

清脑宣窍滴丸对急性脑缺血损伤大鼠 的保护作用及机理初探

王 斌, 于绍坤, 孙建宁^{*}, 张硕峰
(北京中医药大学, 北京 100102)

[摘要] 目的: 研究清脑宣窍滴丸对急性脑缺血损伤的保护作用及机理。方法: 采用线栓法所致大鼠大脑中动脉缺血再灌注(MCAO)模型, 测定大鼠脑梗塞范围; 测定脑匀浆中乳酸(LD)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)含量及乳酸脱氢酶(LDH)、超氧化物歧化酶(SOD)活力; 应用免疫组化染色的方法, 观察清脑宣窍滴丸对黏附分子-1(ICAM-1)表达的影响。结果: 清脑宣窍滴丸 $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $90 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可明显减小 MCAO 大鼠脑梗塞范围; $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可明显降低 MCAO 大鼠患侧脑匀浆中 LD 含量, $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $90 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $45 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可明显降低手术侧大脑组织中升高的 LDH 活力、提高 SOD 活力、降低 MDA 含量, $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 、 $90 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可明显提高手术侧大脑组织中 GSH 含量; $180 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可显著降低 ICAM-1 阳性表达的积分光密度(IOD)。结论: 清脑宣窍滴丸对脑缺血有保护作用, 可能机理是通过减轻酸中毒、抑制自由基损伤、恢复自由基代谢平衡, 抑制黏附分子表达来减轻缺血再灌注后炎症反应。

[关键词] 清脑宣窍滴丸; 脑缺血; 自由基; 黏附分子

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2009)01-0037-05

Protective Effect of Qingnao Xuanqiao Dropping Pill on Experimental Ischemic Injury

WANG Bin, YU Shao-kun, SUN Jian-ning^{*}, ZHANG Shuofeng

(Department of Pharmacology, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100102, China)

[收稿日期] 2008-06-10

[基金项目] 北京市教委产学研合作项目(CXY1002604010)

[通讯作者] * 孙建宁, Tel: (010) 84738626, E-mail: jn_sun@sina.com

[**Abstract**] **Objective:** To study the role and mechanism of Qingnao Xuanqiao Dropping Pill(QNXQDP) on acute cerebral ischemia. **Methods:** Adopting the middle cerebral artery occlusion(MCAO) model induced by inserting a monofilament suture, the infarct size, the content of LD, MDA and the activity of GSH and LDH, SOD in brain homogenate were observed. We determined the expression of ICAM-1 in the brain influenced by QNXQDP by immunohistochemical staining method. **Results:** QNXQDP $180\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $90\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ can significantly reduce the scope of the rat MCAO cerebral infarction; $180\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ could significantly reduce the content of LD in the rat brain homogenate of the troubled side, $180\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $90\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $45\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ can significantly reduce the increased LDH activity, enhance the activity of SOD and reduce the content of MDA in the side of the brain surgery, $180\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $90\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ can significantly improve the content of GSH in the side of the brain operation; $180\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ can significantly reduce the integral optical density of ICAM-1 in positive expression. **Conclusion:** QNXQDP has protective effect on cerebral ischemia. The possible mechanism may be by reducing acid poisoning, inhibiting free radical damage and restoring the balance between free radical metabolism; inhibiting the expression of adhesion molecules, reducing the inflammatory response induced by ischemic reperfusion.

[**Key words**] Qingnao Xuanqiao Dropping Pill; ischemia; free radical; adhesion molecules

缺血性脑血管病以其高发病率、高致残率、高死亡率和复发率严重危害着人类健康,了解其酸中毒和自由基损伤、炎症等病理生理变化,研究中药及其复方防治缺血性脑病具有重要意义。清脑宣窍方是王永炎院士的临床经验方,由三七、栀子、冰片组成,组方遵循中医药理论,功效为醒神开窍、解毒通络,在治疗缺血性脑中风急性期和恢复期早期具有很好的疗效,经北京中医药大学化学系提取纯化加工为清脑宣窍滴丸。因此,研究清脑宣窍滴丸对脑缺血保护作用及其机制具有重要的现实意义。

