

格列本脲对大鼠皮层扩散性抑制中脑血管的调节作用*

杨媛媛 李鹏程 曾绍群 骆清铭**

(华中科技大学生物医学光子学教育部重点实验室-武汉光电国家实验室(筹), 武汉 430074)

摘要 皮层扩散性抑制 (cortical spreading depression, CSD) 是研究偏头痛、脑梗塞等疾病的重要病理模型. 已有研究表明, 在普遍被观察到的 CSD 过程中软脑膜动脉血管大幅度舒张之前, 还存在一个较小幅度的软脑膜动脉扩张和收缩. 但其中的脑血管调节机制尚不清楚. 采用 550 nm 的内源信号光学成像 (optical intrinsic signal imaging, OISI) 监测 ATP 敏感钾离子通道 (ATP-sensitive potassium channels, K_{ATP}) 的阻断剂格列本脲 (glibenclamide, glyb), 对针刺诱导的大鼠 CSD 过程中软脑膜动脉血管舒缩过程的影响. 实验中观测到软脑膜血管的初始小收缩 (initial slight constriction, ISC) 相对于对照组显著减弱, 其中应用 10 $\mu\text{mol/L}$ glyb 时, 74.5% 的 ISC 被完全抑制, 100 $\mu\text{mol/L}$ glyb 时则有 96.2% 的 ISC 完全消失. 相对于 CSD 发生前, 软脑膜动脉血管大幅舒张 (large dilation, LD) 的峰值也分别显著增强了 (53.8 ± 19.3 %) 和 (59.8 ± 19.6 %). 结果表明, 可能是神经元上的 K_{ATP} 在 CSD 过程中被 glyb 阻断从而抑制了软脑膜动脉血管的收缩.

关键词 皮层扩散性抑制, ATP 敏感的钾离子通道, 软脑膜动脉, 格列本脲(glyb)

学科分类号 Q63

皮层扩散性抑制(cortical spreading depression, CSD)是由于神经元和神经胶质缓慢传导的去极化, 而引起的突触活动的暂时抑制, 它以波的形式自发源处向周围组织扩散, 可通过 K^+ 、机械或电刺激诱发, 是研究偏头痛^[1~3]、脑梗塞^[4]等疾病的一种重要病理模型. 自 1944 年 Leão^[5]首次观察到 CSD 现象以来, 陆续的研究表明 CSD 伴随着脑电 (electroencephalographic, EEG)抑制, 直流电位变化, 细胞外 K^+ 浓度的升高和细胞外间隙的减小^[1,6]. 通过研究 CSD 过程中皮层血液动力学变化, 发现 CSD 会诱发软脑膜动脉血管的大幅度舒张^[1~3]. 而李鹏程等^[7]则发现: 在普遍被观察到的 CSD 过程中, 在软脑膜动脉血管大幅舒张 (large dilation, LD) 之前, 还存在一个较小幅度的软脑膜动脉扩张和收缩, 并且软脑膜动脉血管直径的这一多时相变化与 CSD 诱发的内源光信号 (intrinsic optical signal, IOS) 变化之间高度相关. 然而, 对于这种小幅血管收缩的生理机制目前仍不清楚. 有研究显示, 当发生 CSD 时, 胞内 ATP 浓度有一个急剧下降再上升的过程^[8], 已经证实 ATP 敏感的钾离子通道

(ATP-sensitive potassium channels, K_{ATP}) 有调节脑血管的作用^[9]. 因此本文提出研究 K_{ATP} 是否在 CSD 过程中对软脑膜动脉血管的初始小收缩 (initial slight constriction, ISC) 有调节作用.

脑皮层活动的内源信号光学成像具有高时间分辨 (数 10 ms) 和空间分辨 (μm 级) 的优点. 应用该技术可研究 CSD 传播的精确空间模式以及伴随的血管性变化^[10~13]. 本实验采用波长为 550 nm 的光源进行高分辨的在体内源光信号成像, 观测了格列本脲 (glibenclamide, glyb) 作用下针刺诱导大鼠 CSD 过程中皮层反射内源光信号变化的时间特性、空间分布特征、以及软脑膜动脉血管舒缩的变化. 分析了 K_{ATP} 在 CSD 中对软脑膜动脉血管初始小收缩的调节作用.

