

基于 p38 MAPK-CRYAB 途径探讨 8-O-乙酰山栀子苷甲酸对急性心肌梗死大鼠的影响及作用机制

涂秋英¹, 杨宇龙², 胡 婕¹, 张艳慧¹

(1.江西省中西医结合医院心内科,2.南昌大学第四附属医院消化科,江西省南昌市 330003)

[关键词] p38 MAPK-CRYAB; 8-O-乙酰山栀子苷甲酸; 急性心肌梗死; 氧化应激

[摘要] 目的 基于 p38 MAPK-CRYAB 途径探讨 8-O-乙酰山栀子苷甲酸对急性心肌梗死大鼠的影响及作用机制。方法 采用结扎冠状动脉左前降支的方法建立急性心肌梗死大鼠模型,取 50 只造模成功的雄性 SD 大鼠随机分为模型组、阳性对照组、8-O-乙酰山栀子苷甲酸低、中、高剂量组,每组 10 只,另选 10 只作为空白对照组。空白对照组与模型组均给予等体积生理盐水,阳性对照组给予阿司匹林肠溶片[100 mg/(kg·d)],8-O-乙酰山栀子苷甲酸低、中、高剂量组分别给予 8-O-乙酰山栀子苷甲酸[10、20 及 30 mg/(kg·d)],连续给药 14 天。检测大鼠心功能;HE 染色法观察大鼠心肌组织病理变化;TUNEL 法检测心肌细胞凋亡;ELISA 检测 SOD、LDH、GSH-Px 和 MDA 水平;RT-PCR 检测 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 mRNA 表达;Western blot 检测 p-p38 MAPK/p38 MAPK 和 p-CRYAB/CRYAB 表达。结果 8-O-乙酰山栀子苷甲酸可显著改善急性心肌梗死大鼠的心功能及心肌组织病理变化($P < 0.05$),降低心肌细胞凋亡率($P < 0.05$),减轻氧化应激损伤($P < 0.05$),上调抑凋亡基因 Bcl-2 表达,下调促凋亡基因 Bax 和 Caspase-3 表达($P < 0.05$),促进 p38 MAPK 和 CRYAB 磷酸化($P < 0.05$),但各组间 p38 MAPK 和 CRYAB 蛋白表达无明显变化($P > 0.05$)。结论 8-O-乙酰山栀子苷甲酸可显著改善急性心肌梗死大鼠心肌损伤症状,上调 Bcl-2 表达,下调 Bax 和 Caspase-3 表达,促进 p38 MAPK 和 CRYAB 磷酸化,其作用机制可能与 p38 MAPK-CRYAB 途径有关。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

Effect and its mechanism of 8-O-acetyl-SM on acute myocardial infarction rats based on p38 MAPK-CRYAB pathway

TU Qiuying¹, YANG Yulong², HU Jie¹, ZHANG Yanhui¹

(1.Department of Cardiology, Jiangxi Provincial Hospital of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanchang, Jiangxi 330003, China; 2.Department of Gastroenterology, the Fourth Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330003, China)

[KEY WORDS] p38 MAPK-CRYAB; 8-O-acetyl-SM; acute myocardial infarction; oxidative stress

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect and its mechanism of 8-O-acetyl-SM on acute myocardial infarction rats based on p38 MAPK-CRYAB pathway. **Methods** A rat model of acute myocardial infarction was established by ligation of the left anterior descending coronary artery. Fifty male SD rats were randomly divided into model control group, positive control group, 8-O-acetyl-SM low, medium and high dose groups, with 10 rats in each group. In addition, 10 rats were used as blank control groups. The blank control group and the model control group were given the same volume of normal saline, the positive control group was given aspirin enteric-coated tablets (100mg/(kg·d)), and the 8-O-acetyl-SM low, medium and high dose groups were given 10, 20 and 30 mg/(kg·d) 8-O-acetyl-SM, continuous administration for 14 days. The changes of cardiac function were detected, HE staining was used to observe the pathological changes of myocardium in rats, TUNEL was used to detect the apoptosis of myocardial cells, ELISA was used to detect the levels of SOD, LDH, GSH-Px and MDA, RT-PCR was used to detect the mRNA expression of Bcl-2, Bax and Caspase-3, Western blot was used to detect the expression of p-p38 MAPK/p38 MAPK and p-CRYAB/CRYAB. **Results** 8-O-acetyl-SM significantly could improve cardiac function and pathological changes of myocardial tissue in rats with acute myocardial in-

[收稿日期] 2018-09-01

[修回日期] 2018-10-29

[作者简介] 涂秋英,副主任医师,研究方向为心血管疾病,E-mail 为 qiuyingtu@163.com。通信作者杨宇龙,副主任医师,E-mail 为 136103005@qq.com。

farction ($P<0.05$), reduce myocardial apoptosis rate ($P<0.05$), reduce oxidative stress damage ($P<0.05$), up-regulate the expression of Bcl-2, down-regulate the expression of Bax and Caspase-3 ($P<0.05$), promote phosphorylation of p38 MAPK and CRYAB ($P<0.05$), but there was no significant change in the expression of p38 MAPK and CRYAB protein among the groups ($P>0.05$).

