

黄芪甲苷对D-半乳糖诱导原代培养心肌细胞凋亡的保护作用及机制研究^Δ

王晓霞^{1*},刘天龙²,刘晶²,刘小玲¹,张勇¹,肖云峰³,刘小雷^{3#}(1.内蒙古自治区人民医院药剂处,呼和浩特010017;2.内蒙古医科大学附属医院药剂部,呼和浩特010010;3.内蒙古医科大学药理学教研室,呼和浩特010059)

中图分类号 R285 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2018)09-1189-05

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2018.09.09

摘要 目的:研究黄芪甲苷对D-半乳糖(D-gal)诱导原代培养心肌细胞凋亡的保护作用及机制。方法:分离和培养Wistar乳鼠原代心肌细胞,将细胞分为正常对照组(无血清DMEM高糖培养基)、D-gal组(含5 g/L D-gal的无血清DMEM高糖培养基)和黄芪甲苷低、中、高质量浓度组(分别先以含25、50、100 μg/mL黄芪甲苷的无血清DMEM高糖培养基培养1 h,然后换为含有相应质量浓度黄芪甲苷和5 g/L D-gal的无血清DMEM高糖培养基)。采用CCK-8法检测培养48 h后细胞活性,分别采用Hoechst染色法(培养24 h)和流式细胞术(培养48 h)考察细胞凋亡情况,采用实时荧光定量-聚合酶链式反应法检测培养24 h后细胞中凋亡相关因子(Bcl-2、Bax、Caspase-3)和心房钠尿肽(ANP) mRNA表达水平。结果:与正常对照组比较,D-gal组细胞的活性以及细胞中Bcl-2 mRNA水平、Bcl-2/Bax比值降低,细胞凋亡率和细胞中Bax、Caspase-3、ANP mRNA水平升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。与D-gal组比较,黄芪甲苷各浓度组细胞的活性以及细胞中Bcl-2 mRNA水平、Bcl-2/Bax比值均升高,细胞凋亡率和细胞中Bax、Caspase-3、ANP mRNA水平均降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),且具有一定浓度依赖性。结论:黄芪甲苷对D-gal诱导的原代心肌细胞凋亡具有一定的保护作用,其机制可能与升高细胞中Bcl-2/Bax比值和下调细胞中Caspase-3、ANP mRNA的表达有关。

关键词 黄芪甲苷;D-半乳糖;原代心肌细胞;凋亡;保护作用

“疑方”沟通单的建立实现了便捷有效的沟通;若为药房内部调剂差错,在线对调剂疏失的辅助记录可记录相关人员、药品、错误类型等,为加强门诊药房内部管理提供帮助;若发生严重的差错或调剂外差,则通过药品不良事件报告让上级负责人知晓,以引起警示,并及时采取相应的事后措施。针对不可预防的药品不良反应,信息化的上报平台简化了上报流程,提高了上报信息的准确性及医师上报的积极性。

发现问题、究其原因、逐步解决是良性循环的过程,其得益于信息化的管理。药品不良反应/事件是用药风险的一种表现形式,降低用药风险是广大医务人员的职责^[10]。因此,用药管理的信息化可提高医务人员的风险意识、降低患者用药风险、提高医疗质量。

参考文献

- [1] 李俊.临床药物治疗学总论[M].北京:人民卫生出版社,2015:117.
- [2] 唐仕炜,郑咏池,陈佳.PDCA循环管理模型在减少门诊调剂差错中的应用[J].海南医学,2014,25(7):1049-1051.

