

注射用丹参多酚酸对视神经脊髓炎谱系疾病急性期疗效观察及胶质纤维酸性蛋白水平的影响

段瑞芬, 王秉卿, 赵浪芳, 张美妮*

山西医科大学第一医院神经内科, 山西 太原 030001

摘要: **目的** 比较视神经脊髓炎谱系疾病 (NMOSD) 与多发性硬化 (MS) 急性发作期脑脊液胶质纤维酸性蛋白 (GFAP) 水平差异, 分析注射用丹参多酚酸对 NMOSD 的治疗效果。 **方法** 收集 2016 年 8 月—2017 年 12 月就诊于山西医科大学第一医院神经内科确诊患者 40 例, 包括 NMOSD 患者 20 例, MS 患者 20 例。采用 ELISA 法检测 NMOSD 和 MS 脑脊液 GFAP 水平。将 NMOSD 患者随机分为观察组和对照组, 对照组采用糖皮质激素与一般神经营养药物, 包括甲基强的松龙和维生素 B1、B6、B12, 观察组在此基础上加用注射用丹参多酚酸 0.13 g, 每天 1 次, 两组均治疗 14 d。治疗前后对患者进行日常生活能力 (ADL)、扩展残疾状态量表 (EDSS) 评分。收集治疗前后的血清进行 GFAP 水平检测。 **结果** NMOSD 组脑脊液 GFAP 水平显著高于 MS 组 ($P < 0.05$)。观察组和对照组用药后 ADL 评分组间差异无统计学意义, 但观察组比对照组均数升高明显, 有上升趋势; 两组用药后 EDSS 评分组间差异无统计学意义, 但观察组均数降低明显, 有下降趋势; 治疗后两组患者血清 GFAP 水平较治疗前均显著下降 ($P < 0.001$), 观察组降低较对照组更显著 ($P < 0.001$)。 **结论** 星形胶质细胞损伤引起的 GFAP 水平升高可以用于鉴别 NMOSD 与 MS 患者, 注射用丹参多酚酸治疗急性期 NMOSD, 患者神经功能改善, 血清 GFAP 水平可以间接反映 NMOSD 患者的病情进展。

关键词: 视神经脊髓炎谱系疾病; 星形胶质细胞; 胶质纤维酸性蛋白; 注射用丹参多酚酸; 多发性硬化

中图分类号: R962.2

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376 (2019) 02-0234-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2019.02.002

Observation on curative effects of Salvianolic Acids for Injection on NMOSD in acute phase and its effect to GFAP levels

DUAN Ruifen, WANG Bingqing, ZHAO Langfang, ZHANG Meini

Shanxi Medical University First Hospital, Taiyuan 030001, China

Abstract: Objective To compare the differences of cerebrospinal fluid levels of GFAP in acute attack between NMOSD and MS, and to analyze the effects of Salvianolic Acids for Injection on NMOSD. **Methods** Totally 40 patients diagnosed with neurology from the First Hospital of Shanxi Medical University were collected from August 2016 to December 2017, including 20 patients with NMOSD and 20 patients with MS. The levels of GFAP in cerebrospinal fluid of NMOSD and MS were detected by ELISA. NMOSD patients were randomly divided into treatment group and control group. The control group used glucocorticoid and general neurotrophic drugs, including methylprednisolone, vitamins B1, B6, and B12. The experimental group added salvianolic acid 0.13 g, both groups were treated for 14 days. The EDSS and ADL scores were collected before and after treatment. The serum levels of GFAP were collected before and after treatment. **Results** The level of GFAP in cerebrospinal fluid of NMOSD group was significantly higher than that of MS group ($P < 0.05$); There was no significant difference in ADL scores between treatment group and control group. However, the treatment group had a significantly higher mean than the control group, with an upward trend; There was no significant difference in the EDSS scores between treatment and control group, but the mean of the treatment group decreased significantly, with a downward trend; Serum GFAP levels decreased after treatment in both groups ($P < 0.001$), the treatment group decreased more significantly ($P < 0.001$). **Conclusion** GFAP induced by astrocyte damage can be used to identify

收稿日期: 2018-11-10

基金项目: 吴阶平医学基金会临床项目 (320.6750.16130)

第一作者: 段瑞芬 (1986—), 女, 研究方向为神经免疫学。

*通信作者: 张美妮 Email: meinizhang611@hotmail.com

patients with NMOSD and MS. After 14 days of treatment with Salvianolic Acids for Injection, the neurological function of patients improved. Serum GFAP levels can indirectly reflect the progression of NMOSD patients.

