

## HIBD 新生大鼠海马神经元血红素加氧酶-1 的表达及纳洛酮的干预作用

李振光, 吴宏伟, 高继生, 王伟\*

(徐州市儿童医院新生儿科, 江苏 徐州 221006)

**[摘要]** 目的:研究新生大鼠脑缺氧缺血(hypoxia-ischemia, H/I)后血红素加氧酶-1(heme oxygenase, HO-1)活性和蛋白表达的变化、海马神经元凋亡及纳洛酮注射液的干预作用。方法:新生 7 日龄 SD 大鼠随机分为 3 组:假手术组(S)、生理盐水对照组(C)、纳洛酮干预组(N)。每组按照观测的时间点(H/I 后 3 h、6 h、12 h、24 h、3 d、7 d)分为 6 个亚组,每个亚组 8 只。用 Rice 法制备新生大鼠缺氧缺血性脑损伤(hypoxic-ischemic brain damage, HIBD)模型。将大鼠断头取右侧海马组织匀浆,Western blot 方法测 HO-1 蛋白表达,分光光度计法检测 HO-1 活性变化,用 TUNEL 染色法检测海马 CA1 区的细胞凋亡。结果:① Western blot 显示 S 组海马 HO-1 表达很弱,各时间点表达无差异( $P > 0.05$ ),C 组和 N 组右侧海马 HO-1 表达在 H/I 后 3 h 即明显增加( $P < 0.01$ ),24 h 达到峰值,3 d 后明显下降,7 d 接近 S 组,但仍较正常偏高( $P < 0.01$ ),N 组在 12 h、24 h、3 d、7 d 海马 HO-1 表达均较 C 组高( $P < 0.01$ )。② C 组和 N 组右侧海马 HO-1 活性在 H/I 后 3 h 即明显增加( $P < 0.01$ ),H/I 后 24 h 海马 HO-1 活性达到峰值,3 d 后明显下降,7 d 接近 S 组( $P = 0.168$ ),N 组在 12 h、24 h、3 d 海马 HO-1 活性均较 C 组高( $P < 0.01$ )。③ TUNEL 显示 S 组各时间点右侧海马 CA1 区仅见少量凋亡细胞,H/I 后 3 h C 组和 N 组右侧海马神经元凋亡细胞数即明显增加 ( $P < 0.01$ ),24 h 达到高峰,3 d 开始下降,7 d 时仍高于 S 组 ( $P < 0.01$ ),N 组凋亡数在 24 h、3 d、7 d 这三个时间点上均较 C 组明显下降 ( $P < 0.01$ )。结论:H/I 后海马组织细胞中 HO-1 活性及蛋白表达均增加,与 H/I 后海马组织的细胞凋亡趋势相一致,在时间上吻合,表明 HO-1 参与了新生大鼠 H/I 后细胞凋亡的病理过程,纳洛酮注射液能够促进 HO-1 的表达及活性,抑制神经元凋亡,发挥神经保护作用。

**[关键词]** HO-1; 纳洛酮; 细胞凋亡; 缺氧/缺血

**[中图分类号]** R743, R364.4

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2012)09-1219-06

## Expression of heme oxygenase-1 in neonatal rats in hippocampus with hypoxic-ischemic brain damage and protective mechanism of naloxone

