

·论著·

## 褪黑素对SD大鼠脑缺血再灌注损伤后c-fos表达的影响

王雨<sup>1,2</sup>, 杨凯<sup>2</sup>, 胡治平<sup>1</sup>

1. 中南大学湘雅二医院神经内科, 湖南长沙 410011

2. 湖南省脑科医院睡眠障碍与神经症科, 湖南长沙 410007

**摘要:**目的 探讨褪黑素在大鼠脑缺血再灌注损伤中的神经保护作用及可能机制。方法 选取45只雄性SD大鼠,分为假手术组(5只)、脑缺血再灌注组(20只)、褪黑素干预组(20只);脑缺血再灌注组和褪黑素干预组根据时间点第6小时、第1天、第3天、第7天分为4个组,每组5只。采用Longa线栓法建立大鼠左侧大脑中动脉栓塞(MCAO)模型,采用HE染色检测脑组织的病理改变,TUNEL染色检测神经细胞的凋亡,免疫组织化学(免疫组化)法及蛋白质印迹法(Western Blotting)观察大鼠脑组织内c-fos表达情况。结果 在脑缺血再灌注组的各时间点的HE染色显示,胶质细胞呈现程度不一的增生,神经元出现坏死;褪黑素干预能减轻脑缺血再灌注后胶质细胞增生及神经元的坏死。在TUNEL染色凋亡检测中,脑缺血再灌注组各时间点的神经细胞凋亡升高;褪黑素干预组各时间点的细胞凋亡数低于脑缺血再灌注组( $P < 0.05$ )。在免疫组化及蛋白质印迹检测中,脑缺血再灌注组c-fos表达增加,在第1天时达到高峰,之后表达逐步降低;在褪黑素干预组,c-fos表达趋势与缺血再灌注组一致,但表达水平比缺血再灌注组相应时间点低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 褪黑素能够减轻脑缺血再灌注后神经元的损伤,降低c-fos的表达,表明褪黑素可能通过调控c-fos的表达在脑缺血再灌注中发挥神经保护作用。[国际神经病学神经外科学杂志, 2021, 48(1): 63-68]

**关键词:**脑缺血;脑缺血再灌注;c-fos;褪黑素;细胞凋亡;大鼠

中图分类号:R743.33

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2021.01.015

## Effect of melatonin on c-fos expression after cerebral ischemia/reperfusion injury in Sprague-Dawley rats

WANG Yu<sup>1,2</sup>, YANG Kai<sup>2</sup>, HU Zhi-Ping<sup>1</sup>

Department of Neurology, Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, Hunan, China; Department of Sleep Disorders and Neurosis, Brain Hospital of Hunan Province, Changsha, Hunan 410007, China

Corresponding author: HU Zhi-Ping, Email: zhipinghu@csu.edu.cn

**Abstract:** **Objective** To investigate the neuroprotective effect and possible mechanism of melatonin in cerebral ischemia/reperfusion injury in rats. **Methods** A total of 45 male Sprague-Dawley rats were divided into sham-operation group with 5 rats, cerebral ischemia/reperfusion group with 20 rats, and melatonin intervention group with 20 rats. The cerebral ischemia/reperfusion group and the melatonin intervention group were further divided into 6-hour, 1-day, 3-day, and 7-day groups based on related time points, with 5 rats in each group. The Longa suture method was used to establish a rat model of left middle cerebral artery occlusion (MCAO); HE staining was used to observe the pathological changes of brain tissue; TUNEL staining was used to measure the apoptosis of nerve cells; immunohistochemical staining and Western blotting were used to measure the expression of c-fos in rat brain tissue. **Results** HE staining showed that at different time points, the cerebral ischemia/reperfusion group had varying degrees of glial cell proliferation and neuron necrosis, and melatonin intervention alleviated glial cell proliferation and neuron necrosis after cerebral ischemia/reperfusion. TUNEL staining for cell apoptosis showed that the cerebral ischemia/reperfusion group had a significant increase in the apoptosis

