

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2022.10.015
文章编号: 1005-8982 (2022) 10-0081-06

实验研究·论著

盐酸纳美芬对大脑中动脉缺血再灌注模型大鼠 脑组织的作用及其机制研究*

朱江, 郭森, 窦志杰, 张弛

(承德医学院附属医院 神经内科, 河北 承德 067000)

摘要: **目的** 探究盐酸纳美芬对大脑中动脉缺血再灌注(MCAO/R)模型大鼠的神经保护作用。**方法** 将36只大鼠随机分为假手术组、模型组、盐酸纳美芬组,各12只。盐酸纳美芬组大鼠复制MCAO/R模型前10 min尾静脉注射20 μg/kg盐酸纳美芬注射液,假手术组和模型组注射等体积生理盐水。随后除假手术组外,其余两组采用线栓法复制MCAO/R模型。采用Longa评分标准评估大鼠神经功能,酶联免疫吸附试验(ELISA)检测脑组织超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量,苏木精-伊红(HE)染色和TUNEL染色观察脑组织病理变化和细胞凋亡情况,Western blotting检测脑组织Caspase-3、Bcl-2、Bax蛋白的表达。**结果** 假手术组大鼠神经功能评分低于模型组和盐酸纳美芬组($P < 0.05$);盐酸纳美芬组大鼠神经功能评分低于模型组($P < 0.05$)。模型组、盐酸纳美芬组SOD活性低于假手术组($P < 0.05$),MDA含量高于假手术组($P < 0.05$);与模型组比较,盐酸纳美芬组SOD活性升高($P < 0.05$),MDA含量降低($P < 0.05$)。HE染色结果显示,假手术组细胞轮廓清晰,排列有序;模型组细胞破损,数量减少,炎症浸润严重;盐酸纳美芬组细胞数量较多,轮廓清晰,炎症浸润减少。模型组、盐酸纳美芬组凋亡细胞数多于假手术组($P < 0.05$);盐酸纳美芬组凋亡细胞数少于模型组($P < 0.05$)。模型组、盐酸纳美芬组Caspase-3、Bax蛋白相对表达量高于假手术组($P < 0.05$),Bcl-2蛋白相对表达量低于假手术组($P < 0.05$);与模型组相比,盐酸纳美芬组Caspase-3、Bax蛋白相对表达量降低($P < 0.05$),Bcl-2蛋白相对表达量升高($P < 0.05$)。**结论** 盐酸纳美芬可以降低MCAO/R大鼠脑组织氧化应激水平,减少神经细胞凋亡,具有良好的神经保护作用,其作用机制与调节Caspase-3/Bcl-1/Bax通路有关。

关键词: 缺血再灌注;神经元凋亡;盐酸纳美芬;半胱氨酸天冬氨酸酶-3;B淋巴细胞瘤-2基因;大鼠
中图分类号: R743 **文献标识码:** A

Neuroprotective effect of nalmefene hydrochloride in rat models of middle cerebral artery occlusion and reperfusion*

Jiang Zhu, Sen Guo, Zhi-jie Dou, Chi Zhang

(Department of Neurology, Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Chengde, Hebei 067000, China)

Abstract: Objective To investigate the neuroprotective effect of nalmefene hydrochloride in rat models of middle cerebral artery occlusion and reperfusion. **Methods** Thirty-six rats were randomly divided into sham operation group, model control group and nalmefene hydrochloride group, with twelve rats in each group. In the nalmefene hydrochloride group, rats were administrated with 20 μg/kg of nalmefene hydrochloride via tail vein injection 10 minutes before the establishment of the models. The rats in the sham operation group and the model control group were injected with an equal volume of normal saline. Then the middle cerebral artery occlusion and

收稿日期: 2021-12-28

* 基金项目: 2020年度河北省“三三三人才工程”资助项目(No: A202001022)

