

• 实验研究 •

柚皮苷对 H₂O₂ 诱导 H9c2 心肌细胞损伤保护作用*孟娜娜¹, 李厚忠², 温以杰¹, 刘洁婷¹, 左魁阳¹, 李鲁新¹, 金秀东^{1,3}, 张羽飞^{1,3}

【摘要】目的 探讨柚皮苷对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡的保护作用及机制。方法 体外培养 H9c2 心肌细胞, 用 H₂O₂ 诱导建立细胞凋亡模型。实验设对照组、模型组、柚皮苷低、中、高剂量组 (10、20、40 μmol/L), 噻唑蓝法检测细胞活力并用显微镜观察各组细胞形态; 原位末端标记法检测 H9c2 心肌细胞凋亡情况; RT-PCR 及 Western blot 法检测凋亡相关因子 Bcl-2、Bax、caspase-3 mRNA 及蛋白表达。结果 与对照组比较, 模型组细胞凋亡率[(17.2 ± 2.1)%]明显升高 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 10、20、40 μmol/L 柚皮苷组细胞凋亡率[分别为 (10.7 ± 1.9)%、(5.7 ± 1.2)%、(6.4 ± 1.5)%]均下降 (均 $P < 0.05$)。与对照组比较, 模型组 H9c2 心肌细胞 Bcl-2 蛋白表达水平 (0.76 ± 0.16) 明显下调, Bax、caspase-3 蛋白表达水平[分别为 (5.42 ± 0.52)、(1.09 ± 0.11)]均上调 (均 $P < 0.01$); 与模型组比较, 10、20、40 μmol/L 柚皮苷组 H9c2 心肌细胞 Bcl-2 蛋白表达水平[分别为 (1.37 ± 0.11)、(1.65 ± 0.09)、(1.65 ± 0.15)]均上调, Bax、caspase-3 蛋白表达水平[分别为 (2.78 ± 0.55)、(3.43 ± 0.15)、(2.69 ± 0.26) 和 (0.59 ± 0.08)、(0.77 ± 0.06)、(0.82 ± 0.05)]均下调 (均 $P < 0.05$)。结论 柚皮苷对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 心肌细胞损伤具有一定保护作用, 其机制可能与其对凋亡信号途径的抑制作用有关。

【关键词】柚皮苷; H₂O₂; H9c2 心肌细胞; 凋亡

中图分类号: R 994.2 文献标志码: A 文章编号: 1001-0580(2018)03-0377-04 DOI: 10.11847/zgggws1116975

Protective effect of naringin on H9c2 myocardial cell injury induced by H₂O₂

MENG Na-na*, LI Hou-zhong, WEN Yi-jie, et al (*Heilongjiang Province Key Laboratory of Anti-fibrosis Biotherapy, Mudanjiang Medical University, Mudanjiang, Heilongjiang Province 157011, China)

