

· 实验研究 ·

全身亚低温和选择性脑亚低温减轻大鼠
脑缺血-再灌注损伤的比较

郑旭 刘彩云 孙贵亮 时飞 王明山 张高峰

【摘要】 目的 比较全身亚低温和选择性脑亚低温减轻大鼠脑缺血-再灌注损伤的效果。**方法** 清洁级健康雄性 SD 大鼠 80 只, 8 周龄, 体重 200~250 g。采用随机数字表法分为四组: 假手术组(S 组)、缺血-再灌注组(IR 组)、全身亚低温组(T 组)和选择性脑亚低温组(H 组), 每组 20 只。四组大鼠在监测脑温及直肠温度下进行操作。S 组仅暴露颈部血管; IR 组采用线栓法建立脑缺血-再灌注损伤(CIRI)大鼠模型, 阻断大鼠左侧大脑中动脉 2 h 后恢复血流灌注; T 组建立 CIRI 大鼠模型后, 拔除线栓即刻将 75% 乙醇直接均匀泼洒到全身皮肤降温; H 组建立 CIRI 大鼠模型后, 拔除线栓即刻于左侧颈内动脉以 $80 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 的速度注入 4°C 生理盐水。记录 T 组和 H 组大鼠的降温时间(脑温降至 33°C 的时间)、脑达到亚低温时肛温及脑亚低温维持时间。记录再灌注后 24 h 改良神经功能缺损严重程度评分(mNSS)。完成 mNSS 后处死大鼠, 采用 TTC 染色法观察脑梗死情况并计算脑梗死容积百分比, TUNEL 法检测神经细胞凋亡率, HE 染色观察神经细胞形态改变, 透射电镜下观察线粒体超微结构改变。**结果** 与 S 组比较, IR 组、T 组和 H 组 mNSS、脑梗死容积百分比、神经细胞凋亡率明显升高($P < 0.05$)。与 IR 组比较, T 组和 H 组 mNSS、脑梗死容积百分比、神经细胞凋亡率明显降低($P < 0.05$)。与 T 组比较, H 组达到脑亚低温的时间明显缩短($P < 0.05$), mNSS、脑梗死容积百分比、神经细胞凋亡率明显降低($P < 0.05$)。HE 染色观察到 S 组大鼠神经细胞形态完整且轮廓清晰; IR 组见大量细胞水肿, 细胞核不规则浓缩; T 组细胞水肿减轻; H 组细胞形态改变进一步减轻。透射电镜下 S 组线粒体形态正常, 呈圆状或杆状, 双层膜结构完整, 无肿胀和空泡变性; IR 组线粒体肿胀变圆, 部分可见嵴断裂和空泡化现象; T 组线粒体肿胀和空泡变性减轻; H 组线粒体形态改变进一步减轻。**结论** 全身亚低温和选择性脑亚低温均能减轻大鼠脑缺血-再灌注损伤, 经颈动脉灌注低温生理盐水实现选择性脑亚低温降温速度快, 减轻大鼠脑缺血-再灌注的效果更好。

【关键词】 全身亚低温; 选择性脑亚低温; 缺血-再灌注; 大鼠

Comparison of systemic mild hypothermia and selective brain mild hypothermia on reducing cerebral ischemia-reperfusion injury in rats ZHENG Xu, LIU Caiyun, SUN Guiliang, SHI Fei, WANG Mingshan, ZHANG Gaofeng. Department of Laboratory Medicine, Affiliated Qingdao Municipal Hospital of Qingdao University, Qingdao 266071, China

