

蒙药新黑苏嘎乌日勒对脑中动脉阻塞-再灌注损伤模型大鼠神经功能损伤的改善作用及机制研究[△]

乌兰图雅^{1*}, 特格喜白音², 玉 兰³, 图 雅⁴(1. 内蒙古自治区国际蒙医医院五疗康复科, 呼和浩特 010065; 2. 内蒙古自治区国际蒙医医院创新蒙医药工程研究中心, 呼和浩特 010065; 3. 内蒙古自治区国际蒙医医院五疗脑病科, 呼和浩特 010065; 4. 内蒙古自治区国际蒙医医院消化科, 呼和浩特 010065)

中图分类号 R285.5; R29 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2019)05-0652-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2019.05.15

摘 要 目的: 研究蒙药新黑苏嘎乌日勒对脑中动脉阻塞-再灌注损伤模型大鼠神经功能损伤的改善作用及机制。方法: 将80只大鼠随机分为假手术组、模型组、新黑苏嘎乌日勒组(540 mg/kg)、化学药阳性对照组(尼莫地平片, 16.12 mg/kg)、中药阳性对照组(银杏叶片, 5.18 mg/kg), 每组16只; 除假手术组外, 其余各组大鼠采用Zea-Longa线栓法复制脑中动脉阻塞-再灌注损伤模型; 造模成功后, 各给药组大鼠灌胃相应药物, 假手术组和模型组灌胃等量蒸馏水, 连续灌胃14 d。末次给药1 h后, 对各组大鼠进行神经功能损伤评分; 采用2, 3, 5-三苯基氯化四氮唑法计算各组大鼠脑梗死率、脑含水率及脑指数; 苏木精-伊红染色观察各组大鼠脑组织海马区神经元病理学变化; 免疫组化染色法检测各组大鼠脑前额叶脑源性神经营养因子(BDNF)和神经生长因子(NGF)蛋白表达水平。结果: 与假手术组比较, 模型组大鼠神经功能损伤评分、脑梗死率、脑含水率、脑指数和BDNF、NGF蛋白表达水平均显著升高($P < 0.01$), 脑组织海马区神经元细胞排列松散, 形状不规则, 部分胞体皱缩, 胞浆内尼氏小体减少, 核仁消失。与模型组比较, 新黑苏嘎乌日勒组、化学药阳性对照组、中药阳性对照组大鼠神经功能损伤评分、脑梗死率、脑含水率、脑指数均显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 脑前额叶BDNF、NGF蛋白表达水平均显著升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 脑组织海马区神经元细胞排列整齐紧密, 细胞核圆整, 细胞质染色均匀。结论: 蒙药新黑苏嘎乌日勒对脑中动脉阻塞-再灌注损伤模型大鼠神经功能损伤具有一定的改善作用, 其作用机制可能与增加BDNF及NGF蛋白的表达有关。

关键词 蒙药; 新黑苏嘎乌日勒; 脑中动脉阻塞-再灌注损伤; 大鼠; 机制

Study on Improvement Effect of Neurological Impairment and Mechanism of Mongolian Medicine New Hesugawurile on Middle Cerebral Artery Occlusion-reperfusion Injury Model Rats