【Abstract】Objective To examine the protective effect and mechanism of naringin on H₂O₂-induced apoptosis of H9c2 myocardial cells. Methods H9c2 myocardial cells were cultured *in vitro* and a H9c2 myocardial cell apoptosis model was induced with hydrogen peroxide (H₂O₂). Five H9c2 myocardial cell groups were established: a control, model, low-, moderate-, and high-dose (10, 20, and 40 μmol/L) naringin pretreatment group. Cell viability was detected with 3-(4, 5-dimethyl-2-thiazolyl)-2, 5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide (MTT) assay and cell morphology was observed with microscope. The apoptosis of H9c2 myocardial cells was detected with terminal-deoxynucleotidyl transferase mediated nick end labeling (TUNEL) method. The expressions of B cell lymphoma 2 (Bcl-2), BCL2-associated X protein (Bax), caspase-3 mRNA and protein were detected with real-time reverse transcription PCR (RT-PCR) and Western blot. Results Compared with that of the control group, the apoptotic rate (17.2 ± 2.0%) of the model group was significantly higher ($P < 0.01$); compared with that the model group, the apoptotic rate of low-, moderate-, and high-dose naringin pretreatment group were significantly decreased (10.7 ± 1.9%, 5.7 ± 1.2%, and 6.4 ± 1.5%) (all $P < 0.05$). The Bcl-2 protein expression (0.76 ± 0.16) in H9c2 cardiomyocytes of the model group was significantly lower and the protein expressions of Bax and caspase-3 were significantly increased compared to those of the control group (all $P < 0.01$). The protein expressions of Bcl-2 (1.37 ± 0.11, 1.65 ± 0.09, and 1.65 ± 0.15) in H9c2 myocardial cells of low-, moderate-, and high-dose naringin pretreatment group were significantly increased; while those of Bax (2.78 ± 0.55, 3.43 ± 0.15, and 2.69 ± 0.26) and caspase-3 (0.59 ± 0.08, 0.77 ± 0.06, and 0.82 ± 0.05) were significantly decreased compared to those of the control group (all $P < 0.05$). Conclusion Naringin could inhibit apoptosis of H9c2 myocardial cells induced by H₂O₂, which may be related to its inhibitory effect on the apoptotic signaling pathway.

【Key words】naringin; hydrogen peroxide; H9c2 myocardial cell; apoptosis

心血管疾病已经成为影响人类健康的第 1 位疾病, 据统计, 在中国人群中心血管疾病的危险因素更为普遍, 心血管疾病的发病率和死亡率在未来

10 年仍将呈上升趋势, 占死亡人数的 > 40 %^[1]。心血管疾病发病机制复杂, 而心肌细胞凋亡导致的心肌细胞损伤是多种心血管疾病发生的共同病理

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目 (81573216); 牡丹江医学院研究生创新科研项目 (2016YJSCX-23MY; 2017YJSCX-22MY)

作者单位: 1. 牡丹江医学院 黑龙江省抗纤维化生物治疗重点实验室, 黑龙江 牡丹江 157011; 2. 牡丹江医学院药学院药理教研室; 3. 黑龙江省中医药大学基础医学院生理教研室

作者简介: 孟娜娜 (1991 -), 女, 黑龙江双鸭山人, 硕士在读, 研究方向: 糖尿病并发症。

通信作者: 金秀东, E-mail: mdjinxudong@126.com; 张羽飞, E-mail: yufeizhang@foxmail.com

数字出版日期: 2018 - 02 - 12 10:31

数字出版地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/21.1234.R.20180212.1031.016.html>

生理机制^[2]。因此,抑制心肌细胞凋亡对于改善心脏功能和减轻心脏损伤极其重要。柚皮苷(naringin)存在于成熟或近成熟的果实及果皮中,属于一种活性黄酮苷衍生物^[3],是中草药骨碎补、枳壳的主要有效成分^[4],具有多种药理活性,如降血脂^[3]、抗炎^[5]、抗氧化^[6]、心脏保护^[7-10]等。 H_2O_2 是活性氧当中的一种,被认为是经典心肌细胞损伤模型药物^[11]。采用 H_2O_2 建立损伤模型探讨心血管疾病的研究较多^[12],但柚皮苷对 H_2O_2 诱导的心脏损伤的保护作用研究较少。本研究拟探讨柚皮苷对 H_2O_2 诱导的H9c2心肌细胞损伤的保护作用及机制,旨在为柚皮苷临床治疗心血管疾病提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器 H9c2细胞株来源于大鼠胚胎期心脏组织(赛百慷生物科技股份有限公司);柚皮苷(美国Sigma公司);30% H_2O_2 (天津市天力化学试剂有限公司);胎牛血清(德国PAN公司);DMEM-F12培养基(美国Hyclone公司);胰酶(美国Gibco公司);噻唑蓝[3-(4,5-dimethyl-2-thiazolyl)-2,5-diphenyl-2-H-tetrazolium bromide, MTT]粉末(北京中生瑞泰科技有限公司);RNA提取试剂盒(美国Omega公司);逆转录试剂盒(美国Roche公司);B细胞淋巴瘤/白血病-2(B cell lymphoma 2, Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bcl-2-associated X protein, Bax)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶-3(caspase-3)、甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)兔多克隆抗体(美国Cell Signaling公司)。CO₂细胞培养箱(上海力申科学仪器有限公司);生物显微镜(日本Olympus公司);酶标仪(美国Molecular Devices公司);NanoDrop 2000(美国Thermo公司);低温高速离心机(美国Sigma公司);凝胶成像系统(美国BioRad公司)。

