DOI:10.13210/j.cnki.jhmu.20250806.005
网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/46.1049.R.20250806.1139.010

基于p38MAPK/ERK信号通路探讨积雪草苷对糖尿病心肌病的机制研究

刘乐强[1,2],徐梦文[2,4],纪佳慧[1,2],李馨月[1,2],崔乐妹[1,2],陈睿旸[2,4],朱小翌[2,4],孙红燕[2,3],卢国庆[2,3],唐 碧[2,3],康品方[2,3]✉

(1.蚌埠医科大学全科医学系,安徽 蚌埠 233000;2.蚌埠医科大学心脑血管病研究中心生理学教研室,安徽 蚌埠 233000;3.蚌埠医科大学第一附属医院心血管内科,安徽 蚌埠 233000;4.蚌埠医科大学临床医学院 ,安徽 蚌埠 233000)

[**摘要**] **目的**:研究积雪草苷(asiaticoside,AS)通过抑制p38丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)/ERK信号通路对糖尿病心肌细胞凋亡的影响。**方法**:采取高糖高脂饮食联合STZ构建Ⅱ型糖尿病模型,将40只C57BL/6J小鼠随机平均分为对照(Con)组、糖尿病(DM)组、糖尿病+AS低剂量干预(DM+AS-20,20 $mg\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$)组和糖尿病+AS高剂量干预(DM+AS-40,40 $mg\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$)组,成模后,通过彩超测量左心功能,H&E染色检测心脏形态学变化,ELISA检测血清胰岛素(insulin,INS)和胆固醇(cholesterol,CH)水平,采用Western blot法检测心脏组织中Bcl-2、Bax、Cleaved Caspase-3、p38MAPK、p-p38MAPK、ERK和p-ERK的蛋白水平。利用高糖干预H9c2心肌细胞构建体外模型,设置对照(Con)组、高糖干预(HG)组、高糖+AS低剂量干预(HA1,40 μmol/L)组和高糖+AS高剂量干预(HA2,80 μmol/L)组。Western blot检测各组的p38MAPK/ERK通路和凋亡相关蛋白表达情况。**结果**:与Con组相比,DM组体质量下降、空腹血糖升高、血清INS水平降低、CH水平升高($P<0.001$);小鼠左心的收缩和舒张功能下降($P<0.001$);AS治疗后,小鼠的体质量升高,血糖下降,血清INS水平升高、CH水平下降($P<0.05$);AS可改善左心功能($P<0.05$)。Western blot结果提示,DM和HG组的Bcl-2蛋白表达降低,Bax、Cleaved Caspase-3、p-p38MAPK和p-ERK蛋白表达升高($P<0.01$)。在AS干预后,Bcl-2蛋白表达升高,Bax、Cleaved Caspase-3、p-p38MAPK和p-ERK蛋白表达降低($P<0.05$)。**结论**:AS通过改善糖脂代谢紊乱和抑制心肌异常凋亡,进而治疗糖尿病心肌病,其机制可能与抑制p38MAPK和ERK通路有关。

[**关键词**] 积雪草苷;糖尿病心肌病;丝裂原活化蛋白激酶;异常凋亡
[**中图分类号**] R285.5 [**文献标志码**] A [**文章编号**] 2097-5953(2026)19-1441-10

Mechanism research on the effect of asiaticoside on diabetic cardiomyopathy based on the p38MAPK/ERK signaling pathway

LIU Leqiang[1,2], XU Mengwen[2,4], JI Jiahui[1,2], LI Xinyue[1,2], CUI Lemei[1,2], CHEN Ruiyang[2,4], ZHU Xiaoyi[2,4], SUN Hongyan[2,3], LU Guoqing[2,3], TANG Bi[2,3], KANG Pinfang[2,3]✉

(1. *Department of General Practice, Bengbu Medical University, Bengbu* 233000, *China*; 2. *Department of Physiology, Center for Cardio-Cerebrovascular Disease Research, Bengbu Medical University, Bengbu* 233000, *China*; 3. *Department of Cardiovascular Medicine, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical University, Bengbu* 233000, *China*; 4. *School of Clinical Medicine, Bengbu Medical University, Bengbu* 233000, *China*)

[*Foundation Project*]: *This study was supported by the National Natural Science Foundation of China* (81970313); *Anhui Clinical Medicine Research Transformation Project* (202304295107020087); *Anhui University Collaborative Innovation Project* (*GXXT*-2020-019); *Anhui Outstanding Young Scholars Project* (2022*AH*030141); *Anhui Outstanding Innovation Team* (2022*AH*010083); *Bengbu Medical University Student Innovation and Entrepreneurship Training Program* (*S*202410367019)

[基金项目] 国家自然科学基金(81970313);安徽省临床医学研究转化项目(202304295107020087);安徽省高校协同创新项目(GXXT-2020-019);安徽省高校优秀青年项目(2022AH030141);安徽省优秀创新团队(2022AH010083);蚌埠医科大学大学生创新创业训练计划项目(S202410367019)

[作者简介] 刘乐强,E-mail:905714797@qq.com。
[通讯作者] 康品方,副教授,副主任医师,博士,E-mail:kangpinfang.1016@163.com。

[收稿日期] 2025-04-30 [修回日期] 2025-07-23 网络出版时间:2025-08-06 12:44:30

[*Author*]:*LIU Leqiang*, *E-mail*: 905714797@*qq.com*.
[*Correspondence to*]:*KANG Pinfang*, *Associate Professor*, *Associate Chief Physician*, *Ph.D.*, *E-mail*: *kangpinfang*.1016@163.*com*.
Received: 2025-04-30 *Revised*: 2025-07-23 *JHMU*, 2026;32(19):1441-1450

View from specialist: It is creative, and of certain scientific and educational value.

