

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.19.008

白藜芦醇后处理对大鼠脑缺血再灌注损伤海马 CA1 区 Bax、Bcl-2 的影响*

张 萌^{1,2} 张志勇³ 张 蕊¹ 张晋霞^{1Δ} 刘 斌¹ 李世英¹ 王雅楠¹

张彩凤¹ 任 伯¹ 曹福源¹ 贺永贵¹

(1 华北理工大学附属医院神经内一科 河北 唐山 063000; 2 廊坊市第四人民医院神经内科 河北 廊坊 065700;

3 华北理工大学附属医院神经外二科 河北 唐山 063000)

摘要 目的:探讨白藜芦醇后处理对大鼠脑缺血再灌注损伤 Bax、Bcl-2 表达的影响。**方法:**清洁级雄性 SD 大鼠 60 只随机分为假手术组(n=12)、I/R 组(n=12)、白藜芦醇组(n=36),白藜芦醇组按不同剂量分为低剂量、中剂量、高剂量组(10 mg/kg、20 mg/kg、40 mg/kg),每组 12 只。假手术组:仅暴露大鼠颈外动脉,不做缺血处理;I/R 组:采用改良线栓法制备大鼠大脑中动脉缺血再灌注损伤模型(缺血 2 h,再灌注 24 h);白藜芦醇组:造模方法同 I/R 组,在大鼠缺血 2h 后,将不同剂量白藜芦醇腹腔注射入大鼠体内,比较各组 SD 大鼠神经功能缺损评分、采用 Western blotting 法、免疫组化法对大鼠脑组织缺血侧海马 CA1 区 Bax 和 Bcl-2 表达进行比较。**结果:**白藜芦醇低、中、高剂量组神经功能缺损评分均低于 I/R 组,随着白藜芦醇剂量的增加,神经功能缺损评分逐渐降低,其中白藜芦醇高剂量组神经功能缺损评分降低最为明显;白藜芦醇组与 I/R 组相比,不同剂量白藜芦醇组 Bax 表达逐渐减少,而 Bcl-2 表达明显增加,其中以白藜芦醇高剂量组改变最为明显。**结论:**高剂量白藜芦醇可以降低大鼠神经功能缺损评分,减轻脑缺血再灌注损伤,对大鼠脑缺血再灌注损伤具有保护作用,其机制与 Bax、Bcl-2 的表达有关。

关键词:白藜芦醇;脑再灌注损伤;后处理;Bax;Bcl-2

中图分类号:R-33;R285.5;R743;R338.26 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)19-3644-05

Effects of Resveratrol Post-processing on the Bax and Bcl-2 in Hippocampal CA1 Expressions of Cerebral Ischemia Reperfusion Rats*

ZHANG Meng^{1,2}, ZHANG Zhi-yong³, ZHANG Rui¹, ZHANG Jin-xia^{1Δ}, LIU Bin¹, LI Shi-ying¹, WANG Ya-nan¹,

ZHANG Cai-feng¹, REN Bo¹, CAO Fu-yuan¹, HE Yong-gui¹

(1 Department of Neurology First, the Affiliated Hospital of North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei,

063000, China; 2 Department of Neurology, The Fourth Hospital of Langfang City, Langfang, Hebei, 065700, China

