

• 药理与临床 •

小檗碱对波动性高糖诱导的人冠状动脉内皮细胞凋亡的影响

庄微^{1,2}, 刘挺松², 张成成³, 宫剑滨^{2*}

1. 南京中医药大学第一临床医学院, 江苏 南京 210046

2. 南京中医药大学金陵临床医学院, 江苏 南京 210002

3. 扬州大学兽医学院, 江苏 扬州 225009

摘要: 目的 研究小檗碱对波动性高糖所致人冠状动脉内皮细胞(HCAECs)凋亡的影响。方法 分离、鉴定并培养HCAECs, 将HCAECs分为5组: 正常葡萄糖组(5.5 mmol/L 葡萄糖)、持续性高糖组(25 mmol/L 葡萄糖)、波动性高糖组(5.5、25 mmol/L 葡萄糖每24小时波动1次)、波动性高渗环境(不加入葡萄糖, 加入与波动性高糖组相同浓度的甘露醇, 保持与波动性高糖组相同的波动性高渗环境)、波动性高糖+小檗碱干预组(5.5、25 mmol/L 葡萄糖+50 μ mol/L 小檗碱每24小时波动1次), 各组细胞每24小时换液1次, 共培养7 d后进行后期实验。检测各组HCAECs的细胞活力及凋亡情况, 利用实时荧光定量(qRT-PCR)及Western blotting技术检测细胞凋亡相关蛋白Caspase-3表达量。结果 与持续性高糖组相比, 波动性高糖组HCAECs凋亡更显著($P<0.05$), 波动性高糖组Caspase-3蛋白及mRNA表达水平明显增加($P<0.05$); 但波动性高糖+小檗碱干预组较波动性高糖组HCAECs凋亡明显减弱($P<0.05$), 小檗碱可以明显下调波动性高糖诱导的Caspase-3表达($P<0.05$)。结论 波动性高糖较持续性高糖更易降低HCAECs活力, 促进HCAECs凋亡, 但小檗碱显著减弱波动性高糖环境下HCAECs凋亡, 对HCAECs具有明显的保护作用。

关键词: 小檗碱; 波动性高糖; 人冠状动脉内皮细胞; 凋亡; Caspase-3

中图分类号: R085.5 文献标志码: A 文章编号: 0253-2670(2019)06-1365-07

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2019.06.016

Effect of berberine on apoptosis of human coronary artery endothelial cells induced by intermittent high glucose

ZHUANG Wei^{1,2}, LIU Ting-song², ZHANG Cheng-cheng³, GONG Jian-bin²

1. First Clinical Medical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, China

2. Jinling Clinical Medical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210002, China

3. College of Veterinary Medicine, Yangzhou University, Yangzhou 225009, China

Abstract: **Objective** To investigate the effect of berberine on the apoptosis of human coronary artery endothelial cells (HCAECs) induced by intermittent high glucose *in vitro*. **Methods** HCAECs were isolated, identified, cultured, and divided into five groups: Group A was the normal glucose group (5.5 mmol/L glucose, NG); Group B was the persistent high glucose group (25 mmol/L glucose, PHG); Group C was the intermittent high glucose group (5.5 mmol/L and 25 mmol/L glucose fluctuated every 24 h, IHG); Group D was in a volatile hyperosmotic environment (5.5 mmol/L and 25 mmol/L mannitol alternating every 24 h to maintain the same osmotic pressure as IHG, OC); Group E was the fluctuation of hyperglycemia + berberine intervention group (5.5 mmol/L and 25 mmol/L glucose + 50 μ mol/L berberine fluctuated every 24 h, IHG + BBR). The cells of each group were changed every 24 h, and the culture was stopped after 7 d, the cell viability and apoptosis were detected in each group. The expression of the apoptosis related protein Caspase-3 was determined by qRT-PCR and Western blotting. **Results** Compared with the persistent high glucose group, the apoptosis of HCAECs in the intermittent high glucose group was more significant ($P<0.05$), but the apoptosis of HCAECs in the fluctuation of hyperglycemia + berberine intervention group was more significantly reduced than that in the intermittent high glucose

收稿日期: 2018-09-29

基金项目: 江苏省“六大人才高峰”资助项目(2014-WSN-045)

作者简介: 庄微(1987—), 女, 博士研究生, 研究方向为中西医结合心血管病学。Tel: (025)80862265 E-mail: zhuangwei0308@126.com

*通信作者 宫剑滨(1962—), 教授, 博士生导师, 研究方向为心血管病学。Tel: (025)80862065 E-mail: jianbingong@163.com

group ($P < 0.05$). Berberine significantly reduced the expression of Caspase-3 induced by intermittent high glucose ($P < 0.05$)

Conclusion Intermittent high glucose decreased the activity of HCAECs more easily than the persistent high glucose, and promoted the apoptosis of HCAECs. But berberine significantly reduced the apoptosis of HCAECs under intermittent high glucose, which had a significant protective effect on HCAECs.

