

水飞蓟宾对 H₂O₂ 诱导大鼠 H9C2 心肌细胞氧化应激损伤的保护作用

武艳强, 王慧娟, 冯社军, 袁芳, 李鹤飞, 冯强, 侯爱军, 申玉良
邯郸市中心医院, 河北 邯郸 056001

摘要: 目的 探讨水飞蓟宾对 H₂O₂ 诱导状态下 H9C2 心肌细胞氧化应激损伤的保护作用。方法 将大鼠 H9C2 心肌细胞分为对照组、H₂O₂ (200 μmol/L) 干预组以及水飞蓟宾 (100、200 μmol/L) + H₂O₂ (200 μmol/L) 干预组, 每组设 6 个复孔。各组经过药物干预 6 h 后, 通过 Giemsa 染色法观察细胞形态学, 通过 MTT 法测定细胞存活率、流式细胞术测定细胞凋亡率; 测定细胞培养液中乳酸脱氢酶 (LDH)、磷酸激酶 (CK)、谷草转氨酶 (AST) 活性和丙二醛 (MDA) 含量; 测定细胞中超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性。**结果** 与对照组比较, H₂O₂ 干预组 H9C2 心肌细胞形态明显异常、存活率显著降低且凋亡率显著升高, 培养液中 LDH、CK、AST 活性和 MDA 含量均显著升高, 细胞中 SOD、CAT、GSH-Px 活性显著降低, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。与 H₂O₂ 干预组比较, 水飞蓟宾 (100、200 μmol/L) + H₂O₂ (200 μmol/L) 干预组培养液中 AST、CK 活性和 MDA 含量均显著降低, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$); 水飞蓟宾 (200 μmol/L) + H₂O₂ (200 μmol/L) 干预组 H9C2 心肌细胞形态明显改善、存活率显著升高、凋亡率显著降低, 培养液中 LDH 活性显著降低, 细胞中 SOD、CAT、GSH-Px 活性显著升高, 差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 水飞蓟宾能够有效改善 H₂O₂ 诱导状态下 H9C2 心肌细胞形态, 提高其存活率并降低凋亡率, 改善细胞中抗氧化酶活性、降低细胞损伤, 提示水飞蓟宾对 H₂O₂ 诱导 H9C2 心肌细胞氧化应激损伤具有剂量相关性的保护作用。

关键词: 水飞蓟宾; H9C2 心肌细胞; 过氧化氢; 氧化应激损伤; 保护

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-5515(2015)05-0503-06

DOI:10.7501/j.issn.1674-5515.2015.05.006

Protective effects of silibinin on oxidative stress injury of H9C2 cardiomyocytes induced by H₂O₂

WU Yan-qiang, WANG Hui-juan, FENG She-jun, YUAN Fang, LI He-fei, FENG Qiang, HOU Ai-jun, SHEN Yu-liang
Handan Central Hospital, Handan 056001, China

Abstract: Objective To investigate the protective effects of silibinin on oxidative stress injury of H9C2 cardiomyocytes induced by H₂O₂. **Methods** H9C2 cardiomyocytes were randomly divided into control group, H₂O₂ (200 μmol/L) group, silibinin (100 μmol/L) + H₂O₂ (200 μmol/L) group, and silibinin (200 μmol/L) + H₂O₂ (200 μmol/L) group, and each group set six holes. After H₂O₂ stimulation for 6 h, the morphology changes were observed by microscope, and the survival rate and the apoptosis rate were detected by MTT method. The activity of LDH, CK, & AST, and the content of MDA in culture medium were detected, and the activities of SOD, CAT, and GSH-Px in cardiomyocytes were also determined. **Results** Compared with the control group, the morphology of H9C2 cardiomyocytes in H₂O₂ (200 μmol/L) group was abnormal, the survival rate was significantly decreased, and the apoptosis rate was significantly increased ($P < 0.05$). The activity of LDH, CK, & AST, and the content of MDA in culture medium were significantly increased ($P < 0.05$), the activity of SOD, CAT, and GSH-Px in cardiomyocytes were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with the H₂O₂ group, the activity of CK, AST, and the content of MDA in culture medium of silibinin (100, 200 μmol/L) + H₂O₂ (200 μmol/L) groups were significantly decreased ($P < 0.05$). The morphology of H9C2 cardiomyocytes in silibinin (200 μmol/L) + H₂O₂ (200 μmol/L) group was improved, the survival rate was significantly increased, and the apoptosis rate was significantly decreased ($P < 0.05$). The activity of LDH was significantly decreased ($P < 0.05$), and the activity of SOD, CAT, and GSH-Px in cardiomyocytes were significantly increased ($P < 0.05$). **Conclusion** Silibinin can effectively improve the morphology of H9C2 cardiomyocytes induced by