*国家自然科学基金资助项目(60478016, 30500115), 教育部科学技术研究重大项目 (重大 10420).

** 通讯联系人. Tel: 027-87792033, Fax: 027-87792034

E-mail: qluo@mail.hust.edu.cn

收稿日期: 2006-04-07, 接受日期: 2006-04-28

1 材料与方法

1.1 动物准备

实验动物为体重在 200~300 g 之间的成年雄性 Sprague-Dawley 大鼠 28 只, 其中对照组 8 只 (皮层局部应用人工脑脊液, artificial cerebrospinal fluid, aCSF), 给药一组 10 只 (皮层局部应用 glyb, 10 $\mu\text{mol/L}$), 给药二组 10 只 (皮层局部应用 glyb, 100 $\mu\text{mol/L}$). 大鼠经 α 水合氯醛与乌拉坦按 200 mg/kg 和 1 000 mg/kg 进行腹腔注射麻醉后, 用加热垫控制其体温于 $(37.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, 实施股动脉插管手术后连接压力传感器用以监测实验中大鼠的平均动脉血压、心率、直肠温度 (PCLab 生物信号采集系统), 确保实验过程中各参数处于正常范围。

将大鼠固定于脑立体定位仪, 沿头顶部正中矢状线剪开皮肤及浅筋膜, 用颅骨钻在额骨处距前囟前约 4 mm、侧面约 3 mm 处钻一直径为 2 mm 的刺激窗口 (诱导 CSD 的位置), 同时在顶骨处距前囟后约 3 mm、侧面约 3 mm 处钻一直径为 4 mm 的观测窗口 (施加 glyb 并观测皮层响应的位置), 去除硬脑膜, 以确保 glyb 与脑皮层充分接触 (图 1)。

1.2 药物施加

如图 1 所示, 实验时用牙科水泥在观测窗周围筑起封闭的环形槽, 通过恒流泵对观测区施加 glyb 或 aCSF (对照组). 图 1 中虚线表示恒流泵导管, 箭头指示施加 glyb 的流向. 其间调整流速, 使观测区的液面基本保持不变. 在进行针刺诱导 CSD 前, 静置 1 h 以保证实验动物处于一个比较稳定的生理状态。

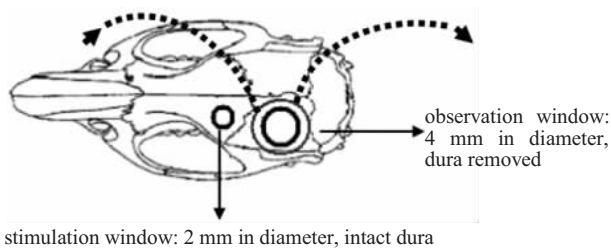


Fig. 1 Sketch map of animal model with two burr holes

Glyb apply on rat cortex by constant-flow-pump which one pipe let the solution flow in, and the other pipe push it out.

1.3 CSD 诱导

在刺激颅窗处采用机械针刺的方法诱导 CSD, 针刺时避开有较粗脑血管的位置. 实验所用钢针尖端直径 0.1 mm, 锥度 10.5° , 刺入深度 1 mm, 持

续时间 1~2 s. 每次 CSD 诱导于光学成像记录开始约 30 s 后进行, 且每次间隔 10 min 以保证动物状态恢复稳定。

1.4 光学成像

实验所用光学成像系统由显微镜 (Leica Z16 APO, Germany) 和 12 bit 快速 CCD 成像系统 (PixelFly VGA, PCO, Germany) 构成. 该 CCD 的分辨率为 640 (H) 像素 $\times$ 480 (V) 像素, 在 25 ms 曝光时间下可获得最高 40 fps (frames per second) 的成像速度. 实验中采用了 32 帧的在线平均, 因此实际时间分辨率为 0.8 s. 对每次 CSD 诱导, 采用波长为 550 nm ($\Delta\lambda = 20$ nm) 的照明光源, 连续记录 500 帧大鼠皮层的光反射图像, 共计 400 s. 整个光学成像系统置于防振光学平台 (VH3036W-OPT, Newport, USA) 上以减小周围环境震动造成的影响。