Δ 基金项目:国家自然科学基金资助项目(No.81460066)

* 副主任药师。研究方向:心血管药理学。E-mail:1015676111

@qq.com

通信作者:教授。研究方向:心血管与免疫药理学。E-mail:lx-lei56@126.com

- [3] 岑宇.我院门诊药房不良事件分析及对策[J].临床医药文献电子杂志,2016,3(26):5300-5301.
- [4] 叶根深.医院药品不良反应监测信息化平台的构建模式[J].临床合理用药杂志,2013,6(12B):62.
- [5] 郭代红,陈超,马亮,等.5所医院住院患者ADE警示系统主动监测数据分析与评价[J].中国药物应用与监测,2014,11(6):368-371.
- [6] 郑莹莹,刘学功,方坚锐.信息化模式下药房调配差错分析及防范措施[J].中国现代医药杂志,2013,15(8):110-112.
- [7] 王延玲,陈能太,林海燕.基于HIS平台的不良事件上报系统开发[J].医学信息,2012,25(8):21-22.
- [8] 吴君,刘丽萍,胡伟,等.应用PDCA循环提高医疗机构药品不良反应报告和监测管理质量[J].安徽医药,2013,17(10):1808-1809.
- [9] 温润龙,李亮华,罗万婷,等.医院药品不良反应快速上报信息化系统应用效果研究[J].中国药房,2017,28(20):2784-2786.
- [10] ALAN JF, ALISON J, CLAIRE C, et al. A systematic review to evaluate the accuracy of electronic adverse drug event detection[J]. *J Am Med Inform Assoc*, 2012, 19(1): 31-38.

(收稿日期:2017-08-04 修回日期:2017-10-27)

(编辑:刘萍)

Study on Protective Effect and Mechanism of Astragaloside IV on *D*-galactose-induced Primary Cardiomyocytes Apoptosis

WANG Xiaoxia¹, LIU Tianlong², LIU Jing², LIU Xiaoling¹, ZHANG Yong¹, XIAO Yunfeng³, LIU Xiaolei³ (1.Dept. of Pharmacy, Inner Mongolia Autonomous Region Hospital, Hohhot 010017, China; 2.Dept. of Pharmacy, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010010, China; 3.Dept. of Pharmacology, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010059, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the protective effect and mechanism of astragaloside IV on *D*-galactose (*D*-gal)-induced primary cardiomyocytes apoptosis. METHODS: Wistar neonatal rat primary cardiomyocytes were isolated and cultured. The cardiomyocytes were divided into normal control group (DMEM high glucose medium without serum), *D*-gal group (DMEM high glucose medium without serum containing 5 g/L *D*-gal) and astragaloside IV low-concentration, medium-concentration and high-concentration groups (after cultured with DMEM high glucose medium without serum containing 25, 50, 100 μg/mL astragaloside IV for 1 h, and then replaced with DMEM high glucose medium without serum containing corresponding concentration of astragaloside IV and 5 g/L *D*-gal). Cardiomyocytes activity was detected by CCK-8 kit after cultured for 48 h. The apoptosis level was detected by Hoechst staining (cultured for 24 h) and flow cytometry (cultured for 48 h). The mRNA expressions of apoptosis related factors (Bcl-2, Bax, Caspase-3) and ANP in cardiomyocytes were detected by RT-PCR after cultured for 24 h. RESULTS: Compared with normal control group, the activity of cardiomyocytes, mRNA level of Bcl-2 and ratio of Bcl-2/Bax were decreased in *D*-gal group, while apoptosis rate and mRNA levels of Bax, Caspase-3 and ANP were increased, with statistical significance ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). Compared with *D*-gal group, the activity of cardiomyocytes, mRNA level of Bcl-2 and ratio of Bcl-2/Bax were increased in astragaloside IV groups, while apoptosis rate and mRNA levels of Bax, Caspase-3 and ANP were decreased, with statistical significance ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), and in concentration-dependent manner. CONCLUSIONS: Astragaloside IV can protect *D*-gal induced primary cardiomyocytes from apoptosis, the mechanism of which may be associated with the increase of Bcl-2/Bax ratio and the decrease of mRNA expressions of Caspase-3 and ANP.

