

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.09.002

## 番茄红素对心肌细胞氧化应激损伤的保护作用

钟 源, 孙善全<sup>△</sup>

(重庆医科大学实验教学管理中心人体大体形态学实验室 400016)

**[摘要]** 目的 探讨番茄红素(Lycopene)对心肌细胞氧化应激损伤的保护作用及机制。方法 体外培养 H9c2 心肌细胞,分为正常对照组(对照组)、番茄红素预处理组(Lycopene 组)、模型组(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组)和番茄红素预处理后建立模型组(Lycopene 加 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组)。除对照组及 Lycopene 组外,其余各组用过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)200 μmol/L 处理 6 h,建立心肌细胞氧化应激损伤模型。Lycopene 组建模前 30 min 加入 5 μmol/L 的番茄红素。6 h 后 MTT 观察 H9c2 心肌细胞存活率;分光光度计检测细胞培养液上清中乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)活性和细胞中丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)活性;激光共聚焦联合流式细胞仪观察细胞内活性氧(ROS)的产生和线粒体膜电位;流式细胞仪检测细胞凋亡;酶标仪检测细胞内 ATP 水平。结果 与对照组比较,H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 LDH、CK-BM、ROS、MDA 及细胞凋亡率显著增加,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );H9c2 心肌细胞存活率、SOD、ATP 及线粒体膜电位显著降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组比较,Lycopene 加 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 组 LDH、CK-BM、ROS、MDA 及细胞凋亡率显著降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );H9c2 心肌细胞存活率、SOD、ATP 及线粒体膜电位显著增加,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 番茄红素可以减轻氧化应激条件下 H9c2 心肌细胞的损伤,其机制可能与清除细胞内氧化应激产物,增强细胞内抗氧化酶活性及改善线粒体功能有关。

**[关键词]** H9c2 心肌细胞;番茄红素;氧化应激;细胞凋亡;线粒体

**[中图分类号]** R322.11;R361.2;R392.11

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2015)09-1157-05

## Protective effects of lycopene against oxidative stress-induced injury

Zhong Yuan, Sun Shanquan<sup>△</sup>

(Laboratory of General Morphology, Experimental Teaching Management Center, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the protective effects of lycopene pretreatment on H9c2 cardiomyocytes after oxidative stress injured by hydrogen peroxide(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). **Methods** H9c2 cardiomyocytes were cultured in vitro and were divided into normal control group, lycopene treatment group, model group and lycopene pretreatment+model group. H9c2 cardiomyocytes in model group and Lycopene group were exposed to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for 6 h for establishing the model of oxidative stress injury. H9c2 cardiomyocytes in lycopene group were pretreated with lycopene for 30 min before subjected to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> exposure. After the indicated treatment, the cell viability was assessed with MTT kit, the levels of lactate dehydrogenase(LDH) and creatine kinase-MB(CK-MB) in the culture medium, the levels of superoxide dismutase(SOD) and malondialdehyde(MDA) in H9c2 cells were measured respectively by colorimetry. The reactive oxygen species(ROS) generations and the mitochondrial membrane potential were measured respectively by flow cytometry in combination with laser confocal microscopy. Cardiomyocyte apoptosis was measured by flow cytometry. The ATP contents in H9c2 cells and were measured using a microplate reader. **Results** To compare with control group, the levels of LDH, CK-MB, ROS, MDA and apoptotic rates in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group were increased significantly( $P < 0.05$ ), while the viability of H9c2 cardiomyocytes, levels of SOD, ATP and mitochondrial membrane potential were significantly decreased( $P < 0.05$ ). To compare with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> group, the levels of LDH, CK-MB, ROS, MDA and apoptotic rates in lycopene pretreatment group were decreased significantly( $P < 0.05$ ), while the viability of H9c2 cardiomyocytes, levels of SOD, ATP and mitochondrial membrane potential were significantly increased( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Lycopene can provide significant cardioprotective effects against oxidative stress injury. The mechanisms might be attributed to scavenging oxidative stress productions, increasing antioxidant defense enzyme and improving mitochondrial function.

