

化痰通络方对急性脑梗死大鼠 rt-PA 溶栓后不同脑区星形胶质细胞特异性蛋白表达的影响

周震¹, 王凯², 刘爽¹, 宋宛珊², 马妍², 田涛涛², 张玉莲^{1*}

(1. 天津中医药大学第二附属医院, 天津 300150; 2. 天津中医药大学, 天津 300193)

[摘要] 目的: 观察化痰通络方对急性脑梗死大鼠重组组织纤溶酶原激活剂(rt-PA)溶栓后不同脑组织中星形胶质细胞相关特异性蛋白水通道蛋白 4(AQP-4)及血清中 S100 β 蛋白表达的影响。方法: 将 240 只健康 SD 大鼠随机分为 6 组: 假手术组、模型组、rt-PA 组、化痰通络方联合 rt-PA 组(中药低、中、高剂量组, 剂量分别为 3.6, 7.2, 14.4 g·kg⁻¹), 采用自身栓子法制备大鼠大脑中动脉栓塞模型(MCAO), rt-PA 组与化痰通络方联合 rt-PA 组于血栓注入后 3 h 一次性予以 5.67 mg·kg⁻¹ rt-PA 溶栓治疗, 后者联合给予低、中、高剂量化痰通络方中药灌胃治疗, 6 h 组于造模成功后给予中药 1 次; 24 h 组于造模成功后及处死前 2 h 各给中药 1 次, 共 2 次; 72 h 组于造模成功后开始给药, 每日给中药 2 次, 持续 3 d, 共 6 次; 7 d 组于造模成功后开始给药, 每日给中药 2 次, 持续 7 d, 共 14 次。分别于 4 个时相应用 Western blot 法观察不同时相大鼠皮质及海马 AQP-4 蛋白的表达, ELISA 法检测血清中 S100 β 蛋白的含量。结果: 各实验组不同脑组织 AQP-4 相对丰度值及血清 S100 β 含量自 6 h 起逐渐升高, 24 h 最高, 随后逐渐降低, 7 d 时接近 6 h 水平; 同一时相与假手术组比较, 各实验组 AQP-4 及 S100 β 蛋白均显著升高, 说明造模成功。与模型组相比, 中药中、高剂量组 AQP-4 蛋白于 24 h 或 72 h 或 7 d 时分别出现显著下降($P < 0.05$), 研究结果并无明显集中现象, 但整体趋势表明中药中、高剂量组能明显减少 AQP-4 的表达; rt-PA 组、中药低、中、高剂量组 S100 β 虽未出现明显差异, 但均有不同程度降低, 且以中药组下降趋势明显。结论: ①溶栓治疗后, 血脑屏障结构及功能损害于 24 h 时最为严重; ②化痰通络方联合 rt-PA 溶栓可降低不同脑组织中 AQP-4 表达及血清中 S100 β 含量进而防治急性脑梗死溶栓后出血转化的发生与发展。

[关键词] 化痰通络方; 急性脑梗死; 溶栓; 出血转化; 水通道蛋白 4; S100 β 蛋白

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2014)09-0184-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfix.2014090184

[收稿日期] 20130823(010)
[基金项目] 国家自然科学基金项目(81072796)
[第一作者] 周震, 医学博士, 副主任医师, 硕士研究生导师, 从事中医药治疗脑血管病的临床及机制研究, Tel: 13110057681, E-mail: zhouzhen7681@126.com
[通讯作者] * 张玉莲, 医学博士, 教授, 主任医师, 博士研究生导师, 从事中西医结合防治脑病工作, Tel: 13110057681, E-mail: zhyl220@126.com

[7] Kenneth J Livak, Thomas D Schmittgen. Analysis of relative gene expression data using Real-time quantitative PCR and the 2^{- $\Delta\Delta C_t$} method [J]. Methods, 2001 (25) : 402.

[8] Purushothaman M, Krishnan P, Purushothaman K R, et al. Genotype-dependent impairment of hemoglobin clearance increases oxidative and inflammatory response in human diabetic atherosclerosis [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2012, 32(11) : 2769.

[9] Guingab-Cagmat J D, Stevens S M Jr, Ratliff M V, et al. Identification of tyrosine nitration in UCH-L1 and GAPDH [J]. Electrophoresis, 2011, 32(13) : 1692.

