

冠心平片对人血管内皮细胞的保护作用

李七一* 朱萱萱 严士海

(江苏省中医院, 江苏省南京市汉中路 155 号, 210029)

基金项目: 教育部博士点基金资助项目(20093237110001); 江苏省科技厅社会发展项目(BE2010755);

江苏省中医院面上项目(y09002)

* 通讯作者: liqiyi0701@yahoo.cn, (025)86555797

[摘要] **目的** 探讨冠心平片抗过氧化氢(H_2O_2)诱导人血管内皮细胞(VEC)的凋亡作用及可能机制。 **方法** 选择新西兰大白兔 15 只, 随机分成正常组、维拉帕米组、冠心平小剂量组、冠心平中剂量组、冠心平大剂量组, 每组 3 只, 分别给予生理盐水、维拉帕米缓释片 0.02g/kg、冠心平片 2.8g/kg、冠心平片 5.6g/kg、冠心平片 11.2g/kg, 用蒸馏水溶解配置灌胃给药, 10ml/kg, 每天 1 次, 连续 3 天, 末次给药后 1h, 耳缘静脉采血, 制备含药血清。采用 $100\mu\text{mol/L}$ 浓度 H_2O_2 作用于对数生长期的 VEC 建立细胞凋亡损伤模型, 建模同时用不同剂量冠心平含药血清进行干预。处理后收集细胞, 进行流式细胞术检测 VEC 的凋亡率; 采用免疫细胞化学法检测 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 相关蛋白的 x 基因(bax)与 B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因(bcl-2)蛋白的表达; 采用 PCR 检测 bax 与 bcl-2 mRNA 的相对量。 **结果** 与模型组比较, 冠心平大剂量组、冠心平中剂量组、维拉帕米组细胞凋亡率明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$); 维拉帕米组、冠心平小剂量组、冠心平中剂量组、冠心平大剂量组 bax 蛋白面密度、bax/bcl-2 平均面密度与模型组比较均显著下降($P<0.05$), bcl-2 蛋白面密度显著上升($P<0.05$ 或 $P<0.01$), 冠心平中剂量组与大剂量组细胞 bax/bcl-2 比值降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。 **结论** 冠心平含药血清可以拮抗 H_2O_2 诱导 VEC 的凋亡效应, 其机制可能与调节凋亡基因 bax、bcl-2 的表达有关。

[关键词] 冠心平; 血管内皮细胞; 凋亡; bax; bcl-2

Protective Effect of Guanxinping Tablets on the Human Vascular Endothelial Cells

LI Qiyi, ZHU Xuanxuan, YAN Shihai

(Jiangsu Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029)

ABSTRACT **Objective** To evaluate the effect of Guanxinping Tablets (Tablets for coronary heart disease) on vascular endothelial cell (VEC) apoptosis induced by hydrogen peroxide (H_2O_2) and its mechanism. **Methods** Fifteen New Zealand rabbits were randomized into normal group, Verapamil group, Guanxinping small-dose, medium-dose, and large-dose groups, with 3 in each. They were administered normal saline, Verapamil 0.02g/kg, Guanxinping 2.8g/kg, 5.6g/kg, and 11.2g/kg respectively. The medicines were melted with distilled water and given through intragastric feeding, 10ml/kg, once a day, for 3 days in succession. One hour after the last time feeding, the venous blood was obtained from the vein of ear of rabbits for preparing medicine-containing serum. The H_2O_2 at $100\mu\text{mol/L}$ in concentration was incubated in VEC in logarithmic growth phase to make the models with cell apoptosis injury. Meanwhile, Guanxinping medicine-containing serum was administered in different doses for intervention. After treatment, the cells were collected. The apoptosis rate of VEC was detected by flow cytometry. The bax and bcl-2 protein expressions were detected by immunocytochemistry. The content ratio of bax/bcl-2mRNA was detected by RT-PCR. **Results** Compared with the model group, the apoptosis rate in the Guanxinping large-dose and medium-dose group and Verapamil group was significantly lowered ($P<0.05$ or $P<0.01$), the faciodensity of bax and the averaged faciodensity of bax/bcl-2 in the Verapamil group, Guanxinping small-dose, medium-dose, and large-dose group were significantly lowered ($P<0.05$), the faciodensity of bcl-2 was significantly increased ($P<0.05$ or $P<0.01$), and the bax/bcl-2 in the Guanxinping medium-dose and large-dose groups was lowered ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion** Guanxinping medicine-containing serum can resist the VEC apoptosis induced by H_2O_2 , and its possible mechanism is related with the regulation of the expression of apoptosis genes, bax and bcl-2.

