

· 基础研究 ·

脉冲磁场对脑缺血大鼠的作用及其 IGF-1 表达的变化*

魏 轶¹ 范建中^{1,2} 吴红瑛¹ 李 川¹

摘要 目的:研究脉冲磁场对脑缺血大鼠的作用及胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)表达的变化。**方法:**48只SD大鼠随机分为3组:假手术组、模型组和磁疗组,每组16只。模型组和磁疗组采用线栓法制备大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤模型,假手术组除不插线外其余步骤同模型组。磁疗组于缺血2h再灌注2h时即刻用脉冲磁场进行处理(0—10.5mT,频率50Hz,20min/次,1次/d)。每只大鼠于再灌注后第2小时、1天、3天、7天进行神经功能评分。脑缺血再灌注第7天时,各组取8只大鼠灌注,在视交叉前后1—3mm之间取脑片,光镜下观察病理改变,免疫组化法测IGF-1阳性表达。另8只断头取脑,TTC染色测脑梗死面积。**结果:**与模型组相比,磁疗组大鼠再灌注第7天时神经功能评分减少(0.31 ± 0.48) ($P < 0.05$);脑梗死面积显著缩小(11.8 ± 1.47) ($P < 0.05$);病理损害减轻,半暗带坏死区胶质细胞增生更加明显,形成胶质结节;大鼠皮质IGF-1免疫反应阳性细胞计数明显增多(32.48 ± 1.52) ($P < 0.05$)。**结论:**脉冲磁场可减轻大鼠的脑缺血性损伤,此作用可能与IGF-1的表达有关。

关键词 脑缺血再灌注;胰岛素样生长因子-1;磁场;大鼠

中图分类号:R743.3,R49 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2008)-10-0878-06

Effects of pulse magnetic field on brain injury and insulin-like growth factor-1 expression in rats with cerebral ischemia-reperfusion/WEI Yi, FAN Jianzhong, WU Hongying, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2008, 23(10): 878—883

Abstract Objective: To study the effects of pulse magnetic field on brain injury and insulin-like growth factor-1 (IGF-1) expression in rats with cerebral ischemia-reperfusion. **Method:** Forth-eight SD rats were divided into 3 groups: sham-operation group, model group and magnetic therapy group, 16 rats were in each group. The rats in model group and magnetic therapy group were established focal cerebral ischemia-reperfusion model by thread occlusion method. After ischemia 2h and reperfusion 2h the rats in magnetic therapy group were immediately treated by pulse magnetic field(0—10.5mT, 50Hz, 20min/times, 1 times/day, everyday till the rats were decapitated). The neurological function assessment was applied for every rat after reperfusion 2h, 1d, 3d, 7d. After reperfusion 7d, the changes of pathology, infarct size in brain tissue and IGF-1 expression, were observed. **Result:** Compared with model group, in magnetic therapy group, at the 7th d after reperfusion the neurologic deficit scores were significantly lessen (0.31 ± 0.48) ($P < 0.05$), the injury degree of neuron greatly reduced, the infarction area markedly decreased ($P < 0.05$), and the number of IGF-1 positive neuron increased significantly ($P < 0.05$). **Conclusion:** Pulse magnetic field can reduce the brain injury in rats with cerebral ischemia-reperfusion, this effects might be associated with IGF-1 expression.

Author's address Department of Rehabilitation Medicine, Nanfang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou, 510515

Key words cerebral ischemia-reperfusion; insulin-like growth factor-1; magnetic field; rat

胰岛素样生长因子1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1)是一种由肝脏分泌的多肽,它作为一种重要的神经营养因子,在神经组织的生长、分化、修复、再生中具有重要的作用。已有研究表明,正常脑组织即有低水平的IGF-1表达,脑缺血损伤后脑组织中表达增多。目前国内外关于IGF-1的脑损伤保护研究多应用外源性的IGF-1制剂,内源性调节IGF-1表达的相关报道较少。而磁场作为一种经典的物理疗法,已由大量基础研究和临床应用证实具有减轻脑损伤后遗症的作用。磁场对脑缺血再灌

注损伤的保护作用是否与干预IGF-1在脑中的表达有关尚不明了。本实验研究了脉冲磁场对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠脑中IGF-1表达的影响,探讨磁场对脑缺血再灌注损伤的保护与内源性IGF-1表达变化的影响。

