

红景天苷联合亚低温对大鼠脑缺血 / 再灌注损伤后神经细胞形态与功能的影响

杨文博 董河 刘陕岭 蒋丽丽 贾彦芳 黄辉 周赞官

(青岛大学附属医院麻醉科, 山东 青岛 266003)

【摘要】目的 探讨红景天苷联合亚低温对大鼠全脑缺血 / 再灌注 (I/R) 损伤后神经细胞形态和功能的影响及其作用机制。**方法** 选择雄性 Wistar 大鼠 150 只, 按随机数字表法分为假手术组、模型组、单纯红景天苷治疗组、单纯亚低温治疗组、红景天苷联合亚低温治疗组, 每组 30 只。单纯红景天苷治疗组和红景天苷联合亚低温治疗组制模前 7 d 于同一时间腹腔注射红景天苷 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$, 最后一次给药 30 min 后建立全脑缺血模型; 假手术组、模型组、单纯亚低温治疗组制模前 7 d 同一时间腹腔注射等量生理盐水。采用改良 Pusinelli 四动脉阻断法建立全脑缺血模型, 缺血 10 min 后实现再灌注; 假手术组仅暴露双侧翼孔及游离颈总动脉, 不凝闭椎动脉和夹闭颈总动脉。假手术组、模型组、单纯红景天苷治疗组保持肛温 $36.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$; 单纯亚低温治疗组和红景天苷联合亚低温治疗组大鼠迅速放入 $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 环境使肛温降至 $32 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 并维持 2 h。再灌注 24 h 后观察各组大鼠神经功能缺损程度评分 (NDS)、脑组织含水量及海马区脑组织细胞形态、超氧化物歧化酶 (SOD) 活性、丙二醛 (MDA) 含量。**结果** 与假手术组比较, 模型组 NDS、SOD 均明显降低 [NDS (分): 50.70 ± 1.64 比 76.70 ± 1.34 , SOD (U/mg): 55.14 ± 9.07 比 122.10 ± 10.16], 脑组织含水量、MDA 均明显升高 [脑含水量: $(87.41 \pm 0.83)\%$ 比 $(78.30 \pm 0.75)\%$, MDA (nmol/mg): 5.96 ± 0.28 比 3.59 ± 0.20 , 均 $P < 0.05$]。显微镜下观察到模型大鼠海马区细胞排列散乱, 大量锥体细胞体积缩小, 核固缩、深染及胞质嗜伊红, 细胞间隙明显增大, 胞质呈空泡样变, 正常神经元数量显著减少; 3 个治疗组海马区细胞变性程度明显减轻。与模型组比较, 单纯红景天苷治疗组、单纯亚低温治疗组、红景天苷联合亚低温治疗组 NDS、SOD 均明显升高 (NDS 分别为 59.00 ± 1.72 、 60.40 ± 1.51 、 66.40 ± 1.51 , SOD 分别为 84.22 ± 8.88 、 83.58 ± 8.39 、 104.16 ± 8.81), 脑组织含水量、MDA 均明显降低 [脑组织含水量分别为 $(84.56 \pm 0.42)\%$ 、 $(83.94 \pm 0.36)\%$ 、 $(80.78 \pm 0.31)\%$, MDA 分别为 5.03 ± 0.22 、 4.99 ± 0.28 、 4.58 ± 0.25 , 均 $P < 0.05$], 且以红景天苷联合亚低温治疗组变化程度较单纯红景天苷治疗组、单纯亚低温治疗组更显著 [NDS (分): 66.40 ± 1.51 比 59.00 ± 1.72 、 60.40 ± 1.51 , 脑组织含水量: $(80.78 \pm 0.31)\%$ 比 $(84.56 \pm 0.42)\%$ 、 $(83.94 \pm 0.36)\%$, SOD (U/mg): 104.16 ± 8.81 比 84.22 ± 8.88 、 83.58 ± 8.39 , MDA (nmol/mg): 4.58 ± 0.25 比 5.03 ± 0.22 、 4.99 ± 0.28 , 均 $P < 0.05$]。**结论** 红景天苷和亚低温对大鼠全脑 I/R 损伤均有保护作用, 且二者联合保护作用更佳, 其机制可能与抗自由基损伤有关。

