

- [4] YANCY C W, JESSUP M, BOZKURT B, et al. 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines [J]. J Am Coll Cardiol, 2013, 62(16): e147-239.
- [5] MCALISTER F A, WIEBE N, EZEKOWITZ J A, et al. Meta-analysis: beta-blocker dose, heart rate reduction, and death in patients with heart failure [J]. Ann Intern Med, 2009, 150(11): 784-794.
- [6] JOHNSON J A, LIGGETT S B. Cardiovascular pharmacogenomics of adrenergic receptor signaling: clinical implications and future directions [J]. Clin Pharmacol Ther, 2011, 89(3): 366-378.
- [7] BIJ M J, VISSER L E, VAN SCHAIK R H, et al. Genetic variation in the CYP2D6 gene is associated with a lower heart rate and blood pressure in beta-blocker users [J]. Clin Pharmacol Ther, 2009, 85(1): 45-50.
- [8] YUAN H, HUANG Z, YANG G, et al. Effects of polymorphism of the beta(1) adrenoceptor and CYP2D6 on the therapeutic effects of metoprolol [J]. J Int Med Res, 2008, 36(6): 1354-1362.
- [9] YUAN H, HUANG Z J, XING X W, et al. Inhibitors of DNA methyltransferase and histone deacetylase regulate the expression of β 1-adrenoceptor gene in myocardial cells [J]. Cell Biol Int, 2008, 32(3): 57-58.
- [10] JIANG Q, YUAN H, HUANG Z, et al. DNA methylation might be the epigenetic molecular mechanism of different therapeutic efficacy of metoprolol in β 1-AR Gene-directed therapy [J]. Med Hypotheses, 2009, 72(3): 364-365.
- [11] HUI H P, LI X Y, PENG J, et al. Intrapericardial injection with a trans-diaphragmatic approach in rats [J]. J Med Postgraduates(医学研究生学报), 2005, 18(10): 231-235.
- [12] ROQUES C, SALMON A, FISZMAN M, et al. Intrapericardial administration of novel DNA formulations based on the rmosensitive Poloxamer 407 gel [J]. Int J Pharm, 2007, 331(2): 220-223.
- [13] LIU X L, XING X W, HUANG L H, et al. Research advances on the role of β 1-adrenergic receptor in heart failure, hypertension and myocardial fibrosis [J]. Chin Pharmacol Bull(中国药理学通报), 2013, 29(12): 1640-1644.
- [14] LIU H, XING X, HUANG L, et al. The expression level of myocardial beta1-adrenergic receptor affects metoprolol antihypertensive effects: a novel mechanism for interindividual difference [J]. Med Hypotheses, 2013, 81(1): 71-72.
- [15] LIU J J, XING X W, YUAN H, et al. Influence on metoprolol antihypertensive effect of β 1-Adrenoceptor gene polymorphism and its methylation [J]. Chin J Arterioscler(中国动脉硬化杂志), 2008, 16(3): 181-184.
- [16] LI Y J, LI N, YANG L, et al. Polymorphisms of Arg389Gly of β 1-adrenergic receptor gene and essential hypertension risk: a meta analysis [J]. Natl Med J China(中华医学杂志), 2011, 91(44): 3115-3119.
- [17] FERRARA N, KOMICI K, CORBI G, et al. β -adrenergic receptor responsiveness in aging heart and clinical implications [J]. Front Physiol, 2014, 4(396): 1-10.
- [18] OLIVER E, ROVIRA E, MONTÓ F, et al. β -Adrenoceptor and GRK3 expression in human lymphocytes is related to blood pressure and urinary albumin excretion [J]. J hypertension, 2010, 28(6): 1281-1289.

收稿日期: 2015-04-01

通心络对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用

闵鹤鸣¹, 刘畅², 吴楠¹, 程雪², 李健², 李想², 姜兴千², 包翠芬^{1*}, 闵连秋²(1. 辽宁医学院基础医学院, 辽宁 锦州 121001; 2. 辽宁医学院附属第一医院, 辽宁 锦州 121001)

