

注射用丹酚酸 A 防治肝纤维化的实验研究

鲁 珽, 陈方明, 朱科燕, 蔡月琴, 寿旗扬, 潘永明, 陈民利

(1. 浙江大学医学院附属第二医院临床研究中心, 杭州 310009;
2. 浙江中医药大学动物实验研究中心, 杭州 310053)

【摘要】 目的 探讨注射用丹酚酸 A 抗肝纤维化的作用, 为丹酚酸 A 的临床应用提供理论依据。**方法** 采用 CCl_4 体外诱导肝细胞损伤, 观察丹酚酸 A 对肝细胞活性及其细胞培养上清液 ALT、AST、LDH 水平和细胞裂解液中 SOD 活性和 MDA 含量的变化; 另采用皮下注射 CCl_4 诱导大鼠肝纤维化模型, 观察丹酚酸 A 对肝纤维化大鼠血清 LN、HA、SOD 和 MDA 含量的影响以及肝脏组织病理改变情况。**结果** 与模型对照组比, 丹酚酸 A 高、低剂量组和 Vit E 组的细胞存活率显著提高 ($P < 0.01$), 丹酚酸 A 高剂量组 ALT、AST 和 LDH 活性显著降低 ($P < 0.01$), 丹酚酸 A 高剂量组和 Vit E 组 SOD 活性明显升高 ($P < 0.05$), MDA 含量显著降低 ($P < 0.05$); 体内试验发现, 与模型对照组比, 丹酚酸 A 高剂量组纤维化大鼠的血清 LN 和 HA 水平显著降低 ($P < 0.05$), 高、低剂量组 SOD 活性显著升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), MDA 含量显著降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 并能改善肝脏病理形态。**结论** 注射用丹酚酸 A 可通过抗脂质过氧化作用, 起到保护肝细胞, 减轻肝纤维化的作用。

【关键词】 丹酚酸 A; 肝纤维化; 脂质过氧化; 四氯化碳

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 07-0057-06

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2014.007.012

Effects of salvianolic acid A injection on CCl_4 induced hepatocyte injury and hepatic fibrosis in rats

LU Ting, CHEN Fang-ming, ZHU Ke-yan, CAI Yue-qin, SHOU Qi-yang, PAN Yong-ming, CHEN Min-li

(1. The Second Affiliated Hospital Zhejiang University School of Medicine
Clinical Research Center, Hangzhou 310009, China;

2. Zhejiang Chinese Medical University Laboratory Animal Research Center, Hangzhou 310053, China)

【Abstract】 Objective To study on the anti-hepatic fibrosis effects of salvianolic acid A injection (SAA), and further to provide the theoretical basis for the clinical application. **Methods** Using CCl_4 induced hepatocyte injury in vitro, the hepatocyte viability, the levels of ALT, AST and LDH in cell culture supernatants and the levels of SOD and MDA in cell lysates were detected. In addition, the hepatic fibrosis rat model was made by subcutaneous injection of CCl_4 , the serum LN, HA, SOD and MDA levels were detected and the pathological changes in liver tissue were also observed. **Results** Compared with model group, the hepatocyte viability in SAA high or low dose group and Vit E group were significantly increased ($P < 0.01$), and the activities of ALT, AST and LDH in SAA high dose group were significantly lowered ($P < 0.01$). The activity of SOD in SAA high dose group and Vit E group was significantly increased ($P < 0.05$), while MDA content was decreased ($P < 0.05$). Vivo test showed that the levels of serum LN and HA in SAA

【基金项目】 浙江省卫生高层次创新人才培养工程项目。

【作者简介】 鲁珽(1985-), 男, 助理实验师, 硕士生, 从事药理学研究。E-mail: lutinghz@163.com。

【通讯作者】 陈民利(1963-), 女, 教授, 硕士生导师, 硕士, 研究方向: 比较医学。E-mail: minlichen01@aliyun.com。

high dose group were significant lower than those of hepatic fibrosis rat model group ($P < 0.05$). Moreover, the activity of SOD in SAA high or low dose group was significantly increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$), while MDA content was lowered ($P < 0.05$, $P < 0.01$), and can improve the pathological of liver tissues. **Conclusions** SAA injection can anti-lipid peroxidation and thereby protect hepatocyte and reduce hepatic fibrosis.