【关键词】 缺血 / 再灌注损伤, 脑; 红景天苷; 亚低温; 氧化损伤; 氧自由基; 大鼠

Effects of salidroside combined with mild hypothermia on neuron modality and function in rats with cerebral ischemia/reperfusion injury Yang Wenbo, Dong He, Liu Shanling, Jiang Lili, Jia Yanfang, Huang Hui, Zhou Zangong. Department of Anesthesiology, Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong, China
Corresponding author: Dong He, Email: donghe1987@163.com

【Abstract】Objective To investigate the effects of salidroside combined with mild hypothermia on neuron modality and function in rats with cerebral ischemia/reperfusion (I/R) injury. **Methods** 150 male Wistar rats were divided into 5 groups: sham operation, model, simple salidroside treatment (sal group), pure mild hypothermia treatment (mild group) and the salidroside combined with mild hypothermia therapy groups (sal+mild group) according to random number table method, 30 in each group. The rats in the sal group and sal+mild group were intraperitoneally injected with salidroside $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ at the same time, 7 days before modeling, and at 30 minutes after the last time of drug administration, the whole brain ischemia model was performed. The rats in the sham operation group, model group and mild group were intraperitoneally injected with the same amount of normal saline at the same time, 7 days before modeling. The improved Pusinelli four artery block method was used to set up a whole brain ischemia model by ischemia for 10 minutes and then reperfusion was carried out; The rats in the sham operation group were operated with exposing bilateral pterygoid foramina and free common carotid arteries without cauterizing vertebral artery and clipping common carotid arteries. The anal temperature of rats in sham operation, model and sal groups were maintained at $36.5 \text{ }^{\circ}\text{C}$, while the anal temperature of rats in mild group and sal+mild group were maintained at $32 \text{ }^{\circ}\text{C}$ for 2 hours by quickly putting the rats into $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$ environment. After reperfusion for 24 hours, the neural deficiency score (NDS) was evaluated,

cerebral water content, hippocampus cell morphology, superoxide dismutase (SOD) activity and malondialdehyde (MDA) content were observed in each group. **Results** Compared with sham operation group, NDS and SOD in the model group were significantly reduced [NDS: 50.70 ± 1.64 vs. 76.70 ± 1.34 ; SOD (U/mg): 55.14 ± 9.07 vs. 122.10 ± 10.16], while the cerebral water content and the MDA were markedly increased [the cerebral water content: $(87.41 \pm 0.83) \%$ vs. $(78.30 \pm 0.75) \%$; MDA (nmol/mg): 5.96 ± 0.28 vs. 3.59 ± 0.20 , both $P < 0.05$]. Under microscope, in the rats of model group, the hippocampus cells were disorderly arranged, the volume of pyramidal cell was shrank in a large number with nuclear pyknosis, deep staining and cytoplasm eosinophilic, the intercellular space became larger obviously, the cytoplasm represented vacuole like changes and the normal neuron number was significantly reduced; the hippocampus cell degeneration in the rats of other 3 treatment groups was obviously milder. Compared with the model group, the NDS and SOD in the sal group, the mild group, and the sal+mild group were significantly increased (NDS respectively were 59.00 ± 1.72 , 60.40 ± 1.51 , 66.40 ± 1.51 ; SOD respectively were 84.22 ± 8.88 , 83.58 ± 8.39 , 104.16 ± 8.81), while the cerebral water content and MDA were significantly reduced [the cerebral water content respectively were $(84.56 \pm 0.42) \%$, $(83.94 \pm 0.36) \%$, $(80.78 \pm 0.31) \%$, MDA respectively were 5.03 ± 0.22 , 4.99 ± 0.28 , 4.58 ± 0.25 , all $P < 0.05$], the changes in sal+mild group were more significant than those in either sal group or the mild group [NDS: 66.40 ± 1.51 vs. 59.00 ± 1.72 , 60.40 ± 1.51 , the brain water content: $(80.78 \pm 0.31) \%$ vs. $(84.56 \pm 0.42) \%$, $(83.94 \pm 0.36) \%$, SOD (U/mg): 104.16 ± 8.81 vs. 84.22 ± 8.88 , 83.58 ± 8.39 , MDA (nmol/mg): 4.58 ± 0.25 vs. 5.03 ± 0.22 , 4.99 ± 0.28 , all $P < 0.05$]. **Conclusions** Both salidroside and mild hypothermia have protective effect on rat whole brain I/R injury, and the therapeutic effect of combination of the two is better than either one of them, and the mechanism is possibly related to anti-free radical injury.

