

苦参素对 H_2O_2 诱导乳鼠心肌细胞氧化应激损伤保护作用的研究

王雪芬 陈树杰 王 磊

摘 要 **目的** 研究苦参素 (oxymatrine, OMT) 对 H_2O_2 诱导乳鼠心肌细胞氧化应激损伤的保护作用。**方法** 无菌环境下分离并培养乳鼠心肌细胞 72h 后随机分为空白对照组、 H_2O_2 (200 μ mol/L) 干预组、OMT (20、40、60 μ mol/L) + H_2O_2 (200 μ mol/L) 干预组, 每组设 10 个复孔。药物干预 12h 后, MTT 法检测细胞存活率, 采用氧敏感荧光探针 DCFH-DA 检测氧自由基 (ROS); 测定细胞中抗氧化酶 (SOD、GSH-Px、CAT) 活性和丙二醛 (MDA) 含量, 检测细胞培养液中心肌酶 (AST、CPK、LDH) 含量, 流式细胞术 (flow cytometry, FCM) 检测细胞凋亡并计算凋亡率, Western blot 法检测细胞中 caspase-3、NF- κ B 蛋白表达并进行半定量分析。**结果** 与 H_2O_2 (200 μ mol/L) 干预组比较, OMT (40、60 μ mol/L) 干预 12h 能够显著提高 H_2O_2 诱导损伤乳鼠心肌细胞存活率, 降低 ROS 含量, 改善 SOD、GSH-Px、CAT 活性并降低 MDA 含量, 降低培养基中 AST、CPK、LDH 含量, 降低细胞凋亡率, 降低 caspase-3、NF- κ B 蛋白表达, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。**结论** 苦参素可能通过改善抗氧化酶活性而提高氧自由基清除能力、抑制促凋亡蛋白表达而降低细胞凋亡, 对 H_2O_2 诱导乳鼠心肌细胞氧化应激损伤起到保护作用。

关键词 苦参素 H_2O_2 心肌细胞 保护

中图分类号 R393

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.08.023

Oxymatrine Protects Cardiocytes of Neonatal Rat Against H_2O_2 - induced Oxidative Stress Injury. Wang Xuefen, Chen Shujie, Wang Lei.

Department of Medicine, Handan Second Hospital, Hebei 056001, China

Abstract **Objective** To investigate the protective effects of Oxymatrine (OMT) on cardiomyocytes of neonatal rat against H_2O_2 - induced oxidative stress injury. **Methods** Cardiocytes of neonate rat were cultivated for 72 hours and divided into six groups: normal control group, H_2O_2 (200 μ mol/L) group, OMT (20, 40, 60 μ mol/L) + H_2O_2 (200 μ mol/L) groups ($n = 10$). Twelve hours after the drugs were given, the survival rate was detected by MTT, the content of ROS in cardiomyocytes were determined by oxygen - sensitive fluorescent probe, the activity of SOD, GSH-Px, CAT and the content of MDA were determined, the content of AST, CPK, LDH in culture medium were detected, the cardiomyocytes apoptosis was observed by flow cytometry and the apoptosis rate was calculated, the expression of caspase-3, NF- κ B protein were determined by Western blot and Semi-quantitative analyzed. **Results** Compared with H_2O_2 (200 μ mol/L) group, the survival rate of OMT (40, 60 μ mol/L) + H_2O_2 (200 μ mol/L) groups were significantly increased, the content of ROS in cardiomyocytes were significantly decreased, the activity of SOD, GSH-Px, CAT were significantly increased and the content of MDA was significantly decreased, the content of AST, CPK, LDH in culture medium were significantly decreased, the apoptosis rate were significantly decreased, the expression of caspase-3, NF- κ B protein was significantly decreased, and all of the difference above was significant ($P < 0.05$, $P < 0.01$). **Conclusion** OMT protects neonatal rat cardiomyocytes from H_2O_2 - induced oxidative stress injury probably through improving the activity of antioxidase to increase the oxygen radical scavenging, regulating the expression of apoptosis - related protein to inhibit apoptosis.

