

·针灸推拿·

针刺联合亚低温对脑缺血再灌注损伤大鼠 脑组织 p-Raf1、p-ERK1/2 的影响

刘 琴,林亚平,陈 文,肖 姮,杨茜芸,陈楚洵,田浩梅*
(湖南中医药大学,湖南 长沙 410208)

〔摘要〕目的 观察针刺联合亚低温疗法对脑缺血再灌注大鼠神经功能缺损评分、细胞凋亡及 p-Raf1、p-ERK1/2 的影响。方法 参照 ZeaLonga 线栓法复制大鼠中动脉缺血模型(MCAO)并加以改良,50 只 SD 大鼠随机分为空白组、假手术组、模型组、针刺组、针刺联合亚低温组,每组 10 只,针刺及针刺联合亚低温治疗 72 h 后,观察神经功能缺损评分、TUNEL 法检测凋亡细胞,Western Blot 法检测大鼠缺血侧脑组织磷酸化 Raf-1、ERK1/2 蛋白的表达水平。结果 造模后,模型组大鼠神经功能缺损评分升高、凋亡细胞增多,磷酸化 Raf1、ERK1/2 蛋白的表达水平明显增高,与空白组及假手术组比较差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。经治疗后,各治疗组神经功能缺损评分减少、凋亡细胞及磷酸化 Raf1、ERK1/2 蛋白的表达水平均明显降低,与模型组比较差异有统计学意义($P<0.01$)。与针刺组比较,针刺联合亚低温组神经功能缺损评分,磷酸化 Raf-1、ERK1/2 蛋白的表达水平下降,差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。结论 针刺及针刺联合亚低温均可改善神经功能缺损,调节 p-Raf1、p-ERK1/2,减少细胞凋亡,对脑组织起保护作用,且联合组的脑保护作用更强。

〔关键词〕 针刺联合亚低温;脑缺血再灌注;p-Raf1;p-ERK1/2;神经功能缺损;细胞凋亡

〔中图分类号〕R245.3 **〔文献标识码〕**A **〔文章编号〕**doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2016.01.015

The Influence of Acupuncture Combined Hypothermia on p-Raf1 and p-ERK1/2 in Cerebral Ischemia Reperfusion Injury Rats

LIU Qin, LIN Yaping, CHEN Wen, XIAO Heng, YANG Qianyun, CHEN Chutao, TIAN Haomei*
(Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China)

〔Abstract〕 Objective To observe acupuncture combined hypothermia therapy on cerebral ischemia reperfusion rats nerve function defect scale, cell apoptosis, and the effect of p-Raf1 and p-ERK1/2. Methods Reference ZeaLonga line tied to copy the MCA ischemia model (MCAO) and modified, 50 SD rats were randomly divided into blank group, control group, model group, acupuncture group, acupuncture combined hypothermia group, 10 rats in each group. After 72 h treatment, the nerve function defect scale was observed, apoptosis cells were detected by TUNEL method, ERK1 Raf-1/2 protein expression level in rats brain tissue ischemia side phosphorylation were detected with Western Blot method. Results After building, the model group rats nerve function defect scale increases, the apoptotic cells increased, p-Raf1 and p-ERK1/2 protein expression level increased obviously, compared with the blank group and control group, the difference was statistically significant ($P<0.05$ or $P<0.01$). After treatment, the treatment group of nerve function defect grade and phosphorylation, apoptosis cells, p-Raf1 and p-ERK1/2 protein expression levels were significantly lower than that in model group, the difference was statistically significant ($P<0.01$). Compared with acupuncture group, acupuncture combined hypothermia group neural function defect scale, p-Raf1 and p-ERK1/2 protein expression levels were declined, the difference was statistically significant ($P<0.05$ or $P<0.01$). Conclusion The acupuncture and acupuncture combined hypothermia could improve nerve function defect, regulate p-Raf1 and reduce the apoptosis, have protection effect on brain, and the combined group showed more stronger effect.

