

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2016.02.006

TRC051384 对小鼠心肌缺血再灌注损伤保护作用的实验研究*

陈豫贤¹, 张秋芳²

(1. 南阳医学高等专科学校第一附属医院心血管内科一病区, 河南南阳 473058;

2. 湖北医药学院药理教研室, 湖北十堰 442000)

[摘要] **目的** 探讨 HSP70 的特异性诱导剂 TRC051384 对小鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用及可能机制。**方法** 将 88 只 C57BL/6 小鼠分为 4 组: 假手术组, 单纯缺血再灌注损伤组(模型组), 缺血再灌注+TRC051384 低剂量组(低剂量治疗组, 10 mg/kg), 缺血再灌注+TRC051384 高剂量组(高剂量治疗组, 40 mg/kg)。模型制作采用结扎左冠状动脉法, 于结扎前 10 min 腹腔注射 TRC051384, 缺血再灌注 120 min 后取标本, Western blot 检测 I κ B、p65 和 cleaved-caspase-3 蛋白的表达; ELISA 法检测心肌组织中炎性因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的表达, Evans 蓝和 TTC 法检测心肌缺血和心肌梗死面积。**结果** 与模型组相比, 高剂量治疗组小鼠心肌缺血再灌注损伤后的缺血和梗死面积明显减少, TRC051384 治疗可以显著抑制 I κ B 的降解和 p65 的核内转移($P < 0.05$), 降低 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的表达水平($P < 0.05$)。**结论** TRC051384 对心肌缺血再灌注损伤可以发挥保护作用, 有可能应用于心肌缺血再灌注损伤患者的临床治疗。

[关键词] 心肌再灌注损伤; TRC051384; 病例对照研究

[中图分类号] R541

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2016)02-0164-03

Effect of TRC051384 on myocardial ischemia-reperfusion injury in the mouse*

Chen Yuxian¹, Zhang Qiufang²

(1. First Ward of Cardiovascular Internal Medicine, the First Hospital Affiliated to Nanyang Medical College, Nanyang,

Henan 473058, China; 2. Department of Pharmacology Hubei Medicine College, Shiyan, Hubei 442000, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of TRC051384 on myocardial ischemia-reperfusion (MI/R) injury, with the goal of finding a better therapeutic options for MI/R injury. **Methods** Totally 88 C57BL/6 mice were randomly divided into four groups: Sham group (operation group), MI/R group (ischemia-reperfusion without any intervention), MI/R + TRC051384 group (10 mg/kg), and MI/R + TRC051384 group (40 mg/kg). TRC051384 were intraperitoneally injected 10 minutes before transient occlusion of the left anterior descending artery, followed by 120 minutes of reperfusion. Infarct size was measured by using triphenyltetrazolium chloride staining and ewing's blue staining. Expression of p65, cleaved-caspase-3 and I κ B were determined by western blot, and cytokines expression including TNF- α , IL-1 β and IL-6 were measured by ELISA. **Results** Mice treated with high dose of TRC051384 (40 mg/kg) developed significantly smaller infarcts when compared with MI/R group ($P < 0.05$). TRC051384 significantly reduced the expression of TNF- α , IL-1 β and IL-6 ($P < 0.05$), and inhibited I κ B degeneration and nuclear p65 translocation ($P < 0.05$). **Conclusion** TRC051384 in situ murine model significantly reduced MI/R injury and may have clinical use in the future.

[Key words] myocardial reperfusion injury; TRC051384; case-control studies

随着我国老龄化人口的加剧, 人民生活水平不断提高, 冠状动脉粥样硬化化在我国的发病率呈现逐年增加的趋势, 严重威胁患者的生命健康, 同时给社会和家庭带来巨大的经济负担^[1]。心肌梗死后的治疗主要有溶栓和介入治疗, 心肌缺血再灌注损伤是治疗中出现的常见现象, 是影响患者预后的重要因素^[2]。尽管以往研究对心肌缺血再灌注损伤后的病理机制有一定了解^[3-4], 但是目前临床上尚缺乏有效的防治措施, 以往研究发现热休克蛋白(HSP70)在心肌缺血再灌注损伤中的表达上调可以发挥抗心肌损伤作用, TRC051384 是新近研发出的 HSP70 的特异性诱导剂, 已经证实在脑损伤中发挥神经保护作用^[5]。本研究通过研究 HSP70 在心肌缺血再灌注损伤中的心肌保护作用, 以期临床为心肌缺血再灌注损伤的治疗提供

