

循环杂志, 2019,34(3):209-220.

[2] 中国心血管病报告编写组.《中国心血管病报告 2016》概要[J].中国循环杂志,2017,32(6):521-530.

[3] 王德民,孙大雨,王彦波,等.高效液相色谱法测定冠心丹参滴丸中三七皂苷 R1 的含量[J].黑龙江医药,2014,27(2):244-246.

[4] 王维华.高效液相色谱法同时测定冠心丹参滴丸中三七皂苷 R1 的含量[J].中国保健营养,2015,25(17):311.

[5] 弥宏,谷伟玲.冠心丹参滴丸中人参皂甙 Rg1 的含量测定[J].中国实验方剂学杂志,2000,6(2):14-15.

[6] 苏林飞.液质联用技术用于两种含三七和丹参的中药制剂的质量控制[D].石家庄:河北医科大学,2015.

[7] 楼云娜,袁强.HPLC 测定冠心丹参滴丸中丹参酮 II A 的含量[J].药学研究,2007,26(10):595-597.

[8] 赵海燕.冠心丹参滴丸中丹参酮 II A 的含量测定[J].黑龙江医药,2011,24(4):529-530.

[9] 原素敏,倪健,柯瑜.高效液相色谱法测定冠心丹参滴丸中丹酚酸 B 的含量[J].时珍国医国药,2008,19(10):2439-2440.

[10] 黄喜茹,曹冬,詹文红.高效液相色谱法测定冠心丹参滴丸中 3 种脂溶性成分的含量[J].中国医院药学杂志,2006,26(9):1054-1055.

[11] 曹冬.中药丹参及其制剂的质量控制方法研究[D].石家庄:河北医科大学,2006.

[12] ATKINSON D E,WALTON G M.Adenosine triphosphate conservation in metabolic regulation rat liver citratecleavage enzyme [J].J Biol Chem,1967,242(13):3239-3241.

[13] LARA M,MALAV T,AMIT S, et al .Mitochondrial biology, targets, and drug delivery[J].Journal of Controlled Release,2015,207(1):40-48.

[14] ZOROV D B,JUHASZOVA M,SOLLOTT S J.Mitochondrial reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release[J].Physiological Reviews,2014,94(3):909-950.

[15] SARAST E M.Oxidative phosphorylation at the fin de siecle[J].Science,1999,283(5407):1488-1493.

[16] BALABANR S.Domestication of the cardiac mitochondrion for energy conversion[J].J Mol Cell Cardiol,2009,46(6):832-841.

[17] BRAND MD,NICHOLLS DG.Assessing mitochondrial dysfunction in cells[J].Biochem J,2011,435(2):297-312.

[18] MITCHELL P.Coupling of phosphorylation to electron and hydrogen transfer by a chemi osmotic type of mechanism[J].Nature,1961,191(4784):144-148.

[19] MITCHELL P.Keilin's respiratory chain concept and its chemiosmotic consequences[J].Science,1979,206(4423):1148-1159.

[20] RICQUIER D,FRÉDÉRIC B.Mitochondrial uncoupling proteins: from mitochondria to the regulation of energy balance[J].The Journal of Physiology,2000,529(1):3-10.

[21] HARDIE D G,ROSS F A,HAWLEY S A.AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis[J].Nature Reviews Molecular Cell Biology,2012,13(4):251-262.

[22] KONDO T,KISHI M,FUSHIMI T, et al .Acetic acid upregulates the expression of genes for fatty acid oxidation enzymes in liver to suppress body fat accumulation[J].J Agric Food Chem,2009,57:5982-5986.

[23] 周继芳.冠心丹参滴丸治疗冠心病疗效的观察[J].世界最新医学信息文摘(电子版),2014,14(6):94.

(收稿日期:2019-05-12)
(本文编辑 王雅洁)

