

非诺贝特对小鼠急性局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用

马昂¹, 周宇^{1*}, 杨立朝¹, 杨武双², 张雪梅¹, 金鑫¹ (1. 厦门大学医学院基础医学部, 福建 厦门 361005; 2. 厦门市中医院神经外科, 福建 厦门 361005)

摘要:目的 研究非诺贝特(fenofibrate, Fen)对小鼠急性局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用及机制。方法 线栓法制备小鼠大脑中动脉栓塞模型,缺血90 min后再灌注。非诺贝特(10, 80 mg·kg⁻¹)再灌注同时及再灌注后2 h各灌胃给药1次。再灌注后24 h,测定小鼠神经功能缺失评分、脑梗死体积及脑水肿程度,实时逆转录多聚酶链反应(RT-PCR)法检测过氧化物酶体增殖物激活受体α(PPARα) mRNA的表达水平,生化法测定脑组织丙二醛(maiondialdehyde, MDA)含量及超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的活性,伊文思蓝(Evans blue, EB)法观察血脑屏障破坏程度;应用过氧化物酶体增殖物激活受体α拮抗剂MK886(10 mg·kg⁻¹)观察过氧化物酶体增殖物激活受体α是否参与非诺贝特的脑保护作用。结果 非诺贝特(80 mg·kg⁻¹)可改善小鼠神经功能缺失,减小脑梗死体积,减轻脑水肿程度,减少脑缺血后脑内伊文思蓝的渗漏,上调脑损伤后脑内过氧化物酶体增殖物激活受体α mRNA的表达,减轻脑组织的脂质过氧化。MK886可拮抗非诺贝特的保护作用。结论 非诺贝特可通过上调过氧化物酶体增殖物激活受体α mRNA表达,减轻脂质过氧化损伤而对小鼠急性局灶性脑缺血再灌注损伤发挥保护作用。

关键词: 非诺贝特; 过氧化物酶体增殖物激活受体α; 脑缺血; 再灌注损伤; 血脑屏障; 小鼠
中图分类号: R965 文献标志码: A 文章编号: 1001-2494(2012)13-1042-06

The Protective Effect of Fenofibrate on Acute Focal Cerebral Ischemia Reperfusion Injury in Mice

MA Ang¹, ZHOU Yu^{1*}, YANG Li-chao¹, YANG Wu-shuang², ZHANG Xue-mei¹, JIN Xin¹ (1. Faculty of Basic Medicine, Medical College, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2. Department of Neurosurgery, Xiamen Traditional Chinese Medicine Hospital, Xiamen 361005, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the protective effect of fenofibrate (Fen) on acute focal cerebral ischemia reperfusion injury in mice and its mechanisms. **METHODS** Cerebral ischemia was induced by middle cerebral artery occlusion in mice for 90min and then reperfusion. Fen (10, 80 mg·kg⁻¹) was intragastrically administered at the same time of reperfusion and 2 h after reperfusion respectively. The neurological deficit score, infarct volume and brain edema degree were determined 24 h after reperfusion. At the same time the expression of PPARα mRNA in brain tissue was measured by real-time RT-PCR. The contents of maiondialdehyde (MDA) and the activity of superoxide dismutase (SOD) in the brain tissue were measured by biochemical assay. The disruption of blood-brain barrier (BBB) was evaluated by the extravasations of Evans Blue (EB). MK886, an antagonist of PPARα receptor, was used to investigate the involvement of PPARα in the protective effect of Fen. **RESULETS** Fen (80 mg·kg⁻¹) ameliorated neurological function, reduced infarct volume, attenuated brain edema degree, decreased the extravasations of EB, increased the expression of PPARα mRNA, and attenuated the lipid peroxidation in brain tissues. MK886 abolished the protective effect of Fen. **CONCLUSION**

Fen has protective effect against acute focal cerebral ischemia reperfusion injury in mice by increasing the expression of PPARα mRNA and reducing lipid peroxidation in brain tissue.

