

◁ 中枢神经影像学 ▷

缺血缺氧性脑损伤后 Glu-CEST 成像可视化评估谷氨酸含量及其相关蛋白表达的研究

赵思嘉, 张 琴, 郑 阳

(中国医科大学附属盛京医院放射科, 辽宁 沈阳 110004)

[摘要] 目的:联合谷氨酸(Glu)-化学交换饱和转移(CEST)成像验证 Glu 代谢及其转运体受体在缺血缺氧性脑损伤(HIBI)后的作用与机制。方法:选用出生 3~5 d、体质量 1~1.5 kg 的新生猪 24 头,随机分为对照组 4 头,HIBI 组 20 头(根据 HIBI 后时间点分为 0~6 h、6~12 h、12~24 h、24~48 h、48~72 h 组,每组 4 头),通过 7.0T MR Glu-CEST 成像检测 HIBI 后不同时间基底节区 Glu 含量的变化,采用 Western blot 实验观察 Glu 转运体受体(vGLUT1、NMDAR2A、mGluR2+3)的表达情况并进行相关分析, $P<0.05$ 为有统计学差异。结果:与对照组相比,HIBI 组 Glu-CEST 效应值呈“双峰样”改变,于 6~12 h、24~48 h 达到峰值($P<0.001$)。与对照组相比,vGLUT1 表达在 HIBI 后 0~6 h 升高,6~12 h 略降低,12~24 h 升高并达到峰值($P<0.001$),此后下降;NMDAR2A 表达在 0~6 h 明显降低,此后增加,24~48 h 再次降低($P<0.001$);mGluR2+3 表达逐渐上升,于 12~24 h 达到峰值($P<0.001$),随后减低。Glu-CEST 效应值与 NMDAR2A 表达水平呈负相关($r=-0.514, P=0.001$),vGLUT1 与 mGluR2+3 表达水平呈正相关($r=0.556, P=0.005$),NMDAR2A 与 mGluR2+3 表达水平在 HIBI 后 0~48 h 之间呈显著正相关($r=0.644, P=0.007$)。结论:Glu-CEST 成像能可视化评估新生猪 HIBI 后脑内 Glu 含量的变化及局部差异;Glu 相关蛋白在 HIBI 后的表达变化,可能揭示了大脑兴奋毒性脑损伤后的调控机制。

[关键词] 缺氧缺血,脑;脑损伤;磁共振成像**[中图分类号]** R743.31;R445.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1008-1062(2025)03-0153-05

DOI:10.12117/jccmi.2025.03.001

Glu-CEST imaging for visualized evaluation of glutamate content and related protein expression following hypoxic-ischemic brain injury

ZHAO Si-jia, ZHANG Qin, ZHENG Yang

(Department of Radiology, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, China)

Abstract: Objective: To validate the role and mechanism of glutamate (Glu) metabolism and its transporters/receptors in hypoxic-ischemic brain injury(HIBI) using Glu-CEST imaging. **Methods:** Twenty-four neonatal pigs(3~5 days old, weighing 1~1.5 kg) were randomly divided into a control group (n=4) and a HIBI group (n=20). The HIBI group was further divided into subgroups based on the time after HIBI (0~6 h, 6~12 h, 12~24 h, 24~48 h, 48~72 h; n=4 per subgroup). Changes in Glu levels in the basal ganglia at different time points after HIBI were detected using 7.0T MR Glu-CEST imaging. The expression of Glu transporters/receptors (vGLUT1, NMDAR2A, mGluR2+3) was observed using Western blot, and relevant correlations were analyzed. Statistical significance was set at $P<0.05$. **Results:** Compared with the control group, the Glu-CEST effect in the HIBI group exhibited a “double-peak” pattern, with peaks at 6~12 h and 24~48 h ($P<0.001$). Compared with the control group, vGLUT1 expression increased at 0~6 h after HIBI, slightly decreased at 6~12 h, increased again and reached its peak at 12~24 h ($P<0.001$), and then decreased. NMDAR2A expression significantly decreased at 0~6 h, increased thereafter, and decreased again at 24~48 h ($P<0.001$). The expression of mGluR2+3 gradually increased after HIBI, peaked at 12~24 h ($P<0.001$), and then decreased subsequently. Correlation analysis showed that the Glu-CEST effect was negatively correlated with NMDAR2A expression ($r=-0.514, P=0.001$). Additionally, vGLUT1 expression was positively correlated with mGluR2+3 expression ($r=0.556, P=0.005$), and NMDAR2A was positively correlated with mGluR2+3 expression during the 0~48 h period after HIBI ($r=0.644, P=0.007$). **Conclusion:** Glu-CEST imaging can visually assess changes and regional differences in Glu levels in the brain following HIBI in neonatal pigs. The dynamic changes in Glu-related protein expression after HIBI may reveal the regulatory mechanism of excitotoxic brain injury.

