

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.02.010

褪黑素通过激活 SIRT1 信号通路发挥抗肺缺血再灌注损伤作用 *

冯英同¹ 高春城² 叶福林¹ 朱建福¹ 冯英备³ 王增辉¹ 周 峰⁴ 黄 兵^{1△}

(1 解放军第 97 医院胸心外科 江苏 徐州 221004; 2 解放军第 211 医院心内科 黑龙江 哈尔滨 150080;

3 邳州市人民医院普通外科 江苏 邳州 221300; 4 解放军第 97 医院普通外科 江苏 徐州 221004)

摘要 目的: 研究褪黑素(Melatonin, Mel)在肺缺血再灌注损伤中的作用,明确沉默信息调控因子 1(Silent information regulator 1, SIRT1)信号通路在这一过程中的关键作用。**方法:** 建立大鼠肺缺血再灌注损伤(IR)模型,实验分为 Control、IR、IR+10 mg/Kg Mel、IR+20 mg/Kg Mel、IR+30 mg/Kg Mel 五组,通过检测支气管肺泡灌洗液中白细胞数目、蛋白含量和肺组织中丙二醛(MDA)水平、干湿重比等指标明确肺组织损伤程度,Western blot 检测 SIRT1 通路相关分子及凋亡相关蛋白的表达水平,研究其作用机制。**结果:** 与 IR 组相比, Mel 处理显著降低了支气管肺泡灌洗液中白细胞数量、蛋白含量和肺组织 MDA 含量、干湿重比($P<0.05$); Mel 还显著上调了 SIRT1 表达,降低了 Ac-FOXO1 表达($P<0.05$);此外, Mel 显著提高了抗凋亡蛋白 Bcl-2 表达,下调了凋亡蛋白 Bax 表达($P<0.05$)。**结论:** Mel 具有明确的抗肺缺血再灌注损伤的作用, SIRT1 信号通路在该过程中可能扮演重要角色。

关键词: 肺缺血再灌注损伤;褪黑素;沉默信息调控因子 1

中图分类号: R-33; R655.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2017)02-242-05

Melatonin Exerts Protective Effect on Lung Ischemia Reperfusion Injury by Activating the SIRT1 Signaling Pathway*

FENG Ying-tong¹, GAO Chun-cheng², YE Fu-lin¹, ZHU Jian-fu¹, FENG Ying-bei³, WANG Zeng-hui¹, ZHOU Feng⁴, HUANG Bing^{1△}

(1 Department of Cardiothoracic Surgery, the 97th Hospital of PLA, Xuzhou, Jiangsu, 221004, China; 2 Department of Cardiology, the 211th Hospital of PLA, Harbin, Heilongjiang, 150080, China; 3 Department of General Surgery, People's Hospital of Pizhou City, Pizhou, Jiangsu, 221300, China; 4 Department of General Surgery, the 97th Hospital of PLA, Xuzhou, Jiangsu, 221004, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the protective effect of melatonin (Mel) on lung ischemia reperfusion injury as well as SIRT1's role in this process. **Methods:** The rat lung ischemia reperfusion injury model was established to mimic the clinical lung ischemia reperfusion injury (IRI). The rats were divided into Control group, IR, IR+10 mg/Kg Mel, IR+20 mg/Kg Mel, IR+30 mg/Kg Mel group. The white blood cells and protein in bronchoalveolar lavage fluid, malondialdehyde in lung tissue and the wet/dry ratio of lung tissue were detected. In addition, the SIRT1, Ac-FOXO1, Bcl-2, and Bax expression were detected by Western blot. **Results:** Compared with the IR group, Mel treatment significantly reduced the number of white blood cells and the content of protein in bronchoalveolar lavage fluid, the level of malondialdehyde in lung tissue and the wet/dry ratio of lung tissue ($P<0.05$). Mel also significantly increased Bcl2 expression and decreased Bax expression ($P<0.05$). In addition, the SIRT1 expression was up-regulated compared with the IR group and Ac-FOXO1 expression was down-regulated compared with the IR group ($P<0.05$). **Conclusions:** Mel can significantly alleviate lung IRI, which might be mediated via SIRT1 activation.

