

## 黄芩苷对酯多糖损伤 AC16 心肌细胞的保护作用及机制研究

王 智<sup>1\*</sup>, 王 娟<sup>3</sup>, 包斯图<sup>2</sup>, 翟羽佳<sup>1</sup><sup>1</sup> 北华大学附属医院, 吉林 132001; <sup>2</sup> 通辽市医院, 通辽 028000; <sup>3</sup> 吉林市中心医院, 吉林 132001

**摘要:** 本研究主要探讨黄芩苷对酯多糖损伤 AC16 心肌细胞的保护作用。设置对照组、LPS 组、黄芩苷高、中、低剂量组、黄芪总黄酮组, 共同培养 6 h, 检测细胞生存率及生存状况; 荧光素法检测细胞内 ATP 浓度变化; Western blot 检测各组细胞中 Cyt C、Apaf-1、caspase-3、caspase-9 表达。结果发现与 LPS 组相比, 黄芩苷高、中、低剂量组及黄芪总黄酮组细胞生存状况及生存率明显改善, 细胞内 ATP 浓度升高, 凋亡率降低, 细胞内 Cyt C、Apaf-1、caspase-3 及 caspase-9 表达均降低。说明黄芩苷对酯多糖损伤的 AC16 心肌细胞具有保护作用, 其机制可能与降低 Cyt C/Apaf-1/caspase-3/caspase-9 通路表达有关。

**关键词:** 黄芩苷; 心肌细胞; AC16 心肌细胞; 线粒体; 酯多糖

中图分类号: R963; R285

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2019)3-0428-06

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2019.3.009

## Protective effect and mechanism of Baicalin on lipopolysaccharide-induced AC16 cardiomyocytes

WANG Zhi<sup>1\*</sup>, WANG Juan<sup>3</sup>, BAO Si-tu<sup>2</sup>, ZHAI Yu-jia<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Affiliated Hospital of Beihua University, Jilin 132001, China; <sup>2</sup> Tongliao City Hospital, Tongliao 028000, China;

<sup>3</sup> Jilin Central Hospital, Jilin 132001, China

**Abstract:** This study mainly discussed the protective effect of baicalin on AC16 cardiomyocytes injured by Lipopolysaccharide. The experiment was divided into control group, LPS group, baicalin high, medium and low dose groups, total flavonoids of astragalus membranaceus group and cultured for 6 hours to test cell survival rate and survival status; The firefly luciferin method detects changes in intracellular ATP concentration; The expressions of Cyt C, Apaf-1, caspase-3 and caspase-9 in each group were detected by Western blot. The results showed that compared with the LPS group, the cell survival rate and survival status of the high, middle and low doses group of baicalin and the total flavonoids of astragalus membranaceus group were significantly improved, the intracellular ATP concentration increased, and the apoptotic rate decreased. The expression of Cyt C, Apaf-1, caspase-3 and caspase-9 was decreased in cells. It indicated that baicalin has protective effect on AC16 cardiomyocytes damaged by LPS, and its mechanism may be related to the decrease of Cyt C/Apaf-1/caspase-3/caspase-9 pathway expression.

**Key words:** Baicalin; cardiomyocytes; AC16 cardiomyocytes; mitochondria; lipopolysaccharide

脓毒症是一种全身感染性疾病,可引起多脏器功能衰竭、休克,尽管在医疗技术发达的今天,脓毒症 28 天死亡率仍高达 32%<sup>[1]</sup>。脓毒症心肌损伤是脓毒症的主要合并症,据统计脓毒症患者 40% ~ 50% 出现心肌抑制,7% 发生心力衰竭<sup>[2]</sup>。LPS 是 G<sup>-</sup>菌细胞壁的主要成份,也是目前公认的脓毒症动

物及细胞模型的诱导剂<sup>[3]</sup>。大量研究证实<sup>[4,5]</sup>, LPS 可导致炎症因子直接损伤心肌细胞并产生大量活性氧,损伤线粒体膜,影响 ATP 合成,激活细胞凋亡程序,进而导致心功能障碍的发生。

