

当归红芪超滤膜提取物对阿霉素致心肌细胞凋亡的影响

许茸茸¹, 李应东^{1,2*}, 刘凯^{1,2}, 孙少伯^{1,2}, 李伟君²

(1. 兰州大学中西医结合研究所, 兰州 730000; 2. 甘肃中医学院, 兰州 730000)

[摘要] 目的: 研究当归红芪超滤膜提取物(UFE-AH)对阿霉素所致心肌细胞凋亡的影响。方法: 取新生 1~2 d 的 Wistar 乳鼠, 用差速贴壁法原代提取心肌细胞, 调整细胞密度 $1 \times 10^6/\text{mL}$, 于 $37\text{ }^\circ\text{C}$ 5% CO_2 培养箱中密闭培养 48 h。用 $2.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿霉素作用于心肌细胞 24 h 成功建立心肌细胞凋亡模型。实验分 5 组: 正常对照组、阿霉素组 ($2.5\text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)、UFE-AH 低、中、高剂量干预组 (阿霉素造模前 2 h 预先分别给予 $3.75, 7.5, 15\text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ 当归红芪超滤膜提取物)。四氮唑蓝 (MTT) 法检测各组细胞生长抑制率, 单细胞凝胶电泳检测 DNA 损伤, Western blot (蛋白印迹法) 检测 B 淋巴细胞瘤-2 蛋白 (Bcl-2), Bcl-2 相关 X 蛋白 (Bax) 表达水平。结果: 与正常组相比, 阿霉素组心肌细胞生长抑制率明显增加, 且头部 DNA 含量占总含量的百分数 (HDNA%), 尾部 DNA 含量占总含量的百分数 (TDNA%), 尾长 (TL), 尾短 (TM), 尾距 (OTM) 均明显升高, Bcl-2 蛋白表达水平下降、Bax 表达水平升高, 均有统计学意义 ($P < 0.01$); UFE-AH 干预组的心肌细胞生长抑制率明显降低, 且 HDNA%, TDNA%, TL, TM, OTM 数值均降低, Bcl-2 蛋白表达水平上调, Bax 表达水平下调, 有显著性差异 ($P < 0.01$)。结论: UFE-AH 可减轻阿霉素对心肌细胞 DNA 的损伤, 上调 Bcl-2/Bax 而抑制心肌细胞的凋亡, 具有抗心肌细胞凋亡的保护作用。

[关键词] 阿霉素; 当归红芪超滤膜提取物; DNA 损伤; B 淋巴细胞瘤-2 蛋白; Bcl-2 相关 X 蛋白

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)15-0222-05

[doi] 10.11653/syfy2013150222

Protection Effect of Ultra-filtration Extract from the Mixture of *Angelica sinensis* and *Hedysarum polybotrys* on Adriamycin-induced Myocardial Apoptosis of Neonatal Rats

XU Rong-rong¹, LI Ying-dong^{1,2*}, LIU Kai^{1,2}, SUN Shao-be^{1,2}, LI Wei-jun²

(1. Institute of Combination of Chinese Tradition with Western Medicine, Lanzhou University, Lanzhou 730000, China; 2. Gansu College of Tradition Chinese Medicine, Lanzhou 730000, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the influence of ultra-filtration extract from the mixture of *Angelica sinensis* and *Hedysarum polybotrys* (UFE-AH) on myocardial cell apoptosis induced by adriamycin (ADR) of neonatal rats. **Method:** Myocardial cells of neonatal rats born 1 to 2 days were primarily cultured by differential adherent method for 48 h at $37\text{ }^\circ\text{C}$, 5% CO_2 incubator, adjusting the cell concentration to $1 \times 10^6/\text{mL}$, then randomly divided into five group: normal control group, adriamycin group, low-does, medium-does, and high-does UFE-AH. to detect MTT method was used to inhibition of cell growth rate, and to detect the level of deoxyribonucleic acid damage (DNA damage) the single cell gel electrophoresis was used, western blot was used to detect the expression of Bcl-2 and Bax. **Result:** Compared with the normal group, the inhibition of cell growth rate in adriamycin group increased significantly, head DNA% (HDNA%), tail DNA% (TDNA%), tail length (TL), tail moment (TM), olive tail moment (OTM) were significantly increased, the protein expressions of Bcl-2 were decreased and the protein expressions of Bax were increased significantly ($P < 0.01$); In comparison of the four other groups with model group, UFE-AH, HDNA%, TDNA%, TL, TM, OTM numerical and the protein