* 基金项目:广东省医学科研基金课题(WSTJJ20061201440111196706108827)

1 南方医科大学南方医院康复医学科,广州,510515

2 通讯作者

作者简介:魏轶,女,在读硕士研究生

收稿日期:2007-11-14

1 材料与方 法

设计:随机对照实验研究

1.1 动物及分 组

体重 250—330g 的清洁级 SD 大鼠 48 只,雌雄各半,南方医科大学动物实验中心提供,质量合格证号:SCXK(粤)2006A051。室温、常湿饲养,普通饲料,自由饮水。根据是否制作脑缺血再灌注模型和是否给予磁疗处理,将大鼠随机分为 3 组:假手术组(16 只)、缺血再灌注模型组(16 只)和脉冲磁疗组(16 只)。每组动物中一半用于作 TTC 染色(triphenyltetrazolium chloride, TTC, 红四氮唑),另一半用于作 IGF-1 免疫组化和 HE 染色,全部纳入神经功能评分。

1.2 脑缺血动物模型的制备

参照廖维靖等^[1]的大脑中动脉线栓法制备大鼠局灶性脑缺血/再灌注模型。大鼠用 10% 水合氯醛(0.35ml/100g)腹腔注射麻醉,动物仰卧位固定于手术台上,颈部正中切口,长 1.6—1.9cm,暴露右侧颈总动脉(common carotid artery, CCA)和颈外动脉(external carotid artery, ECA),5/0 丝线结扎颈外动脉,分离与颈总动脉伴行的迷走神经,在距颈总动脉分叉处近端 0.5—0.6cm 处结扎颈总动脉,在结扎线的远端,置丝线备用。用微小动脉夹夹闭备用线远端的颈总动脉,在备用线的近端用眼科剪剪一小切口,将尼龙线栓送入切口(尼龙线直径 0.26mm,经显微操作烧制而成,头端膨大成球状,直径为 0.34±0.22mm,由北京沙东生物技术有限公司提供),向上推至动脉夹处,将备用线扎紧,随即松开动脉夹,将线栓沿颈总动脉,颈内动脉顺行向上插入至大脑中动脉(middle cerebral artery occlusion, MCA)起始部,遇阻力时停止。从颈总动脉分叉处计算插入深度(18—20mm),造成大脑中动脉血供阻断(middle cerebral artery occlusion obstruction, MCAO),缺血 2h 后,用乙醚再次麻醉,将线栓后拔退至颈总动脉,即恢复大脑中动脉的血供。造模时室温保持在 20—30℃,肛温维持在(37±0.5)℃,术后将动物置于放有清洁垫料的饲养盒,自由饮水。假手术组除不插入线栓外,其余步骤相同。

纳入及剔除标准:在规定缺血时限内(术后 2—3h)按 Zea Longa 5 分制评分标准^[2]评分:0 分,无神经损伤症状;1 分,不能伸展对侧前爪;2 分,向外侧划圈;3 分,向对侧倾倒;4 分,不能自发行走,意识丧失。因 1 分开始大鼠即有神经损伤症状并且经解剖发现有脑梗死灶形成,所以 1 分以上视为造模成功^[3]。如未出现左侧肢体瘫痪(0 分)或已死亡的动物

被剔除。随机补充剔除标本,保证最终纳入分析 3 组共 48 只。

1.3 处理方法和仪器

用脉冲磁疗仪(GMC-B 型脉冲磁疗仪,解放军总医院研制)于脉冲磁疗组动物术后 2h 即行磁疗处理。异名磁极对置于大鼠头部,磁矩 7—10cm,磁场强度 1 档(0—10.5mT),频率 50Hz,20min/次,共 7 次,磁疗后即行相应指标检测。

1.4 神经功能评分

术后第 2h、1d、3d、7d 对纳入分析的实验动物按上述评分标准进行神经功能评分。

1.5 TTC 染色

TTC 各组大鼠在脑缺血再灌注后第 7d 快速断头取脑,在-20℃冰箱冰冻 20min,从额极开始间隔约 2mm 冠状切片,切成约 7 片。去掉嗅球、小脑和低位脑干,迅速将脑片置于 2%TTC 溶液中(TTC 由美国 MBCHEM 公司提供)37℃恒温下避光染色 30min,置于 10%甲醛液中过液。经染色后非缺血区为玫瑰红色,梗死区为白色^[3]。对经 TTC 染色的脑组织切片数码摄像后,用医学图像分析软件测量照片上缺血部分积占整个脑组织切片的面积的百分比(%) (脑梗死面积百分比=缺血部分面积/整个脑组织切片面积×100%)。

