

- [12] 杨文萍, 孔冰冰, 赵欣, 等. 辛伐他汀对脓毒症小鼠肺损伤的保护作用[J]. 实用药物与临床, 2017, 20(7): 733-736.
- [13] Silvestre M C, Reis V M S D. Evaluation of the profile of inflammatory cytokines, through immunohistochemistry, in the skin of patients with allergic contact dermatitis to nickel in the acute and chronic phases[J]. *An Bras Dermatol*, 2018, 93(6): 829-835.
- [14] Levi M. The coagulant response in sepsis and inflammation[J]. *Hamostaseologie*, 2010, 30(1): 10-12; 14-16.
- [15] 章小山. 常山酮通过 CD14/NF- $\kappa$ B 通路调控 LPS 诱导的大鼠急性肺损伤免疫系统紊乱[J]. 中国免疫学杂志, 2018, 34(6): 861-865.
- [16] Monmai C, Go S H, Shin I S, et al. Immune-enhancement effect of *Asterias amurensis* fatty acids through NF- $\kappa$ B and MAPK pathways on RAW 264.7 Cells[J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2017, 28(3): 349-356.
- [17] 刘辉, 刘宇飞, 李向东, 等. Toll 样受体 4 抑制剂 C34 灌服对大鼠脓毒症急性肺损伤的治疗作用及其机制探讨[J]. 山东医药, 2016, 56(23): 44-46.
- [18] Kong D L, Wang Z F, Tian J. Glycyrrhizin inactivates toll-like receptor (TLR) signaling pathway to reduce lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting TLR2[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(4): 4597-4607.
- [19] 刘伟, 董雪松, 刘晓伟, 等. Toll 样受体 4 在百草枯中毒急性肺损伤中的作用[J]. 中国医科大学学报, 2017, 46(1): 7-10; 16.
- [20] 丁岗强, 康谊, 刘俊平, 等. 甘草甜素对脓毒症小鼠急性肺损伤保护作用的实验研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2014, 24(19): 4742-4744.

## 强心颗粒对心气虚兼血瘀水肿证心衰大鼠心肌细胞线粒体凋亡的影响

肖军<sup>1</sup>, 部帅<sup>2</sup>, 李珩<sup>3</sup>, 周杰<sup>2</sup>, 吕林懋<sup>4</sup>, 林家茂<sup>1\*</sup>

(1. 山东省肿瘤防治研究院内科五病区, 山东 济南 250117; 2. 山东中医药大学第二附属医院心血管科, 山东 济南 250001; 3. 淄博市中心医院中医科, 山东 淄博 255020; 4. 山东大学齐鲁医院急诊科, 山东 济南 250012)

**摘要:** 目的 探索强心颗粒对慢性心力衰竭心气虚兼血瘀水肿证大鼠心肌细胞线粒体凋亡的影响。方法 50 只大鼠随机分为正常组、模型组、缬沙坦组 (13.35 mg/kg)、强心颗粒组 (9.26 g/kg), 采用阿霉素联合丙基硫氧嘧啶双重因子攻击技术建立大鼠模型。灌胃给药 4 周后, 检测大鼠的心肌细胞线粒体超微结构、线粒体跨膜电位、心肌组织 ATP 水平, Western blot 法检测 Cyto-C、Cleaved-caspase-3、Cleaved-caspase-9、Bcl-2、Bax 蛋白表达。**结果** 与模型组比较, 强心颗粒组大鼠心肌细胞线粒体超微结构改善, 线粒体跨膜电位下降心肌细胞比例显著减少 ( $P < 0.01$ ), 心肌组织 ATP 水平显著增加 ( $P < 0.01$ ), Cyto-C、Cleaved-caspase-3、Cleaved-caspase-9 蛋白表达显著减低 ( $P < 0.01$ ), Bcl-2/Bax 比率显著升高 ( $P < 0.01$ ), 且显著优于缬沙坦组 ( $P < 0.01$ )。**结论** 强心颗粒可通过调控线粒体凋亡通路来改善慢性心力衰竭心气虚兼血瘀水肿证大鼠的心功能及预后。

