

· 新安医学 ·

脑络欣通方对脑缺血大鼠血管再生及局部脑血流量的影响

谭辉, 王键*, 尹婷婷, 胡建鹏, 何玲, 徐伟

(安徽中医药大学 新安医学教育部重点实验室, 合肥 230038)

[摘要] **目的:**探讨脑络欣通方对大鼠中动脉闭塞模型大鼠缺血再灌注(MCAO/R)损伤后大鼠血管新生及局部脑血流量(rCBF)的影响。**方法:**Wistar大鼠90只随机分为假手术组、模型组和脑络欣通组,采用线栓法制作MCAO/R模型,每组分3、7、14 d共3个时间点的亚组,酶联免疫吸附试验(ELISA)检测脑组织匀浆中内皮素(ET)和血小板生成素(TPO)水平,免疫组化法检测脑组织中血管内皮生长因子(VEGF)的表达,运用激光多普勒仪动态观察rCBF。**结果:**与假手术组比较,模型组TPO和ET水平明显升高,VEGF蛋白表达增加,rCBF降低;与模型组比较,脑络欣通组TPO和ET水平显著降低,VEGF蛋白表达增加,rCBF明显恢复;同组内比较,脑络欣通组第7天和第14天较第3天TPO水平显著下降,第7天和第14天ET水平较第3天明显下降,第14天较第3天VEGF蛋白表达增加,第14天rCBF较第3天显著增加。**结论:**脑络欣通冻干粉通过调节模型大鼠凝血纤溶调节因子和VEGF,促进血管新生而改善血流状态,提高局部脑血流量来发挥对缺血性脑血管病的治疗作用。

[关键词] 脑络欣通方; 血小板生成素; 内皮素; 血管内皮生长因子; 局部脑血流量

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)22-0021-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015220021

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20151022.1356.016.html>

[网络出版时间] 2015-10-22 13:56

Influence of Naoluo Xintong Prescription on Angiogenesis and rCBF in MCAO/R Rats TAN Hui, WANG Jian*, YIN Ting-ting, HU Jian-peng, HE Ling, XU Wei (Key Laboratory of Xin'an Medicine, Ministry of Education, Anhui University of Chinese Medicine, Hefei 230038, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss influence of Naoluo Xintong prescription on angiogenesis and rCBF in MCAO/R rats. **Method:** Wistar rats were randomly divided into sham group, model group and Naoluo Xintong group, model of MCAO/R rats was reproduced in accordance to suture method, and further were subdivided into three time points, such as 3, 7, 14 d. The content of thrombopoietin (TPO) and endothelin (ET) in brain tissue homogenate were determined by ELISA. Expressing of vascular endothelial growth factor (VEGF) protein in cerebrum was assayed by immunohistochemistry. The rCBF was dynamically measured by laser Doppler flowmeter. **Result:** Compared with sham group, the content of TPO and ET, VEGF protein significantly increased, rCBF reduced in Naoluo Xintong group. Compared with model group, the content of TPO and ET markedly reduced, the amount of VEGF protein and rCBF increased in Naoluo Xintong group. Compared within the same group, the content of TPO in Naoluo Xintong group in 7 d and Naoluo Xintong group in 14 d markedly reduced by comparing with Naoluo Xintong group in 3 d, the content of ET in Naoluo Xintong group in 7 d and Naoluo Xintong group in 14 d markedly reduced by comparing with Naoluo Xintong group in 3 d. The amount of VEGF protein in Naoluo Xintong group in 14 d increased by comparing with Naoluo Xintong group in 3 d. The rCBF in Naoluo Xintong group in 14 d markedly increased by comparing with Naoluo Xintong group in 3 d. **Conclusion:** Naoluo Xintong lyophilized powder can improve blood flow status, increase rCBF by regulating regulatory factor related to cruor, fibrinolysis, VEGF and promoting angiogenesis, which play an treatment role on ischemic cerebral vascular disease (ICVD).