摘要: 目的 探讨通心络对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用。方法 将 60 只 SD 大鼠随机分成假手术组、模型组、通心络低、中、高剂量组(0.3, 0.6, 1.2 g·kg⁻¹), 每组 12 只。线栓法制作大鼠脑缺血再灌注模型, 于缺血 30 min 后再灌注, 24 h 后进行神经行为学评分, 采用 TTC 法测量脑梗死体积, HE 染色观察脑组织的病理改变, 免疫组化法观察 Fas 蛋白的表达。结果 与模型组比较, 通心络低、中、高剂量组均能显著改善大鼠的神经系统损伤症状, 缩小脑梗死灶, 明显下调 Fas 蛋白的表达($P < 0.01$); 并且通心络高剂量组与低剂量组比较, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。结论 通心络可通过抑制 Fas 蛋白的表达, 减轻脑缺血后神经功能损伤, 从而保护脑组织。

关键词: 通心络; 脑缺血再灌注损伤; Fas 蛋白

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1007-7693(2015)11-1293-05

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2015.11.002

基金项目: 国家自然科学基金青年基金资助项目(81202783); 辽宁省自然科学基金项目(20092192)

作者简介: 闵鹤鸣, 女, 硕士生 Tel: 18640663915 E-mail: minheming@163.com *通信作者: 包翠芬, 女, 博士, 副教授 Tel: (0416)4197511 E-mail: mianyizuhua@yahoo.com.cn

Protective Effect of Tongxinluo Capsule on Focal Cerebral Ischemia-reperfusion Injury in Rats

MIN Heming¹, LIU Chang², WU Nan¹, CHENG Xue², LI Jian², LI Xiang², JIANG Xingqian², BAO Cuifen^{1*}, MIN Lianqiu²(1.College of Basic Medicine, Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, China; 2.The First Affiliated Hospital of Liaoning Medical University, Jinzhou 121001, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To investigate the protective effect of Tongxinluo capsule on focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. **METHODS** Sixty SD rats were randomly divided into the sham-operative group, ischemia-reperfusion group, Tongxinluo capsule low-dose group(0.3 g·kg⁻¹), medium-dose group(0.6 g·kg⁻¹) and high-dose group(1.2 g·kg⁻¹), respectively (n=12). The ischemia reperfusion model rats were induced using suture-occluded method, 30 min of ischemia-reperfusion. After cerebral ischemia 30 min and reperfusion 24 h, to evaluate the score of neurological behavior, using the TTC method measuring the cerebral infarction volume, HE staining to observe the pathological changes of brain tissue and immunohistochemical method to observe the expression of Fas protein. **RESULTS** Compared with ischemia-reperfusion group, Tongxinluo low, medium and high dose group could significantly improve the symptoms of nervous system damage in rats, reduce cerebral infarcts, Fas protein expression were obviously down-regulated(P<0.01). And compared with Tongxinluo low-dose group, all of them were significantly different in Tongxinluo high-dose group(P<0.05). **CONCLUSION** Tongxinluo capsule can inhibit the expression of Fas protein, alleviate nerve function damage after cerebral ischemia, so as to protect the brain tissue.

KEY WORDS: Tongxinluo; cerebral ischemia-reperfusion injury; Fas protein

脑缺血再灌注损伤是指脑缺血致脑细胞损伤,恢复血液再灌注后,其缺血性损伤反而进一步加重的现象,影响患者的预后和功能恢复,其机制尚不清楚。研究表明,脑缺血再灌注损伤主要与氧化应激反应、炎症反应、钙超载、脑水肿和细胞凋亡等有关,细胞凋亡参与了脑缺血再灌注后神经损伤的形成和发展^[1],是脑缺血再灌注损伤后神经元死亡的重要方式,尤其是迟发性神经元死亡^[2]。如果能够阻止凋亡的发展,就有可能减轻脑缺血再灌注后脑损伤程度,缩小梗死范围。通心络胶囊是在中医络病理论指导下研发的代表性中药复方制剂,由人参、水蛭、全蝎、蜈蚣、赤芍等药物组成,具有益气活血、化瘀通络之功效,广泛用于心脑血管病的治疗,尤其在治疗缺血性脑卒中中取得良好效果^[3]。有研究表明,通心络对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠具有保护作用,推测其机制与其改善线粒体呼吸链功能、增强内源性抗氧化酶活性、减轻脂质过氧化损伤有关^[4-5]。本实验拟通过建立大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤模型,从促凋亡基因 Fas 的角度探讨通心络对脑缺血再灌注损伤的保护作用及其机制。

1 材料与仪器

1.1 试验药物

通心络胶囊,制成超微粉(由人参、水蛭、全蝎、蜈蚣、蝉蜕、赤芍、冰片等组成,批号为 071201),购自石家庄以岭药业股份有限公司,每克超微粉含 1.47 g 生药。

