

· 论著 ·

参麻颈复方对脑缺血损伤小鼠的脑保护作用及其机制研究

刘景雪^{1,2}, 何瑞华¹, 陶霞², 黄瑾¹ (1. 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院药剂科, 上海, 200437; 2. 海军军医大学第二附属医院药剂科, 上海, 200003)

【摘要】目的 观察参麻颈复方颗粒对脑缺血损伤小鼠脑组织的保护作用, 并探讨其可能机制。 **方法** 将 SPF 级 C57 BL/6 雄性小鼠 30 只随机分为模型对照组、参麻颈组、尼莫地平组, 采用电凝法制备小鼠脑缺血损伤动物模型, 给参麻颈组、尼莫地平组小鼠灌胃 14 d, 应用 TTC 染色法检测各组小鼠脑梗死体积, 提取骨髓内皮祖细胞并测定细胞功能, 用蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测内皮祖细胞中蛋白表达水平。 **结果** 与模型对照组比较, 参麻颈组小鼠脑梗死体积明显减少, 其内皮祖细胞迁移、黏附以及形成小管的能力显著改善, 内皮祖细胞中 BDNF 蛋白表达水平明显升高。 **结论** 参麻颈复方颗粒对脑缺血损伤小鼠脑组织具有保护作用, 可能与调节内皮祖细胞中 BDNF 的表达, 改善骨髓来源内皮祖细胞功能密切相关。

【关键词】 参麻颈复方; 脑缺血损伤; 内皮祖细胞; 神经功能

【文章编号】 2097-2024(2023)11-0666-06

【DOI】 10.12206/j.issn.2097-2024.202208066

Protective effect of Shenmajing formula on ischemic brain injury in mice

LIU Jingxue^{1,2}, HE Ruihua¹, TAO Xia², HUANG Jin¹ (1. Department of Pharmacy, Yueyang Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200437, China; 2. Department of Pharmacy, Second Affiliated Hospital of Naval Medical University, Shanghai, 200003, China)

【Abstract】 Objective To observe the protective effect of Shenmajing formula on brain tissue of mice with cerebral ischemic injury and explore the possible mechanism. **Methods** Thirty SPF-grade C57 BL/6 male mice were randomly divided into model control group, Shenmajing group and nimodipine group, and the animal models of cerebral ischemic injury in mice were prepared by electrocoagulation. The protein expression level in endothelial progenitor cells were detected by Western blot. **Results** Compared with the model control group, the infarct volume of mice in the Shenmajing group was significantly reduced, and the migration, adhesion and tubule formation ability of endothelial progenitor cells were significantly improved, and the expression level of BDNF protein in endothelial progenitor cells was significantly increased. **Conclusion** The protective effect of Shenmajing granules on brain tissue of mice with cerebral ischemic injury could be closely related to the regulation of BDNF expression in endothelial progenitor cells and improvement of endothelial progenitor cell function of bone marrow origin.

【Key words】 Shenmajing formula; cerebral ischemic injury; endothelial progenitor cells; neurological function

脑血管疾病是仅次于心脑血管疾病和癌症的第三大病症, 其中脑缺血是常见的脑血管疾病之一。脑缺血的患病率和死亡率仍处于上升趋势, 严重影响人们的健康。目前, 西医对于脑缺血的主要治疗方式是溶栓和取栓, 但有严格的溶栓时间窗和较大的取栓风险, 并且缺血后造成神经功能的损伤没有有效的药物治疗^[1]。中医药在脑缺血的预防和

治疗中具有潜在作用, 以气虚为本、血瘀为标作为主要病因^[2]。查阅近几年文献发现, 益气活血化癥方药在防治脑缺血中表现出多方面和整体调节的优势。

参麻颈复方是临床名老中医经验方, 临床应用发现具有活血通络, 益气养血, 宁神安脑, 健筋壮骨之效。该方由首乌藤、丹参、山茱萸(制)、天麻、当归、川芎等组成, 临床应用广泛。首乌藤有养血安神、祛风通络之效^[3], 丹参有活血调经、祛瘀止痛、凉血消痈、除烦安神之效^[4], 当归有补血调经、活血散寒、消肿止痛生肌、润肠通便之效^[5], 川芎、陈皮的补气之效辅佐以上药物活血功效运行, 而且川芎具有活血化癥之效, 是传统中医防治中风选择最多的配方之一^[6]。本研究评估参麻颈复方对小鼠脑缺血损伤的改善作用, 并进一步探讨其对骨髓来

【基金项目】 上海中医药大学附属岳阳中西医结合医院院级重点资助项目(2019YYZ07); 上海市进一步加快中医药传承创新发展三年行动计划(ZY(2021-2023)-0203-03); 上海申康医院发展中心临床科技创新项目(SHDC12021635)

