

163~166.

- [4] 张家庆, 周云平. 部分中药或其成分对大鼠晶体醛糖还原酶的抑制作用. 中国中药杂志, 1989, 14 (9): 45~47.
- [5] Schmidt AM, Yan SD, Wautier JL, et al. Activation of receptor for advanced glycation end products: A mechanism for chronic vascular dysfunction in diabetic vasculopathy and atherosclerosis. Circ Res, 1999, 84 (5): 489~497.
- [6] 李妮. 葛根素注射液对糖尿病病人糖化血红蛋白、丙二醛及超氧化物歧化酶的影响. 广西医学, 1997, 19 (6): 963~965.
- [7] Kashiwagi A, Asahina T, Nishio Y, et al. Glycation, oxidative stress, and scavenger activity: glucose metabolism and radical scavenger dysfunction in endothelial cells. Diabetes, 1996, 45 (suppl 3): s84~86.

- [8] 周向华. 褪黑素、自由基与衰老. 国外医学·老年医学分册, 1997, 18 (5): 193~196.
- [9] 薛静, 温晶华, 李英. 细胞凋亡与糖尿病肾病. 中国中西医结合杂志, 2001, 21 (8): 492~496.
- [10] Coughlan MT, Oliva K, Georgiou HM, et al. Glucose-induced release of tumor necrosis factor- α from human placental and adipose tissues in gestational diabetes mellitus. Diabet Med, 2001, 18 (11): 921~927.
- [11] Phelouzat MA, Arbogast A, Laforge T, et al. Excessive apoptosis of mature T lymphocytes is a characteristic feature of human immune senescence. Mech Aging Dev, 1996, 88 (1-2): 25~38.

(收稿日期: 2006-05-09; 修回日期: 2006-08-20)

养肝熄风方药对脑缺血大鼠神经干细胞增殖的影响

赵永厚¹ 唐红敏¹ 唐宇平¹ 杨云柯¹ 范越¹ 顾喜喜¹ 蔡定芳²

(1. 复旦大学附属中山医院中西医结合科, 上海市枫林路180号, 200032;

2. 复旦大学中西医结合研究所神经病学研究室)

本研究观察中医养肝熄风方药对缺血脑损伤大鼠侧脑室下区(SVZ)细胞增殖及 nestin 阳性细胞表达的影响。

1 材料和方法

12周龄 SD 雄性大鼠, 体重250~280g, 由中国科学院上海分院实验动物中心提供。行右侧大脑中动脉线栓法(MCAO)造模, 方法如下: 大鼠以10%水合氯醛(0.36g/kg, 腹腔注射)麻醉, 正中切开颈部皮肤, 分离颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉, 电凝并剪断颈外动脉分支。暂时夹闭颈总动脉和颈内动脉, 结扎颈外动脉远心端并剪切口, 插入4-0尼龙线, 并疏松结扎, 剪断颈外动脉, 拉直颈外动脉并使之与颈内动脉呈一直线, 缓慢推进尼龙线, 直到遇到阻力为止, 使尼龙线进入颈内动脉18~20mm, 松开颈总动脉, 2小时后拔线再灌注。动物直肠温度维持在37~38℃。假手术动物不插入尼龙线。

将动物随机分为假手术组、模型组、养肝熄风组。缺血30分钟时养肝熄风组大鼠按20ml/kg 体重给予200%养肝熄风水煎醇提液灌胃。此后分别于造模后第2、4、6、8天重复灌胃给药1次。造模后第5、6、12、13、19、20天所有大鼠腹腔注射 BrdU (50mg/kg)。根据实验需要分别于第7、14、21天处死各组动物, 进行各项指标检测。每组每个时间点上各15只大鼠用于神经功能评分和脑梗死体积检测, 10只用于免疫组化检测。

养肝熄风方药(地黄饮子加减)由熟地黄、山茱萸、麦冬、肉苁蓉、巴戟天、枸杞子、白芍等组成。按2:2:2:2:2:2:2比例称重。将生药浸入10倍体积的蒸馏水浸泡2小时; 煮沸后文火煎1小时, 过滤; 再加10倍体积的蒸馏水, 煮沸后文火煎1小时; 重复上一步骤; 将3次过滤液合并, 水浴浓缩成100%药液, 过滤; 置于磁力搅拌器上, 边搅拌边加入3倍量无水乙醇, 继续搅拌过夜; 过滤, 2000转/分钟离心30分钟; 上清液经100℃水浴蒸发尽乙醇, 最后制成200%水煎醇提液; 高压灭菌, 4℃保存。

2 结果 (C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Database. http://www.cnki.net

2.1 实验药物对大鼠缺血脑损伤神经功能缺损评分的影响

大鼠以右侧的 Horner 征和左侧的前肢偏瘫为主; 两组大鼠术后第21天的神经功能缺损和第1天相比要明显改善, 差异有显著性意义($P < 0.05$); 养肝熄风组大鼠在第7、8、9、16天的神经功能缺损评分要明显低于模型组($P < 0.05$)。

2.2 实验药物对大鼠缺血脑损伤脑梗死灶体积的影响

TTC 染色结果显示, 假手术组大鼠脑组织正常; 急性脑缺血2小时、再灌第7天, 各组大鼠脑梗死灶位于缺血侧的额顶叶皮层和纹状体。模型组大鼠脑梗死灶通常从第2脑片延伸至第5脑片, 最大梗死范围出现于第3、4脑片(前角附近), 养肝熄风组再灌后第7天脑梗死灶体积小于模型组, 差异有显著性意义($P < 0.01$)。

2.3 实验药物对大鼠缺血脑损伤神经干细胞增殖的影响

术后第7天, 假手术组大鼠 SVZ 可见少量 nestin 阳性细胞; 缺血性损伤使 SVZ 的 nestin 表达明显增多, 术后第7、14、21天所有缺血组与假手术组比较, SVZ 的 nestin 表达均显著增加($P < 0.01$); 模型组术后第7天 SVZ 的 nestin 阳性细胞较第14、21天明显增多($P < 0.01$); 与模型组相比, 养肝熄风组可以明显增加缺血损伤后第7天 SVZ 的 nestin 阳性细胞数($P < 0.05$); SVZ 的 nestin 阳性细胞为紧密排列的球形。术后第7、14、21天, 所有缺血组与假手术组比较, BrdU 阳性细胞均有显著增加($P < 0.01$); 与模型组比较, 养肝熄风组可以促进缺血损伤后第14、21天 SVZ 的神经干细胞增殖($P < 0.01$); BrdU 阳性细胞核深染, 为椭圆形; 养肝熄风组大鼠术后第7天, 在 SVZ 可见 nestin 与 BrdU 双标的阳性细胞。

3 讨论

养肝熄风方药是单成分强力溶栓改善微循环制剂, 它能显著改善 MCAO 大鼠神经功能缺损, 减少脑梗死体积, 说明养肝熄风方药对于急性脑缺血损伤具有一定的保护作用。

(收稿日期: 2007-07-10)