Wulantuya¹, Tegexibaiyin², Yulan³, Tuya⁴ (1. Dept. of Five Traditional Therapies and Rehabilitation, Inner Mongolia Autonomous Region International Mongolian Hospital, Hohhot 010065, China; 2. Innovative Mongolian Medicine Engineering Research Center, Inner Mongolia Autonomous Region International Mongolian Hospital, Hohhot 010065, China; 3. Dept. of Five Traditional Therapies and Encephalopathy, Inner Mongolia Autonomous Region International Mongolian Hospital, Hohhot 010065, China; 4. Dept. of Gastroenterology, Inner Mongolia Autonomous Region International Mongolian Hospital, Hohhot 010065, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the improvement effect of neurological impairment and mechanism of Mongolian medicine New Hesugawurile on middle cerebral artery occlusion-reperfusion injury model rats. METHODS: Totally 80 rats were randomly divided into sham operation group, model group, New Hesugawurile group (540 mg/kg), chemical drug positive control group (Nimodipine tablet, 16.12 mg/kg) and TCM positive control group (*Ginkgo biloba* leaves tablet, 5.18 mg/kg), with 16 rats in each group. Except for sham operation group, middle cerebral artery occlusion-reperfusion injury model was established by Zea-Longa suture method in other groups. After modeling, administration group was given relevant medicine intragastrically, while sham operation group and model group were given same volume of distilled water intragastrically, for consecutive 14 d. 1 h after last medication, neurological impairment score was conducted in each group. Cerebral infarction rate, cerebral water content and cerebral indexes were calculated by 2, 3, 5-triphenyltetrazolium chloride method. The pathological changes of cerebral hippocampal neurons of rats were observed by HE staining. The expression of brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and nerve growth factor (NGF) protein in prefrontal lobe of rats were observed by immunohistochemical staining. RESULTS: Compared with sham operation group, the neurological impairment score, cerebral infarction rate, cerebral water content, cerebral index, the expression

[△] 基金项目: 内蒙古自治区自然科学基金资助项目 (No. 2016MS0860)

* 主任医师, 硕士。研究方向: 民族医学。电话: 0471-5182155。
E-mail: nmg_wulantuya@sina.com

of BDNF and NGF protein were significantly rised in model group ($P < 0.01$); the cerebral hippocampus neurons were loosely arranged, irregular in shape, while some of them shrank, nissl bodies in the cytoplasm decreased and the

nucleoli disappeared. Compared with model group, the neurological impairment score, cerebral infarction rate, cerebral water content and cerebral indexes were decreased significantly in New Hesugawurile group, chemical drug positive control group and TCM positive control group ($P<0.05$ or $P<0.01$), and the expression of BDNF and NGF protein in prefrontal lobe of rats were risen significantly ($P<0.05$ or $P<0.01$). The cerebral hippocampus neurons were arranged tightly, with round nucleus and uniform cytoplasmic staining. CONCLUSIONS: Mongolian medicine New Hesugawurile can improve the neurological impairment of cerebral artery occlusion-reperfusion injury model rats, the mechanism of which may be associated with the expression up-regulation of BDNF and NGF protein.

KEYWORDS Mongolian medicine; New Hesugawurile; Middle artery occlusion-reperfusion injury; Rats; Mechanism

缺血性脑中风是由于脑组织局部供血动脉血流灌注减少或血流完全中断、停止供血供氧,而引起的偏瘫和意识障碍^[1]。我国传统蒙医药在治疗缺血性脑中风上具有丰富的临床经验并取得了良好的治疗效果,蒙药新黑苏嘎乌日勒是内蒙古自治区国际蒙医医院(以下简称“我院”)乌兰图雅主任医师根据《蒙医金贵》^[2]经典组方黑苏嘎-25味丸制成的治疗缺血性脑中风的有效方剂,主要成分为石决明、麝香、红花、诃子、黑云香等,具有活血化瘀、清热解毒、疏通白脉、祛黄水的作用,可用于治疗缺血性脑中风患者的半身不遂、面部歪斜、手足麻木、言语不清等。笔者在前期研究中发现^[3],新黑苏嘎乌日勒在临床上治疗缺血性脑中风具有良好的效果。由于其作用机制尚不明确,缺少实验研究基础。因此,笔者采用改良 Zea-Longa 线栓法复制脑中动脉阻塞-再灌注损伤模型大鼠,探究蒙药新黑苏嘎乌日勒对模型大鼠神经功能损伤的改善作用及机制,为其临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 仪器

MGC-350 电热恒温培养箱(苏州澳尔利烘箱电热设备制造有限公司);ZA120R4 电子天平(上海赞维衡器有限公司);BX53 光电显微镜[奥林巴斯(中国)有限公司];BPH-600 数字式 pH 计(上海日岛科学仪器有限公司)。

