

论著·基础研究      doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.15.008

局灶性脑缺血再灌注大鼠脑损伤与半暗带锌离子水平的关系研究\*

郭淑娟<sup>1</sup>,王琮民<sup>2</sup>

(1. 邯郸市中心医院老年病科,河北邯郸 056001;2. 河北工程大学附属医院神经内科,河北邯郸 056001)

**[摘要]** **目的** 检测局灶性脑缺血大鼠在再灌注不同时间窗脑梗死体积及皮质半暗带区锌离子( $Zn^{2+}$ )的水平,分析讨论  $Zn^{2+}$  对缺血性脑卒中大鼠脑组织损伤的影响及机制。**方法** 健康雄性 SD 大鼠 120 只分为假手术组(SHAM 组, $n=40$ )、大脑中动脉栓塞组(MCAO 组, $n=40$ )、 $Zn^{2+}$  螯合剂+MCAO 组(TPEN+MCAO 组, $n=40$ )。线栓法制备大鼠脑缺血再灌注模型,于灌注后 0、3、12、24 h 将大鼠断头取脑,冷冻切片,行 2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC)染色、LOZEX-F 图像扫描确定脑梗死体积;采用新型荧光探针 FLOUZin-3 检测缺血后再灌注不同时间点时大鼠脑内皮质半暗带区  $Zn^{2+}$  的阳性细胞数及荧光强度;采用 Pearson 法分析  $Zn^{2+}$  水平与脑梗死体积间的相关性。**结果** (1) SHAM 组大鼠未出现脑梗死,MCAO 组大鼠脑梗死体积随再灌注时间的增加而增大,与 MCAO 组大鼠相比,TPEN+MCAO 组的脑梗死体积显著减少( $P<0.05$ );(2) FLOUZin-3 染色显示,SHAM 组大鼠皮质半暗带区未出现  $Zn^{2+}$  染色阳性细胞,MCAO 组皮质半暗带区  $Zn^{2+}$  阳性细胞数随再灌注时间的增加而增多,与 MCAO 组大鼠相比,TPEN+MCAO 组的  $Zn^{2+}$  染色阳性细胞显著减少( $P<0.05$ )。(2) Pearson 相关分析显示,MCAO 组大鼠皮质半暗带区 FLOUZin-3 染色阳性细胞数与脑梗死体积之间呈高度正相关( $r=0.921, P<0.05$ )。**结论** 较高浓度  $Zn^{2+}$  可能为内源神经毒物在缺血性脑卒中脑损伤过程中发挥了重要作用。

**[关键词]** 脑缺血;创伤和损伤;锌;再灌注;脑损伤;半暗带;锌离子螯合剂  
**[中图分类号]** R741.02      **[文献标识码]** A      **[文章编号]** 1671-8348(2016)15-2055-03

Relationship between focal cerebral ischemia reperfusion injury of rats and level of Zinc ions in penumbra\*

Guo Shujuan<sup>1</sup>, Wang Congmin<sup>2</sup>

(1. Department of Geriatrics, Handan Central Hospital, Handan, Hebei 056001, China; 2. Department of Neurology, Hebei Engineering University, Handan, Hebei, 056001, China)

**[Abstract]** **Objective** To detect the cerebral infarct volume and the contents of Zinc ions in the penumbra of rats with focal cerebral ischemia and reperfusion in different time, and to analyse the effect of Zinc ions on brain tissue damage in rats with ischemic stroke. **Methods** A total of 120 healthy male SD rats were divided into SHAM operation group (SHAM group,  $n=40$ ), middle cerebral artery occlusion group (MCAO group,  $n=40$ ) and TPEN+MCAO group ( $n=40$ ). Through drawing method, rat cerebral ischemia reperfusion model was established by suture method. After perfusion 0 h, 3 h, 12 h and 24 h, the brain were removed and stained by TTC to determine the volume of cerebral infarction by LOZEX-F image scanning; the positive Zinc ions cell number and fluorescence intensity were detected by fluorescent probes FLOUZin-3. **Results** (1) Cerebral infarction were not found in SHAM group; the volume of cerebral infarction in MCAO group was increased with reperfusion time extension; compared with MCAO group, TPEN+MCAO group significantly reduced cerebral infarction volume ( $P<0.05$ ). (2) FLOUZin-3 cells were not found in SHAM group; a drastic increase of FLOUZin-3 cells was observable in the penumbra of MCAO group; compared with group MCAO group, TPEN+MCAO group significantly reduced FLOUZin-3 cells ( $P<0.05$ ). (3) There was positive correlation between the FLOUZin-3 positive cell numbers and the volume of cerebral infarction in MCAO group ( $r=0.921, P<0.05$ ). **Conclusion** Higher concentrations of Zinc ions as endogenous nerve poison might play an important role in the process of brain injury in ischemic stroke.

