DOI: 10.14188/j.1671-8852.2024.0857　　**文章编号** 1671-8852(2025)12-1544-08

丰富环境对脑缺血再灌注大鼠神经功能及血管再生的影响

张怡欣[1]　章　鑫[1]　陈修平[2]　廖维靖[1]
[1]武汉大学中南医院神经康复科　湖北　武汉　430071；
[2]南昌大学第一附属医院康复医学科　江西　南昌　330006

摘要　目的：探讨丰富环境（EE）对脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能及血管再生的影响。方法：将雄性SD大鼠分为假手术组（SS）、模型组（IS）、躯体性丰富环境组（PE）、社会性丰富环境组（SE）、经典丰富环境组（PSE），每组12只大鼠。IS、PE、SE、PSE组进行左侧大脑中动脉阻塞再灌注（MCAO/R）手术，SS组进行假手术。术后进行21 d环境干预，使用改良神经功能缺损评分（mNSS）评估神经功能，HE染色和尼氏染色观察病理变化，免疫组化和Western Blot检测促红细胞生成素（EPO）表达。结果：①丰富环境改善了大鼠神经功能，PSE组效果最佳（$P<0.05$）；②丰富环境减轻了神经元损伤，PSE组修复更明显（$P<0.05$）；③丰富环境增加了EPO表达，PSE组EPO表达最高（$P<0.05$）；④皮尔逊相关性分析显示mNSS评分与EPO表达显著相关（$P<0.05$）。结论：丰富环境可以促进大鼠脑缺血再灌注损伤后的神经功能恢复和神经元修复，其机制可能与上调EPO的表达有关。PSE组治疗效果优于PE和SE组，表明运动训练结合社交/认知刺激能更好地促进神经功能恢复。

关键词　丰富环境；脑缺血再灌注；促红细胞生成素；血管再生
中图分类号　R493
文献标识码　A
开放科学（资源服务）标识码（OSID）：

Effects of enriched environment on neurological function and angiogenesis in cerebral ischemia/reperfusion rats

ZHANG Yixin[1], ZHANG Xin[1], CHEN Xiuping[2], LIAO Weijing[1]
[1]Department of Neurological Rehabilitation, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei, China;
[2]Department of Rehabilitation Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi, China

Abstract

Objective: To investigate the effects of enriched environment (EE) on neurological function and angiogenesis in rats with cerebral ischemia/reperfusion injury. **Methods:** Male Sprague-Dawley (SD) rats were divided into the sham-operated group (SS), model group (IS), physical environmental enrichment group (PE), social environment enrichment group (SE), and typical physical and social enrichment group (PSE). The IS, PE, SE, and PSE groups underwent left middle cerebral artery occlusion/reperfusion (MCAO/R) surgery and the SS group underwent sham surgery. Postoperative envi-

课题来源：武汉大学中南医院学科培育项目（编号：XKJS202034）
作者简介：张怡欣，女，2000—，医学硕士生，主要从事神经康复方向的研究，E-mail:yixinzhang@whu.edu.cn
通信作者：廖维靖，男，1962—，医学博士，教授，博士生导师，主要从事神经康复方向的研究，E-mail:weijingliao@sina.com

ronmental interventions were performed for 21 days. Neurological function was assessed using the Modified Neurological Severity Score (mNSS), pathological changes were observed by HE staining and Nissl staining, and Erythropoietin (EPO) expression was detected by immunohistochemistry and Western blot. **Results:** ① EE improved the neurological function of rats, and the PSE group showed the greatest improvement ($P<0.05$); ② EE alleviated neuronal damage, and the repair was more pronounced in the PSE group ($P<0.05$); ③ EE increased the expression of EPO, and the PSE group had the highest level ($P<0.05$). ④ Pearson correlation analysis showed that mNSS scores were significantly correlated with EPO expression ($P<0.05$). **Conclusion:** EE promotes neurological function recovery and neuronal repair after cerebral ischemia/reperfusion injury in rats by a mechanism that may be related to the upregulation of EPO expression. The therapeutic effect of the PSE group was superior to that of the PE and SE groups, suggesting that the combination of physical exercise and social interaction can more effectively promote neurological recovery.

Key Words　Enriched Environment; Cerebral Ischemia-Reperfusion; Angiogenesis; Erythropoietin

脑卒中是全球第二大死因，对患者和社会造成了巨大经济负担。在高收入国家，约有1/5人口受到中风的影响；而在低收入国家，几乎每两个人中就有一人遭受脑卒中的困扰[1]。大约87%的脑卒中为缺血性脑卒中，理论上，及时的再灌注治疗可恢复神经功能。然而，脑缺血再灌注损伤（cerebral ischemia reperfusion injury，CIRI）却阻碍了这一恢复过程。CIRI不仅加速了神经细胞的坏死，还引发了缺血核心区及其周边组织的血管新生反应[2]。该过程涉及血管内皮细胞在多种细胞因子和酶的调控下进行增殖、迁移、血管萌发、管腔形成和内皮网络成熟[3]。卒中后的血管再生对于新生神经元的营养供应至关重要，同时也控制着神经元和胶质细胞的发育过程，包括迁移、分化和结构连接[4-5]。研究[6]显示，卒中后神经母细胞主要集中在血管周围，这揭示了血管再生与神经再生之间的紧密联系。尽管过去的研究多集中于卒中后神经元的再生，却往往忽视了血管再生在卒中康复中的关键作用。

