

[文章编号] 1007-3949(2003)11-01-0031-05

• 实验研究 •

蚓激酶对鼠实验性脑缺血的保护作用

王华光, 龙 江, 王 玲, 杨宝峰

(哈尔滨医科大学药理学教研室, 黑龙江省哈尔滨市 150086)

[关键词] 药理学; 蚓激酶的药理作用; 大鼠大脑中动脉闭塞模型; 脑缺血; 脑水肿; 总抗氧化能力; 一氧化氮; 一氧化氮合酶

[摘 要] 为探讨蚓激酶对脑缺血的保护作用及其可能机制, 采用结扎小鼠双侧颈总动脉造成急性脑缺血模型, 观察蚓激酶对小鼠存活时间的影响; 采用大鼠大脑中动脉闭塞模型, 测定缺血 24 h 后脑梗死面积、脑组织含水量, 并测定脑组织中总抗氧化能力、一氧化氮含量及一氧化氮合酶活性。结果发现, 与对照组小鼠脑缺血后存活时间(9.5 ± 4.4 min)相比, 蚓激酶 4 mg/kg(按体重给药, 下同)可使存活时间显著延长(67.8 ± 28.4 min) ($P < 0.01$); 各剂量组蚓激酶均可显著缩小梗死面积、减轻缺血所致脑组织总抗氧化能力的降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 蚓激酶 3 ~ 6 mg/kg 可减轻脑水肿($P < 0.05$); 6 mg/kg 蚓激酶可使脑组织一氧化氮含量及一氧化氮合酶活性降低至 2.5 ± 0.4 $\mu\text{mol/g}$ 和 718 ± 68 U/g ($P < 0.05$)。此结果提示, 蚓激酶可缩小梗死面积、减轻脑水肿, 故对脑缺血组织起保护作用; 其机制可能与减轻缺血后脑组织总抗氧化能力的降低、降低一氧化氮含量及一氧化氮合酶活性有关。

[中图分类号] R96

[文献标识码] A

The Protective Effect of Lumbrokinase on the Experiment Cerebral Ischemia in Rat

WANG Hua-Guang, LONG Jiang, WANG Ling, and YANG Bao-Feng.

(Department of Pharmacology, Harbin Medical University, Harbin 150086, China)

[KEY WORDS] Lumbrokinase; Cerebral Ischemia; Edema; Total Antioxidation Capability; Nitric Oxide; Nitric Oxide Synthase

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the protective effect and probable mechanisms of Lumbrokinase on cerebral ischemia.

Methods Using a mouse model of acute cerebral ischemia by ligating bilateral arteria carotis communis, the effect of Lumbrokinase on survival time was observed. The rat model of middle cerebral artery occlusion (MCAO) was established to measure infarction area, water content, nitric oxide (NO) content, nitric oxide synthase (NOS) activity and total antioxidant capability (T-AOC) of brain after 24 h MCAO.

Results Lumbrokinase 4 mg/kg significantly prolonged the survival time of mice (67.8 ± 28.4 min) compared with that of the control group mice (9.5 ± 4.4 min) ($P < 0.01$). The infarction area obviously decreased and the reduced T-AOC caused by ischemia was improved in all Lumbrokinase groups ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The 3 ~ 6 mg/kg group showed decrease in cerebral water content ($P < 0.05$). Lumbrokinase 6 mg/kg could also decrease NO content and NOS activity to 2.5 ± 0.4 $\mu\text{mol/g}$ and 718 ± 68 U/g respectively ($P < 0.05$).

Conclusions The results indicated that Lumbrokinase plays a protective role on cerebral ischemia by decreasing infarction area and water content. The decrease of NO content and NOS activity and the improved T-AOC after ischemia may all contribute to the protective role.

