

竹节参总皂苷对 H_2O_2 致乳鼠心肌细胞 氧化应激损伤的保护作用

贺海波^{1,2}, 徐媛青¹, 魏娜¹, 代艳文¹, 关乔中¹, 张长城¹, 王婷¹, 袁丁^{1*}

(1. 三峡大学医学院, 湖北, 宜昌 443002;

2. 三峡大学天然产物研究与利用湖北省重点实验室, 湖北 宜昌 443002)

[摘要] 目的: 通过建立 H_2O_2 诱导心肌细胞氧化应激损伤模型, 观察竹节参总皂苷 (SPJ) 对心肌细胞的保护作用。方法: 将原代培养的乳鼠心肌细胞随机分为正常组, 模型组 (H_2O_2), SPJ 低剂量组 ($50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), SPJ 高剂量组 ($100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。 H_2O_2 诱导心肌细胞氧化损伤 2 h 后 SPJ 孵育 24 h, 显微镜下观察细胞搏动频率, MTT 法测定细胞存活率, 比色法测定细胞培养上清液中乳酸脱氢酶 (LDH)、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) 的活性及丙二醛 (MDA) 含量。结果: SPJ ($50, 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 可明显增加心肌细胞搏动频率, 降低 H_2O_2 所致乳鼠心肌细胞 LDH 释放量, 升高 SOD, CAT, GSH-Px 活性, 降低 MDA 含量 ($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论: SPJ 对 H_2O_2 所致乳鼠心肌细胞氧化应激损伤有明显保护作用。

[关键词] 竹节参总皂苷; H_2O_2 ; 心肌细胞; 氧化应激; 抗氧化作用

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2012)17-0187-05

Protective Effects of Total Saponin from *Panax japonicus* on H_2O_2 Induced Oxidative Stress in Neonatal Rat Cardiomyocytes

HE Hai-bo^{1,2}, XU Yuan-qing¹, WEI Na¹, DAI Yan-wen¹, GUAN Qiao-zhong¹,
ZHANG Chang-cheng¹, WANG Ting¹, YUAN Ding^{1*}

(1. College of Medical Sciences, China Three Gorges University, Yichang 443002, China;

2. Hubei Key Laboratory of Natural Products Research and Development,

China Three Gorges University, Yichang 443002, China)

[Abstract] **Objective:** Through the establishment of the model of oxidative stress damage induced by H_2O_2 in myocardium cells, to observe the protective effects of total saponin from *Panax japonicus* (SPJ) on myocardial cells. **Method:** Neonatal rat cardiomyocytes were randomly divided into four groups: normal, model (H_2O_2), H_2O_2 + l-SPJ (SPJ, $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) and H_2O_2 + h-SPJ (SPJ, $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). H_2O_2 was used to induce oxidative stress injury in primary cultured cardiomyocytes of neonatal rats for 2 hours, and then incubated 24 hours with SPJ ($50, 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$). The beating rates of cardiomyocytes were monitored under inverted microscope, cell viability was detected by MTT assay. The content of lactate dehydrogenase (LDH), malondialdehyde (MDA), and the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) in culture medium were detected after treated by SPJ with colorimetric technique at 24 hours. **Result:** SPJ could significantly increase beating rates of cardiomyocytes; and the contents of LDH, MDA in culture medium were remarkably decreased, and activities of SOD, CAT and GSH-Px were significantly increased ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion:** SPJ

[收稿日期] 20120111(008)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(31070314, 30873383)

[第一作者] 贺海波, 博士, 讲师, 从事中药药理研究, Tel: 0717-6397558, E-mail: hjy219@126.com

[通讯作者] *袁丁, 博士, 教授, 从事天然药物化学及中药药理研究, Tel: 0717-6397366, E-mail: xyxyd@ctgu.edu.cn

exerted protective effects on oxidative stress injury induced by H_2O_2 in cardiomyocytes of neonatal rats.