收稿日期:2020-11-08;修回日期:2021-02-24

作者简介:王雨(1988-),女,同等学力硕士在读,主要从事脑血管病方面的研究。

通信作者:胡治平(1963-),男,博士,教授,主任医师,博士生导师。Email:zhipinghu@csu.edu.cn。

of nerve cells at each time point, and the melatonin intervention group had a significantly lower number of apoptotic cells than the cerebral ischemia/reperfusion group ( $P < 0.05$ ). Immunohistochemical staining and Western blotting showed that the cerebral ischemia/reperfusion group had an increase in the expression of c-fos, which reached a peak on day 1, followed by a gradual reduction; the melatonin intervention group had a similar changing trend of c-fos expression to the cerebral ischemia/reperfusion group, but with a significantly lower expression level than the cerebral ischemia/reperfusion group at the corresponding time point ( $P < 0.05$ ). **Conclusions** Melatonin can reduce neuronal damage and c-fos expression after cerebral ischemia/reperfusion, suggesting that melatonin may exert a neuroprotective effect in cerebral ischemia/reperfusion by regulating the expression of c-fos.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2021, 48(1): 63-68]

**Keywords:** cerebral ischemia; cerebral ischemia/reperfusion; c-fos; melatonin; cell apoptosis; rat

褪黑素(Melatonin)是一种由松果体分泌的吲哚类激素,被认为是一种具有显著作用的抗氧化剂,能够全面激活抗氧化酶、减少自由基水平,积极减缓自由基对于组织的破坏效用<sup>[1]</sup>。而且褪黑素具有脂溶性高,易于通过血脑屏障和细胞膜,毒性低等优点<sup>[2]</sup>。脑缺血再灌注(I/R)损伤是缺血性脑血管病中神经损伤的重要病理生理机制,缺血中心区的损伤以坏死为主,边缘区域受损主要类型为神经细胞凋亡。而边缘区的神经元凋亡可直接决定脑梗死的大小<sup>[3-4]</sup>。有研究发现,褪黑素在中枢神经系统退行性疾病、脑外伤和脑出血等疾病中具有神经保护作用<sup>[5]</sup>。最主要是作为清除氧自由基的抗氧化剂,减少机体的氧化损伤。

c-fos 基因被认为是中枢神经系统最具有典型意义的即刻早期化基因(immediate early gene, IEG)类型<sup>[6]</sup>。有研究表明, c-fos 和神经细胞凋亡存在相当密切的关系<sup>[7]</sup>。在脑缺血再灌注的过程中 c-fos 的表达明显上调,加速了神经细胞凋亡。然而,脑缺血再灌注时褪黑素对 c-fos 表达的影响仍有待进一步阐明。因此,本研究将通过建立大鼠脑缺血再灌注模型,应用 HE 染色、凋亡检测、免疫组化、Western blotting 等技术,研究 SD 大鼠脑组织受损和 c-fos 表达情况,以及褪黑素对脑组织和 c-fos 表达的影响,以探讨褪黑素对缺血再灌注脑组织的保护作用及可能机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验动物及分组

择取购买自湖北省实验动物研究中心的 45 只雄性 SD 大鼠为研究的动物模型载体。体质量(250±20)g。

将 SD 大鼠分为假手术组(5 只)、脑缺血再灌注组(20 只)、褪黑素干预组(20 只)。

假手术组仅分离单侧颈总及颈内和外动脉,不予夹闭,处死;缺血再灌注组制模成功后按 I/R 后第 6 小时、第 1 天、第 3 天、第 7 天分为 4 组,每组 5 只大鼠;褪黑素干预组在制模前 3 天开始,给予褪黑素 10 mg/(kg·d)灌胃,直到处死,按与缺血再灌注组相应时间点将其分为 4 组,每组 5 只大鼠。

### 1.2 脑缺血再灌注模型的建立

应用浓度为 10% 水合氯醛为麻醉剂,在大鼠腹腔注射浓度为 3.5 mg/kg 的药物实施麻醉。以仰卧状态平放,并做好颈部消毒工作。剪开小鼠颈部正中部位,对右侧的颈部总动脉、颈内动脉及颈外动脉分离处理。右颈总动脉以及颈外动脉应用尼龙线结扎处理。颈内动脉应用动脉夹进行夹闭处理。于实验大鼠的右颈总动脉分叉膨大处开放一个“V”样口。在此之后把阻塞线自切口插进,缓慢送入颈内动脉,感到有轻微阻力即停止,随后碘伏消毒,需要说明的是,应当在皮肤缝合位置外置置大概规格为 1 cm 的丝线。在缺血处理之后 120 min,对实验动物再次进行麻醉处理。完成上述工作之后,退出阻塞线,以导致缺血后再灌注。假手术组仅分离右侧颈总动脉,颈内动脉和颈外动脉,缝合伤口,不插入线栓。