促红细胞生成素（erythropoietin，EPO）是一种糖蛋白激素，根据来源可分为内源性和外源性。在胚胎早期，内源性EPO由肝脏产生，并在出生后转移到肾脏，其中90%的EPO由肾小管间质细胞分泌[7]。EPO mRNA在啮齿动物和灵长类动物大脑的神经元中都有表达，当机体出现贫血或缺氧时，缺氧诱导因子1（hypoxia-inducible factor，HIF1）和缺氧诱导因子2（HIF2）诱导EPO及其受体的表达[8]。EPO一方面可以促进红细胞生成以及血红蛋白的含量，增强机体的携氧能力。另一方面，EPO可以与血管内皮生长因子（vascular endothelial growth factor，VEGF）相互作用，促进血管的生成[9]。近年来，大量研究[10]表明，EPO可以在中枢神经系统疾病中发挥作用，包括阿尔茨海默病、帕金森病、肌萎缩侧索硬化症、脊髓损伤以及脑缺血、缺氧和高氧血症。

丰富环境（enriched environment，EE）是一种非侵入式治疗方式，其利用多种刺激因素促进机体功能恢复，被广泛应用于神经系统相关疾病的治疗，如脑卒中、阿尔茨海默病、慢性脑缺血、亨廷顿病等[11-14]。近年来，大量研究[11，15-17]表明EE可促进脑缺血再灌注损伤的恢复。具体的机制有促进卒中后的自噬、神经可塑性及抑制炎症反应、铁死亡等。EE的设置多种多样，其有效作用元件包括运动刺激、社交/认知刺激及良好的生存空间。ROBISON等[18]报道，增加同居动物的数量比增加玩具对脑淀粉样血管病大鼠的认知恢复更有效。然而，CHEN等[19]认为，在脑卒中大鼠模型中，与社交刺激相比，运动干预对减少脑梗死面积和促进脑源性神经营养因子分泌的作用更为明显。目前，尚缺乏足够的研究来探讨EE中单一或复合刺激因素对卒中后神经功能恢复的促进作用。本研究旨在探讨不同形式的EE对大鼠缺血性脑卒中后神经功能和血管再生的影响，为未来丰富环境的临床应用提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　实验动物及动物模型的制备　自湖北贝恩特生物科技有限公司购入成年健康雄性Sprague Dawley（SD）大鼠，体质量200～220 g，饲养于武汉大学动物实验中心ABSL-Ⅲ实验室。动物饲养间

温度保持在22～25 ℃,相对湿度保持在50%～60%,大鼠每天接受12 h光照。标准环境下每笼饲养3～4只大鼠,大鼠可自由饮水、进食。本次动物实验经过武汉大学实验动物伦理委员会批准(编号:ZN2022014)。大鼠适应性饲养3 d后,采用计算机随机法将大鼠分为5组,每组12只大鼠:假手术+标准环境组(SS)、脑缺血再灌注(middle cerebral artery occulusion/reperfusion,MCAO/R)+标准环境组(IS)、MCAO/R+躯体性丰富环境组(physical environmental enrichment,PE),MCAO/R+社会性丰富环境组(social environmental enrichment,SE),MCAO/R+经典丰富环境组(typical physical and social enrichment environment,PSE)。

MCAO/R模型制作参照廖维靖等[20]创立的线栓改良法,线栓购于北京西浓科技有限公司,线头直径(0.28±0.02) mm,长约45 mm。手术全程遵守无菌原则,具体操作:按体质量腹腔注射1%戊巴比妥钠对大鼠进行麻醉,电动剃毛刀备皮后消毒,暴露左侧颈动脉视野并钝性分离大鼠左侧颈总动脉(common carotid artery,CCA)、颈外动脉(external carotid artery,ECA)、颈内动脉(internal carotid artery,ICA)。在CCA、ECA处结扎,微动脉夹夹闭远端CCA,用显微手术剪在CCA上剪一切口,将线栓插入ICA。缝合后将大鼠右侧卧位置于加热垫上,注意吸痰。1.5 h后,拔出线栓约10 mm实现缺血再灌注。假手术组除不插入线栓,其余操作相同。大鼠苏醒后,使用Longa评分法[21]对其进行神经功能缺损评分,具体如下:0分,无任何神经功能缺失;1分,对侧肢体不能伸展;2分,行走时向对侧转圈;3分,行走时向对侧跌倒;4分,无自主活动并伴有意识障碍。评分在1～3分之间的动物被纳入实验,0分或4分者剔除实验。

