

通脑活络针刺疗法对大鼠急性脑梗死 Bcl-2 及 Caspase-3 的影响

张臻年 李继英 赵 杨 王敬卿 黄 迟 范刚启

摘要 **目的** 评价通脑活络针刺疗法对大鼠急性脑梗死 Bcl-2、Caspase-3 的影响。**方法** 将 264 只大鼠随机分为 5 组,分别为通脑活络针刺组(针刺组)72 只、溶栓组 72 只、体针组 72 只、缺血对照组 24 只、假手术组 24 只,其中针刺组、溶栓组、体针组、缺血对照组均选用造模成功大鼠。针刺、溶栓、体针 3 组又分别按发病时间不同分为 ≤ 1.5 h、 $1.5^+ \sim 2$ h、 $2^+ \sim 3$ h 3 个亚组。治疗后 6、24、72 h 分别进行神经行为学评分,并在 24、72 h 时点运用免疫组化法测脑组织 Caspase-3、Bcl-2 凋亡相关蛋白。**结果** 在神经功能评分改善方面:与本组治疗前比较,发病 < 2 h 内,针刺组和溶栓组治疗后 6 h 差异有统计学意义($P < 0.05$);发病 $2^+ \sim 3$ h 内,针刺组和溶栓组治疗后 24、72 h 差异均有统计学意义($P < 0.05$);发病在 3 h 内,针刺组在治疗后 24、72 h 差异均有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。在降低 Caspase-3、提高 Bcl-2 蛋白表达方面:发病在 $2^+ \sim 3$ h 内,针刺组和溶栓组治疗 72 h 后 Bcl-2 蛋白及 Caspase-3 蛋白差异均有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。**结论** 通脑活络针刺疗法在降低大鼠急性脑梗死神经行为学评分,降低 Caspase-3、提高 Bcl-2 蛋白表达有较好疗效。

关键词 通脑活络针刺疗法;急性脑梗死;时间窗;Bcl-2;Caspase-3

Effects of Tongnao Huoluo Acupuncture Therapy on Caspase-3 and Bcl-2 of Rats with Acute Cerebral Infarction ZHANG Zhen-nian, LI Ji-ying, ZHAO Yang, WANG Jing-qing, HUANG Chi, and FAN Gang-qi Department of Cerebral Diseases, Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Nanjing (210001), China

ABSTRACT **Objective** To evaluate effects of Tongnao Huoluo acupuncture therapy (THAT) on Bcl-2 and Caspase-3 rats with acute cerebral infarction (ACI). **Methods** Totally 264 SD rats were randomly divided into 5 groups, i.e. the THAT group ($n = 72$), the thrombolysis group ($n = 72$), the body acupuncture group ($n = 72$), the ischemia control group ($n = 24$), and the sham-operation group ($n = 24$). Successfully modeled rats were recruited in all groups except the sham-operation group. Rats in the THAT group, the thrombolysis group, and the body acupuncture group were divided into 3 subgroups according to the disease occurrence time, i.e., ≤ 1.5 h THAT group, $1.5^+ \sim 2$ h THAT group, and $2^+ \sim 3$ h THAT group. The neuroethological scores were assessed at 6, 24, and 72 h after treatment. The expressions of Bcl-2 and Caspase-3 were detected using immunohistochemical staining at 24 and 72 h respectively. **Results** In aspect of improving scores of neurological functions: At 6 h after treatment within 2 h after the disease occurrence, the neuroethological scores were lowered more obviously in the thrombolysis group than in the THAT group ($P < 0.05$). There was statistical difference at 24 and 72 h within 2 - 3 h after the disease occurrence between the THAT group and the thrombolysis group ($P < 0.05$). Compared with before treatment, there was statistical difference at 24 and 72 h within 3 h after the disease occurrence ($P < 0.05, P < 0.01$). In aspect of lowering the expression of Caspase-3 and elevating the expression of Bcl-2: There was statistical difference in lowering the expression of Caspase-3 and elevating the expression of Bcl-2 between the THAT group and the thrombolysis group at 72 h within 2 - 3 after the disease occurrence ($P < 0.05, P < 0.01$). **Conclusion** THAT showed favorable effects in lowering neuroethological scores, lowering expres-

基金项目:南京市重大医学课题项目(No. ZKX 0309)

作者单位:南京中医药大学第三附属医院脑病科(南京 210001)

通讯作者:李继英, Tel:025-52276604, E-mail:zhennian2000@163.com

sion of Caspase-3, and elevating the expression of Bcl-2 of ACI rats.