收稿日期: 2015-01-04

基金项目: 河北省卫生厅重点科技研究计划项目 (20130359)

作者简介: 武艳强, 男, 主治医师。E-mail: wuyanqiang2015@163.com

H₂O₂, increase the survival rate and decrease the apoptosis rate, improve the activity of antioxidase, and depress the cell injury, which suggests that silibinin has dose-dependent protective effects against the oxidative stress of H9C2 cardiomyocytes induced by H₂O₂.

Key words: silibinin; H9C2 cardiomyocytes; H₂O₂; oxidative stress injury; protection

水飞蓟宾是菊科植物水飞蓟 *Silybum marianum* (L.) Gaertn. 的主要活性成分之一, 属于水飞蓟素的一种。经现代药理学研究发现, 水飞蓟宾具有抗氧化、抗肿瘤、抑制炎症反应、抗纤维化、促进细胞再生和促进脂代谢等广泛的生物活性^[1-5]。周蓓等^[5]通过异丙肾上腺素诱导心肌细胞损伤模型进行研究, 发现水飞蓟宾能够有效改善抗氧化酶活性、抑制氧化应激损伤, 并改善 Bax/Bcl-2 的表达比率、抑制细胞凋亡。陈红等^[6]也通过体外细胞实验研究证实水飞蓟宾对心肌细胞缺氧缺糖损伤具有保护作用。本研究旨在探讨水飞蓟宾对 H₂O₂ 诱导状态下 H9C2 心肌细胞氧化应激损伤的保护作用。

1 材料

1.1 主要材料、药品与试剂

大鼠 H9C2 心肌细胞株 (中国科学院上海细胞库); 水飞蓟宾 (美国 Sigma 公司, 批号 S0413), 预先取适量水飞蓟宾溶于二甲基亚砜 (DMSO) 制备 0.1 mol/L 储备液, 试验时取适量储备液添加到培养液中达到所需要的浓度; DMEM 培养基 (美国 Gibco 公司, 批号 13527-048); 小牛血清 (杭州四季青生物工程有限公司, 批号 HB0312); DMSO (国药集团化学试剂有限公司, 批号 20130825); 甲基四唑蓝 (MTT) (美国 Sigma 公司, 批号 M2134); 30% H₂O₂ (天津基准化学试剂有限公司, 批号 20131016); LDH 试剂盒 (批号 20140423)、CK 试剂盒 (批号 20131125)、AST 试剂盒 (批号 20131217) 均购自南京建成生物工程研究所; SOD 试剂盒 (批号 20140112)、GSH-Px 试剂盒 (批号 20140419)、CAT 试剂盒 (批号 20140130)、MDA 试剂盒 (批号 20131018) 均购自北京博奥森生物技术有限公司; Giemsa 染液 (北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司, 批号 20140224); 其余试剂均为分析纯。

1.2 主要仪器

超净工作台 (江苏苏净集团); CO₂ 培养箱 (日本三洋集团和美国 ThermoScientific 公司); -80 °C 冰箱 (美国 ThermoScientific 公司); -20 °C 冰箱 (河南新飞电器公司); 恒温水浴箱 (浙江金坛市科析仪器有限公司); 立式灭菌器 (上海申安医疗器械厂); 液氮罐 (成都金凤液氮容器有限公司); 常温离心机

(上海安亭科学仪器厂); 倒置显微镜 (日本 Nikon 公司); Model-680 型酶标仪 (美国 Bio-Rad); UV-3200 PCS 紫外-可见分光光度计 (上海美谱达仪器有限公司); WH-3 微型漩涡混合仪 (上海沪西分析仪器厂); FACSAria 流式细胞仪 (美国 BD 公司)。

