

· 实验研究 ·

doi:10.3969/j.issn.1006-4931.2019.13.003

三七总皂苷对脑缺血再灌注大鼠神经血管单元的影响*

林 军, 梁 萍, 黄 清, 李 冲, 农立宇, 黄建敏, 李雪斌, 蒙兰青[△]

(右江民族医学院, 广西 百色 533000)

摘要:目的 探讨三七总皂苷(PNS)对脑缺血再灌注(CIR)后大鼠缺血灶周边脑组织神经血管单元(NVU)的影响。方法 采用线栓法制作局灶性大脑中动脉闭塞(MCAO)模型;采用 Longa 评分标准检测各组大鼠术后 4 h 神经功能评分,随后进行干预,分别在缺血再灌注后 24 h、72 h、7 d、3 周进行神经功能评分;采用蛋白免疫印迹法检测 NVU 各组分相关的神经核抗原(NeuN)、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)和层粘连蛋白(LN)的表达变化;透射电镜下观察各组大鼠缺血灶周边脑组织不同时间点的 NVU 超微结构变化。结果 与模型组相比,治疗组大鼠神经功能评分逐渐改善;与模型组相比,治疗组 NeuN、GFAP、LN 蛋白表达逐渐升高,其中 7 d、3 周的 NeuN 及 LN 表达比较差异显著($P < 0.05$),GFAP 表达量在 72 h、7 d、3 周时差异显著($P < 0.05$);电镜观察发现,再灌注 24 h、72 h、7 d、3 周后治疗组大鼠脑组织 NVU 超微结构的病理形态损伤均较同时点模型组明显减轻。结论 PNS 可通过整合促进脑缺血后 NVU 的神经元、胶质细胞和微血管的修复,改善神经功能缺损症状,对脑缺血具有保护作用,其作用机制可能与上调脑缺血后 GFAP、NeuN、LN 蛋白表达有关。

关键词:三七总皂苷;神经血管单元;神经核抗原;胶质纤维酸性蛋白;层粘连蛋白;超微结构;脑缺血再灌注;大鼠

中图分类号:R932;R285.5;R255.2

文献标识码:A

文章编号:1006-4931(2019)13-0010-05

Effect of Panax Notoginseng Saponins on Neurovascular Unit in Rats After Cerebral Ischemia – Reperfusion

LIN Jun, LIANG Ping, HUANG Qing, LI Chong, NONG Liyu, HUANG Jianmin, LI Xuebin, MENG Lanqing

(Youjiang Medical University for Nationalities, Baise, Guangxi, China 533000)

Abstract: **Objective** To investigate the effect of panax notoginseng saponins(PNS) on neurovascular unit(NVU) in the peri-ischemic brain tissue of rats after cerebral ischemia-reperfusion(CIR). **Methods** The middle cerebral artery occlusion(MCAO) model was made by the suture-occluded method. The neurological function scores in every rat at 4 h after operation were recorded according to Longa's standard, and then the rats were given intervention, the neurological scores were recorded respectively on 24 h, 72 h, 7 d and 3 w after CIR. The expression changes of neuronal nuclear antigen(NeuN), glial fibrillary acidic protein(GFAP) and laminin(LN) in each component of NVU were detected by western blot. The ultrastructural changes of NVU in the peri-ischemic brain tissue of rats in each group were observed by transmission electron microscope at different time points. **Results** Compared with the model group, the neurological function scores of rats in the treatment group gradually improved. Compared with the model group, the expression levels of NeuN, GFAP and LN in the treatment group gradually increased, among which the expression levels of NeuN and LN on 7 d and 3 w were significantly different ($P < 0.05$), the expression of GFAP on 72 h, 7 d, 3 w was statistically significant ($P < 0.05$). Respectively on 24 h, 72 h, 7 d and 3 w after CIR, electron microscopy showed that the pathological damage change of the ultrastructure of NVU in the peri-ischemic brain tissue of rats in the treatment group was all significantly lightened than that in the model group at the same time. **Conclusion** PNS can improve neurological deficit symptoms and protect cerebral ischemia by integrating to promote the repair of neurons, glia cells and microvessels of NVU after cerebral ischemia. The mechanism may be related to the up-regulation of the expression of GFAP, NeuN and LN protein after cerebral ischemia.

