

“醒脑开窍”针刺法对脑缺血再灌注大鼠模型早期脑内血管内皮生长因子与胶质纤维酸性蛋白表达的影响*

李钦潘¹ 韩永升¹ 韩咏竹^{1,2} 王伟¹ 汪炜民¹ 毛玉强¹ 郭铁¹ 韩峰群¹

摘要

目的:探讨“醒脑开窍”针刺法对局灶性脑缺血再灌注模型大鼠早期脑内血管内皮生长因子(VEGF)与胶质纤维酸性蛋白(GFAP)表达的影响。

方法:健康成年雄性SD大鼠随机分为假手术组、模型组、电针组和电针对照组,每组20只。采用线栓法制作大鼠大脑中动脉缺血再灌注模型。电针组和电针对照组主穴取双侧内关、水沟、三阴交、百会,采取“醒脑开窍”法行电针治疗30min。首次针刺在动物造模成功后24h内进行,其后每天上午针刺1次,每7天为一疗程(针刺6d,休息1d)。假手术组、模型组常规饲养于笼内,不进行任何干预治疗。各组大鼠在模型制作成功后第7天、第14天两个时间点取10只进行Longa神经功能评估、免疫组化SP法观察VEGF与GFAP的表达。

结果:电针对照组和假手术组大鼠无神经功能缺损症状,在模型制作成功后第7天、第14天时,电针组大鼠神经功能恢复明显优于模型组。免疫组化SP法检测电针对照组和假手术组可见少量VEGF与GFAP的表达,模型组大鼠脑梗死后第7天,脑缺血周围出现VEGF与GFAP表达增多,第14天时增多明显,与假手术组比较均有明显差异。电针组VEGF与GFAP表达在各时间点较模型组增加更显著。

结论:“醒脑开窍”针刺法能通过促进脑局灶性缺血再灌注大鼠脑内VEGF与GFAP的表达,有效改善大鼠局灶性脑梗死后的神经功能恢复。

关键词 “醒脑开窍”针刺法;脑缺血再灌注;大鼠;血管内皮生长因子;胶质纤维酸性蛋白

中图分类号:R743.3, R245 **文献标识码:**A **文章编号:**1001-1242(2015)-07-0645-06

Effects of the "Xingnao Kaiqiao" acupuncture therapy on expressions of vascular endothelial growth factor and glial fibrillary acidic protein after cerebral ischemia reperfusion in rats at early stage/ LI Qin-pan, HAN Yongsheng, HAN Yongzhu, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2015, 30(7): 645—650

Abstract

Objective: To investigate effects of "Xingnao Kaiqiao" acupuncture therapy on expressions of vascular endothelial growth factor(VEGF) and glial fibrillary acidic protein(GFAP) after cerebral ischemia reperfusion in rats at early stage.

Method: Healthy adult male SD rats were randomly divided into sham operation group, model group, electroacupuncture group and electroacupuncture control group, with 20 rats in each group. The middle cerebral ischemia reperfusion model was established by suture method. Electroacupuncture were performed in the electroacupuncture group and electroacupuncture control group with "Xingnao Kaiqiao" method at main acupoints of Neiguan (PC6), Shuigou (DU26), Sanyinjiao (SP6), Baihui (DU20) of both sides, for 30min. The first session of acupuncture was administered in 24h after successful modeling. Then acupuncture were followed once daily in

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2015.07.003

*基金项目:安徽省自然科学基金项目(1308085MH139)

1 安徽中医药大学神经病学研究所附属医院,合肥,230061; 2 通讯作者

作者简介:李钦潘,女,主治医师;收稿日期:2014-08-11

every morning, every 7d for a course (acupuncture 6d and rest 1d). The sham operation group, model group were conventionally fed in the cage, without any intervention therapy. Ten rats of each group were assessed with Longa's score, and the expressions of VEGF and GFAP were detected with the method of immunohistochemical SP at the 7th d and 14thd.

Result: Electroacupuncture control group and sham operation group were presented no neurological deficit. In electroacupuncture group of rats' nerve functional recovery were significantly better than that in model group at the 7th d and 14thd after modeling. A small amount expressions of VEGF and GFAP were detected in the sham operation group and the electroacupuncture control group with the method of immunohistochemical SP. At the 7th d after modeling expressions of VEGF and GFAP increased around the cerebral ischemia regions at the 14th d increased significantly, compared with the sham operation group, there were significant differences. In electroacupuncture group the expressions of VEGF and GFAP at each time point increased more significantly than those in the model group.

