

# 金丝桃苷对高糖诱导的心肌细胞氧化应激损伤的影响及其机制研究\*

王成<sup>1</sup>, 李霞<sup>1</sup>, 刘振<sup>1</sup>, 韩明磊<sup>1</sup>, 侯永兰<sup>1</sup>, 郭长磊<sup>2△</sup>

1. 新乡市中心医院 心血管内一科(新乡 453100); 2. 新乡医学院第一附属医院 心内科(新乡 453100)

**【摘要】** 目的 探索金丝桃苷在高糖诱导的心肌细胞氧化应激损伤中的作用及其分子机制。方法 高糖处理模拟心肌细胞氧化应激损伤。细胞分为5个组:正常对照组(5.5 mmol/L 葡萄糖),高糖损伤模型组(35 mmol/L 葡萄糖),低、中、高浓度金丝桃苷保护组(35 mmol/L 葡萄糖+4/8/20 nmol/L 金丝桃苷)。各组细胞培养48 h后, CCK-8 检测细胞存活力;流式细胞术分析细胞凋亡;通过流式细胞仪利用活性氧(ROS)检测试剂盒 DCFH-DA 分析 ROS 水平;超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)试剂盒检测 SOD 和 MDA 水平;Western blot 法检测磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(AKT)、磷酸化(p)-AKT、核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)、p-Nrf2 的表达;免疫荧光染色分析 AKT 的活化情况。**结果** 与正常对照组比较,高糖损伤模型组细胞存活率降低,细胞凋亡率增高,ROS、MDA 水平升高,SOD 水平降低,PI3K 相对表达量及 AKT、Nrf2 磷酸化水平(p-AKT/AKT 和 p-Nrf2/Nrf2 的比值)降低,AKT 阳性细胞数比率降低,以上差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。与高糖损伤模型组相比,金丝桃苷保护组(4、8、20 nmol/L)细胞存活率升高,细胞凋亡率降低,ROS、MDA 水平降低,SOD 水平升高,PI3K 相对表达量及 AKT、Nrf2 磷酸化水平升高,AKT 阳性细胞数比率升高,以上差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。**结论** 金丝桃苷可通过激活 PI3K/AKT/Nrf2 信号通路保护心肌细胞免受高糖诱导的氧化应激损伤。

**【关键词】** 金丝桃苷 氧化应激 细胞凋亡 PI3K AKT Nrf2

**The Effect and Mechanism of Hyperoside on High Glucose-induced Oxidative Stress Injury of Myocardial Cells** WANG Cheng<sup>1</sup>, LI Xia<sup>1</sup>, LIU Zhen<sup>1</sup>, HAN Ming-lei<sup>1</sup>, HOU Yong-lan<sup>1</sup>, GUO Chang-lei<sup>2△</sup>. 1. Department of Vasculocardiology, Xinxiang Central Hospital, Xinxiang 453100, China; 2. Department of Cardiology, First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Xinxiang 453100, China

△ Corresponding author, E-mail: guochanglei2017@163.com

**【Abstract】** **Objective** To explore the effect and mechanism of hyperoside on high glucose-induced oxidative stress injury of myocardial cells. **Methods** Oxidative stress injury of myocardial cells was simulated by treating with high glucose. Cells were divided into five groups: control group (5.5 mmol/L glucose); high glucose model group (35 mmol/L glucose); hyperoside protection groups (35 mmol/L glucose + 4, 8, 20 nmol/L hyperoside). Cells were incubated for 48 h. The cell viability was detected by CCK-8. Apoptosis was measured through flow cytometry. The level of ROS was tested by Reactive Oxygen Species Assay Kit DCFH-DA with flow cytometer. The level of SOD and MDA was detected by SOD Assay Kit and MDA Assay Kit respectively. The protein levels of phosphatidylinositide 3-kinases (PI3K), protein kinase B (AKT), p-AKT, nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2) and p-Nrf2 were detected by Western blot. The activation of AKT was analyzed by immunofluorescence staining. **Results** Compared with control group, the cell viability, the levels of SOD, the expression of PI3K, the ratio of p-AKT/AKT and p-Nrf2/Nrf2 and the percentage of AKT positive cells in high glucose group were decreased with enhanced apoptosis and levels of ROS and MDA ( $P<0.05$ ). Compared with high glucose group, the cell viability, the levels of SOD, the expression of PI3K, the ratio of p-AKT/AKT and p-Nrf2/Nrf2 and the percentage of AKT positive cells in hyperoside group (4, 8, 20 nmol/L) were increased with reduced apoptosis and levels of ROS and MDA ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Hyperoside protects myocardial cells against oxidative stress injury via activation of PI3K/AKT/Nrf2 signal pathway.