Key words Oxymatrine; H_2O_2 ; Cardiomyocytes; Protection

近年来,冠心病及其所引发的急性心肌梗死发生率逐年上升,已经发展成为危害人类生命健康的主要疾病之一,临床上主要通过溶栓、介入支架手术扩张

血管以恢复血流供应,但再灌注损伤并发症的存在严重影响着患者愈后,石瑶等^[1]研究发现氧化应激诱导的心肌细胞损伤是心肌缺血再灌注损伤发生、发展的重要病理基础,这也为改善心肌梗死治疗效果提供了新的思路。苦参为我国传统中药品种之一,《本草纲目》、《神农本草经》均有记载,苦参素 (oxymatrine, OMT) 是从中药苦参中提取的一种喹诺西啉类生物

基金项目:河北省卫生厅重点科技研究计划项目 (20130359)

作者单位:056001 邯郸市第二医院内一科 (王雪芬); 056001

邯郸市中心医院 (陈树杰、王磊)

通讯作者:王雪芬,电子邮箱:hdzxywxl@163.com

碱,具有抗炎、抗病毒、抗细胞凋亡、抗肝纤维化等多种生物学活性,并且研究发现 OMT 对肾脏、肝脏缺血再灌注损伤具有保护作用^[2-6]。但 OMT 是否对体外心肌细胞缺氧复氧损伤具有保护作用仍未见报道。本实验通过 H₂O₂ 诱导乳鼠心肌细胞氧化应激损伤模型,研究 OMT 对 H₂O₂ 诱导乳鼠心肌细胞氧化应激损伤的保护作用,并探讨其可能的作用机制。

材料与方法

1. 试验药物与试剂:苦参素(南京泽朗医药科技有限公司,批号:20141025,纯度 $\geq 98\%$);DMEM 培养基、小牛血清(美国 Gibco 公司);甲基四唑蓝(MTT)(美国 Sigma 公司);AST、LDH、CPK 试剂盒购自深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司;SOD、GSH-Px、CAT 活性,MDA 含量测定试剂盒(南京建成生物工程研究所);ROS 试剂盒、Annexin V/PI 细胞凋亡检测试剂盒(北京博奥森生物技术有限公司);caspase-3、NF- κ B 单抗(碧云天生物技术有限公司)。

2. 实验动物:清洁级雄性 SD 大鼠 1~3 天乳鼠^[7],购自河北省实验动物中心,实验动物许可证号:SCXK(冀)2008-1-003。

3. 主要仪器:超净工作台(苏州净化设备一厂);CO₂ 培养箱(日本三洋集团);BS-300 全自动生化分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司);UV762 型紫外-可见分光光度计(上海楚定分析仪器有限公司);FACSAria 流式细胞仪(美国 BD 公司);VCX750 型超声波细胞破碎仪(美国 SONICS 公司);DYY-11 型多用电泳仪、JY-SCZ2 电泳槽(北京六一仪器厂)。

4. 细胞的分离与培养:细胞的分离:无菌条件下开胸取心脏并剪取心室组织,剪碎后加入 0.1% 的胰酶,37℃ 振荡消化 6min,去上清,沉淀继续用 0.1% 胰酶于 37℃ 振荡消化 6min,直至组织碎块消化完毕,收集消化上清液,1500r/min 离心 10min,取沉淀,加入心肌细胞培养基(10% 胎牛血清 DMEM,内含 10⁵U/L 的青霉素和链霉素),吹打均匀,壁立 1.5h。收集未贴壁细胞,调整细胞至 6×10⁸ 个/升,接种于 35mm 培养器皿中,37℃、5% CO₂、100% 湿度培养 72h 后,用于实验。

5. 细胞的培养与分组:取经培养 72h 后状态良好的原代乳鼠心肌细胞,随机分为空白对照组、H₂O₂ (200μmol/L) 干预组、OMT (20、40、60μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组,每组设 10 个复孔。药物干预 12h 后,检测各指标。