Key words: Lung ischemia reperfusion injury; Melatonin; SIRT1

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R655.3 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)02-242-05

前言

肺缺血再灌注(IR)损伤导致的肺功能障碍是肺移植失败的首要原因,同时也是休克、创伤、心血管手术的主要并发症之一^[1-3]。肺缺血再灌注损伤导致肺泡毛细血管屏障破坏,肺组织通透性提高,液体和大分子物质渗出到肺间质和肺泡,表现为肺水、蛋白含量上升^[4,5]。褪黑素(N-乙酰基-5-甲氧基色胺, Mel)由人松果体分泌,具有抗炎、抗氧化应激、抗凋亡和镇痛等

有多重生理、病理学作用功效^[6-8]。褪黑素在多种实验条件下,在包括心脏、脑、肝脏在内的多种器官中具有缓解缺血再灌注损伤的作用^[9-11]。此外,研究证实褪黑素对肺纤维化等炎症损伤具有抑制作用^[12]。然而褪黑素对肺缺血再灌注损伤的影响特别是相关机制尚无明确研究报道。沉默信息调控因子 1(SIRT1)存在于哺乳动物体内,是酵母沉默信息调节因子 Sir2 的同源分子,具有去乙酰化酶活性^[13]。研究表明,在心脏、大脑等实质器官的缺血再灌注损伤中, SIRT1 发挥了重要的保护作用,且该

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81201583);南京军区创新课题(15MS043)

作者简介:冯英同(1985-),硕士,主要研究方向:肺部疾病的治疗及机制研究,电话:0516-83349049, E-mail: fyt2012a@126.com

△通讯作者:黄兵,电话:0516-83349049, E-mail: huangbing97yy@126.com

(收稿日期:2016-06-26 接受日期:2016-07-23)

保护作用与褪黑素的抗缺血再灌注损伤具有显著的相关性^[13-15]。但褪黑素对肺缺血再灌注损伤是否有保护作用及该过程是否有 SIRT1 参与尚无定论。本研究拟应用大鼠肺缺血再灌注损伤模型探究褪黑素的保护作用及机制。

1 材料与方法

1.1 仪器与试剂

褪黑素、戊巴比妥 (Sigma 公司, 美国), MDA 检测试剂盒 (南京建成公司, 中国), SAR-1000 型小动物呼吸机 (淮北正华公司, 中国)。

1.2 动物与分组情况

雄性 SD 大鼠 80 只 (250 g~300 g, 8-10 周龄, 购自第四军医大学动物中心), 随机分为 5 组 (n=16)。① Control 组; ② 肺 IR 组; ③ 肺 IR + 10 mg/Kg Mel 预处理组; ④ 肺 IR + 20 mg/Kg Mel 预处理组; ⑤ 肺 IR + 30 mg/Kg Mel 预处理组。Mel 预处理方法为: 大鼠拟行肺缺血前 7 日内每日经腹腔注射 Mel 一次, 剂量按分组所述, Control 组及肺 IR 组注射相同容积生理盐水。

1.3 动物模型建立方法

按 Eppinger^[16]等人的方法建立大鼠缺血再灌注损伤模型。所有大鼠都术前禁食 8 h, 禁水 4 h。腹腔注射 1% 戊巴比妥 50 mg/Kg 常规麻醉后, 气管插管并连接呼吸机机械通气, 潮气量 10 mL/Kg, 频率 60 次/min, 同时监测心电图。术中发现大鼠体动则继续腹腔注射 1% 戊巴比妥 20 mg/Kg。于大鼠左侧第 5 肋间处剪开皮肤, 钝性分离肋间肌肉, 打开胸腔后分离左侧肺门, 此时腹腔注射肝素 100 U/Kg, 10 min 后用微型无创动脉夹夹闭肺门, 可见左肺呼吸运动停止, 颜色逐渐变暗。对照组仅做开胸和肺门分离处理, 其余 4 组均夹闭肺门 1 h, 之后取下动脉夹。各组均于再灌 2 h 和再灌 4 h 后各处死 8 只大鼠, 取其肺组织, 将其中 4 只进行支气管肺泡灌洗, 其余 4 只取下肺组织用于 MDA 测定, 肺干湿重比测定及蛋白检测。

