

临床与基础
桥接研究Clinical and Basic
Bridging Research甲基麦冬黄烷酮 A 改善高糖诱导 H9c2
心肌细胞损伤的作用研究Effects of methyl oxofulnonone A ameliorates hyperglucose - induced H9c2
cardiomyocyte injury欧阳明慧¹, 郭晓彤¹, 刘 婷¹,
程丽颖¹, 牛子长², 毛浩萍¹(1. 天津中医药大学 中医药研究院, 天津
301617; 2. 天津中医药大学 第一附属医院 心血
管科, 天津 301617)OUYANG Ming - hui¹,
GUO Xiao - tong¹, LIU Ting¹,
CHENG Li - ying¹, NIU Zi - chang²,
MAO Hao - ping¹(1. Institute of Chinese Medicine, Tianjin
University of Traditional Chinese
Medicine, Tianjin 301617, China; 2.
Cardiovascular Department, The First
Affiliated Hospital of Tianjin University of
Traditional Chinese Medicine, Tianjin
301617, China)基金项目: 国家自然科学基金面上基金资助项
目(82174180)作者简介: 欧阳明慧(1998 -), 女, 硕士研究生,
主要从事中药药理作用及药效物质
的基础研究

通信作者: 毛浩萍, 研究员, 博士生导师

Tel: (022) 59596171

E - mail: haoping_mao@126.com

摘要:目的 研究甲基麦冬黄烷酮 A (META) 对高糖 (HG) 诱导 H9c2 细胞损伤的作用及机制。方法 将 H9c2 细胞分为对照组 (正常培养)、模型组 (55 mmol · L⁻¹ 葡萄糖) 和低、中、高剂量实验组 (55 mmol · L⁻¹ 葡萄糖 + 12.5、25.0、50.0 μmol · L⁻¹ META)。用细胞计数盒法 - 8 法检测细胞活力, 用 DCFH - DA 荧光探针检测细胞内活性氧 (ROS) 水平, 用荧光素酶检测细胞内腺苷三磷酸 (ATP) 含量, 用蛋白质印迹法检测自噬相关蛋白的表达水平。结果 对照组、模型组和中、高剂量实验组的 72 h 细胞光密度值分别为 0.91 ± 0.03、0.61 ± 0.01、0.69 ± 0.02 和 0.72 ± 0.03, ROS 水平分别为 (40.75 ± 1.53)%、(43.73 ± 1.30)%、(30.87 ± 1.27)% 和 (28.28 ± 1.43)%, ATP 含量分别为 (8.16 ± 0.71)、(4.03 ± 0.29)、(5.29 ± 0.31) 和 (5.83 ± 0.31) nmol · mg⁻¹, 自噬相关基因 5 蛋白相对表达水平分别为 1.05 ± 0.06、1.46 ± 0.09、0.98 ± 0.11 和 0.89 ± 0.09, 泛素结合蛋白 P62 蛋白相对表达水平分别为 1.05 ± 0.10、0.55 ± 0.13、0.89 ± 0.04 和 0.98 ± 0.04, 微管相关蛋白 1 轻链 3 II/I 蛋白比值分别为 1.09 ± 0.09、1.82 ± 0.05、1.67 ± 0.29 和 1.09 ± 0.15。中、高剂量实验组和对照组的上述指标与模型组相比, 在统计学上差异均有统计学意义 (P < 0.05, P < 0.01)。结论 META 显著改善高糖导致的 H9c2 心肌细胞损伤, 改善氧化应激状态, 保护线粒体呼吸功能和抑制细胞自噬。

