

阿托伐他汀对同型半胱氨酸诱导的心肌细胞 MEK/ERK 通路及心肌线粒体损伤的影响

李军芳¹, 来利红²

(河南科技大学第一附属医院 1. 药学部, 2. 心血管内科, 河南省洛阳市 471000)

[关键词] 阿托伐他汀; 同型半胱氨酸; 丝裂原细胞外信号调节激酶/细胞外调节蛋白激酶; 线粒体损伤

[摘要] 目的 探讨阿托伐他汀对同型半胱氨酸(Hcy)诱导的心肌细胞 H9c2 丝裂原细胞外信号调节激酶(MEK)/细胞外调节蛋白激酶(ERK)通路及心肌线粒体损伤的影响。方法 细胞计数试剂盒 8(CCK-8)检测不同浓度 Hcy 对 H9c2 细胞存活率的影响,筛选 Hcy 诱导浓度和时间。将诱导后的 H9c2 细胞分为模型组、5 μmol/L 阿托伐他汀组、10 μmol/L 阿托伐他汀组和 15 μmol/L 阿托伐他汀组,另取正常 H9c2 细胞为对照组。流式细胞仪检测各组细胞凋亡率;JC-1 法检测各组细胞线粒体膜电位的变化;DCFH-DA 法检测各组细胞内活性氧(ROS)水平;酶联免疫吸附法(ELISA)检测各组细胞中丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)含量;Western blot 检测各组细胞 MEK1/2 和 ERK1/2 磷酸化水平。结果 与对照组相比,2 μmol/L Hcy 可显著降低 H9c2 细胞存活率($P < 0.05$),本研究使用 2 μmol/L Hcy 处理 24 h 诱导 H9c2 细胞。与对照组相比,模型组 H9c2 细胞凋亡率、ROS 水平、MDA 含量显著升高($P < 0.05$),线粒体膜电位、SOD、CAT 含量及 MEK1/2、ERK1/2 磷酸化水平显著降低($P < 0.05$);与模型组相比,5 μmol/L 阿托伐他汀组、10 μmol/L 阿托伐他汀组和 15 μmol/L 阿托伐他汀组 H9c2 细胞凋亡率、ROS 水平、MDA 含量依次降低($P < 0.05$),线粒体膜电位、SOD、CAT 含量及 MEK1/2、ERK1/2 磷酸化水平依次升高($P < 0.05$)。结论 阿托伐他汀可能通过激活 MEK/ERK 通路降低 Hcy 诱导的 H9c2 细胞氧化应激反应,减轻心肌线粒体损伤。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

Effects of atorvastatin on homocysteine-induced MEK/ERK pathway and mitochondrial damage in cardiomyocytes

LI Junfang¹, LAI Lihong²

(1. Clinical Pharmacy, 2. Department of Cardiology, the First Affiliated Hospital of Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471000, China)

[KEY WORDS] atorvastatin; homocysteine; mitogen extracellular signal-regulated kinase/extracellular regulatory protein kinase; mitochondrial damage

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effects of atorvastatin (Ato) on homocysteine (Hcy)-induced mitogen extracellular signal-regulated kinase (MEK)/extracellular regulatory protein kinase (ERK) pathway and myocardial mitochondrial damage in H9c2 cardiomyocytes. **Methods** Cell counting kit-8 (CCK-8) was used to detect the effect of different concentrations of Hcy on the survival rate of H9c2 cells to screen the induction concentration and time of Hcy. H9c2 cells were divided into model group, 5 μmol/L Ato group, 10 μmol/L Ato group and 15 μmol/L Ato group, and another normal H9c2 cells were taken as control group. The apoptosis rate was detected by flow cytometry; the change of mitochondrial membrane potential was detected by JC-1 method; the level of intracellular reactive oxygen species (ROS) was measured by DCFH-DA method; enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the contents of malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT); and the phosphorylation levels of MEK1/2 and ERK1/2 were detected by Western blot. **Results** Compared with control group, 2 μmol/L Hcy significantly reduced the survival rate of H9c2 cells ($P < 0.05$), so that, in this study, H9c2 cells were treated with 2 μmol/L Hcy for 24 h.

