doi:10.11659/jjssx.04E017069

·基础研究·

不同浓度丙泊酚后处理对谷氨酸致乳鼠离体脑片损伤的保护作用

王 蔚,王耀丽,周 健 (第三军医大学第三附属医院重症医学科,重庆 400042)

[摘 要] **目的** 探讨不同浓度丙泊酚后处理对谷氨酸(Glu)致乳鼠离体脑片损伤的保护作用。**方法** 切取并培养出生7 d的SD大鼠乳鼠离体脑片,随机分为5组:正常组,Glu损伤组(RI组),1 mg/L丙泊酚后处理组(PL1 + RI组),3 mg/L丙泊酚后处理组(PL3 + RI组),5 mg/L丙泊酚后处理组(PL5 + RI组),每组12例。将RI、PL1 + RI、PL3 + RI、PL5 + RI组培养至第6天,用含1 mmol/L Glu的培养基损伤30 min,建立缺血再灌注模型,损伤后将RI组移入正常的完全培养基,将PL1 + RI、PL3 + RI、PL5 + RI组分别移入含相应处理药物的完全培养基中继续培养24 h。通过对各组脑片进行尼氏小体计数、乳酸脱氧酶(LDH)释放率、组织损伤率的测定来比较各组脑片神经细胞的损伤程度。**结果** 与RI组相比,采用不同浓度丙泊酚后处理的各组,均能使尼氏小体数量增加,使LDH释放率和脑组织损伤率均降低,差异均具有统计学意义($P<0.05$)。PL3 + RI组的尼氏小体数量增加情况较PL1 + RI、PL5 + RI组高,差异具有统计学意义($P<0.05$),LDH释放率、脑组织损伤率低于PL1 + RI、PL5 + RI组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 丙泊酚后处理对Glu致乳鼠离体脑片缺血再灌注损伤具有保护作用,但不呈浓度依赖性,在本实验中,3 mg/L丙泊酚显示的保护效果最佳。

[关键词] 丙泊酚;后处理;脑片;保护作用;乳酸脱氢酶

[中图分类号] R971.2;R965.2 [文献标识码] A [收稿日期] 2017-04-20

Protective effect of different concentrations of propofol postconditioning against glutamate neurotoxicity to brain slices of neonatal rats

WANG Wei, WANG Yao-li, ZHOU Jian (Department of Intensive Care Unit, the Third Affiliated Hospital of Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: Objective To explore the effects of different concentrations of propofol postconditioning against glutamate neurotoxicity to brain slices of neonatal rats. **Methods** The brain slices of neonatal rats were prepared and cultured in complete medium. They were randomly divided into five groups: the normal control group, glutamate injury group (RI group), 1 mg/L propofol postconditioning group (PL1 + RI group), 3 mg/L propofol postconditioning group (PL3 + RI group), 5 mg/L propofol postconditioning group (PL5 + RI group), 12 cases in each group. The RI, PL1 + RI, PL3 + RI, PL5 + RI groups were cultured for 6 days, then the brain slices were moved into the culture medium containing glutamate (1 mmol/L) and incubated for 30 minutes. And then, respectively, the brain slices of RI group were put into another complete culture medium, the PL1 + RI group, PL3 + RI group and PL5 + RI group were put into the medium containing corresponding concentrations of propofol medium and long chain fat emulsion injection. All of the above were cultured for 24 hours in order to establish the injury model. The numbers of the Nissl body, the LDH release rates and the brain tissue damage rates of each brain slice were detected to evaluate the effects of propofol postconditioning on the reperfusion injury in the glutamate-damaged brain slices of neonatal rats. **Results** Compared with the RI group, the numbers of the Nissl body of the PL1 + RI group, PL3 + RI group and PL5 + RI were higher, the LDH release rates and

[通信作者] 王耀丽,E-mail:wangylchen2005@aliyun.com

[16] 郎洪刚,曹文斌,杨俊华,等.脑室内注射重组BDNF腺病毒对大鼠海马神经发生的影响[J].解剖学研究,2011,33(4):255-258.

