

葡萄籽原花青素对顺铂所致大鼠肾脏氧化损伤和线粒体损伤的防护作用

赵艳萌, 赵江燕, 高丽萍

(北京联合大学应用文理学院, 北京 100191)

摘要: 本文研究了葡萄籽原花青素(GSPE)对顺铂(CDDP)所致大鼠肾脏氧化应激损伤和线粒体损伤的防护作用。实验大鼠分为正常对照组、CDDP模型组、GSPE(400 mg/kg)组、CDDP+GSPE(200 mg/kg)组和CDDP+GSPE(400 mg/kg)组。各组分别以蒸馏水和相应剂量GSPE对大鼠连续灌胃15 d。灌胃10 d后CDDP组和CDDP+GSPE组一次性腹腔注射CDDP(8.0 mg/kg),其余注射等量生理盐水。检测血清尿素氮(BUN)和肌酐(CrE)、肾脏指数、肾皮质抗氧化和碳水化合物代谢酶指标,光镜观察肾组织结构。GSPE预处理的大鼠在注射CDDP后与模型组相比肾脏指数、BUN、CrE含量显著降低,肾皮质还原型谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)含量、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和苹果酸脱氢酶(MDH)、己糖激酶(HK)活力的变化明显改善。病理切片显示,GSPE预处理可减轻顺铂引起的肾小球萎缩等病理损伤。提示GSPE对CDDP所致大鼠氧化应激损伤和线粒体损伤具有明显的防护作用。

关键词: 葡萄籽原花青素; 顺铂; 肾毒性; 氧化应激; 线粒体

文章编号: 1673-9078(2015)1-6-10

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2015.1.002

Protective Effects of Grape Seed Proanthocyanidin Extract (GSPE) on *cis*-Diamminedichloroplatinum (CDDP)-Induced Renal Oxidative Damage and Mitochondrial Injury in Rats

ZHAO Yan-meng, ZHAO Jiang-yan, GAO Li-ping

(College of Arts & Science, Beijing Union University, Beijing 100191, China)

Abstract: In this paper, the protective effects of grape seed proanthocyanidin extract (GSPE) on *cis*-diamminedichloroplatinum (CDDP)-induced renal oxidative stress and mitochondrial injury in rats were investigated. Rats were randomly divided into five groups: normal control group, CDDP model group, GSPE (400 mg/kg) group, CDDP + GSPE (200 mg/kg) group, and CDDP + GSPE (400 mg/kg) group. Each group was administrated with distilled water or the corresponding doses of GSPE by gavage for 15 consecutive days. After 10 d of administration, the CDDP and CDDP + GSPE groups were administered a single intraperitoneal injection of CDDP (8 mg/kg), and the remaining groups were administered with normal saline by intraperitoneal injection. The blood urea nitrogen (BUN), creatinine (CrE), renal index, antioxidant index for renal cortex, and index for the carbohydrate metabolic enzyme were measured, and the renal structures were observed using a light microscope. Compared to the CDDP model group, the GSPE pretreated rats showed a significant decrease in renal index as well as BUN and CrE contents. The CDDP treatment improved the contents of renal cortical reduced glutathione (GSH), and malondialdehyde (MDA), meanwhile, the activities of superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-px), malate dehydrogenase (MDH), and hexokinase (HK) were enhanced. The pathologic slice revealed that GSPE pretreatment could reduce CDDP-induced pathological damage such as glomerular atrophy. This study suggested that GSPE had a protective effect on the CDDP-induced renal oxidative stress and mitochondrial injury in rats.

