

· 氧化苦参碱与艳山姜挥发油 ·

氧化苦参碱抑制 p38MAPK 磷酸化改善 醛固酮诱导心肌成纤维细胞增殖

付凌云, 黄海烽, 徐旖旎, 张彦燕, 罗红, 陶玲, 陈妍*, 沈祥春*

(贵州医科大学天然药物资源优效利用重点实验室, 贵阳 550025)

[摘要] 目的:研究氧化苦参碱(OMT)对醛固酮(ALD)诱导心肌成纤维细胞(CFs)增殖的作用,并分析其对 p38 丝裂素活化蛋白激酶(p38MAPK)表达的影响。方法:采用胰酶消化差速贴壁法分离纯化 SD 新生大鼠 CFs 做原代培养,建立 ALD 诱导 CFs 增殖模型。实验分为空白组(无血清 DMEM),ALD 组($1 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$),OMT 高、低剂量组(3.78×10^{-4} , $7.57 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$)。波形蛋白免疫细胞化学法鉴定 CFs。采用噻唑蓝(MTT)法分析 ALD 对 CFs 增殖的量效与时效关系和 OMT 的抑制作用。实时荧光定量 PCR 分析 p38MAPK mRNA 的表达。Western blot 分析 p-p38MAPK, p38MAPK 的蛋白表达。结果:MTT 结果提示 $1 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ALD 能够诱导 CFs 的增殖,且在 24 h 时增殖作用显著, $7.57 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ OMT 可显著抑制 CFs 增殖。OMT 对 p38MAPK mRNA 的水平无影响。OMT 能够抑制 p-p38MAPK 蛋白的表达。结论:OMT 可抑制 ALD 诱导 CFs 增殖的作用,其机制可能与抑制 p38MAPK 磷酸化有关。

[关键词] 氧化苦参碱; 醛固酮; 心肌成纤维细胞; 丝裂素活化蛋白激酶

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2015)22-0103-05

[doi] 10.13422/j.cnki.syfx.2015220103

[网络出版地址] <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20151022.1348.014.html>

[网络出版时间] 2015-10-22 13:48

Inhibition of Oxymatrine on Proliferation of Rat Cardiac Fibroblasts Induced by Aldosterone via Down-regulating p38MAPK Phosphorylation

FU Ling-yun, HUANG Hai-feng, XU Yi-ni, ZHANG Yan-yan, LUO Hong, TAO Ling, CHEN Yan*, SHEN Xiang-chun* (Key Laboratory of Optimal Utilization of Natural Medicine Resources, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate inhibitory effect of oxymatrine (OMT) on proliferation of rat cardiac fibroblasts (CFs) induced by aldosterone (ALD), and then explore its mechanism. **Method:** Primary CFs was digested by trypsin with neonatal rats, and then was purified by differential adhesion. Experiments were designed 4 groups as following: blank group, model group ($1 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ of aldosterone), OMT low-dose group of $3.78 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$, OMT high-dose group of $7.57 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Vimentin of CFs was identified by immunocytochemistry. Inhibitory effect of OMT on CFs proliferation was detected by MTT assay. Real-time PCR was employed to determine mRNA level of p38 mitogen-activated protein kinase (p38MAPK). Expression of phosphorylation-p38MAPK (p-p38MAPK) and p38MAPK was analyzed by Western blot. **Result:** Optimal proliferation of CFs induced by ALD with $1 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ at 24 h. OMT with $7.57 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ could

[收稿日期] 20150908(011)

[基金项目] 国家自然科学基金项目(81173586,81560588);教育部新世纪人才支持计划项目(NCET-13-0747);贵州省省长基金项目(黔科教办[2011]28号);贵州省科技基金重点项目(黔科合JZ字[2015]2002);贵州省高等教育科技创新团队项目(黔教合人才团队字[2014]31);贵州省高等学校创新能力提升计划项目(黔教合协同创新字[2013]04);贵州省高层次创新型人才项目(黔科合人才[2015]4029);贵州省科技创新团队项目(黔科合人才团队[2015]4025号)

[第一作者] 付凌云,在读硕士,从事心血管药物药理研究,Tel:13985058433,E-mail:605606875@qq.com

[通讯作者] *陈妍,博士,副教授,从事天然产物活性研究,Tel:0851-88416149,E-mail:457335071@qq.com;

*沈祥春,教授,博士生导师,从事中药民族药活性及效应机制、心血管系统药物药理研究,Tel:0851-88416149,E-mail:shenxiangchun@126.com

significantly inhibit proliferation of CFs. OMT could not affect expression of p38MAPK mRNA, but it attenuated phosphorylation of p38MAPK induced by ALD. **Conclusion:** OMT inhibits proliferation of CFs induced by ALD, and its mechanism may be involved in inhibiting phosphorylation of p38MAPK.