Corresponding author: ZHANG Gaofeng, Email: exgalaxy@163.com

【Abstract】 Objective To compare the effects of systemic mild hypothermia and selective brain mild hypothermia on reducing cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. **Methods** Eighty clean healthy male Sprague-Dawley rats, aged 8 weeks, weighing 200-250 g, were divided into 4 groups using random number table method: sham operation group (group S), ischemia-reperfusion group (group IR), systemic mild hypothermia group (group T) and selective brain mild hypothermia group (group H), 20 rats in each group. Four groups were operated under the monitoring of brain temperature and rectal temperature. Only the cervical blood vessels were exposed in group S, while the left middle cerebral artery were blocked for 2 hours following reperfusion in the other three groups. In group T, 75% ethanol was directly evenly sprayed onto the skin immediately following the withdrawal of thread plug, while 4°C normal saline was injected via the left internal carotid artery at a rate of $80 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ in group H. Record the time duration of brain temperature reaching 33°C , anal temperature of brain at mild hypothermia, and the maintenance time of mild hypothermia in groups T and H, and modified neurological severity score (mNSS) 24 hours after reperfusion. The percentage of infarct volume tested by TTC staining, cell morphological changes observed by HE

DOI: 10.12089/jca.2022.02.015

基金项目: 青岛市科技民生项目 (19-6-1-50-nsh)

作者单位: 266071 青岛大学附属青岛市市立医院检验科(郑旭), 肝胆胰外科(刘彩云), 麻醉手术科(时飞, 王明山, 张高峰); 淄博市中心医院麻醉科(孙贵亮)

通信作者: 张高峰, Email: exgalaxy@163.com

staining, nerve cell apoptosis rate tested by TUNEL staining, and mitochondrial ultrastructure observed by transmission electron microscope were recorded. **Results** Compared with group S, mNSS, percentage of infarct volume in the left cerebral cortex, and cellular apoptosis rate in the ischemic penumbra area were significantly increased in groups IR, T and H ($P < 0.05$). Compared with group IR, mNSS, percentage of infarct volume, and cellular apoptosis rate were significantly increased in groups T and H ($P < 0.05$). Compared with group T, the cooling time in group H was shortened ($P < 0.05$), mNSS, percentage of infarct volume, and cellular apoptosis rate were significantly decreased in group H ($P < 0.05$). HE staining showed that the neurocytes in group S had integrated morphology and clear contours, while a large amount of cellular edema and irregularly concentrated cells in the ischemic penumbra area were observed in group IR. The degree of cellular edema in group T was reduced, and the morphological changes in group H were further reduced. Under transmission electron microscope, the morphology and structure of mitochondria in group S are normal, with round or rod-shaped shape and intact double-layer membrane, and without swelling and vacuolar degeneration. The mitochondria in group IR swelled and rounded, with crista rupture and cavitation partially. The mitochondria in group T appeared less swollen and less vacuolar degeneration, and the degenerative morphological changes of mitochondria in group H were further reduced. **Conclusion** Both selective brain mild hypothermia and systemic mild hypothermia could alleviate cerebral ischemia-reperfusion injury in rats. Selective brain mild hypothermia achieved by cold physiological saline infusion via carotid artery brought stronger cooling efficiency and better protective effects against CIRI.

【Key words】 Systemic mild hypothermia; Selective brain mild hypothermia; Ischemia-reperfusion injury; Rat

脑卒中是死亡和致残的主要原因,其中缺血性脑卒中占 80%,及时恢复血流灌注是有效的治疗方法,然而恢复血流灌注常常会加重原有的组织损伤,这一过程称为脑缺血-再灌注损伤(cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI)^[1]。脑低温是最有效的神经保护策略之一,亚低温(32~34℃)具有明显的脑保护效果,且全身并发症少,在临床研究和基础实验中被广泛设为目标治疗温度^[2]。实现脑亚低温方式主要有全身亚低温和选择性脑亚低温,本研究拟比较全身亚低温和选择性脑亚低温实现脑亚低温的效率,以及在减轻大鼠 CIRI 中的效果。

材料与方法

实验动物与分组 清洁级健康雄性 SD 大鼠,8 周龄,体重 200~250 g,由青岛大任富城畜牧有限公司提供[许可证号:SYXK(鲁)2018-027]。实验动物的操作及饲养均符合《实验动物管理条例》相关规定。动物饲养环境:温度 18~24℃,湿度 50%~60%,12 h 昼夜更替,自由摄食饮水。采用随机数字表法将大鼠分为四组:假手术组(S 组)、缺血-再灌注组(IR 组)、全身亚低温组(T 组)和选择性脑亚低温组(H 组)。

