

· 药理 ·

## 氧化苦参碱对醛固酮诱导心肌细胞损伤的保护作用

陈妍, 温佳敏, 徐旖旎, 张彦燕, 罗红, 陶玲, 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)诱导心肌细胞损伤的保护作用,并分析其对盐皮质激素受体(MR)转录和表达的影响。**方法:**采用胰酶消化差速贴壁法分离纯化新生 Sprague-Dawley(SD)大鼠原代心肌细胞,采用肌钙蛋白和肌动蛋白免疫细胞化学法鉴定心肌细胞及其纯度,并建立 ALD 诱导的细胞损伤模型。采用噻唑蓝(MTT)法确定 ALD 导致心肌细胞损伤的最佳作用浓度与时间。实验分为空白组(无血清培养基),ALD 组(最佳刺激浓度组),OMT 高剂量(ALD + 100 mg·L<sup>-1</sup> OMT)组和 OMT 低剂量(ALD + 50 mg·L<sup>-1</sup> OMT)组。OMT 预保护 2 h,继续加入 ALD 共同作用 36 h,并用 MTT 法和乳酸脱氢酶(LDH)外漏检测分析 OMT 对 ALD 诱导心肌细胞膜损伤的保护作用。逆转录-PCR(RT-PCR)分析 MR mRNA 水平。免疫印迹法(Western blot)检测 MR 和醛固酮合成酶(CYP11B2)的蛋白表达。**结果:**16 mg·L<sup>-1</sup> ALD 诱导心肌细胞 36 h 后能显著引起细胞损伤,OMT(50,100 mg·L<sup>-1</sup>)能够抑制 ALD 诱导的细胞活力下降及 LDH 外漏量升高。同时,OMT(50,100 mg·L<sup>-1</sup>)能够抑制 ALD 诱导的 MR mRNA 水平和蛋白表达升高,上调 CYP11B2 蛋白表达。**结论:**OMT 对 ALD 诱导的心肌细胞损伤具有保护作用,其机制可能与抑制 ALD-MR 系统激活有关。

**[关键词]** 氧化苦参碱; 醛固酮; 盐皮质激素受体; 心肌细胞; 醛固酮合成酶

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2016)19-0076-05

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfx.2016190076

**[网络出版地址]** <http://www.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20160804.1117.064.html>

**[网络出版时间]** 2016-08-04 11:17

## Protective Effects of Oxymatrine on Aldosterone-induced Cardiomyocyte Injury

CHEN Yan, WEN Jia-min, XU Yi-ni, ZHANG Yan-yan, LUO Hong, TAO Ling, SHEN Xiang-chun\*  
(Key Laboratory of Optimal Utilization of Natural Medicine Resources,  
Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the protective effects of oxymatrine (OMT) on rat primary cardiomyocyte injury induced by aldosterone (ALD), and explore its effects on transcription and expression of mineralcorticoid receptor (MR). **Method:** Primary cardiomyocytes of Sprague-Dawley (SD) rats were isolated by trypsin digestion method and purified by differential adhesion method. The cardiomyocytes and their purity were identified by troponin and actin immunocytochemical staining, and ALD-induced cell injury models were established. The optimal ALD concentration and treatment duration were determined by 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide (MTT) assay. The experiment was divided into 4 groups: blank group

**[收稿日期]** 20160228(003)

**[基金项目]** 国家自然科学基金项目(81173586,81560588);教育部新世纪优秀人才支持计划项目(NCET-13-0747);贵州省科学技术基金项目(黔科合 JZ 字[2015]2002 号);贵州省优秀科技教育人才省长专项资金项目(黔科教办[2011]28 号);贵州省高等教育科技创新人才团队建设项目(黔教合人才团队字[2014]31);贵州省科技创新人才团队建设项目(黔科合人才团队[2015]4025 号);贵州省高层次创新型人才百层次人才项目(黔科合人才[2015]4029 号)