2 方法

2.1 细胞培养

大鼠 H9C2 心肌细胞常规接种在含 15% 胎牛血清, 100 g/L 青霉素、100 g/L 链霉素的 DMEM/F12 培养液中, 置于 37 °C、5% CO₂ 的细胞培养箱内培养。每 72 h 换液、传代 1 次, 取对数生长期细胞用于实验。将大鼠 H9C2 心肌细胞分为对照组、H₂O₂ (200 μmol/L) 干预组^[7]以及水飞蓟宾 (100、200 μmol/L) + H₂O₂ (200 μmol/L) 干预组, 其中对照组加入 PBS 进行干预, 每组设 6 个复孔; 干预 6 h 后进行各指标的检测^[8]。

2.2 细胞形态学观察

处于对数生长期的 H9C2 心肌细胞以 1 × 10⁵/mL 接种于 6 孔板中, 每组 6 个复孔, 干预 6 h 后去掉培养液, 用 PBS 溶液冲洗 2 次后, 每孔加入 200 μL Giemsa 染液, 使其覆盖孔底, 3 min 后加入 1 mL 缓冲液浸泡 10 s, 弃液后再用去离子水洗剂, 至显微镜下细胞间隙清晰为止, 置通风处晾干, 于显微镜下观察细胞形态。

2.3 细胞活性的检测

干预 6 h 后, 采用 MTT 比色法检测心肌细胞的存活和生长。将处理后的大鼠 H9C2 心肌细胞接种于 96 孔培养板内, 每组设 6 个复孔, 每孔加入 MTT (5 mg/mL) 20 μL, 37 °C 孵育 4 h 后, 弃掉培养上清, 每孔加入 150 μL DMSO, 振荡 15 min 后用酶标仪测定 490 nm 波长处的吸光度 (A) 值, 计算心肌细胞存活率。

心肌细胞存活率 = 实验组 A 值 / 对照组 A 值

2.4 细胞凋亡的检测

干预 6 h 后, 用不含 EDTA 的 0.25% 胰酶消化细胞, 终止消化后收集, 1 500 r/min 离心 5 min, 去除上清液, 用 PBS 将润洗 2 次, 1 500 × g 离心 5 min; 按照 AnnexinV/PI 细胞凋亡检测试剂盒操作说明进

行：各组均加入 500 μL Binding Buffer、5 μL AnnexinV、5 μL PI，混匀，室温避光孵育 10 min，然后通过流式细胞仪进行检测，最后在流式二维图中计算凋亡率。

2.5 培养液中 LDH、AST、CK 活性和 MDA 含量的检测

干预 6 h 后，取细胞培养上清液，按照试剂盒操作方法步骤、通过紫外可见分光光度计测定细胞培养液中 LDH、AST、CK 活性和 MDA 含量。

2.6 细胞中 SOD、CAT、GSH-Px 活性的检测

干预 6 h 后，消化收集各组细胞，每组加 1 mL PBS 使细胞重悬，采用反复冻融法（-80 °C 冰箱冷冻 15 min 后常温放置 20 min，如此重复 5 次）以裂解细胞，3 000 r/min 离心 10 min，吸取上清液，先进行 BCA 定量，然后按试剂盒操作步骤测定细胞

裂解液中 SOD、CAT、GSH-Px 活性。

2.7 统计学方法

实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示，运用统计软件 SPSS 17.0 进行分析；两两比较采用 SNK 法（*q* 检验），多组间均数比较采用单因素方差分析（*F* 检验）。

3 结果

3.1 各组 H9C2 心肌细胞形态学变化

通过 Giemsa 染色法并在显微镜下观察各组 H9C2 心肌细胞形态学变化发现，对照组 H9C2 心肌细胞形态未见异常：生长密度高，呈短梭型紧密生长，边界清楚，贴壁较牢；H₂O₂ 干预组 H9C2 心肌细胞生长密度低，细胞间隙增宽，可见大片脱落区，部分细胞收缩变圆，细胞核固缩呈深蓝色；水飞蓟宾（200 μmol/L）+H₂O₂（200 μmol/L）干预组细胞形态明显得到改善，见图 1。