哈巴昔对 H₂O₂ 诱导的大鼠心肌细胞 H9c2 氧化应激损伤的保护作用



徐 博,郭 伟,刘丹平,薛 辉

摘要:目的 探究哈巴昔(HG)对大鼠心肌细胞氧化应激损伤的作用。方法 将 H9c2 细胞随机分为对照组(H9c2 组)、哈巴昔组、H₂O₂ 组和 H₂O₂ + 哈巴昔组,用 H₂O₂ 处理细胞,复制氧化损伤模型。用哈巴昔(4 μmol/L)处理细胞,CCK8 检测细胞增殖,Hoechst 染色检测细胞凋亡,二氯荧光乙酞乙酸盐(DCF)法检测细胞内活性氧(ROS),根据试剂盒说明书检测上清液中超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和谷胱甘肽(GSH)浓度,Western blot 检测细胞凋亡相关蛋白 Bcl-2、Bax、Caspase-3 和 Caspase-9 的表达。结果 与 H9c2 组比较,H₂O₂ 组心肌细胞增殖倍数明显降低,哈巴昔作用细胞 4 d 后,H₂O₂ + 哈巴昔组心肌细胞增殖倍数明显高于 H₂O₂ 组;同时,与 H9c2 组比较,H₂O₂ 组细胞凋亡率明显升高;与 H₂O₂ 组比较,H₂O₂ + 哈巴昔组细胞凋亡率显著降低;H₂O₂ 还能显著诱导 H9c2 细胞 Bax、Caspase-3 和 Caspase-9 的表达,抑制 Bcl-2 表达;HG 能显著减弱 H₂O₂ 诱导 Caspase-3 和 Caspase-9 表达和抑制 Bcl-2 表达的作用;此外,H₂O₂ 组细胞内 ROS 活性及上清液中 SOD 和 GSH 浓度明显低于 H9c2 组,MDA 浓度明显高于 H9c2 组,H₂O₂ + 哈巴昔组细胞内 ROS 活性及 SOD 和 GSH 浓度明显高于 H₂O₂ 组,MDA 浓度明显低于 H₂O₂ 组。结论 哈巴昔能通过抑制氧化应激抑制心肌细胞 H9c2 凋亡。

关键词:细胞凋亡;心肌损伤;哈巴昔;氧化应激

中图分类号:R329 R285.5 **文献标识码:**A **doi:**10.12102/j.issn.1672-1349.2019.15.009

Protective Effect of Harpagide on H₂O₂-induced Oxidative Stress Injury of Rat Cardiomyocytes H9c2

XU Bo, GUO Wei, LIU Danping, XUE Hui

Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, Shaanxi, China

基金项目 陕西省卫生厅资助项目(No.2014D38)

作者单位 陕西省人民医院(西安 710068).E-mail: chenchanzhz@sina.com

引用信息 徐博,郭伟,刘丹平,等.哈巴昔对 H₂O₂ 诱导的大鼠心肌细胞 H9c2 氧化应激损伤的保护作用[J].中西医结合心脑血管病杂志,2019,17(15):2276-2281.

Abstract Objective To investigate the protective effect of Harpagide(HG) on oxidative stress injury of rat cardiomyocytes H9c2 induced by H₂O₂. **Methods** H9c2 cardiomyocytes were divided into the control (H9c2) group, HG group, H₂O₂ group and H₂O₂ + HG group. H₂O₂ was employed to establish the model of oxidative stress injury. Cardiomyocytes were treated with HG (4 μmol) and cardiomyocytes apoptosis were measured by Hoechst staining. Reactive oxygen species, the concentration of superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and glutathione (GSH) in supernatant were detected by 2',7'-dichlorofluorescein (DCF). The expressions of Bcl-2, Bax, Caspase-3 and Caspase-9 were detected by Western blot. **Results** Compared with the H9c2 group, cardiomyocytes growth was decreased in the H₂O₂ group, but it was increased in H₂O₂ + HG group compared with that in the H₂O₂ group. Compared with H9c2 group, cardiomyocytes apoptosis rate of H₂O₂ group was decreased, cardiomyocytes apoptosis rate of H₂O₂ + HG group was increased compared with H₂O₂ group. H₂O₂ could significantly induce the expression of Bax, Caspase-3 and it could Caspase-9, and inhibit the expression of Bcl-2. The activity of ROS and concentrations of SOD and GSH were decreased than those in the H9c2 group, while MDA was significantly increased than those in the H9c2 group. The activity of ROS and concentrations of SOD and GSH in the H₂O₂ + HG group were increased than those in the H₂O₂ group, while MDA was significantly decreased than those in the H₂O₂ group. **Conclusion** HG could inhibit apoptosis of cardiomyocytes H9c2 by inhibiting oxidative stress.

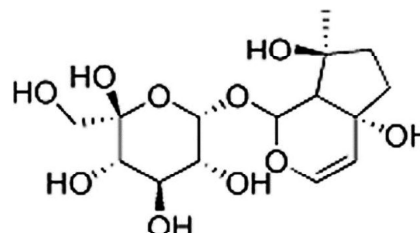
Keywords: harpagide; oxidative stress; apoptosis; myocardial injury