Key words: panax notoginseng saponins; neurovascular unit; neuronal nuclear antigen; glial fibrillary acidic protein; laminin; ultrastructure; cerebral ischemia-reperfusion; rats

三七总皂苷(PNS)是我国名贵中药三七的有效活性成分,治疗脑梗死的临床疗效明显^[1]。局灶性脑缺血时,神经血管单元(NVU)中的神经元、胶质细胞和微血管均受到损伤^[2],因此缺血性脑损伤是多环节、多因素、多途径的损伤,寻求对脑缺血损伤后有整合作用的药物很有意义。本研究中建立了大鼠局灶性脑缺血再灌注模型,观察大鼠缺血灶周边脑组织 NVU 超微结构及相关

的神经核抗原(NeuN)、胶质纤维酸性蛋白(GFAP)和层粘连蛋白(LN)在不同时间点的表达变化,以探讨 PNS 对脑缺血后 NVU 的影响,阐明 PNS 在脑缺血治疗中的整合作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

动物:SD 雄性大鼠 144 只,SPF 级,体质量 250~300 g,

*基金项目:国家自然科学基金[81460614]。

第一作者:林军,男,硕士研究生,主治医师,研究方向为脑血管疾病基础与临床应用,(电子信箱)xiankeshiranfan@163.com。

[△]通信作者:蒙兰青,男,硕士研究生导师,主任医师,研究方向为脑血管疾病基础与临床应用,(电子信箱)menglanqingsj@qq.com。

由广西医科大学实验动物中心提供,许可证号为 SCXK(桂)2014-0002,实验动物使用许可证号为 SYXK(桂)2011-0010。饲养于 SPF 级动物实验室。

仪器与试剂:H-7650 型透射电子显微镜(日本日立公司);电转仪(美国 Bio-Rad 公司)。三七总皂苷[注射用血栓通(冻干),广西梧州制药(集团)股份有限公司,国药准字 Z20025652,批号为 15090707,规格为每支 100 mg、150 mg、250 mg]。戊二醛固定液(电镜专用,2.5%),4% 多聚甲醛(北京 Solarbio 公司);RIPA 裂解液,BCA 蛋白定量(增强型)试剂均购于碧云天生物技术有限公司;兔抗 NeuN 抗体、兔抗 GFAP 抗体、兔抗 beta Actin 抗体均购于武汉 Proteintech 公司;兔抗 Anti-Laminin 抗体(ab11575,美国 Abcam 公司)。

1.2 方法

分组与给药:将 144 只大鼠随机分为假手术组、模型组和治疗组,各 48 只;各组又分别按脑缺血再灌注后 24 h、72 h、7 d、3 周分为 4 个亚组,各 12 只。治疗组大鼠在术后 4 h 神经功能评分后即给予三七总皂苷 50 mg/kg 腹腔注射,之后每日 1 次,直到相应的时间点;模型组和假手术组大鼠在相同时间点给予同体积 0.9% 氯化钠注射液腹腔注射。

局灶性大脑中动脉闭塞(MCAO)模型制作:模型组和治疗组大鼠参考文献[3]线栓法并加以改良,制作局灶性 MCAO 模型。假手术组栓线头插颈内动脉深度为 8~10 mm,未造成缺血。

神经功能评分:术后 3~4 h 大鼠基本苏醒,应用 Longa 评分标准评分^[3],1~3 分为制模成功。随之各组进行干预,分别在缺血再灌注后 24 h、72 h、7 d、3 周时对 3 组中各亚组 12 只模型大鼠再次进行评分。