Key words: NMOSD; Astrocyte; Glial fibrillary acidic protein; Salvianolic Acids for Injection

视神经脊髓炎(neuromyelitis optica, NMO)是以严重视神经炎和长节段横贯性脊髓炎为特征的中枢神经系统炎性疾病,大部分NMO患者水通道蛋白4(AQP-4)抗体阳性^[1]。Wingerchuk等^[2]在2006年提出了NMO修订的诊断标准,2007年Wingerchuk等^[3]又提出了视神经脊髓炎谱系疾病(neuromyelitis optica spectrum diseases, NMOSD)的概念,NMOSD是以血清中存在AQP-4抗体为标志,2015年国际NMO诊断小组发布了NMOSD诊断标准^[4]。然而20%~30%的NMO患者AQP4抗体阴性^[5],这类患者需具备更多的条件才能确诊,故进一步探讨AQP-4抗体阴性的患者的生物学标志物及神经影像等其他方面的特征有助于更早、更准确的确诊AQP-4抗体阴性的NMOSD,以通过积极、有效的治疗预防复发。

研究表明^[6],星形胶质细胞损伤参与NMO发病的主要病理过程,星形胶质细胞与血管接触,并通过缝隙连接与其他胶质细胞连接,因此,它们在血脑屏障(BBB)的形成和维持中至关重要^[7],神经胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)为星形胶质细胞特有的中间丝蛋白,是星形胶质细胞特异性标志物^[8-9]。有研究显示^[6,10],在80%~90%的NMO患者脑脊液中检测到GFAP,代表星形胶质细胞损伤参与了NMO的发病机制,脑脊液中的GFAP在NMO中的敏感性和特异性分别为90.9%和76.9%。Uzawa A等^[11]研究表明,脑脊液中的GFAP可能是NMO的诊断标志物,GFAP能够早期释放且稳定,能够迅速定量测定而且价格便宜,有助于NMOSD的诊断且为临床药物治疗提供参考依据。

注射用丹参多酚酸是一种中药制剂,目前其治疗脑梗死的作用机制研究较多,其药理作用有增加脑供血,改善脑微循环;降低缺血再灌注损伤;抗氧

化、清除自由基,保护脑功能;促进神经营养因子分泌,促进受损神经修复;降低BBB通透性。NMOSD患者星型胶质细胞坏死,大大增加了BBB的通透性,星型胶质细胞的特异性标志物GFAP显著升高,若注射用丹参多酚酸治疗NMOSD患者GFAP含量下降,则可推测该药对NMOSD患者亦有一定疗效。

本研究旨在通过对NMO和多发性硬化(MS)患者脑脊液中GFAP的检测,探讨GFAP是否可以用于鉴别NMOSD与MS患者,并通过用药前后GFAP水平、日常生活能力(activities of daily living, ADL)、扩展残疾状态量表(expanded disability status scale, EDSS)的变化探讨注射用丹参多酚酸对NMOSD患者的疗效。

1 材料

1.1 研究对象

收集2016年8月—2017年12月就诊于山西医科大学第一医院神经内科确诊患者40例,包括NMOSD患者20例,MS患者20例。入选标准:①NMOSD患者符合2015年国际NMO诊断小组发布的NMOSD诊断标准^[4],MS符合McDonald 2010年修正的诊断标准^[12];②NMOSD或MS急性期患者;③签署知情同意书。排除标准:①合并其他免疫系统疾病如类风湿性关节炎、系统性红斑狼疮、干燥综合征、艾滋病等及其他神经系统疾病影响EDSS评分者;②对造影剂过敏及其他不能行磁共振成像检查者;③近1个月使用免疫抑制剂者;④对研究中某些药物成分过敏者。

1.2 一般资料

本次研究共收集40例患者,其中NMOSD 20例,MS 20例,将NMOSD组随机分为对照组10例,观察组10例。其基本信息如表1所示,NMOSD组男5例,女15例,平均年龄(43.40±14.38)岁,首次发作者5例,AQP-4抗体阳性者13例。观察组男3例,

