

doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.04.001

View this article at: <http://dx.doi.org/10.3978/j.issn.2095-6959.2018.04.001>

· 论著 ·

## 内质网应激在二十碳五烯酸抵抗棕榈酸诱导的 心肌细胞凋亡中的作用

艾永飞, 刘静, 尚福军, 苏菲菲, 曾广伟

(第四军医大学唐都医院心血管内科, 西安 710038)

**[摘要]** 目的: 研究内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)在二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)抵抗棕榈酸(palmitate, PAL)诱导的心肌细胞凋亡中的作用。方法: 将培养的心肌细胞随机分为对照组、PAL处理组、EPA+PAL组、毒胡萝卜素(thapsigargin)+EPA+PAL组、thapsigargin组及thapsigargin+EPA组。采用CCK-8检测细胞活力、Tunel染色检测细胞凋亡率、Western印迹检测葡萄糖调节蛋白78(glucose-regulated protein 78, GRP78)和钙网蛋白(calreticulin, CRT), 以及ERS促凋亡蛋白C/EBP同源蛋白(C/EBP homologous protein, CHOP)、JNK和半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶12(caspase-12)的表达。结果: 与对照组比较, PAL处理可显著降低心肌细胞活力, 促进细胞凋亡, 激活ERS应激相关GRP78和CRT, 以及ERS促凋亡蛋白CHOP, p-JNK及活化的caspase-12(cleaved caspase-12)的表达( $P<0.05$ )。相比于PAL组, EPA+PAL预处理可使PAL诱导的心肌细胞活力显著升高, GRP78, CRT, CHOP, cleaved caspase-12及p-JNK蛋白表达明显降低( $P<0.05$ ), 且使细胞凋亡率由43.9%降低至24.07%( $P<0.05$ )。添加ERS特异性激活剂thapsigargin激活ERS后, 与EPA+PAL组相比, thapsigargin+EPA+PAL组ERS应激相关蛋白GRP78和CRT蛋白表达比率显著升高, ERS促凋亡蛋白CHOP, JNK及caspase-12上调, 心肌细胞活力下降, 凋亡率增加。此外, 与对照组比较, 单独添加thapsigargin激活ERS, 显著降低细胞活性, 促进细胞凋亡, 而EPA+thapsigargin组却明显逆转了thapsigargin对心肌细胞的促凋亡效应。结论: EPA可有效抑制PAL诱导的大鼠心肌细胞凋亡, 其保护机制可能与抑制PAL诱导的心肌细胞ERS激活, 进而抑制caspase依赖的级联凋亡反应有关。

**[关键词]** 内质网应激; 二十碳五烯酸; 棕榈酸; 凋亡

## Effect of endoplasmic reticulum stress on eicosapentaenoic acid resisting myocardial apoptosis induced by palmitate

AI Yongfei, LIU Jing, SHANG Fujun, SU Feifei, ZENG Guangwei

(Department of Cardiology, Tangdu Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710038, China)

**Abstract** **Objective:** To investigate the functional role of endoplasmic reticulum stress (ERS) in eicosapentaenoic acid (EPA) attenuating myocardial apoptosis induced by palmitate (PAL). **Methods:** Cells were divided randomly into

收稿日期 (Date of reception): 2017-12-13

通信作者 (Corresponding author): 艾永飞, Email: 434979751@qq.com

基金项目 (Foundation item): 国家自然科学基金 (81300077)。This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (81300077).

six groups: the blank control group, the PAL stimulated group, the EPA + PAL stimulated group, the thapsigargin + EPA + PAL-stimulated group, thapsigargin group, thapsigargin + EPA stimulated group. CCK-8 was used to test the cell viability, TUNEL staining was used to detect the apoptosis, and Western blot method was used to detect the expression of glucose-regulated protein 78 (GRP78), calreticulin (CRT), C/EBP homologous protein (CHOP), JNK and caspase-12. **Results:** PAL treatment resulted in a decrease of cell viability and an increase of cell apoptotic rates and led to a significant up-regulation of the expression of GRP78, CRT, CHOP, p-JNK and cleaved caspase-12 proteins. Compared with PAL treatment, pretreatment with EPA + PAL resulted in a significant decrease of the expression of GRP78, CRT, cleaved caspase-12, p-JNK and CHOP proteins ( $P < 0.05$ ), and decreased PAL-induced cardiomyocytes apoptosis from 43.9% to 24.07% ( $P < 0.05$ ). Cells were treated with thapsigargin, a specific activator of ERS; compared with EPA+PAL treatment, thapsigargin + EPA + PAL showed increased significantly of the expression of GRP78, cleaved caspase-12, p-JNK and CHOP proteins ( $P < 0.05$ ), down-regulated of cell viability, and enhanced apoptosis of cardiomyocyte cell. Furthermore, thapsigargin pretreatment obviously decreased cell viability and increase cell apoptosis compared with the control group, pretreatment with thapsigargin + EPA decreased thapsigargin-induced cardiomyocytes apoptosis. **Conclusion:** EPA could prevent from PAL-induced cardiomyocytes apoptosis through a restraining ERS and caspase dependent apoptotic pathway.

