

白芍总苷对糖尿病大鼠心肌氧化应激和细胞凋亡的影响及机制研究

王振贤, 王立哲

邯郸市中心医院, 河北 邯郸 056001

摘要: 目的 探讨白芍总苷(total glucosides of paeony, TGP)对糖尿病大鼠心肌氧化应激和细胞凋亡的影响及其机制。方法 取120只SD大鼠按随机数字表法分为对照组、模型组、二甲双胍(Met, 200 mg/kg)组和TGP低、中、高剂量(50、100、200 mg/kg)组, 每组20只; 采用一次性ip链脲佐菌素(65 mg/kg)制备糖尿病大鼠模型; 造模后连续8周每天1次ig给药, 对照组和模型组同步ig给予生理盐水。通过血糖仪检测空腹血糖水平; 生化分析法检测血清乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)含量和心肌组织丙二醛(MDA)含量、抗氧化酶——超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性; 通过HE染色、TUNEL染色观察心肌病理学改变和细胞凋亡; Western blotting法检测心肌组织GRP78、CHOP、Cleaved Caspase-12蛋白表达。结果 与模型组比较, Met组和高剂量组大鼠空腹血糖水平显著降低, 血清LDH、CK-MB、ALT水平和心肌组织MDA含量显著降低, 心肌组织SOD、GSH-Px活性显著升高, 心肌组织病理损伤和细胞凋亡状况明显改善、凋亡指数(AI)显著降低, 心肌组织GRP78、CHOP、Cleaved Caspase-12蛋白表达显著下调, 差异有统计学意义($P < 0.05, 0.01$)。结论 TGP对糖尿病大鼠心肌氧化应激和细胞凋亡具有抑制作用, 其机制可能与提高抗氧化酶活性和抑制内质网应激凋亡通路有关。

关键词: 白芍总苷; 糖尿病; 心肌; 氧化应激; 细胞凋亡; 内质网应激

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1674-6376(2021)03-0498-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2021.03.006

Effects of total glucosides of paeony on myocardial oxidative stress and apoptosis in diabetic rats

WANG Zhenxian, WANG Lizhe

Handan Central Hospital, Handan 056001, China

Abstract: Objective To investigate the effect of total glucosides of paeony (TGP) on myocardial oxidative stress and apoptosis in diabetic rats and its mechanism. **Methods** Totally 120 SD rats were randomly divided into control group, model group, metformin group (70 mg/kg) and TGP low-, medium- and high-dose groups (50, 100 and 200 mg/kg). The diabetic rat models were prepared by ip injection of streptozotocin (65 mg/kg). After the model was established, the drugs were given by gavage simultaneously, once a day for eight weeks, while the rats in the control group and model group were given normal saline. The fasting blood glucose level was detected by blood glucose meter, the content of LDH, CK-MB, ALT in serum and the content of MDA, the activity of antioxidant enzyme (SOD, GSH-Px) in myocardial were detected by biochemical analysis; The pathological changes and apoptosis of myocardium were observed by HE staining and TUNEL staining; The expression of GRP78, CHOP, Cleaved Caspase-12 protein in myocardial tissue was detected by Western blotting method. **Results** Compared with model group, the fasting blood glucose levels of rats in metformin group and TGP medium-, high-dose groups were significantly decreased; the content of LDH, CK-MB, ALT in serum and MDA in myocardial were significantly decreased, and the activity of SOD, GSH-Px in myocardial were significantly increased; the pathological damage and apoptosis of myocardial tissue were significantly improved, the AI was significantly decreased; the expression of GRP78, CHOP, Cleaved Caspase-12 were significantly down-regulated; the differences were significant ($P < 0.05$ or 0.01). **Conclusion** TGP has inhibitory effect on myocardial oxidative stress and apoptosis in diabetic rats, and its mechanism may be related to increasing antioxidant enzyme activity and inhibiting endoplasmic reticulum stress apoptosis pathway.