Key words: grape seed proanthocyanidin extract; *cis*-diamminedichloroplatinum; nephrotoxicity; oxidative stress; mitochondria

收稿日期: 2014-06-26

基金项目: 北京市人才强教深化计划 (PHR201107150)

作者简介: 赵艳萌(1989-), 女, 硕士研究生, 研究方向为功能性食品生化作用

通讯作者: 高丽萍(1962-), 女, 博士, 教授, 研究方向为功能性食品生化作用

顺铂 (cis-diamminedichloroplatin, CDDP) 是一种广泛应用的抗肿瘤药物。在许多癌症的治疗中疗效显著。然而 CDDP 作为一种细胞毒性药物在治疗过程中的毒性作用限制了它的治疗效果, 其中剂量依赖性肾毒性是主要限制因素之一。

葡萄籽原花青素 (Grape Seed Proanthocyanidin Extract, GSPE) 是一种从葡萄籽中提取出来的天然植物多酚物质, 它属于黄酮类物质, 其具有极强的抗氧化能力, 在体内其抗氧化、消除自由基的能力是 VE 的 50 倍、VC 的 20 倍^[1]。此外, GSPE 还有许多其他生理活性, 包括舒张血管、免疫、抗炎、抗菌、抗过敏、抗肿瘤及抗病毒活性等作用^[2]。并且 GSPE 具有安全、高效和高生物利用度等优点, 有望开发成为抑制 CDDP 肾毒性并增强其化疗效果、增强抗肿瘤活性的功能食品。

本实验室前期研究表明 GSPE 可明显减轻 CDDP 的肾毒性, 线粒体功能障碍是顺铂诱发肾毒性的中心环节^[3]。但 CDDP 肾毒性中线粒体损伤的机制还不十分明确, GSPE 对顺铂肾毒性线粒体损伤影响尚未见报道。本研究采用 CDDP 诱发大鼠肾毒性并给于葡萄籽原花青素, 通过观察血清尿素氮 (BUN)、肌酐 (CrE) 含量变化, 并检测大鼠肾皮质中的抗氧化指标: 还原型谷胱甘肽 (reduced glutathione, GSH)、丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量、超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 活性, 碳水化合物标志代谢酶: 苹果酸脱氢酶 (malate dehydrogenase, MDH)、己糖激酶 (hexokinase, HK) 活性及观察肾脏组织病理切片, 探讨 CDDP 肾毒性中线粒体损伤的机制及 GSPE 对 CDDP 所致氧化应激损伤和肾脏线粒体损伤的保护作用。

1 材料与方法

1.1 材料与试剂

实验用 SD 大鼠, 50 只, 雄性, 体重在 140~160 g 左右, 购自中国人民解放军军事医学科学院实验动物中心, 许可证编号: SCXK (军) 2012-0004, SPF 级。

顺铂 (CDDP), 批号 001001DF, 注射用冻干型粉剂, 每支 10 mg, 山东齐鲁制药厂生产, 用生理盐水配制; 葡萄籽原花青素 (GSPE), 纯度大于 95% (由 HPLC 检测), 由天津尖峰天然产物研究开发有限公司提供, 临用前用蒸馏水现用现配制。还原型谷胱甘肽 (GSH)、超氧化物歧化酶 (SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px)、丙二醛 (MDA)、己糖激酶 (HK)、

苹果酸脱氢酶 (MDH) 所用的所有测定的试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 仪器与设备

5840R 型低温高速离心机, 德国 Eppendorf 公司; WFZUV-4802H 型紫外可见分光光度计, 尤尼柯上海仪器有限公司; Selectra-E-Plus 型全自动生化分析仪, 荷兰威图科技公司; BS110S 型电子天平, 美国 Sartorius 公司; 石蜡包埋机, 德国 Laica 公司; 水浴摊片机, 德国 Laica 公司; 1150C 型冷台机, 德国 Laica 公司。