Key Words Guanxinping Tablets (Tablets for coronary heart disease); vascular endothelial cells (VEC); apoptosis; bax; bcl-2

血管内皮细胞(VEC)功能障碍在冠心病的发生发展过程中具有重要作用, 而活性氧自由基是造成其障碍的主要原因之一。过氧化氢(H_2O_2)是机体产生的活性氧, 在过氧化条件下能分解成一系列

复杂产物, 如氧自由基。氧自由基通过对生物膜中多不饱和脂肪酸的过氧化作用而引起细胞损伤, 膜结构破坏, 膜通透性增加, 导致组织损伤, 最终形成动脉粥样硬化斑块^[1]。冠心平片是江苏省中医院治

疗冠心病的有效院内制剂,对 VEC 损伤有保护作用^[2-3]。本实验采用冠心平片含药血清干预 H₂O₂ 损伤的体外培养人脐静脉 VEC 株(ECV-304),旨在探讨该药保护 VEC 损伤的作用机制。

1 材料

1.1 试剂

细胞培养基粉(DMEM)Gibco 公司提供,批号:1255136;碳酸氢钠:上海宏光化工厂,批号:050916;青霉素粉针剂:山东鲁抗医药股份有限公司,批号:B080213;链霉素粉针剂:大连美罗大药厂,批号:080707;胎牛血清:北京元亨圣马生物研究所,批号:090321;胰蛋白酶:上海伯奥生物技术有限公司,批号:080401;PBS 缓冲液:武汉博士德生物工程有限公司,批号:090521;30%过氧化氢:分析纯,上海久亿化学试剂有限公司,批号:20080910。B 细胞淋巴瘤/白血病-2 基因(bcl-2),福州迈新生物公司提供(MAB-0014);B 细胞淋巴瘤/白血病-2 相关基因的基因(bax),福州迈新生物公司提供(RAB-0092);即用型快速免疫组化 Max Vision™ 试剂盒:福州迈新生物公司提供(KIT-5030);DAB 显色试剂等均由福州迈新生物公司提供。Trizol、DNAMarker:大连 TaKaRa 公司;反转录酶 M-MLV 等逆转录试剂、Taq 酶:美国 MBI 公司;引物、探针、标准品构建委托 Invitrogen 公司合成。

1.2 仪器

CO₂ 培养箱(BB16):德国 Beraeus 公司;倒置显微镜(XDS-1B):重庆光学仪器厂;酶标分析仪:Sunrise-basic TECAN;流式细胞仪:Bection Dickinson 公司,型号:BD FACSibur;DM-1000 光学显微镜:德国 LEICA 公司产品;隔水式电热恒温培养箱:上海市跃进医疗器械一厂;Minisee 病理图像采集系统;美国 ABI ABI7500;高速冷冻离心机:德国 Eppendorf Centrifuge 5417R;紫外可见分光光度计:Eppendorf BioPhotometer;凝胶成像系统:日本 Kodak。

1.3 动物与细胞株

健康新西兰大白兔,普通级,雄性,15 只,1.8~2.2kg,由南京青龙山实验动物厂提供,合格证号:SCXK(苏)2007-0008。ECV-304 细胞株,由南京中医药大学药理教研室提供。

