研究报告

四种开窍药对急性不完全性脑缺血再灌注损伤模型大鼠的脑保护作用

黄　丽[1],朱彩霞[1],张芹欣[2],方永奇[3],李　翎[3*]

(1. 广州中医药大学,广州　510405; 2. 广东省中医院珠海医院,广东 珠海　519015; 3. 广州中医药大学第一附属医院,广州　510405)

【摘要】 **目的**　单味开窍药均有一定的脑保护作用,但还缺乏系统的对比研究。因此,本实验通过对比 β-细辛醚、冰片、麝香酮及苏合香挥发油对急性不完全性脑缺血再灌注模型大鼠的作用,探讨四种开窍药的脑保护作用及其作用机制。**方法**　建立颈动脉结扎致大鼠急性不完全性脑缺血再灌注损伤模型,经四种开窍药物干预后,取全脑检测各组大鼠脑含水量,血清测定超氧化歧物酶(SOD)、丙二醛(MDA)、谷胱苷肽过氧化物酶(GSH-PX)、内皮素(ET-1)、降钙素基因相关肽(CGRP),脑组织检测 B 淋巴细胞瘤基因(bcl-2),bcl-2 相关 x 蛋白(bax)。**结果**　与模型组比较,β-细辛醚组、冰片组、苏合香组大鼠脑含水量均明显降低,冰片组 SOD 含量显著增高,麝香酮组及苏合香组 MDA 含量显著降低;各药物组与模型组相比 GSH-PX 含量显著增高、ET-1 含量显著降低,脑组织内 bcl-2 蛋白的含量升高,bax 蛋白含量下降,bcl-2/bax 较模型组增高。**结论**　四种开窍药均能不同程度改善缺血再灌注造成的脑损伤情况,冰片在降低脑含水量方面效果最佳,苏合香挥发油能有效减少氧化应激损伤作用,麝香酮可明显增加 bcl-2 蛋白,降低 bax 蛋白,从而抑制脑细胞凋亡,β-细辛醚作用居中,但整体上四种开窍药有效成分/部位对脑缺血损伤均有一定的保护作用。

【关键词】　开窍药;脑缺血再灌注损伤;血管活性;凋亡

【中图分类号】R-33　　【文献标识码】A　　【文章编号】1671-7856(2018) 08-0077-06

doi: 10.3969/j.issn.1671 -7856. 2018.08.014

Protective effects of resuscitation-inducing herbs on acute incomplete cerebral ischemia in rats

HUANG Li[1], ZHU Caixia[1], ZHANG Qinxin[2], FANG Yongqi[3], LI Ling[3*]

(1. Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, China; 2. Zhuhai Brach of Guangdong Hospital of traditional Chinese Medicine, Zhuhai 510915; 3. The First Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405)

【**Abstract**】 **Objective**　Some research on the brain-protective effects of single-taste drugs has been performed, but there is a lack of research comparing them. The purpose of this research was thus to explore the protective effects and mechanism of action of the effective components of resuscitation-inducing herbs, namely, β-asarone, borneol, muscone, and Styrax naphtha, on acute incomplete cerebral ischemia model rats. **Methods**　This model was established by temporarily ligaturing the common carotid arteries bilaterally. The changes of cerebral water content and SOD, MDA, GSH-