**Keywords** endoplasmic reticulum stress; eicosapentaenoic acid; palmitate; apoptosis

临床试验<sup>[1-4]</sup>发现 $\omega$ -3不饱和脂肪酸分子中的二十碳五烯酸(eicosapentaenoic acid, EPA)能有效治疗心肌梗死、心力衰竭、糖尿病、类风湿性关节炎等疾病,且EPA更是被证实能显著降低冠心病的病死率,具有显著的心肌保护作用,但其确切分子机制仍不明确。内质网应激(endoplasmic reticulum stress, ERS)是调控细胞凋亡的重要分子信号机制,参与高血压、动脉硬化、缺血性心脏病等多种心血管疾病的发生和发展<sup>[5-7]</sup>。在缺血性心脏病等心血管多种疾病的发生过程中,ERS被激活,并诱导促凋亡蛋白C/EBP同源蛋白(C/EBP homologous protein, CHOP)、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶12(caspase-12)和JNK表达,以调控细胞凋亡<sup>[8]</sup>。但以往很少有研究报道棕榈酸(palmitate, PAL)是否可诱导心肌细胞ERS激活,增强ERS应激相关蛋白葡萄糖调节蛋白78(glucose-regulated protein 78, GRP78)、钙网蛋白(calreticulin, CRT)和促凋亡蛋白CHOP, JNK及caspase-12的表达;且鲜有研究表明EPA抵抗PAL诱导心肌细胞凋亡的作用与ERS有直接关系。本研究采用PAL诱导乳鼠心肌细胞,建立PAL诱导心肌细胞凋亡模型,拟研究ERS与PAL诱导乳鼠心肌细胞凋亡的相关性,并探讨ERS在PAL诱导的乳鼠心肌细胞凋亡过程中的作用及其下游信号机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物与试剂

出生1~3 d的昆明新生乳鼠购自第四军医大学实验动物中心。PAL, EPA, 毒胡萝卜素(thapsigargin)购自美国Sigma公司。Western印迹一抗GRP78, JNK, p-JNK, caspase-12, CRT及CHOP购自美国Proteintech公司。HRP标志的羊抗兔及羊抗小鼠二抗购自西安晨诺生物科技有限公司。4%多聚甲醛购自西安顶尖生物科技有限公司。Tunel细胞凋亡检测试剂盒、免疫荧光抗体心肌肌钙蛋白T(cardiac troponin T, cTnT)、 $\alpha$ 辅肌动蛋白( $\alpha$ -actinin)、羊抗兔IgG H&L(Alexa Fluor 488)和羊抗鼠IgG H&L(Cy3)购自美国Abcam公司。PVDF膜及ECL发光液购自美国Millipore公司。RIPA强裂解液及5 $\times$ 上样缓冲液购自西安晶彩生物科技有限公司。4',6-二脒基-2-苯基吲哚(DAPI)染色试剂盒、二喹啉甲酸(bicinchoninic acid, BCA)蛋白定量试剂盒及组织线粒体分离试剂盒购自上海碧云天生物科技有限公司。脱脂奶粉购自美国BD公司。其他试剂均为国产分析纯试剂。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 心肌细胞培养与实验分组

取出生1~3 d的乳鼠心脏进行分离获得心

肌细胞, 采用免疫荧光染色进行细胞形态学鉴定<sup>[5]</sup>, 置于10%胎牛血清的高糖DMEM培养基中, 在37℃, 50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中培养。当细胞铺满80%培养皿时, 弃培养基, 加各种药物干预。各项实验分组如下: 1)不同PAL浓度处理实验。设PAL 0, 100, 200, 400, 800, 1 000 μmol/L处理组, 共处理24 h; 2)不同EPA浓度处理实验。设EPA 0, 10, 20, 50, 100 μmol/L处理组, 处理24 h; 3)分组处理实验。对照组(Control组)加入相应体积PBS处理; PAL组, 给予400 μmol/L的PAL处理24 h; EPA+PAL组, 给予400 μmol/L的PAL处理, 同时添加50 μmol/L EPA处理24 h; thapsigargin+EPA+PAL组, ERS特异性激活剂thapsigargin 1 μmol/L预处理心肌细胞1 h, 然后与50 μmol/L EPA+400 μmol/L PAL共处理心肌细胞24 h; thapsigargin组, thapsigargin 1 μmol/L预处理心肌细胞1 h, 更换普通培养后再处理24 h; thapsigargin+EPA组, thapsigargin 1 μmol/L预处理心肌细胞1 h, 后与50 μmol/L EPA共处理心肌细胞24 h。