Key words: Hypoxia-Ischemia, Brain; Brain Injuries; Magnetic Resonance Imaging

谷氨酸(Glutamate, Glu)化学交换饱和转移(Glu-weighted chemical exchange saturation transfer, Glu-

CEST)成像是近年来新兴的影像技术,其原理根据 Glu 中胺基质子与自由水之间的 CEST 效应,通过探测降

[收稿日期] 2024-12-18**[作者简介]** 赵思嘉(1998-)女,四川宜宾人,在读硕士研究生。E-mail: zsj928966389@gmail.com**[通信作者]** 郑阳,中国医科大学附属盛京医院放射科,110004。E-mail: zhengyang19871114@163.com**[基金项目]** 国家自然科学基金青年基金项目(81801658);辽宁省科技计划联合计划项目(No. 2024-MSLH-565)。

低的水信号,间接反映 Glu 分子在组织中的含量^[1]。

中重度的新生儿缺氧缺血性脑损伤(Hypoxic-ischemia brain injury, HIBI)会诱发 Glu 兴奋毒性改变^[2],Glu 的再摄取障碍,会导致 Glu 受体的过度激活,引起兴奋毒性,并激活神经元中的凋亡相关信号通路,调节神经元死亡^[3],Glu 受体特别是 N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)、II 组代谢型 Glu 受体(mGluR2/3),可以激活多种分子级联反应,驱动星形胶质细胞调节 Glu 细胞外水平及神经元 Glu 受体的活性^[4]。NMDAR 是中枢神经系统中的主要离子型 Glu 受体之一^[5],参与突触传递、突触可塑性和神经发育^[6],一般认为缺血期间 NMDAR2A 可介导细胞存活信号^[7]。含 NMDAR2A 的 NMDAR 更局限于突触位点,富集于突触后致密区(PSD),其通道特性可在突触后产生不同的钙动力学^[8]。mGluR2/3 能抑制突触前 Glu 释放和减少细胞凋亡^[9],在胶质细胞表达的 mGluR3 活化后能增强 Glu 的摄取,起到神经保护的作用^[10]。

星形胶质细胞主要通过 Glu 转运蛋白 EAAT2 摄取 Glu,以减少其在突触间隙中的积累,然后 Glu 转化为谷氨酰胺以供神经元摄取^[11],在神经元中,谷氨酰胺再次转化为 Glu,大部分 Glu 主要是通过囊泡型 Glu 转运体 1(vGLUT1)转运到突触囊泡(SV)中,因此,vGLUT1 在神经元 Glu 递送中起重要作用^[12]。

本研究利用新生猪 HIBI 模型,通过分析 HIBI 后 Glu-CEST 成像联合基底节 Glu 代谢及其相关蛋白表达的动态变化,研究 HIBI 后 Glu 相关蛋白的调控机制。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

选用出生 3~5 d 的健康新生猪共 30 头(约克夏猪),雌雄不限,体质量 1~1.5 kg,排除中途死亡、建模失败及运动伪影等 6 头,数据采集共纳入 24 头。随机分到对照组(n=4)和模型组(n=20)。模型组根据 HIBI 后 MR 扫描时间进一步分成 5 个时间段(0~6 h、6~12 h、12~24 h、24~48 h、48~72 h,每组 4 头)。所有实验动物由中国医科大学动物室提供,执行《实验动物管理条例》和《实验动物许可证管理办法》规定的标准(伦理批号:2023PS179K)。

1.2 动物模型制作

1.2.1 对照组

室内温度保持在 28℃~30℃,以 0.6 mL/kg 剂量对新生猪肌注速眠新注射液。气管插管(直径 2.5 mm),连接到 TKR-200C 小动物呼吸机,机械通气。100%氧呼吸机参数为呼吸比(I/E)1:1.5,呼吸频率 30 次/min,

