

失荅刺知丸对大鼠脑缺血再灌注损伤脑组织 海马区 Fas 和 FasL 表达的影响

左艳丽¹, 贾孟辉^{2,3*}, 于凌志¹, 苏丹¹, 李占涛¹

(1. 宁夏医科大学 中医学院, 银川 750004; 2. 银川市第一人民医院, 银川 750001;
3. 回医药现代化省部共建教育部重点实验室, 银川 750004)

[摘要] **目的:**观察失荅刺知丸对大鼠脑缺血再灌注损伤脑组织海马区死亡因子(Fas),死亡因子受体(FasL)蛋白和 Fas mRNA, FasL mRNA 表达的影响,探讨失荅刺知丸抑制海马区神经元细胞凋亡的作用机制。**方法:**将 108 只 SPF 级 SD 雄性大鼠适应性喂养 1 周后,按照随机数字表法分为 6 组:假手术组,脑缺血再灌注模型组(以下简称模型组),金纳多组,失荅刺知丸低剂量组,失荅刺知丸中剂量组,失荅刺知丸高剂量组,根据再灌注时间的不同,再分为 12, 24, 72 h 3 个亚组,每个亚组 SD 大鼠 6 只。脑缺血再灌注模型采用改良线栓法阻塞大鼠大脑中动脉(MCA)制成,术后 2 h 进行再灌注。金纳多组、失荅刺知丸低剂量组、失荅刺知丸中剂量组、失荅刺知丸高剂量组分别在制作脑缺血-再灌注模型前 30 min 给予相应药物第 1 次灌胃,以后每天灌胃 2 次,失荅刺知丸:低剂量 11.92 g·kg⁻¹,中剂量 23.83 g·kg⁻¹,高剂量 47.66 g·kg⁻¹;金纳多浓度 14.44 g·kg⁻¹,鼠灌胃容积为 10 mL·kg⁻¹;假手术组、模型组按同样方法予以等量蒸馏水灌胃,每组 3 个亚组在给药时间分别持续 12, 24, 72 h 后取材。通过蛋白免疫印迹(Western blot)以及实时荧光定量聚合酶链式反应(Real-time PCR)的方法,观察失荅刺知丸对脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织海马区 Fas, FasL 蛋白及 Fas, FasL mRNA 表达的影响。**结果:**与假手术组比较,模型组及各用药组各时间点 Fas, FasL 表达明显增高($P < 0.01$);与模型组比较,各用药组各时间点 Fas, FasL 表达明显减少($P < 0.01$);与金纳多组比较,失荅刺知丸中剂量组 Fas, FasL 表达无显著性差异,失荅刺知丸高剂量组各时间点 Fas, FasL 表达有所减少($P < 0.05$, $P < 0.01$),尤以 72 h 组减少明显($P < 0.01$)。**结论:**失荅刺知丸对脑缺血再灌注损伤具有较好保护作用,其机制可能与抑制海马区神经细胞凋亡有关。

[关键词] 失荅刺知丸; 脑缺血再灌注; 死亡因子; 死亡因子受体

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)13-0137-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2016130137

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160512.1616.020.html>

[网络出版时间] 2016-05-12 16:16

Effects of Shida Lazhi Wan on Fas and FasL Expression in Rat Brain After Cerebral Ischemia Reperfusion

ZUO Yan-li¹, JIA Meng-hui^{2,3*}, YU Ling-zhi¹, SU Dan¹, LI Zhan-tao¹

(1. Traditional Chinese Medicine School, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, China;
2. The First People's Hospital of Yinchuan, Yinchuan 750001, China; 3. Provincial and Ministerial-level
Key Laboratory for Modernization of Hui Medicine Under China's Ministry, Yinchuan 750004, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of Shida Lazhi Wan (SDLZW) on Fas and FasL protein and mRNA expressions in the hippocampus of brain tissues of ischemia-reperfusion injury rats. **Method:** One week after the adaptive feeding, 108 SPF SD rats were divided into 6 groups according to random number table method;

[收稿日期] 20150908(022)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81260568);银川市科技攻关项目(2012017)

[第一作者] 左艳丽,在读硕士,从事中医药、回族医药防治心脑血管疾病的理论和临床研究, Tel:15008673736, E-mail:524023671@qq.com

