

嘎日迪-13 对局灶性脑缺血大鼠 NSE、TNF- α 、IL-6 表达的影响

田彩云, 张浩楠, 何静波, 武海军, 覃建民, 徐继辉, 杨玉梅*

包头医学院 心血管研究室, 内蒙古 包头 014040

摘要:目的 探讨血清中神经元特异性烯醇化酶(NSE)、炎症因子肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-6(IL-6)在大鼠脑缺血损伤后的作用及嘎日迪-13 对其影响。方法 取雄性 SD 大鼠 360 只, 将大鼠随机分为脑缺血模型组、假手术组及嘎日迪-13 大、中、小剂量(0.24、0.12、0.06 g/kg)组, 每组又随机分为缺血 1、6、12、24、72、120 h 的 6 个时相组, 采用改良 Zea Longa 线栓法制备大鼠大脑中动脉栓塞(MCAO)模型, ELISA 法检测血清中 NSE、TNF- α 、IL-6 水平。结果 NSE、TNF- α 、IL-6 在假手术组表达少; 而在模型组脑缺血损伤 1 h 后开始上升, NSE 于 12 h 达高峰, TNF- α 、IL-6 在 24 h 达高峰, 之后逐渐下降($P < 0.01$); 嘎日迪-13 各剂量治疗组能显著降低神经功能评分, NSE、TNF- α 、IL-6 表达量明显受到抑制($P < 0.01$ 、0.05)。结论 嘎日迪-13 对大鼠脑缺血损伤具有明显的保护作用, 提示嘎日迪-13 可能是通过减轻脑缺血损伤后神经元的损伤, 调节炎症因子相互之间的作用, 减轻脑组织损伤, 从而发挥对脑缺血损伤的治疗作用。

关键词: 嘎日迪-13; 脑缺血; 神经元特异性烯醇化酶; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-6

中图分类号: R285.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2015)05-0716-05

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2015.05.017

Effect of Gridi-13 on expression of NSE, TNF- α , and IL-6 after focal cerebral ischemia in rats

TIAN Cai-yun, ZHANG Hao-nan, HE Jing-bo, WU Hai-jun, QIN Jian-min, XU Ji-hui, YANG Yu-mei

Institute of Cardiovascular, Baotou Medical Collage, Baotou 014040, China

Abstract: Objective To investigate the roles of neuron-specific enolase (NSE), tumor necrosis factor- α (TNF- α), and interleukins-6 (IL-6) in serum on focal cerebral ischemic injury of rats as well as the effect of Gridi-13 on them. **Methods** A total of 360 male SD rats were selected. They were randomly divided into model group, Sham-operated group, Gridi-13 large dose group, Gridi-13 middle dose group, and Gridi-13 small dose group. Each group was randomly divided into 1, 6, 12, 24, 72, and 120 h time phase groups. The middle cerebral artery occlusion (MCAO) model was established by modified Zea Longa thread-occlusion method and the contents of NSE, TNF- α , and IL-6 in serum were determined by ELISA method. **Results** The expression of NSE, TNF- α , and IL-6 was very weak in Sham-operated group while rising after the cerebral ischemic injury for 1 h compared with the model group. The peak values of NSE, TNF- α , and IL-6 appeared at 12, 24, and 24 h, respectively and then going down gradually ($P < 0.01$). Gridi-13 in each dose group could predominantly reduce the nervous function score and the expression levels of NSE, TNF- α , and IL-6 were remarkably inhibited ($P < 0.01$ and $P < 0.05$). **Conclusion** Gridi-13 has the significant protection on the cerebral ischemia injury in rats, which may be related with alleviating neuronal damage, regulating inflammatory factors, and relieving the injury of brain tissue, so as to play a role of therapeutic action in cerebral ischemic injury of rats.

