

脑泰方对脑缺血/再灌注大鼠的神经保护作用

宋 洋¹, 葛金文^{2*}, 陈 瑶¹

(1. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南长沙 410021; 2. 湖南中医药大学, 湖南长沙 410208)

摘要: 目的 探讨脑泰方对脑缺血/再灌注大鼠的神经保护作用。方法 75 只大鼠随机分为假手术组、模型组及脑泰方低、中、高剂量组, 每组 15 只, 采用大脑中动脉栓塞再灌注法进行造模, 连续灌胃相应药物 14 d, 采用 Zea-longa 评分法及平衡木实验检测大鼠神经肌肉功能和前庭运动功能, HE 染色观察脑组织病理改变情况, TTC 染色观察脑组织梗死情况, 免疫荧光检测脑缺血半暗带区域 Beclin-1、LC3 II、GRP78、CHOP、PERK 蛋白阳性表达率, Western blot 法检测脑组织 Beclin-1、LC3 II/LC3 I、GRP78、CHOP、PERK 蛋白表达。结果 与模型组比较, 脑泰方各剂量组大鼠神经肌肉运动功能及梗死体积均得到改善 ($P<0.05$, $P<0.01$), 大鼠脑缺血半暗带区及责任血管区域 Beclin-1、LC3 II、GRP78、CHOP、PERK 蛋白表达及 LC3 II/LC3 I 比值均有不同程度降低 ($P<0.05$, $P<0.01$), 且中剂量组具有更明显优势。结论 脑泰方能有效降低大鼠脑梗死体积百分比, 改善神经运动功能, 其机制可能与调控脑缺血半暗带区内质网应激和自噬因子相关, 从而起到神经保护作用, 其中中剂量具有显著优势。

关键词: 脑泰方; 脑缺血/再灌注; 内质网应激; 自噬

中图分类号: R285.5

文献标志码: B

文章编号: 1001-1528(2023)03-0924-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2023.03.040

脑卒中是最常见的神经疾病, 其中缺血性脑卒中约占脑卒中病例的 87%, 具有高病发率、高死亡率、高致残率等特点, 严重危害人们的生命健康^[1]。目前缺血性脑卒中最有效的治疗手段是恢复缺血组织的血供, 但脑缺血再灌注可导致更加严重的脑功能障碍发生, 即脑缺血再灌注损伤 (CIRI)^[2]。研究发现, 内质网应激 (ERS) 反应在脑缺血再灌注损伤病理进展中起到重要作用^[3]。当脑缺血发生时, 大量未折叠或错误折叠蛋白在内质网中积蓄或钙离子紊乱等原因诱导 ERS 的发生, 加速神经细胞自噬与凋亡。因此, 抑制内质网应激或成为防治脑缺血再灌注损伤的关键靶点之一。脑泰方具有补气活血、化瘀通络的功效, 对气虚血瘀型缺血性脑卒中患者具有良好的临床效果^[4]。本研究旨在基于 PERK/CHOP 蛋白通路探讨脑泰方对于脑缺血/再灌注模型大鼠脑内神经细胞自噬相关蛋白的影响, 以期为脑泰方通过调控脑内损伤细胞的内质网应激反应治疗 CIRI 提供重要的科学证据。

1 材料与方法

1.1 分组及造模 SPF 级雄性 SD 大鼠 75 只, 体质量 (160 ± 10) g, 由湖南中医药大学实验动物中心提供, 实验动物使用许可证号 SYXK (湘) 2013-0005, 动物实验伦理审查号 2021-0086, 饲养环境为 12 h/12 h 明暗交替, 室温 (25 ± 3) °C, 相对湿度 65%, 噪音 ≤60 dB。

大鼠随机分为假手术组、模型组及脑泰方低、中、高剂量组, 每组 15 只, 适应性喂养 3 d 后, 参照文献 [5] 报道, 采用大脑中动脉栓塞再灌注方法进行手术造模, 以 10% 水合氯醛 (4 mL/kg) 腹腔注射进行麻醉, 大鼠仰卧位固定, 颈部正中切开皮肤, 暴露颈前肌群, 分离肌肉, 撑开固定, 仔细分离颈内动脉、颈外动脉、右侧颈总动脉, 将右侧颈总动脉近心端结扎, 在距离右侧颈总动脉分叉 5 mm 处的血管壁做小切口, 插入线栓, 当线栓头部出现轻微的阻力感时, 即说明线栓头部进入大脑中动脉, 血流阻断, 常规缝合, 伤口涂抹青霉素液, 预防感染, 缺血 120 min 后, 将体外的线栓拔出约 1 cm, 使再灌注, 然后剪去大鼠体外的栓线。大鼠出现缺血侧眼球发暗灰白, 以及对侧肢体瘫痪, 或站立不稳, 提尾时向一侧转圈, 视为造模成功; 假手术组操作方法同前, 但只暴露颈动脉, 并不进行插线。造模期间如有大鼠死亡或制备不成功则予以剔除, 另取大鼠补充, 确保每组在造模后存活 15 只。

