

# 依达拉奉保护 H9c2 心肌细胞对抗化学性低氧引起的损伤

张蔼玲<sup>1,4</sup>, 兰爱平<sup>2</sup>, 郑东诞<sup>3</sup>, 胡芬<sup>2</sup>, 郭润民<sup>2</sup>, 沈宁<sup>2</sup>, 冯鉴强<sup>2</sup>, 廖新学<sup>4</sup>

(1. 广东省梅州市人民医院内科, 广东省梅州市 514000; 中山大学 2. 中山医学院生理学教研室, 3. 附属第一医院黄埔院区 CCU 科, 4. 附属第一医院高血压血管病科, 广东省广州市 510080)

[关键词] 依达拉奉; H9c2 心肌细胞; 化学性低氧; 活性氧; 线粒体膜电位

[摘要] **目的** 探讨新型的自由基清除剂依达拉奉(EDA)能否保护 H9c2 心肌细胞对抗化学性低氧引起的损伤。**方法** 应用化学性低氧模拟剂氯化钴( $\text{CoCl}_2$ )处理 H9c2 心肌细胞以建立化学性低氧损伤模型。应用 CCK-8 比色法检测细胞存活率; Hoechst 33258 核染色法检测凋亡细胞的形态学及数量变化; 双氯荧光素(DCFH-DA)染色荧光显微镜照像测定细胞内活性氧(ROS)水平; JC-1 染色荧光显微镜照像检测线粒体膜电位(MMP)。**结果** 应用 100~1000  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  处理 H9c2 心肌细胞 24 h, 呈浓度依赖性地降低细胞存活率; 在 12~36 h 范围内, 800  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  呈时间依赖性地抑制细胞存活率; 10~40  $\mu\text{mol/L}$  EDA 或 500~2000  $\mu\text{mol/L}$  N-乙酰半胱氨酸(NAC, 为 ROS 的清除剂)预处理 H9c2 心肌细胞 1 h 呈浓度依赖性地对抗  $\text{CoCl}_2$  对细胞存活率的抑制作用; 在 800  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  处理 H9c2 心肌细胞前 1 h, 应用 40  $\mu\text{mol/L}$  EDA 预处理细胞不仅可明显的抑制  $\text{CoCl}_2$  诱导的细胞内 ROS 生成增多, 还能抑制  $\text{CoCl}_2$  的致细胞凋亡作用及 MMP 的损伤作用。**结论** EDA 能保护心肌细胞对抗  $\text{CoCl}_2$  诱导的损伤作用, 此心肌细胞保护作用可能与其抗氧化作用及保护 MMP 有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

## Edaravone Protects H9c2 Cells Against Chemical Hypoxia-Induced Injury

ZHANG Ai-Ling<sup>1,4</sup>, LAN Ai-Ping<sup>2</sup>, ZHENG Dong-Dan<sup>3</sup>, HU Fen<sup>2</sup>, GUO Run-Min<sup>2</sup>, SHEN Ning<sup>2</sup>, FENG Jian-Qiang<sup>2</sup>, and LIAO Xin-Xue<sup>4</sup>

(1. Department of Internal Medicine, People's Hospital of Meizhou City, Meizhou, Guangdong 514000; 2. Department of Physiology, Zhongshan Medical College; 3. Department of Cardiovasology, Region of Huang Fu; 4. Department of Cardiovasology, the First Affiliated Hospital, Sun Yat-sen University, Guangzhou, Guangdong 510080, China)

[KEY WORDS] Edaravone; H9c2 Cells; Chemical Hypoxia; Reactive Oxygen Species; Mitochondrial Membrane Potential

