

银杏二萜内酯葡胺注射液对脑缺血再灌注大鼠行为学和脑脊液成分的影响

章晨峰, 曹亮, 邓奕, 李娜, 王振中, 萧伟*

(江苏康缘药业股份有限公司, 中药制药过程新技术国家重点实验室, 江苏 连云港 222001)

[摘要] 目的:研究银杏二萜内酯葡胺注射液及其各主要成分对脑缺血再灌注大鼠的脑保护作用和对脑脊液中氨基酸类神经递质的影响。方法:SD 大鼠随机分为 6 组,包括正常组,模型组,银杏二萜内酯葡胺注射液组(G,20 mg·kg⁻¹),银杏内酯 B 组(GB,20 mg·kg⁻¹),银杏内酯 A 组(GA,20 mg·kg⁻¹)和银杏内酯 K 组(GK,20 mg·kg⁻¹)。模型组和给药组分别尾静脉注射给予生理盐水或不同药物 1 次后,采用线栓法制备大鼠局灶性脑缺血再灌注模型,将大鼠脑缺血再灌注后进行行为学评分并测定脑脊液中 Ca²⁺,谷氨酸(Glu),天冬氨酸(Asp)以及磷酸肌酸激酶(CK)和乳酸脱氢酶(LDH)含量的变化。结果:与正常组比较,模型组大鼠神经缺损症状严重,脑脊液中 Ca²⁺降低,Glu 和 Asp 的含量显著升高,CK 和 LDH 含量升高。与模型组比较,G 及其各主要成分对脑缺血引起的行为变化有显著改善作用(P<0.05,P<0.01),能显著提高模型大鼠脑脊液 Ca²⁺含量,并降低神经递质 Glu 和 Asp 的含量(P<0.05,P<0.01);G 和 GA 能降低大鼠脑脊液中 CK 含量(P<0.05),GB 能显著降低大鼠脑脊液中 LDH 含量(P<0.05)。结论:G 及其各成分能明显改善模型动物的神经功能缺损,减少细胞外游离钙内流,降低脑脊液中兴奋性氨基酸含量,改善脑脊液生化指标的水平,对脑缺血有一定的保护作用,提示银杏二萜内酯是有效的脑保护剂。

[关键词] 银杏二萜内酯; 脑缺血再灌注; 谷氨酸; 天冬氨酸; 钙; 磷酸肌酸激酶; 乳酸脱氢酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)20-0118-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.2015200118

Effect of Ginkgo Terpene Lactones Meglumine Injection on Behavior and Cerebrospinal Fluid in Rats with Cerebral Ischemia/Reperfusion ZHANG Chen-feng, CAO Liang, DENG Yi, LI Na, WANG Zhen-zhong, XIAO Wei* (Jiangsu Kanion Pharmaceutical Co. Ltd., State Key Laboratory of New-tech for Chinese Medicine Pharmaceutical Process, Lianyungang 222001, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the neuroprotective effects of Ginkgo terpene lactones meglumine injection (GTLMI) and its active compounds on behavior and cerebrospinal fluid in rats with cerebral ischemia/reperfusion injury. **Method:** The rats were divided into six groups which included control group, model group, GTLMI group (G, 20 mg·kg⁻¹), ginkgolide B group (GB, 20 mg·kg⁻¹), ginkgolide A group (GA, 20 mg·kg⁻¹) and ginkgolide K group (GK, 20 mg·kg⁻¹). After treatment with corresponding drugs, rats in each group except control group were subjected to transient focal cerebral ischemia produced by middle cerebral artery occlusion. Neurological deficit scores and biomarkers [Ca²⁺, glutamate (Glu), aspartic acid (Asp), lactate dehydrogenase (LDH) and creatine phosphorinase (CK)] in cerebrospinal fluid were detected after ischemia/reperfusion. **Result:** Compared with control group, rats in model group showed severe brain damage with significant changes in cerebrospinal fluid, including decreased content of Ca²⁺ and increased levels of Glu, Asp, LDH, CK. Diterpene ginkgolides (G, GB, GA and GK) significantly improved the animal behavior caused by cerebral ischemia after 24 h (P<0.05, P<0.01). Diterpene ginkgolides also markedly increased the content of

[收稿日期] 20150522(010)

[基金项目] 国家“重大新药创制”科技重大专项(2013ZX09402203)

