

陈婕,唐鑫,陈盼,等. 基于改良大鼠双侧颈总动脉结扎法建立血管性痴呆模型探讨脑血流量变化规律及对血管新生相关蛋白的影响 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(11): 1423-1430.

Chen J, Tang X, Chen P, et al. Modified bilateral carotid artery ligation to establish a vascular dementia rat model and investigate changes in cerebral blood flow and effects on angiogenesis-related proteins [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(11): 1423-1430.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.11.006

基于改良大鼠双侧颈总动脉结扎法建立血管性
痴呆模型探讨脑血流量变化规律及对血管
新生相关蛋白的影响

陈婕,唐鑫,陈盼,谢紫薇,谢海花,张泓,邹莹洁*,谭洁*

(湖南中医药大学针灸推拿与康复学院,长沙 410208)

【摘要】 目的 通过改良大鼠双侧颈总动脉结扎法建立血管性痴呆(cascular dementia, VD)大鼠模型观察其脑血流量变化规律及血管新生蛋白表达等变化。**方法** 将 36 只 SD 雄性大鼠随机分为假手术组($n = 18$)和模型组($n = 18$),假手术组只分离双侧颈总动脉不作结扎,模型组行双侧颈总动脉结扎法制备 VD 模型,于造模前、造模后 14 d 采用 Morris 水迷宫进行行为学测试,激光散斑衬比成像检测脑血流量变化,Western Blot 法检测 HIF-1 α 、VEGF 及 HO-1 蛋白表达,ELISA 法检测 IL-4、IL-10 含量。**结果** 造模后 14 d,与假手术组比较,模型组逃避潜伏期延长、穿越平台次数减少($P < 0.05$);造模后 2 h、3、7 d,模型组较假手术组脑血流量显著降低($P < 0.05$),造模后 14、21 d,假手术组和模型组的脑血流量变化无显著差异($P > 0.05$);模型组在造模后 2 h 脑血流量降至最低($P < 0.05$),此后脑血流量开始恢复,恢复高峰期发生在造模后 3 ~ 7 d,并于造模后 14 d 恢复至造模前水平;造模后 21 d,模型组海马区 HIF-1 α 、VEGF 及 HO-1 蛋白表达含量较假手术组明显升高($P < 0.05$),模型组血清中 IL-4、IL-10 的含量较假手术组明显升高($P < 0.05$)。**结论** 改良大鼠双侧颈总动脉结扎法建立 VD 模型的脑血流量变化呈现一定时间规律,造模后 21 d 该模型海马区 HIF-1 α 、VEGF 及 HO-1 的表达显著增加,并伴随 IL-4 和 IL-10 含量的升高。

【关键词】 血管性痴呆;模型;脑血流量;血管新生;炎症;大鼠

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 11-1423-08

Modified bilateral carotid artery ligation to establish a vascular dementia
rat model and investigate changes in cerebral blood flow and effects on
angiogenesis-related proteins

CHEN Jie, TANG Xin, CHEN Pan, XIE Ziwei, XIE Haihua, ZHANG Hong, ZOU Yingjie*, TAN Jie*

(College of Acupuncture & Tuina and Rehabilitation, Hunan Universtiy
of Chinese Medicine, Changsha 410208, China)

Corresponding author: TAN Jie. E-mail:86869454@qq.com; ZOU Yingjie. E-mail:yingjiezou@foxmail.com

【基金项目】湖南省教育厅科学研究重点项目(22A0253),湖南省中医药科研计划项目(2021233)。
Funded by Scientific Research Fund of Hunan Provincial Education Department(22A0253),Hunan Province Traditional Chinese Medicine Research Project(2021233).

【作者简介】陈婕(1999—),女,在读硕士研究生,研究方向:神经系统疾病的中西医结合康复机理与临床研究。
Email:1299066871@qq.com

【通信作者】谭洁(1980—),女,教授,博士,研究方向:神经系统疾病的中西医结合康复机理与临床研究。Email:86869454@qq.com;
邹莹洁(1991—),女,讲师,硕士,研究方向:神经康复。Email:yingjiezou@foxmail.com。

* 共同通信作者

[Abstract] Objective Apply modified bilateral carotid artery ligation to establish a VD rat model to observe changes in cerebral blood flow and expression of angiogenic proteins. **Methods** Thirty-six SD male rats were randomly divided into a sham group ($n = 18$) and model group ($n = 18$). In the sham group, only the bilateral carotid artery was isolated without ligation, whereas in the model group, the bilateral carotid artery was ligated to establish the VD model. The Morris water maze behavior test was applied before and 14 days after modeling. Variation in cerebral blood flow was detected by laser speckle contrast imaging. Protein expression of HIF-1 α , VEGF, and HO-1 was detected by Western Blot. IL-4 and IL-10 contents were measured by ELISA. **Results** At 14 days after modeling, escape latency was significantly prolonged and the frequency of crossing the platform had significantly decreased in the model group compared with the sham group ($P < 0.05$). At 2 hours, 3 days, and 7 days after modeling, cerebral blood flow in the model group was significantly lower than that in the sham group ($P < 0.05$). At 14 and 21 days after modeling, no significant difference was found in cerebral blood flow between sham and model groups ($P > 0.05$). In the model group, cerebral blood flow was decreased to a minimum at 2 hours after modeling ($P < 0.05$) and then began to recover. The peak of recovery occurred at 3 ~ 7 days after modeling and returned to the level before modeling on day 14 after modeling. At postoperative day 21, expression of HIF-1 α , VEGF, and HO-1 proteins in the hippocampus of the model group was increased remarkably ($P < 0.05$) and the serum contents of IL-4 and IL-10 in the model group were significantly increased compared with those in the sham group ($P < 0.05$). **Conclusions** The variation in cerebral blood flow in the VD rat model established by the modified bilateral carotid artery ligation was dependent on time. At postoperative day 21, HIF-1 α , VEGF, and HO-1 in the hippocampus were increased significantly, which was accompanied by increased levels of IL-4 and IL-10.

