

本文引用:蒋素容,武姿含,高音来,陈芯仪,何灏龙,陈楚淘,田浩梅.针刺大椎、百会、人中穴对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织 p-VEGF 蛋白表达的影响[J].湖南中医药大学学报,2018,38(11):1262-1266.

针刺大椎、百会、人中穴对脑缺血再灌注损伤大鼠 脑组织 p-VEGF 蛋白表达的影响

蒋素容,武姿含,高音来,陈芯仪,何灏龙,陈楚淘,田浩梅*
(湖南中医药大学,湖南 长沙 410208)

[摘要] **目的** 观察针刺大椎、百会、人中穴对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织 p-VEGF 蛋白表达的影响,探讨针刺对脑缺血再灌注损伤的部分作用机制。**方法** 从 60 只大鼠中随机选择 24 只,再将之随机分成正常组和假手术组,12 只/组,其余 36 只大鼠参照 Zea Longa 线栓法制备大脑中动脉栓塞模型,造模成功后再随机分为模型组、针刺组、依达拉奉组,12 只/组。造模大鼠生命体征平稳后,正常组、假手术组及模型组大鼠只捆绑不针刺;针刺组大鼠针刺大椎、百会、人中三穴,留针 30 min;依达拉奉组大鼠按 3 mg/kg (稀释至 1mL)腹腔注射依达拉奉,均为每 12 小时 1 次;首次治疗前及末次治疗后,对大鼠进行神经功能缺损评分;6 次治疗完成后处死大鼠,行 TTC 染色观察脑梗死面积比,采用 Western blot 法检测 p-VEGF 蛋白表达水平。**结果** 与正常组及假手术组比较,模型组大鼠神经功能缺损评分及脑梗死面积比显著上升 ($P<0.01$),提示模型制备成功。与模型组比较,针刺组及依达拉奉组大鼠神经功能缺损评分及脑梗死面积比下降 ($P<0.01$);同时,与模型组比较,针刺组及依达拉奉组大鼠 p-VEGF 蛋白表达上升 ($P<0.01$)。针刺组与依达拉奉组比较,大鼠神经功能缺损评分、脑梗死面积比及 p-VEGF 蛋白表达均无差异 ($P>0.05$)。**结论** 针刺大椎、百会、人中穴能明显减轻脑缺血再灌注损伤,且其机制可能与上调 VEGF 蛋白磷酸化表达,进而促进血管新生有关。

[关键词] 针刺;脑缺血再灌注损伤;血管内皮生长因子;大椎;百会;人中

[中图分类号] R245;R743.3

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2018.11.009

Effect of Acupuncture at Acupoints of Dazhui, Baihui, and Renzhong on the Expression of p-VEGF Protein in Brain Tissue of Rats with Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury

JIANG Surong, WU Zihan, GAO Yinlai, CHEN Xinyi, HE Haolong, CHEN Chutao, TIAN Haomei*
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

[Abstract] **Objective** To observe the effect of acupuncture at acupoints of Dazhui, Baihui, and Renzhong on the expression of plasma vascular endothelial growth factor (p-VEGF) protein in the brain tissue of rats with cerebral ischemia-reperfusion injury, and to explore the partial mechanism of action of acupuncture in cerebral ischemia reperfusion. **Methods** A total of 60 rats were included in the study, among which 24 rats were randomly selected and divided into normal group and sham-operation group, with 12 rats per group; the remaining 36 rats were first prepared into a middle cerebral artery occlusion model using the Zea Longa's suture method, and then randomly divided into model group, acupuncture group, and edaravone group, with 12 rats per group. Upon presence of stable vital signs in the model rats, the rats in the normal group, sham-operation group, and model group were restrained without acupuncture; the rats in the acupuncture group were subjected to acupuncture at the acupoints of Dazhui, Baihui, and Renzhong, with the acupuncture needles retained at the acupoints for

