

· 药理 ·

丹参多酚酸对大鼠糖尿病脑缺血再灌注 损伤恢复期相关基因表达的影响

何前松^{1,2}, 马萌萌¹, 胡利民^{1*}, 杨红云¹, 刘晓雷¹, 王乔悦¹,
庄朋伟¹, 张艳军¹, 叶正良³, 鞠爱春³

(1. 天津中医药大学 中医药研究院, 天津市现代中药重点实验室 省部共建
国家重点实验室, 天津市中药药理学重点实验室, 天津 300193;

2. 贵阳中医学院, 贵阳 550002; 3. 天津天士力之骄药业有限公司, 天津 300400)

[摘要] 目的:研究丹参多酚酸对大鼠糖尿病局灶性脑缺血再灌注损伤恢复期相关基因表达的影响,探索丹参多酚酸治疗糖尿病脑卒中的作用机制。方法:选用健康雄性 Wistar 大鼠,体重 200~220 g,按 60 mg·kg⁻¹ 剂量一次性腹腔注射链脲佐菌素(STZ)溶液建立糖尿病大鼠模型,造模成功后将大鼠随机分为假手术组、脑缺血再灌注模型组和丹参多酚酸治疗组,每组 6 只大鼠,采用线栓法建立局灶性脑缺血再灌注模型。丹参多酚酸治疗组于再灌注 3 h 后尾静脉注射(21 mg·kg⁻¹),每日 1 次,连续给药 14 d,假手术组和模型组给予同体积生理盐水。采用基因芯片技术检测脑组织中相关基因表达。结果:糖尿病大鼠脑卒中 14 d 后,模型组与假手术组比较差异表达的基因有 67 条,其中有 41 条基因上调,26 条基因下调($P \leq 0.05$, 倍数变化(FC) ≥ 2.0);丹参多酚酸治疗组与模型组比较差异表达的基因有 64 条,其中有 45 条基因上调,19 条基因下调 $P \leq 0.05$, FC ≥ 2.0 。结论:丹参多酚酸对糖尿病局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织基因表达具有调控作用,为进一步研究注射用丹参多酚酸治疗糖尿病脑卒中的机制提供了新的线索。

[关键词] 糖尿病; 局灶性脑缺血再灌注损伤; 注射用丹参多酚酸; 基因表达谱

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)07-0080-07

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015070080

Effect of Salvianolic Acids on Related Gene Expression in Convalescent Period of Cerebral Ischemia-reperfusion Injury in Diabetic Rats

HE Qian-song^{1,2}, MA Meng-meng¹, HU Li-min^{1*}, YANG Hong-yun¹,
LIU Xiao-lei¹, WANG Qiao-yue¹, ZHUANG Peng-wei¹, ZHANG Yan-jun¹, YE Zheng-liang³, JU Ai-chun³
(1. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Tianjin State Key Laboratory of Modern Chinese Medicine, Tianjin Key Laboratory of TCM Pharmacology, Tianjin 300193, China; 2. Guiyang College of TCM, Guiyang 550002, China; 3. Tianjin Tasly Pride Pharmaceutical Co. Ltd., Tianjin 300400, China)

[Abstract] **Objective:** This paper studies the effect of salvianolic acids on the related gene expression in the convalescent period of cerebral ischemia-reperfusion injury in diabetic rats, in order to explore the mechanism.

Method: The Wistar rats were randomly divided into control group and model group. The single intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) 60 mg·kg⁻¹ was used to establish diabetes mellitus. After the modeling, the rats were randomly assigned to sham group (SH), ischemia-reperfusion group (IR) and salvianolic acids treatment group, six rats in each group. The focal cerebral ischemia-reperfusion model was used. The rats in the salvianolic acids treatment group would receive tail vein injection (21 mg·kg⁻¹) after 3 hours of reperfusion, once per day for 14 days. The SH and the model group were injected with the same volume of saline. The related gene expression in

[收稿日期] 20140907(002)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2012ZX09101202);“十二五”期间天津市高等学校“创新团队培养计划”项目(TD12-5035)

