基础研究 文章编号:0253-3626(2010)12-1801-05

辛伐他汀预处理对大鼠脊髓缺血再灌注损伤后炎症介质及NOS的影响

安 民,刘丹彦,吴会生,雷 蕾
(重庆医科大学附属第一医院麻醉科,重庆 400016)

【摘 要】目的:探讨辛伐他汀预处理对大鼠脊髓缺血再灌注损伤后肿瘤坏死因子(Tumer nectosis factor-α,TNF-α)、白介素-10(Interleukim-10,IL-10)、S-100蛋白以及一氧化氮合酶(Nitric oxide synthase,NOS)亚型的影响。方法:雄性SD大鼠72只,随机分为假手术组(C组),缺血再灌注损伤组(I/R组)和辛伐他汀预处理组(Si组)(20 mg/kg灌胃,术前连续3 d),采用Zivin改进法建立模型,造模成功后,分别在再灌注6、12、24 h,取脊髓组织作HE形态学染色;ELISA法测定组织TNF-α,IL-10;应用免疫组化法检测脊髓S-100蛋白;比色法检测组织NOS各亚型以及测定24 h内神经功能评分。结果:I/R组各时间点TNF-α与S-100蛋白表达量呈显著正相关;与I/R组相比,Si组形态学的损伤改变较轻;Si组能提高再灌注后12、24 h神经功能评分,降低各时间点TNF-α含量及再灌注后12、24 h S-100蛋白的表达,提高再灌注6、12 h结构型NOS(Constitutcive NOS, cNOS)活性,降低再灌注12、24 h诱导型NOS(Inducible NOS,iNOS)活性,但IL-10含量在再灌注24 h上升不如I/R组明显。结论:脊髓缺血再灌注损伤后,组织S-100蛋白的表达与炎症反应具有一定相关性。辛伐他汀预先给药后,S-100蛋白的表达减少,脊髓缺血再灌注损伤减轻,神经功能得到改善,其机制可能与减少TNF-α的释放,上调cNOS表达,降低iNOS活性有关,但辛伐他汀不能通过增加IL-10的释放而发挥保护作用。

【关键词】辛伐他汀;脊髓缺血再灌注损伤;肿瘤坏死因子;S-100;白介素-10;一氧化氮合酶
【中国图书分类法分类号】R614.27 【文献标识码】A 【收稿日期】2010-06-13

Effects of Simvastatin pretreatment on expression of inflammatory mediators and NOS in rats subjected to spinal cord ischemia-reperfusion injury

AN Min, et al
(*Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University*)

【Abstract】*Objective*: To investigate the effects of simvastatin pretreatment on expression of TNF-α, S-100 protein, IL-10 and the subtypes of NOS in rats subjected to spinal cord ischemia-reperfusion injury. *Methods*: 72 healthy male SD rats were randomly divided into three groups: sham operation(group C), ischemia-reperfusion injury (group I/R) and simvastatin pretreatment (group Si) (20 mg/kg for 3 days via an orogastric tube before the operation).

作者介绍:安 民(1985-),女,硕士,
研究方向:围术期脑保护。
通讯作者:刘丹彦,女,副教授,E-mail: liudanyan418@sina.com.cn。