[**Key words**] *total saponin from Panax japonicus* C. A. Mey; H_2O_2 ; cardiomyocytes; oxidative stress; antioxidant activity

近年来,活性氧(reactive oxygen species, ROS)对心脏的损伤作用越来越引起人们的重视。正常情况下,它在心肌组织或心肌细胞内氧化代谢的产生和消除是平衡的,但是在氧化应激情况下 ROS 在心肌细胞内过量聚集,引起细胞毒性。它的大量堆积可造成心肌细胞的凋亡和功能失调,已成为心肌缺血损伤的重要原因之一。因此,清除心肌组织内过量产生和蓄积的 ROS 将是有效防治心肌缺血性损伤的重要手段。

竹节参为五加科人参属植物竹节参的干燥根茎,别名竹节三七、竹根七、竹节人参、白三七等,具有散瘀止血,消肿止痛,祛痰止咳,补虚强壮之功,主要用于癆嗽咯血,跌扑损伤,咳嗽痰多,病后虚弱等症,被土家族、苗族居民视为“草药之王”^[1]。我们前期研究发现竹节参及其主要成分竹节参总皂苷对冠脉结扎致大鼠急性心肌缺血模型具有明显的保护作用^[2-3],并初步证实抗氧化损伤可能是其作用机制之一。本实验将在此基础上进一步观察其对 H_2O_2 所致的乳鼠心肌细胞氧化应激性损伤的保护作用,为其治疗缺血性心脏病提供理论依据。

1 材料

1.1 动物 Wistar 清洁级受孕大鼠,由湖北省疾病预防控制中心实验动物中心提供,许可证号 SCXK(鄂)2008-0005,动物分笼后饲养于三峡大学实验动物中心屏障系统内。待受孕大鼠分娩后,取新分娩的 1~3 d 龄乳鼠进行实验,雌雄不拘。

1.2 药物 竹节参药材购于湖北省恩施椿木营竹节参药材种植基地,经三峡大学湖北省天然产物研究与利用重点实验室汪鋆植教授鉴定为五加科人参属植物 *Panax japonicus* C. A. Mey 的干燥根茎,药材标本存放于三峡大学国家中医药管理局中药药理三级实验室。

1.3 试剂 双氧水(H_2O_2),分析纯,购于天津市天力化学试剂有限公司,批号 20100708,DMEM 培养基, Gibco 公司,批号 1120708,胎牛血清, Gibco 公司,批号 505985,胰蛋白酶, Gibco 公司,批号 BE2189,四甲基偶氮唑盐, MTT, Sigma 公司,批号 080609,乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒,南京建成生物工程研究所,批号 20110326,丙二醛(MDA)试剂盒,南京建成生物工程研究所,批号 20110326,超氧化

物歧化酶(SOD)试剂盒,南京建成生物工程研究所,批号 20110318;谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒,南京建成生物工程研究所,批号 20110318,过氧化氢酶(CAT)试剂盒,南京建成生物工程研究所,批号 20110318,其余所用试剂均为国产分析纯。

1.4 仪器 CKX41 倒置显微镜(日本奥林巴斯), NU-4750E 型二氧化碳培养箱(Nu Aire 公司), SW-4T-2F 洁净工作台(上海博讯实业有限公司医疗设备厂), TD25-WS 多管架自动平衡离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司), KQ-500B 超声波清洗器(昆山市超声仪器有限公司), LS-B50L 立式压力蒸汽灭菌器(上海华线医用核子仪器有限公司), S23-2 恒温磁力搅拌器(上海司乐仪器有限公司)。