3 Department of Neurosurgery Second, the Affiliated Hospital of North China University of Science and Technology, Tangshan, Hebei, 063000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effects of resveratrol post-treatment on Bax and Bcl-2 expression in rats with cerebral ischemia reperfusion injury. **Methods:** Sixty clean grade male SD rats were randomly divided into sham surgery group (n=12), I/R model group (n=12) and resveratrol group (n=36). Resveratrol group was divided into low dose, medium dose and high dose groups (10 mg/kg, 20 mg/kg, 40 mg/kg) according to different doses, with 12 rats in each group. In sham operation group, only external carotid artery was exposed and no ischemic treatment was performed. In the I/R model group, rat middle cerebral artery ischemia-reperfusion injury model (ischemia for 2 h, reperfusion for 24 h) was prepared by the improved line plug method. Resveratrol group: modeling method was the same as I/R model group. After 2h of ischemia, different doses of resveratrol were intraperitoneally injected into rats to compare the score of nerve function defects in SD rats in each group. Western blotting and immunohistochemical methods were used to compare the expressions of Bax and Bcl-2 in the hippocampal CA1 area of ischemic brain tissue in rats. **Results:** The scores of neurological deficits in the low, medium and high dose groups were all lower than those in the I/R model group. With the increase of resveratrol dose, the scores of neurological deficits decreased gradually, among which the scores of neurological deficits in the high dose group decreased most significantly. In the resveratrol group, compared with the I/R model group, Bax expression gradually decreased in the resveratrol group with different doses, while Bcl-2 expression significantly increased, with the most significant change in the resveratrol high-dose group. **Conclusions:** The high dose resveratrol can reduce the score of neural function defect in rats, reduce cerebral ischemia-reperfusion injury, and have protective effect on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. Its mechanism is related to the expression of Bax and Bcl-2.

* 基金项目:河北省教育厅科研基金项目(QN2017119);2017 年政府资助省级临床医学优秀人才课题(白藜芦醇对脑缺血再灌注大鼠的保护作用及机制研究);河北省中医药管理局项目(2017205);华北理工大学青年科学研究基金项目(Z201605)

作者简介:张萌(1991-),女,硕士研究生,主要研究方向:脑血管病临床与基础,E-mail:zmxiaomengmeng@163.com

Δ 通讯作者:张晋霞,女,硕士生导师,副教授,主要研究方向:脑血管病临床与基础,E-mail:zjxncmc@126.com

(收稿日期:2020-02-27 接受日期:2020-03-23)

Key words: Resveratrol; Cerebral ischemia reperfusion; Post-processing; Bax; Bcl-2

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R285.5; R743; R338.26 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)19-3644-05

前言

脑梗死又称缺血性脑卒中,是指由于各种颅内血管病变导致脑组织血液供应障碍,使脑组织缺血、缺氧坏死,而迅速出现相应的神经功能缺损的一类临床综合征^[1]。针对急性期脑梗死,积极的治疗方法包括静脉溶栓、血管内治疗等,其中最重要恢复血流的措施是静脉溶栓^[2],然而由于病变血管再通后的快速再灌注会加重脑细胞功能代谢障碍,甚至细胞结构的破坏,在缺血损伤的基础上,进一步导致再灌注损伤^[3]。细胞凋亡在脑缺血再灌注损伤中发挥重要作用^[4],Bax、Bcl-2是两种凋亡相关蛋白^[5],参与细胞凋亡,与脑缺血再灌注损伤有着密切的联系。近年来,脑再灌注损伤研究日益增多,药物治疗脑缺血再灌注损伤的方式引起了广泛关注,白藜芦醇(Resveratrol, Res)又称三酚,是非黄酮类的多酚化合物,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗细胞凋亡等作用^[6],有研究表明^[7],白藜芦醇预处理对缺血再灌注导致的细胞损伤具有保护作用,但临床实际工作中多数情况下难以提前进行干预治疗,故本研究旨在通过后处理,观察白藜芦醇对脑缺血再灌注损伤 Bax、Bcl-2 的影响,探讨白藜芦醇后处理对脑组织保护作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物和药品

