

银杏叶提取物对脑缺血再灌注损伤的保护作用

周庆萍¹, 陆建锋², 王会平², 夏强² 综述

(1. 贵州六盘水师范学院生物与地理科学系, 贵州 水城 553004;

2. 浙江大学医学院生理系, 浙江 杭州 310058)

[摘要] 银杏叶提取物(Ginkgo biloba extract, GBE)是近代植物药中被研究开发,用于防治缺血性脑血管病的热点药物之一。研究发现,GBE对脑缺血再灌注损伤具有保护效应,其作用机制涉及抗氧化、清除自由基、抑制兴奋性氨基酸的释放、抗炎及抑制神经细胞凋亡等多个方面。文中就银杏叶提取物在对抗脑缺血再灌注损伤中的作用及机制作一综述。

[关键词] 银杏; 植物提取物/药理学; 银杏叶提取物; 缺血再灌注损伤; 神经保护

[中图分类号] R 965 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1008-9292(2010)04-0442-06

Ginkgo biloba extract protects brain from ischemia/reperfusion injuries

ZHOU Qing-ping¹, LU Jian-feng², WANG Hui-ping², XIA Qiang² (1. Department of Geographic and Biologic Sciences, Liupanshui Normal College, Shuicheng 553004, China; 2. Department of Physiology, College of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

[Abstract] Ginkgo biloba extract (GBE) is one of the hot spots of drugs extracted from plants recently; it protects brain from ischemia/reperfusion injuries. The mechanism of protective effects includes antioxidation, free radicals clearance, inhibiting the release of excitatory amino acid, anti-inflammation, inhibiting neural apoptosis and other biological effects.

[Key words] Ginkgo biloba; Plant extracts/pharmacol; Ginkgo biloba extract; Ischemia reperfusion injuries; Neural protection

[J Zhejiang Univ (Medical Sci), 2010,39(4):442-447.]

银杏(*Ginkgo biloba* L)叶作为中药材在我国已有5000年的历史。银杏叶提取物(Ginkgo biloba extract, GBE)是从银杏的干燥叶子中分离纯化的化合物。目前,GBE已广泛用于防治呼吸系统和心脑血管系统等疾病。近年来,国内外学者在多种实验模型上深入研究了GBE对缺血再灌注脑损伤的保护作用,对其药理作用及机制有了进一步认识。本文着重对近年来银杏叶提取物在脑缺血再灌注损伤中的保护作用研究进展作一综述。

1 GBE的药用有效成分

到目前为止,国内外学者已从GBE中分离出160多种化学成分,主要有银杏黄酮苷类

收稿日期:2010-02-24 修回日期:2010-03-30

作者简介:周庆萍(1965-),女,副教授,从事人体解剖及动物生理教学和研究。

通讯作者:夏强(1961-),男,教授,博导,从事心血管科学研究;E-mail:xiaqiang@zju.edu.cn.

(flavonoid)、萜烯内酯类(terpenoid)、有机酸类、银杏酚酸等。临床应用的 GBE 主要药理成分分为黄酮苷类和萜烯内酯类。GBE 含黄酮类化合物 35 种,其中双黄酮 6 种,银杏黄酮苷元 7 种,黄酮苷 17 种;萜烯内酯类化合物主要包括白果内酯(bilobalide)和 5 种银杏内酯(ginkgolides A、B、C、M、J)。已经证实银杏黄酮有较强的抗氧化作用,银杏内酯具有特异性拮抗血小板活化因子(PAF)的作用,其中银杏内酯 B 的抗 PAF 的作用最强。目前国际上常用的标准银杏叶提取物是由法国 Ipsen 和德国 Dr. Willmar Schwabe 联合提取的多种有效成分复合物,即 EGB761,其主要成分包括黄酮类 24%,萜烯内酯类 6%,原花青素类 7.0%,儿茶素类 2.0%^[1]。临床上银杏叶片剂(银杏叶提取物的片剂)主要用于心脑血管疾病的治疗,目前公认的银杏叶片剂的有效成分是黄酮苷类和萜类内酯^[2]。临床证明 GBE 金纳多注射液治疗缺血性脑血管病,起效快,疗程短,作用明显,且疗效确切,无毒副反应,可降低血液黏稠度,有效改善血液流变学指标,改善血液循环,有效地阻止缺血后神经细胞死亡,对神经细胞有保护作用,值得临床广泛应用^[3]。王万华等^[4]将 60 例急性缺血性脑血管病患者随机分为治疗组和对照组,治疗组用 GBE 制剂舒血宁注射液治疗 15 d 后神经功能明显改善,头颅 CT 见缺血灶明显减少或消失,治疗后未见出血征象,临床疗效显著,有神经保护作用,可有效改善血液流变学指标。花根才等^[5]用舒血宁注射液治疗缺血性脑血管病,临床有效率达 90%。