KEYWORDS Tongnao Huoluo Acupuncture Therapy; cerebral infarction; time window; Bcl-2; Caspase-3

大量的动物实验证实缺血性神经元损伤过程存在细胞凋亡后,凋亡相关基因和蛋白的研究也日趋深入^[1]。研究发现,Bcl-2 是重要的抑制神经元凋亡的蛋白,在缺血后注定要在存活的神经元中表达。Bcl-2 蛋白能够控制细胞内 Ca^{2+} 和自由基的堆积以及兴奋性氨基酸的毒性作用所致的神经细胞死亡,抑制线粒体释放促凋亡蛋白和细胞色素 C,促进脑缺血时蛋白质合成的早期恢复,使保护性基因的转录和翻译少受影响^[2]。细胞凋亡是一系列高度调控的半胱氨酸蛋白酶 Caspase 级联反应的结果,Caspase-3 处于凋亡的核心位置,凋亡的最后实施通过 Caspase-3 的激活而实现,Caspase-3 是凋亡过程中最重要的蛋白酶,是多种死亡受体介导凋亡途径的共同下游效应部分,为细胞凋亡蛋白酶级联反应的必经之路^[3],也是细胞凋亡的最终执行者^[4]。南京市中医院脑科曾于 2003 年采用通脑活络针刺治疗方法对急性脑梗死做过临床和实验研究,取得较好疗效^[5],2006 年 1 月—2009 年 10 月,我们联合江苏省 10 家三甲医院采用该法治疗脑梗死亦取得较好疗效^[6],本实验试图从分子机制探讨该法治疗急性脑梗死的神经保护作用机制。

材料与方法

1 动物 12 月龄 SD 大鼠,雄性;体重 280 ~ 300 g,SPF 级,由上海斯莱克实验动物有限责任公司提供,许可证号 SCXK(沪)2007-0005。使用南京中医药大学实验动物中心 SPF 级实验室,实验动物使用许可证 SYXK(苏)2007-0030。

2 药物及试剂 0.8% 戊巴比妥钠由上海西唐生物科技公司生产,批号:20070302;尿激酶由天津生物化学制药厂生产,10 000 U/支,批号:20070505;试验中所用一抗:兔抗人 Caspase-3 多克隆抗体(北京博奥森生物技术有限公司,产品编号:bsR-0081R);稀释浓度均为 1:200;鼠抗人 Bcl-2 单克隆抗体(Santa Cruz 公司,产品编号:SC-7382),稀释浓度均为 1:200;SP 即用型工作试剂盒由福州迈新生物技术开发有限公司提供。

3 仪器 PE 管,即 Polyethylene tubing 聚乙烯管,购自美国 INSTECH 实验室;1 寸华佗牌毫针购自苏州医疗器械厂;Axiovert 40CFL 显微镜(德国 IWISS);冰冻切片机(CM1850,德国莱卡)。

4 实验方法

4.1 栓子制备 参考 Bednar MM^[7] 和 Sereghy T^[8] 的方法制备栓子。在环境温度为 22 ~ 27 °C 下,另选健康大鼠用 0.8% 戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉,分离出股动脉、股静脉。向股动脉刺入长 10 cm,外径 0.7 mm PE 管套取动脉血。所取血样在 22 ~ 27 °C 下放置 2 h 后,再放入 4 °C 冷藏室 22 h,然后将血样推入盛有生理盐水消毒弯盘中,吸入长 20 cm,外径 0.7 mm 聚乙烯 PE 管连续反复在管中推、吸 5 min (约 200 次)后,将栓子再推入弯盘中,截成 1 μL 栓子,最后吸入充满生理盐水的外径 0.35 mm PE 管中,待用。