[Keywords] vascular dementia; model; cerebral blood flow; angiogenesis; inflammation; rats

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

血管性痴呆 (vascular dementia, VD) 是由于各种心脑血管疾病引起的脑组织病理改变进而导致的一种慢性神经退行性疾病,其特征为脑血流量减少所致的明显认知障碍^[1-2],患者可能会出现思维迟钝、健忘、抑郁、焦虑、定向障碍以及执行功能的丧失等,实验中建立合适的动物模型以模拟慢性脑血流量减少的病理状态,为 VD 的病理生理学机制研究提供了基础^[3-6]。

慢性脑灌注不足 (chronic cerebral hypoperfusion, CCH) 是导致 VD 的主要原因之一,可使其脑血流量 (cerebral blood flow, CBF) 持续下降,造成神经血管单元失衡,产生氧化应激、神经炎症、脱髓鞘、兴奋性毒性、血脑屏障破坏等一系列损害,最终引发突触损伤、白质病变和脑萎缩等^[1,7-8]。动物实验中可通过慢性脑灌注不足的方法使脑血流量持续下降来建立 VD 模型^[9],改良大鼠双侧颈总动脉结扎法是建立该模型方法之一,能较稳定地表达其生理病理指标,使大鼠出现较明显的学习记忆障碍,且操作简单、死亡率低,是较理想的 VD 模型建立方法^[10]。因此,探索 VD 动物模型脑血流量时间变化规律及对血管新生相关蛋白的影响,对评估该病预防、用药及康复的疗效很重要。

长期慢性的脑缺血能导致缺氧,暴露于此种环境会使大鼠脑结构和功能产生适应性变化,即通过

血管新生增加血管密度来缓解缺血缺氧,也许是大脑的一种血管重塑机制^[11-12]。缺氧诱导因子-1 α (hypoxia-inducible factor α , HIF-1 α) 是参与大脑血管新生和神经发生的重要调节剂,能通过调节血管新生相关因子增强血管新生,其下游血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 也是促进脑缺血后血管新生的重要蛋白,可以高效促进血管内皮细胞的有丝分裂与增殖^[13-15],增加血管新生,而血红素加氧酶 1 (heme oxygenase 1, HO-1) 则能在脑缺血损伤中发挥抗炎以及促血管新生的功能^[16-17],三者均可在脑缺血后促进血管生成,帮助大脑重建微血管网络,缓解 VD 的慢性脑缺血损伤。本研究以改良的双侧颈总动脉结扎法建立 VD 大鼠模型,通过激光散斑衬比成像技术观察其造模后 2 h、3、7、14、21 d 的脑血流量变化,并检测造模后 21 d 海马中血管新生相关蛋白 HIF-1 α 、VEGF、HO-1 以及血清中抑炎因子 IL-4、IL-10 的含量,为防治 VD 持续脑血流下降进而引发的一系列病理损害提供客观依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

健康 SPF 级雄性 SD 大鼠 36 只,6 ~ 8 周龄,体

重 180 ~ 200 g, 购自湖南斯莱克景达实验动物有限公司【SCXK(湘)2019-0004】, 饲养于湖南中医药大学实验动物中心【SYXK(湘)2019-0009】, 温度 24 ~ 26℃, 湿度 50% ~ 70%, 12 h 明暗交替环境, 给予充足的食物和水。所有操作均符合湖南中医药大学实验伦理学要求并经批准(LL-2022101204)。

1.1.2 主要试剂与仪器

2%戊巴比妥钠(Merck, P3761), IL-4 ELISA 试剂盒(Elabscience, E-EL-R0014c), IL-10 ELISA 试剂盒(Elabscience, E-EL-R0016c), HIF-1 α 抗体(Abcam, ab179483), VEGF-A 抗体(ZEN-BIOSCIENCE, R26073), HO-1 抗体(Proteintech, 10701-1-AP), β -tubulin 抗体(Proteintech, 10094-1-AP), 羊抗兔二抗(Abiowell, AWS0002a)。

激光散斑成像系统(Moor Instruments 公司, 型号:Moor FIPI-2, 英国), Morris 水迷宫系统(泰盟公司, 型号:MT-200, 中国), 双臂脑立体定位仪(众实公司, 型号:ZS-FDC, 北京), 化学发光凝胶成像仪(Bio-Rad 公司, 型号:ChemiDoc™ XRS +, 美国)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与造模

