

## 醒脑静合生脉注射液对大鼠脑出血后 脑组织内水通道蛋白表达的影响

张青, 谢晓丽, 王其新, 马承泰\*, 蒋艳霞, 王守彪, 隋爱华  
(青岛大学医学院附属医院, 山东 青岛 266003)

**[摘要]** 目的:探讨醒脑静合生脉注射液对大鼠脑出血后脑组织内水通道蛋白-4(AQP4)表达的影响。方法:将SD大鼠随机分为脑出血组(ICH)、生理盐水组(NS)、醒脑静合生脉注射液治疗组(XNJSM)、水蛭素治疗组(HIR),每组10只大鼠。采用自体不凝血注入法复制脑出血模型,造模后6h,XNJSM组ip醒脑静合生脉注射液 $2\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1} + 10\text{ mL}\cdot\text{kg}^{-1}$ (按1:5比例混合),1次/d,连续3d;HIR组给予脑内注入水蛭素 $10\text{ U}(5\ \mu\text{L})$ 1次。术后72h取脑组织,HE染色观察各组血肿周围神经细胞形态学改变,免疫组化及免疫印迹(Western blot)法检测各组血肿周围脑组织AQP4的表达。结果:脑出血后72h脑组织内AQP4阳性细胞及蛋白表达与NS组比较明显增加( $P < 0.05$ ),XNJSM组、HIR组脑组织病理形态明显改善,脑组织AQP4表达减少,与ICH组比较差异均有显著性( $P < 0.05$ )。结论:醒脑静合生脉注射液能够有效抑制大鼠脑出血后AQP4蛋白的表达,减轻脑水肿,对脑出血后脑组织发挥保护作用。

**[关键词]** 脑出血;醒脑静合生脉注射液;水通道蛋白-4;脑水肿

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)21-0243-05

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120827.1043.001.html>

**[网络出版时间]** 2012-08-27 10:43

## Effect of Xingnaojing and Shengmai Injection on AQP4 after Intracerebral Hemorrhage in Rats

ZHANG Qing, XIE Xiao-li, WANG Qi-xin, MA Cheng-tai\*, JIANG Yan-xia, WANG Shou-biao, SUI Ai-hua  
(Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, China)

**[Abstract]** **Objective:** To study the effect of Xingnaojing and Shengmai injection on the expression of aquaporin-4 (AQP4) in rat brain tissue after intracerebral hemorrhage (ICH). **Method:** The ICH model was

**[收稿日期]** 20120507(333)

**[基金项目]** 山东省中医药管理局基金项目(2005-020)

**[第一作者]** 张青,急诊医学硕士研究生, Tel:15275220897, E-mail: zhangqingchangsha@163.com

**[通讯作者]** \*马承泰,医学博士,副主任医师,从事中西医结合危重病急救工作, Tel:13589298863, E-mail: machengtai@163.com

- [9] 王凌娟,张雯. 胃溃疡及实验性胃溃疡模型[J]. 中国烧伤创疡杂志,2000(2):66.
- [10] 李冀,毕珺辉,孙宇峰. 四逆散抗实验性胃溃疡的药效学及作用机理研究[J]. 中华中医药学刊,2007,25(7):1317.
- [11] 谢忠礼,李杰,王兴华. 加味四逆散对慢性应激模型大鼠下丘脑单胺类神经递质的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(1):50.
- [12] 许景峰,王金萍,许茜. 半夏泻心汤对大鼠胃溃疡及小肠功能的影响[J]. 中国药业,2002,11(2):48.
- [13] 付东,陈国志. 半夏泻心汤对照射引起小肠运动紊乱的调节作用[J]. 中国实验方剂学杂志,1996,2(3):21.
- [14] 徐继红,雍定国,耿宝琴. 左金胶囊与左金丸对抗大鼠实验性胃溃疡及胃酸分泌的比较研究[J]. 中药药理与临床,1999,15(2):8.
- [15] 李平,楚更五,周华,等. 蜂胶左金丸含药血清抗幽门螺杆菌的实验研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2008,14(3):59.

