滇乌碱通过线粒体凋亡途径致大鼠心肌损伤的研究Δ

司徒莹[1*]，程婉秋[1]，沈志滨[1]，陈艳芬[1]，唐春萍[1]，陈　聪[1]，江　涛[2,3#]（1.广东药科大学中药学院，广州　510006；2.广东药科大学实验动物中心，广州　510006；3.广东省局部精准药物递药制剂工程技术研究中心，广州　510006）

中图分类号　R965；R285　　**文献标志码**　A　　**文章编号**　1001-0408（2022）23-2864-05
DOI　10.6039/j.issn.1001-0408.2022.23.09

摘　要　目的　研究滇乌碱对大鼠心肌损伤的影响及其线粒体凋亡途径相关机制。**方法**　采用随机数字表法将40只SD大鼠随机分为正常组（生理盐水），滇乌碱高、低剂量组（0.14、0.09 mg/kg），乌头碱组（阳性对照，0.88 mg/kg），每组10只，每天灌胃给药1次，连续7 d。检测大鼠血清中乳酸脱氢酶（LDH）、肌酸激酶（CK）、肌酸激酶同工酶（CK-MB）、超氧化物歧化酶（SOD）、丙二醛（MDA）水平和心肌组织中活性氧（ROS）水平，观察大鼠心肌组织病理形态学和心肌组织线粒体超微结构变化情况，检测大鼠心肌细胞凋亡情况，检测大鼠心肌组织中B淋巴细胞瘤2（Bcl-2）、Bcl-2相关X蛋白（Bax）、胱天蛋白酶9（caspase-9）、活化的胱天蛋白酶9（cleaved-caspase-9）、caspase-3和cleaved-caspase-3蛋白相对表达水平。**结果**　与正常组比较，滇乌碱高、低剂量组大鼠血清中LDH、CK、CK-MB、MDA水平和心肌细胞凋亡数量及心肌组织中ROS水平、caspase-3蛋白表达水平均显著升高/增加（$P<0.05$或$P<0.01$），血清中SOD水平和心肌组织中Bcl-2/ Bax比值显著降低（$P<0.01$），且滇乌碱高剂量组大鼠心肌组织中caspase-9、cleaved-caspase-9、caspase-3、cleaved-caspase-3蛋白相对表达水平显著升高（$P<0.05$）；两组大鼠均出现了心肌纤维排列紊乱、线粒体肿胀等病理变化。**结论**　滇乌碱可引起大鼠心肌细胞损伤。其机制可能与破坏心肌细胞膜的完整性，使心肌细胞发生氧化应激，诱导心肌细胞通过线粒体途径发生凋亡有关。

关键词　滇乌碱；心脏毒性；氧化应激；凋亡；线粒体途径；心肌损伤

Study on myocardial injury of rats induced by yunaconitine through mitochondrial apoptosis pathway

SITU Ying[1], CHENG Wanqiu[1], SHEN Zhibin[1], CHEN Yanfen[1], TANG Chunping[1], CHEN Cong[1], JIANG Tao[2,3]（1. School of Traditional Chinese Medicine, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 2. Laboratory Animal Center, Guangdong Pharmaceutical University, Guangzhou 510006, China; 3. Guangdong Engineering Research Center for Local Precise Drug Delivery, Guangzhou 510006, China）

