

# 基于生物信息学的急性缺血性脑卒中后心功能不全 关键基因筛选及验证

孙俊丽<sup>1</sup>, 王昭君<sup>2</sup>, 韩毅<sup>3,4</sup>

(1. 山西医科大学麻醉学院, 太原 030002; 2. 山西医科大学基础医学院生理学系, 细胞生理学教育部重点实验室, 山西省细胞生理学重点实验室, 太原 030002; 3. 山西医科大学第二医院麻醉科, 太原 030001; 4. 朔州市大医院麻醉科, 山西 朔州 036000)

**摘要** **目的** 基于生物信息学方法筛选急性缺血性脑卒中 (IS) 后心功能不全的关键基因及信号通路。**方法** 从基因表达综合 (GEO) 数据库下载GSE102558数据集, 以 $P < 0.05$ 且 $|\log_2FC| > 0.6$ 筛选差异表达基因 (DEG)。Cytoscape软件MCODE插件对蛋白质-蛋白质相互作用 (PPI) 网络进行功能模块分析, CytoHubba插件筛选核心基因。基因本体 (GO) 和京都基因和基因组数据库 (KEGG) 进行富集分析。构建大脑中动脉闭塞模型, 实时PCR验证核心基因的表达情况。**结果** 筛选出的DEG中上调385个, 下调354个。评分前10位的核心基因分别是*Col1a1*、*Col1a2*、*Col3a1*、*Fbn1*、*Postn*、*Col5a1*、*Mmp3*、*Eln*、*Acta2*、*Timp3*。GO分析显示主要富集在细胞外基质、胶原纤维组织、血管发育、蛋白酶结合等方面。KEGG分析显示主要在蛋白质消化和吸收、松弛素、AGE-RAGE、血小板活化等通路富集。实时PCR结果显示*Col3a1*和*Postn* 2个关键基因在急性IS后心脏组织中表达均下降。**结论** *Col3a1*和*Postn*可能与急性IS后心功能不全的发生发展密切相关。

**关键词** 急性缺血性脑卒中; 心脏; 生物信息学; 差异表达基因; 富集分析

中图分类号 R743.3 文献标志码 A 文章编号 0258-4646(2024)09-0769-08

网络出版地址 <https://link.cnki.net/urlid/21.1227.R.20240909.1652.002>

DOI: 10.12007/j.issn.0258-4646.2024.09.001

## Screening and validation of key cardiac dysfunction genes after acute ischemic stroke: a bioinformatics analysis

SUN Junli<sup>1</sup>, WANG Zhaojun<sup>2</sup>, HAN Yi<sup>3,4</sup>

(1. College of Anesthesia, Shanxi Medical University, Taiyuan 030002, China; 2. Department of Physiology, School of Basic Medical, Shanxi Medical University, Key Laboratory of Cell Physiology, Ministry of Education, Shanxi Provincial Key Laboratory of Cell Physiology, Taiyuan 030002, China; 3. Department of Anesthesia, Second Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; 4. Department of Anesthesia, Shuozhou Hospital, Shuozhou 036000, China)

**Abstract** **Objective** To use bioinformatics analysis to identify the key genes and signaling pathways involved in cardiac dysfunction after acute ischemic stroke. **Methods** The GSE102558 dataset was downloaded from the Gene Expression Omnibus (GEO) database, and genes with values of  $P < 0.05$  and  $|\log_2FC| > 0.6$  were identified as being differentially expressed. The MCODE plugin in Cytoscape software performed a functional module analysis of the protein-protein interaction (PPI) network, while the CytoHubba plugin screened for core genes. Gene Ontology (GO) and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) enrichment analyses were also performed. A middle cerebral artery occlusion model was constructed to verify core gene expression using real-time PCR. **Results** Among the screened differential genes, 385 were upregulated and 354 were downregulated. The top ten core genes were *Col1a1*, *Col1a2*, *Col3a1*, *Fbn1*, *Postn*, *Col5a1*, *Mmp3*, *Eln*, *Acta2*, and *Timp3*. The GO enrichment mainly involved the extracellular matrix, the collagen fiber tissue, vascular development, and protease binding. KEGG was mainly enriched in protein digestion and absorption, the relaxin pathway, advanced glycation end products-receptor for advanced glycation end products, and platelet activation. Real-time PCR verified that *Col3a1* and *Postn* expressions decreased in the heart tissue after acute ischemic stroke. **Conclusion** *Col3a1* and *Postn* expressions may be closely associated with cardiac dysfunction occurrence and development after acute ischemic stroke.

