

微透析技术在脑内药物代谢动力学及脑缺血研究中的应用

吉恋英, 杨志宏, 孙晓波*

(中国医学科学院药用植物研究所, 北京 100193)

[摘要] 介绍微透析技术在脑内药物代谢动力学研究及脑缺血研究中的应用。主要从药物跨越血脑屏障特性、药物转运、药物在脑内不同区域分布,以及神经递质和能量代谢产物变化、外源性药物的脑保护作用等方面,来介绍微透析技术在脑内药物代谢动力学研究及脑缺血研究中的应用。微透析技术能够实现对脑特定部位细胞外液中的内源性 & 外源性化合物的持续检测及动态观察,是脑内药代动力学、脑缺血研究的重要手段,具有独特的优势及广阔的应用前景。

[关键词] 微透析;脑内研究;药物代谢动力学;脑缺血

[中图分类号] R285 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)12-0303-05

[DOI] CNKI:11-3495/R.20120411.0913.002 **[网络出版时间]** 2012-04-11 9:13

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20120411.0913.002.html>

Application of Microdialysis in Brain Pharmacokinetics and Cerebral Ischemia Studies

Ji Lian-ying, YANG Zhi-hong, SUN Xiao-bo*

(Institute of Medicinal Plant Development, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100193, China)

[Abstract] The applications of brain microdialysis in pharmacokinetics in the normal brain and cerebral ischemia model were chiefly introduced. The applications include the drugs across the blood-brain barrier characteristics, drug transport, the distribution of drugs in different regions in the brain, the changes of neurotransmitters and energy metabolites, and cerebral protective effect of exogenous drugs, etc. Brain microdialysis technique can collect samples from extracellular fluid of the endogenous and exogenous compounds in the specific site continuously, and the samples can be dynamically sampled and observed. The technique has become an important research tool and presents unique advantages and prod perspective in pharmacokinetics in the normal brain and cerebral ischemia model.

[Key words] microdialysis; brain studies; pharmacokinetics; cerebral ischemia model

微透析技术^[1-2] (microdialysis, MD)是从神经化学领域中发展起来的一种在线监测活体取样技术,可在动物麻醉或清醒自由活动状态下进行特定部位的取样或者给药的新型

技术^[3]。MD技术是根据“Fick's定律”物质沿浓度梯度扩散和半透膜对小分子化合物具有通透性的原理设计的。以往脑内药代动力学研究主要采用在不同时间点批量处死动物以全脑匀浆测定法研究药物脑内动力学行为,研究手段上的诸多不利因素,如实验动物需要量大、实验次数多、脑匀浆样品制备处理过程复杂、样品检测干扰多、检测灵敏度低、实验数据异常波动大等,限制了脑内药代动力学的开展和深入研究。与传统的取样技术相比,MD技术具有实时、在线、对组织损伤小、高效等优点^[4]。它能实现连续取样、动态测定体内内源性或外源性物质的变化^[5],对于研究脑内药物代谢动力学过程具有重要意义。

1 在脑内药物代谢动力学研究中的应用

MD技术在药物代谢动力学研究、尤其是脑内游离药物

[收稿日期] 20120117(011)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(8110287);高等学校博士学科点专项科研基金(20101106120049);国家科技支撑计划课题(2008BAI51B00)

[第一作者] 吉恋英,硕士,从事中药药代动力学研究,Tel: 18911037107, E-mail: jilianying101@gmail.com

[通讯作者] *孙晓波,研究员,博士生导师,从事中药药效物质基础与作用机制研究、创新药物开发研究,Tel: 010-62898496, E-mail: sxjimlad@gmail.com

的代谢动力学研究中具有独特的优势。MD 技术能够监测血浆及脑细胞外液中的游离药物浓度随时间的动态变化,为评价药物跨越血脑屏障特性,合用药物促透过作用研究,脑分布、脑靶向研究,脑转运体研究等提供重要的科学数据。

