

• 论著 •

益气活血法对脑出血大鼠脑组织促血管生成素-1 及其受体表达的影响

魏灿杰¹, 唐 涛^{1,2}, 罗杰坤¹, 黄菊芳³, 杨期东², 黎杏群¹, 张宗荣¹, 齐 勇¹, 张花先¹, 易振佳¹
(湖南长沙中南大学湘雅医院①中西医结合研究所, ②神经内科, ③神经生物学研究室, 湖南 长沙 410008)

【摘要】 目的:通过观察益气活血法中药对脑出血大鼠脑损伤区组织促血管生成素-1(Ang-1)及其受体[为含免疫球蛋白样环和上皮生长因子样域酪氨酸激酶-2(Tie-2)]表达的影响,探讨益气活血法治疗脑出血的作用机制。方法:288只SD大鼠被随机分为正常组8只,假手术组、模型组、益气活血组、益气组和活血组各56只。采用Ⅵ型胶原酶诱导脑出血大鼠模型。相应灌服益气活血法代表方补阳还五汤全方及其益气组分、活血组分药物(剂量均为临床70kg成人用量的3倍)。各组于术后1、2、4、7、14、21和28d各取8只大鼠,采用苏木素-伊红(HE)染色观察大鼠脑组织形态学改变,用免疫组化法检测Ang-1及其受体Tie-2的表达,计数阳性血管作为观察指标。结果:HE染色显示正常组及假手术组各时间点未见血肿及局部明显病理学改变,而益气活血组微血管段多于活血组、益气组和模型组。免疫组化研究显示正常组及假手术组不同时间点Ang-1和Tie-2表达均未见明显变化;模型组、益气组、活血组及益气活血组脑出血后1d即有Ang-1和Tie-2表达,模型组与益气组至21d达到高峰,随后开始下降,活血组及益气活血组表达高峰时间提前至14d,至21d仍维持一定的表达水平。结论:在脑出血微血管系统重建过程中,益气活血法可能通过强化血肿周围Ang-1和受体Tie-2的表达,进而促进脑出血损伤区血管新生的作用,促进脑出血大鼠神经功能的恢复。

【关键词】 脑出血;血管新生;促血管生成素;受体;免疫组化;补阳还五汤;益气活血法

中图分类号:R242;R743.34 文献标识码:A 文章编号:1008-9691(2007)03-0138-05

Effect of method of supplementing Qi and activating blood circulation (益气活血法) on expression of angiopoietin-1 and its receptors Tie-2 in brains of rats with intracerebral hemorrhage GUO Can-Jie¹, TANG Tao^{1,2}, LUO Jie-kun¹, HUANG Ju-fang³, YANG Qi-dong², LI Xing-qun¹, ZHANG Zong-qi¹, QI Yong¹, ZHANG Hua-xian¹, YI Zhen-jia¹. 1. Institute of the Integrated Traditional Chinese and Western Medicine; 2. Department of Neurology; 3. Laboratory of Bioneurology, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410008, Hunan, China

Corresponding author: TANG Tao (Email: falcontang@126.com)

【Abstract】 **Objective:** To investigate the mechanisms of method of supplementing Qi and activating blood circulation (益气活血法) by observing its effects on expressions of angiopoietin-1 (Ang-1) and the receptor tyrosine kinase that contains immunoglobulin-like loops and epidermal growth factor-similar domains-2 (Tie-2) in brains of rats with intracerebral hemorrhage (ICH). **Methods:** ICH model was induced by injecting collagenase type VI stereotactically into right globus pallidus. Two hundred and eighty-eight SD rats were randomly divided into six groups, including normal control group ($n=8$), sham operation group, ICH model group, method of supplementing Qi and activating blood circulation-treated group, supplementing Qi-treated group and activating blood circulation-treated group (each $n=56$). The last 3 treated groups were administered orally with the classic method of supplementing Qi and activating blood circulation prescription of Buyang Huanwu decoction (补阳还五汤), its supplementing Qi and activating blood circulation components, respectively, all at the dose of three times as a 70 kg human adult. The changes of brain tissues were observed by hematoxylin eosine (HE) staining, and the expressions of Ang-1 and the receptor Tie-2 were assayed by immunohistochemistry on 1, 2, 4, 7, 14, 21 and 28 days after the onset in 8 rats of each group, then positive microvessels were counted. **Results:** No hematoma and obvious local pathological changes appeared in brain tissues of normal or sham operation group at different time points during the experiment. Microvascular angiogenesis of method of supplementing Qi and activating blood circulation-treated group was more than that of supplementing Qi-treated group, activating blood circulation-treated group and model group. Immunohistochemical researches showed that at different time points the expressions of Ang-1 and Tie-2 had no significant changes in the normal control and sham operation groups. The expressions of Ang-1 and Tie-2 in the model and three medically treated groups were