1.6 HE 染色和免疫组化切片制备

在缺血再灌注第 7d 后,用 10%水合氯醛深麻醉动物(0.8ml/100g),暴露心脏,以 16 号穿刺针刺入左心室(针头经打磨处理防止穿透对侧心室壁),手术剪刀剪开右心耳,先用 100ml 生理盐水快速充洗体内血液,续用 10% 中性甲醛溶液 400ml 进行灌注固定,断头取脑,在视交叉前后 1—3mm 之间取脑片,用同一固定液后固定 6—8h。进行常规脱水、透明、石蜡包埋,冠状切片,片厚 5μm,切片贴附于预处理的载玻片上。相邻切片分别作 IGF-1 免疫组化染色和 HE 染色^[4]。

1.7 IGF-1 的检测

采用免疫组化染色方法进行组织中的 IGF-1 蛋白含量检测^[5]。制成的切片置于 65℃烤箱中烤 2—3h,然后脱蜡,蒸馏水洗 3min,用枸橼酸盐修复液(pH 值=6.0)于 1.2 个大气压下高压修复 3.5min,水浴冷却,蒸馏水洗 3min,置于 3% H_2O_2 中微波炉 350W 加热 3min 阻断内源性过氧化物酶,磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline, PBS) 中洗 5min×3 次,加一抗(由美国 NeoMarker 公司提供,天津津脉基因测绘技术有限公司分装的兔抗大鼠胰岛素样生长因子-1 多克隆抗体试剂盒,包装规格 200μl×

0.1ml, 使用稀释浓度 1:35) 于孵育盒中 4℃孵育 72h, 再次 PBS 中洗 5min×3 次, 加二抗羊抗兔-HRP 多聚体于室温孵育 30min (由北京中杉金桥生物技术有限公司提供的 PV6001 免疫组化兔二步法试剂盒), 再次 PBS 中洗 5min×3 次, DAB (3,3'-diaminobenzidine, 3,3'-二氨基联苯胺) 显色 (北京中杉金桥生物技术有限公司提供 DAB 试剂盒), 苏木素复染, 脱水, 透明, 封片。结果判定以胞浆近胞膜处呈棕黄色为阳性。高倍物镜下观测各组切片中的免疫反应阳性细胞, 随机选取每张切片右侧大脑皮质内 5 个非重叠视野, 计算每个视野的阳性细胞计数, 所得阳性细胞数取平均值。

1.8 统计学分析

所有资料经 SPSS11.5 统计软件进行统计学处理, 数据以均数±标准差表示, 数据采用 *t* 检验和方差分析, $P<0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 神经功能评分

假手术组动物未见行为学异常。模型组和磁疗组动物清醒后, 可见右眼眼裂变小, 站立不稳, 爬行时左后肢拖步并向右侧旋转。随着时间的延长, 两组动物行为均有所改变, 其神经功能评分见表 1。脑缺血再灌注后早期 (第 2h, 第 1d), 模型组和磁疗组神经功能评分比较没有显著性意义 ($P>0.05$)。随着时间的延长, 模型组神经损伤症状逐渐改善, 其中第 7d 分别与第 2h、1d、3d 时相的神经功能评分比较, 差异具有显著性 ($P<0.05$)。而第 2h、1d 和第 3d 之间相比, 无显著差异 ($P>0.05$)。磁疗组神经功能评分变化趋势和模型相似, 且第 3d 和第 2h、1d 相比, 差异也具有显著性 ($P<0.05$)。磁疗组和模型组相比, 第 2h 和第 1d 时神经功能评分无显著性差异 ($P>0.05$), 第 3d 时具有显著性差异 ($P<0.05$), 第 7d 时仍具有显著性差异 ($P<0.05$)。

表 1 脑缺血再灌注不同时期大鼠神经功能评分 ($n=16, \bar{x}\pm s$)

组别	缺血后再灌注时间			
	第 2 小时	第 1 天	第 3 天	第 7 天
模型组	2.25±0.86 ^①	2.44±0.81 ^①	2.06±0.85 ^①	0.88±0.81 ^①
磁疗组	2.31±0.70 ^②	2.63±0.62 ^②	1.44±0.51 ^③	0.31±0.48 ^③
<i>P</i>	0.823	0.469	0.018	0.023