1.5 数据处理

内源信号变化的空间分布以图像序列中各图像对其前一帧图像的变化率来反映, 定义为 $DI_i = (I_i - I_{i-1}) / I_i$, 其中 I_i 为第 i 帧皮层光反射图像的灰度. 为描述内源光信号变化的时域特性, 计算图像感兴趣区域 (ROI) 内平均灰度值随时间的变化, 并转化为相对于基线的变化率, 即 $\Delta R_i = (R_i - R_b) / R_b$. 式中 R_i 为第 i 帧图像中某 ROI 内灰度的平均值, R_b 则为 CSD 诱导前该 ROI 内 R 的平均值. 由于该波长下可以清晰地获得皮层脑血管形态, 因此从记录到的图像序列中还可同时获得皮层表面脑血管形态变化. 这里主要考察血管直径在 CSD 过程中随时间的变化, 并将其转化为相对基线的变化率 $\Delta D_i = (D_i - D_b) / D_b$, 式中 D_i 为第 i 帧图像中某血管截面处的血管直径^[10]. 所有结果用 t 检验统计 (显著性水平 $P < 0.05$), 数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示。

2 结 果

2.1 软脑膜动脉血管舒缩的时空特性

图 2a 中应用 aCSF 作为对照组, 在软脑膜动脉血管上选取一截面 (图 2a-A 中虚线所示), 此处血管管径时程变化 (图 2a-B) 为: 小幅舒张, 小幅收缩, 及随后的大幅舒张和大幅收缩. 而 CSD 诱发的内源光信号变化在空间分布上呈明暗相间的圆弧形分布 (图 2a-C), 且自右向左传播. 每帧图像间隔 2.4 s. 图 2b 为应用 glyb 时的给药组 (10 $\mu\text{mol/L}$), 同样在软脑膜动脉血管上选取一截面 (图 2b-A 中

虚线所示), 但此时的管径变化不再具有两次舒缩, 而只剩一次大幅的舒张和收缩, 先前在对照组中出现的初始小收缩已经完全被抑制了(图 2b-B).

图 2b-C 中的 CSD 传播方向由左及右, 每帧图像间隔 2.4 s.

