

• 论著 •

生长激素释放肽对全脑缺血 / 再灌注损伤大鼠海马组织的保护作用及对谷氨酸 / γ -氨基丁酸敏感神经元放电活动的影响

张孟玲 孙向荣 郭菲菲 公衍玲 徐璐

266021 山东青岛, 青岛大学医学部病理生理教研室 (张孟玲、孙向荣、郭菲菲、徐璐); 266042 山东青岛, 青岛科技大学化工学院药剂教研室 (公衍玲)

通讯作者: 徐璐, Email: xu.luo@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.05.015

【摘要】 目的 探讨生长激素释放肽(Ghrelin)对全脑缺血/再灌注(I/R)大鼠海马神经元的保护效应及其作用机制。**方法** 按随机数字表法将雄性SD大鼠分为假手术(Sham)组、I/R组、生理盐水(NS)+I/R组和Ghrelin+I/R组,每组42只。夹闭双侧颈内动脉15 min、再灌注60 min制备全脑I/R模型;Sham组仅暴露颈动脉,不做任何处理。Ghrelin+I/R组、NS+I/R组于I/R前经侧脑室注射Ghrelin或NS 1 μ L。实验结束后取部分大鼠脑组织,采用化学比色法测定海马组织丙二醛(MDA)、髓过氧化物酶(MPO)和谷胱甘肽(GSH)水平,测量梗死面积,观察组织病理学改变。其余大鼠采用单细胞外记录神经元放电方法,分别观察海马CA1区谷氨酸(Glu)和 γ -氨基丁酸(GABA)敏感神经元(Glu-N、GABA-N)的放电活动。**结果** 与Sham组比较,I/R模型大鼠海马组织MDA、MPO显著增高,GSH显著降低,海马组织梗死面积明显增加,固缩神经元细胞数明显增多;而NS+I/R组与I/R组各指标比较差异均无统计学意义。与NS+I/R组比较,Ghrelin+I/R组海马组织MDA、MPO显著降低[MDA(nmol/g): 16.4 ± 4.2 比 24.5 ± 6.7 , MPO(nmol/g): 6.4 ± 1.8 比 10.2 ± 2.9 , 均 $P < 0.05$], GSH显著升高(μ mol/g: 2.65 ± 0.72 比 1.66 ± 0.50 , $P < 0.05$),海马组织梗死面积明显缩小[(43.9 ± 9.5)% 比 (77.0 ± 12.7)%, $P < 0.01$],固缩神经元细胞数明显减少(个: 36.2 ± 4.5 比 47.1 ± 6.1 , $P < 0.01$)。电生理研究结果显示,I/R模型大鼠海马CA1区Glu-N和GABA-N放电频率较Sham组明显增加;NS+I/R组Glu-N和GABA-N放电活动与I/R组比较差异无统计学意义。与NS+I/R组比较,Ghrelin+I/R组海马CA1区Glu-N放电频率(Hz)显著降低(缺血时: 3.81 ± 0.67 比 4.98 ± 0.33 ,再灌注时: 3.01 ± 0.37 比 3.77 ± 0.41 , 均 $P < 0.05$), GABA-N放电频率(Hz)显著增加(缺血时: 5.62 ± 0.54 比 3.62 ± 0.39 ,再灌注时: 4.81 ± 0.48 比 3.71 ± 0.21 , 均 $P < 0.05$)。**结论** 在I/R损伤过程中,Ghrelin对海马组织可能具有神经元保护效应,该效应可能与降低神经元兴奋性有关。

【关键词】 缺血/再灌注; 脑; 生长激素释放肽; 海马; γ -氨基丁酸; 谷氨酸

基金项目: 国家自然科学基金(81470815, 81270460, 81300281, 81500414); 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金(BS2014YY009); 山东省青岛市民生科技计划项目(14-2-3-3-nsh)

Ghrelin protects against hippocampal injury after global cerebral ischemia/reperfusion and regulate glutamic acid/ γ -aminobutyric acid sensitive neuron discharge Zhang Mengling, Sun Xiangrong, Guo Feifei, Gong Yanling, Xu Luo

Department of Pathophysiology, Qingdao University, Qingdao 266021, Shandong, China (Zhang ML, Sun XR, Guo FF, Xu L); Department of Pharmaceutics, Qingdao University of Science & Technology, Qingdao 266042, Shandong, China (Gong YL)

