

防己黄芪汤对脑缺血再灌注模型大鼠脑损伤的保护作用

陈焱

(江西省医药学校, 南昌 330200)

[摘要] **目的:**研究防己黄芪汤(FJHQT)对大鼠局灶性脑缺血再灌注(I/R)损伤的保护作用,为其临床防治脑缺血提供实验依据。**方法:**采用线栓法制备脑缺血再灌注损伤大鼠模型1 d后。将神经行为评分合格的大鼠随机分为FJHQT高、低剂量组、模型组、假手术组和阳性对照尼莫地平组。连续口服给予FJHQT(按生药量计,1,2 g·kg⁻¹)或尼莫地平(2 mg·kg⁻¹)7 d后,观察脑组织的梗死面积,测定脑组织Na⁺-K⁺-三磷酸腺苷(Na⁺-K⁺-ATP),还原型谷胱甘肽(GSH),过氧化氢酶(CAT)活性及炎症因子白介素-6(IL-6),白介素-1 β (IL-1 β),肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平。采用原位末端标记(TUNEL)法测定脑组织中细胞凋亡,并采用免疫组化和蛋白免疫印迹法(Western blot)分析测定半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)蛋白表达。**结果:**与正常组比较,模型组大鼠缺血脑组织中Na⁺-K⁺-ATP,GSH,CAT活性显著降低($P < 0.01$),IL-6,IL-1 β 和TNF- α 水平显著提升($P < 0.01$),凋亡程度及Caspase-3蛋白表达显著提升($P < 0.01$)。与模型组相比,FJHQT各剂量组均能提高缺血脑组织中Na⁺-K⁺-ATP,GSH,CAT活性;降低炎症因子IL-6和TNF- α 含量($P < 0.05$, $P < 0.01$);减轻细胞凋亡程度并降低Caspase-3蛋白表达($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论:**FJHQT能明显减轻缺血脑组织脑梗死面积,减少细胞凋亡、氧化损伤、炎症反应。

[关键词] 脑缺血再灌注; 防己黄芪汤; 氧化损伤; 凋亡; 炎症反应

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)12-0134-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015120134

Protection of Fangji Huangqi Tang on Ischemia-reperfusion Cerebral Injury in Rats CHEN Yan
(Jiangxi Pharmacy School, Nanchang 330200, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effects of Fangji Huangqi Tang (FJHQT) on ischemia-reperfusion (IR) cerebral injury in rats and provide experimental evidence for clinical application of FJHQT on cerebral ischemia. **Method:** The ischemia-reperfusion model was reproduced by cerebral middle artery occlusion for one day. The model rats were randomly allotted into five groups as following: FJHQT 20, 40 mg·kg⁻¹, model, sham and positive drug group nimodipine in accordance with the neurobehavioral scores qualified. After being administered orally FJHQT (crude drug, 1, 2 g·kg⁻¹) or nimodipine (2 mg·kg⁻¹) for continuous 7 days, the cerebral infarct size was observed, and cerebral Na⁺-K⁺-adenosine triphosphate (Na⁺-K⁺-ATP), reduced glutathione (GSH), catalase (CAT) activity and inflammatory cytokines interleukin-6 (IL-6), interleukin-1 β (IL-1 β), and tumor necrosis factor α (TNF- α) levels were measured. terminal dUTP nick end labeling (TUNEL) assay was used to determine apoptotic cells in brain tissue. In addition, immunohistochemistry and Western blot analysis were used to determine the expression of Caspase-3. **Result:** Compared with the sham group, the activities of Na⁺-K⁺-ATP, GSH, CAT were decreased in brain tissue of model rats ($P < 0.01$). while inflammatory cytokines IL-6, IL-1 β and TNF- α were increased ($P < 0.01$); furthermore, apoptosis level was significantly increased, and the expression of apoptosis protein Caspase-3 also was significantly increased ($P < 0.01$). Compared with the model group, FJHQT could increase Na⁺-K⁺-ATP, GSH, CAT activity ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and reduce IL-6, IL-1 β and TNF- α levels ($P < 0.05$, $P < 0.01$). FJHQT significantly reduced the degree of apoptosis in brain tissue, as well as Caspase-3 expression ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion:** FJHQT can significantly protect against the cerebral ischemia, involving in reduce infarction area of ischemic brain, decrease apoptosis, oxidative damage, inflammation.