6. 细胞存活率的测定:将各组细胞分别接种于 96 孔板内($n=6$),每孔加入 20μl MTT 溶液(5mg/ml),37℃ 孵育 4h 后弃上清,分别加 150μl 二甲基亚砷(DMSO),振荡 15min 后通过酶标仪检测 490nm 处吸光度(A)值,然后计算细胞存活率:细胞存活率(%)=(实验组 A 值/空白对照组 A 值)×100%。

7. 细胞内 ROS 含量的检测:弃培养液后加入 DCFH-DA (10μmol/L),置于细胞培养箱中孵育 20min,经无血清细胞培养液洗涤 3 次,然后通过用荧光显微镜和流式细胞仪进行检测细胞内 ROS 含量。

8. 细胞中抗氧化酶活性和 MDA 含量的测定:去培养基取细胞,每孔加入 2ml PBS,通过超声波细胞破碎仪冰浴中处理 30s,经 3500r/min 低温(4℃)离心 10min 后取上清液,然后按试剂盒操作方法步骤,通过紫外-可见分光光度计平行测定各组细胞裂解液中抗氧化酶(SOD、GSH-Px、CAT)活性和 MDA 含量。

9. 培养液中心肌酶含量的测定:取细胞培养液,按照各试剂盒操作方法步骤,通过全自动生化分析仪平行测定各组细胞培养液中心肌酶(AST、CPK、LDH)含量。

10. 细胞凋亡的检测:消化细胞后离心弃上清液,经 PBS 溶液将洗涤 2 次后,按照 Annexin V/PI 细胞凋亡检测试剂盒操作方法步骤:加入 500μl Binding Buffer、5μl Annexin V、5μl PI,混匀,室温避光孵育 10min 后采用流式细胞仪进行检测,观察各组细胞凋亡状况并在流式二维图中计算凋亡率。

11. 细胞中 caspase-3、NF- κ B 蛋白表达的检测:取制备的细胞裂解液,12000r/min 低温(4℃)离心 20min 取沉淀,通过 BCA 法进行蛋白定量后,行常规 Western blot 法检测,实验结果应用 Quantity One 软件进行半定量分析。

12. 统计学方法:计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,运用 SPSS 15.0 进行统计分析,组间均数比较采用单因素方差分析,计数资料采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. OMT 对 H₂O₂ 诱导氧化应激损伤乳鼠心肌细胞存活率的影响:H₂O₂ (200μmol/L) 干预组乳鼠心肌细胞存活率较空白对照组显著降低($P < 0.01$);而与 H₂O₂ (200μmol/L) 干预组比较,OMT (40、60μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组细胞存活率显著升高($P < 0.01$,表 1)。

表 1 OMT 对 H₂O₂ 诱导氧化应激损伤乳鼠心肌细胞存活率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	存活率(%)
空白对照组	97.5 ± 3.2
H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	36.8 ± 7.4 *
OMT(20μmol/L) + H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	43.1 ± 9.6
OMT (40μmol/L) + H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	65.4 ± 11.0 *
OMT (60μmol/L) + H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	78.2 ± 13.5 *

与 H₂O₂ (200μmol/L) 干预组比较, * $P < 0.01$

2. OMT 对 H₂O₂ 诱导氧化应激损伤乳鼠心肌细胞 ROS 含量的影响: H₂O₂ (200μmol/L) 干预组乳鼠心肌细胞 ROS 含量较空白对照组显著升高 ($P < 0.01$); 而与 H₂O₂ (200μmol/L) 干预组比较, OMT (40、60μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组 ROS 含量显著降低 ($P < 0.01$) (图 1、图 2)。

