

论著·基础研究

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2023.19.004

网络首发 [https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20230606.1650.014\(2023-06-06\)](https://link.cnki.net/urlid/50.1097.R.20230606.1650.014(2023-06-06))

胡黄连苷Ⅱ减轻阿霉素诱发 H9C2 心肌细胞损伤的潜在机制研究

陈冻帆,赵金丹,饶红[△]

(华中科技大学同济医学院附属梨园医院心血管临床医学中心,武汉 430077)

[摘要] **目的** 研究胡黄连苷Ⅱ(Pic)减轻阿霉素(Dox)诱发 H9C2 心肌细胞损伤的潜在机制。**方法** 采用 Dox(1 $\mu\text{mol/L}$)处理 H9C2 心肌细胞 24 h 以构建 Dox 诱发心肌损伤的细胞模型。采用 CCK-8 法检测不同浓度 Pic 对细胞活性的影响,以确定 Pic 最佳的干预浓度。将细胞汇合度达到 60%~70%的 H9C2 心肌细胞随机分为对照组(Con 组)、阿霉素组(Dox 组)和治疗组(Dox+Pic 组)。采用乳酸脱氢酶(LDH)水平评价 Dox 对细胞的损伤;采用膜联蛋白 V(Annexin V)-异硫氰酸荧光素(FITC)/碘化丙啶(PI)染色和 TUNEL 染色评估细胞凋亡率;使用 JC-1 染色判定 Dox 和 Pic 对 H9C2 心肌细胞线粒体膜电位(MMP)的影响;通过 Western blot 检测各组凋亡相关蛋白(BAX、BCL2、C-caspase-3)的表达情况;使用去乙酰化酶沉默信息调节因子 1(SIRT1)选择性抑制剂(SIRT1-IN-1)研究 Pic 是否通过调控 SIRT1 来发挥对 Dox 处理细胞的保护作用。**结果** Dox 能明显降低 H9C2 心肌细胞活性,而 Pic 则可抑制这一过程,与 Con 组比较,Dox+Pic 组细胞培养基中的 LDH 水平明显降低。Annexin V-FITC/PI 染色和 TUNEL 染色均表明 Pic 可以抑制 Dox 导致的细胞凋亡。JC-1 染色结果显示,与 Dox 组比较,Dox+Pic 组细胞的 MMP 降低。Western blot 检测表明,Pic 能够抑制促凋亡蛋白 BAX、C-caspase-3 表达,促进抗凋亡蛋白 BCL2 表达。Dox 组细胞 SIRT1 蛋白表达降低,但 Pic 能够上调 SIRT1 表达,而 SIRT1-IN-1(2 $\mu\text{mol/L}$)逆转了 Pic 的抗凋亡作用。**结论** Pic 可以通过激活 SIRT1 蛋白表达抑制 Dox 引起的细胞损伤。

[关键词] 胡黄连苷Ⅱ;阿霉素;心肌细胞凋亡;H9C2 心肌细胞损伤**[中图分类号]** R542.2**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2023)19-2899-06

Study on the potential mechanism of picroside Ⅱ in reducing adriamycin-induced H9C2 cell injury

CHEN Luofan, ZHAO Jindan, RAO Hong[△]

(Center for Cardiovascular Clinical Medicine, Liyuan Hospital Affiliated to Tongji Medical College of Huazhong University Science and Technology, Wuhan, Hubei 430077, China)

[Abstract] **Objective** To investigate whether Picroside Ⅱ (Pic) could inhibit the damage of H9C2 cell caused by doxorubicin (Dox) and its potential mechanisms. **Methods** H9C2 cardiomyocytes were treated with Dox (1 $\mu\text{mol/L}$) for 24 hours to construct a cellular model of Dox-induced myocardial injury. Firstly, the effect of different concentrations of Pic on cell activity was detected using the Cell Counting Kit-8 (CCK-8) method to determine the optimal concentration of Pic for intervention. Subsequently, H9C2 cells with 60%—70% confluence were then randomly divided into three groups: the control group (Con), the Dox group and the treatment group (Dox+Pic). Cell damage by Dox was evaluated using lactate dehydrogenase (LDH) levels; cellular apoptotic rate was assessed using Annexin V-FITC/PI staining and TUNEL staining. The effects of Dox and Pic on mitochondrial membrane potential (MMP) of H9C2 cells were determined using JC-1 dye; the expression of apoptosis-related proteins (BAX, BCL2, C-caspase-3) in each group was detected by Western blotting assay. A selective inhibitor of deacetylase silent information regulator 1 (SIRT1-IN-1) was employed to explore whether Pic could exert a protective effect against Dox-treated cells by regulating SIRT1. **Results** Dox significantly reduced H9C2 cell activity, while Pic inhibited this process. Compared with the Con group and LDH levels in cell culture media in the Dox+Pic group were significantly reduced. Annexin V-FITC/PI staining and TUNEL staining both showed that Pic could reduce apoptosis caused by Dox, and JC-1 staining showed that the mitochondrial membrane potential (MMP) of cells in the Dox+Pic group was significantly reduced.

compared with the Dox group. Western blotting assay showed that Pic could inhibit the expression of pro-apoptotic proteins (BAX, Cleaved caspase-3) and promote the expression of anti-apoptotic protein BCL2. Mechanistically, SIRT1 protein expression was reduced in the Dox group cells, yet Pic could upregulate SIRT1 expression, and SIRT1-IN-1 (2 $\mu\text{mol/L}$) reversed the anti-apoptotic effect of Pic. **Conclusion** Pic can inhibit Dox-induced cell injury by activating SIRT1 protein expression.