**【Key words】** Hyperoside Oxidative stress injury Apoptosis PI3K AKT Nrf2

糖尿病是一个全球性的健康问题,预计到 2030

年将有 4.5 亿糖尿病患者<sup>[1]</sup>。心血管疾病是其主要并发症,2/3 以上的糖尿病患者都伴有心血管疾

\* 河南省医学科技攻关计划基金资助项目(No. 201602362)资助

病<sup>[2]</sup>。糖尿病会导致患心血管疾病的风险增加5倍<sup>[3]</sup>。氧化应激损伤在心血管疾病中起着重要作用<sup>[4]</sup>。减轻心肌细胞氧化应激损伤对糖尿病性心血管疾病的治疗十分有益。金丝桃是被广泛研究的药用草本植物,具有抗菌、抗病毒、抗炎、镇痛的活性<sup>[5]</sup>。金丝桃苷是金丝桃的主要活性物质,属于黄酮甙类物质<sup>[6]</sup>。大量研究表明金丝桃苷具有多种生物学功能如抗氧化、抗炎、抗抑郁和自由基清除等功能<sup>[7]</sup>,在大脑缺血再灌注损伤、神经毒性和肝炎等疾病的治疗中具有一定的疗效<sup>[8]</sup>。目前金丝桃苷对高糖诱导的心肌细胞氧化应激损伤的保护作用及其机制还鲜有报道。鉴于此,本研究通过探索金丝桃苷在高糖诱导的心肌细胞氧化应激损伤中的作用及其分子机制,以期为开发新的糖尿病性心血管疾病治疗方法奠定理论基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞系及主要试剂

大鼠心肌细胞系 H9C2 购自美国典型培养物保藏中心(ATCC)。培养基 DMEM、胎牛血清购自赛默飞世尔科技公司,CCK-8 试剂盒购自日本同仁化学公司,细胞凋亡检测试剂盒 Annexin V Apoptosis Detection Kit 购自美国 BD 公司,活性氧(ROS)检测试剂盒 2,7-二氯荧光黄双乙酸盐(DCFH-DA)购自 Sigma 公司,超氧化物歧化酶(SOD)及丙二醛(MDA)试剂盒购自江苏碧云天公司,磷脂酰肌醇 3-激酶(PI3K)、蛋白激酶 B(AKT)、磷酸化(p)-AKT、核因子 E2 相关因子 2(Nrf2)、p-Nrf2 抗体购自 Abcam 公司。金丝桃苷来源于 Sigma 公司,结晶粉末,HPLC $\geq$ 97.0%,用 DMSO 进行溶解,配制成 1  $\mu$ mol/L 的母液,使用时稀释到所需浓度。

### 1.2 细胞培养及药物处理

大鼠心肌细胞系 H9C2 培养于含 10% 胎牛血清和 1% 青-链霉素的 DMEM 培养基中,并添加金丝桃苷至终浓度分别为:0、0.5、1、2、4、8、20、50、100、200、400 nmol/L,置于 37  $^{\circ}$ C、体积分数 5% CO<sub>2</sub> 的培养箱中培养 48 h 后,检测细胞存活力,选择对细胞活力无明显影响的浓度作为后续实验中金丝桃苷的处理浓度。后续实验将细胞分为 5 个组:正常对照组(5.5 mmol/L 葡萄糖),高糖损伤模型组(35 mmol/L 葡萄糖),低、中、高浓度金丝桃苷保护组(35 mmol/L 葡萄糖+4/8/20 nmol/L 金丝桃苷)。各组细胞均培养 48 h。

### 1.3 CCK-8 检测细胞存活率

培养 48 h 后,收集待测大鼠心肌细胞 H9C2 利用 CCK-8 试剂盒进行细胞活力检测。首先用培养基将 CCK-8 溶液稀释到 10%,再用上述溶液制成浓度为 1  $\times$  10<sup>6</sup> mL<sup>-1</sup> 的细胞悬液,并在 37  $^{\circ}$ C 培养 1~4 h,最后检测 450 nm 处吸光度(A)值。细胞存活率(%)=(添加金丝桃苷的细胞培养液 A 值-无细胞的培养液 A 值)/(未加金丝桃苷的细胞培养液 A 值-无细胞的培养液 A 值)  $\times$  100%或细胞存活率(%)=(实验组 A 值-无细胞的培养液 A 值)/(正常对照组 A 值-无细胞的培养液 A 值)  $\times$  100%。