[收稿日期] 2020-11-18

[修回日期] 2021-05-31

[基金项目] 河南省医学科技攻关联合共建项目(LHJG20190572)

[作者简介] 李军芳,硕士研究生,研究方向为心血管内科专业合理用药和慢病管理,E-mail 为 ljy96398@163.com。

Compared with control group, the apoptosis rate, ROS level and MDA content of H9c2 cells were significantly increased in the model group ($P < 0.05$), and the mitochondrial membrane potential, SOD, CAT contents and phosphorylation levels of MEK1/2 and ERK1/2 were significantly decreased ($P < 0.05$). Compared with model group, the apoptosis rate, ROS level and MDA content of H9c2 cells in 5 $\mu\text{mol/L}$ Ato group, 10 $\mu\text{mol/L}$ Ato group and 15 $\mu\text{mol/L}$ Ato group decreased in turn ($P < 0.05$), and the mitochondrial membrane potential, SOD, CAT contents and phosphorylation levels of MEK1/2 and ERK1/2 increased in turn ($P < 0.05$). **Conclusion** Ato may reduce the oxidative stress induced by Hcy in H9c2 cells by activating MEK/ERK pathway and alleviate myocardial mitochondrial damage.

同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是胱氨酸和蛋氨酸的一种代谢产物,在正常情况下维持在较低水平,若 Hcy 水平异常升高,可通过氧化应激反应和凋亡引起内皮功能障碍^[1],与包括糖尿病性心脏病在内的心血管疾病(cardiovascular disease, CVD)的发生和发展密切相关^[2]。他汀类药物可以降低 CVD 的发病率,其中,阿托伐他汀(atorvastatin, Ato)常用于治疗高胆固醇血症和混合型高脂血症,防治冠心病和脑卒中。阿托伐他汀不但可使小鼠免受耐力运动诱导的线粒体适应和肌肉损伤^[3],而且还可通过降低氧化应激、活性氧(reactive oxygen species, ROS)产生、神经元凋亡率,改善线粒体功能,发挥对脑缺血再灌注大鼠的神经保护作用^[4]。丝裂原细胞外信号调节激酶(mitogen extracellular signal-regulated kinase, MEK)/细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulatory protein kinase, ERK)信号通路调节相关基因转录,参与细胞生长、发育、凋亡等生理过程,与线粒体功能障碍和细胞衰老密切相关^[5], ERK 信号通路可介导鱼藤素引起 SH-SY5Y 神经细胞的损伤及氧化应激反应^[6]。另外,经皮冠状动脉介入治疗前给予 60 mg 阿托伐他汀能显著改善患者的心肌损伤及炎症反应情况,降低心脏不良事件的发生率^[7]。但是,阿托伐他汀改善 CVD 的分子作用机制并不清楚。因此,本研究从细胞水平上探讨阿托伐他汀对 Hcy 诱导的心肌细胞 H9c2 MEK/ERK 通路及心肌线粒体损伤的影响,旨在为阿托伐他汀在临床上对 CVD 的治疗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 细胞株及药品

大鼠 H9c2 细胞购自中国科学院典型培养物保藏委员会细胞库;阿托伐他汀(规格:20 mg/片,批准文号:国药准字 H20052866368)购自辉瑞制药有限公司;Hcy(规格:10 mg)购自美国 Sigma-Aldrich 公司。

1.2 主要试剂及仪器

胰蛋白酶和胎牛血清(FBS)均购自美国 Gibco

公司;DMEM/F12 培养基购自美国 Hyclone 公司;细胞计数试剂盒 8(CCK-8)购自北京安必奇生物科技有限公司;二甲基亚砜(DMSO)、蛋白 Marker、GAPDH 鼠抗和 PVDF 膜均购自美国 Sigma 公司;线粒体膜电位检测试剂盒(JC-1 法)购自北京雷根生物技术有限公司;DCFH-DA ROS 检测试剂盒购自上海碧云天生物科技有限公司;AnnexinV-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒购自嘉美生物技术有限公司;丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)ELISA 试剂盒均购自上海酶联生物科技有限公司;BCA 蛋白定量试剂盒和 ECL 显色试剂盒均购自北京中山金桥生物科技有限公司;96 孔培养板均购自上海生工生物工程有限公司;MEK1/2、p-MEK1/2、ERK1/2、p-ERK1/2 鼠抗和辣根过氧化物酶标记羊抗鼠 IgG 二抗均购自美国 Abcam 公司。酶标仪 Fax-20100 购自美国 INStat 公司;尼康 SMZ745 光学显微镜购自于上海普赫生物科技有限公司;XSP-BM13C 三目荧光显微镜购自上海光学仪器厂;全能型凝胶成像分析系统 ChemiDoc-MP 购自山东三瑞科技有限公司。