【Key words】 Salviolic acid A; Hepatic fibrosis; Anti-lipid peroxidation; CCl_4

肝纤维化是慢性肝炎发展到肝硬化的必经阶段,并证实肝纤维化进入肝硬化前是可逆转的。现有大量的研究表明,自由基和脂质过氧化是引起肝损伤的主要原因之一,并参与肝纤维化进程的各个环节。抑制脂质过氧化和清除自由基是防治肝纤维化的关键环节之一^[1]。丹酚酸 A (salviolic acid A) 是由丹参中提取的最主要的酸性水溶性单体成分之一,具有抗氧化、抗炎、抗缺血、抗病毒等多种药理作用,体外研究表明丹酚酸 A 能抑制成纤维细胞的增殖和细胞内胶原合成^[2]。并发现丹酚酸 A 对肝微粒体细胞色素 P450 酶系无明显影响,提示丹酚酸 A 对药物不良反应无明显作用^[3],具有很好的开发应用潜力。本研究的注射用丹酚酸 A 是由北京本草天源药物研究院和正大青春宝公司在研的 I 类心血管疾病治疗新药,前期研究已证实注射用丹酚酸 A 对缺血性心脏病具有很好的保护作用,并发现对肺纤维化亦有一定的改善作用^[4]。为此,本研究采用四氯化碳 (CCl_4) 诱导,从细胞水平和在体实验观察注射用丹酚酸 A 抗肝纤维化的作用,并初步探讨丹酚酸 A 抗肝纤维化的作用机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物与细胞

SPF 级雄性 SD 大鼠,体质量为 180 ~ 220 g,32 只,来源于上海西普尔—必凯实验动物有限公司【SCXK(沪)2008-0016】,饲养于浙江中医药大学动物实验研究中心屏障环境【SYXK(浙)2008-0115】;人肝细胞株 L-02,购于中科院上海细胞所。

1.2 主要试剂及仪器

注射用丹酚酸 A (北京本草天源药物研究院和正大青春宝药业有限公司研制);维生素 E (浙江医药股份有限公司新昌制药厂);四氯化碳 (上海凌峰化学试剂有限公司);超氧化物歧化酶 (SOD)、丙二醛 (MDA)、考马斯亮蓝试剂盒 (南京建成生物工程研究所);谷丙转氨酶 (ALT)、谷草转氨酶 (AST)、乳酸脱氢酶 (LDH) 试剂盒 (上海申能德赛技术诊断有限公司);大鼠层粘连蛋白 (LN)、透明质酸酶 (HA) ELISA 试剂盒 (上海卓康生物技术有限公司);

DMEM 培养基 (美国 Gibco 公司);小牛血清 (杭州天杭生物科技有限公司);7020 型全自动生化分析仪 (日本日立公司);Thermo Scientific Varioskan Flash 光谱扫描多功能酶标仪 (美国 Thermo 公司);AL204 电子分析天平 (瑞士 METTLER 公司);紫外分光光度计 DU800 (美国 BACKMAN 公司); CO_2 培养箱 (美国 Thermo 公司)。

1.3 方法

1.3.1 丹酚酸 A 对 CCl_4 肝细胞损伤模型的保护作用

1.3.1.1 造模与处理

取对数生长期的肝细胞株 L-02,用 10% 小牛血清的 DMEM 培养液调整细胞密度为 $2 \times 10^5/\text{mL}$ 接种于细胞培养板中,分成模型对照组、丹酚酸 A 高、低剂量组 (终浓度分别为 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 和 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$)、阳性对照组 (维生素 E 终浓度为 2 mmol/L) 和空白对照组,于 37 $^\circ\text{C}$,5% 二氧化碳培养箱培养。待正常肝细胞培养 24 h 后,除空白对照组外,将培养板置于密闭容器内,加入 1.2 mL/L 的 CCl_4 ,放入 37 $^\circ\text{C}$,5% CO_2 培养箱继续培养 12 h,造成肝细胞体外损伤模型。

1.3.1.2 MTT 法检测细胞活性

于 96 孔板中每孔加入 20 μL MTT 溶液 (5mg/mL),继续培养 4 h;终止培养,小心吸去孔内培养液;每孔加入 150 μL 二甲基亚砜 (DMSO),置摇床上低速振荡 10 min,使结晶物充分溶解。在酶标仪 490 nm 处测量各孔的吸光度值。

