

· 实验研究 ·

银杏叶提取物在大鼠脑缺血再灌注
损伤中的保护作用^{*}胡 波¹ 孙圣刚¹ 梅元武¹ 陈良怡² 童萼塘¹

摘要 目的 研究银杏叶提取物(GbE)对大鼠脑缺血再灌注损伤皮质内自由基、氨基酸动态平衡的影响及其对原代培养的大鼠海马神经元内游离钙离子浓度($[Ca^{2+}]_i$)的影响和特征。方法 采用高压液相色谱仪测量大鼠大脑皮质中氨基酸(Glu、Asp、GABA、Gly)的浓度;MDA 和 GSH-Px 采用 TBA 法测量,SOD 采用嘌呤法测量。使用显微荧光检测系统检测单个原代培养的海马神经元内游离钙离子浓度($[Ca^{2+}]_i$)的变化和特征。结果 与非治疗组比较,GbE 各浓度治疗组的缺血大脑皮质内 Glu、Asp 和 MDA 含量在各时间观察点(缺血 3h、缺血再灌注 1h 和缺血再灌注 2h)均明显降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$),而 SOD 和 GSH-Px 含量则在各时间观察点均明显升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。GbE 10mg/kg、15mg/kg 治疗组缺血大脑皮质内的 GABA 和 Gly 含量在各时间观察点均有所降低($P<0.05$)。与 GbE 5mg/kg 治疗组比较,GbE 10mg/kg、15mg/kg 治疗组大脑皮质内的 Glu、Asp 和 MDA 含量在各时间观察点较低($P<0.05$),而 GABA、Gly、SOD 和 GSH-Px 含量则较高($P<0.05$)。GbE 10mg/kg 治疗组与 15mg/kg 治疗组之间差异无显著性。当向原代培养的神经元同时给予谷氨酸 1×10^{-5} mol/L 和 GbE 25 μ g/ml 20s 时所诱导的 $[Ca^{2+}]_i$ 明显低于单独使用谷氨酸 1×10^{-5} mol/L 所诱导的 $[Ca^{2+}]_i$ 变化,其峰值明显下降,且在上升阶段其升高速度减慢,下降阶段的时间也有所缩短,二者之间的平台期相对延长,当其返回基线后,再次给予谷氨酸 1×10^{-5} mol/L 时,其反应可恢复。结论 GbE 在大鼠脑再灌注损伤中可通过保持抑制性氨基酸/兴奋性氨基酸、自由基系统的平衡,及快速抑制谷氨酸诱导大鼠海马神经元内 $[Ca^{2+}]_i$ 浓度升高,从而保护受损的神经元。

关键词 银杏叶提取物 自由基 氨基酸 细胞内游离钙 缺血再灌注

Protective Effect of *Ginkgo biloba* Extract on Cerebral Ischemia/reperfusion Injury in Rats HU Bo, SUN Sheng-gang, MEI Yuan-wu, et al The Union Hospital Affiliated to Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan (430022)

Objective: To study the effect of *Ginkgo biloba* extract (GbE) on dynamic equilibrium of free radicals and amino-acids in cortex of rats with cerebral ischemia/reperfusion (I/R) injury and its influence and characteristics to intracellular free calcium concentration ($[Ca^{2+}]_i$) in primary cultured hippocampal neuron of rats. **Methods:** Amino-acids were quantified by high performance liquid chromatographic (HPLC) analysis. Concentration of MDA and GSH-Px were determined by thiobarbituric acid (TBA) technique. SOD was assayed through xanthine method, and microfluorometric technique was used to assay the change of $[Ca^{2+}]_i$ and its characteristics. **Results:** Compared with the non-treated groups, at all time points (3 hrs after ischemia, 1 and 2 hrs after I/R separately), in the GbE treated groups, the levels of Glu, Asp and MDA were lower and SOD and GSH-Px were higher ($P<0.01$ or $P<0.05$), the GABA and Gly levels were lower in groups treated with middle (10 mg/kg) or high dosage (15 mg/kg) of GbE ($P<0.05$). Compared with the group treated with small dosage GbE (5mg/kg), Glu, Asp and MDA were lower and GABA, Gly, SOD and GSH-Px were higher in the groups treated with middle or high dosage of GbE ($P<0.05$), while the difference in the latter two groups was insignificant. Level of $[Ca^{2+}]_i$ in cultured neurons treated with 1×10^{-5} mol/L glutamate combined 25 μ g/ml GbE for 20s was lower with lower peak value and longer time for reaching the peak than that in neurons treated

