

黄芪提取物对大鼠局灶性脑缺血再灌注血脑屏障损伤的影响

黄茸茸¹, 李卫平^{2*}, 李维祖² (1.安徽新华学院药学院, 合肥 230088; 2.安徽医科大学基础医学院药理教研室, 合肥 230038)

摘要: 目的 研究黄芪提取物(extract of astragalus, EA)对大鼠局灶性脑缺血(MCAO)再灌注的血脑屏障损伤的影响。方法 采用线栓法制备 MCAO 再灌注模型, 观察 EA 对缺血再灌注大鼠的神经功能障碍、脑梗死体积和脑含水量、外周血循环内皮细胞(CEC)含量、缺血脑组织中细胞间粘附分子(ICAM-1)的表达、缺血侧脑组织皮质血脑屏障超微结构的病理学变化的影响。结果 EA80 mg·kg⁻¹, EA(40, 80 mg·kg⁻¹)、EA(20, 40, 80 mg·kg⁻¹)可分别改善缺血再灌注 2, 8, 24 h 大鼠的神经功能障碍; 能明显降低外周血中的 CEC 含量, 明显减轻缺血脑组织的脑水肿和脑梗死体积, 对脑缺血再灌注后血脑屏障超微结构的病理改变有一定的改善作用; 能减少 ICAM-1 免疫反应阳性血管数。结论 EA 对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠有一定的保护作用, 作用机制可能与其保护血管内皮细胞, 减轻脑缺血再灌注后的血脑屏障损伤有关。

关键词: 黄芪提取物; 局脑缺血; 再灌注损伤; 血脑屏障; ICAM-1; 血循环内皮细胞

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2010)11-1064-05

Effect of Extract of Astragalus on Alterations of Blood Brain Barrier Induced by Local Cerebral Ischemia-reperfusion Injury

HUANG Rongrong¹, LI Weiping^{2*}, LI Weizu² (1.College of Pharmacy, Anhui Xinhua University, Hefei 230088, China; 2.Parmacology Teaching and Research, College of Basic Medical, Anhui Medical University, Hefei 230038, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To study the effect of extract of astragalus (EA) on alterations of blood brain barrier after local cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. **METHODS** Middle cerebral artery occlusion (MCAO) was used to make local cerebral ischemia-reperfusion model with intravascular nylon filament occlusion. The neurological function score, brain edema and infarct volume, the counts of peripheral blood circulating cells, the expression of intercellular adhesion molecule-1, pathological changes in blood-brain barrier ultrastructure in rats after focal cerebral ischemia-reperfusion were observed. **RESULTS** EA 80 mg·kg⁻¹ decreased the neurological function score; EA(40 and 80 mg·kg⁻¹) reduced brain edema and infarct volume, the counts of peripheral blood circulating cells, pathological changes in blood-brain barrier ultrastructure; EA(20, 40 and 80 mg·kg⁻¹) decreased the expression of intercellular adhesion molecule-1 in brain tissue. **CONCLUSION** EA has protective effects against cerebral ischemia reperfusion injuries, the mechanism may be related with reducing BBB injury induced by local cerebral ischemia-reperfusion.

KEY WORDS: extract of astragalus; local cerebral ischemia; reperfusion injury; blood-brain barrier; intercellular adhesion molecule-1; peripheral blood circulating cells

基金项目: 安徽省十五攻关项目(001803016); 安徽省自然科学基金资助项目(00044416)

作者简介: 黄茸茸, 女, 硕士, 讲师 Tel: 13966662620 E-mail: miyababy@163.com *通信作者: 李卫平, 男, 博士, 教授 Tel: 13905515161 E-mail: lwp19@126.com