observed on 1 day, the expressions increased gradually, peaked on 21 day in supplementing Qi-treated group and model group, and then started to decrease. The peak time of activating blood circulation-treated group and method of supplementing Qi and activating blood circulation-treated group was advanced on 14 day, and the expressions sustained high levels to 28 day. **Conclusion:** The intervention of expressions of Ang-1 and its receptor Tie-2 by method of supplementing Qi and activating blood circulation are up-regulated, which may play an important role in the course of microvascular network reconstruction following ICH, promoting angiogenesis following cerebral hemorrhage and functional recovery of the rats' nerve.

【Key words】 intracerebral hemorrhage; angiogenesis; angiopoietin; receptor; immunohistochemistry; Buyang Huanwu decoction; method of supplementing Qi and activating blood circulation

脑出血(ICH)是脑血管病的急危重症。有关资料显示,在所有脑血管病中以脑出血的病死率最高,直接病死率为 38%~43%,病残率为 70%~80%,其复发率约为 1.8%~11%^[1]。血肿本身及其缺血、缺氧引起的微循环继发性损害形成了脑出血后最重要的病理改变。研究表明,脑缺血后新形成的侧支血管可改善缺血区周围的组织血液灌注,促进中风后的神经功能恢复^[2]。通过血管新生启动损伤区微血管网重建,改善微循环损伤区组织的血液灌注,将可能为损伤神经元的修复、突触重建和神经发生创造良好的微环境,为脑出血后神经功能的恢复奠定基础。促血管生成素-1(Ang-1)是一族特异性作用于血管内皮细胞的生长因子,其受体为含免疫球蛋白样环和上皮生长因子样域酪氨酸激酶-2(tyrosine kinase that contains immunoglobulin-like loops and epidermal growth factor-similar-domains-2, Tie-2),为 Ang-1 内皮特异性酪氨酸激酶受体。在中风的研究中发现,缺血、缺氧可诱导 Ang-1/Tie-2 表达^[3],进而调节脑损伤区微血管新生过程。本研究选用益气活血治法经典方补阳还五汤及其益气、活血组分进行干预,观察益气活血方药对出血后脑组织中 Ang-1 及其受体 Tie-2 表达的影响,进而探讨在脑出血微血管系统重建过程中的作用机制,为脑出血的治疗提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物:健康清洁级 SD 大鼠 288 只,雌雄各半,体重(220±20)g,动物及饲料均购自中南大学实验动物中心(大鼠许可证号:025)。

1.2 药物与主要试剂:补阳还五汤全方(黄芪:赤芍:当归:川芎:桃仁:红花:地龙用量按照

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30400581);中国博士后科学基金资助项目(2005038224);湖南省青年骨干教师培养对象经费(湘教通[2005]247号);湖南省重点学科建设经费(湘教通[2001]179号)资助

通讯作者:唐涛(Email: falcontang@126.com)

作者简介:魏灿杰(1981-),女(汉族),湖南省人,医学硕士,医师。

20:3:3:2:3:3:3 比例)、补阳还五汤益气组分(黄芪)与补阳还五汤活血组分(赤芍、当归、川芎、桃仁、红花、地龙)生药材分别从中南大学湘雅医院中药房一次性选购,均用蒸馏水分两次水煎,分别浓缩为 3.08、1.62 和 1.46 kg/L, -20℃ 保存备用。Ⅶ型胶原酶为 Sigma 公司产品;Ang-1 和 Tie-2 多克隆抗体系 Santa Cruz 公司产品;兔抗山羊 IgG 二抗系 VECTOR 公司产品,以上试剂均购自晶美公司;卵白素-生物素-过氧化物酶法(ABC)免疫组化试剂盒、二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒购自北京中杉生物技术公司。

