

海马缺血损伤机制的研究进展

路娇扬, 唐雅玲 综述, 王 双 审校

(南华大学心血管疾病研究所 动脉硬化化学湖南省重点实验室, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 海马; 缺血损伤; 兴奋性氨基酸毒性; 氧化应激; 免疫炎症; 细胞凋亡

[摘 要] 海马是脑内对缺血敏感的部位之一。海马缺血损伤后生命体学习、记忆等功能减退, 最终导致神经退行性疾病的发生。海马不同部位组织对缺血损伤易感性的显著差异是脑缺血病理变化的重要特点。本文就海马缺血性损伤涉及的兴奋性氨基酸毒性、氧化应激、免疫炎症、细胞凋亡等机制的研究近况作一简要综述。

[中图分类号] R363 [文献标识码] A

Progress in Study on Mechanism of Hippocampal Ischemia Injury

LU Jiao-Yang, TANG Ya-Ling, and WANG Shuang

(Institute of Cardiovascular Disease & Key Laboratory for Atherosclerosis of Hunan Province, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] Hippocampus; Ischemic Injury; Excitatory Amino Acids Toxicity; Oxidative Stress; Immune Inflammation; Cell Apoptosis

[ABSTRACT] The hippocampus is one of the ischemia-sensitive parts of the brain. After hippocampal ischemic injury, the organisms' function, such as learning and memory, declined, and eventually led to the occurrence of neurodegenerative diseases. The significant difference of selective vulnerability in the different sectors of the hippocampus is an important feature of the pathological changes of cerebral ischemia. In this article, we make a brief summary of recent research on mechanisms of hippocampal ischemic injury, including excitatory amino acid toxicity and oxidative stress, immune inflammation, and apoptosis.

大脑海马是颈动脉粥样硬化导致缺血性损伤的易发部位^[1], 而且与学习、记忆、神经退行性疾病关系密切。据统计, 卒中后高达 64% 的患者存在不同程度的认知障碍^[2], 1/3 会发展为明显的痴呆^[3]。因此海马缺血损伤已成为当今医学研究的热点之一。

1 海马的结构及特点

海马属于古皮质结构, 是边缘系统的重要组成部分, 在脑的冠状切面上由两个相对的“C”形-海马本部和齿状回组成。Lorente 依据海马的细胞构筑和纤维联系将海马分成 CA1、CA2、CA3 和 CA4 四个区, 齿状回开口处为门区, CA4 区延伸至齿状回门区。海马不仅有高度有序化便于观察和分析的构筑, 对缺血/缺氧、癫痫、化学损害剂等多种致病因

素十分敏感, 因此越来越多的研究者开始对海马进行更深层的探索^[4]。海马缺血损伤是指持续或短暂脑血流灌注不足而引起海马的不可逆损伤, 尤以海马 CA1 区神经元对缺血最为敏感^[5]。海马组织的缺血损伤病变的发生涉及多种病理生理机制, 包括兴奋性毒性、氧化应激和免疫炎症等。

2 海马缺血损伤病变的特点

中枢神经系统的神经元对缺血损伤敏感性明显差异, 其中某些神经元对缺血特别敏感, 即称具有“选择易损伤性 (selective vulnerability)”。海马 CA1 区神经元被视为最脆弱的海马神经元。Kirino^[6]发现阻塞沙土鼠双侧颈总动脉 5 分钟引发脑组织短暂缺血, 第 2 天 CA1 区神经元细胞器大量增殖, 第 4 天出现明显的细胞坏死。当缺血时间延长

[收稿日期] 2014-01-04

[作者简介] 路娇扬, 硕士研究生, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制与防治, E-mail 为 498977917@qq.com。通讯作者王双, 博士, 副教授, 硕士研究生导师, 研究方向为动脉粥样硬化发病机制与防治, E-mail 为 wangya1105@hotmail.com。

