

## · 基础研究 ·

# 运动预处理对脑缺血再灌注损伤大鼠缺血区脑组织血管新生及HIF-1 $\alpha$ 和VEGF蛋白表达的影响

周璐<sup>1</sup> 唐丽亚<sup>2</sup> 蒋琼<sup>1</sup> 贺美燕<sup>1</sup> 孙晓莹<sup>2</sup> 瞿启睿<sup>2</sup> 易细芹<sup>2</sup> 艾坤<sup>2</sup>

<sup>1</sup>郴州市第一人民医院康复医学科,郴州 423000; <sup>2</sup>湖南中医药大学针灸推拿与康复学院,长沙 410208

通信作者:艾坤,Email:aikun650@qq.com

**【摘要】 目的** 观察运动预处理对脑缺血再灌注损伤大鼠缺血侧脑组织缺氧诱导因子-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) 和血管内皮生长因子 (VEGF) 的影响,探讨运动预处理通过促进血管新生改善缺血再灌注损伤的可能机制。**方法** 采用随机数字表法将 36 只 SD 雄性大鼠分为假手术组、模型组和运动预处理组,每组 12 只。3 组大鼠给予适应性跑步训练 3 d 后,运动预处理组给予正式跑步训练,速度 15 m/min,每天 1 次,每次 30 min,持续 14 d;假手术组与模型组大鼠不给予其它处理。正式跑步训练结束后,模型组和运动预处理组大鼠采用 Zea-Longa 栓线法加以改良制备大脑中动脉栓塞 (MCAO) 再灌注大鼠模型,假手术组仅切开颈部皮肤,暴露右侧颈动脉。造模麻醉清醒后,采用 Zea-Longa 评分进行神经功能缺损评分;造模 24 h 后,3 组大鼠均采用 Zea-Longa 评分和改良的神经严重程度评分 (mNSS) 进行神经功能缺损评分,TTC 染色法检测脑相对梗死面积,HE 染色观察缺血侧大脑皮质组织形态学改变,免疫组化法观察缺血侧大脑皮质 CD31、HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 的表达情况。**结果** ①造模麻醉清醒后,模型组和运动预处理组大鼠 Zea-Longa 评分均较假手术组有明显增高 ( $P<0.01$ ),且模型组与运动预处理组相比,组间差异无统计学意义;②造模 24 h 后,模型组 Zea-Longa 评分、mNSS 评分、脑相对梗死面积均较假手术组显著增高 ( $P<0.01$ );与模型组相比,运动预处理组 Zea-Longa 评分 ( $P<0.05$ )、mNSS 评分 ( $P<0.01$ )、脑相对梗死面积 ( $P<0.05$ ) 均明显降低;③HE 染色显示,与假手术组相比,模型组大鼠缺血侧大脑皮质出现组织疏松、神经细胞数量减少、胞核溶解、呈空泡状等病理学改变;与模型组相比,运动预处理组大鼠缺血侧大脑皮质病理学改变减轻;④免疫组化显示,与假手术组相比,模型组大鼠缺血侧大脑皮质中 CD31 ( $P<0.05$ )、HIF-1 $\alpha$  ( $P<0.01$ ) 和 VEGF ( $P<0.05$ ) 显著升高;与模型组相比,运动预处理组 CD31 ( $P<0.01$ )、HIF-1 $\alpha$  ( $P<0.01$ ) 和 VEGF ( $P<0.05$ ) 进一步升高。**结论** 运动预处理可有效促进脑缺血后血管新生,减轻脑缺血再灌注损伤;其作用机制可能与运动预处理激活了 HIF-1 $\alpha$  或 VEGF 信号途径有关。

**【关键词】** 缺血再灌注; 运动预处理; 血管新生; 缺氧诱导因子; 血管内皮生长因子

**基金项目** 湖南省自然科学基金青年项目 (2021JJ40007); 湖南中医药大学中西医结合一流学科开放基金项目 (2020ZXYJH56)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2024.01.001

## The effects of exercise preconditioning on angiogenesis and protein expression after cerebral ischemia and reperfusion

Zhou Lu<sup>1</sup>, Tang Liya<sup>2</sup>, Jiang Qiong<sup>1</sup>, He Meiyan<sup>1</sup>, Sun Xiaoying<sup>2</sup>, Qu Qirui<sup>2</sup>, Yi Xiqin<sup>2</sup>, Ai Kun<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Rehabilitation Medicine, Chenzhou First People's Hospital, Chenzhou 423000, China; <sup>2</sup>College of Acupuncture, Massage and Rehabilitation, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Corresponding author: Ai Kun, Email: aikun650@qq.com

