

新型查尔酮 FMC 对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用

梁 海 吴久鸿

摘 要 **目的** 研究新型查尔酮(FMC)(3'-甲酰基-4',6'-二羟基-2'-甲氧基-5'-甲基查尔酮)对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤的保护作用。**方法** 建立重复性好、梗死部位恒定、成功率高的局灶性脑缺血再灌注损伤模型,以水溶性的 FMC 溶液腹腔注射,观察 FMC 对脑缺血大鼠神经行为、脑梗死范围以及脑组织的含水量、超氧化歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)的影响。**结果** 术后出现追尾征及特殊体态,于 2h 后大脑中动脉供血区出现缺血。脑组织 TTC 染色均匀,出现梗死的脑组织面积相对于全脑百分比为 $27.96\% \pm 9.45\%$,动物模型成功率为 78.6%。FMC 组的脑含水量、MDA 显著降低,SOD 显著升高,梗死率降低。**结论** 本方法构成局灶性脑缺血再灌注模型,操作简单,重复性好,大鼠体重和年龄、麻醉剂应用、栓线直径和插入深度、控制出血和术后护理等是模型制作成功的关键因素。FMC 可能通过降低脑组织水含量、MDA 水平,升高 SOD 水平,减少梗死体积,对缺血再灌注损伤的脑组织起到一定的保护作用。

关键词 线栓法 局灶性 脑缺血再灌注损伤 FMC MDA SOD

中图分类号 R3 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.07.010

Protective Effect of Novel Chalcone FMC on Focal Cerebral Ischemia Reperfusion Injury in Rats. Liang Hai, Wu Jiuhong. Department of Pharmacy, The People's Hospital of Bozhou, Anhui 236800, China

Abstract **Objective** To study on the protective mechanism of FMC on focal cerebral ischemia - reperfusion injury in rats. **Methods** The model of focal cerebral ischemia - reperfusion injury with favorable reproducibility, constantly infarction location and high success rate were induced by MACO. We studied on the effect of FMC on neural behavior, water content, SOD, MDA and infarction volume in the brain tissue of focal cerebral ischemia - reperfusion injury by intraperitoneal injection of water - soluble FMC solution. **Results** After MCAO, special neurological syndromes were showed by rats, the infarct surface in the area of MCA (TTC coloring, after MCAO 2h). The percentage of the infarct area was $(27.96 \pm 9.45)\%$. The model success rate was 78.6%. **Conclusion** A reversible model of regional cerebral ischemia in rats with simple operation and higher reproducibility was developed. There are key points to build a successful model such as rat's weight and age, anesthetic application, suture diameter, depth of penetration, control of hemorrhage and postoperative care. The protection of FMC on cerebral tissue was played by reducing the cerebral water content, the level of MDA, the infarct volume and by increasing the level SOD.

Key words Cerebral ischemia reperfusion; Focal; Ischemia reperfusion injury; FMC; MDA; SOD

近年来,随着缺血性脑血管病(ICVD)发生率的增加,迫切需要对其发病机制进行深入研究,制定相应的有效防治措施。目前,对此进行了大量动物实验研究,建立重复、稳定、可控等生理指标,同时模拟脑缺血动物模型是动物实验研究的基础,具有科学性和指导意义。然而脑缺血及再灌注后,自由基生成增多,凋亡基因激活,导致细胞凋亡。目前中医药治疗

脑缺血再灌注损伤的研究呈现良好态势,查尔酮化合物骨架结构柔性大,能与多种受体结合,具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤、抗真菌、抗疟、抗 HIV 等生理活性,是一类重要的有研究价值的天然产物^[1-3]。FMC 具有不多见的全取代 A 环且具有羟基和醛基取代,是自然界中少见的查尔酮化合物。FMC 显示出良好的 DPPH 自由基清除活性,IC₅₀在 $50.2 \pm 2.8 \mu\text{g/ml}$ ^[4]。

