

## · 论著 ·

## 依达拉奉联合异丙酚预处理对乳鼠离体脑皮质细胞缺血 / 再灌注损伤保护作用的研究

姚娜 王迪芬 宋曦 刘鲜林

**【摘要】 目的** 观察依达拉奉联合异丙酚预处理对乳鼠离体脑皮质细胞缺血 / 再灌注(I/R)损伤的保护作用以及脑保护效应的时间窗。**方法** 体外培养出生 24 h 内 SD 乳鼠脑皮质细胞 7 d,按随机数字表法分为空白对照组、谷氨酸损伤组、药物预处理 24 h 对照组及药物预处理 24、2、0 h 组。各药物预处理组分别于谷氨酸损伤(200  $\mu\text{mol/L}$  0.5 h)前 24、2、0 h 用含 100  $\mu\text{mol/L}$  依达拉奉和 3 mg/L 异丙酚的培养基联合预处理原代培养的神经细胞。通过测定神经细胞存活率[四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法]、乳酸脱氢酶(LDH)漏出率、神经细胞  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$  酶活性观察神经细胞成活和细胞损伤情况;通过测定超氧化物歧化酶(SOD)活性(黄嘌呤氧化酶法)、丙二醛(MDA)含量(硫代巴比妥酸法)观察神经细胞抗氧化和氧化水平;流式细胞仪检测神经细胞凋亡情况。**结果** 与空白对照组比较,谷氨酸损伤组神经细胞存活率[(62.2  $\pm$  23.4)%比(90.5  $\pm$  14.8)%]、SOD 活性(U/ml: 6.864  $\pm$  2.872 比 29.569  $\pm$  3.684)、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$  酶活性( $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ):0.318  $\pm$  0.146 比 0.636  $\pm$  0.168)均显著下降,神经细胞凋亡率[(9.4  $\pm$  0.7)%比(6.1  $\pm$  0.2)%]、MDA 含量(nmol/ml):0.515  $\pm$  0.101 比 0.294  $\pm$  0.105)、LDH 漏出率[(41.2  $\pm$  1.6)%比(36.8  $\pm$  4.6)%]均显著升高( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )。与谷氨酸损伤组比较,药物预处理组细胞存活率、SOD 活性、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$  酶活性均显著升高,细胞凋亡率、MDA 含量、LDH 漏出率均显著下降,并呈时间依赖性,以预处理 24 h 组作用最为显著[细胞存活率:(89.2  $\pm$  30.3)%比(62.2  $\pm$  23.4)%、SOD 活性(U/ml):17.780  $\pm$  4.514 比 6.864  $\pm$  2.872, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$  酶活性( $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ):0.541  $\pm$  0.052 比 0.318  $\pm$  0.146,细胞凋亡率:(6.7  $\pm$  0.4)%比(9.4  $\pm$  0.7)%、MDA 含量(nmol/ml):0.319  $\pm$  0.101 比 0.515  $\pm$  0.101,LDH 漏出率:(37.2  $\pm$  1.4)%比(41.2  $\pm$  1.6)%]均  $P<0.01$ 。**结论** 依达拉奉联合异丙酚预处理对乳鼠离体脑皮质细胞 I/R 损伤有显协同保护作用;且以 24 h 作为时间窗的脑保护作用最明显。

**【关键词】** 依达拉奉; 异丙酚; 预处理; 脑皮质细胞; 缺血 / 再灌注损伤,脑; 谷氨酸; 凋亡

**Neuroprotective effects of combined pretreatment with edaravone and propofol on neonatal rat cerebral cortical neurons with ischemia/reperfusion injury in vitro** YAO Na\*, WANG Di-fen, SONG Xi, LIU Xian-lin.

\*Department of Anesthesiology, Luoyang Orthopedic-Traumatological Hospital, Luoyang 471002, Henan, China

Corresponding author: WANG Di-fen, Department of Intensive Care Unit, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China, Email: dfwang6@yahoo.com.cn