【作者简介】 刘景雪, 药师, 研究方向: 中药活性成分作用机制研究, Email: liujingxue2018@163.com

【通信作者】 黄瑾, 主任药师, 研究方向: 中药活性成分的作用机制研究, Email: john70550@163.com

源内皮祖细胞干预发挥防治脑缺血损伤的机制,为中药方剂治疗脑缺血提供新的思路、寻找新的靶点。

1 材料与方法

1.1 实验仪器及试剂

细胞培养箱(Thermo 公司);倒置荧光显微镜(Leica 公司);Odssey 红外荧光显像(Li-Cor 公司);酶标仪(芬兰 Labsystems Dragon 公司);涡旋混合器(江苏天翎仪器有限公司);超净台(苏州净化设备有限公司);电子天平 JA2003(上海天平仪器厂)。

参麻颈复方颗粒(岳阳医院自制制剂,批准文号:沪药制字 Z05050324);尼莫地平片(天津市中央药业有限公司);BCA 蛋白定量试剂盒(Thermo 公司);2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC,北京西浓科技有限公司);VEGF 抗体(abcam 公司);BDNF 抗体(abcam 公司);GAPDH 内参抗体(abcam 公司);Tubulin 内参抗体(abcam 公司);内皮细胞培养基(EGM-2 Single Quots, Lonza 公司);波连蛋白(vitronectin, BD 公司)。

1.2 实验动物及分组

实验动物为 SPF 级 C57BL/6 雄性小鼠 30 只(上海吉辉实验动物饲养有限公司,许可证:SCXK(沪)2017-0012),体重为 18-20 g,6-7 周龄。适应性饲养 1 周后,将 30 只小鼠随机分为模型对照组(Control 组)、参麻颈组(SMJ 组)、尼莫地平组(NMDP 组),10 只/组。实验过程中对于实验小鼠的所有处理均符合伦理学规定。

1.3 实验方法

1.3.1 制备动物模型

采用电凝法制备局灶性脑缺血模型^[7],用浓度为 12% 的水合氯醛对小鼠进行腹腔注射,剂量控制在 350 mg/kg。小鼠麻醉后,仰卧位固定在手术台。借助显微镜,用显微镊沿颞肌纤维束的方向钝性分离肌肉,直到颞骨及鳞骨暴露,显微镊夹住颞骨固定小鼠头部,用牙科钻重点打磨颞骨和鳞骨的交叉部位,骨壳变薄并有裂缝时,停止打磨,用撬棒沿已暴露的动脉血管剥离骨片,直至小鼠左侧大脑中动脉与伴行的迷走神经分叉暴露;在显微镜下,找准纹状体外侧动脉近心端,用双极电凝器凝断左侧大脑中动脉后,将电凝器缓慢移出,显微镜下再次确认是否凝断。最后用显微镊将皮肤和肌肉归置原位,以便于缝合。小鼠完全苏醒后,观察精神状态,若出现站立不稳、左侧肢体偏瘫、提尾向一侧转圈等神经功能损害症状,即为造模成功。

参麻颈组在手术前通过灌胃方式给予 6.88 g·kg⁻¹

的参麻颈复颗粒;尼莫地平组给予 2.16 mg/kg 溶液灌胃;模型对照组给予等量蒸馏水灌胃,每日 1 次,共 14 d。

1.3.2 神经行为学功能评分

术后第 3 d,由观察者在不知分组情况下记录神经行为学表现,并采用参考文献^[7]评分方法,如提尾悬空试验等^[8],评估神经行为学功能评分。

提尾悬空试验:提起小鼠尾巴末端使其悬空,观察小鼠头部偏转。以小鼠身体的中线为基准,头部偏离中线超过 10 度记为成功的偏转,每只小鼠重复提尾悬空试验:提起小鼠尾巴末端使其悬空,观察小鼠头部偏转。以小鼠身体的中线为基准,头部偏离中线超过 10 度记为成功的偏转,每只小鼠测 20 次,并且每次测定的时间间隔不少于 1 min,以保证小鼠得到充足的休息。小鼠的偏转率计算按以下公式:摆动频率(%)=(T-10)/10×100%。

T 为实验小鼠头部向手术对侧偏转的次数。

平衡木试验:记录小鼠由木棍一端顺利通过平衡木 80% 长度所用的时间。在正式试验前对小鼠进行 3 次训练,正式试验时每只小鼠重复测定 3 次,对每只小鼠均间隔 5 min 后进行下一次实验。

1.3.3 脑组织 TTC 染色

行为学评分测完后,小鼠脱颈处死,取脑组织,放 1×PBS 中清洗干净,将脑组织放在脑片模具中,共切 7 片,每片 2 mm,放 2% 的 TTC 溶液中,并在 37 °C 水浴锅中染色 10 min,染色结束后放 4% 多聚甲醛固定 6 h,按照脑片大小顺序排好拍照,脑片使用 Image J 统计软件测定小鼠的脑梗死体积。

1.3.4 细胞功能测定

取脑组织的同时,提取小鼠骨髓来源内皮祖细胞,培养至第 7d 时,收集和处理细胞,对细胞黏附、迁移及形成小管能力进行测定。

细胞黏附实验:用胰酶消化细胞,按照 3×10⁵ 个/ml 细胞接种于预先包被纤粘连蛋白的 96 孔板中,在细胞培养箱中培养 5 h 后弃掉未黏附细胞,再用 4% 多聚甲醛固定,以 Hoechst 33258 染料染色后于倒置显微镜下拍照。

