

· 基础研究 ·

头部亚低温干预对大鼠缺血脑组织保护作用的实验研究

张洪 周敏 章军建 梅元武 孙圣刚 童萋塘

【摘要】目的 研究脑缺血后即时亚低温干预对脑缺血损伤的影响。**方法** 将 48 只 SD 大鼠随机分为假手术组(8 只)、常温(37~38℃)脑缺血组(8 只)和亚低温(33~34℃)脑缺血组(32 只),后者又根据亚低温持续作用时间细分为 4 个亚组($n=8$)。将常温脑缺血组和亚低温脑缺血组大鼠制成全脑缺血 20 min、再灌注 240 min 模型。亚低温脑缺血组大鼠于脑缺血 20 min 时给予亚低温治疗,4 个亚组亚低温持续作用时间分别为 30, 60, 120, 240 min。于脑缺血再灌注 240 min 后检查上述各组大鼠脑组织中一氧化氮(NO)代谢产物亚硝酸盐(NO_2^-)、内皮素-1(ET_1)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-1 β 含量;同时对各组大鼠血液中乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶(CK)和天门冬氨酸氨基转移酶(AST)及肌酸激酶同工酶(CK-BB)水平进行检测。**结果** 常温脑缺血组大鼠脑组织中 ET_1 、 NO_2^- 、TNF- α 和 IL-1 β 水平均明显高于假手术组($P<0.01$);亚低温持续作用 30 min 对脑缺血组织中 ET_1 、 NO_2^- 、TNF- α 和 IL-1 β 含量无明显影响($P>0.05$);亚低温持续作用 60~240 min 可显著降低脑缺血组织中 ET_1 、 NO_2^- 、TNF- α 和 IL-1 β 水平($P<0.05$ 或 0.01)。常温脑缺血组大鼠血液中 LDH、AST、CK 和 CK-BB 水平均明显高于假手术组($P<0.01$);亚低温持续作用 60~240 min 可显著减少脑缺血大鼠血液中 LDH、AST、CK 和 CK-BB 含量($P<0.05$ 或 0.01)。**结论** 脑缺血后即时亚低温干预能明显减轻脑缺血损伤,亚低温持续作用时间以超过 1 h 为宜。

【关键词】 脑缺血再灌注; 亚低温; 大鼠; 治疗时间窗

Neuroprotection of mild brain hypothermia against cerebral ischemic injury ZHANG Hong*, ZHOU Min, ZHANG Jun-jian, MEI Yuan-wu, SUN Sheng-gang, TONG E-tang. * Department of Neurology, Zhongnan Hospital, Wuhan University, Center for Cerebral Vascular Diseases, Medical College of Wuhan University, Wuhan 430071, China

【Abstract】 Objective To study the effect of mild brain hypothermia on cerebral ischemic injury. **Methods** Global cerebral ischemia was established by modified Pulsinelli 4-vessel occlusion model. Forty-eight Sprague-Dawley rats were divided into 4 groups: a sham-operated group, a normothermia (37~38℃) ischemic group and a mild ischemic hypothermia (31~32℃) group; the mild ischemic hypothermia was subdivided into 4 groups with the hypothermia lasting for 30 min, 60 min, 120 min and 240 min, respectively. After 240 min of reperfusion following 20 min cerebral ischemia, the levels of nitric oxide products nitrite (NO_2^-), endothelin-1 (ET_1), tumor necrosis factor alpha (TNF α) and interleukin-1 beta (IL-1 β) in brain tissue and the lactate dehydrogenase (LDH), aspartate aminotransferase (AST), creatine kinase (CK) and its brain band isoenzyme (CK-BB) in plasma were measured. **Results** The levels of IL-1 β , TNF α , ET_1 and NO_2^- in brain tissue, and the amounts of LDH, AST, CK and CK-BB in serum were higher in normothermia ischemic group than those in sham-operated group ($P<0.05$). Mild hypothermia lasting for 60 min to 240 min markedly decreased the levels of IL-1 β , TNF- α , ET_1 and NO_2^- in brain tissue, and the amounts of LDH, AST, CK and CK-BB in serum in normothermia ischemic group, when compared with normothermia ischemic group ($P<0.05$ or $P<0.01$). Mild hypothermia lasting for 30 min did not influence the content of IL-1 β , TNF- α , ET_1 and NO_2^- in brain tissue when compared with normothermia ischemia group ($P>0.05$). **Conclusion** Mild brain hypothermia post-ischemia can significantly suppress the inflammation response in ischemic brain tissue and stabilize the function of cell membrane. The best neuroprotection of mild brain hypothermia must be carried out immediately and last for more than 60 minutes.