1.3.1.3 ALT、AST、LDH 活性和 SOD、MDA 含量的测定

收集细胞培养板每孔中的上清液,在 7020 全自动生化分析仪上测定 AST、ALT 和 LDH 活性,同时,用胰蛋白酶消化贴壁的 L-02 细胞,收集细胞,并用 PBS 洗涤 2 次,破碎细胞后,按照试剂盒说明书进行测定 SOD 活性和 MDA 含量。

1.3.2 丹酚酸 A 对肝纤维化模型大鼠的保护作用

1.3.2.1 分组与造模

取 SPF 级雄性 SD 大鼠,体重 200 ~ 220 g,32 只,适应性饲养 1 周后,按体重随机分为正常对照组 (8

只)与造模组(24 只),其中造模组大鼠背部皮下注射四氯化碳/橄榄油=2:3的混合液,每周一和周五各注射 1 次。造模 4 周后,按体重将造模随机分为模型对照组、丹酚酸 A 高、低剂量组,每组 8 只。丹酚酸 A 高、低组分别尾静脉注射 5 mg/kg、2.5 mg/kg 丹酚酸 A;正常对照组和模型对照组尾静脉注射生理盐水 10 mL/kg;各组每日一次,连续给药 4 周。

1.3.2.2 生化指标的测定

给药 4 周后,用 3% 戊巴比妥钠溶液腹腔注射麻醉大鼠,迅速打开腹腔,取腹主动脉血,分离血清,按试剂盒说明书要求测定血清 SOD 活性和 MDA 含量;ELISA 法测定血清 LN 和 HA 的含量。

1.3.2.3 肝脏组织病理学观察

处死后取同一部位的肝脏组织,经 10% 中性甲醛固定,脱水透明、石蜡包埋和切片,HE 染色,光镜下观察肝脏组织病理变化。

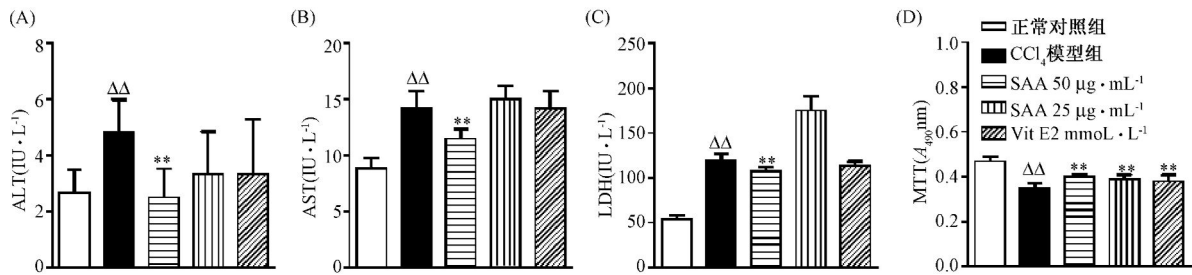
1.4 数据统计学处理

所有计量数据均用 $\bar{x} \pm \text{SEM}$ 表示,采用 SPSS 19.0 统计软件进行 ANOVA 单因素方差分析,组间比较采用 LSD 检验, $P < 0.05$ 表示有统计学差异。

2 结果

2.1 丹酚酸 A 对 CCl₄ 损伤肝细胞培养上清液 ALT、AST、LDH 活性和细胞存活率的影响

与空白对照组比,模型对照组培养上清液中的 ALT、AST 和 LDH 活性均明显升高($P < 0.01$),而细胞存活率显著下降($P < 0.01$)。与模型对照组比,丹酚酸 A 高剂量组培养上清液中的 ALT、AST 和 LDH 活性均显著降低($P < 0.01$),同时,丹酚酸 A 高、低剂量组和 Vit E 组细胞存活率亦均明显提高($P < 0.01$)(图 1)。



注:与空白对照组比较,^Δ $P < 0.05$,^{ΔΔ} $P < 0.01$;与模型对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

图 1 丹酚酸 A 对 CCl₄ 损伤肝细胞培养上清液 ALT、AST、LDH 活性和细胞存活率的影响($\bar{x} \pm \text{SEM}$, n=8)

Note: Compared with control group, ^Δ $P < 0.05$, ^{ΔΔ} $P < 0.01$; Compared with model group, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.