[Abstract] **Objective**: To investigate the effect of asiaticoside (AS) on the apoptosis of diabetic cardiomyocytes by inhibiting p38 Mitogen-activated protein kinase(MAPK)/ERK signaling pathway. **Methods**: The type 2 diabetes model was constructed by high-sugar and high-fat diet combined with STZ, and 40 C57BL/6J mice were randomly divided into control (Con) group, diabetes (DM) group, diabetes +AS low-dose intervention (DM+AS-20, 20 $mg\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$) group and diabetes +AS high-dose intervention (DM+AS-40, 40 $mg\cdot kg^{-1}\cdot d^{-1}$) group. After modeling, left heart function was measured by color ultrasound, cardiac morphological changes were detected by H&E staining, serum insulin (INS)and cholesterol(CH) level were detected by ELISA. Protein levels of Bcl-2, Bax, Cleaved Caspase-3, p38MAPK, p-p38MAPK, ERK, and p-ERK in cardiac tissue were detected by Western blot. The *in vitro* model of H9c2 cardiomyocytes with high glucose intervention was constructed, and the control (Con) group, high glucose intervention (HG) group, high glucose +AS low-dose intervention (HA1, 40 μmol/L) group and high glucose +AS high-dose intervention (HA2, 80 μmol/L) group were set up. Western blot detected the expression of p38MAPK/ERK pathway and apoptosis-related proteins in each group. **Results**: Compared to Con group, body mass decreased, fasting blood glucose increased, serum INS level decreased and CH level increased in DM group ($P<0.001$). The systolic and diastolic functions of the left heart were decreased ($P<0.001$). After AS treatment, the body mass of mice increased, blood glucose decreased, serum INS level increased and CH level decreased ($P<0.05$). AS could improve left heart function ($P<0.05$). Western blot results showed that the expression of Bcl-2 protein was decreased in DM and HG groups, and the expression of Bax, Cleaved Caspase-3, p-P38MAPK, and P-ERK protein were increased ($P<0.01$). After AS intervention, the expression of Bcl-2 protein was increased, and the expression of Bax, Cleaved Caspase-3, P-P38MAPK, and P-ERK protein was decreased ($P<0.05$). **Conclusion**: AS can ameliorate the disorder of glucose and lipid metabolism and inhibit abnormal myocardial apoptosis in the treatment of diabetic cardiomyopathy, and its mechanism may be related to the inhibition of p38MAPK and ERK pathways.

[Key words] Asiaticoside; Diabetic cardiomyopathy; Mitogen-activated protein kinase; Abnormal apoptosis

糖尿病心肌病(diabetic cardiomyopathy,DCM)是指在排除高血压、冠状动脉粥样硬化、心脏瓣膜疾病等高危因素,由糖尿病引起的以心脏结构和心室舒缩功能改变为特点的一种心脏病变[1,2]。DCM的病理生理过程包括心肌细胞代谢改变[3,4]、氧化应激增强[5]、心肌细胞形态纤维化改变[6]、诱导细胞凋亡[7]和微血管疾病[8]。细胞凋亡与心血管疾病的发生、发展有密切的关系,异常细胞凋亡会导致心肌肥厚和心肌纤维化,引起心脏舒缩功能降低[9]。

丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase ,MAPK)是一种参与细胞生长、发育、增殖、分化、凋亡以及炎症反应的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶。MAPK可通过多种蛋白激酶和转录因子的磷酸化来调节细胞的存活和凋亡,进而调节心血管疾病[10]。多项研究表明,p38MAPK/ERK信号通路是糖尿病及其并发症的关键分子,其介导的凋亡与糖尿病心肌病密切相关[11-14]。

积雪草苷(asiaticoside,AS)是积雪草的主要活性成分,属于三萜皂苷类[15],具有多种药理作用,包括抗炎[16]、抗氧化[17]、抑制瘢痕形成[18]、调节糖脂代谢紊乱[19]、抗动脉粥样硬化[20,21]和减轻心肌损伤[22]等药理作用。有研究表明,AS通过PI3K/Akt/MAPK信号通路抑制玉米赤霉烯酮诱导的子宫组织凋亡[23]。AS通过抑制JAK2/STAT3信号通路抑制肾脏炎症反应、氧化应激及细胞凋亡,对糖尿病大鼠起保护作用[24]。目前AS是否通过MAPK信号通路来改善糖尿病引起的心肌病,暂无明确研究。因此,本研究探讨AS对糖尿病小鼠心血管系统的保护作用是否通过p38MAPK/ERK信号通路的调控作用,为DCM的治疗提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 动物及细胞

选取SPF级雄性C57BL/6J小鼠(6~8周龄,体质量20~22 g)40只,由江苏青龙山生物科技有限公司提供,实验动物许可证号为SCXK(江苏)2024-0001。饲养条件:温度(23±2)℃,相对湿度(55±5)%,12 h昼夜交替,自由饮食进水。本研究经蚌埠医科大学伦理委员会审核批准(伦理编号:23-434号),动物的养护及处理严格遵守《实验动物管理条例》进行。大鼠H9c2心肌细胞系购于武汉普诺赛生命科技有限公司(CL-0089)。

1.2 主要试剂与设备

戊巴比妥钠盐(美国Sigma公司,货号:P3761);异氟烷(深圳市瑞沃德生命科技有限公司,货号:2024070201);积雪草苷(上海麦克林生化科技股份有限公司,货号:A964372-10g);二甲基亚砜

(dimethyl sulfoxide ,DMSO)(美国Sigma公司,货号:D8370);小鼠血清胰岛素(insulin,INS)试剂盒(上海朗智生物科技有限公司,货号:10-1247-01);小鼠血清胆固醇(cholesterol,CH)试剂盒(武汉赛培生物科技有限公司,货号:SP14121);B淋巴细胞瘤-2基因(Bcl-2)、Bcl-2相关X蛋白(Bax)、Cleaved Caspase-3、p38MAPK、磷酸化p38丝裂原活化蛋白酶(p-p38MAPK)、ERK、磷酸化细胞外信号调节蛋白激酶(p-ERK)和甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)抗体(澳大利亚Affinity公司,货号:AF6139、AF0120、AF7022、BF8015、AF4001、BF8004、AF1015、AF2021);山羊抗兔lgG-HRP、山羊抗小鼠lgG-HRP(安徽白鲨生物,货号:BL003A、BL001A);胎牛血清、胰蛋白酶、DMEM培养基(美国Gibco公司,货号:164210-500、25200-072、6124155);小动物超声成像系统(加拿大Visual Sonics公司,型号:Vevo 2100);电泳仪、电泳槽(美国Bio-Rab公司,型号:1645070、1656001);转膜电泳槽(北京六一科技公司,型号:DYCZ-24A/B);化学发光成像系统(美国Alpha Innotech公司,型号:Tanon 5200Multui)。

1.3 动物模型建立及实验分组

在体水平:将40只小鼠按照随机数字表法随机分为4个组,每组10只,即对照(Con)组、糖尿病(DM)组、糖尿病+积雪草苷低剂量(20 mg·kg^{-1}·d^{-1})干预(DM+AS-20)组与糖尿病+积雪草苷高剂量(40 mg·kg^{-1}·d^{-1})干预(DM+AS-40)组。Con组采用普通饲料喂养,糖尿病组采用高脂饲料喂养至实验结束。喂养2个月后,糖尿病模型组禁食12 h,连续3 d腹腔注射STZ(55 mg/kg)以建立Ⅱ型糖尿病模型[25],末次注射STZ 72 h后测尾静脉空腹血糖>16.7 nmol/L为造模成功。其中,积雪草苷低、高剂量组分别灌胃20、40 mg/kg积雪草苷(溶剂为DMSO,终浓度小于5%)[26],Con组和DM组给予相同体积分数DMSO,共给药1个月后,进行后续实验。