清洁级健康雄性 SD 大鼠 60 只,体重在 200-250 g,鼠龄 8 周,由华北理工大学实验动物中心提供,动物许可证编号:SCXK(军)2014-000,适应性饲养 1 周,室温 23℃ 左右,相对湿度 55%。术前 12 h 禁食,4 h 禁水;白藜芦醇(美国 Sigma 公司);Bax、Bcl-2 多克隆抗体试剂盒(武汉博士德生物有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与模型制备 采用随机数字表法把大鼠随机分为 3 组,分别为假手术组(n=12)、I/R 组(n=12)、白藜芦醇组(n=36),白藜芦醇组按剂量不同分为低剂量、中剂量、高剂量组(10 mg/kg、20 mg/kg、40 mg/kg),每组 12 只,6 只做 Western blotting 检测,6 只做免疫组化。采用腹腔注射 10%水合氯醛 350 mg/kg 麻醉,假手术组:仅暴露颈外动脉,不实行缺血处理,24 h 后处死大鼠。I/R 组:采用 Zealanga 线栓法加以改良制备大鼠右侧大脑中动脉缺血再灌注模型^[8],不分离颈内动脉(Internal carotid artery, ICA),暴露颈总动脉(Common carotid artery, CCA)后,结扎颈外动脉(External carotid artery, ECA)远端,并夹闭 ICA 近心端与 CCA 远心端,然后将圆头栓线插入颈总动脉内,向上经颈内动脉约 18-20 mm 时遇到轻微阻力停止进线,缺血 2 h 时缓慢拔出栓线。并向腹腔内注射医用生理盐水 1 mL。白藜芦醇组:造模方法同上,于大鼠脑缺血 2 h 时缓慢拔出栓线,形成再灌注,立即向 3 组各鼠腹腔内分别注射 10 mg/kg、20 mg/kg、40 mg/kg 的白藜芦醇。I/R 组及白藜芦醇组大鼠均于再灌注 24 h 处死。

1.2.2 大鼠神经行为学评估 参照 Zealanga 评分法^[9],在大鼠清醒后,由不了解分组情况的两名观察者进行神经行为学的评

分,0 分:无神经功能缺损症状及体征,活动自如;1 分:梗死部位对侧前肢不能自由活动(左前爪);2 分:爬行时大鼠向左侧转圈;3 分:大鼠行走时向左侧倾倒;4 分:不能行走,甚至昏迷;5 分:死亡,其中 0-3 分的大鼠纳入实验。

1.2.3 Western blotting 检测 Bax、Bcl-2 蛋白的表达用 BCA 法测定蛋白浓度,各样本等量蛋白严格按照试剂说明书进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,将已分离的蛋白转至聚偏二氟乙烯膜(PVDF 膜),然后用 5%脱脂奶粉 TBS 缓冲液封闭 1 h 后,分别加入 Bax、Bcl-2 的一抗,4℃ 孵育过夜,然后进行充分清洗,再分别加入二抗 37℃ 孵育 1 h,然后进行暗室曝光、胶片显影,最后对条带进行扫描,用 Quantity One 图像分析软件分析结果。

1.2.4 免疫组织化学法测定 Bax、Bcl-2 阳性细胞数 用常规方法制作完成的海马组织标本石蜡切片,并预热 20 min 使石蜡标本脱腊至水化。用 3% H₂O₂ 室温孵育 20 min,抑制内源性过氧化酶,采用微波热修复 10 min,滴加稀释后的一抗 Bax、Bcl-2 抗体(1:200),放入 4℃ 冰箱中,第 2 天滴加二抗,37℃ 温箱孵育 20 min,再加 DAB 显色,苏木素轻度复染细胞核,最后中性树胶封片。分析图像并判定结果,每只大鼠随机取 2 张切片,并在高倍显微镜下(× 400)分别随机观察大鼠缺血侧海马 CA1 区 5 个相互不重叠的视野,计数阳性细胞数,单位以个/HP 表示。

1.3 统计学处理

用 SPSS22.0 统计学软件分析结果,均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示计量资料,组间比较采用方差分析。 $P < 0.05$ 提示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠神经功能缺损评分

假手术组大鼠活动自如,评分均为 0 分;I/R 组与白藜芦醇各组间的 2 h 神经功能缺损评分比较差异不具有统计学意义($P > 0.05$)。I/R 组与白藜芦醇组低、中剂量组 24 h 神经功能缺损评分比较差异不具有统计学意义($P > 0.05$),而与白藜芦醇高剂量组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 Bax、Bcl-2 蛋白的表达

I/R 组与白藜芦醇组相比,白藜芦醇组中 Bcl-2 的表达逐渐增多,而 Bax 的表达逐渐降低,其中白藜芦醇中、高剂量组比 I/R 组 Bcl-2 的表达明显增多,Bax 的表达明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$),且白藜芦醇高剂量组 Bcl-2 增多、Bax 降低最明显。见表 2、图 1。