新的思路和方法。

1 材料与方法

1.1 材料 实验用 C57BL/6 小鼠购自上海斯莱克实验动物有限责任公司; 核蛋白和总蛋白提取液购自碧云天生物公司, Western blot 检测试剂盒购自康维科技公司; p65、I κ B、HSP70、cleaved-caspase-3、 β -actin 和 H3 抗体均购自美国 Santa cruz 公司; 炎性因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 检测试剂盒购自北京欣博盛生物公司; 2,3,5-三苯基氯化四氮唑试剂购自美国 Sigma 公司; TRC051384 购自美国 Tocris 公司。

1.2 方法

1.2.1 实验分组及小鼠心肌缺血再灌注损伤模型制作 将实验用小鼠分为以下组: 假手术组; 心肌缺血再灌注损伤组(模型

* 基金项目: 湖北省教育厅科研计划项目(D20122402)。 作者简介: 陈豫贤(1978—), 主治医师, 本科, 主要从事心血管内科基础与临床研究。

组); 心肌缺血再灌注 + TRC051384 (低剂量治疗组, 10 mg/kg), 心肌缺血再灌注 + TRC051384 (高剂量治疗组, 40 mg/kg), 结扎左冠状动脉前降支 30 min 前通过腹腔注射 TRC051384; 心肌缺血再灌注损伤模型制作方法: 使用苯巴比妥将小鼠麻醉后, 行气管插管呼吸机辅助呼吸, 呼吸频率为 50 次/min, 潮气量 20 mL/kg, 同时采用皮下插入针电极描记心电图, 于 3、4 肋间、胸骨左缘开胸, 剪断肋骨后逐层剪破胸膜、心包膜, 在左冠状动脉前降支起始部, 用 6-0 针线穿过心肌浅层, 将丝线穿入直径为 11 μm 的聚乙烯管中, 稳定 1 min 后抽紧丝线, 将聚乙烯管压向冠状动脉并与丝线一并夹住, 阻断冠状动脉血流, 造成心肌缺血 30 min, 然后放松丝线和聚乙烯管, 恢复冠状动脉血流。建模成功判断标准: 心电图 QRS 波群增高、增宽, ST 段抬高, 假手术组只在左冠状动脉前降支下穿线, 不结扎, 其余步骤同模型组。

1.2.2 心肌梗死及缺血面积测定 心肌梗死及缺血面积的测定方法参考文献[6]: 将 1% 的 Evans 蓝注入小鼠心腔中, 心肌非缺血部位的心肌被染成蓝色, 缺血区不着色, 通过颜色差别用以区分不同部位的心肌, 然后用生理盐水将心腔冲洗干净, 游离出左心室, 将剩余的血管、双侧心房及右心室部分去除, 测量左心室质量, 后将其置于 -20 °C 冰箱中冰冻 30 min, 取出后将左心室切成厚度约 2 mm 的切片, 分离蓝色区域与非蓝色区域。将非蓝色心肌置于 1% 的 TTC 中 37 °C 孵育 20 min 后, 非梗死区染色呈现深红色, 梗死区却变为灰白色, 区分出梗死区与缺血区之后, 将分离出来的缺血区、梗死区的心肌分别称质量, 心肌缺血区的面积 = 缺血区心肌质量 / 左心室质量, 心肌梗死区面积用梗死区心肌质量 / 缺血区心肌质量。

1.2.3 Western blot 缺血再灌注损伤后 120 min, 将小鼠深麻醉后, 快速打开胸腔、取心脏, 取左心尖部组织迅速放入 -80 °C 冰箱中保存备用, 每只小鼠取 50 mg 心肌组织进行蛋白的裂解、提取及变性。电泳、转膜后, 5% 牛奶封闭室温下 1 h, p65、IκB、HSP70、cleaved-caspase-3、β-actin 和 H3 抗体稀释液 4 °C 摇床孵育过夜, TBST 洗膜后, 二抗稀释液室温下 1 h, TBST 洗膜, 滴加显影液, 显影, Image J 软件进行定量分析。HSP70、cleaved-caspase-3 和 IκB 的灰度值与内参 β-actin 的灰度比值作为最终表达量, p65 与 H3 的灰度比值作为 p65 的最终表达量。