2 GBE 对脑缺血再灌注损伤的保护作用

脑血管病是严重危害人类健康的常见和多发病,在全球已成为第一致残和第三致死的原因,而缺血性脑血管病的发病率约占脑血管病的 75%。脑缺血后再灌注既可挽救濒临死亡的细胞,又可加重缺血细胞的损伤,甚至导致细胞的死亡,此称为脑缺血再灌注损伤。再灌注损伤可使脑组织神经细胞坏死或凋亡加重,水肿明显,梗死面积扩大,并继发血管内皮组织细胞损伤及植物神经功能障碍^[6]。脑缺血再灌注损伤是一个十分复杂的病理生理过程,大量

研究表明,造成脑缺血再灌注损伤的原因涉及酸中毒、谷氨酸兴奋毒性作用、钙超载、氧化应激、炎症反应和神经元凋亡等。近年来的研究发现,GBE 可作用于上述多个环节发挥其对抗脑缺血再灌注损伤作用。

2.1 对抗酸中毒 正常脑组织中细胞能量代谢以有氧呼吸为主,一般情况下不能检测出乳酸(Lac 或 LA)。脑缺血后氧供急速下降,ATP 迅速耗竭,细胞膜通透性增加,细胞内、外离子失衡。同时,无氧糖酵解加强,大量产生 LA,引起组织酸中毒,进一步导致渗透性水肿。研究发现,大鼠急性脑缺血 90 min 后梗死区出现 LA 峰,并随着时间的延长而持续上升^[7]。

LA 含量的异常增高,一方面抑制了线粒体的呼吸功能,导致细胞内 ATP 耗竭,脑能量供给减少;另一方面促使细胞内钙超载和自由基生成,严重损害神经元、神经胶质细胞以及毛细血管内皮细胞,导致广泛的脑损伤。研究表明,用 GBE 预处理可以明显降低急性脑缺血 90 min 后大鼠脑组织 LA 含量的增加幅度^[7],提示 GBE 对脑缺血具有预防及治疗作用。此外,阻断沙鼠右侧颈总动脉和大脑中动脉 60 min 以模拟局灶性脑缺血,发现皮质区 LA 增高 60%,丙酮酸减少 75%,LA/丙酮酸比值增加为缺血前的 5 倍^[8];纹状体中葡萄糖、丙酮酸、LA 分别减少 90%、80%、40%,LA/丙酮酸比值亦为缺血前的 5 倍^[9]。预防性给予 GBE 之后,皮质区丙酮酸水平得以恢复^[8],且有效地阻止了纹状体葡萄糖和丙酮酸水平的下降^[9]。因此,调节缺血后神经细胞的能量代谢,抑制 LA 中毒可能是 GBE 发挥神经保护作用的原因之一。

2.2 拮抗兴奋毒性和钙超载 谷氨酸(glutamate, Glu)是哺乳动物脑内含量最高的兴奋性氨基酸(EAA)。正常情况下, Glu 参与多种生理功能,如协调运动、认知、学习记忆等,但过量的 Glu 对神经元有损伤作用,即 EAA 的“兴奋毒性”。脑缺血后, EAA、PAF 等毒性物质可造成脑缺血组织损伤加重。研究表明,在体外培养的神经元细胞中加入 GBE 可以剂量依赖性地对抗谷氨酸诱导的兴奋毒性作用^[10],并且在亚低温状态下 GBE 干预的效果更显著^[11]。此外,研究还发现,GBE 具有极强的抗