假手术组均为 0; ①和同时间段假手术组比较 $P<0.05$; ②和同时间段模型组比较, $P>0.05$; ③和同时间段模型组比较 $P<0.05$

2.2 脑梗死灶面积

TTC 染色显示假手术组未发现梗死灶, 缺血再灌注模型组和磁疗组的梗死病灶主要位于右侧额顶叶皮质及尾状核、苍白球、壳核等区域 (图 1, 见前置彩色插页)。磁疗组的梗死灶面积为 (11.8±1.47), 明

显小于缺血再灌注模型组 (26.3±2.39) ($P<0.05$)。

2.3 HE 染色

光镜下观察, 假手术组大鼠大脑皮质神经细胞数目多, 形态结构清楚, 细胞排列规整。核深染, 核膜清晰, 核仁明显。高倍油镜下可见神经元细胞胞浆丰富, 呈灰蓝色斑块状, 表明尼氏体丰富。模型组半暗带坏死区结构紊乱, 组织染色变浅, 胶质细胞明显增生, 数量增多, 胶质细丝稀疏, 组织结构疏松, 部分神经元细胞核固缩, 胞体缩小变形, 残留的神经元细胞周围间隙增宽, 胞质红染、均匀, 可见鬼影细胞, 神经元细胞正常形态消失; 边缘区低倍镜下可见较多形态大致正常的神经元细胞, 胶质细胞无明显增生, 胶质细丝丰富, 组织颜色较深。在高倍镜下可见边缘区部分神经元细胞质染色淡染 (尼氏小体减少或消失)。磁疗组半暗带坏死区: 胶质细胞较模型组增生更加明显, 形成胶质结节, 出现噬神经现象 (仍可见残留萎缩的红色神经元细胞)。在高倍镜下可见边缘区神经元细胞胞浆蓝染, 颗粒状, 表明尼氏体丰富。神经元形态较规整, 核深染, 核仁清 (图 2, 见前置彩色插页)。

2.4 IGF-1 的表达

假手术组脑组织有低水平的 IGF-1 表达, 脑缺血再灌注后大脑皮质区 IGF-1 表达增多。IGF-1 阳性表达者在细胞胞浆近胞膜处可见棕黄色着色颗粒, 阳性细胞分布不均匀, 皮质区较密集。脑缺血再灌注第 7d 时, 模型组大鼠大脑皮质 IGF-1 免疫反应阳性细胞计数 (10.85±0.48) 与假手术组 (8.55±0.41) 相比有显著性差异 ($P<0.05$), 而磁疗组大鼠大脑皮质 IGF-1 免疫反应阳性细胞计数 (32.48±1.52) 又明显多于模型组 ($P<0.05$), 见图 3 (前置彩色插页)。

3 讨论

缺血性脑卒中是现代社会的常见病多发病。脑缺血初期, 大脑可通过自身调节获得一定的血流代偿, 当大脑局部缺血超出其代偿能力时就会产生缺血性损害。通过溶栓或侧支循环等使缺血区大脑血流恢复, 却会使原有的缺血性损伤加重, 产生再灌注损伤^[6-7]。如何保护神经细胞, 最大限度地减轻脑缺血和再灌注所带来的损伤, 提高生存率、减轻后遗症, 一直是研究的热点。磁场作为一种应用广泛的物理因子, 已被众多研究证实对脑缺血再灌注损伤有较好的保护作用。目前已被研究证实的作用机制主要有如下几方面: 改善血液循环状态; 抑制自由基; 促进神经生长因子的产生并延长其时限而对神经损

伤起保护作用等^[8-11]。据文献报道,恒磁场、旋磁场、脉冲磁场对脑缺血再灌注损伤均有保护作用,其中又以恒稳磁场和旋磁场的实验研究报道为多。有学者认为固定磁场因其相对静止性而缺少反复刺激变量^[12-13],所以在脑缺血动物实验中运用了旋磁和脉冲磁,并显示了这两种磁场作用优于固定磁场,尤以脉冲磁效果为佳,因此本研究选取了脉冲磁场作为实验工具。