2.3 各组大鼠缺血侧海马区 CA1 区 Bax、Bcl-2 阳性细胞表达结果

各组大鼠脑组织经染色后,凋亡细胞的胞核呈棕色,而正常的细胞经复染后胞核呈蓝色。I/R 组的 Bax 阳性细胞最多,排列紧密,分布密集(见图 2),其他各组 Bax 阳性细胞数较少;I/R 组的 Bcl-2 阳性细胞数最少,排列疏松,分布散乱(见图 3),其他各组 Bcl-2 阳性细胞数较多。白藜芦醇低、中、高剂量组与 I/R

组相比,Bax 阳性细胞数逐渐减少,而 Bcl-2 阳性细胞数逐渐增加,其中白藜芦醇中、高剂量组比 I/R 组 Bax 阳性细胞数明显减少,Bcl-2 阳性细胞数表达明显增加,差异具有统计学意义 ($P<0.05$),见表 3。

表 1 各组大鼠神经功能缺损评分($\bar{x} \pm s$)
Table 1 Scores of neurological defects in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Dosage(mg/kg)	2-hour neurological defect score(points)	24-hour neurological defect score(points)
The sham-operation group	12	-	0.00± 0.00	0.00± 0.00
I/R model group	12	-	2.38± 0.53	2.42± 0.47
The Res low does group	12	10	2.42± 0.59	2.38± 0.57
The Res middle does group	12	20	2.29± 0.33	2.08± 0.51
The Res high does group	12	40	2.33± 0.33	1.96± 0.50*

Note: Compared with I/R model group, * $P<0.05$.

表 2 各组大鼠 Bax、Bcl-2 蛋白的表达($\bar{x} \pm s$)
Table 2 Expression of Bax and Bcl-2 in each group($\bar{x} \pm s$)

Groups	n	Bax	Bcl-2
The sham-operation group	6	0.19± 0.08	0.21± 0.06
I/R model group	6	0.88± 0.17	0.47± 0.14
The Res low does group	6	0.85± 0.13	0.49± 0.15
The Res middle does group	6	0.70± 0.09*	0.66± 0.13*
The Res high does group	6	0.67± 0.11*	0.72± 0.20*

Note: Compared with I/R model group, * $P<0.05$.

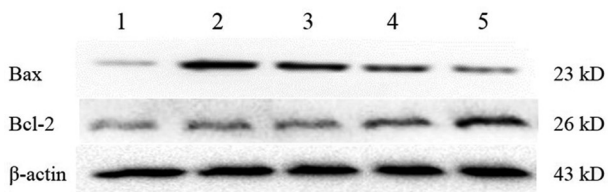


图 1 各组大鼠脑缺血区 Bax、Bcl-2 蛋白表达

Fig.1 The expression of Bax and Bcl-2 in each group

Note: 1:The sham-operation group; 2: I/R model group; 3: The Res low does group; 4: The Res middle does group; 5: The Res high does group.

3 讨论

由于脑代谢率高,储氧量低,能量储备不足,故在发生脑缺血事件时,敏感区域极易(如海马区)发生不可逆转的神经元损伤。其中海马 CA1 区易感性最强,这一过程被称为“迟发型神经细胞死亡”^[9]。由于再灌注本身也可以造成脑再灌注损伤,因

此对大脑内源性保护机制的研究是目前缺血保护的研究热点,即缺血预处理(Ischemic Preconditioning,IP)和缺血后处理(Ischemic Postconditioning,IPost C)。因缺血预处理需在缺血事件发生之前实施,临床工作中脑缺血的发生具有不可预知性,所以多数情况下难以行预处理进行干预治疗^[10,11],故针对缺血后处理的研究在临床实际工作中更具有应用价值。