LI Zhen-guang, WU Hong-wei, GAO Ji-sheng, WANG Wei\*

(Department of Neonatology, Xuzhou Children's Hospital, Xuzhou 221006, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the expression of heme oxygenase-1 (HO-1) in hippocampus of neonatal rats with hypoxic-ischemic brain damage (HIBD), and explore the possible neuroprotective mechanism of naloxone on HIBD. **Methods:** Neonatal 7-day SD rats were randomly divided into three equal groups: Group S (sham operation group), Group C (HIBD+normal saline treatment), Group N (HIBD + naloxone treatment). HIBD models were established by Rice method. All of the groups were further divided into six subgroups ( $n = 8$  in each subgroup) according to the time points 3 h, 6 h, 12 h, 24 h, 3 d, 7 d, after H/I. Western blot was used to detect the protein level of HO-1. Variation of HO-1 activity in hippocampus was detected by biochemical test. The apoptosis cells in hippocampus were detected by TUNEL. **Results:** ① Expression of HO-1 protein: Western blot showed that the expression of HO-1 in hippocampus in Group S was very low and the same at different time points, but the expressions of HO-1 in hippocampus in Group N, Group C increased markedly from 3 h and reached peak at 24 h post-H/I, then gradually decreased, and almost returned to the original levels 7 d after H/I, but still higher than Group S ( $P < 0.01$ ). The expressions of HO-1 12 h, 24 h, 3 d, 7 d after H/I in Group N were significantly higher than those of Group C ( $P < 0.01$ ). ② Variation of HO-1 activity: The variation of HO-1 activity in Group C was increased from 3 h and reached peak at 24 h post-H/I, returned to the original level 7 d after H/I. HO-1 activities 12 h, 24 h, 3 d after H/I in Group N were significantly higher than those of Group C ( $P < 0.01$ ). ③ Apoptotic cells detection: TUNEL

**[基金项目]** 徐州市科技计划项目(XZZD0921)

\*通讯作者, E-mail: 281224490@qq.com

staining showed that the numbers of apoptotic cells in Group N, Group C in hippocampus of ipsilateral hemisphere gradually increased at 3 h, peaked at 24 h and decreased at 3 d after H/I, the numbers of apoptotic cells in Group N 24 h, 3 d, 7 d after H/I were significantly lower than Group C ( $P < 0.01$ ). **Conclusion:** ①The expression of HO-1 in hippocampus increased after H/I injury, HO-1 is involved in the regulation of neuronal apoptosis and implicated in pathophysiological mechanisms of neuronal damage after H/I. ②Naloxone has a protective effect on H/I-induced neuronal injury, may exert its neuroprotective mechanisms by increasing HO-1 expression.

[**Key words**] HO-1; naloxone; apoptosis; hypoxia-ischemia

[Acta Univ Med Nanjing, 2012, 32(9): 1219-1224]

缺氧缺血性脑损伤 (hypoxic-ischemic brain damage, HIBD) 是严重危及新生儿尤其围产儿生命, 导致小儿神经损伤的主要原因之一。HIBD 的发病机制非常复杂, 包括代谢障碍、能量耗竭、钙平衡紊乱、氧自由基产生、兴奋性氨基酸增多等均可导致脑损伤。随着对 HIBD 发病机制的进一步研究, 认识到 HIBD 后神经元死亡与凋亡密切相关。本研究旨在构建新生大鼠 HIBD 模型, 研究纳洛酮对新生大鼠 HIBD 后不同时间点海马血红素加氧酶 (heme oxygenase, HO-1) 表达及海马神经元凋亡的影响, 进一步探讨 HIBD 后 HO-1 对新生大鼠脑细胞损伤的保护机制以及纳洛酮的神经干预作用, 为临床防治 HIBD 提供理论支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

7 日龄新生 SD 大鼠 144 只由徐州医学院实验动物中心提供, 动物合格证号: SCXK (苏)2003-0003, 雌雄不限, 体重 12~16 g。8%O<sub>2</sub>/92%N<sub>2</sub> 混合气 (上海特种气体厂); 常压缺氧舱 (上海市儿科研究所); 752 紫外光栅分光光度计 (上海第三分析仪器厂), HO-1 一抗 (美国 Santa Cruz 公司), 羊抗兔二抗 (北京中杉金桥生物技术有限公司), NBT/BCIP 显色剂 (上海碧云天公司), TUNEL 凋亡试剂盒 (武汉博士德公司), 纳洛酮注射液 (江苏恩华药业股份有限公司, 批号: 20100101)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 新生大鼠 HIBD 模型构建及分组

参照 Rice 法制作 HIBD 模型和假手术模型。新生 7 日龄 SD 大鼠用无水乙醚吸入麻醉 (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。归笼休息 2 h。再置入一体积为 2 000 ml、底部铺有二氧化碳吸收剂钠石灰、与混合气体相连