KEYWORDS Astragaloside IV; *D*-galactose; Primary cardiomyocytes; Apoptosis; Protective effect

黄芪(*Astragalus membranaceus*)为豆科植物蒙古黄芪或膜荚黄芪的干燥根,是中蒙医临床处方中较重要的药材,而黄芪甲苷(*Astragaloside IV*)是黄芪的主要有效成分之一^[1]。黄芪皂苷在心血管疾病的治疗中具有较大的应用潜力,有研究显示,其能够通过提高心肌细胞内Ca²⁺水平、抑制环磷腺苷水解、抗氧化应激及调节血压和脂质代谢等方式对多种原因引起的心肌损伤、心力衰竭及生理性衰老等具有一定保护作用^[2]。但上述研究多使用的是黄芪总皂苷,而对于黄芪皂苷单体的生物学活性研究报道较少。

凋亡在心血管疾病的发生和发展中扮演重要的作用,在动脉粥样硬化、心肌缺血再灌注损伤、心肌肥厚、心肌梗死及心力衰竭等病理改变中均涉及心肌细胞的凋亡^[3]。而且,在动物水平上通过药物刺激、基因敲除或基因过表达等手段抑制心肌细胞凋亡对压力诱导的心肌重构和心力衰竭具有很好的保护作用^[4]。鉴于此,本研究以蒙古黄芪提取物——黄芪甲苷为研究对象,考察其对*D*-半乳糖(*D*-galactose,简称为*D*-gal)诱导的原代心肌细胞凋亡的保护作用并探讨其可能的作用机制,这不仅是从天然产物中开发治疗心血管疾病特异性药物的基础,而且对于开发内蒙古地区特色的中蒙药资源有着重要的意义。

1 材料

1.1 仪器

RC低温离心机(美国Sorvall公司);JB-3电磁搅拌器(上海雷磁仪器厂);Z360K高速冷冻离心机(德国Hermle公司);Model550酶标仪(美国Bio-Rad公司);Eclipse生物倒置相差显微镜(日本Nikon公司);Accuri C6流式细胞仪(美国BD公司);7500实时荧光定量聚合酶链式反应仪(美国Thermos公司)。

1.2 药品与试剂

黄芪甲苷(本课题组提取,批号:20170106,纯度:经高效液相色谱-质谱鉴定>98%);CCK-8染色试剂盒(同仁化学研究所);荧光素FITC标记的膜联蛋白V(FITC-Annexin V)/碘化丙啶(PI)凋亡检测试剂盒(美国BD公司);Hoechst 33342染色试剂(美国R&D公司);Takara反转录试剂盒(日本Takara公司);凋亡相关因子(Bcl-2、Bax、Caspase-3)、心房钠尿肽(ANP)及甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)引物均由北京奥科生物技术有限公司提供;其他试剂均为分析纯。

1.3 细胞

原代心肌细胞由本课题组依据文献[5]从新生大鼠[购自内蒙古医科大学实验动物中心,动物质量合格证号:SCXK(蒙)2016-0001]心脏中分离和培养。

2 方法

2.1 原代心肌细胞的培养和鉴定

将原代心肌细胞差速贴壁后对其进行计数,以细胞密度为 5×10^4 个/mL分别接种于6、12、96孔板中,接种的量分别是2 mL、1 mL和100 μ L,接种的细胞均使用含10%胎牛血清(FBS)、2 \times 青链霉素混合液及2%的5-溴脱氧尿嘧啶核苷的DMEM高糖培养基进行培养。培养48 h后,使用无血清的培养基饥饿细胞24 h,然后用 α -辅肌动蛋白(α -actinin)抗体对原代心肌细胞进行免疫组化染色,对其纯度进行鉴定。采用倒置相差显微镜观察培养不同时间后细胞的生长状态和形态学变化,并拍照记录。