### 1.4 流式细胞术分析细胞凋亡

分组培养 48 h 后,首先用 1  $\times$  Binding buffer 将 5 组待测大鼠心肌细胞 H9C2 制成 1  $\times$  10<sup>6</sup> mL<sup>-1</sup> 的悬液。再用 Annexin V-fluorescein isothiocyanate (FITC)和碘化丙啶(PI)染色 15 min,最后流式细胞仪对染色的细胞进行检测,计算细胞凋亡率。

### 1.5 ROS 水平检测

分组培养 48 h 后,首先收集 5 组待测大鼠心肌细胞 H9C2 用 DCFH-DA(1 : 1 000)稀释后于暗盒中 37  $^{\circ}$ C 孵育 30 min,每隔 5 min 混匀一次。然后用培养基洗涤 3 次,每次 5 min。最后利用流式细胞仪检测荧光强度分析细胞内 ROS 水平。

### 1.6 SOD 和 MDA 水平检测

分组培养 48 h 后,用细胞裂解液裂解细胞后收集上清用于后续测定,用 BCA 蛋白浓度测定试剂盒检测蛋白浓度,按照试剂盒说明书进行细胞内 SOD 和 MDA 含量的测定。

### 1.7 Western blot 检测 PI3K、AKT、p-AKT、Nrf2 和 p-Nrf2 的表达

分组培养 48 h 后,用 PBS 漂洗 5 组待测大鼠心肌细胞 H9C2 三次后,再用含蛋白酶抑制剂的细胞裂解液裂解细胞进行总蛋白的提取。等量的蛋白进行 SDS-PAGE 凝胶电泳分离后转至 PVDF 膜。5% 牛血清白蛋白(BSA)封闭后依次孵育相应的一抗[抗 PI3K 抗体(1/1 000)、抗 AKT 抗体(1/1 000)、抗 p-AKT 抗体(1/500)、抗 Nrf2 抗体(1/3 000)、抗 p-Nrf2 抗体(1/5 000)]和二抗(1/2 000)。最后进行显色并统计灰度值,以目的蛋白和内参蛋白 GAPDH 灰度值的比值作为目的蛋白的相对表达量。

### 1.8 免疫荧光染色检测 AKT 阳性细胞比率

分组培养 48 h 后,将待测细胞接种于铺有细胞

爬片的培养皿中按照 1.2 中的分组分别加入相应的物质,当细胞长至 80% 时弃去培养液, PBS 洗 2 次后用体积分数 4% 多聚甲醛固定 10 min。PBS 洗 3 次后用 0.3% Triton-100 通透 10 min。PBS 漂洗 3 次进行封闭后相继孵育相应的一抗(10  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )和二抗。滴加 DAPI 后指甲油封片。荧光显微镜下观察拍照。AKT(红色荧光)聚集在细胞膜上即为 AKT 阳性细胞,随机选取 5 个视野统计 AKT 阳性细胞数比率, AKT 阳性细胞数比率(%) = 每个视野下 AKT 聚集在细胞膜的细胞数/每个视野下的总细胞数,取 5 个视野的均值。

### 1.9 统计学方法

两两比较采用独立样本的  $t$  检验,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 金丝桃苷对 H9C2 细胞活力的影响

如图 1 所示,当金丝桃苷浓度  $\leq 20$  nmol/L 时, H9C2 细胞活力几乎不受影响( $P > 0.05$ );当金丝桃苷浓度  $> 20$  nmol/L 时, H9C2 细胞活力急剧下降( $P < 0.05$ ),并随着金丝桃苷浓度的增加而降低。因此,后续实验选择对 H9C2 细胞活力无明显影响的浓度(4、8、20 nmol/L)作为金丝桃苷的处理浓度。

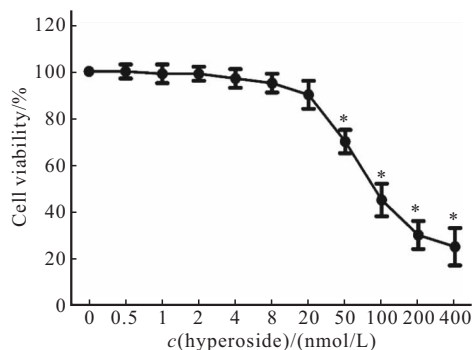


图 1 金丝桃苷对 H9C2 细胞活力的影响

Fig 1 The effect of hyperoside on cell viability of H9C2

\*  $P < 0.05$ , vs. 0 nmol/L hyperoside

### 2.2 金丝桃苷对高糖诱导的 H9C2 细胞存活率的影响

图 2 显示,以正常对照组的细胞存活率为 100%,高糖损伤模型组细胞存活率低于正常对照组,约减少 70% ( $P < 0.05$ )。与高糖损伤模型组相比,不同浓度金丝桃苷保护组细胞存活率升高( $P < 0.05$ ),且细胞存活率随着金丝桃苷浓度的增加而增加,但仍低于正常对照组( $P < 0.05$ )。