细胞迁移实验:调整细胞浓度 3×10⁵ 个/ml,Transwell 小室置于 24 孔板,按分组下室加 600 μl 配好的下室溶液,细胞悬液接种于上室各 100 μl,置培养箱内培养 24 h,用 PBS 清洗 2 次,弃上清液,在 2% 多聚甲醛固定 15 min。弃上清, PBS 清洗 2 次,上室转移至含 600 μl Hoechst 33258 染料的孔中,避光染色 15 min。弃上清, PBS 浸泡 5 min,弃上清,光学显微镜下拍照,以 Image J 软件计算各组

迁移细胞数。

小管形成实验:调整各组细胞至 3×10^5 个/ml, 每孔 100 μ l 的细胞悬液加到铺有基质胶的孔中, 最后将 96 孔板移至培养箱孵育 6 h, 在光学显微镜下拍照, 以 Image J 软件计算各组小管形成数量。

1.3.5 Western blot 检测

细胞样本同“1.3.4”项中相同来源, 六孔板放在冰枕上, 用预冷 PBS 润洗细胞两次, 弃上清液; 向板内加入 60 μ l 已配置好的细胞裂解液, 在冰枕上裂解 15 min, 收集细胞液转移至 1.5 ml EP 管中, 使用高速离心机在 12 000 r/min, 4 $^{\circ}$ C 离心 15 min, 将离心后的上清液收集到新的离心管中并放到 -80 $^{\circ}$ C 冰箱保存。应用紫外分光光度计测量蛋白浓度后, 进行蛋白定量, 95 $^{\circ}$ C 5 min 蛋白灭活后, -20 $^{\circ}$ C 保存待用。SDS-PAGE 凝胶电泳: 初始电压调为 50 V, 电泳至 Marker 中红色条带分离出, 将电压调为 120 V, 直至 Marker 显示跑到胶的底部时停止电泳。转膜: 恒流 200 mA 转膜, 不同目的蛋白按其分子量大小设置转膜时间。封闭: 用 5% 脱脂牛奶封闭 1 h。

封闭之后用 1% 牛奶配置的一抗 4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。第 2 天, 用 1% 牛奶配制的二抗室温孵育 1 h, NC 膜放到 Odyssey 扫膜仪上进行扫描, 保存扫描照片, 使用 Quantity One 软件统计蛋白的灰度值。

1.4 统计学处理

使用 Graphpad prism 5.0 分析数据。实验数据均以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 两组之间的差异采用非配对 T 检验进行分析, 多组数据间的差异采用单因素方差分析 (ANOVA), $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠神经功能学评分

小鼠造模成功后出现明显的神经功能障碍, 表现为站立不稳、左前肢屈曲内收, 肌张力下降。与对照组比较, 尼莫地平组小鼠的神经功能有明显改 ($P < 0.01$); 与对照组比较, 参麻颈组小鼠的爬杆时间 ($P < 0.05$) 和对侧偏转率 ($P < 0.01$) 均有显著降低, 表明小鼠给予参麻颈复方后, 能有效保护缺血后神经功能的缺损 (图 1)。

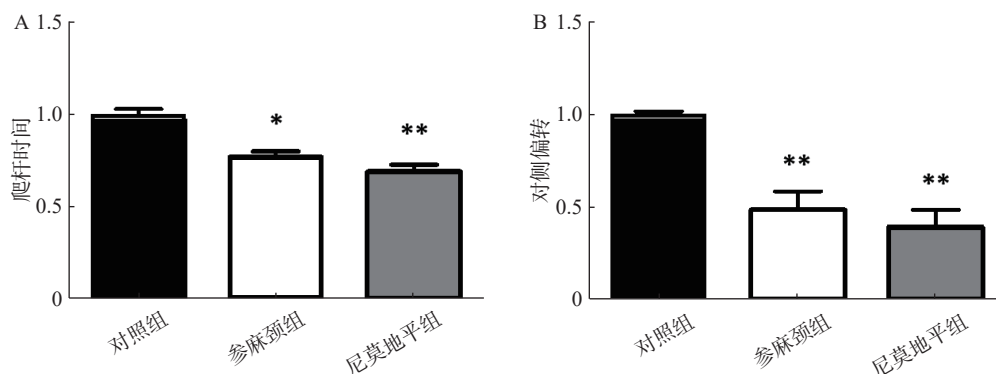


图 1 各组小鼠神经功能学评分 ($n=8$)

A. 各组小鼠爬杆时间相对值; B. 各组小鼠对侧偏转相对值

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, 与对照组比较

2.2 各组小鼠脑梗体积变化

用 TTC 染色后结果显示: 对照组小鼠术后脑组织出现明显的梗死灶。与对照组比较, 给参麻颈组小鼠脑缺血后脑梗体积显著减少 ($P < 0.01$); 给予尼莫地平的小鼠与参麻颈组相比, 其脑梗体积虽有减少, 但无统计学差异 (图 2)。