**[第一作者]** 陈妍,博士,副教授,从事中药、民族药药理学研究,Tel:0851-88416148,E-mail:s0710189@sina.com

**[通讯作者]** \*沈祥春,博士,教授,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

(serum free cell culture), ALD group (optimal concentration), OMT high dose group (ALD + 100 mg·L<sup>-1</sup> OMT) and OMT low dose group (ALD + 50 mg·L<sup>-1</sup> OMT). Preincubated with OMT 2 h, and then ALD was added for co-culture for 36 h. The protection effects of OMT on ALD-induced injury were detected and analyzed by MTT assay and lactate dehydrogenase (LDH) leakage assay. Reverse transcription PCR (RT-PCR) was used to analyze the mRNA of mineralocorticoid receptor (MR). The protein expression levels of MR and CYP11B2 were detected by Western blot. **Result:** The 16 mg·L<sup>-1</sup> ALD significantly induced cell injury after 36 h. ALD-induced cardiomyocyte viability decrease and LDH leakage increase were significantly attenuated by OMT (100, 50 mg·L<sup>-1</sup>). Furthermore, OMT (100, 50 mg·L<sup>-1</sup>) suppressed ALD-induced up-regulation of MR mRNA levels and protein expression levels, and enhanced protein expression of CYP11B2. **Conclusion:** OMT had protection effects on ALD-induced cardiomyocyte injury, and the mechanism may be associated with inhibiting ALD/MR signaling activation.

**[Key words]** oxymatrine; aldosterone; mineralocorticoid receptor; cardiomyocyte; CYP11B2

心力衰竭是各种心血管系统疾患发展的最终病理结果,严重影响着患者的生存、工作状态和生命质量<sup>[1]</sup>。心肌细胞是终末期分化细胞,其凋亡或损伤在心力衰竭的病理生理中起重要作用。阻止病理状态下心肌细胞的凋亡或损伤有助于心衰的治疗与预后<sup>[2]</sup>。肾素-血管紧张素-醛固酮(ALD)系统的激活是促进心衰发展过程中的重要因素<sup>[3]</sup>。已有的研究表明过量的 ALD 能够诱导心肌细胞肥大及凋亡过程的发生,在促进心衰发展的过程中起着关键作用<sup>[4]</sup>。盐皮质激素受体(MR)是肽段依赖性的转录因子核受体超家族成员,被 ALD 激活后能够从基因途径和非基因途径介导其效应<sup>[5]</sup>。一方面 MR 与 ALD 可形成 ALD-MR 复合物与激素反应元件(HREs)的启动子区结合,诱导 ALD 靶基因,如表皮生长因子受体(EGFR),纤溶酶原激活物抑制物-1(PAI-1),内皮素-1(endothelin-1)及白细胞介素-16(IL-16)等多种基因的转录活化。并可协同转录因子复合物 p300/GATA4 上调心房钠尿肽的表达。另一方面,MR 还能够通过活化活性氧信号通路上调蛋白激酶 A(PKA),钙调蛋白依赖的蛋白激酶 II(CaMK II)的活性<sup>[6]</sup>。抑制 MR 的功能或其表达水平是拮抗 ALD 效应的靶点之一<sup>[7]</sup>。因此,以 ALD-MR 为切入点研究作用于该系的药物可能是寻找和发现抗心力衰竭药物的途径之一。

氧化苦参碱(OMT)是从豆科槐属植物苦参中提取的生物碱,具有广泛的药理活性,包括抗炎、抗病毒、抑制免疫反应、保护肝细胞、抗肿瘤、抗肝纤维化及肺纤维化等<sup>[8]</sup>。本课题组前期研究发现 OMT 对大鼠冠脉结扎诱发的急性心肌梗死具有一定的保护作用<sup>[9]</sup>,此外,OMT 可通过抑制心肌重塑改善心肌梗死大鼠的心功能<sup>[10]</sup>。近期研究表明 OMT 可通

