

论 著

(基础研究)

茶多酚对 H9C2 大鼠心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用机制

陈立慧, 李璐璐

【摘要】 目的 探究茶多酚对 H9C2 大鼠心肌细胞缺氧/复氧损伤的保护作用及机制。 **方法** 实验开展时间为 2017 年 12 月至 2019 年 3 月,分为对照组、缺氧/复氧组、低浓度茶多酚组和高浓度茶多酚组,对照组予以常规孵箱培养 H9C2 大鼠心肌细胞,缺氧/复氧组利用缺氧孵箱和常规孵箱交替模拟缺血再灌注环境培养 H9C2 大鼠心肌细胞,低浓度茶多酚组在缺氧孵箱培养后在常规孵箱培养前应用 2 mg/mL 的茶多酚,高浓度茶多酚组加入 4 mg/mL 的茶多酚。利用 CCK-8 法检测 48 h 培养后各组细胞活性;利用试剂盒检测 48 h 培养后各组丙二醛(MDA)、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)等氧化还原指标和髓过氧化物酶(MPO)、白细胞介素-1 β (IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和 IL-6 等炎症指标;利用免疫印迹技术检测丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)和核因子 κ B 通路相关分子。 **结果** 与缺氧/复氧组相比,茶多酚组细胞活性增强($P<0.05$);与缺氧/复氧组相比,茶多酚组 MDA 含量减少($P<0.05$),SOD、CAT 和 GSH-Px 含量增加($P<0.05$);与缺氧/复氧组相比,茶多酚组 MPO、IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 含量减少($P<0.05$);与缺氧/复氧组相比,茶多酚组 MAPK 和核因子 κ B 通路相关分子表达被抑制($P<0.05$)。 **结论** 茶多酚能够通过丝裂原活化蛋白激酶和核因子 κ B 通路对 H9C2 大鼠心肌细胞缺氧/复氧损伤发挥保护作用。

【关键词】 缺氧/复氧损伤;大鼠;心肌细胞;茶多酚;氧化应激;炎症因子;信号通路

【中图分类号】 R320.2410

【文献标志码】 A

【文章编号】 1008-8199(2020)03-0228-06

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2020.03.002

Study on the protective effect and mechanism of tea polyphenols on H9C2 rat cardiomyocytes injury induced by hypoxia/reoxygenation

CHEN Li-hui¹, LI Lu-lu²

(1. Cadre Ward, 2. Aircrew Section, Air Force Hospital of Eastern Theater, Nanjing 210002, Jiangsu, China)

【Abstract】 Objective To examine the protective effect and mechanism of tea polyphenols on H9C2 rat cardiomyocytes injury induced by hypoxia/reoxygenation. **Methods** The experiments were conducted from December 2017 to March 2019. H9C2 rat cardiomyocytes were randomly divided into control group, hypoxia/reoxygenation group, low concentrations of tea polyphenols group and high concentrations of tea polyphenols group. H9C2 rat cardiomyocytes in the control group were cultured in conventional incubator, and cells in the hypoxia/reoxygenation group were cultured in hypoxia incubator and conventional incubator alternatively to simulate ischemia reperfusion injury of skeletal muscle cells. Cells in the low and high concentrations of tea polyphenols groups were treated with 2 mg/mL and 4 mg/mL tea polyphenols after incubation in hypoxic incubator and before incubation in conventional incubator. CCK-8 assay was used to test cell viability. Indicated test kits were used to examine the content of redox indexes such as malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px) and inflammatory indexes such as myeloperoxidase (MPO), interleukin-1 β (IL-1 β), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6). Western blot was used to

detect the expression of mitogen activated protein kinase (MAPK) and nuclear factor- κ B pathway related molecules. **Results** Compared with the hypoxia/reoxygenation group, the viability of H9C2 rat cardiomyocytes was increased in tea polyphenols group ($P<0.05$). Com-

作者单位:210002 南京,东部战区空军医院高干科(陈立慧),
空勤科(李璐璐)