Conclusion: The "Xingnao Kaiqiao" acupuncture therapy can promote the recovery of neurological function of focal cerebral ischemia reperfusion in rats which may be associated with increase of VEGF and GFAP in perinfarct regions.

Author's address Affiliated Hospital of Institute Neurology, Anhui University of Traditional Chinese Medicine, Hefei, Anhui, 230061

Key word "Xingnao Kaiqiao" acupuncture method; cerebral ischemia reperfusion; rat; vascular endothelial growth factor; glial fibrillary acidic protein

脑血管疾病(cerebrovascular disease, CVD)是人类三大死亡原因之一。全球人口老龄化趋势日益加剧,脑血管病的危害也更加突出,其中又以缺血性脑血管病(ischemic cerebrovascular disease, ICVD)最为多见,比例也越来越高,成为CVD的主体,与西方发达国家相比,我国CVD的发病率和死亡率明显高于心血管疾病,其中ICVD约占80%^[1]。目前,对缺血性脑血管疾病的治疗虽然取得了很大进步,人们在溶栓治疗的同时也使用神经保护剂来保护脑组织免受或减少再灌注损伤,但令人遗憾的是,至今尚无一种神经元保护药物可使临床ICVD患者从中获益^[2]。笔者采用老年雄性SD大鼠左侧大脑中动脉栓塞再灌注的方法,针刺内关、水沟、三阴交、百会穴,通过大鼠神经行为功能评分,运用免疫组化方法检测大鼠脑组织血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)在细胞蛋白水平表达的影响,为针刺治疗脑缺血再灌注运动功能恢复提供新的理论和实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物分组

选择18月龄雄性老年体重250—300g的普通级SD大鼠(购自合肥白湖博源实验动物繁殖中心)80只进行实验研究,实验动物饲养于安徽中医药大学实验动物中心。喂养鼠用清洁级颗粒饲料,动物自由取水,视垫料的清洁度更换垫料。饲料、垫料也均购自合肥白湖博源实验动物繁殖中心,饲养环境温度24℃—28℃,相对湿度45%—65%,光照12h,通风良好。动物随机分为假手术组(只做血管分离)、模型组、电针组、电针对照组,每组各20只;根据治疗天数7d、14d,随机又分为两个亚组,每组10只实验大鼠。

1.2 仪器与试剂

G6805电针仪(苏州医疗用品厂有限公司);TB-71SS生物组织自动包埋机(湖北孝感市泰维电子设备有限公司);2135切片机(德国Leica);HPX-9052数显电热培养箱(上海博迅实业有限公司医疗设备);DP70数码图像装置(日本奥林巴斯);捷达JD801图像分析系统(江苏捷达科技有限公司);VEGF、GFAP抗体(美国GBI公司)。

1.3 模型制备

在室温22℃条件下,SD大鼠称重后,参考Longa EZ^[3]方法,制备急性缺血性脑血管病动物模型。

对照组不进行任何手术处理,假手术组只分离动脉,不结扎、插线。大鼠苏醒后参照 Longa EZ^[3]方法评分:0分为无神经系统症状;1分为不能完全伸展对侧前爪;2分为爬行时转圈;3分为向对侧倾倒;4分为不能自行行走,意识丧失。达到1—3分为造模成功。因本实验模型成功率低,动物死亡率高,采用差额补充的方法以保证每组的实验例数。

1.4 治疗干预方法

电针组:造模成功后用自制鼠夹固定,不麻醉。根据华兴邦等^[4]制定的大鼠针灸穴位图谱,主穴双侧内关(手厥阴心包经)、水沟(督脉)、双侧三阴交(足太阴脾经)、百会(督脉)。采用苏州生产的华佗牌毫针,规格为直径0.2mm,针身0.5寸。选用天津脑卒中研究组创立的“醒脑开窍”针刺法进行针刺:先直刺双侧内关1mm至筋间,用捻转提插结合的泻法,持续1min留针30min;继刺水沟,在鼻中隔下部向上斜刺水沟1mm,施雀啄法强刺激1min,其次刺三阴交,直刺5mm,采用提插补法刺激1min;最后向前或向后斜刺百会穴2mm,并采用平补平泻的捻转手法,转角度180°左右,施手法1min,留针30min,留针期间将内关、三阴交穴位针刺针柄分别连接至G6805电针仪,施以疏密波,频率2/100Hz,电压2—4V,强度逐渐加大到模型鼠针刺部位轻微抖动为度,首次针刺在动物造模成功后24h内进行,其后每天上午针刺1次,每7天为1疗程(针刺6天,休息1天)。