KEY WORDS: fenofibrate; PPARα; cerebral ischemia; reperfusion injury; blood-brain barrier; mice

脑卒中是导致全球人口死亡的第三大原因和致残率最高的疾病,其中缺血性脑卒中约占80%。旨在恢复患者脑部血液供应的溶栓疗法是临床上治疗缺血性脑卒中的主要疗法。但溶栓疗法在恢复脑部血液供应的同时,却可造成再灌注损伤,破坏血脑屏

障(blood brain barrier, BBB),加重脑水肿和脑梗死,增加死亡率和致残率^[1]。

以非诺贝特(fenofibrate, Fen)为代表的贝特类降脂药在临床中使用了40多年,是一种选择性过氧化物酶体增殖物激活受体α(PPARα)激动剂^[2]。

基金项目: 厦门市科技计划资助项目(3502Z20084022)

作者简介: 马昂,女,硕士研究生,研究方向: 心脑血管药理学 * 通讯作者: 周宇,女,博士,助理教授,研究方向: 心脑血管药理学
Tel: (0592) 2188681 E-mail: zhouyu@xmu.edu.cn

研究表明, Fen 不仅能在外周调节糖脂代谢, 降血脂, 预防动脉粥样硬化的发生^[3], 对中枢神经系统损伤也具有保护作用。研究报道 Fen 对脑外伤^[4]及脑缺血损伤^[5-6]具有预防性保护作用。但 Fen 对急性脑缺血再灌注损伤是否具有保护作用尚无明确报道。并且鉴于 BBB 在脑缺血再灌注损伤中的重要作用, 很有必要进一步评价 Fen 对 BBB 的影响。

本实验在小鼠局灶性脑缺血再灌注损伤模型上, 观察 Fen (10, 80 mg · kg⁻¹, ig) 在脑缺血再灌注后给药对急性脑缺血再灌注损伤的保护作用, 特别是对 BBB 的影响。进一步, 我们应用 PPAR α 选择性拮抗剂 MK886, 研究 PPAR α 是否介导了 Fen 的脑保护作用。并且从 Fen 对 PPAR α 基因表达的调节及抗氧化应激作用方面来阐明其脑保护作用机制。

1 材料

1.1 实验动物

健康昆明种小鼠, δ , 体重 25 ~ 30 g [厦门大学医学院实验动物中心, 合格证号: SYXK(闽) 2008-0003]。自然光照周期饲养, 术前 12 h 禁食, 自由饮水。

1.2 药品与试剂

Fen (Sigma 公司, 批号 019K1157); MK886 (Cayman Chemical 公司, 批号 0410322-39); 2, 3, 5-三苯基氯化四氮唑 (2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride, TTC), 伊文思蓝 (Evans blue, EB, Sigma 公司); Trizol (Invitrogen 公司); 逆转录试剂盒, DNA 聚合酶, dNTP (Fermentas 公司); SYBR Green PCR 混合液 (ABI 公司); 丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 及超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所)。其余均为市售分析纯产品。

1.3 实验仪器

显微手术器械 (上海医疗器械有限公司手术器械厂); DKZ-2 型电热恒温振荡水浴槽 (上海精宏实验设备有限公司); 数码相机 (FinePix 公司); 冷冻高速离心机 (Sigma 公司); 多功能酶标仪 (Molecular Devices 公司); DU800 核酸蛋白测定仪 (Beckman Coulter 公司); 7300 型荧光定量 PCR 仪 (ABI 公司)。

2 方法

2.1 局灶性脑缺血再灌注模型制备

应用线栓法制备小鼠右侧大脑中动脉栓塞 (middle cerebral artery occlusion, MCAO) 模型^[7-8]。小鼠用 10% 的水合氯醛 (400 mg · kg⁻¹) 腹腔注射

麻醉后, 分离颈总动脉, 将头端用聚氨酯处理的直径约为 0.108 mm 的尼龙丝线经颈总动脉切口插入颈内动脉, 线栓插入长度自颈总动脉分叉部记为 (1.6 \pm 0.1) cm。缺血后 1.5 h 取出线栓, 即恢复供血形成再灌注。动物术中及术后麻醉清醒前给予保温。以动物苏醒后出现手术对侧肢体运动障碍为模型成功的标准。

2.2 动物分组及给药

所有实验共分 4 批动物完成, 第 1 批动物于再灌注后 24 h 进行神经功能缺失评分, 处死后取脑进行 TTC 染色; 第 2 批动物于再灌注后 6 h 用于脑内 EB 渗透量测定; 第 3 批动物于再灌注后 24 h 用于 Real-time RT-PCR 实验; 第 4 批动物于再灌注后 24 h 用于脑组织匀浆生化测定。