Fig. 1 Effects of SAA on the activities of ALT, AST, LDH and cell viability in CCl₄ treated L-02 cell

2.2 丹酚酸 A 对 CCl₄ 损伤肝细胞细胞裂解液 SOD 活性和 MDA 含量变化的影响

与空白对照组比,模型对照组肝细胞 SOD 活性显著降低($P < 0.01$),MDA 含量明显升高($P < 0.01$);与模型对照组比,丹酚酸 A 高剂量组和阳性对照组 SOD 活性均明显升高($P < 0.05$),MDA 含量均显著降低($P < 0.05$)(图 2)。

2.3 丹酚酸 A 对 CCl₄ 致肝纤维化大鼠血清 LN 和 HA 含量的影响

与正常对照组比,模型对照组大鼠血清 LN 和 HA 含量均明显升高($P < 0.01$);与模型对照组比,丹酚酸 A 高、低剂量组均有不同程度的降低血清 LN 和 HA 含量,其中高剂量组降低显著($P < 0.05$)(图 3)。

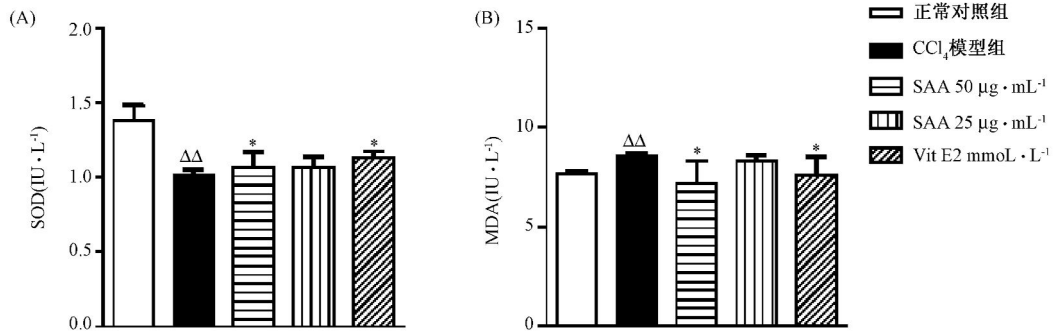
2.4 丹酚酸 A 对 CCl₄ 致肝纤维化大鼠血清 SOD

活性和 MDA 含量的影响

与正常对照组比,模型对照组大鼠血清 SOD 活性显著下降($P < 0.01$),MDA 含量明显升高($P < 0.01$);与模型对照组比,丹酚酸 A 高、低剂量组大鼠 SOD 活性均显著升高($P < 0.05$),MDA 含量均显著降低($P < 0.05$, $P < 0.01$)(图 4)。

2.5 丹酚酸 A 对肝纤维化大鼠肝脏病理组织的影响及纤维化的分级

HE 染色观察显示,正常对照组肝脏组织可见明显的肝小叶结构,细胞排列整齐;模型对照组肝脏组织可见大量假小叶生成,大量肝细胞脂肪沉积变性,空泡状间隙变大,中央静脉和汇管区有炎性细胞浸润或点状坏死、以及桥接坏死,细胞结构破坏明显;与模型对照组比,丹酚酸 A 高、低剂量组肝脏组织假小叶数量已有显著减少,肝细胞水肿,脂

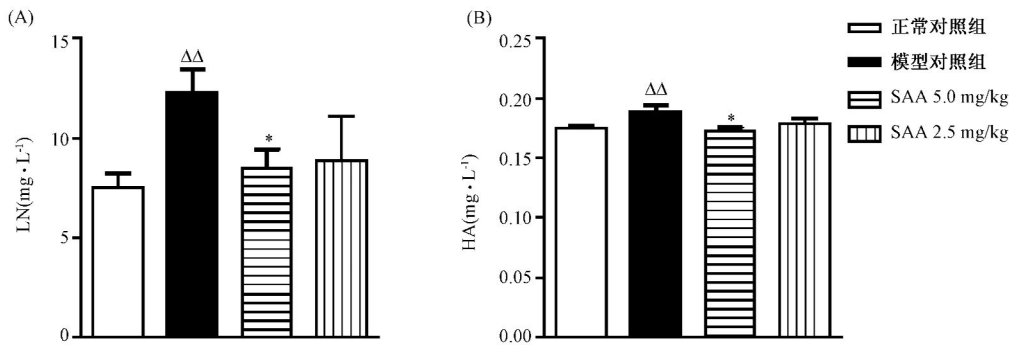


注:与空白对照组比较, ^Δ*P* < 0.05, ^{ΔΔ}*P* < 0.01;与模型对照组比较, ^{*}*P* < 0.05, ^{**}*P* < 0.01。

图2 丹酚酸 A 对 CCl₄ 损伤肝细胞 SOD 活性和 MDA 含量的影响

Note: Compared with control group, ^Δ*P* < 0.05, ^{ΔΔ}*P* < 0.01; Compared with model group, ^{*}*P* < 0.05, ^{**}*P* < 0.01.

