

康脑液对脑缺血大鼠 BDNF, MMP-9, ERK1/2 表达的影响

马建鹏¹, 常青¹, 薛茜^{2*}, 邹玉安²

(1. 河北北方学院, 河北 张家口 075000; 2. 河北北方学院 附属第一医院, 河北 张家口 075000)

[摘要] **目的:**通过康脑液干预观察其对脑缺血再灌注大鼠脑源性神经生长因子(BDNF),基质金属蛋白酶-9(MMP-9),细胞外信号调节激酶(ERK1/2)表达的影响,探讨康脑液对脑缺血的保护机制。**方法:**将雄性 SD 大鼠随机分为假手术组、脑缺血再灌注模型组(I/R)及康脑液高、中、低剂量(28.6,14.3,7.15 g·kg⁻¹·d⁻¹)组,线栓法制备大鼠右侧大脑中动脉阻塞(middle cerebral artery occlusion,MCAO)再灌注模型。于缺血 2 h 后再灌注(分别于再灌注后 1,6,12,24,72,168 h 后,处死大鼠),用免疫组织化学法观察大鼠脑组织 BDNF,MMP-9,ERK1/2 的表达情况。**结果:**与 I/R 组比较,康脑液高、中剂量组各时间点的 BDNF 及 ERK1/2 表达量明显上调($P<0.05$),而 MMP-9 表达的阳性细胞明显减少($P<0.05$);再灌注 24 h 梗死灶体积康脑液高,中剂量组较 I/R 组明显减小($P<0.05$)。**结论:**康脑液可促进大鼠局灶性脑缺血后脑组织中 BDNF 的表达,激活 ERK1/2 信号通路,同时抑制脑内 MMP-9 的表达,发挥对神经血管单元的保护作用。

[关键词] 康脑液;神经血管单元;脑源性神经生长因子;基质金属蛋白酶;细胞外信号调节激酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)11-0131-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015110131

Effect of Kangnaoye on Expressions of BDNF, MMP-9, ERK1/2 on Cerebral Ischemia Reperfusion in Rats
MA Jian-peng¹, CHANG Qing¹, XUE Qian^{2*}, ZOU Yu-an² (1. *Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China*; 2. *The First Affiliated Hospital of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China*)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Kangnaoye on the expression of brain derived neurotrophic factor (BDNF), matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), extracellular signal regulated kinase 1/2 (ERK1/2) in rat with cerebral ischemia reperfusion injury, and to study its cerebral protection mechanism. **Method:** Male SD rats were randomly divided into the sham-operation group, the ischemia reperfusion (I/R) group, the high-, medium-, and low-dose Kangnaoye groups (28.6, 14.3, 7.15 g·kg⁻¹·d⁻¹). The cerebral ischemia reperfusion model was prepared in rats by a improved Zea Longa method. The rats were killed at 1-, 6-, 12-, 24-, 72- and 168-h reperfusion after 2-h ischemia. The expression of BDNF, MMP-9 and ERK1/2 were observed by using immunohistochemical method. **Result:** Compared with I/R group, the expression of BDNF and ERK1/2 was upregulated, the numbers of MMP-9 positive cells decreased in the high- and medium-dose Kangnaoye groups ($P<0.05$). Moreover, the infarct volume decreased significantly at 24-reperfusion ($P<0.05$). **Conclusion:** Kangnaoye could protect neurovascular unit by promoting the expression of BDNF in brain tissue, activating ERK1/2 signaling pathway, and inhibiting the expression of MMP-9.

