

## 野黄芩苷通过抑制线粒体凋亡通路 对抗心肌细胞急性缺血损伤

范利斌<sup>1</sup> 康剑锋<sup>1</sup> 张战波<sup>1</sup> 周静<sup>1</sup> 顾军<sup>2</sup> 李建宇<sup>2,3</sup>

(1. 武警河北总队医院急诊 ICU 科, 河北 石家庄 050081; 2. 武警后勤学院药物化学教研室, 天津 300162; 3. 天津市职业与环境危害防制重点实验室, 天津 300309)

**【摘要】** 目的 观察野黄芩苷对心肌细胞急性缺血损伤的保护作用,并探讨其分子作用机制。方法 用出生 1~3 d 的 SD 大鼠进行心肌细胞原代培养,将生长良好的心肌细胞按随机数字表法分为空白对照组、缺血模型组以及高、中、低剂量野黄芩苷组(缺氧前加入 100、50、25  $\mu\text{mol/L}$  药物)5 组,每组设 6 个样本。通过体外建立低氧( $\text{O}_2 < 1\%$ )、无糖的培养条件(6 h),模拟心肌细胞急性缺血损伤;用四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法检测各组细胞的生长活性;用流式细胞仪测定细胞凋亡率,用烟酸己可碱-碘化丙啶(Hoechst-PI)染色观察细胞凋亡形态学变化;用蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)分析细胞色素 C、Bax、Bcl-2 及天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3)的蛋白表达水平。结果 与空白对照组比较,缺血模型组细胞活性显著降低[吸光度(A 值): $0.053 \pm 0.013$  比  $0.173 \pm 0.017$ ],细胞凋亡率显著升高[( $44.78 \pm 5.73$ )% 比 ( $5.09 \pm 0.43$ )%, 均  $P < 0.01$ ];在高、中、低剂量野黄芩苷干预下细胞活性则较缺血模型组明显回升(A 值: $0.159 \pm 0.022$ 、 $0.133 \pm 0.015$ 、 $0.124 \pm 0.011$  比  $0.053 \pm 0.013$ ),细胞凋亡率则显著下降[( $19.58 \pm 0.22$ )%、( $24.49 \pm 3.15$ )%、( $26.09 \pm 0.27$ )% 比 ( $44.78 \pm 5.73$ )%, 均  $P < 0.01$ ]。与空白对照组比较,缺血模型组中大量细胞出现核固缩、染色质凝集等凋亡形态改变,各剂量野黄芩苷干预下凋亡细胞明显减少。与空白对照组比较,缺血模型组细胞色素 C、Bax 及 caspase-3 蛋白表达升高[细胞色素 C(A 值): $0.784 \pm 0.039$  比  $0.694 \pm 0.035$ , Bax(A 值): $0.623 \pm 0.031$  比  $0.490 \pm 0.025$ , caspase-3: $0.744 \pm 0.037$  比  $0.624 \pm 0.031$ ], Bcl-2 蛋白表达降低( $0.813 \pm 0.041$  比  $0.917 \pm 0.046$ , 均  $P < 0.01$ );与缺血模型组比较,高、中、低剂量野黄芩苷组细胞色素 C、caspase-3 及 Bax 蛋白表达降低[细胞色素 C: $0.735 \pm 0.037$ 、 $0.736 \pm 0.037$ 、 $0.744 \pm 0.037$  比  $0.784 \pm 0.039$ , caspase-3(A 值): $0.652 \pm 0.033$ 、 $0.684 \pm 0.034$ 、 $0.691 \pm 0.035$  比  $0.744 \pm 0.037$ , Bax(A 值): $0.523 \pm 0.026$ 、 $0.527 \pm 0.026$ 、 $0.579 \pm 0.027$  比  $0.623 \pm 0.031$ ], Bcl-2 蛋白表达升高(A 值: $0.885 \pm 0.044$ 、 $0.876 \pm 0.044$ 、 $0.841 \pm 0.042$  比  $0.813 \pm 0.041$ , 均  $P < 0.01$ )。结论 野黄芩苷可以显著对抗心肌细胞急性缺血损伤,其机制是通过调控线粒体通路抑制心肌细胞凋亡的发生。

**【关键词】** 野黄芩苷; 急性缺血; 心肌细胞; 线粒体通路; 凋亡

**Antagonizing effect of scutellarin on acute ischemia injury in cardiomyocytes via inhibition of mitochondrial apoptotic pathway** Fan Libin\*, Kang Jianfeng, Zhang Zhanbo, Zhou Jing, Gu Jun, Li Jianyu. \*Department of Emergency Medicine, Hebei Provincial Armed Police Corps, Shijiazhuang 050081, Hebei, China.