^{*} 国家自然科学基金资助(No. 30040037)

1. 华中科技大学同济医学院附属协和医院神经内科(武汉 430022) 2. 华中科技大学生物化学与生物物理研究所

通讯作者 胡波 Tel 027-85726203, E-mail hubo@hust.edu.cn

with $1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ glutamate alone. Besides, the time of decline phase was also shorter in the former, so the platform stage was prolonged. The response was recovered by re-applying of glutamate after $[\text{Ca}^{2+}]_i$ back to base line. **Conclusion:** GbE can protect damaged neurons through keeping the balance of inhibitory/excitatory amino-acids, enhancing free radicals scavengers system, and inhibiting the effect of glutamate to $[\text{Ca}^{2+}]_i$.

Key words *Ginkgo biloba* extract, free radicals, amino-acids, free intracellular calcium, ischemia/reperfusion

银杏在脑血管疾病的防治作用已引起了国内外有关专家的高度重视,而对其的主要有效成分银杏叶提取物(*Ginkgo biloba* extract, GbE)的药理作用的研究已获得一定进展,研究发现,GbE 可通过抗血小板活化因子(platelet-activating factor, PAF),减少血小板聚集,阻碍血栓形成,然而,GbE 在脑皮质缺血再灌注损伤中的保护机制仍不清楚。本实验试图通过研究其对大鼠大脑中动脉栓塞及再通后皮质内氨基酸含量、自由基系统动态平衡的影响及对兴奋性氨基酸所诱发的神经元内游离钙浓度的影响来阐明其对缺血缺氧性脑损伤的保护作用。

材料和方法

1 药物 银杏叶提取物由德国 Willmar Schwabe 药厂提供(lot X940261, 3.5 g/L),含量 24% 黄酮苷,6% 的萜内酯(包括银杏内酯 A,B,C,J 及白果内酯),70% 的其他物质(果酸、糖等)。Fura-2、氨基酸和自由基测定的所有相关试剂均由 Sigma 公司提供。

2 动物模型制作与分组 由同济医科大学动物实验中心提供的健康雌性 Wistar 大鼠,体重 200~300g,鼠龄 4 个月。动物模型参照 Zivin JA 的方法^[1]制造大鼠中动脉线栓模型(MCAO)。将大鼠随机分成 5 组:每组 21 只,对照组、非治疗组,大脑中动脉线栓制模前不给予 GbE 治疗;GbE 治疗组,大脑中动脉线栓制模前 30min 经腹腔给予 GbE 治疗,分 GbE 5mg/kg、10mg/kg 和 15mg/kg 3 个浓度组。每组又包含 3 个观察时间点:脑缺血 3h、脑缺血再灌注 1h 和脑缺血 3h 再灌注 2h。将大鼠届时断头处死,冰盘中分离栓塞侧的大脑皮质,快速置于液氮内保存。

3 氨基酸的测定 脑组织称重之后,在冰冻的 3% sulfosalicylic acid(5% wt/vol)内匀浆,匀浆物置于 4℃ 条件下过夜,离心 5min,取上清用蒸馏水稀释 10~50 倍后,测定大脑皮质中的谷氨酸(Glu)、天门冬氨酸(Asp)、 γ -氨基丁酸(GABA)和甘氨酸(Gly)的含量。内源性氨基酸的测量采用 Gilson 116 型高效液相色谱仪(HPLC),C18 反相柱 $4.6 \times 100 \text{ mm}$,粒度 $5 \mu\text{m}$,荧光检测器,流动相为 0.05 mol/L 磷酸缓冲液(pH 为

5.2~5.3)和甲醇。

4 超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和丙二醛(MDA)的测定 GSH-Px 和 MDA 采用 TBA 法进行定量^[2]。SOD 可通过嘌呤法测得,黄嘌呤-黄嘌呤氧化酶系统产生的超氧化自由基可将羟胺氧化成亚硝酸盐,而后者可反应生成紫色物质。

5 原代神经元培养和 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 的测定 由同济医科大学动物实验中心提供的健康的 Sprague-Dawley 大鼠,新生 1~2 天,体重 20~25g。用乙醚麻醉后,70% 的乙醇消毒,断头,取其双侧海马,切成 500~800 μm 厚的薄片,用 0.125% 的胰蛋白酶消化 30min 后,吹打、静置、去上清液,加入培养基(含 DMEM78%,10% 的胎牛血清,1% 的双抗,10% 的马血清),种植于盖玻片上,种植密度为 5×10^5 个/ml,放入 37℃、pH 为 7.2~7.3、10% 的 CO_2 培养箱内,24h 后换液,3 天后加入阿糖胞苷。培养后 3~7 天的细胞可用于该实验^[3]。