建立 CIRI 大鼠模型 采用 Longa 线栓法建立大鼠 CIRI 模型^[3]。腹腔注射 1%戊巴比妥钠 30 mg/kg 麻醉大鼠,将大鼠仰卧位固定于垫有发热毯的固定板上,头颈部备皮后碘伏消毒,眼科剪暴露颅骨前囟及 Bregma 点周围区域。生理盐水清术

区,将超声多普勒脑血流检测仪的光纤探头固定于大脑中动脉的颅骨投影区(Bregma 点后 2 mm,中线旁开 5 mm)。用啮齿类动物直肠体温计监测小鼠体温,颈前皮肤脱毛消毒,沿颈正中线作正中切口约 3 cm,分离并夹闭左颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉,注意切勿损伤迷走神经。剪断左颈外动脉,将线栓(直径约为 0.25 mm)沿切口插入左颈总动脉,调整角度后再沿左颈内动脉缓慢置入约 18~20 mm,遇阻力时停止置入,此时线栓成功进入大脑中动脉的起始部,脑缺血 2 h 后缓慢退出线栓恢复灌注。应用超声多普勒脑血流监测仪监测左大脑中动脉局部血流,缺血时血流量下降至基础值的 15%~20%且拔除线栓再灌注后 10 min 血流量能恢复至基础值 70%以上者为成功模型^[4]。本研究中 5 只大鼠建模失败(死亡或脑血流未达相应数值),补充相应数量大鼠后最终建模成功 80 只。

亚低温模型的建立 全身亚低温:将 75%乙醇直接均匀泼洒到全身的的皮肤上进行降温。选择性脑亚低温:拔除线栓即刻将 PE-50 灌注管插入左颈内动脉 5~10 mm,用微量泵以 $80 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$ 的速度注入 4℃生理盐水^[5]。脑温降至 33℃时停止降温,H 组大鼠自主复温,T 组大鼠放至加温板复温^[6]。记录降温时间(脑温降至 33℃的时间)、脑达到亚低温时肛温及脑亚低温维持时间(亚低温至脑温恢复正常的时间)。

脑温及直肠温度监测 将大鼠麻醉后固定于立体定向仪上,正中切开大鼠颅顶皮肤后暴露前囟。分别取前囟旁开 3 mm、深 2 mm 和前囟旁开 5

mm、后 3 mm、深 5 mm 为皮质和纹状体的测温点。立体定位后,磨去骨质后暴露硬脑膜,用尖刀划破硬脑膜后将脑温仪上的针状测温电极插入,观察并记录缺血侧脑组织温度。使用肛温仪,将探头插入距离肛门 1.5 cm 处测量直肠温度。

改良神经功能缺损严重程度评估 再灌注后 24 h 2 只大鼠死亡,补充大鼠后采用改良神经功能缺损严重程度评分(modified neurological severity score, mNSS)^[7] 对大鼠进行行为学检查。mNSS 评分包括运动、感觉、平衡和反射四个方面,总分 18 分,0 分,无神经功能缺陷;18 分,最严重神经损伤。

2,3,5-氯化三苯基四氮唑染色 完成 mNSS 后每组随机取 5 只大鼠,麻醉后断头取脑,将脑组织取出后置于-20℃冰箱中约 20 min,随后进行冠状脑切片,每隔 2 mm 切一片,切 4~5 张,将切片放入 2% 2,3,5-氯化三苯基四氮唑(2,3,5-triphenyltetrazolium chloride, TTC)溶液中,避光处理并置于 37℃温箱中孵育 15 min,待脑组织染色完成后,用 4% 甲醛溶液固定,白色区域为梗死区域,红色区域为正常脑组织区域,24 h 后拍照,应用软件 Adobe photoshop CS4 作图像处理,选出脑梗死面积,计算脑梗死容积百分比,脑梗死容积百分比=(对侧正常脑组织容积-同侧正常脑组织容积)/(对侧正常脑组织容积)×100%。