Corresponding author: Li Jianyu, Department of Chemical Pharmacy, Logistics College of Chinese People's Armed Police Forces; Tianjin Key Laboratory for Prevention and Control of Occupational and Environmental Hazards, Tianjin 300309, China; Email: lijianyu118@163.com

**【Abstract】** **Objective** To investigate the protective effect of scutellarin on cardiomyocytes injured by acute ischemia and its molecular mechanism. **Methods** Sprague-Dawley (SD) rats 1-3 days old were selected for the primary culture of cardiomyocytes. The well grown myocardial cells were randomly assigned into five groups according to random number table: blank control group, ischemia model group and three different doses of scutellarin groups (before ischemia, pretreated with 100, 50 and 25  $\mu\text{mol/L}$  scutellarin), and there were 6 samples in each group. The simulated injury of acute myocardial ischemia was established in vitro by using the cardiomyocytes cultured in a glucose-free and anoxic condition ( $\text{O}_2 < 1\%$ ). The survival capabilities of cells in each group were determined via methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) colorimetric assay and the apoptotic percentages of cells were detected via flow cytometry. The morphological changes of apoptotic cells were observed via Hoechst-Propidium iodide (PI) staining. The level expressions of cytochrome C, Bax, Bcl-2, and cysteinyl aspartate specific caspase-3 proteins were determined by Western Blot. **Results** Compared with blank control group, the survival capability of cells was significantly decreased (A values:  $0.053 \pm 0.013$  vs.  $0.173 \pm 0.017$ ) and the apoptotic percentage increased in model group [( $44.78 \pm 5.73$ )% vs. ( $5.09 \pm 0.43$ )%,  $P < 0.01$ ]. Compared with ischemia model group, under the interference of high, middle and

low scutellarin doses, the survival capabilities of cells could be enhanced ( $A$  values:  $0.159 \pm 0.022$ ,  $0.133 \pm 0.015$ ,  $0.124 \pm 0.011$  vs.  $0.053 \pm 0.013$ ) and the apoptotic percentages decreased in all the 3 groups [( $19.58 \pm 0.22$ )%, ( $24.49 \pm 3.15$ )%, ( $26.09 \pm 0.27$ )% vs. ( $44.78 \pm 5.73$ )%, all  $P < 0.01$ ]. Compared with the blank control group, the morphology of injured cells appeared apoptotic changes such as shrinkage of nuclei and condensation of chromatin, while in the 3 scutellarin pretreatment groups, those changes were significantly attenuated. Compared with blank control group, the protein expressions of cytochrome C, Bax, and caspase-3 were increased [cytochrome C ( $A$  values):  $0.784 \pm 0.039$  vs.  $0.694 \pm 0.035$ , Bax ( $A$  values):  $0.623 \pm 0.031$  vs.  $0.490 \pm 0.025$ , caspase-3 ( $A$  values):  $0.744 \pm 0.037$  vs.  $0.624 \pm 0.031$ , all  $P < 0.01$ ) and the expressions of Bcl-2 decreased ( $A$  values:  $0.813 \pm 0.041$  vs.  $0.917 \pm 0.046$ ,  $P < 0.01$ ) in model group. Compared with ischemia model group, all the doses of scutellarin down-regulated the level expressions of cytochrome C, Bax and Caspase-3 [cytochrome C ( $A$  values):  $0.735 \pm 0.037$ ,  $0.736 \pm 0.037$ ,  $0.744 \pm 0.037$  vs.  $0.784 \pm 0.039$ , caspase-3 ( $A$  values):  $0.652 \pm 0.033$ ,  $0.684 \pm 0.034$ ,  $0.691 \pm 0.035$  vs.  $0.744 \pm 0.037$ , Bax ( $A$  values):  $0.523 \pm 0.026$ ,  $0.527 \pm 0.026$ ,  $0.579 \pm 0.027$  vs.  $0.623 \pm 0.031$ , all  $P < 0.01$ ] and up-regulated the expressions of Bcl-2 ( $A$  values:  $0.885 \pm 0.044$ ,  $0.876 \pm 0.044$ ,  $0.841 \pm 0.042$  vs.  $0.813 \pm 0.041$ , all  $P < 0.01$ ). **Conclusions** Scutellarin has a protective effect on the injury of acute myocardial ischemia. The mechanism is associated with the regulation of mitochondrial pathway to inhibit the cardiomyocyte apoptosis.

