

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.18.008

微创清除颅内血肿降低病灶周围组织谷氨酸水平及 BBB 通透性*

李 昌¹, 唐翠娥², 付 蓉¹, 王丽琨³, 伍国锋^{3△}

(1. 贵州省贵阳市第二人民医院神经内科 550081; 2. 贵州医科大学计算机教研室, 贵阳 550004; 3. 贵州医科大学神经病学教研室, 贵阳 550004)

[摘要] 目的 探讨微创颅内血肿清除对降低病灶周围脑组织谷氨酸(Glu)水平、血脑屏障(BBB)通透性及脑水肿的影响。

方法 将 30 只体重质量 2.80~3.40 kg 的家兔制作自发性脑出血(ICH)模型,模型制作成功后,分成对照组(MC 组)和微创组(MI 组),MI 组于造模后 6 h 内通过立体定向仪行微创颅内血肿清除术,于术后 1、3、7 d 提取脑组织,检测血肿周围脑组织 Glu 水平、BBB 通透性及脑含水量,并与对照组进行比较分析。结果 MI 组在术后 1、3、7 d 血肿周围脑组织 Glu 水平、BBB 通透性及脑含水量均低于 MC 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 微创技术清除颅内血肿有利于降低血肿周围 Glu 水平、BBB 通透性及脑含水量。

[关键词] 脑出血;微创技术清除颅内血肿;谷氨酸;血脑屏障;脑含水量

[中图分类号] R743.34

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2017)18-2471-04

Minimally invasive surgery for removing intracranial hematoma and decreasing perihematomal glutamate content and permeability of blood-brain barrier*

Li Chang¹, Tang Cuie², Fu Rong¹, Wang Likun³, Wu Guofeng^{3△}

(1. Department of Neurology, Guiyang Municipal Second People's Hospital, Guiyang, Guizhou 550081, China; 2. Teaching and Researching Section of Computer, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China; 3. Teaching and Researching Section of Neurology, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550004, China)

[Abstract] Objective To investigate the effects of minimally invasive intracranial hematoma clearance on the perihematomal glutamate(Glu) level, permeability of blood-brain barrier(BBB) and brain edema. Methods Thirty rabbits with body weight of 2.80—3.40 kg were used to established the model of spontaneous intracerebral hemorrhage(ICH) and randomly divided into the minimally invasive group(MI) and control group(MC) after the model was prepared successfully. The MI group underwent minimally invasive procedures for removing intracranial hematoma by stereotactic instrument within 6 h after establishing the ICH model. The brain tissue was extracted on postoperative 1, 3, 7 d, and the perihematomal brain tissues were taken to detect the Glu level, BBB permeability and water content of brain tissue, which were compared with those in the control group. Results The Glu level, BBB permeability and brain water content on 1, 3, 7 d in the MI group were lower than those in the MC group, and the differences were statistically significant($P < 0.05$). Conclusion The minimally invasive surgery for removing intracranial hematoma is helpful to reduce perihematomal Glu level, BBB permeability and brain water content.

[Key words] cerebral hemorrhage; minimally invasive surgery for removing intracerebral hematoma; glutamate; blood-brain barrier; brain water content

自发性脑出血(intracerebral hemorrhage, ICH)后由于血肿本身对周围脑组织的机械压迫及炎症介质、兴奋性氨基酸等神经毒性物质的释放导致了继发性脑损害,在血肿附近的脑组织发生不可逆的损害^[1],而谷氨酸(Glu)介导的兴奋性毒性作用可能对继发性脑损害有重要影响^[1]。近年来,微创清除颅内血肿的有效性已经得到临床研究证实^[2];但是,关于微创外科手术清除颅内血肿后对病灶周边脑组织神经化学变化和血脑屏障(BBB)通透性的变化依然有待进一步研究,对于病灶周围脑组织在清除血肿后的病理生理改变少有报道。本课题组以