Key words: total glucosides of paeony; diabetic; myocardial; oxidative stress; apoptosis; endoplasmic reticulum stress

收稿日期: 2020-05-26

基金项目: 邯郸市科学技术研究与发展计划项目(1823208094ZC)

第一作者: 王振贤(1970—),男,硕士,副主任医师,主要从事内分泌系统疾病研究。E-mail: wangzhx1970@163.com

糖尿病心肌病不同于高血压、冠心病导致的心脏病,以心肌胶原沉淀和间质纤维化为主要病变特征,是糖尿病最常见的并发症,也是导致糖尿病患者心力衰竭、心源性休克甚至死亡的主要因素之一^[1]。高血糖引发氧化应激反应进而导致细胞凋亡是糖尿病心肌病发生发展的重要机制^[2-3]。白芍总苷(total glucosides of paeony, TGP)是从白芍中提取的一类活性化合物,具有良好的抗氧化活性^[4],并且TGP能够通过抑制心肌细胞、神经细胞凋亡而对组织缺血再灌注损伤起到一定保护作用^[5-6]。本实验通过制备糖尿病大鼠模型,以临床治疗糖尿病一线用药二甲双胍(Metformin, Met)做为阳性对照,研究TGP对糖尿病大鼠心肌氧化应激和细胞凋亡的影响并探索其可能的作用机制。

1 材料

1.1 实验动物

健康、SPF级雄性SD大鼠120只,体重(220±20)g,购自河北省实验动物中心,实验动物生产许可证号SYXK(冀)2018-004,适应性饲养7d后开展实验。

1.2 药物与主要试剂

白芍总苷胶囊(规格0.3 g/粒)购自宁波立华制药有限公司(批号20190517);盐酸二甲双胍片(规格0.3 g/片)购自天津亚宝药业科技有限公司(批号190731);链脲佐菌素购自美国Sigma公司(批号119K1591);Masson染色试剂盒和ECL超敏发光试剂盒购自南京建成生物工程研究所;乳酸脱氢酶(LDH)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)试剂盒购自北京博奥森生物科技有限公司;糖调节蛋白78(GRP78)、增强子结合蛋白同源蛋白(CHOP)、半胱氨酸蛋白酶-12成熟体(Cleaved Caspase-12)抗体和IgG二抗购自北京索莱宝生物科技有限公司;BCA试剂盒、SDS-PAGE凝胶试剂盒购自北京康为世纪生物科技有限公司。

1.3 主要仪器

Sure Step Plus型血糖仪(美国强生公司);CX7型全自动生化分析仪、Allegra 21R型低温离心机(美国Beckman公司);UV型紫外分析仪(珠海黑马医学仪器有限公司);Vevo2100型动物超声仪(加拿大Visual Sonics公司);HM340E石蜡切片机(德国Thermo Scientific公司);DYCZ-24DN型电泳仪、DYCZ-40D型转膜仪(北京六一生物科技有限公司);

Chem Doc XRS型凝胶成像仪(美国Bio-Rad公司)。

2 方法

2.1 动物分组、模型制备与给药

将120只实验用大鼠按随机数字表法分为对照组、模型组、Met(200 mg/kg)组^[7]和TGP低、中、高剂量(50、100、200 mg/kg)组^[8],每组20只。参照陆晓丹等^[9]报道的方法,一次性ip链脲佐菌素(65 mg/kg)制备糖尿病大鼠模型,分别于24、48、72 h后尾静脉采血检测,血糖≥16.7 mmol/L即可判断造模成功。造模后,Met组和TGP低、中、高剂量组分别每天ig给药1次,对照组和模型组同步ig给予生理盐水,治疗给药8周。

2.2 空腹血糖水平检测

给药治疗8周后,各组随机取10只大鼠,于清晨空腹尾静脉采血,通过血糖仪检测空腹血糖水平。

2.3 血清心肌酶指标检测

麻醉后开腹经腹主动脉取血,2 000 r/min离心10 min取血清,参照试剂盒操作说明,通过生化分析仪检测LDH、CK-MB、ALT水平。

2.4 心肌组织病理学改变和心肌细胞凋亡观察

麻醉后开胸取心脏,切取左心室置10%福尔马林溶液中固定3 d,石蜡包埋后5 μm厚度连续切片,二甲苯透明和梯度乙醇脱蜡水化后,(1)行HE染色(苏木素溶液染色10 min、伊红溶液染色3 min),梯度乙醇脱水和透明处理后中性树胶封片,通过光学显微镜观察心肌组织病理学改变;(2)参照TUNEL试剂盒操作说明行染色处理,二甲苯透明和梯度乙醇脱水处理后行50%甘油封片,然后通过显微镜观察细胞凋亡状况(细胞核黄染为阳性着色)。凋亡指数(AI)计算:由两名实验人员独立计数视野内凋亡细胞数和细胞总数,取平均值。