**关键词:** 强心颗粒; 慢性心力衰竭; 心气虚兼血瘀水肿证心衰大鼠模型; 线粒体凋亡通路

中图分类号: R285.5

文献标志码: A

文章编号: 1001-1528(2019)10-2353-06

doi:10.3969/j.issn.1001-1528.2019.10.014

## Effects of Qiangxin Granules on mitochondrial apoptosis of myocardial cells in rats with heart failure of patterns of Heart-Qi Deficiency Blood Stasis and Edema

收稿日期: 2018-08-10

基金项目: 山东省自然科学基金重点项目 (ZR2009CZ007); 山东省自然科学基金中青年科学家奖励基金 (ZR2016HB01, ZR2016HB60); 山东省中医药科技发展计划项目任务书 (2017-176)

作者简介: 肖军(1970—), 男, 硕士, 副主任医师, 从事中医药治疗心脏、肿瘤疾病研究。Tel: 13964039996, E-mail: xiaojun166my@163.com

\*通信作者: 林家茂(1986—), 男, 博士, 主治医师, 从事中医药治疗心脏、肿瘤疾病研究。Tel: 18615538892, E-mail: linjiamao@126.com

XIAO Jun<sup>1</sup>, BU Shuai<sup>2</sup>, LI Heng<sup>3</sup>, ZHOU Jie<sup>2</sup>, LÜ Lin-mao<sup>4</sup>, LIN Jia-mao<sup>1\*</sup>

(1. The 5th Ward of Internal Medicine, Shandong Provincial Institute of Cancer Prevention and Treatment, Jinan 250117, China; 2. Department of Cardiology, The Hospital Affiliated to Shandong University of TCM, Jinan 250001, China; 3. TCM Department, Zibo Central Hospital, Zibo 255020, China; 4. Emergency Department, Qilu Hospital of Shandong University, Jinan 250012, China)

**KEY WORDS:** Qiangxin Granules; chronic heart failure; heart failure rat models of patterns of Heart-Qi Deficiency, Blood Stasis and Edema; mitochondrial apoptosis pathway

基于慢性心力衰竭心气虚兼血瘀水肿证大鼠模型<sup>[1]</sup> (专利号 ZL201410271759.3), 前期实验证实强心颗粒可以通过拮抗氧化应激诱导的心肌细胞凋亡改善模型大鼠的心功能及预后, Rac-1 蛋白可能是强心颗粒干预慢性心力衰竭心气虚兼血瘀水肿证的重要蛋白靶标<sup>[2-3]</sup>。本实验根据上述结果提出假设, 线粒体凋亡通路可能是强心颗粒调控模型大鼠心肌细胞凋亡的重要机制, 并对此进行研究。

## 1 材料

1.1 动物 SPF 级雄性 SD 大鼠 50 只, 3~4 周龄, 体质量 (200±15) g, 购自济南朋悦实验动物繁殖有限公司, 动物生产合格证号 SCXK (鲁) 2014-0007。动物饲养及观察在山东省肿瘤防治研究院实验中心进行, 每笼 3~5 只, 自然采光, 标准饲料喂养, 自由饮水。

1.2 试药 强心颗粒组方药材为黄芪、炒白术、干姜、水蛭、茯苓、车前子、枳实、葶苈子、炙甘草。取上述 9 味药材, 加 10 倍量水煎煮 1 h, 过滤, 药渣再加 8 倍量水煎煮 1 h, 过滤, 2 次药液合并, 减压浓缩 (70~80 °C、-0.08~-0.07 MPa) 至相对密度 1.25~1.30 的稠膏, 加适量糊精混合均匀, 制成颗粒, 60 °C 以下烘干, 整粒, 分装, 规格每袋 9 g, 每包 12 袋, 每袋相当于原生药材 17.31 g, 由山东中医药大学第二附属医院药剂科制备提供。盐酸阿霉素 (ADM) 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; 丙基硫氧嘧啶 (6-丙基-2-硫尿嘧啶, PTU) 购自美国 Sigma-Aldrich 公司; 缬沙坦 (VAL) 购自上海阿拉丁生化科技股份有限公司; RIPA 裂解液 (强) 购自上海碧云天生物技术有限公司; BCA 蛋白浓度测定试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司; 细胞悬液制备 (组织消化) 试剂盒购自南京凯基生物技术有限公司; 细胞凋亡线粒体膜电位检测试剂盒 (JC-10) 购自南京凯基生物技术有限公司; 组织 ATP 测试试剂盒购自南京建成生物工程研究所; Cyto-C、Cleaved-caspase-3、Cleaved-caspase-9、Bel-2、Bax 抗体购自美国 Sigma-Aldrich 公司; GAPDH 抗体购