脑缺血再灌注损伤可引起多种病理生理改变,如氧化应激、炎症反应、血脑屏障破坏、血小板活化、细胞凋亡等^[12-14]。其中氧化应激在脑缺血再灌注损伤中起重要作用^[15],氧化应激主要是由于自由基与抗氧化系统失衡导致^[16]。线粒体产生三磷酸腺苷(adenosine triphosphate ATP),在氧化应激中起着重要的作用^[17,18]。当缺乏 ATP 时,细胞在应对以上病理生理改变时效果差,严重时导致细胞凋亡^[19]。细胞凋亡是多基因调控的细胞程序性死亡,脑缺血再灌注引起的迟发型神经细胞死亡多以细胞凋亡为主,缺血半暗带区为著,脑缺血再灌注损伤的严重程度、脑梗死体积的大小与其密切相关^[20]。白藜芦醇又称三酚,化

表 3 各组大鼠 Bax、Bcl-2 阳性细胞比较($\bar{x} \pm s$, 个/HP)
Table 3 Result of Bax and Bcl-2 in each group($\bar{x} \pm s$, a/HP)

Groups	n	Bax	Bcl-2
The sham-operation group	6	8.33± 2.66	9.17± 2.99
I/R model group	6	38.67± 8.29	21.33± 7.03
The Res low does group	6	36.67± 4.41	22.83± 7.03
The Res middle does group	6	30.50± 3.02*	30.33± 5.68*
The Res high does group	6	27.83± 5.31*	32.17± 6.37*

Note: Compared with I/R model group, * $P<0.05$.

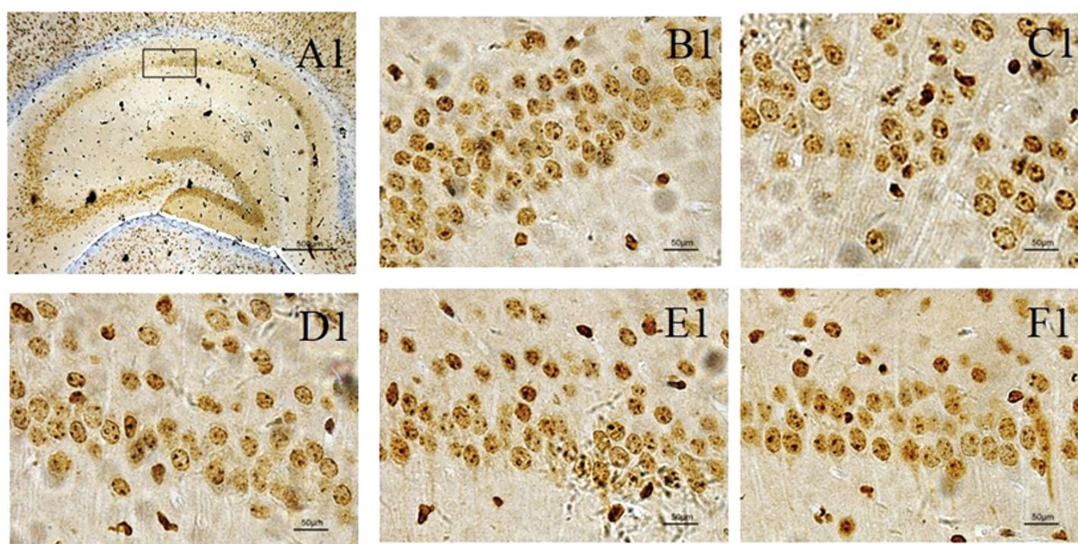


图2 各组大鼠缺血侧海马CA1区Bax的表达

Fig.2 The Bax expression in CA1 area of ischemic hippocampus of rats in each group

Note: A1: Localization of CA1 region of hippocampus in the ischemic side of rats; B1: The sham-operation group; C1: I/R model group; D1: The Res low does group; E1: The Res middle does group; F1: The Res high does group.