压力 0.05~0.06 MPa。碘伏消毒颈部皮肤,正中切口,分离双侧颈总动脉,缝合切口,手术过程中用厚棉被仔细包裹,建模后立即放入保温箱内。全程严密监测心率、血氧饱和度。

1.2.2 模型组

新生猪模型组进行上述相同过程,在保温箱静置 30 min,状态稳定后,用动脉夹阻断双侧颈总动脉血流,同时机械通入 6%氧气,维持该状态 40 min,然后吸入 100%氧气,同时恢复双侧颈动脉血供,缝合切口。全程监控血氧饱和度及心率,待恢复自主呼吸后停用呼吸机。建模后立即放入保温箱内。

1.3 Glu-CEST 成像采集和处理

1.3.1 Glu-CEST 扫描

使用 7.0T 小动物 MR 扫描仪(TIME MEDICAL, TM7T310LS)进行扫描,采用 Q86mm 收发一体线圈进行头部定位扫描,轴位分别采集 T₂WI 和 Glu-CEST 序列。T₂WI 参数:FOV 70 mm×70 mm,TR 3 500 ms,TE 38.65 ms,层厚 3 mm,矩阵 256×192,每只小猪扫描 Glu-CEST 序列前对感兴趣区(Regions of interest, ROI)进行匀场,选择小猪基底节层面作为 Glu-CEST 的参考层面,Glu-CEST 参数:FOV 70 mm×70 mm,TR 5 000 ms,TE 11.65 ms,矩阵 64×64。

1.3.2 Glu-CEST 图像处理

采集的 Glu-CEST 原始数据使用 IDL 8.3 软件进行分析测量并重建伪彩图。在 7.0T MR 下,Glu 的 CEST 峰集中在+3 ppm 处。通过磁化转移率的不对称性定量分析 CEST 的对比度^[12],利用非对称分析方程式能计算得出 Glu-CEST 的量化参数图:CEST_{asym}($\Delta\omega$)=(Msat(- $\Delta\omega$)-Msat($\Delta\omega$))/Msat($\Delta\omega$)^[13]。Msat(- $\Delta\omega$)与 Msat($\Delta\omega$)是指分别向偏离水质子峰-3.0 ppm 及+3.0 ppm 处施加饱和脉冲后所获取的磁化率,Msat($\Delta\omega$)则指不施加饱和脉冲扫描所获取的图像。选取右侧基底节(图 1)为 ROI,由两名具有 3~4 年工作经验的影像诊断医师独立勾画 ROI,重复测量 3 次取平均值,对后处理 CEST 图像进行定量分析。

1.4 Western blot 实验及图像处理

模型建立后,迅速取出脑组织。每组称量新生猪的基底节组织 100 mg,加入裂解液研磨匀浆,将组织置于冰上裂解 30 min。离心后收集上清液至新的 1.5 mL 离心管中。将蛋白变性后,测定蛋白浓度,对已提取的蛋白进行电泳、转膜、封闭及孵育一二抗。Western blot 上样对照是 β actin 蛋白,使用兔多克隆抗 vGLUT1、NMDAR2A、mGluR2+3 抗体作为一抗,与辣根过氧化物酶(HRP)缀合的抗兔 IgG 孵育。使用 Tanon 成像系统(Tanon-4600)进行曝光,采用 Image J 软件对结果进行量化分析。

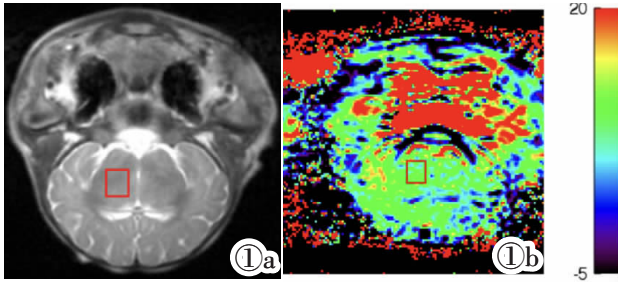


图 1 Glu-CEST 成像 ROI 定义。采用 T₂WI 轴位图像进行 ROI 选择,右侧基底节区作为 Glu-CEST 的 ROI。

Figure 1. Definition of ROI in Glu-CEST imaging. The ROI was selected using T₂WI axial images, with the right basal ganglia region chosen as the ROI for Glu-CEST.

