

人参皂苷 Rb₁ 对脑缺血大鼠 GFAP 及脑血流的影响

杨春艳, 郭英, 李晨, 熊云霞, 陆学海, 赵丽琴, 罗海芸*
(昆明医科大学基础医学院, 昆明 650500)

[摘要] **目的:**采用光化学诱导局部脑缺血模型,研究人参皂苷 Rb₁ (ginsenoside Rb₁, GRb₁)对大鼠右侧脑皮质区神经胶质原纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)及局部脑血流量(regional cerebral blood flow, rCBF)的影响及可能的机制。**方法:**48只SD大鼠随机分为模型组,假手术组,GRb₁高剂量组(100 mg·kg⁻¹),中剂量组(50 mg·kg⁻¹),低剂量组(25 mg·kg⁻¹),尼莫地平组(1 mg·kg⁻¹),每组8只。用激光多普勒血流监测仪测定缺血后24h右侧脑皮质区rCBF的改变。用实时荧光定量PCR法(Real-time PCR)检测GFAP mRNA的表达,用免疫组化和蛋白免疫印迹法(Western bolt)检测GFAP的表达。应用神经行为学评分评价大鼠神经功能症状。**结果:**与假手术组比较,模型组rCBF明显下降($P < 0.01$);与模型组比较,高剂量GRb₁组神经功能缺损程度降低($P < 0.05$),GRb₁各组rCBF明显增加($P < 0.05$);模型组GFAP mRNA和蛋白表达较假手术组明显增加($P < 0.05$),GRb₁组GFAP阳性细胞表达较模型组明显增加($P < 0.05$),其中以高剂量GRb₁组GFAP表达增加明显($P < 0.01$);GRb₁高剂量组与尼莫地平组间差异无统计学意义。**结论:**在脑缺血急性期GRb₁可增加局部rCBF,并促进GFAP的表达,稳定星形胶质细胞形态,保护缺血半暗带细胞。

[关键词] 人参皂苷 Rb₁; 光诱导; 胶质原纤维酸性蛋白 (GFAP); 脑血流

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2018)01-0119-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2018010119

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20171011.1354.016.html>

[网络出版时间] 2017-10-11 13:54

Effect of Ginsenoside Rb₁ on GFAP/Regional Cerebral Blood Flow After Photochemical Ischemia in Rats

YANG Chun-yan, GUO Ying, LI Chen, XIONG Yun-xia, LU Xue-hai, ZHAO Li-qin, LUO Hai-yun*
(School of Basic Medicine, Kunming Medical University, Kunming 650500, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of ginsenoside Rb₁ (GRb₁) on glial fibrillary acidic protein (GFAP) and regional cerebral blood flow (rCBF) in cortex of rats and explore its possible mechanism by using photochemically induced local cerebral ischemia model. **Method:** Forty-eight SD rats were randomly divided into model group, sham operation group, GRb₁ high dose group (100 mg·kg⁻¹), medium dose group (50 mg·kg⁻¹), and low dose group (25 mg·kg⁻¹), as well as nimodipine group (1 mg·kg⁻¹), with 8 rats in each group. The changes of regional cerebral blood flow in the right cerebral cortex were measured by laser Doppler flowmetry after ischemia for 24 h. The expression of GFAP mRNA was detected with Real-time PCR method, while Western blot and immunohistochemistry method were used to detect the expression of GFAP protein. Neurological function of rats was detected by using the neurological behavior score. **Result:** As compared with the sham operation group, the cerebral blood flow was decreased significantly in the model group ($P < 0.01$). As compared to the model group, the neurological function deficits were decreased in high dose GRb₁ group ($P < 0.05$) and the

[收稿日期] 20170727(004)

[基金项目] 云南省应用基础研究昆明医科大学联合专项(2016LZ035)