1.4 检测指标

(1) 支气管肺泡灌洗液蛋白测定: 结扎右主支气管, 用 3 mL 生理盐水灌洗左肺, 反复抽吸, 重复 3 次, 回收的灌洗液不

少于 6.5 mL。收集大鼠支气管肺泡灌洗液, 4℃ 下 1500 r/min 离心 5 min, 采用考马斯亮蓝染色法对灌洗液上清中总蛋白 (TP) 进行测定。(2) 支气管肺泡灌洗液中性粒细胞百分比: 取离心后的灌洗液沉淀物, 瑞氏染色计数白细胞和中性粒细胞 (NEUT) 并计算比值。(3) 肺组织干湿重比: 取左肺下叶组织, 约 0.4 g, 称量湿重 (W) 后置于 80℃ 烘箱干燥脱水至恒重, 称量干重 (D)。计算 W/D。(4) 肺组织 MDA 检测: 取 0.4 g 肺组织, 研磨后裂解, 提取组织总蛋白, 定量后按 MDA 检测试剂盒操作, 记录读数并计算 MDA 含量。(5) 肺组织 SIRT1 通路蛋白检测: 取剩余肺组织, 提取蛋白并定量后进行 Western blot 检测蛋白表达情况。

1.5 Western blot 检测

将所提取蛋白进行聚丙烯酰胺凝胶电泳, 之后湿转法将蛋白转到聚偏二氟乙烯膜 (PVDF 膜) 上。用抗 SIRT1 (Abcam, 1:3000)、抗 Ac-FOXO1 (Santa Cruz, 1:500)、抗 GAPDH (内参, CMCTAG, 1:2000)、抗 Bcl2 (Cell signaling technology, 1:1000)、抗 Bax (Cell signaling technology, 1:1000) 的一抗在 4℃ 条件下孵育 PVDF 膜过夜, 次日加相应的二抗 (中杉金桥, 1:5000) 室温孵育 2 h, 最后用 Bio-Rad 凝胶成像, 进行 ECL 发光, 应用自带软件进行蛋白条带灰度分析。目的蛋白灰度值与相应内参灰度进行比对, 然后以对照组为 1 进行标准化并进一步统计分析。

1.6 统计学方法

采用 SPSS13.0 统计软件进行统计分析。所有实验结果均以均数 ± 标准差表示 ($\bar{x} \pm S$)。多组间差异比较采用单因素方差分析, 两组间差异比较采用 LSD-t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Mel 处理降低支气管肺泡灌洗液 TP 浓度及 NEUT 百分比

与 Control 组相比, IR 组 TP 浓度、NEUT 百分比均升高; 与 IR 组相比, IR+Mel 组 TP 浓度、NEUT 百分比均降低, 且呈剂量时间依赖性 (表 1)。

表 1 Mel 对支气管肺泡灌洗液蛋白及白细胞的影响

Table 1 Effects of Mel treatment on the protein and white blood cells in bronchoalveolar lavage fluid

Test item	Time(h)	Control group	IR group	IR+10 mg/Kg Mel	IR+20 mg/Kg Mel	IR+30 mg/Kg Mel
TP(g/L)	2	1.7± 0.5	3.7± 0.4*	3.2± 0.3 [#]	2.9± 0.4 ^{△☆}	2.7± 0.5 ^{△☆}
	4	1.9± 0.6	5.1± 0.7*	4.5± 0.5 [#]	4.1± 0.3 ^{△☆}	3.6± 0.6 ^{△☆◇}
NEUT(%)	2	7.1± 1.7	26± 1.5*	23± 1.9 [#]	17± 2.5 ^{△☆}	16± 3.0 ^{△☆}
	4	6.9± 1.2	35± 2.3*	26± 2.2 [△]	21± 2.9 ^{△☆}	18± 2.8 ^{△☆◇}

Note: n=4, compared with the control group, * $P < 0.01$; compared with the IR group, [#] $P < 0.05$, [△] $P < 0.01$; compared with the IR+10 mg/Kg Mel group, [☆] $P < 0.05$; compared with the IR+20 mg/Kg Mel group, [◇] $P < 0.05$.