[Key words] Kangnaoye; neurovascular unit; brain derived neurotrophic factor; matrix metalloproteinase-9; extracellular signal regulated kinase 1/2

目前,脑血管病仍是危害人类健康的三大致死性疾病之一^[1],其具有高发病率、高致残率、高死亡率和高发率的特点,随着中青年发病率的逐年上升趋势,造成了严重的社会和家庭经济负担。其中缺血性脑血管病的发生率高占脑血管病的 80% 左右,其损伤机制复杂,目前针对某一机制的治疗过于

[收稿日期] 20141224(017)
[基金项目] 河北省卫生厅课题基金项目(20090591)
[第一作者] 马建鹏,在读硕士,主要从事缺血性脑血管病的研究,Tel:15369333887,E-mail:majianpeng45@163.com
[通讯作者] *薛茜,硕士,主任医师,教授,主要从事神经内科临床工作,Tel:15530396542,E-mail:xueqian6166@163.com

单一。因此,2003 年美籍华裔科学家提出了神经血管单元(neurovascular unit, NVU)^[2]的概念,它是由包括神经元、胶质细胞、微血管和细胞外基质组成的结构功能单位。研究可以通过保护 NVU 功能和结构整体减轻缺血性损伤的新药物已成为目前的热点。脑源性神经生长因子(BDNF)作为重要的内源性神经保护因子,不仅能够保护 NVU 中神经细胞受损,还可能通过 ERK 途径促进血管新生,因此,促进 BDNF 的表达对保护 NVU 具有重要意义。脑缺血再灌注损伤可促使脑内神经细胞产生大量的 MMP-9,通过降解细胞外基质破坏神经血管单元的结构,导致 NVU 功能紊乱。实验研究显示^[3],康脑液可促进缺血再灌注损伤大鼠脑内 NeuN 的表达,发挥神经保护作用。本实验通过康脑液对 MCAO 再灌注大鼠进行干预,观察 BDNF,基质金属蛋白酶-9(MMP-9),细胞外信号调节激酶(ERK1/2)的表达,探讨其对 NVU 的影响及相关机制。

1 材料

1.1 动物 健康雄性 SD 大鼠 180 只,体重 220 ~ 240 g,北京华阜康实验动物中心提供,动物购自北京华阜康生物科技股份有限公司,动物合格证号 SCXK(京)2009-0004。

1.2 药物及试剂 康脑液由黄芪 30 g,丹参 30 g,川芎 10 g,葛根 30 g,钩藤 30 g,三七粉 4.5 g 等组成,各成分均购于河北北方学院附属第一医院。由河北北方学院附属第一医院煎制而成,分为 3 种规格:分别含生药量 4,2,1 g·mL⁻¹。MMP-9 兔源性多克隆抗体(武汉博士德生物工程有限公司,BA2202),BDNF 兔源性多克隆抗体(北京博奥森生物技术有限公司,批号 bs-0248R),p-ERK1/2 兔源性多克隆抗体(巴傲得生物科技有限公司,批号 BS5016)。

1.3 仪器 EG1150H 型生物组织包埋机,ASP200s 型全密封式组织脱水机,RM2245 型石蜡切片机,均购自德国 Leica 公司),KD-P 型摊片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司,CX21 型-光学显微镜(日本 Olympus 公司)。

2 方法

2.1 分组 实验动物按随机分组法分为康脑液高、中、低剂量组,模型组、假手术组,其中康脑液高、中、低剂量组、模型组、假手术组,又分为再灌后 1,6,12,24,72,168 h 共 6 个时间点,每个时间点各 6 只。

2.2 给药剂量及方式 给药剂量按大鼠与人体的每公斤体重剂量折算,康脑液剂高、中、低剂量组分

别为 28.6,14.3,7.15 g·kg⁻¹·d⁻¹,假手术组、模型组给予等体积溶剂。分别于术前 7 d 开始 ig 给药,每天按时给药 1 次,最后 1 次给药后 1 h,制备大脑中动脉缺血模型。