蚓激酶是从蚯蚓中提取的一种多酶复合物^[1]。祖国医学已证实蚯蚓具有通络、活血等作用^[2]。以往的研究证明, 蚓激酶不但具有改善微循环、激活血凝和纤溶等作用, 还对脑缺血起保护作用^[3,4], 即减小脑梗死灶、降低缺血组织内皮素和血栓烷素含量, 减轻脑水肿。近年来研究表明, 脑缺血损伤与自由

基和一氧化氮(nitric oxide, NO)等关系密切。故本实验旨在进一步探讨蚓激酶是否还通过影响总抗氧化能力、NO 和一氧化氮合酶(nitric oxide synthase, NOS)而对脑缺血损伤起保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药品与试剂 蚓激酶粉剂(批号 20020311, 哈尔滨九信药物研究所生产), 脉栓通注射液(Vedrin, 意大利共和国药品注册编号 018852020), 戊巴比妥钠(union 进口分装, 批号 86-01-22, 上海化学试剂厂产品), 伊文思兰(Fluk 进口分装, 批号 82-11-02, 上海化学试剂厂产品), 总抗氧

[收稿日期] 2002-08-06

[修回日期] 2003-01-19

[基金项目] 黑龙江省自然科学基金(2001-2002 年 D01-29)及黑龙江省教育厅科学技术研究项目(2001 年 10511044)资助

[作者简介] 王华光, 女, 1976 年出生, 黑龙江省大庆市人; 龙江, 男, 1971 年出生, 黑龙江省牡丹江市人, 哈尔滨医科大学药理教研室在读硕士研究生; 王玲, 女, 1961 年出生, 黑龙江省哈尔滨市人, 教授, 硕士生导师, 主要从事脑缺血方面的研究; 杨宝峰, 男, 1957 年出生, 黑龙江省哈尔滨市人, 教授, 博士研究生导师, 主要从事心血管药理学方面的研究。

化能力、NO、NOS、蛋白定量(双缩脲法)试剂盒(南京建成生物工程研究所提供)。

1.1.2 仪器 WFZ800-D 紫外可见分光光度计(北京第二光学仪器厂产品),快速恒温数显水箱(常州国华电器有限公司产品),电热干燥箱(北京光明医疗仪器厂产品),台式牙钻(307-6型,上海医用分析仪器厂产品),电子分析天平(AEL-200型,日本岛津产品),离心机(TGL-16G型,上海安亭科学仪器厂产品),旋涡混匀器(SK-1型,深圳天南海北有限公司产品),国产 Haier 冰箱,超低温冰箱(日本 SANYO ELECTRIC CO. LTD 产品),显微手术器械(上海医疗手术器械厂产品)。

1.1.3 动物 雄性 Wistar 大鼠,体重 180~250 g;昆明种小鼠,体重 18~22 g,雌雄兼用。均由哈尔滨医科大学实验动物学部提供。

1.2 小鼠急性脑缺血实验

取小鼠 58 只,随机分成 5 组,即假手术组、对照组、按体重给蚓激酶 0.1 mg/kg 组(简称 0.1 蚓激酶组)、0.3 mg/kg (0.3 蚓激酶组)和 4 mg/kg (4 蚓激酶组)。所有小鼠以 20% 乌拉坦 1.0 g/kg ip 麻醉,采用脑循环障碍法制备急性脑缺血模型^[5]。用细丝线双重结扎小鼠双侧颈总动脉,立即记录小鼠自结扎至死亡的时间(每分钟呼吸少于或等于 5 次为死亡),即存活时间。其中,三个给蚓激酶组于术前 5 min 分别按体重给予蚓激酶 0.1、0.3 和 4 mg/kg iv,而对照组则给予等量 0.9% 生理盐水。假手术组手术操作同其他组,但不结扎。

1.3 大鼠大脑中动脉闭塞模型的制备

参照文献[6,7]方法制备大鼠中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型。将雄性 Wistar 大鼠以 1% 戊巴比妥钠 ip 麻醉。先仰卧位固定,暴露左侧颈总动脉,在其下穿线备用;再改为俯卧位固定,暴露左侧颅骨,在左颞弓与颞骨后联合前缘 1.5 mm 处,用牙钻开一约 4 mm × 4 mm 的骨窗,暴露左大脑中动脉。用 10/0 外科无损伤缝合线结扎左大脑中动脉,然后双重结扎左颈总动脉,并逐层缝合切口。术中术后室温控制在 20~22 °C。

1.4 大鼠脑缺血后脑梗死面积及脑组织含水量的测定

雄性 Wistar 大鼠 45 只,随机分成假手术组、模型组、蚓激酶组(1.5~6 mg/kg)和脉栓通组等 6 组,其中假手术组只暴露左大脑中动脉和左颈总动脉,不结扎;各给药组于结扎前 10 min 分别给予蚓激酶 1.5、3、6 mg/kg 及脉栓通 62.5 mg/kg(均按体重给药,下同) iv;模型组则给予等量生理盐水。各组均

