

绞股蓝总皂甙对阿霉素致大鼠膈肌收缩功能 及线粒体超微结构损伤的影响

方迎艳¹, 马 丽², 关宿东¹

[摘要] 目的:探讨绞股蓝总皂甙(gyenosides, GP)对阿霉素(adriamycin, ADM)致大鼠膈肌收缩功能和线粒体超微结构损伤的影响。方法:将 24 只成年雄性 SD 大鼠随机分成对照(CON)组、ADM 组和 ADM + 绞股蓝总皂甙(ADM + GP)组,每组 8 只。除 CON 组外,其余各组给予 ADM 2.0 mg/kg 腹腔注射,隔日 1 次,共 6 次,复制 ADM 毒性的动物模型。CON 组大鼠腹腔注射等量的生理盐水,给予 GP 250 mg·kg⁻¹·d⁻¹灌胃,给药容量为 10 ml/kg,连续 4 周;CON 组和 ADM 组给予等量的纯净水。应用体外灌流大鼠膈肌条的方法,分别测量其单收缩张力(Pt)、最大强直张力(Po)、峰值收缩时间(CT)、半舒张时间(1/2RT)和张力-频率关系的变化;测定膈肌组织超氧化物歧化酶(SOD)、琥珀酸脱氢酶(SDH)的活性和丙二醛(MDA)的含量;电镜观察膈肌组织超微结构的变化。结果:ADM 组 Pt、Po 值均明显低于 CON 组($P < 0.01$),ADM + GP 组均高于 ADM 组($P < 0.05 \sim P < 0.01$);ADM 组 CT 和 1/2RT 与 CON 组相比明显延长($P < 0.01$),ADM + GP 组明显改善($P < 0.01$)。给予 10、20、40、60、80、100 Hz 频率的方波电压刺激膈肌条,ADM 组、ADM + GP 组的张力明显低于 CON 组,80、100 Hz 频率下 ADM + GP 组较 ADM 组增大($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。SOD、SDH 活性 ADM 组明显低于 CON 组($P < 0.01$),ADM + GP 组高于 ADM 组($P < 0.05 \sim P < 0.01$);MDA 含量 ADM 组明显高于 CON 组($P < 0.01$),ADM + GP 组低于 ADM 组($P < 0.01$)。电镜显示绞股蓝总皂甙可减轻 ADM 导致的膈肌组织线粒体超微结构的损伤。结论:绞股蓝总皂甙可减轻 ADM 致大鼠膈肌收缩功能和超微结构损伤作用。

[关键词] 肌收缩;膈肌;绞股蓝皂甙;阿霉素;大鼠

[中国图书资料分类法分类号] R 979.14 **[文献标识码]** A

The effect of gyenosides on adriamycin-induced diaphragmatic contractile function and mitochondrial ultrastructure

FANG Ying-yan¹, Ma Li², GUAN Su-dong¹

(1. Department of Physiology, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030; 2. Department of Infectious Disease, The Second Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233040, China)

[Abstract] **Objective:** To study the influence of gyenosides (GP) on the diaphragmatic contractile function and mitochondrial ultrastructure induced by adriamycin (ADM) in rats. **Methods:** Twenty-four adult male Sprague-Dawley rats were randomly divided into control (CON) group, adriamycin diaphragm toxicity (ADM) group and adriamycin plus gyenosides (ADM + GP) group. Each group consisted of 8 rats. ADM group and ADM + GP group were injected 2.0 mg/kg ADM intraperitoneally for 6 times every other day, and CON group were injected saline of the same volume and received 250 mg/kg gyenosides per day orally in a dose of 10 ml/kg for four weeks. Meanwhile, pure water was given to ADM group and CON group. The diaphragm contractility was assessed by peak twitch tension (Pt), maximum tetanic tension (Po), time to peak contraction (CT), half relaxation time (1/2RT), and force-frequency curve by *in vitro* perfusion of diaphragm strips. The activity of SOD, SDH and the content of MDA were determined. The microchondrial ultrastructures of diaphragm were examined by electron microscope. **Results:** Compared with CON group, Pt and Po of ADM group were lower ($P < 0.05$ to $P < 0.01$), but Pt and Po of ADM + GP group were significantly higher than those of ADM group ($P < 0.05$ to $P < 0.01$); CT and 1/2RT were significant different between ADM + GP group and CON group. Compared with CON group, the tetanic force under the stimulus frequency of 10, 20, 40, 60, 80, 100 Hz in ADM group and ADM + GP group decreased significantly. Under the stimulus frequency of 80 and 100 Hz, the tetanic force in ADM + GP group was higher than that in ADM group ($P < 0.05$ to $P < 0.01$). The activities of SOD and SDH in ADM group were lower than those in CON group and ADM + GP group ($P < 0.05$ to $P < 0.01$), while the content of MDA in ADM group was remarkably higher ($P < 0.01$). Transmission electron microscopic morphometry showed that gyenosides could ease the diaphragm microchondrial ultrastructural patho-alteration induced by ADM. **Conclusions:** Gyenosides may lessen the injury of the diaphragmatic contractile function and mitochondrial ultrastructure induced by ADM.

