

头孢曲松对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤的保护作用研究

徐佳俊, 王 军*, 李 荣, 刘文强

徐州医科大学附属医院 儿科, 江苏 徐州 221000

摘要: **目的** 探讨头孢曲松对新生大鼠缺氧缺血性脑损伤 (HIBD) 的保护作用, 并考察其作用机制。**方法** 新生 SD 大鼠随机分为假手术组、模型组和头孢曲松组, 每组各 48 只, 各组依据造模成功后观察时间点又分为 6 h、12 h、24 h、3 d、5 d、7 d 6 个亚组, 每个亚组各 8 只。假手术组只做颈部切开和右颈总动脉分离术, 不结扎。模型组、头孢曲松组均制备新生大鼠 HIBD 模型。假手术组、模型组于术后 ip 生理盐水 10 mL/kg, 1 次/d, 连续 3 d; 头孢曲松组于术后 ip 注射用头孢曲松钠 200 mg/kg, 1 次/d, 连续 3 d。热板法测试记录新生大鼠热板测试时间; HE 染色后观察皮质脑组织病理变化; Western blotting 法测定 FADD 表达量; 免疫组化法检测 FADD 阳性表达细胞数。**结果** 与模型组比较, 头孢曲松组的热板测试时间在 3、5 d 时明显缩短, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。通过光学显微镜观察发现头孢曲松组脑组织细胞排列尚规则, 体积稍大, 呈轻度水肿改变。与模型组比较, 头孢曲松组在各个时间点的 FADD 表达量和阳性表达细胞数明显降低 ($P < 0.05$)。**结论** 头孢曲松可下调 HIBD 新生大鼠脑皮质 FADD 表达, 减少凋亡发生, 改善行为学表现, 发挥神经保护作用。

关键词: 头孢曲松; 缺氧缺血性脑损伤; 新生大鼠; 凋亡; Fas 相关死亡结构域

中图分类号: R964 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2016)07-0939-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2016.07.003

Protection of ceftriaxone against hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats

XU Jia-jun, WANG Jun, LI Rong, LIU Wen-qiang

Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221000, China

Abstract: Objective To study the protective effect of ceftriaxone against hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats, and investigate its mechanism. **Methods** Neonatal SD rats were randomly divided into Sham group, model group, and ceftriaxone group, and each group was divided into 6 h, 12 h, 24 h, 3 d, 5 d, and 7 d subgroup with 8 rats according to observation time. Rats in the Sham group were performed only by incision of neck and right common carotid artery dissection without ligation. Rats in the ceftriaxone group and model group were successfully established hypoxic ischemic brain damage (HIBD) models. Rats in the Sham group and model group were ip administered with normal saline after the operation, 10 mL/kg, once daily, treated for 3 d. Rats in the ceftriaxone group were ip administered with Ceftriaxone Sodium for injection after the operation, 200 mg/kg, once daily, treated for 3 d. Hot plate test method was used to record hot plate test time in neonatal rats. HE staining was used to observe the pathological changes of cortex. FADD expression was detected by Western blotting method. The number of FADD positive cells was detected by immunohistochemical staining. **Results** Compared with the model group, hot plate test time in the ceftriaxone group were significantly shorter on days 3 and 5, and there were differences between two groups ($P < 0.05$). By optical microscope observation, brain tissue cell arrangement in ceftriaxone group was still rule, the volume slightly larger, and a slight edema changes. Compared with the model group, FADD expression and positive cells numbers in the ceftriaxone group were obviously decreased at various time points, ($P < 0.05$). **Conclusion** Ceftriaxone can down-regulate FADD expression in cerebral cortex of neonatal rats with HIBD, reduce neuron cell apoptosis, improve behaviors, and play neuroprotective effect.

Key words: ceftriaxone; hypoxic-ischemic brain injury; neonatal rats; Ceftriaxone; apoptosis; Fas associated death domain