1.1 脑内药物促吸收、跨越血脑屏障特性 MD 可连续跟踪脑内多种化合物浓度随时间的动态变化,从而快捷、高效地取得药物在脑内的各项药动学参数,成为评价药物跨越血脑屏障特性的有效工具。

魏宇宁等^[6]利用 MD 研究冰片对头孢曲松在大鼠脑纹状体中含量的影响,结果头孢曲松合用冰片组(冰片 27 mg·kg⁻¹、头孢曲松 180 mg·kg⁻¹, im)大鼠脑纹状体内头孢曲松质量浓度 13.01 ~ 4.43 mg·L⁻¹明显高于单用头孢曲松组 2.41 ~ 0.94 mg·L⁻¹,说明冰片能够促进头孢曲松透过血脑屏障,提高其在纹状体内脑脊液中的含量。王利胜等^[7]采用 MD 技术,在大鼠清醒状态下,通过比较苧冰微乳静脉注射、灌胃以及鼻腔给药后苧冰微乳在脑部的含量来研究其药动学特性,相较于灌胃给药、静脉注射,鼻腔给药后苧冰微乳生物利用度较高,脑内作用时间较长,具有一定研究价值。

MD 技术能够实时监测药物的浓度,为研究药物动力学分布情况提供了有力的研究手段。张群林等^[8]利用 MD 技术与 HPLC-化学发光法(chemiluminescence, CL)联用测定大鼠脑组织中丹参酚酸类化合物浓度及研究其药动学过程,发现大鼠单剂量静注丹参滴注液(丹参素 2.5 mg·kg⁻¹)后丹参素在脑组织中的主要药代动力学参数 $T_{1/2}$, $AUC_{0-\infty}$, $MRT_{0-\infty}$, k 分别为(0.64 ± 0.20) h, (369.39 ± 114.77) ng·h·mL⁻¹, (0.64 ± 0.18) h, 1.36 ± 0.27, 这是国内外首次报道丹参素的脑组织药代动力学参数。Zhang Y J 等^[9]运用该法来评价大鼠口服丹参提取物后(丹参素、原儿茶醛、丹酚酸 B 分别按 40, 149, 50 mg·kg⁻¹)其脑内酚酸类化合物的药代动力学变化,发现丹参素能很容易地透过血脑屏障;丹酚酸 B 在脑内能检测到,但其浓度很低;而原儿茶醛在脑内检测不到原型药物,可能被氧化为原儿茶酸。

1.2 药物转运 在研究脑内药物代谢中药物转运体对药物的影响方面,MD 技术也显示出其优势。由于血脑屏障的存在,很多药物进出脑部的过程都受到限制,导致脑内与血液中的药物浓度不完全一致。由于 ABC 类转运体超家族(P-gp, MRP, BCRP 等)的存在,脑部药物转运研究对于了解中枢神经系统药物的药理作用及药物相互作用机制具有重要意义。P-gp 转运体是多种药物产生多药耐药作用的主要原因之一,关于药物与 P-gp 转运体相互作用的研究较多。

Syvänen S 等^[10]利用 MD 技术研究由红藻氨酸诱导的癫痫状态下奎尼丁对脑内 P-gp 功能的潜在变化。结果显示,仅红藻氨酸处理后,未发现奎尼丁跨越血脑屏障有区别,但红藻氨酸组的奎尼丁大脑总浓度较低,而奎尼丁脑细胞外液浓度比生理盐水组高,表明了脑实质 P-gp 的功能可能会改变,从而影响奎尼丁的脑内分布。Ma R H^[11]利用 MD 联合 HPLC-MS 研究 spinosin 在大鼠脑内、血液、胆汁中的药代动力学及其与环孢素 A 的相互作用。结果显示,环孢素 A 明