4.2 脑缺血动物模型建立 参考文献[9]。在环境温度为 22 ~ 27 °C 下,用 0.8% 戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉。取颈正中切口切开皮肤及皮下组织,分离右侧颈总动脉,充分暴露颈动脉三角、颈总动脉(CCA)、颈内动脉(ICA)、颈外动脉(ECA)及其分支,将动脉与周围的神经、筋膜细心游离开。烧灼断颈外动脉各分支:甲状腺上动脉、咽升动脉、枕动脉,游离 ICA 并牵拉开二腹肌肌腹,暴露翼腭动脉,在翼腭动脉起始处以丝线结扎。以动脉夹关闭 CCA 近端、ICA 远端;以丝线结扎 ECA 远端,断开 ECA;将 ECA 残段拉向 ICA 一致的方向,使 ICA、ECA 呈直线,向颈外动脉残段内送入已经含有栓子和生理盐水混悬液的外径 0.35 mm 的 PE 管,将其小心一直送入 ICA 内;继而开放 ICA 并向 ICA 内推入栓子和生理盐水混悬液 2 ~ 5 μL,确定栓子已顺利推入后,随即一边退 PE 管一边再用动脉夹关闭 ICA,然后拔除 PE 管、结扎 ECA 残段根部。最后依次开放 CCA、ICA 的动脉夹;记录栓塞时间。生理盐水冲洗局部后全层连续缝合切口。假手术组不推入栓子,而仅推入 5 μL 生理盐水。

4.3 判断模型是否成功 根据典型神经症状表现为精神萎靡,同侧霍纳氏症,对侧前肢下垂,内收内旋,并自发性向患侧转圈^[9]。术后观察症状,1 ~ 2 h 内有典型神经症状出现则为造模成功;2 h 内无典型神经症状出现则造模失败,将此例动物剔除。除假手术组外,所有入组大鼠均用造模成功大鼠完成。

4.4 分组 将 264 只大鼠随机分为 5 组,分别为针刺组(72 只)、溶栓组(72 只)、体针组(72 只)、缺血对照组(24 只)、假手术组(24 只),其中针刺组、

溶栓组、体针组、缺血对照组均选用造模成功大鼠。针刺、溶栓、体针 3 组又分别按发病时间不同分为： ≤ 1.5 h、 $1.5^+ \sim 2$ h、 $2^+ \sim 3$ h 3 个亚组。每组分别在治疗前及治疗后 6、24、72 h 进行大鼠神经功能缺损评分，并分别于 24、72 h 各随机处死一批（每批 6 只）大鼠，用免疫组化法检测 Bcl-2、Caspase-3。

4.5 治疗方法 针刺组：用通脑活络针刺法，即头针+体针。头针：百会、双侧风池、人中、太阳、病灶侧运动区；体针：屈池、合谷、足三里、三阴交。取穴参照《实验针灸学》^[10]进行取穴，每日 1 次，每次留针 30 min，每针捻转 100 r/min，捻 2 次（进针后、出针前），各 1 min；溶栓组：大鼠中动脉梗死后按 10 000 U/kg 尿激酶在 20 min 内从尾静脉缓慢注射。体针组：屈池、合谷、足三里、三阴交，针刺手法、时间同针刺组。

5 观察项目及检测方法

5.1 动物死亡情况。

5.2 神经功能缺损评分 在造模后 6、24、72 h 分别按文献^[9,11]的方法，在栓塞后不同时间，对动物进行 5 分制神经行为学评分。标准：(1)无神经功能损伤，计 0 分；(2)不能完全伸展左前肢：提鼠尾离开地面约 30 cm，左前肢表现为腕屈曲、肘屈曲、肩内旋或兼而有之者，计 1 分；(3)自发向左侧转圈，计 2 分；(4)将动物置于光滑平面上，行走时向左侧倾倒，或轻推肩部时即向左侧倾倒，计 3 分；(5)不能自发行走，或意识丧失，计 4 分。分数越高，动物的行为障碍越严重。

