

## 黄芪总皂苷对心衰大鼠心肌细胞凋亡和线粒体膜电位的影响

尤旭\*, 朱小芳, 胡运鹏, 龚杨, 赵磊

(荆州市中心医院 院前急救科, 湖北 荆州 434000)

**摘要:**目的 研究黄芪总皂苷(ASTs)对心衰大鼠心肌细胞凋亡和线粒体膜电位的影响和机制。方法 将大鼠分成对照组(normal)、心衰组(model)、AST低、中、高剂量干预组(10、20、40 mg/kg 灌胃),每组12只,检测大鼠心功能指标。取大鼠心肌组织,TUNEL法检测细胞凋亡;黄嘌呤氧化酶法检测SOD活性;二硫代二硝基甲基苯法检测GSH-PX活性;硫代巴比妥酸法检测MDA含量;JC-1法检测线粒体膜电位;Western blot检测c-caspase-3、c-caspase-9、p-AKT、p-p38MAPK蛋白和线粒体、胞质中cyt-c蛋白表达水平。结果 与对照组比较,model组大鼠LVSP、+dp/dt<sub>max</sub>和-dp/dt<sub>max</sub>降低( $P<0.05$ );细胞凋亡率和c-caspase-3、c-caspase-9蛋白水平升高( $P<0.05$ );SOD、GSH-PX活性降低( $P<0.05$ );MDA含量升高( $P<0.05$ );线粒体膜电位降低( $P<0.05$ );线粒体中cyt-c蛋白水平降低( $P<0.05$ );胞质中cyt-c蛋白水平升高( $P<0.05$ );p-AKT水平降低( $P<0.05$ );p-p38MAPK水平升高( $P<0.05$ )。与心衰组比较,AST-L、AST-M、AST-H组大鼠LVSP、+dp/dt<sub>max</sub>和-dp/dt<sub>max</sub>升高;细胞凋亡率和c-caspase-3、c-caspase-9蛋白水平降低;SOD、GSH-PX活性升高;MDA含量降低;线粒体膜电位升高;线粒体中cyt-c蛋白水平升高;胞质中cyt-c蛋白水平降低;p-AKT水平升高;p-p38MAPK水平降低;并且黄芪总皂苷作用浓度越大,对心衰大鼠模型影响也越大。结论 黄芪总皂苷抑制心衰大鼠心肌细胞凋亡,其作用机制可能与提高线粒体膜电位和影响AKT、p38MAPK信号通路有关。

**关键词:** 心衰大鼠;心肌细胞凋亡;线粒体膜电位;氧化损伤;黄芪总皂苷

中图分类号:R966 文献标志码:A

## Effects of total astragalosides on cardiomyocyte apoptosis and mitochondrial membrane potential in rats with heart failure

YOU Xu\*, ZHU Xiao-fang, HU Yun-peng, GONG Yang, ZHAO Lei

(Pre-hospital Emergency Department, Jingzhou Central Hospital, Jingzhou 434000, China)

**Abstract: Objective** To study the effect and mechanism of total astragalosides (ASTs) on myocardial cell apoptosis and mitochondrial membrane potential in rats with heart failure. **Methods** Rats were divided into control group(normal), heart failure group(model), AST low, medium and high intervention group (10, 20 and 40 mg/kg intragastric administration) and 12 rats in each group. Cardiac function was measured in rats. Myocardial tissue was taken from rats, apoptosis was detected by TUNEL assay, the activity of SOD was detected by xanthine oxidase method, the activity of GSH-PX was determined by dithio-dinitromethylbenzene method, MDA content was determined by thiobarbituric acid method, the mitochondrial membrane potential was measured by JC-1 method. Western

收稿日期:2019-06-13 修回日期:2019-11-14

基金项目:2017—2018年度湖北省卫生计生委面上项目(WJ2017M242)

