

氧化苦参碱对高糖引起的H9C2细胞氧化应激损伤的影响

杨雪莹^{1,2}, 韩星³, 沈祥春^{1,2*}

1. 贵州省高等学校天然药物药理与成药性评价重点实验室, 贵阳 550025;
2. 贵州医科大学天然药物优效利用重点实验室, 贵阳 550025;
3. 贵州医科大学药学院, 贵阳 550025)

[摘要] 目的:研究氧化苦参碱对高糖诱导H9C2细胞氧化应激损伤的保护机制。方法:分组培养H9C2心肌细胞并分为空白组,高糖组,氧化苦参碱低、高剂量组(50,100 mg·L⁻¹),阳性药维生素E组(1×10⁻⁴ mol·L⁻¹),甘露醇等渗组。通过乳酸脱氢酶外漏法检测细胞损伤,检测细胞超氧化物歧化酶(SOD)活性和丙二醛(MDA)含量变化,通过荧光探针检测细胞内活性氧(ROS)含量和细胞线粒体功能的完整性,蛋白免疫印迹法(Western blot)检测B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2),Bcl-2相关X蛋白(Bax)蛋白的表达。结果:与空白组比较,模型组细胞内MDA,ROS含量,Bax蛋白表达水平显著升高(P<0.01),而SOD活性、线粒体膜电位和Bcl-2蛋白表达水平显著降低(P<0.01)。与高糖组比较,氧化苦参碱显著降低乳酸脱氢酶的外泄、显著抑制细胞内ROS的产生(P<0.01),明显降低MDA的含量和Bax蛋白的表达(P<0.05),增加SOD活性、线粒体膜电位和Bcl-2蛋白的表达(P<0.01)。结论:氧化苦参碱通过改善线粒体功能来调节氧化应激从而抑制由高糖引起的H9C2心肌细胞凋亡。

[关键词] 氧化苦参碱;氧化应激;线粒体;细胞凋亡;糖尿病心脏病

[中图分类号] R2-0;R22;R285.5;R289 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2020)11-0113-06

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20200804

[网络出版地址] <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20200102.1204.002.html>

[网络出版日期] 2020-1-2 18:57

Effect of Oxymatrine on Oxidative Stress Injury of H9C2 Cells Induced by High Glucose

YANG Xue-ying^{1,2}, HAN Xing³, SHEN Xiang-chun^{1,2*}

1. Key Laboratory of Natural Medicinal Pharmacology and Drugability of Natural Medicine Resources for Institution of Higher Learning, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China;
2. Key Laboratory of Optimal Utilization of Natural Medicine Resources, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China;
3. School of Pharmacy, Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China)

[Abstract] **Objective:** To study the protective mechanism of oxymatrine on oxidative stress induced by high glucose in H9C2 cells. **Method:** H9C2 cardiomyocytes were cultured in groups and divided into normal group, high glucose (HG) group, low-dose oxymatrine (OMT) group (50 mg·L⁻¹), high-dose OMT group (100 mg·L⁻¹), positive drug vitamin E (VE) group (1×10⁻⁴ mol·L⁻¹) and mannitol (M) wasotonic control group. Cell damage was detected by lactate dehydrogenase leakage, changes in cell superoxide dismutase (SOD) activity and malondialdehyde (MDA) content were detected, intracellular reactive oxygen species (ROS) content and cellular mitochondria and functional integrity were detected by fluorescent probes, and Western blotting was used to detect the expressions of Bcl family proteins. **Result:** Compared with the normal

[收稿日期] 20191007(006)

[基金项目] 贵州省科技创新团队项目(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(贵州省科技厅黔科合人才[2015]4029号);贵州医科大学药学院国际科技合作基地项目(黔科合平台人才[2017]5802)

[第一作者] 杨雪莹,在读硕士,从事心血管药理学研究,E-mail: 364881878@qq.com

[通信作者] *沈祥春,博士,教授,从事心血管药理学研究,Tel: 0851-88416149,E-mail: shenxiangchun@126.com

group, the content of malondialdehyde and reactive oxygen species and the expression level of pro-apoptotic protein in the high glucose group were significantly increased ($P < 0.01$), while the activity of superoxide dismutase and the expression levels of mitochondrial membrane potential (MMP) and anti-apoptotic protein were significantly decreased ($P < 0.01$). Compared with the high glucose group, oxymatrine significantly reduced the leakage of lactate dehydrogenase, significantly inhibited the production of intracellular ROS ($P < 0.01$), reduced the amount of malondialdehyde and down-regulated the expression of pro-apoptotic protein ($P < 0.05$), increased the activity of superoxide dismutase, regulated MMP and improved the expression of anti-apoptotic protein ($P < 0.01$). **Conclusion:** Oxymatrine can regulate oxidative stress by improving mitochondrial function, so as to inhibit the apoptosis of H9C2 cardiomyocytes induced by high glucose.