过抑制 p38 分裂原激活蛋白激酶(p38MAPK)磷酸化,改善 ALD 诱导心肌成纤维细胞增殖<sup>[11]</sup>。但 OMT 对 ALD 诱导心肌细胞损伤的保护作用及其机制尚不明确。本实验通过构建体外 ALD 诱导心肌细胞损伤的模型,研究 OMT 的保护作用,并以 ALD-MR 系统为切入点,探讨 OMT 的作用机制。

## 1 材料

**1.1 仪器** SW-CJ-1 型净化工作台(中国苏州净化设备有限公司),80-2 型离心机(中国上海手术器械厂),Heal force 型 CO<sub>2</sub> 培养箱(中国上海力申科学仪器有限公司),DMiL 型显微镜(德国 Lecia 公司),CFX 型凝胶成像系统(美国 Bio-Rad 公司),ELX800 型酶联免疫检测仪(美国 Bio-Tek 公司),Microfuge 20R 型冷冻离心机(美国 Beckman Coulter 公司),simpliAMP 型基因扩增仪(美国 ABI 公司)。

**1.2 试剂** 氧化苦参碱(南京郎泽医药科技有限公司,批号 20080210),ALD(美国 Sigma 公司,批号 A947),DMEM 培养基(美国 Gibco 公司,批号 NYJ0965),胎牛血清(杭州四季青生物有限公司,批号 130113),噻唑蓝(MTT,美国 Sigma 公司,批号 M2128);心肌肌钙蛋白抗体, $\alpha$ -肌动蛋白( $\alpha$ -actin)抗体,醛固酮合成酶(CYP11B2)抗体,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(英国 Abcam 公司,批号分别为 ab10214,ab15263,ab41912,ab9485);山羊抗兔免疫球蛋白(IgG)和山羊抗小鼠 IgG(美国 Jackson 公司,批号分别为 IH-0011, IH-0031),DAB 染色试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司,批号 07912L),增强化学发光试剂盒(美国 Bio-Rad 公司,批号 170-5600),乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号 A020-2);RNA 提取试剂盒,逆转录试剂盒,PCR 试剂盒(日本 TaKaRa 公司,

批号分别为 9766, RR036A, RR047A)。引物序列由生工生物工程(上海)股份有限公司合成, MR (207 bp): 上游 5'-GGTCACAGGTCCTCCACACT-3', 下游 5'-GGAGGAGGACATGGAGTTGA-3'。GAPDH (352 bp): 上游 5'-CTAGGCATCACCTGTGCCATACC-3', 下游 5'-CAGTGACCAGTTCATCAGATTCATC-3'。

**1.3 动物** 出生 1~3 d 的 SD 大鼠, 雌雄不限, 购自贵州医科大学实验动物中心, 合格证号 SCXK(黔)2012-0001。

## 2 方法

**2.1 大鼠心肌细胞原代培养** 取 SD 大鼠 10 只, 参照文献[12]提取分离心肌细胞。根据各实验所需将细胞稀释至适宜密度, 接种于不同规格的培养板中, 继续培养 48 h, 隔天更换新鲜培养基, 第 4 天用于实验。

**2.2 原代心肌细胞鉴定** 免疫细胞化学染色法鉴定心肌细胞, 观察细胞内心肌肌动蛋白和肌钙蛋白的表达, 倒置显微镜下观察并拍照。

**2.3 心肌细胞损伤的量效和时效检测** 调整心肌细胞密度为  $1 \times 10^5$  个/mL, 接种于 96 孔板中。分别加入相应质量浓度的 ALD (2, 4, 8, 16, 32  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 培养 24 h 后, 每孔加入 5  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$  MTT 溶液 20  $\mu\text{L}$ , 37  $^\circ\text{C}$  孵箱中继续培养 4 h, 弃掉培养基, 每孔加入二甲亚砜 150  $\mu\text{L}$ , 震荡混匀, 在酶联免疫检测仪于 490 nm 处测定各组吸光度  $A$ , 计算细胞活力。根据量效实验结果, 选取最佳质量浓度的 ALD 作用心肌细胞 12, 24, 36 h, 采用 MTT 法观察 ALD 对心肌细胞损伤的时效影响。