1.2 药物制备及给药 脑泰方 (由黄芪 50 g、川芎 12.5 g、地龙 18.75 g、僵蚕 18.75 g 组成) 浓缩颗粒购自湖南中医药大学第一附属医院药剂科, 每 100 g 生药相当于浓缩颗粒剂 8.44 g, 溶解于 60 °C 双蒸水中, 配成终质量浓度为 0.281 g/mL 的溶液, 4 °C 密封保存。造模结束后第 2 天开始灌胃给药, 假手术组和模型组灌胃给予 2 mL 生理

收稿日期: 2022-02-21

基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81774174); 2019 年湖南中医药大学科研基金项目 (2019XJJ044); 2021 年湖南中医药大学科研基金项目 (2021XJJ052)

作者简介: 宋 洋 (1985—), 男, 博士生, 研究方向为脑血管病的中西医药防治机理。E-mail: 410419282@qq.com

* 通信作者: 葛金文 (1965—), 男, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向为脑血管病的中西医药防治机理。E-mail: 40831556@qq.com

盐水，每天1次。根据人临床用量的等效剂量和动物体表面积^[6]计算，脑泰方低、中、高剂量组分别以0.45、0.9、1.8 g/kg灌胃给药，每天1次，持续14 d。除假手术组外，其余各组大鼠在灌胃期间均有少数大鼠死亡，为保证统计学资料的客观性，最后每组各取11只进行后续实验。

1.3 试剂及仪器 水合氯醛购自上海山浦化工有限公司，批号20200709；BCA蛋白定量试剂盒、蛋白抽提试剂、2 mg/mL BSA标准品、5×还原样品缓冲液、10×Tris-Glycine-SDS电泳缓冲液、10×TBST(pH 8.0)、山羊抗兔IgG(H+L)、山羊抗小鼠IgG(H+L)均购自天德瑞(北京)生物科技有限公司，批号WB0028、WB0003、WB0030、WB0031、WB0035、WB0043、S004、S001；β-actin鼠单抗购自美国Immunoway公司，批号YM3028；LC3、GRP78、PERK、CHOP、Beclin-1一抗均购自武汉三鹰生物技术有限公司，批号14600-1-AP、11587-1-AP、24390-1-AP、15204-1-AP、11306-1-AP；无水乙醇购自国药集团化学试剂有限公司，批号100092183；二甲苯购自上海凌峰化学试剂有限公司，批号1330-20-7；Fite-TSA、荧光二抗HRP山羊抗兔、CY3、DAPI、CY3-TSA、柠檬酸(pH

6.0)抗原修复液、EDTA(pH 9.0)抗原修复液、EDTA(pH 8.0)抗原修复液、PBS缓冲液、自发荧光淬灭剂均购自武汉赛维尔生物科技有限公司，批号G1012、G1223、G1202、G1203、G1206、G0002、G1221、G5001、G1401。

Mini-Protein Tetra System电泳系统、凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司)；石蜡切片机(德国Leica公司)；BX43光学显微镜(日本Olympus公司)；SpectraMax5多功能酶标仪(美国Molecular Devices公司)；CR22GⅡ高速冷冻离心机(日本日立公司)；脱水机(意大利Diapath公司)；免疫组化笔、载玻片(武汉赛维尔生物科技有限公司)；盖玻片(江苏世泰实验器材有限公司)；Nikon Eclipse C1正置荧光显微镜、Nikon DS-U3成像系统(日本尼康公司)。

1.4 神经功能缺失体征评分 采用Zea-longa评分法^[7]及平衡木评分法^[8]对大鼠神经肌肉功能和前庭运动功能进行评测。Zea-longa评分标准见表1。平衡木评分法操作方法为取一根长80 cm、宽2.5 cm的木条，水平固定在离台面10 cm高度的地方，让大鼠在木条上行走，评分标准见表1，分别于造模后与给药结束后各检测1次。