体外水平:H9c2细胞[27]培养至80%~90%后进行传代,将细胞分为对照(Con)组、高糖(HG)组、高糖+低剂量积雪草苷干预(HA1)组与高糖+高剂量积雪草苷干预(HA2)组。其中Con组培养在低糖(5.5 mmol/L)DMEM培养基中,HG组培养在高糖(30 mmol/L)培养基中[28]。Con组和HG组予以DMSO作为对照,HA1和HA2组分别予以40、80 μmol/L AS[24,29]。干预后的细胞在37 ℃细胞培养箱中培养48 h后进行后续实验[28]。

1.4 测量小鼠体质量和空腹血糖

对小鼠利用Excel随机数字法进行编号,在糖尿病模型建立前测量体质量和空腹血糖,作为初始体质量和血糖。在小鼠造模和给药期间每隔14 d测量1次体质量和空腹血糖,并记录。

1.5 小鼠心脏超声

各组小鼠经2%异氟烷麻醉,直至小鼠出现肌松弛且失去翻正反射后,将其四肢固定于实验板上,低流量维持麻醉状态,在小鼠四肢涂抹导电胶,胸部涂抹超声耦合剂,通过M模式超声图像,在左心室长轴切面测量下列心脏功能参数:左心室射血分数(left ventricular ejection fraction,LVEF)、左心室缩短率(left ventricular fractional shortening,LVFS)、左心室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic diameter,LVEDD)和左心室收缩末期内径(left ventricular end-systolic diameter,LVESD)。

1.6 测量小鼠血液中胰岛素和胆固醇的含量

给药结束24 h后,采用戊巴比妥(50 mg/kg)麻醉小鼠,眼球取血,离心分离血清。采用ELISA试剂盒检测小鼠血清标本中INS和CH水平,实验步骤严格按照ELISA试剂盒说明书进行各项操作,使用酶标仪检测各孔在450 nm处的吸光度,绘制对应的标准曲线,再根据标准曲线计算血清中INS和CH的浓度。

1.7 H&E染色观察心脏形态

取"1.6"项中的小鼠,将其心脏取出,用4%多聚甲醛固定24 h,乙醇梯度醇洗及脱水,石蜡包埋,切片。将组织切片依次放入苏木素-伊红染液试剂盒的各个染色步骤中,进行染色。染色结束后,使用增色液去除多余的染液,用滤纸吸干后封片。使用普通光学显微镜观察和记录各组心脏组织的形态。

1.8 Western blot

取各组小鼠新鲜的心肌组织和细胞总蛋白,电泳并用湿转法将蛋白转移至PVDF膜,封闭,放入对应一抗Bcl-2(1∶1 000)、Bax(1∶1 000)、Cleaved Caspase-3(1∶1 000)、p38MAPK(1∶1 000)、p-p38MAPK(1∶1 000)、ERK(1∶1 000)和p-ERK(1∶1 000)和GAPDH(1∶3 000)过夜,孵育二抗山羊抗兔lgG-HRP或山羊抗鼠lgG-HRP(1∶10 000)2 h。ECL化学发光避光检测,以GAPDH(1∶3 000)为参照,ImageJ软件分析灰度值。

1.9 统计学处理

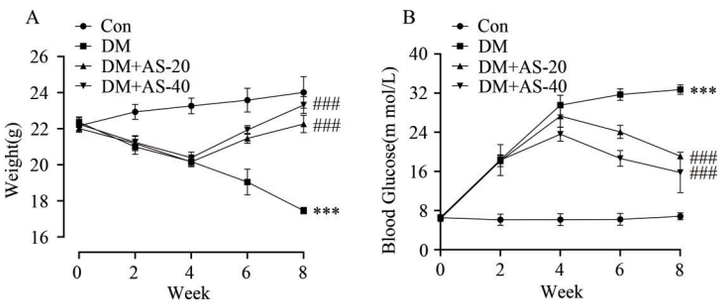
采用GraphPad Prism9.0软件进行数据统计处理,计量资料采用$\bar{x} \pm s$表示,多组间比较使用单因

素方差分析。所有实验结果重复3次以上，$P<0.05$为差异具有统计学意义。

2　结果

2.1　各组体质量和空腹血糖比较

与Con组相比，DM组体质量明显下降，空腹血糖明显升高（$P<0.001$）；与DM组相比，DM+AS-20组和DM+AS-40组体质量明显升高，空腹血糖明显降低（图1A，B，$F_{体质量}=359.50$，$F_{空腹血糖}=148.60$，均$P<0.001$）。



与Con组比较，$^{***}P<0.001$；与DM组比较，$^{###}P<0.001$；$n=6$

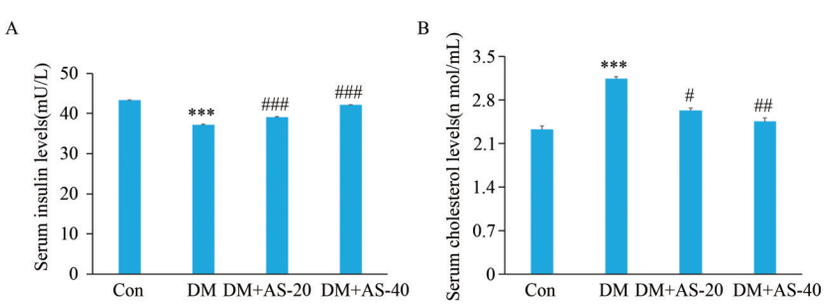
A：各组治疗8周体重变化情况；B：各组治疗8周空腹血糖变化

图1　AS对DM小鼠体质量、空腹血糖的影响

Fig 1　Effects of AS on body weight and blood glucose in DM mice

2.2　各组INS和CH水平比较

与Con组相比，DM组血清INS水平明显降低，血清CH水平升高（$P<0.001$）；与DM组相比，DM+AS-20组和DM+AS-40组血清INS水平有不同程度的升高，血清CH水平有不同程度的降低（图2A、B，$F_{INS}=310.10$，$F_{CH}=45.21$，均$P<0.05$）。