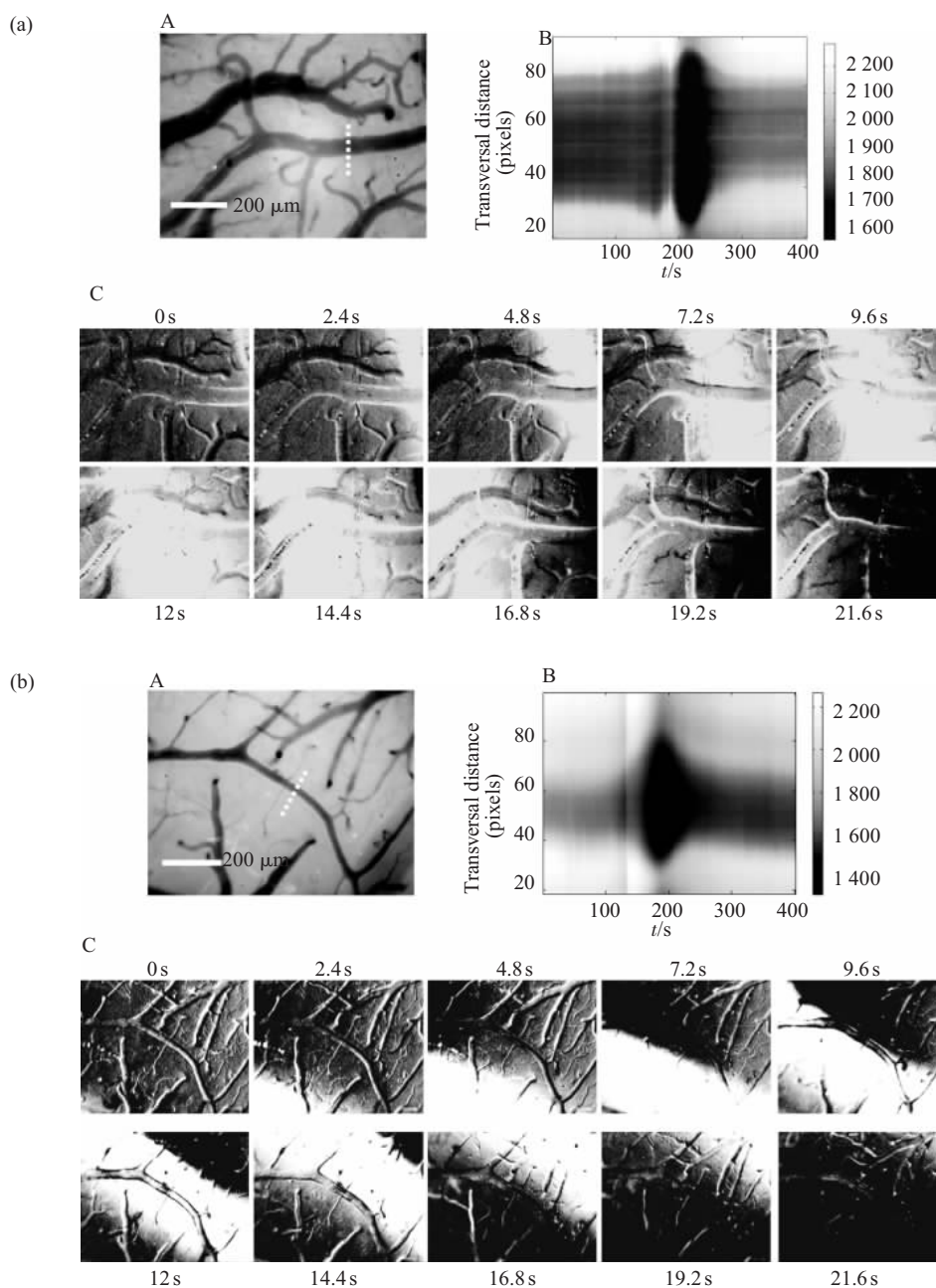


Fig. 2 The changes of pial artery caliber during CSD in control group and glyb group

(a) Apply aCSF as the control, CSD cross the pial artery from the left to the right. And it has a tiny contraction before the large dilation in CSD. (b) After perfusing glyb (10 $\mu\text{mol/L}$), CSD spread the pial artery from the right to the left. The initial slight dilation was completely restrained, leaving the following larger dilation and constriction. A: Raw optical reflectance image at 550 nm. White dashed indicate the area we choose for observing in the pial artery. B: The changes of pial artery during CSD. Horizontal axis indicates the time and the vertical axis indicates the amplitude of artery caliber transverse which show as the pixels. Values are color coded as per the color bar shown at the right. C: The spatio-temporal pattern of a CSD-related pial artery response. Each image interval is 2.4 s.

图 3 为软脑膜血管管径变化时程曲线的实验结果. 图 3a、3b 分别为对照组和应用 glyb(100 $\mu\text{mol/L}$) 单次实验中获得的结果. 其中实线表示机械针刺诱发的 CSD 过程中软脑膜动脉血管直径变化的模式. 在灌流 aCSF 的对照组(图 3a), 我们观察到的软脑膜动脉血管舒缩过程与我们以往的实验结果一致^[7], 即先有一个初始小收缩, 紧接着才是较大幅度的舒张. 大幅度舒张在 CSD 产生后的 50~100 s

达到高于基线 (34.0 ± 13.2) % 的峰值, 然后在 60~200 s 内回落至稳态, 这一软脑膜动脉血管舒缩的多时相变化过程与内源光信号响应是高度相关的. 如图 3b 所示, 我们还观察到, 对照组中出现的初始小收缩在施加 glyb 后显著减弱, 大多数情况下的初始小收缩都像图 3b 中显示的那样完全消失了. 此外, glyb 的应用还显著增强了大幅舒张的峰值响应.