将 36 只 SD 大鼠随机分成 2 组, 即假手术组($n = 18$)和模型组($n = 18$), 具体操作方法如下:

模型组:术前禁食 12 h, 采用改良双侧颈总动脉结扎法建立 VD 模型^[10]。2%戊巴比妥 0.3 mL/100 g 腹腔注射麻醉, 大鼠仰卧位, 先后于颈正中中线左右旁开 0.5 cm 切口, 逐层分离出双侧颈总动脉, 用 4-0 号缝合线分别在两侧颈总动脉近心和远心端结扎, 共 2 次, 每次打 4 次结以防止线脱落, 留出一段动脉以便从两端线结中间剪断颈总动脉, 然后逐层缝合切口, 注意无菌操作。

假手术组:仅分离颈总动脉但不结扎, 其他操作与模型组一致。

成模标准:计算假手术组大鼠逃避潜伏期平均值(A), 模型组大鼠逃避潜伏期平均值(B), 算出 B 与 A 的差并与 B 比较得出比值(C), 即 $C = (B - A)/B$, 若 $C \geq 20\%$, 则判断造模成功^[18]。

1.2.2 成模率、死亡率及存活率统计

造模后第 21 天统计模型组和假手术组的死亡率、存活率及成模率。

1.2.3 Morris 水迷宫行为学检测

采用 Morris 水迷宫行为学检测在造模前和造模后第 14 天^[19]分别进行大鼠学习记忆能力测试。水

迷宫是一个平分为 4 个象限的圆形水池, 目标象限中放一个无色透明平台, 加水高度为没过平台一手手指厚度。测试前在水中加入二氧化钛粉末, 使平台不易被大鼠发现。实验分为两部分:(1)定位航行实验(共 5 d):每天固定时间入水, 打乱每天 4 个象限入水顺序, 4 个象限分别入水 1 次, 共 4 次(如第 1 天:1→2→3→4;第 2 天:2→3→4→1), 每次设置 120 s, 以大鼠爬上平台并停留超过 3 s 耗时记作逃避潜伏期, 如 120 s 内未爬上平台, 则引导其上平台并停留 10 s, 记其逃避潜伏期为 120 s, 计算第 3、4、5 天的 4 个象限的平均耗时, 并算出这 3 d 平均耗时的平均值, 即为最终逃避潜伏期。(2)空间探索实验(第 6 天):撤去目标象限的平台, 计时 120 s 得出大鼠穿越目标象限平台区域的次数, 记为穿越平台次数。

1.2.4 激光散斑衬比成像仪检测

2%异氟醚呼吸麻醉, 使用脑立体定位仪将大鼠头部固定, 于头顶正中靠近耳前位置将大鼠头部被毛除净, 碘酒消毒并使用眼科剪将头顶被皮剪开约 1.5 ~ 2.0 cm, 以头颅前囟点和人字点为长度, 两点连线左右旁开约 0.5 cm 宽度作为观察范围, 使用颅钻将其颅骨磨薄, 以肉眼能透过颅骨看到血管为最佳观察厚度, 用棉球蘸取 0.9%生理盐水轻轻涂抹于暴露的颅骨, 进行激光散斑衬比成像, 记录其脑血流量变化图像。使用 moorFLPIReviewV50 软件对图像进行分析, 在一侧大脑选择感兴趣的区域(ROI)计算出该侧大脑脑血流量变化值, 左右脑各取一个面积相同的区域, 计算出两个区域的平均值作为最终的脑血流量变化值。

1.2.5 Western Blot 检测

麻醉方法同 1.2.1, 大鼠麻醉后, 每组随机取 6 只大鼠, 取双侧海马组织, 将海马充分剪碎, 加入裂解液, 冰上静置后使用组织破碎仪破碎;离心后取上清, -80℃冰箱保存。使用 BCA 试剂盒测定浓度并配置上样缓冲液, 蛋白变性、电泳、转膜, 5%脱脂牛奶封闭, 一抗 4℃孵育过夜、二抗孵育, 显影得到目的条带, 使用 Image J 软件分析目标条带灰度值, 用目的蛋白与内参蛋白 β -tubulin 比值作为其相对表达含量变化。

1.2.6 ELISA 检测

造模后 21 d, 麻醉大鼠, 进行腹主动脉采血, 每只大鼠取 5 ~ 10 mL 全血, 静置 1 h, 离心机预冷 4℃, 2307 r/min 离心 15 min, 取出上清保存, 最后采

用 ELISA 法检测大鼠血清中 IL-4、IL-10 含量,根据试剂盒说明书进行具体操作。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 25.0 软件进行统计学分析,计量资料用平均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。组间比较采用配对 t 检验,若满足正态齐性和方差齐性则采用独立样本的 t 检验,若方差不齐则采用配对 t' 检验,若不满正态齐性则采用 Wilcoxon 秩和检验;指标随时间变化比较采用重复测量单变量方差分析。以