Conclusion 8-O-acetyl-SM can significantly improve myocardial injury symptoms, up-regulate Bcl-2 expression, down-regulate Bax and Caspase-3 expression, promote p38 MAPK and CRYAB phosphorylation, and its mechanism may be related to p38 MAPK-CRYAB pathway.

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI) 是由心肌组织灌注不足与心肌坏死等引起的缺血性心肌病, 是最常见的心血管疾病, 具有极高的发病率和死亡率, 可导致左心室收缩功能障碍、心律失常和心力衰竭等^[1]。近几年, AMI 发生率呈逐年上升趋势, 其造成的死亡率占心血管疾病的 50%, 给人类的健康与生命造成了严重的影响^[2]。研究表明, 冠状动脉粥样硬化斑块破裂是诱导 AMI 发生的主要原因, 此外, 过度劳累、情绪激动、暴饮暴食、气候变化、便秘及吸烟、酗酒等均是 AMI 发生的诱因^[3-4]。目前, 对于 AMI 的常规疗法有调整血容量、溶栓、冠状动脉介入、镇静止痛、服用药物 (如 β 受体阻滞剂、硝酸盐制剂及钙拮抗剂等) 及抗心律失常等^[5], 但由于其复发率和并发症, AMI 的治疗仍然是一个棘手的问题, 而且 AMI 病理生理学的潜在分子机制还有待进一步阐明。

8-O-乙酰山柃子苷甲酸 (8-O-acetyl-SM, 8-OaS) 是从藏药独一味中提取的环烯醚萜苷类成分^[6], 药理研究表明其具有止血、镇痛、抗炎、改善微循环及减轻胃溃疡等作用^[7]。有报道称 8-OaS 可显著改善神经的病理性疼痛及慢性炎症性疼痛^[8], 也有研究表明, 8-OaS 对于心血管疾病具有一定的疗效^[9], 但有关这方面的报道较少, 其具体的作用机制尚不清楚。本研究旨在基于 p38 MAPK-CRYAB 信号通路探讨 8-OaS 对 AMI 大鼠氧化应激诱导的心肌细胞凋亡的影响, 为 8-OaS 治疗 AMI 的研究提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

选择 6~7 周龄的 SPF 级健康雄性 SD 大鼠 60 只, 由南昌大学实验动物中心提供。体质量为 200~230 g, 在恒温 (24 ± 1 °C) 下每笼饲养 5 只, 湿度条件为 45%~55%, 暗/光循环 12 h。所有大鼠自由饮食和饮水, 适应性喂养 1 周后开始实验。

1.2 主要药品与试剂

8-OaS (美国 Sigma 公司); 阿司匹林肠溶片 (拜

耳医药保健有限公司, 国药准字 J20130078); 苏木素-伊红染液 (北京索莱宝科技有限公司); TUNEL 试剂盒 (美国 Roche 公司); 超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 和丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒 (南京建成生物工程研究所); Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 基因 (上海生工生物工程股份有限公司); 磷酸化 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (phosphorylation of p38 MAPK, p-p38 MAPK)、p38 丝裂原活化蛋白激酶 (p38 mitogen-activated protein kinase, p38 MAPK)、磷酸化晶状体蛋白 (phosphorylation of CRYAB, p-CRYAB)、晶状体蛋白 (α B-crystallin, CRYAB) 和 β -actin 鼠单克隆抗体 (美国 Abcam 公司); HRP 羊抗鼠 IgG 二抗 (美国 Invitrogen 公司)。

1.3 主要仪器

BS110S 型电子分析天平、BCD-629WDEYU1 型冰箱 (赛多利斯科学仪器有限公司); CS-15R 冷冻离心机 (美国 Beckman 公司); 5010 全自动染色机 (德国徕卡公司); BX50 生物显微镜 (日本奥林巴斯公司); RT-PCR 仪、凝胶电泳和电转仪 (美国 Bio-Rad 公司); 脱水机、包埋机、病理切片机、超声雾化器 (上海斯科茨曼有限公司); 动物人工呼吸机 (上海恒勤仪器设备有限公司)。

1.4 动物模型的建立及分组

将 60 只雄性 SD 大鼠按体重均衡的原则分组, 分为空白对照组、模型组、阳性对照组、8-OaS 低、中、高剂量组, 每组 10 只。运用结扎冠状动脉左前降支的方法建立 AMI 大鼠模型^[10], 具体方法: 大鼠采取腹腔注射 10% 水合氯醛溶液进行麻醉, 仰卧位固定大鼠, 将气管插管经口快速插入后, 连接动物呼吸机, 待大鼠呼吸平稳后, 剪除前胸部皮毛, 切开皮肤, 分离组织, 暴露心脏, 找到冠状动脉左前降支并实施结扎, 采用心电图记录仪观察大鼠心脏, 若 ST 段显著抬高, 左心室苍白, 室壁运动缓慢, 表明 AMI 造模成功。其中空白对照组大鼠冠状动脉左前降支只穿线不结扎。