**Keywords** acute ischemic stroke; heart; bioinformatics; differential expression gene; enrichment analysis

基金项目: 国家自然科学基金青年基金 (81400260); 山西省应用基础研究基金 (20210302123267); 山西省卫生健康委科研课题 (2022020); 首都医科大学重点实验室开放研究课题 (DXWL2022-05)

作者简介: 孙俊丽 (1997-), 女, 硕士研究生。

通信作者: 韩毅, E-mail: 13753171979@163.com

收稿日期: 2023-07-14

网络出版时间: 2024-09-10 15:50:57

脑卒中是导致全球死亡的主要原因之一,缺血性脑卒中(ischemic stroke, IS) 占有卒中病例的62.4%<sup>[1]</sup>。神经损伤和心血管并发症为IS的常见死因<sup>[2]</sup>。1947年, BYER等<sup>[3]</sup>首次报道脑血管疾病可引起心肌损伤和心律失常。急性脑缺血可诱发心律失常、充血性心力衰竭、心脏骤停和心房颤动等异常表现,甚至导致死亡。然而,卒中导致的心肌损伤、微循环障碍等多个病理机制尚未完全阐明,且临床上缺乏有效的诊断方法和预防措施,因此,探讨卒中后心脏并发症的分子机制,对实现其早期诊断和治疗有重要意义。

生物信息学通过结合生物学与计算科学,在揭示疾病的分子机制中发挥重要作用。本研究基于基因表达综合(gene expression omnibus, GEO) 数据库,通过生物信息学方法,初步筛选出急性IS后心功能不全发生过程中的差异表达基因(differential expressed genes, DEG),为卒中后心功能不全的发生机制提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 数据下载和整理

从GEO数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo>) 下载急性IS后心脏组织数据集GSE102558。其中大脑中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO) 组和假手术组各6个样本。

### 1.2 DEG筛选

采用R语言devtools包进行主成分分析(principal components analysis, PCA); Limma包对数据进行差异表达分析,  $P < 0.05$ 且 $|\log_2FC| > 0.6$ 作为DEG筛选标准。

### 1.3 蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI) 网络构建及关键基因筛选

利用String网站(<http://www.string-db.org/>) 对DEG进行分析,以中度置信度0.4作为显著标准,获得PPI结果。Cytoscape 3.9.0软件的MCODE插件对PPI网络进行功能模块分析。选择Cytoscape插件中的MCC算法,筛选评分前10位的核心基因。

### 1.4 DEG的基因本体(Gene Ontology, GO) 和京都基因和基因组数据库(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 富集分析

GO富集包含生物过程(biological process, BP)、

细胞组分(cellular component, CC) 和分子功能(molecular function, MF)。KEGG则在分子通路水平研究特定的生物进程。使用DAVID数据库(<https://david.ncifcrf.gov/>) 进行GO和KEGG富集分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

### 1.5 MCAO模型建立

6~8周SPF级C57B/6J雄性小鼠,体重20~25 g,购自山西医科大学实验动物中心。本研究获得山西医科大学第二医院伦理委员会审查(伦理备案号: DW2023019)。MCHO组采用1%戊巴比妥钠(80 mg/kg) 腹腔注射麻醉小鼠,仰卧位固定。颈部备皮消毒后颈正中切口,分离左侧颈总、颈外及颈内动脉,结扎颈外、颈总动脉并在颈总动脉远端三角分叉处打一活结,微动脉夹夹闭颈内动脉,在颈总动脉剪口,将线栓(北京西浓, 1620A4) 插入颈总动脉后松开颈内动脉夹,沿颈内动脉插入,有明显阻力时停止,固定线栓。缺血1 h后,拔出线栓,恢复血供,缝合伤口,于造模24 h后取心脏组织,与数据集模型一致。假手术组按上述操作进行,但不置入线栓。

### 1.6 神经功能评分

再灌注24 h后,使用经改良后的Longa神经功能学评分<sup>[4]</sup>评估模型成功率,排除无明显异常活动行为、无自主活动可伴有意识障碍或死亡的小鼠。

### 1.7 2,3,5-三苯基氯化四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC) 染色测定梗死体积

再灌注24 h给予过量麻醉小鼠后,取出大脑, -20 °C冷冻20 min, 2 mm厚度行冠状切片。2% TTC溶液, 37 °C孵育30 min。染色结束用4%多聚甲醛固定后拍照,正常组织呈红色,梗死区呈灰白色。使用Image J计算梗死面积。

### 1.8 超声心动图

超声心动图检查小鼠急性IS 24 h后心功能情况。使用GE Vivid 7-Dimension超声仪M模式成像获得左心室胸骨旁短轴视图。统计左心室缩短分数(fractional shortening, FS)、射血分数(ejection fraction, EF)、左心室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic dimension, LVIDd) 和左心室收缩末期内径(left ventricular end-systolic diameter, LVSDs)。

### 1.9 实时PCR 验证关键基因表达

按照聚合酶链式反应(M5 RNA快速提取试剂盒说明书) 提取小鼠心脏组织RNA,用紫外分光光度计测量RNA

的浓度及纯度。聚合美M5反转录试剂盒将RNA反转录成cDNA后,使用2x Realtime PCR Super mix 试剂盒

进行基因表达检测。以 $\beta$ -actin为内参, $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 相对定量法分析待测基因的转录水平。所用引物序列见表1。

表1 引物序列  
Tab.1 Primer sequence

Gene	Forward primer	Reverse primer
<i>Postn</i>	5'-TTTACAACGGGCAAATACTGAAAC-3'	5'-GATGATCTCGCGGAATATGTGAA-3'
<i>Col3a1</i>	5'-CCCAACCCAGAGATCCCATT-3'	5'-GAAGCACAGGAGCAGGTCTAGA-3'
$\beta$ -actin	5'-GATCTGGCACCACACCTTCT-3'	5'-GGGGTGTGAAGGTCTCAAAA-3'