本实验参照 Koizumi 等^[5]和 Longa 等^[6]的制作方法并加以改进,并将模型制作过程中的关键问题和影响因素在文中做简要介绍,以此提高模型成功率和稳定性。观察 FMC 对局灶性脑缺血再灌注损伤大鼠的行为学改变、脑水肿、SOD、MDA、脑梗死体积的影

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81072546、81470156)

作者单位:236800 亳州市人民医院药学部(梁海);100101 北京,中国人民解放军解放军第 306 医院药学部(吴久鸿)

通讯作者:吴久鸿,教授,主任药师,博士生导师,电子信箱:jiuhongwu2015@163.com

响,通过检测各项实验指标,探讨 FMC 对局灶性脑缺血再灌注损伤脑组织的保护机制。

材料与方法

1. 仪器:XMTD-6000 恒温水浴锅(中国长风公司)、IXUS901S Canon 数码相机(日本佳能公司)、HP. ZAS21000 图像分析系统(美国 Buckman 公司)、冰箱(青岛 Haier 公司)、MCAO 栓线(北京沙东生物技术有限公司)、紫外分光光度计(7200 型,上海尤尼柯公司)、恒温培养箱(常州诺基公司)、冷冻离心机、玻璃匀浆器(上海仪器厂)。

2. 药品及试剂:水合氯醛、肝素钠、红四氮唑、甲醛、SOD、MDA、考马斯亮兰蛋白试剂盒均购自国药集团化学试剂有限公司;FMC 前期实验室合成,纯度 95%。

3. 动物:雄性 SD 大鼠 28 只,体重 $250 \pm 20\text{g}$,北京维通利华提供。

4. 方法:(1)溶液配制:10% 水合氯醛:水合氯醛 10g,加蒸馏水稀释至 100ml,混匀,备用。1% TTC 缓冲溶液:取 2.69g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 和 0.23g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 溶于 100ml 蒸馏水,调节 pH 值为 7.8~9.4,另取 2g TTC 溶入上述缓冲溶液混匀备用。10% 甲醛:甲醛溶液 10ml,加蒸馏水稀释至 100ml,混匀,室温保存。20U/60U 肝素钠生理盐水:肝素钠 67mg/201mg,加生理盐水至 500ml,避光,冷藏保存。(2)大鼠 MCAO 再灌注模型的建立:术前大鼠禁食 12h,但不禁水^[7]。大鼠仰卧位固定,剪去颈部毛发并予碘酒消毒。取颈部偏右侧(中间稍偏 0.15cm)切口,切开浅筋膜,分离肌间隙(胸骨舌骨肌与乳突肌之间),露出右侧 CCA 和迷走神经,继续向上分离 CCA 至分叉。其中,向内侧走行的为 ECA,向外下走行的为颈内动脉 ICA。在 ECA 处预留一根 3-0 丝线作牵拉、结扎用,以两个动脉夹分别夹闭 ICA、CCA。结扎 ECA 远端及颈总动脉的近心端,在颈外动脉和颈内动脉分叉处打活结,在 CCA 上剪口插入栓线,收紧活结,松开 ICA 处动脉夹,与 CCA 呈 30°角将栓线尾部缓慢插入 ICA,插入长度为 18~20mm(从 CCA 分叉处计算),微遇阻力时即停止,说明栓线头端已到达 MCA 和 ACA 分叉处,阻断了同侧 ICA 和经 ACA 来自对侧 ICA 的供血(图 1)。固定栓线,缝合伤口,预留一个小口把栓线。松绑大鼠口鼻处和四肢捆绳,让其仰躺在鼠笼内(及时将苏醒的大鼠换笼,以免踩伤昏迷中的大鼠)。术后 10min 腹腔注射 FMC 溶液 $[0.5\text{g}/(\text{kg} \cdot \text{d})]$,对照组注射等体积生理盐水。缺血 2h