[ABSTRACT] **Aim** To explore whether edaravone(EDA), a novel free radical scavenger, protect H9c2 cells against chemical hypoxia-induced injury. **Methods** H9c2 cells were treated with Cobalt chloride ( $\text{CoCl}_2$ ) to set up a chemical hypoxia-induced cellular injury model. Cell viability was detected by cell counter kit (CCK-8). Changes in morphology and amount of apoptotic cells were observed by Hoechst 33258 staining; Intracellular level of reactive oxygen species (ROS) was measured by DCFH-DA staining and photofluorography; Mitochondrial membrane potential (MMP) was tested by JC-1 staining and photofluorography. **Results** Exposure of H9c2 cells to 100~1000  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  for 24 h dose-dependently reduced cell viability. At the range from 12 to 36 h, 800  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  time-dependently inhibited cell viability. Pre-treatment with 10 to 40  $\mu\text{mol/L}$  EDA or with NAC (a ROS scavenger) at 500 to 2000  $\mu\text{mol/L}$  for 1 h prior to exposure to 800  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  for 24 h dose-dependently blocked the inhibition of cell viability by  $\text{CoCl}_2$ . Preconditioning with 40  $\mu\text{mol/L}$  EDA for 1 h prior to exposure of H9c2 cells to 800  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  inhibited not only  $\text{CoCl}_2$ -induced overproduction of ROS, but also the apoptotic effect and MMP loss induced by  $\text{CoCl}_2$ . **Conclusions** EDA can protect H9c2 cells against  $\text{CoCl}_2$ -induced injury, which may be associated with its antioxidant effect and protection of MMP.

[收稿日期] 2012-01-14

[基金项目] 广东省科技计划项目(2011B080701051; 2010B080701105; 2009B08070104; 2007B080701030)

[作者简介] 张蔼玲, 研究方向为心肾保护的基础与临床研究, E-mail 为 ailingsuma@163.com。通讯作者廖新学, 主任医师, 博士研究生导师, 研究方向为心血管保护的基础与临床研究, E-mail 为 liaoxinx@mail.sysu.edu.cn。郑东诞, 硕士生, 副主任医师, 研究方向为心血管保护的基础与临床研究, E-mail 为 yunsenzheng@live.cn。

缺血缺氧是引起心肌损伤的病理生理机制之一。低氧可增加胞内活性氧(ROS)生成及细胞凋亡数量<sup>[1,2]</sup>。其中 ROS 可引起氧化应激反应,损伤心肌细胞的线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)等<sup>[3-5]</sup>。因此,对抗低氧引起的氧化应激反应是防治心肌细胞损伤的一种重要治疗策略。据报道<sup>[2]</sup>, ROS 清除剂 N-乙酰半胱氨酸(NAC)能保护心肌细胞对抗化学性低氧引起的损伤。另外,新型的自由基清除剂依达拉奉(EDA)也可抑制异丙肾上腺素诱导的心肌细胞损伤<sup>[5]</sup>。但是 EDA 能否保护心肌细胞对抗化学性低氧引起的损伤尚未见报道。EDA 又名 MCI-186,在日本,EDA 已被用于人大脑缺血性疾病的治疗。近年发现,EDA 可有效清除心脏的 ROS<sup>[6]</sup>,对抗缺血再灌注引起的心脏损伤<sup>[7]</sup>。因此,本文推测 EDA 可能保护心肌细胞对抗化学性低氧模拟剂氯化钴( $\text{CoCl}_2$ )引起的损伤作用。为此,本文探讨 EDA 能否通过抑制氧化应激及保护线粒体对抗化学性低氧引起的心肌细胞损伤。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材料与试剂

NAC、 $\text{CoCl}_2$ 、DCFH-DA、JC-1 和 Hoechst 33258 购自美国 Sigma-Aldrich 公司,CCK-8 试剂盒购自于日本 DOJindo Lab,DMEM-F12 培养基购自 Gibico 公司。H9c2 心肌细胞由中山大学实验动物中心提供。

### 1.2 细胞培养

H9c2 心肌细胞株来源于大鼠胚胎期心脏组织,在  $37^\circ\text{C}$ 、5%  $\text{CO}_2$  条件下培养于含 15% 胎牛血清的 DMEM-F12 培养基中。

### 1.3 细胞存活率检测

H9c2 心肌细胞接种于 96 孔培养板中,当细胞生长到培养孔的 80% 面积时,根据实验要求进行处理:(1)  $800\ \mu\text{mol/L}\ \text{CoCl}_2$  培养 24 h;(2)  $10\sim 40\ \mu\text{mol/L}\ \text{EDA}$  或  $500\sim 2000\ \mu\text{mol/L}\ \text{NAC}$  提前 1 h 加入培养基做预处理,然后更换成  $800\ \mu\text{mol/L}\ \text{CoCl}_2$ ,继续培养 24 h,每组设 4 个复孔。上述过程完成后,每孔加入  $10\ \mu\text{L}\ \text{CCK-8}$ ,轻摇, $37^\circ\text{C}$  孵育 3 h,用酶标仪(450 nm)记录各孔的光密度(OD)。取 4 孔 OD 值的平均数,按公式计算细胞存活率,细胞存活率(%) =  $\frac{\text{OD}_{\text{处理组}}}{\text{OD}_{\text{对照组}}} \times 100\%$ ,重复 3 次。本文还观察不同浓度( $100\sim 2000\ \mu\text{mol/L}$ )  $\text{CoCl}_2$  处理 24 h 对心肌细胞毒性的量效关系以及  $800\ \mu\text{mol/L}\ \text{CoCl}_2$  处理 12~48 h 对心肌细胞毒性的时效关系。