[通讯作者] *贾孟辉,硕士生导师,主任医师,从事回族医药、中医药防治心脑血管疾病的理论及临床研究, Tel:18395183903, E-mail: JJJ94330@163.com

control group, ischemia-reperfusion model group (hereinafter referred to as model group), Jinnaduo group, SDLZW low dose group, SDLZW middle dose group, SDLZW high dose group. Based on different reperfusion time, these groups were further divided into 12, 24, 72 h subgroups, with 6 SD rats in each subgroup. Cerebral ischemia-reperfusion model was established by using the modified rat middle cerebral artery (MCA) occlusion method, and reperfusion was performed 2 h after the operation. Jinnaduo group, SDLZW low dose group, SDLZW middle dose group, SDLZW high dose group were given with the corresponding drugs by gavage for the first time 30 min before making cerebral ischemia-reperfusion model, and later administered for 2 times a day with the SDLZW (low dose $11.92 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, SDLZW middle dose $23.83 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, SDLZW high dose $47.66 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$) and Jinnaduo (Ginkgo biloba extract, dose $14.44 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$), with the gavage volume of $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, control group and model group were given by gavage with distilled water according to the same method. Brains were collected from each of the three subgroups after 12, 24, 72 h. Western blot and Real-time PCR method were adopted to observe the effects of SDLZW on Fas and FasL protein and mRNA expressions in rat brains after cerebral ischemia-reperfusion.

Result: Compared with the control group, the expression of Fas and FasL in the model group and all of treatment groups were increased at each time point ($P < 0.01$), compared with the model group, Fas and FasL expressions at each time point in observed group were reduced ($P < 0.01$), compared with the Jinnaduo group, the SDLZW middle dose group showed no significant difference in Fas and FasL expressions, and the SDLZW high dose group showed decreases in Fas and FasL expressions ($P < 0.05$, $P < 0.01$), especially obviously reduced in the 72 h group ($P < 0.01$). **Conclusion:** SDLZW has a good protection on cerebral ischemia-reperfusion injury, and its mechanism may be related to inhibition of apoptosis of hippocampus.

[Key words] Shida Lazhi pills; ischemia reperfusion; Fas; FasL

缺血可以引起脑组织发生局限性或弥漫性的脑功能障碍,诱发神经细胞凋亡和坏死,导致脑组织损伤,进而对神经功能造成影响^[1]。现代医学研究表明^[2],脑缺血发生后,神经细胞凋亡的数量决定着脑组织的梗死体积,并直接关系到疾病的转归和预后。因此,尽早地采取有效的抑制和减少神经细胞的凋亡的方法,可挽救半暗带区神经细胞发生凋亡,降低脑组织损伤的程度及范围,对脑缺血疾病的转归具有决定性的重大意义^[3]。回族医学作为民族医学的重要分支,在脑卒中后脑组织的保护、神经功能的恢复等方面有着丰富的经验,并且取得了一定的成果^[4-5]。《回回药方》失荅刺知丸是回医药治疗脑缺血性疾病的传统、经典方药,本课题组前期的系列实验研究业已表明:失荅刺知丸可以激活 PI3K-AKT 通路的活性,上调 PI3K 和 AKT 的表达,抑制神经细胞凋亡;同时可以减少神经毒性,减轻炎症反应^[6]。死亡因子/死亡因子受体 (Fas/FasL) 是目前研究较为清楚的死亡受体信号转导通路,在正常大脑中维持免疫抑制状态,当脑缺血发生后, Fas 与 FasL 交联,参与并促进脑缺血再灌注所引起的脑组织损伤^[7]。本实验为进一步探讨失荅刺治丸抑制海马区神经元细胞凋亡的作用机制,开展了失荅刺治丸对大鼠脑缺血再灌注损伤脑组织海马

区 Fas 和 FasL 表达水平的实验研究。

1 材料

1.1 动物 健康 SD 大鼠, 108 只, SPF 级, 雄性, 体重 (280 ± 20) g, 由宁夏医科大学实验动物中心提供, 合格证号 SCXK(宁)2011-0001。

