

依托咪酯对小鼠诱导分化神经元缝隙连接子表达量的影响

齐正 金旭 王保国

【摘要】 目的 观察全身麻醉药物依托咪酯对 P19 细胞诱导所获得的神经元缝隙连接子表达的影响,以揭示依托咪酯引起神经外科手术患者意识迅速丧失可能的分子学机制。方法 P19 细胞经体外培养诱导分化为可特异性表达微管蛋白之神经元,免疫荧光细胞化学染色检测依托咪酯对神经元缝隙连接子表达的影响。结果 依托咪酯和生胃酮处理 P19 细胞 30 s 和 60 min 后,免疫荧光细胞化学染色即可发现神经元缝隙连接子表达受到抑制,缝隙连接蛋白 36(Cx36)阳性细胞数目显著减少,与对照组比较差异具有统计学意义(30 s: $t = -50.423, P = 0.000$; 60 min: $t = -25.826, P = 0.000$);随着处理时间的延长,其抑制效应逐渐降低,与药物处理前比较差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。处理 30 s 时,依托咪酯和生胃酮对神经元缝隙连接子的抑制效应相似($P > 0.05$),而随着药物处理时间的延长,相同作用时间、相同作用对象依托咪酯对神经元缝隙连接子的抑制效应逐渐增强且优于生胃酮组,以处理 60 min 时二者差异最大($t = -2.782, P = 0.008$)。结论 依托咪酯可能通过抑制神经元缝隙连接子的表达水平而降低神经元细胞间缝隙连接通讯,能够部分解释依托咪酯在麻醉诱导过程中引起患者意识迅速丧失的可能的分子学机制。

【关键词】 依托咪酯; 麻醉,全身; 连接蛋白类; 缝隙接合部; 细胞,培养的

DOI:10.3969/j.issn.1672-6731.2010.04.015

The influence of etomidate on connexons of induced differentiated neurons in mouse QI Zheng*, JIN Xu, WANG Bao-guo. * Department of Anesthesiology, Beijing Tiantan Hospital, Capital Medical University, Beijing 100050, China

Corresponding author: WANG Bao-guo (Email: wbgtty@sina.com)

【Abstract】 Objective To explore the effect of general anesthetic, etomidate, on the expression of connexons in neurons induced by P19 cells, and illustrate the molecular mechanism of patients' consciousness loss after etomidate administration by means of immunocytochemistry. **Methods** The P19 cells were retro-induced to stem cells, which were then oriented-induced to neurons to receive neuron identification. The neurons were then allocated into group E (etomidate), group CAR (carbenoxolone), group LE (lipid emulsion) and group CON (phosphate buffer solution, control). Agents administrated respectively were withdrawn in 30 s, 60 min and 120 min, and connexin36 (Cx36) were counted through inference of immunocytochemistry. **Results** Cx36 were more suppressed for group E and group CAR than group CON in 30 s and 60 min (30 s: $t = -50.423, P = 0.000$; 60 min: $t = -25.826, P = 0.000$). As for the inner group analysis, group E and group CAR bared declined suppressive effects with even no statistic variance in 120 min compared to the respective untreated time points; as for group LE and group CON, no statistic variance existed between different times. Intergroup analysis showed that significant suppressive effects in 30 s were seen in group E and group CAR which were more than group LE and group CON ($P < 0.05$, for all) while the difference of suppressive effects were not seen between group E and group CAR ($P > 0.05$). In 60 min,

positive-stained connexons were more suppressed in group E than in group CAR ($t = -2.782, P = 0.008$). Etomidate gave more suppression than carbenoxolone and this stronger effect was not shown until 60 min. **Conclusion** Etomidate depresses the gap junction intercellular connection (GJIC) by means of decreasing the

基金项目:国家自然科学基金资助项目(项目编号:30700780);北京市自然科学基金资助项目(项目编号:7102052);北京市科技新星计划项目(项目编号:2008A083)

作者单位:100050 首都医科大学附属北京天坛医院麻醉科(齐正,金旭);北京三博脑科医院麻醉科(王保国)

齐正,金旭并列为本文第一作者

通信作者:王保国(Email:wbgtty@sina.com)

number of neuron connexons, which might be the molecular mechanism for patients' consciousness loss after etomidate administration.