1.5 给药剂量及途径

大鼠于造模成功后 3 h 给予相应的药物。参照

文献^[11],8-OaS 低、中、高剂量组分别给予 10、20 及 30 mg/(kg·d) 8-OaS 灌胃;阳性对照组给予 100 mg/(kg·d)阿司匹林肠溶片灌胃;模型组和空白对照组用 5 mL/kg 生理盐水灌胃。连续灌胃 14 天后进行后续实验。

1.6 大鼠的心功能检测

应用多普勒超声机检测大鼠的心功能,检测指标包括左心室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、左心室收缩期末内径(left ventricular end-systolic diameter, LVESD)、左心室短轴缩短率(fraction shortening, FS)及左心室舒张期末内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD)。

1.7 HE 染色观察大鼠心肌组织病理变化

麻醉处死大鼠取血后,迅速取出心脏,清洗干净后除去非心脏组织,取部分心肌组织用 4% 多聚甲醛溶液固定 24 h,脱水并用石蜡包埋,按照步骤处理切片,用 HE 染色法观察大鼠心肌组织病理变化。

1.8 TUNEL 法检测大鼠心肌细胞凋亡

将大鼠的石蜡标本切成 5 μm 薄片后,附着于玻片上,并用 4% 多聚甲醛固定,严格按照 TUNEL 试剂盒说明书进行后续操作。在荧光显微镜下观察标本,每组随机选取 5 个视野,放大 400 倍后统计凋亡细胞数与总细胞数,细胞凋亡率=(凋亡细胞数/总细胞数)×100%。

1.9 ELISA 检测大鼠血清 SOD、LDH、GSH-Px 和 MDA 水平

麻醉处死大鼠后收集外周血 10 mL,3000 r/min 离心 10 min,收集上层血清,置于-20℃冰箱内低温保存。严格按试剂盒说明书采用 ELISA 测定大鼠血清 SOD、LDH、GSH-Px 和 MDA 水平。

1.10 RT-PCR 检测大鼠心肌组织 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 mRNA 表达

提取大鼠心肌组织总 RNA,反转录合成 cDNA,根据引物(表 1)进行扩增,反应条件:94℃预变性 5 min,94℃变性 30 s,退火 30 s,72℃反应 60 s,共进行 40 个循环,72℃延伸 5 min,4℃反应 5 min,每组进行 3 次独立测定,图像分析仪扫描凝胶密度,分析得到 mRNA 的相对表达。

1.11 Western blot 检测大鼠心肌组织 p-p38 MAPK/p38 MAPK 和 p-CRYAB/CRYAB 表达

各组大鼠连续灌胃 14 天,麻醉处死取血后,迅速取出心脏,清洗干净后除去非心脏组织,于液氮中保存,将心肌组织在研钵中充分研磨,加入裂解液置于冰上充分裂解,14000 r/min 离心 10 min,吸取上清液,即为蛋白质提取物。采用 BCA 试剂盒测

量蛋白质含量,取等量蛋白质用上样缓冲液进行处理,通过电泳、转膜、封闭、孵育抗体、扫膜等步骤后,用 ECL 显色后,化学发光仪成像。依次使用 p-p38 MAPK、p38 MAPK、p-CRYAB、CRYAB 和 β-actin 鼠单克隆抗体作为一抗,HRP 标记羊抗鼠作为二抗。

表 1. RT-PCR 引物序列

Table 1. RT-PCR primer sequence

引物	引物序列
β-actin	Forward 5'-CTCCATCCTGGCCTCGCTG-3'
	Reverse 5'-GCTGTCACCTTCACCGTTCC-3'
Bcl-2	Forward 5'-CCTTTGTGTAAGTGTACGGCC-3'
	Reverse 5'-CTTTGGCAGTAAATAGCTGATTCCGAC-3'
Bax	Forward 5'-GGATGCGTCCACCAAGAA-3'
	Reverse 5'-TCCCGGAGGAAGTCCATT-3'
Caspase-3	Forward 5'-GCAGCAGCCTCAAATTGTTGAC-3'
	Reverse 5'-TGCTCCGGCTCAAACCATC-3'

1.12 统计学分析

计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组数据比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 法,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠心功能的变化

与空白对照组相比,模型组 LVEF、FS 明显降低,LVESD、LVEDD 明显升高($P < 0.05$);与模型组相比,阳性对照组和 8-OaS 低、中、高剂量组 LVEF、FS 明显升高,LVESD、LVEDD 明显降低($P < 0.05$)。结果表明,8-OaS 可显著改善 AMI 大鼠的心功能(图 1)。