表1 Zea-longa 和平衡木评分标准

评分/分	Zea-longa 评分标准	平衡木评分标准
0	无神经功能缺陷	能跳上平衡木条，可以自由行走但不跌倒
1	瘫痪侧前爪不能完全伸展	能跳上平衡木条，可在上面行走会跌下，跌下几率小于50%
2	行走时向瘫痪侧转圈	能跳上平衡木条，可在上面行走会跌下，跌下几率大于50%
3	行走时向瘫痪侧倾倒	可以跳上平衡木条，但是瘫痪侧的后肢不能够帮助身体向前移动
4	不能自动行走，存在意识丧失现象	无法在平衡木条上行走，但是可以坐在木条上
5	—	将大鼠放在木条上，很快会掉落下来

1.5 TTC染色观察脑组织梗死面积 末次行为学测试后，每组随机取4只大鼠全脑组织制备冷冻切片(2 mm)，置于2%TTC染液中，37℃避光染色30 min，再置于40 g/L多聚甲醛PBS溶液中固定过夜，固定好的脑片取出晾干，脑梗死区显示白色，正常脑组织显示红色，计算每组大鼠脑梗死体积百分比。

1.6 HE染色观察脑缺血半暗带组织形态 末次行为学测试后，每组随机选取4只大鼠，经10%水合氯醛腹腔注射麻醉，暴露腹腔及胸腔，以生理盐水行心脏灌注，待肝脏颜色变淡时停止灌注，快速断头取脑，放入4%多聚甲醛中固定，脱水，石蜡包埋，切片，染色，镜下观察脑组织形态。

1.7 免疫荧光检测脑半暗带Beclin-1、LC3Ⅱ、GRP78、CHOP、PERK蛋白阳性表达率 组织切片进行抗原修复，滴加10%BSA封闭30 min，滴加相应一抗，放于湿盒内4℃孵育过夜，滴加对应的HRP标记二抗，室温孵育50 min，PBS溶液漂洗，滴加TSA，避光孵育10 min，TBST漂洗，组织切片置于EDTA抗原修复液中，于微波炉中加热处理，去掉已结合的一抗二抗后滴加一抗，于湿盒内4℃孵育过夜，加对应的二抗，避光孵育50 min，DAPI复染细胞核，室温避光孵育10 min，PBS溶液中漂洗，加入自发荧光淬灭剂5 min，流水冲洗10 min，用抗荧光淬灭封

片剂封片。于倒置荧光数码显微镜暗室下观察，蓝色表示DAPI染色的细胞核，绿色或红色表示阳性表达。

1.8 Western blot法检测脑组织Beclin-1、LC3Ⅱ/LC3Ⅰ、GRP78、CHOP、PERK蛋白表达 末次行为学测试后，选取每组其余3只大鼠，麻醉，断头取脑，冰浴分离左侧大脑中动脉供血区相同大小的脑组织，液氮速冻后于-80℃冰箱保存。取适量组织加入含有蛋白酶抑制剂的RIPA裂解液，冰上匀浆，4℃、12 000 r/min离心10 min，收集上清于-80℃冰箱保存备用。BCA法进行蛋白定量，每组取等量蛋白样品进行电泳分离，湿转至PVDF膜，5%脱脂牛奶封闭1 h，加一抗(1:1 000)4℃摇床孵育过夜，次日TBST漂洗3次，二抗(1:10 000)室温孵育80 min，TBST漂洗3次，滴加ECL发光液，于暗室曝光，用Image J软件分析条带灰度值，以β-actin为内参，计算目的蛋白相对表达量。

1.9 统计学分析 通过SPSS 19.0软件进行处理，实验数据以($\bar{x} \pm s$)表示，组间比较采用单因素方差分析，方差齐时，组间多重比较采用LSD法，方差不齐时，采用Dunnett's T3检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脑泰方对大鼠行为学的影响 如表2所示，与给药前比较，脑泰方各剂量组大鼠给药后Zea-longa及平衡木评分

均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)；与给药后模型组比较，脑泰方中、高剂量组给药后 Zea-longa 及平衡木评分均降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)；给药后脑泰方各剂量组之间 Zea-longa 及平衡木评分无明显变化 ($P>0.05$)。