\*通信作者(corresponding author):2416325802@qq.com

blot was used to detect the expression levels of c-caspase-3, c-caspase-9, p-AKT, p-p38MAPK and Cyt-C in mitochondria and cytoplasm. **Results** Compared with normal group, LVSP,  $+dp/dt_{max}$ ,  $-dp/dt_{max}$  in model group decreased ( $P < 0.05$ ), the apoptotic rate and the level of c-caspase-3 and c-caspase-9 protein increased ( $P < 0.05$ ), the activities of SOD and GSH-PX decreased ( $P < 0.05$ ), the content of MDA increased ( $P < 0.05$ ), the mitochondrial membrane potential decreased ( $P < 0.05$ ), the level of Cyt-C protein in mitochondria decreased ( $P < 0.05$ ), Cyt-c protein level in cytoplasm increased ( $P < 0.05$ ), the level of p-AKT decreased, the level of p-p38MAPK increased ( $P < 0.05$ ). Compared with model group, LVSP,  $+dp/dt_{max}$ ,  $-dp/dt_{max}$  increased in AST-L, AST-M and AST-H groups, the apoptotic rate and c-caspase-3, c-caspase-9 protein levels decreased, the activities of SOD and GSH-PX increased, the content of MDA decreased, the mitochondrial membrane potential increased, the level of Cyt-C protein in mitochondria increased, Cyt-c protein level in cytoplasm decreased, the level of p-AKT increased, the level of p-p38 MAPK decreased, the higher the concentration of total astragalosides is, the greater the effect on heart failure rat model. **Conclusions** Total astragalosides inhibit cardiomyocyte apoptosis in rats with heart failure. The mechanism may be related to the increase of mitochondrial membrane potential and the influence of AKT and p38MAPK signaling pathways.

**Key words:** rats with heart failure; cardiomyocyte apoptosis; mitochondrial membrane potential; oxidative damage; total astragalosides

心力衰竭(heart failure)是诱发心脏病患者死亡的重要原因,其中心肌组织损伤是心力衰竭发生的重要机制<sup>[1]</sup>。黄芪具有补中益气、利水清肿等功效,黄芪总皂苷(total astragalosides, ASTs)是黄芪的主要活性成分,具有抗肿瘤、增强免疫力、改善组织纤维化等作用<sup>[2-3]</sup>。黄芪总皂苷对于心血管系统疾病也具有明显的改善作用,其可以减少氧化应激诱导的心肌细胞凋亡,改善异丙肾上腺素诱导的心肌损伤,并且对于心室重构大鼠具有明显的保护作用<sup>[4-6]</sup>。现阶段对于黄芪总皂苷在心衰大鼠心肌细胞凋亡中的作用及机制还不清楚。本实验以黄芪总皂苷灌胃处理心衰大鼠模型,探讨黄芪总皂苷对心肌细胞凋亡的作用和机制,为黄芪总皂苷治疗心衰的临床应用及机制提供参考资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物及试剂

SPF级雄性SD大鼠60只,体质量( $220 \pm 10$ )g;(武汉大学动物实验中心,合格证号Y20160912);SOD活性检测试剂盒(上海碧云天生物技术有限公司);p-AKT抗体、c-caspase-3抗体、p-p38MAPK抗体(Abcam公司);MDA含量检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司);c-caspase-9抗体、cyt-c抗体(上海时代生物技术有限公司);GSH-PX活性检测试剂

盒(上海纪宁实业有限公司);黄芪总皂苷(total astragalosides, ASTs)(上海纯优生物科技有限公司);线粒体膜电位检测试剂盒(杭州联科生物技术股份有限公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 大鼠的分组及处理:大鼠在适应性饲养7d以后随机分成5组,对照组(normal)、心衰组(model)、AST低(AST-L)、中(AST-M)、高剂量(AST-H)干预组,每组12只。AST低、中、高剂量干预组每天给予10、20、40 mg/kg的黄芪总皂苷灌胃,灌胃容量为10 mL/kg,对照组、心衰组每天给予等量的纯净水灌胃,连续灌胃5d,在第6天时给予心衰组、AST低、中、高剂量干预组大鼠一次性腹腔注射10 mg/kg的盐酸阿霉素。

1.2.2 心功能的检测:在注射盐酸阿霉素后24h,按照5 mL/kg用20%的乌拉坦腹腔注射麻醉大鼠,常规方法检测心功能。在心功能检测完之后,立即取各组大鼠的心肌组织,用于后续实验检测。