【Key words】 Mild hypothermia; Cerebral ischemia; Rats; Therapeutic window

亚低温已被临床证实为是一种治疗重症脑血管疾

病和颅脑损伤的有效方法。脑缺血后即时亚低温干预可缓解细胞内酸中毒、减轻脑水肿、抑制白三烯 B_4 生成、减轻缺血后细胞毒性作用及防止血脑屏障通透性改变等^[1];但脑缺血后亚低温持续作用多长时间对脑缺血组织最为有利,至今尚未达成共识。本研究通过建立大鼠全脑缺血模型,观察亚低温持续作用不同时

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-1424.2009.01.005

作者单位:430071 武汉,武汉大学中南医院神经内科,武汉大学医学院脑血管病研究中心(张洪、章军建);上海交通大学农业与生物学院(周敏);华中科技大学同济医学院附属协和医院神经内科(梅元武、孙圣刚、童萋塘)

间对缺血脑组织中一氧化氮(nitric oxide, NO)、内皮素-1(endothelin-1, ET₁)、肿瘤坏死因子-α(tumor necrosis factor -alpha, TNF-α)、白细胞介素-1β(Interleukin 1beta, IL-1β)和血液中胞浆酶含量的影响,以探讨亚低温持续时间与其脑保护作用间的相关性。现将结果报道如下。

材料与方法

一、实验动物与分组

共选取健康、雄性 Sprague-Dawley (SD) 大鼠 48 只,体重(250 ± 10)g,由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供。将其随机分为假手术组($n=8$)、常温脑缺血组($n=8$)和亚低温脑缺血组($n=32$)。

二、脑缺血动物模型制备

参照改良的 Pulsinelli 全脑缺血模型^[2]制作方法,采用 20% 乌拉坦(按 1 g/kg 体重)腹腔注射麻醉大鼠,于大鼠头背部行正中切口,用尖端直径为 0.5 mm 的电针烧灼双侧翼小孔内的椎动脉,经手术显微镜证实椎动脉烧断后,迅速行前正中切口,分离并夹闭双侧颈总动脉制作全脑缺血模型,待脑缺血 20 min 后松开双侧夹闭颈总动脉的止血镊,开始再灌注,持续时间为 240 min;假手术组大鼠仅分离双侧颈总动脉,不阻断颈总动脉血流。

三、亚低温干预

亚低温脑缺血组大鼠于脑缺血 20 min 时给予亚低温治疗。根据《大鼠脑立体定位图谱》^[3],将亚低温脑缺血组大鼠固定于立体定位仪上,通过颅骨钻孔,用点式测温仪直接测量海马组织温度,采用冰袋或冰帽方式局部降温,当大鼠脑温过低时则采用 60 W 白炽灯距其头顶 5 cm 处进行照射^[4,5]。常温脑缺血组及假手术组将脑温维持在 37 ~ 38℃。根据亚低温持续时间不同,将亚低温脑缺血组大鼠划分为 4 个亚组,各亚组亚低温持续作用时间分别为 30, 60, 120 和 240 min,期间维持脑温在 31 ~ 32℃,于亚低温干预结束后恢复脑温至 37 ~ 38℃。