[第一作者] 杨春艳,在读硕士,从事心脑血管疾病药物的研究,Tel:15974806945,E-mail:1838713353@qq.com

[通信作者] *罗海芸,硕士生导师,副教授,从事心脑血管疾病药物的研究,Tel:13648843071,E-mail:luohaiyun12@163.com

cerebral blood flow was increased significantly in GRb₁ groups ($P < 0.05$). The expression levels of GFAP mRNA and protein in model group were significantly higher than those in sham operation group ($P < 0.05$). As compared with the model group, GRb₁ groups can respectively increase the positive expression of GFAP ($P < 0.05$), especially in high dose group ($P < 0.01$); there was no significant difference between GRb₁ high dose group and nimodipine group. **Conclusion:** GRb₁ can increase regional cerebral blood flow, up-regulate the expression of GFAP, protect the morphology of astrocytes, and reduce the damage of ischemic penumbra neurons in acute cerebral ischemia stage.

[**Key words**] ginsenoside Rb₁; photothrombosis; glial fibrillary acidic protein (GFAP); regional cerebral blood flow

脑卒中是现代社会存在的高致残、高致死性疾病,其中缺血性脑卒中占 80% 以上^[1],严重影响了人类生命健康和生活质量。人参皂苷 Rb₁ (ginsenoside Rb₁, GRb₁) 是从人参、三七等植物根茎中提取的有效单体成分之一,可改善缺血损伤部位的细胞微环境,对缺血性脑损伤产生保护作用^[2]。星形胶质细胞(astrocytes, AS)通过足突包绕着神经元和脑毛细血管^[3],释放神经营养因子^[4],发挥营养支持和神经信号传递的作用。而胶质原纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)是 AS 的主要成分之一,维持 AS 结构和功能,是 AS 活化的特异性标志物^[5]。脑缺血发生后,缺血灶周边的 AS 表现为增殖活化状态^[6],随着时间推移,细胞能量代谢障碍加重,继而出现 AS 胞膜破坏^[7],若在缺血早期促进 AS 增殖,可在一定程度上弥补坏死的细胞,从而保护缺血半暗带细胞。通过对体外培养的过氧化氢诱导的 AS 氧化应激模型的研究发现人参皂苷 Rb₁, Rb₂, Rg₁, Rd, Re 可通过减少 AS 内活性氧(ROS)形成,提高抗氧化酶活性,有效降低氧化应激状态时 AS 的死亡^[8]。缺血缺氧时人参皂苷可作用于神经干细胞巢内的 AS,调控缺氧诱导因子-1(HIF-1),促进血管内皮生长因子(VEGF)表达,进而调控神经干细胞(NSCs)增殖^[9],并使增殖的神经干细胞更多向胶质细胞分化。在大鼠 AS 炎症模型的研究中发现人参皂苷显著抑制 AS 的 NO 释放,并减少 IL-6 和 TNF- α 等致炎因子的分泌^[10]。张利军等^[11]对大鼠大脑中动脉阻塞(MCAO)模型的研究发现,三七三醇皂苷(主要成分为 GRg₁)可促进 GFAP mRNA 和蛋白的表达。而人参皂苷 Rb₁ 对脑缺血时星形胶质细胞的影响罕见报道,为进一步探讨 GRb₁ 的脑缺血保护作用及其可能机制,本研究拟以光化学诱导的大鼠脑缺血损伤为模型,观察 GRb₁ 对脑缺血大鼠脑血流量(regional cerebral blood flow, rCBF)和 GFAP 的影响,为阐明 GRb₁ 对

脑缺血的保护作用机制提供新的实验依据。

1 材料

1.1 动物 健康成年 SD 雄性大鼠 48 只,体重 250 ~ 320 g,由昆明医科大学实验动物中心提供,动物合格证号 SCXK(滇)2015-0002。本实验经昆明医科大学伦理委员会批准(批号 KM16/17),实验动物符合中国伦理委员会指导原则,大鼠饲养于昆明医科大学实验动物中心。