1.3 细胞培养

大鼠 H9c2 细胞使用 DMEM/F12 培养基(含 10% FBS、100 IU/mL 青霉素、100 mg/L 链霉素)在 37 °C、含 5% CO₂ 的细胞培养箱内培养,当细胞铺满瓶底 80% 左右后开始传代。

1.4 CCK-8 法检测不同浓度阿托伐他汀对细胞存活率的影响

取对数生长期细胞,调整细胞浓度为 5×10^4 个/mL,每孔用移液器吸取 100 μL 接种至 96 孔板中,每组设立 6 个复孔。将 96 孔板置于 37 °C、含 5% CO₂ 的细胞培养箱中培养 4~6 h,至细胞贴壁生长。加入 0、0.5、1、1.5、2 mmol/L Hcy(Hcy 使用 0.05% DMSO 稀释),继续培养 24 h 后,加入浓度为 10% 的 CCK-8 溶液,继续培养 2 h 后,取出 96 孔板,在酶联免疫检测仪上测定各孔在波长为 450 nm 处的吸光度值。细胞存活率=(实验组 OD_{450 nm} -空白组 OD_{450 nm})/(对照组

$OD_{450\text{ nm}} - \text{空白组 } OD_{450\text{ nm}}) \times 100\%$ 。

1.5 细胞分组与处理

根据细胞存活情况,筛选出 2 mmol/L Hcy 处理 H9c2 细胞 24 h 为诱导浓度和时间。随后将诱导后的 H9c2 细胞分为模型组(2 mmol/L Hcy 诱导 24 h 后加入 0 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀处理)及 5 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组、10 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组、15 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组(2 mmol/L Hcy 诱导 24 h 后分别加入 5、10 和 15 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀处理),另取正常 H9c2 细胞为对照组。

1.6 流式细胞仪检测各组细胞凋亡率

取上述 1.5 各组细胞,用不含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养基,制成细胞悬液,调整细胞浓度为 1×10^9 个/mL,加入不同浓度阿托伐他汀,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 后,1 200 r/min 离心 5 min,收集细胞,弃上清,用 PBS 洗涤 2 次,加入 400 μL 结合缓冲液悬浮细胞,再加入 5 μL Annexin V 染液,轻轻混匀后于 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 避光条件下孵育 15 min;然后加入 10 μL PI 轻轻混匀,于 2~8 $^{\circ}\text{C}$ 避光继续孵育 5 min 后,上流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.7 JC-1 法检测各组细胞线粒体膜电位的变化

取上述 1.5 各组细胞,参照 JC-1 试剂盒说明书进行操作,用荧光显微镜观察并拍照,使用 Image-Pro Plus 软件分析红光和绿光荧光强度,以红光/绿光比值表示线粒体膜电位的变化。

1.8 DCFH-DA 法检测细胞内 ROS 水平

取上述各组细胞,制备细胞悬液,以 1×10^4 个/mL 密度接种于 96 孔板中,加入不同浓度阿托伐他汀,37 $^{\circ}\text{C}$ 培养 24 h 后,使用 37 $^{\circ}\text{C}$ 预热的 PBS 清洗 3 次,每次 5 min。用 PBS 缓冲液稀释 DCFH-DA(1:1 000),制备工作液,每孔加入 200 μL 工作液,培养箱中避光孵育 30 min,37 $^{\circ}\text{C}$ PBS 再次清洗 3 次,每次 5 min 后,于荧光显微镜下观察并拍照。使用 Image-Pro Plus 软件分析荧光强度,平均荧光强度即代表 ROS 相对水平。

1.9 ELISA 检测各组细胞中 MDA、SOD 和 CAT 含量

收集上述各组处理后的细胞,于 4 $^{\circ}\text{C}$ 、1 300 r/min 离心 15 min 后,取上清,严格按照 MDA、SOD 和 CAT 的 ELISA 试剂盒说明书进行检测,每组均设置 6 个复孔。

1.10 Western blot 检测各组细胞 MEK 和 ERK 蛋白表达水平

收集上述各组处理后的细胞,加入 RIPA 裂解液,于冰上裂解 30 min,4 $^{\circ}\text{C}$ 、12 000 r/min 离心 10

min 后取上清,使用 BCA 蛋白定量试剂盒对各组蛋白进行定量,然后进行 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(PAGE)、湿式转移法转至 PVDF 膜,5% 脱脂奶粉封闭 1 h,1:2 000 稀释后,MEK1/2、p-MEK1/2、ERK1/2、p-ERK1/2 和 GAPDH 鼠抗 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育、含辣根过氧化物酶标记的二抗室温孵育 2 h,用 ECL 显色试剂盒显色,以 GAPDH 为内参,全能型凝胶成像分析系统分析蛋白表达水平。每组均设置 6 个复孔。