显作用于 spinosin 药代动力学过程。当联合给药时,环孢素 A 大大增加了 spinosin 在脑内、血液、胆汁中的 AUC 和 $T_{1/2}$ 值;这表明环孢素 A 通过抑制 P-gp 外排转运作用,从而降低了 P-gp 对 spinosin 的外排作用,说明 spinosin 可能是 P-gp 的底物。

1.3 药物在脑内不同区域分布 抗肿瘤药物的疗效往往与肿瘤组织中的药物浓度、多药耐药相关蛋白密切相关。如前所述,多药耐药相关蛋白影响抗癌药物进入脑肿瘤区的分布状况。MD 技术则为脑靶向药物提供了实用性更强、更经济有效的研究手段。

拓扑替康是继羟喜树碱之后发现的具有很强抗癌活性的第 3 代喜树碱类药物。Shen J 等^[12]利用 MD 研究发现拓扑替康在脑实质和脑脊液中的分布受 ABC 转运体(Bcrp1、P-gp)的影响,这些发现可能为提高脑部抗肿瘤药物的疗效提供新的治疗策略。Carcaboso A M 等^[13]在小鼠脑内植入原位人类脑胶质瘤 U87 和 MT330,应用 MD 技术研究拓扑替康透过肿瘤脑实质细胞外液(tECF)、吉非替尼对拓扑替康渗透 tECF 和对瘤内拓扑替康分布的影响,发现游离拓扑替康(4 mg·kg⁻¹, iv)在 U87 的透过率 P_{umor} 高于非肿瘤区的透过率 $P_{contralateral}$, 在 MT330 中亦有相似的结果,并且拓扑替康合用吉非替尼(为 P-gp 和 BCRP 的底物)使拓扑替康在肿瘤区中的分布体积增大,说明拓扑替康在脑内分布具有区域选择性。Dukic S F 等^[14]在 Wistar 大鼠右侧脑部植入 C6, CNS1 神经胶质瘤细胞作为肿瘤区,左侧为非肿瘤区,分别植入探针考察肿瘤区和非肿瘤区细胞外液甲氨蝶呤(MTX)的浓度。给 MTX(50 mg·kg⁻¹, iv)后, CNS1 脑肿瘤细胞外液中 MTX 的最大质量浓度(约 10 mg·L⁻¹)明显高于 C6(约 3 mg·L⁻¹),但其消除速率快于 C6 荷瘤大鼠;非肿瘤区中的 MTX 质量浓度(约为 1 mg·L⁻¹)明显低于肿瘤区,肿瘤区药物浓度的高水平促进了 MTX 对脑肿瘤细胞选择性的治疗作用。

1.4 作为给药途径 MD 技术除了可作为取样技术外,还可作为一种给药途径。氨酰寡肽(PREP, EC3.4.21.26)抑制剂可作为潜在的认知增强剂,但其认知效果的机制仍不清楚。乙酰胆碱(ACh)和多巴胺(DA)与认知过程的调控有关, Jalkanena 等^[15]利用 MD 考察大鼠纹状体细胞外 PREP 抑制剂对 ACh 和 DA 的影响,发现 PREP 抑制剂在全身给药后对纹状体内 DA 水平没有显著影响;全身给 JTP-4819 和纹状体给药后都显著降低 ACh 水平(分别降低约 25%, 30% ~ 50%)。仅在纹状体给药 KYP-2047 后, ACh 下降了 40% ~ 50%, 预示着较高的脑内药物浓度需要 ACh 水平的介导,而不是抑制 PREP。这一结果不支持早期的假说,即 PREP 抑制剂在啮齿类动物中的积极认知作用是通过胆碱能系统的介导来实现的。Sharma R 等^[16]利用 MD 技术作为一种给药方式,探讨局部灌注乙醇对大鼠基底前脑中细胞外腺苷水平的影响。在基底前脑进行局部灌注乙醇使细胞外腺苷水平显著增加,并在灌注最高剂量 300 mol·L⁻¹乙醇时腺苷增加了 4 倍,本研究首次揭示了乙醇直接作用于脑内并使细胞外腺苷增加。