**2.4 心肌细胞活力检测** 调整心肌细胞密度为  $1 \times 10^5$  个/mL, 接种于 96 孔板中, 加入 OMT (50, 100  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) [13] 预处理 2 h 后, 随后加入 16  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ALT 共同孵育 36 h。采用 MTT 法检测各组  $A$ , 计算细胞活力。

**2.5 心肌细胞 LDH 外漏检测** 细胞培养及加药同 2.4 项, 吸取各处理组上清液, 按 LDH 检测试剂盒说明, 采用酶联免疫检测仪于 450 nm 处测定各组  $A$ 。

**2.6 免疫印迹法 (Western blot) 检测 MR 及 CYP11B2 蛋白表达** 调整心肌细胞密度为  $1 \times 10^5$  个/mL, 接种于 6 孔板中, 按 2.4 项下方法给药后提取各组蛋白, BCA 法进行蛋白定量。蛋白变性, 上样, 电泳, 转膜。5% 脱脂奶粉进行封闭。加入 MR 或 CYP11B2 抗体 (1:1 000), GAPDH 抗体 (1:4 000), 37  $^\circ\text{C}$  孵育 1 h, 4  $^\circ\text{C}$  孵育过夜, HRP 标记

的二抗 (1:5 000) 孵育 1 h 后, 采用 ECL 曝光液进行曝光。采用 Image Lab™ 软件对蛋白图像进行统计分析。

**2.7 逆转录-PCR (RT-PCR) 测定 MR mRNA 表达** 细胞培养及加药同 2.6 项, 采用 RNA 提取试剂盒提取细胞总 RNA, 并用紫外分光光度计检测纯度和浓度, 取总 RNA 逆转录为 cDNA。按 PCR 试剂盒说明进行 PCR 扩增反应, 反应条件: 4  $^\circ\text{C}$  4 min, 94  $^\circ\text{C}$  30 s, 55  $^\circ\text{C}$  30 s, 72  $^\circ\text{C}$  60 s, 35 个循环, 72  $^\circ\text{C}$  延长 10 min。产物采用琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭染色, 紫外凝胶成像仪成像, 以 GAPDH 为参照进行 MR mRNA 水平分析。

**2.8 统计学方法** 采用 SPSS 10.0 统计软件, 计量结果以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 3 结果

**3.1 原代心肌细胞形态学观察** 倒置显微镜下观察心肌细胞, 贴壁后细胞逐渐变成梭形, 继而生出伪足变成不规则的星形。见图 1。生长过程中, 细胞互相连接最后形成细胞团簇。培养第 2 天, 心肌细胞开始搏动, 但细胞搏动频率互不相同, 当形成细胞簇后搏动同步化, 收缩明显有力。

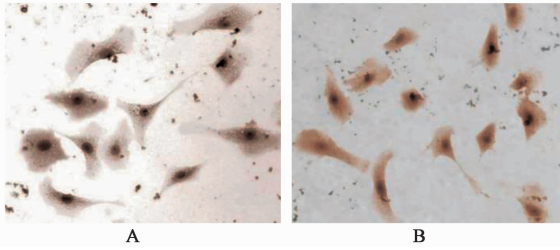


图 1 原代心肌细胞培养 48 h 后形态 ( $\times 100$ )

Fig. 1 Morphology of cardiomyocyte after 48 h cell culture ( $\times 100$ )