至 30 分钟,CA1 区神经元坏死出现的更早更剧烈,CA1 神经元表现出线粒体肿胀,并伴随着线粒体嵴和细胞质液泡的解体,多聚核糖体解聚,粗面内质网减少,高尔基体池改变。缺血时间延长至一天,海马 CA1 区锥体细胞便出现完全的缺血死亡^[5]。由此说明缺血时间长短是决定 CA1 区神经元缺血损伤严重性的主要因素。

CA1 区外侧锥体神经元形状由小变大时便延伸至 CA2 区。部分 CA2 区锥体细胞受苔藓纤维支配,对缺血损伤较 CA1 区相对缓慢,主要以细胞肿胀和核偏移为特征^[7]。而受苔藓纤维支配的 CA3 区对缺血有很强的耐受性。先前的研究发现 Wistar 大鼠和沙土鼠脑缺血 5~20 分钟后,大多数 CA3 锥体细胞不受损害,但可有形态学改变,表现为细胞浆浓染,微空泡化,核偏移等特征。这种细胞的变化大多数是可逆的。

CA4 区位于齿状回门区。门区由来自三面的神经元包绕^[5],其中含有神经肽和生长抑素的神经元对缺血敏感。大鼠海马缺血 30 分钟,部分门区神经元出现损伤并逐渐蔓延至其他各种细胞类型。银染检测可观察到,齿状回邻近的第三层腔隙分子层纤维变性,这些纤维变性可能是苔藓细胞退化所致。研究表明,缺血过程中门区病变常与 CA1 区损伤并存,但门区损伤常在 CA1 损伤之前发生。研究结果表明,齿状回颗粒细胞对缺血性损伤具有非常强的抵抗性,猫海马缺血 60 分钟以后一些颗粒细胞仍保持完好^[7]。

总之,在沙土鼠和大鼠海马缺血研究观察到海马缺血损伤表现,CA1、CA2 和门区出现损伤,而 CA3 和齿状回可以保持正常。典型的 CA1 病变特征是选择性神经元坏死,即只有神经元死亡,而星形胶质细胞和血管细胞存活。海马的不同部位的缺血易损伤性具有以下顺序:CA1 及门区 > CA2 > CA3 > 齿状回^[5,7]。

3 兴奋性氨基酸在海马缺血损伤中的作用

脑内兴奋性氨基酸 (excitatory amino acids, EAAs) 主要存在于神经元突触末梢。其中谷氨酸 (glutamate, Glu) 是含量最丰富的兴奋性氨基酸之一,它可以调节脑内学习、记忆、运动、认知等功能。缺血、缺氧、外伤等均可使细胞外 Glu 浓度升高,而引起严重的神经元损伤。目前越来越多的研究发现细胞外 Glu 浓度异常增高及其受体过度激活在海马缺血后神经细胞损伤过程中发挥了重要的传递

作用。

海马缺血后,CA1 区 Glu 含量明显增高^[8],引起细胞能量耗竭,ATP 生成下降,细胞膜去极化,电压依赖性钙通道 (voltage dependent calcium channels, VDCCs) 激活, Ca²⁺ 内流,进而导致细胞内 Ca²⁺ 浓度显著升高,触发突触末梢以 Ca²⁺-依赖性的出胞式释放 Glu;随着能量的进一步耗竭,神经细胞中谷氨酸转运体 (glutamate transporter, GLT) 摄取 Glu 功能受损,最终导致细胞外 Glu 含量显著增高。

Pinheiro^[9]等发现,钙通道阻滞剂 (如蜘蛛毒素, Tx3-3 或 Tx3-4 和芋螺毒素, ω-芋螺毒素 GVIA 或 ω-芋螺毒素 MVIIC) 可显著抑制 Glu 释放,其抑制缺氧诱导 Glu 释放的抑制率分别为 54%、72%、60% 和 70%;同时海马 CA1 神经元死亡率分别下降到 68.0% ± 4.2%、77.0% ± 3.8%、32.0% ± 2.3% 和 46.0% ± 2.9%,说明抑制 Glu 的释放能显著降低海马 CA1 神经元死亡率。Ketheeswaranathan 等^[10]发现 GLT-1 在控制海马缺血后细胞外 Glu 浓度中发挥关键作用。海马缺血 5 分钟后, GLT-1 突变小鼠海马 CA1 区细胞外 Glu 水平显著高于野生型小鼠,并出现迟发性神经元死亡。此外,通过脑缺血预处理,增强海马 CA1 区 GLT-1 对 Glu 最大结合和亲和力,可促进 GLT-1 对 Glu 的摄取^[11]。