心血管疾病是导致人类死亡的主要原因之一,也是导致我国病人猝死的主要原因^[1]。随着人们生活水平的提高,心血管疾病的发病率和致死率也呈逐年上升趋势^[2-3]。心肌缺血、高血压、高血脂、糖尿病及过度疲劳均是导致心血管疾病的重要因素^[4]。近年来大量研究表明,氧化应激诱导的心肌细胞凋亡在心血管疾病发展过程中发挥着重要作用^[2, 5]。心肌细胞是一类高度分化的细胞,心肌细胞的凋亡会导致心脏功能减退,最终导致心脏功能衰竭^[6]。因此,寻找新的药物抑制氧化应激、减少心肌细胞凋亡是目前心血管疾病治疗研究的热点。白毛夏枯草是我国常用中草药,常用于治疗风湿病、关节炎、胃肠道功能紊乱等疾病,具有较强的抗炎活性^[6]。哈巴昔(harpagide, HG)是白毛夏枯草的主要活性成分,近年来研究表明哈巴昔也具有抗炎活性^[7],并且还能对抗谷氨酸盐诱导的氧化应激损伤,从而抑制大鼠大脑皮层神经细胞的凋亡^[8]。但其对心肌细胞氧化应激的作用还少见报道。本研究采用 H₂O₂ 处理心肌细胞 H9c2,诱导心肌细胞氧化损伤,以研究哈巴昔对心肌细胞氧化应激的作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂 哈巴昔(货号:6926-080-5)购自上海一研生物科技有限公司,分子式为 C₁₅H₂₄O₁₀,分子量为 364.35,纯度 ≥ 98%。DMEM/F12 培养液(货号:11330032)、胰酶(货号:25200114)和胎牛血清(货号:12483020)购自美国 Invitrogen 公司, Hoechst 33256 染色液(货号:C1027)、RIPA 裂解液(货号:P0013C)和 BCA 试剂盒(货号:P0010)购自上海碧云天生物科技公司。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD,货号:A001-3)、丙二醛(malondialdehyde, MDA,货号:A003-1)和谷胱甘肽(glutathi-

one, GSH)试剂盒(货号:A006-1)购自南京建成生物工程研究所。Caspase-3(货号:ab13847)、Caspase-9(货号:ab32539)、Bcl-2(货号:ab182858)和 Bax(货号:ab32503)一抗和山羊抗兔二抗(货号:ab6721)均购自英国 Abcam 公司。二氯荧光乙酰乙酸盐(2',7'-Dichlorofluorescein diacetate, DCF-DA, 货号:35845)购自美国 Sigma 公司。哈巴昔的化学结构式见图 1。



Harpagide C₁₅H₂₄O₁₀ MW: 364.35

图 1 哈巴昔的化学结构式

1.2 细胞培养 大鼠心肌细胞 H9c2 购自美国 ATCC(货号:CRL-1466)。用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养液将 H9c2 细胞培养于 37 °C 5% 二氧化碳的细胞培养箱中,并保持湿度在 95% 以上,2 d 换液 1 次。细胞融合率达到 90% 以上时对细胞进行传代培养,种板密度为 1 × 10⁴ 个/mL。

1.3 细胞分组及模型复制 将细胞以 1 × 10⁵ 个/mL 的密度接种于 6 孔板中,随机分为 H9c2 组、哈巴昔组、H₂O₂ 组和 H₂O₂ + 哈巴昔组。将细胞培养 24 h 后,H₂O₂ 组和 H₂O₂ + 哈巴昔组加入终浓度为 150 μmol 的 H₂O₂ 处理 3 h,随后哈巴昔组和 H₂O₂ + 哈巴昔组更换为含有 4 μmol 哈巴昔的培养液继续培养 24 h,其余两组更换为正常培养液。24 h 后收集上清液,保存于 -20 °C 冰箱中备用。

1.4 CCK8 检测细胞活性 将细胞接种于 96 孔板中,

种板密度为 1×10^5 个/mL。将细胞置于培养箱中培养 24 h 后,每孔加入 $10 \mu\text{L}$ 的 CCK8 试剂,重新置于培养箱中培养 2 h 后检测细胞活性,计算细胞增殖倍数,增殖倍数 = 细胞吸光度 / 0 h H9c2 组细胞吸光度 $\times 100\%$ 。

1.5 Hoechst 染色检测细胞凋亡 用 H_2O_2 和哈巴昔处理细胞并吸走上清液,用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗 3 次后,每孔加入 $500 \mu\text{L}$ 的 Hoechst 染色液,重新置于培养箱继续培养 30 min,30 min 后用荧光显微镜观察细胞凋亡情况,计算细胞凋亡率,细胞凋亡率 = 凋亡细胞数 / 总细胞数 $\times 100\%$ 。

1.6 检测 SOD、MDA 和 GSH 活性 取出细胞培养上清液置于 4°C 冰箱中待其完全融化后再恢复室温,用离心机以 $1\ 200\ \text{r/min}$ 的转速离心 4 min 后,取上清液根据试剂盒说明书检测上清液中 SOD、MDA 和 GSH 的浓度。