#### 1.2.2 CCK-8 检测心肌细胞活力

将心肌细胞消化后接种于96孔板中, 约(4~6)×10<sup>3</sup>个/孔。置于37℃, 50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中培养24 h, 进行药物处理干预, 处理结束后弃培养基; 使用无菌PBS清洗细胞3次, 将200 μL无血清DMEM高糖培养基分别加入各实验孔, 再将20 μL CCK-8溶液加至各实验孔, 设定没有细胞的孔作为空白对照; 在37℃, 50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中培养40 min, 取出后使用酶联免疫检测仪检测吸光度, 波长为450 nm。

#### 1.2.3 免疫荧光

以5×10<sup>4</sup>个/mL细胞密度将心肌细胞接种至24孔板上, 培养48 h后, 加入40 g/L多聚甲醛, 室温固定10 min, PBS洗涤3次, 10 g/L Triton-100室温通透10 min, 漂洗3次, 50 g/L BSA室温封闭30 min, 加入一抗(cTnT和α-actinin)于4℃孵育过夜。复温45 min, PBS洗涤3次, 二抗(488和Cy3)室温孵育45 min, PBS洗涤, DAPI(1:1 000)孵育10 min, 洗涤3次, 封片, 观察。

#### 1.2.4 Western 印迹检测蛋白表达

取不同处理后的心肌细胞培养皿, 置于冰上, PBS洗涤3遍, 加入强RIPA裂解液(100 μL/10<sup>6</sup>个细胞)冰上裂解20 min, 为将细胞充分裂解, 期间吹打3~5次。随后使用细胞刮轻轻将贴壁心肌细胞刮下, 收集于离心管中, 12 000 r/min离心15 min, 收集上清于新的离心管中, 取5 μL上清液用于BCA蛋白定量, 剩余蛋白上清液中加入1/4体积的5×上

样缓冲液, 混匀后于沸水浴箱中煮沸10 min, 室温自然降温, 于-80℃保存。制备SDS-PEGE电泳胶, 以50 μg/孔道的蛋白进行电泳, 半干转方式转膜, 50 g/L脱脂奶粉室温封闭3 h, TBST漂洗, 一抗4℃振荡孵育过夜(一抗cleaved caspase-12, Drp1, p-AMPK, AMPK和β-actin: TBST=1:1 000(体积比), 室温复温45 min, TBST漂洗, HRP标志的羊抗兔二抗(1:6 000), 室温振荡孵育2 h, TBST漂洗, ECL发光。

#### 1.2.5 TUNEL 法检测细胞凋亡

制备心肌细胞载玻片, 各组细胞处理24 h后, 吸弃原有细胞培养液, PBS漂洗5 min, 重复3次, 参照TUNEL细胞凋亡检测试剂盒实验步骤进行荧光染色, 染色结束后采用倒置荧光显微镜观察拍照, Image Plus软件分析。

### 1.3 统计学处理

采用GraphPad Prism 5软件进行分析, 每组数据重复3次以上, 以均数±标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示, 多组间比较采用单因素方差分析, 两两比较采用 $t$ 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 原代心肌细胞鉴定

原代心肌细胞消化后呈圆形, 贴壁培养24 h后呈梭形或不规则扁平状, 镜下可见搏动细胞, 搏动节律不规则, 1或2个核, 核仁清楚。培养48 h后细胞逐渐伸展, 形成自发搏动细胞单层或细胞簇, 搏动增强, 立体感明显, 折光性强, 对其进行心肌标志蛋白cTnT/α-actinin免疫荧光染色, 结果显示: 几乎所有细胞均着染cTnT(红色荧光), 且所有cTnT阳性细胞也同时着染α-actinin(绿色荧光; 图1)。

### 2.2 EPA 对 PAL 诱导的心肌细胞活力的影响

心肌细胞经不同浓度PAL处理24 h后, CCK-8检测结果显示: 随着PAL干预浓度的增加, 心肌细胞活力逐渐降低, 且200~1 000 μmol/L的PAL可显著降低心肌细胞活力, 使心肌细胞活力从79.67%降低至67.2%, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。心肌细胞经不同浓度EPA单独处理24 h后, CCK-8活力检测结果显示: 10~100 μmol/L EPA对心肌细胞活力无显著影响( $P>0.05$ )。但给予400 μmol/L PAL处理后, 添加10~100 μmol/L的EPA孵育刺激24 h, 细胞活性检测结果显示:

与PAL组相比, 10  $\mu\text{mol/L}$  EPA干预后细胞活力的增加无显著意义, 但20~100  $\mu\text{mol/L}$  EPA却可逆转PAL降低的心肌细胞活力, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。而使用ERS特异性激动剂1  $\mu\text{mol/L}$  thapsigargin预处理心肌细胞1 h, 然后与50  $\mu\text{mol/L}$  EPA + 400  $\mu\text{mol/L}$  PAL共处理心肌细胞24 h, 与EPA+PAL组相比, 心肌细胞活力显著降低。而单独使用thapsigargin作阳性对照研究, 与对照组相比, thapsigargin细胞活力下降, 而thapsigargin+EPA处理逆转了thapsigargin降低的心肌细胞活力, 差异有统计学意义( $P<0.05$ , 图2)。

### 2.3 ERS 相关的特异性表达蛋白的变化

与对照组相比, PAL组和thapsigargin组小鼠心肌细胞中ERS相关的特异性表达蛋白GRP78和CRT蛋白表达显著升高; 与PAL相比, EPA+PAL组心肌细胞中GRP78和CRT蛋白表达显著降低; 与thapsigargin组相比, thapsigargin+EPA组

GRP78和CRT蛋白表达明显降低; 与EPA+PAL组相比, thapsigargin+EPA+PAL组GRP78和CRT蛋白表达明显升高, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$ , 图3)。

### 2.4 EPA 对 PAL 诱导的 ERS 促凋亡蛋白 CHOP, JNK 及 caspase-12 表达的影响

对照组中CHOP, cleaved caspase-12及p-JNK蛋白表达水平呈现少量表达。与对照组相比, PAL组和thapsigargin组心肌细胞中CHOP, cleaved caspase-12及p-JNK蛋白表达显著升高; 与PAL相比, EPA+PAL组心肌细胞中CHOP, cleaved caspase-12及p-JNK蛋白表达明显降低; 与thapsigargin组相比, thapsigargin+EPA组CHOP, cleaved caspase-12 p-JNK蛋白表达明显降低; 与EPA+PAL组相比, thapsigargin+EPA+PAL组CHOP, cleaved caspase-12和p-JNK蛋白表达显著升高, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$ , 图4)。

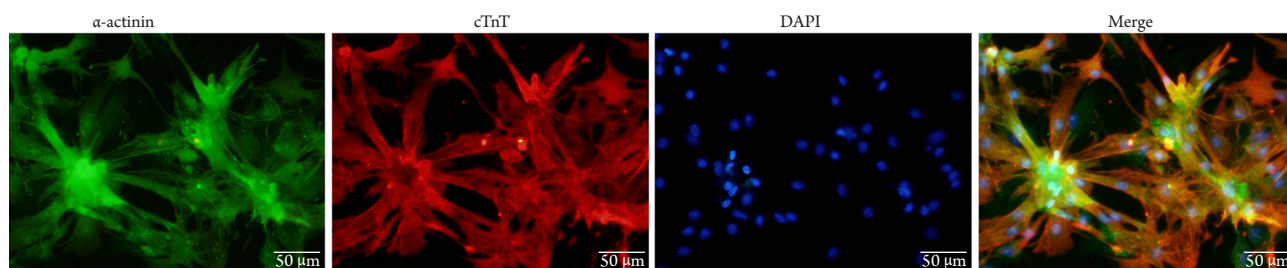


图1 免疫荧光染色鉴定心肌细胞

Figure 1 Myocardial cells identified by fluorescence immunoassay

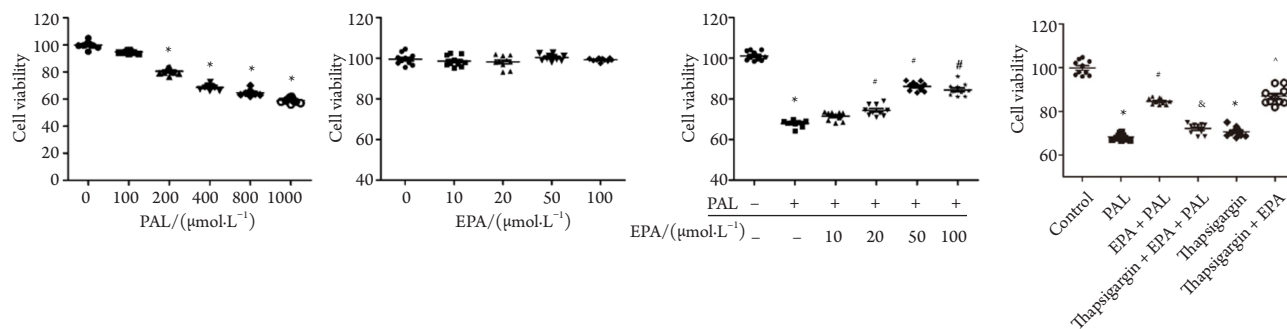


图2 CCK-8检测心肌细胞活力

Figure 2 Viability of myocardial cells assayed by CCK-8

与Control组相比,  $*P<0.05$ ; 与PAL组相比,  $^{\#}P<0.05$ ; 与EPA+PAL组相比,  $^{\&}P<0.05$ ; 与thapsigargin组相比,  $^{\wedge}P<0.05$ 。

Compared with the Control group,  $*P<0.05$ ; compared with the PAL group,  $^{\#}P<0.05$ ; compared with the EPA + PAL group,  $^{\&}P<0.05$ ; compared with the thapsigargin group,  $^{\wedge}P<0.05$ .