**【Abstract】 Objective** To observe any effect of exercise preconditioning on the levels of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in the brain tissue of rats after induced cerebral ischemia and reperfusion, and how it might promote angiogenesis. **Methods** Thirty-six male Sprague-Dawley rats were randomly divided into a sham-operation group, a model group and an exercise preconditioning group, each of 12. After adaptive running training for 3 days, the exercise preconditioning group ran daily for 30 minutes at 15m/min for 14 days, while the other two groups did not exercise. Middle cerebral artery occlusion and reperfusion were then in-

duced in the model and exercise preconditioning groups using the modified Zea-Longa suture method. Rats in the sham-operation group were only cut open to expose the right carotid artery. Right after the modeling, and again 24 hours later neurological deficit was evaluated using the Zea-Longa score and modified neurological severity scoring (mNSS). Infarct sizes were measured using 2,3,5-triphenyl tetrazolium chloride staining. Any morphological changes were noted using hematoxylin and eosin (HE) staining, and the expression of CD31 protein, hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and vascular endothelial growth factor in the ischemic cerebral cortex were quantified immunohistochemically.

**Results** Right after the modelling, compared with the sham-operation group, the average Zea-Longa scores of the model and exercise groups had increased significantly, but were not significantly different from each other. Twenty-four hours later the average Zea-Longa score, mNSS score and relative cerebral infarction area of the model group had increased significantly compared with the sham-operation group, while the exercise preconditioning group's averages had decreased significantly. The HE staining showed that compared with the sham-operation group, pathological changes such as loose tissue, reduced number of nerve cells, nucleolysis, and vacuolization of the cerebral cortex on the ischemic side were found in the model group. Compared with the model group, the pathological changes in the exercise preconditioning group were less serious. The levels of CD31 protein, HIF-1 $\alpha$  and VEGF in the ischemic cerebral cortexes of the model group had by then increased significantly. But compared with the model group, those levels had increased more in the exercise preconditioning group. **Conclusion** Exercise preconditioning can effectively promote angiogenesis after cerebral ischemia and reduce chronic injury. That may be related to the activation of the HIF-1 $\alpha$  and/or VEGF signaling pathways.

**【Key words】** Ischemia; Reperfusion; Exercise preconditioning; Angiogenesis; Hypoxia; Vascular endothelial growth factors

**Funding:** Hunan's Natural Science Foundation Youth Program (project 2021JJ40007); Hunan University of Traditional Chinese Medicine (project 2020ZXJH56)

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2024.01.001

脑梗死后在有效时间窗内采取超早期溶栓和机械血栓切除术是临床上治疗的首选疗法,超过有效时间窗进行血管再通形成的高灌注可能加剧脑损伤,这被称之为脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia-reperfusion injury, CI-RI)<sup>[1]</sup>。促进缺血区脑组织血管有效新生,尽早恢复缺血区域血供,有助于减轻 CI-RI<sup>[2]</sup>。

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)-A 是最重要的血管生成因子,在胚胎血管发育和成人生理及病理条件下的血管生成过程中起关键作用。VEGF 通过特异性作用于血管内皮细胞从而调控血管生成,是促进内皮细胞增殖、迁移和成管的关键因子<sup>[3]</sup>。缺氧是体内最强的 VEGF 调节因素,细胞在缺氧的环境下,缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )被诱导表达,从而可促进 VEGF 的转录<sup>[4]</sup>。因此, HIF-1 $\alpha$  或 VEGF 信号系统是缺氧条件下促进血管新生的关键信号通路,可作为减轻 CI-RI 的潜在干预靶点。

运动预处理(exercise preconditioning)是一种模仿生理性缺氧预适应的常用方式。临床及动物实验均发现,运动预处理可以促进缺血侧脑组织血管新生,预防缺血再灌注损伤,减轻脑梗死面积<sup>[5-6]</sup>。本研究选用大脑中动脉栓塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)再灌注大鼠模型,从 HIF-1 $\alpha$  或 VEGF

信号系统的角度,探讨运动预处理对脑缺血再灌注大鼠缺血侧脑组织血管新生的影响,为运动预处理预防 CI-RI 提供科学依据。

## 材料与方法

### 一、实验动物及分组

由湖南中医药大学实验动物中心提供的 36 只 SPF 级 Sprague-Dawley (SD) 雄性大鼠,体质量 160 ~ 180 g,合格证编号 SCXK(湘)2019-0004,饲养于湖南中医药大学 SPF 级动物房,饲养温度为(23 ± 3)℃,相对湿度(60 ± 10)%。适应性饲养 7 d 后,按随机数字表法分为假手术组、模型组和运动预处理组,每组 12 只。