2.2 黄芪甲苷对D-gal诱导原代心肌细胞活性改变的影响

将细胞接种在96孔板中,加入无血清培养基饥饿处理24 h,弃去培养基,将细胞分为正常对照组、D-gal组和黄芪甲苷低、中、高质量浓度组,每组均设置6个复孔。正常对照组细胞加入100 μ L无血清的培养基;D-gal组细胞加入含5 g/L D-gal的无血清培养基100 μ L^[6];黄芪甲苷低、中、高质量浓度组细胞先分别加入含25、50、100 μ g/mL黄芪甲苷的无血清培养基100 μ L,作用1 h,然后更换为含相应黄芪甲苷浓度和5 g/L D-gal的无血清培养基。各组细胞均在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂细胞培养箱中培养48 h,吸弃培养基,每孔加入含有10% CCK-8试剂的无血清培养基100 μ L,在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂细胞培养箱中培养1.5 h后,用酶标仪测定450 nm波长处各孔的吸光度值。

2.3 黄芪甲苷对D-gal诱导原代心肌细胞凋亡的影响

2.3.1 Hoechst 33342染色法 将细胞接种于12孔板中,加入无血清培养基饥饿处理24 h,然后按“2.2”项下分组处理,每个浓度设置3个复孔。将细胞培养48 h后弃去培养基,用预冷的磷酸盐缓冲液(PBS)洗细胞1次,4%多聚甲醛溶液固定细胞20 min,弃去固定液,用PBS洗细胞2次,每次3 min,吸弃PBS,每孔加入0.25 mL Hoechst 33342染色液,混匀,在37 $^{\circ}$ C、5%CO₂细胞培养箱中避光培养30 min,弃染色液,PBS洗细胞3次,每次3 min,在倒置相差显微镜下观察细胞染色情况并拍照。

2.3.2 流式细胞术 将细胞接种于6孔板中,加入无血清培养基饥饿处理24 h,然后按“2.2”项下方法分组、给药,每个浓度设置3个复孔。将细胞培养48 h后弃去培养基,用预冷的PBS洗细胞1次,胰酶消化细胞并转移到1.5 mL离心管中,离心去胰酶。使用100 μ L结合缓冲液(Binding buffer)重悬细胞,加入5 μ L的FITC-Annexin V和5 μ L的PI,避光室温条件下反应15 min后,每个样品加入400 μ L的Binding buffer,在流式细胞仪上检测各组的凋亡细胞情况。

2.4 黄芪甲苷对细胞中Bcl-2、Bax、Caspase-3、ANP mRNA表达的影响

按“2.2”项下方法饥饿处理细胞后分组给药,培养24 h后收集细胞,采用Trizol法提取细胞总RNA,反转录为cDNA,然后利用特异性引物进行扩增。反应体系:2 \times

qPCR SYBR Green Master Mix 缓冲液 5 μ L, 2 μ mol/L的上、下游引物各1 μ L, cDNA模板3 μ L, 总体积为10 μ L。反应条件:94 $^{\circ}$ C预变性4 min;94 $^{\circ}$ C变性30 s, 55 $^{\circ}$ C退火40 s, 72 $^{\circ}$ C延伸30 s, 35个循环;然后以72 $^{\circ}$ C延伸5 min结束反应。扩增结束后以GAPDH为内参,采用Quante Studio Soft 1.3软件通过2^{- $\Delta\Delta$ C_t}法进行相对定量分析。引物序列和产物长度见表1。

表1 引物序列和产物长度

Tab 1 Primer sequence and product length

基因	引物序列	产物长度, bp
Bcl-2	上游引物: 5'-CGGGAGATCGTGATGAAGTA-3'	284
	下游引物: 5'-GGTAGCGACGAGAGAAGTCA-3'	
Bax	上游引物: 5'-CTGCAGAGGATGATTGCTGA-3'	174
	下游引物: 5'-GATCAGCTCGGGCAGCTTTCAG-3'	
Caspase-3	上游引物: 5'-GCAGCAGCTCAAATTGTTGACTA-3'	144
	下游引物: 5'-TGCTCCGGCTCAAACATC-3'	
ANP	上游引物: 5'-GGCTCCTTCTCCATCACCAG-3'	458
	下游引物: 5'-TGTTATCTTCGGTACCG-3'	
GAPDH	上游引物: 5'-CAAAGTTGTTCATGGATGA-3'	194
	下游引物: 5'-CCATGGAGAAGGCTGGG-3'	