1.2.3 细胞凋亡观察:取大鼠心肌组织,用常规TUNEL法检测细胞凋亡,细胞凋亡率=(凋亡细胞数目÷细胞总数)×100%

1.2.4 SOD、GSH-PX和MDA含量的检测:取大鼠心肌组织,分别按照SOD(黄嘌呤氧化酶法)、GSH-PX(二巯代二硝基甲基苯)活性检测试剂盒和MDA

(硫代巴比妥酸法)含量检测试剂盒检测 SOD、GSH-PX 活性以及 MDA 含量,步骤完全按照试剂盒操作说明进行,结果以红绿荧光比值表示。

1.2.5 JC-1 法检测线粒体膜电位:取大鼠心肌组织,用 JC-1 法检测线粒体膜电位,步骤同试剂盒操作流程。

1.2.6 Western blot 检测心肌 c-caspase-3、c-caspase-9、p-AKT、p-p38MAPK 蛋白和线粒体、胞质中 cyt-c 蛋白表达:取大鼠心肌组织,用 Western blot 检测蛋白表达。使用含有苯甲基磺酰氟(PMSF)的 RIPA 裂解试剂提取组织中的总蛋白,用于 c-caspase-3、c-caspase-9、p-AKT、p-p38MAPK 蛋白表达检测。使用线粒体或胞质蛋白提取试剂盒提取线粒体或胞质蛋白,用于 cyt-c 蛋白表达检测。Western blot 步骤如下:用 BCA 方法检测提取的蛋白样品的浓度(步骤参照试剂盒说明书),配制 SDS-PAGE 凝胶(10%的下层胶和 5%的上层胶),每个孔蛋白上样量为 40  $\mu\text{g}$ ,蛋白在上样之前首先同等体积的 2 $\times$ 上样缓冲液混合并煮沸 5 min。蛋白电泳电压为 100 V,等到染料进入到玻璃板的底部以后,将电源关闭,取出凝胶。转膜操作在冰上进行,转膜电压设置为 80 V,转膜时间 60 min。取出电转移后的 NC 膜,放在封闭液(5%牛血清白蛋白溶液)中,于室温条件下孵育 2 h。然后将 NC 膜放在已经稀释好的一抗孵育液中,置于 4  $^{\circ}\text{C}$  条件下反应过夜。最后把 NC 膜放在 1:4 000 稀释好的二抗孵育液中,放在室温中结合 2 h。采用 ECL 显色试剂盒显色,Image J 分析条带的吸光度值,计算蛋白表达变化。c-caspase-3、c-caspase-9、p-AKT、p-p38MAPK 蛋白内参为 GAPDH,线粒体、胞质中 cyt-c 蛋白内参分别为 VCDA1 和 GAPDH。c-caspase-3、c-caspase-9、p-AKT、p-p38MAPK 一抗分别按照 1:400、1:400、1:600、1:600 稀释,cyt-c 抗体以 1:800 稀释。

### 1.3 统计学分析

用 SPSS21.0 软件分析实验数据,计量资料用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,多组差异比较用单因素方差分析,组间比较用 LSD-*t* 检验。

## 2 结果

### 2.1 黄芪总皂苷改善心衰大鼠心功能

黄芪总皂苷干预组大鼠 LVSP(左室收缩内压)

升高,+dp/dt<sub>max</sub>和 -dp/dt<sub>max</sub>(左室内压最大变化速率)升高,LVSP、+dp/dt<sub>max</sub>和 -dp/dt<sub>max</sub>随着黄芪总皂苷浓度的增加而增加(表 1)。

表 1 黄芪总皂苷处理后心衰大鼠心功能指标

Table 1 Cardiac function indexes of heart failure rats treated with total astragalosides ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

group	LVSP/ mmHg	+dp/dt <sub>max</sub> / (mmHg/s)	-dp/dt <sub>max</sub> / (mmHg/s)
normal	136 $\pm$ 12	8 955 $\pm$ 252	4 577 $\pm$ 2 679
model	80 $\pm$ 6 <sup>*</sup>	4 762 $\pm$ 168 <sup>*</sup>	2 054 $\pm$ 120 <sup>*</sup>
AST-L	98 $\pm$ 10 <sup>▲</sup>	5 687 $\pm$ 219 <sup>▲</sup>	2 863 $\pm$ 108 <sup>▲</sup>
AST-M	116 $\pm$ 7 <sup>▲#</sup>	7 043 $\pm$ 286 <sup>▲#</sup>	3 690 $\pm$ 228 <sup>▲#</sup>
AST-H	133 $\pm$ 8 <sup>▲#Δ</sup>	8 346 $\pm$ 297 <sup>▲#Δ</sup>	4 235 $\pm$ 220 <sup>▲#Δ</sup>

<sup>\*</sup>*P*<0.05 compared with normal group; <sup>▲</sup>*P*<0.05 compared with model group; <sup>#</sup>*P*<0.05 compared with AST-L group; <sup>Δ</sup>*P*<0.05 compared with AST-M group.