[17] 吴小慧,秦新月,王 敬,等.重组腺病毒Ad-shRNA-NgR在大鼠缺血脑组织的转染效率研究[J].第三军医大学学报,2010,32(8):802-804.

[18] Ghulam M, Weidong X, Mariana P, et al. Safety profile of gutless adenovirus vectors delivered into the normal brain parenchyma implications for a glioma phase 1 clinical trial[J]. Human Gene Therapy Methods, 2012, 23(4): 271-284. doi: 10.1089/hgtb.2012.060.

[19] 唐文雄,郭淮莲,唐春花,等.侧脑室注射重组血管生长素腺病毒对大鼠脑内血管生成的影响[J].中风与神经疾病,2011,28(2):111-114.

[20] Oualikene W, Lamoureux L, Weber JM, et al. Protease-deleted adenovirus vectors and complementing cell lines: potential applications of single-round replication mutants for vaccination and gene therapy[J]. Human Gene Therapy, 2000, 11(9): 1341-1353. doi: 10.1089/10430340050032438.

[21] Abea K, Setoguchib Y, Hayashia T, et al. In vivo adenovirus-mediated gene transfer and the expression in ischemic and reperfused rat brain[J]. Brain Research, 1997, 763(2): 191-201.

(编辑:左艳芳)

the brain tissue damage rates of the PL1 + RI group, PL3 + RI group and PL5 + RI were lower, the diferences were significant ($P < 0.05$). Among the three PL + RI groups, the LDH release rates and the brain tissue damage rates of the PL3 + RI group were lower than those of the other two groups, the diferences were significant ($P < 0.05$), at the same time, the numbers of Nissl body were more than the other two groups, the diferences were significant ($P < 0.05$). **Conclusion** Propofol postconditioning has protective effects on the reperfusion injury in the glutamate-damaged brain slices of neonatal rats. However, the protective effects are not dose-dependent, and 3 μg/mL is the best dose of propofol to keep the glutamate-damaged brain slices from reperfusion injury in this research.

Keywords: propofol; postconditioning; brain slice; protective effect; lactate dehydrogenase

随着社会发展,老龄化现象愈发明显,脑缺血的发生率日益增加,同时脑缺血后再灌注损伤的发生大大增加了患者病死率。虽然目前对脑缺血再灌注损伤的研究较多,但具体的发病机制尚不明确。其中兴奋性氨基酸学说是一个被普遍接受的理论。颅脑中含量最多的兴奋性氨基酸是谷氨酸(L-Glutamic Acid, Glu),脑缺血发生时可以使缺血的神经细胞释放大量的兴奋Glu,Glu 所生成的神经毒性与缺血引发的神经细胞损伤的机制存在着紧密的关联[1-2]。众多研究表明,Glu 在脑缺血再灌注发生时对神经细胞所产生的损伤机制主要有[3-4]:①非 N-甲基-D-天冬氨酸受体的过分激活使细胞严重水肿;②Ca^{2+} 内流,以致细胞内 Ca^{2+} 超载,同时细胞内 Ca^{2+} 超载能使较多自由基形成,从而使线粒体功能受损,导致细胞死亡。以往实验也发现,用 Glu 模仿脑缺血发生时兴奋性氨基酸的大量产生,创建缺血再灌注损伤模型,都能成功造模[4]。

丙泊酚在以前的实验中证实[5],其除具备麻醉的功效外,另有抗氧自由基、减少脂质过氧化等作用。前期实验发现[6],丙泊酚预处理可减轻缺血再灌注后神经细胞的损伤。但在离体脑片水平,国内外文献中很少见到丙泊酚后处理对神经细胞缺血再灌注损伤保护作用的报道。因此,本次选用培养脑片,制造 Glu 缺血再灌注损伤模型,观察丙泊酚对脑片后处理的保护作用,并对比不同浓度的丙泊酚的保护作用。