[基金项目]广东省科技计划项目(2016A030303053)。

[作者简介]黄丽(1990—),女,硕士研究生,研究方向:醒神开窍药治疗脑病的作用及其作用机理研究工作。

[通信作者]李翎(1963—),女,副研究员,研究方向:中药药理及药效作用研究。E-mail:liling88800@126.com

Px, ET-1, and CGRP activities in the serum were determined, and brain tissue was used to detect Bcl-2 and Bax proteins. **Results** Compared with those in the model group, cerebral water content decreased significantly in the β-asarone, borneol, and Styrax naphtha groups; serum content of SOD markedly increased in the borneol group; serum content of MDA markedly decreased in the muscone and Styrax naphtha groups; serum content of GSH-PX increased in all drug groups; serum content of ET-1 decreased in all drug groups; and serum content of CGRP increased in all drug groups compared with the levels in the sham-operated and model groups, although no significant differences were noted. The level of Bcl-2 protein in the brain tissues of each drug group increased, while that of Bax protein decreased, with the Bcl-2/Bax ratio being higher than in the model group. **Conclusions** Resuscitation-inducing herbs can improve ischemia reperfusion brain injury as revealed by different measures. Borneol significantly reduced the cerebral water content. Styrax naphtha showed the strongest reduction of oxidative stress damage. Muscone clearly increased Bcl-2 and reduced Bax protein, which may prolong the process of apoptosis. β-asarone effect centered. Overall, the studied components have certain protective effects against cerebral ischemia injury. Active components of the four resuscitation-inducing herbs reduce the degree of cerebral edema caused by ischemia, oxidative stress injury, cerebral ischemic neuron injury, and inhibition of apoptosis, which may have protective effects against cerebral ischemia injury.

【**Keywords**】 resuscitation-inducing herb; cerebral ischemia; plasma vasoactive; apoptosis

中风又称脑卒中,分为缺血性中风和出血性中风,在我国以缺血性中风多发,具有高发病率,高致死率,高致残率的特点[1-2]。目前,对于缺血性中风初期,首选溶栓治疗恢复脑组织供血,但供血恢复后易继发脑缺血再灌注损伤。中医药在治疗脑病中有其独特优势,特别是以石菖蒲、冰片、苏合香、麝香为代表的具有芳香走窜,开窍醒神之功的醒脑开窍药。现代研究发现这四种开窍中药,特别是其不同方法所提取的有效成分/部位作为单一药物对脑损伤均有一定的保护作用,同时此类药物在体内具有吸收快、分布快而广泛,脂溶性强、能调节血脑屏障通透性,并促进其他药物透过血脑屏障[3-6],能维持脑兴奋-抑制平衡、减轻脑损伤[7-9]等特点。但其药效、药理作用强弱不尽相同,目前缺乏该类药物特别是有效成分、部位对脑损伤保护作用的比较研究以及对不同作用机制的探讨。同时,脑缺血再灌注损伤的机制相互影响,错综复杂,有研究表明有关氧化应激反应的相关酶(SOD、MDA、GSH-PX),血管活性物质(ET-1、CGRP)及凋亡基因 bcl-2 家族参与了脑缺血再灌注损伤病理级联反应过程,是缺血性脑血管疾病病情演变及程度指标之一[10-13],对治疗脑缺血再灌注损伤疾病的药物研究具有重要意义。

因此,本实验利用急性不完全性脑缺血再灌注大鼠模型,对比研究四种开窍药石菖蒲、冰片、麝香、苏合香的有效成分/部位(β-细辛醚、冰片、麝香酮、苏合香挥发油)在相同临床等效剂量下对模型大鼠的作用,观察此四种药对模型大鼠脑组织含水量,自由基相关酶,ET-1,CGRP,bcl-2 及 bax 的影响,以探讨四种开窍药的有效成分/部位对脑缺血再灌注损伤大鼠脑保护作用的强弱。

1 材料和方法

1.1 实验动物

SPF 级 SD 大鼠,180~220 g,8 周龄,雌雄各半,共 120 只,购自广州中医药大学实验动物中心[SCXK(粤)2013-0034]。动物实验于广州中医药大学第一附属医院[SYXK(粤)2013-0092],福利伦理审查表编号:$TCMF_1$-2016008。

1.2 主要试剂与仪器

石菖蒲,康美药业股份有限公司(批号 140301);β-细辛醚由广州中医药大学第一附属医院实验中心自制,纯度为 99.32%,配成 1.70 g/L 混悬液;冰片,康美药业股份有限公司(批号 151210181),配成 10.00 g/L 混悬液;麝香酮,中国食品药品检定研究院(批号 110719-201215),配成 0.04 g/L 混悬液;苏合香,亳州清逸中药材有限公司(批号 160415);苏合香挥发油由广州中医药大学第一附属医院实验中心自制,含量为 1.0167%,配成 0.20 g/L 混悬液;SOD 试剂盒(批号 20160405)、MDA 试剂盒(批号 20160402)及 GSH-PX 试剂盒(批号 20160331)均购自南京建成生物工程研究所;ET-1 试剂盒(批号 E116SC)、CGRP 试剂盒(批号 C154SC)均购自加拿大 Elixir 公司;胎牛血清、磷酸盐缓冲液(PBS)购自美国 Gibco 公司;破膜剂(Cell Permeabilization Kit)购自美国 Invitrogen 公司;bcl-2 抗体(货号 sc-7382)、bax 抗体(货号 sc-7480)购自美国 Santa 公司。