1.2 环境设置 术后将所有大鼠置于标准环境中1 d,随后按照分组将大鼠置于相应的饲养环境进行为期21 d的环境干预(表1),不同环境设置如图1。

躯体性丰富环境组(PE组):笼具大小为90 cm×75 cm×50 cm,不锈钢材质。笼内除常规放置垫料、食物和水之外,还放置了可以刺激大鼠感官的物品,包括跑轮、木桥、管道、阶梯等,每3 d更换玩具位置。每笼放置2只大鼠,自由饮水进食(图1A)。社会性丰富环境(social environmental enrichment,SE):笼具大小为90 cm×75 cm×50 cm,不锈钢材质。笼内仅有常规放置的垫料,每笼放置8～12只大鼠,自由饮水进食(图1B)。经典丰富环境(PSE):为PE和SE的组合,大小同为90 cm×75 cm×50 cm,不锈钢材质。笼内除常规放置垫料、食物和水之外,也和PE一样放置了可以刺激大鼠感官的物品,每3 d更换一次玩具位置。每笼放置8～12只大鼠以增强大鼠之间的社交,自由饮水进食。标准环境(standard condition,SC):笼具大小为40 cm×30 cm×20 cm,内置垫料,每笼放置3～4只大鼠,自由饮水进食(图1C)。

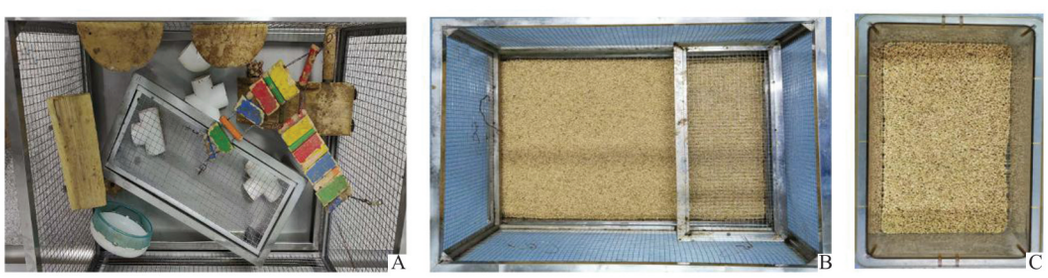


图1 不同形式的动物饲养笼具

A.躯体性丰富环境笼;B.社会性丰富环境笼;C.标准笼。

表1 实验动物分组

组别	SS	IS	PE	SE	PSE
手术方式	假手术	MCAO/R	MCAO/R	MCAO/R	MCAO/R
术后饲养环境(1 d)	标准环境	标准环境	标准环境	标准环境	标准环境
环境干预(21 d)	标准环境	标准环境	躯体性丰富环境	社会性丰富环境	经典丰富环境

1.3 神经功能评分 采用改良神经功能缺损评分(modified neurological severity score,mNSS)来评估大鼠的神经功能缺损情况。在术后第3、7、14、21天由一位不清楚实验分组的同学进行评估。mNSS评分可从感觉、运动、平衡等方面全面评估大鼠的神经功能缺损,总分为18分,得分越高提示神经功能缺损越严重[21]。

1.4 2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC)染色 造模

完成后，从假手术组和模型组中随机取 3 只大鼠以检验造模效果。大鼠断头取脑后，将取出的脑组织置于－20 ℃冰箱冰冻 30 min。取出组织稍解冻后用刀片将组织切成 2 mm 厚的切片。将切片放入提前 37 ℃预热的 TTC 染液中，随后放入 37 ℃水浴锅中避光孵育 30 min，每隔 10 min 轻轻摇动组织，使其充分接触染液。染色完成后，取出脑切片，照相机拍照后用 Image J 计算梗死面积。正常组织呈红色，梗死组织呈白色，梗死面积百分比＝白色梗死面积总和/各大脑切片面积总和×100%。

1.5　神经元损伤的检测　为了更直观地观察大鼠脑内的病理变化，21 d 干预后，分别采用 HE 染色和尼氏染色来观察大鼠神经元的存活情况。具体操作：每组随机取 5 只大鼠腹腔注射过量戊巴比妥钠，随后迅速打开胸腔充分暴露心脏，用 50 mL 注射器针头插入左心室，剪开右心耳，经心脏快速灌注生理盐水 100～150 mL 后继续灌注 4% 的多聚甲醛溶液 100～150 mL，断头取脑浸泡于 4% 多聚甲醛固定液中，24 h 后进行石蜡包埋，并制作石蜡切片。随后分别进行 HE 染色和尼氏染色，拍照并进行统计分析。

1.6　免疫组化　为了检测大鼠脑缺血再灌注后梗死周边皮质 EPO 的变化，本研究采用过氧化物酶标示的链霉卵白素法（streptavidin peroxidase，SP）法进行观察。石蜡切片制作方法同 1.5，按照试剂盒操作进行染色后，在显微镜下于缺血半暗带随机选取 3 个不重叠视野拍照。采用分析软件 Image Pro Plus 6.0 系统进行图像分析，测定 EPO 阳性反应产物的累积光密度值（integral optical density，IOD）。

1.7　Western Blot 检测 EPO 表达　为进一步检测大鼠脑缺血再灌注后梗死周边皮质 EPO 的变化，本研究采用 Western Blot 进行观察。具体方法：每组随机取 5 只大鼠腹腔注射过量戊巴比妥钠，随后迅速打开胸腔充分暴露心脏，用 50 mL 注射器针头插入左心室，剪开右心耳，经心脏快速灌注生理盐水 100～150 mL，取出脑组织置于冻存管中，存放在－80 ℃冰箱。取脑梗死周围组织 50 mg 加入 RIPA、蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂进行蛋白提取，制备好分离胶后加入蛋白，分别进行电泳、转膜、封闭、一抗孵育过夜和二抗孵育。随后在 Tanon 5200 ECL 化学发光成像系统下进行观察，并用 Image J 软件进行灰度分析。