在治疗参数及治疗次数的选择上,本研究参考了同类实验及临床报道的数据。张鸿日等^[14]将大鼠头部置于20mT、10Hz的低频脉冲磁场辐射45min,1次/d,连续4d,证实可减轻脑缺血再灌注后海马神经元的损伤及凋亡。黄乃艳等^[15]用0.4T、40Hz的脉冲磁场辐射大鼠头部15min,24h后取材检测发现该脉冲磁场能抑制缺血再灌注神经细胞的凋亡和c-fos的表达,减轻细胞损伤。罗二平等^[16]将小鼠暴露于强度分别为 10×10^{-4} 、 20×10^{-4} 、 30×10^{-4} T,15Hz的脉冲磁场中,发现三个磁疗组的血细胞比容、全血高切、低切表观黏度及红细胞聚集指数均明显低于对照组各项指标,以 10×10^{-4} 组的改善最为显著。因动物实验的磁场参数选择无统一规范,本研究又参考了临床治疗剂量。阳小云等^[17]用场强为5—7mT、频率50Hz的脉冲磁场治疗脑梗死患者,每次治疗30min,1/d,连续6d为1疗程,共4疗程,发现患者神经功能缺损程度显著减轻。本研究选择了与临床治疗剂量和次数接近的10.5mT,50Hz的脉冲磁场,20min/次,连续7d处理作为实验参数。

查阅文献并结合实际操作发现^[13],廖维靖法造模是从颈总动脉插入线栓,未分离和夹闭颈内动脉,亦不结扎翼腭动脉,结果显示有恒定的梗死灶形成,重复性好。与Zea Longa法和其他脑缺血造模法相比,具有难度小、手术更易施行、且不刺激气管、不分离颈内动脉,对血管的机械刺激限制在颈总动脉,对生理结构的损伤小等优点,所以本研究选择该法制作大鼠脑缺血模型。

既往的研究发现,在缺血2h以内随着缺血时间的延长,梗死灶面积随之增加,而超过2h梗死灶面积已达到或接近最大极限,即使再增加缺血时间,对梗死灶面积影响不大^[12]。故我们选择在大鼠脑缺血2h后进行再灌注。

有文献报道^[18-19],康复训练可促进脑缺血大鼠行为功能的改善,本实验观察到磁疗亦有此作用。磁疗组和模型组大鼠相比,早期的神经功能评分无显著性意义($P>0.05$),3d和7d时才具有显著性意义($P<0.05$)。模型组大鼠再灌注神经功能评分在组内各

时间点比较,7d时差异具有显著性意义($P=0.000$, $P<0.05$)。而磁疗组神经功能评分在3d时差异已具有显著性意义($P=0.000$, $P<0.05$)。提示7d时两组大鼠均有不同程度的神经功能恢复,脑缺血再灌注大鼠未经治疗也有自主修复,缓慢恢复神经功能的能力;但磁疗的介入可以缩短这一进程,早期保护尚未坏死的神经细胞,促进组织修复,且总体神经功能改善程度要优于模型组,从而改善脑缺血再灌注损伤的预后。

脑梗死面积测定显示造模成功,磁疗组大鼠的脑梗死面积较模型组显著减小($P=0.000$, $P<0.05$)。HE染色结果也显示与模型组相比,磁疗组大鼠胶质细胞增生更加明显,形成胶质结节,出现噬神经现象;高倍镜下可见边缘区神经元尼氏体丰富,细胞有活力。提示磁疗能够缩小梗死灶、减轻病理损害,早期提供神经保护,减轻缺血和再灌注损伤。这与以往的研究结果是一致的。早在1998年,郭云琴等^[12]就在实验中发现,旋磁和脉冲磁场作用于脑梗死大鼠后,两磁疗组大鼠病理切片均不见病灶,只见轻微缺血改变;磁疗组的梗死灶明显小于对照组,神经功能的缺失也明显恢复。该学者认为磁场能促进脑的血液循环,减轻脑水肿,缩短脑组织的缺血时间,所以能减轻脑的缺血性损伤,促进神经功能修复。黄乃艳等^[15]的研究也得出了相似的结果。