5.3 Bcl-2、Caspase-3 凋亡相关蛋白检测 采用免疫组化法。在造模成功后 24、72 h 时点，分别将各组大鼠深度麻醉后开胸，夹闭腹主动脉，从心脏至升主动脉先快速灌注 37℃生理盐水 150 mL，再灌注 4%多聚甲醛 150 mL，断头取脑，置于 4%多聚甲醛液中固定 4 h，然后放入 30%蔗糖中，4℃冰箱过夜至组织块沉底。将组织块取出放入 -20℃恒温冰冻切片机中从视交叉前缘向后作连续切片，片厚 7 μ m。取相同层面切片分别做 Bcl-2 和 Caspase-3 免疫组化染色。免疫组化采用链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶连接法（SP 法），DAB 显色，细胞浆着棕黄色者为阳性细胞。

6 统计学方法 所有实验数据采用 SPSS 13.0 统计软件处理，计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示，多组间的比较采用单因素方差分析；组间 24、72 h 的两两比较采用 LSD 检验， $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1 动物脑梗死后各组存活情况比较 除假手术组在规定时间内无死亡外，其余各组均有大鼠在规

时间内死亡。针刺组共死亡 5 只，其中 6 h 死亡 2 只、24 h 死亡 2 只、72 h 死亡 1 只；溶栓组共死亡 13 只，分别为 8、4、1 只；体针组共死亡 8 只，分别为 3、3、2 只；缺血对照组共死亡 9 只，分别为 4、3、2 只。

2 各组不同时段神经功能评分比较（表 1）在发病 ≤ 1.5 h 内，与本组治疗前比较，针刺组与溶栓组在治疗后 6、24、72 h 差异均有统计学意义（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ），体针组在治疗后 24、72 h 差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ）。在发病 $1.5^+ \sim 2$ h 内，与本组治疗前比较，针刺组与溶栓组在治疗后 6、24、72 h 差异均有统计学意义（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ），体针组在治疗后 24、72 h 差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。在发病 $2^+ \sim 3$ h 内，与本组治疗前比较，针刺组、溶栓组与体针组在治疗后 24、72 h 差异均有统计学意义（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ）。与缺血对照组同时间段比较，针刺组在治疗后 24、72 h 差异均有统计学意义（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ）。溶栓组在发病 2 h 内，治疗后 6、24、72 h 差异均有统计学意义（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ）。体针组在发病 ≤ 1.5 h 内，治疗后 24、72 h 差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ）；在发病 $1.5^+ \sim 2$ h 内，治疗 72 h 差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。与体针组同时间段比较，针刺组在治疗 24、72 h 差异均有统计学意义（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ）；溶栓组在发病 < 2 h 内，治疗后 6、24、72 h 差异均有统计学意义（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ）。与溶栓组同时间段比较，针刺组在发病 < 2 h 内，治疗后 6 h 差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ），在发病 $2^+ \sim 3$ h 内，针刺组治疗 24、72 h 差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。

3 各组不同时段 Bcl-2、Caspase-3 蛋白表达比较（表 2）与缺血对照组比较，发病在 2 h 内，针刺组与溶栓组在治疗 72 h 后 Bcl-2 蛋白表达及 Caspase-3 蛋白表达差异均有统计学意义（ $P < 0.01$ ）；在发病 $2^+ \sim 3$ h 内，针刺组治疗 72 h 后 Bcl-2 蛋白及 Caspase-3 蛋白差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）；体针组在发病 ≤ 1.5 h 内，治疗 72 h 后 Bcl-2 蛋白及 Caspase-3 蛋白差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ），在发病 $1.5^+ \sim 2$ h 内，只有 Bcl-2 蛋白在治疗后 72 h 差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。与体针组同时间段比较，发病在 2 h 内，针刺组与溶栓组在治疗 72 h 后 Bcl-2 蛋白及 Caspase-3 蛋白差异均有统计学意义（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ），在发病 $2^+ \sim 3$ h 内，只有针刺组治疗 72 h 后 Bcl-2 蛋白及 Caspase-3 蛋白差异有统计学意义（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ）。与溶栓组同时间段比较，发病在 $2^+ \sim 3$ h 内，针刺组治疗 72 h 后 Bcl-2 蛋白及 Caspase-3 蛋白差异均有统计学意义（ $P < 0.05$ ， $P < 0.01$ ）。