关键词: 甲基麦冬黄烷酮 A; 高糖; H9c2 心肌细胞; 自噬; 心肌损伤

DOI: 10.13699/j.cnki.1001-6821.2025.01.010

中图分类号: R28 文献标志码: A

文章编号: 1001-6821(2025)01-0045-05

Abstract: Objective To investigate the effect and mechanism of methyl oxofulnonone A (META) on high glucose (HG) - induced H9c2 cell injury. **Methods** H9c2 cells were divided into control group (normal culture), model group (55 mmol · L⁻¹ glucose) and experimental - L, - M, - H groups (55 mmol · L⁻¹ glucose + 12.5, 25.0, 50.0 μmol · L⁻¹ META). Cell viability was detected by cell counting kit - 8; intracellular reactive oxygen species (ROS) level was detected by DCFH - DA fluorescent probe; intracellular adenosine triphosphate (ATP) content was detected by luciferase; and autophagy - related protein expression was detected by Western blotting. **Results** The optical density values of 72 - hour cells in the control group, model group and experimental - M, - H groups were 0.91 ± 0.03, 0.61 ± 0.01, 0.69 ± 0.02 and 0.72 ± 0.03; the ROS levels were (40.75 ± 1.53)%, (43.73 ± 1.30)%, (30.87 ± 1.27)% and (28.28 ± 1.43)%; the

ATP contents were (8.16 ± 0.71) , (4.03 ± 0.29) , (5.29 ± 0.31) and (5.83 ± 0.31) $\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1}$; the relative expression levels of autophagy-related gene 5 protein were 1.05 ± 0.06 , 1.46 ± 0.09 , 0.98 ± 0.11 and 0.89 ± 0.09 ; the relative expression levels of ubiquitin-binding protein were 1.05 ± 0.10 , 0.55 ± 0.13 , 0.89 ± 0.04 and 0.98 ± 0.04 ; the ratios of microtubule-associated protein 1 light chain 3 II/I protein were 1.09 ± 0.09 , 1.82 ± 0.05 , 1.67 ± 0.29 and 1.09 ± 0.15 , respectively. Among the above indicators, there were statistically significant differences between the model group and the control and experimental - M, - H groups ($P < 0.05$, $P < 0.01$).

Conclusion META significantly ameliorates H9c2 cardiomyocyte damage caused by high glucose, ameliorates oxidative stress, protects mitochondrial respiration and inhibits autophagy.

Key words: methyl oxofulnonone A; high glucose; H9c2 cardiomyocyte; autophagy; myocardial injury

近年来,糖尿病(diabetes, DM)已经成为全球性的流行病,对全球公共卫生系统构成了严峻挑战^[1]。糖尿病心肌病(diabetic cardiomyopathy, DCM)是排除冠状动脉疾病、高血压和心脏瓣膜病情况下发生的糖尿病并发症,面临预后差、治疗药物有局限性等问题。麦冬是百合科沿阶草属植物麦冬 *Ophiopogon japonicas* (L. f) Ker - Gawl. 的干燥块根,具有养阴生津、润肺清心的功效^[2]。本研究用高糖诱导的H9c2细胞模型,研究甲基麦冬黄烷酮A(methyl oxofulnonone A, META)对高糖状态下心肌细胞损伤的影响及其作用机制。

材料与方法

1 材料

细胞 H9c2大鼠心肌细胞,购自中国科学院细胞库。

药品与试剂 META,规格:每瓶10 mg,纯度:98%,批号:PS01164,购自成都普思生物有限公司。细胞计数试剂盒-8(cell counting kit-8, CCK-8),购自日本同仁公司;DCFH-DA活性氧(reactive oxygen species, ROS)荧光探针、腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)测试试剂盒,均购自上海碧云天公司;微管相关蛋白1轻链3(microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3)、自噬相关基因5(autophagy-related gene 5, ATG5)、泛素结合蛋白P62(ubiquitin-binding protein, P62)、 β -肌动蛋白(β -actin)抗体,均购自武汉爱博泰克生物科技有限公司;反转录试剂盒、扩增试剂盒,均购自苏州近岸蛋白质科技股份有限公司。

仪器 Infinite M200 PRO全波长酶标仪,瑞士Tecan公司产品;LightCycler480实时荧光定量聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)仪,瑞士Roche有限公司产品;ChemiDoc MP全能型成像系统,

美国Bio-Rad公司产品;Oxygraph-2K高分辨率细胞呼吸测定仪,美国Beckman Coulter公司产品。

2 实验方法

2.1 细胞培养与模型构建

H9c2细胞用含10%胎牛血清和1%双抗的DMEM培养基,置于5%CO₂的37℃细胞培养箱中培养。当融合度达到80%时,进行细胞传代或种板。用0.25%胰酶消化,离心后重悬,按1:3的比例进行传代。调整细胞密度为 $3 \times 10^4 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$,接种至96孔板或6孔板中,以55 mmol·L⁻¹葡萄糖诱导细胞进行模型构建,葡萄糖浓度参考文献[3-4]的方法,并用CCK-8法做出适当筛选^[5]。