1.3 脑出血动物模型制备^[3]:腹腔注射体积分数为 10%的水合氯醛(400 mg/kg)麻醉大鼠,俯卧位固定于鼠脑立体定位仪上,按无菌操作原则,于前囟后 1.4 mm,旁开 3.2 mm,深 5.6 mm 处(位于近内囊的苍白球内)注入 0.5 U 的Ⅶ型胶原酶灭菌生理盐水 2.5 μl。假手术组以同样方法在此点注入灭菌生理盐水 2.5 μl。

1.4 动物分组及处理:288 只 SD 大鼠按随机数字表法分成 6 组:正常组 8 只,假手术组、模型组、益气组、活血组、益气活血组各 56 只。其中正常组自由饮食;假手术组与模型组均给予蒸馏水灌胃,每次 2 ml,每日 2 次;益气组、活血组和益气活血组分别用方药灌胃,每次 2 ml,每日 2 次,每日剂量分别为 7.30、8.10 和 15.40 g/kg(按体表面积计算,为临床 70 kg 成人用量的 3 倍)。各组于术后 1、2、4、7、14、21 和 28 d 随机抽取 8 只大鼠(正常组 8 只大鼠在 28 d 被处死),用 10%水合氯醛(800 mg/kg)麻醉,经升主动脉灌注 4℃的多聚甲醛 10 ml/min[用 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS)配制, pH 7.4],取脑。各组每个时间点取 5 只大鼠的标本,在相同的固定液中固定 4 h,依次放入质量分数为 10%、20%、30%蔗糖(用 0.1 mol/L 的 PBS 配制, pH 7.4)沉底后,放入 Leica 1850 恒冷切片行连续冠状切片,片厚 30 μm,室温阴干后置入 4℃冰箱保存备用。各组

每个时间点取 3 只大鼠的标本置于相同固定液固定 1 d, 石蜡包埋、切片(片厚 4 μm), 行苏木素-伊红(HE)染色。

1.5 免疫组化(ABC 法)检测 Ang-1 和 Tie-2 阳性表达的方法及图像分析:冰冻切片于室温中复温, 用体积分数为 3%的 H_2O_2 -甲醇室温下浸泡 5 min; 体积分数为 5%的牛血清白蛋白 37 $^{\circ}\text{C}$ 封闭 60 min; 滴加山羊抗大鼠 Ang-1(1:25)、Tie-2(1:25)多克隆抗体, 37 $^{\circ}\text{C}$ 各孵育 60 min, 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜; 滴加二抗兔抗山羊 IgG(1:100)和 ABC 复合物(1:100), 37 $^{\circ}\text{C}$ 各孵育 60 min; DAB 镜下控制显色, 脱水, 透明中性树脂封片。步骤除滴封闭液时不洗外, 各步骤间用 0.01 mmol/L PBS 洗 5 min $\times$ 3 次。用 PBS 代替一抗作实验对照。免疫组化阳性表达染色为棕褐色。用 Motic Images Advance3.2 图像分析软件计数 281.8 $\mu\text{m}\times$ 210.4 μm 视野内阳性表达的血管段数。每只大鼠随机选择 3 张片, 每张片选择 3 个互不重叠视野, 共 9 个视野, 取平均数作为一只大鼠计数结果。

1.6 统计学方法:所有实验数据均采用 SPSS12.0 统计软件处理, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 两组间比较采用 t 检验, 多组间比较用方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组脑组织病理学改变:正常组及假手术组各时间点脑组织未见水肿及局部明显病理改变。术后 4 d 时, 模型组脑组织明显水肿、坏死, 炎性细胞浸润以圆形的淋巴细胞为主, 并可见少量中性粒细胞,

血肿的外缘可见含铁血黄素沉积, 部分神经元水肿变性; 益气活血组、益气组、活血组脑组织水肿及炎性浸润较模型组稍轻, 且血肿周围有少量不规则微血管段出现, 其表达以益气活血组最明显。术后 14 d 时, 模型组血肿周围可见不规则新生血管, 红细胞基本溶解, 血肿边缘出现散在的胶质细胞(彩色插页图 1), 至 21 d, 血肿基本消失; 而益气活血组血肿消失时间提前到 14 d, 血肿区可见明显血管段成条索状, 对应出现管腔扩大, 血肿区血管阳性段的表达最为明显(彩色插页图 2)。

