

·基础研究·

参芎葡萄糖注射液对脊髓损伤后一氧化氮合成酶和血管内皮生长因子表达及运动功能恢复的影响

吴银侠¹ 袁小燕¹ 陈新胜¹ 王淑媛² 黄承芳^{1,3}

摘要

目的:研究参芎葡萄糖注射液对大鼠脊髓损伤(SCI)后诱导型一氧化氮合成酶(iNOS)和血管内皮生长因子(VEGF)蛋白表达变化,探讨参芎葡萄糖注射液对急性脊髓损伤后运动功能恢复的影响和可能机制。

方法:用改良 Allen 法制作大鼠 T12 脊髓损伤模型 60 只,随机分为对照组(30 只)和药物组(30 只)。术后第 1、3、7、14、21 天采用 BBB 评分和斜板试验对大鼠急性脊髓损伤后的运动功能进行评估,病理学检查观察脊髓损伤后病理改变,免疫组织化学方法和免疫印迹方法观察损伤脊髓 iNOS、VEGF 的表达变化,并进行比较分析。

结果:术后各时相点 BBB 评分和斜板试验,除第 1 天外,第 3、7、14、21 天药物组明显高于对照组;药物组各时相点的病理改变明显较轻,药物组各时相点 iNOS 阳性表达均明显低于对照组,而 VEGF 的阳性表达均明显高于对照组,两组差异有显著性意义($P<0.05$)。

结论:脊髓损伤后应用参芎葡萄糖注射液可以抑制 iNOS 的表达,增强 VEGF 的表达,抑制脊髓损伤区 iNOS 的表达和上调脊髓损伤区 VEGF 的表达可能是参芎葡萄糖注射液减轻继发脊髓损伤,促进损伤脊髓功能恢复的机制之一。

关键词 参芎葡萄糖注射液;脊髓损伤;一氧化氮合成酶;血管内皮生长因子;斜板试验

中图分类号:R651,R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2013)-12-1136-06

Effects of Shenxiong glucose injection on expressions of nitric oxide synthase and vascular endodermis growth factor and functional recovery after spinal cord injury/WU Yinxia, YUAN Xiaoyan, CHEN Xinsheng, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2013, 28(12): 1136—1141

Abstract

Objective:To study the changes of protein expressions of induced nitric oxide synthase (iNOS) and vascular endodermis growth factor (VEGF) after the rats with spinal cord injury (SCI) use shenxiong glucose injection, and to investigate the effect of shenxiong glucose injection on the recovery of motor function and it's possible mechanism after acute SCI.

Method:Sixty rat models of SCI at T12 level were created by modified Allen's method and randomly divided into a control group (30) and a treatment group (30). After acute SCI the motor function recovery was evaluated through Basso, Beatti, Bresnahan(BBB) score and slanting board test after modeling at the 1st,3rd,7th,14th, 21st d, the pathological changes after SCI were observed by pathology examination, and the expression changes of iNOS and VEGF after SCI were observed by immunohistochemistry method and Western blot, and comparative analyses were also carried out.

Result: BBB score and slanting board test after operation showed that in treatment group the scores were higher obviously compared with control group on the 3rd,7th, 14th, 21st d, except the 1st d, and in treatment group the pathological changes were significantly lighter, and the positive expression of iNOS was significantly lower, and the positive expression of VEGF was higher than those in control group. The difference between

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2013.12.012

1 武汉科技大学临床学院,430064; 2 湖北襄阳市中心医院神经内科; 3 通讯作者
作者简介:吴银侠,女,副主任医师,副教授; 收稿日期:2013-09-13

two groups ($P < 0.05$) was statistic significantly.

Conclusion: The treatment of Shenxiang glucose injection after SCI can restrain the expression of iNOS, and enhance the expression of VEGF, which may be the mechanism to alleviate secondary damage of SCI and to promote spinal function recovery.