$$AI = \text{凋亡细胞数} / \text{细胞总数}$$

2.5 心肌组织氧化应激指标检测

取各组剩余的10只大鼠,麻醉后开胸切取左心室,剪碎后加入9倍量冷裂解液充分裂解,2 000 r/min离心10 min取上清液,参照试剂盒操作说明,采用硫代巴比妥酸法检测MDA含量、黄嘌呤氧化酶法检测SOD活性、二硫代二硝基苯甲酸法检测GSH-Px活性。

2.6 心肌组织蛋白表达检测

取心肌组织匀浆液,4℃、12 000 r/min离心20 min后取上清液,然后参照BCA试剂盒操作说明检测总蛋白浓度、95℃水浴使蛋白变性后,经SDS-PAGE胶电泳分离、转膜,5%蛋白免疫印迹封闭液

室温封闭2 h。滴加目标蛋白、 β -actin 抗体,4 °C 孵育12 h,PBS 溶液洗膜后滴加二抗,37 °C 孵育1 h。PBS 溶液洗膜后滴加ECL 发光试剂后,通过凝胶成像仪显示蛋白条带,以 β -actin 为内参、通过条带灰度值半定量目标蛋白表达量。

2.7 统计学处理

运用 SPSS 17.0 软件进行数据统计分析,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,两组间比较采用 t 检验。

3 结果

3.1 TGP对糖尿病大鼠空腹血糖水平的影响

与对照组比较,模型组大鼠空腹血糖水平显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,Met 和 TGP 中、高剂量组空腹血糖水平显著降低($P < 0.01$)。见表1。

3.2 TGP对糖尿病大鼠血清心肌酶水平的影响

与对照组比较,模型组大鼠血清 LDH、CK-MB、ALT 水平显著升高($P < 0.01$);与模型组比较,Met 组和 TGP 中、高剂量组血清 LDH、CK-MB、ALT 水平显著降低($P < 0.05, 0.01$);与 Met 组比较,TGP 高剂量组血清 LDH、ALT 水平显著降低($P < 0.05$)。见表1。

3.3 TGP对糖尿病大鼠心肌组织病理学改变的影响

对照组大鼠心肌纤维排列整齐规则,细胞形态正常、结构完整,着色均匀;模型组可见心肌纤维断裂、排列紊乱,细胞呈空泡变性,可见大量炎性细胞浸润;与模型组比较,Met 组和 TGP 低、中、高剂量组心肌纤维和细胞病变呈不同程度改善,其中 TGP 高剂量组未见心肌纤维断裂,炎性细胞浸润数量明显减少。见图1。

表1 TGP对糖尿病大鼠空腹血糖和血清心肌酶水平的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)

Table 1 Effects of TGP on fasting blood glucose and serum myocardial enzymes in diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	空腹血糖/(mmol·L ⁻¹)	LDH/(U·L ⁻¹)	CK-MB/(U·L ⁻¹)	ALT/(U·L ⁻¹)
对照	—	6.01±1.07	335.74±48.09	627.13±84.52	129.57±22.46
模型	—	21.35±3.40**	610.35±74.26**	869.42±105.09**	241.63±35.18**
Met	200	11.30±2.23##	505.43±63.48##	705.63±94.28##	169.58±27.40##
TGP	50	18.94±3.19	586.27±76.18	842.09±98.57	224.59±34.19
	100	15.69±2.71##	532.91±63.54#	771.36±101.24#	170.27±29.15##
	200	12.52±2.47##	442.08±57.15##▲	651.48±90.25##	143.65±26.08##▲

与对照组比较:** $P < 0.01$;与模型组比较: # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$;与 Met 组比较: ▲ $P < 0.05$

