

预运动训练对脑梗死大鼠脑保护作用的 兴奋性氨基酸递质效应*

胡永善¹ 贾杰¹ 吴毅¹ 刘罡¹ 于惠贤¹ 曹志娟² 夏春梅³

摘要 目的:动态观察预运动训练对大鼠脑梗死后纹状体处兴奋性氨基酸水平变化的影响,探讨预运动对缺血脑损伤的保护作用机制。**方法:**将 SD 大鼠随机分为 5 组,每组实验用时均为 4 周:运动 1 周组(运动训练 1 周,在第 4 周实施),运动 2 周组(运动训练 2 周,在后 2 周实施),运动 4 周组(运动训练 4 周),假手术组和缺血组。各组大鼠在 4 周后,立体定位在脑内纹状体(尾状核)留置微透析管,进行大脑中动脉缺血术,采用在体微透析技术收集大鼠缺血前、缺血期间(40, 80 和 120min)和再灌注后(40, 80, 120, 160, 200 和 240min)的脑细胞外液。测定纹状体(尾状核)脑区兴奋性氨基酸谷氨酸(Glu)和天门冬氨酸(Asp)含量的变化。同时测量计算缺血再灌注 24h 的脑梗死体积。**结果:**2 周和 4 周的预运动训练可以显著下调因缺血而过度释放的 Glu 和 Asp 水平($P<0.01$)。缺血再灌注 24h 的不同组的脑梗死体积变化差异有显著意义($P<0.05$)。**结论:**至少 2 周的预运动训练对随后发生的脑缺血及再灌注期间,纹状体(尾状核)脑区内兴奋性氨基酸递质 Glu 和 Asp 的过度释放有一定程度的抑制作用,这种抑制效应对早期缺血脑损伤具有一定的保护作用。

关键词 脑梗死;预运动;脑内微透析;兴奋性氨基酸;脑保护

中图分类号:R743.3,R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2008)-07-0589-05

The effect of treadmill pre-training on the brain protection in rat's cerebral infarction with the excitatory amino acid neurotransmitter dynamic changes/HU Yongshan, JIA Jie, WU Yi, et al./Chinese Journal Rehabilitation Medicine, 2008, 23(7): 589—593

Abstract Objective:To observe the dynamic effects of treadmill pre-training on excitatory amino acid changes in striatum of rats with cerebral infarction and to explore the mechanism of pretraining protection to ischemic brain injury. **Method:** Sprague-Dawley rats were randomly divided into 5 groups: two control groups (sham and ischemia), 1 week group (trained in the fourth week), 2 weeks group(trained in the last two weeks) and 4 weeks group. After four weeks, the rats were fixed on stereotactic orientation for the brain microdialysis of the striatum. Then the model of middle cerebral artery ischemia and reperfusion was made with thread occlusion in rats and microdialysis technique was used to collect extracellular fluid in each time point of preischemic, ischemic (40th min, 80th min, 120th min), and reperfusion (40th min, 80th min, 120th min, 160th min, 200th min, 240th min) to inspect the changes of excitatory amino acid glutamate(Glu) and aspartate(Asp) content with the main reference values. At the same time infarct volumes of brains at ischemia-reperfusion 24 hours were measured. **Result:** Two weeks and four weeks treadmill pre-training could significantly reduce Glu and Asp excessive release due to ischemia ($P<0.01$, $P<0.01$). Infarct volume changes at ischemia-reperfusion 24 hours in different groups had a significant difference ($P<0.05$). **Conclusion:** At least two weeks treadmill pre-training can in a certain degree restrain excessive release of the important excitatory amino acid neurotransmitter glutamate and aspartate in striatum in the process of subsequent ischemic-reperfusion brain injury, which may be one of the protection mechanisms for the early ischemic brain injury.