[责任编辑 何伟]

induced by injecting self-blood. Forty male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into ICH group ( $n = 10$ ), saline group (NS,  $n = 10$ ), Xingnaojing and Shengmai injection group (XNJSM,  $n = 10$ ), hirudin group (HIR,  $n = 10$ ). Six hours after model establishment, rats in XNJSM were received Xingnaojing of  $2 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  and Shengmai of  $10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  through intraperitoneal injection, once daily, the therapeutic course was 3 days; Hirudin ( $10 \text{ U}$  in  $5 \mu\text{L}$ ) was injected into the hematoma in HIR. Hematoxylin and eosin staining was performed to examine perihematomal neurocyte morphological changes, and the expression of AQP4 in perihematomal tissue was determined by immunohistochemistry and Western blotting respectively after 72 h. **Result:** AQP4 positive cells and protein expression in perihematomal tissue was increased at 72 h after ICH, with significant difference to those in NS ( $P < 0.05$ ), Compared with ICH, in XNJSM group and HIR group, perihematomal tissue morphological changes were improved obviously, and AQP4 expression was also decreased significantly ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** XNJSM injection could play a neuroprotective effect by inhibiting the expression of AQP4 and alleviating cerebral edema after ICH.

[ **Key words** ] intracerebral hemorrhage; Xing naojing and Shengmai injection; aquaporin 4; cerebral edema

脑出血 (intracerebral hemorrhage) 后脑水肿的形成是导致患者死亡和神经功能恶化的重要原因之一<sup>[1]</sup>。最新的研究表明,脑出血后脑水肿与脑内水通道蛋白 4 (aquaporin4, AQP4) 表达增高同步发生<sup>[2-3]</sup>。目前,临床上对于脑出血的治疗仍缺乏循证医学确切有效的手段。前期临床研究证明,醒脑静合生脉注射液治疗急性脑出血疗效肯定,但机制仍未完全阐明<sup>[4]</sup>。本实验就醒脑静合生脉 (XNJSM) 注射液对大鼠脑出血后脑组织内 AQP4 表达的影响进行研究,为其临床应用提供药理学依据。

## 1 材料

**1.1 动物及分组** 健康成年普通级 SD 雄性大鼠 40 只,体重  $250 \sim 300 \text{ g}$ ,由青岛派特福德白鼠养殖专业合作社提供,合格证号 SCXK (鲁) 20090007。将大鼠随机分为脑出血组 (ICH)、生理盐水组 (NS)、醒脑静合生脉注射液治疗组 (XNJSM)、水蛭素治疗组 (HIR),每组 10 只。

**1.2 药品及试剂** 醒脑静 (XNJ) 注射液 (麝香、郁金、冰片、栀子) 由无锡济民可信山禾药业股份有限公司生产;生脉 (SM) 注射液 (红参、麦冬、五味子) 由常熟雷允上制药有限公司生产;水蛭素 (H7380) 由美国 Sigma 公司提供;兔抗 AQP-4 多克隆抗体 (H-80) 由美国 Santa Cruz 公司提供;小鼠抗 GAPDH 单克隆抗体 (TA-08)、羊抗小鼠 IgG/HRP 二抗 (ZDR-5307)、山羊抗兔 IgG/HRP 二抗 (ZB-2301) 及免疫组化染色试剂盒 (PV6001),由北京中杉生物技术有限公司提供。

**1.3 仪器** 脑立体定位仪 (深圳瑞沃德生命科技有限公司),超低温冰箱 (Sanyo Japan),病理组化漂

烘仪 (常州市中威电子仪器有限公司),BX51 显微镜照相系统 (Olympus Optical Co. Ltd Japan),台式高速冷冻离心机 (上海申力),Fusion FX 凝胶成像仪 (France)。