1.2 H9c2心肌细胞培养与处理 细胞常规培养于含有DMEM-F12、10%胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)及双抗的混合液体中,置于25 cm²的培养瓶中,在温度为37℃,含5% CO₂的细胞培养箱中进行培养,当细胞密度达80%~90%时,进行传代培养。选择生长状态良好的对数期细胞,以每孔 8×10^3 个细胞接种于96孔培养板中,贴壁12 h后,将 H_2O_2 依次稀释至终浓度为0、50、100、200、400、800 $\mu\text{mol/L}$ 后再作用12 h,加入终浓度为0.5 mg/mL MTT,37℃孵育4 h,加入150 μL 二甲基亚砜,震荡10 min,用酶标仪570 nm处测各孔吸光度(A)值,检测各组细胞存活率。各组设置6个复孔。

1.3 指标与方法

1.3.1 H9c2心肌细胞存活率测定 采用MTT法,将细胞接种于96孔培养板中,实验设对照组、模型组、柚皮苷低、中、高剂量组(10、20、40 $\mu\text{mol/L}$),用柚皮苷分别预处理2、4、8、12 h,再加入 H_2O_2 处理12 h;计算细胞存活率。

1.3.2 H9c2心肌细胞凋亡率测定 采用原位末端标记法(terminal-deoxynucleotidyl transferase mediated nick end labeling, TUNEL),实验按照1.3.1分组与处理,处理后弃液,用磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered saline, PBS)洗涤1次,4%多聚甲醛固定细胞30 min后,用PBS洗涤1次,加入含0.3% TritonX-100的PBS,室温孵育5 min,再加入TUNEL检测液,37℃避光孵育60 min,再用PBS洗涤3次,用抗荧光淬灭封片液封片,每组选择4个视野($\times 200$)在荧光显微镜下计数凋亡细胞和总细胞数,细胞凋亡率=凋亡细胞总数/总细胞数 $\times 100\%$ 。

1.3.3 H9c2心肌细胞中凋亡相关基因表达检测 采用RT-PCR法,实验分组与处理同1.3.1,提取待测的细胞并用PBS清洗提取RNA,用NanoDrop2000测RNA浓度,用逆转录试剂盒将其逆转录为cDNA,稀释10倍,PCR反应体系:2x SYBR green master mix 10 μL 、上下游引物各1 μL 、cDNA 2 μL 、ddH₂O 6 μL ,总体积20 μL ,反应条件:95℃预变性30 s,95℃变性15 s,60℃退火1 min,72℃延伸45 s,共40个循环。引物序列如下:Bcl-2上游为5'-AGCGTCAACAGGGAGATGTC-3',下游为5'-TATGCACCCAGAGTGATGCA-3',扩增片段长度为224 bp;Bax上游为5'-AGACACCTGAGCTGACCTTGGAG-3',下游为5'-GTTGAAGTTGCCATCAGCAAACA-3',扩增片段长度为196 bp;caspase-3上游为5'-GGAGCTTGGAACGCGAAGA-3',下游为5'-ACACAAGCCCATTTCAGGGT-3',扩增片段长度为169 bp;核糖体蛋白小亚基16(ribosomal protein S16, RPS16)上游为5'-AAGTCTTCGGACGCAAGAAA-3',下游为5'-TGCCCAGAAGCAGAACAG-3',扩增片段长度为147 bp。