后,柔和缓慢地抽出栓线进行再灌注、消毒,放回笼内观察大鼠清醒后的神经症状。(3)神经功能缺损症状评分:参考 Longa 等^[6]方法,评分大鼠麻醉清醒后和再灌注 24h 后神经功能缺损。无神经功能缺损评 0 分;不完全伸展对侧前爪评 1 分;自主运动向左转评 2 分;向左倾倒评 3 分;不能自主爬行且意识下降评 4 分(注:大鼠制成 MCAO 模型后可同时表现多种神经功能缺陷症状,评分时按最重症状打分,即最大分值打分)。(4)测定脑组织含水量、SOD、MDA:缺血再灌注 7 天后处死迅速取脑,右侧半脑根据(湿重-干重)/湿重 $\times 100\%$ 用于计算脑组织含水量,左侧半脑制匀浆,按照试剂盒说明书检测 SOD、MDA。(5)TTC 染色:再灌注 24h 后,大鼠腹腔注射 10% 水合氯醛 0.4ml/100g 深麻醉,固定,快速打开胸腔,暴露心脏。将输液器的 7 号针头在心尖部穿刺入左心室,剪开右心耳,经左心灌注 20U/ml 肝素化生理盐水 100~150ml,去血液,肺、肝脏变白。断头,取脑入 -20°C 冷冻 15min 至硬,冠状位切厚 2mm 5 片(沿脑额极至枕极),脑片于 1% TTC 缓冲液染色^[8]。37℃ 孵育 5min,甲醛固定 24h,数码相机拍照。(6)脑梗死体积百分比(%):用 TTC 染色法测定脑梗死面积。TTC 染色拍照后,采用 HP. ZAS21000 图像分析系统,测量脑梗死体积和整个大脑体积。计算脑梗死体积和整个大脑体积公式: $V = t(A_1 + A_2 + \dots + A_n)$ (V :体积, t :厚度, A :梗死面积, n :片数)。相对梗死体积($V\%$) = 梗死体积/大脑体积 $\times 100\%$ 。

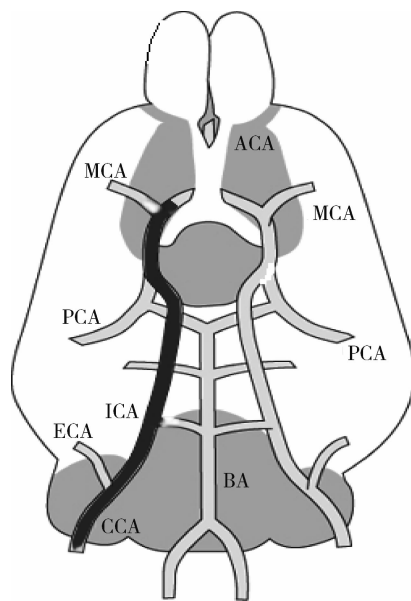


图 1 局灶性脑缺血模型示意图

结 果

1. 神经功能评估: 术后 60 ~ 120min 左右大鼠清醒, 其中 6 只死亡, 死于手术过程大出血或蛛网膜下腔出血。多数大鼠的右侧(同侧)出现了 Homer 征, 但由此作为造模成功缺乏特异性^[9]。因为由丘脑交感中枢到脊髓颈胸段的交感中枢, 再到支配效应器的外周交感神经通路中的任一部分损伤均引起 Homer 征, 而大鼠的 CCA、ECA 和 ICA 周围广泛分布着颈动脉交感丛。在实验过程中, 易损伤该交感神经丛。



图 2 大鼠脑组织 TTC 染色

A 和 B. MACO 模型冠状切面; C. MCAO 模型梗死病灶整体

3. 模型成功率: 实验使用 SD 大鼠 28 只, 模型复制成功 22 只, 失败 1 只(神经功能评分为 0, 可能是由于栓线插得过浅), 死亡 5 只(2h 时死亡 3 只, 24h 时死亡 2 只), 成功率 78.6% (表 1)。