自美国 Sigma-Aldrich 公司。

1.3 仪器 正置荧光显微镜 (型号 Nikon 80i) 购自日本尼康公司; 流式细胞仪 (型号 FACS Aria II) 购自美国 BD 公司; 透射电子显微镜 (型号 JEOL-1200EXI) 购自日本电子 JEOL 公司。

## 2 方法

2.1 分组及给药 按体质量随机选 10 只大鼠作为正常组, 其余 40 只大鼠采用阿霉素联合丙基硫氧嘧啶双重因子攻击技术复制成慢性心力衰竭心气虚兼血瘀水肿证模型。造模结束时, 正常组大鼠无死亡, 模型组大鼠死亡 5 只, 存活成模大鼠按体质量随机分为模型组 12 只、缬沙坦组 11 只、强心颗粒组 12 只, 缬沙坦、强心颗粒均给予临床等效剂量<sup>[3]</sup>, 按照体表面积折算给药量, 缬沙坦以 13.35 mg/kg 剂量灌胃, 强心颗粒以 9.26 g/kg 剂量灌胃; 正常组、模型组给予生理盐水灌胃。将缬沙坦与强心颗粒分别溶于生理盐水中, 配制成质量浓度为 1.07 mg/mL 与 0.74 g/mL 的混悬液, 灌胃前涡旋仪充分混匀, 给药体积为 12.5 mL/kg, 共干预 4 周。

2.2 心肌细胞线粒体超微结构观察 各组按体质量随机选取 5 只大鼠, 冰上快速取约 1 mm<sup>3</sup> 大鼠心尖部内膜面心肌, 2.5% 戊二醛固定, 1% 锇酸再固定, 按标准流程逐级梯度酒精脱水, 丙酮冲洗, 环氧树脂包埋固定, 超薄切片机切片, 醋酸铀和柠檬铅电子染色, 透射电镜观察、摄片<sup>[4-5]</sup>。

2.3 心肌细胞线粒体跨膜电位检测 利用细胞悬液制备 (组织消化) 试剂盒提取心肌细胞, 冰上将送检电镜剩余部分心肌组织剪成 3 mm<sup>3</sup> 小块, 漂洗后加入消化酶进行消化, 电磁搅拌棒振荡, 10% 胎牛血清终止消化, 细胞筛过滤后离心, 弃上清, 沉淀加入培养液, 轻轻吹打制成细胞悬液, 显微镜计数。利用细胞凋亡线粒体膜电位检测试剂盒 (JC-10) 检测心肌线粒体跨膜电位, 收集细胞 1×10<sup>6</sup>/Test, PBS 洗涤细胞 2 次; 吸取 500 μL 1×Incubation Buffer, 稀释预热至 37 °C, 加入 1 μL JC-10, 涡旋混匀配成 JC-10 工作液; 取 JC-10 工作液

使细胞均匀悬浮后, 37 ℃, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱孵育 15 min。离心收集细胞, 洗涤 2 次; 吸取 500 μL 1×Incubation Buffer 再次悬浮细胞。荧光显微镜观察。JC-10 (Enhanced JC-1) 是一种阳离子脂质荧光染料, 作为检测跨膜电位的指示剂<sup>[6]</sup>, 跨膜电位较高时, JC-10 红色荧光; 在跨膜电位较低时, JC-10 产生绿色荧光, 并利用流式细胞仪进一步行定量分析。

**2.4 心肌组织 ATP 水平测定** 低温冲洗后切取剩余大鼠心脏, 称取 100 mg 心肌组织, 剩余组织于 -80 ℃ 冰箱中保存, 加入 900 μL 煮沸双蒸水制备成 10% 匀浆液, 然后置于高温沸水浴箱中 10 min, 反复混合摇匀, 室温、3 500 r/min 离心 10 min, 离心后抽取上清液, 利用 ATP 检测试剂盒、可见分光光度计检测心肌 ATP 水平。