通信作者:李璐璐, E-mail: 790955137@qq.com

pared with the hypoxia/reoxygenation group, the content of malondialdehyde was decreased, while the content of superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase were increased in the tea polyphenol group ($P < 0.05$). Compared with the hypoxia/reoxygenation group, the contents of myeloperoxidase, IL-1 β , TNF- α and IL-6 were decreased in the tea polyphenol group ($P < 0.05$). Compared with the hypoxia/reoxygenation group, the expression of mitogen activated protein kinase and nuclear factor- κ B pathway related molecules in tea polyphenol group was inhibited ($P < 0.05$). **Conclusion** Tea polyphenols protect H9C2 rat cardiomyocytes from hypoxia/reoxygenation injury via mitogen activated protein kinase and nuclear factor- κ B pathway.

[Key words] hypoxia/reoxygenation injury; rat; cardiomyocytes; tea polyphenols; oxidative stress; inflammatory factors; signaling pathways

0 引言

缺血性心脏病在临床上高发,而溶栓或介入等再灌注治疗是目前治疗缺血性心脏病的最佳方法,但缺血的心肌细胞在恢复血供后仍会发生心肌细胞损伤加重甚至死亡的缺血再灌注损伤(ischemia reperfusion injury, IRI),导致患者心功能障碍甚至是致死性心律失常^[1]。虽然导致心肌细胞 IRI 的机制复杂,但是氧化应激和炎症反应在心肌 IRI 发生和发展中发挥重要作用。茶多酚是一类从茶叶中提取的多酚类复合物,由于其来源广泛,且使用安全,引起了越来越多的关注和研究^[2]。多项研究证实,茶多酚具有强大的抗氧化和抗炎能力,目前已有报道其在降压、降脂等保护心血管方面具有很好的作用^[3],另有研究表明,茶多酚具有改善胰岛素抵抗、抗辐射、抗病毒、抑菌及抗病毒等药理学作用^[4-5]。

本实验开展时间为 2017 年 12 月至 2019 年 3 月,我们利用缺氧孵箱和常规孵箱交替模拟缺血再灌注环境培养 H9C2 大鼠心肌细胞,观察茶多酚处理后缺氧/复氧损伤细胞的细胞活性,丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)等氧化还原指标和髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)、白介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白介素-6(interleukin-6, IL-6)等炎症指标含量变化和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)和核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)通路中 p38、c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)、细胞外调节蛋白激酶(extracellular signal-regulated kinases 1/2, ERK1/2)和 p65 表达情况,研究其对心肌缺氧/复氧损伤的保护作用,为心肌 IRI 的防治提供更多的实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料 茶多酚(中国上海源叶生物科技有限公司),DMEM 培养基(美国 Gibco)、胰蛋白酶(美国 Gibco)、胎牛血清(美国 Gibco),CCK-8(美国 Sigma),MDA 试剂盒、SOD 试剂盒、CAT 试剂盒、GSH-Px 试剂盒、MPO 试剂盒、IL-1 β 试剂盒、TNF- α 试剂盒和 IL-6 试剂盒均为南京建成生物工程研究所产品,辣根过氧化物酶标记的二抗购自美国 Jackson 公司,抗 P-P38 抗体、抗 P38 抗体、抗 P-ERK 抗体、抗 ERK1/2 抗体、抗 P-JNK 抗体、抗 JNK 抗体、抗 P65 抗体和抗 β -actin 抗体购自美国 Abcam 公司;缺氧孵箱(德国贺氏),分光光度计(中国苏州威福光电)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 H9C2 大鼠心肌细胞购自中科院上海生命科学研究院,选择 3~8 代细胞用做实验。用含 10%胎牛血清的 DMEM 培养基在 37℃ 的常氧细胞培养箱中培养 H9C2 大鼠心肌细胞,隔天换液。细胞生长至 80%时用以实验^[6]。