[**Key words**] oxymatrine; aldosterone; cardiac fibroblasts; mitogen-activated protein kinase

心血管疾病是严重威胁人类健康的常见疾病。心肌纤维化是多种心脏疾病发展到一定阶段的共同病理过程,并最终形成心力衰竭而导致病死率与致残率增加^[1]。因此,研究预防和逆转心肌纤维化的药物,特别是在传统中药活性成分的研究中寻找抑制心肌纤维化的药物变得尤为重要。

p38 丝裂素活化蛋白激酶(p38MAPK)是 MAPK 信号通路中的一个重要的分支,也是细胞内主要的信号转导系统之一。p38MAPK 是存在于胞浆的蛋白质激酶,是信号从细胞表面转导到细胞核内部的重要传递者,在各种细胞刺激下 p38MAPK 被激活,细胞浆中的 p38MAPK 即移位到细胞核,调控细胞生长、增殖、分化、凋亡等病理生理过程^[2]。前期研究报道转化生长因子- β_1 (TGF- β_1)可激活 p38MAPK 信号通路诱导心肌成纤维细胞(CFs)的增殖异变,活化的肌成纤维细胞分泌胶原,参与心肌纤维化过程^[3]。

氧化苦参碱(OMT)具有抗炎、抗癌、抗病毒和治疗心脏疾病等药理作用^[4],主要用于治疗各种人类疾病如乙型肝炎感染和肝纤维化,对肝脏、心脏和肠道损伤提供保护作用^[5-6]。已有研究证实 OMT 对急性心肌梗死诱发的心肌纤维化具有保护作用,且与 TGF- β_1 -Smads 信号有关^[7]。前期研究证实 OMT 对心肌细胞的保护具有一定的作用^[8]。在前期研究基础上,本实验拟进一步研究 OMT 对醛固酮(ALD)诱导体外心肌成纤维细胞增殖模型的抑制作用,探讨 OMT 通过 p38MAPK 信号通路发挥抑制 ALD 诱导心肌成纤维细胞增殖的作用机制。

1 材料

JB-CJ-1FXS 型洁净工作台(中国苏州佳宝净化工程设备有限公司),80-2 型离心沉淀器(中国上海手术器械厂),HF90 型二氧化碳培养箱(中国上海力申科学仪器有限公司),DMi1 型倒置显微镜(德国 Leica 公司),CFX 型凝胶成像系统仪和 Universal Hood II 型实时荧光定量聚合酶链式反应(PCR)仪(美国 Bio-Rad 公司),ELX800 型酶联免疫检测仪(美国 GE 公司)。

氧化苦参碱(OMT,南京泽郎医药科技有限公司,批号 20080210),醛固酮(ALD,美国 Sigma 公司,

批号 A9477),抗 p38 丝裂素活化蛋白激酶(p38MAPK)多克隆抗体和抗 p-p38MAPK 多克隆抗体(美国 ImmunoWay 公司,批号分别为 YT3514, YP0718),噻唑蓝(MTT,美国 Genview 公司,批号 362002041000),波形蛋白兔单克隆抗体(武汉 Boster 公司,批号 BM0135),羊抗兔免疫球蛋白 G(IgG)抗体(Proteintech 公司,批号 SA00001-2),小鼠 P 物质(SP)检测试剂盒和二氨基联苯胺(DAB)显色试剂盒(中杉金桥公司,批号分别为 SP-9002, ZLI-9032),增强化学发光法(ECL)试剂盒(美国 Bio-Rad 公司,批号 170-5060)。

健康 1~3 d 的 SD 大鼠新生乳鼠,雌雄不限,由贵州医科大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(黔)2012-0001。