2.3 各组小鼠内皮祖细胞黏附功能比较

细胞黏附实验结果显示: 对照组相比于另外两组, 黏附细胞数目减少。预先给予参麻颈的小鼠, 在发生脑缺血后, 小鼠骨髓来源内皮祖细胞黏附于 96 孔板中细胞数目, 明显高于对照组 ($P < 0.01$); 给予尼莫地平组, 其细胞数目也比对照组增多 ($P < 0.01$); 而尼莫地平组和参麻颈组两组的差异无统

计学意义 (图 3)。

2.4 各组小鼠内皮祖细胞迁移功能比较

迁移实验结果显示: 与参麻颈组和尼莫地平组比较, 模型对照组细胞迁移至 Transwell 板上室下面的数目可见减少。与对照组比较, 给予参麻颈复颗粒后的脑缺血小鼠, 其骨髓来源内皮祖细胞迁移数显著增加 ($P < 0.05$); 给予尼莫地平的小鼠与对照组比较, 其迁移细胞数目增加 ($P < 0.01$); 参麻颈组和尼莫地平组, 两组结果有差异但无统计意义 (图 4)。

2.5 各组小鼠内皮祖细胞形成小管能力比较

从图中可看出, 对照组小鼠内皮祖细胞形成小管的数目减少。与对照组比较, 参麻颈组内皮祖细胞形成小管数目有明显增加 ($P < 0.05$), 尼莫地平组

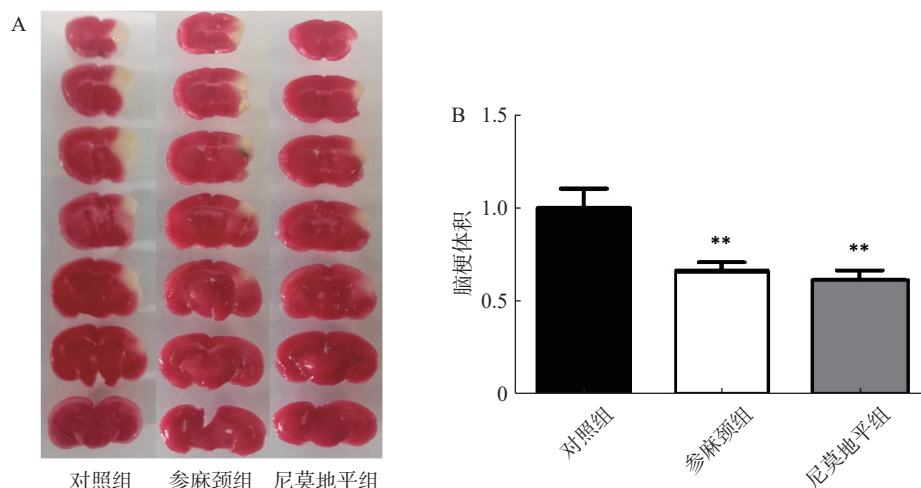


图 2 各组小鼠脑梗体积比较 ($n=8$)

A. 各组小鼠脑组织切片 TTC 染色; B. 各组小鼠脑梗体积相对值
** $P<0.01$, 与对照组比较

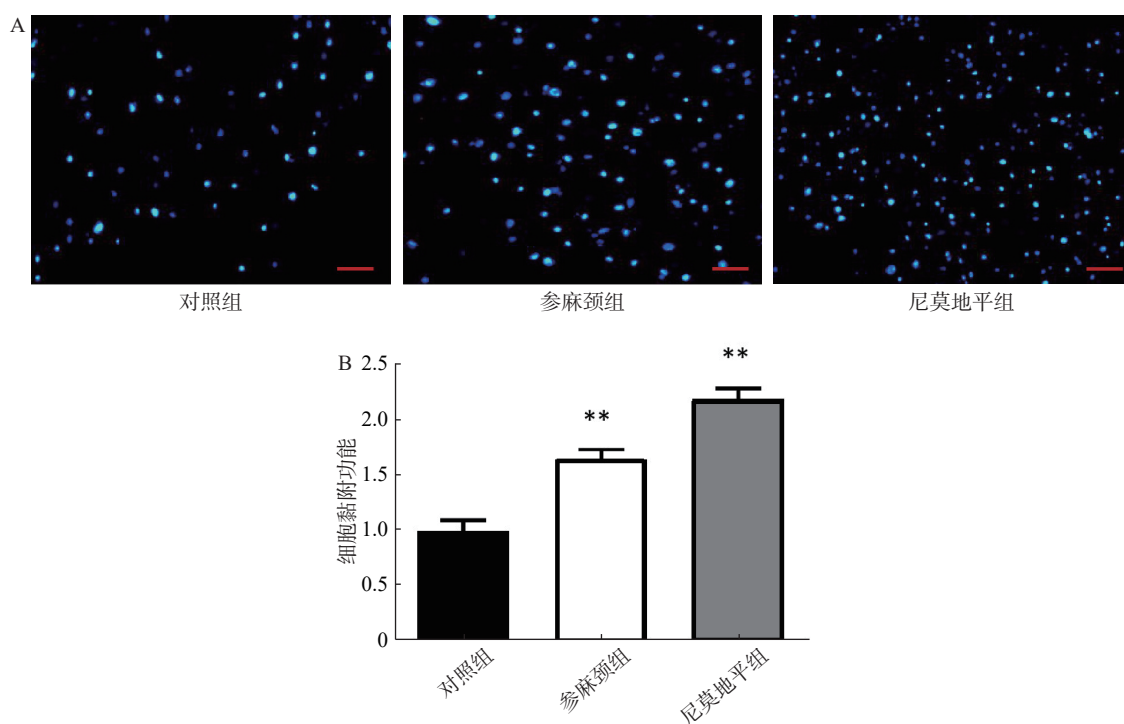


图 3 各组小鼠黏附细胞数目比较 ($n=10$)