[Key words] oxymatrine; oxidative stress; mitochondria; apoptosis; diabetic cardiomyopathy

由高血糖引起的糖尿病伴随着多种并发症,糖尿病心脏病(DCM)即是其中之一。糖尿病心脏病患者病症与高血压和冠心病不同,病理表现主要是心脏舒张和收缩功能不全、心肌肥大、灶性坏死、糖脂代谢异常、细胞内钙调控失衡、心肌纤维化等。糖尿病的死亡患者,其死因很大一部分归结于心力衰竭^[1]。然而,糖尿病心脏病常常伴随着的是由高血糖诱导心肌细胞凋亡^[2],胶原沉积^[3],微血管病变等,最后导致心脏功能发生改变,并且心血管疾病患者死亡的主要原因之一就是由心肌细胞损失致使的心脏泵血功能的持续衰竭^[4]。因此,调控心肌细胞的凋亡来防止心脏泵血功能的衰竭,是治疗糖尿病心脏病的一个研究思路。

心肌细胞的凋亡也有复杂的机制,而线粒体功能的障碍是心肌细胞凋亡方式之一的关键环节,其根本原因往往是钙超载和活性氧的过多生成。有研究认为,在缺氧条件下,线粒体复合物Ⅲ的损伤是活性氧(ROS)的主要来源。由此,心肌细胞的氧化应激可以作为研究切入点。

氧化苦参碱来源于苦参的干燥根,其有广泛的药理作用^[5]。先前研究的结果显示,氧化苦参碱对急性心肌梗死后的心肌纤维化具有保护作用^[6]。并且氧化苦参碱对心脏的保护作用,也涉及到了含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶-3(Caspase-3)信号通路,凋亡诱导因子(AIF),血清中血清中乳酸脱氢酶(LDH),磷酸肌酸激酶(CK)活性等^[7]。至此,本实验拟通过建立体外高糖模型,研究氧化苦参碱对H9C2细胞氧化损伤致使细胞凋亡的保护作用及机制。为原代细胞研究提供实验基础,为民族药的开发和利用提供新的科学依据。

1 材料

1.1 细胞 H9C2大鼠心肌细胞(上海中乔新舟生物科技有限公司,批号YF0102)。

1.2 药物与试剂 氧化苦参碱(纯度 $\geq 98\%$,南京广润生物制品有限公司,批号GR-133-151019);维生素E(中国食品药品检定研究院,批号100164-201204);LDH,超氧化物歧化酶(SOD),丙二醛(MDA)试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为20181010,20190331,20181006);制胶,ECL,ROS,线粒体膜电位(JC1)试剂盒(碧云天生物技术研究所,批号分别为P0012A,180102,112516170307,C2006);B细胞淋巴瘤-2(Bcl-2)抗体,Bcl-2相关X蛋白(Bax)抗体,内参蛋白Tubulin抗体(美国Proteintech公司,批号分别为00049941,GR151406-49,201805);山羊抗兔免疫球蛋白(Ig)G二抗,山羊抗鼠IgG二抗(北京中杉金桥生物技术有限公司,批号分别为180511,180110);噻唑蓝(MTT)试剂(美国Sigma公司,批号911L051)。

1.3 仪器 HF240型细胞培养箱(上海力申科学仪器公司);VARIOSKANLUX型多功能酶标仪(美国Thermo Scientific公司);Power-pac 3000型电泳仪及转膜仪,CFX型凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司);MF52型倒置荧光显微镜(德国Leica公司)。

