

• 实验研究 •

化痰通络方对急性脑梗死大鼠溶栓后血脑屏障
相关构成蛋白表达的影响张玉莲¹ 周 震^{1*} 宋宛珊² 樊晓靖¹ 张琳琳¹ 刘 爽¹ 马 妍²

(1. 天津中医药大学第二附属医院, 天津市河北区真理道 816 号, 300150; 2. 天津中医药大学)

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81072796)

* 通讯作者: zhoushen7681@126.com, (022)60335418

[摘要] 目的 探讨化痰通络方对急性脑梗死经重组组织纤溶酶原激活剂(rt-PA)溶栓后出血的可能作用机制。方法 240 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、rt-PA 组及化痰通络方低、中、高剂量组,采用自身栓子法制备大鼠大脑中动脉栓塞模型,化痰通络方低、中、高剂量组分别于血栓注入后 3 h 一次性由尾静脉缓慢注入 rt-PA(5.67 mg/kg)进行溶栓治疗后给予化痰通络方浓缩液 0.72 g/kg、1.44 g/kg、2.88 g/kg 灌胃;rt-PA 组溶栓治疗后给予等量生理盐水灌胃;假手术组和模型组相同时间点给予等量生理盐水灌胃;各组每日灌胃 2 次,共 7 天。各组于实验 6 h、24 h、72 h、7 天 4 个时相电镜观察各组大鼠大脑皮质缺血区内皮细胞微观形态,应用 Western blot 法检测大脑皮质咬合蛋白(occluding)、闭合蛋白(claudin-1)、胞浆附着蛋白(ZO-1)的表达。结果 与假手术组比较,模型组大鼠在 24 h、72 h 时大脑皮质 occluding、claudin-1、ZO-1 蛋白表达下降($P < 0.05$);与模型组比较,化痰通络方高剂量组在 6 h、24 h、72 h 时 occluding、claudin-1 蛋白表达明显升高($P < 0.05$),化痰通络方中剂量组在 24 h、72 h 时 occluding 蛋白表达升高($P < 0.05$);化痰通络方中、高剂量组在 24 h、72 h 时 occluding 蛋白表达高于 rt-PA 组($P < 0.05$);化痰通络方中剂量组在 72 h 时 claudin-1 蛋白表达高于 rt-PA 组,24 h 时 ZO-1 蛋白表达高于 rt-PA 组($P < 0.05$)。结论 化痰通络方可能通过改善大脑皮质内皮细胞微观形态,调控微血管内皮细胞构成蛋白 occluding、claudin-1、ZO-1 蛋白的表达,进而保护血脑屏障完整性。

[关键词] 化痰通络方;急性脑梗死;溶栓;血脑屏障;结构蛋白

Effect of Phlegm-Transforming Network Vessels-Freeing Formula on the Blood Brain Barrier-Related Protein Expression in Acute Cerebral Infarction Rats after Thrombolysis

ZHANG Yulian¹, ZHOU Zhen¹, SONG Wanshan², FAN Xiaojing¹, ZHANG Linlin¹, LIU Shuang¹, MA Yan²