Glu、BBB 通透性和脑含水量为观察指标,探讨微创技术清除颅内血肿后血肿周围脑组织 Glu 水平的变化和 BBB 通透性与脑含水量的关系。

1 材料及方法

1.1 材料 (1)动物:大耳白兔 42 只,由贵州医科大学动物实验中心提供,体质量 2.80~3.40 kg,雌雄不分。(2)主要仪器:兔脑立体定位仪(ZH-蓝星 B 型,淮正华生物仪器设备有限公司);电子天平(Satourious 德国);光栅分光光度计(彩虹 722 型,山东高密彩虹分析仪器有限公司);5415R 高速离心机(冷

* 基金项目: 贵阳市卫生和计划生育委员会科学技术计划项目[(2015)筑卫计科技合同字第 074 号];贵州省高血压性颅内出血微创诊疗科技创新人才团队。 作者简介:李昌(1976—),副主任医师,硕士研究生,主要从事脑血管疾病和癫痫的诊治研究。 △ 通信作者, E-mail: wu-guofeng3013@sina.com。

冻型, Heraeus 公司); 202-2 型电热恒温干燥箱(上海路达实验仪器有限公司); 数显恒温水浴锅 HH-2(国华电器有限公司); $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱(Forman Scientific 公司); 高效液相色谱仪(HP-1100, 美国 Agilent Technologies); G1315A 二极管阵列检测器(DAD, 美国 Agilent Technologies); pH 计(410A 型, 美国 ORION); 安捷伦 1313A 自动进样器(美国 Agilent Technologies); 柱温箱(美国 Agilent Technologies)。(3) 主要试剂: 甲酰胺(HCONH_2 , 重庆川江化学试剂厂); 乌拉坦($\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2$, 无锡阳山生化有限责任公司); 伊文思蓝(EB, 北京恒业中远化工有限公司); 4% 多聚甲醛溶液(博士德生物工程有限公司); 尿激酶(广东丽珠公司); 氨基酸标准品(Sigma 公司); 衍生化试剂(硼酸盐缓冲液)、FMOC 试剂(安捷伦 PN5061-3337)、OPA 试剂(安捷伦 PN5061-3335 均为美国 Agilent Technologies 公司产品; 2,4-二硝基氟苯(日本); 乙腈、甲醇色谱纯(德国)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 将 30 只大耳白兔制作 ICH 模型, 并分为模型对照组(MC 组)和微创组(MI 组), 每组各 15 只, 再把每组 15 只动物在组内再平均分成 3 组(分别于模型制作成功后第 1、3、7 天处死), MI 组全部动物在模型制作成功后 6 h 内行微创血肿清除术。将另 12 只健康大耳白兔, 平均分为 3 组, 分别于第 1、3、7 天处死作为正常对照组(NC 组)。

1.2.2 制作 ICH 模型 动物模型制作前 12 h 禁食、4 h 禁水, 乌拉坦(5 mL/kg)麻醉后固定于兔脑立体定向仪, 取兔两眼眶后缘连线正中中线做长约 3.0 cm 皮肤切口, 随即分离至骨膜, 参照兔脑立体定向图谱确定基底节区位置, 从家兔耳中央动脉取自体未凝血, 在兔脑立体定向仪的引导下缓慢注入未凝血自体动脉血 0.5 mL 到右侧基底节区注血时间 3 min 以上, 保持针头于原位 8 min 后再逐渐退针。造模 3 h 后行头颅 CT 检查, 基底节区有高密度影且未破入脑室者提示造模成功。将通过 CT 扫描提示造模成功的大耳白兔(图 1)送入动物房饲养, 所有实验动物均在静脉注射乌拉坦后 5 h 内清醒。