[第一作者] 何前松,在读博士,副教授,从事中医药防治脑血管疾病的机制研究, Tel:15332001322, E-mail:hqs0820@126.com

[通讯作者] *胡利民,博士,研究员,从事脑血管病药理研究, Tel:022-59596166, E-mail:huliminth@126.com

the brain tissue was detected by the gene chip technique. **Result:** Fourteen days after the diabetic rats got a stroke, 67 differential expressed genes were detected, among the 41 genes were up-regulated and 26 genes were down-regulated [$P \leq 0.05$, fold chang (FC) ≥ 2.0]; fourteen days after the treatment of salvianolic acids, compared with model group 64 differential expressed genes were detected, among the 45 genes were up-regulated and 19 genes were down-regulated ($P \leq 0.05$, $FC \geq 2.0$). **Conclusion:** Salvianolic acids exerts regulation on the rat's cerebral gene expression during the focal cerebral ischemia-reperfusion injury (CIRI), which provides a new clue for the further study of the mechanism

[**Key words**] diabetes; focal cerebral ischemia-reperfusion injury; salvianolate lyophilized injection; gene expression profiles

脑血管疾病是危害人类身体健康的一类常见病,其发病率、致残率、病死率高,病因病机复杂。有研究证实,糖尿病是缺血性脑血管疾病的一个重要的独立危险因素,糖尿病能够加重脑缺血的发生、发展,使得脑梗死面积增加,临床预后较差^[1-2]。糖尿病加重脑缺血损伤的病理机制还未明确,其临床治疗仍然是一大难题^[3]。注射用丹参多酚酸是由中药丹参的水溶性酚酸类化合物制成的粉针剂,临床上已经广泛用于治疗轻中度脑梗死。已有研究表明,其主要成分丹酚酸B有明确的抗脑缺血损伤作用^[4],其作用与神经保护^[5]、血脑屏障保护^[6]及抗氧化和清除自由基^[7]等密切相关。然而,注射用丹参多酚酸对糖尿病脑血管疾病是否有干预作用,其作用机制如何,尚未见报道。有研究表明,在脑缺血脑损伤的模型中,运用基因芯片技术可从成千上万的基因中筛选出差异表达基因,这为针对性研究其病理机制和药物的作用靶点提供了依据^[8]。鉴于此,本研究应用基因芯片技术,从分子机制探索丹参多酚酸对糖尿病局灶性脑缺血大鼠脑组织基因表达的影响,为阐明注射用丹参多酚酸治疗糖尿病脑中风的机制提供了新的线索。

1 材料

1.1 动物 健康 Wistar 大鼠,18只,雄性,体重200~220g,清洁级,购于北京维通利华实验动物技术有限公司,合格证号 SCXK(京)2012-0001。

1.2 试剂和药品 链脲佐菌素(streptozotocin, STZ, 美国 Sigma 公司,批号 101347685),红四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC, 美国 Sigma 公司,批号 101060273), AMBION 动物试剂盒(AM1561)。

注射用丹参多酚酸(salvianolate lyophilized injection, SLI, 天津天士力之骄药业有限公司,批号 20121101,每支含丹参多酚酸 100mg,辅料甘露醇 30mg)。

1.3 仪器 Agilent Rat lncRNA(8×60K,设计标示号 062716 型芯片,上海欧易生物医学科技有限公司),Gene Genius 型电泳凝胶成像系统(美国 Gene Genius 公司),ND-2000 型超微量分光光度计(美国 Thermo Scientific 公司),2100 型生物分析仪(美国 Agilent Technologies 公司),G2505C Sure Scan 基因芯片-微阵列扫描仪(美国 Agilent Technologies 公司),Feature Extraction 软件(version 10.7.1.1, Agilent Technologies),Genespring 软件(version 12.5, Agilent Technologies)。

2 方法

2.1 1型糖尿病大鼠模型的制备 实验前禁食12h,自由饮水,一次性腹腔注射(ip)STZ 60mg·kg⁻¹(临用前溶于冰水的0.1mol·L⁻¹柠檬酸-柠檬酸钠缓冲溶液,pH 4.5)建立糖尿病大鼠模型。ip STZ 后1周空腹血糖 ≥ 13.88 mmol·L⁻¹作为1型糖尿病模型建模成功标准^[9-11]。所有动物正常饮食、自由饮水,饲养6周。