### 1.3 标本采集

取出部分大鼠的大脑组织(取脑梗死中心区脑组织,冠状位前囟-2.0 ~ +2.0 mm),置入浓度为 4% 的多聚甲醛中进行固定;剩余组织液氮冻存,-80℃长期保存。

### 1.4 试剂

TUNEL 试剂盒由 Roche 公司提供;HRP 标记山羊抗兔和 DAB 试剂盒由北京中杉金桥生物技术有限公司提供;BCA 蛋白质浓度测定试剂盒由 ASPEN 公司提供;褪黑素由国药集团提供。

### 1.5 HE 染色病理检测

脑组织固定于 4% 多聚甲醛 24 h 以上,以常规的方式对切片实施 HE 染色处理,应用光学显微镜查看脑组织的病理改变,分析大鼠样本缺血再灌注处理之后脑部组织损伤水平情况。

### 1.6 TUNEL 染色检测

依照先后顺序,将经过以上步骤处理的切片放到阶梯浓度酒精之内,为了避免液体流失,在甩干处理之后于组织四周应用组化笔画圆圈。并在画好的圆圈之内滴加蛋白酶 K 工作液,全面盖住组织。孵育 15 min 后洗涤。在适当干燥处理之后在加入破膜工作液盖住组织。孵育 10 min 后再次洗涤。在 TUNEL 试剂盒之中,调试混合试剂覆盖组织。把制作好的切片放到湿盒之中,使用 37℃ 水浴锅孵育处理,共计 1 h。加入适量 DAPI 染液,使用抗

荧光淬灭封片剂封片处理。应用荧光显微镜观察,拍照。

### 1.7 免疫组织化学(简称免疫组化)染色

对实验大鼠脑组织实施石蜡包埋切片及烘干处理。切片放置于浓度为3%过氧化氢溶液内,目的在于灭活处理内源过氧化物酶。次日应用PBS洗涤处理,共计进行3次。在此之后,滴入二抗,完成PBS洗涤和DAB染色。显色以后应用苏木精完成复染工作。脱水、透明、封固。镜下观察并拍照。

### 1.8 Western Blotting检测蛋白表达

脑组织在PBS缓冲液漂洗后加入相当于10倍的蛋白提取剂,冰浴处理匀浆。完成离心对上清液加以收集,得出总蛋白溶液。样本蛋白浓度测定应用BCA蛋白质浓度测定试剂盒完成。在此之后实施电泳、转膜、抗体孵育。通过ECL反应完成化学发光检测。结合实际光照情况有效调节曝光参数。显影,定影。完成以上步骤之后,实施扫描以及存档,应用AlphaEaseFC软件,对目标带光密度

值情况进行全面分析。

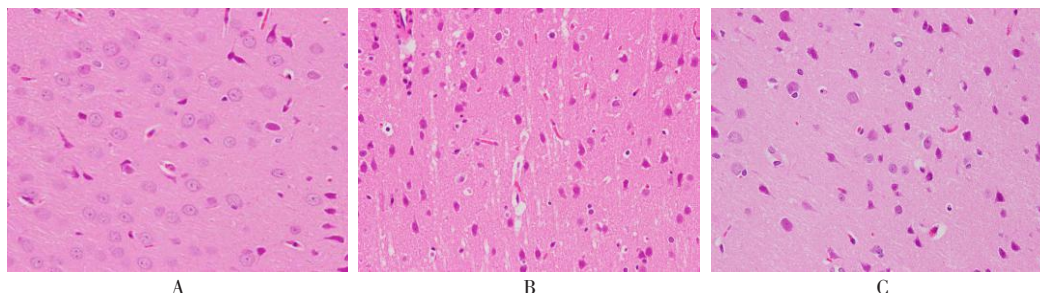
### 1.9 统计学方法

数据处理采用SPSS 19.0统计学软件。计量资料以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较方差分析,多组间两两比较采用LSD-*t*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 病理检测结果