表1 各组患者一般资料

Table 1 General information of each group of patients

组别	男/女	年龄/岁	首次发作/复发	血清抗AQP-4抗体阳性/例	血清抗AQP-4抗体阳性率/%
MS	8/12	38.25±5.58	6/14	0	0.0
NMOSD	5/15	43.40±14.38	5/15	13	65.0
对照	2/8	39.50±13.39	3/7	7	70.0
观察	3/7	47.30±14.94	2/8	6	60.0

平均发病年龄(47.3±14.945)岁,首次发病者2例,AQP-4抗体阳性者6例;对照组男2例,平均年龄(39.5±13.39)岁,首次发病者3例,AQP-4抗体阳性者7例。观察组和对照组在性别、年龄、首次发作比例、AQP-4抗体方面差异无统计学意义。MS组男性8例,女性12例,平均年龄(38.25±5.58)岁,首次发病者6例,该组患者未检出AQP-4抗体。NMOSD组和MS组性别、年龄、首次发作比例差异无统计学意义;NMOSD组和MS组AQP-4抗体差异有统计学意义($P < 0.001$)。

1.3 主要仪器

酶标仪(DENLEY DRAGON Wellscan MK 3,芬兰 Thermo 公司);洗板机(Wellwash 4 MK2,芬兰 Thermo 公司);数字显示隔水式电热恒温培养箱(PYX-DHS,上海跃进医疗器械厂);离心机(TGL-168,上海安亭科学仪器厂);移液枪(Thermo labsystems);漩涡混合器(XW-80A,上海青浦沪西仪器厂);电热恒温鼓风干燥箱(DHG-9023A,上海精宏实验设备有限公司);连续分液器(0.1~50.0 mL)。

1.4 实验试剂

人GFAP ELISA试剂盒(上海西唐生物科技有限公司)。

2 方法

2.1 标本收集

收集2016年8月—2017年12月NMOSD和MS住院患者治疗前脑脊液每人2 mL,置于-80℃冰箱保存备用;收集治疗前及治疗后空腹静脉血3~5 mL,2 000 r/min离心20 min,分离上层血清,EP管储存于-80℃冰箱备用。

2.2 分组与用药

将NMOSD患者20例分为2组,每组10例。对照组采用糖皮质激素与一般神经营养药物,包括甲基强的松龙和维生素B1、B6、B12,观察组在此基础上加用注射用丹参多酚酸(天津天士力之骄药业有限公司,规格:每支装0.13 g,含丹参多酚酸100 mg,批号20150816)0.13 g,首先加入5 mL 0.9%氯化钠注射液进行药物溶解,再加入0.9%氯化钠注射液250 mL静脉滴注治疗,输注注射用丹参多酚酸时注意滴速限制(30滴/分),每日1次,两组均治疗14 d。

2.3 脑脊液、血清GFAP测定

本实验采用双抗体夹心ABC-ELISA法。用抗人GFAP单抗包被于酶标板上,标准品和样品中的GFAP与单抗结合,加入生物素化的抗人GFAP,形

成免疫复合物连接在板上,辣根过氧化物酶标记的Streptavidin与生物素结合,加入底物工作液显蓝色,最后加终止液硫酸,在450 nm处测吸光度(A)值,GFAP浓度与A值成正比,可通过绘制标准曲线求出标本中GFAP浓度。

2.4 EDSS评分

对患者用药前后进行2次EDSS评分^[13],包括0~10分。

2.5 ADL评分

采用Barthel指数评定量表,包括进食、转移、如厕、洗澡、行走等,总分100分,大于60分为生活自理;41~60分为部分自理;21~40分为明显依赖;小于20分(包括)为完全依赖。

2.6 统计学分析

采用SPSS 22.00软件进行统计学分析。定量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 或中位数(四分位数间距)表示,两组间比较采用 t 检验或Wilcoxon秩和检验;计数资料使用百分比表示,两组比较采用 χ^2 检验。

3 结果

3.1 NMOSD组和MS组脑脊液GFAP比较

NMOSD组脑脊液GFAP水平24.11(20.64, 27.10) ng/mL明显高于MS组3.53(2.37, 4.90) ng/mL,差异有统计学意义($P < 0.001$)。结果见表2。