黄芩苷是唇形植物黄芩的有效成分之一,其具有抗凋亡,抗肿瘤,抗炎,抗病毒,抗氧化,清除自由基,调节免疫等多种生物学作用<sup>[6,7]</sup>。赫连曼等<sup>[8]</sup>通过制备高血压心肌病大鼠模型,证实黄芩苷可通过抑制内质网应激引发的心肌细胞凋亡,从而逆转

收稿日期: 2018-07-09 接受日期: 2019-01-18

基金项目: 内蒙古自然科学基金(2015MS08150)

\* 通信作者 Tel: 86-013689861421; E-mail: Ezhouteam2@126.com

心室重构。另有学者证实<sup>[9,10]</sup>,黄芩苷对于衣霉素、羟自由基损伤的心肌细胞均有一定的保护作用。本团队在前期研究中证实,黄芩苷可通过抑制心肌细胞  $\beta$ -AR/PKA/CaMK II 信号通路表达,从而起到减少心肌细胞凋亡,逆转心室重构的作用<sup>[11]</sup>。但黄芩苷对于酯多糖损伤心肌细胞的保护作用尚未见报道,本研究拟通过培养人源 AC16 心肌细胞并制备酯多糖损伤模型,在细胞学水平模拟脓毒症心肌损伤模型,观察黄芩苷对酯多糖损伤心肌细胞线粒体的保护作用,为黄芩苷治疗脓毒症心肌损伤提供基础理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 药物、试剂与仪器

黄芩苷(江北药业,批号 13659,纯度 $\geq 98\%$ ;黄芪总黄酮(齐鲁制药有限公司);二乙酸荧光素(美国 Spectrum 公司,货号 F1184);AC16 细胞购自广州莱德尔公司;AnnexinV-FITC / PI 凋亡检测试剂盒(美国 Invitrogen 公司,货号 V13241);;甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)一抗、凋亡蛋白酶活化因子-1(Apaf-1)、(英国 Abcam 公司,货号 ab4825);caspase-9、caspase-3 一抗(中国博士德公司,货号分别为 BA0690, BM3957);WD-9413B 型凝胶成像系统(北京六一生物科技有限公司);四唑盐比色法(MTT)试剂盒(北京碧云天公司,货号 20170305)SD Cell 型转移电泳槽(美国 Bio-rad 公司);VE-180 型垂直板电泳装置(北京原平皓生物科技有限公司);FAC-SCanto II 型流式细胞仪(美国 BD 公司);Spectra-Max M4 型多功能酶标仪(美国 Molecular Devices 公司)。

### 1.2 细胞培养与分组

人源 AC16 心肌细胞于 10% 胎牛血清中,于 5% 浓度 CO<sub>2</sub> 条件下置于 37 °C 恒温箱中进行培养,培养 24 h 后,检测细胞活力,取生长对数期的细胞随机分为 6 组:对照组、LPS 组(100 ng/mL LPS)、黄芩苷高剂量组(18  $\mu$ mol/L + 100 ng/mL LPS)、黄芩苷中剂量组(9  $\mu$ mol/L + 100 ng/mL LPS)、黄芩苷低剂量组(4.5  $\mu$ mol/L + 100 ng/mL LPS)<sup>[9]</sup>及黄芪总黄酮组(20 mg/L + 100 ng/mL LPS)<sup>[12]</sup>,共同培养 6 h。

### 1.3 细胞活力检测

采用二乙酸荧光素染色检测 AC16 心肌细胞活力。取生长对数期 AC16 细胞置于 6 孔板中培养 24 h,细胞贴壁后弃掉培养液及未贴壁细胞。贴壁细胞

分为 6 组,对照组正常培养,酯多糖(LPS)组细胞加入 100 ng/mL LPS,黄芩苷组细胞在 LPS 组细胞基础上分别加入 18、9、4.5  $\mu$ mol/L 黄芩苷,黄芪总黄酮组在 LPS 组基础上加入 20 mg/L 黄芪总黄酮,培养 24 h 后,用 PBS 缓冲液将二乙酸荧光素浓度调定在 2.5  $\mu$ g/L,20 °C 条件下避光孵育 20 min,在显微镜下进行观察,确认二乙酸荧光素积累活细胞内(激发波长 488 nm,发射波长 530 nm),并进行拍照。

