

甘草黄酮对运动大鼠肝组织自由基代谢 及 p53 mRNA 表达的影响

阳毅^{1,2}, 莫伟彬^{3*}, 李启畅^{1,2}

(1. 桂林电子科技大学体育部, 广西 桂林 541004;

2. 桂林电子科技大学生命与环境科学学院, 广西 桂林 541004;

3. 广西师范大学体育学院, 广西 桂林 541004)

[摘要] **目的:**研究运动前补充甘草黄酮(MFG)对力竭运动大鼠肝组织抗氧化能力和肝细胞凋亡调控基因 p53 表达的影响。**方法:**选用 SD 雄性大鼠 50 只,随机分为 5 组,每组 10 只,分别为安静对照组(NC),运动对照组(ME),运动 + ig 低剂量甘草黄酮组(MFGL),运动 + ig 中剂量甘草黄酮组(MFGM),运动 + ig 高剂量甘草黄酮组(MFGH)。每天在运动前半小时 ig 1 次,连续 ig 6 周,6 d/周,低、中、高 3 组的 ig 剂量分别为 4, 8, 12 g·kg⁻¹·d⁻¹,对照组 ig 等量生理盐水。6 周力竭训练结束后,宰杀大鼠。根据试剂盒的方法测定大鼠肝组织超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性和丙二醛(MDA)含量并且通过逆转录聚合酶链式反应(RT-PCR)测定肝细胞凋亡调控基因 p53 mRNA 表达。**结果:**力竭游泳训练引起大鼠肝组织 MDA 含量在运动对照组高于安静对照组($P < 0.05$),MFG 各组肝组织 MDA 含量高于安静对照组而低于运动对照组。SOD 活性在运动对照组低于安静对照组($P < 0.01$),MFG 各组肝组织 SOD 活性明显高于运动对照组($P < 0.05$)。GSH-Px 活性在运动对照组低于安静对照组($P < 0.01$),MFG 各组肝组织 GSH-Px 活性明显高于运动对照组但低于安静对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。CAT 活性在运动对照组低于安静对照组($P < 0.01$),MFG 各组肝组织 CAT 活性低于安静对照组但高于运动对照组($P < 0.05$)。力竭游泳训练促进大鼠肝组织细胞凋亡基因 p53 表达升高,力竭游泳运动前补充甘草黄酮促进肝组织细胞凋亡调控基因 p53 表达下调。**结论:**补充甘草黄酮对力竭运动大鼠有抗自由基氧化的功能、减轻脂质过氧化反应和抑制肝细胞的凋亡,从而起到保护肝脏的作用。

[关键词] 甘草黄酮; 力竭运动; 肝组织抗氧化酶系; 凋亡; 基因表达

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)19-0245-05

[doi] 10.11653/syfy2013190245

Effect of Licoflavone on Metabolism of Free Radicals and Expression of p53 mRNA of Liver Tissues in Rats after Sports

YANG Yi^{1,2}, MO Wei-bin^{3*}, LI Qi-chang^{1,2}

(1. Guilin University of Electronic Technology Sports Department, Guilin 541004, China;

2. Guilin University of Electronic School of Life and Environmental Sciences, Guilin 541004, China;

3. Sport School of Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate effect of licoflavone on anti-oxidant of liver tissues and expression of hepatocyte apoptosis regulation gene p53 in rats after exhaustive exercise. **Method:** Fifty healthy male Sprague-Dawley rats were randomized into three groups, 10 rats each group the quiet control group (NC), the exercise group (ME), the administration of licoflavone in low dose exercising group (MFGL), the administration of licoflavone in middle dose exercising group (MFGM) and the administration of licoflavone in high dose exercising

[收稿日期] 20130512(006)

[基金项目] 广西自然科学基金项目(2013GXNSFBA019184);广西教育厅科研项目(2013YB030)