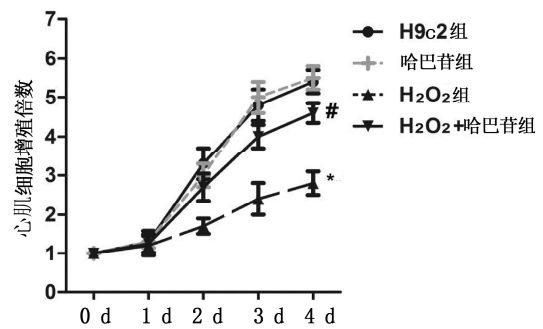
1.7 Western blot 检测蛋白表达 用 RIPA 裂解液提取各组细胞总蛋白,用 BCA 试剂盒对蛋白质含量进行定量分析并调平。用 12% SDS-PAGE 分离蛋白,采用半干法转移蛋白质到 PVDF 膜,并用 5% 的脱脂牛奶室温封闭 2 h。2 h 后吸去脱脂牛奶,加入 Caspase-3 (1 : 1 000)、Caspase-9 (1 : 1 000) 一抗、Bcl-2 (1 : 1 200) 和 Bax (1 : 1 000), 4°C 封闭过夜。第 2 天洗去未结合一抗,加入二抗 (1 : 1 200),室温孵育 1 h 后,洗去未结合二抗,滴加化学发光显色液曝光显影。以 GAPDH 为内参,用 Image J 软件对蛋白质条带进行定量分析。

1.8 二氯荧光素 (DCF) 法检测活性氧 (ROS) 活性 将细胞接种于 6 孔板中,细胞密度为 5×10^5 个/mL。培养 24 h 后,加入 $10 \mu\text{mol}$ 的 DCF-DA,室温孵育 10 min 后,加入 4% 的多聚甲醛室温固定细胞 5 min,用流式细胞仪检测 DCF 的荧光强度。

1.9 统计学处理 用统计软件 SPSS 13.0 对实验数据进行分析。组间差异采用 t 检验或 One-Way ANOVA,计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 哈巴昔对心肌细胞增殖的影响 与 H9c2 组比较,哈巴昔组细胞增殖倍数无明显变化, H_2O_2 组细胞增殖倍数明显降低 ($P < 0.01$);哈巴昔处理细胞 4 d 后,与 H_2O_2 组比较, H_2O_2 + 哈巴昔组细胞增殖倍数明显升高 ($P < 0.05$),表明哈巴昔能减弱 H_2O_2 对心肌细胞增殖的抑制作用。详见图 2。



与 H9c2 组比较, * $P < 0.01$; 与 H_2O_2 组比较, # $P < 0.05$

图 2 哈巴昔对心肌细胞增殖的影响

2.2 哈巴昔对心肌细胞凋亡的影响 与 H9c2 组比较,哈巴昔组细胞凋亡率无明显变化, H_2O_2 组细胞凋亡率明显升高 ($P < 0.05$);与 H_2O_2 组比较, H_2O_2 + 哈巴昔组细胞凋亡率显著降低 ($P < 0.05$),表明哈巴昔能抑制 H_2O_2 诱导的细胞凋亡。详见图 3。

2.3 哈巴昔对凋亡蛋白表达的影响 与 H9c2 组比较, H_2O_2 组细胞 Bcl-2 蛋白表达水平明显降低 ($P < 0.05$),Bax 表达水平明显升高 ($P < 0.05$);与 H_2O_2 组比较, H_2O_2 + 哈巴昔组细胞 Bcl-2 表达明显增多, Bax 表达显著减少 ($P < 0.05$)。详见图 4。 H_2O_2 还能显著促进 H9c2 细胞凋亡相关蛋白 Caspase-3 和 Caspase-9 的表达 ($P < 0.05$),能显著减弱 H_2O_2 诱导 Caspase-3 和 Caspase-9 表达的作用 ($P < 0.05$),表明哈巴昔能对抗 H_2O_2 诱导的心肌细胞凋亡。详见图 5。

2.4 哈巴昔对氧化应激的影响 H_2O_2 组 H9c2 细胞的 DCF 荧光强度与 H9c2 组比较明显升高 ($P < 0.05$),表明 H_2O_2 能诱导 ROS 的产生; H_2O_2 + 哈巴昔组细胞 DCF 荧光强度明显低于 H_2O_2 组 ($P < 0.05$),表明哈巴昔能减弱 H_2O_2 诱导 ROS 产生的作用。与 H9c2 组比较,哈巴昔组细胞上清液 SOD、MDA 和 GSH 的含量无明显变化, H_2O_2 组细胞上清液 SOD 和 GSH 的浓度明显降低 ($P < 0.05$),MDA 浓度明显升高 ($P < 0.05$); H_2O_2 + 哈巴昔组细胞上清液 SOD 和 GSH 含量与 H_2O_2 组比较显著升高 ($P < 0.05$),MDA 浓度明显降低 ($P < 0.05$),提示哈巴昔能抑制 H_2O_2 诱导的氧化应激,从而抑制心肌细胞凋亡。详见图 6、图 7。