Author's address Dept. of Rehabilitation, Huashan Hospital, Fudan University, Shanghai, 200040

Key words brain microdialysis; cerebral infarction; treadmill pre-training; excitatory amino acids; cerebral protection

电动跑台运动训练已被证明可有效地改善下肢运动功能,对于急性和慢性的脑卒中患者都是有效的训练方法^[1-3]。研究发现,缺血前给予预运动训练可以提高脑缺血沙鼠的存活率^[4]。长期的有氧训练可以减少大鼠脑血管的血栓形成,提示这种运动训练方法可能对血管也有一定的保护作用^[5]。另有试验表明^[6],预运动训练可以通过减轻缺血动物的脑水肿来

* 基金项目:国家自然科学基金(30772300);中国博士后基金(20070420597)

1 复旦大学附属华山医院康复医学科,复旦大学神经生物学国家重点实验室,复旦大学上海医学院康复与运动医学系,上海乌鲁木齐中路 12 号,200040

2 复旦大学药学院药物分析所

3 复旦大学医学院生理病理学系

作者简介:胡永善,男,教授,主任医师

收稿日期:2008-05-15

减小脑梗死体积。对于这种保护作用,我们前期的研究结果显示与大鼠随后发生的脑缺血急性/早期,缺血侧纹状体(尾状核)处谷氨酸含量下调的动态变化有关,而兴奋性氨基酸(excitatory amino acids, EAAs)天门冬氨酸(Aspartate, Asp)除具有 EAAs 毒性作用外,对谷氨酸(Glutamate, Glu)还起到调质的作用^[7],两者在脑缺血的神经功能损害中共同作用。本研究希望通过对预先电动跑台运动训练的大鼠随后发生的脑缺血急性/早期,缺血侧纹状体(尾状核)处 Glu 和 Asp 含量的动态变化的观察,来进一步探讨预运动训练对缺血脑损伤保护作用的兴奋性氨基酸递质效应。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

所有的试验都在遵照国际动物保护和使用指南下实施。选取 2—3 月龄,体重 250—300g,清洁级雄性 SD 大鼠 30 只(由中国科学院上海实验动物中心提供)。

饲养方法:每笼 2 只,每天光照 12h,提供富含碘酸钾的水和食物。将大鼠随机分为 5 组:假手术组、缺血组和运动 4 周组、2 周组、1 周组,每组 6 只。

1.2 运动训练方法

所有预运动干预组(以下简称为运动组)大鼠在正式运动训练开始前经历 2d 适应性跑步训练,5—8m/min,每天 30min。运动 4 周组在适应性跑步训练后,开始进行 20m/min,每日 30min,每周 5d 的电动跑台(立泰生物科技有限公司制造 DSPT-202 型五跑道电动跑台)运动训练,共 4 周;运动 2 周组在适应性跑步训练后,在整个实验 4 周中的后 2 周进行 20m/min,每日 30min,每周 5d 的电动跑台运动训练;运动 1 周组在适应性跑步训练后,在整个实验 4 周中的最后 1 周进行 20m/min,每天 30min,每周 5d 的电动跑台运动训练。假手术组和缺血组大鼠进行 4 周的自由活动^[8]。

各组大鼠其他生活条件相同。跑台参数:平板斜度:0°。履带传输速度:20m/min。

1.3 植入微透析留置管和复制脑缺血(middle cerebral artery occlusion, MCAO)模型

置微透析留置管:运动训练结束后,大鼠在麻醉状态下于立体定位仪上,切开头皮,暴露颅骨,取前囟后尾侧 0.4mm,前后正中向左 4mm,深 3.0mm 处钻 2mm 大小的孔,将一自制不锈钢套留置管植入大鼠纹状体(尾状核)区,并用牙托粉固定。

MCAO 模型:将置好留置管的大鼠仰卧位放在头下有一直径 2cm 洞的木板上(预防留置的透析管脱落)。参照 Longa^[9]方法制备大鼠大脑中动脉缺血模型。假手术组仅分离颈总动脉、颈外动脉和颈内动脉,不予结扎和放置线栓。大鼠麻醉清醒后参考 Longa 的方法进行 5 分制评分,0 分为无神经系统症状,1 分为不能完全伸展对侧前爪,2 分为爬行时转圈,并向对侧倾倒,3 分为不能自行行走,4 意识丧失。以 1—3 分为造模成功入选标准。

