

# 去铁胺预处理联合七氟醚后处理对糖尿病大鼠心肌缺血再灌注损伤的影响

杨龙 戴晓雯 马宁 吴建江 王江 郑宏

**【摘要】** 目的:探讨去铁胺(DFO)预处理联合七氟醚后处理(SPostC)对糖尿病大鼠心肌缺血再灌注(I/R)损伤的影响。 方法:采用 Langendorff 离体灌流装置建立 I/R 模型,缺血 40 min,再灌注 2 h。通过给予 DFO 预处理和(或)SPostC,观察各组再灌注末的心率、左室发展压(LVDP)、左室舒张末期压力(LVEDP)及左室内压最大上升速率( $+dp/dt_{max}$ )等血流动力学指标的变化,Western blot 法测定心肌缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )、血管内皮生长因子(VEGF)的表达水平变化,电镜观察心肌线粒体超微结构,TTC 染色法测定心肌梗死面积。 结果:与对照组相比,其余各组心率、LVDP、 $+dp/dt_{max}$  均明显降低,LVEDP 和心肌梗死面积均明显增加,HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 表达水平均明显上调( $P$  均 $<0.05$ ),线粒体结构有不同程度的破坏。与 I/R 组相比,DFO 组、DFO + SPostC 组 LVEDP 均明显降低,心率、LVDP、 $+dp/dt_{max}$  均明显改善,HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 表达水平均明显上调,心肌梗死面积均明显减少( $P$  均 $<0.05$ ),线粒体结构完整度明显改善。与 DFO 组相比,DFO + SPostC 组 LVEDP 明显降低,心率、LVDP、 $+dp/dt_{max}$  明显改善,HIF-1 $\alpha$ 、VEGF 表达上调,心肌梗死面积减少( $P$  均 $<0.05$ ),线粒体结构基本完整,略有肿胀。 结论:DFO 预处理联合 SPostC 可以减轻糖尿病大鼠心肌 I/R 损伤。

**【关键词】** 糖尿病;七氟醚后处理;缺血再灌注损伤;缺氧诱导因子-1 $\alpha$

doi:10.3969/j.issn.1673-6583.2019.06.009

**Effects of deferoxamine pretreatment combined with sevoflurane postconditioning on myocardial ischemia-reperfusion injury in diabetic rats** YANG Long, DAI Xiaowen, MA Ning, WU Jianjiang, WANG Jiang, ZHENG Hong Department of Anesthesiology, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Xinjiang 830054, China

**【Abstract】 Objective:** To investigate the effects of deferoxamine pretreatment combined with sevoflurane postconditioning on myocardial ischemia-reperfusion injury (I/R) in diabetic rats. **Methods:** The I/R mode was established by using Langendorff perfusion apparatus and the rats were subjected to ischemia for 40 min followed by reperfusion for two hours. After deferoxamine pretreatment and/or sevoflurane postconditioning, hemodynamic parameters such as heart rate (HR), left ventricular development pressure (LVDP), left ventricular end-diastolic pressure (LVEDP), and maximal rate of increase of left ventricular pressure ( $+dp/dt_{max}$ ) were recorded in each group. The expression levels of hypoxia-inducible factor (HIF)-1 $\alpha$  and vascular endothelial growth factor (VEGF) were determined by western blot. The ultrastructure of mitochondria was observed by electron microscope. The area of myocardial infarction was determined by TTC staining method.

**Results:** Compared with the control group, HR, LVDP and  $+dp/dt_{max}$  in other groups were significantly decreased, and LVEDP and the area of myocardial infarction were significantly increased ( $P$  all  $<0.05$ ). The expression of HIF-1 $\alpha$  and VEGF was up-regulated and mitochondrial structure had different degrees of damage

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金(2017D01C340)