A. 细胞黏附功能典型图; B. 各组小鼠细胞黏附数目相对值
** $P<0.01$, 与对照组比较

小管形成数目更为突出 ($P<0.01$); 尼莫地平组形成的小管状态也优于参麻颈组 (图 5)。

2.6 各组小鼠内皮祖细胞中相关蛋白的表达水平

Western blot 检测结果显示: 与对照组比较, 参麻颈组 ($P<0.01$) 和尼莫地平组 ($P<0.01$) 小鼠内皮祖细胞内 BDNF 蛋白表达增加, 而参麻颈组和尼莫地平组之间结果差异无统计学意义 (图 6)。

3 讨论

缺血性中风是一种以动脉粥样硬化为基础的

中枢系统不可逆损伤; 它是由阻塞颈内动脉、椎动脉或者脑血管的血栓形成引起的, 这一过程减少了血液供应, 导致细胞代谢紊乱和衰老, 并进一步导致血管内皮损伤^[9-10]。脑缺血后导致严重的脑损伤, 并造成神经功能障碍, 包括偏瘫、肢体痉挛和认知障碍等, 从而降低患者的生活质量^[11]。目前, 西医临床治疗存在局限性, 使得该疾病的残疾率仍然很高, 以及带来的社会经济负担也在继续增加。中医药博大精深, 很多研究者一直都在致力于寻找改善脑缺血所致神经功能障碍的中医疗法。

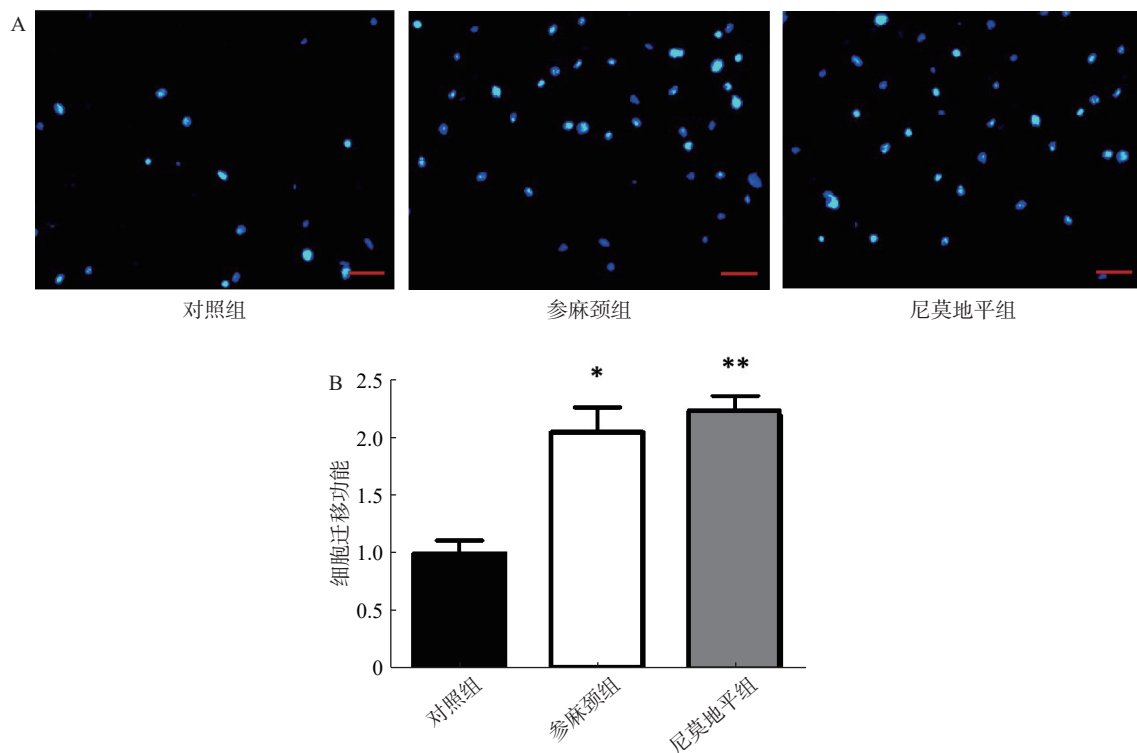


图 4 各组小鼠迁移细胞数目比较 ($n=10$)