Glu 通过过度激活其受体以发挥神经兴奋毒作用。脑内主要的 EAAs 受体为:N-甲基-D-天冬氨酸 (N-methyl-D-aspartate, NMDA) 受体, α-氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸 (α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid, AMPA) 受体, 红藻氨酸 (kainate, KA) 受体, 代谢型受体 (metabotropic glutamate receptors, mGluRs) 等。Muller 等^[12]发现,从突触前末梢释放的抑制性氨基酸甘氨酸可调节 NMDA 受体的功能,抑制海马缺血后 Glu 能神经传递,从而降低神经元的兴奋性。Noh 等^[13]发现海马缺血后,应用 AMPA 受体的通道阻滞剂 1-萘乙酰精胺可使 CA1 神经元细胞内游离 Ca²⁺ 显著减少,并部分防止缺血诱导的海马神经元死亡。Takagi 等^[14]发现 mGlu5 受体通过激活 NMDA 受体亚基酪氨酸磷酸化,改变 NMDA 受体性质,参与海马缺血后 CA1 区神经元损伤。

4 自由基在海马缺血损伤中的作用

海马缺血可激活还原型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 氧化酶、环氧合酶 (cyclooxygenase, COX) 等

多种氧化酶类,同时降低自由基清除剂(如超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶等)活力,致使 ROS (reactive oxygen species, ROS) 和活性氮(reactive nitrogen species, RNS) 自由基的产生增加,使得氧化应激的水平远远超过自身内源性抗氧化系统的清除能力,引起严重的氧化损伤。

NADPH 氧化酶(NADPH oxidase, NOX) 是 ROS 的主要来源。NOX 催化亚基 gp91 (PHOX^{-/-}) 基因敲除和 NOX 抑制剂可阻断海马缺血后 ROS 的生成,减少神经元死亡^[15]。直接使用自由基清除剂抗坏血酸或谷胱甘肽(glutathione, GSH) 能显著增加缺血区 GSH 水平,降低海马缺血后 ROS 标志物 8-羟基脱氧鸟苷(8-hydroxy-2'-deoxyguanosine, 8-OHdG) 的水平,减轻 DNA 氧化损伤^[16],并抑制氧化型谷胱甘肽(oxidized glutathione, GSSG) 水平,减少 CA1 区神经细胞死亡,改善记忆功能^[17]。普罗布考^[18]和白藜芦醇^[19]可增加 ATP 及谷胱甘肽(GSH)、葡萄糖-6-磷酸脱氢酶(glucose 6-phosphatedehydrogenase, G6-PD) 和血清乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH) 水平,显著减少细胞色素 c 释放,线粒体脂质过氧化物(lipidhydroperoxide, LPO) 含量以及梗死面积和脑水肿,显著改善神经功能损伤。过表达过氧化氢酶(catalase 酶) 也能显著缩小海马梗死面积,减弱 CA1 区兴奋性突触后电位,减少神经元损伤^[20]。刺五加可抑制缺血诱导海马 CA1 区 COX-2 活化,减少 CA1 区 53.1% 的神经元死亡^[21]。以上结果表明,提高自由基清除剂水平和抑制自由基生成是两种有效抵抗海马缺血后神经元氧化损伤的方法。