2.2 局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠模型的制备 参照 Zeal-Longa 等^[12]建立的 Wistar 大鼠脑缺血再灌注损伤动物模型,于缺血1.5h后进行再灌注,实验中用激光多普勒监测缺血侧脑血流,以血流数值突然下降75%左右,并在整个缺血过程中保持于此水平,直至线栓拔出之后缓慢恢复至接近基础值,为脑缺血的标准。手术24h后参考 Zea-Longa 法^[12]进行神经功能评分:无神经功能缺损症状,0分;轻微神经功能缺损,不能完全伸展左侧前爪,1分;中度神经功能缺损,向左侧转圈,2分;重度神经功能缺损,向左侧倾倒,3分;不能自发行走,意识水平下降,4分。评分为1~4分为造模成功,用于实验。术后自由饮水和进食。假手术组分离血管不插线栓。

2.3 动物分组及给药 将大鼠随机分为假手术组(DM + sham)(n=6),糖尿病脑缺血再灌注损伤模

型组 (DM + I/R) ($n = 6$), 糖尿病脑缺血再灌注损伤模型 + 丹参多酚酸治疗组 (DM + I/R) ($n = 6$), 于脑缺血再灌注后 3 h 给药 ($21 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), 以后每日 1 次, 连续给药 14 d, 其中假手术组和脑缺血再灌注损伤组给予等体积的生理盐水, 给药途径均为尾静脉注射。

2.4 取材 治疗 14 d 后, 将大鼠用 10% 水合氯醛 ($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$) 行腹腔注射麻醉, 剪开胸腔, 暴露心脏, 经左心尖将灌注针头插入主动脉后, 剪开右心耳, 快速推注冰生理盐水 200 mL, 立即断头并置于冰盒上开颅取脑, 快速分离缺血半暗带区, 用锡纸包裹, 液氮速冻, 然后放于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 超低温冰箱保存备用。

2.5 Total RNA 提取及质量鉴定 按总 RNA 提取试剂盒 Animal Total RNA Isolation Kit (Applied Biosystem p/n AM1556) 的说明书进行操作。样品总 RNA 利用 NanoDrop ND-2000 (Thermo Scientific) 定量并经 Agilent Bioanalyzer 2100 (Agilent Technologies) 检测 RNA 完整性, 如 $\text{RIN} \geq 7$, 则用于后续 mRNA 表达谱分析^[13]。

2.6 探针标记与杂交 RNA 质检合格后, 样本的标记、芯片的杂交以及洗脱参照 Agilent 表达谱基因芯片检测流程进行, 总 RNA 的纯化, cDNA 的合成, cRNA 的合成、纯化及质控, 芯片杂交。此过程具体操作由上海欧易生物医学科技有限公司完成。

2.7 芯片数据分析 对上述芯片结果采用 Agilent Scanner G2505C 扫描得到原始图像, 利用 Feature Extraction 软件进行数据的分析和处理, 并利用

Genespring 12.5 软件对数据进行定量标准化分析, 标准化后的数据进行过滤, 用于比较的每组样本中至少有一组 100% 标记为“P”的探针留下进行后续分析。利用 t 检验的 P 值和差异倍数变化 (FC) 进行差异基因筛选, 筛选的标准为上调或者下调 $\text{FC} \geq 2.0$ 且 $P \leq 0.05$, 并对差异基因进行非监督层次聚类分析, 以判定差异基因的主要生物学功能。

3 结果

3.1 总 RNA 抽提 抽提的总 RNA, 分别抽提假手术组、模型组和丹参多酚酸治疗组大鼠脑组织的总 RNA, 电泳结果显示, 不管在 $20 \text{ }^\circ\text{C}$ 状态还是在 $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴 1 h 后, 其 18 S 和 28 S 条带都很清晰, 28 S 条带的亮度约为 18 S 条带亮度的 2 倍 ($\text{RIN} \geq 7$ 且 $28 \text{ S}/18 \text{ S} \geq 0.7$), 总 RNA 吸光度 $A_{260}/A_{280} > 1.9$, 证实得到高纯度的总 RNA。

3.2 差异表达基因 糖尿病大鼠脑中 14 d 后, 模型组与假手术组之间差异表达的基因有 67 条, 其中 41 条基因上调, 26 条基因下调, 这些基因可能与糖尿病脑缺血再灌注损伤的发生发展密切相关。丹参多酚酸治疗组与模型组之间差异表达的基因有 64 条, 其中有 45 条基因在丹参多酚酸治疗以后明显上升, 而 19 条基因在丹参多酚酸治疗以后明显下降 (表 1, 图 1)。系统分析, 发现假手术组、模型组与丹参多酚酸治疗组共表达的基因有 176 个, 其中 69 个基因在模型组上调, 丹参多酚酸治疗后均不同程度下调, 71 个基因在模型组下调, 丹参多酚酸治疗后均不同程度上调, 丹参多酚酸可能通过调节这些共同影响的基因发挥治疗糖尿病脑中风的作用。