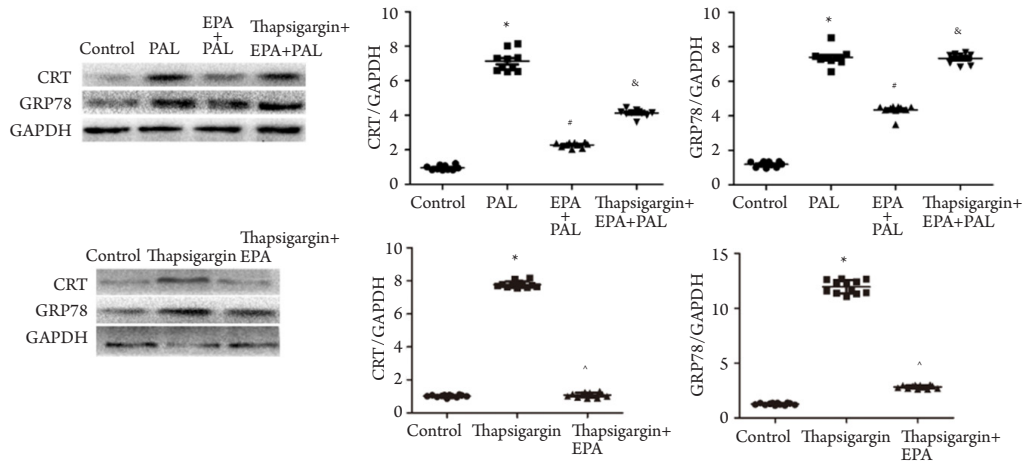


图3 ERS相关的特异性蛋白GRP78和CRT的表达

Figure 3 Expression of ERS-related protein GRP78 and CRT

与Control组相比, \* $P < 0.05$ ; 与PAL组相比, ^ $P < 0.05$ ; 与EPA+PAL组相比, & $P < 0.05$ ; 与thapsigargin组相比, ^ $P < 0.05$ 。

Compared with the Control group, \* $P < 0.05$ ; compared with the PAL group, ^ $P < 0.05$ ; compared with the EPA + PAL group, & $P < 0.05$ ; compared with the thapsigargin group, ^ $P < 0.05$ .

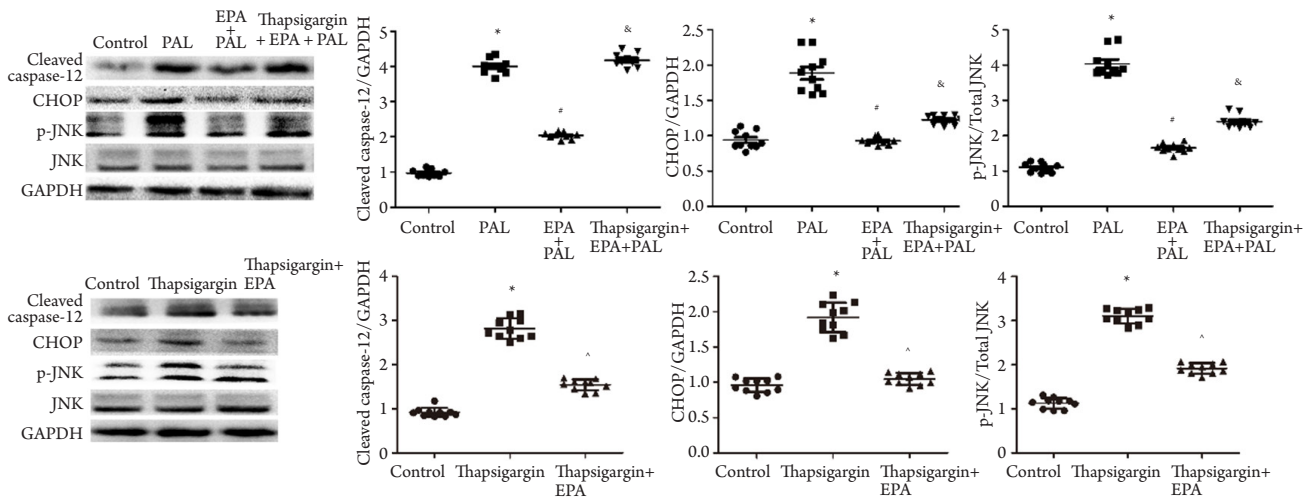


图4 促凋亡蛋白CHOP, JNK及caspase-12的表达

Figure 4 Expression of apoptotic protein CHOP, JNK, and caspase-12

与Control组相比, \* $P < 0.05$ ; 与PAL组相比, ^ $P < 0.05$ ; 与EPA+PAL组相比, & $P < 0.05$ ; 与thapsigargin组相比, ^ $P < 0.05$ 。