1 实验材料

1.1 药品与试剂 受试药:清脑宣窍滴丸由北京中医药大学化学系提供,试验用有效部位提取物;临床用药剂量:每人每日 0.58 g ,约 $10\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 。批号:20030805,用饮用水配制。阳性对照药:安宫牛黄丸,北京同仁堂科技股份有限公司提供,口服,1次/d,1丸/d,每丸含生药 3 g 。批号:1010383。红四氮唑(TTC),北京化学试剂公司产品,批号 030227。LD LDH MDA SOD GSH、蛋白定量(双缩脲法)试剂盒均由南京建成生物工程研究所提供。批号分别为:20021230, 20030109、20030116, 20030120、20030115、20021221。试剂:兔抗大鼠 ICAM-1 及 SABC 试剂盒,购于武汉 Boster 生物工程有限公司;多聚甲醛,购于北京化学试剂公司。

1.2 动物 SD 大鼠,雌雄兼用,体重($240\sim 260$)g,由北京维通利华实验动物技术有限公司提供,合格证号:SCXK 11-00-0008。

1.3 仪器 XTT 实体显微镜,北京电光科学仪器厂生产;电子分析天平,奥豪斯(上海)公司产品。HZQ-C 空气浴振荡器,哈尔滨市东明医疗仪器厂产品;722 型分光光度计,上海第三分析仪器厂生产;400R 低温离心机,德国 Heraeus 产品。AEG-220 电子分析天平,日本岛津公司;钓鱼尼龙线(直径 0.25 mm ,日本产品);LEICARM-2135 切片机、Nikon ECLIPSE 80i 显微镜(日本)。

2 方法

2.1 分组及给药 将大鼠随机分为 6 组,即假手术对照组、模型组、清脑宣窍滴丸 $180\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $90\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$, $45\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组(分别相当于人用量的 18 倍,9 倍,4.5 倍)、安宫牛黄丸 $300\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组(相当于人用量的 6 倍),每组(12~15)只。ig,1 次/d,给药 3 次后 1 h 造模,造模后再给药 1 次,假手术对照组 MCAO 模型组给予等量的饮用水($10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$)。

2.2 造模方法 大鼠麻醉后仰卧固定,分离右侧颈总动脉(CCA)、颈内动脉(ICA)及颈外动脉(ECA),结扎 ECA 与 CCA,用动脉夹夹闭 ICA 远心端后,迅速于 ECA 与 ICA 分叉处作一切口,插入一端加热成光滑球形并涂了多聚赖氨酸的尼龙线(直径为 0.25 mm ,距球端 18 mm 处作标记),插入深度为 18 mm ,使大脑中动脉阻塞导致脑缺血。结扎入口处,尼龙线外留约 1 cm ,缝合皮肤,用电热毯维持大鼠的体温。2 h 后轻轻提拉所留线头至略有阻力,实现大脑中动脉再灌注,造模完成。假手术组只结扎 CCA 与 ECA。

2.3 脑梗塞范围的测定 模型大鼠缺血 2 h, 再灌注 22 h, 断头取脑, 去掉嗅球、小脑和低位脑干, 剩余部分在 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冷冻 10 min, 在冰盘上冠状切成 6 片, 迅速将脑片置于 TTC 染液中(每 5 mL 染液中含 4% TTC 1.5 mL, 1M K_2HPO_4 0.1 mL, 加蒸馏水至刻度), $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 避光温孵 1 h, 取出后置于 10% 甲醛液中避光保存 24 h。经染色后非缺血区为玫瑰红色, 梗塞区为白色。将白色组织仔细取下称重, 以梗塞组织重量占全脑重量百分比表示脑梗塞范围大小。

2.4 脑组织生化指标检测 造模后 24 h 断头取脑, 去小脑、嗅球及低位脑干, 取手术侧大脑, 加 9 倍生理盐水制备 10% 脑匀浆, 至 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱冻存备用。

2.4.1 乳酸(LD)的测定 将 10% 脑匀浆 $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清 20 μL , 按 LD 测定试剂盒说明测定 LD 含量。取上清 50 μL 用双缩脲法测定蛋白含量。计算每 g 蛋白中 LD 的含量。