2 在脑缺血研究中的应用

缺血性脑病已成为当今世界三大致死性疾病之一^[17]。寻找对脑缺血有效的药物、降低脑血管病的发病率和死亡率,是治疗脑缺血性疾病的关键^[18]。与传统研究方法(组织匀浆法或抽取脑脊液法)相比,MD技术能很好地检测脑缺血后药物在体内的吸收、分布、代谢、排泄等动态过程。

脑缺血再灌注损伤的发生机制较为复杂,其主要生理病理过程可能包括炎症反应、氧自由基含量增加、细胞内钙超载、兴奋性氨基酸毒性、能量代谢障碍、凋亡基因被激活等,但目前尚未完全阐明。许多研究表明,脑缺血引起的细胞坏死是由于兴奋性氨基酸的大量释放及通过 NMDA 受体介导钙离子内流所致。脑缺血研究中应用的监测指标主要表现为:①中枢神经递质:兴奋性氨基酸(EAA),如谷氨酸(Glu)、天冬氨酸(Asp)等;抑制性氨基酸,如 γ -氨基丁酸(GABA)等;单胺类递质,如多巴胺(DA)、5-羟色胺(5-HT)等;乙酰胆碱(ACh)等;②能量代谢产物:如乳酸、丙酮酸、葡萄糖等;③血管活性物质:一氧化氮(NO)及其代谢物(亚硝酸盐和硝酸盐);④其他物质:Mg,Zn等。

2.1 MD用于监测内源性物质

2.1.1 兴奋性氨基酸及一氧化氮 在脑缺血研究中过量的 EEA 对神经系统具有神经毒性,即兴奋性毒性作用。俞晨等^[19]运用 MD 技术研究大鼠脊髓损伤后大脑中枢 EEA 水平的变化以及脊髓损伤与大脑中枢反应的关系。发现大鼠脊髓损伤 30 min 后脑内 Glu 和 Asp 显著增加,然后逐步回落,于伤后 24 h 大致恢复正常。脑内 EEA 的升高提示脊髓损伤后大脑皮质、脑干网状结构正常状态对脊髓易化作用所依赖的神经递质水平受到显著影响。刘军等^[20]应用 MD 技术观察大鼠脑缺血再灌注细胞外液 EEA 与 NO 的变化,发现脑缺血 30 min 后,细胞外液中 EEA 水平明显增加,随着再灌注时间延长 EEA 水平逐渐接近正常,同时细胞外液中 NO 代谢产物也明显升高。

2.1.2 单胺类及乙酰胆碱 脑缺血后对乙酰胆碱、单胺类递质在脑内释放量的变化同样有显著影响,并可引起空间认知或神经元缺血性功能障碍。Chung E 等^[21]在 10 min 内反复进行脑缺血,通过 MD 技术研究大鼠海马、皮层内乙酰胆碱的含量,观察到乙酰胆碱量明显降低,而大鼠海马 CA1 层通常可观察到细胞死亡,且大鼠的空间记忆障碍与进行脑缺血次数呈正相关,说明反复脑缺血引起的空间认知障碍与海马、皮层的乙酰胆碱系统功能障碍和海马细胞死亡有关,该模型可用于评估治疗脑血管性痴呆的新药研发。Yoshimoto K 等^[22]利用在体 MD 研究麻醉状态下 Wistar 大鼠缺血和钾对伏隔核区(ACC)内 DA,5-HT 释放量的影响。在脑缺血(四血管闭塞:4VO,10 min)、缺血和钾诱导、4VO+鱼藤酮 3 组实验中,皆发现 DA,5-HT 释放量呈不同程度增加,说明在短暂脑缺血继而发生瞬时的神经损伤过程中,ACC 神经元保持了神经功能、单胺合成和神经递质释放,而不是导致神经元缺血性功能障碍或慢性神经退化。