1.2 药品

1.2.1 失荅刺知丸 出自《回回药方》, 原方组成为柴胡 37.3 g, 黑诃子 37.3 g, 芦荟 74.6 g, 延胡索 7.46 g, 石菖蒲 7.46 g, 番盐 7.46 g, 药西瓜 11.19 g, 松茸 11.19 g, 安息香 11.19 g, 阿魏 11.19 g, 砂糖 18.65 g, 干姜 3.73 g, 胡椒 3.73 g, 荜拔 3.73 g, 白芥子 3.73 g, 芸香 3.73 g, 巴豆 11.19 g, 共计 264.83 g, 将生药材(除阿魏外)置于 2 648 mL 的双蒸水内浸泡 60 min, 大火煎煮至沸腾后(阿魏后下), 移至小火保持微沸状态再煎煮 30 min, 过滤药液; 将药渣再兑进 2 118 mL 的双蒸水, 浸泡 30 min, 大火煎煮至沸腾后移至小火保持微沸状态再煎煮 30 min, 过滤药液, 合并 2 次药液, 放置于恒温水浴锅中分别浓缩至低剂量 $11.92 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 中剂量 $23.83 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 高剂量 $47.66 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 置于 4 °C 冰箱备用。

1.2.2 金纳多 即银杏叶提取物(德国威玛舒培公司, 进口药品注册证号 H20090296), 临用前配制成 $14.44 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的混悬液。

1.3 试剂 全蛋白抽提试剂盒, SDS-PAGE 凝胶电泳试剂盒, 蛋白免疫印迹 (Western blot) 检测试剂盒 (中国南京凯基生物科技发展有限公司, 批号分别为 KGP250, KGP113, KGP1201); Fas, FasL, 山羊抗兔抗体 (中国武汉博士德生物工程有限公司, 批号分别为 BA0484, BA0049, BA1003); Trizol 试剂盒 (美国 Invitrogen 公司, 批号 15596-026)。

1.4 仪器 164-5051 PowerPac™ 型基础电泳仪电源 (美国 Bio-Rad), 7500 型实时荧光定量聚合酶链式反应 (Real-time PCR) 循环仪 (美国 Applied Biosystems, Gene Amp), UV-2450 型紫外光度仪 (日本 Shimadzu), BOXChemiXR5 型凝胶成像分析系统 (英国 Syngene), 5024R 型高速冷冻离心机 (德国 Eppendorf), THZ-312 型台式恒温振荡器 (上海精宏实验设备有限公司), JY-CX2A 型电泳仪 (北京君意东方)。

2 方法

2.1 分组 108 只大鼠采用随机数字表法进行分组, 随机分为假手术组、模型组、金纳多组、失荅刺知丸低、中、高剂量组, 每组又分为 12, 24, 72 h 3 个亚组, 每个亚组 6 只大鼠。

2.2 给药 SD 大鼠给药量为 $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$, 金纳多组、失荅刺知丸低剂量组、失荅刺知丸中剂量组、失荅刺知丸高剂量组分别给予相应药物, 于造模前 30 min 第 1 次灌胃, 以后每天 2 次, 直至取材; 假手术组、模型组给予相应剂量的蒸馏水, $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。

2.3 动物模型制备 参照改良的 Longa 法^[8], 利用线栓阻塞大鼠大脑中动脉, 造成脑缺血 2 h 后再灌注模型。10% 的水合氯醛 $30 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 腹腔注射麻醉大鼠, 仰卧位, 沿颈部正中中线切开, 依次钝性分离左侧颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉, 将直径为 0.24 mm 的线栓自颈外动脉小切口处插入至颈内动脉, 直至感到轻微阻力, 长度约为 $(18 \pm 2) \text{ mm}$, 用手术缝合线将颈外动脉小切口和线栓尾端一起结扎, 阻断血流 2 h 后实行再灌注, 待大鼠清醒后进行神经功能评分, 评分 ≥ 2 分者作为模型成功标准。假手术组钝性剥离颈内外动脉后缝合伤口。

2.4 取材 各组分别于术后 12, 24, 72 h 取材。麻醉后迅速断头, 置于冰浴内快速剥离脑组织, 放置于蜡板上切取左侧大脑海马区, 放入冻存管内, 保存于液氮中。