**[Key words]** H9c2 cardiomyocytes; lycopene; oxidative stress; cell apoptosis; mitochondria

随着溶栓治疗、动脉搭桥术和气囊成形术的广泛应用和发展,缺血再灌注损伤日益受到重视。研究表明,缺血再灌注导致的氧化应激损伤在缺血性心脏病的发生、发展中起着重要的作用<sup>[1]</sup>。因此,在尽量缩短缺血再灌注时间的同时,寻找有效防治氧化应激损伤的药物,改善缺血再灌注心肌的代谢状态,

对减轻心肌缺血再灌注损伤有着重要的意义。番茄红素(lycopene)是一种类胡萝卜素,具有强有力的抗氧化作用,其清除单线态氧的能力是维生素 E 的 100 倍<sup>[2-3]</sup>。作者推测具有强抗氧化作用的番茄红素在氧化应激损伤中起着重要的心肌保护作用。本实验通过体外培养 H9c2 心肌细胞株建立氧化应

激模型,番茄红素预处理后观察氧化应激损伤条件下细胞损伤、细胞凋亡、氧化应激产物及线粒体功能的变化,探讨其在氧化应激损伤中的保护作用及机制。

## 1 材料与方 法

**1.1 材料** H9c2 心肌细胞株购自中国科学院上海细胞库,DMEM/F12 培养基和胎牛血清购自 HyClone 公司,番茄红素购自美国 Sigma 公司,乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)和超氧化物歧化酶(SOD)测试试剂盒购自南京建成生物工程研究所,过氧化氢( $H_2O_2$ )MTT 试剂盒,活性氧(ROS)探针 DCFH-DA,BCA 蛋白浓度试剂盒、线粒体膜电位探针(JC-1)和 ATP 测试试剂盒购自江苏碧云天生物技术有限公司。

## 1.2 方 法

**1.2.1 H9c2 心肌细胞株培养及氧化应激模型建立** 含有 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基,37 °C 5%  $CO_2$  培养箱合适培养皿中培养 H9c2 心肌细胞,细胞密度达 80%~90% 后用于实验。 $H_2O_2$  用无血清 DMEM/F12 稀释后制备成 50、100、200、400  $\mu\text{mol/L}$  浓度梯度处理液,分别处理 H9c2 心肌细胞 6 h,根据 MTT 实验结果选择最佳  $H_2O_2$  干预浓度。二甲基亚砜(DMSO)稀释制备番茄红素浓度梯度 1.25、2.50、5.00、10.00  $\mu\text{mol/L}$ ,于  $H_2O_2$  干预前 30 min 分别处理 H9c2 心肌细胞,根据 MTT 实验结果选择最佳番茄红素干预浓度。

**1.2.2 分组及处理** H9c2 心肌细胞按  $10^5$  个/孔接种于 6 孔板,细胞密度达 80%~90% 后用于实验。分组及处理,正常对照组(对照组):正常细胞培养液培养;番茄红素处理组(Lycopene 组):正常细胞培养液中加入番茄红素培养,余同对照组;模型组( $H_2O_2$  组):细胞于  $H_2O_2$  干预前,换无血清 DMEM/F12 培养基饥饿 12 h,然后加入最佳  $H_2O_2$  干预浓度培养 6 h;番茄红素预处理后建立模型组(Lycopene 加  $H_2O_2$  组):细胞换无血清 DMEM/F12 培养基饥饿 12 h,于  $H_2O_2$  干预前 30 min 加入最佳番茄红素干预浓度处理,余同  $H_2O_2$  组。

**1.2.3 MTT 测细胞存活率** 根据 MTT 试剂盒说明书操作如下:H9c2 心肌细胞  $10^4$  个/孔接种于 96 孔板,培养 24 h 用于实验。不同浓度  $H_2O_2$  和番茄红素分别干预细胞后每孔加入 20  $\mu\text{L}$  (5 mg/mL) MTT 试剂,37 °C 培养箱孵育 4 h,弃上清液,加入 150  $\mu\text{L}$  DMSO,室温摇床 10 min,酶标仪 490 nm 波长测光密度(OD 值)。

**1.2.4 LDH、CK-MB、MDA 和 SOD 水平检测** H9c2 心肌细胞按  $10^5$  个/孔接种于 6 孔板,相应干预后取各组细胞培养液,分别按照 LDH 和 CK-MB 试剂盒说明书进行操作,应用 721 D 分光光度计测 OD 值,检测各组 LDH 和 CK-MB 水平。H9c2 心肌细胞按  $10^5$  个/孔接种于 6 孔板,相应干预后取各组细胞,裂解后 1 600 g 离心 10 min,取上清液,按照 SOD 和 MDA 试剂盒说明书进行操作,应用 721 D 分光光度计测光密度值,BCA 蛋白浓度试剂盒测定各组培养液蛋白浓度,检测各组细胞内 SOD 和 MDA 水平。