Key words: berberine; intermittent high glucose; human coronary artery endothelial cells; apoptosis; Caspase-3

目前全球糖尿病患病人数成倍数上升, 世界卫生组织 (WHO) 最新数据显示到 2025 年全球糖尿病患病总数将突破 3 亿^[1]。2 型糖尿病致死致残的首要原因是心血管并发症^[2]。随着糖尿病病理生理机制的深入研究, 学者们发现波动性高糖较持续性高糖更易导致心血管并发症, 其内在机制尚不明确, 可能与波动性高糖增强氧化应激、活化凝血机制、促进炎症反应等相关^[3-6]。小檗碱是从毛茛科植物黄连等中药中提取的一种生物碱, 近年研究发现小檗碱有降糖、调脂、抗炎、抗心肌缺血、抗动脉粥样硬化等作用^[7-11]。但小檗碱对波动性高糖所致的人冠状动脉内皮细胞 (HCAECs) 凋亡的保护作用尚未见报道。本研究以 HCAECs 为观察对象, 研究 HCAECs 在波动性高糖环境下的凋亡情况, 探讨小檗碱对波动性高糖诱导的 HCAECs 凋亡的保护作用。

1 材料

HCAECs 细胞株购自美国 ScienCell 公司 (白种人细胞); 胎牛血清 (FBS)、磷酸盐缓冲溶液 (PBS)、青霉素混合液和 0.25% 胰酶消化液购自美国 Gibco 公司; RPMI 1640 培养液购自美国 Hyclone 公司; 小檗碱、噻唑蓝 (MTT)、二甲基亚砜 (DMSO) 购自美国 Sigma 公司; 原位末端标记检测法 (TUNEL) 检测试剂盒购自美国 Roche 公司; Caspase-3 试剂盒购自天津灏洋生物制品有限公司。

CO₂ 培养箱购自美国 Thermo Scientific 公司; 超纯水仪购自美国 Millopor 公司; 高速台式冷冻离心机、高速微量离心机及多功能酶标仪购自美国 Sigma 公司; PCR 仪购自德国 Eppendorf 公司; 核酸/蛋白紫外检测系统、紫外凝胶成像系统、蛋白电泳仪、蛋白电泳半干转移系统购自美国 Bio-Rad 公司; 倒置显微镜及激光共聚焦显微镜购自日本 Nikon 公司; 流式细胞仪购自美国 Becton-Dickinson 公司。

2 方法

2.1 细胞培养及分组

HCAECs 以 1×10^6 个/mL 的细胞密度接种 2 mL 于含 FBS 的 RPMI 1640 培养液中, 置于 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养, 取对数生长期的 HCAECs

分为 5 组: 正常葡萄糖组 (5.5 mmol/L 葡萄糖, 即对照组)、持续性高糖组 (25 mmol/L 葡萄糖)、波动性高糖组 (5.5、25 mmol/L 葡萄糖每 24 小时波动 1 次)、波动性高糖环境 (加入与波动性高糖组相同浓度的甘露醇, 保持与波动性高糖组相同的波动性高糖环境)、波动性高糖+小檗碱干预组 (5.5、25 mmol/L 葡萄糖+50 μmol/L 小檗碱^[12], 每 24 小时波动 1 次), 各组细胞每 24 小时换液 1 次, 共培养 7 d^[13], 然后进行后期实验。

2.2 MTT 法检测细胞活力

将各组细胞接种到 96 孔板中, 将细胞消化后计数, 以每孔 200 μL 培养液中含 5 000 个左右细胞量接种。按照“2.1”项分组及处理方法处理, 培养 7 d 后再继续培养 24 h, 使细胞贴壁, 向培养液中加入 10 μL 的 MTT 储存液, 继续培养 4 h; 加入 150 μL 的 DMSO, 使用酶标仪检测 560 nm 的吸光度 (A) 值。计算细胞增殖率。

$$\text{细胞增殖率} = A_{\text{处理}} / A_{\text{对照}}$$

2.3 TUNEL 染色法检测细胞凋亡

按照 TUNEL 检测试剂盒说明书检测细胞凋亡情况。细胞培养、分组及药物处理方法同“2.1”项, 用 TUNEL 试剂对 HCAECs 进行染色, 染色结束后将细胞置于荧光显微镜下观察, 细胞核呈绿色荧光为 TUNEL 阳性细胞。