对缺血性脑损伤机制的研究一直是国内外医学界研究的热点。近来有研究表明,血脑屏障(blood-brain barrier, BBB)破坏是缺血再灌注性脑损伤的重要病理生理基础^[1]。缺血和再灌注早期伴随着细胞因子、粘附分子表达并促使缺血性损伤向炎性损伤转变。白细胞聚集、浸润,产生大量的蛋白水解酶、氧自由基和其他效应分子,导致脑毛细血管内皮细胞及其基底膜损害,诱发血管源性水肿和出血^[2]。脑缺血时,保护血脑屏障的完整性是减轻脑损伤的重要措施。

黄芪是传统抗脑缺血中药之一,黄芪提取物(extract of astragalus, EA)是从黄芪中提取的有效成分,主要包括黄芪总苷(astragalosides, AST)和黄芪多糖(astragalus polysaccharides, APS)。本课题组前期工作研究表明,EA对局灶性脑缺血再灌注损伤具有较好的保护作用^[3],且与其抑制炎症性损伤有关。本实验采用线栓法制备大鼠局灶性脑缺血(MCAO)再灌注模型,主要观察EA对局脑缺血再灌注大鼠的外周血循环内皮细胞(CEC)含量,缺血脑组织中细胞间粘附分子(ICAM-1)的表达及缺血侧脑组织血脑屏障超微结构的病理学变化等方面的影响,从而进一步探讨黄芪提取物对MCAO再灌注血脑屏障损伤的影响。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 Sprague-Dawley 大鼠,体重 250~300 g,♂,安徽医科大学实验动物中心提供(试验动物合格证号:皖医实动准第 01 号)。

1.1.2 主要仪器 血细胞计数板(德国 NEUBAUER 公司);BH-2 光学显微镜(日本 OLYMPUS 公司);Eclipse E800 显微镜(日本 Nikon 公司);Spot Advanced 显微摄像系统(美国 Diagnostic Instruments Inc);4.01 版 MetaMorph 图像分析系统(美国 Universal Imaging Inc);JEOL-1230 型透射式电子显微镜(日本电子株式会社)。

1.1.3 药品与试剂 EA 由黄芪总苷和黄芪多糖按 1:3 比例组成(合肥市恒星药物研究所提供,批号:20071106),用时以 0.5%CMC-Na 配制。阿司匹林(Aspirin, ASA)肠溶片(合肥久联制药有限公司,批号:20070826)。多聚赖氨酸(sigma 公司)。直径 0.235 mm 鱼线(日本 PATU 公司)。红四氮唑(triphenyltetrazolium chloride, TTC)(中国医药集团上海化学试剂公司,批号:F200606010)。二磷酸

腺苷(adenosine diphosphate, ADP)(Sigma 公司)。枸橼酸盐缓冲液粉剂(pH=6.0, 编号:AR0024),PBS 缓冲液粉剂(编号 AR0030),免疫组化即用型 SABC(过氧化物酶)试剂盒(编号 SA1022,批号:200802),ICAM-1-抗(兔抗多克隆抗体,编号 BA0541,批号:200801),均购自武汉博士德生物工程公司。

1.2 方法

1.2.1 分组及给药 取 SD 大鼠,♂,随机分为 6 组:假手术组、模型组、EA(20, 40, 80 mg·kg⁻¹)组、ASA 阳性药对照(40 mg·kg⁻¹)组,灌胃给药,每天 1 次,连续 6 d,术前 12 h 禁食不禁水,第 6 次给药后 1 h 行缺血再灌注,再灌注期间给药 1 次。假手术组和模型组灌胃等容量 0.5%CMC-Na 溶液。

1.2.2 大鼠局灶性脑缺血再灌注模型制备 综合 Nagasawa 法^[4]和 Longa 法^[5]并略加改良,制备右侧大脑中动脉栓塞 2 h 再灌注 24 h 模型。模型成功标志:大鼠苏醒后出现①右眼 Horner 征(眼睑下垂,眼球凹陷);②提尾时左前肢内收屈曲;③爬行时向左侧倾倒或按逆时针方向转圈。因麻醉意外、MCAO 手术失败、术后 50 min 内仍未苏醒及入选大鼠断头取脑后发现蛛网膜下腔出血者均弃去不用。假手术组仅将颈总、颈内、颈外动脉游离出来,不做插线处理。

