

氯沙坦对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用及分子机制

雷敏, 吴丽荣, 刘英

(锦州医科大学附属第三医院神经内三科, 辽宁省锦州市 121000)

[关键词] 氯沙坦; 脑缺血再灌注; 脑梗死; 凋亡; PI3K/AKT 通路

[摘要] **目的** 研究氯沙坦对大鼠脑缺血再灌注(IR)损伤的保护作用及分子机制。**方法** 80只成年雄性SD大鼠随机分为假手术组、IR组、2.5 mg/kg 氯沙坦组、5.0 mg/kg 氯沙坦组、5.0 mg/kg 氯沙坦+LY组。2.5 mg/kg 氯沙坦组、5.0 mg/kg 氯沙坦组、5.0 mg/kg 氯沙坦+LY组在造模前连续给予氯沙坦灌胃干预14天, 5.0 mg/kg 氯沙坦+LY组在造模前30 min给予磷脂酰肌醇3激酶(PI3K)抑制剂LY294002侧脑室注射。采用线栓法建立大鼠脑IR损伤模型,在再灌注后24 h评价神经功能缺损并测定脑组织含水量、细胞凋亡情况、凋亡相关基因表达水平。**结果** 与假手术组比较,IR组大鼠的脑组织含水量、神经功能缺损评分、TUNEL阳性率及脑组织中Bcl-2相关X蛋白(Bax)/GAPDH、细胞色素C(CytC)/GAPDH、Cleaved-caspase-3/Pro-caspase-3的水平均显著增加,脑组织中B淋巴细胞瘤2蛋白(Bcl-2)/GAPDH、p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT的水平显著减少;与IR组比较,2.5 mg/kg 氯沙坦组和5.0 mg/kg 氯沙坦组大鼠的脑组织含水量、神经功能缺损评分、TUNEL阳性率及脑组织中Bax/GAPDH、CytC/GAPDH、Cleaved-caspase-3/Pro-caspase-3的水平均显著减少,脑组织中Bcl-2/GAPDH、p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT的水平显著增加;与5.0 mg/kg 氯沙坦组比较,5.0 mg/kg 氯沙坦+LY组大鼠的脑组织含水量、神经功能缺损评分、TUNEL阳性率及脑组织中Bax/GAPDH、CytC/GAPDH、Cleaved-caspase-3/Pro-caspase-3的水平均显著增加,脑组织中Bcl-2/GAPDH、p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT的水平显著减少。**结论** 氯沙坦通过上调PI3K/AKT通路减轻大鼠脑IR损伤。

[中图分类号] R743

[文献标识码] A

Protective effect and molecular mechanism of losartan on cerebral ischemia reperfusion injury in rats

LEI Min, WU Lirong, LIU Ying

(Department of Neurology, the Third Affiliated Hospital of Jinzhou Medical University, Jinzhou, Liaoning 121000, China)

[KEY WORDS] losartan; ischemia reperfusion; cerebral infarction; apoptosis; PI3K/AKT pathway

[ABSTRACT] **Aim** To study the protective effect and molecular mechanism of losartan on cerebral ischemia reperfusion (IR) injury in rats. **Methods** 80 adult male SD rats were randomly divided into sham group, IR group, 2.5 mg/kg losartan group, 5.0 mg/kg losartan group and 5.0 mg/kg losartan+LY group. 2.5 mg/kg losartan group, 5.0 mg/kg losartan group, 5.0 mg/kg losartan+LY group were given losartan intragastrically for 14 days before modeling, and 5.0 mg/kg losartan + LY group was given phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) inhibitor LY294002 intraventricular injection 30 minutes before modeling. The model of cerebral IR injury was established by thread embolism method. At 24 hours after reperfusion, the neurological deficit was evaluated, and the water content of brain tissue, cell apoptosis and expression of apoptosis related genes were measured. **Results** Compared with sham group, the brain water content, neurological deficit score, TUNEL positive rate and the levels of Bcl-2 associated X protein (Bax)/GAPDH, cytochrome C (CytC)/GAPDH, cleaved cysteinyl aspartate specific proteinase-3 (caspase-3)/pro-caspase-3 in brain tissue of rats in IR group were significantly increased, while the levels of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2)/GAPDH, p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT in brain tissue were significantly decreased. Compared with IR group, the levels of the brain water content, neurological deficit score, TUNEL positive rate and the levels of Bax/GAPDH, CytC/GAPDH, cleaved-caspase-3/pro-caspase-3 in brain tissue of rats in 2.5 mg/kg losartan group, 5.0 mg/kg losartan group were significantly decreased, while the levels of Bcl-2/GAPDH, p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT in brain tissue were significantly increased. Compared with 5.0 mg/kg losartan group, the levels of the brain water content, neurological deficit score, TUNEL positive rate and the levels of Bax/