2.4 流式细胞术检测细胞凋亡

细胞培养、分组及药物处理方法同“2.1”项, 用 PBS 清洗 2 遍, 0.25% 胰酶消化细胞, 3 000 r/min 离心 5 min, 收集细胞, 加入 0.5 mL binding buffer 重悬细胞, 再加入 Annexin V-PE 和 PI 各 5 μL, 充分混匀, 避光保存, 后用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

2.5 利用实时荧光定量 (qRT-PCR) 及 Western blotting 技术检测细胞凋亡相关蛋白 Caspase-3 表达量

细胞培养、分组及药物处理方法同“2.1”项, 待细胞分组干预完成后, 依据 qRT-PCR 及 Western blotting 制样方法分别收集相应 RNA 及蛋白样品。RNA 样品经反转录后得到 cDNA, 以此 cDNA 为模

板进行 qRT-PCR, 引物分别为 Caspase-3 F: 5'-ATC-CTGAGATGGGTTTAT-3'; Caspase-3 R: 5'-TTCCC-TGAGGTTTGC-3'; 内参基因 β -actin F: 5'-CCCGA-GCCGTGTTTCCT-3'; β -actin R: 5'-GTCCCAG-TTGGTGACGATGC-3'。扩增程序为: 94 °C、3 min; 94 °C、20 s, 60 °C、20 s, 40 个循环; 72 °C、5 min。收取的蛋白样品经 BCA 试剂盒检测蛋白质量浓度后, 根据 Western blotting 步骤进行后续蛋白检测。

2.6 统计学方法

采用 SPSS 22.0 统计软件分析实验数据, 正态分布的计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组均数间比较采用单因素方差分析。

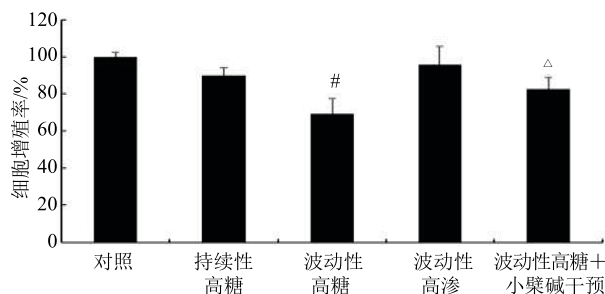
3 结果

3.1 各组 HCAECs 的增殖情况

MTT 检测结果显示在持续性高糖条件下细胞活力有所降低, 与持续性高糖组比较, 波动性高糖组细胞活力明显降低, 说明血糖波动对细胞产生不利影响; 但是加入小檗碱后, 血糖波动对细胞活力所造成的不利影响被部分抵消。结果见图 1。

3.2 TUNEL 检测各组 HCAECs 的凋亡情况

对各组细胞进行相应处理后, 利用 TUNEL 方法检测各组细胞发生凋亡情况, 结果见图 2 和图 3, 与对照组相比, 持续性高糖组细胞发生凋亡比例明显提高, 且变化显著 ($P < 0.05$); 而相对于持续性高糖组, 波动性高糖组细胞凋亡比例进一步增加, 差异显著 ($P < 0.01$), 凋亡细胞明显增多, 说明波动性高糖对细胞损伤更大; 而在波动性高糖环境下添加小檗碱后细胞凋亡情况明显好转, 凋亡率较持续性高



与持续性高糖组比较: $^{\#}P < 0.05$; 与波动性高糖组比较: $^{\Delta}P < 0.05$

$^{\#}P < 0.05$ vs persistent high glucose group; $^{\Delta}P < 0.05$ vs intermittent high glucose group

图 1 MTT 法检测各组细胞活力 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 1 Cell viability in each group measured by MTT method ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