**【Key words】** Scutellarin; Acute ischemia; Cardiomyocyte; Mitochondrial pathway; Apoptosis

中药灯盏细辛具有舒张血管、抑制血小板聚集、改善微循环等功能,在临床上可以治疗缺血、缺氧性心、脑血管疾病。但在灯盏细辛抗缺血机制方面的众多探索中,研究对象还多为其提取的黄酮类混合物灯盏花素,而关于其中重要单体的药理学活性及作用机制还未完全阐明<sup>[1-2]</sup>。目前研究显示,灯盏花素中的主要药效成分为活性单体野黄芩苷(灯盏花乙素),本课题组前期对其进行了结构改造和药理学方面的初步研究<sup>[3-4]</sup>。在此基础上,本研究采用体外原代培养的心肌细胞,通过建立低氧、无糖的培养环境,模拟急性缺血性心肌损伤,并采用四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法、流式细胞术、烟酸己可碱-碘化丙啶(Hoechst-PI)双染及蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)探讨灯盏细辛中单体药物野黄芩苷抗急性缺血性心肌损伤的药理学作用及可能机制。

## 1 材料与方法

**1.1 药品与试剂:**野黄芩苷(纯度>90%,南京泽朗医药科技有限公司);DMEM/F12培养基(美国GIBCO公司)、胎牛血清(中国医学科学院血液病研究所)、胰蛋白酶(京鼎国生物有限公司);MTT(美国Sigma公司);Hoechst-PI染色试剂盒(上海江莱生物科技有限公司);细胞色素C、Bcl-2、Bax及天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶-3(caspase-3)鼠多克隆抗体(美国Santa Cruz公司)。

**1.2 实验动物与分组:**将出生1~3d的清洁级SD大鼠,雌雄不限[由解放军军事医学科学院实验动物中心提供,许可证号:SCXK-(军)2007-004]用于体外心肌细胞的原代培养。用随机数字表法将心肌细胞分为空白对照组、缺血模型组以及高、中、低剂量野黄芩苷组(制模前加入野黄芩苷100、50、25 μmol/L预处理),每组设6个样本。

**1.3 体外心肌细胞的原代培养<sup>[5]</sup>:**取SD乳鼠心室肌置于D-Hanks缓冲液中冲洗,剪成约1 mm×1 mm×1 mm组织块,用0.25%胰酶消化,收集细胞消化液,用含胎牛血清的培养基中止消化,离心2次,每次10 min,收集沉淀,置于含10%胎牛血清的DMEM/F12培养基中混匀,接种于25 mL培养瓶中,利用差速贴壁法纯化心肌细胞,以 $1 \times 10^5$ 个/mL浓度分别接种到96孔板(每孔200 μL)、6孔板(每孔2 mL)及25 mL培养瓶(每瓶4 mL)。培养4d后进行后续实验。

**1.4 急性缺血心肌损伤模型的复制:**心肌细胞正常培养4d后,更换为无血清培养基继续孵育12 h,使各组心肌细胞生长同步化,在药物干预组中加入高、中、低剂量野黄芩苷100、50、25 μmol/L后,建立心肌细胞急性缺血损伤模型:将DMEM/F12培养基替换为无糖的D-Hanks缓冲液[预先用95%氮气(N<sub>2</sub>)与5%CO<sub>2</sub>的混合气体饱和],然后快速将心肌细胞培养板置于单向气流低氧罐中,并向低氧罐中持续充入95%N<sub>2</sub>与5%CO<sub>2</sub>的混合气体,同时利用测氧仪实时监测排气口的氧气浓度(<1%),于37℃恒温培养箱中孵育6h。