1.4 药物

冠心平片由黄精 30g、当归 10g、三七 10g、瓜蒌皮 10g、甘松 9g 等组成,由江苏省中医院制剂部生

产,批号:20090917。维拉帕米缓释片,江苏恒瑞医药股份有限公司,批号:20091126。

2 方法

2.1 兔血清制备^[4]

根据随机数字表法将大白兔分成正常组、维拉帕米组、冠心平小剂量组、冠心平中剂量组、冠心平大剂量组,每组 3 只,分别给予生理盐水、维拉帕米缓释片 0.02g/kg、冠心平片 2.8g/kg、冠心平片 5.6g/kg、冠心平片 11.2g/kg,用蒸馏水溶解配置灌胃,10ml/kg,每天 1 次,连续 3 天,最后 1 天连续灌胃 2 次,中间间隔 2h,末次给药后 1h,耳缘静脉采血,离心(2500r/min)30min,吸取血清,56℃、30min 灭活。经 0.22μm 滤膜抽滤除菌,分装,-20℃保存备用。

2.2 VEC 细胞株培养

细胞生长至 80% 融合,弃去旧的培养液,用 PBS 荡洗 2 次,加入 2ml 消化液,37℃温育 2min,显微镜下见细胞圆缩、间隙增大,弃去消化液,用 PBS 荡洗 1 次,加入适量 DMEM 完全培养液,吹打,使之成为单个悬浮细胞,1:2 分瓶,放入 37℃、5% CO₂ 培养箱内培养。

2.3 造模与给药^[5]

参照文献[5]造模,采用随机数字表法抽取兔血清样品,每组 5 个。①正常组,10%空白血清培养液;②模型组,10%空白血清培养液+100μmol/L H₂O₂;③维拉帕米组,10%维拉帕米血清培养液+100μmol/L H₂O₂;④冠心平小剂量组,10%小剂量冠心平血清培养液+100μmol/L H₂O₂;⑤冠心平中剂量组,10%中剂量冠心平血清培养液+100μmol/L H₂O₂;⑥冠心平大剂量组,10%大剂量冠心平血清培养液+100μmol/L H₂O₂。培养 48h 后收集样品检测。

2.4 细胞凋亡率的检测^[6]

将收集到的细胞用 4℃ 预冷的 75%乙醇固定细胞(细胞向乙醇内添加),冰盒送检。样本上机前作如下处理:①将乙醇固定的细胞离心洗涤,去上清,摇匀,调整细胞浓度为 1×10⁶ 个/ml;②取 1ml 细胞悬液加入 5μl Annexin-V/FITC (20μg/ml) 10μl 及碘化丙啶(PI, 0.5g/L) 50μl,震荡均匀,避光置冰箱 30min;③200 目尼龙网滤过,上机检测,计数 10000 个细胞,进行细胞凋亡率分析。

2.5 细胞凋亡形态的观测^[7]

弃去培养液,向培养板中加入固定液(冰醋酸、

甲醇以1:3的比例混合而成),固定细胞10min,加入0.5μg/ml的Hoechst33258荧光染料,室温下避光染色1h。荧光显微镜下观察凋亡细胞核的形态,细胞凋亡过程中细胞核染色质出现固缩状态、高度凝聚、边缘化,甚至核裂解为碎块,产生凋亡小体。计数凋亡细胞个数,每张玻片至少计数1000个细胞,细胞凋亡率用凋亡细胞数占细胞总数的百分比表示。

2.6 bax 与 bcl-2 蛋白测定

采用快速免疫组化方法,在实验过程中加空白对照(以PBS代替各种一抗)以监测抗体特性。主要染色过程如下:①细胞爬片用PBS冲洗3次,然后入冷丙酮固定10min,PBS(0.01mol/L,pH7.4)冲洗2min,共3次。②正常山羊血清封闭,室温孵育10min。倾去血清,勿洗,滴加1:50~1:100比例稀释的一抗,37℃孵育1h。③PBS冲洗2min,共3次。④滴加即用型快速免疫组化MaxVisionTM二抗,37℃或室温孵育10~15min。⑤PBS冲洗2min,共3次。⑥滴加新鲜配制的显色剂(DAB)3~5min,显微镜下观察。⑦自来水充分冲洗,苏木素复染,自来水冲洗返蓝。⑧梯度酒精脱水、二甲苯透明,中性树胶封片。