[Key words] Etomidate; Anesthesia, general; Connexins; Gap junctions; Cells, cultured

依托咪酯由于用量小、起效快、作用时间短、安全范围广、患者苏醒快,以及对肝肾功能影响小、使用方便等特点,近年来越来越广泛地用于血流动力学不稳定的神经外科手术患者全身麻醉时的麻醉诱导。对于依托咪酯能够迅速诱导患者意识丧失的可能作用机制,较为公认的观点是:作为电压门控氯离子通道 γ -氨基丁酸A(GABA β_2 或 β_3 亚单位)构象调节药物,依托咪酯通过增强GABA受体对离子和苯二氮草类药物的通透能力^[1,2],而发挥神经元抑制作用。这一机制涉及神经元之间化学突触信息传递,以及相关受体蛋白质的修饰、表达、构象改变、通道开启、离子电流等一系列复杂过程^[3];然而,我们在临床实践中所观察到的由依托咪酯引起的意识丧失起效十分迅速,在诱导期以0.30 mg/kg剂量、30 s速度静脉注射,从静脉注射依托咪酯开始到睫毛反射消失,历时不超过45 s^[4]。该药起效如此之迅速,是之前所研究的离子通道等作用靶点所不能解释的,尽管临床观察到的起效时间尚不能完全用分子水平通道开放-关闭转换时间解释,但仍促使我们探求依托咪酯的其他可能作用靶点,以解释该药发挥药效的临床特点。目前,对这一靶点的探寻主要集中于神经元之间电突触-缝隙连接(GJ)和细胞间缝隙连接通讯(GJIC),其中缝隙连接的高速通路似乎为解释依托咪酯引起意识迅速丧失指出了一条新的研究思路。为此,在本研究中我们采用免疫荧光细胞化学染色技术探求依托咪酯对缝隙连接蛋白36(Cx36)的可能作用,以解释该离子通道在全身麻醉药物作用中的分子药理学机制。

材料与方法

一、材料

1. 细胞系来源 本实验所用小鼠睾丸畸胎瘤细胞系P19传至第5代,由中国医学科学院基础医学研究所基础医学细胞中心提供。

2. 主要试剂与药品 (1)试剂: α -MEM培养基(1 \times)、DMEM/F12无血清诱导培养基(1 \times)^[5,6]和胎牛血清(FBS)购自美国Gibco公司。免疫试剂中I抗[抗小鼠 β -微管蛋白III单克隆IgG(1:1000)、山羊

抗小鼠Cx36多克隆IgG(1:200)和兔抗小鼠巢蛋白多克隆IgG(1:50)]分别由美国Sigma公司和北京博奥森生物技术有限公司提供,594红色荧光标记的兔抗小鼠IgG(1:1000;型号:A21205;250 μ l)和异硫氰酸荧光素(FITC)绿色荧光标记的兔抗山羊IgG(1:50;型号:ZF-0314;100 μ l+100 μ l甘油)II抗购自美国Invitrogen公司和北京中杉金桥生物技术有限公司,二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。(2)药品:脂肪乳注射液(规格:250 ml;纯度:100 ml脂肪乳剂含10 mg中长链脂肪乳)由广州百特侨光有限公司提供。缝隙连接蛋白(Cx)特异性抑制剂生胃酮(药品批号:C4780;规格:1 g;纯度:每毫克粉剂含1 mg生胃酮钠盐)和阿糖胞苷(药品批号:C1768;规格:100 mg;纯度:每毫克粉剂含1 mg β -D-阿糖胞苷)均购自美国Sigma公司。依托咪酯注射用乳剂(药品批号:3549224;规格:10 ml;纯度:每毫升脂肪乳剂含2 mg依托咪酯)为德国Braun Melsungen公司产品。