** $P < 0.01$ vs control group; # $P < 0.05$ ## $P < 0.01$ vs model group; ▲ $P < 0.05$ vs Met group

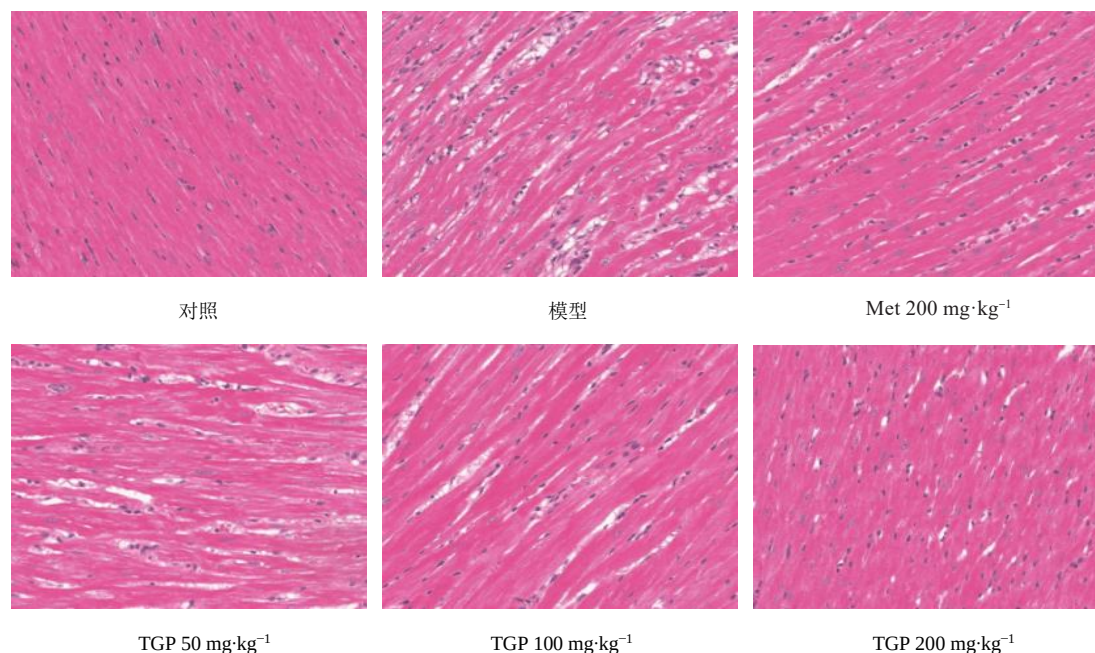


图1 各组大鼠心肌组织病理学改变(HE,×200)

Fig. 1 Changes of myocardial histopathology of rats in each group (HE,×200)

3.4 TGP对糖尿病大鼠心肌细胞凋亡的影响

对照组大鼠心肌可见极少量凋亡细胞;模型组细胞数量明显增多, AI较对照组显著升高($P<0.01$); Met组和TGP低、中、高剂量组凋亡细胞数量不同程度减少, Met组和TGP中、高剂量组AI较模型组显著降低($P<0.01$);与Met组比较, TGP高剂量组AI显著降低($P<0.01$)。见图2和表2。