2.2 Mel 处理降低肺组织 W/D 和 MDA 水平

与 Control 组相比, IR 组 W/D、MDA 均升高; 与 IR 组相比, IR+Mel 组 W/D、MDA 均降低, 且呈一定的时间依赖性 (表 2)。

2.3 Mel 处理激活 SIRT1-Ac-FOXO1 信号通路

如图 1 所示, 将目的蛋白相对表达量依对照组标准化之后

进行比较发现, IR 组 SIRT1 表达显著降低到对照组的 (35.21 ± 5.63) % ($P < 0.05$), Ac-FOXO1 表达显著上调到 (197.34 ± 12.34) % ($P < 0.05$)。与 IR 组相比, MEL 可以显著提高 SIRT1 表达达到 (47.82 ± 7.47) % (10 mg/Kg Mel, $P < 0.05$)、(59.56 ± 8.95) % (20 mg/Kg Mel, $P < 0.01$) 和 (73.78 ± 9.87) % (30 mg/Kg Mel, $P < 0.01$)。

表 2 Mel 对肺组织 W/D 和 MDA 水平的影响
Table 2 Effects of Mel treatment on the W/D and MDA of lung tissue

Test item	Time(h)	Control group	IR group	IR+10 mg/Kg Mel	IR+20 mg/Kg Mel	IR+30 mg/Kg Mel
W/D	2	3.5± 0.52	4.9± 0.59*	4.6± 0.41 [#]	4.4± 0.39 [△]	4.5± 0.67 [#]
	4	3.3± 0.71	5.6± 0.62*	4.8± 0.55 [△]	5.0± 0.43 [△]	4.9± 0.71 [△]
MDA (nmol/g)	2	9.8± 0.9	18.1± 1.1*	15.3± 0.8 [△]	13.1± 1.2 ^{△☆}	13.5± 0.9 ^{△☆}
	4	9.7± 1.2	21.0± 1.3*	17.3± 1.2 [△]	16.8± 1.5 ^{△☆}	15.9± 1.4 ^{△☆}

Note: n=4, compared with the control group, * P <0.01; compared with the IR group, [#] P <0.05, [△] P <0.01; compared with the IR+10 mg/Kg Mel group, [☆] P <0.05.

01), 而显著抑制 Ac-FOXO1 表达达到 (158.28± 11.78) % (10 01)、(134.19± 14.28) % (30 mg/Kg Mel, P<0.01)。mg/Kg Mel, P<0.05)、(149.52± 13.67) % (20 mg/Kg Mel, P<0.