2.3 动物模型的制作 参照 Longa 等^[4]的改良线栓法制作大脑中动脉缺血/再灌注模型(middle cerebral artery occlusion, MCAO)。分离颈外动脉(ECA)和颈内动脉(ICA),在 ECA 远心端及近心端约距离分叉处 7 ~ 5 mm 处结扎颈外动脉,同时离断,夹闭 CCA 和 ICA,将颈外动脉与颈总动脉拉直,并剪一小口,将栓线经颈外动脉缓慢插入颈内动脉,直到感觉进线稍有阻力时停止进线,并将其稍退出 1 ~ 2 mm,表示栓线到达大脑中动脉起始部,进线约 18 ~ 20 mm,此时开始记录缺血时间,固定栓线,最后缝合伤口。缺血 2 h 后进行再灌注,将栓线经颈外动脉缓慢拔出至颈外动脉,恢复大脑中动脉血供,术中控制室温在 23 ~ 25 ℃。其中假手术组仅分离颈总、颈外、颈内动脉,结扎颈外动脉,不剪断。动物清醒后,按照 Bederson J B 等^[5]采用的方法对手术动物进行神经功能行为评分,标准如下:0 分,未观察到神经功能缺陷症状;1 分,不能完全伸展手术对侧前爪;2 分,向手术对侧转圈;3 分,向手术对侧倾倒;4 分,不能自发行走,意识昏迷。评分在 1 ~ 3 分之间的定为模型制作成功。

2.4 脑梗死体积的测定 缺血/再灌注 24 h 后处死麻醉大鼠,迅速断头取脑组织,放于 -20 ℃冰箱快速冷冻 8 min,将其按 2 mm 厚度切成 5 片,放入 2% 三苯基四唑化氮(TTC)磷酸盐缓冲液中,经 37 ℃水浴锅中孵育 15 min,正常脑组织染成红色,梗死染成白色。然后将脑组织取出置于 4% 多聚甲醛中固定 24 h 后进行拍照。采用 image pro plus 6.0 软件测量脑组织梗死体积的大小

$$\text{脑梗死体积} = (\text{脑梗死面积} / \text{全脑面积}) \times 100\%$$

2.5 免疫组织化学法 石蜡切片脱蜡至水,枸橼酸盐微波修复抗原后,应用 S-ABC 试剂盒,分别加入抗体 MMP-9, BDNF, p-ERK1/2 兔源性多克隆抗体,行免疫组化 DAB 显色。每个检测指标于每只大鼠每个蜡块切片中随机选取 1 张切片,应用光学显微镜及其真彩病理图文分析系统采集图片,镜下在细胞浆或细胞核中有棕色颗粒物者表达为阳性反应细胞,于每张切片梗死侧皮层随机选取 6 个不重复(40 × 10)高倍视野(high power field, HPF),分别计算阳性细胞数(个/HPF),以反映阳性细胞表达的量 and 强度。

2.6 统计学分析 采用 SPSS 17.0 统计软件进行统计学分析,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较分别采用单因素及双因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对 I/R 大鼠神经功能评分的影响 假手术大鼠清醒后神经功能评分均为 0 分,未见明显神经

功能缺损表现。模型组及康脑液各组大鼠造模后都存在明显的神经功能缺损,提示造模成功。比较各组大鼠的神经功能评分后发现,缺血再灌注后 1 d 到 7 d,康脑液处理各组大鼠与模型组大鼠的神经系统评分进行比较有所降低,其中康脑液高剂量处理组大鼠神经功能评分明显降低 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 康脑液对脑缺血再灌注大鼠神经功能评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 1 Effects of Kangnaoye on neurological scores in rats after cerebral ischemia reperfusion ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	6 h	12 h	24 h	72 h	7 d
假手术	—	—	—	—	—	—
模型	—	2.58 ± 0.38	2.50 ± 0.55	2.67 ± 0.41	2.58 ± 0.41	1.72 ± 0.20
康脑液	28.6	2.42 ± 0.49	2.42 ± 0.80	1.67 ± 0.41 ²⁾	1.58 ± 0.38 ²⁾	1.08 ± 0.49 ²⁾
	14.3	2.42 ± 0.58	2.25 ± 0.27	2.25 ± 0.76	2.08 ± 0.20	1.17 ± 0.26 ²⁾
	7.15	2.33 ± 0.52	2.33 ± 0.40	2.42 ± 0.49	2.25 ± 0.61	1.75 ± 0.42