糖组显著降低 ($P < 0.05$), 说明小檗碱对由波动性高糖诱发的细胞损伤具有明显的保护作用, 而波动性高渗环境组细胞凋亡情况变化不明显。

3.3 流式细胞术检测各组 HCAECs 的凋亡情况

为进一步确认各组细胞的凋亡情况, 利用流式细胞术对细胞凋亡进行了再次检测, 其结果与 TUNEL 检测结果大致相符。结果见图 4 和图 5。与对照组相比, 持续性高糖组、波动性高糖组、波动性高糖+小檗碱干预组细胞凋亡比例明显升高 ($P < 0.05$); 而相对于波动性高糖组, 波动性高糖+小檗碱干预组细胞凋亡比率明显降低 ($P < 0.05$)。

3.4 HCAECs 在不同培养环境中 Caspase-3 的表达差异

利用 qRT-PCR 及 Western blotting 技术分别检测

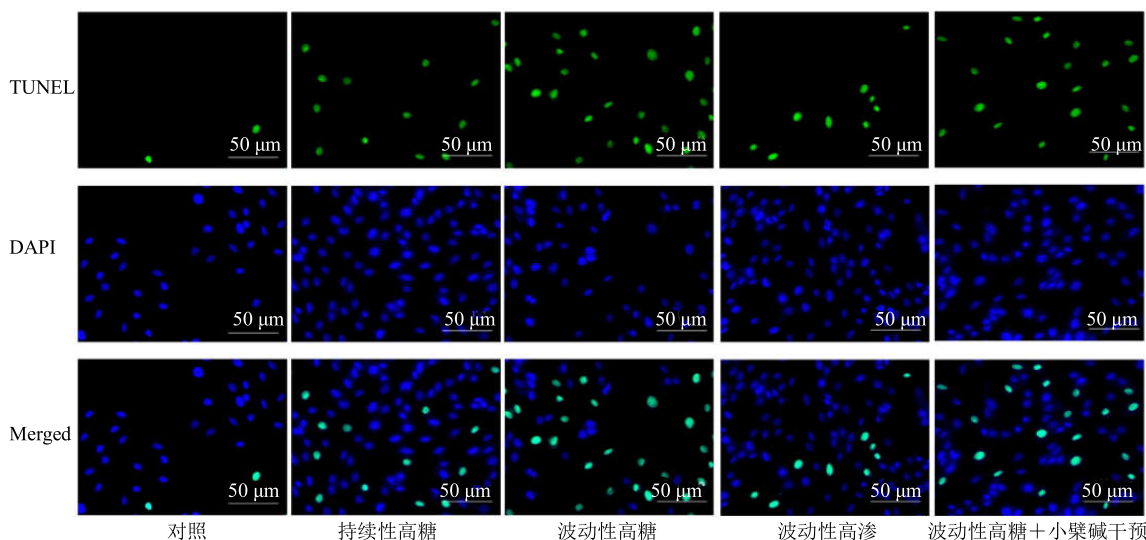
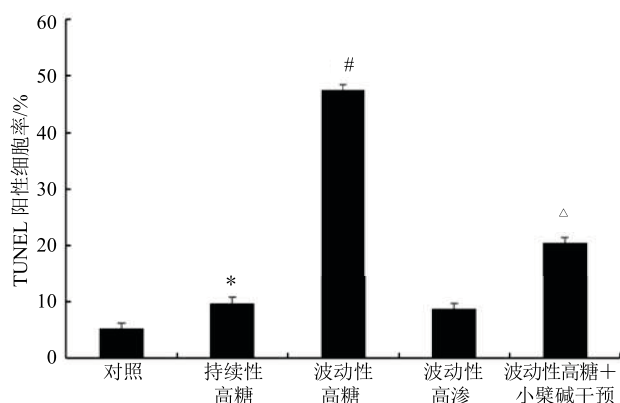


图 2 TUNEL 检测各组细胞凋亡情况

Fig. 2 Cell apoptosis detected by TUNEL



与对照组比较: * $P < 0.05$; 与持续性高糖组比较: # $P < 0.05$; 与波动性高糖组比较: Δ $P < 0.05$, 下同

* $P < 0.05$ vs control group; # $P < 0.05$ vs persistent high glucose group;

Δ $P < 0.05$ vs intermittent high glucose group, same as below

图 3 TUNEL 检测小檗碱对波动性高糖诱导的 HCAECs 细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 3 Effect of berberine on apoptosis of HCAECs induced by intermittent high glucose detected by TUNEL ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

