

• 实验研究 •

茸菖胶囊对癫痫后认知障碍幼年大鼠神经发生的影响

杨常泉* 王 伟 马 融

天津中医药大学第一附属医院,天津市南开区鞍山西道 314 号,300193)

基金项目:国家自然科学基金青年基金项目(81001539);国家自然科学基金面上项目(30973772);天津市应用基础及前沿技术研究计划重点项目(10JCZDJC20600);天津市应用基础及前沿技术研究计划面上项目(11JCYBJC12300)

* 通讯作者:ycq1975@yahoo.com.cn, (022)27432813

[摘要] 目的 观察茸菖胶囊对癫痫后认知障碍幼年大鼠学习记忆能力和神经发生的影响,探讨其治疗癫痫后认知障碍的可能机制。方法 102 只 SD 大鼠随机分为正常组、模型组、中药高剂量组、中药中剂量组、中药低剂量组、西药组。运用戊四唑点燃法复制癫痫大鼠模型,并经水迷宫实验筛选认知障碍大鼠。正常组不予处理,模型组予生理盐水灌胃,中药高、中、低剂量组分别予浓度为 0.44 g/ml、0.22 g/ml、0.11 g/ml 茸菖胶囊溶液灌胃,西药组予 40 mg/ml 德巴金溶液灌胃,每次 3 ml,每日 2 次,均给药 28 d。每组又分别于 5-溴脱氧尿苷嘧啶(BrdU)标记后 24 h 和 28 d 取材。采用水迷宫实验于治疗前后观察大鼠逃避潜伏期和跨越平台次数;观察 BrdU 阳性细胞形态并计数进行 BrdU 免疫组化评分,计算新生神经细胞迁移比率(BrdU/DCX)、新生神经细胞分化为神经元比率(BrdU/NeuN)和新生神经细胞分化为胶质细胞比率(BrdU/GFAP)。结果 治疗后西药组和中药高、中剂量组大鼠逃避潜伏期较模型组缩短($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),并且中药高剂量组较中药中、低剂量组大鼠逃避潜伏期缩短($P < 0.05$)。中药高剂量组大鼠跨越平台的次数显著高于模型组和中药低剂量组($P < 0.05$)。与模型组比较,24 h 时中药高剂量组、西药组和 28 d 时中药高剂量组、中药中剂量组、西药组 BrdU 免疫组化评分显著减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。西药组、中药高剂量组、中药中剂量组 BrdU/DCX、BrdU/NeuN 低于模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);中药高剂量组 BrdU/NeuN 明显低于中药中、低剂量组($P < 0.01$);各组大鼠 BrdU/GFAP 比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 茸菖胶囊可改善癫痫后认知障碍大鼠学习记忆功能,其机制可能为抑制大鼠海马齿状回神经前体细胞增殖、异常迁移和分化。

[关键词] 茸菖胶囊;神经发生;癫痫;认知功能障碍

Effect of Rongchang Capsule on the Neurogenesis in Young Rats with Cognitive Impairment after Epilepsy

YANG Changquan, WANG Wei, MA Rong

(First Affiliated Hospital, Tianjin University of TCM, Tianjin 300193)