[Key words] picroside II; adriamycin; cardiomyocyte apoptosis; H9C2 cell injury

阿霉素(Doxorubicin, Dox)作为一种蒽环类药物化疗药物,是临床最常用的抗肿瘤药物之一,对淋巴瘤、乳腺癌、白血病、骨肉瘤等多种肿瘤疾病都有明显疗效^[1]。然而,Dox 具有的严重心脏毒性,使其临床应用方面受到较大限制。急性心脏毒性常导致心律失常、短暂性心功能障碍和心电图改变,这些改变通常可逆,也可表现为心肌损伤,最终进展为慢性或迟发性心脏毒性。慢性心脏毒性常导致心力衰竭、心功能下降和亚临床心肌功能下降。Dox 引起的心肌毒性与剂量密切相关,最终可能导致进行性心力衰竭和不可逆心功能障碍^[2]。过度的氧化应激、炎症反应、线粒体损伤、自噬、内质网应激、细胞焦亡等多种过程参与了 Dox 诱发的的心脏毒性^[3-4]。尽管研究人员对 Dox 引起心脏毒性的机制进行了广泛研究,但 Dox 导致心脏毒性的分子发病机制仍不完全清楚,尚缺乏有效的药物来预防 Dox 诱发的的心肌损伤。因此,进一步探究 Dox 致心脏毒性的预防和治疗策略及潜在分子机制具有十分重要的意义。

沉默信息调节因子 1(silent information regulator 1, SIRT1)是一种依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺)的组蛋白去乙酰化酶,参与组蛋白的共价修饰,并可通过转录、翻译及翻译后修饰等途径参与多种疾病病理生理过程^[5]。SIRT1 在心肌缺血再灌注损伤^[6]、心力衰竭^[7]、心脏肥厚^[8]等多种心血管疾病中发挥了保护作用。SIRT1 通过参与多种信号通路(如 SIRT1/PGC-1 α 、SIRT1/TGF- β 、SIRT1/p53、SIRT1/NLRP3 等)的调控进而减轻 Dox 诱发的的心脏毒性,可能成为研发预防或治疗 Dox 诱发心脏毒性药物的有效靶点。胡黄连苷 II(Picroside II, Pic)是胡黄连的主要活性成分之一^[9],具有抗细胞凋亡、抗炎和抗氧化作用^[10-11]。本研究探讨 Pic 通过调控 SIRT1 缓解 Dox 诱发的的心脏毒性相关机制,为预防或治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

Dox、Pic 和 SIRT1-IN-1(SIRT1 选择性抑制剂)购于美国 MCE 公司;CCK-8 试剂盒、TUNEL 染色试剂盒、膜联蛋白 V(Annexin V)-异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate isomer, FITC)细胞凋亡检测试剂盒、线粒体膜电位(mitochondrial membrane potential, MMP)检测试剂盒(JC-1)和活性氧检测试剂盒购于上海碧云天生物科技有限公司;乳酸脱氢酶(LDH)检测试剂盒购于南京建成生物工程研究;兔抗

GAPDH 购于美国 GeneTex 公司,兔抗 BAL-2、兔抗 SIRT1 购于英国 Abcam 公司,兔抗 BAX、兔抗 C-caspase-3 购于美国 Cell Signaling Technology 公司;H9C2 心肌细胞购于中国科学院细胞库。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及处理

H9C2 心肌细胞用含有 10% 胎牛血清和 1% 青链霉素的 DMEM 培养基维持培养在 5% CO₂ 的 37 °C 培养箱,每 2 天更换新的培养基。当细胞汇合度达到 80%~90% 时用 0.25% 胰酶(含乙二胺四乙酸)消化传代。当细胞汇合度达到 60%~70% 时,将细胞分为对照组(Con 组)、Dox 组及不同浓度(5、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$)的 Pic 治疗组(Dox+Pic 组),Dox 的干预浓度为 1 $\mu\text{mol/L}$,Pic 的最佳干预浓度则根据 CCK-8 检测结果决定。在进行药物干预前,用无血清培养基处理 H9C2 心肌细胞 6 h,排除胎牛血清对细胞的促增殖作用,然后用 Dox 和 Pic 干预 24 h 进行后续实验。为研究 Pic 是否通过调节 SIRT1 来改善 Dox 诱发的 H9C2 心肌细胞损伤,给予 Dox+Pic 组 SIRT1 选择性抑制剂(SIRT1-IN-1, 2 $\mu\text{mol/L}$)处理 24 h(Dox+Pic+SIRT1-IN-1 组)。

1.2.2 CCK-8 检测细胞活性及 LDH 水平检测

将 H9C2 心肌细胞以 1×10^4 个/mL 的密度接种到 96 孔板培养,当细胞汇合度达到 60%~70% 时,将 Dox 组细胞给与 1 $\mu\text{mol/L}$ Dox 处理,将 Pic 组给予不同浓度(5、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$) Pic 处理,将 Dox+Pic 组给予 1 $\mu\text{mol/L}$ 的 Dox 及不同浓度(5、10、20、40 $\mu\text{mol/L}$) Pic 处理,Con 组给予等量的二甲基亚砜(DMSO)处理。24 h 后,每孔加入 100 μL CCK-8 工作液,并在 37 °C 培养箱孵育 90 min,最后用酶标仪在 450 nm 处读取每孔的吸光度值,以各处理组吸光度与对照组吸光度之比计算细胞的相对活力。收集各组经过干预的细胞培养液,采用试剂盒检测细胞培养液中的 LDH 水平。