$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 成模率、死亡率和存活率统计

造模后 21 d,假手术组共计死亡 4 只,存活 14 只,死亡率为 22.2%,存活率为 77.8%;模型组共计死亡 5 只,存活 13 只,死亡率为 27.8%,存活率为 72.2%;模型组造模 18 只,成模 10 只,成模率为 55.6%,见表 1。

表 1 各组造模后 21 d 死亡、成活和成模数统计

Table 1 Death, survival and vascular dementia numbers of each group were counted on 21 days after modeling							
组别 Groups	死亡 Death	存活 Survive	造模 Modeling	成模 Vascular dementia	死亡率(%) Mortality rate (%)	存活率(%) Survival rate (%)	成模率(%) Model success rate (%)
假手术组 Sham group	4	14	—	—	22.2%	77.8%	—
模型组 Model group	5	13	18	10	27.8%	72.2%	55.6%

2.2 造模前后大鼠学习记忆能力比较

造模前,与假手术组比较,模型组大鼠逃避潜伏期、穿越平台次数均无显著性差异($P > 0.05$)。

造模后 14 d,与假手术组比较,模型组大鼠的逃避潜伏期延长、穿越平台次数减少,差异具有显著性($P < 0.05$),见表 2。

表 2 各组造模前后逃避潜伏期及穿越平台次数比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Comparison of escape latency and platform crossing frequency before and after modeling in each group ($\bar{x} \pm s, n = 10$)				
组别 Groups	造模前 Before modeling		造模后 After modeling	
	逃避潜伏期(s) Escape latency(s)	穿越平台次数(次) Platform crossing frequency(times)	逃避潜伏期(s) Escape latency(s)	穿越平台次数(次) Platform crossing frequency(times)
假手术组 Sham group	14.32 ± 3.71	4.15 ± 1.18	5.82 ± 0.76	6.65 ± 1.27
模型组 Model group	15.60 ± 6.28	3.95 ± 2.17	14.10 ± 6.39*	4.95 ± 1.54*

注:与假手术组相比,* $P < 0.05$ 。(下同)
Note. Compared with the sham group, * $P < 0.05$. (The same in the following figures)

2.3 造模前后大鼠脑血流量变化比较

组间比较发现,造模前,假手术组和模型组间大鼠脑血流量变化差异无显著性($P > 0.05$);造模后 2 h、3、7 d,与假手术组相比,模型组大鼠脑血流量均降低,差异具有显著性($P < 0.05$);造模后 14、21 d,假手术组和模型组间大鼠脑血流量变化差异无显著性($P > 0.05$),见图 1。

组内比较发现,假手术组脑血流量在术后 2 h 开始上升,于造模后 3 d 升至最高,此后开始下降,在造模后 14 d 降至基线(术前)水平,造模后 21 d 上升至超过基线水平。模型组脑血流量在造模后 2 h 降至最低($P < 0.05$),下降了约为基线(造模前)

的 17.56%,此后开始恢复,恢复高峰期发生在造模后 3 ~ 7 d 之间,并在造模后 14 d 恢复至基线水平,在造模后 21 d 持续上升至超过基线水平,见图 1。

2.4 造模后 21 d 大鼠海马区 HIF-1α、VEGF 及 HO-1 蛋白表达比较

造模后 21 d,与假手术组比较,模型组大鼠海马区 HIF-1α、VEGF 及 HO-1 蛋白表达含量显著升高,差异具有显著性($P < 0.05$),见图 2。