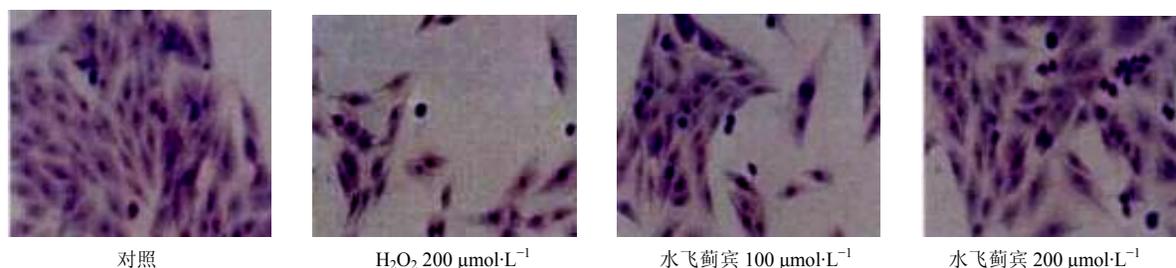


图 1 水飞蓟宾对 H₂O₂ 干预状态下 H9C2 心肌细胞形态学的影响

Fig. 1 Effects of silibinin on H9C2 cardiomyocytes morphology

3.2 各组 H9C2 心肌细胞活性的改变

与对照组比较，H₂O₂ 干预组 H9C2 心肌细胞存活率显著降低（*P*<0.05）；水飞蓟宾（200 μmol/L）+H₂O₂ 干预组 H9C2 心肌细胞存活率较 H₂O₂ 干预组显著升高（*P*<0.05），结果见表 1。

表 1 水飞蓟宾对 H₂O₂ 诱导状态下 H9C2 心肌细胞活性的影响（ $\bar{x} \pm s$, *n*=6）

Table 1 Effects of silibinin on survival rate of H9C2 cardiomyocytes ($\bar{x} \pm s$, *n*=6)

组别	浓度/(μmol·L ⁻¹)	A 值	存活率/%
对照	—	0.625±0.031	100.0
H ₂ O ₂	200	0.413±0.024*	66.1
水飞蓟宾	100	0.436±0.028	69.8
	200	0.509±0.030 [#]	81.4

与对照组比较：**P*<0.05；与 H₂O₂ 干预组比较：[#]*P*<0.05

**P*<0.05 vs control group; [#]*P*<0.05 vs H₂O₂ group

3.3 各组 H9C2 心肌细胞凋亡率的改变

干预 6 h 后，通过流式细胞术分析发现，H₂O₂ 干预组较对照组 H9C2 心肌细胞凋亡率明显增加，差异具有统计学意义（*P*<0.05）；水飞蓟宾（200 μmol/L）+H₂O₂ 干预组 H9C2 心肌细胞凋亡率较 H₂O₂ 干预组显著降低（*P*<0.05），结果见表 2、图 2。

表 2 水飞蓟宾对 H₂O₂ 诱导状态下 H9C2 心肌细胞凋亡的影响（ $\bar{x} \pm s$, *n*=6）

Table 2 Effects of silibinin on H9C2 cardiomyocytes apoptosis induced by H₂O₂ ($\bar{x} \pm s$, *n*=6)

组别	浓度/(μmol·L ⁻¹)	凋亡率/%
对照	—	10.7±1.3
H ₂ O ₂	200	41.3±5.2*
水飞蓟宾	100	35.4±4.7
	200	17.1±3.4 [#]