**1.2.5 激光共聚焦检测细胞内 ROS 水平及线粒体膜电位** H9c2 心肌细胞按  $10^5$  个/孔接种于激光共聚焦皿,相应干预后,分别加入 ROS 探针 DCFH-DA 10  $\mu\text{mol/L}$  37 °C 孵育 15 min;然后入线粒体膜电位 JC-1 探针 10  $\mu\text{g/mL}$  37 °C 孵育 20 min;洗涤 3 次,加入 DMEM 500  $\mu\text{L}$ ,激光共聚焦显微镜下观察。

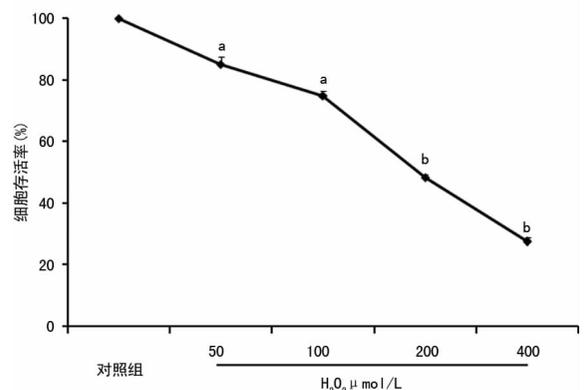
**1.2.6 流式细胞技术检测细胞内 ROS 水平、细胞凋亡率和线粒体膜电位** H9c2 心肌细胞按  $10^5$  个/孔接种于 6 孔板,相应干预后,加入 ROS 探针 DCFH-DA 10  $\mu\text{mol/L}$  37 °C 孵育 60 min,磷酸盐缓冲液(PBS)洗 3 次,胰酶消化收集细胞,500  $\mu\text{L}$  PBS 重悬细胞后上流式细胞仪观察,记录各组细胞平均荧光强度。H9c2 心肌细胞按  $10^5$  个/孔接种于 6 孔板,相应干预后 PBS 洗 3 次,胰酶消化收集细胞,加入 Annexin-V 与 PI 核酸染料,轻摇混匀,避光室温放置 15 min,加入结合缓冲液 400  $\mu\text{L}$ ,1 h 内上流式细胞仪测定。应用 Cell Quest 软件获取和分析数据,Annexin-VFITC(X 轴)与 PI(Y 轴)荧光做对数散点图,可获得由左下、左上、右上、右下 4 个象限,其中,左下象限为活细胞,右下象限为早期凋亡细胞,左上象限为细胞收集过程中产生的损伤细胞,右上象限为晚期凋亡细胞和坏死细胞。细胞凋亡率为右下象限加右上象限百分比之和。H9c2 心肌细胞按  $10^5$  个/孔接种于 6 孔板,相应干预后 PBS 洗 3 次,胰酶消化收集细胞,加入 JC-1 探针 10  $\mu\text{g/mL}$  37 °C 孵育 20 min,500  $\mu\text{L}$  PBS 重悬细胞后上流式细胞仪观察。通过荧光通道 FL1(绿)和 FL2(红)检测荧光强度,应用 Cell Quest 软件获取和分析数据,线粒体膜电位的高低用 FL2(红)与 FL1(绿)的比值表示。

**1.2.7 细胞内 ATP 水平检测** H9c2 心肌细胞按  $10^5$  个/孔接种于 6 孔板,相应干预后取各组细胞,裂解后 1 600 g 离心 10 min,取上清液,按照 ATP 测试试剂盒说明书进行操作,酶标仪检测光密度值(RLU 值),BCA 蛋白浓度试剂盒测定各组培养液蛋白浓度,检测各组细胞内 ATP 水平。

**1.3 统计学处理** 采用 SAS9.1 统计软件进行分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示。多组间均数比较采用单因素方差分析,均数两两比较采用 SNK 检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