TUNEL 染色 完成 mNSS 后每组随机取 10 只大鼠,麻醉后仰卧位固定,经心脏依次灌注 0.9% 生理盐水和 4% 多聚甲醛,分离大脑缺血侧顶叶和额叶皮质并固定,取缺血侧缺血半暗区(肉眼见苍白缺血区与正常组织交界处)组织,固定 2 h、洗涤 4 h,随后梯度酒精脱水、二甲苯透明、石蜡包埋,连续冠状切片(厚约 5 μm),恒温箱上烘干,石蜡切片脱蜡水化。每组取 5 张切片,按照 TUNEL 试剂盒说明书操作,二氨基联苯胺(diaminobenzidine, DAB)显色,400 倍光镜下进行观察,细胞核中有棕黄色颗粒者为凋亡细胞。每张切片随机观察不重叠的 5 个视野,计数凋亡细胞,计算神经元细胞凋亡率=凋亡细胞计数/总细胞计数×100%。

HE 染色 每组取 5 张切片,用 Harris 苏木素染色 5 min 后蒸馏水冲洗,用 75% 盐酸乙醇处理 30 min 后蒸馏水冲洗,再用酸化伊红乙醇处理 1~2 min,蒸馏水冲洗,常规进行脱水、透明、中性树胶封片。显微镜下观察缺血-再灌注后缺血半暗区细胞形态变化。

电镜观察 完成 mNSS 后每组随机取 5 只大

鼠,称重后麻醉,断头处死,用剪刀剪开皮肤暴露心脏,然后在左心室剪一小口,并留置穿刺针,可见生理盐水顺利滴注,随后在右心耳剪一小口,见液体流出直至无色,换用 2% 戊二醛溶液 100 ml 滴注,固定脑组织,灌注结束后在冰台上迅速取脑组织缺血半暗区,用眼科剪剪成小块,体积约为 1 mm×1 mm×1 mm,25% 戊二醛固定后,4℃冰箱保存。检测时按常规电镜标本制备程序,制备切片、晾干、染色后透射电镜下观察,拍照。

统计分析 采用 SPSS 19.0 统计学软件进行数据分析。正态分布计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

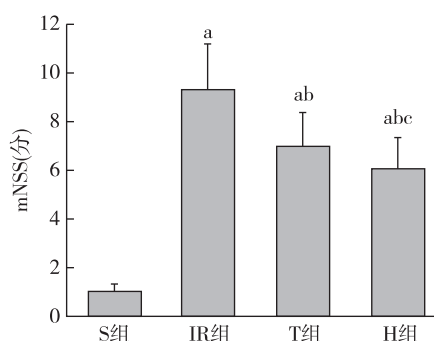
降温时间、脑达到亚低温时肛温及脑亚低温维持时间 H 组降温时间明显短于 T 组($P < 0.05$),脑达到亚低温时 H 组肛温明显高于 T 组($P < 0.05$)。两组脑亚低温维持时间差异无统计学意义(表 1)。

表 1 两组大鼠降温时间、脑达到亚低温时肛温及脑亚低温维持时间的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	降温时间 (min)	脑达到 亚低温时肛温 (℃)	脑亚低温 维持时间 (min)
T 组	20	31.2±3.4	33.2±0.8	20.3±4.2
H 组	20	14.3±2.6 ^a	36.7±0.5 ^a	21.5±5.1

注:与 T 组比较,^a $P < 0.05$

mNSS IR 组、T 组和 H 组 mNSS 明显高于 S 组($P < 0.05$),T 组和 H 组 mNSS 明显低于 IR 组($P < 0.05$),H 组 mNSS 明显低于 T 组($P < 0.05$)(图 1)。



注:与 S 组比较,^a $P < 0.05$;与 IR 组比较,^b $P < 0.05$;与 T 组比较,^c $P < 0.05$

图 1 四组大鼠 mNSS 的比较

脑梗死容积百分比 S 组脑切面均红染,无明显梗死区域;IR 组、T 组和 H 组大脑中动脉供血区域部分发白,有明显梗死灶(图 2)。IR 组、T 组和 H 组脑梗死容积百分比明显高于 S 组($P<0.05$),T 组和 H 组脑梗死容积百分比明显低于 IR 组($P<0.05$),H 组脑梗死容积百分比明显低于 T 组($P<0.05$)(图 3)。