Author's address Clinical Institute of Wuhan University of Science and Technology, Hubei, 430064

Key word Shenxiang glucose injection; spinal cord injury; induced nitric oxide synthase; vascular endothelium growth factor; slanting board test

脊髓损伤(spinal cord injury, SCI)是一种发病率高、致残率高、严重影响人类健康和生存质量的常见的中枢神经系统严重创伤,分为原发性损伤和继发性损伤。原发性损伤是指直接的机械性损害造成的局部神经组织的破坏。继发性损伤是原发性损伤后立即发生的进行性的病理生理变化,主要包括脊髓出血、水肿、微循环障碍等^[1],大量的实验研究表明脊髓损伤后组织进行性缺血是引起脊髓组织坏死和神经功能障碍的重要原因^[2-3]。多年来,研究者不断尝试根据脊髓继发性损伤机制寻找各种减轻SCI和促进神经功能恢复的手段^[1,4]。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是一种血管内皮细胞的特异性有丝分裂原,具有促血管内皮细胞分裂的作用,在体外可促进血管内皮细胞的生长,在体内可诱导血管发生,促进新生血管形成,改善中枢神经生长的局部微循环,保护神经元减少凋亡,因此,VEGF也是一种神经保护因子^[3,5]。近几年研究发现,脊髓损伤后诱导型一氧化氮合酶(inducible nitric oxide synthase, iNOS)表达上调及一氧化氮(nitric oxide, NO)合成增加参与脊髓损伤,NO是由一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)催化L-精氨酸生成胍氨酸产生的一种小分子自由基,具有血管舒张、神经信息传递和细胞毒作用等广泛的生物活性。生理状态下,NO抑制血小板聚集和黏附,舒张血管,维持组织血液循环。在急性脊髓损伤后随着损伤区炎性细胞浸润、炎性因子产生,转录因子核因子活化,诱导iNOS生成增加和持续表达,催化生成过量的NO,当其异常增多时,参与炎症反应而发挥其神经毒性作用,导致细胞凋亡,水肿坏死^[4,6]。因此,选择性地抑制iNOS表达已成为防治脊髓继发性损伤的有效方法^[7]。参芎葡萄糖注射液的主要成分为盐酸川芎嗪和丹参素,活血化瘀,通脉养心。有抗血小板聚集,扩张动脉,降低血液黏度,加

速红细胞的流速,改善微循环,并具有抗心肌缺血和心肌梗死的功效。常用于缺血性心脑血管疾病,很少报道用于脊髓损伤^[8]。本实验通过观察参芎葡萄糖注射液对大鼠急性脊髓损伤后运动功能恢复的评估及iNOS、VEGF表达的影响,探讨参芎葡萄糖注射液在脊髓继发性损伤中的作用及机制,为治疗继发性脊髓损伤和促进损伤脊髓功能修复的药物治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 主要材料与试剂

SD健康大鼠(武汉科技大学实验动物中心提供);参芎葡萄糖注射液(贵州景峰公司);戊巴比妥钠(美国Union公司);兔抗大鼠iNOS多克隆抗体、兔抗大鼠VEGF多克隆抗体、多聚甲醛、DAB试剂盒、SABC试剂盒(武汉博士德公司);羊抗兔IgG-HRP(上海恒远公司);苏木素(北京赛驰公司);兔抗GAPDH多克隆抗体、兔抗 β -Actin多克隆抗体(上海合星公司);总蛋白提取试剂盒(美国Pierce公司);Bradford蛋白浓度测定试剂盒(碧云天公司)。

1.2 实验动物分组、SCI模型建立及用药

SD健康大鼠60只,雌雄不限,鼠龄6个月,体重(220±20)g,随机分成2组,对照组和药物组,每组30只动物,每组观察时相点为术后1、3、7、14、21d,每时相点6只动物。用3%戊巴比妥钠按1ml/kg腹腔麻醉实验大鼠,常规脱毛消毒铺巾,以T12为中心取背正中切口,咬除T12椎板,暴露T12脊髓,按照Allen打击法建立脊髓损伤模型,药物组在术后每日经腹腔注射参芎葡萄糖注射液30ml/kg(首次给药在术后15min),对照组在同一时间给予等量生理盐水。