[10] Kumarathasan P, Vincent R, Blais E, et al. Cardiovascular changes in atherosclerotic apoE-deficient mice exposed to ⁶⁰Co (γ) radiation [J]. PLoS One, 2013, 8(6) : e65486.

[11] 潘会君, 唐宁, 华晓东, 等. 中药调控一氧化氮合酶—一氧化氮系统的研究 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(12) : 202.

[12] Schulman I H, Hare J M. Regulation of cardiovascular cellular processes by S-nitrosylation [J]. Biochim Biophys Acta, 2012, 1820(6) : 752.

[13] 赵志强, 王强, 赵忱, 等. 加载补肾抗衰片治疗肾虚痰瘀型冠心病心绞痛的临床研究 [J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2012, 10(9) : 1025.

[14] 张光银, 张军平, 李明, 等. 补肾抗衰片对实验性动脉粥样硬化家兔海马氧化应激的影响 [J]. 中华中医药杂志, 2011, 5(26) : 1228.

[责任编辑 聂淑琴]

Effects of Huatan Tongluo Decoction on Astrocytes Related Specific Protein Expression of Different Brain Tissues in Rats Which Use rt-PA Thrombolysis after Acute Cerebral Infarction

ZHOU Zhen¹, WANG Kai², LIU Shuang¹, SONG Wan-shan², MA Yan², TIAN Tao-tao², ZHANG Yu-lian^{1*}

(1. The Second Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300150, China;

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Huatan Tongluo decoction on aquaporin-4 (AQP-4)

protein expression of different brain tissues and S100 β of blood serum in rats which use rt-PA thrombolysis after the acute cerebral infarction. **Method:** SD rats 240 were randomly divided into six groups, sham operation group, model group, rt-PA group, rt-PA Huatan Tongluo of Chinese medicine low dose group (3.6 g·kg⁻¹), rt-PA Huatan Tongluo of Chinese medicine middle dose group (7.2 g·kg⁻¹), rt-PA Huatan Tongluo of Chinese medicine high dose group (14.4 g·kg⁻¹). Using the embolus method prepares the MCAO rat model. rt-PA group and rt-PA Huatan Tongluo group use rt-PA thrombolytic therapy after thrombosis. In 6 hours group the Chinese medicine were given one time, after making mode successfully. In 24 hours group, given two times, after making mode successfully and 2 hours were killed. In 72 hours, given six times, from making mode successfully, two times one day, lasting three days. In 7 day group; given fourteen times, from making mode successfully, two times one day, lasting seven days. Then respectively observe the AQP-4 protein expression in rat cortex and hippocampus by Western blot method, and S100 β of blood serum by ELISA method at 6, 24, 72 h, 7 days.

Result: Every experimental group in different phases, the AQP-4 protein expression in different brain tissue and S100 β of blood serum were highest at 6, 24 h maximum, 72 h, 7 d increased gradually to the level of 6 h. Compared with the model group at the same time the AQP-4 protein expression of middle dose group and high dose group of Chinese traditional medicine were significantly decreased at 24 h or 72 h or 7 d ($P < 0.05$). There was no obvious concentration, but the overall trend showed that Chinese medicine middle dose group and high dose group can obviously decrease the expression of AQP-4. The S100 β protein expression didn't show any significant differences in any group, but all have reduced in different degree, and the downward trend is more obvious in Chinese traditional medicine groups. **Conclusion:** The blood brain barrier structure and function was damaged most seriously at 24 h phase after thrombolysis treatment. Huatan Tongluo combined with rt-PA therapy can reduce AQP-4 expression of different brain tissues and S100 β content of serum. So that it can protect the hemorrhagic transformation after thrombolytic treatment of acute cerebral infarction.

[Key words] Huatan Tongluo; acute cerebral infarction; thrombolysis; hemorrhagic transformation; aquaporin-4; S100 β

重组组织型纤溶酶原激活剂(rt-PA)静脉溶栓治疗是目前唯一得到批准并确切有效的脑梗死急性期治疗方法,已成为各国指南中的主要治疗手段^[1]。但溶栓后出血转化严重限制了溶栓疗法的广泛开展,究其机制与血脑屏障(BBB)完整性破坏密切相关^[2]。研究证明,在脑实质细胞中,由于星形胶质细胞终足围绕着绝大部分脑微血管内皮细胞,因此星形胶质细胞与BBB的关系

