

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.17.050

褪黑素对脑梗死的保护作用及研究进展*

唐 蛟¹ 沈达勇² 周 苏² 叶新春^{1,2} 崔桂云^{1,2Δ}

(1 徐州医科大学 徐州 江苏 221000 ;2 徐州医科大学附属医院神经内科 徐州 江苏 221000)

摘要: 脑梗死是危及生命的一种脑血管病,具有高致残率和高致死率的特点。氧化应激、炎症、钙超载和凋亡在脑梗死的二次损伤中发挥重要作用。近年来,随着医疗技术和理论的发展,人类对脑梗死的二次损伤引起的损害有了更多的认识。褪黑素主要是由是大脑松果体腺合成分泌的一种吲哚类神经内分泌激素,具有抗氧化应激、抗炎、减轻钙离子超载和抗凋亡作用。近年来,越来越多的证据表明褪黑素可以提高脑梗死后预后,其对脑梗死后的保护作用日益引起越来越多人的关注。本文就褪黑素的生理功能及其对脑梗死后保护作用及其可能机制进行综述。

关键词: 褪黑素;脑梗死;氧化应激;钙超载;凋亡

中图分类号: R743 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2017)17-3397-04

Research Process of Melatonin on the Protective Effects of Cerebral Infarction*

TANG Jiao¹, SHEN Da-yong², ZHOU Su², YE Xin-chun^{1,2}, CUI Gui-yun^{1,2Δ}

(1 The Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu, 221000, China;

2 Department of Neurology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu, 221000, China)

ABSTRACT: Cerebral infarction is a life-threatening disease associated with significant morbidity and mortality in cerebrovascular diseases. Oxidative stress, inflammation, calcium overload and apoptosis play key roles in the second injury of cerebral infarction. However, increased interest in stroke over the past decade has improved our knowledge of the underlying mechanisms of the brain injury in cerebral infarction. Melatonin (N-acetyl-5-methoxytryptamine), an indoleamine that is endogenously produced in the pineal gland, has the characteristic of antioxidant, anti-inflammatory, anti-apoptotic effects and reducing the overload of calcium in cells that can protect against damage following cerebral ischemic. Increasing evidence has showed that melatonin treatment improves the clinical outcome of cerebral infarction and it also attracts more and more researchers' attention in recent years. This review will further discuss the physiological functions of melatonin and provide evidence regarding the advantages of melatonin treatment for cerebral infarction.

Key words: Melatonin; Cerebral infarction; ROS; Calcium overload; Apoptosis

Chinese Library Classification(CLC): R743 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)17-3397-04

前言

脑血管疾病是危害人类生命与健康的常见病和多发病,随着当今社会的老龄化,脑梗死的发病率有逐年升高的趋势,约占全部脑血管病的 85%^[1],具有高患病率、高致残率、高病死率、高复发率特点,给社会经济效益和社会效益带来沉重负担^[2,3],因此,对于缺血性脑血管病治疗的研究具有重要意义。近年来越来越多的证据表明证明脑缺血后损伤与氧化应激^[4]、炎症反应^[5]、钙离子超载^[6]和凋亡^[7]等有密切关系,并且这些损伤因素可以相互协同,相互促进加快疾病进展。因而以这些环节作为治疗靶点,寻找理想的神经保护剂就成为临床和科研的研究热点。1958 年,科研人员首先从牛的松果体中分离得到一种物质。并发现该物质能使两栖类动物的皮肤变白,因此被命名为褪黑激素,是生物体内最强的抗氧化物质。自此,科研人员就对

这种物质了极大兴趣。近年来,随着科技进步和医疗的发展,褪黑素在实验室和临床领域均有了许多突破性的研究进展,尤其对于褪黑素的理化特性的认识和在抗氧化应激、抗炎、减轻钙超载和抗凋亡方面的认知有了极大提高。

在脑梗死的二次损伤中,大量活性氧的积累、各种炎症因子的产生、钙离子超载和神经细胞凋亡均对脑组织产生损伤,促进脑梗死的进一步发展。褪黑素在对抗以上方面具有独到的优势,本文将围绕褪黑素的生理特性、对抗氧化应激、抗炎、减轻钙离子超载和抗凋亡方面进行综述,讨论褪黑素对于梗死后脑保护作用。