1.2.3 流式细胞术和 TUNEL 染色检测细胞凋亡

收集每组的细胞及细胞上清液,以 300 r/min 转速离心 5 min,制备成单细胞悬液后用 Annexin V-FITC 和碘化丙啶(propidium iodide, PI)进行染色,室温下避光孵育 30 min,通过流式细胞仪检测细胞的凋亡指数。各组细胞制备细胞爬片,经药物干预后,用磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)洗涤各组细胞 2 次,加入含 0.3% Triton X-100 的 PBS,室温孵育 5 min。根据 TUNEL 试剂盒说明书配制

TUNEL 检测液, 每孔加入适量 TUNEL 检测液, 37 ℃ 避光孵育 60 min, 孵育结束后 PBS 洗涤 3 次, 用抗荧光淬灭剂封片后在荧光显微镜下观察。

1.2.4 JC-1 染色检测 H9C2 心肌细胞 MMP 改变

采用 JC-1 染色实验分析 H9C2 心肌细胞 MMP 的改变。按照 JC-1 试剂盒说明书配制 JC-1 工作液, 进药物处理后的各组细胞中加入适量 JC-1 工作液, 充分混匀, 细胞培养箱中 37℃ 孵育 20 min; 孵育结束后, 吸除上清, 用 JC-1 染色缓冲液 (1×) 洗涤 2 次, 加入适量培养基, 最后在荧光显微镜下观察记录。

1.2.5 Western blot 检测蛋白的表达

采用含有蛋白酶抑制剂和磷酸酶抑制剂的 RIPA 裂解液提取各组细胞蛋白, 通过 BCA 定量检测各组蛋白浓度, 将提取的蛋白沸水浴 10~15 min; 十二烷基硫酸钠 (sodium dodecyl sulfate, SDS)-聚丙烯酰胺凝胶电泳 (polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE) 分离蛋白, 并用湿转法将电泳后的蛋白转至聚偏二氟乙烯 (polyvinylidene difluoride, PVDF) 膜。采用 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h, TBST 漂洗条带后在 4 ℃ 过夜孵育一抗。一抗如下: 兔抗 GAPDH (1 : 3 000)、兔抗 BAX (1 : 1 000)、兔抗 BCL2、兔抗 C-caspase-3 (1 : 1 000)、兔抗 SIRT1 (1 : 1 000)。一抗过夜孵育后, 采用 TBST 洗膜 3 次, 每次 5 min, 辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔的二抗 (1 : 5 000) 室温孵育 2 h, TBST 洗膜后用增强化学发光 (enhanced

chemiluminescence, ECL) 化学显影液检测蛋白表达, ImageJ 软件分析条带的灰度值。

1.3 统计学处理

采用 Graphpad Prism 9.0 软件进行统计学处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用非配对 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

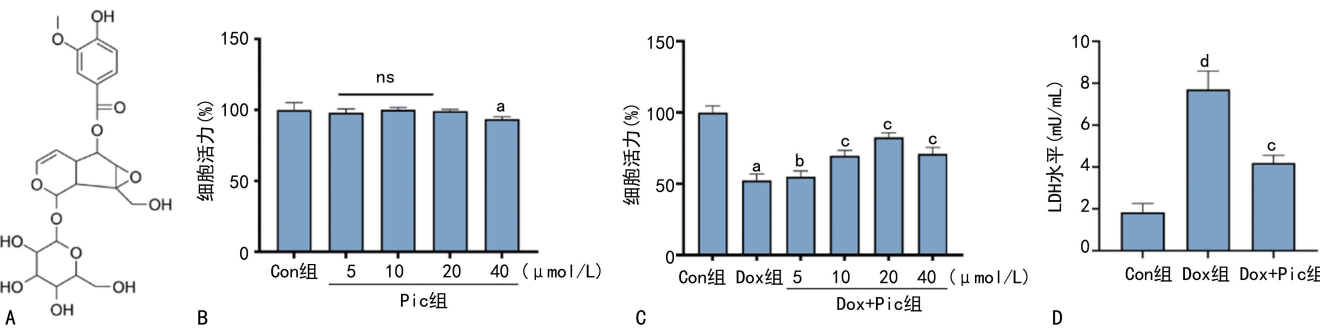
2 结 果

2.1 Pic 减轻 Dox 引起的 H9C2 心肌细胞损伤

Pic 组中, 只有高浓度组 (40 $\mu\text{mol/L}$) 的细胞活性减弱 ($P < 0.05$)。与 Con 组比较, Dox 组细胞活性明显降低, Dox+Pic 组除 5 $\mu\text{mol/L}$ 亚组外, 其他组的细胞活性均较 Dox 组升高; Dox+Pic 组中 40 $\mu\text{mol/L}$ 亚组的细胞活性较 20 $\mu\text{mol/L}$ 亚组有所降低, 表明 Pic 在一定浓度范围内能减轻 Dox 引起的细胞损伤, 据此将 20 $\mu\text{mol/L}$ 设定为后续实验中 Pic 的最佳干预浓度。Dox+Pic 组 LDH 水平低于 Dox 组 ($P < 0.05$), 见图 1。