[Key words] cerebral ischemia-reperfusion; Fangji Huangqi Tang; oxidative damage; apoptosis; inflammation

[收稿日期] 20140820(027)

[第一作者] 陈焱,高级讲师,执业药师,从事中药研究及教学, Tel:0791-85984750,13979140415, E-mail:397988551@qq.com

脑缺血是脑血管疾病中具有发病率高、致残率高、致死率高、复发率高等特点的脑血管疾病,在老龄化人口较为普遍。脑缺血的发生发展是由于脑部病变、动脉硬化或心脏损伤等多因素导致的脑部血流减少或血液循环障碍、脑组织受损而发生的疾病。目前,在临床上治疗方法多采用直接改善脑心供血和能量代谢的对症治疗,如采用溶栓药物。但是溶栓药物容易引起出血等副作用,这就限制了部分不适宜使用患者的应用。研究表明脑缺血再灌注损伤与炎症反应、氧化应激、钙超载、细胞凋亡等多因素相关,因此,疗效明确、副作用小且具有综合整体调控优势的治疗药物或措施是研究人员关注的热点。

防己黄芪汤(FJHQT)是《金匱要略》中治疗风湿兼具气虚证的经典方剂,其组方由防己、黄芪、白术、甘草组成,具有益气固表,祛风除湿之功效,传统多应用于肾病、风湿、肺病等病症的临床治疗^[1-2]。现代药理学研究显示,方中防己、黄芪、白术、甘草及成分都具有明确的改善脑缺血症状的作用^[3-5]。尽管有实验研究显示防己黄芪汤对兔肺缺血再灌注损伤具有保护作用^[6],但是,目前尚无有关FJHQT抗脑缺血再灌注损伤的研究报道。笔者拟采用线栓法制备小鼠大脑中动脉栓塞脑缺血模型,研究FJHQT对脑缺血再灌注损伤的影响。

1 材料

1.1 动物 90只雄性SPF级SD大鼠(280~300g),购自上海斯莱克实验动物有限公司,合格证号SCXK(沪)2013-0003。动物分笼饲养,保持12h昼夜节律,室温(22±2)℃,自由饮水摄食。

1.2 仪器 IX51型倒置显微镜(日本奥林巴斯公司),Spectra Max 190型多功能酶标仪(Molecular Devices公司,美国),TG-16M型台式高速冷冻离心机(湖南凯达科学仪器有限公司),164-5051型电泳仪(美国Bio-Rad公司),Tissue-Tek TEL型组织包埋设备(日本Sakura公司)。

1.3 试剂 超微量Na⁺-K⁺-三磷酸腺苷(ATP)测试盒(批号20131213),还原型谷胱甘肽(GSH)试剂盒(批号20130425),过氧化氢酶(CAT)试剂盒(批号20130427),购自南京建成生物工程研究所,ELISA试剂盒包括白介素(IL)-6(批号20131003),IL-1β(批号20130914)和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)试剂盒(批号20130914),TUNEL试剂盒(批号20130522),南京凯基生物科技发展有限公司,兔抗鼠Caspase-3抗体(批号sc-8304,美国Santa Cruz公司),尼莫地平片(山东凤凰制药有限公司,批号

1203917),防己、黄芪、白术、甘草饮片(江西赣州中药饮片厂),2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC,上海源叶生物科技有限公司,批号20120106)。