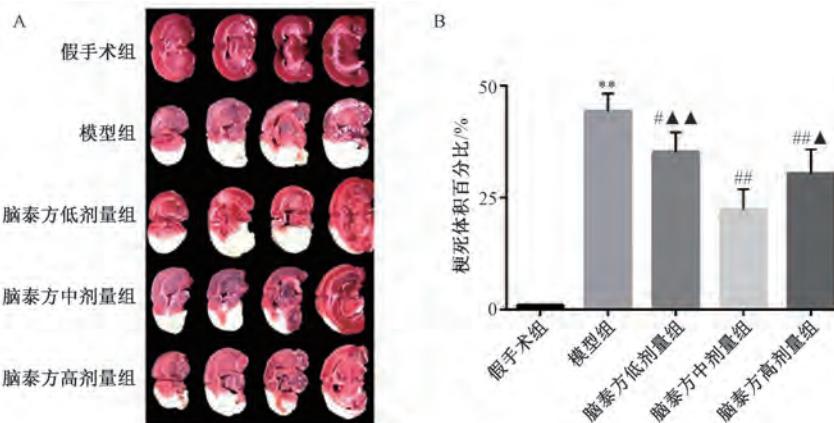
表2 各组大鼠 Zea-longa 及平衡木评分比较(分, $\bar{x}\pm s$, n=11)

组别	Zea-longa 评分		平衡木评分	
	给药前	给药后	给药前	给药后
假手术组	0	0	0	0
模型组	2.81±0.83	2.55±0.93	3.64±1.03	3.27±0.79
脑泰方低剂量组	2.84±0.73	2.09±0.83 [*]	3.55±0.82	2.82±0.75 [*]
脑泰方中剂量组	2.81±0.75	1.72±0.66 ^{**#}	3.73±1.10	2.36±0.67 ^{**##}
脑泰方高剂量组	2.77±0.64	1.91±0.81 ^{**#}	3.82±1.08	2.64±0.92 ^{**#}

注：与同组给药前比较，^{*} $P<0.05$, ^{**} $P<0.01$ ；与给药后模型组比较，[#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ 。

2.2 脑泰方对大鼠脑组织梗死体积的影响 如图1所示，与假手术组比较，模型组大鼠脑组织梗死体积均增加 ($P<0.01$)；与模型组比较，脑泰方各剂量组大鼠脑组织梗

死体积均有不同程度降低 ($P<0.05$, $P<0.01$)；脑泰方低、高剂量组较脑泰方中剂量组大鼠脑组织梗死体积均有不同程度增加 ($P<0.05$, $P<0.01$)。



注：红色区域为正常脑组织，白色区域为梗死灶。与假手术组比较，^{**} $P<0.01$ ；与模型组比较，[#] $P<0.05$, ^{##} $P<0.01$ ；与脑泰方中剂量组比较，[▲] $P<0.05$, ^{▲▲} $P<0.01$ 。

图1 各组大鼠脑组织 TTC 染色(A)与脑组织梗死体积百分比(B) ($\bar{x}\pm s$, n=4)

2.3 脑泰方对大鼠脑组织病理形态的影响 如图2所示，假手术组大鼠神经细胞排列紧密、整齐，形态结构大致正常，未见明显病理学改变；模型组大鼠神经细胞排列紊乱、松散，胞