Corresponding author: Xu Luo, Email: Xu.luo@163.com

【Abstract】 Objective To observe the protective effect of ghrelin on hippocampal injury induced by global cerebral ischemia/reperfusion (I/R) and explore its effect mechanisms. **Methods** The male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into four groups, namely sham group, I/R group, normal saline (NS)+I/R group and Ghrelin+I/R group, with 42 rats in each group. The model of I/R was reproduced by clipping bilateral carotid artery of rats 15 minutes and then releasing them for 60 minutes. There were no challenges for rats in sham group, just exposed their carotid artery. Ghrelin+I/R group and NS+I/R group were challenged by injecting 1 μ L ghrelin or NS into lateral ventricle before I/R. Some of brain tissue in the rats was harvested after experiment to determine the levels of malonaldehyde (MDA), myeloperoxidase (MPO) and glutathione (GSH) in hippocampus by using chemical colorimetry and observe infarct sizes

and histopathology. Single extracellular neuron discharge in other rats was recorded to observe the activity of glutamic sensitive neurons (Glu-N) and γ -aminobutyric acid (GABA) sensitive neurons (GABA-N) in hippocampus CA1 region of rats suffered I/R. **Results** Compared with sham group, the levels of MDA and MPO in hippocampus of rats in the I/R group were raised markedly, the level of GSH was decreased significantly, the infarct sizes was increased significantly and pycnosis neurons were increased markedly. All sorts of indexes between NS+I/R group and I/R group showed no significantly statistical significance. Compared with NS+I/R group, the levels of MDA and MPO in hippocampus of rats in the Ghrelin+I/R group were decreased significantly [MDA (nmol/g): 16.4 ± 4.2 vs. 24.5 ± 6.7 , MPO (nmol/g): 6.4 ± 1.8 vs. 10.2 ± 2.9 , both $P < 0.05$], the activity of GSH was risen remarkably ($\mu\text{mol/g}$: 2.65 ± 0.72 vs. 1.66 ± 0.50 , $P < 0.05$), the infarct sizes of hippocampus were reduced markedly [$(43.9 \pm 9.5)\%$ vs. $(77.0 \pm 12.7)\%$, $P < 0.01$], the number of pycnosis neuron was reduced markedly (cells: 36.2 ± 4.5 vs. 47.1 ± 6.1 , $P < 0.01$). The results of electrophysiology showed that the discharge frequency of Glu-N and GABA-N in hippocampus CA1 region of rats in I/R group increased markedly as compared with sham group, and no significant difference in the discharge frequency of Glu-N and GABA-N between NS+I/R group and I/R group. Compared with NS+I/R group, injected ghrelin could make the discharge frequency of Glu-N in hippocampus CA1 region of rats decreased markedly (Hz: 3.81 ± 0.67 vs. 4.98 ± 0.33 at ischemia, 3.01 ± 0.37 vs. 3.77 ± 0.41 at reperfusion, both $P < 0.05$), and the discharge frequency of GABA-N increased markedly (Hz: 5.62 ± 0.54 vs. 3.62 ± 0.39 at ischemia, 4.81 ± 0.48 vs. 3.71 ± 0.21 at reperfusion, both $P < 0.05$). **Conclusion** Ghrelin might protect hippocampal neuron after I/R injury, and neuron excitability decrease might be related.

[Key words] Cerebral ischemia/reperfusion injury; Ghrelin; Hippocampal; γ -aminobutyric acid; Glutamic acid

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81470815, 81270460, 81300281, 81500414); Foundation for Outstanding Young Scientist in Shandong Province (BS2014YY009); Qingdao Science and Technology Bureau of Shandong Province (14-2-3-3-nsh)