1.3 脊髓损伤后后肢运动功能的评估

1.3.1 BBB评分法评定脊髓损伤后后肢运动功能:分别于损伤后第1、3、7、14、21天将各组动物置于

7cm高、直径90cm的平坦不滑的塑胶模板上,根据Basso, Beatti, Bresnahan(BBB)评分法对损伤后动物后肢功能进行评分^[9]。

1.3.2 斜板试验:采用Rivlin等建立的斜板试验对大鼠后肢功能进行评分^[10]。将大鼠放置于垫有橡胶垫的自制斜板上,大鼠身体纵轴与斜板纵轴平行,大鼠头朝斜板抬高侧,斜板倾斜角度从0°开始缓慢上升,斜板每次升高5°,以大鼠能够停留5s不滑下的最大角度来评分。分别于损伤后第1、3、7、14、21天测量两组动物抓握能力和维持姿势的能力,重复3次取平均值。

1.4 HE染色观察脊髓的组织学改变

各实验组大鼠分别于术后第1、3、7、14、21天对大鼠进行行为学评价之后取材。在戊巴比妥钠(40mg/kg)麻醉下剖胸,用4%多聚甲醛经左心室-主动脉插管灌注固定至动物肢体僵硬,解剖椎管取出以损伤段脊髓为中心长约1cm脊髓组织,一部分供免疫印迹检测使用,一部分用多聚甲醛再固定24h后,常规石蜡包埋,连续切片,切片厚度7 μ m,部分切片按常规方法进行HE染色,显微镜下进行病理形态学观察并照相,部分切片行免疫组化检测。

1.5 免疫组化检测iNOS和VEGF

选取各时间点脊髓组织切片各6张,iNOS和VEGF染色各3张,按SABC试剂盒说明书进行操作,DAB显色,苏木素复染,依次脱水、透明,封片后光镜观察,以PBS代替一抗作阴性对照。阳性细胞为胞浆和/或胞核染为棕黄色,根据抗体不同可分别确定为iNOS或VEGF阳性表达细胞。染色玻片在200倍显微镜下观察拍照,每张切片随机选取3个不重复视野,计算3张玻片9个高倍视野的平均阳性细胞数代表该标本的阳性神经细胞数并进行方差分析。

1.6 Western blot法检测iNOS和VEGF蛋白表达水平

用天平称取脊髓组织50mg左右,按照总蛋白提取试剂盒说明提取蛋白质,按照Bradford蛋白浓度测定试剂盒说明测定蛋白浓度后制备蛋白样品,取40 μ g等量蛋白样品上样,经12% SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离iNOS(140kD)和VEGF(45kD)后,电转移至硝酸纤维素膜上,5%脱脂奶粉

封闭后加一抗:兔抗大鼠iNOS多克隆抗体(1:500)或兔抗大鼠VEGF多克隆抗体(1:500);内参兔抗GAPDH多克隆抗体(1:2000)或兔抗 β -Actin(1:2000),4℃过夜,洗膜,加入二抗羊抗兔IgG-HRP(1:5000),室温孵育1h,洗膜后加入DAB显色液反应1min,暗室曝光显影后冲洗胶片,于凝胶成像分析系统上摄像分析扫描。以兔抗GAPDH多克隆抗体作为兔抗大鼠iNOS多克隆抗体的内参照,兔抗 β -Actin作为兔抗大鼠VEGF多克隆抗体的内参照,测定各泳道iNOS或VEGF蛋白条带光密度,以iNOS/GAPDH或VEGF/ β -actin光密度值的比值来表示,进行半定量分析。

1.7 统计学分析

应用SPSS 17.0软件对数据进行统计分析,所有计数资料以平均值 \pm 标准差表示,均数间差异采用方差分析,相关性采用Pearson检验, $P < 0.05$ 即为存在显著性差异。

2 结果

2.1 各组大鼠SCI后运动功能恢复评价

2.1.1 BBB运动功能评分比较:大鼠正常肢体运动评分为21分,分值最高且稳定无变化^[9]。本实验结果显示对照组和治疗组脊髓损伤后第1天评分均显著降低,但两组比较BBB评分差异无显著性意义($P > 0.05$),随着损伤时间延长两组评分均有不同程度恢复,但治疗组恢复效果较对照组明显,有显著性差异($P < 0.05$),见表1,表明参芎葡萄糖注射液可以提高脊髓损伤后肢运动功能恢复的程度。