A. 细胞迁移功能典型图; B. 各组小鼠细胞迁移数目相对值

** $P<0.01$, * $P<0.05$, 与对照组比较

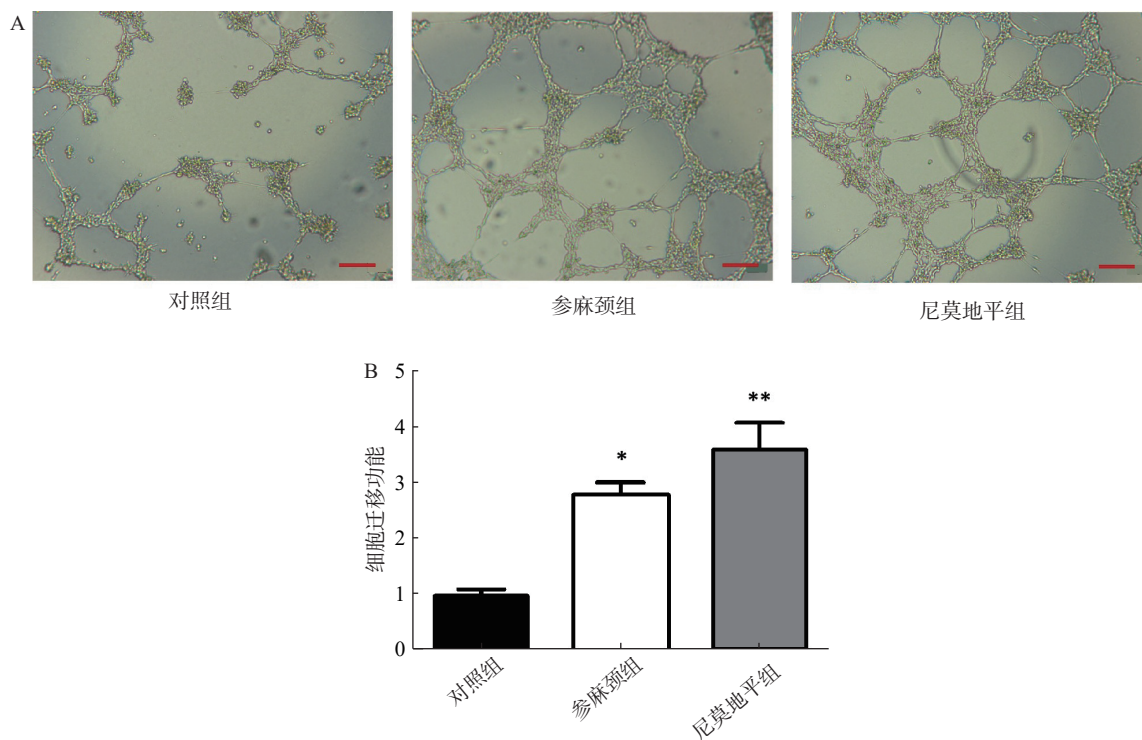


图 5 各组小鼠细胞形成小管数目比较 ($n=10$)

A. 细胞小管形成功能典型图; B. 各组小鼠细胞形成小管数目相对值

* $P<0.05$, ** $P<0.01$, 与对照组比较

中医典籍《伤寒杂病论》早就将活血化瘀中药或中药复方用于缺血性疾病的治疗。活血化瘀中药复方通过多靶点、多途径的作用方式发挥整体性

作用。现代研究方法——代谢组学、基因组学、蛋白质组学等为中药复方作用机制的阐述提供强有力的支持。前期相关研究显示, 在传统中药中, 发

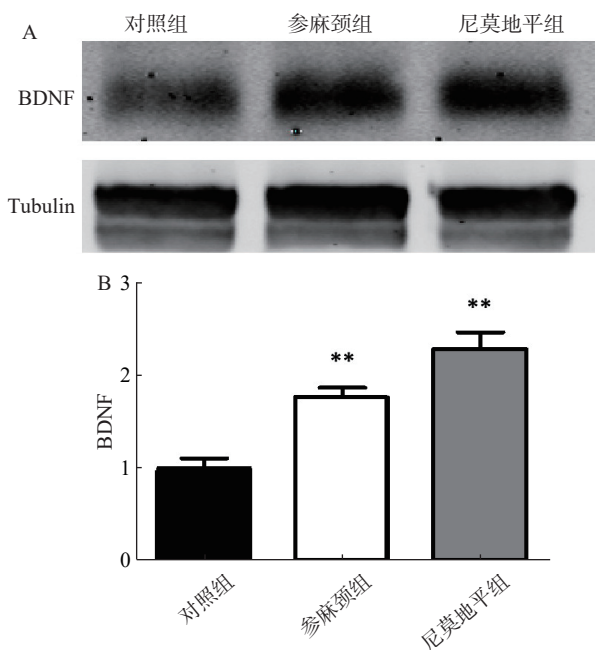


图 6 各组小鼠细胞中相关蛋白表达 ($n=11$)

A. BDNF 蛋白表达; B. BDNF 表达相对含量

** $P<0.01$, 与对照组比较

现许多成分可以促进血管的生成,如丹参酮,川芎嗪,三七总皂苷等^[12-14],这些是方剂中常用的中药,也是活血化瘀类草药的代表。而参麻颈复方中,大部分的中药具有活血化瘀作用,是否能够改善骨髓来源内皮祖细胞功能,又能否促进脑缺血损伤后的新血管的生成,需要进一步验证。