于术后立即舌静脉注入 2.5% 伊文思兰 7.5 mg/kg。术后 24 h 断头取脑,将鼠脑置-85 °C 低温冰箱速冻 10 min 后取出,观察兰染范围并计算梗死面积。然后立即切取缺血区(兰染处)皮质,置于电子天平上称湿重,再置 95 °C 干燥箱干燥 24 h 后称干重。脑组织含水量以(脑湿重-干重)/脑干重(mL/g)来表示。

1.5 神经功能障碍分级

上述 6 组动物在大脑中动脉结扎术后 24 h 观察其神经功能障碍的情况,参照文献[8,9],将神经功能障碍分为 V 级:iv 级为无神经系统功能损害,记 1 分;㊸级仅有轻度功能障碍,表现为行走时虽不用扶持,但步态欠稳,提尾时,脑损伤对侧前肢屈曲,记 2 分;㊹级有中度功能障碍,表现为在扶持下方可站立,不持久,提尾时,脑损伤对侧前肢屈曲,向手术侧转圈,记 3 分;㊺级为重度功能障碍,表现为有意识变化,嗜睡,反应迟钝,不能站立,记 4 分;㊻级为死亡,记 5 分。

1.6 大脑中动脉闭塞大鼠脑组织中总抗氧化能力、一氧化氮含量及一氧化氮合酶活性的测定

雄性 Wistar 大鼠 42 只,随机分成 7 组,即正常对照组及前述 6 组,各组手术操作同前。术后 24 h 断头取脑,用电子天平称取缺血区大脑皮质 150 mg 左右,置于 9 倍生理盐水中制成 10% 组织匀浆。离心取上清置于-20 °C 冰箱保存待测。各指标测定按试剂盒说明书操作,组织蛋白定量用双缩脲法。

1.7 病理组织学检查

取 Wistar 大鼠 15 只,分 5 组,即非手术对照组、模型组、蚓激酶 1.5 mg/kg 组、6 mg/kg 组和脉栓通组,每组 3 只。大脑中动脉闭塞术后 24 h 断头取脑,15% 福尔马林固定一周后,常规乙醇脱水、石蜡包埋、切片、HE 染色,光镜下检查。

1.8 统计学处理

多组间计量资料的比较采用 F 检验,组间差异显著性用 q 检验,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 蚓激酶对脑缺血小鼠存活时间的影响

双侧结扎颈总动脉后小鼠的存活时间见表 1 (Table 1),可见蚓激酶 4 mg/kg iv 可显著延长小鼠存活时间($P < 0.001$);而 0.1 mg/kg 和 0.3 mg/kg 与对照组相比无显著性差异,提示在 μg 数量级时无效;假手术组小鼠(10 只)在 120 min 内无一死亡。

表 1. 蚓激酶对脑缺血小鼠存活时间的影响

Table 1. Effect of Lumbrokinase on survival time in ischemic mice ($\bar{x} \pm s$)

分 组	药物剂量(mg/kg)	n	存活时间(min)
对照组		13	9.5 ± 4.1
蚓激酶	0.1	11	8.2 ± 5.4
蚓激酶	0.3	10	11 ± 8
蚓激酶	4	13	68 ± 28 ^a

a: $P < 0.001$, 与对照组比较。

2.2 蚓激酶对大鼠大脑中动脉闭塞 24 h 后梗死面积及脑组织含水量的影响

大鼠中动脉闭塞 24 h 后, 大鼠脑梗死面积及含水量见表 2 (Table 2)。可见模型组的梗死面积显著大于假手术组 ($P < 0.001$)。与模型组相比较, 蚓激酶各剂量组及脉栓通组均可显著缩小梗死面积 ($P < 0.01$)。其中, 3 mg/kg 组和 6 mg/kg 组作用较 1.5 mg/kg 组和脉栓通组显著 ($P < 0.01$ 和 $P < 0.05$)。这说明随着蚓激酶剂量的增大, 效果更明显, 且 3 mg/kg 组和 6 mg/kg 蚓激酶在缩小梗死面积上优于脉栓通。模型组脑组织含水量明显大于假手术组 ($P < 0.001$), 3 mg/kg 组和 6 mg/kg 蚓激酶与脉栓通均可减少脑组织含水量 ($P < 0.05$), 三者之间无显著性差异。加蚓激酶 1.5 mg/kg 组无效。