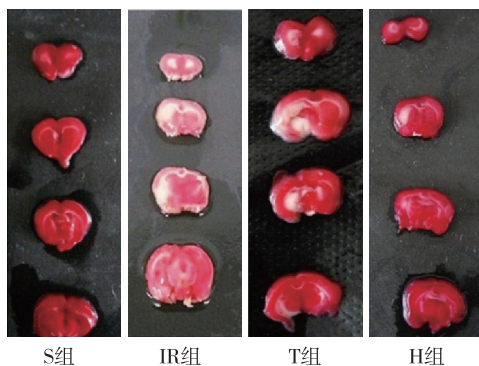
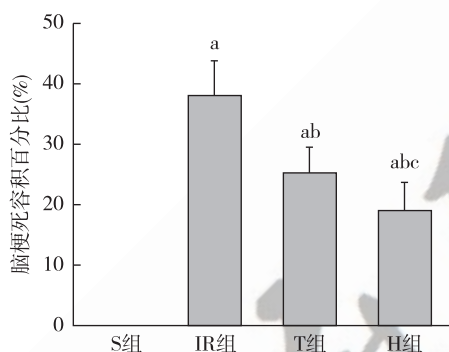


图 2 四组大鼠 TTC 染色图



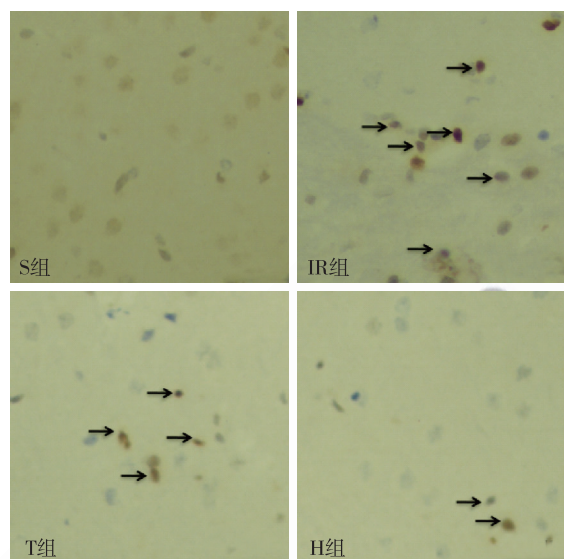
注:与 S 组比较,^a $P<0.05$;与 IR 组比较,^b $P<0.05$;与 T 组比较,^c $P<0.05$

图 3 四组大鼠脑梗死容积百分比的比较

神经细胞凋亡率 IR 组、T 组和 H 组神经元细胞凋亡率明显高于 S 组($P<0.05$),T 组和 H 组神经元细胞凋亡率明显低于 IR 组($P<0.05$),H 组神经元细胞凋亡率明显低于 T 组($P<0.05$)(图 4—5)。

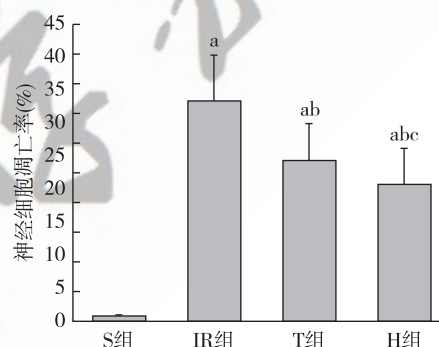
神经细胞形态 S 组神经细胞形态完整且轮廓清晰,细胞核膜清楚,核仁明显,极少发现细胞核固缩,未见脑组织水肿;IR 组可见大量细胞水肿,细胞核不规则浓缩,核仁难以辨识;T 组细胞水肿减轻,细胞核浓缩情况下降,神经元形态改变减轻;H 组细胞水肿、细胞核浓缩情况、神经细胞形态改变进一步减轻(图 6)。