李志坚^[20]等证实,神经生长因子对大鼠脑缺血再灌注损伤具有保护作用。IGF-1是一种由70个氨基酸组成的单链多肽,分子量为7649KD,因结构上与胰岛素类似,有50%的氨基酸序列与胰岛素前体一样故得名。它也是一类重要的生长因子。体内多个组织合成并释放IGF-1,循环中的IGF-1主要由肝脏合成。血清中的IGF-1大多与IGF结合蛋白结合,游离型约占1%^[21-24]。运动可使大鼠血清IGF-1值升高^[25]。IGF-1及其受体在正常脑组织中即有少量表达,局灶性脑缺血后,IGF系统被激活上调,表达增加^[26]。我们在前期实验中观察到:正常脑组织有低水平的IGF-1表达,脑缺血再灌注后表达主要位于大脑皮质区,缺血再灌注2h后IGF-1表达即有明显升高,第1d时持续升高,至第3d时达高峰。与模型组对比差异均有显著性。这与Gustafson等^[27]发现缺血侧大脑半球IGF-1 mRNA在缺血后第3d明显增加的实验结果相符。Guan Jian等^[28]在动物实验中发现,在缺血后给予5—50 μ g IGF-1可以减少脑缺血大鼠神经元的坏死和脑梗死的发生率。还有研究者发现^[29],单侧颈动脉短暂结扎造成的短暂性脑缺血损伤后90min,缺血损伤区的IGF-1表达水平

升高,同时在大脑皮质、海马、纹状体及下丘脑等脑区出现了广泛的神经元缺失;而在缺血损伤后第2h经侧脑室注射 IGF-1,与对照组比较,神经元缺失明显减轻,以大脑皮质和齿状回最为明显,提示给予 IGF-1 可以挽救受损的神经元。

近年来国内外众多关于 IGF-1 的实验多为围绕外源性 IGF-1 的疗效和给药途径展开的研究,Liu Xin-Feng、赵赛等^[30-31]用经鼻给予 IGF-1 的方式,张鸿、王建平等^[32,4]采用尾静脉注射 IGF-1 的方式,车玉琴^[5]采用侧脑室钻孔给药的方式,均取得了 IGF-1 对于缺血性脑损伤有显著性神经保护意义的结果。

有文献报道^[33],用 0.8MHz,40W/cm² 的超声波连续波照射大鼠胚胎 5s 后,胚胎分泌的胰岛素样生长因子 2(IGF-II)显著减少,胚胎生长发育受到明显抑制。还有学者发现^[34],经高压氧治疗后,视网膜中央静脉阻塞眼内 IGF-1 含量显著升高。而氩氛激光照射能明显促进了 IGF-1 在兔正畸牙周组织张力区的表达^[35]。涂意辉等^[36]和周征等^[37]均发现脉冲电磁场能促进骨或软骨细胞中 IGF-1 的表达,从而促进骨质生长。现代细胞生物学研究认为,任何刺激信号都要通过特定的受体或离子通道等由细胞外传导到细胞内,再经过特定的细胞内信号传导途径,诱导核内的基因表达细胞的生物学效应^[38],这为物理因子调节内分泌因子的表达提供了理论基础。

本实验中脉冲磁场组大鼠大脑皮质区 IGF-1 表达较模型组明显增多,差异有显著性,表明磁疗可减轻大鼠的脑缺血性损伤,此作用可能与 IGF-1 的表达有关。磁场通过细胞内的第二信使上调 IGF-1 的表达从而改善了脑缺血损伤,还是磁场通过其他途径改善了脑缺血损伤从而使大脑中 IGF-1 表达增多,目前国内外尚无明确报道。本实验明确了磁疗对脑缺血损伤的保护作用且影响脑组织中 IGF-1 的表达,其具体作用机制还有待研究。

参考文献

- [1] 廖维靖,刘淑红,范明线,等.线栓阻断大鼠大脑中动脉制作缺血性脑损伤模型的改良[J].中华物理医学与康复杂志,2002,24(6):6345—6348.
- [2] Zea Longa EL, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1):84.
- [3] 张晓彪,王建伟,胡卫星,等.插线法制作大鼠大脑中动脉闭塞局灶性脑缺血再灌注模型[J].南京医科大学学报,2001,21(1):32—37.
- [4] 王建伟,王丹,李昕.外源性胰岛素样生长因子-1 对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的改善作用[J].郑州大学学报(医学版),2006,41(2):303—305.
- [5] 车玉琴.脑缺血不同时期胰岛素样生长因子-1 在大鼠脑内的表