**[Key words]** cerebral ischemia; wounds and injuries; Zinc; reperfusion; brain tissue damage; penumbra;  $Zn^{2+}$  chelation

缺血性脑卒中亦称脑梗死,一般指由于脑动脉粥样硬化而引起的血管内腔狭窄或完全闭塞而形成的一种脑血管意外性疾病,致残和病死率比较高,且治疗技术一直没有重大突破<sup>[1-2]</sup>。锌在人体内的含量仅次于铁,游离态锌离子( $Zn^{2+}$ )聚集在中枢神经的突触小泡中,常与酶和转录因子结合,对人体的正常生长发育、蛋白质代谢、免疫等过程发挥重要作用<sup>[3]</sup>。有研究指出,神经系统受损时, $Zn^{2+}$  会从突触前神经元轴突末端大量涌入突触后神经元<sup>[4-5]</sup>。也有报道指出, $Zn^{2+}$  在脑缺血介导的脑神经元死亡过程中作用突出<sup>[6]</sup>。这些研究主要集中在海马 CA1 区,本实验采用线栓法制作大鼠中动脉栓塞缺血

(MCAO)再灌注模型,并在 MCAO 前 30 min 腹腔注射  $Zn^{2+}$  螯合剂(TPEN, 20 mg/kg)。用 2,3,5-三苯基氯化四氮唑(TTC)染色法测定再灌注不同时间点的脑梗死体积,并用新型荧光探针 FLOUZin-3 检测缺血后再灌注不同时间点时大鼠脑内皮质半暗带区  $Zn^{2+}$  的水平和荧光强度,探讨  $Zn^{2+}$  对缺血性脑卒中脑损伤的影响及其作用机制,为寻找临床治疗脑卒中的新策略提供实验依据。

1 材料与方法

**1.1 材料** TPEN(sigma 公司,美国)、FLOUZin-3(sigma 公司,美国)、TTC (上海恒远生物科技有限公司)、手术显微镜

\* 基金项目:国家自然科学基金资助项目(81400934)。 作者简介:郭淑娟(1979—),主任医师,博士,主要从事神经病学研究。

表 1 不同时间点脑梗死体积比较(̄x±s, %)

组别	n	0 h	3 h	12 h	24 h	F	P
SHAM 组	10	0	0	0	0		
MCAO 组	10	8.7±1.3	21.3±7.5 <sup>a</sup>	23.8±5.3 <sup>b</sup>	33.9±3.6 <sup>bcd</sup>	22.203	0.000
TPEN+MCAO 组	10	4.6±0.8	10.3±4.2 <sup>a</sup>	14.2±3.0 <sup>b</sup>	18.6±2.1 <sup>bcd</sup>	18.725	0.003

<sup>a</sup>:*P*<0.05、<sup>b</sup>:*P*<0.01,与再灌注 0 h 比较;<sup>c</sup>:*P*<0.01,与再灌注 3 h 比较;<sup>d</sup>:*P*<0.05,与再灌注 12 h 比较。

(MOELLER-WEDEL 公司,德国)、TDA-8301H 温度显示调节仪(Olympus 公司,日本)、OCT 包埋剂(SAKURA 公司,美国)、手动台式冷冻切片机 MTC(SLEE 公司,德国)、BH-2 显微镜(Phillip 公司日本)、大鼠呼吸机(美国 CWE 公司)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组及模型制备 健康雄性 SD 大鼠 120 只,体质量 250~300 g,实验动物许可证号 SYXK(冀)2014-0038,清洁级。采用抽签方法分为 3 组:假手术组(SHAM 组, *n*=40)、MCAO 组(*n*=40)、TPEN+MCAO 组(*n*=40)。TPEN+MCAO 组于 MCAO 前 30 min 腹腔注射 TPEN,其他两组注射等量的生理盐水。大鼠于缺血 90 min 后行再灌注术,分为 4 个时间点:0、3、12、24 h,每次 10 只。本实验采用线栓法制备 MCAO 模型<sup>[7]</sup>,试验中特别注意了插入深度和栓线的粗细,保证既要阻断血流,又不能刺破血管。MCAO 过程检测大鼠的肛温、动脉压、心率,使 3 项生理指标保持正常。