### 2.2 黄芪总皂苷抑制心衰大鼠心肌细胞凋亡

心衰大鼠模型心肌细胞凋亡率升高,c-caspase-3、c-caspase-9 蛋白表达增多;黄芪总皂苷处理后的心衰大鼠心肌细胞凋亡率降低,c-caspase-3、c-caspase-9 蛋白表达水平也降低,并且随着黄芪总皂苷浓度的增加,抗细胞凋亡效果越好(图 1,表 2)。

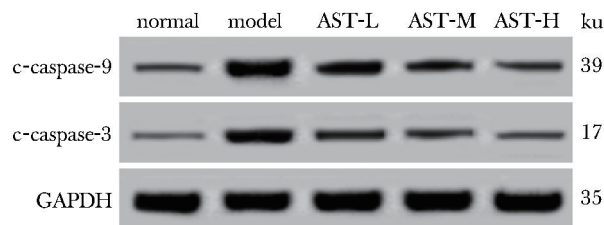


图 1 Western blot 检测黄芪总皂苷对心衰大鼠心肌组织中 c-caspase-3、c-caspase-9 蛋白表达影响

Fig 1 Western blot to detect the effects of total astragalosides on the expression of c-caspase-3 and c-caspase-9 in myocardium of rats with heart failure

### 2.3 黄芪总皂苷减轻心衰大鼠心肌组织氧化损伤

心衰大鼠模型心肌组织中抗氧化酶 SOD、GSH-PX 活性降低,MDA 含量升高;黄芪总皂苷处理后的心衰大鼠心肌组织中抗氧化酶 SOD、GSH-PX 活性升高,MDA 含量降低,并且随着黄芪总皂苷浓度的增加作用效果越强(表 3)。

表 2 黄芪总皂苷处理后心衰大鼠心肌细胞凋亡率和 c-caspase-3、c-caspase-9 蛋白表达水平影响

Table 2 Effects of total astragalosides on cardiomyocyte apoptosis rate and c-caspase-3 and c-caspase-9 protein expression in rats with heart failure ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

group	apoptosis rate/%	c-caspase-3	c-caspase-9
normal	5.98±0.57	0.17±0.02	0.32±0.04
model	29.63±2.23*	0.65±0.04*	0.98±0.09*
AST-L	22.14±1.47 <sup>▲</sup>	0.46±0.05 <sup>▲</sup>	0.67±0.04 <sup>▲</sup>
AST-M	16.35±1.10 <sup>▲#</sup>	0.34±0.03 <sup>▲#</sup>	0.55±0.05 <sup>▲#</sup>
AST-H	10.21±1.03 <sup>▲#△</sup>	0.26±0.04 <sup>▲#△</sup>	0.40±0.04 <sup>▲#△</sup>

\*P<0.05 compared with normal group; <sup>▲</sup>P<0.05 compared with model group; <sup>#</sup>P<0.05 compared with AST-L group; <sup>△</sup>P<0.05 compared with AST-M group.

表 3 黄芪总皂苷处理后心衰大鼠心肌组织中 SOD、GSH-PX 和 MDA 含量

Table 3 Contents of SOD, GSH-PX and MDA in myocardium of heart failure rats treated with total astragalosides ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

group	SOD(U/mg)	MDA(mmol/mg)	GSH-PX(U/mg)
normal	108.56±10.75	2.68±0.17	175.81±13.45
model	60.32±5.14*	4.48±0.20*	40.27±3.62*
AST-L	72.80±5.73 <sup>▲</sup>	3.96±0.12 <sup>▲</sup>	54.39±4.26 <sup>▲</sup>
AST-M	88.12±7.27 <sup>▲#</sup>	3.20±0.25 <sup>▲#</sup>	71.84±6.13 <sup>▲#</sup>
AST-H	107.54±9.55 <sup>▲#△</sup>	2.71±0.16 <sup>▲#△</sup>	95.73±8.32 <sup>▲#△</sup>

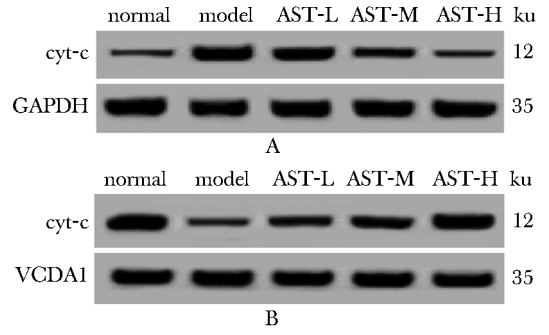
\*P<0.05 compared with normal group; <sup>▲</sup>P<0.05 compared with model group; <sup>#</sup>P<0.05 compared with AST-L group; <sup>△</sup>P<0.05 compared with AST-M group.

