

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.12.002

文章编号: 1005-8982(2016)12-0006-05

论著

依达拉奉对脓毒症大鼠心肌损伤的保护作用

高雪花¹, 艾宇航²

(1. 兰州大学第二医院 重症医学 II 科, 甘肃 兰州 730030; 2. 中南大学湘雅医院
重症医学科, 湖南 长沙 410008)

摘要:目的 观察依达拉奉对脓毒症大鼠心肌损伤的保护作用。**方法** 78 只清洁级 SD 大鼠随机分为正常组(Norm 组)、假手术组(Sham 组)、脓毒症组(CLP 组)、小剂量依达拉奉治疗组(ED1 组)(3 mg/kg, 静脉注射)及大剂量依达拉奉治疗组(ED2 组)(6 mg/kg, 静脉注射)。盲肠结扎穿孔法制作脓毒症模型, ED1 组及 ED2 组给予依达拉奉治疗。分别于术后 3、6 及 12 h 检测各组血清 cTnI 和心肌·OH⁻、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、肿瘤坏死因子(TNF- α)及白细胞介素 1 β (IL-1 β)水平, 并观察心肌病理形态改变。**结果** Norm 组与 Sham 组各指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$); CLP 组与 Norm 组及 Sham 组比较, cTnI、·OH⁻、MDA、TNF- α 及 IL-1 β 水平明显升高, SOD 水平明显降低 ($P < 0.01$); ED1 组及 ED2 组与 CLP 组比较 cTnI、·OH⁻、MDA、TNF- α 及 IL-1 β 水平明显降低, SOD 水平明显升高 ($P < 0.01$); ED2 组与 ED1 组比较, cTnI、·OH⁻、MDA、TNF- α 及 IL-1 β 水平明显降低, SOD 水平明显升高 ($P < 0.01$)。CLP 组心肌病理学改变包括间质充血水肿, 炎症细胞浸润, 心肌纤维断裂、坏死; ED1 组及 ED2 组心肌损伤较 CLP 组明显减轻。**结论** ①依达拉奉能减轻脓毒症心肌损伤, 机制可能与抑制氧化应激及下调炎症因子水平有关; ②大剂量依达拉奉(6 mg/kg)对脓毒症心肌损伤的保护作用较小剂量(3 mg/kg)更明显。

关键词: 脓毒症; 心肌损伤; 氧化应激; 炎症因子; 依达拉奉

中国分类号: R515.3; R-332

文献标识码: A

Protective effect of edaravone on sepsis-related myocardial injury in rats

Xue-hua Gao¹, Yu-hang Ai²

(1. Department of Intensive Care Unit, Lanzhou University Second Hospital, Lanzhou, Gansu, 730030, China; 2. Department of Intensive Care Unit, Xiangya Hospital, Central South University, Changsha, Hunan, 410008, China)

Abstract: Objective To investigate the protective effect of edaravone on sepsis-related myocardial injury in rats. **Methods** Seventy eight healthy male Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into normal group (Norm), sham operation group (Sham), sepsis group (CLP), low-dose edaravone treated group (ED1) and high-dose edaravone treated group (ED2). A rat model of sepsis-related myocardial injury was developed by cecal ligation and puncture (CLP). Edaravone was administered to the rats in ED1 and ED2 group. Serum cardiac troponin I (cTnI) was measured, and hydroxyl radicals (OH⁻), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-1 β (IL-1 β) were examined in the heart tissue at various time points (3 h, 6 h, and 12 h after operation). Myocardial pathomorphology was also observed. **Results** Changes of all indexes were not significantly different between Norm group and Sham group ($P > 0.05$). In ED1 and ED2 group, cTnI, OH⁻, MDA, TNF- α , and IL-1 β were significantly higher than in Norm and Sham group, but lower than in CLP group; SOD was significantly lower than in Norm and Sham group, but higher than in CLP group ($P < 0.01$). In ED2 group, cTnI,

收稿日期: 2015-10-30

OH⁻, MDA, TNF- α , and IL-1 β were significantly lower, but SOD was significantly higher than in ED1 group ($P < 0.01$). Myocardial pathomorphology in CLP group included edema, congestion in mesenchyma, and inflammatory cells infiltration were not significantly changed in Norm group and Sham group, but alleviated evidently in ED1 group and ED2 group. **Conclusions** Edaravone alleviates sepsis-related myocardial injury, which probably related to the inhibition of oxidative stress and cytokines. High-dose edaravone (6 mg/kg) is more efficient than low-dose (3 mg/kg) in protective effect on sepsis-related myocardial injury.