本研究中,参麻颈复方颗粒预处理后,小鼠脑缺血所致的神经行为学功能评分显著改善; TTC 染色梗死体积也显著减少($P<0.01$)。证明参麻颈复方颗粒对小鼠脑缺血损伤具有保护作用,可改善神经功能和减小缺血梗死体积。

越来越多的临床前研究表明^[15],无论是缺血性脑卒中急性期还是慢性期,均会导致炎症和脑组织不可逆转的损伤。因此,为了减轻缺血组织的病理损伤,修复内皮功能障碍引起的血管损伤成为缺血性脑卒中治疗的主要方向。骨髓来源内皮祖细胞是内皮愈合和血管生成的关键效应因子。内皮祖细胞数量减少、内皮功能障碍与心血管事件风险增加息息相关^[16],这与内皮祖细胞介导的血管修复受损致使血管疾病进展是一致的^[17]。为了响应缺血信号和血管损伤,骨髓来源的内皮祖细胞被动员到循环中并募集到内皮损伤部位,从而形成新生血管,这也是一种自然的防御机制^[18]。

第二部分实验研究了参麻颈复方颗粒对脑缺血损伤小鼠内皮祖细胞的保护作用。结果显示,小鼠脑缺血损伤后,来自骨髓的内皮祖细胞黏附在

96 孔板和迁移至 Transwell 板下室的数目有显著减少,给予参麻颈复方颗粒预处理后,黏附细胞数目($P<0.01$)和迁移细胞数目($P<0.05$)均有明显增加。另外,脑缺血损伤可影响血管新生的速度和质量,表现为内皮祖细胞形成小管的能力,包括形成小管的数量和小管长度。本研究的结果中,参麻颈复方颗粒显著增加脑缺血损伤小鼠的内皮祖细胞形成小管的数量和长度($P<0.05$)。

神经营养因子是一组对神经系统的发育、生长、存活和分化至关重要的蛋白质^[19]。脑源性神经营养因子(BDNF)是神经系统中含量最丰富、分布最广的神经营养因子。血管内皮细胞合成并分泌 BDNF,并通过刺激其原肌球蛋白受体激酶 B 促进神经系统中的细胞分化、细胞生长、突触形成和神经发生^[20-21]。重要的是,BDNF 在缺血性和创伤性脑损伤后表现出许多神经保护特性^[22]。BDNF 通过促进新生血管、调节内皮一氧化氮生成和抑制凋亡来改善内皮细胞功能障碍^[23]。

第三部分实验深入探讨了参麻颈复方颗粒保护小鼠脑缺血损伤的作用,结果显示,小鼠脑缺血后,大脑受到损伤,内皮祖细胞中 BDNF 蛋白表达显著降低,内皮祖细胞功能受损;参麻颈复方颗粒干预后,BDNF 蛋白表达水平显著增加($P<0.01$),细胞功能得以改善。这与二甲双胍上调人脐静脉内皮细胞(HUVEC)中 BDNF 的表达逆转高糖状态下的细胞损伤相同^[23]。由于 BDNF 蛋白表达的增加,脑缺血小鼠的神经功能得到改善,脑梗死体积减小。

综上所述,参麻颈复方颗粒对小鼠脑缺血损伤有保护作用,这一作用可能与促进内皮祖细胞中脑源性神经因子 BDNF 蛋白表达,改善内皮祖细胞功能有关。我们这一研究为参麻颈复方颗粒在心血管疾病的治疗提供了新视角,并进一步验证了在心脑血管疾病治疗领域的应用,这可能减缓疾病的进展和改善预后。

【参考文献】

- [1] HAYASHIDA K, TAKEGAWA R, SHOAIB M, et al. Mitochondrial transplantation therapy for ischemia reperfusion injury: a systematic review of animal and human studies[J]. *J Transl Med*, 2021, 19(1): 1-15.
- [2] REN D F, WANG T, SUN G F, et al. Effect of Yiqihuoxue Formula for the treatment of ischemic stroke: a retrospective study[J]. *Medicine*, 2020, 99(49): e23260.

(下转第 685 页)

- [12] 何士彦, 张俊贞, 楚立. 中药对环孢素疗效及毒性的影响 [J]. 中国药房, 2006, 17(8): 631-632.
- [13] 雷培, 杨哲, 杨茂椿. 常用中药联用产生配伍禁忌的重要规则: 常见中西药物联用的配伍禁忌规则 (3)[J]. 临床合理用药杂志, 2015, 8(2): 170-171.
- [14] 浦月红, 陆嘉惠, 曾庆, 等. 定清片联合健脾补肾活血解毒方治疗骨髓增生异常综合征的临床研究 [J]. 中华临床医师杂志 (电子版), 2021, 15(7): 520-525.
- [15] 周韶虹. 黄振翘教授治疗恶性淋巴细胞性疾病的经验介绍 [J]. 新中医, 2007, 39(4): 94-95.
- [收稿日期] 2022-08-08 [修回日期] 2022-10-11
[本文编辑] 崔俐俊

