论著

文章编号:1000-5404(2011)14-1462-05

竹节参不同提取部位预处理对冠脉结扎诱导大鼠急性心肌缺血损伤的影响

贺海波,许 佳,王洪武,何 治,徐媛青,狄国杰,李守超,张长城,袁 丁 (443002 湖北 宜昌,三峡大学医学院中药药理实验室)

[摘要] **目的** 研究竹节参不同提取部位预处理对冠脉结扎诱导大鼠急性心肌缺血损伤的保护作用。**方法** 将50只实验大鼠按完全随机设计分组法分为假手术组、模型组和竹节参不同提取部位组;竹节参不同提取部位组大鼠分别灌胃给予竹节参不同提取部位(乙酸乙酯部位、正丁醇部位和水提部位),给药7 d后制作大鼠急性心肌缺血模型,术后12 h记录大鼠心电图,取血,分离血清后测谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)、心肌肌钙蛋白I(cTnI)含量,取心脏组织,分别进行心肌组织2,3,5-氯化三苯基四氮唑染色和HE染色。**结果** 竹节参的乙酸乙酯部位组、正丁醇部位组和水提部位均有对抗ST段升高作用,对心肌缺血大鼠心肌梗死面积有较强的降低作用,依次为(10.7±2.4)%、(9.8±2.6)%、(11.0±2.0)% *vs* (14.8±3.5)%,均具有统计学差异($P<0.05$),心肌炎性浸润和溶解坏死现象均有所减轻;在抗氧化损伤和降低cTnI方面,它们能明显增加SOD、GSH-Px酶活性,降低MDA和cTnI含量,与模型组比较,竹节参正丁醇部位均具有统计学差异($P<0.01$),水提部位除MDA外,均具有统计学差异($P<0.05$,$P<0.01$)。**结论** 竹节参不同提取部位预处理对冠脉结扎诱导大鼠急性心肌缺血损伤具有较强的保护作用,其中以正丁醇部位最为显著,水提部位次之。

[关键词] 竹节参;提取物;急性心肌缺血;保护作用
[中图法分类号] R282.71;R285.6;R542.2 [文献标志码] A

Effects of preconditioning with different fractions extracted from *Panax japonicus C. A. Mey* on acute myocardial ischemia in rats induced by ligation of left anterior descending branch

He Haibo, Xu Jia, Wang Hongwu, He Zhi, Xu Yuanqing, Di Guojie, Li Shouchao, Zhang Changcheng, Yuan Ding (Laboratory of Pharmacology of Traditional Chinese Medicine, Medical Science College of Three Gorges University, Yichang, Hubei Province, 443002, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the protective effects of preconditioning with different fractions extracted from *Panax japonicus C. A. Mey* on acute myocardial ischemia in rats induced by ligating of the left anterior descending branch (LAD). **Methods** Fifty Wistar rats were evenly and randomly divided into a sham group, a model group and three treatment groups. The treatment groups were given different fractions extracted from *Panax japonicus C. A. Mey*, i.g., an ethyl acetate fraction, an n-butyl alcohol fraction and a water fraction, separately. After preconditioning for 7 d, the acute myocardial ischemia models were constructed by LAD. The electrocardiogram, infarct size and histomorphology were assessed 12 h after LAD. The activities of superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GSH-Px) as well as the levels of malondialdehyde (MDA) and cardiac troponin I (cTnI) in serum were also measured. **Results** The ethyl acetate, n-butyl alcohol and water fractions could significantly decrease the ST-segment elevation of electrocardiogram, and remarkably reduce the infarct size [(10.7±2.4)%, (9.8±2.6)% and (11.0±2.0)% *vs* (14.8±3.5)%, $P<0.05$]. The myocardial inflammatory infiltration and lytic necrosis were alleviated due to the three fractions. Besides, the three fractions could significantly enhance the activities of SOD and GSH-Px, and reduce the levels of MDA and cTnI. The effect of the n-butyl alcohol fraction was significant as compared with the model group ($P<0.05$), and that of the water fraction was also significant as compared with the model group except for in the case of MDA ($P<0.05$, $P<0.01$). **Conclusion** The preconditioning with different fractions extracted

[基金项目] 国家自然科学基金(31070314, 30873383)
[通信作者] 袁 丁,电话:(0717)6397366,E-mail:yxyyd@ctgu.edu.cn

from Panax japonicus C. A. Mey has significant protective effects on acute myocardial ischemia in rats. The n-butyl alcohol fraction has the most significant protective effect, followed by the water fraction.