缺血可引起能量消耗,最终将导致神经元死亡和脑损伤。缺血后再灌注损伤主要是由损伤组织的炎症反应引起^[1-2],即回流血液携氧供给损伤组织细胞,引起组织蛋白、DNA 和细胞膜损伤,随之氧自由基水平升高,最终导致细胞凋亡^[3]。机体可通过补充能量、降低谷氨酸盐兴奋毒性而改善急性神经元死亡和脑损伤^[4]。海马组织位于大脑中部,主要参与学习记忆、认知和沟通功能的调控。有文献报道,在缺血/再灌注(I/R)过程中,海马神经元凋亡增多,大鼠认知行为学发生改变^[5]。Kojima 等^[6]1999 年在大鼠胃内发现了一种内源性生长激素分泌激素受体的天然配体 Ghrelin(又称生长激素释放肽),其免疫活性神经元广泛分布于大脑中枢系统,参与能量平衡的调控^[7-9]。研究发现, Ghrelin 能剂量依赖性地减少大鼠心脏缺血导致的梗死面积,并抑制天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3(caspase-3)表达,减少心肌细胞凋亡^[10]。但是 Ghrelin 在海马区是否参与 I/R 损伤保护效应及其保护效应是否与神经元兴奋性改变有关鲜见报道。本研究通过测定大鼠海马组织生化指标,并采用单细胞外记录方法,观察海马 CA1 区谷氨酸(Glu)和 γ -氨基丁酸(GABA)敏感神经元放电活动,探讨侧脑室微量注射 Ghrelin 对脑 I/R 损伤大鼠海马组织神经元的保护效应及其作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及处理:健康雄性 SD 大鼠,体重 250 ~ 300 g,购于青岛市实验动物和动物实验中心,合格证号:SCXK(鲁)20030010。按随机数字表法将大鼠分为假手术(Sham)组、I/R 组、Ghrelin+I/R 组、生理盐水(NS)+I/R 组,每组 42 只。夹闭双侧颈内动脉 15 min、再灌注 60 min 制备全脑 I/R 模型; Sham 组仅暴露颈动脉 75 min,不做任何处理。Ghrelin+I/R 组、NS+I/R 组于 I/R 前经侧脑室注射 Ghrelin(购于美国 Phoenix 公司)或 NS 1 μL 。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.2 检测指标及方法:各组取 6 只大鼠,断头处死后取海马组织, $-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内储存用于生化指标测定。另取 6 只大鼠,采用等渗生理盐水进行心脏灌注致死,取脑组织,用于测定脑梗死面积和组织病理学观察;其余大鼠用于观察海马 CA1 区 Glu 和 GABA 敏感神经元放电活动。

1.2.1 生化指标测定:取 1 g 海马组织,匀浆后离心取上清液,采用化学比色法测定丙二醛(MDA)含量及髓过氧化物酶(MPO)、谷胱甘肽(GSH)活性,操作严格按试剂盒(青岛海智达生物科技有限公司)说明书进行。

1.2.2 梗死面积测定:将大脑切成 2 mm 的冠状缝切面,置于 0.2 mol/L 三羟甲基氨基甲烷缓冲液中,

用 1% 氯化三苯四唑在 37 °C 下孵育 20 min。存活细胞被染成红色,而梗死细胞则不着色或呈轻微淡黄色。计算梗死面积占全脑面积的百分比。

1.2.3 组织病理学观察:取脑组织置于 10% 甲醛溶液中,经石蜡包埋、5 μm 冠状缝切面、苏木素-伊红(HE)染色,光镜下随机测量 3 个脑片的固缩神经元细胞数,取均值。

1.2.4 细胞外放电记录:采用 2 支玻璃微电极(电极尖端总直径 3~10 μm ,电极阻抗 5~15 M Ω),其中一支作为记录电极,其内充灌 20 g/L 滂胺天蓝溶液,另一支充灌 2.8×10^{-8} mol/L Glu 或 2.5×10^{-8} mol/L GABA。通过监听器判断电极尖端进入空气与琼脂界面,用液压推进操纵器将微电极送至海马 CA1 区,经玻璃微电极由压力给药系统给药,观察神经元放电频率改变,超过 20% 作为神经元兴奋或抑制的标准。用 SUMP-PC 生物信号处理系统分析放电频率,并绘制出序列密度直方图。

1.2.5 组织学检查:细胞外放电记录实验结束后,微电极接阴极,无关电极接阳极,以 10 μA 直流通电 20 min,通过微电泳使电极内的滂胺天蓝泳入脑组织,标记微电极所在位置;先后用 NS 和 40 g/L 甲醛溶液经左心室灌注,快速断头取脑,置于甲醛溶液内浸泡、冠状切片、中性红染色,检查电极记录位置,位置不准确的数据不列入统计。