此外,过氧化体增植物激活型受体 γ 辅激活因子 1 α (peroxisome proliferator activated receptor gamma coactivator 1 alpha, PGC-1 α) 可调节线粒体抗氧化防御系统。沉默 PGC-1 α 基因表达后,线粒体抗氧化剂解偶联蛋白 2 (uncoupling protein-2, UCP-2) 和超氧化物歧化酶 2 (SOD2) 表达下调,导致海马缺血后氧化应激加重和 CA1 区迟发性神经元死亡,表明 PGC-1 α 的激活可能具有一定的神经保护作用^[22]。

在氧化损伤过程中,碱基切除修复氧化损伤的 DNA 是促进细胞存活的重要机制。基本的碱基切除修复酶脱嘌呤/脱嘧啶核酸内切酶 1 (apurinic/aprimidinic endonuclease 1, APE1) 的升高与海马缺血损伤后神经元存活密切相关。Stetler 等^[23]发现诱导海马神经元 APE1 表达,可显著减轻海马缺血后氧化 DNA 损伤和海马 CA1 神经元死亡,改善认知功能,表明 APE1 可能作为海马缺血损伤的保护

策略。

5 免疫炎症反应在海马缺血损伤中的作用

炎症是机体的防御反应,但又会对机体造成伤害。海马缺血后期神经胶质细胞增生活化,白细胞聚集并穿过血管壁、浸润海马实质,同时伴有微血管功能紊乱及局部脑组织中液体及蛋白质积聚,同时释放出炎性细胞因子,导致继发性损害。炎性细胞因子在海马缺血损伤发病机制中具有重要作用。研究表明,测定 IL-6 表达水平的高低可评价临床卒中患者损伤程度。

脂多糖(LPS) 可诱导强烈的免疫反应,低剂量的 LPS 预处理可抑制炎症介质的产生。Yu 等^[24]发现 LPS 预处理的缺血组 CA1 区的白细胞介素 4 和白细胞介素 13 的蛋白表达水平与对照组相似,CA1 区胶质细胞增生明显减弱,表明 LPS 预处理通过维持抗炎细胞因子和抑制神经胶质激活以减轻缺血海马 CA1 区神经元死亡。基质金属蛋白酶(MMP) 是脑组织内重要的蛋白水解酶,对许多促炎因子发挥正反馈作用,是炎症反应重要的“调节剂”。Park 等^[25]给脑缺血 20 分钟小鼠腹腔注射没食子酸儿茶素,观察到迟发性海马神经元凋亡显著减少,酶谱分析显示 MMP-9 活性显著降低,表明阻断 MMP-9 可能成为减轻海马缺血后的神经元凋亡的重要治疗措施。

Toll 样受体(Toll-like receptors, TLRs) 在调控海马缺血过程中的免疫反应发挥关键作用。Babcock 等^[26]证明 TLR2 基因敲除的小鼠可以选择性的降低海马缺血性损伤产生的细胞因子和趋化因子的表达。Caso 等^[27]研究表明 TLR4 介导的免疫炎症反应及其下游因子 MMP-9、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、COX-2 参与了海马缺血性损伤的过程。Lim 等^[28]利用葛根素异黄酮降低缺血诱导的环氧化酶 2 (COX-2) 上调,减少海马 CA1 区小胶质细胞的激活和减少海马梗死面积。此外,口服连翘脂素^[29]和敲除晚期糖基化终产物受体基因^[30],可减少海马缺血后 CA1 区神经元变性,降低白细胞介素-1 β 、胶质细胞释放的 TNF- α 、eNOS 和 iNOS 水平。海马短暂缺血后 CA1 区激活的钙激活酶裂解 Hsp70.1 羧基端,导致溶酶体膜损伤,诱导 NF- κ B 的持续激活,导致延迟神经元死亡^[31]。以上结果表明,减少小胶质细胞与 NF- κ B 的激活以及炎症因子和细胞因子的表达,有助于减轻海马缺血损伤。