3. 实验仪器 Eclipse-E600倒置相差荧光显微镜和Nikon成像系统软件NIS-Element购自日本Nikon公司。

二、实验方法

1. 神经元定向诱导分化 (1)细胞系建立:P19细胞接种于50 ml规格培养瓶中,以含体积分数为20%胎牛血清的 α -MEM基础培养液37 $^{\circ}$ C、体积分数为5%二氧化碳恒温培养,经3次传代后细胞融合达80%以上,进入下一步实验。(2)诱导分化:传代至第8代的P19细胞于含体积分数为5%胎牛血清和质量分数为2%抗生素的DMEM/F12培养液中悬浮培养2 d,悬浮细胞聚集形成团(即拟胚体)移至诱导培养液中恒温培养至第4天细胞团爬片,DAB染色鉴定表达巢蛋白的细胞即为神经干细胞团,具有神经细胞定向分化能力^[7]。培养液中添加体积分数为20%胎牛血清继续诱导培养,细胞逐渐贴壁,培养至第11天滴加阿糖胞苷至终浓度为5 μ g/ml,维持培养2 d后爬片,免疫荧光细胞化学染色鉴定神经元。(3)神经元鉴定:诱导形成的表达神经元特异性微管蛋白的细胞胞质可与特异性抗体结合,荧光染

色后呈蓝绿色。

2. 免疫荧光细胞化学染色检测神经元缝隙连接子表达 (1) 实验分组: 诱导分化获得的神经元接种至铺有盖玻片的 6 孔培养板, 与细胞接触面包被质量分数为 1% 多聚赖氨酸以促进细胞贴附, 培养 2 d 后计数 6 孔板细胞数目为 $(4.00 \pm 0.30) \times 10^6$ 孔并神经元融合达 80%, 更换经配制的培养液, 于含血清诱导培养液中分别添加依托咪酯(E 组)、生胃酮(CAR 组)、脂肪乳剂(LE 组)和磷酸盐缓冲液(对照组), 剂量均为 $1 \mu\text{l}$, 使培养液中依托咪酯终浓度达 $2 \mu\text{mol/L}$ 、生胃酮终浓度 100 mg/ml ^[8,9]。(2) 免疫荧光细胞化学检测: 不同处理组 P19 细胞分别于给药前、给药 30 s、60 min、120 min 时停药, 行免疫荧光细胞化学染色。磷酸盐缓冲液冲洗 2 min($\times 3$), 兔血清封闭 20 min、抗小鼠 β -微管蛋白 III 单克隆 IgG 和山羊抗小鼠 Cx36 多克隆 IgG 预混液(I 抗)孵育 24 h、冲洗 2 min($\times 3$), 兔抗小鼠 IgG 和兔抗山羊 IgG II 抗免疫荧光细胞化学双染。(3) 结果判定: 荧光波段选择 500 ~ 510 nm 和 490 ~ 495 nm 激发光, 于光学显微镜下每张爬片选择 20 个高倍视野($\times 1000$), 每一视野横向间距为 0.15 cm, 纵向间距为 0.20 cm, NIS-Element 软件进行图像融合获得双染色荧光图像, Image J 软件除去背景噪音, 荧光斑面积和亮度均值达到一定范围内的荧光斑被定义为阳性目标荧光斑即缝隙连接子, 呈现绿色“花瓣”形态, 将“花瓣”中的每一瓣叶作为一个计数单位进行阳性细胞计数。

三、统计分析方法

采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 并行 Kolmogorov-Smirnov 正态性检验($P > 0.05$)和方差齐性检验($P < 0.05$), 采用两因素多水平重复测量设计的方差分析, 不同处理因素所得数据方差不完全齐, 两两比较行 Games-Howell 检验。统计推断的检验水准均为 $\alpha = 0.05$ 。

结 果

一、神经元定向诱导分化

1. 神经元形态变化 培养至第 10 天时, P19 细胞贴壁生长, 呈多角形, 细胞间接触密集(图 1); 诱导培养至第 4 天时, 肿瘤细胞逆分化形成拟胚体细胞团, 悬浮生长, 直径为 100 ~ 500 μm , 折光性良好(图 2)。

2. 神经元分离鉴定 免疫荧光细胞化学染色显示, 特异性表达神经元 β -微管蛋白 III 的神经元胞质呈蓝绿色荧光, 并突入细胞突起内, 呈现清晰的伸展形态(图 3)。