### 1.4 细胞存活率检测

采用四唑盐比色法(MTT)试剂盒检测各组细胞存活率,严格按照说明书操作;在酶标仪检测吸光度为 450 nm 条件下计算 OD 值,细胞存活率 = 实验组 OD 值/对照组 OD 值  $\times 100\%$ 。

### 1.5 心肌细胞三磷酸腺苷(ATP)含量检测

每组细胞培养 24 h 后,吸除 6 孔板中培养液并加入 200  $\mu$ L 裂解液。裂解后 4 °C 条件下 2 000 rpm,离心 10 min 取上清。将样品加入 96 孔板后,加入 100  $\mu$ L ATP 检测工作液,震荡混匀。使用多功能酶标仪测定相对光单位值。根据标准品的检测值绘制出标准曲线,根据标准曲线计算出样品中 ATP 浓度。

### 1.6 流式细胞仪检测心肌细胞凋亡率

制备单细胞悬液:各组心肌细胞胰酶消化 20 ~ 25 min,加入小牛血清终止消化;沉淀重复上述步骤,如此反复实验几次,用 300 目尼龙网过滤筛掉较大团块;低速(500 rpm)离心 5 min,弃上清。沉淀加入生理盐水,离心 5 min,弃上清;重复 3 次,制成单细胞悬液,调整细胞的浓度为  $1 \times 10^5$  个,加入 AnnexinV-FITC 5  $\mu$ L,充分混匀后再加入 PI 5  $\mu$ L 混匀,常温下避光反应 15 min,AnnexinV-FITC/PI 荧光选取 FSC 作为阈值,排除样品中的各种碎片及鞘液中的小颗粒,在 CELQuest 软件获取并分析数据,心肌细胞凋亡率 = 早期凋亡细胞% + 晚期凋亡细胞%。

### 1.7 Western Blot 检测各组心肌细胞 Cyt C、Apaf-1、caspase-9、caspase-3 表达

提取各组心肌细胞蛋白,BCA 法测定各组蛋白浓度,制备上样液。取各组待测样品 20  $\mu$ L 和 5  $\mu$ L 蛋白 Marker,加入至 SDS-PAGE 电泳装置中,进行电泳,转膜后脱脂牛奶封闭 2 h,加入相应一抗(1:1 000),4 °C 孵育过夜,TBST 洗膜 3 次,加入二抗 anti-rabbit(1:1 000)室温孵育 2 h,TBST 洗膜 3 次,ECL 显像,暗室曝光,扫描胶片,用凝胶图象处理系统分析。目的蛋白的相对表达量 = 目的蛋白的灰度

值/内参 GAPDH 的灰度值。

### 1.8 统计学处理

采用 SPSS 17.00 软件对数据进行处理。计量资料数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,两组间比较时采用配对  $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 二乙酸荧光素染色监测 AC16 细胞活力

与对照组相比, LPS 组心肌细胞结构不完整, 细胞体积缩小, 密度明显降低; 与 LPS 组相比, 黄芩苷低、中、高剂量组与黄芪总黄酮组虽然心肌细胞体积出现不同程度的缩小, 但心肌细胞密度明显提高 (见图 1)。