## 1.5 检测指标及方法

**1.5.1 MTT比色法测定细胞活性:**急性缺血6h后,向接种于96孔板的各组心肌细胞中加入MTT工作液(5 g/L),每孔加入20 μL,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>恒温箱中继续培养4h后,终止孵育并倾倒入内孵育液,再加入150 μL二甲基亚砜(DMSO)溶解液,经37℃恒温摇床振摇15 min后,使反应沉淀充分溶解,将96孔板置于酶标仪(Bio-Rad 680 美国)中,在测定波长为570 nm、参考波长为630 nm处检测各孔吸光度( $A$ 值)。

**1.5.2 流式细胞术测定细胞凋亡率:**急性缺血 6 h 后,将接种于 6 孔板的各组心肌细胞用胰酶消化,中止、离心后制备细胞悬液,将心肌细胞悬液加入到 -20 ℃ 预冷的 70% 乙醇中固定,离心去除固定液,加入核糖核酸酶 (Rnase) A 置于 37 ℃ 水浴中孵育 30 min,然后加入 PI 染液,于 4 ℃ 避光反应 30 min,用流式细胞仪 (Elite Esp 型,美国) 检测各组心肌细胞凋亡率。

**1.5.3 Hoechst-PI 荧光双染观察细胞凋亡形态:**急性缺血 6 h 后,将各组心肌细胞用胰酶消化,中止、离心后加入 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液 (PBS) 制备细胞悬液,移入 1.5 mL 小离心管 (EP 管) 中,离心去上清液,用 PBS 洗涤 3 次,加 Hoechst-PI 混合荧光染色剂 40 μL,充分混匀,置于 37 ℃ 恒温培养箱中孵育 10 min,离心弃去染色液,用 0.01 mol/L PBS 清洗,离心制备细胞悬液,经细胞涂片后,于荧光显微镜 (Olympus 1X71, 日本) 下观察细胞凋亡形态。

**1.5.4 Western Blot 检测细胞色素 C、Bax、Bcl-2、caspase-3 蛋白表达水平:**急性缺血 6 h 后,向接种于 25 mL 培养瓶的各组心肌细胞中加入蛋白裂解液,提取细胞总蛋白,并进行蛋白定量。经十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (SDS-PAGE) 后,转膜于聚偏二氟乙烯 (PVDF) 膜上,用三羟甲基氨基甲烷盐酸盐缓冲液 (Tris-HCl) 液漂洗 10 min,置于 5% 脱脂奶粉液中室温封闭 1 h,加入一抗稀释液 (1:800)、4 ℃ 过夜,用含吐温的磷酸盐缓冲液 (TBST) 洗膜,用生物素标记的二抗工作液 37 ℃ 孵育 1 h, TBST 洗膜,用辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的链霉卵白素 (SP) 工作液室温孵育 1 h, TBST 洗膜,采用 HRP-3, 3'-二氨基联苯胺 (DAB) 显色。采用凝胶成像分析系统 (GelPro 4.5, 美国) 摄片,分析数据用目的条带与内参照 β 肌动蛋白 (β-actin) 条带的吸光度 (A) 值比值表示。

**1.6 统计学分析:**使用 SPSS 13.0 软件分析数据,计量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间比较采用 *q* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 野黄芩苷对心肌细胞生长活性的影响 (表 1):** MTT 实验结果显示,与空白对照组比较,缺血模型组心肌细胞活性显著降低 (*P* < 0.01); 与缺血模型组比较,高、中、低剂量野黄芩苷组心肌细胞活性显著增高 (*P* < 0.01),细胞生长活性明显回升。