表 2. 蚓激酶对大鼠大脑中动脉闭塞 24 h 后梗死面积及脑组织的含水量

Table 2. Inhibitory effect of lumbrokinase on infarction area and water content in brain after 24 h MCAO in rats ($\bar{x} \pm s$)

分 组	药物剂量 (mg/kg)	n	梗死面积 (SI/2)	含水量 (mL/g)
假手术组		8	1.22 ± 0.05	3.74 ± 0.09
模型组		8	7.17 ± 0.73 ^d	4.99 ± 0.45 ^d
模型+ 蚓激酶	1.5	8	5.77 ± 0.22 ^{bf}	4.77 ± 0.34
模型+ 蚓激酶	3	8	5.09 ± 0.40 ^b	4.31 ± 0.54
模型+ 蚓激酶	6	7	4.70 ± 0.65 ^b	4.41 ± 0.56 ^a
模型+ 脉栓通	62.5	6	5.84 ± 0.69 ^{bc}	4.33 ± 0.54 ^a

a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与模型组比较; d: $P < 0.001$, 与假手术组比较; e: $P < 0.05$, f: $P < 0.01$, 与模型+ 蚓激酶 3 mg/kg 和 6 mg/kg 组比较。

2.3 蚓激酶对大鼠大脑中动脉闭塞 24 h 后神经功能障碍的影响

大鼠大脑中动脉闭塞 24 h 后神经功能障碍如表 3 (Table 3) 所示, 可见模型组大鼠出现了明显的神经功能缺损 ($P < 0.001$); 而蚓激酶各剂量组和脉

栓通组可显著减少神经功能障碍评分 ($P < 0.01$); 各给药组作用无显著性差异。

表 3. 蚓激酶对大鼠大脑中动脉闭塞 24 h 后神经功能障碍的影响

Table 3. Influence of lumbrokinase on neurologic deficits(ND) scores produced by 24hMCAO in rats ($\bar{x} \pm s$)

分 组	药物剂量 (mg/kg)	n	神经功能障碍评分
假手术组		8	1.25 ± 0.46
模型组		8	3.38 ± 0.5 ^d
模型+ 蚓激酶	1.5	8	2.50 ± 0.53 ^b
模型+ 蚓激酶	3	8	2.38 ± 0.52 ^b
模型+ 蚓激酶	6	7	2.00 ± 0.58 ^b
模型+ 脉栓通	62.5	6	2.14 ± 0.69 ^b

b: $P < 0.01$, 与模型组比较; d: $P < 0.001$, 与假手术组比较。

表 4. 蚓激酶对大鼠大脑中动脉闭塞 24 h 后脑组织总抗氧化能力、一氧化氮含量和一氧化氮合酶活性的影响

Table 4. Effect of Lumbrokinase on T-AOC, NO content and NOS activity after 24 h MCAO ($n = 6$, $\bar{x} \pm s$)

分组	药物剂量 (mg/kg)	总抗氧化能力 (kU/g)	NO ($\mu\text{mol/g}$)	NOS (kU/g)
正常对照		3.18 ± 0.57	1.10 ± 0.20	0.40 ± 0.06
假手术组		3.14 ± 0.59	1.10 ± 0.20	0.41 ± 0.04
模型组		1.25 ± 0.15 ^d	3.22 ± 0.55 ^d	0.83 ± 0.08 ^d
模型+ 蚓激酶	1.5	1.56 ± 0.24 ^{af}	3.34 ± 0.38	0.74 ± 0.14
模型+ 蚓激酶	3	1.70 ± 0.18 ^{bc}	3.16 ± 0.51	0.74 ± 0.13
模型+ 蚓激酶	6	2.23 ± 0.40 ^b	2.50 ± 0.42 ^a	0.72 ± 0.07 ^a
模型+ 脉栓通	62.5	2.15 ± 0.37 ^b	2.63 ± 0.25 ^a	0.72 ± 0.08 ^a

d: $P < 0.001$, 与假手术组比较; a: $P < 0.05$, b: $P < 0.01$, 与模型组比较; e: $P < 0.05$, f: $P < 0.01$, 与模型+ 蚓激酶 6 mg/kg 组比较。