2.2 细胞分组与处置方法

待细胞贴壁时,将H9c2细胞分为对照组、模型组和低、中、高剂量实验组。对照组为正常培养的细胞,模型组用55 mmol·L⁻¹葡萄糖处理细胞,低、中、高剂量实验组分别用12.5、25.0、50.0 $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ META和55 mmol·L⁻¹葡萄糖共同处理细胞。每24 h进行1次细胞换液,实验周期为72 h。

2.3 CCK-8法检测细胞活力^[6]

将H9c2细胞按 $3 \times 10^4 \text{ cell} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的密度种至96孔板,每组设置6个复孔。培养24 h后,按“2.2”的方法处理各组细胞,每24 h进行1次细胞换液。培养72 h后,加入CCK-8试剂每孔10 μL ,37℃避光孵育40 min,用酶标仪在450 nm下读取光密度(optical density, OD)值,并计算细胞活力。

2.4 DCFH-DA活性氧荧光探针检测细胞内活性氧水平^[7]

各组细胞处理培养72 h后,用基础培养基DMEM将DCFH-DA活性氧荧光探针以1:1 000比例进行稀释,每孔加入含DCFH-DA 0.05 μL 的无血清培养基覆盖住孔内细胞,放入37℃细胞培养箱中孵育20 min,后用无血清培养基洗去未进入细胞内的探针。用酶标仪(激发波长488 nm,发射波长525 nm)检测

各孔荧光强度。

2.5 荧光素酶法检测细胞内 ATP 水平检测^[8]

将 H9c2 细胞按 3×10^4 cell $\cdot$ mL⁻¹ 的密度接种至 6 孔板,按“2.2”处理进行造模及给药处理 72 h 后,每孔加入裂解液 200 μ L,冰上裂解 15 min,收集细胞,在 4 $^{\circ}$ C 下,以 1.17×10^4 r $\cdot$ min⁻¹ 离心 5 min,取上清液待测。用 ATP 标准溶液配制标准曲线,按照 1:4 的比例用 ATP 检测稀释液稀释 ATP 检测试剂制成 ATP 工作液。每孔加入 ATP 工作液 100 μ L 消耗本底的 ATP 之后,加入样品或标准品 20 μ L,用化学发光仪测定相对光单位(relative light unit,RLU)。

2.6 Oxygraph-2K 检测细胞氧消耗速率^[9]

消化并离心各组细胞,用血球计数板计数。每组收集 1.25×10^6 个细胞,加入 DMEM 20 μ L 重悬细胞后于细胞呼吸测定仪中进样,记录细胞的基础呼吸氧消耗,平衡后加入 4 mg $\cdot$ mL⁻¹ 的寡霉素 1 μ L,待细胞进入 leak 状态并平衡后,再加入 0.204 mg $\cdot$ mL⁻¹ 的氧化磷酸化解偶联剂羰氰氯苯腙 1 μ L,平衡后继续加入氧化磷酸化解偶联剂羰氰氯苯腙,激发细胞呼吸达到最大值,最后加入 0.5 mg $\cdot$ mL⁻¹ 鱼藤酮 1 μ L,使其呈现非线粒体呼吸的氧消耗状态,记录并统计各状态下的氧消耗率。

2.7 实时荧光定量 PCR 法检测细胞自噬相关基因的表达水平^[10]

将 H9c2 细胞按 3×10^4 cell $\cdot$ mL⁻¹ 的密度接种至 6 孔板,处理方法同“2.2”,用磷酸盐缓冲溶液润洗细胞 3 次,每孔细胞加入 Trizol 1 mL,并用氯仿异丙醇法提取总 RNA。按 novoprotein 反转录试剂盒说明书的步骤将 mRNA 反转录成 cDNA,用实时荧光定量 PCR 仪进行目的基因片段扩增。以 β -actin 为内参,用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行相对定量分析。