2.1.3 能量代谢产物 脑组织的能量代谢主要表现为葡萄

糖的代谢,在脑缺血研究中常用乳酸、丙酮酸及葡萄糖作为能量代谢指标。Lin M C 等^[23]利用 MD 技术联用火焰原子吸收光谱法来监测沙鼠脑缺血模型血中 Mg、葡萄糖、乳酸的动态变化。通过阻断一侧颈总动脉及大脑中动脉造成局灶性脑缺血 60 min,后进行再灌注 180 min。结果脑缺血期间乳酸浓度降低至基线的 50%,再灌注后立刻恢复到基本水平。葡萄糖水平在脑缺血期间则保持不变,再灌注后则逐渐降到基线水平的 50%,说明急性脑缺血期间乳酸降低,葡萄糖的蓄积有利于缺血后脑细胞的恢复。Lin J Y 等^[24]采用 MD 双探针技术检测沙鼠局灶性脑缺血再灌注大脑皮质中能量代谢产物及 Glu 的变化,发现血糖和丙酮酸分别下降了基线的 10%,15%,乳酸和 Glu 分别升高了 200%,1400%。

2.1.4 其他物质 Mg 具有调节 ATPase 活性、酶的催化因子等生物学功能,在能量代谢,提高脑缺血部位的血流量,抑制钙离子内流入细胞内,减少脑梗死范围等方面起着关键作用^[25-27]。Zn 介导神经传导,与脑和中枢神经系统的发育以及抑制性神经递质 GABA 的代谢有关,它的缺乏对于胎儿的脑部发育是不利的^[28]。故利用 MD 采样技术研究脑缺血后二者的动态变化有重要意义。Yang D Y 等^[29]旨在利用 MD-石墨炉原子吸收光谱法监测局灶性脑缺血沙鼠皮质细胞外 Mg,Zn 的动态变化。脑缺血期间同一侧皮质内 Mg(基线的 65%),Zn(基线的 74%)显著降低并保持 3 h 内不变;而对侧皮质内的 Mg,Zn 变化不明显。这表明脑缺血时细胞外 Mg,Zn 可能对保护细胞损伤有重要作用。

2.2 外源性药物的脑保护作用 许多研究表明,药物可通过影响神经递质氨基酸的含量变化以达到脑保护的作用。

2.2.1 西药对脑保护作用研究 Yu S 等^[30]利用 MD 技术联合 RP-HPLC 研究阿尼西坦对自由清醒沙鼠海马细胞外递质氨基酸水平的影响。发现缺血前 60 min 给阿尼西坦($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)增加 GABA,牛磺酸则比其他氨基酸保持更高水平。与模型组相比,给阿尼西坦($100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)后提高正常沙鼠海马中 Glu,Asp 的释放。该药物对缺血海马神经元迟发性死亡的保护机制可能是通过影响氨基酸水平产生作用,从而改善由缺血再灌注引起的记忆功能障碍。Choi SK 等^[31]则利用 MD-安培生物传感器法通过对 Asp 释放的实时估计研究尼莫地平对全脑缺血大鼠模型的神经保护治疗作用,发现尼莫地平($0.025 \mu\text{g}/100 \text{ g} \cdot \text{min}$)对神经细胞坏死的保护治疗作用是通过抑制细胞外 Glu 的释放来实现。Sheu W H 等^[32]采用 LC-MS 联用 MD 技术研究局灶性脑缺血模型沙鼠脑内及血中罗格列酮和葡萄糖的浓度。与对照组相比,罗格列酮组($3.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, ip)脑内的葡萄糖下降了 71%;而经罗格列酮预处理 1 h 后不仅血糖降低了 80%,还明显降低了脑梗死体积,这说明罗格列酮的降糖作用可能有助于降低脑缺血性中风造成的脑损伤。