### 1.4 Hoechst 33258 核染色法观察细胞形态和数量改变

H9c2 心肌细胞按分组要求(EDA 组: $40\ \mu\text{mol/L}\ \text{EDA}$  处理 1 h; $\text{CoCl}_2$  损伤组: $800\ \mu\text{mol/L}\ \text{CoCl}_2$  处理 24 h;EDA +  $\text{CoCl}_2$  组:EDA 预处理 1 h 后  $800\ \mu\text{mol/L}\ \text{CoCl}_2$  处理细胞 24 h)处理后,小心弃去培养基,用 PBS 洗一遍,4% 多聚甲醛固定 10 min,PBS 漂洗后,加入  $5\ \text{mg/L}\ \text{Hoechst 33258}$  试剂,室温轻摇 30 min。在荧光显微镜(TE-2000, Nikon, Japan)下摄片,染色质均匀分布,核被染成均匀蓝色的细胞定为正常细胞,核呈浓缩、碎裂的明亮蓝色细胞定为凋亡细胞,随机选取视野在荧光显微镜下摄片。

### 1.5 细胞内 ROS 水平的测定

将赖氨酸包被的盖玻片置于 6 孔培养板内,H9c2 心肌细胞被均匀的接种在盖玻片上。当细胞生长到培养孔约 80% 面积时,根据实验需要给予相应的处理:①  $\text{CoCl}_2$  损伤组: $800\ \mu\text{mol/L}\ \text{CoCl}_2$  处理 3 h;② EDA 组: $40\ \mu\text{mol/L}\ \text{EDA}$  处理 1 h;③ EDA +  $\text{CoCl}_2$  组:EDA 预处理 1 h 后  $\text{CoCl}_2$  处理 3 h。每组包括 3 个复孔,处理完后,用 PBS 漂洗 2 次,用  $10\ \mu\text{mol/L}\ \text{DCFH-DA}$  染液于  $37^\circ\text{C}$  孵育 30 min。在荧光显微镜下随机选取 5 个不重复区摄片,用 Image J 1.41o 软件分析 5 个视野绿色荧光强度的平均值(细胞内的 ROS 可将无荧光的 DCFH 氧化成发出绿色荧光的 DCF,绿色荧光的强弱可以间接反映细胞内 ROS 的水平),再对每组的各样本进行统计分析。

### 1.6 线粒体膜电位的测定

将细胞接种于 35 mm 的培养皿中,各实验组(EDA 组: $40\ \mu\text{mol/L}\ \text{EDA}$  处理 1 h; $\text{CoCl}_2$  损伤组: $800\ \mu\text{mol/L}\ \text{CoCl}_2$  处理 24 h;EDA +  $\text{CoCl}_2$  组:EDA 预处理 1 h 后  $800\ \mu\text{mol/L}\ \text{CoCl}_2$  处理细胞 24 h)给予不同的处理因素后,倒掉培养液,用不含血清的低糖培养液洗 2 次,再加入 1 mL 低糖培养液,随后加入 1 mL JC-1 染色工作液,充分混匀,细胞培养箱中  $37^\circ\text{C}$  孵育 20 min。孵育结束后,吸除上清,用 JC-1 染色缓冲液( $1\times$ )洗涤 2 次。加入 2 mL 细胞培养液,在荧光显微镜下随机选取不重复的区域观察并摄片。

### 1.7 统计学处理

全部实验数据经 SPSS13.0 软件进行统计学分析,所有结果以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)检验,用 LSD 进行均数之间的比较, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 $\text{CoCl}_2$ 呈浓度依赖性及时间依赖性抑制细胞存活率

图 1A 结果表明,应用 100 ~ 2000  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  处理 H9c2 心肌细胞 24 h,均对心肌细胞存活率具有不同程度的抑制作用。在 100 ~ 1000  $\mu\text{mol/L}$  的

