

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.08.011

松果菊苷对多柔比星心脏毒性保护作用及机制研究*

马 超 郭万刚 马文帅[△]

(空军军医大学唐都医院心血管内科 陕西 西安 710038)

摘要 目的:观察松果菊苷(ECH)能否减轻多柔比星(DOX)心脏毒性并初步阐明其作用机制。**方法:**通过单次腹腔注射大剂量多柔比星(15 mg/kg)建立急性心脏毒性小鼠模型,DOX处理后每日通过腹腔注射ECH(50 mg/kg/day)。实验分组如下:正常组(Control组);单纯松果菊苷处理组(ECH组);多柔比星处理组(DOX组);多柔比星+松果菊苷处理组(DOX+ECH组)。给药5天后检测左心室功能、心肌组织病理改变、氧化应激和心肌凋亡情况。**结果:**与Control组相比,DOX组小鼠心脏收缩和舒张功能明显减弱,心肌细胞出现空泡变性,心肌MDA含量、凋亡率以及促凋亡蛋白Bax和cleaved Caspase-3表达明显增加,而抑制凋亡蛋白Bcl-2表达量、SOD与GSH-Px活性明显下降。与DOX组相比,松果菊苷能明显改善心脏功能,缓解心肌空泡变性,降低MDA含量、凋亡率以及Bax和cleaved Caspase-3表达量,而提高Bcl-2表达量、SOD与GSH-Px活性(均 $P < 0.05$)。**结论:**松果菊苷可以通过抑制心肌组织氧化应激损伤和凋亡缓解多柔比星诱导的急性心脏毒性。

关键词:多柔比星心脏毒性;松果菊苷;氧化应激;凋亡

中图分类号:R285.5;R541.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)08-1450-05

Study on the Protective Effect and Mechanism of Echinacoside on Doxorubicin-induced Cardiotoxicity*

MA Chao, GUO Wan-gang, MA Wen-shuai[△]

(Department of Cardiovascular Diseases, Tangdu Hospital, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT Objective: To observe whether echinacoside (ECH) can alleviate doxorubicin (DOX)-induced cardiotoxicity and preliminarily elucidate its mechanism of action. **Methods:** A mouse model of acute cardiotoxicity was established by a single intraperitoneal injection of high-dose doxorubicin (15 mg/kg). ECH (50 mg/kg/day) was injected intraperitoneally daily after DOX treatment. The experimental groups were as follows: Control group; ECH group; DOX group; and DOX+ECH group. Left ventricular function, myocardial histopathological changes, oxidative stress and myocardial apoptosis were determined 5 days after DOX administration. **Results:** Compared with the Control group, the systolic and diastolic function was significantly impaired, the vacuolar degeneration of the cardiomyocytes was observed, the MDA content, apoptosis ratio and the expression levels of the proapoptotic proteins Bax and cleaved Caspase-3 were significantly increased, and the expression level of anti-apoptotic protein Bcl-2, and the activities of SOD and GSH-Px were significantly decreased in the DOX group. Compared with the DOX group, echinacoside significantly improved cardiac function, ameliorated myocardial vacuolar degeneration, reduced MDA content, apoptosis ratio and Bax and cleaved Caspase-3 expression, and increased Bcl-2 expression, SOD and GSH-Px activities (all $P < 0.05$). **Conclusion:** Echinacoside could alleviate the acute cardiotoxicity induced by DOX by inhibiting myocardial oxidative stress damage and apoptosis.