## 2 方法

**2.1 大鼠尾状核脑出血模型建立** 参照周中和等的方法<sup>[5]</sup>制作大鼠脑出血模型。大鼠以  $10\%$  水合氯醛 ( $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) ip 麻醉后,俯卧位固定在脑立体定位仪上,暴露颅骨,于前囟前  $0.2 \text{ mm}$ 、中线右旁  $3.2 \text{ mm}$  处用小电钻钻一直径为  $1 \text{ mm}$  的小孔,用微量进样器 (针管肝素化) 于断尾处抽取  $50 \mu\text{L}$  自体新鲜不凝血,沿钻孔垂直进针  $5.5 \text{ mm}$  后 (即尾状核位置) 缓慢匀速向脑内注射,先注入  $20 \mu\text{L}$ ,停针  $5 \text{ min}$ ,继续缓慢注入  $30 \mu\text{L}$ ,留针  $10 \text{ min}$ ,退针  $2.0 \text{ mm}$ ,再停针  $5 \text{ min}$ ,后缓慢将微量注射器针完全退出,用骨蜡封闭钻孔,缝合伤口,消毒,im  $0.25 \text{ mL}$  青霉素。生理盐水组操作同上,但不注入全血,注入等量的  $50 \mu\text{L}$  生理盐水。实验前后各组大鼠均自由进食饮水。术后  $6 \text{ h}$  根据 Longa 法<sup>[6]</sup>进行 5 分制神经功能评分,评分为  $1 \sim 3$  分者模型制备成功,余者剔除。不足预定数组按照随机抽样原则补齐动物并重新造模。

**2.2 给药方法** 模型制备成功后给药:XNJSM 组 ip 醒脑静合生脉注射液  $2 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1} + 10 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$  (按  $1:5$  比例混合),NS 组和 ICH 组均分别 ip 给予等容量生理盐水,1 次/d,连用 3 d,HIR 组脑内注入水蛭素  $10 \text{ U}$  ( $5 \mu\text{L}$ ) 1 次。

**2.3 组织形态学观察** 术后  $72 \text{ h}$  各组随机选取 5 只大鼠经 ip  $10\%$  水合氯醛 ( $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ ) 麻醉后开胸,经左心室插管至升主动脉,生理盐水  $250 \text{ mL}$  灌

注后,再用4%多聚甲醛溶液(pH 7.4)250 mL灌注至肝脾变白发硬,然后断头取脑,以注入点为中心,前、后各6 mm处冠状切除鼠脑额端及枕端,中间部分继续于4%多聚甲醛溶液中固定24 h。以针道为中心取其前、后3 mm各切一脑组织标本,常规制片,连续切片,厚5  $\mu\text{m}$ ,HE染色,在光学显微镜下观察脑组织病理形态改变并摄像。

**2.4 免疫组织化学染色检测脑组织 AQP4** 脑组织切片常规脱蜡、梯度乙醇脱水,用0.01 mol·L<sup>-1</sup> PBS(pH 7.2~7.4)清洗,3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 灭活内源性过氧化氢酶,蒸馏水洗,微波修复抗原;加兔抗大鼠 AQP4 抗体(1:1 000),37  $^{\circ}\text{C}$  1 h,0.01 mol·L<sup>-1</sup> PBS洗;然后按照PV6001免疫组化染色试剂盒提供的方法进行操作,DAB显色,苏木精轻度复染,脱水透明后封片。OlympusBX51型显微镜下观察,细胞有棕黄色或棕褐色颗粒者为AQP4阳性细胞,阴性对照用0.01 mol·L<sup>-1</sup> PBS替代一抗,不着色。在200倍光镜下随机选取每张切片血肿周边的5个不重叠视野,Image-Pro Plus图像分析软件进行分析,记录AQP4阳性细胞平均吸光度(A)。为确保实验结果的真实性和客观性,染色结果判定由专人单盲阅片。