1 材料与方法

1.1 模型建立与分组

1.1.1 模型建立 选用出生 7 d 的 SD 大鼠乳鼠(由贵阳医学院实验动物中心提供),动物合格证号:SCXK(黔)2012-001,操作步骤参考经典脑片制作方法[6]。具体方法如下:将实验动物进行消毒、脱碘 2 次,每次 1 min;眼科剪快速断头取脑,将大脑立刻置于 PBS 溶液中(0 ℃),剪掉脑干及小脑,去除血管和软脑膜;放入 3% 琼脂块中,用振动切片机根据脑冠状切片,切成厚度为 350 ~ 400 μm 的脑片。用吸管把脑片移入 Millicell 插入式培养皿的滤过膜上,将培养皿移入各含1.2 mL完全培养基的 6 孔板中。在每个培养皿滤膜上放 3 张脑片,用玻璃尖头移液管去除滤膜上的液体,调整培养皿的位置,排出滤膜下的气泡;将消毒清洁后的 6 孔板放入 37 ℃,含 5% CO_2、95% O_2 的 CO_2 培养箱中培养脑片,于次日换液 1 次,此后每 2 天换液 1 次,每次换液 1.2 mL。直至第 6 天。

1.1.2 分组 将培养至第 6 天的脑片,随机分为 5 组:正常组,Glu 损伤组(RI 组),1 mg/L 丙泊酚后处理组(PL1 + RI 组),3 mg/L 丙泊酚后处理组(PL3 + RI 组),5 mg/L 丙泊酚后处理组(PL5 + RI 组),每组 12 片。

1.1.3 分组后处理 正常组脑片的处理:随机选取脑片,使用完全培养基培养,分别于制片第 2 天、第 4 天各换液 1 次,为与其他组的处理形成对比,在培养的第 6 天,先将培养液换成完全培养基作用 30 min,再更换完全培养基继续培养 24 h。

损伤组、药物后处理组(RI 组、PL1 + RI 组、PL3 + RI 组、PL5 + RI 组)的培养:首先是建立损伤模型后,将脑片培养至第 6 天时,给脑片换用含 1 mmol/L Glu 的培养基(即损伤液),将换液后的 6 孔板放入 37 ℃,含 5% CO_2、95% O_2 的 CO_2 培养箱中培养 30 min。损伤组(RI 组)脑片的培养是将建立损伤模型后的脑片使用完全培养基对脑片进行换液,换液后将 6 孔板再放入培养箱中继续培养 24 h。药物后处理组(PL1 + RI 组、PL3 + RI 组、PL5 + RI 组)的培养是将建立损伤模型后的脑片分别用含丙泊酚 1 mg/L、3 mg/L、5 mg/L 的丙泊酚后处理培养液(PL1 + RI 组、PL3 + RI 组、PL5 + RI 组)对脑片进行后处理换液,换液后将 6 孔板放入培养箱中继续培养 24 h。

1.2 标本处理

各组脑片培养 7 d 后移入 10% 中性福尔马林溶液中固定。待标本收集完成以后,首先将脑片使用酒精依次梯度脱水处理,然后进行透明处理,再将处理好的脑片包埋成蜡块,最后切成厚度为 4 μm 的薄片,做好编号,在 37 ℃烤箱内烘烤 6 h 后常温避尘保存。

1.3 检测指标的测定

1.3.1 尼氏小体计数 对切片进行脱蜡、酒精清洗、甲苯胺蓝染液、冲洗、中性树胶封片。制片成功后将其放置在倒置显微镜 400 倍视野下观察,随机选取

5 个不同的视野,进行尼氏小体计数并求出平均值。

1.3.2 脑片组织损伤率 将培养好的脑片放入 1% 的 TTC 溶液中,避光恒温(37 ℃)水浴 60 min,用 PBS 溶液将水浴后的脑片漂洗 3 次,用吸水纸吸去表面水分后称湿重。按比例加入抽提液(1 g 脑片∶20 mL 抽提液),之后避光处理 24 h,将样品放入 96 孔板,利用酶标仪在 490 nm 处测定各孔吸光度值(A490)。参照公式①算出脑片组织损伤率:

$$① \text{ 脑组织损伤百分率}=\left(1-\frac{A490\text{损伤组}}{A490\text{正常组}}\right)\times 100\%$$