PAF 诱导的血小板聚集作用。GBE 中的萜内酯是特异性 PAF 受体拮抗剂,通过与特异性 PAF 受体结合发挥其生物活性,可调节 EAA 释放,阻断 PAF 强化的 EAA 介导的兴奋性突触传递,从而发挥神经保护作用^[12]。钙离子广泛存在于人体的各种组织,并参与许多重要的生理活动。缺血性脑损伤激活 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)和 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异戊丙酸(AMPA)受体,导致 Ca^{2+} 内流,膜电位的去极化,使电压依赖性 Ca^{2+} 通道开放,以及钠钙离子的交换使 Ca^{2+} 的内流进一步加速。钙超载及其所触发的一系列有害代谢是导致神经细胞死亡的“最后共同通路”。廖红^[13]等采用双侧颈总动脉合并迷走神经结扎法造成小鼠不完全脑缺血时发现,缺血再灌注小鼠脑组织线粒体膜蛋白结合 Ca^{2+} 明显升高,而 GBE 显著抑制缺血再灌后海马、皮层及下丘脑等各脑区线粒体膜蛋白结合 Ca^{2+} 升高,改善线粒体功能,拮抗海马神经元损伤。胡波^[14]等证明 GBE 通过快速抑制 Glu 诱导大鼠海马神经元内游离钙浓度升高,保护受损神经元。

2.3 清除自由基 抗氧化是神经保护的一个重要靶点。脑缺血后,大量自由基(ROS, NO 等)产生,神经细胞处于氧化应激状态。一些重要的抗氧化酶如超氧化物歧化酶(SOD)清除自由基的能力下降,自由基的主要降解产物丙二醛(MDA)增多。研究发现,GBE 对氧自由基有很强的清除作用,EGB761 具有俘获氧自由基的作用^[15],银杏黄酮类中的槲皮素能有效抑制氧自由基的活性。采用双侧颈总动脉结扎法造成大鼠不完全性脑缺血模型,发现 GBE 静脉注射给药可以降低不完全性脑缺血所造成的脑梗死体积,提高 SOD 活性,并可明显降低 MDA 的含量^[16],表明 GBE 具有抗脂质过氧化的作用。另有研究发现,脑缺血再灌注模型组大鼠脑组织 NO、一氧化氮合酶(NOS)、MDA 含量高于 GBE 处理组,同时 GBE 处理组大鼠脑组织中 SOD、GSH-PX^[17]的活性高于模型组,并呈剂量依赖性显著提高^[18-19]。提示 GBE 对大鼠脑缺血再灌注损伤具有保护作用,其作用机制可能与降低 NO 的含量,提高 SOD 的活性,减少脂质过氧化有关。

2.4 抗炎反应 大量研究结果表明急性脑缺血性损伤与炎症机制有密切联系,脑缺血再灌注后脑组织局部过渡的炎症反应是造成再灌注损伤的主要原因之一。炎症反应是级联反应导致细胞损伤的重要病理环节,能导致继发性神经元损伤。炎症反应的中心事件是中性粒细胞的浸润、聚集。脑缺血时,由表达在白细胞与血管内皮细胞上的粘附分子介导,活化两者的粘附,利于白细胞穿出血管内皮层,游出至缺血脑组织中引起急性炎症反应。脑缺血再灌注损伤时,细胞间粘附分子-1(ICAM-1)及其 mRNA 表达明显上调,提示 ICAM-1 介导了白细胞与血管内皮细胞的粘附,GBE 除能明显下调 ICAM-1 及其 mRNA 的表达外,还可降低脑组织髓过氧化物酶(MPO)活性,抑制白细胞介素-1 β (IL-1 β)及 mRNA 的过度表达,明显减弱中性粒细胞浸润,阻止中性粒细胞和单核细胞募集和移位进入缺血损伤部位,减轻脑缺血后炎性病理损害^[20-22]。P-选择素是中性粒细胞聚集的起始因素,李浩等人的研究^[23]结果显示,经 GBE 预处理的大鼠脑组织 P-选择素的表达及 MPO 活性较缺血再灌注组明显降低,脑梗死体积减小,且 GBE 高剂量组的上述作用更显著,表明 GBE 可通过脑组织的炎性反应减轻脑缺血再灌注损伤。