除假手术组外, 将手术成功的动物于再灌注后随机分为溶媒组及给药组, 造模成功率为 80%。每批动物 40 只, 具体分为: ①假手术组 (sham 组): 仅手术暴露右侧颈总动脉及颈内动脉, 不做缺血处理; ②溶媒组 (vehical 组): 线栓法制备小鼠右侧大脑中动脉栓塞模型, 缺血 90 min 后再灌注; ③④Fen 给药组 (Fen10, Fen80): 脑缺血再灌注同时及再灌注后 2 h 灌胃给予 Fen 10 或 80 mg · kg⁻¹; ⑤MK886 干预组 (MK + Fen80): 在 Fen 80 mg · kg⁻¹ 给予前 30 min 灌胃给予 MK886 10 mg · kg⁻¹。每组实验动物数为 8 只。

其中 Real-time RT-PCR 实验, Fen 给药组仅观察一个剂量 (Fen 80 mg · kg⁻¹), 并增设正常组 (normal 组, $n = 8$), 该组小鼠不给药及溶媒, 作为空白对照组。Fen 及 MK886 临用前用体积百分比为 10% 的吐温-80 生理盐水配成相应的浓度, 按 10 mL · kg⁻¹ 灌胃给药。假手术组和溶媒组以相同的方式给予相应的溶媒。

2.3 神经功能缺失评分

脑缺血再灌注后 24 h, 按照 Longer 法^[9]对小鼠的神经功能缺失进行评分。评分标准: 0 分: 无神经缺损症状; 1 分: 提尾时损伤对侧前肢内收屈曲, 不能完全伸直; 2 分: 爬行时向损伤对侧旋转、划圈; 3 分: 站立时向损伤对侧倾倒; 4 分: 不能自行行走或昏迷。

2.4 脑梗死灶体积及脑水肿程度的测定

采用小鼠脑片 TTC 染色法。小鼠于再灌注后 24 h 断头取脑, 切成 5 片 2 mm 厚冠状切片, 置于质量分数为 1% 的 TTC 磷酸盐缓冲液中, 避光 37 °C 恒温孵育 20 min。正常脑组织染为红色, 梗死组织不着

色。在4%的多聚甲醛溶液中避光固定24 h后,数码相机拍照,照片输入计算机并应用图像分析处理系统计算脑梗死体积和左右脑半球体积。脑水肿程度用(损伤侧脑半球体积-非损伤侧脑半球体积)/非损伤侧脑半球体积来表示。

2.5 BBB破坏程度的观察和测定

应用EB渗漏法观察脑缺血再灌注后6 h BBB的破坏情况。小鼠在处死前1 h尾静脉注射质量浓度为5%的EB($10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$),在再灌注后6 h,小鼠给予水合氯醛麻醉后打开胸腔,于右心耳部剪一小口,从左心室插入导管至主动脉,向主动脉内缓慢注入生理盐水,至右心房流出液体变清亮,断头取脑,切成5片2 mm厚的冠状切片,拍照并输入计算机。应用图像分析处理系统计算EB渗漏体积。收集损伤侧脑组织,称重并记录。脑组织中加入50%三氯醋酸溶液匀浆, $3\ 000 \times g$ 离心15 min后,取150 μL 上清液于酶标板中, 620 nm 下测定吸光度,通过EB标准曲线计算相应含量。脑组织EB含量以 $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ 组织表示。

2.6 PPAR α mRNA测定

应用Real-time RT-PCR法测定脑内PPAR α mRNA的表达水平。脑缺血再灌注24 h后,小鼠断头处死,迅速剥离脑组织,予预冷的生理盐水清洗,冰上快速分离缺血侧脑组织,称重,液氮速冻5 s,置 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。按照Trizol说明书提取脑组织总RNA,取1 μg RNA应用逆转录试剂盒逆转成cDNA。在T7300 Realtime PCR仪进行PCR反应,反应体系为:样本cDNA 0.5 μL ; SYBR Green PCR混合液 10 μL ; 引物($10\ \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$)各0.5 μL ; H_2O 8.5 μL ,反应总体积20 μL 。引物序列为:

PPAR α : 上游: 5' AAGTGCCTGTCTGTCGG-GATG3'

下游: 5' CCAGAGATTTGAGGTCTGCAGTTTC3'

GAPDH: 上游: 5' TGTGTCCGTCGTGGATCT-GA3'

下游: 5' TTGCTGTTGAAGTCCGAGGAG 3'

循环条件如下:起始变性 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 10 min;两步循环 $95\text{ }^{\circ}\text{C}$ 变性1 s, $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 退火延伸1 min,循环40次。应用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法处理数据,以正常组为对照,反映脑内PPAR α 基因的表达水平。