[**Key words**] *Panax japonicus C. A. Mey*; extract fraction; acute myocardial ischemia; protective effect

Supported by the National Nature Science Foundation of China(31070314, 30873383). Corresponding author: Yuan Ding, Tel: 86-717-6397366, E-mail: yxyyd@ctgu.edu.cn

竹节参为五加科人参属植物竹节参(*Panax japonicus C. A. Mey*)的干燥根茎,别名竹节三七、竹根七、竹节人参、白三七等,具有散瘀止血,消肿止痛,祛痰止咳,补虚强壮之功,主要用于痨嗽咯血,跌扑损伤,咳嗽痰多,病后虚弱等症,被土家族、苗族居民视为"草药之王"[1]。其化学成分主要为皂苷类(如竹节参皂苷、人参/伪人参皂苷、三七/叶三七皂苷等),除此之外,还含有丰富的氨基酸、多糖,少量的挥发油及无机元素等成分,由于其与人参、三七是同科、同属植物,具有与人参和三七类似的药理活性和兼具人参和三七的部分功效,因此开始受到人们的关注和重视,并逐渐成为研究与应用的热点[1-3]。研究显示,竹节参提取物和竹节参总皂苷能有效降低血清及组织中乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)活性及丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量,提高超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性,抗神经细胞凋亡作用,改善受损的神经功能,从而发挥对局灶脑缺血和缺血再灌注损伤的保护作用[4-5];在心血管研究方面,刘家兰等[6-7]研究发现竹节参提取物对异丙肾上腺素和垂体后叶素致大小鼠急性心肌缺血有较好的保护作用,它能够有效降低血清和心肌组织中肌酸激酶(creatine kinase, CK)和LDH的释放,也能显著降低血清和心肌组织中MDA水平;该实验用的是竹节参的粗提物,而且是用药物诱导的急性心肌缺血模型。我们认为有关竹节参在心肌缺血损伤研究方面,有两方面需要明确:其一是竹节参是对心肌缺血有保护作用,但是其中的何种成分起作用不明确;另一方面,仅通过药物致心肌缺血模型进行研究略显不足。基于这两个方面的因素,本实验拟通过结扎冠状动脉致大鼠急性心肌缺血模型来观察竹节参不同提取部位对大鼠急性心肌缺血的影响,旨在寻找竹节参抗心肌缺血的活性部位并初步探寻其作用机制,为竹节参进一步研究开发和临床应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 竹节参

竹节参购于湖北省恩施竹节参种植基地,经三峡大学天然产物研究与利用湖北省重点实验室汪鋆植教授鉴定为五加科人参属植物竹节参。

1.2 动物

Wistar大鼠(清洁级)50只,雄性,体质量(200±20)g,由湖北省疾病控制中心实验动物中心提供,许可证号:SCXK(鄂)2008-0005。动物分笼饲养于空调室内,室温(22±2)℃,湿度(60±5)%,喂标准颗粒饲料,自由饮水和摄食。

1.3 仪器与试剂

16导生理信号采集分析系统(Biopac Systems, INC, MP150),美国BIOPAC公司;ALC-V8型动物呼吸机,上海奥尔特生物科技有限公司;UV-2000型紫外-可见分光光度计,尤尼柯仪器有限公司;自动平衡离心机(LDZ5-2型),北京医用离心机厂;ULTRACUT-R型超薄切片机,德国Leica公司;Q500型图像分析仪,德国Leica公司;GSH-Px、SOD、MDA试剂盒和心肌肌钙蛋白I(cTnI)ELISA试剂盒购于南京建成生物工程研究所;2, 3, 5-氯化三苯基四氮唑(TTC)购于美国Sigma公司。

1.4 方法

1.4.1 竹节参不同提取部位的制备 取竹节参1.0 kg粉碎,加80%乙醇10倍量回流提取3次,每次1 h,合并提取液。提取液抽滤除杂,回收乙醇至无醇味后加水混悬,水液分别依次用石油醚、乙酸乙酯、正丁醇萃取,石油醚萃取部位,几乎无颜色,真空干燥后,未得到提取产物;提取液然后用乙酸乙酯萃取至无色,合并乙酸乙酯层,挥干,得乙酸乙酯部位51.7 g;水层继续用水饱和正丁醇萃取至无色,合并正丁醇层,挥干,得正丁醇部位186.2 g;剩余也挥干,得水溶性部位84.6 g,4 ℃保存备用,用前以生理盐水配制。