ABSTRACT　OBJECTIVE To study the effects of yunaconitine on myocardial injury in rats and its mechanism related to mitochondrial apoptosis pathway rats. **METHODS** Forty SD rats were divided into normal group (normal saline), yunaconitine high-dose and low-dose groups (0.14, 0.09 mg/kg) and aconitine group (positive control, 0.88 mg/kg) by random number method, with 10 rats in each group. They were given relevant medicine intragastrically, once a day, for consecutive 7 days. The levels of lactate dehydrogenase (LDH), creatine kinase (CK), creatine kinase isoenzyme (CK-MB), superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in serum as well as the level of reactive oxygen species (ROS) in myocardial tissue were detected. The pathomorphological changes of myocardium and ultrastructural changes of myocardial mitochondria were all observed. The apoptosis of cardiomyocytes was determined. The protein relative expressions of B-cell lymphoma-2 (Bcl-2), Bcl-2 associated X protein (Bax), caspase-9, cleaved-caspase-9, caspase-3 and cleaved-caspase-3 were determined in myocardium of rats. **RESULTS** Compared with normal group, the serum levels of LDH, CK, CK-MB and MDA, the apoptotic numbers of cardiomyocytes, the level of ROS and protein expression of caspase-3 in myocardium were increased significantly in yunaconitine high-dose and low-dose groups ($P<0.05$ or $P<0.01$); serum level of SOD and Bcl-2/Bax ratio in myocardium were all decreased significantly ($P<0.01$); the protein relative expressions of caspase-9, cleaved-caspase-9, caspase-3 and cleaved-caspase-3 in myocardium were significantly increased in yunaconitine high-dose group ($P<0.05$); some pathomorphological changes were found in 2 groups, such as myocardial fiber disorder, mitochondrial swelling. **CONCLUSIONS** Yunacotine could cause myocardial injury in rats. Its mechanism might be related to destroying the integrity of cardiomyocyte membrane, causing oxidative stress of cardiomyocyte, and inducing the apoptosis of myocardial cells through mitochondrial pathway.

KEYWORDS　yunaconitine; cardiotoxicity; oxidative stress; apoptosis; mitochondrial pathway; myocardial injury

Δ**基金项目** 公益性行业科研专项经费项目（No.201507004）

＊**第一作者** 硕士研究生。研究方向：中药药效评价与临床应用。E-mail：916347915@qq.com

\# **通信作者** 教授，硕士生导师。研究方向：中药药效评价与临床应用。E-mail：1181894563@qq.com

黄草乌为毛茛科植物黄乌头 *Aconitum vilmorinianum* Kom.的干燥块根[1]，有剧毒，收载于2005年版《云南省中药材标准》中。黄草乌具有祛风散寒、除湿止痛的功效，临床用于治疗跌打损伤、风湿痛、手足厥冷等[2]。乌头属植物对心脏有明显毒性，能诱发不同类型的心律失常。其含有的乌头属类生物碱是主要的毒性成分，其中以乌头碱最具代表性[3]。黄草乌同属乌头属植物，其生品中所含的双酯型二萜生物碱（如滇乌碱）与乌头碱的结构相似[4]。滇乌碱是黄草乌的主要活性成分之一，但同时也是其主要毒性成分之一[5]。本课题组前期研究结果显示，黄草乌经炮制后对心脏的毒性明显降低，这与黄草乌炮制后滇乌碱含量显著降低有关[5-6]。相关研究表明，滇乌碱引起大鼠心律失常的毒性作用可能与其降低了心肌细胞线粒体能量代谢和引起了钙超载有关[7]；并且，滇乌碱还可抑制H9c2心肌细胞活性，破坏心肌细胞膜的稳定性，诱导心肌细胞凋亡[8]。但关于滇乌碱致大鼠心肌损伤与线粒体凋亡途径的相关性尚未明确。

细胞凋亡又名细胞程序性死亡，是维持机体正常新陈代谢的一种正常的生理过程。心肌细胞为高度分化的终末细胞，不具有再生能力，而过度凋亡可造成心肌细胞持续丧失，使心肌发生结构性病变[9]。现有研究表明，细胞凋亡的线粒体途径是指由于线粒体受到氧化应激、钙超载、DNA损伤等多种刺激启动凋亡程序，激活多种转录因子而引起的细胞凋亡[10]。本文基于现有研究，通过线粒体途径探究滇乌碱导致大鼠心肌细胞凋亡的机制，从而揭示滇乌碱引起大鼠心肌损伤的可能毒性机制，以期为黄草乌及其活性成分的临床安全使用提供实验依据。

1 材料

1.1 主要仪器

本研究所用的主要仪器有：VARIOSKAN型多功能微孔板读数仪[赛默飞世尔科技（中国）有限公司]，Bio-Rad型电泳仪、电转系统（Mini型蛋白电泳系统）、UV1300/1500型紫外-可见分光光度计[美析（中国）仪器有限公司]，URIT-8021A型全自动生化分析仪（桂林优利特医疗电子有限公司），LG2000型数码凝胶图像分析系统（杭州朗基科学仪器有限公司），Infinite 200 PRO型多功能荧光酶标仪（奥地利Tecan Austria GmbH公司），BX51型荧光显微镜（日本Olympus公司），JEM400 PLUS型电子透射显微镜（日本电子株式会社）。