2.4.2 乳酸脱氢酶(LDH)的测定 将 10% 脑匀浆用生理盐水稀释成 2% 的组织匀浆, $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清 20 μL , 按试剂盒说明测定 LDH 含量。测蛋白含量同 2.4.1, 计算每 mg 蛋白中含 LDH 的含量。

2.4.3 超氧化歧化酶(SOD)的测定 将 10% 脑匀浆用生理盐水稀释成 1% 的组织匀浆, $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清 30 μL , 按试剂盒说明测定 SOD 含量。测蛋白含量同 2.4.1, 计算每 mg 蛋白中含 SOD 的含量。

2.4.4 丙二醛(MDA)的测定 将 10% 脑匀浆 $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清 100 μL , 按试剂盒说明测定 MDA 含量。测蛋白含量同 2.4.1, 计算每 mg 蛋白中含 MDA 的含量。

2.4.5 过氧化氢酶(CAT)的测定 将 10% 脑匀浆 $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清 100 μL , 按试剂盒说明测定 CAT 含量。测蛋白含量同 2.4.1, 计算每 mg 蛋白中 CAT 的含量。

2.4.6 谷胱甘肽(GSH)的测定 将 10% 脑匀浆 $4\,000\text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 10 min, 取上清 30 μL , 按试剂盒说明测定 GSH 含量。测蛋白含量同 2.4.1, 计算每 mg 蛋白中 GSH 的含量。

2.5 ICAM-1 免疫组化测定

2.5.1 脑组织取材及处理 于术后 24 h, 大鼠 ip10% 水合氯醛麻醉($3.5\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$), 常规胸腹联合切口, 经左心室插管, 分别用生理盐水、4% 多聚甲醛

的 $0.1\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 磷酸盐缓冲液灌注固定, 断头取脑, 放入 4% 多聚甲醛溶液中固定 72 h 后, 石蜡包埋, 自视交叉处开始连续冠状切片, 切片厚度 6 μm , 切片放入 $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ 烤箱烤 12 h。

2.5.2 ICAM-1 免疫组织化学染色 按 SABC 免疫组化试剂盒说明书(武汉博士德生物工程有限公司)步骤操作: 石蜡切片, 常规脱蜡至水, 双蒸水稍洗, $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS 洗 $3\times 5\text{ min}$ 。3% H_2O_2 孵育 10 min, 以消除内源性过氧化物酶的活性; 双蒸水冲洗, $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS 洗 $3\times 5\text{ min}$; $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 枸橼酸缓冲液热修复 30 min; $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS 洗 $3\times 5\text{ min}$, 吸去切片和组织周围的液体; 滴加抗原修复液 I 室温 20 min, 进一步暴露抗原; $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS 洗 $3\times 5\text{ min}$; 滴加山羊血清封闭液, 放入湿盒, 室温孵育 20 min; 倾去液体, 吸去切片和组织周围液体, 勿洗; 分别滴加兔抗大鼠多克隆抗体 ICAM-1(1:100), $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ 放置 1 h; $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS 洗 $3\times 5\text{ min}$; 滴加生物素化山羊抗兔二抗 IgG, 室温 20 min; $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS 洗 $3\times 5\text{ min}$; 滴加链酶亲和素-过氧化物酶复合物 SABC, 室温 20 min; $0.01\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ PBS 洗 $3\times 5\text{ min}$; DAB 显色, 显微镜下观察颜色变化; 在自来水中终止显色, 流水冲 3 min; 常规脱水、透明、中性树胶封片, 光镜观察。

2.5.3 图像半定量分析 采用 Image-Pro Plus 5.0 图像分析系统进行分析, 分别在相同倍数视野下, 每张切片在缺血区域选取同一部位随机摄取 3 个视域, 统计每个视域的积分光密度(IOD), 每组共计 15 个(模型组 18 个)统计数据。

2.6 统计学处理 实验数据以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示, 采用 SPSS 11.5 软件做统计分析, 组间差异比较用 ONE WAY ANOVA 方法统计。

3 结果

3.1 清脑宣窍滴丸对 MCAO 大鼠脑梗死范围的影响 结果显示, 造模后 24 h, 模型组大鼠脑组织梗塞灶可达全脑重量的 17.8%, 清脑宣窍滴丸 180, 90 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 组、安宫牛黄丸 300 组的大鼠梗塞程度明显减轻, 与模型组有显著差异($P<0.01$, $P<0.05$)。结果见表 1。