表 1 大鼠缺血 2h 时、再灌注 24h 时神经功能评分

神经功能评分	I	II	III	IV	总数
缺血 2h 时	10	10	3	1	24
再灌注 24h 时	15	7	0	0	22

在 2h 评分时有 1 只大鼠评分为 0, 剔除

4. FMC 对大鼠 SOD、MDA 的影响: 药物治疗组与模型组比较, 治疗组的脑含水量、MDA 含量显著降低, SOD 活力显著升高 ($P < 0.01$), 梗死范围明显减小(表 2)。

表 2 FMC 对大鼠 SOD、MDA 以及脑含水量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	SOD (U/mg)	MDA ($\mu\text{mol/mg}$)	脑含水量 (%)
模型组	1.72 ± 0.53	42.12 ± 3.28	85.06 ± 0.96
药物组	$5.30 \pm 0.67^*$	$35.45 \pm 3.25^*$	$77.57 \pm 0.86^*$

与模型组比较, * $P < 0.01$

讨 论

缺血性脑卒中的发生率、致残率和致死率高, 作为临床上一种常见的脑血管疾病严重威胁着人类的

2. TTC 染色结果: TTC 与线粒体内琥珀酸脱氢酶反应生成深红色脂溶性物质, 正常脑组织被染成玫瑰红色, 梗死区由于酶失活呈苍白色。处死动物后取脑组织进行 TTC 染色结果显示(图 2), TTC 染色均匀, 部分动物脑组织中大脑中动脉区出现脑梗死, 部分存在水肿, 还有部分脑组织出现的梗死面积较小。出现梗死的脑组织相对全脑面积百分比为 $27.96\% \pm 9.45\%$ 。

健康。脑缺血药物研究的基础是模拟疾病病理机制, 建立稳定, 操作简便可行的实验动物模型。在模型制备过程中存在众多影响因素导致脑梗死体积、造模成功率, 蛛网膜下腔出血发生率等各不相同。如入 ICA, 栓线走行路线, 入颅 MCA 阻断的判断; 栓线加工、长度及插入深度; 手术时程及损伤, 再灌注后存活率等值得我们深入讨论。

1. 大鼠品系、数量、鼠龄、体重的选择: 大鼠种系内纯度好, 与人类有相类似的脑血管解剖特点, 品系分为 Wistar 大鼠、Fischer334 大鼠、Sprague - Dauley 大鼠等, SD 大鼠较其他品系具有性情温和、生长周期快, 廉价, 且术后梗死体积大、恒定, 同时由于种系内纯度好, 相同的遗传背景, 个体差异比较小, 易达到显著性差异, 均衡实验条件, 故选用 28 只 SD 大鼠进行实验。临床上脑血管疾病多发于老年人, 大多选老龄大鼠作为实验对象模拟疾病模型, 但老龄大鼠的 MCA 发生了不同程度的迂曲、粥样硬化、管腔狭窄等病理学改变, 影响模型的建立^[10]。因此本实验中选用的是年轻、健康的大鼠。体重因素在模型的制备中也颇为关键。体重与血管的内径呈正比, 对应选择直径不同的栓线最大限度阻断血流。康涛等^[11]研究发现, 体重 $> 350\text{g}$ 大鼠颅内动脉增粗, 栓线难以完全阻断 MCA 血流; 体重 $< 240\text{g}$, 颅内动脉较细, 操作难度大, 血管易受损, 病死率高。辛世萌等^[12]认为, 大鼠体重 $250 \sim 330\text{g}$, 线长 $17 \sim 18\text{mm}$, 线栓直径 0.28mm

的配合方案较为稳定可靠。为减少个体差异,均衡实验条件,本实验选择了体重在 250g 的大鼠,并将大鼠体重差异控制在 20g 内,发现造模成功率较理想(75%)。另外,应采用雄性大鼠进行实验,以排除雌激素对脑缺血的保护作用。

2. 麻醉剂:卜碧涛等^[13]对大鼠进行几种常用的麻醉剂实验,结果表明苯巴比妥钠、水合氯醛、乌拉坦均对局灶性脑缺血造模中大鼠的体温、呼吸、血气和 pH 值有明显影响,其中苯巴比妥钠和乌拉坦降低脑温效果优于水合氯醛,使脑温降至 28% ~ 30%。这种低温脑保护作用是不可忽略的影响因素。水合氯醛起效快,对心率、血压、呼吸等影响小且少引起分泌物,有类似肠麻痹的症状。另外,注意因动物肠管内存食发酵膨胀引起缺血性肠坏死,所以动物术前 12h 禁食。本实验采用 10% 水合氯醛 0.3ml/100g 腹腔麻醉,作用时间与 MCAO 缺血时间一致 2h,能更好地观察动物行为及判定模型是否成功。配合乙醚浅麻醉,减少再灌注因大鼠挣扎造成的出血,从而降低大鼠病死率。