1.2 药品与试剂

新黑苏嘎乌日勒(内蒙古国际蒙医医院国家蒙药制剂中心,批号:20160345,规格:60 丸/袋);尼莫地平片(拜耳医药保健有限公司,批号:BJ33125,规格:30 mg/片);银杏叶片(湖南华纳大药厂股份有限公司,批号:170210,规格:19.2 mg/片);水合氯醛(北京市旭东化工厂,批号 20000530);青霉素(华北制药股份有限公司,批号:F7038619);2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC,北京索莱宝科技有限公司,批号:5091034);兔抗鼠免疫球蛋白 G(IgG)试剂盒(福建迈新生物技术开发有限公司,批号:1502289706);无水乙醇(批号:20140823)、二甲苯(批号:20150706)均购自沈阳市新化试剂厂;多聚甲醛(批号:F20161203)、枸橼酸钠(批号:20120709)、枸橼酸(批号:20130507)均购自国药集团化学试剂有限公司;大鼠脑源性神经营养因子(BDNF)试剂盒(批号:20161203)、

神经生长因子(NGF)试剂盒(批号:20161115)均购自康为世纪生物科技有限公司。

1.3 动物

SPF 级健康 SD 大鼠 80 只,♀,体质量 190~220 g,购于斯贝福(北京)生物技术有限公司,动物生产许可证号:SCXK(京)2016-0002。购入后分笼饲养,自由饮水,饲养环境温度 22~25 ℃、相对湿度为 40%~60%。

2 方法

2.1 分组、造模与给药

将大鼠随机分为假手术组、模型组、新黑苏嘎乌日勒组(540 mg/kg,根据临床用药剂量换算而得)、化学药阳性对照组(尼莫地平片,16.2 mg/kg,根据临床用药剂量换算而得)、中药阳性对照组(银杏叶片,5.18 mg/kg,根据临床用药剂量换算而得),每组 16 只。各组大鼠采用改良 Zea-Longa 线栓法复制脑中动脉阻塞-再灌注损伤模型^[4],用 10% 水合氯醛(3.5 mL/kg)腹腔注射充分麻醉,分离结扎颈总动脉和颈外动脉,于颈外动脉剪开小口,插入栓线,将栓线向颈内动脉插入约(18.0±2.0) mm,松开动脉夹,并于分叉处结扎,缺血 90 min 后,将栓线抽离,确认无出血后乙醇消毒,涂青霉素粉,缝合皮肤;假手术组仅在动脉处备线处理,不造模。造模成功后各组大鼠每天灌胃给药 1 次,连续给药 14 d。假手术组和模型组灌胃等体积的蒸馏水。

2.2 神经功能损伤评分

末次灌胃给药 1 h 后,参照文献[5]方法对各组大鼠进行神经功能损伤评分:无神经功能损伤症状,0 分;提尾时对侧肢体屈曲内收,1 分;一侧肢体抵抗力下降并有 I 级症状,2 分;自由活动时有向瘫痪侧划圈并有 II 级症状,3 分;意识丧失、不能行走,4 分。

2.3 脑梗死率、脑含水率、脑指数的测定

神经功能损伤评分结束后,各组随机选取 10 只大鼠,参考文献[6-7]方法,断头处死大鼠,取出大脑,剥去脑膜、小脑和脑干,用 0.1 mmol/L 磷酸盐缓冲液清洗,滤纸吸干表面水分并称质量;于-20 ℃冰箱冷冻 10 min 后,取出大脑,切取 2 mm 厚度冠状位脑片,切成 5 片,放入 1% TTC 的溶液中,37 ℃温箱孵育 20 min 染色;经染色后的正常脑组织呈玫瑰红色,脑梗死组织呈灰白色。孵育完后,将脑片置于 10% 甲醛中固定 24 h,取出,称脑