体萎缩，胞膜溶解，核固缩、深染，正常神经细胞明显减少；脑泰方各剂量组大鼠神经细胞病理改变较轻微，相比于模型组有明显改善，神经细胞排列较整齐，数目较多。

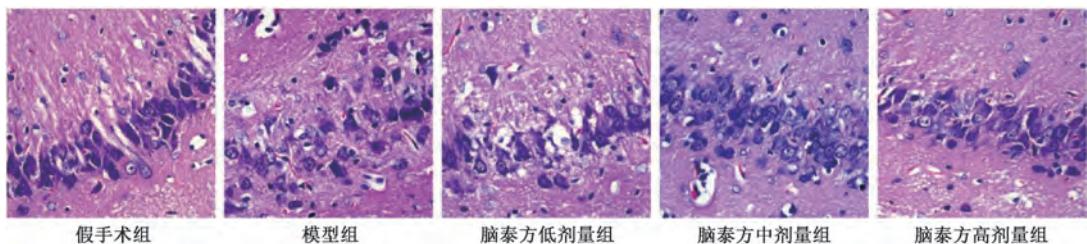
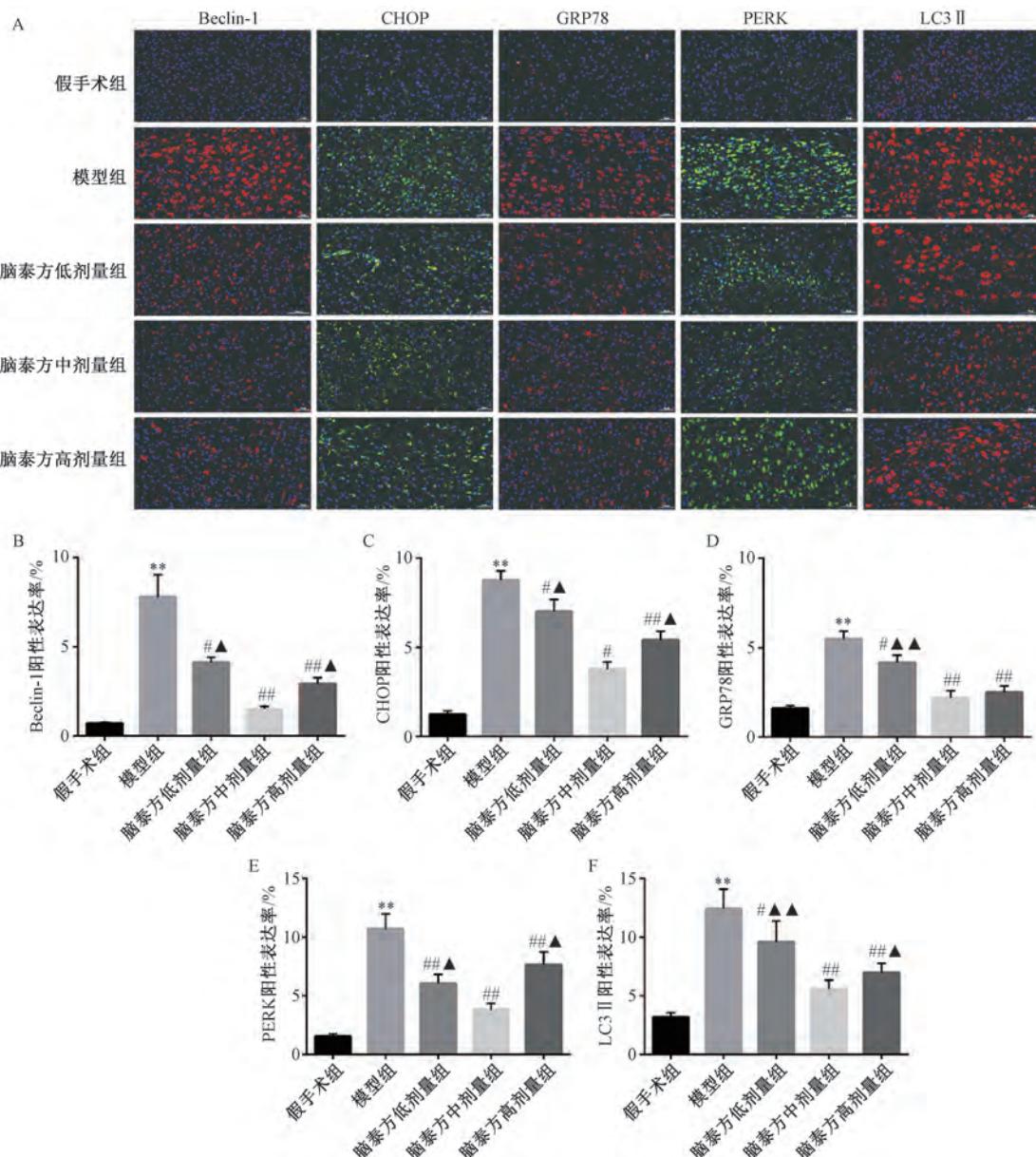


图2 各组大鼠脑组织病理学改变(HE染色, ×400)

2.4 脑泰方对大鼠脑半暗带区 Beclin-1、LC3 II、GRP78、CHOP、PERK蛋白阳性表达率的影响 如图3所示，与假手术组比较，模型组大鼠脑缺血半暗带区 Beclin-1、CHOP、GRP78、PERK及LC3 II 阳性表达率均增加 ($P<0.01$)；与模型组比较，脑泰方各剂量组大鼠脑缺血半暗带区 Beclin-1、CHOP、GRP78、PERK及LC3 II 阳性表达率均有不同程度减弱 ($P<0.05$, $P<0.01$)；与脑泰方中剂量组比较，脑泰方低、高剂量组大鼠脑缺血半暗带区 Beclin-1、CHOP、