Keywords: sepsis; myocardial injury; oxidative stress; cytokines; edaravone

脓毒症是感染引起的全身炎症反应综合征,如合并一个或一个以上器官功能障碍/组织低灌注或低血压则称为严重脓毒症,进一步发展可致脓毒症休克^[1],其发病率和死亡率均很高,是ICU内非心脏病患者的主要死因。心肌损伤是脓毒症常见的并发症,也是影响脓毒症预后的重要因素,有效防治心肌损伤对改善脓毒症预后有重要的意义^[2]。然而脓毒症心肌损伤具体机制至今不明确,大量研究发现氧化应激及炎症因子可能为重要的致病因素^[3-4]。依达拉奉(edaravone)是一种作用机制明确的氧自由基清除剂,在脑梗死及心肌缺血再灌注损伤领域已做了大量的研究^[5]。本研究旨在观察依达拉奉对脓毒症大鼠心肌损伤的保护作用,并探讨其可能的作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料

清洁级雄性SD大鼠78只,体重(270 \pm 20)g,购自中南大学湘雅医院实验动物中心。大鼠心肌肌钙蛋白I(cTnI)、肿瘤坏死因子(TNF- α)及白细胞介素1 β (IL-1 β)定量ELISA试剂盒(R&D,美国)和大鼠·OH⁻、丙二醛(MDA)及超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒均购自长沙赛晶生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组与模型制备 将78只SD大鼠随机分为正常组(Norm组)、假手术组(Sham组)、脓毒症组(CLP组)、小剂量依达拉奉治疗组(ED1组)及大剂量依达拉奉治疗组(ED2组)。盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and puncture, CLP)制备脓毒症模型^[6]: 10%水合氯醛3 ml/kg行腹腔内麻醉,固定、消毒、铺巾,腹前正中切口2~3 cm,游离肠系膜和盲肠,以3.0丝线环形结扎盲肠根部,9号针头在结扎线下5 mm处贯穿盲肠2次,挤压肠管使粪便自穿刺点溢出,还纳肠管后逐层缝合关腹。ED1组及ED2组在CLP造模后立即尾静脉分别注射依达拉奉3 mg/kg、6 mg/kg。Sham组除不结扎和穿刺盲肠外,其余操作

同CLP组。术毕各组皮下注射生理盐水30 ml/kg以补充体液丢失。

1.2.2 标本留取与指标检测 血清cTnI:术后3 h、6 h、12 h水合氯醛腹腔麻醉后,开腹自腹主动脉抽血,3 000 r/min离心15 min,上清液置入-20 $^{\circ}$ C冰箱保存。按试剂盒说明书酶联免疫吸附法测定。心肌氧化应激指标:①自腹主动脉抽血后立即开胸取心肌组织,冰生理盐水洗净血液后滤纸吸干,放入Ependoff管置入-70 $^{\circ}$ C冰箱保存;②在冰水浴中制备心肌匀浆,4 000 r/min离心15 min,上清液按试剂盒说明书测定·OH⁻、MDA和SOD。心肌炎症因子:上步所得心肌匀浆,按试剂盒说明酶联免疫吸附法检测TNF- α 及IL-1 β 。心肌病理学观察及病理积分:①取一块右心室壁组织,10%中性福尔马林固定,常规脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、HE染色,光镜下观察心肌病理形态变化;②Kishimoto法计算心肌病变积分:每张切片取5个高倍视野,计算每个视野中炎症细胞浸润及坏死区域面积与整个视野的面积之比,无病变计0分,<25%计1分,25%~50%计2分,50%~75%计3分,>75%计4分。对心肌病理学变化的评估遵循双盲法原则。

1.3 统计学方法

采用SPSS 16.0统计软件进行数据分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验;非正态分布的计量资料以M(QL-QU)表示,2组间比较用Mann-Whitney U 检验;计数资料以构成比/率表示,两组间比较用 χ^2 检验;Pearson相关分析检验相关性, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清中cTnI的变化