与Con组比较，$^{***}P<0.001$；与DM组比较，$^{#}P<0.05$，$^{##}P<0.01$，$^{###}P<0.001$；$n=6$

A：各组血清INS平均值；B：各组血清CH平均值

图2　AS对DM小鼠血清INS、CH的影响

Fig 2　Effects of AS on serum INS and CH in DM mice

2.3　各组心功能参数比较

与Con组相比，DM组LVEF和LVFS值明显降低，LVEDD和LVESD值明显增加（$P<0.001$），说明糖尿病可以引起一定程度的心功能损伤。与DM组相比，DM+AS-20组和DM+AS-40组LVEF和LVFS值有一定的增加，LVEDD和LVESD值在一定程度上降低（图3B～E，$F_{LVEF}=78.00$，$F_{LVFS}=77.93$，$F_{LVESD}=59.31$，$F_{LVEDD}=12.84$，均$P<0.05$）。

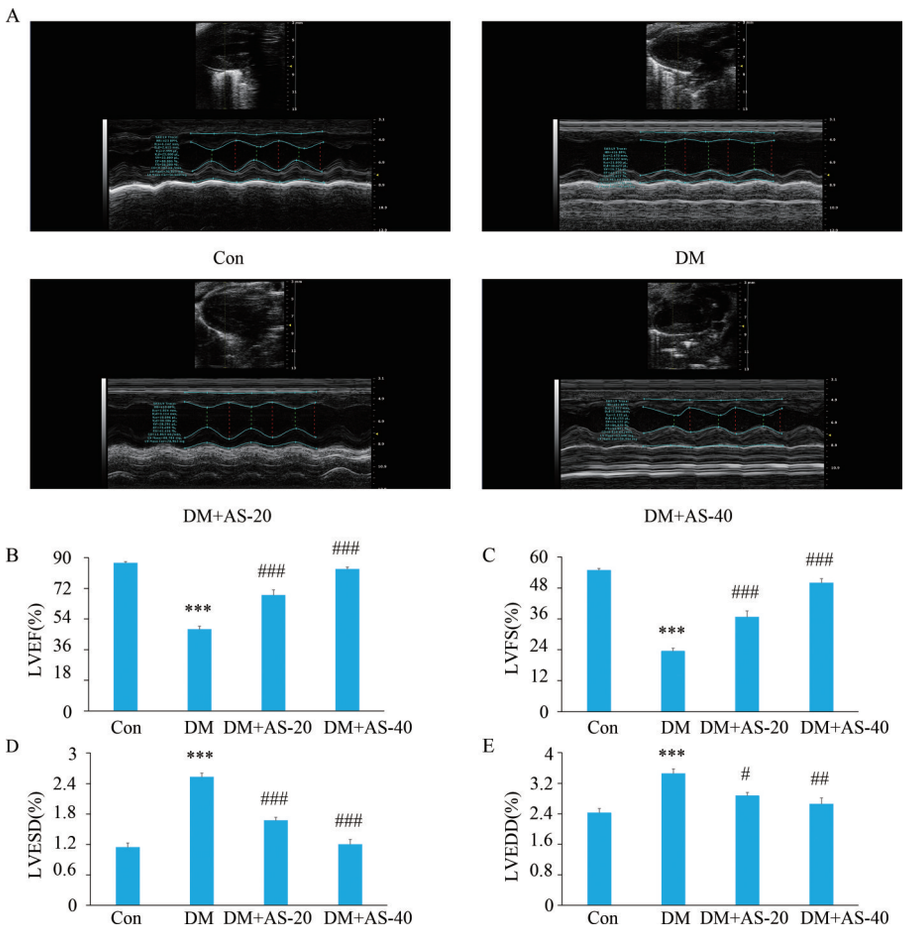
2.4　各组心脏病理染色比较

各组小鼠心肌细胞经过H&E染色后，与Con组相比，DM组小鼠心肌纤维排列紊乱，心肌细胞出肥大和变形的现象，心肌细胞间界限不清，间质出现炎细胞浸润。与DM组相比，DM+AS-20组和DM+AS-40组小鼠心肌纤维紊乱、心肌细胞肥大和变形的现象得到不同程度改善（图4）。

2.5　各组小鼠心肌组织中凋亡、MAPK相关蛋白表达比较

与Con组相比，DM组心肌组织Bax和Cleaved Caspase-3蛋白表达升高，Bcl-2蛋白表达降低，p-p38MAPK和p-ERK蛋白表达水平明显升高（$P<0.01$）。与DM组相比，DM+AS-20组和DM+AS-40组Bax和Cleaved Caspase-3的表达有不同程度的降低，Bcl-2的表达增加，p-p38MAPK和p-ERK蛋白表达水平有不同程度降低（$F_{p\text{-}p38MAPK/p38MAPK}=31.00$，$F_{p\text{-}ERK/ERK}=5.309$，$F_{Bcl\text{-}2/GAPDH}=59.71$，$F_{Bax/GAPDH}=19.46$，

$F_{\text{Cleaved Caspase-3/GAPDH}}=11.27$，均 $P<0.05$），见图5。



与Con组比较，$^{***}P<0.001$；与DM组比较，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$，$^{\#\#\#}P<0.001$；$n=4$