[通信作者] 窦志杰, E-mail: douzj9812@sina.com

reperfusion model was established by intraluminal suture method in the model control group and the nalmeferine hydrochloride group. The neurological function of rats was assessed via the Longa scores. The contents of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in brain tissues were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The pathological changes and cell apoptosis of the brain tissues were observed by hematoxylin and eosin (HE) staining and TUNEL staining, respectively. The protein expressions of caspase-3, B cell lymphoma 2 (Bcl-2) and Bax were detected by Western blotting. **Results** The neurological function scores of the sham operation group were lower than those of the model control group and the nalmeferine hydrochloride group ($P < 0.05$). Compared with the model control group, the neurological function scores in the nalmeferine hydrochloride group decreased ($P < 0.05$). The contents of SOD and MDA were higher in the model control group and the nalmeferine hydrochloride group than those in the sham operation group ($P < 0.05$). Compared with the model control group, the content of SOD increased and the content of MDA decreased in the nalmeferine hydrochloride group ($P < 0.05$). The HE staining showed that the cells in the sham operation group were well-defined and regularly-arranged. In the model control group, the cells were destructed, the number of cells was reduced and the inflammatory infiltration was severe. In contrast, the number of cells was relatively higher, the cells were well-defined and the inflammatory infiltration was reduced in the nalmeferine hydrochloride group. Compared with the sham operation group, a larger number of apoptotic cells were observed in the model control group and the nalmeferine hydrochloride group ($P < 0.05$). Compared with the model control group, the number of apoptotic cells decreased in the nalmeferine hydrochloride group ($P < 0.05$). The protein expressions of caspase-3 and Bax were higher and the protein expression of Bcl-2 was lower in the model control group and the nalmeferine hydrochloride group relative to the sham operation group ($P < 0.05$). Compared with the model control group, the protein expressions of caspase-3 and Bax were decreased and the protein expression of Bcl-2 was increased in the nalmeferine hydrochloride group ($P < 0.05$). **Conclusions** Nalmeferine hydrochloride can ameliorate the oxidative stress in brain tissues and reduce the neuronal cell apoptosis in rats models of middle cerebral artery occlusion and reperfusion. Thus, nalmeferine hydrochloride plays a neuroprotective role, and the underlying mechanisms may be related to the regulation of caspase-3/Bcl-1/Bax pathway.

Keywords: occlusion and reperfusion; neuronal apoptosis; nalmeferine hydrochloride; caspase-3; Bcl-2; rat

脑卒中又称脑血管意外,是一种常见的急性脑血管疾病,一般分为缺血性卒中和出血性卒中,具有较高的发病率、病死率和致残率^[1]。近年来脑卒中发病率呈上升趋势,且逐渐年轻化^[2]。临床上以溶栓和机械取栓为脑卒中的主要治疗手段,取栓后虽然能恢复脑组织血液灌注,但是缺血造成的脑神经损伤却无法修复,因此多数患者预后不良,伴有不同程度的身体残疾^[3]。既往研究结果显示,在及时有效的治疗下,中枢神经元可以再生,脑组织损伤或可逆^[4]。盐酸纳美芬是阿片受体拮抗剂,具有抗休克、脑保护和治疗脊髓损伤等作用。既往研究结果显示,盐酸纳美芬可以减少七氟烷麻醉大鼠神经元凋亡,提高认知能力^[5]。目前关于盐酸纳美芬对大脑中动脉缺血再灌注(middle cerebral artery occlusion/reperfusion, MCAO/R)神经保护作用的报道很少,因此本研究采用盐酸纳美芬预注射,探究其对大脑中动脉缺血再灌注大鼠模型的神经保护作用,以期为临床治疗脑卒中提供实验基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康 SPF 级雄性 SD 大鼠 36 只, 体重(220 ± 20)g, 购自斯贝福(北京)生物技术有限公司, 实验动物生产许可证号: SCXK(京)2019-0010, 实验动物使用许可证号: SYXK(冀)2021-004。适应性饲养 1 周, 正常饲养供水。

1.2 主要试剂与仪器

1.2.1 主要试剂 盐酸纳美芬注射液(1 mg/mL, 国药准字 H20080652, 辽宁海思科制药有限公司), 大鼠超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)试剂盒(批号: ml077379)、丙二醛(Malondialdehyde, MDA) ELISA 试剂盒(批号: ml077384)(上海酶联生物科技有限公司), TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(批号: C1091, 上海碧云天生物科技有限公司), 脑组织蛋白提取试剂盒(批号: ml077391, 上海酶联生物科技有限公司), Caspase-3、