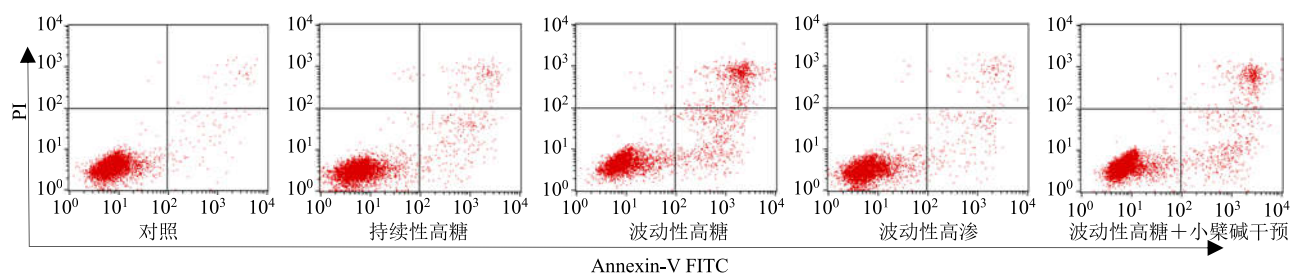


图 4 流式细胞术检测各组细胞凋亡情况

Fig. 4 Cell apoptosis detected by flow cytometry

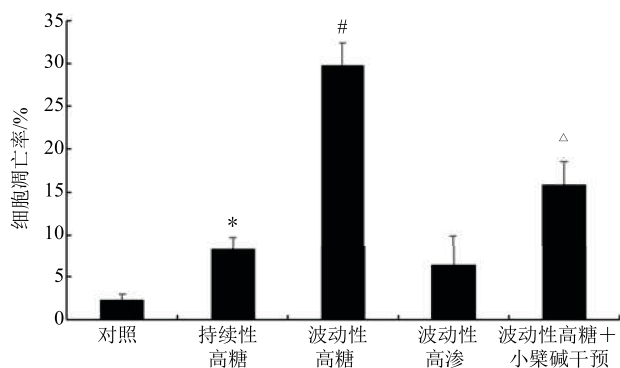


图 5 流式细胞术检测小檗碱对波动性高糖诱导的 HCAECs 细胞凋亡的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 5 Effect of berberine on apoptosis of HCAECs induced by intermittent high glucose detected by flow cytometry ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

与细胞凋亡直接相关的效应分子 Caspase-3 转录和蛋白水平, 结果见图 6, 波动性高糖组 Caspase-3 表达水平明显高于其他组 ($P < 0.05$), 而波动性高糖+小檗碱干预组 Caspase-3 表达水平明显下调 ($P < 0.05$)。

4 讨论

目前全球范围内糖尿病患病率迅猛增高, 糖尿病已成为严重危害人类生命健康的慢性疾病之一, 研究表明波动性高血糖比稳定性高血糖危害更大^[14-15]。血糖波动性越大, 发生各种血管并发症的危险性越高^[16]。本研究以不同浓度的葡萄糖作为 HCAECs 的培养环境, 模拟持续性高糖及波动性高糖损伤微环境, 并以甘露醇为对照组, 排除因高渗引起的细胞破裂干扰, 观察不同浓度葡萄糖环境中 HCAECs 的细胞活力、细胞凋亡及相关蛋白表达情况。本实验发现波动性高糖较持续性高糖更易降低 HCAECs 活力, 诱导 HCAECs 凋亡。目前文献报道波动性高糖导致心血管并发症的内在机制可能涉及细胞凋

亡、氧化应激、激活炎症等方面^[17-21], 本实验证实波动性高糖明显诱导 HCAECs 凋亡, 与既往研究结果一致。

HCAECs 是冠状动脉的重要组成部分, HCAECs 凋亡是导致冠状动脉内皮功能障碍的重要因素, 其参与冠心病、高血压、慢性心力衰竭等多种心血管疾病的发生、发展^[22-24]。HCAECs 凋亡是各种心血管疾病走向终末阶段的细胞分子基础^[25]。

在细胞凋亡过程中, Caspase-3 发挥着关键作用, Caspase-3 是凋亡途径的核心蛋白酶, 其表达与细胞凋亡呈正相关^[26-27]。本实验采用 TUNEL、流式细胞术、Western blotting 等 3 种检测方法间接反映 HCAECs 的凋亡程度, 结果均显示波动性高糖较对照组、持续性高糖组明显促进细胞凋亡。而 HCAECs