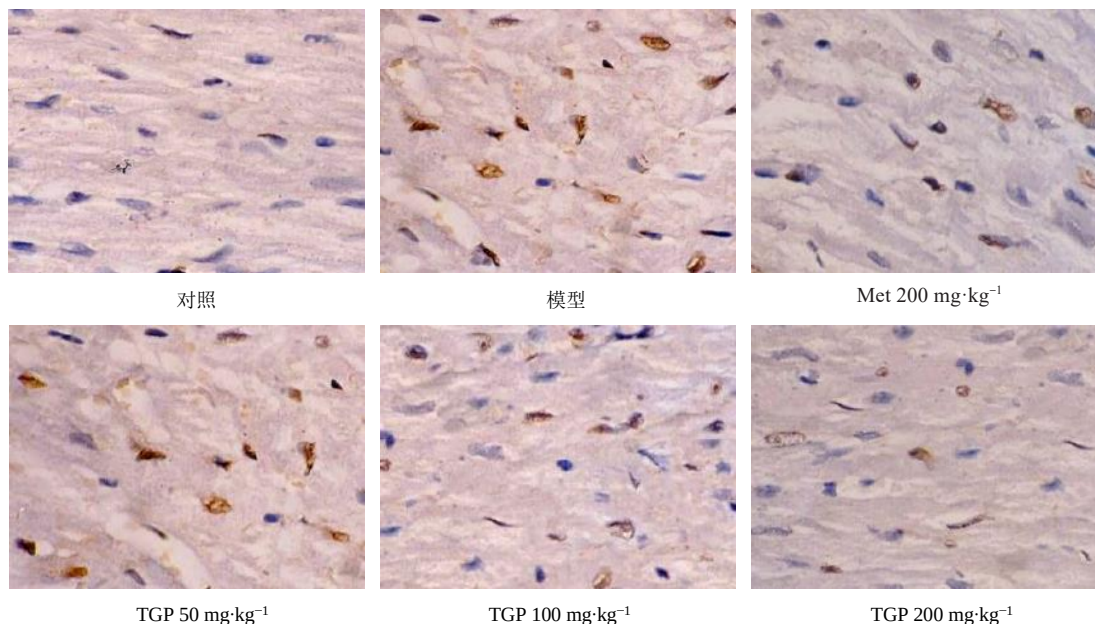


图2 TGP对糖尿病大鼠心肌细胞凋亡的影响(TUNEL, ×400)

Fig. 2 Effect of TGP on cardiomyocyte apoptosis in diabetic rats (TUNEL, ×400)

表2 TGP对糖尿病大鼠心肌组织氧化应激指标的影响($\bar{x}\pm s, n=10$)

Table 2 Effects of TGP on oxidative stress in myocardium of diabetic rats ($\bar{x}\pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	AI/%	MDA/(nmol·mg ⁻¹)	SOD/(U·mg ⁻¹)	GSH-Px/(U·mg ⁻¹)
对照	—	3.46±0.80	6.94±1.20	2.47±0.39	4.28±0.57
模型	—	48.75±8.31**	27.63±4.05**	1.28±0.26**	2.53±0.41**
Met	200	18.62±2.31 [#]	19.15±3.28 [#]	1.74±0.38 [#]	3.56±0.55 [#]
TGP	50	42.05±7.59	25.80±4.13	1.46±0.29	2.70±0.43
	100	32.48±4.38 [#]	20.35±3.82 [#]	1.98±0.35 [#]	2.97±0.48 [#]
	200	14.19±1.63 ^{#▲▲}	15.67±2.90 ^{#▲▲}	2.51±0.43 ^{#▲▲}	3.62±0.59 [#]

与对照组比较: ** $P<0.01$; 与模型组比较: * $P<0.05$ [#] $P<0.01$; 与Met组比较: ▲ $P<0.05$ ▲▲ $P<0.01$

** $P<0.01$ vs control group; * $P<0.05$ [#] $P<0.01$ vs model group; ▲ $P<0.05$ ▲▲ $P<0.01$ vs Met group

3.6 TGP对糖尿病大鼠心肌组织GRP78、CHOP、Cleaved Caspase-12蛋白的影响

与对照组比较, 模型组大鼠心肌组织GRP78、CHOP、Cleaved Caspase-12表达显著上调($P<0.01$); 与模型组比较, Met组和TGP中、高剂量组GRP78、CHOP、Cleaved Caspase-12表达显著下调($P<0.05$ 、 0.01); 与Met组比较, TGP高剂量组GRP78、CHOP、Cleaved Caspase-12表达显著下调($P<0.05$)。见图3和表3。

3 讨论

随着饮食结构的改变及人口老龄化的加剧, 我国居民糖尿病发病率逐年升高。糖尿病心肌病是

3.5 TGP对糖尿病大鼠心肌组织氧化应激指标的影响

与对照组比较, 模型组大鼠心肌组织MDA含量显著升高而SOD、GSH-Px活性显著降低($P<0.01$); 与模型组比较, Met组和TGP中、高剂量组MDA含量显著降低且SOD、GSH-Px活性显著升高($P<0.05$ 、 0.01); 与Met组比较, TGP高剂量组MDA含量降低、SOD活性升高($P<0.05$ 、 0.01)。见表2。