Key words: Gridi-13; cerebral ischemia; neuron-specific enolase; tumor necrosis factor- α ; interleukins-6

随着我国人口老龄化的不断加剧, 缺血性脑血管病(ischemic cerebrovascular disease, ICVD)作为一种威胁人类健康的常见疾病之一^[1], 具有高发病率、高致残率、高死亡率、高复发率、高经济负

担五大特点, 而大脑中动脉阻塞(middle cerebral artery occlusion, MCAO)在 ICVD 中的发生率接近 60%, 因此对于 MCAO 的研究也成为防治脑血管疾病的重中之重。民族医药是我国少数民族的传统医

收稿日期: 2014-07-18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81160560)

作者简介: 田彩云(1988—), 女, 硕士在读, 研究方向为蒙药药理与心血管药理。E-mail: tcy1015@126.com

*通信作者 杨玉梅, 女, 教授, 硕士生导师。E-mail: yym457@yahoo.com.cn

药,在中华民族繁衍发展的历史长河中,民族医药发挥了不容忽视的作用。其中蒙药作为我国三大民族药之一,其组方理论和方法与中医辨证理论相似。本研究中心长期研究蒙药嘎日迪-13(又名扎冲十三味),已有研究^[2-4]证明蒙药嘎日迪-13对缺血性脑损伤具有明显的保护作用,本实验观察了嘎日迪-13对脑缺血不同时相大鼠神经功能评分、神经元特异性烯醇化酶(neuron-specific enolase, NSE)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白细胞介素-6(interleukins-6, IL-6)表达的影响,来进一步探讨嘎日迪-13对脑缺血损伤保护的作用机制。

1 材料

1.1 实验动物

SD大鼠,雄性,清洁级,360只,体质量(200±50)g,由北京大学医学部实验动物科学部提供,许可证号SCXK(京)2011-0012。

1.2 药品与试剂

嘎日迪-13,内蒙古奥特奇蒙药股份有限公司(金山)蒙药厂,批号080905;戊巴比妥钠,佛山市化工实验厂进口分装;NSE、TNF- α 、IL-6(ELISA法)试剂盒,上海彩佑试剂公司提供。

1.3 主要仪器

RT-6000全自动酶标仪、RT-2600C自动洗板机,美国雷杜公司;MTS 2/4酶标板振荡器,德国IKA公司;TGL-16G高速离心机,上海安亭科学技术仪器厂;多功能冷冻水平离心机,德国Bigestratus公司;SL202电子天平,上海民桥电子仪器厂。

2 方法

2.1 分组及给药方案

360只雄性SD大鼠随机分为:模型组,假手术组,嘎日迪-13大、中、小剂量(0.24、0.12、0.06 g/kg)组。每组随机分为6个时相组即建立脑缺血模型后1、6、12、24、72、120 h,每个时相12只大鼠。各给药组大鼠均ig给药20 mL/kg,1次/d,模型组与假手术组给予等量生理盐水,连续27 d,末次给药1 h后制备模型,造模后不再给药干预。

2.2 脑缺血模型的制备及神经功能评分

采用线栓法制作局灶性脑缺血大鼠模型:在室温(22℃)条件下,大鼠ip 3%戊巴比妥钠(1 mL/kg)麻醉后,仰卧固定。碘伏消毒,颈正中靠左做切口,逐层打开肌肉暴露左侧颈总动脉(CCA)、颈外动脉(ECA)和颈内动脉(ICA),血管下穿线以备结扎,结扎ECA、CCA近心端,在ICA与ECA分叉

处剪一V字形小口,提起ECA、CCA以便止血,向ICA插入栓线,遇到阻力后,回抽少许,栓线插入的深度为(20±2)mm(自分叉处算起)。结扎ICA固定栓线,逐层关闭肌肉缝合皮肤。假手术组制备方法:使用上述同样方法将大鼠麻醉固定,仅切开皮肤,血管剥离以及结扎处理,不做栓线处理。对各组大鼠造模后采用Zea Longa^[5]评分标准进行神经功能的评分,0分:无神经功能缺失症状;1分:不能完全伸展对侧前爪;2分:向外侧转圈,即追尾现象;3分:向对侧倾倒;4分:不能自发行走,意识丧失,以出现Homer征(同侧眼球下陷,睑裂变小,瞳孔缩小)以及1<评分<4者为模型成功,其他剔除。