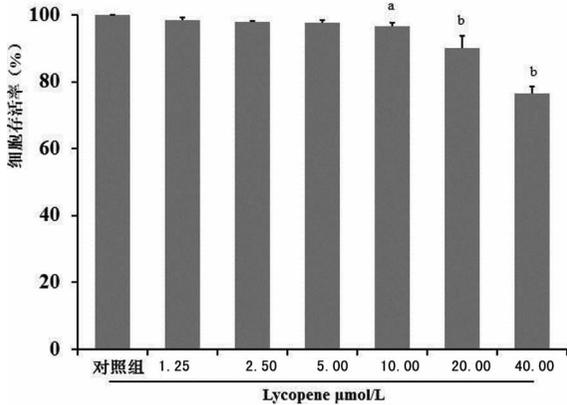
**2.1 不同浓度  $H_2O_2$  对 H9c2 心肌细胞存活率的影响** 结果显示,与对照组比较,不同浓度  $H_2O_2$  (50、100、200、400  $\mu\text{mol/L}$ ) 处理 H9c2 心肌细胞 6 h 均可降低 H9c2 心肌细胞存活率,且随着  $H_2O_2$  浓度的升高,细胞存活率降低 ( $P < 0.05$ )。而  $H_2O_2$  浓度为 200  $\mu\text{mol/L}$  处理时,心肌细胞存活率为 48.38%,接近 50.00%,提示 200  $\mu\text{mol/L}$  浓度的  $H_2O_2$  能够兼顾体现氧化应激损伤和适当的细胞活力,故在后续实验中选择 200  $\mu\text{mol/L}$   $H_2O_2$  作为建立氧化应激模型的干预浓度,见图 1。



a:  $P < 0.05$ , b:  $P < 0.01$ , 与对照组比较。

图 1 MTT 观察  $H_2O_2$  对 H9c2 心肌细胞存活率的影响

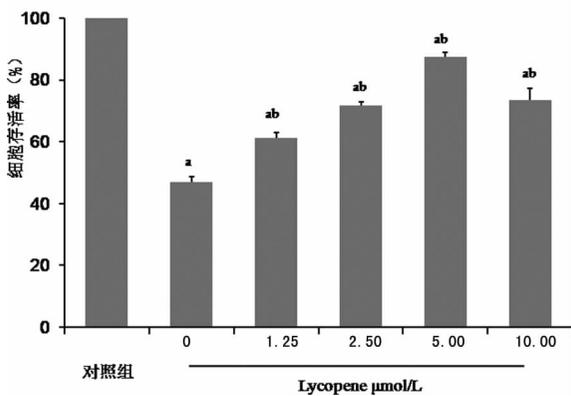
**2.2 番茄红素对 H9c2 心肌细胞的细胞毒性** 实验中将 H9c2 心肌细胞分别用 1.25、2.50、5.00、10.00、20.00、40.00  $\mu\text{mol/L}$  的番茄红素处理,培养 24 h 后检测细胞存活率(图 2)。结果发现,1.25、2.50、5.00  $\mu\text{mol/L}$  番茄红素对 H9c2 心肌细胞存活率无明显影响,其存活率分别为(98.52 $\pm$ 0.64)%、(97.89 $\pm$ 0.40)%、(97.65 $\pm$ 0.90)%。当番茄红素浓度为 10.00、20.00、40.00  $\mu\text{mol/L}$  时,与对照组比较,细胞存活率明显减少,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),存活率分别为(96.65 $\pm$ 1.02)%、(90.09 $\pm$ 3.72)%、(76.60 $\pm$ 2.03)%。



<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , <sup>b</sup>:  $P < 0.01$ , 与对照组比较。

图 2 MTT 观察 Lycopene 对 H9c2 心肌细胞存活率的影响

**2.3 不同浓度番茄红素对氧化应激损伤 H9c2 心肌细胞存活率的影响** 为了评价番茄红素对氧化应激条件下 H9c2 心肌细胞保护作用,不同浓度的番茄红素(1.25、2.50、5.00、10.00  $\mu\text{mol/L}$ )于建模前 30 min 加入。结果显示,与  $\text{H}_2\text{O}_2$  组比较,不同浓度的番茄红素可以显著改善细胞存活率( $P < 0.05$ ),并在 5  $\mu\text{mol/L}$  达到最高,故在后续实验中选择 5  $\mu\text{mol/L}$  番茄红素作为干预浓度,见图 3。



<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与  $\text{H}_2\text{O}_2$  组比较。

图 3 MTT 观察 Lycopene 对 H9c2 心肌细胞存活率的影响

**2.4 番茄红素对氧化应激损伤条件下 LDH、CK-MB 及细胞凋亡的影响** 结果显示,与对照组比较, $\text{H}_2\text{O}_2$  组培养液中的 LDH 和 CK-MB 水平明显升高,细胞凋亡率明显升高,且差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与  $\text{H}_2\text{O}_2$  组比较,Lycopene 加  $\text{H}_2\text{O}_2$  组 LDH 和 CK-MB 水平明显降低,细胞凋亡率明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 Lycopene 对 H9c2 心肌细胞 LDH、CK-MB 水平及细胞凋亡的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	LDH(U/L)	CK-MB(U/L)	细胞凋亡率(%)
对照组	102.75 $\pm$ 3.26	1.44 $\pm$ 0.08	7.06 $\pm$ 0.24
Lycopene 组	99.32 $\pm$ 2.18	1.41 $\pm$ 0.04	7.08 $\pm$ 0.18
$\text{H}_2\text{O}_2$ 组	197.44 $\pm$ 3.6 <sup>a</sup>	10.45 $\pm$ 0.77 <sup>a</sup>	27.35 $\pm$ 0.88 <sup>a</sup>
Lycopene 加 $\text{H}_2\text{O}_2$ 组	137.62 $\pm$ 3.84 <sup>ab</sup>	5.54 $\pm$ 0.33 <sup>ab</sup>	16.10 $\pm$ 1.14 <sup>ab</sup>