### 2.3 金丝桃苷对高糖诱导的 H9C2 细胞凋亡的影响

图 3 显示,高糖损伤模型组细胞凋亡率高于正常对照组( $P < 0.05$ )。与高糖损伤模型组相比,不同浓度金丝桃苷保护组细胞凋亡率降低( $P < 0.05$ ),且金丝桃苷浓度越高,细胞凋亡率越低,但仍高于正常对照组( $P < 0.05$ )。

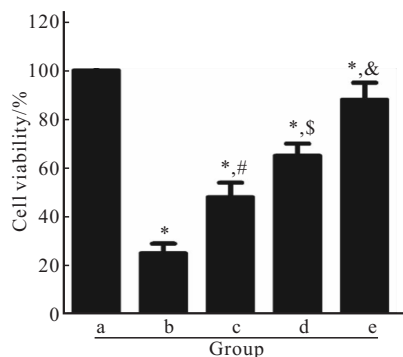


图 2 CCK8 检测各组细胞存活率

Fig 2 The cell viability was detected by CCK-8

a: Control; b: High glucose model; c: Hyperoside (4 nmol/L); d: Hyperoside (8 nmol/L); e: Hyperoside (20 nmol/L). \*  $P < 0.05$ , vs. a group; #  $P < 0.05$ , vs. b group; \$  $P < 0.05$ , vs. c group; &  $P < 0.05$ , vs. d group

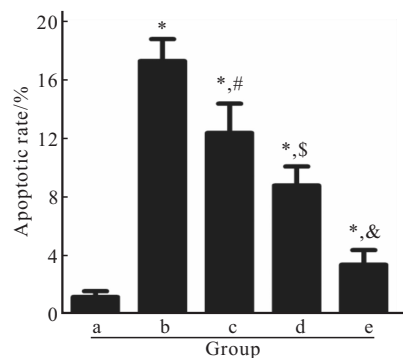


图 3 流式细胞术检测各组细胞凋亡

Fig 3 Apoptosis was tested by flow cytometry

a-e: Denote the same as those in fig 2. \*  $P < 0.05$ , vs. a group; #  $P < 0.05$ , vs. b group; \$  $P < 0.05$ , vs. c group; &  $P < 0.05$ , vs. d group

### 2.4 金丝桃苷对高糖诱导的 H9C2 细胞 ROS、SOD 和 MDA 水平的影响

图 4 显示,高糖损伤模型组细胞的 ROS 水平高于正常对照组( $P < 0.05$ );与高糖损伤模型组相比,各浓度金丝桃苷保护组细胞的 ROS 水平降低( $P < 0.05$ ),且金丝桃苷浓度越高 ROS 水平越低( $P < 0.05$ )。与正常对照组相比,高糖损伤模型组细胞的 SOD 水平降低,MDA 水平升高( $P < 0.05$ );与高糖

损伤模型组相比,各浓度金丝桃苷保护组细胞的 SOD 水平升高,MDA 水平降低( $P < 0.05$ ),且金丝

桃苷浓度越高 SOD 水平越高,MDA 水平越低( $P$  均  $< 0.05$ )。高浓度金丝桃苷保护组的 SOD 和

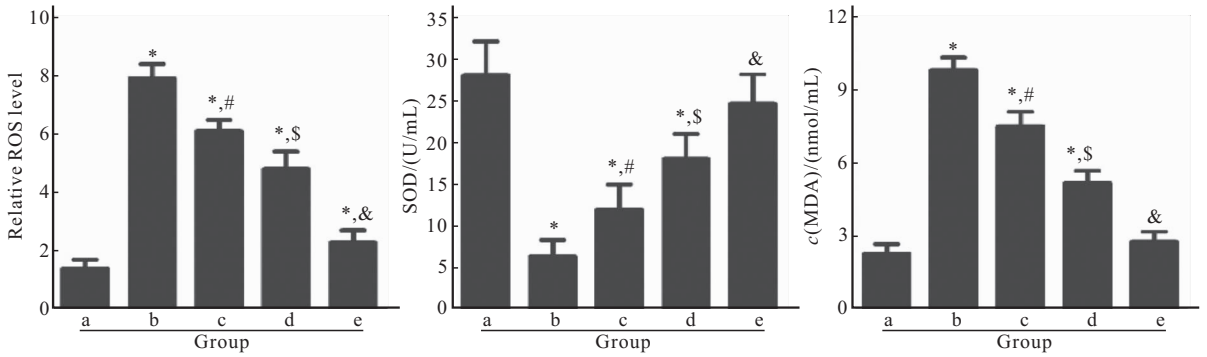


图 4 ROS、SOD 和 MDA 水平检测

Fig 4 Detection of the levels of ROS, SOD and MDA

a-e: Denote the same as those in fig2. \*  $P < 0.05$ , vs. a group; #  $P < 0.05$ , vs. b group; \$  $P < 0.05$ , vs. c group; &  $P < 0.05$ , vs. d group