[收稿日期] 20121112(007)

[基金项目] 甘肃省中医药科研课题(07-gzk-31)

[第一作者] 许茸茸, 硕士研究生, Tel:13919023061, E-mail:13919023061@sina.com

[通讯作者] *李应东, 主任医师, 硕士及博导, 从事心脑血管疾病的中西医结合治疗研究, Tel:13893186919, E-mail:lydj412@163.com

expressions of Bax, but increase the protein expressions of Bcl-2 of the myocardial ceels in neonatal rats and the radio of Bcl-2/Bax. **Conclusion:** can reduce the DNA damage of the myocardial cells induced by adriamycin and increase the radio of Bcl-2/Bax, and has the protective effects on myocardial cell apoptosis induced by adriamycin of neonatal rats.

[**Key words**] ADR; UFE-AH; DNA damage; Bcl-2; Bax

阿霉素(adriamycin,ADR)是一种高效广谱的蒽环类抗肿瘤药物。具有抗癌谱广、作用强的特点,临床上广泛用于治疗多种恶性肿瘤,如实体瘤,白血病及淋巴瘤。由于其严重的心肌毒性作用,使其临床应用受到一定限制。目前认为阿霉素的的心脏毒性机制可能是多因素共同作用的结果,其中DNA损伤和心肌细胞凋亡发挥重要作用^[1-4]。近来,中医药防治阿霉素心脏毒性的研究越来越引起人们的广泛关注。当归红芪超滤膜提取物是经典名方当归补血汤的复方提取物,由当归和红芪2味药以5:1组成,具有补益气血、改善血液循环、抗氧化等功能^[5]。超滤膜提取技术不仅能分离纯化中药复方,还能提高其有效成分的含量^[6],本实验室^[7-8]研究表明当归红芪超滤膜提取物具有清除氧自由基、抗心肌细胞氧化损伤、抑制心肌细胞凋亡等作用。

本实验用阿霉素作用于原代培养乳鼠心肌细胞造成凋亡模型,并用低、中、高浓度当归红芪超滤膜提取物干预阿霉素诱导的心肌细胞凋亡过程,观察当归红芪超滤膜提取物对阿霉素致心肌细胞DNA的损伤及心肌细胞凋亡的保护作用,从而探讨当归红芪超滤膜提取物(UFE-AH)在阿霉素导致心肌细胞凋亡的可能保护机制。

1 材料

1.1 中药材 当归采自甘肃岷县当归规范化种植基地(GAP)基地,经甘肃中医学院药学院生药学教研室鉴定为伞形科当归属 *Angelica sinensis* (Oliv.) Diels 的根;红芪:采自甘肃宕昌,经甘肃中医学院药学院生药学教研室鉴定为系豆科岩黄芪属植物多序黄芪 *Astragalus membranaceus* (Fisch.) Bunge 的干燥根茎。

1.2 动物 出生1~2日龄新生Wistar大鼠乳鼠由甘肃中医学院SPF级实验动物中心提供,合格证号SCXK(甘)2011。

1.3 试剂和仪器 胎牛血清、Dulbecco's modified Eagle's medium high-glucose and Ham's F12 medium (DMEM/F-12,高糖)由HyClone提供;胰蛋白酶、II型胶原酶(购自GIBCO公司);5-溴脱氧尿嘧啶(5-bromo-2'-deoxyuridine,5-Brdu)、碘化丙啶(propidium iodide,PI)、3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮

唑溴盐(MTT)、二甲基亚砷(dimethyl sulfoxide,DMSO):购自美国Sigma公司;磷酸盐缓冲液(PBS):(北京中杉金桥生物技术有限公司);阿霉素(深圳万乐药业有限公司);UFE-AH由甘肃中医学院与甘肃省膜科学研究院联合制备。聚偏氟乙烯膜(PVDF膜,加拿大BBI公司);化学发光液发光试剂盒(碧云天公司);兔抗鼠Bcl-2,Bax, β -actin多克隆抗体(购自Saniac公司);辣根过氧化物酶标记羊抗兔IgG(武汉博士德生物工程有限公司)。BB16UV型二氧化碳培养箱(德国 Heraeus 公司);VS-1300L型超净工作台(苏净集团苏州安泰空气技术有限责任公司);IX71型倒置相差显微镜(日本 Olympus 公司);m680酶联免疫检测仪(北京元业伯乐科技发展有限公司);AlPhalmager2200型凝胶成像分析系统(美国 AIPha 公司产品)。