1.2.4 ELISA 法 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 细胞因子的测定: 缺血再灌注损伤后 120 min, 在心肌组织中加入蛋白裂解液, 充分碾磨后使蛋白裂解, 离心后取上清液、定量, ELISA 操作步骤严格按照说明书进行。

1.3 统计学处理 采用 SPSS17.0 软件进行数据处理, 计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 多组数据间的比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

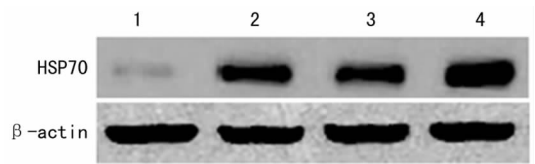
2.1 心肌缺血和心肌梗死面积比较 本组研究中缺血再灌注损伤 120 min 前未出现死亡, 假手术组小鼠心肌组织中未见心肌缺血及心肌梗死区, 模型组小鼠的心肌中出现大面积的心肌缺血和心肌梗死 ($P < 0.05$)。与模型组比较, 高剂量治疗组中小鼠的心肌梗死和心肌缺血面积明显减少 ($P < 0.05$), 低剂量治疗组与模型组相比差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 TRC051384 对心肌缺血再灌注损伤后 HSP70 表达的影响 与假手术组相比, 模型组小鼠心肌组织中的凋亡蛋白 HSP70 的表达量显著增加 ($P < 0.05$), TRC051384 明显增加 HSP70 蛋白的表达量且呈剂量依赖性 ($P < 0.05$)。见图 1、表 2。

表 1 各组小鼠心肌缺血再灌注后心肌缺血与梗死面积的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	缺血面积	梗死面积
假手术组	8	0	0
模型组	8	41.2 ± 7.9 ^a	26.1 ± 4.2 ^a
低剂量治疗组	8	39.2 ± 8.2	24.9 ± 4.5
高剂量治疗组	8	31.9 ± 4.5 ^{ab}	15.3 ± 5.1 ^{ab}

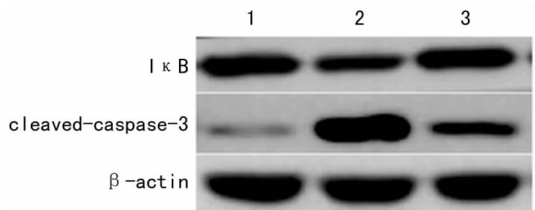
^a: $P < 0.05$, 与假手术组比较; ^b: $P < 0.05$, 与模型组比较。



1: 假手术组; 2: 模型组; 3: 低剂量治疗组; 4: 高剂量治疗组。

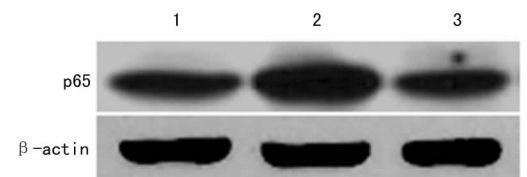
图 1 TRC051384 对心肌缺血再灌注损伤后 HSP70 表达影响的 Western blot 检测结果

2.3 TRC051384 对 HSP70、IκB、cleaved-caspase-3 和核内 p65 蛋白表达的影响 与假手术组相比, 模型组小鼠中心肌组织中 cleaved-caspase-3 及核内 p65 的表达量显著 ($P < 0.05$), 总蛋白中 IκB 的表达量显著降低 ($P < 0.05$); 高剂量治疗组可以显著增加抑制 IκB 的降解 ($P < 0.05$), 降低核内 p65 的表达 ($P < 0.05$), 同时显著抑制凋亡关键执行蛋白 cleaved-caspase-3 的表达量 ($P < 0.05$)。见图 2、3 和表 2。



1: 假手术组; 2: 模型组; 3: 高剂量治疗组。

图 2 缺血再灌注心肌损伤组织中 IκB、cleaved-caspase-3 表达水平



1: 假手术组; 2: 模型组; 3: 高剂量治疗组。

图 3 缺血再灌注心肌损伤组织中 p65 的表达水平

2.4 TRC051384 显著抑制炎症因子 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 的表达 与假手术组相比, 模型组小鼠心肌组织中的 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 的表达量显著增加 ($P < 0.05$), 高剂量治疗组可以显著抑制 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 的表达量 ($P < 0.05$)。