1.3.4 H9c2心肌细胞中凋亡相关蛋白表达检测 采用Western blot法,实验分组与处理同1.3.1,提取待测细胞,用PBS清洗,用含有苯甲基磺酰氟细胞裂解液冰上裂解细胞30 min,4℃、12 000 r/min离心15 min后,吸取上清,二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量试剂盒测定蛋白浓度。将提取的蛋白加入上样缓冲液,开水煮沸变性10 min,冰上冷却10 min,离心。上样量为60 μg ,在十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(sodium dodecyl-polyacryl gradient gel electrophoresis, SDS-PAGE)中电泳(80 V),30 min后,电压转变为120 V。在150 mA电流下转膜,5%

牛血清蛋白 (bovine serum albumin, BSA) 封闭 1 h, Bcl-2、Bax、caspase-3 (1 : 1 000 稀释), 4 ℃ 过夜, 用含 0.1 % 吐温的 Tris 缓冲生理盐水 (Tris buffered saline/0.05 % Tween-20, TBST) 洗涤 3 次, 每次 10 min, 二抗 (1 : 10 000 稀释) 1 h 后再用 TBST 洗膜, 用显色剂显影后, 照相并用 Image J 软件进行灰度值分析。

1.4 统计分析 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用 Graphpad Prism 5.0 软件进行统计分析, 组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用最小显著差法检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 H₂O₂ 诱导 H9c2 心肌细胞损伤模型建立 终浓度分别为 0、50、100、200、400、800 μmol/L 的 H₂O₂ 处理 H9c2 细胞 12 h 时, 细胞活力分别为 100 %、(78.8 ± 8.6) %、(64.5 ± 6.9) %、(50 ± 5.8) %、(43.8 ± 3.0) %、(34.1 ± 7.2) %; 不同浓度 H₂O₂ 处理组之间细胞活力差异有统计学意义 ($P < 0.01$)。当 H₂O₂ 浓度达到 200 μmol/L 时, 细胞活力降至 50 % 左右, 故本研究后续实验中选用 200 μmol/L 作为造模浓度。

2.2 柚皮苷对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 心肌细胞存活率影响 (表 1) 用柚皮苷分别预处理 2、4、8、12 h, 再加入 H₂O₂ 处理 12 h 后, 结果显示, 柚皮苷预处理 4 h 时, 对 H₂O₂ 所诱导的损伤有明显保护作用 ($P < 0.01$); 因此, 最终采用柚皮苷处理 4 h 及 H₂O₂ 处理 12 h 进行后续实验。

表 1 柚皮苷对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 心肌细胞存活率影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别(μmol/L)	预处理时间(h)			
	2	4	8	12
对照组	100	100	100	100
模型组	41.4 ± 7.7 ^a	42.1 ± 6.0 ^a	42.1 ± 3.6 ^a	49.1 ± 6.6 ^a
柚皮苷组 10	79.5 ± 6.0 ^b	109.7 ± 1.5 ^b	83.7 ± 5.1 ^b	95.9 ± 3.6 ^b
20	85.2 ± 9.3 ^b	111.7 ± 6.4 ^b	90.0 ± 4.8 ^b	112.7 ± 3.4 ^b
40	65.7 ± 3.9 ^b	84.3 ± 7.8 ^b	74.8 ± 5.0 ^b	93.1 ± 5.9 ^b

注: 与对照组比较, $a P < 0.01$; 与模型组比较, $b P < 0.01$ 。

2.3 柚皮苷对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡影响 结果显示, 对照组、模型组、10、20、40 μmol/L 柚皮苷组细胞凋亡率分别为 (2.9 ± 0.3) %、(17.2 ± 2.1) %、(10.7 ± 1.9) %、(5.7 ± 1.2) %、(6.4 ± 1.5) %; 与对照组比较, 模型组细胞凋亡率明显升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 各剂量柚皮苷组细胞凋亡率均下降, 差异均有统计学意义 (均 $P < 0.05$)。