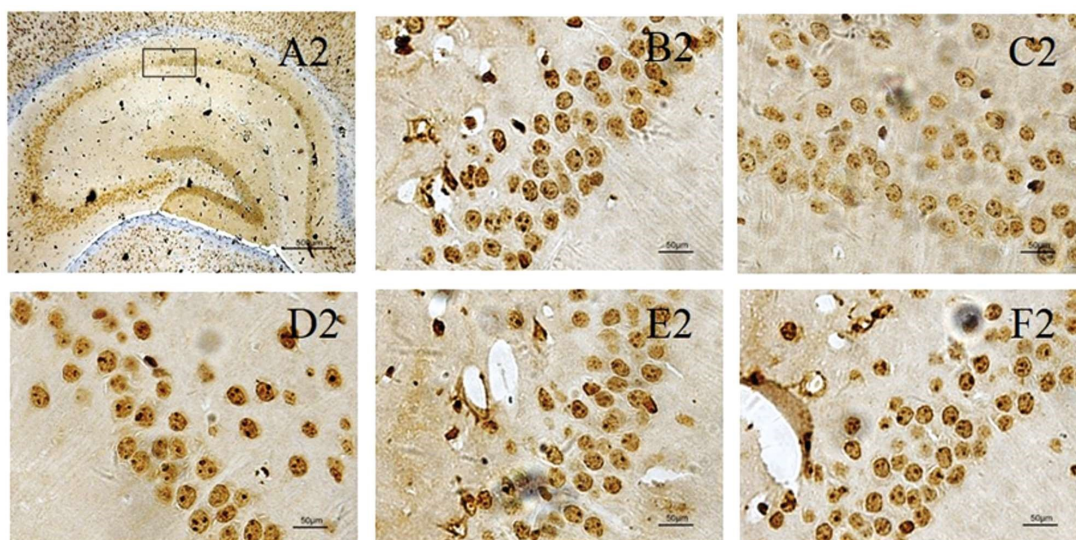


图3 各组大鼠缺血侧海马CA1区Bcl-2阳性细胞

Fig.3 The Bcl-2 expression in CA1 area of ischemic hippocampus of rats in each group

Note: A2: Localization of CA1 region of hippocampus in the ischemic side of rats; B2: The sham-operation group; C2: I/R model group; D2: The Res low does group; E2: The Res middle does group; F2: The Res high does group.

学名为3,4,5-三羟基-1,2-二苯乙烯,是非黄酮类的多酚化合物^[621],存在于虎杖中,也大量存在于红酒和红葡萄皮中,具有抗氧化、抗炎、抗血小板聚集、抗动脉粥样硬化等作用^[22-24]。有研究^[25]发现白藜芦醇可以增加抗氧化物的活性,提高清除自由基的能力,使脂质过氧化程度减轻,降低细胞氧化应激所导致的损伤。Pineda-Ramírez^[26]等认为,白藜芦醇通过抑制AMPK途径,减少过氧化物的产生,阻止细胞内钙超载,减轻线粒体损伤,对脑组织损伤起到保护作用。Yan等^[27]探讨白藜芦醇预处理对大鼠脑缺血后急性期的影响和机制,结果发现白藜芦醇可降低血清IL-6和TNF-α水平,减轻炎症损伤,抑制细胞凋亡,从而减轻脑组织损伤。王峰等^[28]研究表明,白藜芦醇可以提高大鼠脑组织对氧自由基清除的能力,从而减轻大鼠脑缺血再灌注损伤的行为评分及脑梗死体积。在本研究中,白藜芦醇给药

后,与I/R组相比,白藜芦醇高剂量组24h神经功能缺损评分明显降低,提示白藜芦醇后处理可抑制细胞凋亡,缩小脑梗死体积,降低神经功能评分,从而发挥脑保护作用。

Bcl-2与Bax是一对相互拮抗的凋亡因子,前者具有抑制凋亡的作用,后者则可诱导细胞凋亡。Bcl-2及Bax主要是通过调控线粒体膜通透性及凋亡相关蛋白的释放^[29]。Bcl-2抑制细胞凋亡的作用主要与减少自由基的产生、降低线粒体膜通透性有关,阻止促凋亡蛋白的释放,Bax诱导凋亡的机制是Bax基因活化后使线粒体渗透性转孔开放,膜通透性增加,促进细胞色素C的释放,而细胞色素C存在于线粒体内膜,是氧化呼吸链的重要蛋白,线粒体膜的破坏,使细胞ATP合成减少,最终导致细胞凋亡^[30-33]。在本研究中,白藜芦醇给药后,与I/R组相比,白藜芦醇各组的Bcl-2表达水平均升高,Bax表达水平均降