2.5 造模后 21 d 大鼠血清中 IL-4、IL-10 含量比较

造模后 21 d,与假手术组比较,模型组大鼠血清中 IL-4、IL-10 含量升高,差异具有显著性($P < 0.05$),见图 3。

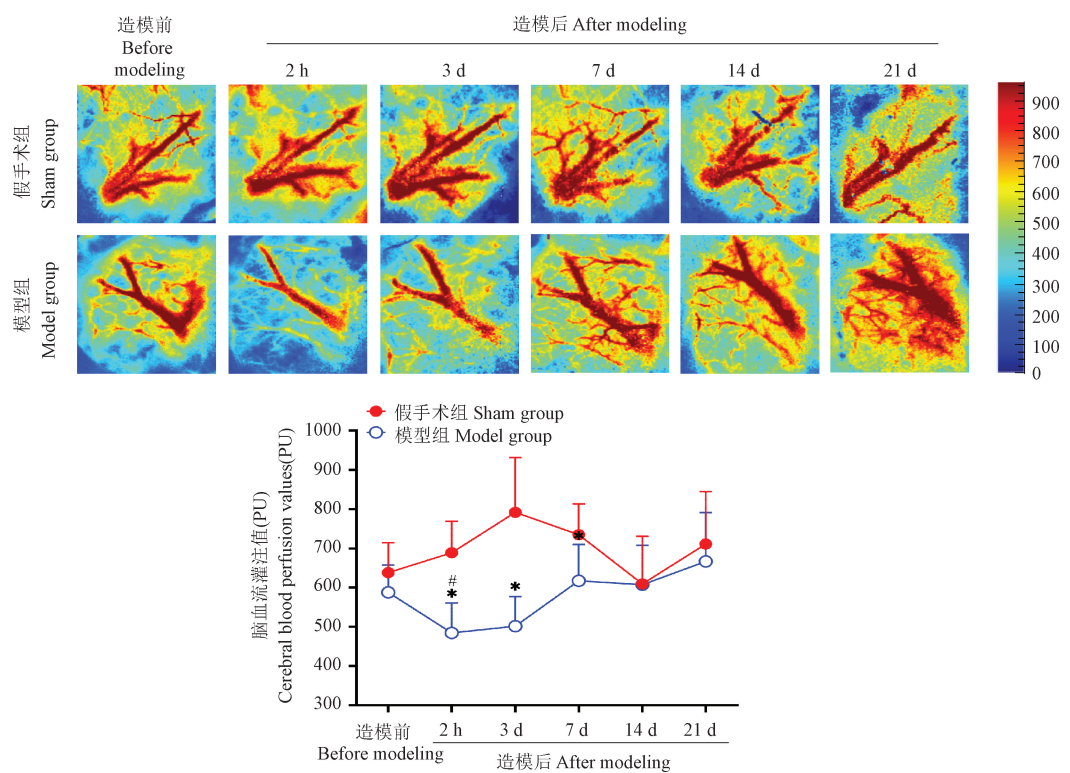


图1 各组造模前后脑血流量变化($n = 10$)

Note. Compared with before modeling, [#] $P < 0.05$.

Figure 1 Changes of cerebral blood flow before and after modeling in each group($n = 10$)

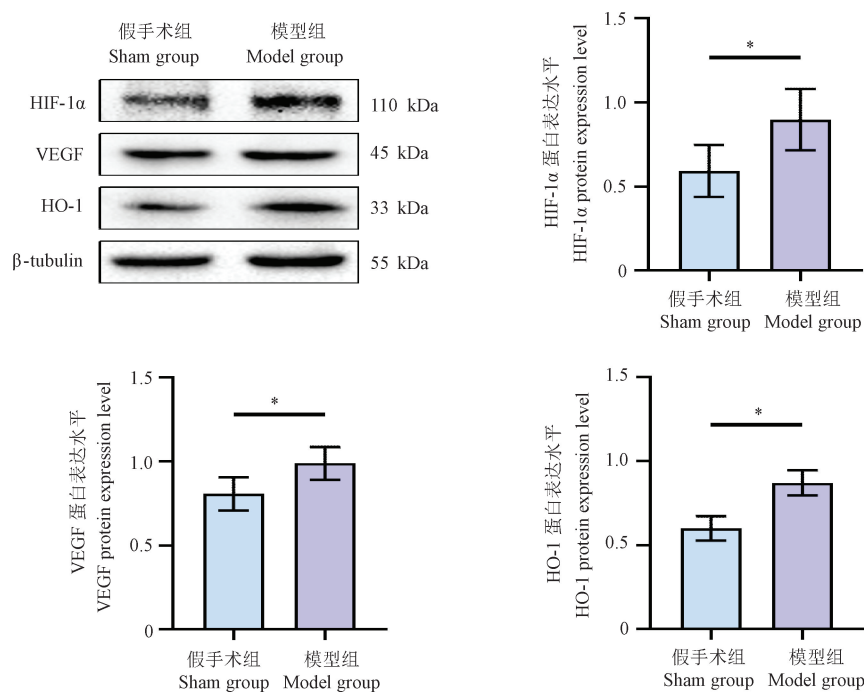


图2 各组 HIF-1 α 、VEGF 及 HO-1 蛋白表达水平($n = 6$)

Figure 2 Protein expression level of HIF-1 α , VEGF and HO-1 in each group($n = 6$)

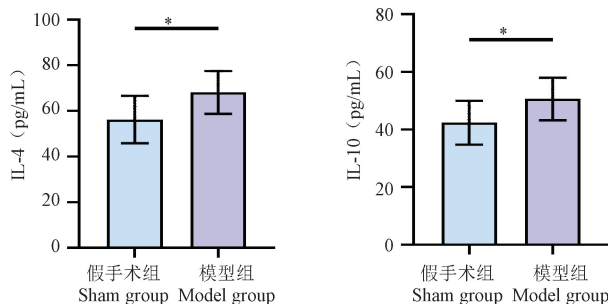


图3 各组 IL-4、IL-10 含量变化比较($n = 10$)

Figure 3 Comparison of IL-4 and IL-10 contents in each group($n = 10$)

3 讨论

目前研究表明,脑血流量持续降低引起的慢性脑低灌注是导致血管性痴呆认知能力下降的主要驱动因素,涉及缺血、缺氧、氧化应激和神经炎症等病理动态过程^[20-21],与该病的开始和进展有关,最终会损害海马体、脑白质和基底神经节等脑组织,造成认知功能障碍^[22]。持续且调节良好的血液供应是脑维持正常生理代谢的关键,其耗氧量且只能依赖于血液供氧,即使是慢性的脑血流量下降也可能对脑功能产生无法弥补的影响,因此,检测 VD 脑血流量变化非常重要^[22],而探究 VD 在脑缺血后脑血流量时间变化规律也将有助于找到其预防和治疗介入关键时期。