表 1 丹参多酚酸治疗组与模型组比较部分差异表达基因 ($P \leq 0.05$, $\text{FC} \geq 2.0$)

Table 1 There is part of difference appearing between treatment group with model group in expressing genes ($P \leq 0.05$, $\text{FC} \geq 2.0$)

| 基因序列号 | 基因名称 | P | 组间差异倍数 (绝对值) | 组间差异 趋势 |
|--------------|----------------------------------------------------------------------------------------|-------|-----------------|------------|
| NM_139257 | lymphocyte antigen 6 complex, locus 1 | 0.018 | 2.13 | up |
| XM_002726051 | similar to hypothetical protein | 0.048 | 5.50 | up |
| NM_053896 | aldehyde dehydrogenase 1 family | 0.025 | 3.73 | down |
| NM_001191984 | paired box 7 | 0.005 | 2.46 | up |
| NM_012688 | cholecystokinin A receptor | 0.048 | 2.33 | up |
| XM_001077044 | similar to ETS domain transcription factor ERF | 0.004 | 3.85 | up |
| NM_001039505 | iroquois homeobox 2 | 0.047 | 2.15 | up |
| NM_001012206 | pleckstrin homology-like domain, family A | 0.009 | 2.43 | up |
| NM_001015032 | UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine; polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 3 | 0.011 | 3.15 | down |
| XR_085785 | non-SMC condensin I complex, subunit H | 0.048 | 2.05 | down |
| XM_003751615 | uncharacterized LOC100911264 | 0.036 | 3.48 | up |

续表 1

| 基因序列号 | 基因名称 | <i>P</i> | 组间差异倍数 (绝对值) | 组间差异 趋势 |
|--------------|-------------------------------------------------------------|----------|-----------------|------------|
| NM_001108383 | early B-cell factor 2 | 0.027 | 2.92 | up |
| NM_001106582 | G protein-coupled receptor 165 | 0.049 | 3.71 | up |
| NM_031737 | NK6 homeobox 1 | 0.034 | 2.32 | up |
| NM_001109366 | hypothetical LOC503435 | 0.036 | 2.54 | down |
| NM_001013885 | similar to RIKEN cDNA 4933417A18 | 0.023 | 2.28 | down |
| NM_012643 | ret proto-oncogene | 0.027 | 2.79 | up |
| NM_016989 | adenylate cyclase activating polypeptide 1 | 0.034 | 2.46 | up |
| NM_012742 | forkhead box A1 | 0.046 | 3.32 | up |
| NM_198199 | pyroglutamylated RFamide peptide receptor | 0.035 | 2.74 | up |
| NM_017078 | cholinergic receptor, nicotinic, alpha 5 | 0.042 | 2.10 | up |
| NM_001107630 | vestigial like 2 (Drosophila) | 0.016 | 2.24 | up |
| XM_003754686 | similar to APH1B homolog (C. elegans) | 0.038 | 2.69 | down |
| NM_001031654 | annexin A8 | 0.013 | 2.19 | up |
| NM_019150 | urocortin | 0.032 | 2.65 | up |
| NM_001271242 | complement component 1 | 0.013 | 5.80 | up |
| NM_019334 | paired-like homeodomain 2 | 0.050 | 10.46 | up |
| NM_001106849 | splA/ryanodine receptor domain and SOCS box containing 4 | 0.028 | 2.06 | up |
| M88345 | cystathionine beta synthase | 0.014 | 2.38 | up |
| NM_017016 | histidine decarboxylase | 0.006 | 6.50 | up |
| NM_001109379 | dead end homolog 1 (zebrafish) | 0.034 | 2.93 | down |
| NM_175592 | calcium channel, voltage-dependent, alpha 2 | 0.030 | 2.04 | up |
| NM_001047967 | LRRGT00080 | 0.034 | 2.30 | down |
| NM_001134728 | sperm associated antigen 16 | 0.003 | 2.05 | down |
| NM_001105716 | cellular retinoic acid binding protein 1 | 0.028 | 2.94 | up |
| XM_235301 | similar to lymphocyte protein tyrosine kinase | 0.024 | 2.47 | up |
| NM_017297 | potassium inwardly-rectifying channel | 0.021 | 2.02 | up |
| XM_001062863 | CWC22 spliceosome-associated protein homolog | 0.012 | 2.05 | down |
| NM_138541 | epithelial cell adhesion molecule | 0.030 | 2.26 | up |
| NM_012794 | glycosylation dependent cell adhesion molecule 1 | 0.038 | 5.18 | down |
| NM_001047878 | coagulation factor V (proaccelerin, labile factor) | 0.039 | 3.55 | down |
| XM_002724783 | MICAL-like 2 | 0.013 | 2.05 | up |
| NM_053626 | D-amino-acid oxidase | 0.013 | 5.68 | up |
| NM_024356 | GTP cyclohydrolase 1 | 0.025 | 3.06 | up |
| NM_053731 | netrin 1 | 0.018 | 2.30 | up |
| NM_021680 | neurexophilin 4 | 0.002 | 3.07 | up |
| NM_020096 | interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 1 | 0.017 | 36.45 | up |
| NM_001013248 | forkhead box B1 | 0.039 | 7.06 | up |
| XM_001077542 | tumor necrosis factor receptor superfamily, member 13c | 0.022 | 2.15 | up |
| NM_001107413 | iroquois homeobox 3 | 0.019 | 3.21 | up |
| NM_170667 | relaxin 3 | 0.004 | 14.95 | up |
| NM_013093 | NK2 homeobox 1 | 0.036 | 13.09 | up |
| NM_001107435 | potassium voltage-gated channel, subfamily G, member 4 | 0.037 | 2.09 | up |
| NM_001106629 | six transmembrane epithelial antigen of the prostate 1 | 0.047 | 2.91 | down |
| NM_001107641 | single-minded homolog 1 (Drosophila) | 0.013 | 4.13 | up |
| NM_012633 | peripherin | 0.008 | 5.63 | up |