2.5 统计学方法

采用SPSS 19.0软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 细胞的培养和鉴定结果

倒置相差显微镜观察结果显示,刚分离接种到培养板中的心肌细胞大多为圆形,偶见少数其他不规则形状;培养4 h后,细胞逐渐呈现贴壁状态,偶见扁平形、三角形及少数长梭形;培养24 h后,细胞基本贴壁,多呈圆形、梭形和三角形,贴壁的单个细胞出现自发性搏动,搏动频率和节律还未同步。免疫组化结果显示,培养的心肌细胞纯度在95%以上。原代培养心肌细胞的鉴定见图1。

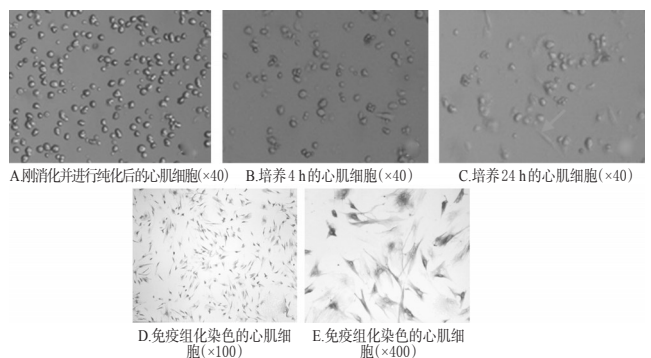


图1 原代培养心肌细胞的鉴定图

Fig 1 Identification of primary cardiomyocytes

3.2 细胞活性测定结果

与正常对照组比较,D-gal组细胞的活性显著降低($P < 0.01$);与D-gal组比较,黄芪甲苷低、中、高质量浓度组细胞的活性均显著升高($P < 0.01$),且具有一定的

浓度依赖性。正常对照组、*D*-gal 组和黄芪甲苷低、中、高质量浓度组的细胞活性分别为 100%、(44.75 ± 3.50)%、(58.51 ± 4.54)%、(65.44 ± 3.13)%、(71.88 ± 3.70)% ($n=6$)。

3.3 细胞凋亡测定结果

3.3.1 Hoechst 33342 染色结果 正常对照组细胞呈均一的核染,且未见异常核;*D*-gal 组细胞呈典型凋亡状态,镜下可见染色质浓集、核固缩、核碎裂等多种凋亡形态学特征,且贴壁细胞数量减少明显;黄芪甲苷低浓度组细胞可见少数的核固缩、核碎裂,但贴壁细胞数量较 *D*-gal 组多;黄芪甲苷中浓度组核固缩、核碎裂的细胞数显著减少;黄芪甲苷高浓度组细胞状态与正常对照组细胞接近,并且贴壁细胞数较 *D*-gal 组明显多。各组细胞凋亡检测的 Hoechst 33342 染色图见图 2。

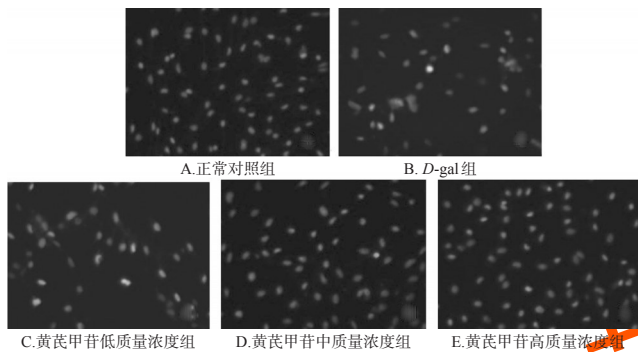


图 2 各组细胞凋亡检测的 Hoechst 33342 染色图($\times 40$)
Fig 2 Hoechst 33342 staining of cells apoptosis in each group ($\times 40$)