1.5 统计学分析

使用 SPSS 26.0 软件对数据进行分析。用 Shapiro-Wilk 检验分析数据是否符合正态分布,不符合正态分布使用 Kruskal-Wallis 检验,若符合正态分布,采用 ANOVA 单因素方差分析数据是否符合

方差齐性,方差齐性数据采用 LSD-*t* 检验用于多组间的比较。方差不齐的数据采用 Tamhane's T₂ 检验进行比较,相关性分析采用 Pearson 分析。数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示。 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。采用 Graphpad Prism 9 绘制统计图像,* 表示 $P<0.05$ 。

2 结果

2.1 Glu-CEST 成像结果分析

Glu-CEST 成像用于评估 HIBI 后不同时间间隔基底节区 Glu 的变化。与对照组(4.547 ± 0.457)%相比,HIBI 组 Glu-CEST 效应值先升高,6~12 h 达到峰值,随后下降,24~48 h 再次升高,48~72 h 略下降。6~12 h (13.417 ± 0.749)%、24~48 h (14.604 ± 0.841)% 两次峰值与对照组存在统计学差异($P<0.01$)。模型组各时间点 Glu-CEST 效应值与对照组比较均有统计学差异($P<0.05$)(图 2)。

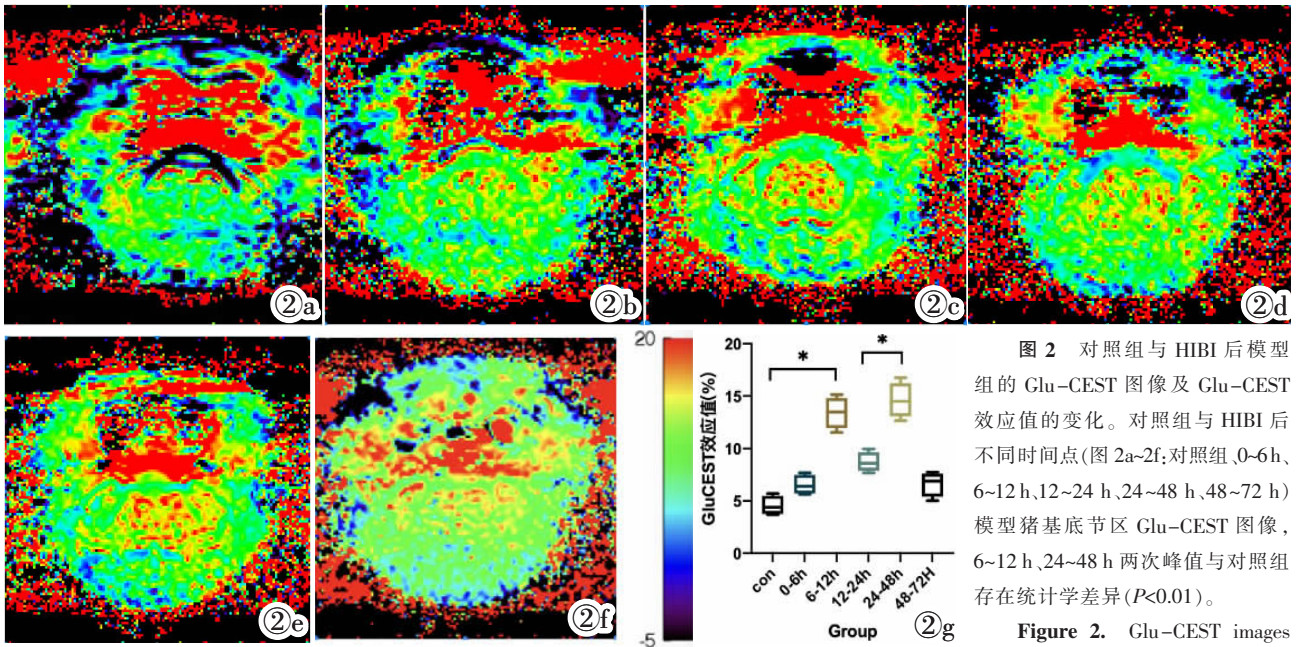


图 2 对照组与 HIBI 后模型组 Glu-CEST 图像及 Glu-CEST 效应值的变化。对照组与 HIBI 后不同时间点(图 2a-2f;对照组,0~6 h、6~12 h、12~24 h、24~48 h、48~72 h)模型猪基底节区 Glu-CEST 图像,6~12 h、24~48 h 两次峰值与对照组存在统计学差异($P<0.01$)。