假手术组大鼠脑组织结构没有明显变化。在缺血再灌注组中,胶质细胞出现增生,神经元发生坏死,并且随着缺血再灌注时间的延长而逐渐加重。褪黑素干预后,胶质细胞增生及神经元坏死与缺血再灌注组相同时间点比较,明显减轻。因脑缺血再灌注组及褪黑素干预组在实验中的胶质细胞增生、神经元坏死、细胞凋亡数、c-fos表达、蛋白印迹灰度比均在再灌注后第1天时达到峰值,故均选取峰值时的镜下图片可示明显对比。见图1。



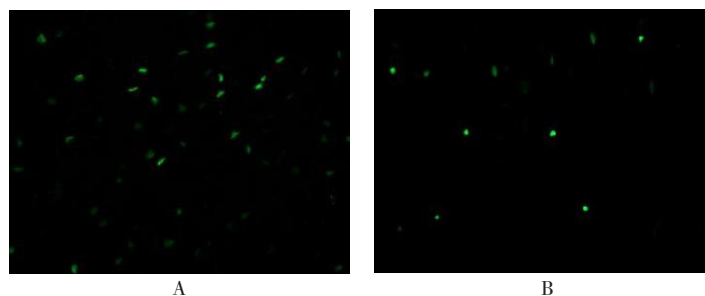
A:假手术组;B:缺血再灌注后第1天;C:褪黑素干预后第1天

图1 各组脑组织病理学变化(HE染色,×400),光镜下可见褪黑素干预组中的胶质细胞增生及神经元坏死要重于假手术组,且轻于缺血再灌注组

### 2.2 TUNEL检测结果

假手术组的平均凋亡率低。脑缺血再灌注组和褪黑素干预组中细胞凋亡数在各个时间点均高于假手术组,

于再灌注后第1天时达高峰,随后逐渐减少。褪黑素干预组的各时间点的细胞凋亡数与缺血再灌注组变化趋势一致,但低于脑缺血再灌注组( $P < 0.05$ )。见图2、表1。



A:缺血再灌注后第1天;B:褪黑素干预后第1天

图2 细胞凋亡对比(荧光显微镜,×400)

脑缺血再灌注组与褪黑素干预组在不同时间点的Tunel凋亡指数比较,采用重复测量的方差分析,结果:①不同时间点的tunel凋亡指数有差别(第6小时  $F=8.38$ ,  $P=0.00$ ;第1天  $F=77.66$ ,  $P=0.00$ ;第3天  $F=70.597$ ,  $P=$

0.00;第7天  $F=95.895$ ,  $P=0.00$ );②褪黑素干预组与脑缺血再灌注组的tunel凋亡指数变化趋势有差别(脑缺血再灌注组  $F=88.168$ ,  $P=0.00$ ;褪黑素干预组  $F=60.649$ ,  $P=0.00$ )。见表1。

表1 各组在不同时间点Tunel凋亡指数比较

组别	0 h	第6小时	第1天	第3天	第7天
假手术组	1.16±0.11	—	—	—	—
脑缺血再灌注组		9.68±1.09 <sup>①</sup>	49.42±5.51 <sup>①</sup>	39.58±5.66 <sup>①</sup>	19.95±2.41 <sup>①</sup>
褪黑素干预组		5.96±0.88 <sup>①②</sup>	41.88±6.91 <sup>①②</sup>	21.41±3.87 <sup>①②</sup>	8.99±1.58 <sup>①②</sup>
F值		8.38	77.66	70.597	95.895
P值		0.00	0.00	0.00	0.00

注:因假手术的老鼠样本未行缺血再灌注处理,直接处死,故于各个时间点的细胞凋亡数均同一数据。①与假手术组比较, $P<0.05$ ;②与脑缺血再灌注组比较, $P<0.05$