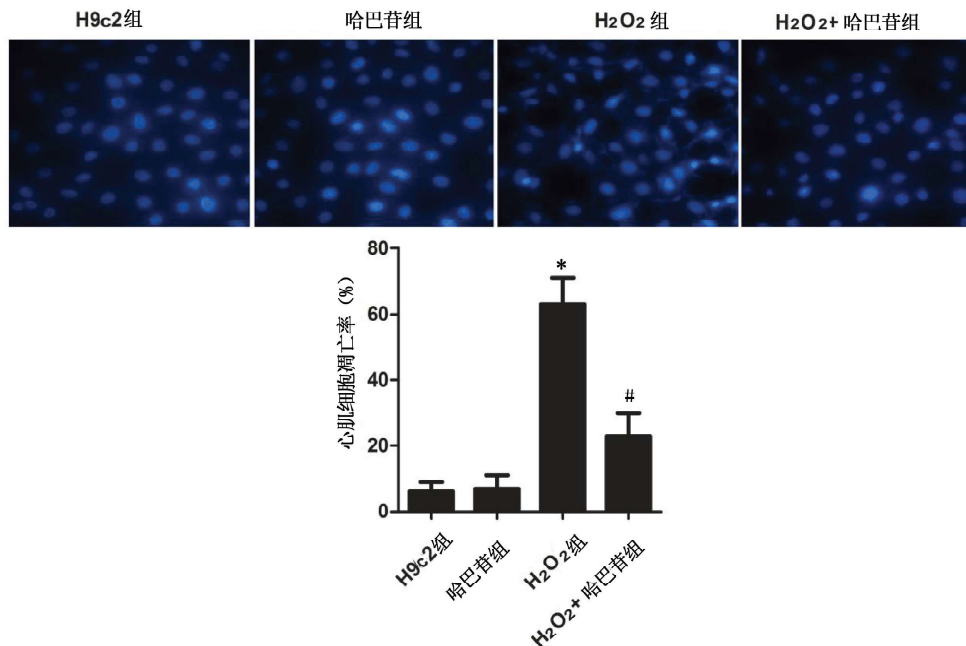
3 讨论

既往研究认为,细胞坏死是心肌损伤的主要方式,但近年来研究发现,细胞凋亡也是心肌细胞损伤的另一主要方式^[9]。大量研究发现,心脏病病人心肌受损的中心区域和周围组织均出现了大量的心肌细胞凋亡,表明心肌凋亡也是导致心肌梗死的主要原因之

—^[10]。因此,抑制心肌细胞凋亡是治疗心血管疾病的关键。近年来研究表明,多类中药提取物都具有心肌保护作用。蛇床子提取物蛇床子素能抑制阿霉素诱导的心肌细胞凋亡^[11],川芎提取物能通过抑制心肌细胞凋亡提高心力衰竭大鼠的心脏功能^[12]。哈巴昔是白毛夏枯草的主要活性成分,能通过促进 GSH 表达,抑制一氧化氮的分泌抑制神经元细胞氧化应激,减少神经元的凋亡^[8],但其对心肌细胞的作用还未见报道。

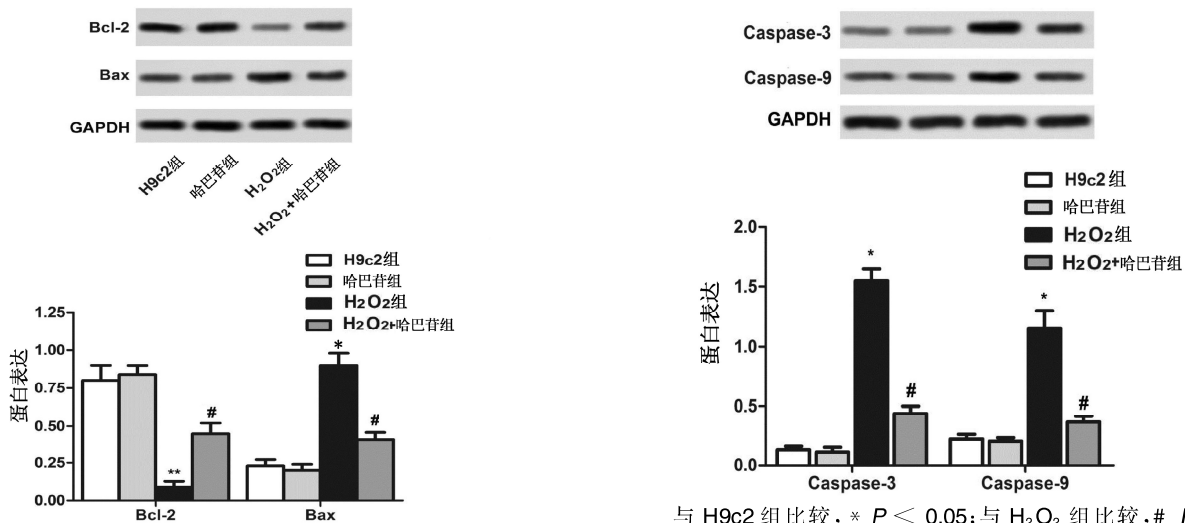
H₂O₂ 是一类 ROS,常被用于诱导心肌缺血和心肌缺血再灌注等心血管疾病模型^[13]。研究表明,ROS 可通过抑制 Bcl-2 表达,并促进 Bax 转移至线粒体诱导细胞色素 C 的释放,从而上调 Caspase 家族蛋白的