## 2.4 黄芪总皂苷提高心衰大鼠心肌细胞线粒体膜电位并减少线粒体释放 cyt-c

心衰大鼠模型心肌细胞线粒体膜电位降低,线粒体中 cyt-c 蛋白水平降低,胞质中 cyt-c 蛋白水平升高;黄芪总皂苷处理后的心衰大鼠心肌细胞线粒体膜电位升高,线粒体中 cyt-c 蛋白水平升高,胞质中 cyt-c 蛋白水平降低,并且随着黄芪总皂苷浓度的增加作用效果越强。黄芪总皂苷提高心衰大鼠心肌细胞线粒体膜电位,抑制线粒体释放 cyt-c(图 2,表 4)。

## 2.5 黄芪总皂苷对心衰大鼠心肌组织中 AKT、p38MAPK 信号通路影响

心衰大鼠模型心肌组织中 p-AKT/AKT 水平降低, p-p38MAPK/p38MAPK 水平升高;黄芪总皂苷处



A. cyt-c protein expression in cytoplasm of cardiac myocytes; B. cyt-c protein expression in mitochondria of cardiac myocytes

图 2 Western blot 检测黄芪总皂苷对心衰大鼠心肌细胞线粒体和胞质中 cyt-c 蛋白表达影响

Fig 2 Western blot detection of the effect of total astragalosides on the expression of cyt-c protein in mitochondria and cytoplasm of cardiac myocytes in rats with heart failure

表 4 黄芪总皂苷处理后心衰大鼠心肌细胞线粒体膜电位以及线粒体、胞质中 cyt-c 蛋白水平

Table 4 Mitochondrial membrane potential and Cyt-C protein levels in mitochondria and cytoplasm of myocardial cells in rats with heart failure treated with total astragalosides ( $\bar{x}\pm s, n=3$ )

group	mitochondrial membrane potential (red-green fluorescence ratio)	mitochondrion cyt-c	cytoplasm cyt-c
normal	3.98±0.31	1.15±0.13	0.40±0.05
model	1.23±0.17*	0.42±0.04*	1.07±0.09*
AST-L	1.92±0.21 <sup>▲</sup>	0.60±0.06 <sup>▲</sup>	0.86±0.08 <sup>▲</sup>
AST-M	2.54±0.13 <sup>▲#</sup>	0.78±0.08 <sup>▲#</sup>	0.60±0.06 <sup>▲#</sup>
AST-H	3.12±0.25 <sup>▲#△</sup>	0.99±0.10 <sup>▲#△</sup>	0.42±0.04 <sup>▲#△</sup>

\*P<0.05 compared with normal group; <sup>▲</sup>P<0.05, compared with model group; <sup>#</sup>P<0.05 compared with AST-L group; <sup>△</sup>P<0.05 compared with AST-M group.

理后的心衰大鼠心肌组织中 p-AKT/AKT 水平升高, p-p38MAPK/p38MAPK 水平降低,并且随着黄芪总皂苷浓度的增加作用效果越强。黄芪总皂苷促进心衰大鼠心肌组织中 AKT 信号激活并抑制 p38MAPK 信号激活(图 3,表 5)。

## 3 讨论

本实验结果发现,黄芪总皂苷灌胃治疗后的心衰大鼠模型心功能明显改善,并且心肌组织中细胞

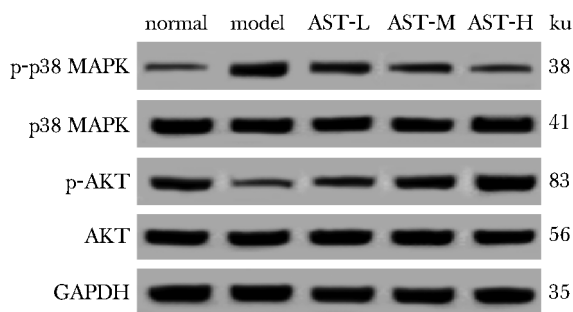


图3 Western blot 检测黄芪总皂苷处理后心衰大鼠心肌组织中 p-AKT、p-p38MAPK 蛋白表达

Fig 3 Western blot detection of p-AKT and p-p38MAPK protein expression in myocardium of rats with heart failure after total astragalosides treatment