血清中cTnI的变化见表1:Norm组与Sham组差异无统计学意义($P > 0.05$);CLP组各时间点均明显高于Norm组及Sham组($P < 0.01$);ED1组及ED2组较CLP组明显降低($P < 0.01$);ED2组较ED1组明显降低($P < 0.01$)。

2.2 心肌中·OH-、MDA 和 SOD 的变化

心肌中·OH-、MDA 和 SOD 的变化见表 2: Norm 组与 Sham 组心肌中·OH-、MDA 和 SOD 水平差异无统计学意义($P>0.05$);与 Norm 组及 Sham 组比较, CLP 组心肌·OH- 及 MDA 水平 3 h 即明显升高, 6 h 达到高峰, 之后有所降低, SOD 水平明显降低($P<0.01$); ED 1 组及 ED 2 组心肌·OH- 及 MDA 水平较 CLP 组明显降低, SOD 水平明显升高($P<0.01$), 但与 Norm 组及 Sham 组比较, ED 1 组及 ED 2 组心肌·OH- 及 MDA 水平明显升高, SOD 水平明显降低($P<0.01$); ED 2 组与 ED 1 比较, 心肌·OH- 及 MDA 水平明显降低, SOD 水平明显升高($P<0.01$)。

2.3 心肌中 TNF- α 和 IL-1 β 的变化

心肌中 TNF- α 和 IL-1 β 的变化见表 3: Norm 组与 Sham 组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$);与 Norm 组及 Sham 组比较, CLP 组 6 h 明显升高, 12 h 有所下降 ($P<0.01$); ED1 组及 ED2 组较 CLP 组明显降低($P<0.01$), 但较 Norm 组及 Sham 组明显升高($P<0.01$); ED2 组较 ED1 组明显降低($P<0.01$)。

2.4 心肌病理形态学改变

2.4.1 心肌病理形态学改变 Norm 组及 Sham 组无明显病理改变(见图 1); LPS 组间质充血水肿, 炎症细胞浸润, 心肌纤维断裂(见图 2); ED1 组及 ED2 组

表 1 血清中 cTnI 浓度比较 ($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	cTnI/(pg/ml)
Norm 组	0.66 ± 0.05
Sham 组	
3 h	0.66 ± 0.05
6 h	0.66 ± 0.06
12 h	0.65 ± 0.05
CLP 组	
3 h	2.01 ± 0.16 ¹⁾
6 h	4.08 ± 0.23 ¹⁾
12 h	6.48 ± 0.31 ¹⁾
ED1 组	
3 h	1.82 ± 0.10 ¹⁾²⁾
6 h	2.51 ± 0.12 ¹⁾²⁾
12 h	3.24 ± 0.13 ¹⁾²⁾
ED2 组	
3 h	1.48 ± 0.13 ¹⁾²⁾³⁾
6 h	1.89 ± 0.14 ¹⁾²⁾³⁾
12 h	2.22 ± 0.17 ¹⁾²⁾³⁾

注: 1)与 Norm 组及 Sham 组比较, $P<0.01$; 2)与 CLP 组比较, $P<0.01$; 3)与 ED1 组比较, $P<0.01$

表 2 心肌中·OH- 活性、MDA 浓度和 SOD 活性

($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	OH/(u/mgport)	MAD/(nmol/mgport)	SOD/(u/mgport)
Norm 组	2.57 ± 0.08	0.22 ± 0.02	6.77 ± 0.38
Sham 组			
3 h	2.85 ± 0.10	0.22 ± 0.03	6.52 ± 0.34
6 h	3.09 ± 0.10	0.24 ± 0.03	6.51 ± 0.37
12 h	3.08 ± 0.11	0.25 ± 0.02	6.49 ± 0.28
CLP 组			
3 h	8.41 ± 0.15 ¹⁾	0.62 ± 0.03 ¹⁾	3.18 ± 0.21 ¹⁾
6 h	10.04 ± 0.16 ¹⁾	0.92 ± 0.04 ¹⁾	2.40 ± 0.22 ¹⁾
12 h	9.68 ± 0.15 ¹⁾	0.59 ± 0.04 ¹⁾	3.42 ± 0.26 ¹⁾
ED1 组			
3 h	5.93 ± 0.12 ¹⁾²⁾	0.52 ± 0.02 ¹⁾²⁾	4.43 ± 0.27 ¹⁾²⁾
6 h	7.89 ± 0.14 ¹⁾²⁾	0.70 ± 0.03 ¹⁾²⁾	4.08 ± 0.29 ¹⁾²⁾
12 h	6.64 ± 0.12 ¹⁾²⁾	0.54 ± 0.03 ¹⁾²⁾	4.62 ± 0.29 ¹⁾²⁾
ED2 组			
3 h	5.07 ± 0.10 ¹⁾²⁾³⁾	0.39 ± 0.02 ¹⁾²⁾³⁾	5.26 ± 0.25 ¹⁾²⁾³⁾
6 h	4.32 ± 0.10 ¹⁾²⁾³⁾	0.58 ± 0.04 ¹⁾²⁾³⁾	4.78 ± 0.23 ¹⁾²⁾³⁾
12 h	5.82 ± 0.09 ¹⁾²⁾³⁾	0.46 ± 0.03 ¹⁾²⁾³⁾	5.06 ± 0.23 ¹⁾²⁾³⁾

