

天麻乙酸乙酯提取物对 PC12 细胞氧化损伤的保护作用

文金隆^{1,2}, 韩春妮¹, 陈建芬², 林青¹, 段小花^{1*}

(1. 云南中医学院, 昆明 650500; 2. 玉溪市中医医院 云南中医学院第四附属医院, 云南 玉溪 653100)

[摘要] **目的:**探讨天麻乙酸乙酯提取物对氧化损伤神经细胞的保护作用,并初步探讨其保护机制。**方法:**以过氧化氢(50~100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)预孵 PC12 细胞 2 h 造成的细胞氧化应激损伤模型,通过观察细胞形态,测定细胞存活率(MTT 法)、乳酸脱氢酶(LDH)泄漏率、细胞内活性氧(ROS)水平和总超氧化物歧化酶(T-SOD)活性探讨了天麻乙酸乙酯提取物对 PC12 细胞氧化损伤的保护作用。**结果:**天麻乙酸乙酯提取物(20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)能明显改善 H_2O_2 氧化损伤 PC12 模型细胞的形态,提高细胞存活率 14.7% ($P < 0.01$);天麻乙酸乙酯提取物(20, 40, 80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)降低模型细胞 LDH 泄漏率分别为 22.0%, 29.3%, 20.2% ($P < 0.01$),明显提高细胞内 T-SOD 的活性 ($P < 0.01$);天麻乙酸乙酯提取物(80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)还降低细胞内 ROS 水平 ($P < 0.01$)。**结论:**天麻乙酸乙酯提取物在体外具有抗氧化损伤的作用。

[关键词] 天麻乙酸乙酯提取物; 氧化损伤; 过氧化氢; PC12 细胞

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0171-05

[doi] 10.11653/syfy2013230171

Protective Effect of EtOAc Extract from *Gastrodia elata* on Oxidative Damage in PC12 Cells

WEN Jin-long^{1,2}, HAN Chun-ni¹, CHEN Jian-fen², LIN Qing¹, DUAN Xiao-hua^{1*}

(1. Yunnan University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Kunming 650500, China;

2. Department of Pharmacy, Yuxi Municipal Hospital of TCM, The Fourth Affiliated Hospital of Yunnan Institute of TCM, Yuxi 653100, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects and possible mechanisms of EtOAc extract from *Gastrodia elata* on oxidative damage of induced by H_2O_2 in PC12 cells. **Method:** PC12 cells were cultured and exposed to H_2O_2 (50-100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$) for 2 h to establish oxidative damage model. The protective effect of EtOAc extract was observed by morphological identification, colorimetric MTT assay, leakage rate of lactic dehydrogenase (LDH), intracellular reactive oxygen species (ROS) level and total superoxide dismutase (T-SOD) activity. **Result:** Compared with the model group, EtOAc extract from *G. elata* at 20 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ could improve the cell morphology significantly, increase the survival rate of 14.7% ($P < 0.01$); EtOAc extract at 20, 40, 80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ decrease the LDH release of 22.0%, 29.3%, 20.2% ($P < 0.01$) from cells into culture medium, raise intracellular T-SOD activity ($P < 0.01$); EtOAc extract at 80 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ decrease the ROS level ($P < 0.01$). **Conclusion:** EtOAc extract from *G. elata* has a obvious antioxidant effect *in vitro*.

[Key words] EtOAc extract from *Gastrodia elata*; oxidative damage; hydrogen peroxide; PC12 cells

随着人口的老龄化,缺血性脑血管病(ischemic cerebrovascular diseases, ICVD)的发病率逐年升高,

[收稿日期] 20130510(010)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81160514);云南省教育厅科学研究基金项目(00370120019)

[第一作者] 文金隆,医学硕士,中药师,从事中药药理与应用研究, Tel:0877-3668299, E-mail:duanmuwuyou@126.com

[通讯作者] *段小花,医学硕士,助教,从事中药药理与应用研究, Tel:0871-65918134, E-mail:y. zdxh@163.com

其居高不下的致死率及致残率,给社会和家庭造成严重威胁,已成为现代医学研究的热点。脑缺血再灌注损伤是大多数 ICVD 的主要病理生理过程,缺血后再灌注引起的氧化应激反应在缺血再灌注损伤中起关键作用,是造成脑缺血再灌注不可逆损伤的主要因素^[1-3]。

