

西洛他唑鼻腔给药对小鼠慢性脑缺血损伤的保护作用

张琦¹, 叶夷露¹, 李青¹, 张纬萍², 姜莉莉³, 魏尔清², 俞月萍¹

(1. 浙江医学高等专科学校 药理教研室, 浙江 杭州 310053;

2. 浙江大学医学院 药理学系, 浙江 杭州 310058; 3. 温州医学院 药学院, 浙江 温州 325035)

[摘要] **目的:**观察西洛他唑鼻腔给药对小鼠慢性脑缺血损伤的保护作用。**方法:**以大脑中动脉栓塞(MCAO)诱导小鼠局灶性脑缺血,分别于术后1、4、7 h给予西洛他唑(鼻腔给药或腹腔注射给药),从第2天起,每天2次,持续到缺血后14 d。缺血后1、3、7、14、21、28、35 d进行神经症状评分和斜板试验,并记录小鼠的生存率。实验结束后,测定脑损伤体积和神经元数量。**结果:**西洛他唑鼻腔给药0.3 mg/kg能显著提高小鼠MCAO术后35 d的生存率。西洛他唑鼻腔给药(0.3、1 mg/kg)和西洛他唑腹腔给药(10 mg/kg)能改善缺血后神经症状评分,降低脑梗死体积,减轻脑萎缩,并不同程度地增加缺血侧不同脑区的神经元密度。**结论:**西洛他唑鼻腔给药对小鼠慢性缺血性脑损伤具有保护作用,可作为脑缺血治疗的一种新方法。

[关键词] 脑缺血/药物治疗;脑缺血/病理学;四唑类/治疗应用;疾病模型,动物;西洛他唑;鼻腔给药

[中图分类号] R 965.2 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2011)02-0169-07

Protective effect of intranasal cilostazol administration on chronic injury after cerebral ischemia in mice

ZHANG Qi¹, YE Yi-lu¹, LI Qing¹, ZHANG Wei-ping², JIANG Li-li³, WEI Er-qing², YU Yue-ping¹

(1. Department of Pharmacology, Zhejiang Medical College, Hangzhou 310053, China; 2. Department of Pharmacology, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 3. College of Pharmacy, Wenzhou Medical College, Wenzhou 325035, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effect of cilostazol administrated intranasally on chronic injury after focal cerebral ischemia in mice. **Methods:** Focal cerebral ischemia in mice was induced by middle cerebral artery occlusion (MCAO). Cilostazol was administrated intranasally or intraperitoneally 1 h, 4 h and 7 h after the operation; then twice a day from the second day for 2 weeks. The neurological deficit scoring and the inclined board testing were performed within 35 d after ischemia. The survival rate, infarct volume and neuron density were assessed 35 d after ischemia. **Results:** Intranasal cilostazol at 0.3 mg/kg increased the survival rate. Intranasal cilostazol (0.3 mg/kg, 1 mg/kg) and intraperitoneal cilostazol (10 mg/kg) significantly attenuated neurological deficit, reduced

收稿日期:2011-12-09 修回日期:2011-01-03

基金项目:浙江省卫生厅科研基金资助项目(2008B034)。

作者简介:张琦(1972-),女,硕士,副教授,从事神经药理学研究。

通讯作者:俞月萍(1964-),女,硕士,教授,从事神经药理学研究;E-mail:yueping@mail.hz.zj.cn

infarct volume, and increased the survival neuron density in the border of ischemia region. **Conclusion:** Cilostazol administered intranasally demonstrates protective effects on chronic cerebral ischemia in mice.

[Key words] Brain ischemia/drug ther; Brain ischemia/pathol; Tetrazoles/ther use; Disease models, animal; Cilostazol; Intranasal administration

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2011,40(2):169-175.]