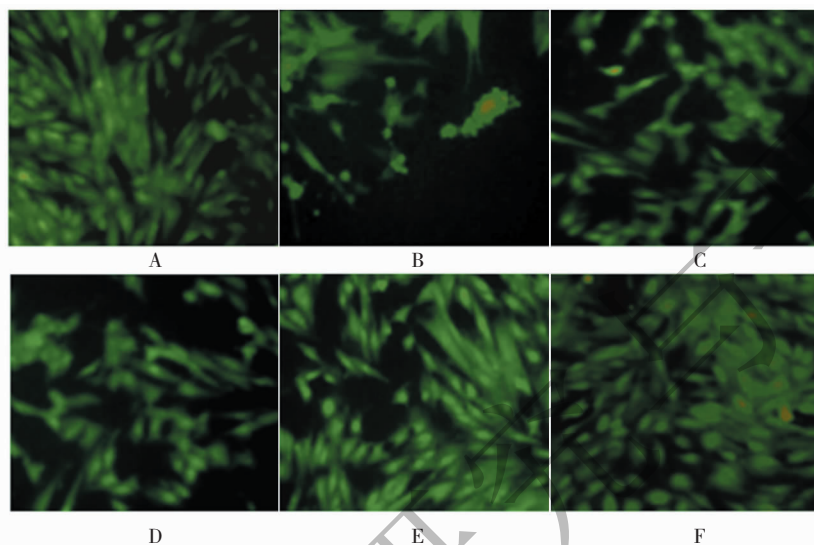


图 1 黄芩苷对 LPS 损伤 AC16 细胞二乙酸荧光素染色 ( $\times 200$ )

Fig. 1 Baicalin staining of LPS-damaged AC16 cells with fluorescein diacetate ( $\times 200$ )

注: A: 对照组; B: LPS 组; C: 黄芩苷低剂量组; D: 黄芩苷中剂量组; E: 黄芩苷高剂量组; F: 黄芪总黄酮组。

Note: A: control group; B: LPS group; C: baicalin-L; D: baicalin-M; E: baicalin-H; F: total flavonoids of astragalus.

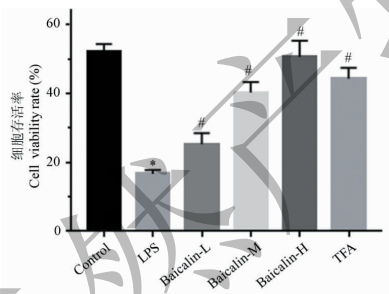


图 2 黄芩苷对 LPS 损伤 AC16 细胞存活率的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Fig. 2 Effect of baicalin on the survival rate of LPS-damaged AC16 cells ( $\bar{x} \pm s$ )

注: 对照组: Control; LPS 组: LPS; 黄芩苷低剂量组: Baicalin-L; 黄芩苷中剂量组: Baicalin-M; 黄芩苷高剂量组: Baicalin-H; 黄芪总黄酮组: TFA; 与对照组相比,  $* P < 0.05$ , 与 LPS 组相比,  $\# P < 0.05$ 。  
Note: Control group: control; LPS group: LPS; baicalin low dose group: baicalin-L; baicalin medium dose group: baicalin-M; baicalin high dose group: baicalin-H; total flavonoids of astragalus group: TFA; compare with control group,  $* P < 0.05$ ; compare with LPS group,  $\# P < 0.05$ .

### 2.2 黄芩苷对 AC16 细胞存活率影响

与对照组相比, LPS 组存活率降低, 差异有统计

学意义 ( $P < 0.05$ ); 与 LPS 组相比, 黄芩苷低、中、高及黄芪总黄酮组存活率均升高, 且随着剂量的升高而升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (见图 2)。

### 2.3 各组 AC16 细胞三磷酸腺苷 (ATP) 含量

与对照组相比较, LPS 组 ATP 含量降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与 LPS 组相比, 黄芩苷低、中、高及黄芪总黄酮组 ATP 含量均升高, 且随着剂量的升高而升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (见图 3)。

### 2.4 各组 AC16 细胞凋亡率检测

流式细胞仪分析结果显示: 对照组细胞凋亡率为 4.7%, LPS 组细胞凋亡率为 27.0%, 黄芩苷低、中、高剂量组及黄芪总黄酮组细胞凋亡率分别为 21.0%、14.5%、8.6% 及 12.5%。与对照组相比, LPS 组心肌细胞凋亡率上升, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与 LPS 组相比, 黄芩苷高、中、低剂量组及黄芪总黄酮组心肌细胞凋亡率下降, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (见图 4)。

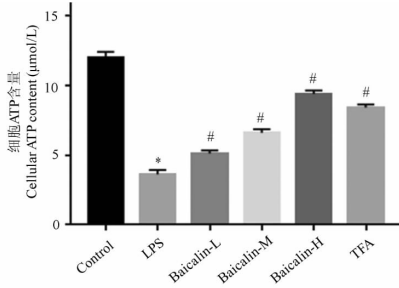


图3 黄芩苷对 LPS 损伤 AC16 细胞 ATP 含量的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Fig.3 Effect of baicalin on ATP content in AC16 cells injured by LPS ( $\bar{x} \pm s$ )