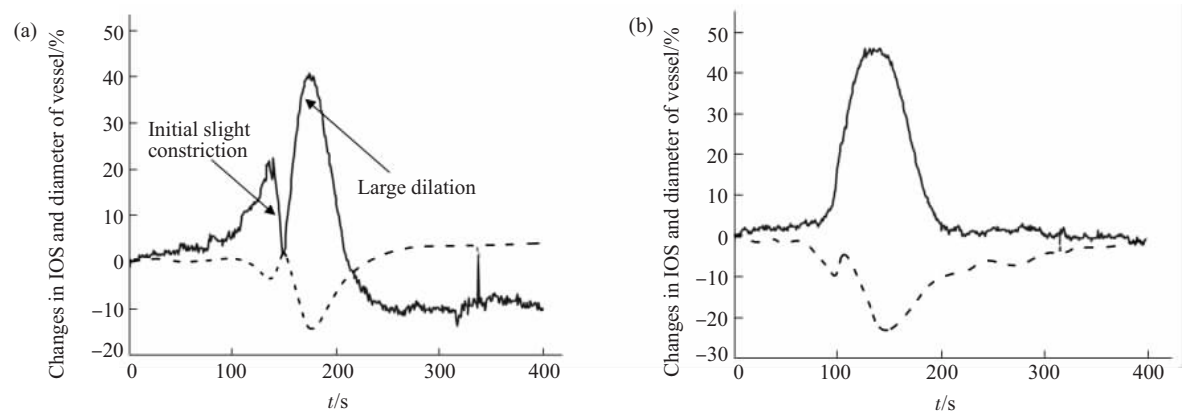


Fig. 3 Temporal characteristics of DOV and IOS responses during CSD

(a)Time course of changes in diameter of vessel (DOV) in the chosen section and the corresponding time course of IOS at the vessel site in the control group during CSD. (b)Time course of changes of pial artery diameter in the chosen section and the corresponding time course of IOS at the vessel site in the glyb group 100 $\mu\text{mol/L}$ during CSD. —: DOV; - - - : IOS.

我们对以上参数做了进一步的统计, 统计结果如表 1 所示, 在 10 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 glyb 浓度下, 大幅舒张的峰值分别增加了 (53.8 ± 19.3) % 及 (59.8 ± 19.6) %, 而对照组中的大幅度舒张峰值增强仅为(34.0 ± 13.2) %. 初始小收缩的幅度在对照

组中为(5.1 ± 7.1) %, 应用 10 $\mu\text{mol/L}$ 和 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 glyb 时, 软脑膜动脉血管的初始小收缩幅度分别减弱 (0.9 ± 2.4) %和 (0.1 ± 0.7) %. 在绝大部分的 glyb 实验中初始小收缩甚至被完全抑制掉了(10 $\mu\text{mol/L}$ 约 74.5%; 100 $\mu\text{mol/L}$ 约 96.2%).

Table 1 Effects of aCSF and glyb on pial artery responses during CSD

Phase	aCSF	Glyb I (10 $\mu\text{mol/L}$)	Glyb II (100 $\mu\text{mol/L}$)
LD (%)	34.0 ± 13.2	53.8 ± 19.3	59.8 ± 19.6
ISC (%)	5.1 ± 7.1	0.9 ± 2.4	0.1 ± 0.7
ISC inhibition (%)	0	74.5	96.2

The initial slight constriction of pial arterie was widely observed in control group. Drug group I : 10 $\mu\text{mol/L}$ glyb significantly enhanced the CSD-associated hyperemia, and initial slight constriction was completely restrained in 74.5% experiments. Drug group II : applied with 100 $\mu\text{mol/L}$ glyb made large dilation peak responses rise to (59.8 ± 19.6) %, while the initial slight constriction almost disappeared. $P < 0.05$ vs control.