2.1.2 斜板试验评分结果:正常大鼠斜板试验评分平均分在83左右^[10],本实验结果见表2,两组损伤后评分均显著降低,但术后第1天治疗组与对照组比较无显著性意义($P > 0.05$),从术后第3天起,随着损伤时间延长,两组斜板试验评分均有不同程度恢复,但治疗组比对照组恢复的幅度明显增高,比较有显著性差异($P < 0.05$),说明治疗组与对照组术后运动功能恢复差异愈来愈明显。

2.2 脊髓组织病理学变化

镜下观察对照组见脊髓灰质组织疏松,神经元细胞变少,残留神经元部分空泡变性、核仁消失、神经纤维溶解,胶质细胞大量增生,部分坏死后形成囊

腔,损伤区大量空洞形成,药物组上述改变较轻,残留神经元较对照组多,尚可见核仁。如图1—2。

2.3 脊髓组织免疫组化检测 iNOS 和 VEGF 的表达情况

iNOS 阳性细胞表达主要分布在灰质神经元、神经胶质细胞、室管膜细胞,对照组大鼠脊髓损伤后第1天可见 iNOS 明显表达,第3天达到较高水平,第7d 达高峰,之后缓慢下降,至第21天仍可见明显表达。药物组 iNOS 表达趋势类似于对照组,但各时间点 iNOS 的表达均明显低于对照组,两组有显著性差异($P < 0.01$),说明脊髓损伤后参芎葡萄糖注射液可以明显抑制 iNOS 的表达。见表3、图3—4。

VEGF 阳性细胞主要表达于脊髓神经元的胞核、胞浆以及神经胶质细胞、血管内皮细胞等,两组损伤后第1天 VEGF 表达均增多,第3天到高峰,对照组随后渐下降至术后第21天仍有少量表达。药物组高表达持续到第7天,各时相点药物组 VEGF 的表达均明显比对照组强,两组差异有显著性($P < 0.01$)。说明脊髓损伤后参芎葡萄糖注射液可以明显上调 VEGF 的表达。见表3、图5—6。

2.4 大鼠 SCI 后不同时间点脊髓组织中 iNOS 和

VEGF 表达水平变化的免疫印迹检测结果

免疫印迹检测分析显示 iNOS 蛋白对照组损伤后第1天即有表达,第3天明显增加,第7天达高峰,以后逐渐降低。药物组变化趋势类似对照组,但各组灰度值较对照组明显降低,有显著性差异($P < 0.05$)。见表4、图7。

免疫印迹检测 VEGF 结果如表4,在脊髓损伤后第1天两组 VEGF 阳性条带相对平均光密度值即有差异,第3天差异最明显,随后对照组明显下降,而治疗组第7天仍维持较高水平,第14天、第21天均明显高于对照组,有显著性差异($P < 0.05$)。见图8。

3 讨论

SCI 后对机体功能产生的影响取决于脊髓原发性和继发性损伤的程度以及损伤脊髓神经细胞自我修复和再生的能力,由于原发性损伤的不可逆性,故目前脊髓损伤的研究主要集中在逆转脊髓损伤后脊髓内继发病理损伤,继发性脊髓损伤的病理生理变化主要包括脊髓出血、水肿、微循环障碍等^[1,4]。继发性脊髓损伤的微循环障碍机制涉及血管内膜损伤、微血管损伤、微血管痉挛、微血栓形成、血脊髓屏

表1 各组不同时间点后肢运动功能 BBB 评分结果

组别	第1天	第3天	第7天	第14天	第21天
对照组	0.67±0.52	1.33±0.54	3.17±0.75	4.67±0.52	6.33±1.03
治疗组	1.00±0.60 ^①	2.33±0.98 ^②	5.66±0.78 ^②	7.33±0.78 ^②	10.66±1.30 ^②

①与对照组比较 $P > 0.05$; ②与对照组比较 $P < 0.05$

表2 各组不同时间点斜板试验评分结果

组别	第1天	第3天	第7天	第14天	第21天
对照组	28.33±4.08	30.00±3.16	32.50±4.18	36.67±2.58	40.83±3.76
治疗组	30.00±4.26 ^①	33.33±3.46 ^②	35.83±3.98 ^②	40.83±3.58 ^②	45.82±3.58 ^②