2.7 MDA含量及SOD活性测定

脑缺血再灌注后24 h,取缺血侧脑组织,用冰生理盐水制成10%脑组织匀浆,离心取上清,置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存。按照试剂盒说明书分别测定脑组织中

MDA含量和SOD活性。MDA含量测定采用硫代巴比妥酸法按操作步骤进行,于 532 nm 处测定吸光度;SOD活性采用黄嘌呤氧化酶法测定,于 550 nm 处测定吸光度。蛋白含量按照考马斯亮蓝法测定。

2.8 统计学分析

所有实验数据均以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用Prism 4 for windows软件(GraphPad Software Inc, USA)进行单因素方差分析,当方差分析有显著性差异时,进一步用Turkey检验作两两比较。

3 结果

3.1 Fen对小鼠急性局灶性脑缺血再灌注损伤的影响

脑缺血再灌注后24 h,小鼠出现明显的神经功能障碍,神经功能缺失评分较假手术组明显升高,Fen 10, 80 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 均能减少神经功能缺失评分,MK886($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)可拮抗Fen的神经功能保护作用(图1A)。

脑缺血再灌注后24 h,脑冠状切片可见损伤侧组织出现明显的苍白梗死灶和脑水肿(图1B),Fen($80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)可明显减小脑梗死体积,减轻脑水肿程度,与溶媒组相比降低脑梗死体积达59.2%(图1C),减轻脑水肿程度达57.23%(图1D)。给予MK886组小鼠的脑梗死体积及脑水肿程度与溶媒组小鼠相近,表明Fen对缺血后脑组织的保护作用为MK886所拮抗。

3.2 Fen对小鼠脑缺血再灌注后BBB通透性的影响

应用EB渗漏法观察小鼠BBB通透性的变化,结果表明,脑缺血再灌注后6 h,脑内EB渗漏体积(图2A)及渗漏量(图2B)明显增大。脑组织冠状切片可见损伤侧皮层和皮层下区大量EB渗漏(图2C),Fen $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可减小EB在脑内渗透体积和渗透量,与溶媒组比降低程度达75%。提示Fen $80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可减轻脑缺血再灌注后BBB的破坏程度。MK886可拮抗Fen对BBB的保护作用。

3.3 Fen对PPAR α mRNA表达的影响

脑缺血再灌注24 h,应用Real-time RT-PCR法测定小鼠损伤侧脑组织内PPAR α mRNA的表达水平。脑缺血再灌注后小鼠脑内PPAR α mRNA的表达水平与假手术组比降低41.2%;Fen($80 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)可增加脑内PPAR α mRNA的表达,恢复至假手术水平;MK886($10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)可拮抗Fen对PPAR α mRNA的升高作用(图3)。