表 1 各组不同时段点 CSS 评分比较 (分, $\bar{x} \pm s$)

组别	时间	n	CSS 评分			
			治疗前	治疗后 6 h	24 h	72 h
针刺	≤1.5 h	24	2.83 ± 0.10	2.35 ± 0.33 *▲	1.36 ± 0.18 **△△○○	0.96 ± 0.17 **△△○
	1.5 ⁺ ~ 2 h	24	2.83 ± 0.06	2.44 ± 0.26 *▲	1.80 ± 0.09 *△○	1.56 ± 0.05 **△△○
	2 ⁺ ~ 3 h	24	2.83 ± 0.09	2.52 ± 0.24	2.16 ± 0.24 *△○▲	1.99 ± 0.06 **△○▲
溶栓	≤1.5 h	24	2.83 ± 0.09	1.74 ± 0.33 *△△○○	1.24 ± 0.12 **△△○○	0.98 ± 0.19 **△△○
	1.5 ⁺ ~ 2 h	24	2.82 ± 0.10	1.88 ± 0.29 *△○	1.79 ± 0.14 *△○	1.52 ± 0.08 **△△○
	2 ⁺ ~ 3 h	24	2.82 ± 0.10	2.51 ± 0.08	2.46 ± 0.20 *	2.44 ± 0.07 *
体针	≤1.5 h	24	2.86 ± 0.07	2.48 ± 0.28	2.13 ± 0.21 *△	1.50 ± 0.08 **△△△
	1.5 ⁺ ~ 2 h	24	2.83 ± 0.11	2.54 ± 0.24	2.38 ± 0.24 *	2.06 ± 0.09 *△
	2 ⁺ ~ 3 h	24	2.84 ± 0.10	2.53 ± 0.14	2.44 ± 0.23 *	2.41 ± 0.08 *
缺血对照		24	2.84 ± 0.06	2.65 ± 0.20	2.51 ± 0.08	2.46 ± 0.08
假手术		24	0	0	0	0

注:与本组同期治疗前比较, *P < 0.05, **P < 0.01; 与缺血对照组同时段比较, △P < 0.05, △△P < 0.01; 与溶栓组同期同时段比较, ▲P < 0.05, ▲▲P < 0.01; 与体针组同期同时段比较, ○P < 0.05, ○○P < 0.01