[3] 张 欣,张蒲蓉,陈 洁,等.丹参酮ⅡA对乳腺癌抑制作用的体内实验研究[J].四川大学学报:医学版,2010,41(1):62-67.
[4] 齐 伟,黄 强,王 成,等.丹参酮ⅡA对人胆管癌细胞Survivin表达的影响及意义[J].肝胆外科杂志,2008,16(6):452-454.
[5] Chen L,Shibasaki F.Angiogenesis and meta stasis of carcinoma[J].Clin Calcium,2006,16(4):613-619.
[6] Moon W S,Rhyu K H,Kang M J,et al.Overexpression of VEGF and angiopoietin 2:a key to high vascularity of hepatocellular carcinoma[J].Mod Pathol,2003,16(6):552-557.
[7] 钟 崇,郭荣平,石 明,等.VEGF与MMP-9在肝癌组织中的表达及其临床意义[J].癌症,2006,25(5):599-603.
[8] 雷 杰,费建东,刘振显,等.乳腺癌组织中Ang-2及VEGF的表达及意义[J].肿瘤防治研究,2008,35(4):263-265.
[9] Garzet G G,Ciavattini A,Lucarini G,et al. Expression of vascular endothelial growth factor related to 72-kilodalton metalloprotei nase immunostaining in patients with serous ovari- antumors[J].Cancer,1999,85(10):2219-2225.
[10] 高砚春,吴城义.COX-2、VEGF-C在乳腺癌中的表达及与淋巴转移的关系[J].重庆医科大学学报,2007,32(9):915-918.
[11] Wang S C,Liu H,Ren L F,et al.Inhibiting colorectal carcinoma growth and metastasis by blooking the expression of VEGF using RNA int erference[J].Neoplasia,2008,10(4):399-407.
[12] Hotz H G,Hines O J,Masood R,et al.VEGF antisanse therapy inhibits tumor growth and improves survival in experimental pancreatic cancer[J].Surgery,2005,137(2):192-199.
[13] Grothey A,Ellis L M.Targeting angiogene sis driven by vascular endothelial growth factors using antibody-based thera-pies[J].Cancer J,2008,14(3):170-177.

(责任编辑:关蕴良)

Using Zivin improvements methods under the renal aortic cross-clamping to establish model, then all treated rats were randomly divided into three subgroups at reperfused 6,12,24 h for HE staining, ELISA method of the determination of tumor necrosis factor-α (TNF-α) and interleukin-10 (IL-10), immunohistochemical staining of S-100 protein, colorimetric detection of the subtypes of NOS(nitric oxide synthase) in spinal cord and neurological function scores within 24 h. *Results*: The expression of TNF-α and S-100 protein in group I/R was significantly correlated at different time points. Simvastatin pretreatment can reduce spinal cord ischemia-reperfusion injury, inhibiting the excessive secretion of S-100 proteins, reducing TNF-α content and iNOS (Inducible NOS) activity, increases cNOS (Constitutcive NOS), improving neurological function score at 12,24 h after I/R. *Conclusion*: The expression of tissue S-100 protein is related with the inflammatory response subjected to spinal cord ischemia-reperfusion. Simvastatin can inhibit S-100 protein, reducing spinal cord ischemia-reperfusion injury and improving neurological function, which may be related to the reduction of TNF-α and iNOS activity, increasing cNOS, However, simvastatin can't raise IL-10 to produce the protective effect.

【Key words】Simvastatin; Spinal cord ischemia-reperfusion injury; TNF-α; S-100; IL-10; NOS

近年来传统降血脂药物辛伐他汀由于其具有独立于降脂作用以外的多效性效应(包括抗炎、抗氧化、改善内皮细胞功能等)而成为研究热点,其在心、脑、肺及血液等各系统的某些疾病研究中被证实具有保护作用[1]。近期研究发现脊髓缺血再灌注后发生的继发性损伤与炎症反应关系密切[2],炎症介质与炎症反应酶是参与缺血再灌注损伤的重要因素。本实验拟探讨辛伐他汀预先给药对大鼠脊髓缺血再灌注(Ischemia-reperfusion,I/R)损伤时炎症介质肿瘤坏死因子(Tumernectosis factor-α,TNF-α)、白介素-10(Interleukim-10,IL-10)、S-100蛋白以及炎症反应酶一氧化氮合酶(Nitric oxide synthase,NOS)亚型的影响。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

健康成年雄性 SD 大鼠 72 只,体重(250±30) g(由重庆医科大学实验动物中心提供)。随机分为假手术组(C 组,24 只),缺血再灌注损伤组(I/R 组,24 只),辛伐他汀预处理组(Si 组,24 只)。I/R 组和 Si 组于术前 3 d 每日清晨分别应用生理盐水 1 ml 及辛伐他汀(生理盐水稀释成 2 mg/ml 浓度)20 mg/(kg·d)灌胃。本研究中辛伐他汀的给药时间、剂量及方式均参照文献及预实验效果设计而成[3,4]。