片湿质量;剥离梗死组织,并称其质量。将正常脑组织和梗死组织放入烘箱,105 ℃烘12 h至恒质量后,取出,称脑片干质量,然后计算大鼠脑梗死率、脑含水率、脑指数。脑梗死率(%)=(梗死组织质量/脑片湿质量)×100%,脑含水率(%)=(脑片湿质量-脑片干质量)/脑片湿质量×100%,脑指数(%)=大脑质量/体质量×100%。

2.4 大鼠脑组织海马区神经元病理学观察

神经功能损伤评分结束后,各组取剩余6只大鼠用10%水合氯酸(3.5 mL/kg)腹腔注射麻醉,开腹暴露心脏,灌注针刺入左心室,剪开右心耳,0.9%生理盐水冲洗,再用4%多聚甲醛灌注固定,直至大鼠身体逐渐僵硬震颤^[9],再断头,于视交叉平面前后2~5 mm处冠状切开大脑,取中间部分置于4 ℃、4%多聚甲醛中固定24 h,再乙醇梯度脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,切片,苏木精-伊红(HE)染色后,显微镜观察大鼠脑组织海马区神经元病理学变化。

2.5 大鼠脑前额叶BDNF和NGF蛋白表达的检测

取大鼠脑组织,用10%甲醛固定,24 h后组织常规脱水包埋,切片60 ℃烘烤过夜,常规脱蜡至水,3% H₂O₂溶液孵育10 min,冲洗,于柠檬酸钠缓冲盐溶液中高压修复5 min,室温条件下血清封闭15 min,弃血清;然后按免疫组化试剂盒说明书操作,其中一抗为大鼠BDNF抗体(1:100)和NGF抗体(1:150),二抗为兔抗鼠IgG抗体(1:100)。显微镜观察BDNF和NGF蛋白表达,采用Image J软件对经免疫组化染色后的大脑切片进行灰度值分析^[9],并计算积分光密度(IOD)。

2.6 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 大鼠神经功能损伤评分结果

与假手术组比较,模型组大鼠神经功能损伤评分显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,新黑苏嘎乌日勒组、化学药阳性对照组、中药阳性对照组大鼠神经功能损伤评分显著降低($P < 0.01$)。各组大鼠神经功能损伤评分结果见表1。

表1 各组大鼠神经功能损伤评分结果($\bar{x} \pm s, n = 16$)
Tab 1 Results of neurological impairment scores of rats in each group($\bar{x} \pm s, n = 16$)

组别	剂量,mg/kg	神经功能损伤评分
假手术组		0
模型组		4.32 ± 0.36**
新黑苏嘎乌日勒组	540	2.32 ± 0.23 ^{##}
化学药阳性对照组	16.2	2.43 ± 0.21 ^{##}
中药阳性对照组	5.18	1.95 ± 0.22 ^{##}

注:与假手术组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,^{##} $P < 0.01$
Note: vs. sham operation group,** $P < 0.01$; vs. model group,^{##} $P < 0.01$

3.2 大鼠脑梗死率、脑含水率、脑指数的测定结果

与假手术组比较,模型组大鼠脑梗死率、脑含水率、脑指数显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,新黑苏嘎乌日勒组、化学药阳性对照组、中药阳性对照组大鼠脑梗死率、脑含水率、脑指数显著降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各组大鼠脑梗死率、脑含水率、脑指数测定结果见表2。

表2 各组大鼠脑梗死率、脑含水率、脑指数测定结果($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Tab 2 Results of cerebral infarction rate, cerebral water content and cerebral indexes of rats in each group($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量,mg/kg	脑梗死率,%	脑含水率,%	脑指数
假手术组		0	76.80 ± 0.90	0.39 ± 0.03
模型组		30.12 ± 2.54**	85.02 ± 3.78**	0.57 ± 0.05**
新黑苏嘎乌日勒组	540	23.98 ± 2.23 ^{##}	79.57 ± 3.43 ^{##}	0.48 ± 0.04 ^{##}
化学药阳性对照组	16.2	24.87 ± 2.47 ^{##}	80.44 ± 2.93 ^{##}	0.46 ± 0.05 ^{##}
中药阳性对照组	5.18	23.45 ± 2.61 ^{##}	79.50 ± 4.43 ^{##}	0.49 ± 0.04 ^{##}