二、依托咪酯对神经元缝隙连接子的抑制效应

依托咪酯处理前后, 由不同处理组诱导神经元双染色融合图像可见绿色“花瓣”即为缝隙连接子, 红色荧光染色范围即为神经元微管蛋白骨架(图 4; 表 1, 2)。当以不同处理因素为条件时, 与脂肪乳剂组和对照组相比较, 经依托咪酯和生胃酮处理后 Cx36 阳性细胞数目减少, 给药后 30 s 时 P19 细胞缝

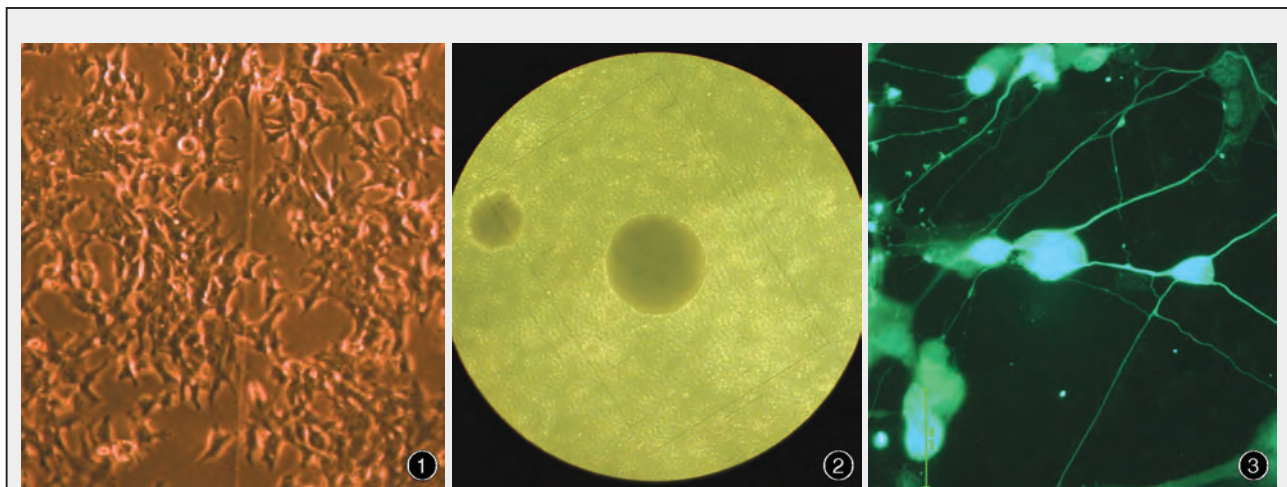


图 1 光学显微镜观察显示, 传至第 8 代的 P19 细胞呈多角形, 细胞间接触密集 $\times 100$ 图 2 光学显微镜观察显示, P19 细胞逆分化形成拟胚体细胞团, 呈悬浮生长, 折光性良好 $\times 100$ 图 3 光学显微镜观察显示, 荧光染色阳性的神经元表达 β -微管蛋白 III, 呈亮度较高的蓝绿色 免疫荧光细胞化学染色 $\times 1000$