2.5 减少脑细胞凋亡 神经元凋亡是脑缺血再灌注损伤过程中神经元死亡的重要形式,如能及时恢复血流或采用药物干预,则可能被挽救,否则会转为不可逆损伤,使梗死灶扩大。研究发现,大鼠局灶性脑缺血再灌注 24 h 后,缺血侧脑组织可见较多凋亡细胞,主要分布在缺血半暗带内。给予 GBE 治疗后脑梗死面积减小,神经功能缺损减轻,缺血边缘区神经细胞凋亡数目明显减少,坏死程度减轻^[24]。神经元凋亡是一种受基因调控的自主性程序性细胞死亡过程。半胱氨酸蛋白酶基因家族(Caspase)参与细胞凋亡的信号转导,其中 Caspase-3 是凋亡过程中最重要的蛋白酶,是多种死亡受体介导凋亡途径的共同下游效应部分,是细胞凋亡蛋白酶级联反应的必经之路。脑缺血后,神经元 Caspase-3 mRNA 及蛋白表达增加、酶活性增强^[25]。细胞凋亡还受抗凋亡蛋白(Bcl-2)、促

凋亡蛋白(Bax)等多种相关凋亡基因调控。大鼠脑中动脉栓塞3 h、栓塞3 h再灌注24 h及48 h时,bcl-2、bax表达增强,细胞凋亡逐步加重,损伤加重。GBE干预后,bcl-2表达增强,bax表达减弱,细胞凋亡明显减少^[26],提示EGB761可明显抑制大鼠脑组织缺血再灌注后细胞凋亡的发生。Survivin是近来新发现的一种凋亡抑制基因,在正常成人组织中不表达,而在颅脑损伤后高表达。有研究发现GBE可促进抗凋亡因子Survivin的表达而减少新生大鼠缺氧缺血性脑损伤(HIBD)后的细胞凋亡,发挥神经保护作用^[27]。细胞色素氧化酶是线粒体呼吸链电子传递的终末复合物,是线粒体氧化能力的关键调节部位,细胞色素氧化酶与细胞凋亡密切相关,Domoráková I等人的研究还发现,EGB761预处理能抑制全脑缺血5 min复灌7 d后沙鼠海马CA1区细胞色素氧化酶mRNA的表达下降,减少神经元凋亡,挽救大部分海马椎体细胞^[28]。以上研究表明,GBE可通过增强bcl-2表达,减弱bax表达、促进抗凋亡因子Survivin表达或增加细胞色素氧化酶mRNA表达减轻脑缺血再灌注诱导的脑神经元凋亡。

此外,GBE还可通过降低反复脑缺血再灌注小鼠的血液粘度,促进血液循环,改善其血液流变性^[29],提高大鼠局灶脑缺血半暗带区脑源性神经营养因子(BDNF)的表达水平,促进神经元的修复及重塑等^[30],减少脑缺血再灌模型大鼠海马区神经元的丢失,影响海马区神经元的超微结构,促进其大脑循环代谢,增强记忆力^[31],提高其认知功能^[32-33]等机制发挥其脑缺血再灌注损伤的保护作用。

3 展 望

缺血性脑血管病是一种常见病和多发病,是目前严重危害人类健康与生命的主要疾病之一,因具高发病率、高死亡率、高致残率和高复发率等特点而引起国内外医学界的广泛关注与高度重视。目前,中医治疗缺血性脑血管病的常用药物有银杏叶、丹参、红花、葛根、川芎等,西医治疗缺血性脑血管病的常用药物有尼莫地平、阿司匹林(APC)等。中药的优点是急性期和恢复期均可应用,不会引起“盗血”现象,不

会使脑水肿进一步加重,不会使血压进一步降低而影响脑灌注,因而安全度大是中药的最大优势;缺点是药物有效成分的纯度不如西药高,效果不如西药理想,起效不如西药快。西药的优点是药效成分较纯,疗效比较好,起效也比较快;缺点是在脑梗死的急性期,特别是72 h内,有引起“盗血”的可能性,会导致症状加重,较长时间的应用引起的毒副作用不容忽视,如阿司匹林会引起胃肠道出血和过敏,尼莫地平可引起锥体外系并发症、抑郁症和低血压等。