1.8　统计学分析　实验数据采用 GraphPad Prism 8.0 软件分析，数据以均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）表示。mNSS 数据分析使用双因素方差分析（Two way ANOVA）检验，其余检测采用单因素方差分析（One way ANOVA）检验，Tukey′s post hoc 检验用于比较组间差异。mNSS 与 EPO 累积光密度值的相关性分析采用皮尔逊相关性分析。以 $P<0.05$ 认为结果差异有统计学意义。

2　结果

2.1　TTC 染色　为了观察脑缺血再灌注模型建造的有效性，对假手术组及模型组大鼠（$n=3$）进行 TTC 染色（图 2A），并对梗死面积进行了统计分析（图 2B）。结果表明模型组的梗死面积显著大于假手术组（$P<0.001$）。

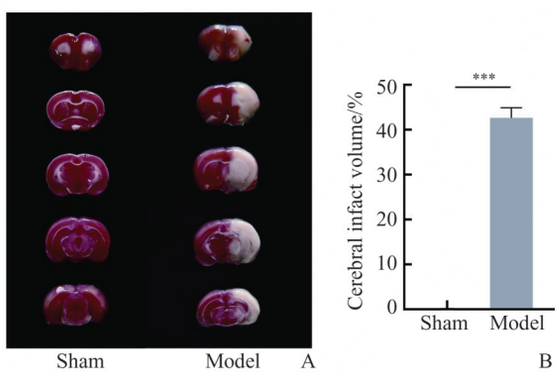


图 2　假手术组与模型组大鼠 TTC 染色的结果

A. 假手术组与模型组 TTC 染色结果示意图；B. 假手术组与模型组大鼠脑梗死面积。$n=3$/组，$^{***}P<0.001$。

2.2　丰富环境改善脑缺血再灌注大鼠的神经功能　在术后第 3、7、14 和 21 天对各组大鼠进行 mNSS 评分（图 3），结果表明 SS 组在各时间点 mNSS 评分均为 0 分，表明 SS 组大鼠没有神经功能缺损。环境干预后的第 3 天，PE、SE、PSE 和 IS 组的大鼠 mNSS 评分差异无统计学意义（$P>0.05$）。从第 7 天开始，PE、SE 及 PSE 组大鼠的 mNSS 评分均显著低于 IS 组（$P<0.01$）。第 14 天和第 21 天时，PSE 组的 mNSS 评分显著低于 PE 和 SE 组（$P<0.001$）。

2.3　丰富环境改善大鼠脑缺血再灌注后的神经元损伤　本研究分别采用 HE 染色和尼氏染色评估大鼠脑缺血再灌注后的神经元损伤情况（$n=5$）。通过 HE 染色的结果（图 4）可以看出，SS 组大鼠细胞排列均匀，轮廓清晰，细胞核呈蓝紫色，细胞质呈淡红色。IS 组大鼠细胞排列紊乱，部分细胞肿胀，细胞核固缩。与 IS 组大鼠细胞形态相比，三个丰富环境干预组细胞虽仍有坏死细胞，但总体存活细胞数量较多，水肿减轻。

尼氏染色的结果（图 5A）可以看出 SS 组大鼠神经元排列规则，细胞核及核仁清晰，染色浅，可见尼

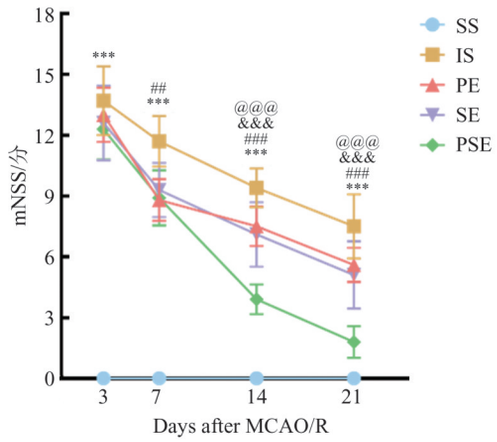


图3 各组大鼠在丰富生存环境干预第3、7、14及21天的神经功能比较(n=12/组)

IS *vs* SS: $^{***}P<0.001$; IS *vs* PSE: $^{\#\#}P<0.01$, $^{\#\#\#}P<0.001$; PE *vs* PSE: $^{\&\&\&}P<0.001$; SE *vs* PSE: $^{@@@}P<0.001$。

氏小体。IS、PE、SE、PSE组大鼠神经元排列紊乱，细胞核固缩或破裂，部分神经元着色深，胞质皱缩，提示神经元的损伤。由不清楚实验分组的同学进行存活神经元计数分析(图5B)，结果显示IS组存活神经元数量显著少于SS组($P<0.001$)，PE组、SE组和PSE组的存活神经元数量显著多于IS组($P<0.001$)，其中PSE组存活神经元数量显著多于PE组和SE组($P<0.05$)。