### 1.10 统计学分析

采用GraphPad Prism 8.0.2软件进行数据统计学处理以绘图,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

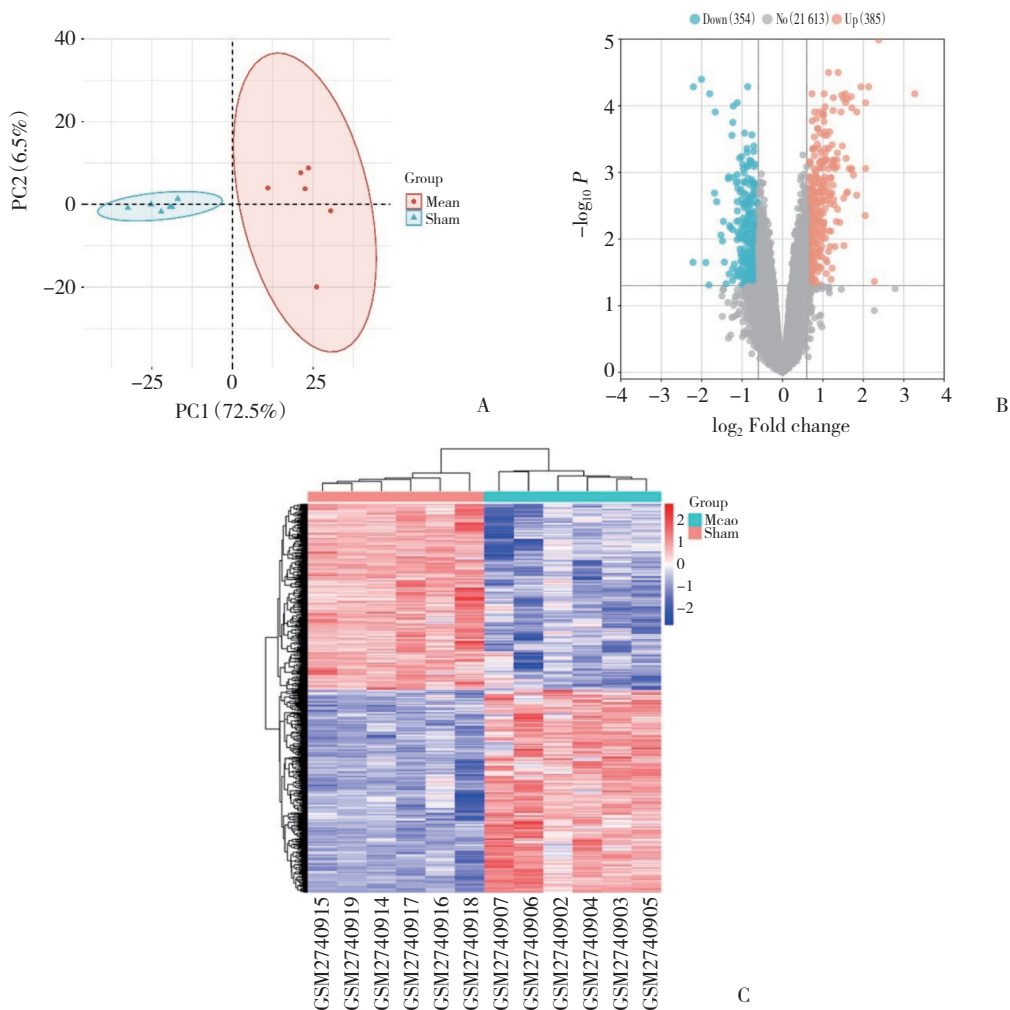
## 2 结果

### 2.1 MCAO小鼠 24 h后心脏组织DEG表达情况

PCA结果显示,2组样本间有明显的群体偏差聚类,见图1A。GSE102558数据集DEG分析结果显示,共有739个DEG,其中上调基因385个,下调基因354个。DEG火山图及热图见图1B、1C。排名前10位的上调基因及下调基因见表2、3。

### 2.2 PPI构建及关键基因的筛选

筛选出的DEG在String网站上分析,获得PPI网



A, visualized principal component analysis; B, DEG volcano map; C, heatmap of upregulated and downregulated genes.

图1 DEG的表达情况

Fig.1 Expression of DEG

络。使用MCODE插件对PPI网络进行功能模块筛选，见图2。

前10位的核心基因，分别为*Col1a1*、*Col1a2*、*Col3a1*、*Fbn1*、*Postn*、*Col5a1*、*Mmp3*、*Eln*、*Acta2*、*Timp3*，见图3。