2 方法

2.1 细胞培养 H9C2细胞在37℃ 5%CO₂的条件下培养用含有10%胎牛血清的DMEM培养基进行培养^[8]。

2.2 H9C2细胞高糖模型建立与分组和处置 用葡萄糖诱导H9C2细胞损伤,具体按照文献方法操作^[9]。通过显微镜观察细胞形态变化判断模型是否构造成功。将细胞接种在所需容器中,待细胞生长达到对数期时,随机分为6组,分别为空白组、高糖组、氧化苦参碱低、高剂量组、阳性药维生素E组、甘露醇等渗组。空白组1%胎牛血清+5.5 mmol·L⁻¹培养基培养;模型组在空白组基础之上加入了葡萄糖,使其在培养基终浓度为35.5 mmol·L⁻¹;保护药

作用组在模型组的条件下,分别加入了50, 100 mg·L⁻¹的氧化苦参碱;甘露醇等渗组:在空白组的条件下加入了甘露醇溶液,使培养基中甘露醇浓度为30 mmol·L⁻¹。

2.3 药物对细胞存活率的影响和细胞损伤检测

将H9C2细胞按1×10⁵个/mL接种于96孔板中,待细胞长至对数期进行同步化处理,分别加入氧化苦参碱低质量浓度(50 mg·L⁻¹),高质量浓度(100 mg·L⁻¹)及维生素E(0.1 mmol·L⁻¹)预处理1 h后,加入终浓度为35.5 mmol·L⁻¹的葡萄糖共同孵育48 h,并设置等渗组。达到作用时间后,将各处理组上清液用于LDH外漏法检测细胞损伤,通过酶标仪450 nm处检测各孔吸光度A;将取走上清液的96孔板加入无血清培养基后,再避光加入MTT,于培养箱中孵育4 h后吸净上清液,再每孔加入二甲基亚砷,摇床震荡至结晶完全溶解,通过酶标仪490 nm处检测各孔A。

2.4 SOD活力及MDA含量检测 将H9C2细胞按照2.2项的方式进行分组和处理,按照试剂盒说明书和参考文献进行操作^[10],分别检测SOD活性和微量MDA的含量。

2.5 荧光探针法检测H9C2细胞内ROS水平 将H9C2细胞按照2.2项的方式进行分组和处理,根据ROS检测试剂盒说明书进行操作。在避光条件下,每孔加入一定量的荧光探针,并置于37℃孵育30 min完成反应。最后置于倒置荧光显微镜下观察拍照,并通过多功能酶标仪检测ROS水平。

2.6 以JC-1免疫荧光法检测H9C2细胞线粒体膜电位变化 将H9C2细胞按照2.2项的方式进行分组和处理,按照JC-1试剂盒说明书进行操作。根据样品数量计算体积,将培养基和JC-1工作液等比加入并充分混匀,置于在37℃孵育30 min。孵育结束后去除液体,用染色清洗液洗涤3次。最后用荧光显微镜观察并用多功能酶标仪进行荧光值测定,细胞膜电位值=红色荧光值/绿色荧光值。

2.7 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测凋亡蛋白的表达 根据蛋白提取试剂盒提取H9C2细胞总蛋白,将提取的总蛋白通过BCA法进行定量,之后分装加热煮沸并离心,置于-80℃保存。电泳时采用10%分离胶进行上样,“三明治”结构转膜;转膜完成后采用5%脱脂奶粉进行封闭1.5 h,按1:1 000稀释一抗,1:1万稀释二抗依次进行孵育^[11]。抗体孵育完成后通过ECL化学发光试剂盒进行发光检测,通过条带灰度值进行分析。

2.8 统计学处理 采用SPSS 13.0统计学软件进行分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行正态性检验及单因素方差分析,组间比较采用最小显著性差异法(LSD),以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 对于HG条件下H9C2细胞的影响 给予高糖48 h后,与空白组比较,模型组H9C2细胞出现损伤,存活率显著降低($P < 0.01$);与模型组比较,在给予高、低质量浓度的氧化苦参碱及维生素E以后,各给药组细胞存活率明显上升($P < 0.05, P < 0.01$),证明氧化苦参碱对于细胞损伤具有改善作用。见表1。

表1 氧化苦参碱对HG诱导H9C2细胞损伤的保护作用($\bar{x} \pm s, n=6$)

Table 1 Protected effect of oxymatrine(OMT) on HG induced H9C2 cells injury detedted($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	浓度/mmol·L ⁻¹	A
空白	-	0.652±0.012
甘露醇	30	0.647±0.011
高糖	35.5	0.452±0.015 ¹⁾
氧化苦参碱	50 ⁴⁾	0.513±0.013 ²⁾
	100 ⁴⁾	0.579±0.013 ³⁾
维生素E	0.1	0.591±0.022 ³⁾