1.2.3 神经功能学评分 各组大鼠 MCAO 后 2 h,于再灌注 2, 8, 24 h 采用 Bederson 方法^[6]对大鼠的神经缺损评分,满分为 11 分,分数越高,神经功能障碍越严重。

1.2.4 脑梗死体积和脑含水量的测定 大鼠 MCAO 2 h 再灌注 24 h 后,迅速断头取脑。将脑置于冰生理盐水中去除嗅球、小脑和低位脑干,用滤纸吸取水分后称取脑湿重。然后将脑组织放入 -20 ℃ 冷冻 5~10 min,取出后按文献^[7]将脑组织沿冠状面切成 5 片,立即进行 TTC 染色。经染色正常脑组织呈玫瑰红色,梗死部位呈苍白色。按颜色小心分离脑组织的梗死区和非梗死区称重,以重量求体积法计算梗死部位占全脑体积的百分比如下:

梗塞百分比/%=苍白区重量/(苍白区重量+非苍白区重量)×100%

将染色后的脑组织置于 110 ℃ 烘箱内烘干至恒重,求出脑含水量如下:

脑组织含水量/%=(脑组织湿重-脑组织干

重)/脑组织湿重×100%

1.2.5 CEC 含量测定 按“1.2.1”项下方法分组及给药,再灌注 24 h 后麻醉,于腹主动脉取血,用 3.8%枸橼酸钠抗凝待测。分离 CEC 的方法采用 Hladovec 建立的从富含血小板血浆中分离 CEC 的方法^[8]。

计数时,使重悬液充分混合后,取其一小滴加入血细胞计数板上,在光镜下计数全部 9 个大方格中的 CEC 数。同一标本计数 2 次,取其平均值作为 CEC 数,以细胞数·(0.9 μL)⁻¹表示(0.9 μL 为 9 个大方格的容积)。

1.2.6 测定缺血脑组织皮质中 ICAM-1 的表达 用免疫组化 SABC 法测定,DAB 法染色显示 ICAM-1 免疫反应阳性血管。阴性对照用 0.1 mmol·L⁻¹ MPBS 代替一抗,其余步骤同上。每组动物取 4 张切片,每张切片在缺血侧大脑中动脉(MCA)供血区域的皮质区随机取 4 个视野(×200 倍),光镜下进行皮质区 ICAM-1 免疫反应阳性血管计数。

1.2.7 观察大鼠缺血侧脑组织皮质血脑屏障超微结构的病理学变化 透射电镜法:①将固定后的 1 mm³ 组织块取出,按常规电镜样品制备程序漂洗、脱水、浸透及环氧树脂包埋;②超薄(50 nm)切片后,将切片捞至载网上,干燥后行铅铀(醋酸铀和柠檬酸铅)双染;③于透射电镜下观察网孔中细胞、微血管形态及血脑屏障超微结构的变化并摄片。

1.3 统计学分析

数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 10.0 版统计软件进行统计,用 One-Way ANOVA 分析,组间两两比较用 LSD 法。

2 结果

2.1 EA 对局灶性脑缺血再灌注大鼠神经功能障碍的影响

除假手术组外,其余各组大鼠在再灌注各时间点均有不同程度的神经功能缺失。与模型组比较,EA 80 mg·kg⁻¹ 组和 ASA 组可改善 2 h 的神经功能障碍,EA 40, 80 mg·kg⁻¹ 组和 ASA 组可降低 8 h 的神经功能评分,各用药组均可明显改善 24 h 的神经功能障碍。结果见表 1。

2.2 EA 对 MCAO 再灌注大鼠脑含水量、脑梗死体积的影响

与假手术组比较,模型组脑组织含水量和脑梗死体积明显增加($P<0.01$)。EA(20, 40, 80 mg·kg⁻¹)