**2.5 Western blot** 从 -80 ℃ 冰箱取出冻存心肌组织, 经 RIPA 裂解液提取组织全蛋白, BCA 蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白样品浓度; 加样, 蛋白 10 μg/孔, SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳法于 100 V 电泳 1.5 h; 采用 0.22 μm 孔径的 PVDF 膜, 制作三明治, 200 mA 转膜 1 h; 5% 脱脂牛奶室温封闭至少 1 h; 加入一抗。摇床 4 ℃ 过夜孵育; 第 2 天洗膜后加入辣根过氧化物酶标记的二抗, 室温孵育 1 h, 洗膜; ECL 发光液 (1 : 1 等比例) 显色, Image Pro-plus 6.0 图像分析系统对条带丰度进行分

析。每组重复 3 次。

**2.6 统计学分析** 采用 SPSS 17.0 软件进行处理, 计量资料以 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 若方差齐时, 采用方差分析或 *t* 检验; 若方差不齐时, 采用 Games-Howell 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

### 3 结果

**3.1 死亡率** 治疗期间, 正常组未死亡, 模型组死亡 5 只 (死亡率 41.67%), 缬沙坦组死亡 2 只 (死亡率 18.18%), 强心颗粒组死亡 2 只 (死亡率 16.67%)。死亡大鼠解剖后, 均发现肝脏淤血、肿大, 大量腹腔积液, 提示心力衰竭发生。

**3.2 线粒体超微结构** 如图 1 所示, 正常组心肌细胞内肌原纤维排列规整, 肌小节明、暗带及 Z 线清晰, 心肌线粒体排列整齐、结构清晰, 线粒体嵴结构完整; 模型组大鼠肌原纤维排列紊乱, 明、暗带及 Z 线难以分辨, 心肌线粒体排列紊乱, 线粒体明显变形肿胀、聚集融合, 内部结构破坏严重, 部分线粒体可见明显空泡化, 线粒体嵴结构模糊不清, 或断裂、缺失; 缬沙坦组心肌细胞内结构改观, 肌原纤维明、暗带及 Z 线尚能分辨, 线粒体肿胀、部分融合, 结构相对完整, 线粒体嵴尚为清楚; 强心颗粒组心肌细胞内结构明显改观, 肌原纤维明、暗带及 Z 线较为清晰, 线粒体轻度肿胀, 排列较整齐, 线粒体嵴结构较为清楚。

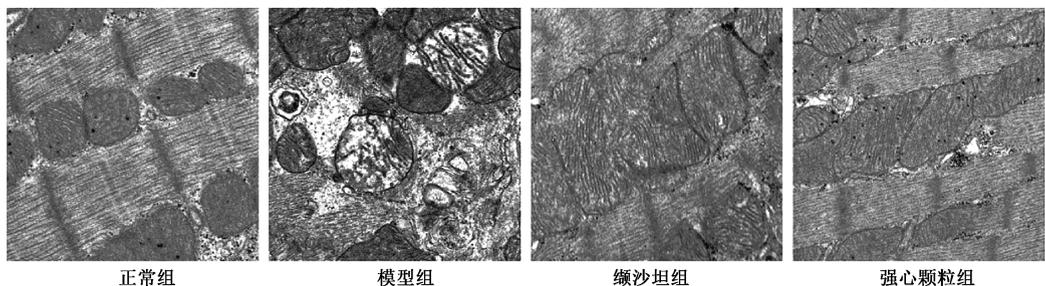


图 1 各组心肌细胞线粒体超微结构 (×15 000)

