

胡黄连苷Ⅱ对脑缺血再灌注后大鼠脑组织的保护作用及其机制

陈红兵 赵磊 李春霞 李少华 刘一民

(潍坊市益都中心医院神经内科, 山东 青州 262500)

[摘要] **目的** 探讨胡黄连苷Ⅱ对脑缺血再灌注(I/R)后大鼠脑组织的保护作用及其机制。**方法** 应用线栓法制作大鼠大脑中动脉缺血再灌注模型,分为假手术组(A组)、模型对照组(B组)、胡黄连苷Ⅱ组(C组),A组除不插线外,其余步骤同B组,B组构建MCAO/R模型,C组在大鼠缺血2h再灌注2h后将胡黄连苷Ⅱ10 mg/kg灌胃,于缺血2h再灌注后2、6、12、24、48 h分别对B组、C组进行Bederson评分,于缺血后24 h应用TUNEL染色方法检测A、B、C组皮质、纹状体和海马区各标本的细胞凋亡情况,于缺血后24 h应用免疫组化染色方法检测A、B和C组皮质、纹状体和海马区神经元中Toll样受体4(TLR4)及环氧化酶-2(COX-2)的表达情况。**结果** 脑I/R后24、48 h,C组大鼠Bederson评分与B组相比明显减低($F=229.45, 297.21, q=7.48, 8.52, P<0.05$)。B组的大鼠脑I/R后皮质、纹状体和海马区凋亡细胞数显著高于A组($F=19.27\sim 62.58, q=10.39\sim 23.55, P<0.05$);C组凋亡神经元数与B组相比明显降低($q=3.11\sim 7.57, P<0.05$)。B组大鼠皮质、纹状体和海马区TLR4的表达明显高于A组($F=13.08\sim 15.19, q=7.23\sim 7.77, P<0.05$);C组大鼠TLR4的表达明显低于B组($q=3.86\sim 4.47, P<0.05$)。B组大鼠皮质、纹状体和海马区COX-2的表达明显高于A组($F=29.90\sim 75.91, q=10.87\sim 11.58, P<0.05$);C组大鼠COX-2的表达明显低于B组($q=6.31\sim 7.20, P<0.05$)。**结论** 胡黄连苷Ⅱ可能通过选择性抑制皮质、纹状体、海马中TLR4及COX-2的过表达来减轻脑I/R损伤,从而发挥I/R后脑保护作用。

[关键词] 胡黄连甙;脑缺血;再灌注损伤;Toll样受体4;环氧化酶2

[中图分类号] R743.31;R971

[文献标志码] A

PROTECTIVE EFFECT OF PICROSIDE Ⅱ ON RAT BRAIN TISSUE AFTER CEREBRAL ISCHEMIA/REPERFUSION AND RELATED MECHANISM CHEN Hongbing, ZHAO Lei, LI Chunxia, LI Shaohua, LIU Yimin (Department of Neurology, Yidu Central Hospital of Weifang, Weifang 262500, China)

[ABSTRACT] **Objective** To investigate the protective effect of picroside Ⅱ on rat brain tissue after cerebral ischemia/reperfusion (I/R) and related mechanism. **Methods** The suture method was used to establish a rat model of middle cerebral artery occlusion/reperfusion (MCAO/R). The rats were divided into sham-operation group (group A), model control group (group B), and picroside Ⅱ group (group C). The surgery in group A was the same as that in group B, except that no wire was inserted. The rats in group B were used to establish a model of MCAO/R, and those in group C were picroside Ⅱ 10 mg/kg by gavage after 2 h of occlusion and 2 h of reperfusion. Bederson score was determined for groups B and C after 2 h of occlusion and 2, 6, 12, 24, and 48 h after reperfusion. At 24 h after occlusion, TUNEL staining was used to measure cell apoptosis in the cortex, the striatum, and the hippocampus in groups A, B, and C, and immunohistochemical staining was used to measure the expression of Toll-like receptor 4 (TLR4) and cyclooxygenase-2 (COX-2) in the neurons in the cortex, the striatum, and the hippocampus. **Results** Compared with group B at 24 and 48 h after cerebral I/R, group C had a significant reduction in Bederson score ($F=229.45, 297.21, q=7.48, 8.52, P<0.05$). After cerebral I/R, group B had a significantly higher number of apoptotic cells in the cortex, the striatum, and the hippocampus than group A ($F=19.27\sim 62.58, q=10.39\sim 23.55, P<0.05$), and compared with group B, group C had a significant reduction in the number of apoptotic neurons ($q=3.11\sim 7.57, P<0.05$). Group B had significantly higher expression of TLR4 in the cortex, the striatum, and the hippocampus than group A ($F=13.08\sim 15.19, q=7.23\sim 7.77, P<0.05$), and group C had significantly lower expression of TLR4 than group B ($q=3.86\sim 4.47, P<0.05$). Group B had significantly higher expression of COX-2 in the cortex, the striatum, and the hippocampus than group A ($F=29.90\sim 75.91, q=10.87\sim 11.58, P<0.05$), and group C had significantly lower expression of COX-2 than group B ($q=6.31\sim 7.20, P<0.05$). **Conclusion** Picroside Ⅱ can alleviate cerebral ischemic injury and exert a cerebral protection effect after I/R, possibly by selectively inhibiting the over-expression of TLR4 and COX-2 in the cortex, the striatum, and the hippocampus.