Figure 2. Glu-CEST images

and changes in Glu-CEST effect values in the control group and the HIBI model group. Glu-CEST images of the basal ganglia region in model pigs at different time points after HIBI and in the control group(Figures 2a-2f: control group, 0~6 h, 6~12 h, 12~24 h, 24~48 h, 48~72 h). Two peak values at 6~12 h and 24~48 h showed statistically significant differences compared with the control group($P<0.01$).

2.2 HIBI 后 Glu 相关蛋白的表达变化

与对照组相比,vGLUT1 表达在 HIBI 后 0~6 h 升高,6~12 h 略降低,12~24 h 升高并达到峰值($P<0.001$),在 24~48 h 降低,48~72 h 略升高。HIBI 后 12~24 h vGLUT1 表达显著高于对照组及 24~48 h 组($P<0.001$, $P=0.001$)。与对照组相比,HIBI 后 mGluR2+3 的表达逐渐上升,于 12~24 h 达到峰值($P<0.001$),随后下降,水平接近于对照组。NMDAR2A 表达在 HIBI 后 0~6 h 明显降低($P<0.001$),此后升高,于 12~24 h 达到峰值,24~48 h 再次降低($P<0.001$),48~72 h 略升高,HIBI 后 12~24 h NMDAR2A 表达与 0~6 h、24~48 h

之间有显著差异($P<0.001$)(图 3)。

2.3 HIBI 后 Glu-CEST 效应值与 Glu 相关蛋白表达变化的相关关系及蛋白之间的相关关系

Glu-CEST 效应值与 NMDAR2A 表达水平呈负相关($r=-0.514$, $P=0.001$),vGLUT1 与 mGluR2+3 表达水平呈正相关($r=0.556$, $P=0.005$),NMDAR2A 与 mGluR2+3 表达水平在 HIBI 后 0~48 h 之间呈显著正相关($r=0.644$, $P=0.007$)(图 4)。

3 讨论

本研究中 Glu-CEST 效应值的变化与本课题组

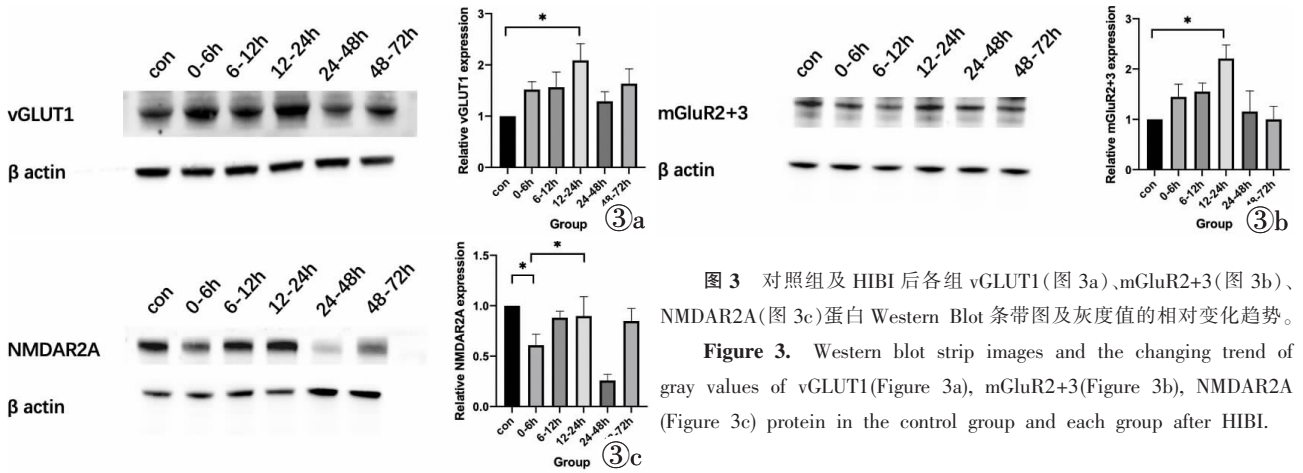


图 3 对照组及 HIBI 后各组 vGLUT1(图 3a)、mGluR2+3(图 3b)、NMDAR2A(图 3c)蛋白 Western Blot 条带图及灰度值的相对变化趋势。
Figure 3. Western blot strip images and the changing trend of gray values of vGLUT1(Figure 3a), mGluR2+3(Figure 3b), NMDAR2A(Figure 3c) protein in the control group and each group after HIBI.