较为密切^[3]。同时,在星形胶质细胞上也存在一些特异性蛋白可以引起或反映BBB完整性的破坏。因此,本研究拟观察不同浓度化痰通络中药联合rt-PA对改良大脑中动脉栓塞(MCAO)模型大鼠不同脑区中与星形胶质细胞密切相关蛋白AQP-4及血清中S100 β 表达的影响,以初步探讨该复方中药对于急性脑梗死溶栓后BBB保护作用机制。

1 材料

1.1 动物 SD 大鼠 240 只,体重 200 ~ 250 g,雌雄各半,清洁级,购自北京大学医学部实验动物科学部许可证号 SZXK(京)2011-00120。

1.2 药物及试剂 化痰通络方中药由天津中医药大学第二附属医院制剂室提供及制备:天麻 10 g,半夏 10 g,胆南星 5 g,丹参 30 g,川芎 10 g,地龙 10 g,酒大黄 5 g,以上药物 400 g 加 10 倍水,煎煮 3 次,每次 0.5 h,煎煮液浓缩至 500 mL,生药质量浓度为 0.8 g · mL⁻¹,4 ℃ 保存备用。注射用 rt-PA (批号 005765201304,德国勃林格殷格翰公司);血栓诱导剂(批号 20081218,长春国奥药业有限公司)。

1.3 仪器 DYY-6C 型电泳仪(北京市六一仪器厂),Neofuge 13R 型高速冷冻离心机(Heal Force 上海力申科学仪器有限公司),AL104 型电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),WD-9405B 型水平摇床(北京市六一仪器厂),DW-86L628 型超低温保存箱(Haier),移液枪(ependorf)。

2 方法

2.1 动物分组与给药 按随机数字表法将大鼠分为 6 组,即假手术组、模型组、rt-PA 组、化痰通络法联合 rt-PA 组(以下称中药组),中药组又分为化痰通络方低、中、高剂量组。每组再分为 6,24,72 h,7 d 共 4 个时相,即每组每个时相 10 只大鼠。给药剂量参照文献[4]中“人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值表”计算。中药组与 rt-PA 组于血栓注入后 3 h 一次性由尾静脉缓慢注入 5.67 mg · kg⁻¹ rt-PA 加入 2 mL 0.9% 生理盐水中溶栓治疗,中药组 6 h 组于造模成功后给予中药 1 次;24 h 组于造模成功后及处死前 2 h 各给中药 1 次,共 2 次;72 h 组于造模成功后开始给药,每日给中药 2 次,持续 3 d,共 6 次;7 d 组于造模成功后开始给药,每日给中药 2 次,持续 7 d,共 14 次。均采用灌胃方法给药。rt-PA 组与模型组给予相同时间点用等量蒸馏水灌胃。假手术组采用与中药相等剂量的蒸馏水,在灌服中药相同时间点灌胃,同时采用与 rt-PA 溶剂相等剂量的生理盐水于溶栓相同时间点经由尾静脉缓慢注入。

2.2 大鼠大脑中动脉栓塞模型制备 参照文献方法制备大脑中动脉栓塞(MCAO)模型大鼠^[5-6]。具体方法为:首先自体血进行栓子制备,采用 10% 水合氯醛(3.5 ~ 4 mL · kg⁻¹)腹腔麻醉。颈正中切开皮肤,剥离胸骨舌骨肌、肩胛舌骨肌与胸骨乳突肌,暴露颈总动脉、颈外动脉与颈内动脉。分离左侧颈总动脉(CCA)与颈内动脉(ICA),分离并结扎翼腭动脉。游离 ECA 远端并结扎之,凝闭其分支。用金属动脉夹暂时夹闭颈总动脉,用 5.5 号静脉输液针逆行穿刺右颈外动脉至右颈内动脉起始处,随即用 1 mL 注射器缓慢推注栓子盐水悬液 0.3 mL,撤去动脉夹,恢复 ICA 的血供,使栓子通过颈内动脉进入颅内至大脑中动脉,然后结扎颈外动脉,缝合皮肤。肌注庆大霉素(0.5 mL/只)抗感染。模型组、rt-PA 组和化痰通络方联合 rt-PA 组大鼠均造模。

2.3 模型制备成功标准 大鼠脑缺血后出现相应的症状及体征,反映大脑损伤程度,选用 Bederson's 评分^[7]作为评价模型制作是否成功的标志。

2.4 取材及检测 各组大鼠相应时间点断头处死,取大脑皮质和海马组织匀浆,Western blot 法检测 AQP-4 蛋白的表达,ELISA 法检测血清中 S100β 蛋白的含量。