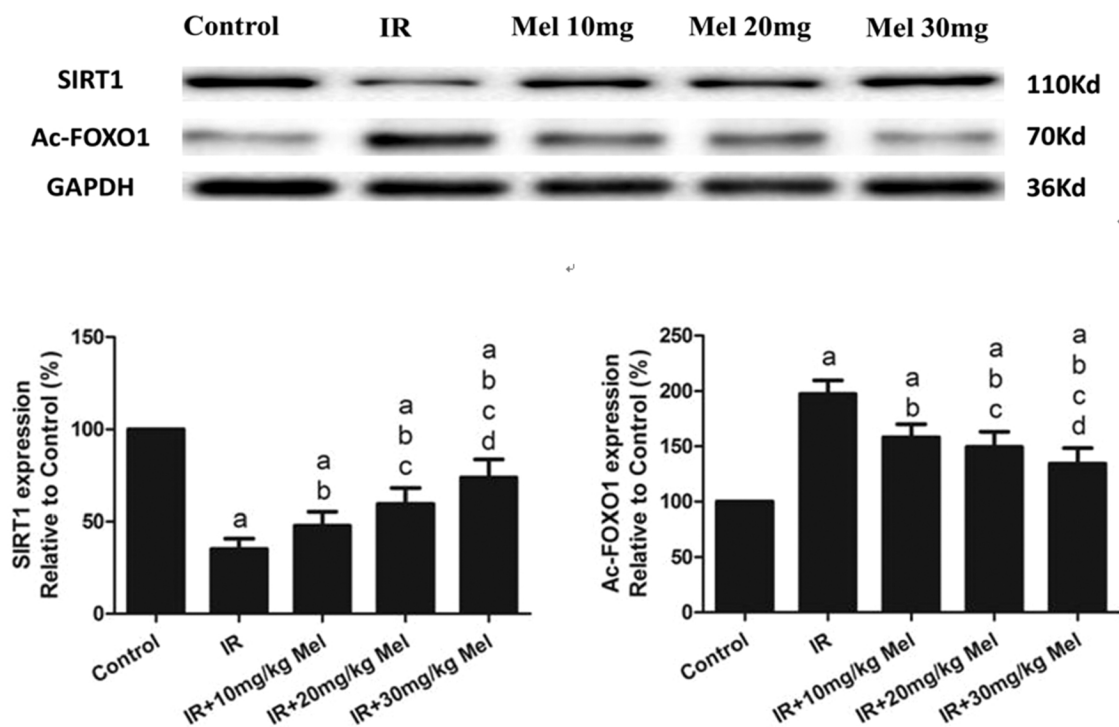


图 1 Mel 对 SIRT1 及 Ac-FOXO1 蛋白表达的影响

Fig.1 Effects of Mel treatment on the expression of SIRT1 and Ac-FOXO1 proteins

Note: n=4, compared with the control group, aP <0.05; compared with the IR group, bP <0.05; compared with the IR+10 mg/Kg Mel group, cP <0.05; compared with the IR+20 mg/Kg Mel group, dP <0.05.

2.4 Mel 处理提高了抗凋亡蛋白 Bcl2 表达,降低了促凋亡蛋白 Bax 表达

如图 2 所示,将目的蛋白相对表达量依对照组标准化之后进行比较发现,IR 组抗凋亡蛋白 Bcl2 表达显著降低到对照组的(47.26± 6.98) % (P<0.01),促凋亡蛋白 Bax 表达显著上调到 (178.73± 15.60) % (P<0.01)。与 IR 组相比,MEL 可以显著提高 Bcl2 的表达达到 (58.77± 8.94) % (10 mg/Kg Mel, P<0.01)、(78.25± 9.61) % (20 mg/Kg Mel, P<0.01)和(90.02± 11.93) % (30 mg/Kg Mel, P<0.01),而显著抑制 Bax 表达达到(162.86± 10.18) % (10 mg/Kg Mel, P<0.01)、(154.73± 11.05) % (20 mg/Kg Mel,

P<0.01)、(148.70± 9.58) % (30 mg/Kg Mel, P<0.01)。

3 讨论

本研究中我们首先探究了褪黑素对肺缺血再灌注损伤后肺通透性改变的影响。支气管肺泡灌洗液蛋白含量及肺干湿重比分别是肺泡气血屏障对蛋白和水通透性的指标。本研究发 现,肺缺血再灌注损伤后,支气管肺泡灌洗液蛋白含量及肺干湿重比显著升高,且随着再灌时间的延长升高更为明显。提示缺血再灌注损伤破坏气血屏障的完整性,再灌时间的延长进一步加重了这一损伤。