电针对照组:不进行任何手术,抓取、固定方法、针刺穴位、方法、频率、电针刺激参数等同电针组。

假手术组和模型组:常规饲养于笼内,不进行任何干预治疗。

1.5 实验鼠脑组织标本留取

各组大鼠分别于在模型制作成功后第7天、第14天两个时间点随机取10只。用10%水合氯醛腹腔内注射麻醉后固定于手术台,剪开胸腔,暴露心脏,用9#针头插入左心室,待右心耳膨起剪开右心耳让血液流出,灌注4℃生理盐水,至大鼠口中流出无色液体时开始用4%的多聚甲醛灌注固定,灌注过程中会发现甲醛滴速由快变慢,大概灌注30min左右时大鼠身体及内脏基本僵硬,然后立即剖颅取出完整大脑,取出的脑组织放置于冰的生理盐水中洗

去残余的血水(以减少残余血水对实验结果的影响),然后放置于4%的多聚甲醛中保存(6—24h)备用行免疫组化检测。注意试验过程中要严格无菌消毒,切取脑组织时动作要轻柔、迅速,切勿强行牵拉而破坏脑组织的完整性。

1.6 指标检测

1.6.1 神经功能评定参照 Longa EZ 神经功能评分标准评分^[3]。在模型制作成功后第7天、第14天分别进行神经功能评分,观察其运动功能恢复的情况。

1.6.2 免疫组化检测 VEGF、GFAP 在大鼠脑组织的表达:大鼠脑组织→75%酒精,48h→85%酒精,24h→95%酒精,12h→无水酒精 I,2h→无水酒精 II,4h→二甲苯 I,2h→二甲苯 II,2h→浸蜡6h→石蜡包埋固定→切片,取不相邻切片两张,每片厚4μm→60℃水中摊片→粘片→65℃烘片6h→二甲苯 I 10min→二甲苯 II 10min→二甲苯 III 10min→无水酒精 2min→95%酒精 2min→85%酒精 2min→自来水洗 2min→微波炉中热修复,最大微波火力110s→最小微波火力8min→自然冷却→3%去离子双氧水20ml浸泡6min→自来水洗 2min→玻片铺于湿盒内→PBS冲洗两遍→甩干→在组织周围用“SUPER PAP PEN”画一圈→将一抗(1:50稀释)滴于组织上覆盖组织→湿盒内加水盖盖,4℃冰箱过夜→取出湿盒复温30min→PBS冲洗两遍→甩干→滴加DAB显色液→显微镜下2—5min→适时终止反应(将玻片放于水中),水洗2min→苏木素轻度复染4min→水洗2min→1%盐酸乙醇分化数秒→水洗1min→PBS蓝化→95%酒精5min→无水酒精5min→二甲苯 I 5min→二甲苯 II 5min→二甲苯 III 5min→中性树脂胶封片→晾干→OLYMPUS DP70 数码图像装置下观察、摄片→10×20倍镜下观察→10×40倍镜下选取同张片子的五个不同视野拍摄→捷达JD801图像分析系统分析。

1.7 统计学分析

所有数据均以均数±标准差表示,多组间比较采用单因素方差分析,方差齐性采用最小显著性差异法(least significant difference, LSD)两两比较,不齐时采用Dunnett法。统计结果,均由统计软件包SPSS 13.0自动运算完成。

2 结果

2.1 各组大鼠神经功能评分比较

电针对照组和假手术组大鼠未见神经功能缺损症状。模型组和电针组比较,造模成功后第7天、14天时,电针组大鼠神经功能恢复明显优于模型组($P<0.05$)。见表1。

2.2 各组大鼠脑缺血再灌注区 VEGF 表达比较

镜下显示电针对照组和假手术组表达较弱,脑缺血后出现棕黄色的圆形,卵圆形和不规则的有明显突起的阳性表达细胞,这些阳性细胞主要在缺血周围区和皮质,阳性表达产物有的在细胞质和细胞核,有的在细胞浆和突起,随着缺血时间的延长阳性细胞数逐渐增多,表达逐渐增强。电针组阳性细胞