1.3.3 乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase,LDH)释放率的测定 分别收集各组脑片进行 Glu 损伤时的培养液及损伤后到培养结束的所有培养液(正常组收集第 6 天对比培养30 min时的培养液和第 7 天的培养液),将培养液利用酶标仪在 440 nm 处测定其吸光度值即 A440,然后再将各组脑片组织匀浆离心后取上清液测定 A440,即组织液中 LDH 的 A440。按照公式②计算 LDH 释放率[7]:

$$② \text{ LDH释放率}=\frac{\text{培养液中LDH的}A_{440}}{\text{培养液中LDH的}A_{440}+\text{组织液中LDH的}A_{440}}\times 100\%$$

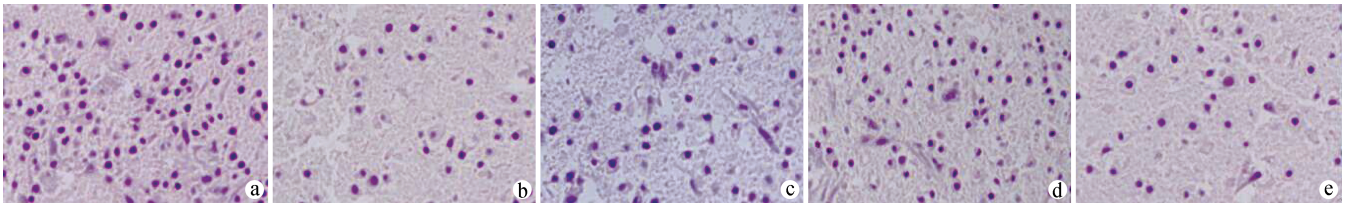
1.4 统计学处理

数据用 SPSS 13.0 统计软件分析,结果以均数 ± 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,经行方差分析和 q 检验,$P<0.05$ 为差异有统计学意义,$P<0.01$ 为差异具有极显著性统计学意义。

2 结果

2.1 尼氏小体计数

将尼氏染色片置于倒置显微镜下观察,见图 1。正常组脑片尼氏染色后尼氏小体数量多;谷氨酸处理后各组尼氏小体数目较正常组显著减少,差异有极显著性统计学意义($P<0.01$);PL1 + RI、PL3 + RI、PL5 + RI组尼氏小体的数量介于正常组与 RI 组之间,且 PL3 + RI 组与 PL1 + RI、PL5 + RI 组之间差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。



a:正常组;b:RI 组;c:PL1 + RI 组;d:PL3 + RI 组;e:PL5 + RI 组

图 1 光镜下各组尼氏小体(尼氏染色 ×400 倍)

表 1 各组尼氏小体数量($\bar{x}\pm s$,HP)

组别	n	尼氏小体
正常组	12	52.1 ± 1.8
RI 组	12	15.1 ± 1.9 *
PL1 + RI 组	12	31.1 ± 1.9 *#△
PL3 + RI 组	12	40.3 ± 2.0 *#
PL5 + RI 组	12	33.2 ± 2.2 *#△

*:与正常组相比,$P<0.01$;#:与 RI 组相比,$P<0.05$;△:与 PL3 + RI 组相比,$P<0.05$

2.2 脑片组织损伤率

Glu 损伤后的脑片再培养以模拟缺血再灌注损伤,RI 组脑片组织损伤率达 51.92%,采用不同浓度丙泊酚后处理,脑片组织损伤率降低,PL1 + RI 组、PL3 + RI 组、PL5 + RI 组分别降低 11.51%、30.69% 和 20.96%,差异均具有极显著性统计学意义($P<0.01$),见表 2。