①与对照组比较 $P > 0.05$; ②与对照组比较 $P < 0.05$

表3 各组不同时间点 iNOS 和 VEGF 在神经元阳性细胞表达情况

组别	iNOS					VEGF				
	第1天	第3天	第7天	第14天	第21天	第1天	第3天	第7天	第14天	第21天
对照组	19.67±2.94	29.50±2.43	33.33±2.34	24.50±2.59	15.17±2.14	25.83±2.23	35.33±2.34	30.17±2.48	20.67±2.07	13.17±2.32
治疗组	14.17±2.21	22.17±2.79	25.50±2.39	17.33±2.39	11.67±1.67	32.67±3.06	45.67±3.17	42.33±2.67	35.83±2.52	22.17±2.46

方差分析各时间点药物组与对照组比较均 $P < 0.01$

表4 不同时间点脊髓组织中 iNOS/GAPDH 和 VEGF/ β -actin 的灰度比值

组别	iNOS/GAPDH					VEGF/ β -actin				
	第1天	第3天	第7天	第14天	第21天	第1天	第3天	第7天	第14天	第21天
对照组	0.837±0.281	1.147±0.026	1.343±0.025	0.852±0.023	0.447±0.019	0.272±0.012	0.787±0.022	0.585±0.018	0.387±0.016	0.193±0.015
治疗组	0.642±0.221	0.847±0.023	0.948±0.024	0.743±0.021	0.335±0.014	0.378±0.016	1.037±0.025	0.853±0.021	0.595±0.018	0.267±0.016

各时间点药物组与对照组比较均 $P < 0.01$

图1 对照组术后第21天脊髓组织
(HE染色, ×200)

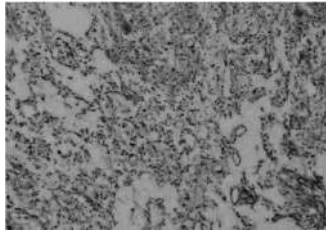


图2 药物组术后第21天脊髓组织
(HE染色, ×200)

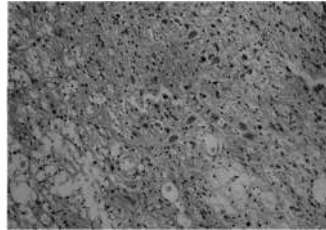


图3 对照组术后第7天 iNOS 表达
(×200)

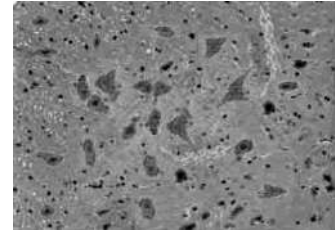


图4 药物组术后第7天 iNOS 表达
(×200)

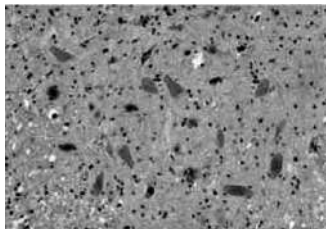


图5 对照组术后第3天 VEGF 表达
(×200)

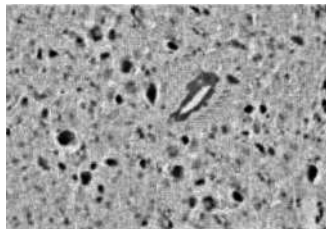


图6 药物组术后第3天 VEGF 表达
(×200)

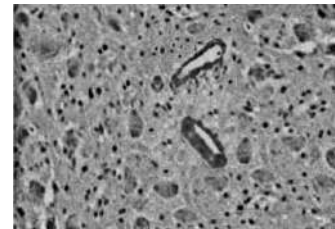
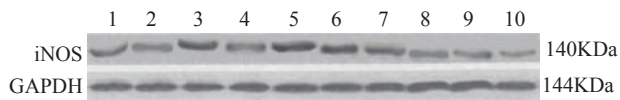
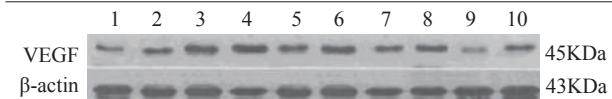