1.3 统计学分析:应用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析,数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间均数比较采用单因素方差分析,两组间均数比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组生化指标比较(表 1):与 Sham 组比较,I/R 组、NS+I/R 组 MDA、MPO 显著升高,GSH 显著降低(均 $P < 0.05$);NS+I/R 组各指标与 I/R 组比较差异无统计学意义。与 NS+I/R 组比较,Ghrelin+I/R 组 MDA、MPO 显著降低,GSH 显著升高(均 $P < 0.05$)。

2.2 各组梗死面积比较(表 2):与 Sham 组比较,I/R 组、NS+I/R 组海马梗死面积显著增加(均 $P < 0.01$);而 NS+I/R 组与 I/R 组比较差异无统计学意义。Ghrelin+I/R 组梗死面积较 NS+I/R 组减小($P < 0.01$)。

2.3 各组海马组织病理学改变比较(表 2):与 Sham 组比较,I/R 组、NS+I/R 组海马组织内固缩神经元细胞数明显增多(均 $P < 0.01$);而 NS+I/R 组与 I/R 组比较差异无统计学意义。Ghrelin+I/R 组固缩神经元细胞数较 NS+I/R 组明显减少($P < 0.01$)。

表 1 侧脑室微量注射 Ghrelin 对 I/R 大鼠海马生化指标的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	MDA (nmol/g)	MPO (nmol/g)	GSH ($\mu\text{mol/g}$)
Sham 组	6	15.4 $\pm$ 3.8	6.1 $\pm$ 1.9	2.76 $\pm$ 0.76
I/R 组	6	22.7 $\pm$ 6.3 ^a	9.8 $\pm$ 2.8 ^a	1.64 $\pm$ 0.51 ^a
NS+I/R 组	6	24.5 $\pm$ 6.7 ^a	10.2 $\pm$ 2.9 ^a	1.66 $\pm$ 0.50 ^a
Ghrelin+I/R 组	6	16.4 $\pm$ 4.2 ^b	6.4 $\pm$ 1.8 ^b	2.65 $\pm$ 0.72 ^b

注:Ghrelin 为生长激素释放肽,Sham 为假手术,I/R 为缺血/再灌注,NS 为生理盐水,MDA 为丙二醛,MPO 为髓过氧化物酶,GSH 为谷胱甘肽;与 Sham 组比较,^a $P < 0.05$;与 NS+I/R 组比较,^b $P < 0.05$

表 2 侧脑室微量注射 Ghrelin 对 I/R 大鼠海马梗死面积和固缩神经元细胞数的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	梗死面积 (%)	固缩神经元 细胞数(个)
Sham 组	6	33.4 $\pm$ 8.5	25.8 $\pm$ 5.7
I/R 组	6	76.8 $\pm$ 13.1 ^a	47.6 $\pm$ 6.6 ^a
NS+I/R 组	6	77.0 $\pm$ 12.7 ^a	47.1 $\pm$ 6.1 ^a
Ghrelin+I/R 组	6	43.9 $\pm$ 9.5 ^b	36.2 $\pm$ 4.5 ^b

注:Ghrelin 为生长激素释放肽,Sham 为假手术,I/R 为缺血/再灌注,NS 为生理盐水;与 Sham 组比较,^a $P < 0.01$;与 NS+I/R 组比较,^b $P < 0.01$

2.4 各组海马 CA1 区 Glu 敏感神经元(Glu-N)放电活动:侧脑室注射 Ghrelin(61 个 Glu-N)后,49 个 Glu-N(80.33%)放电频率由(2.33 $\pm$ 0.47)Hz 增至(2.71 $\pm$ 0.51)Hz,差异有统计学意义($P < 0.05$),与 NS+I/R 组(2.15 $\pm$ 0.57)Hz(47 个 Glu-N)相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。若侧脑室微量注射 Ghrelin 受体阻断剂[D-Lys-3]-GHRP-6 和 Ghrelin 混合物,则 Ghrelin 兴奋反应不再出现($P > 0.05$)。表 3 和图 1 显示,I/R 组、NS+I/R 组完全脑缺血时海马 Glu-N 放电频率较 Sham 组明显增加(均 $P < 0.05$),再灌注时 Glu-N 放电频率明显下降,但仍高于 Sham 组(均 $P < 0.05$)。Ghrelin+I/R 组缺血期间和再灌注时 Glu-N 放电频率均较 NS+I/R 组显著降低(均 $P < 0.05$)。