2.4 丰富环境促进大鼠脑缺血再灌注后梗死周边皮质EPO的表达 本研究分别通过免疫组化(图6)和Western Blot(图7)对不同组脑梗死周边EPO的表达进行观察(n=5)。免疫组化的结果显示，各组大鼠均有EPO的表达。根据结果分析，SS组EPO表达最少，IS组大鼠的EPO表达较SS组显著增加($P<0.05$)。三组丰富环境干预的大鼠EPO表达显著高于IS组($P<0.001$)，其中PSE组EPO表达较PE组和SE组显著增加($P<0.001$)。

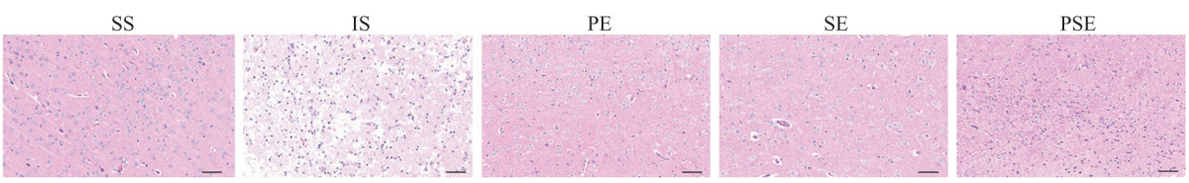


图4 丰富环境干预21 d后，各组大鼠HE染色结果(图中标尺：50 μm，n=5/组)

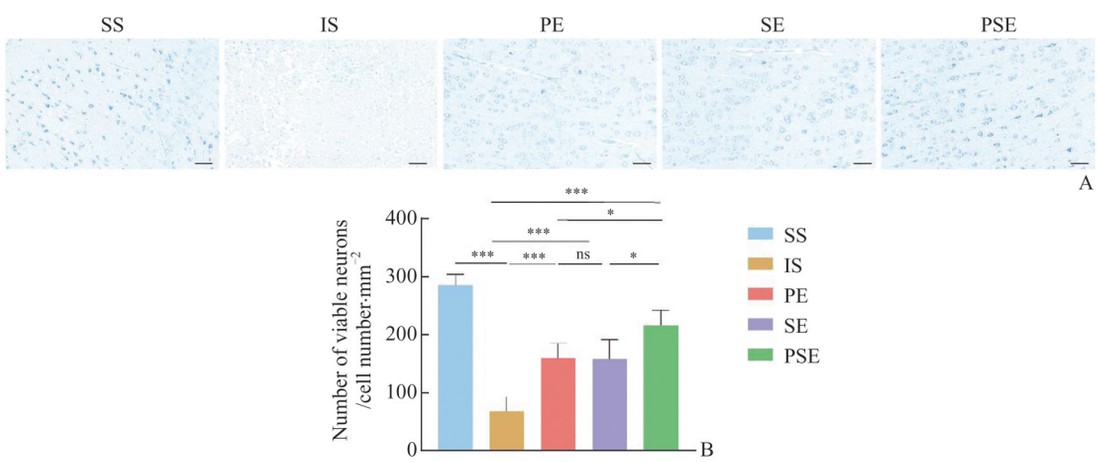


图5 丰富环境干预21 d后，各组大鼠神经元存活情况

A. 各组大鼠尼氏染色图(图中标尺：50 μm)；B. 各组大鼠存活神经元分析，n=5/组。$^{*}P<0.05$，$^{***}P<0.001$，ns：差异无统计学意义。

Western Blot的结果显示，各组大鼠均有EPO的表达(图7)。根据结果分析，SS组EPO表达最少，IS组大鼠的EPO表达较SS组显著增加($P<0.05$)。三组丰富环境干预的大鼠EPO表达显著高于IS组($P<0.001$)，其中PSE组EPO表达较PE组和SE组显著增加($P<0.05$)。

2.5 皮尔逊相关分析 为了检验神经功能改善与EPO表达的相关性，将干预21 d后模型组大鼠(IS组及三组丰富环境干预组)的mNSS评分与EPO累积光密度值进行相关性分析(n=5)，结果表明，mNSS评分与EPO的表达显著相关($r=-0.694\,9$，$P<0.01$)，且呈负相关(图8)。