表 1 EA 对 MCAO 再灌注大鼠神经功能障碍的影响 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Tab 1 Effect of EA on neurological function evaluation of rats after MCAO reperfusion injury ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ mg·kg ⁻¹	评分		
		2 h	8 h	24 h
假手术组	—	0	0	0
模型组	—	8.63±1.06 ¹⁾	7.00±0.93 ¹⁾	5.38±0.92 ¹⁾
EA	20	8.25±1.04	6.88±0.83	4.38±1.06 ²⁾
	40	7.88±1.25	6.13±0.64 ²⁾	4.13±0.83 ²⁾
	80	7.38±0.92 ²⁾	6.00±0.76 ²⁾	4.25±0.89 ²⁾
ASA	40	7.50±1.20 ²⁾	5.50±0.93 ³⁾	3.75±1.04 ³⁾

注:与假手术组比较,¹⁾ $P<0.01$;与模型对照组比较,²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$
Note: Compared with sham group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$

组和 ASA 40 mg·kg⁻¹ 组均能显著减轻大鼠脑缺血再灌注后的脑组织含水量的增加;EA(20, 40, 80 mg·kg⁻¹)组和 ASA 40 mg·kg⁻¹ 组亦能明显减小脑缺血再灌注后大鼠的脑梗死体积,与模型组比较 $P<0.01$ 。表明 EA 对脑缺血再灌注引起的脑水肿和脑梗死有较好的减轻作用。结果见表 2。

表 2 EA 对 MCAO 再灌注大鼠脑组织含水量和脑梗死体积的影响 ($n=8, \bar{x} \pm s$)

Tab 2 Effect of EA on brain water content and infarct volume of rats after MCAO reperfusion injury ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	脑含水量/%	脑梗死体积/%
假手术组	—	77.52±0.83	0±0
模型组	—	81.34±1.06 ¹⁾	15.64±1.07 ¹⁾
ASA	40	79.26±0.87 ³⁾	11.48±1.35 ³⁾
EA	20	80.57±0.92 ²⁾	12.73±1.44 ³⁾
	40	79.82±0.75 ³⁾	12.28±2.01 ³⁾
	80	78.61±1.06 ³⁾	11.29±1.21 ³⁾

注:与假手术组比较,¹⁾ $P<0.01$;与模型对照组比较,²⁾ $P<0.05$,³⁾ $P<0.01$
Note: Compared with sham group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.05$, ³⁾ $P<0.01$

2.3 EA 对局灶性脑缺血再灌注大鼠 CEC 数的影响

本实验采用 Hladovec 等建立的分离 CEC 的方法,用形态学计数法观察了 EA 对 CEC 的影响,经分离处理后,镜下罕见其它细胞成分,CEC 形态多样,大多为极不规则的多边形,易于辨认。大多数细胞无核,呈皱缩、折叠或扭曲状,有的还带有“尾巴”。与假手术组比较,缺血 2 h 再灌注 24 h 后大鼠 CEC 数显著升高($P<0.01$)。EA(40, 80 mg·kg⁻¹) 和 ASA 40 mg·kg⁻¹ 组均能明显降低血浆 CEC 数量。结果见表 3。

表 3 EA 对 MCAO 再灌注大鼠 CEC 含量的影响 ($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 3 Effect of EA on the circulating endothelial cells in plasma of rats after MCAO reperfusion injury ($n=8$, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	CEC 计数/ $n\cdot(0.9\ \mu\text{L})^{-1}$
假手术组	—	2.31 ± 0.75
模型组	—	$7.28\pm 0.43^{1)}$
ASA	40	$3.42\pm 0.58^{3)}$
EA	20	6.94 ± 0.72
	40	$4.81\pm 0.83^{2)}$
	80	$3.34\pm 0.67^{3)}$