3.3.2 流式细胞术测定结果 与正常对照组比较,*D*-gal 组的细胞凋亡率显著升高($P<0.01$);与 *D*-gal 组比较,黄芪甲苷低、中、高质量浓度组的细胞凋亡率均显著降低($P<0.01$),且具有一定的浓度依赖性。各组细胞凋亡率测定的流式图见图 3,测定结果见表 2。

3.4 细胞中 Bcl-2、Bax、Caspase-3、ANP mRNA 表达水平测定结果

与正常对照组比较,*D*-gal 组细胞中 Bcl-2 mRNA 的表达水平和 Bcl-2/Bax 比值显著降低($P<0.05$),Bax、Caspase-3、ANP mRNA 的表达水平显著升高($P<0.05$);与 *D*-gal 组比较,黄芪甲苷低、中、高质量浓度组细胞中 Bcl-2 mRNA 的表达水平和 Bcl-2/Bax 比值均显著升高($P<0.05$),Bax、Caspase-3、ANP mRNA 的表达水平均显著降低($P<0.05$)。各组细胞中 Bcl-2、Bax、Caspase-3 和 ANP mRNA 表达水平测定结果见表 3。

4 讨论

D-gal 是一种常用的衰老诱导剂,在筛选与衰老相关的致病靶点和相关药物的研究中应用广泛,*D*-gal 诱导的体内外衰老表型主要与氧化应激、自噬或凋亡相关的细胞损伤及与线粒体功能障碍相关的代谢异常有关^[7]。在 *D*-gal 诱导的衰老过程中涉及 Caspase-3 依赖的

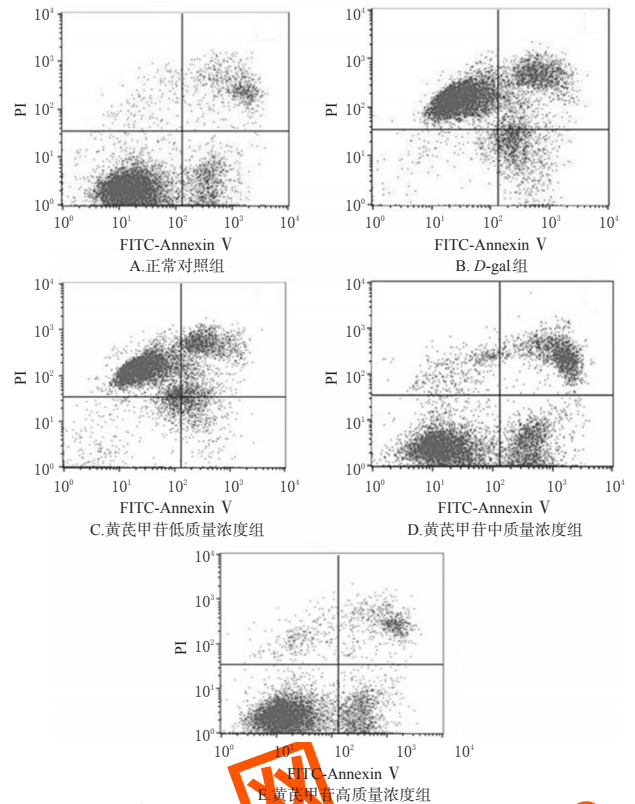


图 3 各组细胞凋亡检测的流式细胞图

Fig 3 Flow cytometry of cells apoptosis in each group

表 2 各组细胞凋亡率测定结果($\bar{x} \pm s, n=3$)

Tab 2 Determination results of apoptotic rate of cells in each group ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	质量浓度, $\mu\text{g/mL}$	凋亡率, %
正常对照组		20.25 ± 1.39
<i>D</i> -gal 组		43.62 ± 1.61**
黄芪甲苷低质量浓度组	25	34.30 ± 1.22**
黄芪甲苷中质量浓度组	50	26.26 ± 1.99**
黄芪甲苷高质量浓度组	100	23.96 ± 1.36**