ABSTRACT **Objective** To observe the effect and mechanism of Rongchang Capsule [capsule of Lurong (Cornu Cervi Pantotrichum) and Shichangpu (*Rhizoma Acori Tatarinowii*)] on the neurogenesis and learning and memory abilities in young rats with cognitive impairment after epilepsy. **Methods** The Sprague-Dawley rats were randomized into the normal group ($n=16$), model group ($n=18$), high-dose Chinese medicine group ($n=16$), middle-dose Chinese medicine group ($n=18$), low-dose Chinese medicine group ($n=16$) and western medicine group ($n=18$). The rat models with cognitive impairment after epilepsy were induced by pentylenetetrazol kindling. The normal group was not treated. The model group was intragastrically administered with normal saline. The high-dose, middle-dose and low-dose Chinese medicine groups were intragastrically administered with 0.44 g/ml, 0.22 g/ml and 0.11 g/ml Rongchang Capsule solution. The western medicine group was intragastrically administered with 40 mg/ml Depakine Solution. Each group was given intragastric administration 3 ml once, twice daily for 28 days. The brain tissue samples were drawn 24 hours or 28 days after labeling with 5-bromodeoxyuridine pyrimidine (BrdU). The escape latency and platform crossing times were observed with water maze test before and after treatment. The morphology and number of BrdU-positive cell were detected and scored with BrdU immunohistochemistry. The ratios of BrdU/doublecortin (DCX), BrdU/neuron-specific nuclear protein (NeuN) and BrdU/glial fibrillary acidic protein (GFAP) were calculated. **Results** Comparing with the model group, the escape latency in the western medicine group, high-dose Chinese medicine group and middle-dose Chinese medicine group was significantly shortened ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and the shortening in the high-dose Chinese medicine group was more significant than those in middle-dose and low dose Chinese medicine groups ($P < 0.05$). The platform crossing times in the high-dose Chinese medicine group were significantly higher than those in the model group and low-dose Chinese medicine group ($P < 0.05$). Comparing with the model group, the BrdU immunohistochemistry scores were significantly decreased in the high-dose Chinese medicine group and western medicine group 24 hours after labeling with

BrdU and in the high-dose Chinese medicine group, middle-dose Chinese medicine group and western medicine group 28 days after labeling with BrdU ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Comparing with the model group, the ratios of BrdU/DCX and BrdU/NeuN were significantly lower in the western medicine group, high-dose Chinese medicine group and middle-dose Chinese medicine group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The ratio of BrdU/NeuN in the high-dose Chinese medicine group was significantly lower than that in the middle-dose and low-dose Chinese medicine groups ($P < 0.01$). There was no significant difference between groups in the ratio of BrdU/GFAP ($P > 0.05$). **Conclusion** Rongchang Capsule can improve the learning and memory abilities in rats with cognitive impairment after epilepsy. Its mechanism may be relevant to inhibiting the proliferation, abnormal migration and differentiation of neural precursor cells in dentate gyrus.

Keywords Rongchang Capsule; neurogenesis; epilepsy; cognitive impairment

神经发生是近年癫痫研究的一个热门领域,是指包括人在内的大多数哺乳类动物均存在的神经系统产生新神经元的过程。现代医学研究结果提示,新生的神经元与成年啮齿类癫痫动物模型的海马结构和功能的异常网络形成有关^[1-3]。惊厥引起的神经母细胞迁移异常导致新生的齿状回颗粒细胞在海马的整合异常,并且提示混乱的神经发生与癫痫的发展和反复发作有关^[4]。学习和记忆障碍在癫痫模型中已经证实^[5]。本研究探讨癫痫后神经发生的特点、新生细胞的功能特点及神经发生与癫痫间的关系,观察茸菖胶囊治疗癫痫后认知障碍在以上几方面的干预作用,为研究中药复方的疗效机理提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

16 日龄 SD 大鼠,体重(50 ± 10)g,雌雄各半,购自中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心,动物合格证号:SCXK(军)2007-005。适应性喂养 7 d 后开始实验。

1.2 实验药品、试剂及仪器

茸菖胶囊(由鹿茸、石菖蒲、菟丝子、胆南星、天麻、全蝎、僵蚕、清半夏、陈皮、茯苓、冰片、炙甘草等组成),津药制字 Z20070735,天津中医学院第一附属医院杏林药厂提供。德巴金片由赛诺菲安万特(杭州)制药有限公司生产,国药准字 H20010595。戊四唑(PTZ):Simga 公司产品,批号:P6500,4℃保存,用前 2 h 以生理盐水配成 7 mg/ml 溶液,使用时充分摇匀。丙戊酸钠口服溶液:赛诺菲安万特制药有限公司产品,国药准字 H20041435。5-溴脱氧尿苷嘧啶(BrdU):Simga 公司产品,批号:B9285。小鼠 BrdU 抗体(Sigma 公司 B8434),兔源 GFAP 抗体(Epitomics 2301-1),兔源 Doublecortin 抗体(Abcam AB28941)。显微镜及显微成像系统(Olympus-BX41)、HMIAS-2000 高清晰度彩色病理图像分析系统、超薄石蜡切片机(Leika 2235)等。