注: 与假手术组比较, $^{1)}P<0.01$; 与模型对照组比较, $^{2)}P<0.05$, $^{3)}P<0.01$
Note: Compared with sham group, $^{1)}P<0.01$; compared with model group, $^{2)}P<0.05$, $^{3)}P<0.01$

2.4 EA 对 MCAO 再灌注大鼠缺血脑皮质中 ICAM-1 的影响

如表 4 和图 1 所示, 脑组织切片中 ICAM-1 免疫阳性染色可见于微血管的内皮细胞上, 表现为血管壁深染。假手术组大鼠脑组织和再灌注对侧半球可见少量的、低表达的 ICAM-1 免疫阳性血管。与假手术组比较, 缺血再灌注模型组的 ICAM-1 免疫反应阳性血管数明显增多, 并主要局限于 MCA 供血区域的皮质、坏死周边区和梗死周边的神经元。EA 3 个剂量组与模型组比较, ICAM-1 免疫反应阳性血管数有一定程度的减少, 免疫染色减弱。

表 4 EA 对 MCAO 再灌注大鼠顶叶皮层的 ICAM-1 免疫反应阳性血管计数的影响($n=4$, $\bar{x} \pm s$)

Tab 4 Effect of EA on ICAM-1 immunoreaction positive vein count in parietal lobe of cortex of rats after MCAO reperfusion injury ($n=4$, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$	ICAM-1 免疫阳性血管数/ n	抑制率/%
假手术组	—	9.2 ± 4.6	—
模型组	—	$25.3\pm 5.2^{1)}$	—
ASA	40	$13.2\pm 10.4^{3)}$	47.83
EA	20	$18.3\pm 7.6^{2)}$	27.67
	40	$15.4\pm 6.5^{3)}$	39.13
	80	$14.7\pm 8.3^{3)}$	41.90

注: 与假手术组比较, $^{1)}P<0.01$; 与模型对照组比较, $^{2)}P<0.05$, $^{3)}P<0.01$
Note: Compared with sham group, $^{1)}P<0.01$; compared with model group, $^{2)}P<0.05$, $^{3)}P<0.01$

2.5 EA 对 MCAO 再灌注大鼠脑皮质 BBB 超微结构的影响

如图 2 所示, 透射电镜观察可见: 假手术组脑组织毛细血管内皮细胞结构完整, 未见细胞水肿, 细胞膜完整, 内皮细胞间紧密连接正常, 少

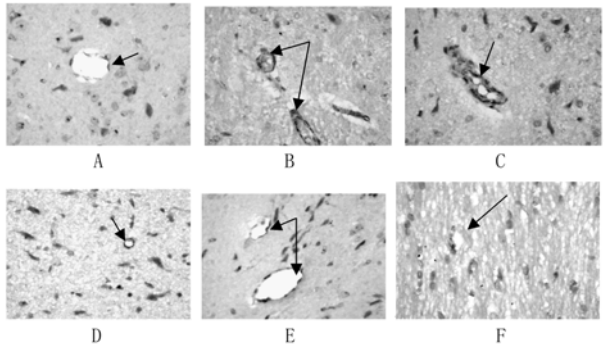


图 1 EA 对 MCAO 再灌注大鼠顶叶皮层的 ICAM-1 表达的影响(DAB $\times 400$)

A—假手术组; B—模型组; C—EA $20\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组; D—EA $40\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组; E—EA $80\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组; F—ASA $40\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 阳性药组

Fig 1 Effect of EA on expression of ICAM-1 in parietal lobe of cortex after MCAO reperfusion injury(DAB $\times 400$)

A—sham group; B—model group; C—EA $20\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ treated group; D—EA $40\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ treated group; E—EA $80\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ treated group; F—ASA $40\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ treated group

