

葛根素对重度烧伤大鼠心肌细胞凋亡的影响及其机制研究

童海东 戴如冰 陈 骅

摘 要 **目的** 观察葛根素(Puerarin)对重度烧伤大鼠心肌细胞凋亡的影响,并探讨其可能的作用机制。**方法** 取实验用大鼠 120 只随机分为正常对照组、模型组、葛根素(50、100、200mg/kg)组和地塞米松(5mg/kg)组;除正常对照组外,其余各组大鼠均采用脱毛后于 92℃ 水浴 18s 的方法制备 30% TBSA Ⅲ度烧伤模型大鼠;造模完成后,各组大鼠均立即腹腔注射乳酸林格液(40mg/kg)进行复苏;各治疗组在复苏同时腹腔注射给药进行治疗,正常对照组和模型组分别给予等体积生理盐水。24h 后,通过末端标记法(Tunel)检测心肌细胞凋亡状况并计算凋亡指数(AI),通过免疫组织化学法(IHC)检测心肌组织中 bcl-2 和 Bax 蛋白表达并进行半定量分析、计算 bcl-2/Bax 表达比值,通过 Western blot 法检测心肌组织中 caspase-3、NF- κ B 蛋白表达并进行半定量分析;测定心肌组织中超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、髓过氧化物酶(MPO)活性和丙二醛(MDA)含量。**结果** 与模型组比较,葛根素各组心肌细胞凋亡数量呈不同程度减少,葛根素(100、200mg/kg)组 AI 显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),心肌组织中 bcl-2 表达显著上调、Bax 表达显著下调, bcl-2/Bax 表达比值显著升高($P < 0.01$), caspase-3 蛋白和 NF- κ B 蛋白表达量显著下调($P < 0.05$, $P < 0.01$),心肌组织中 SOD、GSH-Px 活性显著升高且 MDA 含量显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$),其中葛根素 200mg/kg 组 MPO 活性显著升高($P < 0.01$)。**结论** 葛根素具有抑制重度烧伤大鼠心肌细胞凋亡的作用,表现出对烧伤大鼠心肌组织较好的保护作用,作用机制可能与葛根素能够调节凋亡相关基因和蛋白表达以及降低氧化应激损伤有关。

关键词 葛根素 烧伤 心肌细胞 凋亡 机制

中图分类号 R285.5

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.08.038

Effects and Mechanism of Puerarin on Myocardial Apoptosis in Severely Burned Rats. Tong Haidong, Dai Rubing, Chen Hua. Department of Burns and Plastic Surgery, Zhejiang Provincial Corps Hospital of PAPF, Zhejiang 314000, China

Abstract **Objective** To investigate the effects and mechanism of puerarin on myocardial apoptosis in severely burned rats. **Methods** One hundred and twenty experimental rats were randomly divided into six groups: normal control, model control group, puerarin 50, 100, 200mg/kg treated groups and dexamethasone 5mg/kg treated group. Except the rats in normal control group, the model rats with 30% TBSA (three degree) were made by bathing in 92℃ water for 18s after epilation. And then, the rats were given Ringer (40mg/kg) by intragastric administration to resuscitate. At the same time, the drugs were given by intragastric administration. Twenty-four hours later, the apoptosis of cardiomyocytes was observed by TUNEL staining, and the apoptosis index(AI) was calculated. The expression of Bax, bcl-2 were determined by IHC and they were Semi-quantitative analysed, and the ratio of bcl-2/Bax was calculated. The expression of caspase-3, NF- κ B was determined by Western blot and it was Semi-quantitative analysed. The activity of SOD, GSH-Px, MPO and the content of MDA in myocardial tissue were measured. **Results** Compared with model control group, the apoptosis of cardiomyocytes in puerarin treated groups were significantly decreased, and the AI of puerarin(100, 200mg/kg) treated groups were significantly decreased($P < 0.01$). The expression of bcl-2 was significantly up-regulated and the Bax was significantly down-regulated, and the ratio of bcl-2/Bax was significantly increased($P < 0.05$, $P < 0.01$). The expression of caspase-3, NF- κ B in puerarin(100, 200mg/kg) treated groups were significantly decreased. The activity of SOD, GSH-Px in myocardial tissue of puerarin(100, 200mg/kg) treated groups were significantly increased and the content of MDA were significantly decreased($P < 0.05$, $P < 0.01$), and the activity of MPO of puerarin 200mg/kg treated group was significantly increased($P < 0.01$). **Conclusion** Puerarin had inhibitive effects on myocardial apoptosis in severely burned rats, suggesting that puerarin had better protective effects on the myocardial tissue in severely burned rats. It perhaps related to its effects of regulating the expression of apoptosis-related genes and protein, and inhibiting oxidative stress.