[收稿日期] 2018-08-10

[基金项目] 国家自然科学基金(81303051);湖南省自然科学基金(2016JJ3101);国家自然科学基金面上项目(81874508)。

[作者简介] 蒋素容,女,在读硕士研究生,研究方向:针灸推拿临床应用及机制研究。

[通讯作者] *田浩梅,女,博士,副教授,硕士研究生导师,E-mail:451358104@qq.com。

30 minutes; the rats in the edaravone group were intraperitoneally injected with edaravone at a dose of 3 mg/kg (diluted to 1 ml); all the above treatments were repeated once every 12 hours. Neurological deficit score (NDS) evaluation was performed in the rats before the first treatment and after the last treatment. After six rounds of treatments, the rats were sacrificed to observe the ratio of cerebral infarction areas on TTC staining and to determine the expression level of p-VEGF protein by Western blot. **Results** Compared with the normal group and the sham-operation group, the model group had significantly increased NDS and ratio of cerebral infarction areas ($P < 0.01$), suggesting that the model was successfully established. Compared with the model group, the acupuncture group and the edaravone group had significantly reduced NDS and ratio of cerebral infarction areas ($P < 0.01$), but significantly increased expression of p-VEGF protein ($P < 0.01$). There were no significant differences between the acupuncture group and the edaravone group in NDS, ratio of cerebral infarction areas, and expression of p-VEGF protein ($P > 0.05$). **Conclusion** Acupuncture at Dazhui, Baihui, and Renzhong can significantly alleviate cerebral ischemia-reperfusion injury, possibly by up-regulating the expression of phosphorylated VEGF protein and promoting angiogenesis.

[**Keywords**] acupuncture; cerebral ischemia-reperfusion injury; vascular endothelial growth factor; Dazhui; Baihui; Renzhong

脑卒中(stroke),又称中风,是全球第二、中国第一致死性疾病,具有高发病率、高致残率、高复发率和高死亡率的特点,严重影响患者的生存质量^[1-2]。而缺血性脑卒中(ischemic stroke,IS)占脑卒中发生率的第1位,也是脑卒中死亡的第1位原因^[3],其是由各种原因导致的局部脑组织区域血液供应障碍,导致脑组织缺血缺氧性病损坏死,进而产生临床上对应的神经功能缺失表现。闭塞脑血管再通的同时,却使缺血组织的病理损害进一步加重甚至不可逆,临床症状恶化,这种现象被称为脑缺血再灌注损伤(cerebral ischemia reperfusion injury CIRI)^[4]。脑缺血发生后,在梗死灶周围有缺血半暗带存在,该区域由于存在侧支循环,尚有大量存活神经元,半暗带血供的恢复对其神经元的存活具有重要意义。因此,短时间内迅速恢复缺血半暗带的血流供应是治疗缺血性脑血管病的关键。研究表明^[5],脑血管新生可明显改善缺血区周围的组织灌注,缩小脑梗死面积,重塑神经结构,使神经功能尽快尽可能修复。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor,VEGF)是已知的促血管生成作用最强的细胞因子,其直接作用于血管内皮细胞,是血管新生的核心。脑缺血发生后,受缺血缺氧诱导,半暗带区 VEGF 表达增加,VEGF/VEGFR 受体系统激活,促进血管内皮细胞增殖,加速新生血管的形成,并使新生血管从正常组织向半暗带及缺血中心延伸,增加受累脑组织再灌注及供氧量,减少神经元坏死和凋亡,从而缩小脑梗死面积,减轻 CIRI^[5-8]。研究发现,针刺可从多种途径缓解和改善脑缺血损伤^[9-10],促进血管新生可能是其中之一。因此,本实验通过制作大鼠 CIRI 模型,选择 VEGF 为检测指标,观察针刺对大鼠神经功能缺损评分、脑梗死面积比以及缺血侧海马中 p-VEGF 蛋白表达的影响,探讨针刺治疗 CIRI 的部分机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 SD 大鼠 60 只,SPF 级,雄性,体质量 200~250 g,由湖南中医药大学动物实验中心提供[许可证号 SCXK(湘)2016-0002]。