图7 SCI后不同时间脊髓组织中iNOS免疫印迹表达水平



1、3、5、7、9分别为对照组术后第1、3、7、14、21天的表达水平,2、4、6、8、10分别为药物组术后第1、3、7、14、21天的表达水平

图8 SCI后不同时间脊髓组织中VEGF免疫印迹表达水平



1、3、5、7、9分别为对照组术后第1、3、7、14、21天的表达水平,2、4、6、8、10分别为药物组术后第1、3、7、14、21天的表达水平

障破坏等^[11]。实验证实,脊髓的缺血缺氧几乎在伤后立即出现,损伤后微循环变化所致的脊髓缺血是继发损害的关键机制^[12],因此,脊髓损伤后早期及时的扩张微血管,改善脊髓微循环是缓解脊髓损伤后组织缺血缺氧,减轻继发性脊髓损伤的重要手段。

BBB评分和斜板试验是SCI后运动功能恢复评价常用指标,本研究结果发现SCI后参芎葡萄糖注射液药物组与对照组BBB评分和斜板试验第1天无差异,而第3天后药物组各个时间点结果显著优于对照组。第21天后脊髓切片HE染色显示药物组脊髓病理改变较对照组有改善,上述结果表明参芎葡

萄糖注射液在运动功能评定和组织学检查上对大鼠脊髓损伤模型有较明显效果,可减轻脊髓损伤的病理损害,提高脊髓运动功能的评定,促进脊髓运动功能的恢复。

NO在组织中的作用犹如双刃剑,表现出复杂的生物学效应,一方面,基础量的NO具有舒张血管、增加血流,减少血小板聚集、黏附,避免血栓形成,维持组织器官正常的血流,起到组织保护作用。另一方面,组织损伤后产生的细胞因子白细胞-1 β 、肿瘤坏死因子- α 、兴奋性氨基酸等可通过各种途径激活 iNOS,诱导 iNOS 表达增加^[6,13]从而引起NO的长时间和高浓度表达,此时,NO在扩张血管,改善组织局部血运的同时也在过量的情况下介导严重的神经毒性及细胞毒性导致细胞水肿坏死而加重脊髓组织损伤^[14]。本实验通过免疫组化及免疫印迹方法观察脊髓损伤后 iNOS 变化,均显示对照组脊髓损伤后 iNOS 表达增强,第7天达高峰,随后渐下降,损伤后第21天在受损区仍然可以观察到 iNOS 反应,与潘峰等^[7]的结果是一致的。而药物组相应时间段 iNOS 表达明显降低, BBB 评分和斜板实验药物组高于对照组,说明参芎葡萄糖注射液通过降低 iNOS 的表达保留了NO的组织保护作用,减轻了神经毒性及细胞毒性作用从而减轻NO过度释放对受伤脊

髓产生的继发性损害,显示其对脊髓神经细胞具有保护作用。

大量研究表明VEGF是改善脊髓损伤微循环障碍的重要因子,VEGF具有多种功能:①VEGF是重要的血管生长因子,VEGF是一种高度特异性的血管内皮细胞有丝分裂素,能特异性地促进内皮细胞的有丝分裂、增殖和迁移,修复内皮细胞,同时促进血管生成,增加血管数量,改善局部缺血,为脊髓损伤修复提供良好的微环境,进而促进脊髓损伤的功能恢复^[2,5]。②VEGF是强的血管扩张因子,可松弛血管平滑肌,改善毛细血管痉挛,促进新生侧支血管的尽快成熟^[15]。③VEGF可以增加微血管内皮细胞的通透性,使血浆纤维蛋白外渗,为血管形成过程中多种细胞迁移提供一个纤维网络。④有研究显示,VEGF具有神经保护作用及促进神经再生作用^[16],VEGF可刺激神经元和胶质细胞生长、存活^[17]和轴突生长^[18]。总之,VEGF可改善脊髓损伤后的微循环障碍,促进损伤脊髓的功能恢复。本实验显示在脊髓损伤模型建立后每日腹腔注射参芎葡萄糖液,药物组VEGF阳性细胞表达的高峰时间与对照组相同,均为第3天,但对照组随即迅速下降,而药物组高表达持续到第7天,药物组各个时间点VEGF的表达较对照组强,相应时间点的BBB评分和斜板实验较对照组高,病理损害较对照组轻,提示参芎葡萄糖注射液可能通过上调VEGF的表达改善脊髓损伤后的微循环障碍参与了其减轻继发脊髓损伤的作用。