Compared with the Control group, \* $P < 0.05$ ; compared with the PAL group, ^ $P < 0.05$ ; compared with the EPA + PAL group, & $P < 0.05$ ; compared with the thapsigargin group, ^ $P < 0.05$ .

### 2.5 Thapsigargin 激活 ERS 对 EPA 抵抗 PAL 诱导的心肌细胞凋亡的影响

在荧光显微镜下TUNEL检测可将凋亡心肌细胞核染成绿色荧光, DAPI染色可将所有心肌细胞核染成蓝色荧光, 通过双染法可确定凋亡的心肌细胞数量。TUNEL检测结果显示: 对照组仅有数个绿色荧光胞核; PAL组和thapsigargin组可见部分绿色荧光染色胞核; EPA+PAL组与thapsigargin+EPA组仅个

别胞核呈绿色荧光染色; thapsigargin+EPA+PAL组可见稍多绿色荧光染色胞核。数学统计结果显示: 与对照组相比, PAL组和thapsigargin组心肌细胞凋亡率显著升高; 与PAL组相比, EPA+PAL组心肌细胞凋亡率减少; 与thapsigargin组相比, EPA+thapsigargin组心肌细胞凋亡率减少; 与EPA+PAL组相比, thapsigargin+EPA+PAL组细胞凋亡率显著提升, 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$ , 图5)。

