

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2021.22.001

网络首发 <https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.R.20211101.1648.004.html>(2021-11-02)叶酸对铝诱导的人神经母细胞瘤细胞活性氧和线粒体膜电位水平的影响^{*}

曾智东,戚传娇,周艳华,谢 春

(贵州医科大学公共卫生学院/环境污染与疾病监控教育部重点实验室,贵阳 550025)

[摘要] **目的** 探讨叶酸对铝诱导的人神经母细胞瘤细胞(SH-SY5Y 细胞)活性氧(ROS)和线粒体膜电位(MMP)水平的影响。**方法** 叶酸与不同金属共同处理 SH-SY5Y 细胞 24 h,不同浓度 Al 分别染毒 SH-SY5Y 细胞 6 h,不同浓度叶酸干预 Al 诱导 SH-SY5Y 细胞 6 h,检测上述各组细胞 ROS 水平。测定叶酸对 Al 诱导 SH-SY5Y 细胞的毒性、MMP 水平。**结果** 与 control 组比较,300 $\mu\text{mol/L}$ Al 诱导 SH-SY5Y 细胞的 ROS 水平最高($P<0.05$)。50 $\mu\text{mol/L}$ 叶酸+300 $\mu\text{mol/L}$ Al 组细胞 DCF 相对荧光值、MMP 降低的细胞比例、细胞存活率分别为 $15\,926\pm8\,200$ 、38.04%、82.7%,与 300 $\mu\text{mol/L}$ Al 组 $20\,118\pm12\,503$ 、45.88%、71.9% 比较差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 叶酸可能通过拮抗铝诱导的 SH-SY5Y 细胞 ROS 水平升高来阻止 MMP 的降低,从而提高铝诱导下 SH-SY5Y 细胞的存活率。

[关键词] 人神经母细胞瘤细胞;铝;叶酸;活性氧;线粒体膜电位**[中图分类号]** R739.4**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2021)22-3781-05Effect of folic acid on levels of aluminum-induced reactive oxygen species and mitochondrial membrane potential in human neuroblastoma cells^{*}

ZENG Zhidong, QI Chuanjiao, ZHOU Yanhua, XIE Chun

(School of Public Health/Key Laboratory of Environmental Pollution Monitoring and Disease Control Ministry of Education, Guizhou Medical University, Guiyang, Guizhou 550025, China)

[Abstract] **Objective** To study the effects of folic acid on the levels of aluminum (Al)-induced reactive oxygen species (ROS) and mitochondrial membrane potential (MMP) in human neuroblastoma cells (SH-SY5Y). **Methods** SH-SY5Y was co-processed by folic acid and different metals for 24 h. Different concentrations of Al respectively contaminated SH-SY5Y for 6 h. Different concentrations of folic acid interfered the Al induced SH-SY5Y for 6 h. The levels of ROS in cells of above each group were measured. The toxicity and MMP level for folic acid in Al inducing SH-SY5Y were detected. **Results** Compared with the control group, the ROS level of SH-SY5Y induced by Al was the highest ($P<0.05$). The relative fluorescence value, proportion of cells with MMP decrease, and cell survival rate in the 50 $\mu\text{mol/L}$ folic acid+300 $\mu\text{mol/L}$ Al group were $15\,926\pm8\,200$, 38.04% and 82.7% respectively, which in the 300 $\mu\text{mol/L}$ Al group were $20\,118\pm12\,503$, 45.88% and 71.9% respectively, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** Folic acid prevents the decrease of MMP probably by antagonizing Al inducing the increase of ROS level, thus increase the survival rate of Al-induced SH-SY5Y.

[Key words] human neuroblastoma cell; aluminum; folic acid; reactive oxygen species; mitochondrial membrane potential

铝是人体的非必需元素,通过动物实验和流行病学调查发现铝可以引起学习记忆及认知能力障碍^[1-2]。MIRZA 等^[3]在一个家族性阿尔茨海默病人群中利用荧光染色法发现了其前额叶皮层和顶叶皮层中的铝聚集,并且还观察到了 β 样淀粉蛋白斑块

与铝的共定位。在体外实验中,铝能引起神经母细胞瘤细胞活性氧(ROS)水平的升高,并能扰乱细胞天然的抗氧化系统^[4]。在动物实验中也发现铝能够穿过血脑屏障后分布到大脑皮层和海马域,诱导产生氧化应激并对膜脂、蛋白和抗氧化系统造成损伤^[5-7]。在