GAPDH, CytC/GAPDH, cleaved-caspase-3/pro-caspase-3 in brain tissue of rats in 5.0 mg/kg losartan+LY group were significantly increased, while the levels of Bcl-2/GAPDH, p-PI3K/PI3K, p-AKT/AKT in brain tissue were significantly decreased. **Conclusion** Losartan can alleviate cerebral IR injury by up-regulating PI3K/AKT pathway in rats.

急性脑梗死是临床上常见的脑血管疾病,缺血缺氧过程及再灌注治疗后的缺血再灌注(ischemia reperfusion, IR)过程均会造成神经损伤^[1]。在临床实践中,通过院前急救、急诊绿色通道及卒中单元的开展,从脑梗死发生到接受再灌注治疗的时间大大缩短,因而脑组织经历缺血缺氧的时间也相应缩短,缺血缺氧所造成的神经损伤也显著减轻^[2-3]。但是,再灌注治疗的开展不可避免的会造成脑组织的IR,由IR损伤所引起的神经功能损害是脑梗死遗留神经后遗症的重要原因,减轻脑IR损伤是改善脑梗死患者预后的有效方式。氯沙坦是临床广泛使用的降血压药物,近年来也被证实能够缩小心肌梗死、脑梗死的范围^[4-5],但具体的机制仍未明确。磷脂酰肌醇3-激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, PKB/AKT)是细胞内重要的促增殖及抗凋亡信号通路,已有国内外相关的动物实验表明,该通路的激活在脑梗死及脑IR大鼠模型的脑组织中显著受到抑制,而激活该通路能够减轻脑梗死过程中的神经损伤程度^[6-7]。那么,氯沙坦是否通过PI3K/AKT在脑IR过程中发挥神经保护作用,本文将针对此展开研究,具体分析氯沙坦减轻大鼠脑IR损伤的效应及分子机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选择成年雄性SD大鼠作为实验动物,共80只,SPF级,体质量220~280 g,由锦州医科大学附属第三医院实验动物中心提供,合格证号:SYXK(辽)2016-0004。

1.2 试剂与仪器

氯沙坦及PI3K抑制剂LY294002(简称LY)购自Sigma公司,TUNEL染色试剂盒购自上海碧云天公司。B淋巴细胞瘤2蛋白(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)、细胞色素C(CytC)、天冬氨酸蛋白水解酶3(Caspase-3)、PI3K、AKT、p-PI3K、p-AKT、GAPDH的单克隆抗体均购自Abcam公司。荧光显微镜购自Nikon公司,蛋白显影仪购自天能公司。

1.3 动物分组及处理

SD大鼠随机分为假手术组、IR组、2.5 mg/kg氯沙坦组、5.0 mg/kg氯沙坦组、5.0 mg/kg氯沙坦+

LY组。IR组、2.5 mg/kg氯沙坦组、5.0 mg/kg氯沙坦组、5.0 mg/kg氯沙坦+LY组按照下列方法制作脑IR损伤模型:腹腔注射10%水合氯醛(400 mg/kg)麻醉后摆放仰卧位,做颈正中切口并分离左侧颈总、颈内、颈外动脉,用缝线结扎颈外动脉后离断,用动脉夹暂时夹闭颈总动脉,在颈外动脉离断处做一小切口,置入线栓,深度约1.8~2.0 cm,以遇到阻力为准,固定线栓并缝合切口;缺血2 h后拔出线栓,再灌注24 h后进行检测。假手术组按照相同方法进行麻醉及左侧颈总、颈内、颈外动脉的分离,同样结扎并离断颈外动脉,暂时夹闭颈总动脉,但不置入线栓。