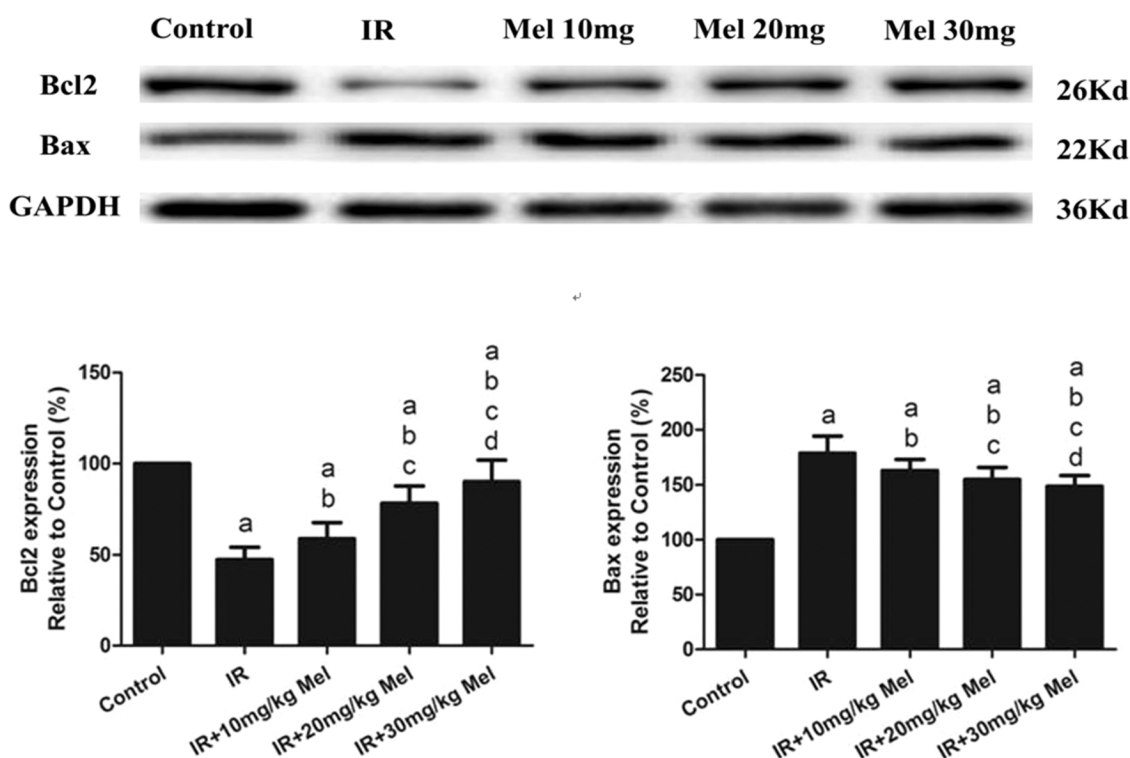


图2 Mel 对 Bcl2 及 Bax 蛋白表达的影响

Fig.2 Effects of Mel treatment on the expression of Bcl2 and Bax proteins

Note: n=4, compared with the control group, aP <0.05; compared with the IR group, bP <0.05; compared with the IR+10 mg/Kg Mel group, cP <0.05; compared with the IR+20 mg/Kg Mel group, dP <0.05.

褪黑素是一种具有较强自由基清除能力的内源性小分子物质,多项研究证实该分子在缺血再灌注损伤中通过清除多种自由基来减轻氧化应激损伤^[17],并且在多种脏器的缺血再灌注损伤中,褪黑素预处理具有明确的保护作用^[18-20]。本研究也证实褪黑素能显著降低肺缺血再灌注损伤,具体表现为褪黑素处理能显著减少肺泡内蛋白渗出,降低支气管肺泡灌洗液中中性粒细胞的比例,降低肺组织的水肿程度及 MDA 水平,提示褪黑素预处理显著改善了肺组织的通透性,降低了缺血再灌注导致的肺损伤。

