

三化汤对脑缺血再灌注大鼠脑组织基质金属蛋白酶-9 表达的影响

樊凯芳¹, 李晓亮², 梁晓东³, 唐迎雪^{3*}

(1. 山西中医学院, 太原 030024; 2. 山西中医学院附属医院, 太原 030024;
3. 山东中医药大学, 济南 250355)

[摘要] **目的:**观察三化汤对脑缺血再灌注大鼠脑组织基质金属蛋白酶-9(MMP-9), MMP-9 mRNA 表达的影响。**方法:**将大鼠随机分为假手术组、模型组、三化汤低、高剂量组(7.2, 14.4 g·kg⁻¹) ig、尼莫地平组(8.1 mg·kg⁻¹) ig。大鼠常规饲养 3 d 后 ig 给药, 每日 1 次, 连续给药 7 d 后采用线栓法制备脑缺血再灌注大鼠模型。采用免疫组织化学法检测各组大鼠脑组织 MMP-9 的表达, 采用逆转录聚合酶链反应法(RT-PCR)检测脑组织 MMP-9 mRNA 的表达。**结果:**模型组脑组织 MMP-9, MMP-9 mRNA 表达显著升高($P < 0.01$); 三化汤高剂量组脑组织 MMP-9, MMP-9 mRNA 表达显著降低($P < 0.01$), 尼莫地平组脑组织 MMP-9, MMP-9 mRNA 表达也明显降低($P < 0.05$), 三化汤低剂量组脑组织 MMP-9, MMP-9 mRNA 表达降低不明显; 三化汤高剂量组降低脑组织 MMP-9, MMP-9 mRNA 表达较尼莫地平组明显。**结论:**三化汤对大鼠脑缺血再灌注损伤具有一定的保护作用。

[关键词] 三化汤; 脑缺血再灌注; 基质金属蛋白酶-9; MMP-9 mRNA

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0210-05

The Effect of Sanhua Tang on Expression of MMP-9 of Brain Tissues in Cerebral Ischemia-reperfusion Rat

FAN Kai-fang¹, LI Xiao-liang², LIANG Xiao-dong³, TANG Ying-xue^{3*}

(1. Shanxi College of Traditional Chinese Medicine (TCM), Taiyuan 030024, China;

2. The Affiliated Hospital of Shanxi College of TCM, Taiyuan 030024, China;

3. Shandong University of TCM, Ji'nan 250355, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Sanhua Tang on expression of MMP-9 in brain tissues of cerebral ischemia-reperfusion rat. **Method:** The rats were randomly allotted 5 groups as following: sham operation group, model group, low dose group of Sanhua Tang (7.2 g·kg⁻¹), large dose group of Sanhua Tang (14.4 g·kg⁻¹) ig, and nimodipine group (8.1 mg·kg⁻¹) ig. After 3 days of routine breeding, Sanhua Tang was administered to rats by intragastric administration once every day for a week. The cerebral ischemia reperfusion model was reproduced by blocking middle cerebral artery with suture method. The expression of MMP-9 protein was detected by immunohistochemical methods with marketable kit, and mRNA expression of MMP-9 was assayed by RT-PCR. **Result:** In model group the expression of MMP-9 and MMP-9 mRNA in brain tissues was significantly increased ($P < 0.01$). In large dose group of Sanhua Tang the expression of MMP-9 and MMP-9 mRNA was significantly decreased ($P < 0.01$). In nimodipine group the expression of MMP-9 and MMP-9 mRNA was significantly decreased ($P < 0.05$). In low dose group of Sanhua Tang the expression of MMP-9, and MMP-9 mRNA was less significantly decreased. In large dose group of Sanhua Tang the expression of MMP-9, MMP-9

[收稿日期] 20110906(003)

[基金项目] 山东省教育厅资助课题(J06L18)

[第一作者] 樊凯芳, 博士, 主要从事中药及复方的理论和应用研究, Tel: 18935153825, E-mail: fankaiyang108@163.com

[通讯作者] * 唐迎雪, 博士, 教授, E-mail: doctoryxt@sina.com

mRNA was decreased more significantly than in nimodipine group. **Conclusion:** The mechanism of Sanhua Tang protecting against injure of cerebral ischemia reperfusion may be involved in ameliorating MMP expression.