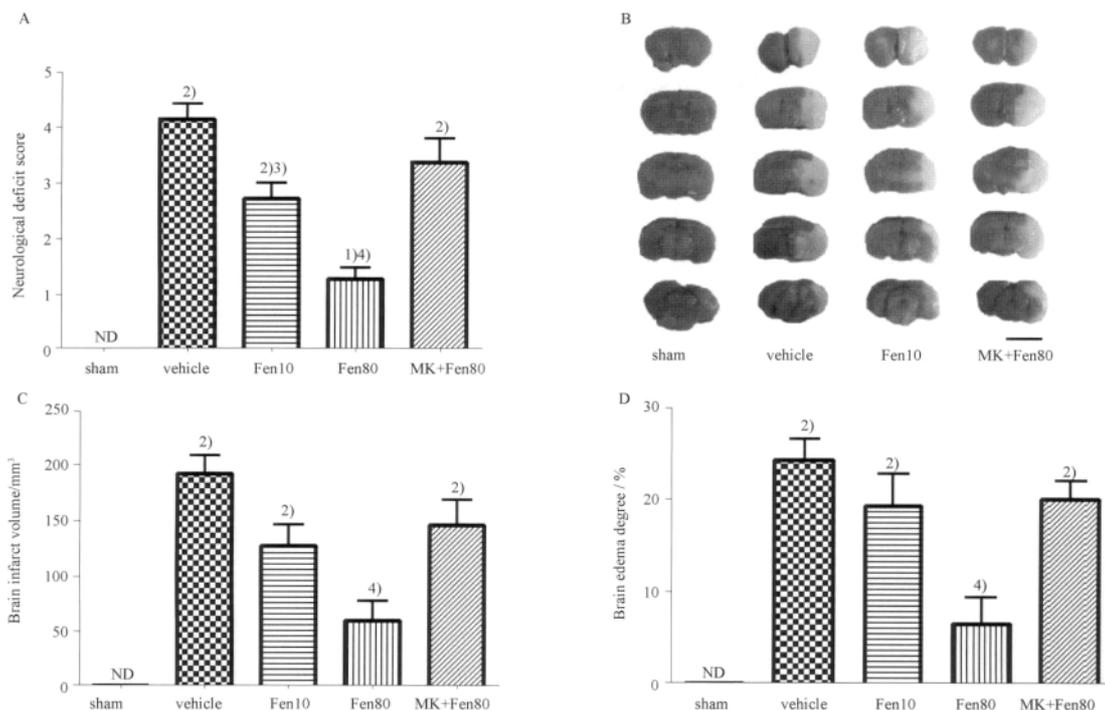


图1 非诺贝特(Fen)对小鼠局灶性脑缺血再灌注24 h后不同参数的影响. $n=8, \bar{x} \pm s$

A - 神经功能缺失评分; B - 1% TTC 染色后的脑冠状切片(标尺 = 5 mm); C - 脑梗死体积; D - 脑水肿程度; ND - 未检测到; ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, 与假手术组比较; ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$, 与溶媒组比较

Fig.1 Effect of Fen on different parameters after 24 h focal cerebral ischemia reperfusion in mice. $n=8, \bar{x} \pm s$

A - neurological deficit score; B - representative coronal slices stained with 1% TTC (Bar in B = 5 mm); C - infarct volume; D - brain edema degree; ND - not detectable; ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, vs sham group; ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$, vs vehicle group

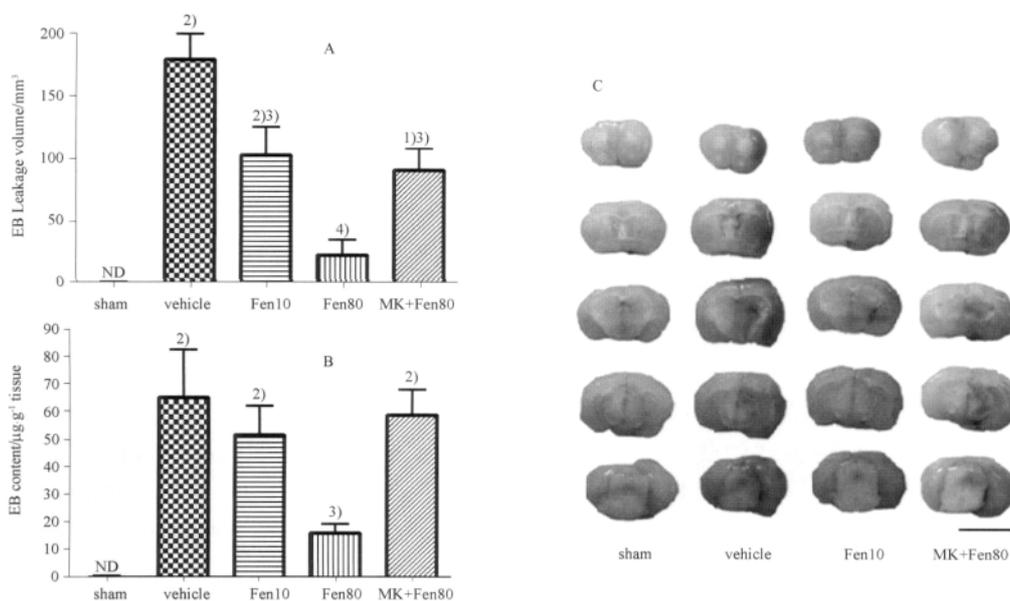


图2 Fen对小鼠局灶性脑缺血再灌注6 h后血脑屏障通透性的影响. $n=8, \bar{x} \pm s$

A - EB 渗漏体积; B - EB 渗漏量; C - 显示 EB 渗漏的脑组织切片(标尺 = 5 mm); ND - 未检测到; ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, 与假手术组比较; ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$, 与溶媒组比较

Fig.2 Effect of Fen on BBB permeability 6 h after focal cerebral ischemia reperfusion in mice. $n=8, \bar{x} \pm s$