四、标本的采集

各组大鼠分别于脑灌注 240 min 后断头处死,于

0℃ 环境下取出全脑组织,分离大脑皮质用于测量 IL-1β、TNF-α、ET₁ 和 NO 含量,收集动物血液标本用于测量胞浆酶含量,将上述标本置于 -80℃ 深低温冰箱中保存待测。实验大鼠脑组织中 IL-1β、TNF-α 和 ET₁ 测定采用放射免疫法,¹²⁵I-IL-1β、¹²⁵I-TNF-α 和 ¹²⁵I-ET₁ 放射免疫测定试剂盒由北京东亚免疫技术研究所提供,具体操作方法严格按照说明书进行;采用 GC-1200 型放射免疫计数器(中国科技大学科技实业总公司生产)自动检测样品放射性强度,结合标准曲线计算脑组织中 IL-1β、TNF-α 和 ET₁ 含量。脑组织中 NO 测定采用荧光分光光度法^[6],通过检测脑组织中 NO 代谢产物亚硝酸盐(NO₂)以反映 NO 含量,以 NaNO₂ 作标准曲线,计算脑组织中 NO₂ 含量。血液中乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、磷酸肌酸激酶(creatine phosphokinase, CK)和天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)测定采用全自动生化分析仪(Beckman 公司),肌酸激酶脑型同工酶(creatine kinase BB isoenzymes, CK-BB)采用离子交换层析测定法^[7]。

五、统计学分析

本研究结果以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 F 检验和 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

一、亚低温对大鼠脑缺血组织 IL-1β、TNF-α、ET₁ 及 NO 含量的影响

各组大鼠脑缺血组织中 IL-1β、TNF-α、ET₁ 及 NO 含量详见表 1,表中数据显示,常温脑缺血组大鼠脑组织中 IL-1β、TNF-α、ET₁ 和 NO 含量均较假手术组明显增加,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。亚低温脑缺血组大鼠经亚低温作用 60 ~ 240 min 后,其脑缺血组织中 IL-1β、TNF-α、ET₁ 和 NO 含量均较常温脑缺血组明显降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 0.01);进一步分析后发现,亚低温持续干预时间越长,其对脑缺血组织中 IL-1β、TNF-α、ET₁ 和 NO 含量的抑制作用就越显著。

二、亚低温对脑缺血大鼠血液胞浆酶含量的影响

各组脑缺血大鼠血液胞浆酶含量测定结果详见表 2,

表 1 亚低温对大鼠脑缺血组织中 IL-1β、TNF-α、ET₁ 及 NO 含量的影响($\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	IL-1β (mg/g)	TNF-α (mg/g)	ET ₁ (pg/mg)	NO (pmol/g)
假手术组	8	0.1896 ± 0.0464	0.2300 ± 0.0528	9.28 ± 1.72	19.24 ± 4.28
常温脑缺血组	8	0.4868 ± 0.0912 ^b	0.7233 ± 0.1016 ^b	25.34 ± 5.28 ^b	34.64 ± 6.87 ^b
亚低温脑缺血组(30 min)	8	0.4108 ± 0.0804 ^{bd}	0.6232 ± 0.0960 ^b	26.47 ± 5.44 ^b	32.94 ± 6.75 ^b
亚低温脑缺血组(60 min)	8	0.3488 ± 0.0684 ^{bd}	0.5032 ± 0.0632 ^{bd}	18.25 ± 4.23 ^{bc}	24.33 ± 5.47 ^c
亚低温脑缺血组(120 min)	8	0.3392 ± 0.062 ^{bd}	0.3940 ± 0.0612 ^{bd}	15.23 ± 3.76 ^{bd}	21.89 ± 5.24 ^c
亚低温脑缺血组(240 min)	8	0.2492 ± 0.0576 ^{ad}	0.2831 ± 0.0412 ^{ad}	10.74 ± 2.41 ^d	20.96 ± 5.08 ^c

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与常温脑缺血组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

表 2 亚低温对脑缺血大鼠血液胞浆酶含量的影响 (U/L, $\bar{x} \pm s$)