〔Keywords〕 acupuncture combined hypothermia; cerebral ischemia reperfusion; rats; p-Raf1;p-ERK1/2; nerve function defect; apoptotic cells

〔收稿日期〕2015-09-20

〔基金项目〕国家自然科学基金项目(81303051),湖南省中医药科研计划项目(201471),中医内科学省部共建教育部重点实验室资助(ZYNK201501)。

〔作者简介〕刘 琴,女,在读硕士研究生,主要从事针灸治病机制与临床研究。

〔通讯作者〕* 田浩梅,女,副教授,硕士研究生导师,E-mail:451358104@qq.com。

缺血性脑卒中约占脑卒中的 60%~70%,主要由脑的供应动脉狭窄或闭塞引起^[1]。脑缺血再灌注损伤(Cerebral ischemia reperfusion injury ,CIRI)是指因脑缺血致脑组织坏死前,闭塞脑血管再通后缺血性损伤却进一步加重的现象^[2]。临床上多种治疗方式可使本病得到一定的缓解,但大多数患者因缺乏有效的治疗手段,导致死亡,给人类的生命带来严重的威胁,因此寻找有效的治疗手段并对其机制进行研究刻不容缓。针刺疗法及亚低温疗法在治疗本病的疗效上已被大量文献证实^[3-6]。本文将通过对脑缺血再灌注大鼠的神经功能评分、ERK 通路相关磷酸化蛋白及凋亡细胞进行观察,以探讨针刺及亚低温疗法对缺血性脑损伤的脑保护机制,为指导临床提供一定实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 SD 大鼠 50 只,SPF 级,雄性,体质量 250~280 g。由湖南中医药大学实验动物中心提供。许可证号:scxk(湘)2013-0004。

1.1.2 主要仪器 Shandon325 型石蜡切片机(英国 Shandon 公司)、MIAS 医学图像分析系统(北航公司)、LEICA DM LB2 型双目显微镜(德国 LEICA 公司产)、双极电凝器(上海医用激光仪器厂)、HHS-2 电子恒温不锈钢水浴锅(上海南阳仪器有限公司)、脑槽、TES 1310 TYPE-K 数位温度表(台湾泰仕电子工业股份有限公司)、大鼠肛温温度计(北京冀诺泰科技发展有限公司)、华佗牌美容针灸针(苏州医疗用品厂有限公司)、数码照相机(日本索尼)、鱼线等。

1.1.3 主要试剂 Anti-Raf1 (phospho S259) antibody(ab173539, 英国 abcam 公司)、Anti-MEK2 (phospho T394) antibody (ab30622, 英国 abcam 公司)、Phospho-p44/42 MAPK Erk1/2(#4370, 美国 CST 公司)、 β -actin antibody(60008-1, 美国 proteintech 公司)、HRP goat anti-mouse IgG(Proteintech)、HRP goat anti-rabbit IgG (Proteintech)、凯基 TUNEL 细胞凋亡原位检测试剂盒(凯基生物科技发展有限公司)、10%水合氯醛(天津市科密欧化学试剂有限公司)、4%多聚甲醛(维尔生物科技有限公司)、DEPC 水(维尔生物科技有限公司)等。

1.2 实验方法

1.2.1 动物分组及处理 50 只健康 SD 大鼠适用性饲养 7 d。7 d 后,随机选取空白组 10 只,假手术组 10 只,余 30 只参考 Zea Longa 等^[7]方法制备大鼠中动脉闭塞(middle cerebral artery occlusion,MCAO)大鼠模型。造模成功后,再随机分为模型组、针刺组、针刺联合亚低温组,每组 10 只。