西洛他唑(cilostazol)是选择性磷酸二酯酶-3(phosphodiesterase-3,PDE-3)抑制剂,目前临床主要用于治疗糖尿病患者的间歇性跛行^[1,2]和动脉闭塞性疾病^[1,3]。有研究报道,西洛他唑对实验性脑缺血急性期具有保护作用^[4-5]。我们以往的研究发现,西洛他唑腹腔注射给药对小鼠急性、亚急性和慢性脑缺血损伤,均具有改善神经症状缺失、减少脑梗死体积的作用^[6-7]。

近年来,对药物的鼻腔给药法有较广泛的研究,认为鼻腔的嗅粘膜区存在一个嗅神经元到脑组织的通道,小分子和肽类药物如胰岛素、神经生长因子等可通过鼻-脑通路直接进入脑脊液,从而发挥药理作用^[8]。我们也已经发现促红细胞生成素鼻腔给药对大鼠急性脑缺血有神经保护作用^[9]。但西洛他唑鼻腔给药是否对脑缺血后神经功能障碍有保护作用,目前尚未见报道。因此,本研究采用鼻腔给药的方法,观察西洛他唑对小鼠慢性局灶性脑缺血的作用。

1 材料和方法

1.1 实验动物 雄性昆明种小鼠,体重 25 ~ 30 g,由上海斯莱克实验动物有限公司提供[实验动物合格证:SCXK(沪)2007-0005]。遵照国家实验动物饲养和使用指南,动物饲养在温度(22±1)℃控制的环境中,12 h 明暗循环,自由饮食和饮水。

1.2 药品和仪器 西洛他唑由日本大塚制药株式会社提供;甲苯胺蓝试剂购自美国 Sigma 公司;其余均为市售分析纯产品。冰冻切片机为 Leica CM 1900 型(德国莱卡公司),图像分析采用浙江大学神经药理实验室研制的 AnalyPower1.1 分析系统。

1.3 小鼠局灶性脑缺血模型 采用小鼠短暂性的大脑中动脉栓塞(MCAO)模型。用水合氯

醛(400 mg/kg,i.p.)麻醉小鼠后,暴露右侧颈总动脉,结扎近心端,以头端烧圆并涂以 0.1% 多聚赖氨酸的细尼龙线(直径 0.12 mm)从颈总动脉分叉处插至颈内动脉约 9~10 mm,直至遇到轻微的阻力。缺血 30 min 后,拔出栓线,结扎颈总动脉,缝合皮肤。假手术组小鼠只暴露颈总动脉,不作血管结扎和阻塞。

小鼠 MCAO 术后,放入一个保温箱内,维持正常体温(37±0.5)℃,待其完全苏醒(约 4 h)后放回空调温控动物房。术后第 1 周,动物给予软化饲料喂养,如果体重下降达 20%,则额外给予补充营养物质安素(雅培制药,荷兰)。部分小鼠术后 3 周内陆续死亡,死亡动物均经解剖分析,确定死亡原因,统计时剔除由于颅内出血、麻醉过量等非缺血因素引起死亡的小鼠。

1.4 给药方案 采用完全随机法将小鼠分成 6 组,分别为假手术组($n=28$)、缺血对照组($n=31$)、西洛他唑腹腔注射 10 mg/kg 组($n=28$)、西洛他唑鼻腔给药 0.1 mg/kg 组($n=30$)、西洛他唑鼻腔给药 0.3 mg/kg 组($n=27$)和西洛他唑鼻腔给药 1 mg/kg 组($n=28$)。手术当日术后 1、4、7 h 分别鼻腔给药或腹腔注射给予西洛他唑。从第 2 天起,每天 2 次,持续到缺血后第 14 天。假手术组和模型组鼻腔给予生理盐水 1 ml/kg。

1.5 行为学检查

1.5.1 神经症状评分 参照 Longa 等^[10]的方法,作神经症状评分:0 分:无症状;1 分:提尾时损伤对侧前肢不能伸直;2 分:向损伤侧旋转;3 分:向对侧倾倒;4 分:无自发活动,出现意识障碍。小鼠 MCAO 术前及术后 1、3、7、14、21、28、35 d 分别进行一次神经症状评分。