表2 NMOSD组和MS组脑脊液GFAP比较

Table 2 Comparison of GFAP in cerebrospinal fluid between NMOSD and MS group

组别	n/例	GFAP/(ng·mL ⁻¹)
NMOSD	20	24.11(20.64, 27.10)***
MS	20	3.53(2.37, 4.90)

与MS组比较:*** $P < 0.001$

*** $P < 0.001$ vs MS group

3.2 观察组和对照组ADL评分比较

观察组和对照组用药前、后ADL评分的差别无统计学意义,但观察组比对照组均数升高明显,有上升趋势。结果见表3。

表3 观察组和对照组ADL评分比较

Table 3 Comparison of Barthel index between treatment and control group

组别	n/例	ADL评分	
		治疗前	治疗后
对照	10	61.00±24.244	67.50±23.004
观察	10	60.50±24.994	79.50±19.358

3.3 观察组和对照组EDSS评分比较

治疗前、后两组患者EDSS评分无显著性差异,但观察组EDSS评分均数比对照组降低明显,有下降趋势。结果见表4。

表4 观察组和对照组EDSS评分比较

Table 4 Comparison of EDSS scores between treatment group and control group

组别	n/例	EDSS 评分	
		治疗前	治疗后
对照	10	4.85±2.249	4.50±2.186
观察	10	4.70±2.084	3.55±1.877

3.4 观察组和对照组血清GFAP比较

治疗前两组患者血清GFAP水平无显著性差异,治疗后两组患者血清GFAP水平均下降,差异有统计学意义($P < 0.001$),观察组血清GFAP水平降低更显著($P < 0.001$)。结果见表5。

表5 观察组和对照组血清GFAP比较

Table 5 Comparison of serum GFAP between treatment and control group

组别	n/例	GFAP/(ng·mL ⁻¹)	
		治疗前	治疗后
对照	10	12.87±1.957	7.51±1.107 ^{###}
观察	10	12.94±2.143	3.83±1.083 ^{#####}

与同组治疗前比较:### $P < 0.001$;与对照组治疗后比较:*** $P < 0.001$
$P < 0.001$ vs same group before treatment; *** $P < 0.001$ vs control group after treatment

4 讨论

4.1 NMO与星形细胞损伤

4.1.1 NMO发病机制 目前关于NMO-IgG具体的作用机制尚不清楚,但是由补体激活所引起的星形胶质细胞坏死已被许多研究者证实,研究者越来越关注NMO中的星形细胞损伤。在NMO病变的免疫病理学研究中AQP-4和GFAP作为星形胶质细胞特异性蛋白,在免疫球蛋白和活化补体沉积的血管周围区域,其反应性明显丧失,但这些变化在MS中并没有观察到^[14-16]。同时,髓鞘碱性蛋白(MBP)染色相对保存在NMO急性炎症性病变期,而髓鞘损伤进展则在后期出现^[15]。有些研究表明,脑脊液-GFAP水平可以用作脑组织损伤的非特异性生物标志物,比如在脑梗死、外伤和疱疹性脑炎等中枢神经系统疾病中^[17-19]。Takano等^[10]通过测量MBP和分子量神经丝蛋白(NF-H)以及大量患者中的GFAP、S100B,分析了星形细胞损伤与脱髓鞘的关系,证实脑脊液GFAP在NMO急性期显著升高,且

发现NMO和MS之间平均脑脊液GFAP水平的差异(超过1 000倍)相比于脑脊液MBP(小于10倍)更明显,这表明在NMO的发病机制中星形细胞损伤占优势,此研究还证实了在NMO脊髓炎复发期间收集脑脊液样品越早,脑脊液GFAP和MBP水平越高。相反,对于MS脊髓炎,收集脑脊液样本越晚,脑脊液MBP水平越高,这些NMO和MS相反的结果表明,这两种疾病的中枢神经系统组织损伤的病理机制是完全不同的。文章报道^[20]描述了1个AQP-4血清阳性NMO患者的临床、分子和神经病理学表现,该患者在死亡前出现广泛的脑损害,该损害与早期、明显的血管周围嗜酸性粒细胞炎症有关。组织病理学检查显示,AQP-4丢失,但脱髓鞘不明显。晚期病变包括较少的嗜酸性粒细胞、不完全脱髓鞘和大量的GFAP阳性,提示反应性和退化性的星形胶质细胞肿胀过程,散在的巨噬细胞呈GFAP阳性,并且密集的泡状髓鞘明显。在最晚期的病变中,有完全脱髓鞘,无血管周围嗜酸性粒细胞和无数GFAP阳性的球状细胞且无奇异的GFAP阳性细胞在病变中的分布,这些与星形胶质细胞在解体的最后阶段相一致。大规模解体星形胶质细胞在急性和慢性病变中明显,这些均支持NMO早期靶向损伤星形胶质细胞。