AL204-IC 电子分析天平(Mettler Toledo 仪器上海有限公司);DHG-9145A 电热恒温鼓风干燥箱(上海-恒科学仪器有限公司);TDL-5-A 型低速离心机(上海安亭科学仪器厂);DK-8 电热恒温水槽(上海一恒科技有限公司);Multiskan Mk3 型酶标仪(美国 Thermo Scientific 公司);ALTRA 型流式细胞仪美国(Beckman Coulter 公司),激发波长 488 nm,分析软件 expo32。

1.3　实验方法

1.3.1　动物分组

适应性喂养这一周后随机分为 β-细辛醚组、麝香酮组、冰片组、苏合香组、模型组、假手术组,每组 20 只。

1.3.2　急性不完全性脑缺血再灌注损伤模型的制备

大鼠腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉,仰卧固定,颈部备皮,消毒,沿颈正中线做纵向皮肤切口,显露双侧胸锁乳突肌,钝性分离,暴露双侧颈总动脉,并用动脉夹夹闭 1 h 后取出动脉夹再灌注,缝合、消毒。假手术组只暴露双侧颈总动脉,然后缝合、消毒。

1.3.3　给药与取材

给药组灌胃给药 7 d,每天 2 次,10 mL/g。假手术组、模型组给予相同体积生理盐水,第 7 天给药 30 min 后,制备急性不完全脑缺血再灌注损伤模型,再灌注 24 h 后,大鼠麻醉,腹主动脉采血后,快速断头取全脑,测脑含水量。

1.3.4　脑含水量的测定

取脑后称湿重,85℃烤箱烘干 24 h,迅速测干重,计算脑含水量。脑含水量% =(湿重 - 干重)/湿重 ×100%。

1.3.5　SOD、MDA、GSH-Px、ET-1 和 CGRP 的测定

取血清按试剂盒说明书操作分别用 WST-1 法测 SOD 活力,TBA 法测 MDA 含量、GSH-Px 活力,ELISA 法测 ET-1 和 CGRP 含量。

1.3.6　bcl-2 及 bax 的测定

将脑组织处理成单细胞悬液(约 1×10^6),加入封闭液(2% BSA),涡旋后室温放置 15 min,摇匀后去上清液,再把单细胞悬液按破膜剂试剂盒操作,最后加 1% 多聚甲醛固定,流式细胞仪检测。

1.4　统计学方法

采用 SPSS 19.0 统计软件进行统计,实验数据用平均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用独立样本 t 检验,以 $P<0.05$ 为差异有显著性。

2　结果

2.1　四种开窍药对模型大鼠脑含水量的影响

与假手术组比较,模型组大鼠脑含水量增高($P<0.01$),造模成功;与模型组比较,β-细辛醚组、冰片组、苏合香组大鼠脑含水量降低($P<0.05$),麝香酮组脑含水量有降低趋势,但差异无显著性。脑含水量比较:冰片组 < 苏合香组 < β-细辛醚组 < 麝香酮组。(见表 1)

表 1　四种开窍药对脑缺血再灌注大鼠脑含水量的影响($\bar{x}\pm s$)

Table. 1　Effects of four types of resuscitation-inducing herbs on cerebral water content in model rats

组　别 Groups	剂量(mg/kg) Dose	脑含水量(%) Cerebral water content
假手术组 Sham operated group	—	75.19 ± 0.23
模型组 Model group	—	77.39 ± 0.53$^{\triangle\triangle}$
β-细辛醚组 β-asarone group	17	76.18 ± 0.26$^{*\triangle\triangle}$
冰片组 Borneol group	100	75.85 ± 0.49*
麝香酮组 Muscone group	0.4	76.52 ± 0.23$^{\triangle\triangle}$
苏合香组 Styrax naphtha group	2.0	76.17 ± 0.60*

注:与模型组比较,$^{*}P<0.05$,$^{**}P<0.01$;与假手术组比较,$^{\triangle}P<0.05$,$^{\triangle\triangle}P<0.01$。下同。

Note. Compared with the model group, $^{*}P<0.05$, $^{**}P<0.01$. Compared with the sham operation group, $^{\triangle}P<0.05$, $^{\triangle\triangle}P<0.01$. The same below.

