

化浊解毒方含药血清对 H₂O₂ 诱导的大鼠肝星状细胞氧化应激的影响

郭敏¹, 李佃贵^{2*}

(1. 河南中医学院第一附属医院, 郑州 450000; 2. 河北省中医院, 石家庄 050011)

[摘要] 目的: 研究化浊解毒方含药血清对 H₂O₂ 诱导的大鼠肝星状细胞(HSC-T6)氧化应激的影响, 以探讨化浊解毒方治疗肝纤维化的可能作用机制。方法: SD大鼠 ig 化浊解毒方不同剂量(0.3, 0.6, 1.2 g·kg⁻¹), 连续给药10 d, 末次给药2 h后取血, 制备含药血清; 常规培养活化的HSC-T6, 采用0.1 mmol·L⁻¹的H₂O₂制造HSC-T6氧化应激的模型, 用不同浓度的含药血清进行干预, 分为化浊解毒方组(高、中、低剂量组)、干扰素阳性对照组、模型组及空白对照组(不加任何药物的血清)。干预72 h, 放射免疫法检测细胞上清液中超氧化物歧化酶(SOD), 丙二醛(MDA), 还原性谷胱甘肽(GSH), 谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)的含量, 用RT-PCR及Western blot法检测HSC-T6培养上清液中I型胶原(COL I)及Ⅲ型胶原(COL Ⅲ)基因及蛋白表达。结果: 与空白对照组比较, 经过H₂O₂处理的HSC-T6上清液中SOD和GSH-Px的活性明显减低(P<0.05), MDA和GSH的含量明显增加(P<0.05); 经化浊解毒方含药血清干预72 h后, 其高、中剂量组能够提高SOD和GSH-Px的活性(P<0.05), 并降低细胞上清液中MDA和GSH的含量(P<0.05), 以高剂量组作用明显(P<0.05); 与空白对照组比较, HSC-T6上清液中COL I及COL Ⅲ基因表达及蛋白含量经过H₂O₂刺激后明显增加(P<0.05), 经过化浊解毒方干预后, 其胶原基因表达及蛋白水平明显降低, 尤其高剂量组降低明显(P<0.05)。结论: 化浊解毒方可以减轻因H₂O₂刺激造成的HSC-T6氧化应激反应, 减少氧化应激产物产生, 其效果与剂量呈正相关; 从基因水平, 化浊解毒方能够降低胶原基因的表达, 同时抑制其蛋白转录, 从而降低细胞外胶原含量, 达到抑制肝纤维化的目的。

[关键词] 纤维化; 肝星状细胞; 化浊解毒方; 胶原; 氧化应激;

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0258-05

[doi] 10.11653/syfy2013170258

Effect of Serum Containing Huazhuo Jiedu Recipe on the Oxidative Stress of Cultured Hepatic Stellate Cells

GUO Min¹, LI Dian-gui^{2*}

(1. First Affiliated Hospital of Henan University of Traditional Chinese Medicine (TCM), Zhengzhou 450000, China; 2. TCM Hospital of Hebei Province, Shijiazhuang 050011, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the inhibitory effect of serum containing Huazhuo Jiedu recipe on oxidative stress in hepatic stellate cell (HSC) -T6 cells. **Method:** HSC-T6s were divided into control group, model group and serum containing Huazhuo Jiedu recipe group. HSC-T6s in control group were only incubated with high glucose DMEM, HSC-T6s in model group were treated with 0.1 mmol·L⁻¹ H₂O₂. The methods of thiobarbituric acid, xanthine oxidase and digestion were respectively applied to determine the levels of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and hydroxyproline (HyP) of culture mediums. The mRNA expression of collagen (COL) I and COL Ⅲ was determined by RT-PCR and the protein of COL I and COL Ⅲ was determined by Western blot. **Result:** Compared with control group, the level of SOD and GSH-Px decreased. the level of MDA and GSH increased significantly in model group (P<0.05). The activity of SOD

[收稿日期] 20130130(021)

[第一作者] 郭敏, 博士, 主治医师, 从事消化内科, Tel: 18003859100, E-mail: hbgumin@sina.com

[通讯作者] * 李佃贵, 主任医师, Tel: 18203991431, E-mail: Z_bh19820214a@sina.com

and GSH-Px increased and the level of MDA and GSH decreased significantly in serum containing Huazhuo Jiedu recipe groups ($P < 0.05$), especially in the high does and middle does group. The mRNA and the protein expression of COL I and COL III increased in model group, decreased in Huazhuo Jiedu recipe groups ($P < 0.05$). **Conclusion:** The serum containing Huazhuo Jiedu recipe can dilute the level of oxidation, depress the content of collagen of HSC and lessen fibrosjs.