注: up. 上调; down. 下调。

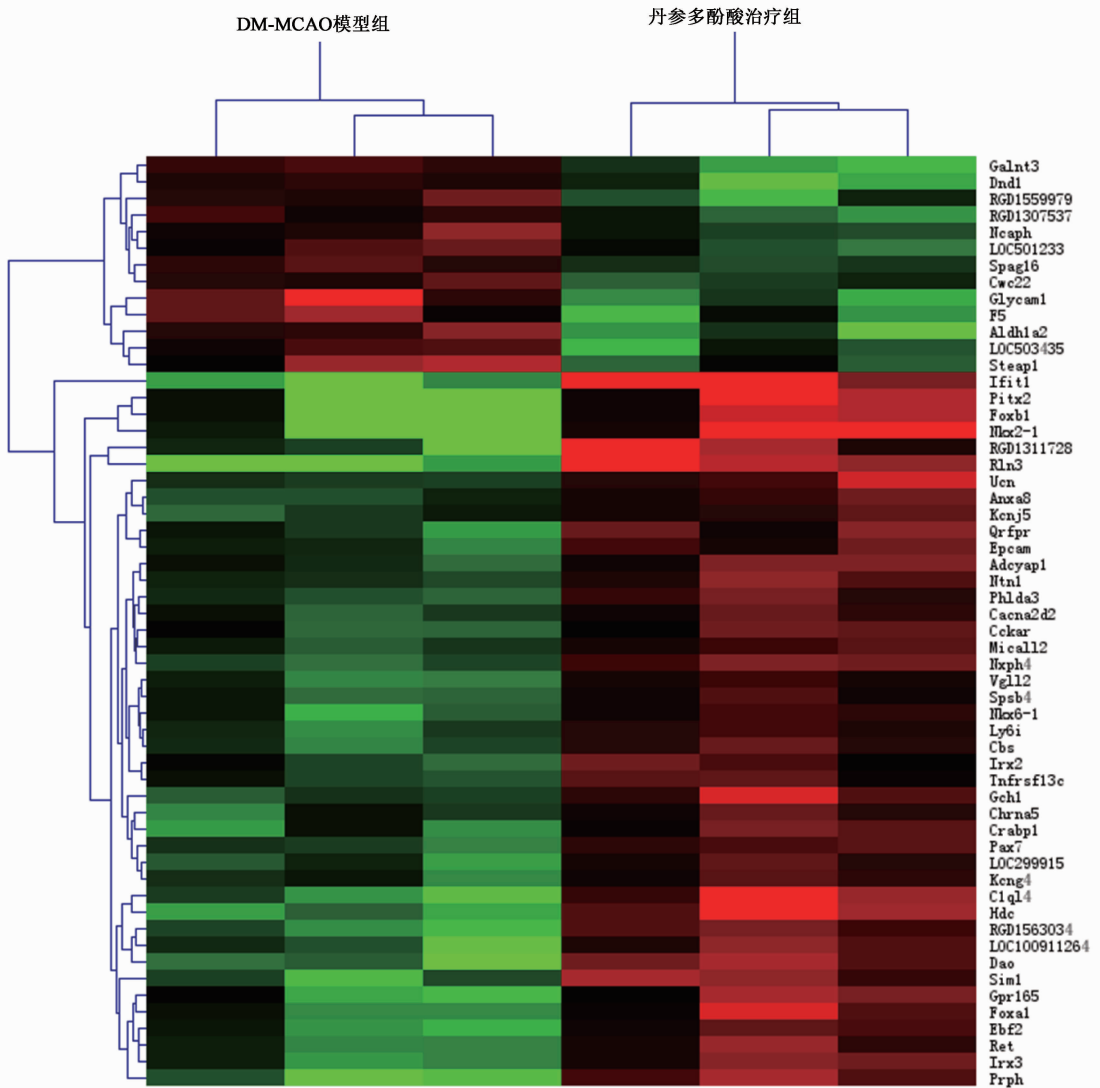


图 1 丹参多酚酸治疗组差异表达基因非监督层次聚类[色阶表示基因表达量从相对低(绿)到相对高(红)变化]
Fig.1 Genes, different part expressed by treatment group, are unsupervised hierarchical clustering [from relatively low levels said gene expression (green) to relatively high (red) change]

4 讨论

糖尿病是脑中风的独立危险因素,其发病率高。据统计,糖尿病人群脑血管病发病率为非糖尿病人群的 4~5 倍,高血糖和糖尿病能够引起血管内皮细胞功能紊乱,增加血管通透性,加重脑缺血再灌注损伤,预后较差^[14-18]。探讨糖尿病合并脑缺血发生的病理机制,研究药物对其治疗作用具有重要价值。因此,本研究采用基因芯片技术探讨丹参多酚酸对糖尿病局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织基因表达谱的影响。已有报道,运用该方法揭示了栀子苷、黄芩苷对局灶性脑缺血大鼠脑组织基因表达具有调控作用,通过多基因,多途径调节大鼠脑缺血基因表达,从分子水平阐释了中药清开灵注射液的作用机