2.2 大鼠心肌组织 HE 染色情况

空白对照组心肌纤维排列整齐、紧密,结构未见断裂;模型组心肌细胞排列较乱,心肌纤维发生断裂,且排列紊乱,有大量炎性细胞浸润,且有心肌细胞被溶解;阳性对照组和 8-OaS 低、中、高剂量组心肌细胞溶解现象改善,炎性细胞明显减少,且心肌细胞排列较整齐,心肌纤维较紧密。结果表明,8-OaS 可显著改善 AMI 大鼠心肌细胞与心肌纤维的排列,降低炎性细胞对心肌组织的浸润(图 2)。

2.3 大鼠心肌细胞凋亡情况

与空白对照组相比,模型组心肌细胞凋亡率明显升高($P < 0.05$);与模型组相比,阳性对照组和 8-

OaS 低、中、高剂量组心肌细胞凋亡率明显降低 ($P < 0.05$)。结果表明,8-OaS 可显著降低 AMI 大鼠心肌细胞凋亡率(图 3)。

2.4 大鼠血清 SOD、LDH、GSH-Px 和 MDA 水平
与空白对照组相比,模型组 SOD、GSH-Px 明显

降低,LDH、MDA 明显升高 ($P < 0.05$);与模型组相比,阳性对照组和 8-OaS 低、中、高剂量组 SOD、GSH-Px 明显升高,LDH、MDA 明显降低 ($P < 0.05$)。结果表明,8-OaS 可通过抗氧化应激保护 AMI 大鼠心肌细胞(图 4)。

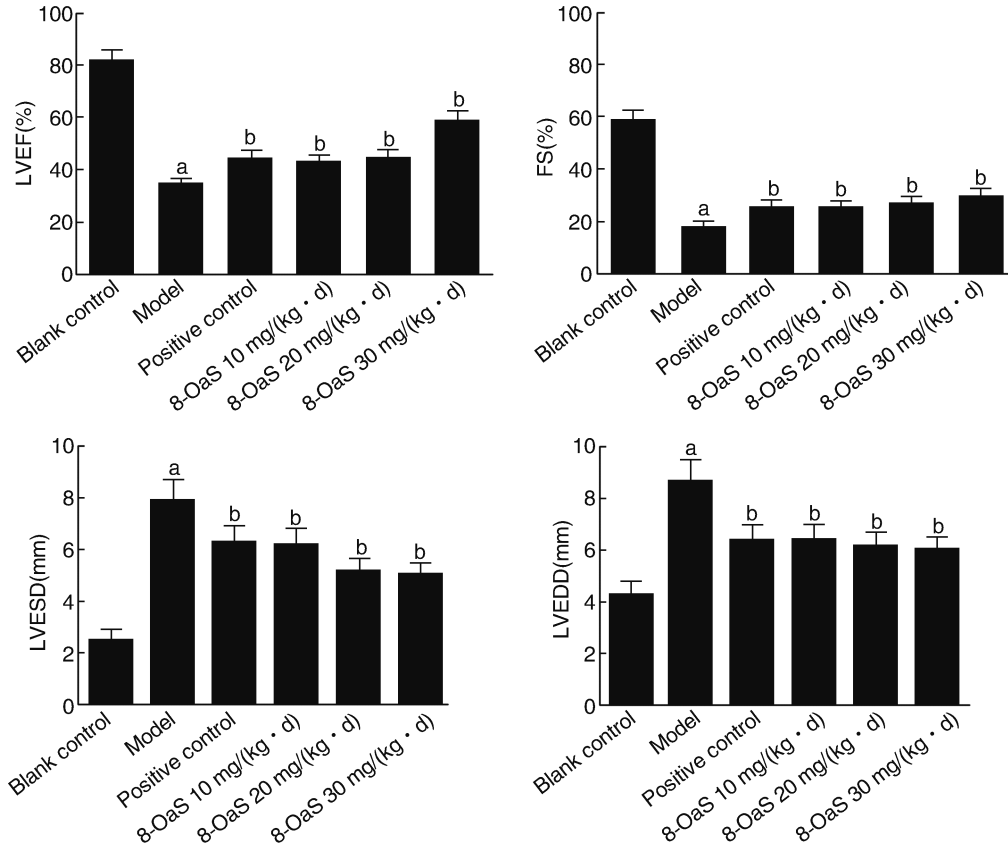


图 1. 各组大鼠心功能的变化 ($n = 10$) a 为 $P < 0.05$,与空白对照组比较;b 为 $P < 0.05$,与模型组比较。

Figure 1. Changes of rat cardiac function in each group ($n = 10$)