6 细胞凋亡在海马缺血损伤中的作用

有研究发现,海马缺血中心死亡细胞的超微结构并不符合坏死细胞的特征,而是出现细胞质和细胞核固缩,细胞膜反折等凋亡细胞所特有的形态特征。缺血部位凋亡细胞数量也随缺血时间的延长而增多,并且免疫组织化学方法证实凋亡细胞大部分为神经细胞(90% ~ 95%)。Okamoto 等^[32]结扎沙土鼠双侧颈总动脉5分钟发现细胞凋亡主要存在于海马CA1区。缺血损伤导致细胞凋亡,基因转录和蛋白质合成增加,并使梗死面积加大,增加海马神经元基因组损伤^[8],可以认为细胞凋亡既是缺血引发的结果,亦是增加海马组织进一步损伤的机制。研究发现与细胞凋亡密切相关的调控基因主要有 Bcl-2 基因家族、p53 基因、Caspase 基因家族等。

已有研究表明, p53 基因转录可激活多种促凋亡基因,在调节细胞凋亡过程中起重要作用。Yonekura 等^[33]研究发现海马缺血后 P53^{-/-}小鼠海马CA1区存活神经元计数为 61.3% ± 34.0%,而野生型小鼠CA1区存活神经元计数为 9.3% ± 3.0%。Thal 等^[34]的研究中, C57/BL6 小鼠海马缺血10分钟后,约有80%的TUNEL阳性细胞有凋亡诱导因子(apoptosis-inducing factor, AIF)核易位。而在 AIF 低表达小鼠神经细胞损失减少了60%。多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶在细胞的存活和死亡中起着重要的作用。Strosznajder 等^[35]研究显示静脉注射 PARP 抑制剂 3-氨基苯甲酰胺(3-aminobenzamide 3-AB)能有效防止 AIF 易位到细胞核,过表达 Bcl-2 蛋白。Han 等^[36]研究侧脑室注射 Bax 抑制肽 VPALR 处理组 Bax 的激活及其转录减弱,海马延迟神经元死亡减少了78%,同时线粒体细胞色素 C 的释放减少, Caspase-3 激活减弱,并改善海马缺血损伤后学习和记忆功能。Qi 等^[37]发现轻度热休克预处理通过诱导热休克蛋白 Hsp72 表达,增强蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT) 磷酸化并减弱 Caspase-3 活化,抵抗海马缺血损伤。缺血预处理和后处理均减弱了海马CA1区神经元凋亡和DNA片段化,下调 Caspase-3、Caspase-6、Caspase-9 和 Bax 蛋白表达^[38]。表明抑制 p53 基因和 AIF 的转录,增加 Bcl-2 蛋白表达,减少线粒体细胞色素 C 的释放以及促凋亡 Caspase 家族激活,进而抑制缺血性海马神经元凋亡(图1)。

miR-181a 广泛存在于大脑中,抑制 miR-181a 减小脑梗死体积。Moon 等^[39]应用 miR-181a 拮抗剂显著减少缺血海马CA1区神经元丢失、增加 Bcl-2 蛋白,并且增加了 GLT-1 的含量。因此,靶向 miR-181a 可作为抵抗海马缺血损伤的潜在目标。

7 海马缺血损伤中的其他因素

目前越来越多的证据表明,雌激素及自噬等因素也参与海马缺血损伤过程。Cimarosti 等^[40]发现 17β-雌二醇可使糖氧剥夺引起的海马神经元损伤减少46%,雌激素受体(estrogen receptor β, ERβ)大幅上调了25%,证明雌激素对海马缺血的神经保护作用,可能涉及了 ERβ 和其受体基因的调控。DNA 甲基化是由 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase, Dnmt)催化的主要表观遗传修饰。越来越多的证据表明,神经元DNA甲基化可调节突触可塑性以及神经网络活动。Lee 等^[41]发现沙土鼠海马缺血5分钟后第4天, CA1 区锥体细胞显著减少,神经元变性增多, Dnmt1 免疫反应和蛋白质水平均明显降低。证明 Dnmt1 表达减少可能与缺血诱导迟发性神经元死亡有关。毛伦林等^[42]报道,高血糖大鼠缺血后增大大脑内梗死面积,促进海马CA1区神经元凋亡。此外,自噬是负责消除短暂性脑缺血后神经元的异常蛋白聚合和受损细胞器的主要降解途径,由于自噬途径故障产生的蛋白质聚集可能会导致多个细胞器损伤和短暂性海马缺血后的延迟神经细胞死亡^[43](图1)。