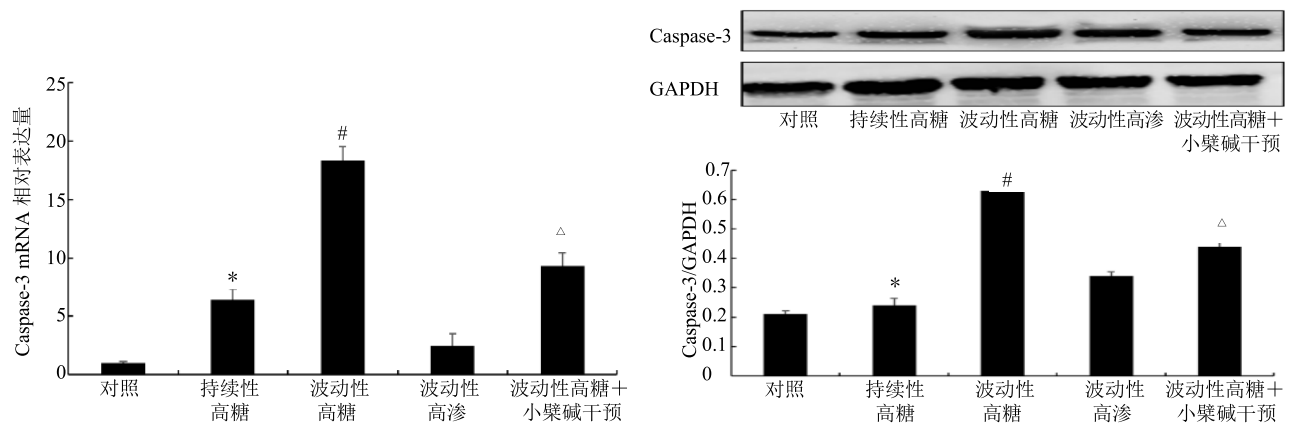


图 6 各组 HCAECs 中 Caspase-3 表达情况 ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

Fig. 6 Expression level of Caspase-3 in HCAECs ($\bar{x} \pm s, n = 3$)

凋亡直接导致心血管疾病的血管并发症发病率增加。因此,抑制或改善 HCAECs 凋亡是心血管领域的重要课题,探寻可抑制 HCAECs 凋亡的有效药物,并明确其细胞分子机制对临床有重要意义。

小檗碱是从中药黄连等植物药中提取的一种异喹啉生物碱,黄连始见于《神农本草经》,是清热解毒的代表药^[28],《珍珠囊》中记载“黄连其用有六,泻心脏火,一也;去中焦湿热,二也;诸疮必用,三也;去风湿,四也;赤眼暴发,五也;止中部见血,六也^[29]”。早在魏晋时期《名医别录》就有“黄连止消渴”的记录,孙思邈在《备急千金药方》中以黄连为君,生地为臣组成千金黄连丸治疗消渴^[30]。目前研究证明小檗碱有降糖、调脂、抗动脉粥样硬化、抗血小板聚集、抗心力衰竭等作用,在心血管疾病中作用广泛^[31-34]。但小檗碱对波动性高糖诱导的 HCAECs 影响的研究目前报道甚少。本研究采用 Western blotting 及 qRT-PCR 技术检测 Caspase-3 的表达情况,结果显示波动性高糖组 Caspase-3 蛋白及 mRNA 表达水平明显增加,而小檗碱可以明显下调波动性高糖诱导的 Caspase-3 表达。进一步证实波动性高糖可通过诱导凋亡途径的关键分子 Caspase-3 活化而导致 HCAECs 凋亡,小檗碱可抑制波动性高糖诱导的细胞凋亡。但是本研究未明确小檗碱是通过何种途径改善波动性高糖所致的 HCAECs 凋亡,其分子机制有待进一步研究。

综上所述,波动性高糖对 HCAECs 有明显的损伤作用,且波动性高糖较持续性高糖对内皮功能的损伤更显著,此作用可能加速糖尿病患者动脉粥样硬化的进程。因此,糖尿病患者控制血糖时,除

应关注平均血糖水平外,还应注意餐后血糖峰的变化,避免血糖波动引起 HCAECs 的急性损伤。临床上,控制高血糖的手段较多,但可以有效控制血糖波动的治疗手段有限。该研究结果提示小檗碱能有效抑制波动性高糖诱导的 HCAECs 凋亡,为研究小檗碱在糖尿病心血管并发症中的作用和相关机制提供新的科学依据。但是,小檗碱具体作用于哪条信号通路对 HCAECs 凋亡起保护作用,本实验尚未涉及,其具体的分子机制有待深入探讨。且本实验为体外实验,在动物及人体等体内实验小檗碱是否同样有效,在今后的工作中需进一步研究。