1.11 统计与分析

采用 SPSS 22.0 软件进行统计,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,两两比较采用 SNK-*q* 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 不同浓度 Hcy 对 H9c2 细胞存活率的影响

与对照组相比,2 $\mu\text{mol/L}$ Hcy 可显著降低 H9c2 细胞存活率($P < 0.05$);其他各浓度诱导与对照组 H9c2 细胞存活率差异无统计学意义($P > 0.05$;表 1)。所以后续将使用 2 $\mu\text{mol/L}$ Hcy 处理 24 h 诱导 H9c2 细胞。

表 1. 不同浓度 Hcy 对 H9c2 细胞存活率的影响

Table 1. Effects of Hcy at different concentrations on the survival rate of H9c2 cells 单位:%

分组	<i>n</i>	细胞存活率
对照组	6	100
0.5 $\mu\text{mol/L}$ Hcy 组	6	98.34 \pm 10.21
1 $\mu\text{mol/L}$ Hcy 组	6	90.33 \pm 9.76
1.5 $\mu\text{mol/L}$ Hcy 组	6	88.43 \pm 9.98
2 $\mu\text{mol/L}$ Hcy 组	6	50.36 \pm 6.14 ^a

注:a 为 $P < 0.05$,与对照组相比。

2.2 阿托伐他汀对 Hcy 诱导的 H9c2 细胞凋亡率的影响

与对照组相比,模型组 H9c2 细胞凋亡率显著升高($P < 0.05$);与模型组相比,5、10 和 15 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组 H9c2 细胞凋亡率依次降低($P < 0.05$,图 1)。

2.3 阿托伐他汀对 Hcy 诱导的 H9c2 细胞线粒体膜电位变化的影响

与对照组相比,模型组 H9c2 细胞线粒体膜电位显著降低($P < 0.05$);与模型组相比,5、10 和 15 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组 H9c2 细胞线粒体膜电位依次升高($P < 0.05$,图 2)。

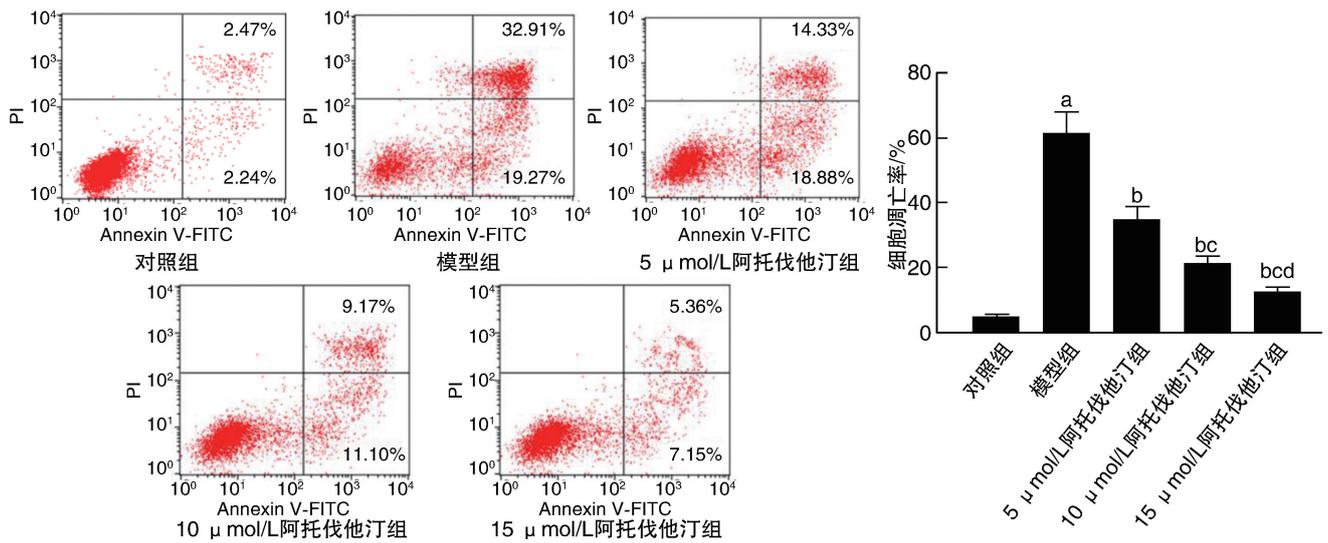


图 1. 阿托伐他汀对 Hcy 诱导的 H9c2 细胞凋亡率的影响

a 为 $P < 0.05$, 与对照组相比; b 为 $P < 0.05$, 与模型组相比; c 为 $P < 0.05$, 与 5 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组相比; d 为 $P < 0.05$, 与 10 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组相比。