1.2 试剂 GRb₁ 单体(由昆明制药厂提供,批号 110704-200318,纯度 > 98.75%);孟加拉红粉末(美国 Sigma 公司,批号 MKBW6260V);尼莫地平注射液(德国拜耳公司,批号 BXH5SZ1);Anti-GFAP antibody(英国 Abcam 公司,货号 EPR1034Y);辣根酶标记山羊抗兔 IgG(北京中杉金桥生物技术有限公司,货号 ZB2301);增强型 HRP-DAB 底物显色试剂盒(Tiagen 公司,货号 PA110);BCA 蛋白定量试剂盒(碧云天有限公司,货号 P1511);ECL 发光试剂(美国 Millipore 公司,货号 WBKLS0100);动物组织总 RNA 提取试剂盒(Tiagen 公司,货号 DP431);RevertAid First Strand cDNASynthesis Kit(美国 Thermo Fisher 公司,货号 K1622);qPCR Master Mix(美国 Vazyme 公司,货号 Q311-01/02/03);引物设计软件 Primer 5.0,由硕擎科技有限公司合成,GFAP(88 bp):上游 5'-CCCATCTATGAGGGTTA CGC-3',下游 5'-TTTAATGTCACGCACATTTTC-3'; β -actin(224 bp):上游 5'-GGAGATTACTGCCCTGGC TCCTA-3',下游 5'-GACTCATCGTACTCCTGCTTG CTG-3'。

1.3 仪器 68000 型大鼠脑立体定位仪(深圳市瑞沃德生命科技有限公司);PeriFlux Sys-tem 5000 型激光多普勒血流监测仪(广州市科之蓝仪器有限公司);ND-1000 型核酸蛋白定量仪(美国 Gene 公司);Mx3005P 实时荧光定量 PCR 仪(日本 Takara 公司);DM4000B 型高级显微镜(德国 Leica 公司);

Amersham Imager600 化学发光成像系统(美国 GE Healthcare 公司);RM2125RTS 型莱卡石蜡切片机(德国 leica 公司);Mini-Trans Cell 电泳系统、转模系统(美国 Bio-Rad 公司)。

2 方法

2.1 主要试验试剂的配制

2.1.1 GRB₁ 单体母液配制 按最大剂量组 100 mg·kg⁻¹ 计算,需配 0.02 g·mL⁻¹,精密称定 GRB₁ 单体 2 g 加 75% 乙醇 5 mL 混匀,缓慢加蒸馏水使其充分溶解后倒入 100 mL 量瓶中,定容到 100 mL 后备用,中剂量组对半稀释,低剂量组取中剂量对半稀释。

2.1.2 孟加拉红溶液的配制 称取孟加拉红粉末,用生理盐水配制成 10 g·L⁻¹ 溶液。

2.2 光化学诱导脑缺血模型的建立及给药 大鼠随机分成 6 个组,分别为缺血模型组,假手术组,缺血后给 GRB₁ 高剂量组(100 mg·kg⁻¹),中剂量组(50 mg·kg⁻¹),低剂量组(25 mg·kg⁻¹),尼莫地平组(1 mg·kg⁻¹)。参照文献[12]建立脑缺血模型,术前 12 h 禁食,以 3% 戊巴比妥钠(10 mg·kg⁻¹)腹腔麻醉。脑立体定位仪固定,暴露颅骨,561 nm 波长,直径 8 mm 的激光束(MGL-FN-561,瑞沃德公司)照射颅骨前凶前 0.5 mm,中线旁开 3.5 mm,20 min,手术结束后缝合皮肤,术后回笼并控制笼舍的温度。假手术组,手术步骤如前,只不注射孟加拉红。GRB₁ 组手术后 4 h 腹腔给药;模型组和假手术组用生理盐水代替。造模后根据 Longa^[13] 评分,对大鼠神经功能进行评分。0 分,无神经功能缺损;1 分,提尾时,缺血侧对侧前爪屈曲(轻度缺损);2 分,行走时,向瘫痪侧转圈(中度缺损);3 分,行走时,身体向瘫痪侧倾倒(重度缺损);4 分,不能行走,有意识丧失。评分为 1~3 分判定为制备模型成功。