1.5.2 斜板试验 参照 Yonemori 等^[11]方法,以斜板试验定量测定平衡协调功能。将小鼠置

于一块 23.5 × 17.5 cm 包有铜丝网 (孔径为 0.2 mm) 的平板上,先保持平板在水平位置,然后逐渐将平板竖起,直至小鼠不能攀爬而从平板上落下,记录此时平板轴线与水平线之间的角度 (爬板角度),每只小鼠重复测量 3 次,取平均值。小鼠斜板试验时间点同神经症状评分。

1.6 病理学检查 脑缺血后第 35 天行为学评价结束后,将小鼠麻醉。先用生理盐水心脏灌流,再用 4% 多聚甲醛灌流固定,断头取脑,后固定 2 h。最后换 30% 蔗糖溶液,脱水 7 d 后进行冰冻切片。从额极起将小鼠大脑用组织切片机切出 6 片冠状切片,每片厚 1 mm。然后,每片脑片各作两种片厚度 (8 μm 和 20 μm) 的快速冰冻切片,并用 1% 甲苯胺蓝染色。

20 μm 厚片用数码相机拍摄大体图像,用 AnalyPower1.1 子系统 MedBrain 2 计算脑片左、右半脑面积和梗死面积。将每一脑片的面积乘以厚度 (1 mm) 再相加,分别得到左半脑体积、右半脑体积和梗死体积的近似值。参照 Lin 等^[12]的方法对梗死灶体积进行校正:校正后的梗死灶体积 = 左半脑体积 - (右半脑体积 - 梗死体积)。8 μm 薄片在显微镜镜下观察,并通过摄像头将镜下图像输入计算机,计数海马 CA1 区、梗死周边皮层 III ~ IV 层 (Bregma-2.0 mm) 和纹状体存活神经元数目,计算单位面积下的神经元密度。

1.7 统计学处理 结果用均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。采用 SPSS 16.0 for windows 统计软件包,以单因素方差分析 (one-way ANOVA) 进行多组间差异的比较,以 Dunnett *t* 检验比较两组间均数的差异;神经症状评分结果用非参数 Kruskal-Wallis 检验;缺血侧与对侧的神经元密度比较用配对 *t*-test 检验。采用 Kaplan-Meier 法绘制生存率曲线,组间生存率差异采用 log rank test 检验。*P* < 0.05 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生存率分析 生存率曲线见图 1。缺血

对照组术后第 35 天的最终生存率为 32.3% (10/31),假手术组无死亡。西洛他唑腹腔注射可提高小鼠缺血后第 35 天的最终生存率至 51.7% (15/28),但与缺血对照组比较无统计学意义;西洛他唑鼻腔给药 0.3 mg/kg 可提高小鼠缺血后第 35 天的最终生存率至 59.3% (16/27),*P* < 0.05。

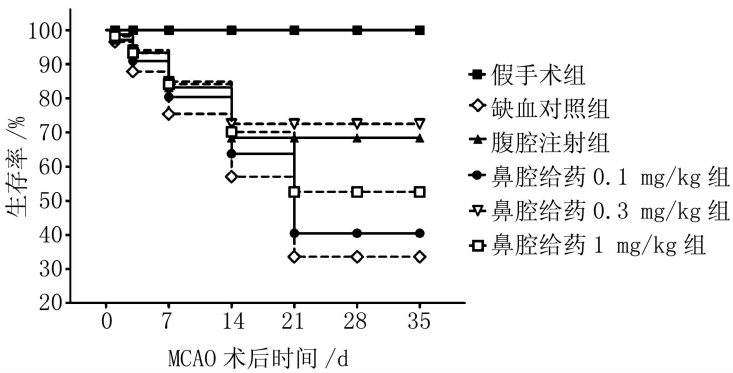


图1 西洛他唑鼻腔给药对小鼠慢性脑缺血后生存率的影响
Fig.1 The survival rates of mice treated with cilostazol administrated intranasally after cerebral ischemia