新生儿缺氧缺血性脑损伤 (hypoxic ischemic brain damage, HIBD) 是由围生期窒息等因素引起

的一种常见的新生儿脑损害, 同时也是新生儿期常见的发病率较高的疾病之一。由于其发病率高, 在

收稿日期: 2016-03-28

作者简介: 徐佳俊, 男, 住院医师, 硕士, 研究方向为新生儿脑损伤的诊治。Tel: 15162171756 E-mail: 123globe@163.com

*通信作者 王 军, 徐州医科大学附属医院主任医师, 教授。

导致婴幼儿神经致残原因中,占 25%~28%^[1]。其发病机制有血流动力学改变、脑细胞能量代谢衰竭、自由基损伤、细胞内钙超载、兴奋性氨基酸毒性作用、细胞凋亡和炎症细胞及炎性细胞因子作用等。近年来已被证实参与缺氧缺血性脑病细胞凋亡的基因有 Bcl-2 家族、c-myc 家族、c-fos 和 c-jun、Fas/APO-1 等。Fas 相关死亡结构域 (Fas associated death domain, FADD) 是“死亡受体”介导细胞凋亡信号通路中的桥梁物质,起承上启下的作用,是死亡受体与胞浆成分之间联系的纽带,可将膜表面受体与胞浆中细胞凋亡的终末酶连接起来,从而向胞内传播凋亡信号,介导细胞凋亡,与多种凋亡相关疾病过程有关。头孢曲松是临床上常使用的一种 β -内酰胺类抗生素,除了发挥抗菌作用,近年来有学者发现头孢曲松还具有神经保护作用^[2]。其作用机制为头孢曲松可提高谷氨酸转运体-1 (glutamate transporter-1, GLT-1) 的表达,增加神经细胞内过多兴奋性氨基酸谷氨酸摄取,发挥神经保护作用。也有报道显示头孢曲松能够减轻缺氧缺血性脑损伤^[3],可能与减轻细胞凋亡有关。张利民等^[4]用头孢曲松干预大鼠弥漫性轴索损伤模型,结果表明头孢曲松干预组大鼠海马 CA1 区 apaf-1 蛋白表达水平在各个时间点均低于脑损伤组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),头孢曲松可改善凋亡的发生、发展。本实验依据 Rice 法^[5]制备新生大鼠 HIBD 模型,研究头孢曲松是否可以通过减少 FADD 表达减轻凋亡发生、发展,讨论头孢曲松可能的脑保护机制,为治疗缺氧缺血性脑病提供新的思路。

1 材料与方 法

1.1 材 料

8% O₂/92% N₂ 混合气体 (上海特种气体厂);常压缺氧仓 (上海市儿科研究所);注射用头孢曲松钠 (山东鲁抗医药股份有限公司,规格 2 g,批号 1303036);兔抗鼠 FADD 抗体 (北京博奥森生物技术有限公司,规格 0.1 mL,批号 bs-0511R); β -actin 一抗、二抗 (Santa Cruz 公司,规格 50 μ L,批号 AP0060)。

清洁级新生 7 d SD 大鼠,雌雄不限,体质量 12~18 g,由徐州医科大学实验动物中心提供,动物使用许可证号 SYXK(苏)2014-0011,动物使用合格证号 2140789。

1.2 分 组

144 只新生 SD 大鼠按照随机数表法随机分为

假手术组、模型组和头孢曲松组,每组各 48 只,各组依据造模成功后观察时间点分为 6 h、12 h、24 h、3 d、5 d、7 d 6 个亚组,每个亚组各 8 只。

1.3 给 药

假手术组、模型组于术后 ip 生理盐水 10 mL/kg,1 次/d,连续 3 d;头孢曲松组于术后 ip 注射用头孢曲松钠 200 mg/kg,1 次/d,连续 3 d;各组连续 3 d 均为同一时间点给药。

1.4 动物模型的制备

参照 Rice 法^[5]制备新生大鼠 HIBD 模型。将新生 SD 大鼠用七氟烷吸入麻醉 (0.5~1.0 min) 后,取仰卧位,四肢固定于手术板上,颈正中中线切开皮肤,游离右侧颈总动脉,丝线结扎,缝合切口,造成缺血。回窝休息 2 h。再置入一体积为 2 000 mL、底部铺有 CO₂ 吸收剂钠石灰、与混合气体相连的密闭有机玻璃箱内,该容器置于 37 $^{\circ}$ C 水浴中。以 1~2 L/min 输入含 8% O₂/92% N₂ 混合气体,持续 2 h,造成缺氧。假手术组只做颈部切开和右颈总动脉分离术,不结扎,缝合切口后呼吸正常空气。模型组、头孢曲松组均制备缺氧缺血模型。各组术后与母鼠同窝,母乳喂养,室温 22.0~25.9 $^{\circ}$ C,避免强光和噪音刺激,12 h 光照与黑暗交替。