1.4.2 大鼠急性心肌缺血模型建立 在借鉴姚太平等[8]造模方法基础上,进行必要的改进。手术前先检查大鼠心电图,选取心电图正常的大鼠,行结扎心脏左冠状动脉前降支(ligation of the left anterior descending branch, LAD)致心肌缺血。大鼠用20%氨基甲酸乙酯溶液(1.5 g/kg)腹腔麻醉后,经左侧第4肋间剪开皮肤,钝性分离肌肉组织,打开胸腔,剪开心包膜,挤压出心脏,在左心耳与肺动脉圆锥之间,用6/0丝线距左冠状动脉前降支根部1~2 mm结扎,用Ⅱ导生理记录仪记录心电图,心电图ST段弓背抬高提示冠脉结扎成功,然后迅速还纳心脏,逐层缝合关胸。假手术组除不结扎冠状动脉外,其余操作与手术动物相同,术毕,皮下注射生理盐水(30 ml/kg)补充体液丢失,碘伏消毒,并给予注射用青霉素钠局部处理。造模成功后,大鼠常规饲养。

1.4.3 分组与给药 术前1周,50只大鼠采用完全随机设计分组法分为5组,每组10只:假手术组、模型组、竹节参乙酸乙酯部位组、竹节参正丁醇部位组、竹节参水提部位组分别灌胃给予相应的竹节参提取部位(此剂量依照药典中竹节参成人

的临床用药量2倍换算成大鼠药量,然后结合竹节参不同提取部位中的得率来确定)。各组动物灌胃给药1周,假手术和模型组给予同体积生理盐水。末次给药1 h后行LAD术。

1.4.4 心电图记录 心电图记录分3次,第1次:灌胃给药前,选取心电图正常的老鼠进行给药;第2次:造模前进行心电图检查;第3次:于LAD术12 h后记录心电图。观察Ⅱ导联T波和ST段的变化。

1.4.5 血清的生化指标测定 结扎大鼠冠脉12 h后,腹主动脉取血,分离血清,按试剂盒要求操作测定cTnI、MDA含量和SOD、GSH-Px活性。

1.4.6 心肌梗死面积分析 腹主动脉取血完毕后,迅速取出心脏,用生理盐水冲洗后,用滤纸吸干水分,进行全心拍照。然后沿长轴从心尖到心底横向均切4刀,共5片,将切片后的心肌组织放置1.0% TTC溶液中,37 ℃避光孵育,每隔7~8 min翻动1次,染色15 min,然后用生理盐水冲洗干净,并经图像扫描后用Image J医学图像分析软件测量梗死面积,计算梗死心肌组织百分比。

1.4.7 心肌组织形态学分析 腹主动脉取血后,另取心脏固定于4%多聚甲醛中24 h,70%乙醇脱水后,石蜡包埋,切片进行HE染色。

1.5 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 13.0统计软件,以单因素方差分析进行多组间差异的比较,以Dunnett-t检验比较两组间均数的差异。

2 结果

2.1 对急性心肌缺血大鼠心电图的影响

造模后各组动物12 h内存活情况,每组10只大鼠,行LAD术后,假手术组全部存活,模型组存活7只,竹节参乙酸乙酯部位组、竹节参正丁醇部位组、竹节参水提部位组均存活8只。由表1可知,实验大鼠在LAD前各组之间心电图ST段抬高的差异变化值无统计学意义($P>0.05$);在LAD术后0、12 h,分别观察各组大鼠心电图变化,与假手术组比较,模型组心电图ST段明显抬高($P<0.01$),提示大鼠急性心肌缺血时伴有明显的缺血性心电图变化,同时也说明造模成功;与模型组比较,竹节参不同提取部位均有对抗ST段升高的作用,在LAD术后0 h时,正丁醇部位组对抗升高有统计学差异($P<0.05$),在LAD后12 h时,正丁醇部位组和水提部位组对抗升高有统计学差异($P<0.05, P<0.01$)。结果表明,竹节参不同提取部位可对抗急性心肌缺血大鼠心电图ST段上移,其中以正丁醇部位作用效果更为显著。