### 二、试剂和仪器

MCAO 线栓(北京西浓科技有限公司);水合氯醛(国药集团化学试剂有限公司);氯化三苯基四氮唑(triphenyltetrazolium chloride, TTC)染色液(北京索莱宝科技有限公司);苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色液、组化试剂盒二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色剂、牛血清白蛋白(bovine serum albumin, BSA),由武汉塞维尔生物科技有限公司提供;兔抗血小板内皮细胞黏附分子(CD31)[艾博抗(上海)贸易有限公司,货号 ab281583]、兔抗 HIF-1 $\alpha$ (武汉爱博泰克生物科技有限公司,货号 A11945)、

鼠抗 VEGF-A (武汉三鹰生物技术有限公司, 货号 66828-1-Ig)、二抗工作液 (湖南艾方生物科技有限公司)。

跑步机 (浙江省金华市宇晟运动公司, 型号 C100); 包埋机 (武汉俊杰电子有限公司, 型号 JB-P5); 病理切片机 (上海徕卡仪器有限公司); 成像系统 (日本尼康, 型号 NIKON DS-U3)。

### 三、干预方法及模型制备

运动预处理组大鼠给予适应性跑步训练 3 d, 速度 10 m/min, 每天 1 次, 每次 20 min。适应性跑步训练 3 d 后, 运动预处理组给予正式跑步训练, 速度 15 m/min, 每天 1 次, 每次 30 min, 持续 14 d<sup>[7]</sup>。假手术组与模型组不给予任何处理。运动预处理组训练结束后, 3 组大鼠同时行 MCAO 再灌注术。

大鼠模型制备: 采用改良的 Zea-Longa 栓线法<sup>[8]</sup>制备 MCAO 再灌注大鼠模型。各组大鼠禁食不禁水 24 h, 模型组和运动预处理组大鼠麻醉, 备皮消毒后, 于颈前正中中线向右旁开 3 mm 处做约 10 mm 长的纵向切口, 钝性分离, 暴露颈总动脉、颈内动脉及颈外动脉。永久性结扎颈总动脉近心端及颈外动脉, 动脉夹暂时夹闭颈内动脉, 在颈总动脉结扎部上 2~3 mm 处剪口, 将尼龙线栓球端由此插入颈总动脉至颈内动脉, 松开颈内动脉处的动脉夹, 确认线栓记号点 (线栓球端至记号点 19 mm) 已过颈内动脉、颈外动脉分叉部且感受到阻力即停止推进, 结扎颈内动脉。缝合后予青霉素抗炎。2 h 后, 将栓线拔出 10 mm 左右, 制备 CI-RI 模型大鼠。假手术组大鼠切开颈部皮肤, 钝性分离, 仅暴露血管, 不插栓线。待各组大鼠清醒后, 行 Zea-Longa 法评分<sup>[9]</sup>, 若评分为 1~3 分, 则造模成功, 纳入实验。

### 四、样本取材及检测指标

造模后 24 h, 各组大鼠行 Zea-Longa 法评分和改良的神经系统严重程度评分 (modified neurological severity score, mNSS), 而后麻醉大鼠, 断头取全脑, 生理盐水冲洗, 去除嗅球、小脑和低位脑干。每组随机选取 6 个脑组织样本于 -20 ℃ 冰箱速冻, 行 TTC 染色; 其余各组 6 个脑组织样本置于 4% 多聚甲醛固定, 用于 HE 和免疫组化检测。

1. Zea-Longa 评分: 分别于大鼠手术麻醉清醒后和造模 24 h 后进行 Zea-Longa 评分, 得分越高表明大鼠神经功能缺损越严重<sup>[9]</sup>。

评分标准: 0 分, 无神经功能损伤症状; 1 分, 提尾时栓塞动脉对侧前肢不能伸直; 2 分, 行走时向栓塞动脉对侧旋转; 3 分, 行走时向栓塞动脉对侧倾倒; 4 分, 不能自主行走, 且意识丧失。

2. mNSS 评分: 大鼠造模 24 h 后进行 mNSS 评

分, 评分主要由运动、感觉、平衡和反射四部分组成, 共 18 分, 0 分为正常, 1~6 分为轻度损伤, 7~12 分为中度损伤, 13~18 分为重度损伤, 得分越高, 大鼠神经功能损伤越严重<sup>[10]</sup>。