1.2 动物

Sprague-Dawley 大鼠,♀♂各半,共 60 只,体质量(300±20)g,由辽宁医学院实验动物中心提供,许可证号:SCXK(辽)2003-0007。

1.3 试剂

Fas 多克隆抗体(武汉博士德生物制品有限公司,批号:BA0484),TUNEL 法细胞原位凋亡检测试剂盒(德国 Roche 公司,批号:MK1020);其余试剂均为国产分析纯。

1.4 仪器

JY92-II 超声波细胞粉碎机(上海新生物技术研究);S-3800 全自动免疫组化染色仪(美国 DAKOCYTOMSTION);TGLL-18G 台式高速冷冻离心机(太仓市医疗器械厂);CIAS-1000 型图像分析仪(北京大恒图像视觉有限公司)。

2 方法

2.1 动物分组与给药方法

60 只 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组、通心络低、中、高剂量组(剂量分别为 0.3, 0.6, 1.2 g·kg⁻¹),每组 12 只。通心络各剂量组分别给大鼠相应剂量的通心络超微粉溶液灌胃,每天 1 次,共 7 d,末次给药时间在术前 1 h;假手术组、模型组给予等体积生理盐水,疗程和给药方法与通心络组相同。线栓法制备大鼠局灶性脑缺血再灌注模型^[6-7],模型成功的标准为大鼠清醒后出现左侧 Horner 征及对侧以前肢为主的瘫痪,神经行为学评分在 1~3 分^[7]。假手术为仅暴露颈总动脉(common carotid artery, CCA)、颈外动脉(external

carotid artery, ECA)、颈内动脉(internal carotid artery, ICA), 栓线插入 CCA 及 ICA 但不阻断大脑中动脉(middle cerebral artery, MCA), 术前禁食 12 h, 术中及术后维持体温在 37 ℃左右, 术后单笼饲养。各组分别在脑缺血再灌注 24 h 后进行神经行为学评分, 再处死大鼠。

2.2 神经行为学评分

采用 Zea Longa 6 级 5 分制评分标准进行神经行为学评估^[6]。

2.3 HE 染色观察脑组织病理形态

大鼠缺血 30 min, 再灌注 24 h 后麻醉断头取脑, 以视交叉前后两点冠状切片, 片厚约 4 mm, 将脑切片放入 40 g·L⁻¹ 甲醛溶液中固定。常规梯度脱水, 透明, 包埋, 浸蜡, 切片(厚 6 μm), HE 染色, 中性树胶封片, 显微镜下观察组织学变化。

2.4 TUNEL 法检测细胞凋亡情况

参照博士德 TUNEL 细胞凋亡试剂盒步骤, 脑组织石蜡切片脱蜡至水, 3% H₂O₂ 室温处理 10 min, 蒸馏水洗 2 min 连续 3 次, 加 Proteinase K 37 ℃消化 10 min, TBS 洗 2 min 连续 3 次, 加标记液 37 ℃标记 2 h, 加封闭液室温封闭 30 min, 加生物化抗地高辛抗体, 37 ℃反应 30 min, TBS 冲洗 2 min 连续 3 次, 加链霉亲和素-生物素复合物(strept avidin-biotin complex, SABC)37 ℃反应 30 min, TBS 冲洗 5 min 连续 4 次, DAB 显色 10~30 min; 充分冲洗, 苏木素轻度复染, 梯度酒精脱水, 二甲苯透明, 封片固定。于光镜下观察, TUNEL 染色阳性并伴有核染色质浓聚, 核染色质靠边凝集或凋亡小体形成者为凋亡细胞; TUNEL 染色阳性但呈弥漫着色为坏死细胞; TUNEL 染色阴性为正常细胞。光镜下随机选取每张切片梗死周边组织 5 个不重叠视野(400×)输入图像分析系统, 分别记数凋亡细胞个数, 取平均值记为凋亡细胞数。

2.5 脑梗死体积测定^[7]

进行神经行为学评分后将大鼠断头处死, 迅速取出左脑, 去除嗅球、小脑和低位脑干, 于 -20 ℃冰箱中速冻 2 min, 将大脑作连续 2 mm 冠状切片, 共 6 片, 然后将脑片放入 2%氯化三苯基四氮唑(triphenyltetrazolium chloride, TTC)磷酸盐缓冲液中, 37 ℃恒温孵育 1 h, 正常脑组织染色为红色, 梗死灶呈白色。数码相机拍照后, 应用病理图像分析仪测量脑梗死面积。根据公式 $V=(A_1+\dots+A_n)t/2$ 算出梗死体积, 其中 t 为切片厚度,