2.3 LDH 释放率

各组脑片 LDH 释放率测定结果为正常组(27.3 ± 1.0)%、RI 组(58.0 ± 1.8)、PL1 + RI 组(47.4 ± 1.5)%、PL3 + RI 组(37.2 ± 1.3)%、PL5 + RI 组(42.1 ± 1.2)%。Glu 损伤后的各组脑片 LDH 释放率较正常组脑片明显增多,差异具有极显著性统计学意义($P<0.01$)。在 Glu 损伤后各组脑片中,与 RI 相比,采用丙泊酚后处理的 3 组,脑片 LDH 释放率均降低,差异具有极显著性统计学意义($P<0.01$),且 PL3 + RI 组脑片 LDH 释放率低于 PL1 + RI 组和 PL5 + RI 组,差异具有统计学意义($P<0.05$)。

表 2 各组 A490 值及脑组织损伤百分率($\bar{x}\pm s$)

组别	n	A490 值	组织损伤百分率(%)
正常组	12	0.89 ± 0.06	0
RI 组	12	0.43 ± 0.07	51.92 ± 8.26
PL1 + RI 组	12	0.53 ± 0.09	40.41 ± 10.11 *#
PL3 + RI 组	12	0.70 ± 0.08	21.23 ± 9.52 *
PL5 + RI 组	12	0.62 ± 0.08	30.96 ± 9.31 *#

*:与 RI 组相比,$P<0.01$;#:与 PL3 + RI 组相比,$P<0.05$

3 讨论

脑缺血作为现代医学中发病率极高的一种疾病,对人体大脑的损害是十分严重的,然而脑缺血之后的再灌注会加重对神经细胞的损伤作用[8]。脑缺血再灌

注损伤的研究是近年来医学研究的热门领域,但其机制目前仍无定论,大多学者考虑这和损伤与再灌注以后大量氧自由基的形成、兴奋性氨基酸的损害和脑细胞钙超载的毒害作用、炎症反应等有关[9-11]。在重症医学科的患者中,由于心肺脑复苏、溶栓再通、移植以及一些心脏手术患者等均可能发生缺血再灌注损伤,从而引起各种并发症,影响患者后期的生活质量,因此,如何能减少缺血再灌注带来的损害是目前大家都较关心的话题。

目前对脑缺血再灌注损伤研究的模型有很多类型,本实验选择利用兴奋性氨基酸中的谷氨酸建立乳鼠离体脑片的缺血再灌注模型,其原因是在众多缺血再灌注损伤机制中,兴奋性氨基酸学说是一个被普遍接受的理论,而 Glu 是中枢神经系统中的含量最多的兴奋性氨基酸。脑缺血再灌注的发生使神经元细胞膜去极化,突触前神经元释放大量 Glu,Glu 可引起神经细胞损伤甚至死亡,以往实验也发现,用 Glu 模仿脑缺血发生时兴奋性氨基酸的大量产生,创建缺血再灌注损伤模型,都能成功造模[4],所以 Glu 诱导的缺血再灌注损伤模型目前已被广泛运用于神经疾病体外实验研究[12-13]。

既往研究表明,出生后 4 ~ 13 d 的乳鼠神经细胞形态较容易进行实验观察,这个阶段的脑组织更容易制作成脑片标本[14]。本课题组前期预实验证明,选用 10 d 或更多天数的乳鼠进行实验时,因大脑软脑膜及脑部表面血管生长发育比较成熟,较难剥离干净,同时因大脑神经细胞的干细胞已发生过度分化,在脑片的培养过程中神经细胞不能较好地分化、生长;同时当选取 5 d 之内的乳鼠时,发现其质地较软,在制作脑片过程中极易损伤,影响脑片的培养及实验。结合上述原因,本实验选择出生 7 d 的大鼠乳鼠作为实验动物。之所以选用离体脑片,是因其不但具有在体脑的特点——存留了神经细胞相互之间的以及神经胶质细胞与神经细胞之间的天然联系,同时也具有离体细胞的特点——能有效排除内环境因素的干扰,使实验能在可控的条件下进行,同时便于直接观察细胞的形态变化及生化的变化,目前的脑片培养的条件以及在科学研究中的运用越来越成熟[15-17]。