1.2 实验材料

高速低温离心机(Heraeus 公司,德国),721-100 型分光光度计(上海第三分析仪器厂),酶标仪(Bio-Tec 公司,美国),辛伐他汀(40 mg×5 片,批号:09198,杭州默沙东制药有限公司),通用型免疫组化检测试剂盒及 DAB 显色液(北京中杉公司),S-100 蛋白抗体,TNF-α 试剂盒及 IL-10 试剂盒(武汉博士德有限公司),NOS 活性测试盒(南京建成生物工程研究所)。

1.3 动物模型的建立

采用 Zivin 改进法[5]建立大鼠脊髓缺血再灌注模型。术前动物禁食 8 h。采用 10%水合氯醛经腹腔注射 0.4 ml/(100 g)。大鼠仰卧位固定,腹部常规脱毛,消毒,沿腹白线剖开腹腔,用温盐水纱布包住肠管向左轻推,分离并暴露腹主动脉,辨认双侧肾动脉。C 组右肾下主动脉穿线,不结扎;I/R 及 Si 组在左右肾动脉之间以无创动脉夹夹闭腹主动脉,在钳夹点以下腹主动脉搏动消失后开始计时。45 min 后松开动脉夹行血液灌注。检查动脉无损伤及腹腔内无出血后关闭腹腔,伤口外涂红霉素软膏。在手术过程中,以烤灯维持肛温在 36℃~38℃。I/R 组与 Si 组的大鼠在造模成功后随机分为 3 个时间点,即脊髓缺血 45 min 再灌注 6、12、24 h,每个时间点 8 只。

1.4 检测项目

1.4.1 脊髓组织形态学观察 各时间点取下大鼠 L_{2-5} 脊髓,将一部份脊髓置于 4%多聚甲醛中固定后作 HE 形态学染色。

1.4.2 术后 24 h 内神经功能评分 大鼠运动神经功能评分根据 Faden 8 点分级法和 Behrmann 5 点分级法加以改进[6]。具体如下:0 分:压夹后肢无反应,无自发运动。1 分:压夹后肢有嘶叫、逃避等反应,无自发运动。2 分:后肢不能负重站立,有自发运动。3 分:能站立,但不能行走。4 分:能行走,但只能靠足内侧或膝关节行走,且腹部着地,不稳定。5 分:能行走,后肢负重有改善,前后肢步态协调,腹不着地,数趾拖步。6 分:能行走,有 1 或 2 个足趾拖步,快速转弯时不稳。7 分:正常步态和行走。该评分由同一名观察者在不知具体分组的情况下以各组动物总评分除以动物数量取平均值。

1.4.3 ELISA 法测定 TNF-α、IL-10 浓度 按 0.1 g 脊髓组织:1 ml PBS 匀浆缓冲液的比例将剩余标本匀浆,高速台式离心机(15 000 r/min)离心 10 min,取上清保存于 -20℃,按照 TNF-α 试剂盒及 IL-10 试剂盒说明书的操作,酶标仪 450 nm 处测定 OD 值,参照标准曲线计算指标值。

1.4.4 S-100 蛋白的测定 脊髓组织石蜡包埋后,连续冠状切片,做 S-100 蛋白免疫组织化学染色。切片脱蜡后经梯度酒精脱水,经抗原修复及 3%H_2O_2 室温孵育 10 min 后,加入血清封闭液及一抗(稀释浓度为 1:50)于 4℃冰箱过夜后,依次加入二抗及三抗于 37℃水浴箱中各孵育 30 min,最后经 DAB 显色,苏木素轻度复染,固定,透明,封片,光镜观察。以上各步骤间均用 PBS 洗 3 次×3 min。S-100 蛋白表达以胶质细胞的胞浆和胞核内出现棕黄色颗粒视为阳性,每张切片随机选择 5 个高倍视野,ImagePro-Plus 6.0 进行累积光密度值(Integrated optical density,IOD)测量,取其平均值作为脊髓组织表达 S-100 的半定量值。