2.5 Western blot 法检测 将冻存组织取出, 进行全蛋白提取, 取适量样品上清进行 SDS-PAGE 电泳, 转膜后分别加一抗 (1:200)、二抗, 加入化学发光试

剂, 使用 G:BOX chemiXR5 成像, 使用 Gel-Pro32 软件对结果进行灰度分析。

2.6 Real-time PCR 检测 取待测脑组织, 按 Trizol 试剂盒说明提取脑组织总 RNA, 并测定总 RNA 的含量和纯度。根据总 RNA 的含量, 合成 cDNA 第一链, 以此为模板在荧光定量 PCR 循环仪 (美国 ABI Step one plus Real time-PCR system) 上进行扩增, 同时以无 cDNA 的反应体系为阴性组, 引物由南京凯基生物公司设计, 序列如表 1, 反应条件为: $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 预变性 5 min, $95 \text{ }^\circ\text{C}$ 变性 15 s, $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 退火 2 s, $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 延伸 40 s (依次循环 40 次), $72 \text{ }^\circ\text{C}$ 5 min, 最后利用软件分析得到 C_t 值和拷贝数。

表 1 Real-time PCR 引物序列

Table 1 Primer sequence of Real-time quantitative PCR

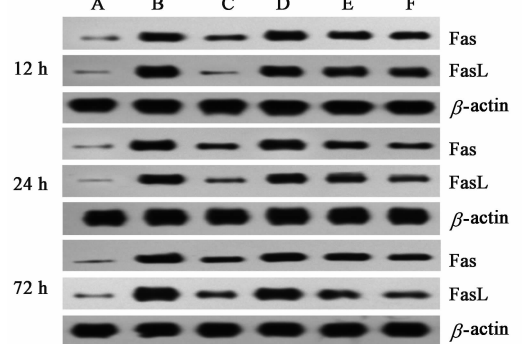
引物	引物序列	长度/bp
Fas	上游 5'-GGCTTAGTGATTGCATCTCGTT-3'	114
	下游 5'-AGGGTCTCTGTCTCCTTTTGT-3'	
FasL	下游 5'-AGGGTCTCTGTCTCCTTTTGT-3'	137
	下游 5'-TGGGGTTGGCTATTTGCTT-3'	

2.7 统计学处理 采用 SPSS 19.0 进行统计学分析, 多组样本均数之间的比较采用单因素方差分析, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 为差别具有统计学意义。

3 结果

3.1 对大鼠术后海马区 Fas, FasL 蛋白表达的影响

结果显示假手术组各时间点 Fas, FasL 的表达均为最低; 模型组各时间点 Fas, FasL 的表达均为最高; 较模型组比较, 各用药组 Fas, FasL 的表达均降低; 较阳性药物组比较, 失荅刺知丸中剂量组没有显著性差别, 而失荅刺知丸高剂量组的 Fas 和 FasL 表达减少明显, 且 3 个时间点的减少均十分显著。见图 1, 表 2。



A. 假手术组; B. 模型组; C. SDLZW 高剂量组; D. SDLZW 低剂量组; E. SDLZW 中剂量组; F. 金纳多组

图 1 失荅刺知丸对大鼠术后海马区 Fas, FasL 蛋白表达的影响
Figure 1 Effects of SDLZW on Fas, FasL protein expressions of hippocampus after ischemia-reperfusion in rats