【Key words】 Cerebral ischemia/reperfusion injury; Salidroside; Mild hypothermia; Oxidation damage; Oxygen free radical; Rat

缺血性脑血管病已成为有较高致死率和致残率的主要疾病之一^[1],寻找简单可靠的脑保护措施是临床研究的重要课题。低温技术对脑缺血/再灌注(I/R)损伤有一定保护作用^[2-3],且随着温度降低保护效果也进一步加强^[4]。但深低温技术不仅操作复杂,还存在一定的副作用^[5],所以目前临床上多采用亚低温技术^[6]。是否有既能增强亚低温脑保护效果又不增加副作用的简便方法,值得临床探索。研究显示,中医药在脑 I/R 损伤的治疗过程中具有明显的效果^[7-9],而且中药联合亚低温技术对脑 I/R 损伤的疗效已经得到证实^[10]。中药红景天具有抗辐射、抗氧化衰老等作用^[11],单纯使用红景天具有脑保护作用^[12],但将其联合亚低温使用是否能增强亚低温的脑保护效果尚未见报道。本研究观察红景天联合亚低温技术对大鼠全脑 I/R 损伤后神经形态及功能的影响并探讨其作用机制,报道如下。

1 材料与方法

1.1 主要材料:注射用红景天苷 20 mg/mL 由美仑生物有限公司生产,纯度大于 98%,使用前用生理盐水配成所需质量浓度。超氧化物歧化酶(SOD)活性检测试剂盒、丙二醛(MDA)含量检测试剂盒均购于碧云天生物技术有限公司。

1.2 动物分组与模型复制:健康成年雄性 Wistar 大鼠 150 只,体质量(250.0 ± 10.4)g,由青岛实验动物中心提供,许可证号:SCXK 鲁 20150010。将大鼠按随机数字表法分为假手术组、模型组、单纯红景天苷治疗组、单纯亚低温治疗组、红景天苷联合亚低

温治疗组 5 组,每组 30 只。采用改良 Pusinelli 四动脉阻断法(4VO)^[13]复制全脑缺血模型。腹腔注射 10% 水合氯醛(3.5 mL/kg)麻醉大鼠,俯卧位固定,暴露双侧翼孔,用烧灼器(电烙铁改良)永久凝闭双侧椎动脉;分离双侧颈总动脉并放置丝线留活结。24 h 大鼠清醒后监测脑电图,打开颈前切口并暴露双侧颈总动脉,用无创血管夹暂时夹闭双侧颈总动脉,造成全脑缺血,以夹闭颈总动脉后 30~60 s 大鼠出现意识丧失、眼球变白、瞳孔散大及脑电图呈直线为制模成功的标志,10 min 后开放双侧颈动脉再灌注开始,缝合切口。假手术组仅暴露双侧翼孔及游离颈总动脉,不凝闭椎动脉和夹闭颈总动脉。

1.3 分组处理方法:单纯红景天苷治疗组和红景天苷联合亚低温治疗组制模前 7 d 于固定时间腹腔注射红景天苷 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$,于最后一次给药 30 min 后复制全脑缺血模型。假手术组、模型组、单纯亚低温治疗组制模前 7 d 腹腔注射等量生理盐水。假手术组、模型组、单纯红景天苷治疗组肛温均保持在 $36.5 \text{ }^\circ\text{C}$,将单纯亚低温治疗组和红景天苷联合亚低温治疗组大鼠迅速放入 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 环境使肛温降至 $32 \text{ }^\circ\text{C}$ 并维持 2 h。