[KEY WORDS] Kutkoside; Brain ischemia; Reperfusion injury; Toll-like receptor 4; Cyclooxygenase 2

治疗时机。研究结果显示,脑缺血损伤后神经元有坏死以及凋亡两种死亡方式,凋亡神经元主要分布在大脑的缺血半暗带区^[1]。Toll 样受体 4(TLR4)是 Toll 样受体的一种,对机体的非特异性免疫反应具有重要的作用。TLR4 可以促使核转录因子- κ B(NF- κ B)的转录,从而对细胞的凋亡、炎症反应、免疫反应等相关基因的表达进行调控^[2]。环氧化酶-2(COX-2)是花生四烯酸转化为前列腺素的限速酶,在生理条件下大多数细胞不表达,在炎症组织中,可被多种细胞因子和内毒素诱导从而出现迅速表达,是炎症反应链中的关键因子。COX-2 在脑缺血后继发的炎症反应与组织损伤中起重要作用。

现代药理研究显示,胡黄连具有良好的保肝利胆、抗炎抗病毒、神经保护等作用,且作用广泛、疗效显著,在临床应用中发挥着重要作用。其化学成分之一环烯醚萜类化合物包含多种成分,其中以胡黄连苷 II 的含量最高,为胡黄连的重要活性成分^[3]。胡黄连苷 II 在多种脑缺血损伤机制中发挥着重要的作用,具有抑制细胞凋亡和炎症反应,改善神经行为功能的作用^[4]。胡黄连苷 II 在脑缺血损伤的多个环节中发挥作用,但其具体的药理作用及机制尚不是很明确,仍需进一步研究。本研究旨在观察胡黄连苷 II 对大鼠脑缺血再灌注(I/R)损伤后脑区 TLR4 以及 COX-2 表达的影响,探讨胡黄连苷 II 的神经保护机制。

1 材料与方法

1.1 动物来源及分组

选取健康成年雌性 SPF 级 Wistar 大鼠 36 只,体质量 240~260 g,购自青岛市药物检验所实验动物中心。实验开始前 1 周将大鼠置于实验室使其适应环境,实验室的温度保持在 23~25 ℃,大鼠给予自然光照,自由进饮食,在实验前 12 h 禁饮食。随机将大鼠分为假手术组(A 组)12 只、模型对照组(B 组)12 只、胡黄连苷 II 组(C 组)12 只。

1.2 大鼠 MCAO/R 模型的建立及各组的处理

采用文献报道的方法^[5]制作大鼠左侧大脑中动脉缺血再灌注(MCAO/R)模型。A 组大鼠除不插线外,其余实验步骤同 B、C 组。大鼠清醒后出现左侧 Horner 综合征为模型制作成功,用于 B、C 组实验。C 组大鼠在脑缺血 2 h 再灌注后 2 h 将胡黄连苷 II 10 mg/kg 灌胃给予,A 组及 B 组不予药物干预。

1.3 神经功能缺失评分

B、C 组每组取 6 只大鼠,分别于脑缺血 2 h 再

灌注后 2、6、12、24、48 h 时间点按 Bederson 评分法进行评分^[6]。

1.4 标本石蜡切片常规制备

A 组在手术后 24 h 取材,B 组和 C 组均在缺血 2 h 再灌注后 22 h 取材,每组取 6 只大鼠。给予质量浓度 100 g/L 水合氯醛腹腔注射进行麻醉,然后用生理盐水 200 mL 和质量浓度 4 g/L 的多聚甲醛 200 mL 经心脏灌注固定,然后断头取脑,在前囟前 2 mm 至前囟后 3 mm 间取材。脑组织常规石蜡包埋,5 μ m 厚切片备用。