除空白组外,其余各组待大鼠呼吸、心跳等生命体征稳定以后(即脑缺血再灌后 1 h),假手术组、模型组只捆绑不针刺 30 min;其余各组均捆绑后作相应处理。针刺组针刺相应穴位后捻转 1 min,15 min 后再捻转 1 min,总计留针 30 min,1 次/12 h,总计针刺 7 次;针刺联合亚低温组在针刺相应穴位基础上,置于冰盒内,前 30 min 内将肛温降至(33±1)℃并保持,每小时监测肛温与鼓膜温度 1 次,持续亚低温治疗 72 h。

1.2.2 模型的制备 参照 Zea Longa^[7]等方法,禁食 12 h 后,大鼠以 10%水合氯醛 3 mL/kg 腹腔麻醉,仰卧位固定于鼠板,颈正中切口,暴露右侧的颈总动脉(common carotid artery,CCA)、颈外动脉(external carotid artery,ECA)及颈内动脉(internal carotid artery,ICA),电凝交通支,结扎 ECA 后并将其电凝,动脉夹夹闭 CCA 与 ICA,在颈外动脉剪一斜形切口,将直径为 3 mm 单丝尼龙鱼线头端 5 mm 用石蜡包被,并于 18 mm 长度处标记,从切口处插入,插入栓线长度自 CCA 分叉处算起约 18~20 mm(根据动物体质量而定),栓塞右侧大脑中动脉(middle cerebral artery,MCA),然后缝合皮肤,栓线尾端部分固定于皮肤上。缺血 2 h 后小心抽出栓线 8 mm 左右,即形成再灌注模型。假手术组仅插入尼龙鱼线约 10 mm,不栓塞,其余步骤同造模组。待造模动物术后生命体征稳定后,神经功能评分为 1~3 分则造模成功,用于实验。造模成功后大鼠在 20℃环境下单笼饲养,自由进食、饮水,必要时滴管喂水。

1.2.3 穴位定位及针刺方法 穴位选取百会、大椎、人中,根据李忠仁^[8]主编《实验针灸学》及华兴邦^[9]等制定的《实验动物穴位图谱》提供的方法,并模拟人体腧穴骨度分寸法量取。人中:唇裂鼻尖下 1 mm 正中处,向鼻中隔方向斜向上刺 2 mm。百会:顶骨正中,平刺 2 mm。大椎:第 7 颈椎与第 1 胸椎间,背部正中,直刺 3 mm。针刺 1 次/12 h,每次 30 min,针刺 15 min 后行针 1 min,总计针刺 7 次。

1.2.4 亚低温方法 参考舒鑫^[10]、殷玉华^[11]亚低温

方法并加以改良。测温:测直肠温度代表全身深部体温,测鼓膜温度代表脑组织温度。具体步骤:待模型大鼠生命体征稳定后(即脑缺血再灌注1 h),将亚低温治疗组与针刺联合亚低温治疗组大鼠放入装有冰袋和碎冰的代谢笼中,前30 min内,大鼠肛温应降至(33±1)℃(大鼠肛温温度计插入大鼠肛门约4 cm),鼓膜温度应降至(31±1)℃(数位温度表测量),期间测温每10 min 1次。温度控制稳定后,每1 h监测肛温与鼓膜温度1次,持续亚低温72 h。根据大鼠体温调整代谢笼内冰袋数量,若温度过低则用火炉复温,72 h后将大鼠取出使其自然复温,正常供水供食。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 神经功能缺损评分 参照 Zea Longa^[7]的方法,在大鼠再灌注后并且麻醉清醒后即刻、72 h后进行神经功能缺损评分:0分,无神经功能损伤症状;1分,提尾时栓塞动脉对侧前肢不能伸直;2分,行走时向栓塞动脉对侧旋转;3分,行走时向栓塞动脉对侧倾倒;4分,不能自发行走,意识丧失。