[**Key words**] Sanhua Tang; cerebral ischemia-reperfusion; MMP-9, MMP-9 mRNA

脑缺血再灌注后引起脑损伤的病理涉及多个方面,其中血脑屏障(BBB)损伤是脑缺血再灌注脑损伤的重要病理生理基础^[1]。近年研究发现,缺血后脑组织 MMP-9 表达增高是 BBB 损伤和加重缺血性脑损伤的重要机制之一。脑缺血再灌注后, MMP-9 表达增强,其通过降解基膜导致基底膜通透性和结构改变,开放血脑屏障。研究表明^[2], MMP-9 参与了缺血性脑损伤,能引起缺血再灌注后 BBB 开放、通透性增加,使脑毛细血管内的水分及血浆蛋白外渗,导致细胞间隙内水分增多。予以 MMP-9 抗体或 MMP-9 抑制物可改善脑缺血再灌注损伤,减轻血管源性水肿,以及保护神经细胞免受损伤等^[3-4]。因此,脑缺血再灌注后, MMP-9 可作为反应血脑屏障破坏和脑损伤的检测指标。

三化汤出自《素问病机气宜保命集·中风论第十》,为金元医家刘完素所创,方由大黄、枳实、厚朴、羌活组成,是调气开通玄府法治疗中风病之名方,具有宣行气血、通腑开结、调畅气机、开通玄府的作用,临床用于治疗急性中风病取得良好疗效,但其产生作用的具体机制尚不清楚,尤其对脑缺血再灌注后血脑屏障损伤的保护作用,尚缺乏有效的科学依据。为此,笔者通过实验观察三化汤对大鼠脑缺血再灌注后脑组织 MMP-9, MMP-9 mRNA 表达的影响,探讨三化汤治疗缺血性脑血管病的作用机制,研究其对血脑屏障的保护作用,为临床应用三化汤及调气开通玄府法治疗急性中风病提供科学依据。

1 材料

1.1 动物 50 只 SD 雄性大鼠,体重 250 ~ 300 g。由山东中医药大学动物实验中心提供,符合清洁级实验动物标准。生产许可证号 SCXK(鲁)20050015。使用许可证号 SYXK(鲁)20050043。

1.2 药物

1.2.1 中药 三化汤由大黄、枳实、厚朴、羌活各等分组成。各药均购于山东中医药大学门诊部,经山东中医药大学中药鉴定教研室李峰老师鉴定,符合《中国药典》2005 年版标准。使用前按传统方法做成水煎液,并浓缩至含生药 0.72, 1.44 g·mL⁻¹ 2 种质量浓度。

1.2.2 西药对照药 尼莫地平(山东新华制药股份有限公司)。使用前用生理盐水溶解成质量浓度

为 0.81 g·L⁻¹ 的混悬液。

1.3 仪器 AO 切片机(美国光学仪器公司); GZY-DH 电热恒温干燥箱(宁波医疗器械二厂); 研究显微镜(美国光学仪器公司); Image Pro Plus 图像处理系统(美国 Edecybernetic 公司); 光学显微照相系统(日本 Olympus 公司); 凝胶成像分析系统(美国 Alpha 公司); 电泳仪 EC250-90(德国 Biometro); 梯度 PCR 仪 T-gradient(德国 Biometro); PCR 仪 PCR Sprint(英国 Thermo Hybaid); Minishaker MSI IKA(广州); 水平电泳槽(美国)。

1.4 试剂 兔抗大鼠 MMP-9 多克隆抗体(北京博奥森生物技术有限公司); 生物素化山羊抗兔二抗 IgG(北京博奥森生物技术有限公司); DAB 显色试剂盒(北京博奥森生物技术有限公司); TRIzol(加拿大 BioBasicIne. 进口分装); 100 bp DNA Ladder Marker(TaKaRa 公司); TaKaRa RNA PCR Kit(AMV) Ver. 3.0 试剂盒(TaKaRa 公司); MMP-9 引物(大连宝生物工程有限公司合成); β -actin 引物(大连宝生物工程有限公司合成); 兔抗大鼠 MMP-9 一抗(武汉博士德公司); 碱性磷酸酶山羊抗兔 IgG(武汉博士德公司); 牛血清白蛋白(BSA)(北京元亨圣马生物技术研究所以)。