1.2.2 实验分组及给药 按照随机数表法将细胞分为对照组、缺氧/复氧组、低浓度茶多酚组和高浓度茶多酚组。经过 0.5 mg/mL、1 mg/mL、2 mg/mL、4 mg/mL 和 8 mg/mL 这 5 个浓度梯度茶多酚的作用,检测细胞活性发现 2 mg/mL 和 4 mg/mL 的茶多酚对 H9C2 大鼠心肌细胞活性无显著影响,这与文献^[4-5,7]报道一致。对照组予以上述细胞培养方法,常规孵箱培养 H9C2 大鼠心肌细胞;缺氧/复氧组利用缺氧孵箱和常规孵箱交替模拟缺血再灌注环境培养 H9C2 大鼠心肌细胞,具体为:利用缺氧孵箱(氧浓度为 3%)培养细胞 4 h(模拟细胞缺血状态)后放入常规孵箱(氧浓度为 21%)继续培养 4 h(模拟细胞缺血后再灌注状态),以此方法建立 IRI 细胞模型^[8-10]。低浓度和高浓度茶多酚组处理 H9C2

大鼠心肌细胞时,在缺氧孵箱培养 H9C2 大鼠心肌细胞 4 h 后,分别更换为含有 2 mg/mL 和 4 mg/mL 茶多酚的培养基,放入常规孵箱继续培养。

1.2.3 CCK-8 法检测细胞活性 将 H9C2 大鼠心肌细胞培养在 96 孔板中,加入 CCK-8 反应 48 h 后用酶标仪检测各孔吸光度。以对照组的吸光度均值为 100%,计算其余各组细胞活性^[11]。

1.2.4 氧化应激指标和炎症指标的检测 按照上述各试剂盒说明,在培养 48 h 后取各组细胞培养上清或细胞裂解液,加入反应试剂后利用酶标仪检测不同波长下各样本的吸光度,以此计算 MDA、SOD、CAT、GSH-Px、MPO、IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 等指标的含量^[7]。

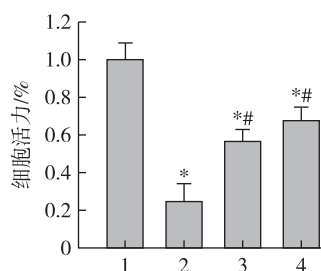
1.2.5 免疫印迹检测蛋白含量 按照上述分组在 6 孔板中培养 H9C2 大鼠心肌细胞,待到细胞融合度在 80%左右时,每孔加入 50 μ L 含有蛋白酶抑制剂的放射免疫沉淀 (radio immunoprecipitation assay, RIPA) 裂解液裂解培养的 H9C2 大鼠心肌细胞,收集裂解液于离心管中,15 000 r/min 低温离心 15 min (有效离心半径为 10 cm),利用蛋白浓度检测试剂盒检测所提取蛋白的浓度,按照 1:3 比例混合上样缓冲液和蛋白,煮沸上述蛋白样本后进行电泳;每个孔上样 40 μ g 上述煮沸后的蛋白样本,以 90 V 电压进行电泳,保持 30 min 后改为 120 V,90 min 后电泳结束后以 250 mA 恒流转膜 2 h,随后利用盐水缓冲液稀释的 5% 的脱脂奶粉封闭液 (5 g/100 mL) 封闭,随后按照相应的浓度配制抗体 (P-P38、P38、P-ERK1/2、ERK1/2、P-JNK、JNK、P65 和 β -actin) 对醋酸纤维素膜分别进行 4 $^{\circ}$ C 过夜孵育,利用盐水缓冲液洗膜 5 min \times 3 次后利用 1:10 000 浓度的辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 1 h 后进行发光检测^[11]。

1.3 统计学分析 应用 SPSS 19.0 统计软件进行统计处理,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示,组间比较采用单因素方差分析 q 检验,以 $P\leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 茶多酚对缺氧/复氧损伤 H9C2 大鼠心肌细胞活性的影响 与对照组相比,缺氧/复氧组、低浓度茶多酚组和高浓度茶多酚组细胞活性减弱 ($P<0.05$);与缺氧/复氧组相比,茶多酚组细胞活性增强 ($P<0.05$),但未恢复到对照组水平 ($P<0.05$);高浓度茶多酚组和低浓度茶多酚组差异无统计学