实验设计分 3 组($n=26$):1 组仅向细胞吹 $1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 谷氨酸 20s;2 组同时向细胞吹 $1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 谷氨酸和 $25 \mu\text{g/ml}$ GbE 20s;3 组向细胞吹 $1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 谷氨酸和 $25 \mu\text{g/ml}$ GbE 20s 后,待 $[\text{Ca}^{2+}]_i$ 回到基线,再向该细胞吹 $1 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$ 谷氨酸 20s。

将细胞附壁的玻片用缓冲液冲洗 3 次后,用 Fura-2/AM ($2 \sim 5 \times 10^{-5} \text{ mol/L}$) 在 37℃ 条件下孵育 30min。采用实验系统设备 Fura-2 荧光测钙系统测定:倒置显微镜 Axiovert 100(Zeiss, Germany)、单色光源 75X-O(Ushio, Japan)、控制单元(T. I. L. L Photonics, Germany)、光导纤维和滤光片等。计算机通过与 Pulse + Pulsefit 8.0(HEKA, Germany)捆绑的 Fura 软件(HEKA, Germany)对控制单元进行控制。分别测量 340nm 和 380nm 波长时 Fura-2- Ca^{2+} 和 Fura-2 的荧光强度,代入公式: $[\text{Ca}^{2+}]_i = \text{KdX}(\text{R} - \text{R}_{\min})/(\text{R}_{\max} - \text{R})(\text{Sf}_2/\text{Sb}_2)$,便可以计算出细胞内游离钙离子浓度。

6 统计学方法 组间差别的显著性采用 F 检验和 t 检验。

结 果

1 各组大脑皮质氨基酸含量比较 见表 1。与对照组比较,治疗组和非治疗组的缺血皮质内氨基酸含量均有所改变。与非治疗组比较,可见各浓度的 GbE 治疗组缺血大脑皮质内的 Glu 和 Asp 含量在各时间观察点均明显降低($P<0.01$ 或 $P<0.05$);GbE 10mg/kg、15mg/kg 治疗组缺血大脑皮质内的 GABA 和 Gly 含量在各时间观察点均有所降低($P<0.05$);与 GbE 5mg/kg 治疗组比较,GbE 10mg/kg、15mg/kg 治疗组缺血大脑皮质内的 Glu 和 Asp 含量较低($P<0.05$),而 GABA 和 Gly 含量较高($P<0.05$);GbE 10mg/kg 与 15mg/kg 治疗组之间差异无显著性。

2 各组大脑皮质 SOD、GSH-Px 及 MDA 含量比较 见表 2。与对照组比较,治疗组和非治疗组的缺血皮质内 SOD、GSH-Px 及 MDA 含量均有所改变。与非治疗组比较,可见各浓度的 GbE 治疗组缺血大脑皮质内的 SOD 和 GSH-Px 含量在各时间观察点均明显升高($P<0.01$ 或 $P<0.05$);各浓度的 GbE 治疗组缺血大脑皮质内 MDA 含量在各时间观察点均较低($P<0.01$ 或 $P<0.05$);与 GbE 5mg/kg 治疗组比较,GbE 10mg/kg、15mg/kg 治疗组缺血大脑皮质内的

SOD 和 GSH-Px 含量较高($P<0.05$),而 MDA 含量较低($P<0.05$);GbE 10mg/kg 治疗组与 15mg/kg 治疗组之间差异无显著性。

3 GbE 对 Glu 诱导培养神经元 $[Ca^{2+}]_i$ 变化的影响 见表 3。当用浓度为 $1\times 10^{-5}mol/L$ 谷氨酸对细胞吹药连续刺激 20s,92% 的细胞出现反应,其表现为二相变化过程,先是较快速度的上升相,时间在几十秒至数百秒不等,然后转入缓慢下降相,最后回到基线。还有的细胞在二相之间出现平台期,多持续数十秒。若在胞外液中加入 $1\times 10^{-5}mol/L$ L-型通道阻断剂 nifedipine 后,同样的浓度和时间的 Glu 刺激所导致的 $[Ca^{2+}]_i$ 变化明显变小,,峰值约为未阻断的 $1/3$,若再在胞外液中加入 $1\times 10^{-3}mol/L$ 非选择性钙通道阻断剂 $CdCl_2$,再用谷氨酸刺激则未见明显升高,可见,海马神经元上是以 L-型钙离子通道为主,还有少部分其他钙离子通道。如同时用浓度为 $1\times 10^{-5}mol/L$ 谷氨酸和 $25\mu g/ml$ 的 GbE 向细胞吹药,可见谷氨酸刺激所导致的 $[Ca^{2+}]_i$ 的变化明显变小,其峰值明显下降,且上升速度减慢,下降所需的时间也有所缩短,二相之间的平台期相对延长;当其回到基线后,再次用同浓度的谷氨酸向细胞吹药, $\Delta [Ca^{2+}]_i$ 的变化的范围与前相似。