Bax、Bcl-2、GAPDH 兔抗大鼠一抗、羊抗兔 HRP 标记二抗(美国 Abcam 公司)。

1.2.2 主要仪器 光学显微镜(日本 Olympus 公司),酶标分析仪(美国 Thermo 公司),Sigma 3-18K 台式速冷冻离心机(德国 Sigma 公司),Tissuelyser II 高通量组织研磨仪(德国 Qiagen 公司),Gel Doc 凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司)。

1.3 方法

1.3.1 MCAO/R 模型的复制 采用线栓法复制 MCAO/R) 模型^[6],大鼠腹腔注射 1% 戊巴比妥钠麻醉,侧卧固定于手术台上,在颈部右侧做长约 2 cm 切口,钝性分离颈总动脉(common carotid artery, CCA)与邻近肌肉和神经,暴露颈外动脉(external carotid artery, ECA)、颈内动脉(internal carotid artery, ICA),结扎 CCA、ECA,动脉夹夹紧 ICA,用眼科剪在 ECA 与 ICA 分叉处做 1 mm 切口,置入外科手术尼龙线并轻轻向内推进,直至遇到明显阻力,则表明尼龙线已经到达大脑中动脉起始端,固定尼龙线。缺血 2 h 后,缓慢抽出尼龙线约 10 min 形成缺血再灌注损伤,逐层缝合切口。整个过程中大鼠置于 37℃ 恒温箱中保持体温。

1.3.2 实验分组与给药 将 36 只大鼠随机分为假手术组、模型组、盐酸纳美芬组,各 12 只。盐酸纳美芬组大鼠复制 MCAO/R 模型前 10 min 尾静脉注射 20 μg/kg 盐酸纳美芬注射液,假手术组和模型组注射等体积生理盐水。随后除假手术组(不进行 CCA、ECA 结扎)外,其余两组采用线栓法复制 MCAO/R 模型。

1.3.3 神经功能评分 MCAO/R 模型复制完成后,放回鼠笼恢复 24 h,参照 Longa 评分标准进行大鼠神经功能评分^[7]:正常(无神经损伤症状)计 0 分;轻度(提尾时左前爪不张)计 1 分;中度(行走时向左盘旋)计 2 分;重度(行走困难,向左倾斜)计 3 分;极严重(不能自发行走)计 4 分。

1.3.4 ELISA 检测脑组织 SOD 活性、MDA 含量 神经功能评分后,每组随机选取 4 只大鼠,立即处死后取头,迅速于冰上解剖分离大鼠右侧脑组织,加入适量生理盐水,4℃ 匀浆脑组织,3 000 r/min 离心 10 min,取上清液,参照试剂盒说明书加入待测样本,最后在 450 nm 波长下读取各孔光密度(optical density, OD)值,根据 OD 值计算 SOD 活性、

MDA 含量。

1.3.5 苏木精-伊红(hematoxylin-eosin, HE)染色观察脑组织病理变化 每组随机选取 4 只大鼠,腹腔内注射 1% 戊巴比妥钠麻醉,开胸行主动脉插管,用 200 mL 生理盐水快速冲洗,随后灌入 4% 多聚甲醛 400 mL 固定,常规石蜡包埋,切片切脑组织厚约 5 μm。取切片烤干,加二甲苯脱蜡,重复 1 次,加乙醇脱苯,重复 1 次,洗净乙醇后常规 HE 染色,在显微镜下观察脑组织病理变化。

1.3.6 TUNEL 染色观察细胞凋亡 取 1.3.5 中脑组织切片,加入二甲苯脱蜡 10 min,重复 1 次。加入无水乙醇 5 min,90% 乙醇 2 min,70% 乙醇 2 min,蒸馏水冲干净。滴加不含 DNase 的蛋白酶 K 20 μg/mL,37℃、20 min。PBS 洗涤 3 次,除去蛋白酶 K。加入内源性过氧化物酶强力封闭液,室温下孵育 20 min,灭活切片中的内源过氧化物酶,PBS 洗涤 3 次。参照 TUNEL 试剂盒说明书,配制生物素标记液,现用现配。切片上滴加 50 μL 生物素标记液,37℃ 避光孵育 60 min。PBS 洗涤 1 次,再滴加 0.2 mL 标记反应终止液,室温下孵育 10 min。参照试剂盒说明书配制 Streptavidin-HRP 工作液和 DAB 显色液。PBS 洗涤 3 次,滴加 50 μL Streptavidin-HRP 工作液,室温孵育 30 min,滴加 0.3 mL DAB 显色液,室温孵育 20 min^[8]。PBS 洗涤 3 次,在显微镜下观察细胞凋亡情况,随机选取 5 个视野,计算每个视野中凋亡细胞数并记录平均值(视野中棕色为阳性凋亡细胞)。

