

# 缺氧及血管紧张素 II 体外诱导人大动脉内皮细胞损伤与银杏叶提取物的保护效应

刘玉<sup>1</sup>, 李鸣皋<sup>1\*</sup>, 胡建林<sup>2</sup>, 马贵喜<sup>1</sup>, 韩磊<sup>1</sup>, 黄友章<sup>3</sup>

(1 北京海军总医院海军航空潜水医学中心, 北京 100037; 2 中国人民解放军第三军医大学附属西南医院呼吸科, 重庆 400038; 3 北京海军总医院血液科, 北京 100037)

**摘要:** 目的 实验以缺氧及血管紧张素 II (AngII) 体外诱导的人大动脉损伤内皮细胞为对象, 观察血管内皮细胞 (VEC) 钙离子浓度及线粒体膜电位 (MMP) 的变化, 探讨银杏叶提取物金钠多对 VEC 可能的保护作用机制。方法 建立 VEC 缺氧损伤模型; 实验分别设空白对照组、缺氧组、缺氧加金钠多组、AngII 作用组、AngII 加金钠多组、缺氧和 AngII 作用组及缺氧和 AngII 加金钠多组等 7 组。各组细胞经过 Flu<sub>3</sub>/AM 负载后, 用激光共聚焦显微镜测定 VEC 内 Flu<sub>3</sub> 的荧光强度代表钙离子浓度; 各组细胞经过 Rhodamine 123 负载后, 用激光共聚焦显微镜测定 VEC 内 Rhodamine 123 的荧光强度代表 MMP。结果 VEC 分别经过缺氧及 AngII 损伤后, 细胞内钙离子浓度明显升高 ( $P < 0.01$ ), MMP 明显降低 ( $P < 0.01$ ); 缺氧条件下, AngII 可引起 VEC 钙离子浓度进一步升高 ( $P < 0.05$ ), MMP 较单纯缺氧或单纯 AngII 作用进一步降低 ( $P < 0.05$ ); 金钠多可抑制细胞内钙离子浓度的升高并提高受损伤细胞的 MMP。结论 缺氧及 AngII 等因素可引起 VEC 内钙离子浓度明显升高, MMP 明显降低, 金钠多明显减轻上述损伤, 具有细胞保护作用。

**关键词:** 缺氧; 血管紧张素 II; 血管内皮细胞; 细胞内钙离子浓度; 线粒体膜电位; 银杏叶提取物 (金钠多)

**中图分类号:** R852.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-221X(2008)05-0298-04

Protective effect of ginkgo biloba extract on human vascular endothelial cell damage caused by hypoxia and Angiotensin II in vitro

LIU Yu, LIMing-gao\*, HU Jian-lin, MA Gui-xi, HAN Lei, HUANG You-zhang

(1 Aviation & Diving Medical Center, Navy General Hospital, Beijing 100037, China; 2 Department of Respiratory, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China; 3 Department of Hematology, Navy General Hospital, Beijing 100037, China)

**Abstract:** Objective To explore the protective effect and its possible mechanism of ginkgo biloba extract (Ginaton) on human vascular endothelial cells (VEC) injured by hypoxia and AngII. Methods The VEC were divided into seven groups: they were control group, hypoxia group, hypoxia+Ginaton group, AngII group, AngII+Ginaton group, hypoxia+AngII group and hypoxia+AngII+Ginaton group. The changes of intracellular  $Ca^{2+}$  concentration ( $[Ca^{2+}]_i$ ) and mitochondria membrane potential (MMP) were observed with laser confocal microscopy after adding Flu<sub>3</sub>/AM and Rhodamine 123 respectively. Results The results showed that  $[Ca^{2+}]_i$  increased and MMP decreased significantly both in hypoxia group and AngII group ( $P < 0.01$ ), and these changes were more obvious in hypoxia+AngII group compared with hypoxia group of AngII group ( $P < 0.05$ ). However, the changes of  $[Ca^{2+}]_i$  and MMP could be ameliorated by Ginaton (Ginkgo biloba extract). Conclusion The study suggested that VEC could be injured by hypoxia or AngII through increasing  $[Ca^{2+}]_i$  and decreasing MMP, and Ginaton could effectively protect VEC against injury induced by hypoxia and AngII.