2.2 西洛他唑鼻腔给药对小鼠脑缺血后行为学的影响

2.2.1 神经症状评分结果 假手术组小鼠术后第 35 天 (5 周) 内均无神经症状。缺血对照组和西洛他唑组小鼠在术后 1 d 神经症状评分显著升高 (*F* = 54.017, *P* < 0.01)。之后,缺血对照组和各用药组小鼠神经症状评分虽有一定的恢复趋势,但至术后第 35 天仍显著高于假手术组 (*P* < 0.01)。西洛他唑腹腔注射、西洛他唑 0.3 和 1 mg/kg 鼻腔给药可明显改善神经症状评分,而西洛他唑 0.1 mg/kg 鼻腔给药对神经症状评分无改善作用 (表 1)。

2.2.2 斜板试验 6 个组的倾斜角度在术前无显著性差异 (*F* = 1.025, *P* = 0.408)。假手术组小鼠术后 1 d 为 (73.88 ± 4.38)^(°),此后 35 d 内倾斜角度均维持在基础值水平。缺血对照组和各用药组小鼠在术后 1 d 倾斜角度较假手术组小鼠显著下降 (*F* = 6.492, *P* < 0.01),各用药组与缺血对照组比较无显著性差异 (*F* = 0.567, *P* = 0.688)。此后,5 个组的倾斜角度均

表 1 西洛他唑鼻腔给药对小鼠脑缺血后神经症状评分的影响

Table 1 Effects of cilostazol administrated intranasally on neurological deficit score over 35 days after cerebral ischemia in mice ($\bar{x} \pm s$)

组 别	样本	神经症状评分							
		0 d	1 d	3 d	7 d	14 d	21 d	28 d	35 d
假手术组	28	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0	0.0±0.0
缺血对照组	10	0.0±0.0	2.0±0.5**	1.7±0.7**	1.5±0.5**	1.2±0.6**	1.0±0.7**	0.9±0.7**	0.8±0.6**
西洛他唑 i. p.	15	0.0±0.0	1.4±0.5***	1.1±0.6***	0.9±0.6***	0.7±0.6**	0.7±0.6**	0.4±0.5**	0.2±0.4***
西洛他唑 0.1 mg/kg	11	0.0±0.0	1.7±0.6**	1.5±0.5**	1.1±0.5**	0.9±0.5**	0.7±0.6**	0.7±0.6**	0.5±0.5**
西洛他唑 0.3 mg/kg	16	0.0±0.0	1.3±0.4***	1.0±0.5***	0.7±0.6***	0.4±0.5***	0.3±0.5***	0.3±0.4***	0.3±0.4***
西洛他唑 1 mg/kg	13	0.0±0.0	1.3±0.5***	1.2±0.6**	0.8±0.6***	0.6±0.7***	0.5±0.7**	0.4±0.7**	0.3±0.5**

与假手术组比较, **: $P < 0.01$; 与缺血对照组比较, #: $P < 0.05$, #: $P < 0.01$; i. p.: 腹腔注射

呈逐渐恢复的趋势。缺血对照组和西洛他唑 0.1 mg/kg 鼻腔给药在术后 21 d 倾斜角度恢复到基础值水平,西洛他唑腹腔注射组、西洛他唑

0.3 mg/kg 和 1 mg/kg 鼻腔给药组在术后 7 d 即恢复到基础值水平,较实验对照组提早 14 d (表 2)。

表 2 西洛他唑鼻腔给药对小鼠脑缺血后斜板角度的影响

Table 2 Effects of cilostazol administrated intranasally on inclined degree ($^{\circ}$) over 35 days after cerebral ischemia in mice ($\bar{x} \pm s$)