[第一作者] 章晨峰,博士,高级工程师,从事中药新药研究与开发,Tel:0518-81152367,E-mail:zhangchenf@163.com

[通讯作者] *萧伟,博士,研究员级高级工程师,从事中药新药研究与开发,Tel:0518-81152337/13905136437,E-mail:wzhzh-nj@163.net

Ca²⁺ in cerebrospinal fluid. Meanwhile, they decreased the content of neurotransmitter Glu and Asp when compared with model group ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Additionally, the content of CK in cerebrospinal fluid significantly decreased in GTLMI and ginkgolide A group compared with that in model group ($P < 0.05$), and the content of LDH in cerebrospinal fluid significantly decreased in ginkgolide B group compared with that in model group ($P < 0.05$). **Conclusion:** GTLMI and its active components could obviously improve neurologic impairment, decrease free Ca²⁺ inflow into the cells and the content of excitatory amino acid in cerebrospinal fluid, and improve the level of biochemical index of cerebrospinal fluid, suggesting that diterpene ginkgolides are effective agents for cerebral protection.

[Key words] diterpene ginkgolides; cerebral ischemia/reperfusion; glutamate; aspartic acid; Ca²⁺; creatine hosphokinase; lactate dehydrogenase

银杏内酯是从中药银杏叶中提取的由萜类化合物组成的天然产物,主要由倍半萜内酯和二萜内酯组成,其中二萜内酯类已发现有银杏内酯 A, B, C, J, K, L, M, N, P, Q 等 10 余个化合物^[1-3],是银杏叶中一类重要的成分,被认为是目前自然界中存在的活性较好的血小板活化因子(platelet activating factor, PAF)拮抗剂,能有效预防及治疗心脑血管疾病,具有良好的药用前景。本文中银杏二萜内酯葡胺注射液由江苏康缘药业股份有限公司生产,主要由银杏内酯 A, B, K 等二萜内酯组成,前期基础研究显示本品有较好的治疗脑缺血的药理作用^[4]。研究表明在脑缺血病理过程中,脑内的微环境特别是脑脊液中兴奋性氨基酸的变化与脑损伤程度密切相关^[5]。Wang 等实验证明脑缺血再灌注模型大鼠的脑脊液中兴奋性氨基酸显著升高,下调脑脊液中兴奋性氨基酸的含量可以起到脑保护作用^[6]。为了阐明银杏二萜内酯葡胺注射液的脑保护作用是否与调控脑脊液中相关成分有关,本文观察了银杏二萜内酯葡胺注射液及其各主要成分对大鼠脑缺血再灌注大鼠的脑保护作用和对脑脊液中氨基酸类神经递质含量的影响,并初步探讨其作用机制。

1 材料

1.1 药品与试剂 银杏二萜内酯葡胺注射液(GTLMI, 江苏康缘药业股份有限公司,批号 130103),银杏内酯 A, B, K(GA, GK, GK 自制,纯度大于 95%),按照银杏二萜内酯葡胺注射液制备工艺制备成注射液。乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒(批号 20140515),磷酸肌酸激酶(CK)试剂盒(批号 20140524),钙(Ca²⁺)试剂盒(批号 20140612),均由南京建成生物工程研究所提供。

1.2 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠,体重 250 ~ 350 g,浙江省实验动物中心提供,合格证号 SCXK(浙)2008-0033。

1.3 仪器 MP12001 型电子天平(上海市恒平科学仪器有限公司),AR2140 型电子分析天平[奥赛斯国际贸易(上海)有限公司],DHG-9053A 型电热恒温干燥箱(上海医用恒温设备厂),AU600 型全自动生化分析仪(日本 Olympus 公司),Agilent1100 型高效液相色谱仪(美国安捷伦科技有限公司)。

1.4 尼龙栓子的制备 参照文献[7]方法,将一长 50 mm,直径 0.24 mm 的尼龙线的一端加热熔成光滑的球形,并在距球端 18.0 mm 处标记,乙醇擦拭后备用。

2 方法

2.1 分组及给药 大鼠随机分为 6 组,即正常组、模型组、银杏二萜内酯葡胺注射液组(G, 20 mg·kg⁻¹)、银杏内酯 A 组(GA, 20 mg·kg⁻¹)、银杏内酯 B 组(GB, 20 mg·kg⁻¹)和银杏内酯 K 组(GK, 20 mg·kg⁻¹),每组 10 只。各组大鼠均于手术前 30 min 尾静脉给药 1 次,正常组和模型组尾静脉注射等容积生理盐水(10 mL·kg⁻¹)。