Key words Puerarin; Burn; Cardiomyocytes; Apoptosis; Mechanism

心肌损伤是烧伤早期即出现的并发症之一,并且心肌损害不但可引起心脏局部疾病,还可导致全身炎症反应甚至休克^[1,2]。近年来研究发现,烧伤后所继发的心肌细胞凋亡是心肌损伤的重要发病机制,为新型烧伤药物的研发以及治疗方案的制定提供了参考^[3]。葛根是豆科植物野葛或甘葛藤的干燥根,始载于《神农本草经》,为我国传统中药品种。现代药学研究发现,葛根素是中药葛根的主要有效成分,属于异黄酮类化合物,具有抗氧化、抗炎、抗凋亡等多种生物学活性^[4,5]。本研究采用脱毛后于92℃水浴18s的方法制备30% TBSA III度烧伤模型大鼠,研究葛根素对重度烧伤大鼠心肌细胞凋亡和炎症反应的影响,并探讨其可能的作用机制。

材料与方法

1. 药物与试剂:葛根素(湖南金农生物资源股份有限公司,纯度≥98%,批号:20140514);地塞米松磷酸钠注射液(焦作福瑞堂制药有限公司,规格:1ml:5mg);乳酸钠林格注射液(河南华利药业有限责任公司);末端检测(Tunel)试剂盒(北京博奥森生物技术有限公司);bcl-2、Bax免疫组化试剂盒和DAB显色试剂盒,caspase-3、NF-κB单抗、辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(武汉博士德生物工程有限公司);SOD、GSH-Px、MPO、MDA测定试剂盒(南京建成生物工程研究所)。

2. 实验动物:SPF级雄性Wistar大鼠120只,8周龄,200~240g,实验动物许可证号:SCXK(浙)2013-0033。

3. 主要仪器:UV762型紫外-可见分光光度计(上海楚定分析仪器有限公司);石蜡切片机(德国Leica公司);FA25型匀浆机(上海洽姆仪器科技有限公司);415D型离心机(德国Eppendorf公司);DYY-11型多用电泳仪、DYCZ-40B转印泳槽(北京六一仪器厂);CMIAS-8型真彩色医学图像分析系统(北京航空航天大学与空军总医院研制)。

4. 动物分组与模型的制备:将120只实验用Wistar大鼠随机分为6组:正常对照组、模型组、葛根素(50、100、200mg/kg)组和地塞米松(5mg/kg)组^[6]。除正常对照组外,其余各组大鼠均参照黄跃生^[7]报道的实验方法制备30% TBSA III度烧伤大鼠模型:腹腔注射乌拉坦实施麻醉,经10%硫化钠脱毛24h后,于92℃恒温水浴18s复制30% TBSA III度烧伤(经病理切片证实);正常对照组大鼠行麻醉、脱毛,然后于37℃恒温水浴18s。造模完成后,各组大

鼠均立即腹腔注射乳酸林格液(40mg/kg)进行复苏;葛根素各组 and 地塞米松组在复苏同时腹腔注射给药进行治疗,假手术组和模型组则分别给予等体积生理盐水;给药治疗24h后取材,检测各指标。