2.2 内源光信号的时空特性

图 3 中虚线表示机械针刺诱发的 CSD 过程中典型的 IOS 时空变化模式. 当应用 aCSF 作为对照

组时, 内源光信号(IOS)的时域变化具有四相表现: 反射光强的轻微下降, 反射光强的小幅上升, 反射光强的大幅下降和上升, 且以(3.8 ± 0.4) mm/min 的

速度传播(图 3a), 这和以前的研究结果一致^[3,5,7,10,13]. 施加 glyb 时, 结果如图 3b 所示, IOS 响应依然具有四相表现. 但是第二相, 即反射光强的小幅上升减弱了(9.4 ± 2.3 %), 且在 71.7% 的 CSD 中该相光强的小幅度上升低于 CSD 产生前的基线光强. 而且在大部分实验中第四相的光强增加也没有超过基线水平.

3 讨 论

本研究首次发现, ATP 敏感钾离子通道的阻断剂 glyb 可抑制 CSD 过程中软脑膜动脉血管的初始小幅度收缩, 而对应的内源光信号仍然具有四相表现.

已有研究表明, K_{ATP} 不仅存在于血管平滑肌上, 还存在于神经元, 且两者对血管舒缩有着截然相反的作用: 血管平滑肌上 K_{ATP} 的激活导致 K^+ 流出细胞, K^+ 的减少使得细胞膜超极化, 导致电压依赖性 Ca^{2+} 通道的关闭, 从而使细胞内 Ca^{2+} 水平下降, 血管舒张^[14,15]. 而神经元上 K_{ATP} 的开启抑制了突触前和突触后神经元细胞的去极化, 进而抑制了兴奋性神经递质和代谢物的分泌, 从而导致了血管的收缩^[16]. 在 CSD 过程中 ATP 的消耗可能同时激发了神经元细胞和血管平滑肌细胞上的 K_{ATP} .

当 CSD 发生时, 神经细胞生理环境发生急剧的变化, 胞外 K^+ 浓度的升高导致血管周神经去极化, 同时胞内 Ca^{2+} 浓度的增加促使神经递质和其他血管活性物质的释放^[5]. 而其中的一些代谢神经物质, 如乙酰胆碱、花生四烯酸、谷氨酸盐、降钙素基因相关肽、一氧化氮等^[17~20] 能促使脑血流的增加. 而在我们的对照组中, 软脑膜动脉血管存在一初始小幅收缩, 提示可能是神经元上的 K_{ATP} 通道被激活, 通过抑制神经元细胞的去极化减少了神经活动导致的局部舒血管物质的释放, 从而引起软脑膜动脉血管的收缩, 但是它们最终敌不过其他的扩血管因素, 使得血管继续舒张. 而当施加 glyb 时, 软脑膜动脉血管的初始小收缩显著减弱, 实验结果中 76.9% 的初始小收缩甚至被完全抑制掉. 我们推测 K_{ATP} 的活动被 glyb 阻断, 从而抑制了突触前和突触后神经元去极化的减弱, 促进了兴奋性神经递质和代谢物的分泌, 进而限制了血管的收缩, 使得软脑膜血管的初始小收缩消失. 这就证实了突触前和突触后神经元上的 K_{ATP} 在 CSD 中的初始小收缩阶段起主导作用. 我们的实验结果提示, 在 CSD 过程中, 通过激活神经元上的 K_{ATP} , 以一种类似负反

馈的生理机制来调节脑血流供应.

我们还关注了 CSD 中软脑膜动脉血管大幅舒张的峰值响应. 发现施加 glyb 后, 软脑膜动脉血管大幅舒张的峰值响应显著增强, 这一点与 Katsuyoshi 等^[10] 的实验结果相一致. 这就表明 K_{ATP} 在整个 CSD 过程中对软脑膜动脉血管舒缩均有着重要的调节作用.