表达,启动线粒体细胞凋亡程序^[13]。Caspase 家族蛋白是细胞凋亡的最终执行者,其中 Caspase-3 和 Caspase-9 是细胞凋亡的最重要调控分子^[14]。因此,本研究采用 H₂O₂ 处理心肌 H9c2 细胞发现,H₂O₂ 能显著抑制心肌细胞增殖并能促进心肌细胞 H9c2 凋亡,诱导 Caspase-3 和 Caspase-9 的表达。哈巴昔具有显著减弱 H₂O₂ 抑制心肌细胞增殖、诱导心肌细胞凋亡的作用,并能抑制 Caspase-3 和 Caspase-9 的表达。此外,H₂O₂ 还能明显上调 H9c2 细胞 Bax 的表达水平,降低 Bcl-2 的表达水平,哈巴昔能显著减弱 H₂O₂ 对 Bcl-2 和 Bax 表达的调控作用,提示哈巴昔能对抗 H₂O₂ 诱导的心肌细胞凋亡。



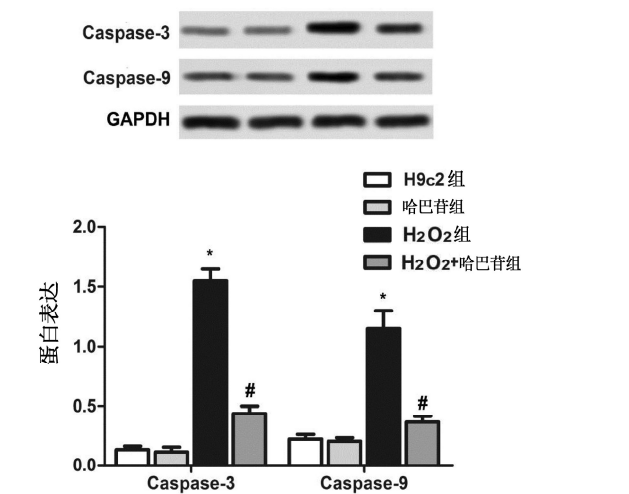
与 H9c2 组比较, * P < 0.05; 与 H₂O₂ 组比较, # P < 0.05

图 3 哈巴昔对心肌细胞 H9c2 凋亡的影响



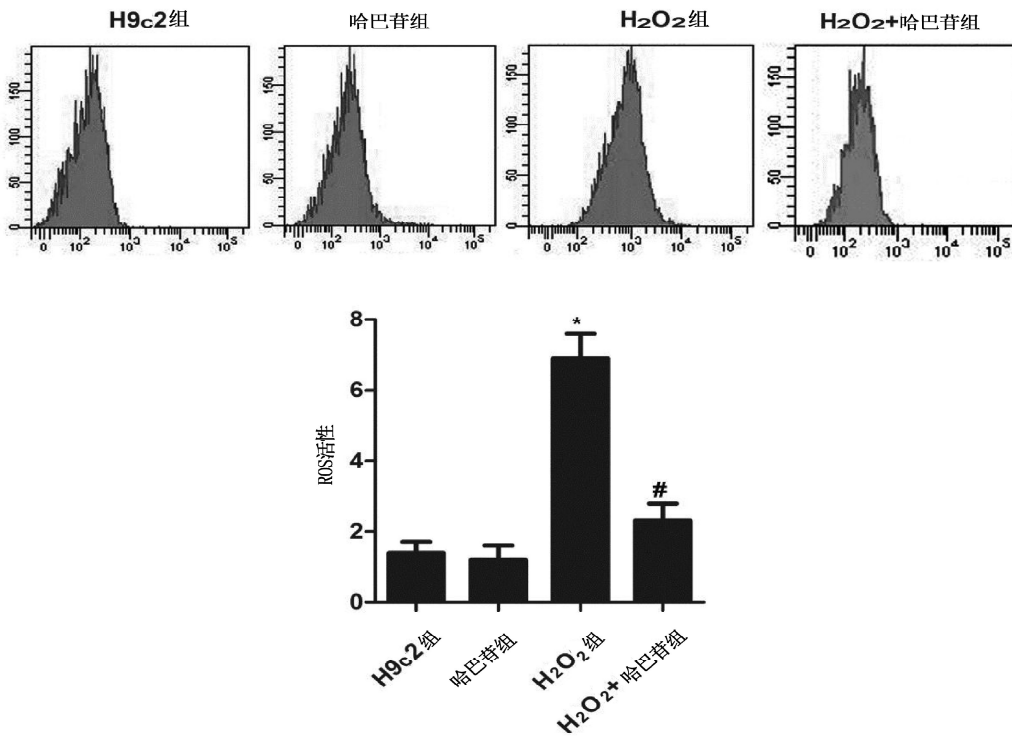
与 H9c2 组比较, * P < 0.05; 与 H₂O₂ 组比较, # P < 0.05