蛋白免疫印迹法(WB)标本采集及检测:分别在缺血再灌注后 24 h、72 h、7 d、3 周 4 个时间点对 3 组大鼠神经功能评分,各组随机取 6 只大鼠,腹腔麻醉,断头取脑,于冰上剪取缺血灶周边相应位置脑组织,剪碎,置含蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液中研磨匀浆,4℃下 13 000 r/min 离心 5 min,取上清液,用 BCA 法检测蛋白浓度。各组取 20 μg 蛋白样品上样进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,将电泳后的蛋白电转于 PVDF 膜上,封闭液封闭 60 min,按适当比例将各个一抗与一抗稀释液稀释

[NeuN 抗体 1:500~1:5 000,GFAP 抗体 1:500~1:5 000,Anti-Laminin 抗体(ab11575)1:200~1:1 000,β-actin 抗体 1:1 000~1:10 000],4℃孵育过夜,TBST 洗膜后,将膜与 HRP-山羊抗兔二抗(二抗用稀释液按照 1:5 000 比例稀释)室温摇床孵育 1.5 h,然后 TBST 洗涤,采用 ECL 化学发光法显影、定影,利用 Image J 软件分析条带的灰度值,计算目的蛋白(NeuN,GFAP,LN)与内参蛋白 β-actin 二者灰度值的比值。

电镜标本采集及检测:取 3 组剩余大鼠,腹腔麻醉,开胸,充分暴露心脏,从左心室向升主动脉插入灌注针,剪破右心耳,放静脉血,快速灌注 100 mL 生理盐水,大鼠肝脏变白,右心房流出液清亮时即可换预冷的 4% 多聚甲醛 200 mL 灌注,大鼠后肢绷直,尾巴竖起,表明固定成功。断头取脑,分别从右侧缺血灶周边脑组织相应部位各取组织块,切成约 1 mm×1 mm×1 mm 小块,放入 2.5% 戊二醛固定液,于 4℃避光固定 24 h。按常规电镜检测标本制备程序逐步进行,漂洗、脱水、浸透及环氧树脂包埋。超薄切片,片厚约 50 nm,切片醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染色,采用 H-7650 型透射电镜下观察脑组织超微结构变化并进行摄片。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计学软件处理。计量数据以 $\bar{X} \pm s$ 表示;组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠神经功能评分

结果见表 1。可见,干预前(即术后 4 h)治疗组和模型组神经功能评分比较无明显差异($P > 0.05$);干预后治疗组大鼠神经功能评分逐渐改善,比同时间点模型组明显降低($P < 0.05$)。

2.2 蛋白免疫印迹检测结果

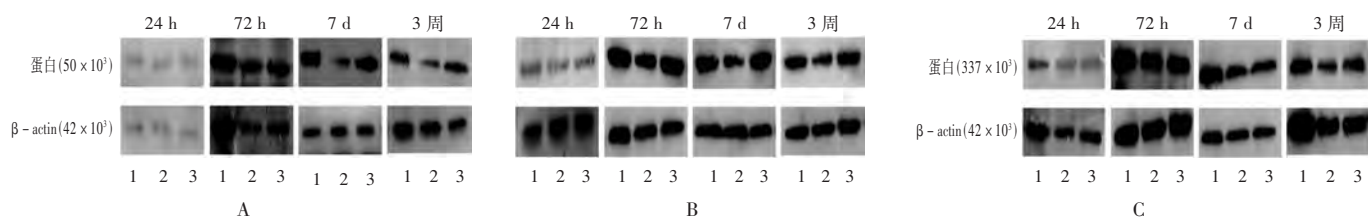
NeuN 蛋白:模型组各时间点 NeuN 蛋白表达均低于假手术组,其中 24 h、7 d、3 周表达相对于假手术组差异显著($P < 0.05$);相比模型组,治疗组 NeuN 的表达量逐渐升高,在 IR 72 h 后基本接近正常,7 d、3 周表达差异显著($P < 0.05$)。详见图 1 A 及图 2 A。