表5 黄芪总皂苷处理后心衰大鼠心肌组织中 p-AKT、p-p38MAPK 蛋白水平

Table 5 Levels of p-AKT and p-p38MAPK protein in myocardium of rats with heart failure treated with total astragalosides ( $\bar{x} \pm s, n=3$ )

group	p-AKT/AKT	p-p38MAPK/p38MAPK
normal	0.92±0.09	0.24±0.03
model	0.21±0.02*	0.89±0.08*
AST-L	0.45±0.04 <sup>▲</sup>	0.67±0.05 <sup>▲</sup>
AST-M	0.63±0.05 <sup>▲#</sup>	0.46±0.03 <sup>▲#</sup>
AST-H	0.93±0.10 <sup>▲#△</sup>	0.29±0.04 <sup>▲#△</sup>

\* $P < 0.05$  compared with normal group; <sup>▲</sup> $P < 0.05$  compared with model group; <sup>#</sup> $P < 0.05$  compared with AST-L group; <sup>△</sup> $P < 0.05$  compared with AST-M group.

凋亡明显减少。研究报道表明,黄芪总皂苷对于心脑血管系统疾病也具有保护作用,其对于大鼠心肌缺血、心肌梗死等具有明显的改善作用,并且可以抑制病理条件下的心肌细胞凋亡<sup>[7-8]</sup>。本研究发现,黄芪总皂苷可以明显减少心衰大鼠模型心肌细胞凋亡,改善心功能,提示黄芪总皂苷能够改善心衰,这为黄芪总皂苷治疗心衰的临床应用提供了参考。

心肌细胞过度凋亡是心衰发生的重要原因,而心肌细胞过度凋亡与氧化应激有关<sup>[9]</sup>。氧化应

激条件下,氧自由基过度积累,而过量的氧自由基刺激线粒体,导致线粒体膜电位下降,使存在于线粒体中的 cyt-c 进入到细胞外,而胞质中的 cyt-c 可以激活 caspase-9, caspase-9 是 caspase 凋亡反应的起始因子,位于凋亡反应的上游,其活化后可以诱导下游凋亡执行因子 caspase-3 的活化,从而诱导细胞凋亡发生<sup>[10]</sup>。另外,细胞内过量的氧自由基可以将细胞内的脂质过氧化,产生 MDA,细胞内过量的氧自由基聚集与细胞内抗氧化酶的活性降低有关, SOD、GSH-PX 是广泛存在于细胞内的抗氧化酶,其活性的高低与细胞内氧自由基的聚集有直接关系<sup>[11]</sup>。本实验表明,黄芪总皂苷灌胃处理后的心衰大鼠心肌细胞中 SOD、GSH-PX 活性升高,MDA 含量降低,细胞中 c-caspase-3、c-caspase-9 蛋白表达减少,线粒体膜电位升高,线粒体 cyt-c 蛋白增多,胞质 cyt-c 蛋白减少,提示黄芪总皂苷可能通过抑制氧化应激诱导线粒体凋亡途径而减少心肌细胞凋亡,这为研究黄芪总皂苷抗心衰作用机制提供了参考。

黄芪总皂苷发挥药理学作用与影响细胞内信号传导有关,其可以通过降低 p38MAPK 信号通路的激活程度而改善氧化应激诱导的细胞凋亡,黄芪总皂苷还能够通过激活 AKT 信号通路而抑制缺血诱导的神经损伤<sup>[12-13]</sup>。p38MAPK 和 AKT 信号通路均与心衰有关,p38MAPK 在心衰发生时过度激活,p-p38MAPK 水平升高;激活 AKT 可以缓解心衰进展,减少心肌细胞凋亡发生<sup>[14-15]</sup>。本次实验表明,黄芪总皂苷降低心衰大鼠模型心肌组织中 p38MAPK 信号激活程度,提高 AKT 信号激活水平,提示黄芪总皂苷可能通过 p38MAPK 和 AKT 信号通路抑制氧化应激诱导的心肌细胞凋亡发生。