作者单位:830054 乌鲁木齐,新疆医科大学第一附属医院麻醉科

通信作者:郑宏,Email:xjzhenghong@aliyun.com

( $P$  all  $< 0.05$ ). Compared with I/R group, in the DFO group and DFO+SPostC group, LVEDP was significantly decreased; HR, LVDP and  $+dp/dt_{max}$  were significantly improved; the expression of HIF-1 $\alpha$  and VEGF was up-regulated, and the area of myocardial infarction decreased ( $P$  all  $< 0.05$ ). The structure of mitochondria was relatively completed in the DFO group and DFO+SPostC group. As compared with DFO group, LVEDP was significantly decreased and HR, LVDP as well as  $+dp/dt_{max}$  were significantly improved; the expression of HIF-1 $\alpha$  and VEGF was up-regulated, and the myocardial infarction size decreased in the DFO+SPostC group ( $P$  all  $< 0.05$ ). The mitochondria structure was almost complete and slightly swollen in DFO+SPostC group. **Conclusions:** Deferoxamine pretreatment combined with sevoflurane postconditioning can alleviate myocardial IR injury in diabetic rats.

**【Key words】** Diabetes; Sevoflurane postconditioning; Ischemia-reperfusion injury; Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$

糖尿病是心血管疾病的重要危险因素,合并糖尿病的缺血性心脏病患者围术期发生心肌缺血再灌注(I/R)损伤的比例是非糖尿病缺血性心脏病患者的 2~3 倍<sup>[1]</sup>,有效降低围术期糖尿病患者 I/R 损伤极为重要。七氟醚是一种广泛应用于临床和基础实验的吸入麻醉剂。七氟醚后处理(SPostC)可以发挥与缺血预处理类似的心肌保护作用,并且对年轻和健康心肌发生的 I/R 损伤具有良好的保护效果<sup>[2-3]</sup>。在糖尿病状态下,SPostC 的保护作用弱化<sup>[4]</sup>,但具体机制尚未明确。我们前期研究发现缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )在 SPostC 减轻健康心肌 I/R 损伤中发挥重要作用<sup>[5]</sup>。在糖尿病状态下,HIF-1 $\alpha$  受损<sup>[6-7]</sup>,HIF-1 $\alpha$ 可能是导致 SPostC 心肌保护作用弱化的关键。本文旨在观察去铁胺预处理联合 SPostC 对糖尿病大鼠心肌 I/R 损伤的影响,探讨通过激活糖尿病状态下受损的 HIF-1 $\alpha$  恢复 SPostC 的心肌保护作用的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 离体心脏模型的制备

常州卡文斯实验动物有限公司提供清洁级健康雄性糖尿病 GK 大鼠 75 只,体质量 300~350 g,周龄为 14~16 周,实验动物生产许可证号:SCXK(苏)2016-0010。参照参考文献<sup>[5]</sup>建立 Langendorff 模型:大鼠腹腔注射 250 U/kg 肝素抗凝和 40 mg/kg 1%戊巴比妥钠麻醉后,固定在鼠板。迅速开胸暴露心脏及心底部大血管,剪下心脏,保留合适长度的主动脉(3~4 mm),立即放入预冷的 4 °C K-H 液(NaCl 118 mmol/L、KCl 4.7 mmol/L、MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 1.2 mmol/L、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.2 mmol/L、NaHCO<sub>3</sub> 25 mmol/L、葡萄糖 11 mmol/L、CaCl<sub>2</sub> 2.5 mmol/L、pH 值 7.45)中使心腔的血液排空。用眼科镊夹住主动脉两侧,4 号手术线将心脏固定于灌注针上,用

95%O<sub>2</sub>、5%CO<sub>2</sub> 预先平衡过的 37 °C K-H 液行主动脉逆行灌注,剪开肺动脉及左心耳,通过二尖瓣口将自制橡胶球囊沿左心耳插入左心室,并连接 Powerlab/8SP 生物功能实验压力传感器系统。维持 60~70 mmHg 的灌注压,调整气囊大小和位置,并将左室舒张末期压力(LVEDP)维持在 0~10 mmHg。上述步骤应在 2 min 内完成。离体心脏平衡 20 min 后,如心率  $> 250$  次/min,左室发展压(LVDP)  $> 80$  mmHg、室性早搏  $< 2$  次/min,则提示建模成功。