2.5 各组海马 CA1 区 GABA 敏感神经元(GABA-N)放电活动:侧脑室注射 Ghrelin(57 个 GABA-N)后,48 个 GABA-N(84.21%)放电频率由(2.31 $\pm$ 0.24)Hz 增至(3.12 $\pm$ 0.29)Hz,差异有统计学意义($P < 0.05$),与 NS+I/R 组(2.23 $\pm$ 0.34)Hz(35 个 GABA-N)相比差异有统计学意义($P < 0.05$)。若侧脑室微量注射 Ghrelin 受体阻断剂[D-Lys-3]-GHRP-6 和 Ghrelin

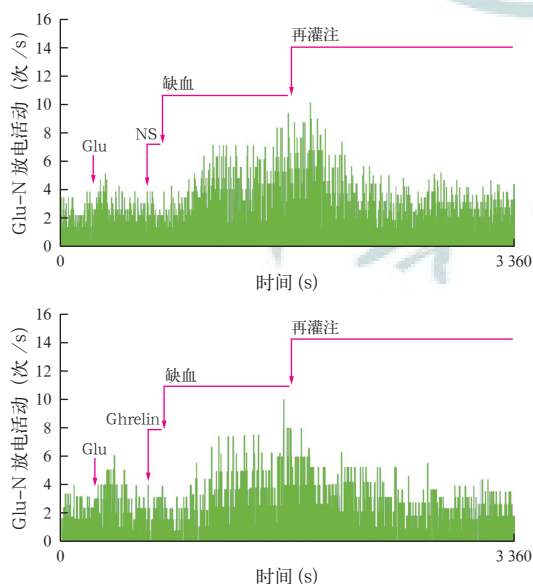
混合物,则 Ghrelin 兴奋反应不再出现($P>0.05$)。表 3 和图 2 显示, I/R 组、NS+I/R 组完全脑缺血时海马 GABA-N 放电频率较 Sham 组明显增加(均 $P<0.05$),再灌注时 GABA-N 放电频率虽明显下降,但仍高于 Sham 组(均 $P<0.05$)。Ghrelin+I/R 组缺血期间和再灌注时 GABA-N 放电频率均较 NS+I/R 组显著增加(均 $P<0.05$)。

表 3 侧脑室微量注射 Ghrelin 对 I/R 大鼠海马 CA1 区 Glu-N 和 GABA-N 放电活动的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	神经元数 (个)	Glu-N 放电频率(Hz)	
		缺血	再灌注
Sham 组	42	2.17 ± 0.53	2.25 ± 0.73
I/R 组	46	4.75 ± 0.82^a	3.82 ± 0.41^a
NS+I/R 组	47	4.98 ± 0.33^a	3.77 ± 0.41^a
Ghrelin+I/R 组	49	3.81 ± 0.67^b	3.01 ± 0.37^b

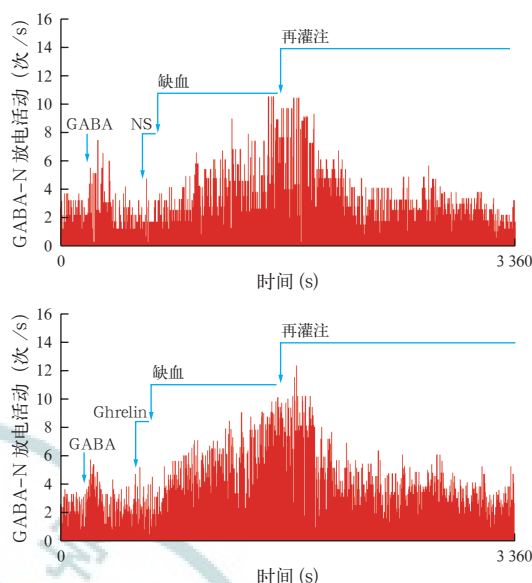
组别	神经元数 (个)	GABA-N 放电频率(Hz)	
		缺血	再灌注
Sham 组	43	2.27 ± 0.45	2.38 ± 0.21
I/R 组	42	4.22 ± 0.73^a	3.58 ± 0.31^a
NS+I/R 组	35	3.62 ± 0.39^a	3.71 ± 0.21^a
Ghrelin+I/R 组	48	5.62 ± 0.54^b	4.81 ± 0.48^b