1.3.7 Western blotting 检测 Caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白的表达 各组随机选取 4 只大鼠,处死后取头,于冰上解剖分离右侧脑组织,加入组织蛋白提取液,组织匀浆器匀浆,4℃、12 000 r/min 离心 5 min,取上清液,采用 BCA 法检测蛋白浓度。取蛋白 20 μg,通过 SDS-PAGE 分离蛋白并转移至 PVDF 膜。5% 脱脂牛奶封闭后,将 PVDF 膜与 Caspase-3、Bax、Bcl-2 一抗体在 4℃ 孵育过夜。缓冲液洗膜 3 次,PVDF 膜与二抗孵育 1 h,洗膜 3 次,显色液显色。采用 ImageJ 软件定量分析蛋白相对表达量,以 GAPDH 为内参。

1.4 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较用方差分析或 *t* 检验,进一步两两比较用 LSD-*t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组大鼠神经功能损伤情况

假手术组、模型组、盐酸纳美芬组大鼠神经功能评分分别为 (0.00 ± 0.00) 分、 (3.14 ± 0.58) 分和 (2.21 ± 0.41) 分。假手术组分别与模型组、盐酸纳美芬组大鼠神经功能评分比较,经 t 检验,差异有统计学意义($t=18.754$ 和 18.672 ,均 $P=0.000$),假手术组大鼠神经功能评分较低。模型组与盐酸纳美芬组大鼠神经功能评分比较,差异有统计学意义($t=4.536$, $P=0.000$),盐酸纳美芬组大鼠神经功能评分低于模型组。

2.2 3组大鼠脑组织SOD活性、MDA含量比较

假手术组、模型组、盐酸纳美芬组大鼠脑组织SOD活性、MDA含量比较,经方差分析,差异有统计学意义($F=9.211$ 和 15.625 ,均 $P=0.000$)。进一步两两比较结果:模型组、盐酸纳美芬组SOD活性低于假手术组($P<0.05$),MDA含量高于假手术组

($P<0.05$);与模型组相比,盐酸纳美芬组SOD活性升高($P<0.05$),MDA含量降低($P<0.05$)。见表1。

表1 3组大鼠脑组织SOD活性、MDA含量比较
($n=4, \bar{x} \pm s$)

组别	SOD/(u/mg)	MDA/(nmol/mg)
假手术组	211.48 ± 47.21	2.56 ± 0.59
模型组	$107.88 \pm 21.34^{\text{①}}$	$6.79 \pm 1.58^{\text{①}}$
盐酸纳美芬组	$169.21 \pm 29.17^{\text{①②}}$	$3.87 \pm 0.87^{\text{①②}}$
F值	9.211	15.625
P值	0.000	0.000

注:①与假手术组比较, $P<0.05$;②与模型组比较, $P<0.05$ 。

2.3 3组大鼠脑组织病理变化

假手术组细胞轮廓清晰,排列有序。模型组细胞破损,数量减少,炎症浸润严重。盐酸纳美芬组细胞数量较多,轮廓清晰,炎症浸润减少(见图1)。

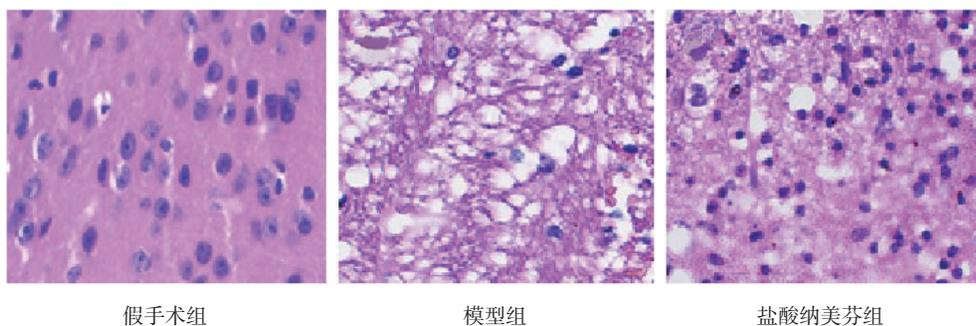


图1 3组大鼠脑组织病理变化 (HE染色 $\times 400$)