意义 ($P>0.05$),但茶多酚作用效果具有一定的浓度依赖性。见图 1。

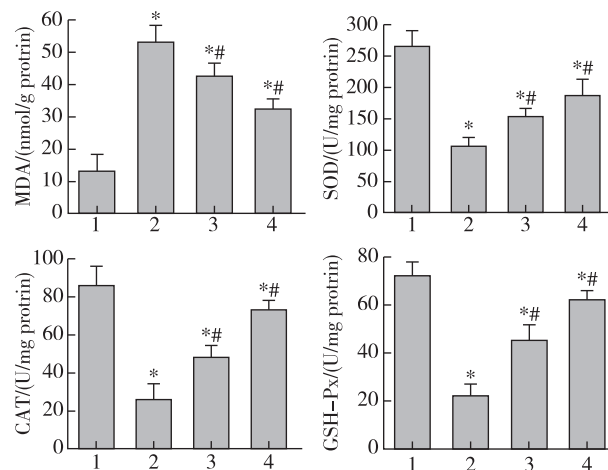


1:对照组;2:缺氧/复氧组;3:低浓度茶多酚组;4:高浓度茶多酚组

与对照组比较, * $P<0.05$;与缺氧/复氧组比较, # $P<0.05$

图 1 利用 CCK-8 法检测茶多酚对缺氧/复氧后 H9C2 大鼠心肌细胞活性的影响

2.2 茶多酚对缺氧/复氧损伤 H9C2 大鼠心肌细胞氧化应激的影响 与对照组相比,缺氧/复氧组、低浓度茶多酚组和高浓度茶多酚组细胞 MDA 含量增加 ($P<0.05$),而 SOD、CAT 和 GSH-Px 含量均降低 ($P<0.05$);与缺氧/复氧组相比,茶多酚组细胞 MDA 含量降低 ($P<0.05$),SOD、CAT 和 GSH-Px 含量增加 ($P<0.05$),但均未恢复到对照组水平 ($P<0.05$);高浓度茶多酚组和低浓度茶多酚组差异无统计学意义 ($P>0.05$),但茶多酚作用效果具有一定的浓度依赖性。见图 2。



1:对照组;2:缺氧/复氧组;3:低浓度茶多酚组;4:高浓度茶多酚组

与对照组比较, * $P<0.05$;与缺氧/复氧组比较, # $P<0.05$

图 2 茶多酚对缺氧/复氧损伤 H9C2 大鼠心肌细胞氧化应激的影响

2.3 茶多酚对缺氧/复氧损伤 H9C2 大鼠心肌细胞炎症因子的影响 与对照组相比,缺氧/复氧组、低浓度茶多酚组和高浓度茶多酚组细胞 MPO、IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 含量均增加 ($P<0.05$);与缺氧/复氧组相比,茶多酚组细胞 MPO、IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 含量减少 ($P<0.05$),但均未恢复到对照组水平 ($P<0.05$);高浓度茶多酚组和低浓度茶多酚组差异无统计学意义 ($P>0.05$),但茶多酚作用效果具有一定的浓度依赖性。见图 3。

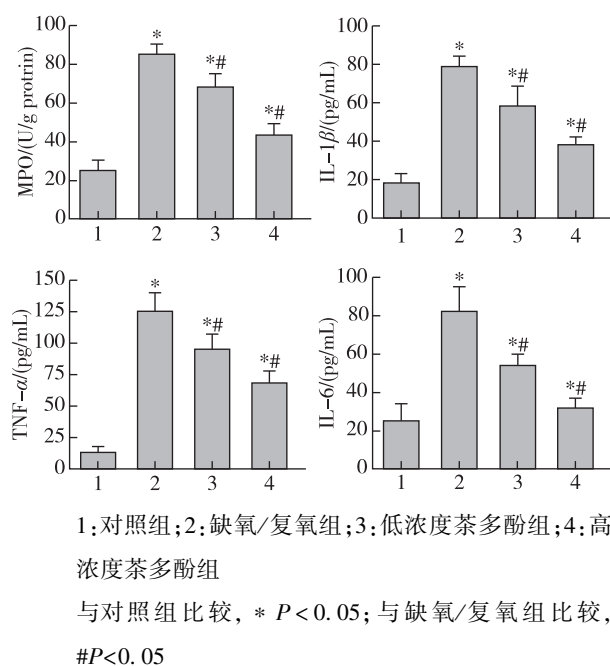
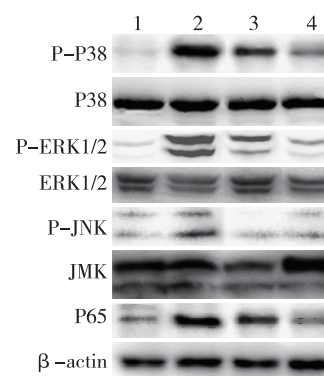