1.2.3 微创颅内血肿清除术的手术步骤 MI 组动物均在 ICH 模型制作成功后 6 h 内行微创颅内血肿清除术, 沿原穿刺孔作为微创手术进针的部位, 向原穿刺点注入尿激酶 5 000 U (溶于 0.5 mL 生理盐水中), 针头固定原位 15 min 后开始缓慢抽吸, 边抽吸边缓慢退针。复查头颅 CT, 见血肿基本清除后(图 2)。MC、NC 组仅行外科进针程序, 不作其他处理。

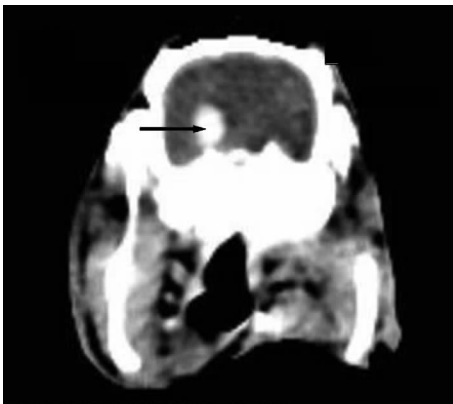


图 1 CT 见右侧基底节区血肿形成

1.2.4 采集标本 处置动物后快速断头取脑, 取血肿周围

5 mm 内脑组织置于冰盘, 以针道为中心, 将脑组织分为 4 部分(即前内、前外、后内、后外), 前外侧部分用于测 EB 水平, 前内侧部分立即放入 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱用于 Glu 水平检测, 后内侧用于测量脑含水量。

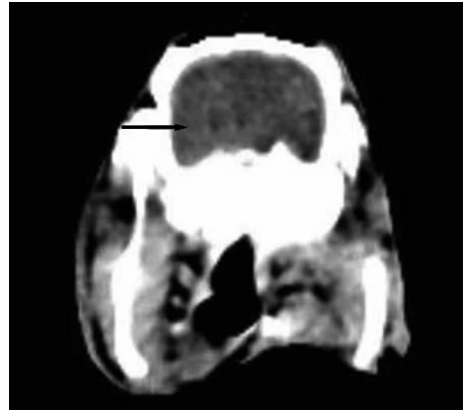


图 2 复查头颅 CT 见血肿消失

1.2.5 高效液相色谱分析测定血肿周围 Glu 水平 色谱柱为 ZORBAX clipse-AAA ($4.6 \times 150\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$); 流动相 A: $40\text{ mmol/L Na}_2\text{HPO}_4$, pH 7.8 [$5.5\text{ g NaH}_2\text{PO}_4$ (含 1 分子水) + 1 000 mL 水, 用 $(10\text{N})\text{NaOH}$ 溶液调 pH 至 7.8], 流动相 B 为 ACN: MeOH: 水 ($45:45:10$, V/V/V)。流速为 2 mL/min ; 梯度: $0 \sim <18.1\text{ min}$, B 从 0 上升至 57%, $18.1 \sim <18.6\text{ min}$, B 从 57% 上升至 100%, $18.6 \sim <22.3\text{ min}$, B 维持 100%, $22.3 \sim <23.2\text{ min}$, B 从 100% 下降至 0%。 $23.2 \sim 26\text{ min}$, B 仍然在 0%。柱温为 $40\text{ }^{\circ}\text{C}$, 进样量为 $10\text{ }\mu\text{L}$, 二极管阵列检测器(DAD)波长 262 nm , 参比波长 324 nm 。在 1 mL 甲醇中加入邻苯二甲酰(OPA) 25 mg , 使其充分溶解后再加入 0.4 mol/L 硼酸氢二钠、硼酸二氢钠缓冲溶液 (pH 10.4) 5 mL , 混匀, 置于 $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱备用。称取氨基酸标准品适量, 用 0.2 mol/L 碳酸氢钠(NaHCO_3 , pH 9.8) 配制成浓度为 1.0 g/L 的标准储备液。解冻脑组织, 电子天平称重后放入干燥玻璃匀浆器中, 加 0.1 mmol/L 稀盐酸 $1:5$ (W/V), 超声粉碎(温度: $4\text{ }^{\circ}\text{C}$, 脉冲: 运行 2 s , 停 5 s ; 强度: 20%, 共 15 次)。离心 (12 000 r/min , 20 min , $4\text{ }^{\circ}\text{C}$) 后, 取 $2.5\text{ }\mu\text{L}$ 硼酸缓冲液加入 $0.5\text{ }\mu\text{L}$ 样品上清液溶液, 混合 30 s , 加入 OPA $0.5\text{ }\mu\text{L}$ 混合 30 s 后加入 $0.5\text{ }\mu\text{L}$ 的 FMOC 混合 30 s , 加入 $32\text{ }\mu\text{L}$ 水, 混合 30 s , 进样 $10\text{ }\mu\text{L}$ 。通过色谱工作站积分氨基酸的峰面积, 外标法定量, 计算氨基酸浓度, 再根据标质量可得出每克脑组织氨基酸浓度。