与对照组比较：**P*<0.05；与 H₂O₂ 干预组比较：[#]*P*<0.05

**P*<0.05 vs control group; [#]*P*<0.05 vs H₂O₂ group

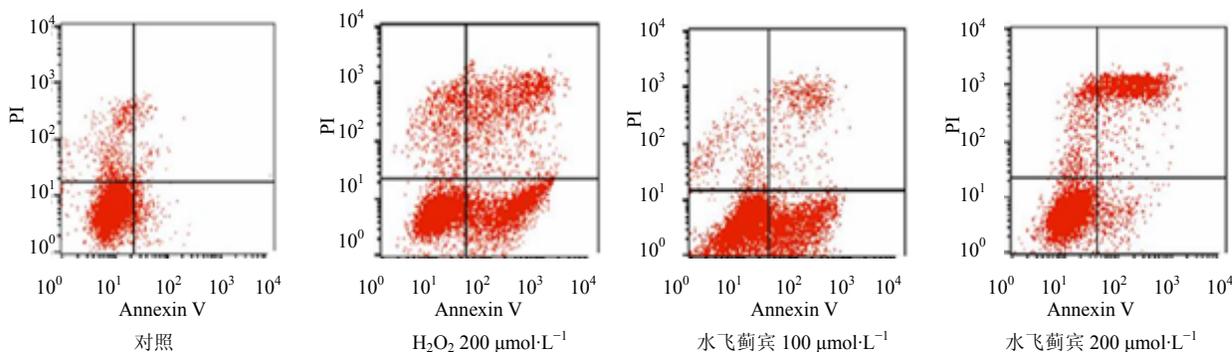


图2 水飞蓟宾对 H₂O₂ 诱导状态下 H9C2 心肌细胞凋亡的影响

Fig. 2 Effects of silibinin on H9C2 cardiomyocytes apoptosis induced by H₂O₂

3.4 各组 H9C2 心肌细胞培养液中 LDH、AST、CK 活性和 MDA 含量的变化

与对照组比较, H₂O₂ 干预组培养液中 LDH、AST、CK 活性和 MDA 含量均显著升高 ($P < 0.05$); 水飞蓟宾 (100 μmol/L) + H₂O₂ 干预组和水飞蓟宾 (200 μmol/L) + H₂O₂ 干预组培养液中 AST、CK 活性和 MDA 含量较 H₂O₂ 干预组显著降低 ($P < 0.05$), 且水飞蓟宾 (200 μmol/L) + H₂O₂ 干预组培养液中

LDH 活性显著降低 ($P < 0.05$), 结果见表 3。

3.5 各组 H9C2 心肌细胞中 SOD、CAT、GSH-Px 活性的变化

与对照组比较, H₂O₂ 干预组 H9C2 心肌细胞中 SOD、CAT、GSH-Px 活性显著降低 ($P < 0.05$); 水飞蓟宾 (200 μmol/L) + H₂O₂ 干预组 H9C2 心肌细胞中 SOD、CAT、GSH-Px 活性显著升高 ($P < 0.05$), 结果见表 4。

表3 水飞蓟宾对 H₂O₂ 诱导状态下 H9C2 心肌细胞培养液中 LDH、AST、CK 活性和 MDA 含量的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 3 Effects of silibinin on activity of LDH, AST, CK, and content of MDA in culture medium of H9C2 cardiomyocytes induced by H₂O₂ ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	浓度/(μmol·L ⁻¹)	LDH (U·L ⁻¹)	AST/(U·mL ⁻¹)	CK/(U·mL ⁻¹)	MDA/(nmol·mL ⁻¹)
对照	—	112 ± 15	35.8 ± 5.3	0.75 ± 0.28	117 ± 12
H ₂ O ₂	200	286 ± 43*	71.4 ± 13.1*	1.46 ± 0.63*	285 ± 34*
水飞蓟宾	100	247 ± 38	57.2 ± 11.7 [#]	1.12 ± 0.61 [#]	243 ± 31 [#]
	200	205 ± 32 [#]	52.6 ± 9.8 [#]	1.03 ± 0.57 [#]	202 ± 28 [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 H₂O₂ 干预组比较: [#] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs H₂O₂ group

表4 水飞蓟宾对 H₂O₂ 诱导状态下 H9C2 心肌细胞培养液中 SOD、CAT、GSH-Px 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 4 Effects of silibinin on activity of SOD, CAT, and GSH-Px in culture medium of H9C2 cardiomyocytes induced by H₂O₂ ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	浓度/(μmol·L ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	GSH-Px/(U·mg ⁻¹)	CAT/(U·mg ⁻¹)
对照	—	35.7 ± 2.4	3.85 ± 1.04	30.4 ± 4.7
H ₂ O ₂	200	14.6 ± 1.8*	1.91 ± 0.78*	15.6 ± 3.1*
水飞蓟宾	100	17.2 ± 1.7	2.13 ± 0.96	17.7 ± 3.3
	200	22.4 ± 2.1 [#]	2.48 ± 0.95 [#]	21.8 ± 3.5 [#]