2.5 统计学方法 采用 SPSS 13.0 统计分析软件进行处理,数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组数据间的比较采用单因素方差分析方法, $P < 0.05$ 有统计学意义。

3 结果

3.1 检测皮质及海马 AQP-4 蛋白的表达 检测相关梗死区域皮质组织,同一组内与 6 h 时相比较,各组在 24,72 h 的 AQP-4 蛋白表达显著升高($P < 0.05$),并且以 24 h 表达量最高,随后逐渐下降。同一时相内与假手术组比较,模型组、rt-PA 组、中药低、中剂量组均明显升高($P < 0.05$),中药高剂量组在 24,72h,7 d 明显升高($P < 0.05$);同一时相内与模型组比较,rt-PA 组、中药低、中、高剂量组均有明显降低,且以中药组下降趋势更加明显,中药中剂量组在 72 h,7 d 和高剂量组在 72 h 表达显著降低($P < 0.05$)。见表 1,图 1。

检测相关梗死区域海马组织,同一组内与 6 h 时相比较,各组在 24,72 h 的 AQP-4 蛋白表达明显升高($P < 0.05$),并且以 24 h 表达量最高,随后逐渐下降。同一时相内与假手术组比较,各组均显著升高($P < 0.05$);同一时相内与模型组比较,rt-PA 组、中药低、中、高剂量组均有明显降低,且以中药组下降趋势更明显,中药中剂量组在 24,72 h,7 d 和高剂量组在 24 h 蛋白表达明显下降($P < 0.05$)。见表 2,图 2。

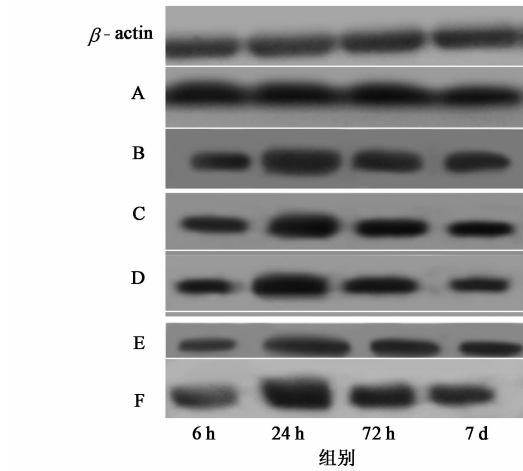
表 1 化痰通络方对大鼠大脑中动脉栓塞后不同时相皮质 AQP-4 蛋白相对表达量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	AQP-4/ β -actin			
		6 h	24 h	72 h	7 d
假手术	—	0.395 ± 0.019	0.387 ± 0.012	0.401 ± 0.133	0.419 ± 0.135
模型	—	0.617 ± 0.067 ²⁾	1.333 ± 0.043 ^{1,2)}	1.001 ± 0.101 ^{1,2)}	0.829 ± 0.125 ²⁾
rt-PA	0.005 67	0.514 ± 0.072 ²⁾	1.198 ± 0.202 ^{1,2)}	0.959 ± 0.036 ^{1,2)}	0.788 ± 0.154 ²⁾
化痰通络方	3.6	0.482 ± 0.052 ²⁾	1.182 ± 0.156 ^{1,2)}	0.892 ± 0.061 ^{1,2)}	0.701 ± 0.146 ²⁾
	7.2	0.461 ± 0.134 ²⁾	1.166 ± 0.132 ^{1,2)}	0.832 ± 0.043 ^{1,2,3)}	0.637 ± 0.021 ^{1,2,3)}
	14.4	0.439 ± 0.113	1.108 ± 0.209 ^{1,2)}	0.833 ± 0.056 ^{1,2,3)}	0.663 ± 0.161 ²⁾

注:同一组内与 6 h 时相比较¹⁾ $P < 0.05$;同一时相内与假手术组比较²⁾ $P < 0.05$;同一时相内与模型组相比较³⁾ $P < 0.05$ (表 2 ~ 3 同)。