2.4 蚓激酶对大鼠大脑中动脉闭塞 24 h 后脑组织总抗氧化能力、一氧化氮含量和一氧化氮合酶活性的影响

大鼠大脑中动脉闭塞 24 h 后脑组织总抗氧化能力、NO 含量和 NOS 活性见表 4 (Table 4)。可见模型组总抗氧化能力明显低于假手术组 ($P < 0.001$); 各剂量组蚓激酶和脉栓通均可一定程度的减轻缺血后脑组织总抗氧化能力的降低 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 但都达不到假手术组水平; 且 1.5 mg/kg 组和 3 mg/kg 组作用弱于 6 mg/kg 组 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 说明蚓激酶对总抗氧化能力的作用具有剂量依赖性; 模型组 NO 含量及 NOS 活性明显增高 ($P < 0.001$), 6 mg/kg 蚓激酶和脉栓通可降低 NO 含量及 NOS 活性 ($P < 0.05$), 亦不能降低到假手术组水平。

1.5 mg/kg 组和 3 mg/kg 组无效,提示蚓激酶需较大剂量才可通过降低 NO 含量和 NOS 活性而起到脑保护作用。在各指标中,蚓激酶与脉栓通的效果无显著性差异,假手术组与正常组无显著性差异。

2.5 病理学检查结果

光镜下可见,模型组大脑皮质神经细胞肿胀、固缩或消失,数目减少;细胞核、浆分界不清,中央性尼

氏小体溶解或消失;有噬神经细胞现象和红色神经元出现;神经毡结构呈空网状,水肿较重;梗死中心区损伤重于周边缺血区(见图 1, A、B);而蚓激酶及脉栓通组的神经元病理改变均轻于模型组,尚存结构较好的神经元,水肿减轻;其中 6 mg/kg 蚓激酶(图 1, C)作用明显,病理改变轻于脉栓通组(图 1, D),而后者又轻于蚓激酶 1.5 mg/kg 组。

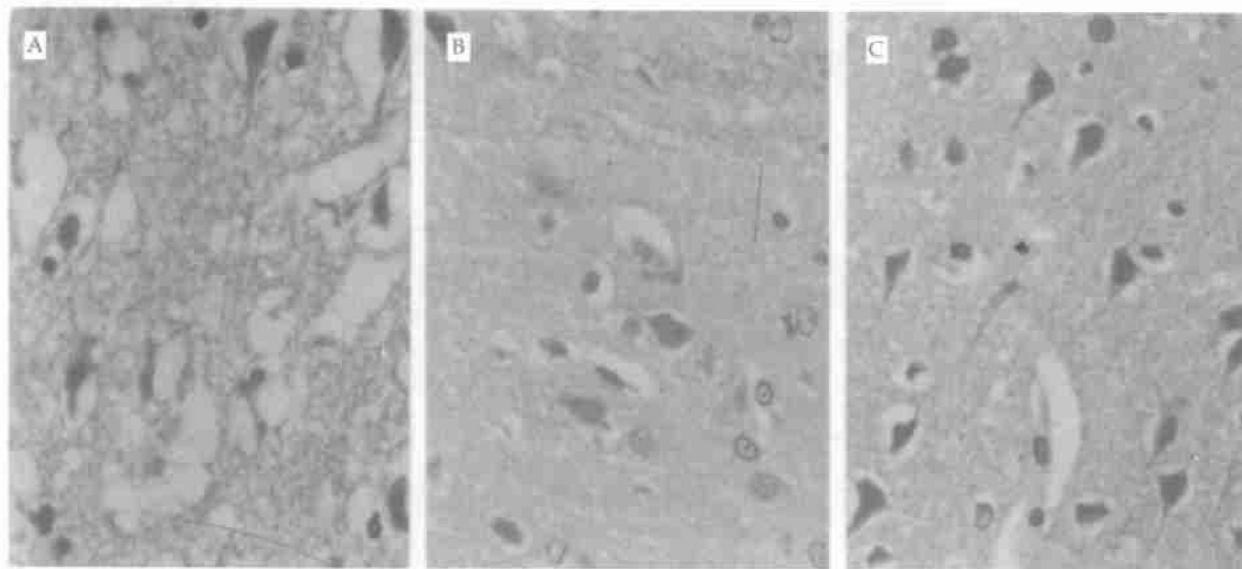


图 1. 大脑颞顶区皮质的光镜下照片 A 为大脑中动脉闭塞模型组(×40); B 为大脑中动脉闭塞模型+ 6 mg/kg 蚓激酶组(×40); C 为大脑中动脉闭塞模型+ 脉栓通组(×40)。

Figure 1. The photo of the temporoparietal region of cerebral cortex taken under light microscope A: MCAO group (×40); B: 6 mg/kg Lumbrokinase group (×40); C: Vedrin group (×40).