表 2 各组不同时段 Bcl-2、Caspase-3 蛋白表达比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	Bcl-2(个/HD)		Caspase-3(个/HD)	
		24 h	72 h	24 h	72 h
针刺	≤1.5 h	47.38 ± 2.17(6)	33.68 ± 4.08(6) **▲▲	22.76 ± 3.28(6)	11.91 ± 2.90(6) **▲▲
	1.5 ⁺ ~ 2 h	35.55 ± 3.62(6)	24.53 ± 2.74(6) **▲	30.86 ± 2.70(6)	22.68 ± 2.73(6) **▲▲
	2 ⁺ ~ 3 h	25.76 ± 3.63(6)	18.77 ± 3.13(6) *△▲	41.44 ± 3.24(6)	30.66 ± 3.60 *△△▲▲
溶栓	≤1.5 h	48.38 ± 3.76(6)	34.86 ± 3.26(6) **▲▲	21.83 ± 3.36(6)	12.47 ± 4.03(6) **▲▲
	1.5 ⁺ ~ 2 h	36.84 ± 5.47(6)	25.50 ± 3.70(6) **▲	31.66 ± 3.00(6)	23.44 ± 4.04(6) **▲▲
	2 ⁺ ~ 3 h	15.18 ± 3.53(6)	12.72 ± 3.13(6)	58.28 ± 4.17(6)	40.78 ± 3.61(6)
体针	≤1.5 h	29.19 ± 3.01(6)	26.40 ± 3.08(6) **	43.33 ± 3.58(6)	35.61 ± 3.09(6) *
	1.5 ⁺ ~ 2 h	22.45 ± 2.29(6)	19.66 ± 4.18(6) *	51.10 ± 3.40(6)	42.45 ± 3.24(6)
	2 ⁺ ~ 3 h	14.52 ± 4.12(6)	13.63 ± 2.57(6)	58.77 ± 4.11(6)	41.80 ± 2.87(6)
缺血对照		14.46 ± 3.35(12)	12.59 ± 2.83(12)	60.61 ± 4.14(12)	42.72 ± 3.23(12)
假手术		50.48 ± 3.45(12)	48.65 ± 3.21(12)	12.48 ± 2.65(12)	10.65 ± 2.63(12)

注:与缺血对照组同时段比较, *P < 0.05, **P < 0.01; 与溶栓组同期同时段比较, △P < 0.05, △△P < 0.01; 与体针组同期同时段比较, ▲P < 0.05, ▲▲P < 0.01; 所有表中数量均为每 10 个高倍视野(×400)显微镜下阳性细胞数的算术平均值; () 内数据为鼠数

讨 论

本研究利用 SD 大鼠制作的大脑中动脉血栓栓塞性脑梗死动物模型对通脑活络针刺疗法治疗急性脑梗死的机制进行了研究,证实了针刺对急性脑梗死大鼠具有治疗和保护作用,并能较溶栓治疗延长时间窗。

目前认为,缺血性脑血管病的治疗主要是早期血管再通和挽救可逆性缺血半暗带区^[12]。凋亡是缺血半暗带中细胞死亡的主要形式,未得到及时再灌注及脑保护治疗的半暗带区,缺血细胞转变为凋亡细胞是持续存在的动态过程。神经元凋亡机制复杂,涉及多种抑制和促进凋亡的因素。脑缺血后神经元死亡是一个极其复杂的病理过程。研究结果表明缺血后神经元死亡主要表现为坏死和凋亡两种形式,分别涉及主动

和被动细胞死亡机制^[3]。在脑缺血急性期,神经元坏死与凋亡并存,细胞坏死位于缺血中心区,细胞凋亡主要出现在缺血半暗带;而在脑缺血的迟发性神经元死亡期,则以细胞凋亡为主。凋亡可能决定了最终梗死体积。细胞凋亡是在生理和病理条件下的一种主动死亡方式,是受细胞内基因和一些细胞外因子调控的生物学过程。研究发现,脑的缺血耐受可能是通过增加 Bcl-2 蛋白的表达,抑制细胞凋亡,挽救神经细胞,避免发生选择性迟发性神经细胞死亡^[2]。Caspase-3 属于半胱氨酸蛋白酶家族,是涉及细胞凋亡的蛋白酶。Caspase-3 通过降解细胞内相应的底物导致细胞死亡,它的激活是触发凋亡的关键,故有“分子开关”之称^[13]。研究发现,Caspase-3 参与了脑缺血后神经细胞损伤的病理过程,因其在凋亡的最终共同效应通