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$;与模型组比较³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$ (表 3 ~ 5 同)。

3.2 对脑缺血/再灌注后大鼠脑梗死体积影响 大鼠 I/R 24 h 梗死面积迅速增大达高峰。将模型组及康脑液高、中、低剂量组大鼠于缺血再灌注 24 h 后麻醉取脑行 TTC 染色显示,模型组大鼠可见损伤侧脑组织大片苍白色梗死灶,与同时点康脑液组比较,康脑液预处理组梗死灶体积均有不同程度缩小,以高、中剂量组效果最明显 ($P < 0.05$)。见表 2。

3.3 对 I/R 大鼠脑组织内 BDNF 表达的影响 假手术组大鼠脑内可见 BDNF 表达的阳性细胞,与模型组大鼠相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$),模型组大鼠于缺血再灌注后 1 h 表达明显,6 h 表达量逐渐增多,24 h 其阳性表达达高峰,3 d 时

表 2 康脑液对脑缺血再灌注 24 h 大鼠脑梗死灶体积的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 2 Effects of Kangnaoye on infarct volume in rats after 24 hours of cerebral ischemia reperfusion ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	脑梗死体积/%
模型	—	29.46 ± 5.76
康脑液	28.6	13.91 ± 0.89 ¹⁾
	14.3	16.92 ± 1.30 ¹⁾
	7.15	21.77 ± 1.09

注:与模型组比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

开始下降,7 d 时显著降低,康脑液高、中剂量干预组大鼠与模型组比较,各时间点脑内 BDNF 阳性表达细胞数均明显增高 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 康脑液对脑缺血再灌注大鼠不同时间点 BDNF 阳性细胞数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)
Table 3 Effects of Kangnaoye on numbers of BDNF positive cells in rats after cerebral ischemia reperfusion ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 / $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	BDNF/个					
		1 h	6 h	12 h	24 h	72 h	7 d
假手术	—	11.83 ± 2.23	12.83 ± 1.94	13.83 ± 1.72	14.83 ± 1.72	15.33 ± 1.75	11.17 ± 2.14
模型	—	17.67 ± 1.51 ²⁾	25.17 ± 2.32 ²⁾	31.33 ± 2.58 ²⁾	39.33 ± 2.66 ²⁾	25.33 ± 1.63 ²⁾	13.83 ± 1.83 ¹⁾
康脑液	28.6	21.83 ± 2.14 ^{2,4)}	31.17 ± 2.14 ^{2,4)}	40.83 ± 2.31 ^{2,4)}	71.67 ± 5.92 ^{2,4)}	42.80 ± 2.32 ^{2,4)}	21.33 ± 1.63 ^{2,4)}
	14.3	22.84 ± 2.48 ^{2,4)}	31.67 ± 2.16 ^{2,4)}	43.33 ± 2.07 ^{2,4)}	72.17 ± 4.07 ^{2,4)}	43.17 ± 2.32 ^{2,4)}	20.67 ± 1.86 ^{2,4)}
	7.15	18.75 ± 2.22 ²⁾	25.33 ± 1.53 ²⁾	33.17 ± 1.72 ²⁾	58.83 ± 3.19 ^{2,4)}	36.17 ± 2.93 ^{2,4)}	13.17 ± 2.99 ²⁾

3.4 对 I/R 大鼠脑组织内 MMP-9 表达的影响 假手术组大鼠脑内可见少量 MMP-9 表达的阳性细胞,与模型组比较有统计学意义 ($P < 0.05$)。其中模型组大鼠脑组织内 MMP-9 在脑缺血再灌注后 1 h 表达迅速增高,24 h 表达量达高峰,7 d 显著下降。与模型