图 4 哈巴昔对 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达的影响



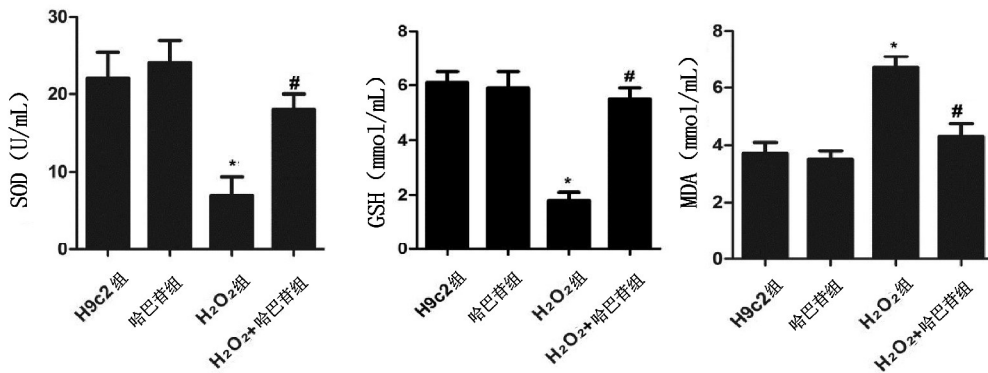
与 H9c2 组比较, * P < 0.05; 与 H₂O₂ 组比较, # P < 0.05

图 5 哈巴昔对 H9c2 细胞 Caspase-3 和 Caspase-9 表达的影响



与 H9c2 组比较, * $P < 0.05$ 与 H₂O₂ 组比较, # $P < 0.05$

图 6 哈巴昔对 ROS 表达的影响



与 H9c2 组比较, * $P < 0.05$; 与 H₂O₂ 组比较, # $P < 0.05$

图 7 哈巴昔对 H9c2 细胞 SOD、GSH 和 MDA 分泌的影响

氧化应激损伤是导致心肌细胞凋亡的主要原因之一。在慢性心力衰竭、心肌缺血等许多心血管疾病中均会出现氧化应激损伤^[15]。ROS 是诱导氧化应激的主要活性分子,主要由线粒体分泌产生^[16]。ROS 可直接导致线粒体膜破坏,使线粒体膜通透性增加,出现水肿,直接导致细胞凋亡程序的启动^[17]。同时 ROS 还能抑制抗氧化酶的产生。已有研究表明,ROS 直接导致心肌细胞凋亡和坏死^[18]。因此,有效地抑制氧化应激将有利于心血管疾病的治疗。H₂O₂ 能通过促进线粒体细胞色素 C 的释放诱导凋亡基因的表达,从而促进细胞凋亡^[2]。本研究采用 DCF-DA 法检测了 H9c2 细胞内 ROS 活性,实验结果表明,H₂O₂ 作用于 H9c2

细胞能显著提高细胞内 ROS 的活性,提示 H₂O₂ 能诱导 H9c2 细胞氧化应激。哈巴昔能显著减弱 H₂O₂ 对 ROS 活性的诱导作用,提示哈巴昔具有一定的抗氧化损伤活性。MDA 是典型的细胞膜脂质过氧化产物,与细胞损伤程度呈正相关;SOD 是一类抗氧化酶,GSH 是人体内重要的还原剂,两者均能清除细胞内的 ROS,从而减轻细胞氧化应激损伤^[14]。本研究发现,H₂O₂ 能显著抑制抗氧化酶 SOD 和还原酶 GSH 分泌,促进 MDA 的分泌,进一步表明 H₂O₂ 能诱导 H9c2 细胞氧化应激,哈巴昔能显著降低细胞上清液中 MDA 浓度,升高 SOD 和 GSH 浓度,同时还能抑制 ROS 的产生,表明哈巴昔具有抗心肌细胞氧化应激的能力,从而