GFAP 蛋白:GFAP 蛋白相对表达量,模型组逐渐增加,各时间点表达均低于假手术组($P < 0.05$);与模型

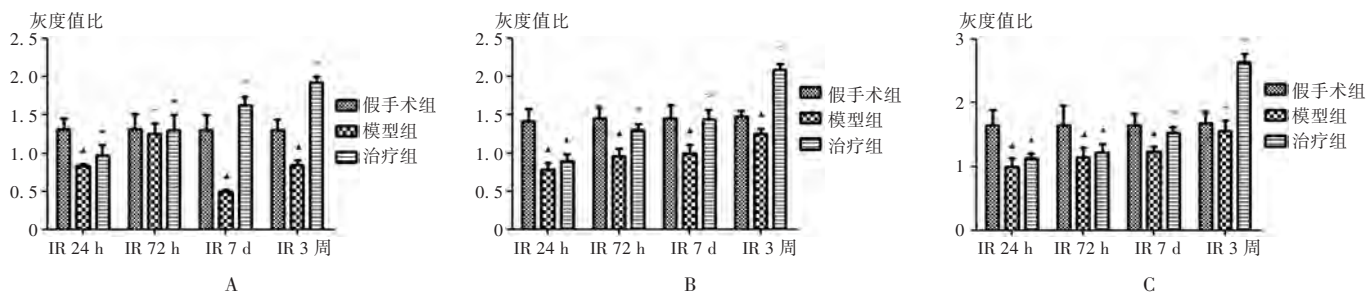
表 1 各组大鼠神经功能评分比较($\bar{X} \pm s$,分, $n=12$)

组别	24 h 亚组		72 h 亚组		7 d 亚组		3 周亚组	
	干预前	24 h 干预后	干预前	72 h 干预后	干预前	7 d 干预后	干预前	3 周干预后
假手术组	0	0	0	0	0	0	0	0
模型组	2.00 ± 0.60	2.00 ± 0.60	1.83 ± 0.65	1.92 ± 0.63	1.92 ± 0.63	1.50 ± 0.43	2.00 ± 0.60	1.33 ± 0.39
治疗组	1.92 ± 0.63	1.83 ± 0.65 [△]	1.83 ± 0.65	1.08 ± 0.36 [▲]	1.92 ± 0.63	0.92 ± 0.36 [▲]	2.00 ± 0.60	0.71 ± 0.26 [▲]

注:与模型组 24 h 亚组比较,[△] $P > 0.05$;与同时间点模型组比较,[▲] $P < 0.05$ 。



1. 假手术组 2. 模型组 3. 治疗组
A. NeuN 蛋白 B. GFAP 蛋白 C. LN 蛋白
图1 不同时间点各组蛋白免疫印迹检测结果



注:与假手术组相比, $\Delta P < 0.05$, $\triangle P > 0.05$;与模型组相比, $\bullet P > 0.05$, $\ast P < 0.05$ 。

A. NeuN/ β -actin B. GFAP/ β -actin C. LN/ β -actin

图2 不同时间点各组大鼠脑组织灰度值比较 ($\bar{X} \pm s$, $n = 6$)

组相比,治疗组各时间点较模型组升高,其中 72 h、7 d、3 周表达差异显著 ($P < 0.05$),至 IR 7 d 后,治疗组 GFAP 蛋白表达基本接近正常。详见图 1 B 及图 2 B。

LN 蛋白:模型组 LN 蛋白表达量逐渐增加,各时间点表达仍低于假手术组,24 h、72 h、7 d 相比假手术组差异显著 ($P < 0.05$);治疗组各时间点 LN 蛋白表达量较模型组高,其中 7 d、3 周与模型组相比差异显著 ($P < 0.05$)。详见图 1 C 及图 2 C。