2.2 对急性心肌缺血大鼠血清MDA、cTnI含量和SOD、GSH-Px活性的影响

同假手术组相比,模型组大鼠血清MDA和cTnI含量明显升高,SOD、GSH-Px活性降低($P<0.01$);与模型组相比,乙酸乙酯部位组对心肌缺血大鼠血清中cTnI、MDA含量和SOD、GSH-Px活性均有不同程度的改善作用;竹节参正丁醇部位组能明显降低心肌缺血大鼠血清中cTnI和MDA的含量($P<0.01$),并能显著增强SOD、GSH-Px酶活性($P<0.01$);水提部位组对cTnI含量有明显降低作用,同时对SOD、GSH-Px酶活性有显著的增强作用($P<0.05, P<0.01$)。见表2。

表1 各组在结扎左冠状动脉前降支前后急性心肌缺血大鼠心电图ST段的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	结扎前	结扎后	
			0 h	12 h
假手术组	10	0.043 ± 0.010	0.083 ± 0.014	0.063 ± 0.014
模型组	7	0.055 ± 0.011	0.407 ± 0.059[a]	0.382 ± 0.061[a]
乙酸乙酯部位组(84 mg/kg)	8	0.048 ± 0.013	0.362 ± 0.025	0.328 ± 0.023
正丁醇部位组(300 mg/kg)	8	0.052 ± 0.011	0.330 ± 0.033[b]	0.298 ± 0.033[c]
水提部位组(137 mg/kg)	8	0.048 ± 0.012	0.357 ± 0.027	0.312 ± 0.043[b]

a: $P<0.01$,与假手术组比较; b: $P<0.05$, c: $P<0.01$,与模型组比较

2.3 对急性心肌缺血大鼠心脏组织形态学的影响

病理心脏肉眼检查:从急性心肌缺血模型大鼠的全心的肉眼观察发现,除模型组外,竹节参乙酸乙酯部位组、竹节参正丁醇部位组、竹节参水提部位组心脏的左心室心尖部出现轻度水肿外,基本上看不到缺血心脏外观与正常心脏有明显的区别,在横切片则可以看到缺血区颜色变浅,假手术组则没有此类情况出现(图1)。

病理心脏组织切片观察:①假手术组心肌纤维排列整齐、结构清楚,无心肌纤维的破坏,组织间隙无炎性渗出;胞核清晰,胞间间隙正常;②模型组缺血病变心肌处出现大量的炎性细胞浸润、充血水肿明显。肌横纹见模糊,甚至出现断裂,细胞核有浓缩现象;③竹节参正丁醇部位治疗后,心肌炎性浸润和溶解坏死现象减轻,细胞核形态正常;④乙酸乙酯部位和水提部位心肌炎性浸润现象减轻,但细胞充血水肿和细胞核浓缩现象改善不明显(图2)。

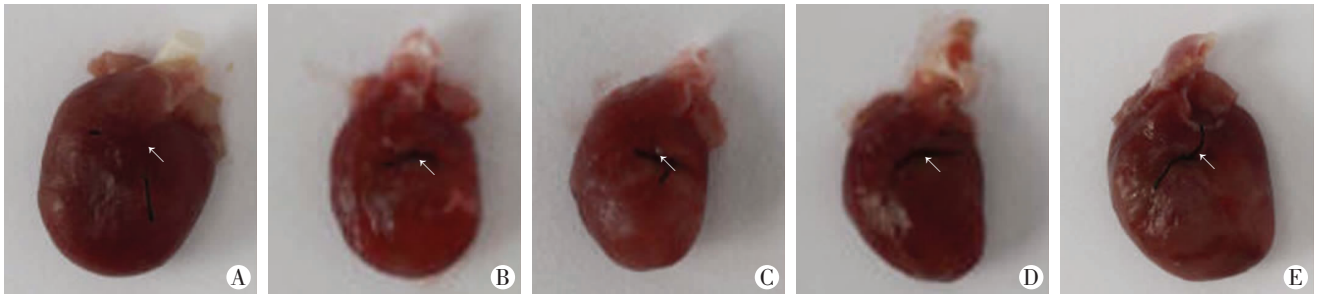
2.4 对急性心肌缺血大鼠心肌梗死面积的影响

心肌组织切片后,用1.0% TTC染色后照片,梗死部位为白色、非梗死部位为红色,肉眼和光镜下可见散在的梗死区域。图中箭头所指示的部位为心肌出现梗死的部位(图3)。