### 2.3 免疫组化检测结果

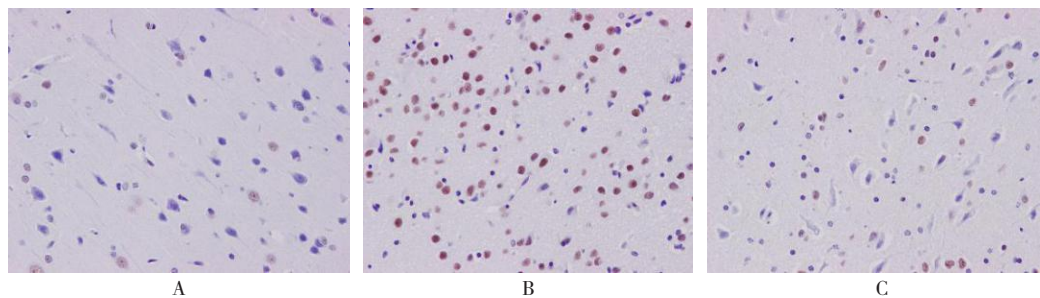
在假手术组的脑部组织内神经细胞之内的c-fos表达呈微弱阳性,偶有阳性细胞。脑缺血再灌注组的c-fos表达增加,从I/R后第6小时开始c-fos的表达量增加,第1天

时达高峰,第3天起c-fos表达逐渐减少。褪黑素干预组与缺血再灌注组的c-fos表达趋势大致相同,但c-fos在各时间节点的表达率前者低于脑缺血再灌注组。见图3、表2。

表2 各组不同时间点c-fos表达指数比较

组别	0 h	第6小时	第1天	第3天	第7天
假手术组	6.76±0.47	—	—	—	—
脑缺血再灌注组		17.76±1.26 <sup>①</sup>	40.31±6.84 <sup>①</sup>	29.67±4.03 <sup>①</sup>	23.50±3.57 <sup>①</sup>
褪黑素干预组		12.55±0.38 <sup>①②</sup>	30.75±3.86 <sup>①②</sup>	21.61±3.12 <sup>①②</sup>	17.18±2.12 <sup>①②</sup>
F值		115.567	43.42	46.362	36.833
P值		0.00	0.00	0.00	0.00

注:因假手术的老鼠样本未行缺血再灌注处理,直接处死,故于各个时间点的细胞凋亡数均同一数据。①与假手术组比较, $P<0.05$ ;②与脑缺血再灌注组比较, $P<0.05$



A:假手术组;B:缺血再灌注后第1天;C:褪黑素干预后第1天

图3 各组免疫组化中c-fos表达的差异(光镜下,×400)

### 2.4 Western Blotting检测结果

假手术组的灰度比较低。脑缺血再灌注组中灰度比明显升高,再灌注后1 d时最为显著,随后逐渐降低。褪

黑素干预组的灰度比均高于假手术组,但低于同一时间点的脑缺血再灌注组。见图4、表3。

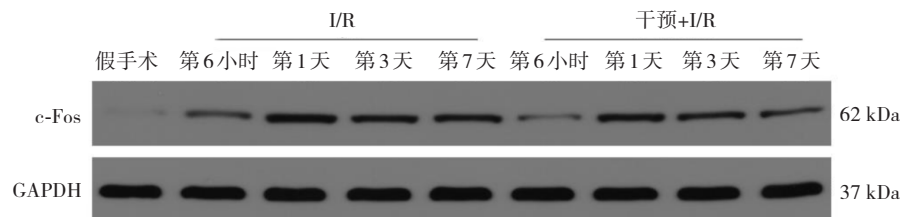


图4 缺血再灌注组及褪黑素干预组中各时间点灰度值的比较



表3 Western Blotting蛋白印迹灰度比比较

组别	0 h	第6小时	第1天	第3天	第7天
假手术组	0.02±0.00	—	—	—	—
脑缺血再灌注组		0.24±0.02 <sup>①</sup>	0.65±0.06 <sup>①</sup>	0.45±0.04 <sup>①</sup>	0.35±0.04 <sup>①</sup>
褪黑素干预组		0.12±0.01 <sup>①②</sup>	0.45±0.04 <sup>①②</sup>	0.35±0.05 <sup>①②</sup>	0.22±0.03 <sup>①②</sup>
F值		155.700	171.756	128.036	109.795
P值		0.00	0.00	0.00	0.00