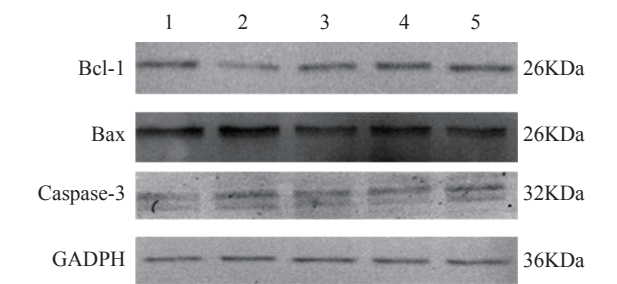
2.4 柚皮苷对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡相关基因表达影响 (表 2) 与对照组比较, 模型组 H9c2 细胞中 Bax、caspase-3 mRNA 表达均升高 (均 $P < 0.05$), Bcl-2 mRNA 表达明显下降 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 10、20、40 μmol/L 柚皮苷组 H9c2 细胞中 Bax mRNA 表达均下降 (均 $P < 0.05$), Bcl-2 表达明显升高 ($P < 0.01$); 其中以 20 μmol/L 柚皮苷组效果最明显。

表 2 柚皮苷对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡相关基因表达影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别(μmol/L)	Bcl-2	Bax	Caspase-3
对照组	32.2 ± 3.52	0.22 ± 0.02	244.3 ± 27.8
模型组	21.9 ± 2.72 ^b	0.31 ± 0.03 ^b	300.8 ± 24.0 ^a
柚皮苷组 10	32.6 ± 1.86 ^d	0.23 ± 0.01 ^d	259.0 ± 14.6
20	34.6 ± 2.07 ^d	0.21 ± 0.01 ^d	235.4 ± 16.9 ^c
40	30.1 ± 2.45 ^d	0.26 ± 0.01 ^c	290.5 ± 20.1

注: 与对照组比较, $a P < 0.05, b P < 0.01$; 与模型组比较, $c P < 0.05, d P < 0.01$ 。

2.5 柚皮苷对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡相关蛋白表达影响 (图 1、表 3) 与对照组比较, 模型组 H9c2 细胞中 Bax、caspase-3 蛋白表达均升高 (均 $P < 0.01$), Bcl-2 蛋白表达明显下降 ($P < 0.01$); 与模型组比较, 10、20、40 μmol/L 柚皮苷组 H9c2 细胞中 Bax、caspase-3 蛋白表达均下降 (均 $P < 0.05$), Bcl-2 表达明显升高 ($P < 0.01$)。



注: 1: 对照组; 2: 模型组; 3~5: 柚皮苷 10、20、40 μmol/L 组。
图 1 柚皮苷对 H9c2 心肌细胞凋亡相关蛋白表达影响

表 3 柚皮苷对 H9c2 心肌细胞凋亡相关蛋白表达影响 ($\bar{x} \pm s, n = 6$)

组别(μmol/L)	Bcl-2	Bax	caspase-3	Bax/Bcl-2
对照组	1.82 ± 0.07	3.76 ± 0.31	0.72 ± 0.08	0.45 ± 0.05
模型组	0.76 ± 0.16 ^b	5.42 ± 0.52 ^b	1.09 ± 0.11 ^b	0.31 ± 0.02 ^a
柚皮苷组 10	1.37 ± 0.11 ^d	2.78 ± 0.55 ^d	0.59 ± 0.08 ^d	0.50 ± 0.07 ^c
20	1.65 ± 0.09 ^d	3.43 ± 0.15 ^d	0.77 ± 0.06 ^c	0.48 ± 0.01 ^c
40	1.65 ± 0.15 ^d	2.69 ± 0.26 ^d	0.82 ± 0.05 ^c	0.56 ± 0.03 ^d