1.3 模型建立

参考文献[6]方法,用 PTZ 亚惊厥剂量 37 mg/kg,腹腔注射,每次注射均在上午 8:00—10:00 进行。每日 1 次,连续 28 d。停止 1 周后,再以相同剂量 PTZ 注射。连续 5 次Ⅱ级及以上惊厥的大鼠,被认为达到点燃标准。惊厥行为学评分采用 Racine 评分法^[7]:0 级:无;Ⅰ级:点头或头部抽搐;Ⅱ级:全身肌阵挛;Ⅲ级:头部抽搐加前肢阵挛;Ⅳ级:阵挛惊厥加后退站立;Ⅴ级:跌倒;Ⅵ级:全身强直一阵挛性惊厥。出现Ⅳ级以上惊厥大鼠共 89 只,进行水迷宫实验筛选认知障碍模型。Morris 水迷宫实验^[8]是一个不锈钢黑色圆柱形水池,直径 120 cm,高 50 cm。水池分为 4 个四个象限(逆时针分为Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ、Ⅳ),盛水后水温保持在 20~25℃,水深约 30 cm。将一直径 11 cm、高 29 cm 圆柱形平台置于第一象限。其包括隐蔽平台实验与空间探索实验两部分,历时共 6 d,第 1 天为自由泳 2 min;第 2~5 d,每天分上、下午两段,每段训练 4 次,训练时随机选择一个不同入水点,将大鼠面向池壁放入水中,记录大鼠寻找并爬上平台所需时间(逃避潜伏期)。如果大鼠在 120 s 内未找到平台,需将其引至平台,这时潜伏期计为 120 s,每次训练间隔 60 s。第 6 天为空间探索实验,在第 5 次训练时撤除平台,然后任选一个入水点,将大鼠面向池壁放入水中,测其在 60 s 内跨过原平台所在位置的次数。逃避潜伏期时间越长,说明其学习记忆能力越差;空间探索试验中大鼠跨越平台次数越少,说明大鼠的学习记忆能力越差。筛选出 86 只癫痫认知障碍大鼠,治疗后再次进行水迷宫测试,评价茸菖胶囊对癫痫后认知障碍大鼠的干预作用。

1.4 动物分组及给药

BrdU 溶于生理盐水制成 10 mg/ml 溶液,所有大鼠于癫痫认知障碍模型成功后第 2 天 50 mg/kg 腹腔注射,每日 1 次,连续 7 d。将 86 只癫痫认知障碍大鼠采用随机数字表法按体重分层随机分为 5

组,每组分别于 BrdU 标记后 24 h 和 28 d 取材。模型组予生理盐水灌胃;中药高、中、低剂量组分别予浓度为 0.44 g/ml、0.22 g/ml、0.11 g/ml 苘菖胶囊溶液灌胃;西药组予 40 mg/ml 德巴金溶液灌服。各组均每次 3 ml,每日 2 次,灌胃 28 d。模型组、中药中剂量组、西药组均 18 只,每次取材 9 只;中药高剂量组、中药低剂量组各 16 只,每次取材 8 只;另设正常组 16 只,每次取材 8 只,不予处理。

1.5 观察指标及方法

10%水合氯醛 400 mg/kg 腹腔注射麻醉,暴露心脏,用改良的 12 号注射针头刺入左心室到达升主动脉,切开右心耳。生理盐水 250 ml 快速滴注,直至肝脏变为土黄色,右心耳流出无色透明液体。滴注 4℃ 4%多聚甲醛磷酸缓冲液约 400 ml 进行内固定,直至肝脏、四肢、尾变硬,开颅取脑,置于 4%多聚甲醛磷酸缓冲液中待用。以 10%的缓冲甲醛于室温下行组织固定 40 min。行梯度酒精脱水,后经浸蜡、包埋。将蜡块于 4℃ 冰箱预冷 40 min,石蜡组织切片机冠状位连续切片,片厚 5 μm,贴附于载玻片上。每只大鼠隔 8 张脑片取 1 张组成 1 套,每套切片约 8~10 张,共 6 套。