脑缺血损伤发生后的 3 ~ 7 d 可能是有效治疗介入的关键时期^[23-25],在此期间脑组织为了应对缺血带来的伤害,会通过增加血管新生相关蛋白的表达来促进血管生成,增加脑血流量;以往的研究也发现,VD 大鼠的脑血流量在造模后 2 ~ 3 h 内会降至最低,而在造模后 1 d 内开始恢复,并于造模后 7 ~ 14 d 内得到显著恢复^[26-28],但造模后 28 d 的脑血流量仍可能低于假手术组^[29]。因此,本研究采用改良大鼠双侧颈总动脉结扎法建立 VD 模型,以造模前和造模后 2 h、3、7、14、21 d 为观察时间点,通过激光散斑对比成像系统检测其脑血流量时间变化规律,发现与假手术组比较,模型组大鼠的脑血流量变化在术后 2 h、3、7 d 的显著降低,而术后第 14、21 天的变化无显著差异,与之前的研究一致^[30];组内比较发现,假手术组大鼠脑血流量在术后 2 h 后开始上升,于造模后 3 d 升至最高,此后开始下降,在术后 14 d 降至基线(术前)水平,此后沿基线波动,这种变化可能是呼吸麻醉吸入异氟烷造成的,因其对大脑血管具有舒张作用,可使脑血流量显著

增加^[31-32];模型组大鼠脑血流量在造模后 2 h 下降最为明显,下降值约为基线(造模前)的 17.56%,此后开始恢复,恢复高峰期发生在造模后的 3 ~ 7 d,但仍低于假手术组,于造模后第 14 天恢复至基线水平,与先前的研究一致^[26-28]。

研究发现,血管新生相关蛋白能在脑缺血后 24 h 内开始表达,在脑缺血后 3 ~ 7 d 便能达到峰值,其新生的血管也能在脑缺血后 3 d 观察到^[25-33],这与本研究的脑血流量恢复高峰期时间一致;VD 造模后 2 h 脑血流量下降至最低值,为了维持正常的脑血流量,血管生成蛋白被激活以产生新的微血管,因此血管重塑能力和血管生成在此过程中被启动^[29-34],脑组织通过上调 VEGF 来激活脑血管生成,同时,作为缺氧基因表达的开关 HIF-1 α ^[35-36],能进一步促进 VEGF 强大的血管新生作用^[37],刺激内皮细胞增殖和迁移,促进新生血管发生、分化和稳定;脑缺血损伤发生时,红细胞大量破裂释放游离的血红素介导炎症反应,损伤血管内皮,HO-1 则通过分解游离血红素来降低血红素的生物利用度,产生抗氧化、抗炎以及促血管新生的效果^[16-17],HIF-1 α 也能介导 HO-1 基因的转录激活以响应缺血缺氧,发挥其抗炎和促血管新生作用^[38];因此,HIF-1 α 、VEGF 以及 HO-1 三者同时参与血管新生过程,能促进脑血流量的恢复。本研究发现,造模后 21 d,模型组大鼠海马中 HIF-1 α 、VEGF 以及 HO-1 蛋白的表达均高于假手术组,同时,其血清中 IL-4 和 IL-10 的含量也出现升高,提示 VD 大鼠可能通过自我修复提高 HIF-1 α 、VEGF、HO-1 的表达来促进血管新生,并抑制神经炎症反应,进一步证实,脑缺血后,大脑可以通过血管新生蛋白的激活促进新的微血管生成^[11-12],帮助脑血流量的恢复。

综上,本研究表明,改良的双侧颈总动脉结扎法建立的 VD 大鼠模型脑血流量变化呈现一定时间

规律,能在造模后随时间自行恢复;造模后 21 d 海马中 HIF-1 α 、VEGF、HO-1 及血清中 IL-4、IL-10 的含量增加,提示 VD 发病后,大脑可能通过强大的血管新生能力,促进脑血流量恢复,抑制神经炎症,减轻其认知功能损害。VD 造模后血管新生蛋白的表达是否和脑血流量时间变化规律一致本文尚不清楚,因此,本课题组将进一步展开实验探索 VD 大鼠血管新生与脑血流量变化规律的关系。

参 考 文 献(References)