2.2　四种开窍药对模型大鼠血清中 SOD、MDA、GSH-PX 含量的影响

与假手术组比较,模型组 SOD、GSH-PX 含量降低($P<0.05$),MDA 含量升高($P<0.01$)。与模型组比较,冰片组、苏合香组 SOD 含量提高($P<0.05$);麝香酮组、苏合香组 MDA 含量降低($P<0.05$);β-细辛醚组、麝香酮组、冰片组、苏合香组 GSH-PX 含量均有提高($P<0.05$),苏合香组 < 冰片组 < β-细辛醚组 < 麝香酮组。(见表 2)。

2.3　四种开窍药对模型大鼠血中 ET-1、CGRP 含量的影响

与假手术组比较,模型组 ET-1 含量提高($P<0.05$),CGRP 的含量降低($P<0.05$)。与模型组比较,β-细辛醚组、麝香酮组、冰片组、苏合香组 ET-1 含量均降低($P<0.05$),麝香酮组 < 冰片组 < 苏合香组 < β-细辛醚组;CGRP 的含量无显著性差异(见表 3)。

2.4 四种开窍药对模型大鼠脑组织中 bcl-2 及 bax 的影响

与假手术组比较,模型组 bcl-2,bax 蛋白含量提高($P < 0.01$),bcl-2/bax 比值降低($P < 0.01$)。与模型组比较,各药物组 bcl-2 蛋白含量均提高($P < 0.05$),bax 蛋白含量均减低($P < 0.05$),bcl-2/bax 比值均提高($P < 0.05$),其作用强度麝香酮 > 冰片 > 苏合香挥发油 > β-细辛醚。(见表 4)

3 讨论

醒脑开窍中药治疗脑病有突出优势,现代研究表明 β-细辛醚、麝香酮、冰片及苏合香挥发油,多属分子量小、高度亲脂性的成分,既容易透过血脑屏障,又具有较强的神经药理作用,是一类具有“辛香

表 2 四种开窍药对脑缺血再灌注大鼠血清 SOD、MDA、GSH-PX 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table. 2 SOD, MDA, and GSH-PX levels for four types of resuscitation-inducing herb in model rats

组别 Groups	SOD(U/mL)	MDA(nmol/mL)	GSH-PX(mol/L)
假手术组 Sham operated group	77.12 ± 4.38	6.54 ± 1.28	1.63 ± 0.09
模型组 Model group	70.64 ± 4.87△	10.25 ± 2.27△△	1.46 ± 0.14△
β-细辛醚组 β-asarone group	72.95 ± 4.97	8.72 ± 1.53△△	1.60 ± 0.05*
冰片组 Borneol group	76.61 ± 4.23*	9.00 ± 1.66△△	1.59 ± 0.09*
麝香酮组 Muscone group	74.64 ± 4.74	6.94 ± 1.48**	1.61 ± 0.08*
苏合香组 Styrax naphtha group	75.88 ± 4.22*	7.51 ± 1.63*	1.59 ± 0.09*

表 3 四种开窍药对脑缺血再灌注大鼠血中 ET-1、CGRP 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table. 3 ET-1 and CGRP levels for four types of resuscitation-inducing herb in model rats

组别 Groups	ET-1(ng/mL)	CGRP(pg/mL)
假手术组 Sham operated group	22.89 ± 2.21	87.29 ± 15.35
模型组 Model group	27.68 ± 5.52△	64.81 ± 18.89△
β-细辛醚组 β-asarone group	20.78 ± 6.73*	74.50 ± 19.34
冰片组 Borneol group	19.47 ± 8.79*	68.18 ± 8.00
麝香酮组 Muscone group	18.67 ± 6.71*	76.50 ± 9.39
苏合香组 Styrax naphtha group	20.22 ± 6.35*	74.23 ± 17.07