注: 1)与 Norm 组及 Sham 组比较, $P<0.01$; 2)与 CLP 组比较, $P<0.01$; 3)与 ED1 组比较, $P<0.01$

表 3 心肌中 TNF- α 浓度和 IL-1 β 浓度变化

($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	TNF- α /(pg/ml)	IL-1 β /(pg/ml)
Norm 组	21.02 ± 1.10	4.09 ± 0.17
Sham 组		
3 h	24.70 ± 1.08	4.18 ± 0.17
6 h	25.94 ± 1.15	5.10 ± 0.18
12 h	24.64 ± 1.22	4.82 ± 0.18
CLP 组		
3 h	42.84 ± 1.82 ¹⁾	12.33 ± 0.51 ¹⁾
6 h	59.03 ± 1.87 ¹⁾	16.41 ± 0.61 ¹⁾
12 h	50.86 ± 1.89 ¹⁾	14.64 ± 0.52 ¹⁾
ED1 组		
3 h	32.96 ± 1.17 ¹⁾²⁾	10.10 ± 0.45 ¹⁾²⁾
6 h	52.19 ± 1.82 ¹⁾²⁾	13.99 ± 0.44 ¹⁾²⁾
12 h	45.60 ± 1.72 ¹⁾²⁾	12.82 ± 0.43 ¹⁾²⁾
ED2 组		
3 h	27.31 ± 1.21 ¹⁾²⁾³⁾	7.40 ± 0.31 ¹⁾²⁾³⁾
6 h	48.78 ± 1.45 ¹⁾²⁾³⁾	12.10 ± 0.35 ¹⁾²⁾³⁾
12 h	41.20 ± 1.47 ¹⁾²⁾³⁾	10.39 ± 0.33 ¹⁾²⁾³⁾

注: 1)与 Norm 组及 Sham 组比较, $P<0.01$; 2)与 CLP 组比较, $P<0.01$; 3)与 ED1 组比较, $P<0.01$

上述病理改变明显减轻(见图 3、4)。

2.4.2 心肌组织病理积分 CLP 组较 Sham 组明显升高($P<0.01$);ED 1 组及 ED 2 组与 CLP 组比较下降($P<0.01$);ED 2 组较 ED 1 组明显下降($P<0.01$) (见表 4)。

2.5 血清 cTnI 与心肌氧化应激指标及炎症因子的相关性分析

血清 cTnI 与心肌氧化应激指标及炎症因子的相关性分析见表 5:cTnI 与 $\cdot\text{OH}^-$ 及 MDA 呈正相关,与 SOD 呈负相关;cTnI 与 TNF- α 及 IL-1 β 呈正相关。

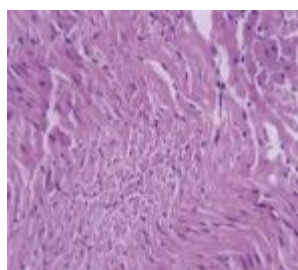


图 1 Sham 组心肌病理改变 (HE × 400)

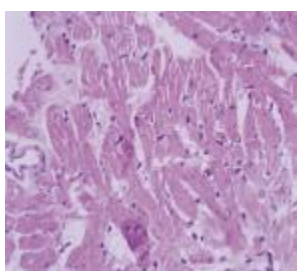


图 2 CLP 组心肌病理改变 (HE × 400)