与对照组比较: * $P < 0.05$; 与 H₂O₂ 干预组比较: [#] $P < 0.05$

* $P < 0.05$ vs control group; [#] $P < 0.05$ vs H₂O₂ group

4 讨论

冠状动脉硬化性心脏病 (Coronary arteriosclerotic heart disease, CAD) 是由于血脂血糖代谢异常等多种因素导致冠脉血管内皮慢性损伤,使血小板聚集,脂质斑块形成,最终导致血管腔部分或完全阻塞而引起血供相应区域心肌细胞缺血缺氧坏死的临床综合症^[9-10]。流行病学调查研究发现,目前冠心病高居威胁人类健康疾病谱首位。及时通过介入或支架手术能够挽救濒死的心肌细胞,保护心肌,改善心功能,缓解 CAD 症状,但恢复血流再灌注后往往出现组织损伤加重的现象,即“再灌注损伤”,目前其病理生理机制仍不明确,但赵雅君等^[11]和韩帅先等^[12]研究表明氧自由基过剩而诱发的氧化应激损伤在心肌细胞缺血再灌注损伤发病过程中发挥着重要的作用。因此,抑制心肌细胞氧化应激减少心肌细胞的坏死和凋亡在 CAD 的治疗中扮演着重要角色。

水飞蓟素是菊科植物水飞蓟的有效活性成分,包括水飞蓟宾、异水飞蓟宾、水飞蓟宁和水飞蓟亭等多种化合物,其中水飞蓟宾的药理作用最显著,具有抑制氧化应激、抑制炎症反应、促进糖脂代谢、调节细胞凋亡、促进细胞再生等多种生物活性^[1-5]。本实验通过 H₂O₂ 诱导 H9C2 心肌细胞氧化应激损伤模型,研究水飞蓟宾对心肌细胞氧化应激损伤的保护作用,发现水飞蓟宾能够显著改善 H₂O₂ 诱导状态下 H9C2 心肌细胞形态、增高其存活率,并降低其凋亡率,并且水飞蓟宾 (200 μmol/L) + H₂O₂ 干预组显著优于水飞蓟宾 (100 μmol/L) + H₂O₂ 干预组,提示水飞蓟宾对 H₂O₂ 诱导 H9C2 心肌细胞氧化应激损伤具有剂量相关性的保护作用。

心肌酶学检查对心肌细胞损伤的诊断具有重要价值,血清中心肌酶活性水平与心肌细胞坏死量密切相关,因此有助于判断心肌组织缺血再灌注损伤程度,目前临床上多以血清中乳酸脱氢酶 (LDH)、磷酸肌酸激酶 (CK)、天冬氨酸氨基转移酶 (AST) 活性升高作为心肌缺血的早期诊断指标^[13-14]。本研究发现,水飞蓟宾 (200 μmol/L) + H₂O₂ 干预、水飞蓟宾 (100 μmol/L) + H₂O₂ 干预组能够显著降低细胞培养液中 CK 和 AST 活性,且水飞蓟宾 (200 μmol/L) + H₂O₂ 干预组能显著降低 LDH 活性,提示水飞蓟宾能够显著降低 H₂O₂ 诱导状态下 H9C2 心肌细胞损伤。

不饱和脂肪酸是细胞膜主要成分之一,在氧自

由基的攻击下极易发生脂质过氧化而生成丙二醛 (MDA),所以细胞培养液中丙二醛 (MDA) 的含量能够间接反映心肌细胞过氧化损伤程度^[15]。超氧化物歧化酶 (SOD) 能够提供氢原子配体而使其还原生成过氧化氢^[16];进而被谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 和过氧化氢酶 (CAT) 催化还原生成对人体无害的 H₂O 和 O₂,进一步降低过氧化损伤^[17-18]。本研究发现,水飞蓟宾 (200 μmol/L) + H₂O₂ 干预组能够显著改善 H₂O₂ 诱导状态下 H9C2 心肌细胞中抗氧化酶 (SOD、GSH-Px、CAT) 活性、降低细胞培养液中 MDA 含量,提示水飞蓟宾能够提高 H₂O₂ 诱导状态下 H9C2 心肌细胞自由基清除能力、降低氧化应激损伤。

综上所述,水飞蓟宾对 H₂O₂ 诱导 H9C2 心肌细胞氧化应激损伤具有剂量相关性的保护作用,其作用机制可能与水飞蓟宾能够有效改善抗氧化酶活性、增强自由基清除能力从而抑制氧化应激损伤有关。