表 2 失荅刺知丸对大鼠术后海马区 Fas 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 2 Effects of SDLZW on Fas and FasL protein grey value of hippocampus after ischemia-reperfusion in rats ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Fas			FasL		
		12 h	24 h	72 h	12 h	24 h	72 h
假手术	-	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.02 ± 0.00	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01	0.03 ± 0.01
模型	-	0.37 ± 0.02 ¹⁾	0.48 ± 0.02 ¹⁾	0.15 ± 0.02 ¹⁾	0.42 ± 0.03 ¹⁾	0.51 ± 0.04 ¹⁾	0.38 ± 0.02 ¹⁾
金纳多	14.44	0.15 ± 0.02 ^{1,2)}	0.25 ± 0.03 ^{1,2)}	0.19 ± 0.01 ^{1,2)}	0.24 ± 0.02 ^{1,2,3)}	0.30 ± 0.02 ^{1,2,3)}	0.24 ± 0.03 ^{1,2,3)}
SDLZW	11.92	0.30 ± 0.01 ^{1,2,3)}	0.38 ± 0.01 ^{1,2,3)}	0.35 ± 0.02 ^{1,2,3)}	0.31 ± 0.03 ^{1,2,3,4)}	0.38 ± 0.02 ^{1,2,3,4)}	0.32 ± 0.02 ^{1,2,3,4)}
	23.83	0.17 ± 0.03 ^{1,2)}	0.25 ± 0.05 ^{1,2)}	0.19 ± 0.03 ^{1,2)}	0.20 ± 0.02 ^{1,2,4)}	0.32 ± 0.03 ^{1,2,4)}	0.23 ± 0.02 ^{1,2,4)}
	47.66	0.09 ± 0.01 ^{1,2,3)}	0.16 ± 0.02 ^{1,2,3)}	0.07 ± 0.03 ^{1,2,3)}	0.14 ± 0.01 ^{1,2,3)}	0.21 ± 0.01 ^{1,2,3)}	0.16 ± 0.04 ^{1,2,3)}

注:与假手术组比较¹⁾ P < 0.01;与模型组比较²⁾ P < 0.01;与金纳多组同时时间点比较³⁾ P < 0.01;与高剂量组同时时间点比较⁴⁾ P < 0.01。

3.2 对大鼠术后海马区 Fas, FasL mRNA 表达的影响 模型组 12, 24, 72 h Fas mRNA 和 FasL mRNA 的表达水平均显著高于假手术组和各用药组,其中 Fas mRNA 和 FasL mRNA 在 24 h 时的表

达水平为最高;与金纳多组比较,失荅刺知丸高剂量组 12 h 和 72 h 时 Fas mRNA 的表达水平降低明显,12, 24 h FasL mRNA 的表达水平降低明显。见表 3。

表 3 失荅刺知丸对各组大鼠术后海马区 Fas, FasL mRNA 表达的定量分析 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 3 Quantitative analysis of Fas and FasL mRNA expressions in hippocampus of rats after ischemia-reperfusion ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/g·kg ⁻¹	Fas			FasL		
		12 h	24 h	72 h	12 h	24 h	72 h
假手术	-	0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.08 ± 0.01	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.02	0.16 ± 0.02
模型	-	3.43 ± 0.26 ¹⁾	4.83 ± 0.38 ¹⁾	3.41 ± 0.22 ¹⁾	3.25 ± 0.13 ¹⁾	4.62 ± 0.17 ¹⁾	3.20 ± 0.15 ¹⁾
金纳多	14.44	1.01 ± 0.05 ^{1,2)}	1.57 ± 0.17 ^{1,2)}	0.99 ± 0.12 ^{1,2)}	1.00 ± 0.04 ^{1,2)}	1.55 ± 0.10 ^{1,2)}	1.02 ± 0.07 ^{1,2)}
SDLZW	11.92	2.66 ± 0.13 ^{1,2,3)}	3.40 ± 0.19 ^{1,2,3)}	2.84 ± 0.17 ^{1,2,4)}	2.64 ± 0.13 ^{1,2,3)}	3.38 ± 0.12 ^{1,2,3)}	2.59 ± 0.14 ^{1,2,3)}
	23.83	2.10 ± 0.17 ^{1,2)}	2.85 ± 0.14 ^{1,2,3)}	1.93 ± 0.12 ^{1,2)}	2.11 ± 0.31 ^{1,2)}	2.67 ± 0.09 ^{1,2,3)}	2.00 ± 0.12 ^{1,2)}
	47.66	0.70 ± 0.05 ^{1,2,3)}	1.41 ± 0.15 ^{1,2,3)}	0.76 ± 0.08 ^{1,2,4)}	0.89 ± 0.53 ^{1,2,3)}	1.35 ± 0.11 ^{1,2,3)}	0.75 ± 0.06 ^{1,2,4)}