3 讨论

在1947年，HEBB[22]首次提出了EE的概念，他观察到家养大鼠相较于实验室饲养的大鼠展现出

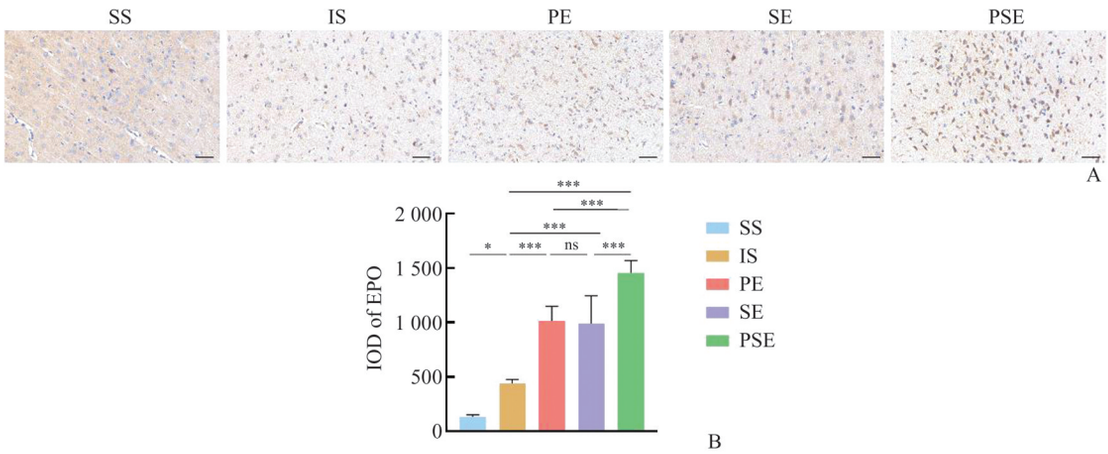


图 6　丰富环境干预 21 d 后，各组大鼠 EPO 的表达情况

A. 各组 EPO 免疫组化结果，bar=50 μm；B. EPO 表达的量化分析，n=5/组，$^{*}P<0.05$，$^{***}P<0.001$，ns：差异无统计学意义。

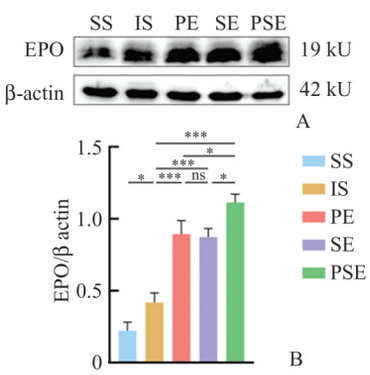


图 7　丰富环境干预 21 d 后，各组大鼠 EPO 的表达情况

A. EPO 的 Western Blot 结果；B. EPO 的定量统计分析结果。n=5/组，数据按均数±标准差表示，$^{*}P<0.05$，$^{***}P<0.001$，ns：差异无统计学意义。

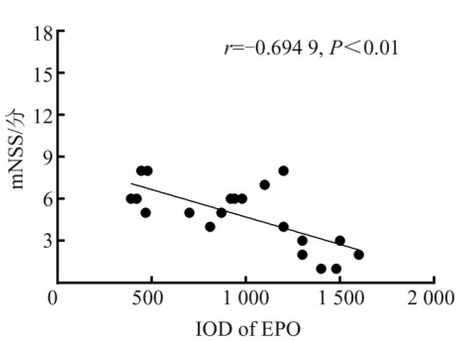


图 8　模型组大鼠 mNSS 评分与 EPO 表达的相关性

更佳的认知功能。ROSENZWEIG 和 BENNETT[23]进一步发现，生活在 EE 中的大鼠具有更重、更厚的大脑皮层，乙酰胆碱酶活性增强，神经元和突触体积增大。基于这些发现，EE 被应用于多种神经系统疾病的治疗，并显示出积极效果。与传统环境相比，EE 提供了更大的活动空间、丰富的玩具和更多的社交互动，从而在感觉、运动、社交和认知层面促进大鼠神经再生[24]。EE 分为 PE 和 SE，前者强调运动刺激，后者强调社交互动。由于 EE 包含多个组成部分，难以确定哪个因素在疾病治疗中起主导作用。研究表明，体力活动和丰富的社会活动分别对卒中模型中的细胞整合、功能恢复和脑损伤后的恢复具有重要作用。有研究[25]表明运动干预可以促进急性卒中大鼠模型中移植细胞的整合和功能恢复，也有研究[26]表明丰富的社会活动对缺血性脑损伤后的恢复起着重要作用。本研究将传统 EE 细分为 PE 和 SE，通过为期 21 d 的干预，评估其对脑缺血再灌注损伤大鼠的影响。

采用 mNSS 评分评估不同 EE 对大鼠神经功能的影响，结果显示，从干预第 14 天起，PE 和 SE 组的神经功能改善显著优于 PSE 组。病理学染色结果进一步证实，三种 EE 均能改善神经元损伤，PSE 组效果最佳，表明其在卒中后神经修复中的优势。

早期胚胎发育时，神经系统的血管发育伴随着神经发育，同时血管周围基底膜也会影响中枢神经系统发育[27]，可见神经发生与血管生成有着十分紧密的联结。对大脑中动脉短暂或永久性闭塞的小鼠或大鼠的研究[28]表明，梗死脑区周围的内皮细胞早在血管栓塞后 12～24 h 就开始增殖，缺血损伤后 3 d 梗死周围区域出现血管再生。HAYASHI 等[29]报道，实验性脑缺血后血管增殖持续超过 21 d。EPO 作为血管保护因子，对于血管生成有着十分重要的作用。EPO 不仅可以促进内皮细胞增殖和细胞生长[30]，还可以保护血管细胞和神经元[31]。研究[32]发现，EPO 可以在造血细胞分化过程中与其受体结合，激活 JAK/STAT 等信号转导通路，控制造血细胞的增殖、存活和特异性基因表达，而重组人 EPO 在人内

皮细胞中诱导了血管生成。一项关于EPO及其类似物在动物卒中模型中疗效的荟萃分析[33]表明,EPO及其类似物将脑梗面积减少了32%,并显著改善了神经行为缺陷。也有研究[34]将EPO与组织型纤溶酶原激活剂(tissue plasminogen activator,tPA)进行联用,结果发现EPO与tPA联合干预可以减少脑梗死体积,减轻脑水肿和神经功能缺损。