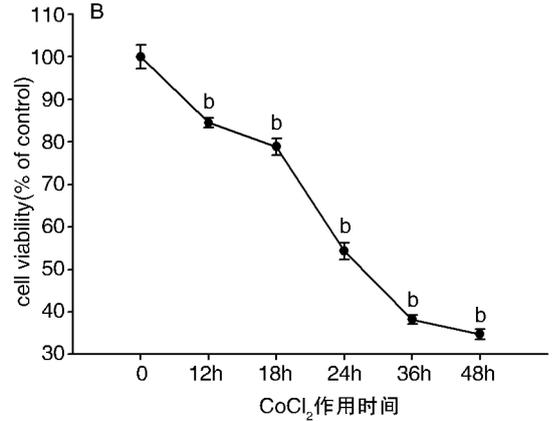
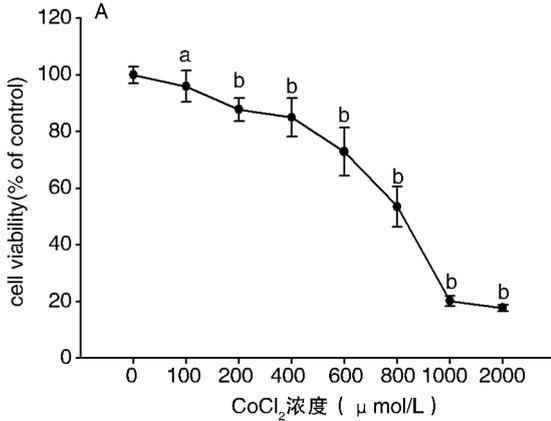


图 1.  $\text{CoCl}_2$  呈浓度依赖性 (A) 和时间依赖性 (B) 降低 H9c2 心肌细胞存活率 a 为  $P < 0.05$ , b 为  $P < 0.01$ , 与对照组比较。

Figure 1.  $\text{CoCl}_2$  dose-dependently and time-dependently inhibits H9c2 cell viability

### 2.2 依达拉奉和 N-乙酰半胱氨酸抑制 $\text{CoCl}_2$ 引起的心肌细胞毒性作用

在 10 ~ 40  $\mu\text{mol/L}$  的浓度范围内,EDA 预处理 1 h 呈浓度依赖性保护 H9c2 心肌细胞对抗 800  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  引起的细胞毒性,使细胞存活率呈不同程度地升高。40  $\mu\text{mol/L}$  EDA 本身不影响 H9c2 心肌细胞的存活率(图 2A)。与 EDA 的抗心肌细胞毒性作用相似,500 ~ 2000  $\mu\text{mol/L}$  的 ROS 清除剂 NAC 预处理 1 h 也呈浓度依赖性地保护 H9c2 心肌细胞对抗  $\text{CoCl}_2$  诱导的毒性作用,2000  $\mu\text{mol/L}$  NAC

本身对心肌细胞的存活率无明显影响(图 2B)。

### 2.3 依达拉奉抑制 $\text{CoCl}_2$ 的致凋亡作用

Hoechst33258 核染色法检测结果表明,800  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  处理 H9c2 心肌细胞 24 h 后,凋亡细胞数量显著增多,与对照组比较,差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ );40  $\mu\text{mol/L}$  EDA 预处理 1 h 可明显对抗 800  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  的致凋亡作用,使凋亡细胞数目明显减少,与  $\text{CoCl}_2$  损伤组比较差异有显著性 ( $P < 0.01$ );40  $\mu\text{mol/L}$  EDA 本身不诱导 H9c2 心肌细胞凋亡(图 3 和表 1)。