注: 与对照组比较, $a P < 0.05, b P < 0.01$; 与模型组比较, $c P < 0.05, d P < 0.01$ 。

3 讨论

心血管疾病是全球发病和死亡的主要原因,且发生率和病死率逐渐增加,严重危害人类健康。心血管疾病发病机制非常复杂,细胞凋亡是其重要的促进因子,越来越多证据表明,细胞凋亡是心血管疾病心肌损伤发病机制中的主要危险因素。研究表明抗氧化剂能保护 H9c2 心肌细胞免受过氧化氢所导致的破坏^[13]。中药有效成分柚皮苷是一种来源于芸香科柑橘属植物柚的成熟或者近成熟的干燥果皮中提取的淡黄色天然双氢黄酮类化合物^[14],对糖脂代谢调节、抗炎、抗氧化应激等方面具有明显作用。

在正常情况下,活性氧(reactive oxygen species, ROS)是涉及多种细胞信号传导的重要信使,在各种 ROS 中, H₂O₂ 在心肌细胞中占有重要地位,其水平由抗氧化剂调控。H₂O₂ 在细胞内和细胞之间容易扩散,其大量的积累是引发凋亡的关键致病机制^[15]。本研究结果显示,当 H₂O₂ 浓度在 200 μmol/L 时, H9c2 心肌细胞活力下降至 50% 左右,故选此浓度作为诱导损伤剂量;与模型组比较,柚皮苷组 H9c2 心肌细胞凋亡率下降。提示,柚皮苷可以减轻细胞的损伤,对 H₂O₂ 所致细胞损伤具有一定保护作用。

细胞凋亡信号通路受 Bcl-2 蛋白家族调控, Bcl-2 蛋白家族包括 Bcl-2(Bcl-xL、 Bcl-w 等)抗凋亡家族、 Bax(Bax、 Bak 等)和 BH3(Bad、 Bid 等)促凋亡家族^[16]。细胞凋亡的发生取决于这三者之间的平衡。在细胞受刺激时, BH3 蛋白使 Bcl-2 蛋白失活,导致 Bax 样蛋白活化,而活化的 Bax 样蛋白透过外线粒体膜,引发细胞色素 C 释放从而激活细胞凋亡的内在途径^[17]。此外,细胞凋亡调控还与 Bcl-2 与 Bax 比值密切相关,比值越小细胞凋亡越严重。Caspase-3 为 Bcl-2 的下游调控蛋白,是引起凋亡的始发因子, Bcl-2 低表达可有效激活 caspase-3, 导致细胞凋亡发生^[18]。本研究结果显示,经 H₂O₂ 诱导后, H9c2 心肌细胞中促凋亡因子 Bax、 caspase-3 mRNA 及蛋白表达明显升高,抑凋亡因子 Bcl-2 mRNA 及蛋白表达明显下降, Bcl-2/Bax 的比值下降;而经柚皮苷干预后,与模型组比较,柚皮苷组促凋亡因子 Bax、 caspase-3 基因及蛋白表达明显下降,抑制凋亡因子 Bcl-2 表达明显升高, Bcl-2/Bax 比值明显升高。