(The Second Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300150; 2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To study the possible mechanism of Phlegm-Transforming Network Vessels-Freeing Formula in preventing and treating bleeding after thrombolytic therapy with recombinant tissue plasminogen activator (rt-PA) in acute cerebral infarction. **Methods** Totally 240 SD rats were randomized into the sham operation group, model group, rt-PA group and low-dose, middle-dose, and high-dose Chinese medicinal groups. The middle cerebral artery occlusion models were established with self-embolism. The low-dose, middle-dose, and high-dose Chinese medicinal groups were injected 5.67 mg/kg of rt-PA through the tail vein 3 hours after thrombus injection. After thrombolytic therapy, the low-dose, middle-dose and high-dose Chinese medicinal groups were gavaged with 0.72 g/kg, 1.44 g/kg and 2.88 g/kg concentrated solution of Phlegm-Transforming Network Vessels-Freeing Formula, respectively. The rt-PA group was gavaged with equal amount of normal saline after thrombolytic therapy. The sham operation group and model group were gavaged with equal amount of normal saline at the same time point. Each group was given intragastric administration twice daily for 7 days. The morphology of endothelial cells in ischemic region of cerebral cortex was observed with electron microscopy at the 6th, 24th and 72nd hour and on the 7th day of experiment. The expressions of occluding, claudin-1 and ZO-1 proteins were detected with Western blotting. **Results** Comparing with the sham operation group, the expressions of occluding, claudin-1 and ZO-1 proteins were significantly decreased at the 24th and 72nd hour and on the 7th day of experiment in the model group ($P < 0.05$). Comparing with the model group, the expressions of occluding and claudin-1 proteins were significantly increased at the 6th, 24th and 72nd hour of experiment in the high-dose Chinese medicinal group ($P < 0.05$), and the expression of occluding protein was significantly increased at the 24th and 72nd hour of experiment in the middle-dose Chinese medicinal group ($P < 0.05$). Comparing with the

rt-PA group, the expression of occluding protein was significantly increased at the 24th and 72nd hour of experiment in the middle-dose and high-dose Chinese medicinal groups ($P < 0.05$). The expression of claudin-1 protein at the 72nd hour of experiment and the expression of ZO-1 protein at the 24th hour of experiment in the middle-dose Chinese medicinal group was significantly higher than that in the rt-PA group respectively ($P < 0.05$). **Conclusion** Phlegm-Transforming Network Vessels-Freeing Formula may protect the integrity of blood brain barrier by improving the morphology of endothelial cells in cerebral cortex and regulating the expressions of occluding, claudin-1 and ZO-1 proteins.

Keywords Phlegm-Transforming Network Vessels-Freeing Formula; acute cerebral infarction; thrombolysis; blood-brain barrier; structural proteins

急性脑梗死的早期有效治疗对患者预后影响很大,美国卒中协会(ASA)特别推荐急性脑梗死 3 h 内可采用重组组织纤溶酶原激活剂(rt-PA)溶栓治疗^[1]。但无论何种溶栓剂及溶栓方法,均有可能出现出血并发症,其中以脑出血最易发生^[2],这已经成为严重限制溶栓疗法广泛应用于临床的主要原因之一。研究显示,其与血脑屏障(BBB)完整性的破坏密切相关^[3]。本研究前期结果表明,化痰通络法联合溶栓剂可通过保护溶栓后 BBB 完整性及缺血区微血管内皮细胞来减少溶栓后出血转化等并发症的发生^[4]。因此,本研究观察不同浓度化痰通络方对急性脑梗死大鼠大脑皮质部位 BBB 微血管内皮细胞中咬合蛋白(occluding)、闭合蛋白(claudin-1)、胞浆附着蛋白(ZO-1)表达的影响,以期探讨其保护 BBB 完整性的可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康清洁级 SD 大鼠 240 只,体重 200~250 g,雌雄各半,购自北京大学医学部实验动物科学部,实验动物许可证号:SZXK(京)2011-00120。

1.2 实验药物

化痰通络方组成:天麻 10 g,生半夏 10 g,胆南星 5 g,丹参 30 g,川芎 10 g,地龙 10 g,酒大黄 5 g。以上药物 400 g 加 10 倍水,煎煮 3 次,每次 0.5 h,煎煮液浓缩至 500 ml,生药浓度为 0.8 g/ml,以上均由天津中医药大学第二附属医院制剂室制备,4℃ 保存备用。注射用重组组织纤溶酶原激活剂(rt-PA,批号:005765201304,德国勃林格殷格翰公司)、血栓诱导剂(批号:20081218,长春国奥药业有限公司)。