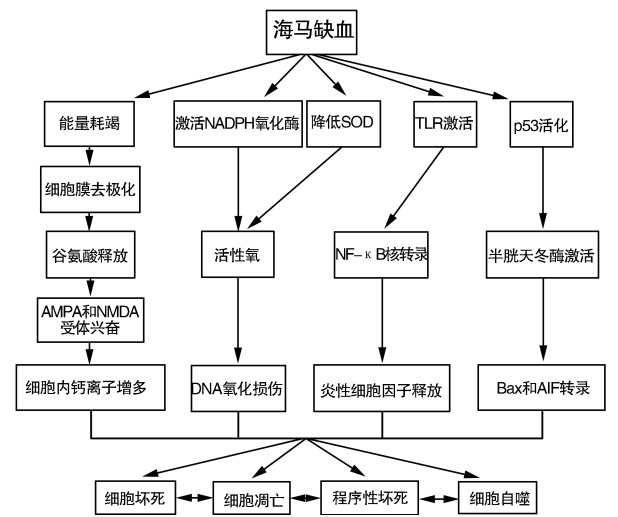


图1. 海马缺血损伤机制
Figure 1. Mechanism of hippocampal ischemia injury

8 结 语

总之,海马缺血损伤导致的神经元变性、脱失及死亡涉及多种方面的病理生理机制,各因素之间不孤立存在,相互作用,互为因果。目前,越来越多的证据表明靶向干预其病理机制,可有效的防止海马神经元死亡。相信随着分子技术的发展以及各学科的交叉能更深层次的研究海马缺血损伤的机制,更明确其生理和病理变化,为新药研发和临床治疗奠定坚实的理论基础。

[参考文献]