1.4 伦理学:本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.5 检测指标及方法:于再灌注 24 h 后检测下列指标。

1.5.1 神经功能学评分:各组取 10 只大鼠,处死前采用 Geocadin 等^[14]制定的神经功能缺损程度评

分(NDS),从一般行为、脑干功能、双侧肢体运动、感觉、平衡运动能力、行为及有无癫痫发作 7 个方面来评分,最低 0 分,满分 80 分。

1.5.2 脑组织含水量检测:完成 NDS 评分后,腹腔注射 10% 水合氯醛 5 mL/kg 麻醉大鼠后立即处死,取脑称湿质量,放入 100 °C 干燥箱内恒温 24 h,称干质量,根据公式 [15] 计算脑含水量 [含水量 (%) = (湿质量 - 干质量) / 湿质量 × 100%]。

1.5.3 脑组织细胞形态学观察:各组取 10 只大鼠,腹腔注射 10% 水合氯醛 5 mL/kg 麻醉大鼠,用 4% 多聚甲醛磷酸盐缓冲液 (PBS) 进行心脏灌注,断头取脑,于视交叉后 1 ~ 4 mm 冠状面切开,取中间脑组织,多聚甲醛 PBS 固定,蒸馏水洗涤,梯度乙醇脱水、二甲苯透明、石蜡包埋,于海马齿状互包平面连续冠状切片,室温保存。每只大鼠取 3 张切片常规脱蜡后行苏木素 - 伊红 (HE) 染色,显微镜下观察海马区神经元形态学改变。

1.5.4 海马区 SOD 活性及 MDA 含量的测定:每组取 10 只大鼠,腹腔注射 10% 水合氯醛 5 mL/kg 麻醉,快速冰上断头取脑,分离海马组织, PBS 制成组织匀浆液后,离心取上清液,用水溶性四唑盐 -8 (WST-8) 法检测 SOD 活性,用硫代巴比妥酸 (TBA) 法测定 MDA 含量,操作严格按试剂盒说明书的步骤进行。

1.6 统计学方法:使用 SPSS 20.0 软件进行处理数据,计量数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,所获数据经正态分布检验和方差齐性检验,组间和组内比较采用单因素方差分析 (ANOVA) 和 LSD-*t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 NDS 比较 (表 1):与假手术组比较,制模后各组大鼠 NDS 均有不同程度的降低,以模型组降低最为显著;与模型组比较,单纯红景天苷治疗组、单纯亚低温治疗组、红景天苷联合亚低温治疗组 NDS 均升高;而红景天苷联合亚低温治疗组 NDS

明显高于单纯红景天苷治疗组和单纯亚低温治疗组 (均 $P < 0.05$)。

表 1 各组再灌注 24 h 后 NDS、脑组织含水量比较 ($\bar{x} \pm s$)