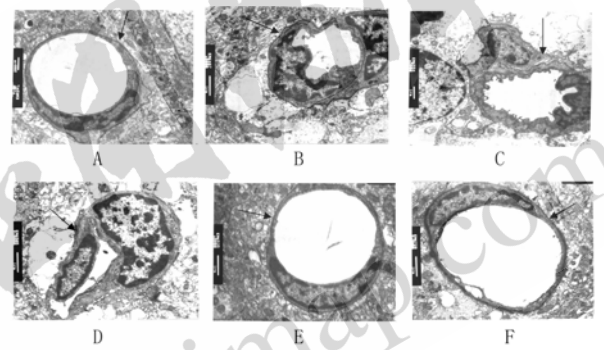


图 2 EA 对 MCAO 再灌注大鼠脑组织皮质 BBB 超微结构的影响

A—假手术组($\times 10\ 000$); B—模型组($\times 8\ 000$); C—EA $20\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组($\times 5\ 000$); D—EA $40\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组($\times 8\ 000$); E—EA $80\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 剂量组($\times 8\ 000$); F—ASA $40\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 阳性药组($\times 8\ 000$)

Fig 2 Effect of EA on ultrastructural alterations of blood brain barrier in cerebral cortex and hippocampus after MCAO reperfusion injury

A—sham group($\times 10\ 000$); B—model group($\times 8\ 000$); C—EA $20\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ treated group($\times 5\ 000$); D—EA $40\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ treated group($\times 8\ 000$); E—EA $80\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ treated group($\times 8\ 000$); F—ASA $40\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ treated group($\times 8\ 000$)

见胞饮小泡。大鼠 MCAO 2 h 再灌注 24 h 后, 模型组可见: 脑毛细血管呈收缩状, 内皮细胞变暗并出现局部肿胀, 内皮细胞内的胞饮小泡增多, 紧密连接开放, 血管周围的星形胶质细胞足突出现水肿。EA($40, 80\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)组对脑缺血再灌注后血脑屏障超微结构的上述病理改变有一定的改善作用。

3 讨论

MCAO 神经行为学变化评价是模型成功的标志。笔者在实验中采用 Benderson 神经运动功能障

碍评分法对各组大鼠于再灌注 2, 8, 24 h 各时间点进行了评分, 实验结果表明, 与模型组比较, EA 可以降低再灌注 2, 8, 24 h 神经功能障碍评分, 说明 EA 对脑缺血再灌注损伤具有一定的保护作用。

近年研究发现, 脑血管病的发病涉及 3 个重要因素, 即血流动力学、血液理化特征及血管壁的完整性。前 2 个因素是以后一因素为基础而发挥作用的。因此血管壁的结构破坏是脑血管疾病的基础, 脑血管内皮细胞(VEC)损伤是脑缺血损伤最直接的原因。CEC 是在生理或病理状态下从外周血中测得的 VEC, 是目前活体内唯一能特异反映血管损伤的指标, 也是作为一个灵敏指标用于临床药效和药理学研究^[8]。本实验采用 Hladovec 等建立的分离 CEC 的方法, 用形态学计数法观察了 EA 对 CEC 的影响。结果表明脑缺血模型组大鼠的 CEC 数量较假手术组明显升高, EA(40, 80 mg·kg⁻¹)能明显降低 MCAO 大鼠外周 CEC 的数量, 提示 EA 对脑缺血时脑血管内皮具有较好的保护作用来降低脑血管损伤。