的密闭有机玻璃箱内, 该容器置于 37℃ 水浴中。以 1~2 L/min 的速度输入 8%O<sub>2</sub>/92%N<sub>2</sub> 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。所有 SD 大鼠随机分为假手术组 (S)、生理盐水对照组 (C)、纳洛酮干预组 (N), 每组按术后观察时间点 (3 h、6 h、12 h、24 h、3 d、7 d) 进一步分为 6 个亚组, 每个亚组 8 只。C 组缺氧缺血 (hypoxia-ischemia, H/I) 后立即腹腔注射生理盐水 10 ml/kg, 连续注射 3 d, 每日 1 次; N 组 H/I 后立即腹腔注射纳洛酮注射液 0.4 mg/kg, 连续注射 3 d, 每日 1 次; S 组不给药。然后与母鼠同窝, 母乳喂养, 室温 22℃~26℃, 避免强光和噪音刺激, 12 h 光照与黑暗交替。

#### 1.2.2 Western blot 检测 HO-1 表达

分离海马, 加 3 倍体积匀浆缓冲液 (0.01 mol/L 蔗糖、0.01 mol/L Tris-HCl、0.000 1 mol/L EDTA·Na<sub>2</sub>, pH 7.4), 4℃ 匀浆; 18 800 g, 4℃ 离心 15 min, 取上清测定蛋白浓度, -80℃ 保存待用。Western blot 步骤: 制胶、电泳、转膜、封闭后, 倾去封闭液, 加入一抗 (1:300), 4℃ 过夜。洗膜: 将 NC 膜用 Washing buffer 洗 3 次, 每次 5 min。加入二抗 (1:1 000), 室温平缓摇动 2 h。回收二抗, 再洗膜: 将 NC 膜用 Washing buffer 洗 3 次, 每次 5 min。显色: AP buffer 10 ml + NBT 66 μl + BCIP 33 μl, 室温平缓摇动显色。显色结束用双蒸水终止反应, 拍照, 用 Image J 图像分析系统测条带的灰度值, 并做统计学处理。

#### 1.2.3 HO-1 活性测定

采用 HO-1 降解血红素生成胆绿素和一氧化碳 (CO) 的原理, 通过测定样品反应物中胆红素生成量反映 HO-1 活性。取海马组织匀浆上清 0.2 ml, 加反应混合液 0.8 ml (2 mmol/L 6-磷酸葡萄糖、0.2 U 6-磷酸葡萄糖脱氢酶、20 μmol/L 氯化正铁血黄素、2 mg 大鼠肝胞质、0.8 mmol/L NADPH)。酶促反应在加入 NADPH 后开始计时, 37℃ 避光反应 1 h。加预冷

氯仿 1 ml 终止反应并抽提生成的胆红素。5 000 g 离心 20 min, 分离有机相。在紫外分光光度计上用 464 nm 和 530 nm 双波长测定胆红素生成量。HO-1 活性以每 h 每 mg 蛋白生成胆红素 [nmol/(mg·h)] 表示。氯仿调零, 考马斯亮蓝蛋白定量。

### 1.2.4 原位末端标记法 (TUNEL) 检测脑皮层组织细胞的凋亡率

按上述时间点, 动物在乙醚麻醉下开胸, 经心尖搏动处插管, 用生理盐水 20 ml 冲洗血流, 继之灌入 4% 多聚甲醛约 20 ml, 灌取右脑, 沿视交叉前缘做 2 mm 厚的冠状切片, 放入 4% 多聚甲醛中固定, 常规脱水、透明、浸蜡、包埋后行 6 μm 连续切片, 进行 TUNEL 染色, 由武汉博士德公司提供 TUNEL 检测试剂盒。步骤参照说明书。结果判定: 细胞核中有紫蓝色颗粒者为阳性细胞, 即凋亡的细胞。每张切片以 400 倍光镜下计数视野中的阳性细胞数作为统计参数。

### 1.3 统计学方法

所有计量资料数据以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 采用 SPSS13.0 软件进行统计学处理; 多组间的比较采用单因素方差分析 (One-way ANOVA) 与