MDA 已恢复至正常对照组水平( $P > 0.05$ )。

### 2.5 金丝桃苷对高糖诱导的 H9C2 细胞 PI3K/AKT/ Nrf2 信号通路的影响

图 5A 显示,各组细胞中 AKT 和 Nrf2 的表达无明显差异, PI3K、p-AKT 和 p-Nrf2 的表达在高糖损伤模型组中最低。由图 5B、5C 可知,与正常对

照组相比,高糖损伤模型组细胞的 PI3K 相对表达量及 AKT、Nrf2 磷酸化水平(p-AKT/ AKT 和 p-Nrf2/ Nrf2 的比值)降低( $P < 0.05$ )。与高糖损伤模型组相比,各浓度金丝桃苷保护组细胞的 PI3K 相对表达量及 AKT、Nrf2 磷酸化水平升高( $P < 0.05$ ),且 PI3K 相对表达量及 AKT、Nrf2 磷酸化水

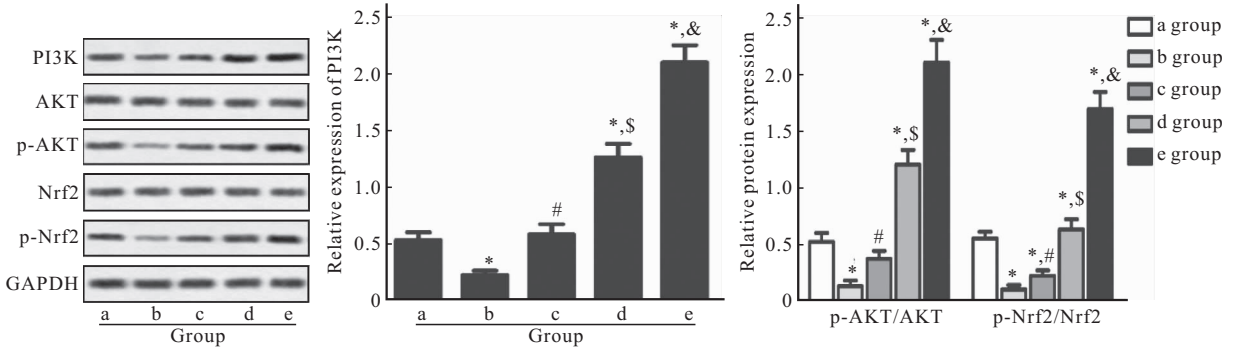


图 5 Western blot 检测 PI3K/AKT/ Nrf2 信号通路相关蛋白表达

Fig 5 The expressions of PI3K/AKT/ Nrf2 pathway related proteins detected by Western blot

a-e: Denote the same as those in fig 2. \*  $P < 0.05$ , vs. a group; #  $P < 0.05$ , vs. b group; \$  $P < 0.05$ , vs. c group; &  $P < 0.05$ , vs. d group

平随金丝桃苷浓度的升高而升高( $P < 0.05$ )。

### 2.6 金丝桃苷对高糖诱导的 H9C2 细胞 AKT 活化的影响

图 6 显示,金丝桃苷处理高糖诱导的 H9C2 细胞后 AKT 会由细胞质转位到细胞膜。由图 7 可知,高糖损伤模型组 AKT 阳性细胞数比率低于正常对照组( $P < 0.05$ )。与高糖损伤模型组相比,各浓度金丝桃苷保护组细胞的 AKT 阳性细胞数比率升高( $P < 0.05$ ),且金丝桃苷浓度越高 AKT 阳性细胞数比率就越高( $P < 0.05$ )。

### 3 讨论

糖尿病性心肌病是糖尿病患者的常见心血管并发症,其病理生理机制十分复杂,氧化应激损伤及心肌细胞凋亡在其发展过程中起着重要作用<sup>[9-11]</sup>。ROS 产生的增加及 ROS 清除能力的下降会加剧糖尿病性心肌病<sup>[12]</sup>。目前针对糖尿病性心肌病治疗的药物还十分有限。有研究表明卡托普利及卡维地洛有助于糖尿病性心肌病的治疗<sup>[13]</sup>。现在许多植物提取物由于其副作用小而受到越来越多的关注,