Cytoscape软件对PPI网络进行拓扑分析，筛选评分

### 2.3 GO 富集分析和 KEGG 通路分析

表2 MCAO小鼠24 h后心脏组织上调DEG的情况

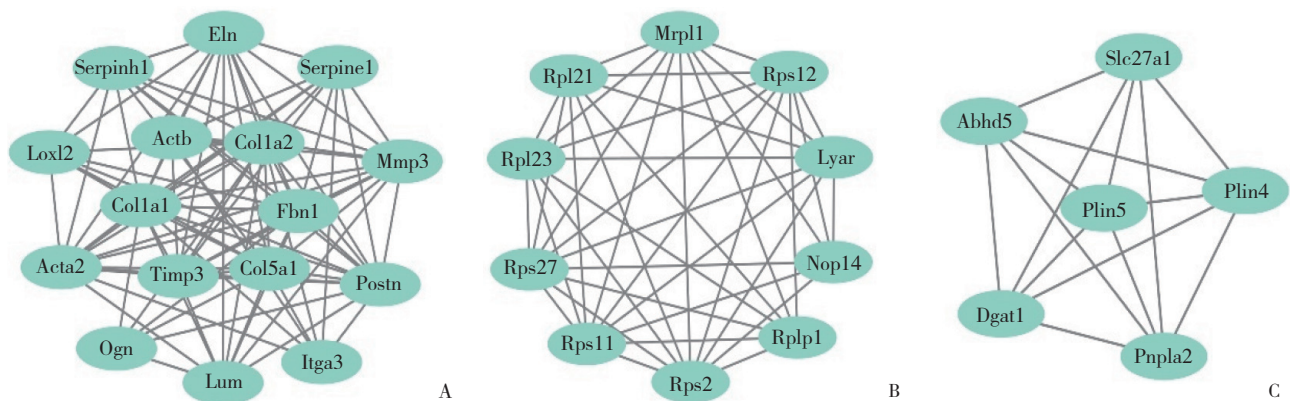
Tab.2 Upregulation of differentially regulated genes in the heart tissue of MCAO mice after 24 h

Gene	Log <sub>2</sub> FC	P	Adjust P
<i>Fkbp5</i>	3.271 966	3.84E-08	6.61E-05
<i>Nr4a1</i>	2.379 354	4.62E-10	1.03E-05
<i>Hamp</i>	2.273 160	0.003 644	0.043 388
<i>Map3k6</i>	2.130 331	1.63E-08	5.20E-05
<i>Slc10a6</i>	2.056 017	8.48E-08	9.02E-05
<i>Hmgcs2</i>	2.055 935	4.09E-06	0.000 874
<i>Scd4</i>	2.044 461	6.35E-05	0.004 435
<i>Arrdc2</i>	1.943 115	1.39E-08	5.18E-05
<i>8430408G</i>	1.837 633	1.72E-07	0.000 124
<i>Car4</i>	1.836 969	1.98E-05	0.002 205

表3 MCAO小鼠24 h后心脏组织下调DEG的情况

Tab.3 Downregulation of differentially expressed genes in the heart tissue of MCAO mice after 24 h

Gene	Log <sub>2</sub> FC	P	Adjust P
<i>Sft2d1</i>	-2.214 31	0.001 102	0.022 337
<i>Itgb6</i>	-2.205 40	1.86E-08	5.20E-05
<i>Aplnr</i>	-2.005 47	7.18E-09	4.01E-05
<i>Lce1j</i>	-1.897 30	0.001 115	0.022 503
<i>Igkj5</i>	-1.818 98	0.004 553	0.048 892
<i>Tuba4a</i>	-1.801 32	3.52E-08	6.60E-05
<i>Gm8526</i>	-1.683 15	1.72E-05	0.002 037
<i>Lmod3</i>	-1.665 30	1.50E-07	0.000 124
<i>Col3a1</i>	-1.628 67	2.78E-05	0.002 742
<i>Postn</i>	-1.525 15	0.000 217	0.008 710



A, MCODE module screening ranked first; B, MCODE module screening ranked second; C, MCODE module screening ranked third.