### 1.2 实验分组

将 75 只糖尿病大鼠随机分为 5 组( $n = 15$ )。对照组心脏持续灌注 K-H 液 180 min。缺血再灌注组(I/R 组)心脏平衡 20 min 后,灌注 4 °C Thomas 心脏停搏液使心脏停跳,32 °C 下心脏停跳 40 min 后(无灌注 K-H 液),复温至 37 °C 后再灌注 K-H 液复跳 120 min。SPostC 组心脏平衡 20 min 后,灌注 4 °C Thomas 心脏停搏液使心脏停跳,32 °C 下缺血 40 min 后,再灌注 2.4%七氟醚(日本丸石制药株式会社)饱和的 K-H 液 15 min,后续灌注正常 K-H 液 105 min。去铁胺预处理组(DFO 组)心脏缺血前 24 h 大鼠腹腔给予 200 mg/kg 去铁胺(瑞士诺华制药有限公司),其余同 I/R 组。去铁胺预处理 + SPostC 组(DFO+SPostC 组)心脏缺血前 24 h 大鼠腹腔给予 200 mg/kg 去铁胺,其余同 SPostC 组。

### 1.3 血流动力学指标检测

各组再灌注结束时,通过 Powerlab/8SP 数据采集系统记录心率、LVDP、LVEDP 以及左室内压最大上升速率( $+dp/dt_{max}$ )等指标。

### 1.4 透射电镜观察心肌超微结构

再灌注 2 h 后,从每组中随机取 4 个心脏,每个心脏取 1 mm  $\times$  1 mm  $\times$  1 mm 左室心肌,经过固定、

冲洗、脱水、包埋、切片、染色后, H-600 型透射电镜( $\times 10\,000$ , 日本 Hitachi 公司)观察心肌细胞线粒体超微结构。

1.5 TTC 染色法测定心肌梗死面积

再灌注 2 h 后, 从每组中随机取 5 个心脏, 置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中冷冻 7 min, 将整个心脏从心尖到心脏底部进行切片, 切成厚度大致相同的 5 片。将心脏切片置于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 、1% TTC 溶液中染色 20 min, 10% 福尔马林固定 24 h 后进行数码照相。心肌梗死面积采用 Image-Pro Plus 6.0 软件计算。

1.6 Western blot 分析

再灌注 2 h 后, 从每组中随机取 6 个心脏, 通过组织裂解液提取心肌组织总蛋白。取蛋白样品 $30\text{ }\mu\text{g}$ , 十二烷基磺酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)后, 转膜, 于 $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 封闭 2 h, 分别加入小鼠抗大鼠 HIF-1 $\alpha$  单克隆抗体(1:1 000, 美国 Sigma 公司)、小鼠抗大鼠血管内皮生长因子(VEGF)单克隆抗体(1:1 000, 美国 Sigma 公司)和山羊抗鼠 GAPDH 多克隆抗体(1:1 000, 美国 Sigma 公司),

$4\text{ }^{\circ}\text{C}$  孵育过夜, 洗膜后加入二抗兔抗鼠 IgG-HRP 和兔抗山羊 IgG-HRP (美国 Sigma 公司)室温孵育 1 h。ECL 显色成像, 应用 Quantity One 图像分析系统对目的蛋白条带进行灰度值分析。

1.7 统计学分析

采用 GraphPad Prism 5.0 软件进行统计学分析, 计量资料采用均数 $\pm$ 标准差表示。组间比较采用单因素方差分析, Newman-Keuls 法进行显著性检验,  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血流动力学指标比较

与对照组相比, I/R 组、SPostC 组、DFO 组、DFO+SPostC 组心率、LVDP、+ dp/dtmax 均明显降低, LVEDP 明显增加( $P$  均 $<0.05$ ); 与 I/R 组相比, DFO 组、DFO+SPostC 组 LVEDP 明显降低, 且心率、LVDP、+ dp/dtmax 明显改善( $P$  均 $<0.05$ ); 与 DFO 组相比, DFO+SPostC 组 LVEDP 明显降低, 且心率、LVDP、+ dp/dtmax 明显改善( $P$  均 $<0.05$ )。见表 1。