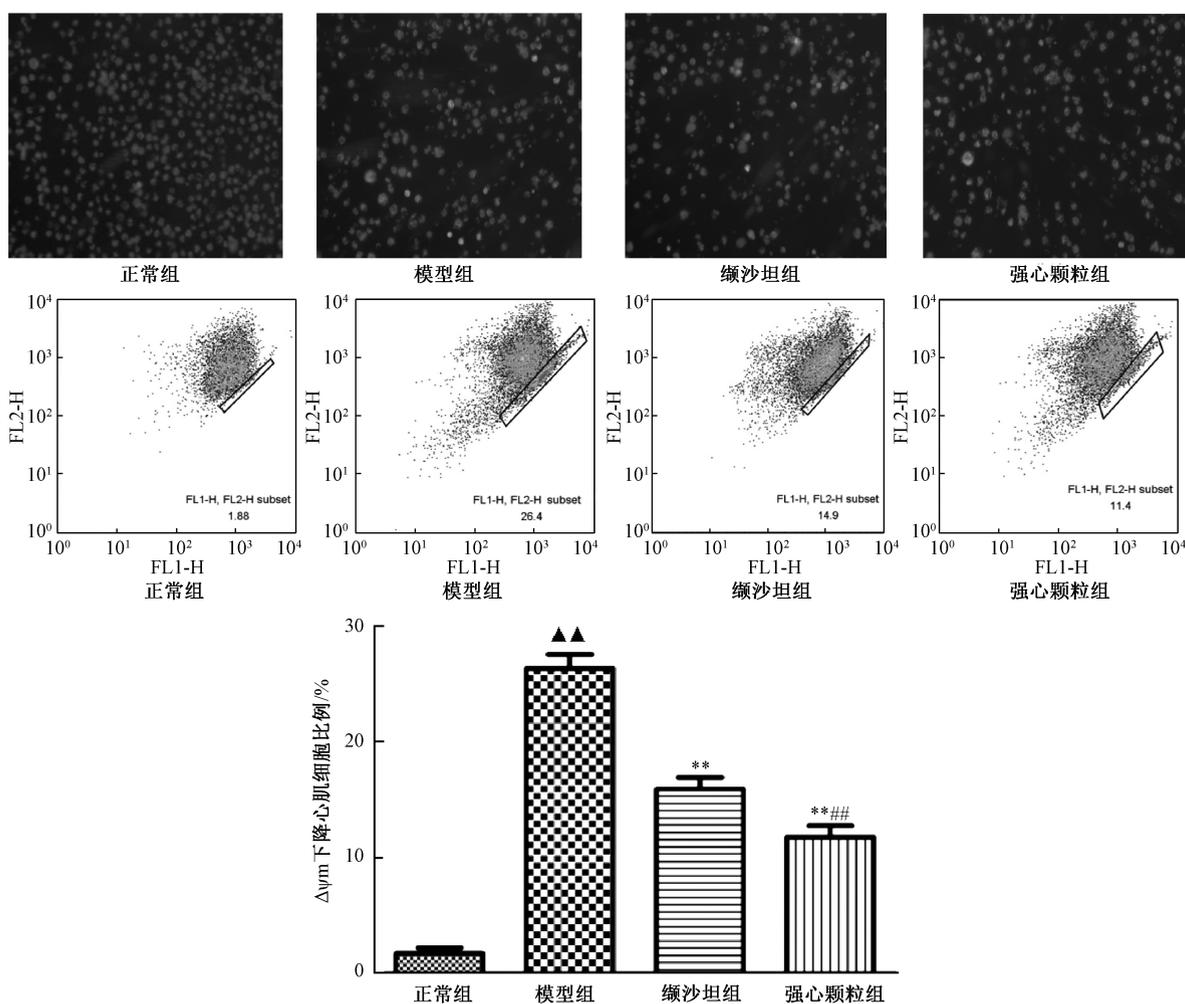
Fig. 1 Ultrastructures of mitochondria of cardiac muscle cells in various groups (×15 000)

**3.3 线粒体跨膜电位下降心肌细胞比例** 如图 2 所示, 流式细胞检测与正常组比较, 模型组线粒体跨膜电位下降心肌细胞比例显著升高 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 缬沙坦组、强心颗粒组线粒体跨膜电位下降心肌细胞比例显著减低 ( $P < 0.01$ ), 以强心颗粒组更显著 ( $P < 0.01$ )。

**3.4 心肌组织 ATP 水平** 心肌细胞在凋亡过程中, 线粒体合成 ATP 能力会显著下降<sup>[7]</sup>。如图 3 所示, 与正常组比较, 模型组心肌组织 ATP 水平

显著减低 ( $P < 0.01$ ); 与模型组比较, 缬沙坦组、强心颗粒组心肌组织 ATP 水平显著升高 ( $P < 0.01$ ), 以强心颗粒组更显著 ( $P < 0.01$ )。