1 褪黑素生理研究

褪黑素在动物和植物体内均可产生,它是 L-色氨酸的代谢产物,化学名为 N-乙酰-5-甲氧基-色胺,在哺乳动物体内

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81571210,81571155)

作者简介:唐蛟(1990-),硕士研究生,主要研究方向:脑卒中的药物研究

Δ 通讯作者:崔桂云(1965-),教授,硕士生导师,E-mail: guiyuncui@sina.cn

(收稿日期:2016-06-10 接受日期:2016-06-30)

由松果体、视网膜和胃肠道等器官分泌产生^[89]。虽然褪黑素主要由松果腺细胞合成,但并不储存在松果体,其分泌主要受光-暗转换的控制^[90],分泌呈现日低夜高的昼夜节律。褪黑素合成后不久便进入血管系统,与血浆蛋白疏松结合,它的血浆半衰期极短,代谢产物 6- 羟基硫酸褪黑素主要经肾脏从尿道排除,部分经胃肠道随粪便排出。褪黑素对于改善情绪、睡眠、生殖能力和免疫调节具有重要意义^[11,12]。此外,随着哺乳动物年龄增大,器官老化,松果体钙化程度也明显增加,导致褪黑素合成分泌降低。近年来研究相继证实了褪黑素在肺、肝脏、肾脏、肠道、膀胱、骨骼肌和脊髓的缺血再灌注损伤中均具有重要保护作用^[13-19]。此外作为脂溶性物质,褪黑素可轻易通过血脑屏障和任何亚细胞结构。褪黑素可以通过其受体发挥生理调节作用。褪黑素受体有 2 种亚型,分为 MT1 和 MT2 型,这两种受体均属于 G 蛋白耦联受体,在中枢神经系统广泛分布。在梗死动物模型中,有研究证实,褪黑素主要通过 MT2 在脑梗死动物模型中发挥神经保护作用^[20];同时也有研究证实褪黑素可以通过激活海马区 MT2 减少脑梗死带来的损害^[21]。然而,最近有报道认为褪黑素在脑梗死小鼠的动物模型中的作用是与受体 MT1 和 MT2 无明显关系^[22]。

2 褪黑素水平和脑梗死的关系

实验室和临床研究均表明在脑梗死的动物和人体内均存在褪黑素水平的改变。有报道指出在缺血性脑血管病早期,患者血液中褪黑素浓度明显低于健康对照组,并且尿中褪黑素代谢产物 6- 羟基硫酸褪黑素,也明显低于健康对照组,这项实验结果提示血液中褪黑素含量降低,可能是由于褪黑素合成释放减少所致,与代谢加速无关。研究发现急性脑梗死患者褪黑素受体表达呈明显下降,导致褪黑素与相应受体结合发挥作用进一步降低,间接促进脑梗死的发生、发展。褪黑素可以减轻脑梗死动物的血脑屏障破坏,减轻脑水肿的形成^[23,24],从而发挥其脑保护作用。有报道松果体切除后的老鼠在局灶性脑缺血后较未切除松果体的老鼠表现出梗死体积明显增加^[25],但是如果预先给予适量的外源性褪黑素可以明显降低松果体切除组和未切除组老鼠的脑梗死组织的体积^[26]。这项结果表明褪黑素可以降低脑梗死体积,为受损的脑组织提供保护作用。对于脑梗死的实验动物模型中,通过给予梗死的动物模型行松果体移植,可以观察到老鼠梗死体积减小^[27],进一步证实褪黑素对降低脑梗死面积,改善脑梗预后具有重要意义。

3 褪黑素改善脑梗死预后的可能机制

近年来关于脑梗死的发病机制已经引起广泛的关注,其在氧化应激、炎症反应、钙离子超载、细胞凋亡等方面取得了重大进步。研究表明褪黑素在抗氧化应激、抗炎、减轻钙离子超载、抗凋亡方面具有独到的优势,可以通过多种途径保护脑组织,减轻脑梗死带来的损伤。

3.1 抗氧化应激作用

氧化应激是指机体自由基的产生与清除失衡,氧自由基大量积累造成机体氧化损伤是脑卒中后继发性损伤的重要机制之一。自由基对细胞的损伤包括多方面,从细胞膜的破坏到 DNA 的损伤,甚至细胞的凋亡,这些环节中均已证实富含自由