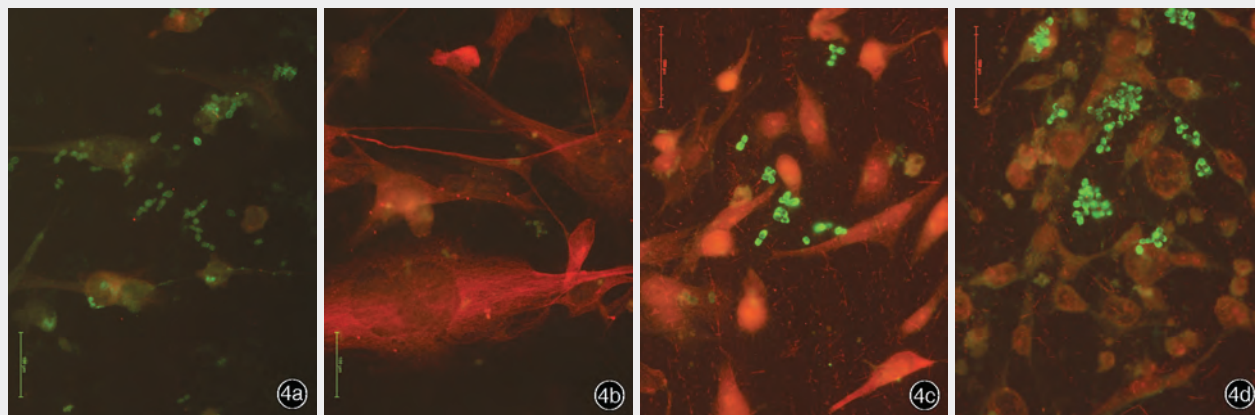


图 4 光学显微镜观察显示,绿色荧光即为“花瓣”形态的缝隙连接子,背景红色荧光为神经元微管蛋白 免疫荧光细胞化学染色 $\times 1000$ 4a 依托咪酯给药前 4b 依托咪酯给药后 30 s 4c 依托咪酯给药后 60 min 4d 依托咪酯给药后 120 min

表 1 不同处理组神经元各观察时间点阳性目标荧光斑计数的比较 ($\bar{x} \pm s$, 细胞数目/1000 倍视野)

组别	样本例数	给药前	给药后		
			30 s	60 min	120 min
对照组	80	66.95 \pm 5.58	66.95 \pm 4.98	66.15 \pm 4.44	65.55 \pm 6.72
LE 组	80	64.65 \pm 9.51	64.10 \pm 8.67	66.55 \pm 5.65	64.15 \pm 4.75
E 组	80	67.15 \pm 7.15	7.25 \pm 1.77	22.00 \pm 6.22	68.30 \pm 6.03
CAR 组	80	63.25 \pm 8.78	6.95 \pm 2.11	26.40 \pm 3.36	63.90 \pm 4.70

表 2 不同处理组神经元不同观察时间点阳性目标荧光斑计数的重复测量设计方差分析表

变异来源	SS	df	MS	F 值	P 值
处理	5 006.684	3	16 687.895	55.845	0.000
测量时间	51 995.584	3	17 331.861	473.435	0.000
处理 \times 测量时间	54 472.353	9	6 052.484	165.329	0.000
组间误差	117 596.988	316	372.142		
组内误差	115 665.088	316	366.029		

隙连接子表达明显受到抑制(与脂肪乳剂组相比: $t = -28.733$ 、 -28.643 , 均 $P = 0.000$; 与对照组相比: $t = -50.423$ 、 -49.518 , 均 $P = 0.000$), 但两药物组之间差异无统计学意义 ($t = 0.486$, $P = 0.630$); 当以依托咪酯和生胃酮处理前后作为观察条件时, 对相同作用时间、不同处理因素之间进行分析, 其结果与不同处理因素之间的整体水平分析不同, 显示相同作用时间与不同处理因素之间存在交互作用, 依托咪酯处理 60 min 时 Cx36 阳性细胞数目减少, 即此时依托咪酯对 P19 细胞缝隙连接子的抑制作用强于生胃酮 ($t = -2.782$, $P = 0.008$), 且依托咪酯与生胃酮对缝隙连接子的表达抑制效应呈现时间差异。

讨 论

对于细胞间缝隙连接的研究最早始于心肌细胞。其始动原因源自: 心肌细胞集成合胞体, 在心搏期同步收缩, 这驱使研究人员探索并发现了心肌闰盘这一高效、迅速的信息传递结构。后来在其他细胞间发现的类似于心肌闰盘的结构, 同样发挥着高速的信息传递功能, 并被重新命名为“缝隙连接”, 这种功能的高速协同性在探索全身麻醉药物