^{*} 基金项目:贵州省科技合作计划项目(黔科合 LH 字[2016]7370);贵阳医学院博士启动基金项目(院博合 YJ2015-13);贵州省区域内一流学科建设项目(黔教科研发 2017[85]号)。 作者简介:曾智东(1984—),副教授,博士,主要从事神经生物学研究。

神经系统中铝元素的积累具有一定的毒性,而由铝引起的氧化应激可能是其产生毒性的一个重要手段。

叶酸也称为维生素 B₉,是人体内参与合成 DNA 和 RNA 的重要物质,其主要来源于新鲜的蔬菜、水果和肉类。众所周知叶酸可以预防新生儿的神经管畸形,母体中的叶酸水平与新生儿神经管畸形发病率密切相关,但叶酸是如何阻止神经管畸形的发生过程还未明确^[8]。有研究发现,叶酸可以降低患者在进行血液透析过程中的氧化应激水平并增强血液的总抗氧化水平^[9],通过提高抗氧化能力及降低 β 样淀粉蛋白的形成,叶酸能通过增强高血压患者的心脏和血管中交感神经感受器的灵敏度来缓解病情^[10-11]。本研究探讨叶酸对铝诱导的人神经母细胞瘤细胞活性氧(ROS)和线粒体膜电位(MMP)水平的影响。

1 材料与方法

1.1 主要试剂与仪器

人神经母细胞瘤细胞(SH-SY5Y 细胞,中国科学院昆明野生动物细胞库);硫酸铜、硫酸亚铁、硫酸锌、氯化铝(美国 Sigma 公司);麦芽酚、叶酸(北京索莱宝科技有限公司);DMEM/Ham's F-12(1:1)培养基[生工生物工程(上海)股份有限公司];胎牛血清(美国 Gibco 公司);Cell Counting Kit-8、ROS 检测试剂盒(DCFH-DA)、MMP 检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);流式细胞仪(Coulter Cytomics FC500,美国 Beckman Coulter 公司)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养

SH-SY5Y 细胞培养于含有 10% 胎牛血清的 DMEM/Ham's F-12(1:1)培养基中,置于 37℃、5% CO₂、100% 湿度的培养箱中培养,4~7 d 传代 1 次。

1.2.2 金属染毒

将氯化铝和麦芽酚分别配成浓度为 20 mmol/L 和 60 mmol/L 的溶液,将两种溶液等体积混合配制成为终浓度为 10 mmol/L 的麦芽酚铝溶液过滤除菌后待用,铝离子染毒均使用相应浓度的麦芽酚铝(标记为 Al);将硫酸锌、硫酸铜、硫酸亚铁利用去离子水分别配置成 10 mmol/L 溶液过滤除菌后待用,染毒分别用相应浓度 Zn、Cu、Fe 表示。

1.2.3 叶酸干预

在含有 10% 胎牛血清的 DMEM/Ham's F-12(1:1)培养基中分别配置叶酸终浓度为 50、100、150、200 μ mol/L 的干预培养基,在此培养基中加入染毒金属母液后即用于处理细胞。

1.2.4 细胞 ROS 水平检测

按照 10⁵ 个/孔 SH-SY5Y 细胞接种到 12 孔板中,然后加入相应浓度金属染毒相应的时间,每个染毒浓度和时间 5 个重复。根据说明书配置 ROS 检测

荧光探针(DCFH-DA)工作液,染毒结束后收集所有重复孔的细胞,加入 PBS 洗涤 1 次,然后加终浓度为 10 μ mol/L 的荧光探针(DCFH-DA)工作液 500 μ L 并重悬细胞。37℃ 避光孵育 30 min 后加入 PBS 2 mL 洗 2 次,离心后加 PBS 500 μ L 重悬细胞,加入流式试管内,立即上流式细胞仪进行检测,每个染毒处理收集 2 $\times$ 10⁴~4 $\times$ 10⁴ 个细胞的数据。(1)有报道显示环境相关金属(Zn、Cu、Al、Fe 等)能在海马、大脑皮层等组织细胞中参与 A β 的生成过程^[11],所以使用 100 μ mol/L 叶酸与 100 μ mol/L Zn、100 μ mol/L Cu、100 μ mol/L Al、100 μ mol/L Fe 共同处理 SH-SY5Y 细胞 24 h 后测定该细胞中的 ROS 水平。(2)使用 100、200、300、400、500 μ mol/L Al 分别染毒 SH-SY5Y 细胞 6 h 后测定该细胞的 ROS 水平。(3)分别使用 50、100、200 μ mol/L 叶酸干预 300 μ mol/L Al 诱导 SH-SY5Y 细胞 6 h 的 ROS 水平,对照分别有含有 10% 胎牛血清的 DMEM/Ham's F-12(1:1)培养基(control)、50 μ mol/L 叶酸处理及 10 μ mol/L 叶酸通路阻断剂甲氨蝶呤(MTX)。