表 1 各组缺血 3h 及缺血再灌注 1h、2h 大脑皮质内氨基酸含量比较 ($\mu mol/L, \bar{x} \pm s$)

组别		n	Asp	Glu	Gly	GABA
对照	缺血 3h	7	1.87±0.27	5.29±0.53	2.13±0.51	4.02±0.44
	缺血再灌注 1h	7	2.04±0.33	5.45±0.41	2.06±0.44	3.66±0.47
	缺血再灌注 2h	7	1.96±0.36	5.42±0.39	2.11±0.42	3.92±0.54
非治疗	缺血 3h	7	3.11±0.93	7.31±1.56	2.02±0.17	4.35±0.56
	缺血再灌注 1h	7	3.37±1.07	7.51±1.63	1.88±0.29	3.98±0.49
	缺血再灌注 2h	7	3.25±1.11	6.92±1.39	2.46±0.33	4.21±0.63
GbE 治疗						
5mg/kg	缺血 3h	7	2.75±0.74 *	6.15±1.37 *	1.98±0.29	4.87±0.53
	缺血再灌注 1h	7	2.89±0.81 *	6.32±1.59 *	1.94±0.31	4.12±0.37
	缺血再灌注 2h	7	2.77±0.74 *	5.55±1.34 *	1.87±0.33	4.18±0.45
10mg/kg	缺血 3h	7	2.14±0.42 ** △	5.44±1.25 * △	2.31±0.52 * △	5.32±0.53 * △
	缺血再灌注 1h	7	2.54±0.44 ** △	5.53±1.32 * △	2.40±0.65 * △	4.58±0.51 * △
	缺血再灌注 2h	7	2.47±0.56 ** △	4.94±1.29 * △	2.07±0.54 * △	4.48±0.34 * △
15mg/kg	缺血 3h	7	2.17±0.39 ** △	5.39±1.31 ** △	2.42±0.35 * △	5.54±0.67 * △
	缺血再灌注 1h	7	2.45±0.51 ** △	5.61±1.29 ** △	2.54±0.47 * △	4.62±0.64 * △
	缺血再灌注 2h	7	2.42±0.48 ** △	4.97±1.31 ** △	2.31±0.52 * △	4.54±0.49 * △

注:与非治疗组同时段比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与 GbE 5mg/kg 治疗组同时段比较,△ $P<0.05$

表 2 各组缺血 3h 及缺血再灌注 1h、2h 大鼠皮质内 SOD、GSH-Px 和 MDA 含量比较 (μmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别		n	SOD(NU/mg)	GSH-Px(U/mg)	MDA(nmol/g)
对照	缺血 3h	7	123.86 ± 8.19	22.01 ± 3.24	119.58 ± 10.05
	缺血再灌注 1h	7	107.55 ± 7.32	20.84 ± 4.29	132.77 ± 9.45
	缺血再灌注 2h	7	100.17 ± 7.71	19.68 ± 3.55	143.17 ± 11.69
非治疗	缺血 3h	7	76.76 ± 4.62	13.02 ± 1.13	165.42 ± 44.39
	缺血再灌注 1h	7	71.96 ± 4.82	13.19 ± 1.24	222.40 ± 58.35
	缺血再灌注 2h	7	68.53 ± 6.31	12.02 ± 1.33	246.85 ± 47.60
GbE 治疗					
5mg/kg	缺血 3h	7	78.89 ± 6.32 *	16.51 ± 2.78 *	132.39 ± 23.19 **
	缺血再灌注 1h	7	77.97 ± 5.12 *	15.37 ± 3.10 *	125.42 ± 21.57 **
	缺血再灌注 2h	7	83.92 ± 7.51 *	14.66 ± 2.79 *	204.19 ± 26.09 **
10mg/kg	缺血 3h	7	87.44 ± 6.22 ** △	21.39 ± 2.88 ** △	82.38 ± 8.04 * △
	缺血再灌注 1h	7	85.24 ± 6.12 ** △	16.45 ± 2.98 * △	99.35 ± 8.33 ** △
	缺血再灌注 2h	7	93.17 ± 7.81 ** △	18.74 ± 3.39 ** △	128.49 ± 14.63 ** △
15mg/kg	缺血 3h	7	89.72 ± 6.17 ** △	22.54 ± 2.69 ** △	77.64 ± 7.12 * △
	缺血再灌注 1h	7	84.73 ± 5.49 ** △	16.71 ± 2.88 * △	95.81 ± 7.69 ** △
	缺血再灌注 2h	7	95.09 ± 6.82 ** △	18.90 ± 3.22 ** △	114.69 ± 9.71 ** △