2.2 制备缺血再灌注模型^[8] 采用颈内动脉栓线法制备缺血再灌注模型,大鼠静脉给药 30 min 后,以 10% 水合氯醛麻醉(350 mg·kg⁻¹, ip),分离出颈总动脉(CCA),继续向下分离并结扎颈外动脉(ECA)及颈外动脉各分支,分离出颈内动脉(ICA)和翼腭动脉;ECA 近心端备线,用动脉夹夹闭 ICA 和 CCA,将一尼龙栓子插入 ECA 并进入 CCA,轻扎备线,剪断 ECA,松开 ICA 的动脉夹,牵引 ECA,使其和 ICA 约成一直线,轻轻回抽尼龙线,使其顺入 ICA,继续向下推进,直至有轻微阻力。此时可见 ICA 伸展,尼龙线插入深度约为 18 mm,松开 CCA 动脉夹,扎紧备线,外留 1 cm 长线头,缝合皮肤,回笼饲养。

缺血 3 h 后进行再灌注,再灌注时轻拉尼龙线,使尼龙线拔出颅外,血流再通,修剪尼龙线,缝合皮

肤,回笼自然喂养。以上过程均在室温恒定(24 ~ 25 ℃)情况下进行,以利于评价脑缺血情况。造模后未给药,进行后续行为学评分和生化指标检测。

2.3 大鼠实验性脑缺血行为缺陷评分^[9] 再灌注 4 h 和 24 h 后,对术后动物的行为缺陷进行分级评分,分级标准见表 1。分数越高,表明动物的行为缺陷越严重。

表 1 大鼠行为缺陷评分标准

Table 1 Neuro behavior defect scoring criteria of rats

动物症状	等级	评分
提尾悬空时,动物的两前肢均伸向地板方向且无其他行为缺陷	0 级	0
提尾悬空时,动物的手术对侧前肢表现为腕肘屈曲、肩内旋、肘外展、紧贴胸壁	1 级	1
将动物置于光滑平面上,推手术侧肩向对侧移动时阻力降低	2 级	2
动物自由行走时,向手术对侧环转或转圈	3 级	3
动物不能自发行走,意识昏迷	4 级	4

2.4 生化指标分析 再灌注 24 h 后,大鼠以 10% 水合氯醛麻醉(350 mg·kg⁻¹, ip),剪开背面颈部皮肤,钝性分离颈部肌肉,暴露枕骨大孔。将大鼠头向腹面弯曲,用 1 mL 一次性注射器轻轻刺穿脑膜,抽取脑脊液约 100 μL。

2.4.1 脑脊液氨基酸类神经递质 Glu 和 Asp 测定

脑脊液 1 000 r·min⁻¹离心 3 min,取上清液,经超滤杯过滤离心(8 000 r·min⁻¹,离心 5 min)后,待用。取过滤后的脑脊液样品 10 μL,行柱前衍生反应,采用 HPLC 分析。

2.4.2 脑脊液中 Ca²⁺, CK, LDH 测定 各项生化指标严格按照各试剂盒操作要求进行测定。

2.5 统计方法 实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 13.0 进行数据处理分析。组间比较采用 *t* 检验,多组样本比较采用单因素方差分析。*P* < 0.05 为差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 对脑缺血再灌注后大鼠行为学评分的影响 再灌注 4, 24 h 时,除正常组外,其余各组试验动物均出现了不同程度的神经功能障碍。4 h 时,各组和模型组相比,无明显差异。在 24 h 后,银杏二萜内酯葡胺注射液(G),银杏内酯 A (GA),银杏内酯 B(GB),银杏内酯 K (GK) 各组动物的行为缺陷评分显著低于模型组 (*P* < 0.05, *P* < 0.01),表明其对脑缺血引起的行为缺陷具有明显改善作用。见表 2。