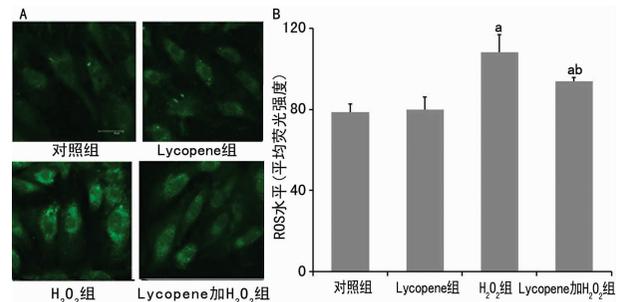
<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与  $\text{H}_2\text{O}_2$  组比较。

**2.5 番茄红素对氧化应激损伤条件下细胞内 ROS、SOD 和 MDA 的影响** 结果显示,与对照组比较, $\text{H}_2\text{O}_2$  组 H9c2 心肌细胞中 ROS 和 MDA 水平明显升高,而 SOD 水平明显下降,且差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与  $\text{H}_2\text{O}_2$  组比较,Lycopene 预处理能够明显降低 H9c2 心肌细胞中 ROS 和 MDA 水平,能够升高细胞中 SOD 水平,且差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 2。激光共聚焦检测发现,与对照组比较, $\text{H}_2\text{O}_2$  组 ROS 荧光增强,提示  $\text{H}_2\text{O}_2$  条件下 ROS 生成增加;与  $\text{H}_2\text{O}_2$  组比较,Lycopene 加  $\text{H}_2\text{O}_2$  组 ROS 荧光减弱,提示 Lycopene 可减少 H/R 条件下 ROS 生成,见图 4。

表 2 Lycopene 对 H9c2 心肌细胞 ROS、SOD 和 MDA 的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	ROS(%)	MDA	SOD
		(nmol/mg protein)	(U/mg protein)
对照组	99.67 $\pm$ 0.63	11.26 $\pm$ 0.31	13.77 $\pm$ 1.09
Lycopene 组	98.47 $\pm$ 6.02	10.18 $\pm$ 0.41	15.38 $\pm$ 2.37
$\text{H}_2\text{O}_2$ 组	148.72 $\pm$ 5.32 <sup>a</sup>	28.59 $\pm$ 1.19 <sup>a</sup>	6.11 $\pm$ 0.27 <sup>a</sup>
Lycopene 加 $\text{H}_2\text{O}_2$ 组	120.60 $\pm$ 1.19 <sup>ab</sup>	16.59 $\pm$ 0.92 <sup>ab</sup>	9.30 $\pm$ 0.42 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与  $\text{H}_2\text{O}_2$  组比较。



A: 激光共聚焦检测 ROS 水平( $\times 800$ ); B: ROS 水平的激光共聚焦荧光强度分析; <sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与  $\text{H}_2\text{O}_2$  组比较。

图 4 激光共聚焦检测 H9c2 心肌细胞 ROS 水平

表 3 Lycopene 对 H9c2 心肌细胞 ATP 及线粒体膜电位的影响( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

组别	ATP(nmol/mg protein)	线粒体膜电位
对照组	12.63 $\pm$ 1.35	1.97 $\pm$ 0.03
Lycopene 组	12.74 $\pm$ 1.47	1.89 $\pm$ 0.05
$\text{H}_2\text{O}_2$ 组	3.93 $\pm$ 0.35 <sup>a</sup>	0.60 $\pm$ 0.09 <sup>a</sup>
Lycopene 加 $\text{H}_2\text{O}_2$ 组	8.10 $\pm$ 0.64 <sup>ab</sup>	1.10 $\pm$ 0.06 <sup>ab</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; <sup>b</sup>:  $P < 0.05$ , 与  $\text{H}_2\text{O}_2$  组比较。