1.2.2 脑梗死体积计算 缺血 90 min 再灌注不同时间点时大鼠用水合氯醛(10%)麻醉处死,立即断头取脑,生理盐水冲洗干净,放于蜡槽中,在-24℃冰箱中冷冻全脑 30 min,从额极至枕极把大脑切成 2 mm 厚度的冠状切片 6 个,将切片快速置于 2%TTC 染色液中,在 37℃条件下,避光孵育 20 min。除第 5 个切片,其他切片顺序摆放在蓝色背景平板上,拍照。照片输入 Imageplus5.0 系统,分析计算脑梗死体积。脑梗死体积百分比为(A-B)/A×100%。其中,A:健侧大脑半球体积=(A<sub>1</sub>+A<sub>2</sub>+...+A<sub>6</sub>)×h,B:梗死侧非梗死区大脑半球体积=(B<sub>1</sub>+B<sub>2</sub>+...+B<sub>6</sub>)×h。A<sub>i</sub>为第*i*片切片健侧脑组织面积,B<sub>i</sub>代表第*i*片梗死侧非梗死区脑组织面积梗死体积,h表示切片厚度<sup>[8-9]</sup>。

1.2.3 FLOUZin-3 染色分析 取上步各大鼠第 5 片冠状切片进行连续冷冻,进一步切为 20 μm 10 片,加入 FLOUZin-3 进行染色,终浓度为 10 mol/L。37℃环境,避光孵育 30 min,磷酸盐缓冲液(PBS)冲洗 3 遍,在荧光显微镜下观察脑切片内缺血半暗带区 Zn<sup>2+</sup> 水平(半暗带区范围为病灶旁 5 mm 区域)。每张切片随机选取 4 个不同角度,在同等放大倍数和参数下拍照,用专业图像分析软件 NIS Element 确定皮质半暗带区 FLOUZin-3 Zn<sup>2+</sup> 阳性细胞数和平均荧光强度,荧光强度平均值为总荧光强度值和 FLOUZin-3 阳性细胞数比值<sup>[10-11]</sup>。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 进行分析,计量资料用 ̄x±s 表示,不同组 4 个时间点各指标的总体差异采用单因素方差

法分析,任何 2 个时间点间各指标的差异采用 post-hoc test 的 S-N-K 法,Pearson 相关系数法确定 FLOUZin-3 阳性细胞数与脑梗死体积的相关性,检验水准 α=0.05,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同时间点各组大鼠脑梗死体积比较 经 TTC 染色,SHAM 组大鼠未见脑梗死,MCAO 组大鼠再灌注不同时间点均现梗死灶,随再灌注时间增加,梗死体积也显著增加(*P*<0.05)。单因素方差分析显示,再灌注各不同时间点 TPEN+MCAO 组的脑梗死体积显著小于 MCAO 组(*P*<0.05),见表 1、图 1。图中红色为正常组织,白色为病变组织。

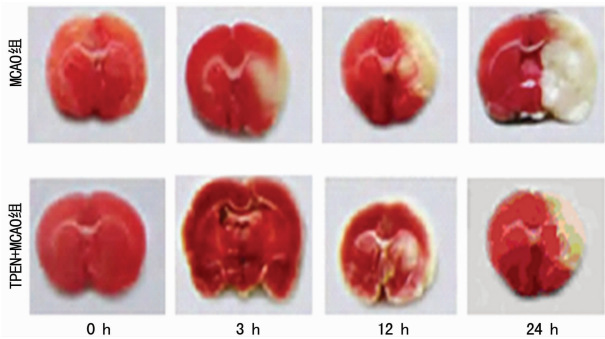


图 1 再灌注不同时间点 TTC 染色结果(×500)