## 2.5 各组 AC16 细胞中 Cyt C、Apaf-1、caspase-9 及 caspase-3 表达

与对照组相比, LPS 组心肌细胞中 Cyt C、Apaf-1、caspase-9 及 caspase-3 表达升高, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 与 LPS 组小鼠相比, 黄芩苷高、中、低剂量组及黄芪总黄酮组心肌细胞 Cyt C、Apaf-1、caspase-9、caspase-3 表达降低, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ) (见图 5, 表 1)。

## 3 讨论

在脓毒症急性期, 对心肌细胞损伤以线粒体损伤为主, 可导致患者心功能受损, 影响患者预后。脓

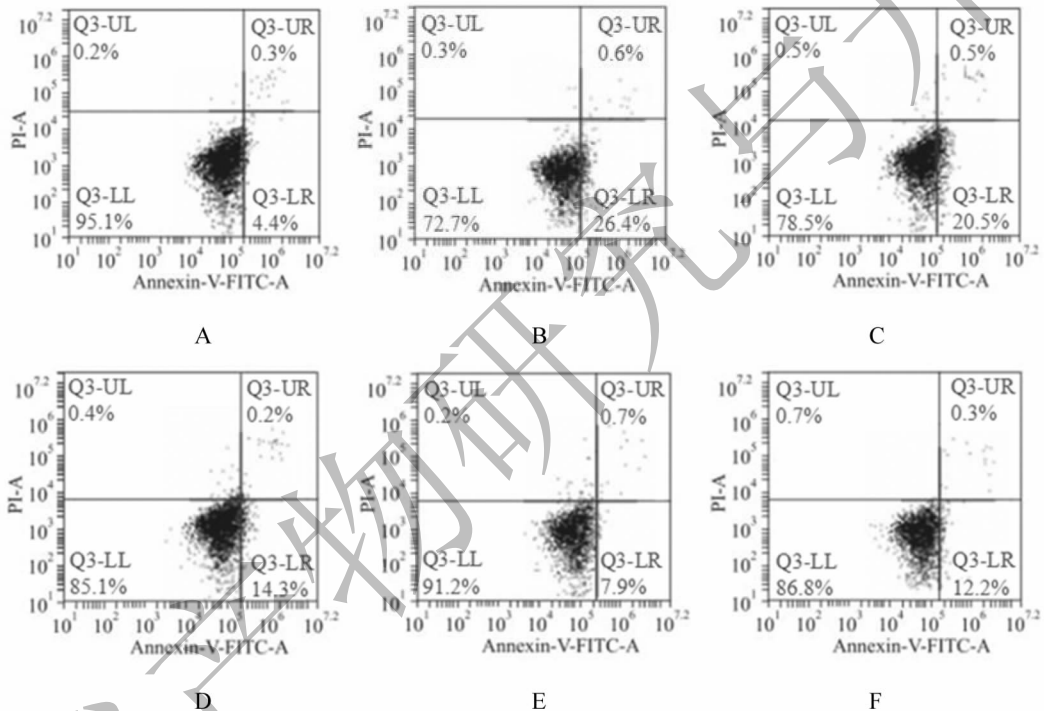


图4 黄芩苷对 LPS 损伤 AC16 细胞凋亡率的影响

Fig.4 The effect of baicalin on the apoptosis rate of AC16 cells injured by LPS

注: A: 对照组; B: LPS 组; C: 黄芩苷低剂量组; D: 黄芩苷中剂量组; E: 黄芩苷高剂量组; F: 黄芪总黄酮组。

Note: A: control group; B: LPS group; C: baicalin-L; D: baicalin-M; E: baicalin-H; F: total flavonoids of astragalus.