- [1] Schmidt-Kastner R, Freund TF. Selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia [J]. *Neuroscience*, 1991, 40(3): 599-636.
- [2] Jin YP, Di Legge S, Ostbye T, et al. The reciprocal risks of stroke and cognitive impairment in an elderly population [J]. *Alzheimer's Dement*, 2006, 2(3): 171-178.
- [3] Hachinski V, Iadecola C, Petersen RC, et al. National institute of neurological disorders and Stroke-Canadian stroke network vascular cognitive impairment harmonization standards[J]. *Stroke*, 2006, 37(9): 2 220-241.
- [4] 姚志彬. 海马—研究神经科学的理想模型[J]. *解剖学研究*, 1989, 1: 17-21.
- [5] Schmidt-Kastner R, Freund TF. Selective vulnerability of the hippocampus in brain ischemia [J]. *Neuroscience*, 1991, 40(3): 599-636.
- [6] Kirino T. and Sano K. Fine structural nature of delayed neuronal death following ischemia in the gerbil hippocampus[J]. *Acta Neuropath*, 1984, 62: 209-218.
- [7] Nikonenko AG, Radenovic L, Andjus PR, et al. Structural features of ischemic damage in the hippocampus[J]. *Anat Rec (Hoboken)*, 2009, 292(12): 1 914-921.
- [8] 唐万春, 孙士杰. 心肺脑复苏及心脑血管急诊: 从基础科学到临床实践[C]. 中国: 北京科技出版社, 2008, 58-64.
- [9] Pinheiro AC, da Silva AJ, Prado MA, et al. Phoneutria spider toxins block ischemia-induced glutamate release, neuronal death, and loss of neurotransmission in hippocampus[J]. *Hippocampus*, 2009, 19(11): 1 123-129.
- [10] Ketheeswaranathan P, Turner NA, Spary EJ, et al. Changes in glutamate transporter expression in mouse forebrain areas following focal ischemia[J]. *Brain Res*, 2011, 18 (1 418): 93-103.
- [11] Liu AJ, Hu YY, Li WB, et al. Cerebral ischemic preconditioning enhances the binding characteristics and glutamate uptake of glial glutamate transporter-1 in hippocampal CA1 subfield of rats[J]. *J Neurochem*, 2011, 119 (1): 202-209.
- [12] Muller E, Bakkar W, Martina M, et al. Vesicular storage of glycine in glutamatergic terminals in mouse hippocampus[J]. *Neuroscience*, 2013, 242: 110-127.
- [13] Noh KM, Yokota H, Mashiko T, et al. Blockade of calcium-permeable AMPA receptors protects hippocampal neurons against global ischemia-induced death[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(34): 12 230-235.
- [14] Takagi N, Besshoh S, Marunouchi T, et al. Effects of metabotropic glutamate mGlu5 receptor antagonist on tyrosine phosphorylation of NMDA receptor subunits and cell death in the hippocampus after brain ischemia in rats [J]. *Neurosci Lett*, 2012, 530(1): 91-96.
- [15] Abramov AY, Scorziello A, Duchen MR. Three distinct mechanisms generate oxygen free radicals in neurons and contribute to cell death during anoxia and reoxygenation [J]. *J Neurosci*, 2007, 27(5): 1 129-138.
- [16] Liu K, Yu P, Lin Y, et al. Online electrochemical monitoring of dynamic change of hippocampal ascorbate: toward a platform for in vivo evaluation of antioxidant neuroprotective efficiency against cerebral ischemia injury[J]. *Anal Chem*, 2013, 85(20): 9 947-954.
- [17] Yabuki Y, Fukunaga K. Oral administration of glutathione improves memory deficits following transient brain ischemia by reducing brain oxidative stress[J]. *Neuroscience*, 2013, 250: 394-407.
- [18] Al-Majed AA. Probucol attenuates oxidative stress, energy starvation, and nitric acid production following transient forebrain ischemia in the rat hippocampus[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2011, 2011: 471 590.
- [19] Yousuf S, Atif F, Ahmad M, et al. Resveratrol exerts its neuroprotective effect by modulating mitochondrial dysfunctions and associated cell death during cerebral ischemia[J]. *Brain Res*. 2009, 1250: 242-253.
- [20] Armogida M, Spalloni A, Amantea D, et al. The protective role of catalase against cerebral ischemia in vitro and in vivo [J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*, 2011, 24 (3): 735-747.
- [21] Lee D, Park J, Yoon J, et al. Neuroprotective effects of *Eleutherococcus senticosus* bark on transient global cerebral ischemia in rats[J]. *J Ethnopharmacol*, 2012, 139 (1): 6-11.
- [22] Chen SD, Lin TK, Lin JW, et al. Activation of calcium/calmodulin-dependent protein kinase IV and peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1 α signaling pathway protects against neuronal injury and promotes mitochondrial biogenesis in the hippocampal CA1 subfield after transient global ischemia[J]. *J Neurosci Res*, 2010, 88(14): 3 144-154.