电镜下线粒体超微结构 S 组线粒体形态正常,呈圆状或杆状,双层膜结构完整,无肿胀和空泡



注:箭头,凋亡神经细胞

图 4 四组大鼠神经细胞 TUNEL 染色图($\times 400$)



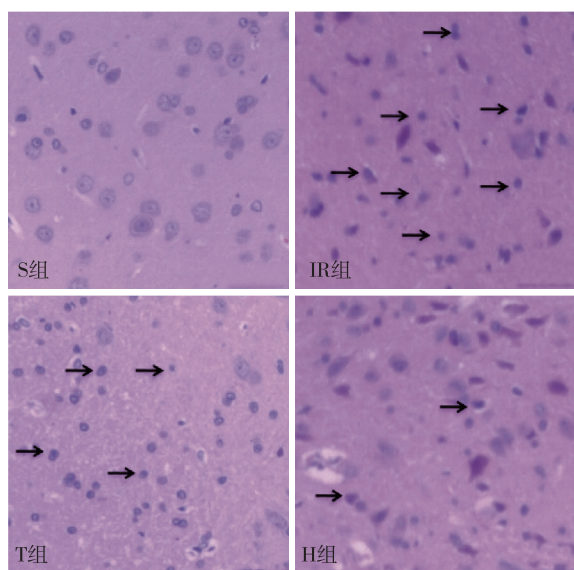
注:与 S 组比较,^a $P<0.05$;与 IR 组比较,^b $P<0.05$;与 T 组比较,^c $P<0.05$

图 5 四组大鼠神经细胞凋亡率的比较

变性;IR 组可见大量线粒体肿胀变圆,部分可见嵴断裂和空泡化现象;T 组和 H 组线粒体形态破坏程度轻于 IR 组,肿胀和空泡变性线粒体数目减少;H 组线粒体形态破坏程度轻于 T 组(图 7)。

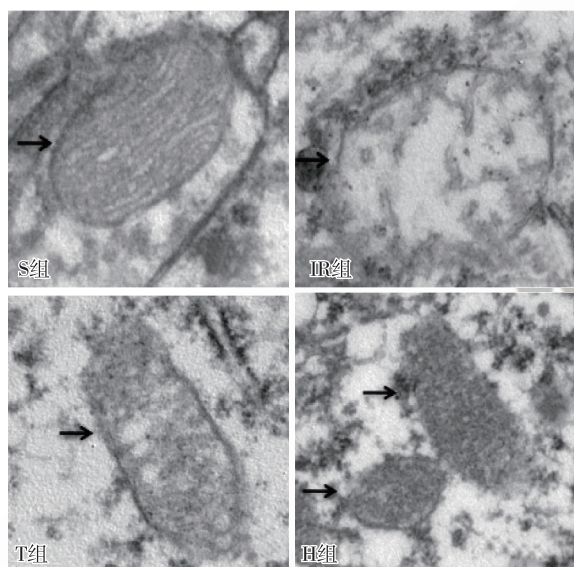
讨 论

脑亚低温($32\sim 34\text{ }^{\circ}\text{C}$)是减轻 CIRC 的有效措施之一^[8]。亚低温通过降低 ATP 消耗、抑制兴奋性氨基酸的释放、减少 Ca^{2+} 动员、缓解内质网应激等减轻缺血性脑损伤,并可以通过阻断再灌注后多发性损伤级联反应,上调某些保护性基因、抑制某些损伤性基因等来增加对缺血的耐受性^[9-10]。本实验研究结果显示,大鼠 CIRC 后实施全身亚低温或选择性脑亚低温,均能减轻神经细胞水肿及核固缩,减少神经细胞形态改变,降低 mNSS 和神经细胞凋亡率,体



注:箭头,浓缩神经细胞及固缩细胞核

图 6 四组大鼠 HE 染色图($\times 400$)



注:箭头,线粒体

图 7 四组大鼠线粒体超微结构电镜图($\times 100\ 000$)