2.3 血清各指标的测定

在缺血后的各个时相点,以3%戊巴比妥钠(1 mL/kg)麻醉大鼠,腹主动脉取血,离心取上层血清,采用ELISA试剂盒检测血清中NSE、TNF- α 、IL-6的水平。

2.4 统计学分析方法

数据采用SPSS 19.0统计软件进行数据处理分析,所有数据结果均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两样本均数比较用双样本 t 检验。

3 结果

3.1 对神经功能评分的影响

结果显示,与假手术组比较,模型组大鼠在各时相的神经功能评分均明显升高($P<0.01$),说明大鼠局灶性脑缺血模型制作成功;各时相嘎日迪-13大、中、小剂量组与模型组比较,大鼠神经功能评分明显降低($P<0.01$);各剂量组之间比较,大鼠神经功能评分不存在显著差异。见表1。

3.2 对血清NSE的影响

与假手术组比较,模型组各时相大鼠血清中NSE于术后12 h [(5.91±0.45) ng/mL]达到高峰,之后逐渐下降,且明显高于假手术组($P<0.01$);嘎日迪-13大、中、小剂量组各时相大鼠血清中NSE水平明显低于模型组($P<0.01$);各剂量组之间比较,大鼠血清中NSE水平不存在明显差异。见表2。

3.3 对血清TNF- α 的影响

与假手术组比较,模型组大鼠血清中TNF- α 水平明显升高($P<0.01$),在缺血1 h后开始上升,24 h达高峰,质量浓度可达(1 277.21±10.49) ng/L,之后逐渐下降,到120 h时仍处于较高水平[(994.89±31.82) ng/L];与模型组比较,嘎日迪-13

大、中、小剂量组明显降低了各时相大鼠血清中 TNF- α 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01)；各剂量组之间比较，大鼠血清中 TNF- α 水平不存在明显差异。见表 3。

3.4 对血清 IL-6 的影响

与假手术组比较，模型组大鼠血清中 IL-6 水平明显升高 ($P < 0.01$)，缺血 1 h 后 IL-6 质量浓度开

始上升，24 h 达高峰，质量浓度为 (861.18 ± 13.64) ng/L，之后逐渐下降，到 120 h 时平均值为 (781.19 ± 14.31) ng/L；与模型组比较，嘎日迪-13 大、中、小剂量组明显降低了各时相大鼠血清中 IL-6 水平 ($P < 0.05$ 、 0.01)；各剂量组之间比较，大鼠血清中 IL-6 水平不存在明显差异。见表 4。

表 1 嘎日迪-13 在不同时相对局灶性脑缺血大鼠神经功能评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 1 Effect of Gridi-13 at different time phases on neurological score of rats with focal cerebral ischemia ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	各时相神经功能评分					
		1 h	6 h	12 h	24 h	72 h	120 h
假手术	—	0	0	0	0	0	0
模型	—	2.38 ± 0.52**	2.38 ± 0.52**	2.38 ± 0.52**	2.55 ± 0.46**	2.50 ± 0.53**	2.50 ± 0.53**
嘎日迪-13	0.24	1.46 ± 0.49 ^{##}	1.57 ± 0.53 ^{##}	1.56 ± 0.38 ^{##}	1.71 ± 0.46 ^{##}	1.38 ± 0.52 ^{##}	1.13 ± 0.35 ^{##}
	0.12	1.43 ± 0.46 ^{##}	1.50 ± 0.53 ^{##}	1.55 ± 0.46 ^{##}	1.62 ± 0.44 ^{##}	1.36 ± 0.44 ^{##}	1.33 ± 0.50 ^{##}
	0.06	1.52 ± 0.35 ^{##}	1.41 ± 0.52 ^{##}	1.48 ± 0.52 ^{##}	1.64 ± 0.50 ^{##}	1.49 ± 0.50 ^{##}	1.44 ± 0.53 ^{##}