Figure 1. The effect of atorvastatin on apoptosis rate of H9c2 cells induced by Hcy

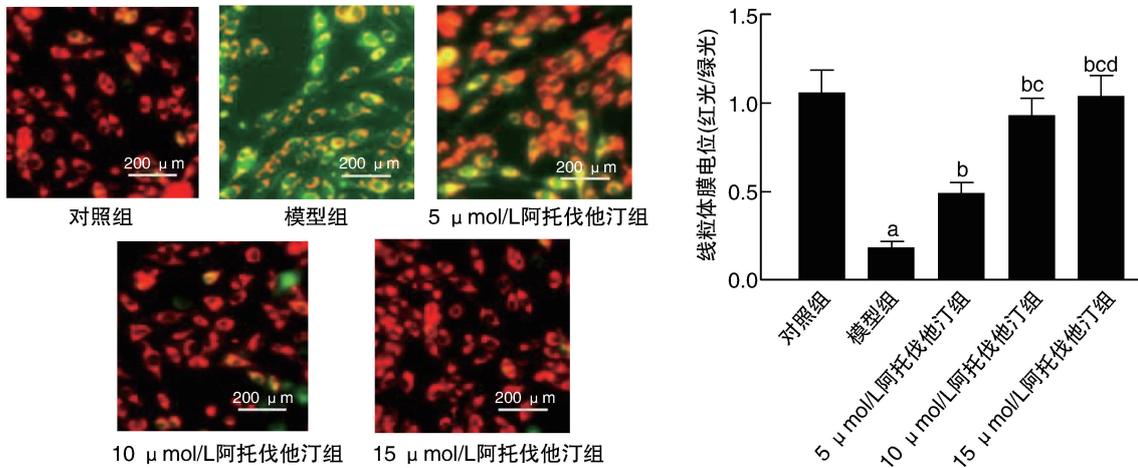


图 2. 阿托伐他汀对 Hcy 诱导的 H9c2 细胞线粒体膜电位变化的影响

a 为 $P < 0.05$, 与对照组相比; b 为 $P < 0.05$, 与模型组相比; c 为 $P < 0.05$, 与 5 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组相比; d 为 $P < 0.05$, 与 10 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组相比。

Figure 2. The effect of atorvastatin on Hcy-induced changes of mitochondrial membrane potential in H9c2 cells

2.4 阿托伐他汀对 Hcy 诱导的 H9c2 细胞 ROS、MDA、SOD 和 CAT 含量的影响

与对照组相比,模型组 H9c2 细胞 ROS 水平和 MDA 含量显著升高 ($P < 0.05$),SOD 和 CAT 含量显著降低 ($P < 0.05$);与模型组相比,5、10 和 15 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组 H9c2 细胞 ROS 水平和 MDA 含量依次降低 ($P < 0.05$),SOD 和 CAT 含量依次升高 ($P < 0.05$,图 3)。

2.5 阿托伐他汀对 Hcy 诱导的 H9c2 细胞 MEK 和 ERK 蛋白磷酸化水平的影响

与对照组相比,模型组 H9c2 细胞 MEK1/2 和

ERK1/2 磷酸化水平显著降低 ($P < 0.05$);与模型组相比,5、10 和 15 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组 H9c2 细胞 MEK1/2 和 ERK1/2 磷酸化水平依次升高 ($P < 0.05$,图 4)。

3 讨论

Hcy 作为一种独立的危险因素参与人类 CVD 发生发展^[8],诱导氧化应激和细胞凋亡是 Hcy 诱导高血压、动脉粥样硬化性疾病等的主要机制^[9-10]。而心肌细胞收缩舒张需要大量 ATP,心脏是人体中