干预前配置氯沙坦和LY294002溶液(10 mmol/L),用生理盐水溶解。2.5 mg/kg氯沙坦组在造模前14天,每日给予2.5 mg/kg氯沙坦灌胃;5.0 mg/kg氯沙坦组、5.0 mg/kg氯沙坦+LY组大鼠在造模前14天,每日给予5 mg/kg氯沙坦灌胃;假手术组和IR组给予等剂量生理盐水灌胃。5.0 mg/kg氯沙坦+LY组大鼠在造模前进行颅骨钻孔、侧脑室定位,预先抽出脑脊液500 μ L,而后在侧脑室内注入500 μ L的LY294002。

1.4 神经功能缺损评价

每组大鼠随机选择8只,均按照ZeaLonga评分法评价神经功能缺损:无神经损伤症状为0分,对侧前爪无法完全伸展为1分,行走时向对侧旋转为2分,行走时向对侧倾斜为3分,不能行走且意识丧失为4分。

1.5 脑组织含水量测定

完成神经功能缺失评价后的8只大鼠,断头后去除嗅球、小脑、脑干,保留大脑,称量湿重;脑组织在107 $^{\circ}$ C烤箱中烘烤72 h后称量干重。计算公式:脑组织含水量(%)=(湿重-干重)/湿重 \times 100%。

1.6 脑组织中细胞凋亡测定

每组用于脑组织含水量检测后剩余的8只大鼠进行凋亡及基因表达检测,断头后取梗死部位的脑组织并分为两份,一份用4%多聚甲醛固定后制作石蜡切片,另一份用液氮冷冻后在-80 $^{\circ}$ C冰箱保存。取石蜡切片后用TUNEL试剂盒进行染色,在显微镜下观察TUNEL阳性染色细胞所占百分比。

1.7 脑组织中凋亡相关基因表达测定

取-80 $^{\circ}$ C冰箱保存的脑组织,加入蛋白裂解液后在研钵中充分研磨、裂解,提取蛋白质后用BCA

试剂盒对总蛋白含量进行测定,每份样本取 50 μg 蛋白进行 Western blot 检测,将样本加入点样孔内并通过电泳、转膜、封闭、孵育抗体、显影等步骤后得到 Bcl-2、Bax、CytC、Caspase-3、PI3K、AKT、p-PI3K、p-AKT、GAPDH 蛋白条带的图像,用 Image J 软件计算蛋白条带的灰度值,而后计算 Bax/GAPDH、CytC/GAPDH、Cleaved-caspase-3/Pro-caspase-3、Bcl-2/GAPDH、p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 的比值,依次作为基因的蛋白表达量。

1.8 统计学方法

采用 SPSS 21.0 软件录入数据,计量资料经方差齐性检查后均符合方差齐性,多组间比较采用方差分析,用 LSD 检验进行两两比较,2 组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 氯沙坦对大鼠脑组织含水量及神经功能缺损评分的调节作用

与假手术组比较,IR 组大鼠的脑组织含水量及神经功能缺损评分均显著增加;与 IR 组比较,2.5 mg/kg 氯沙坦组、5.0 mg/kg 氯沙坦组大鼠的脑组织含水量及神经功能缺损评分均显著减少 ($P < 0.05$);

与 5.0 mg/kg 氯沙坦组大鼠比较,5.0 mg/kg 氯沙坦+LY 组大鼠的脑组织含水量及神经功能缺损评分均显著增加 ($P < 0.05$; 表 1)。

表 1. 5 组间脑组织含水量及神经功能缺损评分的比较 ($n=8$)

Table 1. Comparison of water content in brain tissue and neurological deficit score among 5 groups ($n=8$)

分组	脑组织含水量 (%)	神经功能缺损评分
假手术组	71.32 \pm 9.94	0
IR 组	84.56 \pm 11.17 ^a	3.26 \pm 0.62 ^a
2.5 mg/kg 氯沙坦组	80.62 \pm 10.85 ^b	2.67 \pm 0.52 ^b
5.0 mg/kg 氯沙坦组	77.41 \pm 9.69 ^b	2.18 \pm 0.42 ^b
5.0 mg/kg 氯沙坦+LY 组	82.12 \pm 10.93 ^c	3.04 \pm 0.52 ^c

a 为 $P < 0.05$, 与假手术组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 IR 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 5.0 mg/kg 氯沙坦组比较。