现了亚低温减轻 CIRI 的效果。CIRI 时线粒体在多种凋亡细胞信号因子或通路中发挥中继和放大的作用,线粒体形态功能改变是影响 CIRI 进程的重要因素^[11],因此,亚低温对 CIRI 时多种信号通路的影响都会体现在线粒体形态和功能的改变。Fan 等^[12]研究表明,亚低温能明显抑制动力相关蛋白 1 (dynamin-related protein 1, Drp1) 的表达,从而减少线粒体过度分裂,减轻大鼠 CIRI。冷诱导 RNA 结合蛋白是一种冷休克蛋白,亚低温能上调其表达,减轻线粒体凋亡相关蛋白 Bax、caspase-9、caspase-3

和 Bcl-2 等表达^[13],发挥神经保护作用。本实验研究中两种亚低温方法均能减轻大鼠缺血半暗带线粒体肿胀及线粒体嵴断裂,减少空泡线粒体数目,从而稳定线粒体形态。

全身亚低温和选择性脑亚低温对 CIRI 时线粒体形态的影响及减轻 CIRI 效果的差异需进一步研究,以寻找更优的降温方式来指导临床。临床上可以通过降温毯、冷空气、乙醇擦拭皮肤等全身低温方式来实现脑亚低温,但这种方式需要花费大量的时间和精力来实现亚低温的诱导和维持,并且需要 3~7 h 的降温过程才能达到亚低温^[14]。另外,全身低温可能会造成免疫抑制、感染风险增加、电解质紊乱胰岛素抵抗等并发症发生率升高^[15],增加肺炎发生风险^[16],心脏低温灌注会增加心律失常的风险^[17]等。尽快实现脑亚低温干预可能获得更好的疗效,经颈动脉灌注冷盐水可快速实现选择性脑亚低温,既可使脑部迅速达到亚低温状态,又减少了全身低温带来的各种并发症。Ji 等^[18]研究表明,再灌注后行选择性脑低温可降低脑梗死容积,而在血流恢复即刻实施颈动脉低温灌注的效果最佳,因此本实验研究中,在拔除线栓即刻开始实施选择性脑低温,结果显示,与全身亚低温比较,经颈动脉灌注冷生理盐水可以更快实现脑亚低温,同时选择性脑亚低温未影响大鼠机体的内脏温度,从而提示选择性脑亚低温减轻 CIRI 的效果更高、全身并发症更少,可以应用于大鼠模型建立,并用于指导临床。Cattaneo 等^[19]研究表明,在急性缺血性脑卒中患者血管再通后在缺血区域灌注低温盐水治疗是安全可行的。本实验研究结果显示,选择性脑亚低温较全身亚低温能降低 mNSS 评分,降低神经细胞凋亡百分比和脑梗死容积,减少神经细胞形态改变,更好的稳定大鼠线粒体超微结构。由此推断选择性脑亚低温通过抑制 CIRI 时炎症级联反应造成的线粒体形态功能紊乱,进而抑制线粒体途径的细胞凋亡,减轻 CIRI。

实现脑低温的方法还包括药物降温、鼻咽部注入冷盐水降温、冰块复合药物降温^[20-21]等,亚低温的维持时间也是影响预后的重要因素,以大型哺乳动物代替啮齿类动物建立选择性脑亚低温能更好的模拟人体,这些将是课题组进一步的研究方向。