- [1] Yu W, Li Y, Hu J, et al. A study on the pathogenesis of vascular cognitive impairment and dementia: the chronic cerebral hypoperfusion hypothesis [J]. J Clin Med, 2022, 11(16): 4742.
- [2] Li C, Wang Y, Yan XL, et al. Pathological changes in neurovascular units: lessons from cases of vascular dementia [J]. CNS Neurosci Ther, 2021, 27(1): 17–25.
- [3] Tiwari N, Upadhyay J, Ansari MN, et al. Experimental rodent models of vascular dementia: a systematic review [J]. CNS Neurol Disord Drug Targets, 2021, 20(7): 657–672.
- [4] 刘伟, 胡鹏, 冯波. 血管性痴呆大鼠模型的研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2019, 27(6): 805–809.
- Liu W, Hu P, Feng B. Research progress of rat models of vascular dementia [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(6): 805–809.
- [5] 牛雨晴, 秦合伟, 姬令山, 等. 血管性认知障碍和卒中后认知障碍动物模型初步评价 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(5): 121–127.
- Niu YQ, Qin HW, Ji LS, et al. Preliminary evaluation of animal models of vascular and post-stroke cognitive impairments [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(5): 121–127.
- [6] Yang Y, Kimura-Ohba S, Thompson J, et al. Rodent models of vascular cognitive impairment [J]. Transl Stroke Res, 2016, 7(5): 407–414.
- [7] Zhu HY, Hong FF, Yang SL. The roles of nitric oxide synthase/nitric oxide pathway in the pathology of vascular dementia and related therapeutic approaches [J]. Int J Mol Sci, 2021, 22(9): 4540.
- [8] 闫峰, 田悦, 黄语悠, 等. 豨莶通栓胶囊减轻慢性脑缺血大鼠认知功能损伤的机制研究 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(5): 47–52, 76.
- Yan F, Tian Y, Huang YY, et al. Use of Xi-Xian-Tong-Shuan capsules for alleviating vascular cognitive impairment in rats with chronic cerebral hypoperfusion [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(5): 47–52, 76.
- [9] Du SQ, Wang XR, Xiao LY, et al. Molecular mechanisms of vascular dementia: what can be learned from animal models of chronic cerebral hypoperfusion? [J]. Mol Neurobiol, 2017, 54(5): 3670–3682.
- [10] 谭洁, 韩国栋, 张泓, 等. 改良大鼠双侧颈总动脉结扎方式建立血管性痴呆模型的评价研究 [J]. 中国康复医学杂志, 2017, 32(3): 264–268.
- Tan J, Han GD, Zhang H, et al. Evaluation of vascular dementia rat model established by modified bilateral carotid artery ligation way [J]. Chin J Rehabil Med, 2017, 32(3): 264–268.
- [11] Tregub PP, Averchuk AS, Baranich TI, et al. Physiological and pathological remodeling of cerebral microvessels [J]. Int J Mol Sci, 2022, 23(20): 12683.
- [12] Guan Y, Liu J, Gu Y, et al. Effects of hypoxia on cerebral microvascular angiogenesis: benefits or damages? [J]. Aging Dis, 2023, 14: 370–385.
- [13] Ni H, Li J, Zheng J, et al. Cardamonin attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury by activating the HIF-1 α /VEGFA pathway [J]. Phytother Res, 2022, 36(4): 1736–1747.
- [14] Wang H, Xu X, Yin Y, et al. Catalpol protects vascular structure and promotes angiogenesis in cerebral ischemic rats by targeting HIF-1 α /VEGF [J]. Phytomedicine, 2020, 78: 153300.
- [15] Mitroshina EV, Savyuk MO, Ponimaskin E, et al. Hypoxia-inducible factor (HIF) in ischemic stroke and neurodegenerative disease [J]. Front Cell Dev Biol, 2021, 9: 703084.
- [16] Mariapola N, Lisa FA, Mann Giovanni E. Heme oxygenase dependent bilirubin generation in vascular cells: a role in preventing endothelial dysfunction in local tissue microenvironment? [J]. Front Physiol, 2020, 11: 23.
- [17] Ryter SW. Heme oxygenase-1: an anti-inflammatory effector in cardiovascular, lung, and related metabolic disorders [J]. Antioxidants, 2022, 11(3): 555.
- [18] 邓畅, 邹莹洁, 张泓, 等. 电针对血管性痴呆大鼠血脑屏障及海马促炎细胞因子的影响 [J]. 针刺研究, 2022, 47(10): 885–890.
- Deng C, Zou YJ, Zhang H, et al. Effects of electroacupuncture on the blood-brain-barrier and proinflammatory cytokine IL-1 β and IL-18 in the hippocampus of rats with vascular dementia [J]. Acupunct Res, 2022, 47(10): 885–890.
- [19] 高音来, 田浩梅, 陈楚淘, 等. “调心通督”针刺法对血管性痴呆大鼠学习记忆能力及海马组织 VEGF、Ang-1 蛋白表达的影响 [J]. 中国针灸, 2020, 40(10): 1108–1112.
- Gao YL, Tian HM, Chen CT, et al. Effect of acupuncture technique of Tiaoxin Tongdu on learning-memory ability and expressions of hippocampal VEGF and Ang-1 in rats with vascular dementia [J]. Chin Acupunct Moxibustion, 2020, 40(10): 1108–1112.
- [20] Wei B, Wu S, Wang Z, et al. Comparison of cognitive performance and cardiac function between three different rat models of vascular dementia [J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2022, 18: 19–28.
- [21] Rajeev V, Chai YL, Poh L, et al. Chronic cerebral hypoperfusion: a critical feature in unravelling the etiology of vascular cognitive impairment [J]. Acta Neuropathol Commun, 2023, 11(1): 93.
- [22] Fang YC, Hsieh YC, Hu CJ, et al. Endothelial dysfunction in neurodegenerative diseases [J]. Int J Mol Sci, 2023, 24