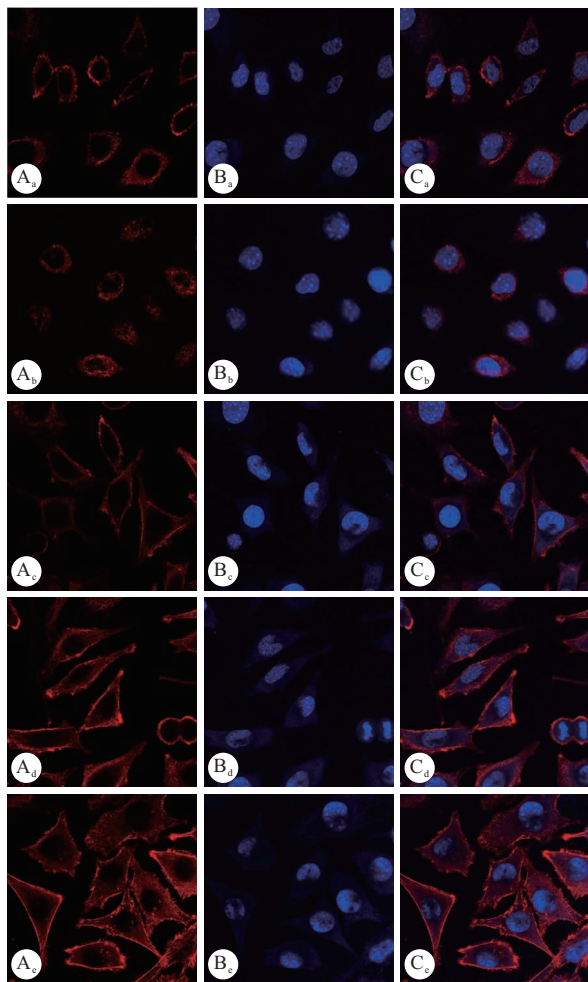


图 6 免疫荧光检测 AKT 活化情况

Fig 6 The activation of AKT tested by immunofluorescence

A: AKT; B: DAPI; C: Merged; a-e: Denote the same as those in fig2

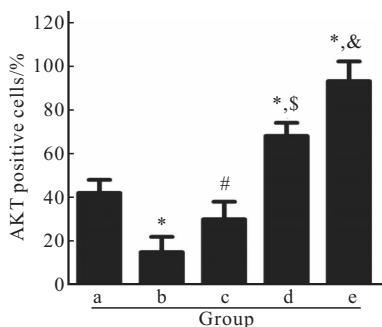


图 7 各组 AKT 阳性细胞比率

Fig 7 The percentage of AKT positive cells

a-e: Denote the same as those in fig 2. \*  $P < 0.05$ , vs. a group; #  $P < 0.05$ , vs. b group; \$  $P < 0.05$ , vs. c group; &  $P < 0.05$ , vs. d group

大量文献表明其在各类疾病治疗中具有抗氧化应激损伤和细胞凋亡的作用。

越来越多的研究表明许多植物提取物在维持细

胞活力、改善各类疾病中心肌细胞凋亡及氧化应激损伤方面发挥着重要作用,如柚皮苷<sup>[14]</sup>、番茄红素<sup>[15]</sup>、藜芦醇<sup>[16]</sup>等。金丝桃苷也具有调控细胞活力、细胞凋亡及氧化应激的功效<sup>[17-19]</sup>。HOU 等<sup>[20]</sup>发现金丝桃苷可抑制缺血再灌注引发的心肌细胞凋亡,降低 MDA 水平。来源于黄海棠的三类结构相似的黄酮苷类物质异槲皮苷、异金丝桃苷和金丝桃苷均可以抑制  $H_2O_2$  诱导的 H9C2 细胞活力及 SOD 活力的下降和 MDA 含量的增加<sup>[21]</sup>。有文献报道金丝桃苷可减弱缺血再灌注中细胞凋亡的增加,降低 MDA 的产生并提高 SOD 活性<sup>[22]</sup>。本研究结果显示,在高糖诱导 H9C2 细胞中,金丝桃苷可拮抗细胞存活力的下降,抑制细胞凋亡,增强高糖诱导 H9C2 细胞的抗氧化能力,抑制 ROS 水平的升高;减弱脂质过氧化,抑制 SOD 水平的降低和 MDA 水平的升高。