3 讨论

研究缺血性脑血管病(ICVD),选择良好的动物模型至关重要。我们采用的 MCAO 模型可在基底区和皮质形成较恒定的梗死灶,重复性好,是一种研究不可逆性脑缺血的可靠方法。在小鼠急性脑缺血实验中,4 mg/kg 蚓激酶可明显延长存活时间,说明蚓激酶可以提高小鼠对缺血缺氧的耐受力,保护缺血脑组织。减轻细胞水肿,缩小梗死范围和改善神经功能是治疗脑缺血的最终目地,故本实验选其作为直接指标。结果显示蚓激酶可明显缩小梗死面积、减轻脑水肿,并改善神经功能缺损,故证明蚓激酶对脑缺血具有保护作用。

为进一步探讨保护脑缺血的可能机制,我们测定了蚓激酶对缺血后总抗氧化能力,NO 含量及 NOS 活性的影响。生理情况下,体内存在氧自由基(OFR)防御体系,包括抗氧化酶类(如 SOD、GSH-PX 和 CAT)和抗氧化剂(如维生素 E、维生素 C、GSH)等,这个体系所发挥的抗氧化作用即构成了机体的

总抗氧化能力。氧自由基主要指 $O_2\cdot$ 和 $\cdot OH$ 。正常机体自由基产生与清除处于动态平衡,但脑缺血时,防御系统受损及大量消耗,氧自由基生成增加^[10,11],发生脂质过氧化反应同时,实触素表达异常^[12],造成生物膜破坏,DNA 变性等。其中毛细血管内皮是自由基攻击的重要靶子^[13],当脑内毛细血管内皮受损时,血脑屏障通透性增强,导致脑水肿。本实验证实,蚓激酶可明显减轻缺血所致的脑组织总抗氧化能力的降低。因为蚯蚓体内含有超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶和过氧化氢酶等保护酶系统^[14],故推测蚓激酶可能含有类似抗氧化酶类的物质,有助于改善缺血后脑组织的总抗氧化能力。此外,该结果也可能与蚓激酶可减少脑缺血时抗氧化酶的损伤及消耗有关。但确切机制尚需进一步探讨。缺血所致总抗氧化能力的降低减轻后,即总抗氧化能力得到改善,通过清除自由基,可减轻脑水肿,这与我们前一部分实验结果相符。

近来研究证实,NO 参与神经元缺血、缺氧性损

害过程。NO 是 L-精氨酸和 O₂ 在 NOS 催化下生成, 故 NOS 的活性可以反映 NO 的含量。脑组织中的 NOS 分 2 类, 共 3 型: 一类有神经元型 NOS (nNOS) 和内皮型 NOS (eNOS), 二者合称结构型 NOS (cNOS), 生理条件下即有活性, 合成的 NO 主要起信使调控作用; 另一类是诱导型 NOS (iNOS), 生理条件下活性可忽略不计, 在损伤和免疫刺激后大量表达, 产生的 NO 具有细胞毒性。脑缺血早期, 由 eNOS 产生的 NO 有脑保护作用, nNOS 产生的 NO 可介导神经损伤。此外, 缺血后谷氨酸急剧增加, 激活 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体, 细胞内 Ca²⁺ 增高, 可激活 cNOS(主要是 nNOS), 引起神经毒性作用。脑缺血晚期, 各种炎性细胞的浸润, iNOS 大量激活和表达, 可导致迟发性神经元损伤(DND)^[15,16]。故本实验检测到的总 NOS 主要为 iNOS, 也有少部分 NMDA 受体激活的 nNOS。NO 主要通过介导 EAA 毒性, 作为自由基或生成 ONOO⁻等产生神经毒性作用。本实验结果表明, 6 mg/kg 蚓激酶可以减少脑组织 NO 含量, 并降低 NOS 活性, 从而起到脑缺血保护作用。前一部分实验已证实, 蚓激酶可减轻脑缺血损伤, 故损伤部位的炎症反应会减轻, 推测 iNOS 的激活减少; 同时, 蚓激酶也可能通过减轻谷氨酸的神经毒性作用, 使 nNOS 的激活减少, 这可能是降低 NOS 活性的机制。随着 NOS 活性降低和总抗氧化能力的改善, NO 的生成减少而清除增多, 与本实验测得的 NO 含量减少相一致。此外, 蚓激酶是否能直接抑制 NOS 活性, 或通过其它途径减少 NO, 尚待深入研究。