1.5 细胞凋亡检测

用 TUNEL 染色方法检测各标本的细胞凋亡情况,将切片用二甲苯脱蜡、乙醇水化、双氧水灭活处理,严格按照 DendEnd TUNEL 细胞凋亡检测试剂盒(SantaCruz 公司,美国)说明书的要求进行操作。在 400 倍光学显微镜下对染色完成后的切片进行观察,发现细胞核中出现棕黄色颗粒的,认定为凋亡细胞,即 TUNEL 阳性细胞。

1.6 免疫组化染色方法检测 TLR4 和 COX-2 表达情况

实验用的兔抗鼠 TLR4、COX-2 抗体均购自美国 SantaCruz 公司,即用型 SABC 免疫组化染色试剂盒、DAB 显色剂购自武汉博士德生物工程有限公司。将切片按常规步骤进行脱蜡、水化,蒸馏水进行冲洗,严格按照说明书要求的实验步骤进行操作。染色完成后,以 400 倍的光学显微镜随机观察大脑的皮质、纹状体和海马区,胞浆内见棕黄色颗粒的细胞为阳性细胞,用 LEICA Qwin 图像分析软件对各个视野的吸光度值进行分析。

1.7 统计学处理

应用 SPSS 20.0 统计软件进行统计学分析,计量结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组数据比较采用单因素方差分析,两两比较采用 q 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结 果

2.1 神经功能缺失评分结果

脑 I/R 后 24、48 h,C 组大鼠 Bederson 评分与 B 组相比均明显减低($F = 229.45, 297.21, q = 7.48, 8.52, P < 0.05$)。见表 1。

2.2 神经元凋亡检测结果

A 组大鼠脑组织切片可见分布均匀的细胞,并有少量凋亡细胞,而且散在分布;B 组大鼠脑 I/R 后凋亡的神经元主要见于皮质、纹状体以及海马区;C

组大鼠皮质、纹状体和海马区也可见到凋亡的神经元(图 1)。B 组大鼠脑 I/R 后皮质、纹状体以及海马区凋亡细胞数显著高于 A 组($F=19.27\sim62.58$, $q=10.39\sim23.55$, $P<0.05$);C 组凋亡神经元数与 B 组相比明显降低($q=3.11\sim7.57$, $P<0.05$)。见表 2。

2.3 免疫组化染色检测各组大鼠脑内 TLR4 表达的情况

A 组大鼠脑组织中可观察到少量散在阳性的 TLR4 细胞;B 组大鼠脑 I/R 后脑组织中 TLR4 表达增强,胞浆内可见棕黄色颗粒,主要分布于大脑的皮质、纹状体和海马区;C 组大鼠皮质、纹状体和海马区也可见到 TLR4 阳性细胞,呈高表达状态(图 2)。B 组大鼠皮质、纹状体以及海马区 TLR4 的表达明显高于 A 组($F=13.08\sim15.19$, $q=7.23\sim7.77$, $P<0.05$);C 组大鼠以上部位 TLR4 的表达明显低于 B 组($q=3.86\sim4.47$, $P<0.05$)。见表 3。

2.4 免疫组化染色检测各组大鼠脑内 COX-2 表达的情况

A 组大鼠的脑组织中可观察到少量阳性 COX-2 细胞。B 组大鼠脑 I/R 后脑组织中 COX-2 表达增强,胞浆内可见棕黄色颗粒,主要分布于大脑的皮质、纹状体和海马区;C 组大鼠皮质、纹状体和海马区也可见到 COX-2 阳性细胞,呈高表达状态(图 3)。B 组大鼠皮质、纹状体和海马区 COX-2 的表达

明显高于 A 组($F=29.90\sim75.91$, $q=10.87\sim11.58$, $P<0.05$);C 组大鼠以上部位 COX-2 的表达明显低于 B 组($q=6.31\sim7.20$, $P<0.05$)。见表 4。