综上所述,全身亚低温和选择性脑亚低温均能减轻大鼠脑缺血-再灌注损伤,经颈动脉灌注低温生理盐水可以使脑亚低温降温速度更快,减轻脑缺血-再灌注损伤的效果更好,值得进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Eltzschig HK, Eckle T. Ischemia and reperfusion—from mechanism to translation. *Nat Med*, 2011, 17(11): 1391-1401.
- [2] Liu X, Wen S, Zhao S, et al. Mild therapeutic hypothermia protects the brain from ischemia/reperfusion injury through upregulation of iASPP. *Aging Dis*, 2018, 9(3): 401-411.
- [3] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats. *Stroke*, 1989, 20(1): 84-91.
- [4] Zhao N, Xu X, Jiang Y, et al. Lipocalin-2 may produce damaging effect after cerebral ischemia by inducing astrocytes classical activation. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 168.
- [5] Tang YN, Zhang GF, Chen HL, et al. Selective brain hypothermia-induced neuroprotection against focal cerebral ischemia/reperfusion injury is associated with Fis1 inhibition. *Neural Regen Res*, 2020, 15(5): 903-911.
- [6] Tang YY, Liu XJ, Zhao J, et al. Hypothermia-induced ischemic tolerance is associated with Drp1 inhibition in cerebral ischemia-reperfusion injury of mice. *Brain Res*, 2016(1): 73-83.
- [7] Sun G, Qin W, Wang Q, et al. Selective-cerebral-hypothermia-induced neuroprotection against-focal cerebral ischemia/reperfusion injury is associated with an increase in SUMO2/3 conjugation. *Brain Res*, 2021, 1756: 147311.
- [8] Dankiewicz J, Schmidbauer S, Nielsen N, et al. Safety, feasibility, and outcomes of induced hypothermia therapy following in-hospital cardiac arrest-evaluation of a large prospective registry. *Crit Care Med*, 2014, 42(12): 2537-2545.
- [9] Zhao H, Steinberg GK, Sapolsky RM. General versus specific actions of mild-moderate hypothermia in attenuating cerebral ischemic damage. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2007, 27(12): 1879-1894.
- [10] 王培, 赵慧, 丁静, 等. 亚低温对局灶性脑缺血再灌注大鼠皮层内质网 IRE1-XBP1 信号通路的影响. *中华麻醉学杂志*, 2021, 41(4): 486-490.
- [11] Hu Y, Deng H, Xu S, et al. MicroRNAs Regulate mitochondrial function in cerebral ischemia-reperfusion injury. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(10): 24895-24917.
- [12] Fan J, Cai S, Zhong H, et al. Therapeutic hypothermia attenuates global cerebral reperfusion-induced mitochondrial damage by suppressing dynamin-related protein 1 activation and mitochondria-mediated apoptosis in a cardiac arrest rat model. *Neurosci Lett*, 2017, 647: 45-52.
- [13] Wu L, Sun HL, Gao Y, et al. Therapeutic hypothermia enhances cold-inducible RNA-binding protein expression and inhibits mitochondrial apoptosis in a rat model of cardiac arrest. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(4): 2697-2705.
- [14] Schwab S, Georgiadis D, Berrouschot J, et al. Feasibility and safety of moderate hypothermia after massive hemispheric infarction. *Stroke*, 2001, 32(9): 2033-2035.
- [15] Polderman KH. Mechanisms of action, physiological effects, and complications of hypothermia. *Crit Care Med*, 2009, 37(7 Suppl): S186-S202.
- [16] Chen H, Wu F, Yang P, et al. A meta-analysis of the effects of therapeutic hypothermia in adult patients with traumatic brain injury. *Crit Care*, 2019, 23(1): 396.
- [17] 何幼芹, 高鸿, 刘艳秋, 等. 低温缺血-再灌注对心房肌电稳定性的影响. *临床麻醉学杂志*, 2019, 35(11): 1118-1121.
- [18] Ji Y, Hu Y, Wu Y, et al. Therapeutic time window of hypothermia is broader than cerebral artery flushing in carotid saline infusion after transient focal ischemic stroke in rats. *Neurol Res*, 2012, 34(7): 657-663.
- [19] Cattaneo G, Meckel S. Review of selective brain hypothermia in acute ischemic stroke therapy using an intracarotid, closed-loop cooling catheter. *Brain Circ*, 2019, 5(4): 211-217.
- [20] Ma D, An Q, Zhang Z, et al. Head mild hypothermia exerts a neuroprotective role in ischemia-reperfusion injury by maintaining glial glutamate transporter 1. *Ther Hypothermia Temp Manag*, 2021, 11(3): 155-163.
- [21] Lee JH, Wei L, Gu X, et al. Improved therapeutic benefits by combining physical cooling with pharmacological hypothermia after severe stroke in rats. *Stroke*, 2016, 47(7): 1907-1913.

(收稿日期:2021-05-29)