低,其中以白藜芦醇高剂量组最为明显,随着白藜芦醇剂量的增加,Bcl-2 阳性细胞表达逐渐增多,Bax 阳性细胞表达逐渐减少,提示白藜芦醇能够通过上调抗凋亡蛋白 Bcl-2,下调促凋亡蛋白 Bax 的表达参与凋亡的发生发展,以上趋势均表明在发生脑缺血再灌注损伤后,白藜芦醇影响 Bcl-2、Bax 蛋白表达水平,抑制细胞凋亡,减轻再灌注损伤,从而起到对神经保护作用。

参考文献(References)

- [1] 贾建平.神经病学[M].第8版.北京:人民卫生出版社,2018,194-195
- [2] Dong Q, Dong Y, Liu L, et al. The Chinese Stroke Association scientific statement: Intravenous thrombolysis in acute ischaemic stroke [J]. *Stroke Vasc Neurol*, 2017, 2(3): 147-159
- [3] 郭艳侠,王珏,冯娟.脑缺血后处理调节自噬保护缺血性脑卒中研究进展[J].*医学综述*, 2019, 25(06): 1058-1064
- [4] Zhang J, Xia Y, Xu Z, et al. Propofol suppressed Hypoxia/Reoxygenation-Induced apoptosis in HBVSMC by regulation of the expression of bcl-2, bax, caspase3, kir6.1 and p-JNK [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: 1518738
- [5] Liu F, Jiang Y J, Zhao H J, et al. Electroacupuncture ameliorates cognitive impairment and regulates the expression of apoptosis-related genes Bcl-2 and Bax in rats with cerebral ischaemia-reperfusion injury[J]. *Acupunct Med*, 2015, 33(6): 478-84
- [6] Rauf A, Imran M, Suleria H, et al. A comprehensive review of the health perspectives of resveratrol [J]. *Food Funct*, 2017, 8 (12): 4284-4305
- [7] Xu H, Cheng J, Wang X, et al. Resveratrol pretreatment alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury by inhibiting STIM1-mediated intracellular calcium accumulation [J]. *J Physiol Biochem*, 2019 [Epub ahead of print]
- [8] 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
- [9] Kim M J, Cho J H, Cho J H, et al. Impact of hyperthermia before and during ischemia-reperfusion on neuronal damage and gliosis in the gerbil hippocampus induced by transient cerebral ischemia[J]. *J Neurol Sci*, 2015, 348(1-2): 101-10
- [10] 徐元林,王伟.心脏缺血预处理与后处理的临床应用[J].*上海交通大学学报(医学版)*, 2011, 31(09): 1328-1331
- [11] 张瑜,贺氏.缺血预处理、缺血后处理的脑保护进展[J].*华西医学*, 2009, 24(02): 491-493
- [12] Nassar N N, Abdelsalam R M, Abdel-Rahman A A, et al. Possible involvement of oxidative stress and inflammatory mediators in the protective effects of the early preconditioning window against transient global ischemia in rats[J]. *Neurochem Res*, 2012, 37(3): 614-21
- [13] Park H S, Han K H, Shin J A, et al. The neuroprotective effects of carnosine in early stage of focal ischemia rodent model [J]. *J Korean Neurosurg Soc*, 2014, 55(3): 125-30
- [14] Prabhakar O. Cerebroprotective effect of resveratrol through antioxidant and anti-inflammatory effects in diabetic rats [J]. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol*, 2013, 386(8): 705-10
- [15] Xia N, Daiber A, Forstermann U, et al. Antioxidant effects of resveratrol in the cardiovascular system [J]. *Br J Pharmacol*, 2017, 174(12): 1633-1646
- [16] Bonfante S, Della G A, Danielski L G, et al. Stanniocalcin-1 ameliorates cerebral ischemia by decrease oxidative stress and blood brain barrier permeability [J]. *Microvasc Res*, 2019, 128: 103956 [Epub ahead of print]