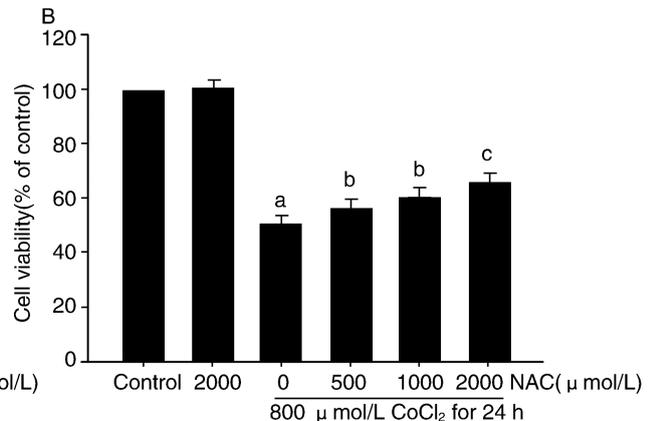
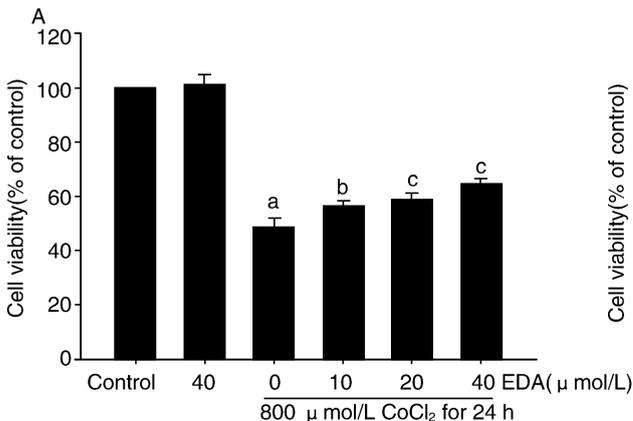


图 2. 依达拉奉 (A) 和 N-乙酰半胱氨酸 (B) 抑制  $\text{CoCl}_2$  诱导的 H9c2 心肌细胞毒性 a 为  $P < 0.01$ , 与对照组比较; b 为  $P < 0.05$ , c 为  $P < 0.01$ , 与 800  $\mu\text{mol/L}$   $\text{CoCl}_2$  组比较。

Figure 2. EDA and NAC inhibit  $\text{CoCl}_2$ -induced cytotoxicity in H9c2 cells

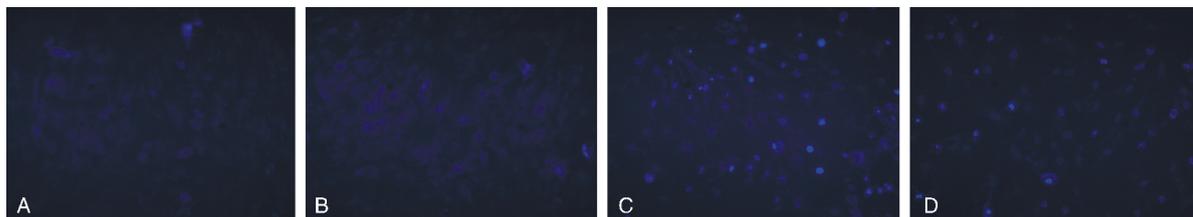


图 3. 依达拉奉抑制 CoCl<sub>2</sub> 诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡 A 为对照组, B 为 EDA 组, C 为 CoCl<sub>2</sub> 损伤组, D 为 EDA + CoCl<sub>2</sub> 组。

Figure 3. EDA blocks CoCl<sub>2</sub>-induced apoptosis of H9c2 cells

表 1. 依达拉奉抑制 CoCl<sub>2</sub> 诱导的 H9c2 心肌细胞凋亡

Table 1. EDA blocks CoCl<sub>2</sub>-induced apoptosis of H9c2 cells

分 组	细胞凋亡率
对照组	2.1% + 4.2%
EDA 组	1.7% + 3.2%
CoCl <sub>2</sub> 损伤组	42.3% + 5.7% <sup>a</sup>
EDA + CoCl <sub>2</sub> 组	26.8% + 4.3% <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.01$ , 与对照组比较; b 为  $P < 0.01$ , 与 CoCl<sub>2</sub> 损伤组比较。

#### 2.4 依达拉奉抑制 CoCl<sub>2</sub> 引起的 ROS 过度生成

800 μmol/L CoCl<sub>2</sub> 处理 H9c2 心肌细胞 3 h 后, 引起细胞内 ROS 水平明显升高, 平均荧光 (MFI) 为对照组的 4.2 倍 ( $P < 0.01$ ); 在 800 μmol/L CoCl<sub>2</sub> 处理 H9c2 心肌细胞前, 应用 40 μmol/L EDA 预处理细胞 1 h 使 MFI 明显降低, 与 CoCl<sub>2</sub> 损伤组比较, 差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ ); 40 μmol/L EDA 本身对细胞内 ROS 水平无明显影响 (图 4 和表 2)。