**Key words:** Hypoxia; Angiotensin II (AngII); Vascular endothelial cells (VEC); Intracellular  $Ca^{2+}$  concentration ( $[Ca^{2+}]_i$ ); Mitochondria membrane potential (MMP); Ginkgo biloba extract (Ginaton)

血管内皮细胞 (vascular endothelial cells, VEC) 是血液和组织间进行代谢交换的屏障, 可以合成和分泌多种生物活性物质, 在调节血管收缩舒张功能、维持内环境稳定等方面具有重要意义。缺氧是导致

VEC 损伤的极为常见的病理因素, 血管紧张素 II (Angiotensin II, AngII) 是肾素-血管紧张素系统直接作用于血管床使血管收缩的重要血管活性肽, 在高血压、动脉硬化和心衰等疾病的发生发展过程中起重要作用<sup>[1,2]</sup>, 本研究通过建立 VEC 缺氧损伤模型, 应用激光共聚焦显微镜观察缺氧条件下 AngII 引起 VEC 内钙离子浓度 ( $[Ca^{2+}]_i$ ) 及线粒体膜电位 (mitochondria membrane potential, MMP) 的变化, 以及银杏叶提取物金钠多对该变化的影响, 探讨金钠多

收稿日期: 2008-04-23 修回日期: 2008-06-23

基金项目: 海军后勤科研基金 (00-3321)

作者简介: 刘玉 (1966-), 男, 副主任医师, 研究方向: 缺氧损伤与保护。

\*: 通讯作者, 主任医师, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 航空航天与航海医学。

对 VEC 的保护作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 主要试剂和仪器

D-Hank 液 (Hyclone, 美国), 人大动脉血管内皮细胞 (CB1公司, 美国), Fluor3/AM (BD-RAD公司, 美国), Rhodamine 123 荧光探针 (BIO-RAD公司, 美国), AngII (Sigma公司, 美国), 缺氧用混合气体 (95% N<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, 北京市特殊气体供应公司), 金钠多 (德国 Dr. Wilmar Schwabe 药厂), 激光共聚焦显微镜 MRC1024 (美国 BD-RAD公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 缺氧模型 取人大动脉 VEC 常规复苏传代, 当细胞传至第三代时, 将细胞接种于 35 mm 培养皿中继续培养, 观察细胞 70%~90% 融合后, 倾去上层培养液, 加入 180  $\mu$ l 新鲜培养液, 将培养皿放入备有进气口和出气口的密闭容器中, 保持出气口开放, 将缺氧用混合气以 10 L/min 的流量经进气口充入密闭容器, 持续 5 min 后, 同时关闭进气口和出气口, 将密闭容器置于 37  $^{\circ}$ C 的培养箱中缺氧培养 60 min。

1.2.2 实验分组与处理 将培养的内皮细胞按 2 皿/组分为 7 组。(1) 对照组: 加入细胞培养液 180  $\mu$ l 及生理盐水 20  $\mu$ l; (2) 单纯缺氧组: 加入细胞培养液 180  $\mu$ l 及生理盐水 20  $\mu$ l; (3) 缺氧+金钠多组: 加入细胞培养液 180  $\mu$ l 生理盐水 10  $\mu$ l 金钠多 10  $\mu$ l 使培养液中金钠多的终浓度为 10 mg/L; (4) 单纯 AngII 组: 加入细胞培养液 180  $\mu$ l 生理盐水 10  $\mu$ l AngII 10  $\mu$ l 使培养液中 AngII 终浓度为 10<sup>-7</sup> mol/L; (5) AngII+金钠多组: 加入细胞培养液 180  $\mu$ l AngII 10  $\mu$ l 金钠多 10  $\mu$ l 使培养液中 AngII 终浓度为 10<sup>-7</sup> mol/L 金钠多的终浓度为 10 mg/L; (6) 缺氧+AngII 组: 加入细胞培养液 180  $\mu$ l 生理盐水 10  $\mu$ l AngII 10  $\mu$ l 使培养液中 AngII 终浓度为 10<sup>-7</sup> mol/L; (7) 缺氧+AngII+金钠多组: 加入细胞培养液 180  $\mu$ l AngII 10  $\mu$ l 金钠多 10  $\mu$ l 使培养液中 AngII 终浓度为 10<sup>-7</sup> mol/L 金钠多的终浓度为 10 mg/L。对照组、单纯 AngII 组及 AngII+金钠多组分别在加入生理盐水或不同试剂作用 60 min 后进行 [Ca<sup>2+</sup>] 及 MMP 的测定, 其余各组分别在不同试剂作用并经缺氧 60 min 后进行 [Ca<sup>2+</sup>] 及 MMP 的测定。