[Key words] muscle contraction; diaphragm; gyenosides; adriamycin; rats

[收稿日期] 2009-06-02

[作者单位] 1. 蚌埠医学院 生理学教研室, 安徽 蚌埠 233030; 2. 蚌埠医学院第二附属医院 感染科, 安徽 蚌埠 233040

[作者简介] 方迎艳(1977-), 女, 硕士, 讲师。

[通讯作者] 关宿东, 研究生导师, 教授。

阿霉素(adriamycin, ADM)是蒽环类抗肿瘤药物,抗瘤作用强,疗效显著。但 ADM 在正常组织细胞内代谢成半醌自由基,可直接损伤肌细胞核及线粒体,代谢产生羟自由基产物,改变细胞膜通透性而造成细胞膜脂质过氧化,损伤细胞^[1-3]。ADM 可

损伤家兔膈肌细胞线粒体^[4]。绞股蓝总皂甙(gyenosides, GP)可提高超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶的活性而增强机体抗氧化系统功能及机体清除氧自由基、抗氧化的能力^[5-6]。本实验采用离体膈肌灌流方法测定膈肌力学,生化测定SOD、琥珀酸脱氢酶(SDH)和丙二醛(MDA)的含量,电镜观察膈肌细胞超微结构,研究ADM对大鼠膈肌收缩功能和超微结构的损伤机制,并探讨GP对ADM致大鼠膈肌毒性的影响。

1 材料与方法

1.1 动物、药品与试剂 成年雄性SD大鼠24只,体重180~220 g(蚌埠医学院实验动物中心提供)。注射用盐酸多柔比星(浙江海正药品有限公司,批号070501)。GP为昆明医学院植化所提供。SDH、MDA酶蛋白定量检测试剂盒购于南京建成生物工程研究所。Kreb's液(135 mmol/L NaCl, 5 mmol/L KCl, 2.5 mmol/L CaCl₂, 1 mmol/L MgSO₄, 1 mmol/L NaH₂PO₄, 15 mmol/L NaHCO₃, 11 mmol/L C₆H₁₂O₆; pH 7.3~7.4)。

1.2 仪器 Med Lab-U/4C生物信号采集处理系统(南京美易科技有限公司);721型分光光度计(上海湖光科学仪器公司);JEM-1230型透射电子显微镜(日本)。

1.3 特种气体 95% O₂和5% CO₂混合气体由合肥巨网工业气体有限公司提供。

1.4 动物分组及模型建立 24只大鼠适应性饲养7天后,随机分为对照(CON)组,ADM组,ADM+GP组,每组8只。ADM+GP组给予GP 250 mg·kg⁻¹·d⁻¹灌胃,给药容量为10 ml/kg,连续4周^[7]。CON组和ADM组给予等量的纯净水。除CON组外,其余各组同时腹腔注射ADM 2.0 mg/kg,隔日1次,共6次,累计量达12 mg/kg^[8]。CON组腹腔注射等量的生理盐水。

1.5 标本制备 实验第5周,将3组大鼠以20%氨基甲酸乙酯(按5 ml/kg腹腔注射)麻醉后去头,速开胸取膈肌,包括中心腱及部分肋骨,置于充满Kreb's液的玻璃平皿中,持续通入95% O₂和5% CO₂混合气体。每块膈肌沿中心腱分成两半,左半侧去除肋骨、中心腱、脂肪及结缔组织,用冷磷酸盐缓冲液(PBS)洗去附着血液,滤纸吸干,称重, -80℃冰箱保存,以备生化测定使用;右半侧依肌纤维走向取中央长方形部分肌条(保留中心腱和肋骨)作力学检测。剩余膈肌部分用2.5%戊二醛固定,制备电镜标本。