注:与正常对照组比较,** $P<0.01$;与 *D*-gal 组比较,** $P<0.01$

Note: vs. normal control group, ** $P<0.01$; vs. *D*-gal group, ** $P<0.01$

0.01

表 3 各组细胞中 Bcl-2、Bax、Caspase-3 和 ANP mRNA 表达水平测定结果($\bar{x} \pm s, n=6$)

Tab 3 mRNA expressions of Bcl-2, Bax, Caspase-3 and ANP of cells in each group ($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	质量浓度, $\mu\text{g/mL}$	$2^{-\Delta\Delta C_t}$ 值				
		Bcl-2	Bax	Bcl-2/Bax	Caspase-3	ANP
正常对照组		1.24 ± 0.08	0.84 ± 0.04	1.46 ± 0.11	0.96 ± 0.11	0.55 ± 0.05
<i>D</i> -gal 组		0.74 ± 0.03*	1.50 ± 0.09*	0.50 ± 0.03*	1.78 ± 0.08*	1.03 ± 0.07*
黄芪甲苷低质量浓度组	25	0.86 ± 0.04*	1.21 ± 0.05*	0.70 ± 0.04*	1.47 ± 0.07*	0.85 ± 0.04*
黄芪甲苷中质量浓度组	50	0.94 ± 0.05*	1.11 ± 0.10*	0.85 ± 0.08*	1.38 ± 0.06*	0.74 ± 0.07*
黄芪甲苷高质量浓度组	100	1.07 ± 0.07*	0.96 ± 0.08*	1.13 ± 0.13*	1.26 ± 0.10*	0.65 ± 0.03*

注:与正常对照组比较,* $P<0.05$;与 *D*-gal 组比较,* $P<0.05$

Note: vs. normal control group, * $P<0.05$; vs. *D*-gal group, * $P<0.05$

0.05

凋亡途径。研究显示,活化的 Caspase-3 能够裂解很多底物蛋白(如 PARP),被裂解的 PARP 失去固有生物活性

的同时损伤细胞核内的DNA,从而引发细胞凋亡^[8]。在本研究中,*D-gal*组细胞中Caspase-3 mRNA的表达水平显著升高,而给予黄芪甲苷后细胞中Caspase-3 mRNA的表达水平显著降低,提示这是黄芪甲苷抑制*D-gal*诱导的心肌细胞凋亡的作用机制之一。

ANP是一种由心房合成、贮存和分泌的活性多肽,具有强大的利钠、利尿、舒张血管、降低血压、对抗肾素-血管紧张素系统和抗利尿激素等作用,当心脏压力负荷和容量负荷增加时,心房会反射性地合成和分泌ANP,以减轻心脏负荷和改善心功能^[9-10]。因此,ANP常作为判断心功能是否受损的标志。在本研究中,与正常对照组细胞比较,*D-gal*能够提高细胞中ANP mRNA的表达水平,而给予不同浓度黄芪甲苷后细胞中ANP mRNA的表达水平均显著降低,这提示黄芪甲苷对*D-gal*所致的细胞损伤具有较好的保护作用。

有研究显示,细胞或机体在应激条件下自噬过程的活化在一定程度上会减少或抑制凋亡过程,如敲除或敲低与自噬过程相关的基因ATG后通常会导致细胞凋亡或坏死^[11-12]。Bcl-2是一类抗凋亡蛋白,其通过结合或抑制自噬调节蛋白Beclin1的活性而对自噬过程发挥间接的负调节作用^[13]。相反,Bcl-2家族成员Bax是一种促凋亡因子,其能够通过Caspase通路裂解自噬调节蛋白Beclin1而阻止自噬过程的发生^[14]。因此,Bcl-2和Bax表达水平的比值能够反映细胞凋亡和自噬水平。在本研究中,*D-gal*组细胞中Bcl-2/Bax比值显著降低,说明细胞的凋亡水平较高;给予黄芪甲苷后细胞中Bcl-2/Bax比值显著升高,说明细胞中具有抑制凋亡作用的Bcl-2水平增加,而具有促凋亡作用的Bax水平降低,该结果在相应的Hoechst荧光染色和流式细胞仪凋亡分析中也得到了验证。