组 别	只数	LDH	AST	CK	CK-BB
假手术组	8	17.16 $\pm$ 2.24	14.87 $\pm$ 2.87	90.66 $\pm$ 10.23	5.64 $\pm$ 0.96
常温脑缺血组	8	60.38 $\pm$ 7.62 ^b	48.25 $\pm$ 7.96 ^b	285.25 $\pm$ 29.34 ^b	17.33 $\pm$ 4.76 ^b
亚低温脑缺血组 (30 min)	8	55.23 $\pm$ 6.87 ^b	44.33 $\pm$ 8.64 ^b	274.17 $\pm$ 25.91 ^b	14.87 $\pm$ 4.54 ^b
亚低温脑缺血组 (60 min)	8	34.28 $\pm$ 5.43 ^{bd}	39.25 $\pm$ 6.18 ^{bc}	217.59 $\pm$ 20.08 ^{bd}	12.95 $\pm$ 3.84 ^{bd}
亚低温脑缺血组 (120 min)	8	24.96 $\pm$ 4.22 ^{bd}	30.22 $\pm$ 5.62 ^{bd}	154.65 $\pm$ 18.23 ^{bd}	8.63 $\pm$ 2.18 ^{bd}
亚低温脑缺血组 (240 min)	8	20.63 $\pm$ 3.18 ^{ad}	27.43 $\pm$ 5.01 ^{bd}	129.66 $\pm$ 16.34 ^{bd}	6.72 $\pm$ 1.24 ^d

注:与假手术组比较,^a $P < 0.05$,^b $P < 0.01$;与常温脑缺血组比较,^c $P < 0.05$,^d $P < 0.01$

表中数据显示,常温脑缺血组大鼠血液胞浆酶含量较假手术组明显增加,差异具有统计学意义($P < 0.01$)。亚低温脑缺血组大鼠经亚低温持续作用 60 ~ 240 min 后,其血液中胞浆酶含量较常温脑缺血组显著降低($P < 0.05$ 或 0.01);进一步分析后发现,亚低温持续干预时间越长,其对血液中胞浆酶含量的抑制作用就越显著。

讨 论

一、IL-1 β 、TNF- α 、ET₁ 和 NO 对脑缺血组织的影响

相关研究表明,炎性细胞因子在中枢神经系统生理及病理条件下均发挥着重要作用^[7-11]。在生理情况下,IL-1 β 适量分泌有助于神经元可塑性;但过多、持久的 IL-1 β 作用不仅对神经元有损害,而且对非神经组织也有不良影响,可导致中枢神经系统某些重要神经毒性分子(如花生四烯酸及其代谢产物、氮氧化物等)释放,诱导相关细胞因子(如 TNF、IL-8 等)产生。有研究发现 IL-1 参与了脑缺血后脑水肿形成,能促使白细胞向缺血区浸润及神经元坏死;在局灶性和全脑性脑缺血损伤中均发现脑缺血组织 IL-1 β 蛋白和/或 mRNA 表达增强^[8];从侧脑室注入人重组 IL-1 β ,可发现脑缺血面积增大;注入 IL-1 受体拮抗剂则能显著减小脑梗死面积,减轻脑水肿^[8];抑制 IL-1 β 转换酶能通过干扰 IL-1 β 合成,抑制缺血神经元凋亡^[9]。

TNF- α 在病理情况下可刺激血管内皮细胞释放 IL-1,激活中性粒细胞,增加白细胞与血管内皮细胞黏附分子表达,促使白细胞黏附到血管壁并进入脑组织内,刺激血管活性物质释放,造成微循环通道阻塞^[9]。有研究发现脑缺血大鼠脑组织中 TNF- α 以及 TNF- α mRNA 表达均显著增加,从侧脑室内注入 TNF- α 可使脑缺血面积增大,而注入 TNF- α 单克隆抗体则能显著减小脑缺血面积,提示 TNF- α 与脑缺血损伤密切相关^[9,10]。

ET 是目前所知收缩血管效应最强的内皮收缩因子之一。在正常生理情况下,机体内 ET₁ 和 NO 处于动态平衡,即 ET₁/NO 比值保持在一定范围内,如 ET₁/NO 比值下降,则血管舒张;ET₁/NO 比值升高,则血管

收缩。在病理情况下(尤其是在脑缺血状态时),由于炎性细胞因子 IL-1 β 和 TNF- α 释放增加,一方面使缺血组织中 ET₁ 合成、释放加速,导致细胞内 Ca²⁺ 升高,脑血管收缩,加重脑缺血损伤;另一方面通过激活神经源性一氧化氮合酶和诱导型一氧化氮合酶,产生过量 NO;通过一系列连锁反应,抑制线粒体呼吸,产生强毒性氧自由基,直接或间接引起神经元坏死或凋亡^[10,11],提示脑缺血时 ET₁ 和 NO 过量生成均参与脑缺血损伤过程^[11]。