注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$;与高糖组比较²⁾ $P < 0.05, ^3)$ $P < 0.01$;
⁴⁾表示单位为mg·L⁻¹(表2,6同)。

3.2 对HG诱导H9C2细胞LDH外漏的影响 与空白组比较,HG处理细胞48 h后,模型组细胞培养液中LDH活性显著增加($P < 0.01$);与模型组比较,氧化苦参碱低、高质量浓度组和维生素E预处理组的细胞培养液中LDH活性明显降低($P < 0.05, P < 0.01$)。见表2。

表2 氧化苦参碱对HG诱导H9C2细胞LDH外漏的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 2 Effect of OMT on LDH leakage in H9C2 cells induced by HG($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	浓度/mmol·L ⁻¹	LDH/U·L ⁻¹
空白	-	128.41±27.95
甘露醇	30	127.19±22.90
高糖	35.5	259.23±37.09 ¹⁾
氧化苦参碱	50 ⁴⁾	168.90±23.96 ²⁾
	100 ⁴⁾	130.57±20.22 ³⁾
维生素E	0.1	132.94±9.22 ³⁾

3.3 对HG诱导H9C2细胞SOD,MDA的影响 与空白组比较,模型组SOD的活性显著降低($P <$

0.01), MDA含量显著增加($P < 0.01$);与模型组比较,氧化苦参碱低、高质量浓度组和维生素E预处理组显著升高SOD的活性($P < 0.01$),显著降低MDA含量($P < 0.01$)。见表3。

表3 氧化苦参碱对HG诱导H9C2细胞SOD活性和MDA含量的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 3 Effect of OMT on SOD activity and MDA content in H9C2 cells induced by HG($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	SOD/ $\text{U} \cdot \text{mg}^{-1}$	MDA/ $\mu\text{mol} \cdot \text{g}^{-1}$
空白	-	22.79 ± 0.38	0.95 ± 0.02
甘露醇	30	22.85 ± 0.78	0.78 ± 0.10
高糖	35.5	16.92 ± 1.11 ¹⁾	1.27 ± 0.07 ¹⁾
氧化苦参碱	50 ³⁾	21.01 ± 0.80 ²⁾	0.85 ± 0.15 ²⁾
	100 ³⁾	23.96 ± 0.85 ²⁾	0.71 ± 0.11 ²⁾
维生素E	0.1	23.18 ± 0.30 ²⁾	0.68 ± 0.07 ²⁾

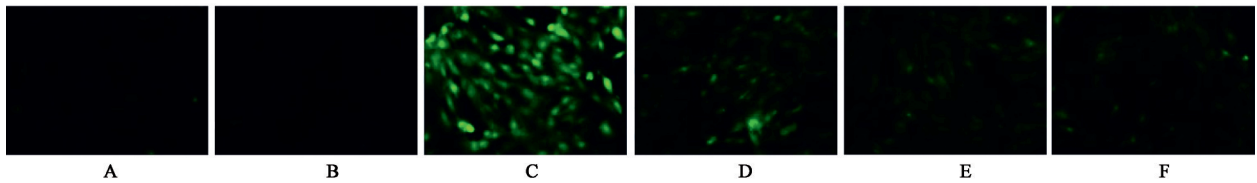
注:与空白组比较¹⁾ $P < 0.01$;与高糖组比较²⁾ $P < 0.01$;³⁾表示单位为 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (表4,5同)。

3.4 对HG诱导H9C2细胞活性氧ROS生成的影响 与空白组比较,HG处理细胞48 h后,模型组细胞胞内ROS绿色荧光值显著增加($P < 0.01$);与模型组比较,氧化苦参碱低、高质量浓度组及维生素E预处理组细胞胞内ROS绿色荧光值显著降低($P < 0.01$)。见表4,图1。

表4 氧化苦参碱对HG诱导H9C2细胞ROS的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 4 Effect of OMT on ROS in H9C2 cells in H9C2 cells induced by HG($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	ROS荧光值
空白	-	2.881 ± 0.177
甘露醇	30	3.041 ± 0.084
高糖	35.5	5.619 ± 0.035 ¹⁾
氧化苦参碱	50 ³⁾	4.186 ± 0.034 ²⁾
	100 ³⁾	3.877 ± 0.068 ²⁾
维生素E	0.1	3.628 ± 0.071 ²⁾



