIRT1 能使 Ac-FoxO1 去乙酰化,激活 FoxO1 的转录活性,在脂质代谢中起重要作用。近期的研究还发现,在阿尔茨海默病中通过激活 SIRT1/FoxO1 信号通路,可以诱导和促进自噬过程,加速病理性蛋白的清除,对神经系统疾病的治疗具有重要作用<sup>[19]</sup>。曹自为等<sup>[20]</sup>研究发现,白藜芦醇通过 SIRT1/FoxO1 通路可抑制 CIR 损伤大鼠的炎症因子表达。本研究显示,CIR 组海马区脑组织 SIRT1、FoxO1 mRNA 及蛋白表达均较 Sham 组显著降低,同时伴有 EB 含量的增加,提示在 CIR 损伤中,SIRT1 和 FoxO1 表达降低,在 BBB 通透性变化中起到了一定作用。

有研究表明,HBO 可降低 CIR 损伤后 BBB 的通透性,对 BBB 具有保护作用<sup>[21-22]</sup>。本实验结果显示,与 CIR 组比较,CIR+HBO 组和 CIR+HBO+EX527 组 EB 的含量明显降低,而 SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 mRNA 及蛋白表达明显增加,还观察到 CIR+HBO+EX527 组海马区脑组织 EB 的含量较 CIR+HBO 组明显增加,而 SIRT1、FoxO1、ZO-1、Occludin、Claudin-5 mRNA 及蛋白表达明显降低。提示在 CIR 损伤中,HBO 作为 SIRT1 的激动剂,可激活 SIRT1、FoxO1 mRNA 及蛋白的表达,同时上调紧密连接蛋白 ZO-1、Occludin、Claudin-5 mRNA 及蛋白的表达,但这些效应可被 SIRT1 特异性抑制剂 EX527 所阻断。

综上所述,HBO 可通过 SIRT1/FoxO1 通路增加紧密连接蛋白的表达,降低 BBB 的通透性,从而在 CIR 损伤中起到保护 BBB 的作用。本研究为临床上应用 HBO 治疗缺血性脑血管病提供了新的依据。

### 参 考 文 献

[1] Fang W,Sha L,Kodithuwakku ND, et al. Attenuated blood-brain barrier dysfunction by XQ-1H following ischemic stroke in hyperlipidemic rats [J]. Mol Neurobiol, 2015, 52(1):162-175. DOI:10.1007/s12035-