注:因假手术的老鼠样本未行缺血再灌注处理,直接处死,故于各个时间点的细胞凋亡数均同一数据。①与假手术组比较, $P<0.05$ ;②与脑缺血再灌注组比较, $P<0.05$

### 3 讨论

IEG又被称原癌基因(proto-oncogene),也被视为发生大脑缺血之后迅速表达的基因组类型。其中c-fos基因组为最为典型且重要的基因种类<sup>[8]</sup>。通常而言,c-fos基因并不会表达,只有在其参加到了细胞生长过程、分化过程、学习过程和记忆过程等中,才会体现出神经保护的效用。在被外界各种伤害性刺激时,c-fos基因表达水平才会出现变化<sup>[9]</sup>。c-fos基因表达与神经元的应激反应相关,大鼠卒中后c-fos基因表达的程度与所受刺激量的大小成正比<sup>[10]</sup>。作为大脑缺血反应高敏感标记物质,c-fos的表达情况对于因大脑缺血再灌注导致的神经元凋亡步骤内起到了相当重要的效用。本研究发现,大鼠脑缺血再灌注后,c-fos表达增加。有研究表明,c-fos基因表达与脑缺血后神经元的死亡或凋亡呈平行关系,其表达程度反映了脑缺血后神经元死亡或凋亡的程度,c-fos基因表达越高,相应的脑组织损伤越严重<sup>[11]</sup>。

本实验发现,大鼠脑缺血再灌注后,c-fos表达增加。既往的研究表明,其可能的机制是:①脑缺氧缺血再灌注时必需氨基酸(essential amino acid, EAA)释放增多,N-甲基-D-天门冬氨酸(NMDA)受体被激活,可诱导c-fos表达<sup>[12]</sup>。②脑缺氧缺血再灌注时细胞内Ca<sup>2+</sup>超载,可诱导c-fos表达,并且通过激活酶学反应,及对转录因子进行磷酸化等途径诱导神经细胞c-fos表达<sup>[13]</sup>。③脑缺氧缺血再灌注时可产生大量氧自由基,损伤细胞膜、细胞器和酶功能,且影响DNA与RNA的信息传递、转录和复制。④脑缺氧缺血及再灌注时,脑组织的NO含量显著升高,可诱导c-fos表达<sup>[14]</sup>。总之,诸多因素共同参与中枢神经系统中的c-fos表达过程,诱导细胞凋亡的发生。

由此发现,c-fos的具体表达情况能被视为一种反映脑缺血再灌注时细胞代谢改变的新型指标,其有可能成为评定针对于脑缺血再灌注相关药品治疗成效的新方式<sup>[8]</sup>。在本实验之内,经过制作SD实验大鼠缺血再灌注模型,证实了c-fos具体表达情况和神经元凋亡表达情况呈一致状态。这也在一定程度上代表c-fos表达情况和细胞凋亡具有一定关系。由此能看出,寻找一种可以对c-fos基因进行调控的药物就可能改善脑卒中患者的预后情况。

褪黑素具有全面清除机体中自由基、抗炎、减少癌细胞增殖以及抗氧化的生物学效应,能对人体生殖系统、内分泌系统以及神经系统起保护作用<sup>[15]</sup>。作为一种神经内分泌激素,褪黑素分泌的调节机制非常复杂。有研究发现,病理状态下,机体褪黑素水平明显降低,考虑其机制可能与褪黑素作为抗氧化剂及保护性激素,存在过度消耗相关<sup>[16]</sup>,同时与松果体分泌褪黑素的能力降低相关。目前,认为褪黑素抗自由基损伤的作用机制主要包括两方面,一方面是以电子供体的形式直接清除自由基;另一方面是影响氧化和抗氧化有关酶类的活性<sup>[17]</sup>。

目前,在脑缺血再灌注损伤中探究褪黑素与c-fos的关系研究甚少。本实验需要阐明在脑缺血再灌注损伤中褪黑素的神经保护作用是否与调控c-fos的表达水平相关。我们在大鼠脑缺血再灌注模型中通过加入外源性褪黑素,检测其是否能够影响体内c-fos的表达,从而产生神经保护作用。本研究发现,大鼠脑缺血再灌注后c-fos表达增加,褪黑素处理后能减少神经细胞死亡,减少c-fos的表达。