组 别	样本	斜板角度 ($^{\circ}$)			
		0 d	1 d	3 d	7 d
假手术组	28	73.80 ± 3.14	73.88 ± 4.38	74.33 ± 4.61	74.56 ± 3.80
缺血对照组	10	72.97 ± 1.99	58.60 ± 8.38**	64.60 ± 8.50**	66.20 ± 10.52**
西洛他唑 i. p.	15	72.25 ± 2.84	64.13 ± 10.74**	67.91 ± 8.44*	70.13 ± 7.44
西洛他唑 0.1 mg/kg	11	72.00 ± 2.34	60.48 ± 9.47**	65.70 ± 9.24**	67.36 ± 7.52*
西洛他唑 0.3 mg/kg	16	72.56 ± 3.19	64.08 ± 13.91**	68.44 ± 11.51*	70.56 ± 9.27
西洛他唑 1 mg/kg	13	73.00 ± 2.12	61.20 ± 11.27**	65.59 ± 11.07**	69.74 ± 10.26

组 别	样本	斜板角度 ($^{\circ}$)			
		14 d	21 d	28 d	35 d
假手术组	28	74.09 ± 4.73	73.17 ± 4.98	73.52 ± 4.11	74.11 ± 4.84
缺血对照组	10	66.20 ± 5.98**	68.67 ± 6.82	69.00 ± 6.19	70.87 ± 8.51
西洛他唑 i. p.	15	69.60 ± 8.06	69.71 ± 7.73	69.53 ± 8.82	70.04 ± 7.80
西洛他唑 0.1 mg/kg	11	67.91 ± 8.94*	70.12 ± 8.36	72.12 ± 7.87	71.55 ± 10.27
西洛他唑 0.3 mg/kg	16	70.71 ± 8.44	70.58 ± 9.13	71.36 ± 9.11	71.79 ± 8.18
西洛他唑 1 mg/kg	13	69.10 ± 8.77*	70.23 ± 7.04	70.77 ± 7.77	71.28 ± 7.24

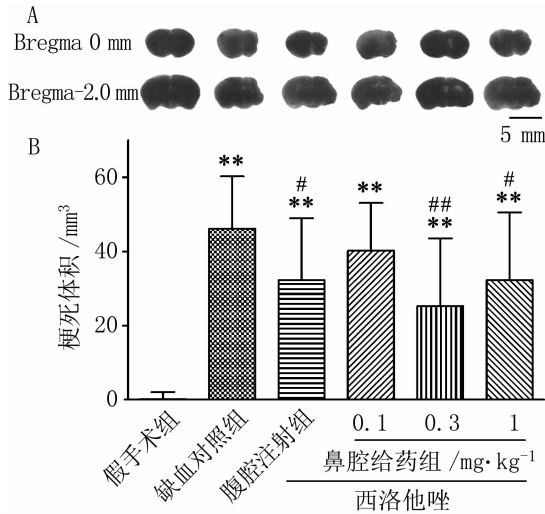
与假手术组比较, *: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$; i. p.: 腹腔注射

2.3 西洛他唑鼻腔给药对小鼠脑缺血后组织病理学的影响

2.3.1 脑损伤体积 缺血对照组和各用药组

小鼠 MCAO 术后 35 d,缺血侧半脑明显萎缩,顶颞叶皮层、纹状体、海马等脑区有较明显的脑组织缺损。西洛他唑腹腔注射、西洛他唑 0.3

mg/kg 和 1 mg/kg 鼻腔给药能显著降低脑损伤体积,使脑萎缩程度下降(图 2)。



$\bar{x} \pm s$; $n = 10 \sim 28$; 与假手术组比较, $** : P < 0.01$; 与缺血对照组比较, $# : P < 0.05$, $## : P < 0.01$.