**2.5 蛋白质免疫印迹 检测脑组织 AQP4 蛋白的表达**

**2.5.1 脑组织总蛋白提取** 术后72 h各组分别取5只大鼠深度麻醉后,迅速断头新鲜取脑,冰上分离出血肿周边脑组织(生理盐水组为右侧尾状核),置于预冷的研钵中将脑组织研磨至粉末状,EP管收取后加入裂解液(500  $\mu\text{L}$ 裂解液+5  $\mu\text{L}$  PMSF),超声波匀浆,冰上静置2 h,4  $^{\circ}\text{C}$ 下12 000 r·min<sup>-1</sup>离心10 min,去沉淀组织留上清,BCA法测定蛋白浓度,分装,-80  $^{\circ}\text{C}$ 冻存。

**2.5.2 蛋白质的聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)及印迹转移** 上样前,将提取好的蛋白样品按4:1比例加5 $\times$ buffer(上样缓冲液),100  $^{\circ}\text{C}$ 煮沸变性5 min,再常温12 000 r·min<sup>-1</sup>离心2 min。安装电泳装置(12%分离胶,5%积层胶),每条泳道加15  $\mu\text{L}$ 样品缓冲液,75 V电泳,当样品到达分离胶后上调电压至120 V,待溴酚蓝到达分离胶底部后电泳结束。取出凝胶,用0.45  $\mu\text{m}$  PVDF膜进行印迹转移,冰上60 V转膜50 min。

**2.5.3 免疫检测** PVDF膜经5%脱脂奶粉37  $^{\circ}\text{C}$ 封闭1 h后,用PBST漂洗5 min $\times$ 3次;分别加用兔抗AQP4多克隆抗体(1:1 400)、小鼠抗GAPDH单克隆抗体(1:1 000),室温摇床孵育2 h,PBST洗膜

10 min $\times$ 3次;然后分别加入山羊抗兔IgG/HRP二抗(1:12 000)、羊抗小鼠IgG/HRP二抗(1:7 000),室温摇床孵育1 h,PBST洗涤10 min $\times$ 3次。电泳后凝胶及抗体孵育前的PVDF膜分别以考马斯亮蓝和丽春红染色,检测蛋白裂解及转膜的情况。底物化学发光(ECL),Fusion FX7凝胶成像分析仪显影,Quantity one软件进行图像分析,获取各组条带平均A值和内参GAPDH A值,目的蛋白与同一样本的GAPDH A比值为目的蛋白的相对表达水平。

**2.6 统计学处理** 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,SPSS 18.0软件进行单因素方差分析和t检验,检验结果以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 HE染色** ICH组神经细胞肿胀,排列紊乱,核深染,呈三角形、梭形或不规则形,核染色质聚集,核仁不清晰,可见不同程度的神经细胞水肿变性、坏死。血肿周围毛细血管扩张、破裂和出血,病灶及周围组织有红细胞漏出,间质水肿明显,散在见以中性粒细胞为主的炎性细胞浸润;与ICH组比较,XNISM组及HIR组神经细胞变性、坏死数目减少,间质水肿和炎性细胞浸润减轻。NS组神经细胞排列整齐,形态正常,组织着色均匀,胞浆呈淡红色且较清亮,胞核呈蓝色,见图1。