1.6 离体膈肌张力测定 参照Prezant等^[9-10]方法检测。将制备好的膈肌条垂直悬挂于盛满Kreb's

(95% O₂和5% CO₂)液的麦氏浴槽中,膈肌条的肋骨端用蛙肌夹固定在浴槽底部,中心腱端用缝线结扎并连接于张力换能器。张力换能器固定在微调节器上,以便调节膈肌肌条的初长度。调节肌条长度至产生单收缩力最大,即肌条处于最适初长度(L₀)时,将其静置平衡20 min,各项力学指标检测均在L₀下进行。麦氏浴槽置于数控超级恒温槽中并保持26℃。电子刺激器通过2根放置在肌条两侧的铂金丝电极(电极间距约0.4 cm)以超最大电压直接刺激膈肌(刺激强度增加至单收缩力最大时,然后再增加至其数值的130%,即超最大电压约20 V)。张力传感器的输出信号由生物信号采集处理系统记录分析。测定下列参数。

1.6.1 收缩特性 每个肌条测定2次在L₀时的单收缩张力(Pt)、峰值收缩时间(CT)、半收缩时间(1/2RT)。刺激参数:超最大电压20 V,波宽2 ms,每次刺激间隔2 min,以2次平均值为测定值^[11]。

1.6.2 最大强直收缩力(P₀) 在单收缩刺激后静置10 min以超最大电压,波宽2 ms,串长400 ms,频率100 Hz刺激获得一个清晰坪。2次刺激平均值作为测定值,间隔2 min^[9]。

1.6.3 张力-频率曲线测定 刺激参数参照最大强直收缩力的参数,以10、20、40、60、80、100 Hz刺激下的膈肌收缩张力绘出张力-频率曲线^[12]。其值与Pt、P₀的值均由膈肌肌条的横截面积(CSA)标准化后表示(单位:g/cm²)。

1.6.4 计算CSA 测定完成后,测量肌条长度,去除肌条的非肌肉组织后用滤纸吸干水分、称重,计算膈肌条的CSA,CSA(cm²)=肌条重量(g)/[肌条长度(cm)×膈肌肌肉条密度(g/cm³)],膈肌肌肉条密度以1.056 g/cm³计算。

1.7 生化指标检测 取膈肌制成10%组织匀浆,分别测SOD、SDH活性和MDA含量,按说明书操作。

1.8 膈肌超微结构观察 将新鲜膈肌切成1 mm×1 mm×1 mm组织块,立刻固定到2.5%戊二醛。1%锇酸后固定,梯度脱水包埋后,超薄切片,电子染色,JEM-1230型透射电镜观察。

1.9 统计学方法 采用方差分析和q检验。

2 结果

2.1 膈肌的收缩特性 ADM组大鼠膈肌的Pt、P₀较CON组均明显下降(P<0.01),与ADM组相比,ADM+GP组均提高(P<0.05);ADM组大鼠膈肌CT与1/2RT均较CON组明显延长(P<0.01),与ADM组相比,ADM+GP组CT与1/2RT均缩短(P<0.01)(见表1)。

表 1 3 组大鼠膈肌收缩功能比较 ($n_i = 8; \bar{x} \pm s$)

| 分组 | Pt(g/cm ²) | Po(g/cm ²) | CT(ms) | 1/2RT(ms) |
|------------------|--------------------------------|---------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| CON 组 | 228.97 ± 80.13 | 865.60 ± 335.71 | 37.94 ± 6.24 | 29.69 ± 4.14 |
| ADM 组 | 58.62 ± 9.88** | 269.29 ± 87.91** | 68.00 ± 12.53** | 58.71 ± 14.10** |
| ADM + GP 组 | 111.96 ± 17.28 _# ** | 560.28 ± 156.30 _# ** | 53.01 ± 9.13 _# ** | 45.33 ± 8.59 _# ** |
| F | 26.73 | 14.29 | 19.41 | 17.48 |
| P | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| MS _{组内} | 2 272.343 | 48 286.354 | 93.099 | 96.579 |

q 检验:与 CON 组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 ADM 组比较 # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