1.2 主要药品与试剂

滇乌碱对照品（批号MUST1910，纯度≥98%）、乌头碱对照品（批号MUST1911，纯度≥98%）均购自成都曼斯特生物科技有限公司；肌酸激酶（creatine kinase，CK）检测试剂盒（批号25192028）、肌酸激酶同工酶（creatine kinase isoenzyme，CK-MB）检测试剂盒（批号25192124）、乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase，LDH）检测试剂盒（批号25191925）均购自桂林优利特医疗电子有限公司；丙二醛（malondialdehyde，MDA）检测试剂盒（批号A003）、超氧化物歧化酶（superoxide dismutase，SOD）检测试剂盒（批号A001-3-2）、BCA蛋白浓度检测试剂盒（批号A045-4-2）均购自南京建成生物工程研究所；一步法TUNEL细胞凋亡检测试剂盒（批号C1086）购自上海碧云天生物技术有限公司；活性氧（reactive oxygen species，ROS）检测试剂盒（批号C1051902）购自北京鼎国昌盛生物技术有限公司；兔源胱天蛋白酶3（caspase-3）多克隆抗体、兔源caspase-9多克隆抗体、兔源B淋巴细胞瘤2（B-cell lymphoma-2，Bcl-2）单克隆抗体、兔源3-磷酸甘油醛脱氢酶（GAPDH）单克隆抗体均购自英国Abcam公司；兔源Bcl-2相关X蛋白（Bcl-2 associated X protein，Bax）单克隆抗体购自沈阳万类生物科技有限公司；山羊抗兔辣根过氧化物酶标记的IgG二抗购自美国Bioworld公司；其他试剂均为分析纯或实验室常用规格。

1.3 动物

本研究所用的动物为SPF级SD大鼠，共40只，雌雄各半，体质量200～220 g，由广东省医学实验动物中心提供，动物生产合格证号为SCXK（粤）2018-0002。饲养环境温度为20～25 ℃，相对湿度为40%～70%。所有大鼠适应性喂养5 d后进行实验。该实验方案经广东药科大学动物实验伦理委员会批准，批准号为gdpulacspf-2017319。

2 方法

2.1 动物分组与给药

将40只SD大鼠按随机数字表法随机分为正常组、滇乌碱高剂量组（0.14 mg/kg）、滇乌碱低剂量组（0.09 mg/kg）和乌头碱组（阳性对照，0.88 mg/kg），每组10只。正常组大鼠灌胃生理盐水，各给药组大鼠灌胃相应药液，灌胃体积均为1 mL/100 g，每天灌胃1次，连续灌胃7 d。给药方案参照本课题组前期研究设置，滇乌碱高、低剂量分别为大鼠的1/4、1/6半数致死量（median lethal dose，LD_{50}），乌头碱剂量为大鼠的1/10 LD_{50}[7]。

2.2 标本采集与处理

末次灌胃1 h后，将大鼠麻醉，腹主动脉取血5 mL，将血液静置一段时间后，以3 500 r/min离心10 min，分离血清。取血后，立即打开大鼠胸腔，用生理盐水灌注心脏，取一部分左心耳心肌组织于4%多聚甲醛固定液中固定保存，另一部分左心耳心肌组织于2.5%戊二醛中固定保存；其余心肌组织于－80 ℃冻存备用。

2.3 大鼠血清中LDH、CK、CK-MB水平检测

取大鼠血清，分别按各试剂盒说明书步骤操作，使用全自动生化分析仪检测大鼠血清中心肌酶学指标LDH、CK、CK-MB的水平。

2.4 大鼠血清中MDA含量和SOD活性检测

取大鼠血清，按相应试剂盒说明书操作，使用紫外-可见分光光度法检测大鼠血清中MAD含量和SOD活性。

2.5 大鼠心肌组织中ROS水平检测

取冻存的大鼠心肌组织约50 mg，于300目尼龙网上研磨制成组织匀浆，以1 000 r/min离心5 min制备细胞悬液，加入2 mL DCFH-DA探针，在37 ℃孵育30 min，然后再以1 000 r/min离心5 min，收集细胞沉淀物。使用多功能微孔板读数仪在激发波长504 nm、发射波长529 nm处检测ROS的荧光强度，荧光强度越高表示ROS水平越高。