2 方法

2.1 样品制备 防己黄芪汤(FJHQT)由防己12g,黄芪15g,白术9g,甘草6g 4味药材组成。精确称量中药饮片,按照处方比例(防己:黄芪:白术:甘草4:5:3:2)混合^[6],加入8倍量的水回流提取2次,每次2h,合并提取液,纱布滤过,滤过液于旋转蒸发仪减压浓缩,得浓缩液。将质量浓度调至2g生药/mL(原方总剂量)。提取物中粉防己碱、防己诺林碱和黄芪甲苷含量分别为1.63%,0.57%,0.06%。

2.2 动物给药 参照文献[7]进行实验,将动物随机分为5组,每组12只:假手术组(Sham)、脑缺血再灌注组(模型组),FJHQT低、高剂量组(按生药量计为1,2g·kg⁻¹),阳性对照组尼莫地平(2mg·kg⁻¹)。在评分合格后分组进行灌胃给药,Sham组与模型组给予等量的0.9%生理盐水;每天1次,共7d。

2.3 动物造模 参照文献方法进行线栓造模^[7]。实验前大鼠禁食12h,自由饮水。术前腹腔注射10%水合氯醛(10mL·kg⁻¹)予以麻醉。仰卧固定全身麻醉后大鼠,取颈部正中切口,依次分离右侧的颈总动脉、颈内动脉、颈外动脉、迷走神经。依次以手术线结扎颈外动脉第一分支外和颈总动脉(颈外动脉与颈内动脉分叉点约5mm处)。以动脉夹阻断颈内动脉脑内返回血流后,于距颈总动脉分叉处近心端约3mm处斜行剪口,将市售鱼线以火烧法制备头端直径0.24~0.26mm线栓(长5cm)插入(18±2)mm长度。最后将颈总动脉连同鱼线一起扎紧,栓塞2h后拔出线栓血流再灌注24h。假手术组大鼠除了不插线外,进行上述全部操作。术后放入笼中自行恢复,给予自由饮食。术后24h进行神经行为缺损评分。将评分合格的大鼠随机分组。

2.4 神经功能评分 根据文献[8]评分标准进行评分。0分:大鼠活动正常,无神经功能缺损;1分:不能完全伸直左前肢;2分:大鼠向左侧转圈行走;3分:大鼠活动易向左侧倾倒;4分:大鼠有意识障碍,不能自己行走。将评分为3,4分的大鼠随机分组。

2.5 脑梗死面积测定 连续给药7d后,将大鼠断头取脑,置-20℃冰箱约15min后沿冠状切面进行切片(2mm),以0.2% TTC染液于37℃避光孵育30min,以4%新配制的多聚甲醛固定。红色为正常脑组织,白色为梗死区。数码相机拍照并采用图像分析IPP软件分析梗死区面积占对侧脑面积的百分

比。按以下公式进行计算:

$$\text{脑梗死面积} = \frac{\text{白色区面积}}{(\text{红色区面积} + \text{白色区面积})} \times 100\%$$

2.6 Western blot 测定 Caspase-3 表达 以裂解缓冲液裂解右脑视交叉前脑组织,以 13 000 r·min⁻¹ 离心 15 min 后,上清液以 BCA 法检测总蛋白浓度。然后以 50 μg 裂解液/泳道等量上加载和并以 10% SDS-PAGE 凝胶垂直电泳后湿法转膜。用 5% 的脱脂奶粉封闭后,加入一抗 Caspase-3 (1:500) 和 β-actin (1:400),4 °C 过夜。以 TBST 洗涤 3 次后,加入辣根过氧化物酶标记的二抗,37 °C 条件下孵育 2 h。ECL 荧光下进行曝光并显影定影。采用成像系统拍照并以 IPP 软件进行所显条带吸光度积分值分析。PBS 溶液作为阴性对照。