2.2 膈肌收缩的张力 - 频率关系 在给予大鼠膈肌条 10、20、40、60、80、100Hz 刺激时,ADM 组的大

鼠膈肌各频率下的收缩张力明显低于 CON 组 ($P < 0.01$);ADM + GP 组的大鼠膈肌在 80、100 Hz 频率下的收缩张力均较 ADM 组增加 ($P < 0.05$),仍低于 CON 组 ($P < 0.01$)(见表 2)。

2.3 MDA 含量、SDH 活性的测定 与 CON 组比较,ADM 组和 ADM + GP 组大鼠膈肌组织的 MDA 含量均升高 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$),SOD 和 SDH 活性均明显降低 ($P < 0.01$);与 ADM 组相比,ADM + GP 组大鼠膈肌组织的 MDA 含量显著下降 ($P < 0.01$),SOD 和 SDH 活性均有所提高 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$)(见表 3)。

表 2 3 组大鼠膈肌收缩力 (g/cm²) 与刺激频率之间关系的比较 ($n_i = 8; \bar{x} \pm s$)

| 分组 | 频率 (Hz) | | | | | |
|------------------|-----------------|------------------|-------------------|-------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | 10 | 20 | 40 | 60 | 80 | 100 |
| CON 组 | 187.31 ± 79.29 | 313.54 ± 142.16 | 626.06 ± 278.16 | 772.26 ± 310.33 | 815.92 ± 326.32 | 848.23 ± 315.60 |
| ADM 组 | 45.59 ± 8.39** | 96.01 ± 27.72** | 191.64 ± 44.91** | 243.39 ± 64.42** | 261.03 ± 63.86** | 267.30 ± 68.34** |
| ADM + GP 组 | 86.02 ± 18.25** | 179.95 ± 37.38** | 328.33 ± 104.50** | 420.97 ± 107.29** | 473.54 ± 102.92 _# ** | 492.80 ± 103.69 _# ** |
| F | 19.12 | 12.91 | 13.11 | 15.53 | 15.53 | 17.90 |
| P | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| MS _{组内} | 2 230.120 | 7 458.376 | 30 103.381 | 37 321.930 | 40 384.123 | 38 341.777 |

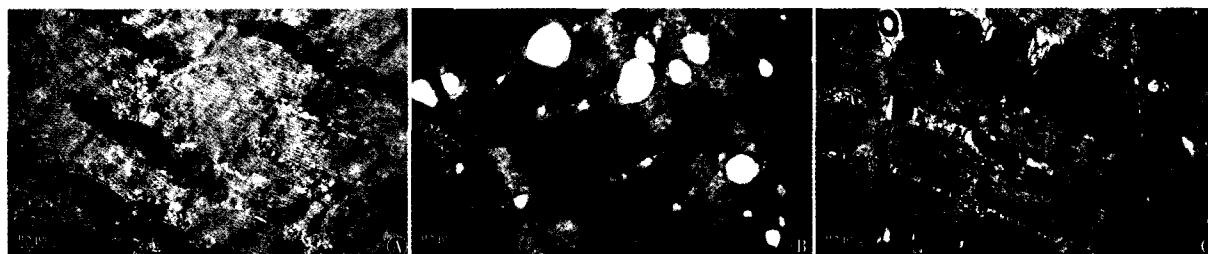
q 检验:与 CON 组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 ADM 组比较 # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

表 3 3 组大鼠膈肌组织中 SOD、SDH 活性和 MDA 含量的比较 ($n_i = 8; \bar{x} \pm s$)

| 分组 | SOD [U/(mg · prot)] | SDH [U/(mg · gprot · min)] | MDA [nmol/(mg · prot)] |
|------------------|-------------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| CON 组 | 166.14 ± 16.38 | 8.28 ± 1.16 | 7.49 ± 0.71 |
| ADM 组 | 105.75 ± 10.28** | 4.05 ± 0.59** | 11.09 ± 2.08** |
| ADM + GP 组 | 133.26 ± 6.75 _# ** | 5.24 ± 1.33 _# ** | 9.16 ± 0.46 _# ** |
| F | 52.29 | 32.98 | 15.45 |
| P | <0.01 | <0.01 | <0.01 |
| MS _{组内} | 139.848 | 1.154 | 1.680 |

q 检验:与 CON 组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 ADM 组比较 # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