2.6 大鼠心肌组织病理形态学及线粒体超微结构观察

取4%多聚甲醛固定的心肌组织（每组随机选3只大鼠样本），经过脱水浸蜡、石蜡包埋、切片（厚度4 μm）、HE染色后，用中性树脂封片，于光学显微镜下观察心肌组织病理学变化。另取2.5%戊二醛固定的心肌组织（约1 mm^3的小块），经过常规的脱水、树脂渗透、烘烤、包埋、加热聚合固化、切片（厚度1 μm）、铀铅双染色、2%乙酸双氧铀染色、檬酸铅染色后，于电子透射显微镜下观察心肌组织线粒体变化。

2.7 大鼠心肌细胞凋亡检测

取“2.6”项下的心肌组织石蜡切片（厚度4 μm），脱蜡水合后，使用磷酸盐缓冲液（PBS）、蛋白酶K及封闭液预处理切片。用TdT酶反应液覆盖切片，在避光条件下以37 ℃培养60 min，再将荧光素抗体（稀释比例1∶200）覆盖切片，避光培养30 min；PBS冲洗切片后，在荧光显微镜下观察心肌细胞凋亡情况并拍照记录，每个样本选取3个视野，使用Image J V 1.8.0软件对视野内凋亡细胞进行计数，取平均值。

2.8 大鼠心肌组织中线粒体途径凋亡相关蛋白表达检测

每组随机选取3只大鼠的组织样本进行实验。称取冻存的大鼠心肌组织约1 000 mg，剪碎后加入适量裂解液提取总蛋白，并使用BCA蛋白浓度检测试剂盒测定总蛋白浓度。将提取的总蛋白配制成上样缓冲液后煮沸，进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳（浓缩胶电压60～100 V，时间为30 min；分离胶电压100～200 V，时间为60 min）分离蛋白，将蛋白转至聚偏二氟乙烯膜（Bax、Bcl-2的电转条件为300 mA、30 min，caspase-3、caspase-9的电转条件为300 mA、45 min）；用5%脱脂奶粉封闭过夜，次日加入Bax一抗（稀释比例为1∶2 000）、Bcl-2一抗（稀释比例为1∶500）、caspase-3一抗（稀释比例为1∶500）、caspase-9一抗（稀释比例为1∶1 000）、GAPDH一抗（稀释比例为1∶10 000），4 ℃孵育过夜；洗膜后，加入相应二抗（稀释比例为1∶40 000），室温孵育2 h；用ECL显色试剂盒显色，化学发光成像仪下显影并拍照，使用Image JV 1.8.0软件分析条带灰度值。以目标蛋白条带灰度值与内参GAPDH蛋白条带灰度值的比值表示各目标蛋白的相对表达水平。

2.9 统计学方法

采用SPSS 25.0软件进行统计分析。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，组间两两比较采用LSD-t检验。检验水准$\alpha=0.05$。

3 结果

3.1 滇乌碱对大鼠血清中心肌酶学指标的影响

与正常组比较，滇乌碱高、低剂量组和乌头碱组大鼠血清中LDH、CK、CK-MB水平均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$），详见表1。

表1 各组大鼠血清中LDH、CK、CK-MB水平检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$，U/L）

组别	LDH	CK	CK-MB
正常组	568.80±141.75	636.30±135.30	139.50±73.12
滇乌碱高剂量组	781.70±158.26[a]	1 149.00±228.51[a]	226.04±76.29[a]
滇乌碱低剂量组	739.80±182.25[b]	1 118.40±286.17[a]	212.50±64.67[b]
乌头碱组	782.30±151.09[a]	1 063.40±173.07[a]	222.00±60.20[b]

a：与正常组比较，$P<0.01$；b：与正常组比较，$P<0.05$

3.2 滇乌碱对大鼠血清中MDA含量和SOD活性的影响

与正常组比较，滇乌碱高、低剂量组和乌头碱组大鼠血清中MDA含量均显著升高（$P<0.05$或$P<0.01$），SOD活性均显著降低（$P<0.01$），详见表2。