SNK 法。P < 0.05 认为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠 HO-1 蛋白表达变化

S 组海马 HO-1 表达很弱, 各时间点表达无差异 (P < 0.05), C 组和 N 组右侧海马 HO-1 在 H/I 后 3 h 即明显增加 (P < 0.01), H/I 后 24 h 海马 HO-1 蛋白表达达到峰值, 3 d 后明显下降, 7 d 仍较正常偏高 (P < 0.01), N 组在 12 h、24 h、3 d、7 d 海马 HO-1 表达均较 C 组高 (P < 0.01, 图 1、表 1)。

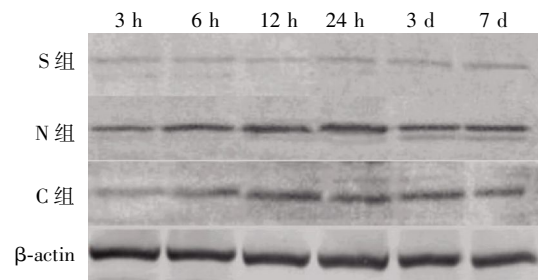


图 1 各组不同时间点 HO-1 电泳条带

Figure 1 Representative Western blotting image of HO-1 among different groups at different time points

表 1 各组不同时间点 HO-1 蛋白表达

Table 1 Expression of HO-1 protein in hippocampus among different groups at different time points after H/I

( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

组别	HO-1/β-actin 灰度值比					
	3 h	6 h	12 h	24 h	3 d	7 d
S 组	0.15 ± 0.03	0.16 ± 0.05	0.14 ± 0.03	0.15 ± 0.03	0.15 ± 0.05	0.14 ± 0.04
N 组	0.32 ± 0.04 <sup>△</sup>	0.66 ± 0.04 <sup>△</sup>	0.84 ± 0.07 <sup>△*</sup>	0.96 ± 0.08 <sup>△*</sup>	0.73 ± 0.08 <sup>△*</sup>	0.50 ± 0.05 <sup>△*</sup>
C 组	0.28 ± 0.04 <sup>△</sup>	0.63 ± 0.04 <sup>△</sup>	0.76 ± 0.08 <sup>△</sup>	0.79 ± 0.07 <sup>△</sup>	0.56 ± 0.07 <sup>△</sup>	0.41 ± 0.05 <sup>△</sup>

与 S 组比较, <sup>△</sup>P < 0.01; 与 C 组比较, <sup>\*</sup>P < 0.01。

### 2.2 各组大鼠 HO-1 活性测定结果

S 组各时间点海马 HO-1 活性无差异 (P > 0.05), C 组和 N 组右侧海马 HO-1 活性在 H/I 后 3 h 即明显增加 (P < 0.01), H/I 后 24 h 海马 HO-1 活性达到峰值, 3 d 后明显下降, 7 d 接近 S 组 (P = 0.168), N 组在 12 h、24 h、3 d 海马 HO-1 活性均较 C 组高 (P < 0.01, 表 2)。

### 2.3 右侧海马 TUNEL 结果

光镜形态学观察显示, C 组和 N 组各时间点

均可见典型凋亡神经细胞, 表现为: 染色质结紧、细胞皱缩; 核固缩碎片, 胞浆深染、胞浆空泡形成; 见圆形凋亡小体。凋亡细胞周围无炎症反应, 表现为单个细胞缺失。TUNEL 显示 S 组各时间点右侧海马 CA1 区仅见少量凋亡细胞, H/I 后 3 h C 组和 N 组右侧皮层神经元凋亡细胞数即明显增加 (P < 0.01), 24 h 达到高峰, 3 d 开始下降, 7 d 时仍高于 S 组 (P < 0.01), N 组凋亡数在 24 h、3 d、7 d 这 3 个时间点上均较 C 组明显下降 (P < 0.01, 表 3、图 2)。

表 2 各组不同时间点 HO-1 活性

Table 2 Variation of HO-1 activity in hippocampus among different groups at different time points after H/I

[nmol/(mg·h), n = 8,  $\bar{x} \pm s$ ]