注: Ghrelin 为生长激素释放肽, Sham 为假手术, I/R 为缺血/再灌注, NS 为生理盐水, Glu-N 为谷氨酸敏感神经元, GABA-N 为 γ -氨基丁酸敏感神经元;与 Sham 组比较, $^aP<0.05$;与 NS+I/R 组比较, $^bP<0.05$



注: Ghrelin 为生长激素释放肽, I/R 为缺血/再灌注, Glu-N 为谷氨酸敏感神经元, Glu 为谷氨酸, NS 为生理盐水; 上图为 NS+I/R 组, 下图为 Ghrelin+I/R 组

图 1 侧脑室微量注射 Ghrelin 对 I/R 大鼠海马 CA1 区 Glu-N 放电活动的影响



注: Ghrelin 为生长激素释放肽, I/R 为缺血/再灌注, GABA-N 为 γ -氨基丁酸敏感神经元, GABA 为 γ -氨基丁酸, NS 为生理盐水; 上图为 NS+I/R 组, 下图为 Ghrelin+I/R 组

图 2 侧脑室微量注射 Ghrelin 对 I/R 大鼠海马 CA1 区 GABA-N 放电活动的影响

3 讨论

I/R 使组织极易受到损伤,这主要是通过氧化应激引起炎症反应所致^[1]。在 I/R 过程中,氮氧化物可迅速起反应产生大量的超氧化物,形成过氧硝酸盐,进而导致细胞凋亡、空泡形成、核固缩。文献报道,缺血 6 min 后,大鼠海马神经细胞出现坏死^[11]。MDA 是膜质过氧化最重要的产物之一,其水平可反映机体细胞的受损程度^[12]。MPO 是中性粒细胞的功能标志和激活标志,在应激状态下, MPO 可导致氧化应激和氧化性组织损伤。GSH 作为机体一种重要的抗氧化剂,可清除体内的自由基,具有防御功能。本研究显示, I/R 组大鼠海马组织内 MDA 含量、MPO 活性、梗死面积和固缩神经元数量均显著增加,而 GSH 活性显著降低,提示 I/R 可能引起海马组织内氧化应激反应,细胞防御功能下降,导致组织损伤。Ghrelin+I/R 组大鼠海马组织内 MDA 含量、MPO 活性、梗死面积和固缩神经元数量均显著下降, GSH 显著升高,说明侧脑室微量注射 Ghrelin 后组织内氧自由基生成减少,使细胞防御功能增强,缓解了氧化应激对组织细胞的损伤。推测在 I/R 损伤中, Ghrelin 可能通过降低氧化应激反应,形成对大鼠海马组织的神经元保护效应。

Glu 是中枢内主要兴奋性神经递质之一,其释放与脑缺血时兴奋性毒性作用密切相关。GABA 是

脑内主要的抑制性氨基酸,其释放和受体激活有利于对抗脑缺血时兴奋性毒性作用,保护神经元不受损害。Glu 和 GABA 的动态平衡可对抗反复 I/R 引起的兴奋性氨基酸毒性作用^[13-14]。Glu 过度激活可以导致细胞内钙超载、一氧化氮(NO)增多等兴奋性毒性,造成神经元损伤^[15]。而 GABA 可以降低神经元活性,防止神经细胞过热,从而保护神经元,减轻损害^[16]。本研究进一步通过海马 CA1 区 Glu-N 和 GABA-N 单细胞外放电记录实验以探讨 Ghrelin 对 I/R 大鼠海马神经元保护效应的机制,结果发现 I/R 组海马 CA1 区 Glu-N 和 GABA-N 放电频率较 Sham 组明显增加,而 Ghrelin+I/R 组 Glu-N 放电频率较 I/R 组显著降低, GABA-N 放电频率则较 I/R 组进一步增加。提示 Ghrelin 可能通过提高 GABA 神经元活性,压抑 Glu 神经元,对抗脑缺血时兴奋性毒性作用,从而保护神经元,减轻损害。