本次选用 1 mmol/L Glu 作用于乳鼠离体脑片以制造缺血再灌注损伤模型,Glu 在脑缺血再灌注发生时对神经细胞所产生的损伤机制主要如下[3-4]:①细胞严重水肿,通透性、结构发生改变;②Ca^{2+} 超载,同时细胞内 Ca^{2+} 超载能使较多自由基形成,从而使神经细胞功能受损,导致细胞死亡。本实验结果中,与正常组相比,造模后脑片的组织损伤率、LDH 释放率增加可以说明神经细胞结构破坏、细胞膜亦受损,膜通透性增高,同时损伤后的脑片中尼氏小体数量明显减少,说明神经细胞的细胞器功能出现障碍。

丙泊酚是一种常用于临床的麻醉药物[18],除了麻醉作用外,还可以直接作用于血管平滑肌,起到扩张血管的作用,从而使血流量增加,改善血液循环;另外丙泊酚还有脑保护的作用[19],其具体机制尚不完全明确,主要可能的机制有:降低兴奋性氨基酸的生成释放、抗氧自由基、抗氧化、减少钙超载、降低中性粒细胞的聚集等作用[20],从而起到稳定细胞结构、改善细胞器功能、稳定细胞膜、细胞器等功能。

既往实验证实丙泊酚减轻兴奋性氨基酸的释放是经抑制 Na^+ 通道来实现的[21],也可以通过增加细胞膜上的谷氨酸转运体 1(GLT-1)来增加胶质细胞对谷氨酸的摄取[22],从而减少谷氨酸-兴奋性氨基酸;另外,丙泊酚还可加强抑制性神经递质的生成,间接阻断谷氨酸的传导通路,继而起到抗脑缺血损伤的功能。实验还证实[23],丙抗氧化作用与其结构相关,能够扰乱脂质过氧化氢的提取过程,直接作用于氧自由基,形成稳定的 2,6-二异丙基苯氧基团,所生成的酚基能继续与脂质过氧化反应生成更稳定的无活性物质,取代了高活性的自由基,从而能减少由高活性的自由基引起的脂质过氧化反应的连锁反应[24]。

从本实验结果可知,与 RI 组相比,3 个不同浓度的丙泊酚药物后处理组(PL1 + RI、PL3 + RI、PL5 + RI 组)的组织损伤率、LDH 释放率均有不同程度的降低、各组尼氏小体数量均有增加。当神经细胞结构受损时,可导致组织损伤率明显增加,同样 LDH 存在于正常细胞的胞质中,一旦细胞膜受损,LDH 即被释放到细胞外。当神经元受损、膜通透性改变时,LDH 释放率会明显增加,都是反映神经细胞损伤的可靠生化指标。尼氏小体是神经元的特征性结构之一,广泛存在于神经细胞胞体和树突内,其主要功能是合成蛋白质,生理情况下,尼氏小体大而数量多,说明神经细胞合成蛋白质的功能较强,相反在神经细胞受到损伤时,尼氏小体的数量会减少甚至消失。因此本实验也证明了丙泊酚是从多个层面上来对大脑起到保护功能的。首先,在使用丙泊酚后处理后尼氏小体数量增多,可以说明其能通过还原作用减少氧自由基,减少脂质过氧化反应,从而使细胞的细胞膜和线粒体的功能得到稳定,由此对缺血再灌注损伤起到保护作用[25];其次,丙泊酚能减少谷氨酸对神经细胞结构的损伤,稳定细胞膜,从而对脑组织起到保护[5,26]。