5. 心肌细胞凋亡状况及凋亡指数(AI)的计算:取制备的石蜡组织切片,经常规脱蜡处理后,按照Tunel染色试剂盒进行处理,然后通过倒置光学显微镜观察心肌细胞凋亡状况(细胞核黄染为阳性着色)。AI的计算:每张染色组织切片随机选取5个视野,计数每个视野中细胞总数和凋亡细胞数,每组分别取平均值,然后计算 $AI(\%) = (\text{凋亡细胞数} / \text{细胞总数}) \times 100\%$ 。

6. 心肌组织中bcl-2和Bax蛋白表达观察及半定量分析、bcl-2/Bax比值的计算:取制备的心肌组织石蜡切片,按照SP试剂盒操作方法步骤,通过免疫组织化学(IHC)法检测并观察各组大鼠心肌组织中bcl-2、Bax蛋白表达(黄褐色为阳性着色)。半定量分析:每张染色组织切片随机选取5个视野,通过CMIAS-8型真彩色医学图像分析系统测定平均吸光度(optical density, A),以A值代表bcl-2、Bax蛋白表达密度。并根据各组大鼠心肌组织bcl-2、Bax蛋白表达A值计算bcl-2/Bax表达比值。

7. 心肌组织中caspase-3、NF-κB蛋白表达的测定:取制备的心肌组织匀浆上清液,首先采用BCA法进行蛋白定量,变性后上样,电泳、转膜、春红溶液染色,室温下5%脱脂奶粉封闭2h,一抗(caspase-3、NF-κB、β-actin)4℃过夜;洗膜,二抗室温摇床上孵育1h后经ECL显色,实验结果应用Quantity One软件进行分析。

8. 心肌组织中SOD、GSH-Px、MPO活性和MDA含量的测定:取心肌组织,剪碎后加入适量冷裂解液,通过组织匀浆器进行研磨匀浆,经3000r/min离心10min后取上层清液,按照各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大鼠心肌组织中SOD、GSH-Px、MPO活性和MDA含量。

9. 统计学方法:计量资料均采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,运用SPSS 15.0软件进行统计分析,组间均数比较采用One-way ANOVA进行分析;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. 葛根素对重度烧伤大鼠心肌细胞凋亡状况和凋亡指数(AI)的影响:经Tunel染色后观察发现,正常对照组大鼠心肌细胞可见极少量凋亡细胞;模型组

大鼠心肌组织凋亡细胞数量较正常对照组明显增多;而与模型组比较,葛根素各组大鼠心肌组织凋亡细胞数量呈不同程度减少,其中以葛根素 200mg/kg 组效果最为显著(图 1)。比较各组大鼠心肌细胞凋亡指

数(AI)发现,与正常对照组比较,模型组大鼠心肌细胞 AI 显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,葛根素 100、200mg/kg 组大鼠心肌细胞 AI 显著降低,差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$,表 1)。

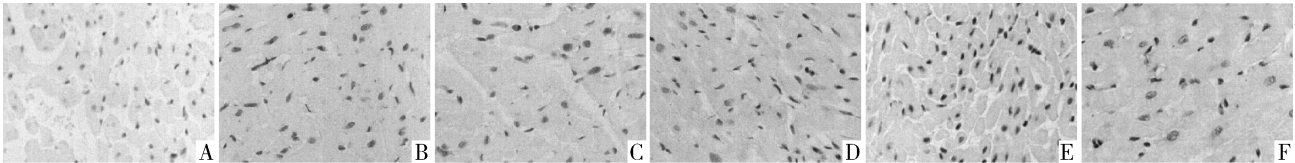


图 1 葛根素对重度烧伤大鼠心肌细胞凋亡状况的影响(Tunel 法,×400)