结果判定:免疫阳性产物为棕黄色,以PBS代替一抗染色,作为阴性对照。用图像分析系统对染色强度进行半定量分析。每张切片随机抽取5个400倍视野,以μm为单位,选择合适的门限分割值,测定阳性细胞的面密度(Sv:目标面积/统计场面积),计算其均值,再求出每组标本的平均面密度。

2.7 bax/bcl-2 mRNA 水平测定^[8]

收集细胞,用PBS洗涤。置于液氮中速冻,加入500μl TRizol,摇匀至消化;加入200μl 氯仿萃取,摇匀15s,室温放置2min,4℃,13000r/min离心15min;取上清转管,加入500μl 预冷的异丙醇,颠倒混匀,室温放置3min,4℃,13000r/min离心10min;

弃上清,加入1ml预冷的75%DEPC处理过的乙醇洗涤RNA,4℃,7500r/min离心15min;弃上清,2000r/min离心30s,吸弃残留液体;空气干燥10min,加入20μl DEPC-H₂O溶解;紫外分光光度计260nm和280nm处测定RNA的浓度及纯度,所有RNA的A₂₆₀/A₂₈₀在1.8~2.0之间。

2.8 统计学方法

采用SPSS 15.0统计软件进行数据处理,计量资料用($\bar{x}\pm s$)表示,采用单因素方差分析。

3 结果

3.1 各组 VEC 凋亡率比较

表1示,与正常组比较,模型组细胞凋亡率明显上升,差异有统计学意义($P<0.01$);与模型组比较冠心平大剂量组、冠心平中剂量组、维拉帕米组细胞凋亡率明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。提示H₂O₂可使VEC凋亡率增加,而冠心平可使增加的凋亡率下降,保护细胞状态的稳定。

表1 各组 VEC 凋亡率比较(%, $\bar{x}\pm s$)

组别	剂量	样本数	凋亡率
正常组	生理盐水	5	4.65±0.26
模型组	—	5	9.00±1.18*
维拉帕米组	0.02g/kg	5	6.00±0.18△△
冠心平小剂量组	2.8g/kg	5	8.00±0.14
冠心平中剂量组	5.6g/kg	5	6.83±0.51△
冠心平大剂量组	11.2g/kg	5	5.30±0.08△△

注:与正常组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$

3.2 各组 VEC 凋亡过程中 bax、bcl-2 蛋白表达比较

表2示,与正常组比较,模型组bax蛋白面密度、bax/bcl-2平均面密度显著上升,bcl-2蛋白面密度显著下降,差异均有统计学意义($P<0.01$)。与模型组比较,维拉帕米组、冠心平小剂量组、冠心平中剂量组、冠心平大剂量组bax蛋白面密度,bax/bcl-2平均面密度均显著下降($P<0.05$),bcl-2蛋白面密度显著上升($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。

表2 各组 VEC 凋亡过程中 bax、bcl-2 蛋白表达比较($\bar{x}\pm s$)

组别	剂量	样本数	bax 蛋白面密度(%)	bcl-2 蛋白面密度(%)	bax/bcl-2 平均面密度
正常组	生理盐水	5	4.58±0.93	20.91±1.27	0.22±0.04
模型组	—	5	20.13±1.54*	9.94±0.0.79*	2.03±0.03*
维拉帕米组	0.02g/kg	5	12.60±0.66△△	18.37±1.89△△	0.69±0.11△△
冠心平小剂量组	2.8g/kg	5	14.99±1.03△△	12.97±1.54△	1.16±0.11△△
冠心平中剂量组	5.6g/kg	5	11.01±1.59△△	15.19±0.59△△	0.73±0.11△△
冠心平大剂量组	11.2g/kg	5	9.64±0.15△△	19.29±1.64△△	0.50±0.04△△