表 1 各组心肌细胞生长活性比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

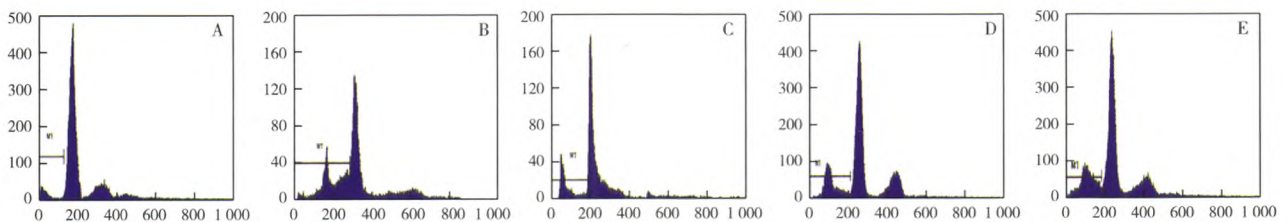
组别	样本数 (孔)	细胞活性 (A 值)	细胞凋亡率 (%)
空白对照组	6	0.173 ± 0.017	5.09 ± 0.43
缺血模型组	6	0.053 ± 0.013 <sup>a</sup>	44.78 ± 5.73
高剂量野黄芩苷组	6	0.159 ± 0.022 <sup>b</sup>	19.58 ± 0.22
中剂量野黄芩苷组	6	0.133 ± 0.015 <sup>b</sup>	24.49 ± 3.15
低剂量野黄芩苷组	6	0.124 ± 0.011 <sup>b</sup>	26.09 ± 0.27

注:与空白对照组比较,<sup>a</sup>*P* < 0.01;与缺血模型组比较,<sup>b</sup>*P* < 0.01

**2.2 野黄芩苷对心肌细胞凋亡率的影响 (表 1; 图 1):**与空白对照组比较,缺血模型组心肌细胞凋亡率显著升高 (*P* < 0.01); 与缺血模型组比较,高、中、低剂量野黄芩苷组心肌细胞凋亡率显著降低 (*P* < 0.01)。

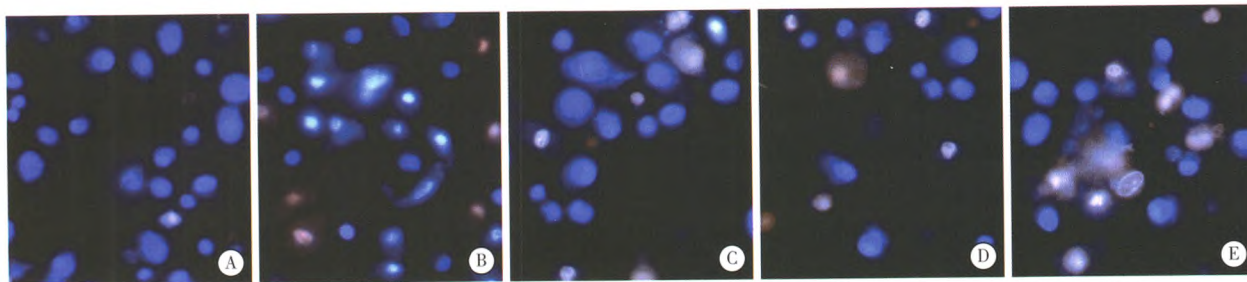
**2.3 野黄芩苷对心肌细胞凋亡形态的影响 (图 2):** Hoechst-PI 染色结果显示,空白对照组表现为心肌细胞核大、饱满,胞核边缘清楚,呈淡蓝色荧光;缺血模型组心肌细胞呈凋亡形态改变,表现为细胞核固缩变小,边缘模糊,染色质凝集呈亮蓝色,镜下同时可见红染的坏死细胞;各剂量野黄芩苷组仅见部分心肌细胞染色质轻度浓集,凋亡心肌细胞数量明显减少。

**2.4 野黄芩苷对心肌细胞线粒体凋亡通路的影响 (图 3; 表 2):** Western Blot 检测结果显示,与空白对照组比较,缺血模型组心肌细胞细胞色素 C、caspase-3 及 Bax 蛋白表达水平显著升高 (均 *P* < 0.01), Bcl-2 蛋白表达水平显著降低 (*P* < 0.01); 与缺血模型组比较,高、中、低剂量野黄芩苷组心肌细胞细胞色素 C、caspase-3 及 Bax 蛋白表达水平显著降低 (均 *P* < 0.01), Bcl-2 蛋白表达水平显著升高 (*P* < 0.01)。