**【Abstract】 Objective** To investigate the protective effect of combined pretreatment of edaravone and propofol on cerebral cortex with ischemia/reperfusion (I/R) injury and its therapeutic window. **Methods** Sprague Dawley (SD) rat brain cortex cells harvested within 24 hours of birth were cultured in vitro for 7 days. The cells were then divided into blank control group, glutamate injury group, 24-hour drug precondition control group, and 24-, 2-, 0-hour drug precondition groups according to random number table. The nerve cells in each pretreatment group were cultured in medium containing 100  $\mu\text{mol/L}$  of edaravone and 3 mg/L of propofol 24, 2, or 0 hour before glutamate damage (200  $\mu\text{mol/L}$  for 0.5 hour). Nerve cell survival or damage was determined by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT), lactate dehydrogenase (LDH) leakage rate, and nerve cell  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  activity. The oxidation and anti-oxidation ability of nerve cells was observed by determining superoxide dismutase (SOD) activity (xanthine oxidase), malondialdehyde (MDA) content (thiobarbituric acid). Nerve apoptosis was detected by flow cytometry. **Results** Compared with blank control group, in the glutamate injury group, nerve cell survival rate [(62.2  $\pm$  23.4)% vs. (90.5  $\pm$  14.8)%], the activity of SOD (U/ml: 6.864  $\pm$  2.872 vs. 29.569  $\pm$  3.684),  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  activity ( $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ : 0.318  $\pm$  0.146 vs. 0.636  $\pm$  0.168) were significantly decreased, and rate of neuronal apoptosis [(9.4  $\pm$  0.7)% vs. (6.1  $\pm$  0.2)%], the content of MDA (nmol/ml: 0.515  $\pm$  0.101 vs. 0.294  $\pm$  0.105), LDH leakage rate [(41.2  $\pm$  1.6)% vs. (36.8  $\pm$  4.6)%] were significantly increased ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ). Compared with glutamate injury group, the cell survival rate and the activity of SOD and  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  were significantly increased in the drug pretreatment groups, and apoptosis rate, MDA content, and LDH leakage rate were significantly decreased with time-department, and effect in the 24-hour pretreatment group was most significant [survival rate of cell: (89.2  $\pm$  30.3)% vs. (62.2  $\pm$  23.4)%, SOD activity (U/ml): 17.780  $\pm$  4.514 vs. 6.864  $\pm$  2.872,  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  activity ( $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$ ): 0.541  $\pm$  0.052 vs. 0.318  $\pm$  0.146, the rate of cell apoptosis: (6.7  $\pm$  0.4)% vs. (9.4  $\pm$  0.7)%, the content of MDA (nmol/ml): 0.319  $\pm$  0.101 vs. 0.515  $\pm$  0.101, LDH leakage rate: (37.2  $\pm$  1.4)% vs. (41.2  $\pm$  1.6)%, all

$P < 0.01$ ]. **Conclusion** The synergistic protective effect of pretreatment with edaravone combined with propofol on neonatal rat brain cortex cells with I/R injury in vitro was evident; and 24-hour pretreatment is the best time window of protection for the cerebral neurons.

**【Key words】** Edaravone; Propofol; Pretreatment; Cortical neuron; Cerebral ischemia/reperfusion injury; Glutamate; Apoptosis

在脑血管病及心肺复苏、中毒、休克、介入、溶栓治疗等急危重症过程中,常出现因缺血/再灌注(I/R)损伤导致的严重脑功能障碍,主要表现为细胞坏死和凋亡。1990年,Kitagawa等<sup>[1]</sup>首先在沙土鼠脑缺血模型上描述了脑缺血预处理(NIPC)现象,即机体对短暂缺血的适应性反应,能增加神经元对再次缺血的耐受性。随后发展为药物或化学性预处理<sup>[2]</sup>,即根据缺血预处理机制,应用亚致死剂量干扰细胞能量代谢的物质激发或模拟机体内源性物质而发挥保护作用,提高组织对缺血、缺氧的耐受性。依达拉奉是一种新型自由基清除剂和抗氧化剂,临床上广泛用于治疗高血压脑出血,可促进脑血肿吸收,改善神经症状<sup>[3]</sup>。异丙酚和依达拉奉一样具有清除自由基、抗氧化、抑制细胞因子、减少神经细胞凋亡等作用。本研究中通过观察依达拉奉和异丙酚联合预处理的脑保护作用及机制,比较不同时间窗的保护效应。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物、药品及主要试剂:**157只出生24h内SD乳鼠,由贵阳医学院实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(黔)2002-0001。DMEM/F12培养基(美国GIBCO公司);优级胎牛血清(天津市灏洋生物制品科技有限公司);依达拉奉注射液(南京先声东元制药有限公司,10 mg/5 ml);异丙酚注射液(北京费森尤斯卡比医药有限公司);乳酸脱氢酶(LDH)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)、考马斯亮蓝蛋白、ATP酶等试剂盒(南京建成生物工程研究所);即用型链霉素-亲和素-生物素-过氧化物酶(SABC)免疫组化试剂盒、神经元特异性烯醇化酶(NSE)、膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素(AnnexinV-FITC,武汉博士德生物工程有限公司);3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒(北京中山生物技术公司)。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2012.05.008