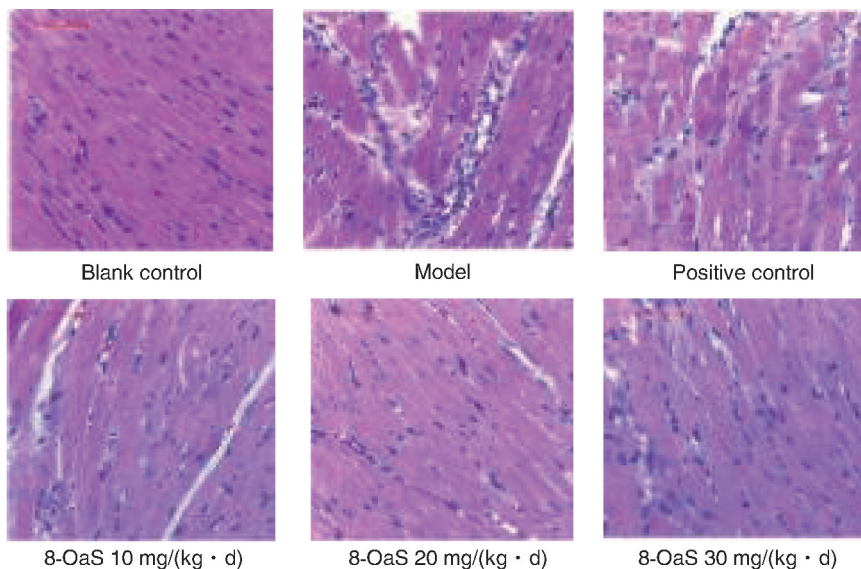


图 2. 各组大鼠心肌组织 HE 染色结果 ($n = 10, 400\times$)

Figure 2. HE staining results of rat myocardial tissue in each group ($n = 10, 400\times$)

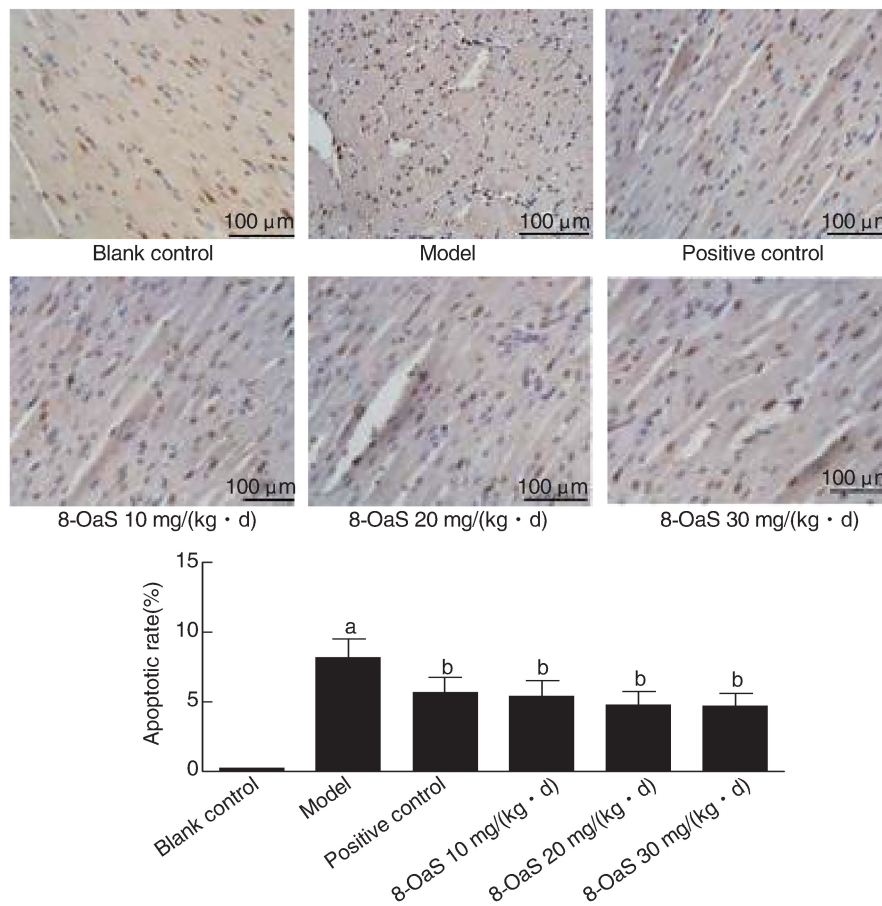


图 3. 各组大鼠心肌细胞凋亡情况 (n=10) a 为 P<0.05, 与空白对照组比较; b 为 P<0.05, 与模型组比较。

Figure 3. Apoptotic rate of rat cardiomyocytes in each group (n=10)