毒症心肌损伤学说较多, 有研究证实<sup>[13]</sup>, 脓毒症大鼠血清中一氧化氮、血管内皮素-1 等舒张血管因子表达均减少, 说明脓毒症可能通过破坏血管内皮正常舒张功能, 导致冠脉相对缺血引发心肌损伤。另外, 线粒体损伤是目前研究脓毒症心肌损伤的热点之一, 心脏搏动昼夜不停, 需要大量能量维持心肌细胞正常的生理作用, 因此在人体中所有细胞中心肌细胞线粒体最为发达。已有研究表明<sup>[14-16]</sup>, 脓毒症可通过炎症因子损伤、氧化应激损伤、钙超载及线粒体损伤等多重机制导致心肌细胞发生凋亡。李登辉

在基础研究中发现<sup>[17]</sup>, 脓毒症大鼠在早期血清肌钙蛋白 (cTnI)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-1 (IL-1) 即可出现升高, 且炎症因子与心肌损伤标记物表达呈正相关, 说明脓毒症在早期可通过炎症反应损伤心肌细胞。本团队在既往的研究中发现, 黄芩苷在多种心血管疾病中, 均有抑制心肌细胞凋亡的作用, 其机制与阻断  $\beta$ -AR/PKA/CaMK II 信号通路、内质网应激信号通路有关<sup>[8,11]</sup>。王鹏等<sup>[18]</sup>通过观察黄芩苷对缺血再灌注大鼠心肌细胞, 证实黄芩苷对正常心肌细胞自噬无影响, 但可显著减少

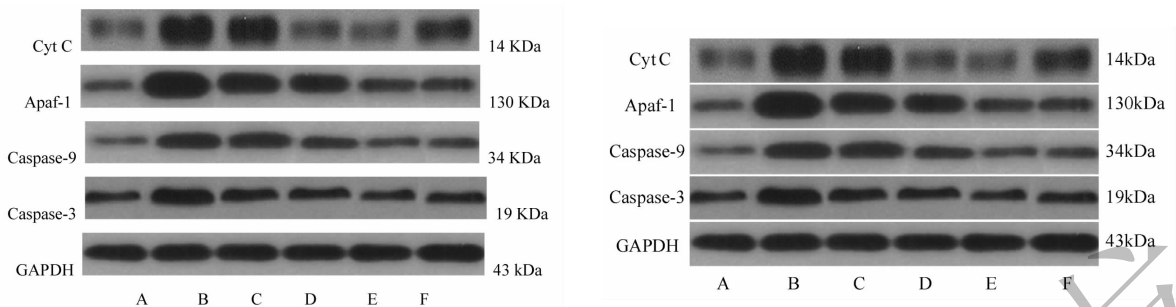


图5 黄芩苷对 LPS 损伤 AC16 细胞 Cyt C、Apaf-1、caspase-9 及 caspase-3 表达电泳图

Fig. 5 Electrophoresis pattern of baicalin, Cypac C, Apasf-1, caspase-9 and caspase-3 in AC16 cells injured by baicalin

注: A: 对照组; B: LPS 组; C: 黄芩苷低剂量组; D: 黄芩苷中剂量组; E: 黄芩苷高剂量组; F: 黄芪总黄酮组。

Note: A: control group; B: LPS group; C: baicalin-L; D: baicalin-M; E: baicalin-H; F: total flavonoids of astragalus.

表1 黄芩苷对 LPS 损伤 AC16 细胞 Cyt C、Apaf-1、caspase-9 及 caspase-3 表达的影响 ( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Effect of Baicalin on the expression of Cyt C, Apaf-1, caspase-9 and caspase-3 in AC16 cells injured by LPS ( $\bar{x} \pm s$ )

组别 Group	Cyt C/GAPDH	Apaf-1/GAPDH	caspase-9/GAPDH	caspase-3/GAPDH
对照组 Control	0.62 ± 0.08	0.43 ± 0.05	0.13 ± 0.01	0.35 ± 0.06
LPS 组 LPS	1.84 ± 0.25 *	2.28 ± 0.31 *	1.16 ± 0.14 *	1.52 ± 0.28 *
黄芩苷低剂量组 Baicalin-L	1.47 ± 0.19 <sup>#</sup>	1.26 ± 0.2 <sup>#</sup>	1.02 ± 0.11 <sup>#</sup>	0.68 ± 0.08 <sup>#</sup>
黄芩苷中剂量组 Baicalin-M	0.84 ± 0.16 <sup>#</sup>	1.10 ± 0.08 <sup>#</sup>	0.57 ± 0.04 <sup>#</sup>	0.62 ± 0.05 <sup>#</sup>
黄芩苷高剂量组 Baicalin-H	0.56 ± 0.09 <sup>#</sup>	0.83 ± 0.07 <sup>#</sup>	0.42 ± 0.04 <sup>#</sup>	0.36 ± 0.04 <sup>#</sup>
黄芪总黄酮组 Total flavonoids of astragalus	0.79 ± 0.06 <sup>#</sup>	0.82 ± 0.09 <sup>#</sup>	0.61 ± 0.05 <sup>#</sup>	0.86 ± 0.13 <sup>#</sup>