与假手术组比较：** $P < 0.01$ ；与模型组比较：^{##} $P < 0.01$ ，下表同

** $P < 0.01$ vs Sham-operated group; ^{##} $P < 0.01$ vs model group, same as below

表 2 嘎日迪-13 在不同时相对局灶性脑缺血大鼠血清中 NSE 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 2 Effect of Gridi-13 at different time phases on level of NSE in serum of rats with focal cerebral ischemia ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	NSE/(ng·mL ⁻¹)					
		1 h	6 h	12 h	24 h	72 h	120 h
假手术	—	0.48 ± 0.23	0.46 ± 0.14	0.50 ± 0.26	0.39 ± 0.13	0.36 ± 0.11	0.44 ± 0.10
模型	—	4.34 ± 0.36**	5.37 ± 0.12**	5.91 ± 0.45**	5.67 ± 0.30**	4.28 ± 1.05**	3.84 ± 0.12**
嘎日迪-13	0.24	0.82 ± 0.18 ^{##}	0.78 ± 0.13 ^{##}	0.77 ± 0.06 ^{##}	0.81 ± 0.12 ^{##}	0.84 ± 0.11 ^{##}	0.58 ± 0.08 ^{##}
	0.12	0.79 ± 0.20 ^{##}	0.77 ± 0.10 ^{##}	0.82 ± 0.10 ^{##}	0.89 ± 0.09 ^{##}	0.88 ± 0.09 ^{##}	0.66 ± 0.13 ^{##}
	0.06	0.78 ± 0.04 ^{##}	0.82 ± 0.11 ^{##}	0.79 ± 0.01 ^{##}	0.82 ± 0.07 ^{##}	0.88 ± 0.06 ^{##}	0.80 ± 0.14 ^{##}

表 3 嘎日迪-13 在不同时相对局灶性脑缺血大鼠血清中 TNF- α 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 3 Effect of Gridi-13 at different time phases on level of TNF- α in serum of rats with focal cerebral ischemia ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	TNF- α /(ng·L ⁻¹)					
		1 h	6 h	12 h	24 h	72 h	120 h
假手术	—	119.43 ± 3.88	102.32 ± 4.12	110.35 ± 2.33	98.78 ± 4.16	136.91 ± 4.66	110.51 ± 3.03
模型	—	549.25 ± 33.19**	658.22 ± 23.28**	778.44 ± 10.29**	1 277.21 ± 10.49**	888.21 ± 29.51**	994.89 ± 31.82**
嘎日迪-13	0.24	338.43 ± 11.65 [#]	361.58 ± 29.87 [#]	441.27 ± 20.59 [#]	950.39 ± 21.84 [#]	491.27 ± 16.75 [#]	472.77 ± 19.37 [#]
	0.12	315.42 ± 16.58 [#]	353.53 ± 15.32 [#]	465.10 ± 20.17 [#]	854.42 ± 16.38 [#]	384.85 ± 22.46 ^{##}	614.69 ± 21.07 [#]
	0.06	308.23 ± 21.97 [#]	397.94 ± 15.59 [#]	446.50 ± 18.54 [#]	839.26 ± 21.49 [#]	394.66 ± 18.37 [#]	511.58 ± 21.43 [#]

与模型组比较：[#] $P < 0.05$ ，下表同

[#] $P < 0.05$ vs model group, same as below

表 4 嘎日迪-13 在不同时相对局灶性脑缺血大鼠血清中 IL-6 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