虽然外源性EPO与内源性EPO组成相似,但注射外源性EPO后会引起机体的免疫反应,使用不当会增大二次卒中的风险[35]。并且由于EPO很难通过血脑屏障,需要大剂量全身注射,由此会产生严重的副作用[36]。因此,需要新的治疗方法刺激卒中后内源性EPO的产生以促进血管再生。为了研究EE对EPO表达的影响,分别用免疫组化和Western Blot检测大鼠脑梗死周围区域EPO的表达。结果发现,三组EE干预的大鼠EPO表达量均高于IS组,提示环境干预上调了内源性EPO的表达。随后,将反映神经功能的mNSS评分与EPO表达量进行Pearson相关性分析,结果表明神经功能的改善与EPO表达的增加显著相关。因此本研究假设丰富环境可以促进大鼠脑缺血再灌注损伤后的神经过功能恢复和神经元修复,这可能与丰富环境上调EPO的表达有关。同时,PSE组显示出最佳的治疗效果,提示在卒中后康复中运动疗法与社交/认知刺激结合的重要性。本研究仅观察了环境干预后EPO表达增加对脑缺血再灌注损伤的影响,未进一步验证EPO与脑缺血再灌注损伤的关系,后续研究将通过敲低EPO的表达验证EPO在脑缺血再灌注损伤中的作用。

针对缺血性脑卒中,药物溶栓和机械取栓是主要治疗方法,但由于时间窗限制,部分患者无法及时接受治疗。因此,寻找新的治疗方法以挽救梗死周边区神经元至关重要。本研究比较了三种丰富环境对MCAO/R神经功能、神经修复和EPO表达的影响,发现经典丰富环境更能促进脑缺血再灌注损伤的恢复,表明运动干预与社交刺激的结合能更好地发挥丰富环境的作用。丰富环境的概念已在临床治疗中得到应用,并显示出一定疗效[37-38]。未来,应设计更适合临床的丰富环境范式,以促进脑卒中患者的神经功能恢复。

参考文献

[1] HILKENS N A, CASOLLA B, LEUNG T W, et al. Stroke[J]. Lancet, 2024, 403(10446): 2820-2836.

[2] LIN T N, SUN S W, CHEUNG W M, et al. Dynamic changes in cerebral blood flow and angiogenesis after transient focal cerebral ischemia in rats. Evaluation with serial magnetic resonance imaging[J]. Stroke, 2002, 33(12): 2985-2991.

[3] CHEN Y C, WU J S, YANG S T, et al. Stroke, angiogenesis and phytochemicals[J]. Front Biosci, 2012, 4(2): 599-610.

[4] MANOONKITIWONGSA P S, JACKSON-FRIEDMAN C, MCMILLAN P J, et al. Angiogenesis after stroke is correlated with increased numbers of macrophages: The clean-up hypothesis[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2001, 21(10): 1223-1231.

[5] PAREDES I, HIMMELS P, RUIZ DE ALMODÓVAR C. Neurovascular communication during CNS development[J]. Dev Cell, 2018, 45(1): 10-32.

[6] YAMASHITA T, NINOMIYA M, HERNANDEZ ACOSTA P, et al. Subventricular zone-derived neuroblasts migrate and differentiate into mature neurons in the post-stroke adult striatum[J]. J Neurosci, 2006, 26(24): 6627-6636.

[7] ZEISBERG M, KALLURI R. Physiology of the renal interstitium[J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2015, 10(10): 1831-1840.

[8] SEMENZA G L, NEJFELT M K, CHI S M, et al. Hypoxia-inducible nuclear factors bind to an enhancer element located 3′ to the human erythropoietin gene[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1991, 88(13): 5680-5684.

[9] GREENWALD A C, LICHT T, KUMAR S, et al. VEGF expands erythropoiesis *via* hypoxia-independent induction of erythropoietin in noncanonical perivascular stromal cells[J]. J Exp Med, 2019, 216(1): 215-230.

[10] REY F, BALSARI A, GIALLONGO T, et al. Erythropoietin as a neuroprotective molecule: An overview of its therapeutic potential in neurodegenerative diseases[J]. ASN Neuro, 2019, 11: 1759091419871420.

[11] DENG Y H, DONG L L, ZHANG Y J, et al. Enriched environment boosts the post-stroke recovery of neurological function by promoting autophagy[J]. Neural Regen Res, 2021, 16(5): 813-819.

[12] RODRÍGUEZ J J, TERZIEVA S, OLABARRIA M, et al. Enriched environment and physical activity reverse astrogliodegeneration in the hippocampus of AD transgenic mice[J]. Cell Death Dis, 2013, 4(6): e678.

[13] FAN B, ZHANG Y, LUO Q H, et al. Physical and social environmental enrichment alleviate ferroptosis and inflammation with inhibition of TLR4/MyD88/p38MAPK pathway in chronic cerebral hypoperfusion rats[J]. Brain Res Bull, 2024, 208: 110897.

[14] BERLET R, GALANG CABANTAN D A, GONZALES-PORTILLO D, et al. Enriched environment and exercise enhance stem cell therapy for stroke, Parkinson′s disease, and Huntington′s disease[J]. Front Cell Dev Biol,

2022，10：798826.