[第一作者] 阳毅, 硕士, 讲师, 从事运动生理学与生物化学研究, Tel:15977320912, E-mail: yangyantao98@163.com

[通讯作者] * 莫伟彬, 硕士, 实验师, 从事运动生理学和生物化学研究, Tel:13978327323, E-mail: mogaol@163.com

group (MFGH). The rats were administrated by professional gavage once a day half an hour before exercising. This administration was continupusly gaved six days in one week, and lasted for six weeks. The low, middle and high doses are respectively 4, 8, 12 g · kg⁻¹ · d⁻¹, while the rats in control group were administrated of pure physiological saline at the same dose. The rats were killed after 6-week training. The activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxi (GSH-Px) and the content of malondialdehyde (MDA) in liver Tissues of rats were tested by corresponding kit method. And the expression of hepatocyte apoptosis regulation gene p53 was tested by reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) method. **Result:** Exhaustive swimming training induced the content of MDA was higher than that in quiet control group ($P < 0.05$), and the content of MDA in each MFG groups was higher than quiet control group, and lower than exercising control group. The activity of SOD in exercising control group was lower than quiet control group ($P < 0.01$), and it in each MFG groups was obviously higher than exercising control group ($P < 0.05$). The activity of GSH-Px in exercising control group was lower than quiet control group ($P < 0.01$), and it in each MFG groups were obviously higher than exercising control group, but lower than quiet control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The activity of CAT in exercising control group was lower than quiet control group ($P < 0.01$), and it each MFG groups were lower than quiet control group, and higher than exercising control group ($P < 0.05$). The expression of hepatocyte apoptosis regulation gene p53 was increased in rats after exhaustive swimming training; while the expression of p53 was decreased when the rats were administrated licoflavone before exhaustive swimming training. **Conclusion:** The supplement of licoflavone could have anti-free radical oxidation action, reduce lipid peroxidation and inhibit apoptosis of liver cells, to protect the liver of rats from exhaustive exercise.

[**Key words**] licoflavone; exhaustive exercise; antioxidant enzyme system of liver tissues; apoptosis; expression of gene

力竭运动作为一种生理应激,致使肝脏产生大量的自由基已被证实;而自由基大量增多会引起机体内能量代谢紊乱、肝细胞损伤、线粒体数目增多和运动性疲劳等生理功能的改变^[1]。甘草黄酮(glycyrrhiza flavonoids, FG)是从甘草属部分植物的根及根茎提取得到的一类生物活性较强的成分,现代中药学研究发现^[2-3],甘草黄酮具有保肝、抗氧化、解毒、抗炎、抗病毒、增强免疫机能和抗肿瘤等作用。目前通过甘草黄酮干预动物实验来研究其对消除运动疲劳和抗肝脏损伤的研究还鲜有报道,本研究通过运动前补充甘草黄酮对力竭运动大鼠的肝细胞调控基因 p53 和抗氧化活性的影响实验,探讨甘草黄酮对力竭运动后大鼠的保护作用。

1 材料

1.1 动物 SD 雄性健康大鼠 50 只,体重(200 ± 10)g。购自桂林医学院实验动物中心,SPF 级,许可证号 SCXK(桂)2007-0001。常规饲养,饲养环境温度 20 ~ 26 °C,湿度 60% ± 5%,所有大鼠均以基础饲料和蒸馏水常规饲养,自由饮食。

1.2 药物及试剂 甘草黄酮(glycyrrhiza flavonoids, FG, 武汉顶辉化工有限公司,批号 20092023,纯度 > 45%),测定肝脏组织丙二醛

(MDA)试剂盒(批号 20120612),超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒(批号 20120603);谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒(批号 20120316);过氧化氢酶(CAT)试剂盒(批号 2012309)均为南京建成生物工程研究所产品。测定肝脏组织 P53 mRNA 表达的 RT-PCR 试剂盒(MBI Fermentas,批号 20120221);Trizol 试剂(批号 201212) 6xRNA loading buffer 上样液(批号 1203972C),均为上海生工产品。DNA Marker(北京艾德莱生物科技有限公司,批号 221829AX)。

1.3 仪器 3k15 高速冷冻离心机(德国 Sigma 公司);T148,050-900 型 PCR 仪(德国 Biometra 公司);水平电泳仪(美国伯乐 BIO-RAD 公司);Dolphin-Doc 凝胶成像系统和 Dolphin-ID 软件(美国 Wealtec 公司);721 型分光光度计(上海第二分析仪器厂);高压灭菌锅(日本三洋公司);MP200A 型电子天平(上海良平仪器厂);MDF-382E 型超低温冰箱(日本三洋公司);电热恒温水浴锅(上海医疗器械五厂)。

2 方法

2.1 动物分组 将购入大鼠进行 6 d 适应性喂养后随机分组,每组 10 只,分别为安静对照组(NC),

运动对照组 (ME), 运动 + ig 低剂量甘草黄酮组 (MFGL), 运动 + ig 中剂量甘草黄酮组 (MFGM), 运动 + ig 高剂量甘草黄酮组 (MFGH)。