1.2.3 [Ca<sup>2+</sup>] 的测定 将上述各组培养皿中的细胞用 D-Hank 液洗涤 3 遍, 各皿内加新鲜培养液 2 ml 再加入配制好的 Fluor3/AM 荧光探针 (1  $\mu$ g/ $\mu$ l) 2  $\mu$ l 负载, 其终浓度为 1  $\mu$ g/ml 放入 37  $^{\circ}$ C CO<sub>2</sub> 孵箱中孵育 30 min 吸去 Fluor3/AM 负载液, 用 D-Hank 液轻轻洗细胞 3 遍, 充分洗去剩余染料, 加 200  $\mu$ l 细胞培养液,

避光保存 15 min 应用激光扫描共聚焦显微镜观察细胞内 Fluor3 的荧光强度 (激发波长 488 nm, 发射波长 526 nm), 每组选取 25 个活细胞, 每个细胞间隔 2 扫描 1 次, 共扫描 16 次, 记录 16 个荧光强度数值, 取平均值代表该细胞的 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>。

1.2.4 血管内皮细胞 MMP 的测定 将上述各组培养皿中的细胞用 D-Hank 液洗涤 3 遍, 各皿内加新鲜培养液 2 ml 再加入配制好的 Rhodamine 123 荧光探针 (5  $\mu$ g/ $\mu$ l) 2  $\mu$ l 负载, 其终浓度为 5  $\mu$ g/ml 放入 37  $^{\circ}$ C CO<sub>2</sub> 孵箱中孵育 30 min 吸去 Rhodamine 123 荧光探针负载液, 用 D-Hank 液轻轻洗细胞 3 遍, 加 200  $\mu$ l 细胞培养液, 避光保存 15 min 应用激光扫描共聚焦显微镜观察细胞内 Rhodamine 123 的荧光强度 (激发波长 488 nm, 发射波长 526 nm), 每组选取 25 个活细胞, 每个细胞间隔 2 扫描 1 次, 共扫描 16 次, 记录 16 个荧光强度数值, 取平均值代表该细胞的 MMP。

### 1.3 统计学处理

全部数据输入计算机, 在 SPSS 1.0 统计软件上分析, 结果以均值  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 应用统计学方法采用单因素方差分析, P < 0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 金钠多对缺氧与 AngII 诱导 VEC 内 Ca<sup>2+</sup> 超载的保护作用

与对照组相比, 缺氧组及 AngII 组 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 显著升高 (P < 0.01); 缺氧+AngII 组 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 与单纯缺氧组比较有非常显著升高 (P < 0.01), 与单纯 AngII 组比较有显著升高 (P < 0.05); 缺氧+金钠多组同单纯缺氧组比较, [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 明显降低 (P < 0.01); AngII+金钠多组同单纯 AngII 组比较, [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 明显降低 (P < 0.01); 缺氧+AngII+金钠多组同缺氧+AngII 组比较, [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 明显降低 (P < 0.01); 各金钠多保护组的 [Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub> 仍明显高于空白对照组, 差异有统计学意义 (P < 0.05 或 P < 0.01), 见表 1。