3. TTC 染色检测: 备取已冰冻好的脑组织, 使用脑槽将脑组织均匀分成 5 张厚度约为 2 mm 的冠状切片, 放入 2% TTC 染色液中, 与 37 ℃ 恒温箱避光染色 10 min, 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 清洗 3~5 min, 4% 多聚甲醛固定 24 h 后, 相机拍照, 使用 Image-Pro Plus 6.0 软件测定脑梗死面积。

计算公式: 相对梗死面积 = (对侧区域面积 - 同侧非梗死面积) / 对侧区域面积。

4. HE 染色: 备取于 4% 多聚甲醛固定好的脑组织样本, 首先用刀片切掉小脑和嗅球, 按 Ashwal 法<sup>[11]</sup>将脑组织于冠状面切成 3 片, 舍弃前后 2 片, 取中间一片大脑中动脉供血区域的脑组织, 约 4 mm 厚, 放入脱水盒内于脱水机中依次梯度酒精进行脱水, 石蜡包埋, 于冠状面切片, 厚度约 4 μm; 后用二甲苯脱蜡, 乙醇清洗, 苏木素染色 5 min, 自来水清洗, 分化液分化, 自来水清洗, 返蓝液返蓝, 流水冲洗, 酒精脱水, 1% 伊红染色 5 min, 乙醇和二甲苯脱水, 中性树胶封片固定, 显微镜下观察缺血侧大脑颞叶皮质的组织形态学改变。

5. 免疫组化: 备取于 4% 多聚甲醛固定好的脑组织样本, 脱水, 石蜡包埋, 于冠状面连续切片, 脱蜡至水, 行抗原修复; 切片于 3% 双氧水溶液中, 室温避光孵育 25 min, 将玻片置于 PBS (pH 7.4) 中在脱色摇床上晃动洗涤 3 次, 每次 5 min; 3% BSA 室温封闭 30 min; 分别滴加适当的一抗 (CD31 1: 50、HIF-1α 1: 200、VEGF 1: 300), 4 ℃ 孵育过夜; 摇床上晃动洗涤 3 次, 每次 5 min, 二抗工作液室温孵育 50 min; 摇床上晃动洗涤 3 次, 每次 5 min, 滴加 DAB 显色液, 显微镜下控制显色时间, 自来水冲洗切片并终止显色; 苏木素复染细胞核 3 min, 流水冲洗, 脱水封片; 每张切片在显微镜下分别取缺血侧大脑颞叶皮质 3 个阳性表达最高的视野 (×400 倍), Image-Pro Plus 6.0 软件分析每个视野的累积光密度 (integral optical density, IOD) 值, 取 3 个视野的平均值进行统计学分析。

### 五、统计学方法

使用 SPSS 25.0 版统计软件对所得数据进行统计学分析处理, 全部数据均用 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 如符合正态分布和方差齐, 3 组间比较采用单因素方差分析, 组间比较采用 *t* 检验; 不满足正态分布和/或方差不齐则采用非参数检验。P < 0.05 认为差异有统计学意义。



结 果

一、各组大鼠造模后 Zea-Longa 评分及 mNSS 评分比较

造模大鼠麻醉清醒后,模型组和运动预处理组大鼠的 Zea-Longa 评分明显高于假手术组 ( $P<0.01$ ),说明造模成功,而且模型组和运动预处理组的组间比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ )。缺血再灌注 24 h 后,模型组大鼠的 Zea-Longa 评分和 mNSS 评分均明显高于假手术组( $P<0.01$ ),而运动预处理组的评分均明显低于模型组( $P<0.05$ );说明运动预处理可减轻神经系统损伤程度,有效改善脑缺血再灌注大鼠神经功能缺损症状。具体数据详见表 1。

表 1 3 组大鼠造模后 Zea-Longa 评分及 mNSS 评分比较 (分,  $\bar{x}\pm s$ )

| 组别     | 只数 | Zea-Longa 评分               |                             | mNSS 评分                     |
|--------|----|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|        |    | 造模麻醉清醒后                    | 造模 24 h 后                   | 造模 24 h 后                   |
| 假手术组   | 12 | 0.0 $\pm$ 0.0              | 0.0 $\pm$ 0.0               | 0.0 $\pm$ 0.0               |
| 模型组    | 12 | 2.7 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup> | 2.3 $\pm$ 0.6 <sup>a</sup>  | 13.1 $\pm$ 1.5 <sup>a</sup> |
| 运动预处理组 | 12 | 2.1 $\pm$ 0.5 <sup>a</sup> | 1.3 $\pm$ 0.7 <sup>bc</sup> | 9.0 $\pm$ 1.1 <sup>bd</sup> |