表2 不同提取部位对急性心肌缺血大鼠血清中和cTnI含量的影响 ($\bar{x} \pm s$)

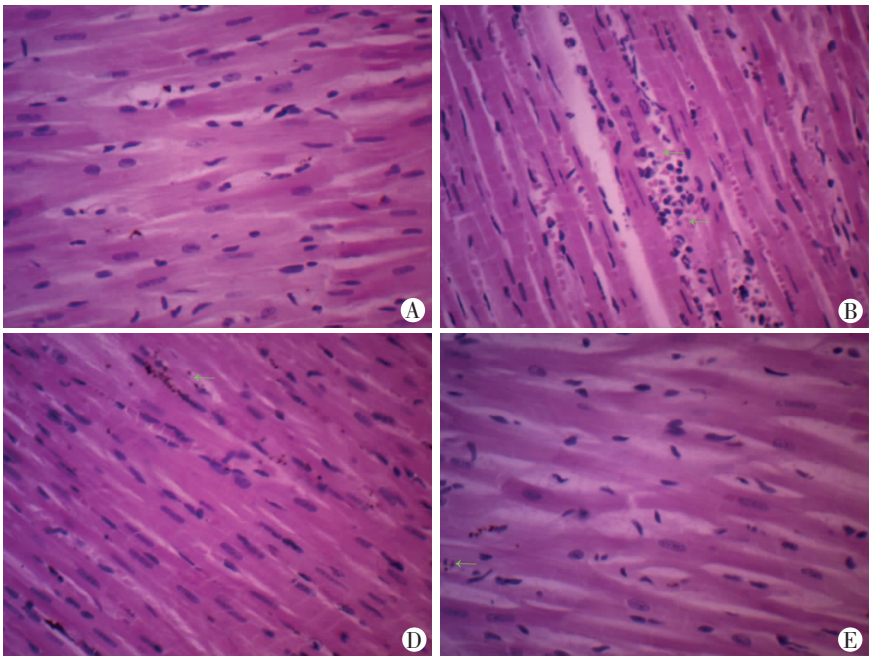
组别	n	MDA(nmol/ml)	SOD(U/ml)	GSH-Px(U)	cTnI(ng/ml)
假手术组	10	4.37 ± 0.42	154.43 ± 4.19	1 245.96 ± 240.27	158.30 ± 4.46
模型组	7	5.32 ± 0.21[a]	138.24 ± 11.78[a]	896.89 ± 59.19[a]	169.66 ± 8.15[a]
乙酸乙酯部位组(84 mg/kg)	8	5.04 ± 0.79	147.07 ± 15.26	1 121.25 ± 313.91	162.56 ± 3.68
正丁醇部位组(300 mg/kg)	8	4.44 ± 0.29[c]	159.02 ± 10.05[c]	1 232.22 ± 93.43[c]	156.22 ± 4.58[c]
水提部位组(137 mg/kg)	8	5.53 ± 0.25	155.86 ± 9.40[b]	1 167.74 ± 103.58[c]	158.39 ± 0.95[c]

a: $P<0.01$,与假手术组比较; b: $P<0.05$, c: $P<0.01$,与模型组比较



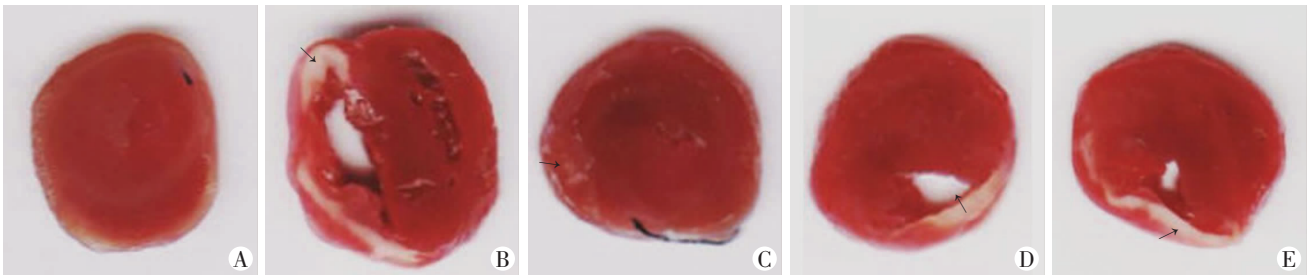
A:假手术组;B:模型组;C:乙酸乙酯部位组;D:正丁醇部位组;E:水提部位组

图 1　竹节参不同提取部位对急性心肌缺血大鼠心脏全心形态学的影响　(↑:冠状动脉结扎部位)