3.2 清脑宣窍滴丸对 MCAO 大鼠脑生化指标的影响 结果显示, 造模后 24 h, 模型组大鼠 LDH、LD、MDA 含量明显高于假手术组, SOD、GSH 明显低于假手术组。清脑宣窍滴丸 $45\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ 可明显降低大鼠

表 1 清脑宣窍滴丸对 MCAO 大鼠脑梗死范围的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	<i>n</i>	脑梗塞范围 (%)
假手术组	—	12	$0.00 \pm 0.00^{(2)}$
模型组	—	13	17.81 ± 2.39
清脑宣窍滴丸	180	10	$10.32 \pm 9.45^{(1)}$
	90	9	$10.73 \pm 7.44^{(1)}$
	45	10	14.91 ± 6.86
安宫牛黄丸	300	9	$11.77 \pm 5.64^{(1)}$

注:与模型组相比较:¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)

手术侧大脑 LD 含量($P < 0.05$), 180, 90, 45 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可明显降低升高的 LDH 活力($P < 0.01$); 180, 90, 45 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可明显降低手术侧大脑 MDA 含量和提高

表 3 清脑宣窍滴丸对 MCAO 大鼠脑组织 SOD、MDA 及 GSH 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	<i>n</i>	SOD($\text{u} \cdot \text{mg}^{-1}$ pro)	MDA($\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$ pro)	GSH($\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1}$ pro)
假手术组	—	12	$142.71 \pm 9.84^{(1)}$	$0.951 \pm 0.286^{(2)}$	$47.10 \pm 3.69^{(1)}$
模型组	—	12	133.38 ± 11.46	1.950 ± 0.676	41.67 ± 5.98
清脑宣窍滴丸	180	15	$174.16 \pm 41.69^{(2)}$	$1.314 \pm 0.316^{(2)}$	$51.55 \pm 8.16^{(2)}$
	90	15	$178.25 \pm 37.01^{(2)}$	$1.472 \pm 0.431^{(2)}$	$50.49 \pm 7.30^{(2)}$
	45	15	$169.46 \pm 29.51^{(2)}$	$1.176 \pm 0.363^{(2)}$	42.67 ± 7.61
安宫牛黄丸	300	12	$182.95 \pm 15.13^{(2)}$	$1.410 \pm 0.390^{(2)}$	$47.02 \pm 3.44^{(1)}$

3.3 清脑宣窍滴丸对 MCAO 大鼠脑组织黏附分子的影响 造模后 24 h, 免疫组化染色发现 ICAM-1 主要表达于微血管内皮细胞, 呈黄褐色反应。结果显示, 造模后 24 h, 假手术组仅有少量 ICAM-1 表达 (IOD: 1868.65 ± 480.03), 与假手术组比, 模型组表达显著升高 (IOD: 3197.99 ± 635.25 , $P < 0.01$); 清脑宣窍滴丸 180 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 和安宫牛黄丸 300 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可显著降低 ICAM-1 阳性表达的积分光密度 (IOD 分别为 2726.49 ± 275.05 和 2375.19 ± 573.00 , $P < 0.01$)。结果见附图 1。

4 讨论

缺血性脑损伤的病变机制非常复杂, 但能量代谢障碍被认为是缺血性神经元损伤的始动因素^[1], 能量代谢障碍后无氧糖酵解增加, 产生大量乳酸, 引起组织的酸中毒; 脑缺血后脑组织能量代谢异常, 线粒体内电子传递失调, 致使氧分子接受单个电子生成氧自由基, 同时黄嘌呤氧化酶 (XO) 系统被激活, XO 在将 ATP 的降解产物次黄嘌呤转化为黄嘌呤的同时, 产生大量氧自由基, 另外 SOD、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 等自由基清除系统被大量消耗也造成缺血后脑组织自由基的堆积。本研究采用大鼠脑