- [17] Galkin A. Brain Ischemia/Reperfusion injury and mitochondrial complex I damage[J]. *Biochemistry (Mosc)*, 2019, 84(11): 1411-1423
- [18] He Z, Ning N, Zhou Q, et al. Mitochondria as a therapeutic target for ischemic stroke[J]. *Free Radic Biol Med*, 2019[Epub ahead of print]
- [19] Federico A, Cardaioli E, Pozzo P D, et al. Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration[J]. *Journal of the neurological sciences*, 2012, 322(1-2): 254-262
- [20] 叶涛,朱路文,唐强,等.电针预处理对脑缺血再灌注大鼠缺血半暗区细胞凋亡及凋亡相关蛋白表达的影响[J].*中国康复理论与实践*, 2018, 24(01): 54-59
- [21] Dou Z, Rong X, Zhao E, et al. Neuroprotection of resveratrol against focal cerebral Ischemia/Reperfusion injury in mice through a mechanism targeting Gut-Brain axis [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2019, 39(6): 883-898
- [22] Shen J, Zhou Q, Li P, et al. Update on phytochemistry and pharmacology of naturally occurring resveratrol oligomers [J]. *Molecules*, 2017, 22(12)
- [23] Chiang M C, Nicol C J, Cheng Y C. Resveratrol activation of AMPK-dependent pathways is neuroprotective in human neural stem cells against amyloid-beta-induced inflammation and oxidative stress [J]. *Neurochem Int*, 2018, 115: 1-10
- [24] Bujan G E, Serra H A, Molina S J, et al. Prevention of Brain Damage Triggered by Alcohol Consumption during Adolescence: Focus on Oxidative Stress[J]. *Curr Pharm Des*, 2019[Epub ahead of print]
- [25] 任俊伟,杨琴.白藜芦醇对脑缺血/再灌注氧化应激损伤保护机制的研究进展[J].*中国药理学通报*, 2011, 27(04): 448-451
- [26] Pineda-Ramirez N, Alquisiras-Burgos I, Ortiz-Plata A, et al. Resveratrol activates neuronal autophagy through AMPK in the ischemic brain[J]. *Mol Neurobiol*, 2019[Epub ahead of print]
- [27] Yan Y, Tong F, Chen J. Endogenous BMP-4/ROS/COX-2 mediated IPC and resveratrol alleviated brain damage [J]. *Curr Pharm Des*, 2019, 25(9): 1030-1039
- [28] 王峰,蔡洪斌,张义军.白藜芦醇对大鼠脑缺血再灌注损伤抗炎机制研究[J].*中国医药导报*, 2009, 6(01): 41-43
- [29] D'Orsi B, Mateyka J, Prehn J. Control of mitochondrial physiology and cell death by the Bcl-2 family proteins Bax and Bok [J]. *Neurochem Int*, 2017, 109: 162-170
- [30] 王璐璐,李前辉,吴子建,等.急性心肌缺血模型大鼠脑损伤及海马组织 Bcl-2、Bax 的表达[J].*甘肃中医药大学学报*, 2019, 36(02): 1-7
- [31] Liu Q, Si T, Xu X, et al. Electromagnetic radiation at 900 MHz induces sperm apoptosis through bcl-2, bax and caspase-3 signaling pathways in rats[J]. *Reprod Health*, 2015, 12: 65
- [32] He J, Ji X, Li Y, et al. Subchronic exposure of benzo (a)pyrene interferes with the expression of Bcl-2, Ki-67, C-myc and p53, Bax, Caspase-3 in sub-regions of cerebral cortex and hippocampus [J]. *Exp Toxicol Pathol*, 2016, 68(2-3): 149-56
- [33] 刘思亮,李燕,于巍,等.活性氧簇在脑缺血-再灌注损伤中的损伤与保护作用[J].*现代生物医学进展*, 2019, 19(05): 969-974