3. 手术:(1)切口位置的选择:采用颈部正中切口,分离深部鼓泡处的颈内动脉(ICA)分支翼腭动脉(PPA),由于距切口处远而难以分离。正确选择切口位置,使操作简便,节约手术时间,降低病死率。颈部旁侧切口宜分离肌肉,动脉血管及分支且出血少,但应注意旁侧切口于胸锁乳突肌与颈阔肌间隙上面,中线偏 0.15cm,且切口由上到下靠内侧切开皮肤即可,避免出血。(2)翼腭动脉(PPA)是否结扎:PPA 是 ICA 颅外分支,Koizumi 等^[5]和 Longa 等^[6]认为大鼠额顶皮质和基底核区的梗死,须闭塞 PPA。但位置深,难以结扎,易导致血管断裂出血,且操作易损伤组织。后续制作暂时或永久封闭此动脉,目的非封闭侧支血流,而是防止栓线误入 PPA。PPA 结扎后,ICA 内的栓线周围形成血栓致管腔闭塞,再灌注时难以正常供血,且结扎与否并不影响脑梗死体积和神经缺失症状^[9]。因此,本实验不分离和结扎 PPA,调整插线的角度可顺利插进颅内,即节省手术时间降低手术难度,又减少组织损伤,降低病死率。(3)控制出血:首先,在颈正中两侧鼓泡腺体之间分离皮下结缔组织,避免接触胸锁乳突肌而暴露颈前肌群,且不会损伤腺体造成出血过多。其次,钝性分离血管,避免牵拉过度造成血管痉挛断裂,尤其在 ECA 远端结扎时易忽视枕动脉的剥离。栓线插入过程用力不宜过猛,遇阻力即停止,以免穿破血管造成蛛网膜下腔出血。拔线

再灌注时动作缓慢轻柔,否则造成 SAH 或拉断血管。因此,固定栓线时系线不能过紧。

4. 栓线的影响:(1)栓线的选择:线栓法的倡导者 Koizumi 等^[5]和 Longa 等^[6]均采用 4-0 单股尼龙线,其栓线前端的加工不同而催出两大流派。Koizumi 等^[5]在尼龙线前端覆盖硅胶、多聚赖氨酸、石蜡和聚乙烯醇等化学材料。Longa 等^[6]仅在栓线前端加热烫成光滑膨大的球状。本实验采用的栓线在前人的基础上,显微操作烧制大小均一的光滑栓头,使其易进入颅内又不穿破血管;包被正电荷的多聚赖氨酸,与负电荷的血管壁黏附加强血流的阻断作用^[14]。此外,距球端 20mm 处有黑色标记便于观察插线深度,栓线经消毒后避免颅内感染。(2)插线方式:关于 MCAO 模型的建立,其栓线插入方式分为两种,一种是从 CCA 或 ICA 切口插入尼龙线,另一种是从 ECA 残端插入至 ICA 颅内段,两种方法都可以完全阻断大脑中动脉起始端,造成局灶性脑缺血。前者手术操作相对简单,需永久性结扎 CCA 近心端,再灌注时将栓线退至 CCA。后者无需结扎 CCA,栓线抽回至 ECA 后,同侧血流可直接再灌流。但经 ECA 插线有两个不足:①ECA 血管细,取线再灌注心脏负荷大,易出血死亡;②经此处插线距离长、操作时间长再灌注易血栓。本实验采用 CCA 入线方式,在实验中栓线插入容易误入翼腭动脉(PPA),如果重复多次仍不能正确插入,说明已造成颈内动脉的痉挛,采用总动脉和颈内动脉复流可消除痉挛,再实行线栓插入就有很高的成功率。经反复操作已熟练掌握插线技巧,MCAO 模型手术控制在 10min 内。(3)插入深度:刘波等^[9]在实验中测量发现,经 CCA 插入的栓线长度为 $23.0 \pm 0.5\text{mm}$ 比较适宜,辛世萌等^[12]也测得 250 ~ 300g 大鼠 CCA 分叉处到 MCA 根部距离约为 13 ~ 14mm。因此 17mm 或 18mm 长度的栓线超过 CCA 分叉至 MCA 根部的距离,也证实插入 18 ~ 20mm 的科学性。本实验 250 ± 20g 大鼠选用 2634 - 4A 栓线(线身直径 0.26mm,线头直径 $0.34 \pm 0.02\text{mm}$,插入长度为 18 ~ 20mm(从 CCA 分叉处计算),足以超过 MCA 根部到达 ACA 起始段。