表 1 各组大鼠不同时间点 Bederson 评分比较($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	2	6	12	24	48(t/h)
B 组	2.32±0.24	2.32±0.24	2.32±0.24	1.91±0.14	1.91±0.20
C 组	2.27±0.21	2.27±0.21	2.27±0.21	1.42±0.24	1.42±0.14

表 2 各组不同脑区 TUNEL 阳性凋亡细胞数比较($n=6, \bar{x} \pm s$)

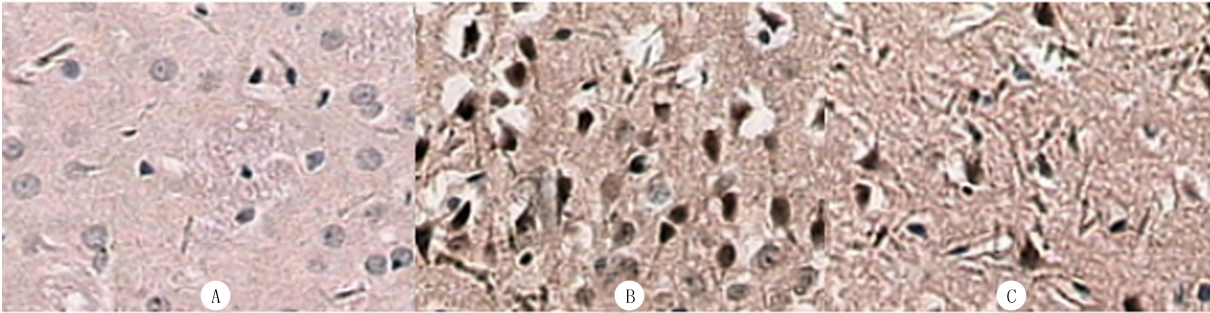
组别	皮质区	纹状体区	海马区
A 组	1.45±0.27	1.67±0.70	1.22±1.04
B 组	18.34±4.30	15.85±3.21	17.31±1.23
C 组	13.28±5.39	11.13±2.05	12.14±2.41

表 3 各组不同脑区 TLR4 表达情况比较($n=6, \bar{x} \pm s$)

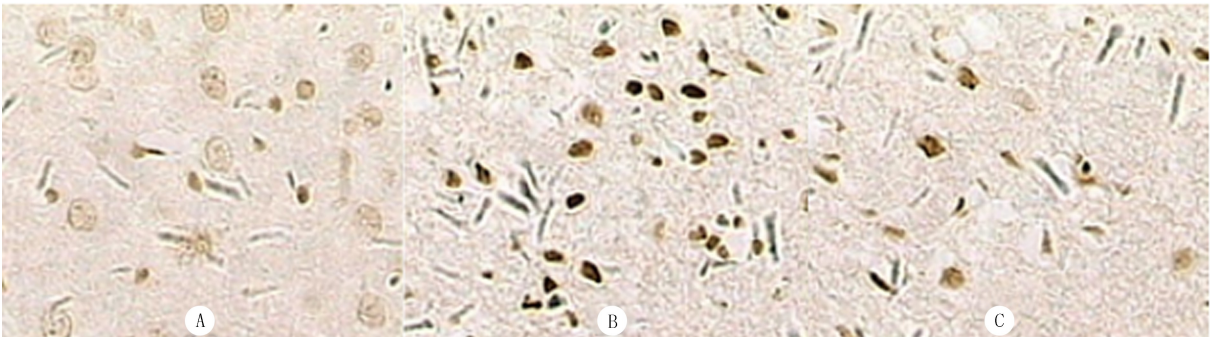
组别	皮质区	纹状体区	海马区
A 组	0.18±0.07	0.19±0.06	0.20±0.09
B 组	0.55±0.17	0.49±0.15	0.53±0.12
C 组	0.35±0.11	0.33±0.07	0.32±0.10

表 4 各组不同脑区 COX-2 表达情况比较($n=6, \bar{x} \pm s$)