参考文献

- [1] Basri N I, Mahdy Z A, Ahmad S, *et al.* The World Health Organization (WHO) versus The International Association of Diabetes and Pregnancy Study Group (IADPSG) diagnostic criteria of gestational diabetes mellitus (GDM) and their associated maternal and neonatal outcomes [J]. *Horm Mol Biol Clin Invest*, 2018, 34(1): 77-86.
- [2] Lunder M, Janic M, Sabovic M. Prevention of vascular complications in diabetes mellitus patients: Focus on the arterial wall [J]. *Curr Vasc Pharmacol*, 2018, 17(1): 6-15.
- [3] Li H, Luo H Y, Liu Q, *et al.* Intermittent high glucose exacerbates A-FABP activation and inflammatory response through TLR4-JNK signaling in THP-1 cells [J]. *J Immunol Res*, 2018, 4(11):272-281.
- [4] Zhang W, Song J, Zhang Y, *et al.* Intermittent high glucose-induced oxidative stress modulates retinal pigmented epithelial cell autophagy and promotes cell survival via increased HMGB1 [J]. *BMC Ophthalmol*,

- 2018, 18(1): 192-200.
- [5] Tao S, Ren Y, Zheng H, *et al.* Salvianolic acid B inhibits intermittent high glucose-induced INS-1 cell apoptosis through regulation of Bcl-2 proteins and mitochondrial membrane potential [J]. *Eur J Pharmacol*, 2017, 11(5): 56-62.
- [6] Kim Y J, Park S M, Jung H S, *et al.* Ginsenoside Rg3 prevents INS-1 cell death from intermittent high glucose stress [J]. *Islets*, 2016, 8(3): 57-64.
- [7] Wang L, Ma H, Xue Y, *et al.* Berberine inhibits the ischemia-reperfusion injury induced inflammatory response and apoptosis of myocardial cells through the phosphoinositide 3-kinase/RAC- α serine/threonine-protein kinase and nuclear factor- κ B signaling pathways [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 15(2): 1225-1232.
- [8] Zhao L, Cang Z, Sun H, *et al.* Berberine improves glucogenesis and lipid metabolism in nonalcoholic fatty liver disease [J]. *BMC Endocr Disord*, 2017, 17(1): 13-21.
- [9] Yao Q, Xu D, Li H L, *et al.* Berberine promoted myocardial protection of postoperative patients through regulating myocardial autophagy [J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 9(15): 1050-1053.
- [10] Zhu Q W, Li Y G. Berberine attenuates myocardial ischemia reperfusion injury by suppressing the activation of PI3K/AKT signaling [J]. *Exp Ther Med*, 2016, 11(3): 978-984.
- [11] 王 灿, 蒋建东, 孔维佳. 小檗碱治疗代谢性疾病抗炎作用的研究进展 [J]. *药物评价研究*, 2018, 41(4): 692-696.
- [12] Zhao G L, Yu L M, Gao W L, *et al.* Berberine protects rat heart from ischemia/reperfusion injury via activating JAK2/STAT3 signaling and attenuating endoplasmic reticulum stress [J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2016, 37: 354-367.
- [13] Zhang Z, Li J, Yang L, *et al.* The Cytotoxic role of intermittent high glucose on apoptosis and cell viability in pancreatic beta cells [J]. *J Diabetes Res*, 2014, doi: org/10.1155/2014/712781.
- [14] Zhong Y, Wang J J, Zhang S X. Intermittent but not constant high glucose induces ER stress and inflammation in human retinal pericytes [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2012, 7(23): 285-292.
- [15] Sun L Q, Chen Y Y, Wang X, *et al.* The protective effect of alpha lipoic acid on Schwann cells exposed to constant or intermittent high glucose [J]. *Biochem Pharmacol*, 2012, 84(7): 961-973.
- [16] Maeda M, Hayashi T, Mizuno N, *et al.* Intermittent high glucose implements stress-induced senescence in human vascular endothelial cells: Role of superoxide production by NADPH oxidase [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4): e0123169.
- [17] Wei J, Wu H, Zhang H, *et al.* Anthocyanins inhibit high glucose-induced renal tubular cell apoptosis caused by oxidative stress in db/db mice [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(3): 1608-1618.
- [18] Zhou H, Sun Y, Zhang L, *et al.* The RhoA/ROCK pathway mediates high glucose-induced cardiomyocyte apoptosis via oxidative stress, JNK, and p38MAPK pathways [J]. *Diabetes Metab Res Rev*, 2018, 34(6): 3022-3028.
- [19] Nazanin N S, Saeedeh S F, Reza F, *et al.* Phosphodiesterase 4 and 7 inhibitors produce protective effects against high glucose-induced neurotoxicity in PC12 cells via modulation of the oxidative stress, apoptosis and inflammation pathways [J]. *Metab Brain Dis*, 2018, 33(4): 1293-1306.
- [20] Jadaun P, Yadav D, Bisen P S. Spirulina platensis prevents high glucose-induced oxidative stress mitochondrial damage mediated apoptosis in cardiomyoblasts [J]. *Cytotechnology*, 2018, 70(2): 523-536.
- [21] Fei Y, Sun L, Yuan C, *et al.* CFTR ameliorates high glucose-induced oxidative stress and inflammation by mediating the NF- κ B and MAPK signaling pathways in endothelial cells [J]. *Int J Mol Med*, 2018, 41(6): 3501-3508.
- [22] Xue M, Qiqige C, Zhang Q, *et al.* Effects of tumor necrosis factor alpha (TNF- α) and interleukin 10 (IL-10) on intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) and cluster of differentiation 31 (CD31) in human coronary artery endothelial cells [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 6(27): 4433-4439.
- [23] Shimoda Y, Tagaya Y, Saito T, *et al.* Continuous or transient high level of glucose exposure differentially increases coronary artery endothelial cell proliferation and human colon cancer cell proliferation [J]. *Cell J*, 2017, 19(Suppl 1): 106-112.
- [24] Song C L, Liu B, Shi Y F, *et al.* MicroRNA-130a alleviates human coronary artery endothelial cell injury and inflammatory responses by targeting PTEN via activating PI3K/Akt/eNOS signaling pathway [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(44): 71922-71936.
- [25] Cimen T, Efe T H, Akyel A, *et al.* Human endothelial cell-specific molecule-1 (endocan) and coronary artery disease and microvascular angina [J]. *Angiology*, 2016, 67(9): 846-853.
- [26] Zhu Y, Yi Y, Bai B, *et al.* The silencing of replication