1.1.2 主要试剂与仪器 10%水合氯醛(长沙维尔生物科技有限公司)、1.5% 2,3,5-苯氯化四氮唑(TTC)溶液(C19,H15,长沙维尔生物科技有限公司)、4%多聚甲醛(WB0401,长沙维尔生物科技有限公司)、Anti-VEGF(ab1316,英国 abcam 公司)、 β -actin antibody(60008-1-Ig,美国 proteintech 公司)、HRP goat anti-mouse IgG(美国 Proteintech 公司)、HRP goat anti-rabbit IgG(美国 Proteintech 公司)、HHS-2 电子恒温不锈钢水浴锅(上海南阳仪器有限公司)、image pro plus 6.0 图像分析软件。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 实验动物常规饲养 7 d,期间自由进水进食。7 d 后随机选出 24 只大鼠,分成正常组和假手术组,12 只/组,其余 36 只大鼠为造模组,造模成功后再随机分成模型组、针刺组和依达拉奉组,12 只/组。若实验中各组有大鼠死亡,则按相同方法补齐,本实验大鼠死亡率约为 35%。

1.2.2 模型制备方法及模型成功标准 造模方法参照 Zea Longa 方法^[11]并加以改良。实验大鼠禁食不禁水 12 h 后,用 10%水合氯醛按 0.3 mL/100 g 体质量行腹腔麻醉,将大鼠仰卧位固定于鼠板上,于前正中线处纵行切开,暴露右侧颈总动脉(CCA)、颈内动脉(ICA)及颈外动脉(ECA),在近心端结扎 CCA、ECA,并暂时夹闭 ICA。随后在距 ICA、ECA 分叉部 3 mm 处的 CCA 剪一小口,将尼龙线栓(直径 0.3 mm)由 CCA 插入至 ICA,插入深度约为 19 mm

(从 CCA 分叉处算起), 栓塞大鼠右侧大脑中动脉, 并将 ICA 远心端的细线结扎以保证插入的线栓不会从 CCA 脱出。最后缝合皮肤, 将栓线尾部固定于皮肤上, 注射青霉素抗炎, 单笼饲养观察。假手术组步骤同造模组, 但线栓仅插入约 5 mm, 进入颈内动脉但不阻断大脑中动脉。造模 2 h 后, 将栓线拔出 1 cm 左右, 即形成 CIRI 模型。待大鼠苏醒, 呼吸、心跳等生命体征平稳后, 采用 ZeaLonnga 五级 4 分法^[12]标准判断模型是否成功, 1~3 分者纳入实验。72 h 后处死大鼠后, 取大鼠全脑可见脑梗塞灶位于颞叶皮质区, 与大脑中动脉供血区域一致, 说明本实验的模型制作成功。取脑时若发现有明显蛛网膜下腔出血者剔除出实验。剔除不符合实验标准大鼠后, 按相同方法各造模组予以补齐。

1.2.3 选穴及针刺方法 根据《实验针灸学》^[13]及华兴邦制定的《实验动物图谱》^[14]提供的方法, 并模拟人体腧穴骨度分寸法量取大鼠腧穴。针刺组由“大椎”“百会”“人中”三穴组成; 大椎位于第 7 颈椎与第 1 胸椎间, 背部正中, 直刺 5 mm; 百会位于顶骨正中, 平刺 10 mm; 人中位于唇裂鼻尖下 1 mm 正中处, 向鼻中隔方向斜刺 2 mm。

1.2.4 干预方法 实验动物造模完成后, 待大鼠苏醒, 呼吸、心跳等生命体征平稳后(再灌注后 2 h), 正常组不做任何处理, 假手术组与模型组大鼠只捆绑不针刺, 捆绑时间 30 min; 针刺组扎针后每穴捻转 1 min, 15 min 后再次每穴捻转 1 min, 总共留针 30 min; 依达拉奉组按 3 mg/kg(稀释至 1 mL)腹腔注射依达拉奉; 捆绑、针刺及注药每 12 小时进行 1 次, 6 次治疗后处死大鼠。

1.3 指标检测及方法

1.3.1 神经功能缺损评分 大鼠造模成功且生命体征平稳后, 对每组大鼠进行第一次神经功能缺损评分, 末次治疗结束后进行第二次神经功能缺损评分, 评分参照 Zea Longa 五级 4 分法^[12]标准进行, 1~3 分者纳入实验。