GBE的主要药理作用是抗血小板聚集和抗血栓形成,其具有高效的抗血小板活化因子的作用,经大量药理学实验证明,PAF是迄今最强的致血小板聚集和形成血栓的内源性活性物质,因此,GBE是治疗缺血性脑血管病的一种比较理想的药物。GBE的药理作用和临床应用非常广泛,尤其对心、脑血管系统疾病的疗效越来越受到重视,但其所含化学组分复杂,其药理作用的发挥可能是某种有效成分的单独效用表达,也可能是几种活性组分的整合功能体现。贺丹^[34]等证实GBE与碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)等联合治疗实验性脑梗死疗效优于二种药物的单一用药,两药合用具有脑保护的协同作用。

我国的银杏资源丰富,占世界总资源70%。加强对GBE的进一步研究,尤其是单体成分的作用及各成分间的可能相互作用的研究,将有力促进银杏制剂的更合理和更广泛的应用,为开发治疗缺血缺氧性脑损伤和老年痴呆的特异性新药提供理论依据。随着研究的深入,GBE将为人类作出更大贡献。

References:

- [1] LIU Shi-chen (刘士趁). Ginkgo biloba extract constituents and pharmacological effect of Analysis [J]. *Journal of Practical Traditional Chinese Internal Medicine* (实用中医内科杂志), 2008, 22(7): 87-88. (in Chinese)
- [2] XU Ya-ping, YAO Tong-wei, JIANG Jun-wei (徐亚萍, 姚彤伟, 江君微). HPLC fingerprint of the tablets of Ginkgo biloba [J]. *Journal of Zhejiang University (Medicine Sciences)* (浙江大学学报: 医学版), 2004, 33(1): 24. (in Chinese)
- [3] QIAN Bin, ZHAO Lin (钱滨, 赵玲). Clinical