3. OMT 对 H₂O₂ 诱导氧化应激损伤乳鼠心肌细胞抗氧化酶活性和 MDA 含量的影响: H₂O₂ (200μmol/L)

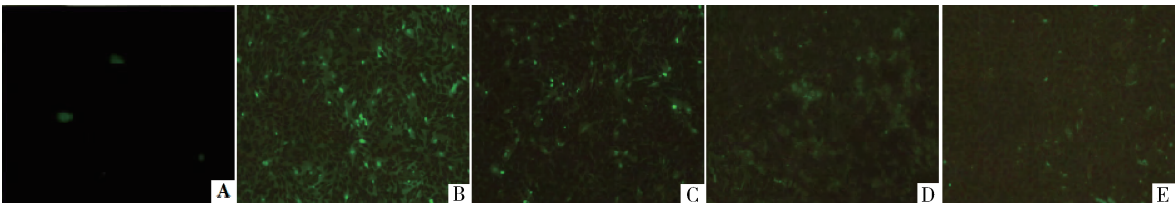


图 1 OMT 对 H₂O₂ 诱导氧化应激损伤乳鼠心肌细胞 ROS 含量的影响 (DCFH - DA)

A. 空白对照组; B. H₂O₂ (200μmol/L) 干预组; C. OMT(20μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组;
D. OMT(40μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组; E. OMT(60μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组

干预组乳鼠心肌细胞抗氧化酶 (SOD、CAT、GSH - Px) 活性较空白对照组显著降低且 MDA 含量显著升高 ($P < 0.01$); 与 H₂O₂ (200μmol/L) 干预组比较, OMT (40、80μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组

SOD、GSH - Px、CAT 活性显著升高, MDA 含量显著降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05, P < 0.01$) (表 2)。

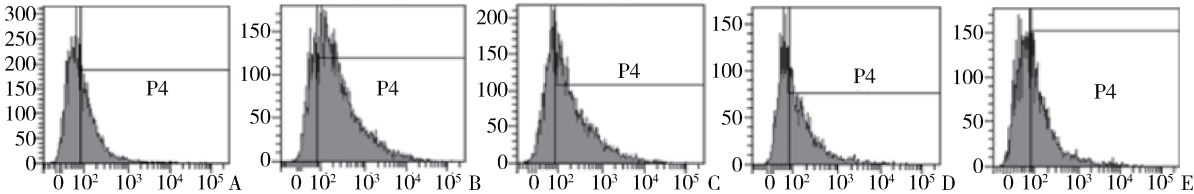


图 2 OMT 对 H₂O₂ 诱导氧化应激损伤乳鼠心肌细胞 ROS 含量的影响 (流式细胞仪)

A. 空白对照组; B. H₂O₂ (200μmol/L) 干预组; C. OMT(20μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组;
D. OMT(40μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组; E. OMT(60μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组

表 2 OMT 对 H₂O₂ 诱导氧化应激损伤乳鼠心肌细胞抗氧化酶活性和 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	SOD (U/mg)	CAT (U/mg)	GSH - Px (U/mg)	MDA (nmol/mg)
空白对照组	109.4 ± 15.0 *	31.8 ± 5.4 **	3.64 ± 0.78 **	5.83 ± 1.06 **
H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	57.1 ± 11.7	20.6 ± 3.9	1.72 ± 0.53	11.25 ± 2.27
OMT(20μmol/L) + H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	70.6 ± 13.9	22.1 ± 4.3	1.86 ± 0.64	9.08 ± 2.13
OMT (40μmol/L) + H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	78.2 ± 16.4 *	25.0 ± 4.8 *	2.15 ± 0.77 *	7.46 ± 1.82 **
OMT (60μmol/L) + H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	84.5 ± 17.3 *	28.3 ± 5.7 *	2.60 ± 0.98 *	6.39 ± 1.47 **

与 H₂O₂ (200μmol/L) 干预组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

4. OMT 对 H₂O₂ 诱导氧化应激损伤乳鼠心肌细胞培养液中心肌酶含量的影响: H₂O₂ (200μmol/L) 干预组乳鼠心肌细胞培养液中心肌酶 (AST、CPK、LDH) 活性显著升高 ($P < 0.01$); 与 H₂O₂ (200μmol/L)