**3.2 心肌细胞鉴定** 细胞胞浆有棕黄色细密颗粒, 符合心肌细胞的染色特征。其中 94% 以上的细胞心肌肌动蛋白和肌钙蛋白染色均呈阳性, 该细胞可满足后续实验要求。见图 2。

**3.3 ALD 对心肌细胞损伤的浓度、时间效应的影响** 空白组和 ALD (2, 4, 8, 16, 32  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 组心肌细胞培养 24 h 后, 细胞活力分别为 100.0%, 100.0%, 98.2%, 93.4%, 81.7%, 77.2%。与空白组比较, 16, 32  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ALD 可明显降低心肌细胞活力, 将 ALD 质量浓度确定为 16  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。16  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ALD 作用心肌细胞 12, 24, 36 h 后, 细胞活力分别为 91.9%, 87.7%, 68.4%。与空白组比较, 16  $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ALD 作用 24, 36 h 时细胞活力降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 在 36 h 增殖抑制效果更加显著。将 16  $\text{mg} \cdot$



A. 心肌肌动蛋白; B. 肌钙蛋白

图 2 心肌细胞鉴定(免疫细胞化学, ×200)

Fig. 2 Cardiomyocyte identification (immunocytochemical, ×200)

$L^{-1}$ ALD 诱导 36 h 作为导致心肌细胞损伤的条件。

**3.4 OMT 对 ALD 诱导细胞损伤的保护作用** 空白组, ALD, OMT 高、低剂量 ( $50, 100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 组作用于心肌细胞 36 h 后, 细胞活力分别为 100.0%, 64.9%, 85.1%, 81.6%。与空白组比较, ALD 组细胞活力显著降低 ( $P < 0.01$ ); 与 ALD 组比较, OMT 高、低剂量组的细胞活力显著升高 ( $P < 0.01$ )。

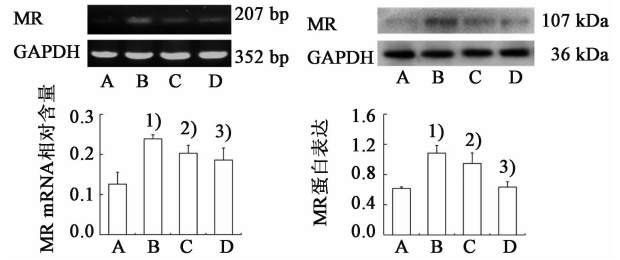
**3.5 OMT 对 ALD 诱导的 LDH 外漏的影响** 空白组, ALD 和 OMT 高、低剂量组 LDH 外漏量分别为 ( $158.71 \pm 24.88$ ), ( $235.70 \pm 7.77$ ), ( $188.82 \pm 8.59$ ), ( $174.19 \pm 12.9$ )  $\text{U} \cdot \text{L}^{-1}$ 。与空白组比较, 经 ALD 处理后 LDH 的外漏量显著升高 ( $P < 0.01$ )。与 ALD 组比较, OMT 高、低剂量组的 LDH 活力显著降低 ( $P < 0.01$ )。

**3.6 OMT 对 ALD 诱导的 MR mRNA 和蛋白表达的影响** 经 ALD 损伤后, 与空白组比较, ALD 组的心肌细胞内 MR mRNA 和蛋白相对表达水平显著升高 ( $P < 0.01$ )。与 ALD 组比较, OMT 高、低剂量组 MR mRNA 和蛋白水平明显降低 ( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见图 3。

**3.7 OMT 对 ALD 诱导的 CYP11B2 蛋白表达变化的影响** 心肌细胞经 ALD 诱导损伤后, 与空白组比较, ALD 组中 CYP11B2 的蛋白表达水平显著升高 ( $P < 0.01$ )。OMT 高、低剂量组与 ALD 组比较, ALD 诱导的 CYP11B2 蛋白表达水平显著降低 ( $P < 0.01$ )。见图 4。