Alyssa 等^[21] 发现了 CSD 中 IOS 的三相变化, 并发现血容变化在时间和空间上都是与稍后的 IOS 相关的. 而李鹏程等^[7,10] 随后发现了在被普遍观察到的 CSD 过程中软脑膜动脉血管的舒缩变化与 IOS 高度相关. 在本实验中, 当初始小收缩完全被抑制时第二相的光强上升仍然存在, 只是幅度减小, 而且大部分都低于基线. 这就意味着该阶段 IOS 的变化除了血管收缩导致血容量减少, 进而引起血红蛋白对光的吸收减弱之外, 还存在着其他导致光强增加的因素, 如细胞膨胀引起的光散射变化.

4 结 论

本实验首次观测到, ATP 敏感钾离子通道的阻断剂 glyb 可抑制 CSD 过程中软脑膜动脉血管的初始小幅度收缩, 而对相应的内源光信号, glyb 虽然导致反射光强增高幅度的减小, 但不能完全抑制该反射光强增加的过程, CSD 过程中内源光信号变化仍然具有四相的特征. 本研究对进一步揭示 CSD 过程中软脑膜动脉血管舒缩的调节机制、阐明 CSD 过程中的皮层病理生理学改变有着重要意义.

致谢 本实验得到陈尚宾和骆卫华等多方面帮助, 在此一并表示感谢.

参 考 文 献

- 1 Lauritzen M. Pathophysiology of the migraine aura: The spreading depression theory. *Brain*, 1994, **117** (1): 199~210
- 2 Hayrunnisa B, Uwe R, Andrew K D, *et al.* Intrinsic brain activity triggers trigeminal meningeal afferents in a migraine model. *Nature Medicine*, 2002, **8** (2): 136~142
- 3 Michael F J, Justin M S, Simon J B, *et al.* Cortical spreading depression and migraine: new insights from imaging?. *Trends in Neurosciences*, 2001, **24** (5): 266~271
- 4 Takano K, Latout L, Formato J E, *et al.* The role of spreading depression in focal ischemia evaluated by diffusion mapping. *Ann Neurol*, 1996, **39** (3): 308~318
- 5 Leão A. Spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J Neurophysiol*, 1944, **7** (6): 359~390
- 6 Leão A. Pial circulation and spreading depression of activity in the cerebral cortex. *J Neurophysiol*, 1944, **7** (6): 391~396