[Key words] Naoluo Xintong prescription; thrombopoietin; endothelin; vascular endothelial growth factor; regional cerebral blood flow (rCBF)

[收稿日期] 20150801(008)

[基金项目] 国家科技支撑计划项目(2012BAI26B00);国家中医药管理局安徽新安王氏内科流派传承工作室建设项目;安徽中医药大学自然科学基金项目(2014zr001)

[通讯作者] *王键,教授,从事新安医学特色治法理论与实验研究, Tel:13695602939, E-mail:13695602939@163.com

脑络欣通方是著名新安医家王乐甸先生临床验方,为新安医学益气活血法的代表方,有着长期临床实践与药效学实验的基础。该方由黄芪、红花、三七、蜈蚣、天麻等共7味药组成,用药精确,组方严谨,针对缺血性脑血管病疗效显著。方中重用黄芪为君药,补气健脾益肺、通阳利尿托毒,现代药理学研究发现其具有增强毛细血管抵抗力、提高免疫力、扩张毛细血管、抗血小板聚集、调节血压等作用;黄芪含有的苷类、多糖类和黄酮类等成分,具有降低血小板黏附力,减少血栓形成的作用;气行则血行,黄芪除了补心脾肾之气,还可逐五脏恶血,通调血脉、流行经络,对于气虚血瘀证具有较强针对性^[1-3]。

川芎为臣药,具有活血祛风、通络止痛的功效,善行血中之气,引诸药上达巅顶,旁通四末,为气虚血瘀证病变首选活血药,可扩张血管、增加冠状动脉血流量、改善心脑血管循环及抗凝等作用,且能通过血脑屏障(blood brain barrier, BBB),对治疗急、慢性缺血性心血管病(ICVD)有良好疗效。研究证明三七具有兴奋中枢神经系统、扩张脑血管、降血脂等作用;红花中红花苷等成分、三七中皂苷和黄酮苷等成分及川芎嗪均能抑制血小板聚集、增强纤溶活性、降低全血黏度,且能扩张脑血管、改善微循环增加脑血流量。红花黄素还能延长凝血酶时间并抑制血小板聚集,明显降低体外纤维蛋白血栓长度和质量,防止血栓的形成和发展;红花醇提物和红花苷等成分能显著提高耐缺氧能力,对ICVD有良好保护作用。蜈蚣煎剂及天麻醇提物能改善微循环、降低脑血管阻力、延长凝血时间、降低血黏度^[1-3]。纵观全方,活血寓于甘温补气之中,气贯经脉,推动血行,再借活血之品辛散之性,使留络之瘀得以消散,营血流畅,经脉得养,寓益气以助血行,活血以畅气机,终能偏废自愈。

在本课题组前期工作的基础上,拟观察脑络欣通方对大脑中动脉闭塞模型大鼠缺血再灌注(middle cerebral artery occlusion/reperfusion, MCAO/R)损伤后微血管新生的影响^[4-5]。本实验以内皮素(ET),血小板生成素(TPO),血管内皮生长因子(VEGF)及局部脑血流量(rCBF)为切入点研究脑络欣通方对MCAO/R大鼠血管新生及局部血液供应的影响,并探讨其作用机制,为该复方的临床研究与应用提供参考。

1 材料

2-16PK型冷冻离心机(美国Sigma公司),FD-1C-50型冷冻干燥机(北京博医康实验仪器有限公

司),1510型酶标仪(美国Thermo公司),CHR-III型双极电凝器(上海Fisher实验器材有限公司),PeriFlux5000型激光多普勒仪(瑞典Perimed中国公司)。内皮素(ET)和血小板生成素(TPO)试剂盒(上海源叶科技有限公司,批号分别为0412091,1011041),血管内皮生长因子(VEGF)单克隆抗体(兔IgG)和正常山羊血清封闭液、生物素化山羊抗兔IgG(武汉博士德生物工程有限公司);黄芪、红花、三七、川芎、蜈蚣、当归、天麻按15:5:2:3:1:5:5比例称取,共502.2g,药材饮片均购自安徽中医药大学国医堂门诊部提供,经安徽中医药大学国医堂叶铭钢医师鉴定,均符合2010年版《中国药典》相关规定。