表 2 化痰通络方对大鼠大脑中动脉栓塞后不同时相海马 AQP-4 蛋白相对表达量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	AQP-4/ β -actin			
		6 h	24 h	72 h	7 d
假手术	—	0.692 ± 0.146	0.702 ± 0.029	0.714 ± 0.238	0.711 ± 0.210
模型	—	1.058 ± 0.146 ²⁾	2.250 ± 0.079 ^{1,2)}	1.618 ± 0.191 ^{1,2)}	1.413 ± 0.245 ^{1,2)}
rt-PA	0.005 67	1.143 ± 0.128 ²⁾	2.096 ± 0.231 ^{1,2)}	1.582 ± 0.130 ^{1,2)}	1.256 ± 0.249 ²⁾
化痰通络方	3.6	0.998 ± 0.059 ²⁾	1.727 ± 0.117 ^{1,2)}	1.535 ± 0.369 ^{1,2)}	1.254 ± 0.124 ^{1,2)}
	7.2	0.976 ± 0.172 ²⁾	1.694 ± 0.107 ^{1,2,3)}	1.489 ± 0.107 ^{1,2,3)}	1.145 ± 0.121 ^{2,3)}
	14.4	0.970 ± 0.160 ²⁾	1.645 ± 0.063 ^{1,2,3)}	1.505 ± 0.248 ^{1,2)}	1.239 ± 0.339 ²⁾



A. 假手术组;B. 模型组;C. rt-PA 组;
D. 化痰通络方 3.6 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;E. 化痰通络方 7.2 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组;
F. 化痰通络方 14.4 $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 组(图 2 同)

图 1 AQP-4 在皮质中的表达(Western blot)

3.2 血浆中 S100 β 蛋白的表达 同一组内与 6 h 时相比较,各组 S100 β 蛋白含量表现相同变化趋势,自 6 h 逐渐升高,至 24 h 蛋白含量最高,随后逐渐降低,仅中药中剂量组于 72 h,7 d 显著降低($P < 0.05$)。同一时相内与假手术组比较,模型组、rt-PA 组、中药 3 个剂量组均明显升高($P < 0.05$);同一时相内与模型组比较,rt-PA 组、中药低、中、高剂量组 S100 β 含量均

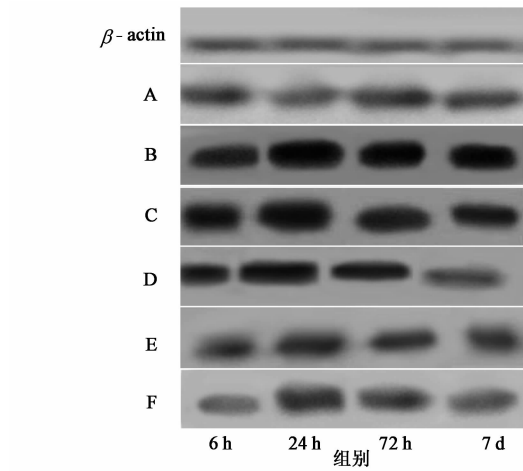


图 2 AQP-4 在海马中的表达(Western blot)

不同程度降低,且以中药组趋势明显,但仅中药中剂量组于 72 h 显著降低($P < 0.05$)(表 3)。

4 讨论

溶栓后出血转化是限制溶栓疗法广泛开展与影响临床疗效的关键,究其机制与 BBB 完整性破坏密切相关^[2]。伊文思蓝染色可有效检测 BBB 通透性变化,进而反映其完整性改变。Bederson's 评分是国内外引用频率最高的神经功能评分标准,从行为学角度评价脑缺血药物的疗效^[8]。既往研究发现:化

表 3 化痰通络方对大鼠大脑中动脉栓塞后不同时相血清 S100β 蛋白含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

μg · L⁻¹

组别	剂量/g · kg ⁻¹	S100β 蛋白			
		6 h	24 h	72 h	7 d
假手术	—	40.82 ± 4.32	39.12 ± 5.21	41.33 ± 3.46	40.43 ± 4.05
模型	—	63.86 ± 5.77 ²⁾	80.08 ± 11.51 ²⁾	61.3 ± 7.59 ²⁾	49.14 ± 16.52 ²⁾
rt-PA	0.005 67	63.37 ± 6.42 ²⁾	68.34 ± 7.83 ²⁾	56.29 ± 7.36 ²⁾	48.7 ± 10.01 ²⁾
化痰通络方	3.6	63.10 ± 4.58 ²⁾	67.97 ± 8.39 ²⁾	51.96 ± 14.62 ²⁾	48.05 ± 10.12 ²⁾
	7.2	62.23 ± 5.07 ²⁾	65.7 ± 13.50 ²⁾	51.61 ± 3.61 ^{1,2,3)}	44.34 ± 11.90 ¹⁾
	14.4	61.43 ± 8.51 ²⁾	63.86 ± 11.00 ²⁾	52.46 ± 14.43 ²⁾	46.14 ± 13.50 ²⁾