1.3.2 脑梗死面积比 72 h 后, 从每组随机挑选 6 只大鼠, 用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉, 迅速断头取脑, 用冰生理盐水冲洗后, 放入 -20 °C 冰箱内冷冻。10 min 后取出, 切除额极, 从视交叉水平开始间隔 2 mm, 连续切 5 个冠状脑切片, 置于 1.5% TTC 溶液中, 37 °C 避光孵育 15~30 min。期间每隔 5 min 翻动 1 次组织, 使其均匀接触到染色液。染色完成后(红色为正常组织, 白色为梗死区域)将其置于 10% 多聚甲醛中 4 °C 避光固定 24 h, 然后用数码相机拍照拷入电脑, 选择最大缺血面积的一片, 用 image

pro plus 6.0 图像分析软件扫描并计算脑梗死面积比值。使用校正后的 Swanson^[15]方法计算梗死面积, 用百分比描述, 表示梗死程度。计算公式:

$$IS\% = (S1 - Sr) / 2S1 \times 100\%$$
(IS: 脑梗死面积比值; S1: A 片健侧总面积; Sr: A 片患侧非梗死区面积)。

1.3.3 缺血侧海马组织 p-VEGF 蛋白的表达水平

采用 Western blot 法检测。72 h 后, 每组除外做 TTC 染色的 6 只大鼠, 其余大鼠用 10% 水合氯醛腹腔注射麻醉, 迅速断头取脑, 取缺血侧海马, 剪取 0.025 g 组织, 从中提取总蛋白, 检测蛋白浓度, 然后电泳、转膜, 用 1×TBST 配制 5% 脱脂奶粉封闭, 一抗 (Anti-VEGF Mouse-ab1316 5 μg/mL, β-actin Mouse-60008-1-Ig 1:5 000) 孵育, 4 °C 过夜, 二抗 (HRP goat anti-mouse 1×TBST, HRP goat anti-rabbit 1:6 000) 孵育 90 min, ECL 显色曝光。使用 quantity one 专业灰度分析软件分析曝光后的底片, 测定目标带的灰度值, 计算出目标带与 β-actin 的比值。

1.4 统计学分析

使用 SPSS 25.0 软件包进行统计, 数据行正态性检验后, 符合正态分布的数据用“ $\bar{x} \pm s$ ”描述, 多组计量资料采用单因素方差分析 (One-way ANOVA), 方差齐者用 LSD, 方差不齐者用 Tamhane's T2 法。不满足正态分布者, 采用非参数检验, 用中位数与四分位间距 (M(Q)) 描述。以 $P < 0.05$ 作为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 针刺对 CIRI 大鼠神经功能缺损评分的影响

治疗前, 与正常组及假手术组比较, 模型组、针刺组、依达拉奉组大鼠神经功能缺损评分显著升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 提示造模成功; 3 组之间比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗 72 h 后, 与正常组及假手术组比较, 模型组、针刺组、依达拉奉组大鼠神经功能缺损评分升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 与模型组相比, 针刺组、依达拉奉组大鼠神经功能缺损评分下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 针刺组与依达拉奉组比较, 大鼠神经功能缺损评分差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与治疗前相比, 正常组及假手术组大鼠神经功能缺损评分无差异; 模型组大鼠神经功能缺损评分差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 针刺组及依达拉奉组大鼠神经功能缺损评分下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 针刺对 CIRI 大鼠神经功能缺损评分的影响

分组	[(M(Q)分, n=12)]	
	治疗前	治疗后
正常组	0.00(0.00)	0.00(0.00)
假手术组	0.00(0.00)	0.00(0.00)
模型组	2.00(2.00) $\Delta\Delta\Delta\star$	2.00(1.00) $\Delta\Delta\star$
针刺组	2.00(2.00) $\Delta\Delta\star$	1.00(1.00) $\Delta\Delta\star\star\star\blacktriangle\#\#$
依达拉奉组	2.00(2.00) $\Delta\Delta\star$	1.00(0.25) $\Delta\Delta\star\star\star\blacktriangle\#\#$