更有研究表明, 血脑屏障的破坏是缺血再灌注性脑损伤的重要病理生理基础。缺血和再灌注早期伴随细胞因子、粘附分子表达并促使缺血性损伤向炎性损伤转变。白细胞聚集、浸润、产生大量的蛋白水解酶、氧自由基和其他效应分子, 导致脑毛细血管内皮细胞及其基底膜损害, 使得 BBB 结构功能发生改变和破坏, 而 BBB 结构功能的变化又是脑缺血后水肿和炎症反应等病理变化的重要环节^[9]。本实验通过 TTC 染色发现 EA 各用药组和 ASA 组均可降低由缺血再灌注引起的脑含水量升高, 并缩小脑组织梗死体积。另外, 在采用免疫组化方法检测缺血 2 h 再灌注 24 h 脑组织的 ICAM-1 表达情况中发现, 在切片中 ICAM-1 免疫阳性染色可见于微血管的内皮细胞上, 表现为血管壁深染, 在健侧半球可见少量的、低表达的 ICAM-1 免疫阳性血管。明显的阳性染色出现在缺血再灌注侧半球, 并主要局限于供血区域的皮质及坏死周边区微血管, 同时还观察到, 梗死周边区的神经元 ICAM-1 表达也呈阳性。EA 3 剂量可明显减少缺血脑组织 ICAM-1 免疫反应阳性血管计数, 且免疫染色减弱, 提示 EA 可能通过抑制 ICAM-1 的表达来减少白细胞对缺血

脑组织的浸润, 减轻炎症反应对脑缺血再灌注的损伤。本研究取缺血侧半脑的皮质于透射电镜下观察血脑屏障的超微结构变化, 可见假手术组脑组织毛细血管内皮细胞结构完整, 未见细胞水肿, 细胞膜完整, 内皮细胞间紧密连接正常, 少见胞饮小泡。模型组大鼠的脑毛细血管呈收缩状, 内皮细胞变暗并出现局部肿胀, 内皮细胞内的胞饮小泡增多, 紧密连接开放, 血管周围的星形胶质细胞足出现水肿。结果显示 EA(40, 80 mg·kg⁻¹)组可明显改善脑缺血再灌注后血脑屏障超微结构的上述病理改变, 提示 EA 对脑缺血再灌注大鼠的血脑屏障有较好的保护作用, 并且作用机制可能于其减轻脑血管内皮损伤, 抑制 ICAM-1 的表达来减少白细胞对缺血脑组织的浸润进而损伤血脑屏障等作用有关。

REFERENCES

- [1] CIPOLLA M J, CRETE R, VITULLO L, et al. Transcellular transport as a mechanism of blood-brain barrier disruption during stroke [J]. *Front Biosci*, 2004, 9(3): 777-785.
- [2] ENNIS S R, KEEP R F. Effects of 2, 4-dinitrophenol on ischemia-induced blood-brain barrier disruption [J]. *Acta Neurochir Suppl*, 2006, 96(2): 295-298.
- [3] MING X F, LI W P, WANG S B, et al. The protective effect of astragalus extract on focal cerebral ischemia-reperfusion injury in anti-oxidation and mitochondrial [J]. *Chin Pharmacol Bull*(中国药理学通报), 2005, 21(2): 216-219.
- [4] NAGASAWA H, KOGURE K. Correlation between cerebral blood flow and histologic changes in a new rat model of middle cerebral artery occlusion [J]. *Stroke*, 1989, 20(8): 1037-1043.
- [5] 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.
- [6] BEDERSON J B, PITTS L H, GERMANO S M, et al. Evaluation of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride as a stain for detection and quantification of experimental cerebral infarction in rats [J]. *Stroke*, 1986, 17(6): 1304-1308.
- [7] MATHEW K S, MCLAUGHN D P, ZIABARIL H, et al. Rapid quantification of ischemic injury and cerebroprotection in brain slices using dendritometric assessment of 2,3,5-triphenyltetrazolium chloride staining [J]. *Neurosci Methods*, 2000, 102(5): 43-51.
- [8] ZHAO Y G, QIAN G Q. Detection of circulating endothelial cells in several studies [J]. *Foreign Med Sci (Blood Transfus Hematol)*(国外医学 输血及血液学分册), 1995, 18(1): 15-18.
- [9] HAI J, DING M X. Blood-brain barrier during cerebral ischemia-reperfusion injury in inflammatory mechanisms [J]. *Foreign Med Sci (Cerebrovasc Dis)*(国外医学 脑血管疾病分册), 2001, 9(1): 15-18.

收稿日期: 2010-01-25