文献报道表明,在心肌缺血再灌注中 SIRT1 介导了褪黑素的心肌保护作用^[14]。SIRT1 可使其下游的关键转录因子 Ac-FOXO1 脱乙酰化,上调抗凋亡蛋白 Bcl2 表达,下调促凋亡蛋白 Bax 的表达,进而发挥抗凋亡作用^[18]。SIRT1/Ac-FOXO1 通路的活化及其对 Bcl2、Bax 的调控作用对细胞的抗 IR 损伤具有重要意义^[18-20]。考虑到 SIRT1 与褪黑素及缺血再灌注损伤的密切关系,本研究进一步检测了该过程中 SIRT1 及其下游分子 Ac-FOXO1 的表达水平,Western blot 结果显示肺缺血再灌注损伤后 SIRT1 的表达显著下降,Ac-FOXO1 的表达显著上升,同时抗凋亡蛋白表达 Bcl-2 显著下降,凋亡蛋白 Bax 表达显著上升,而给予不同浓度的褪黑素预处理逆转了这一变化。以上结果提示褪黑素对肺组织缺血再灌注损伤的保护作用可能与其激活 SIRT1,促进 Ac-FOXO1 去乙酰化,调控 Bcl2 和 Bax 等凋亡相关蛋白进而抑制肺组织细胞凋亡相关。

综上所述,该研究表明,褪黑素具有明确的抗肺缺血再灌注损伤的作用,该作用可能与激活 SIRT1-Ac-FOXO1 信号通路

进而抑制细胞凋亡相关。褪黑素可能会成为肺缺血再灌注损伤临床预防及治疗的新选择,值得进一步深入研究。

参考文献(References)

- [1] Lin E, Snell GI, Levvey BJ, et al. Safety, feasibility, and effect of remote ischemic conditioning in patients undergoing lung transplantation [J]. The Journal of heart and lung transplantation: the official publication of the International Society for Heart Transplantation, 2014, 33(11): 1139-1148
- [2] Grimm JC, Valero V, Kilic A, et al. Association between prolonged graft ischemia and primary graft failure or survival following lung transplantation[J]. JAMA surgery, 2015, 150(6): 547-553
- [3] 杨波, 陈家宽, 李文海, 等. NDRG2 在大鼠肺缺血再灌注损伤中的表达[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(5): 828-831
Yang Bo, Chen Jia-kuan, Li Wen-hai, et al. NDRG2 Expression in Lung Tissue of Rat with Acute Lung Injury Induced by Lung Ischemia-Reperfusion Injury [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2013, 13(5): 828-831
- [4] Ferrari RS, Andrade CF. Oxidative stress and lung ischemia-reperfusion injury [J]. Oxidative medicine and cellular longevity, 2015, 2015: 590987
- [5] 葛鹏, 杨波, 李小飞, 等. 蛇床子素在大鼠肠缺血再灌注肺损伤模型中的肺保护机制研究 [J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(28): 5401-5404
Ge Peng, Yang Bo, Li Xiao-fei, et al. Lung Protection of Osthole Against Intestinal Ischemia-Reperfusion Lung Injury in Rats [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2013, 13(28): 5401-5404