2.2 动物模型 动物游泳池的规格为直径 70 cm 的塑料大桶, 水深 60 cm, 水温 30 ~ 32 °C。各训练组 (ME、MFGL、MFGM 和 MFGH 组) 适应性喂养 3 d 后, 进行 3 d 无负重适应性游泳训练, 35 min·d⁻¹。正式实验开始后此强度 (35 min·d⁻¹) 在 1 周内延长至 90 min, 然后进入力竭性游泳训练期, 大鼠于每天上午 8:00 进行负重游泳训练 (大鼠每只尾部负自身体重 3% 的铅坠进行游泳^[4]), 运动至力竭, 1 次/d, 6 d/周, 持续训练 5 周。对于短时间内力竭的大鼠, 捞出休息 5 min 后, 再进行游泳训练, 使训练时间不少于 90 min。力竭标准: 大鼠头部沉入水下超过 10 s 仍不在返回水面; 大鼠协调运动消失, 在水中不定向乱窜, 未达到 10 s 亦定为力竭。

2.3 动物给药量 采用专业灌胃器, 大鼠在训练前半小时 ig 不同浓度的甘草黄酮溶液, 剂量分别为 4, 8, 12 g·kg⁻¹·d⁻¹ (相当于成人推荐剂量的 5, 10, 30 倍), ig 体积为 5 mL·kg⁻¹, 对照组 ig 等量生理盐水, 各组大鼠连续 ig 6 周, 1 次/d, 直到实验结束。

2.4 样本采集 6 周力竭运动结束后取材, 取材前大鼠禁食 12 h 以上, 训练组停训 24 h。用 20% 乌拉坦溶液 (3 mL·kg⁻¹) 腹腔注射麻醉, 冰上迅速解剖取其肝脏组织, 4 °C 生理盐水清洗, 剪成小块装入冻存管中, 先置液氮中, 后转入 -80 °C 冰箱中待测。

2.5 自由基指标的测试 准确称取 0.30 g 肝组织待测样品, 加入生理盐水, 在低温条件下仔细研磨, 制成体积比为 10% 的匀浆液, 以 4 000 r·min⁻¹ 转速离心 10 min (0 ~ 4 °C) 后取上清液于冰浴中测定各组代谢酶活性, 各个指标的测定方法严格按试剂盒提供的步骤进行。

2.6 肝组织 p53 mRNA 表达测试 用 Trizol 试剂提取大鼠肝组织总 RNA (提取方法严格按照说明书进行), 提取后取 5 μL RNA 加入 95 μL DEPC 水中, 经紫外分光光度计 A₂₆₀/A₂₈₀, 比值 ≥ 1.80, 以 A₂₆₀ 值计算 RNA 的浓度; 同时取 10 μL RNA 进行 Agarose 凝胶电泳实验, 观察 28S, 18S, 5S 的完整性。

RT-PCR 引物设计依据 GeneBank 中大鼠的 p53 mRNA 序列和 β-actin mRNA 序列设计, 经 blast 进行特异性确定。最后由上海生工生物工程技术有限公司合成引物。

p53 mRNA: 上游引物 5'-CATGTGCAACAGCTC-CTGCAT GG-3', 下游引物 5'-GTCAGCCCCACTTTC

TTGATCAT-3', 该引物扩增的片段长度为 465 bp。β-actin mRNA: 上游引物 5'-GGTGAAGGTCGGTGT-GAACG-3', 下游引物 5'-CTCGCTCCTGGAAGATG-GTG-3', 该引物扩增的片段长度为 233 bp。

将提取的 RNA 逆转录 (RT) 成 cDNA, 方法参考 Fermentas 公司 Revert Aid™ First Strand cDNA Synthesis Kit 说明书。然后以 cDNA 为模板, 以 p53 和 β-actin 引物分别进行 PCR 反应。PCR 反应体系为: Dream Taq™ Green PCR Master Mix (2X) 12.5 μL, 上下游引物各 0.5 μL, Template DNA 1 μL, Water, nuclease-free 10.5 μL。PCR 扩增反应条件: 94 °C 预变性 3 min, 94 °C 变性 30 s, 58 °C 退火 30 s, 72 °C 延伸 3 min, 30 个循环, 最后 72 °C 延伸 5 min。