2 方法

2.1 竹节参总皂苷的制备 取竹节参药材,用 60% 的乙醇提取后,回收乙醇,然后用正丁醇萃取,浓缩,得正丁醇浸膏,过 D101 大孔树脂,依次用水及 30%, 60%, 90% 乙醇冲洗。取 60% 洗脱部位,经硅胶柱层析分离,采用三氯甲烷-甲醇梯度洗脱,即得竹节参总皂苷(SPJ, total saponin from *Panax japonicus*)。其为淡黄色粉末,实验时以蒸馏水配制所需浓度,经过 0.22 μm 孔径滤膜过滤除菌后使用。

2.2 SPJ 的检测 按前期实验报道方法^[4],采用 HPLC-ELSD 测定 SPJ 含量。色谱条件为 Y MC-pack ODS-AQ 色谱柱(416 mm \times 250 mm, 5 μm), 乙腈(A)-0.5% 乙酸水溶液(B)为流动相,梯度洗脱(0~5 min, 20%~40% A; 5~20 min, 40%~40% A);流速为 110 mL \cdot min⁻¹,柱温 30 $^{\circ}\text{C}$ 。ELSD 检测器:漂移管温度为 40 $^{\circ}\text{C}$,氮气释放压力为 33 Psi。

2.3 原代乳鼠心肌细胞的培养 乳鼠心肌细胞的培养方法参照文献^[5]略作改进。取乳鼠心脏迅速置于预冷的 PBS 中,用 PBS 液漂后,将心脏剪碎为约 1 mm³ 大小,加入胰酶和胶原酶的混合酶进行消化,收集细胞悬液,1 200 r \cdot min⁻¹离心 5 min,弃去上清,细胞沉淀用含 15% 血清的 DMEM 培养液重悬,接种于培养瓶中,在 CO₂ 培养箱中培养 1.5 h,去除成纤维细胞等非心肌细胞,用含 20% 新生牛血清的 DMEM 培养液稀释至所需的细胞密度,接种到 96 孔培养板(细胞密度 5 \times 10⁴ 个/mL,每孔 100 μL)或

6 孔培养板(细胞密度 3×10^5 个/mL,每孔 1 mL)中,于 CO₂ 培养箱中培养。隔日更换培养基,生长 3~4 d,待细胞融合贴满瓶底,且有节律同步搏动时,取原代细胞进行实验。

2.4 SPJ 对乳鼠心肌细胞活力的实验 取原代培养心肌细胞,加入含有不同质量浓度(0, 25, 50, 100, 250, 500, 1 000 mg·L⁻¹) SPJ 的新鲜培养基,孵育 24 h,采用 MTT 法测定心肌细胞活力。每个浓度设置 4 个复孔。

2.5 SPJ 对 H₂O₂ 引起氧化损伤实验 将原代培养心肌细胞随机分为正常组,模型组,SPJ 低、高剂量组;模型组和 SPJ 组先用 500 μmol·L⁻¹ H₂O₂ 作用 2 h,更换培养液后,SPJ 低、高剂量分别加入含 50, 100 mg·L⁻¹ SPJ 的新鲜培养基,孵育 24 h,采用 MTT 法测定心肌细胞存活率,采用生化法检测培养液 LDH 活性、MDA 含量及 GSH-Px, CAT, SOD 活性。实验中,每个组设置 4 个复孔。

2.6 检测指标与方法 接种于 6 孔培养板中的各组心肌细胞经过相应处理后,于显微镜下观察心肌细胞的形态及自发搏动性。并计数各组心肌细胞搏动的频率和节律。接种于 96 孔培养板中的细胞经过相应处理后,向各孔细胞中加入 20 μL MTT(5 g·L⁻¹),继续培养 4 h,弃去培养液,加入 150 μL DMSO 溶液,并于微量振荡器上振荡 10 min,然后用酶标仪测定 570 nm 的吸光度(A),按下式求得心肌细胞的存活率:

$$\text{存活率} = (\text{各组细胞 } A / \text{正常组细胞 } A) \times 100\%$$

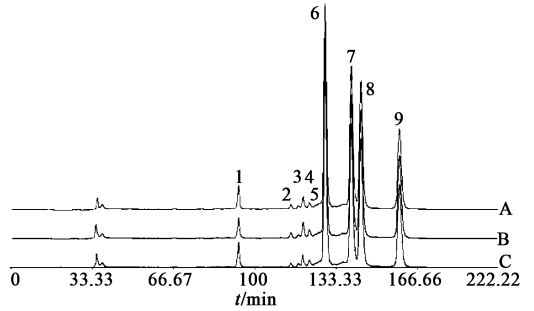
接种于 6 孔培养板中的心肌细胞经过相应的处理后,取培养液适量,按照试剂盒说明书检测 LDH 和 MDA 含量及 GSH-Px, CAT, SOD 活性。

2.7 数据统计分析 采用 SPSS 13.0 统计软件,数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析,以 Dunnett-*t* 检验比较组间均数的差异, $P < 0.05$ 为有统计学差异。

3 结果

3.1 竹节参总皂苷的组成及含量 从图 1 的 HPLC-ELSD 可知,实验中共有 9 个皂苷的色谱峰被 HPLC-UV-ESI-TOF-MS 检测到,根据相对分子质量的有关数据,其中的 1 和 6~9 峰分别为人参皂苷 Re、竹节参皂苷 V、Pjs-2、竹节参皂苷 IV、竹节参皂

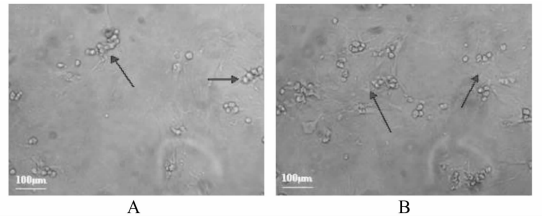
苷 IV a,其他的 4 个峰因为峰面积偏小,没有进行鉴别。同时我们通过 HPLC-ELSD 检测出竹节参总皂苷含量为 83.48%。



A. 第 1 次进样;B. 第 2 次进样;C. 第 3 次进样

图 1 SPJ 的 HPLC

3.2 原代培养心肌细胞的一般特性 原代培养大鼠乳鼠心肌细胞接种最初时心肌细胞呈球形悬浮在培养液中,在培养箱培养 4~6 h 后开始贴壁生长,逐渐展开,并伸出伪足,细胞由圆形开始变为梭形、三角形或星形;12~24 h 细胞基本贴壁,24 h 后少数单个细胞呈现不同频率的自发性搏动(40~80 次/min);3~4 d 后细胞伸出的伪足相互接触交织成网,逐渐形成细胞簇或细胞单层,呈放射状排列的同心圆状,收缩明显而有力,细胞间有闰盘形成,出现同步节律性搏动(90~120 次/min)(图 2)。



A. 单个搏动的心肌细胞;B. 交织成网后同步搏动的心肌细胞

图 2 原代培养乳鼠心肌细胞形态(×200)

3.3 SPJ 对乳鼠心肌细胞活力的影响 通过用 MTT 法进行 SPJ 对乳鼠心肌细胞活力分析,发现 SPJ 在 25~1 000 mg·L⁻¹ 对乳鼠心肌细胞没有明显的细胞毒性,相反,SPJ 还可以提高心肌细胞细胞活力约 30% 左右,与空白组比较具有显著性差异($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)(表 1)。