注:与正常组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$

表3 各组 VEC 凋亡过程中 bax/bcl-2 mRNA 比较($\bar{x} \pm s$)

组别	剂量	样本数	bax/GAPDH	bcl-2/GAPDH	bax/bcl-2
正常组	生理盐水	5	0.3420 $\pm$ 0.0386	1.2062 $\pm$ 0.1486	0.2840 $\pm$ 0.0112
模型组	——	5	0.8865 $\pm$ 0.0540*	0.4580 $\pm$ 0.0763*	1.9620 $\pm$ 0.2140*
维拉帕米组	0.02g/kg	5	0.4168 $\pm$ 0.0594 $\triangle\triangle$	0.7885 $\pm$ 0.0947 $\triangle\triangle$	0.5351 $\pm$ 0.1096 $\triangle\triangle$
冠心平小剂量组	2.8g/kg	5	0.7879 $\pm$ 0.0572 $\triangle$	0.4781 $\pm$ 0.0694	1.6728 $\pm$ 0.2406
冠心平中剂量组	5.6g/kg	5	0.7292 $\pm$ 0.0752 $\triangle\triangle$	0.8297 $\pm$ 0.0491 $\triangle\triangle$	0.8801 $\pm$ 0.0875 $\triangle\triangle$
冠心平大剂量组	11.2g/kg	5	0.4971 $\pm$ 0.0720 $\triangle\triangle$	0.9639 $\pm$ 0.0872 $\triangle\triangle$	0.5180 $\pm$ 0.0749 $\triangle\triangle$

注:与正常组比较,* $P<0.01$;与模型组比较, $\triangle P<0.05$, $\triangle\triangle P<0.01$

3.3 各组 VEC 凋亡过程中 bax/bcl-2 mRNA 比较

表3示,与正常组比较,模型组细胞 bax mRNA 的拷贝数显著增加,Bcl-2 mRNA 的拷贝数显著下降,bax mRNA/bcl-2 mRNA 比值明显升高($P<0.01$)。与模型组比较,冠心平中剂量组与大剂量组细胞 bax/bcl-2 比值明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。提示冠心平片从基因水平上调调控凋亡相关基因,降低细胞凋亡,从而保护血管内皮细胞。

4 讨论

VEC 是覆盖于血管内表面的单层细胞,直接与血液各种成分相接触,具有多种重要的生物学功能,如减少血管通透性、调节血管平滑肌功能、合成与分泌细胞因子等。正常情况下,VEC 依靠其增殖和凋亡平衡维持着其数量的稳定和正常的血管功能,并对防止动脉粥样硬化(AS)的发生具有重要意义^[9]。研究证实细胞凋亡也是 AS 病变的主要特征^[10]。心血管疾病状态下,机体产生大量活性氧,它们具有明显的细胞毒性,可以使 VEC 变性、坏死和脱落,并且能诱导 VEC 的凋亡^[11]。

冠心平片是我院根据中医理论,按君臣佐使组方原则,选用黄精、当归、三七、瓜蒌皮、甘松组成,具有益气养阴、活血祛瘀、化痰通络、行气止痛功效。本方源自古方当归补血汤(《兰室秘藏》)加减。方中黄精易黄芪既保留其益气功能,又能滋阴养液,为君药;当归养血活血,补中有行,补而不滞;三七活血化痰通脉,两味共为臣药;瓜蒌皮宽胸化痰,开痹散结,为佐药;甘松理气止痛,与三七同入心经,可治“卒心腹痛满”,同为使药。全方药物性味平和,攻补兼施,标本兼顾,补而不滞,攻而不峻,药有侧重。