表2 各组大鼠血清中MDA含量和SOD活性检测结果（$\bar{x}\pm s$，$n=10$）

组别	MDA含量/(nmol/mL)	SOD活性/(U/mL)
正常组	0.40±0.05	11.05±0.40
滇乌碱高剂量组	0.49±0.04[a]	10.32±0.24[a]
滇乌碱低剂量组	0.46±0.04[b]	10.43±0.31[a]
乌头碱组	0.50±0.09[a]	10.41±0.30[a]

a：与正常组比较，$P<0.01$；b：与正常组比较，$P<0.05$

3.3 滇乌碱对大鼠心肌组织中ROS水平的影响

与正常组[ROS荧光强度为5.61±0.34（$n=10$）]比较，滇乌碱高、低剂量组和乌头碱组大鼠心肌组织中ROS水平[ROS荧光强度依次为7.57±0.81、7.38±0.97、8.71±1.17（$n=10$）]均显著升高（$P<0.01$）。

3.4 滇乌碱对大鼠心肌组织病理形态学及线粒体超微结构的影响

3.4.1 心肌组织病理形态学 光镜下，正常组大鼠心肌组织细胞排列紧凑、规整，心肌细胞形态及细胞核无异常变化。与正常组比较，各给药组大鼠心肌细胞排列不紧凑，胞间空隙增大，心肌细胞的胞质出现明显空泡，部分细胞核固缩，少量心肌纤维出现断裂，其中以滇乌碱高剂量组大鼠的病变程度最高。结果见图1。

3.4.2 心肌组织线粒体超微结构 电镜下，正常组大鼠心肌组织线粒体超微结构无明显变化，线粒体嵴丰富，未见明显肿胀。滇乌碱高、低剂量组大鼠心肌组织线粒体大小不等、分布紊乱，少数线粒体明显肿胀、空泡化、嵴断裂、嵴减少，可见圆盘状嵴线粒体，少数线粒体体积缩小、内嵴扩张，偶见线粒体自噬。乌头碱组大鼠心肌