A - EB leakage volume; B - EB content; C - representative photographs showing EB leakage in mice brains (Bar = 5 mm); ND - not detectable; ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$, vs sham group; ³⁾ $P < 0.05$, ⁴⁾ $P < 0.01$, vs vehicle

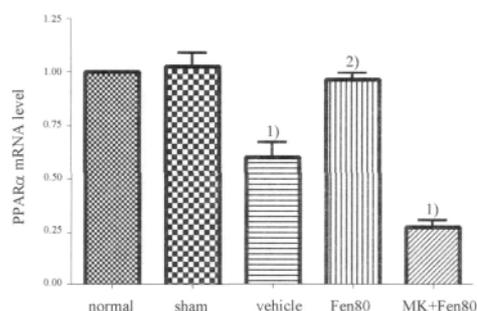


图3 Fen 对小鼠局灶性脑缺血再灌注 24 h 后脑组织内 PPAR α mRNA 表达的影响. $n = 8 \bar{x} \pm s$

¹⁾ $P < 0.01$ 与假手术组比较; ²⁾ $P < 0.01$ 与溶媒组比较

Fig. 3 Effect of Fen on PPAR α mRNA expression in brain tissues 24 h after focal cerebral ischemia reperfusion in mice. $n = 8 \bar{x} \pm s$

¹⁾ $P < 0.01$, vs sham group; ²⁾ $P < 0.01$, vs vehicle

3.4 Fen 对脑缺血再灌注后脑内 MDA 含量和 SOD 活性的影响

脑缺血再灌注后 24 h, 小鼠脑组织内脂质过氧化物产物 MDA 含量明显增加, 抗氧化酶 SOD 活性降低; Fen 10 mg \cdot kg⁻¹ 可降低脑内 MDA 含量, 提高 SOD 活性(图 4)。Fen 80 mg \cdot kg⁻¹ 可降低脑内 MDA 含量, 但不能升高脑缺血组织内 SOD 活性。MK886(10 mg \cdot kg⁻¹) 可部分拮抗 Fen(80 mg \cdot kg⁻¹) 对 MDA 的降低作用(图 4)。

4 讨论

本实验结果表明, Fen(80 mg \cdot kg⁻¹, ig) 在脑缺血再灌注同时及再灌后 2 h 给药可改善小鼠神经功能缺失, 减小脑梗死体积, 减轻脑水肿程度, 对急性脑缺血再灌注损伤具有保护作用。

Fen 对脑缺血再灌注损伤的保护作用可能和其减轻 BBB 的损伤有关。BBB 是存在于血液和脑组织之间的一道屏障, 对维持中枢神经系统内环境的稳定起重要作用。本实验应用 EB 为示踪剂, 观察脑缺血再灌注后脑内 BBB 通透性的变化, 选择 EB 在脑内渗漏最明显的时间即再灌注后 6 h^[10] 作为观察药物作用的时间点。研究结果表明 Fen(80 mg \cdot kg⁻¹, ig) 脑缺血再灌注后给药可明显减少 EB 在脑内的渗漏, 表明 Fen 对脑缺血再灌注后的 BBB 具有保护作用。体外研究也发现, Fen 的活性代谢产物非诺贝特酸(fenofibric acid, FA) 对小鼠大脑微动脉内皮细胞的缺糖缺氧损伤具有保护作用^[11]。脑缺血再灌注破坏 BBB 的完整性, 导致血液中的成分渗入到脑组织内, 形成血管源性脑水肿, 可进一步加重

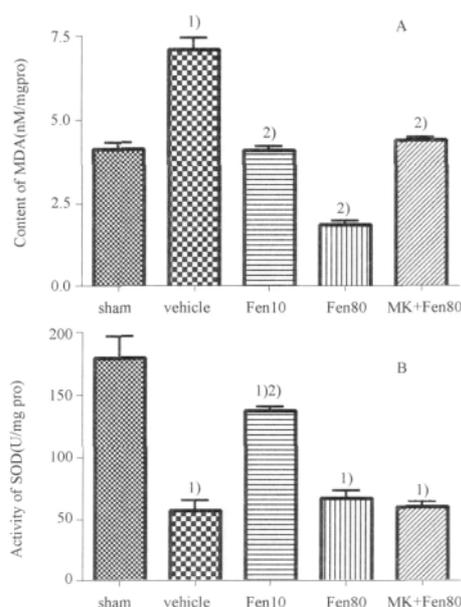


图4 Fen 对小鼠局灶性脑缺血再灌注 24 h 后脑组织内丙二醛(MDA)含量(A)和超氧化物歧化酶(SOD)活性(B)的影响. $n = 8 \bar{x} \pm s$