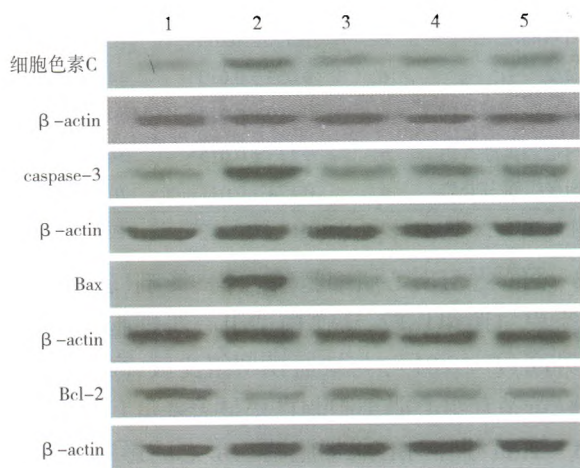
注: A 为空白对照组; B 为缺血模型组; C 为高剂量野黄芩苷组; D 为中剂量野黄芩苷组; E 为低剂量野黄芩苷组

图 1 各组心肌细胞凋亡率的比较



注：A 为空白对照组；B 为缺血模型组；C 为高剂量野黄芩苷组；D 为中剂量野黄芩苷组；E 为低剂量野黄芩苷组

图 2 各组心肌细胞凋亡形态比较(Hoechst-PI 染色 高倍放大)



注：1 为空白对照组；2 为缺血模型组；3~5 分别为高、中、低剂量野黄芩苷组

图 3 各组心肌细胞细胞色素 C、caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白表达水平比较

表 2 各组心肌细胞细胞色素 C、caspase-3、Bax、Bcl-2 蛋白表达水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本数 (孔)	细胞色素 C (A 值)	caspase-3 (A 值)	Bax (A 值)	Bcl-2 (A 值)
空白对照组	6	0.694 ± 0.035	0.624 ± 0.031	0.490 ± 0.025	0.917 ± 0.046
缺血模型组	6	0.784 ± 0.039 <sup>a</sup>	0.744 ± 0.037 <sup>a</sup>	0.623 ± 0.031 <sup>a</sup>	0.813 ± 0.041 <sup>a</sup>
高剂量野黄芩苷组	6	0.735 ± 0.037 <sup>b</sup>	0.652 ± 0.033 <sup>b</sup>	0.523 ± 0.026 <sup>b</sup>	0.885 ± 0.044 <sup>b</sup>
中剂量野黄芩苷组	6	0.736 ± 0.037 <sup>b</sup>	0.684 ± 0.034 <sup>b</sup>	0.527 ± 0.026 <sup>b</sup>	0.876 ± 0.044 <sup>b</sup>
低剂量野黄芩苷组	6	0.744 ± 0.037 <sup>b</sup>	0.691 ± 0.035 <sup>b</sup>	0.579 ± 0.027 <sup>b</sup>	0.841 ± 0.042 <sup>b</sup>

注：与空白对照组比较，<sup>a</sup> $P < 0.01$ ；与缺血模型组比较，<sup>b</sup> $P < 0.01$

### 3 讨论

缺血性心脏疾病严重危害了人们的身体健康，其发病机制主要是由于缺血、缺氧环境诱发心肌能量代谢障碍，引起心肌结构和功能的损伤，最终导致心肌细胞的凋亡或坏死。目前认为，药物干预是防治缺血性心脏病的有效途径。近年的研究发现，许多中草药都有抗缺血性心肌损伤的疗效<sup>[6-8]</sup>，关于中药抗缺血活性的单体药物研究正成为众多科研工作者关注的热点。

中草药灯盏细辛由于具有舒张血管、抑制血小

板聚集、改善微循环等功能，在临床上主要用于治疗缺血性心、脑血管疾病。研究发现，野黄芩苷(又名灯盏花乙素)是其抗缺血药效的主要活性单体。但目前关于野黄芩苷对缺血心肌的药理学作用及分子调控机制还未阐明。因此，本研究采用体外原代培养的心肌细胞，建立心肌急性缺血损伤模型，观察单体药物野黄芩苷对急性缺血性心肌损伤的保护作用，并通过分析线粒体凋亡通路信号表达探讨其抗缺血作用的分子机制。