A. 正常对照组;B. 模型组;C. 葛根素 50mg/kg 组;D. 葛根素 100mg/kg 组;E. 葛根素 200mg/kg 治疗组;F. 地塞米松 5mg/kg 组

2. 葛根素对重度烧伤大鼠心肌组织中 bcl-2 蛋白表达的影响:经 IHC 染色后通过光学显微镜观察发现,与正常对照组比较,模型组大鼠心肌组织 bcl-2 蛋白表达明显增多;与模型组相比,葛根素各组大鼠心肌组织 bcl-2 蛋白表达进一步上调,以葛根素 200mg/kg 组效果最为显著(图 2)。半定量分析发现:与正常对照组比较,模型组大鼠心肌组织切片 A 值显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,葛根素 100、200mg/kg 组 A 值显著升高($P < 0.05, P < 0.01$,表 2)。

3. 葛根素对重度烧伤大鼠心肌组织中 Bax 蛋白表达的影响:经 IHC 染色后通过光学显微镜观察发现,与正常对照组比较,模型组大鼠心肌组织 Bax 蛋白表达明显上调;与模型组比较,葛根素组大鼠心肌

表 1 葛根素对重度烧伤大鼠心肌细胞 AI 的影响($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (mg/kg)	AI(%)
正常对照组	-	2.5 ± 1.6
模型组	-	64.2 ± 9.7*
葛根素组	50	56.5 ± 10.3
	100	47.3 ± 6.9 [#]
	200	30.6 ± 6.1 ^{##}
地塞米松组	5	45.8 ± 7.2 [#]

与正常对照组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$,^{##} $P < 0.01$

组织 Bax 表达明显下调,其中以葛根素 200mg/kg 组效果最为显著(图 3)。半定量分析发现,与正常对照组比较,模型组大鼠心肌组织切片 A 值显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,葛根素 100、200mg/kg 组 A 值显著降低($P < 0.05, P < 0.01$,表 3)。

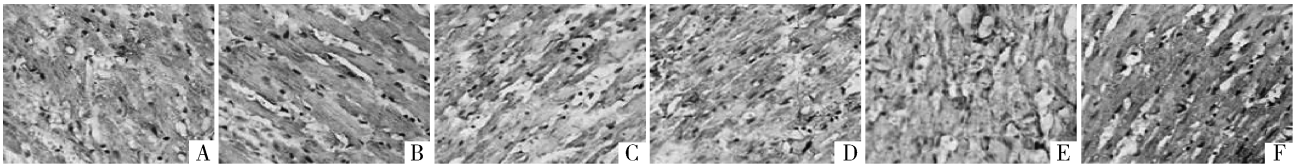


图 2 葛根素对重度烧伤大鼠心肌组织中 bcl-2 蛋白表达的影响(IHC,×400)

A. 正常对照组;B. 模型组;C. 葛根素 50mg/kg 组;D. 葛根素 100mg/kg 组;E. 葛根素 200mg/kg 治疗组;F. 地塞米松 5mg/kg 组

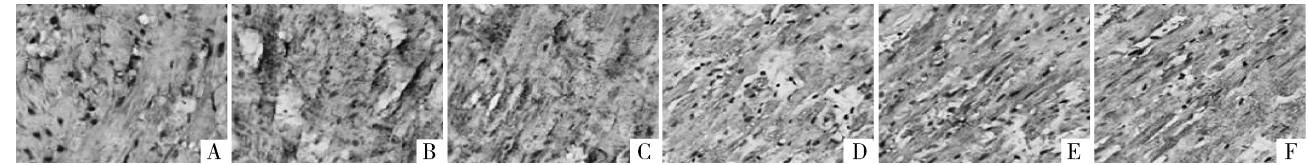


图 3 葛根素对重度烧伤大鼠心肌组织中 Bax 蛋白表达的影响(IHC,×400)