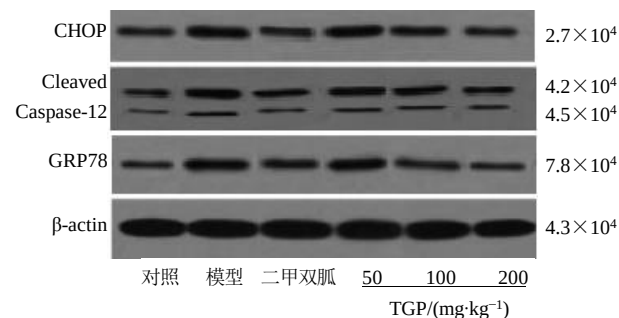


图3 TGP对糖尿病大鼠心肌组织GRP78、CHOP、Cleaved Caspase-12蛋白的影响

Fig. 3 Effects of TGP on myocardial Grp78, CHOP and Cleaved Caspase-12 in diabetic rats

表3 TGP对糖尿病大鼠心肌组织GRP78、CHOP、Cleaved Caspase-12蛋白相对表达量的影响($\bar{x} \pm s, n=10$)Table 3 Effects of TGP on myocardial Grp78, CHOP, Cleaved Caspase-12 in diabetic rats ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	剂量/(mg·kg ⁻¹)	GRP78/ β -actin	CHOP/ β -actin	Cleaved Caspase-12/ β -actin
对照	—	0.62±0.13	0.21±0.07	0.14±0.06
模型	—	0.85±0.16**	0.93±0.19**	0.48±0.11**
Met	200	0.72±0.11 [#]	0.37±0.11 ^{##}	0.26±0.08 ^{##}
TGP	50	0.79±0.18	0.83±0.17	0.45±0.13
	100	0.70±0.14 [#]	0.55±0.12 ^{##}	0.36±0.09 [#]
	200	0.61±0.10 ^{##▲}	0.26±0.09 ^{##▲}	0.18±0.06 ^{##▲}

与对照组比较:** $P<0.01$;与模型组比较:[#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$;与Met组比较:[▲] $P<0.05$ ** $P<0.01$ vs control group; [#] $P<0.05$ ^{##} $P<0.01$ vs model group; [▲] $P<0.05$ vs Met group

糖尿病最常见的并发症,也是导致心肌收缩功能障碍进而引发心力衰竭、心源性休克甚至致残、致死的主要原因,约占2型糖尿病相关死亡率的80%^[10]。糖尿病心肌病发病机制尚未完全清楚,但氧化应激和细胞凋亡在其病理进展过程中的作用得到普遍认可^[11]。因此,以抑制氧化应激和细胞凋亡作为治疗靶点对防治糖尿病心肌病至关重要。

近年来,随着国家中医药发展战略的实施与深入,中医药治疗糖尿病逐渐得到医生和患者的关注与认可。中药白芍以毛茛科植物芍药 *Paeonia lactiflora* Pall. 的干燥根入药,味苦、性寒,具有养血调经、敛阴止汗、平抑肝阳之功效。TGP为白芍的主要活性成分,具有良好的抗氧化活性^[4,12],并且对心肌缺血所致细胞凋亡具有抑制作用^[5]。TGP能够通过抑制氧化应激和细胞凋亡而对糖尿病大鼠肾脏组织起保护作用^[13-14]。本研究发现,给予TGP治疗8周能够显著降低糖尿病大鼠空腹血糖水平,显著降低血清心肌酶(LDH、CK-MB、ALT)水平,明显改善心肌细胞形态结构,降低AI,并且TGP高剂量组作用优于Met组,提示TGP对糖尿病大鼠心肌损伤具有保护作用。

高血糖将导致活性氧簇(ROS)大量生成与释放,抗氧化酶(SOD、GSH-Px)被过度消耗致使ROS代谢失衡而过剩,ROS可攻击破坏核酸、蛋白质及生物膜脂质发生氧化应激反应,生成具有生物毒性的MDA,因此MDA含量和SOD、GSH-Px活性可作为氧化应激检测指标^[15-16]。内质网是真核细胞中一种结构复杂的膜性细胞器,参与调节钙稳态、脂质合成等。但氧化应激、钙代谢失衡等病理性刺激将导致内质网功能紊乱,与糖尿病心肌病发生发展密切相关^[17-18],Hong等^[19]研究发现,内质网应激介导的细胞凋亡是导致糖尿病心肌病的重要机制。GRP78是存在于内质网的钙离子伴侣蛋白,对维持内质网稳态至关重要,GRP78升高可作为内质网应