(上接第 671 页)

- [3] 陶丽宇, 高月求, 韦靖, 等. 首乌藤相关药理作用及临床运用的研究进展 [J]. 时珍国医国药, 2018, 29(10): 2486-2488.
- [4] 侯娅慧, 俞春江, 郭士佳, 等. 丹参及其活性成分治疗急性脑梗死研究进展 [J]. 心脑血管病防治, 2018, 18(4): 317-320.
- [5] 占心怡, 李钰婷. 香附、当归及白芍提取物方剂氧化损伤小鼠抗氧化功效研究 [J]. 按摩与康复医学, 2019, 10(7): 47-49.
- [6] Kuang X, Wang LF, Yu L, et al. Ligustilide ameliorates neuroinflammation and brain injury in focal cerebral ischemia/reperfusion rats: involvement of inhibition of TLR4/ peroxiredoxin 6 signaling[J]. *Free Radic Biol Med*, 2014, 71: 165-175.
- [7] Dong XH, Peng C, Zhang YY, et al. Chronic exposure to sub-therapeutic antibiotics aggravates ischemic stroke outcome in mice[J]. *EBioMedicine*, 2017, 24: 116-126.
- [8] DONG X H, PENG C, ZHANG Y Y, et al. Low-dose piper-longumine rescues impaired function of endothelial progenitor cells and reduces cerebral ischemic injury in high-fat diet-fed mice[J]. *Front Pharmacol*, 2021, 12: 689880.
- [9] DIRNAGL U, IADECOLA C, MOSKOWITZ M A. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view[J]. *Trends Neurosci*, 1999, 22(9): 391-397.
- [10] Sato DMV, Mantovani LK, Safanelli J, et al. Ischemic stroke: process perspective, clinical and profile characteristics, and external factors[J]. *J Biomed Inform*, 2020, 111: 103582.
- [11] SCHMIDT A, MINNERUP J. Promoting recovery from ischemic stroke[J]. *Expert Rev Neurother*, 2016, 16(2): 173-186.
- [12] LIU R Y, ZHENG Y, HAN T, et al. Angiogenic actions of paeoniflorin on endothelial progenitor cells and in ischemic stroke rat model[J]. *Am J Chin Med*, 2021, 49(4): 863-881.
- [13] JIANG Z Q, GAO W, HUANG L Q. Tanshinones, critical pharmacological components in *Salvia miltiorrhiza*[J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 202.
- [14] SHI J H, LI R Y, YANG S Y, et al. The protective effects and potential mechanisms of *Ligusticum chuanxiong*: focus on anti-inflammatory, antioxidant, and antiapoptotic activities[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 2020: 8205983.
- [15] IADECOLA C, BUCKWALTER M S, ANRATHER J. Immune responses to stroke: mechanisms, modulation, and therapeutic potential[J]. *J Clin Invest*, 2020, 130(6): 2777-2788.
- [16] Fan-Yen, Lee. Direct implantations of erythropoietin and autologous EPCs in critical limb ischemia (CLI) area restored CLI area blood flow and rescued remote AMI-induced LV dysfunction[J]. *Biomed Pharmacother*, 2019, 118: 109296.
- [17] FANG J, GUO Y, TAN S, et al. Autologous endothelial progenitor cells transplantation for acute ischemic stroke: a 4-year follow-up study[J]. *Stem Cells Transl Med*, 2019, 8(1): 14-21.
- [18] Hu Z, Wang H, Fan G, et al. Danhong injection mobilizes endothelial progenitor cells to repair vascular endothelium injury via upregulating the expression of Akt, eNOS and MMP-9[J]. *Phytomedicine*, 2019, 61: 152850.
- [19] MUHEREMU A, SHU L, LIANG J, et al. Sustained delivery of neurotrophic factors to treat spinal cord injury[J]. *Transl Neurosci*, 2021, 12(1): 494-511.
- [20] HAO Y, XIONG R, GONG X. Memantine, NMDA receptor antagonist, attenuates ox-LDL-induced inflammation and oxidative stress via activation of BDNF/TrkB signaling pathway in HUVECs[J]. *Inflammation*, 2021, 44(2): 659-670.
- [21] XIONG L L, CHEN J, DU R L, et al. Brain-derived neurotrophic factor and its related enzymes and receptors play important roles after hypoxic-ischemic brain damage[J]. *Neural Regen Res*, 2021, 16(8): 1453-1459.
- [22] Li Z, Wang H, Xiao G, et al. Recovery of post-stroke cognitive and motor deficiencies by Shuxuening injection via regulating hippocampal BDNF-mediated Neurotrophin/Trk Signaling[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 141: 111828.
- [23] HAN X Q, WANG B L, SUN Y N, et al. Metformin modulates high glucose-incubated human umbilical vein endothelial cells proliferation and apoptosis through AMPK/CREB/BDNF pathway[J]. *Front Pharmacol*, 2018, 9: 1266.
- [收稿日期] 2022-08-16 [修回日期] 2023-03-21
[本文编辑] 李春德