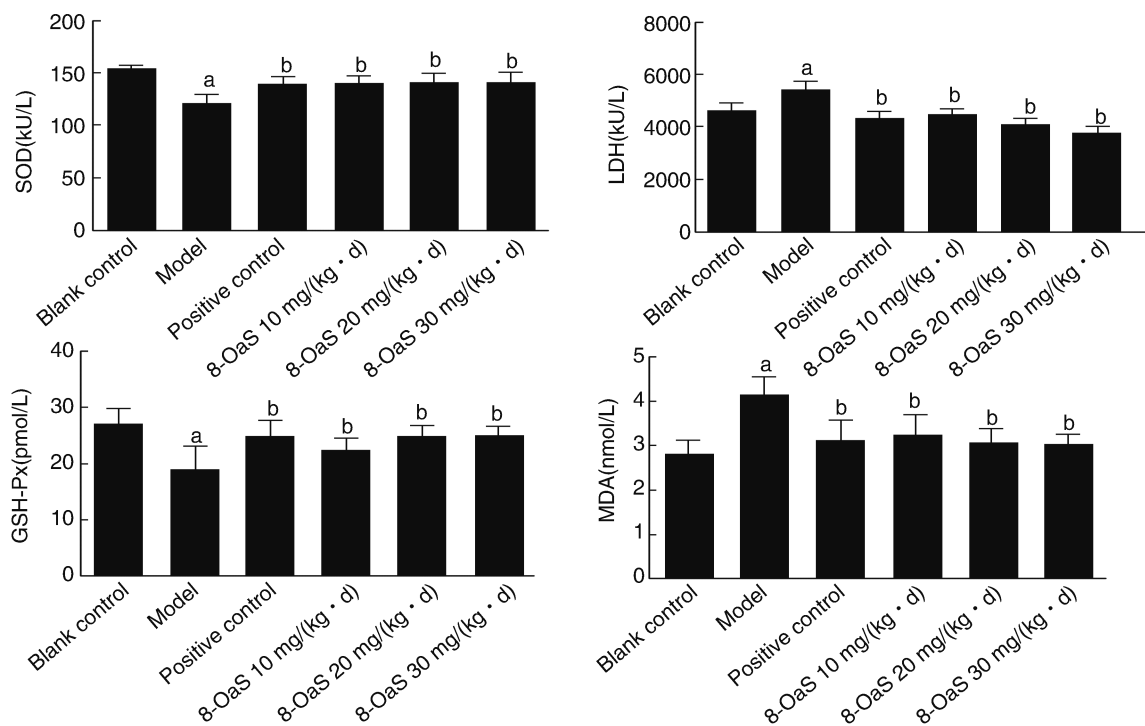


图 4. 各组大鼠血清 SOD、LDH、GSH-Px 和 MDA 水平 (n=10) a 为 P<0.05, 与空白对照组比较; b 为 P<0.05, 与模型组比较。

Figure 4. The levels of serum SOD, LDH, GSH-Px and MDA in rats of each group (n=10)

2.5 大鼠心肌组织 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 的 mRNA 表达

与空白对照组相比,模型组 Bcl-2 的 mRNA 表达明显降低, Bax、Caspase-3 的 mRNA 表达明显升高 ($P < 0.05$); 与模型组相比,阳性对照组和 8-OaS 低、中、高剂量组 Bcl-2 的 mRNA 表达明显升高, Bax、Caspase-3 的 mRNA 表达明显降低 ($P < 0.05$)。结果表明,8-OaS 可增加抑制细胞凋亡基因 Bcl-2 表达,降低促进细胞凋亡基因 Bax 和 Caspase-3 表达(图 5)。

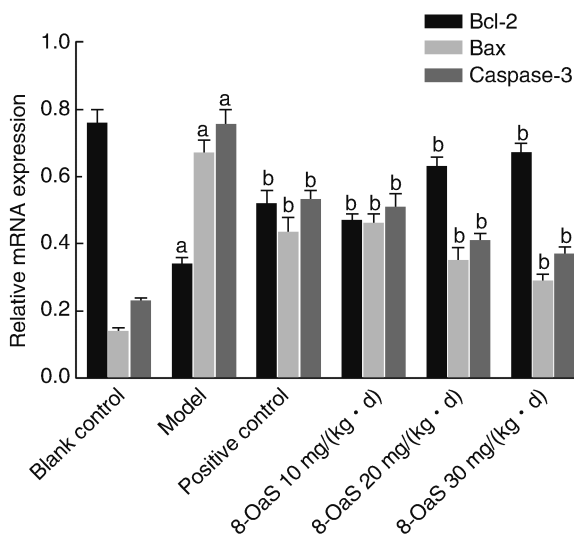


图 5. 各组大鼠心肌组织 Bcl-2、Bax 和 Caspase-3 的 mRNA 表达 ($n = 10$) a 为 $P < 0.05$, 与空白对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与模型组比较。

Figure 5. The expression of Bcl-2, Bax and Caspase-3 mRNA of rat myocardial tissue in each group ($n = 10$)

2.6 大鼠心肌组织 p-p38 MAPK/p38 MAPK 和 p-CRYAB/CRYAB 的表达

Western blot 结果显示,各组间 p38 MAPK 和 CRYAB 蛋白表达无明显差异 ($P > 0.05$); 与空白对照组相比,模型组大鼠心肌组织 p-p38 MAPK 和 p-CRYAB 表达明显降低 ($P < 0.05$); 与模型组相比,阳性对照组和 8-OaS 低、中、高剂量组大鼠心肌组织 p-p38 MAPK 和 p-CRYAB 表达明显升高 ($P < 0.05$)。结果表明,8-OaS 可促进 p38 MAPK 和 CRYAB 的磷酸化,进而保护心肌细胞(图 6)。