Table 4 Effect of Gridi-13 at different time phases on level of IL-6 in serum of rats with focal cerebral ischemia ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	剂量/(g·kg ⁻¹)	IL-6/(ng·L ⁻¹)					
		1 h	6 h	12 h	24 h	72 h	120 h
假手术	—	201.86 ± 5.65	211.96 ± 6.26	215.46 ± 5.95	223.73 ± 9.89	214.41 ± 8.68	229.18 ± 5.05
模型	—	570.93 ± 17.27**	716.87 ± 13.58**	769.11 ± 15.23**	861.18 ± 13.64**	813.26 ± 11.49**	781.19 ± 14.31**
嘎日迪-13	0.24	303.20 ± 16.25 [#]	363.65 ± 17.07 [#]	350.22 ± 19.61 [#]	469.60 ± 15.82 [#]	289.40 ± 13.70 ^{##}	312.00 ± 17.70 [#]
	0.12	349.09 ± 14.27 [#]	379.66 ± 14.98 [#]	355.70 ± 13.54 ^{##}	369.48 ± 10.82 [#]	287.48 ± 16.00 ^{##}	280.13 ± 13.33 ^{##}
	0.06	314.99 ± 16.22 [#]	373.68 ± 22.15 [#]	300.95 ± 17.18 [#]	372.69 ± 17.80 [#]	317.49 ± 14.44 [#]	322.43 ± 14.97 [#]

4 讨论

脑缺血是脑血管中血流量的变化引起的脑功能障碍,脑组织在发生缺血缺氧后产生一系列非常复杂的病理改变,患者均表现脑电图的异常,出现脑组织神经元细胞凋亡,在此过程中炎症因子介导的炎症反应在脑缺血损伤机制中表现出了十分重要的地位^[6]。本实验观察了嘎日迪-13对发生局灶性脑缺血后大鼠的神经功能障碍评分,神经元细胞损伤最为敏感的生化指标NSE,以及介导炎症反应的代表炎症因子TNF- α 、IL-6在缺血1、6、12、24、72、120 h时相变化的影响。

NSE是一种主要存在于神经组织,属神经元和神经内分泌细胞特有的酶。NSE是神经元损伤最为敏感的生化指标^[7],故作为脑损伤患者临床监测的一项重要指标,对脑缺血损伤的整个动态变化过程及预后有重大意义^[8-9]。学者发现^[11],正常人脑组织神经元细胞质中NSE的量很高,且只存在于神经元细胞质中,当脑组织发生缺血缺氧时,随着缺血症状的加深,神经元细胞膜的完整性遭到破坏,使得NSE漏出,可在24 h后于神经元细胞间质中观察到散在的NSE,并且在非缺血侧脑组织中也发现了散在的NSE,表明NSE进入脑脊液后进入了血液循环。实验结果显示,假手术组大鼠神经功能评分和血清中NSE处于较低水平;脑缺血后模型组大鼠神经功能评分和血清中NSE水平明显升高。缺血缺氧使神经元受到损伤,细胞膜被破坏,模型组血清中NSE于术后12 h达到高峰,嘎日迪-13各剂量组大鼠神经功能评分和血清中NSE在各时相均比较模型组明显降低,说明嘎日迪-13通过减少脑缺血对神经元的损伤,降低脑缺血神经功能障碍而发挥了对脑缺血的保护作用。

近年来,许多研究者将对缺血性脑血管疾病的研究重点放在了炎症反应所产生的损伤上^[12]。经过大量实验研究表明,炎症反应对缺血脑组织是一把双刃剑,早期的炎症反应会加重神经细胞的损害作用^[13],而晚期炎症反应有益于神经细胞的再生和恢复^[14]。研究表明脑缺血后脑组织中的炎症细胞如单核巨噬细胞、中性粒细胞、内皮细胞等细胞活化,迅速大量表达炎症细胞因子如核因子- κ B、TNF- α 、细胞间黏附分子-1、IL-1 β 、IL-6、IL-8等^[15],这些炎症细胞因子具有多种功能,且并非独立存在,而是具有着复杂的相互关系,之间通过合成、分泌以及受体表达来相互调节,相互影响,发挥其细胞间