图 3 茶多酚对缺氧/复氧损伤 H9C2 大鼠心肌细胞炎症因子的影响

2.4 茶多酚对缺氧/复氧损伤 H9C2 大鼠心肌细胞 MAPK/NF- κ B 通路相关蛋白的影响 与对照组相比,缺氧/复氧组、低浓度茶多酚组和高浓度茶多酚组细胞 P-P38、P-ERK、P-JNK 和 P65 表达均增加 ($P<0.05$);与缺氧/复氧组相比,茶多酚组细胞 P-P38、P-ERK、P-JNK 和 P65 表达减少 ($P<0.05$),但均未恢复到对照组水平 ($P<0.05$);高浓度茶多酚组和低浓度茶多酚组差异无统计学意义 ($P>0.05$),但茶多酚作用效果具有一定的浓度依赖性。见图 4、图 5。



1: 对照组; 2: 缺氧/复氧组; 3: 低浓度茶多酚组; 4: 高浓度茶多酚组

图 4 茶多酚对缺氧/复氧损伤 H9C2 大鼠心肌细胞 MAPK/NF- κ B 通路相关蛋白的表达

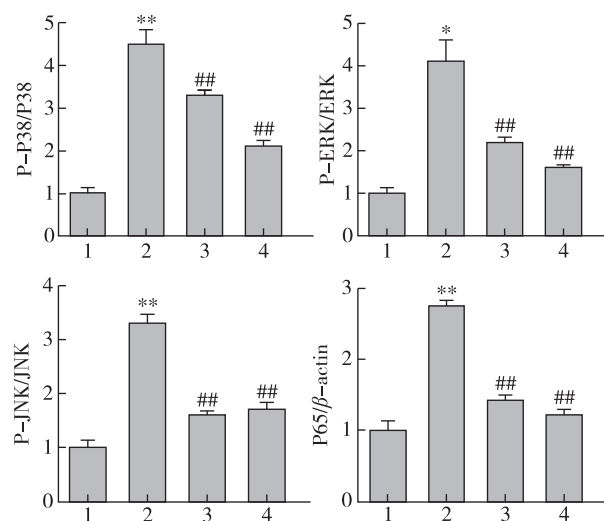


图 5 茶多酚对缺氧/复氧损伤 H9C2 大鼠心肌细胞 MAPK/NF- κ B 通路相关蛋白的影响

3 讨论

目前 IRI 的细胞模型主要是利用耗氧剂连二亚硫酸钠除去培养液中氧,模拟组织细胞缺血缺氧。现有的 IRI 细胞模型利用含有连二亚硫酸钠培养基培养模拟缺血和再灌注的方法处理 H9C2 大鼠心肌

细胞,但考虑到连二亚硫酸钠作用时只是部分模拟组织细胞的缺氧状态,并不是真正状态下的组织细胞缺氧,而是通过抑制细胞内部分呼吸酶模拟缺氧效果,且连二亚硫酸钠对细胞的毒性作用较强,对细胞活性影响较大^[12]。相反,通过缺氧孵箱来模拟缺血再灌注模型可以完全避免上述问题,其通过控制培养细胞过程中的氧气含量,很好的模拟了缺血状态对细胞的生物学影响,而且其浓度恒定,操作简单,容易控制^[13]。