AKT 信号通路在细胞存活、凋亡及氧化应激损伤应答等方面起着重要的调控作用。YANG 等<sup>[23]</sup>研究表明在  $H_2O_2$  处理的黑色素细胞中,金丝桃苷可提高 AKT 磷酸化水平,激活 PI3K/AKT 信号通路,抑制  $H_2O_2$  诱导的黑色素细胞凋亡。另外,金丝桃苷可通过激活 Nrf2 抑制肝细胞的氧化损伤,起到肝细胞保护的作用<sup>[24]</sup>。在缺血再灌注损伤大鼠模型中,金丝桃苷可通过增强 p-AKT 的蛋白表达,使 AKT 磷酸化水平升高,降低 MDA 含量,增强 SOD 活力<sup>[25]</sup>。本研究结果表明,金丝桃苷可诱导 AKT 由细胞质转位到细胞膜发挥第二信使作用,激活 Nrf2,通过激活 PI3K/AKT/Nrf2 信号通路保护心肌细胞免受高糖诱导的氧化应激损伤。值得注意的是,金丝桃苷对 PI3K/AKT/Nrf2 信号通路存在过度激活的作用,但从细胞增殖、凋亡及 ROS、SOD 和 MDA 水平的结果可以看出这种激活不会产生有害影响。且亦有研究表明 PI3K/AKT/Nrf2 信号通路的大幅激活有助于缓解心肌细胞损伤<sup>[26-27]</sup>。

本研究表明,在大鼠心肌细胞 H9C2 中,高糖处理会导致细胞活力下降,细胞凋亡增加,ROS 和 MDA 水平升高,SOD 水平降低,PI3K 的表达及 AKT 和 Nrf2 的磷酸化水平下降。金丝桃苷可逆转高糖处理对 H9C2 细胞活力、细胞凋亡、抗氧化能力及脂质过氧化的影响,提高 PI3K 的表达及 AKT 和 Nrf2 的磷酸化水平,激活 PI3K/AKT/Nrf2 信号通路。综上所述,金丝桃苷可通过激活 PI3K/AKT/Nrf2 信号通路保护心肌细胞免受高糖诱导的氧化应激损伤。下一步计划通过体内实验研究金丝桃苷