本研究通过观察参芎葡萄糖注射液在继发性脊髓损伤中的活性作用,初步了解了参芎葡萄糖注射液减轻继发脊髓损伤的可能机制,为脊髓损伤的临床治疗提供新的理论和实验依据。

参考文献

- [1] Tyor WR, Avgeropoulos N, Ohlandt G, et al. Treatment of spinal cord impact injury in the rat with transforming growth factor beta[J]. *J Neurol Sci*, 2002, 200:33—41.
- [2] 刘子生,侯卢培刚,袁绍纪,等. 高压氧对大鼠脊髓损伤后血管内皮生长因子表达的影响[J]. *中华神经外科疾病研究杂志*, 2009, 8(6): 484—487.
- [3] 韩晓光,杨宁,徐迎胜,等. 辛伐他汀促进脊髓损伤后神经功能修复的实验研究[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2011; 21(3): 234—238.
- [4] 王晓梅,张秀花,刘冰,等. 托吡酯对大鼠脊髓损伤后神经的保护机制[J]. *中国康复医学杂志*, 2013, 28(5):403—408.
- [5] 潘孟尧,王红星,丁晓晶,等. 运动训练对大鼠损伤远端脊髓及骨骼肌血管内皮生长因子表达的影响[J]. *中国康复医学杂志*, 2012, 27(5): 406—409.
- [6] Kwak AK EK, Kim JW, Kang KS, et al. The role of inducible nitric oxide synthase following spinal cord injury in rat[J]. *J Korean Med Sci*, 2005, 20(4): 663—669.
- [7] 潘峰,陈安民,郭风劲,等. 脊髓冲击伤后应用低剂量FK506抑制iNOS表达及神经细胞凋亡[J]. *中国现代医学杂志*, 2008, 18(4): 1968—1973.
- [8] 陈科,吕小华. 参芎葡萄糖注射液对大鼠急性脊髓损伤后后肢功能及NF-κB表达的影响[J]. *现代中西医结合杂志*, 2008, 17(19): 2939—2940.
- [9] 刘建坤,孙志明,闫璋松,等. 脐血干细胞移植对大鼠脊髓损伤后神经再生和后肢运动功能的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2009, 19(16): 2433—2436.
- [10] 顾兵,金建波,李华南,等. 脊髓损伤动物模型的运动功能评价[J]. *中国药理学通报*, 2011, 27(7): 893—896.
- [11] 李新枝,聂政. 丙戊酸对大鼠急性脊髓损伤的保护作用[J]. *中国康复医学杂志*, 2011, 26(4): 347—350.
- [12] Lin G, Chen KC, Hsieh PS, et al. Neurotrophic effects of vascular endothelial growth factor and neurotrophins on cultured major pelvic ganglia[J]. *BJU Int*, 2003, 92: 631.
- [13] 段德宇,郑启新,邵增务,等. 胰岛素对大鼠急性脊髓损伤后细胞凋亡及诱导型一氧化氮合酶、环氧合酶-2表达的影响[J]. *中国脊柱脊髓杂志*, 2006, 16(8): 607—610.
- [14] 张会欣,张建新,李兰芳,等. 一氧化氮合酶抑制剂对大鼠局灶性脑缺血损伤的影响[J]. *中国病理生理杂志*, 2002, 18(6): 679—682.
- [15] Widenfalk J, Lipson A, Jubran M, et al. Vascular endothelial growth factor improves functional outcome and decreases secondary degeneration in experimental spinal cord contusion injury[J]. *Neurosci*, 2003, 120(4): 951—960.
- [16] Zachary I. Neuroprotective role of vascular endothelial growth factor signalling mechanisms biological function and therapeutic potential[J]. *Neurosignals*, 2005, 14: 207—221.
- [17] Ding XM, Mao BY, Jiang S, et al. Neuroprotective effect of exogenous vascular endothelial growth factor on rat spinal cord neurons on vitro hypoxia[J]. *Chin Med J*, 2005, 19: 1644—1650.
- [18] Jin K, Mao XO, Greenberg DA. Vascular endothelial growth factor stimulates nerve outgrowth from cerebral cortical neurons via Rho kinase signaling[J]. *Neurobiol*, 2006, 66, 236—242.