#### 4 讨论

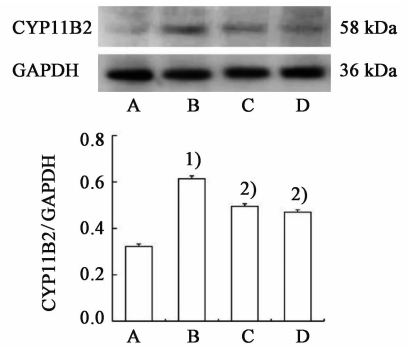
正常的心肌组织分为心肌细胞和间质两部分, 心肌细胞为终末期分化细胞, 具有兴奋收缩的能力, 约占心脏总体积的 75%; 间质约占 25%<sup>[14]</sup>。心肌细胞丧失和心肌肥厚是心衰进展的重要原因<sup>[15-16]</sup>。神经体液系统的激活是心血管疾病危险因素的核心之一, 肾素-血管紧张素-醛固酮系统激活在心衰的发展过程中具有重要的病理生理意义<sup>[17]</sup>。心衰患



A. 空白组; B. ALD 组 ( $16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ ); C. OMT 低剂量 ( $16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ALD +  $50 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  OMT) 组; D. OMT 高剂量 ( $16 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  ALD +  $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  OMT) 组 (图 4 同)。与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; 与 ALD 组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>3)</sup>  $P < 0.01$

图 3 OMT 对 ALD 诱导的 MR mRNA 和蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 3 Effects of OMT on mRNA and protein expression of MR ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )



与空白组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ; 与 ALD 组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.01$

图 4 OMT 对 ALD 诱导的 CYP11B2 蛋白表达的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

Fig. 4 Effects of OMT on CYP11B2 protein expression induced by ALD ( $\bar{x} \pm s, n = 3$ )

者的心脏局部可以合成 ALD, 在心肌细胞和心肌成纤维细胞内存在大量的 ALD 受体, 当 ALD 与相应的受体结合时可诱发心肌间质重构, 导致细胞损伤<sup>[18]</sup>。

活细胞线粒体内的琥珀酸脱氢酶能使外源性的 MTT 还原为不溶于水的篮紫色结晶甲臜并沉积在细胞中, 而死细胞则无此功能。LDH 存在于正常细胞的胞质内, 细胞膜破裂或损伤会导致其外漏。本文采用 MTT 法和 LDH 外漏实验分析 OMT 对 ALD 诱导心肌细胞损伤的保护作用。结果表明 ALD 可致心肌细胞线粒体内琥珀酸脱氢酶活力降低, LDH 外漏增加, 诱导细胞损伤。而 OMT 预处理细胞后, ALD 引起的细胞损伤显著下降, 说明 OMT 能够抑制 ALD 诱导的心肌细胞损伤。

ALD 能够与细胞内 MR 结合形成 ALD 受体复合物, 进入细胞核内与 DNA 结合影响其转录活性, 从而改变 mRNA 的生成速率, 诱导 ALD 蛋白的表

达,促进心衰的发展<sup>[19]</sup>。在心衰患者的心肌组织中醛固酮合成酶 CYP11B2 表达量明显增加,从而上调 ALD 水平,加剧其效应<sup>[20]</sup>。已有研究发现在高糖培养条件可通过内源性的血管紧张素 II 受体诱导体外培养的新生大鼠心肌细胞 CYP11B2 mRNA 的表达,促进 ALD 的分泌<sup>[21]</sup>。本实验显示,ALD 诱导的心肌细胞中 MR mRNA 和蛋白表达增加,CYP11B2 蛋白表达上调;与 ALD 组比较,OMT 能明显抑制 ALD 诱导的 MR mRNA 和蛋白表达增加,以及 ALD 诱导的 CYP11B2 蛋白表达上调,这提示 OMT 可能通过降低 CYP11B2 的表达,减少 MR 的转录和表达,进而抑制 ALD 的信号传导。

[参考文献]

[ 1 ] Owens A T, Brozena S C, Jessup M. New management strategies in heart failure [J]. *Circ Res*, 2016, 118(3): 480-495.