[**Key words**] fibrosis; Hsc-T6; Huazhuo Jiedu recipe; collagen; oxidative stress

肝星状细胞活化是肝纤维化发生的关键^[1],多种因素都可以导致肝星状细胞的激活,氧化应激在其中占有很重要的地位^[2]。随着肝脏受损,肝细胞内的活性氧产生增多而清除减少,导致一系列的炎性细胞如 Kupffer 细胞、噬中性粒细胞的过氧化损伤,产生活性氧及其他分泌物进一步促进肝星状细胞的活化^[3]。有研究证实^[4],体内的活性氧、超氧阴离子、丙二醛等都可以直接刺激肝星状细胞的活化。活化后的肝星状细胞分泌大量的胶原,导致细胞外基质的堆积,最后形成肝纤维化。化浊解毒方是临床上根据“浊毒理论”组方而成的治疗肝纤维化的有效方剂^[5-6]被实验证实具有抑制肝星状细胞增殖、降低胶原合成的作用,但对于氧化应激造成的肝纤维化作用尚未涉及,本实验通过观察化浊解毒方对肝星状细胞氧化应激的作用,进一步研究化浊解毒方治疗肝纤维化的机制。

1 材料

1.1 动物和细胞株 健康 SD 大鼠 20 只,体重(210 ± 23)g,购自河北医科大学实验动物中心(实验动物号 810024)。HSC-T6 细胞由河北医科大学中西医结合研究所惠赠,为活化性永生的大鼠肝星状细胞系。

1.2 药物与试剂 化浊解毒方由红景天,绞股蓝,鳖甲,三棱,田基黄,茵陈,黄连,虎杖,黄柏等组成,由河北省中医院免煎颗粒配成中药复方溶液,每 1 mL 含生药 2 g。DMEM 高糖培养基(GIBCO 公司,20051107),胎牛血清 FBS(北京燕生科技有限公司,20070112),I 型及 III 型胶原(COL I, COL III)ELISA 试剂盒(美国 Biotech 公司,批号 20060403);超氧化物歧化酶(SOD),丙二醛(MDA),还原性谷胱甘肽(GSH),谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒(南京建成生物研究所,批号 20080106)

1.3 仪器 凝胶图像分析系统(法国 VL 公司 Bio-profif),紫外投射仪(北京鼎国),CO₂ 培养箱(美国 Nature),XDS-1B 型倒置显微镜(Olympus),TECAN 酶标仪(奥地利)。

2 方法

2.1 HSC-T6 细胞的培养及造模^[4] 将 HSC-T6 细胞从液氮中取出,迅速置于 37 °C 水浴箱中 1 min 内使其融化,无菌条件下打开冻存管,将细胞及其冻存液一起转入已灭菌的盛有 10 mL 20% FBS-DMEM(高糖)培养基的离心管中,1 500 r·min⁻¹离心 5 min,弃上清,将细胞转移至 3 mL 20% FBS-DMEM 的培养瓶中置于 37 °C 5% CO₂ 培养箱中。24 h 后进行常规传代培养。待细胞生长稳定后进行造模。

造模方法:取待传代的 HSC-T6 用 10% FBS-DMEM 培养基稀释成 2×10^4 /mL 密度接种到 96 孔培养板中,每孔 200 μL,待细胞贴壁后,继续培养至细胞融合 70% 左右,换为不含血清的高糖 DMEM 培养基继续培养,使细胞生长同步化。培养细胞用 PBS 洗 3 遍,用终浓度为 0.1 mmol·L⁻¹ H₂O₂ 共同孵育 2 h,用 PBS 洗 3 遍。