注:组间比较,与正常组比较, $\Delta\Delta P<0.01$;与假手术组比较, $\star P<0.01$;与模型组比较, $\blacktriangle\blacktriangle P<0.01$;组内比较,与治疗前比较, $\#\#\# P<0.01$ 。

2.2 针刺对 CIRI 大鼠脑梗死面积比的影响

各组大鼠脑组织切片经 TTC 染色后,红色为正常区域,白色为梗死区域。正常组及假手术组无梗死灶,模型组、针刺组及依达拉奉组均有大小不一的梗死灶。与正常组、假手术组相比,模型组、针刺组、依达拉奉组大鼠脑梗死面积比增加,差异有显著统计学意义($P<0.01$)。与模型组相比,针刺组、依达拉奉组大鼠脑梗死面积比缩小,差异有显著统计学意义($P<0.01$)。针刺组与依达拉奉组大鼠脑梗死面积比差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 1,表 2。

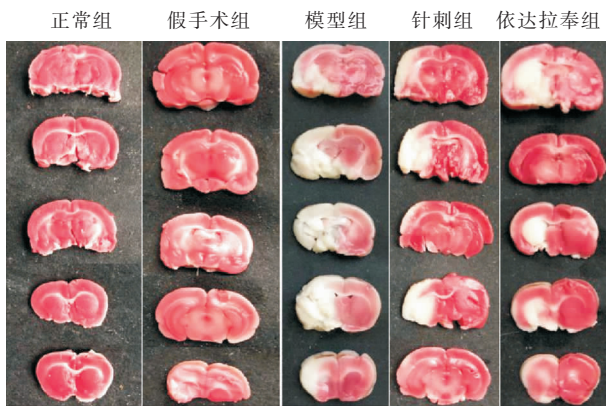


图 1 各组大鼠治疗后脑梗死面积 TTC 染色图的比较

2.3 针刺对 CIRI 大鼠缺血侧海马组织 p-VEGF 蛋白表达水平的影响

与正常组及假手术组比较,模型组、针刺组和依达拉奉组中 p-VEGF 表达上调,差异有显著统计学意义($P<0.01$);与模型组比较,针刺组及依达拉奉组 p-VEGF 表达上升,差异有显著统计学意义($P<0.01$)。针刺组与依达拉奉组 p-VEGF 表达差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

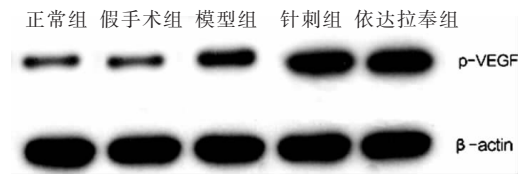
采用 Western blot 法检测各组大鼠缺血侧海马组织中 p-VEGF 蛋白的表达,显影结果如图 2。

表 2 针刺对 CIRI 大鼠脑梗死面积比及缺血侧海马

组织磷酸化 VEGF 蛋白表达的影响 ($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	脑梗死面积比/%	p-VEGF/ β -actin
正常组	0.00 \pm 0.00	17.88 \pm 1.56
假手术组	0.00 \pm 0.00	19.03 \pm 1.75
模型组	41.71 \pm 4.08 $\Delta\Delta\star\star$	36.40 \pm 2.77 $\Delta\Delta\star\star$
针刺组	20.11 \pm 5.41 $\Delta\Delta\star\star\blacktriangle\blacktriangle$	47.85 \pm 2.16 $\Delta\Delta\star\star\blacktriangle\blacktriangle$
依达拉奉组	17.36 \pm 3.79 $\Delta\Delta\star\star\blacktriangle\blacktriangle$	49.92 \pm 4.08 $\Delta\Delta\star\star\blacktriangle\blacktriangle$

注:与正常组比较, $\Delta\Delta P<0.01$;与假手术组比较, $\star P<0.01$;与模型组比较, $\blacktriangle\blacktriangle P<0.01$ 。