1.5 热板法测试

参照滚筒实验检测新生大鼠运动能力^[6]。利用恒温水浴箱、钢板、木板制作“热板跑道”。将钢板固定于 40 $^{\circ}$ C 恒温水浴箱水面,等长的木板置于钢板中央隔开,钢板长度为 40 cm,宽度为 10 cm,即制作长度为 40 cm,宽度为 5 cm 的两条跑道。新生大鼠置于跑道一侧时开始计时,由于新生大鼠对此温度不能耐受,会不停挣扎往前爬行,当爬行到另一端停止计时,所用时间即为热板测试时间。记录给药后 1、2、3、5 d 的热板测试时间。

1.6 脑组织病理观察

各组新生大鼠缺氧缺血后 3 d 放置于密闭容器中,七氟烷麻醉,固定于手术板上,并作开胸术;经左心室至升主动脉处插管并固定,100 mL 生理盐水快速冲洗至肝脏变白及右心耳流出清亮液体后,再用 4% 多聚甲醛 (pH 7.4, 4 $^{\circ}$ C) 50 mL 快速灌注,然后以多聚甲醛慢速灌注,灌注约 100 mL 至大鼠四肢强直、僵硬后,停止灌注,取出穿刺针。剪开颅骨,暴露并剥离脑组织,取右侧部分脑组织浸泡于 4 $^{\circ}$ C 多聚甲醛 24~48 h。分离右侧大脑半球,常规固定、脱水、石蜡包埋统一取相当于耳前线 2 mm

水平（相当于大脑中后 1/3 部位）行冠状位脑组织切片留取标本，HE 染色，光镜下观察新生大鼠皮层脑组织病理变化。

1.7 Western blotting 法测定 FADD 表达量

各组新生大鼠在各个时间点断头取脑，称取约 100 mg 右侧脑皮质新鲜组织，RIPA 裂解液裂解蛋白，匀浆后，4 °C 离心机 12 000 r/min 离心 15 min，BCA 法测定蛋白浓度。制胶、电泳、转膜结束后加入一抗（兔抗鼠 FADD 抗体一抗 1：100）和内参抗体，4 °C 过夜，加入二抗（1：100）；回收二抗后再加入 BCIP/NBT 碱性磷酸酯酶显色试剂显色，用 Image J 图像分析软件检测条带灰度值，并做统计学处理。

1.8 免疫组化法检测 FADD 阳性表达细胞数

各亚组分别于术后各时间点取右侧脑皮质浸泡于 4 °C 多聚甲醛 24 h。梯度酒精脱水、石蜡包埋并标记；对右侧脑皮质组织进行连续冠状切片，常规脱蜡、孵育，水浴修复，山羊血清封闭非特异性抗体（37 °C 下孵育 30 min），滴加一抗（兔抗鼠 FADD 抗体 1：300）室温 30 min，4 °C 过夜。滴加二抗（生物素化羊抗兔，1：100），DAB 显色、脱水、中性树胶封片自然晾干。光镜下观察到胞质有棕色颗粒者为阳性细胞。阴性切片不加一抗，用 PBS 缓冲液替代。每只大鼠取右侧脑皮质不连续切片 8 张，观察右侧皮质随机 5 个视野（×400）。Image Proplus 6.0 图像处理分析系统分析并计数每个视野的阳性细胞数。

1.9 统计学分析

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，使用 SPSS 16.0 统计分析软件进行数据处理，多组间比较采用单因素方差分析（One-Way ANOVA），进一步两两比较方差齐时采用 LSD 法，方差不齐时采用 Dunnett T3 法，两组比较用 *t* 检验。

2 结果

2.1 造模后行为学改变

模型组、头孢曲松组新生大鼠在缺氧环境下 10~15 min 后开始出现烦躁不安，四处爬动，翻滚，并出现全身发绀，呼吸加深加快；约 20 min 后出现站立不稳，爬行时左后肢支撑不稳；30 min 后活动明显减少；1 h 后出现嗜睡易激惹。假手术组活动无明显异常。

2.2 热板法测试

与假手术组比较，模型组的热板测试时间增加，

各个时间点差异均具有统计学意义（ $P < 0.05$ ）。与模型组比较，头孢曲松组的热板测试时间在 1、2 d 时差异无统计学意义，3、5 d 时明显缩短，差异具有统计学意义（ $P < 0.05$ ），见表 1。

表 1 热板测试时间的测定结果（ $\bar{x} \pm s, n = 8$ ）
Table 1 Results of hot plate test time（ $\bar{x} \pm s, n = 8$ ）