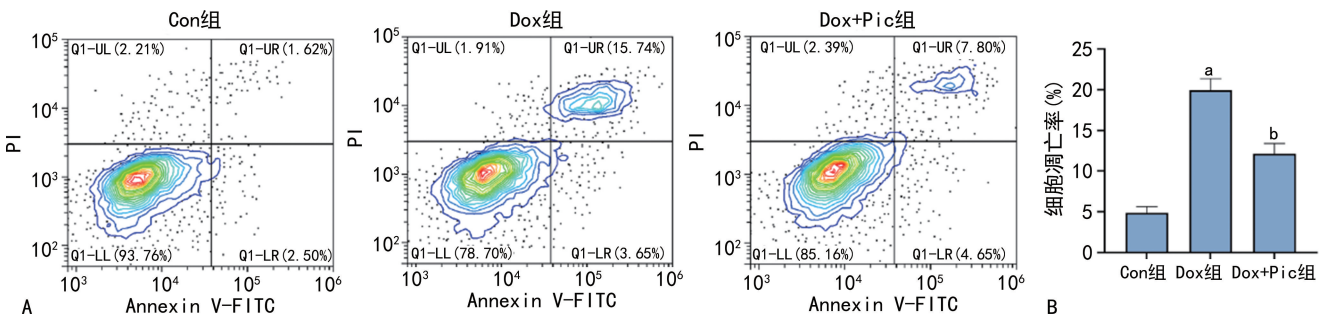
2.2 Pic 有效抑制 Dox 诱发的 H9C2 心肌细胞凋亡和 MMP 降低

与 Con 组比较, Dox 组的细胞凋亡率明显升高 ($P < 0.05$); 与 Dox 组比较, Dox+Pic 组的细胞凋亡率明显降低 ($P < 0.05$); JC-1 染色结果显示, 与 Con 组比较, Dox 组细胞 JC-1 单体增加, 同时 JC-1 聚合物减少, MMP 降低, 见图 2~4。



A: Pic 化学结构式; B: Con 组与不同浓度 Pic 组细胞活性比较; C: Con 组、Dox 组及不同浓度 Dox+Pic 组细胞活性比较; D: Con 组、Dox 组和 Dox+Pic 组细胞培养基中 LDH 水平比较; ns: $P > 0.05$, 与 Con 组比较; ^a: $P < 0.05$, 与 Con 组比较; ^b: $P > 0.05$, 与 Dox 组比较; ^c: $P < 0.05$, 与 Dox 组比较; ^d: $P < 0.05$, 与 Con 组比较。

图 1 Pic 减轻 H9C2 心肌细胞损伤效果图



A: 流式细胞术检测各组细胞的凋亡率; B: 流式结果统计分析图; ^a: $P < 0.05$, 与 Con 组比较; ^b: $P < 0.05$, 与 Dox 组比较。

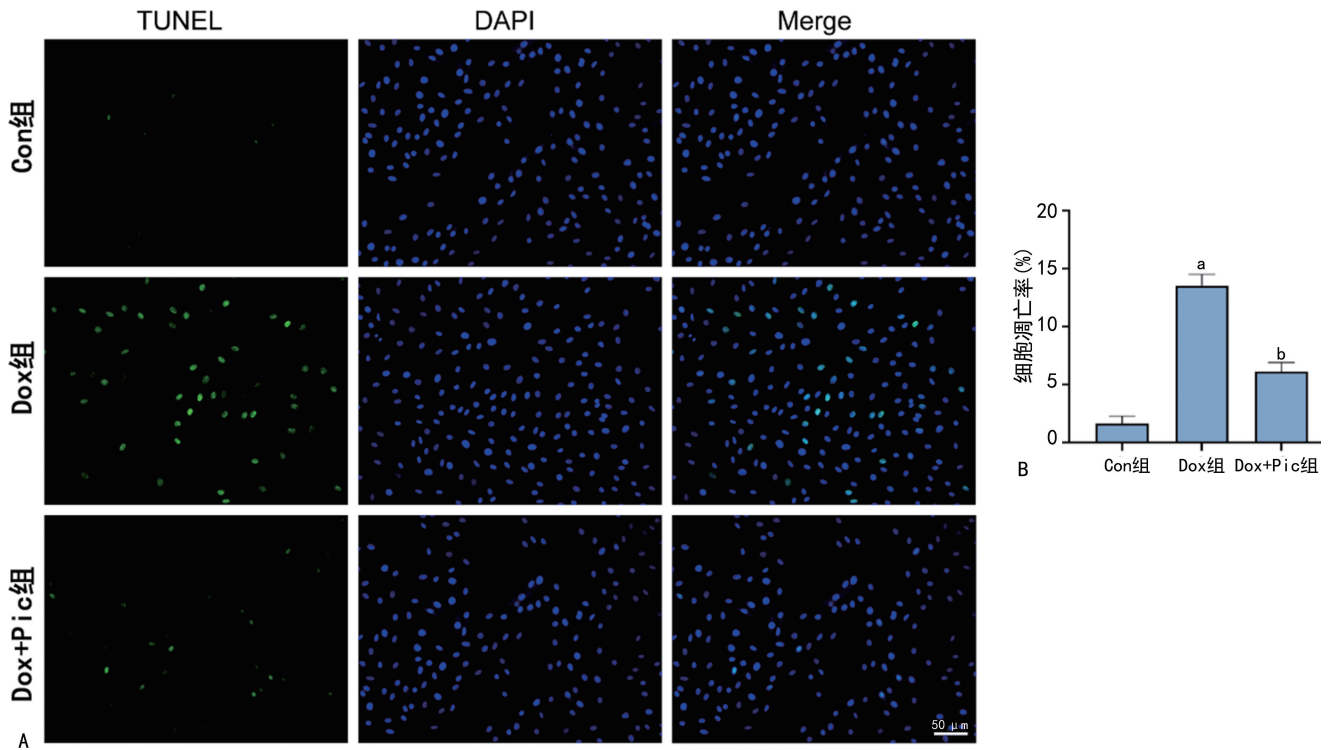
图 2 流式细胞术检测结果

2.3 Pic 改善 Dox 引起的细胞凋亡

Western blot 结果显示, 与 Con 组比较, Dox 组

细胞促凋亡蛋白 BAX 和 C-caspase-3 蛋白表达、BAX/BCL2 比值升高,而抗凋亡蛋白 BCL2 蛋白表达降低,差异有统计学意义($P<0.05$);与 Dox 组比较,