2 方法

2.1 原代心肌成纤维细胞(CFs)的培养 取大鼠新生乳鼠 10 只,用 75% 乙醇消毒皮肤,固定四肢,胸部向上,用 75% 乙醇消毒胸腹部皮肤,用眼科直剪剪开胸部皮肤,暴露皮下组织,更换剪刀和镊子,取下正在搏动心脏的心尖部分,在盛有磷酸盐缓冲液(PBS)的培养皿中洗净残留血,将其转入盛有 PBS 的青霉素小瓶中,用眼科直剪将其剪成大小约 1 mm³ 碎块,用 PBS 反复冲洗 3 次,加入含有 0.08% 胰蛋白酶液 5 mL 的锥形瓶中,用封口胶封住瓶口后置于 37 °C 水浴中手摇消化 6 min,自然沉淀,弃去上清,加入 0.06% 胰蛋白酶液 6 mL,消化 7 min,待自然沉淀后,将上清液移至另一无菌离心管中,加入等量含 15% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基终止消化,以 1 000 r·min⁻¹ 离心 8 min,弃上清后加入含 15% 胎牛血清的 DMEM 高糖培养基适量,混合均匀。在沉淀的组织块中加入 0.06% 胰蛋白酶液 6 mL 消化,沉淀,如此循环重复操作,直至消化完全为止。将制备的所有细胞接种于培养瓶内,置于 5% CO₂,37 °C 培养箱中孵育 2 h,利用差速贴壁法分离掉其他细胞后进行原代 CFs 的培养,用传代后 2~3 代 CFs 进行试验。

2.2 原代 CFs 的鉴定 采用 DAB 染色法联合免疫细胞化学染色 SP 法鉴定 CFs 中波形蛋白,分为波形蛋白组(抗波形蛋白抗体按 1:400 的比例稀释)和

空白组(PBS 代替一抗)用于免疫细胞化学试验,倒置显微镜下观察拍照。

2.3 ALD 诱导 CFs 增殖的量效与时效影响 将 CFs 按 1×10^5 个/mL 接种于 96 孔板中,待 CFs 长满后,换成不含胎牛血清的 DMEM,置 5% CO₂, 37 °C 培养箱培养 24 h,将 DMEM 吸出,加入浓度分别为 1×10^{-10} , 1×10^{-9} , 1×10^{-8} , 1×10^{-7} mol·L⁻¹ 的 ALD 进行量效试验,于 37 °C, 5% CO₂ 及饱和湿度条件下继续培养 24 h。根据量效试验结果加入一定浓度的 ALD 分别作用 12, 24, 36, 48 h, 到达药物作用时间后采用 MTT 法,每孔加入 5 g·L⁻¹ MTT 溶液 20 μL, 37 °C 继续培养 4 h。终止培养后吸取上清液弃掉,每孔加入二甲基亚砜 150 μL, 震荡混匀,在酶联免疫检测仪上于 490 nm 处测定各孔吸光度 A。

2.4 OMT 对 ALD 诱导 CFs 增殖的抑制作用 将 CFs 按 1×10^5 个/mL 接种于 96 孔板中,待 CFs 长满后,用不含胎牛血清 DMEM 处理 CFs 24 h,加入低、高剂量(3.78×10^{-4} , 7.57×10^{-4} mol·L⁻¹) OMT 预处理 1 h,加入 1×10^{-7} mol·L⁻¹ ALD 共同孵育 24 h, 到达药物作用时间后采用 MTT 法于 490 nm 处测定各孔 A。

2.5 实时荧光定量 PCR 检测 p38MAPK mRNA 的表达 将 CFs 按 1×10^5 个/mL 接种于 6 孔板中,待 CFs 长满后,用不含胎牛血清 DMEM 处理 CFs 24 h,加入 7.57×10^{-4} mol·L⁻¹ OMT 预处理 1 h,加入 1×10^{-7} mol·L⁻¹ ALD 共同孵育 24 h,用 RNA 提取试剂盒提取总 RNA,取总 RNA 1 μg 进行逆转录反应,取逆转录产物 2 μL 进行 PCR 扩增反应。引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成,p38MAPK 引物(109 bp)的上游引物 5'-AGACGAATGGAA GAGCCTGA-3',下游引物 5'-GGGATGGACAGAAC AGAAGC-3'。内参照为甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)引物(92 bp),上游引物 5'-GACATGCC GCCTGGAGAAAC-3',下游引物 5'-AGCCCAGGATG CCCTTTAGT-3'。根据 2^{-ΔΔC_t},以 GAPDH 为参照,进行 p38MAPK mRNA 表达的相对定量分析。