信息传递和调节细胞的功能,从而产生广泛的生物学效应。因此,研究脑缺血后炎症细胞因子的变化,能够为进一步阐明脑缺血机制提供非常具有说服力的理论依据。

TNF- α 是一种具有很强的抗肿瘤活性因子,主要由活化的单核巨噬细胞、星形胶质细胞和小胶质细胞和神经元分泌产生^[16],并且具有广泛生物学作用。TNF- α 具有双向作用的性质^[17],于低浓度(1×10^{-10} mol/L)时,具有调节炎症反应和促进组织修复等保护作用,表现出抗感染;高浓度($1 \times \geq 10^{-8}$ mol/L)时,则会导致一些如脓毒性休克等病理结果。Liu等^[18]发现,大鼠脑缺血3~6 h时开始表达TNF- α ,24 h即出现中性粒细胞浸润,正常大鼠皮质注射TNF- α 24 h后,出现大量白细胞开始黏附于毛细血管壁,甚至入侵到内皮下层,说明TNF- α 可在脑缺血早期介导炎症细胞入侵脑组织。Sairanen等^[19]认为在脑缺血早期TNF- α 分泌或合成浓度的增加是脑梗死形成的主要原因。TNF- α 的分泌可诱导IL-6的合成与释放,从而起到协同作用。IL-6也是一种具有双重作用的细胞因子,在正常生理状况下,血清中IL-6表达水平很低,起到保护和修复神经元的作用,当发生脑缺血后的急性损伤期IL-6表达量则迅速升高,导致神经元的破坏,内皮细胞及胶质细胞的损伤。这与IL-6可能为诱导最初的炎症免疫瀑布和诱导化学趋化因子进而在病灶区募集大量炎症细胞,引起局部的炎症反应的致炎机制有关。研究者发现^[20-21]急性脑缺血在脑梗死面积达到3 cm的患者血清中IL-6表达量最高。本实验结果显示,假手术组大鼠血清中TNF- α 和IL-6各时相均处于较低水平,而模型组大鼠血清中TNF- α 水平在缺血早期1 h即明显升高($P < 0.01$),在24 h达到峰值后逐渐下降与文献报道一致^[22];IL-6的浓度变化趋势与TNF- α 基本相似,提示二者在脑组织发生缺血缺氧损伤后具有协同作用。嘎日迪-13大、中、小剂量组均显著降低脑缺血损伤后大鼠血清中TNF- α 和IL-6的水平($P < 0.01$ 、 0.05),明显具有有一定程度的抑制作用。

嘎日迪-13是蒙医常用的治疗心脑血管疾病和神经系统疾病的传统方剂之一,主要由石菖蒲、木香、沉香、禹良土等13味药物组成,其功能主治半身不遂、左瘫右痪、口眼歪斜、言语不清、筋骨疼痛、神经麻痹等症状。本研究采用蒙药嘎日迪-13对脑缺血大鼠进行干预,发现其给药组能显著降低

脑缺血损伤大鼠的神经功能评分,抑制各时相血清中NSE和炎症因子TNF- α 、IL-6的表达,由于炎症因子TNF- α 、IL-6二者之间具有协同作用,诱导神经元的破坏,而NSE是神经元损伤最为敏感的生化指标,所以可以推断出嘎日迪-13具有调节炎症因子TNF- α 和IL-6的合成及分泌,减缓因脑缺血而导致的炎症反应,改善脑组织的微环境,减轻缺血性脑组织的病理损伤及缺血带来的神经功能障碍,从而起到对脑缺血损伤的保护作用。