2.2 FLOUZin-3 染色分析 SHAM 组大鼠缺血再灌注各时间点未见 FLOUZin-3 染色 Zn<sup>2+</sup> 阳性细胞,但 MCAO 组大鼠在再灌注的个时间点皮层半暗带均出现 FLOUZin-3 染色 Zn<sup>2+</sup> 阳性细胞,高倍镜下胞体现绿色荧光,突起清晰,再灌注 0 h 到 3 h,12 h 到 24 h,FLOUZin-3 染色 Zn<sup>2+</sup> 阳性细胞数显著增加(*P*<0.05),但从再灌注后 3 h 到 12 h,FLOUZin-3 染色 Zn<sup>2+</sup> 阳性细胞数差异无统计学意义(*P*>0.05)。单因素方差分析显示,再灌注各不同时间点 TPEN+MCAO 组的 FLOUZin-3 染色 Zn<sup>2+</sup> 阳性细胞数显著小于 MCAO 组(*P*<0.05)。各时间点之间的平均荧光强度值相差无统计学意义,见表 2、图 2。

2.3 脑梗死体积与 Zn<sup>2+</sup> 水平的相关性分析 MATLAB 进行 Pearson 分析,结果显示,MCAO 组大鼠缺血半暗带区的 FLOUZin-3 染色阳性细胞和不同时间点的脑梗死体积之间呈高度正相关(*r*=0.921,*P*<0.05),见图 3。

表 2 不同时间点 FLOUZin-3 染色 Zn<sup>2+</sup> 阳性细胞数比较(̄x±s)

组别	n	0 h	3 h	12 h	24 h	F	P
SHAM 组	10	0	0	0	0		
MCAO 组	10	25.7±5.3	69.3±9.5 <sup>a</sup>	96.8±11.3 <sup>a</sup>	150.9±23.6 <sup>bcd</sup>	27.021	0.000
TPEN+MCAO 组	10	13.6±2.8	38.3±5.2 <sup>a</sup>	54.2±8.2 <sup>b</sup>	78.6±16.1 <sup>bcd</sup>	31.841	0.000

<sup>a</sup>:*P*<0.05、<sup>b</sup>:*P*<0.01,与再灌注 0 h 比较;<sup>c</sup>:*P*<0.01,与再灌注 3 h 比较;<sup>d</sup>:*P*<0.05,与再灌注 12 h 比较。

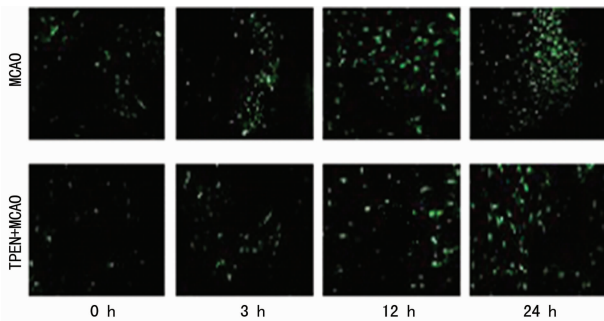


图 2 再灌注不同时间点 FLOUZin-3 染色结果( $\times 500$ )

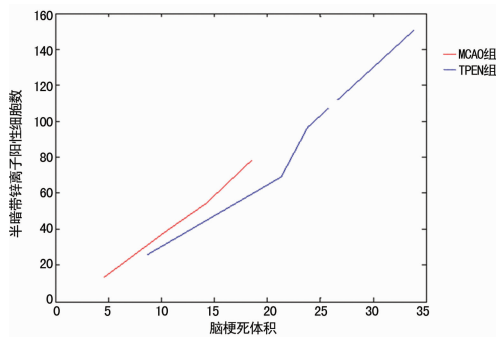


图 3  $Zn^{2+}$  和梗死体积的相关性分析

### 3 讨论

锌在人体内的水平仅次于铁,是脑神经生长发育的必需元素, $Zn^{2+}$ 在中枢神经细胞内聚集在突触小泡内,生理浓度的 $Zn^{2+}$ 对神经元有保护作用,但 $Zn^{2+}$ 在体内浓度过高或过低会对身体造成伤害<sup>[1]</sup>。在接受刺激尤其是脑缺血时,大脑皮层中的 $Zn^{2+}$ 会从突触小泡和神经元内大量释放并涌入突触后神经元。有报道指出,大鼠全脑缺血 24 h 后,海马 CA1 区的锥体细胞会出现延迟性神经元死亡,而且锥体细胞内 $Zn^{2+}$ 水平逐渐增加,但如果大鼠在缺血后用 $Zn^{2+}$ 阻断剂处理,则锥体细胞内 $Zn^{2+}$ 水平降低,而且海马 CA1 区的锥体细胞的神经元损伤减轻,说明高浓度的 $Zn^{2+}$ 可能参与了神经元的死亡过程<sup>[12]</sup>。以上的研究主要观察了海马 CA1 区神经元的 $Zn^{2+}$ 浓度和脑损伤的关系,未关注缺血半暗带区 $Zn^{2+}$ 的变化情况,缺血半暗带区已成为急性缺血性脑卒中治疗的新靶点。