表 1 各组血流动力学指标比较

组别	心率/次 $\cdot\text{min}^{-1}$	LVDP/mmHg	LVEDP/mmHg	+ dp/dtmax/mmHg $\cdot\text{s}^{-1}$
对照组	296.56 $\pm$ 12.52	77.61 $\pm$ 6.06	6.87 $\pm$ 1.35	2705.97 $\pm$ 181.95
I/R 组	220.04 $\pm$ 9.63 <sup>(1)</sup>	45.60 $\pm$ 5.85 <sup>(1)</sup>	17.80 $\pm$ 1.61 <sup>(1)</sup>	1541.11 $\pm$ 187.29 <sup>(1)</sup>
SPostC 组	221.71 $\pm$ 7.08 <sup>(1)</sup>	46.87 $\pm$ 4.91 <sup>(1)</sup>	16.46 $\pm$ 1.37 <sup>(1)</sup>	1665.19 $\pm$ 206.16 <sup>(1)</sup>
DFO 组	238.71 $\pm$ 9.66 <sup>(1)(2)(3)</sup>	56.70 $\pm$ 4.71 <sup>(1)(2)(3)</sup>	11.93 $\pm$ 1.24 <sup>(1)(2)(3)</sup>	2118.88 $\pm$ 190.80 <sup>(1)(2)(3)</sup>
DFO+SPostC 组	256.98 $\pm$ 8.59 <sup>(1)(2)</sup>	65.08 $\pm$ 4.46 <sup>(1)(2)</sup>	9.75 $\pm$ 1.16 <sup>(1)(2)</sup>	2377.86 $\pm$ 216.64 <sup>(1)(2)</sup>

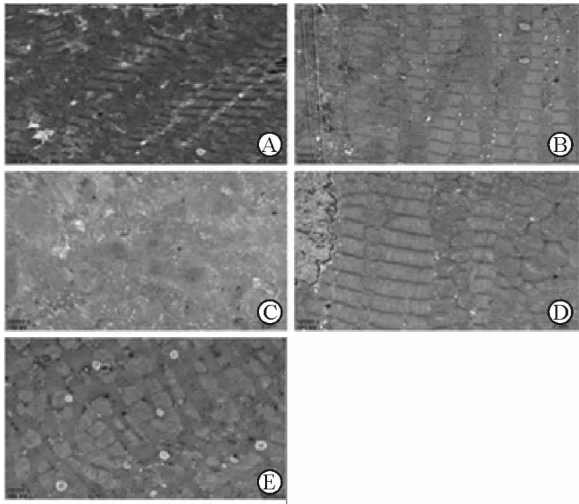
注:与对照组相比, <sup>(1)</sup>  $P<0.05$ ; 与 I/R 组相比, <sup>(2)</sup>  $P<0.05$ ; 与 DFO+SPostC 组相比, <sup>(3)</sup>  $P<0.05$

2.2 心肌线粒体超微结构比较

电镜下观察, 对照组线粒体结构完整, 排列整齐; I/R 组肌丝溶解甚至断裂, 线粒体肿胀, 嵴膜间隙变宽、破裂, 肌浆网高度扩张; SPostC 组线粒体与 I/R 组无明显区别; DFO 组线粒体结构完整度略优于 I/R 组, 但线粒体仍显肿胀, 排列紊乱, 肌丝部分溶解; DFO+SPostC 组较 DFO 组明显改善, 线粒体形态基本完整, 排列整齐, 但仍略有肿胀。见图 1。