目前普遍认为，通过体外建立低氧、低糖的培养环境，可以模拟机体中各种组织、器官的缺血损伤<sup>[9-10]</sup>。本研究通过将体外原代培养的乳鼠心肌细胞置于无糖 D-Hanks 缓冲液和 95% N<sub>2</sub>、5% CO<sub>2</sub> 的缺氧混合气体中孵育 6 h，建立急性缺血性心肌损伤模型。MTT 结果显示，与空白对照组比较，模型组心肌细胞生长活性显著下降，表明急性缺血可诱发严重的心肌损伤；而加入各剂量野黄芩苷药物干预后，心肌细胞生长活性显著回升，提示野黄芩苷具有对缺血性心肌损伤的作用。

细胞凋亡作为机体的一种程序性死亡过程，在缺血性心脏疾病的病理损伤机制中发挥重要作用。研究表明，通过早期药物干预可最大程度地减少缺血诱导心肌细胞凋亡的发生，有效防治缺血性心肌损伤<sup>[11]</sup>。本实验通过流式细胞术测定各组心肌细胞的凋亡率，结果显示急性缺血损伤可以诱发大量心肌细胞凋亡，而加入各剂量野黄芩苷干预后心肌细胞凋亡率显著降低，提示野黄芩苷对缺血性心肌损伤的保护作用可能与其抑制缺血诱导的细胞凋亡有关。在缺血损伤时，凋亡细胞典型的形态特征主要表现为：细胞质皱缩、细胞核固缩，染色质高度凝集易边缘化或呈分叶、碎片状，晚期可出现凋亡小体。本研究通过 Hoechst-PI 荧光双染发现，缺血模型组心肌细胞呈现典型的凋亡形态改变，而加入各剂量野黄芩苷药物干预后仅见部分心肌细胞染色质轻度浓集，凋亡的细胞数量明显减少，这一结果进一

步提示了野黄芩苷对心肌细胞凋亡的抑制作用。

基于以上的研究结果,本研究进一步探讨了野黄芩苷抑制心肌细胞凋亡的分子机制。目前认为,线粒体途径是调控细胞凋亡的一条重要的信号通路。研究发现,缺血环境导致氧的供应不足,进而诱发线粒体的功能障碍,引起线粒体膜通透性的增加,致使促凋亡信号分子细胞色素 C 的大量释放,并最终触发下游信号蛋白 caspase 家族的级联反应,导致细胞凋亡的发生<sup>[12]</sup>。另外,在调控细胞凋亡的线粒体途径中, Bax 与 Bcl-2 蛋白发挥了重要的平衡作用。Bax 是促凋亡蛋白,而 Bcl-2 是与之相反的抑凋亡蛋白, Bax 与 Bcl-2 蛋白的表达比值通常用来表示细胞凋亡的发展水平<sup>[13]</sup>。本研究通过 Western Blot 检测了上述信号分子的表达,结果显示急性缺血后心肌细胞中促凋亡蛋白细胞色素 C、caspase-3 及 Bax 表达水平显著升高,抑凋亡蛋白 Bcl-2 表达水平明显降低,而加入野黄芩苷药物干预后显著下调了促凋亡蛋白细胞色素 C、caspase-3 及 Bax 的表达水平,上调了抑凋亡蛋白 Bcl-2 表达水平,提示野黄芩苷对心肌细胞凋亡的抑制作用可能是通过调控线粒体信号通路实现的。