1.3 方法

1.3.1 实验设计

50 只雄性健康的成年 SD 大鼠用普通饲料饲养一星期。随机分成五组, 每组 10 只, 分别为正常对照组、CDDP 模型组、GSPE (400 mg/kg) 组、CDDP+GSPE (200 mg/kg) 组和 CDDP+GSPE (400 mg/kg) 组, 并给动物编号。CDDP+GSPE 组和 GSPE 组每日灌服相应剂量的 GSPE 水溶液 (约 1 mL), 连续灌胃 15 d。正常对照组和 CDDP 模型组连续 15 d 灌服蒸馏水 1 mL。灌服 GSPE 10 d 后, CDDP 模型组及 CDDP+GSPE 组一次性腹腔注射 CDDP (8.0 mg/kg), 这是已知的可以引起肾毒性的剂量^[4]。正常对照组和 GSPE 组注射等量的生理盐水。每天定时给与饲料并称质量, 每 2 d 换一次饮用水, 每 7 d 换一次垫料。

1.3.2 指标检测

实验第 14 d 晚上断食, 实验第 15 d 股动脉取血处死大鼠, 将血液收集到非抗凝管中, 待血液凝固后, 离心 10 min (3000 r/min, 4 °C)。吸取上层血清, 用全自动生化分析仪检测大鼠血清 BUN 和 CrE。

大鼠死亡后在冰浴的条件下迅速地剖腹取出其双侧的肾脏, 去掉包膜, 称重, 计算肾脏指数, 计算公式如下:

$$\text{肾脏指数} = \frac{\text{肾脏质量(g)}}{\text{大鼠体质量(g)}} \times 100\%$$

称重后取一侧肾脏皮质迅速放入液氮罐中, 再迅速地转移至 -80 °C 冰箱中进行保存, 以便用于后续的肾皮质生化检测。另一侧肾脏浸泡于 10% 甲醛, 固定三天以上, 用于做病理组织切片。

将肾皮质放入 10 mL 的小烧杯内, 用生理盐水将其制成 10% 组织匀浆, 3000 r/min, 4 °C 离心 15~20 min, 取上清液, 按照试剂盒说明, 采用硫代巴比妥酸 (TBA) 法测定 MDA 含量; 二硫代二硝基苯甲酸 (DTNB) 法测定 GSH 含量; 黄嘌呤氧化酶法测定 SOD 活性; 二硫代二硝基苯甲酸法测定 GSH-Px 活性;

氧化还原法测定 MDH 活性；6-磷酸葡萄糖脱氢酶偶联法测定 HK 活性；考马斯亮兰法测定蛋白含量。将固定好的肾脏组织经常规处理和 H&E 染色后，制片，用光学显微镜进行观察。

1.4 统计分析

实验结果用均数±标准差($\bar{X} \pm s_d$)表示，采用 SPSS 12.0 统计软件进行统计分析，组间差异采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)处理。P<0.05 判断为具有显著性差异。

2 结果与分析

2.1 大鼠的一般生长情况

正常对照组和 GSPE (400 mg/kg) 组大鼠生长良好，毛顺色亮，活动敏捷，体重稳定增长。CDDP 模型组大鼠在注射 CDDP 后或者隔天出现摄食量明显减少，饮水量明显增多，精神萎靡，身体消瘦，弓背卷曲，毛色失光、大便异常等症状，体重不增反降；CDDP+GSPE 组与顺铂模型组相比，也存在上述异常现象，但程度较轻。

2.2 GSPE 对 CDDP 所致大鼠肾毒性的影响

2.2.1 GSPE 对 CDDP 所致大鼠肾脏损伤的影响

表 2 各组大鼠肾皮质中 GSH、MDA 含量及 SOD、GSH-PX 活性 ($\bar{X} \pm s_d$, n=50)

Table 2 GSH and MDA levels and SOD and GSH-PX activities in the renal cortex of rats

分组	GSH/(mg/g prot)	MDA/(nmol/mg prot)	SOD/(U/mg prot)	GSH-PX/(U/mg prot)
正常对照组	563.35±51.90	4.64±0.44	115.42±5.76	564.18±73.53
CDDP 模型组	364.70±59.53 ^a	5.81±0.92 ^a	76.83±9.25 ^a	434.00±59.33 ^a
GSPE (400mg/kg) 组	545.40±40.89	4.49±0.58	111.15±5.56	569.91±83.30
CDDP+GSPE 低剂量组	407.86±59.05	5.00±0.77 ^b	87.64±7.80 ^b	479.97±44.43
CDDP+GSPE 高剂量组	436.85±94.12 ^b	4.90±0.53 ^c	87.52±9.11 ^b	519.08±52.00 ^b