Dox+Pic 组 BAX 和 C-caspase-3 蛋白表达、BAX/BCL2 比值降低,BCL2 蛋白表达升高,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 5。



A:TUNEL 染色检测细胞凋亡;B:TUNEL 染色结果的统计分析;^a: $P<0.05$,与 Con 组比较;^b: $P<0.05$,与 Dox 组比较。

图 3 TUNEL 染色结果

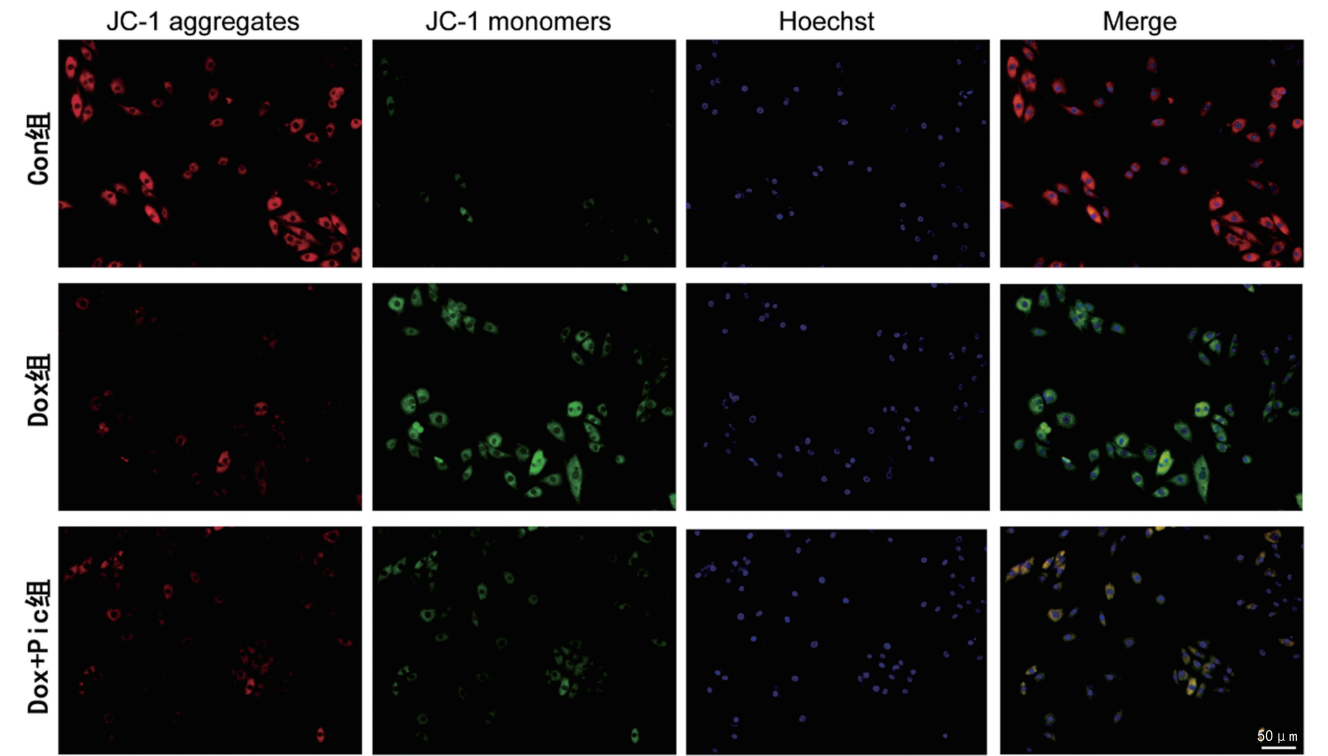


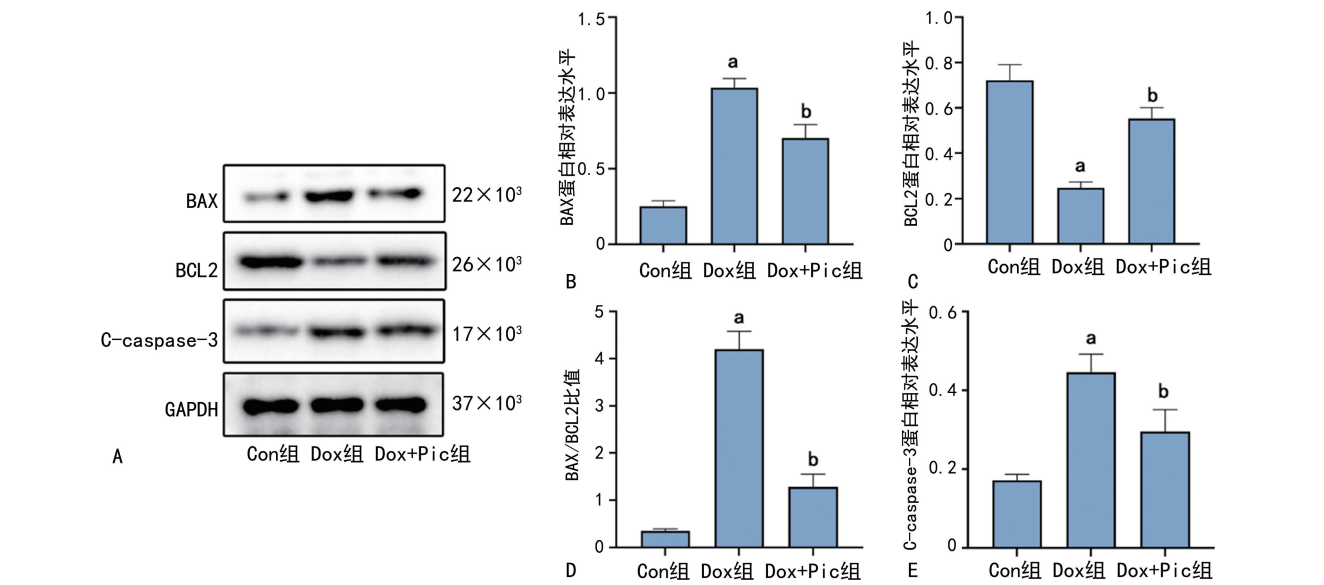