基金项目:贵州省科技基金项目(20092216)

作者单位:471002 河南省洛阳正骨医院麻醉科(姚娜为贵阳医学院硕士研究生);550004 贵州,贵阳医学院附属医院重症医学科(王迪芬);贵州省第二人民医院重症医学科(宋曦为贵阳医学院硕士研究生);贵阳医学院电镜室(刘鲜林)

通信作者:王迪芬,Email:dfwang6@yahoo.com.cn

本研究中动物处置方法符合动物伦理学标准。

**1.2 乳鼠大脑皮质神经细胞的原代培养及鉴定<sup>[4]</sup>:**制备SD乳鼠大脑皮质单细胞悬液,计数细胞,加培养基将细胞浓度调成 $(1 \sim 10) \times 10^5/\text{ml}$ ,接种于细胞培养瓶,按文献方法进行细胞的原代培养、孵育,接种48h后用阿糖胞苷培养基换液,抑制胶质细胞及纤维细胞生长,培养至7d取出,用NSE抗体即用型SABC进行免疫组化染色鉴定神经元。

**1.3 实验分组及药物预处理:**按随机数字表法将体外原代培养乳鼠脑皮质细胞分为空白对照组、谷氨酸损伤组、药物预处理24h对照组及药物预处理24、2、0h组6组,脑皮质细胞体外培养7d。各药物预处理组分别于谷氨酸损伤前24、2、0h用含 $100 \mu\text{mol/L}$ 依达拉奉和 $3 \text{ mg/L}$ 异丙酚两种药物培养基联合预处理原代培养的神经细胞,观察其保护效应。

**1.4 谷氨酸毒性脑皮质细胞I/R损伤模型建立<sup>[5]</sup>:**将体外培养8d的脑皮质神经细胞经各药物预处理后,均加入含终浓度为 $200 \mu\text{mol/L}$ 谷氨酸的无血清培养基作用0.5h,然后再用含10%胎牛血清的DMEM/F12培养基继续培养24h,细胞生长至9d时用于检测。

## 1.5 检测指标及方法

**1.5.1 神经细胞存活率测定:**采用四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法测定吸光度(A)值,计算细胞存活率(药物组A值/空白对照组A值 $\times 100\%$ )。

**1.5.2 神经细胞凋亡率测定:**采用Annexin V-FITC和FITC/碘化丙啶(PI)双染法,用流式细胞仪检测。

**1.5.3 SOD活性测定:**应用黄嘌呤氧化酶法,参照试剂盒说明书测定A值,计算总SOD活性。

**1.5.4 MDA含量测定:**参照试剂盒说明书,应用硫代巴比妥酸法(TBA)测定A值,计算MDA含量。

**1.5.5 LDH漏出率测定:**参照试剂盒说明书用酶标仪测定A值,计算细胞培养液LDH漏出率[培养液A值/(培养液A值+细胞内A值) $\times 100\%$ ]。

**1.5.6  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP酶活性测定:**膜蛋白含量测定用考马斯亮蓝蛋白测定法。参照试剂盒说明书分别测定各孔A值,按公式计算 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP酶活性。

**1.6 统计学处理:**用SPSS 13.0统计软件进行数据

处理,计量指标以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,行方差分析和  $q$  检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 大脑皮质神经细胞鉴定(图 1):**NSE 免疫组化染色见绝大部分细胞胞质及突起呈棕黄色阳性染色,即为大脑皮质细胞。