FLOUZin-3 是一种新型的 $Zn^{2+}$ 荧光探针,发光强度大,波动性小,抗其他金属离子干扰性强,可检测聚集到突触后神经元的 $Zn^{2+}$ 流<sup>[13]</sup>。本实验在 MCAO 过程中检测了大鼠的肛温、动脉压和心率指标,3 组大鼠的生理参数都在正常范围,据此可以忽略手术过程对实验过程的影响。由实验结果可知,脑缺血诱导了 $Zn^{2+}$ 在突触后神经元的集聚。但如用 $Zn^{2+}$ 螯合剂进行预处理,则半暗带区的 FLOUZin-3  $Zn^{2+}$ 阳性染色细胞明显减少,各个时间点大鼠的脑梗死体积也明显降低。有文献<sup>[16]</sup>指出,在动物脑缺血模型中用 TPEN 预处理,可以降低大鼠的病死率<sup>[14]</sup>。有文献提示,大鼠在脑缺血再灌注 1 h 时,脑梗死区域未现凋亡神经元,但在再灌注 3~24 h 内,凋亡神经元进行性增多<sup>[15]</sup>。这些发现说明 $Zn^{2+}$ 的集聚可能是引起脑组织损伤的 1 个重要因素,移除多余的 $Zn^{2+}$ 可以对脑缺血再灌注损伤起到保护作用。实验结果表明,再灌注 0 h 时,脑梗死体积约 8%,梗死体积较小,FLOUZin-3 染色阳性细胞数也较少,提示 $Zn^{2+}$ 从再灌注开始便参与了脑组织的损伤过程,但 $Zn^{2+}$ 参与大鼠脑缺血再灌注损伤的生理机制还没有完全搞清。文献<sup>[16]</sup>指出, $Zn^{2+}$ 大量聚集可能会影响线粒体功能,抑制线粒体腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)生成,刺激活性氧(ROS)生

成。并且,细胞内 $Zn^{2+}$ 聚集会放大凋亡通路,增加细胞的凋亡率。本实验和这个结论基本相似,故推测高浓度的 $Zn^{2+}$ 会作为内源性毒素作用于脑组织,诱发脑组织神经元损伤或死亡。

本实验结果表明,缺血再灌注不同时间窗的荧光强度值差异不明显,这可能是由于单个细胞内结合状态的 $Zn^{2+}$ 迅速释放使细胞内的游离态 $Zn^{2+}$ 快速饱和,致使荧光强度增加不明显。本实验发现, $Zn^{2+}$ 和脑梗死体积之间呈高度正相关,这也进一步表明了 $Zn^{2+}$ 参与了脑缺血损伤并发挥着重要作用。

综上所述,脑缺血再灌注大鼠脑内 $Zn^{2+}$ 水平随灌注时间进行性增加,且与脑梗死体积显著正相关,故推测较高浓度的 $Zn^{2+}$ 可能会作为内源性毒素参与脑损伤过程,为临床研究缺血性脑病的治疗技术提供新依据。