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

二、各组大鼠脑相对梗死面积比较

假手术组大鼠右侧大脑未见梗死灶,模型组大鼠右侧大脑相对梗死面积明显大于假手术组 ( $P<0.01$ ),而运动预处理组大鼠右侧大脑相对梗死面积明显小于模型组( $P<0.05$ ),说明运动预处理可有效改善脑缺血再灌注大鼠的脑梗死面积,详见图 1。

三、各组大鼠缺血脑皮质病理变化

假手术组大鼠右侧大脑皮质组织层次清晰,染色均匀,无充血、水肿和炎性细胞浸润现象,神经细胞紧密有序排列,胞质淡染,胞核居中,核仁清楚。模型组大鼠右侧大脑皮质组织疏松,水肿严重,神经细胞数量减少,胞核溶解,呈空泡状。与模型组相比,运动预处理组大鼠右侧大脑皮质组织层次尚清晰,水肿减轻,神经细胞数量相对较多。详见图 2。

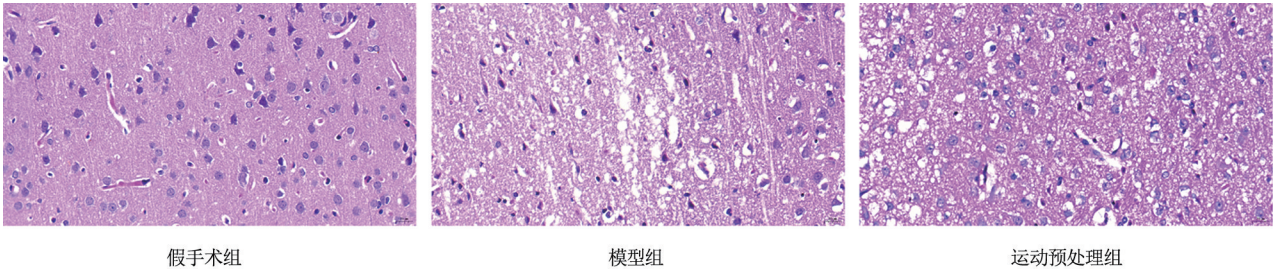
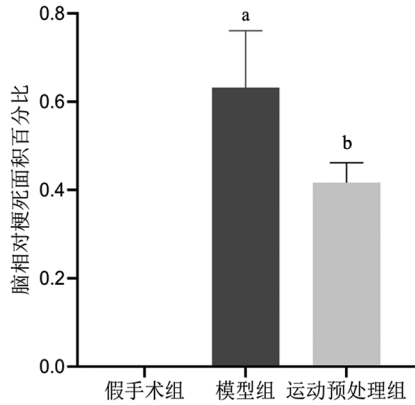


图 2 3 组大鼠缺血脑皮质病理学观察比较(HE 染色,  $\times 400$ )



注:与假手术组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与模型组比较,<sup>b</sup> $P<0.05$   
图 1 3 组大鼠造模 24 h 后的脑相对梗死面积比较

四、各组大鼠缺血脑组织的免疫组化

免疫组化显示,阳性表达呈棕黄色(如图 3 所示)。模型组大鼠右侧缺血区大脑皮质中 CD31 阳性表达率较假手术组明显升高( $P<0.05$ ),运动预处理组较模型组显著升高( $P<0.01$ )。假手术组大鼠右侧缺血区大脑皮质仅有少量 HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 阳性表达,模型组较假手术组阳性表达显著升高( $P<0.01$ 、 $P<0.05$ ),运动预处理组较模型组阳性表达显著升高( $P<0.01$ 、 $P<0.05$ ),HIF-1 $\alpha$  棕黄色颗粒主要表达在细胞核上。详见图 4。

讨 论

脑梗死已成为严重威胁人们健康的社会问题,其中缺乏体力活动是造成脑梗死发病率升高的主要原因之一,因此进行适当的体育锻炼是预防脑血管疾病的重要措施<sup>[12]</sup>。CI-RI 是造成脑梗死继发性损伤的主要病理过程,可导致神经功能缺损障碍进一步加重<sup>[13]</sup>。通过促进缺血区血管新生,在有效的时间窗内恢复缺血区血流供应,可有效减轻 CI-RI。研究表明,发病前给予运动处理,可有效诱导脑组织缺血耐受性改善脑缺血再灌注大鼠的脑梗死程度,发挥神经保护作用<sup>[14]</sup>。运动预处理可诱导血管生成因子的表达,