2.8 蛋白质印迹法检测细胞自噬相关蛋白的表达水平^[11]

各组细胞按上述给药处理 72 h 后,用 RIPA 裂解细胞提取 H9c2 细胞总蛋白后,用 BCA 法测定蛋白浓度,100 $^{\circ}$ C 金属浴 5 min 使蛋白变性。各组取蛋白 8 μ g 进行 10% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳、转膜、5% 脱脂牛奶封闭、一抗二抗孵育自噬相关蛋白 LC3 II/I、P62 和 ATG5,以 β -actin 为内参,用 Image J 软件分析目的蛋白相对灰度值。

3 统计学处理

用 SPSS 27.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较用单因素方差分析,当方差齐时,用 LSD 检验方法,当方差不齐时,则选择 Dunnett's

T3 检验方法。

结 果

1 META 对高糖引起的 H9c2 细胞活力的影响

低、中、高剂量实验组分别给予 55 mmol $\cdot$ L⁻¹ 葡萄糖 + 12.5、25.0、50.0 μ mol $\cdot$ L⁻¹ META;模型组给予 55 mmol $\cdot$ L⁻¹ 葡萄糖;对照组给予正常培养。

低、中、高剂量实验组处理 72 h 与对照组正常培养的细胞活力相比,在统计学上差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。低、中、高剂量实验组与模型组相比,细胞活力均显著上升,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。结果见表 1。

2 META 对高糖处理的 H9c2 细胞内 ROS 水平的影响

对照组、模型组和低、中、高剂量实验组的 ROS 水平分别为 $(40.75 \pm 1.53)\%$ 、 $(43.73 \pm 1.30)\%$ 、 $(36.11 \pm 1.06)\%$ 、 $(30.87 \pm 1.27)\%$ 和 $(28.28 \pm 1.43)\%$ 。低、中、高剂量实验组和对照组细胞内 ROS 水平均较模型组显著降低,在统计学上差异均有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

3 META 对高糖处理的 H9c2 细胞内 ATP 含量的影响

对照组、模型组和低、中、高剂量实验组的 ATP 分别为 (8.16 ± 0.71) 、 (4.03 ± 0.29) 、 (4.20 ± 0.14) 、 (5.29 ± 0.31) 和 (5.83 ± 0.31) nmol $\cdot$ mg⁻¹。中、高剂量实验组和对照组细胞内 ATP 含量均较模型组显著增加,在统计学上差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。

4 META 对高糖处理的 H9c2 细胞线粒体呼吸的影响

模型组与对照组相比,线粒体基础呼吸氧消耗显著降低、ATP 合成能力显著减少,质子漏消耗显著下降(均 $P < 0.01$);低、中、高剂量实验组与模型组相

表 1 各组细胞的细胞活力比较($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of cell survival in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	Dose (μ mol $\cdot$ L ⁻¹)	n	Cytotoxicity	Cell activity
Control	-	9	0.53 $\pm$ 0.01	0.91 $\pm$ 0.03
Model	-	9	-	0.61 $\pm$ 0.01 ^{##}
Experimental - L	12.5	9	0.52 $\pm$ 0.01	0.67 $\pm$ 0.03 ^{**}
Experimental - M	25.0	9	0.52 $\pm$ 0.01	0.69 $\pm$ 0.02 ^{**}
Experimental - H	50.0	9	0.53 $\pm$ 0.01	0.72 $\pm$ 0.03 ^{**}

Cytotoxicity: Effects on normal cells; Compared with control group,

^{##} $P < 0.01$; Compared with model group, ^{**} $P < 0.01$.