本研究以 ECV-304 细胞为研究对象,观察 H₂O₂ 对 VEC 凋亡的影响及冠心平的干预作用。Hoechst 33258 染色显示模型组细胞核染色质出现固缩状态,高度凝聚、边缘化,甚至核裂解为碎块,产生凋亡小体。而冠心平片能明显改善细胞凋亡现

象,降低凋亡率。流式细胞术检测也显示模型组细胞凋亡率明显上升,与正常组细胞比较差异具有统计学意义。冠心平大剂量组、中剂量组细胞凋亡率明显降低,与模型组比较差异具有统计学意义。

细胞凋亡是一系列基因活动引起的级联反应的结果,由诱导基因和抑制基因共同调控。其中 bcl-2 基因是最重要的抗凋亡基因,能抑制多种因子激发的细胞凋亡,bcl-2 蛋白的功能可被结合蛋白所改变,bax 是同一细胞内 bcl-2 的同源基因,二者作用相互拮抗,bax 蛋白可与 bcl-2 蛋白结合形成异二聚体并使之失活,加强 bax 的表达直接影响凋亡信号刺激后细胞存活或凋亡的比率,是决定细胞凋亡的关键因素^[5,12]。本研究显示,模型组 bcl-2 mRNA 表达下调而 bax mRNA 表达上调,VEC 增殖被明显抑制而其凋亡增加。冠心平片含药血清能不同程度地使模型细胞凋亡率降低、bcl-2 mRNA 表达上调、bax mRNA 表达下调,使得 VEC 存活率明显提高。提示冠心平片可不同程度地拮抗细胞氧化损伤,提高细胞生长活力并抑制其凋亡,发挥对 VEC 的保护作用。冠心平片治疗冠心病的机理之一可能是通过调节 bcl-2 与 bax 基因的表达,阻止 VEC 凋亡的作用实现的。

参考文献

- [1] Kunitomo M. Oxidative stress and atherosclerosis [J]. Yakugaku Zasshi, 2007, 127(12): 1997—2014.
- [2] 李七一, 张洪兵. 冠心平治疗冠心病心绞痛 56 例分析 [J]. 中医药学刊, 2003, 21(10): 1752—1753.
- [3] 王令淳, 李七一. 中西医结合治疗急性心肌梗死 20 例临床研究 [J]. 江苏中医药, 2009, 41(12): 21—22.
- [4] 姜华, 张艳, 王辰. 益气活血复方含药血清对人脐静脉内皮细胞 TLR4 及其下游髓样分化因子 88、肿瘤坏死因子受体相关因子-6 表达的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2010, 30(5): 519—522.

种失常的气化状态损伤脑络成为痴呆发生的根源。老年呆病从肾、从心、从肝、从胆、从腑实、从痰、从瘀、从浊毒论治等诸多观点,都是对三焦整体气化失常当中某一发病环节的个别侧重,因此,三焦气化失常是痴呆的根本机制。

韩景献教授总结多年临床经验和衰老相关疾病基础研究,认为痴呆其根本在于三焦气化功能失常,因此确立了“益气调血,扶本培元”针法及组穴。三焦是气血精微化生之源、运行之通道、储存之所,三焦气化功能正常,气血津液化生有源及升降出入的路径通畅,机体得以濡养,才能维持机体正常的生理功能。三焦气化功能失常,气血津液等精微物质难以充养脑脉,而致痴呆的发生。

目前实验研究已将对脑血流和局部脑血流量的参数作为评价脑循环储备能力的参考指标^[4],低血流量可使同侧脑半球脑血流降低,导致供血能力降低^[5]。对氧的利用效率而言,氧在脑循环被传输能力比氧的释放能力更加重要,而氧的传输能力取决于脑血流的速度和含氧量^[6]。脑血流量已经被作为实验动物和临床患者功能性缺损的一项血液动力学指标。而本实验发现,MID模型大鼠皮层CBF量明显降低,导致脑循环储备能力降低,脑组织对血液内葡萄糖和氧的利用率均降低,脑线粒体氧化磷酸化电子传递障碍,氧化磷酸化能量生成降低,从而导致痴呆的发生。本实验结果提示,针刺组CBF增加,说明针刺能增加MID模型大鼠皮层CBF量,提高脑循环储备能力,提高脑组织对血液内葡萄糖和