1.2.6 BBB 通透率的测定 (1) 采用 EB 作为示踪剂检测 BBB 的通透性。在各实验点前 2 h, 经兔耳缘静脉按 2 mL/kg 注入 2% EB, 循环 2 h 后, 迅速提取脑组织, 取血肿周围脑组织用电子天平(精确到 0.1 mg) 称质量, 随之把它放入盛有 4 mL 甲酰胺的试管中, 放入 $54\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱水浴 24 h , 离心后分光光度计($\lambda = 632\text{ nm}$) 测定上清液吸光度, 滤光波长为 632 nm , 甲酰胺为空白对照。(2) 标准曲线的建立: 电子天平(精确度 0.1 mg) 称取 EB 4 mg 放入玻璃容器中, 缓慢加入生理盐水至总容积到 100 mL , 摇匀后用玻璃吸管取 0.3 mL , 加入 5.7 mL 甲酰胺配制成第 1 管标准液, 再从第 1 管标准液中取 3 mL 加 3 mL

甲酰胺溶液配制成第 2 管,据此法依次配置 7 管标准液,则这 7 管标准液每毫升所含 EB 依次为 8.000、4.000、2.000、1.000、0.500、0.250、0.125 μg ,加盖橡皮塞,放入 54 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水浴箱水浴 24 h。然后用上述相同方法测量吸光度,求出它们与 EB 水平的直线回归方程: $Y=0.0053X+0.0608(R^2=0.9833)$ EB 标准曲线,反映吸光度(A)与 EB 水平的关系。(3)脑组织 EB 水平计算方法:采用甲酰胺法测定脑组织 EB 水平以判定 BBB 的破坏程度。脑组织 EB 水平($\mu\text{g}/\text{g}$ 湿脑) = $B \times$ 甲酰胺量(mL)/脑组织湿质量(g),公式中的 B 是根据标准曲线的直线回归方程求得的样本 EB 水平($\mu\text{g}/\text{mL}$)。(4)脑组织含水量的测定:提取兔脑组织后先用电子天平称取湿质量,随后放入 100 $^{\circ}\text{C}$ 电热恒温干燥箱,48 h 后取出称其干质量,脑组织含水量 = (湿质量 - 干质量)/湿质量 $\times 100\%$ 。

1.3 统计学处理 数据采用 SPSS13.5 作统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 家兔 ICH 制模情况 本实验成功制作出 30 只家兔 ICH 模型,其中 MC 组在实验模型制作成功后不明原因死亡 1 只;MI 组在制作模型时因乌拉坦注射过量死亡 2 只,模型制作成功后第 5 天死亡 1 只。最后 MC 组及 MI 组各以 12 只家兔来进行对比观察。

2.2 各组家兔脑组织 Glu 水平比较 MI 组家兔血肿周围脑组织 Glu 水平在各时间点明显少于 MC 组($P < 0.05$),MC 组在各时间点明显高于 NC 组($P < 0.05$);MI 组在第 1、3 天明显高于 NC 组($P < 0.05$),但第 7 天与 NC 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 各组家兔脑组织 Glu 水平比较($\bar{x} \pm s, n=4, \mu\text{g}/\text{g}$)