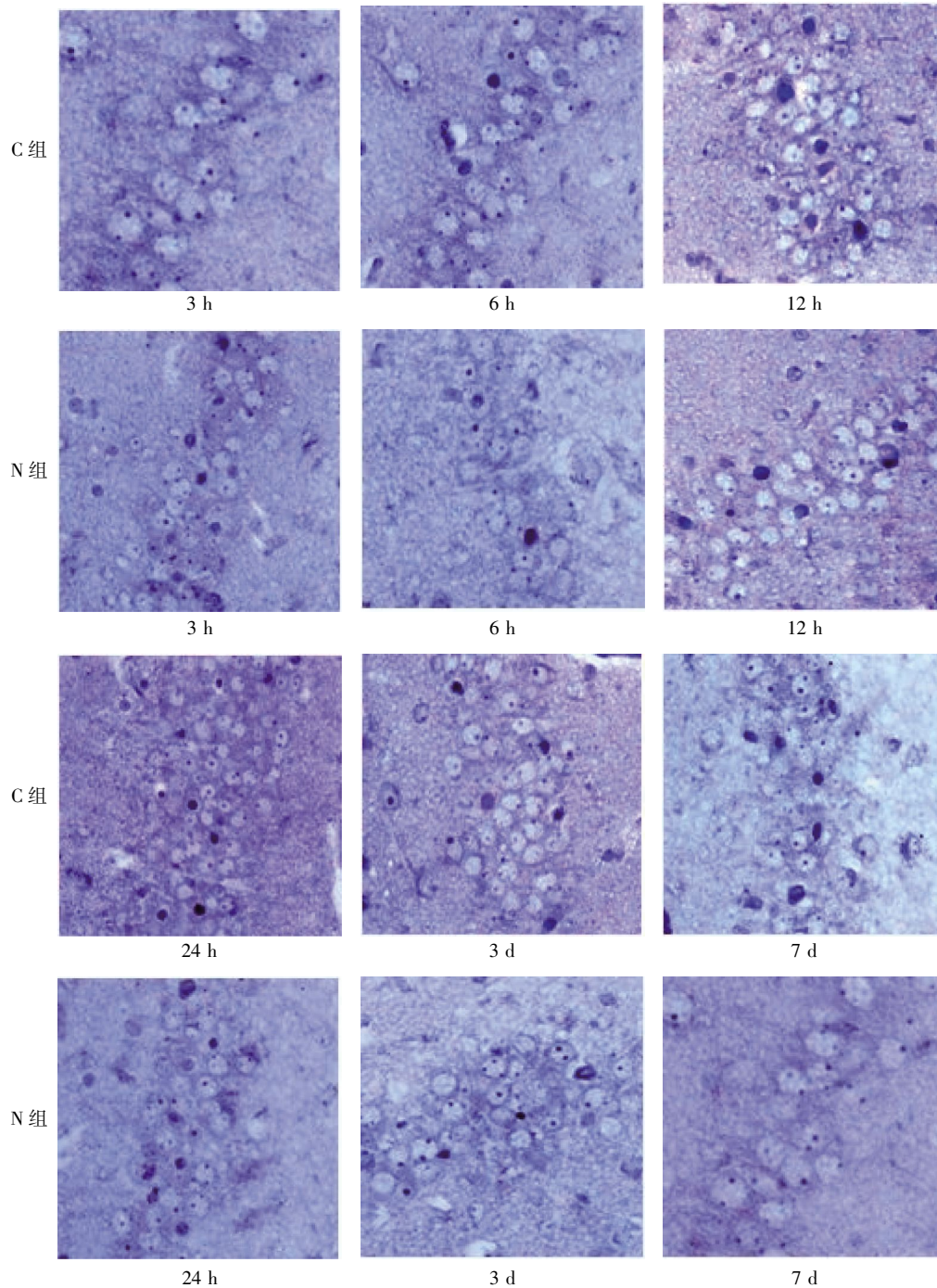
组别	3 h	6 h	12 h	24 h	3 d	7 d
S 组	1.12 ± 0.20	1.11 ± 0.18	1.13 ± 0.23	1.14 ± 0.18	1.16 ± 0.17	1.16 ± 0.18
N 组	1.34 ± 0.17 <sup>△</sup>	1.69 ± 0.17 <sup>△</sup>	2.24 ± 0.20 <sup>△*</sup>	2.68 ± 0.16 <sup>△*</sup>	1.71 ± 0.15 <sup>△*</sup>	1.34 ± 0.18
C 组	1.30 ± 0.07 <sup>△</sup>	1.45 ± 0.13 <sup>△</sup>	2.001 ± 0.18 <sup>△</sup>	2.44 ± 0.18 <sup>△</sup>	1.54 ± 0.17 <sup>△</sup>	1.26 ± 0.16