表 2 银杏二萜内酯葡胺注射液及其各主要成分对脑缺血再灌注大鼠行为缺陷评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 2 Effects of Ginkgo terpene lactones meglumine injection and its active compounds on neurological behavior defect scores in rats after cerebral ischemia reperfusion ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	4 h	24 h
正常	-	0	0
模型	-	2.5 ± 0.7 ²⁾	2.8 ± 0.4 ²⁾
G	20	1.8 ± 0.8	1.7 ± 0.5 ⁴⁾
GB	20	2.1 ± 0.7	2.2 ± 0.6 ³⁾
GK	20	2.0 ± 0.8	2.2 ± 0.6 ³⁾
GA	20	2.1 ± 0.7	2.1 ± 0.9 ³⁾

注:与正常组比较¹⁾ *P* < 0.05, ²⁾ *P* < 0.01;与模型组比较³⁾ *P* < 0.05, ⁴⁾ *P* < 0.01。

3.2 对脑缺血再灌注后大鼠脑脊液指标的影响 模型组大鼠脑脊液 Ca²⁺ 含量显著低于正常组, Glu, Asp, CK 活性显著高于正常组 (*P* < 0.01)。各给药组均可以显著提高模型大鼠脑脊液 Ca²⁺ 含量 (*P* < 0.01), 显著降低神经递质 Glu 和 Asp 含量 (*P* < 0.05, *P* < 0.01); 各给药组均可以降低模型大鼠脑脊液中 CK 含量, 其中 G 组和 GA 组与模型组相比, 有统计学差异 (*P* < 0.05), GB 可以降低模型大鼠脑脊液中 LDH 含量 (*P* < 0.05), 见表 3。

4 讨论

脑缺血再灌注损伤是一个复杂的病理生理过程,脑血流中断造成局部脑组织的缺血缺氧,引发细胞能量代谢紊乱。同时又存在着血流对脑组织的再灌注,这些会使脑组织细胞产生损伤级联反应,涉及能量代谢障碍、细胞酸中毒、兴奋性氨基酸释放增加、梗死区周围去极化、细胞内 Ca²⁺ 失稳态、自由基生成、凋亡基因激活、炎症反应及细胞凋亡^[10-11]。这些环节互相联系、重叠,形成恶性循环,最终导致细胞死亡。在脑缺血再灌注过程中,局部脑组织可借助神经元突触或者胞体与脑脊液产生信息交流,接收脑脊液的物理、化学刺激并释放一些神经活性物质至脑脊液中,因此脑脊液中相关成分变化能够及时反映出脑组织的损伤程度^[12]。本研究主要通过研究银杏二萜内酯葡胺注射液及其主要成分对脑脊液中相关成分(兴奋性氨基酸, Ca²⁺, CK 和 LDH)的影响,以探讨其脑保护作用的效果及可能的机制。

兴奋性氨基酸作为中枢神经系统主要的兴奋性神经递质,包括 Glu, Asp, 甘氨酸等。兴奋性氨基酸过度释放,激活相应受体产生兴奋性神经毒性,很大程度上影响了脑缺血再灌注损伤的预后^[13], 脑缺血

表 3 银杏二萜内酯葡胺注射液及其各主要成分对脑缺血再灌注大鼠脑脊液指标的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

Table 3 Effects of Ginkgo terpene lactones meglumine injection and its active compounds on biomarkers in cerebrospinal fluid of rats after cerebral ischemia reperfusion ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/mg·kg ⁻¹	Ca ²⁺ /mmol·L ⁻¹	Glu/μmol·L ⁻¹	Asp/μmol·L ⁻¹	CK/U·L ⁻¹	LDH/U·L ⁻¹
正常	-	1.1 ± 0.2	19.5 ± 4.8	1.3 ± 0.4	584.8 ± 648.8	105.6 ± 95.1
模型	-	0.8 ± 0.2 ¹⁾	30.1 ± 4.5 ¹⁾	2.9 ± 0.8 ¹⁾	3 623.8 ± 2 725.0 ¹⁾	186.6 ± 149.6
G	20	1.1 ± 0.2 ³⁾	23.5 ± 8.1 ²⁾	2.2 ± 0.9 ²⁾	1 168.5 ± 2 035.9 ²⁾	89.6 ± 51.6
GB	20	1.1 ± 0.1 ³⁾	20.7 ± 7.9 ³⁾	1.7 ± 1.0 ³⁾	2 037.1 ± 4 246.1	42.6 ± 63.8 ²⁾
GK	20	1.2 ± 0.2 ³⁾	23.8 ± 6.6 ²⁾	2.2 ± 0.8 ²⁾	1 609.8 ± 2 049.1	242.3 ± 272.1
GA	20	1.1 ± 0.1 ³⁾	22.9 ± 7.2 ²⁾	2.1 ± 0.7 ²⁾	1 042.3 ± 2 046.2 ²⁾	103.1 ± 112.5