天麻是一种常用的名贵中药材,祖国传统医学认为,天麻具有息风止痉,平肝潜阳,祛风通络之功效。本课题组前期研究证明天麻具有较强的抗脑缺血再灌注损伤作用,其活性在天麻乙酸乙酯层。PC12 细胞为小鼠肾上腺嗜铬细胞瘤克隆化的细胞株,是研究神经生理、病理及药理学的常用模型细胞^[4],本研究以 H₂O₂ 诱导 PC12 造成氧化应激损伤细胞模型,探讨天麻乙酸乙酯层提取物的保护作用。

1 材料

1.1 细胞 高分化小鼠肾上腺嗜铬细胞瘤细胞(PC12 细胞),由昆明医科大学云南省天然药物药理重点实验室提供。

1.2 药品和试剂 天麻 *Gastrodia elata* Blume 由昭通天麻研究所陈顺芳副教授鉴定并提供,以 95% 乙醇提取(按生药 10.62% 的出膏率)后乙酸乙酯萃取(按生药 1.41% 的出膏率)的方法制备得到天麻乙酸乙酯提取物,临用前用 1/10 万分析天平精密称取 40.0 mg,移液器加 DMSO 溶解配制成 40 g·L⁻¹ 的高浓度储备液,用无血清 RPMI-1640 培养基 100 倍稀释成 400 mg·L⁻¹ 的含药培养液,过滤除菌后依次稀释成其余给药组浓度,给药后的 DMSO 终浓度为 0.2%。依达拉奉(Adamas, 88554B),过氧化氢(Adamas, 82427A),改良型 RPMI-1640 培养基(HyClone, NXK0728),胎牛血清(HyClone, NWL0509),噻唑蓝(MTT, Amresco, 0793),乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒(批号 20130315),活性氧(ROS)测定试剂盒(批号 20130315),总超氧化物歧化酶(T-SOD)试剂盒(批号 20130313),均为南京建成生物工程研究所。

1.3 仪器 Ti-S 型倒置相差显微镜(Nikon),3111 型二氧化碳细胞培养箱(Thermo),BSC-1300 II A2 型生物安全柜(苏净安泰),Infinite M200 PRO 型酶标仪(Tecan),AB204-S 型电子分析天平(METTLER TOLEDO)。

2 方法

2.1 细胞形态学观察 设空白组,正常组,模型组,依达拉奉组,天麻 EtOAc 提取物组,每组 6 孔,按 3.0 × 10⁴ cells/mL 的浓度接种于 96 孔板,每孔

100 μL 细胞混悬液和 60 μL 含血清培养基,震荡均匀,培养 24 h 后空白组、正常组和模型组每孔加入培养液 40 μL,依达拉奉组和天麻 EtOAc 提取物组分别加入终浓度为 160,10,20,40,80 mg·L⁻¹ 的含药培养液 40 μL,DMSO 终浓度为 0.2%,培养 24 h 后换含 50 μmol·L⁻¹ H₂O₂ 的无血清培养液损伤细胞 2 h,弃原培养液,加 180 μL 培养液继续培养 42 h,倒置显微镜下观察各组细胞形态变化。

2.2 细胞存活率的测定(MTT 法) 实验方法同

2.1,参考文献方法^[5-6],造模损伤恢复培养 42 h 后,加 5 g·L⁻¹ 的 MTT 液 20 μL,孵育 4 h,吸弃上清液,加 150 μL 100% DMSO,摇床上振荡 10 min,使结晶物充分融解,570 nm 波长下测定各孔吸光度(A)。

细胞存活率 = (给药孔 A - 空白 A) / (正常对照孔 A - 空白 A) × 100%

2.3 LDH 泄漏率的测定 参考文献方法^[7-8],实验

分组同 **2.1**,每组 3 孔,按 2.0 × 10⁵ cells/mL 的细胞密度接种于 6 孔板,每孔 1 mL 细胞混悬液和 0.6 mL 含血清培养基,震荡均匀,培养 24 h 后空白组、正常组和模型组每孔加入无血清培养液 0.4 mL,依达拉奉组和天麻 EtOAc 提取物组分别加入终浓度为 160,20,40,80 mg·L⁻¹ 的含药无血清培养液 0.4 mL,DMSO 终浓度为 0.2%,继续培养 24 h 后换含 100 μmol·L⁻¹ H₂O₂ 的无血清培养液损伤细胞 2 h,吸取上清液 4 °C 保存待测 LDH 活性,每孔加 1 mL 无菌双蒸水,采用 3 次反复冻融裂解细胞,显微镜下观察无完整细胞,测定细胞裂解溶液中 LDH 活性,按试剂盒(微量酶标法)说明书方法检测并按计算 LDH 泄漏率。