A:假手术组;B:模型组;C:乙酸乙酯部位组;D:正丁醇部位组;E:水提部位组

图 2　竹节参不同提取部位对急性心肌缺血大鼠心脏的组织形态学影响　(↑:炎性细胞浸润)



A:假手术组;B:模型组;C:乙酸乙酯部位组;D:正丁醇部位组;E:水提部位组

图 3　竹节参不同提取部位对急性心肌缺血大鼠心肌梗死面积的影响　(↑:心肌梗死部位)

同假手术组相比,模型组出现明显的心肌梗死,梗死面积百分率为(14.8±3.5)%,与假手术组比较,有统计学差异($P<0.01$),表明造模成功。乙酸乙酯部位组对心肌缺血大鼠心肌梗死面积百分率降低为(10.7±2.4)%,与模型组比较,有统计学差异($P<0.05$);竹节参正丁醇部位组能使心肌缺血大鼠心肌梗死面积降低为(9.8±2.6)%,与模型组比较,有统计学差异($P<0.05$);水提部位组能使心肌缺血大鼠心肌梗死面积百分率降低为(11.0±2.0)%,与模型组比较,有统计学差异($P<0.05$)。结果表明,竹节参不同提取部位对心肌缺血大鼠心肌梗死面积有显著的降低作用。

3　讨论

随着社会的不断进步,人民生活水平的提高,心血管疾病的发病率逐年增加,已经成为危害人类健康的首位疾病。而缺血性心脏病又可以进一步发展为心律失常、心肌梗死,直至最终演变为慢性充血性心力衰竭[9-10]。所以预防和治疗心肌缺血性心脏病已成为当今医学界面临一个热点问题,而随着中医药现代化的发展,中药治疗心肌缺血性心脏病具有广阔的前景。

在竹节参的研究中,刘家兰等[6-7]的研究发现,竹节参提取物对垂体后叶素及异丙肾上腺素所致的大鼠急性心肌缺血损伤保护作用,但在其不同部位的研究中鲜有报道。为此我们以竹节参不同提取部位为研究对象,观察它们对结扎冠脉诱导大鼠急性心肌缺血损伤的影响。在本实验中,我们发现乙酸乙酯、正丁醇和水提部位对心肌缺血大鼠心电图ST段变化情况有较好的改善作用,心肌炎性浸润和溶解坏死现象均有所减轻,其中以竹节参正丁醇部位更为显著。上述实验结果表明在用竹节参乙酸乙酯、正丁醇和水提部位干预后心脏的功能得到了一定恢复,心脏的损伤有所减轻。

近年来,随着对自由基研究的深入,逐渐证实了自由基(O_2^-、H_2O_2、OH·、NO及$ONOO^-$)的连锁反应,即氧自由基生成及脂质过氧化反应增强是心肌缺血性损伤的主要机制之一。在正常情况下,机体内氧自由基的产生和清除是平衡的;在心肌缺血时很容易受到自由基的攻击,导致自由基大量堆积,引起脂质、蛋白质和核酸的过氧化,使膜结构遭到破坏、蛋白降解、核酸主链断裂、透明质酸解聚、细胞崩解、细胞发生不可逆改变,导致心肌梗死的形成,直至最后恶化为心力衰竭[11-12]。因此,进行清除自由基的抗氧化治疗将是心肌缺血性损伤的重要治疗手段。在本实验中,我们通过分析血液中与氧化损伤相关的指标发现,模型组大鼠血液中的氧化还原系统受到明显破坏,提示大鼠行LAD术诱发了心肌组织组织氧化损伤,实验结果也与文献[6-7]报道一致。当心肌组织缺血时,XOD的生成急剧增加,进而产生大量的次黄嘌呤(HX),HX和分子氧在XOD的催化下生成大量的氧自由基(O_2^-及OH·)。一方面,O_2^-在超氧化物歧化酶的作用下生成H_2O_2,它又可通过Fenton反应和Haber-weiss反应生成OH·,而OH·是一种特别不稳定氧化剂,可与细胞膜脂质反应,引发细胞膜脂质过氧化连锁反应,导致膜结构遭到破坏,造成心肌细胞死亡[13]。在反应心肌急性缺血性损伤方面,cTnI正成为继传统的检测酶活性的心肌酶学后,成为目前评价心肌损伤的一个重要指标。在心肌细胞膜完整的情况下,cTnI不能透过细胞膜进入血循环。心肌缺血性损伤时,由于自由基堆积和Ca^{2+}超载,损伤了细胞膜和线粒体,cTnI可通过破损的细胞膜弥散进入细胞间质,随之进入血管和淋巴管内,引起血液中cTnI含量增加[14]。在本实验中,实验大鼠经竹节参预防治疗后血液中SOD、GSH-Px酶的活性得以增强,MDA、cTnI含量降低,其中以竹节参的正丁醇部位最为显著,其次是水提部位,最后是乙酸乙酯部位。本研究表明,竹节参乙酸乙酯、正丁醇和水提部位是通过对抗自由基、拮抗心肌过氧化损伤,来实施对LAD诱导大鼠急性心肌缺血损伤的保护作用。