Fig. 2 Effects of SAA on the activity of SOD and MDA content in CCl₄ treated L-02 cell

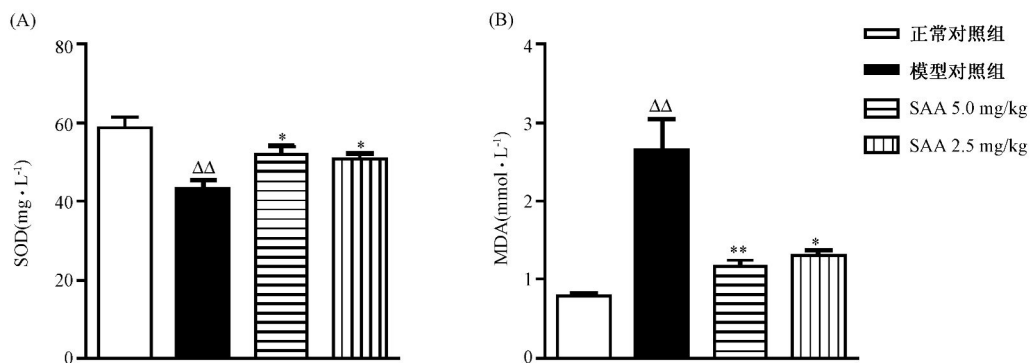


注:与正常对照组比, ^Δ*P* < 0.05, ^{ΔΔ}*P* < 0.01;与模型对照组比, ^{*}*P* < 0.05, ^{**}*P* < 0.01。

图3 丹酚酸 A 对肝纤维化大鼠血清 LN 和 HA 含量的影响

Note: Compared with control group, ^Δ*P* < 0.05, ^{ΔΔ}*P* < 0.01; Compared with model group, ^{*}*P* < 0.05, ^{**}*P* < 0.01.

Fig. 3 Effects of SAA on serum LN and HA contents in CCl₄-induced hepatic fibrosis rats



注:与正常对照组比, ^Δ*P* < 0.05, ^{ΔΔ}*P* < 0.01;与模型对照组比, ^{*}*P* < 0.05, ^{**}*P* < 0.01。

图4 丹酚酸 A 对肝纤维化大鼠血清 SOD 活性和 MDA 含量影响

Note: Compared with control group, ^Δ*P* < 0.05, ^{ΔΔ}*P* < 0.01; Compared with model group, ^{*}*P* < 0.05, ^{**}*P* < 0.01.

Fig. 4 Effects of SA A on serum SOD activity and MDA content in CCl₄-induced hepatic fibrotic rats

肪变性程度降低,细胞结构破坏有所恢复,且丹酚酸 A 高剂量组肝脏假小叶明显消失,空泡状结构减少,肝细胞排列较整齐(封底图 5)。

模型对照组肝脏呈现重度纤维化,大量细胞坏

死,形成明显的纤维间隔,肝小叶结构破坏,有早期肝硬化症状;丹酚酸 A 高剂量组呈现轻度纤维化,肝小叶结构大致保留,汇管区扩大,嗜酸性小体出现,有少量纤维间隔;丹酚酸 A 低剂量组,肝小叶结