2.4 3组大鼠脑组织凋亡细胞数比较

假手术组、模型组、盐酸纳美芬组大鼠凋亡细胞数分别为 (4.12 ± 1.07) 个/HP、 (52.87 ± 10.54) 个/HP和 (30.76 ± 8.57) 个/HP,经方差分析,差异有统计学

意义($F=38.508$, $P=0.000$)。进一步两两比较结果:模型组、盐酸纳美芬组凋亡细胞数多于假手术组($P<0.05$);盐酸纳美芬组凋亡细胞数少于模型组($P<0.05$)。见图2。

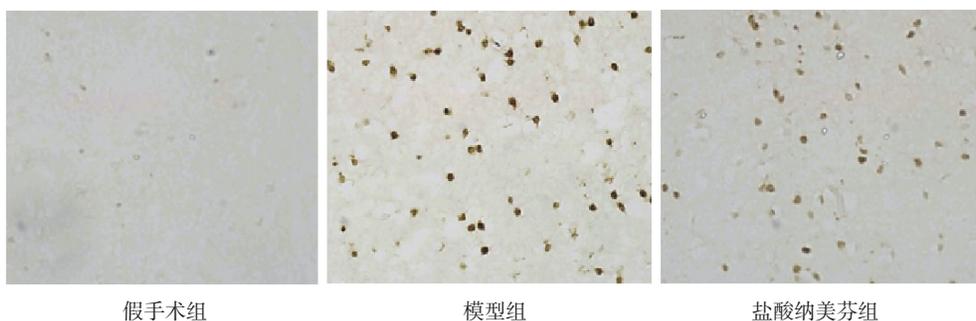


图2 3组大鼠脑组织细胞凋亡情况 (TUNEL染色 $\times 200$)

2.5 3组大鼠脑组织 Caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白相对表达量比较

假手术组、模型组、盐酸纳美芬组大鼠脑组织 Caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白相对表达量比较,经方差分析,差异有统计学意义 ($F=29.871、33.992$ 和 14.459 , 均 $P=0.000$)。进一步两两比较结果:模型组、盐酸纳美芬组 Caspase-3、Bax 蛋白相对表达量高于假手术组 ($P<0.05$), Bcl-2 蛋白相对表达量低于假手术组 ($P<0.05$);与模型组相比,盐酸纳美芬组 Caspase-3、Bax 蛋白相对表达量降低 ($P<0.05$), Bcl-2 蛋白相对表达量升高 ($P<0.05$)。见表 2 和图 3。

表 2 3组大鼠脑组织 Caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白相对表达量比较 ($n=4, \bar{x} \pm s$)

组别	Caspase-3	Bax	Bcl-2
假手术组	0.11 ± 0.01	0.28 ± 0.04	0.87 ± 0.20
模型组	0.54 ± 0.11 ^①	0.98 ± 0.21 ^①	0.27 ± 0.04 ^①
盐酸纳美芬组	0.34 ± 0.08 ^{①②}	0.38 ± 0.07 ^{①②}	0.68 ± 0.15 ^{①②}
F 值	29.871	33.992	14.459
P 值	0.000	0.000	0.002