### 2.2 金钠多对缺氧、AngII 致 VEC 内 MMP 变化的保护作用

与对照组相比, 缺氧组及 AngII 组 MMP 明显降低 (P < 0.01); 缺氧+AngII 组 MMP 与单纯缺氧组相比降低非常显著 (P < 0.01), 与单纯 AngII 组相比降低显著 (P < 0.05); 缺氧+金钠多组同单纯缺氧组比较, MMP 明显升高 (P < 0.05); AngII+金钠多组同单纯 AngII 组比较, MMP 明显升高 (P < 0.01); 缺氧+AngII+金钠多组同缺氧+AngII 组

比较, MMP明显升高 ( $P < 0.01$ ), 见表 1。

表 1 缺氧、AngII 对 VEC 内  $[Ca^{2+}]_i$  及 MMP 的影响及金钠多的保护作用 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本量	细胞 $[Ca^{2+}]_i$	线粒体膜电位
对照组	25	28.46 ± 5.30	36.87 ± 8.96
单纯缺氧组	25	40.08 ± 7.49 <sup>a</sup>	24.72 ± 8.31 <sup>a</sup>
缺氧 + 金钠多组	25	33.30 ± 8.49 <sup>b,c</sup>	30.05 ± 10.63 <sup>a,g</sup>
单纯 AngII 组	25	46.42 ± 8.88 <sup>a,c</sup>	21.77 ± 7.19 <sup>a</sup>
AngII + 金钠多组	25	34.31 ± 8.16 <sup>b,d</sup>	28.37 ± 7.94 <sup>a,d</sup>
缺氧 + AngII 组	25	51.66 ± 8.94 <sup>a,e</sup>	16.62 ± 6.09 <sup>a,e</sup>
缺氧 + AngII + 金钠多组	25	39.18 ± 8.06 <sup>a,f</sup>	23.11 ± 9.91 <sup>a,f</sup>

与对照组比较, <sup>a</sup>  $P < 0.01$ , <sup>b</sup>  $P < 0.05$  与单纯缺氧组比较, <sup>c</sup>  $P < 0.01$ , <sup>d</sup>  $P < 0.05$ , 与单纯 AngII 组比较, <sup>e</sup>  $P < 0.01$ , <sup>f</sup>  $P < 0.05$ , 与缺氧 + AngII 组比较, <sup>g</sup>  $P < 0.01$

### 3 讨论

$Ca^{2+}$  作为细胞内信使, 几乎参与一切调控细胞功能的信息转导过程, 钙超载是许多原因引起细胞损害的“最后共同通路”<sup>[3]</sup>。缺氧导致细胞氧化磷酸化功能抑制, 钠钾泵功能障碍, 导致细胞膜去极化引起短暂的电压依赖型  $Ca^{2+}$  通道开放,  $Ca^{2+}$  内流, 同时, 线粒体功能损害使得贮存  $Ca^{2+}$  释放, 导致细胞内  $Ca^{2+}$  超载。本研究利用  $Ca^{2+}$  特异性的荧光染料 Fluo3 观察了 VEC 在缺氧及 AngII 作用后  $[Ca^{2+}]_i$  的变化, 结果显示缺氧处理或应用 AngII 作用后  $[Ca^{2+}]_i$  明显升高, 缺氧与 AngII 联合作用后  $[Ca^{2+}]_i$  进一步升高。AngII 引起  $[Ca^{2+}]_i$  升高的机制可能与下列因素有关, 一方面 AngII 能够引起 VEC 内皮素 (ET-1) 含量升高<sup>[4]</sup>, ET-1 作用于 VEC 后引起剂量依赖性的  $Ca^{2+}$  浓度升高<sup>[5]</sup>; 另一方面 AngII 能够抑制 VEC 大电导钙激活钾通道的作用<sup>[6]</sup>, 使 VEC 膜上的  $Na^+ - K^+ - ATP$  酶活性降低,  $Na^+ - K^+$  泵功能障碍, 导致细胞膜去极化而引起电压依赖型  $Ca^{2+}$  通道开放,  $Ca^{2+}$  内流。因此, 在对 VEC 内  $Ca^{2+}$  浓度影响的因素中, AngII 具有与缺氧因素相似的作用机制, 两者具有协同作用。