A. 正常对照组;B. 模型组;C. 葛根素 50mg/kg 组;D. 葛根素 100mg/kg 组;E. 葛根素 200mg/kg 治疗组;F. 地塞米松 5mg/kg 组

4. 葛根素对烧伤大鼠心肌组织中 bcl-2/Bax 表达比值的影响:按照相关步骤测定的各组大鼠心肌组

织 bcl-2、Bax 表达 A 值计算 bcl-2/Bax 表达比值,与正常对照组比较,烧伤模型对照组大鼠心肌组织

bcl-2/Bax 表达比值显著降低 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 葛根素 100、200mg/kg 组大鼠心肌组织中 bcl-2/Bax 表达比值显著升高 ($P < 0.01$, 表 2)。

表 2 葛根素对烧伤大鼠心肌组织中 bcl-2、Bax 蛋白表达及 bcl-2/Bax 表达比值的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (mg/kg)	bcl-2 (A)	Bax (A)	bcl-2/Bax
正常对照组	-	0.17 ± 0.06	0.15 ± 0.03	1.13 ± 0.25
烧伤模型组	-	0.32 ± 0.08 *	0.68 ± 0.12 **	0.47 ± 0.20 **
葛根素组	50	0.37 ± 0.12	0.62 ± 0.15	0.60 ± 0.23
	100	0.45 ± 0.16 #	0.49 ± 0.13 ##	0.92 ± 0.27 ##
	200	0.54 ± 0.20 ##	0.34 ± 0.09 ##	1.59 ± 0.31 ##
地塞米松组	5	0.35 ± 0.11	0.64 ± 0.16	0.55 ± 0.21

与正常对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

5. 葛根素对重度烧伤大鼠心肌组织中 caspase-3、NF- κ B 表达的影响: 经 Western blot 法检测发现, 与正常对照组比较, 模型组大鼠心肌组织 caspase-3、NF- κ B 蛋白表达量显著上调 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 葛根素 100、200mg/kg 组大鼠心肌组织 caspase-3、NF- κ B 蛋白表达量显著下调 ($P < 0.05$, $P < 0.01$, 图 4 和表 3)。

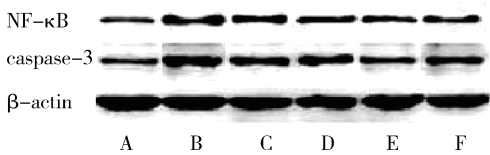


图 4 葛根素对重度烧伤大鼠心肌组织中 caspase-3、NF- κ B 蛋白表达的影响

A. 正常对照组; B. 模型组; C. 葛根素 50mg/kg 组; D. 葛根素 100mg/kg 组; E. 葛根素 200mg/kg 治疗组; F. 地塞米松 5mg/kg 组

6. 葛根素对重度烧伤大鼠心肌组织中 SOD、GSH-Px、MPO 活性和 MDA 含量的影响: 与正常对

表 3 葛根素对重度烧伤大鼠心肌组织中 caspase-3、NF- κ B 表达的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (μg/ml)	caspase-3/ β-actin	NF- κ B/ β-actin
正常对照组	-	0.24 ± 0.05	0.21 ± 0.06
烧伤模型组	-	0.51 ± 0.09 *	0.47 ± 0.08 *
葛根素组	50	0.46 ± 0.10	0.42 ± 0.11
	100	0.39 ± 0.07 #	0.36 ± 0.09 #
	200	0.30 ± 0.05 ##	0.30 ± 0.08 ##
地塞米松组	5	0.48 ± 0.08	0.43 ± 0.09

与正常对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

照相比, 模型组大鼠心肌组织中 SOD、GSH-Px、MPO 活性显著降低且 MDA 含量显著升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 葛根素 (100、200mg/kg) 组大鼠心肌组织中 SOD、GSH-Px 活性显著升高且 MDA 含量显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 其中葛根素 200mg/kg 组 MPO 活性显著升高 ($P < 0.01$, 表 4)。