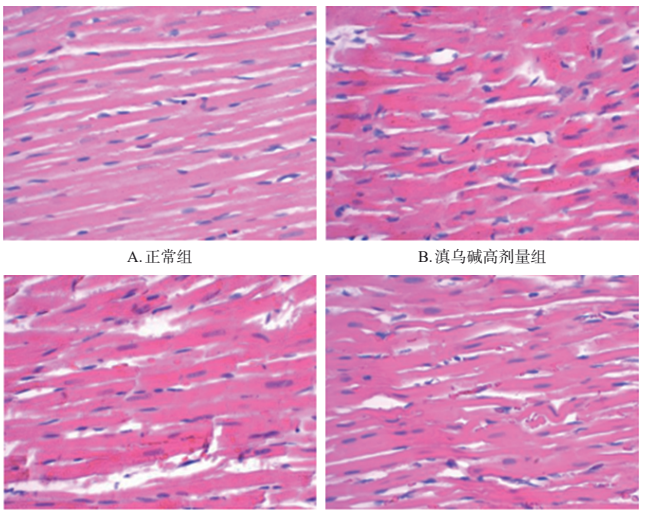


图1　各组大鼠心肌组织病理形态学显微图（HE染色，×400）

组织线粒体大小不等、分布明显紊乱，少数线粒体明显肿胀、空泡化、嵴断裂、嵴减少，偶见线粒体自噬。结果见图2。

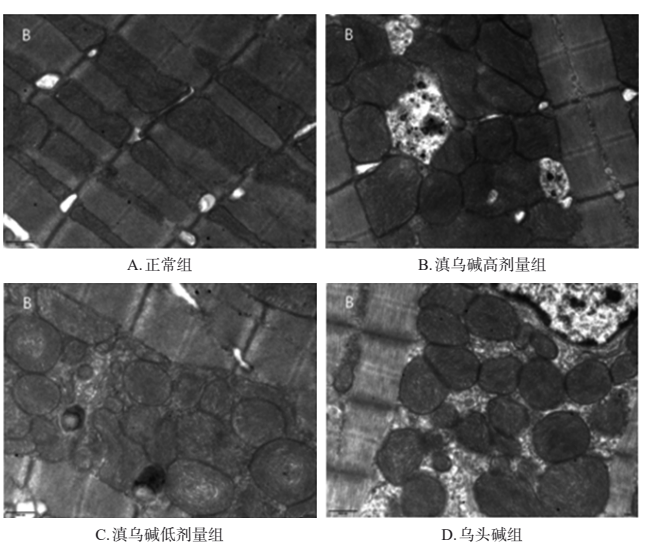


图2　各组大鼠心肌组织线粒体超微结构显微图（×25 000）

3.5　滇乌碱对大鼠心肌细胞凋亡的影响

与正常组[每个视野中凋亡细胞数为（10.00±7.90）个（n=3）]比较，滇乌碱高、低剂量组和乌头碱组大鼠心肌凋亡细胞数[每个视野中凋亡细胞数依次为（213.20±50.61）、（74.60±12.05）、（140.80±31.14）个（n=3）]显著增加（P<0.01）。结果见图3。

3.6　滇乌碱对大鼠心肌组织中线粒体途径凋亡相关蛋白表达的影响

与正常组比较，滇乌碱高剂量组和乌头碱组大鼠心肌组织中Bcl-2/Bax比值显著降低（P<0.01），caspase-9、cleaved-caspase-9、caspase-3、cleaved-caspase-3蛋白相对表达水平均显著升高（P<0.05或P<0.01）；滇乌碱低剂量组大鼠心肌组织中Bcl-2/Bax比值显著降低（P<0.01），caspase-3蛋白相对表达水平显著升高（P<0.05）。结果见图4、表3。