注:与假手术组比较¹⁾ P < 0.01;与模型组比较²⁾ P < 0.01;与金纳多组同时时间点比较³⁾ P < 0.05,⁴⁾ P < 0.01。

4 讨论

脑缺血再灌注损伤发生后,会产生一系列快速的级联反应,最终导致脑组织的损伤^[9]。其中,神经细胞的凋亡被认为是脑缺血再灌注损伤的主要环节,Fas 和 FasL 作为人体自身耐受机制的介导者、细胞凋亡的诱导者、免疫应答的控制者、免疫赦免的参与者^[10-11],在正常大脑中少量表达,在病变的神经系统中其表达增加^[12],当缺血性脑血管疾病发生时,参与并促进脑组织的损伤^[13]。有研究表明,Fas 和 FasL 主要通过 3 个途径交联诱发细胞凋亡:神经鞘磷脂途径,蛋白酶途径,Daxx(死亡结构域关联蛋白)途径,以上几个途径彼此交联,互相影响,推进着脑缺血再灌注损伤的进程。神经鞘磷脂途径:缺血再灌注损伤的外源性刺激后,Fas 死亡域与 FasL 相关的死亡域结合,激活酸性神经鞘磷脂酶,随之水解神经鞘磷脂而产生神经酰胺,通过应激反应,激活蛋白激酶(SAPK)和 Jun N 末端激酶,活化细胞色素 C 相关蛋白酶而启动凋亡的发生^[14]。细胞接受凋亡的信号刺激,FasL 与 Fas 结合并诱导 Fas 三聚化,其中的死亡域与死亡结构域相关蛋白(Fas associated death domain,FADD)结合,并将凋亡信号

传递给胱冬酶-8(Caspase-8),促使 Fas, FADD 和 Caspase-8 形成死亡诱导信号复合体(DISC),Caspase-8 进行自我剪切^[15],激活下游的 Caspase-3,6,7,导致细胞凋亡^[16]。Daxx 途径:细胞接受凋亡信号刺激后,Fas 的死亡域与 Daxx 的 C 末端 1 个功能区结合,通过激活 Jun N 末端激酶(JNK)途径而启动凋亡的发生。在多种应激情况下,Daxx 可以诱导 Fas 表达,引起细胞凋亡^[17]。以上 3 个途径相互联系,互相影响,诱导神经细胞凋亡,增大脑组织的梗死体积,加重患者的临床症状。

中国回族医药疗法属于绿色自然疗法之一,其作为民族医学的重要分支,丰富和完善了我国民族医学在脑部疾患的预防和治疗方面的经验。回族医学理论认为,脑藏于颅内,总司觉之力,占主要地位,起主导作用。冷(寒)胜,刷脑于阳外,妨碍“通”使传导能力,凝滞经络而不得通达于外,影响百体之知觉运动,神经-体液系统亦不得正常转输^[18]。

失荅刺知丸主要由柴胡、黑河子、芦荟、延胡索、石菖蒲、药西瓜、阿魏、安息香、干姜、胡椒、萆拔、白芥子、芸香等药组成,可“开缠肠肚风病,通经络”,具有芳香通窍,利痰化湿,祛寒通络的功效,用于治

疗中风后骨节疼痛,左瘫右痪,口眼歪斜,半身不遂等症。已有研究表明,失荅刺知丸能够通过抗炎,加强血管通透性,增强药物透过血脑屏障的能力,增加药物在脑组织内的蓄积时间,对抗缺血缺氧引起的神经元损伤,以达到保护脑组织,改善患者症状的作用^[19]。

本研究结果显示,脑缺血再灌注损伤后,海马区的凋亡细胞显著增加,于24 h达到高峰,72 h后下降,与文献报道一致^[20],与模型组比较,各治疗组凋亡细胞数量均下降,且不同浓度的失荅刺知丸下调水平有所差别,以失荅刺知丸高剂量组阻抑 Fas 和 FasL 表达效果明显,且72 h较12,24 h表达减弱明显,说明长期规律服用失荅刺知丸可以通过抗凋亡以达到有效治疗和缓解脑缺血再灌注损伤后引起的脑组织损伤。Fas 和 FasL 在脑组织缺血缺氧后,大量、快速表达以促进神经细胞凋亡,增大坏死体积,本实验研究结果表明,不同失荅刺知丸较模型组相比,能够明显下调海马区 Fas 和 FasL 蛋白表达及 Fas mRNA 和 FasL mRNA 的含量,与金纳多组比较,高剂量额失荅刺知丸下调水平更强,阻抑神经细胞凋亡效果更显著,说明失荅刺知丸可以通过阻断神经细胞凋亡而发挥保护脑组织的功用。由此可见,民族医药在预防和治疗脑部疾患方面具有肯定的疗效,值得大力开发推广和应用。