2 方法

2.1 乳鼠心肌细胞原代提取及培养^[9-12] 取健康的新生1~2d的乳鼠(雌雄各半),无菌条件下开胸取出心脏,迅速用预冷的PBS清洗3次,剔除大血管及心包等附属组织,将心肌组织剪成约1mm³大小的组织块,加入胰蛋白酶(0.04%)消化2次,37℃水浴振荡10min,改用II型胶原酶(0.05%)消化,37℃水浴振荡8min,分次消化直至组织块消化完全。收集除前2次以外的消化后细胞悬液入离心管中,加等量的含15%胎牛血清的培养液,离心10min,弃上清,用含15%血清的培养液充分轻柔地吹打成单细胞悬液,接种于培养瓶中,37℃5%CO₂细胞培养箱中培养。1.5h后取培养瓶中上清液,离心,弃上清液,沉淀用含5-溴脱氧尿嘧啶的培养基混悬,接种于培养瓶中,37℃5%CO₂培养箱中培养。36~48h换液1次,培养72h后进行实验。

2.2 分组及指标测定 取对数生长期的心肌细胞,用胰酶消化后,充分吹打成单细胞悬液,调整细胞密度为4.8×10⁵个/mL,实验分5组:正常对照组,阿霉素组(用培养液调整阿霉素为2.5mg·L),低、中、高剂量UFE-AH干预组(加入阿霉素前2h给予终质量浓度3.75,7.5,15g·L⁻¹的当归红芪超滤膜提取物)。各组在37℃,5%CO₂培养箱中继续培

养^[13-14],24 h 后各组收集细胞 100 μL 悬于 1 mL 磷酸盐缓冲液(PBS)中,以此做单细胞凝胶电泳实验,剩余细胞提取蛋白以做 Western blot。

2.3 细胞活性测定 96 孔板培养心肌细胞贴壁,除正常对照组,其余各组造模后 37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 条件下继续培养 24 h,加入 10 μL /孔 MTT(5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)培养 4 h 后,吸弃孔中培养液,加 150 μL /孔 DMSO,待孔内颗粒完全溶解后,测定各孔在 490 nm 处的吸光度(A)^[15]。MTT 可被活细胞吸收,并在线粒体被还原成蓝紫色的颗粒,测定标本蓝紫色颗粒溶解后的 A,可定量反映活细胞数量。

2.4 DNA 损伤测定^[16-18] 用 50 μL 熔化的 0.1% 正常熔点胶均匀铺在载玻片上,室温凝固;取 400 μL 细胞与 1.2 mL 0.1% 低熔点胶混匀,迅速铺第二层胶,室温 5 min;将载玻片放入 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的裂解液中,4 $^{\circ}\text{C}$ 放置 1 h 后移入 37 $^{\circ}\text{C}$,5% CO_2 培养箱中过夜;次日用 TBE 漂洗载玻片 3 次,再于 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 TBE 中解旋 30 min,以恒定电压 25 V,电泳 20 min;电泳后取出玻片,晾干,用 5 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ PI 染色 30 min,在荧光显微镜(475 nm 紫外光源)下观察电泳结果,随机观察 100 个细胞。用 CASP 12.3 分析测量各组头部 DNA 含量占总含量的百分数(HDNA%),尾部 DNA 含量占总含量的百分数(TDNA%),尾长(TL),尾短(TM),尾距(OTM)。

2.5 心肌细胞 Bcl-2, Bax 蛋白含量^[15,19] 用预冷的 PBS 漂洗心肌细胞,单去污剂裂解液提取细胞蛋白质(冰上操作),考马斯亮蓝测定蛋白浓度。取 50 μL 蛋白量经 SDS PAGE 电泳后转至 PVDF 膜,考马斯亮蓝染色观察蛋白质转移情况。Bcl-2 相对分子质量约为 26 kDa, Bax 相对分子质量约为 22 kDa。5% 脱脂奶粉封闭 1 h,后分别与 Bcl-2, Bax 抗体 4 $^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜。 β -actin 作为内标,加辣根过氧化物酶标记羊抗兔 IgG 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 1 h,加 ECL 发光试剂孵

育 1 min,在暗室将膜在感光胶片上曝光并用相纸显影洗像。结果用 Alpha Imager2200 图像分析系统进行灰度扫描,分别计算 Bcl-2, Bax 与 β -actin 灰度比值代表其相对表达量。