抑制心肌细胞凋亡。

综上所述,哈巴昔能抑制 H₂O₂ 诱导的心肌细胞凋亡率,降低凋亡相关蛋白 Bax、Caspase-3 和 Caspase-9 的表达水平,并能促进凋亡抑制基因 Bcl-2 的表达,同时还能升高细胞上清液中 SOD 和 GSH 的浓度,降低 MDA 浓度并抑制细胞内 ROS 的活性,表明哈巴昔能通过抑制氧化应激抑制心肌细胞凋亡,发挥细胞保护作用。本研究探究了哈巴昔对氧化应激诱导的心肌细胞凋亡的作用,以期对心血管疾病的治疗提供新的潜力药物依据。

参考文献:

- [1] HUSSEIN A F, JEUDY J, KLIGERMAN S J, et al. Thoracic incidental findings in preoperative computed tomography evaluation for transcatheter aortic valve implantation (TAVI) [J]. J Thorac Imaging, 2016, 31(3): 183-188.
- [2] XU F, YU H, LIU J, et al. αB-crystallin regulates oxidative stress-induced apoptosis in cardiac H9c2 cells via the PI3K/AKT pathway [J]. Mol Biol Rep, 2013, 40(3): 2517-2526.
- [3] GADA H, AGARWAL S, MARWICK T H. Perspective on the cost-effectiveness of transapical aortic valve implantation in high-risk patients: outcomes of a decision-analytic model [J]. Ann Cardiothorac Surg, 2012, 1(2): 145-155.
- [4] SPILLMANN F, VAN L S, TSCHÖPE C. Cardiac effects of HDL and its components on diabetic cardiomyopathy [J]. Endocr Metab Immune Disord Drug Targets, 2012, 12(2): 132-147.
- [5] TSUTSUI H, KINUGAWA S, MATSUSHIMA S. Oxidative stress and heart failure [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2011, 301(6): H2181-2190.
- [6] FENG Y, WANG Y, CAO N, et al. Progenitor/stem cell transplantation for repair of myocardial infarction: hype or hope? [J]. Ann Palliat Med, 2012, 1(1): 65-77.
- [7] WEN B Y, LI J R. Pharmacokinetics of 8-O-acetylharpagide and harpagide after oral administration of *Ajuga decumbens* extract in beagle dog [J]. J Ethnopharmacol, 2013, 147(2): 503-508.
- [8] SORA K, KYUNGAH K O, SANG H S, et al. Iridoids from *Scrophularia buergeriana* attenuate glutamate-induced neurotoxicity in rat cortical cultures [J]. Journal of Neuroscience Research, 2010, 74(6): 985-995.
- [9] OERLEMANS M I, KOUDSTAAL S, CHAMULEAU S A, et al. Targeting cell death in the reperfused heart: pharmacological approaches for cardioprotection [J]. Int J Cardiol, 2013, 165(3): 410-422.
- [10] LIU Y, YANG H, SONG L, et al. AGGF1 protects from myocardial ischemia/reperfusion injury by regulating myocardial apoptosis and angiogenesis [J]. Apoptosis, 2014, 19(8): 1254-1268.
- [11] XU H, HAN Y, ZHANG M, et al. Protective role of Osthole on myocardial cell apoptosis induced by doxorubicin in rats [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(9): 10816-10823.
- [12] LI Y, SONG P, ZHV Q, et al. Liguzinediol improved the heart function and inhibited myocardial cell apoptosis in rats with heart failure [J]. Acta Pharmacol Sin, 2014, 35(10): 1257-1264.
- [13] WU Y, WANG D, WANG X, et al. Caspase 3 is activated through Caspase 8 instead of Caspase 9 during H₂O₂-induced apoptosis in heart cells [J]. Cell Physiol Biochem, 2011, 27(5): 539.
- [14] TAO L, LIANG S, ZHANG Y, et al. Effects of microRNA-139 on myocardial cell injury induced by oxidative stress [J]. Int J Clin Exp Med, 2015, 8(11): 19994-20001.
- [15] BORCHI E, BARGELLI V, STILLITANO F, et al. Enhanced ROS production by NADPH oxidase is correlated to changes in antioxidant enzyme activity in human heart failure [J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1802(3): 331-338.
- [16] SMITH M A, SCHNELLMANN R G. Calpains, mitochondria, and apoptosis [J]. Cardiovasc Res, 2012, 96(1): 32-37.
- [17] GUAN F Y, YANG S J, LIU J, et al. Effect of astragaloside IV against rat myocardial cell apoptosis induced by oxidative stress via mitochondrial ATP-sensitive potassium channels [J]. Mol Med Rep, 2015, 12(1): 371-376.
- [18] ZHONG P, WU L, QIAN Y, et al. Blockage of ROS and NF-κB-mediated inflammation by a new chalcone L6H9 protects cardiomyocytes from hyperglycemia induced injuries [J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1852(7): 1230-1241.

(收稿日期: 2018-02-07)

(本文编辑 王雅洁)