- (3): 2909.
- [23] 李保龙, 梁润玉, 裴飞, 等. 基于缝隙连接蛋白-43 调控的运动预处理促进大鼠脑缺血再灌注后神经血管单元重构的机制研究 [J]. 中国康复医学杂志, 2023, 38(3): 299-304.
Li BL, Liang RY, Pei F, et al. Mechanism of exercise preconditioning based on Cx43 promoting neurovascular unit remodeling after cerebral ischemia-reperfusion in rats [J]. Chin J Rehabil Med, 2023, 38(3): 299-304.
- [24] 贾蓝羽, 杜元灏, 李晶, 等. 电针“水沟”穴对脑缺血大鼠缺血脑组织血管新生相关因子表达的影响 [J]. 针刺研究, 2019, 44(10): 715-721.
Jia LY, Du YH, Li J, et al. Effects of electroacupuncture on morphology of neovascularization and expression of angiogenesis-related factors in ischemic brain tissue of cerebral ischemia rats [J]. Acupunct Res, 2019, 44(10): 715-721.
- [25] 姚文超, 李梦醒, 刘箐, 等. 电针联合康复训练调控 PI3K/Akt 信号通路介导脑缺血后血管新生相关因子的表达 [J]. 康复学报, 2020, 30(5): 377-386.
Yao WC, Li MX, Liu Q, et al. Angiogenesis regulated by electroacupuncture combined with rehabilitation training in cerebral ischemia involved in PI3K/Akt signaling pathway [J]. Rehabil Med, 2020, 30(5): 377-386.
- [26] Wang J, Yang C, Wang H, et al. A new rat model of chronic cerebral hypoperfusion resulting in early-stage vascular cognitive impairment [J]. Front Aging Neurosci, 2020, 12: 86.
- [27] Kitamura A, Saito S, Maki T, et al. Gradual cerebral hypoperfusion in spontaneously hypertensive rats induces slowly evolving white matter abnormalities and impairs working memory [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2016, 36(9): 1592-1602.
- [28] Washida K, Hattori Y, Ihara M. Animal models of chronic cerebral hypoperfusion: from mouse to primate [J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(24): 6176.
- [29] Fang C, Liu J, Feng M, et al. Shengyu Decoction treating vascular cognitive impairment by promoting AKT/HIF-1 α /VEGF related cerebrovascular generation and ameliorating MAPK/NF- κ B mediated neuroinflammation [J]. J Ethnopharmacol, 2022, 296: 115441.
- [30] Kato H, Kanai Y, Watabe T, et al. Quantitative measurement of regional cerebral blood flow and oxygen metabolism in a rat model of cerebral hypoperfusion [J]. Brain Res, 2019, 1719: 208-216.
- [31] Sullender CT, Richards LM, He F, et al. Dynamics of isoflurane-induced vasodilation and blood flow of cerebral vasculature revealed by multi-exposure speckle imaging [J]. J Neurosci Methods, 2022, 366: 109434.
- [32] Wei Z, Li Y, Bibic A, et al. Toward accurate cerebral blood flow estimation in mice after accounting for anesthesia [J]. Front Physiol, 2023, 14: 1169622.
- [33] Yang L, Yang BC, Zhang CX, et al. Protective effects of acupuncture and LGNHFD on expressions of vascular endothelial growth factor, basic fibroblast growth factor, and cluster of differentiation 34 in rats with cerebral ischemia-reperfusion injury [J]. J Tradit Chin Med, 2021, 41(3): 463-470.
- [34] Halder Sebok K, Richard M. The impact of chronic mild hypoxia on cerebrovascular remodelling; uncoupling of angiogenesis and vascular breakdown [J]. Fluids Barriers CNS, 2021, 18(1): 50.
- [35] 王璐. 黄芪甲苷调控 VEGF/PI₃K/AKT 信号通路干预肺微血管内皮细胞血管新生的影响及临床研究 [D]. 济南: 山东中医药大学; 2020.
Wang L. Study on the effect of Astragaloside on the regulation of Angiogenesis on PMVECs by VEGF/PI₃K/AKT signaling pathway and clinical research [D]. Jinan: Shandong University of Traditional Chinese Medicine; 2020.
- [36] Samakova A, Gazova A, Sabova N, et al. The PI₃k/Akt pathway is associated with angiogenesis, oxidative stress and survival of mesenchymal stem cells in pathophysiologic condition in ischemia [J]. Physiol Res, 2019, 68(2): S131-S138.
- [37] 刘志强, 李亚坤, 白玫, 等. 基于 VEGF 途径探究丹参素对大鼠视网膜静脉阻塞及对视网膜功能的改善作用机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2023, 33(5): 52-60.
Liu ZQ, Li YK, Bai M, et al. Mechanism of Danshensu in retinal vein occlusion and retinal functions in rats via the VEGF pathway [J]. Chin J Comp Med, 2023, 33(5): 52-60.
- [38] Dunn LL, Kong SMY, Tumanov S, et al. Hmox1 (heme oxygenase-1) protects against ischemia-mediated injury via stabilization of HIF-1 α (hypoxia-inducible factor-1 α) [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2021, 41(1): 317-330.

[收稿日期] 2023-06-16