2.3 大鼠脑缺血灶周边 NVU 超微结构变化

神经元:见图 3 A。各时间点,假手术组神经元无变化,胞核大,圆形或椭圆形,核仁清晰可见,着色深,多位于中央,染色质均匀分布,核膜清晰完整;细胞膜结构完整;胞质内细胞器丰富,结构正常。随时间的延长,模型组神经元超微结构不同程度的破坏,胞核变形、伴有切迹甚至破裂皱缩,核仁边聚或消失,核膜有模糊或断裂,细胞器开始肿胀伴空泡状,有溶解空白区,甚至结构疏松减少。治疗组神经元胞核形态尚可、核膜完整不断裂、核仁大部分可见,细胞器结构状态好于模型组同时点表现。

胶质细胞:各时间点,假手术组胶质细胞无改变,轮廓清晰,结构完整,胞核呈卵圆形,核膜正常,染色质分布均匀,染色略深,细胞器结构正常、清晰。随时间的延长,模型组胶质细胞超微结构有不同程度的破坏,胞核不同形状变形,染色质大部分边聚多见,核膜 72 h 开始模糊不清,细胞器可见空泡状或空白区、有溶解甚至结构破坏疏松。治疗组胶质细胞的细胞核形态优于模型组、核膜完整清晰,细胞器结构状态好于模型