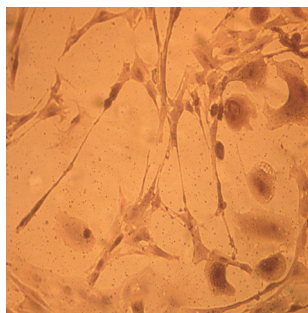


图 1 光镜下观察离体培养 SD 乳鼠脑皮质神经细胞胞质呈棕黄色阳性染色 免疫组化 高倍放大

**2.2 神经细胞存活率(表 1):**谷氨酸损伤组神经细胞存活率较空白对照组显著下降( $P < 0.01$ );药物预处理后神经细胞存活率较谷氨酸损伤组明显升高,并呈时间依赖性,以预处理 24 h 组最为明显( $P < 0.01$ )。而预处理对照组则与空白对照组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.3 神经细胞凋亡率(表 1):**谷氨酸损伤组神经细胞凋亡率较空白对照组显著增高( $P < 0.01$ );药物预处理后神经细胞凋亡率较谷氨酸损伤组明显下降,并呈时间依赖性,以预处理 24 h 组最为明显( $P < 0.01$ )。而预处理对照组则与空白对照组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.4 SOD 活性、MDA 含量(表 1):**与空白对照组比较,谷氨酸损伤组 SOD 活性明显下降,MDA 含量明显增高(均  $P < 0.01$ );药物预处理后 SOD 活性较谷氨酸损伤组明显升高,MDA 含量较谷氨酸损伤组明显下降( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),并呈时间依赖性,以预处理 24 h 组最为明显(均  $P < 0.01$ )。而预处理对

照组则与空白对照组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.5 LDH 漏出率(表 1):**谷氨酸损伤组 LDH 漏出率较空白对照组显著增高( $P < 0.05$ );药物预处理后 LDH 漏出率较谷氨酸损伤组明显下降( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),并呈时间依赖性,以预处理 24 h 组最为明显( $P < 0.01$ )。而预处理对照组与空白对照组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.6  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活性(表 1):**谷氨酸损伤组神经细胞  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活性较空白对照组显著下降( $P < 0.01$ );药物预处理后  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活性较谷氨酸损伤组明显升高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ),并呈时间依赖性,以预处理 24 h 组最为明显( $P < 0.01$ )。而预处理对照组则与空白对照组差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

脑 I/R 损伤的机制主要有<sup>[6]</sup>:①兴奋性氨基酸毒性作用;②自由基损伤;③细胞内钙超载;④酸中毒;⑤细胞凋亡;⑥炎症免疫反应蛋白酶激活;⑦线粒体功能异常;⑧蛋白合成及基因表达的变化等。本课题组前期的研究已证明,依达拉奉、异丙酚预处理均具有脑保护作用<sup>[7]</sup>。本实验中将两药联合预处理,各项指标检测结果显示呈现较好的保护效应,以药物预处理 24 h 组改变最明显。提示依达拉奉与异丙酚两药联合预处理可减轻 I/R 损伤,以提前 24 h 联合预处理效果最佳。这可能与保护作用第二时间窗效应有关<sup>[8-9]</sup>,其机制可能是通过调节凋亡相关基因表达,减少体外细胞培养过程中生理性细胞凋亡<sup>[9]</sup>。提示依达拉奉、异丙酚联合预处理对离体培养的神经元产生的效应大于预测效应,起到协同作用。

依达拉奉为自由基清除剂。有研究显示,依达拉奉通过清除途径施加早期自由基和晚期的消炎作用起到神经保护作用<sup>[10-13]</sup>;单次静脉输注依达拉奉 3 mg/kg 或 10 mg/kg,即刻或 1 h 对大鼠脑 I/R 疗效是有限的<sup>[14-15]</sup>。本课题组前期研究表明,异丙酚与