注:与假手术组比较,** $P < 0.01$;与模型组比较,^{##} $P < 0.05$,^{###} $P < 0.01$

Note: vs. sham operation group,** $P < 0.01$; vs. model group,^{##} $P < 0.05$,^{###} $P < 0.01$

3.3 大鼠脑组织海马区神经元病理学观察结果

假手术组大鼠脑组织海马区神经元细胞排列紧密层次清晰,细胞核圆形或椭圆形,核仁清晰,神经细胞胞浆、核染色均匀;模型组大鼠脑组织海马区神经元细胞排列松散,形态不规则,部分胞体皱缩,胞浆内尼氏小体减少,核仁消失。与模型组比较,新黑苏嘎乌日勒组、化学药阳性对照组、中药阳性对照组大鼠脑海马细胞排列相对整齐紧密,细胞核较为圆整,细胞质染色均匀,病理改变与模型组相比有所减轻。各组大鼠脑组织海马区神经元病理学观察结果见图1。

3.4 大鼠脑前额叶BDNF和NGF蛋白表达结果

与假手术组比较,模型组大鼠脑前额叶BDNF、NGF蛋白表达显著增加($P < 0.01$);与模型组比较,新黑苏嘎乌日勒组、化学药阳性对照组、中药阳性对照组大鼠脑前额叶BDNF、NGF表达显著增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。各组大鼠脑前额叶BDNF、NGF蛋白表达的免疫组化见图2,各组大鼠脑前额叶BDNF、NGF蛋白表达测定结果见表3。

4 讨论

新黑苏嘎乌日勒为我院用于治疗缺血性脑中风的常用方剂,课题组前期也进行了其治疗缺血性脑血管病的临床研究^[3]。由于本研究内容重点未涉及量效关系评价,因此,本实验只设置了一个临床疗效最佳的生物等效剂量组作为考察对象,并于预试验过程中发现其结果较为理想,最后确定540 mg/kg为最优剂量。尼莫地平片用于急性脑血管病恢复期的血液循环改善,疗效确切^[10-11],故在本研究中作为化学药阳性对照组。银杏叶片是从植物中提取的有效成分,临床常用于中风、半身

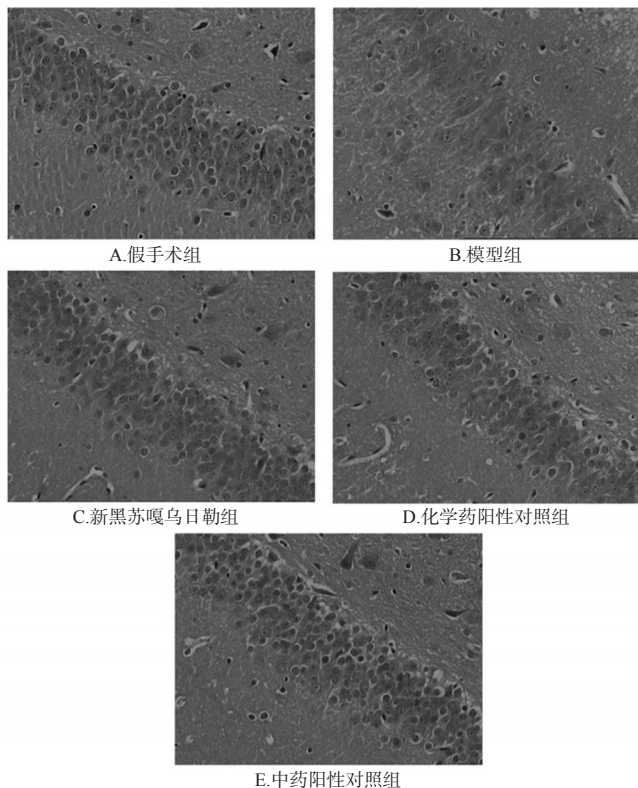


图1 各组大鼠脑组织海马区神经元病理学观察结果(HE染色, $\times 200$)