2.3 心肌梗死面积比较

与对照组相比, SPostC 组梗死面积明显增加[(37.2 $\pm$ 3.77)%对(2.84 $\pm$ 0.93)%],  $P<0.05$ 。与 I/R 组[(38.8 $\pm$ 2.28)%]相比, DFO 组[(29.2 $\pm$ 3.11)%]和 DFO+SPostC 组[(21.4 $\pm$ 4.16)%]的梗死面积均明显减少( $P$  均 $<0.05$ ); DFO+SPostC 组与 DFO 组相比, 心肌梗死面积明显减少( $P<0.05$ )。见图 2。



注: A 为对照组; B 为 DFO 组; C 为 I/R 组; D 为 DFO+SPostC 组; E 为 SPostC 组

图 1 各组电镜下心肌线粒体超微结构( $\times 10\,000$ )

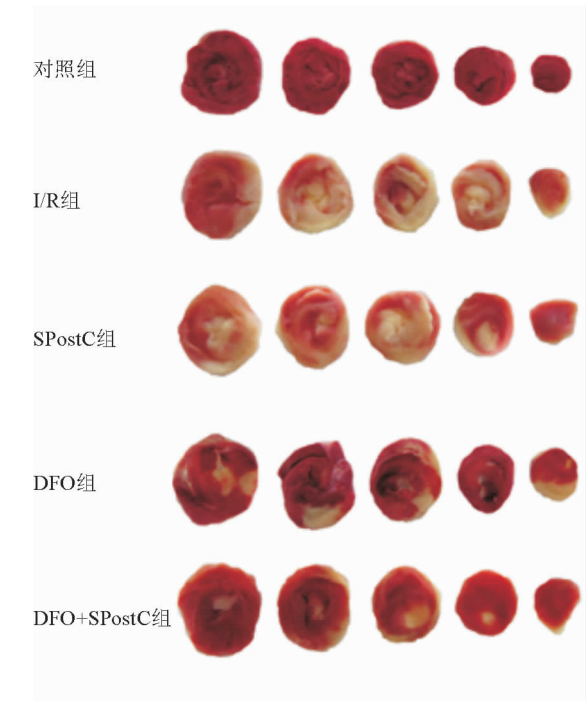


图 2 TTC 染色检测各组心肌梗死情况

2.4 HIF-1α、VEGF 蛋白表达水平比较

与对照组相比,SPostC 组 HIF-1α、VEGF 蛋白表达水平均明显增加( $P$  均 $<0.05$ );与 I/R 组相比,DFO 组、DFO+SPostC 组 HIF-1α、VEGF 蛋白表达水平均明显增加( $P$  均 $<0.05$ );DFO+SPostC 组 HIF-1α、VEGF 蛋白表达水平与较 DFO 组明显增加( $P<0.05$ ),见图 3、表 2。

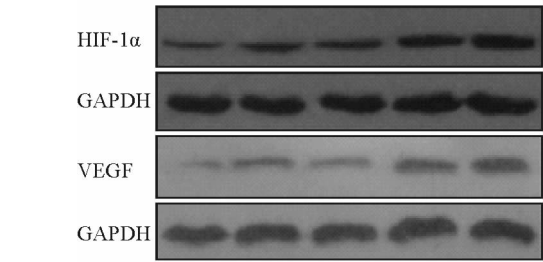


图 3 Western blot 法检测各组 HIF-1α、VEGF 蛋白表达情况

表 2 各组 HIF-1α、VEGF 蛋白表达水平比较		
组别	HIF-1α	VEGF
对照组	0.16 ± 0.05	0.14 ± 0.07
I/R 组	0.34 ± 0.07	0.31 ± 0.06
SPostC 组	0.33 ± 0.08	0.30 ± 0.07
DFO 组	0.73 ± 0.10 <sup>(1)(2)</sup>	0.57 ± 0.06 <sup>(1)(2)</sup>
DFO+SPostC 组	1.02 ± 0.09 <sup>(1)</sup>	0.88 ± 0.07 <sup>(1)</sup>