1.3 试剂与仪器

兔抗大鼠 occluding 单克隆抗体试剂盒(批号:ab31721)、claudin-1 单克隆抗体试剂盒(批号:ab15098)、ZO-1 单克隆抗体试剂盒(批号:ab59720)均购于美国 Abcam 公司,辣根酶标记羊抗鼠 IgG (Millipore 公司,批号:AP136P),SDS-PAGE 凝胶

配制试剂盒(碧云天生物技术有限公司,批号:P0012A)。匀浆器(涿州市琦瑞玻璃制品厂),离心机(TGL-16C,上海安亭科学仪器厂),Leica dm rxa2 型全自动多功能显微镜(德国莱卡公司生产),H-7500 型透射电子显微镜(日立建机株式会社生产)。

1.4 模型制备

血栓制备^[5]:取大鼠股动脉血 3 ml,注入含柠檬酸钠的离心管内,混匀后以 4000 r/min 离心 10 min,取上层血浆 1 ml,加入氯化钙 30 μl 与凝血酶 100 U 混合后,立即注入间断缩细的玻璃试管中(缩细部分内径 0.9 mm,长约 5 cm),凝固后取出注入生理盐水中反复漂洗,在显微镜下剪成 3.5~5.0 mm 的血栓 5~8 条。参照张新江^[6]、刘瑜等^[7]方法建立大鼠大脑中动脉栓塞模型(MCAO)。假手术组手术方法同模型制作,只在注射时以生理盐水 0.3 ml 代替栓子溶液。

1.5 动物分组及处理

采用随机数字表法将大鼠分为假手术组、模型组、rt-PA 组和化痰通络方低、中、高剂量组,每组又分为 6 h、24 h、72 h、7 天共 4 个时相,每组每个时相取 10 只大鼠。给药剂量参照文献^[8]中“人和动物间按体表面积折算的等效剂量比值表”计算,化痰通络方低、中、高剂量组分别于血栓注入后 3 h 一次性由尾静脉缓慢注入 rt-PA(浓度为 5.67 mg/kg)加入 2 ml 0.9%生理盐水中进行溶栓治疗后给予化痰通络方浓缩液 0.72 g/kg、1.44 g/kg、2.88 g/kg 灌胃;rt-PA 组溶栓治疗后给予等量生理盐水灌胃;假手术组和模型组相同时间点给予等量生理盐水灌胃;各组均每日灌胃 2 次,共 7 天。于不同时相大鼠进行 2%戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔麻醉,取缺血区脑组织以备检测。

1.6 观察指标及方法

1.6.1 大脑皮质内皮细胞微观形态学检测 将大鼠腹腔麻醉,取脑,在冰上取大脑皮层区 1 mm³ 的组织块放入前固定液(4%戊二醛固定液)中,7 天之

内进行锇酸固定、乙醇逐级脱水、树脂聚合包埋,制成 50 nm 的超薄切片。用醋酸铀 30~40 min 和柠檬酸铅 30 min 双重染色,置于透射电镜下观察皮质内皮细胞超微结构。

1.6.2 Western blot 法检测 occluding、claudin-1、ZO-1 蛋白的表达 取大鼠梗死区大脑皮质,测定蛋白浓度,对蛋白样品进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,转膜,封闭,加入一抗孵育,4℃ 静置过夜。洗涤后加入二抗,孵育,充分洗涤,化学发光,显影,定影,蒸馏水冲洗终止。凝胶图像处理系统分析结果,灰度比(GSR)=(测得目的蛋白强度×面积)/(内参蛋白β-actin强度×面积)。

1.7 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计分析软件进行处理,计量数据均以($\bar{x} \pm s$)表示,各组数据间的比较采用 *t* 检验或单因素方差分析。

2 结果

2.1 各组大鼠大脑皮质内皮细胞微观形态比较

在 4 个时相中,模型组出现了不同程度的基膜融合模糊不清、细胞质水肿及线粒体空化等,且损伤程度随溶栓时间的延长逐渐加剧;rt-PA 组与模型组相比,基膜融合程度及线粒体空化现象有所减轻,在溶栓 24 h 后,rt-PA 组细胞质水肿程度达到高峰,且比模型组略严重;化痰通络方低、中、高剂量组损伤程度逐渐减轻,其中在溶栓 24 h 后,以化痰通络方高剂量组效果较好,在溶栓 72 h 及 7 天后,以化