3 讨论

AMI 是一种严重心血管疾病,大量研究表明,氧化应激诱导的心肌细胞凋亡是促使 AMI 产生的关键因素,机体发生急性缺血或缺氧时,氧化系统

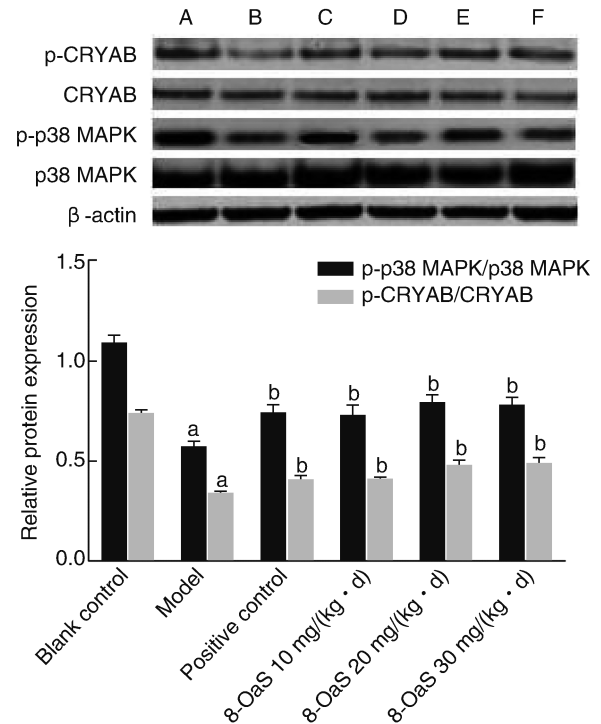


图 6. 各组大鼠心肌组织 p-p38 MAPK/p38 MAPK 和 p-CRYAB/CRYAB 的表达 ($n = 10$) A 为空白对照组, B 为模型组, C 为阳性对照组, D 为 8-OaS 低剂量组, E 为 8-OaS 中剂量组, F 为 8-OaS 高剂量组。a 为 $P < 0.05$, 与空白对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与模型组比较。

Figure 6. Expression of p-p38 MAPK/p38 MAPK and p-CRYAB/CRYAB of rat myocardial tissue in each group ($n = 10$)

与抗氧化系统动态平衡遭到破坏,致使大量活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 聚集^[12]。线粒体是 ROS 主要细胞内来源,ROS 作为机体细胞内调节氧化还原反应的主要活性分子,其浓度增加可损伤机体线粒体,进而影响线粒体通透性^[13],故与线粒体凋亡途径相关基因 Bcl-2、Bax、Caspase-3 及 Caspase-9 均被激活,而 Bcl-2 具有抗细胞凋亡作用,可抑制线粒体凋亡^[14]。p38 MAPK 信号通路与慢性心力衰竭密切相关,参与抗心肌梗死过程,保护心脏组织^[15]。CRYAB 是小热休克蛋白家族中的一员,可编码 α B 晶状体蛋白,起初被认为是细胞骨架的基础结构^[16]。近些年,有研究表明,CRYAB 在机体发生 AMI 后具有显著抗氧化应激诱导的细胞凋亡作用,且 CRYAB 磷酸化可保护心肌细胞免受损伤^[17],也有报道称,CRYAB 通过调节经 H_2O_2 诱导损伤 H9c2 细胞中 Bcl-2 的表达而起到抗心肌细胞凋亡的作用^[18]。

本研究采用结扎冠状动脉左前降支的方法建立 AMI 大鼠模型,术后发现大鼠心功能发生变化,

经 8-OaS 干预后症状减轻,表明 8-OaS 可显著改善 AMI 大鼠的心功能及心肌细胞与心肌纤维的排列,降低炎性细胞对心肌组织的浸润。细胞凋亡是细胞主动“自杀”的过程,AMI 后心肌组织内外环境发生了一定的变化,为更好地适应生存环境心肌细胞主动争取死亡,凋亡基因 Bax、Caspase-3 等受多种因素影响被激活,促进心肌细胞凋亡,故模型组细胞凋亡率明显高于空白对照组,经 8-OaS 干预后,心肌细胞凋亡率明显下降,且凋亡基因 Bax、Caspase-3 表达下调,抑凋亡基因 Bcl-2 表达上调,表明 8-OaS 可通过调节细胞凋亡相关基因的表达进而抑制心肌细胞凋亡。氧化应激是造成细胞结构和功能损伤的主要原因,本研究发现 AMI 大鼠血清中 SOD、GSH-Px 明显降低,LDH、MDA 明显升高,经 8-OaS 干预后,血清 SOD、GSH-Px 明显升高,LDH、MDA 明显降低,表明 8-OaS 可通过抗氧化应激保护 AMI 大鼠心肌细胞。CRYAB 被认为是一种关键的抗凋亡蛋白,其可调节由局部缺血引起的心肌细胞凋亡。通过 Western blot 检测发现 AMI 大鼠心肌组织中 p-p38 MAPK、p-CRYAB 表达明显降低,经 8-OaS 干预后,p-p38 MAPK、p-CRYAB 表达明显升高,表明 8-OaS 可激活 p38 MAPK,使 p38 MAPK 和 CRYAB 磷酸化增加,进而影响心肌细胞凋亡。