2.2.2 中药对脑保护作用研究 传统中药在治疗脑缺血方面有其独特的疗效,MD 技术在中药脑保护作用研究领域的应用也日益增多。张春颖等^[33]利用 MD 技术联用 HPLC-电化学法研究天麻钩藤方对不完全脑缺血清醒自由活动大鼠

海马细胞外液递质氨基酸(Glu、牛磺酸、精氨酸、GABA、半胱氨酸)的影响。结果表明,天钩方(分别按 0.75, 1.5, 3 g·kg⁻¹, ig)能增加正常大鼠海马细胞外液中抑制性氨基酸的浓度,抑制缺血再灌注引起的 EAA 的过度释放,增加精氨酸等抑制性氨基酸的浓度,通过多途径多靶点对机体的作用,发挥神经保护作用。Zeng X 等^[34]利用 MD-HPLC 研究大鼠脑缺血/再灌注海马中天麻素影响神经递质氨基酸的含量变化,发现缺血前给药(天麻素按 100 mg·kg⁻¹)能显著降低缺血后因缺血引起的 Glu 含量升高,而使在灌注期间细胞外的 GABA 水平上升,从而使缺血再灌注期间 Glu 和 GABA 的比值减小,说明天麻素能发挥脑保护的作用。Lang D 等^[35]利用 MD 技术探讨小鼠大脑中动脉闭塞前后银杏内酯在脑内的通透性,发现银杏内酯(10 mg·kg⁻¹, ip)易透过血脑屏障、较快达到脑内细胞外液药峰浓度,并与脑内靶标分子神经递质受体相互作用;该药物在缺血前的脑组织内利用率很高,但在大脑中动脉阻断后急剧下降;这些结果提示银杏内酯在中风前给药(预防给药)有益于脑神经保护作用。

脑缺血损伤是由多种病理生理机制共同作用的结果,而各种脑保护的药一般只是针对脑缺血损伤的部分机制。因此,药物的联合应用可能是解决脑缺血损伤治疗的一条重要的途径,而 MD 技术是脑缺血研究的重要工具。

3 展望

MD 可通过脑立体定位仪对药物在特定脑区分布进行研究,同时监测脑内药物和神经递质的变化,为脑内游离药物的药代动力学研究提供了重要的新途径,是研究脑内神经递质动态变化的重要工具。MD 技术是从神经化学领域中发展起来的,近年来已被广泛应用于生命科学的各个领域,并且在脑内药物代谢动力学、脑缺血研究领域中的应用日益增多。虽然 MD 技术还存在一些局限性,如样品中的目标物质受到探针孔径的限制,生物大分子无法进行透析和动态观察;药物与半透膜的黏附;样品量较低,设备及其耗材价格昂贵;对脂溶性药物和蛋白结合率高的药物提取回收率低^[8,36];尤其是探针的植入会在局部形成微创,对急性实验有一定的影响^[37]等。但是,通过该技术和分析方法的不断改进和完善,无疑会使 MD 在脑内药物代谢研究发挥重要作用;随着 MD 技术在临床前脑缺血研究中的应用日益成熟,将为临床研究提供了更丰富的实验依据、操作上更具有可行性。

[参考文献]

[1] Bito L, Davson H, Levin E, et al. The concentrations of free amino acids and other electrolytes in cerebrospinal fluid, *in vivo* dialysate of brain, and blood plasma of the dog [J]. *J Neurochem*, 1966, 13 (11): 1057.

[2] Delgado J M, DeFeudis F V, Roth R H, et al. Dialytrode for long term intracerebral perfusion in awake monkeys [J]. *Arch Int Pharmacodyn Ther*, 1972, 198 (1): 9.

[3] Holmgaard R, Nielsen J B, Benfeldt E. Microdialysis

sampling for investigations of bioavailability and bioequivalence of topically administered drugs: current state and future perspectives [J]. *Skin Pharmacol Physiol*, 2010, 23(5): 225.

[4] 张英丰, 吴阳, 汪小根, 等. 关于微透析法与血药浓度法的异同及其药动学数据特殊处理的探索与思考 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(12): 276.