2.2 各组脑出血后 Ang-1 的表达(表 1):正常组及假手术组不同时间点偶见零星、散在的 Ang-1 阳性表达, 健侧和患侧分布无明显区别。模型组 1 d 后脑内血肿周边开始出现 Ang-1 阳性血管段, 4 d 后明显增多, 21 d 达高峰(彩色插页图 3), 28 d 明显减少; 益气组从 4 d 开始各时间点阳性血管段均较模型组有所增强; 活血组从 2 d 开始阳性血管段明显多于模型组和益气组水平(P 均 <0.01), 14 d 时提前达高峰; 益气活血组 1 d 时阳性血管段即开始多于其他 3 组相应时间点(P 均 <0.01), 14 d 达到高峰(彩色插页图 4), 28 d 表达开始下降, 但较其他 3 组仍维持最高(P 均 <0.01)。

2.3 各组脑出血后 Tie-2 的表达(表 2):正常组和假手术组血管周围细胞可见散在的少量的 Tie-2 阳性表达, 健侧和患侧分布无明显区别。模型组 1 d 后脑内血肿周边开始出现了 Tie-2 阳性血管段, 4 d 后明显增多, 14~21 d 出现高峰平台期(彩色插页图 5), 28 d 明显减少; 益气组从 2 d 开始各时间点阳

表 1 益气活血法对脑出血后大鼠 Ang-1 阳性表达的影响($\bar{x}\pm s, n=5$)

Table 1 Effect of method of supplementing Qi and activating blood circulation on positive expression of Ang-1 in ICH rats($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	1 d	2 d	4 d	7 d	14 d	21 d	28 d
模型组	4.98 $\pm$ 2.25	5.24 $\pm$ 2.24	8.00 $\pm$ 2.21 ^④	11.02 $\pm$ 2.37 ^④	21.58 $\pm$ 3.28 ^④	23.51 $\pm$ 2.97 ^④	9.82 $\pm$ 1.79 ^④
益气组	5.22 $\pm$ 2.13	5.84 $\pm$ 2.13	10.73 $\pm$ 2.99 ^{①④}	12.69 $\pm$ 2.55 ^{①④}	32.04 $\pm$ 1.99 ^{①④}	30.09 $\pm$ 1.77 ^{①④}	17.47 $\pm$ 1.56 ^{①④}
活血组	5.60 $\pm$ 1.60	6.82 $\pm$ 1.42 ^{①②④}	12.69 $\pm$ 2.88 ^{①②④}	18.42 $\pm$ 1.66 ^{①②④}	41.62 $\pm$ 5.23 ^{①②④}	33.98 $\pm$ 3.92 ^{①②④}	20.40 $\pm$ 4.71 ^{①②④}
益气活血组	6.44 $\pm$ 1.56 ^{①②③}	8.42 $\pm$ 2.09 ^{①②③④}	15.27 $\pm$ 2.07 ^{①②③④}	21.62 $\pm$ 1.81 ^{①②③④}	45.16 $\pm$ 2.25 ^{①②③④}	36.78 $\pm$ 1.81 ^{①②③④}	28.91 $\pm$ 1.46 ^{①②③④}

注:与模型组比较, ^① $P<0.01$;与益气组比较, ^② $P<0.01$;与活血组比较, ^③ $P<0.01$;与本组前一时间点比较, ^④ $P<0.01$

表 2 益气活血法对脑出血后大鼠 Tie-2 阳性表达的影响($\bar{x}\pm s, n=5$)

Table 2 Effect of method of supplementing Qi and activating blood circulation on positive expression of Tie-2 in ICH rats($\bar{x}\pm s, n=5$)