基的参与。脑组织中富含脂质,因此,脑对氧自由基损伤尤为敏感,自由基引起损伤的主要机制是通过引发脂质过氧化反应,降解磷脂等作用,导致脑实质损伤。此外,自由基可通过改变血管的通透性,损伤血管内皮细胞,破坏血脑屏障^[28];SOD 超氧化物歧化酶,广泛分布在人体多种脏器中,是机体清除氧自由基的首要物质;作为机体内广泛存在的一种重要过氧化物分解酶,GSH-Px 是机体抗氧化能力重要指标;MDA 是脂质过氧化的终末代谢产物,具有细胞毒性。当细胞发生氧化应激反应(oxidative stress)时,可引起脂质氧化,其间接反映了机体氧化应激的水平。研究表明褪黑素不仅其自身,其在代谢产物 AFK 和 AFMK 也具有极强大的抗氧化作用^[29]。一方面,褪黑素可以直接清除自由基,发挥抗氧化作用,保护梗死的脑组织;另一方面,褪黑素可以通过增加超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性,降低丙二醛(MDA)含量间接发挥清除自由基,抗氧化损伤的作用,为受损脑组织提供保护用^[30]。

3.2 抗炎作用

越来越多证据表明脑梗死后相关炎症反应加重了脑缺血缺氧引起的神经功能损伤,并且炎症长期以来都是脑梗死后损伤相关机制的研究的热点。多项研究证据表明,脑梗死后的炎症反应对于脑梗死临床症状的恶化有密切关系^[31]。在神经系统的炎症反应中,小胶质细胞被激活,其对于炎症介质和炎症因子的释放具有重要意义。脑梗死发生后,多种细胞因子参与梗死后相关炎症反应过程,现已发现脑梗死后相关促炎症细胞因子包括 NO、MPO、COX-2、IL-18、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 等^[32,33]。实验证实,褪黑素可以通过降低脑梗死动物模型中 MPO、COX-2 的表达,来保护受损的脑组织^[34];通过降低脑梗死动物模型中炎症因子 IL-1 β 和 IL-18 和 NO 的分泌,从而启动一系列免疫和炎症反应,进而减轻脑水肿和脑梗死体积,对梗死的脑组织起到保护作用^[35]。尽管褪黑素在对抗炎症方面显著有效,但是褪黑素具体是通过哪些途径降低炎症反应还有待进一步研究。

3.3 减轻钙离子超载

中枢神经系统中钙离子主要储存在线粒体和肌浆网中,胞浆中游离钙浓度极低。近来研究表明,脑梗死时,Ca²⁺ 主要通过以下途径进入脑细胞:缺氧环境下,神经细胞内外存在 Na⁺/Ca²⁺ 交换异常;兴奋性氨基酸和 N- 甲基-D- 天门冬氨酸(NMDA)受体发生结合,引起脑细胞钙离子通道开放;过量的自由基生成致使生物膜损伤,膜通透性增加,储存 Ca²⁺ 大量释放入胞浆中,使钙分布发生紊乱。当细胞内 Ca²⁺ 浓度过高,超出脑细胞调节能力时,则发生钙超载^[36]。发生钙超载后,一方面从胞浆内转向线粒体的钙离子可以干扰线粒体的呼吸作用,使氧化磷酸化产生的能量减少,同时大量 Ca²⁺ 也可引起线粒体膜损伤、功能失调,最终引起脑细胞死亡或凋亡^[37];另一方面,钙超载可激活多种钙依赖性的酶促蛋白,促进细胞骨架降解和自由基生成,引起细胞死亡或凋亡^[38,39]。此外,神经细胞内 Ca²⁺ 超载能够激活 NO 合酶,产生大量 NO,使脑细胞受损。研究表明褪黑素可以防止脑梗死损伤诱导钙结合蛋白的下降,降低脑梗死引起的小白蛋白和海马钙结合蛋白减少,从而降低损伤细胞内钙含量,减少神经细胞死亡,保护受损的脑组织^[40]。另外,褪黑素可以减少钙超载导致的 NO 生成,从而保护脑细胞。Ca²⁺ 超载是脑细胞缺氧损伤的关键环节,褪黑素可以通过对抗上述途径来对