2.6 Western blot 法检测 p38MAPK 和 p-p38MAPK 蛋白表达 提取蛋白样本,BCA 试剂盒蛋白定量后上样,用 10% 十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离总蛋白,转移至聚偏氟乙烯膜上,1% 牛血清白蛋白(BSA)封闭 1 h,按 1:1 000 稀释 p38MAPK, p-p38MAPK 抗体和 1:5 000 稀释羊抗兔 IgG 抗体,分别进行免疫蛋白印迹分析,用 ECL 化学发光试剂盒显像,凝胶图像系统分析各蛋白条

带灰度值,并以 GAPDH 为内参标化各样品蛋白电泳条带的灰度值。

2.7 统计学处理 采用 SPSS 10.0 软件进行统计学分析,各组所得计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。2 组间均数比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

3 结果

3.1 原代 CFs 形态学观察 倒置显微镜下观察 CFs,在心肌组织中,和其他类型的细胞相比,CFs 形态独特,呈梭形,生长迅速,细胞排列紧密,有的交叉重叠生长,平坦、胞体较大,未见自发性搏动。见图 1。

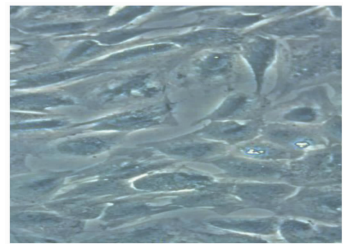
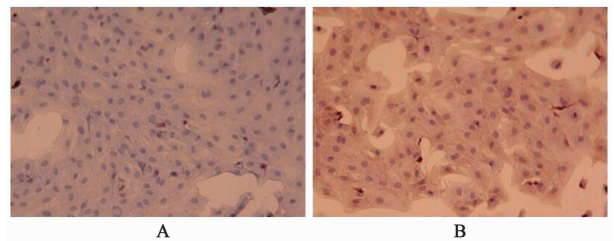


图 1 正常心肌成纤维细胞的形态(DAB + SP, ×400)

Fig. 1 Microscopy of normal cardiac fibroblasts (DAB + SP, ×400)

3.2 CFs 的鉴定 波形蛋白是成纤维细胞鉴定主要生物标记物,免疫化学染色后,图 2A 为波形蛋白阴性染色图,用 PBS 代替一抗,光镜下见细胞核为蓝紫色。图 2B 为波形蛋白阳性染色图,胞质被染成棕黄色,细胞核为蓝紫色,为强阳性反应,符合成纤维细胞的染色特征。免疫组化抗波形蛋白染色阳性,鉴定为 CFs,纯度 > 99%。



A. 空白组; B. 波形蛋白组

图 2 心肌成纤维细胞免疫细胞化学 DAB 染色鉴定(免疫组化, ×200)

Fig. 2 Immunocytochemistry DAB staining in cardiac fibroblasts (IHC, ×200)

3.3 不同浓度 ALD 对 CFs 增殖浓度、时间效应的影响 空白组和不同浓度 ALD(1×10^{-10} , 1×10^{-9} , 1×10^{-8} , 1×10^{-7} mol·L⁻¹)作用 CFs 24 h 后, A 分别为 0.282, 0.273, 0.297, 0.323, 0.351, 结果显示 1×10^{-7} mol·L⁻¹ ALD 与空白组相比具有极显著差异

($P < 0.01$), 说明 ALD 可促进 CFs 的增殖, 且浓度为 $1 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时增殖效果最显著。 $1 \times 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ALD 作用 CFs 12, 24, 36, 48 h 后 A 分别为 0.232, 0.245, 0.229, 0.176。与空白组相比, ALD 作用 12, 24 h 具有显著差异 ($P < 0.01$), 说明 ALD 诱导 CFs 增殖在 12, 24 h 均发挥作用, 但在 24 h 的增殖效果更加显著。

3.4 OMT 对 ALD 诱导 CFs 增殖的抑制作用 空白组, ALD 组和 OMT 低、高剂量组的 A 分别为 0.561, 0.698, 0.634, 0.597。说明 OMT 低、高剂量组干预后, 与 ALD 组相比, 细胞增殖被显著抑制, 说明 ALD 能够诱导 CFs 增殖, 且 OMT 对其有抑制作用。