表 4 四种开窍药对脑缺血再灌大鼠脑组织 bcl-2、bax 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table. 4 Bcl-2 and Bax levels for four types of resuscitation-inducing herb in model rats

组别 Groups	bcl-2	bax	bcl-2/bax
假手术组 Sham operated group	11.33 ± 2.08	12.15 ± 2.24	1.04 ± 0.13
模型组 Model group	19.62 ± 2.42△△	23.5 ± 3.42△△	0.78 ± 0.05△
β-细辛醚组 β-asarone group	23.30 ± 3.01*△△	17.75 ± 3.82*△	1.44 ± 0.12**△△
冰片组 Borneol group	25.88 ± 4.25*△△	18.03 ± 3.63*△△	1.65 ± 0.36**△
麝香酮组 Muscone group	23.60 ± 3.26*△△	15.68 ± 2.04**△	1.70 ± 0.34*△
苏合香组 Styrax naphtha group	16.33 ± 2.61*△△	13.93 ± 1.38**	1.55 ± 0.22**△

走窜”、“引药上行”之性,以通关开窍、启闭醒神为主要功效的中药[14],常用于脑损伤疾病的预防及治疗。

脑水肿是急性脑缺血性损伤的主要病理变化之一。脑缺血初期为细胞毒性水肿[15-16],缺血半小时产生续发性血管源性水肿[17]。缺血时间越长,肿胀越明显,最终使血管腔狭窄,甚至堵塞,反过来又加重脑缺血[18]。其基本发病机制与细胞膜结构和功能改变,钠泵功能减退,微血管通透性增高等相关。研究表明 SOD、GSH-PX 是体内重要的抗氧化酶,SOD 能够催化超氧阴离子自由基发生歧化反应,阻断自由基的毒性反应,清除超氧阴离子自由基,保护细胞免受损伤[19],GSH-PX 特异地催化 GSH 对过氧化物的还原反应,能清除过氧化物代谢产物,阻断脂质过氧化链锁反应,从而起到保护细胞膜结构和功能完整的作用[20]。本次研究中 β-细辛醚、冰片、麝香酮及苏合香挥发油均能不同程度降低模型大鼠脑水肿程度,其中以冰片作用最佳,其他三种用强弱程度分别是:苏合香挥发油 > β-细辛醚 > 麝香酮。同时,冰片、苏合香挥发油可明显升高血清中抗氧化酶 SOD、GSH-PX 含量,β-细辛醚组、麝香酮作用次之;麝香酮及苏合香挥发油降低脂质过氧化产物 MDA 作用最强,说明四种开窍药有效成分/部位均能降低脑水肿缺血再灌注损伤,其作用机制可能与减少自由基损伤,清除神经毒性相关。

ET-1、CGRP 分布于中枢神经系统和血管内皮细胞中,分别具有强烈的舒缩血管作用。缺血、缺氧、再灌注损伤时,EI-1 分泌增加可促进血管平滑肌收缩,加重脑组织缺血缺氧;能引起细胞内钙离子增高,可间接激活 NO 合成酶,导致 NO 增多,发挥神经毒作用[21]。CGRP 是内源性 ET 拮抗剂,能有效地防治组织的缺血再灌注损伤[22]。本研究中各药物组均能有效降低 ET-1 含量,并具有增加 CGRP 趋势,其中以 β-细辛醚组降低 ET-1 作用最强,说明 β-细辛醚对改善脑部微循环有显著作用。