A：各组心功能多普勒超声；B：LVEF；C：LVFS；D：LVESD；E：LVEDD

图3　AS对DM小鼠心功能指标的影响

Fig 3　Effects of AS on cardiac function indexes in DM mice

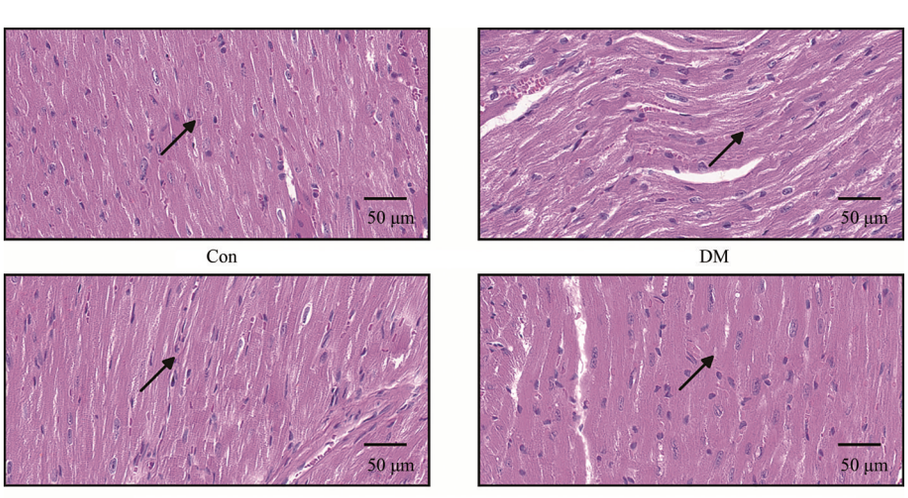
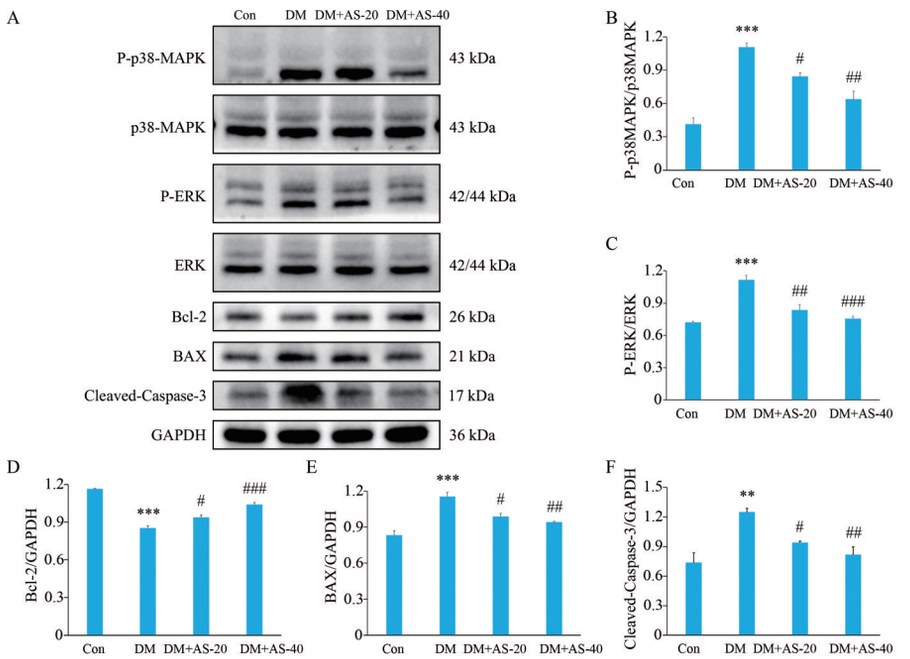


图4　各组心肌病理染色（$n=3$，×50）

Fig 4　H&E staining results of heart tissue of mice in each group（$n=3$，×50）

2.6　各组H9c2心肌细胞中凋亡、MAPK相关蛋白　　表达比较

与Con组相比，HG组心肌细胞Bax和Cleaved



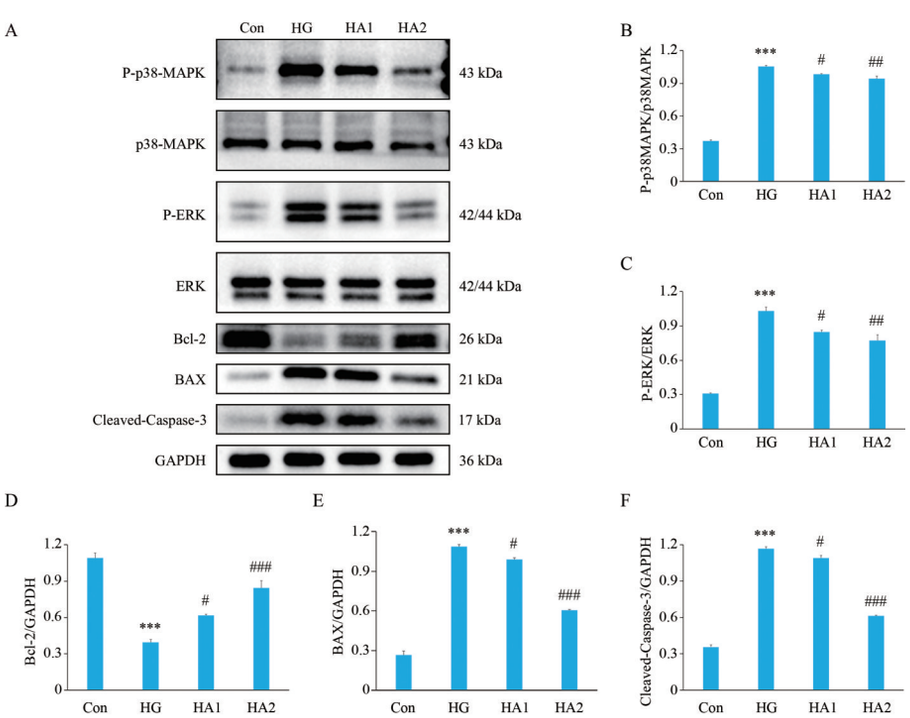
与Con组相比，$^{**}P<0.01$，$^{***}P<0.001$；与DM组比较，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$，$^{\#\#\#}P<0.001$；$n=3$

A：p-p38MAPK，p38MAPK，p-ERK，ERK，Bcl-2，Bax，Cleaved Caspase-3和GAPDH蛋白带；B：p-p38MAPK/p38MAPK值；C：p-ERK/ERK值；D：Bcl-2/GAPDH值；E：Bax/GAPDH值；F：Cleaved Caspase-3/GAPDH值

图5　各组小鼠心肌组织中凋亡、MAPK相关蛋白表达比较

Fig 5 Comparison of apoptosis and MAPK-related protein expression in myocardial tissue of mice in each group

Caspase-3蛋白表达升高，Bcl-2蛋白表达降低，p-p38MAPK和p-ERK蛋白表达水平明显升高（$P<0.001$）。与HG组相比，HA1组和HA2组Bax和Cleaved Caspase-3的表达有不同程度降低，Bcl-2的表达增加，p-p38MAPK和p-ERK蛋白表达水平均有不同程度降低（$F_{\text{p-p38MAPK/p38MAPK}}=505.40$，



与Con组相比，$^{***}P<0.001$；与HG组比较，$^{\#}P<0.05$，$^{\#\#}P<0.01$，$^{\#\#\#}P<0.001$；$n=3$

A：p-p38MAPK、p38MAPK、p-ERK、ERK、Bcl-2、Bax、Cleaved Caspase-3和GAPDH蛋白带；B：p-p38MAPK/p38MAPK值；C：p-ERK/ERK值；D：Bcl-2/GAPDH值；E：Bax/GAPDH值；F：Cleaved Caspase-3/GAPDH值

图6　各组H9c2心肌细胞中凋亡、MAPK相关蛋白表达比较（$n=3$）

Fig 6 Comparison of apoptosis and MAPK related protein expression in H9c2 cardiomyocytes in all groups（n=3）

$F_{p\text{-}ERK/ERK}=96.00$，$F_{Bcl\text{-}2/GAPDH}=64.02$，$F_{Bax/GAPDH}=406.60$，$F_{Cleaved\ Caspase\text{-}3/GAPDH}=656.50$，均 $P<0.05$），见图6。