在3种浓度的丙泊酚后处理组中,3 mg/L后处理组的组织损伤率、LDH释放率的下降及尼氏小体数量增加的程度较其他2组大,故在本实验的此3种药物浓度中,3 mg/L为丙泊酚后处理离体脑片的最佳浓度。但为何丙泊酚保护左右半脑不呈线性关系,有待进一步实验研究。

本实验运用丙泊酚对使用Glu造成的缺血再灌注损伤脑片进行后处理,通过实验结果,我们知道运用丙泊酚后处理兴奋性氨基酸引起的缺血再灌注脑片,其细胞的细胞膜损伤、细胞器功能损伤、细胞结构损伤、钙超载现象均得到了改善,由此我们推测,在缺血再灌注发生后使用丙泊酚可以通过以下机制发挥脑保护作用:①通过抗氧自由基、抑制脂质过氧化反应达到稳定细胞膜、细胞器的结构和作用;②减轻钙超载;③减少兴奋性氨基酸的损伤作用。

[参考文献]

[1] 梅和珊,王永利. 脑缺血时谷氨酸释放机制[J]. 中国药理学通报,2005,21(4):393-396. doi:10.3321/j.issn:1001-1978.2005.04.003.

[2] Ding S,Wang T,Cui W,et al. Photothrom bosis isch em ia st imu lates a sus tained astrocytic Ca^{2+} signaling in vivo[J]. G lia,2009,57(7):767-776.

[3] Nakayama R,Yano T,Ushijima K,et al. Effects of dantrolene on extracellular glutamate concentration and neuronal death in the rat hippocampal Cal region subjected to transient ischemia[J]. Anesthesiology,2002,96(3):705-710. doi:10.1097/00000542-200203000-00029.

[4] 付江泉,王迪芬,刘 辉. 神经生长因子和依达拉奉对缺血/再灌注损伤脑保护作用的比较研究[J]. 中国危重病急救医学,2010,22(4):70-74. doi:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.04.010.

[5] 樊宗兵,童旭辉,李 言,等. 丙泊酚保护脑缺血再灌注损伤可能与缝隙连接功能的抑制相关[J]. 南方医科大学学报,2015,35(12):1678-1682. doi:10.3969/j.issn.1673-4254.2015.12.03.

[6] 周晓峰,黄丁丁,王迪芬,等. 丙泊酚预处理对谷氨酸损伤大鼠脑组织的保护作用的研究[J]. 中国危重病急救医学,2012,24(12):750-753. doi:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2012.12.015.

[7] Koh JY,Choi DW. Quantitative determination of glutamate mediated cortical-neuronal injury in cell culture by lactate dehydrogenase efflux assay[J]. J Neurosci Methods,1987,20(1):83-90. doi:10.1016/0165-0270(87)90041-0.

[8] 刘慧婷,王迪芬. 富氢水后处理对谷氨酸损伤后乳鼠离体脑片的保护作用[J]. 中国中西医结合急救杂志,2015,22(3):289-292. doi:10.3969/j.issn.1008-9691.2015.03.008.

[9] 田伟千,崔苏扬,姚风珍,等. 不同麻醉下电针对脑缺血再灌注大鼠脑能襞代谢及氧供衙平衡的影响[J]. 实用临床医药杂志,2010,14(11):1. doi:10.3969/j.issn.1672-2353.2010.11.001.

[10] 姜 丹,张 乐,马 军,等. 银杏叶注射液对脯缺血再灌注大鼠脑组织琥珀酸脱氯酶和肌酸激酶脑型同工酶活性的影响[J]. 中国临床保健杂志,2010,13(4):389. doi:10.3969/j.issn.1672-6790.2010.04.020.

[11] 包 巍,杨建华,郭继强,等. 脑缺血再灌注损伤大鼠全血内源性一氧化碳含量及海马组织中血红素加氧酶1活性的变化[J]. 新乡医学院学报,2010,27(5):441.