3.4 SPJ 对 H₂O₂ 所致心肌细胞损伤细胞形态和搏动频率的影响 乳鼠心肌细胞在经过 H₂O₂ 损伤后,模型组心肌细胞胞浆空泡形成,细胞伪足收缩

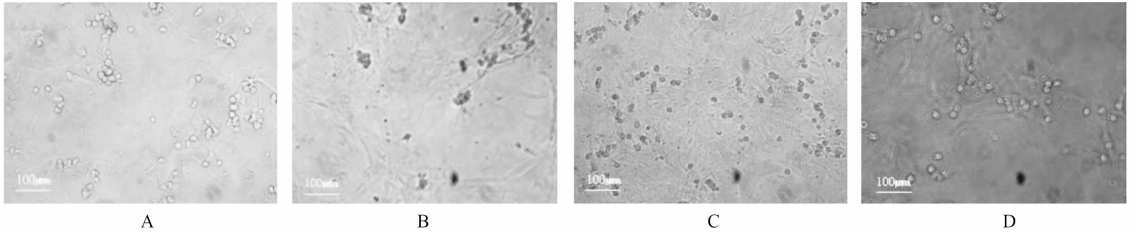
表 1 SPJ 不同质量浓度对乳鼠心肌细胞活力(A)的影响($\bar{x} \pm s, n=4$)

质量浓度	0 mg·L ⁻¹	25 mg·L ⁻¹	50 mg·L ⁻¹	100 mg·L ⁻¹	250 mg·L ⁻¹	500 mg·L ⁻¹	1 000 mg·L ⁻¹
A	0.86 ± 0.09	0.85 ± 0.01	1.04 ± 0.12 ¹⁾	1.14 ± 0.09 ²⁾	1.26 ± 0.20 ²⁾	1.17 ± 0.23 ¹⁾	1.35 ± 0.12 ²⁾

注:与 SPJ 0 mg·L⁻¹ 组比较 ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

或消失,细胞折光率下降,异形心肌细胞数目增加并有大量细胞脱落、悬浮、溶解坏死;用 SPJ 处理后可见少量的心肌细胞伪足回缩,细胞脱落、悬浮和溶解坏死现象,但损伤程度较模型组显著减轻,且死亡细胞明显减少(图 3);正常组小鼠心肌细胞搏动频率

为(97.2 ± 2.3)次/min, H₂O₂ 损伤后,模型组心肌细胞的搏动频率降至(23.6 ± 5.8)次/min,与正常组比较差异显著(P < 0.01);SPJ 处理后细胞搏动频率分别恢复为(67.0 ± 5.3)和(72.4 ± 7.7)次/min,与模型组比较具有显著性差异(P < 0.01)。



A. 正常组; B. 模型组; C. SPJ 50 mg·L⁻¹组; D. SPJ 100 mg·L⁻¹组

图 3 SPJ 对 H₂O₂ 所致心肌细胞损伤细胞形态的影响(×200)

3.5 SPJ 对 H₂O₂ 所致心肌细胞损伤细胞存活率的影响 模型组心肌细胞经 H₂O₂ 损伤后细胞存活率明显下降,与正常组比较有显著性差异(P < 0.01);用 SPJ 处理后,受 H₂O₂ 损伤的心肌细胞存活率分别提高了 13.8% 和 19.7%,与模型组比较具有显著性差异(P < 0.05 或 P < 0.01)(表 2)。

表 2 SPJ 对 H₂O₂ 所致心肌细胞损伤细胞活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	剂量 /mg·L ⁻¹	细胞活力 /A
正常	-	0.88 ± 0.09
模型	-	0.44 ± 0.01 ²⁾
SPJ	50	0.63 ± 0.03 ⁴⁾
	100	0.64 ± 0.02 ⁴⁾