2.3 大鼠脑皮质区脑血流量的测定 脑缺血 24 h 后麻醉动物,以大鼠脑立体定位仪固定,前凶前、右 3 mm 坐标处用牙科钻打孔,不穿破硬脑膜,置入接触式探头,待稳定几分钟后采用激光多普勒血流监测仪记录右侧脑皮质部血流灌注,连续监测 5 min。

2.4 实时荧光定量 PCR 法(Real-time PCR)检测 GFAP mRNA 的表达 严格按照说明书操作,抽提总 RNA。cDNA 的合成:用 Thermo 的反转录试剂盒,配制总体积 20 μL 的反应体系合成 cDNA,保存于 -80 ℃。测定抽提总 RNA 的浓度和质量。Real-time PCR 检测,配制总体积 20 μL 反应体系,用实时

荧光定量 PCR 仪进行反应,反应条件为预变性 95 ℃,30 s,变性 95 ℃,10 s,退火、延伸 60 ℃,30 s,40 个循环。采用 2^{-ΔΔC_t} 法计算 GFAP mRNA 的相对表达量。

2.5 免疫组化检测 GFAP 的表达 造模成功后 24 h,处死大鼠并取脑,常规固定,石蜡包埋及切片。抗原修复后,滴加 Anti-GFAP antibody(1:300),放入湿盒 4 ℃ 孵育过夜;滴加辣根酶标记山羊抗兔 IgG(1:300);DAB 显色;复染-脱水-透明-中性树脂胶封片。

2.6 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测 GFAP 蛋白的表达 超声破碎细胞提取蛋白,BCA 法测定蛋白浓度。配制 10% 分离胶,转膜后加入 Anti-GFAP antibody(1:10 000),过夜,次日洗膜后加入辣根酶标记山羊抗兔 IgG(1:5 000)。孵育 1 h 后 ECL 发光 3 min,在 Amersham Imager 600 系统采集图像。

2.7 统计学分析 应用 SPSS 16.0 进行统计学分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验,*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 GRB₁ 对脑缺血大鼠 Longa 评分的影响 脑缺血模型组术后 24 h 神经功能缺损情况有加重趋势;与模型组相比,GRB₁ 高剂量组和尼莫地平组 Longa 评分均有下降(*P* < 0.05),低、中剂量组无统计学意义。见表 1。

表 1 GRB₁ 对光诱导脑缺血大鼠 Longa 评分的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 1 Effect of GRB₁ on Longa score in ischemic rats($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	术后清醒后(给药前)	给药后 24 h
假手术	-	0	0
模型	-	2.65 ± 0.13 ¹⁾	2.73 ± 0.14 ¹⁾
尼莫地平	1	2.55 ± 0.12 ¹⁾	2.25 ± 0.12 ^{1,2)}
GRB ₁	25	2.74 ± 0.06 ¹⁾	2.70 ± 0.11 ¹⁾
	50	2.63 ± 0.06 ¹⁾	2.58 ± 0.06 ¹⁾
	100	2.67 ± 0.15 ¹⁾	2.23 ± 0.06 ^{1,2)}

注:与假手术组比较¹⁾*P* < 0.05;与模型组比较²⁾*P* < 0.05。

3.2 GRB₁ 对脑缺血大鼠脑皮质区血流量的影响 与假手术组比较,缺血模型组脑皮质区血流量显著减少(*P* < 0.01);与模型组比较,GRB₁ 组 rCBF 均有增加(*P* < 0.05),以 GRB₁ 中、高剂量组增加明显(*P* < 0.05),且 GRB₁ 高剂量组与尼莫地平组相比差异无统计学意义。见表 2。