健康雄性Wistar大鼠90只,体重250~300g,由安徽医科大学实验动物中心提供,合格证号SCXK(皖)2013-0002。

2 方法

2.1 分组 大鼠分成假手术组、模型组、脑络欣通组共3组,每组分设3,7,14d共3个时间点的亚组,每个亚组10只。独立送风隔离笼具饲养,笼内温度控制在(22±1)℃,相对湿度60%。

2.2 线栓法制备MCAO/R模型大鼠及神经功能缺损评分 参照文献[6]中方法加以改良。1.5号“红狼”尼龙鱼线截成每根长50mm,一端用蚊香火焰烧灼成圆钝,解剖镜下观察头端直径(0.3±0.02)mm者留用并在20mm和30mm处打一结制备栓线待用。10%水合氯醛按剂量3.5μL·g⁻¹麻醉大鼠,常规消毒,钝性分离右侧颈总动脉(CCA),颈外动脉(ECA),颈内动脉(ICA),电凝枕动脉和甲状腺上动脉,把ECA远心端结扎2处。用动脉夹夹闭CCA,ICA和ICA的分支翼腭动脉近心端。从ECA两结扎处中间剪断,向下轻拉ECA使之与ICA成近似直线,在ECA近游离端斜剪V形切口并快速插入栓线,插入ICA约(18.0±0.5)mm(至感觉有少许阻力为止),阻断MCA血流,造成局灶性脑缺血,2h后向外拔出栓线少许(约5mm)造成缺血再灌注损伤。假手术组不插线,仅做颈动脉分离。手术过程中应用激光多普勒仪监测缺血区局部脑血流量(rCBF),再灌注之前rCBF降低到开始水平70%以上且苏醒后神经功能缺损评分为2~3分者为模型制作成功^[7]。大鼠苏醒后及每组最后1d进行神经功能缺损评分,无神经损伤症状记0分,不能完全伸展对侧前爪记1分,向外侧转圈记2分,向对侧倾倒记3分,不能自发行走、意识丧失记4分。

2.3 药物制备及给药 按脑络欣通处方比例称取各药味共 502.2 g, 粉碎成细粉, 过 20 目筛, 加水 1.6 L 于自动煎药机中煎煮 60 min, 自然冷却, 滤纸过滤, 离心去滓(4 ℃, 4 000 × g, 5 min), < 45 ℃ 浓缩至 197 mL, 低温真空干燥(-45 ℃, < 20 Pa), 制成脑络欣通冻干粉共 51.3 g, 计算出膏率 10.22%。将脑络欣通冻干粉配成 80 g·L⁻¹ 的溶液。脑络欣通各组大鼠按 0.01 mL·g⁻¹·d⁻¹ 灌胃给药(按 0.8 mg·g⁻¹ 体重计), 模型组和假手术组予以等量生理盐水。

2.4 动物处死与标本采集 腹主动脉采血, 离心(4 ℃, 2 000 × g, 下同)10 min, 收集血清, -70 ℃ 保存。每组大鼠随机选 7 只, 采血后于冰面上快速取脑, 弃脑干和小脑, 分离右侧大脑, 按 1:9 加磷酸盐缓冲液(PBS)制成 10% 脑组织匀浆, 离心 5 min, 吸取上清, 用于 ET 和 TPO 的检测。其余大鼠采血后打开胸腔, 于右心耳部剪一小口, 从左心室插入导管至主动脉, 迅速注入 37 ℃ 肝素化生理盐水约 200 mL, 至右心耳流出液变清亮, 注入 4% 多聚甲醛磷酸盐缓冲液约 300 mL, 灌流固定 30 min 后断头取脑, 去小脑和脑干, 放入固定液中固定 1 周, 常规脱水、透明、浸蜡等, 从视交叉后连续制作脑部冠状切片。