综上所述,竹节参乙酸乙酯、正丁醇和水提部位均能提高急性心肌缺血大鼠血清SOD、GSH-Px活性,增强了内源性氧自由基清除系统的功能,减少心肌损伤和血清脂质过氧化产物cTnI和MDA的水平,减轻了氧自由基对心肌的损伤,其中以竹节参的正丁醇部位最为显著,其次是水提部位,最后是乙酸乙酯部位。各组间比较各指标有所升高或降低,但与模型组比均有改善。提示竹节参乙酸乙酯、正丁醇和水提部位具有清除自由基和抗脂质过氧化作用,这可能也是其保护缺血时心肌细胞损伤的机制之一。

参考文献:

[1] 国家药典委员会. 中国药典(一部)[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2010: 129.

[2] 左锐, 袁丁. 竹节参化学成分和药理活性研究进展[J]. 时珍国医国药, 2005, 16(9): 838-839, 841.

[3] 欧阳丽娜, 向大位, 吴雪, 等. 竹节参化学成分及药理活性研究进展[J]. 中草药, 2010, 41(6): 1023-1027.

[4] 颜玲, 欧阳静萍, 刘可云, 等. 竹节参总皂苷对大鼠局灶性脑缺血/再灌注神经元凋亡的影响[J]. 四川中医, 2010, 28(7): 8-11.

[5] 赵晖, 张秋霞, 穆阳. 竹节参总皂苷对局灶性脑缺血大鼠模型的保护作用[J]. 中国中医药信息杂志, 2005, 12(3): 43-44.

[6] 刘家兰, 李德清, 段先宇. 竹节人参提取物对异丙肾上腺素致大鼠急性心肌缺血损伤的保护作用[J]. 湖北民族学院学报: 医学版, 2004, 21(3): 13-15.

[7] 刘家兰, 李德清, 刘红. 竹节人参提取物对实验性心肌缺血的保护作用[J]. 湖北民族学院学报: 医学版, 1999, 16(1): 6-8.

[8] 姚太平, 郭政. 急性心肌缺血大鼠心脏孤啡肽表达的变化[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(17): 1898-1900.

[9] 杨功焕, 王俊芳, 万霞, 等. 影响中国人群疾病死亡因素的定量分析[J]. 中华流行病学杂志, 2005, 26(12): 934-938.

[10] Pinho R A, Araujo M C, Ghisi G L, *et al*. Coronary heart disease, physical exercise and oxidative stress[J]. Arq Bras Cardiol, 2010, 94(4): 549-555.

[11] Misra M K, Sarwat M, Bhakuni P, *et al*. Oxidative stress and ischemic myocardial syndromes[J]. Med Sci Monit, 2009, 15(10): RA209-RA219.

[12] Andreadou I, Iliodromitis E K, Farmakis D, *et al*. To prevent, protect and save the ischemic heart: antioxidants revisited[J]. Expert Opin Ther Targets, 2009, 13(8): 945-956.

[13] Briasoulis A, Tousoulis D, Antoniades C, *et al*. The oxidative stress menace to coronary vasculature: any place for antioxidants?[J]. Curr Pharm Des, 2009, 15(26): 3078-3090.

[14] Tate J R, Bunk D M, Christenson R H, *et al*. Standardisation of cardiac troponin I measurement: past and present[J]. Pathology, 2010, 42(5): 402-408.

(**收稿**:2010-12-28;**修回**:2011-03-16)

(编辑 王小寒)