2.4 膈肌超微结构的变化 CON 组大鼠膈肌肌纤维密集,排列整齐,肌节清晰,细胞膜完整,线粒体呈圆形或椭圆形整齐排列,数量密集,无肿胀(见图 1A)。ADM 组大鼠膈肌细胞肌纤维肿胀,坏死溶解,横纹消失,肌丝紊乱、断裂,肌小节消失;线粒体数量减少,水肿扩张,嵴模糊断裂,大量线粒体空泡化或囊泡化,有髓板样物形成;肌浆网明显扩张,肿胀;有的可见脂滴(见图 1B)。ADM + GP 组有髓板样物形成,肌浆网扩张,肌丝整齐,肌节轻度模糊(见图 1C)。



A:CON 组;B:ADM 组;C:ADM+GP 组

图 1 3 组大鼠膈肌细胞的超微结构

3 讨论

膈肌作为主要的呼吸肌,约占全部呼吸肌作用的 60% ~ 80%^[13],一旦膈肌细胞结构受损,其收缩

舒张功能下降。Pt 和 P₀ 作为评价离体膈肌收缩功能的常用指标,反映肌细胞收缩蛋白对 Ca²⁺ 的反应性。CT 反映肌细胞横桥的作用效率,1/2RT 反映肌浆网对 Ca²⁺ 再摄取的速度。本实验结果显示,ADM

可导致膈肌 P_t 和 P_0 明显下降,单收缩的 CT 明显延长,膈肌收缩能力降低。ADM 导致大鼠膈肌 1/2RT 明显延长,膈肌的舒张功能降低。

ADM 组大鼠膈肌在给予 10、20、40、60、80、100 Hz 频率刺激时,各频率下张力明显低于 CON 组,张力-频率曲线较 CON 组右移。高频疲劳(即在 >60 Hz 电刺激下肌力特别低)主要与神经-肌肉接头传递障碍有关,低频疲劳(即在 <25 Hz 电刺激下肌力特别低)主要与肌浆网释放 Ca^{2+} 减少,导致肌肉兴奋-收缩耦联障碍有关^[12]。由此推测 ADM 可引起膈肌细胞运动终板膜损伤,导致神经-肌肉接头兴奋传递障碍;引起膈肌肌肉兴奋-收缩耦联障碍,最终导致膈肌收缩力下降。

SOD 能保护肌细胞免受氧自由基的破坏并有效地清除氧自由基,使肌细胞内线粒体的膜磷脂免遭破坏,其活性的高低可以间接反映机体清除氧自由基的能力。MDA 是脂质过氧化反应终产物,其含量高低可作为判断自由基损伤细胞的一个指标。SDH 是三羧酸循环的限速酶和线粒体标志酶,其活性可反映三羧酸循环的强弱。本实验结果表明,ADM 导致大鼠膈肌组织的抗氧化酶 SOD 和 SDH 活性均明显下降,MDA 含量明显增加,即降低膈肌的抗氧化能力,脂质过氧化反应增强,线粒体标志酶活性降低。ADM 毒性模型中线粒体的损伤在细胞内的损伤中占主导地位^[14]。线粒体是产生内源性自由基的主要场所,也是自由基攻击的靶部位^[15]。GP 是一种自由基清除剂,具有抗自由基损伤作用。给予绞股蓝总皂甙后,膈肌的 MDA 含量明显减少,SOD 和 SDH 活性明显升高。说明 GP 提高膈肌的抗氧化能力,保护膈肌的自由基清除酶系的活力,抑制自由基作用于膈肌细胞膜和线粒体膜的脂质过氧化反应。增加线粒体酶活性,维护膈肌细胞的能量代谢,进而改善膈肌收缩的能量需求。

电镜观察膈肌超微结构,显示 ADM 导致大鼠膈肌细胞线粒体损伤尤其严重,线粒体数量减少,大量空泡化、囊泡化。ADM 损伤线粒体最基本的效应会妨碍线粒体的氧化磷酸化和抑制 ATP 合成^[16]。GP 可减轻自由基介导的细胞膜脂质过氧化,减轻膜结构和功能的损伤,保护膜上的酶类活性中心结构。给予 GP 干预后线粒体损伤明显减轻。