激标志检测物质^[20];内质网应激将诱导凋亡蛋白CHOP、Cleaved Caspase-12上调表达与活化,进而诱导细胞凋亡^[21]。

TGP对糖尿病大鼠心肌氧化应激和细胞凋亡具有抑制作用,其机制可能与提高抗氧化酶活性和抑制内质网应激凋亡通路有关。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 李秀财, 龚敏, 金建兰, 等. 休克指数对2型糖尿病合并急性心肌梗死患者近期预后的判断价值[J]. 中国医师杂志, 2017, 19(1): 96-97.
Li X C, Gong M, Jin J L, et al. The value of shock index in judging the short-term prognosis of patients with type 2 diabetes and acute myocardial infarction [J]. J Chin Phys, 2017, 19(1): 96-97.
- [2] 陈莹, 郝光霞, 马羽琦, 等. 血糖漂移对糖尿病患者心肌损伤的机制研究[J]. 中国现代医学杂志, 2019, 29(12): 53-57.
Chen Y, Qie G X, Ma Y Q, et al. Study of glycemic excursion on the mechanism of myocardial injury in diabetic patients [J]. China J Mod Med, 2019, 29(12): 53-57.
- [3] 白跳, 迟丽屹, 高宇勤, 等. 异鼠李素对糖尿病大鼠心肌纤维化的干预作用[J]. 新疆医科大学学报, 2017, 41(7): 865-869.
Bai T, Chi L Y, Gao Y Q, et al. Interventional effect of isorhamnetin on myocardial fibrosis in diabetic cardiomyopathy rats [J]. J Xinjiang Med Univ, 2017, 41(7): 865-869.
- [4] 郑亚萍, 刘春杰. 白芍总苷对心肌缺血再灌注大鼠心肌细胞内质网应激及凋亡的影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(17): 108-112.
Zheng Y P, Liu C J. Effects of total glucosides from paeoniae radix albae on endoplasmic reticulum stress and apoptosis in myocardial ischemia reperfusion rats [J]. Chin J Exp Tradit Med Form, 2016, 22(17): 108-112.