- 7 李鹏程, 陈尚宾, 骆卫华, 等. 大鼠皮层扩散抑制过程中在体内源光信号与脑血管形态变化的相关性. 自然科学进展, 2003, **13** (12): 45~49
Li P C, Chen S B, Luo W H, *et al.* Prog Nat Sci, 2003, **13** (12): 45~49
- 8 Mies G, Paschen W. Regional changes of blood flow, glucose, and ATP content determined on brain sections during a single passage of spreading depression in rat brain cortex. Exp Neurol, 1984, **84** (2): 249~258
- 9 Toyoda K, Fujii K, Ibayashi S, *et al.* Role of ATP-sensitive potassium channels in brain stem circulation during hypotension. Am J Physiol, 1997, **273** (3 pt 2): H1342~H1346
- 10 李鹏程, 陈尚宾, 骆卫华, 等. 大鼠皮层扩散抑制过程的在体内源光信号成像. 生物化学与生物物理进展, 2003, **30** (4): 605~611
Li P C, Chen S B, Luo W H, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2003, **30** (4): 605~611
- 11 Chen S B, Li P C, Luo W H, *et al.* Time-varying cortical spreading depression waves in rat cortex revealed by optical intrinsic signal imaging. Neuroscience Letters, 2006, **396** (2): 132~136
- 12 冯哲, 陈尚宾, 李鹏程, 等. 光学成像观测大鼠局灶性脑缺血的动态过程. 生物化学与生物物理进展, 2005, **32** (9): 871~875
Feng Z, Chen S B, Li P C, *et al.* Prog Biochem Biophys, 2005, **32** (9): 871~875
- 13 Alyssa M B, Micheal G, Nader P, *et al.* Multiwavelength optical intrinsic signal imaging of cortical spreading depression. J Neurophysiol, 2002, **88** (5): 2726~2735
- 14 Rodrigo G C, Standen N B. ATP-sensitive potassium channels. Curr Pharm Des, 2005, **11** (15): 1915~1940
- 15 Faraci F M, Heistad D D. Regulation of cerebral circulation: role of endothelium and potassium channels. Physiol Rev, 1998, **78** (1): 53~97
- 16 Katsuyoshi S, Ferenc B, David W B. Glibenclamide enhances cortical spreading depression-associated hyperemia in the rat. NeuroReport, 2000, **11** (1014): 2103~2106
- 17 Lauritzen M, Hansen A J, Kronborg D, *et al.* Cortical spreading depression is associated with arachidonic acid accumulation and preservation of energy charge. J Cereb Blood Flow Metab, 1990, **10** (1): 115~122
- 18 Lauritzen M, Hansen A J. The effect of glutamate receptor blockade on anoxic depolarization and cortical spreading depression. J Cereb Blood Flow Metab, 1992, **12** (2): 223~229
- 19 Colonna D M, Meng W, Deal D D, *et al.* Nitric oxide promotes arteriolar dilation during cortical spreading depression in rabbits. Stroke, 1994, **25** (12): 2463~2470
- 20 Wahl M, Schilling L, Parsons A A, *et al.* Involvement of calcitonin gene-related peptide (CGRP) and nitric oxide (NO) in the pial artery dilatation elicited by cortical spreading depression. Brain Res, 1994, **637** (1~2): 204~210
- 21 Alyssa M O, David E R, Arpitha M, *et al.* Characterization of optical intrinsic signals and blood volume during cortical spreading depression. NeuroReport, 2000, **11** (10): 2121~2125

Regulation of Pial Artery by Glibenclamide During Cortical Spreading Depression in Rats*

YANG Yuan-Yuan, LI Peng-Cheng, ZENG Shao-Qun, LUO Qing-Ming**

(Key Laboratory of Biomedical Photonics of Ministry of Education-Wuhan National Laboratory for Optoelectronics,
Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430074, China)

Abstract Cortical spreading depression (CSD) is an important disease model for migraine and stroke. Previous studies showed that before the pial artery large dilation which were widely observed in CSD, there is also a small constriction occurring in pial arteres. However, the mechanisms contributing to the regulation of this cerebrovascular response remain unknown. Optical intrinsic signal imaging(OISI) at 550 nm wavelength was used to monitor the responses of the pial arteries during pinprick induced CSD following the application of a K_{ATP} antagonist glibenclamide (glyb). By applying the glyb, the initial slight constriction (ISC) is obviously reduced, most of the ISC (10 $\mu\text{mol/L}$: 74.5%; 100 $\mu\text{mol/L}$: 96.2%) even completely restrained. And the peak of large dilation (LD) in response to the pial arteries was enhanced to (53.8 $\pm$ 19.3) % and (59.8 $\pm$ 19.6) % of the control with 10 $\mu\text{mol/L}$ and 100 $\mu\text{mol/L}$ glyb, respectively. It can be suggested that K_{ATP} in nerve cells of pre and post-synaptically plays a lead role in inhibiting CSD-associated hyperemia.

Key words cortical spreading depression, ATP-sensitive potassium channels, pial artery, glibenclamide

*This work was supported by grants from The National Natural Science Foundation of China (60478016, 30500115), Major Program of Science and Technology Research of Ministry of Education (10420).

**Corresponding author. Tel: 86-27-87792033, Fax: 86-27-87792034, E-mail: qluo@mail. hust. edu. cn

Received: April 7, 2006 Accepted: April 28, 2006