图 4 JC-1 染色结果

2.4 Pic 通过激活 SIRT1 改善 Dox 引起的细胞凋亡 SIRT1-IN-1可以明显地抑制 H9C2 心肌细胞

SIRT1 蛋白表达。Western blot 结果显示,与 Con 组比较,Dox 组 SIRT1 蛋白表达明显降低($P<0.05$);

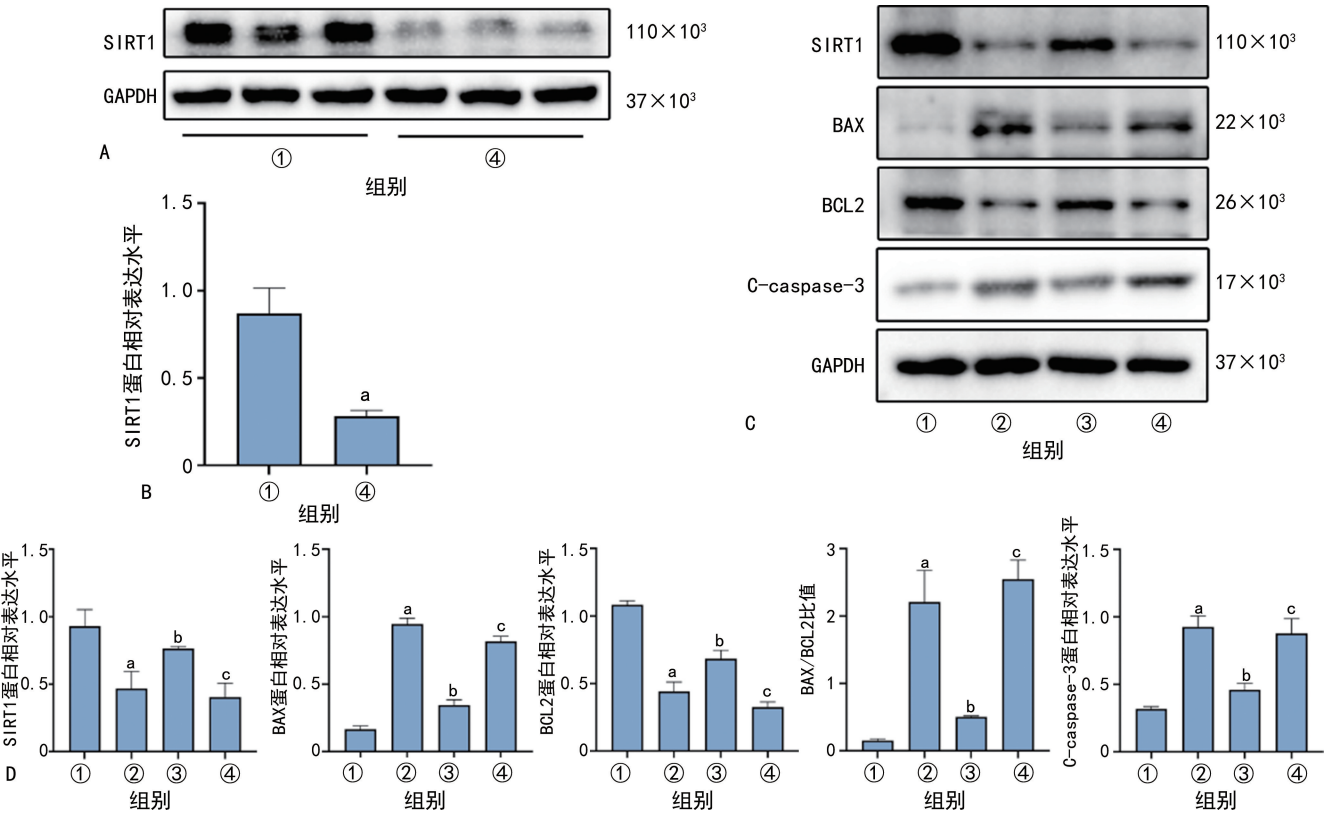
与 Dox 组比较,Pic 组 SIRT1 蛋白表达有所上升;与 Dox+Pic 组比较,Dox+Pic+SIRT1-IN-1 组 BAX 和