### 参考文献

- [1] 陈于祥,陈于兰,瞿伦学,等. 老年人脑梗死复发的相关危险因素分析[J]. 重庆医学,2013,42(24):2839-2841.
- [2] 潘红,孙芳玲,王文,等. 缺血性脑卒中的治疗药物及其有效治疗时间窗的研究进展[J]. 中国康复理论与实践,2013,19(3):201-203.
- [3] 张德辉,杨锦青,鞠培新,等. 锌离子螯合剂 DEDTC 对小鼠脑缺血再灌注损伤保护作用[J]. 解剖科学进展,2012,18(4):366-369.
- [4] Lee SJ,Koh JY. Roles of Zinc and metallothionein-3 in oxidative stress-induced lysosomal dysfunction, cell death, and autophagy in neurons and astrocytes[J]. Mol Brain,2010,3(1):30.
- [5] Pan R,Chen C,Liu WL,et al. Zinc promotes the death of hypoxic astrocytes by upregulating hypoxia-induced hypoxia-inducible factor-1alpha expression via poly(ADP-ribose) polymerase-1[J]. CNS Neurosci Ther,2013,19(7):511-520.
- [6] 张亚敏,徐虹,孙华,等. 线栓法制作大鼠局灶性脑缺血再灌注模型的研究及体会[J]. 医学研究杂志,2014,43(1):27-30.
- [7] Shuttleworth CW,Weiss JH. Zinc:new clues to diverse roles in brain ischemia[J]. Trends Pharmacol Sci,2011,32(8):480-486.
- [8] 王荣亮,刘小蒙,张营,等. 大鼠局灶性脑缺血后神经功能评分与脑梗死体积相关性分析[J]. 首都医科大学学报,2013,34(1):69-74.
- [9] 闫峰,刘向荣,赵海苹,等. 不同性别大鼠局灶性脑缺血脑血流及梗死体积的变化[J]. 首都医科大学学报,2013,34(1):64-68.
- [10] Stork CJ,Li YV. Rising Zinc:a significant cause of ischemic neuronal death in the CA1 region of rat hippocampus[J]. J Cereb Blood Flow Metab,2009,29(8):1399-1408.
- [11] 李芳,刘向荣,闫峰,等. 局部亚低温对大鼠脑缺血再灌注基质金属蛋白酶 9 及细胞外基质蛋白表达的影响[J]. 首都医科大学学报,2013,34(1):58-63.
- [12] Aguilar-Alonso P,Martinez-Fong D,Pazos-Salazar NG,et al. The increase in Zinc levels and upregulation of Zinc transporters are mediated by nitric oxide in the cerebral cortex after transient ischemia in the rat[J]. Brain Res,2008,1200(1):89-98.

系统,临床应用有很大风险。丁酸钠、氯喹抑制 HMGB1 信号通路,对脓毒症相关的多器官功能损害可能有保护效应,但对这些药物改善炎症反应方面的研究仍处于实验室阶段,临床效果并不清楚,且有多种不良反应。右美托咪定是一种临床常用镇静镇痛药,对呼吸及循环影响较小,且具有抗交感效应,本研究表明右美托咪定在镇静镇痛的同时还可降低血清 HMGB1,改善炎症反应。因此,右美托咪定有镇静及抗炎双重作用,但其是否能够有效改善临床热射病患者的预后有待进一步研究。

综上所述,右美托咪定能够降低热射病大鼠血清 HMGB1 水平,其可能机制之一是激动 PBMCs 表面  $\alpha_2$  受体减少 HMGB1 的释放。因此,本研究认为右美托咪定可以通过减少炎症细胞 HMGB1 释放,改善热射病大鼠的炎症反应,可能对热射病有潜在的治疗效应,为右美托咪定更安全有效地应用于热射病患者的镇静、抗炎提供重要依据。

## 参考文献

- [1] Leon LR, Bouchama A. Heat stroke[J]. *Compr Physiol*, 2015, 5(2): 611-647.
- [2] Leon LR, Helwig BG. Heat stroke: role of the systemic inflammatory response[J]. *J Appl Physiol*, 2010, 109(6): 1980-1988.
- [3] Andersson U, Tracey KJ. HMGB1 is a therapeutic target for sterile inflammation and infection[J]. *Annu Rev Immunol*, 2011, 29: 139-162.
- [4] Dehbi M, Uzzaman T, Baturcam E, et al. Toll-like receptor 4 and high-mobility group box 1 are critical mediators of tissue injury and survival in a mouse model for heatstroke[J]. *PLoS One*, 2012, 7(9): e44100.
- [5] Tong HS, Tang YQ, Chen Y, et al. Early elevated HMGB1 level predicting the outcome in exertional heatstroke[J]. *J Trauma*, 2011, 71(4): 808-814.
- [6] Hagiwara S, Iwasaka H, Goto K, et al. Recombinant thrombomodulin prevents heatstroke by inhibition of high-mobility group box 1 protein in sera of rats[J]. *Shock*, 2010, 34(4): 402-406.
- [7] Pandharipande PP, Sanders RD, Girard TD, et al. Effect of dexmedetomidine versus lorazepam on outcome in patients with sepsis: an a priori-designed analysis of the MENDS randomized controlled trial[J]. *Crit Care*, 2010, 14(2): R38.
- [8] Gu J, Sun P, Zhao H, et al. Dexmedetomidine provides renoprotection against ischemia-reperfusion injury in mice[J]. *Crit Care*, 2011, 15(3): R153.
- [9] Xu L, Bao H, Si Y, et al. Effects of dexmedetomidine on