表 2 心肌组织中 HSP70、I κ B、cleaved-caspase-3 和 p65 表达的水平分析($\bar{x}\pm s$)

组别	n	HSP70	I κ B	cleaved-caspase-3	p65
假手术组	8	0.09±0.01	0.89±0.35	0.05±0.01	0.89±0.41
模型组	8	0.64±0.23 ^a	0.23±0.07 ^a	0.89±0.35 ^a	1.23±0.56 ^a
低剂量治疗组	8	0.69±0.27	—	—	—
高剂量治疗组	8	1.01±0.39 ^b	0.81±0.27 ^b	0.23±0.18 ^b	0.86±0.42 ^b

^a: $P<0.05$,与假手术组比较;^b: $P<0.05$,与模型组比较。

表 3 心肌组织中炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 表达的水平($\bar{x}\pm s$,pg/mg)

组别	n	TNF- α	IL-1 β	IL-6
假手术组	8	16.9±2.69	9.5±3.01	18.9±4.23
模型组	8	36.9±7.65 ^a	37.8±8.95 ^b	121.6±9.89 ^a
高剂量治疗组	8	27.1±6.98 ^b	26.8±5.68 ^b	44.6±6.49 ^b

^a: $P<0.05$,与假手术组比较;^b: $P<0.05$,与模型组比较。

3 讨 论

HSP70 是机体内重要的应激蛋白,在所有的热休克家族蛋白中表达量最高^[7],以往研究发现缺血再灌注的应激反应可以显著诱导心肌细胞中 HSP70 的表达,HSP70 在维护细胞的正常结构与功能上发挥“分子伴侣”作用,它与新合成的、未折叠以及错误折叠或者发生聚集的蛋白质相结合发挥作用,不仅可以解离某些蛋白质,减少不溶性聚集物的危险性,同时还能促进变性蛋白的降解和清除,保持酶的动力学特征,以维护细胞的功能,促进心肌缺血再灌注损伤的修复^[8]。此外,HSP70 还可以主动释放至细胞外,在心肌缺血再灌注损伤的动物模型和临床心肌损伤的患者血清中均检测到 HSP70 的高表达^[9-10],并且其表达量与患者的病情严重程度密切相关^[11]。以往研究证实,在心肌缺血再灌注损伤模型中诱导 HSP70 的表达可以发挥显著的心肌保护作用^[10,12],本研究结果表明 TRC051384 可以显著诱导 HSP70 的表达,并显著抑制心肌缺血和心肌损伤的面积,发挥显著的心肌保护作用。

在证实 TRC051384 可以在心肌缺血再灌注损伤中发心肌保护作用后,本文作者进一步进行了相关机制的探讨。以往研究证实,在心肌缺血再灌注损伤中 HSP70 过表达可以显著抑制 NF- κ B 的活性^[13],从而减少心肌细胞的损伤,发挥心肌保护作用^[14]。NF- κ B 是炎症反应和凋亡的重要调节因子,在静息状态下,NF- κ B 的主要功能亚单位 p65 与 I κ B 结合,抑制其核内转移,缺血再灌注损伤可以使 I κ B 迅速发生降解,脱离 I κ B 束缚的 p65 蛋白将从细胞质内转移到细胞核内,与特异性的序列结合,从而调节下游相关目的基因的表达^[15-16]。本研究结果发现 TRC051384 可以显著增加缺血再灌注损伤导致的 I κ B 的降解,同时抑制 p65 的核内转移。此外,NF- κ B 下游的靶蛋白炎症因子 TNF- α 和 IL-1 β 的表达量也得到显著抑制,这与 TRC051384 在缺血再灌注损伤模型中发现的作用具有一致性,这可能是其发挥心肌保护作用的主要机制之一。此外,本研究结果发现 TRC051384 可以抑制凋亡执行蛋白 cleaved-caspase-3 的表达,这可能是其发挥心肌保护作用的另一个机制。

综上所述,HSP70 的诱导剂 TRC051384 可以发挥显著的

心肌保护作用,其机制主要与通过抑制 NF- κ B 的活性相关。本研究结果提示 TRC051384 具有治疗心肌缺血再灌注损伤的潜质,未来需要在临床 I 期实验中去证实。