A.空白组;B.甘露醇组;C.高糖组;D.氧化苦参碱低质量浓度组;E.氧化苦参碱低质量浓度组;F.维生素E组(图2,3同)

图1 氧化苦参碱对HG诱导H9C2细胞ROS的影响(免疫荧光,×100)

Fig. 1 Effect of OMT on ROS in H9C2 cells in H9C2 cells induced by HG(IF, ×100)

3.5 对HG诱导H9C2细胞线粒体膜电位的影响 与空白组比较,HG处理48 h,模型组H9C2细胞膜电位显著降低($P < 0.01$),绿色荧光增加;与模型组比较,氧化苦参碱低、高质量浓度组及维生素E预处理组膜电位显著增加($P < 0.01$)。见表5和图2。

表5 氧化苦参碱对HG诱导H9C2细胞线粒体膜电位的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 5 Effect of OMT on mitochondrial membrane potential in H9C2 cells induced by HG($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	浓度/ $\text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$	细胞膜电位值
空白	-	3.476 ± 0.126
甘露醇	30	3.489 ± 0.289
高糖	35.5	1.612 ± 0.146 ¹⁾
氧化苦参碱	50 ³⁾	2.716 ± 0.128 ²⁾
	100 ³⁾	3.195 ± 0.084 ²⁾
维生素E	0.1	3.189 ± 0.127 ²⁾

3.6 对HG诱导H9C2细胞Bax, Bcl2蛋白表达的影响 与空白组比较,细胞经过HG处理后,模型组细胞内Bax表达显著升高, Bcl-2表达显著降低($P <$

0.01);与模型组比较,加入了氧化苦参碱低、高质量浓度组和维生素E预处理组的Bax表达降低, Bcl-2表达增加($P < 0.05, P < 0.01$)。见图3和表6。

4 讨论

糖尿病心肌病约占糖尿病患者死亡原因的70%,其概念最早由Rubler于1972年提出^[12],之后引起了广泛关注。糖尿病死亡患者,其死因很大一部分归结于心力衰竭^[13]。糖尿病患者的心血管病发病率比空白人群高2~4倍,心肌梗死概率高10倍^[14]。糖尿病心肌病的病理过程,可见心脏逐渐发生功能损伤。

氧化苦参碱其机制与转化生长因子(TGF)- β 信号通路密切相关^[15-16]。氧化苦参碱对心脏的保护作用,也涉及到了细胞外信号调节激酶(ERK)1/2信号通路, Caspase-3信号通路、凋亡诱导因子AIF,血清中血清中LDH, CK活性^[17]。