4.1.2 星形胶质细胞特异性标志物GFAP 中枢神经系统病变很少被活检,而脑脊液是最接近中枢神经系统病变的体液,可能反映疾病异质性和疾病进展的时间特征^[21]。研究NMO中脑脊液生物标志物从而间接了解NMO的临床相关病理过程及病程进展是非常有必要的。在哺乳动物的中枢神经系统中,波形蛋白(VIM)和GFAP构成星形胶质细胞中间丝的结构支撑。这两种蛋白的表达受到高度调控。在发育过程中,VIM在放射状胶质细胞和未成熟的星形胶质细胞中表达。出生后,VIM逐渐被GFAP所取代,作为星形细胞分化的关键步骤,故GFAP被认为是星形胶质细胞成熟的标志^[22-23]。GFAP没有积极分泌分子的形式,故脑脊液-GFAP可以成为NMO星形细胞损伤的一个良好的候选生物标志物^[23]。

4.1.3 NMO和MS中的GFAP水平 多项研究已证实NMO和MS中的GFAP水平存在显著性差异,例如Misu等^[24]用商用ELISA测定了以下患者的脑脊液GFAP水平,包括表现为急性脊髓炎的NMO和MS患者、急性播散性脑脊髓炎(ADEM),脊髓梗塞和其他神经系统疾病(OND),发现NMO复发时的

脑脊液 GFAP 水平显著高于 MS 或 OND 的数千倍,且远远超过 ADEM 和脊髓梗塞,此外该研究结果还表明脑脊液 GFAP 或 S100B 的显著增加与 NMO 的临床严重程度和脊髓病变长度平行,并且可能不仅仅反映非特异性组织损伤。该研究是针对复发期的 NMO 患者所进行的,然而对于首次发病的 NMO 是否也存在以上相同的结果,Uzawa 等^[11]回顾性地研究了 NMO 患者首次发作时脑脊液中 IL-6 和 GFAP 的浓度,以检验这些分子在早期的有用性,该研究表明 NMOSD 患者首次发病时脑脊液 IL-6 和 GFAP 浓度显著增加。以上是针对脑脊液进行的 GFAP 研究,NMO 中星形胶质细胞损伤,BBB 破坏,则脑脊液中星形胶质细胞标志物 GFAP 可能通过破坏的 BBB 进入血液,一项研究发现^[25]NMO 谱系患者血清 GFAP 在统计学上明显高于 MS 患者,以及所有 AQP-4 抗体阴性患者组合在一起,当视神经炎急性发作时,根据他们的小组方法,可能将患有 NMO 谱系疾病的患者与 MS 患者区分开来,尽管血清中所测的 GFAP 远低于脑脊液水平,但该研究仍然支持了血清 GFAP 在诊断 NMO 谱系疾病相关 ON 第一次发作中的作用。本研究采用 ELISA 法测定了 20 例 NMOSD 患者及 20 例 MS 患者脑脊液 GFAP 水平,发现 NMOSD 组 GFAP 水平明显高于 MS 组,且差异有统计学意义,说明可以通过检测脑脊液-GFAP 水平来鉴别 NMOSD 及 MS,早期诊断 NMOSD 患者,并且有可能开发出针对 GFAP 的化合物为 NMO 的治疗提供新可能。