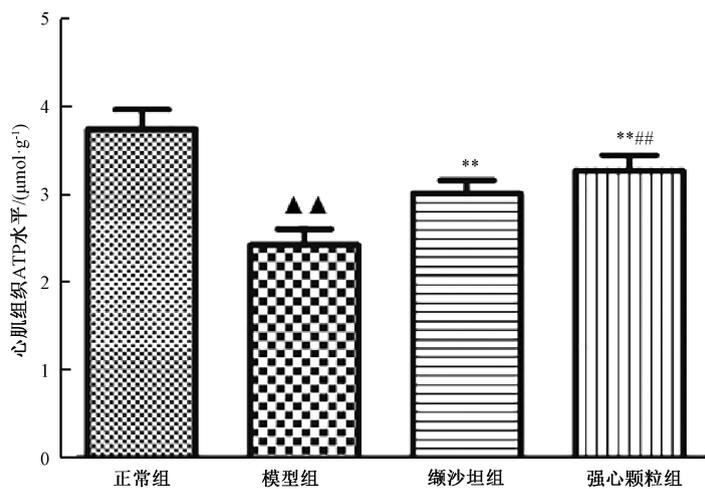
**3.5 线粒体凋亡通路相关调控分子** Cyto-C 位于线粒体外膜和内膜之间的空隙中, 线粒体凋亡通路激活时, Cyto-C 被释放到细胞质<sup>[7]</sup>。Cleaved-caspase-3、Cleaved-caspase-9 分别作为 Caspase-3、Caspase-9 的活化形式, 都属于 Caspase 家族, 是线粒体凋亡通路的关键调控蛋白酶<sup>[8]</sup>。Bcl-2/Bax 比



注：与正常组比较， $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$ ；与模型组比较， $**P < 0.01$ ；与缬沙坦组比较， $###P < 0.01$

图2 各组线粒体跨膜电位下降心肌细胞比例

Fig. 2 Proportions of myocardial cells with decreased mitochondrial transmembrane potential in various groups



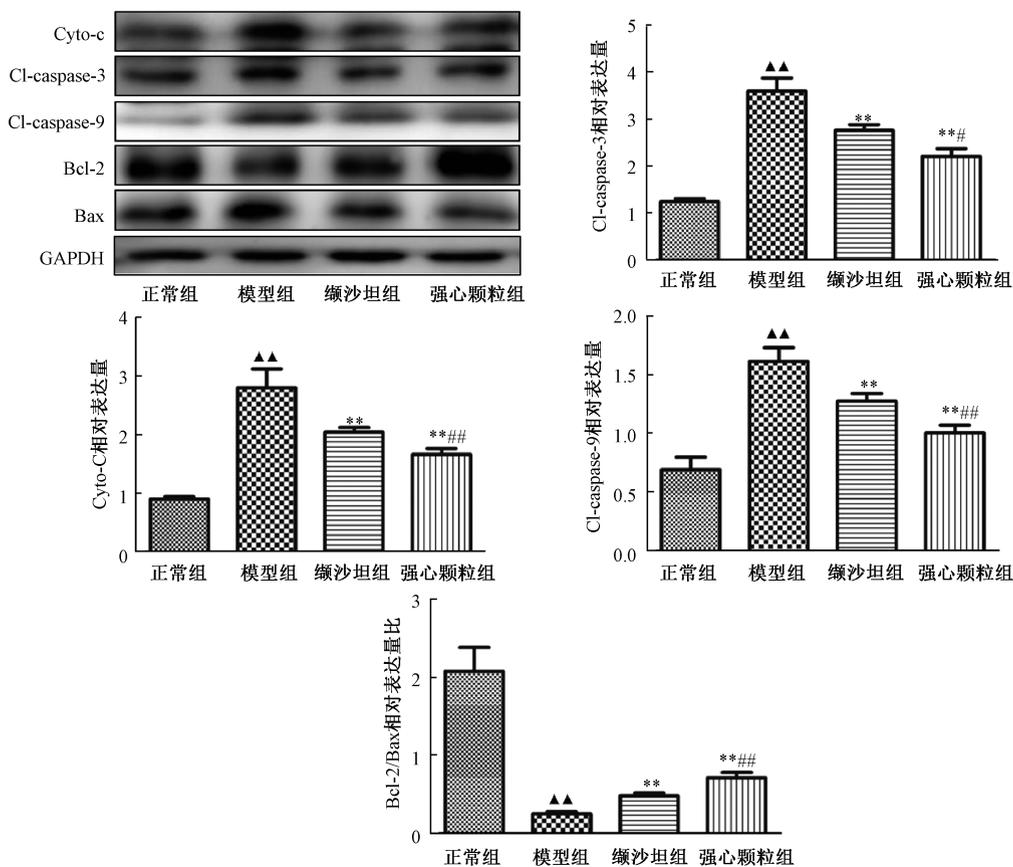
注：与正常组比较， $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$ ；与模型组比较， $**P < 0.01$ ；与缬沙坦组比较， $###P < 0.01$