综上所述,黄芪甲苷对*D-gal*诱导的原代心肌细胞凋亡有一定的保护作用,其机制可能与抑制ANP、Caspase-3 mRNA的表达和提高Bcl-2/Bax的比值有关,但其更多的作用机制尚需进一步研究。

参考文献

[1] LEEHEY DJ, CASINI T, MASSEY D. Remission of membranous nephropathy after therapy with Astragalus membranaceus[J]. *Am J Kidney Dis*, 2010, 55(4):1028-1032.

[2] ZHANG ZC, LI SJ, YANG YZ, et al. Effect of astragaloside on cardiomyocyte apoptosis in murine coxsackievirus B3 myocarditis[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2007, 9(2):145-151.

[3] CLANCY RM, NEUFING PJ, ZHENG P, et al. Impaired clearance of apoptotic cardiocytes is linked to anti-SSA/Ro and -SSB/La antibodies in the pathogenesis of congeni-

tal heart block[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(9):2413-2422.

[4] UMOH NA, WALKER RK, AL-RUBAIEE M, et al. Acute alcohol modulates cardiac function as PI3K/Akt regulates oxidative stress[J]. *Alcohol Clin Exp Res*, 2014, 38(7):1847-1864.

[5] BRISTON SJ, DIBB KM, SOLARO RJ, et al. Balanced changes in Ca buffering by SERCA and troponin contribute to Ca handling during β -adrenergic stimulation in cardiac myocytes[J]. *Cardiovasc Res*, 2014, 104(2):347-354.

[6] LIU J, WANG J, CHEN X, et al. Ginkgo biloba extract EGB761 protects against aging-associated diastolic dysfunction in cardiomyocytes of *D-galactose*-induced aging rat[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2012.DOI: 10.1155/2012/418748.

[7] DU Z, YANG Q, LIU L, et al. NADPH oxidase 2-dependent oxidative stress, mitochondrial damage and apoptosis in the ventral cochlear nucleus of *D-galactose*-induced aging rats[J]. *Neuroscience*, 2015.DOI: 10.1016/j.neuroscience.2014.11.061.

[8] YANG W, SHI L, CHEN L, et al. Protective effects of perindopril on *D-galactose* and aluminum trichloride induced neurotoxicity via the apoptosis of mitochondria-mediated intrinsic pathway in the hippocampus of mice[J]. *Brain Res Bull*, 2014.DOI: 10.1016/j.brainresbull.2014.09.010.

[9] 董洋飞,郭奉洁,潘夕春,等.雷公藤甲素对大鼠心肌H9c2细胞肥大的抑制作用[J]. *中国药房*, 2015, 26(7):878-881.

[10] 张永娜,赵秀莉,陈秀英,等.黄芪注射液对盐水负荷模型大鼠的利尿作用研究[J]. *中国药房*, 2015, 26(10):1366-1368.

[11] ZHANG SF, WANG XL, YANG XQ, et al. Autophagy-associated targeting pathways of natural products during cancer treatment[J]. *Asian Pac J Cancer Prev*, 2014, 15(24):10557-10563.

[12] LUM JJ, BAUER DE, KONG M, et al. Growth factor regulation of autophagy and cell survival in the absence of apoptosis[J]. *Cell*, 2005, 120(2):237-248.

[13] PATTINGRE S, TASSA A, QU X, et al. Bcl-2 antiapoptotic proteins inhibit Beclin 1-dependent autophagy[J]. *Cell*, 2005, 122(6):927-939.

[14] LUO S, GARCIA-ARENCEBIA M, ZHAO R, et al. Bim inhibits autophagy by recruiting Beclin 1 to microtubules[J]. *Mol Cell*, 2012, 47(3):359-370.

(收稿日期:2017-10-23 修回日期:2018-02-28)

(编辑:林静)