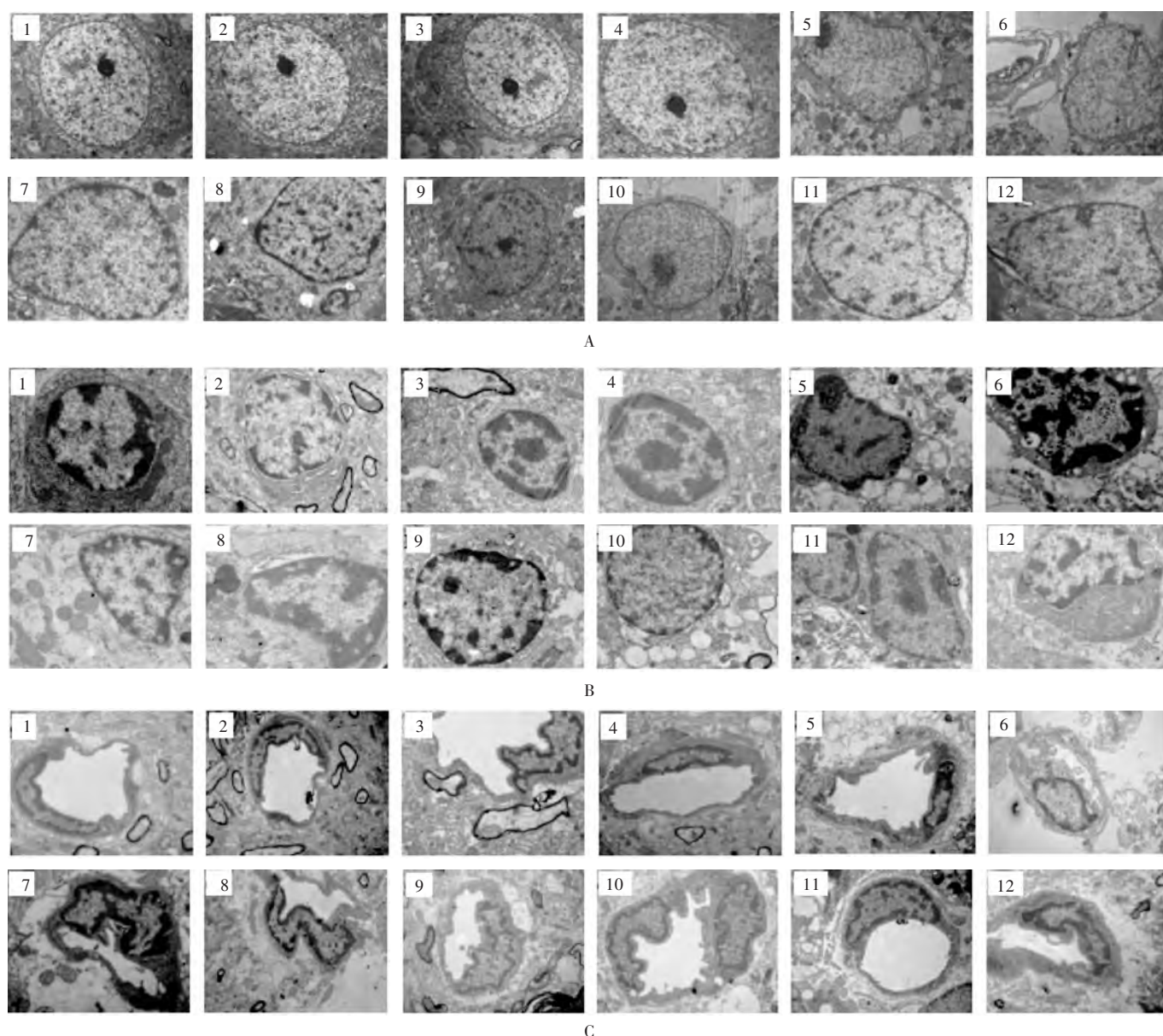
组同时点表现。详见图 3 B。

微血管:各时间点假手术组微血管无变化,周围无水肿,间隙致密无扩大,管壁光滑,管腔正常,内皮细胞结构正常,基底膜连续、薄厚均匀。模型组微血管内皮细胞逐渐出现变形甚至有空泡,管腔不同程度狭窄,血管周围不同程度溶解伴水肿、72 h 较明显,可见空泡状或空白区。治疗组微血管内皮细胞变形不明显、管腔基本通畅、管周水肿较模型组减轻,细胞器结构状态好于模型组同时点表现。详见图 3 C。

3 讨论

目前,对脑损伤的研究焦点逐渐从单一的神经元转向神经元、神经胶质细胞和微血管等组成的复合体,即 NVU。该概念于 2002 年由美国神经疾病与卒中研究所首次提出^[4],强调 NVU 中三者间相互联系、相互作用的重要性。NVU 各成分之间存在复杂的信号偶联和传递,任何一组分的破坏都会影响到 NVU 的整体功能^[5]。局灶性脑缺血时,不仅是神经元受损害,提供神经元氧和能量的微血管及起支持功能的胶质细胞也同时受到损伤^[2],对缺血性脑损伤的研究应把神经元、神经胶质细胞和微血管视为整体进行研究。脑缺血涉及多种不同类型细胞的功能障碍,单纯对神经细胞保护或单个靶点治疗难以达到充分的保护效果^[6],因此神经保护治疗的目标应是同时对 NVU 中胶质细胞、微血管的整体保护。

三七总皂苷对脑缺血具有多靶点、多方位作用。ZHOU 等^[7]发现,PNS 可通过抗氧化降低大鼠脑皮层星形胶质细胞死亡。徐士欣等^[8]发现,PNS 能对脑缺血再灌注损伤早期发挥神经保护效应,可能与显著抑制脑血



A. 神经元($\times 8\ 000$, bar = $5\ \mu\text{m}$) B. 胶质细胞($\times 8\ 000$, bar = $5\ \mu\text{m}$) C. 微血管($\times 15\ 000$, bar = $2\ \mu\text{m}$)

1-4. 假手术组 5-8. 模型组 9-12. 治疗组

图3 各组大鼠神经血管单元电镜下超微结构

屏障破坏相关的蛋白表达水平有关,为PNS干预脑缺血后对血脑屏障损伤起一定保护作用提供实验依据。PNS通过抑制细胞凋亡,对脑缺血治疗后能促进神经元形态恢复和数量增加^[9]。PNS可通过干预脑缺血性损伤的多个级联病理反应,从而防护脑缺血性损伤。

NeuN被认为是成熟神经元的特异性标志物,其蛋白表达逐渐上调,可反映神经细胞成熟程度^[10]。SHARP等^[11]选用沙鼠短暂性脑缺血模型来研究海马、齿状回部位新生成的细胞,通过BrdU标记新生成的分裂细胞,发现脑缺血后1个月有2/3的细胞表达出现成熟神经元的标志物NeuN,表明脑缺血后内源性的神经干细胞或前体细胞被增殖分化,从而进行修复神经元结构及功能重塑。本试验中经PNS干预后NeuN的表达量逐