1.4 微透析采样

人工脑脊液:采用人工脑脊液作为脑内微透析灌流液,用 MD21001 型针管式微量注射泵进样^[10]。

微透析采样方法:将大鼠麻醉后取俯卧位,水平固定在立体定位仪上取样:①将平衡好的微透析探针插入事先埋好留置管的大鼠脑内,将微透析探头(有效透析膜长度 4 mm, MAB6.14.4 探针, Stainless Steel)经留置管插入脑内,入口端通过塑料导管与微透析泵(MD-0100, bioanalytical system, USA)的注射器相连,出口端通过导管连接 0.5ml 离心管以收集透析液用于高效液相测定。②将平衡好的微透析探针插入事先埋好留置管的大鼠脑内,在 1μl/min 流速下平衡 90min,将所有流出液收集至一个微量管里。③收集对照液:在以 2ml/min 的流速在纹状体(尾状核)进行微透析,测定透析液中 Glu 和 Asp 含量的变化。每 10min 收集的透析液为 1 管,共 20ml(本实验中所收集的透析液均为 20ml,以下省略),插入线栓前收集 1 管,插入线栓即刻开始每间隔 40 min 收集一管共 3 管(第 40、80 和 120min),再灌注后即刻开始每间隔 40min 收集一管共 6 管(第 40、80、120、160、200 和 240min)。整个过程共收集 10 管透析液。动物实验结束后用高效液相色谱-荧光检测法测定透析液中 Glu 和 Asp 含量的变化。

1.5 Glu 和 Asp 含量测定

以高丝氨酸为内标,OPA 柱前衍生法对所取微透析样品进行高效液相色谱分析^[11]。以保留时间定性,峰面积内标法定量。

1.6 各组间脑梗死体积测量

微透析实验结束后 24h 大鼠参照文献[12]方法处死并取脑测量脑梗死体积。

1.7 统计学分析

应用统计软件 SPSS13.0 进行统计分析, $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义。数据描述采用均数±标准差表示,采用两因素方差分析,单个时间点下采用单因素方差分析,组间两两比较采用 Tukey 法。

2 结果

组别因素具有非常显著差异 ($P<0.001$), 时间也存在非常显著差异 ($P<0.001$), 组别因素和时间因素的交互作用差异也存在显著性, 具体分析见如下不同时间点统计分析结果。

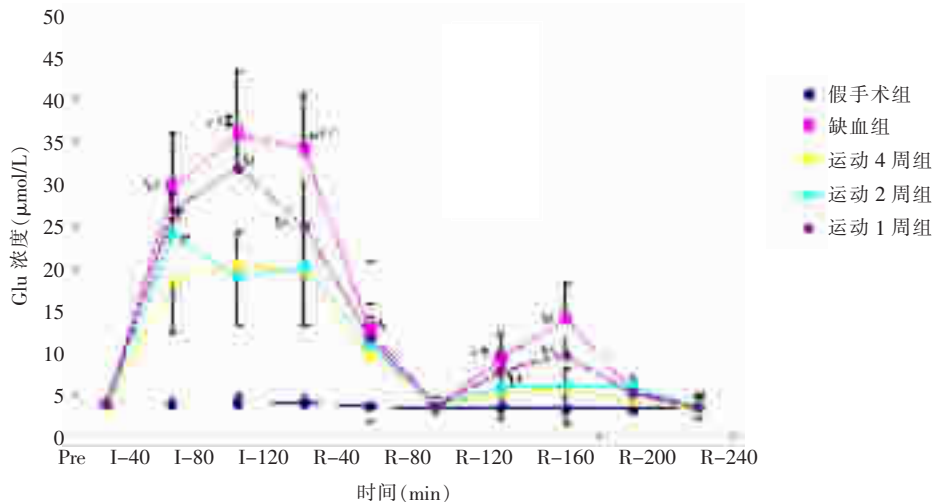


图 1 大鼠脑缺血再灌注期间纹状体透析液中 Glu 的变化

($\mu\text{mol/L}$, $n=6$)