2.5 指标检测

2.5.1 大鼠脑组织匀浆 TPO 和 ET 检测 运用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验(ELISA), 严格按试剂盒说明进行稀释, 建立标准曲线、加样、温育、配液、洗涤、显色等步骤, 在 450 nm 处测定各孔吸光度 A。

2.5.2 免疫组织化学染色 SABC 法检测 VEGF 表达 每组大鼠取同部位进行切片, 常规免疫组化检测脑组织 VEGF 的表达。一抗为 PBS 稀释(1:100)的(兔 IgG) VEGF 抗体。阴性组采用正常山羊血清替代第一抗体进行, 二氨基联苯胺(DAB)显色,

苏木紫轻度复染, 中性树脂封片, 具体步骤严格按 SABC 试剂盒说明书操作。显微镜观察, 每张切片选额顶叶皮质, 根据缺血半暗带定位方法^[8] 选相近部位同倍(×200)的 7 个不同视野, 测定每个视野下阳性反应灰度值。

2.5.3 rCBF 的测定 运用激光多普勒仪在造模过程中各时间位点前监测 rCBF。选取手术侧梗死灶及其周边组织作为监测区域。大鼠麻醉后俯卧, 沿颅骨正中偏右切开皮肤及皮下组织, 钝性分离筋膜, 暴露颅骨, 定位头部右侧距矢状缝 2 mm, 冠状缝前 1 mm 处, 用生物胶将探头座固定于此, 安装连接探头, 常规调试仪器和校零。该点是 MCAO 后梗死灶的额顶运动区和苍白球部位, 皮质梗死部位是缺血周边区域(深度在大脑皮质 1 mm 内), 即缺血半暗带区^[9]。

2.6 统计学处理 数据分析采用 SPSS 20.0 统计学分析软件, 计量资料结果全部采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析, 经正态性检验和方差齐性检验后, 方差齐时采用最小显著法进行两两比较, 方差不齐时用 Games-Howell 法, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。图像统计采用 DP801 图像分析系统, 统计图表绘制采用 Eecel 2007 软件。

3 结果

3.1 各组大鼠脑组织匀浆中 TPO 和 ET 水平比较 与假手术组比较, 模型组各时间点大鼠脑组织匀浆 TPO 和 ET 水平均明显升高; 脑络欣通组 3, 7 d 时间点 TPO 水平和 3 d 时间点 ET 水平明显升高。与模型组比较, 脑络欣通组 7, 14 d 时间点 TPO 水平显著降低, 3 个时间点 ET 水平显著降低。脑络欣通组 7, 14 d 时间点较 3 d 时间点 TPO 水平显著下降, 7, 14 d 时间点 ET 水平较 3 d 时间点明显下降。见表 1。

表 1 脑络欣通冻干粉对大鼠脑组织匀浆中 TPO 和 ET 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	TPO			ET		
	3 d	7 d	14 d	3 d	7 d	14 d
假手术	93.31 ± 9.26	94.05 ± 10.01	93.88 ± 9.89	81.76 ± 9.75	80.87 ± 8.97	81.57 ± 9.60
模型	145.98 ± 13.01 ²⁾	140.05 ± 12.58 ²⁾	120.82 ± 9.98 ^{2,5,7)}	131.12 ± 20.28 ²⁾	120.01 ± 20.15 ²⁾	118.45 ± 15.40 ^{2,5)}
脑络欣通	139.31 ± 9.82 ²⁾	105.20 ± 9.01 ^{1,3,5)}	95.21 ± 6.20 ^{3,6)}	100.53 ± 12.94 ^{1,3)}	83.20 ± 7.74 ^{4,5)}	82.99 ± 7.05 ^{4,5)}