A 为梗死面积。

2.6 免疫组化法检测大脑皮质缺血半暗带区 Fas 阳性细胞的表达

神经功能缺损评分后, 载体灌流, 断头取脑, 冠状位切取前脑及其后约 4 mm 处的脑组织放于 4%多聚甲醛溶液中固定过夜, 石蜡包埋, 切片, 按试剂盒说明书采用 SABC 法进行免疫组化染色, 严格参照武汉博士德生物试剂公司说明书操作。Fas 阳性细胞主要分布在细胞质, 着色为棕黄色。光镜下(400×)通过摄像头采集并输入图像分析系统进行图像分析, 每张切片随机选取 5 个不重叠视野, 每个视野选取 5 个区域计数阳性细胞数; 不足 5 个视野者统计全部细胞数。

3 结果

3.1 通心络对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能的影响

经通心络处理的大鼠神经行为学明显改善, 且呈剂量依赖性。与假手术组比较, 模型组大鼠神经功能评分明显升高, 差异有统计学意义 ($P<0.01$), 说明大鼠出现脑损伤, 建模成功; 与模型组比较, 通心络各剂量组神经功能评分明显降低 ($P<0.01$); 与通心络低剂量组比较, 通心络高剂量组的神经功能评分显著降低 ($P<0.05$)。结果见表 1。

表 1 通心络对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠神经功能评分的影响($n=12$)

Tab. 1 Effect of Tongxinluo capsule on neurological function score of focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats($n=12$)

组 别	剂量/g·kg ⁻¹	神经功能评分/分
假手术组	—	0.00±0.00
模型组	—	2.50±0.82 ¹⁾
通心络低剂量组	0.3	1.65±0.65 ¹⁾²⁾
通心络中剂量组	0.6	1.32±0.74 ¹⁾²⁾
通心络高剂量组	1.2	1.21±0.33 ¹⁾²⁾³⁾

注: 与假手术组比较, ¹⁾ $P<0.01$; 与模型组比较, ²⁾ $P<0.01$; 与通心络低剂量组比较, ³⁾ $P<0.05$ 。

Note: Compared with sham-operation group, ¹⁾ $P<0.01$; compared with model group, ²⁾ $P<0.01$; compared with Tongxinluo capsule low dose group, ³⁾ $P<0.05$.

3.2 通心络对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织的病理影响

假手术组未见明显的病理性改变, 神经细胞边界清晰, 细胞核多呈圆型。高倍视野中仅见极少数坏死凋亡细胞; 模型组及通心络各剂量组梗死灶中心可见不同程度脑组织疏松, 模型组更明

显, 可见细胞周围间隙增宽, 神经细胞数及毛细血管数明显减少, 梗死灶及周围可见较多细胞核固缩深染呈三角形或多角形, 坏死细胞明显增多, 并可见在缺血组织不同程度炎性细胞浸润。与此相比, 通心络各剂量组梗死区不同程度缩小, 坏死程度减轻, 且呈剂量依赖性, 即缺血半暗带区的完整神经细胞数明显增多。结果见图 1。

3.3 通心络对脑缺血再灌注损伤大鼠缺血半暗带神经细胞凋亡的影响

假手术组大鼠缺血半暗带偶可见细胞凋亡, 推测是生理性死亡。模型组和通心络各剂量组均可见神经细胞的凋亡, 与假手术组比较差异有统计学意义($P<0.01$), 通心络各剂量组的凋亡细胞数均明显少于模型组($P<0.01$); 与通心络低剂量组相比, 通心络高剂量组的凋亡细胞数亦明显减少($P<0.05$)。结果见表 2。

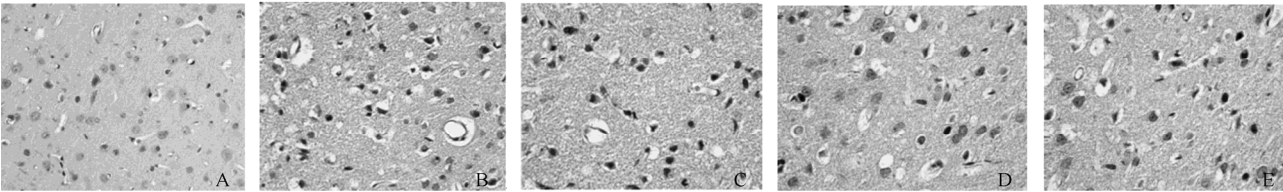


图 1 通心络对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织的病理变化(400×)

A-假手术组; B-模型组; C-通心络低剂量组; D-通心络中剂量组; E-通心络高剂量组。

Fig. 1 The pathological changes of brain tissue of rats with Tongxinluo on focal cerebral ischemia reperfusion injury(400×)

A-sham-operation group; B-model group; C-Tongxinluo low-dose group; D-Tongxinluo medium-dose group; E-Tongxinluo high-dose group.