## 对心肌细胞氧化应激损伤的作用及机制。

## 参 考 文 献

- [1] YILMAZ S, CANPOLAT U, AYDOGDU S, *et al.* Diabetic cardiomyopathy; summary of 41 years. *Korean Circ J*, 2015, 45(4):266-272.
- [2] MURFITT L, WHITELEY G, IQBAL MM, *et al.* Targeting caveolin-3 for the treatment of diabetic cardiomyopathy. *Pharmacol Ther*, 2015, 151:50-71[2017-07-23]. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2015.03.002>.
- [3] ANSLEY DM, WANG B. Oxidative stress and myocardial injury in the diabetic heart. *J Pathol*, 2013, 229(2):232-241.
- [4] KURIAN GA, RAJAGOPAL R, VEDANTHAM S, *et al.* The role of oxidative stress in myocardial ischemia and reperfusion injury and remodeling; revisited. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016:1656450[2017-07-23]. <http://dx.doi.org/10.1155/2016/1656450>.
- [5] GALEOTTI N. *Hypericum perforatum* (St John's wort) beyond depression; a therapeutic perspective for pain conditions. *J Ethnopharmacol*, 2017, 200:136-146[2017-07-23]. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.02.016>.
- [6] LU P. Inhibitory effects of hyperoside on lung cancer by inducing apoptosis and suppressing inflammatory response via caspase-3 and NF-kappaB signaling pathway. *Biomed Pharmacother*, 2016, 82:216-225[2017-07-23]. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.05.006>.
- [7] XIE W, JIANG Z, WANG J, *et al.* Protective effect of hyperoside against acetaminophen (APAP) induced liver injury through enhancement of APAP clearance. *Chem Biol Interact*, 2016, 246:11-19[2017-07-23]. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2016.01.004>.
- [8] ZHANG J, FU H, XU Y, *et al.* Hyperoside reduces albuminuria in diabetic nephropathy at the early stage through ameliorating renal damage and podocyte injury. *J Nat Med*, 2016, 70(4):740-748.
- [9] HUYNH K, BERNARDO BC, MCMULLEN JR, *et al.* Diabetic cardiomyopathy; mechanisms and new treatment strategies targeting antioxidant signaling pathways. *Pharmacol Ther*, 2014, 142(3):375-415.
- [10] CHEN J, GUO R, YAN H, *et al.* Naringin inhibits ROS-activated MAPK pathway in high glucose-induced injuries in H9c2 cardiac cells. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2014, 114(4):293-304.
- [11] ZHANG J, LI B, ZHENG Z, *et al.* Protective effects of Notch1 signaling activation against high glucose-induced myocardial cell injury: analysis of its mechanisms of action. *Int J Mol Med*, 2015, 36(3):897-903.
- [12] QIU M, XU Y, YANG X, *et al.* CCAT2 is a lung adenocarcinoma-specific long non-coding RNA and promotes invasion of non-small cell lung cancer. *Tumour Biol*, 2014, 35(6):5375-5380.
- [13] ZHANG X, CHEN C. A new insight of mechanisms, diagnosis and treatment of diabetic cardiomyopathy. *Endocrine*, 2012, 41(3):398-409.
- [14] CHEN J, MO H, GUO R, *et al.* Inhibition of the leptin-induced activation of the p38 MAPK pathway contributes to the protective effects of naringin against high glucose-induced injury in H9c2 cardiac cells. *Int J Mol Med*, 2014, 33(3):605-612.
- [15] XU J, HU H, CHEN B, *et al.* Lycopene protects against hypoxia/reoxygenation injury by alleviating ER stress induced apoptosis in neonatal mouse cardiomyocytes. *PLoS One*, 2015, 10(8):e0136443[2017-07-23]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0136443>.
- [16] GUO S, YAO Q, KE Z, *et al.* Resveratrol attenuates high glucose-induced oxidative stress and cardiomyocyte apoptosis through AMPK. *Mol Cell Endocrinol*, 2015, 412:85-94[2017-07-23]. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2015.05.034>.
- [17] LIU XX, TANG L, GE R, *et al.* iTRAQ-based quantitative proteomic analysis of the anti-apoptotic effect of hyperin, which is mediated by Mcl-1 and Bid, in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-injured EA.hy926 cells. *Int J Mol Med*, 2016, 37(4):1083-1090.
- [18] HAO XL, KANG Y, LI JK, *et al.* Protective effects of hyperoside against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced apoptosis in human umbilical vein endothelial cells. *Mol Med Rep*, 2016, 14(1):399-405.
- [19] AN X, ZHANG L, YUAN Y, *et al.* Hyperoside pretreatment prevents glomerular basement membrane damage in diabetic nephropathy by inhibiting podocyte heparanase expression. *Sci Rep*, 2017, 7(1):6413.
- [20] HOU JY, LIU Y, LIU L, *et al.* Protective effect of hyperoside on cardiac ischemia reperfusion injury through inhibition of ER stress and activation of Nrf2 signaling. *Asian Pac J Trop Med*, 2016, 9(1):76-80.
- [21] LI XM, LUO XG, LI K, *et al.* Difference in protective effects of three structurally similar flavonoid glycosides from *Hypericum ascyron* against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced injury in H9c2 cardiomyoblasts. *Mol Med Rep*, 2015, 12(4):5423-5428.
- [22] LI ZL, HU J, LI YL, *et al.* The effect of hyperoside on the functional recovery of the ischemic/reperfused isolated rat heart; potential involvement of the extracellular signal-regulated kinase 1/2 signaling pathway. *Free Radic Biol Med*, 2013, 57:132-140[2017-07-23]. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2012.12.023>.
- [23] YANG B, YANG Q, YANG X, *et al.* Hyperoside protects human primary melanocytes against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage. *Mol Med Rep*, 2016, 13(6):4613-4619.
- [24] XING HY, CAI YQ, WANG XF, *et al.* The cytoprotective effect of hyperoside against oxidative stress is mediated by the nrf2-are signaling pathway through gsk-3beta inactivation. *PLoS One*, 2015, 10(12):e0145183[2017-07-23]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0145183>.
- [25] 韩军, 宣佳利, 胡浩然, 等. 金丝桃苷预处理减轻大鼠心肌缺血再灌注损伤作用与 PI3K/Akt 信号通路的关系. *中国中药志*, 2015, 40(01):118-123.
- [26] HSIEH SR, HSU CS, LU CH, *et al.* Epigallocatechin-3-gallate-mediated cardioprotection by Akt/GSK-3β/caveolin signalling in H9c2 rat cardiomyoblasts. *J Biomed Sci*, 2013, 20:86.
- [27] YANG YY, SUN XT, LI ZX, *et al.* Protective effect of angiotensin-(1-7) against hyperglycaemia-induced injury in H9c2 cardiomyoblast cells via the PI3K/Akt signaling pathway. *Int J Mol Med*, 2018, 41(3):1283-1292.

(2018-01-20 收稿, 2018-04-13 修回)

编辑 余琳