- protein A1 induced cell apoptosis via regulating Caspase 3 [J]. *Life Sci*, 2018, 5(15): 141-149.
- [27] Hou L, Zhang Y, Yu B, *et al*. Oocyte-G1 promotes male germ cell apoptosis through activation of Caspase-3 [J]. *Gene*, 2018, 9(5): 22-30.
- [28] 宋兆峰, 杜波, 季晓平. 多二磷酸腺苷-核糖聚合酶在大鼠心肌缺血再灌注损伤中的作用及其对核转录因子 κ B 活性和炎症因子表达的调节 [J]. *中华心血管病杂志*, 2012, 40(12): 997-1002.
- [29] 李向东, 杨跃进, 赵京林, 等. 缺血预适应改善猪急性心肌梗死再灌注后无复流和再灌注损伤的作用与通过蛋白激酶 A 通路减轻心肌水肿有关 [J]. *中华心血管病杂志*, 2012, 40(11): 945-951.
- [30] 李美平, 孙国杰, 尤行宏. 头针对心肌缺血再灌注大鼠心交感放电、心肌 β 1-肾上腺素受体蛋白表达及血浆去甲肾上腺素含量的影响 [J]. *针刺研究*, 2012, 37(5): 385-389.
- [31] Yu L, Li F, Zhao G, *et al*. Protective effect of berberine against myocardial ischemia reperfusion injury: Role of Notch1/Hes1-PTEN/Akt signaling [J]. *Apoptosis*, 2015, 20(6): 796-810.
- [32] Wang Y, Liu J, Ma A, *et al*. Cardioprotective effect of berberine against myocardial ischemia/reperfusion injury via attenuating mitochondrial dysfunction and apoptosis [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(8): 14513-14519.
- [33] 姜甜, 贾友宏, 李一石. 小檗碱调脂作用机制的研究进展 [J]. *现代药物与临床*, 2016, 31(5): 727-730.
- [34] 沈宁, 李彩娜, 环奕, 等. 小檗碱调节血糖血脂代谢紊乱机制研究进展 [J]. *药学报*, 2010, 45(6): 699-704.