与 S 组比较, <sup>△</sup>P < 0.01; 与 C 组比较, <sup>\*</sup>P < 0.01。

表 3 各组各时间点凋亡阳性细胞数的比较

Table 3 Comparison of the number of apoptotic cells among different groups in hippocamps

组别	(个/HP, $n = 8, \bar{x} \pm s$ )					
	3 h	6 h	12 h	24 h	3 d	7 d
S 组	1.17 ± 1.17	1.00 ± 0.89	1.17 ± 0.75	1.00 ± 0.89	0.83 ± 0.98	1.00 ± 0.89
N 组	4.67 ± 1.63*	11.67 ± 2.16 <sup>△</sup>	26.17 ± 5.85 <sup>△*</sup>	34.00 ± 3.74 <sup>△*</sup>	11.50 ± 2.43 <sup>△*</sup>	3.50 ± 1.05 <sup>△*</sup>
C 组	4.50 ± 1.38*	12.00 ± 2.37 <sup>△</sup>	27.67 ± 7.71 <sup>△</sup>	45.67 ± 7.23 <sup>△</sup>	24.17 ± 2.93 <sup>△</sup>	7.00 ± 2.37 <sup>△</sup>

与 S 组比较, <sup>△</sup> $P < 0.01$ ; 与 C 组比较, \* $P < 0.01$ 。图 2 C 组和 N 组不同时间点海马 TUNEL 凋亡图( $\times 400$ )Figure 2 The TUNEL staining of hippocampus in Group N and Group C at different time points ( $\times 400$ )

### 3 讨论

新生儿缺血缺氧性脑病是一个多因素介导和参与的发生发展过程,其发病机制相当复杂。近年来诸多研究发现,在脑缺血、脑出血等脑血管疾病中,HO-1 能保护神经元免受有害物质的损伤。HO-1 是血红素氧合酶家族中的一员,也称之为热休克蛋白 32 (HSP32),诱导因素为应激、缺氧、内毒素、过氧化氢、重金属、紫外线、细胞因子、生长因子等<sup>[1]</sup>。HO-1 催化血红素生成胆绿素、亚铁离子( $\text{Fe}^{2+}$ )和 CO,胆绿素在胆绿素还原酶的作用下生成胆红素, $\text{Fe}^{2+}$ 诱导并参与了机体内铁蛋白的合成。HO-1 催化血红素生成的代谢产物对机体起着重要的保护作用。HO-1 诱导生成的铁蛋白可以降低细胞内  $\text{Fe}^{2+}$  的浓度,防止  $\text{Fe}^{2+}$  介导的氧化应激损伤;胆绿素和胆红素能够有效的清除氧自由基,防止细胞的脂质过氧化;CO 在扩张血管的同时,能够有效抑制炎症因子的表达,从而抑制炎症反应造成的损伤。此外,CO 还具有防止血管平滑肌细胞过度增生、抗血小板凝集、抗凋亡等作用。