注:与正常组相比较¹⁾ P < 0.05, ²⁾ P < 0.01;与模型组比较³⁾ P < 0.05, ⁴⁾ P < 0.01(表 2~4 同)。

3.6 SPJ 对 H₂O₂ 所致心肌细胞损伤 LDH 活性, MDA 含量的影响 模型组心肌细胞培养液 LDH 活性和 MDA 含量分别升高了 55.0% 和 146.7%,与正常组比较具有显著性差异(P < 0.01),用 SPJ 处理

后,LDH 活性和 MDA 含量分别降低了 23.6%, 25.3% 和 51.5%, 52.5%,与模型组比较具有显著性差异(P < 0.01)(表 3)。

3.7 SPJ 对 H₂O₂ 所致心肌细胞损伤 SOD, CAT 和 GSH-Px 活性的影响 与正常组相比,模型组心肌细胞培养液中 SOD, CAT 和 GSH-Px 酶活性分别降低了 73.6%, 56.9%, 61.0%(P < 0.01),与正常组比较具有显著性差异(P < 0.01),用 SPJ 处理后,SOD, CAT 和 GSH-Px 酶活性分别升高了 177.7%, 245.4%, 94.7%, 101.3%, 108.7%, 134.8%,与模型组比较具有显著性差异(P < 0.05, P < 0.01)(表 4)。

表 3 SPJ 对 H₂O₂ 所致心肌细胞损伤 LDH, MDA 水平的影响($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	剂量 /mg·L ⁻¹	LDH /U·L ⁻¹	MDA /nmol·L ⁻¹
正常	-	318.4 ± 14.9	0.152 ± 0.015
模型	-	493.4 ± 19.7 ²⁾	0.375 ± 0.010 ²⁾
SPJ	50	377.2 ± 7.6 ⁴⁾	0.182 ± 0.045 ⁴⁾
	100	368.4 ± 13.2 ⁴⁾	0.640 ± 0.005 ⁴⁾

表 4 SPJ 对 H₂O₂ 所致心肌细胞损伤 SOD, CAT, GSH-Px 活性的影响($\bar{x} \pm s, n = 4$)

组别	剂量 /mg·L ⁻¹	SOD /U·mL ⁻¹	CAT /U·L ⁻¹	GSH-Px /U·L ⁻¹
正常	-	4.92 ± 0.14	1.74 ± 0.16	37.76 ± 5.54
模型	-	1.30 ± 0.13 ²⁾	0.75 ± 0.13 ²⁾	14.72 ± 3.37 ²⁾
SPJ	50	3.61 ± 0.68 ⁴⁾	1.46 ± 0.26 ³⁾	30.72 ± 3.84 ⁴⁾
	100	4.48 ± 0.09 ⁴⁾	1.51 ± 0.21 ⁴⁾	34.56 ± 1.66 ⁴⁾

4 讨论

随着我国人口老龄化进程的加速,由冠状动脉阻塞引起的缺血性心脏病的发病率和死亡率逐年升高,当前心血管疾病已成为除脑血管疾病及恶性肿瘤以外的人类 3 大死亡原因之一,因此,积极开展对缺血性心肌损伤的防治及深入研究,一直以来是医学领域关注的重点。

竹节参具有较广泛的药理作用,对消化系统、中枢神经系统、心脑血管系统、免疫系统等具有广泛的药理作用^[6-7],其主要成分竹节参总皂苷除具有抗肿瘤、保护脑缺血性损伤外^[6,8],我们在前期研究发现竹节参及其主要成分 SPJ 对冠脉结扎致大鼠急性心肌缺血模型具有较明显的保护作用^[2-3],并初步证实抗氧化损伤可能是其作用机制之一。本实验将在此基础上进一步证实其对心肌缺血性保护作用及抗氧化的作用机制。实验结果表明,SPJ 能显著改善 H₂O₂ 损伤心肌细胞折光率,减少胞浆空泡形成,抑制细胞脱落、悬浮、溶解坏死的发生,有效提高受损的心肌细胞活性,恢复细胞搏动;对 H₂O₂ 所致心肌细胞损伤有较好的保护作用。