) 干预组比较, OMT (40、60μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组乳鼠心肌细胞培养液中 AST、CPK、LDH 活性均显著降低 ($P < 0.05, P < 0.01$, 表 3)。

表 3 OMT 对 H₂O₂ 诱导氧化应激损伤乳鼠心肌细胞培养液中心肌酶含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	AST(U/ml)	CPK(U/ml)	LDH(U/L)
空白对照组	21.8 ± 3.5 **	1.38 ± 0.32 **	500.4 ± 67.2 **
H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	37.2 ± 5.3	2.60 ± 0.57	928.1 ± 115.8
OMT (20μmol/L) + H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	34.5 ± 4.8	2.21 ± 0.62 *	801.6 ± 94.7
OMT (40μmol/L) + H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	27.6 ± 4.3 *	1.97 ± 0.53 *	652.9 ± 81.5 **
OMT (60μmol/L) + H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	23.8 ± 4.0 **	1.62 ± 0.39 **	584.7 ± 68.2 **

与 H₂O₂ (200μmol/L) 干预组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$

5. OMT 对 H₂O₂ 诱导氧化应激损伤乳鼠心肌细胞凋亡的影响: H₂O₂ (200μmol/L) 干预组乳鼠心肌细胞凋亡数量较正常组显著增多; 与 H₂O₂ (200μmol/L) 干预组比较, OMT 干预组细胞凋亡状况明显好转, 其中以 OMT (60μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组

效果最为显著 (图 3)。计算凋亡率发现, 与空白对照组比较, H₂O₂ (200μmol/L) 干预组乳鼠心肌细胞凋亡率显著升高 ($P < 0.01$); 而与 H₂O₂ (200μmol/L) 干预组比较, OMT (40、60μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组细胞凋亡率显著降低 ($P < 0.01$) (表 4)。

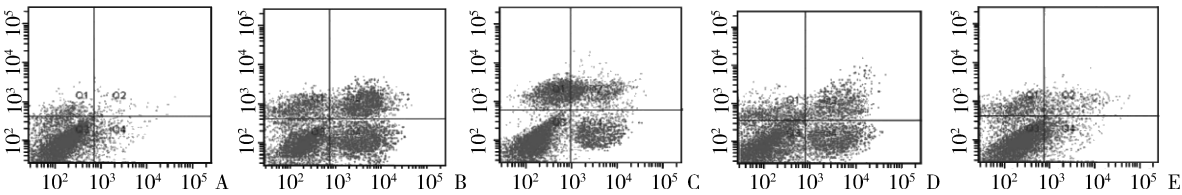


图 3 OMT 对 H₂O₂ 诱导氧化应激损伤乳鼠心肌细胞凋亡的影响

A. 空白对照组; B. H₂O₂ (200μmol/L) 干预组; C. OMT (20μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组;
D. OMT (40μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组; E. OMT (60μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组

表 4 OMT 对 H₂O₂ 诱导氧化应激损伤乳鼠心肌细胞凋亡率的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	凋亡率 (%)
空白对照组	4.3 ± 1.8 *
H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	51.6 ± 7.4
OMT (20μmol/L) + H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	43.5 ± 9.8
OMT (40μmol/L) + H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	27.8 ± 5.2 *
OMT (60μmol/L) + H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	16.4 ± 4.7 *

与 H₂O₂ (200μmol/L) 干预组比较, * $P < 0.01$

6. OMT 对 H₂O₂ 诱导氧化应激损伤乳鼠心肌细胞 caspase - 3、NF - κB 蛋白表达的影响: H₂O₂ (200μmol/L) 干预组乳鼠心肌细胞中 caspase - 3、NF - κB 蛋白表达量较空白对照组显著增高 ($P < 0.01$); 较 H₂O₂ (200μmol/L) 干预组, OMT (40、60μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组细胞中 caspase - 3、NF - κB 蛋白表达量显著降低 ($P < 0.01$, 图 4、表 5)。