图3 各组心肌组织ATP水平

Fig. 3 ATP levels in myocardial tissues in various groups

率直接决定了线粒体外膜各种通道的开放程度，形成线粒体凋亡通路的枢纽<sup>[9]</sup>。如图4所示，与正常组比较，模型组 Cyto-C、Cleaved-caspase-3、Cleaved-caspase-9 蛋白表达显著升高，Bcl-2/Bax 比率显著降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )；与模型组比较，

缬沙坦组和强心颗粒组 Cyto-C、Cleaved-caspase-3、Cleaved-caspase-9 蛋白表达显著减低 ( $P < 0.01$ )，Bcl-2/Bax 显著升高，以强心颗粒组更显著 ( $P < 0.01$ )。



注：与正常组比较，▲▲ $P < 0.01$ ；与模型组比较，\*\* $P < 0.01$ ；与缬沙坦组比较，\* $P < 0.05$ ，## $P < 0.01$

图4 各组心肌组织 Cyto-C、Cl-caspase-3、Cl-caspase-9、Bcl-2/Bax 蛋白表达

Fig. 4 Expressions of Cyto-C, Cl-caspase-3, Cl-caspase-9 and Bcl-2/Bax protein in myocardial tissues in various groups

#### 4 讨论

心肌细胞凋亡是受基因精确调控的主动性、程序性细胞死亡 (PCD)<sup>[10]</sup>，近年来心肌细胞凋亡在慢性心力衰竭的治疗中越来越受到学者重视，已由原来的组织病理学特点逐渐转变为心力衰竭的“治疗目标”<sup>[11]</sup>。前期实验证实，拮抗氧化应激诱导的心肌细胞凋亡是强心颗粒改善模型大鼠心功能及预后的重要机制<sup>[2-3]</sup>，而线粒体是氧化应激的主要发生场所<sup>[7]</sup>，因此，本实验进一步探索强心颗粒对心肌细胞线粒体凋亡通路的调控作用。

线粒体凋亡通路是线粒体结构、功能障碍以及 caspase 家族、Bcl-2 家族等共同参与下构成的一个复杂的凋亡信号网络<sup>[12]</sup>，在心肌细胞凋亡中占据着重要地位。在各种促细胞凋亡信号作用下，心肌

细胞线粒体通透性转换孔 (mPTP) 过度开放，线粒体跨膜电位持续下降，外膜断裂，ATP 合成减少，Cyto-C 等释放入胞质<sup>[7]</sup>。在 ATP/dATP 存在下，Cyto-C 与凋亡蛋白活化因子 (Apaf-1) 形成“凋亡体”复合物，通过 Apaf-1 氨基端的 caspase 募集结构域募集多个 Caspase-9 前体，启动 caspase 级联反应，激活下游 caspase-3，引起心肌细胞凋亡<sup>[8]</sup>。Bax 与 Bcl-2 通过形成同源或异源二聚体参与心肌细胞凋亡，Bcl-2 能抑制许多因素引起的心肌细胞凋亡，而 Bax 过量表达可抑制 Bcl-2 作用，从而促进心肌细胞凋亡<sup>[9]</sup>。Bcl-2/Bax 比率作为调控心肌细胞凋亡的“可变电阻器” (rheo-stat)，Bax 可促进线粒体 mPTP 开放，使线粒体外基质内流，渗透压失衡，细胞器肿胀、变形，线粒体内、