2.6 统计学分析 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 19.0 统计软件分析,两组间比较采用小显著差法(LSD)单因素方差分析(ANOVA), $P < 0.01$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对阿霉素诱导的乳鼠心肌细胞活性的影响 阿霉素损伤后心肌细胞存活数明显下降,与对照组比较,阿霉素组心肌细胞的抑制率明显增加,差异有显著性($P < 0.01$)。与阿霉素组相比,UFE-AH 干预组生长抑制率均明显下降($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 当归红芪超滤膜提取物对阿霉素致心肌细胞生长抑制的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

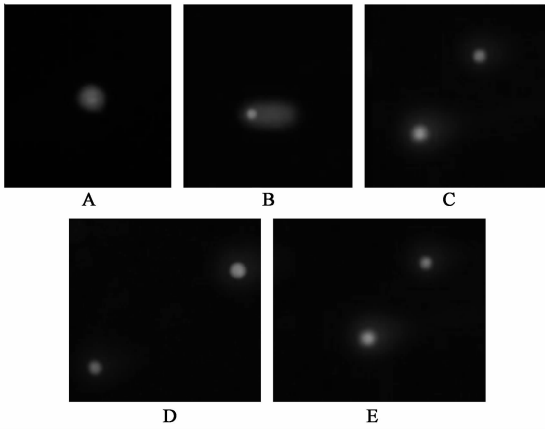
组别	质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	A	心肌细胞生长抑制率
对照	-	0.457 \pm 0.005	0.000 \pm 0.000
阿霉素	2.5	0.216 \pm 0.002 ¹⁾	0.240 \pm 0.005 ¹⁾
UFE-AH ³⁾	3 750	0.279 \pm 0.008 ²⁾	0.178 \pm 0.007 ²⁾
	7 500	0.385 \pm 0.011 ²⁾	0.071 \pm 0.009 ²⁾
	15 000	0.309 \pm 0.085 ²⁾	0.147 \pm 0.006 ²⁾

注:与对照组比较¹⁾ $P < 0.01$;与阿霉素组比较²⁾ $P < 0.01$;³⁾阿霉素加入质量浓度为 2.5 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ (表 2~3 同)。

3.2 对心肌细胞 DNA 的损伤的影响 对照组细胞呈球形荧光核心,阿霉素组和当红干预组均可见不同程度的彗星尾巴。与对照组相比,阿霉素组 HDNA%, TDNA%, TL, TM, OTM 值均明显高于正常对照组,差异有统计学意义;与阿霉素组相比,当归红芪干预组心肌细胞 HDNA%, TDNA%, TL, TM, OTM 值均明显降低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 2,图 1。

表 2 当归红芪超滤膜提取物对阿霉素致心肌细胞 DNA 的损伤的影响($\bar{x} \pm s, n = 100$)

组别	质量浓度/ $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	HDNA/%	TDNA/%	TL/ μm	TM/ μm	OTM/ μm
正常	-	97.21 \pm 0.94	2.79 \pm 0.94	8.75 \pm 1.83	0.25 \pm 0.11	1.082 \pm 0.46
阿霉素	2.5	75.26 \pm 3.06 ¹⁾	24.75 \pm 3.04 ¹⁾	124.50 \pm 25.33 ¹⁾	31.05 \pm 9.04 ¹⁾	21.57 \pm 4.75 ¹⁾
UFE-AH ³⁾	3 750	83.45 \pm 4.92 ²⁾	16.536 \pm 4.92 ²⁾	73.78 \pm 12.01 ²⁾	12.11 \pm 3.99 ²⁾	10.39 \pm 4.57 ²⁾
	7 500	90.46 \pm 2.02 ²⁾	9.50 \pm 2.02 ²⁾	48.38 \pm 8.33 ²⁾	4.64 \pm 1.51 ²⁾	7.32 \pm 2.33 ²⁾
	15 000	84.32 \pm 5.75 ²⁾	15.68 \pm 5.75 ²⁾	69.63 \pm 9.18 ²⁾	10.93 \pm 4.4 ²⁾	10.71 \pm 2.78 ²⁾



A: 正常对照组; B: 阿霉素组 ($2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$);
 C: UFE-AH $3\ 750 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 阿霉素 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组;
 D: UFE-AH $7\ 500 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 阿霉素 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组;
 E: UFE-AH $15\ 000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ + 阿霉素 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 组