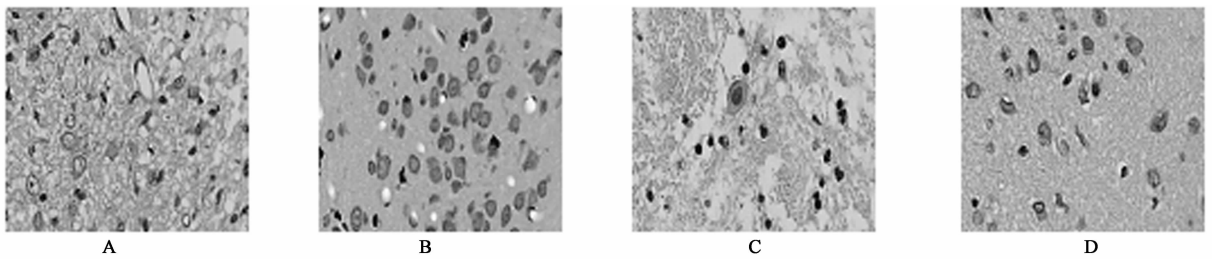
**3.2 血肿周围脑组织 AQP4 表达** 免疫组化显示,ICH组可见大量呈棕黄色或棕褐色AQP4阳性细胞,主要表达在星形胶质细胞的胞膜上,血肿周围毛细血管内皮细胞胞膜亦可见着色;XNISM组与HIR组也可见较多棕黄色AQP4阳性细胞,但数量均较ICH组明显减少;NS组仅在注射针道周围见少量散在的AQP4阳性细胞,呈浅黄色,位于胞膜和血管周围。见图2。与NS组比较,ICH组AQP4阳性细胞A明显升高( $P < 0.05$ );XNISM组HIR组与ICH组比较,AQP4阳性细胞A明显下降( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 各组AQP4阳性细胞(A)及蛋白的相对水平的比较( $\bar{x} \pm s, n=5$ )

组别	AQP4 阳性细胞/A	AQP4 蛋白相对水平
ICH	0.574 $\pm$ 0.188 <sup>1)</sup>	1.106 $\pm$ 0.366 <sup>1)</sup>
NS	0.081 $\pm$ 0.047	0.286 $\pm$ 0.084
XNISM	0.308 $\pm$ 0.126 <sup>1,2)</sup>	0.607 $\pm$ 0.185 <sup>1,2)</sup>
HIR	0.242 $\pm$ 0.096 <sup>1,3)</sup>	0.475 $\pm$ 0.139 <sup>1,3)</sup>

注:与NS组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ;与ICH组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>3)</sup>  $P < 0.05$ 。

**3.3 血肿周围脑组织 AQP4 表达 Western Blotting**



A. ICH 组; B. NS 组; C. XNJSJ 组; D. HIR 组(图 2~3 同)

图 1 各组大鼠血肿周围脑组织病理变化(HE, ×200)

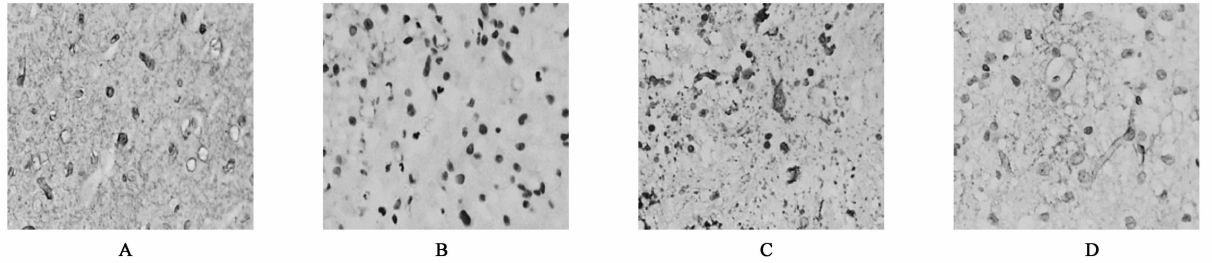


图 2 各组大鼠血肿周围脑组织 AQP4 阳性细胞表达(免疫组化染色, ×200)

显示,与 NS 组比较,ICH 组 AQP4 表达明显升高( $P < 0.05$ );与 ICH 组比较,XNJSJ 组、HIR 组、AQP4 表达明显降低( $P < 0.05$ )。见图 3。