- effect of gintonin injection in treating senile ischemic cerebrovascular disease [J]. **Chinese Primary Health Care**(中国初级卫生保健), 2009, 23(6): 97. (in Chinese)
- [4] WANG Wan-hua, XU Xian-hua, HU Jian, et al (王万华, 徐贤华, 胡健, 等). Clinical effect of shuxuening injection in treating senile ischemic cerebrovascular disease [J]. **Journal of Military Surgeon in Southwest China**(西南军医), 2006, 8(1): 17-18. (in Chinese)
- [5] HUA Gen-cai, FANG Qing-gen, FAN Hua-chang (花根才, 冯青根, 范华昌). Investigation on clinical effect of shuxuening injection for ischemic apoplexy (cerebral infarction) on 60 cases [J]. **Chinese Traditional Patent Medicine**(中成药), 2002, 24(1): 34-36. (in Chinese)
- [6] XU Chang-chun, WANG Li-li, LU Chang-ling (许长春, 王黎荔, 路长玲). The protective effects of Ginkgo biloba extract (GBE) on cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. **Practical Journal of Medicine Pharmacy**(实用医药杂志), 2005, 22(11): 1000-1001. (in Chinese)
- [7] PENG Hai, LI Yue-fen, SUN Sheng-gang (彭海, 李月芬, 孙圣刚). Effects of Ginkgo biloba extract on acute cerebral ischemia in rats analyzed by magnetic resonance spectroscopy [J]. **Acta Pharmacologica Sinica**(中国药理学报), 2003, 24(5): 467-471. (in Chinese)
- [8] LEE M S, YANG D Y, CHENG C L, et al. Ginkgo biloba extract preserves pyruvate and enhances ascorbate in the cortex of gerbils during focal cerebral ischemia. A microdialysis-liquid chromatography study [J]. **J Chromatogr A**, 2003, 985(1-2): 387.
- [9] LIN J Y, CHENG F C, CHUNG S Y, et al. Ginkgo biloba extract (EGb761) and FK506 preserve energy metabolites in the striatum during focal cerebral ischemia and reperfusion in gerbils monitored by microdialysis [J]. **J Biomed Sci**, 2004, 11(5): 611.
- [10] CHANDRASEKARAN K, MEHRABIAN Z, SPINNEWYN B, et al. Neuroprotective effects of bilobalide, a component of Ginkgo biloba extract (EGb761) in global brain ischemia and in excitotoxicity-induced neuronal death [J]. **Pharmacopsychiatry**, 2003, 36, Suppl 1: S89-94.
- [11] WANG He, QIU Xiao-ying, YANG Li-sha, et al (王何, 邱小鹰, 杨丽莎, 等). The effects of Ginkgo biloba extract under different cerebral temperature on the excitatory amino acids concentration in focal cerebral ischemia of rat [J]. **Journal of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine**(辽宁中医药大学学报), 2009, 11(8): 237. (in Chinese)
- [12] WANG He, QIU Xiao-ying, Yang Li-sha, et al (王何, 邱小鹰, 杨丽莎, 等). The effects of Ginkgo biloba extract under different cerebral temperature on inhibitory amino acids concentration in focal cerebral ischemia of rat [J]. **Journal of Sichuan of Traditional Chinese Medicine**(四川中医), 2009, 27(7): 32-33. (in Chinese)
- [13] LIAO Hong, GAO Jing, ZHANG Zu-xuan, et al (廖红, 高静, 张祖喧, 等). Protective effects of extract from leaves of Ginkgo biloba on focal cerebral ischemia-reperfusion injury in mice [J]. **Chinese Journal of Pharmacology and Toxicology**(中国药理学与毒理学杂志), 2002, 16(4): 273. (in Chinese)
- [14] HU Bo, SUN Sheng-gang, MEI Guan-wu, et al (胡波, 孙圣刚, 梅光武, 等). Protective effect of Ginkgo biloba extract on cerebral ischemia/reperfusion injury in rats [J]. **Chinese Journal of Integrated Traditional and Western Medicine**(中国中西医结合杂志), 2003, 23(6): 436. (in Chinese)
- [15] SUN Jian, ZOU Zuo-jun (孙健, 邹作君). Pharmacological effects and the application of advances of Ginkgo biloba extract in renal disease [J]. **Journal of Chinese Medicine with kidney disease**(中国中西医结合肾病杂志), 2007, 8(6): 368-370. (in Chinese)
- [16] SHEN Ming-qin, YE Qi-zheng, LUO Yu-hui, et al (沈明勤, 叶其正, 罗宇慧, 等). Protective effects of extract Ginkgo biloba on brain ischemia in rats [J]. **Chinese Pharmaceutical Journal**(中国药理学杂志), 2003, 38(9): 673-675. (in Chinese)
- [17] HU B, SUN S, MEI G, et al. Protective effects of Ginkgo biloba extract on rats during cerebral ischemia/reperfusion [J]. **Chin Med J (Engl)**, 2002, 115(9): 1316-1320.
- [18] LIN Li-ming, XUE Lan-ping, DUO Zhen-shun (林黎明, 薛岚平, 朵振顺). Protective effect of Ginkgo biloba extract on focal cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. **Chinese Journal of Cerebrovascular Diseases**(中国脑血管病杂志), 2005, 2(4): 165-168. (in Chinese)