2 方法

2.1 分组 动物按随机数字表分为假手术组、模型组、三化汤低、高剂量组、尼莫地平组,每组 10 只。

2.2 给药方法 动物常规饲养 3 d 后进行预防性给药,药物剂量按人鼠体表面积折算等效比率计量表^[5],计算出大鼠的等效剂量。三化汤低、高剂量组(7.2, 14.4 g·kg⁻¹) ig; 尼莫地平组给予等效剂量 8.1 mg·kg⁻¹ ig; 各给药组 ig 体积均为 10 mL·kg⁻¹, 假手术组、模型组大鼠给予 10 mL·kg⁻¹ ig 生理盐水。各组均为每日 1 次,连续 7 d。于末次给药后 24 h 进行大鼠脑缺血再灌注模型的建立。

2.3 大鼠脑缺血再灌注模型建立 参照 ZeaLonga 等^[6]人的线栓法。将直径约 0.22 ~ 0.28 mm 的鱼线沿右侧颈总动脉(CCA)分叉处插入颈内动脉(ICA)约 17 ~ 18 mm, 阻断大鼠大脑中动脉(MCA), 形成 MCA 供血中断,缺血 2 h 后拔出线栓约 15 mm 形成大鼠大脑中动脉缺血再灌注模型(简称 MCAO),再灌注 24h 后处死动物进行观察。假手术

组鱼线插入 CCA 深度为 5 mm,其余操作均同手术组。

2.4 标本采集 缺血 2 h 再灌注 24 h 后,用 10% 水合氯醛过量麻醉,迅速断头取脑放于冰盘上,将脑分成前 2/3 和后 1/3 两部分,取前 2/3 部分置于 4% 多聚甲醛内固定,以备切片使用做免疫组化染色,取后 1/3 部分用锡箔纸包裹标号立刻存放液氮中待测。

2.5 指标检测

2.5.1 免疫组织化学法检测大鼠脑组织 MMP-9

从多聚甲醛中取出脑组织至水洗、脱水、透明、浸蜡、包埋。将脑组织切成 5 μm 薄片,捞片,烘片。常规脱蜡,水化。3% H₂O₂ 孵育。蒸馏水冲洗,3 min × 3 次。抗原修复。PBS 缓冲液冲洗。滴加 5% BSA 封闭液。滴加兔抗大鼠 MMP-9 多克隆抗体,4 °C 过夜。PBS 缓冲液冲洗。滴加生物素化山羊抗兔二抗 IgG。PBS 缓冲液冲洗。滴加试剂 SABC。PBS 缓冲液冲洗。DAB 显色反应。苏木素复染,盐酸乙醇分化。中性树胶封片。光学显微镜下随机观察 5 个不同的视野(40 ×),计算阳性细胞数,取平均值。再应用 Image Pro Plus 图像分析仪测量阳性细胞表达的积分吸光度(IA)。

2.5.2 RT-PCR 法检测脑组织 MMP-9 mRNA

2.5.2.1 脑组织总 RNA 的提取 脑组织匀浆。加入氯仿。离心,吸取上层的无色液相。加入异丙醇。离心。移去上清液,加入乙醇,清洗 RNA 沉淀。离心。弃上清,真空干燥 RNA 沉淀。溶解 RNA。测 A₂₆₀/A₂₈₀,比值在 1.8 以上可用,计算总 RNA 含量,取 1 μg 用于反转录。

2.5.2.2 引物合成 由大连宝生物工程有限公司设计并合成引物序列。引物序列如下: MMP-9 上游: 5'-CGAAGACTTGCCGCGAGAC-3'; 下游 5'-CCGTGCTGCAGGACAAATAGG-3', PCR 产物长度为 353 bp。β-actin 上游 5'-TCGTGCGTGACATT AAA GAG-3'; 下游: 5'-CCAGGATAGAGCCACC AAT-3', PCR 产物长度为 400 bp。

2.5.2.3 逆转录(RT) 取细胞总 RNA 2 μL,加双蒸水 2 mL,于分光光度计 260nm 和 280nm 处测吸光度(A),A₂₆₀/A₂₈₀在 1.8 以上者方可使用。

总 RNA(g·L⁻¹) = A₂₆₀ × 40 / 1 000 × 稀释倍数

2.5.2.4 聚合酶链反应(PCR) cDNA 1 μL,加入 5 × PCR Buffer 10 μL,上下游特异引物各 0.5 μL, TaKaRaEx TaqTMHS 0.25 μL, 灭菌蒸馏水 28.75 μL,混匀。MMP-9 的 PCR 过程:94 °C 变性 2 min,进