#### 参考文献

- [1] 徐露,张太君.冰片配伍灯盏花素对大鼠脑缺血再灌注损伤血脑屏障通透性的影响[J].中药药理与临床,2015,31(1):74-76.
- [2] 苏耀中,郭晓宁.盐酸纳洛酮联合灯盏花素注射液治疗急性脑梗死 30 例临床观察[J].中国中西医结合急救杂志,2006,13(6):334-334.
- [3] 李建宇,代皓,刘辉,等.灯盏乙素苯酯衍生物对急性缺氧心肌细胞 Bcl-2 和 Bax 表达的影响[J].中华危重病急救医学,2011,23(6):337-340.
- [4] 杨丽梅,顾军,李建宇,等.灯盏乙素衍生物的合成及抗大鼠心肌缺血活性研究[J].天津中医药,2010,27(3):240-242.
- [5] 朱晓丽,王丽,马依彤,等.乳鼠心肌细胞和心肌纤维细胞体外分离培养方法的优化[J].中国动脉硬化杂志,2015,23(1):90-93.
- [6] Wenjun H, Jing W, Tao L, et al. The Protective Effect of Puerarin on Myocardial Infarction Reperfusion Injury (MIRI): A Meta-Analysis of Randomized Studies in Rat Models [J]. Med Sci Monit, 2015, 21: 1700-1706.
- [7] Yuan X, Jing S, Wu L, et al. Pharmacological postconditioning with tanshinone II A attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury in rats by activating the phosphatidylinositol 3-kinase pathway [J]. Exp Ther Med, 2014, 8(3): 973-977.
- [8] 吴茂林,翟昌林,张亚梅,等.丹参酮 II A 对急性心肌梗死大鼠 S100A1 蛋白表达的影响[J].中国中西医结合急救杂志,2014,21(5):350-353.
- [9] 杨硕,张岭,龚海英,等.藤麻正丁醇部位下调缺氧内皮细胞 HIF-1 $\alpha$  及 ET-1 表达[J].天津中医药,2015,32(3):168-172.
- [10] 李正超,王鲁君,张永亮,等.藤麻正丁醇部位对缺氧心肌细胞  $\mu$ -calpain 表达的影响[J].武警后勤学院学报(医学版),2015,24(4):268-272.
- [11] Wang Y, Zhang H, Chai F, et al. The effects of escitalopram on myocardial apoptosis and the expression of Bax and Bcl-2 during myocardial ischemia/reperfusion in a model of rats with depression [J]. BMC Psychiatry, 2014, 14: 349.
- [12] Chen Q, Xu H, Xu A, et al. Inhibition of Bcl-2 sensitizes mitochondrial permeability transition pore (MPTP) opening in ischemia-damaged mitochondria [J]. PLoS One, 2015, 10(3): e0118834.
- [13] 李莉,古正涛,刘志锋,等.活性氧调控 Bcl-2、Bax 表达参与热打击后人脐静脉内皮细胞凋亡的研究[J].中华危重病急救医学,2014,26(7):458-463.

(收稿日期:2015-09-28)

(本文编辑:邸美仙 李银平)

#### · 消息 ·

### 《中华危重病急救医学》杂志再次荣获“RCCSE 中国权威学术期刊(A+)”

### 《中国中西医结合急救杂志》再次荣获“RCCSE 中国核心学术期刊(A)”

《中国学术期刊评价研究报告》由武汉大学中国科学评价研究中心发布。武汉大学中国科学评价研究中心是中国高等院校中第一个综合性的科学评价中心,是集科研、人才培养和评价咨询服务于一体的多功能中介性实体机构。中心由武汉大学信息管理学院、教育科学学院、图书馆、计算机中心、图书情报研究所、数学与统计学院等单位有关学科的研究人员组建而成,是一个文理交叉的跨学科重点研究基地。

《中国核心期刊评价研究报告》采用定量评价与定性分析相结合的方法,按照科学、合理的多指标评价体系,对 6 448 种中国学术期刊进行了分析评价,得出 65 个学科的学术期刊排行榜。

《中国学术期刊排行榜》是对我国所有学术期刊质量、水平和学术影响力的全面、系统的评价,对选刊投稿、期刊订购、学术评价、科研管理、人事管理等都有着非常重要的应用价值和实际指导作用。

第三届中国学术期刊评价既按照各期刊的指标综合得分排名,又按照排序将期刊分为 A+、A、A-、B+、B、C 6 个等级,以增加评价结果表示的合理性和充分性。本次共有 6 448 种中文学术期刊参与评价,经过综合评价后得到期刊相应的等级,在分学科评价中共计 1 939 种学术期刊进入核心期刊区,其中权威期刊(A+)327 种,核心期刊(A)964 种,扩展核心期刊(A-)648 种,准核心期刊(B+)1 298 种,一般期刊(B)1 922 种,较差期刊(C)1 289 种。

《中华危重病急救医学》(原刊名《中国危重病急救医学》)和《中国中西医结合急救杂志》在第三届“中国学术期刊评价”中被再次分别评为“RCCSE 中国权威学术期刊”和“RCCSE 中国核心学术期刊”,这是两种期刊第三次蝉联该等级的荣誉。