组别	热板测试时间/s			
	给药后 1 d	给药后 2 d	给药后 3 d	给药后 5 d
假手术	6.3 ± 1.2	6.1 ± 1.5	5.6 ± 1.8	5.0 ± 1.4
模型	14.1 ± 1.6 [▲]	13.4 ± 2.1 [▲]	12.5 ± 2.6 [▲]	10.9 ± 2.1 [▲]
头孢曲松	13.5 ± 1.8	11.8 ± 1.9	8.8 ± 1.5 [*]	7.2 ± 1.6 [*]

与假手术组比较：[▲] $P < 0.05$ ；与模型组比较：^{*} $P < 0.05$

[▲] $P < 0.05$ vs Sham group；^{*} $P < 0.05$ vs model group

2.3 脑组织病理

通过光学显微镜观察发现：假手术组脑组织结构和细胞层次尚清晰，神经细胞排列较整齐紧密，形态大致正常。模型组病变区脑组织神经细胞间隙增大，细胞稀疏，水肿明显，并伴有细胞坏死，表现为核固缩、核碎裂等。头孢曲松组细胞排列尚规则，体积稍大，呈轻度水肿改变。见图 1。

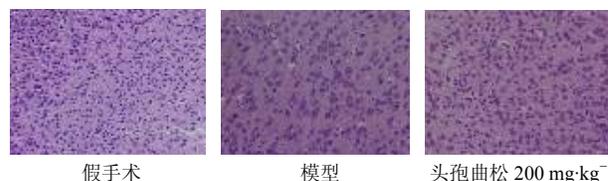


图 1 小鼠右侧脑皮质区病理变化（HE 染色）

Fig. 1 Pathological changes in right cerebral cortex in rats (HE staining)

2.4 Western blotting 法测定 FADD 表达

假手术组在各个时间点的免疫印迹条带染色相对较浅，模型组染色较头孢曲松组较深，见图 2。

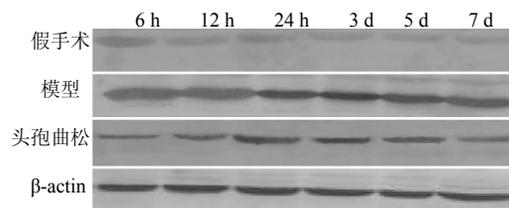


图 2 小鼠不同时间点 FADD 免疫印迹条带

Fig. 2 FADD bands of rats in various time points

与假手术组比较，模型组在各个时间点的 FADD 表达量明显升高（ $P < 0.05$ ）；与模型组比较，头孢曲松组在各个时间点的 FADD 表达量明显降低

($P < 0.05$), 见表 1。

2.5 免疫组化法检测 FADD 阳性表达细胞数

与假手术组比较, 模型组在各个时间点 FADD 阳性表达细胞数显著增高 ($P < 0.05$); 与模型组比较, 头孢曲松组在各个时间点的 FADD 阳性表达细

胞数明显降低 ($P < 0.05$), 见表 2。

假手术组各时间点在大鼠皮质中可见少量棕黄色或黄色颗粒的阳性细胞, 模型组可见较多阳性染色细胞, 头孢曲松组阳性染色细胞密度较模型组减小, 见图 3。

表 1 各组不同时间点 FADD 蛋白的相对表达量 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 1 FADD expression of each group at various time points ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	相对表达量					
	6 h	12 h	24 h	3 d	5 d	7 d
假手术	0.194 ± 0.024	0.193 ± 0.024	0.201 ± 0.018	0.210 ± 0.020	0.191 ± 0.020	0.204 ± 0.018
模型	0.305 ± 0.016 [▲]	0.405 ± 0.017 [▲]	0.463 ± 0.023 [▲]	0.639 ± 0.028 [▲]	0.513 ± 0.024 [▲]	0.405 ± 0.020 [▲]
头孢曲松	0.255 ± 0.022 [*]	0.312 ± 0.021 [*]	0.351 ± 0.027 [*]	0.425 ± 0.031 [*]	0.320 ± 0.031 [*]	0.280 ± 0.033 [*]

与假手术组比较: [▲] $P < 0.05$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

[▲] $P < 0.05$ vs Sham group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group