产物在 PCR 仪反应结束后, 取 10 μL PCR 产物与 1.5 μL 上样液 (6 × RNA loading buffer) 混匀上孔, 同时根据基因扩张产物片段的大小, 加 DNA Marker 在同一模板中, 以确定扩增产物片段的大小, 用 1% 的琼脂糖凝胶在 85 V 电压下电泳 75 min 检测 (1 × TBE 缓冲液); 电泳结束后在紫外灯下观察扩增效果, 并用 Wealtec 凝胶成像系统扫描。

2.7 图像分析 用美国 Wealtec 公司生产的凝胶成像系统进行图像灰度扫描, 检测电泳条带吸光度, 以 β-actin 为内参校正, 以实现结果的半定量分析。各组肝组织 mRNA 表达的相对量以其 PCR 产物电泳吸光度 (A) 与内参基因 β-actin A 的比值 (肝组织 p53/β-actin) 来表示。

2.8 统计学处理 结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 各组数据用 SPSS 16.0 软件处理, 采用单因素方差分析和多重比较, 并进行 t 检验, P < 0.05 为有统计学意义。

3 结果

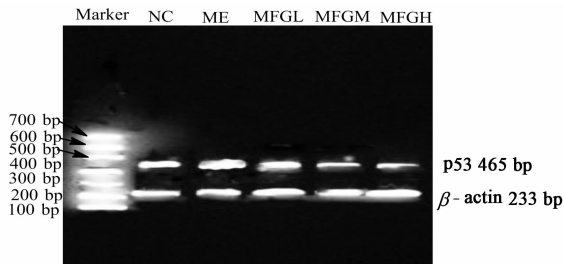
3.1 对力竭运动大鼠肝组织自由基代谢的影响 从表 1 可见, 力竭游泳训练引起大鼠肝组织自由基活性发生不同程度的变化, MDA 含量在运动对照组高于安静对照组 (P < 0.05), MFG 各组肝组织 MDA 含量低于运动对照组, 但差异无统计学意义。SOD 活性运动对照组低于安静对照组 (P < 0.01), MFG 各组肝组织 SOD 活性明显高于运动对照组 (P < 0.05)。GSH-Px 活性在运动对照组低于安静对照组 (P < 0.01), MFG 各组肝组织 GSH-Px 活性明显高于运动对照组但低于安静对照组 (P < 0.05 或 P < 0.01)。CAT 活性在运动对照组低于安静对照组 (P < 0.01), MFG 各组肝组织 CAT 活性高于运动对照组 (P < 0.05)。

表 1 甘草黄酮对力竭运动后大鼠肝组织自由基代谢活性的比较 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	MDA/ $nmol \cdot mg^{-1}$	SOD/ $U \cdot mg^{-1}$	GSH-Px/ $U \cdot mg^{-1}$	CAT/ $U \cdot mg^{-1}$
安静对照	-	7.17 \pm 0.13	310.23 \pm 25.41	134.62 \pm 11.06	15.36 \pm 1.46
运动对照	-	8.12 \pm 0.12 ¹⁾	268.93 \pm 28.10 ²⁾	90.31 \pm 12.10 ²⁾	10.58 \pm 1.43 ²⁾
运动 + 甘草黄酮	4	7.42 \pm 0.10	297.60 \pm 23.34 ³⁾	120.32 \pm 10.11 ^{1,4)}	13.32 \pm 1.16 ³⁾
	8	7.48 \pm 0.12	300.14 \pm 22.12 ³⁾	123.18 \pm 12.13 ^{1,4)}	13.54 \pm 1.19 ³⁾
	12	7.51 \pm 0.15	303.16 \pm 20.23 ³⁾	124.21 \pm 17.16 ^{1,4)}	13.73 \pm 1.10 ³⁾

注:与安静对照组比较¹⁾ $P < 0.05$,²⁾ $P < 0.01$;与运动对照组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾ $P < 0.01$ (表 2 同)。

3.2 对运动大鼠肝组织 p53 mRNA 的表达 通过 RT-PCR 技术检测各组大鼠心肌 p53 mRNA 表达水平,其琼脂糖凝胶电泳结果(图 1)。结果可见,在 233 bp 和 465 bp 处分别有 β -actin 和 p53 mRNA 条带。经凝胶成像系统进行灰度扫描,计算出各组大鼠肝组织 p53 mRNA 表达的相对量(表 2)。表 2 中,力竭游泳运动对照组大鼠肝组织 p53 mRNA 表达水平高于安静对照组($P < 0.05$),MFGL 组大鼠肝组织 p53 mRNA 表达水平低于运动对照组($P < 0.05$)。在 MFGM 组和 MFGH 组大鼠肝组织 p53 mRNA 表达水平低于运动对照组($P < 0.05$)。