胞膜上也有少量表达,然而在神经元则不表达。结果与文献报道一致<sup>[8]</sup>。

许多研究证实,AQP4 表达高峰与脑水肿的高峰一致,均在脑出血 72 h 左右<sup>[9-10]</sup>,故本实验选择了 72 h 这个时间点来检测 AQP4 的表达。ICH 后脑水肿早期(出血 24 h 以内)主要为凝血酶激活酶原或通过细胞毒性受体产生细胞毒性脑水肿,后期(出血 24 h 以后)主要为凝血酶造成的血-脑屏障破坏产生血管源性脑水肿<sup>[11]</sup>。但凝血酶上调 AQP4 的具体机制尚未完全阐明。Zhou 等<sup>[12]</sup>研究发现,高浓度的凝血酶可促使星形胶质细胞膜上水的渗透性增加,从而诱导 AQP4 蛋白和 AQP4 mRNA 大量表达,导致星形胶质细胞水肿和凋亡。Sun Z 等<sup>[3]</sup>实验证明注入到大鼠尾状核的自体全血可上调 AQP4 mRNA 和 AQP4 蛋白的表达,且 AQP4 蛋白表达在脑出血后 3 d 达到高峰,应用重组水蛭素可显著地减少 AQP4 的表达。本研究也证实了脑出血后血细胞溶解释放出的凝血酶可上调 AQP4 在星形胶质细胞膜上的表达,应用凝血酶的特异性抑制剂水蛭素或醒脑静合生脉注射液治疗 3 d 后,大鼠尾状核血肿周围的 AQP4 表达均显著减少。结合以往地发现及本实验研究结果,推测其可能机制:在 ICH 早期,高浓度的凝血酶与星形胶质细胞膜上的凝血酶受体(PAR1)结合的同时,可引起一个或多个酪氨酸激酶(PTK)的活化,启动细胞内的多种信号传

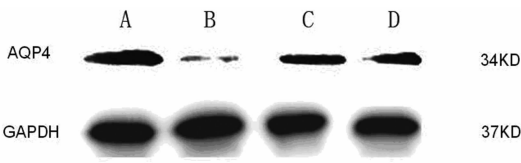


图 3 各组 AQP4 蛋白的 Western blot 分析

#### 4 讨论

AQPs 引起的水转运异常性疾病属于中医学“水肿”范畴。AQP4 是脑组织中分布最广、含量最多的水通道膜蛋白,主要分布于星形胶质细胞膜,特别是在紧密包绕毛细血管壁形成的一层胶质界膜上有着强烈的表达<sup>[7]</sup>,但是否还在神经元及其他胶质细胞表达尚存有争议。近年来发现 AQP4 的动态变化与脑水肿的形成密切相关,其在水、盐代谢调节及血-脑屏障的水转运中起着关键作用<sup>[2]</sup>。根据 AQP4 在脑组织中的分布特点和功能,提示出血损伤后 AQP4 高表达可能是神经细胞水肿损伤的原因之一。本实验结果可见,在全血诱导的脑出血周围脑组织出现不同程度的神经细胞水肿变性、坏死,间质水肿明显,且 AQP4 表达明显增加,阳性细胞主要在星形胶质细胞足突上表达,此外,毛细血管内皮细胞

导引起星形胶质细胞 AQP4 表达升高,最后导致细胞水肿,血-脑屏障破坏,通透性增加,并且一直维持到脑出血后 3 d,形成脑水肿高峰期。因此,凝血酶通过诱导上调 AQP4 的表达可视为脑出血后脑水肿形成的潜在机制之一,同时也提示醒脑静合生脉注射液和水蛭素均通过抑制 AQP4 表达可能为减轻脑出血后脑水肿提供新的临床思路和治疗途径。