2.7 免疫组化测定 Caspase-3 表达 将右脑视交叉前脑组织置于新配制的 4% 多聚甲醛体外固定 12 h,脱水、二甲苯透明、石蜡包埋、切片(4 μm)。采用即用型 SABC 法免疫组化试剂盒测定。具体步骤严格按照说明书操作。将切片与 Caspase-3 一抗(1:200)孵育 4 °C 过夜,洗涤后以二抗 37 °C 条件下孵育 2 h。随即染色、DBA 显色、苏木素复染。棕黄色颗粒状沉积为阳性染色。PBS 溶液代替一抗作为阴性对照。采用图像采集系统采集免疫组化图像,每张切片随机采集 5 个不重叠视野,采用 IPP 图像分析软件测量 Caspase-3 的吸光度 A。

2.8 测定细胞凋亡 将切片常规脱蜡并进行抗原修复,以 0.3% H₂O₂ 消除内源性过氧化物酶活性。

以 5% BSA 封闭后,随即加入 TUNEL 试剂盒混合物,在 37 °C 条件下避光孵育 2 h,然后滴加转化剂 POD,接着再孵育 30 min,DAB 显色、复染、脱水、封片。Olympus 系统采集图片,计算 TUNEL 相对表达面积(计算阳性表达占整个切片的百分比)。

2.9 脑组织 Na⁺-K⁺-ATP, GSH, CAT 检测 将每组剩余的 6 只断头处死,迅速取其左侧大脑组织冰浴条件下匀浆。组织匀浆在低温离心 2 000 r·min⁻¹ 离心 10 min。轻取上清液,转移至 EP 管备用。根据试剂盒说明书,进行脑组织中 Na⁺-K⁺-ATP 酶, GSH 含量, CAT 含量检测。

2.10 炎症因子的测定 ELISA 测定 IL-1β, IL-6 和 TNF-α 的含量。具体步骤按试剂盒说明进行操作。100 μL 脑组织上清液加入 ELISA 板孔中。酶标仪在 450 nm 处读取样品的 A。炎症因子的含量根据标准曲线计算。重复 3 次。

2.11 统计学方法 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 16.0 软件统计分析。多组间数据比较用单因素方差分析。两组间比较用 t 检验。P < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对 I/R 大鼠脑梗死体积的影响 在造模 7 d 后,模型组大鼠的缺血侧脑组织梗死面积显著高于 Sham 组大鼠(P < 0.01)。在给药 FJHQT(1, 2 mg·kg⁻¹)或尼莫地平 2 mg·kg⁻¹ 7 d 后,脑梗死面积明显缩小,高剂量组作用更为明显(P < 0.05, P < 0.01)。见表 1。

表 1 FJHQT 对脑梗死面积, Na⁺-K⁺-ATP, GSH, CAT 的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Table 1 Effects of FJHQT on cerebral infarct size, Na⁺-K⁺-ATP, GSH, CAT ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	梗死面积 /%	Na ⁺ -K ⁺ -ATP /μmolDK]·mg ⁻¹ ·h ⁻¹	GSH /μmol·L ⁻¹	CAT /U·mL ⁻¹
Sham	-	0.14 ± 0.11	5.13 ± 0.47	69.77 ± 8.27	17.58 ± 2.44
模型	-	27.43 ± 2.30 ¹⁾	2.93 ± 0.26 ¹⁾	46.12 ± 6.58 ¹⁾	8.16 ± 2.52 ¹⁾
FJHQT	1	18.72 ± 1.76	4.27 ± 0.51 ³⁾	58.39 ± 7.72 ²⁾	12.46 ± 1.88 ³⁾
	2	9.22 ± 3.18	4.89 ± 0.49 ³⁾	63.03 ± 9.15 ³⁾	16.72 ± 2.05 ³⁾
尼莫地平	2 × 10 ⁻³	5.89 ± 1.42	4.95 ± 0.53 ³⁾	60.55 ± 5.94 ³⁾	16.22 ± 1.94 ³⁾