3.3 GRB₁ 对脑缺血大鼠 GFAP mRNA 的影响 模型组 GFAP mRNA 表达比假手术组明显增加(*P* <

表2 GRb₁对大鼠脑缺血24 h后皮质区rCBF变化的影响($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

Table 2 Change of region cerebral blood flow in cortex in postoperative 24 hours($\bar{x} \pm s$, $n=8$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	脑血流值/PU
假手术	-	117.33 ± 4.3
模型	-	30.89 ± 3.5 ¹⁾
尼莫地平	1	97.22 ± 2.3 ²⁾
GRb ₁	25	60.12 ± 2.5 ²⁾
	50	85.24 ± 1.8 ²⁾
	100	96.32 ± 2.0 ²⁾

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$ 。

0.05), GRb₁各剂量组和尼莫地平组GFAP mRNA表达较模型组增加,以中、高剂量组和尼莫地平组增加明显($P < 0.05$),其中GRb₁高剂量组与尼莫地平组之间差异均无统计学意义。见表3。

表3 GRb₁对大鼠脑缺血24 h后各组GFAP mRNA表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 3 Expression of GFAP mRNA in cortex in postoperative 24 hours($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	GFAP
假手术	-	1.018 ± 0.088
模型	-	1.518 ± 0.070 ¹⁾
尼莫地平	1	1.918 ± 0.104 ^{1,2)}
GRb ₁	25	1.644 ± 0.083
	50	1.818 ± 0.080 ^{1,2)}
	100	1.951 ± 0.108 ^{1,2)}

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

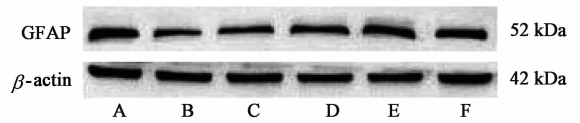
3.4 GRb₁对脑缺血大鼠GFAP蛋白表达的影响
与假手术组比较,模型组GFAP表达明显增加($P < 0.05$);与模型组比较,GRb₁中、高剂量组GFAP表达明显增加($P < 0.05$),尼莫地平组GFAP的表达也明显增加($P < 0.05$),且GRb₁高剂量组与尼莫地平组之间差异均无统计学意义。见表4,图1。

表4 GRb₁对脑缺血大鼠GFAP蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 4 Effect of GRb₁ on expression of GFAP protein in ischemic rats($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	GFAP/ β -actin
假手术	-	0.15 ± 0.02
模型	-	0.27 ± 0.05 ¹⁾
尼莫地平	1	0.44 ± 0.02 ^{1,2)}
GRb ₁	25	0.23 ± 0.03
	50	0.42 ± 0.02 ^{1,2)}
	100	0.45 ± 0.01 ^{1,2)}

3.5 GRb₁对脑缺血大鼠GFAP表达的影响 模型



A. 模型组;B. 假手术组;C~E. GRb₁低、中、高剂量组;F. 尼莫地平组(图2同)

图1 各组大鼠GFAP蛋白表达

Fig. 1 Expression of GFAP protein in each groups

组比假手术组GFAP阳性细胞数目增多($P < 0.05$)。与模型组比较,GRb₁组GFAP阳性细胞突起增多,未见空泡样细胞,阳性细胞数量增多($P < 0.05$),以高剂量GRb₁组显著增加($P < 0.01$)。尼莫地平组GFAP阳性细胞数量也有增多,且与高剂量GRb₁组比较差异无统计学意义。见表5,图2。

表5 GRb₁对脑缺血大鼠脑皮质区GFAP阳性神经元积分吸光度的影响($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

Table 5 Effect of GRb₁ on GFAP IA of positive expression in ischemic rats($\bar{x} \pm s$, $n=6$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	IA
假手术	-	131.45 ± 2.45 ²⁾
模型	-	123.57 ± 2.21 ¹⁾
尼莫地平	1	85.75 ± 5.97 ^{1,2)}
GRb ₁	25	124.32 ± 1.95 ¹⁾
	50	108.95 ± 6.1 ^{1,2)}
	100	89.16 ± 3.76 ^{1,2)}