参考文献

- [1] 赵映,田峰,胡舜英,等.不同性别冠心病患者危险因素及冠状动脉病变特点分析[J].中华流行病学杂志,2012,33(4):423-427.
- [2] Qian W, Xiong X, Fang Z, et al. Protective effect of tetramethylpyrazine on myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2014, 2014: 107501.
- [3] 刘丹.柚皮苷对大鼠心肌缺血-再灌注损伤的抗氧化作用[J].医药导报,2013,32(3):275-277.
- [4] 方晴霞.中药对抗心肌缺血-再灌注损伤的分子药理学研究进展[J].医药导报,2008,27(4):425-427.
- [5] Mohanan A, Deshpande S, Jamadarkhana PG, et al. Delayed intervention in experimental stroke with TRC051384-a small molecule HSP70 inducer[J]. Neuropharmacology, 2011, 60(6):991-999.
- [6] Shimamoto A, Chong AJ, Yada M, et al. Inhibition of Toll-like receptor 4 with eritoran attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. Circulation, 2006, 114(1 Suppl):I270-274.
- [7] Wang H, Tan MS, Lu RC, et al. Heat shock proteins at the crossroads between cancer and alzheimer's disease [J]. Biomed Res Int, 2014, 2014:239164.
- [8] Choudhury S, Bae S, Ke Q, et al. Mitochondria to nucleus translocation of AIF in mice lacking Hsp70 during ischemia/reperfusion [J]. Basic Res Cardiol, 2011, 106(3):397-407.
- [9] St RK, Koullias GJ, Hassan MO, et al. Low preoperative HSP70 atrial myocardial levels correlate significantly with high incidence of postoperative atrial fibrillation after cardiac surgery [J]. Cardiovasc Surg, 2002, 10(3):228-232.
- [10] Rani N, Bharti S, Manchanda M, et al. Regulation of heat shock proteins 27 and 70, p-Akt/p-eNOS and MAPKs by Naringin Dampens myocardial injury and dysfunction in vivo after ischemia/reperfusion [J]. PLoS One, 2013, 8(12):e82577.
- [11] McGrath LB, Locke M. Myocardial self-preservation: absence of heat shock factor activation and (下转第 170 页)

髓质变化亦不如木犀草素组严重,在肾脏功能保护上地塞米松明显优于木犀草素,该组大鼠肾脏功能较 Sham 组无明显异常变化,在肾小管间质损伤上地塞米松组大鼠肾小管变形、间质炎症反应、管型等变化较木犀草素组轻,肾小管间质损伤指数亦低于木犀草素组,两组胶原纤维大都沉积在肾小球周围,其间质纤维化积分较木犀草素组低。

综上所述,木犀草素不能够完全阻止或逆转单侧输尿管结扎后引起的肾脏功能和结构损伤,但是木犀草素能够较大幅度地改善单侧输尿管结扎大鼠的肾脏功能、减轻炎症反应和间质纤维化改变,但是其效果与地塞米松有一定的差距,其作用机制可能与地塞米松抑制 NF- κ B 基因的表达和炎症因子的释放相似;亦有可能通过其抗氧化的作用保护肾脏间质细胞,减轻炎症反应,这需更进一步的研究。木犀草素存在于多种常见食用植物和多种中草药中,具有价格便宜、原料易得等特点,其天然品已应用于临床止咳、平喘、祛痰、消炎、止痛,如白毛夏枯草、独一活等^[13-15]。由于临床上多用木犀草素天然品,而木犀草素几乎没有单独应用,所以对其梗阻性肾病间质纤维化的保护和治疗时的安全度、有效度和规范度等指标有待进一步的研究。虽然目前糖皮质激素类药物是作用最强、应用最广泛的治疗肾病的药物,但其存在不良反应大,并可形成激素依赖或激素抵抗,因此,寻求一种替代药物具有重要的临床意义,待木犀草素单独治疗梗阻性肾病的安全度、有效度和规范度研究清楚后,其有望成为延缓慢性肾脏疾病向终末期发展的糖皮质激素类辅助药物。