early and late cytokines during polymicrobial sepsis in mice[J]. *Inflamm Res*, 2013, 62(5): 507-514.

- [10] Chen GM, Xu HN, Gao LF, et al. Effects of continuous haemofiltration on serum enzyme concentrations, endotoxemia, homeostasis and survival in dogs with severe heat stroke[J]. *Resuscitation*, 2012, 83(5): 657-662.
- [11] Klune JR, Dhupar R, Cardinal J, et al. HMGB1: endogenous danger signaling[J]. *Mol Med*, 2008, 14(7/8): 476-484.
- [12] Bianchi ME, Manfredi AA. Immunology dangers in and out[J]. *Science*, 2009, 323(5922): 1683-1684.
- [13] Mollnes TE. High mobility group box-1 protein: one step closer to the clinic? [J]. *Crit Care*, 2008, 12(4): 168.
- [14] Gentile LF, Moldawer LL. HMGB1 as a therapeutic target for sepsis: it's all in the timing! [J] *Expert Opin Ther Targets*, 2014, 18(3): 243-245.
- [15] Liu YT, Yang LQ, Tao KM, et al. Protective effects of Hydrogen enriched saline on liver ischemia reperfusion injury by reducing oxidative stress and HMGB1 release [J]. *BMC Gastroenterol*, 2014, 14: 12.
- [16] Hagiwara S, Iwasaka H, Shingu C, et al. Danaparoid Sodium attenuates the effects of heat stress[J]. *J Surg Res*, 2011, 171(2): 762-768.
- [17] Hagiwara S, Iwasaka H, Shingu C, et al. High-dose antithrombin III prevents heat stroke by attenuating systemic inflammation in rats[J]. *Inflamm Res*, 2010, 59(7): 511-518.
- [18] Chang Y, Huang X, Liu Z, et al. Dexmedetomidine inhibits the secretion of high mobility group box 1 from lipopolysaccharide-activated macrophages in vitro [J]. *J Surg Res*, 2013, 181(2): 308-314.
- [19] Kawasaki T, Kawasaki C, Ueki M, et al. Dexmedetomidine suppresses proinflammatory mediator production in human whole blood in vitro[J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2013, 74(5): 1370-1375.
- [20] Xiao J, Huang HW, Peng YP, et al. Modulation of natural killer cell function by alpha-adrenoreceptor-coupled signalling[J]. *Neuro Endocrinol Lett*, 2010, 31(5): 635-644.
- [21] Bao JY, Huang Y, Wang F, et al. Expression of alpha-AR subtypes in T lymphocytes and role of the alpha-ARs in mediating modulation of T cell function[J]. *Neuroimmunomodulation*, 2007, 14(6): 344-353.

(收稿日期: 2015-11-08 修回日期: 2016-01-15)

(上接第 2057 页)

- [13] Zhang X, Deguchi K, Yamashita T, et al. Temporal and spatial differences of multiple protein expression in the ischemic penumbra after transient MCAO in rats [J]. *Brain Res*, 2010, 1343(3): 143-152.
- [14] Shuttleworth CW, Weiss JH. Zinc: new clues to diverse roles in brain ischemia[J]. *Trends Pharmacol Sci*, 2011, 32(8): 480-486.
- [15] Yun YJ, Li SH, Cho YS, et al. Survivin mediates prostate

cell protection by HIF-1 alpha against Zinc toxicity[J]. *Prostate*, 2010, 70(11): 1179-1188.

- [16] Zhao Y, Pan R, Li S, et al. Chelating intracellularly accumulated Zinc decreased ischemic brain injury through reducing neuronal apoptotic death[J]. *Stroke*, 2014, 45(4): 1139-1147.

(收稿日期: 2015-11-15 修回日期: 2016-02-16)