MMP 是指存在于生物膜两侧的电位差, 是评价线粒体功能的敏感指标<sup>[7]</sup>。在线粒体内、外膜交界处存在一种蛋白性孔道——线粒体膜通透性转换孔 (Mitochondrial permeability transition pore, MPT), MMP 的下降与 MPT 的开放密切相关, 是发生细胞凋亡的重要环节<sup>[8]</sup>。本研究结果显示, VEC 经过缺氧或 AngII 作用后细胞内 MMP 均显著下降, 缺氧与 AngII 联合作用后 VEC 内 MMP 进一步下降。关于缺氧或 AngII 引起 MMP 下降的机制可能与下列因素有关: (1) 大量研究证实几乎所有致细胞凋亡的刺激因素都会诱发线粒体结构破坏和功能障碍<sup>[9,10]</sup>, 缺氧促进机体活性氧生成, 可直接或间接损伤线粒体膜, 造成 MMP 下降<sup>[11]</sup>, 而 AngII 也可以促进

氧自由基的产生<sup>[12]</sup>, 从而引起 MMP 的下降; (2) MPT 孔的开放受线粒体  $Ca^{2+}$  浓度的升高直接或间接调控<sup>[13]</sup>, 线粒体内  $Ca^{2+}$  的缓慢积累导致线粒体内  $Ca^{2+}$  超载, 启动 MPT 孔开放, 导致 MMP 下降, 而缺氧与 AngII 均可引起线粒体  $Ca^{2+}$  浓度的升高<sup>[14,15]</sup>。可见, AngII 与缺氧引起 MMP 下降的途径几乎是一致的, 这也许是缺氧与 AngII 联合作用后 MMP 进一步下降的原因。

金钠多是目前世界上公认的标准化银杏叶提取物, 其主要的生物活性成分是银杏内酯和黄酮甙, 具有多种复杂的生物学效应<sup>[16]</sup>。本研究结果显示, 各金钠多保护组  $[Ca^{2+}]_i$  较相应的损伤组明显下降, MMP 明显升高, 提示金钠多有抑制细胞内  $Ca^{2+}$  超载、提高 MMP 的作用。由于金钠多具有抑制血小板活化因子活性<sup>[17]</sup>、清除自由基<sup>[18]</sup>、对抗 AngII 抑制 VEC 大电导钙激活钾通道<sup>[6]</sup>等作用, 最终可能激活 VEC 膜上的  $Na^+ - K^+ - ATP$  酶的活性, 降低  $Ca^{2+}$  通道的活性, 阻止  $Ca^{2+}$  内流及肌浆网  $Ca^{2+}$  的释放, 从而显示出钙通道阻滞剂的作用而有效抑制细胞内钙超载<sup>[19,20]</sup>。 $[Ca^{2+}]_i$  的降低, 可以避免或减少 MPT 的开放, 升高 MMP 表现出细胞保护作用。本研究结果同时显示, 各金钠多保护组细胞内  $Ca^{2+}$  的浓度仍明显高于对照组, MMP 仍明显低于对照组, 提示金钠多的保护作用是有限的, 并不能完全保护缺氧和 AngII 对  $[Ca^{2+}]_i$  及 MMP 的影响。本研究仅观察了一种浓度的金钠多的保护作用, 对于不同浓度的金钠多对 VEC 的保护作用需进一步研究。