氧的利用,有利于脑组织内糖、氧等能源的补给,提高脑线粒体氧化磷酸化电子传递,提高氧化磷酸化能量生成,从而抑制痴呆的发生和发展。针刺对脑组织损伤的保护具有重要意义,针刺非穴不能增加MID模型大鼠CBF量,说明了该针法及组穴具有特异性。

参考文献

- [1] Román GC. Vascular dementia may be the most common form of dementia in the elderly[J]. J Neurol Sci, 2002, 203—204:7—10.
- [2] Kaneko D, Nakamura N, Ogawa T. Cerebral infarction in rats using homologous blood emboli: development of a new experimental model[J]. Stroke, 1985, 16(1):76—84.
- [3] 陈俊抛, 田时雨, 于薇薇, 等. 多发性脑梗死痴呆动物模型的研究[J]. 中华神经精神科杂志, 1994, 27(5):311—312.
- [4] Sabatini U, Celsis P, Viallard G, et al. Quantitative assessment of cerebral blood volume by single-photon emission computed tomography[J]. Stroke, 1991, 22(3):324—330.
- [5] Kempinski O, Seiwert T, Otsuka H, et al. Modelling of the ischemic penumbra[J]. Acta Neurochir Suppl, 1999, 73:41—44.
- [6] Kim GJ, Fiskum GM, Morgan WF. A role for mitochondrial dysfunction in perpetuating radiation-induced genomic instability[J]. Cancer Res, 2006, 66(21):10377—10383.

(收稿日期:2011—02—10;修回日期:2011—06—22)

[编辑:崔京艳]

(上接第1774页)

- [5] Xu G, Gong Z, Yu W, et al. Increased expression ratio of Bcl-2/Bax is associated with crocin-mediated apoptosis in bovine aortic endothelial cells[J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2007, 100(1):31—35.
- [6] 吕艳艳, 吕晓东, 王乐亭, 等. 中药对过氧化氢诱导人脐静脉内皮细胞株损伤的作用影响[J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(3):549—550.
- [7] Obst B, Wagner S, Sewing KF, et al. Helicobacter pylori causes DNA damage in gastric epithelial cells[J]. Carcinogenesis, 2000, 21(6):1111—1115.
- [8] 姚领爱, 金国琴, 柯晓飞, 等. 益气聪明汤及其拆方对氧化型低密度脂蛋白损伤血管内皮细胞的保护作用[J]. 中药药理与临床, 2009, 25(6):3—6.
- [9] Skowasch D, Jabs A, Andrie R, et al. Pathogen burden, inflammation, proliferation and apoptosis in human in-

stent restenosis. Tissue characteristics compared to primary atherosclerosis[J]. J Vasc Res, 2004, 41(6):525—534.

- [10] Choy JC, Granville DJ, Hunt DW, et al. Endothelial cell apoptosis: biochemical characteristics and potential implications for atherosclerosis[J]. J Mol Cell Cardiol, 2001, 33(9):1673—1690.
- [11] 李立平, 韦瑛, 蔡捷, 等. 过氧化氢诱导血管内皮细胞凋亡与Caspase-3表达的实验研究[J]. 陕西医学杂志, 2008, 37(8):960—961.
- [12] Lee YJ, Kang IJ, Bünger R, et al. Mechanisms of pyruvate inhibition of oxidant-induced apoptosis in human endothelial cells[J]. Microvasc Res, 2003, 66(2):91—101.

(C)1994-2021 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net (收稿日期:2011—02—10;修回日期:2011—06—22)

[编辑:侯建春]