**2.6 番茄红素对氧化应激损伤条件下细胞 ATP 水平及线粒体膜电位的影响** 结果显示,与对照组比较, $H_2O_2$  组 H9c2 心肌细胞中 ATP 水平及线粒体膜电位明显降低,且差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。与  $H_2O_2$  组比较,Lycopene 预处理能够明显升高 H9c2 心肌细胞中 ATP 水平及线粒体膜电位,且差异

有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 3。激光共聚焦检测发现,与对照组比较, $H_2O_2$  组 JC-1 探针绿色荧光强度增强,红色荧光强度减弱,提示  $H_2O_2$  条件下  $\Delta\Psi_m$  降低;与  $H_2O_2$  组比较,Lycopene 加  $H_2O_2$  组 JC-1 探针绿色荧光强度减弱,红色荧光强度增强,提示 Lycopene 可升高 H/R 条件下  $\Delta\Psi_m$ ,见图 5。

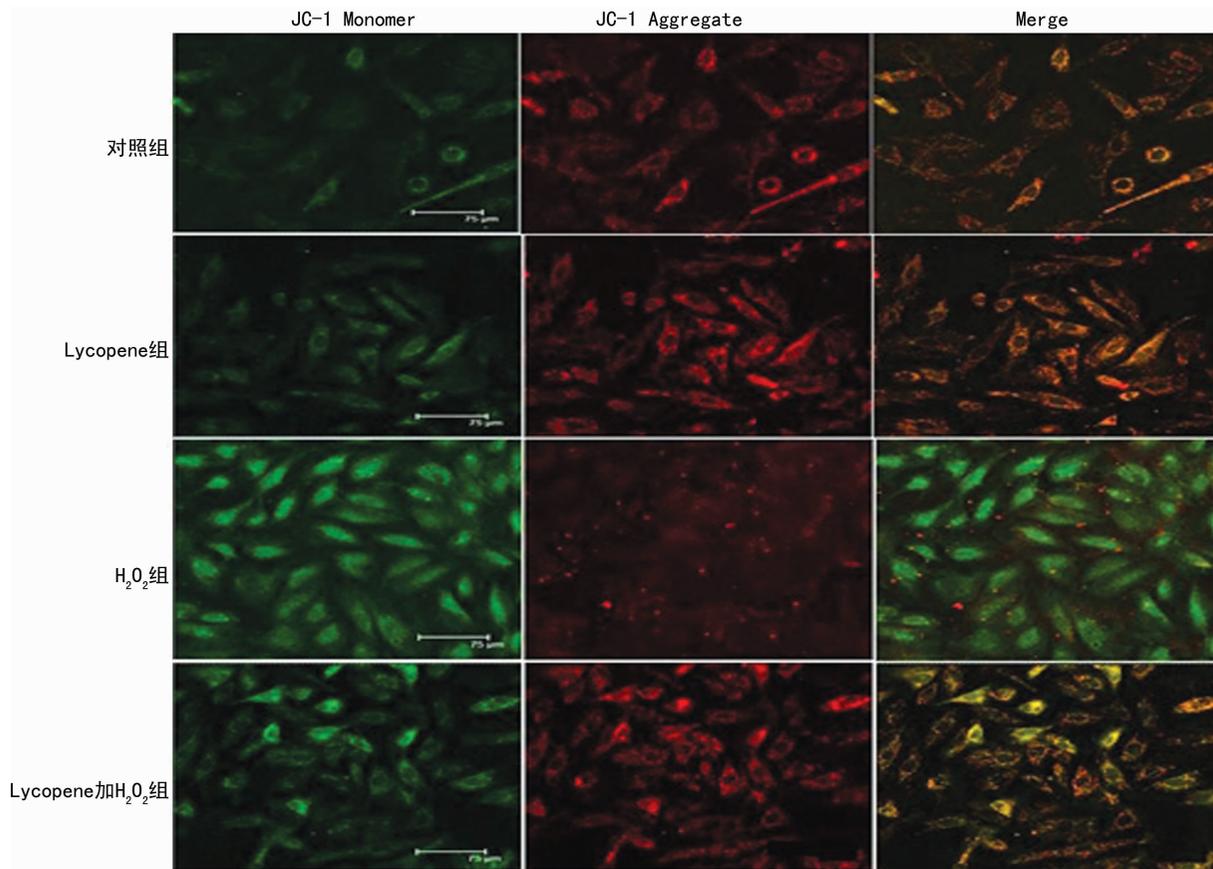


图 5 激光共聚焦检测 H9c2 心肌细胞线粒体膜电位水平( $\times 400$ )