5. 并发症:(1)蛛网膜下腔出血(SAH):SAH 为该模型最常见的并发症,且很容易误解为模型成功,因为大鼠此时神经功能改变明显,但并不是栓塞引起,部分大鼠往往在抽线再灌注短时间内死亡。尼龙线选取,缓慢操作可以减少 SAH 发生。(2)血栓形成:栓线插入引起血管内皮损害形成血栓,肝素处理

栓线,但研究发现是否使用肝素都未见血栓形成,且使用肝素会增加拔线后的出血。Kawamura 等^[15]观察发现仅仅当 MCA 和 PPA 持久阻塞时,ICA 有血栓形成。总之,为了预防血栓形成,在插线过程中保持栓线与血管方向一致,动作轻柔,栓线及其顶端平整圆滑。

6. 术后护理:研究证明,过高温度会使脑缺血加重,低温弱代谢可以保护脑缺血。室温宜保持在 25℃ 左右,术后尚未清醒的大鼠,用 60W 白炽灯距大鼠 50cm 持续照射,待清醒后再撤除,肛温维持在 37.5 ± 0.3℃。尽量单笼饲养,以避免仍处于麻醉状态中的大鼠被已清醒的大鼠压迫,导致呼吸抑制死亡。术后恢复大鼠自由取食和进水,避免低血糖的发生。线栓法中,在非直视情况将栓线入颅,不能直接判断是否阻断血流。调整切口、栓线位置、进线深度等,熟练手术操作过程复制出稳定的梗死灶。本实验对该方法制备大鼠脑缺血再灌注损伤模型进行了改良,尽可能均衡实验条件,控制各种影响因素,最终取得预期的建模结果。

7. FMC 对局灶性脑缺血再灌注损伤的保护机制:MDA 损伤细胞多种成分,是脂质过氧化的最终产物,SOD 是生物体内氧自由基清除剂,测定 MDA、SOD 的浓度可间接反映体内脂质过氧化的程度和机体清除自由基的能力。新型查尔酮化合物 FMC 通过抑制 MDA 产生,提高机体抗氧化能力,对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤具有保护作用。