2.2 含药血清制备及分组 健康 SD 大鼠清洁级动物室饲养,饮用自来水,食用标准颗粒饲料,随意饮食。按体表面积法^[11]算出每只大鼠所需药物,中药按低、中、高 3 个剂量(0.3, 0.6, 1.2 g·kg⁻¹)ig 给大鼠灌胃,正常血清组灌服同等剂量的生理盐水,阳性对照组 sc 1 000 U·mL⁻¹ 干扰素,0.2 mL/只(1 000 U·kg⁻¹)。给药组均在每天上午 8:00 给药,0.5 h 后给予正常饮食,连续 ig 10 d,于末次给药 2 h 后无菌条件下进行腹主动脉取血,将同组的鼠血混装于无菌容器中封口静置约 4 h 使血液凝固,置 4 °C 冰箱过夜,使血清充分析出,继用 12 000 r·min⁻¹, 5 min,取血清,56 °C 30 min 灭活补体,用 0.22 μm 的微孔滤膜过滤除菌,-70 °C 保存备用。

细胞分组:随机分为 6 组,即空白对照组(Control)未加任何干预因素的 HSC-T6;化浊解毒方高剂量组(HZG)、中(HZZ)、低剂量组(HZD),阳性对照组(干扰素,GRS),及模型对照组(Model)。

将经过 H₂O₂ 造模的肝星状细胞分别加入相应的含药血清,血清添加量为 10%,每组设 8 个复孔,即 $n = 8$ 。

2.3 SOD, GSH, GSH-Px 活性及 BMDA 含量测定

培养 72 h 后,收集细胞上清液和细胞匀浆,用放免试剂盒进行检测。

2.4 检测肝星状细胞 COL I, COL III 基因表达 分组培养 72 h 后,收集细胞,冰 PBS 液漂洗 3 次,加

入 Trizol 提取总 RNA,1% 琼脂糖凝胶鉴定 RNA,同时紫外分光光度计计算 RNA 纯度。按反转录试剂盒步骤将 4 μg RNA 反转成 cDNA。进行扩增。以 β-actin 作为内参。引物序列见表 1^[9]。

表 1 引物序列

基因	上游序列	下游序列	长度/bp
COL I	5-TGCCGTGACCTCAAGATG GTG-3'	5-CACAAGCGTGCTGCAGGTGA-3'	462
COL III	5'CAC AAG CCT GCT GTA GGT GA-3'	5-ACCCATTCTCCGACT-3'	595
β-actin	5-AACCCTAAGGCCAACCGTGA AAAAG-3'	5-TCATGAGGTAGTCTCTCAGGT-3'	240

2.5 检测 COL I, COL III 蛋白表达 分组培养 72 h 后,收集细胞,冰 PBS 液漂洗 3 次,加入裂解液,离心后取上清液。BCA 法测定上清液总蛋白含量,取 30 μg 总蛋白的上清液进行 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳,经硝酸纤维素膜转移,质量分数为 0.05 的脱脂奶粉 TBS-T 封闭后,分别加入 COL I, III 一抗温育,PBS 冲洗,再与辣根过氧化物酶耦联的二抗作用,反应信号经 ECL 底物化学发光检测。β-actin 为内参。

2.6 统计学处理 使用 SPSS 13.0 for windows 统计软件,所有数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数比较采用方差分析。 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 MDA 含量和 SOD,GSH,GSH-Px 活性 模型组

MDA 较空白对照组显著降低($P < 0.05$),化浊解毒方高、中、低剂量组较模型组有所降低($P < 0.05$),以高剂量组降低明显($P < 0.05$);模型组 GSH 较空白对照组显著降低($P < 0.05$),化浊解毒方各剂量组 GSH 均较模型组显著升高($P < 0.05$);模型组 SOD 较空白对照组显著升高($P < 0.05$),化浊解毒方高、中、低剂量组较模型组有所升高($P < 0.05$),以高剂量组降低明显($P < 0.05$);模型组 GSH-Px 较空白对照组显著降低($P < 0.05$),化浊解毒方各剂量组 GSH-Px 均较模型组显著升高($P < 0.05$);其抑制氧化应激产物的作用与剂量呈正相关。见表 2。