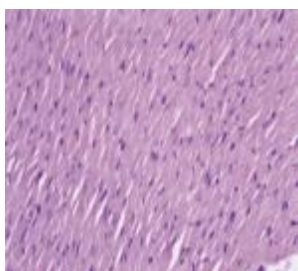


图 3 ED1 组心肌病理改变 (HE × 400)

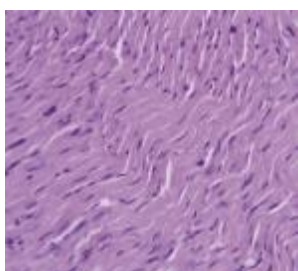


图 4 ED2 组心肌病理改变 (HE × 400)

表 4 心肌组织病理积分 ($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	病理积分 / 分
Norm 组	6	0
Sham 组	18	0.18 ± 0.12
CLP 组	18	3.87 ± 0.25 ¹⁾
ED1 组	18	2.79 ± 0.15 ¹⁾²⁾
ED2 组	18	1.94 ± 0.13 ¹⁾²⁾³⁾

注:1)与 Norm 组及 Sham 组比较, $P<0.01$;2)与 CLP 组比较, $P<0.01$;3)与 ED1 组比较, $P<0.01$

表 5 血清 cTnI 与心肌氧化应激指标及炎症因子的相关性

组别	相关系数 r	P 值
$\cdot\text{OH}^-$	0.840	0.013
MDA	0.694	0.012
SOD	-0.767	0.011
TNF- α	0.777	0.012
IL-1 β	0.816	0.014

3 讨论

研究发现,脓毒症早期即可发生心肌器质性损伤,常伴有心律失常、低血压和心力衰竭,可进一步加重其他器官损害^[7],防治心肌损伤对改善脓毒症预后具有重要的临床意义。

本研究采用 CLP 法复制大鼠脓毒症模型,RIT-TIRSCH 等^[8]认为此法建立的脓毒症动物模型更符合实际的病理生理过程。cTnI 是心肌损伤敏感而特异的指标,广泛用于心肌损伤的检测^[9]。研究发现脓毒症状态下存在氧化应激^[9]。氧化应激指活性氧(reactive oxygen species,ROS)产生过多和/或代谢障碍造成其大量堆积,引起细胞组织的氧化损伤^[10]。 $\cdot\text{OH}^-$ 是化学性质最活泼的 ROS,也是 ROS 中诱导生物损伤最重要的成分,破坏性极强。然而自由基活性高,性质不稳定,半衰期短,临床对其直接测定相当困难,通过检测某些氧化产物含量及抗氧化酶活性可有效评价氧化应激状态。生物膜中的多不饱和脂肪酸最易受到 ROS 攻击而发生脂质过氧化反应,其代谢产物 MDA 的含量和性质相对稳定,检测方法简便,一直以来被众多国内外学者认为是反应机体氧化应激损伤的重要指标。SOD 能催化 $\cdot\text{O}_2^-$ 发生歧化反应,从而缓解内毒素诱导的白细胞呼吸爆发,减少 ROS 的生成,其活性高低可反应机体清除氧自由基的能力。TNF- α 及 IL-1 β 是脓毒症早期导致心肌损伤的主要致炎因子,两者作用机制相似且相互协同,同时去除血清中的这两种成分,可显

著逆转心肌功能障碍^[1]。本研究发现,CLP 组较对照组 cTnl、·OH-、MDA、TNF- α 及 IL-1 β 水平明显升高,SOD 水平明显降低($P<0.01$),且 cTnl 与·OH-、MDA、TNF- α 及 IL-1 β 正相关,而与 SOD 负相关($P<0.01$),表明氧化应激及炎症因子参与了脓毒症心肌损伤。