1.5.1 BrdU 染色 采用单标记免疫组化检测 BrdU 阳性细胞形态和数目,观察新生细胞分化。为确保实验结果的真实性,避免主观性,染色结果判定由双人盲法阅片。每例均设有 HE 切片作对照观察,并设 PBS 代替一抗做阴性对照,用已知阳性标本作为阳性对照。凡细胞浆中出现棕黄色物且其染色强度高于背景非特异染色者或棕黄色颗粒为阳性细胞染色。综合考虑表达强度(染色深浅)与表达密度(阳性细胞数量),参考 Soslow 等^[9]的方法,每只动物取 10 张切片,在海马齿状回区域,每张切片随机选择 5 个视野,每一视野先按显色有无及深浅计分,A 为阳性细胞数分级:0~1%计 0 分、>1%但≤10%计 1 分、>10%但≤50%计 2 分、>50%但≤

80%计 3 分、>80%但≤100%计 4 分;B 为阳性细胞显色强度分级:0 分(阴性)、1 分(弱阳性)、2 分(阳性)、3 分(强阳性),总积分为 A×B。

1.5.2 免疫荧光双标方法检测新生神经细胞迁移比率(BrdU/DCX)、新生神经细胞分化为神经元比率(BrdU/NeuN)和新生神经细胞分化为胶质细胞比率(BrdU/GFAP) 给药 28 d 后分别对比各组标记的神经前体细胞增殖、迁移、分化情况。①脱蜡水化:60℃烤片 1 h,二甲苯脱蜡 2 次,每次 5 min;再依次浸入梯度乙醇(无水乙醇—无水乙醇—95%乙醇—85%乙醇—75%乙醇)和蒸馏水中各 5 min 水化;②抗原修复:修复液加入高压锅内,待修复切片浸于修复液中,盖上压力锅盖,加热至均匀喷汽,从喷汽开始计时,1~2 min 后压力锅离开热源,自然冷却至室温,取出切片,蒸馏水冲洗后,再用 PBS 漂洗 2 次,每次 3 min;③内源性过氧化物酶封闭 10 min, PBS 洗;蛋白非特异结合位点封闭 10 min, PBS 洗;0.1% Triton 冰上孵育 15 min, PBS 洗;0.125%胰酶室温孵育 30 min, PBS 洗;冷 0.1 M 盐酸孵育 30 min 以除去染色体的组蛋白, PBS 洗;2 M 盐酸室温孵育 35 min 以使 DNA 双链解开, PBS 洗;0.1 M 四硼酸钠室温下孵育 20 min, PBS 洗;④ BrdU/NeuN 或 BrdU/GFAP 或 BrdU/DCX 一抗混合工作液孵育 36 h, PBS 洗;Goat Anti-Rabbit IgG, Dylight 594 和 Donkey Anti-mouse IgG, FITC 二抗混合工作液常温孵育 30 min, PBS 洗。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多样本间均数比较采用 One-way ANOVA 检验,组间比较采用 LSD-t 检验。