参考文献

- [1] Hu C, Kitts DD. Antioxidant, prooxidant, and cytotoxic activities of solvent-fractionated dandelion (*Taraxacum officinale*) flower extracts in vitro [J]. *J Agric Food Chem*, 2003, 51(1): 301-310.
- [2] Xagorari A, Papapetropoulos A, Mauromatis A, et al. Luteolin inhibits an endotoxin-stimulated phosphorylation cascade and proinflammatory cytokine production in macrophages [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2001, 296(1): 181-187.
- [3] 韩炜,邢燕,康廷国. 木犀草素生物活性研究进展 [J]. *云南中医中药杂志*, 2010, 31(4): 60-62.
- [4] 刘克剑,张悦,李靖,等. 单侧输尿管梗阻法制作大鼠肾间质纤维化模型的改进 [J]. *中国实验动物学报*, 2007, 15(6): 410-412, 487.
- [5] Domitrovic R, Cvijanovic O, Pugel EP, et al. Luteolin ameliorates cisplatin-induced nephrotoxicity in mice through inhibition of Platinum accumulation, inflammation and apoptosis in the kidney [J]. *Toxicology*, 2013, 310: 115-123.
- [6] 卞保平,万英. 梗阻性大鼠肾组织 periostin 的表达及意义 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2012, 28(8): 628-632.
- [7] 潘明明,张明辉. 冬虫夏草菌粉对 5/6 肾大部切除大鼠肾脏纤维化的抑制作用及机制 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2013, 29(5): 347-351.
- [8] 黄海长,闵亚丽,李惊子,等. 黄芪当归合剂及依那普利对结缔组织生长因子在肾间质纤维化中表达的比较研究 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2003, 19(3): 5-8.
- [9] 袁静,杨霞. 厄贝沙坦对单侧输尿管梗阻大鼠肾组织缺氧诱导因子 1 α 和结缔组织生长因子表达的影响 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2013, 29(2): 119-123.
- [10] 范文辉,黄茂. 木犀草素对哮喘小鼠气道重塑的影响及机制探讨 [J]. *安徽医药*, 2006, 10(9): 647-649.
- [11] 闫庆峰,杨达宽,黄云超,等. 木犀草素对高脂血症大鼠血脂的影响 [J]. *昆明医学院学报*, 2007, 28(1): 23-26.
- [12] 周玲,解硯英,李杰,等. 木犀草素-7-O- β -D-葡萄糖苷对缺血缺氧培养乳鼠心肌细胞的保护作用 [J]. *中药新药与临床药理*, 2008, 19(4): 259-261.
- [13] 马行一,吴蔚桦,曾燕,等. 青蒿琥酯对 UUO 模型大鼠肾脏的抗炎作用及其机制研究 [J]. *重庆医学*, 2010, 40(12): 1514-1516.
- [14] 程根阳,李海剑. 罗格列酮对慢性环孢菌素肾病大鼠肾间质纤维化的保护作用 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2012, 28(8): 611-615.
- [15] Radford MJ, Donadio JJ, Berqstralh EJ, et al. Predicting renal outcome in IgA nephropathy [J]. *J Am Soc Nephrol*, 1997, 8(2): 199-207.

(收稿日期:2015-08-31 修回日期:2015-10-05)

(上接第 166 页)

- heat shock proteins 70 mRNA accumulation in the human heart during cardiac surgery [J]. *J Card Surg*, 1995, 10(4 Suppl): 400-406.
- [12] Diao LW, Zhao LL, Qi F, et al. Heat shock protein 70 induced by heat stress protects heterotopically transplanted hearts in rats [J]. *Mol Med Rep*, 2012, 6(4): 729-732.
 - [13] Yao YW, Zhang GH, Zhang YY, et al. Lipopolysaccharide pretreatment protects against ischemia/reperfusion injury via increase of HSP70 and inhibition of NF- κ B [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2011, 16(3): 287-296.
 - [14] Dokladny K, Lobb R, Wharton W, et al. LPS-induced cytokine levels are repressed by elevated expression of

HSP70 in rats: possible role of NF- κ B [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2010, 15(2): 153-163.

- [15] Ma L, Liu H, Xie Z, et al. Ginsenoside Rb3 protects cardiomyocytes against ischemia-reperfusion injury via the inhibition of JNK-mediated NF- κ B pathway: a mouse cardiomyocyte model [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e103628.
- [16] Youssef MI, Mahmoud AA, Abdelghany RH. A new combination of sitagliptin and furosemide protects against remote myocardial injury induced by renal ischemia/reperfusion in rats [J]. *Biochem Pharmacol*, 2015, 96(1): 20-29.

(收稿日期:2015-08-08 修回日期:2015-09-16)