在正常情况下 HO-1 在脑中很难检测到,但在氧化应激状态下小胶质细胞和星形胶质细胞大量表达 HO-1,分布在白质、灰质、海马、丘脑等多数脑区。离体实验研究显示,HO-1 基因敲除的神经元对氧化应激损伤敏感性增加,而 HO-1 表达上调增加神经元对氧化应激的耐受性<sup>[2]</sup>。袁野等<sup>[3]</sup>在小鼠脑缺血/再灌注(H/I)损伤模型观测到随 HO-1 活性升高,脑黄嘌呤氧化酶(XO)活性、丙二醛(MDA)和活性氧(ROS)含量降低,海马神经元凋亡减少,表明 HO-1 参与了机体抗 I/R 所致氧化应激反应,减轻了脑损伤程度。李晖等<sup>[4]</sup>的实验研究认为当不同程度低氧缺血使新生儿脑损伤时,HO-1 活性表达致胆红素的抗氧化作用途径开放,胆红素对大量的自由基起到拮抗作用,从而对低氧缺血性脑损伤起到保护作用。包巍等<sup>[5]</sup>研究脑缺血再灌注损伤大鼠海马组织中 HO-1 活性的变化时发现,在全脑缺血的动物模型中,脑缺血再灌注损伤后,模型组海马组织中 HO-1 的活性在各时间点均高于假手术组 ( $P < 0.05$ ),并在再灌注 24 h 达到高峰。本实验发现,H/I 后 3 h 右侧海马 HO-1 表达显著升高,并于 24 h 达到峰值,3 d 有所减少,在 7 d 仍较 S 组明显增高,与包巍等<sup>[5]</sup>研究报道较一致。本研究发现,H/I 后右侧海马 HO-1 表达在 H/I 后 3 h 即明显增加,6 h、12 h、24 h 表达逐渐增加,于 24 h 达到峰值,3 d 有所减少,在 7 d

仍较 S 组明显增高,与海马细胞凋亡趋势较一致,表明在本 HIBD 模型中,H/I 后 HO-1 的表达变化参与了新生大鼠 H/I 后细胞凋亡的病理过程,涉及了 H/I 后神经元损伤的病理机制。N 组与 C 组比较 HO-1 活性表达增加伴有海马神经元凋亡的减少,提示在本 HIBD 模型中 H/I 后 HO-1 表达增高对神经系统起保护作用。

过去纳洛酮作为麻醉药拮抗剂用于临床危重症的抢救如昏迷、窒息、中毒、休克等,目前渐用于治疗新生儿缺氧缺血性脑病也取得良好效果,肖菊新<sup>[6]</sup>应用纳洛酮早期干预治疗重度新生儿缺氧缺血性脑病发现纳洛酮干预组与对照组相比,呼吸衰竭、循环不良及肌张力恢复快,临床治愈率高;陈晓春<sup>[7]</sup>通过动物实验发现纳洛酮可减弱脑缺血再灌注模型大鼠神经元促凋亡蛋白 Bax mRNA 的表达,对大鼠脑缺血再灌注损伤发挥一定的保护作用。纳洛酮所导致的脑损伤程度,可能是由多个机制共同作用的结果。本实验既往研究认为纳洛酮可能的神经保护作用机制有:抑制血管收缩,改善心功能,增加脑血流和脑灌注;降低脑组织缺血再灌注损伤后的过氧化物等自由基的产生,抑制脂质分解代谢<sup>[8]</sup>;阻滞  $\mu$  受体有对抗 H/I 时脑糖代谢减少的作用,改善线粒体氧化磷酸化和能量供给<sup>[9-11]</sup>;逆转  $\beta$ -EP 对中枢神经系统的抑制和损害<sup>[10]</sup>;抑制脑损伤时小胶质细胞的活化,减少炎症介质产生和级联反应等<sup>[12]</sup>,本研究结果显示,在 H/I 后 3 h 生理盐水对照组和纳洛酮干预组海马 CA1 区细胞凋亡即明显较假手术组增加,24 h 达到高峰后开始下降,7 d 时仍可见凋亡细胞多于 S 组 ( $P < 0.01$ ),纳洛酮干预组与生理盐水对照组比较,两者变化趋势基本一致,但在 24 h、3 d、7 d 这 4 个时间点上与生理盐水对照组比较凋亡明显减少,统计学分析差异具有显著意义,说明纳洛酮具有明确的抗凋亡作用,可以降低新生大鼠 H/I 后神经元凋亡,减轻脑损伤。实验还发现,N 组海马 HO-1 蛋白表达、HO-1 活性在 12 h、24 h、3 d 时间点较 C 组明显增高,而海马神经元凋亡在相应时间点上均较 C 组低,说明纳洛酮可能通过上调 HO-1 蛋白的表达,促进 HO-1 活性,从而抑制 H/I 应激后的复杂级联反应,减轻细胞凋亡,发挥神经保护作用,但其调节 HO-1 具体机制仍需进一步研究探讨。