[12] Jiang G,Wu H,Hu Y,et al. Gastrodin inhibits glutamate-induced apoptosis of PC12 cells via inhibition of CaMk II/ASK-1/p38 MAPK/p53 signaling cascade[J]. Cell Mol Neurobiol,2014,34(4):591. doi:10.1007/s10571-014-0043-z.

[13] 李 峥,高项羽,刘 喆,等. 丙泊酚通过MAPK/ERK信号通路对谷氨酸诱导的神经PC12细胞损伤的抑制作用[J]. 中国药房,2016,27(1):61-63. doi:10.6039/j.issn.1001-0408.2016.01.20.

[14] Connelly CA,Chen LC,Colquhoun SD. Metabolic activity of cultured rat brainstem,hippocampal and spinal cord slices[J]. J Neurosci Methods,2000,99(1-2):1-7. doi:org/10.1016/S0165-0270(00)00205-3.

[15] 姚 娜,王迪芬,宋 曦,等. 乳鼠脑皮质神经元的培养方法[J]. 中国危重病急救医学,2012,24(11):685-686. doi:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2012.11.016.

[16] Xia JX,Chen XW,Cheng SY,et al. Mechanisms of orexin A-evoked changes of intracellular calcium in primary cultured cortical neurons[J]. Neuroreport,2005,16(7):783-786. doi:10.1097/00001756-200505120-00025.

[17] Berns M,Zacharias R,Seeberg L,et al. Effects of sevoflurane on primary neuronal cultures of embryonic rats[J]. Eur J Anacsthesiol,2009,26(7):597-602. doi:10.1097/EJA.0b013e32832a0c61.

[18] 夏 劲. 丙泊酚对肝脏缺血再灌注损伤患者外周血中性粒细胞黏附因子CD11b表达的影响[J]. 新乡医学院学报,2017,34(2):132-135. doi:10.7683.xxyxyxb.2017.02.014.

[19] 刘 涛. 丙泊酚静脉麻醉对急性重型颅脑损伤患者免疫功能及脑功能的影响[J]. 社区医学杂志,2017,15(4):45-46.

[20] 姚 林. 丙泊酚对急性重型颅脑损伤患者的脑保护作用[J]. 新乡医学院学报,2016,33(9):804-806. doi:10.7683/xxyxyxb.2016.09.019.

[21] Lingamaneni R,Birch ML,Hemmings HC Jr. Widespread inhibition of sodium channel-dependent glutamate release from isolated nerve terminals by isoflurane and propofol[J]. Anesthesiology,2001,95(6):1460-1466. doi:10.1097/00000542-200112000-00027.

[22] 蔡劲松,张志强,戚 翔,等. 丙泊酚对全脑缺血大鼠海马CA1区神经病理学和谷氨酸转运体1表达的影响[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2012,26(3):299-303. doi:10.3867/j.issn.1000-3002.2012.03.008.

[23] 刘月强,赵素贞,孟凡民,等. 单次低剂量丙泊酚联合肢体缺血后处理对大鼠脑缺血再灌注损伤的影响[J]. 郑州大学学报,2012,47(2):259-261. doi:10.3969/j.issn.1671-6825.2012.02.038.

[24] 余 莉,柳 亮,李 锟. 丙泊酚在缺血性脑损伤中的保护作用[J]. 医药导报,2007,26(12):1417. doi:10.3870/j.issn.1004-0781.2007.12.008.

[25] 王文杰,钟 森,郭 颖,等. 麝香糖蛋白成分对中性白细胞趋化反应的抑制作用[J]. 中国中药杂志,2003,28(1):59-62. doi:10.3321/j.issn:1001-5302.2003.01.022.

[26] 张小燕,张占军,王 忠,等. 栀子苷对局灶性脑缺血大鼠脑组织基因表达谱的影响[J]. 中国中西医结合杂志,2005,25(1):42-44. doi:10.3321/j.issn:1003-5370.2005.01.013.

(编辑:刘 艺)