3.5 OMT 对 ALD 诱导 CFs 增殖后 p38MAPK 蛋白与 mRNA 表达的影响 实时荧光定量 PCR 结果显示, 各组 p38MAPK mRNA 表达未见差异。 Western blot 结果显示 ALD 组可增加 p-p38MAPK 蛋白的表达, 说明 ALD 可促进 p38MAPK 的磷酸化, 与空白组相比, 具有极显著差异。 OMT 可降低 ALD 诱导的 p-p38MAPK 蛋白的表达, OMT 组与 ALD 组相比, 具有极显著性差异。 ALD 组对 p38MAPK 的表达无影响, 说明 ALD 诱导 CFs 增殖是通过 p38MAPK 的磷酸化发挥作用, 不通过 p38MAPK 基因通路发挥作用。 OMT 对 p38MAPK 表达未见显著作用。综上所述, 说明 OMT 对 ALD 诱导的 CFs 增殖是通过 p38MAPK 磷酸化发挥作用的, 不通过 p38MAPK 发挥作用。证明 OMT 对 ALD 诱导的 CFs 增殖与 p38MAPK 信号通路有关。见图 3。

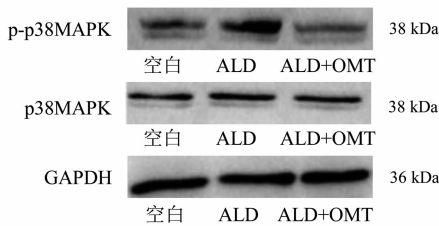


图3 氧化苦参碱对醛固酮诱导心肌成纤维细胞 p38MAPK 蛋白的影响

Fig. 3 Effect of oxymatrine on p38MAPK protein in cardiac fibroblasts induced by aldosterone

4 讨论

心肌成纤维细胞约占心肌组织中细胞总数的 60% ~ 70%^[9-10]。心肌成纤维细胞是心肌纤维化的主要效应细胞, 不仅具有较强的分裂增殖能力, 而且可合成分泌基质蛋白和 I, III 型胶原蛋白, 在心脏间质纤维化中具有重要作用^[11]。心肌纤维化的形成并非单一因素所致, 其与肾素-血管紧张素-醛固酮

系统 (RAAS), 生长因子, 细胞因子及其通路传导因子, 细胞凋亡等多种因素有关^[12]。心肌纤维化是多种心脏疾病发展至一定阶段具有的共同病理改变, 也是引起心室重塑的关键原因, 其主要病理表现有心肌僵硬增加、心肌收缩力下降、冠脉血流储备降低, 甚至引起恶性心律失常和猝死^[13]。因此, 研究心肌纤维化的病理特征和发病机制对预防心血管系统疾病的发生起到了重要作用。

RAAS 系统与心脏肥厚的发生、发展密切相关, 其参与心肌细胞的肥大、心肌成纤维细胞增殖及细胞外基质的产生^[14]。大量研究表明 ALD 可诱导心肌成纤维细胞的增殖^[15], ALD 诱导心肌成纤维细胞增殖的信号通路有钙调神经磷酸酶 (CaN) 信号通路, MAPK 信号通路, 蛋白激酶 C (PKC) 信号通路, TGF- β_1 /Smads 信号通路^[16-17] 等有关。本文证实了 ALD 诱导 CFs 增殖主要是由于激活 p38MAPK 的磷酸化而发挥作用。

OMT 又名苦参素, 是从豆科属植物苦参的根中分离出来的生物碱类成分^[18], 能改善心肌肥厚、改善左心室功能障碍和心力衰竭^[19]。近期研究表明 OMT 对急性心肌梗死模型大鼠心肌具有保护作用, 其机制可能与降低白细胞介素-18 (IL-18), p38MAPK 有关^[20]。本文 MTT 研究结果提示 $7.57 \times 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ OMT 可显著抑制 ALD 诱导的 CFs 增殖, 说明 OMT 对 CFs 的增殖具有一定抑制作用。Western blot 结果说明 OMT 通过激活 p38MAPK 的磷酸化发挥对 ALD 诱导 CFs 增殖的抑制作用。实时荧光定量 PCR 结果显示 OMT 对 p38MAPK mRNA 的表达未见显著影响, 在 Western blot 结果中 OMT 对 p38MAPK 也未见显著影响, 说明 OMT 对 ALD 诱导的心肌成纤维细胞增殖的抑制作用是通过 p-p38MAPK 调节的, 与 p38MAPK 基因通路无关。

[参考文献]

[1] Rosin N L, Gareau A J, Betsch D, et al. Antibody therapy can enhance angiotensin II -induced myocardial fibrosis [J]. Fibrogenesis Tissue Repair, 2014, 10: 1186/1755-1536-7-6.