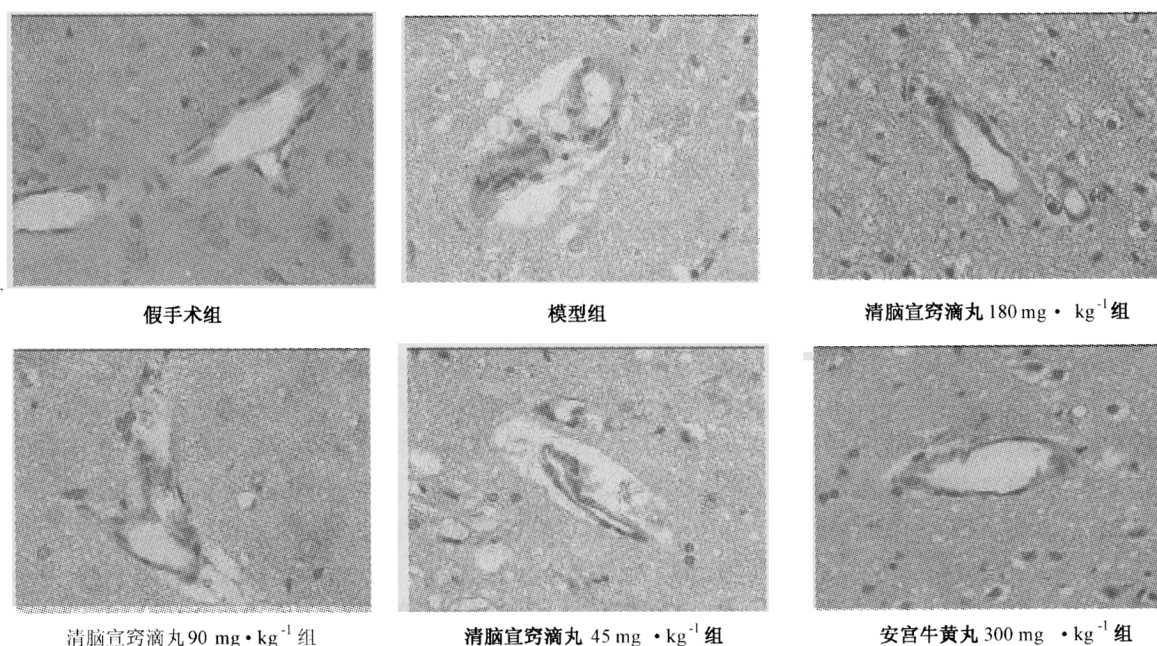
SOD 活力($P < 0.01$), 180, 90 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 可明显提高手术侧大脑 GSH 含量($P < 0.01$)。结果见表 2, 表 3。

表 2 清脑宣窍滴丸对 MCAO 大鼠脑组织 LD、LDH 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量 ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)	<i>n</i>	LD($\text{mmol} \cdot \text{g}^{-1}$ pro)	LDH($\text{u} \cdot \text{mg}^{-1}$ pro)
假手术组	—	12	$0.345 \pm 0.036^{(2)}$	$6.33 \pm 3.34^{(2)}$
模型组	—	12	0.526 ± 0.056	8.24 ± 6.42
清脑宣窍滴丸	180	15	$0.442 \pm 0.104^{(1)}$	$7.01 \pm 6.31^{(2)}$
	90	15	0.523 ± 0.140	$6.85 \pm 8.64^{(2)}$
	45	15	0.565 ± 0.157	$7.15 \pm 7.52^{(2)}$
安宫牛黄丸	300	12	0.562 ± 0.113	$7.69 \pm 7.86^{(1)}$

缺血损伤模型, 观察清脑宣窍滴丸对脑缺血损伤后大鼠脑组织酸中毒、能量代谢及自由基代谢的影响。本研究结果表明, 清脑宣窍滴丸可明显减小 MCAO 大鼠脑梗塞范围。模型大鼠脑匀浆 LD 含量显著增加, LDH 活性显著增强。清脑宣窍滴丸可明显抑制这种损伤性变化, 具有减轻酸中毒的作用。