比,线粒体基础呼吸氧消耗、ATP 合成和质子漏消耗能力均明显增强(均 $P < 0.01$)。结果见表2。

5 META 对高糖处理的 H9c2 细胞自噬相关基因的影响

模型组与对照组相比,LC3 II 和 ATG5 mRNA 相对表达水平均显著增加,P62 mRNA 相对表达水平显著降低($P < 0.01$, $P < 0.05$);高剂量实验组与模型组相比,LC3 II mRNA 相对表达水平显著降低,P62 mRNA 相对表达水平显著升高(均 $P < 0.05$),中、高剂量实验组与模型组相比,ATG5 mRNA 相对表达水平均显著降低(均 $P < 0.05$)。结果见表3。

表3 各组 H9c2 细胞内自噬相关基因和蛋白水平比较($\bar{x} \pm s$)

Table 3 Comparison of the levels of autophagy - related genes and protein in H9c2 cells in each group($\bar{x} \pm s$)

Group	mRNA			Protein		
	LC3 II/ β -actin	P62/ β -actin	ATG5/ β -actin	LC3 II/I	P62/ β -actin	ATG5/ β -actin
Control	1.00 $\pm$ 0	1.00 $\pm$ 0	1.00 $\pm$ 0	1.09 $\pm$ 0.09	1.05 $\pm$ 0.10	1.05 $\pm$ 0.06
Model	1.81 $\pm$ 0.06 ^{##}	0.65 $\pm$ 0.18 [#]	1.83 $\pm$ 0.33 [#]	1.82 $\pm$ 0.05 ^{##}	0.55 $\pm$ 0.13 ^{##}	1.46 $\pm$ 0.09 ^{##}
Experimental - L	1.66 $\pm$ 0.34	0.72 $\pm$ 0.17	1.26 $\pm$ 0.24	1.50 $\pm$ 0.60	0.93 $\pm$ 0.04 [*]	1.42 $\pm$ 0.29
Experimental - M	1.58 $\pm$ 0.30	0.87 $\pm$ 0.06	0.88 $\pm$ 0.12 [*]	1.67 $\pm$ 0.29	0.89 $\pm$ 0.04 ^{**}	0.98 $\pm$ 0.11
Experimental - H	1.07 $\pm$ 0.14 [*]	1.46 $\pm$ 0.38 [*]	0.82 $\pm$ 0.11 [*]	1.09 $\pm$ 0.15 [*]	0.98 $\pm$ 0.04 ^{**}	0.89 $\pm$ 0.09 ^{**}

Dose and *n* refer to table 1; LC3 II: Microtubule - associated protein 1 light chain 3 II; ATG5: Autophagy - related gene 5; P62: Ubiquitin - binding protein; Compared with control group, [#] $P < 0.05$, ^{##} $P < 0.01$; Compared with model group, ^{*} $P < 0.05$, ^{**} $P < 0.01$.

6 META 对高糖处理的 H9c2 细胞自噬相关蛋白的影响

如表3和图1所示:模型组与对照组相比,ATG5蛋白相对表达水平和 LC3 II/I 蛋白比值均显著增加,P62蛋白相对表达水平显著下降(均 $P < 0.01$);低、中、高剂量实验组与模型组相比,P62蛋白相对表达水平均显著升高($P < 0.01$, $P < 0.05$),高剂量实验

表2 各组 H9c2 细胞内线粒体呼吸耗氧率的比较($\bar{x} \pm s$, $\text{pmol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$)

Table 2 Comparison of mitochondrial respiration oxygen consumption rate in H9c2 cells in each group($\bar{x} \pm s$, $\text{pmol} \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{mL}^{-1}$)

Group	Routine	ATP synthesis	Proton drain
Control	24.00 $\pm$ 1.36	3.72 $\pm$ 0.23	12.90 $\pm$ 0.20
Model	16.87 $\pm$ 1.22 ^{##}	1.61 $\pm$ 0.06 ^{##}	3.95 $\pm$ 0.24 ^{##}
Experimental - L	24.74 $\pm$ 1.27 ^{**}	4.69 $\pm$ 0.13 ^{**}	5.87 $\pm$ 0.36 ^{**}
Experimental - M	24.26 $\pm$ 0.87 ^{**}	5.76 $\pm$ 0.23 ^{**}	7.59 $\pm$ 0.11 ^{**}
Experimental - H	26.19 $\pm$ 0.74 ^{**}	5.38 $\pm$ 0.21 ^{**}	8.54 $\pm$ 0.60 ^{**}

Dose and *n* refer to table 1; ATP: Adenosine triphosphate; Compared with control group, ^{##} $P < 0.01$; Compared with model group, ^{**} $P < 0.01$.