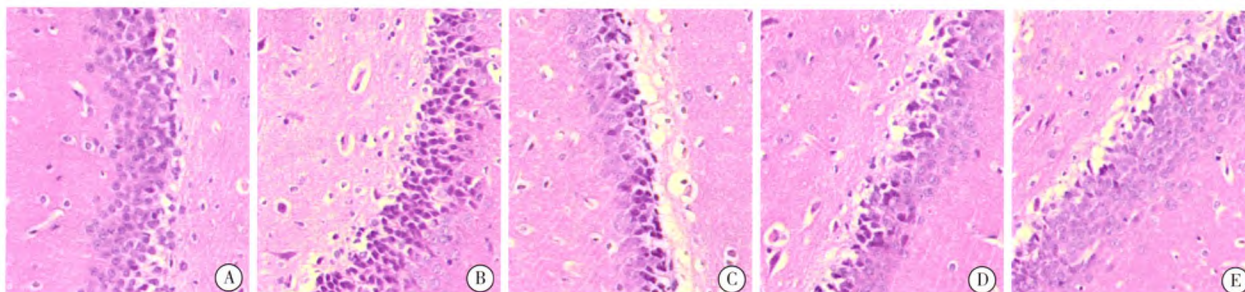
组别	动物数 (只)	NDS (分)	脑组织含水量 (%)
假手术组	10	76.70 ± 1.34	78.30 ± 0.75
模型组	10	50.70 ± 1.64 ^a	87.41 ± 0.83 ^a
单纯红景天苷治疗组	10	59.00 ± 1.72 ^{ab}	84.56 ± 0.42 ^{ab}
单纯亚低温治疗组	10	60.40 ± 1.51 ^{ab}	83.94 ± 0.36 ^{ab}
红景天苷联合亚低温治疗组	10	66.40 ± 1.51 ^{abc}	80.78 ± 0.31 ^{abc}

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与单纯红景天苷治疗组和单纯亚低温治疗组比较,^c $P < 0.05$

2.2 各组脑组织含水量比较 (表 1):与假手术组比较,制模后各组脑组织含水量均增加;与模型组比较,单纯红景天苷治疗组、单纯亚低温治疗组、红景天苷联合亚低温治疗组脑组织含水量均降低;而红景天苷联合亚低温治疗组的脑组织含水量低于单纯红景天苷治疗组及单纯亚低温治疗组 (均 $P < 0.05$)。

2.3 各组脑组织细胞形态学观察 (图 1):I/R 损伤后,大鼠海马区细胞排列散乱,大量锥体体积缩小,核固缩、深染及胞质嗜伊红,细胞间隙明显增大,胞质呈空泡样变,正常神经元数量显著减少。单纯红景天苷治疗组、单纯亚低温治疗组和红景天苷联合亚低温治疗组正常神经元数量均较模型组增多,以红景天苷联合亚低温治疗组正常神经元增多趋势更为明显。

2.4 各组海马区 SOD 活性及 MDA 含量比较 (表 2):与假手术组比较,模型组海马区 SOD 活性明显下降,MDA 含量明显增加;与模型组比较,单纯红景天苷治疗组、单纯亚低温治疗组和红景天苷联合亚低温治疗组 SOD 活性均明显增加,MDA 含量均降低;以红景天苷联合亚低温治疗组的效果更佳 (均 $P < 0.05$)。



A 为假手术组; B 为模型组; C 为单纯红景天苷治疗组; D 为单纯亚低温治疗组; E 为红景天苷联合亚低温治疗组

图 1 各组再灌注 24 h 大鼠海马区脑组织细胞形态学观察 (HE 染色 中倍放大)

表 2 各组再灌注 24 h 后海马区 SOD 活性及 MDA 含量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	SOD 活性 (U/mg)	MDA (nmol/mg)
假手术组	10	122.10 ± 10.16	3.59 ± 0.20
模型组	10	55.14 ± 9.07 ^a	5.96 ± 0.28 ^a
单纯红景天苷治疗组	10	84.22 ± 8.88 ^{ab}	5.03 ± 0.22 ^{ab}
单纯亚低温治疗组	10	83.58 ± 8.39 ^{ab}	4.99 ± 0.28 ^{ab}
红景天苷联合亚低温治疗组	10	104.16 ± 8.81 ^{abc}	4.58 ± 0.25 ^{abc}

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$;与单纯红景天苷治疗组和单纯亚低温治疗组比较,^c $P < 0.05$