总之, 本实验结果显示蚓激酶可缩小梗死面积、减轻脑水肿和缺血后脑组织总抗氧化能力的降低, 减低 NO 含量及 NOS 活性, 故对脑缺血起到保护

作用。由于脑缺血的机制十分复杂, 我们尚须更深入地探讨。

[参考文献]

- [1] Nakajima N, Mihara H, Sumi H. Characterization of potent fibrinolytic enzymes in earthworm, *lumbricus rubellus*. *Biosci Biotechnol Biochem*, 1993, **57** (10): 1726-730
- [2] 苗晋. 蚯蚓的临床应用和展望. *浙江中医杂志*, 1984, **19** (4): 188
- [3] 杨明, 董桂华, 张凤琴, 杨志兴, 张云湖. 赤爱胜蚯蚓纤溶酶的研究: v. 蚯蚓溶栓酶对家兔血栓溶解及大鼠实验性脑缺血的保护作用研究. *生物技术*, 1995, **5** (3): 9-11
- [4] 王彦生, 富成志. 双胸蚯蚓溶栓酶对沙土鼠脑缺血再灌注脑匀浆中 ET, TXB2 和 6-Keto-PGF₁α 的影响. *沈阳医学院学报*, 1997, **11** (1): 5-7
- [5] Ye, CL, Li BH. Protective effects of clonidine on cerebral ischemia in mice and cats. *Chin J Pharmacol Toxicol*, 1993, **7** (1): 42-44
- [6] Tamura A, Graham DI, McCulloch J. focal cerebral ischemia in the rat: description of technique and early neuropathological consequences following middle cerebral artery occlusion. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1981, **1** (1): 53-60
- [7] 黄红林, 朱炳阳, 谢志忠, 申锦林, 汪煜华, 张海涛, 等. 守宫水蛭组方对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用. *中国动脉硬化杂志*, 2002, **10** (2): 122-124
- [8] Lawner PM, Laurent JP, Simeone FA, Fink EA. Effect of extracranial-intracranial bypass and pentobarbital on acute stroke in dogs. *J Neurosurgery*, 1982, **56** (1): 92-96
- [9] Diaz FG, Matri AR, Ausman JI, Chou SN. Acute cerebral revascularization after regional cerebral ischemia in the dog. *J Neurosurgery*, 1979, **51** (5): 644-653
- [10] Chandan KS, Lester P. Antioxidant and redoxregulation of genetranscription. *FASEB J*, 1996, **10**: 709-720
- [11] Ferris DC, Kume KJ, Russo MI, Rice ME. Gender differences in cerebral ascorbate levels and ascorbate loss in ischemia. *Neuroreport*, 1995, **6** (11): 1485-489
- [12] 丰岩清, 郭云良, 梁秀龄. 神经生长因子对脑缺血再灌注大鼠突触素表达的影响. *中国动脉硬化杂志*, 2001, **9** (2): 123-125
- [13] Schmidley JW. Free radical in cerebral nervous system ischemia. *Concepts of Cerebrovascul D Stroke*, 1990, **25**: 7
- [14] 林少琴, 兰瑞芳. 金属离子对蚯蚓 CAT, GSH-PX 及 SOD 酶活性的影响. *海峡药学杂志*, 2001, **13** (2): 23-25
- [15] 徐俊. 脑缺血时一氧化氮在谷氨酸兴奋毒性中的作用. *国外医学脑血管病分册*, 1998, **6** (5): 259-263
- [16] Yun HY, Dawson VL, Dawson TM. Neurobiology of nitric oxide. *Crit Rev Neurobiol*, 1996, **10**: 291-316

(此文编辑 胡必利)