LDH 泄漏率 = 上清 LDH / (上清 LDH + 裂解细胞内 LDH) × 100%

2.4 细胞内的 ROS 水平测定(DCF 荧光探针法)

参考文献方法^[9-10],细胞接种部分同 **2.3**,实验分组增设活性氧阳性对照(Rosup)组,给药时正常组、Rosup 组和模型组加 0.4 mL 含 DMSO 的无血清培养液,依达拉奉组和天麻 EtOAc 提取物组分别加终浓度为 80,20,40,80 mg·L⁻¹ 含药无血清培养液 0.4 mL,DMSO 终浓度为 0.2%,给药 24 h 后吸弃培养液,加无血清培养基 0.5 mL 清洗 1 次,选择原位装载探针,每孔加 1 mL 含 5 μmol·L⁻¹ DCFH-DA 的无血清培养基,37 °C 孵育 30 min,无血清培养液洗涤细胞 1 次后,正常组加无血清培养液和 Rosup 组加终浓度为 20 μmol·L⁻¹ 的 Rosup 2 mL,其余组加 2 mL 含 100 μmol·L⁻¹ H₂O₂ 的无血清培养液损伤细

胞 2 h,吸弃上清液,无血清培养液洗 1 次,加 1 mL PBS,4 ℃ 冷藏 20 min,冰浴上用细胞刮刀收集细胞,吹打均匀,取 PBS 10 倍稀释后的稀释液 100 μL 检测,488 nm 激发波长和 525 nm 发射波长下检测各组荧光的强弱。

2.5 细胞内的 T-SOD 测定 实验方法同 2.3,经预实验最佳取样量摸索,确定取 0.6 mL 细胞裂解液作为待测样本,按南京建成总超氧化物歧化酶(羟胺法)说明书方法检测和计算细胞内 T-SOD 的活性。

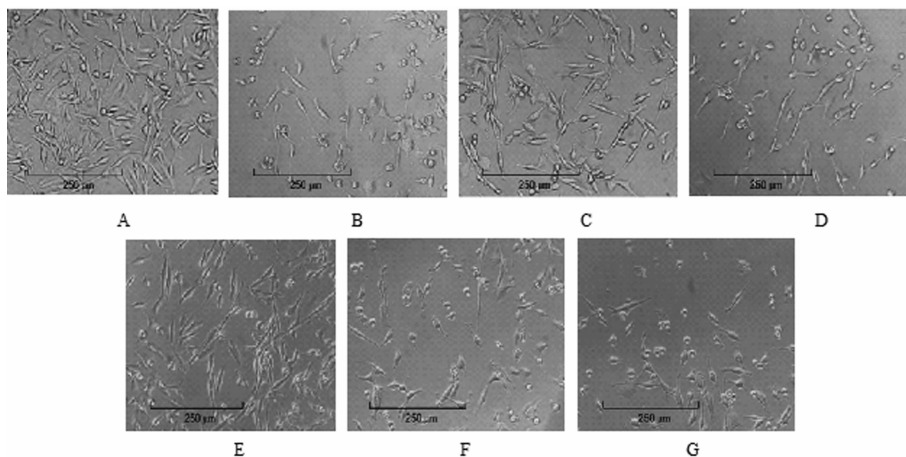
$$\text{T-SOD 活力}(\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}) = (\text{对照 A} - \text{测定 A}) / \text{对照 A} \div 50\% \times \text{反应体系的稀释倍数} \times \text{样本测试前测前稀释倍数}$$