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⁾ $P < 0.01$;与同组内 3 d 时间点比较⁵⁾ $P < 0.05$, ⁶⁾ $P < 0.01$;与同组内 7 d 时间点比较⁷⁾ $P < 0.05$ (表 2 同)。

3.2 各组大鼠脑组织 VEGF 表达比较 假手术组可见少量表达, 模型组各时间点 VEGF 蛋白表达增

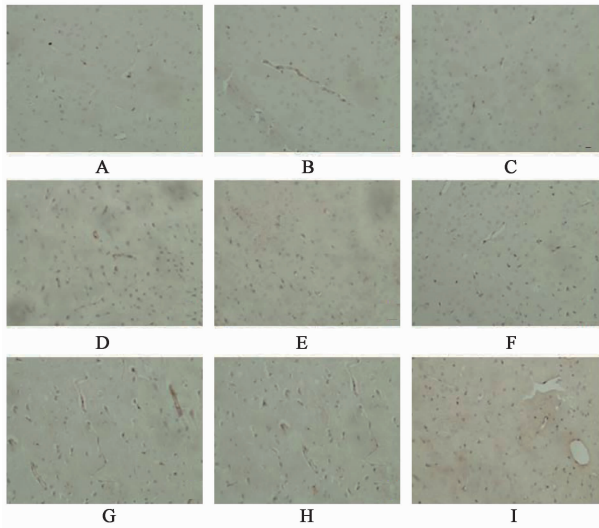
加, 主要在缺血半暗带血管内皮细胞胞浆表达增强, 其灰度值与假手术组比较有显著差异, 脑络欣通组

VEGF 蛋白表达升高,与模型组比较有显著增加;同组内不同时间点比较,模型组 7 d 时间点较 3 d 时间点 VEGF 蛋白表达增加,脑络欣通 14 d 较 3 d 时间

点 VEGF 蛋白表达增加,而较 7 d 时间点则表达减少。见表 2 和图 1。

表 2 脑络欣通冻干粉对大鼠脑组织 VEGF 表达影响的灰度值($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	3 d	7 d	14 d
假手术	529.29 ± 80.67	550.86 ± 82.62	482.57 ± 86.62
模型	1 431.29 ± 243.32 ¹⁾	2 474.71 ± 365.09 ^{1,5)}	1 720.00 ± 241.56 ^{1,7)}
脑络欣通	3 485.86 ± 381.01 ^{1,4)}	9 375.29 ± 867.72 ^{1,4,6)}	6 393.57 ± 378.68 ^{1,4,5,7)}



A. 假手术组 3 d; B. 假手术组 7 d; C. 假手术组 14 d; D. 模型组 3 d; E. 模型组 7 d; F. 模型组 14 d; G. 脑络欣通组 3 d; H. 脑络欣通组 7 d; I. 脑络欣通组 14 d

图 1 大鼠脑组织 VEGF 的表达(SABC, ×400)

Fig. 1 Expressing of VEGF in brain tissue(SABC, ×400)

表 3 各组大鼠的 rCBF 比较($\bar{x} \pm s, n = 7$)

组别	插线后 5 min	3 d	7 d	14 d
假手术	122.56 ± 8.42	121.17 ± 8.28	122.45 ± 7.85	123.39 ± 8.70
模型	11.33 ± 1.59 ¹⁾	91.22 ± 4.76 ^{1,2,3)}	92.40 ± 4.28 ^{1,2,3)}	93.91 ± 4.12 ^{1,3)}
脑络欣通	10.75 ± 1.37 ¹⁾	91.80 ± 4.67 ^{1,3)}	101.48 ± 5.97 ^{1,2,3)}	122.51 ± 7.23 ^{1,2,3,4)}

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$;与同组内插线后 5 min 比较³⁾ $P < 0.01$;与同组内第 3 天比较⁴⁾ $P < 0.01$ 。