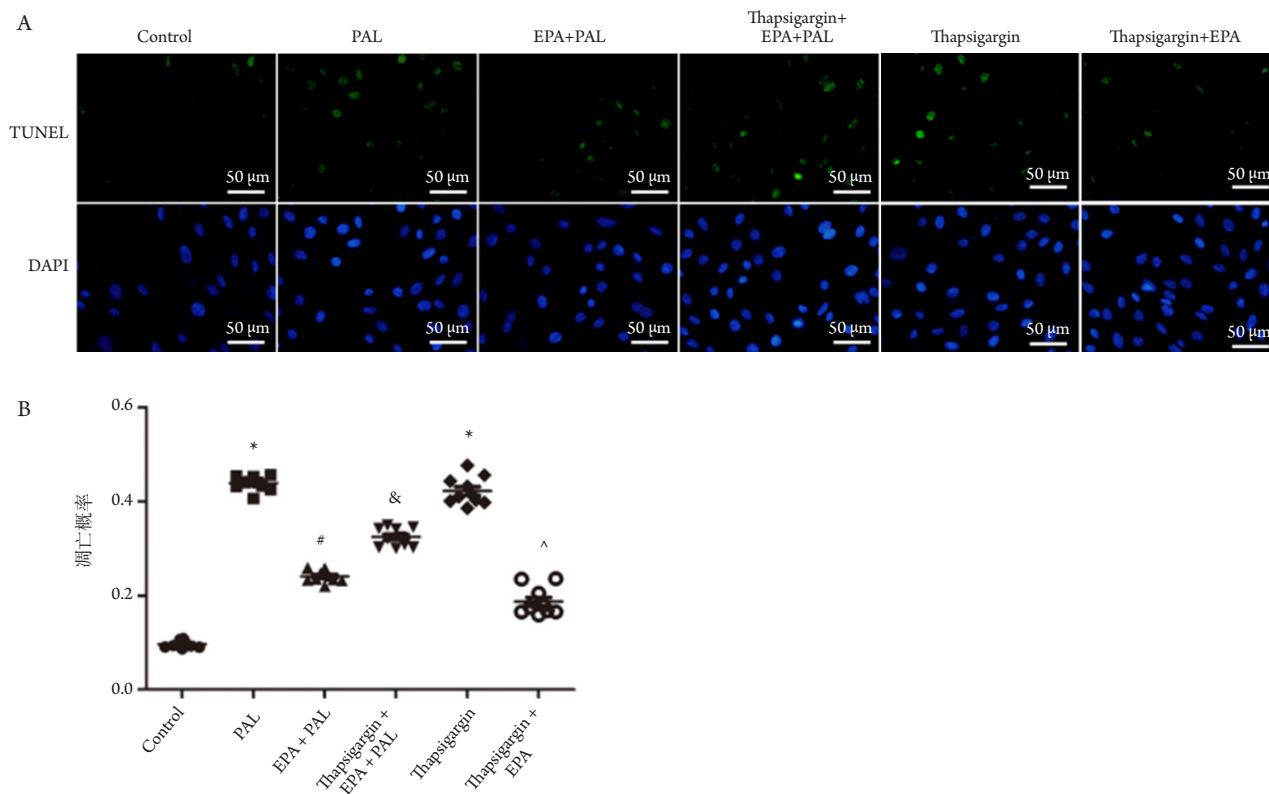


图5 TUNEL检测心肌细胞凋亡情况

Figure 5 Myocardial cell apoptosis detected by TUNEL assay

与Control组相比, \* $P < 0.05$ ; 与PAL组相比, # $P < 0.05$ ; 与EPA+PAL组相比, & $P < 0.05$ ; 与thapsigargin组相比, ^ $P < 0.05$ 。

Compared with the Control group, \* $P < 0.05$ ; compared with the PAL group, # $P < 0.05$ ; compared with the EPA + PAL group, & $P < 0.05$ ; compared with the thapsigargin group, ^ $P < 0.05$ .

### 3 讨论

心肌细胞再生能力弱、心肌细胞凋亡增多造成心脏功能的损失, 是造成心功能紊乱、心肌梗死和心力衰竭等疾病的关键诱导因素<sup>[9]</sup>。已有研究<sup>[2,10]</sup>证实: 人体血液循环中游离饱和脂肪酸水平异常增高可引起心肌细胞结构与功能改变, 激活或抑制心肌相关信号分子的表达与活化, 进而促使心肌细胞凋亡、肥大和纤维化, 最终导致心功能紊乱。目前认为过度游离饱和脂肪酸积累能明显增加体外培养的心血管相关心肌细胞和内皮细胞的凋亡<sup>[11-12]</sup>。

研究<sup>[13]</sup>表明: 增加EPA的吸收在预防心血管疾病、抗炎、降血脂等方面具有显著作用, 提示EPA能有效治疗冠状动脉心脏病、高血压和炎症(例如风湿性关节炎)。同时有研究<sup>[14-15]</sup>显示: EPA能有效降低心肌细胞及内皮细胞的凋亡, 减小小鼠心肌梗死面积, 有效抵抗心功能受损。且文献<sup>[16]</sup>表

明: EPA能降低PAL介导的心肌细胞凋亡。而本实验结果也显示: 与对照组相比, 心肌细胞经不同浓度PAL处理24 h后, 随着PAL干预浓度的增加, 心肌细胞活力逐渐降低, 诱导心肌细胞的凋亡; 仅给予10~100 μmol/L EPA干预心肌细胞, 心肌细胞活力无明显变化, 但在给予400 μmol/L PAL处理后, 添加20~100 μmol/L EPA干预却可逆转PAL降低的心肌细胞活力, 并随着EPA浓度递增, 细胞活性均明显升高, 表明EPA处理能有效抵抗PAL诱导的心肌细胞凋亡。

ERS过度激活可诱导细胞凋亡, 其机制是多种心血管疾病发生和发展的重要病理基础。缺血缺氧、高血压及高糖血症等均可激活心肌细胞ERS, 过度或持久的ERS可诱导促凋亡因子的表达, 调控心肌细胞凋亡, 从而影响心脏结构及功能<sup>[17]</sup>。但ERS是否与PAL介导的心肌凋亡有关, 却未有研究报道, 且也未有研究表明EPA抵抗PAL诱导心肌细胞凋亡作用与ERS有直接关系。本研究结果表

明: PAL可激活心肌细胞ERS, 引起ERS相关蛋白GRP78和CRT蛋白表达, 以及促凋亡蛋白CHOP, cleaved caspase-12及p-JNK表达显著升高, 激活促凋亡信号通路, 增加心肌细胞凋亡, 提示ERS参与PAL介导的心肌凋亡; 而给予EPA刺激却能抑制PAL诱导的ERS相关蛋白GRP78, CRT, CHOP, cleaved caspase-12及p-JNK表达的增加, 抑制ERS过度激活, 从而抵抗PAL诱导心肌细胞凋亡过程, 降低心肌细胞凋亡率, 提示EPA可通过抑制ERS抵抗PAL介导的心肌细胞凋亡效应。为进一步验证EPA与ERS之间的关系, 本研究给予ERS特异性激活剂thapsigargin, 发现EPA能通过抑制ERS激活, 下调thapsigargin诱导的心肌细胞凋亡; 且与EPA+PAL组相比, thapsigargin+EPA+PAL组ERS过度上调, 细胞凋亡增加, 均提示ERS是EPA抵抗心肌细胞凋亡的关键信号通路。