作用机制方面同样使人为之振奋。例如: 一定剂量的氟烷可降低心肌缝隙连接离子通道[由缝隙连接蛋白 43(Cx43)形成]的平均开放时间, 增加其平均关闭时间^[10]; 经脑室予以细胞间缝隙连接通讯抑制剂, 可减少七氟烷的最低肺泡有效浓度(MAC), 证实七氟烷具有抑制中枢神经系统缝隙连接信号转导作用^[11]。细胞间缝隙连接通道结构是由两两相对的缝隙连接子对合而成, 每一连接子由同种或不同种、呈哑铃形的缝隙连接蛋白并肩环绕成六聚体四跨膜结构, 其中央的亲水孔道约为 1.50 nm, 允许中等分子质量的蛋白质通过, 现已发现的缝隙连接蛋白达 20 余种, 神经元可表达缝隙连接蛋白 26、29、30、32、36、37、40、43、45、46 和 47^[12], 其中缝隙连接蛋白 43 主要表达于星形细胞, 缝隙连接蛋白 36 和 45 则多见于大脑皮质和海马神经元^[13]。在本研究中, 我们将缝隙连接蛋白 36 作为免疫荧光研究对象, 根据即在于此。

免疫荧光细胞化学染色检测选择由 P19 细胞诱导分化而来的神经元作为“研究对象”而未直接采用 P19 细胞系, 主要考虑到: P19 细胞系逆分化为全能干细胞后可被不同诱导剂诱导形成多种终末分

化细胞类型^[14],由其分化而来的神经元更接近活体组织,亦更能模拟脑组织的功能状态。而在本研究之前,Wentlandt等^[15]直接选择经体外培养的无限增殖的P19细胞进行缝隙连接蛋白表达量研究,对丙泊酚、硫喷妥钠和氟烷的作用靶点及临床剂量的关系进行分析;与Wentlandt等^[15]的实验相比,本实验所选择的实验对象即诱导神经元更贴近药物在体作用情况。

目前,关于全身麻醉药物对缝隙连接蛋白和细胞间缝隙连接通讯抑制作用的研究主要集中于丙泊酚、硫喷妥钠、氟烷^[16]和七氟烷^[11],而对另一种临床上亦常用的全身麻醉药物依托咪酯的基础及临床研究尚显匮乏。我们的研究希望能对依托咪酯的药理学机制研究提供一些参考依据。为了消除混杂处理因素依托咪酯溶剂即脂肪乳剂带来的实验偏倚,我们设立了脂肪乳剂组和对照组,旨在使该溶剂与麻醉药物之间不产生交互作用,研究结果表明,不同观察时间点脂肪乳剂对缝隙连接蛋白的作用与对照组之间无显著差异。本项研究结果显示,依托咪酯对缝隙连接蛋白具有肯定的抑制效应,其效应强度尚需进一步对目标蛋白质进行Western blotting定量检测,以及行细胞内相关信号转导实验加以证实。2007年,Shaw等^[17]在Cell上详细阐述了缝隙连接蛋白快速、直接靶定于细胞黏附接触面的机制:其直接靶定作用依赖于细胞内微管蛋白、黏附蛋白、微管正端跟踪蛋白以及细胞间作用蛋白的介导。本研究结果亦支持Shaw等^[17]的观点,即在同一观察时间内依托咪酯组神经元于短时间内(30 s)即达到与缝隙连接蛋白特异性抑制剂生胃酮相同的抑制效应。提示,依托咪酯临床上引起患者意识迅速丧失的可能物质基础,介导了意识丧失与细胞间缝隙连接通讯之间的沟通,因此,为全身麻醉药物的生物电活动研究提供了参考依据。而且,依托咪酯的这种抑制效应在给药后60 min强于缝隙连接蛋白特异性抑制剂生胃酮;此后,根据阳性目标荧光斑计数的增多表明其药效呈逐渐降低趋势,至120 min时荧光斑计数基本恢复至给药前水平,且比生胃酮组恢复完全。证明,在体外实验条件下,依托咪酯处理120 min时其对细胞间缝隙连接的抑制效应已基本消失,且无明显的后遗抑制作用,这可部分解释临床上所观察到的依托咪酯停药后患者意识迅速恢复的分子学基础。