C-caspase-3 蛋白表达增加,BCL2 蛋白表达降低,BAX/BCL2 比值升高,见图 6。



A: Western blot 检测各组细胞凋亡相关蛋白的表达情况;B:3 组 BAX 蛋白表达情况;C:3 组 BCL2 蛋白表达情况;D:3 组 BAX/BCL2 比值;E: 3 组 C-caspase-3 蛋白表达情况;^a: $P<0.05$,与 Con 组比较;^b: $P<0.05$,与 Dox 组比较。

图 5 Pic 改善 Dox 引起的细胞凋亡情况



A~B: Western blot 检测 SIRT1 蛋白表达情况;C~D: Western blot 检测 SIRT1 和凋亡相关蛋白的表达情况;①:Con 组;②:Dox 组;③:Dox+Pic 组;④:Dox+Pic+SIRT1-IN-1 组;^a: $P<0.05$,与 Con 组比较;^b: $P<0.05$,与 Dox 组比较;^c: $P<0.05$,与 Dox+Pi 组比较。

图 6 Pic 通过激活 SIRT1 改善 Dox 引起的细胞凋亡情况

3 讨 论

Dox 是临床上广泛使用的蒽环类化疗药物,对多种肿瘤具有较好的治疗作用,但其具有剂量依赖性心

脏毒性,可导致心肌病甚至心力衰竭,这也成为限制 Dox 临床应用的主要原因^[12]。因此,更加深入全面地了解 Dox 导致心脏毒性的病理机制、研发 Dox 的替

代药物或寻求改善 Dox 心脏毒性的方法仍是研究的当务之急。

Dox 所致心肌损伤可分为两大类:收缩功能障碍和心肌细胞损失。虽然两者在该疾病进展过程中都非常重要,但心肌细胞损失可能在该疾病的进展中更为关键,因为它具有不可逆性,患者预后不良^[13]。Dox 导致心肌细胞凋亡是心肌细胞损失最为重要的原因之一。本研究发现,Dox 导致心肌细胞损伤,表现为细胞活力明显降低,细胞培养液中的 LDH 水平明显上升;Annexin V-FITC/PI 染色结果显示凋亡细胞增加,TUNEL 阳性凋亡细胞也进一步证实了这一点。同时,Dox 增加了促凋亡蛋白 BAX、C-caspase-3 的表达,抑制抗凋亡蛋白 BCL2 的表达,凋亡细胞的 MMP 会明显降低,间接证实 Dox 诱导细胞凋亡。

作为胡黄连的主要活性成分之一,Pic 具有抗炎、抗氧化、抗凋亡等作用^[14]。Pic 可通过 MEK-ERK1/2-COX2 通路减轻脑缺血性损伤^[15],抑制核因子 κ B 改善脂多糖诱发的大鼠肺部炎症反应^[16],抑制氧化信号通路保护血脑屏障^[17],激活法尼酯 X 受体来保护胆汁淤积性肝损伤^[9]。此外,Pic 还可激活 SIRT1 减少炎症、氧化应激和细胞凋亡,进而减轻高同型半胱氨酸血症诱导的内皮损伤^[11]。SIRT1 是细胞内重要的去乙酰化酶,通过在肝脏、肌肉、脂肪、心脏等众多组织中对众多靶蛋白去乙酰化,在组织代谢中发挥关键作用^[18]。证据表明,SIRT1 可能在心血管疾病中发挥重要的保护作用,可介导多种通路来减轻炎症、氧化应激、线粒体损伤和细胞凋亡,进而缓解 Dox 诱发的心肌细胞损伤^[19]。本研究结果显示,Dox 能够明显降低 H9C2 心肌细胞中 SIRT1 蛋白表达,而 Pic 可以增加 SIRT1 蛋白表达。当使用 SIRT1 的选择性抑制剂后,Pic 对 H9C2 心肌细胞的保护作用被逆转,证实 Pic 是通过增加 SIRT1 蛋白的表达间接发挥对 H9C2 心肌细胞的保护作用。

Dox 所致心脏毒性的病理机制涉及氧化应激、炎症、细胞焦亡、自噬等多个病理过程。本研究初步通过体外细胞模型证实了 Pic 能有效地抑制 Dox 引起的细胞损伤,其潜在机制可能是 Pic 通过激活 SIRT1 来减轻 Dox 诱导的细胞凋亡,这为将来 Pic 临床应用于改善 Dox 所致心脏毒性提供了一定的理论依据。但是 Pic 能否影响 Dox 所致心脏毒性过程中的氧化应激、炎症等其他病理过程尚有待进一步探究。

参考文献

[1] CHRISTIDI E,BRUNHAM L R. Regulated cell death pathways in doxorubicin-induced cardio-

toxicity[J]. *Cell Death Dis*,2021,12(4):339.

[2] LI D,YANG Y,WANG S,et al. Role of acetylation in doxorubicin-induced cardiotoxicity[J]. *Redox Biol*,2021,46:102089.

[3] SANGWENI N F,GABUZA K,HUISAMEN B,et al. Molecular insights into the pathophysiology of doxorubicin-induced cardiotoxicity: a graphical representation[J]. *Arch Toxicol*,2022,96(6):1541-1550.

[4] KONG C Y,GUO Z,SONG P,et al. Underlying the mechanisms of doxorubicin-induced acute cardiotoxicity: oxidative stress and cell death[J]. *Int J Biol Sci*,2022,18(2):760-770.

[5] D'ONOFRIO N,SERVILLO L,BALESTRIERI M L. SIRT1 and SIRT6 signaling pathways in cardiovascular disease protection [J]. *Antioxid Redox Signal*,2018,28(8):711-732.