2.2 氯沙坦对大鼠脑组织细胞凋亡的调节作用

与假手术组比较,IR 组大鼠脑组织的 TUNEL 阳性率显著增加;与 IR 组比较,2.5 mg/kg 氯沙坦组、5.0 mg/kg 氯沙坦组大鼠脑组织的 TUNEL 阳性率显著减少 ($P < 0.05$);与 5.0 mg/kg 氯沙坦组比较,5.0 mg/kg 氯沙坦+LY 组大鼠脑组织的 TUNEL 阳性率显著增加 ($P < 0.05$; 图 1)。

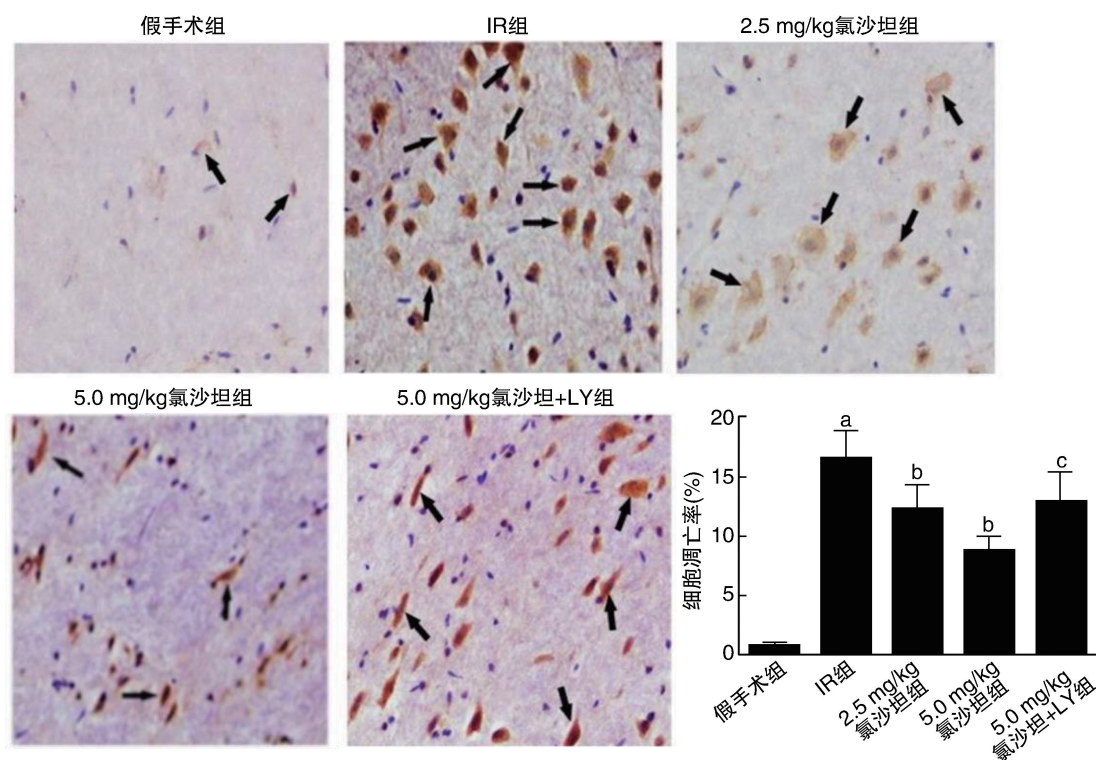


图 1. 5 组间脑组织中细胞凋亡率的比较 (400 \times ; $n=8$) a 为 $P < 0.05$, 与假手术组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 IR 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 5.0 mg/kg 氯沙坦组比较。

Figure 1. Comparison of apoptosis rate in brain tissue among 5 groups (400 \times ; $n=8$)

2.3 氯沙坦对大鼠脑组织线粒体凋亡相关基因表达的调节作用

与假手术组比较,IR 组大鼠脑组织中 Bcl-2/GAPDH 的水平显著减少, Bax/GAPDH、CytC/GAPDH、Cleaved-caspase-3/Pro-caspase-3 的水平均显著增加;与 IR 组比较,2.5 mg/kg 氯沙坦组、5.0 mg/kg 氯沙坦组大鼠脑组织中 Bcl-2/GAPDH 的水

平显著增加, Bax/GAPDH、CytC/GAPDH、Cleaved-caspase-3/Pro-caspase-3 的水平均显著减少 ($P < 0.05$);与 5.0 mg/kg 氯沙坦组比较,5.0 mg/kg 氯沙坦+LY 组大鼠脑组织中 Bcl-2/GAPDH 的水平显著减少, Bax/GAPDH、CytC/GAPDH、Cleaved-caspase-3/Pro-caspase-3 的水平均显著增加 ($P < 0.05$;图 2)。