痰通络方可在急性脑梗死溶栓后改善神经功能缺损且保护血脑屏障通透性,进而防止溶栓后出血转化的发生^[9]。

脑水肿是急性脑梗死一个重要且必然的并发症,不但加重神经功能缺失,还可以引起颅内压增高、脑疝等,严重威胁患者生命^[10]。梗死灶周围的脑水肿造成 BBB 完整性的损伤,是导致出血转化的重要原因^[11]。脑水肿的有效治疗不仅能缓解高颅压和降低死亡率,而且对减少神经死亡、减轻患者致残程度有积极的促进作用。因此本研究的目的,即试图通过观察化痰通络方中药对急性脑梗死大鼠 rt-PA 溶栓治疗后不同脑组织中星形胶质细胞相关特异性蛋白 AQP-4 及血清中 S100β 蛋白表达的影响,为化痰通络方防治急性脑梗死溶栓后出血转化提供实验依据。

水通道蛋白 4(AQP-4)是中枢神经系统分布最广泛的水通道蛋白,是水跨星形胶质细胞运输的主要路径,对维持脑脊液代谢、脑内水平衡起着非常重要的作用^[12]。当血脑屏障破坏时表达异常,导致脑组织中水的吸收或清除障碍,进而导致脑水肿的发生,AQP-4 在脑水肿形成过程中表达水平的高低与血脑屏障完整性密切相关^[13-14]。王秀辉等^[15]发现脑含水量和 AQP-4 表达水平变化趋势基本一致,两者呈时相正相关性。而 AQP-4 基因敲除的大鼠在由脑缺血等所引起的细胞毒性脑水肿明显减轻^[16-17],表明 AQP-4 在脑水肿形成中具有重要作用。

本实验研究结果表明:在不同时相中,各实验组在不同脑组织中 AQP-4 蛋白表达量均表现出相同变化趋势:自 6 h 起表达量逐渐升高,至 24 h 为最高,随后逐渐降低,7 d 表达水平接近 6 h 水平。表明 24 h 时 AQP-4 表达量最高,血脑屏障结构及功能破坏,脑水肿可能最为严重。同一时相与模型组相

比,研究结果的整体趋势说明中药中、高剂量组能明显减少 AQP-4 的表达量,从而恢复 BBB 完整性,维持脑脊液代谢、脑内水平衡,控制脑水肿病情,进而降低出血转化的风险。

S100β 是 S100 蛋白家族中最具有特征性的成员之一^[18],是星形胶质细胞激活的标志^[19]。当脑组织缺血等损伤初期,S100β 蛋白从受损和激活的星型胶质细胞内释放出来,进入脑脊液,此时如发生 BBB 受损,S100β 通过受损的 BBB 大量释入血液,进而使血清中 S100β 蛋白含量升高。Marchi^[20-21]模拟 BBB 暂时性可逆开放时 S100β 的血浆浓度,发现单纯的 BBB 开放要比没有 BBB 开放时 S100β 的浓度高得多,充分证明了 S100β 的血浆水平与 BBB 的开放程度有更直接的相关性。临床研究证实,急性脑梗死患者血清 S100β 蛋白水平在发病后出现动态改变,血清 S100β 蛋白水平与梗死灶体积及入院时神经功能缺损程度有显著相关性。可见,S100β 蛋白作为中枢神经系统的特异性标志物,是评估中枢神经系统损伤的有效指标^[22]。

本研究通过 ELISA 检测方法观察血浆中的 S100β 蛋白水平,发现其在急性脑梗死溶栓治疗后出现了动态变化,即 6 h 起 S100β 表达量逐渐升高,并在再灌注 24 h 血脑屏障损伤最严重的时候达到最高值,随后 BBB 损伤高峰过后组织修复及治疗干预 S100β 蛋白逐渐降低,至 7 d 时表达量低于 6h 时表达量。由此可见,S100β 蛋白的表达量与 BBB 的损伤程度相关,存在明显的时间变化规律。同一时相内与模型组相比,rt-PA 组、中药低、中、高剂量组 S100β 蛋白均有不同程度降低,且以中药组下降趋势更加明显。而各中药组间存在一定的浓度依赖性,浓度越高,S100β 蛋白越少,预示血脑屏障损伤程度越小,从而推测随中药组浓度的提高可能更有利的减少出血转化的发生,预后良好。