溶系统相关调节因子,当血管内皮受损时内皮细胞分泌并激活 TPO 和 ET,导致凝血功能亢进及动脉痉挛,最终形成栓塞。ET 作为强效血管收缩剂参与了脑梗死的发生发展,可引起脑血管痉挛、脑水肿导致颅内压升高,加重脑缺血缺氧状态^[13-15]。TPO 是分布在细胞膜上的一种糖蛋白,有特异性调节巨核细胞和血小板的作用,可明显促进骨髓细胞 CD₃₄⁺ 细胞血小板膜糖蛋白 II b/III a(GP II b/III a) 的表达,

组和脑络欣通组大鼠在各时间点 rCBF 均降低;与模型组比较,脑络欣通组第 7 天和第 14 天大鼠 rCBF 明显恢复;同组内不同时间点比较,脑络欣通组第 14 天大鼠 rCBF 较第 3 天显著增加。见表 3。

4 讨论

缺血性脑血管病发生后,在受损脑组织中存在血流低灌注区。机体会通过诱导血管新生而增加受损区的血氧供应,在一定程度上挽救缺血半暗带区域的神经细胞,减少梗死体积,从而改善脑缺血后的神经功能^[10-12]。VEGF 是内皮细胞特异性的促进有丝分裂原及趋化因子,可促进内皮细胞增殖而加速血管新生及侧支循环的建立,改善脑血流及直接保护神经元。在脑缺血早期,半暗带区神经组织功能丧失但有潜在的可逆性,超早期恢复缺血半暗带区血流是改善组织损伤的关键。恢复血流除依赖丰富的血管条件外,还受到血液流变性的影响,凝血纤溶功能直接影响着血液流变性。ET 和 TPO 是凝血纤

同时还可增强 ADP 对 GP II b/III a 的活化作用,而 GP II b/III a 是形成血栓的最关键因素,是血小板活化的标记物,在导致血栓形成的过程中起到关键作用^[16-17]。

rCBF 可直接反映局部脑组织的灌注状态。应用激光多普勒仪监测 rCBF 既有优点也有局限性,优点在于监测的实时性和直观性,不足之处往往是测量结果的相对性,而非绝对值。但如果在实验过

程中保证测量条件的一致性,不严格要求测定对象的基础数值,仅从数据实时变化和对比的角度去考虑,则可体现出本文研究意义和方法的优越性。

实验结果显示脑络欣通可调节由 MCAO/R 造成的 TPO 和 ET 异常分泌。通过降低 TPO 水平,减弱 TPO 对 GP II b/III a 的活化程度,进而减少血栓的形成。随着治疗时间的延长,ET 的水平也显著下降。结合脑络欣通药物的药理作用,例如黄芪可兴奋中枢神经,有显著的扩血管作用,可改善脑部的血液循环。蜈蚣含有组胺样物质,能扩张毛细血管,缓解小动脉痉挛和 ET 升高所造成的强烈血管收缩。结合本课题组前期研究结果,这可能跟脑络欣通改善 MCAO/R 造成的脑水肿及降低颅内压作用有关^[18-19]。rCBF 检测结果表明随着治疗时间段延长,缺血区血流量逐渐恢复。同时,脑络欣通可以增强缺血脑组织 VEFG 的表达,以血管内皮细胞胞浆为主,神经元细胞也有少量表达,急性期后,随着时间的延长 VEGF 表达逐渐减弱。提示脑络欣通可能通过上调缺血脑组织中 VEGF 表达而促进脑微血管新生,进而改善局部血供。

总之,血液的“浓、黏、集、聚”状态,血流缓慢,血栓形成和栓塞引起脑组织血液循环障碍是缺血性脑血管最重要的病理机制之一。本文研究的思路是选择合适剂量的脑络欣通,试图通过作用于 MCAO/R 模型大鼠调节其凝血纤溶调节因子及血管内皮生长因子,以改善血流状态、促进脑局部血管新生而改善局部脑血流量,挽救缺血半暗带神经元,探讨其对缺血性脑血管病可能的作用机制,可为脑络欣通方的临床应用和开发提供理论依据。

[参考文献]

[1] 俞天虹,储利胜,刘志婷,等. 不同黄芪剂量的补阳还五汤对大鼠脑缺血后神经干细胞增殖的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2013,19(7):182-185.