[5] 郑巧玲, 张文渊, 李焕德. 微透析采样技术及其相关分离检测方法研究进展 [J]. *中南药学*, 2010, 8 (10): 754.

[6] 魏宇宁, 刘萍, 何新荣, 等. 微透析法研究冰片对头孢曲松在大鼠脑纹状体中含量的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2010, 35(19): 2605.

[7] 王利胜, 赖宝林, 夏祖猛, 等. 微透析技术对芎冰微乳在清醒大鼠脑局部的药动学研究 [J]. *中药新药与临床药理*, 2011, 22(3): 299.

[8] 张群林, 张云静, 吴亮, 等. 微透析-液相色谱-化学发光法测定大鼠脑组织中丹参酚类化合物浓度及其药代动力学研究 [J]. *中国药理学通报*, 2010, 26 (9): 1230.

[9] Zhang Y J, Wu L, Zhang Q L, et al. Pharmacokinetics of phenolic compounds of Danshen extract in rat blood and brain by microdialysis sampling [J]. *J Ethnopharmacol*, 2011, 136(1): 129.

[10] Syvänen S, Schenke M, van den Berg D J, et al. Alteration in P-glycoprotein functionality affects intrabrain distribution of quinidine more than brain entry—a study in rats subjected to status epilepticus by kainite [J]. *AAPS J*, 2012, 14(1): 87.

[11] Ma R H, Yang J, Qi L W, et al. *In vivo* microdialysis with LC-MS for analysis of spinosin and its interaction with cyclosporin A in rat brain, blood and bile [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2012, 61: 22.

[12] Shen J, Carcaboso A M, Hubbard K E, et al. Compartment-specific roles of ABC transporters define differential topotecan distribution in brain parenchyma and cerebrospinal fluid [J]. *Cancer Res*, 2009, 69 (14): 5885.

[13] Dukic S F, Kaltenbach M L, Heurtaux T, et al. Influence of C6 and CNS1 brain tumors on methotrexate pharmacokinetics in plasma and brain tissue [J]. *J Neurooncol*, 2004, 67(1/2): 131.

[14] Carcaboso A M, Elmeliegy M A, Shen J, et al. Tyrosine kinase inhibitor gefitinib enhances topotecan penetration of gliomas [J]. *Cancer Res*, 2010, 70 (11): 4499.

[15] Jalkanen A J, Patteri Piepponen T, Hakkarainen J J, et al. The effect of prolyl oligopeptidase inhibition on extracellular acetylcholine and dopamine levels in the rat striatum [J]. *Neurochem Int*, 2012, 60(3): 301.