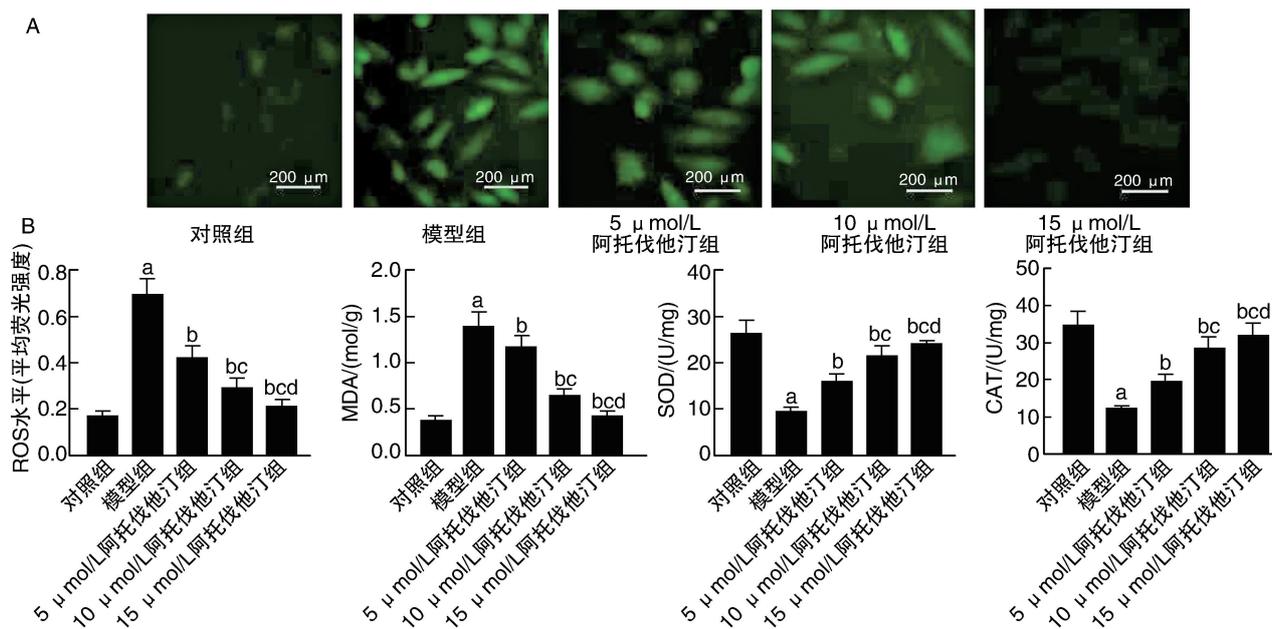


图 3. 阿托伐他汀对 Hcy 诱导的 H9c2 细胞 ROS、MDA、SOD 和 CAT 含量的影响

A 为各组细胞 ROS 检测荧光图, B 为各组细胞 ROS、MDA、SOD 和 CAT 含量比较。

a 为 $P < 0.05$, 与对照组相比; b 为 $P < 0.05$, 与模型组相比; c 为 $P < 0.05$, 与 5 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组相比;

d 为 $P < 0.05$, 与 10 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组相比。

Figure 3. The effect of atorvastatin on the contents of ROS, MDA, SOD and CAT in H9c2 cells induced by Hcy

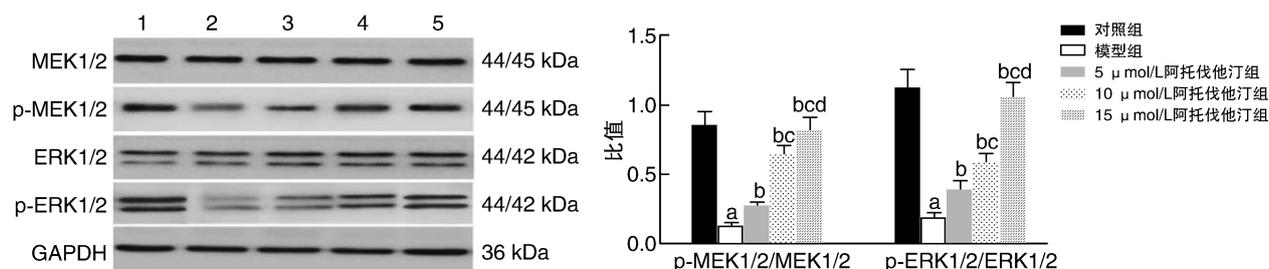


图 4. 阿托伐他汀对 Hcy 诱导的 H9c2 细胞 MEK 和 ERK 蛋白磷酸化水平的影响

1 为对照组, 2 为模型组, 3 为 5 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组, 4 为 10 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组, 5 为 15 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组。

a 为 $P < 0.05$, 与对照组相比; b 为 $P < 0.05$, 与模型组相比; c 为 $P < 0.05$, 与 5 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组相比;

d 为 $P < 0.05$, 与 10 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀组相比。

Figure 4. The effect of atorvastatin on Hcy-induced phosphorylation of MEK and ERK in H9c2 cells