表 2 通心络对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠神经细胞凋亡、脑梗死体积和 Fas 阳性细胞的影响($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Effect of Tongxinluo capsule on apoptosis, cerebral infarction volume and Fas positive cells of focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats($n=6$, $\bar{x} \pm s$)

组别	剂量/ $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1}$	细胞凋亡数/个	脑梗死体积/ mm^3	Fas 阳性细胞数/个
假手术组	—	4.20 ± 2.50	0.00 ± 0.00	121.96 ± 13.23
模型组	—	$110.42 \pm 17.85^{1)}$	$264.36 \pm 58.36^{1)}$	$171.91 \pm 11.94^{1)}$
通心络低剂量组	0.3	$81.43 \pm 14.52^{1)2)}$	$213.46 \pm 67.22^{1)2)}$	$164.57 \pm 13.13^{1)2)}$
通心络中剂量组	0.6	$75.46 \pm 10.73^{1)2)}$	$196.38 \pm 59.42^{1)2)}$	$150.35 \pm 12.15^{1)2)}$
通心络高剂量组	1.2	$37.84 \pm 7.86^{1)2)3)}$	$187.53 \pm 58.37^{1)2)3)}$	$148.27 \pm 11.37^{1)2)3)}$

注: 与假手术组比较, $^1P<0.01$; 与模型组比较, $^2P<0.01$; 与通心络低剂量组比较, $^3P<0.05$ 。

Note: Compared with sham-operation group, $^1P<0.01$; compared with model group, $^2P<0.01$; compared with Tongxinluo capsule low dose group, $^3P<0.05$.

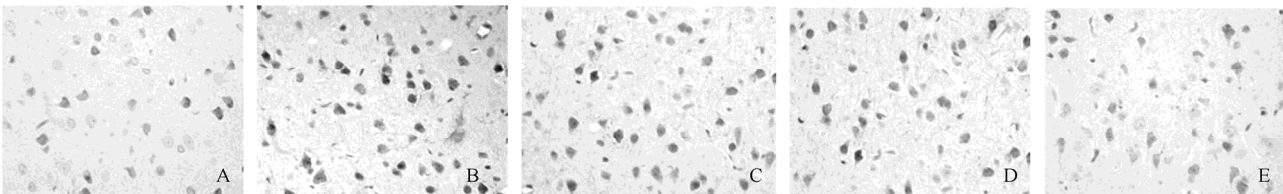


图 2 大鼠脑组织 Fas 阳性细胞表达(免疫组化染色, 400×)

A-假手术组; B-模型组; C-通心络低剂量组; D-通心络中剂量组; E-通心络高剂量组。

Fig. 2 The expression of Fas positive cells in brain tissues of rats (immunohistochemical staining, 400×)

A-sham-operation group; B-model group; C-Tongxinluo low-dose group; D-Tongxinluo medium-dose group; E-Tongxinluo high-dose group.

4 讨论

脑血管病是临床常见多发病,是目前三大致死疾病之一、是首位致残因素,且其发病率、病死率及致残率随着人民生活水平的提高、生活方式的改变及人口老龄化而呈逐年上升的趋势,增加了个人、家庭和社会的经济负担,其中缺血性脑血管病占 70%~80%^[8]。目前认为,缺血性脑血管病治疗的关键是尽早恢复缺血半暗带区血液供应和挽救濒死的脑组织。

本实验结果显示,大鼠脑缺血 30 min 再灌注 24 h 后,除假手术组外所有实验动物均出现了不同程度的神经功能评分增高,与模型组比较,通心络各剂量组动物的神经功能评分均呈下降趋势;TTC 染色结果显示,通心络各剂量组均能一定程度降低脑梗死体积,与模型组比较具有显著性差异。提示通心络对缺血再灌注损伤大鼠的脑组织具有一定的保护作用。本研究中 HE 染色及 TUNFL 结果均显示模型组凋亡细胞显著增多,而通心络各剂量组能够抑制细胞凋亡,凋亡可能决定梗死灶的体积,推测通心络能够减少缺血再灌注大鼠脑组织梗死灶体积可能与其抑制细胞凋亡有关。