讨 论

过氧化氢 (H₂O₂) 是体内氧自由基 (ROS) 的重要来源, 具有很强的氧化能力, 能够导致细胞膜氧化应激损伤并促使蛋白质交联聚合, 通过多种途径诱导细

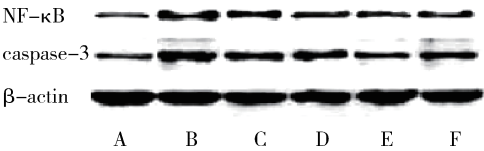


图 4 OMT 对 H₂O₂ 诱导氧化应激损伤乳鼠心肌细胞 caspase - 3、NF - κB 蛋白表达的影响 (Western blot 法)

A. 空白对照组; B. H₂O₂ (200μmol/L) 干预组; C. OMT (20μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组; D. OMT (40μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组; E. OMT (60μmol/L) + H₂O₂ (200μmol/L) 干预组

表 5 OMT 对 H₂O₂ 诱导氧化应激损伤乳鼠心肌细胞 caspase - 3、NF - κB 蛋白表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	NF - κB/β - actin	caspase - 3/β - actin
空白对照组	0.17 ± 0.05 *	0.20 ± 0.04 *
H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	0.43 ± 0.08	0.63 ± 0.17
OMT (20μmol/L) + H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	0.39 ± 0.11	0.45 ± 0.19
OMT (40μmol/L) + H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	0.32 ± 0.07 #	0.38 ± 0.12 #
OMT (60μmol/L) + H ₂ O ₂ (200μmol/L) 干预组	0.25 ± 0.08 *	0.31 ± 0.10 *

与 H₂O₂ (200μmol/L) 干预组比较, * $P < 0.01$, # $P < 0.05$

胞凋亡^[8]。H₂O₂易得且性质稳定,常用于体外细胞氧化应激损伤模型的建立^[9]。本实验通过H₂O₂诱导制备氧化应激损伤乳鼠心肌细胞模型进行研究发现,经OMT(40~60 μmol/L)干预12h能够显著提高细胞存活率、降低细胞中ROS含量、降低培养液中心肌酶(AST、CPK、LDH)含量、抑制细胞凋亡;该研究结果与韩苗苗等^[9]研究成纤维细胞生长因子-21对H₂O₂诱导H9C2细胞氧化应激损伤的保护作用的研究报道基本一致,提示OMT对H₂O₂诱导乳鼠心肌细胞氧化应激损伤具有保护作用。

体内ROS过剩是导致机体氧化应激损伤的重要病理基础,正常生理状态下,ROS在SOD的催化作用下能够被还原生成H₂O₂,并且能够在GSH-Px或CAT的进一步催化作用下还原生成对人无害的H₂O和O₂^[10,11]。细胞膜极易受ROS攻击发生脂质过氧化损伤而生成MDA,所以SOD、GSH-Px和CAT的活性能够直接反映机体抗氧化能力,而MDA含量能够间接反映心肌细胞氧化应激损伤程度。心肌酶(AST、CPK、LDH)主要存在于心肌细胞中,而当细胞膜受氧自由基攻击而受损后,将导致心肌酶迅速释放入血而致使血清中AST、CPK、LDH含量陡然增高,所以血清心肌酶含量是临床上诊断早期心功能损伤的常用生化指标。

氧化应激损伤是细胞凋亡重要的诱发因素之一,NF-κB为多效能核转录因子,常态下以无活性形式存在于胞质中,而当受到外界因素刺激时,NF-κB将进入胞核并调控靶基因的转录与表达^[12]。Zhang等^[13]研究发现,NF-κB激活与氧化应激诱导的心肌细胞凋亡密切相关,被认为是连接氧化应激损伤和细胞凋亡的桥梁。caspase蛋白家族参与细胞凋亡启动以及整个过程的调节,其中caspase-3则被认为是各种凋亡刺激因子激活的关键蛋白酶。本实验研究发现,OMT(40~60 μmol/L)干预12h能够显著改善抗氧化酶(SOD、GSH-Px、CAT)活性、降低MDA含量,降低心肌酶(AST、CPK、LDH)含量,下调凋亡相关蛋白NF-κB、caspase-3表达。说明OMT对H₂O₂诱导乳鼠心肌细胞氧化应激损伤具有保护作用,作用机制可能与OMT能够改善抗氧化酶活性、降低氧化应激损伤以及调节凋亡相关蛋白表达、抑制细胞凋亡有关。