注：与正常对照组比较a: P<0.01；与CDDP模型组比较b: P<0.05, c: P<0.01。

如表 2 所示，与正常对照组相比，CDDP 模型组 GSH 含量、SOD 和 GSH-PX 活性均极显著 (P<0.01) 降低，MDA 含量极显著 (P<0.01) 升高。GSPE (400 mg/kg) 组与正常对照组相比，各个指标均未出现显著性差异。与 CDDP 模型组相比，CDDP+GSPE 低剂量组 GSH 含量和 GSH-PX 活性有所升高，但未出现显著性差异；MDA 含量显著 (P<0.05) 降低，同时 SOD 活性显著 (P<0.05) 升高。CDDP+GSPE 高剂量组 GSH 含量和 GSH-PX 活性显著 (P<0.05) 增高；MDA 含量极显著 (P<0.01) 降低，SOD 活性显著 (P<0.05) 升高。

表 1 GSPE 与 CDDP 对大鼠肾脏指数及血清 CrE、BUN 含量的影响 ($\bar{X} \pm s_d$, n=50)

Table 1 Effect of GSPE and CDDP on the renal index and BUN and CrE levels in rats

分组	肾脏指数/%	CrE/(umol/L)	BUN/(mmol/L)
正常对照组	0.77±0.03	69.60±8.52	5.19±1.11
CDDP 模型组	1.28±0.16 ^a	729.38±140.64 ^a	49.67±3.85 ^a
GSPE(400 mg/kg)组	0.76±0.03	65.13±3.96	5.02±0.93
CDDP+GSPE 低剂量组	1.06±0.78 ^b	540.33±152.87	38.55±7.81
CDDP+GSPE 高剂量组	1.04±0.95 ^b	452.00±82.64 ^b	34.19±6.33 ^b

注：与正常对照组比较a: P<0.01；与CDDP模型组比较b: P<0.05, c: P<0.01。

如表 1 所示，顺铂造成大鼠肾脏指数、BUN 和 CrE 含量显著 (P<0.01) 升高，提示顺铂造成了大鼠肾脏损伤，肾毒性模型建立成功。GSPE (400 mg/kg) 组与正常对照组相比，肾脏指数、血清 CrE 和 BUN 均未出现显著性差异。CDDP+GSPE 各剂量组与 CDDP 模型组相比，肾脏指数显著 (P<0.05) 降低，CDDP+GSPE 高剂量组血清 CrE、BUN 含量显著 (P<0.05) 降低。

2.2.2 GSPE 对 CDDP 所致大鼠肾脏氧化损伤的影响

2.2.3 GSPE 对 CDDP 所致大鼠肾脏线粒体损伤的影响

如表 3 所示，与正常对照组相比，CDDP 模型组 HK 活性极显著 (P<0.01) 升高，MDH 活性极显著 (P<0.01) 降低。GSPE (400 mg/kg) 组与正常对照组相比，各指标均未出现显著性差异。CDDP+GSPE 低剂量组与 CDDP 模型组相比 HK 活力有所降低，但未出现显著性差异，MDH 活力显著 (P<0.05) 升高。CDDP+GSPE 高剂量组与 CDDP 模型组相比 HK 活力显著 (P<0.05) 降低，MDH 活力极显著 (P<0.01) 升高。

表 3 各组大鼠肾皮质中 HK 和 MDH 活性 ($\bar{x} \pm sd$, n=50)