抗细胞外 Ca^{2+} 内流,减轻 Ca^{2+} 超载,从而降低钙超载引起脑水肿,改善其预后^[41]。

3.4 抗细胞细胞凋亡

脑缺血使大脑组织形成梗塞灶,灶内脑细胞处于不可逆转的坏死状态。目前大多学者认为在脑梗死病灶中心区,由于脑细胞极缺氧,致使其处于不可逆的坏死状态;而在缺血中心区周围的神经细胞处于能量衰竭的休眠状态,其后续的转归形式以凋亡为主^[42],但是若在合适的时间内,恢复血氧供应,缺血中心区周围的休眠与半休眠脑细胞就会被重新激活,逐渐恢复正常的功能。因而针对挽救脑梗死组织周边的缺血半暗带以及抗凋亡的研究具有重要意义,目前褪黑素的抗凋亡的功能已经引起广泛关注。线粒体膜电位是维护细胞生物能量稳态的关键因素,膜电位过分降低常导致线粒体通透性转换孔(mPTP)开放,并出现细胞凋亡。已有研究显示褪黑素可以通过抑制mPTP开放,从而减少细胞色素C和Caspase-3的表达并减小梗死体积^[43]。褪黑素可通过影响线粒体凋亡途径,干预细胞凋亡过程,影响凋亡相关蛋白,从而抑制细胞凋亡的发生^[44]。此外,有报道指出,在脑缺血再灌注动物模型中,褪黑素可以通过增强SIRT1的表达来调控相关凋亡蛋白:增加抗凋亡蛋白Bcl-2并且减少促凋亡蛋白Bax在缺血损害的脑组织中的表达,从而减少脑细胞凋亡^[45]。

4 展望

褪黑素作为一种极强的抗氧化剂,其在中枢神经系统的保护作用引起人们广泛重视。氧化应激、炎症反应、 Ca^{2+} 超载、细胞凋亡在脑梗死疾病的发展过程中具有重要作用,它们相互促进,协同作用,共同促进疾病的发展。褪黑素在对抗氧化应激、炎症反应、 Ca^{2+} 超载、细胞凋亡方面,展示出巨大的潜力。目前关于褪黑素对于脑缺血研究大多来自实验室,今后仍需开展大量的临床和实验室研究,但是随着科技进步和医疗发展,人类对脑梗死的病理生理机制和褪黑素对脑缺血保护作用认识的不断加深,褪黑素将来有望为脑梗死疾病的防治提供实际应用价值。

参考文献(References)