注:与 Sham 组比较¹⁾ P < 0.01;与模型组比较²⁾ P < 0.05, ³⁾ P < 0.01(表 2 同)。

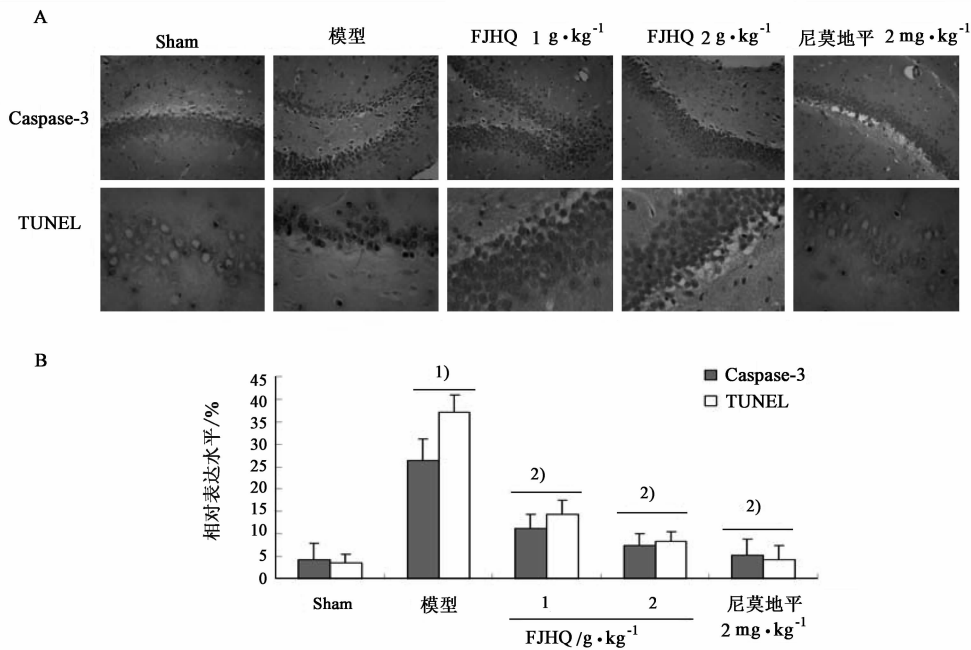
3.2 FJHQT 对 Na⁺-K⁺-ATP, GSH, CAT 的影响 与 Sham 组相比,模型组 Na⁺-K⁺-ATP 酶, GSH, CAT 活性显著减低(P < 0.01)。高、低剂量 FJHQT 和尼莫地平都能显著提高 Na⁺-K⁺-ATP 酶, GSH, CAT 活性(P < 0.01)。结果表明, FJHQT 可改善缺血导致的能量代谢障碍和氧化应激损伤。

3.3 对 TUNEL 凋亡的影响 脑缺血可引起神经元的凋亡,加速脑梗死。如图 1,模型组大鼠的神经元凋亡程度显著高于 Sham 组(P < 0.01),而给药后,高、低剂量 FJHQT 和尼莫地平都可显著降低凋亡程度(P < 0.01)。

3.4 对 I/R 大鼠海马 Caspase-3 表达的影响 部分

海马神经细胞质中 Caspase-3 蛋白呈现深棕黄色沉积颗粒(图 1)。与 Sham 组相比,模型组中棕黄色沉积颗粒显著增多($P < 0.01$)。而给予 FJHQT 或尼莫地

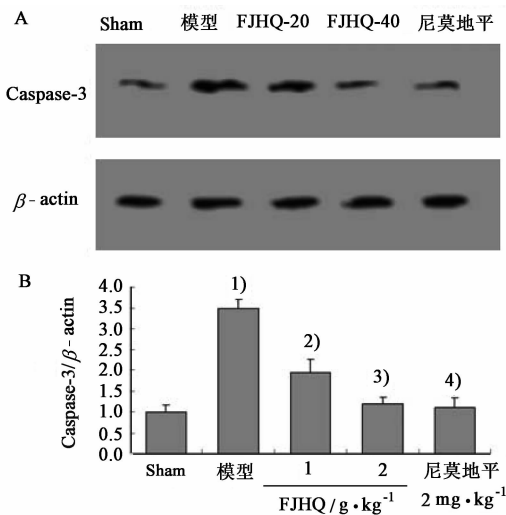
平 7 d 后,Caspase-3 蛋白表达显著减少($P < 0.01$)。Western blot 分析也显示同样的结果(图 2)。结果表明,FJHQT 可改善缺血导致的凋亡损伤。