- [5] 康红钰, 刘喜民, 郑亚萍. 白芍总苷对心肌缺血再灌注模型大鼠心肌细胞凋亡的影响 [J]. 解剖学杂志, 2019, 42(1): 6-9.
- Kang H Y, Liu X M, Zheng Y P. Effects of total glucosides from *Paeoniae Radix Albae* on apoptosis in myocardial ischemia reperfusion rats [J]. Chin J Anat, 2019, 42(1): 6-9.
- [6] 史晴晴, 于红梅. 白芍总苷对脑缺血再灌注后细胞凋亡抑制作用的研究 [J]. 中国中医急症, 2017, 26(6): 973-975, 994.
- Shi Q Q, Yu H M. Inhibitory effects of total glucosides of paeony on apoptosis in the rats with cerebral ischemia-reperfusion [J]. J Emerg Syndromes Tradit Chin Med, 2017, 26(6): 973-975, 994.
- [7] 霍梦露, 王瑞瑶, 李超, 等. 小檗碱对高糖高脂饲料联合链脲佐菌素诱导的糖尿病心肌病大鼠的保护作用 [J]. 中国临床保健杂志, 2019, 22(3): 377-382.
- Huo M L, Wang R Y, Li C, et al. The protective effect of berberine on diabetic cardiomyopathy rats induced by STZ and high-glucose-high-fat diet [J]. Chin J Clin Healthc, 2019, 22(3): 377-382.
- [8] 宋菲, 杨发奋. 白芍总苷对糖尿病肾病大鼠的治疗作用及对肾组织 TGF- β 1、CTGF 表达的影响 [J]. 山东医药, 2017, 57(6): 35-37.
- Song F, Yang F F. The therapeutic effect of total glucosides of paeony on diabetic nephropathy rats and its influence on the expression of TGF- β 1 and CTGF in renal tissues [J]. Shandong Med J, 2017, 57(6): 35-37.
- [9] 陆晓丹, 宗刚军, 周建英, 等. 大蒜素改善糖尿病心肌病大鼠心功能及纤维化的作用及对 NF- κ B 信号通路的影响 [J]. 中国药业, 2019, 28(13): 22-25.
- Lu X D, Zong G J, Zhou J Y, et al. Effect of allicin on improving cardiac function and fibrosis in rats with diabetic cardiomyopathy and its effect on NF- κ B signaling pathway [J]. China Pharm, 2019, 28(13): 22-25.
- [10] Gaede P, Lund-Andersen H, Parving H H, et al. Effect of a multifactorial intervention on mortality in type 2 diabetes [J]. N Engl J Med, 2008, 358(6): 580-591.
- [11] Ji L, Liu F, Jing Z, et al. MICU1 alleviates diabetic cardiomyopathy through mitochondrial Ca^{2+} -dependent antioxidant response [J]. Diabetes, 2017, 66(6): 1586-1600.
- [12] 刘芬, 詹文红. 白芍总苷体外抗氧化活性研究 [J]. 现代药物与临床, 2015, 30(2): 132-135.
- Liu F, Zhan W H. Antioxidant activities of total glucosides of paeony *in vitro* [J]. Drug Clin, 2015, 30(2): 132-135.
- [13] 方芳, 吴永贵, 董婧, 等. 白芍总苷对糖尿病大鼠肾组织氧化应激的影响 [J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2008, 22(3): 199-204.
- Fang F, Wu Y G, Dong J, et al. Effects of total glucosides of paeony on oxidative stress in renal tissue of diabetic rats [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2008, 22(3): 199-204.
- [14] 王喆, 吴永贵, 章超群, 等. 白芍总苷对糖尿病大鼠肾组织 Txnip、Trx 与 ASK1 表达的调节作用 [J]. 安徽医科大学学报, 2015, 50(7): 916-921.
- Wang J, Wu Y G, Zhang C Q, et al. Effect of total glucosides of paeony on the expression of Txnip, Trx and ASK1 in the kidney from diabetic rats [J]. Acta Univ Med Anhui, 2015, 50(7): 916-921.
- [15] Zhao H, Li W J, Zhao X D, et al. Cu/Zn superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) response to crude oil exposure in the polychaete *Perinereis aibuhitensis* [J]. Environ Sci Pollut Res Int, 2017, 24(1): 616-627.
- [16] Habashy W S, Milfort M C, Rekaya R, et al. Cellular antioxidant enzyme activity and biomarkers for oxidative stress are affected by heat stress [J]. Int J Biometeorol, 2019, 63(12): 1569-1584.
- [17] 宋英伦, 郭志新. 脂联素调节内质网应激及自噬水平对糖尿病心肌产生保护作用机制的研究进展 [J]. 中国糖尿病杂志, 2020, 28(1): 74-76.
- Song Y L, Guo Z X. The protective mechanism of adiponectin on diabetic myocardium by regulating endoplasmic reticulum stress and autophagy [J]. Chin J Diabetes, 2020, 28(1): 74-76.
- [18] 范红艳, 李明月, 沈泽, 等. 姜黄素对2型糖尿病大鼠心肌内质网应激相关因子葡萄糖调节蛋白78、caspase-12 表达的影响 [J]. 卫生研究, 2020, 49(1): 98-102, 131.
- Fan H Y, Li M Y, Shen Z, et al. Effects of curcumin on protein expression of glucose regulated protein 78 and caspase-12 of myocardial endoplasmic reticulum stress related factors in type 2 diabetes rats [J]. J Hyg Res, 2020, 49(1): 98-102, 131.
- [19] Hong J, Kim K, Kim J H, et al. The role of endoplasmic reticulum stress in cardiocascular disease and exercise [J]. Int J Vasc Med, 2017, 2017: 2049217.
- [20] Yang Q, Gao H K, Dong R Q, et al. Sequential changes of endoplasmic reticulum stress and apoptosis in myocardial fibrosis of diabetes mellitus-induced rats [J]. Mol Med Rep, 2016, 13(6): 5037-5044.
- [21] 张羽飞, 孟娜娜, 李厚忠, 等. 柚皮苷对糖尿病大鼠心肌病氧化应激及内质网应激的影响 [J]. 中国中药杂志, 2018, 43(3): 596-602.
- Zhang Y F, Meng N N, Li H Z, et al. Effect of naringin on oxidative stress and endoplasmic reticulum stress in diabetic cardiomyopathy [J]. China J Chin Mater Med, 2018, 43(3): 596-602.

[责任编辑 兰新新]