1.2.5 细胞 MMP 水平检测

按照 10⁵ 个/孔 SH-SY5Y 细胞接种到 12 孔板中,然后分别加入 300 μ mol/L Al、50 μ mol/L + 300 μ mol/L Al 处理 6 h,每个处理 5 个重复。根据说明书配置 MMP 检测荧光探针(JC-1)工作液,染毒结束后收集所有重复孔的细胞,加入 PBS 洗涤 1 次,用 500 μ L 全培养基重悬,然后加荧光探针(JC-1)工作液 500 μ L 颠倒混匀细胞。37℃ 避光孵育 20 min 后加入 1 mL 预先 4℃ 冷却的 JC-1 染色缓冲液洗 4 次,离心后加 JC-1 染色缓冲液 500 μ L 重悬细胞,加入流式试管内,立即上流式细胞仪激发光 488 nm 进行检测,每个染毒处理收集 2 $\times$ 10⁴~4 $\times$ 10⁴ 个细胞的数据。

1.2.6 细胞毒性测定

将 2 $\times$ 10⁴ 个/孔 SH-SY5Y 细胞接种到 96 孔板中,然后分别加入 300 μ mol/L Al、50 μ mol/L 叶酸 + 300 μ mol/L Al 处理 24 h,每个处理 5 个重复。当染毒完成后再加入 100 μ L 完全培养基,向每孔加入 5 μ L Cell Counting Kit-8 溶液充分混匀,培养箱中继续培养 2 h,酶标仪在 450 nm 处测定光密度(OD 值)。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间采用两独立样本 *t* 检验,多组间采用单因素方差分析,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 叶酸干预各环境相关金属诱导的 SH-SY5Y 细胞 ROS 水平

Zn、Al、Fe 金属离子诱导 SH-SY5Y 细胞均会不同程度提高 ROS 水平,叶酸可抑制由 Al、Fe 金属离

子诱导的 ROS 水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。100 $\mu\text{mol/L}$ Al 诱导的 DCF 相对荧光值为 $141\,080 \pm 92\,424$ 高于 100 $\mu\text{mol/L}$ 叶酸 + 100 $\mu\text{mol/L}$ Al 组的 DCF 相对荧光值 $120\,092 \pm 80\,891$, 差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1。

2.2 不同浓度 Al 诱导的 SH-SY5Y 细胞 ROS 水平

随着 Al 的浓度提高,SH-SY5Y 细胞的 ROS 水平呈上升的趋势,300 $\mu\text{mol/L}$ Al 诱导的 SH-SY5Y 细胞 DCF 相对荧光值为 $11\,959 \pm 6\,233$ 高于 control 组的 $7\,388 \pm 3\,642$,差异有统计学意义($P < 0.05$)。但 400、500 $\mu\text{mol/L}$ Al 诱导的 SH-SY5Y 细胞 ROS 水平却未升高,见图 2。