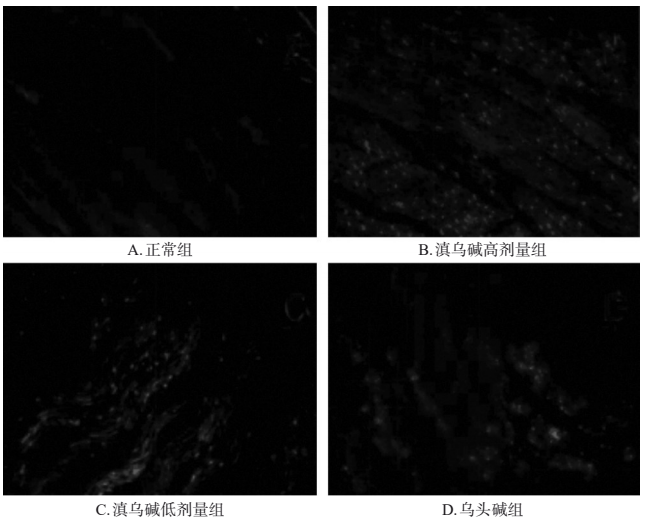


图3　各组大鼠心肌细胞凋亡荧光显微图（×200）

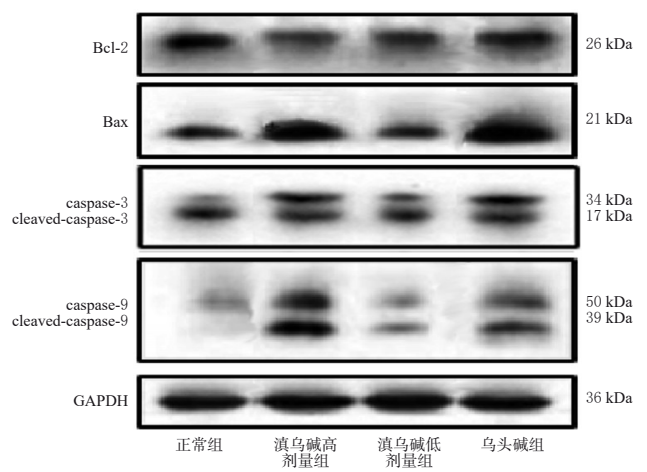


图4　各组大鼠心肌组织中线粒体途径凋亡相关蛋白表达的电泳图

表3　各组大鼠心肌组织中线粒体途径凋亡相关蛋白相对表达水平检测结果（$\bar{x}\pm s$，n=3）

组别	Bcl-2/Bax	caspase-9/GADPH	cleaved-caspase-9/GADPH	caspase-3/GADPH	cleaved-caspase-3/GADPH
正常组	0.74±0.10	0.11±0.03	0.06±0.01	0.13±0.03	0.40±0.06
滇乌碱高剂量组	0.32±0.04[a]	0.32±0.06[b]	0.21±0.12[b]	0.26±0.05[b]	0.57±0.09[b]
滇乌碱低剂量组	0.56±0.05[a]	0.21±0.04	0.08±0.03	0.26±0.10[b]	0.47±0.05
乌头碱组	0.46±0.03[a]	0.30±0.14[b]	0.28±0.04[b]	0.35±0.05[a]	0.68±0.07[a]

a：与正常组比较，P<0.01；b：与正常组比较，P<0.05

4　讨论

心肌酶谱包括LDH、CK、CK-MB，主要存在于心肌细胞中，是检测心肌损伤的重要指标[11-12]。当心肌细胞受损时，细胞膜通透性发生变化，LDH、CK、CK-MB在血清中的水平会明显升高。本研究结果显示，滇乌碱给药后，大鼠心肌组织发生心肌纤维断裂、空隙变大及细胞核固缩，心肌细胞膜的完整性遭到破坏，血清中LDH、CK、CK-MB水平显著升高，这提示滇乌碱可致心肌细胞损伤。

氧化应激是心肌损伤的主要病理因素，而ROS是引起细胞氧化应激的主要因子，SOD活性及MDA含量能反映细胞脂质过氧化损伤程度[13-14]。线粒体是心肌细胞重要的细胞器，参与细胞能量代谢等活动。正常线粒体产生的ROS可被SOD等抗氧化酶清除，从而将ROS维持在较低水平[15]。当细胞蓄积过量ROS时，会破坏线粒体和内质网等细胞器的蛋白质和脂质类物质，导致其功能和细胞内氧利用率下降，细胞进行无氧呼吸产生乳酸，而乳酸堆积会促使心肌细胞发生氧化应激，出现细胞膜结构改变和功能障碍，引起细胞膜的通透性增大，促使LDH、CK释放量增加[16]。本研究发现，滇乌碱能使大鼠心肌组织中ROS和MDA水平显著升高、SOD活性显著降低，并使心肌细胞线粒体出现大小不均、肿胀、空泡等改变，这提示滇乌碱可引起心肌细胞的氧化应激反应，导致心肌细胞线粒体损伤。

线粒体是心肌细胞内源性凋亡的调控中心，其功能主要受Bcl-2蛋白家族的影响，并以Bax和Bcl-2为主要影响因子。细胞受到凋亡信号刺激时，Bcl-2/Bax比值的高低决定细胞是否进入凋亡程序（Bcl-2/Bax比值异常降低时细胞进入凋亡程序）[17]。caspase-9启动的细胞凋亡途径为内源性途径（又称为线粒体途径），与线粒体损伤有关；caspase-3是关键的凋亡程序执行分子，一旦caspase-3被激活，凋亡程序便无法终止[18]。氧化应激与细胞凋亡间存在紧密联系，心肌细胞氧化损伤时产生的大量ROS与线粒体DNA直接接触，使DNA损伤后激活Bcl-2家族促凋亡蛋白在线粒体膜上表达，促进细胞凋亡[19]。当细胞内Bcl-2水平降低或Bax水平升高时，线粒体通透性转换孔开放，线粒体的膜电位消失，线粒体膜上大量细胞色素C释放至细胞浆中，并激活caspase-9酶原成为cleaved-caspase-9，cleaved-caspase-9又可激活下游的caspase-3成为cleaved-caspase-3，最终导致细胞凋亡[20]。本研究结果显示，滇乌碱给药后可导致大鼠心肌细胞凋亡，降低其心肌组织中Bcl-2/Bax比值，并升高其心肌组织中caspase-9、cleaved-caspase-9、caspase-3、cleaved-caspase-3蛋白相对表达水平，这提示滇乌碱可通过线粒体途径促进大鼠心肌细胞凋亡。

综上所述，滇乌碱可引起大鼠心肌细胞损伤，其机制可能与破坏心肌细胞膜的完整性，使心肌细胞发生氧化应激，诱导心肌细胞通过线粒体途径发生凋亡有关。但其对心脏毒性的具体作用机制还有待深入研究。

参考文献

[1] 关克俭.中国植物志：第27卷[M].北京：科学出版社，1979：245.