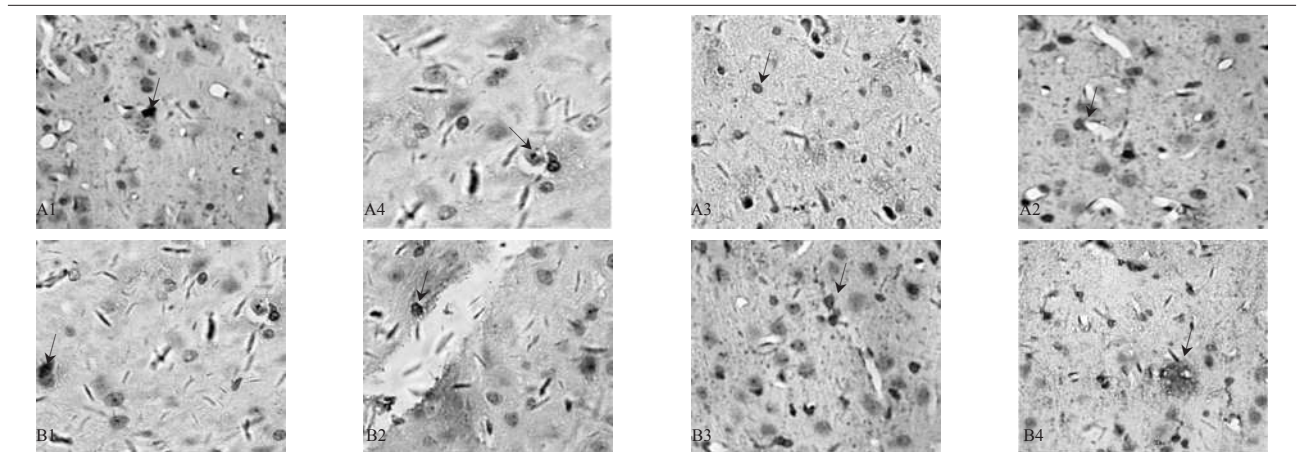
表1 各组大鼠不同时间点神经行为学评分 ($\bar{x}\pm s$,分)

组别	鼠数	脑缺血再灌注后时间		
		24h	第7天	第14天
电针对照组	10	0	0	0
假手术组	10	0	0	0
模型组	10	2.80±0.50 ^①	2.28±0.61 ^①	1.60±0.36 ^①
电针组	10	2.37±0.57 ^③	1.55±0.57 ^②	1.10±0.29 ^②

与假手术组比较:① $P<0.01$;与模型组比较:② $P<0.01$;③ $P<0.05$ 表达更明显,细胞呈深棕色,表达有的甚至在胞浆、突起和细胞核都有,血肿周围有活化的小胶质细胞,血管内皮增生有阳性表达。从统计学分析阳性细胞数(以积分光密度表示):各个时间点假手术组和电针对照组比较无显著性差异($P>0.05$),模型组表达较假手术组明显($P<0.05$),电针组表达较模型组明显($P<0.01$)。见图1,表2。

图1 各组大鼠不同时间点 VEGF 的蛋白表达

(10×40)



注:A:第7天;B:第14天。1:电针对照组;2:假手术组;3:模型组;4:电针组

表2 各组大鼠不同时间点 VEGF 的蛋白表达量 ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	脑缺血再灌注后时间	
		第7天	第14天
电针对照组	10	1.20±0.07 ^②	1.20±0.09 ^②
假手术组	10	1.19±0.09	1.21±0.10
模型组	10	1.99±0.56 ^①	2.59±0.72 ^①
电针组	10	2.49±0.63 ^③	3.42±0.87 ^④

与假手术组比较:① $P<0.05$;② $P>0.05$;与模型组比较:③ $P<0.05$;④ $P<0.01$

2.3 各组大鼠脑缺血再灌注区 GFAP 表达比较

镜下显示电针对照组 GFAP 少有表达,假手术组脑组织中也可见少量淡染的棕黄色 GFAP 阳性细胞,胞体形态不规则,有多个短至中等长度的纤细突起,模型组两个时间点阳性细胞逐渐增多,着色加深,体积增大,突起增粗增长。电针组阳性细胞表达数较模型组更多,表达更明显,至第14天时,突起基