综上所述,8-OaS 可显著改善 AMI 大鼠的心功能、心肌组织病理变化,降低心肌细胞凋亡,减轻氧化应激损伤,上调抑凋亡基因 Bcl-2 表达,下调促凋亡基因 Bax 和 Caspase-3 表达,促进 p38 MAPK 和 CRYAB 磷酸化,进而保护心肌细胞,其作用机制可能与 p38 MAPK-CRYAB 信号通路相关。

[参考文献]

[1] Hsu A, Chen SJ, Chang YS, et al. Systemic approach to identify serum microRNAs as potential biomarkers for acute myocardial infarction [J]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014 (1): 418628.

[2] Chen TL, Zhu GL, He XL, et al. Short-term pretreatment with atorvastatin attenuates left ventricular dysfunction, reduces infarct size and apoptosis in acute myocardial infarction rats [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(12): 4799-4808.

[3] Sayed AS, Xia K, Salma U, et al. Diagnosis, prognosis and therapeutic role of circulating miRNAs in cardiovascular diseases [J]. *Heart Lung Circ*, 2014, 23(6): 503-510.

[4] Lu XL, Zeng J, Chen YL, et al. Sinomenine hydrochloride inhibits human hepatocellular carcinoma cell growth in vitro and in vivo; involvement of cell cycle arrest and apoptosis induction [J]. *Int J Oncol*, 2013, 42(1): 229-238.

[5] Maeder MT, Schoch OD, Rickli H. A clinical approach to obstructive sleep apnea as a risk factor for cardiovascular disease [J]. *Vasc Health Risk Manag*, 2016, 12: 85-103.

[6] 张娟红,徐丽婷,王荣,等.藏药独一味生药学及化学成分研究进展 [J]. *兰州大学学报(医学版)*, 2015, 41(5): 57-62.

[7] 桑育黎,郝延军,杨松松.独一味的化学成分研究 [J]. *中草药*, 2008, 39: 1622-1624.

[8] 姚伟伟,王健,周凯翔,等.8-O-乙酰山栀子苷甲酸通过抑制脊髓背角 JNK 的磷酸化水平改善大鼠炎性痛的研究 [J]. *神经解剖学杂志*, 2017, 33(3): 317-322.

[9] 袁涛,王森,顿珠,等.藏药独一味的研究进展 [J]. *中成药*, 2014, 36(9): 1958-1961.

[10] 李丽,龙子江,高华武,等.黄精多糖对急性心肌梗死模型大鼠炎症及氧化应激反应的影响 [J]. *实验动物科学*, 2016, 33(5): 33-37.

[11] Zhu B, Gong N, Fan H, et al. Lamiophlomis rotata, an orally available Tibetan herbal painkiller, specifically reduces pain hypersensitivity states through the activation of spinal glucagon-like peptide-1 receptors [J]. *Anesthesiology*, 2014, 121(4): 835-851.

[12] Hamilton D, Zhang A, Li S, et al. Combination of angiotensin II and l-NG-nitroarginine methyl ester exacerbates mitochondrial dysfunction and oxidative stress to cause heart failure [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2016, 310(6): H667-H680.

[13] Riba A, Deres L, Eros K, et al. Doxycycline protects against ROS-induced mitochondrial fragmentation and ISO-induced heart failure [J]. *PLoS One*, 2017, 12: e0175195.

[14] Farhadi F, Jahanpour S, Hazem K, et al. Garlic (allium sativum) fresh juice induces apoptosis in human oral squamous cell carcinoma: the involvement of Caspase-3, Bax and Bcl-2 [J]. *J Dent Res Dent Clin Dent Prospects*, 2015, 9(4): 267-273.

[15] 杨婉. p38 MAPK 信号通路在吗啡预处理减轻心力衰竭大鼠心肌缺血再灌注损伤中的作用及其机制 [D]. 安徽医科大学, 2017.

[16] Chis R, Sharma P, Boussette N, et al. α -Crystallin B prevents apoptosis after H₂O₂ exposure in mouse neonatal cardiomyocytes [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012, 303: H967.

[17] Zhang Y, Li C, Meng H, et al. BYD ameliorates oxidative stress-induced myocardial apoptosis in heart failure post-acute myocardial infarction via the p38 MAPK-CRYAB signaling pathway [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 505.

[18] Xu F, Yu H, Liu J, et al. α B-crystallin regulates oxidative stress-induced apoptosis in cardiac H9c2 cells via the PI3K/AKT pathway [J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40: 2517-2526.

(此文编辑 文玉珊)