依达拉奉是作用机制明确的氧自由基清除剂,研究发现其不但可抑制氧化应激,还可降低炎症因子水平^[2],且具有一定剂量的剂量依赖性。YAMAZAKI 等^[13]观察 3 种不同浓度(1、10 及 100 μmol)依达拉奉对心肌缺血再灌注损伤的干预作用,发现 10 μmol 的干预效果最好。有研究认为,临床使用 0.5 mg/kg(近似于目前临床推荐剂量,换算为大鼠剂量约为 3 mg/kg)的依达拉奉其最大血药浓度可达到近 6 μmol ^[14]。依达拉奉对脓毒症大鼠心肌损伤进行干预的最佳剂量尚无报道。在预实验中,本实验用不同剂量(1、3、6、9 及 12 mg/kg)依达拉奉对 CLP 大鼠进行干预,检测血清 cTnl 同时观察心肌病理形态学改变,结果显示 3 mg/kg 和 6 mg/kg 的干预效果最为理想,因此本实验采用这两个剂量进行研究。结果发现,两种剂量依达拉奉均可降低心肌中·OH- 及 MDA 水平,提高 SOD 水平,同时可降低心肌中 TNF- α 及 IL-1 β 水平,减轻心肌损伤,而大剂量组(6 mg/kg)上述指标变化更明显,对脓毒症心肌损伤的保护作用更明显。推测机制可能为,脓毒症状态下氧化应激一旦触发即可级联放大生成大量 ROS,ROS 又可触发或加重炎症反应,只有将 ROS 水平降到一定程度才能遏制这种恶性循环,而剂量过大又会引起肝、肾损害等毒副作用,加重器官损伤。但本实验并未行依达拉奉毒副作用的监测,尚不能说大剂量依达拉奉可安全应用于临床,而且,因观察时间较短,也不能说明不同剂量依达拉奉对脓毒症预后有影响。

参 考 文 献:

- [1] DELLINGER R P, LEVY M M, RHODES A, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012[J]. Crit Care Med, 2013, 41 (2): 580-637.
- [2] WERDAN K, OELKE A, HETTER S, et al. Septic cardiomyopathy: hemodynamic quantification, occurrence, and prognostic implications[J]. Clin Res Cardiol, 2011, 100(8): 661-668.
- [3] HUNTER J D, DODDI M. Sepsis and the heart[J]. Br J Anaesth, 2010, 104(1): 3-11.
- [4] FERNANDES C J, DE ASSUNCAO M S. Myocardial dysfunction in sepsis: a large, unsolved puzzle[J]. Crit Care Res Pract, 2012, 2012: 896430.
- [5] KENJI Y, KEIKO T K, MASAAKI U, et al. Edaravone, a free radical scavenger, inhibits MMP-9-related brain hemorrhage in rats treated with tissue plasminogen activator[J]. Stroke, 2009, 40: 626-631.
- [6] RITTIRSCH D, HOESEL L M, WARD P A. The disconnect between animal models of sepsis and human sepsis[J]. J Leukoc Biol. 2007, 81(1): 137-143.
- [7] RABUEL C, MEBAZAA A. Septic shock: A heart story since the 1960s[J]. Intensive Care Med, 2006, 32(6): 799-807.
- [8] 李振华,董磊,王国兴,等. 脑钠肽、肌钙蛋白 T 和 I 监测对重症脓毒症和脓毒症休克预后的意义[J]. 中华急诊医学杂志, 2012, 21(9): 1016-1021.
- [9] GALLEY H F. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis[J]. Br J Anaesth, 2011, 107(1): 57-64.
- [10] CAUWELS A, ROGGE E, JANSSEN B, et al. Reactive oxygen species and small-conductance calcium-dependent potassium channels are key mediators of inflammation-induced hypotension and shock[J]. J Mol Med, 2010, 88(9): 921-930.
- [11] DUNCAN D J, YANG Z, HOPKINS P M, et al. TNF- α and IL-1 β increase Ca^{2+} leak from the sarcoplasmic reticulum and susceptibility to arrhythmia in rat ventricular myocytes[J]. Cell Calcium, 2010, 47(4): 378-386.
- [12] KATO S, HUSSEIN M H, KAKITA H, et al. Edaravone, a novel free radical scavenger, reduces high-mobility group box 1 and prolongs survival in a neonatal sepsis model [J]. Shock, 2009, 32(6): 586-592.
- [13] YAMAZAKI K, MIWA S, ORIYANHAN W, et al. Effect of edaravone, a novel free radical scavenger, supplemented to cardioplegia on myocardial function after cardioplegic arrest: in vitro study of isolated rat heart [J]. Heart Vessels, 2009, 24 (3): 228-235.
- [14] YOKOTA S, KUMAGAI Y, UCHIUMI M. A pharmacokinetic study of MCI-186, a novel drug for cerebrovascular disease in elderly and young healthy subjects [J]. Jpn J Clin Pharmacol Ther, 1997, 28: 693-702.

(张蕾 编辑)