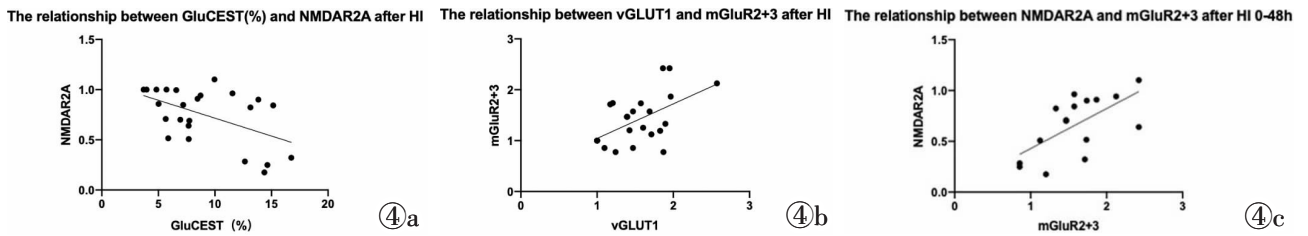


图 4 HIBI 后 Glu-CEST 效应值与 NMDAR2A(图 4a)、mGluR2+3 与 vGLUT1(图 4b)、HIBI 后 0~48 h mGluR2+3 与 NMDAR2A(图 4c)表达相关性的散点图。

Figure 4. Scatter plot of the correlation between Glu-CEST effect values and NMDAR2A expression after HIBI (Figure 4a), Scatter plot of the correlation between mGluR2+3 and vGLUT1 expression after HIBI (Figure 4b), Scatter plot of the correlation between mGluR2+3 and NMDAR2A expression after HIBI 0~48 h(Figure 4c).

之前使用 $^1\text{H-MRS}$ 研究新生猪 HIBI 后基底节的 Glu 含量变化趋势相似^[13],HIBI 后,Glu 转运蛋白 EAAT2 能去除从突触间隙释放的过量 Glu^[14],其中 12~24 h Glu 含量降低可能与星形胶质细胞上的 Glu 转运体活跃有关,HIBI 后 24~48 h 电镜示猪的海马区突触结构破坏^[15],我们认为 24~48 h Glu 含量上升可能是由于再灌注损伤后细胞结构破坏,导致细胞内 Glu 释放增加所致。

NMDAR 可介导 Ca^{2+} 进入突触后膜, Ca^{2+} 内流随后触发各种细胞内信号级联反应的激活,这些反应支持多种形式的突触可塑性,是突触传递和可塑性的重要介质^[15,16]。本研究中 HIBI 后 NMDAR2A 表达变化与 Glu 含量的变化呈负相关,6~24 h NMDAR2A 表达逐渐升高,可能表明早期 HIBI 后,Glu 释放激活突触后 NMDAR 受体,48~72 h NMDAR2A 表达再次升高,可能是由于再灌注损伤后,Glu 再次大量释放迅速激活 NMDAR 所致。NMDAR2A 的表达大部分低于对照组,尤其于 HIBI 后 24~48 h,表达明显减低,可能是由于突触结构破坏、细胞裂解所致,这进一步表明 Glu 释放是 NMDAR 激活的重要因素。NMDAR2A 激活诱导的神经保护作用主要与钙调蛋白激酶(CaMK)、环磷腺苷效应元件结合蛋白(CREB)通路的激活有关^[17-18],CREB 可上调脑源性神经营养因子(BDNF)的表达,BDNF 在突触可塑性中起重要