近年来临床上发现以醒脑开窍、益气养阴为治法,选用醒脑静合生脉注射液(两者最佳浓度之比为 1:5)治疗急性脑出血,获效显著<sup>[4]</sup>。前期实验研究发现,醒脑静合生脉注射液对凝血酶损伤模型有明显的保护作用<sup>[13]</sup>。醒脑静注射液为安宫牛黄丸改制而成,主要由麝香、栀子、郁金、冰片等组成,具有开窍醒脑、清热解毒、凉血活血的功效。药理学研究已证明<sup>[14-15]</sup>该药能通过血脑屏障,直接作用于中枢神经系统而发挥作用,有消除脑水肿、防止脑疝、改善大脑血氧供应、促进脑细胞康复等作用。生脉注射液是生脉散的水溶制剂,由红参、麦冬、五味子组成,具有益气养阴、复脉固脱的功效。两方合用,一则益气养阴以治本,一则醒脑开窍、凉血解毒以治标。治本,调理气血阴阳平衡,恢复脏腑功能,使风火痰瘀毒无以产生;治标,祛除致病因素,有助于脏腑功能的恢复,两者相辅相成。本研究结果进一步说明,醒脑静合生脉注射液的早期应用具有减轻脑水肿、保护损伤神经细胞的效果,其作用机制可能与降低 AQP4 表达有关。这为临床应用醒脑静合生脉注射液治疗急性脑出血提供了实验依据。

#### [参考文献]

[1] Xi G, Keep R F, Hoff J T. Mechanisms of brain injury after intracerebral haemorrhage [J]. *Lancet Neurol*, 2006,5(1):53.

[2] Qing W G, Dong Y Q, Ping T Q, et al. Brain edema after intracerebral hemorrhage in rats: the role of iron overload and aquaporin 4 [J]. *J Neurosurg*, 2009, 110(3):462.

[3] Sun Z, Zhao Z, Zhao S, et al. Recombinant hirudin treatment modulates aquaporin-4 and aquaporin-9

expression after intracerebral hemorrhage *in vivo* [J]. *Mol Biol Rep*, 2009, 36(5): 1119.

[4] 马承泰. 王左教授辨治脑出血急性期经验[J]. *四川中医*,2001,19(2):5.

[5] 周中和,曲方,何祥,等. 一种改良大鼠自体血脑出血模型:二次注血/退针法[J]. *中国临床神经科学*, 2004,12(4):406.

[6] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1):84.

[7] Tait M J, Saadoun S, Bell B A, et al. Water movements in the brain: role of aquaporins [J]. *Trends Neurosci*,2008, 31(1): 37.

[8] Yoneda K, Yamamoto N, Asai K. Regulation of aquaporin-4 expression in astrocytes [J]. *Brain Res Mol Brain Res*, 2001, 89(1/2):94.

[9] Qing W G, Dong Y Q, Ping T Q, et al. Brain edema after intracerebral hemorrhage in rats: the role of iron overload and aquaporin 4 [J]. *J Neurosurg*,2009,110(3):462.

[10] 李妍,崔向宁,陈泽涛,等. 活血化瘀中药对脑出血大鼠脑组织含水量及 AQP4 表达的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*,2011,17(19):153.

[11] Guan J X, Sun S G, Cao X B, et al. Effect of thrombin on blood brain barrier permeability and its mechanism [J]. *Chin Med J*, 2004, 117(11):1677.

[12] Zhou J H, Cao X B, Sun S G. Study on the effects of thrombin on AQP4 mRNA and AQP4 protein expression in rat primary astrocytes [J]. *Journal of Nanjing Medical University*, 2006, 20(4):220.

[13] 马承泰,蒋艳霞,王左. 醒脑静-生脉混合液对凝血酶损伤星形胶质细胞的保护作用 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2003,10(1):46.

[14] 徐元虎. 醒脑静注射液的药理药效学研究与应用现状 [J]. *现代中西医结合杂志*,2010,19(4):507.

[15] 刘洪章,马志伟,刘毅,等. 醒脑静注射液辅助治疗继发性脑损伤 [J]. *中国实验方剂学杂志*,2011,17(15):248.

[责任编辑 何伟]