### 3 讨 论

氧化应激是心肌缺血再灌注损伤的主要病理生理机制<sup>[1,4]</sup>。研究表明,给予抗氧化药物或者提高内源性抗氧化酶的活性,能够有效减轻心肌的缺血再灌注损伤<sup>[5-6]</sup>。番茄红素是一种植物精华素,具有很强的抗氧化作用<sup>[2-3]</sup>。本实验旨在探讨番茄红素对氧化应激损伤条件下对心肌细胞的保护作用及机制。

本研究发现,不同浓度的  $H_2O_2$  处理 H9c2 心肌细胞 6 h 均可降低 H9c2 心肌细胞存活率,且随着  $H_2O_2$  浓度的升高,细胞存活率降低。表明采用  $H_2O_2$  建立氧化应激模型成功。这一结果与庾辉等<sup>[7]</sup>报道的结果相似。为了研究番茄红素对细胞的保护作用,本研究采用了不同浓度梯度预处理氧化应激条件下的 H9c2 心肌细胞,结果显示,不同浓度的番茄红素能够明显提高细胞的存活率,表明番茄红素对氧化应激条件下 H9c2 心肌细胞具有较好的保护作用。LDH 和 CK-MB 是心肌细胞损伤的生物标志物。为了进一步探讨番茄红素对心肌细胞损伤的保护作用,本研究进一步检测了细胞培养液中 LDH 和 CK-MB 的水平。结果显示,番茄红素能够明显降低氧化应激条件下 LDH 和 CK-MB 的水平,进一步表明番茄红素能够减轻氧化应激条件下心肌细胞的损伤。

心肌缺血再灌注诱导产生的氧化应激在心肌细胞凋亡的

过程中起着重要的作用<sup>[4,8]</sup>。本研究发现, $H_2O_2$  处理 H9c2 心肌细胞 6 h 后心肌细胞的凋亡率明显增加,而番茄红素预处理可以明显减低  $H_2O_2$  所引起的 H9c2 心肌细胞凋亡。线粒体是细胞能量的供应站,也是氧化应激产物 ROS 的主要来源,在维持细胞内离子水平的稳定、坏死信号放大、介导细胞凋亡等方面也起着重要作用<sup>[9-10]</sup>。ROS 和 MDA 是氧化应激的主要产物,其水平的高低反映了细胞受自由基攻击和损伤的程度<sup>[11]</sup>。SOD 是细胞内一种抗氧化酶,其水平的高低可以间接反映细胞内抗氧化能力<sup>[12]</sup>。本研究发现,番茄红素可以明显降低氧化应激条件下 H9c2 心肌细胞内 ROS 和 MDA 水平,升高细胞内 SOD 水平,表明番茄红素可以有效降低  $H_2O_2$  所诱导产生的氧化应激,其减轻氧化应激条件下心肌细胞的损伤可能与清除细胞内氧化应激产物(如 ROS、MDA)和增加细胞内抗氧化酶(如 SOD)有关。

细胞内 ATP 水平和线粒体膜电位高低是反映线粒体功能状态的重要指标。既往研究表明,心肌缺血再灌注所诱导的氧化应激损伤可以导致线粒体功能障碍表现为 ATP 产生和线粒体膜电位降低<sup>[13-14]</sup>。本研究也发现  $H_2O_2$  所诱导产生的氧化应激可以明显降低细胞内 ATP 水平和线粒体膜电位;而番茄红素预处理可以显著增加细胞内 ATP 的产生,升高线粒体膜电位,表明番茄红素可以有效改善氧化应激条件下心肌线粒体

的功能。

### 参考文献

- [1] Chang G, Zhang D, Yu H, et al. Cardioprotective effects of exenatide against oxidative stress-induced injury[J]. *Int J Mol Med*, 2013, 32(5): 1011-1020.
- [2] Yue R, Hu H, Yiu KH, et al. Lycopene protects against hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis by preventing mitochondrial dysfunction in primary neonatal mouse cardiomyocytes[J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e50778.
- [3] Tang X, Yang X, Peng Y, et al. Protective effects of lycopene against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative injury and apoptosis in human endothelial cells[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2009, 23(6): 439-448.
- [4] Zhao ZQ. Oxidative stress-elicited myocardial apoptosis during reperfusion[J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2004, 4(2): 159-165.
- [5] Ghyasi R, Sepehri G, Mohammadi M, et al. Effect of melibudipine on oxidative stress and lipid peroxidation in myocardial ischemic-reperfusion injury in male rat[J]. *J Res Med Sci*, 2012, 17(12): 1150-1155.
- [6] Wang Y, Zhang ZZ, Wu Y, et al. Honokiol protects rat hearts against myocardial ischemia reperfusion injury by reducing oxidative stress and inflammation[J]. *Exp Ther Med*, 2013, 5(1): 315-319.
- [7] 庾辉, 叶林, 张冬颖, 等. 艾塞那肽预处理对过氧化氢损伤的 H9c2 心肌细胞的保护作用研究[J]. *中国药房*, 2012,

23(21): 1972-1974.