组相比,康脑液高、中剂量干预组大鼠脑内 MMP-9 各时间点表达明显降低 ($P < 0.05$)。见表 4。

3.5 对 I/R 大鼠脑组织内 p-ERK1/2 表达的影响 本实验结果显示假手术组大鼠脑内可见少量阳性 p-ERK1/2 表达,与模型组大鼠相比差异有统计

学意义 ($P < 0.05$), 模型组大鼠于缺血再灌注后 1 h 开始表达, 6 h 表达迅速增高, 12 h 表达量有所下降, 24 h 其表达再次升高达高峰, 3 d 时开始下降, 7 d 时显著下降, 康脑液高、低剂量组与模型组比较, 各时间点大鼠脑内 p-ERK1/2 阳性表达明显高于模型组 ($P < 0.05$)。见表 5。

表 4 康脑液对脑缺血再灌注不同时间点大鼠 MMP-9 阳性细胞数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 4 Effects of Kangnaoye on numbers of MMP-9 positive cells in rats after cerebral ischemia reperfusion ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	MMP-9/个					
		1 h	6 h	12 h	24 h	72 h	7 d
假手术	—	1.83 ± 0.75	2.67 ± 1.21	2.17 ± 1.47	2.67 ± 1.03	2.83 ± 1.33	2.67 ± 1.63
模型	—	30.83 ± 2.40 ²⁾	34.33 ± 3.44 ²⁾	35.67 ± 1.75 ²⁾	50.33 ± 2.80 ²⁾	39.50 ± 2.66 ²⁾	14.67 ± 1.37 ²⁾
康脑液	28.6	20.33 ± 2.34 ^{2,4)}	30.17 ± 2.14 ^{2,4)}	27.67 ± 2.07 ^{2,4)}	41.83 ± 2.48 ^{2,4)}	28.17 ± 2.32 ^{2,4)}	10.83 ± 1.47 ^{2,4)}
	14.3	19.68 ± 2.66 ^{2,3)}	29.83 ± 2.32 ^{2,4)}	24.17 ± 2.23 ^{2,4)}	39.83 ± 5.04 ^{2,3)}	24.83 ± 2.14 ^{2,4)}	9.17 ± 1.47 ^{2,4)}
	7.15	26.67 ± 3.01 ²⁾	35.17 ± 2.86 ^{2,4)}	33.83 ± 2.04 ^{2,4)}	49.33 ± 3.56 ²⁾	37.50 ± 2.88 ²⁾	14.83 ± 1.47 ^{2,3)}

表 5 康脑液对脑缺血再灌注不同时间点大鼠 p-ERK1/2 阳性细胞数的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 5 Effect of Kangnaoye on numbers of p-ERK1/2 positive cells in rats after cerebral ischemia repertusion ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	p-ERK1/2/个					
		1 h	6 h	12 h	24 h	72 h	7 d
假手术	—	5.83 ± 2.71	5.67 ± 2.42	6.17 ± 1.47	6.33 ± 2.34	7.50 ± 2.66	5.50 ± 1.52
模型	—	11.17 ± 3.49 ²⁾	15.50 ± 4.09 ²⁾	12.67 ± 2.73 ²⁾	17.83 ± 2.56 ²⁾	12.67 ± 2.58 ²⁾	9.67 ± 0.82 ²⁾
康脑液	28.6	15.17 ± 2.79 ^{2,4)}	22.67 ± 3.08 ^{2,4)}	17.33 ± 2.07 ^{2,4)}	23.17 ± 1.72 ^{2,4)}	17.17 ± 1.47 ^{2,4)}	13.17 ± 1.60 ^{2,4)}
	14.3	14.17 ± 2.79 ^{2,4)}	23.17 ± 2.23 ^{2,4)}	19.67 ± 2.80 ^{2,4)}	23.67 ± 2.50 ^{2,4)}	17.33 ± 2.25 ^{2,4)}	11.83 ± 1.94 ^{2,3)}
	7.15	9.67 ± 1.51 ²⁾	12.67 ± 2.34 ²⁾	10.17 ± 2.04 ²⁾	16.17 ± 2.04 ²⁾	12.17 ± 1.72 ²⁾	8.67 ± 1.63 ²⁾