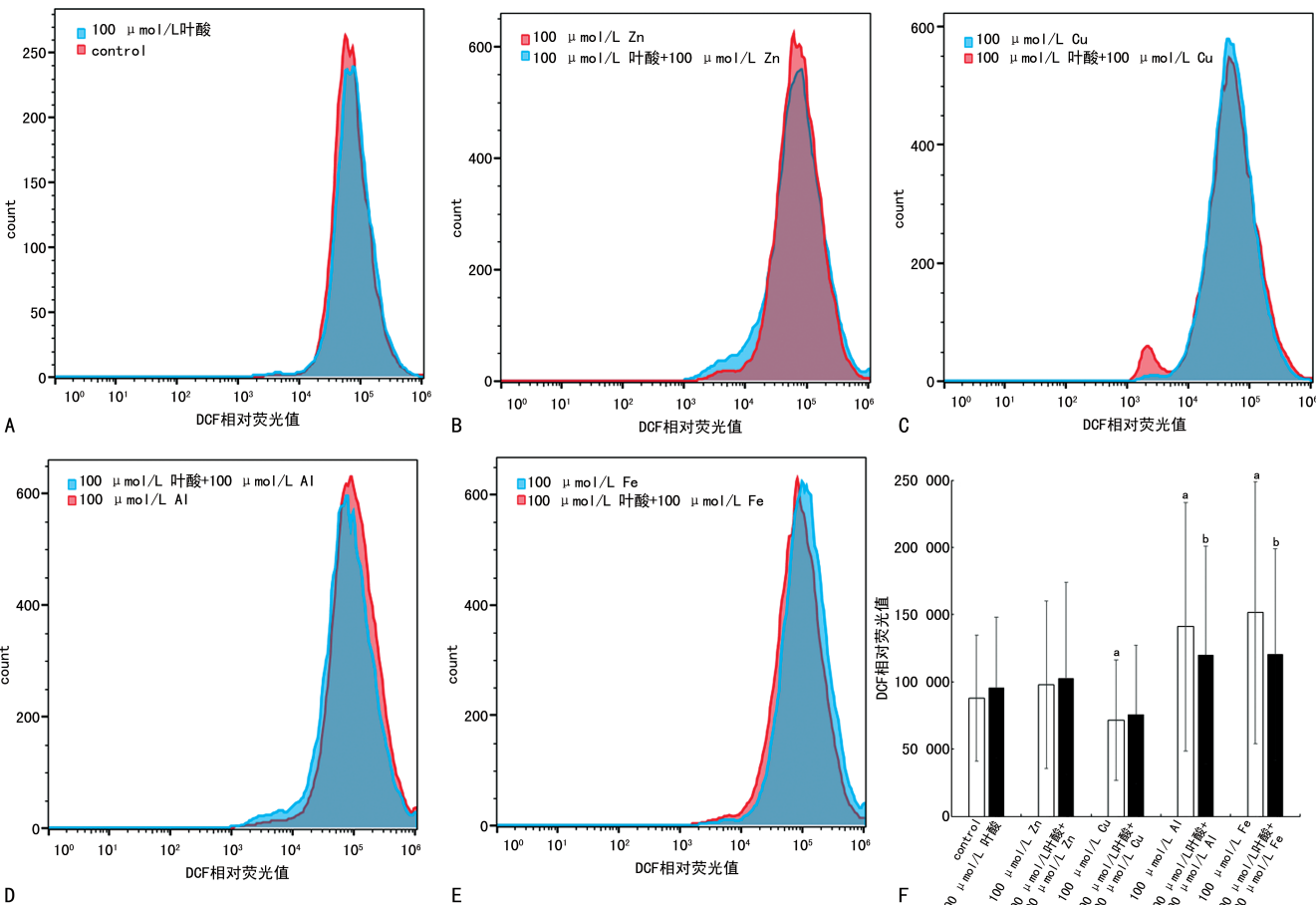


图 1 各组 ROS 水平比较

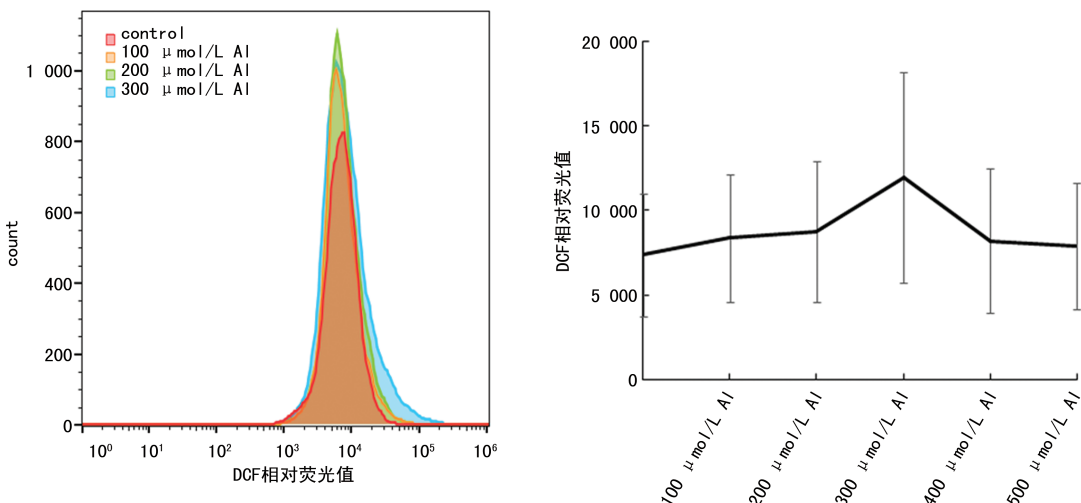


图 2 不同浓度 Al 诱导的 SH-SY5Y 细胞 ROS 水平

2.3 不同浓度叶酸干预 Al 诱导的 SH-SY5Y 细胞 ROS 水平

50 $\mu\text{mol/L}$ 叶酸+300 $\mu\text{mol/L}$ Al 组细胞的 DCF 相对荧光值为 $15\,926 \pm 8\,200$ 低于 300 $\mu\text{mol/L}$ Al 组的 DCF 相对荧光值 $20\,118 \pm 12\,503$, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。单独使用 50 $\mu\text{mol/L}$ 叶酸处理并没有大幅改变 SH-SY5Y 细胞的 ROS 水平, 见图 3。