注:与 I/R 组相比,<sup>(1)</sup>  $P<0.05$ ;与 DFO+SPostC 组相比,<sup>(2)</sup>  $P<0.05$

3 讨论

本研究中,Langendoffff 体外灌注模型消除了体液和神经因素的影响,有助于观察药物对心脏的直接影响。本研究结果表明,遭受 I/R 损伤后,糖尿病大鼠心肌线粒体结构明显受损,提示离体心脏 I/R 损伤模型制备成功。SPostC 组各指标与 I/R 组并无明显差异,这与 Drenger 的研究结论一致<sup>[4]</sup>,说明糖尿病心肌发生 I/R 损伤时的心肌保护作用被弱化。

研究表明,在低氧条件下,HIF-1α 是通过调控 VEGF、促红细胞生成素(EPO)等下游靶基因的表达促使细胞生存的关键因子<sup>[8]</sup>,也是触发心肌内源性保护机制的枢纽。我们前期研究发现,HIF-1α 是介导 SPostC 对抗缺血心肌损伤的内源性关键靶点。为了证实在糖尿病状态下,这一靶点受损可能是导致 SPostC 保护作用弱化的根源,本研究观察去铁胺预处理联合 SPostC 对糖尿病大鼠心肌 I/R 损伤的影响,发现 DFO 组心功能明显改善,心肌超微结构明显优于 I/R 组,心肌梗死面积也明显减少,而 DFO+SPostC 组各指标优于 DFO 组,提示去铁胺具有减轻糖尿病大鼠心肌 I/R 损伤的作用,并且能够恢复糖尿病状态下 SPostC 的心肌保护作用。

去铁胺是美国食品和药品管理局(FDA)批准的一种高选择性铁螯合剂,临床使用已近半个世纪。去铁胺不仅能阻断芬顿反应,还能抑制脯氨酰羟化酶,从而激活某些缺氧诱导转录因子,使细胞适应缺氧的环境。研究表明,无论全身还是局部应用去铁胺都能稳定并激活 HIF-1α,上调其下游靶基因,促进糖尿病患者伤口的愈合<sup>[9]</sup>。本研究结果表明,I/R 组 HIF-1α 表达并没有增加,这与 Marfella 等<sup>[10]</sup>的研究结论一致,说明在糖尿病状态下 HIF-1α 受损,即使缺氧也不能有效激活 HIF-1α,使其发挥内源性保护作用。而 DFO 组与 DFO+SPostC 组的 HIF-1α 蛋白表达明显升高,并且心肌梗死面积减少,这与 Luciano 等<sup>[11]</sup>的研究结论一致。说明 HIF-1α 可能是糖尿病状态下 SPostC 保护效果弱化的关键,去铁胺预处理能够激活糖尿病状态下受损的 HIF-1α,去铁胺联合 SPostC 能够激活并上调糖尿病状态下受损的 HIF-1α,从而发挥心肌保护作用。

VEGF 是最重要的血管生成细胞因子,也是 HIF-1α 的下游靶基因,在缺氧性疾病的血管新生过程中扮演关键角色<sup>[12]</sup>。VEGF 作用于靶细胞-血管

内皮细胞,具有一定的特异性,可通过促进内皮细胞进行有丝分裂及增殖,促进组织新生血管形成<sup>[13]</sup>。在心肌发生缺血时,VEGF 表达增加<sup>[14]</sup>,可以通过囊泡小体介导的跨膜途径,引起血浆蛋白外渗,导致细胞外环境发生变化,提高血管的通透性<sup>[15]</sup>。研究发现,在非糖尿病状态下,七氟醚能够上调 VEGF 的表达,一方面能够促进血管重构和内皮化,另一方面还发挥抗炎作用<sup>[12]</sup>。本研究发现 DFO+SPostC 组与 DFO 组相比,VEGF 表达水平明显增加,线粒体结构损伤程度较轻,心肌梗死面积明显减少,这提示去铁胺联合 SPostC 可能通过激活并促进糖尿病状态下 HIF-1 $\alpha$  的表达,上调下游靶基因 VEGF 的表达,最终减少心肌梗死面积,减轻缺血心肌的损伤。