组别	1 d	2 d	4 d	7 d	14 d	21 d	28 d
模型组	3.58 $\pm$ 1.57	3.83 $\pm$ 1.78	5.67 $\pm$ 1.89 ^④	8.87 $\pm$ 1.55 ^④	17.98 $\pm$ 2.90 ^④	18.82 $\pm$ 3.26	7.69 $\pm$ 1.65 ^④
益气组	3.76 $\pm$ 1.43	4.53 $\pm$ 1.52 ^{①④}	7.02 $\pm$ 1.53 ^{①④}	9.40 $\pm$ 1.78 ^{①④}	19.60 $\pm$ 2.53 ^{①④}	19.22 $\pm$ 2.10 ^①	8.20 $\pm$ 1.49 ^④
活血组	4.22 $\pm$ 0.94 ^{①②}	5.49 $\pm$ 1.30 ^{①②④}	9.11 $\pm$ 1.53 ^{①②④}	12.02 $\pm$ 2.06 ^{①②④}	25.98 $\pm$ 2.33 ^{①②④}	22.84 $\pm$ 2.78 ^{①②④}	12.22 $\pm$ 2.70 ^{①②④}
益气活血组	5.42 $\pm$ 1.25 ^{①②③}	6.87 $\pm$ 1.49 ^{①②③④}	11.51 $\pm$ 1.70 ^{①②③④}	15.20 $\pm$ 2.08 ^{①②③④}	28.00 $\pm$ 2.28 ^{①②③④}	27.20 $\pm$ 2.00 ^{①②③④}	15.78 $\pm$ 2.18 ^{①②③④}

注:与模型组比较, ^① $P<0.01$;与益气组比较, ^② $P<0.01$;与活血组比较, ^③ $P<0.01$;与本组前一时间点比较, ^④ $P<0.01$

性血管段均较模型组有所增多;活血组和益气活血组从 1 d 开始阳性血管段明显多于模型组和益气组水平(P 均 <0.01),14 d 提前达高峰;益气活血组各时间点阳性血管段均高于活血组(P 均 <0.01 ,彩色插页图 6),28 d 表达开始下降,但仍较其他 3 组高(P 均 <0.01)。

3 讨论

脑出血作为急症,患者能否在有效时间窗内救治并获得良好预后,同治疗是否及时以及所用方案是否合理都有着密切关系。脑出血属祖国医学“中风”范畴,气虚血瘀是该病的基本病机,“元气既虚,必不能达于血管,血管无气,必停留血瘀”,故中医多以益气活血法治疗脑出血,其代表方剂为清代名医王清任创立的补阳还五汤。方中重用黄芪以大补元气,取气旺血行之义,为君药;当归尾是当归的尾梢部分,破血之力甚强,活血祛瘀而不伤血,为臣药;赤芍、川芎活血行气,桃仁、红花活血通经祛瘀,为行血活血之要药,四药合用,协同当归尾活血祛瘀,同为佐药;地龙其性走窜,通经活络,配合以上诸药以行药势,为使药。全方合用,使气旺血行,祛瘀通络,以通为补,以补为通,通补兼施,共奏益气活血之功效。

Ang-1 以旁分泌形式与受体 Tie-2 结合,使受体磷酸化,表达 Tie-2 活化的内皮细胞将吸引血管平滑肌、周细胞(pericyte)等血管周围细胞,包围、支持功能受损的内皮细胞,形成完整的成熟血管网,并通过增加内皮细胞间、内皮细胞与血管周围细胞间的连接,维持内皮细胞的静息状态和血管的完整^[4]。本实验结果显示,在采用补阳还五汤及其益气组分和活血组分进行干预下,脑出血损伤后随着时间的推移,模型组和益气组 Ang-1 及其受体的阳性表达于 4 d 后明显升高,21 d 达到高峰,而后逐渐下降;活血组和益气活血组 2 d 时则明显上升,高峰时间提前,且益气活血组在各时间点表达均高于其他各组水平。益气活血组和活血组在早期阳性血管段和胶质细胞的表达就明显高于模型组和益气组,且血肿消失时间提前,提示益气活血法在发病前期可促进 Ang-1 及其受体表达上调,缩短血肿吸收的时间。

研究表明,Ang-1 与受体 Tie-2 结合后,表达活化 Tie-2 的内皮细胞促进血管重塑和成熟,形成完整的血管壁,并通过调节内皮细胞和血管周围间质细胞的相互作用维持血管管腔的完整性和稳定性^[5]。Ang-1 还通过激活丝氨酸-苏氨酸蛋白酶 Akt,稳定细胞活性,抑制内皮细胞凋亡^[6]。在血肿