本占据整个空间,呈明显的活化状态。从统计学分析阳性细胞数(以积分光密度表示)两个时间点假手术组和电针对照组比较无显著性差异($P>0.05$);缺血第7天时,表达增多,与假手术组比较有极显著性差异($P<0.01$),缺血后给予电针刺激表达更明显($P<0.01$);缺血第14天时,模型组表达较假手术组明显($P<0.01$)、电针组表达较模型组明显($P<0.01$)。见图2,表3。

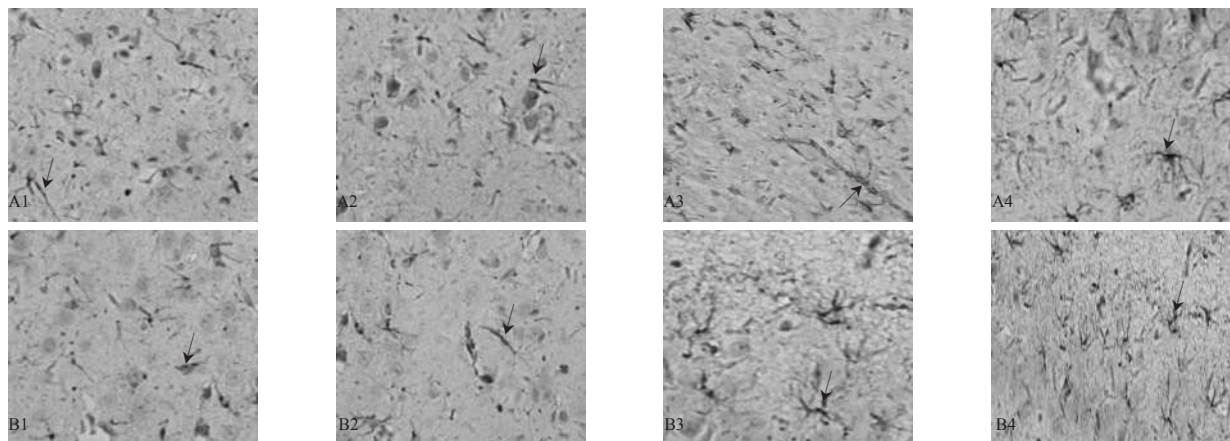
表3 各组大鼠不同时间点 GFAP 的蛋白表达量 ($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	脑缺血再灌注后时间	
		第7天	第14天
电针对照组	10	2.23±0.30 ^②	2.23±0.27 ^②
假手术组	10	2.26±0.26	2.23±0.26
模型组	10	3.41±0.94 ^①	4.10±0.61 ^①
电针组	10	4.41±1.17 ^{③④}	5.84±0.87 ^{③④}

与假手术组比较:① $P<0.01$;② $P>0.05$;与模型组比较:③ $P<0.01$

图2 各组大鼠不同时间点 GFAP 的蛋白表达

(×400)



注:A:7天;B:14天。1:电针对照组;2:假手术组;3:模型组;4:电针组

3 讨论

目前各国学者探索拯救缺血性脑梗死的关键就是尽早恢复缺血半暗带区及濒死脑组织血供^[5],但脑缺血后再灌注既可挽救濒临死亡的细胞,又可加重缺血细胞的损伤^[6],因此鉴于脑缺血再灌注所带来的极大危害,缺血性脑血管病的治疗也越来越受到各国医学者的重视。他们通过大量的临床及实验研究,努力寻找着最有效的治疗方法,但目前关于ICVD的治疗仅有组织纤溶酶原激活物(tissue type plasminogen activator, t-PA)具有循证医学证据,而且迄今为止仅有3%—5%的急性缺血性脑卒中患者得到t-PA的治疗,其原因部分归因于溶栓后颅内出血的危险性增高和用药的时间窗狭窄^[7]。然而针刺治疗脑血管病的疗效临床已经证实,它具有经济适用、易于操作、疗效确切的优点,已经成为脑血管病的常规治疗方法^[8-9]。