Pre 表示缺血前, I-表示缺血期间, R-表示再灌注后

表示该组与 4 周运动组比较 $P<0.05$; * 表示该组与 2 周运动组比较 $P<0.05$; \$ 表示该组与 1 周运动组比较 $P<0.05$

表 1 各组大鼠脑缺血再灌注期间纹状体透析液中谷氨酸的变化

($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{mol/L}$)

组别	缺血前	缺血后			再灌注后					
		40min	80min	120min	40min	80min	120min	160min	200min	240min
假手术组	3.79±0.72	3.82±0.98	4.00±0.93	4.13±0.93	3.77±1.35	3.33±1.00	3.41±0.81	3.32±0.90	3.37±1.02	3.32±0.71
缺血组	3.81±0.84	29.71±6.16	35.81±7.40	34.12±6.18	12.76±7.90	3.74±0.81	9.22±3.20	13.91±4.34	5.31±1.29	3.70±1.30
运动 4 周组	3.74±0.53	18.42±4.95	20.51±5.41	19.53±4.32	9.76±3.23	3.71±0.91	5.34±1.69	5.87±2.07	4.04±1.11	3.34±0.92
运动 2 周组	3.79±0.75	23.85±5.40	18.77±4.07	20.12±4.15	10.82±3.59	3.69±1.13	5.94±1.70	6.17±1.68	5.99±1.08	3.64±0.79
运动 1 周组	3.78±0.98	26.86±4.62	31.68±4.79	25.12±5.23	11.82±4.06	3.75±1.10	7.94±2.15	9.60±2.25	5.08±1.03	3.54±0.70

行比较, 无显著差异, 说明 Glu 的水平不发生变化, 数据可作为基线值。

缺血组大鼠 Glu 横向时间点之间进行比较, 有显著差异。采用 Tukey 法进行时间点的两两比较, 缺血开始后 Glu 开始升高, Glu 在第 80—120min 时达到并保持最高水平 (基线的 9.1 倍)。再灌注后, Glu 在第 80min 时下降至基线水平, 随后又回升, 至第 160min 时达 2 次升高高峰 (基线的 3.5 倍), 第 200min 后又降至基线, 直至第 240min 透析实验结束时一直保持在基线水平。

经过预运动训练的大鼠, 在随后发生的缺血过程中 Glu 释放水平发生变化的时间因素与缺血组基本一致, 但是, 运动 4 周、2 周和 1 周组 Glu 第 1 次升高分别是基线水平的 5.5 倍、4.9 倍和 8.4 倍, 再灌注后的第 1 次升高则分别是基线水平的 1.6 倍、1.6 倍和 2.5 倍。整个过程中, 运动 4 周、2 周组的 Glu 的数值普遍低于缺血组的数值 ($P<0.01$, $P<0.05$), 说明 4 周、2 周的预运动都可显著抑制缺血急性期的 Glu 释放。而预运动 1 周组的数值略低于缺血组 ($P>$

2.1 各组 Glu 动态变化结果

见图 1。

2.2 不同运动时间各组 Glu 水平统计分析结果

见表 1。

本实验中假手术组大鼠 Glu 横向时间点之间进

0.05), 说明预运动 1 周对随后发生缺血急性期的 Glu 释放影响不明显。

2.3 各组 Asp 动态变化结果

见图 2。

2.4 不同运动时间各组 Asp 水平统计分析结果

见表 2。

本实验中假手术组大鼠 Asp 变化趋势及意义同 Glu。缺血组大鼠 Asp 水平变化与 Glu 不同。Asp 在第 80—120min 时达到并保持最高水平 (基线的 3.6 倍)。再灌注后, Asp 在第 120min 时下降至基线水平 (略晚于 Glu), 随后又回升, 同样在第 160min 时达 2 次升至高峰 (基线的 2.0 倍), 且这种升高一直持续在第 240min 实验结束时。

经过预运动训练的大鼠, 在随后发生的缺血过程中 Asp 释放水平发生变化的时间因素与缺血组基本一致, 但是, 运动 4 周、2 周和 1 周组 Asp 第 1 次升高分别是基线水平的 2.3、2.5 和 3.3 倍, 降至正常的时间在再灌注 120min 时, 均略晚于 Glu。再灌注后的第 2 次升高则分别是基线水平的 1.2、1.3 和