1.4.5 比色法检测 NOS 亚型表达 将制备的 10%组织匀浆按试剂盒说明书操作，总 NOS 为含 Ca^{2+}/钙调蛋白管，诱导型 NOS(Inducible NOS，iNOS)为不含 Ca^{2+}/钙调蛋白管，结构型 NOS 活力(Constitucive NOS，cNOS)为总 NOS 减去诱导型NOS 活力所得，721 分光光度计在 530 nm 处测定 OD 值。

1.5 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计学软件进行分析。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示，采用 t 检验对各实验组与相应对照间进行比较，相关资料采用 Pearson 相关分析，$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 脊髓组织病理学观察

光镜下可见 C 组脊髓前角神经元胞体大，胞浆丰富，胞核清楚；I/R 组 6 h 时可见神经元细胞肿胀，胞核淡染，部份神经元尼氏体不清；12 h 显示神经元细胞减少，部分神经元细胞轻度萎缩，杂有少许嗜伊红神经元；24 h 可见大部份神经元细胞体积缩小，胞核固缩、深染，有少量胶质细胞浸润。Si 组在再灌注 6、12、24 h 脊髓神经元细胞也均有一定程度损伤，但较 I/R 组相应时间明显减轻，见图 1。

2.2 神经功能评分

C 组大鼠术后各时点运动神经功能评分同术前。与 I/R 组相比，Si 组在再灌注 12、24 h 评分均增高，2 组差异有统计学意义($P<0.05$)，见表 1。

2.3 TNF-α 与 IL-10 含量

与 C 组相比，I/R 组脊髓 TNF-α 含量在再灌注各时间点显著增高 ($P<0.01$)；与 I/R 组比较，Si 组 TNF-α 含量在再灌注各时间点显著降低($P<0.01$)；与 C 组相比，I/R 组脊髓IL-10 含量在再灌注 12、24 h 显著增高($P<0.01$)；Si 组 IL-10 含量在再灌注 24 h 上升不如 I/R 组明显($P<0.01$)；见表 2。

2.4 S-100 蛋白表达情况

与 C 组相比，I/R 组大鼠 S-100 蛋白阳性细胞数在再灌注各时间点均显著增高($P<0.01$)；与 I/R 组相比，Si 组S-100 蛋白在再灌注 12、24 h 降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)，见图 2，表3。

2.5 NOS 各亚型活性测定

与 C 组相比，I/R 组再灌注各时间点 cNOS 及 iNOS 表达量均增高($P<0.05$ 或 $P<0.01$)；与 I/R 组比较，Si 组 cNOS 在再灌注 6、12 h 增高，iNOS 在再灌注 12、24 h 降低($P<0.05$)见表 4。

2.6 TNF-α 与 S-100 蛋白的相关分析

各时间点 TNF-α 与 S-100 蛋白两者表达量显著相关，

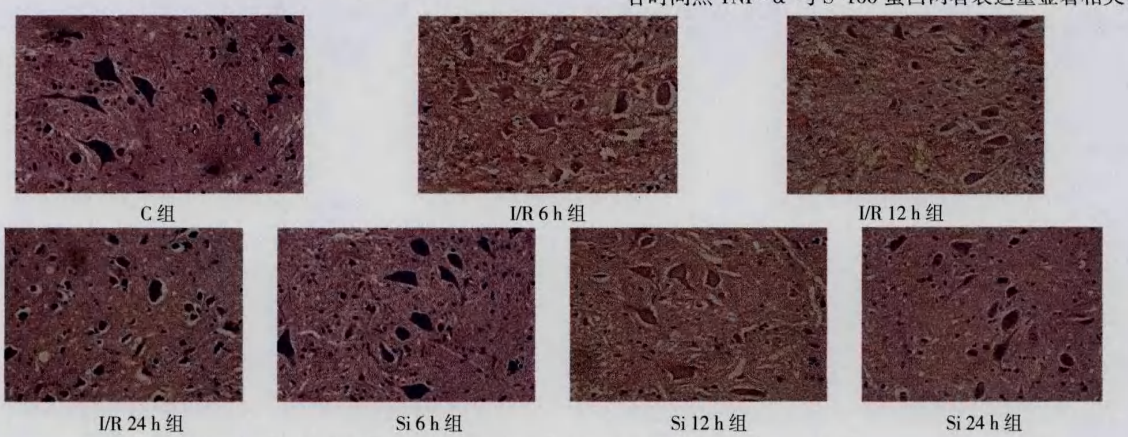


图 1 大鼠脊髓缺血再灌注各时间点组织病理形态学变化(HE，×400)