吸收后的阶段,我们注意到,益气组、活血组、益气活血组在 21 d 血肿已经不明显,但后期仍较模型组有大量阳性血管段的表达,28 d 时 Ang-1 及其受体虽较前有所下降,但仍保持在一定水平,其表达在各组为益气活血组>活血组>益气组>模型组,后期的维持表达可能与脑出血 Ang-1 及其受体稳定血管且抑制其凋亡的功能有很大的关系。刘志龙等^[7]研究证实,应用补阳还五汤可通过调节脑组织能量代谢,有效改善动物脑缺血。蔡蔚等^[8]则将补阳还五汤用于治疗闭合性颅脑损伤,结果显示,治疗组在加用补阳还五汤后,可明显改善患者的脑缺血、缺氧症状,使患者意识障碍转清时间较对照组显著缩短。现代医学研究也发现,补阳还五汤具有增加脑血流量,改善脑组织循环、促进血肿吸收和创伤愈合的作用^[9]。因此,我们推测益气活血中药可能通过促进 Ang-1 及其受体的表达,并使其较长时间内维持在一定的水平,从而对血管的稳定,微循环的改善以及脑组织修复起一定作用。

参考文献:

- [1] 邓宝康,张伶俐. 临床各科疑难病诊治与康复[M]. 西安:世界图书出版社西安公司,2000:9.
- [2] Zhang Z G, Zhang L, Jiang Q, et al. VEGF enhances angiogenesis and promotes blood-brain barrier leakage in the ischemic brain [J]. J Clin Invest, 2000, 106(7): 829-838.
- [3] Kampf H, Pfeilschifer J, Frank S. Expressional regulation of angiopoietin-1 and -2 and the tie-1 and -2 receptor tyrosine kinases during cutaneous wound healing: a comparative study of normal and impaired repair [J]. Lab Invest, 2001, 81(3): 361-373.
- [4] Sundberg C, Kowanetz M, Brown L F, et al. Stable expression of angiopoietin-1 and other markers by cultured pericytes: phenotypic similarities to a subpopulation of cells in maturing vessels during later stages of angiogenesis in vivo [J]. Lab Invest, 2002, 82(4): 387-401.
- [5] Yancopoulos G D, Klagsbrun M, Folkman J. Vasculogenesis, angiogenesis, and growth factors: ephrins enter the fray at the border [J]. Cell, 1998, 93(5): 661-664.
- [6] Kim I, Kim H G, Moon S O, et al. Angiopoietin-1 induces endothelial cell sprouting the activation of focal adhesion kinase and plasmin secretion [J]. Circ Res, 2000, 86(9): 952-959.
- [7] 刘志龙,宋含平,邓常青,等. 补阳还五汤对沙土鼠脑缺血损伤能量代谢的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2001, 8(1): 36-37.
- [8] 蔡蔚,喻坚柏,韩景光. 补阳还五汤治疗闭合性颅脑损伤临床观察 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2003, 10(1): 54-55.
- [9] 韩东,廖福龙,李文,等. 补阳还五汤及拆方对栓形成大鼠梗塞灶、血管损伤半暗区、血浆 t-PA、PAI 活性及 ET 含量的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2001, 7(2): 21-24.

(收稿日期:2007-01-02 修回日期:2007-03-28)

(本文编辑:李银平)

益气活血法对脑出血大鼠脑组织促血管生成素-1 及其受体表达的影响

(正文见138页)

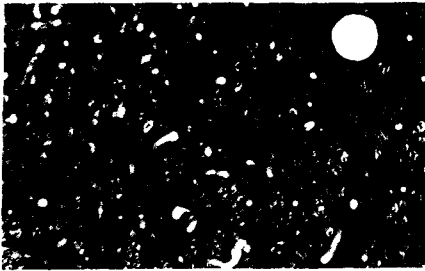


图1 14 d模型组脑组织病理改变(HE, x400)
Figure 1 Pathological change of brain tissues in model group on 14 days (HE, x400)