制^[19-20]。本研究结果显示,假手术组、模型组与丹参多酚酸治疗组有共表达基因 176 个,其中 69 个基因在模型组上调,丹参多酚酸治疗后均下调,71 个基因在模型组下调,丹参多酚酸治疗后均上调,丹参多酚酸治疗后差异表达基因有 64 个,其中有 45 个基因上调,19 个基因下调。这些基因涉及炎症、凋亡、物质代谢、神经血管新生及信号传导等,可能是药物作用的靶点或药物信号传导通路上的重要环节。如参与炎症、凋亡发生发展的 MMP-9 和 c-fos,本研究结果表明在模型组表达量比假手术组显著增多,丹参多酚酸治疗后 MMP-9 和 c-fos 表达下调,这可能是药物作用的靶点。

基质金属蛋白酶 MMP-9 (matrix metalloproteinase, MMP-9) 是 MMPs 家族中的主要成员,正常

脑组织中呈低水平表达,在脑缺血再灌注后,基质金属蛋白酶的表达增加,通过降解细胞外基质导致血脑屏障破坏、并引起血管源性脑水肿、出血转化及炎症反应,从而加重缺血性脑损害^[21-23]。给予蛋白酶抑制剂抑制 MMPs 活性减轻脑缺血再灌注损伤,降低血管源性水肿的发生率^[24]。本实验结果显示,在糖尿病脑缺血再灌注损伤恢复期治疗 14 d 后,模型组 MMP-9 表达量上调,丹参多酚酸治疗组 MMP-9 表达下调,说明丹参多酚酸能改善糖尿病脑缺血再灌注损伤血脑屏障通透性,拮抗脑损伤,促进神经功能恢复。