构紊乱,纤维间隔明显,细胞萎缩、坏死、消失,形成纤维化(封底图 5)。

3 讨论

慢性肝脏疾病已构成了一项全球性的挑战问题,但目前医学界对这些疾病的治疗效果有限,而且所有慢性肝脏疾病均可引起肝纤维化,最终肝功能衰竭,因此,寻找治疗肝脏疾病和控制纤维化的治疗新药成为当前研究的热点。 CCl_4 致肝损伤是肝细胞氧化损伤经典的模型, CCl_4 进入体内后可直接溶解肝细胞膜,经肝细胞中细胞色素 P450 依赖性混合功能氧化酶的代谢,可以生成活泼的三氯甲基自由基和氯甲基自由基,这些物质能够启动脂质过氧化作用,致使肝细胞损伤^[5]。其中 AST、ALT 是反映肝细胞受损的一个重要指标,ALT、AST 主要存在于肝细胞浆内,当肝细胞损伤时,细胞内转氨酶可渗出细胞膜,进入胞外。AST 也分布于线粒体内,当肝细胞损害严重时,线粒体内 AST 释放出细胞^[6]。当 CCl_4 作用于肝细胞时,肝细胞损伤坏死,只要有 1% 的肝细胞坏死,细胞外转氨酶的活性就会比正常状态高 1 倍。乳酸脱氢酶(LDH)存在于机体所有组织细胞的胞质内,当肝细胞损伤或坏死后,LDH 水平会大幅升高。本研究显示, CCl_4 可诱导肝细胞存活率降低和细胞上清液 AST、ALT 和 LDH 水平的显著升高,而加入丹酚酸 A 和维生素 E 则明显抑制细胞上清液 AST、ALT 和 LDH 水平的升高和提高细胞存活率,表明丹酚酸 A 对 CCl_4 所致的肝细胞损伤具有保护作用。同样,在体研究亦显示 CCl_4 致大鼠肝纤维化后,肝脏组织大量假小叶生成、肝细胞脂肪沉积变性、空泡状间隙变大、炎性细胞浸润或点状坏死、以及桥接坏死、细胞结构破坏明显,而丹酚酸 A 可逆转或改善肝脏的病理形态,进一步证实丹酚酸 A 具有保护肝细胞损伤的作用。

层粘连蛋白(LN)在肝纤维化中的作用主要是连接基质中的大分子成分,共同参与基底膜的形成及肝血窦的毛细血管化^[7]。在肝纤维化早期,大量 LN 合成,同时,LN 也可反映肝纤维化的进展与严重程度。透明质酸酶(HA)是 ECM 组分—糖胺多糖的成分之一,过量的 HA 将导致胶原蛋白等细胞外基质(ECM)的过量沉积,改变组织的弹力,是纤维化发生的重要基础之一^[8]。因此,HA 和 LN 指标被认为是肝纤维化形成的血清标记物^[9]。本结果显示,丹酚酸 A 能显著抑制 CCl_4 所致大鼠血清 LN 和 HA

水平的升高,提示丹酚酸 A 能抑制胶原纤维在肝脏中的沉积。

众所周知,氧化损伤可诱导肝纤维化,自由基如 H_2O_2 , $\text{O}\cdot$ 和 $\cdot\text{OH}$ 均与肝纤维发生和病理进展有关。自由基和生物分子反应产物能促进吞噬细胞和肌纤维母细胞的活动^[10]。同时,脂质过氧化能刺激肝星状细胞(HSC)促进胶原蛋白的合成^[9]。可见,氧化应激主要通过增加肝星状细胞活化和胶原合成促进肝纤维化的形成。超氧化歧化酶(SOD)是主要的抗氧化酶之一,能催化超氧阴离子自由基发生歧化反应,阻断自由基的毒性作用,清除超氧阴离子自由基,保护细胞免受损伤。氧自由基损伤细胞膜结构,生成大量脂质过氧化物,最终产物是丙二醛(MDA),MDA 含量常可反映机体内脂质氧化的程度^[11],并发现 MDA 可剂量依赖性的促进 HSC 的增殖。刘成等^[12]研究表明丹酚酸 A 能降低损伤肝细胞中 MDA 含量,抑制 HSC 的增殖。本研究从体内、体外实验均证实丹酚酸 A 能提高损伤后肝细胞和机体血清 SOD 活性,降低 MDA 含量,表明丹酚酸 A 可通过抗脂质过氧化损伤作用,抑制 HSC 活化和胶原合成,从而抑制肝纤维化的发展。

综上所述,丹酚酸 A 具有明显的抗脂质过氧化作用,减轻肝细胞损伤程度和抑制纤维化的发展。其作用与其通过抗脂质过氧化作用,抑制 HSC 活化和胶原合成,从而抑制肝纤维化的发展有关。

参考文献:

- [1] Czaja AJ. Hepatic inflammation and progressive liver fibrosis in chronic liver disease [J]. World J Gastroenterol. 2014, 20(10):2515-2532.
- [2] 王晓玲,刘平,刘成海,等.丹酚酸 A 对成纤维细胞活力、增殖及胶原合成的影响[J]. 中西医结合肝病杂志. 2000, 10(1): 24-25.
- [3] 郭海方,邹晓丽,许卉,等.丹酚酸 A 对大鼠肝微粒体细胞色素 P450 酶系的影响[J]. 中国中药杂志. 2010, 35(3): 348-351.
- [4] 孔勤,刘瑞敏,寿旗扬,等.丹酚酸 A 对实验性肺纤维化大鼠的保护作用研究[J]. 中国比较医学杂志. 2013, 23(3): 34-38.
- [5] Shen DZ, Tao Q, Hu YY, et al. Dynamic proteomic analysis of liver tissue in the carbon tetrachloride-induced liver fibrosis rat model[J]. Chinese journal of hepatology. 2012, 20(9): 664-670.
- [6] 中华肝脏病学会肝纤维化学组. 肝纤维化诊断及疗效评估共识[J]. 中华肝脏病杂志. 2002, 10: 327-328.
- [7] 胡兴荣,崔显念,胡启托,等.血清肝纤维化指标与慢性肝炎肝纤维化程度的相关性[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18

- (14):1501-1503.
- [8] 沙广群. 肝纤维化患者的临床血清学检测价值分析[J]. 现代中西医结合杂志. 2009,18(25):3109-3110.
- [9] Hong RT, Xu JM, Mei Q. Melatonin ameliorates experimental hepatic fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats [J]. World J Gastroenterol. 2009, 15(12):1452-1458.
- [10] Serviddio G, Pereda J, Pallardó FV, et al. Ursodeoxycholic acid protects against secondary biliary cirrhosis in rats by preventing mitochondrial oxidative stress[J]. Hepatology. 2004, 39(3):711-720.
- [11] Li R, Xu L, Liang T, et al. Puerarin mediates hepatoprotection against CCl₄-induced hepatic fibrosis rats through attenuation of inflammation response and amelioration of metabolic function[J]. Food Chem Toxicol. 2013,52:69-75.
- [12] 刘成,胡义扬,王润平,等. 丹酚酸 A 抗肝细胞过氧化损伤对肝星状细胞增殖的影响[J]. 中国中西医结合消化杂志. 2001,9(1):15-16.

[修回日期]2014-06-03

(下接第 67 页)

- [41] Shahed AR, Son M, Lee JC, et al. Expression of c-fos, c-jun and HSP70 mRNA in rat brain following high acceleration stress [J]. J Gravit Physiol,1996,3(1):49-56.
- [42] 蔡庆,刘红巾,姜树强,等. +Gz 重复暴露大鼠脑应激基因表达的 cNDA 微阵列研究[J]. 航天医学与医学工程,2004,17(6):434-437.
- [43] 王晓丽,刘丽,刘建斌,等. 大鼠正加速度高耐力相关基因的分离[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2001,17(6):733-738.
- [44] 梁雪清,刘丽,王焯,等. 离心机训练对大鼠脑和心脏组织基因表达的影响[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2001,17(6):790-794.
- [45] 蔡庆,刘红巾,占志,等. +Gz 重复暴露大鼠海马细胞凋亡及凋亡相关基因 bcl-2 和 p53 表达的观察[J]. 航天医学与医学工程,2000,13(4):263-266.
- [46] 姜丽萍,王晓玉,李云义,等. 流式细胞仪亦检测高正加速度重复暴露后大鼠脑细胞凋亡[J]. 吉林大学学报,2003,29(4):528-529.
- [47] 周瑛,孙喜庆,王冰,等. 正加速度重复暴露后大鼠心肌细胞连接蛋白 43 表达及分布的改变[J]. 生理学报,2008,60(3):320-326.
- [48] 韩磊,孙喜庆,李鸣皋,等. +Gz 暴露对大鼠海马 HSP70 蛋白表达的影响[J]. 航天医学与医学工程,2006,2006,19(4):277-280.
- [49] Li JS, Sun XQ, Wu XY, et al. Expression of heat shock protein after +Gz exposure and its protective effects on +Gz-induced brain injury[J]. Space Med Med Eng (Beijing), 2002, 15(6):391-396.

[修回日期]2014-03-19