3 讨论

I/R 损伤是一个复杂的病理生理过程,包括缺血性的原发性损伤和再灌注的继发性损伤,其主要机制有线粒体损伤、钙超载、氧自由基大量蓄积、炎症反应及细胞凋亡等^[16],其中自由基过量蓄积是造成脑 I/R 后神经组织损伤的重要环节之一^[17-18]。自由基与生物大分子,如膜上的不饱和脂肪酸反应,可形成脂质过氧化物如 MDA,引起蛋白质、核酸等聚合,具有细胞毒性。正常情况下,体内的自由基消除系统,包括酶类成分如 SOD 和非酶类成分如谷胱甘肽(GSH),会使体内自由基的生成与消除呈平衡状态,但在脑缺血时,体内的自由基消除系统受到破坏,平衡状态被打破,引起自由基的过量蓄积,使 SOD 活性和 MDA 含量发生变化。本实验结果显示,模型组大鼠海马区 SOD 活性明显下降,脂质过氧化产物 MDA 含量明显增加,说明脑 I/R 损伤导致海马区自由基产生增加,清除能力下降。

Busto 等^[6]首次提出全身亚低温(32~33℃)具有脑保护作用,使亚低温治疗成为 I/R 损伤后脑保护的焦点。2010 年美国心脏协会心肺复苏及心血管急救指南提出给予心搏骤停后患者亚低温治疗,显示其预后良好^[19]。研究证实,亚低温脑保护治疗的主要机制^[20-22]为:降低脑组织氧耗及代谢;降低高灌注时自由基所致的损伤,并改善迟发性低灌注;抑制炎性物质的释放及炎症反应,避免血脑屏障通透性增加,减轻脑水肿,降低颅内压;促进脑细胞对葡萄糖的利用,维持能量平衡,稳定细胞膜;减轻或消除兴奋性氨基酸释放对脑组织的损伤;抑制 Ca^{2+} 内流,减轻钙超载;抑制细胞凋亡。本实验显示,与模型组相比,单纯亚低温治疗组 SOD 活性增加、MDA 含量降低、脑组织含水量减少、细胞变性程度改善及 NDS 升高,证实亚低温对脑 I/R 损伤有保护作用。

中药红景天最早作为藏药收录在《四部医典》中,研究证实红景天具有抗辐射、抗肿瘤、免疫调节、抗氧化衰老等作用,对脑缺血也有一定的保护作用^[23]。红景天苷是红景天的主要有效成分,红景天苷能提高血液中血红蛋白的数量,增强血红蛋白的携氧能力^[24];可通过抗自由基功能保护神经细胞^[25];通过调节凋亡相关基因的表达,降低神经细胞凋亡及坏死^[26]。本实验结果显示,单纯红景天苷治疗组大鼠 NDS 及 SOD 活性均高于模型组,且脑含水量、细胞变性程度、MDA 含量低于模型组,证实红景天苷对脑 I/R 损伤具有保护作用。

本研究结果表明,红景天苷联合亚低温治疗能使 NDS 增高,脑组织含水量减少,细胞变性程度减轻, SOD 活性增高, MDA 含量降低,且其作用优于单纯红景天苷治疗组或单纯亚低温治疗组,提示红景天苷联合亚低温对 I/R 引起的脑损伤具有协同保护作用,其作用机制可能与抗自由基损伤有关。

综上所述,红景天苷和亚低温均有一定的脑保护作用,且二者联合应用保护效果更加显著,其作用机制可能与抗自由基损伤密切相关。本实验采用的是 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 剂量红景天苷,加大剂量后其脑保护效果是否相应加强,还有待进一步研究。