- [1] Golledge J, Clancy P, Maguire J, et al. Plasma angiopoietin-1 is lower after ischemic stroke and associated with major disability but not stroke incidence[J]. *Stroke*, 2014, 45(4): 1064-1068
- [2] Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2016 Update: A Report From the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2016, 133(4): e38-360
- [3] Prabhakaran S, Ruff I, Bernstein RA. Acute stroke intervention: a systematic review[J]. *JAMA*, 2015, 313(14): 1451-1462
- [4] Liu J, Yeung PK, Cheng L, et al. Epac2-deficiency leads to more severe retinal swelling, glial reactivity and oxidative stress in transient middle cerebral artery occlusion induced ischemic retinopathy[J]. *Sci China Life Sci*, 2015, 58(6): 521-530
- [5] Saad MA, Abdelsalam RM, Kenawy SA, et al. Ischemic preconditioning and postconditioning alleviates hippocampal tissue damage through abrogation of apoptosis modulated by oxidative stress and inflammation during transient global cerebral ischemia-reperfusion in rats[J]. *Chem Biol Interact*, 2015, 232: 21-29
- [6] Tauskela JS, Morley P. On the role of Ca^{2+} in cerebral ischemic preconditioning[J]. *Cell Calcium*, 2004, 36(3-4): 313-322
- [7] Sun Y, Xu Y, Geng L. Caspase-3 inhibitor prevents the apoptosis of brain tissue in rats with acute cerebral infarction [J]. *Exp Ther Med*, 2015, 10(1): 133-138
- [8] Souza-Teodoro LH, Dargenio-Garcia L, Petrilli-Lapa CL, et al. Adenosine triphosphate inhibits melatonin synthesis in the rat pineal gland [J]. *J Pineal Res*, 2016, 60(2): 242-249
- [9] Brzozowski T, Jaworek J. Basic and clinical aspects of melatonin in the gastrointestinal tract. New advancements and future perspectives [J]. *Curr Pharm Des*, 2014, 20(30): 4785-4787
- [10] Farhadi N, Gharghani M, Farhadi Z. Effects of long-term light, darkness and oral administration of melatonin on serum levels of melatonin[J]. *Biomed J*, 2016, 39(1): 81-84
- [11] Kurdi MS, Muthukalai SP. The Efficacy of Oral Melatonin in Improving Sleep in Cancer Patients with Insomnia: A Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Study[J]. *Indian J Palliat Care*, 2016, 22(3): 295-300
- [12] Yadav SK, Halder C. Experimentally induced stress, oxidative load and changes in immunity in a tropical wild bird, *Pardaliparus asiatica*: involvement of melatonin and glucocorticoid receptors [J]. *Zoology (Jena)*, 2014, 117(4): 261-268
- [13] Yip HK, Chang YC, Wallace CG, et al. Melatonin treatment improves adipose-derived mesenchymal stem cell therapy for acute lung ischemia-reperfusion injury[J]. *J Pineal Res*, 2013, 54(2): 207-221
- [14] Chen HH, Chen YT, Yang CC, et al. Melatonin pretreatment enhances the therapeutic effects of exogenous mitochondria against hepatic ischemia-reperfusion injury in rats through suppression of mitochondrial permeability transition[J]. *J Pineal Res*, 2016, 61(1): 52-68
- [15] Yip HK, Yang CC, Chen KH, et al. Combined melatonin and exendin-4 therapy preserves renal ultrastructural integrity after ischemia-reperfusion injury in the male rat [J]. *J Pineal Res*, 2015, 59(4): 434-447
- [16] Ozacmak VH, Sayan H, Arslan SO, et al. Protective effect of melatonin on contractile activity and oxidative injury induced by ischemia and reperfusion of rat ileum[J]. *Life Sci*, 2005, 76(14): 1575-1588
- [17] Griebing TL. Re: Effect of melatonin on chronic bladder-ischaemia-associated changes in rat bladder function [J]. *J Urol*, 2014, 192(2): 615-616
- [18] Ozkok E, Yorulmaz H, Ates G, et al. Amelioration of energy metabolism by melatonin in skeletal muscle of rats with LPS induced endotoxemia[J]. *Physiol Res*, 2016, 65(5): 833-842
- [19] Aydemir S, Dogan D, Kocak A, et al. The effect of melatonin on spinal cord after ischemia in rats [J]. *Spinal Cord*, 2016, 54(5): 360-363
- [20] Chern CM, Liao JF, Wang YH, et al. Melatonin ameliorates neural function by promoting endogenous neurogenesis through the MT2 melatonin receptor in ischemic-stroke mice [J]. *Free Radic Biol Med*, 2012, 52(9): 1634-1647
- [21] Lee CH, Yoo KY, Choi JH, et al. Melatonin's protective action against ischemic neuronal damage is associated with up-regulation of the MT2 melatonin receptor[J]. *J Neurosci Res*, 2010, 88(12): 2630-2640
- [22] Kilic U, Yilmaz B, Ugur M, et al. Evidence that membrane-bound G