3.2 COL I, COL III 基因表达 同空白对照组比较,模型组的 COL I, COL III 基因表达水平明显提高,

表 2 化浊解毒方 10% 含药血清对 HSC-T6 上清液中 GSH,MDA,SOD 和 GSH-Px 含量的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	药物质量浓度/ $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$	GSH/ $\text{NU} \cdot \text{L}^{-1}$	MDA/ $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$	GSH-Px/ $\text{KU} \cdot \text{L}^{-1}$	SOD/ $\text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$
空白对照	-	32.14 ± 2.76 ²⁾	0.33 ± 2.94 ²⁾	62.90 ± 3.15 ²⁾	30.36 ± 3.06 ²⁾
模型	-	63.02 ± 3.45 ¹⁾	0.94 ± 0.02 ¹⁾	25.14 ± 3.34 ¹⁾	5.79 ± 1.80 ¹⁾
干扰素血清 ⁴⁾	100	46.15 ± 3.41 ^{2,3)}	0.45 ± 0.02 ²⁾	71.46 ± 2.40 ²⁾	14.98 ± 1.80 ²⁾
化浊解毒方含药血清	120	33.46 ± 2.34 ²⁾	0.51 ± 0.03 ^{2,3)}	93.39 ± 2.23 ^{2,3)}	24.73 ± 1.89 ^{2,3)}
	60	44.10 ± 4.33 ^{2,3)}	0.56 ± 0.02 ^{2,3)}	73.12 ± 2.92 ^{2,3)}	26.96 ± 1.90 ^{2,3)}
	30	55.20 ± 2.76 ^{2,3)}	0.64 ± 0.03 ^{2,3)}	62.91 ± 1.81 ^{2,3)}	11.49 ± 1.40 ^{2,3)}

注:与空白对照组比较¹⁾ $P < 0.05$;与模型组比较²⁾ $P < 0.05$,与干扰素血清组比较³⁾ $P < 0.05$,⁴⁾浓度单位为 $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ (表 3~4 同)。

HSC-T6 在 H_2O_2 刺激下其胶原合成量增加($P < 0.05$)。COL I 基因的表达:同模型组比较,除化浊解毒方低剂量组外,其余各组表达量明显减低,尤其是化浊解毒方高剂量组能显著降低 COL I 基因表达,比阳性对照组胶原表达量低,与空白对照组比较无明显差异。COL III 基因:同模型组比较,各组表达量均降低;阳性对照组与化浊解毒方低剂量组无明显差异;与阳性对照组比较,化浊解毒方高、中剂量组 III 型胶原基因表达

量降低,以化浊解毒方高剂量组降低明显。说明随着化浊解毒方剂量的增加,其抑制 HSC-T6 胶原合成的能力增强,基本上呈剂量依赖性。见图 1,表 3。

3.3 COL I, COL III 蛋白表达 与空白对照组比较,模型组 COL I, COL III 蛋白表达水平显著升高($P < 0.05$);与模型组比较,化浊解毒方含药血清及干扰素含药血清 COL I, COL III 蛋白表达显著降低($P < 0.05$)。见图 2,表 4。

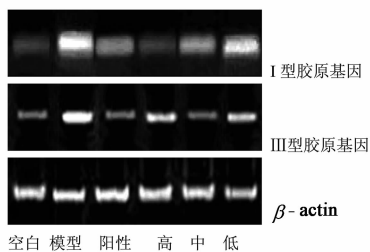


图1 化浊解毒方10%含药血清对 HSC-T6 COL I mRNA 和 COL III mRNA 表达的影响

表3 化浊解毒方10%含药血清对 HSC-T6 COL I mRNA 和 COL III mRNA 相对表达量的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	药物质量浓度 /mg·kg ⁻¹	COL I /β-actin	COL III /β-actin
空白对照	-	0.35 ± 0.07 ^{2,3}	0.29 ± 0.04 ³
模型	-	1.63 ± 0.05 ¹	1.02 ± 0.06 ¹
干扰素血清 ⁴	100	0.93 ± 0.04 ²	0.71 ± 0.04 ^{2,3}
化浊解毒方含药血清	120	0.39 ± 0.05 ^{2,3}	0.35 ± 0.08 ²
	60	0.98 ± 0.03 ²	0.51 ± 0.06 ²
	30	1.59 ± 0.06 ^{2,3}	0.74 ± 0.07 ^{2,3}