- 014-8851-1.
- [2] Chen D, Wei XT, Guan JH, et al. Inhibition of c-Jun N-terminal kinase prevents blood-brain barrier disruption and normalizes the expression of tight junction proteins claudin-5 and ZO-1 in a rat model of subarachnoid hemorrhage [J]. *Acta neurochir*, 2012, 154(8):1469-1476. DOI:10.1007/s00701-012-1328-y.
- [3] Liu JY, Thom M, Catarino CB, et al. Neuropathology of the blood-brain barrier and pharmaco-resistance in human epilepsy [J]. *Brain*, 2012, 135(10):3115-3133. DOI:10.1093/brain/aww147.
- [4] 贺洪华, 杨世亮, 阿托伐他汀对脑缺血再灌注大鼠血脑屏障的保护作用 [J]. *中国病理生理杂志*, 2015, 31(2):219-223. DOI:10.3969/j.issn.1000-4718.2015.02.005.
- [5] Kong XX, Wang R, Liu XJ, et al. Function of SIRT1 in physiology [J]. *Biochemistry*, 2009, 74(7):703-708. DOI:10.1134/s0006297909070013.
- [6] Wang JF, Yi HL, Yuan XL, et al. Effects of resveratrol learning and memory and P-tau in hippocampus in AD [J]. *J Apoplexy Nerv*, 2014, 31:22-25.
- [7] Zhao BS, Meng LX, Ding YY, et al. Hyperbaric oxygen treatment produces an antinociceptive response phase and inhibits astrocyte activation and inflammatory response in a rat model of neuropathic pain [J]. *J Mol Neurosci*, 2014, 53(2):251-261. DOI:10.1007/s12031-013-0213-3.
- [8] Hawkins BT, Davis TP. The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease [J]. *Pharmacol Rev*, 2005, 57(2):173-185. DOI:10.1124/pr.57.2.4.
- [9] Elgendy IY, Mahmoud AN, Mansoor H, et al. Evolution of acute ischemic stroke therapy from lysis to thrombectomy: similar or different to acute myocardial infarction [J]. *Int J Cardiol*, 2016, 222(11):441-447. DOI:10.1016/j.ijcard.2016.07.251.
- [10] 孟胜喜, 霍清萍. 局灶性脑缺血动物模型的研究进展 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2016, 14(12):1366-1370. DOI:10.3969/j.issn.1672-1349.2016.12.019.
- [11] Hay JR, Johnson VE, Young AM, et al. Blood-brain barrier disruption is an early event that may persist for many years after traumatic brain injury in humans [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2015, 74(12):1147-1157. DOI:10.1097/NEN.0000000000000261.
- [12] Namazi H. RE: The rare sugar D-allose has a reducing effect against ischemia-reperfusion injury on the rat abdominal skin island flap model: a molecular mechanism [J]. *J Surg Res*, 2014, 187(1):359-360. DOI:10.1016/j.jss.2013.09.021.
- [13] Huang S, Kim JK, Atochin DN, et al. Cerebral blood volume affects blood-brain barrier integrity in an acute transient stroke model [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33(6):898-905. DOI:10.1038/jcbfm.2013.27.
- [14] Chang HC, Guarente L. SIRT1 and other sirtuin metabolism [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2014, 25(3):138-145. DOI:10.1016/j.tem.2013.12.001.
- [15] Chen YR, Lai YL, Lin SD, et al. SIRT1 interacts with metabolic transcriptional factors in the pancreas of insulin-resistant and calorie-restricted rats [J]. *Mol Bio Rep*, 2013, 40(4):3373-3380. DOI:10.1007/s11033-012-2412-3.
- [16] Dong XC. FOXO transcription factors in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *Liver Res*, 2017, 1(3):168-173. DOI:10.1016/j.livres.2017.11.004.
- [17] Chistiakov DA, Orekhov AN, Bobryshev YV. The impact of FOXO-1 to cardiac pathology in diabetes mellitus and diabetes-related metabolic abnormalities [J]. *Int J Cardiol*, 2017, 245:236-244. DOI:10.1016/j.ijcard.2017.07.096.
- [18] Chong ZZ, Wang S, Shang YC, et al. Targeting cardiovascular disease with novel SIRT1 pathways [J]. *Future Cardiol*, 2012, 8(1):89-100. DOI:10.2217/fca.11.76.
- [19] 李传文, 张嵘, 候亮, 等. SIRT1/NF- $\kappa$ B 通路参与白藜芦醇改善大鼠脑缺血再灌注损伤炎症反应 [J]. *安徽医科大学学报*, 2018, 53(1):6-9. DOI:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2018.01.002.
- [20] 曹自为, 李传文, 刘学春, 等. 白藜芦醇通过 SIRT1/FoxO1 路径改善大鼠脑缺血/再灌注损伤机制研究 [J]. *安徽医科大学学报*, 2019, 54(5):719-722. DOI:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2019.05.011.
- [21] Guo ZN, Xu L, Hu Q, et al. Hyperbaric oxygen preconditioning attenuates hemorrhagic transformation through reactive oxygen species/thioredoxin-interacting protein/nod-like receptor protein 3 pathway in hyperglycemic middle cerebral artery occlusion rats [J]. *Crit Care Med*, 2015, 44(6):e403. DOI:10.1097/CCM.0000000000001468.
- [22] Yu M, Xue Y, Liang W, et al. Protection mechanism of early hyperbaric oxygen therapy in rats with permanent cerebral ischemia [J]. *J Phys Therapy Sci*, 2015, 27(10):3271-3274. DOI:10.1589/jpts.27.3271.

(修回日期:2021-12-01)

(本文编辑:凌琛)