糖尿病心肌病中晚期的心脏因为修复功能不足开始退行性变化,高血糖会诱导心肌细胞凋亡,胶原沉积^[18],促使心肌间质发生纤维化,病灶扩大,

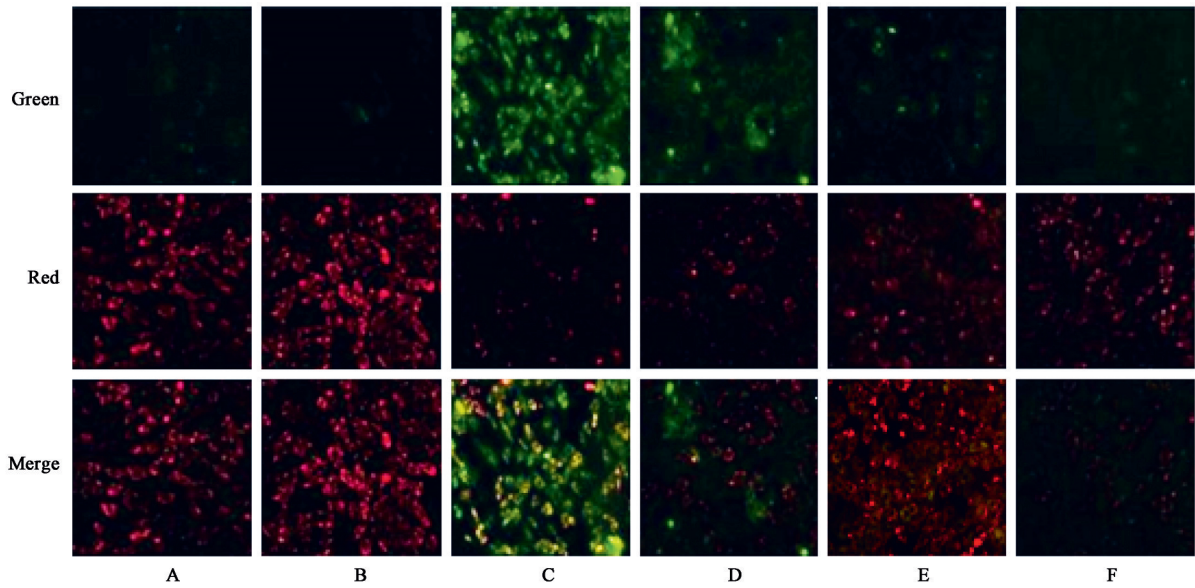


图2 氧化苦参碱对HG诱导H9C2细胞线粒体膜电位降低的影响(免疫荧光,×200)

Fig. 2 Effect of OMT on mitochondrial membrane potential decrease in H9C2 cells induced by HG (IF, ×200)

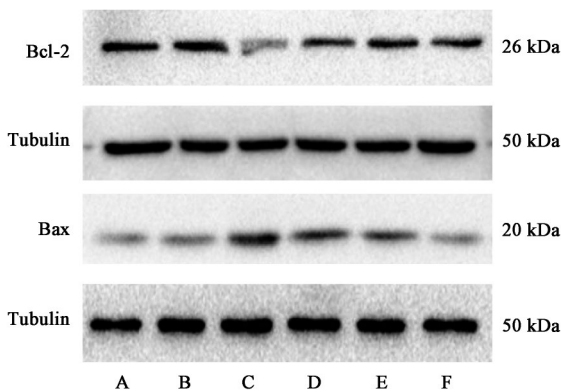


图3 H9C2细胞Bax, Bcl-2蛋白表达电泳

Fig. 3 Electrophoresis of apoptosis-related protein Bax/Bcl-2 expression in H9C2 cells

表6 氧化苦参碱对HG诱导H9C2细胞Bax, Bcl-2蛋白表达的影响($\bar{x} \pm s, n=3$)

Table 6 Effect of OMT on apoptosis-related protein Bax, Bcl-2 expression in H9C2 cells induced by HG ($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	浓度/mmol·L ⁻¹	Bcl-2/Tubulin	Bax/Tubulin
空白	-	1.061±0.046	0.735±0.023
甘露醇	30	1.070±0.065	0.775±0.026
高糖	35.5	0.373±0.006 ¹⁾	1.544±0.077 ¹⁾
氧化苦参碱	50 ⁴⁾	0.645±0.019 ³⁾	0.978±0.061 ²⁾
	100 ⁴⁾	0.760±0.054 ²⁾	0.846±0.135 ²⁾
维生素E	0.1	0.879±0.096 ²⁾	0.663±0.014 ³⁾

引起微血管病变,最后心脏功能发生改变^[19]。本实验结果显示,与模型组相比氧化苦参碱作用于H9C2细胞后能提高细胞的存活率,并且LDH外漏检测结果也显示了氧化苦参碱的使用避免了细胞

受到更多的损伤。

线粒体凋亡途径是心肌细胞凋亡的主要方式之一^[20]。而线粒体ROS过多生成是导致心肌细胞线粒体途径凋亡的根本原因。线粒体在细胞体积中占较大比重,是细胞能量的主要来源。在病理状态下,细胞会发生氧化应激等一系列反应,产生大量的ROS。而实验结果表明,氧化苦参碱可以降低细胞内ROS的含量,保护细胞免受高糖的损伤。

氧化应激发生以后,过多的ROS生成刺激心肌细胞线粒体膜发生去极化使线粒体膜电位降低,致使ATP生成减少,SOD活性降低,过氧化氢活性和MDA含量增高等,导致线粒体功能障碍。而实验结果也表明了,相比于模型组过低的线粒体膜电位,给予氧化苦参碱以后,明显提高了H9C2细胞的线粒体膜电位。与模型组相比,氧化苦参碱能提高H9C2细胞内SOD的活性并且降低脂质过氧化物MDA含量。以上结果皆提示氧化苦参碱能改善高糖诱导的氧化损伤,维护线粒体完整性。