Key words: Doxorubicin-induced cardiotoxicity; Echinacoside; Oxidative stress; Apoptosis

Chinese Library Classification (CLC): R285.5; R541.9 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)08-1450-05

前言

多柔比星(doxorubicin, DOX)、柔红霉素、表柔比星等蒽环类药物均是强效抗癌药物,其中以多柔比星应用最广泛。充分临床证据显示,多柔比星能有效治疗血源性和实体恶性肿瘤^[1-4]。然而,多柔比星可导致剂量依赖性的急慢性心脏毒性,其特征是低血压、心律失常、左心室功能障碍,甚至难治性迟发性心脏病^[5]。因此,尽管多柔比星在治疗癌症方面具有强效抗癌作用,

它的临床应用受到明显限制。多柔比星诱导的心脏毒性机制复杂,可能涉及多种信号途径,包括自由基生成、过氧亚硝酸盐形成、钙超载、线粒体功能障碍、凋亡和自噬等^[6]。其中,自由基过量产生引起脂质、蛋白质、DNA等物质发生过氧化,进而导致心肌细胞损伤是多柔比星心脏毒性的最主要的机制之一。

松果菊苷(echinacoside, ECH)是从肉苁蓉和紫锥菊属植物中分离得到的主要生物活性化合物^[7]。在中国,肉苁蓉植物茎的多种提取物,从古至今都作为一种重要的滋补剂^[8]。在美

* 基金项目:陕西省自然科学基金研究计划-面上项目(2016JM8062)

作者简介:马超(1981-),硕士,主要研究方向:心脏疾病的防治,E-mail: chaomaafmu@126.com

[△] 通讯作者:马文帅(1982-),硕士,主要研究方向:心肌损伤保护,E-mail: wenshuaima@126.com,电话:13572245705

(收稿日期:2018-09-23 接受日期:2018-10-18)

国和欧洲,紫锥菊提取物被广泛用作治疗感染和感冒的中草药补充剂^[9,10]。近年来研究发现,松果菊苷还具有多种生物活性和药理活性,包括抗凋亡、神经保护、肝保护、免疫调节、抗衰老、抗糖尿病、促进骨形成以及减轻心肌缺血再灌注损伤等^[11]。但松果菊苷能否缓解多柔比星心脏毒性以及其具体作用机制尚无报道。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 主要试剂 松果菊苷(成都普瑞发科技开发公司);多柔比星(sigma公司);抗cleaved Caspase-3、Bax和Bcl-2抗体(CST公司);抗 β -actin抗体(Abcam公司);羊抗兔、兔抗鼠二抗(北京中杉金桥公司)。

1.1.2 实验动物 雄性C57BL/6小鼠(20-25 g, 8-10周龄,清洁级)购买自维通利华公司。小鼠自由获取食物和水,饲养于空军军医大学动物实验中心。小鼠饲养环境为12小时光暗循环,温度20-25℃,湿度50±5%。

1.2 实验方法

1.2.1 动物模型构建及实验分组 如前所述^[12],DOX组小鼠单次腹腔注射DOX(15 mg/kg)以诱导DOX心脏毒性模型,对照组动物给予等量生理盐水。将60只小鼠随机分为4组,每组15只,即正常组(Control组)、单纯松果菊苷处理组(ECH组)、多柔比星处理组(DOX组)、多柔比星+松果菊苷处理(DOX+ECH组)。通过腹腔注射松果菊苷(60 mg/kg/day),给药5天。

1.2.2 心脏血流动力学检测 用脱毛剂清理小鼠颈前毛发,正中切口分离右颈总动脉并插管。使用Millar导管换能器(SPR-839; Millar Instruments, 美国)分析血液动力学变化。使用PVAN数据分析软件分析计算左心室内压最大上升速率(+dp/dt)和左心室内压最大下降速率(-dp/dt)。

1.2.3 心肌组织HE染色 将心脏样品在10%福尔马林中固定24 h。制备石蜡块并切成5 μ m的厚度;切片用苏木精-伊红(H&E)染色。在组织病理学检查中,由对实验分组不知情的专家评估心肌纤维肿胀和间质水肿、心肌纤维降解、心肌纤维坏死和心肌纤维空泡化。通过Olympus倒置光学显微镜观察染色结果并拍照。