渐升高,同时电镜观察到神经元形态学较模型组损伤减轻,考虑是NeuN对神经元结构和功能起到修复、重塑作用的结果,表明PNS能保护神经元存活,可能与上调NeuN蛋白表达有关。

GFAP被认为是活化状态星形胶质细胞特有的标志物^[12]。GOMES等^[13]的研究表明,上调GFAP表达水平可促进脑组织损伤的修复,提示GFAP可能有诱导星形胶质细胞对脑缺血损伤起修复作用。本研究结果显示,PNS可上调脑缺血后GFAP蛋白表达,电镜观察到胶质细胞的细胞核形态好于模型组,核膜完整清晰,说明GFAP可对缺血损伤发挥神经保护作用,与文献^[13]报道大致相符,提示PNS可能与上调GFAP蛋白表达而发挥神经保护作用有关。

LN 是检测血管基底膜完整性的敏感指标,具有调控细胞增殖、黏附,促进血管新生的作用^[14]。本研究治疗组 LN 的表达量较模型组逐渐升高,电镜观察到血管管周水肿较模型组逐渐减轻,细胞器结构状态好于模型组同时点表现,表明了 LN 增多能促进血管新生,对微血管起到修复作用,与施浩^[14]的研究结果大致相似,提示 PNS 可能与上调 LN 表达起微血管修复作用。

脑缺血后可导致 NVU 损伤,主要表现在 NVU 结构完整性的改变。细胞超微结构变化是反映细胞损伤程度甚至死亡最直观的指标^[15]。HAN 等^[16]在大鼠脑缺血再灌注模型研究中选择电镜技术能细微地观察到脑损伤后神经元、星形胶质细胞及微血管三者的超微结构变化。通过透射电子显微镜不仅同时观察到大鼠脑缺血后 NVU 的神经元、内皮细胞、血管基底膜及血管周边的胶质细胞超微结构的完整性破坏,发现周细胞损伤的同时伴随着线粒体嵴的肿胀破坏,血管损伤性水肿^[17]。利用电镜技术对阿尔茨海默病的老年患者脑组织中神经元、胶质细胞及毛细血管观测,不仅能清晰观察到三者同时出现细微结构改变,也发现血管壁与邻近神经元和星形胶质细胞之间在功能和形态上有着相互作用^[18]。因此,电镜不仅可同时观察 NVU 中三者的细微形态结构,还能观察 NVU 各组分间相互关联的病理形态学改变。提示电镜技术是目前观察和研究 NVU 超微结构最直接、最客观的方法。

本研究选用电镜同时观察脑缺血后 NVU 中神经元、神经胶质细胞和微血管的动态超微病理形态改变的研究,目前尚未见相关报道。电镜结果显示,与模型组相比,各 PNS 治疗组大鼠脑细胞神经元、胶质细胞和微血管的病理形态改变均有所改善,提示 PNS 能同时减轻脑缺血再灌注后 NVU 的病理形态改变,这与文献^[19]报道结果大致符合;治疗组大鼠神经功能评分与模型组相比逐渐改善,神经功能缺失症状也逐渐减轻,有临床研究表明,神经功能的缺失是最直接的评价脑梗死后神经损伤轻重的指标^[20],说明 PNS 干预后可改善脑缺血再灌注后大鼠神经功能缺损症状,减轻脑缺血后损伤。神经功能评分和病理形态学是评价药物抗脑缺血效应的指标^[19],表明三七总皂苷可通过整合促进脑缺血后 NVU 神经元、胶质细胞和微血管的修复,改善神经功能缺损症状,对脑缺血具有保护作用。

参考文献:

- [1] 黄 苑. 血塞通注射液对急性脑梗死疗效及血栓形成的影响[J]. 中国实用神经疾病杂志,2016,19(5):102-103.
- [2] DIRNAGL U. Pathobiology of injury after stroke: the neurovascular unit and beyond[J]. Ann N Y Acad Sci,2012,1268:21-25.
- [3] LONGA EZ, WEINSTEIN PR, CARLSON S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniotomy in rats[J].