3 讨论

DCM是以舒张和收缩功能障碍为特征的心血管并发症之一[30]。本研究通过体内和体外实验探讨了AS对DCM的保护作用，并发现了AS可能通过p38MAPK/ERK通路介导心肌细胞凋亡产生的保护作用。在动物实验中，本研究采用高糖高脂饮食联合STZ构建Ⅱ型糖尿病模型，不同剂量AS灌胃干预，可降低糖尿病小鼠血糖，改善胰岛素及血脂代谢，这与臧洁[31]的研究结果相一致，此外AS可改善糖尿病引起的心功能障碍和心肌病理性损伤，这些结果证明了AS对DCM的保护作用，且呈现一定的剂量依赖性。

DCM的发病机制复杂，涉及能量代谢紊乱、细胞凋亡、炎性反应、氧化应激和自噬等多种发病机制，但具体仍未完全阐明[32-34]，有研究表明，糖尿病可以造成严重的心肌细胞凋亡和心肌损伤[35-37]。细胞内环境的稳态主要靠细胞移除进行调控，其中细胞凋亡是细胞移除的核心过程。细胞凋亡是在基因的调控下细胞进行程序化死亡的过程[38]。长期糖尿病和高糖诱导会引起心肌细胞的异常凋亡。Bcl-2是Bcl-2家族的关键调控因子，具有抗细胞凋亡的作用；Bax通过增强线粒体膜的通透性，促进级联反应激活Caspase-3，引起细胞凋亡[39]。本研究发现，和Con组相比，DM组大鼠心肌中的促凋亡相关蛋白Bax和Caspase3表达增加，抗凋亡蛋白Bcl-2表达减少，说明糖尿病可引起心肌细胞凋亡增加，这与Ren等[39]、Zhang等[40]研究一致，细胞凋亡参与DCM的发生、发展。前期本课题组研究发现，利用30 mmol/L的高糖对体外细胞干48 h，可以模拟糖尿病心肌损伤模型[28]，进行凋亡相关蛋白的检测，同样发现高糖可加重心肌细胞凋亡。DCM发病过程中，大量活性氧的产生会进一步激活Caspase-3，形成级联反应，最终导致凋亡失衡，相关研究多次证实，抑制心肌细胞的过度凋亡，可改善DCM[41,42]。通过AS干预后，体内和体外的促凋亡相关蛋白表达下降，抗凋亡蛋白表达上升，说明AS可改善糖尿病引起的心肌细胞凋亡失衡，进而改善心肌损伤和心功能障碍。

MAPK信号通路是调控细胞内外信号的关键中枢之一，其在细胞增殖分化、凋亡、应激反应等多种病理生理过程中发挥着重要的作用。其中p38MAPK和ERK是控制细胞凋亡最主要的MAPK家族成员[43]。p38MAPK/ERK信号通路受细胞信号的刺激后会进行磷酸化反应，诱导促凋亡Bcl-2家族蛋白（Bax和BIM）的激活和抑制Bcl-2家族抗凋亡成员（Bcl-2、Bcl-XL和Mcl-1）的表达来促进细胞凋亡[44-46]。本研究观察到，在糖尿病小鼠的心肌组织中，p38MAPK和ERK的蛋白磷酸化水平升高，提示糖尿病可激活p38MAPK/ERK通路；在体外细胞实验，本研究同样发现类似的现象。因此，推测出长期的糖尿病或高糖状态会激活p38MAPK/ERK信号通路，促使心肌细胞异常凋亡增加。

AS具有许多药理作用，主要包括调节糖脂代谢紊乱、抗动脉粥样硬化、改善血管重构、减轻心肌损伤、抗凋亡活性等作用[20,47-49]。前期本课题组研究发现，AS可以通过介导细胞焦亡来保护心肌，AS还可以改善血管舒张功能[50,51]。有研究表明，AS可通过抑制JAK2/STAT3信号通路，抑制氧化应激及炎症反应，抑制肾细胞凋亡，改善由糖尿病引起的肾损伤[24]。AS可通过促进Wnt信号通路转导从而促进细胞的增殖和迁移作用，减轻细胞的凋亡反应，在糖尿病角膜病变中发挥保护作用[52]。AS可通过抑制Notch1/Hes1信号通路减轻糖尿病心肌病小鼠心肌损伤，减轻心肌纤维化，减少心肌细胞凋亡[47]。以上研究提示AS具有改善糖尿病相关并发症的作用。AS的药理作用使其在一定程度上可以减轻糖尿病及其心血管并发症。基于此，猜测AS能否通过抑制p38MAPK/ERK信号通路介导的细胞凋亡来减轻DCM。本研究从体内、体外分子实验发现，AS干预后，ERK和p38MAPK的蛋白表达无明显变化，但其活性成分，磷酸化的p38MAPK/ERK蛋白表达明显下降，说明AS可抑制糖尿病引起的p38MAPK/ERK通路激活；结合AS可减轻糖尿病引起的心肌细胞过度凋亡，本研究认为AS可能通过p38MAPK/ERK信号通路介导的细胞凋亡来减轻DCM。本研究发现AS通过p38MAPK/ERK通过改善DCM，为后续DCM的治疗提供了新的理论依据和潜在靶点。

综上所述，本研究通过体内、体外实验证实，AS能够明显改善长期糖尿病小鼠的心功能，减轻糖尿病引起的心肌细胞损伤，其保护作用可能与调控p38MAPK/ERK信号通路和抑制细胞凋亡密切相关。本研究丰富了AS保护糖尿病心肌细胞的作用机制，也为其在临床中的运用提供了科学依据。

作者贡献度说明：

刘乐强：研究的设计、数据分析、撰写论文；卢国庆：研究的可行性分析、研究构思，康品方：论文的修改与审校；徐梦文，纪佳慧，李馨月：查阅文献、数据分析；崔乐妹，陈睿旸，孙红燕，朱小翌：资料的收集、整理；唐碧：提供经费支持。

所有作者声明不存在利益冲突关系。

参考文献

1 Karnik AA, Fields AV, Shannon RP. Diabetic cardiomyopathy [J]. Curr Hypertens Rep, 2007, 9(6): 467-473.

2 Murarka S, Movahed MR. Diabetic cardiomyopathy [J]. J Card Fail, 2010, 16(12): 971-979.

3 Alonso N, Moliner P, Mauricio D. Pathogenesis, clinical features and treatment of diabetic cardiomyopathy [J]. Adv Exp Med Biol, 2018, 1067:197-217.