表 4 葛根素对重度烧伤大鼠心肌组织中 SOD、GSH-Px、MPO 活性和 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量 (mg/kg)	SOD (U/mg)	GSH-Px (U/mg)	MPO (U/g)	MDA (nmol/mg)
正常对照组	-	78.1 ± 9.5	4.5 ± 1.1	2.1 ± 0.4	2.3 ± 0.4
模型组	-	49.6 ± 8.2 *	3.1 ± 0.9 *	4.3 ± 0.9 *	4.7 ± 0.6 *
葛根素组	50	55.8 ± 7.6	3.4 ± 1.2	4.0 ± 1.2	4.3 ± 0.9
	100	61.9 ± 8.5 #	3.7 ± 1.2 #	3.5 ± 1.0	3.1 ± 0.7 ##
	200	67.2 ± 10.4 ##	4.0 ± 1.4 ##	2.8 ± 0.7 ##	2.5 ± 0.7 ##
地塞米松组	5	58.7 ± 9.3 #	3.2 ± 1.3	3.9 ± 1.3	3.6 ± 0.8 #

与正常对照组比较, * $P < 0.01$; 与模型组比较, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

讨 论

重度烧伤患者多伴有心肌组织损伤, 并且由于心脏体内循环的动力器官, 黄跃生等^[2, 8]研究发现, 重度烧伤 10min 后心排出量即下降 50% 以上, 60min 后心排出量将不足 1/3, 所以由烧伤所引发的心肌损伤

不仅可引起心功能不全, 还可能导致或加重其他组织器官损伤, 甚至诱发休克。张家平等^[3]研究发现, 烧伤后所导致的心肌细胞凋亡是心肌损伤及其并发症发生、发展的重要病理机制。刘丽乔等^[9]通过制作严重烧伤大鼠模型进行研究发现, 通过药物干预调节

凋亡相关调控基因的表达,进而抑制心肌细胞凋亡,能够有效缓解烧伤大鼠心肌损伤及全身并发症的发生、发展。

细胞凋亡是有多种基因参与调控的主动性细胞死亡过程,bcl-2 基因家族是非常重要的参与者,其中 bcl-2 为抑凋亡基因,Bax 为促凋亡基因,二者间相互作用、共同调控细胞凋亡^[10]。Jayanthi 等^[11]进一步研究发现,细胞凋亡甚至更依赖于 bcl-2/Bax 表达比值,bcl-2/Bax 比值越高,抑制凋亡作用越强。caspases 家族是细胞凋亡过程中重要的调控基因,其中 caspase-3 被认为是介导心肌细胞凋亡的重要病理机制之一^[12]。氧自由基损伤是导致细胞凋亡的重要因素之一;而正常状态下,体内生成 SOD 能够催化还原氧自由基生成 H₂O₂,并在谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的作用下进一步还原生成对人体无害的 H₂O 和 O₂^[13,14]。MPO 是中性粒细胞特有的酶,其活性也能够反映机体抗氧化能力,血清中 MDA 含量水平能够间接反应机体氧化应激损伤程度^[15]。NF-κB 为多效能核转录因子,被称为连接氧化应激损伤和细胞凋亡的桥梁^[16]。Zhang 等^[17]研究发现,受 ROS 攻击而活化的 NF-κB 能够促进巨噬细胞活化和浸润,诱导促凋亡信号释放而导致细胞凋亡;并且被活化的 NF-κB 进入细胞核后能够与 DNA 的相应位点结合,参与调控下游相关靶基因的转录表达,证实 NF-κB 激活与氧化应激诱导的心肌细胞凋亡密切相关^[18]。