注: ①与假手术组比较, $P<0.05$; ②与模型组比较, $P<0.05$ 。

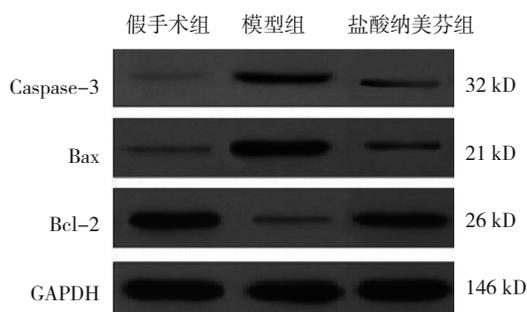


图 3 3组大鼠脑组织 Caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白的表达

3 讨论

缺血性脑卒中是脑血管堵塞引起的脑损伤疾病,发病原因为大脑中动脉出现梗死,中断脑组织供血。即使在短时间内恢复供血,脑组织也会受到不同程度的损伤,使脑神经功能受损^[9]。目前临床上常采用组织型纤溶酶原激活物 (tissue-type plasminogen activator, t-PA) 进行血栓溶解^[10],但 t-PA 有效时间窗口狭窄 (4.5 h 内),并且恢复血液灌注后,受损的脑组织神经元难以修复,因此寻找具有神经保护作用的药物对治疗脑组织缺血再灌注导

致的神经损伤具有重要意义。盐酸纳美芬与其他阿片受体拮抗剂一样,具有抗昏迷、抗休克等作用。盐酸纳美芬可以透过血脑屏障,注射后可以迅速到达脑组织,促进损伤神经的修复,具有修复受损神经元的作用^[11]。既往研究结果显示,临床上治疗急性脑梗死时,在常规治疗基础上加用盐酸纳美芬可以提高疗效^[12]。

本研究结果显示,模型组大鼠出现行走困难,并向左倾斜的症状,说明右侧脑组织损伤严重;盐酸纳美芬组大鼠行走时虽向左盘旋,但行走障碍不明显,说明右脑神经功能得到部分修复。脑组织缺血再灌注过程会产生大量的氧自由基,导致脂质过氧化,破坏细胞膜,损伤神经元^[13]。MDA 是脂质过氧化的终产物^[14]。本研究结果显示,与假手术组相比,模型组大鼠 MDA 含量升高,说明 MCAO/R 后,大鼠脑组织中脂质过氧化反应水平升高,脑组织氧化损伤严重。与模型组相比,预注射盐酸纳美芬后大鼠脑组织 MDA 含量降低。SOD 参与氧自由基的清除,对抗机体氧化应激反应^[15]。本研究中,与模型组相比,预注射盐酸纳美芬的大鼠脑组织 SOD 活性升高,说明脑组织抗氧化水平提高。通过 HE 染色发现, MCAO/R 对脑组织造成损害,细胞破损严重,炎症浸润增加,而预注射盐酸纳美芬后,大鼠脑组织炎症浸润减少,细胞数量增多,提示盐酸纳美芬具有一定脑组织保护作用。

脑组织缺血时,神经元会激活小胶质细胞,释放活性氧 (reactive oxygen species, ROS)。ROS 刺激线粒体释放细胞色素 C (cytochrome C, Cyt-C),与凋亡蛋白酶激活因子形成聚合物,激活细胞凋亡终末蛋白 Caspase-3,促进凋亡的发生。Bcl-2 是细胞中重要的抗凋亡基因,其通过抑制细胞中蓄积的 Cyt-C 和 Caspase-3,达到抑制细胞凋亡的作用。Bax 属于 Bcl-2 基因家族,过表达拮抗 Bcl-2 形成二聚体,抑制 Bcl-2 的保护作用^[16-17]。本研究中,与假手术组相比,模型组大鼠脑组织 Caspase-3、Bax 蛋白相对表达量升高, Bcl-2 蛋白相对表达量降低,说明 MCAO/R 时脑组织发生氧化应激反应,造成脑组织损伤,大量细胞凋亡。当预注射盐酸纳美芬后,与模型组相比,盐酸纳美芬组大鼠脑组织 Caspase-3、Bax 蛋白相对表达量降低, Bcl-2 蛋白相对表达量升高,提示盐酸纳美芬可以抑制氧化应激发生,具有神经保护作

用;并且通过 TUNEL 染色观察到,相比模型组,盐酸纳美芬组大鼠脑组织凋亡细胞减少。

综上所述,盐酸纳美芬具有抗氧化应激作用,可抑制细胞凋亡,保护脑神经。其作用机制与调控 Caspase-3/Bcl-1/Bax 通路有关,但具体调控机制有待进一步研究证实。