[ 2 ] Orogo A M, Gustafsson A B. Cell death in the myocardium: my heart won't go on [J]. *Iubmb Life*, 2013, 65(8): 651-656.

[ 3 ] Onuigbo M A. RAAS inhibition and cardiorenal syndrome [J]. *Curr Hypertens Rev*, 2014, 10(2): 107-111.

[ 4 ] Briet M, Schiffrin E L. Vascular actions of aldosterone [J]. *J Vasc Res*, 2013, 50(2): 89-99.

[ 5 ] Jaisser F, Farman N. Emerging roles of the mineralocorticoid receptor in pathology: toward new paradigms in clinical pharmacology [J]. *Pharmacol Rev*, 2016, 68(1): 49-75.

[ 6 ] He B J, Anderson M E. Aldosterone and cardiovascular disease: the heart of the matter [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2013, 24(1): 21-30.

[ 7 ] Tamargo J, Solini A, Ruilope L M. Comparison of agents that affect aldosterone action [J]. *Semin Nephrol*, 2014, 34(3): 285-306.

[ 8 ] 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.

[ 9 ] 王恒, 吉杨丹, 徐旖旎, 等. 氧化苦参碱对大鼠冠脉结扎诱发急性心肌梗死的保护作用及机制 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2012, 18(4): 154-157.

[10] 杨钰萍, 沈祥春, 刘兴德, 等. 氧化苦参碱对急性心肌梗死诱发实验性大鼠心肌重塑的影响 [J]. *中国实验*

方剂学杂志, 2010, 16(6): 125-128.

[11] 付凌云, 黄海烽, 徐旖旎, 等. 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 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 21(22): 103-107.

[12] 许茸茸, 李应东, 刘凯, 等. 当归红芪超滤膜提取物对阿霉素致心肌细胞凋亡的影响 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2013, 19(15): 222-226.

[13] 刘小红, 杨李强, 徐旖旎, 等. 氧化苦参碱保护醛固酮诱导的心肌细胞损伤作用机制分析 [J]. *中国实验方剂学杂志*, 2015, 22(22): 108-111.

[14] 孙建琦, 马礼坤. 醛固酮-氧化应激与心肌重构研究进展 [J]. *心血管病学进展*, 2008, 29(5): 704-706.

[15] van Berlo J H, Mailliet M, Molkentin J D. Signaling effectors underlying pathologic growth and remodeling of the heart [J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(1): 37-45.

[16] Hayashi H, Kobara M, Abe M, et al. Aldosterone nongenomically produces NADPH oxidase-dependent reactive oxygen species and induces myocyte apoptosis [J]. *Hypertens Res*, 2008, 31(2): 363-375.

[17] van den Berg T N, Rongen G A, Frohlich G M, et al. The cardioprotective effects of mineralocorticoid receptor antagonists [J]. *Pharmacol Ther*, 2014, 142(1): 72-87.

[18] Martinierie L, Munier M, Menuet D L, et al. The mineralocorticoid signaling pathway throughout development: expression, regulation and pathophysiological implications [J]. *Biochimie*, 2013, 95(2): 148-157.

[19] Bramlage P, Swift S L, Thoenes M, et al. Non-steroidal mineralocorticoid receptor antagonism for the treatment of cardiovascular and renal disease [J]. *Eur J Heart Fail*, 2016, 18(1): 28-37.

[20] Yoshimura M, Nakamura S, Ito T, et al. Expression of aldosterone synthase gene in failing human heart: quantitative analysis using modified real-time polymerase chain reaction [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2002, 87(8): 3936-3940.

[21] Fujisaki M, Nagoshi T, Nishikawa T, et al. Rapid induction of aldosterone synthesis in cultured neonatal rat cardiomyocytes under high glucose conditions [J]. *Biomed Res Int*, 2013, 2013(20): 37-49.

[责任编辑 张丰丰]