尽管本项研究取得了一定的阳性结果,但是我

们认为在实验构思及操作过程中尚存在以下不足:(1)对于缝隙连接蛋白这一多蛋白复合体而言,同一缝隙连接子可由不同种缝隙连接蛋白构成。但在本研究中,我们仅观察了缝隙连接蛋白36的抑制机制,单一相对分子质量的蛋白质类型并不能完全代表所构成缝隙连接蛋白的抑制功能,更不能完全证明介导细胞间通讯的缝隙连接功能复合体的抑制效应,尚需要更为广泛的实验对象而使实验结果更具典型性和说服力。(2)仅从缝隙连接蛋白的阳性目标荧光斑计数反映全身麻醉药物的药效学机制,而未对其所产生的荧光强度进行定量分析。但就不同实验组之间所比较产生的具有统计学意义的差异而言,实验结果确实从一个侧面证明了这一药理作用靶点。(3)实验分组仅根据依托咪酯的临床起效剂量处理细胞,而低于或高于该剂量的药物浓度是否引起缝隙连接蛋白表达水平的改变,仍有待进一步论证。

临床实践中所观察到的全身麻醉药物依托咪酯能够引起患者意识快速丧失,其作用机制可能是通过抑制神经元之间的电突触-缝隙连接的缝隙连接蛋白表达水平,间接降低细胞间缝隙连接通讯活动而实现的。这为进一步研究依托咪酯的分子药理学机制指明了方向,从而指导临床医师更好地掌握药物剂量和用药特点,更个体化地应用于患者意识丧失和苏醒时间的掌控。

参 考 文 献

- [1] Yang J, Uchida I. Mechanisms of etomidate potentiation of GABA_A receptor-gated currents in cultured postnatal hippocampal neurons. *Neuroscience*, 1996, 73:69-78.
- [2] Sarantis K, Sotiriou E, Papatheodoropoulos C, et al. Differential pharmacological properties of GABA_A/benzodiazepine receptor complex in dorsal compared to ventral rat hippocampus. *Neurochem Int*, 2008, 52:1019-1029.
- [3] Meldrum BS, Rogawski MA. Molecular targets for antiepileptic drug development. *Neurotherapeutics*, 2007, 4:18-61.
- [4] 李敏, 缪长虹, 董苏斐, 等. 依托咪酯脂肪乳剂用于全麻诱导的临床研究. *中国临床医学*, 2003, 10:838-840.
- [5] Tsujimura T, Yanagi S, Inatome R, et al. Syk protein-tyrosine kinase is involved in neuron-like differentiation of embryonal carcinoma P19 cells. *FEBS Lett*, 2001, 489(2/3):129-133.
- [6] Hung SC, Cheng H, Pan CY, et al. In vitro differentiation of size-sieved stem cells into electrically active neural cells. *Stem Cells*, 2002, 20:522-529.
- [7] 边玮, 杨靖, 唐珂, 等. 巢蛋白在P19神经元分化过程中的表达. *生理学报*, 1999, 51:246-253.
- [8] Ye ZC, Wyeth MS, Baltan - Tekkok S, et al. Functional hemichannels in astrocytes: a novel mechanism of glutamate release. *J Neurosci*, 2003, 23:3588-3596.
- [9] Li J, Shen H, Naus CC, et al. Upregulation of gap junction

- connexin 32 with epileptiform activity in the isolated mouse hippocampus. *Neuroscience*, 2001, 105:589-598.
- [10] He DS, Burt JM. Mechanism and selectivity of the effects of halothane on gap junction channel function. *Circ Res*, 2000, 86: E104-109.
- [11] Masaki E, Kawamura M, Kato F. Attenuation of gap-junction-mediated signaling facilitated anesthetic effect of sevoflurane in the central nervous system of rats. *Anesth Analg*, 2004, 98:647-652.
- [12] Nakase T, Naus CC. Gap junctions and neurological disorders of the central nervous system. *Biochim Biophys Acta*, 2004, 1662(1/2):149-158.
- [13] Venance L, Rozov A, Blatow M, et al. Connexin expression in electrically coupled postnatal rat brain neurons. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97:10260-10265.
- [14] Suzuki Y, Wanaka A, Tohyama M, et al. Identification of differentially expressed mRNAs during neuronal differentiation of P19 embryonal carcinoma cells. *Neurosci Res*, 1995, 23:65-71.
- [15] Wentlandt K, Carlen PL, Kushnir M, et al. General anesthetics attenuate gap junction coupling in P19 cell line. *J Neurosci Res*, 2005, 81:746-752.
- [16] Wentlandt K, SamoiloVA M, Carlen PL, et al. General anesthetics inhibit gap junction communication in cultured organotypic hippocampal slices. *Anesth Analg*, 2006, 102:1692-1698.
- [17] Shaw RM, Fay AJ, Puthenveedu MA, et al. Microtubule plus-end-tracking proteins target gap junctions directly from the cell interior to adherens junctions. *Cell*, 2007, 128: 547-560.