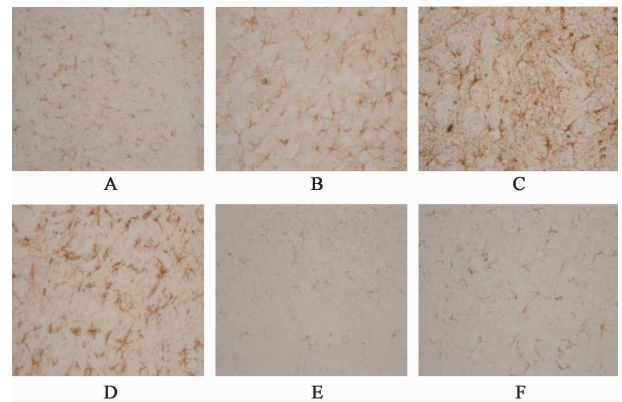


图2 GRb₁对脑缺血大鼠脑皮质区GFAP阳性表达的影响(免疫组化, $\times 400$)

Fig. 2 Effect of GRb₁ on positive expression of GFAP in pialium after cerebral ischemia (IHC, $\times 400$)

4 讨论

脑缺血发生后缺血灶可分为两个区域:即中心区及缺血灶周边的缺血半暗带区^[14]。缺血后缺血灶中心细胞迅速发生不可逆的坏死;而周围的缺血半暗带区则可维持24 h或者数天。因此,在脑缺血急性期拯救缺血半暗带神经元是治疗的目标。脑缺

血过程中神经胶质细胞及微血管受到影响,有研究表明星形胶质细胞可表达将谷氨酸转变成甘氨酸的酶蛋白,及将氨基酸催化生成环氧甘氨酸三烯酸(EETs)的酶,EETs作用是使钾离子外流增加,舒张脑动脉平滑肌,增加rCBF。脑缺血时发生一系列炎症级联反应,基质金属蛋白酶表达增加,血管基底膜结构被破坏,微血管通透性增高,星形胶质细胞足突与血管基膜分离,星形胶质细胞肿胀继而破裂坏死^[15-16]。所以促进星形胶质细胞增殖,保护星形胶质细胞形态是改善脑血流的作用靶点。

因rCBF与脑梗死体积存在线性相关^[17],测定rCBF可判断造模是否成功,一般来说正常情况下脑血流定义为100%,则缺血时局部脑血流会降到25%以下^[18],表明造模成功。脑血流也可以作为评判药物疗效的一项指标。本课题组前期研究发现GRB₁通过上调星形胶质细胞内的谷氨酸转运体GLT-1的表达,调节微环境中Glu及Ca²⁺的转移,这可能是人参皂苷改善脑血流的机制之一。

本实验结果显示,脑缺血后半暗带区GFAP表达明显增加,GFAP阳性细胞数量增多,胞体增大,可观察到星形胶质细胞胞体呈空泡状、呈现“胀亡”样死亡的特征,且rCBF明显下降;给予GRB₁和尼莫地平处理后,随着浓度升高,GFAP表达逐渐升高,星形胶质细胞突起增多,细胞数目增多,基本未见胀亡样坏死改变,rCBF明显增加;其中以人参皂苷高剂量组和尼莫地平组增加显著且二者作用相当。神经功能缺损评分也比模型组改善。提示GRB₁可改善脑缺血时局部脑血流,促进星形胶质细胞增殖,减轻胶质细胞肿胀,稳定星形胶质细胞形态。通过本试验发现,人参皂苷能促进星形胶质细胞增殖间接发挥其中枢活性作用。

综上所述,GRB₁通过上调GFAP的表达,促进星形胶质细胞增生,增加局部脑血流量,保护缺血半暗带神经元,且作用与尼莫地平相当,可在一定程度上改善脑缺血。但其相关机制尚需进一步研究。