[参考文献]

[1] 2010中华医学会神经病学分会脑血管病学组急性缺血性脑卒中诊治指南撰写组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南[J]. 中国医学前沿杂志, 2011, 14(12B): 4013-4017.

[2] Kalinichenko S G, Matveeva N. Morphological characteristic of apoptosis and its significance in neurogenesis [J]. Morfologiia, 2007, 131(2): 16-28.

[3] 贾占红, 赵晖. 竹节参总皂苷对脑缺血大鼠神经细胞凋亡和即早基因表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21): 168-172.

[4] 李娟, 刘洋, 刘会贤, 等. 扎里奴思方对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠血脑屏障通透性的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(3): 114-117.

[5] 任非非, 刘敬霞, 朱万平, 等. 回族药扎里奴思方联合骨髓间充质干细胞移植对脑缺血再灌注大鼠神经元及 P-糖蛋白的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2015, 21(8): 125-131.

[6] 王佩佩, 贺晓慧, 刘耀龙, 等. 失荅刺知丸对脑缺血大鼠再灌注后神经功能缺损及脑组织 PI3-K 和 AKT 表达的影响[J]. 宁夏医科大学学报, 2014, 36(5): 473-477.

[7] 赵红, 张国锋, 张华, 等. 氟伐他汀对大鼠脑缺血再灌注损伤后 Fas 和 FasL 表达的研究[J]. 神经解剖学杂志, 2015, 31(1): 49-53.

[8] Zea Longa E, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without Craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1): 84-91.

[9] 史亚军, 施俊辉. 黄芩苷治疗缺血性脑损伤研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(7): 218-222.

[10] Nagarkatti N. Tumor-derived Fas Ligand induces toxicity in lymphoid organs and plays an important role in successful chemotherapy [J]. Cancer Immunother, 2000, 49(1): 46-55.

[11] Arbuckle E, Langlois N E, Eremin O, et al. Evidence for Fas counter-attack *in vivo* from a study of colorectal cancer[J]. Oncol Rep, 2000, 7(1): 45-47.

[12] 李国荣, 朱婉儿. Fas/FasL 和中枢神经系统疾病[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2007, 10(8): 133-136.

[13] Kalimicliencko S G, Matveeva N I. Morphological characteristic of apoptosis and its significance in neurogenesis[J]. Morfologiia, 2007, 131(2): 16-18.

[14] 刘影菊. 脑缺血再灌注后 Fas 及 FasL 在脑内表达的变化和氟桂利嗪的抑制作用[J]. 药学报, 2000, 35(11): 810-813.

[15] Der P, Cui J, Das D K. Role of lipid rafts in ceramide and nitric oxide signaling, in the ischemic and preconditioned hearts[J]. Mol Cell Biochem, 2006, 284(2): 313-320.

[16] Shi Y. Caspase activation: revisiting the included proximity model [J]. Cell, 2004, 117(7): 855-858.

[17] Wajant H. The Fas signaling pathway: more than paradigm [J]. Science, 2002, 296(5573): 1635-1636.

[18] 贺晓慧, 贾孟辉, 张茂, 等. 回医“汤瓶头疗法”治疗急性脑梗死 55 例临床观察[J]. 中国民族医药杂志, 2013, 12(12): 7-8.

[19] 贾孟辉, 王晓丽, 王佩佩, 等. 失荅刺知丸对中风恢复期患者血清 TNF- α 和 IL-6 水平干预作用的研究[J]. 中医药临床杂志, 2014, 26(5): 465-468.

[20] 郝久宽, 于维东, 白抚生, 等. 大鼠局灶性脑缺血再灌注后 Fas 表达与细胞凋亡关系的研究[J]. 脑与神经疾病杂志, 2001, 9(5): 272-273.

[责任编辑 邹晓翠]