2.4 叶酸对 Al 诱导 SH-SY5Y 细胞 MMP 的影响

300 $\mu\text{mol/L}$ Al 组 MMP 降低的细胞 (即进入 A+- 象限的细胞) 比例为 45.88%, 而 50 $\mu\text{mol/L}$ 叶酸+300 $\mu\text{mol/L}$ Al 组为 38.04%, 比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 4。

2.5 叶酸对 Al 诱导 SH-SY5Y 细胞毒性的影响

300 $\mu\text{mol/L}$ Al 组细胞存活率为 71.9%, 而 50 $\mu\text{mol/L}$ 叶酸+300 $\mu\text{mol/L}$ Al 组为 82.7%, 见图 5。

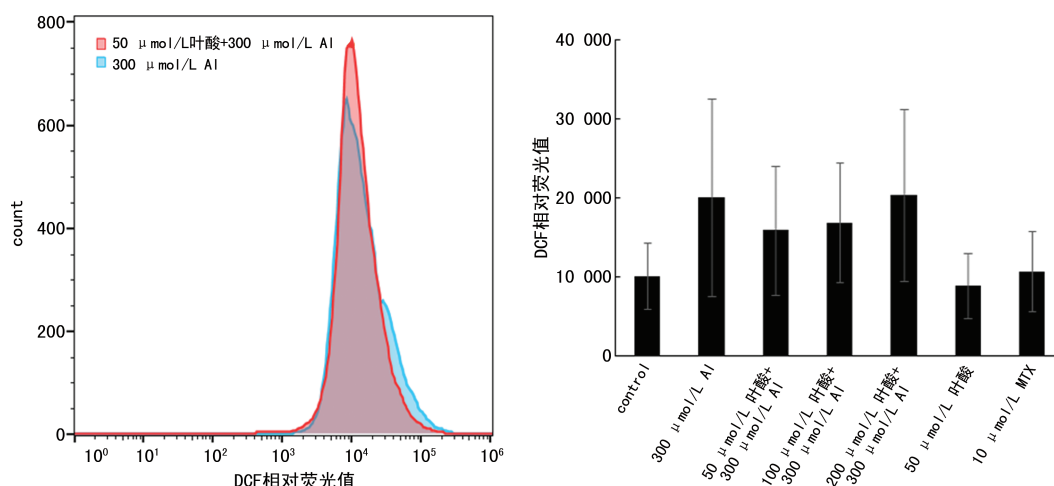
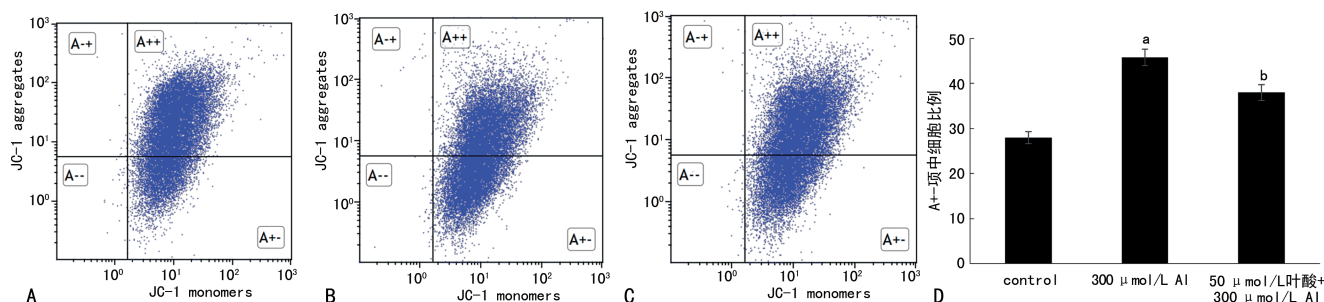