有研究证实 CGRP 可上调缺血再灌注脑组织 bcl-2 蛋白的表达,其神经保护和抗凋亡作用可能与其上调 bcl-2 蛋白表达有关[23]。bcl-2 与 bax 分别是 bcl-2 家族中最典型的凋亡抑制基因和凋亡诱导基因,用于多种器官缺血再灌注实验研究的凋亡因子监测指标,如心肌[24]、脑组织[13]、肝肾[25]等,研究表明 bcl-2 在移植器官组织中高表达[26],并且在这些组织器官的缺血再灌注实验研究中发现 bcl-2/bax 组成的平衡体系的变化与细胞凋亡水平的变化相关,即 bcl-2 蛋白表达增多、bax 蛋白表达减少,则细胞凋亡水平下降;反之则细胞凋亡水平上升[27-28]。本次研究中 β-细辛醚干预后的模型大鼠脑组织中的 bcl-2 蛋白表达升高,与本课题组前期刘林等[29]研究结果相同,说明 β-细辛醚可能通过上调 bcl-2 和下调 bax 的表达对脑缺血再灌注大鼠中枢神经元细胞的凋亡起到抑制作用。同时,麝香酮、冰片、苏合香挥发油干预后的模型大鼠脑组织的 bcl-2 蛋白,bax 蛋白的表达,bcl-2/bax 比值趋势与 β-细辛醚一致,说明四种开窍药可能均从抑制神经元细胞凋亡角度对模型大鼠脑损伤的起到保护作用,其抑制作用强度:麝香酮 > 冰片 > 苏合香挥发油 > β-细辛醚。

目前关于醒脑开窍药的研究仍有局限性,阐明其治疗神经系统疾病的作用机制,甚至发现新的促进药物入脑的成分,具有重要的意义和应用前景,本研究通过对比四种醒脑开窍类中药的有效成分/部位对急性不完全性脑缺血再灌注模型大鼠的治疗作用,加强醒神开窍共性及不同点的研究。研究发现此四种药物在脑缺血损伤中作用靶点可能不同,四药对比,冰片在降低脑含水量方面作用最佳,苏合香挥发油能有效减少氧化应激损伤,麝香酮可明显增加 bcl-2 蛋白,降低 bax 蛋白,可能通过抑制脑细胞凋亡从而起到保护脑组织的作用,β-细辛醚作用居中,整体上四种开窍药有效成分/部位对急性不完全性脑缺血再灌注模型大鼠均有保护作用,其作用机制可能与减少自由基生成,抑制脂质过氧化反应,改善微循环状态,降低脑水肿程度,减少神经细胞凋亡有关,只是脑损伤保护的作用机制和各作用点强度不同,提示可针对临床不同的脑损伤,分别选用相应的药物治疗。但本研究检测指标数量有限,方法较单一,在后续研究中将对四种醒脑开窍药治疗神经系统疾病的作用机制进行深入的研究与探讨。

参考文献:

[1] 张林峰,杨军,武阳丰,等. 我国人群中缺血性和出血性脑卒中发病的相对比例[J]. 中华内科杂志,2003,42(2):25-28.

[2] 张振强,宋军营,贾亚泉. 缺血性脑血管疾病研究进展[J]. 河南大学学报(医学版),2012,31(4):312-317.

[3] 许鸿燕,许鸿智,方永奇. 醒脑开窍中药的药理共性及对比研究[J]. 按摩与康复医学,2012,3(1):25-27.