IRI 能够激活生物膜的脂质过氧化作用,而 MDA 可被作为是氧化应激程度的指标;正常情况下,组织内 CAT、SOD 和 GSH-Px 发挥着防止细胞过氧化的重要作用,当心肌细胞发生 IRI 时,氧自由基产生增加,CAT、SOD 和 GSH-Px 等物质和产生的自由基迅速结合而含量急剧减少,故此时细胞的抗氧化能力下降,使得细胞膜等结构发生过氧化损伤,最终导致细胞损伤不可逆,直至细胞死亡,因而 CAT、SOD 和 GSH-Px 的活性可以反映细胞清除自由基的能力^[14-15]。本实验结果表明茶多酚能够降低 IRI 诱导的 H9C2 大鼠心肌细胞中 MDA 含量及增加 CAT、SOD 和 GSH-Px 的活性。本研究和其他一些茶多酚抗氧化的研究相似,Wang 等^[16]的研究表明茶多酚能够通过抗氧化作用减轻四氯化碳造成的小鼠肝损伤。Qian 等^[17]发现茶多酚可以通过其抗氧化作用减轻乙醇造成的胃黏膜损伤。Cong 等^[18]证实茶多酚可通过其抗氧化及抗凋亡作用抑制原代培养皮层神经元的谷氨酸兴奋性毒性。

心肌发生 IRI 时能够促进心肌细胞产生和释放多种炎性介质,包括 MPO、IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 等^[14-18],本实验结果表明茶多酚能够降低 H9C2 大鼠心肌细胞中 MPO、IL-1 β 、TNF- α 和 IL-6 等炎症因子的含量。本研究和其他一些茶多酚抗炎的研究相似,潘妍霓等^[19]研究表明,茶多酚能够通过 TNF- α 、NF- κ B、IL-1 β 的表达发挥对四氯化碳致小鼠肝损伤的保护作用。沈海涛等^[20]发现,茶多酚干预可通过减轻肾脏中氧化应激及炎症反应对百草枯中毒大鼠肾脏有保护作用。王晓芹等^[21]发现,茶多酚可以通过减轻炎症反应和增强机体抗氧化能力改善大鼠胰岛素抵抗。

在组织发生氧化应激及炎症反应过程中 NF- κ B

和 MAPK 信号通路可被激活,多种 IRI 中都已发现 p38、JNK、ERK1/2 和 p65 通路激活^[22-23]。本实验中也观察到相似现象,我们发现 H9C2 大鼠心肌细胞发生 IRI 时 p38、JNK、ERK1/2 和 p65 通路被激活,而茶多酚能够有效抑制这些通路的活化,从而发挥抗氧化及抗炎作用,进而发挥对 H9C2 大鼠心肌细胞 IRI 的保护作用。

本实验虽在离体细胞学实验上观察到了茶多酚对 H9C2 大鼠心肌细胞 IRI 的保护作用,但是尚未进行在体实验,下一步我们将在体继续研究茶多酚对心肌 IRI 的保护作用,为进一步研究心肌 IRI 的防治提供更为确切的实验基础。

【参考文献】

- [1] 吕磊,张洁,殷宇刚,等.川芎嗪减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤后心肌细胞凋亡及其机制研究[J].东南国防医药,2016,18(4):361-364,367.
- [2] Liu NB, Wu M, Chen C, *et al.* Novel molecular targets participating in myocardial ischemia-reperfusion injury and cardioprotection[J]. *Cardiol Res Pract*, 2019, 2019: 6935147. doi: 10.1155/2019/6935147.
- [3] Khan N, Mukhtar H. Tea polyphenols in promotion of human health[J]. *Nutrients*, 2018, 11(1): E39.
- [4] Mao X, Gu C, Chen D, *et al.* Oxidative stress-induced diseases and tea polyphenols [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(46): 81649-81661.
- [5] Afzal M, Safer AM, Menon M. Green tea polyphenols and their potential role in health and disease[J]. *Inflammopharmacology*, 2015, 23(4): 151-161.
- [6] 聂佩,孟凡静,张金国,等.黄芪甲苷抑制血管紧张素 II 诱导的心肌 H9c2 细胞凋亡[J].中国病理生理杂志,2019,35(11):1942-1950.
- [7] Song Y, Li X, Gong X, *et al.* Green tea polyphenols improve isoflurane-induced cognitive impairment via modulating oxidative stress[J]. *J Nutr Biochem*, 2019, 73: 108213.
- [8] 徐珊,胡楠.铁皮石斛多糖对 H9C2 大鼠心肌细胞缺血再灌注损伤的保护作用[J].郑州大学学报(医学版),2019,54(5):766-769.
- [9] 李锋,刘晶,张成成,等.卡维地洛缓解心肌细胞缺血再灌注损伤的作用机制[J].医学研究生学报,2018,31(8):800-806.
- [10] 赵伟,王永伟,韦冠山,等. PARP-1 介导的自噬流受阻在大鼠心肌细胞缺血再灌注损伤中的作用[J].南方医科大学学报,2018,38(8):975-979.