表 2 各组不同时间点 FADD 阳性表达细胞数 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)
Table 2 FADD positive cells in each group at various time points ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	FADD 阳性表达细胞数					
	6 h	12 h	24 h	3 d	5 d	7 d
假手术	495.63 ± 27.34	502.63 ± 15.57	502.00 ± 23.82	505.50 ± 24.35	503.75 ± 27.33	502.88 ± 20.36
模型	956.38 ± 59.62 [▲]	1 137.75 ± 103.48 [▲]	1 366.50 ± 79.91 [▲]	2 479.75 ± 162.34 [▲]	2 021.13 ± 132.39 [▲]	1 567.63 ± 146.63 [▲]
头孢曲松	757.75 ± 53.05 [*]	891.25 ± 50.83 [*]	1 063.75 ± 92.71 [*]	1 804.88 ± 110.62 [*]	1 422.75 ± 80.89 [*]	877.13 ± 74.33 [*]

与假手术组比较: [▲] $P < 0.05$; 与模型组比较: ^{*} $P < 0.05$

[▲] $P < 0.05$ vs Sham group; ^{*} $P < 0.05$ vs model group



图 3 各组在 3 d 时 FADD 阳性表达细胞 (SP 法)

Fig. 3 FADD positive cells in each group at 3d (SP method)

3 讨论

新生儿 HIBD 是指由于围产期缺氧窒息导致的脑缺氧缺血性损害, 部分患儿可留有不同程度的神经系统后遗症^[7]。存活的患儿中约 20%~30%可留有不同程度的永久性神经性系统缺陷^[8-10]。在其发病机制中, 细胞凋亡越来越受到学者的关注, 细胞坏死和细胞凋亡以及混合型是 HIBD 患儿脑细胞死亡的主要机制。当缺氧缺血较严重时, 神经细胞主要表现为细胞坏死, 由于大脑对缺氧的耐受能力较差, 细胞坏死可出现在发病数小时之内, 这一般称为脑细胞死亡第一期 (原发性死亡), 多发生于损伤后数小时内; 而继发性死亡为第二期, 以继发性损伤较

多见, 多表现为细胞凋亡, 且发生在第一期过后的数小时或数天不等^[11]。也有研究者发现^[12]脑外伤后大鼠细胞凋亡高峰出现在 48 h, 因此本实验选择缺氧缺血后观察时间点 6 h~7 d 作为观察时间点。

目前细胞凋亡信号转导途径可分为内源性凋亡途径和外源性凋亡途径^[13]。内源性凋亡途径是由线粒体外膜通透性增加所介导, 而外源性凋亡途径是由细胞膜上的死亡受体介导。FADD 又名 Mort1, 它是一种死亡域蛋白, 与 Fas 胞浆区呈特异性结合, 故名 Fas 相关死亡域蛋白 (Fas-associated with death domain protein), 即具有死亡功能区的 Fas 相关蛋白。当 Fas 与相应配体 FasL (CD95L) 结合后, Fas 受体三聚化而活化, 激活的受体与 FADD 结合, 再与 caspase-8 相互作用使后者激活, 形成死亡诱导信号复合物, 再激活一系列的 Caspase-1、3、7 等, 促进 Fas 蛋白所在细胞的凋亡发生。胡跃强等^[14]研究发现, 大鼠脑缺血再灌注后急性期 FADD 蛋白表达增加, 结果表明 FADD 参与了脑缺血后脑细胞促凋亡作用。也有研究显示大鼠缺血再灌注损伤后缺

血侧脑皮层 FADD mRNA 蛋白表达水平显著升高, 参与了脑缺血损伤过程^[15]。内源性细胞凋亡途径中 Bcl-2、Bax 在参与缺氧缺血性脑损伤过程, 其表达水平发生变化并发挥重要作用^[16]。本实验旨在研究外源性凋亡途径中关键的死亡结构域蛋白 FADD 在缺氧缺血性脑损伤过程中表达水平的变化, 探讨其是否参与了 HIBD 发病过程。