Table 3 HK and MDH activities in the renal cortex of rats

分组	HK/(U/L)	MDH/(U/L)
正常对照组	92.50±27.01	4.53±0.35
CDDP 模型组	147.82±24.75 ^a	3.23±0.52 ^a
GSPE (400mg/kg) 组	93.33±18.03	4.98±0.39
CDDP+GSPE 低剂量组	134.70±1.88	3.89±0.48 ^b
CDDP+GSPE 高剂量组	122.02±14.52 ^b	4.08±0.70 ^c

注: 与正常对照组比较, ^aP<0.01; 与CDDP模型组比较, ^b

P<0.05, ^cP<0.01。

2.2.4 各组大鼠肾脏组织病理学的变化

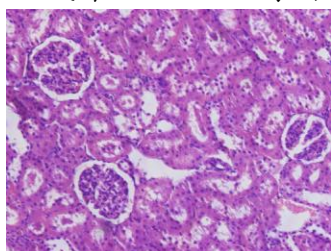


图 1 正常对照组肾脏病理切片图 (H&E, ×200)

Fig.1 Image of the kidney pathological slice of the normal control group

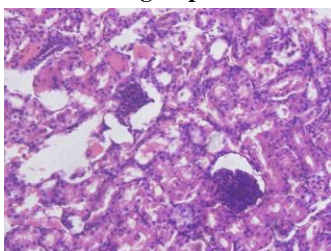


图 2 CDDP 模型组肾脏病理切片图 (H&E, ×200)

Fig.2 Image of the kidney pathological slice of the CDDP model group

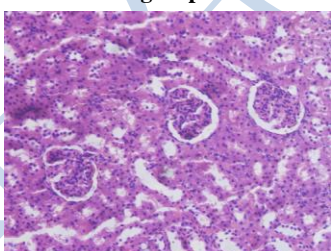


图 3 GSPE (400mg/kg) 组肾脏病理切片图 (H&E, ×200)

Fig.3 Image of the kidney pathological slice of the GSPE (400 mg/kg) group

从肾组织形态学 HE 染色切片 (图 1~5) 可见: 正常对照组和 GSPE (400 mg/kg) 组大鼠肾脏组织结构清晰, 肾小球、肾小管结构正常。模型组大鼠肾小球萎缩, 肾小管上皮细胞变性, 肾间质可见淋巴细胞浸润, 肾小管管腔内可见透明管型。CDDP+GSPE (200 mg/kg) 组大鼠肾脏有个别肾小球萎缩现象, 肾小管管腔内可见仍透明管型, 但相对于模型组有所改善。

CDDP+GSPE (400 mg/kg) 组大鼠肾脏组织损伤明显减轻, 除肾小球轻度充血及近曲小管部分上皮细胞水肿外, 其它未见异常。

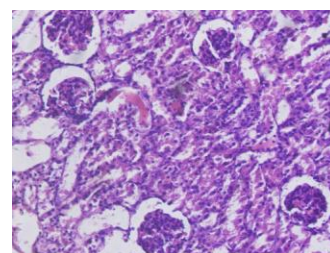


图 4 CDDP+GSPE (200 mg/kg) 组肾脏病理切片图 (H&E, ×200)

Fig.4 Image of the kidney pathological slice of the CDDP + GSPE (200 mg/kg) group

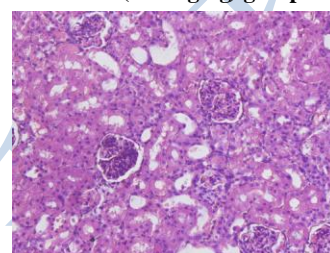


图 5 CDDP+GSPE (400 mg/kg) 组肾脏病理切片图 (H&E, ×200)

Fig.5 Image of the kidney pathological slice of the CDDP + GSPE (400 mg/kg) group