表 1 再灌注后 24 h 内后肢神经功能状况($n=8$，$\bar{x} \pm s$)

组别	再灌注 6 h	再灌注 12 h	再灌注 24 h
C 组	7.0	7.0	7.0
I/R	3.5±1.2#	3.2±1.1 #	3.4±1.1#
Si 组	4.3±1.0	4.5±1.2*	4.6±1.1*

注：与 C 组比较，#$P<0.01$；与 I/R 组比较，*$P<0.05$

表 2 各组脊髓组织 TNF-α 及 IL-10 浓度($n=8$，$\bar{x} \pm s$)

指标	组别	再灌注 6 h	再灌注 12 h	再灌注 24 h
TNF-α(pg/ml)	C 组	88.56±9.58	81.55±8.02	84.75±4.73
	I/R 组	453.24±37.62*	723.62±121.38*	568.56±48.12*
	Si 组	221.42±31.72▲	426.32±32.67▲	316.72±29.31▲
IL-10(pg/ml)	C 组	18.93±5.31	18.21±4.37	18.68±5.09
	I/R 组	32.95±17.92	72.97±13.27*	137.75±24.41*
	Si 组	28.97±13.04	63.49±20.48*	98.21±23.75*▲

注：与 C 组相比，*$P<0.01$；与 I/R 组各组相比，▲$P<0.01$

表 3 再灌注后各时间点 S-100 蛋白阳性细胞累积光密度值($n=8, \bar{x}\pm s$)

组别	再灌注 6 h	再灌注 12 h	再灌注 24 h
C 组	226.09 ± 29.39	219.41 ± 24.83	240.33 ± 25.21
I/R 组	446.38 ± 50.85*	563.08 ± 58.93*	510.96 ± 52.74*
Si 组	393.86 ± 48.92	487.87 ± 49.51※	398.70 ± 32.47▲

注:与 C 组相比,*$P<0.01$;与 I/R 组各组相比,※$P<0.05$,▲$P<0.01$

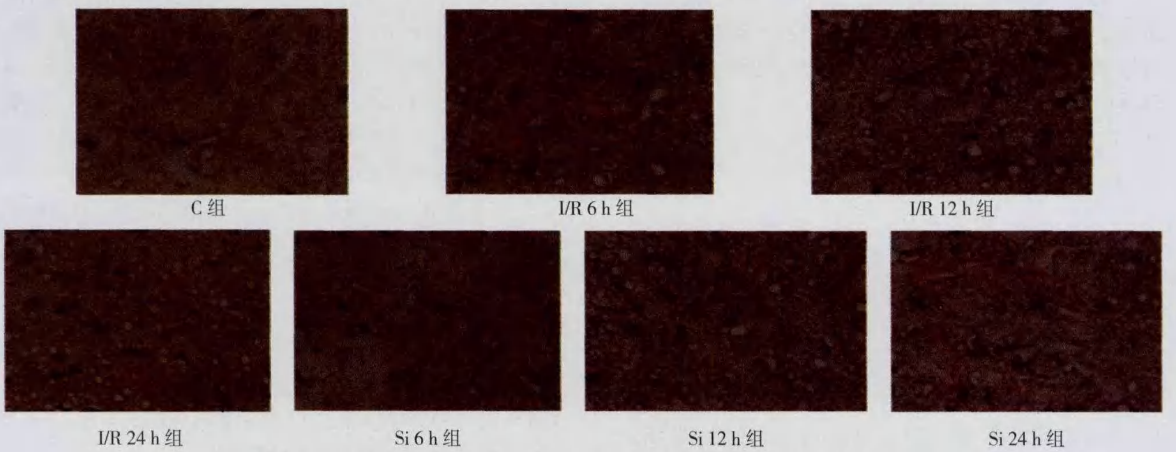


图 2 大鼠脊髓缺血再灌注各时间点组织 S-100 蛋白免疫组化染色(200×)