- [6] Yang Y, Sun Y, Yi W, et al. A review of melatonin as a suitable antioxidant against myocardial ischemia-reperfusion injury and clinical heart diseases [J]. Journal of pineal research, 2014, 57(4): 357-366
- [7] Xin Z, Jiang S, Jiang P, et al. Melatonin as a treatment for gastrointestinal cancer: A review[J]. Journal of pineal research, 2015, 58(4): 375-387
- [8] Fernandez A, Ordonez R, Reiter RJ, et al. Melatonin and endoplasmic reticulum stress: Relation to autophagy and apoptosis [J]. Journal of pineal research, 2015, 59(3): 292-307
- [9] Escribano BM, Colin-Gonzalez AL, Santamaria A, et al. The role of melatonin in multiple sclerosis, huntington's disease and cerebral ischemia[J]. CNS & neurological disorders drug targets, 2014, 13(6): 1096-1119
- [10] Cervantes M, Morali G, Letechipia-Vallejo G. Melatonin and ischemia-reperfusion injury of the brain[J]. Journal of pineal research, 2008, 45(1): 1-7
- [11] Gim SA, Koh PO. Melatonin attenuates hepatic ischemia through mitogen-activated protein kinase signaling[J]. The Journal of surgical research, 2015, 198(1): 228-236
- [12] Karimfar MH, Rostami S, Haghani K, et al. Melatonin alleviates bleomycin-induced pulmonary fibrosis in mice [J]. Journal of biological regulators and homeostatic agents, 2015, 29(2): 327-334
- [13] Yang Y, Duan W, Li Y, et al. Novel role of silent information regulator 1 in myocardial ischemia [J]. Circulation, 2013, 128(20): 2232-2240
- [14] Yu L, Sun Y, Cheng L, et al. Melatonin receptor-mediated protection against myocardial ischemia/reperfusion injury: Role of sirt1 [J]. Journal of pineal research, 2014, 57(2): 228-238
- [15] Zhao L, An R, Yang Y, et al. Melatonin alleviates brain injury in mice subjected to cecal ligation and puncture via attenuating inflammation, apoptosis, and oxidative stress: The role of sirt1 signaling[J]. Journal of pineal research, 2015, 59(2): 230-239
- [16] Eppinger MJ, Jones ML, Deeb GM, et al. Pattern of injury and the role of neutrophils in reperfusion injury of rat lung [J]. The Journal of surgical research, 1995, 58(6): 713-718
- [17] Manchester LC, Coto-Montes A, Boga JA, et al. Melatonin: An ancient molecule that makes oxygen metabolically tolerable [J]. Journal of pineal research, 2015, 59(4): 403-419
- [18] Yang Y, Jiang S, Dong Y, et al. Melatonin prevents cell death and mitochondrial dysfunction via a sirt1-dependent mechanism during ischemic-stroke in mice [J]. Journal of pineal research, 2015, 58(1): 61-70
- [19] Kang JW, Cho HI, Lee SM. Melatonin inhibits mtor-dependent autophagy during liver ischemia/reperfusion [J]. Cellular physiology and biochemistry: international journal of experimental cellular physiology, biochemistry, and pharmacology, 2014, 33(1): 23-36
- [20] Sehajpal J, Kaur T, Bhatti R, et al. Role of progesterone in melatonin-mediated protection against acute kidney injury [J]. The Journal of surgical research, 2014, 191(2): 441-447

(上接第 236 页)

- Yan Shu-yu, Cheng Wei-ping, Bi Shu-yue, et al. Using data mining method to analyze the experience of Professor Cheng Weiping in the treatment of epilepsy [J]. Journal of traditional Chinese Medicine, 2014, 42(3): 42-44
- [20] 冯波, 靖慧军, 郭敏娟, 等. 石菖蒲挥发油和水煎液的抗焦虑作用 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2014, 20(9): 207-210
- Feng Bo, Jing Hui-jun, Guo Min-juan, et al. anti anxiety effect of volatile oil and water decoction of Rhizoma Acori Tatarinowii [J]. Chinese materia Med, 2014, 20(9): 207-210
- [21] 陈俐, 廖卫平. 石菖蒲挥发油对癫痫大鼠海马氨基酸含量的影响 [J]. 中国中药杂志, 2004, 29(7): 670-672
- Chen Li, Liao Wei Ping. Effect on amino acid content in hippocampus of epileptic rats of Rhizoma Acori Tatarinowii volatile oil[J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2004, 29(7): 670-672
- [22] 李海峰, 王慧, 夏哲智, 等. 石菖蒲水煎剂对癫痫大鼠脑部神经发生及认知功能的影响[J]. 浙江中西医结合杂志, 2013, 23(10): 787-789
- Li Hai-feng, Wang Hui, Xia Zhe-zhi, et al. The effect of Rhizoma Acori Tatarinowii water decoction to epileptic rat brain neurogenesis and cognitive function in rats [J]. Journal of integrated traditional Chinese and Western medicine, Zhejiang, 2013, 23(10): 787-789