行 PCR 反应条件为:94 °C 变性 30 s,53.9 °C 退火 45 s,72 °C 延伸 50 s。经 34 个循环后,72 °C 再延伸 10 min,4 °C 保存。β-actin 的 PCR 过程:94 °C 变性 2 min,进行 PCR 反应条件为:94 °C 变性 30 s,53.9 °C 退火 45 s,72 °C 延伸 50 s。经 35 个循环后,72 °C 再延伸 10 min,4 °C 保存。

2.5.2.5 琼脂糖凝胶电泳 琼脂糖 1.5 g,加入 1 × TAE 100 mL,加热,摇匀,冷却,摇匀,灌胶。每个泳道上样量为 5 μL PCR 产物,加上样缓冲液 2 μL,恒压 102 V 电泳,稳流 145 mA,电泳约 55 min。EB 液中染色 3 ~ 5 min,蒸馏水中清洗。在紫外线投射反射分析仪上观察,并通过凝胶成像系统计算电泳条带的强度 × 面积,计算 MMP-9 与 β-actin 产物条带的强度 × 面积的比值。

2.6 统计方法 采用 SPSS 13.0 软件进行单因素方差分析,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验。以 P < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对脑缺血再灌注大鼠脑组织 MMP-9 的影响 与假手术组比,模型组脑组织 MMP-9 表达显著升高(P < 0.01);与模型组比,三化汤高剂量组脑组织 MMP-9 表达显著降低(P < 0.01),尼莫地平组脑组织 MMP-9 表达也明显降低(P < 0.05),三化汤低剂量组脑组织 MMP-9 表达降低不明显,无显著性差异;三化汤高剂量组降低脑组织 MMP-9 表达较尼莫地平组明显(P < 0.05)。见表 1。

表 1 各组大鼠脑组织 MMP-9 表达的比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	阳性细胞数 /个	IA / × 10 ³
假手术	-	1.40 ± 0.38 ¹⁾	2.396 ± 0.173 ¹⁾
模型	-	38.01 ± 2.32	53.327 ± 2.615
三化汤	7.2	34.69 ± 2.37 ³⁾	50.602 ± 1.799 ³⁾
	14.4	26.10 ± 1.33 ¹⁾	39.442 ± 5.406 ¹⁾
尼莫地平	0.008 1	31.75 ± 4.30 ^{2,3)}	48.784 ± 3.504 ^{2,3)}

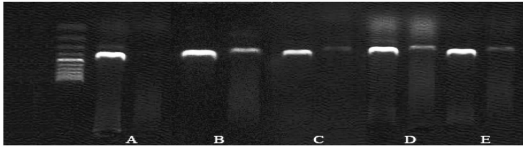
注:与模型组比较¹⁾P < 0.01,²⁾P < 0.05;与三化汤高剂量组比较³⁾P < 0.01。

3.2 对脑缺血再灌注大鼠脑组织 MMP-9 mRNA 表达的影响 与假手术组比,模型组脑组织 MMP-9 mRNA 表达显著升高(P < 0.01);与模型组比,三化汤高剂量组和尼莫地平组脑组织 MMP-9 mRNA 表达显著降低(P < 0.01),三化汤低剂量组降低不明显,无显著性差异;三化汤高剂量组降低脑组织 MMP-9 mRNA 表达较尼莫地平组明显(P < 0.01)。同表 2,图 1。

表 2 各组大鼠脑组织 MMP-9 mRNA 表达相对含量的比较($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	MMP-9 mRNA/ β -actin mRNA
假手术	-	$0.24 \pm 0.33^{1,2)}$
模型	-	$0.52 \pm 0.63^{2)}$
三化汤	7.2	$0.49 \pm 0.38^{2)}$
	14.4	$0.39 \pm 0.48^{1)}$
尼莫地平	0.008 1	$0.46 \pm 0.39^{1,2)}$