### 参考文献:

- [1] Callera G, Tostes R, Savoia C, et al. Vasoactive peptides in cardiovascular (Patho) Physiology [J]. Expert Rev Cardiovasc Ther 2007; 5 (3): 531-552
- [2] Yildiz O. Vascular smooth muscle and endothelial functions in aging [J]. Ann N Y Acad Sci 2007; 1100: 353-360
- [3] 孟丽, 彭瑞云, 高亚兵, 等. 高功率微波辐射后下丘脑神经元凋亡和线粒体膜电位与  $Ca^{2+}$  的变化 [J]. 中华劳动卫生职业病杂志, 2006; 24 (12): 739-741
- [4] 刘玉, 孙运峰, 马贵喜, 等. 血管内皮细胞内皮素分泌功能与茶多酚及血管紧张素 II 的相关性 [J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2008; 12 (2): 381-384
- [5] 韩英, 谢良地, 许昌生, 等. 阿魏酸钠对血小板源生长因子和内皮素 1 诱导的血管平滑肌细胞迁移的影响 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2004; 12 (6): 659-661
- [6] 林琳, 郑永芳, 屈星河, 等. 血管紧张素 II 抑制 ECV304 细胞  $IKCa$  效应的细胞机制及银杏叶提取物的作用 [J]. 中国医学科学院学报 2001; 23 (5): 467-471
- [7] 史成和, 陆松敏, 刘建仓, 等. 紫芪方对 EC-6 小肠生皮细胞缺氧复氧损伤后细胞凋亡及线粒体膜电位的影响 [J]. 药物研究, 2005; 14 (10): 24-26

(下转第 327 页)

## 3 讨论

近年来,职业因素对心理健康的影响日益引起国内学者的关注<sup>[3]</sup>,一些研究表明多种职业、社会和个性特征影响人们的心理健康状态<sup>[4]</sup>,但国内还未见基于DSM标准诊断的不同职业精神疾病患病率的报道。

辽宁省居民各种精神疾病的12月患病率为8.09%,大大高于辽宁省1982年(0.45%)<sup>[5]</sup>和1992年(0.36%)<sup>[6]</sup>精神疾病调查报告的患病水平,表明随着经济生活水平日益增长及社会、工作压力逐渐增大,导致精神疾病患病率较之以前有明显增高,这种增高在辽宁省城市居民身上反应更为明显,凸现出精神疾病已经成为我省重大公共卫生问题。无业/待业人员(38.8%)和下岗工人(29.0%)的情感障碍患病率明显高于其他人群,缺乏基本生活保障社会支持、消极应对方式和家庭矛盾激化等因素可能是导致无业人员和下岗人员重性抑郁和心境恶劣患病率高发的主要原因<sup>[7-8]</sup>。离退休人员和家务劳动者情感障碍多发可能是老年人躯体疾病较多、社会交往贫乏、经济状况不佳等多因素综合作用的结果<sup>[9]</sup>。农、林、牧、渔劳动者的情感障碍患病率略低于平均水平,与其较低的职业紧张度和竞争压力有关<sup>[4]</sup>。从事家务劳动的人群焦虑患病率为11.24%,大大高于其他人群,可能与其家庭、社会地位较低,社交范围狭窄,积累的矛盾缺乏解决途径有关,同辽宁省以往的研究结果相似<sup>[10]</sup>。国家企事业单位负责人及生产工人、运输工人和有关人员的酒精使用障碍患病率最高,办事人员和有关人员、无业/待业人员和商业、服务业性工作人员的酒精使用障碍的患病率也明显高于其他职业,呈现出鲜明的职业特点,同这些职业较高的饮酒率、饮酒量和饮酒年限有关<sup>[10]</sup>。

辽宁省居民精神障碍的患病率分布呈现明显的职业特征,无业、下岗和离退休等缺乏社会保障与支持的人群情感障碍与焦虑障碍高发,国家企事业单位负责人及生产工人、运输工人和有关人员的酒精使用障碍的患病率最高,应采取有针对性的防治措施。