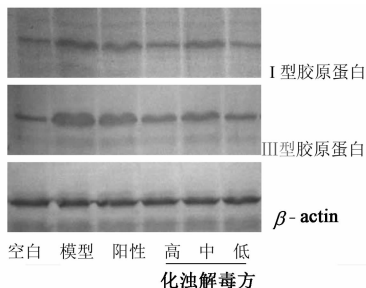


图2 化浊解毒方10%含药血清对 HSC-T6 COL I 蛋白和 COL III 蛋白水平的影响

表4 化浊解毒方10%含药血清对 HSC-T6 COL I 蛋白和 COL III 蛋白相对水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	药物质量浓度 /mg·kg ⁻¹	COL I /β-actin	COL III /β-actin
空白对照	-	0.31 ± 0.05 ^{2,3}	0.30 ± 0.06 ³
模型	-	1.02 ± 0.07 ¹	1.53 ± 0.04 ¹
干扰素血清 ⁴	100	1.01 ± 0.05 ²	1.04 ± 0.07 ^{2,3}
化浊解毒方含药血清	120	0.36 ± 0.06 ^{2,3}	0.51 ± 0.06 ²
	60	0.91 ± 0.03 ²	0.94 ± 0.08 ²
	30	0.47 ± 0.08 ^{2,3}	0.72 ± 0.06 ^{2,3}

4 讨论

化浊解毒方是李佃贵教授经过长期临床实践总

结出的治疗肝纤维化的基础方,此方是在“浊毒理论”指导下组方而成。浊毒致纤维化^[7]的机制包括外来之邪入里,阻遏气机,或七情内伤导致脏腑功能失调,气机升降失常,湿浊内生,化生浊毒,日久及血,致脉络瘀阻,形成浊毒内蕴,瘀血阻络证,新血不生,精气津液输布排泄障碍,难以布达肝络。化浊解毒方具有化浊解毒、软坚散结之功效,其中鳖甲软肝散结,茵陈利湿祛浊、红景天及绞股蓝解毒、三棱破瘀攻坚为主。以往体外试验表明,化浊解毒方能够抑制肝星状细胞增殖和促进其凋亡,从而降低细胞外基质含量。本研究从抗氧化应激角度进一步探讨其改善肝纤维化作用的机制。氧化应激在肝纤维化发生发展中起着重要作用,导致肝细胞的脂质过氧化,在星状细胞激活的各个阶段发挥作用,对体内的胶原基因表达的调节起着主导作用,抗氧化剂可以通过作用于 HSC 等途径阻止肝纤维化的发展^[8]。因此能有效的抑制氧化应激,就可以阻止对肝细胞、肝星状细胞的进一步破坏,从而减轻肝纤维化的发展^[10]。本试验结果显示,化浊解毒方组的 SOD 和 GSH-Px 的活性明显增强,MDA 和 GSH 的含量明显减低,肝星状细胞分泌的胶原在基因表达及蛋白表达水平明显降低。此结果表明,化浊解毒方可以通过抗肝星状细胞的氧化应激,减轻氧化应激对肝星状细胞的损伤,从而减少细胞外胶原含量,减轻肝纤维化,且此效应呈现一定的剂量依赖性。这为进一步有效的开发防治肝纤维化的化浊解毒方提供试验依据。

[参考文献]

[1] Kisseleva T, Brenner D A. Role of hepatic stellate cells in fibrogenesis and the reversal of fibrosis [J]. J Gastroenterol Hepatol, 2007, 22 (1): 573.

[1] Nieto N, Friedman S L, Cederbaum A I. Stimulation and proliferation of primary rat hepatic stellate cells by cytochrome P450 2E1 derived reactive oxygen species [J]. Hepatology, 2002, 35 (1): 62.

[2] Nieto N. Oxidative-stress and IL-6 mediate the fibrogenic effects of Rodent Kupffer cells in stellate cells [J]. Hepatology, 2006, 44 (6): 1487.

[3] 赵珍东,段启,张雷红,等.姜黄素对氧化应激致大鼠肝星状细胞增殖及 TGF-β1 表达的抑制作用[J].中国实验方剂学杂志,2011,17(9):203.