注:与模型组比¹⁾ $P < 0.01$;与三化汤高剂量组比²⁾ $P < 0.01$ 。



A. 假手术组;B. 模型组;C. 三化汤 $14.4 g \cdot kg^{-1}$ 组;
D. 三化汤 $7.2 g \cdot kg^{-1}$ 组;E. 尼莫地平 $0.008 1 g \cdot kg^{-1}$ 组

图 1 各组大鼠脑组织 MMP-9 mRNA 及 β -actin RT-PCR 电泳图

4 讨论

脑缺血再灌注后, BBB 的通透性显著增加, 引起血管源性脑水肿甚至脑出血。而 BBB 的结构破坏以基底膜损伤最为重要。基底膜主要由细胞外基质 (ECM) 构成, ECM 和基底膜的降解, 在一定程度上决定着血管的完整性与否。基质金属蛋白酶 (mmps) 是一组含 Zn^{2+} 能降解 ECM 的蛋白酶, 与脑缺血水肿时血脑屏障的破坏关系最为密切。正常中枢神经系统中存在低水平的 MMP-9 表达。脑缺血时 MMP-9 增加并激活, 一方面通过降解紧密连接 ZO-1 蛋白, 一方面通过降解细胞外基质成分, 破坏血脑屏障的完整性, 加重缺血脑损伤。如 Rosenberg^[7] 等发现脑缺血后 12 h MMP-9 活性开始增高, 24 h 和 48 h 达到高峰, 与缺血早期 BBB 通透性增加密切相关。刘华^[8] 等发现大鼠脑组织 MMP-9 表达在缺血再灌注 6 h 后开始升高, 于 1~2 d 达到峰值, 随后下降。临床观察也发现缺血性脑卒中患者急性期血浆 MMP-9 含量迅速升高, 3 d 后进入平台期^[9]。Gursoy-Ozdemir^[10] 等用非选择性一氧化氮合酶 (NOS) 抑制剂 *N*-硝基精氨酸处理可使 MCAO 动物梗死体积显著缩小, 同时伴有 MMP-9 表达明显降低和 BBB 损伤明显减轻。此外, ZO-1 作为构成血脑屏障紧密连接蛋白之一, 也是 MMP-9 的作用底物。Mhioru^[11] 等用 Western 印迹法示 ZO-1 在脑缺血后明显减少, 而在 MMP-9 基因敲除组

ZO-1 没有明显的减少。故缺血后增高的 MMP-9 可能是通过作用于血脑屏障内皮细胞之间的紧密连接和基底膜而导致血脑屏障受损, 通透性增加, 从而导致血管源性脑水肿。本实验通过检测脑组织 MMP-9, MMP-9 mRNA 的表达, 结果显示: 模型组脑组织 MMP-9, MMP-9 mRNA 表达较假手术组显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比, 三化汤高剂量组和尼莫地平组脑组织 MMP-9, MMP-9 mRNA 的表达明显降低 ($P < 0.05$), 三化汤低剂量组脑组织 MMP-9、MMP-9 mRNA 表达降低不明显, 无显著性差异; 其中三化汤高剂量组作用较尼莫地平组明显 ($P < 0.05$)。说明脑缺血再灌注引起的 BBB 损伤可能与 MMP-9, MMP-9 mRNA 的表达升高有关, 其通过降解 ECM, ZO-1 等导致基底膜通透性和紧密连接结构改变, 开放血脑屏障。三化汤通过降低脑组织 MMP-9, MMP-9 mRNA 的表达, 使 ECM 降解减轻、ZO-1 表达减少, 从而保护了 BBB 的损伤。

[参考文献]

- [1] Fu jimura M, Gache Y, Moritar Fu jimura Y, et al. Early appearance of activated matrix metalloproteinase-9 and blood brain barrier disruption in mice after focal cerebral ischemia and reperfusion [J]. Brain Res, 1999, 842(1):92.
- [2] 毛玲, 查运红, 梅元武. 基质金属蛋白酶-9 与脑缺血血脑屏障损伤的关系 [J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2006, 33(1):96.
- [3] Ihara M, Tomimoto H, Kinoshita M, et al. Chronic cerebral hypoperfusion induces MMP-2 but not MMP-9 expression in the microglia and vascular endothelium of white matter [J]. Cereb Blood Flow Metab, 2001, 21:828.
- [4] Heo J H, Lucero J, Abumiya T, et al. Matrix metalloproteinases increase very early during experimental focal cerebral ischemia [J] Cereb Blood Flow Metab, 1999, 19:624.
- [5] 陈奇, 王建华. 中药药理研究方法学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993:33.
- [6] 孟宜良. 线栓法大鼠大脑中动脉局灶性脑缺血模型研究现状 [J]. 国外医学: 神经病学神经外科学分册, 2002, 29(2):113.
- [7] Rosenberg G A, Estrada E Y, Dencoff J E. Matrix metalloproteinases and TIMPs are associated with blood-brain barrier opening after reperfusion in rat brain [J]. Stroke, 1998, 29(10):2189.