本实验大鼠针刺采用天津中医药大学石学敏院士创立的“醒脑开窍”针刺法。对于该法中的百会、水沟穴能够起到醒脑调神、开窍启闭、安神定志的作用,相关实验也发现它们对脑卒中偏瘫患者大脑皮质的中枢生物电有良好的调节作用^[10];内关为人体手厥阴心包经上的重要穴道之一,是多种疾病按摩治疗时的首选穴,有疏导水湿、宁心安神、理气镇痛的作用。三阴交属足太阴脾经,为足三阴经交会之处,统治脾、肝、肾三阴经所主疾病,且为“治血之要穴”能激发三阴气血,达到血养神安之功。临床也已证实“醒脑开窍”针刺法在降低患者残障率、减少患

者神经功能缺损程度和提高患者生存质量方面都有显著性意义^[11]。对于电针,相关研究^[12]证实电针内关、水沟、百会疗效确切明显,因此本实验选用电针量化针刺强度以提高疗效。

VEGF是目前发现的最强的刺激血管生成的因子之一,也是目前已知的唯一特异性地作用于内皮细胞的重要的血管生成因子,在大脑中动脉闭塞后,VEGF/血管内皮细胞生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)系统可以诱导缺血后新血管的形成,通过新形成的侧枝血管来改善缺血区周围组织灌流,而且血管增生的范围和程度直接关系到梗死灶周围血流的改善,影响神经元生理功能的恢复^[13-14]。

血管再生是一个极其复杂的过程,涉及血管基底膜及细胞外基质的降解、内皮细胞分裂和迁移等,使得新生血管从正常脑组织向半暗带及缺血中心区延伸,增加受累脑组织再灌注及供氧量,从而减轻脑缺血再灌注损伤。相关研究发现VEGF对缺血区神经元和内皮细胞具有直接保护作用,同时也能通过促血管生成而间接保护缺血脑组织^[15-17,13]。

VEGF能明显增加微血管的通透性,特别是毛细血管后微静脉和小静脉对循环大分子的通透作用,血管通透性提高,使得血浆中的大分子物质外渗,有利于新生血管形成^[18]。VEGF在正常脑组织中表达很少,在脑缺血发生后,低氧作为一种信号激活VEGF系统,促使VEGF表达升高,从而诱导内皮细胞增殖和体内新生血管形成。在本实验中,模型

组的 VEGF 表达在逐渐增加,电针组在相应时间点的增加都明显高于模型组,假手术组和电针对照组中仅见少量表达。提示脑缺血对 VEGF 的表达有诱导作用,电针更能促进缺血区 VEGF 的高表达,促进缺血区大脑皮质的血管新生,从而促进侧支循环的建立,发挥脑保护作用。

GFAP 是成熟星形胶质细胞的特异性蛋白,其表达是中枢神经系统损伤时反应性胶质细胞增生的重要标志^[19]。星形胶质细胞通过对葡萄糖的重吸收与释放,调节神经细胞内外离子浓度,拮抗兴奋性氨基酸细胞毒性作用,抗氧化,释放生物活性物质,能量供给等对神经元起保护作用^[20]。GFAP 富含天冬氨酸和谷氨酸,相对分子量为 50—52kD,以可溶性蛋白和中间微丝蛋白两种形式存在细胞质的胞浆内,是星形胶质细胞的骨架蛋白。GFAP 在生理情况下仅有少量表达,在病理状态下出现反应性增生、肥大,细胞数上调,快速激活吞噬细胞外的有害的神经介质,保持内部环境稳定^[21]。相关研究表明 GFAP 合成的多少直接关系到脑损伤及恢复程度^[22—23]。脑缺血后星形胶质细胞的增生,维持和重建着缺血区微环境的稳态,而且星形胶质细胞分泌的 IL-6 和碱性成纤维细胞生长因子、反应性星形胶质细胞表达的胶质蛋白在缺血损伤中都保护着神经元。本实验中显示 GFAP 在缺血时表达不断增加,给予电针刺激时表达更明显,这些结果提示针刺能干预脑缺血后星形胶质细胞 GFAP 的表达,促进缺血后星形胶质细胞活化,调节星形胶质细胞的功能,诱导内源性神经保护,减轻缺血导致的神经损伤。