参考文献

- [1] Yang G, Wang Y, Zeng Y, et al. Rapid health transition in China, 1990–2010: findings from the Global Burden of Disease Study 2010 [J]. Lancet, 2013, 381(9882): 1987–2015.
- [2] Delhay C, Lemesle G. Therapeutic hypothermia and management of sudden death [J]. Ann Cardiol Angeiol, 2012, 61(6): 440–446.
- [3] 汪长胜,霍正禄,杨瑞和,等.沙土鼠短暂性脑缺血后海马 CA1 区细胞凋亡及亚低温的影响[J].中华危重病急救医学, 2000, 12(12): 726–729.
- [4] 王小华,吉冰洋,孙燕华,等.深低温停循环大鼠海马区差异性 miRNAs 表达变化及机制探讨[J].中国体外循环杂志, 2012, 10(2): 114–119.
- [5] Chen SF, Tsai HJ, Hung TH, et al. Salidroside improves behavioral and histological outcomes and reduces apoptosis via PI3K/Akt signaling after experimental traumatic brain injury [J]. PLoS One, 2012, 7(9): e45763.
- [6] Busto R, Dietrich WD, Globus MY, et al. Small differences in intracerebral brain temperature critically determine the extent of ischemic neuronal injury [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1987, 7(6): 729–738.
- [7] 徐江平,孙莉莎,杨雪梅.银杏内酯对大鼠脑缺血/再灌注损伤的保护作用[J].中国中西医结合急救杂志, 2003, 10(1): 31–33.
- [8] 曹建忠,杨光田,刘书山.葛根素对脑缺血/再灌注时海马 CA1 区细胞凋亡和 c-fos 蛋白表达的影响[J].中国中西医结合急救杂志, 2002, 9(4): 238–240.
- [9] 朱冬胜,麻志恒,祝黎,等.不同给药方式对大鼠局部脑缺血/再灌注模型脑组织能量代谢的影响[J].中国中西医结合急救杂志, 2003, 10(6): 366–368.
- [10] 朱小莲,张来柱,陈群,等.山莨菪碱不同方式给药对亚低温治

疗大鼠脑缺血的影响[J]. 中华危重病急救医学, 1999, 11(3): 138-141.

[11] 韩雪娇, 郭娜, 朱美宣, 等. 红景天苷药理作用及其作用机理研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2015, 35(1): 171-175.

[12] Shi TY, Feng SF, Xing JH, et al. Neuroprotective effects of Salidroside and its analogue tyrosol galactoside against focal cerebral ischemia in vivo and H2O2-induced neurotoxicity in vitro [J]. Neurotox Res, 2012, 21(4): 358-367.

[13] Pulsinelli WA, Brierley JB. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat [J]. Stroke, 1979, 10(3): 267-272.

[14] Geocadin RG, Ghodadra R, Kimura T, et al. A novel quantitative EEG injury measure of global cerebral ischemia [J]. Clin Neurophysiol, 2000, 111(10): 1779-1787.

[15] Marmarou A, Poll W, Shulman K, et al. A simple gravimetric technique for measurement of cerebral edema [J]. J Neurosurg, 1978, 49(4): 530-537.

[16] Anderson MF, Sims NR. The effects of focal ischemia and reperfusion on the glutathione content of mitochondria from rat brain subregions [J]. J Neurochem, 2002, 81(3): 541-549.

[17] Stanyer L, Jorgensen W, Hori O, et al. Inactivation of brain mitochondrial Lon protease by peroxynitrite precedes electron transport chain dysfunction [J]. Neurochem Int, 2008, 53(3-4): 95-101.

[18] 杨谦梓, 雷翀, 路志红, 等. JAK-STAT 通路抑制剂和自由基清除剂联合应用对大鼠局灶性脑缺血/再灌注损伤的保护作用研究[J]. 中华危重病急救医学, 2008, 20(11): 641-644.

[19] Field JM, Hazinski MF, Sayre MR, et al. Part 1: executive summary: 2010 American Heart Association Guidelines for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care [J]. Circulation, 2010, 122(18 Suppl 3): S640-656.

[20] Liu X, Wang M, Chen H, et al. Hypothermia protects the brain from transient global ischemia/reperfusion by attenuating endoplasmic reticulum response-induced apoptosis through CHOP [J]. PLoS One, 2013, 8(1): e53431.

[21] Zausinger S, Schöller K, Plesnila N, et al. Combination drug therapy and mild hypothermia after transient focal cerebral ischemia in rats [J]. Stroke, 2003, 34(9): 2246-2251.

[22] Nito C, Kamiya T, Ueda M, et al. Mild hypothermia enhances the neuroprotective effects of FK506 and expands its therapeutic window following transient focal ischemia in rats [J]. Brain Res, 2004, 1008(2): 179-185.