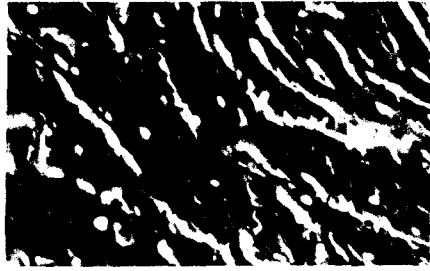


图2 14 d益气活血组脑组织病理改变(HE, x400)
Figure 2 Pathological change of brain tissues in supplementing Qi and activating blood circulation-treated group on 14 days (HE, x400)



图3 21 d模型组Ang-1阳性表达(免疫组化, x400)
Figure 3 Positive expression of Ang-1 in model group on 21 days (immunohistochemistry, x400)



图4 14 d益气活血组Ang-1阳性表达(免疫组化, x400)
Figure 4 Positive expression of Ang-1 in supplementing Qi and activating blood circulation-treated group on 14 days (immunohistochemistry, x400)



图5 21 d模型组Tie-2阳性表达(免疫组化, x400)
Figure 5 Positive expression of Tie-2 in model group on 21 days (immunohistochemistry, x400)

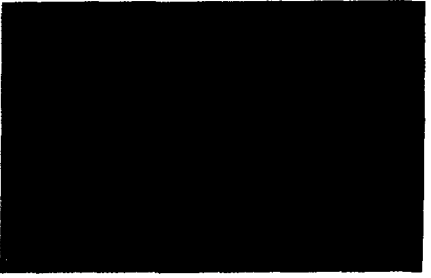


图6 14 d益气活血组Tie-2阳性表达(免疫组化, x400)
Figure 6 Positive expression of Tie-2 in supplementing Qi and activating blood circulation-treated group on 14 days (immunohistochemistry, x400)

川芎嗪与外源性β-神经生长因子对缺氧大鼠海马神经元活性影响的研究

(正文见142页)



图1 培养24 h模型对照组海马神经元形态学观察(HE, x200)
Figure 1 Observation on morphology of hippocampal neurons at 24 hours after culture (HE, x200)



图2 培养3 d模型对照组海马神经元形态学观察(HE, x200)
Figure 2 Observation on morphology of hippocampal neurons on 3 days after culture (HE, x200)



图3 培养14 d模型对照组海马神经元形态学观察(HE, x400)
Figure 3 Observation on morphology of hippocampal neurons on 14 days after culture (HE, x400)

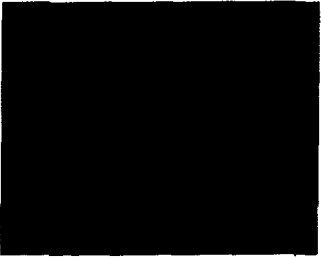


图4 缺氧2.5 h模型对照组海马神经元形态学观察(HE, x200)
Figure 4 Observation on morphology of hippocampal neurons at 2.5 hours after anoxia (HE, x200)

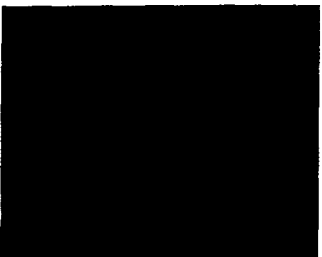


图5 缺氧2.5 h川芎嗪中剂量组海马神经元形态学观察(HE, x400)
Figure 5 Observation on morphology of hippocampal neurons at 2.5 hours after anoxia in middle dose of ligustrazine group (HE, x400)



图6 缺氧2.5 h川芎嗪高剂量组海马神经元形态学观察(HE, x200)
Figure 6 Observation on morphology of hippocampal neurons at 2.5 hours after anoxia in high dose of ligustrazine group (HE, x200)



图7 缺氧2.5 h川芎嗪低剂量组海马神经元形态学观察(HE, x200)
Figure 7 Observation on morphology of hippocampal neurons at 2.5 hours after anoxia in low dose of ligustrazine group (HE, x200)

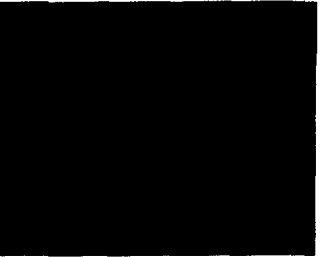


图8 缺氧2.5 hβ-NGF组海马神经元形态学观察(HE, x200)
Figure 8 Observation on morphology of hippocampal neurons at 2.5 hours after anoxia in β-NGF group (HE, x200)