与 Sham 组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$

图 1 免疫组化评价 FJHQT 对海马组织 Caspase-3 和 TUNEL 凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 1 Effects of FJHQT on Caspase-3 and TUNEL apoptosis of hippocampal tissue by immunohistochemistry ($\bar{x} \pm s, n = 6$)



与 Sham 组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$

图 2 Western blot 评价 FJHQT 对海马组织 Caspase-3 (A) and β -actin (B) 的表达 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Fig. 2 Effects of FJHQT on Caspase-3 expression (A) and β -actin (B) in hippocampal tissue by Western blot ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

3.5 对炎症因子的影响 在进行缺血造模后,与假手术组比较,模型组大鼠脑组织中炎症因子 IL-6, IL-1 β 和 TNF- α 含量明显升高($P < 0.01$)。与模型

组比较在给予 1,2 g \cdot kg⁻¹ FJHQT 或尼莫地平后,缺血大鼠脑组织中炎症因子 IL-1 β , IL-6 和 TNF- α 的含量均显著降低($P < 0.01$)。见表 2。

4 讨论

FJHQT 是出自《金匱要略》的经典方剂,传统常用于肾病、肺病、风湿等病症的治疗^[1-2],而目前其在防治心脑血管疾病的功效也逐渐得到重视。该方由防己、黄芪、白术、甘草 4 味药组成。研究显示,防己主要活性成分粉防己碱可明显延长性脑缺血小鼠断颅后的喘息时间,可显著降低脑内钙、水含量,同时降低脑静脉血中乳酸脱氢酶和磷酸肌酸激酶含量^[3];白术多糖及白术复方制剂也可以显著改善缺血性脑损伤大鼠脑组织缺血区的病理改变,并显著降低 LPO 含量^[4];黄芪总皂苷及其配伍方剂减轻小鼠局灶性脑缺血组织中氧化损伤,减轻局灶性脑缺血损伤^[5]。本研究证明 FJHQT 具有显著的改善脑缺血损伤作用。

氧化应激是脑缺血损伤中的重要病理机制之一。缺血缺氧可以打破原有的氧化平衡系统,导致脂质氧化损伤,产生过量的自由基,最终导致脑组织神经元坏死或凋亡。研究表明,FJHQT 甲醇提取物

表2 FJHQT对大鼠缺血脑组织炎症因子的影响($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 2 Effects of FJHQT on inflammatory factors of ischemic brain tissue in rats ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	剂量 /g·kg ⁻¹	IL-6 /ng·g ⁻¹	IL-1β /ng·g ⁻¹	TNF-α /ng·g ⁻¹
Sham	-	81.5 ± 8.3	63.3 ± 13.5	33.1 ± 8.3
模型	-	182.4 ± 10.2 ¹⁾	144.8 ± 9.7 ¹⁾	87.3 ± 4.3 ¹⁾
FJHQT	1	144.6 ± 11.4 ³⁾	95.3 ± 11.6 ³⁾	47.6 ± 7.5 ³⁾
	2	97.2 ± 7.6 ³⁾	76.4 ± 8.3 ³⁾	36.1 ± 6.1 ³⁾
尼莫地平	2 × 10 ⁻³	101.7 ± 8.5 ³⁾	69.2 ± 10.4 ³⁾	39.9 ± 4.5 ³⁾

和三氯甲烷2种提取物具有很高的清除羟基自由基能力^[8]。本研究显示FJHQT可显著提高缺血脑组织中GSH,CAT活性,表明FJHQT可改善缺血脑组织中氧化应激损伤。