综上,本研究显示, Ghrelin 在 I/R 损伤中具有显著的细胞保护效应,该效应可能与兴奋性氨基酸和抑制性氨基酸之间的动态平衡有关。

参考文献

- [1] 喻文, 罗红敏. 地塞米松可改善大鼠中暑引起的多器官功能障碍和损伤[J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (8): 638.
- [2] 李国福, 贾佳, 符加红, 等. 异氟烷预处理或后处理对大鼠局灶性脑缺血/再灌注损伤的影响[J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (6): 431-435. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.06.013.
- [3] Khaksari M, Aboutaleb N, Nasirinezhad F, et al. Apelin-13 protects the brain against ischemic reperfusion injury and cerebral edema in a transient model of focal cerebral ischemia [J]. J Mol Neurosci, 2012, 48 (1): 201-208. DOI: 10.1007/s12031-012-9808-3.
- [4] Dirnagl U, Iadecola C, Moskowitz MA. Pathobiology of ischaemic stroke: an integrated view [J]. Trends Neurosci, 1999, 22 (9): 391-397. DOI: 10.1016/S0166-2236(99)01401-0.
- [5] 冀翔宇, 刘然, 王世端, 等. 短暂性脑缺血再灌注损伤对老年大鼠神经功能的影响及其机制[J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32 (2): 352-355. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2015.02.049.
- [6] Kojima M, Hosoda H, Date Y, et al. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach [J]. Nature, 1999, 402 (6762): 656-660. DOI: 10.1038/45230.
- [7] Lu S, Guan JL, Wang QP, et al. Immunocytochemical observation of ghrelin-containing neurons in the rat arcuate nucleus [J]. Neurosci Lett, 2002, 321 (3): 157-160. DOI: 10.1016/S0304-3940(01)02544-7.
- [8] 伍万, 江荣林, 欧阳侃. 参附注射液对严重脓毒症大鼠促胃生长激素干预作用的机制研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2015, 22 (6): 596-600. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.06.011.
- [9] 丁明臣, 徐璐. 外侧隔核 ghrelin 对大鼠胃运动的调控及机制[J]. 青岛大学医学院学报, 2012, 48 (1): 1-4. DOI: 10.3969/j.issn.1672-4488.2012.01.001.
- [10] Alloatti G, Armoletti E, Bassino E, et al. Obestatin affords cardioprotection to the ischemic-reperfused isolated rat heart and inhibits apoptosis in cultures of similarly stressed cardiomyocytes [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2010, 299 (2): H470-481. DOI: 10.1152/ajpheart.00800.2009.
- [11] Smith ML, Auer RN, Siesjö BK. The density and distribution of ischemic brain injury in the rat following 2-10 min of forebrain ischemia [J]. Acta Neuropathol, 1984, 64 (4): 319-332.
- [12] 袁佳, 王迪芬, 刘颖, 等. 富氢水对创伤性脑损伤大鼠 Nrf2 表达及氧化应激损伤的影响[J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (11): 911-915. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.11.009.
- [13] 傅建华, 杜贵友. 天麻促智颗粒对反复脑缺血再灌注小鼠脑组织递质性氨基酸含量的影响[J]. 中国中药杂志, 2001, 26 (1): 53-55. DOI: 10.3321/j.issn.1001-5302.2001.01.019.
- [14] 曹春雨, 杜贵友, 左萍萍, 等. 天麻促智颗粒的脑保护机制研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26 (4): 269-272. DOI: 10.3321/j.issn.1001-5302.2001.04.017.
- [15] 曹建淳, 徐丹令, 陈斐, 等. 谷氨酸对大鼠海马神经元的神经毒性反应[J]. 上海铁道大学学报(医学辑), 2000, 21 (9): 13-15. DOI: 10.3969/j.issn.1008-0392.2000.09.005.
- [16] 李娜, 李志峰, 项辉, 等. 迷走神经刺激对脓毒症相关性脑病大鼠的保护作用[J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (6): 509-513. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.06.018.

(收稿日期: 2016-03-22)

(本文编辑: 保健媛, 李银平)