组别	第 1 天	第 3 天	第 7 天
NC 组	2 150.24 \pm 28.20	2 148.20 \pm 16.14	2 153.16 \pm 18.12
MC 组	2 502.29 \pm 48.62 ^a	2 667.38 \pm 73.37 ^a	2 273.88 \pm 49.87 ^a
MI 组	2 320.01 \pm 68.08 ^{ab}	2 464.17 \pm 98.28 ^{ab}	2 141.06 \pm 52.1 ^b

^a: $P < 0.05$, 与 NC 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 MC 组比较 $P < 0.05$ 。

2.3 各组家兔 BBB 通透性比较 MI 组家兔血肿周围脑组织 EB 水平在各时间点明显少于 MC 组($P < 0.05$),MC 组和 MI 组各时间点 EB 水平均高于 NC 组($P < 0.05$),见表 2。

表 2 各组家兔脑组织 EB 水平比较($\bar{x} \pm s, n=4, \mu\text{g}/\text{g}$)

组别	第 1 天	第 3 天	第 7 天
NC 组	1.85 \pm 0.12	2.14 \pm 0.01	1.94 \pm 0.23
MC 组	31.24 \pm 1.02 ^a	37.13 \pm 1.57 ^a	28.72 \pm 0.23 ^a
MI 组	28.41 \pm 0.72 ^{ab}	34.04 \pm 1.48 ^{ab}	26.30 \pm 0.78 ^{ab}

^a: $P < 0.05$, 与 NC 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 MC 组比较 $P < 0.05$ 。

表 3 各组家兔组织含水量比较($\bar{x} \pm s, n=4, \%$)

组别	第 1 天	第 1 天	第 7 天
NC 组	74.15 \pm 0.43	74.40 \pm 0.37	75.12 \pm 0.22
MC 组	79.55 \pm 0.73 ^a	80.57 \pm 1.31 ^a	77.98 \pm 0.67 ^a
MI 组	77.21 \pm 0.93 ^{ab}	78.13 \pm 1.24 ^{ab}	76.60 \pm 0.68 ^{ab}

^a: $P < 0.05$, 与 NC 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 MC 组比较 $P < 0.05$ 。

2.4 各组家兔脑组织含水量比较 MI 组家兔在各时间点血肿周围脑组织含水量均明显低于 MC 组($P < 0.05$),且 MC 组和 MI 组血肿周围脑组织含水量在各时间点均高于 NC 组($P < 0.05$),见表 3。

3 讨论

ICH 占卒中患者的 10%~15%,具有高伤残率和高死亡率,目前治疗主要是针对原发性损害和防止再出血,但所有这些治疗都不能有效地减少致残率和死亡率^[3]。继发性脑损伤是 ICH 预后不良的重要因素,Glu 在继发性脑损伤中起着重要作用^[1]。有研究发现 ICH 后血肿周围脑组织 Glu 水平明显增高,而兴奋性氨基酸水平与其预后密切相关^[4-5],Glu 水平越高其预后越差^[6]。血肿周围脑组织 Glu 水平升高可导致 BBB 破坏,BBB 通透性增加可加重脑水肿,如 Glu 的兴奋性毒性作用被拮抗则可能减少 BBB 通透性,减少脑水肿。在实验性蛛网膜下腔出血和弥漫性脑损伤中用 Glu 受体拮抗剂 MK-801 后有助于 BBB 通透性的恢复,有利于减轻脑水肿^[7];研究表明在不影响血肿体积的情况下,用免疫方法阻断 Glu NMDA 受体,可明显减少脑水肿和神经元细胞坏死,并有利于减少神经功能缺陷^[8]。本实验中,经微创技术清除颅内血肿后,血肿周围脑组织 Glu 水平明显下降,血肿的占位效应减少,从而减少 BBB 通透性及脑含水量。Miller 等^[9]学者也观察到血肿周围脑组织 Glu 水平增高,微创清除血肿后 Glu 水平降低。