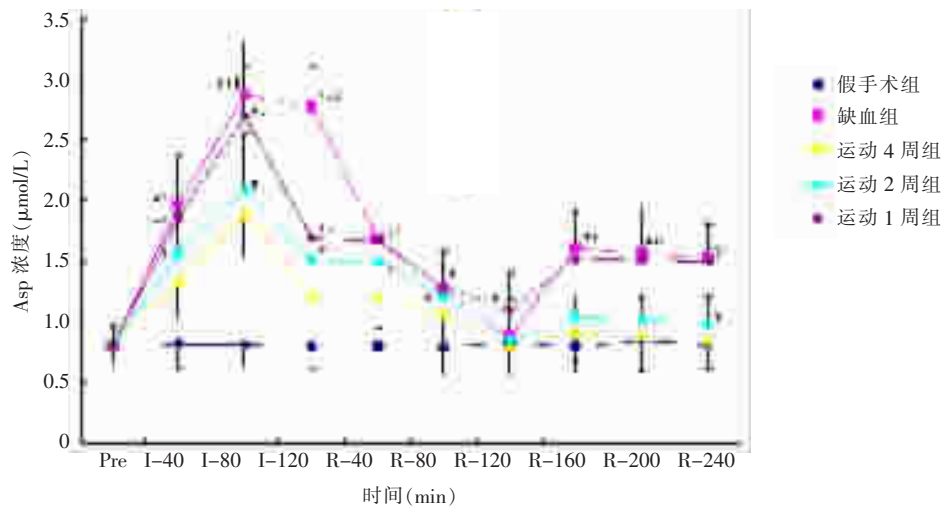


图2 大鼠脑缺血再灌注期间纹状体透析液中 Asp 的变化

(μmol/L, n=6)

Pre 表示缺血前, I-表示缺血期间, R-表示再灌注后; # 表示该组与 4 周运动组比较 $P<0.05$; * 表示该组与 2 周运动组比较 $P<0.05$; \$ 表示该组与 1 周运动组比较 $P<0.05$ 。

表2 各组大鼠脑缺血再灌注期间纹状体透析液中天门冬氨酸的变化

($\bar{x} \pm s$, μmol/L)

组别	缺血前	缺血后			再灌注后					
		40min	80min	120min	40min	80min	120min	160min	200min	240min
假手术组	0.79±0.15	0.82±0.21	0.81±0.19	0.79±0.18	0.80±0.29	0.78±0.23	0.83±0.20	0.79±0.21	0.84±0.25	0.81±0.17
缺血组	0.79±0.17	1.97±0.41	2.86±0.45	2.77±0.33	1.68±0.36	1.29±0.28	0.88±0.31	1.60±0.31	1.56±0.38	1.52±0.31
运动4周组	0.80±0.11	1.32±0.30	1.89±0.36	1.23±0.27	1.21±0.27	1.06±0.26	0.81±0.26	0.91±0.24	0.88±0.24	0.83±0.23
运动2周组	0.81±0.16	1.56±0.35	2.09±0.45	1.51±0.31	1.48±0.34	1.21±0.29	0.84±0.19	1.03±0.18	1.01±0.18	0.98±0.21
运动1周组	0.80±0.21	1.86±0.32	2.69±0.41	1.69±0.35	1.67±0.34	1.28±0.29	1.10±0.30	1.52±0.36	1.51±0.31	1.50±0.30

1.9 倍。且这种升高一直持续至第 240min 实验结束时。整个过程中,运动 4 周、2 周组的 Asp 的数值普遍低于缺血组的数值($P<0.01$, $P<0.05$),说明 4 周、2 周的预运动都可显著抑制缺血急性期的 Asp 的释放。而预运动 1 周组的数值略低于缺血组($P>0.05$),说明预运动 1 周对随后发生缺血急性期的 Asp 释放影响不明显。

2.5 不同组间脑梗死体积统计分析结果

单因素方差分析整体比较结果: $F=67.713$, $P=0.000$,再进行组间两两比较,结合表 3 可知,缺血组的缺血体积最大,运动 4 周组缺血体积最小,其次为运动 2 周组、运动 1 周组,差别具有显著意义($P<0.05$);说明运动 4 周组预防效果最好,其次为运动 2 周组,而运动 1 周组最差。