图2 DEG的PPI网络功能模块的筛选

Fig.2 Screening of functional modules of PPI networks

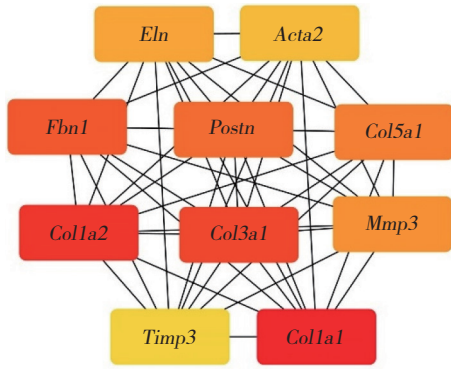


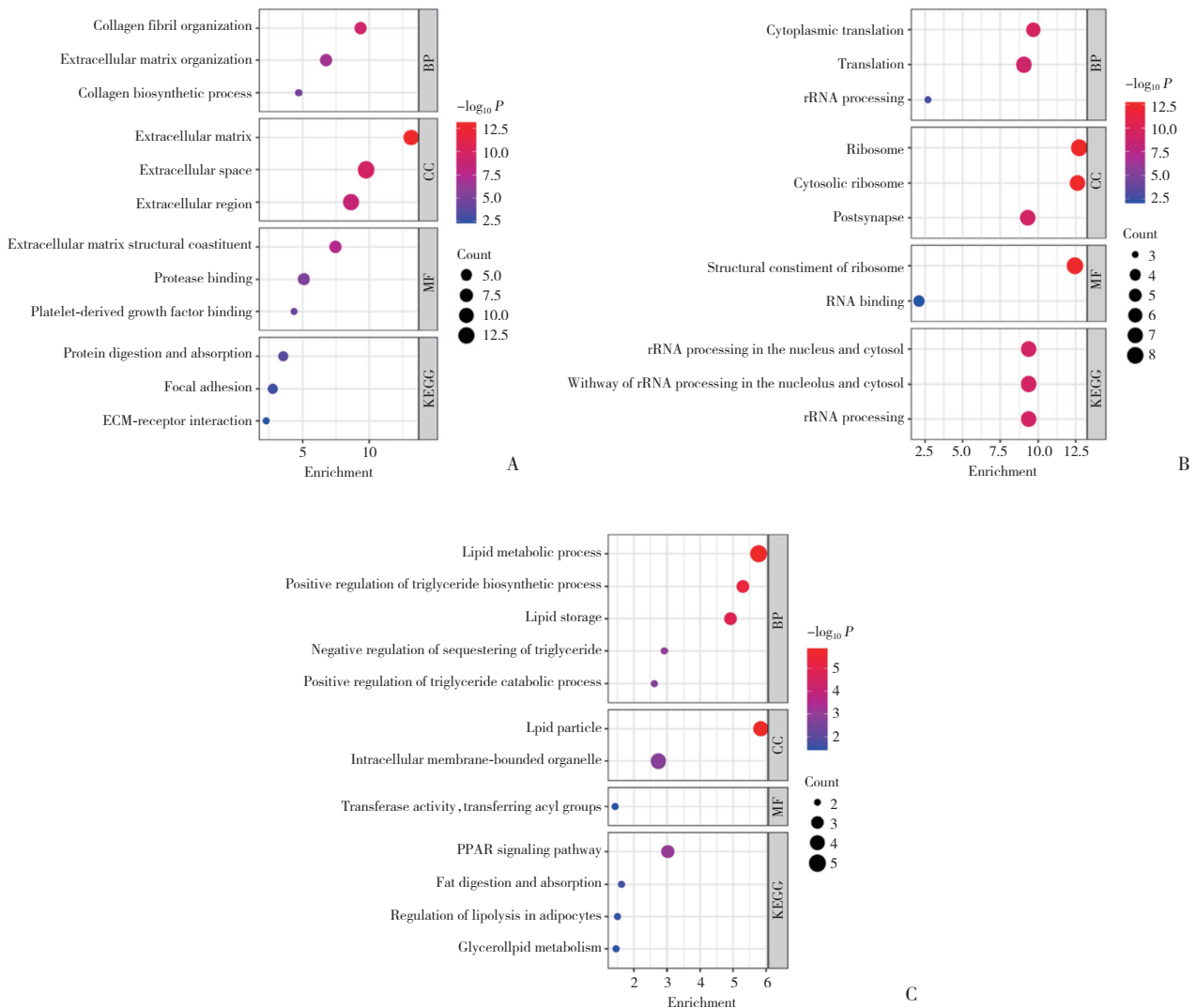
图3 关键基因的筛选

Fig.3 Screening of key genes

DAVID数据库对排名前3位的功能模块和核心基因GO和KEGG分析结果显示,模块1的基因主要在

蛋白质消化吸收、胶原纤维组织、细胞外基质 (extra-cellular matrix, ECM) 的相互作用等富集(图4A); 模块2的基因主要涉及核糖体的加工和处理、细胞质翻译等(图4B); 模块3的基因主要富集在脂质消化与吸收、脂质颗粒、PPAR信号通路等(图4C)。

MCC算法筛选出的前10位核心基因,其BP主要富集在细胞外基质、胶原纤维组织、血管发育等,CC主要在细胞外基质细胞外间隙、胶原三聚体、基底膜等,MF主要涉及细胞外基质结构成分、血小板衍生生长因子结合、细胞外基质结构性成分赋予拉伸强度、蛋白酶结合,KEGG主要富集在蛋白质消化和吸收、松弛素通路、AGE-RAGE通路在糖尿病并发症中的作用等通路,见图5。



A, MCODE1 functional module GO/KEGG enrichment analysis; B, MCODE2 functional module GO/KEGG enrichment analysis; C, MCODE3 functional module GO/KEGG enrichment analysis.

图4 排名前3位的MCODE功能模块GO/KEGG富集分析结果

Fig.4 GO/KEGG enrichment analysis results of the top three MCODE functional modules