图 3 不同浓度叶酸干预 Al 诱导的 SH-SY5Y 细胞 ROS 水平



A: control; B: 300 $\mu\text{mol/L}$ Al; C: 50 $\mu\text{mol/L}$ 叶酸+300 $\mu\text{mol/L}$ Al; D: 各组 MMP 降低细胞比例比较; ^a: $P < 0.05$, 与 control 比较; ^b: $P < 0.05$, 与 300 $\mu\text{mol/L}$ Al 比较。

图 4 各组 MMP 降低细胞情况

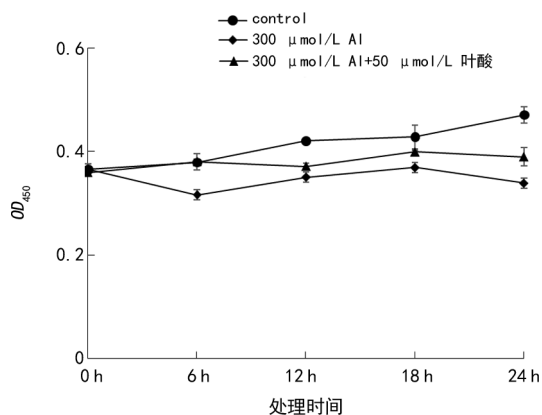


图 5 SH-SY5Y 细胞的 24 h 增殖曲线

3 讨论

叶酸作为常用的水溶性维生素之一具有一定的抗氧化的能力。金莉莉等^[12]研究发现叶酸可以降低

小鼠体内丙二醛(MDA)的水平,并且叶酸可通过升高血清中氧磷脂酶活性的同时降低髓过氧化物酶活性来发挥高密度脂蛋白的抗氧化和抗炎作用^[13]。在临床幽门螺杆菌阴性的慢性萎缩性胃炎治疗中发现,增加叶酸的使用可提高患者的总抗氧化能力和谷胱甘肽氧化物酶活力,并降低患者血清中 MDA 的水平^[14]。通过在子痫前期患者的治疗中增加叶酸和维生素 B12,可提高患者体内超氧化物歧化酶和谷胱甘肽氧化物酶的活力,并降低 MDA 水平^[15]。叶酸具有改善老年 H 型高血压急性脑梗死患者认知功能障碍的作用,在使用氯沙坦改善认知功能障碍的同时加入叶酸能有效提高蒙特利尔认知评估量表和简易智能量表的评分,并降低神经元特异性烯醇化酶、中枢神经特异蛋白和 A β 等蛋白水平^[16]。

阿尔茨海默病致病机制具有多种假说,而氧化应

激可扰乱机体氧化与还原的平衡,并使得身体产生过多的 ROS 和活性氮,促使 A β 在脑部的沉积^[17]。已有研究提示 ROS 与阿尔茨海默病的发生有密切关系,可能是阿尔茨海默病形成的重要因素^[18]。而铝具有神经毒性可以引起神经细胞的死亡^[19],而 ROS 可以介导 SH-SY5Y 细胞的凋亡。A β 作为阿尔茨海默病发生的另一个重要因素可引起中枢神经系统的慢性炎症反应^[20],而铝的存在有利于 A β 的生成,并且铝能降低机体清除氧自由基的能力,加速机体的氧化损伤^[21]。