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,³⁾ $P < 0.01$ 。

再灌注时,由于能量失衡,抑制 Na⁺-K⁺-ATP 泵活性,神经细胞去极化,引起以谷氨酸和天冬氨酸为主的兴奋性氨基酸释放增加,重摄取受阻^[14]。兴奋性氨基酸过量释放后积聚在病灶组织间隙中过度刺激突触后膜受体,介导急性渗透性损伤。与文献报道的一致^[15],本研究结果显示大鼠缺血再灌注 24 h 后,脑脊液中 Glu, Asp 含量显著增高;而银杏二萜内酯葡胺注射液及其主要成分作用之后,能有效降低脑脊液中兴奋性氨基酸的含量,表明银杏二萜内酯葡胺注射液及其各成分能修复脑内的因缺血引起的氨基酸动态平衡失调。

机体在正常情况下,神经元通过细胞膜对 Ca²⁺ 通透性的控制来维持钙离子的内外平衡。脑缺血再灌注中由于细胞膜通透性发生显著改变,导致细胞内 Ca²⁺ 超载,最终使得脑组织受到损伤。脑缺血时,线粒体功能发生障碍,导致 Ca²⁺-ATP, Ca²⁺-Mg-ATP 酶的衰竭,引发大量 Ca²⁺ 流入细胞内^[16];另一方面兴奋性氨基酸引起 N-甲基-D-天冬氨酸 (NMDA) 受体门控 Ca²⁺ 通道的过度兴奋,产生 Ca²⁺ 内流,造成细胞内 Ca²⁺ 超载^[17]。而细胞内钙浓度的异常升高同时又触发 Ca²⁺ 依赖性的谷氨酸持续释放^[18],过量释放的 Glu 再进一步引发导致神经细胞死亡的级联反应。本研究检测了缺血再灌注动物模型用药前后脑脊液中 Ca²⁺ 的变化,发现模型组中脑脊液 Ca²⁺ 浓度显著低于空白组,这可能是由 Ca²⁺ 向细胞内流造成的。银杏二萜内酯葡胺注射液及其主要成分能有效提高脑脊液中 Ca²⁺ 含量,表明银杏二萜内酯葡胺注射液及其主要成分可能通过改善离子转运,从而减少缺血再灌注引起的 Ca²⁺ 超载,发挥脑保护作用。

CK 在血及脑脊液中的含量变化可以反映脑细胞受损的严重程度^[19]。LDH 存在于脑细胞的胞浆

内,脑损害时由破损的脑细胞溢出,致 s-LDH 和 csf-LDH 含量升高^[20]。脑脊液中 LDH, CK 酶谱变化可反映脑血管病时脑组织损伤的程度,损伤愈严重,酶升高愈显著。银杏二萜内酯葡胺注射液及其主要成分可降低大鼠脑脊液中磷酸肌酸激酶和乳酸脱氢酶的含量。

本研究观察了脑缺血动物模型用药前后行为症状及脑脊液中部分指标的变化,发现银杏二萜内酯葡胺注射液及其各主要成分对脑缺血引起的行为变化有显著改善作用;提高模型大鼠脑脊液中 Ca²⁺ 含量,并降低神经递质 Glu 和 Asp 含量以及 CK, LDH 的含量。以上结果表明银杏二萜内酯葡胺注射液及其各主要成分可能是通过改善离子转运,减少急性脑缺血后细胞内钙超载和兴奋性氨基酸的释放,从而阻断一系列脑损伤瀑布效应,延迟神经元死亡,改善模型动物的神经功能缺损,发挥对脑缺血的保护作用。

[参考文献]

[1] Demirezer L Ö, Büyükkaya A, Uçaktürk E, et al. Adulteration determining of pharmaceutical forms of ginkgo biloba extracts from different international manufacturers [J]. Rec Nat Prod, 2014, 8 (4): 394-400.

[2] Mohanta T K, Tamboli Y, Zubaidha P. Phytochemical and medicinal importance of *Ginkgo biloba* L [J]. Nat Prod Res, 2014, 28(10): 746-752.