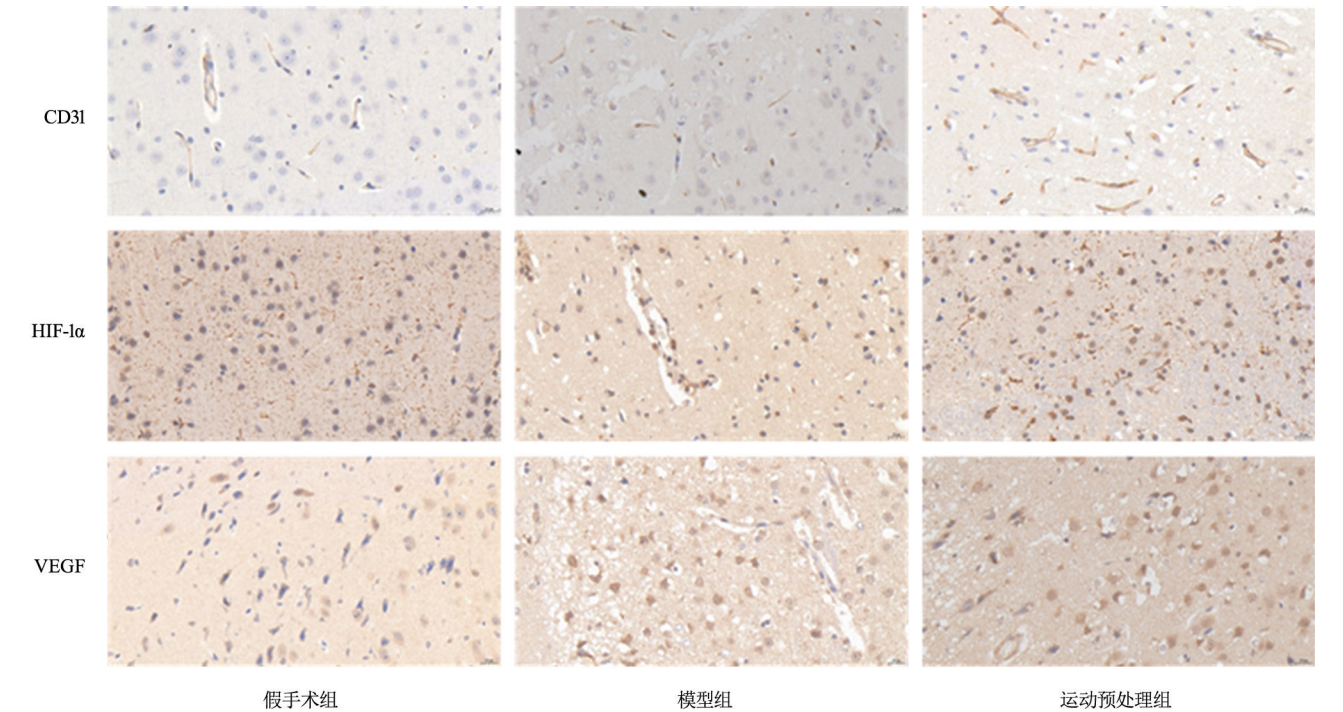
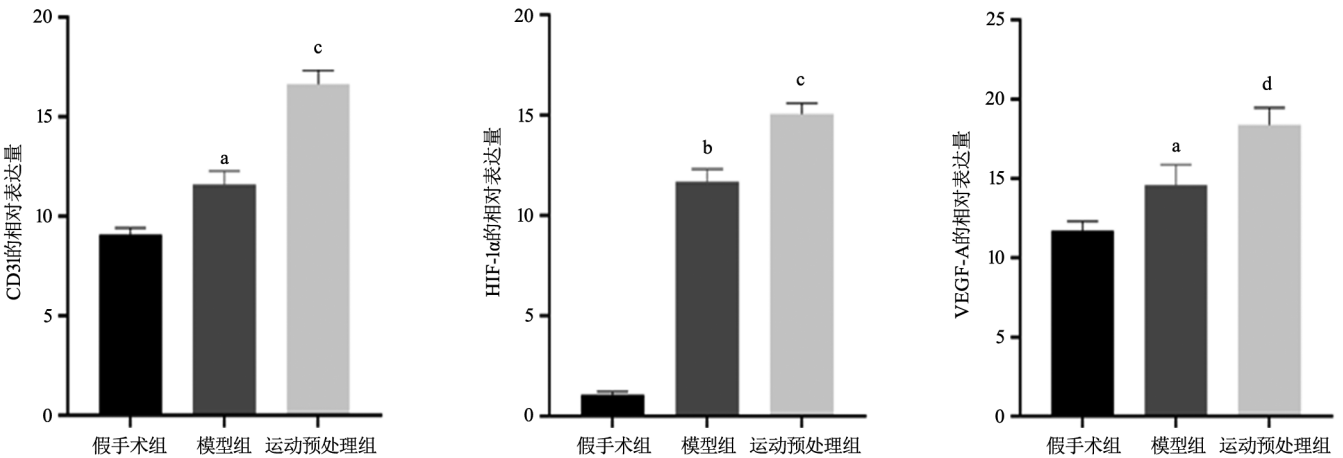