痰通络方中剂量效果为佳。

2.2 各组大鼠不同时相大脑皮质 occluding 蛋白表达比较

表 1 示,与假手术组比较,模型组大鼠大脑皮质 occluding 蛋白在 24 h 与 72 h 表达下降($P < 0.05$);与模型组比较,化痰通络方高剂量组在 6 h、24 h、72 h,化痰通络方中剂量组在 24 h、72 h,化痰通络方低剂量组在 72 h 的时相 occluding 蛋白表达明显升高($P < 0.05$);与 rt-PA 组比较,化痰通络方中、高剂量组在 24 h、72 h 时相 occluding 蛋白表达亦明显升高($P < 0.05$)。

2.3 各组大鼠不同时相大脑皮质 claudin-1 蛋白表达比较

表 2 示,与假手术组比较,模型组大鼠在 6 h、24 h、72 h 和 7 天时大脑皮质 claudin-1 蛋白表达下降($P < 0.05$);与模型组比较,化痰通络方高剂量组在 6 h、24 h、72 h,化痰通络方中剂量组在 6 h、72 h,化痰通络方低剂量组在 72 h 的时相 claudin-1 蛋白表达明显升高($P < 0.05$);与 rt-PA 组比较,化痰通络方中剂量组在 72 h、化痰通络方高剂量组在 24 h 时相 claudin-1 蛋白表达亦明显升高($P < 0.05$)。

2.4 各组大鼠不同时相大脑皮质 ZO-1 蛋白表达比较

表 3 示,与假手术组比较,模型组大鼠在 6 h、24 h、72 h 和 7 天时大脑皮质 ZO-1 蛋白表达下降($P < 0.05$);与模型组比较,化痰通络方高剂量组在 7

表 1 各组大鼠不同时相大脑皮质 occluding 蛋白 GSR 的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	6 h	24 h	72 h	7 d
假手术组	10	0.938±0.039	0.982±0.237	0.958±0.075	0.942±0.133
模型组	10	0.836±0.094	0.153±0.102*	0.447±0.111*	0.722±0.073
rt-PA 组	10	0.836±0.124	0.199±0.088	0.499±0.125	0.755±0.112
化痰通络方低剂量组	10	0.882±0.079	0.297±0.109	0.636±0.076△	0.763±0.106
化痰通络方中剂量组	10	0.919±0.140	0.398±0.092△▲	0.674±0.133△▲	0.801±0.093
化痰通络方高剂量组	10	1.186±0.106△	0.405±0.063△▲	0.658±0.068△▲	0.767±0.057

注:与假手术组同一时相比较,* $P < 0.05$;与模型组同一时相比较,△ $P < 0.05$;与 rt-PA 组同一时相比较,▲ $P < 0.05$

表 2 各组大鼠不同时相大脑皮质 claudin-1 蛋白 GSR 的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	6 h	24 h	72 h	7 d
假手术组	10	0.954±0.105	0.958±0.095	0.939±0.137	0.949±0.095
模型组	10	0.778±0.091*	0.143±0.043*	0.370±0.118*	0.587±0.102*
rt-PA 组	10	0.865±0.059	0.158±0.074	0.486±0.141	0.682±0.103
化痰通络方低剂量组	10	0.881±0.073	0.233±0.036	0.528±0.092△	0.756±0.098
化痰通络方中剂量组	10	0.942±0.095△	0.247±0.076	0.543±0.126△▲	0.770±0.089
化痰通络方高剂量组	10	1.062±0.102△	0.343±0.057△▲	0.534±0.109△	0.763±0.120