4.2 注射用丹参多酚酸与 NMO

注射用丹参多酚酸在脑梗死患者中的研究较多,且疗效明显,注射用丹参多酚酸的多种药理作用已被证实,其中包括清除自由基、保护神经细胞^[26],保护血管内皮细胞,防止 BBB 破坏^[27]。王富江^[28]等通过观察缺血的大鼠脑组织不同部位星形胶质细胞特异性蛋白 GFAP 的表达水平,发现注射用丹参多酚酸能够明显抑制缺血半暗带 GFAP 的表达,即注射用丹参多酚酸能够改善星形胶质细胞的活力,从而降低 BBB 的通透性。有研究发现^[29],NMO 治疗后脑脊液-GFAP 水平的快速正常化是由于治疗效果还是自然疾病过程尚不清楚。

本研究通过用药前后 ADL 评分的变化来探讨注射用丹参多酚酸对 NMOSD 的治疗效果,研究结果表明,观察组和对照组用药后 ADL 评分组间差异无统计学意义,考虑可能与观察例数少有一定关系,但注射用丹参多酚酸观察组比对照组均数升高

明显,有上升趋势,表明注射用丹参多酚酸能够在一定程度上提高 NMO 患者的日常生活能力。

从本研究结果中可以发现,观察组和对照组用药后 EDSS 评分组间差异无统计学意义,但观察组均数降低明显,有下降趋势,表明注射用丹参多酚酸有可能改善患者的神经功能状态。

本研究中 NMOSD 患者入院时进行腰椎穿刺术及常规采血,由于该研究需要用药前后进行对比,考虑到腰椎穿刺术为创伤性检查,多数患者很难同意住院期间进行两次该检查,故本研究采用 ELISA 法对患者用药前后进行血清 GFAP 的检测,研究结果表明,两组患者治疗后 GFAP 均显著下降,观察组下降程度更大,两组间比较差异有统计学意义。表明注射用丹参多酚酸能改善星形胶质细胞活力从而对 NMO 疾病起到一定的治疗效果。

NMOSD 急性期脑脊液 GFAP 水平相比于 MS 显著增高,星形胶质细胞损伤引起的 GFAP 可以用于鉴别 NMOSD 与 MS 患者。

注射用丹参多酚酸治疗 NMOSD 急性期患者,14 d 后 EDSS、ADL 评分降低,患者的神经功能有所改善,血清 GFAP 水平可以间接反映 NMOSD 患者的病情进展。

参考文献

- [1] Lennon V A, Wingerchuk D M, Kryzer T J, et al. A serum autoantibody marker of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis [J]. *Lancet*, 2004, 364(9451): 2106-2112.
- [2] Wingerchuk D M, Lennon V A, Pittock S J, et al. Revised diagnostic criteria for neuromyelitis optica [J]. *Neurology*, 2006, 66(10): 1485-1489.
- [3] Wingerchuk D M, Lennon V A, Lucchinetti C F, et al. The spectrum of neuromyelitis optica [J]. *Lancet Neurol*, 2007, 6(9): 805-815.
- [4] Wingerchuk D M, Banwell B, Bennett J L, et al. International consensus diagnostic criteria for neuromyelitis optica spectrum disorders [J]. *Neurology*, 2015, 85(2): 177-189.
- [5] Waters P J, McKeon A, Leite M I, et al. Serologic diagnosis of NMO: a multicenter comparison of aquaporin-4-IgG assays [J]. *Neurology*, 2012, 78(9): 665-671.
- [6] Uzawa A, Mori M, Arai K, et al. Cytokine and chemokine profiles in neuromyelitis optica: significance of interleukin-6 [J]. *Mult Scler*, 2010, 16(12): 1443-1452.
- [7] Sofroniew M V, Vinters H V. Astrocytes: biology and pathology [J]. *Acta Neuropathol*, 2010, 119(1): 7-35.