Stroke,1989,20(1):84-91.

- [4] DEL ZOPPO GJ. Stroke and neurovascular protection[J]. N Engl J Med,2006,354(6):553-555.
- [5] LO EH. Degeneration and repair in central nervous system disease[J]. Nat Med,2010,16(11):1205-1209.
- [6] SUN XL, HU G. ATP-sensitive potassium channels: a promising target for protecting neurovascular unit function in stroke[J]. Clin Exp Pharmacol Physiol,2010,37(2):243-252.
- [7] ZHOU N, TANG Y, KEEP RF, et al. Antioxidative effects of Panax notoginseng saponins in brain cells[J]. Phytomedicine,2014,21(10):1189-1195.
- [8] 徐士欣,马惠宁,王成益,等. 三七总皂苷对脑缺血再灌注损伤大鼠缺氧诱导因子 1 α 和基质金属蛋白酶表达的影响[J]. 中华老年心脑血管病杂志,2016,18(8):859-862.
- [9] NING N, DANG X, BAI C, et al. Panax notoginsenoside produces neuroprotective effects in rat model of acute spinal cord ischemia-reperfusion injury[J]. J Ethnopharmacol,2012,139(2):504-512.
- [10] DENNIE D, LOUBOUTIN JP, STRAYER DS. Migration of bone marrow progenitor cells in the adult brain of rats and rabbits[J]. World J Stem Cells,2016,8(4):136-157.
- [11] SHARP FR, LIU J, BERNABEU R. Neurogenesis following brain ischemia[J]. Brain Res Dev Brain Res,2002,134(1-2):23-30.
- [12] HOL EM, PEKONY M. Glial fibrillary acidic protein (GFAP) and the astrocyte intermediate filament system in diseases of the central nervous system[J]. Curr Opin Cell Biol,2015,32(1):121-130.
- [13] GOMES FC, PAULIN D, MOURA NV. Glial fibrillary acidic protein (GFAP): modulation by growth factors and its implication in astrocyte differentiation[J]. Braz J Med Biol Res,1999,32(5):619-631.
- [14] 施 浩. 层粘连蛋白及其受体整合素 $\alpha 6 \beta 1$ 调控脑梗死后血管神经再生的机制研究[D]. 北京:北京协和医学院,2013.
- [15] 郑小影,孔 维,赵淑敏,等. 丁苯酞预处理对脑缺血再灌注大鼠皮质神经元 Fas/FasL 和超微结构的影响[J]. 神经解剖学杂志,2015,31(4):493-496.
- [16] HAN D, ZHANG S, FAN B, et al. Ischemic postconditioning protects the neurovascular unit after focal cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. J Mol Neurosci,2014,53(1):50-58.
- [17] GARBUZOVA - DAVIS S, HALLER E, WILLIAMS SN, et al. Compromised blood-brain barrier competence in remote brain areas in ischemic stroke rats at chronic stage[J]. J Comp Neurol,2014,522(13):3120-3137.
- [18] FRONTICZAK - BANIEWICZ M, WALSKI M. Ultrastructural features of the neurovascular unit in Alzheimer's neurodegeneration[J]. J Physiol Pharmacol,2006,57 (Suppl 4):91-96.
- [19] 陈 杰,袁 捷,韩祖成,等. 三七总皂苷对脑缺血-再灌注损伤大鼠神经的保护作用及机制[J]. 中国药业,2015,24(24):23-25.
- [20] 刘庆山,张伟伟,尹小英,等. 藏药诃子提取物 HZ4 对脑梗死模型的神经保护作用及分子机制研究[J]. 中国中药杂志,2016,41(10):1910-1915.

(收稿日期:2018-12-20)