[参考文献]

[1] 汤海波,章剑,朱爱萍,等. 2012—2015年江阴市脑卒中发病率及类型分析[J]. 江苏预防医学,2017,28(4):414-416.
[2] 刘抒雯,刘敬霞,虎喜成,等. 三七总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):217-220.
[3] CHEN H, QIAN K, CHEN W, et al. Human-derived neural progenitors functionally replace astrocytes in adult

mice[J]. J Clin Invest, 2015, 125(3):1033-1042.
[4] WU X, ZHOU C, DU F, et al. Ginkgolide B preconditioning on astrocytes promotes neuronal survival in ischemic injury via upregulating erythropoietin secretion[J]. Neurochem Int, 2013, 62(2): 157-164.
[5] Dvorak F, Haberer I, Sitzer M, et al. Characterisation of the diagnostic window of serum glial fibrillary acidic protein for the differentiation of intracerebral haemorrhage and ischaemic stroke [J]. Cerebrovasc Dis, 2009, 27(1):37-41.
[6] 宋江华,李刚,元小冬,等. 小鼠大脑中动脉缺血再灌注后缺血区及周边区星形胶质细胞的变化[J]. 中国神经免疫学和神经病学杂志,2017,24(3):201-209.
[7] Nag S. Morphology and properties of astrocytes [J]. Methods Mol Biol, 2011, 686(686):69-100.
[8] López M V, Cuadrado M P, Ruiz-Poveda O M, et al. Neuroprotective effect of individual ginsenosides on astrocytes primary culture [J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1770(9):1308-1316.
[9] 万凤,司银楚,牛欣. 人参皂苷作用于星形胶质细胞对中风后神经干细胞增殖和分化的影响[J]. 中华中医药杂志,2016,31(5):1623-1628.
[10] 王晓双,黄韬,秦力悦,等. 越南人参皂苷 R7 抑制 LPS 及 TNF- α 联合诱导大鼠星形胶质细胞 C6 的激活作用研究 [J]. 中国中药杂志, 2016, 41(8): 1498-1503.
[11] 张利军,白宇,侯郁青,等. 三七三醇皂苷对局灶性脑缺血再灌注大鼠 GFAP mRNA 和蛋白表达的影响 [J]. 中医药导报, 2014, 20(6): 8-10.
[12] Schmidt A, Hoppen M, Strecker J K, et al. Photochemically induced ischemic stroke in rats [J]. Exp Transl Stroke Med, 2012, 4(1):13-17.
[13] 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.
[14] Dhiraj D K, Chrysanthou E, Mallucci G R, et al. miRNAs-19b, -29b-2* and -339-5p show an early and sustained up-regulation in ischemic models of stroke [J]. PLoS One, 2013, 8(12): e83717.
[15] Lo H C, YANG R B, Lee C H. Guanylylcyclase-G modulates jejunal apoptosis and inflammation in mice with intestinal ischemia and reperfusion [J]. PLoS One, 2014, 9(7):e101314.
[16] 尤立华,赵希贤,杨秉呼,等. HPLC 同时测定复方血栓通片中丹参酮 II_A、隐丹参酮、丹酚酸 B、迷迭香酸、哈巴俄苷、三七皂苷 R₁、人参皂苷 Rg₁、人参皂苷 Rb₁、人参皂苷 Re 的含量 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(10): 102-105.
[17] 谢跃武,张芳,郭岩. 小鼠大脑中动脉栓塞模型脑血流量与梗死体积相关性分析 [J]. 中国临床药理学与治疗学, 2017, 22(5): 501-506.
[18] 张枝雪,黄茜,李玥等. 尼莫地平对 MCAO/R 模型大鼠不同时间点血流灌注量的影响 [J]. 中国民族民间医药, 2017, 26(7): 45-50.

[责任编辑 邹晓翠]