¹⁾ $P < 0.01$ 与假手术组比较; ²⁾ $P < 0.01$ 与溶媒组比较

Fig. 4 Effect of Fen on MDA content (A) and SOD activity (B) in brain tissues 24 h after focal cerebral ischemia reperfusion in mice. $n = 8 \bar{x} \pm s$

¹⁾ $P < 0.01$, vs sham group; ²⁾ $P < 0.01$, vs vehicle

脑损伤。因此保护 BBB 的完整性将有助于减轻脑缺血再灌注损伤。我们的研究也表明 Fen 在改善 BBB 的同时可减少脑梗死体积, 减轻脑水肿程度并改善神经功能缺失。提示 Fen 可通过保护 BBB 发挥抗急性脑缺血再灌注损伤作用。

Fen 对急性脑缺血再灌注损伤的保护作用可被 PPAR α 的拮抗剂 MK886 所阻断, 并且 Fen 可明显上调脑缺血再灌注后脑内 PPAR α mRNA 的表达, 提示 PPAR α 介导了 Fen 的保护作用。研究报道, PPAR α 是一种内源性神经保护因子^[12-13]。脑缺血后 PPAR α 基因敲除小鼠脑梗死体积较野生型小鼠扩大^[14], PPAR α 激动剂 WY14643^[15] 和白藜芦醇^[16] 对脑缺血损伤均具有保护作用。我们前期研究也发现新型 PPAR α 激动剂油酰乙醇胺在脑缺血再灌注后给药也可发挥脑保护作用^[8]。本实验发现, PPAR α 激动剂 Fen 对急性脑缺血再灌注损伤的保护作用也为阐明 PPAR α 在脑内的功能提供新的线索。

研究表明, 氧化应激是脑缺血再灌注后最早出现和最重要的损伤机制^[17-19]。正常情况下, 机体可产生少量的氧自由基, 但很快被体内的自由基清除系统迅速清除, 不会造成组织细胞损伤。脑缺血再

灌注时产生大量的自由基,而体内 SOD 等抗氧化酶的清除能力下降,导致氧自由基大量堆积,引发细胞膜的脂质过氧化,破坏膜的结构和功能。MDA 是脂质过氧化终产物,可间接反映机体受自由基攻击的严重程度。本实验结果表明, Fen 可明显降低脑组织内 MDA 含量,并且这一作用可部分被 MK886 所阻断,提示 Fen 可通过激动 PPAR α ,减轻脑缺血再灌注引起的脂质过氧化损伤。SOD 是体内重要的抗氧化酶,但本研究发现大剂量 Fen (80 mg \cdot kg $^{-1}$) 不能升高脑缺血后脑内 SOD 活性,这一结果与已有报道一致, Wang^[20] 报道大剂量 Fen (100 mg \cdot kg $^{-1}$) 不能上调脑缺血后 SOD mRNA 的表达及提高 SOD 活性,具体机制有待进一步研究。该结果也提示大剂量 Fen 可能通过其他机制如增加谷胱甘肽还原酶的活性来抗氧化应激损伤。此外 Fen 的保护作用也可能和其抗炎作用相关。研究报道 PPAR α 激活可抑制炎症因子如 LT-6 和 TNF α 等的合成及释放,并抑制炎症介质合成酶类如 COX-2, iNOS 的表达^[21]。

总之,我们的实验表明, Fen 可对抗急性局灶性脑缺血再灌注损伤,这一作用和 Fen 对 BBB 的保护有关。PPAR α 介导了 Fen 的脑保护作用,并且 Fen 可上调 PPAR α mRNA 表达,减轻脂质过氧化损伤。但 Fen 激动 PPAR α 发挥保护作用的机制还有待进一步研究。