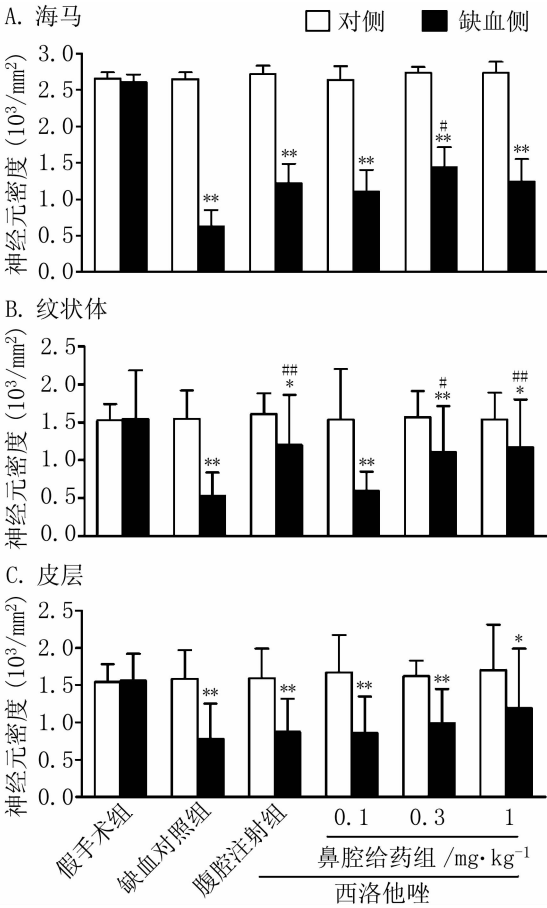
图2 西洛他唑鼻腔给药对小鼠脑缺血 35 d 后梗死体积的影响

Fig.2 Effect of cilostazol administrated intranasally on brain lesions 35 days after focal cerebral ischemia in mice

2.3.2 神经元密度 小鼠脑缺血后缺血侧皮层、海马 CA1 区和纹状体神经元发生坏死,神经元胞体固缩,形态正常的神经元密度明显下降。西洛他唑能抑制神经元的坏死,西洛他唑 0.3 mg/kg 鼻腔给药可显著增加缺血侧海马 CA1 区和纹状体区的神经元密度,西洛他唑腹腔注射和西洛他唑 1 mg/kg 鼻腔给药可显著增加缺血侧纹状体区的神经元密度 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,图 3)。

3 讨论

本研究中,西洛他唑采用较小的剂量通过鼻腔给药,可达到与腹腔注射同等的作用,即显著降低脑缺血小鼠神经症状评分,减轻缺血侧的脑萎缩,抑制神经元的变性坏死。这证实了西洛他唑鼻腔给药,对小鼠慢性脑缺血的神经功能缺失和形态学改变也可发挥双重保护作用。



$\bar{x} \pm s$; $n = 10 \sim 28$; 与对侧(非缺血侧)比较, $* : P < 0.05$, $** : P < 0.01$; 与缺血对照组比较, $# : P < 0.05$, $## : P < 0.01$.

图3 西洛他唑鼻腔给药对小鼠脑缺血 35 d 后皮层、海马与纹状体神经元密度的影响

Fig.3 Effect of cilostazol administrated intranasally on the changes in neuron density in hippocampal CA1 region, striatum and cortex 35 days after focal cerebral ischemia in mice

动物模型研究神经保护药物常采用脑室内注射和腹腔注射的方法。脑室内给药具有创伤性,不适用于临床卒中患者的治疗;腹腔注射后对脑的作用受血脑屏障的影响,有些药物虽可通过血脑屏障进入脑内发挥神经保护作用,但所用剂量比脑室内注射明显增加,将产生较多不良反应,不利于脑损伤的治疗。如何将药物安全、快速地输送到脑内发挥作用,是中枢神经

系统药物研究和临床应用中的一个难题。

近年来,对药物的鼻腔给药法进行了广泛的研究,已证实了重组人促红细胞生成素(rhEPO)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、血管内皮生长因子(VEGF)等可通过鼻腔给药非侵入式的给药途径有效地治疗脑缺血^[9, 13-14]。相对于口服和注射等传统的给药方法,中枢神经系统疾病的治疗药物采用鼻腔给药法具有明显优点^[8]。鼻腔给药和静脉给药后血浆及脑脊液中的药物浓度并无明显差异^[15],但鼻腔给药生物利用度较静脉给药高^[16]。这种通过靶向药物直接进入中枢神经系统的给药方法,可以使药物的全身性毒性反应降低,组织特异性的药物浓度升高明显^[17]。本研究发现,西洛他唑鼻腔给药有效剂量仅为腹腔注射剂量的 1/30 ~ 1/10,可降低由于长期、大剂量给药后可能造成的不良反应。