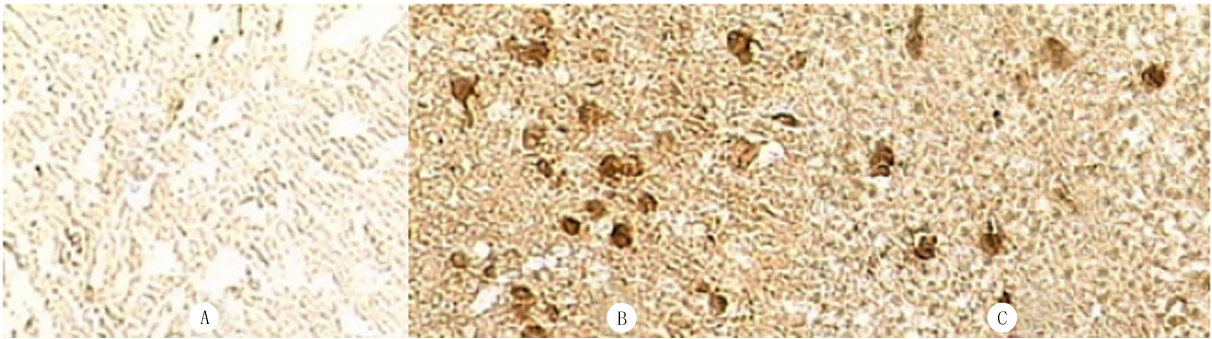
组别	皮质区	纹状体区	海马区
A 组	0.09±0.02	0.10±0.03	0.12±0.04
B 组	0.31±0.06	0.29±0.05	0.32±0.06
C 组	0.19±0.05	0.17±0.04	0.20±0.03



A:A 组;B:B 组;C:C 组。TUNEL 染色,400 倍。
图 1 各组脑皮质区 TUNEL 阳性细胞凋亡情况



A:A 组;B:B 组;C:C 组。免疫组化染色,400 倍。
图 2 各组脑皮质区 TLR4 表达情况



A: A 组;B: B 组;C: C 组。免疫组化染色,400 倍。

图 3 各组脑皮质区 COX-2 表达情况

3 讨 论

胡黄连苷Ⅱ可以增强神经生长因子的活性,促进 PC12 细胞轴突的生长,并且能够对抗谷氨酸和 H₂O₂所诱导的对 PC12 细胞的损伤,减少氧自由基的产生,阻断自由基损伤作用,对炎症反应损伤起到保护作用^[7]。本研究发现,在大鼠脑 I/R 后 2 h 应用胡黄连苷Ⅱ进行干预,能够明显降低神经功能评分,改善神经缺失症状,并且能减少缺血侧大脑的皮质、纹状体和海马区的凋亡神经元,说明胡黄连苷Ⅱ可以改善大鼠的神经行为功能,减少神经元凋亡,对局灶性脑 I/R 损伤具有明显的保护作用。

TLR4 可以通过炎症反应及细胞凋亡参与脑缺血性损伤。脑缺血后产生并释放的大量细胞因子和趋化因子,与 TLR4 胞外段 LRR 结合,TLR4 磷酸化,诱导 NF-κB 在细胞核的表达,进而促进一系列炎症因子的产生和释放,加重脑缺血缺氧的损伤^[8]。LIU 等^[9]在研究大鼠脑 I/R 损伤时发现,TLR4 的表达主要在缺血半暗带区,再灌后 1 h 达到高峰。HUA 等^[10]研究建立脑 I/R 模型,使用 TAK-242 阻断 TLR4 后发现脑梗死体积减少,神经功能评分改善,IL-6、MPP-9 等炎症因子表达减少,说明 TLR4 参与了脑 I/R 后炎症反应,而且在整个过程中起重要作用。YANG 等^[11]研究发现在短暂性脑缺血模型脑缺血后,海马 CA1 区神经元中 NF-κB 表达增加,激活死亡基因 bcl-xs,促进细胞凋亡,由于 NF-κB 是 TLR4 的下游信号分子,提示 TLR4 在脑缺血损伤中促进细胞凋亡。本研究应用胡黄连苷Ⅱ对大鼠脑 I/R 进行干预时发现,大鼠脑 I/R 后 TLR4 的表达主要在皮质、纹状体和海马区,明显高于 A 组,与 LIU 等^[9]和 YANG 等^[11]的研究一致。C 组的皮质、纹状体和海马区也可见到 TLR4 的表达,也呈高表达状态,明显低于 B 组。说明胡黄连苷Ⅱ可通