2.6 统计方法 数据符合正态分布,方差齐者用

one-factor ANOVA 分析,组间比较用 LSD 检验;数据符合正态,方差不齐者用 Tamhane' T_2 检验。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 对 H_2O_2 诱导氧化损伤后的细胞形态学观察 与正常组比较,模型组细胞数量明显减少,多数细胞突起收回,胞体变圆,部分变圆细胞成团存在,胞体边缘模糊,折光性减弱,贴壁能力降低,培养板底部可见细胞碎片;与模型组比较,依达拉奉 160 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和天麻 EtOAc 提取物 20,40 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 浓度下的细胞整体数量和梭形细胞数量增加,成团细胞数减少,细胞折光性和贴壁能力恢复良好,20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组的改善明显。见图 1。



A. 正常对照组;B. 模型组;C. 依达拉奉 160 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组;D. EtOAc 提取物 10 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组;

E. 天麻 EtOAc 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 提取物组;F. 天麻 EtOAc 提取物 40 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组;G. 天麻 EtOAc 提取物 80 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组

图 1 天麻 EtOAc 提取物对 H_2O_2 损伤 PC12 细胞后的形态学观察($\times 200$)

3.2 对 H_2O_2 诱导氧化损伤后细胞存活率的影响

与正常组比较,模型组细胞存活率为 38.3%,差异具有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,依达拉奉 160 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组提高细胞存活率 21%,差异具有统计学意义($P < 0.01$),天麻 EtOAc 提取物各给药组均具有提高细胞存活率的趋势,以 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组具有统计学意义($P < 0.01$)。见表 1。

3.3 对 H_2O_2 诱导氧化损伤后细胞 LDH 泄漏率及

细胞内 T-SOD 活性的影响 与正常组比较,模型组细胞外的 LDH 活性和 LDH 泄漏率升高,差异具有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,依达拉奉 160 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和天麻 EtOAc 提取物 20,40,80 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组细胞外的 LDH 活性和 LDH 泄漏率降低,差异具有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与正常组比较,模型组细胞内的 T-SOD 活性降低,差异具有统计学意义($P < 0.01$);与模型组比较,天麻 EtOAc 提取物

表 1 天麻 EtOAc 提取物对 H_2O_2 致 PC12 细胞氧化损伤后细胞存活率的影响($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	A	存活率/%
正常	-	1.66 ± 0.09	100.0 ± 5.3
模型	-	0.64 ± 0.08	38.3 ± 5.0 ¹⁾
依达拉奉	160	0.99 ± 0.13	59.6 ± 8.0 ²⁾
天麻 EtOAc 提取物	10	0.78 ± 0.14	46.5 ± 8.4
	20	0.88 ± 0.15	53.0 ± 8.9 ²⁾
	40	0.76 ± 0.15	45.4 ± 9.3
	80	0.76 ± 0.09	45.7 ± 5.6

注:与正常组比较¹⁾ $P < 0.01$;与模型组比较²⁾ $P < 0.01$ (表 2 ~ 3 同)。

20,40 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组细胞内的 T-SOD 活性升高,差异具有统计学意义($P < 0.01$),80 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组细胞内的 T-

SOD 活性降低,差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 2。

3.4 对 H_2O_2 诱导氧化损伤后细胞内 ROS 的影响 与正常组比较,模型组荧光强度升高,差异具有统计学意义 ($P < 0.01$);与模型组比较,依达拉奉组荧光强度有升高趋势,天麻 EtOAc 提取物 $80 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组的荧光强度降低,差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 3。

表 2 天麻 EtOAc 提取物对 H_2O_2 致 PC12 细胞氧化损伤后 LDH 泄漏率和 T-SOD 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	胞外 LDH/ $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$	LDH 泄漏率 /%	T-SOD / $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$
正常	-	28 ± 4	9.3 ± 1.5	5.26 ± 0.28
模型	-	195 ± 17 ¹⁾	44.3 ± 2.1 ¹⁾	4.48 ± 0.19 ¹⁾
依达拉奉	160	39 ± 5 ²⁾	14.1 ± 1.7 ²⁾	5.14 ± 0.21 ²⁾
天麻 EtOAc	20	67 ± 2 ²⁾	22.3 ± 1.9 ²⁾	5.14 ± 0.22 ²⁾
提取物	40	41 ± 3 ²⁾	15.0 ± 0.9 ²⁾	4.92 ± 0.39 ²⁾
	80	56 ± 4 ²⁾	24.4 ± 1.5 ²⁾	3.99 ± 0.26 ²⁾