[4] 郭敏,李佃贵,裴林,等.化浊解毒方含药血清对 HSC-T6 增殖、凋亡及 PPARmRNA 表达的影响[J].中国医院药学杂志,2011,31(10):799.

银杏叶提取物对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖、 凋亡及 Caspase-3 表达的影响

赵晶丽^{1*}, 史琳²

(1. 吉林工业职业技术学院, 吉林 132013; 2. 吉林省科学技术信息研究所, 长春 130021)

[摘要] 目的:探讨银杏叶提取物(EGB)对乳腺癌 MCF-7 细胞增殖、凋亡及半胱氨酸蛋白酶(Caspases)-3 表达的影响。方法:将质量浓度为 0,10,20,40,80,160 mg·L⁻¹ 的 EGB 作用于体外培养的人乳腺癌 MCF-7 细胞上,培养 24 h 或 48 h,然后应用四甲基偶氮唑蓝染色法(MTT 法)检测细胞增殖;Annexin V/PI 双染色流式细胞仪检测细胞凋亡和细胞周期;酶联免疫吸附法(ELISA)检测 Caspases-3 蛋白表达。结果:EGB 对 MCF-7 细胞的体外增殖具有抑制作用,量效关系显著,与对照组比较有统计学差异($P < 0.01$),半数抑制浓度(IC₅₀)为 83.65 mg·L⁻¹。经流式细胞仪检测表明,EGB 能使 MCF-7 细胞 G₀-G₁ 期逐渐增加,G₂-M 期和 S 期逐渐减少,并且随着质量浓度的增加,MCF-7 细胞凋亡率明显增加($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。EGB 能增强 MCF-7 细胞 Caspases-3 蛋白的表达($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),并呈浓度依赖性。结论:EGB 能有效抑制人乳腺癌 MCF-7 细胞 Caspases-3 蛋白表达,诱导 MCF-7 细胞凋亡,抑制肿瘤细胞增殖。

[关键词] 银杏叶提取物; 乳腺癌; 增殖; 凋亡; 半胱氨酸蛋白酶-3

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)17-0262-04

[doi] 10.11653/syfy2013170262

Effects of *Ginkgo biloba* Extract on Proliferation, Apoptosis and Caspase-3 Expression in Human Breast Cancer MCF-7 Cells

ZHAO Jing-li^{1*}, SHI Lin²

(1. Jilin Vocational College of Industry and Technology, Jilin 132013, China;
2. Institute of Scientific and Technical Information of Jilin, Changchun 130021, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effects of *Ginkgo biloba* extract (EGB) on proliferation, apoptosis and Caspase-3 expression in human breast cancer MCF-7 cells. **Method:** The human breast cancer MCF-7 cells cultivated *in vitro* were treated with 0, 10, 20, 40, 80, 160 mg·L⁻¹ of EGB, cultured for 24 h or 48 h. The 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyl-tetrazolium bromide (MTT) assay was used to measure the cell proliferative effect. The annexin V/PI double staining analysis by flow cytometry was used to evaluate apoptotic

[收稿日期] 20130120(002)

[通讯作者] * 赵晶丽, 讲师, 硕士, 从事中药相关教学与研究, Tel: 0432-64644341, E-mail: jinglizhao2005@126.com

- [5] 郭敏, 李佃贵. 化解毒含药血清对大鼠肝星状细胞增殖及细胞因子的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(15): 263.
- [6] 李佃贵, 李刚, 刘金里, 等. 以浊毒立论治疗肝硬化[J]. 四川中医, 2006, 24(2): 35.
- [7] Shen X H, Chen W F, Li H H, et al. Effects of dietary supplementation with vitamin E and selenium on rat hepatic stellates cell apoptosis [J]. World J Gastroenterol, 2005, 11(32): 4975.
- [8] 陈月圆, 李典鹏, 黄永林, 等. 醉草鱼苷 IV 对大鼠肝星状细胞增殖、活化的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(20): 203.
- [9] 史红阳, 许君望, 任晓侠. 木黄酮对培养肝星状细胞增殖及脂质过氧化的影响[J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(11): 2066.
- [10] 赵伟, 孙国志. 不同种实验动物间用量换算[J]. 实验动物, 2010, 5: 52.

[责任编辑 聂淑琴]