1.2.4 心肌组织氧化应激水平测定 取心肌组织后,精确心脏重量,用预冷的Tris-HCl缓冲液(pH:7.4)匀浆,制备10%组织匀浆,然后在4℃以3000 rpm速度离心15 min。收集上清液并储存在-80℃。通过BCA蛋白质测定试剂盒测量每个样品的蛋白质含量。严格按照试剂盒(南京建成生物工程研究所)说明书,测量心肌组织内超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量以及谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性。

1.2.5 心肌组织凋亡检测 将心脏组织切片用4%多聚甲醛固定,并在0.2% Triton X-100中透化以增加细胞膜对抗体的通透性。严格按照试剂盒说明书将切片在37℃避光湿盒内进行终端脱氧核苷酸转移酶介导的dUTP缺口末端标记(TUNEL)染色以检测细胞凋亡。将切片用DAPI染色,并在荧光显微镜(OLYMPUS公司)下观察。所有图像均由Image-Pro Plus 6.0进行定量分析。

1.2.6 Western blot检测凋亡相关蛋白表达水平 将小鼠心脏

组织提取纯化的蛋白质裂解物用10%SDS-PAGE凝胶电泳分离后转移到硝酸纤维素膜上。用5%脱脂牛奶(溶解于TBST)将硝酸纤维素膜封闭1 h,并在4℃下用抗Cleaved Caspase-3、Bax和Bcl-2抗体孵育过夜。 β -actin作为内部参照。最后将硝酸纤维素膜室温孵育羊抗兔、兔抗鼠二抗2 h。使用Bio-Rad的Image Lab软件分析免疫印迹条带的强度。

1.3 统计分析

实验数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm SD$)表示, $P < 0.05$ 表示有统计学意义。利用GraphPad Prism软件进行统计分析。差异显著性检验采用单因素方差分析,两组间差异用LSD-t检验。

2 结果

2.1 松果菊苷处理改善多柔比星引起的急性心脏毒性

以往组织病理学研究发现,多柔比星可以导致心肌细胞发生严重的多灶性空泡变性、肌细胞溶解、肌原纤维丢失、心肌纤维化和水肿等病理改变^[13]。与此相一致的是,心脏组织HE染色显示,与Control组相比,DOX组小鼠心肌细胞出现明显空泡样变性,提示心肌发生明显损伤。与DOX组相比,ECH处理可以明显减轻DOX引起的心肌细胞损伤,改善心肌细胞空泡变性程度。ECH处理不会引起正常小鼠心肌细胞发生空泡变性。

心肌细胞损伤最终体现为心脏收缩与舒张功能的改变。我们通过Millar导管在体检测了各组小鼠血流动力学改变。与预期一致的是,DOX组小鼠左心室内压最大上升速率和左心室内压最大下降速率与Control组相比均明显降低,提示DOX可引起正常小鼠发生心脏收缩与舒张功能障碍($P < 0.05$)。ECH处理能明显改善DOX引起的心脏收缩与舒张功能障碍,表现为左心室内压最大上升速率和左心室内压最大下降速率较DOX组均明显增加($P < 0.05$)。另外,我们观察了ECH对于正常小鼠收缩与舒张功能的影响。结果显示,ECH组与Control组相比,左心室内压最大上升速率和左心室内压最大下降速率无明显改变($P > 0.05$)。

2.2 松果菊苷处理抑制多柔比星引起的心肌氧化应激损伤

为了证实DOX可以诱导心肌氧化应激发生氧化应激损伤,我们检测了心肌组织内脂质过氧化产物MDA含量以及抗氧化酶SOD和GSH-Px活性。如图2所示,与Control组相比,DOX处理增加了心肌组织内MDA含量,降低了心脏中SOD和GSH-Px活性($P < 0.05$)。与DOX相比,ECH处理降低了心肌组织内MDA含量,并恢复了心肌SOD和GSH-Px活性($P < 0.05$)。单纯给予ECH对正常小鼠心肌组织内MDA含量以及SOD和GSH-Px活性无明显影响($P > 0.05$)。