PERK及LC3 II 阳性表达率均有不同程度增加 ($P<0.05$, $P<0.01$)，脑泰方低剂量组 GRP78 阳性表达率增加 ($P<0.01$)。

2.5 脑泰方对大鼠脑组织 Beclin-1、LC3 II/LC3 I、GRP78、CHOP、PERK蛋白表达的影响 如图4所示，与假手术组比较，模型组大鼠脑组织 Beclin-1、PERK、CHOP、GRP78 蛋白表达及 LC3 II/LC3 I 比值升高 ($P<0.01$)；与模型组比较，脑泰方各剂量组大鼠脑组织 Beclin-1、



注：A为免疫荧光染色图（×400），标尺为50 μm；B~F为蛋白阳性表达率统计图。与假手术组比较，** P<0.01；与模型组比较，#P<0.05，##P<0.01；与脑泰方中剂量组比较，▲P<0.05，▲▲P<0.01。

图3 各组大鼠脑缺血半暗带区 Beclin-1、CHOP、GRP78、PERK、LC3 II 阳性表达 ($\bar{x} \pm s$, n=4)

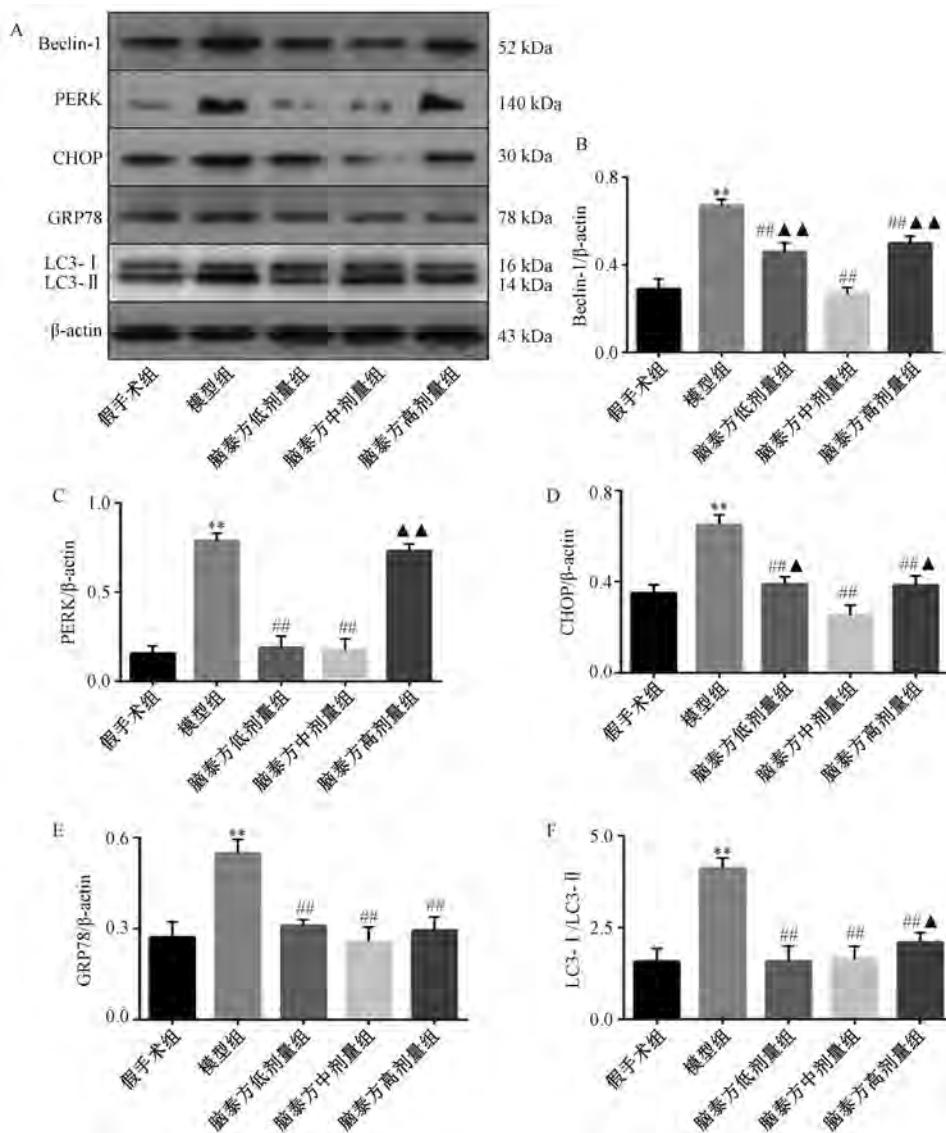
CHOP、GRP78 蛋白表达及 LC3 II/LC3 I 比值均降低 ($P<0.01$)，脑泰方低、中剂量组大鼠脑组织 PRRK 蛋白表达降低 ($P<0.01$)；与脑泰方中剂量组比较，脑泰方低剂量组大鼠脑组织 Beclin-1、CHOP 蛋白表达升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)，脑泰方高剂量组大鼠脑组织 Beclin-1、PERK、CHOP 蛋白表达及 LC3II/LC3I 比值均升高 ($P<0.05$, $P<0.01$)。