本研究发现,Al 可以在较短时间内(6 h)诱导 SH-SY5Y 细胞的 ROS 水平上升,而叶酸可以在一定范围内降低 Al 所诱导的这种效应。虽然已有研究显示叶酸有一定的抗氧化功能^[22],但其是如何发挥抗氧化功能的还未有研究。而且 ROS 水平的上升可能导致细胞的线粒体膜通透性转运孔开放,并进一步导致 MMP 的降低,使得细胞产生的腺嘌呤核苷三磷酸(ATP)数量降低,最后引起细胞的存活率降低^[23]。本研究显示,叶酸能降低 Al 对 SH-SY5Y 细胞的毒性,减少 Al 诱导 SH-SY5Y 细胞 MMP 降低的细胞比例,推测叶酸可能通过拮抗铝所诱导的 ROS 水平上升而促进 MMP 的恢复,这为后续研究叶酸抗氧化机制提供参考。

参考文献

- [1] ZATTA P, LUCCHINI R, RENSBURG J V, et al. The role of metals in neurodegenerative processes: aluminum, manganese, and zinc[J]. Brain Res Bull, 2003, 62(1): 15-28.
- [2] GRIFFIOEN K J, GHRIBI O, FOX N, et al. Aluminum maltolate-induced toxicity in NT2 cells occurs through apoptosis and includes cytochrome c release[J]. Neurotoxicology, 2004, 25(5): 859-867.
- [3] MIRZA A, KING A, TROAKES C, et al. Aluminium in brain tissue in familial Alzheimer's disease[J]. J Trace Elem Med Biol, 2017, 40(1): 30-36.
- [4] RIZVI S H M, PARVEEN A, VERMA A K, et al. Aluminium induced endoplasmic reticulum stress mediated cell death in SH-SY5Y neuroblastoma cell line is independent of p53[J]. PLoS One, 2014, 9(5): 1-13.
- [5] ZATTA P, IBN-LKHAYAT-IDRISSI M, ZAMBE NEDETTI P, et al. In vivo and in vitro effects of aluminium on the activity of mouse brain acetylcholinesterase[J]. Brain Res Bull, 2002, 59(1): 41-45.
- [6] PLATT B, FIDDLER G, RIEDEL G, et al. Aluminium toxicity in the rat brain: histochemical and immunocytochemical evidence[J]. Brain Res Bull, 2001, 55(2): 257-267.
- [7] JYOTI A, SETHI P, SHARMA D. Bacopa monniera prevents from aluminium neurotoxicity in the cerebral cortex of rat brain[J]. J Ethnopharmacol, 2007, 111(1): 56-62.
- [8] WALLINGFORD J B, NISWANDER L A, SHAW G M, et al. The continuing challenge of understanding, preventing, and treating neural tube defects[J]. Science, 2013, 339(6123): 1222-1227.
- [9] ALVARES DELFINO V D, DE ANDRADE VI ANNA A C, MOCELIN A J, et al. Folic acid therapy reduces plasma homocysteine levels and improves plasma antioxidant capacity in hemodialysis patients[J]. Nutrition, 2007, 23(3): 242-247.
- [10] BÉCHIR M, ENSELEIT F, CHENEVAR R, et al. Folic acid improves baroreceptor sensitivity in hypertension[J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2005, 45(1): 44-48.
- [11] MAYES J, TINKER-MILL C, KOLOSOV O, et al. β -amyloid fibrils in Alzheimer disease are not inert when bound to copper ions but can degrade hydrogen peroxide and generate reactive oxygen species[J]. J Biol Chem, 2014, 289(17): 12052-12062.
- [12] 金莉莉, 于炎巧, 朱晓玉, 等. 甜菜碱及叶酸的降血脂和抗氧化作用[J]. 辽宁大学学报(自然科学版), 2019, 46(2): 142-150.
- [13] 李鹏, 林小劲. 辛伐他汀联合叶酸对 ApoE 缺失小鼠 HDL 水平及功能的影响[J]. 广州医科大学学报, 2018, 46(1): 1-6.
- [14] 倪文, 王奇胜. 叶酸对 HP 阴性的慢性萎缩性胃炎患者疗效及氧化应激指标的影响[J]. 湖北职业技术学院学报, 2019, 22(86): 111-114.
- [15] 黄强, 陈秦莉. 叶酸及维生素治疗对子痫前期患者 Hcy 代谢、内皮损伤、胎盘血流灌注的影响[J]. 海南医学院学报, 2018, 24(12): 1171-1174.
- [16] 杨明, 王春娟, 刘世昱. 氯沙坦联合叶酸对老年 H 型高血压急性脑梗死患者认知功能障碍的改善作用及 PI3K/AKT 参与机制[J]. 河北医药, 2020, 42(12): 38-41.
- [17] 伏彩霞, 尚天明, 马宝山. 阿尔茨海默病患者炎症因子、氧化应激与胰岛素抵抗(下转第 3792 页)