表 4 各组脊髓组织 cNOS 及 iNOS 活力($n=8, \bar{x}\pm s$)

指标	组别	再灌注 6 h	再灌注 12 h	再灌注 24 h
cNOS(U/ml)	C 组	22.73 ± 6.43	20.62 ± 5.31	23.19 ± 5.72
	I/R 组	35.24 ± 7.65*	30.62 ± 8.06#	30.52 ± 5.87#
	Si 组	43.42 ± 6.38※	38.39 ± 6.05※	32.75 ± 9.64
iNOS(U/ml)	C 组	5.68 ± 1.18	5.51 ± 1.63	5.21 ± 1.92
	I/R 组	9.92 ± 3.60#	21.74 ± 4.97*	24.58 ± 6.64*
	Si 组	7.12 ± 2.05	12.53 ± 4.18※	16.76 ± 3.63※

注:与 C 组相比,*$P<0.01$;与 I/R 组各组相比,※$P<0.05$,▲$P<0.01$。

相关系数 $r=0.79$($P<0.01$)。

3 讨 论

辛伐他汀为 3- 羟基 -3- 甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶抑制剂,口服后能被迅速吸收,经肠肝循环延长药物作用时间,保证其在作用部位具备较稳定的血药浓度[7]。辛伐他汀具有较高的亲脂性及蛋白结合率,能通过血脑/脊髓屏障而发挥多效性神经保护效应。

在脊髓缺血再灌注早期,组织 HE 染色显示 I/R 组脊髓前角运动神经元以变性损伤为主,再灌注 12、24 h 损伤逐渐加重,神经元细胞由变性损伤向坏死发展。而辛伐他汀预先给药后各时间点神经元细胞主要以变性损伤为主,细胞坏死减少;同时神经功能评分亦显示在再灌注 12、24 h,辛伐他汀预先给药后,大鼠神经系统损伤和恢复有明显的改善,提示辛伐他汀预先给药后对脊髓缺血再灌注损伤具有一定的保护作用。

炎症介质 TNF-α 主要由巨噬细胞产生,是众多细胞因子的重要启动因子,并协同放大炎症级联,介导中性粒细胞的聚集与粘附,加重损伤[8]。IL-10 主要由巨噬细胞和单核细胞产生,在缺血再灌注后能抑制多种炎症介质的产生。有研究报道 TNF-α 对 IL-10 的上调扮演着重要角色[9],与本实验结果相符:I/R 组再灌注 12 h TNF-α 达峰值,其表达明显高于 Si 组,而此时 I/R 组 IL-10 呈显著上升,并在再灌注 24 h 达到高值,其表达亦高于 Si 组。这可能是由于大量 TNF-α 的产生刺激机体自身内源性 IL-10 的释放,辛伐他汀预先给药后可减少 TNF-α 的释放以减轻炎症反应,但并不能通过上调抗炎介质 IL-10 以达到脊髓保护的目的。

脊髓发生缺血再灌注损伤后,脊髓胶质细胞在炎症因子等多种因素的刺激下发生增殖性反应,分泌 S-100 蛋白。生理水平的 S-100 蛋白对神经元及胶质细胞具有营养支持作用,而大量 S-100 蛋白则能诱导细胞的坏死及凋亡,并进一步促进 TNF-α 等炎性因子的释放,故组织 S-100 蛋白表达的高低可评价胶质及神经元细胞受损程度[10,11]。本实验显示 C 组灰白质中存在少量 S-100 蛋白阳性细胞,这可能是正常生理情况下的基础表达。I/R 组 S-100 蛋白在缺血再灌注损伤后即有升高,在再灌注 12 h 达到峰值,这与 TNF-α 出现的峰值一致,两者相关系数为 0.79,呈显著正相关,提示组织