注:与假手术组同一时相比较,* $P < 0.05$;与模型组同一时相比较,△ $P < 0.05$;与 rt-PA 组同一时相比较,▲ $P < 0.05$

表 3 各组大鼠不同时相大脑皮质 ZO-1 蛋白 GSR 的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	6 h	24 h	72 h	7 d
假手术组	10	1.302±0.264	1.298±0.109	1.401±0.026	1.384±0.089
模型组	10	1.096±0.155*	0.221±0.124*	0.499±0.102*	0.592±0.126*
rt-PA 组	10	1.085±0.188	0.249±0.039	0.528±0.066	0.635±0.054
化痰通络方低剂量组	10	1.159±0.014	0.268±0.044	0.547±0.019	0.687±0.033
化痰通络方中剂量组	10	1.166±0.083	0.373±0.077 Δ	0.559±0.020	0.698±0.009
化痰通络方高剂量组	10	1.173±0.013	0.323±0.068	0.562±0.009	0.737±0.092 Δ

注:与假手术组同一时相比较,* $P<0.05$;与模型组同一时相比较, $\Delta P<0.05$;与 rt-PA 组同一时相比较, $\Delta P<0.05$

天、化痰通络方中剂量组在 24 h 时相 ZO-1 蛋白表达明显升高($P<0.05$);与 rt-PA 组比较,化痰通络方中剂量组在 24 h 时相 ZO-1 蛋白表达亦明显升高($P<0.05$)。

3 讨论

脑梗死属中医学“中风”范畴,痰瘀互结、酿生浊毒、阻闭脉络、蕴热扰神是急性缺血型中风的主要病机^[9],风、火、痰、瘀、虚是其常见的证候要素,急性期以风、火、痰、瘀为主。研究发现,风痰瘀阻证在缺血性中风急性期起病中占绝对多数^[10]。根据中医“急则治其标”的治疗原则,早期投用化痰泻浊、祛瘀通络方药切中病机。化痰通络方中天麻性味甘平,为治风之神药;地龙咸寒,能清热熄风通络;川芎辛散上行,为血中之气药;丹参味苦微寒,可凉血活血,川芎、丹参合用可达行气活血祛瘀之目的;生半夏辛温,胆南星性苦微辛,具有清热化痰通络之功;酒大黄清热祛瘀泻浊,诸药合用共奏祛风化痰、清热泻浊、祛瘀通络之功效。前期研究显示,采用化痰通络法联合溶栓剂治疗急性脑梗死患者可以明显提高溶栓药物使用安全性、减少溶栓后出血转化等并发症的发生与发展^[4,11],其机制可能与保护 BBB 完整性有关^[12]。

BBB 的基础结构为脑毛细血管内皮细胞(BMEC)及其间的紧密连接(TJ),构成了 BBB 的第一道屏障,维护着脑组织微环境的稳定^[13]。TJ 由跨膜蛋白(occluding、claudin 等)、ZO-1 与细胞骨架蛋白相连而组成^[14]。研究表明,TJ 相关蛋白表达量的改变可通过破坏 TJ 而导致 BBB 完整性的改变^[15]。本研究大鼠大脑皮质内皮细胞微观形态观察结果发现,化痰通络方低、中、高剂量组可以明显降低因单独应用 rt-PA 溶栓造成对内皮细胞超微结构的损伤,预防因溶栓后血管通透性增强而造成的出血。可见化痰通络方可能是通过保护内皮细胞超微结构,降低血脑屏障通透性,来改善神经功能缺损症状。同时,本研究还发现化痰通络方中剂量组和

化痰通络方高剂量组的大鼠皮质内皮细胞微观形态优于化痰通络方低剂量组,而通过不同时相将各组进行比较时发现,溶栓 6 h 后,化痰通络方低剂量组对皮质内皮细胞损伤的改善程度更大一些;在溶栓 24 h 后,化痰通络方高剂量组效果最为明显,溶栓 72 h 及 7 天后以化痰通络方中剂量组改善程度更明显一些。