1.3.2 TUNEL法检测缺血侧脑组织细胞凋亡数 每组5只大鼠,麻醉后于冰块上快速断头取右侧大鼠脑组织,固定于10%甲醛溶液中,将脑组织固定、石蜡包埋、制成厚2 μm的连续切片。严格按照TUNEL凋亡检测试剂盒步骤进行操作,胞核染成棕褐色为阳性细胞。采用显微镜及MIAS医学图像分析系统,在400倍光学显微镜下,通过SONY摄像头采集大鼠脑组织免疫组化染色图像并进行图像分析。每只大鼠随机选择2张切片,每张切片随机选择海马区5个不重叠的高倍视野,计算不同视野的凋亡阳性细胞数,取平均值作统计。

1.3.3 Western blot法检测各组大鼠缺血侧海马组织磷酸化Raf1、ERK1/2蛋白的表达水平 在每组5只大鼠中随机挑选3只,从海马组织中提取总蛋白,检测蛋白浓度,再电泳,转膜,用1×TBST配制5%脱脂奶粉封闭,一抗(Anti-Raf1 (phospho S259) antibody、Phospho-p44/42 MAPK Erk1/2、β-actin antibody)孵育并4℃过夜,二抗(HRP goat anti-mouse IgG、HRP goat anti-rabbit IgG)孵育45-60 min,E-CL显色曝光。将曝光后的底片扫描,并用quantity one专业灰度分析软件进行分析,测定目标带的灰度值,计算出目标带与β-actin的比值。

1.4 统计学分析

所有数据使用SPSS17.0软件进行统计处理,先进行正态性检验;符合正态分布的数据用“ $\bar{x} \pm s$ ”进行统计描述,采用多组计量资料采用单因素方差分析,方差齐者用LSD法,方差不齐者用Tamhane's T2法。不满足正态性者,用中位素与四分位间距进行统计描述(M(Q)),采用非参数检验。以 $P < 0.05$ 作为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 针刺联合亚低温对脑缺血再灌注大鼠神经功能评分的影响

造模后,模型组、针刺组、针刺联合亚低温组神经功能评分升高,与空白组和假手术组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$),但3组之间相比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗72 h后,与模型组比较,针刺组、针刺联合亚低温组均能降低神经功能评分,差异有统计学意义($P < 0.01$);与针刺组比较,针刺联合亚低温组神经功能缺损评分明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$),如表1所示。

表1 针刺联合亚低温对脑缺血再灌注大鼠神经功能评分的影响

分组	n	再灌注大鼠稳定后	治疗72 h后
空白组	10	0(0)	0(0)
假手术组	10	0(0)	0(0)
模型组	10	2(0) ^{△△#}	2(0) ^{△△#}
针刺组	10	1(1) ^{△△#}	1(0) ^{△△##&&}
针刺联合亚低温组	10	1(1) ^{△△#}	0(0) ^{△△##&&*}
F值		37.46	37.57
P值		0.00	0.00

注:与空白组比较^{△△} $P < 0.01$;与假手术组比较^{##} $P < 0.01$;与模型组比较^{&&} $P < 0.01$;与针刺组比较^{**} $P < 0.01$ 。