[4] 方永奇,李翎. 醒脑开窍中药治疗脑病的共性作用概况[J]. 广州中医药大学学报,2008,25(2):470-473.
[5] 丁洁,张莹,巫悦,等. 开窍药对血脑屏障通透性影响的研究进展[J]. 时珍国医国药,2014,25(8):1938-1941.
[6] 赵保胜,宓穗卿,张银卿. 冰片对大鼠脑微血管内皮细胞 ICAM-1 表达量的影响[J]. 中药新药与临床药理,2001,12(2):88-90.
[7] 方永奇,邹衍衍,李翎. 芳香开窍药和祛痰药对中枢神经系统兴奋性的影响[J]. 中医药研究,2002,18(3): 40.
[8] 方若鸣,方更利,方永奇. 安脑片治疗癫痫的药效观察[J]. 中成药,2006,28 (9):1323-1325.
[9] 曾南,王建,夏厚林,等. 芳香开窍药药理作用研究进展[J]. 中药药理与临床,2008,24(1):76-79.
[10] 宋文婷,刘建勋,姚明江,等. 银杏蜜环口服溶液减轻脑缺血再灌注大鼠脑梗死的实验研究[J]. 世界中医药,2018,13(1):36-40.
[11] 俞浩,张孝林. 昼夜节律对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的影响[J]. 中国实验动物学报,2015,23(1):86-90.
[12] 高延玲,郝少君,谢国旗,等. 清脑片对沙鼠脑缺血再灌注模型血浆 ET 和 CGRP 含量及脑组织病理变化的影响[J]. 实用医药杂志,,2018,35(1):47-50.
[13] Li JS, Zhang W, Kang ZM, et al. Hyperbaric oxygen preconditioning reduces ischemia-reperfusion injury by inhibition of apoptosis via mitochondrial pathway in rat brain [J]. Neuroscience,2009,159(4):1309-1315.
[14] 方永奇,李翎. 醒脑开窍中药治疗脑病的共性作用概况[J]. 广州中医药大学学报,2008,25(5):470-473.
[15] 孙少曾,孙松峰. 急性脑梗死缺血瀑布的形成及其处理[J]. 中原医刊,2001,28(1):54-56.
[16] 吕丽莉,张作平,黄伟,等. 麝香酮对局灶性脑缺血大鼠模型的保护作用及对 BBB 转运功能的影响[J]. 中药药理与临床,2009,25(2):31-35.
[17] 郭玉璞,王文志,李元德,等. 中国脑血管病治疗专家论集[M]. 沈阳:沈阳出版社,1994.
[18] 薛茜,邹玉安,韩敏,等. 康脑液对脑缺血再灌注损伤大鼠血清及脑组织匀浆 SOD、MDA、NO 的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志,2010,8(6):709-710.
[19] 沈梅红,李成,李忠仁,等. 电针对脑缺血再灌注模型大鼠的 GSH 含量、GSH-Px 及 GR 活性的影响[J]. 南京中医药大学学报,2011,27(2):137-139.
[20] 张焕邦,沈明华,莫重辉,等. 黄花棘豆对小鼠脏器中 SOD、MDA、GSH-Px 水平的影响[J]. 中兽医医药杂志,2018,37(1):53-55.
[21] Barone FC, Globus MY, Price WJ, et al. Endothelin levels increase in rat focal and global ischemia[J]. J Cereb Blood Flow Metab,1994,14(2):337-342.
[22] 鲍春龄,东红升,东贵荣,等. 头穴透刺对急性高血压性脑出血患者血浆 ET、CGRP 的影响[J]. 中国针灸,2005,25(10):717-719.
[23] 花放,方秀斌,张璐,等. CGRP 和 NGF 对大鼠全脑缺血再灌注脑组织 Bcl-2 蛋白表达的影响[J]. 脑与神经疾病杂志,2002,10(5):269-271,274.
[24] Zhu L, Wei T, Gao J, et al. The cardioprotective effect of salidroside against myocardial ischemia reperfusion injury in rats by inhibiting apoptosis and inflammation[J]. Apoptosis,2015,20(11):1433-1443.
[25] Erol B,Turker T,Tok A,et al. The protective effects of tadalafil on renal damage following ischemia reperfusion injury in rats[J]. Kaohsiung J Med Sci,2015,31(9):454-462.
[26] Liu H,Guo X,Chu Y. Heart protective effects and mechanism of quercetin preconditioning on anti-myocardial ischemia reperfusion (IR) injuries in rats[J]. Gene,2014,545(1):149-155.
[27] 徐玉彬,毛旭南,胥广才,等. 凋亡蛋白 Bcl-2、Bax 在肝脏缺血再灌注损伤模型中的作用[J]. 中华临床医师杂志(电子版),2016,10(13):1968-1971.
[28] 周全,李熠明,张璐,等. Apelin-13 侧脑室注射对大鼠脑缺血再灌注损伤的影响及机制研究[J]. 实验动物科学,2015,32(1):12-16.
[29] Liu L,Fang YQ,Xue ZF,et al. Beta-asarone attenuates ischemia-reperfusion-induced autophagy in rat brains via modulating JNK, p-JNK, Bcl-2 and Beclin 1[J]. Eur J Pharmacol,2012,680(1-3):34-40.

〔收稿日期〕2018-01-08