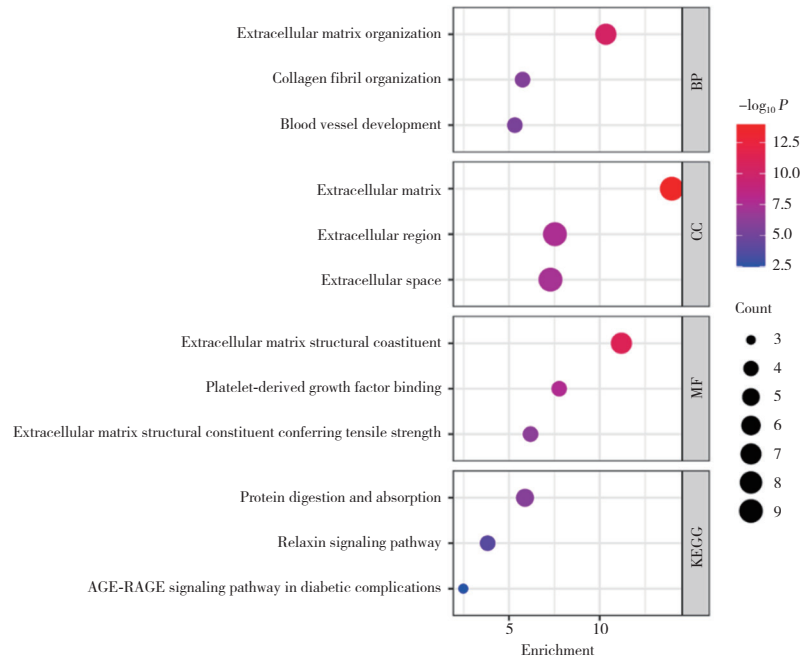


图5 10个关键基因GO/KEGG富集分析结果

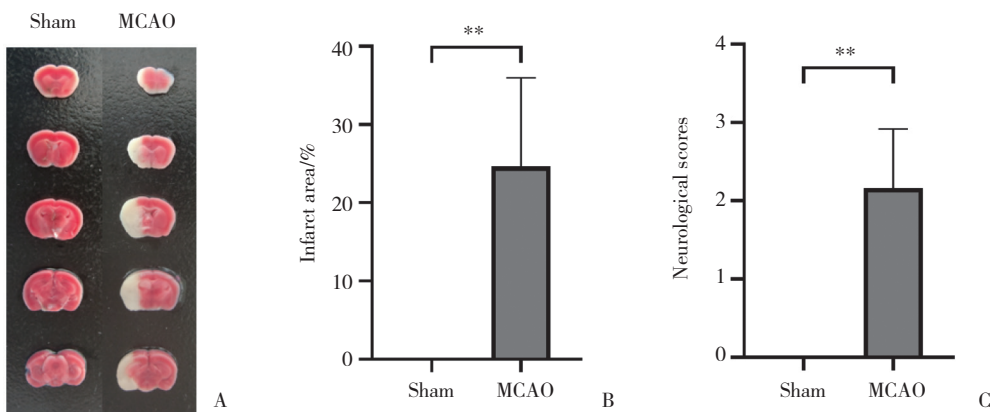
Fig.5 GO/KEGG enrichment analysis results of 10 key genes

为了进一步缩小核心基因的范围, MCC前10位的基因与DEG中上调和下调倍数最高的20个基因求取交集, 筛选出*Col3a1*、*Postn* 2个核心基因, 在MCAO小鼠心脏组织中表达均下调。

#### 2.4 神经功能学评分和TTC染色评估MCAO模型

TTC染色结果显示, MCAO组梗死体积明显增加, MCAO模型构建成功(图6A、6B)。Longa神经行为学评分显示, 与假手术组比较, MCAO组神经功能评分显著增高, 有统计学差异( $P < 0.05$ , 图6C)。

#### 2.5 急性IS对心功能的影响



A, graph of TTC staining results; B, statistics of TTC staining results; C, statistical analysis of the neurological scoring results. \*\* $P < 0.01$ .

图6 神经功能学评分和TTC染色评估MCAO模型

Fig.6 Neurofunctional score and TTC staining evaluation of MCAO model

采用超声心动图来评估心功能。结果显示, 与假手术组相比, MCAO组LVFS和LVEF均有所下降, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。MCAO组的LVID<sub>s</sub>高于假手术组( $P < 0.05$ )。2组的LVID<sub>d</sub>比较, 差异无统计