因此,褪黑素可能通过调节c-fos的表达,在大鼠脑缺血再灌注损伤中发挥神经保护作用。本研究将为褪黑素对于脑缺血性疾病的临床诊疗提供实验基础。

### 参 考 文 献

- [1] Kim MY, Zhang T, Kraus WL. Poly(ADP-ribosylation) by PARP-1: 'PAR-laying' NAD<sup>+</sup> into a nuclear signal[J]. Genes Dev, 2005, 19(17): 1951-1967.
- [2] Lonskaya I, Potaman VN, Shlyakhtenko LS, et al. Regulation of poly(ADP-ribose) polymerase-1 by DNA structure-specific binding[J]. J Biol Chem, 2005, 280(17): 17076-17083.
- [3] 程倚萌, 娄季宇, 王金兰, 等. 大鼠局灶性脑缺血再灌注后海马Bcl-2、Bax蛋白的表达[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2007, 10(3): 95-97.
- [4] Benchoua A, Guégan C, Couriaud C, et al. Specific caspase pathways are activated in the two stages of cerebral infarction[J]. J Neurosci, 2001, 21(18): 7127-7134.
- [5] Jun Z, Li Z, Fang W, et al. Melatonin decreases levels of S100 $\beta$  and NF $\kappa$ B, increases levels of synaptophysin in a rat model of Alzheimer's disease[J]. Curr Aging Sci, 2013, 6(2): 142-149.
- [6] Funahashi M, He YF, Sugimoto T, et al. Noxious tooth pulp stim-

- ulation suppresses c-fos expression in the rat hippocampal formation[J]. *Brain Res*, 1999, 827(1-2): 215-220.
- [7] 周珂,李庚山,余绍祖. 脑缺血再灌注损伤时 c-fos、c-jun 的表达和细胞凋亡[J]. *卒中与神经疾病*, 2003, 10(1): 3-6.
- [8] 张婷卓,杜小正,王金海,等. c-fos 基因表达在脑缺血中的研究进展[J]. *甘肃中医药大学学报*, 2017, 34(5): 78-81.
- [9] Joo JY, Schaukowitz K, Farbiak L, et al. Stimulus-specific combinatorial functionality of neuronal c-fos enhancers[J]. *Nat Neurosci*, 2016, 19(1): 75-83.
- [10] 张学君,林雨芳,吴强,等. 干预次序对局灶性脑缺血大鼠 c-fos 表达的影响[J]. *福建中医药大学学报*, 2012, 22(5): 25-27.
- [11] Whitfield J, Neame SJ, Paquet L, et al. Dominant-negative c-Jun promotes neuronal survival by reducing BIM expression and inhibiting mitochondrial cytochrome c release[J]. *Neuron*, 2001, 29(3): 629-643.
- [12] Silveira DC, Sogawa Y, Holmes GL. The expression of fos following kainic acid-induced seizures is age-dependent[J]. *Eur J Neurosci*, 2002, 15(2): 329-344.
- [13] Takei N, Tanaka O, Endo Y, et al. BDNF and NT-3 but not CNTF counteract the  $\text{Ca}^{2+}$  ionophore-induced apoptosis of cultured cortical neurons: involvement of dual pathways[J]. *Neuropharmacology*, 1999, 38(2): 283-288.
- [14] Malinski T, Bailey F, Zhang ZG, et al. Nitric oxide measured by a porphyrinic microsensor in rat brain after transient middle cerebral artery occlusion[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1993, 13(3): 355-358.
- [15] 刘沁华,夏瑞祥,李嘉嘉. 褪黑素联合全反式维甲酸对 HL-60 细胞作用的研究[J]. *安徽医学*, 2010, 31(7): 726-729.
- [16] 卫杏利,胡治平. 阿托伐他汀对沙鼠脑缺血再灌注损伤后 c-fos 表达的影响[J]. *长治医学院学报*, 2017, 31(1): 20-23.
- [17] Radogna F, Sestili P, Martinelli C, et al. Lipoygenase-mediated pro-radical effect of melatonin via stimulation of arachidonic acid metabolism[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2009, 238(2): 170-177.

责任编辑:龚学民