NC. 安静对照组;ME. 运动对照组;
MFGL. 运动 + 甘草黄酮 4 $g \cdot kg^{-1}$ 组;
MFGM. 运动 + 甘草黄酮 8 $g \cdot kg^{-1}$ 组;
MFGH. 运动 + 甘草黄酮 12 $g \cdot kg^{-1}$ 组

图 1 各组大鼠肝组织 p53 mRNA 产物电泳

表 2 甘草黄酮对力竭运动后大鼠肝组织 p53 mRNA 相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	剂量/ $g \cdot kg^{-1}$	p53 mRNA/ β -actin
安静对照	-	1.010 \pm 0.120
运动对照	-	1.371 \pm 0.112 ¹⁾
运动 + 甘草黄酮	4	1.132 \pm 0.110 ³⁾
	8	0.915 \pm 0.104 ³⁾
	12	0.996 \pm 0.119 ³⁾

4 讨论

4.1 甘草黄酮对运动大鼠肝组织自由基代谢的影响 在运动中氧化代谢的加强,耗氧量的增加,引起

线粒体呼吸电子传递链中质子和电子的漏出,致使机体内组织缺血、缺氧和体温升高,诱发氧自由基生成增加并积累,进而攻击生物膜系统引起组织细胞的结构和功能受到损害,使运动能力下降,成为运动疲劳发生的重要因素^[5]。MDA 是氧自由基攻击生物膜中多不饱和脂肪酸生成的脂质过氧化产物,其含量高低可以反映机体组织损伤的程度;SOD, GSH-Px 和 CAT 能有效清除机体内自由基,阻止脂质过氧化,保持机体细胞免受运动性损伤重要的抗氧化酶^[6]。甘草为豆科植物甘草其黄酮类化合物具有抗氧化能力和清除自由基作用。陈艳艳^[7]对大强度耐力运动大鼠补充甘草黄酮发现,甘草黄酮能够提高大强度运动大鼠抗氧化能力,降低肾脏组织自由基的产生,起到抑制肾脏组织细胞凋亡的作用。赵海燕等^[8]研究甘草黄酮对糖尿病大鼠抗氧化能力的影响发现,甘草黄酮治疗组血清总抗氧化能力水平显著增高,GSH-Px 和 SOD 抗氧化酶活性显著升高,而血清中 MDA 含量显著降低,表明甘草黄酮可显著提高 2 型糖尿病大鼠的抗氧化能力。本研究结果显示,在力竭游泳训练组大鼠肝组织中 MDA 含量高于安静对照组,而 SOD、GSH-Px 和 CAT 活力显著下降并且低于安静对照组,表明力竭游泳运动引起机体内源性氧自由基脂质过氧化反应增强。补充不同剂量的甘草黄酮后大鼠肝组织 MDA 含量有所下降,SOD、GSH-Px 和 CAT 显著提高,表明补充不同剂量的甘草黄酮可以提高力竭运动大鼠的抗氧化酶活力,减轻力竭运动后脂质过氧化反应,这与杨波等^[9]研究的结果相一致。该结果也表明,补充甘草黄酮对力竭运动后大鼠肝组织损伤具有明显的保护作用,能减轻组织的损伤,但其机制还待进一步深入研究。

4.2 甘草黄酮对运动大鼠心肌 p53 mRNA 表达的影响 细胞凋亡是细胞在生长过程中,为维持机体内环境稳定而对机体组织刺激产生应答或在疾病过程中产生的一种特殊的,由基因控制的细胞自主的有序的死亡^[10]。p53 是肿瘤抑制基因,被称为作为