2.3 松果菊苷处理抑制多柔比星引起的心肌凋亡

为了研究ECH对DOX的保护作用是否与抑制凋亡有关,我们首先通过TUNEL染色检测了各组小鼠心肌凋亡情况。TUNEL染色结果提示,DOX可诱导小鼠心肌发生凋亡,而ECH处理可以明显降低DOX处理后小鼠心肌凋亡率($P < 0.05$)。进一步地,我们检测了心脏组织中Caspase-3(凋亡通路执行蛋白)的表达情况。Caspase-3是一种胞质蛋白,通常以较高分子量的无活性前体形式存在,但当细胞发生凋亡时,会被蛋白水解切割变为低分子量具有活性的蛋白^[14]。通过检测cleaved Caspase-3表达水平,我们证实,DOX可显著增加小鼠心肌组

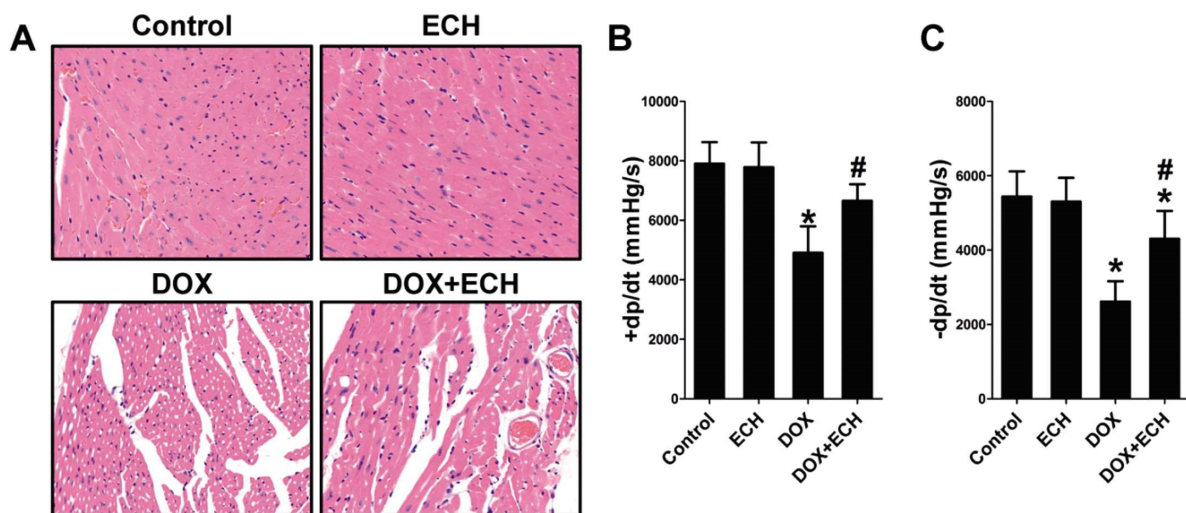


图1 松果菊苷对多柔比星急性心脏毒性的影响

Fig. 1 Effect of echinacoside on acute cardiotoxicity of doxorubicin

注:A:典型 HE 染色照片(400×);B:左室内压最大上升速率(+dp/dt);C:左室内压最大下降速率(-dp/dt)。n=6, * $P < 0.05$,与 Control 相比; # $P < 0.05$,与 DOX 组相比。

Note: A: typical HE staining photos (400×); B: maximum rate of increase in left ventricular pressure (+dp/dt); C: maximum rate of decrease in left ventricular pressure (-dp/dt). n=6, * $P < 0.05$, vs. the Control group; # $P < 0.05$, vs. the DOX group.