图 3 3 组大鼠缺血侧大脑皮质的免疫组化镜下观(免疫组化染色,×400)



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

图 4 3 组大鼠缺血侧大脑皮质免疫组化分析

促进缺血组织有效血管新生,对缺血性脑损伤具有保护作用<sup>[15]</sup>。

本研究结果显示,模型组和运动预处理组的 Zea-Longa 评分、mNSS 评分、脑相对梗死面积相较于假手术组均显著升高( $P<0.05$ ),而运动预处理组较模型组均显著下降( $P<0.05$ );结合缺血侧大脑皮质的 HE 染色结果,运动预处理组的脑皮质病理变化亦较模型组有明显改善,这说明运动预处理可改善 MCAO 再灌注大鼠的脑梗死面积,保护神经细胞,减轻神经系统损伤程度,有效改善大鼠神经功能缺损症状,这与既往研究结果一致<sup>[7,14-16]</sup>。

CD31 作为内皮细胞的特异性标志物,常用于反映

血管新生情况<sup>[17]</sup>。免疫组化结果显示,模型组大鼠缺血侧大脑皮质 CD31 较假手术组表达增高( $P<0.05$ ),提示脑发生缺血缺氧损伤后,机体会发生代偿性血管新生。运动预处理组与模型组相比,缺血侧大脑皮质 CD31 表达进一步升高( $P<0.01$ ),提示运动预处理可促进 MCAO 再灌注大鼠缺血侧大脑皮质血管新生。

有研究发现,脑梗死模型大鼠中,HIF-1α 和 VEGF 的高表达具有保护缺血区微血管结构的作用<sup>[18]</sup>,这说明 HIF-1α 和 VEGF 在病理条件下对调节血管生成起着关键作用。HIF-1α 是介导缺氧和血管新生信号传递的核转录因子,在缺氧环境下,HIF-1α 表达升高,并在血管内皮细胞中大量聚集,与细胞核内 VEGF 的启

动子 SENP-1 结合,促进 VEGF 表达,VEGF 通过激活其下游信号通路,可发挥促血管生成作用<sup>[19-20]</sup>。本研究中,模型组大鼠缺血侧大脑皮质中的 HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 均较假手术组表达均增高 ( $P<0.05$ ),运动预处理组相较于模型组 HIF-1 $\alpha$  和 VEGF 表达进一步升高 ( $P<0.05$ ),结合 CD31 的相对表达量结果,提示运动预处理可能通过激活 HIF-1 $\alpha$  或 VEGF 信号系统促进 MCAO 再灌注大鼠缺血侧大脑皮质血管新生。

综上所述,运动预处理可能是通过激活 HIF-1 $\alpha$  或 VEGF 信号途径,促进缺血侧脑组织血管新生,从而恢复组织血流供应,减轻脑缺血再灌注损伤,保护神经细胞。而运动预处理对 VEGF 及其下游信号途径对脑缺血后缺血组织血管新生的作用还有待于更深层次的研究和探讨,以期为临床制订脑缺血防治方案提供良好的理论基础。