图1 当归红芪超滤膜提取物对阿霉素损伤心肌细胞DNA的损伤的单细胞凝胶电泳的影响($\times 200$)

3.3 对阿霉素诱导的心肌细胞 Bcl-2, Bax 蛋白含量的影响 与正常组比较,阿霉素组心肌细胞 Bcl-2 的表达水平下调, Bax 的表达水平上调, Bcl-2/Bax 显著降低 ($P < 0.01$)。与阿霉素组比较,当归红芪干预组心肌细胞 Bcl-2 表达水平上调, Bax 表达水平下调, Bcl-2/Bax 升高, 具有统计学意义 ($P < 0.01$)。见表 3, 图 2。

表3 当归红芪超滤膜提取物对阿霉素损伤心肌细胞 Bcl-2, Bax 蛋白相对表达量及其比值的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	质量浓度 / $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$	Bcl-2 / β -actin	Bax / β -actin	Bcl-2 /Bax
正常	-	4.21 ± 0.06	2.87 ± 0.05	1.47 ± 0.05
阿霉素	2.5	$2.67 \pm 0.02^{1)}$	$4.11 \pm 0.05^{1)}$	$0.64 \pm 0.03^{1)}$
UFE-AH ³⁾	3 750	2.95 ± 0.08	4.05 ± 0.07	0.72 ± 0.07
	7 500	$3.55 \pm 0.11^{2)}$	$2.71 \pm 0.09^{2)}$	$1.30 \pm 0.09^{2)}$
	15 000	$3.45 \pm 0.05^{2)}$	$3.05 \pm 0.06^{2)}$	$1.13 \pm 0.04^{2)}$

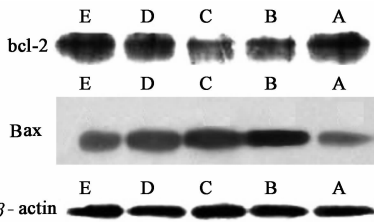


图2 蛋白印迹法测定心肌细胞 Bcl-2 和 Bax 蛋白

4 讨论

DNA 损伤是细胞凋亡的主要信号,是阿霉素诱导心肌细胞凋亡的一个重要途径,阿霉素分子可与

细胞核内的脱氧核糖核酸(DNA)结合而抑制核酸的合成和有丝分裂,当 DNA 损伤严重无法修复时,细胞走向程序性死(细胞凋亡),以清除受损的细胞^[17-18]。Bcl-2 家族蛋白是细胞凋亡的关键调节分子, Bcl-2, bax 是 Bcl-2 家族中最重要的成员, Bcl-2 基因为抗凋亡基因, Bax 基因为促凋亡基因。Bcl-2/bax 直接决定了细胞接受凋亡信号后的发展方向^[21]。

本实验选用彗星 HDNA%, TDNA%, 尾长 TL, 尾矩 TM 和 OTM, 5 个检测指标作为评价心肌细胞 DNA 受损程度, 选用 Bcl-2, Bax 蛋白表达水平作为心肌细胞凋亡的观察指标。尾长显示断裂 DNA 的迁移距离, 尾部 DNA% 表示尾部 DNA 含量占总含量的百分数, 尾长越长而尾部 DNA% 越高, 表明损伤越严重^[16]。本实验结果显示阿霉素组心肌细胞 HDNA%, TDNA%, TM 和 OTM 值明显高于正常组, Bcl-2 蛋白表达水平下降, Bax 蛋白表达水平升高, Bcl-2/Bax 降低, 说明阿霉素能诱导心肌细胞凋亡, 结果与文献报道一致^[20]; 而与阿霉素组比, 当归红芪干预组的心肌细胞 HDNA%, TDNA%, TM 和 Olive TM 值明显降低, Bcl-2 蛋白表达水平升高, Bax 蛋白表达水平下降, Bcl-2/Bax 比值升高, 说明当归红芪超滤膜提取物可能减轻了阿霉素对心肌细胞的 DNA 损伤, 并通过上调 Bcl-2 蛋白表达水平和下调 Bax 蛋白表达水平, 增加 Bcl-2/Bax, 达到抑制阿霉素引起的心肌细胞凋亡的作用。本研究提示在临床上应用阿霉素治疗肿瘤时, 辅以当归红芪超滤膜提取物可以起到减毒的作用, 其具体作用机制有待于进一步验证。

[参考文献]