2 结果

2.1 各组大鼠逃避潜伏期、跨越平台次数的比较

表 1 示,给药前其余各组与正常组大鼠比较逃避潜伏期均明显增长($P < 0.05$),而跨越平台次数

表 1 各组大鼠给药前后逃避潜伏期、跨越平台次数的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	逃避潜伏期(s)		跨越平台次数(次)	
		给药前	给药后	给药前	给药后
正常组	8	21.40±6.11	10.61±4.30 [#]	6.13±2.53	9.75±3.01 [#]
模型组	9	54.60±12.88 [*]	50.11±9.07 [△]	5.44±1.51	6.67±2.12 [△]
西药组	9	54.65±11.79 [*]	30.23±6.14 ^{△▲#}	5.00±1.85	8.13±2.75
中药高剂量组	8	53.02±15.70 [*]	22.19±5.55 ^{△▲#}	5.20±2.57	9.10±1.37 ^{▲#}
中药中剂量组	9	54.65±17.13 [*]	34.00±6.78 ^{△#}	4.75±2.87	6.63±2.83 [#]
中药低剂量组	8	55.17±16.46 [*]	41.94±6.28 ^{△#}	3.67±1.50	6.78±1.99 ^{△#}

注:与正常组给药前比较,* $P < 0.05$;与正常组给药后比较,△ $P < 0.01$;与模型组给药后比较,▲ $P < 0.05$,▲▲ $P < 0.01$;与中药高剂量组给药后比较,# $P < 0.05$;与本组给药前比较,# $P < 0.05$

比较差异无统计学意义($P>0.05$)。除模型组外其余各组大鼠逃避潜伏期均较本组给药前明显缩短($P<0.05$);给药后其余各组与正常组大鼠比较逃避潜伏期明显增长($P<0.01$);给药后西药组、中药高剂量组、中药中剂量组大鼠逃避潜伏期较模型组缩短($P<0.05$ 或 $P<0.01$);并且中药高剂量组较中药中、低剂量组大鼠逃避潜伏期缩短($P<0.05$)。给药后模型组大鼠跨越平台的次数显著低于正常组($P<0.01$);除模型组和西药组外其余各组大鼠跨越平台次数较本组给药前明显增加($P<0.05$);中药高剂量组大鼠跨越平台的次数显著高于模型组和中药低剂量组($P<0.05$)。

2.2 各组大鼠 BrdU 阳性细胞分布及形态

海马神经发生的部位在颗粒细胞下层(SGZ),本实验观察到两个时间点的正常组大鼠海马齿状回偶见少量新生 BrdU 阳性细胞。在 BrdU 末次注射后 24 h,模型组大鼠 BrdU 阳性细胞主要分布于 SGZ,少数散布于门区,BrdU 阳性细胞颜色呈黄色或黄褐色,细胞核形态不规则,或数个聚集分布在一处,或两三个细胞粘连在一起;BrdU 注射后 28 d,BrdU 阳性细胞逐渐向颗粒细胞层和门区异常迁移,迁移的过程中胞核变大,着色变淡,胞核的形状更接近圆形或卵圆形。中药高剂量组、中药中剂量组和西药组较模型组异常迁移的 BrdU 阳性细胞数量减少,且胞核大,颜色变浅。其中以中药高剂量组明显减少,而中药低剂量组的 BrdU 阳性细胞分布与模型组无显著差异。

2.3 各组大鼠不同时间海马齿状回 BrdU 免疫组化评分的比较

表 2 示,24 h 时其余各组与正常组比较 BrdU 免疫组化评分均明显升高($P<0.01$),28 d 时模型组、中药低剂量组与正常组比较差异仍有统计学意义($P<0.01$)。与模型组比较,24 h 时中药高剂量组、西药组和 28 d 时中药高剂量组、中药中剂量组、

西药组 BrdU 免疫组化评分显著减少($P<0.05$ 或 $P<0.01$);28 d 时中药高剂量组免疫组化评分显著低于中药低剂量组($P<0.01$)。

2.4 各组大鼠 BrdU/DCX、BrdU/NeuN、BrdU/GFAP 的比较

各组均选 8 只大鼠进行检测。表 3 示,与正常组比较,模型组、西药组、中药中剂量组、中药低剂量组大鼠 BrdU/DCX、BrdU/NeuN 升高($P<0.05$ 或 $P<0.01$),中药高剂量组 BrdU/NeuN 高于正常组($P<0.01$)。西药组、中药高剂量组、中药中剂量组 BrdU/DCX、BrdU/NeuN 低于模型组($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。中药高剂量组 BrdU/NeuN 明显低于中药中、低剂量组($P<0.01$)。各组大鼠 BrdU/GFAP 比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。