(收稿日期:2010-07-09)

《临床神经科学研究基本技术》出版

由陈春富和殷红兵主编的《临床神经科学研究基本技术》已由科学出版社于2008年8月出版。该书在内容上继承并吸收了传统技术中的精华,力求与国际神经科学新技术接轨,反映学科交叉渗透;系统地介绍了神经病理学、神经电生理学、神经生物化学、神经免疫学、神经毒理学、神经干细胞、突触体、血-脑屏障、细胞凋亡、细胞培养、组织切片和立体定向等方面的有关技术和方法;同时介绍了与脑血管疾病密切相关的血液流变学、组织血流动力学、脑氧监测技术有关的检查方法和临床神经科学的前沿技术。书末附有神经科学动物实验常用数据,以备查阅。该书从基础理论知识和神经病学视角论述了临床神经科学技术,将基础理论和临床实践完美结合。其内容翔实,并配有大量图表,形象、简洁,是一部内容新颖、丰富的神经科学专业著作,对神经病学临床和科研工作具有重要参考价值,适合从事神经病学临床和科研的专业人员、医学院校学生,以及对神经病学感兴趣的相关学科的科研人员参考。

各地新华书店及医学专业书店均有售,定价186.00元。邮购电话:(010)64034601。Email:med-prof@mail.sciencep.com。联系方式:100717 北京市东城区东黄城根北街16号科学出版社医药卫生出版分社温晓萍(请在汇款附言注明您购书的书名、册数、联系电话、是否需要发票等)。

《神经病学》出版

由王拥军教授及多位神经内科专家编写的《神经病学》已于2009年1月由科学出版社出版。该书主要为神经内科住院医师量身定做,重点在于帮助神经内科医师掌握神经内科的临床诊断模式,以及定位、定性诊断的分析技巧;熟悉常见病和多发病的诊断与治疗,掌握神经内科常用操作技能。与以往专著不同的是:该书增加了与神经外科、精神科、内科等交叉学科相关的内容;以及神经内科常用实验室检查正常参考值、神经内科常用药物、神经内科病历书写规范等内容,为神经内科医师必备的工具书,更适合作为神经内科专科医师培训用书。

当当网、卓越网、新华书店及医学专业书店均有售。定价148.00元。邮购电话:(010)64034601。Email:wenziaoping@mail.sciencep.com。联系方式:100717 北京市东城区东黄城根北街16号科学出版社医药卫生出版分社温晓萍(请在汇款附言注明您购书的书名、册数、联系电话、是否需要发票等)。

《意识障碍诊断治疗学》出版

由解放军总医院神经科临床专家编写的《意识障碍诊断治疗学》一书已在科学出版社出版。该书共分4篇、32章,详细地描述了与意识障碍有关的基础理论、分类及诊断方法、意识障碍相关疾病、发作性意识障碍,以及各种意识障碍的诊断与治疗原则。该书是作者根据自己的临床经验和参考国内外研究进展所编著,其中收录了典型病例的MRI和脑电图,图文并茂,通俗易懂,是国内有关意识障碍书籍中内容比较全面且实用的专著,适合神经科医师阅读、参考。

各地新华书店均有售,定价128.00元。邮购电话:(010)64034601。传真:(010)64019761。Email:wenziaoping@mail.sciencep.com。联系方式:100717 北京市东城区东黄城根北街16号科学出版社医药卫生出版分社温晓萍(请在汇款附言注明您购书的书名、册数、联系电话、是否需要发票等)。