参考文献

- Susanne V, Matej B, Guido J, *et al.* Synthesis, cytotoxicity, anti-oxidative and anti-inflammatory activity of chalcones and influence of A-ring modifications on the pharmacological effect [J]. *Eur J of Med Chem*, 2010, 45(6): 2206-2213
- Sivakumar PM, Prabhakar PK, Doble M. Synthesis, antioxidant evaluation, and quantitative structure-activity relationship studies of chalcones [J]. *Med Chem Res*, 2011, 20(4): 482-492
- Kyoko NG, Wu PC, Bastow KF, *et al.* Antitumor agents 283. Further elaboration of Desmosdumotin C analogs as potent antitumor agents: activation of spindle assembly checkpoint as possible mode of action [J]. *Bioorg Med Chem*, 2011, 19: 1816-1822
- Ye CL, Lu YH, Wei DZ. Antioxidant and anticancer activity of 3'-formyl-4,6-dihydroxy-2'-methoxy-5'-methylchalcone and (2S)-8-formyl-5-hydroxyl-7-methoxy-6-methylflavanone [J]. *J Pharm and Pharmacol*, 2007, 59(4): 553-559
- Koizumi J, Yoshida Y, Nakazawa T, *et al.* Experimental studies of ischemic brain edema: a new experimental model of cerebral embolism in rats in which recirculation can be introduced in the ischemia area [J]. *Stroke*, 1986, 16(8): 1-8
- Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, *et al.* Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91
- 彭华, 郭洪志, 张侠, 等. 阻断大脑中动脉建立大鼠局灶性脑缺血致 MODS 动物模型 [J]. *中华神经医学杂志*, 2007, 6(8): 773-776
- Sutherland BA, Neuhaus AA, Yvonne C, *et al.* The transient intraluminal filament middle cerebral artery occlusion model as a model of endovascular thrombectomy in stroke [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2016, 36(2): 363-369
- 刘波, 李菲, 王丽娜, 等. 良线栓法制备 SD 大鼠局灶性脑缺血再灌注模型研究 [J]. *现代医药卫生*, 2016, 32(2): 161-163
- 缪培, 张通, 米海霞, 等. 基于线栓法大鼠大脑中动脉闭塞的局灶性脑缺血模型的比较研究 [J]. *中国康复理论与实践*, 2016, 22(10): 1190-1195
- 康涛, 张红. 经颈总动脉和经颈外动脉制作大鼠 MCAO 模型的比较 [J]. *中华脑血管病杂志*, 2013, 7(3): 29-33
- 辛世萌, 刘远洪, 聂志余, 等. 栓线长度、直径、及大鼠体重与栓线法大鼠局灶性脑缺血模型关系的研究 [J]. *大连医科大学学报*, 2000, 22(2): 105-107
- 卜碧涛, 王伟, 张苏明, 等. 大鼠脑缺血模型制作过程中麻醉方的选择与应用 [J]. *同济医科大学学报*, 1998, 27(3): 202-205
- Reglodi D, Somogyvari_vigh A, Vigh S, *et al.* Delayed systemic administration of PACAP38 is neuro protective in transient middle cerebral artery occlusion in the rat [J]. *Stroke*, 2000, 31(6): 1411-1417
- Kawamura S, Li YP, Shirasawa M, *et al.* Reversible middle cerebral artery occlusion in rats using an intraluminal thread technique [J]. *Surg Neurol*, 1994, 41(2): 368-373

(收稿日期:2017-10-10)

(修回日期:2017-10-25)

(接第 158 页)

- 汪凯, 王明刚, 赵李平, 等. 持续负压封闭引流预防腹股沟淋巴结清扫术后淋巴漏 [J]. *中华整形外科杂志*, 2014, 30(4): 262-264
- 沈烈军, 李展振, 陈文锋, 等. 骨感染负压封闭引流治疗的研究 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2015, 25(4): 893-895
- 王瑞国, 荆兆峰, 邵明伟. 持续冲洗 VSD 一期闭合创腔与单纯 VSD 治疗软组织坏死及感染的疗效比较 [J]. *中国骨与关节损伤杂志*, 2016, 31(1): 100-101
- 朱礼坤, 王希, 王靖, 等. 汇涵术泰护创敷料的临床应用与研究 [J]. *四川医学*, 2012, 33(5): 25-28

- 温皇鼎, 李志清, 张美光, 等. 负压封闭引流联合含氧液冲洗对下肢慢性静脉性溃疡患者创面的影响 [J]. *中华烧伤杂志*, 2015, 31(2): 98-102
- 房小凯, 何月希. 糖尿病足发病机制的研究进展 [J]. *中国麻风皮肤病杂志*, 2015, 31(7): 405-407
- Dackam S, Furrer K, Haug M, *et al.* Diffuse lymphatic leakage after continuous vacuum-assisted closure therapy for thoracic wound infection after rib stabilization [J]. *J Surg Case Rep*, 2015, 28(5): 1-3

(收稿日期:2017-10-19)

(修回日期:2017-10-31)