参考文献

- [1] 刘敏,肖颖,左爱仁,等. 槲皮素、根皮素、水飞蓟宾清除自由基和抑制脂质过氧化活性研究 [J]. 中成药, 2012, 34(4): 753-756.
- [2] Nambiar D K, Deep G, Singh R P, et al. Silibinin inhibits aberrant lipid metabolism, proliferation and emergence of androgen-independence in prostate cancer cells via primarily targeting the sterol response element binding protein 1 [J]. *Oncotarget*, 2014, 5(20): 10017-10033.
- [3] Xie Z, Ding S Q, Shen Y F. Silibinin activates AMP-activated protein kinase to protect neuronal cells from oxygen and glucose deprivation-re-oxygenation [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2014, 454(2): 313-319.
- [4] Wang Y X, Cai H, Jiang G, et al. Silibinin inhibits proliferation, induces apoptosis and causes cell cycle arrest in human gastric cancer MGC803 cells via STAT3 pathway inhibition [J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(16): 6791-6798.
- [5] 周蓓,吴立军,田代真一,等. 水飞蓟宾对异丙肾上腺素引起的大鼠乳鼠心肌细胞损伤的保护作用及其机制 [J]. 药学学报, 2007, 42(3): 263-268.
- [6] 陈红,章同华,蔚挺,等. 水飞蓟宾对培养心肌细胞缺氧缺糖的保护作用 [J]. 第二军医大学学报, 1990, 11(2): 147-149.
- [7] 关凤英,李红,孙巍,等. 黄芪甲苷对新生乳鼠心肌细胞过氧化氢损伤的保护作用 [J]. 吉林大学学报:

- 医学版, 2007, 33(2): 211-214.
- [8] 石 瑶, 孟 浦, 刘亚黎, 等. 血红素加氧酶-1 对 H9C2 心肌细胞氧化应激损伤的保护作用研究 [J]. 中国妇幼保健, 2012, 27(22): 3481-3486.
- [9] 樊秀红, 牟 娜, 王玉龙. 丹参多酚酸盐治疗冠心病心绞痛的疗效与安全性评价 [J]. 西部医学, 2014, 26(3): 328-330
- [10] 廖永红, 郭依桂, 金 玮. 血清 ALT 水平对冠心病患者病情的预测价值研究 [J]. 西部医学, 2014, 26(3): 288-290.
- [11] 赵雅君, 王艳丽, 杜丽娟, 等. 精胺预处理对离体灌流大鼠心肌缺血_再灌注损伤及细胞凋亡的影响 [J]. 中国药理学通报, 2012, 28(8): 1135- 1140.
- [12] 韩帅先, 姚焕玲, 李云云, 等. 菟丝子提取物对大鼠心肌缺血/再灌注损伤的保护作用[J]. 中国药理学通报, 2011, 27(4): 533-536.
- [13] 刘耀波. 四种心肌标志物在急性心肌梗死诊断中的临床意义分析 [J]. 中国现代药物应用, 2014, 8(15): 80-81.
- [14] 文 朝. 心肌坏死标志物联合检测在急性心肌梗死早期诊断及鉴别中的意义 [J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(11): 2013-2015.
- [15] Laumbach R J, Kipen H M, Ko S, *et al.* A controlled trial of acute effects of human exposure to traffic particles on pulmonary oxidative stress and heart rate variability [J]. *Part Fibre Toxicol*, 2014, 11(1): 45-51.
- [16] Lartigue A, Burlat B, Coutard B, *et al.* The megavirus chilensis Cu,Zn-superoxide dismutase: the first viral structure of a typical cellular copper chaperone-independent hyperstable dimeric enzyme [J]. *J Virol*, 2015, 89(1): 824-832.
- [17] Jin Y, Liu K, Peng J, *et al.* Rhizoma Dioscoreae Nipponicae polysaccharides protect HUVECs from H₂O₂-induced injury by regulating PPAR γ factor and the NADPH oxidase/ROS-NF- κ B signal pathway [J]. *Toxicol Lett*, 2014, 232(1): 149-158.
- [18] Syed S N, Rizvi W, Kumar A, *et al.* *In vitro* antioxidant and *in vivo* hepatoprotective activity of leave extract of Raphanus sativus in rats using CCl₄ model. [J]. *Afr J Tradit Complement Altern Med*, 2014, 11(3): 102-106.