REFERENCES

- [1] NAGEL S, SU Y, HORSTMANN S, *et al.* Minocycline and hypothermia for reperfusion injury after focal cerebral ischemia in the rat: effects on BBB breakdown and MMP expression in the acute and subacute phase[J]. *Brain Res*, 2008, 1188: 198-206.
- [2] NN I, GREEN S. Activation of a member of the steroid hormone receptor superfamily by peroxisome proliferators [J]. *Nature*, 1990, 347(6294): 645-650.
- [3] BERGER J P, AKIYAMA T E, MEINKE P T. PPARs: therapeutic targets for metabolic disease [J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2005, 26(5): 244-251.
- [4] CHEN X R, BESSON V C, PALMIER B, *et al.* Neurological recovery-promoting, anti-inflammatory, and anti-oxidative effects afforded by fenofibrate, a PPAR alpha agonist, in traumatic brain injury[J]. *J Neurotrauma*, 2007, 24(7): 1119-1131.
- [5] DEPLANQUE D, GELE P, PETRAULT O, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activation as a mechanism of preventive neuroprotection induced by chronic fenofibrate treatment[J]. *J Neurosci*, 2003, 23(15): 6264-6271.
- [6] ZHANG Y L, YANG J Q. Effects of fenofibrate on global cerebral ischemia / reperfusion injury in rats [J] *Chin Pharmacol Bull*

- (中国药理学通报) 2010, 26(3): 320-324
- [7] MAO Y, YANG G Y, ZHOU L F, *et al.* Focal cerebral ischemia in the mouse: description of a model and effects of permanent and temporary occlusion [J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 1999, 63(2): 366-370.
- [8] YANG L C, YANG W S, ZHOU Y, *et al.* Protective effect of Oleoylethanolamide on focal cerebral ischemia in mice [J]. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报) 2009 25(9): 1219-1223.
- [9] 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.
- [10] STRBIAN D, DURUKAN A, PITKONEN M, *et al.* The blood-brain barrier is continuously open for several weeks following transient focal cerebral ischemia [J]. *Neuroscience*, 2008, 153(1): 175-181.
- [11] MYSIOREK C, CULOT M, DEHOUCQ L, *et al.* Peroxisome-proliferator-activated receptor-alpha activation protects brain capillary endothelial cells from oxygen-glucose deprivation-induced hyperpermeability in the blood-brain barrier [J]. *Curr Neurovasc Res*, 2009, 6(3): 181-193.
- [12] SUN Y, ALEXANDER S P, GARLE M J, *et al.* Cannabinoid activation of PPAR alpha; a novel neuroprotective mechanism [J]. *Br J Pharmacol*, 2007, 152(5): 734-743.
- [13] BORDET R, OUK T, PETRAULT O, *et al.* PPAR: a new pharmacological target for neuroprotection in stroke and neurodegenerative diseases [J]. *Biochem Soc Trans*, 2006, 34(Pt 6): 1341-1346.
- [14] PIALAT J B, CHO T H, BEUF O, *et al.* MRI monitoring of focal cerebral ischemia in peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) -deficient mice [J]. *NMR Biomed*, 2007, 20(3): 335-342.
- [15] COLLINO M, ARAGNO M, MASTROCOLA R, *et al.* Oxidative stress and inflammatory response evoked by transient cerebral ischemia/reperfusion: effects of the PPAR-alpha agonist WY14643 [J]. *Free Radic Biol Med*, 2006, 41(4): 579-589.
- [16] CHENG G, ZHANG X, GAO D, *et al.* Resveratrol inhibits MMP-9 expression by up-regulating PPAR alpha expression in an oxygen glucose deprivation-exposed neuron model [J]. *Neurosci Lett*, 2009, 451(2): 105-108.
- [17] NITA D A, NITA V, SPULBER S, *et al.* Oxidative damage following cerebral ischemia depends on reperfusion - a biochemical study in rat [J]. *J Cell Mol Med*, 2001, 5(2): 163-170.
- [18] CHRISOBOLIS S, MILLER A A, DRUMMOND G R, *et al.* Oxidative stress and endothelial dysfunction in cerebrovascular disease [J]. *Front Biosci*, 2011, 16: 1733-1745.
- [19] GAO M, SHI L L, ZHANG H A, *et al.* Therapeutic effect of edaravone in transient global brain ischemia /reperfusion rats [J]. *Chin Pharm J* (中国药理学杂志) , 2011, 46(12): 932-936.
- [20] WANG G, LIU X, GUO Q, *et al.* Chronic treatment with fibrates elevates superoxide dismutase in adult mouse brain microvessels [J]. *Brain Res*, 2010, 1359: 247-255.
- [21] BLANQUART C, BARBIER O, FRUCHART J C, *et al.* Peroxisome proliferator-activated receptors: regulation of transcriptional activities and roles in inflammation [J]. *J Steroid Biochem Mol Biol*, 2003, 85(2-5): 267-273.

(收稿日期: 2011-08-28)