综上所述, PAL可能通过引起ERS过度激活, 促进蛋白GRP78, CRT, CHOP, cleaved caspase-12及p-JNK表达增高, 进而诱导心肌细胞凋亡, 而EPA可能通过抑制ERS激活拮抗PAL对心肌细胞的毒性作用, 促进细胞存活, 改善心脏功能。

## 参考文献

- Swan JS, Dibb K, Negretti N, et al. Effects of eicosapentaenoic acid on cardiac SR Ca<sup>2+</sup>-release and ryanodine receptor function[J]. *Cardiovasc Res*, 2003, 60(2): 337-346.
- Vik-Mo H, Mjøs OD. Influence of free fatty acids on myocardial oxygen consumption and ischemic injury[J]. *Am J Cardiol*, 1981, 48(2): 361-365.
- Nishimura M, Nanbu A, Komori T, et al. Eicosapentaenoic acid stimulates nitric oxide production and decreases cardiac noradrenaline in diabetic rats[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2000, 27(8): 618-624.
- Ueeda M, Doumei T, Takaya Y, et al. Association of serum levels of arachidonic acid and eicosapentaenoic acid with prevalence of major adverse cardiac events after acute myocardial infarction[J]. *Heart Vessels*, 2011, 26(2): 145-152.
- Ngoh GA, Hamid T, Prabhu SD, et al. O-GlcNAc signaling attenuates ER stress-induced cardiomyocyte death[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2009, 297(5): H1711-H1719.
- Liang P, Zhong L, Gong L, et al. Fibroblast growth factor 21 protects rat cardiomyocytes from endoplasmic reticulum stress by promoting the fibroblast growth factor receptor 1-extracellular signal-regulated kinase 1/2 signaling pathway[J]. *Int J Mol Me*, 2017, 40(5): 1477-1485.
- 王李乐, 胡瑞成, 戴爱国. 内质网应激在肺肿瘤中的作用[J]. *临床与病理杂志*, 2014, 34(4): 451-454.  
WANG Lile, HU Ruicheng, DAI Aiguo. Roles of endoplasmic reticulum stress in lung tumors[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2014, 34(4): 451-454.
- Xie F, Wu D, Huang SF, et al. The endoplasmic reticulum stress-autophagy pathway is involved in apelin-13-induced cardiomyocyte hypertrophy in vitro[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2017, 38(12): 1589-1600.
- Ouyang C, You J, Xie Z. The interplay between autophagy and apoptosis in the diabetic heart[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2014, 71: 71-80.
- Kjekshus JK, Mjos OD. Effect of free fatty acids on myocardial function and metabolism in the ischemic dog heart[J]. *J Clin Invest*, 1972, 51(7): 1767-1776.
- Dagenais GR, Jalbert B. Effect of increased free fatty acids on myocardial oxygen extraction and angina threshold during atrial pacing[J]. *Circulation*, 1977, 56(2): 315-319.
- Ackerman L, Freeman ML, Pacold I, et al. Effect of acute postinfusion lipemia and free fatty acids on myocardial contractility: assessment with radionuclide ventriculography[J]. *Eur J Nucl Med*, 1986, 12(4): 201-204.
- Mangat I. Do vegetarians have to eat fish for optimal cardiovascular protection?[J]. *Am J Clin Nutr*, 2009, 89(5): 1597S-1601S.
- Listenberger LL, Ory DS, Schaffer JE. Palmitate-induced apoptosis can occur through a ceramide-independent pathway[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(18): 14890-14895.
- Wu Y, Zhang C, Dong Y, et al. Activation of the AMP-activated protein kinase by eicosapentaenoic acid (EPA, 20:5 n-3) improves endothelial function in vivo[J]. *PLoS One*, 2012, 7(4): e35508.
- Leroy C, Tricot S, Lacour B, et al. Protective effect of eicosapentaenoic acid on palmitate-induced apoptosis in neonatal cardiomyocytes[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2008, 1781(11/12): 685-693.
- Kitakaze M, Tsukamoto O. What is the role of ER stress in the heart? Introduction and series overview[J]. *Circ Res*, 2010, 107(1): 15-18.

本文引用: 艾永飞, 刘静, 尚福军, 苏菲菲, 曾广伟. 内质网应激在二十碳五烯酸抵抗棕榈酸诱导的心肌细胞凋亡中的作用[J]. *临床与病理杂志*, 2018, 38(4): 687-693. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.04.001

**Cite this article as:** AI Yongfei, LIU Jing, SHANG Fujun, SU Feifei, ZENG Guangwei. Effect of endoplasmic reticulum stress on eicosapentaenoic acid resisting myocardial apoptosis induced by palmitate[J]. *Journal of Clinical and Pathological Research*, 2018, 38(4): 687-693. doi: 10.3978/j.issn.2095-6959.2018.04.001