二、亚低温对脑缺血组织 IL-1 β 、TNF- α 、ET₁ 和 NO 含量的影响

脑缺血后即时亚低温干预能明显抑制脑缺血组织的炎症反应^[10]。Goss 等^[12]于大鼠脑外伤后立即实施亚低温治疗,其 IL-1 β mRNA 高表达情况得到明显缓解,认为亚低温可能通过抑制 IL-1 介导的炎症反应对脑缺血损伤发挥治疗作用。另有研究发现,亚低温干预能明显降低局灶性脑缺血实验狗血浆中 ET₁ 含量,且对脑血流量无明显影响;对大脑中动脉梗死大鼠的研究发现,亚低温干预能显著下调急性脑缺血组织中过量 NO,并促使脑梗死面积减少^[13]。我们在前期研究中也发现,脑缺血后即时亚低温干预可明显延缓缺血组织中抗氧化酶及 ATP 的消耗,减少脂质过氧化产物和乳酸堆积并减轻脑水肿^[4]。本研究结果进一步证明,脑缺血后即时亚低温干预可不同程度地减少脑组织 IL-1 β 、TNF- α 、ET₁ 及 NO 含量,其可能原因包括以下方面:亚低温能降低能量代谢,延缓兴奋性氨基酸释放,抑制蛋白激酶活性,减少细胞内 Ca²⁺ 超载,抑制 IL-1 β 、TNF- α 合成及释放,减轻脑缺血组织中局部炎症反应;同时亚低温干预还有利于 ET₁ 和 NO 恢复平衡,改善脑局部血流,进而减轻因缺血后炎症反应所造成的继发性脑损伤^[1,4]。

三、亚低温对脑缺血大鼠血液胞浆酶含量的影响

目前已知人脑组织中存在 CK、LDH 和 AST 等酶类,任何原因引起组织细胞受损或使胞浆酶活性增强,均可导致细胞外液酶含量增加,因此检测血液和脑脊液胞浆酶活力情况可反映脑组织细胞受损程度。本研究结果表明,大鼠全脑缺血后胞浆酶含量呈不同程度

升高,可能是由于脑缺血、缺氧使细胞膜上 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+} - \text{ATP}$ 酶活力下降, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{Ca}^{2+}$ 转运功能障碍;一方面使胞浆酶活性增强,另一方面在毒性细胞因子反复侵袭下出现氧自由基-脂质过氧化反应,使细胞膜结构受损,膜通透性增加,大量胞浆酶被释放到细胞间隙,通过血液或透过血脑屏障进入脑脊液,导致血液和脑脊液中胞浆酶含量升高。脑缺血后给予亚低温干预,可明显降低血液胞浆酶水平,这可能与亚低温改善脑缺血时细胞能量代谢,减少 ATP 消耗,促进 ATP 酶活力恢复,减轻细胞内酸中毒,纠正细胞内外离子失衡(尤其是 Ca^{2+} 超载),减少氧自由基-脂质过氧化反应等有关。另外本研究发现亚低温对不同胞浆酶含量的影响各异,可能与各种酶类对温度的敏感性不同有关。

四、亚低温持续作用时间对脑缺血损伤的影响

由于当前各项亚低温研究所采用的实验动物种类、模型以及检测指标不尽一致,故亚低温持续作用多长时间对脑缺血损伤具有最佳治疗效果目前尚未达成共识。Maier 等^[14]于大鼠大脑中动脉栓塞 2 h 后开始亚低温干预,发现经亚低温分别作用 30 min、24 h 和 72 h 后,缺血大鼠缺损神经功能与常温组比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$);而经亚低温持续作用 1 h 或 2 h 的大鼠,其缺损神经功能改善明显,其中亚低温作用 2 h 可使大脑半球缺血面积减少 59%,脑皮质缺血面积减少 72%,纹状体缺血面积减少 25%;而经亚低温持续作用 1 h 后,上述部位缺血面积分别减少 84%、94% 和 60%,故认为亚低温持续作用 1 h 的疗效优于持续作用 2 h;亚低温持续作用 30 min 则未发现明显治疗作用;缺血后 72 h 观察发现,亚低温持续作用 30 min、1 h 和 2 h,可分别使凋亡细胞数量减少 17%、78% 和 99%,使缺血区中性粒细胞聚集数量减少 39%、72% 和 75%。Kader 等^[15]发现大鼠中动脉栓塞大鼠经亚低温(33℃ 或 34.5℃)作用 1 h,可明显减少脑缺血面积。我们在前期研究中也发现,脑缺血后立即亚低温干预能明显减少脑缺血组织中氨基酸、单胺类递质含量,其中以亚低温持续作用 60 min 时疗效较明显,且该治疗效果与亚低温持续作用时间呈正相关性,与本研究结果基本一致。