[3] Lv P, Fang W, Geng X, et al. Therapeutic neuroprotective effects of ginkgolide B on cortex and basal ganglia in a rat model of transient focal ischemia [J]. Eur J Pharm Sci, 2011, 44(3): 235-240.

[4] 訾英, 刘俊, 李哲. 银杏二萜内酯葡胺注射液对缺血性脑卒中患者血流动力学的影响 [J]. 中国组织工

- 程研究, 2014, 18(B12): 1-2.
- [5] Oja S S, Saransaari P. Ischemia induces release of endogenous amino acids from the cerebral cortex and cerebellum of developing and adult mice [J]. *J Amino Acids*, 2013, 2013: 839036.
- [6] Wang L, Huang Y, Wu J, et al. Effect of Buyang Huanwu decoction on amino acid content in cerebrospinal fluid of rats during ischemic/reperfusion injury [J]. *J Pharmaceut Biomed*, 2013, 86:143-150.
- [7] 梁辉, 范金英, 朱海波. 羟基红花黄色素 A 对局灶性脑缺血再灌注大鼠血管内皮生长因子表达的影响 [J]. *中华航海医学与高气压医学杂志*, 2009, 16(6): 363-365.
- [8] Zhang C, Zhang Z, Zhao Q, et al. (s)-zjm-289 preconditioning induces a late phase protection against nervous injury induced by transient cerebral ischemia and oxygen-glucose deprivation [J]. *Neurotox Res*, 2014, 26(1): 16-31.
- [9] Shah Z A, Namiranian K, Klaus J, et al. Use of an optimized transient occlusion of the middle cerebral artery protocol for the mouse stroke model [J]. *J Stroke Cerebrovasc*, 2006, 15(4): 133-138.
- [10] Chen H, Yoshioka H, Kim G S, et al. Oxidative stress in ischemic brain damage: mechanisms of cell death and potential molecular targets for neuroprotection [J]. *Antioxid Redox Sign*, 2011, 14(8): 1505-1517.
- [11] Sanderson T H, Bukowski M J, Calo L, et al. Abstract W P234: mitochondrial dynamics during cerebral ischemia/reperfusion injury: the role of opa1 in cytochrome c release [J]. *Stroke*, 2015, 46(Suppl 1): AWP234-AWP234.
- [12] 谢官莉, 陈立典, 陶静. 缺血性脑卒中再灌注后脑脊液相关成份变化的研究进展 [J]. *健康研究*, 2013, 33(1): 29-32.
- [13] Sienkiewicz Jarosz H, Galecka Wolska M, Bidziński A, et al. Predictive value of selected biochemical markers of brain damage for functional outcome in ischaemic stroke patients [J]. *Neurol Neurochir Pol*, 2009, 43(2): 126-133.
- [14] Grewer C, Gameiro A, Zhang Z, et al. Glutamate forward and reverse transport: from molecular mechanism to transporter-mediated release after ischemia [J]. *IUBMB Life*, 2008, 60(9): 609-619.
- [15] Zhao L D, Wang J H, Jin G R, et al. Neuroprotective effect of Buyang Huanwu decoction against focal cerebral ischemia/reperfusion injury in rats - time window and mechanism [J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 140(2): 339-344.
- [16] Bodalia A, Li H, Jackson M F. Loss of endoplasmic reticulum Ca^{2+} homeostasis: contribution to neuronal cell death during cerebral ischemia [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2013, 34(1): 49-59.
- [17] Ding S, Wang T, Cui W, et al. Photothrombosis ischemia stimulates a sustained astrocytic Ca^{2+} signaling *in vivo* [J]. *Glia*, 2009, 57(7): 767-776.
- [18] Nishizawa Y. Glutamate release and neuronal damage in ischemia [J]. *Life Sciences*, 2001, 69(4): 369-381.
- [19] Hebel R, Dubaniewicz-Wybieralska M, Dubaniewicz A. Overview of neurosarcoidosis: recent advances [J]. *J Neurol*, 2015, 262(2): 258-267.
- [20] Quaglia A, Karlsson M, Larsson M, et al. Total lactate dehydrogenase in cerebrospinal fluid for identification of bacterial meningitis [J]. *J Med Microbiol*, 2013, 62(Pt 11): 1772-1773.

[责任编辑 聂淑琴]