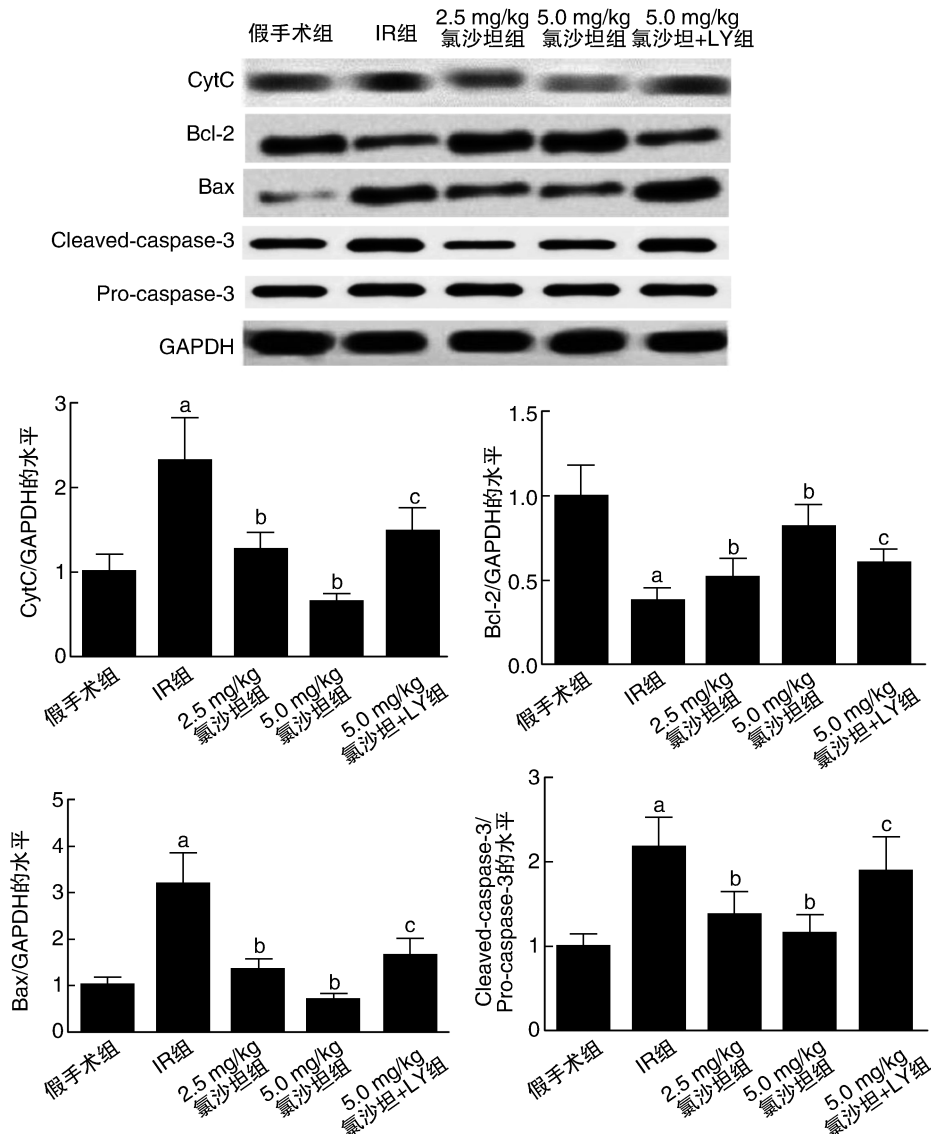


图 2. 5 组间脑组织中线粒体凋亡相关基因表达的比较 ($n=8$) a 为 $P < 0.05$, 与假手术组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 IR 组比较; c 为 $P < 0.05$, 与 5.0 mg/kg 氯沙坦组比较。

Figure 2. Comparison of mitochondrial apoptosis related gene expression in brain tissue among 5 groups ($n=8$)

2.4 氯沙坦对大鼠脑组织中 PI3K/AKT 通路的调节作用

与假手术组比较,IR 组大鼠脑组织中 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 的水平均显著减少;与 IR 组比较,2.5 mg/kg 氯沙坦组、5.0 mg/kg 氯沙