#### 2.5 依达拉奉对抗 CoCl<sub>2</sub> 对 MMP 的损伤作用

在正常对照的 H9c2 心肌细胞 (对照组), MMP 较高, JC-1 呈现为橙红色荧光强度。当 H9c2 心肌细胞被 800 μmol/L CoCl<sub>2</sub> 处理 24 h 后, MMP 明显降低, JC-1 呈现为绿色荧光。然而, 在 CoCl<sub>2</sub> 处理前, 应用 40 μmol/L EDA 预处理 1 h 能使 MMP 升高, 表现为橙红色/绿色荧光的比例增大 (图 5 和表 2)。

表 2. 依达拉奉对 CoCl<sub>2</sub> 诱导的 H9c2 心肌细胞内活性氧生成及线粒体损伤的影响

Table 2. Effect of EDA on ROS overproduction and MMP induced by CoCl<sub>2</sub> in H9c2 cells

分 组	MFI	红绿光比值
对照组	10.5 + 3.5	1.7 + 2.5
EDA 组	11.2 + 2.2	1.6 + 3.2
CoCl <sub>2</sub> 损伤组	41.2 + 2.4 <sup>a</sup>	0.5 + 3.4 <sup>a</sup>
EDA + CoCl <sub>2</sub> 组	19.6 + 3.3 <sup>b</sup>	1.3 + 2.3 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.01$ , 与对照组比较; b 为  $P < 0.01$ , 与 CoCl<sub>2</sub> 损伤组比较。

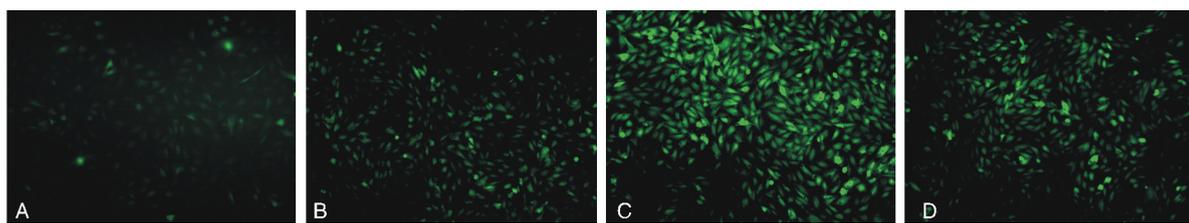


图 4. 依达拉奉降低 CoCl<sub>2</sub> 诱导的 H9c2 心肌细胞内活性氧过度生成 A 为对照组, B 为 EDA 组, C 为 CoCl<sub>2</sub> 损伤组, D 为 EDA + CoCl<sub>2</sub> 组。

Figure 4. EDA attenuates overproduction of ROS induced by CoCl<sub>2</sub> in H9c2 cells

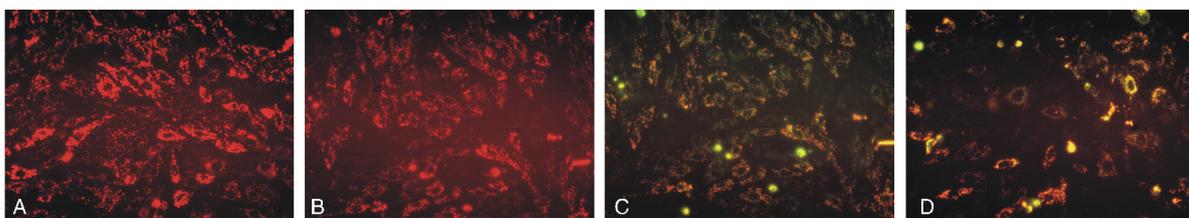


图 5. 依达拉奉减轻 CoCl<sub>2</sub> 对 H9c2 心肌细胞线粒体的损伤 A 为对照组, B 为 EDA 组, C 为 CoCl<sub>2</sub> 损伤组, D 为 EDA + CoCl<sub>2</sub> 组。

Figure 5. EDA reduces CoCl<sub>2</sub>-induced loss of MMP in H9c2 cells

### 3 讨论

最近,本研究组证实 EDA 能保护心肌细胞对抗异丙肾上腺素引起的损伤,此作用与其抑制氧化应激和内质网应激反应有关<sup>[5]</sup>。本研究在化学性低氧模拟剂  $\text{CoCl}_2$  诱导的心肌细胞损伤模型又观察到,EDA 预处理可明显抑制化学性低氧引起的心肌细胞损伤,表现为增加心肌细胞存活率,减少凋亡细胞数量,表明 EDA 具有心肌细胞保护作用。近年,有临床研究指出,EDA 对急性心肌梗死的患者具有较长期的改善作用<sup>[8]</sup>。在离体的大鼠心脏实验,EDA 可减轻缺血再灌注引起的心肌损伤<sup>[7]</sup>。本研究结果从心肌细胞水平上进一步证实了 EDA 的心肌保护作用。