研究表明, 头孢曲松可发挥神经保护作用^[2], 并且能够减轻缺氧缺血性脑损伤, 且这种神经保护作用具有剂量相关性^[3], 其后大量研究证实 200 mg/kg 头孢曲松具有较强的神经保护作用。熊建忠等^[17]发现, 头孢曲松钠在糖尿病急性脑缺血再灌注的治疗中具有较高的应用价值, 能够显著降低细胞凋亡数量, 改善脑水肿症状, 抑制缺氧诱导因子表达, 从而起到保护神经的效果。头孢曲松已被证实减轻缺血再灌注脑损伤中神经元凋亡, 而 FADD 是死亡受体介导凋亡信号通路中的重要物质, 本研究通过观察头孢曲松对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠脑皮质中 FADD 表达的影响, 进而研究头孢曲松是否可调节 FADD 表达, 从而减少凋亡, 发挥神经保护作用。本研究发现在各个时间点假手术组 FADD 表达均低于模型组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 可能因缺氧缺血后神经细胞凋亡增加, FADD 调控介导的外源性细胞凋亡活动也随之增加; 头孢曲松组 FADD 表达在各个时间点均低于模型组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 病理学观察显示头孢曲松组较模型组脑组织病理改变明显减轻, 行为学测试显示头孢曲松组新生大鼠在 3、5 d 时爬行速度较模型组明显改善, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。因此认为 FADD 可能参与了 HIBD 发病过程, 头孢曲松可下调 HIBD 后 FADD 的表达, 从而减少下游 Caspase-8 与 FADD 结合形成死亡诱导信号复合物, 减少 Caspase-1、3、7 的激活, 从而阻止凋亡信号的传导, 减少凋亡发生, 改善行为学表现, 发挥神经保护作用。

参考文献

[1] Gieron-Korthals M, Colón J. Hypoxic-ischemic encephalopathy in infants: new challenges [J]. *Fetal Pediatr Pathol*, 2005, 24(2): 105-120.
 [2] Rothstein J D, Patel S, Regan M R, et al. β -Lactam antibiotics

offer neuroprotection by increasing glutamate transporter expression [J]. *Nature*, 2005, 433(7021): 73-77.
 [3] Lai P C, Huang Y T, Wu C C, et al. Ceftriaxone attenuates hypoxic-ischemic brain injury in neonatal rats [J]. *J Biomed Sci*, 2011, 18(1): 69.
 [4] 张立民, 杨 鹏, 司道文, 等. 头孢曲松对大鼠弥漫性轴索损伤后细胞凋亡的影响 [J]. *中国临床神经科学*, 2015, 23(2): 143-147, 150.
 [5] Rice J E 3rd, Vannucci R C, Brierley J B. The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat [J]. *Ann Neurol*, 1981, 9(2): 131-141.
 [6] 赵 卿. MPTP 亚急性帕金森病小鼠模型神经行为学观察及杠果菊苷对其神经挽救作用研究 [D]. 上海: 复旦大学, 2010.
 [7] 邵肖梅, 叶鸿瑁, 丘小汕. 实用新生儿学 [M]. 第 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 699-700.
 [8] 郑少茹. 新生儿缺氧缺血性脑病研究现状及进展 [J]. *中国医药科学*, 2015, 5(1): 72-74.
 [9] 蔡 清, 薛辛东, 富建华. 新生儿缺氧缺血性脑病研究现状及进展 [J]. *中国实用儿科杂志*, 2009, 24(12): 968-971.
 [10] 刘明良. 新生儿缺氧缺血性脑病治疗进展 [J]. *中外妇儿健康*, 2011, 17(5): 80-81.
 [11] 曾雪梅, 谢佐卿, 陈丹. 高压氧治疗新生儿缺氧缺血性脑病疗效观察及护理 [J]. *现代临床护理*, 2009, 8(2): 38-39.
 [12] 张 阳, 李光照, 赵金兵, 等. PI3K/Akt 通路在创伤性脑损伤中的表达及抗凋亡作用 [J]. *临床神经外科杂志*, 2011, 8(2): 57-61.
 [13] 钟 明, 魏玲玲, 杨显富, 等. 外源性及内源性细胞凋亡机制研究进展 [J]. *实用医院临床杂志*, 2014, 11(2): 170-174.
 [14] 胡跃强, 肖 波, 毕方方, 等. 大鼠局灶性脑缺血后 FADD 和 Daxx 的表达 [J]. *中华神经科杂志*, 2007, 40(11): 762-767.
 [15] 赵丹玉, 王 哲, 曹 阳, 等. 眼针对脑缺血再灌注损伤模型大鼠脑皮质组织 FADD 表达的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(2): 393-396.
 [16] Yang L J, Wang J, Tian Z F, et al. Shenfu injection attenuates neonatal hypoxic-ischemic brain damage in rat [J]. *Neurol Sci*, 2013, 34(9): 1571-1574.
 [17] 熊建忠, 颜志婷, 林小小, 等. 头孢曲松钠对糖尿病急性脑缺血再灌注大鼠细胞凋亡及缺氧诱导因子表达的影响 [J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(13): 3688-3690.