作用,被认为是促进突触再生并增强神经元修复和可塑性的重要调节因子^[19-20]。

Glu 代谢循环的稳态由 SV 上质膜上的一组转运蛋白维持,vGLUT1 负责将 Glu 转运到 SV,调节释放到突触间隙中的 Glu 含量。所以,vGLUT1 的表达水平决定了填充到 SV 中并释放以调节神经传递的 Glu 含量^[2],vGLUT1 表达的两次升高在本研究中均早于 Glu 含量的升高,揭示了 SV 中 Glu 储存的增加可能减轻其过度释放引起的神经元损伤,6~12 h、24~48 h vGLUT1 表达降低,可能意味着 Glu 转运减少、Glu 释放增加引起兴奋毒性,且 Glu 通过 vGLUT1 转运到 SV 伴随着 H^+ 内流和 Cl^- 外流,充当 SV 中 Cl^- 电导相关的 Glu/ H^+ 交换器^[21],该过程会导致突触前胞质的电位超极化,限制了电压门控 Ca^{2+} 的开启,可能减少了 SV 的释放。

HIBI 后突触间隙 Glu 摄取显著降低,而星形胶质细胞 mGluR3 激活会削弱这种影响,其神经保护机制可能与恢复内源性谷胱甘肽增强 Glu 的摄取有关^[22],HIBI 后 vGLUT1 与 mGluR2+3 表达水平呈正相关,Glu 被星形胶质细胞的 EAAT2 摄取后,会通过 Glu-谷氨酰胺(Glu-Gln)穿梭进入神经元并被转运到 SV,而这一过程由 vGLUT1 介导。NMDAR2A 与 mGluR2+3 在 HIBI 后 0~48 h 之间呈显著正相关,mGluR2+3 激活后可显著降低氧化应激,抑制过量 Glu 释放并降低

其细胞外浓度,是参与观察到的神经保护模式的主要机制^[22-23],有研究表明激活 mGluR2+3,神经保护因子 BDNF 表达上调^[24],HIBI 后 Glu 大量释放,NMDAR2A 与 mGluR2/3 可能通过信号通路的交叉整合,共同调节神经可塑性,N-乙酰天冬酰 Glu-代谢性 Glu 受体 (NAAG-mGluR)通路活跃的状态下,与 NMDAR 相互作用的突触后致密蛋白 PSD95 表达降低,抑制了 NMDAR 的激活并减轻 Glu 引起的兴奋毒性^[25],这或许是 HIBI 后 NMDAR2A 表达水平较低的原因,但其通路是否对 NMDAR 不同亚基的抑制作用不同,有赖于以后更加深入的研究。

此前 CEST 技术用于 HIBI,主要以酰胺质子转移 (APT) 成像为主^[26],本研究中 Glu-CEST 成像能可视化评估新生猪大脑内 Glu 含量的变化及局部差异,从新的角度预示 Glu-CEST 成像可评估 HIBI,并有可能成为未来诊断 Glu 代谢相关疾病的生物标记物。HIBI 后 Glu 相关蛋白的表达变化,也揭示了大脑在 Glu 相关兴奋毒性脑损伤后的调节机制,未来或许能通过干预相关蛋白的表达,减轻 HIBI 后造成的兴奋毒性脑损伤。

[参考文献]