表3 各组微透析结束 24h 时脑梗死体积 ($\bar{x} \pm s$, mm³)

组别	例数	缺血体积
假手术组	6	0.0±0.0
缺血组	6	177.8±14.3
运动4周组	6	102.5±6.5
运动2周组	6	121.4±7.5
运动1周组	6	162.5±11.5

各组组间比较均有 $P<0.05$

3 讨论

脑梗死的发作是致命性的,其临床治疗效果和预后都很差,所以探索发病前的有效预防性干预非

常必要^[13]。

大量研究表明:脑梗死后持续的缺血缺氧会导致谷氨酸的过度释放并大量激活谷氨酸受体,从而引起神经毒性^[14]。这些升高的兴奋性神经递质引发突触后膜的去极化,大量正电荷内流从而导致细胞死亡^[15]。关于缺血后谷氨酸水平的变化,Matsumoto^[16]采用永久性缺血模型发现谷氨酸在缺血后急剧上升,在坏死区高于半暗带区并可持续 15h。但是,微透析插管造成的脑损伤可能也引起了谷氨酸的增加。谷氨酸在缺血期第 30—120min 内明显升高,然后返回到基线。但在缺血和再灌注 2h 之后又出现第 2 次高峰,并持续 2h 以上。永久性缺血后,谷氨酸水平持续升高达 6h,短暂缺血两小时的 MCAO 核团内谷氨酸水平升高 2h 后返回基线水平,随后于再灌注 2h 后又会出现第 2 高峰并持续 2h^[17]。

本研究采用脑内微透析技术重点观察了预运动训练,对缺血急性/早期 Glu 和 Asp 两种兴奋性氨基酸的动态变化过程。研究表明,对假手术组 Glu 和 Asp 浓度横向时间点之间进行比较,无显著差异,说明其水平不发生变化;对缺血组, Glu 和 Asp 浓度横向时间点之间进行比较,有显著差异;采用 Tukey 法再进行组间两两比较, Glu 和 Asp 浓度缺血后的升高及缺血再灌注后的下降,以及缺血再灌注时发生 2 次升高现象均较明显,与 Melani^[17]的研究结果

一致,说明本研究方法较为可靠。

本实验观察到,预运动 4 周、2 周和 1 周均可使随后发生的缺血期间/再灌注期间 Glu 和 Asp 释放浓度在横向时间点的动态变化过程发生下调。说明预运动训练对随后发生的脑缺血的可能保护作用机制之一,是在缺血急性/早期抑制了神经毒性递质 Glu 和 Asp 的释放。比较预运动训练 4 周、2 周和 1 周对随后发生的缺血期间/再灌注期间 Glu 和 Asp 释放的影响发现,4 周和 2 周的预先电动跑台运动训练能产生对随后发生的缺血期间及再灌注期间 Glu 和 Asp 的动态影响具有显著意义 ($P<0.01$, $P<0.05$)。而 1 周的预运动训练虽然对随后发生的缺血期间及再灌注期间 Glu 和 Asp 的动态有影响,但与手术组比较,其影响不具有显著意义 ($P>0.05$)。说明至少 2 周的预运动训练可对随后发生的缺血期间/再灌注期间 Glu 和 Asp 释放产生具有显著意义的抑制性影响。研究还发现,预运动训练 4 周和 2 周,对随后发生的缺血/再灌注时发生的 2 次升高现象的下调均非常明显 ($P<0.001$)。脑梗死体积的减小是上述结果的形态学证据。

研究中,对 5 组实验动物结果造成影响的因素可能是一致的。所有的动物都是相同的种属、性别、相对年龄和体重,并随机分配给不同的实验组中,控制体温、术前准备、缺血后处理的操作人员是相同的。运动前后,我们也观察了动物的心功能指标,认为 20m/min 的电动跑台运动对动物心功能指标没有产生不良影响。实验中有 7 只大鼠死在缺血过程中,这 7 只大鼠分别分布在缺血组 3 只,运动 2 周组 1 只,运动 1 周组 3 只。