[2] 刘抒雯,刘敬霞,虎喜成,等. 三七皂苷治疗缺血性脑卒中研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2015,21(15):217-221.

[3] 宋向岗,周威,陈超,等. 基于分子对接方法的川芎治疗脑缺血的物质基础及分子机制研究[J]. 中国中药杂志,2015,40(11):2195-2199.

[4] Shi H, Liu X, Tang G, et al. Ethanol extract of *Portulaca oleracea* L. reduced the carbon tetrachloride induced liver injury in mice involving enhancement of NF- κ B activity[J]. Am J Transl Res, 2014, 22(6):746-755.

[5] 雷扬,周爱民,郭涛,等. 痰热清注射液对急性肝损伤大鼠的保护作用[J]. 中国中药杂志,2013,38(8):1226-1230.

[6] 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.

[7] 王世全,余良,郭宁,等. 白藜芦醇对大鼠局灶性脑缺血再灌注的治疗作用[J]. 现代生物医学进展, 2012, 12(16):3057-3059.

[8] Love S. Oxidative stress in brain ischemia[J]. Brain Pathol, 1999, 9(1):119-125.

[9] Yang G Y, Betz A L. Reperfusion-induced injury to the blood-brain barrier after middle cerebral artery occlusion in rats[J]. Stroke, 1994, 25(8):1658-1664.

[10] 郑咏秋,李磊,刘建勋,等. 华佗再造浸膏对大鼠局灶性脑缺血/再灌注神经发生作用及机制研究[J]. 中国中药杂志,2014,39(5):891-895.

[11] Wei L, Erinjeri J P, Rovainen C M, et al. Collateral growth and angiogenesis around cortical stroke[J]. Stroke, 2001, 32(9):2179-2184.

[12] Ye Y L, Huang C Y, Jiang L L, et al. Huanglian-Jie-Du-Tang extract protects against chronic brain injury after focal cerebral ischemia via hypoxia-inducible-factor-1 α -regulated vascular endothelial growth factor signaling in mice[J]. Biol Pharm Bull, 2012, 35(3):355-361.

[13] Demaerschalk B M, Silver B, Wong E, et al. ASPECT scoring to estimate >1/3 middle cerebral artery territory infarction[J]. Can J Neurol Sci, 2006, 33(2):200-204.

[14] 邱乐,王新生,刘擎. 益气活血法改善缺血性脑卒中急性期大鼠微循环障碍的机制[J]. 中国老年学杂志, 2012, 32(11):2323-2325.

[15] 董璇,郝亚荣,张黎军. 老年高血压病合并腔隙性脑梗死患者血清内皮素及高敏 C 反应蛋白的研究[J]. 卒中与神经疾病, 2011, 18(3):171-172.

[16] Kumar S, Rajshekh G, Prabhakar S. Platelet glycoprotein II b/III a inhibitors in acute ischemic stroke[J]. Neurol India, 2008, 56(4):399-404.

[17] Offermanns S. Activation of platelet function through G protein-coupled receptors[J]. Circ Res, 2006, 99(12):1293-1304.

[18] 王键,胡建鹏,李净. 脑络欣通对脑缺血再灌注大鼠 Fas、FasL 蛋白表达、脑水肿及神经体征的影响[J]. 中华中医药杂志, 2005, 20(2):86-88.

[19] 高峰,崔激. 颅脑外伤后微循环异常变化及损伤机制[J]. 白求恩军医学院学报, 2012, 10(3):216-218.

[责任编辑 刘德文]