4 讨论

神经血管单元是一个包括神经元、星形胶质细胞、内皮细胞、细胞基质及其相互作用在内的动态的功能性复合概念模型^[6]。脑缺血再灌注损伤通过多种机制,包括氧化应激、炎症反应、兴奋性神经递质释放、钙超载等,引起神经元细胞、内皮细胞、胶质细胞以及细胞外基质等之间复杂的病理生理变化,导致神经血管单元的损害,最终出现神经功能缺失的临床表现。

BDNF 是在脑内合成且广泛存在的一种蛋白质,具有促进于神经元存活、改善神经元病理状态及再生等多种生物学效应^[7],是保护神经血管单元的重要因子之一。当神经元受损和病变时,神经元、胶质细胞、血管内皮细胞可表达大量的 BDNF,使神经元免受缺血、缺氧和应激等损害^[8]。还有研究报道其具有促进血管新生的作用,BDNF 能增强脑源性内皮细胞在二维基质胶上形成完整的微管状结构^[9],可能是一种新的促血管新生因子。目前研究发现,许多中药也具有促进 BDNF 表达的作用,丹参是康脑液的重要组成成分之一。王强等^[10]研究显示中药丹参的水溶性成分中重要的有机酸丹参多酚

酸盐,能明显提升脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织中 BDNF 及 GDNF 的含量,发挥脑保护的作用。本实验研究发现康脑液预处理后,大鼠脑内 BDNF 的表达显著上升,进而发挥神经血管的保护作用。

ERK 是 MAPK 家族中的一个亚族,在脑缺血发生后,释放出许多因子包括生长因子、细胞因子等,它们可激活 MAPK 通路,在细胞质中使细胞骨架磷酸化,通过磷酸化转录因子调节基因表达^[11]。本研究发现,在脑缺血再灌注早期就可以检测到阳性表达的 p-ERK1/2,给予康脑液干预后,其表达明显增多。ERK1/2 是介导血管新生的一类重要的信号蛋白,有研究^[12]显示 BDNF 可通过激活 ERK1/2 信号通路,实现促血管新生的作用。p-ERK1/2 是 ERK 的活化形式。同时,MAPK 通路为参与血脑屏障保护作用的一条关键通路^[13],近年来有研究显示,激活 ERK1/2 信号通路有利于降低缺血大鼠脑组织中 MMP-9 的活性,减少神经细胞死亡^[14]。

细胞外基质是 NVU 的重要组成成分^[15]。具有维持 NVU 稳定性,是细胞与细胞内、细胞与细胞外基质间信号传递的重要途径。基质金属蛋白酶 (matrix metalloproteinase, MMPs) 是一种锌依赖性

蛋白水解酶,主要功能是分解细胞外基质。脑缺血急性期,MMPs 参与炎症损伤反应,在维持血脑屏障的功能等方面起负面的影响^[16],其中 MMP-9 与脑缺血后血脑屏障损伤的关系最为密切^[17]。MMP-9 可以通过攻击和破坏血脑屏障造成脑水肿和脑出血,对神经元也有不同程度的毒性作用^[18]。本实验中康脑液通过抑制脑梗死早期 MMP-9 的表达,减轻其对细胞外基质的破坏,保护血脑屏障,维持神经血管单元的完整性、预防脑梗死后出血性转化及减轻脑水肿。

康脑液是经方补阳还五汤的加减方,主要由黄芪、丹参、葛根、钩藤、川芎、三七粉等药物组成,具有益气活血、化瘀通络、平肝潜阳的作用。研究发现康脑液预处理可能激活了 I/R 大鼠脑内 ERK1/2 信号通路,一方面,促进内源性 BDNF 的表达,保护缺血缺氧神经细胞及促进神经血管再生;另一方面,抑制 MMP-9 的大量表达,减轻对细胞外基质的破坏,保护 NVU 的血脑屏障结构,减轻脑水肿及降低出血性转化的风险。因此,笔者得出结论康脑液可能通过激活 ERK1/2 信号通路,促进内源性神经营养因子的表达,降低基质金属蛋白酶,挽救缺血半暗带的神经细胞、缩小脑梗死体积,减轻脑缺血再灌注对神经血管单元损伤。但是具体机制尚有待进一步实验研究。

[参考文献]

[1] Roger V L, Go A S, Lloyd-Jones D M, et al. Executive summary: heart disease and stroke statistics 2012 update: a report from the American heart association [J]. Circulation, 2012, 125: 188-197.