- 者围术期细胞免疫功能的影响[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(12): 2016-2018.
- [7] REN J, LI C, LIU Y, et al. Protective effect of dexmedetomidine against myocardial ischemia-reperfusion injury in rabbits[J]. Acta Cir Bras, 2018, 33(1): 22-30.
- [8] 胡杰, 苏新娟, 郑海涛, 等. 右美托咪定对体外循环下冠脉旁路移植术患者心肺功能的影响[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(9): 1532-1533.
- [9] ZHANG X, LI Y, WANG Y, et al. Dexmedetomidine postconditioning suppresses myocardial ischemia/reperfusion injury by activating the SIRT1/mTOR axis [J]. Biosci Rep, 2020, 40(5): BSR20194030.
- [10] CHANG J H, JIN M M, LIU J T. Dexmedetomidine pretreatment protects the heart against apoptosis in ischemia/reperfusion injury in diabetic rats by activating PI3K/Akt signaling in vivo and in vitro [J]. Biomed Pharmacother, 2020, 127: 110188.
- [11] YUAN M, MENG X W, MA J, et al. Dexmedetomidine protects H9c2 cardiomyocytes against oxygen-glucose deprivation/reoxygenation-induced intracellular calcium overload and apoptosis through regulating FKBP12. 6/RyR2 signaling [J]. Drug Des Devel Ther, 2019, 13: 3137-3149.
- [12] PLUQUET O, POURTIER A, ABBADIE C. The unfolded protein response and cellular senescence. A review in the theme: cellular mechanisms of endoplasmic reticulum stress signaling in health and disease [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2015, 308: 415-425.
- [13] POBRE K F R, POET G J, HENDERSHOT L M. The endoplasmic reticulum (ER) chaperone BiP is a master regulator of ER functions: getting by with a little help from ERdj friends [J]. J Biol Chem, 2019, 294: 2098-2108.
- [14] SEKINE Y, TAKEDA K, ICHIJO H. The ASK1-MAP kinase signaling in ER stress and neurodegenerative diseases [J]. Curr Mol Med, 2006, 6(1): 87-97.
- [15] 刘锦源, 司林杰. 酒石酸布托啡诺预处理对小鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及其机制 [J]. 东南大学学报(医学版), 2017, 36(1): 74-77.
- (收稿日期: 2021-02-10 修回日期: 2021-08-13)
-
- (上接第 3785 页)
- 抗的相关性分析[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(7): 939-942.
- [18] 阿地力江·萨吾提, 周文婷, 艾尼瓦尔·吾买尔. 糖原合成激酶-3 在氧化应激与阿尔茨海默病中的作用[J]. 西北药学杂志, 2019, 34(6): 838-844.
- [19] 夏佳蕊, 刘佳琪, 李宗高, 等. 铝神经毒性作用机制研究进展[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(13): 3276-3280.
- [20] JAEGER L B, DOHGU S, SULTANA R, et al. Lipopolysaccharide alters the blood-brain barrier transport of amyloid beta protein: a mechanism for inflammation in the progression of Alzheimer's disease [J]. Brain Behav Immun, 2009, 23(4): 507-517.
- [21] SHATI A A, ELSAID F G, HAFEZ E E. Biochemical and molecular aspects of aluminium chloride-induced neurotoxicity in mice and the protective role of Crocus sativus L. extraction and honey syrup [J]. Neuroence, 2011, 175(1): 66-74.
- [22] 李宁, 赵紫薇, 张凡, 等. 叶酸对铅暴露大鼠肝脏氧化损伤的影响[J]. 动物营养学报, 2019, 31(11): 5179-5184.
- [23] 曲秋莲, 张英鸽. 3 种纳米颗粒对 BGC-823 细胞线粒体膜电位及细胞内活性氧水平的影响[J]. 军事医学, 2010, 34(4): 306-308.
- (收稿日期: 2021-03-16 修回日期: 2021-07-21)