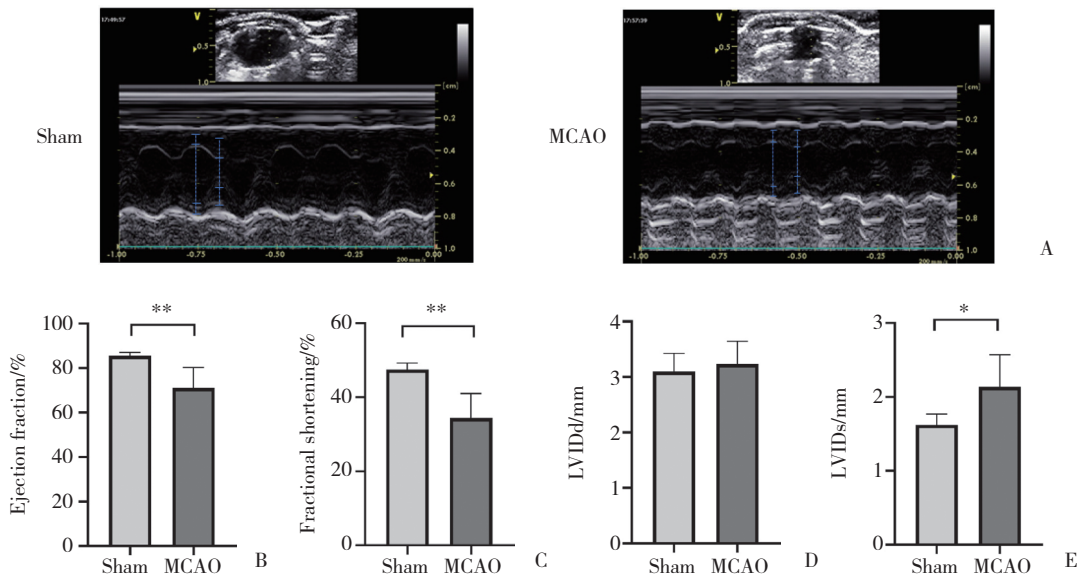
学意义( $P > 0.05$ )。提示急性IS后心功能下降。见图7。

#### 2.6 实时PCR验证核心基因的表达

采用实时PCR技术检测2组心脏组织中关键基

因的表达。结果显示, *Postn*和*Col3a1*在MCAO组心脏组织中表达显著低于假手术组, 差异有统计学意义

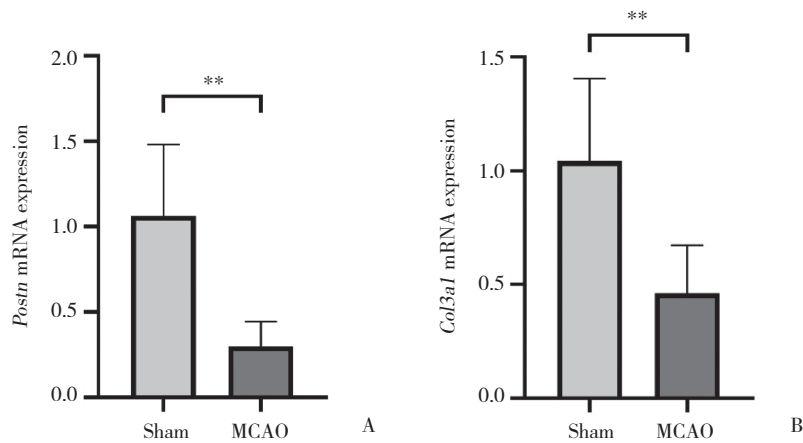
( $P < 0.05$ ), PCR结果与生物信息分析结果一致, 见图8。



A, representative echocardiographic images 24 hours after MCAO; B, LVEF result statistics; C, LVFS result statistics; D, LVVIDd result statistics; E, LVVIDs result statistics. \* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ .

图7 大脑MCAO后对小鼠心功能的影响

Fig.7 The effect of occlusion of the middle cerebral artery on cardiac function in mice



A, *Postn* mRNA expression in cardiac tissue; B, *Col3a1* mRNA expression in cardiac tissue. \*\* $P < 0.01$ ,  $n = 6$ .

图8 假手术组和MCAO组 2个关键基因的相对表达

Fig.8 Relative expression of two key genes between sham group and MCAO group

### 3 讨论

本研究通过GEO数据库筛选出急性IS后心脏组织评分前10的核心基因, 分别为*Col1a1*、*Col1a2*、*Col3a1*、*Fbn1*、*Postn*、*Col5a1*、*Mmp3*、*Eln*、*Acta2*、*Timp3*。富集分析结果显示, DEG主要在含有胶原蛋白的细胞外基质、胶原纤维组织中显著富集, 可见胶原蛋

白以及细胞外基质在IS后心功能不全的发病进程中发挥重要作用。结合DEG中上调和下调倍数最高的20个基因, 筛选出*Col3a1*、*Postn* 2个核心基因, 其表达在MCAO小鼠心脏组织中均下调。

*Col3a1*基因编码的Ⅲ型胶原蛋白, 是一种细胞外基质蛋白<sup>[5]</sup>。Ⅲ型胶原蛋白是血管的重要结构成分, 并为许多器官提供抗拉强度和完整性。胶原蛋

白作为ECM的主要成分,当其表达增加时,ECM过度积累导致组织纤维化。研究<sup>[6-7]</sup>表明,ECM沉积可导致心肌僵硬,增加心律失常风险,破坏心肌细胞间耦合,导致心功能下降和心力衰竭。心肌损伤(如心肌梗死)可导致*Col5a1*与*Col1a1*或*Col3a1*的表达增加。在心肌梗死或高血压性心肌纤维化早期,Ⅲ型胶原较Ⅰ型胶原先沉积。研究<sup>[8]</sup>发现,抑制心脏成纤维细胞中 $\beta$ -catenin的功能,可降低*Col1a1*、*Col3a1*和*Postn*基因表达,减轻心肌肥厚。表明*Col3a1*的表达失调可对心脏功能产生影响。

*Postn*基因编码骨膜蛋白,是一种分泌的细胞外基质蛋白,参与细胞黏附和胶原蛋白组织<sup>[9]</sup>。研究<sup>[10]</sup>发现,*Postn*参与心脏重构和心肌纤维化。骨膜蛋白与胶原蛋白水平呈正相关。另有研究<sup>[11]</sup>表明,小鼠缺失*Postn*基因虽然可以减少心肌梗死后的纤维化、改善心室功能,但会使心肌成纤维细胞不能完全发挥作用,不能在梗死损伤后产生适当的纤维疤痕,从而增加心室壁破裂风险,降低梗死早期愈合阶段的生存率。