4 Mishra PK, Ying W, Nandi SS, et al. Diabetic cardiomyopathy: An immunometabolic perspective [J]. Front Endocrinol (Lausanne), 2017, 8:72.

5 Anderson EJ, Kypson AP, Rodriguez E, et al. Substrate-specific derangements in mitochondrial metabolism and redox balance in the atrium of the type 2 diabetic human heart [J]. J Am Coll Cardiol, 2009, 54(20): 1891-1898.

6 Yue Y, Meng K, Pu Y, et al. Transforming growth factor beta (TGF-β) mediates cardiac fibrosis and induces diabetic cardiomyopathy [J]. Diabetes Res Clin Pract, 2017, 133:124-130.

7 Frustaci A, Kajstura J, Chimenti C, et al. Myocardial cell death in human diabetes [J]. Circ Res, 2000, 87(12): 1123-1132.

8 Marwick TH, Ritchie R, Shaw JE, et al. Implications of underlying mechanisms for the recognition and management of diabetic cardiomyopathy [J]. J Am Coll Cardiol, 2018, 71(3): 339-351.

9 潘利亚，张晓卉，尹新华. 糖尿病心肌病发病机制的研究进展 [J]. 中国心血管杂志，2017, 22(2): 143-146.
Pan LY, Zhang XH, Yin XH. Research progress on the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy [J]. Chin J Cardiovasc Med, 2017, 22(2): 143-146.

10 Gomita Y, Esumi S, Sugiyama N, et al. Intracranial self-stimulation-reward induces neurite extension in PC12m3 cells and activation of the p38 MAPK pathway [J]. Neurosci Lett, 2017, 649:78-84.

11 Umoh NA, Walker RK, Millis RM, et al. Calcitonin gene-related peptide regulates cardiomyocyte survival through regulation of oxidative stress by PI3K/Akt and MAPK signaling pathways [J]. Ann Clin Exp Hypertens, 2014, 2(1): 1007.

12 Liu Q, Hofmann PA. Protein phosphatase 2A-mediated cross-talk between p38 MAPK and ERK in apoptosis of cardiac myocytes [J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2004, 286(6): H2204-2212.

13 Wang L, Li X, Zhou Y, et al. Downregulation of miR-133 *via* MAPK/ERK signaling pathway involved in nicotine-induced cardiomyocyte apoptosis [J]. Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol, 2014, 387(2): 197-206.

14 Gupta K, Kshirsagar S, Li W, et al. VEGF prevents apoptosis of human microvascular endothelial cells *via* opposing effects on MAPK/ERK and SAPK/JNK signaling [J]. Exp Cell Res, 1999, 247(2): 495-504.

15 James JT, Dubery IA. Pentacyclic triterpenoids from the medicinal herb, *Centella asiatica* (L.) Urban [J]. Molecules, 2009, 14(10): 3922-3941.

16 Zhang Y, Meng X, Liu K. The modulation of cAMP/PKA pathway by asiaticoside ameliorates high glucose-induced inflammation and apoptosis of retinal pigment epithelial cells [J]. J Bioenerg Biomembr, 2022, 54(1): 9-16.

17 Xing Y, Ji Q, Li X, et al. Asiaticoside protects cochlear hair cells from high glucose-induced oxidative stress *via* suppressing AGEs/RAGE/NF-κB pathway [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 86:531-536.

18 Lawrence JC. The morphological and pharmacological effects of asiaticoside upon skin *in vitro* and *in vivo* [J]. Eur J Pharmacol, 1967, 1(5): 414-424.

19 Barkaoui M, Katiri A, Boubaker H, et al. Ethnobotanical survey of medicinal plants used in the traditional treatment of diabetes in chtouka ait baha and tiznit (Western Anti-Atlas), morocco [J]. J Ethnopharmacol, 2017, 198:338-350.

20 Pakdeechote P, Bunbupha S, Kukongviriyapan U, et al. Asiatic acid alleviates hemodynamic and metabolic alterations via restoring eNOS/iNOS expression, oxidative stress, and inflammation in diet-induced metabolic syndrome rats [J]. Nutrients, 2014, 6(1): 355-370.

21 Wang X, Cai X, Wang W, et al. Effect of asiaticoside on endothelial cells in hypoxia-induced pulmonary hypertension [J]. Mol Med Rep, 2018, 17(2): 2893-2900.

22 魏东明，徐臣年，刘洋，等. 积雪草苷通过Notch1/Hes1信号上调自噬减轻糖尿病心肌病心肌损伤的作用及机制 [J]. 山西医科大学学报，2022, 53(3): 305-311.
Wei DM, Xu CN, Liu Y, et al. The effect and mechanism of asiaticoside on alleviating myocardial injury in diabetic cardiomyopathy by up-regulating autophagy through Notch1/Hes1 signaling [J]. J Shanxi Med Univ, 2022, 53(3): 305-311.

23 Gao G, Jiang H, Lin H, et al. Asiaticoside ameliorates uterine injury induced by zearalenone in mice by reversing endometrial barrier disruption, oxidative stress and

apoptosis [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2024, 22(1): 118.

24 董杨, 陆晨. 积雪草苷调节JAK/STAT信号通路对糖尿病肾病大鼠炎症反应的影响 [J]. 贵州医科大学学报, 2024, 49(4): 539-545.
Dong Y, Lu C. The effect of asiaticoside on the inflammatory response in diabetic nephropathy rats by regulating the JAK/STAT signaling pathway [J]. J Guizhou Med Univ, 2024, 49(4): 539-545.

25 Huang R, Hu Z, Chen X, et al. The transcription factor SUB1 is a master regulator of the macrophage TLR response in atherosclerosis [J]. Adv Sci (Weinh), 2021, 8(19): e2004162.

26 金艳, 高晓洁. 积雪草苷对糖尿病周围神经痛的作用及其机制 [J]. 中药药理与临床, 2013, 29(5): 39-42.
Jin Y, Gao XJ. The effect and mechanism of snowgrass glycoside on diabetic peripheral neuropathy [J]. Chin Materia Med Pharmacol Clin Pract, 2013, 29(5): 39-42.

27 Liu H, Jiang B, Hua R, et al. ALDH2 mediates the effects of sodium‐glucose cotransporter 2 inhibitors (SGLT2i) on improving cardiac remodeling [J]. Cardiovasc Diabetol, 2024, 23(1): 380.

28 Kang P, Wang J, Fang D, et al. Activation of ALDH2 attenuates high glucose induced rat cardiomyocyte fibrosis and necroptosis [J]. Free Radic Biol Med, 2020, 146:198-210.