注 与非治疗组同时段比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 与 GbE 5mg/kg 治疗组同时段比较, △ $P < 0.05$

表 3 GbE 对 Glu 诱导的大鼠海马神经元内 $\Delta[Ca^{2+}]_i$ 的影响 ($\bar{x} \pm s$)

吹药	$\Delta[Ca^{2+}]_i(nmol/L)$
(1) $1 \times 10^{-5}mol/L$ Glu	634 ± 72
(2) $1 \times 10^{-5}mol/L$ Glu + 25μg/ml GbE	305 ± 52 *
(3) 当(2)组中 $[Ca^{2+}]_i$ 回到基线后再吹 $1 \times 10^{-5}mol/L$ Glu	597 ± 61

注 与(1)组比较, * $P < 0.05$;n = 26

讨 论

我们的研究表明 GbE 可影响神经递质的合成和释放。在脑缺血/再灌注损伤中,脑组织内兴奋性和抑制性氨基酸动态平衡被打破,引发瀑布式效应,最终导致神经元的死亡。作为中枢神经系统内主要的抑制性氨基酸之一,GABA 的相对升高可抑制脑缺血后过度兴奋引起的神经毒性,而缺血也同时引起兴奋性氨基酸如 Glu 和 Asp 的明显增高。由我们的实验结果可知,GbE 可降低缺血时脑组织中 Glu 和 Asp 的浓度,升高 GABA 的浓度,维持脑组织内兴奋性、抑制性氨基酸相对动态平衡,从而阻止神经元受损。有人报道 GbE 是一种高效、特异性的血小板活化因子(PAF)拮抗剂^[4],Miller 等^[5]发现 PAF 拮抗对皮质内的苯二氮卓类结合位点及氯离子结合位点无影响,但可增加神经元突触对氯离子的重摄取,放大 GABA 受体功能而不影响其结合率。PAF 可增强 Glu 所介导的兴奋性突触传递,它只影响自发性突触兴奋性放电的频率,而不影响其时程和幅度,但它对 GABA 调节的抑制性突

触反应并无明显影响,PAF 拮抗剂能阻断这种影响^[6]。我们的研究显示 GbE 可明显降低脑组织内 MDA 的浓度,同时升高 SOD 和 GSH-Px 的浓度,这与以往的报道相一致^[7,8]。脑组织富含磷脂,其主要成分为不饱和脂肪酸(PUFA),易受自由基攻击,引起脂质过氧化。大量膜结构完整性因此而破坏,以致细胞通透性改变,内环境受影响,引起细胞的损伤和死亡。脂质过氧化代谢产物 MDA 含量可高度反应神经元的毒性效应,作为主要的自由基清除剂,SOD 和 GSH-Px 的含量升高可阻止过氧化反应引起的组织损伤。可见给予 GbE 后神经元对自由基的清除能力加强,抗脂质过氧化能力升高,使毒性醛基的产生减少。

谷氨酸是脑内主要的兴奋性氨基酸,在缺血/再灌注损伤中起重要作用。由结果可知,谷氨酸能快速诱发培养的海马神经元内游离钙浓度明显升高。此过程可推断包括 谷氨酸与其受体结合,钙离子通道开启,细胞膜去极化,胞外钙内流,当胞内钙离子浓度达到一定平时,激发胞内的钙库释放钙,即钙诱发的钙释放(Calcium induced Calcium release, CICR),当刺激停止后, $[Ca^{2+}]_i$ 进一步升高和平台期的出现,可能与谷氨酸的残留作用和 CICR 有关 同时,胞内钙库重新开始摄取胞外钙,而细胞膜上的“ 泵 ”将胞内钙排出, $[Ca^{2+}]_i$ 逐渐下降。Flint 等^[9]研究发现发育的鼠类皮质神经元的钙震荡是由代谢型谷氨酸受体的活动所引起的,并能被其受体拮抗剂所阻断。有人^[10]提出只有经 NMDA 受体通道内载的钙离子是有毒的,且 L-Glu 的毒性作用是由于其引起的钙超载和细胞内加速