[参考文献]

- [1] 张晓莺,郭森,唐玉贞,等. 重组组织型纤溶酶原激活剂治疗急性脑梗死临床研[J]. 中风与神经疾病杂志,2010,27(2):175.
- [2] Lo E H. Experimental models, neurovascular mechanisms and translational issues in stroke research [J]. Br J Pharmacol,2008,153(Suppl 1):396.
- [3] Abbott N J, Ronnback L, Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier [J]. Nat Rev Neurosci,2006,7:41.
- [4] 徐叔云. 卞如濂,陈修. 药理实验方法学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002.
- [5] Kato Y, Lambert C A, Colige A C, et al. Acidic extracellular pH induces matrix metalloproteinase-9 expression in mouse metastatic melanoma cells through the phospholipase D-mitogen-activate protein kinase signaling[J]. J Biol Chem,2005,280(12):10938.
- [6] Pun P B, Lu J, Mochhala S. Involvement of ROS in BBB dysfunction [J]. Free Radic Res, 2009, 43(4):348.
- [7] Hawkins B T, Davis T P. The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease[J]. Pharmacol Rev,2005,57(2):173.
- [8] 程发峰,宋文婷,郭少英,等. 神经功能损伤评分在大鼠脑缺血实验中的应用[J]. 中国比较医学杂志,2011,3:43.
- [9] 周震,宋宛珊,王占奎,等. 化痰通络法对急性脑梗死大鼠溶栓后血脑屏障通透性及海马内皮细胞超微结构的影响[J]. 中华行为医学与脑科学杂志,2012,21(6):508.
- [10] 包晓群,王微微. 托拉塞米注射液联合甘露醇治疗急性脑梗死后脑水肿的临床疗效观察[J]. 实用心脑血管病杂志,2013,21(2):11.
- [11] 孙祎菲. 出血性转化的临床进展[J]. 中国老年学杂志,2012,32(23):5362.
- [12] Yukutake Y, Yasui M. Regulation of water permeability through aquaporin-4 [J]. Neuroscience, 2010, 168:885.
- [13] Tait M J, Saadoun S, Bell B A, et al. Increased brain edema in aqp4-null mice in an experimental model of subarachnoid hemorrhage [J]. Neuroscience, 2010, 167(1):60.
- [14] Amiry-Moghaddam M, Hoddevik E H, Ottersen O P. Aquaporins: multifarious roles in brain [J]. Neuroscience,2010,168(4):859.
- [15] 王秀辉,郑咏秋,姚明江,等. 大鼠脑缺血/再灌注后 AQP4 的表达与脑水肿的关系[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(15):182.
- [16] Tait M J, Saadoun S, Bell B A, et al. Increased brain edema in aqp4-null mice in an experimental model of subarachnoid hemorrhage [J]. Neuroscience, 2010, 167:60.
- [17] Haj-Yasein N N, Vindedal G F, Eilert-Olsen M, et al. Glial conditional deletion of aquaporin-4 (Aqp4) reduces blood-brain water uptake and confers barrier function on perivascular astrocyte end feet [J]. Proc Natl Acad Sci USA,2011,108:1.
- [18] Malik S, Revington M, Smith S P, et al. Analysis of the structure of human apo-S100 β at low temperature indicates a unimodal conformational distribution is adopted by calcium-free S100 protein [J]. Proteins, 2008,73:28.
- [19] Bertsch T, Casarin W, Kretschmar M, et al. Protein S-100 β : a serum marker for ischemic and infectious injury of cerebral tissue [J]. Clin Chem Lab Med, 2001, 39(4):315.
- [20] Marehi N, Rasmussen P, Kapural M, et al. Peripheral markers of brain damage and blood-brain-barrier dysfunction [J]. Restor Neurol Neurosci, 2003, 21(3/4):109.
- [21] Rothermundt M, Arolt V, Wiesmann M, et al. S100 β is increased in melancholic but not in non-melancholic major depression [J]. J Affect Disord, 2001, 66(1):89.
- [22] Erickson J A, Grenache D G. Comparison of three assays for quantifying S-100 β in serum [J]. Clin Chim Acta, 2011, 20(23/24):2122.

[责任编辑 聂淑琴]