- [8] Bignami A, Eng L F, Dahl D, et al. Localization of the glial fibrillary acidic protein in astrocytes by immunofluorescence [J]. *Brain Res*, 1972, 43(2): 429-435.
- [9] Dahl D. The vimentin-GFA protein transition in rat neuroglia cytoskeleton occurs at the time of myelination [J]. *J Neurosci Res*, 1981, 6(6): 741-748.
- [10] Takano R, Misu T, Takahashi T, et al. Astrocytic damage is far more severe than demyelination in NMO: a clinical CSF biomarker study [J]. *Neurology*, 2010, 75(3): 208-216.
- [11] Uzawa A, Mori M, Sawai S, et al. Cerebrospinal fluid interleukin-6 and glial fibrillary acidic protein levels are increased during initial neuromyelitis optica attacks [J]. *Clin Chim Acta*, 2013, 421: 181-183.
- [12] Polman C H, Reingold S C, Edan G, et al. Diagnostic criteria of multiple sclerosis: 2005 revisions to the "McDonald Criteria" [J]. *Ann Neurol*, 2005, 58(6): 840-846.
- [13] 张弟文. 黄芪注射液联合甲泼尼龙治疗多发性硬化症的临床研究 [J]. *现代药物与临床*, 2016, 31(4): 517-520.
- [14] Misu T, Fujihara K, Nakamura M, et al. Loss of aquaporin-4 in active perivascular lesions in neuromyelitis optica: a case report [J]. *Tohoku J Exp Med*, 2006, 209(3): 269-275.
- [15] Misu T, Fujihara K, Kakita A, et al. Loss of aquaporin 4 in lesions of neuromyelitis optica: distinction from multiple sclerosis [J]. *Brain*, 2007, 130(5): 1224-1234.
- [16] Roemer S F, Parisi J E, Lennon V A, et al. Pattern-specific loss of aquaporin-4 immunoreactivity distinguishes neuromyelitis optica from multiple sclerosis [J]. *Brain*, 2007, 130(5): 1194-1205.
- [17] Rosengren L E, Lycke J, Andersen O. Glial fibrillary acidic protein in CSF of multiple sclerosis patients: relation to neurological deficit [J]. *J Neurol Sci*, 1995, 133 (1/2): 61-65.
- [18] Petzold A, Eikelenboom M J, Gveric D, et al. Markers for different glial cell responses in multiple sclerosis: clinical and pathological correlations [J]. *Brain*, 2002, 125(Pt7): 1462-1473.
- [19] Vissers J L, Mersch M E, Rosmalen C F, et al. Rapid immunoassay for the determination of glial fibrillary acidic protein (GFAP) in serum [J]. *Clin Chim Acta*, 2006, 366(1/2): 336-340.
- [20] Almekhlafi M A, Clark A W, Lucchinetti C F, et al. Neuromyelitis optica with extensive active brain involvement: an autopsy study [J]. *Arch Neurol*, 2011, 68 (4): 508-512.
- [21] Giovannoni G. Multiple sclerosis cerebrospinal fluid biomarkers [J]. *Dis Markers*, 2006, 22(4): 187-196.
- [22] Bignami A, Eng L F, Dahl D, et al. Localization of the glial fibrillary acidic protein in astrocytes by immunofluorescence [J]. *Brain Res*, 1972, 43(2): 429-435.
- [23] Dahl D. The vimentin-GFA protein transition in rat neuroglia cytoskeleton occurs at the time of myelination [J]. *J Neurosci Res*, 1981, 6(6): 741-748.
- [24] Misu T, Takano R, Fujihara K, et al. Marked Increase of CSF GFAP in neuromyelitis optica - an astrocytic damage marker [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2009, 80(5): 575-577.
- [25] Storoni M, Petzold A, Plant G T. The use of serum glial fibrillary acidic protein measurements in the diagnosis of neuromyelitis optica spectrum optic neuritis [J]. *PLoS One*, 2011, 6(8): e23489.
- [26] 王强, 张一, 李璐, 等. 丹参多酚酸盐对大鼠脑缺血再灌注过氧化损伤的保护作用 [J]. *右江医学*, 2010, 38(6): 665-667.
- [27] 米玉霞. 丹参多酚酸盐对急性脑梗死患者血管内皮功能的保护作用 [J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2013, 16 (16): 9-11.
- [28] 王富江, 李芮琳, 贾壮壮, 等. 注射用丹参多酚酸和血栓通注射液联合应用对局灶性脑缺血再灌注大鼠脑组织星形胶质细胞和小胶质细胞的影响及作用机制研究 [J]. *中草药*, 2017, 48(19): 4029-4036.
- [29] Watanabe S, Nakashima I, Misu T, et al. Therapeutic efficacy of plasma exchange in NMO-IgG-positive patients with neuromyelitis optica [J]. *Mult Scler*, 2007, 13(1): 128-132.