3 讨论

CDDP作为肿瘤化疗药物在体内主要经肾脏排泄, 故其肾毒性最为明显。它能够引起由活性氧、肾小管间质炎症和凋亡感应导致的肾损伤和急性肾功能衰竭^[5]。目前研究认为, 自由基的产生及氧化应激作用是 CDDP导致肾毒性的机制之一, 它使肾皮质清除自由基的能力降低, 脂质过氧化作用增强, 从而损伤膜蛋白和线粒体功能^[6], 造成肾功能的减退及病理结构改变。本课题研究结果表明, 健康的成年雄性大鼠在腹腔注射 CDDP (8 mg/kg) 后引起血清 BUN、CrE 含量明显升高, BUN 及 CrE 是肾功能的重要指标, 两者含量增高提示 CDDP 引起了大鼠明显肾脏损伤。此外, SOD 和 GSH-Px 是判断机体抗氧化水平的重要指标。SOD 主要清除自由基, 两者处于动态平衡状态; GSH-Px 主要清除低浓度的 H₂O₂。当自由基代谢发生紊乱时, 导致氧自由基过剩, 使肾小管上皮细胞受到损伤, 活性氧增多引起脂质过氧化并降解为 MDA, 它是判断体内脂质过氧化反应程度的特征指标。此外, 非酶类抗氧化剂如谷胱甘肽还被认为是第二道防线。它可以通过清除自由基或把有毒自由基转化为无毒终产物来护细胞免受氧化应激介导的氧化损伤。本研究的结果表明大鼠在腹腔注射 CDDP (8 mg/kg) 后肾皮质中 MDA 含量升高、GSH 含量明显降低、SOD 和 GSH-PX 活力明显减低,

验证了CDDP造成了肾脏氧化损伤,抗氧化剂GSH在清除自由基时过度利用。证明CDDP所致肾毒性与氧化应激有关。

肾脏的主要功能之一是肾小管的重吸收作用,该过程中需要多种代谢途径提供的有效能量,如ATP。线粒体有氧呼吸过程是产生ATP的最主要途径^[7]。本实验通过研究碳水化合物代谢酶(MDH、HK)指标来评估线粒体的能量代谢功能。MDH广泛存在于线粒体中,为三羧酸循环中的标志酶。HK存在于细胞质中,是糖酵解过程中的标志酶。本研究的结果表明,CDDP会引起肾皮质中同时出现HK活性升高和MDH活性下降,说明CDDP使主要提供能量的线粒体中三羧酸循环途径代谢酶活力降低,细胞需要的能量需要通过其他途径提供,因此,糖酵解代谢酶活力升高,提示CDDP诱发大鼠线粒体明显损伤。

联合用药是提高肿瘤化疗质量的措施之一,然而通常2种药物合用在提高疗效的同时也增加对机体毒性的机会。近年来,一些天然活性物质因独特的作用机制在对机体无毒的情况下显示了对肿瘤化疗的增效作用^[8,9]。葡萄籽原花青素属于生物类黄酮类物质,它的分子结构中酚羟基数量多、分子化学结构存在特异性,使其具有强抗氧化活性。GSPE能为自由基释放电子,这些被释放的电子会与自由基或氧化物结合,通过链阻断机理抵抗脂质过氧化进程;同时,GSPE为脂质自由基提供氢。使脂质过氧化链的延长出现障碍,延缓脂质氧化进程,减少自由基引发的危害^[10]。大量证据表明,GSPE拥有强有力的抗氧化及抑制脂质过氧化、调节和控制酶活性的作用^[11]。所以本研究探讨了GSPE以200 mg/kg和400 mg/kg两个剂量提前10天给药对顺铂所致大鼠肾毒性的影响。研究结果显示:GSPE预处理能够显著降低CDDP引起的血清CrE、BUN水平的增高,抑制肾皮质中由CDDP引起的GSH耗竭,MDA含量增加和SOD、GSH-Px活力降低。提示GSPE可减轻CDDP诱发的肾毒性,其机制可能是通过减少自由基,增加抗氧化酶活力和抗氧化剂含量来减轻氧化应激反应,从而抑制脂质过氧化物的形成,减缓机体的氧化损伤。此外,GSPE预处理还能够减缓CDDP引起的MDH活力降低和HK活力升高,其机制可能是GSPE通过抑制机体氧化应激作用,而减轻了线粒体的损伤。提示GSPE减轻CDDP诱发的肾毒性与其抗氧化和抗线粒体损伤有密切关系。此外,高剂量GSPE处理比低剂量GSPE疗效显著,说明GSPE的作用存在剂量效应,高剂量的GSPE处理更能有效减轻CDDP诱发的肾毒性。并且正常对照组和GSPE(400mg/kg)组大鼠生长良好,GSPE