本研究结果表明,ADM 导致膈肌组织 SOD 活性降低,MDA 含量增多,SDH 活性降低,降低机体抗氧化能力和清除自由基能力,脂质过氧化增强,破坏线粒体结构和功能。对于膈肌细胞,其细胞膜的损害造成去极化动作电位传递障碍;线粒体受损造成

能量代谢障碍;肌浆网受损造成兴奋-收缩耦联障碍。这些改变均可造成膈肌收缩功能障碍,促成膈肌疲劳。GP 可以改善 SOD 活性,减少 MDA 的产生,增强机体抗氧化能力,降低脂质过氧化反应,保护细胞膜、线粒体膜和肌浆网,减轻 ADM 对膈肌超微结构的损伤,改善膈肌收缩功能。

[参 考 文 献]

- [1] Ascensao A, Magalhaes J, Soares JM, *et al.* Moderate endurance training prevents doxorubicin-induced *in vivo* mitochondrial pathology and reduces the development of cardiac apoptosis [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289(2): H722 - H731.
- [2] Chen QM, Alexander D, Sun H, *et al.* Corticosteroids inhibit cell death induced by doxorubicin in cardiomyocytes: induction of antiapoptosis, antioxidant, and detoxification genes [J]. *Mol Pharmacol*, 2005, 67(6): 1861 - 1873.
- [3] Deres P, Halmosi R, Toth A, *et al.* Prevention of doxorubicin-induced acute cardiotoxicity by an experimental antioxidant compound [J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2005, 45(1): 36 - 43.
- [4] 关宿东,葛敏. 牛磺酸对阿霉素致膈肌毒性的保护作用[J]. *中国药理学通报*, 2001, 17(2): 220 - 222.
- [5] 张玉林,蒋笑平,黄河端,等. 绞股蓝总皂甙对免疫性肝纤维化大鼠自由基水平的影响[J]. *河南中医*, 2001, 21(6): 27 - 28.
- [6] 王旭平,赵玲,冯玉新,等. 绞股蓝总皂甙对谷氨酸诱导的胎鼠大脑皮层神经元氧化性损伤保护机制的研究[J]. *山东大学学报:医学版*, 2006, 44(6): 564 - 567.
- [7] 钱康,黄平. 绞股蓝皂甙对早期糖尿病肾病大鼠肾脏 TGF- β 1 蛋白含量影响的研究[J]. *中国中医药科技*, 2007, 14(4): 263 - 264.
- [8] 刘宝刚,鄂明艳,李雅杰,等. 阿霉素对大鼠心肌诱导型一氧化氮合酶 mRNA 表达的影响[J]. *中国地方病学杂志*, 2004, 23(3): 210 - 212.
- [9] Prezant DJ, Karwa ML, Kim HH, *et al.* Short- and long-term effects of testosterone on diaphragm in castrated and normal male rats [J]. *J Appl Physiol*, 1997, 82(1): 134 - 143.
- [10] Coombes JS, Powers SK, Rowell B, *et al.* Effects of vitamin E and alpha-lipoic acid on skeletal muscle contraction properties [J]. *J Appl Physiol*, 2001, 90(4): 1424 - 1430.
- [11] 沈兴平,许昌达,何军. 糖尿病大鼠膈肌功能和形态学变化 [J]. *中国病理生理杂志*, 2002, 18(8): 970 - 973.
- [12] 徐旋里,杨秋火,谢强敏,等. 咖啡因对低氧高碳酸性大鼠膈肌疲劳的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2005, 21(3): 377 - 378.
- [13] Wilson TA, Legrand A, Gebenois PA, *et al.* Respiratory effects of the external and internal intercostal muscles in human [J]. *J Physiol*, 2001, 530(Pt 2): 319 - 330.
- [14] Chaiswing L, Cole MP, St Clair DK, *et al.* Oxidative damage precedes nitrate damage in adriamycin-induced cardiac mitochondrial injury [J]. *Toxicol Pathol*, 2004, 32(5): 536 - 547.
- [15] Leeuwenburgh C, Heinecke JW. Oxidative stress and antioxidants in exercise [J]. *Curr Med Chem*, 2001, 8(7): 829 - 838.
- [16] Wallace KB. Adriamycin-induced interference with cardiac mitochondrial calcium homeostasis [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2007, 7(2): 101 - 107.