ATP 耗竭所致。我们的结果与相关报道一致^[11], GbE 可在 20~80s 内抑制谷氨酸诱发的海马神经元内游离钙浓度升高, 该过程可能受膜上第二信使调控。

我们的研究表明 GbE 可帮助维持脑组织内的兴奋性、抑制性氨基酸平衡, 增强自由基清除系统的功能, 抑制 Glu 对 $[Ca^{2+}]_i$ 的作用, 因而其神经保护作用是通过多途径来实施的。

参 考 文 献

- 1 Zivin JA, Degirolami U, Kochhar A, et al. A model for quantitative evaluation of embolic stroke therapy. *Brain Res* 1987 ;435:305—309.
- 2 Wang YC, Wang XP, Lu YC, et al. Microdetermination of lipid peroxidation in cells and cell membrane. *J Cytobiol* 1985 ;7:142—143.
- 3 Grynkiewicz G, Poenie M, Tsien RY. A new generation of Ca^{2+} indicators with greatly improved fluorescence properties. *J Biol Chem* 1985 ;260:3440—3450.
- 4 Li S, Meng Q, Zhang L. Experimental therapy of a platelet-activating factor antagonist (ginkgolide B) on phytochemically induced thrombotic cerebral ischemia in tree shrews. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 1999 ;26(10):824—825.
- 5 Miller LG, Bazan NG, Roy RB, et al. Platelet activating fac-

tor antagonists interact with GABA receptors. *Res Commun Chem Pathol Pharmacol* 1991 ;74(2):253—256.

- 6 Clark GD, Happel LT, Zorumski CF, et al. Enhancement of hippocampal excitatory synaptic transmission by platelet-activating factor. *Neuron* 1992 ;9(6):1211—1216.
- 7 Pincemail J, Dupuis M, Nasr C, et al. Superoxide anion scavenging effect and superoxide dismutase activity of Ginkgo biloba extract. *Experientia* 1989 ;45(8):708—712.
- 8 Pincemail J, Thirion A, Dupuis M, et al. Ginkgo biloba extract inhibits oxygen species production generated by phorbol myristate acetate stimulated human leukocytes. *Experientia* 1987 ;43(2):181—184.
- 9 Flint AC, Dammernan RS, Kriegstein AR. Endogenous activation of metabotropic glutamate receptors in neocortical development causes neuronal calcium oscillations. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999 ;96(21):12144—12149.
- 10 Sattler R, Charlton MP, Hafner M, et al. Distinct influx pathways, not calcium load, determine neuronal vulnerability to calcium neurotoxicity. *J Neurochem* 1998 ;71(6):2349—2364.
- 11 Zhu L, Wu J, Liao H, et al. Antagonistic effects of extract from leaves of ginkgo biloba on glutamate neurotoxicity. *Chung Kuo Yao Li Hsueh Pao* 1997 ;18(4):344—347.

(收稿 2002-08-25 修回 2003-03-10)

中国中医研究院西医学习中医班招生

中国中医研究院第十四期西医学习中医班从即日起开始招生, 2003 年 9 月开学。该院系国家医疗、教学、科研基地, 受卫生部委托, 从 1955 年开始举办西医学习中医班, 为我国培养了大批的中西医结合专家。该班是国家中医药管理局继续教育项目, 学制 2 年, 每年授 I 类学分 25 分, 系统讲授中医理论与临床等课程, 安排学员在中国中医研究院广安门医院进行临床实习, 并由名老中医、中西医结合专家带教, 课程考试与临床实习合格者颁发中国中医研究院西医学习中医班毕业证书。凡西医院校毕业的医务人员均可报名参加。欲报名者请向中国中医研究院广安门医院函索报名表。通讯地址 北京市宣武区北线阁 5 号 中国中医研究院广安门医院医教处 邮编: 100053。咨询电话: (010)88001241, 88001218, 88001151。详细情况也可登陆中国中医研究院广安门医院网页浏览, 网址: <http://www.gamhospital.ac.cn>