能量消耗最多的器官, 线粒体对于心肌细胞的能量代谢至关重要^[11]。本研究发现, 2 $\mu\text{mol/L}$ Hcy 诱导 H2c9 细胞 24 h, 可显著降低细胞存活率, 提高细胞凋亡率、ROS 水平和 MDA 含量, 降低线粒体膜电位及 SOD 和 CAT 含量, 提示 Hcy 可导致 H2c9 细胞发生氧化应激反应, 产生线粒体损伤及功能障碍。

阿托伐他汀在临床上常用于高胆固醇血症和原发性高胆固醇血症患者, 可与其他药物联用治疗冠心病以及脑梗死等心脑血管疾病。随着对其研究的不断深入, Vandresen 等^[12]发现阿托伐他汀可通过 MEK/ERK 通路调节谷氨酸转运体, 降低喹诺

啉酸引起的神经损伤, 林芸芸等^[13]研究发现阿托伐他汀可通过诱导内皮祖细胞微囊泡的增多, 对心肌梗死患者的心肌细胞起保护作用。另外, 阿托伐他汀与瑞舒伐他汀对冠心病患者具有良好的疗效且不良反应发生率较低^[14]。然而, 阿托伐他汀高于 125 $\mu\text{mol/L}$ 时, 可通过破坏小鼠肝细胞的线粒体膜电位, 破坏细胞内微环境平衡, 引起细胞凋亡和坏死^[15], 所以临床对于成人阿托伐他汀的用药剂量不得超过每日 80 mg。本研究发现, 5、10、15 $\mu\text{mol/L}$ 阿托伐他汀均能提高 Hcy 诱导的 H9c2 细胞线粒体膜电位及 SOD 和 CAT 含量, 降低细胞凋亡率、ROS

水平和MDA含量,提示阿托伐他汀可降低Hcy诱导的H9c2细胞氧化应激反应及线粒体损伤,但其中的机制尚需进一步研究。

MEK/ERK信号通路在氧化应激中起关键作用^[16],其中,ERK是传递丝裂原信号的信号转导蛋白,可将信号从细胞表面受体传至细胞核^[17]。龚莹等^[18]研究发现缺锌可通过促进细胞内ROS生成而抑制ERK通路,引起心肌细胞损伤;柴松波等^[19]研究发现益气养阴方能够通过激活ERK信号通路减轻组织氧化应激水平,保护心肌缺血再灌注大鼠的心肌组织;陈海燕等^[20]研究发现龟鹿益神颗粒可通过激活MEK/ERK信号通路,减轻氧化应激,发挥抗氧化作用,治疗慢性疲劳。另外,ROS引起的氧化应激损伤与许多CVD有关,黄芪多糖通过MEK/ERK途径上调转录因子KLF2的表达,从而减轻过氧化氢触发的人脐静脉内皮细胞氧化损伤^[21]。本研究发现,2 μmol/L Hcy诱导H9c2细胞24 h,可显著降低MEK1/2和ERK1/2磷酸化水平,而5、10、15 μmol/L阿托伐他汀均能增加Hcy诱导的H9c2细胞MEK1/2和ERK1/2磷酸化水平,提示阿托伐他汀可能通过激活MEK/ERK通路,降低心肌细胞氧化应激反应及线粒体损伤,与上述龚莹等研究结果一致。

综上所述,阿托伐他汀可降低Hcy诱导的H9c2细胞氧化应激反应及线粒体损伤,可能与激活MEK/ERK通路有关,但阿托伐他汀对Hcy诱导的H9c2细胞线粒体损伤机制较为复杂,尚需深入研究。

[参考文献]

[1] ALMASHHADANY A, SHACKEBAEI D, VAN DER TOUW T, et al. Homocysteine exposure impairs myocardial resistance to ischaemia reperfusion and oxidative stress[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(6): 2265-2274.

[2] KAR S, SHAHSHAHAN H R, KAMBIS T N, et al. Hydrogen sulfide ameliorates homocysteine-induced cardiac remodeling and dysfunction[J]. *Front Physiol*, 2019, 10(10): 598.