- [19] LIAO Biao-wu (廖标武). The research on the proective effect of Ginkgo biloba extraction on cerebral ischemia-reinfusion rats [J]. *Chinese Journal of Hospital Pharmacy* (中国医院药学杂志), 2007, 27(12): 1705. (in Chinese)
- [20] WANG Yin-ming, LIU Chun-feng, FENG Ping, et al (王引明, 刘春风, 冯萍, 等). Changes of platelet-leukocyte aggregations in patients with acute cerebral infarction [J]. *Journal of Clinical Neurology* (临床神经病学杂志), 2006, 19: 408. (in Chinese)
- [21] WANG Xue-song, RUAN Xu-zhong, LIU Mai-li (王雪松, 阮旭中, 刘买利). Effects of Ginkgo biloba extract (GBE) on intercellular adhesion molecule-1 and its mRNA expression in focal cerebral ischemia in rats [J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy* (中国现代应用药理学), 2003, 20(6): 441. (in Chinese)
- [22] TAN Chu-bing, GONG Qin-yan, YAO Ming-hui, et al (谭初兵, 贡沁燕, 姚明辉, 等). Effects of Ginkgo biloba extract on inflammation following focal ischemic brain injury in rats [J]. *Chinese Journal of New Drugs and Clinical Remedies* (中国新药与临床杂志), 2002, 21(7): 385. (in Chinese)
- [23] LI Hao, LIU Kai-xiang, FENG Jun-lin, et al (李浩, 刘开祥, 俸军林, 等). Effects of Ginkgo biloba extra on expression of P-selectin and myeloperoxidase activity following cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Journal of Clinical Neurology* (临床神经病学杂志), 2007, 20(6): 435-437. (in Chinese)
- [24] WANG Xue-song, RUAN Xu-zhong, WANG Wei (王雪松, 阮旭中, 王伟). Protective effect of Ginkgo biloba extract on brain injury induced by ischemia/reperfusion in rats [J]. *Acta Universitatis Medicinae Tangji* (华中科技大学学报: 医学版), 2003, 32(5): 500. (in Chinese)
- [25] YANG Yan-ling (杨彦玲). Apoptosis research in cerebral ischemic injury [J]. *Journal of Clinical Neurology* (临床神经病学杂志), 2008, 21(3): 236. (in Chinese)
- [26] WANG Jing-tao, WANG Pei-jun, WANG Shou-an, et al (王景涛, 王培军, 王守安, 等). Rat brain cell apoptosis and the expression of bel-2 bax after focal cerebral ischemia/reperfusion and effects of extract of Ginkgo biloba [J]. *Anatomy Research* (解剖学研究), 2005, 27(1): 38. (in Chinese)
- [27] JOHNSONn EA, SVETLOV SI, WANG KK, et al. Cell-specific DNA fragmenta-tion may be attenuated by a surviving-dependent mechanism after trau-matic brain injury in rats [J]. *Exp Brain Res*, 2005, 167(1): 17-26.
- [28] DOMORÁKOVÁ I, BURDA J, MECHÍROVÁ E, et al. Mapping of rat hippocampal neurons with Neu N after ischemia/reperfusion and Ginkgo biloba extract (EGb 761) pretreatment [J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2006, 26(7-8): 1193-204.
- [29] ZHOU Lan-lan, MING Liang, ZUO Cong-wen, et al (周兰兰, 明亮, 左从文, 等). Effect of extracts of Ginkgo biloba leaves on hemorheology in repeated cerebral transient ischemia reperfusion in mice [J]. *Chinese Journal of Modern Applied Pharmacy* (中国现代应用药理学), 2000, 17(2): 91. (in Chinese)
- [30] LI Yu-chen, DONG Yu-juan, WANG Jan-ru, et al (李育臣, 董玉娟, 王建茹, 等). The influence of Ginkgo biloba extract on brain-derived neurotrophic factor after cerebral ischemia in rats [J]. *Journal of Apoplexy and Nervous Diseases* (中风与神经疾病杂志), 2005, 22(1): 54. (in Chinese)
- [31] ZHU Shang-feng, JIN Yue-chun (朱尚峰, 金跃春). Protective effect of Ginkgo biloba extract on brain tissue and activity of brain neural cells [J]. *Chinese Journal of Clinical Rehabilitation* (中国临床康复), 2006, 10(23): 146-148. (in Chinese)
- [32] YANG Yin-wen (杨荫文). Ginkgo biloba extract: Its effects on cognitive function in model rats with cerebral ischemia reperfusion [J]. *Modern Traditional Chinese Medicine* (现代中医药), 2008, 28(3): 64. (in Chinese)
- [33] PAGANELLI R A, BENETOLI A, MILANI H. Sustained neuroprotection and facilitation of behavioral recovery by the Ginkgo biloba extract, EGb 761, after transient forebrain ischemia in rats [J]. *Behav Brain Res*, 2006, 174(1): 70-77.
- [34] HE Dan, LIU Huai-jun, WU Shuo-chun, et al (贺丹, 刘怀军, 吴朔春, 等). Effects of basic fibroblast growth factor and Ginkgo biloba extra on experimental cerebral infarction [J]. *Journal of Clinical Neurology* (临床神经病学杂志), 2008, 21(3): 207. (in Chinese).

[责任编辑 黄晓花]