3 讨论

缺血性脑卒中属中医“中风”范畴，清代名医王清任认为此病核心病机为本虚标实，气虚为本，血瘀为标，并创立补阳还五汤，沿用至今^[9-10]。脑泰方正是借鉴前人以气虚血瘀之法治疗中风之思想，结合现代药理学的研究结果及长期临床经验深入简出而得，全方药简而力宏，有补

气活血、化瘀通络之功效。既往研究表明，脑泰方有抗血栓、抗血小板活化的作用，可有效改善脑缺血/再灌注大鼠脑内神经元的凋亡，调控铁死亡，发挥神经保护作用^[11-14]。本研究行为学和 TTC 染色结果表明，脑泰方各剂量组大鼠神经功能缺失体征均明显改善，脑组织梗死体积百分比降低，提示脑泰方能有效改善脑缺血/再灌注后的神经肌肉功能，增强脑内亚梗死区域的恢复能力。

当脑缺血再灌注损伤 (CIRI) 发生时，可引起神经细胞细胞膜电位去极化，电压门控 Ca^{2+} 通道开放，使大量 Ca^{2+} 进入内质网内，引发内质网应激 (ERS)，进而使未折叠蛋白大量聚集在内质网内，进一步诱发蛋白质未折叠反应 (UPR)，导致细胞凋亡^[15]。GRP78 是 ERS 发生的标志



注：A为蛋白电泳条带图，B~F为蛋白相对表达统计图。与假手术组比较，** $P<0.01$ ；与模型组比较，# $P<0.01$ ；与脑泰方中剂量组比较，▲ $P<0.05$ ，▲▲ $P<0.01$ 。

图4 各组大鼠脑组织 Beclin-1、LC3 II/LC3 I、PERK、CHOP、GRP78 蛋白表达 ($\bar{x}\pm s$, n=3)

蛋白，在ERS发生过程中，GRP78会从内质网蛋白激酶PERK等跨膜蛋白中解离出来，并加剧PERK磷酸化，从而启动UPR发生^[16]。CHOP是细胞凋亡的标志性信号分子之一，ERS发生时，内质网膜中的PERK蛋白被激活，增强ATF4的翻译，随后增加CHOP的表达，从而诱导细胞凋亡^[17]。本研究发现，脑泰方各剂量组大鼠脑缺血半暗带区及责任血管供血区域的GRP78、PERK及CHOP蛋白表达均有不同程度减弱，且脑泰方中剂量组减弱更明显，提示脑泰方可能通过缓解内质网应激，减少神经细胞的凋亡。细胞凋亡与自噬存在密切联系，它们相互促进、拮抗和合作，当机体受到更多刺激作用时，可过度激活自噬，进一步诱导细胞凋亡^[18]。LC3 II/LC3 I是一组检测自噬发生的标志蛋白，在细胞自噬的状态下，LC3 I会向LC3 II发生转变，其比值升高说明细胞自噬活性增强^[19]。Beclin1是调控

自噬的关键因子^[20]，在大鼠缺血再灌注后LC3 II及Belin1蛋白表达升高，经药物干预后Belin-1蛋白表达下调，发挥保护神经元的作用。本研究发现，脑泰方各剂量组均能不同程度下调大鼠脑组织LC3 II、Beclin-1蛋白表达及LC3 II/LC3 I比值，且脑泰方中剂量组作用更优，提示脑泰方可有效缓解CIRI引起的神经细胞过度自噬状态，进而抑制神经细胞的凋亡。

综上所述，脑泰方可有效改善脑缺血/再灌注大鼠的神经肌肉运动功能，增强亚梗死区域的恢复能力，其机制可能与缓解内质网应激及介导受损神经细胞自噬相关，且中剂量组具有显著优势。