表 1 依达拉奉与异丙酚联合预处理对 SD 乳鼠离体脑皮质细胞 I/R 损伤后神经细胞存活率、凋亡率、SOD 活性、MDA 含量、LDH 漏出率及  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$  酶活性的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	细胞存活率(%)	细胞凋亡率(%)	SOD(U/ml)	MDA(nmol/ml)	LDH 漏出率(%)	$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性( $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ )
空白对照组	90.5 ± 14.8(20)	6.1 ± 0.2(8)	29.569 ± 3.684(8)	0.294 ± 0.105(8)	36.8 ± 4.6(8)	0.636 ± 0.168(8)
谷氨酸损伤组	62.2 ± 23.4(20) <sup>a</sup>	9.4 ± 0.7(8) <sup>a</sup>	6.864 ± 2.872(8) <sup>a</sup>	0.515 ± 0.101(8) <sup>a</sup>	41.2 ± 1.6(8) <sup>b</sup>	0.318 ± 0.146(8) <sup>a</sup>
预处理对照组	93.2 ± 5.2(20) <sup>d</sup>	6.0 ± 0.3(8) <sup>d</sup>	30.996 ± 5.841(8) <sup>d</sup>	0.270 ± 0.101(8) <sup>d</sup>	36.1 ± 2.2(8) <sup>d</sup>	0.652 ± 0.066(8) <sup>d</sup>
预处理 24 h 组	89.2 ± 30.3(20) <sup>d</sup>	6.7 ± 0.4(8) <sup>d</sup>	17.780 ± 4.514(8) <sup>d</sup>	0.319 ± 0.101(8) <sup>d</sup>	37.2 ± 1.4(8) <sup>d</sup>	0.541 ± 0.052(8) <sup>d</sup>
预处理 2 h 组	81.5 ± 19.0(20) <sup>d</sup>	7.3 ± 0.2(8) <sup>d</sup>	13.843 ± 2.159(8) <sup>d</sup>	0.412 ± 0.001(8) <sup>c</sup>	39.4 ± 0.9(8) <sup>c</sup>	0.450 ± 0.008(8) <sup>c</sup>
预处理 0 h 组	77.0 ± 29.0(20)	8.9 ± 0.3(8)	10.173 ± 3.470(8)	0.466 ± 0.101(8)	39.9 ± 2.2(8)	0.357 ± 0.086(8)

注:I/R:缺血/再灌注,SOD:超氧化物歧化酶,MDA:丙二醛,LDH:乳酸脱氢酶;与空白对照组比较,<sup>a</sup> $P < 0.01$ ,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与谷氨酸损伤组比较,<sup>c</sup> $P < 0.05$ ,<sup>d</sup> $P < 0.01$ ;括号内为动物数

依达拉奉同样具有类似抗氧化自由基作用,其机制可能为减少自由基的生成<sup>[16]</sup>;异丙酚通过抑制自由基介导脂质过氧化反应,可以提高内源性 SOD 的活性,有效阻断 MDA 的积聚<sup>[17]</sup>;还可以通过提高组织 ATP 酶的活性,调节细胞功能抑制钙超载,激活  $\gamma$ -氨基丁酸(GABA)受体,减少缺血、缺氧导致的兴奋性氨基酸(EAA)释放,加快再灌注期 EAA 清除而产生脑保护效应<sup>[18-19]</sup>;异丙酚还可以直接抑制 N-甲基-D- 门冬氨酸受体(NMDAR)活性,通过降低 EAA 浓度来减轻 NMDAR 活化所致的脑缺血性损伤<sup>[20]</sup>。

调节细胞凋亡的途径目前主要有 3 种:细胞内部信号触发的凋亡——线粒体途径;细胞外部信号触发的凋亡——死亡受体途径(TNFR 途径);内质网相关的凋亡——诱导途径<sup>[21]</sup>。对中枢神经系统较重要的是线粒体途径。依达拉奉可显著减弱内质网应激反应性凋亡途径,通过抑制线粒体膜通透性转运孔(MPTP)开放,阻止细胞坏死和细胞色素 C 释放,从而减少凋亡的发生<sup>[22]</sup>。Rajesh 等<sup>[23]</sup>证实,依达拉奉能抑制大鼠心脏缺血、缺氧后 MPTP 的开放,上调凋亡抑制蛋白 Bcl-2 的表达。异丙酚通过抑制线粒体 MPTP 的开放发挥抗凋亡的作用<sup>[24]</sup>。

本课题组前期研究表明,异丙酚预处理神经保护治疗可以延长再灌注时间窗(1~48 h)<sup>[8]</sup>;本实验结果显示,依达拉奉联合异丙酚预处理对乳鼠离体脑皮质细胞 I/R 损伤有明显的协同保护作用,以 24 h 作为时间窗进行药物联合预处理的脑保护作用最为明显。这为临床治疗提供了一定的参考,具体深入分子机制有待进一步研究。