表 2 各组大鼠不同时间海马齿状回 BrdU 免疫组化评分的比较(分, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	24 h	28 d
正常组	8	1.25±0.46	1.00±0.00
模型组	9	6.78±1.79*	5.67±1.58*
西药组	9	4.50±1.41*△	2.00±1.07△△
中药高剂量组	8	5.00±2.24*△	1.67±0.71△△
中药中剂量组	9	5.13±2.03*	3.00±1.41△
中药低剂量组	8	5.56±2.35*	4.78±1.39*▲

注:与正常组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$;与中药高剂量组比较,▲ $P<0.01$

3 讨论

我们认为,小儿癫痫伴认知障碍的病机关键在于肾精亏虚、风痰闭阻。苘菖胶囊以益肾填精、豁痰熄风立法,以从肾论治为原则。方中鹿茸为血肉有情之品,生精补髓、养血益阳;石菖蒲辛温芳香,豁痰理气,开窍宁神,两药合用,填精生髓,豁痰开窍,同为君药。菟丝子补肾益髓,配合鹿茸填精充髓,补脑益智;胆南星清化热痰、熄风定惊,合天麻、全蝎、僵蚕熄风止痉,化痰通络,共为臣药。清半夏燥湿化痰,陈皮理气健脾,茯苓健脾补中,配合石菖蒲、胆南

表 3 各组大鼠 BrdU/DCX、BrdU/NeuN、BrdU/GFAP 的比较(%, $\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	BrdU/DCX	BrdU/NeuN	BrdU/GFAP
正常组	8	38.83±8.34	42.69±4.75	45.08±3.30
模型组	8	52.47±3.22**	59.98±2.95**	47.25±2.85
西药组	8	44.40±3.90*△△	47.15±2.76*△△	47.98±2.04
中药高剂量组	8	43.98±1.82△△	49.93±6.38**△△	46.39±5.25
中药中剂量组	8	45.49±2.99*△△	55.36±3.04**△▲	46.60±2.05
中药低剂量组	8	49.54±6.47**	58.59±3.18**▲	47.10±7.35

注:与正常组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与模型组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$;与中药高剂量组比较,▲ $P<0.01$

星健脾顺气,涤痰开窍,共为佐药。用冰片者,一方面取其芳香走窜,开窍醒神;另一方面取其能有效促进药物透过血脑屏障,可领其他药物直达病所,是为佐使药。炙甘草甘平,调和诸药。诸药合用,共奏益肾填精、豁痰熄风之功。

本研究结果显示,PTZ 致癫痫大鼠空间学习记忆功能下降,直接表现为大鼠逃避潜伏期时间明显延长,中药中、高剂量组和西药组治疗后大鼠逃避潜伏期时间明显缩短,其中中药高剂量组逃避潜伏期较模型组、中药中剂量组、中药低剂量组明显缩短($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$);治疗后正常组大鼠逃避潜伏期较治疗前减少,说明随着鼠龄的增长,大鼠的学习记忆能力也增强。各组治疗前后自身比较,模型组大鼠逃避潜伏期、西药组和模型组大鼠跨越平台的次数差异无统计学意义($P > 0.05$),而中药高、中、低剂量组和正常组大鼠逃避潜伏期缩短、跨越平台的次数增多($P < 0.05$),表明苝苣胶囊对 PTZ 致癫痫大鼠发作导致的空间学习记忆损害有显著改善作用,高剂量效果更明显。

成年大鼠边缘叶点燃证实有学习记忆障碍,既然海马结构与哺乳动物学习记忆有关,海马齿状回颗粒细胞(DGCs)引起的神经网络改变可能是一个重要促进因素^[10]。本实验结果表明,PTZ 诱导幼年癫痫大鼠模型存在海马 BrdU 阳性细胞高表达现象,末次注射 24 h 后各癫痫组大鼠海马齿状回新生颗粒细胞较正常组显著增多($P < 0.01$)。经过苝苣胶囊或德巴金干预治疗,两个时间点中药高剂量组和西药组较模型组明显减少($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。说明苝苣胶囊可抑制反复癫痫发作大鼠诱导海马齿状回神经前体细胞增殖。