表 3 天麻 EtOAc 提取物对 H_2O_2 致 PC12 细胞氧化损伤后细胞内 ROS 的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别	剂量/ $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	荧光强度
正常	-	4 837 ± 651
Rosup	-	4 264 ± 711
模型	-	6 273 ± 980 ¹⁾
依达拉奉	80	6 474 ± 359
天麻 EtOAc 提取物	20	5 604 ± 921
	40	5 384 ± 1 983
	80	3 353 ± 384 ²⁾

4 讨论

PC12 细胞是一种具有分化潜能的神经元前体细胞系,是目前最为常用的神经细胞分化生理、病理及药理研究的模型细胞之一。近来的研究证明 PC12 细胞氧化应激损伤模型是体外筛选抗氧化药物的一种可靠的神经药理细胞模型,可用于揭示药物作用的机制研究。

适量的氧自由基作为一种第二信使,可以调节转录因子、细胞生长、凋亡基因表达及细胞黏附等生理过程,但当体内活性分子如氧自由基产生过多和(或)清除减少,造成体内活性氧类生成与抗氧化防御之间的平衡絮乱即为氧化应激。 H_2O_2 极易释放出氧离子形成氧自由基,因此常用来建立体外对靶细胞的氧化应激损伤模型,观察药物对自由基的抑制作用或者对细胞的保护作用。

笔者前期研究证明天麻 EtOAc 提取部分有确切的抗脑缺血损伤的作用,并在保护 OGD/Rep 损

伤 PC12 细胞膜的完整性,提高细胞存活率方面表现出较好活性等。本课题复制 H_2O_2 氧化损伤模型探讨天麻 EtOAc 提取物抗脑缺血再灌注损伤的作用机制。细胞形态学和 MTT 比色法研究结果显示:天麻 EtOAc 提取物能明显改善模型细胞的形态和提高细胞存活率。

DCFH-DA 是迄今为止最常用、最灵敏的细胞内活性氧检测探针, H_2O_2 是一种膜易透性强氧化剂,对细胞的氧化应激损伤主要是通过增加细胞内 ROS,严重地干扰抗氧化防御系统功能,因此测定细胞内 ROS 水平间接反映细胞氧化损伤程度。研究结果显示:天麻 EtOAc 提取物明显降低细胞内 ROS 水平。

LDH 是体内能量代谢过程中的关键酶,当胞膜损伤时快速释放到细胞培养液中,检测细胞培养上清 LDH 活性或者 LDH 泄漏率都可判断细胞受损伤的程度。同时检测上清 LDH 活性和 LDH 泄漏率,旨在准确揭示目标药物对 H_2O_2 损伤细胞膜的影响,结果显示天麻 EtOAc 提取物的各给药细胞上清液的 LDH 活性明显低于模型组,明显降低 LDH 泄漏率,说明天麻 EtOAc 提取物可通过保护细胞膜的完整性实现抗 H_2O_2 诱导的氧化应激损伤,并提示其作用效果与依达拉奉相近。

SOD 是抗氧化防御体系中一类非常重要的金属酶,是机体内唯一以 $O_2^- \cdot$ 为底物的酶,对机体的氧化和抗氧化平衡起着至关重要的作用,可保护细胞免受损伤,在医学界有“人体清道夫”一称。研究结果显示,天麻 EtOAc 提取物具有提高氧化损伤后细胞内 T-SOD 活性的作用。

综上所述,天麻 EtOAc 提取物能明显改善氧化损伤后的细胞形态、提高细胞存活率、保护 H_2O_2 损伤后细胞膜的完整性、降低损伤后细胞内 ROS 水平和提高细胞内 T-SOD 活性,提示天麻 EtOAc 提取物在体外发挥抗氧化损伤的作用机制主要为:直接减少氧自由基,并提高细胞内抗氧化酶(T-SOD)活性抑制氧自由基;增强细胞本身抗氧化系统功能,从多个环节阻断自由基损伤作用;保护细胞膜等膜性结构降低自由基损伤。由于天麻 EtOAc 提取物中具有多种酚性成分,其活性成分及其抗自由基损伤的作用机制探索有待进一步明确。

[参考文献]

[1] 边云飞. 氧化应激与心血管疾病[M]. 北京:军事医学科学出版社,2012:94.