注: 与对照组相比, \*  $P < 0.05$ , 与 LPS 组相比, <sup>#</sup>  $P < 0.05$ 。

Note: Compare with control, \*  $P < 0.05$ ; compare with LPS group, <sup>#</sup>  $P < 0.05$ .

缺血再灌注心肌梗死面积,并降低再灌注后过度自噬的发生。本研究通过在细胞培养液中添加 LPS 制备脓毒症心肌损伤模型,并给予不同浓度黄芩苷进行治疗。研究发现,LPS 损伤的 AC16 心肌细胞活力及细胞存活率下降,细胞凋亡增多,经黄芩苷治疗后心肌细胞活力及细胞存活率均升高,且细胞凋亡数量减少。说明 LPS 确实损伤心肌细胞,并导致心肌细胞凋亡,而黄芩苷对于 LPS 损伤心肌细胞有明显的保护作用。

在本研究中发现,黄芩苷可有效增加 LPS 损伤 AC16 细胞中 ATP 的含量,保证细胞能量供给,这可能是黄芩苷增加细胞活性,减少心肌细胞凋亡的重要因素之一。细胞凋亡可能不是细胞唯一的死亡方式,但却是目前在结构、生化及基因水平已知蛋白质构成的死亡通路唯一形式。Cyt C/ Apaf-1/caspase-9/caspase-3 信号通路,是心肌细胞线粒体凋亡的主要信号通路之一。当线粒体损伤发生后,释放到胞质中的 Cyt C 与多聚化的 Apaf-1 结合,再与辅因子 ATP 结合,形成复合体,在此过程中促凋亡因子 Bax

与抑制凋亡因子 Bcl-2 亦参与了 Cyt C 与 Apaf-1 的结合,共同激活 caspase-9 形成凋亡体,开启瀑布效应激活 caspase-3 的因子,触发凋亡反应<sup>[19-20]</sup>。本研究证实,黄芩苷可有效抑制 AC16 心肌细胞中 Cyt C/ Apaf-1/caspase-9/caspase-3 信号通路的表达,并且剂量越高,细胞中表达越低。与之前的实验结果共同分析,推测黄芩苷可能通过阻断 Cyt C/ Apaf-1/caspase-9/caspase-3 信号通路的激活,并增强心肌细胞中 ATP 的含量,减少心肌细胞凋亡,AC16 细胞受到 LPS 损伤得以缓解,进而增强心肌细胞活力及生存率。但其作用靶点是从内源性凋亡信号通路上游即开始发挥抑制作用,亦或对 Cyt C/ Apaf-1/caspase-9/caspase-3 信号通路的中间蛋白及相关催化酶均有抑制作用,需进一步实验加以佐证。

综上所述,黄芩苷可抑制 LPS 损伤心肌细胞中 Cyt C/ Apaf-1/caspase-9/caspase-3 信号通路的表达,减少心肌细胞凋亡,增强线粒体内 ATP 的合成,从而起到提高心肌细胞活性及生存率的作用,并为黄芩苷在脓毒症心肌损伤的临床实践治疗中提供基