图 2 各组 p-VEGF、 β -actin 电泳图

3 讨论

针灸是治疗缺血性脑血管病最主要的非药物治疗手段,经济、安全且疗效显著,广泛应用于临床。课题组前期研究表明^[16-19],针刺大椎、百会、人中(穴)能改善 CIRI 大鼠神经功能缺损,减少脑梗死面积从而达到脑保护作用。金成日等^[20]发现电针百会、水沟及双足三里等穴能后有效改善缺血大鼠的神经缺损行为。韩肖华等^[21]报道电针百会和水沟穴可使急性脑缺血大鼠梗死灶周围 VEGF 和 VEGFR2 等表达上调。王秀志等^[22]研究发现电针能够增加 CIRI 大鼠缺血脑皮层 VEGFR-2 表达,促进缺血区新血管的形成。潘江等^[23]研究发现电针能上调模型组、穴位组脑梗死区的 VEGF 阳性表达,促进大脑中动脉梗阻大鼠脑梗死区的血管新生。

血管新生(Angiogenesis, AG)是近些年被提出治疗缺血性脑血管病的一个新观点^[24-25],脑缺血后神经元的修复不仅和神经生长因子、营养因子有关,更取决于缺血区血管新生的程度,新血管的形成对缺血组织侧枝循环的重建和功能的改善具有重要作用。VEGF 作为作用最强、特异性最高的血管生长因子,参与到血管新生的整个过程,与梗死灶周围新生血管的数量密切相关,其通过与缺氧应答元件(hypoxia response element, HRE)的结合增加缺血区血管新生,从而显著改善缺血半暗带的血供,促进侧支循环的建立,对缺血区的神经元发挥直接保护作用^[26-28]。故本实验选取 VEGF 作为观察指标。已有研究表明:脑缺血区的 VEGF 表达上调,从而触发了缺血后的血管新生^[29],但机体的这种反应尚不足以改善脑缺血缺氧后的神经功能恢复^[30-31],故而适当的调控治

疗性血管新生的进程对改善脑缺血很有必要。本实验研究发现,与模型组比较,针刺组大鼠神经功能缺损评分下降,脑梗死面积比缩小,提示针刺能缩小脑CIRI大鼠脑梗死面积,促进大鼠缺血后神经功能恢复。同时,与正常组及假手术组比较,模型组p-VEGF表达上调,提示缺血缺氧诱导了VEGF的表达;而针刺组p-VEGF表达上调更明显,提示针刺可以通过上调p-VEGF蛋白的表达,引导血管新生,从而改善缺血半暗带血供,减轻脑缺血再灌注损伤。

参考文献:

- [1] 2015年“世界卒中日”宣传主题及提纲[J].疾病监测,2015,30(10):879-885.
- [2] 王陇德.中国脑卒中防治报告[M].北京:中国协和医科大学出版社,2015.
- [3] 涂雪松.缺血性脑卒中的流行病学研究[J].中国临床神经科学,2016,24(5):594-599.
- [4] ELTZSCHIG H K, ECKLE T. Ischemia and reperfusion from mechanism to translation[J]. Nat Med, 2011,17(11):1391-1401.
- [5] 宓丹,马贤德,王建.眼针对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠VEGF/VEGFR系统表达的影响[J].山东大学学报(医学版),2013,51(2):22-26.
- [6] O TROCKZK, M AKAREM J A, Sham seddine A I. Vascular endothelial growth factor family of ligands and receptors Review[J]. Blood Cells Mold is, 2007, 38:258-268.
- [7] NAGYZ, SIMON L, BORI Z. Regulatory mechanisms in focal cerebral ischemia. New Possibilities in neuroprotective therapy[J]. Ideggyogy Sz,2002,55(3-4):73-85.
- [8] ZHANG Z G, CHOPP M. Vascular endothelial growth factor angiopoietins in focal cerebral ischemia[J]. Trends Cardiovasc Med, 2002, 12(2): 62-66.
- [9] INCE H, PETZSCHM, KLEINEHD, et al. Preservation from left ventricular remodeling by front integrated revascularization and stem cell liberation in evolving acute myocardial infarction by use of granulocyte colony-stimulating factor (FIRSTLINEAMI)[J]. Circulation, 2005, 112(3):3097-3106.
- [10] SOLAROGLUI CAHILLJ, JADHAVV, et al. A novel neuroprotectant granulocyte-colony stimulating factor[J]. Stroke, 2006,37 (4):1123-1128.
- [11] LONGA E Z, WEINSTEIN P R, CARLSONS, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989,20(1):84-91.
- [12] LONGA E Z, WEINSTEIN P R, CARLSONS, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1):84-91.
- [13] 李忠仁.实验针灸学(新世纪第二版)[M].北京:中国中医药出版社,2007.
- [14] 华兴邦,周浩良.大鼠穴位图谱的研制[J].实验动物与动物实验,1991(1):1-5.
- [15] SWANSON R A. A Semiautomated method for measuring brain infarct volume[J]. J ceveh Blood Flow Metab, 1990,10(2):293-295.
- [16] HAOMEI TIAN, HONG ZHANG, JUNBAO ZHU, et al. Acupuncture activates signal transduction pathways related to brain-tissue restoration after ischemic injury[J]. NEURAL REGENERATION RESEARCH, 2012,7(24):1866-1872.
- [17] 张雨辰.针刺对缺血性损伤脑组织相关蛋白磷酸化及MAPK/ERK信号通路的影响[D].长沙:湖南中医药大学,2012.
- [18] 蔡何凝.针刺对缺血性脑损伤模型大鼠TNF- α 、Caspase-3表达的影响[D].长沙:湖南中医药大学,2012.
- [19] 刘琴,林亚平,陈文,等.针刺联合亚低温对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织p-Raf1、p-ERK1/2的影响[J].湖南中医药大学学报,2016,36(1):58-62.
- [20] 金成日,姜奥,张小卿.电针对脑缺血再灌注损伤大鼠行为学影响实验研究[J].辽宁中医药大学学报,2017,19(8):108-110.
- [21] 韩肖华,黄晓琳,郭铁成,等.电针对脑缺血大鼠碱性成纤维细胞生长因子和血管生成素及其受体表达的影响[J].中华物理医学与康复杂志,2006,28(9):581-583.
- [22] 王秀志,张莉,蔡绍哲.电针对脑缺血再灌注大鼠缺血局部脑血管形成的影响[J].针灸临床杂志,2010,26(8):61.
- [23] 潘江,章薇,严洁,等.电针手厥阴心包经穴对大鼠中动脉梗阻大鼠血清、脑组织中血管内皮生长因子的影响[J].针刺研究,2012,37(3):197-201.
- [24] 丁利静,石京山,李菲,等.缺血性脑损伤治疗新策略:促进血管新生和神经再生[J].中国新药与临床杂志,2013,32(6):426-432.
- [25] WEI L, FRASERJL, LUZY, et al. Transplantation of hypoxia preconditioned bone marrow mesenchymal stem cells enhances angiogenesis and neurogenesis after cerebral ischemia in rats[J]. Neurobiol Dis, 2012,46(3):635-645.
- [26] FU S P, HE S Y, XU B, et al. Acupuncture promotes angiogenesis after myocardial ischemia through H3K9 acetylation regulation at VEGF gene[J]. Plo S One, 2014,9(4):e94604.
- [27] HAI J, LIST, LINQ, et al. Vascular endothelial growth factor expression and angiogenesis induced by chronic cerebral hypoperfusion in rat brain[J]. Neurosurgery, 2003, 53: 963-970.
- [28] 南伟,张海鸿,伍亚民.神经调控血管机制的研究进展[J].中国修复重建外科杂志,2015,29(12):1570-1573.
- [29] GREENBERG D A, JIN K. Vascular endothelial growth factors (VEGFs) and stroke[J]. Cell Mol Life Sci,2013,70(10):1753-1761.
- [30] 马璟曦,罗勇.电针对大鼠局灶性脑缺血再灌注后脑内血管生长因子和血管抑制因子表达的影响[J].中国针灸,2007,27(2):129-133.
- [31] 张艳,石搏,黄可欣,等.冠心舒通对大鼠脑缺血再灌注损伤脑室VEGF的影响[J].中国实验诊断学,2013,17(1):40-42.