参 考 文 献 :

- [1] MAIDA C D, NORRITO R L, DAIDONE M, et al. Neuroinflammatory mechanisms in ischemic stroke: focus on cardioembolic stroke, background, and therapeutic approaches[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(18): 6454.
- [2] 刘美霞,周龙. 缺血性脑卒中患者血清 Pannexin1 水平及其临床意义[J]. *中国现代医学杂志*, 2020, 30(8): 110-113.
- [3] CAMPBELL B C V, de SILVA D A, MACLEOD M R, et al. Ischaemic stroke[J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2019, 5(1): 70.
- [4] JOY M T, CARMICHAEL S T. Encouraging an excitable brain state: mechanisms of brain repair in stroke[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2021, 22(1): 38-53.
- [5] 杨世宝,马金玉. 盐酸纳美芬对七氟烷麻醉新生大鼠 MAPK/ERK/CREB 通路及海马神经元凋亡的影响[J]. *中国药师*, 2021, 24(9): 1652-1657.
- [6] SHI C H, LI J H, LI J W. Ephedrine attenuates cerebral ischemia/reperfusion injury in rats through NF- κ B signaling pathway[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2021, 40(6): 994-1002.
- [7] LUO M, TANG X Y, ZHU J H, et al. Establishment of acute pontine infarction in rats by electrical stimulation[J]. *J Vis Exp*, 2020(162): e60783.
- [8] SHI C X, JIN J, WANG X Q, et al. Sevoflurane attenuates brain damage through inhibiting autophagy and apoptosis in cerebral ischemia-reperfusion rats[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 21(1): 123-130.
- [9] 孙微,王一帆,李贺,等. 乌灵胶囊对卒中后抑郁大鼠海马 P13K/Akt/mTOR 通路和神经递质的影响[J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(14): 47-51.
- [10] KIM J S. tPA helpers in the treatment of acute ischemic stroke: are they ready for clinical use? [J]. *J Stroke*, 2019, 21(2): 160-174.
- [11] ZHANG N L, WANG H Q, YANG J, et al. Effects of nalmefene hydrochloride on TLR4 signaling pathway in rats with lung ischemia-reperfusion injury[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2020, 24(1): 461-468.
- [12] 张运周,刘群,赵明娟,等. 盐酸纳美芬治疗急性脑梗死有效性和安全性的 meta 分析[J]. *中国循证医学杂志*, 2019, 19(2): 173-179.
- [13] 马历历,李浩,孙立明,等. 黄芪总黄酮对脑缺血再灌注损伤大鼠氧化应激、炎症、凋亡的影响[J]. *中成药*, 2019, 41(8): 1811-1815.
- [14] CHENG L, JIAO Q, ZHANG H L, et al. The petrosal vein mutilation affects the SOD activity, MDA levels and AQP4 level in cerebellum and brain stem in rabbit[J]. *J Chem Neuroanat*, 2020, 106: 101791.
- [15] YANG Y, WU Z Z, CHENG Y L, et al. Resveratrol protects against oxidative damage of retinal pigment epithelium cells by modulating SOD/MDA activity and activating Bcl-2 expression[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2019, 23(1): 378-388.
- [16] 张贵星,王胜,殷姜文,等. 异氟醚后处理对局灶性脑缺血-再灌注大鼠海马神经损伤的影响[J]. *临床麻醉学杂志*, 2019, 35(1): 66-71.
- [17] XIA P P, ZHANG F, YUAN Y J, et al. ALDH 2 conferred neuroprotection on cerebral ischemic injury by alleviating mitochondria-related apoptosis through JNK/caspase-3 signaling pathway[J]. *Int J Biol Sci*, 2020, 16(8): 1303-1323.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 朱江,郭森,窦志杰,等. 盐酸纳美芬对大鼠脑中动脉缺血再灌注模型大鼠脑组织的作用及其机制研究[J]. *中国现代医学杂志*, 2022, 32(10): 81-86.

Cite this article as: ZHU J, GUO S, DOU Z J, et al. Neuroprotective effect of nalmefene hydrochloride in rat models of middle cerebral artery occlusion and reperfusion[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2022, 32(10): 81-86.