逍遥散对雷公藤致大鼠肝损伤的预防作用及机制探讨

柴智, 樊慧杰, 王永辉, 李彦艳, 周然*
(山西中医学院, 太原 030024)

[摘要] 目的:研究逍遥散对雷公藤水煎剂致大鼠急性肝损伤的预防作用及其作用机制。方法:60 只 SD 大鼠随机分为正常对照组、模型组、甘利欣($0.06 \text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}$)对照组、逍遥散低、中、高剂量组(生药量 3.38, 6.75, 13.50 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$)。除正常组外,分别以相应剂量药物连续 ig 4 d,再以雷公藤水煎剂(生药量 3.75 $\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$) ig 4 d 造模。处死大鼠,计算肝指数,检测血清丙氨酸转氨酶(ALT)和天冬氨酸转氨酶(AST)的活力,做肝脏病理学检查,并测定肝匀浆上清白细胞介素 1β (IL- 1β)和肿瘤坏死因子 α (TNF- α)的含量。结果:与正常组比较,模型组大鼠的肝指数及血清 ALT, AST 的活力明显升高 ($P < 0.01$),肝组织病理改变明显($P < 0.05$),肝匀浆上清 IL- 1β , TNF- α 的含量明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,逍遥散各组 and 甘利欣组大鼠的肝指数、血清 ALT 和 AST 的活力、肝组织病理损伤程度及肝匀浆上清 IL- 1β , TNF- α 的含量均明显降低($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。结论:雷公藤所致大鼠急性肝损伤与其引起炎症因子 IL- 1β , TNF- α 释放增加进而形成炎性损伤有关,逍遥散可通过抑制 IL- 1β , TNF- α 的释放而对雷公藤致大鼠急性肝损伤起到预防作用。

[关键词] 雷公藤; 逍遥散; 肝损伤; 预防作用

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0175-04

[doi] 10.11653/syfy2013230175

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20130924.1445.014.html>

[网络出版时间] 2013-09-24 14:45

Preventive Effect and Mechanism of Xiaoyao San on Liver Injury Induced by *Tripterygium wilfordii*

CHAI Zhi, FAN Hui-jie, WANG Yong-hui, LI Yan-yan, ZHOU Ran*
(Shanxi University of Traditional Chinese Medicine, Taiyuan 030024, China)

[收稿日期] 20130728(010)

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(30873433);山西省青年科技研究基金项目(2012021031-6);山西省高校科技开发项目(20101106)

[第一作者] 柴智,博士,讲师,从事方剂效用及其物质基础研究, Tel:0351-2272241, E-mail: chaizhi008@126.com

[通讯作者] *周然,博士,教授,博士生导师,从事方剂效用及其物质基础研究, Tel:0351-2272390, E-mail: zhour58@sohu.com

- [2] 闫晨, 马德邻, 朱金墙. 脑缺血再灌注神经元损伤机制研究进展[J]. 天津中医, 2012, 29(5): 510.
- [3] 王钊, 黄雨蒙. 氧化应激与脑缺血-再灌注损伤[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2012, 32(4): 343.
- [4] 黎巍威, 王学美. PC12 细胞作为氧化应激细胞模型的研究进展[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(11): 1575.
- [5] R. I. 弗雷谢尼. 动物细胞培养—基本技术指南[M]. 北京: 科学出版社, 2008: 490.
- [6] 马舒伟, 王丽艳, 张文治, 等. 银杏内酯 N 对 PC12 细胞缺血性损伤的保护作用[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(9): 2409.
- [7] 吴玉林, 杨政. MCI-186 对 H_2O_2 所致 PC12 细胞氧化应激损伤及细胞内活性氧的影响[J]. 中国药科大学学报, 2004, 35(6): 565.
- [8] 温旭敏, 魏涛, 白利萍, 等. 川芎嗪对 H_2O_2 诱导 PC12 细胞凋亡的保护作用研究[J]. 中国药物与临床, 2013, 13(1): 25.
- [9] 张鑫. 细胞中活性氧的荧光探针检测法研究进展[J]. 现代预防医学, 2010, 37(22): 4316.
- [10] 陶移文, 刘建文, 魏东芝, 等. 胡黄连苷-II 在体外对 PC12 神经细胞损伤的保护作用[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2003, 8(1): 27.

[责任编辑 聂淑琴]