“基因组的卫士”,在细胞损伤后修复及不可修复细胞的清除过程中起到重要作用,p53 能通过加强促进凋亡基因的转录,阻断抑制凋亡基因的转录而使细胞凋亡^[11-12]。研究发现,力竭运动引起机体氧化应激损伤与内皮细胞凋亡有着密切的联系^[13]。陈昫贇等^[14]通过对力竭运动大鼠心肌组织研究发现,力竭运动后大鼠心肌组织 p53 表达水平升高,表明力竭运动不仅导致心肌氧化应激损伤,还可诱发大鼠心血管内皮细胞凋亡。程丽彩等^[15]研究发现,对大鼠进行 4 周的力竭性游泳训练后补充葛根素发现,葛根素补充组下调 p53 表达水平,从而有效的降低了细胞的凋亡率。本研究结果显示,力竭游泳运动对照组大鼠肝组织 p53 mRNA 表达水平高于安静对照组($P < 0.05$),提示力竭运动后大鼠肝组织 p53 mRNA 表达水平增加,可能是由于力竭运动引起大鼠肝组织细胞缺氧,产生大量的自由基,促进了细胞的凋亡。通过补充不同剂量的甘草黄酮后,MFGI 组大鼠肝组织 p53 mRNA 表达水平高于安静对照组而低于运动对照组,与运动对照比较时具有显著性差异($P < 0.05$)。在 MFGM 组和 MFGH 组大鼠肝组织 p53 mRNA 表达水平低于安静对照组和运动对照组,与运动对照比较时具有显著性差异($P < 0.05$)。结果表明补充甘草黄酮能够下调力竭训练时 p53 mRNA 的表达水平,提示甘草黄酮能够起到清除自由基和抗凋亡的作用。其作用机制可能与蛋白和酶活的调控有关,有待于进一步深入研究。

[参考文献]

[1] 张军,熊正英,王家宏. 槐米与维生素 C 对运动训练小鼠协同抗氧化作用的研究[J]. 陕西师范大学学报:自然科学版, 2004, 32(4):87.

[2] Taro Noumra, Toshio Fukai, Yoshio Hano. Chemistry and biological activities of isoprenylated flavonoids from medicinal plants (moraceous plants and Glycyrrhiza species) [J]. Studies in Natural Products Chemistry, 2003, 28(9):199.

[3] Xie Yi-Cheng, Dong Xin-Wei, Wu Xi-Mei, et al. Inhibitory effects of flavonoids extracted from licorice on lipopolysaccharide induces acute pulmonary inflammation in mice [J]. Int Immunopharmacol, 2009, 9

(2):194.

[4] Thomas D P, Marshall K I. Effects of repeated exhaustive exercise on myocardial subcellular membrane structures[J]. Int J Sports Med, 1988(9): 257.

[5] REID M B. Free radicals and muscle fatigue; of ROS, canaries, and the IOC [J]. Free Radic Biol Med, 2008, 44(2):169.

[6] 刘志国,赵文亚. 芡实多糖对力竭小鼠运动能力及心肌抗氧化能力的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(9):194.

[7] 陈艳艳. 甘草黄酮对大强度耐力运动大鼠肾脏组织细胞凋亡及 Bax、Bcl-2 蛋白表达的影响[J]. 北京体育大学学报, 2011, 34(2):61.

[8] 赵海燕,杨少娟,马永平,等. 甘草黄酮对 2 型糖尿病大鼠抗氧化能力的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2011, 21(35):4359.

[9] 杨波,任晓丽,李翔. 槲皮素对力竭运动疲劳大鼠血清自由基代谢的影响[J]. 解放军预防医学杂志, 2011, 29(1):19.

[10] Kerr J F, Wyllie A H, Currie A R. Apoptosis: a basic biological phenomenon with wide ranging implications in tissue kinetics [J]. Br J Cancer, 1972, 26(4):239.

[11] Miya S T, Krajewski S, Krajewski M, et al. Tumor suppressor p53 is a regulator of Bcl-2 and Bax gene expression *in vitro* and *in vivo* [J]. Oncogene, 1994, 9(6):1799.

[12] 季旭明,欧阳兵,吴智春. 温下方含药血清诱导 A549/DDP 细胞凋亡及对 Bcl-2, Bax, p53 蛋白表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(12):123.

[13] 陈文强,王玉来. 导痰汤对人脐静脉内皮细胞细胞间黏附分子 1 和 p53 表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(2):161.

[14] 陈昫贇,刘子泉,王天辉,等. 力竭运动致大鼠心肌组织损伤后 p53 蛋白表达变化 [J]. 中国职业医学, 2013, 38(3):231.

[15] 程丽彩,何玉秀. 补充葛根素对力竭游泳训练大鼠海马细胞凋亡及 Bcl-2、p53 蛋白表达的影响 [J]. 中国运动医学杂志, 2010, 29(3):332.

[责任编辑 聂淑琴]