- [16] Sharma R, Engemann S C, Sahota P, et al. Effects of ethanol on extracellular levels of adenosine in the basal forebrain: An *in vivo* microdialysis study in freely behaving rats [J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2010, 34(5):813.
- [17] 李军, 曹红, 连庆泉. ERK 通路在脑缺血及缺血预处理沙土鼠海马神经元中的作用 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2008, 24(2): 237.
- [18] 曹红, 李军, 李广明. 姜黄素对沙土鼠脑缺血/再灌注损伤的海马 CA1 区细胞凋亡和即早基因 *c-fos*、*c-jun*、*NF-κB* 表达变化的关系 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2007, 23(2): 184.
- [19] 俞晨, 徐又佳, 张志琳, 等. 脑微透析法研究大鼠脊髓损伤后脑内兴奋性氨基酸的动态变化 [J]. *苏州大学学报: 医学版*, 2006, 26(6): 923.
- [20] 刘军, 匡培根, 吴卫平, 等. 脑缺血再灌注细胞外液兴奋性氨基酸与一氧化氮的变化及丹参的影响 [J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2003, 5(2): 123.
- [21] Chung E, Iwasaki K, Mishima K, et al. Repeated cerebral ischemia induced hippocampal cell death and impairments of spatial cognition in the rat [J]. *Life Sci*, 2002, 72(4/5): 609.
- [22] Yoshimoto K, Hori M, Shinmen N, et al. Forensic studies of brain vulnerability and resistance: ischemia-induced dopamine and serotonin releases in the rat nucleus accumbens [J]. *Leg Med*, 2009, 11(1): S279.
- [23] Lin M C, Huang Y L, Liu H W, et al. Microdialysis analyzer and flame atomic absorption spectrometry in the determination of blood glucose, lactate and magnesium in gerbils subjected to cerebral ischemia/reperfusion [J]. *J Am Coll Nutr*, 2004, 23(5): 556S.
- [24] Lin J Y, Chung S Y, Lin M C, et al. Effects of magnesium sulfate on energy metabolites and glutamate in the cortex during focal cerebral ischemia and reperfusion in the gerbil monitored by a dual-probe microdialysis technique [J]. *Life Sci*, 2002, 71(7): 803.
- [25] Romani A, Scarpa A. Regulation of cell magnesium [J]. *Arch Biochem Biophys*, 1992, 298(1): 1.
- [26] Haupt H, Scheibe F. Preventive magnesium supplement protects the inner ear against noise-induced impairment of blood flow and oxygenation in the guinea pig [J]. *Magnes Res*, 2002, 15(1/2): 17.
- [27] Bussière F I, Mazur A, Fauquet J L, et al. High magnesium concentration *in vitro* decreases human leukocyte activation [J]. *Magnes Res*, 2002, 15(1/2): 43.
- [28] Ebadi M, Murrin L C, Pfeiffer R F. Hippocampal zinc thionein and pyridoxal phosphate modulate synaptic functions [J]. *Ann NY Acad Sci*, 1990, 585: 189.
- [29] Yang D Y, Lee J B, Lin M C, et al. Determination of brain magnesium and zinc levels by a dual-probe microdialysis and graphite furnace atomic absorption spectrometry [J]. *J Am Coll Nutr*, 2004, 23(5): 552S.
- [30] Yu S, Cai J. Effects of aniracetam on extracellular levels of transmitter amino acids in the hippocampus of the conscious gerbils: an intracranial microdialysis study [J]. *Neurosci Lett*, 2003, 339(3): 187.
- [31] Choi S K, Lee G J, Choi S, et al. Neuroprotective effects by nimodipine treatment in the experimental global ischemic rat model: real time estimation of glutamate [J]. *J Korean Neurosurg Soc*, 2011, 49(1): 1.
- [32] Sheu W H, Chuang H C, Cheng S M, et al. Microdialysis combined blood sampling technique for the determination of rosiglitazone and glucose in brain and blood of gerbils subjected to cerebral ischemia [J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2011, 54(4): 759.
- [33] 张春颖, 杜贵友, 王巍. 天麻钩藤方对自由活动大鼠脑缺血海马细胞外液递质氨基酸的影响 [J]. *中国中药杂志*, 2004, 29(11): 1061.
- [34] Zeng X, Zhang Y, Zhang S, et al. A microdialysis study of effects of gastrodin on neurochemical changes in the ischemic/reperfused rat cerebral hippocampus [J]. *Biol Pharm Bull*, 2007, 30(4): 801.
- [35] Lang D, Ude C, Wurglics M, et al. Brain permeability of bilobalide as probed by microdialysis before and after middle cerebral artery occlusion in mice [J]. *J Pharm Pharmaceut Sci*, 2010, 13(4): 607.
- [36] 张英丰, 汪小根, 吴阳, 等. 微透析技术进行药理学研究的发展趋势及局限性探讨 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(15): 270.
- [37] Nandi P, Lunte S M. Recent trends in microdialysis sampling integrated with conventional and microanalytical systems for monitoring biological events: A review [J]. *Anal Chim Acta*, 2009, 651(1): 1.

[责任编辑 邹晓翠]