综上所述,柚皮苷对 H₂O₂ 诱导的 H9c2 心肌细胞损伤具有一定保护作用,其机制可能与柚皮苷调节心肌细胞凋亡相关基因及蛋白的表达有关。

参考文献

- [1] Chen WW, Gao RL, Liu LS, et al. Outline of the report on cardiovascular diseases in China, 2014[J]. Eur Heart J Suppl, 2016, 18(Suppl F): F2.
- [2] Sun Y, Su Q, Li L, et al. MiR-486 regulates cardiomyocyte apoptosis by p53-mediated BCL-2 associated mitochondrial apoptotic pathway[J]. BMC Cardiovasc Disord, 2017, 17(1): 119.
- [3] Alam MA, Subhan N, Rahman MM, et al. Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action[J]. Adv Nutr, 2014, 5(4): 404–417.
- [4] 孟娜娜, 白里雪, 李鑫鑫, 等. 柚皮苷对糖尿病及其并发症作用机制的研究进展[J]. 药物评价研究, 2017, 40(4): 560–565.
- [5] Gopinath K, Sudhandiran G. Naringin modulates oxidative stress and inflammation in 3-nitropropionic acid-induced neurodegeneration through the activation of nuclear factor-erythroid 2-related factor-2 signalling pathway[J]. Neuroscience, 2012, 227(1): 134–143.
- [6] Chen J, Guo R, Yan H, et al. Naringin inhibits ROS-activated MAPK pathway in high glucose-induced injuries in H9c2 cardiac cells[J]. Basic Clin Pharmacol Toxicol, 2014, 114(4): 293–304.
- [7] Rajadurai M, Prince PSM. Naringin ameliorates mitochondrial lipid peroxides, antioxidants and lipids in isoproterenol-induced myocardial infarction in Wistar rats[J]. Phytotherapy Research Ptr, 2009, 23(3): 358–362.
- [8] Neha R, Saurabh B, Mansi M, et al. Regulation of heat shock proteins 27 and 70, p-Akt/p-eNOS and MAPKs by naringin dampens myocardial injury and dysfunction *in vivo* after ischemia/reperfusion[J]. PLoS One, 2013, 8(12): e82577.
- [9] You Q, Wu Z, Wu B, et al. Naringin protects cardiomyocytes against hyperglycemia-induced injuries *in vitro* and *in vivo*[J]. J Endocrinol, 2016, 230(2): 197–214.
- [10] Rajadurai M, Prince PS. Preventive effect of naringin on isoproterenol-induced cardiotoxicity in Wistar rats: an *in vivo* and *in vivo* study[J]. Toxicology, 2007, 232(3): 216–225.
- [11] Wang W, Wang L, Yang H, et al. Protective effects of yindanxinnaotong capsule in a rat model of myocardial ischemia / reperfusion injury[J]. J Tradit Chin Med, 2014, 34(6): 699–709.
- [12] Soner BC, Şahin AS. Cardiovascular effects of resveratrol and atorvastatin treatments in an H₂O₂-induced stress model[J]. Exp Ther Med, 2014, 8(5): 1660–1664.
- [13] Park C, So HS, Shin CH, et al. Quercetin protects the hydrogen peroxide-induced apoptosis via inhibition of mitochondrial dysfunction in H9c2 cardiomyoblast cells[J]. Biochem Pharmacol, 2003, 66(7): 1287–1295.
- [14] 李积东, 黄起壬. 柚皮苷的分离提取及药理作用研究进展[J]. 北方药学, 2014, 11(7): 67.
- [15] Bae S, Park M, Kang C, et al. Hydrogen peroxide-responsive nanoparticle reduces myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. J Am Heart Assoc, 2016, 5(11): e003697.
- [16] 李波, 杨萌, 刘景伟, 等. HRS 调控凋亡相关蛋白 Bcl-xL、 Bad、 Bcl-2、 Bax 对大鼠心肌缺血再灌注损伤影响[J]. 中国公共卫生, 2015, 31(7): 889–892.
- [17] Dinh TN, Onea AS, Jazirehi AR, et al. Combination of celecoxib (Celebrex®) and CD19 CAR-redirectioned CTL immunotherapy for the treatment of B-cell non-Hodgkin's lymphomas[J]. Am J Clin Exp Immunol, 2017, 6(3): 27–42.
- [18] 孟剑锋. 地黄多糖对 H₂O₂ 诱导乳鼠心肌细胞损伤的保护作用及其机制研究[J]. 中药药理与临床, 2016(1): 90–95.

收稿日期: 2017-11-03

(解学魁编校)