对于内皮细胞结构蛋白 occluding、claudin-1、ZO-1 表达的检测结果显示,各组内 3 种结构蛋白在溶栓 6 h 后表达量最高,24 h 后降至最低,72 h 至 7 天呈现出升高趋势;其中模型组与假手术组相比,3 种蛋白表达量在某些时相具有明显差异($P<0.05$);与模型组比较,化痰通络方低、中、高剂量组对于 3 种结构蛋白具有正向调节作用,其中以化痰通络方高、中剂量效果最佳,并在某些时相优于 rt-PA 组($P<0.05$)。由此可见,溶栓后 24 h 内应用高剂量化痰通络方,72 h 后至 7 天内应用中剂量化痰通络方治疗,其治疗效果应该优于单纯一种中药剂量的应用,为优化化痰通络方联合 rt-PA 溶栓的临床应用方案提供证据支持。

参考文献

- [1] Adams HP Jr, Adams RJ, Brott T, et al. Guidelines for the early management of patients with ischemic stroke: A scientific statement from the Stroke Council of the American Stroke Association[J]. Stroke, 2003, 34(4): 1056-1083.
- [2] Abbott NJ, Ronnback L, Hansson E. Astrocyte-endothelial interactions at the blood-brain barrier[J]. Nat Rev Neurosci, 2006, 7(1): 41-53.
- [3] Lo EH. Experimental models, neurovascular mechanisms and translational issues in stroke research[J]. Br J Pharmacol, 2008, 153(Suppl 1): 396-405.
- [4] 张玉莲. 化痰通络法联合小剂量尿激酶治疗急性脑梗死溶栓的临床与实验研究[D]. 天津: 天津中医药大学, 2008.
- [5] 李杰, 李光勤, 蒋国会. rt-PA 与尿激酶溶栓治疗对 MMP-9 和血-脑屏障通透性的影响[J]. 中国现代神经疾病杂志, 2009, 9(5): 445-449.

(下转第 2134 页)

胞和自然杀伤细胞(NK)活性,介导自身组织损伤^[7]。IL-4可诱导B淋巴细胞增殖、分化和成熟,促使其产生IgE和IgG等抗体,促进Th2型细胞分化增殖,抑制Th1型细胞因子的分泌,从而减少Th1型细胞免疫反应造成的组织损伤^[8]。研究表明,Th1型细胞因子所介导的细胞免疫在自身免疫性甲状腺炎的发病中起重要作用^[9]。本实验发现EAT大鼠IL-2表达量高于正常组,IL-4表达量低于正常组,HT细胞失衡以Th1细胞占优势。

HT属于中医“瘰病”范畴,本病的病因主要与情志、饮食、水土及体质因素有关,病机为气滞、痰凝、血瘀结于颈前,由于本病起病较缓,病程较长,为慢性消耗性疾病,最终导致患者正气内虚,故采用补益正气,疏肝解郁,化痰祛瘀等治法^[10]。人参与其有效成分具有广泛的生物活性及医疗用途,现代药理研究表明人参皂苷具有双相免疫调节作用,能改善实验动物的非特异性免疫和特异性免疫功能^[11],用于治疗多种免疫系统紊乱疾病。本研究结果表明,人参皂苷能够降低EAT大鼠血清TGAb、TPOAb水平,能够降低IL-2,升高IL-4,证明人参皂苷治疗HT的有效性,其作用机制可能通过调节免疫的途径,抑制Th1细胞功能的过度亢进,促使Th1向Th2漂移。本实验中治疗效佳的为中、低剂量,这可能与人参皂苷本身所具有的双向免疫调节作用有关,今后的实验应对用药剂量有进一步研究。

参考文献

- [1] Pearce EN, Farwell AP, Braverman LE. Thyroiditis[J]. N Engl J Med, 2003, 348(26): 2646-2655.
- [2] 张敏, 张毅. 益气化痰消瘰法对桥本甲状腺炎患者血清甲

状腺球蛋白抗体、甲状腺过氧化物酶抗体的影响[J]. 中医杂志, 2007, 48(5): 414-415.