[23] Kucinskaite A, Briedis V, Savickas A. Experimental analysis of therapeutic properties of *Rhodiola rosea* L. and its possible application in medicine [J]. Medicina, 2004, 40(7): 614-619.

[24] 金雪莲. 红景天苷在不同缺氧状况下抗缺氧作用的实验研究[J]. 卫生职业教育, 2012, 30(3): 121-122.

[25] 马天翔, 史宁, 陈乾, 等. 红景天中 8 种成分体外抗氧化作用的比较[J]. 中国药理学通报, 2012, 28(9): 1224-1228.

[26] 祁存芳, 张军峰, 陈新林, 等. 红景天苷通过抑制凋亡相关蛋白的表达保护缺氧对培养神经干细胞的损伤[J]. 南方医科大学学报, 2013, 33(7): 962-966.

(收稿日期: 2015-07-13)
(本文编辑: 李银平)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊对文后参考文献著录格式的要求

《中国中西医结合急救杂志》参考文献的著录格式,基本参照 GB/T 7714-2005《文后参考文献著录规则》执行。采用顺序编码制著录,依照文献在文中出现的先后顺序用阿拉伯数字标出,并将序号置于方括号中,排列于文后。尽量避免引用摘要作为参考文献。引用文献(包括文字和表达的原意)务必请作者与原文核对无误。日文汉字请按日文规定书写,勿与汉字及简化字混淆。同一文献作者不超过 3 人全部著录;超过 3 人可以只著录前 3 人,后依文种加表示“等”的文字(如西文加“et al”,日文加“他”)。作者姓名一律姓氏在前,名字在后,外国人的名字采用首字母缩写形式,缩写名后不加缩写点;不同作者姓名之间用“,”隔开,不用“和”、“and”等连词。引用日期、获取和访问途径为联机文献必须著录的项目。书籍出版项中的出版地(者)有多个时,只著录第一出版地(者)。出版项中的期刊名称,中文期刊用全称;外文期刊名称用缩写,以 Index Medicus 中的格式为准。每条参考文献均须著录起止页码。著录格式示例如下。

- 1 期刊著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 刊名, 年, 卷(期): 起页 - 止页.
- 2 图书著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 版本项(第 1 版不著录). 出版地: 出版者, 出版年: 引文起页 - 止页.
- 3 会议论文汇编(集)著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 出版地: 出版者, 出版年: 引文起页 - 止页.
- 4 析出文献著录格式: 析出文献主要责任者. 析出文献题名[文献类型标志]// 专著、会议文献主要责任者. 专著、会议题名. 版本(第 1 版不著录). 出版地: 出版者, 出版年: 析出文献起页 - 止页.
- 5 学位论文著录格式: 论文作者. 题名[文献类型标志]. 学位授予单位所在城市: 学位授予或论文出版单位, 年份.
- 6 专利文献著录格式: 专利申请者或所有者. 专利题名: 专利国别, 专利号[文献类型标志]. 公告日期或公开日期. 获取和访问路径.
- 7 标准(包括国际标准、国家标准、行业标准等)著录格式: 主要责任者. 标准编号 标准名称[文献类型标志]. 出版地: 出版者, 出版年. 注: 标准编号与标准名称之间留 1 个汉字的空隙.
- 8 报纸文章著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志]. 报纸名, 出版日期(版次). 获取和访问路径.
- 9 电子文献著录格式: 主要责任者. 题名[文献类型标志/文献载体标志, 是必选著录项目]. 出版地: 出版者, 出版年(更新或修改日期)[引用日期]. 获取和访问途径.
- 10 待发表材料: 对于已明确被杂志接受的待发表文献,可以标明期刊及年代,其后标注: 待发表,或 In press.
- 11 以电子版优先发表的文献著录格式: Kurth T, Gaziano JM, Cook NR. Unreported financial disclosures in a study of migraine and cardiovascular disease [J/O]. JAMA, 2006, 296: E1 [2006-09-08]. <http://jama.ama-assn.org/cgi/data/296/3/283/DC1/1> [published online ahead of print July 18, 2006].