坦组大鼠脑组织中 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 的水平显著增加 ($P < 0.05$);与 5.0 mg/kg 氯沙坦组比较,5.0 mg/kg 氯沙坦+LY 组大鼠脑组织中 p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 的水平显著减少 ($P < 0.05$;图 3)。

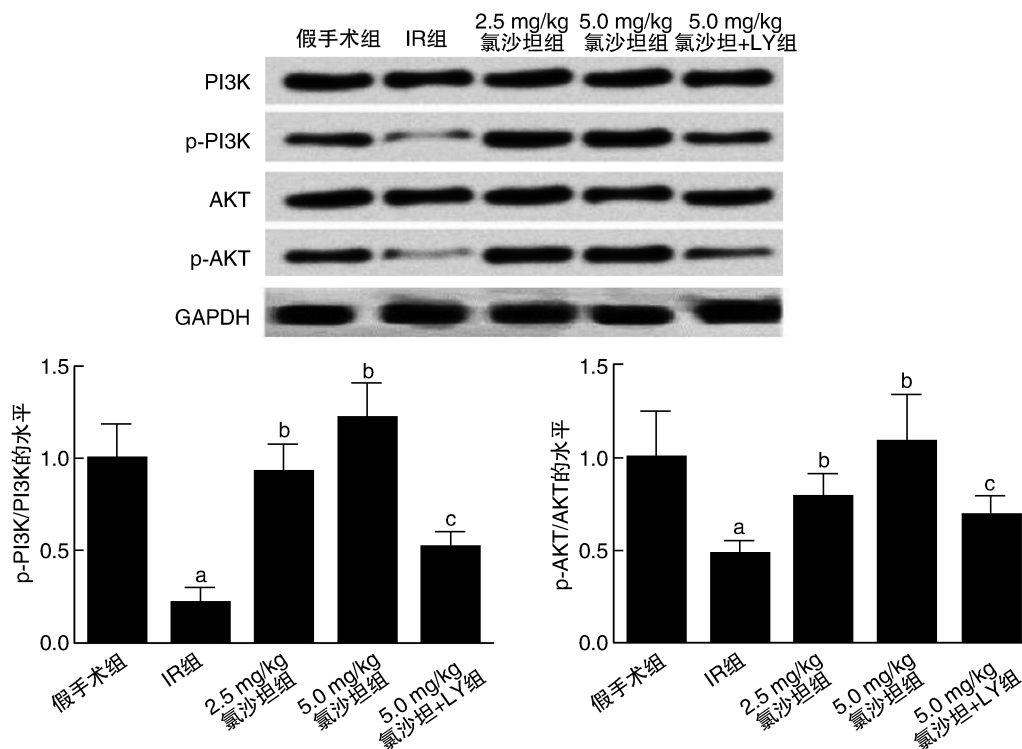


图 3. 5 组间脑组织中 PI3K 及 AKT 表达的比较 ($n=8$) a 为 $P<0.05$, 与假手术组比较; b 为 $P<0.05$, 与 IR 组比较; c 为 $P<0.05$, 与 5.0 mg/kg 氯沙坦组比较。

Figure 3. Comparison of PI3K and AKT expressions in brain tissue among 5 groups ($n=8$)

3 讨论

脑 IR 损伤是影响脑梗死患者病情转归、遗留神经功能缺损的重要病理因素,针对 IR 过程进行干预被认为是改善脑梗死患者预后的潜在靶点。氯沙坦是临床上广泛使用的降压药物,通过竞争性结合血管紧张素 II 的 I 型受体来起到舒张血管、降低血压的作用,近年来有临床资料显示,氯沙坦能够降低脑卒中的发生率^[8-9];另有动物实验表明,氯沙坦用于心肌梗死大鼠及脑梗死大鼠能够显著减少梗死面积^[4-5]。为了明确氯沙坦用于脑 IR 过程的效果,本研究通过线栓法建立脑 IR 模型,观察到 IR 组大鼠的脑组织含水量及神经功能缺损评分均显著高于假手术组,提示脑 IR 过程能够引起显著的脑水肿及神经功能损害。进一步将氯沙坦用于脑 IR 过程的干预并观察到:氯沙坦组大鼠的脑组织含水量及神经功能缺损评分均显著低于 IR 组,提示氯沙坦能够减轻脑 IR 损伤。