BBB 破坏导致脑水肿形成,ICH 后释放的神经毒性物质,除凝血酶、血红蛋白对 BBB 的破坏外,Glu 的兴奋性毒性作用也可能是脑水肿形成的重要因素^[3]。动物鼠模型实验研究显示,蛛网膜下腔出血后细胞外 Glu 水平明显增加,而 Glu 转运体明显降低^[10]。ICH 后大量 Glu 释放,血肿周围能量代谢障碍,影响 Glu/谷氨酰胺(Gln)比值、限制 Glu 的摄取,同时,细胞外兴奋性神经传递物质增加而 Glu 脱羟酶抑制,导致能量代谢失调和神经毒性物质增加损害 BBB,因此,脑水肿与颅内血肿和 BBB 通透性密切相关。

通过测量不同时间点脑组织 EB 水平来判断 BBB 损害程度,有研究显示脑内注血后 6 h BBB 开始有受损,随着时间的推移逐渐加重,72 h 达最高峰^[8],在本实验中除上述现象外,同时发现脑含水量也有同样的变化。

脑水肿是 ICH 后病情恶化的主要原因,ICH 后如能尽早、有效地控制脑水肿,则可减少血肿周围神经元的继发性损害从而降低死亡率、减少致残率。血肿清除不但可以减轻脑水肿,还清除了血肿破坏后释放的凝血酶、Glu、基质金属蛋白酶、血红蛋白及其他降解产物对神经的毒害作用^[11-12],减少血肿对周围脑组织的压迫,改善局部微循环,加速 Glu/Gln 循环,促进 Glu 摄取,Glu 在 Glu 脱羧酶作用下可以转变成 γ -氨基丁酸,减少细胞外兴奋性神经递质,而减少脑水肿、降低 BBB 通透性。因此,超早期清除颅内血肿对减轻脑水肿和保护 BBB 有重要的意义^[2,13]。