- 达及其意义[J].中国临床康复,2004,8(22):4516—4517.
- [6] 周琴,廖维靖,杨万同,等.阿魏酸钠促进局灶性脑缺血再灌注后神经功能恢复和血管生成作用的研究[J].中国康复医学杂志,2006,21(3):200—203.
- [7] 吴秀香,杜莉莉,吴晓梅,等.葡萄籽原花青素对小鼠脑缺血、再灌注及缺氧性损伤的影响[J].中国康复医学杂志,2006,21(2):145—148.
- [8] 关微华,高佩琦,许艳,等.恒定磁场对大鼠脑缺血再灌注损伤保护作用的研究[J].中华物理医学与康复杂志,2003,25(1):11—14.
- [9] 关微华,陈丽娜,宋晓燕,等.恒定磁场对脑缺血再灌注大鼠血液流变学指标及红细胞膜流动性影响的研究[J].中国血液流变学杂志,2002,12(3):169—171.
- [10] 许艳,宋晓燕,马波,等.恒定磁场对大鼠脑缺血-再灌注模型抗氧化能力的影响[J].中国血液流变学杂志,2004,14(1):22—24.
- [11] 张海峰,唐强.脉冲磁针仪对脑缺血模型大鼠神经生长因子的影响[J].中国康复理论与实践,2003,9(5):282—284.
- [12] 郭云琴,赵彼得,罗毅,等.磁场治疗大鼠脑梗死灶实验观察[J].中华理疗杂志,1998,21(6):334—336.
- [13] 唐强,张海峰,王艳,等.脉冲磁针仪对脑缺血大鼠神经功能及血浆内皮素的影响[J].中国康复理论与实践,2001,7(4):151—152,158.
- [14] 张鸿日,李伯勤,彭静华,等.低频脉冲磁场对脑缺血再灌注损伤大鼠神经元保护作用的研究[J].临床神经病学杂志,2007,20(2):125—127.
- [15] 黄乃艳,张效莲,李小瑛,等.脉冲磁场抑制缺血再灌注大鼠神经细胞凋亡与 Ca²⁺分布的关系[J].中国临床康复,2004,8(7):1268—1270.
- [16] 罗二平,焦李成,申广浩,等.不同强度脉冲电磁场对小鼠血液流变学的影响[J].中国临床康复,2004,8(10):1892—1893.
- [17] 阳小云,李榕,陈莹.超声并低频磁疗促进脑梗死后神经功能恢复[J].现代康复,1999,3(9):1044—1045.
- [18] 江城,廖维靖,杨万同,等.丰富康复训练对脑缺血大鼠行为功能表现的影响[J].中国康复医学杂志,2006,21(3):210—214.
- [19] 蒙兰青,廖维靖,杨万同,等.运动训练对大鼠脑缺血再灌注后功能恢复及 VEGF 表达的影响[J].中国康复医学杂志,2006,21(3):197—199.
- [20] 李志坚,王益光,孙嘉斌,等.神经生长因子对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J].中国康复医学杂志,2007,22(2):107—132.
- [21] Jones J I, Clemmons DR. Insulin-like growth factors and their binding proteins: biological action[J]. Endocr Rev, 1995, 16(1):23—34.
- [22] Ahlar B, Sullivan K, Feldman EL. Insulin-like growth factor-I and central nervous system development[J]. Horm Metab Res, 1999, 31(2—3):120—125.
- [23] Ferry RJ, Katz LE, Grimberg A, et al. Cellular actions of insulin-like growth factor binding proteins[J]. Horm Metab Res, 1999, 31(2—3):192—202.
- [24] Lowman HB, Chen YM, Skelton NJ, et al. Molecular mimics of insulin-like growth factor 1 (IGF-1) for inhibiting IGF-I: IGF-binding protein interactions[J]. Biochemistry, 1998, 37(25):8870—8881.
- [25] 荣湘江,张娟,梁丹丹.运动对大鼠胰岛素样生长因子-1 影响的研究[J].中国康复医学杂志,2008,23(5):423—425.
- [26] 刘宗超,王慕一.胰岛素样生长因子 1 与脑缺血[J].国外医学·