参考文献

- [1] Culman J, Nguyen-Ngoc M, Glatz T, *et al.* Treatment of rats with pioglitazone in the reperfusion phase of focal cerebral ischemia: A preclinical stroke trial [J]. *Exp Neurol*, 2012, 238(2): 243-253.
- [2] 李月玲, 杨玉梅, 张 东. 扎冲十三味片对大鼠局灶性脑缺血的保护作用 [J]. 中国民族医药杂志, 2009(8): 55-56.
- [3] 武海军, 杨玉梅, 何静波. 扎冲十三味及其有效组分挥发油对大鼠脑缺血的保护作用 [J]. 中药药理与临床, 2012, 28(5): 190-192.
- [4] 乔海霞, 杨玉梅, 武海军, 等. 扎冲十三味片对局灶性脑缺血大鼠血脑屏障的保护作用 [J]. 包头医学院学报, 2012, 28(5): 1-3.
- [5] Zea Longa E L, Weinstein P R, Carlson S, *et al.* Reversible middle cerebral artery occlusion with out craniectomy in rats [J]. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [6] Jin R, Yang G J, Li G H. Inflammatory mechanisms in ischemic stroke: role of inflammatory cells [J]. *J Leuk Biol*, 2010, 87(5): 779-789.
- [7] Wunderlich M T, Ebert A D, Kratz T, *et al.* Early neurobehavioral outcome after stroke is related to release of neurobiochemical marker of brain damage [J]. *Stroke*, 1999, 30(6): 1190-1195.
- [8] Bharosay A, Bharosay V V, Varma M, *et al.* Correlation of brain biomarker neuron specific enolase (NSE) with degree of disability and neurological worsening in cerebrovascular stroke [J]. *Indian J Clin Biochem*, 2012, 27(2): 186-190.
- [9] Gonzalez-Garcia S, Gonzalez-Quevedo A, Fernandez-Concepcion O, *et al.* Shortern prognostic value of serum neuron specific enolase and S100B in acute stroke patients [J]. *Clin Biochem*, 2012, 45(16/17): 1302-1307.
- [10] Singh H V, Pandey A, Shrivastava A K, *et al.* Prognostic value of neuron specific enolase and IL-10 in ischemic stroke and its correlation with degree of neurological deficit [J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 419: 136-138.
- [11] Zador Z, Benyo Z, Lacza Z. Neuro protection in brain ischemia doubts and hopes [J]. *Ideggyogy Sz*, 2004, 57(3/4): 81-93.
- [12] Ghang J, Barasch N, Li R C, *et al.* Inhibition of cytosolic phospholipase A2 alpha protects against focal ischemic brain damage in mice [J]. *Brain Res*, 2012, 1471: 129-137.
- [13] Williams A J, Dave J R, Tortella F C. Neuroprotection with the proteasome inhibitor MLN519 in focal ischemic brain injury: relation to nuclear factor kappa B (NF-kappa B), inflammatory gene expression, and leukocyte infiltration [J]. *Neurochem Int*, 2006, 49(2): 106-112.
- [14] Hirschberg D L, Yoles E, Belkin M, *et al.* Inflammation after axonal injury has conflicting consequences for recovery of function: rescue of spared axons is impaired but regeneration is supported [J]. *J Neuroimmunol*, 1994, 50(1): 9-16.
- [15] Sharma B K, Kumar K. Role of proinflammatory cytokines in cerebral ischemia: a review [J]. *Metab Brain Dis*, 1998, 13(1): 1-8.
- [16] Liu T, McDonnell P C, Young P R, *et al.* Interleukin-1 beta mRNA expression in ischemic rat cortex [J]. *Stroke*, 1993, 24(11): 1746-1750.
- [17] 卢艳如, 褚燕君. 金纳多 (银杏叶提取物) 对大鼠实验性肝纤维化的防治作用 [J]. 中国现代医学杂志, 2005, 15(1): 67-69.
- [18] Liu T, Clark R K, McDonnell P C, *et al.* Tumor necrosis factor-alpha expression in ischemic neurons [J]. *Stroke*, 1994, 25(7): 1481-1488.
- [19] Sairanen T, Carpen O, Karjalainen-Lindsberg, M L, *et al.* Evolution of cerebral tumor necrosis factor production during human ischemic stroke [J]. *Stroke*, 2001, 32(8): 1750-1758.
- [20] Fassbender K, Rossol S, Kammer T, *et al.* Proinflammatory cytokines in serum of patients with acute cerebral ischemia: kinetics of secretion and relation to the extent of brain damage and outcome of disease [J]. *J Neurol Sci*, 1994, 122(2): 135-139.
- [21] Clark W M, Rinker L G, Lessov N S, *et al.* Time course of IL-6 expression in experimental CNS ischemia [J]. *Neurol Res*, 1999, 21(3): 287-292.
- [22] Murakami Y, Saito K, Hara A, *et al.* Increases intumor necrosis factor alpha following transient global cerebral ischemia do not contribute to neuron death in mouse hippocampus [J]. *J Neurochem*, 2005, 93(6): 1616-1622.