- [8] Gottlieb RA. Cell death pathways in acute ischemia/reperfusion injury[J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2011, 16(3/4): 233-238.
- [9] Ong SB, Hall AR, Hausenloy DJ. Mitochondrial dynamics in cardiovascular health and disease[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2012, 19(4): 400-414.
- [10] Honda HM, Korge P, Weiss JN. Mitochondria and ischemia/reperfusion injury[J]. *Ann NY Acad Sci*, 2005, 1047: 248-258.
- [11] Larsen M, Webb G, Kennington S, et al. Mannitol in cardioplegia as an oxygen free radical scavenger measured by malondialdehyde[J]. *Perfusion*, 2002, 17(1): 51-55.
- [12] Jang JU, Lee SH, Choi CU, et al. Effects of heme oxygenase-1 inducer and inhibitor on experimental autoimmune uveoretinitis[J]. *Korean J Ophthalmol*, 2007, 21(4): 238-243.
- [13] Armstrong JS. The role of the mitochondrial permeability transition in cell death[J]. *Mitochondrion*, 2006, 6(5): 225-234.
- [14] Galluzzi L, Morselli E, Kepp O, et al. Targeting postmitochondrial effectors of apoptosis for neuroprotection[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1787(5): 402-413.

(收稿日期: 2014-10-08 修回日期: 2014-12-10)

(上接第 1156 页)

- [9] Sullivan DC, Mirmalek-Sani SH, Deegan DB, et al. Decellularization methods of porcine kidneys for whole organ engineering using a high-throughput system[J]. *Biomaterials*, 2012, 33(31): 7756-7764.
- [10] Shirakigawa N, Ijima H, Takei T. Decellularized liver as a practical scaffold with a vascular network template for liver tissue engineering[J]. *J Biosci Bioeng*, 2012, 114(5): 546-551.
- [11] Arenas-Herrera JE, Ko IK, Atala A, et al. Decellularization for whole organ bioengineering[J]. *Biomed Mater*, 2013, 8(1): 14-16.
- [12] Ma R, Li M, Luo J, et al. Structural integrity, ECM components and immunogenicity of decellularized laryngeal scaffold with preserved cartilage[J]. *Biomaterials*, 2013,

34(7): 1790-1798.

- [13] Badylak SF, Taylor D, Uygun K. Whole-organ tissue engineering: decellularization and recellularization of three-dimensional matrix scaffolds[J]. *Annu Rev Biomed Eng*, 2011, 13: 27-53.
- [14] Ott HC, Clippinger B, Conrad C, et al. Regeneration and orthotopic transplantation of a bioartificial lung[J]. *Nat Med*, 2010, 16(8): 927-933.
- [15] Kajbafzadeh AM, Javan-Farazmand N, Monajemzadeh M, et al. Determining the optimal decellularization and sterilization protocol for preparing a tissue scaffold of a human-sized liver tissue[J]. *Tissue Eng Part C Methods*, 2013, 19(8): 642-651.

(收稿日期: 2014-10-19 修回日期: 2014-12-19)

## 《四川兵工学报》增设“军事医学与卫生装备”栏目 欢迎赐稿

《四川兵工学报》正在申请更名为《兵器装备工程学报》，系军事科技类综合性学术期刊，中国科技核心期刊，中国科技论文统计源期刊，RCCSE 中国核心学术期刊。为使本刊栏目设置涵盖军事科技各学科专业领域，彰显本刊学术交流平台价值功能的效益最大化，服务于更多领域的学者和专家，本刊拟增设“军事医学与卫生装备”栏目。主要刊登军事医学及相关学科的创新性论著，辅以研究简报，技术方法及有一定指导性的文献综述。内容涉及放射医学、微生物学与流行病学、药理学与毒理学、药物化学、基础医学、卫生学与环境医学、卫生装备、临床医学及医学高新技术等领域。欢迎赐稿。

联系电话: 023-68852703, 62569336 办公邮箱: scbgxb@126.com 本刊网址: <http://scbg.qks.cqut.edu.cn/>

四川兵工学报编辑部