## 参考文献:

- [1] WHO 复合性国际诊断交谈检查(CD)核心本检查者用本、使用者手册和计算机使用手册[M].北京医科大学精神卫生研究所译.1991:1-60.
  - [2] GB/T6565-1999 职业分类与代码[S].
  - [3] 余善法,张锐,马良庆,等.职业紧张对心理健康的影响[J].中华劳动卫生职业病杂志,2003,24:16-19.
  - [4] 余善法,姚三巧,丁辉,等.抑郁症状与职业紧张的关系[J].中华劳动卫生职业病杂志,2003,24:129-133.
  - [5] 12地区精神疾病流行病学调查协作组.国内12地区精神疾病流行病学调查的方法学及资料分析[J].中华神经精神科杂志,1986,19:65-69.
  - [6] 张维熙,沈渔邨,李淑然,等.中国七个地区精神疾病流行病学调查[J].中华精神科杂志,1998,31:229-236.
  - [7] 安范红,熊俊.385名下岗工人的心理健康状况对比分析[J].四川精神卫生,2004,17:101-102.
  - [8] 王娴,陈龙.下岗职工的人格、应对方式与心理健康的关系[J].中国行为医学科学,2004,13:184-185.
  - [9] 钮建中,陈平,卫志华,等.上海市某社区老年人精神健康及影响因素分析[J].上海预防医学,2001,13:560-564.
  - [10] 冯毅平.辽宁省城乡居民行为危险因素调查-1999[M].沈阳:辽宁科技出版社,2003:23-27.
- 
- (上接第300页)
- [8] 王学习,赵健雄,陈茹,等.荷瘤小鼠扶正抑瘤颗粒含药血清对H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>细胞的凋亡、自由基含量和线粒体膜电位的影响[J].中国中西医结合杂志,2007,27(4):343-346.
  - [9] Gupta S. Molecular signaling in death receptor and mitochondrial pathways of apoptosis[J]. Int J Oncol, 2003, 22(1): 15-20.
  - [10] Zimmermann K C, Green D R. How cells die: apoptosis pathways[J]. J Allergy Clin Immunol, 2001, 108(4): S99-103.
  - [11] 王葆,梁永钜,符立梧,等. Manumycin诱导舌鳞癌 Tc8113细胞凋亡的作用及机制[J].中国药理学通报,2006,22(9):1104-1111.
  - [12] Pueyo M E, Goonza lez W, Nicoletti A, et al. Angiotensin II stimulates endothelial vascular cell adhesion molecule-1 via nuclear factor-kappa B activation induced by intracellular oxidative stress[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2000, 20(3): 645-651.
  - [13] 祝捷,李宇航,王国庆,等.半夏泻心汤药物血清对IC线粒体膜电位与[Ca<sup>2+</sup>]<sub>i</sub>的影响[J].辽宁中医杂志,2007,34(9):1328-1330.
  - [14] Kang S M, Lim S, Song H, et al. Allopurinol modulates reactive oxygen species generation and Ca<sup>2+</sup> overload in ischemia-reperfused heart and hypoxia reoxygenated cardiomyocytes[J]. Eur J Pharmacol, 2006, 535(1-3): 212-219.
  - [15] 李永胜,王照华,梁黔生,等.丹参酮II<sub>A</sub>对血管紧张素II所致主动脉内皮细胞游离钙离子及产生一氧化氮的影响[J].中华高血压杂志,2006,14(11):882-886.
  - [16] 银杏叶提取物对早期糖尿病肾病患者细胞间黏附分子-1和血管细胞黏附分子-1水平的影响[J].中国中西医结合杂志,2007,27(5):412-414.
  - [17] Akisu M, Catalan R E, Martinez A M. Glutamate release is involved in PAF increased cyclic GMP levels in hippocampus[J]. Biochem Mol Biol Lett, 1992, 47(3): 529-535.
  - [18] Fan L H, Wang K Z, Cheng B. Effects of Ginkgo biloba extract on lipid peroxidation and apoptosis after spinal cord ischemia reperfusion in rabbits[J]. Chin J Traumatol, 2006, 9(2): 77-81.
  - [19] Lüz Nakaya Y, Niwa Y, et al. K channel opening activity of Ginkgo biloba extracts and ginsenosides in cultured endothelial cells[J]. Exp Pharmacol Physiol, 2001, 49(1): 441-445.
  - [20] Kanada A, Nishimura Y, Yamaguchi J Y, et al. Extract of Ginkgo biloba leaves attenuates kainite-induced increase in intracellular Ca<sup>2+</sup> concentration of rat cerebral granule neurons[J]. Biol Pharm Bull, 2005, 28(5): 934-936.