S-100 蛋白的表达与炎症反应具有相关性。这与冀亚琦等[12]对人体外循环研究中得出血浆 S-100 蛋白与 TNF-α 相关系数为 0.859 的结果基本相符，而魏蔚等[13]在对人体外循环研究中发现血浆 S-100 蛋白与 TNF-α 相关系数为 0.498。以上说明 S-100 蛋白与 TNF-α 存在一定的相关性，但炎性反应是否是引起 S-100 蛋白表达增加的主要原因尚需做进一步探讨。辛伐他汀预先给药后再灌注 12、24 h S-100 蛋白的表达较 I/R 组明显减少，这可能与辛伐他汀能抑制炎性介质 TNF-α 的产生，减轻胶质及神经元细胞的损伤有关。

NOS 是体内一氧化氮(Nitric oxide，NO)合成的关键酶，其活性能反映 NO 合成情况。NOS 根据是否依赖 Ca^{2+} 调节而分为 cNOS 和 iNOS，其中 cNOS 又包括神经元型 NOS(Neuronal NOS，nNOS)及内皮型 NOS(Endothelial NOS，eNOS)，分别由神经细胞和血管内皮细胞产生。cNOS 在生理状态下合成少量 NO，其具有维持正常血管壁结构与张力，抑制血小板聚集及参与神经递质的释放等生理作用[14]；iNOS 主要由巨噬细胞产生，在正常情况下基本不表达，当受到 TNF-α 或 S-100蛋白等细胞因子或损伤刺激后呈诱导性表达，其合成 NO 的量远远大于 cNOS 所合成的量[15]，从而对细胞产生毒性作用。本实验结果显示 I/R 组在再灌注 6 h 时 cNOS 显著增高，随再灌注时间延长而逐渐减少；iNOS 在再灌注早期有所上升，随再灌注时间发展而逐渐增高，再灌注 12 h 明显上升，于 24 h 达到高峰期，这与 Tsui 等[16]报道在下肢缺血再灌注中 NOS各亚型的变化基本一致。本实验结果提示在缺血再灌注早期可能以 cNOS 的产生为主，这是机体自身的正反馈保护机制：cNOS 产生的 NO 能扩张血管增加血供，抗血小板凝集，抑制血管内皮细胞与白细胞粘附而发挥一定的神经保护作用。随着缺血再灌注进程的发展，中后期则逐渐以 iNOS 的产生为主，iNOS 产生大量 NO，过度 NO 的释放可增加氧自由基，损伤血管内皮，加重缺血再灌注损伤。有研究报道[17]在脑缺血再灌注损伤中，cNOS 中的 eNOS 出现较早(<2 h)，并发挥着主要的保护作用，nNOS 活性在再灌注 2~6 h 增加，其可加重组织缺血损害，但由于早期生成的 NO 具有短暂的特性，产生神经毒性的可能性较小，故大部分研究认为 cNOS 产生的 NO 对机体主要发挥保护作用[18]。本实验中，与 I/R 组相比，辛伐他汀预先用药后增加缺血再灌注 6、12 h cNOS 活性，可能以上调 eNOS 为主，改善损伤组织的血流供应，并抑制再灌注 12、24 h iNOS 活性，减少 NO 的大量产生，减轻组织的毒性反应。

综上所述，在大鼠脊髓缺血再灌注损伤中，炎症介质与炎症反应酶均为参与并影响再灌注损伤的重要因素。本研究发现辛伐他汀预先给药在脊髓缺血再灌注损伤中对 NOS 产生双重调节作用，即诱导缺血再灌注早期 cNOS 的合成，抑制再灌注晚期 iNOS 的合成，从而达到减轻 I/R 损伤的目的。此外，研究发现 S-100 蛋白的表达与炎症因子 TNF-α 具有相关性，两者在缺血再灌注 12 h 达到高值，并可能对 iNOS 的产生起促进作用，提示炎症介质在 12 h 内呈逐渐升高的趋势。临床上若通过预处理或在再灌注 12 h 内的时间窗进行积极处理将更有助于对损伤因素的控制。辛伐他汀通过调控炎症介质 TNF-α 的含量与炎症反应酶 NOS 的活性而减轻大鼠脊髓缺血再灌注损伤，改善神经功能，但辛伐他汀不能通过上调 IL-10 产生保护作用。

参 考 文 献

[1] Peter J，Amalia M，Ingrid M. Statins：Mechanisms of neuroprotection [J]. Progress in Neurobiology，2009，88(1)：64-75.