- protein-coupled melatonin receptors MT1 and MT2 are not involved in the neuroprotective effects of melatonin in focal cerebral ischemia [J]. *J Pineal Res*, 2012, 52(2): 228-235
- [23] Chen TY, Lee MY, Chen HY, et al. Melatonin attenuates the postischemic increase in blood-brain barrier permeability and decreases hemorrhagic transformation of tissue-plasminogen activator therapy following ischemic stroke in mice [J]. *J Pineal Res*, 2006, 40 (3): 242-250
- [24] Kondoh T, Uneyama H, Nishino H, et al. Melatonin reduces cerebral edema formation caused by transient forebrain ischemia in rats [J]. *Life Sci*, 2002, 72(4-5): 583-590
- [25] Kilic E, Ozdemir YG, Bolay H, et al. Pinealectomy aggravates and melatonin administration attenuates brain damage in focal ischemia [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1999, 19(5): 511-516
- [26] Pei Z, Pang SF, Cheung RT. Administration of melatonin after onset of ischemia reduces the volume of cerebral infarction in a rat middle cerebral artery occlusion stroke model [J]. *Stroke*, 2003, 34 (3): 770-775
- [27] Borlongan CV, Sumaya I, Moss D, et al. Melatonin-secreting pineal gland: a novel tissue source for neural transplantation therapy in stroke [J]. *Cell Transplant*, 2003, 12(3): 225-234
- [28] Pradeep H, Diya JB, Shashikumar S, et al. Oxidative stress--assassin behind the ischemic stroke [J]. *Folia Neuropathol*, 2012, 50 (3): 219-230
- [29] Hardeland R. Antioxidative protection by melatonin: multiplicity of mechanisms from radical detoxification to radical avoidance [J]. *Endocrine*, 2005, 27(2): 119-130
- [30] Tan DX, Reiter RJ, Manchester LC, et al. Chemical and physical properties and potential mechanisms: melatonin as a broad spectrum antioxidant and free radical scavenger [J]. *Curr Top Med Chem*, 2002, 2(2): 181-197
- [31] Wu MH, Huang CC, Chio CC, et al. Inhibition of Peripheral TNF- α and Downregulation of Microglial Activation by Alpha-Lipoic Acid and Etanercept Protect Rat Brain Against Ischemic Stroke [J]. *Mol Neurobiol*, 2016, 53(7): 4961-4971
- [32] Siniscalchi A, Gallelli L, Malferrari G, et al. Cerebral stroke injury: the role of cytokines and brain inflammation [J]. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 2014, 25(2): 131-137
- [33] Paredes SD, Rancan L, Kireev R, et al. Melatonin Counteracts at a Transcriptional Level the Inflammatory and Apoptotic Response Secondary to Ischemic Brain Injury Induced by Middle Cerebral Artery Blockade in Aging Rats [J]. *Biores Open Access*, 2015, 4(1): 407-416
- [34] Pei Z, Cheung RT. Pretreatment with melatonin exerts anti-inflammatory effects against ischemia/reperfusion injury in a rat middle cerebral artery occlusion stroke model [J]. *J Pineal Res*, 2004, 37(2): 85-91
- [35] Famakin BM. The Immune Response to Acute Focal Cerebral Ischemia and Associated Post-stroke Immunodepression: A Focused Review [J]. *Aging Dis*, 2014, 5(5): 307-326
- [36] O'Bryant Z, Vann KT, Xiong ZG. Translational strategies for neuroprotection in ischemic stroke--focusing on acid-sensing ion channel 1a [J]. *Transl Stroke Res*, 2014, 5(1): 59-68
- [37] Brittain JM, Pan R, You H, et al. Disruption of NMDAR-CRMP-2 signaling protects against focal cerebral ischemic damage in the rat middle cerebral artery occlusion model [J]. *Channels (Austin)*, 2012, 6 (1): 52-59
- [38] Sun Z, Han J, Zhao W, et al. TRPV1 activation exacerbates hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis in H9C2 cells via calcium overload and mitochondrial dysfunction [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15 (10): 18362-18380
- [39] Pradeep H, Diya JB, Shashikumar S, et al. Oxidative stress--assassin behind the ischemic stroke [J]. *Folia Neuropathol*, 2012, 50 (3): 219-230
- [40] Koh PO. Melatonin regulates the calcium-buffering proteins, parvalbumin and hippocalcin, in ischemic brain injury [J]. *J Pineal Res*, 2012, 53(4): 358-365
- [41] Cuzzocrea S, Reiter RJ. Pharmacological action of melatonin in shock, inflammation and ischemia/reperfusion injury [J]. *Eur J Pharmacol*, 2001, 426(1-2): 1-10
- [42] Liu B, Zhang YH, Jiang Y, et al. Gadd45b is a novel mediator of neuronal apoptosis in ischemic stroke [J]. *Int J Biol Sci*, 2015, 11 (3): 353-360
- [43] Lan R, Zhang Y, Xiang J, et al. Xiao-Xu-Ming decoction preserves mitochondrial integrity and reduces apoptosis after focal cerebral ischemia and reperfusion via the mitochondrial p53 pathway [J]. *J Ethnopharmacol*, 2014, 151(1): 307-316
- [44] Paredes SD, Rancan L, Kireev R, et al. Melatonin Counteracts at a Transcriptional Level the Inflammatory and Apoptotic Response Secondary to Ischemic Brain Injury Induced by Middle Cerebral Artery Blockade in Aging Rats [J]. *Biores Open Access*, 2015, 4(1): 407-416
- [45] Yang Y, Jiang S, Dong Y, et al. Melatonin prevents cell death and mitochondrial dysfunction via a SIRT1-dependent mechanism during ischemic-stroke in mice [J]. *J Pineal Res*, 2015, 58(1): 61-70