脑缺血后约 20% 的患者存活不超过 1 个月,幸存者 30% 以上生活不能自理。因此,从临床角度来说,保护脑缺血后的慢性损伤,提高生存率,减少后遗症,具有很大的实用价值。西洛他唑鼻腔给药能提高脑缺血小鼠的生存率,既提示生存率可作为脑缺血治疗药物的有效评价指标,也进一步证实了鼻腔给药的有效性和优越性。

早期有研究报道,在大鼠 MCAO 模型中,西洛他唑可通过调节细胞内外离子的分布,减轻细胞毒性水肿^[18]、抑制凋亡和氧化性细胞死亡^[19-20]而发挥保护作用。近期,Tanaka 等研究发现,西洛他唑可通过 CREB-介导的信号通路促进局部缺血后缺血侧 SVZ 和缺血周边区神经元前体细胞增生^[21]。我们也在研究中发现,西洛他唑作为选择性的 PDE-3 抑制剂,能增加细胞内 cAMP 水平,从而导致 VEGF 及其受体 Flk-1 的表达,促进血管增生^[6-7]。本实验证实了西洛他唑鼻腔给药对小鼠慢性脑缺血具有保护作用,用量少、给药方便,为今后筛选和评价抗脑缺血药物提供了新的给药途径和研究思路。

References:

- [1] JACOBY D, MOHLER E R, 3RD. Drug treatment of intermittent claudication [J]. **Drugs**, 2004, 64 (15):1657-1670.
- [2] DAWSON D L, CUTLER B S, MEISSNER M H, et al. Cilostazol has beneficial effects in treatment of intermittent claudication: results from a multicenter, randomized, prospective, double-blind trial [J]. **Circulation**, 1998, 98(7):678-686.
- [3] OMI H, OKAYAMA N, SHIMIZU M, et al. Cilostazol inhibits high glucose-mediated endothelial-neutrophil adhesion by decreasing adhesion molecule expression via NO production [J]. **Microvasc Res**, 2004, 68(2):119-125.
- [4] NONAKA Y, KOUMURA A, HYAKKOKU K, et al. Combination treatment with normobaric hyperoxia and cilostazol protects mice against focal cerebral ischemia-induced neuronal damage better than each treatment alone [J]. **J Pharmacol Exp Ther**, 2009, 330(1):13-22.
- [5] NONAKA Y, TSURUMA K, SHIMAZAWA M, et al. Cilostazol protects against hemorrhagic transformation in mice transient focal cerebral ischemia-induced brain damage [J]. **Neurosci Lett**, 2009, 452(2):156-161.
- [6] YE Y L, SHI W Z, ZHANG W P, et al. Cilostazol, a phosphodiesterase 3 inhibitor, protects mice against acute and late ischemic brain injuries [J]. **Eur J Pharmacol**, 2007, 557(1):23-31.
- [7] YE Yi-lu, ZHANG Qi, CHEN Li-ping, et al (叶夷露, 张琦, 陈丽萍, 等). Protective effect of cilostazol on the chronic ischemic brain injury in mice and its action mechanism [J]. **Chinese Journal Of Clinical Pharmacology And Therapeutics** (中国临床药理学与治疗学), 2010, 15(2):130-134. (in Chinese)
- [8] COSTANTINO H R, ILLUM L, BRANDT G, et al. Intranasal delivery: physicochemical and therapeutic aspects [J]. **Int J Pharm**, 2007, 337 (1-2):1-24.
- [9] YU Y P, XU Q Q, ZHANG Q, et al. Intranasal recombinant human erythropoietin protects rats against focal cerebral ischemia [J]. **Neurosci Lett**, 2005, 387(1):5-10.
- [10] 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.

[11]

YONEMORI F, YAMAGUCHI T, YAMADA H, et al. Evaluation of a motor deficit after chronic focal cerebral ischemia in rats [J]. **J Cereb Blood Flow Metab**, 1998, 18(10):1099-1106.