础理论依据。

### 参考文献

- Liu H, Liu Y, Sun JK, et al. Extravascular lung water monitoring of renal replacement therapy in lung water scavenging for septic acute kidney injury [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8:18907-18916.
- Esper AM, Martin GS. Extending international sepsis epidemiology: the impact of organ dysfunction [J]. *Crit Care*, 2009, 13:120-120.
- Li X, Li JH. Influencing factors and research progress of sepsis animal models [J]. *Chin J Crit Care Med* (中华危重症医学杂志), 2015, 8:53-57.
- Long W, Mu GN, Zhang GH, et al. Dark tea extracts protect mice from sepsis [J]. *Nat Prod Res Dev* (天然产物研究与开发), 2018, 30:582-587.
- Smeding L, Plotz FB, Groeneveld AB, et al. Structural changes of the heart during severe sepsis or septic shock [J]. *Shock*, 2012, 37:449-456.
- Pei Z, Wang B, Zhang F, et al. Response of human periodontal ligament cells to baicalin [J]. *J Periodontol*, 2014, 85:1283-1290.
- Wu Q, Ye H, Zhu YZ, et al. Protective effect of baicalin against LPS-induced intestinal injury [J]. *Chin J Chin Mater Med* (中国中药杂志), 2013, 24:2854-2857.
- He LM, Wang H, Zhao HY, et al. Effects of baicalin on blood pressure and left ventricular remodeling in rats with renal hypertension [J]. *Chin J Arterioscler* (中国动脉硬化杂志), 2017, 25:693-700.
- Luan Y, Zheng M, Lu Y, et al. Protective effect of baicalin on the culture hydroxide injury of Cardiac myocyte [J]. *J Jinzhou Med College* (锦州医学院学报), 2006, 27:14-17.
- Yang L, Shen MZ, Wang B, et al. Effect of baicalin on tunicamycin-induced endoplasmic reticulum stress injury in cultured neonatal rat cardiomyocytes [J]. *Chin Heart J* (心脏杂志), 2014, 26:125-128.
- Wang S, Hu Y, Bao ST. Effect of Baicalin on ventricular remodeling, ventricular myocyte apoptosis and  $\beta$ -AR/PKA/CaMK II signaling pathway in dilated cardiomyopathy rats [J]. *Chin J Exp Trad Med Form* (中国实验方剂学杂志), 2018, 24:1-5.
- Wang HJ, Yu M, Wang YH, et al. Effect of total flavonoids of astragalus on endoplasmic reticulum chaperone, apoptosis signaling factor in mouse myocardium with myocarditis caused by coxsackievirus B3 [J]. *J Clin Card* (临床心血管病杂志), 2016, 32:70-73.
- Xu Y, Chen GB, Su J, et al. Expression of ET-1, NO and E-selectin and the protective effect of milrinone on myocardial injury in sepsis rats in early stage [J]. *Acta Med Univ Sci Technol Huazhong* (华中科技大学学报:医学版), 2013, 42:195-199.
- Kurt AN, Aygun AD, Godekmerdan A, et al. Serum IL-1 beta, IL-6, IL-8, and TNF-alpha levels in early diagnosis and management of neonatal sepsis [J]. *Mediators Inflamm*, 2007, 2007:31397.
- Chu YG, Qi HN, Zhang JJ, et al. Effect of Shuxuening on early myocardial injury markers and oxidative stress in severe sepsis patients with myocardial injury [J]. *Acad J Second Military Med Univ* (第二军医大学学报), 2017, 38:804-809.
- Zhu Y, Yan J. Role of calcium imbalance in myocardial injury in sepsis [J]. *Pre Tre Car-Cer-Vas Dis* (心脑血管病防治), 2014, 14:149-151.
- Li DH, Hu DL, Li YN, et al. Correlation between inflammatory cytokines and myocardial injury in early stages of sepsis [J]. *Anhui Med J*, 2014, 35:1627-1629.
- Wang P, Ma JJ, Du YM. Protective effect of Baicalin on myocardial ischemia reperfusion injury and its correlation to myocardial cell autophagy in experimental rats [J]. *Chin Cir J* (中国循环杂志), 2016, 31:701-705.
- Bai J, Zhang WL, Zhang JW, et al. Myocardial oxidative stress injury and myocardial ultrastructure in septic rats [J]. *Chin J Cell Mol Immunol* (细胞与分子免疫学杂志), 2015, 31:634-638.
- Brunelle JK, Letai A. Control of mitochondrial apoptosis by the Bcl-2 family [J]. *J Cell Sci*, 2009, 122:437-441.