[6] HAN Y,SUN W,REN D,et al. SIRT1 agonism modulates cardiac NLRP3 inflammasome through pyruvate dehydrogenase during ischemia and reperfusion[J]. *Redox Biol*,2020,34:101538.

[7] GORSKI P A,JANG S P,JEONG D,et al. Role of SIRT1 in modulating acetylation of the sarco-endoplasmic reticulum Ca-ATPase in heart failure [J]. *Circ Res*,2019,124(9):63-80.

[8] LI S,ZHU Z,XUE M,et al. Fibroblast growth factor 21 protects the heart from angiotensin II-induced cardiac hypertrophy and dysfunction via SIRT1 [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*,2019,1865(6):1241-1252.

[9] LI T,XU L,ZHENG R,et al. Picroside II protects against cholestatic liver injury possibly through activation of farnesoid X receptor [J]. *Phyto-medicine*,2020,68:153153.

[10] GUO Y,XU X,LI Q,et al. Anti-inflammation effects of picroside 2 in cerebral ischemic injury rats[J]. *Behav Brain Funct*,2010,6:43.

[11] WANG Y,HONG Y,ZHANG C,et al. Picroside II attenuates hyperhomocysteinemia-induced endothelial injury by reducing inflammation,oxidative stress and cell apoptosis [J]. *J Cell Mol Med*,2019,23(1):464-475.

[12] SALA V,DELLA S A,HIRSCH E,et al. Signaling pathways underlying anthracycline cardiotoxicity[J]. *Antioxid Redox Signal*,2020,32(15):1098-1114.

(下转第 2911 页)

- induced intestinal food allergy mouse model [J]. *Molecules*, 2023, 28(2):788.
- [20] WANG J, WANG S, GUO H, et al. Rosmarinic acid protects rats against post-stroke depression after transient focal cerebral ischemic injury through enhancing antioxidant response[J]. *Brain Res*, 2021, 1757:147336.
- [21] FARAG M R, KHALIL S R, ZAGLOOL A W, et al. Thiacloprid induced developmental neurotoxicity via Ros-oxidative injury and inflammation in chicken embryo: the possible attenuating role of chicoric and rosmarinic acids[J]. *Biology*, 2021, 10(11):1100.
- [22] EL-HUNEIDI W, ANJUM S, MOHAMMED A K, et al. Rosemarinic acid protects β -cell from STZ-induced cell damage via modulating NF- κ B pathway[J]. *Heliyon*, 2023, 9(9):e19234.
- [23] HUANG L, CHEN J, QUAN J, et al. Rosmarinic acid inhibits proliferation and migration, promotes apoptosis and enhances cisplatin sensitivity of melanoma cells through inhibiting ADAM17/EGFR/AKT/GSK3 β axis [J]. *Bio-engineered*, 2021, 12(1):3065-3076.
- [24] WU X, JIAO W, CHEN J, et al. Ulinastatin alleviates early brain injury after intracerebral hemorrhage by inhibiting oxidative stress and neuroinflammation via ROS/MAPK/Nrf2 signaling pathway[J]. *Acta Cir Bras*, 2022, 37(6):e370606.
- [25] ZHOU T, MO J, XU W, et al. Mild hypothermia alleviates oxygen-glucose deprivation/reperfusion-induced apoptosis by inhibiting ROS generation, improving mitochondrial dysfunction and regulating DNA damage repair pathway in PC12 cells[J]. *Apoptosis*, 2023, 28(3):447-457.
- [26] BLEVINS H M, XU Y, BIBY S, et al. The NLRP-3 inflammasome pathway: a review of mechanisms and inhibitors for the treatment of inflammatory diseases [J]. *Front Aging Neurosci*, 2022, 14:879021.
- (收稿日期:2023-01-18 修回日期:2023-06-29)
(编辑:袁皓伟)
-
- (上接第 2904 页)
- [13] TADOKORO T, IKEDA M, IDE T, et al. Mitochondria-dependent ferroptosis plays a pivotal role in doxorubicin cardiotoxicity [J]. *JCI Insight*, 2020, 5(9):e132747.
- [14] MA S, WANG X, LAI F, et al. The beneficial pharmacological effects and potential mechanisms of picoside II: evidence of its benefits from in vitro and in vivo[J]. *Biomed Pharmacother*, 2020, 130:110421.
- [15] WANG T, ZHAI L, ZHANG H, et al. Picoside II inhibits the MEK-ERK1/2-COX2 signal pathway to prevent cerebral ischemic injury in rats[J]. *J Mol Neurosci*, 2015, 57(3):335-351.
- [16] SHEN B, ZHAO C, CHEN C, et al. Picoside II protects rat lung and A549 cell against LPS-induced inflammation by the NF-kappaB pathway[J]. *Inflammation*, 2017, 40(3):752-761.
- [17] ZHAI L, LIU M, WANG T, et al. Picoside II protects the blood-brain barrier by inhibiting the oxidative signaling pathway in cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. *PLoS One*, 2017, 12(4):e0174414.
- [18] CHANG H C, GUARENTE L. SIRT1 and other sirtuins in metabolism[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2014, 25(3):138-145.
- [19] WANG A J, ZHANG J, XIAO M, et al. Molecular mechanisms of doxorubicin-induced cardiotoxicity: novel roles of sirtuin 1-mediated signaling pathways[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2021, 78(7):3105-3125.
- (收稿日期:2022-12-05 修回日期:2023-05-11)
(编辑:张芃捷)