葛根素是我国传统中药葛根的主要有效成分,属于异黄酮类化合物,具有多种生物学活性。本实验通过末端标记法(TUNEL)检测发现,葛根素治疗组心肌细胞凋亡状况较模型组显著减轻,心肌细胞凋亡指数显著降低,抑凋亡基因 bcl-2 表达显著上调、促凋亡基因 Bax 表达显下调,bcl-2/Bax 表达比值显著升高,caspase-3、NF-κB 蛋白表达显著下调,抗氧化酶(SOD、GSH-Px、MPO)活性、降低氧化应激损伤;提示葛根素对重度烧伤大鼠心肌细胞凋亡具有抑制作用,其作用机制可能与葛根素上调抑凋亡基因表达、下调促凋亡基因表达、提高 bcl-2/Bax 表达比值、下调促凋亡 caspase-3 蛋白表达、改善抗氧化酶活性、抑制氧化应激损伤并下调 NF-κB 蛋白表达有关。

参考文献

1 彭靖,李腾,吕尚军,等.甘氨酸减轻烧伤大鼠心肌损害的实验

- 研究[J]. 重庆医学, 2012, 41(36): 3804-3806
- 2 黄跃生,李志清,吴庆云,等.缺血缺氧在烧伤后“休克心”中的作用及其机理探讨[J]. 中华烧伤杂志, 2002, 18(4): 205-209
- 3 张家平,黄跃生,周新.严重烧伤大鼠心肌细胞凋亡与心功能损害的关系[J]. 中华烧伤杂志, 2002, 18(5): 272-274
- 4 王会敏,田炜,喇孝瑾,等.葛根素、齐墩果酸及其配伍对 T2DM 大鼠氧化应激和炎症反应的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(15): 174-177
- 5 张玲,庞莉,高俊虹,等.葛根素对糖尿病大鼠心肌细胞凋亡及相关蛋白表达的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2011, 17(3): 323-325
- 6 覃文玺,张春霞,张力.白虎加人参汤对重度烧伤大鼠早期炎症反应的影响[J]. 广西中医药, 2012, 35(1): 55-57
- 7 黄跃生.烧伤后早期心肌损害的分子机制及防治研究进展[J]. 中华烧伤杂志, 2004, 20(5): 257-259
- 8 黄跃生,杨宗城,迟路湘,等.烧伤后“休克心”的研究[J]. 中华烧伤杂志, 2000, 16(5): 275-278
- 9 刘丽乔,章洁,杨晓红,等.川芎嗪对严重烧伤大鼠心肌细胞凋亡的影响[J]. 江西医学院学报, 2007, 47(5): 9-13
- 10 张彦清,刘保江,田首元.丙泊酚对大鼠离体缺血/再灌注心肌细胞凋亡和 bcl-2/Bax 蛋白表达的影响[J]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2011, 9(1): 55-57
- 11 Jayanthi S, Deng X, Bordelon M, et al. Methamphetamine causes differential regulation of pro-death and anti-death Bcl-2 genes in the mouse neocortex[J]. FASEB J, 2001, 15(10): 1745-1752
- 12 徐强,司良毅,张红.大鼠心肌再灌注不同时相 Caspase-3 激活与心功能变化的关系[J]. 第三军医大学学报, 2005, 27(23): 2338-2340
- 13 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
- 14 Yoon GA, Park S. Antioxidant action of soy isoflavones on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in exercised rats[J]. Nutr Res Pract, 2014, 8(6): 618-624
- 15 段若望,李明新,宋炯.不同血液 pH 值对大鼠肺移植时缺血再灌注损伤的影响[J]. 中华麻醉学杂志, 2010, 30(6): 685-687
- 16 杨帆,王永青,彭余江,等. NF-κB 在颅脑损伤后继发氧化应激及细胞凋亡之间的关系研究[J]. 浙江创伤外科, 2014, 19(6): 899-902
- 17 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
- 18 Li Q, Xu LS. Mechanism of destruction of islet cells by exogenous nitric oxide[J]. Med J Natl Def Force Northwest China, 2002, 23(5): 361-363

(收稿日期:2015-01-02)

(修回日期:2016-01-11)