组的 ATG5 蛋白相对表达水平和 LC3 II/I 蛋白比值均显著降低($P < 0.01$, $P < 0.05$)。

讨论

DCM 是糖尿病最严重的并发症之一。据统计高达 80% 的糖尿病患者死于糖尿病心血管并发症^[1]。研究发现,降糖药物虽然能够有效控制糖尿病患者血糖水平,但是很难降低 DCM 的发生率,即使是新的靶向降糖药物钠 - 葡萄糖协同转运蛋白 2 (sodium - dependent glucose transporters 2, SGLT - 2) 抑制药等也仅能减少部分糖尿病心肌病的产生,且仍需要更多的临床证据支持^[12]。

DCM 的发生发展与大量调控因子和信号通路有关,包括胰岛素抵抗、炎症反应、氧化应激、线粒体功能障碍等^[13-14]。心脏是高耗能器官,线粒体在正常生理作用下,通过有氧呼吸为心脏收缩提供大量 ATP,因此,线粒体被称为心肌细胞的“能量工厂”。线粒体电子传递链功能紊乱、烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH) 氧化酶活性增强等都会导致心肌线粒体功能

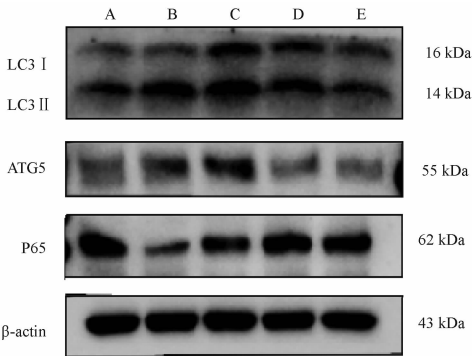


图1 各组细胞自噬相关蛋白表达水平

Figure 1 Expression levels of autophagy - related proteins in each group

A: Control group; B: Model group; C, D, E: Experimental - L, - M, - H groups, respectively.

障碍,从而影响心肌功能。在高糖刺激下,细胞中氧化还原反应失衡,线粒体呼吸链产生过多的副产物(如 ROS),发生氧化应激^[15],导致细胞活力下降。本研究的 CCK-8 实验结果显示,META 以剂量依赖方式改善高糖带来的损伤,抑制高糖产生过量 ROS 自由基,增加心肌细胞 ATP 产生,提高细胞线粒体呼吸功能,提示 META 可以通过减轻氧化应激,调控氧化磷酸化过程,从而降低高糖引起的细胞损伤。

自噬是细胞动态自我清除、自我更新的一种途径,与代谢紊乱息息相关。研究表明,DCM 与自噬之间密切相关,自噬增多在一定程度上可以清除受损细胞器或大分子蛋白等达到心肌保护作用,而自噬的过度激活则会引发心肌受损,导致 DCM 的发生^[16]。在 DCM 中,由于心肌细胞受到高糖的刺激,导致细胞内自噬的稳态被破坏。已有研究表明,黄酮类化合物在糖尿病心肌病及其他疾病中发挥着抗炎、抗氧化、抗高血脂症、降血糖^[15,17]等作用,并且在 Q-maker 预测分析麦冬中特有性成分时发现,META 是麦冬中高异黄酮类保护心肌细胞的主要有效成分之一^[18]。本研究发现,在高糖条件下,H9c2 细胞自噬被过度激活,导致心肌细胞损伤,而 META 能够抑制过度自噬,从而抑制 DCM 损伤。ATG5 是一种早期自噬体标志物,LC3 是晚期自噬体标志物,诱导小鼠 ATG5 基因缺失可以导致自噬停止,底物 P62 的量与自噬通量呈现负相关^[19]。本研究结果发现,META 能够下调自噬相关基因 ATG5 基因和蛋白的表达水平,上调自噬底物 P62 基因和蛋白的表达水平,并使 LC3 II/I 比值降低,提示 META 能够抑制过度自噬,发挥抗氧化作用。

本研究提示,META 对高糖引起的 H9c2 细胞损伤具有显著的保护作用,其机制与改善细胞内氧化还原稳态,保护线粒体有氧呼吸途径和抑制自噬有关。

参考文献:

- [1] DILLMANN W. Diabetic cardiomyopathy [J]. *Circul Res*, 2019, 124(8):1160—1162.
- [2] Ch. P(2020) Vol I, 中华人民共和国药典 2020 版[S]. 一部. 2020:162.
- [3] 郭佳,李志东,肖传实,等. PUMA 对高糖诱导的大鼠 H9C2 心肌细胞凋亡的作用及机制[J]. *中国应用生理学杂志*, 2022, 38(5):504—509.
- [4] 解园星,王文锋,田红燕. 阿昔莫司对高糖诱导心肌细胞损伤

- 保护作用机制研究[J]. *河北医药*, 2022, 44(14):2096—2101.
- [5] 谢建安,区岛良,陈贤家,等. 大蒜素对高糖诱导的 H9c2 心肌细胞损伤和炎症反应的影响及机制研究[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2023, 25(6):634—638.
 - [6] 陈兰,刘晓霞,李彩娣,等. 阿昔莫司介导自噬途径保护高糖高脂诱导的心肌细胞损伤[J]. *中国临床药理学杂志*, 2023, 39(20):2932—2936.
 - [7] 顾燕妮,王嵩,谢春毅. 红景天苷可减少高糖诱导的心肌细胞炎症和凋亡[J]. *中国免疫学杂志*, 2021, 37(23):2850—2855, 2860.
 - [8] 王鑫垚. 高糖诱导 H9c2 心肌细胞损伤机制及红景天苷干预的影响[D]. 河南 新乡:新乡医学院, 2023.
 - [9] MA J, LIU T, WEI A C, et al. O - glcnacomic profiling identifies widespread O - linked β - N - acetylglucosamine modification (O - GlcNAcylation) in oxidative phosphorylation system regulating cardiac mitochondrial function [J]. *J Biol Chem*, 2015, 290(49):29141—29153.
 - [10] 蹇明辉,陈文明,张怡. 延胡索乙素对高糖诱导 H9c2 细胞凋亡和氧化应激的抑制作用[J]. *遵义医科大学学报*, 2022, 45(3):317—321.
 - [11] 田勇,周颖,古雍翔,等. 二甲双胍诱导心肌细胞自噬对脓毒症小鼠心肌损伤的保护机制[J]. *安徽医科大学学报*, 2024, 59(1):92—98.
 - [12] VOLPE C M O, VILLAR - DELFINO P H, DOS ANJOS P M F, et al. Cellular death, reactive oxygen species (ROS) and diabetic complications [J]. *Cell Death Dis*, 2018, 9(2):119.
 - [13] BORGHETTI G, VON LEWINSKI D, EATON D M, et al. Diabetic cardiomyopathy: Current and future therapies. Beyond glycemic control [J/OL]. *Front Physiol*, 2018, 9:1514. 2018 - 10 - 30 [2024 - 01 - 20]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30425649/>.
 - [14] FILIPPATOS G, BUTLER J, FARMAKIS D, et al. Empagliflozin for heart failure with preserved left ventricular ejection fraction with and without diabetes [J]. *Circulation*, 2022, 146(9):676—686.
 - [15] GARCIA J P, SANTANA A, BARUQUI D L, et al. The Cardiovascular effects of chocolate [J]. *Rev Cardiovasc Med*, 2018, 19(4):123—127.
 - [16] 朱金秀,吴盛邺,胡佐祺,等. 自噬在糖尿病心肌病发病机制中的作用研究进展[J]. *实用心电图学杂志*, 2021, 30(1):64—67.
 - [17] MUSOLINO V, GLIOZZI M, SCARANO F, et al. Bergamot polyphenols improve dyslipidemia and pathophysiological features in a mouse model of non - alcoholic fatty liver disease [J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):2565.
 - [18] 莫惠晴,丘琴,覃春萍,等. 生脉散化学成分、药理作用和临床应用的研究进展及其质量标志物的预测分析[J]. *中华中医药学刊*, 2024, 42(10):171—180.
 - [19] NAKAI A, YAMAGUCHI O, TAKEDA T, et al. The role of autophagy in cardiomyocytes in the basal state and in response to hemodynamic stress [J]. *Nat Med*, 2007, 13(5):619—624.

(收稿日期 2024 - 06 - 29; 本文编辑 戴荣源)