Fig 1 Results of pathological observation of cerebral hippocampal neurons of rats in each group (HE staining, $\times 200$)

不遂、脑梗死等^[12],故在本研究中作为中药阳性对照组。

脑中风临床主要表现为神志障碍、运动障碍、瘫痪;运动障碍是由于上运动神经元受损,失去了对下运动神经元的抑制调控作用,临床上主要表现为肌张力增高,呈痉挛性瘫痪^[13]。中枢性瘫痪是由于锥体束受损^[14]而产生的运动障碍;周围性瘫痪^[15]又称下运动神经元性瘫痪,是因脊髓前角细胞及脑干运动神经核受损害产生的运动障碍,由于下运动神经元受损,使其所支配的肌肉张力降低,反射减弱或消失。本研究模型组与假手术组比较,神经功能损伤评分显著增加,说明大鼠脑中动脉阻塞-再灌注损伤未自然恢复;治疗后新黑苏嘎乌日勒组大鼠神经功能损伤评分显著降低,说明新黑苏嘎乌日勒可改善模型大鼠的神经功能损伤。

脑是对缺氧最敏感的器官,脑组织缺血将会引起局部脑组织功能损伤,其损伤程度与缺血时间长短有关,短期缺血会引起可逆性损伤,长时间的缺血会引起梗死,进而导致脑水肿及脑细胞坏死^[16-20]。本实验模型大鼠治疗后,新黑苏嘎乌日勒组大鼠脑梗死率、脑含水率、脑指数显著降低,提示新黑苏嘎乌日勒对脑梗死损伤具有改善作用。