[1] Wang Na, Guan Peng, Zhang Jianping, et al. Preventive effects of fasudil on adriamycin-induced cardiomyopathy: Possible involvement of inhibition of RhoA/ROCK pathway[J]. Food Chem Toxicol, 2011, 49:2975.
 [2] Mari C Asensio-López, Antonio Lax, Domingo A Pascual-Figal, et al. Metformin protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity: Involvement of the adiponectin cardiac system[J]. Free Radic Biol Med, 2011, 51:1861.
 [3] 陈禹彤, 王慧英, 张焕发, 等. 萘环类抗肿瘤药物心脏毒性的研究进展[J]. 吉林医学, 2011, 32(2):315.
 [4] 张懿玮, 李元建. 阿霉素诱导心肌细胞死亡机制[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2011, 31(2):129.
 [5] 汪群红, 张京红. 当归补血汤的药理作用与临床应用

- [J]. 海峡药学,2011,23(6):543.
- [6] 樊秦,李应东,舒畅. 超滤膜分离纯化当归补血汤的研究[J]. 中成药,2010,32(8):1438.
- [7] Li Yingdong, M A Yanhua, ZHAO Jianxion, et al. Protection of ultra-filtration extract from Danggui Buxue decoction on poxidative damage in cardiomyocytes of neonatal rats and its meChanism[J]. Chin J Integr Med, 2011,17(11):854.
- [8] 于彩娜,范颖,林庶茹. 芪附汤抑制阿霉素心脏毒性损伤大鼠心肌细胞凋亡的研究[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(15):148.
- [9] 刘嘉琪,孙云云. 乳鼠心肌细胞原代培养方法[J]. 微量元素与健康研究,2012,29(4):4.
- [10] 张晓丹,吕高照,蔡瑞雪. 蒺藜提取物对阿霉素所致大鼠心肌细胞凋亡的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2011,17(6):213.
- [11] 张滕,郭利平. 新生大鼠心肌细胞原代培养方法[J]. 世界中西医结合杂志,2012,7(4):293.
- [12] 李博,吴慧颖,朴虎林,等. 新生大鼠心肌细胞原代培养方法的改良[J]. 中国实验诊断学,2012,16(2):200.
- [13] Leila Hosseinzadeh, Javad Behravan, Fatemeh Mosaffa, et al. Curcumin potentiates doxorubicin-induced apoptosis in H9c2 cardiac muscle cells through generation of reactive oxygen species[J]. Food Chem Toxicol,2011,49(5):1102.
- [14] Xiao Jing, Sun Guibo, Sun Bing, et al. Kaempferol protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity *in vivo* and *in vitro*[J]. Toxicology, 2012,292(1):53.
- [15] 王艳飞,王红英,曹雪滨,等. 卡托普利对心力衰竭大鼠心肌细胞 Bax, Bcl-2 蛋白表达的影响[J]. 应用生理学杂志,2012,28(4):331.
- [16] 王欣,王雪,宋捷,等. 大鼠体内彗星试验方法的建立与应用研究[J]. 药物评价研究,2012,35(1):6.
- [17] 王志武,贾利娜,牛侨,等. 苯并(a)芘致人支气管上皮细胞 DNA 损伤及与组蛋白 H2A 单泛素化水平的关系[J]. 环境与职业医学,2012,29(3):136.
- [18] 刘艳,梁曼,刘茜,等. 乌头碱对新生大鼠心肌细胞 DNA 损伤的影响[J]. 中国法医学杂志,2009,24(4):239.
- [19] 王桂敏,翟宏颖. 菟丝子黄酮对心肌缺血再灌注损伤大鼠 Bcl-2, Caspase-3 表达的影响[J]. 中国老年学杂志,2012,32(2):343.
- [20] 高玉峰,王小杰,闫文翠,等. 生黄合剂对缺血再灌注损伤大鼠心肌细胞凋亡相关基因 Bax, Bcl-2 和 Caspase-3 蛋白表达的影响[J]. 中国实验方剂学杂志,2012,18(13):244.
- [21] Mohammad Shamsul Ola Mohd, Nawaz Haseeb Ahsan. Role of Bcl-2 family proteins and caspases in the regulation of apoptosis [J]. Mol Cell Biochem, 2011, 351(1/2):41.
- [22] Sameha Merzoug, Mohamed Lamine Toumi, Nadia Boukhris, et al. Adriamycin-related anxiety-like behavior, brain oxidative stress and myelotoxicity in male Wistar rats [J]. Pharmacol Biochem Behav,2011, 99(4):639.

[责任编辑 聂淑琴]