自由基产生细胞毒性的主要机制是引发脂质过氧化反应。自由基与脑内生物膜系统中的不饱和脂肪酸反应, 生成有细胞毒性的脂质过氧化物, 后者又可分解产生更多的自由基, 形成连锁反应, 加速生物膜的破坏。膜受损后通透性改变, 引起兴奋性氨基酸释放和胞内离子浓度变化, 发生细胞水肿和钙超载, 钙超载反过来又促进自由基产生, 形成恶性循环, 导致细胞大量损伤。同时, 自由基引发的脂质过氧化造成细胞成分间的交联, 使整个神经元功能丧失^[2-4]。脂质过氧化物 MDA 含量的测定可反映体内脂质过氧化程度间接反映细胞损伤程度。本研究结果表明, 模型大鼠患侧脑组织 MDA 含量显著增高, 而清脑宣窍滴丸可显著降低模型大鼠脑组织 MDA, 显示该药对脑缺血后氧自由基引起的组织细胞脂质过氧化损伤有一定保护作用。



附图 1 清脑宣窍滴丸对 MCAO 大鼠模型脑组织 ICAM-1 表达的影响(SABC 法 × 400)

SOD 对机体氧化与抗氧化平衡起至关重要的作用, 它可清除哺乳动物体内 $O_2^{\cdot-}$, 保护细胞免受损伤。还原型谷胱甘肽(GSH) 是一种低分子自由基清除剂, 它可清除 $O_2^{\cdot-}$ 、 H_2O_2 等, 并且是 GSH-PX 和 GSH-SH 两种酶类的底物。本研究结果表明, 清脑宣窍滴丸可提高模型动物脑匀浆 SOD 活性、提高 GSH 含量, 表明清脑宣窍滴丸对脑组织细胞脂质过氧化损伤的显著保护作用可能是通过提高脑组织各种抗氧化物质的活性与含量实现的。

ICAM-1 在脑缺血的病理过程中发挥作用持续时间长, 它不仅参与脑缺血炎症过程中白细胞和血脑屏障内皮细胞的黏附, 而且在白细胞的激活、趋化、附壁及渗出等各个阶段都发挥作用。在脑缺血研究中, ICAM-1 mRNA 的表达增加最早出现于 MCAO 后(1~ 3)h, 12 h 最高, (2~ 5)天后下降; ICAM-1 最早出现于 MCAO 后 2 h, (16~ 24)h 达高峰^[5,6]。清脑宣窍滴丸能减少模型大鼠脑组织 ICAM-1 的阳性表达, 推测清脑宣窍滴丸能减轻 ICAM-1 诱导的白细胞和血脑屏障内皮细胞的黏附, 抑制白细胞的黏附与渗出。从而对白细胞黏附于血管内皮并浸润到脑组织起到明显的阻抑作用, 抑制炎症的发生与发展, 减轻脑缺血再灌注损伤。

清脑宣窍滴丸可明显减小脑梗死范围、对脑缺血有保护作用, 可能机理是通过减轻酸中毒、抑制自由基损伤、恢复自由基代谢平衡; 抑制黏附分子表达

来减轻缺血再灌注后炎症反应。总之本研究从能量代谢和炎症黏附分子角度为清脑宣窍滴丸抗脑缺血再灌注损伤提供了实验依据, 为临床进一步开发使用该药奠定了较好的实验基础, 值得更深入的研究。

[参考文献]

- [1] Luo XC, Jiang YF, Zhang RQ. In vivo dynamic studies of brain metabolism[J]. Tsinghua Sci Technol, 2005, 10: 496-498.
- [2] Ikeda Y, Long DM. The molecular basis of brain injury and brain edema the role of oxygen free radicals Neurosurgery[J], 2000, 27(1): 1-11.
- [3] Beckman JS, Ye YZ, Chen J, et al. Advances in Neurology. Vol 71. In: Siesjo Bk, Wieloch T, ed. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers[J], 1996, 31(2): 339-345.
- [4] Dawson TM, Dawson VL, Snyder SH. A novel neuronal messenger molecule in brain: the free radical nitric oxide. Ann Neurol[J], 1992, 32(2): 297-311.
- [5] Yang GY, Mao Y, Zhou LF, et al. Expression of intercellular adhesion molecule 1(ICAM-1) is reduced in permanent focal cerebral ischemic mouse brain using an adenoviral vector to induce overexpression of interleukin 1 receptor antagonist. Brain Res Med[J], 1999, 65: 143.
- [6] Stoll G, Jander S, Schroeter M. Inflammation and glial responses in ischemic brain lesions. Prog Neurobiol[J], 1998, 56: 149.