近年有学者采用 DCX 标记癫痫后未成熟神经元,发现新生的齿状回颗粒细胞形成的轴索在 CA3 区和齿状回内分子层中均参与了异常的 MF 重组^[11]。新生的神经细胞有助于神经发生,这些异位的新生颗粒神经元(齿状回内区和内分子层)的杂乱迁移可能在癫痫海马结构中起到 MF 重组作用^[12]。本研究结果表明,模型组大鼠海马 BrdU/DCX、BrdU/NeuN 的比率显著高于正常组($P < 0.01$)。西药组、中药中剂量组、中药高剂量组 BrdU/DCX 和 BrdU/NeuN 的比率显著低于模型组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),但对于 BrdU/GFAP 的比率无明显影响($P > 0.05$)。提示苝苣胶囊可以抑制癫痫模型组大鼠新生神经细胞迁移和分化,达到抑

制新生颗粒细胞异常杂乱迁移的作用,阻止异位神经元网络的形成,从而改善认知功能障碍。

参考文献

- [1] Parent JM, Yu TW, Leibowitz RT, et al. Dentate granule cell neurogenesis is increased by seizures and contributes to aberrant network reorganization in the adult rat hippocampus[J]. J Neurosci, 1997, 17(10): 3727—3738.
- [2] Scharfman HE, Goodman JH, Sollas AL. Granule-like neurons at the hilar/CA3 border after status epilepticus and their synchtony with area CA3 pyramidal cells; functional implications of seizure-induced neurogenesis[J]. J Neurosci, 2000, 20(16): 6144—6158.
- [3] Dudek FE. Seizure-induced neurogenesis and epilepsy; involvement of ectopic granule cells? [J]. Epilepsy Curr, 2004, 4(3): 103—104.
- [4] Parent JM, Elliott RC, Pleasure SJ, et al. Aberrant Seizure-induced neurogenesis in experimental temporal lobe epilepsy[J]. Ann Neurol, 2006, 59(1): 81—91.
- [5] Parent JM, Jessberger S, Gage FH, et al. Is neurogenesis reparative after status epilepticus? [J]. Epilepsia, 2007, 48(Suppl 8): 69—71.
- [6] 王丽. 大鼠戊四唑点燃模型的建立[J]. 药理学报, 1993, 28(7): 486—489.
- [7] Racine RJ. Modification of seizure activity by electrical stimulation. II. Motor seizure [J]. Electroencephalogr Clin Neurophysiol, 1972, 32(3): 281—294.
- [8] Li J, Takeda Y, Hirakawa M. Threshold of ischemic depolarization for neuronal injury following four-vessel occlusion in the rat cortex [J]. J Neurosurg Anesthesiol, 2000, 12(3): 247—254.
- [9] Soslow RA, Dannenberg AJ, Rush D, et al. COX-2 is expressed in human pulmonary, colonic, and mammary tumors[J]. Cancer, 2000, 89(12): 2637—2645.
- [10] Leung LS, Shen B. Hippocampal CA1 kindling but not long-term potentiation disrupts spatial memory performance[J]. Learn Mem, 2006, 13(1): 18—26.
- [11] Arisi GM, Garcia-Cairasco N. Doublecortin-positive newly born granule cells of hippocampus have abnormal apical dendritic morphology in the pilocarpine model of temporal lobe epilepsy[J]. Brain Res, 2007, 1165: 126—134.
- [12] Scharfman HE, Sollas AE, Berger RE, et al. Perforant path activation of ectopic granule cells that are born after pilocarpine-induced seizures[J]. Neuroscience, 2003, 121(4): 1017—1029.

(收稿日期: 2012—10—12; 修回日期: 2012—12—25)

[编辑: 邓 媛]