[12]

LIN T N, HE Y Y, WU G, et al. Effect of brain edema on infarct volume in a focal cerebral ischemia model in rats [J]. **Stroke**, 1993, 24(1):117-121.

[13]

WANG Z L, CHENG S M, MA M M, et al. Intranasally delivered bFGF enhances neurogenesis in adult rats following cerebral ischemia [J]. **Neurosci Lett**, 2008, 446(1):30-35.

[14]

YANG J P, LIU H J, WANG Z L, et al. The dose-effectiveness of intranasal VEGF in treatment of experimental stroke [J]. **Neurosci Lett**, 2009, 461(3):212-216.

[15]

SHI Z, ZHANG Q, JIANG X. A novel method to calculate the extent and amount of drug transported into CSF after intranasal administration [J]. **Int J Pharm**, 2005, 289(1-2):159-166.

[16]

YAN Yi-lin, YE Yong, ZHOU Li-ling (晏亦林, 叶勇, 周莉玲). Study on brain pharmacokinetics of tetramethylpyrazine phosphate after intranasal administration [J]. **Traditional Chinese Drug Research & Clinical Pharmacology (中药新药与临床药理)**, 2009, 20(7):548-550. (in Chinese)

[17]

ALCALA-BARRAZA S R, LEE M S, HANSON L R, et al. Intranasal delivery of neurotrophic factors BDNF, CNTF, EPO, and NT-4 to the CNS [J]. **J Drug Target**, 2010, 18(3):179-190.

[18]

LEE J H, LEE Y K, ISHIKAWA M, et al. Cilostazol reduces brain lesion induced by focal cerebral ischemia in rats--an MRI study [J]. **Brain Res**, 2003, 994(1):91-98.

[19]

CHOI J M, SHIN H K, KIM K Y, et al. Neuroprotective effect of cilostazol against focal cerebral ischemia via antiapoptotic action in rats [J]. **J Pharmacol Exp Ther**, 2002, 300(3):787-793.

[20]

LEE J H, PARK S Y, SHIN Y W, et al. Neuroprotection by cilostazol, a phosphodiesterase type 3 inhibitor, against apoptotic white matter changes in rat after chronic cerebral hypoperfusion [J]. **Brain Res**, 2006, 1082(1):182-191.

[21]

TANAKA Y, TANAKA R, LIU M, et al. Cilostazol attenuates ischemic brain injury and enhances neurogenesis in the subventricular zone of adult mice after transient focal cerebral ischemia [J]. **Neuroscience**, 2010, In press.

[责任编辑 张荣连]

《浙江大学学报:医学版》征订和征稿启事

《浙江大学学报:医学版》是由国家教育部主管,浙江大学主办的报道医药学等方面研究成果的学术性刊物,从2003年起,正式被医学领域中最权威的美国《医学索引》,即IM/Medline收录,刊物印刷本被美国国立医学图书馆永久收藏。2008年,《浙江大学学报:医学版》被《中文核心期刊要目总览》(第五版)收录。

此外,《浙江大学学报:医学版》还被中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)数据库、中国科学引文数据库(CSCD)、美国《化学文摘》、美国《乌利希国际期刊指南》、荷兰《医学文摘》、波兰《哥白尼索引》等收录。

《浙江大学学报:医学版》主要登载医学、药学、生物医学以及相关学科的学术论文。读者对象为医务工作者、医药学教育和科研人员,以及研究生等。

《浙江大学学报:医学版》欢迎广大作者来稿,稿件的取舍以学术质量为标准,一视同仁。投稿须知请查阅该刊网址(<http://www.journals.zju.edu.cn/med>)上所登载的要求。

《浙江大学学报:医学版》编辑部地址:杭州市天目山路148号;邮编:310028;联系电话:0571-88272797;电子信箱:zdxbyxb@zju.edu.cn;国内邮发代号:32-2,国外邮发代号BM 6585;订阅:全国各地邮局。