#### [参考文献]

- [1] Dwyer BE, Nishimura RN, Lu SY, et al. Transient induction of heme oxygenase after cortical stab wound injury [J]. Mol Brain Res, 1996, 38(2): 251-259

- [2] Chen Roetling J, Regan RF. Effect of heme oxygenase-1 on the vulnerability of astrocytes and neurons to hemoglobin [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2006, 350(1): 233-237
- [3] 袁野, 郭建增, 杨俊卿, 等. 血红素加氧酶-1 在脑缺血/再灌注损伤中的作用研究 [J]. *中国药理学通报*, 2008, 24(9): 1200-1204
- [4] 李晖, 张菊平, 陈蕊, 等. 缺氧缺血性脑病新生儿胆红素与血红素加氧酶-1 的变化 [J]. *中国临床康复*, 2005, 9(23): 190-191
- [5] 包巍, 杨建华, 郭继强, 等. 脑缺血再灌注损伤大鼠全血内源性一氧化氮含量及海马组织中血红素加氧酶-1 活性的变化 [J]. *新乡医学院学报*, 2010, 27(7): 441-443
- [6] 肖菊新. 纳洛酮治疗新生儿缺氧缺血性脑病的疗效观察 [J]. *中国妇幼保健*, 2010, 25(29): 4312-4313
- [7] 陈晓春. 纳洛酮对脑缺血再灌注模型大鼠神经元形态和促凋亡基 Bax mRNA 表达的影响 [J]. *中国药房*, 2009, 20(25): 1947-1948
- [8] Liu B, Du L, Kong LY, et al. Reduction by naloxone of lipopolysaccharide-induced neurotoxicity in mouse cortical neuron-glia co-cultures [J]. *Neuroscience*, 2000, 97(4): 749-756
- [9] Zhang C, Shen W, Zhang G, et al. N-methyl-D-aspartate receptor and L-type voltage-gated  $Ca^{2+}$  channel antagonists suppress the release of cytochrome c and the expression of procaspase-3 in rat hippocampus after global brain ischemia [J]. *Neurosci Lett*, 2002, 328(3): 265-268
- [10] 周维东, 夏安周, 张探, 等. 纳洛酮对大鼠缺血再灌注心肌细胞凋亡 Fas、FasL 表达的影响 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2011, 31(3): 395-398
- [11] San-Emeterio EP, Hurlle MA. Modulation of brain apoptosis-related proteins by the opioid antagonist naloxone in mice [J]. *Neurosci Lett*, 2006, 403(3): 276-279
- [12] 朱波, 李兰英, 薛玉良, 等. 纳洛酮对离体人脑神经元缺氧损伤谷氨酸释放的影响 [J]. *中国医学科学院学报*, 2005, 27(2): 223-227

[收稿日期] 2011-11-04



## Journal of Biomedical Research (生物医学研究杂志) 简介

Journal of Biomedical Research (生物医学研究杂志), 是一本生物医学专业的英语杂志, 全球发行, 目前已经被 Scopus、哥白尼和荷兰文摘等数据库收录, 在中国南京和美国加州戴维斯市设有办事处。本刊是一本综合性期刊, 欢迎多学科尤其是交叉学科的来稿。本刊接受综述(以约稿为主)、论著和病例报道, 不收取版面费, 欢迎广大作者来稿。

地 址: 江苏省南京市汉中路 140 号 2 号楼 352 室

电 话: 025-86862036

邮 箱: jbr@njmu.edu.cn

主 页: <http://www.jbr-pub.org>

投稿网址: <http://mc03.manuscriptcentral.com/jbrint>