c-fos 是原癌基因家庭成员,是神经功能活动的代谢性标志物,在神经细胞凋亡等方面起到重要作用^[25]。已有研究证实 c-fos 在正常脑组织中表达量少,缺血再灌注处理后 c-fos 表达量显著增多,脑缺血再灌注后 Ras 信号传导途径的激活,诱导肿瘤生长因子及 c-fos 的产生,加重脑损伤^[26-27]。本实验研究结果显示糖尿病脑缺血模型组 c-fos 基因在缺血周边区表达上调,丹参多酚酸治疗组 c-fos 基因表达下调,说明丹参多酚酸可以通过抑制脑缺血再灌注后细胞凋亡,促进恢复。

丹参多酚酸对糖尿病脑缺血再灌注损伤的治疗可能是通过多途径、多靶点发挥药理作用。糖尿病脑缺血再灌注损伤病理机制复杂,目前很难完全解释机体所有基因的生物学功能与生理病理机制及基因群之间的相互作用或药物作用靶点,但本研究利用基因芯片技术,从几万条基因中筛选出丹参多酚酸调节糖尿病脑缺血再灌注损伤恢复的几十条基因,从基因水平上阐释了注射用丹参多酚酸的药理作用,为进一步研究注射用丹参多酚酸治疗糖尿病脑卒中的机制提供了新的线索,可避免选择指标的盲目性。

[参考文献]

[1] Mazighi M, Amarenco P. Hyperglycemia: a predictor of poor prognosis in acute stroke [J]. *Diabetes Metab*, 2001, 27(6):718-720.
[2] Luitse M J, Biessels G J, Rutten G E, et al. Diabetes, hyperglycaemia, and acute ischaemic stroke [J]. *Lancet Neurol*, 2012, 11(3):261-271.
[3] Krzyt N D, Biessels G J, Devries J H, et al. Hyperglycemia in acute ischemic stroke: pathophysiology and clinical management [J]. *Nat Rev Neurol*, 2010, 6(3):145-155.
[4] 钟静,唐民科,张妍,等. 丹酚酸 B 对脑缺血再灌注大

鼠神经细胞损伤和神经发生的影响[J]. *药学报*, 2007, 42(7):716-721.
[5] Chen Y H, Du G H, Zhang J T. Salvianolic acid B protects brain against injuries caused by ischemia-reperfusion in rats [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2000, 21(5):463-466.
[6] Tang M, Feng W, Zhang Y, et al. Salvianolic acid B improves motor function after cerebral ischemia in rats [J]. *Behav Pharmacol*, 2006, 17(516):493-498.
[7] Tang M K, Zhang J T. Salvianolic acid B inhibits fibril formation and neurotoxicity of amyloid beta-protein *in vitro* [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2001, 22(4):380-384.
[8] 张占军,应康,王忠,等. 基因表达谱芯片筛选局灶性脑缺血大鼠脑相关基因的研究[J]. *中国病理生理杂志*, 2004, 20(8):1427-1433.
[9] Kim J, Yokoyama K, Araki S. The effects of Ginkgo biloba extract (GBe) on axonal transport microvasculature and morphology of sciatic nerve in streptozotocin-induced diabetic rats [J]. *Environ Health Prev Med*, 2000, 5(2):53-59.
[10] Fan X, Qiu J, Yu Z, et al. A rat model of studying tissue-type plasminogen activator thrombolysis in ischemic stroke with diabetes [J]. *Stroke*, 2012, 43(2):567-570.
[11] Fallahi F, Roghani M, Moghadami S. Citrus flavonoid naringenin improves aortic reactivity in streptozotocin-diabetic rats [J]. *Indian J Pharmacol*, 2012, 44(3):382-386.
[12] 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.
[13] Opitz L, Salinas-Riester G, Grade M, et al. Impact of RNA degradation on gene expression profiling [J]. *BMC Med Genomics*, 2010(3):36.
[14] Bomont L, MacKenzie E T. Neuroprotection after focal cerebral ischaemia in hyperglycaemic and diabetic rats [J]. *Neurosci Lett*, 1995, 197(1):53-56.
[15] Harada S, Fujita W H, Shichi K, et al. The development of glucose intolerance after focal cerebral ischemia participates in subsequent neuronal damage [J]. *Brain Res*, 2009, 7(1279):174-181.
[16] Rizk N N, Myatt-Jones J, Rafols J, et al. Insulin like growth factor-1 (IGF-1) decreases ischemia-reperfusion induced apoptosis and necrosis in diabetic rats [J]. *Endocrine*, 2007, 31(1):66-71.
[17] Liang W, Chuan-Zhen L, Qiang D, et al. Reductions in mRNA of the neuroprotective agent, neuroserpin, after cerebral ischemia/reperfusion in diabetic rats [J].