2.2 针刺联合亚低温对脑缺血再灌注大鼠缺血侧细胞凋亡的影响

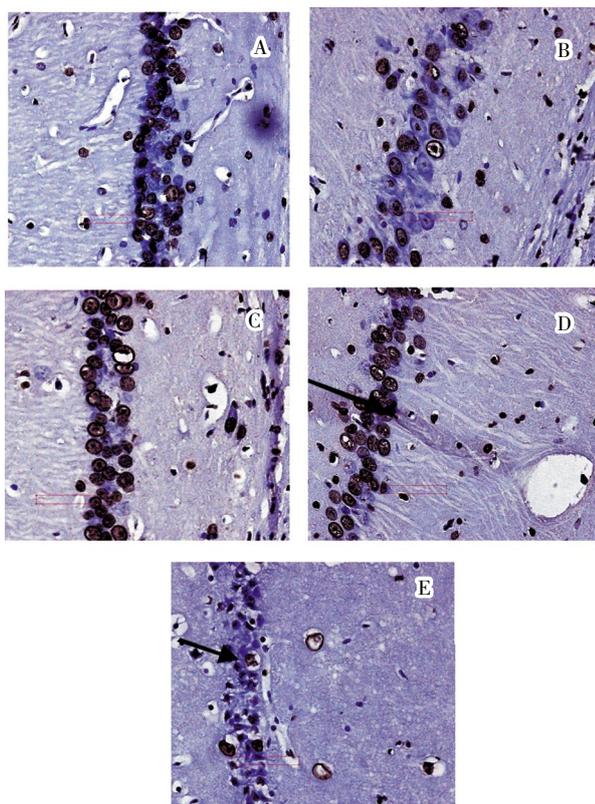
与空白组及假手术组相比,模型组凋亡细胞明显增多,差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与模型组相比,各治疗组凋亡细胞个数减少,差异有显著统计学意义($P < 0.01$)。各治疗组之间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

每组5只大鼠,每只大鼠随机选取病变侧海马区镜下观。在光学显微镜下观察,TUNEL染色后,凋亡细胞核呈现棕黄色或棕褐色,其他正常细胞苏木素复染后细胞核呈现蓝色。各组大鼠神经细胞凋亡TUNEL染色结果详见图1。

表 2 针刺联合亚低温对脑缺血再灌注大鼠缺血侧

细胞凋亡数的影响		($\bar{x}\pm s$)
分组	<i>n</i>	细胞凋亡个数
空白组	5	71.20±11.56
假手术组	5	78.20±10.71
模型组	5	96.20±13.85 ^{△△#}
针刺组	5	71.00±13.29 ^{△△}
针刺联合亚低温组	5	70.40±13.54 ^{△△}
<i>F</i> 值		3.63
<i>P</i> 值		0.01

注:与空白组比较^{△△} $P<0.01$;与假手术组比较[#] $P<0.05$;与模型组比较^{△△#} $P<0.01$ 。



A.空白组;B.假手术组;C.模型组;D.针刺组;E.针刺联合亚低温组

图 1 各组大鼠缺血侧大脑组织神经细胞 TUNEL 染色光镜图($\times 400$)

2.3 针刺联合亚低温对脑缺血再灌注大鼠缺血侧海马组织磷酸化 Raf1、ERK1/2 蛋白表达水平的影响

采用 Western blot 法对各组大鼠缺血侧海马组织中 p-Raf1、p-ERK1/2 蛋白的表达进行检测。各组显影结果如图 2 所示。

与空白组及假手术组比较,模型组、针刺组及针刺联合亚低温组均能上调脑缺血再灌注损伤后大鼠海马组织中 p-Raf1、p-ERK1/2 蛋白的表达,差异均有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$);与模型组比较,各治疗组大鼠海马组织中 p-Raf1、p-ERK1/2 蛋白

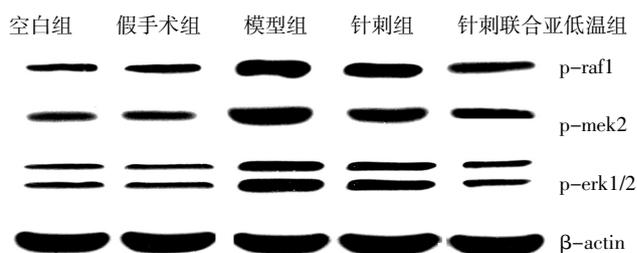


图 2 各组 p-raf1、p-erk1/2、actin 电泳图

表达均降低,差异有统计学意义($P<0.01$);与针刺组比较,针刺联合亚低温组大鼠海马组织中 p-Raf1、p-ERK1/2 蛋白表达降低,差异具有统计学意义($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。见表 3。

表 3 针刺联合亚低温对脑缺血再灌注大鼠缺血侧海马组织磷酸化 Raf-1、ERK-1/2 蛋白表达水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=3$)