- [23] Stetler RA, Gao Y, Zukin RS, et al. Apurinic/aprimidinic endonuclease APE1 is required for PACAP-induced neuroprotection against global cerebral ischemia[J]. *Proc Natl Acad Sci US A*, 2010, 107(7): 3 204-209.
- [24] Yu JT, Lee CH, Yoo KY, et al. Maintenance of anti-inflammatory cytokines and reduction of glial activation in the ischemic hippocampal CA1 region preconditioned with lipopolysaccharide[J]. *J Neurol Sci*, 2010, 296(1-2): 69-78.
- [25] Park JW, Jang YH, Kim JM, et al. Green tea polyphenol (-)-epigallocatechin gallate reduces neuronal cell damage and up-regulation of MMP-9 activity in hippocampal CA1 and CA2 areas following transient global cerebral ischemia[J]. *J Neurosci Res*, 2009, 87(2): 567-575.
- [26] Babcock A A, Wirenf eldt M, Holm T, et al. Toll like receptor 2 signaling in response to brain injury: an innate bridge to neuroinflammation [J]. *J Neurosci*, 2006, 26(49): 12 826-837.
- [27] Caso J R, Pradillo JM, Hurtado O, et al. Tol-l like receptor 4 is involved in brain damage and inflammation after experimental stroke [J]. *Circulation*, 2007, 115: 1 599-608.
- [28] Lim DW, Lee C, Kim IH, et al. Anti-inflammatory effects of total isoflavones from *Pueraria lobata* on cerebral ischemia in rats [J]. *Molecules*, 2013, 18(9): 10 404-412.
- [29] Kim JM, Kim S, Kim DH, et al. Neuroprotective effect of forsythiaside against transient cerebral global ischemia in gerbil[J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 660(2-3): 326-333.
- [30] Kamide T, Kitao Y, Takeichi T, et al. RAGE mediates vascular injury and inflammation after global cerebral ischemia[J]. *Neurochem Int*, 2012, 60(3): 220-228.
- [31] Zhu H, Yoshimoto T, Imajo-Ohmi S, et al. Why are hippocampal CA1 neurons vulnerable but motor cortex neurons resistant to transient ischemia [J]? *J Neurochem*, 2012, 120(4): 574-585.
- [32] Okamoto M, Matsumoto M, Ohtsuki T, et al. Intenucleosomal DNA cleavage involved in ischemia induced neuronal death[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1993, 196: 1 356.
- [33] Yonekura I, Takai K, Asai A, et al. p53 potentiates hippocampal neuronal death caused by global ischemia[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2006, 26(10): 1 332-340.
- [34] Thal SE, Zhu C, Thal SC, et al. Role of apoptosis inducing factor (AIF) for hippocampal neuronal cell death following global cerebral ischemia in mice [J]. *Neurosci Lett*, 2011, 499(1): 1-3.
- [35] Strosznajder R, Gajkowska B. Effect of 3-aminobenzamide on Bcl-2, Bax and AIF localization in hippocampal neurons altered by ischemia-reperfusion injury. the immunocytochemical study [J]. *Acta Neurobiol Exp (Wars)*, 2006, 66(1): 15-22.
- [36] Han B, Wang Q, Cui G, et al. Post-treatment of Bax-inhibiting peptide reduces neuronal death and behavioral deficits following global cerebral ischemia[J]. *Neurochem Int*, 2011, 58(2): 224-233.
- [37] Qi D, Liu H, Niu J, et al. Heat shock protein 72 inhibits c-Jun N-terminal kinase 3 signaling pathway via Akt1 during cerebral ischemia[J]. *J Neurol Sci*, 2012, 317(1-2): 123-129.
- [38] Ding ZM, Wu B, Zhang WQ, et al. Neuroprotective Effects of Ischemic Preconditioning and Postconditioning on Global Brain Ischemia in Rats through the Same Effect on Inhibition of Apoptosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2012, 13(5): 6 089-101.
- [39] Moon JM, Xu L, Giffard RG. Inhibition of microRNA-181 reduces forebrain ischemia-induced neuronal loss[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2013, 33(12): 1 976-982.
- [40] Cimarosti H, OShea RD, Jones NM, et al. The effects of estradiol on estrogen receptor and glutamate transporter expression in organotypic hippocampal cultures exposed to oxygen-glucose deprivation[J]. *Neurochem Res*, 2006, 31(4): 483-490.
- [41] Lee JC, Park JH, Yan BC, et al. Effects of transient cerebral ischemia on the expression of DNA methyltransferase 1 in the gerbil hippocampal CA1 region[J]. *Neurochem Res*, 2013, 38(1): 74-81.
- [42] 毛伦林, 管阳太, 毛晓薇, 等. 急性高血糖对大鼠脑缺血再灌注损伤的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2012, 20(8): 698-707.
- [43] Liu C, Gao Y, Barrett J, et al. Autophagy and protein aggregation after brain ischemia[J]. *J Neurochem*, 2010, 115(1): 68-78.

(此文编辑 李小玲)