在缺血缺氧条件下,Na⁺-K⁺-ATP酶活性降低,能量代谢出现障碍^[9]。本研究结果显示FJHQT能显著提高Na⁺-K⁺-ATP酶活性。高剂量FJHQT组中脑组织中Na⁺-K⁺-ATP酶活性明显高于尼莫地平组,这有可能与其抗氧化损伤能力相关。这是因为线粒体是大量ATP生成的重要部位,而细胞能量代谢主要依赖于线粒体不间断的ATP供应。线粒体呼吸链是主要的细胞内活性氧生成部位,同时也是活性氧损伤的作用靶器官。

炎症反应也是脑缺血损伤的重要机制之一。在病理过程中,有多重炎症因子参与该损伤。比如IL-6,已经被认为是急性缺血期脑损伤程度的一个标志^[10]。脑缺血再灌注后缺血区脑组织发生坏死,IL-1β,IL-6和TNF-α的含量明显增高,而FJHQT不仅能减小脑梗死范围,对脑损伤有保护作用,还显著降低IL-1β,IL-6和TNF-α的含量。这提示FJHQT保护脑损伤的作用机制可能与减轻缺血区的炎症反应有关。

氧化损伤、能量代谢异常、炎症反应可以引发神经元的凋亡,导致神经行为缺损。多重分子参与凋亡程序,比如Caspases蛋白酶家族中的分子Caspases-3等生物大分子,在脑缺血神经细胞凋亡中起着重要的作用。在笔者的研究中发现,FJHQT显著降低脑缺血组织中凋亡程度,并且显著下调Caspases-3的蛋白表达。这提示FJHQT抗脑缺血作用与其抗凋亡作用相关。

本研究发现,FJHQT可显著改善大鼠脑缺血再灌注损伤后脑损伤,可显著减轻氧化损伤、凋亡、能量代谢及炎症反应。本研究为临床使用FJHQT保

护脑缺血治疗具有重要指导意义。

[参考文献]

[1] 俞东容,杨汝春,李建秋,等. 防己黄芪汤对单侧输尿管梗阻大鼠肾组织TGF-β₁,BMP-7的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2011, 12(12):1041-1043.

[2] 李彬,张家衡,柯有力,等. 防己黄芪汤对单肺通气患者的保护作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(5):223-226.

[3] 祝晓光,刘天培. 粉防己碱对大鼠急性全脑缺血再灌注损伤的影响[J]. 中国病理生理杂志, 1999, 15(6):545-547.

[4] 王新平,吉凤,王存选,等. 复方白术对实验性局灶性脑缺血损伤的保护作用[J]. 中风与神经疾病杂志, 2000, 17(5):282-283.

[5] 任周新,李丽,李君,等. 黄芪总皂苷和三七总皂苷配伍对大鼠局灶性脑缺血的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2006,12(12):56-58.

[6] 张家衡,柯有力,杨泳,等. 防己黄芪汤对兔肺缺血再灌注损伤的保护研究[J]. 中国中西医结合外科杂志, 2013, 19(5):526-530.

[7] 张珂,肖娅萍,邵显会,等. 防己黄芪汤的抗氧化活性研究[J]. 中成药, 2012, 34(6):1018-1021.

[8] 刘振权,徐秋萍,郭晓峰,等. 脑心痛胶囊对大鼠局灶性脑缺血再灌注后脑组织IL-1β,IL-6和TNF-α含量的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2005, 28(1):44-47.

[9] 樊凯芳,唐迎雪,曹淑霞. 三化汤对脑缺血-再灌注老龄大鼠胃肠组织Na⁺-K⁺-ATP酶活性及Ca²⁺-ATP酶活性的影响[J]. 时珍国医国药, 2009, 20(6):1367-1368.

[10] Clark W M, Rinker L G, Lessov N S, et al. Lack of interleukin-6 expression is not protective against focal central nervous system ischemia [J]. Stroke, 2000, 31(7):1715-1720.

[责任编辑 聂淑琴]