本研究超声心动图结果显示,MCAO组小鼠的LVFS和LVEF均有所下降,表明急性IS后心肌收缩力降低,心功能下降。实时PCR结果显示,MCAO组*Col3a1*、*Postn*表达较假手术组降低,与数据集分析结果一致。表明在MCAO缺血左侧脑梗1 h后,ECM及胶原蛋白减少,心脏并未向肥厚和纤维化发展。有研究<sup>[12]</sup>表明,小鼠左侧MCAO缺血1 h,表现出心脏重量迅速下降和心肌细胞萎缩,*Col3a1*和*Col5a1*表达下降。BIEBER等<sup>[13]</sup>在MCAO中缺血30 min,术后8周检测心脏只有轻微变化。也有研究<sup>[14]</sup>报道右脑局灶性缺血30 min数周后会出现心脏肥厚,并伴有交感神经的过度活动。这种差异是由于脑缺血持续时间和梗死面积大小,以及脑梗死部位不同引起<sup>[15]</sup>,可能的机制包括岛叶皮质损伤、自主神经失衡、儿茶酚胺激增、心肌离子通道改变、免疫反应和全身炎症反应等<sup>[2]</sup>。

综上所述,*Col3a1*与*Postn*是急性IS后心功能不全的2个关键基因;*Col3a1*与*Postn*可能与急性IS后心功能不全的发展密切相关。

#### 参考文献:

- [1] 2019 STROKE COLLABORATORS GBD. Global, regional, and national burden of stroke and its risk factors, 1990-2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019 [J]. *Lancet Neurol*, 2021, 20 (10): 795-820. DOI: 10.1016/S1474-4422 (21) 00252-0.
- [2] LIN HB, LI FX, ZHANG JY, et al. Cerebral-cardiac syndrome and diabetes: cardiac damage after ischemic stroke in diabetic state [J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 737170. DOI: 10.3389/fimmu.2021.737170.
- [3] BYER E, ASHMAN R, TOTH LA. Electrocardiograms with large, upright T waves and long Q-T intervals [J]. *Am Heart J*, 1947, 33 (6): 796-806. DOI: 10.1016/0002-8703 (47) 90025-2.
- [4] LONGA EZ, WEINSTEIN PR, CARLSON S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20 (1): 84-91. DOI: 10.1161/01.str.20.1.84.
- [5] KUIVANIEMI H, TROMP G. Type III collagen (COL3A1): gene and protein structure, tissue distribution, and associated diseases [J]. *Gene*, 2019, 707: 151-171. DOI: 10.1016/j.gene.2019.05.003.
- [6] UMBARKAR P, SINGH AP, TOUSIF S, et al. Repurposing Nintedanib for pathological cardiac remodeling and dysfunction [J]. *Pharmacol Res*, 2021, 169: 105605. DOI: 10.1016/j.phrs.2021.105605.
- [7] YOKOTA T, MCCOURT J, MA FY, et al. Type V collagen in scar tissue regulates the size of scar after heart injury [J]. *Cell*, 2020, 182 (3): 545-562.e23. DOI: 10.1016/j.cell.2020.06.030.
- [8] XIANG FL, FANG M, YUTZEY KE. Loss of  $\beta$ -catenin in resident cardiac fibroblasts attenuates fibrosis induced by pressure overload in mice [J]. *Nat Commun*, 2017, 8 (1): 712. DOI: 10.1038/s41467-017-00840-w.
- [9] ZHAO S, WU HF, XIA WL, et al. Periostin expression is upregulated and associated with myocardial fibrosis in human failing hearts [J]. *J Cardiol*, 2014, 63 (5): 373-378. DOI: 10.1016/j.jjcc.2013.09.013.
- [10] MINICUCCI MF, DOS SANTOS PP, RAFACHO BPM, et al. Periostin as a modulator of chronic cardiac remodeling after myocardial infarction [J]. *Clinics*, 2013, 68 (10): 1344-1349. DOI: 10.6061/clinics/2013 (10) 09.
- [11] NIKOLOUDAKI G, SNIDER P, SIMMONS O, et al. Periostin and matrix stiffness combine to regulate myofibroblast differentiation and fibronectin synthesis during palatal healing [J]. *Matrix Biol*, 2020, 94: 31-56. DOI: 10.1016/j.matbio.2020.07.002.
- [12] VELTKAMP R, UHLMANN S, MARINESCU M, et al. Experimental ischaemic stroke induces transient cardiac atrophy and dysfunction [J]. *J Cachexia Sarcopenia Muscle*, 2019, 10 (1): 54-62. DOI: 10.1002/jcsm.12335.
- [13] BIEBER M, WERNER RA, TANAI E, et al. Stroke-induced chronic systolic dysfunction driven by sympathetic overactivity [J]. *Ann Neurol*, 2017, 82 (5): 729-743. DOI: 10.1002/ana.25073.
- [14] HU YL, WANG XH, DING FY, et al. Periostin renders cardiomyocytes vulnerable to acute myocardial infarction via pro-apoptosis [J]. *ESC Heart Fail*, 2022, 9 (2): 977-987. DOI: 10.1002/ehf2.13675.
- [15] SILVANI A, CALANDRA-BUONAUURA G, DAMPNEY RAL, et al. Brain-heart interactions: physiology and clinical implications [J]. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*, 2016, 374 (2067): 20150181. DOI: 10.1098/rsta.2015.0181.

(编辑 于 溪)