#### 参考文献

- [1] Kitagawa K, Matsumoto M, Tagaya M, et al. 'Ischemic tolerance' phenomenon found in the brain. *Brain Res*, 1990, 528: 21-24.
- [2] 王启弘, 周良辅. 脑缺血预处理的脑保护作用. *中国临床神经科学*, 2005, 13: 213-217.
- [3] 王雪松, 左宪华, 王文红, 等. 依达拉奉治疗急性高血压脑出血临床观察. *中国中西医结合急救杂志*, 2010, 17: 182.
- [4] 高亚兵, 丁爱石. 神经细胞培养 // 彭瑞云, 王德文. *实验细胞学*. 北京: 军事医学科学出版社, 2008: 37-44.
- [5] 刘辉, 王迪芬, 付江泉. 异丙酚和依达拉奉对脑缺血 / 再灌注损伤保护作用的研究比较. *中国危重病急救医学*, 2008, 20: 691-692.
- [6] 程道宾, 孙圣刚, 陈小武, 等. 局灶性脑缺血预处理对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用及其机制. *广西医科大学学报*, 2007, 24: 199-201.
- [7] 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. *中国危重病急救医学*, 2010, 22: 226-229.
- [8] 陈冀衡, 王迪芬, 安裕文, 等. 异丙酚预处理对脑缺血再灌注损伤的保护作用. *中华麻醉学杂志*, 2001, 21: 355-357.
- [9] 谢久东, 王迪芬. 利多卡因与神经生长因子预处理对沙土鼠脑缺血 / 再灌注损伤的保护作用. *中国危重病急救医学*, 2010, 22: 234-237.
- [10] Tanaka M. Pharmacological and clinical profile of the free radical scavenger edaravone as a neuroprotective agent. *Nihon Yakurigaku Zasshi*, 2002, 119: 301-308.
- [11] Edaravone Acute Infarction Study Group. Effect of a novel free radical scavenger, edaravone (MCI-186), on acute brain infarction: randomized, placebo-controlled, double-blind study at multicenters. *Cerebrovasc Dis*, 2003, 15: 222-229.
- [12] Tabrizchi R. Edaravone Mitsubishi-Tokyo. *Curr Opin Investig Drugs*, 2000, 1: 347-354.
- [13] Zhang N, Komine-Kobayashi M, Tanaka R, et al. Edaravone reduces early accumulation of oxidative products and sequential inflammatory responses after transient focal ischemia in mice brain. *Stroke*, 2005, 36: 2220-2225.
- [14] Yamamoto Y, Yanagisawa M, Tak NW, et al. Repeated edaravone treatment reduces oxidative cell damage in rat brain induced by middle cerebral artery occlusion. *Redox Rep*, 2009, 14: 251-258.
- [15] 赵雅宁, 郭霞, 高俊玲, 等. 依达拉奉对大鼠重型弥漫性脑创伤后细胞外信号调节激酶 1/2 信号通路的影响. *中国危重病急救医学*, 2010, 22: 230-233.
- [16] Cheng YJ, Wang YP, Chien CT, et al. Small-dose propofol sedation attenuates the formation of reactive oxygen species in tourniquet-induced ischemia-reperfusion injury under spinal anesthesia. *Anesth Analg*, 2002, 94: 1617-1620.
- [17] Yoo KY, Yang SY, Lee J, et al. Intracoronary propofol attenuates myocardial but not coronary endothelial dysfunction after brief ischaemia and reperfusion in dogs. *Br J Anaesth*, 1999, 82: 90-96.
- [18] 陈华永, 李丽. 异丙酚对大鼠脑缺血再灌注损伤线粒体能量代谢的影响. *中华神经医学杂志*, 2010, 9: 905-908.
- [19] Zhou W, Fontenot HJ, Liu S, et al. Modulation of cardiac calcium channels by propofol. *Anesthesiology*, 1997, 86: 670-675.
- [20] Yoshida H, Yanai H, Namiki Y, et al. Neuroprotective effects of edaravone: a novel free radical scavenger in cerebrovascular injury. *CNS Drug Rev*, 2006, 12: 9-20.
- [21] 苏吉春, 王延华, 邹晓莉. 细胞凋亡 // 王延华, 齐建国. *组织细胞化学理论与技术*. 北京: 科学出版社, 2005: 160-164.
- [22] Qi X, Okuma Y, Hosoi T, et al. Edaravone protects against hypoxia/ischemia-induced endoplasmic reticulum dysfunction. *J Pharmacol Exp Ther*, 2004, 311: 388-393.
- [23] Rajesh KG, Sasaguri S, Suzuki R, et al. Antioxidant MCI-186 inhibits mitochondrial permeability transition pore and upregulates Bcl-2 expression. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003, 285: H2171-2178.
- [24] Halestrap Ap, Clarke SJ, Javadov SA. Mitochondrial permeability transition pore opening during myocardial reperfusion——a target for cardioprotection. *Cardiovasc Res*, 2004, 61: 372-385.

(收稿日期: 2011-12-06) (本文编辑: 李银平)