在脑 IR 过程中,神经细胞内线粒体凋亡途径的过度激活是引起神经损害的重要生物学环节^[10-11]。本研究通过 TUNEL 染色检测细胞凋亡的结果显示:IR 组大鼠脑组织中 TUNEL 阳性率显著升高,提示脑 IR 损伤模型中存在细胞的过度凋亡。在不同剂

量氯沙坦干预后观察到:氯沙坦组大鼠脑组织中 TUNEL 阳性率均显著低于 IR 组,提示氯沙坦能够在脑 IR 过程中发挥抗凋亡作用。相关的临床研究证实,使用氯沙坦等血管紧张素受体拮抗剂类药物治疗,对脑梗死的发生具有预防价值,对脑梗死发生后的神经功能损害也具有一定的减轻作用^[12-13];我们本次动物实验中的观察结果与此吻合,表明氯沙坦在脑梗死防治中具有积极价值。

线粒体膜上的 Bcl-2 及 Bax 是调节线粒体凋亡的关键分子,两者维持动态平衡,使细胞凋亡处于受抑制的状态^[14]。在 IR 过程中,Bcl-2 和 Bax 的平衡被打破,Bcl-2 减少和 Bax 增多会使线粒体内的 CytC 释放进入细胞质,进入细胞质的 CytC 能够通过启动 Caspase 的级联反应来使无活性的 Pro-caspase-3 裂解为有活性的 Cleaved-caspase-3 并最终促进细胞凋亡^[15-16]。脑 IR 组织中 Bcl-2 的表达水平显著减少,Bax、CytC、Cleaved-caspase-3 的表达水平显著增多,提示脑 IR 过程存在线粒体凋亡途径的过度激活。在氯沙坦干预后脑组织中 Bcl-2 的表达水平显著高于 IR 组,Bax、CytC、Cleaved-caspase-3 的表达水平显著低于 IR 组。由此表明氯沙坦能够调节脑 IR 过程中线粒体凋亡相关基因的表达,增加抗凋亡基因表达,减少促凋亡基因表达,最终起到抗

凋亡、减轻神经损伤的作用。

PI3K/AKT 通路是细胞内起到抗凋亡、促增殖作用的信号通路,该通路活化后 PI3K、AKT 大量发生磷酸化,进而能够靶向调节线粒体凋亡相关基因的表达^[17-18]。本研究对脑 IR 组织中 PI3K/AKT 通路的分析显示:IR 组脑组织中 p-PI3K、p-AKT 的表达水平均显著减少,而氯沙坦组脑组织中 p-PI3K、p-AKT 的表达水平均显著增多,由此表明脑 IR 能够使 PI3K/AKT 通路受到抑制,氯沙坦则能在 IR 过程中促进 PI3K/AKT 通路发生活化,由此也提示氯沙坦可能通过 PI3K/AKT 通路来调节 IR 过程中的线粒体凋亡。为了进行验证,本研究在氯沙坦干预的基础上联合使用了 PI3K 抑制剂 LY294002 进行侧脑室注射,在抑制 PI3K 后观察到:与 5.0 mg/kg 氯沙坦组比较,5.0 mg/kg 氯沙坦+LY 组大鼠的脑组织含水量、神经功能缺损评分、TUNEL 阳性率及脑组织中 Bax/GAPDH、CytC/GAPDH、Cleaved-caspase-3/Pro-caspase-3 的水平均显著增加,脑组织中 Bcl-2/GAPDH、p-PI3K/PI3K、p-AKT/AKT 的水平显著减少。这一结果表明 PI3K 抑制剂能够削弱氯沙坦减轻神经功能损害、调节线粒体凋亡相关基因表达的效果,进而也提示氯沙坦减轻大鼠脑 IR 损伤的效应部分由 PI3K/AKT 通路介导。

综上所述,氯沙坦能够减轻大鼠脑 IR 损伤,抑制脑 IR 过程中的线粒体凋亡且该效应能够被 PI3K 抑制剂部分逆转,因此 PI3K/AKT 通路的激活参与了氯沙坦减轻大鼠脑 IR 损伤的过程。

[参考文献]