[2] Del Zoppo G J. Stroke and neurovascular protection [J]. N Engl Med, 2006, 354: 553-555.

[3] 耿倩, 邹玉安, 薛茜. 康脑液对脑缺血再灌注大鼠 GFAP 和 NeuN 表达的影响 [J]. 中国临床药理学杂志, 2012, 11 (28): 843-845.

[4] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniotomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20 (1): 84-91.

[5] Bederson J B, Pitts L H, Tsuji M, et al. Rat middle cerebral artery occlusion: evaluation of the model and development of a neurologic examination [J]. Stroke, 1986, 17 (3): 472-476.

[6] 刘庆山, 方亮, 王维群, 等. 基于神经血管单元和网络药理学理论的抗脑卒中神经病变靶点分析 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37 (2): 138-141.

[7] Grade S, Weng Y C, Snappyan M, et al. Brain-derived

neurotrophic factor promotes vasculature-associated migration of neuronal precursors toward the ischemic striatum [J]. PLoS One, 2013, 8 (1): e55039.

[8] Guo S, Kim W J, Lok J, et al. Neuroprotection via matrix-troohic [J]. Acad Sci USA, 2008, 105: 7582-7587.

[9] Kim H, Li Q, Hem Pstead B L, et al. Paracrine and autocrine functions of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NGF) in brain derived endothelial cells [J]. J Biol Chem, 2004, 279 (32): 33538-33546.

[10] 王强, 张一, 王榕, 等. 丹参多酚酸盐对缺血再灌注损伤大鼠脑组织 BDNF 和 GDNF 的影响 [J]. 卒中与神经疾病, 2013, 5 (20): 272-274.

[11] Wu D C, Ye W, Che X M, et al. Actirration of mitogen actibated protein kinases after permanent cerebri artery icclusion in mouse brain [J]. Blood Flow Merab, 2000, 20 (9): 1320-1330.

[12] 王雅丹, 胡豫, 孙春艳. Akt, ERK1/2 活化在脑源性神经营养因子促血管新生中的作用 [J]. 中国病理生理杂志, 2007, 23 (5): 833-838.

[13] Rumbant R E, McKay M K, Huxley V H. Capillary hydraulic conductivity is decreased by nitric oxide synthase inhibition [J]. Am J Physiol, 1995, 268 (2 / 5): H1856-H1861.

[14] Khawar Chaudhry, Ryan Rogers, Miao Guo, et al. Matrix metaloprotease 9 (MMP-9) expression and extracellular signal-regulated kinase 1 and 2 (ERK1/2) activation in exercise-reduced neuronal apoptosis after stroke, neuroscience letters [J]. Department Neurol Surg, 2010, 474 (2): 109-114.

[15] Lo E H, Dalkara T, Moskowitz M A. Mechanisms, challenges and opportunities in stroke [J]. Nat Rev Neurosci, 2003, 4 (5): 399-415.

[16] Feng S, Cen J, Huang Y, et al. Matrix metalloproteinase-2 and -9 secreted by leukemic cells increase the permeability of blood-brain barrier by disrupting tight junction proteins [J]. PLoS One, 2011, 6 (8): e20599.

[17] Li H, Wei M, Li S, et al. Increased CD147 and MMP-9 expression in the normal rat brain after gamma irradiation [J]. J Radiat Res, 2013, 54 (1): 27-35.

[18] Liu W, Hendren J, Qin X J, et al. Normobaric hyperoxia attenuates early blood-bran barrier disruption by inhibiting MMP-9-mediated occudin degradation in focal cerebral ischemia [J]. J Neurochem, 2009, 108 (3): 811-820.

[责任编辑 周冰冰]