同时,线粒体膜电位的降低会导致线粒体转换孔不可逆地开放。促凋亡蛋白由线粒体内释放至细胞质中,并与凋亡蛋白酶激活因子结合形成凋亡体复合物,加速了Caspase-9自身的活化,并进一步激活Caspase-3前体,导致细胞凋亡。实验结果表明,氧化苦参碱能显著下调Bax蛋白表达、同时上调Bcl-2蛋白表达,表明可以通过增加Bcl-2/Bax值来达到抑制下游因子Caspase-3的激活,进而产生抗凋亡的作用。

综上所述,本研究结果表明氧化苦参碱通过调控氧化应激来改善线粒体功能进而抑制由高糖引起的H9C2心肌细胞凋亡,但具体作用机制及其对原代细胞的影响还需进一步系统研究。

[参考文献]

[1] DEI C A, FONAROW G C, GHEORGHIAD E M, et al. Concomitant diabetes mellitus and heart failure[J]. *Curr Probl Cardiol*, 2015, 40(1): 7-43.

[2] DYN T A R, EPPENBERGER EBERHARDT M, MAEDLER K, et al. Glucose and palmitic acid induce degeneration of myofibrils and modulate apoptosis in rat adult cardiomyocytes[J]. *Diabetes*, 2001, 50(9): 2105-2113.

[3] TANG M, ZHANG W, LIN H, et al. High glucose promotes the production of collagen types I and III by cardiac fibroblasts through a pathway dependent on extracellular-signal-regulated kinase 1/2[J]. *Mol Cell Biochem*, 2007, 301(1/2): 109-114.

[4] 王红英,曹雪滨,心力衰竭与心肌细胞凋亡的研究进展[J]. *医学综述*, 2008, 14(18): 2727-2730.

[5] 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.

[6] 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.

[7] CHEN Z Y, XIAO T T, WANG H, et al. Cardio-protective effects of oxymatrine (OMT) on experimental acute myocardial infarction (AMI) in rats induced by ligation of left anterior descending branch of coronary artery [J]. *China J Traditi Chin Med Pharm*, 2011, 26(6): 1303-1306.

[8] 欧阳惠碧. 乌司他丁预先给药对高糖孵育H9c2心肌细胞氧化应激损伤的影响[D]. 广州:南方医科大学, 2014.

[9] 师岩,齐晓丹,张伟,等. 肌肽对高糖诱导的H9c2细

胞损伤的拮抗作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2013, 29(10): 1783-1787.

[10] 刘晓龙,崔子林,李阳,等. 丹酚酸B对脓毒症大鼠心肌损伤的保护作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(14): 112-118.

[11] 邵庆瑞,零伟德,李健哲. 胡黄连苦苷II通过下调microRNA-1表达抑制H₂O₂诱导的心肌细胞凋亡[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(8): 77-82.

[12] RUBLER S, DLUGASH J, YUCEOGLU Y Z, et al. New type of cardiomyopathy associated with diabetic glomerulosclerosis [J]. *Am J Cardiol*, 1972, 30(6): 595-602.

[13] DEI C A, FONAROW G C, GHEORGHIAD E M, et al. Concomitant diabetes mellitus and heart failure[J]. *Curr Probl Cardiol*, 2015, 40(1): 7-43.

[14] YEUNG E H, PANKOW J S, ASTOR B C, et al. Increased risk of type 2 diabetes from a family history of coronary heart disease and type 2 diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2007, 30(1): 154-156.

[15] SHEN X, YANG Y, XIAO T, et al. Protective effect of oxymatrine on myocardial fibrosis induced by acute myocardial infarction in rats involved in TGF- β -Smads signal pathway[J]. *J Asian Nat Prod Res*, 2011, 13(3): 215-224.

[16] 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.

[17] 陈祖云,肖婷婷,王恒,等. 氧化苦参碱对大鼠冠脉结扎诱发实验性急性心肌梗死的保护作用[J]. *中华中医药杂志*, 2011, 26(6): 1303-1306.

[18] 曾菊绒,胥晓丽,徐天娇. 糖尿病心肌重构的研究进展[J]. *中国老年学杂志*, 2015, 35(1): 263-265.

[19] 李庆敏,瞿武林,陈伯钧. 铁皮石斛对缺血再灌注后心衰心气虚型大鼠心肌纤维化的抑制作用[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2019, 25(15): 83-88.

[20] 田静,吕嵘,郭炜. 线粒体障碍在糖尿病性心脏病中的作用及中医药研究进展[J]. *中国中药杂志*, 2018, 43(1): 8-14.

[责任编辑 周冰冰]