参考文献：

- [1] 倪小佳, 陈耀龙, 蔡业峰. 中西医结合脑卒中循证实践指南(2019)[J]. 中国循证医学杂志, 2020, 20(8):

- 901-912.
- [2] 李兆珍, 张丹参. 脑缺血再灌注损伤相关机制的研究进展 [J]. 神经药理学报, 2020, 10(6): 60-63.
- [3] Xu D D, Kong T T, Cheng B H, et al. Orexin-A alleviates cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting endoplasmic reticulum stress-mediated apoptosis [J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(4): 266.
- [4] 贺运河, 葛金文, 成战鹰, 等. 脑泰方对气虚血瘀型脑梗死患者血浆 TXB₂、6-Keto-PGF_{1α} 及血清 TNF-α 含量的影响 [J]. 中国中医药信息杂志, 2002, 9(4): 16-17.
- [5] 马 宁, 蔡继福, 姜卫剑. 局灶性脑缺血动物模型的制备 [J]. 神经损伤与功能重建, 2010, 5(1): 53-55.
- [6] 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 等. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2004, 9(9): 1069-1072.
- [7] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [8] 胡 科, 张保朝, 任应国, 等. 健脾益智胶囊联合丰富康复训练对缺血性脑卒中大鼠梗死灶周围皮质神经生长相关蛋白 43 表达的影响 [J]. 中医杂志, 2018, 59(4): 329-332.
- [9] 罗银河, 葛金文, 刘 林. 补阳还五汤对脑缺血大鼠不同时间点 PAI-1、tPA、ICAM1、VCAM1 表达的影响 [J]. 中成药, 2015, 37(12): 2739-2742.
- [10] 聂容荣, 江 伟, 卢妃萍, 等. 加味补阳还五汤治疗缺血性脑卒中后抑郁症的临床研究 [J]. 中成药, 2016, 38(4): 958-960.
- [11] 饶政清, 梅志刚, 葛金文, 等. 脑泰方调控细胞铁转运抑制铁死亡保护脑卒中缺血损伤的机制研究 [J]. 中草药, 2021, 52(21): 6552-6560.
- [12] 易亚乔, 刘 检, 刘 林, 等. 基于 SIRT1 介导的凋亡相关信号通路探讨加味脑泰方对缺氧/复氧损伤海马神经元的保护作用 [J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(10): 4516-4522.
- [13] 石咏梅, 马英民, 廖 君, 等. 内质网应激 PERK 通路在脑泰方提取物保护局灶性脑缺血大鼠海马神经元中的作用 [J]. 中国老年学杂志, 2017, 37(22): 5512-5515.
- [14] 刘 林, 刘 羽, 王国佐, 等. 脑泰方抗血栓作用的实验研究 [J]. 中医药导报, 2015, 21(2): 29-31.
- [15] 罗书萍, 方雅玲, 常小娜, 等. 桔梗桂枝颗粒对脑缺血再灌注损伤模型大鼠缺血区脑组织内质网应激及细胞凋亡的影响 [J]. 中医杂志, 2022, 63(1): 72-77.
- [16] Feng J Y, Chen Y H, Lu B, et al. Autophagy activated via GRP78 to alleviate endoplasmic reticulum stress for cell survival in blue light-mediated damage of A2E-laden RPEs [J]. *BMC Ophthalmol*, 2019, 19(1): 249.
- [17] Yang Y J, Liu Y N, Zhang Y H, et al. Periplogenin activates ROS-ER stress pathway to trigger apoptosis via BIP-eIF2α-CHOP and IRE1α-ASK1-JNK signaling routes [J]. *Anticancer Agents Med Chem*, 2021, 21(1): 61-70.
- [18] 郭 涛, 张永杰, 赵晓明, 等. 自噬和凋亡相关蛋白在脑缺血再灌注大鼠模型中的表达时间谱 [J]. 中国病理生理杂志, 2021, 37(11): 1992-2000.
- [19] Chen X D, Lin S Y, Gu L, et al. Inhibition of miR-497 improves functional outcome after ischemic stroke by enhancing neuronal autophagy in young and aged rats [J]. *Neurochem Int*, 2019, 127: 64-72.
- [20] 吴茂东, 苏清伦, 刘 璇, 等. miRNAs 调控自噬在缺血性脑卒中病理生理机制中的研究进展 [J]. 中华神经医学杂志, 2020, 19(12): 1277-1282.