过下调 TLR4 的表达,减轻炎症反应,减轻大鼠的再灌注损伤。

COX-2 是炎症因子前列腺素 E₂ 合成的限速酶。COX-2 活化表达可引起氧化应激和前列腺素生成,从而引起损伤效应,与各类炎症性疾病有密切关系^[12-13]。在 MCAO 模型中,COX-2 mRNA 在脑缺血 6 h 时在海马区开始表达上调,24 h 时表达至最高峰,在缺血的脑组织中 PGE₂ 升高^[14]。本研究显示,C 组的皮质、纹状体和海马区可见到 COX-2 阳性细胞,呈高表达状态,明显低于 B 组。说明胡黄连苷Ⅱ能够下调 I/R 后脑组织中 COX-2 的表达,减轻缺血神经元的损伤,改善神经功能。

TLR4 介导的信号通路有两条途径,分为依赖 MyD88 的途径和非依赖 MyD88 的途径。COX-2 基因是 NF-κB 的下游基因,NF-κB 活化以后可通过与 COX-2 基因上的相应位点结合,调控 COX-2 的转录^[15-17]。本研究发现,应用胡黄连苷Ⅱ干预的脑 I/R 的大鼠,其 TLR4 以及 COX-2 的表达均明显低于 B 组。根据本研究结果推测:胡黄连苷Ⅱ可能通过下调了 TLR4 的表达,从而抑制了 NF-κB 的表达,调控其下游基因 COX-2、TNF-α、IL-1β 等的水平,进而减轻了大鼠局灶性脑 I/R 损伤。胡黄连苷Ⅱ下调 TLR4 和 COX-2 表达所涉及的详细分子机制和复杂靶效应,有待于进一步研究。

〔参考文献〕

[1] MULLER G J, HASSELDAM H, RASMUSSEN R S, et al. Dexamethasone enhances necrosis-like neuronal death in ischemic rat hippocampus involving mu-calpain activation[J]. Exp Neurol, 2014,261:711-719.

[2] LI X, SU L, ZHANG X, et al. Ulinastatin downregulates TLR4 and NF-κB expression and protects mouse brains against ischemia/reperfusion injury[J]. Neurol Res, 2017,39(4):367-373.

- [3] 张文锐,周微,宋瑛世,等. 胡黄连苷 II 药理研究进展[J]. 中国生化药物杂志, 2014,34(5):183-186.
- [4] 赵丽,郭云良,李晓丹,等. 胡黄连苷 II 对脑缺血损伤后神经元特异性烯醇化酶表达的影响[J]. 中国药理学通报, 2014,30(2):192-199.
- [5] SAVCHUK O I, ORLOVSKY M O, IARMOLIUK I E S, et al. Proteasomal activity in brain tissue following ischemic stroke in *Wistar* rats[J]. *Fiziol Zh*, 2015,61(5):11-20.
- [6] ZHANG X X, HE F F, YAN G L, et al. Neuroprotective effect of Cerebralcare Granule after cerebral ischemia/reperfusion injury[J]. *Neural Regen Res*, 2016,11(4):623-629.
- [7] 郭明川,曹艳,刘建文,等. 胡黄连苷 II 在谷氨酸诱导的 PC12 细胞损伤中的保护作用[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2007,4:440-442.
- [8] ANDRESEN L, THEODOROU K, GRUNEWALD S, et al. Evaluation of the therapeutic potential of anti-TLR4-antibody MTS510 in experimental stroke and significance of different routes of application[J]. *PLoS One*, 2016,11(2):e0148428.
- [9] LIU X, ZHANG X, WANG F, et al. Improvement in cerebral ischemia-reperfusion injury through the TLR4/NF-kappaB pathway after Kudiezi injection in rats[J]. *Life Sci*, 2017,191:132-140.
- [10] HUA F, TANG H, WANG J, et al. TAK-242, an antagonist for Toll-like receptor 4, protects against acute cerebral ischemia/reperfusion injury in mice[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2015,35(4):536-542.
- [11] YANG Z, WEIAN C, SUSU H, et al. Protective effects of mangiferin on cerebral ischemia-reperfusion injury and its mechanisms[J]. *Eur J Pharmacol*, 2016,771:145-151.
- [12] IKEDA-MATSUO Y. The role of prostaglandin E2 in stroke-reperfusion injury[J]. *Yakugaku Zasshi*, 2013,133(9):947-954.
- [13] KANG B K, KIM M K, KIM S Y, et al. Anti-neuroinflammatory effects of *Uncaria sinensis* in LPS-stimulated BV2 microglia cells and focal cerebral ischemic mice[J]. *Am J Chin Med*, 2015,43(6):1099-1115.
- [14] ZHANG J, XIONG Z, WANG S, et al. Cyclooxygenase-2 and prostaglandin E2 are associated with middle cerebral artery occlusion and hemorrhage in patients with moyamoya disease[J]. *Curr Neurovasc Res*, 2016,13(1):68-74.
- [15] CHEN Y F, WANG Y W, HUANG W S, et al. Trans-cinnamaldehyde, an essential oil in cinnamon powder, ameliorates cerebral ischemia-induced brain injury via inhibition of neuroinflammation through attenuation of iNOS, COX-2 expression and NF-kappa-B signaling pathway[J]. *Neuromolecular Med*, 2016,18(3):322-333.
- [16] ZHANG L, ZHANG Z, FU Y, et al. Trans-cinnamaldehyde improves memory impairment by blocking microglial activation through the destabilization of iNOS mRNA in mice challenged with lipopolysaccharide[J]. *Neuropharmacology*, 2016,110(Pt A):503-518.
- [17] DILSHARA M G, LEE K T, LEE C M, et al. New compound, 5-O-isoferuloyl-2-deoxy-D-ribo-γ-lacton from *Clematis mandshurica*: Anti-inflammatory effects in lipopolysaccharide-stimulated BV2 microglial cells[J]. *Int Immunopharmacol*, 2015,24(1):14-23.