外膜裂解, 释放 Cyto-C, 诱导心肌细胞凋亡<sup>[13]</sup>。

动物实验证实<sup>[14-15]</sup>, 缬沙坦能够通过抑制氧化应激调控心力衰竭模型大鼠的心肌细胞凋亡, 并显著下调线粒体凋亡相关蛋白电压依赖阴离子通道(VDAC)、第二个线粒体来源的胱氨酸酶激活剂(Smac)蛋白表达情况。本实验提示, 强心颗粒明显改善慢性心力衰竭心气虚兼大鼠的线粒体超微结构, 降低线粒体跨膜电位下降的心肌细胞比例, 增加心肌组织 ATP 合成能力, 下调 Cyto-C、Cl-caspase-3、Cl-caspase-9 蛋白表达, 提高 Bcl-2/Bax 比率, 并与缬沙坦比较改善更为显著, 提示强心颗粒能够通过调控线粒体凋亡通路改善慢性心力衰竭心气虚兼血瘀水肿证大鼠的心功能及预后, 但具体分子机制需要进一步的实验研究。

#### 参考文献:

[ 1 ] 林家茂, 郭伟星, 王 营, 等. 慢性心力衰竭心气虚兼血瘀水肿证大鼠模型的建立与整合判定[J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(12): 1457-1462.

[ 2 ] 林家茂, 郭伟星, 王 营, 等. 强心颗粒干预慢性心力衰竭心气虚兼血瘀水肿证大鼠的实验研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2015, 35(5): 583-589.

[ 3 ] 房丽君, 李 珩, 胡文玉, 等. 强心颗粒抑制慢性心力衰竭心气虚兼血瘀水肿证模型大鼠心肌细胞凋亡实验研究[J]. 山东中医杂志, 2018, 37(2): 156-160.

[ 4 ] Liu C, Zhai X, Du H, *et al.* Sorting nexin 9 (SNX9) is not essential for development and auditory function in mice[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(42): 68921-68932.

[ 5 ] Song F, Lin Y, Chen C, *et al.* Insecticidal activity and histopathological effects of Vip3Aa protein from *Bacillus thuringiensis* on *Spodoptera litura*[J]. *J Microbiol Biotechnol*, 2016, 26(10): 1774-1780.

[ 6 ] Farcas L, Torres A F, Di C L, *et al.* Comprehensive *in vitro* toxicity testing of a panel of representative oxide nanomaterials;

first steps towards an intelligent testing strategy[J]. *PLoS One*, 2015, 10(5): e0127174.

[ 7 ] Wen Y, Rui L, Feng X, *et al.* The involvement of cytochrome c oxidase in mitochondrial fusion in primary cultures of neonatal rat cardiomyocytes [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2018, 18(4): 365-373.

[ 8 ] Feng C C, Pandey S, Lin C Y, *et al.* Cardiac apoptosis induced under high glucose condition involves activation of IGF2R signaling in H9c2 cardiomyoblasts and streptozotocin-induced diabetic rat hearts [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97: 880-885.

[ 9 ] Yu S, Gong L S, Li N F, *et al.* Galangin (GG) combined with cisplatin (DDP) to suppress human lung cancer by inhibition of STAT3-regulated NF- $\kappa$ B and Bcl-2/Bax signaling pathways[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 97(1): 213-224.

[ 10 ] Hashem S I, Perry C N, Bauer M, *et al.* Brief report: oxidative stress mediates cardiomyocyte apoptosis in a human model of danon disease and heart failure[J]. *Stem Cells*, 2015, 33(7): 2343-2350.

[ 11 ] Xuan Y, Liu S, Li Y, *et al.* Shortterm vagus nerve stimulation reduces myocardial apoptosis by downregulating microRNA205 in rats with chronic heart failure[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(5): 5847-5854.

[ 12 ] Sun Y, Su Q, Li L, *et al.* MiR-486 regulates cardiomyocyte apoptosis by p53-mediated BCL-2 associated mitochondrial apoptotic pathway[J]. *Bmc Cardiovasc Disord*, 2017, 17: 119.

[ 13 ] Zhou D, Qu Z, Wang H, *et al.* The effect of hydroxy safflower yellow A on coronary heart disease through Bcl-2/Bax and PPAR- $\gamma$ [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(1): 520-526.

[ 14 ] 张赢予, 张馨木, 苏兆亮, 等. 缬沙坦对扩张型心肌病心衰大鼠心肌细胞凋亡相关蛋白的影响[J]. 中国老年学杂志, 2010, 30(11): 1531-1533.

[ 15 ] Ibrahim D M, Radwan R R, Fattah S M. Antioxidant and anti-apoptotic effects of sea cucumber and valsartan against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats: the role of low dose gamma irradiation[J]. *J Photochem Photobiol B*, 2017, 170: 70-78.