总之,黄芪总皂苷具有改善心衰大鼠模型心功能的作用,其可以抑制心肌细胞凋亡,作用机制可能与调控 p38MAPK 和 AKT 信号通路减少氧化应激有关。这为研究黄芪总皂苷抗心衰作用机制提供了参考,为黄芪总皂苷治疗心衰的临床应用提供了理论依据。目前对于黄芪总皂苷的具体调控机制还不明确,在今后的实验中会进行验证和探讨。

## 参考文献:

- [1] Jinshan H, Xuebin L. Letter by jin-shan and xue-bin regarding article, lower risk of heart failure and death in patients initiated on sodium-glucose cotransporter-2 inhibitors versus other glucose-lowering drugs: the cvd-real study ( comparative effectiveness of cardiovascular [ J ]. Circulation, 2018, 137:988-988.
- [2] Zhou R, Chen H, Chen J, *et al.* Extract from Astragalus membranaceus inhibit breast cancer cells proliferation via PI3K/AKT/mTOR signaling pathway [ J ]. BMC Complement Altern Med, 2018, 18:83-90.
- [3] 慕永平, 张笑, 范巍巍, 等. 黄芪总皂苷抑制 Notch 信号通路抗胆汁性肝纤维化的作用机制 [ J ]. 中华肝脏病杂志, 2017, 25:575-582.
- [4] 职玉娟, 黄水清. 黄芪总皂苷对 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 诱导心肌细胞凋亡的保护作用 [ J ]. 中药新药与临床药理, 2013, 24: 10-13.
- [5] 邓纯, 杨云华, 左袁博教, 等. 黄芪甲甙下调 CaSR 对异丙肾上腺素诱导的缺血缺氧心肌损伤的保护作用 [ J ]. 中南医学科学杂志, 2017, 45:140-144.
- [6] 桑震池, 徐三彬, 钱俊峰, 等. 黄芪总皂苷对心力衰竭大鼠心功能及左室重构的影响 [ J ]. 中西医结合心脑血管病杂志, 2017, 15:2114-2116.
- [7] 万彦婷, 洪燕, 兰天, 等. 黄芪注射液辅助治疗心血管类疾病有效性的 meta 分析 [ J ]. 江西中医药, 2011, 42:70-73.
- [8] 姬艳苏, 李亮, 赵榕慧. 黄芪总皂苷对心力衰竭大鼠钙转运的影响及机制探讨 [ J ]. 现代中西医结合杂志, 2018, 27:13-18.
- [9] Zuo S, Kong D, Wang C, *et al.* CRTH2 promotes endoplasmic reticulum stress-induced cardiomyocyte apoptosis through m-calpain [ J ]. EMBO Mol Med, 2018, 10:1-17.
- [10] Jiang W, Chen Y, Li B, *et al.* DBA-induced caspase-3-dependent apoptosis occurs through mitochondrial translocation of cyt-c in the rat hippocampus [ J ]. Mol Biosyst, 2017, 13:1863-1873.
- [11] Rui L, Zhang T, Wu D, *et al.* Production of functional human CuZn-SOD and EC-SOD in bitransgenic cloned goat milk [ J ]. Transgenic Res, 2018, 27:343-354.
- [12] Liu X, Zhang J, Wang S, *et al.* Astragaloside IV attenuates the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis of neuronal cells by inhibiting  $\alpha$ -synuclein expression via the p38 MAPK pathway [ J ]. Int J Mol Med, 2017, 40:1772-1780.
- [13] 史楠, 张燕, 李晋峰, 等. 黄芪甲苷通过 AKT-mTOR 信号通路促进脑缺血的自噬改善脑缺血再灌注损伤 [ J ]. 中国临床神经科学, 2017, 25:601-612.
- [14] Li Y, Li Z, Zhang C, *et al.* Cardiac fibroblast-specific activating transcription factor 3 protects against heart failure by suppressing map2k3-p38 signaling [ J ]. Circulation, 2017, 136:2041-2057.
- [15] Lv L, Yao Y, Zhao G, *et al.* Rutin inhibits coronary heart disease through ERK1/2 and Akt signaling in a porcine model [ J ]. Exp Ther Med, 2018, 15:506-512.