- [1]Cai K, Haris M, Singh A, et al. Magnetic resonance imaging of glutamate[J]. *Nat Med*, 2012, 18(2): 302-306.
- [2]Pregolato S, Sabir H, Luyt K, et al. Regulation of glutamate transport and neuroinflammation in a term newborn rat model of hypoxic-ischaemic brain injury [J]. *Brain Neurosci Adv*, 2022, 6: 23982128221097568.
- [3]Zhang X, Peng KZ, Xu SL, et al. The GluN2B-Containing NMDA Receptor Alleviates Neuronal Apoptosis in Neonatal Hypoxic-Ischemic Encephalopathy by Activating PI3K-Akt-CREB Signaling Pathway[J]. *Physiol Res*, 2023, 72(5): 669-680.
- [4]Lalo U, Koh W, Lee CJ, et al. The tripartite glutamatergic synapse[J]. *Neuropharmacology*, 2021, 199: 108758.
- [5]Paoletti P, Bellone C, Zhou Q. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2013, 14(6): 383-400.
- [6]Tumdam R, Hussein Y, Garin-Shkolnik T, et al. NMDA Receptors in Neurodevelopmental Disorders: Pathophysiology and Disease Models[J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(22): 12366.
- [7]Wu QJ, Tymianski M. Targeting NMDA receptors in stroke: new hope in neuroprotection[J]. *Mol Brain*, 2018, 11: 15.
- [8]Franchini L, Carrano N, Di Luca M, et al. Synaptic GluN2A-Containing NMDA Receptors: From Physiology to Pathological Synaptic Plasticity[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(4): 1538.
- [9]Schmitz SK, King C, Kortleven C, et al. Presynaptic inhibition upon CB1 or mGlu2/3 receptor activation requires ERK/MAPK phosphorylation of Munc18-1 [J]. *EMBO J*, 2016, 35 (11): 1236-1250.
- [10]Yao HH, Ding JH, Zhou F, et al. Enhancement of glutamate uptake mediates the neuroprotection exerted by activating group II or III metabotropic glutamate receptors on astrocytes [J]. *J Neurochem*, 2005, 92(4): 948-961.
- [11]Pajarillo E, Digman A, Nyarko-Danquah I, et al. Astrocytic transcription factor REST upregulates glutamate transporter EAAT2, protecting dopaminergic neurons from manganese-induced excitotoxicity[J]. *J Biol Chem*, 2021, 297(6): 101372.
- [12]Du X, Li J, Li M, et al. Research progress on the role of type I vesicular glutamate transporter (VGLUT1) in nervous system diseases[J]. *Cell Biosci*, 2020, 10: 26.
- [13]郑阳,王小明. 新生猪缺氧缺血性脑损伤后基底节区 Tau 蛋白与谷氨酸变化的相关研究 [J]. *中国临床医学影像杂志*, 2018, 29 (8): 543-547.
- [14]Andersen JV, Markussen KH, Jakobsen E, et al. Glutamate metabolism and recycling at the excitatory synapse in health and neurodegeneration[J]. *Neuropharmacology*, 2021, 196: 108719.
- [15]Li KX, Lu M, Cui MX, et al. Astrocyte-neuron communication mediated by the Notch signaling pathway: focusing on glutamate transport and synaptic plasticity[J]. *Neural Regen Res*, 2023, 18 (10): 2285-2290.
- [16]Vieira M, Yong XLH, Roche KW, et al. Regulation of NMDA glutamate receptor functions by the GluN2 subunits [J]. *J Neurochem*, 2020, 154(2): 121-143.
- [17]Lai TW, Zhang S, Wang YT. Excitotoxicity and stroke: identifying novel targets for neuroprotection [J]. *Prog Neurobiol*, 2014, 115: 157-188.
- [18]Paoletti P, Bellone C, Zhou Q. NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2013, 14(6): 383-400.
- [19]Zameshan SN, Fakhri S, Khan H. Targeting Akt/CREB/BDNF signaling pathway by ginsenosides in neurodegenerative diseases: A mechanistic approach[J]. *Pharmacol Res*, 2022, 177: 106099.
- [20]Notaras M, van den Buuse M. Brain-Derived Neurotrophic Factor (BDNF): Novel Insights into Regulation and Genetic Variation[J]. *Neuroscientist*, 2019, 25(5): 434-454.
- [21]Martineau M, Guzman RE, Fahlke C, et al. VGLUT1 functions as a glutamate/proton exchanger with chloride channel activity in hippocampal glutamatergic synapses[J]. *Nat Commun*, 2017, 8(1): 2279.
- [22]Bratek E, Ziembowicz A, Bronisz A, et al. The activation of group II metabotropic glutamate receptors protects neonatal rat brains from oxidative stress injury after hypoxia-ischemia[J]. *PLoS One*, 2018, 13(7): e0200933.
- [23]Bratek-Gerej E, Ziembowicz A, Salinska E. Group II Metabotropic Glutamate Receptors Reduce Apoptosis and Regulate BDNF and GDNF Levels in Hypoxic-Ischemic Injury in Neonatal Rats [J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(13): 7000.
- [24]Di Liberto V, Bonomo A, Frinchi M, et al. Group II metabotropic glutamate receptor activation by agonist LY379268 treatment increases the expression of brain derived neurotrophic factor in the mouse brain[J]. *Neuroscience*, 2010, 165(3): 863-873.
- [25]Li K, Lu M, Cui M, et al. The regulatory role of NAAG-mGluR3 signaling on cortical synaptic plasticity after hypoxic ischemia[J]. *Cell Commun Signal*, 2022, 20(1): 55.
- [26]王小明,郑阳. 酰胺质子转移成像的临床应用及挑战[J]. *中国临床医学影像杂志*, 2017, 28(10): 692-696.