- Brain Res, 2004, 1015(1/2):175-180.
- [18] Li W, Prakash R, Kelly-Cobbs A I, et al. Adaptive cerebral neovascularization in a model of type 2 diabetes; relevance to focal cerebral ischemia [J]. Diabetes, 2010, 59(1):228-235.
- [19] 王忠, 应康, 张占军, 等. 黄芩苷对局灶性脑缺血大鼠脑组织基因表达谱的影响[J]. 中国中药杂志, 2004, 29(1):83-86.
- [20] 张小燕, 张占军, 王忠, 等. 栀子苷对局灶性脑缺血大鼠脑组织基因表达谱的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2005, 25(1):42-44.
- [21] Wojcik-Stanaszek L, Sypecka J, Szymczak P, et al. The potential role of metalloproteinases in neurogenesis in the gerbil hippocampus following global forebrain ischemia [J]. PLoS One, 2011, 6(7):e22465.
- [22] Rosenberg G A, Yang Y. Vasogenic edema due to tight junction disruption by matrix metalloproteinases in cerebral ischemia [J]. Neurosurg Focus, 2007, 22(5):E4.
- [23] Kamada H, Yu F, Nito C, et al. Influence of hyperglycemia on oxidative stress and matrix metalloproteinase-9 activation after focal cerebral ischemia/reperfusion in rats; relation to blood-brain barrier dysfunction [J]. Stroke, 2007, 38(3):1044-1049.
- [24] Cunningham L A, Wetzel M, Rosenberg G A. Multiple roles for MMPs and TIMPs in cerebral ischemia [J]. Glia, 2005, 50(4):329-339.
- [25] 黄旭昇, 朱克. 缺血性脑血管病基础研究新进展[J]. 国外医学:脑血管疾病分册, 1995, 3(1):4-7.
- [26] 肖成云, 刘军涛. 川芎嗪对大鼠脑缺血再灌注 Bcl-2, c-fos, Caspase-3 的影响[J]. 河南中医学院学报, 2007, 22(4):28-29.
- [27] 国风, 陈子兴. 他汀类药物与细胞增殖及凋亡[J]. 国外医学:肿瘤学分册, 2000, 27(4):208-210.

[责任编辑 聂淑琴]

《中国医药导报》杂志 欢迎订阅 欢迎投稿

《中国医药导报》杂志是国家卫生和计划生育委员会主管、中国医学科学院主办的医药卫生期刊,现为旬刊,国内统一刊号 CN11-5539/R,国际标准刊号 ISSN1673-7210,邮发代号 80-372。本刊系中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)、美国化学文摘(CA)收录期刊、解放军医学图书馆中文生物医学期刊文献数据库收录期刊,万方数据、中国知网、中文科技期刊全文数据库全文收录期刊。每期定价 20 元,全年 36 期优惠价 540 元。

本刊设专家论坛、综述、论著、实验研究、药理与毒理、临床研究、药物与临床、麻醉与镇痛、医学检验、病理分析、影像与介入、病例报告、医疗器械、中医中药、生物医药、药品检验、制剂与技术、药师与临床、不良反应监测、药物经济学、调查研究、护理研究、教育研究、科研管理、法规与标准、卫生研究、医疗管理、产业与市场、医药监管、工作探讨等栏目。是广大医药卫生科研、教育、医护、药事、经营管理等人员了解医药研究进展、发展动态,展示医药科研成果,学习先进经验,探讨工作难题,交流和提高业务学术水平的得力助手,也是发表医药学术论文的阵地。本刊订户凭订阅单复印件投稿优先发表。

社址:北京市朝阳区通惠家园惠润园(壹线国际)5-3-601 邮编:100025

投稿热线:010-59679061 59679063 发行热线:010-59679533

传真:010-59679056 投稿信箱:yydb@vip.163.com

网址:www.yiyaodaobao.com.cn