综上所述,微创清除颅内血肿有利于减少血肿周围脑组织 Glu 水平、减少 BBB 通透性,预防继发性脑损害的发展。

参考文献

[1] Hwabejire JO, Imam AM, Jin G, et al. Differential effects

- of fresh frozen plasma and normal saline on secondary brain damage in a large animal model of polytrauma, hemorrhage and traumatic brain injury[J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2013, 75(6):968-974.
- [2] Lian L, Xu F, Hu Q, et al. No exacerbation of perihematomal edema with intraclot urokinase in patients with spontaneous intracerebral hemorrhage [J]. *Acta Neurochir (Wien)*, 2014, 156(9):1735-1744.
- [3] Zheng H, Chen C, Zhang J, et al. Mechanism and therapy of brain edema after intracerebral hemorrhage[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2016, 42(3/4):155-169.
- [4] Bell JD, Thomas TC, Lass E, et al. Platelet-mediated changes to neuronal glutamate receptor expression at sites of microthrombosis following experimental subarachnoid hemorrhage [J]. *J Neurosurg*, 2014, 121(6):1424-1431.
- [5] Zhu HT, Bian C, Yuan JC, et al. Hyperbaric oxygen therapy ameliorates acute brain injury after porcine intracerebral hemorrhage at high altitude[J]. *Crit Care*, 2015, 19(1):1-10.
- [6] Lin BF, Kuo CY, Wen LL, et al. Rosiglitazone attenuates cerebral vasospasm and provides neuroprotection in an experimental rat model of subarachnoid hemorrhage [J]. *Neurocrit Care*, 2014, 21(2):316-331.
- [7] Imer M, Omay B, Uzunkol A, et al. Effect of magnesium, MK-801 and combination of magnesium and MK-801 on blood-brain barrier permeability and brain edema after experimental traumatic diffuse brain injury[J]. *Neurol Res*, 2009, 31(9):977-981.
- [8] Gaberel T, Macrez R, Gauberti M, et al. Immunotherapy blocking the tissue plasminogen activator-dependent activation of N-methyl-D-aspartate glutamate receptors improves hemorrhagic stroke outcome[J]. *Neuropharmacol*, 2013, 67(4):267-271.
- [9] Miller CM, Vespa PM, Mearthur DL, et al. Frameless stereotactic aspiration and thrombolysis of deep intracerebral hemorrhage is associated with reduced levels of extracellular cerebral glutamate and unchanged lactate pyruvate ratios[J]. *Neurocrit Care*, 2007, 6(1):22-29.
- [10] Wu CT, Wen LL, Wong CS, et al. Temporal changes in glutamate, glutamate transporters, basilar arteries wall thickness, and neuronal variability in an experimental rat model of subarachnoid hemorrhage [J]. *Anesth Analg*, 2011, 112(3):666-673.
- [11] Liu Dz, Sharp FR. Excitatory and mitogenic signaling in cell death, blood-brain barrier breakdown, and BBB repair after intracerebral hemorrhage [J]. *Transl Stroke Res*, 2012, 3(1):62-69.
- [12] Cervera A, Amaro S, Chamorro A. Oral anticoagulant-associated intracerebral hemorrhage[J]. *J Neurol*, 2012, 259(2):212-224.
- [13] Wang WM, Jiang C, Bai HM. New insights in minimally invasive surgery for intracerebral hemorrhage[J]. *Front Neurol Neurosci*, 2015, 37(1):155-165.

(收稿日期:2017-01-07 修回日期:2017-03-11)

(上接第 2470 页)

- [8] Yao YY, Zhu MH, Zhang FJ, et al. Activation of Akt and cardioprotection against reperfusion injury are maximal with only five minutes of sevoflurane postconditioning in isolated rat hearts[J]. *J Zhejiang Univ Sci B*, 2013, 14(6):511-517.
- [9] Agnic I, Filipovic N, Vukojevic K, et al. Effects of isoflurane postconditioning on chronic phase of ischemia-reperfusion heart injury in rats [J]. *Cardiovasc Pathol*, 2015, 24(24):94-101.
- [10] 陈景瑞, 魏静, 施洋, 等. 心肌缺血再灌注与线粒体功能障碍研究进展[J]. *中国临床药理学杂志*, 2015, 31(18):1886-1888.
- [11] Yao YT, Fang NX, Shi CX, et al. Sevoflurane postconditioning protects isolated rat hearts against ischemia-reperfusion injury[J]. *Chin Med J*, 2010, 123(10):1320-1328.
- [12] Krolikowski JG, Bienengraeber M. Inhibition of mitochondrial permeability transition enhances isoflurane-induced cardioprotection during early reperfusion: the role of mitochondrial K⁺ ATP channels [J]. *Anesth Analg*, 2005, 101(6):1590-1596.
- [13] Yao YT, Li LH, Li L, et al. Sevoflurane postconditioning protects chronically-infarcted rat hearts against ischemia-reperfusion injury by activation of pro-survival kinases and inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening upon reperfusion[J]. *Biol Pharm Bull*, 2009, 32(11):1854-1861.
- [14] Huang XP, Tan H, Chen BY, et al. Astragalus extract alleviates nerve injury after cerebral ischemia by improving energy metabolism and inhibiting apoptosis [J]. *Biol Pharm Bull*, 2012, 35(4):449-454.
- [15] 张静, 乔世刚, 胡素梅, 等. 七氟醚后处理对大鼠离体心脏缺血再灌注时心肌细胞 p70S6K 表达的影响[J]. *中华麻醉学杂志*, 2014, 34(4):477-480.

(收稿日期:2017-01-22 修回日期:2017-03-26)