### 参 考 文 献

- [1] Lin L, Wang X, Yu Z. Ischemia-reperfusion injury in the brain: mechanisms and potential therapeutic strategies[J]. Biochem Pharmacol, 2016, 5(4): 213. DOI: 10.4172/2167-0501.1000213.
- [2] Lapi D, Colantuoni A. Remodeling of cerebral microcirculation after ischemia-reperfusion[J]. J Vasc Res, 2015, 52(1): 22-31. DOI: 10.1159/000381096.
- [3] Hoeben A, Landuyt B, Highley MS, et al. Vascular endothelial growth factor and angiogenesis[J]. Pharmacol Rev, 2004, 56(4): 549-580. DOI: 10.1124/pr.56.4.3.
- [4] 向本旭, 刘婷婷, 孙芳玲, 等. VEGF 相关信号通路在血管新生中的研究进展[J]. 中国比较医学杂志, 2015, 25(12): 81-86. DOI: 10.3969/j.issn.1671-7856.2015.12.016.
- [5] Dornbos D, Ding Y. Mechanisms of neuronal damage and neuroprotection underlying ischemia/reperfusion injury after physical exercise[J]. Curr Drug Targets, 2012, 13(2): 247-262. DOI: 10.2174/138945012799201658.
- [6] Zhang F, Wu Y, Jia J. Exercise preconditioning and brain ischemic tolerance[J]. Neuroscience, 2011, 177: 170-176. DOI: 10.1016/j.neuroscience.2011.01.018.
- [7] 裴飞, 王雪冬, 李保龙, 等. 运动预处理对脑缺血再灌注大鼠 VEGF、NeuN 蛋白表达的影响[J]. 康复学报, 2021, 31(1): 37-43. DOI: 10.3724/SP.J.1329.2021.01006.
- [8] 卢小叶, 何灏龙, 吕倩忆, 等. 针刺介导 miR-34c-5p 调控脑缺血再灌注损伤大鼠海马神经细胞自噬的研究[J]. 针刺研究, 2022, 47(5): 415-421. DOI: 10.13702/j.1000-0607.20210532.
- [9] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91. DOI: 10.1161/01.str.20.1.84.
- [10] Chen J, Sanberg PR, Li Y, et al. Intravenous administration of human umbilical cord blood reduces behavioral deficits after stroke in rats[J]. Stroke, 2001, 32(11): 2682-2688. DOI: 10.1161/hs1101.098367.
- [11] Ashwal S, Tone B, Tian HR, et al. Core and penumbral nitric oxide synthase activity during cerebral ischemia and reperfusion[J]. Stroke, 1998, 29(5): 1037-1047.
- [12] 甘勇, 杨婷婷, 刘建新, 等. 国内外脑卒中流行趋势及影响因素研究进展[J]. 中国预防医学杂志, 2019, 20(2): 139-144. DOI: 10.16506/j.1009-6639.2019.02.013.
- [13] Orellana-Urzúa S, Rojas I, Lábano L, et al. Pathophysiology of ischemic stroke: role of oxidative stress[J]. Curr Pharm Des, 2020, 26(34): 4246-4260. DOI: 10.2174/1381612826666200708133912.
- [14] Zhu Y, Sun Y, Hu J, et al. Insight into the mechanism of exercise preconditioning in ischemic stroke[J]. Front Pharmacol, 2022, 13: 866360. DOI: 10.3389/fphar.2022.866360.
- [15] Rezaei R, Nasoohi S, Haghparast A, et al. High intensity exercise preconditioning provides differential protection against brain injury following experimental stroke[J]. Life Sci, 2018, 207(1): 30-35. DOI: 10.1016/j.lfs.2018.03.007.
- [16] 马海浩, 陈柯, 赵亚男, 等. 短期运动预处理对大鼠脑缺血再灌注中炎症小体活化通路的影响[J]. 现代免疫学, 2021, 41(1): 43-49.
- [17] Jetten N, Verbruggen S, Gijbels MJ, et al. Anti-inflammatory M2, but not pro-inflammatory M1 macrophages promote angiogenesis in vivo[J]. Angiogenesis, 2014, 17(1): 109-118. DOI: 10.1007/s10456-013-9381-6.
- [18] Wang H, Xu X, Yin Y, et al. Catalpol protects vascular structure and promotes angiogenesis in cerebral ischemic rats by targeting HIF-1 $\alpha$ /VEGF[J]. Phytomedicine, 2020, 78: 153300. DOI: 10.1016/j.phymed.2020.153300.
- [19] Ahluwalia A, Tarnawski AS. Critical role of hypoxia sensor--HIF-1 $\alpha$  in VEGF gene activation. Implications for angiogenesis and tissue injury healing[J]. Curr Med Chem, 2012, 19(1): 90-97. DOI: 10.2174/092986712803413944.
- [20] Dong P, Li Q, Han H. HIF-1 $\alpha$  in cerebral ischemia (Review)[J]. Mol Med Rep, 2022, 25(2): 41. DOI: 10.3892/mmr.2021.12557.

(修回日期: 2023-12-29)

(本文编辑: 汪 玲)