综上所述,亚低温干预能明显减少脑缺血组织中炎性细胞因子 IL-1 β 、TNF- α 、ET $_1$ 和 NO 含量,并促使血液中胞浆酶水平下降;为获得较满意疗效,亚低温持

续作用时间以超过 60 min 为宜。

参 考 文 献

- [1] Den HH, Van DWB, Van GM, et al. Therapeutic hypothermia in acute ischemic stroke. *Expert Rev Neurother*, 2007, 7:155-164.
- [2] Pulsinelli WA, Brierley JB. A new model of bilateral hemispheric ischemia in the unanesthetized rat. *Stroke*, 1979, 10:267-272.
- [3] 包新民, 舒斯云. 大鼠脑立体定位图谱. 北京人民卫生出版社, 1991:222.
- [4] 方媛, 张洪, 梅元武, 等. 不同时间开始亚低温对脑缺血损伤保护作用的影响. *中华物理医学与康复杂志*, 2004, 26:206-208.
- [5] 方媛, 张洪, 梅元武, 等. 亚低温持续不同时间对缺血脑组织中氨基酸和单胺类递质含量的影响. *中国神经免疫学和神经疾病杂志*, 2004, 11:213-216.
- [6] Ohta A, Arai Y, Takitani S. Fluorometric determination of nitrite with 4-hydroxycoumarin. *Anal Chem*, 1986, 58:3132-3135.
- [7] 周建庆, 吴曾瑜, 周欢琴. 改良的肌酸激酶同工酶离子交换性层析测定法. *临床检验杂志*, 1988, 6:135-137.
- [8] Chiappetta O, Gliozzi M, Siviglia E, et al. Evidence to implicate early modulation of interleukin-1 β expression in the neuroprotection afforded by 17 β -estradiol in male rats undergone transient middle cerebral artery occlusion. *Int Rev Neurobiol*, 2007, 82:357-372.
- [9] Skifter DA, Allegrini PR, Wiessner C, et al. Similar time-course of interleukin-1 β production and extracellular-signal-regulated kinase (ERK) activation in permanent focal brain ischemic injury. *Metab Brain Dis*, 2002, 17:131-138.
- [10] Planas AM, Gorina R, Chamorro A. Signalling pathways mediating inflammatory responses in brain ischaemia. *Biochem Soc Trans*, 2006, 34:1267-1270.
- [11] Sakellariadis N, Panagopoulos D. Significance of experimental infarct size as an indicator of therapeutic efficacy in humans. *Stroke*, 2007, 38:89-90.
- [12] Goss JR, Rytren SD, Miller PD, et al. Hypothermia attenuates the normal increase in interleukin- β mRNA and nerve growth factor following traumatic brain injury in the rat. *J Neurotrauma*, 1995, 12:159-166.
- [13] Van Hemelrijck A, Hachimi-Idrissi S, Sarre S, et al. Post-ischaemic mild hypothermia inhibits apoptosis in the penumbral region by reducing neuronal nitric oxide synthase activity and thereby preventing endothelin-1-induced hydroxyl radical formation. *Eur J Neurosci*, 2005, 22:1327-1337.
- [14] Maier CM, Ahern KB, Cheng ML, et al. Optimal depth and duration of mild hypothermia in a focal model of transient cerebral ischemia. *Stroke*, 1998, 29:2171-2180.
- [15] Kader A, Bristman MH, Maraire N, et al. The effect of mild hypothermia on permanent focal ischemia in the rat. *Neurosurgery*, 1992, 31:1056-1062.

(修回日期:2008-05-19)

(本文编辑:易 浩)