BDNF广泛分布于中枢神经系统中,对神经元的生长发育起重要作用^[21-23]。BDNF能防止神经元受损伤死

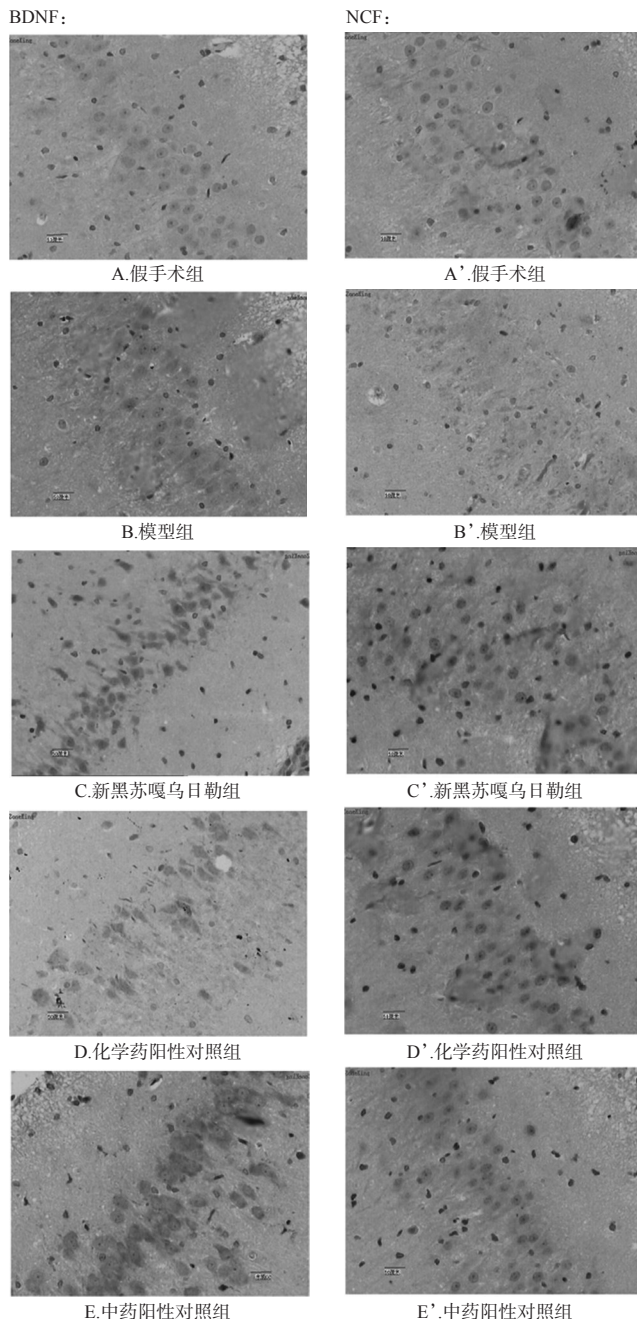


图2 各组大鼠脑前额叶BDNF、NGF蛋白表达的免疫组化图($\times 200$)

Fig 2 Immunohistochemistry of the expression of BDNF and NGF protein in prefrontal lobe of rats in each group ($\times 200$)

亡、促进受损伤神经元再生及分化,是中枢及周围神经系统的神经元维持正常生理功能所必需的神经营养因子^[24]。NGF可以调节神经元的生长发育,维持神经元的存活^[25-26]。本研究发现,新黑苏嘎乌日勒组BDNF、NGF的表达相比模型组显著增加,模型组BDNF、NGF表达相比假手术组也有明显增加,推测模型组是由于自我修复引起的增加,而新黑苏嘎乌日勒组增加得更显著,进而说明新黑苏嘎乌日勒组具有促进修复的作用;提示新

表3 各组大鼠脑前额叶BDNF、NGF蛋白表达测定结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 3 Expression of BDNF and NGF protein in pre-frontal lobe of rats in each group($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量,mg/kg	OD值	
		BDNF	NGF
假手术组		0.25±0.03	0.17±0.02
模型组		0.49±0.04**	0.39±0.08**
新黑苏嘎乌日勒组	540	0.58±0.11 [#]	0.68±0.13 ^{##}
化学药阳性对照组	16.2	0.57±0.09 [#]	0.63±0.13 ^{##}
中药阳性对照组	5.18	0.63±0.11 [#]	0.51±0.09 [#]

注:与假手术组比较,** $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

Note: vs. sham operation group, ** $P<0.01$; vs. model group, [#] $P<0.05$,^{##} $P<0.01$

黑苏嘎乌日勒可通过增加BDNF、NGF表达,促进中枢神经元的生长发育及受损伤神经元的再生及分化,改善大鼠脑中动脉阻塞-再灌注损伤。

综上所述,蒙药新黑苏嘎乌日勒对大鼠脑中动脉阻塞-再灌注损伤模型大鼠具有良好的改善作用,其作用机制可能与增加脑前额叶BDNF、NGF蛋白表达有关,该实验结果也可为其临床应用提供实验依据及参考。

参考文献

[1] 李令康.缺血性中风亚急性期脑灌注特点与中医证候规律的相关性研究[D].北京:北京中医药大学,2017.

[2] 占布拉.蒙医金贵[M].呼和浩特:内蒙古人民出版社,1977:870.

[3] 乌兰图雅.新黑苏嘎乌日勒治疗缺血性脑血管病的临床研究[J].中国蒙医药,2017,12(1):40-42.

[4] 方翔,杜建民,彭友,等.川芎抗脑缺血的神经胶质细胞Ube3a-as 机制研究[J].中国现代医生,2017,55(28):31-35.

[5] 徐雁秀.霍夫曼氏征的临床评价:正常人与脑卒中病人霍夫曼氏征的对比分析[J].泸州医学院学报,1996,19(6):568-569.

[6] 刘乃慧,张莉,邵颖,等.在体心脏灌注术在大鼠脑组织切片观察中的应用[J].实验动物科学与管理,2005,22(2):52-53.