本实验研究结果提示,大鼠早期神经功能的恢复可能与针刺能够促进 VEGF、GFAP 的高表达实现有关,这为针刺治疗脑血管病运动功能恢复提供了新的理论和实验依据。

参考文献

- [1] 罗祖明,丁新生.缺血性脑血管病学[M].北京:人民卫生出版社,2011.1001.
- [2] Young AR, Ali C, Duretête A, et al. Neuroprotection and stroke: time for a compromise[J]. J Neurochem, 2007, 103(4):1302—1309.
- [3] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1):84—91.
- [4] 华兴邦,周浩良,李辞荣,等.大鼠穴位图谱的研制[J].实验动物与动物实验,1991,2(1):1—5.
- [5] 凌锋.脑血管病理论与实践[M].北京:人民卫生出版社,2007.77—80.
- [6] 朱贤富,王振华.脑缺血再灌注损伤机制的研究现状[J].医学综述,2010,16(18):2786—2789.
- [7] Tausky P, Tawk RG, Daugherty WP, et al. Medical therapy for ischemic stroke: review of intravenous and intra-arterial treatment options[J]. World Neurosurg, 2011, 76(6):9—15.
- [8] 李滚,曾宪容,刘鸣,等.针刺治疗急性缺血性脑卒中的国内外研究对比[J].中国针灸,2004,24(3):218—220.
- [9] 张琳璞.中风的针灸治疗概况[J].针灸临床杂志,2004,20(6):61—63.
- [10] 左芳,石现,田嘉禾,等.电针头穴对人脑运动功能区糖代谢影响的正电子发射断层扫描研究[J].中国康复理论与实践,2008,14(3):237—238.
- [11] 石学敏.“醒脑开窍”针刺法治疗中风病 9005 例临床研究[J].中医导报,2005,11(1):3—5.
- [12] Zhou F, Guo J, Cheng J, et al. Electroacupuncture increased cerebral blood flow and reduced ischemic brain injury: dependence on stimulation intensity and frequency[J]. J Appl Physiol, 2011, 111(6):1877—1887.
- [13] Marti HJ, Bernaudin M, Bellail A, et al. Hypoxia-induced vascular endothelial growth factor expression precedes neovascularization after cerebral ischemia[J]. AM J Pathol, 2000, 156(3):965—976.
- [14] Zhang ZG, Zhang L, Jiang Q, et al. VEGF enhances angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain[J]. J Clin Invest, 2000, 106(7):829—838.
- [15] Jin KL, Mao XO, Greenberg DA. Vascular endothelial growth factor: direct neuroprotective effect in in vitro ischemia[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2000, 97(18):10242—10247.
- [16] Wagatsuma A. Endogenous expression of angiogenesis-related factors in response to muscle injury[J]. Mol Cell Biochem, 2007, 298(1—2):151—159.
- [17] Leberer C, von Degenfeld G, Karl A, et al. Therapeutic angiogenesis/arteriogenesis in the chronic ischemic rabbit hindlimb: effect of venous basic fibroblast growth factor retroinfusion[J]. Endothelium, 2003, 10(4—5):257—265.
- [18] 宫萍,刘元丁,吴江.VEGFR-1,VEGFR-2mRNA 在局灶性脑缺血的表达及作用研究[J].中国老年学杂志,2002,22(9):402—403.
- [19] Pimentel VC, Bellé LP, Pinheiro FV, et al. Adenosine deaminase activity, lipid peroxidation and astrocyte responses in the cerebral cortex of rats after neonatal hypoxia ischemia[J]. Int J Dev Neurosci, 2009, 27(8):857—862.
- [20] 韩冬,冯加纯.星形胶质细胞对脑缺血后神经元的保护作用[J].中国卒中杂志,2006,9(1):644—646.
- [21] Li Q, Zhang R, Guo YL, et al. Effect of neuregulin on apoptosis and expressions of STAT3 and GFAP in rats following cerebral ischemic reperfusion[J]. J Mol Neurosci, 2009, 37(1):67—73.
- [22] Nawashiro H, Brenner M, Fukui S, et al. High susceptibility to cerebral ischemia in GFAP- null mice[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2000, 20(7):1040—1044.
- [23] Larsson A, Wilhelmsson U, Pekna M, et al. Increased cell proliferation and neurogenesis in the hippocampal dentate gyrus of old GFAP(-/-)Vim(-/-) mice[J]. Neurochemical Research, 2004, 29(11):2069—2073.