半夏等7种中药超临界CO₂萃取物抗惊厥作用比较

杨蓉¹, 王明正^{2*}, 成银霞²

(1. 山西中医学院药理教研室, 太原 030024; 2. 山西医科大学药理教研室, 太原 030001)

[摘要] **目的:**对柴胡等7种中草药的超临界CO₂萃取物进行抗惊厥作用的比较,并初步探讨其作用机制。**方法:**将昆明种小鼠1060只随机分为11组,柴胡CO₂萃取物组(柴I)、柴胡CO₂乙醇提取物组(柴II)、石菖蒲CO₂萃取物组(石I)、石菖蒲CO₂乙醇提取物组(石II)、天南星CO₂乙醇提取物组(天II)、钩藤CO₂乙醇提取物组(钩II)、半夏CO₂乙醇提取物组(半II)、瑞香狼毒CO₂萃取物组(狼I)和柏子仁CO₂萃取物组(柏I)、托吡酯组、生理盐水组,每组分为4~6个剂量组,每个剂量组20只,ig给药,观察各剂量组对最大电休克(maximal electroshock seizure, MES)模型的对抗作用;以上述各药抗MES惊厥的ED₅₀为给药剂量,观察ig各药对小鼠戊四唑惊厥模型(metrazol seizure test, MET)的对抗作用;由小鼠抗MES惊厥的ED₉₅折算得到大鼠ig剂量,建立大鼠皮层定位注射青霉素点燃模型,比较各药对惊厥行为和脑电图的影响。**结果:**①9种受试中药提取物中天II、钩II、石I、半II、狼I、柴I、石II对MES模型均有对抗作用,且量效均呈正相关性。②7种受试中药提取物均可延长MET惊厥潜伏期,数值由大到小排列依次为天II、钩II、石I、半II、狼I、柴I、石II,其中天II(11.06±4.32)min的作用效果优于托吡酯(9.57±4.47)min。③CO₂萃取物较CO₂乙醇萃取物起效快,作用持续时间短。(4)半II、柴I、天II、钩II、石I、石II均可不同程度的延长青霉素诱发的痫性发作潜伏期、减轻发作程度,延长痫性放电的潜伏期,减少痫波发放频率,减小放电最高波幅。**结论:**天II、钩II、石I、半II、狼I、柴I、石II均可对抗小鼠MES和MET惊厥;半II、柴I、天II、钩II、石I、石II可抑制大鼠皮层定位注射青霉素诱发的癫痫发作和痫性放电,其中半II是对抗青霉素点燃惊厥发作最有效的药物,且对该模型的对抗作用优于托吡酯。

[关键词] 超临界CO₂萃取物;最大电休克惊厥;戊四唑惊厥;青霉素惊厥模型

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)06-0214-06

Comparison Study of Supercritical-CO₂ Fluid Extractions of Pinellia Rhizoma on Anticonvulsant Action

YANG Rong¹, WANG Ming-zheng^{2*}, CHENG Yin-xia²

(1. Pharmacology Department, Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China; 2. Pharmacology Department, Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the anticonvulsion effect of supercritical-CO₂ fluid extractions (SFE-

[收稿日期] 20110729(001)

[基金项目] 山西省自然科学基金资助项目(20001065)

[第一作者] 杨蓉,讲师,药理学硕士,主要从事神经药理学研究,Tel: 13994272196,E-mail: y_rong@yahoo.cn

[通讯作者] *王明正,E-mail: wang5693693@163.com

[8] 刘华,廖维靖,杨万同,等. 脑缺血再灌注后基质金属蛋白酶-9的早期表达及对血脑屏障的破坏[J]. 中华物理医学与康复杂志,2004,26(4):203.

[9] 张毅,徐群,苏敏,等. 缺血性脑卒中患者急性期血浆中基质金属蛋白酶-9含量的动态变化[J]. 脑与神经疾病杂志,2003,11(4):226.

[10] Gursoy-Ozdemir Y, Bolay H, Saribas O, et al. Role of endothelialNO generation and peroxynitrite formation in reperfusion injuryafter focal cerebral ischemia [J]. Stoke,2000,(31):1974.

[11] Asahi M, Wang X Y, Mori T, et al. Effects of Matrix MetalloProteinase-9 Gene Knock-Out on the proteolysis of Blood-Brain Barrier and White Matter Components after Cerebral ischemia [J]. Neurosci, 2004, 21 (19):7724.

[责任编辑 聂淑琴]