[2] Candelario-jalil E，Gonzalez-Falcon A，Garcia-Cabrera M，et al. Post-ischemic treatment with the cyclooxygenase-2 inhibitor nimesulide reduces blood-brain barrier disruption and leukocyte infiltration following transient focal cerebral ischaemia in rats[J].J Neurochem，2007，100：1108-1120.

[3] 杜冠华. 实验药理学[M]. 第 1 版. 北京：中国协和医科大学出版社，2004.33.

[4] Marc A D，Guy R，Mohamed B. Atorvastatin prevents early apoptosis after thoracic spinal cord contusion injury and promotes locomotion recovery[J]. Neuroscience Letters，2009，453(1)：73-76.

[5] 张子峰，侯铁胜.甲基强的松龙对大鼠脊髓缺血再灌注损伤后钙蛋白酶表达的影响[J].中国脊柱脊髓杂志，2006，16(s1)：70-72.

[6] 于泽生，刘忠军，党耕町. 脊髓缺血再灌注损伤中运动诱发电位的监测作用[J].中华外科杂志，1999，37(10)：617.

[7] Mauro C，Paolo G，Anita G. Statins：Multiple mechanisms of action in the ischemic brain[J]. Neuroscientist，2007，13(3)：208-213.

[8] 吴会生，刘丹彦，郭培培，等.氟比洛芬酯预先给药对大鼠全脑缺血再灌注损伤的影响[J].中华麻醉学杂志，2009，29(10)：945-949.

[9] MeiC L，Chen Z J，Liao Y H，et al. Interleukin-10 inhibits the down-regulation of ATP binding cassette transporter A1 by tumour necrosis factor-alpha in THP-1 macrophage-derived foam cells[J].Cell Biol Int，2007，31(12)：1456-1461.

[10] 于 丽，李 婧，陈 松. S-100β 蛋白生物学特性及在脑卒中诊断治疗中的应用[J].武警医学院学报，2009，18(1)：75-77.

[11] 邹 磊，刘丹彦，曹 宇. 参附注射液对心脏瓣膜置换患者脑损伤的影响[J].重庆医科大学学报，2009，34(7)：903-907.

[12] 冀亚琦，阮新民，孙培吾，等.体外循环中 S-100 蛋白和神经元特异性烯醇化酶的变化及其与炎性细胞因子的关系[J].中国胸心血管外科临床杂志，2004，11(4)：248-251.

[13] 魏 蔚，李云涛，刘 斌.体外循环中炎性反应对亚临床脑损伤的影响[J].中国临床康复，2005，9(26)：174-176.

[14] Yu J，Eto M，Akishita M，et al. Signaling pathway of nitric oxide production induced by ginsenoside Rb1 in human aortic endothelial cells：A possible involvement of androgen receptor[J].Biochem Biophysi Res Commun，2007，353(3)：764-769.

[15] 张津华，刘其强，白宏英.尼莫地平对慢性脑缺血大鼠认知和海马 CA1 区 NOS 亚型的影响[J].中国实用神经疾病杂志，2007，10(1)：74-76.

[16] Tsui J C，Baker D M，Shaw S G，et al. Alterations in nitric oxide synthase isoforms in acute lower limb ischemia and reperfusion[J].Angiology，2007，58(5)：586-592.

[17] 聂莹雪，郭 玫，禹红梅.缺血再灌注损伤后 nNOS、eNOS 及 i-NOS 表达的变化[J].Chin J Hemorh，2006，16(3)：332-334.

[18] 陈 琳，高 署，李 俊，等.一氧化氮及一氧化氮合酶在脑缺血损伤中的作用[J].安徽医药，2004，8(1)：3-6.

(责任编辑：冉明会)