- [1] Jahan R, Saver JL, Schwamm LH, et al. Association between time to treatment with endovascular reperfusion therapy and outcomes in patients with acute ischemic stroke treated in clinical practice[J]. JAMA, 2019, 322(3): 252-263.
- [2] Schultheiss M, Härtig F, Spitzer MS, et al. Intravenous thrombolysis in acute central retinal artery occlusion--A prospective interventional case series[J]. PLoS One, 2018, 13(5): e0198114.
- [3] Moussaddy A, Demchuk AM, Hill MD. Thrombolytic therapies for ischemic stroke: Triumphs and future challenges[J]. Neuropharmacology, 2018, 134(Pt B): 272-279.
- [4] Nuñez RE, Javadov S, Escobales N. Angiotensin II-preconditioning is associated with increased PKCε/PKCδ ratio and prosurvival kinases in mitochondria[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2017, 44(12): 1201-1212.
- [5] Smeda JS, Daneshmand N. Cerebrovascular recovery after stroke with individual and combined losartan and captopril treatment of SHRsp[J]. Vasc Pharmacol, 2017, 96-98: 40-52.
- [6] Chang Y, Huang W, Sun Q, et al. MicroRNA 634 alters nerve apoptosis via the PI3K/Akt pathway in cerebral infarction[J]. Int J Mol Med, 2018, 42(4): 2145-2154.
- [7] Lv MR, Li B, Wang MG, et al. Activation of the PI3K-Akt pathway promotes neuroprotection of the δ-opioid receptor agonist against cerebral ischemia-reperfusion injury in rat models[J]. Biomed Pharmacother, 2017, 93: 230-237.
- [8] Akioyamen L, Levine M, Sherifali D, et al. Cardiovascular and cerebrovascular outcomes of long-term angiotensin receptor blockade: meta-analyses of trials in essential hypertension[J]. J Am Soc Hypertens, 2016, 10(1): 55-69.
- [9] Sivasubramanian S, Kumarasamy B. Pleiotropic effects of losartan in hypertensive patients with dyslipidemia[J]. J Clin Diagn Res, 2017, 11(9): FC05-FC08.
- [10] Schiavoni VS, Silva JPD, Lizarte Neto FS, et al. Morphological and immunohistochemical analysis of proteins CASPASE 3 and XI-AP in rats subjected to cerebral ischemia and chronic alcoholism[J]. Acta Cir Bras, 2018, 33(8): 652-663.
- [11] Enzmann G, Kargaran S, Engelhardt B. Ischemia-reperfusion injury in stroke: impact of the brain barriers and brain immune privilege on neutrophil function[J]. Ther Adv Neurol Disord, 2018, 27(11): 1756286418794184.
- [12] Pitt B, Bakris GL, Weir MR, et al. Long-term effects of patiromer for hyperkalemia treatment in patients with mild heart failure and diabetic nephropathy on angiotensin-converting enzymes/angiotensin receptor blockers: results from AMETHYST-DN[J]. ESC Heart Fail, 2018, 5(4): 592-602.
- [13] Farsang C. Indications for and utilization of angiotensin receptor II blockers in patients at high cardiovascular risk[J]. Vasc Health Risk Manag, 2011, 7: 605-622.
- [14] Badr R, Hashemi M, Javadi G, et al. Assessment of global ischemic/reperfusion and tacrolimus administration on CA1 region of hippocampus: gene expression profiles of BAX and BCL2 genes[J]. Bratisl Lek Listy, 2016, 117(6): 358-362.
- [15] Xie YL, Zhang B, Jing L. MiR-125b blocks Bax/cytochrome C/caspase-3 apoptotic signaling pathway in rat models of cerebral ischemia-reperfusion injury by targeting p53[J]. Neurol Res, 2018, 40(10): 828-837.
- [16] Zhang ZL, Qin P, Liu Y, et al. Alleviation of ischaemia-reperfusion injury by endogenous estrogen involves maintaining Bcl-2 expression via the ERα signalling pathway[J]. Brain Res, 2017, 15(1661): 15-23.
- [17] Chang J, Yao X, Zou H, et al. BDNF/PI3K/Akt and Nogo-A/RhoA/ROCK signaling pathways contribute to neurorestorative effect of hoshuhoisan against cerebral ischemia injury in rats[J]. J Ethnopharmacol, 2016, 24(194): 1032-1042.
- [18] Zhu H, Zhang Y, Shi Z, et al. The neuroprotection of liraglutide against ischaemia-induced apoptosis through the activation of the PI3K/AKT and MAPK pathways[J]. Sci Rep, 2016, 31(6): 26859.

(此文编辑 曾学清)