分组	p-Raf1/ β -actin	p-ERK1/ β -actin	p-Erk2/ β -actin
空白组	0.28±0.04	0.24±0.01	0.31±0.01
假手术组	0.28±0.02	0.22±0.02	0.29±0.04
模型组	0.57±0.03 ^{△△#}	0.48±0.04 ^{△△#}	0.56±0.03 ^{△△#}
针刺组	0.50±0.01 ^{△△##}	0.37±0.04 ^{△△##}	0.43±0.01 ^{△△##}
针刺联合亚低温组	0.40±0.03 ^{△△##**}	0.31±0.02 ^{△△##*}	0.37±0.03 ^{△△##*}
<i>F</i> 值	56.47	32.51	46.22
<i>P</i> 值	0.00	0.00	0.00

注:与空白组比较[△] $P<0.05$,^{△△} $P<0.01$;与假手术组比较^{##} $P<0.01$;与模型组比较^{△△#} $P<0.01$;与针刺组比较^{*} $P<0.05$,^{**} $P<0.01$ 。

3 讨论

针刺疗法在治疗中风上疗效较满意,且无副作用,已运用于临床多年。中医学认为,针刺在治疗中风上具有调神通络、行气活血的作用,因此通过针刺可以调节经络功能,改善中风的症状。现代医学认为,针刺亦能通过促进微血管新生、侧支循环重建,从而起到保护缺血半暗带神经细胞超微结构的作用,并且具有能够改善血液流变情况,促进脑部血流,以及提高神经干细胞增殖的功能^[12-15]。

上世纪 40 年代亚低温首次被应用于脑损伤,但由于当时一般采用并发症较多的深低温治疗,导致患者的死亡率增高,因此亚低温治疗很少运用于临床。上世纪 90 年代,开始提出轻度低温 33~35 °C 治疗缺血性脑卒中这一观点,研究发现亚低温对大鼠海马 CA1 区的脑神经有明显的保护作用^[16],能够长久性的保护神经细胞形态和功能免受损伤^[17]。江楠、杨金伟等^[18-19]分别发现亚低温可通过改善脑血流动力学、磷酸化磷脂酶 C- γ (phospholipase C- γ , PLC-

γ)使其活化,保护脑细胞。

缺血性脑损伤发生后,常导致神经功能障碍及细胞外信号调节激酶 (xtracellular signal regulated kinase, ERK) 通路相关蛋白的改变^[20],而 ERK 通路的激活将影响细胞凋亡。ERK 通路为有丝分裂原活化蛋白激酶 (mitogen activated protein kinases, MAPK) 通路上的一部分,是一条参与多种生命活动的信号转导通路,细胞外信号通过此通路传入细胞核内。Raf1 及 ERK1/2 为 ERK 通路上的一员,当机体受到刺激,Raf1 及 ERK1/2 依次被磷酸化,将细胞外信息传至细胞核内。ERK 是最靠近细胞核的一员,为 ERK 通路最重要成员之一,磷酸化的 ERK 进入细胞核内,磷酸化多种转录因子,进而调控细胞的增殖、凋亡等。

本研究结果显示,与模型组比较,治疗组皆能改善神经功能缺损评分、减少凋亡细胞、降低磷酸化 Raf1 及 ERK1/2 的表达;在降改善神经功能缺损、降低 Raf1 及 ERK1/2 磷酸化水平上,联合组要优于针刺组。因此我们推测针刺及针刺联合亚低温疗法治疗本病的可能机制为,通过改善神经功能缺损,调节 p-Raf1、p-ERK1/2,减少细胞凋亡,以保护受损脑组织。ERK 通路上有许多相关蛋白参与脑缺血的调节,本次实验仅对 ERK 通路上的 p-Raf1、p-ERK1/2 蛋白进行研究,而对该通路上 Raf1 蛋白、MEK2 蛋白及 ERK1/2 蛋白的具体变化并无进一步的实验研究,因此还需大量实验对其进行综合研究,以了解 ERK 通路上更详尽、更系统的变化,为针刺及亚低温治疗提供较全面的理论依据。