[7] 张枝雪,黄茜,李玥,等.尼莫地平对MCAO/R模型大鼠不同时间点血流灌注量的影响[J].中国民族民间医药,2017,26(7):42-45.

[8] 刘光丽,杨利娟,王张,等.益气熄风胶囊对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用[J].现代药物与临床,2017,32(9):1620-1626.

[9] 刘小虎,贾冬,孟莉,等.癫痫清颗粒对大鼠海马区神经元影响[J].辽宁中医药大学学报,2017,19(6):14-17.

[10] 黄志英,张晓旭,孙文利,等.缺血性脑中风中与内质网应激相关炎症反应研究进展[J].中国药理学通报,2015,31

(1):23-26.

[11] 杨勇.神经保护剂在脑血管疾病急性期的应用价值[J].现代医药卫生,2006,22(22):3448-3450.

[12] 马丽虹,李冬梅,李可建.银杏叶制剂治疗缺血性中風急性期临床疗效的系统评价[J].中国中医急症,2012,21(6):929-931.

[13] 张亚,刘艺,王珊珊,等.脑梗死后脑水肿的研究进展[J].中华老年心脑血管病杂志,2015,17(3):331-333.

[14] 范宇葱,郭志敏,何永恒,等.香芹酚改善大鼠急性脑梗死神经运动功能[J].临床和实验医学杂志,2017,16(23):2293-2296.

[15] 赵晓勇,张晓丽.补阳还五汤对脑出血急性期脑水肿SD大鼠动物模型的作用及意义[J].中华中医药学刊,2017,35(12):3207-3210.

[16] 贡瑞生,崔佳雯,王智茗,等.改良大鼠大脑中动脉缺血再灌注模型不同时间窗的状态研究[J].按摩与康复医学,2018,9(19):53-54,56.

[17] 彭绍鹏,刘建雄,崔庆荣,等.大黄素对脑出血大鼠血肿周围脑组织水通道蛋白-4及脑水肿的影响[J].中医药学报,2017,45(5):67-71.

[18] 曹立梅,李强,董智强,等.右美托咪定后处理对大鼠局灶性脑缺血-再灌注损伤的保护作用及机制研究[J].河北医学,2018,24(5):705-711.

[19] 田嘉琦,董晓红,王悦阳,等.头穴丛刺法对脑缺血再灌注大鼠脑组织BDNF、p75NTR表达的影响[J].针灸临床杂志,2018,34(4):63-66.

[20] 唐舸航,刘乐吟,向彦霖,等.人参皂苷Rg₃对局灶性脑缺血再灌注大鼠学习记忆及海马BDNF表达的影响[J].湘南学院学报(医学版),2016,18(4):5-8.

[21] 刘凌云,汤永红.丁苯酞对急性脑梗死患者疗效及VEGF、BDNF、bFGF水平的影响[J].国际神经病学神经外科学杂志,2014,41(5):419-422.

[22] 王魁花,白蓉,胡慧华,等.神经生长因子联合康复训练对脑梗死大鼠神经行为学及脑源性神经营养因子、Bax表达的影响[J].临床神经病学杂志,2013,26(3):202-205.

[23] 张辉,关彩宣,张朝东. NGF、BDNF在脑梗死及糖尿病合并脑梗死大鼠脑中的表达[J].中风与神经疾病杂志,2006,23(2):210-212.

[24] 张亚洲,何前松,胡斐然,等.锦鸡儿总黄酮预处理对局灶性脑缺血再灌注损伤模型大鼠血脑屏障通透性的影响及机制研究[J].中国药房,2018,29(13):1793-1797.

[25] 李忠仁,崔龙. TC指数在改良LONGA线栓法局灶性脑缺血/再灌注动物模型制备中的应用[J].中国中西医结合杂志,2006,26(6):18-20.

[26] 陈哨军.脑性瘫痪周围神经及骨骼肌亚显微病变研究[J].中华外科杂志,2000,38(8):52-55.

(收稿日期:2018-09-28 修回日期:2018-12-30)

(编辑:唐晓莲)