- [11] Sun Z, Cao X, Hu Z, *et al.* MiR-103 inhibits osteoblasts proliferation mainly through decreasing expression of Cav1.2 in simulated microgravity[J]. *Bone*, 2015, 76(3): 121-128.
- [12] Gomes RFA, Mitrev YN, Simeonov SP. Going beyond the limits of the biorenewable platform: sodium dithionite-promoted stabilization of 5-Hydroxymethylfurfural[J]. *Chem Sus Chem*, 2018, 11(10): 1612-1616.
- [13] Neyt NC, Riley DL. Mild and selective reduction of aldehydes utilising sodium dithionite under flow conditions[J]. *Beilstein J Org Chem*, 2018, 14(4):1529-1536.
- [14] Wang R, Wang M, Zhou J, *et al.* Shuxuening injection protects against myocardial ischemia-reperfusion injury through reducing oxidative stress, inflammation and thrombosis[J]. *Ann Transl Med*, 2019, 7(20): 562.
- [15] Liu S, He Y, Shi J, *et al.* Allicin attenuates myocardial ischemia reperfusion injury in rats by inhibition of inflammation and oxidative stress[J]. *Transplant Proc*, 2019, 51(6): 2060-2065.
- [16] Wang R, Yang Z, Zhang J, *et al.* Liver injury induced by carbon tetrachloride in mice is prevented by the antioxidant capacity of Anji White Tea Polyphenols [J]. *Antioxidants*, 2019, 8(3): E64.
- [17] Qian Y, Zhang J, Fu X, *et al.* Preventive effect of raw Liubao Tea Polyphenols on mouse gastric injuries induced by HCL/Ethanol via anti-oxidative stress [J]. *Molecules*, 2018, 23(11): E2848.
- [18] Cong L, Cao C, Cheng Y, *et al.* Green tea polyphenols attenuated glutamate excitotoxicity via antioxidative and antiapoptotic pathway in the primary cultured cortical neurons[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016(2): 2050435.
- [19] 潘妍霓, 赵欣, 龙兴瑶, 等. 大叶苦丁茶多酚对四氯化碳致小鼠肝损伤的预防作用[J]. *食品工业科技*, 2019, 40(9): 287-294.
- [20] 沈海涛, 吴娜, 赵宏宇, 等. 茶多酚对百草枯中毒大鼠肾脏氧化应激及炎症反应的影响[J]. *中国医科大学学报*, 2017, 46(3): 210-213, 218.
- [21] 王晓芹, 邓小燕, 于晓斌, 等. 茶多酚通过降脂、抗炎、抗氧化以及调控 TGF- β /Smad 信号通路缓解 2 型糖尿病[J]. *中药药理与临床*, 2018, 34(3): 46-50.
- [22] Xiang Y, Ye S, Cai C, *et al.* Salvianolic acid a attenuates limb ischemia/reperfusion injury in skeletal muscle of rats[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 551-556.
- [23] Zhu N, Cai C, Zhou A, *et al.* Schisandrin B Prevents Hind Limb from Ischemia-Reperfusion-Induced Oxidative Stress and Inflammation via MAPK/NF- κ B Pathways in Rats[J]. *Biomed Res Int*, 2017, 2017: 4237973. doi: 10.1155/2017/4237973.

(收稿日期:2019-12-13; 修回日期:2020-02-11)

(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:朱一超)