[15] HAN P P，HAN Y，SHEN X Y，et al. Enriched environment-induced neuroplasticity in ischemic stroke and its underlying mechanisms[J]. Front Cell Neurosci，2023，17：1210361.

[16] ZHOU H Y，HUAI Y P，JIN X，et al. An enriched environment reduces hippocampal inflammatory response and improves cognitive function in a mouse model of stroke[J]. Neural Regen Res，2022，17(11)：2497-2503.

[17] LUO Q H，ZHENG J，FAN B，et al. Enriched environment attenuates ferroptosis after cerebral ischemia/reperfusion injury by regulating iron metabolism[J]. Brain Res Bull，2023，203：110778.

[18] ROBISON L S，FRANCIS N，POPESCU D L，et al. Environmental enrichment：Disentangling the influence of novelty，social，and physical activity on cerebral amyloid angiopathy in a transgenic mouse model[J]. Int J Mol Sci，2020，21(3)：843.

[19] CHEN X P，ZHANG X，LIAO W J，et al. Effect of physical and social components of enriched environment on astrocytes proliferation in rats after cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. Neurochem Res，2017，42(5)：1308-1316.

[20] 廖维靖，刘淑红，范明，等 . 线栓阻断大鼠大脑中动脉制作缺血性脑损伤模型的改良[J]. 中华物理医学与康复杂志，2002，24(6)：345-348.
LIAO W J，LIU S H，FAN M，et al. Modification of the preparation of models of focal ischemic brain injury with suture occlusion in rats[J]. Chin J Phys Med Rehabil，2002，24(6)：345-348.

[21] 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.

[22] HEBB D O. The effects of ealy experience on problem-solving at maturity[J]. Am Psychol，1947，2：737-745.

[23] ROSENZWEIG M R，BENNETT E L. Psychobiology of plasticity：Effects of training and experience on brain and behavior[J]. Behav Brain Res，1996，78(1)：57-65.

[24] ZENTALL T R. Effect of environmental enrichment on the brain and on learning and cognition by animals[J]. Animals，2021，11(4)：973.

[25] WU R，GUO Y P，ZHANG L Y，et al. Physical exercise promotes integration of grafted cells and functional recovery in an acute stroke rat model[J]. Stem Cell Reports，2022，17(2)：276-288.

[26] VENNA V R，XU Y，DORAN S J，et al. Social interaction plays a critical role in neurogenesis and recovery after stroke[J]. Transl Psychiatry，2014，4(1)：e351.

[27] SEGARRA M，ABURTO M R，COP F，et al. Endothelial Dab1 signaling orchestrates neuro‐*Glia*‐vessel communication in the central nervous system[J]. Science，2018，361(6404)：eaao2861.

[28] BECK H，PLATE K H. Angiogenesis after cerebral ischemia[J]. Acta Neuropathol，2009，117(5)：481-496.

[29] HAYASHI T，NOSHITA N，SUGAWARA T，et al. Temporal profile of angiogenesis and expression of related genes in the brain after ischemia[J]. J Cereb Blood Flow Metab，2003，23(2)：166-180.

[30] RIBATTI D，VACCA A，ROCCARO A M，et al. Erythropoietin as an angiogenic factor[J]. Eur J Clin Investig，2003，33(10)：891-896.

[31] MAIESE K，LI F Q，CHONG Z Z. Erythropoietin in the brain：Can the promise to protect be fulfilled?[J]. Trends Pharmacol Sci，2004，25(11)：577-583.

[32] RIBATTI D，PRESTA M，VACCA A，et al. Human erythropoietin induces a pro‐angiogenic phenotype in cultured endothelial cells and stimulates neovascularization *in vivo*[J]. Blood，1999，93(8)：2627-2636.

[33] MINNERUP J，HEIDRICH J，ROGALEWSKI A，et al. The efficacy of erythropoietin and its analogues in animal stroke models：A meta-analysis[J]. Stroke，2009，40(9)：3113-3120.

[34] JIA L F，CHOPP M，ZHANG L，et al. Erythropoietin in combination of tissue plasminogen activator exacerbates brain hemorrhage when treatment is initiated 6 hours after stroke[J]. Stroke，2010，41(9)：2071-2076.

[35] MARTO J P，STRAMBO D，LIVIO F，et al. Drugs associated with ischemic stroke：A review for clinicians[J]. Stroke，2021，52(10)：e646-e659.

[36] EHRENREICH H，WEISSENBORN K，PRANGE H，et al. Recombinant human erythropoietin in the treatment of acute ischemic stroke[J]. Stroke，2009，40(12)：e647-e656.

[37] WHITE J H，BARTLEY E，JANSSEN H，et al. Exploring stroke survivor experience of participation in an enriched environment：A qualitative study[J]. Disabil Rehabil，2015，37(7)：593-600.

[38] JANSSEN H，ADA L，KARAYANIDIS F，et al. Translating the use of an enriched environment poststroke from bench to bedside：Study design and protocol used to test the feasibility of environmental enrichment on stroke patients in rehabilitation[J]. Int J Stroke，2012，7(6)：521-526.

（2024-11-07 收稿）
编辑　袁　靓