[2] Zhang Z H, Yu Y, Wei S G, et al. Aldosterone-induced brain MAPK signaling and sympathetic excitation are angiotensin II type-1 receptor dependent [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2012, 302(3): H742-H751.

[3] 肖海, 徐旖旎, 罗红, 等. 氧化苦参碱下调 p38MAPK 磷酸化及改善胶原沉积抑制 TGF- β_1 诱导的 CFBs 增殖 [J]. 中国中药杂志, 2015, 40(11): 2168-2173.

- [4] 陈晓峡, 向小庆, 叶红. 苦参碱及氧化苦参碱抗肿瘤作用的研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志, 2013, 19(11):361-364.
- [5] Guzman J R, Koo J S, Goldsmith J R, et al. Oxymatrine prevents NF- κ B nuclear translocation and ameliorates acute intestinal inflammation [J]. Sci Rep, 2013, 3:10. 1038/srep01629.
- [6] 任衍菊, 张玉萍, 金敏, 等. 氧化苦参碱体外抗乙型肝炎病毒作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(14):175-179.
- [7] 沈祥春, 杨钰萍, 徐旖旎, 等. 基于 TGF- β -Smads 信号的氧化苦参碱干预急性心肌梗死诱发实验性大鼠心肌纤维化的研究[J]. 中国中药杂志, 2012, 37(5):632-636.
- [8] Xiao T T, Wang Y Y, Zhang Y, et al. Similar to spironolactone, oxymatrine is protective in aldosterone-induced cardiomyocyte injury via inhibition of calpain and apoptosis-inducing factor signaling [J]. PLoS One, 2014, 9(2):e88856.
- [9] Zeng Q C, Guo Y, Liu L, et al. Cardiac fibroblast-derived extracellular matrix produced *in vitro* stimulates growth and metabolism of cultured ventricular cells [J]. Int Heart J, 2013, 54(1):40-44.
- [10] Krenning G, Zeisberg E M, Kalluri R. The origin of fibroblasts and mechanism of cardiac fibrosis [J]. J Cell Physiol, 2010, 125(3):631-637.
- [11] Pichler M, Rainer P P, Schauer S, et al. Cardiac fibrosis in human transplanted hearts is mainly driven by cells of intracardiac origin [J]. J Am Coll Cardiol, 2012, 59(11):1008-1016.
- [12] 曾宇, 张三印. 中药对心肌纤维化的研究进展[J]. 云南中医中药杂志, 2015, 36(1):68-69.
- [13] 于瑞, 王幼平, 崔琳, 等. 心肌纤维化的发病机制及其研究进展[J]. 中国现代医生, 2015, 53(13):157-160.
- [14] Vardeny O, Miller R, Solomon S D. Combined neprilysin and renin-angiotensin system inhibition for the treatment of heart failure [J]. JACC Heart Fail, 2014, 2(6):663-670.
- [15] Wang Q, Cui W, Zhang H L, et al. Atorvastatin suppresses aldosterone-induced neonatal rat cardiac fibroblast proliferation by inhibiting ERK1/2 in the genomic pathway [J]. J Cardiovasc Pharmacol, 2013, 61(6):520-527.
- [16] Ruiz-Palacios P C, Rodríguez-Castellanos F E, Mancilla-Urrea E, et al. Aldosterone synthase gene polymorphism and renal histopathologic changes in kidney transplant patients receiving a calcineurin inhibitor [J]. J Renin Angiotensin Aldosterone Syst, 2014, 15(3):301-306.
- [17] Cavalera M, Wang J, Frangogiannis N G. Obesity, metabolic dysfunction, and cardiac fibrosis: pathophysiological pathways, molecular mechanisms, and therapeutic opportunities [J]. Transl Res, 2014, 164(4):323-335.
- [18] 陆国寿, 叶勇, 卢文杰, 等. 多叶越南槐中苦参碱与氧化苦参碱的分离鉴定及含量测定研究[J]. 广西医学, 2014, 36(8):1109-1112.
- [19] Zhang W, Zhang J, Liu Y K, et al. Cardioprotective effects of oxymatrine on isoproterenol-induced heart failure via regulation of DDAH/ADMA metabolism pathway in rats [J]. Eur J Pharmacol, 2014, 745:29-35.
- [20] 苏晖莹, 袁宇, 袁彬, 等. 氧化苦参碱对大鼠心肌梗死后 p38MAPK 及 IL-18 的影响[J]. 中药药理与临床, 2014, 30(1):31-33.

[责任编辑 刘德文]