蒋娜等^[14]和谢瑞芹等^[15]临床研究发现,通过药物治疗降低心肌缺血再灌注患者氧化应激损伤能够起到缓解心肌缺血再灌注损伤的作用,因此具

有抗氧化活性的OMT可做为抗心肌缺血再灌注损伤的新型药物进行研发,但仍需更加深入的临床试验研究。

参考文献

- 1 石瑶,孟浦,刘亚黎,等. 血红素加氧酶-1对H9c2心肌细胞氧化应激损伤的保护作用研究[J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(22): 3481-3486
- 2 黄秀梅,李波. 氧化苦参碱对TNFα、IL-6和IL-8的影响[J]. 中成药, 2003, 25(11): 903-906
- 3 任衍菊,张玉萍,金敏,等. 氧化苦参碱体外抗乙型肝炎病毒作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14): 175-179
- 4 孔秀岩,苏志刚. 氧化苦参碱对细胞凋亡影响的研究现状[J]. 河北医药, 2007, 29(12): 1371-1373
- 5 贾昌盛,孙建军,李美德,等. 苦参素降低大鼠肾脏缺血-再灌注损伤[J]. 基础医学与临床, 2012, 32(8): 943-947
- 6 孟凡强,姜洪池,孙学英,等. 苦参素对大鼠肝缺血再灌注中肝细胞的保护作用及其机制探讨[J]. 中华医学杂志, 2005, 85(28): 1991-1994
- 7 闵清,白育庭,余薇,等. 黄芪多糖对乳鼠心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2010, 26(12): 1661-1664
- 8 Stern MM, Myers RL, Hammam N, *et al.* The influence of extracellular matrix derived from skeletal muscle tissue on the proliferation and differentiation of myogenic progenitor cells *ex vivo* [J]. Biomaterials, 2009, 30(12): 2393-2399
- 9 韩苗苗,王文飞,刘铭瑶,等. FGF-21对H₂O₂诱导的大鼠心肌细胞H9c2氧化应激损伤的保护作用[J]. 药学报, 2014, 49(4): 470-475
- 10 Lartigue A, Burlat B, Coutard B, *et al.* The megavirus chilensis Cu, Zn-superoxide dismutase: the first viral structure of a typical CCS-independent hyperstable dimeric enzyme [J]. J Virol, 2014, 2588(14): 254-261
- 11 Jin Y, Liu K, Peng J, *et al.* Rhizoma dioscoreae nipponicae polysaccharides protect HUVECs from H₂O₂-induced injury by regulating PPARγ factor and the NADPH oxidase/ROS-NF-κB signal pathway [J]. Toxicol Lett, 2014, 232(1): 149-158
- 12 陈良金,石孟琼,贺海波,等. 珠子参总皂苷对H₂O₂诱导新生大鼠心肌细胞凋亡的抑制作用[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2012, 17(8): 860-867
- 13 Zhang Q, Huang WD, Lv XY, *et al.* Ghrelin protects H9c2 cells from hydrogen peroxide-induced apoptosis through NF-κB and mitochondria-mediated signaling [J]. Eur J Pharmacol, 2011, 654(2): 142-149
- 14 蒋娜,匡希斌. 急性ST段抬高心肌梗死患者再灌注损伤性心电图改变与炎症及氧化应激的关系[J]. 中南医学科学杂志, 2014, 42(2): 157-160
- 15 谢瑞芹,都军,郝玉明,等. 葛根素注射液对冠心病患者缺血再灌注心肌保护作用及机制[J]. 中国中西医结合杂志, 2003, 23(12): 895-897

(收稿日期:2015-12-21)

(修回日期:2015-01-10)