[3] NONAKA K, OZAKI Y, ITO K, et al. Endurance exercise increases the protein levels of PGC-1 α and respiratory chain complexes in mouse skeletal muscle during atorvastatin administration[J]. *J Physiol Sci*, 2019, 69(2): 327-333.

[4] YADOLLAH-DAMAVANDI S, SHARIFI Z N, ARANI H Z, et al. Atorvastatin prevents the neuron loss in the hippocampal dentate gyrus region through its anti-oxidant and anti-apoptotic activities[J]. *CNS Neurol Disord Drug Targets*, 2021, 20(1): 76-86.

[5] KOCHETKOVA E Y, BLINOVA G I, BYSTROVA O A, et al. Suppression of mTORC1 activity in senescent Ras-transformed cells

neither restores autophagy nor abrogates apoptotic death caused by inhibition of MEK/ERK kinases[J]. *Aging (Albany NY)*, 2018, 10(11): 3574-3589.

[6] 方琼彤, 吕满霞, 陈彦洁, 等. 氧化应激在鱼藤素致SH-SY5Y细胞神经毒性中的作用[J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(1): 47-52.

[7] 刘建平. 不同剂量阿托伐他汀对经皮冠状动脉介入治疗后患者心脏不良事件发生率的影响[J]. *中国实用医药*, 2018, 13(7): 97-99.

[8] FAN C D, JY S, FU X T, et al. Astaxanthin attenuates homocysteine-induced cardiotoxicity in vitro and in vivo by inhibiting mitochondrial dysfunction and oxidative damage[J]. *Front Physiol*, 2017, 8(8): 1041.

[9] LIU Y, LIU Q, HU Z, et al. Resveratrol attenuated homocysteine-induced apoptosis of rat ventricular myocytes[J]. *Int J Cardiol*, 2014, 177(1): 298-300.

[10] 郝钰, 李佩佩, 严宁, 等. 叶酸通过DNA甲基化减轻同型半胱氨酸诱导的大鼠心肌细胞损伤[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2019, 35(7): 625-630.

[11] 张玲, 李思睿, 赵迅霞, 等. Rap1A DNA甲基化在Hcy促进巨噬细胞增殖中的作用[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(6): 483-489.

[12] VANDRESEN-FILHO S, MARTINS W C, BERTOLDO D B, et al. Atorvastatin prevents glutamate uptake reduction induced by quinolinic acid via MAPKs signaling[J]. *Neurochem Res*, 2016, 41(8): 2017-2028.

[13] 林芸芸, 黄珊, 宋艳玲, 等. 阿托伐他汀诱导EPC-MVs增多对STEMI患者心肌细胞的保护作用研究[J]. *中国药房*, 2019, 30(10): 1396-1402.

[14] 何亚军, 王瑛, 刘积伦, 等. 阿托伐他汀联合快步运动对颈动脉斑块逆转的影响[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2018, 26(10): 1041-1044.

[15] 苏萍, 陈影, 张广平, 等. 阿托伐他汀的肝毒性机制研究[J]. *药物评价研究*, 2019, 1(11): 2174-2179.

[16] REZATABAR S, KARIMIAN A, RAMESHKANIA V, et al. RAS/MAPK signaling functions in oxidative stress, DNA damage response and cancer progression[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(9): 14951-14965.

[17] 周军媚, 姚峰, 吴秀山, 等. 心脏高表达基因hhole通过ERK结合位点抑制心肌肥厚信号分子ANF的转录活性[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(1): 7-13.

[18] 龚莹, 徐菁蔓, 习瑾昆, 等. 缺锌对心肌细胞的损伤作用及机制[J]. *生理学报*, 2016, 68(5): 677-683.

[19] 柴松波, 司富春, 王振涛, 等. 益气养阴方通过激活ERK/Nrf2/HO-1通路减轻糖尿病大鼠心肌缺血再灌注损伤[J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(10): 1743-1752.

[20] 陈海燕, 金晨曦, 吴明阳, 等. 龟鹿益神颗粒调控MEK/ERK通路对慢性疲劳模型大鼠行为学及骨骼肌抗氧化系统的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2019, 37(8): 1892-1896.

[21] LI D, LIU Y, XU R, et al. Astragalus polysaccharide alleviates H₂O₂-triggered oxidative injury in human umbilical vein endothelial cells via promoting KLF2[J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2019, 47(1): 2188-2195.

(此文编辑 许雪梅)