综上所述,预运动训练可减小随后发生的脑缺血损伤的脑梗死体积,对脑缺血损伤具有一定的保护作用。这种保护作用可能是通过下调缺血急性/早期 Glu 和 Asp 的释放,抑制了 Glu 和 Asp 产生的神经毒性效应。但是,这种影响还只是一个客观现象的描述,至于期间保护性氨基酸递质 γ -氨基丁酸发生了何种变化及 Glu 变化后的受体机制,还有待研究。由以上研究结果可知运动训练是一种易于接受的可以减轻随后发生的脑缺血的有效措施。

参考文献

[1] 刘传玉,梅元武,张小乔.运动训练对大鼠局灶性脑缺血后微血管新生的影响[J].中国康复医学杂志,2006,21(1):53—56.

- [2] 徐丽丽,白玉龙,胡永善,等.运动训练改善脑缺血大鼠梗死体积与神经行为能力的实验研究 [J]. 中国康复医学杂志,2008,23(12):100—102.
- [3] 蒙兰青,廖维靖,杨万同,等.运动训练对大鼠局灶性脑缺血再灌注后功能恢复及 VEGF 表达的影响 [J]. 中国康复医学杂志,2006,21(3):197—199.
- [4] Stummer W, Weber K,Tranmer B, et al. Reduced mortality and brain damage after locomotor activity in gerbil forebrain ischemia[J]. Stroke, 1994, 25(9):1862—1869.
- [5] Sasaki Y, Morimoto A, Ishii I, et al. Preventive effect of long-term aerobic exercise on thrombus formation in rat cerebral vessels[J].Haemostasis, 1995,26(4):212—217.
- [6] Ray -Yau Wang, Yea -Ru Yang, Shang -Ming Yu.Protective effects of treadmill training on infarction in rats [J].Brain Res, 2001,922(1):141—143.
- [7] Giuffrida R, Malation LS, Bellomo M, et al. Immunohistochemical modifications of vasoactive neuropeptides and excitatory amino acids in the nervous tissue of the Mongolian gerbil after transient cerebral ischemia [J] . Int J Dev Neurosci,1999,17(2):99—107.
- [8] 郑庆萍,胡永善,白玉龙,等.康复训练对脑血损伤大鼠血管生成素的影响[J].中国康复医学杂志,2007,22(3):193—196.
- [9] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989, 20(1):84—91.
- [10] 顾拥军,倪文,包维丽,等.反相高效液相色谱荧光法测定氨基酸类神经递质[J].上海医科大学学报,1995. 22 (3):210—212.
- [11] 吴强恩,郑力行,谢芳,等.反相高效液相色谱荧光法测定大鼠脑组织中氨基酸类神经递质 [J]. 复旦大学学报,2005,32(3):255—258.
- [12] Yea -Ru Yang, Ray -Yau Wang, Paulus Shyi -Gang Wang. Early and late treadmill training after focal brain ischemia in rats[J]. Neuroscience Letters, 2003, 339(2):91—94.
- [13] Paganini A, Ross R, Henderson B. Postmenopausal oestrogen treatment and stroke: a prospective study[J].Br Med J,1988,297(6647):519—522.
- [14] Fujimoto S, Katsuki H, Kume T, et al.Mechanisms of oxygen glucose deprivation -induced glutamate release from cerebrocortical slice cultures[J].Neurosci Res,2004,50(2): 179—187.
- [15] Djuricic B. Glutamate in brain: transmitter and poison[J]. Glas Srp Akad Nauka,2002,47(1):55—76.
- [16] Matsumoto K,Graf R,Roener G, et al. Elevation of neuroactive substance in the cortex of cats during prolonged focal ischemia[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1993,13(4):586—594.
- [17] Melani A,Pantoni L,Corsi C,et al.Striatal outflow of adenosine, excitatory amino acids, gamma-aminobutyric acid, and taurine in awake freely moving rats after middle cerebral artery occlusion: correlations with neurological deficit and histopathological damage[J]. Stroke, 1999,30(11):2448—2454.