参考文献:

[1] 吴在德,吴肇汉.外科学[M].北京:人民卫生出版社.2010,1:957.
 [2] 王维治.神经病学[M].北京:人民卫生出版社.2001,1:130.
 [3] 罗文舒,饶晓丹,吴永刚,等.针刺督脉对脑缺血再灌注大鼠神经细胞凋亡和 Caspase-8 蛋白表达的影响 [J]. 中国医药导报, 2011,8(36):21-22.
 [4] 曾超,刘喆,王改梅.电针对大鼠脑缺血再灌注后局部脑血流量的影响[J].上海针灸杂志,2012,31(6):441-443.

[5] 陈玲,于涛,韩虎,等.针刺结合康复训练治疗脑卒中软瘫期临床研究[J].吉林中医药,2012,32(6):625-627.
 [6] 刘俊伟,张慧玲,李斌,等.人参皂苷 Rb1 联合亚低温对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤保护作用的实验研究[J].中国中医急症, 2014,23(10):1793-1795.
 [7] Longa EZ, Weinstein PR, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats [J]. Stroke, 1989,20(1):84-91.
 [8] 李忠仁.实验针灸学[M].北京:中国中医药出版社.2003:425-431.
 [9] 华兴邦.大白鼠穴位图谱的研究[J].实验动物与动物实验,1991,1(1):13-15.
 [10] 舒鑫.亚低温对脑出血大鼠 HIF-1 α 、SOCS-3、Caspase-3 表达影响的实验研究[D].泸州:泸州医学院,2013.
 [11] 殷玉华,李明,贾锋,等.亚低温干预对创伤性颅脑损伤后 N-甲基-D-天冬氨酸受体 1 表达的影响 [J]. 上海医学,2013,36(4):361-365.
 [12] 王家有,宿宝贵,潘三强,等.电针对脑梗塞大鼠缺血半影区微血管和神经细胞超微结构的影响 [J]. 解剖学研究,2005,27(4):274-278.
 [13] 陈锋,严志康,杨波.头皮针对脑缺血再灌注大鼠缺血区脑组织 bcl-2、caspase-3 蛋白表达以及血液流变的影响 [J]. 针刺研究,2009,34(6):363-367.
 [14] 于东强,裴海涛,张佩海,等.电针对大鼠局灶性脑缺血再灌注海马区内源性神经干细胞巢蛋白的影响 [J]. 中国针灸,2010,30(11):929-932.
 [15] 陈文,林亚平,杨茜芸,等.针刺对脑缺血再灌注大鼠相关 miRNA 数目的影响[J].湖南中医药大学学报,2015,35(11):61-64.
 [16] Vanden Hoek TL, Kasza KE, Beiser DG, et al. Induced hypothermia by central venous infusion: saline ice slurry versus chilled saline [J]. Crit Care Med, 2004, 32 (9 Suppl): S425-431.
 [17] 张赛.亚低温对急性神经损伤保护作用的争议与展望[J]. 中华神经外科杂志, 2013, 29(2): 112-115.
 [18] 江楠,李雪松,荣健,等.亚低温对大鼠慢性脑缺血再灌注后脑皮层血流灌注量的影响[J].广东医学, 2009, 30(11): 1616-1618.
 [19] 杨金伟,郭建辉,李力燕.亚低温对脑缺血-再灌注损伤后 PLC- γ 1mRNA 的影响[J].解剖科学进展,2014,20(4): 309-311,314.
 [20] 邱季,方芳,李珍,等.ERK-CREB 信号通路在白藜芦醇预处理对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤神经保护中的作用 [J].安徽医科大学学报,2013,48(10):152-155.

(本文编辑 匡静之)