[2] 云南省食品药品监督管理局.云南省中药材标准：第七册[M].昆明：云南科技出版社，2013：69-70.

[3] 林玥，丁涛，陈革，等.苦参总碱对乌头碱诱发心肌细胞凋亡的保护作用[J].中药药理与临床，2021，37(6)：32-37.

[4] 俞昌喜，黄凌燕，唐希灿.滇乌碱及其类似物镇痛效应的构效关系[J].福建医学院学报，1996，30(1)：10-12.

[5] 王丽苹，陈强威，沈志滨，等.黄草乌及其炮制品的毒性和镇痛作用研究[J].中药材，2018，41(8)：1864-1868.

[6] 黎虽宇，刘小赟，唐春萍，等.黄草乌炮制前后生物碱含量及心脏毒性差异研究[J].中草药，2018，49(23)：5588-5593.

[7] 张祉思，程婉秋，江涛，等.基于钙超载研究滇乌碱诱导大鼠心律失常的毒性机制[J].中国药房，2021，32(23)：2854-2858.

[8] 温玉莹，王丽苹，沈志滨，等.黄草乌及其炮制品对心脏毒性的作用和机制研究[J].中药材，2019，42(6)：1277-1282.

[9] 雷雨，任静，付蓉，等.心力衰竭与心肌细胞凋亡及中医药研究进展[J].中医药临床杂志，2021，33(9)：1834-1837.

[10] 房佳惠，杨巍.Bcl-2家族蛋白对心肌细胞凋亡作用的研究进展[J].现代医学，2017，45(7)：996-1000.

[11] 马永洁，朱丹，钟芝茵，等.人参皂苷Rg_1和丹参酮ⅡA配伍对缺氧-复氧损伤心肌细胞的保护作用[J].军事医学科学院院刊，2010，34(3)：243-246.

[12] 陈文彬，潘祥林.诊断学[M].7版.北京：人民卫生出版社，2008：392.

[13] 李磊，邹丽绢，胡立群，等.柚皮素对LPS致心肌细胞损伤炎症及氧化应激的保护作用[J].现代免疫学，2022，42(2)：127-132.

[14] 耿栋栋，苏淑红，杜慧清，等.香叶木苷对异丙肾上腺素诱导的大鼠心脏功能紊乱和氧化应激的影响及其分子机制[J].河南大学学报(医学版)，2022，41(2)：103-109.

[15] 徐佩尔，颜雪芸，周乐，等.血塞通(三七皂苷)对缺氧/复氧诱导的H9c2心肌细胞氧化损伤的抑制作用[J].中国临床药理学杂志，2022，38(2)：113-117.

[16] GAO Z J，WANG H L，ZHANG B，et al. Trehalose inhibits H_2O_2-induced autophagic death in dopaminergic SH-SY_5Y cells via mitigation of ROS-dependent endoplasmic reticulum stress and AMPK activation[J]. Int J Med Sci，2018，15(10)：1014-1024.

[17] KORSMEYER S J，SHUTTER J R，VEIS D J，et al. Bcl-2/Bax：a rheostat that regulates an anti-oxidant pathway and cell death[J]. Semin Cancer Biol，1993，4(6)：327-332.

[18] 蒋显.线粒体释放细胞凋亡因子的机理研究[D].北京：北京协和医学院，2014.

[19] SOUMYA R S，PRATHAPAN A，RAJ P S，et al. Selenium incorporated guar gum nanoparticles safeguard mitochondrial bioenergetics during ischemia reperfusion injury in H9c2 cardiac cells[J]. Int J Biol Macromol，2018，107(Pt A)：254-260.

[20] WU C C，BRATTON S B.Regulation of the intrinsic apoptosis pathway by reactive oxygen species[J].Antioxid Redox Signal，2013，19(6)：546-558.

（收稿日期：2022-06-23　修回日期：2022-10-25）

（编辑：林　静）