综上所述,去铁胺预处理联合 SPostC 可以激活并促进 HIF-1 $\alpha$  高表达,上调 VEGF 的表达,增加缺血心肌的微血管密度,提高血管通透性,减少糖尿病大鼠的心肌梗死面积并改善心功能。本研究揭示了病理性心肌应用 SPostC 心肌保护作用弱化的分子机制,也为围术期应用 SPostC 实施病理性心肌保护提供了科学依据。

### 参 考 文 献

- [1] Preis SR, Pencina MJ, Hwang SJ, et al. Trends in cardiovascular disease risk factors in individuals with and without diabetes mellitus in the framingham heart study[J]. *Circulation*, 2009, 120(3):212-220.
- [2] Wu J, Yu J, Xie P, et al. Sevoflurane postconditioning protects the myocardium against ischemia/reperfusion injury via activation of the JAK2-STAT3 pathway [J]. *Peer J*, 2017, 5:e3196
- [3] Yu J, Wu J, Xie P, et al. Sevoflurane postconditioning attenuates cardiomyocyte hypoxia/reoxygenation injury via restoring mitochondrial morphology [J]. *Peer J*, 2016, 4:e2659.
- [4] Drenger B, Ostrovsky IA, Barak M, et al. Diabetes blockade of sevoflurane postconditioning is not restored by insulin in the rat heart[J]. *Anesthesiology*, 2011, 114(6):1364-1372.
- [5] Yang L, Xie P, Wu JJ, et al. Sevoflurane postconditioning

improves myocardial mitochondrial respiratory function and reduces myocardial ischemia-reperfusion injury by up-regulating HIF-1 [J]. *Am J Transl Res*, 2016, 8(10): 4415-4424.

- [6] Thangarajah H, Vial IN, Grogan RH, et al. HIF-1 alpha dysfunction in diabetes[J]. *Cell Cycle*, 2010, 9(1):75-79.
- [7] Bento CF, Pereira P. Regulation of hypoxia-inducible factor 1 and the loss of the cellular response to hypoxia in diabetes [J]. *Diabetologia*, 2011, 54(8):1946-1956.
- [8] Eckle T, Köhler D, Lehmann R, et al. Hypoxia-inducible factor-1 is central to cardioprotection: a new paradigm for ischemic preconditioning[J]. *Circulation*, 2008, 118(2):166-175.
- [9] Duscher D, Neofytou E, Wong VW, et al. Transdermal deferoxamine prevents pressure-induced diabetic ulcers[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2015, 112(1):94-99.
- [10] Marfella R, D'Amico M, Di Filippo C, et al. Myocardial infarction in diabetic rats: role of hyperglycaemia on infarct size and early expression of hypoxia-inducible factor 1 [J]. *Diabetologia*, 2002, 45(8):1172-1181.
- [11] Luciano JA, Tan T, Zhang Q, et al. Hypoxia inducible factor-1 improves the actions of nitric oxide and natriuretic peptides after simulated ischemia-reperfusion[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2008, 21(5/6):421-428.
- [12] Zhang L, Luo X, Chen F, et al. LncRNA SNHG1 regulates cerebrovascular pathologies as a competing endogenous RNA through HIF-1 $\alpha$ /VEGF signaling in ischemic stroke [J]. *J Cell Biochem*, 2018, 119(7):5460-5472.
- [13] Zhang W, Xiong Z, Wei T, et al. Nuclear factor 90 promotes angiogenesis by regulating HIF-1 $\alpha$ /VEGF-A expression through the PI3K/Akt signaling pathway in human cervical cancer [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(3):276.
- [14] Fu SP, He SY, Xu B, et al. Acupuncture promotes angiogenesis after myocardial ischemia through H3K9 acetylation regulation at VEGF gene[J]. *PLoS One*, 2014, 9(4):e94604.
- [15] Ashina K, Tsubosaka Y, Kobayashi K, et al. VEGF-induced blood flow increase causes vascular hyper-permeability in vivo [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2015, 464(2):590-595.

(收稿:2019-02-01 修回:2019-09-02)

(本文编辑:胡晓静)