路上起着关键的作用而倍受重视^[14]。从本实验可以得出以下结论:(1)在有效时间窗内(<2 h),针刺组与溶栓组在降低神经行为学评分、降低 Caspase-3、提高 Bcl-2 蛋白表达有相同的疗效;(2)在 2⁺~3 h 时间窗以内,通脑活络针刺组疗效优于溶栓组,说明通脑活络针刺法较溶栓治疗延长了治疗时间窗;(3)尽管在 2 h 内通脑活络针刺疗法与溶栓治疗效果相当,但溶栓组出血率及死亡率均较前者明显增高;(4)各时间段内,针刺组疗效优于体针组;(5)发病 2 h 内,治疗后 6 h,溶栓组神经功能缺损评分低于针刺组可能与溶栓的即刻效应有关;(6)本实验中对 Bcl-2 和 Caspase-3 的观察时点只设在 24、72 h,若另设 48 h、7 d 为观察时点,则更有利于观察上述指标的动态变化,将更为详尽的阐释急性脑梗死的病理生理变化;(7)本实验证实通脑活络针刺法较溶栓治疗延长了治疗急性脑梗死的时间窗,今后研究的重点可进一步扩大时间窗至 4、5、6 h,这将为临床上通脑活络针刺法治疗急性脑梗死的时间窗问题上提供更为翔实的实验依据。

参 考 文 献

- [1] 罗嘉,方志平,周黎明,等.红花注射液对大鼠局灶性脑缺血后梗死体积和神经元凋亡相关蛋白 Bcl-2、Caspase-3 表达的影响[J].中国中药杂志, 2004, 29(10): 52-55.
- [2] Williams AJ, Ling G, Berti R, et al. Treatment with the snail peptide CGX-1007 reduces DNA damage and alters gene expression of c-fos and bcl-2 following focal ischemic brain injury in rats [J]. *Exp Brain Res*, 2003, 153(1): 16-26.
- [3] Du Y, Dodel RC, Bales KR, et al. Involvement of a Caspase-3-like cysteine protease in 1-methyl-4-phenyl pyridinium-mediated apoptosis of cultured cerebellar granule neurons [J]. *J Neurochem*, 1997, 69(6): 1382-1388.
- [4] 张在强,龙洁,李小玲.局灶性脑缺血神经细胞 DNA 损伤与修复机制探讨[J].中国病理生理杂志, 2003, 19

(3): 383-385.

- [5] 李继英,彭宇竹,杨芳,等.通脑活络针刺法治疗超早期急性期脑梗死临床观察[J].中国中西医结合杂志, 2003, 23(10): 736-739.
- [6] 李继英,赵杨,张臻年,等.通脑活络针刺疗法对急性期脑梗死患者 BI、NIHSS 评分的影响[J].中国中西医结合杂志, 2011, 31(1): 28-31.
- [7] Bednar MM, Mcauliffe T, Raymond SJ, et al. Tissue plasminogen activator reduces brain injury in rabbit model of thromboembolic stroke [J]. *Stroke*, 1990, 21(12): 1705-1709.
- [8] Sereghy T, Overgaard K, Boysen G. Neuroprotection by excitatory amino acid antagonist augments the benefit of thrombolysis in embolic stroke in rats [J]. *Stroke*, 1993, 24(11): 1702-1707.
- [9] Zea Longa E, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [10] 李忠仁.实验针灸学[M].第2版.北京:中国中医药出版社, 2007:255-257.
- [11] Belayev L, Alonso OF, Busto R, et al. Middle cerebral artery occlusion in the rat by intraluminal suture. Neurological and pathological evaluation of an improved mode [J]. *Stroke*, 1996, 27(4): 1616-1623.
- [12] Oostveen JA, Dunn E, Carten DB, et al. Neuroprotective efficacy and mechanisms of novel pyrolopyrimidine lipid preoxidation inhibitors in the gerbil forebrain ischemia model [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1998, 18(3): 539-541.
- [13] Yuan J, Yanker BA. Apoptosis in the nervous system [J]. *Nature*, 2000, 407(6): 802-809.
- [14] Lossi L, Tamagno L, Merighi A, et al. Molecular morphology of neuronal apoptosis: analysis of Caspase-3 activation during postnatal development of mouse cerebellar cortex [J]. *Mol Histol*, 2004, 35(5): 621-629.

(收稿:2012-04-18 修回:2012-07-28)