(400mg/kg)组与正常对照组各项检测指标均未见差异,提示剂量为400mg/kg的GSPE对实验动物没有毒副作用。

4 结论

本研究表明GSPE对CDDP引起的肾脏毒性有一定的保护性作用。GSPE的这一保护作用与其抗氧化和抗线粒体损伤有密切关系。因此,在肿瘤病人化疗中提前口服GSPE可能在一定程度上改善CDDP诱发的肾脏损伤。

参考文献

- [1] Bagchi D, Bagchi M, Stohs S, et al. Cellular protection with proanthocyanidins derived from grape seeds [J]. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2002, 957: 260-270
- [2] Zayachkivska O S, Gzhegotsky M R, Terletska O I, et al. Influence of *Viburnum opulus* pro-anthocyanidins on stress-induced gastrointestinal mucosal damage [J]. *Physiol. Pharmacol.*, 2006, 57(1): 155-167
- [3] 白世平,罗绪刚,吕林.线粒体在细胞凋亡中的介导作用[J]. *生命科学*, 2006, 18(4): 368-372
BAI Shi-ping, LUO Xu-gang, LV Lin. The mediating role of mitochondria in cellular apoptosis [J]. *Bioscience*, 2006, 18(4): 368-372
- [4] 高丽萍,马润宇,周俊波.顺铂诱导肾性贫血大鼠模型的建立[J]. *中国公共卫生*, 2006, 22(4): 459-460
GAO Li-ping, MA Run-yu, ZHOU Jun-bo. Establishment of rat model of DDP-induced renal anemia [J]. *Chinese Journal of Public Health*, 2006, 18(4): 368-372
- [5] Sahu B D, Reddy K K R, Putcha U K, et al. Carnosic acid attenuates renal injury in an experimental model of rat cisplatin-induced nephrotoxicity [J]. *Food and Chemical Toxicology*. 2011, 49(12): 3090-3097
- [6] Sugihara K, Nakano S, Kala M, et al. Stimulatory effect of cisplatin on production of lipid peroxidation in renal tissues [J]. *Japanese journal of pharmacology*, 1987, 43(3): 247-252
- [7] Ashreeb N M, Wasim K, Sana R, et al. Studies on the protective effect of dietary fish oil on cisplatin induced nephrotoxicity in rats [J]. *Food and Chemical Toxicology*. 2012, 50: 265-273
- [8] Li Y, Ahmed F, Ali S, et al. Inactivation of nuclear factor kappa-B by soy isoflavone genistein contributes to increased apoptosis induced by chemotherapeutic agents in human cancer cells [J]. *Cancer Research*, 2005, 65(15): 6934
- [9] Cardenas M, Marder M, Blank V C, et al. Antitumor activity

- of some natural flavonoids and synthetic derivative on various human and murine cancer cell lines [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2006, 14(9): 2966
- [10] Ying S, Xiao H Y, Hui X. Effect of the grape seed proanthocyanidin extract on the free radical and energy metabolism indicators during the movement [J]. *Scientific Research and Essay*, 2010, 5(2): 148-153
- [11] Racicot K, Favreau N, Fossey S, et al. Antioxidant potency of highly purified polyepicatechin fractions [J]. *Food Chemistry*. 2012, 130(4): 902-907

现代食品科技