(本文编辑 厉建强)

(上接第 161 页)

- 排血量综合征中国专家共识[J]. 解放军医学杂志, 2017,42(11):933-944.
- [15] 宋建祥,张亚军,吴纪祥,等. 成人心脏瓣膜置换术后低心排的危险因素分析[J]. 实用临床医药杂志, 2015,19(23):195-196.
- [16] 赵志宇,宋兵. 体外循环心脏术后胃肠道并发症的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2014,22(15):2122-2127.
- [17] IOANNIS K, TOUMPOULIS, CONSTANTINE E. Anagnostopoulos, Daniel G, Swistel, Joseph J. DeRose. Does EuroSCORE predict length of stay and specific postoperative complications after cardiac surgery[J]? *Eur J Cardiothorac Surg*, 2005,27(1):128-133.
- [18] 秦春妮,黑飞龙. 体外循环心脏术后消化系统并发症的防治进展[J]. 世界华人消化杂志, 2012,20(15):1318-1322.
- [19] 董国华. 体外循环相关消化系统损伤与保护[J]. 心血管外科杂志(电子版), 2013,2(1):4-7.
- [20] 刘凤阁,王佳麟. 老年患者医院感染的临床研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2001,11(1):27-28.
- [21] 徐化静,刘升. 浅低温体外循环心脏不停跳心内直视手术对机体免疫功能的影响[J]. 山东医药, 2014,54(24):30-32.
- [22] 黄东胜,郑树森,徐骁,等. 肝移植术后免疫抑制剂的替换应用[J]. 中华器官移植杂志, 2002,23(4):197-199.
- [23] 尚蔚,刘楠,闫晓蕾,等. A 型主动脉夹层手术后医院感染分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2011,21(11):2242-2244.
- [24] 周楚芝,王湘,姜妮,等. 急性 A 型主动脉夹层孙氏术后低氧血症的危险因素分析[J]. 岭南心血管病杂志, 2017,23(2):165-170.
- [25] 陈兴泳,汪银洲,张旭,等. 急性脑梗死住院患者医院感染的特征及危险因素分析[J]. 中华老年心脑血管病杂志, 2014,16(8):837-839.
- [26] SPIELVOGEL D, TANG G H. Selective cerebral perfusion for cerebral protection: What we do know[J]. *Ann Cardiothorac Surg*, 2013,2(3):326-330.
- [27] 夏瑜,何仁良,刘志芳. 11 例 DeBakey-I 型主动脉夹层术后并发症原因及其防治分析[J]. 浙江实用医学, 2011,16(2):106-107,113.
- [28] 申达甫,薛松,徐根兴,等. Stanford A 型主动脉夹层术中止血策略选择[J]. 中国综合临床, 2011,27(12):1251-1252.
- [29] 康凯,张宇南,谢宝栋,等. 22 例 Stanford A 型主动脉夹层手术止血技巧体会[J]. 心肺血管病杂志, 2011,30(6):521-523.
- [30] 里程楠,郑军. 主动脉夹层的病因学进展[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2006,6(6):355-358.

(本文编辑 耿波 厉建强)