- 脑血管疾病分册,2001,9(3):162—164.
- [27] Gustafson K, Hagberg H, Bengtsson BA, et al. Possible protective role of growth hormone in hypoxia-ischemia in neonatal rats[J]. *Pediatr Res*, 1999,45(3):318—323.
- [28] Guan J, Bennet L, George S, et al. Insulin-like growth factor-1 reduces postischemic white matter injury in fetal sheep[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2001,21(5):493—502.
- [29] Gluckman PD. Editorial: nutrition, glucocorticoids, birth size, and adult disease[J]. *Endocrinology*, 2001,142(5):1689—1691.
- [30] Liu Xin-Feng, Fawcett JR, Thorne RG, et al. Intranasal administration of insulin-like growth factor-1 bypasses the blood-brain barrier and protects against focal cerebral ischemic damage [J]. *Journal of the Neurological Sciences* 2001,187(3), 91—97.
- [31] 赵赛,李玉红,田兆方.经鼻给予胰岛素样生长因子1对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤的影响[J].*中国临床康复*,2005,9(13):80—81.
- [32] 张鸿,郑东明,赵冬雪,等.胰岛素样生长因子-1对大鼠局灶性脑缺血再灌注后神经细胞凋亡及 bcl-2, Bax 蛋白表达的影响[J].*陕西医学杂志*,2004,33(10):867—870.
- [33] 李真,顾美礼,王智彪,等.超声波对鼠胚胎生长发育及其分泌生长因子的影响[J].*中国超声医学杂志*,2000,16(6):401—403.
- [34] 仇宜解,王玲,程宏,等.高压氧对兔视网膜血流量和细胞因子影响的实验研究[J].*眼科新进展*,1999,19(5):309—311.
- [35] 公柏娟,孙新华.氦氖激光照射对兔正畸牙周组织中胰岛素样生长因子-1 (IGF-1) 的表达影响[J].*激光杂志*,2006,27(6):95—96.
- [36] 涂意辉,杨安礼.脉冲电磁场对去势大鼠骨组织胰岛素样生长因子-1表达的影响[J].*中国临床康复*,2003,7(15):2136—2137.
- [37] 周征,李小兵,郭宏铭,等.脉冲电磁场和功能矫形对大鼠下颌髁突 IGF-I 表达影响的研究 [J]. *临床口腔医学杂志*,1999,15(1):10—11.
- [38] 李晓玫,唐嘉薇,王海燕.白细胞介素1对肾系膜分裂原活化蛋白激酶不同亚类的作用[J].*中国免疫学杂志*,1998,14(4):300—302.

(上接 877 页)

- spine: determining the physiologic feasibility of delivering low-level anabolic mechanical stimuli to skeletal regions at greatest risk of fracture because of osteoporosis [J]. *Spine*, 2003,28(23):2621—2627.
- [10] Bech BR, Kent K, Holloway L, et al. Novel, high-frequency, low-strain mechanical loading for premenopausal women with low bone mass: early findings [J]. *J Bone Miner Metab*, 2006, 24(6):505—507.
- [11] Hallen JM, Alatalo SL, Ivaska KK, et al. Serum tartrate-resistant acid phosphatase 5b is a useful marker for monitoring alendronate therapy [J]. *J Bone Miner Res*, 2001,16 (Suppl):S534.
- [12] Rico H, Arribas I, Villa LF, et al. Can a determination of tartrate-resistant acid phosphatase predict postmenopausal loss of bone mass[J]. *Eur J Clin Invest*, 2002,32(4):274—278.
- [13] Chaki O, Yoshikata I, Kikuchi R, et al. The predictive value of biochemical markers of bone turnover for bone mineral density in postmenopausal Japanese women [J]. *J Bone Miner Res*, 2000,15(8):1537—1544.
- [14] Tromp AM, Ooms ME, Popp-Snijders C, et al. Predictors of fractures in elderly women [J]. *Osteoporos Int*, 2000, 11(2): 134—140.
- [15] Garnero P, Sornay-Rendu E, Claustrat B, et al. Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fractures in postmenopausal women: the OFELY study [J]. *J Bone Miner Res*, 2000, 15(8):1526—1536.
- [16] Tanko LB, Felsenberg D, Czerwinski E, et al. Oral weekly ibandronate prevents bone loss in postmenopausal women[J]. *J Inter Med*, 2003,254(2):159—167.
- [17] Morabito N, Crisafulli A, Vergara C, et al. Effects of genistein an hormone-replacement therapy on bone loss in early postmenopausal women: a randomized double-blind placebo-controlled study [J]. *J Bone Miner Res*, 2002,17(10): 1904—1912.