有意义的是,本研究进一步证实 EDA 能抑制  $\text{CoCl}_2$  引起的心肌细胞内 ROS 堆积,提示清除 ROS 堆积可能是 EDA 保护心肌细胞对抗化学性缺氧损伤的机制之一。为了证实上述推断,本文应用 ROS 清除剂 NAC 作为阳性对照,结果表明, NAC 具有类似于 EDA 的心肌保护作用,这为上述的推断提供了有力的支持。与本研究结果相似,EDA 和 NAC 也能抑制异丙肾上腺素诱导的 ROS 过度生成<sup>[5]</sup>。

有研究指出,心肌细胞在缺血再灌注后会伴随 ROS 和  $\text{Ca}^{2+}$  的超负荷,导致线粒体通透性转位孔道开放,从而造成心肌细胞损伤<sup>[9]</sup>,提示 ROS 可通过损伤线粒体继而损伤心肌细胞。本研究观察到 EDA 不仅可抑制 ROS 的过度生成,而且可对抗化学性低氧对 MMP 的损伤,提示保护线粒体功能可能是 EDA 心肌保护作用的另一机制。在大鼠左冠状动脉阻塞的实验中,EDA 可减小心肌梗死面积,并能减轻线粒体肿胀和细胞色素 C 释放<sup>[10]</sup>,这为本研究结果提供了有力的依据。

综上所述,本研究证实新型的自由基清除剂 EDA 可保护心肌细胞对抗化学性低氧引起的损伤,其心肌保护机制可能与抑制 ROS 过度生成及保护

线粒体功能有关。本研究为临床应用 EDA 对抗氧化应激引起的心肌损伤提供了新颖的实验资料。

#### [参考文献]

- [1] 廖新学,杨春涛,杨战利,等. 硫化氢对抗化学性缺氧引起的心肌细胞损伤及其机制[J]. 中国药理学通报, 2009, 25(8): 1 012-017.
- [2] Chen SL, Yang CT, Yang ZL, et al. Hydrogen sulphide protects H9c2 cells against chemical hypoxia-induced injury [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol, 2010, 37(3): 316-321.
- [3] Cao XH, Zhao SS, Liu DY, et al. ROS- $\text{Ca}^{2+}$  is associated with mitochondrial permeability transition pore involved in surfactin-induced MCF-7 cells apoptosis [J]. Chem Biol Interact, 2011, 190(1): 16-27.
- [4] Orrenius S. Reactive oxygen species in mitochondrial-mediated cell death [J]. Drug Metab Rev, 2007, 39(2-3): 443-455.
- [5] 黄涌,阮经文,杨春涛,等. 依达拉奉保护 H9c2 心肌细胞对抗异丙肾上腺素诱导的氧化应激反应[J]. 中国药理学通报, 2011, 27(3): 410-415.
- [6] Watanabe T, Yuki S, Egawa M, et al. Protective effects of MCI-186 on cerebral ischemia: possible involvement of free radical scavenging and antioxidant actions [J]. J Pharmacol Exp Ther, 1994, 268(3): 1 597-604.
- [7] Minhaz U, Tanaka M, Tsukamoto H, et al. Effect of MCI-186 on postischemic reperfusion injury in isolated rat heart [J]. Free Radical Res, 1966, 24(5): 361-367.
- [8] Tsujitak, Shimomura H, Kaikita K, et al. Long-term efficacy of edaravone in patients with acute myocardial infarction [J]. Circ J, 2006, 70(7): 832-837.
- [9] 王鹏飞,何奔. 内源性大麻素系统与心肌缺血再灌注损伤[J]. 中国动脉硬化杂志, 2010, 19(8): 669-672.
- [10] Rajesh KG, Sasaquri S, Suzuki R, et al. Antioxidant MCI-186 inhibits mitochondrial permeability transition pore and upregulates Bcl-2 expression [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2003, 285(5): H2 171-178.

(此文编辑 许雪梅)