近年来,随着对 ROS (O₂⁻, H₂O₂, OH⁻, NO, ONOO⁻ 等)研究的深入,证实了 ROS 的大量堆积及脂质过氧化反应是导致心肌细胞氧化损伤的重要机制之一^[9-11],ROS 损伤被认为是引起心肌细胞氧化损伤的主要机制。当 H₂O₂ 作用于乳鼠心肌细胞时,它不仅能够直接攻击细胞膜的不饱和脂肪酸而使细胞膜的通透性增加,胞浆内 LDH 等酶外漏,而且 H₂O₂ 极易透过细胞膜,与细胞内铁离子通过 Fenton 和 Haber-weiss 反应形成高活性的自由基导致一系列反应,可使许多生物大分子如核酸蛋白、脂肪酸引起过氧化反应,使生物大分子出现交联或者断裂而引起细胞结构和功能的破坏^[12-13]。通常情况下,内源性抗氧化物酶(如 SOD, CAT, GSH-Px 等)是防止氧化应激产生的心肌损伤的第一道防线,这些内源性的抗氧化物酶通过清除过量的 ROS 使机体处于平衡状态^[3]。实验发现,H₂O₂ 损伤的心肌细胞经 SPJ 处理后心肌细胞培养液中 SOD, CAT, GSH-Px 酶的活性明显升高,LDH 酶活性和 MDA 含量显著降低。提示 SPJ 可能通过清除 ROS,保持心肌细胞膜的完整性及减少心肌酶的释放,来减轻 H₂O₂ 对心肌细胞造成氧化损伤,进而对 H₂O₂ 损伤的心肌细胞实施保护作用。

综上所述,SPJ 具有清除自由基和抗脂质过氧

化作用,这可能是其保护心肌细胞氧化损伤的机制之一,详细的作用机制需要进一步研究。

[参考文献]

- [1] 中国药典.一部[S]. 2010:129.
- [2] 贺海波,许佳,王洪武,等.竹节参不同提取部位对冠脉结扎诱导大鼠急性心肌缺血损伤的影响[J].第三军医大学学报,2011,33(14):1462.
- [3] He H B, Xu J, Xu Y Q, et al. Cardioprotective effects of saponins from *Panax japonicus* on acute myocardial ischemia against oxidative stress-triggered damage and cardiac cell death in rats[J]. J Ethnopharmacol, 2012, 140 (1):73.
- [4] 胡远浪,袁丁,何毓敏,等.竹节参 HPLC-ELSD 指纹图谱和化学成分分析[J].中国中药杂志,2010,38(8):1009.
- [5] 叶锦霞,王岚,杨滨,等.红花水提物对乳鼠心肌细胞 H₂O₂ 所致损伤的保护作用及 ESR 谱研究[J].中国实验方剂学杂志,2010,16(2):56.
- [6] 袁丁,左锐,张长城.竹节参总皂苷对地人白血病细胞株 HL-60 的作用[J].中西医结合学报,2007,5(5):570.
- [7] 颜玲,欧阳静萍,刘可云,等.竹节参总皂苷对大鼠局灶性脑缺血/再灌注神经元凋亡的影响[J].四川中医,2010,28(7):8.
- [8] 刘家兰,李德清,段先宇.竹节人参提取物对异丙肾上腺素致大鼠急性心肌缺血的保护作用[J].湖北民族学院学报:医学版,2004,21(3):13.
- [9] Misra M K, Sarwat M, Bhakuni P, et al. Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes [J]. Med Sci Monit, 2009, 15(10):209.
- [10] Andreadou I, Iliodromitis E K, Farmakis D, et al. To prevent, protect and save the ischemic heart: antioxidants revisited [J]. Expert Opin Ther Targets, 2009, 13 (8):945.
- [11] 张放,程嘉艺,苑博.异鼠李素对 H₂O₂ 损伤内皮细胞的保护作用[J].中国实验方剂学杂志,2010,17(14):169.
- [12] Misra M K, Sarwat M, Bhakuni P, et al. Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes [J]. Med Sci Monit, 2009, 15(10):209.
- [13] 王恒,吉杨丹,徐旖旎.氧化苦参碱对大鼠冠脉结扎诱发急性实验性心肌梗死的保护作用及机制[J].中国实验方剂学杂志,2012,18(4):143.

[责任编辑 李玉洁]