- [3] 吴莉. Th1/Th2的平衡与自身免疫性甲状腺疾病[J]. 国外医学:儿科学分册, 2001, 28(5): 250-253.
- [4] Verginis P, Stanford MM, Carayanniotis G. Delineation of five thyroglobulin T cell epitopes with pathogenic potential in experimental autoimmune thyroiditis [J]. J Immunol, 2002, 169(9): 5332-5337.
- [5] Many MC, Maniratunga S, Denef JF, et al. The non-obese diabetic (NOD) mouse; an animal model for autoimmune thyroiditis[J]. Exp Clin Endocrinol Diabetes, 1996, 104 (Suppl 3): 17-20.
- [6] Lichiardopol C, Mota M. The thyroid and autoimmunity [J]. Rom J Intern Med, 2009, 47(3): 207-215.
- [7] Drugarin D, Negru S, Koreck A, et al. The pattern of a T (H)1 cytokine in autoimmune thyroiditis[J]. Immunol Lett, 2000, 71(2): 73-77.
- [8] Phenekos C, Vryonidou A, Gritzapis AD, et al. Th1 and Th2 serum cytokine profiles characterize patients with Hashimoto's thyroiditis (Th1) and Graves' disease (Th2) [J]. Neuroimmunomodulation, 2004, 11(4): 209-213.
- [9] 崔巍, 施秉银. 自身免疫性甲状腺疾病患者甲状腺内Th1/Th2细胞失衡研究[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2004, 20(2): 96-99.
- [10] 王卫霞, 王谦. 人参皂苷的免疫调节作用及其应用[J]. 中华中医药杂志, 2005, 20(4): 234-236.
- [11] 高天舒, 齐腾澈. 海藻玉壶汤及其拆方对大鼠碘缺乏致甲状腺肿的干预作用[J]. 中医杂志, 2012, 53(10): 1671-1676.

(收稿日期: 2013-05-03; 修回日期: 2013-10-14)

[编辑: 邓媛]

(上接第2131页)

- [6] 张新江, 常丽英, 张苏明, 等. 大鼠自体血栓大脑中动脉闭塞模型的改良[J]. 卒中与神经疾病, 2003, 10(1): 12-15.
- [7] 刘瑜, 胡文立, 宋爱利, 等. 大鼠脑血栓模型的实验研究[J]. 实用医学杂志, 2005, 21(18): 1992-1993.
- [8] 徐叔云. 药理实验方法学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 203-204.
- [9] 周超杰. 益气活血通络汤治疗缺血性脑中风64例[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(7): 237-238.
- [10] 黄宇虹. 中风病急性期证候学研究[D]. 天津: 天津中医药大学, 2005: 29.
- [11] 张玉莲, 周震, 王立存, 等. 化痰通络法联合尿激酶溶栓治疗急性脑梗死临床研究[J]. 天津中医药, 2010, 27(1): 12-15.
- [12] 周震, 宋宛珊, 王占奎. 化痰通络法对急性脑梗死大鼠溶

栓后血脑屏障通透性及海马内皮细胞超微结构的影响[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2011, 21(1): 22-25.

- [13] Persidsky Y, Heilman D, Haorah J, et al. Rho-mediated regulation of tight junction during monocyte migration across blood-brain barrier in HIV-1 encephalitis (HIVE) [J]. Blood, 2006, 107(12): 4770-4880.
- [14] 茅锐, 王振华. 缺血再灌注对血脑屏障紧密连接蛋白的影响[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2010, 30(3): 235-242.
- [15] Kis B, Snipes JA, Deli MA, et al. Chronic adrenomedullin treatment improves blood-brain barrier function but has no effects on expression of tight junction proteins[J]. Acta Neurochir Suppl, 2003, 86: 565-568.

(收稿日期: 2013-06-13; 修回日期: 2013-08-12)

[编辑: 邓媛]