29 孙玉红, 姜鲜, 张红, 等. 积雪草苷通过抑制NF-κB核转移影响糖尿病大鼠血管平滑肌细胞增殖 [J]. 四川生理科学杂志, 2013, 35(2): 49-52.
Sun YH, Jiang X, Zhang H, et al. Snowgrass glycoside inhibits the proliferation of vascular smooth muscle cells in diabetic rats by inhibiting the nuclear translocation of NF-κB [J]. J Sichuan Physiol Sci, 2013, 35(2): 49-52.

30 Jia G, Hill MA, Sowers JR. Diabetic cardiomyopathy: An update of mechanisms contributing to this clinical entity [J]. Circ Res, 2018, 122(4): 624-638.

31 臧洁. 积雪草的质量控制及降糖调脂与促进糖尿病足创面愈合的作用研究 [D]. 天津: 天津中医药大学, 2023.
Zang J. Research on the quality control of artemisia argyi and its effects on hypoglycemic, lipid‐lowering, and promotion of wound healing in diabetic feet [D]. Tianjin: Tianjin University of Traditional Chinese Medicine,2023.

32 Tang Z, Wang P, Dong C, et al. Oxidative stress signaling mediated pathogenesis of diabetic cardiomyopathy [J]. Oxid Med Cell Longev, 2022, 2022:5913374.

33 Bugger H, Abel ED. Molecular mechanisms of diabetic cardiomyopathy [J]. Diabetologia, 2014, 57(4): 660-671.

34 Zhou L, Mei S, Ma X, et al. Multi-omics insights into the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy: Epigenetic and metabolic profiles [J]. Epigenomics, 2025, 17(1): 33-48.

35 梁伟杰, 何洁仪, 陈君, 等. 坏死性凋亡和p38 MAPK通路的相互作用介导高糖引起的H9c2心肌细胞损伤 [J]. 中国药理学通报, 2016, 32(8): 1138-1144.
Liang WJ, He JY, Chen J, et al. Necroptosis and the interaction of p38 MAPK pathway mediate H9c2 cardiomyocyte injury caused by high glucose [J]. Chin J Pharmacol, 2016, 32(8): 1138-1144.

36 Wang XM, Wang YC, Liu XJ, et al. BRD7 mediates hyperglycaemia-induced myocardial apoptosis *via* endoplasmic reticulum stress signalling pathway [J]. J Cell Mol Med, 2017, 21(6): 1094-1105.

37 Keymel S, Heinen Y, Balzer J, et al. Characterization of macro-and microvascular function and structure in patients with type 2 diabetes mellitus [J]. Am J Cardiovasc Dis, 2011, 1(1): 68-75.

38 Fleisher TA. Apoptosis[J]. Ann Allergy Asthma Immunol, 1997, 78(3): 245-249.

39 Ren BC, Zhang YF, Liu SS, et al. Curcumin alleviates oxidative stress and inhibits apoptosis in diabetic cardiomyopathy *via* Sirt1-Foxo1 and PI3K-Akt signalling pathways[J]. J Cell Mol Med, 2020, 24(21): 12355-12367.

40 Zhang M, Sui W, Xing Y, et al. Angiotensin Ⅳ attenuates diabetic cardiomyopathy *via* suppressing FoxO1-induced excessive autophagy, apoptosis and fibrosis [J]. Theranostics, 2021, 11(18): 8624-8639.

41 Wu RN, Yu TY, Zhou JC, et al. Targeting HMGB1 ameliorates cardiac fibrosis through restoring TLR2-mediated autophagy suppression in myocardial fibroblasts [J]. Int J Cardiol, 2018, 267:156-162.

42 Yang F, Qin Y, Lv J, et al. Silencing long non-coding RNA Kcnq1ot1 alleviates pyroptosis and fibrosis in diabetic cardiomyopathy [J]. Cell Death Dis, 2018, 9(10): 1000.

43 Nunes KP, Toque HA, Caldwell RB, et al. Extracellular signal-regulated kinase (ERK) inhibition decreases arginase activity and improves corpora cavernosal relaxation in streptozotocin (STZ)-induced diabetic mice [J]. J Sex Med, 2011, 8(12): 3335-3344.

44 Yue J, Lopez JM. Understanding MAPK signaling pathways in apoptosis [J]. Int J Mol Sci, 2020, 21(7):2346.

45 Szokodi I, Kerkela R, Kubin AM, et al. Functionally opposing roles of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and p38 mitogen-activated protein kinase in the regulation of cardiac contractility [J]. Circulation, 2008, 118(16): 1651-1658.

46 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): e3022.

47 杨勇，魏东明，乔锐，等. 积雪草苷对小鼠糖尿病心肌病的干预作用及机制探讨 [J]. 山东医药，2021，61(32)：10-14.
Yang Y, Wei DM, Qiao R, et al. The intervention effect and mechanism of snow grass glycoside on diabetic cardiomyopathy in mice [J]. Shandong Med, 2021, 61(32): 10-14.

48 Fong LY, Ng CT, Zakaria ZA, et al. Asiaticoside inhibits TNF-α-induced endothelial hyperpermeability of human aortic endothelial cells [J]. Phytother Res, 2015, 29(10): 1501-1508.

49 Zhang W, Xu W, Feng Y, et al. Non-coding RNA involvement in the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy [J]. J Cell Mol Med, 2019, 23(9): 5859-5867.

50 卞芬兰，倪诗垚，赵鹏，等. 积雪草苷通过抑制NLRP3炎症体介导的细胞焦亡减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤 [J]. 南方医科大学学报，2025，45(5)：977-985.
Bian FL, Ni SY, Zhao P, et al. Snowgrass glycoside reduces myocardial ischemia-reperfusion injury in rats by inhibiting NLRP3 inflammasome-mediated cell pyroptosis [J]. J Southern Med Univ, 2025, 45(5): 977-985.

51 卢国庆，孙红燕，孙正宇，等. 积雪草苷对离体大鼠胸主动脉的舒张作用及其机制 [J]. 南方医科大学学报，2024，44(3)：523-532.
Lu GG, Sun HY, Sun ZY, et al. The dilating effect of snow grass glycoside on isolated rat thoracic aorta and its mechanism [J]. J Southern Med Univ, 2024, 44(3): 523-532.

52 支晓雯，李兵. 积雪草苷在高糖诱导人角膜上皮细胞损伤修复中的作用及机制研究 [J]. 眼科新进展，2024，44(5)：360-364.
Zhi XW, Li B. Study on the role and mechanism of snowgrass glycoside in repairing human corneal epithelial cell injury induced by high glucose [J]. Adv Ophthalmol, 2024, 44(5): 360-364.

［本文编辑］ 朱 昊