介导细胞凋亡的通路有多条,其中 Fas/FasL 系统是细胞凋亡中最重要的途径之一,在细胞凋亡中起重要作用^[9]。Fas 基因是凋亡信号基因,其基因产物 Fas 蛋白是一种细胞凋亡信号的受体;Fas 配体(Fas ligand, FasL)属肿瘤坏死因子(tumour necrosis factor, TNF)超家族^[9]。研究发现^[10],大鼠脑缺血再灌注后缺血区神经元 Fas 表达增加,表明 Fas 介导的凋亡参与了脑缺血再灌注损伤的病理生理过程。因此,抑制死亡受体途径细胞凋亡成为治疗的热点。

本研究免疫组化实验结果显示, Fas 阳性细胞表达定位于缺血半暗带神经细胞的细胞质内。假手术组仅呈微量表达,模型组表达显著增高,通心络低、中、高剂量组的 Fas 阳性细胞表达较模型组显著降低,提示通心络具有抑制 Fas 阳性细胞表达的作用。结果还显示,通心络高剂量组较通心

络低剂量组在降低 Fas 表达方面效果更为显著($P<0.05$)。由此可以推断,通心络可能通过抑制 Fas 蛋白的表达而发挥抗缺血再灌注损伤的神经保护作用。

本研究结果表明,通心络可通过下调脑缺血再灌注诱导的促凋亡基因 Fas 蛋白表达,从而抑制神经细胞凋亡,这可能是通心络对脑缺血再灌注损伤起保护作用的分子机制之一。本研究结果为临床缺血性脑血管病的治疗提供了一定的理论依据。

REFERENCES

- [1] CHARRILAUT-MARLANGUE C, MARGAIL I, REPRESA A, et al. Apoptosis and necrosis after reversible focal ischemia: an in situ DNA fragmentation analysis [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1996, 16(2): 186-194.
- [2] WANG Y, XU D M, WANG W, et al. Advance in apoptosis mechanism on nerve cell after cerebral ischemia-reperfusion and neuroprotective drugs(review) [J]. *Chin J Rehabil Theory Pract*(中国康复理论与实践), 2010, 16(12): 1140-1143.
- [3] HE H Z, DENG Z S, WU W K, et al. Meta-analysis on randomized controlled trials of tongxinluo capsules for cerebrovascular disorders [J]. *J Guangzhou Univ Tradit Chin Med*(广州中医药大学学报), 2007, 24(2): 168-173.
- [4] DING S J, LI J S, BI X Y, et al. The study of protective effect and mechanism of Tongxinluo on cerebral ischemia-reperfusion in SD rat model [J]. *Chin J Cerebrovascular Dis (Electr Edit)*(中华脑血管病杂志 电子版), 2010, 4(1): 3-10.
- [5] DING S J, LI J S. Anti-oxidant effects of Tongxinluo on ATPase in focal brain ischemia-reperfusion rats [J]. *J Cent South Univ(Med Sci)*(中南大学学报 医学版), 2006, 31(4): 552-555.
- [6] LONGA E Z, WEINSTEIN P R, CARLOTTN S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniotomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [7] MIN H M, LU L Q, WANG W J, et al. Expression and significance of GRP78, CHOP, caspase-3 and caspase-9 proteins in preconditioning focal cerebral ischemia in rats [J]. *J Apoplexy Nerv Dis*(中风与神经疾病杂志), 2012, 29(8): 703-706.
- [8] 中华医学会神经病学分会脑血管病学组急性缺血性脑卒中诊疗指南撰写组. 中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2010[J]. *中华神经科杂志*, 2010, 43(2): 146-153.
- [9] 许静, 蒲传强. Fas/FasL 在神经系统疾病作用的研究进展[J]. *国际神经病学神经外科学杂志*, 2013, 40(3): 297-300.
- [10] WU G, XUE R L, LÜ J R, et al. Fas and TNFR1 expressions after cerebral ischemia and reperfusion in rats: association with cell apoptosis and the effects of Bcl-2 overexpression [J]. *J South Med Univ*(南方医科大学), 2011, 31(8): 1298-1303.

收稿日期: 2015-03-15