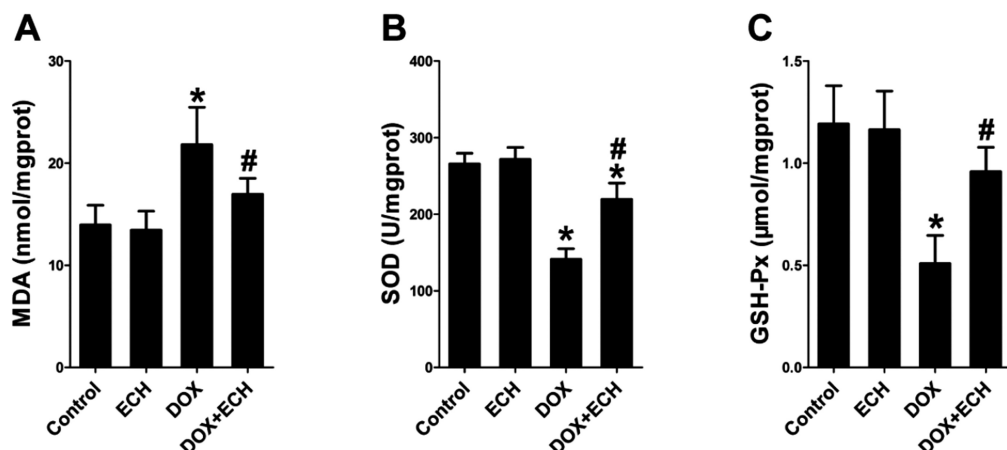


图2 松果菊苷对多柔比星处理后小鼠心肌氧化应激损伤的影响

Fig. 2 Effect of echinacoside on myocardial oxidative stress injury in DOX-treated mice

注:A:丙二醛(MDA)含量;B:超氧化物歧化酶(SOD)活性;C:谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性。

n=6, * $P < 0.05$,与 Control 相比, # $P < 0.05$,与 DOX 组相比。

Note: A: malondialdehyde (MDA) content; B: superoxide dismutase (SOD) activity; C: glutathione peroxidase (GSH-Px) activity. n=6, * $P < 0.05$, vs. the Control group; # $P < 0.05$, vs. the DOX group.

组织内 cleaved Caspase-3 表达水平($P < 0.05$)。此外,我们检测了心肌组织内促凋亡分子 Bax 和抗凋亡分子 Bcl-2 的表达情况。结果显示,DOX 可显著增加小鼠心肌组织内 Bax 表达水平,降低 Bcl-2 表达水平($P < 0.05$)。而 ECH 处理可以明显降低 DOX 处理后小鼠心肌 cleaved Caspase-3 和 Bax 表达水平,提高 Bcl-2 表达水平($P < 0.05$)。单纯给予 ECH 对正常小鼠心肌组织凋亡率、cleaved Caspase-3、Bax 和 Bcl-2 表达水平无明显影响($P > 0.05$)。

3 讨论

在癌症化疗治疗方面,DOX 发挥了重要作用^[1]。然而 DOX 的多种副作用限制了它的临床应用,其中最主要的是心脏毒

性,该现象在临床患者和动物研究均已被证实^[15,16]。以往研究发现 ECH 对与缓解心肌缺血再灌注损伤^[17]、帕金森氏病^[18]、肾脏纤维化^[19]、肝癌^[20]等疾病都有良好的治疗效果,但 ECH 能否缓解 DOX 心脏毒性尚无报道。本研究首次探究了松果菊苷对 DOX 心脏毒性小鼠心脏功能的潜在保护作用。我们的实验结果表明,ECH 与 DOX 共处理可以明显改善 DOX 诱导的心脏功能障碍,缓解心肌细胞损伤。

DOX 心脏毒性的典型特征之一在于心肌组织内产生过量自由基^[21,22]。过量自由基的产生可引起脂质过氧化,引起细胞膜结果破坏,进而引起细胞死亡^[23]。充分研究显示,抑制 DOX 引起的氧化应激损伤是缓解 DOX 心脏毒性的重要策略之一。Dong 等^[24]研究表明,槲皮素通过上调 Bmi-1 表达减少氧化应

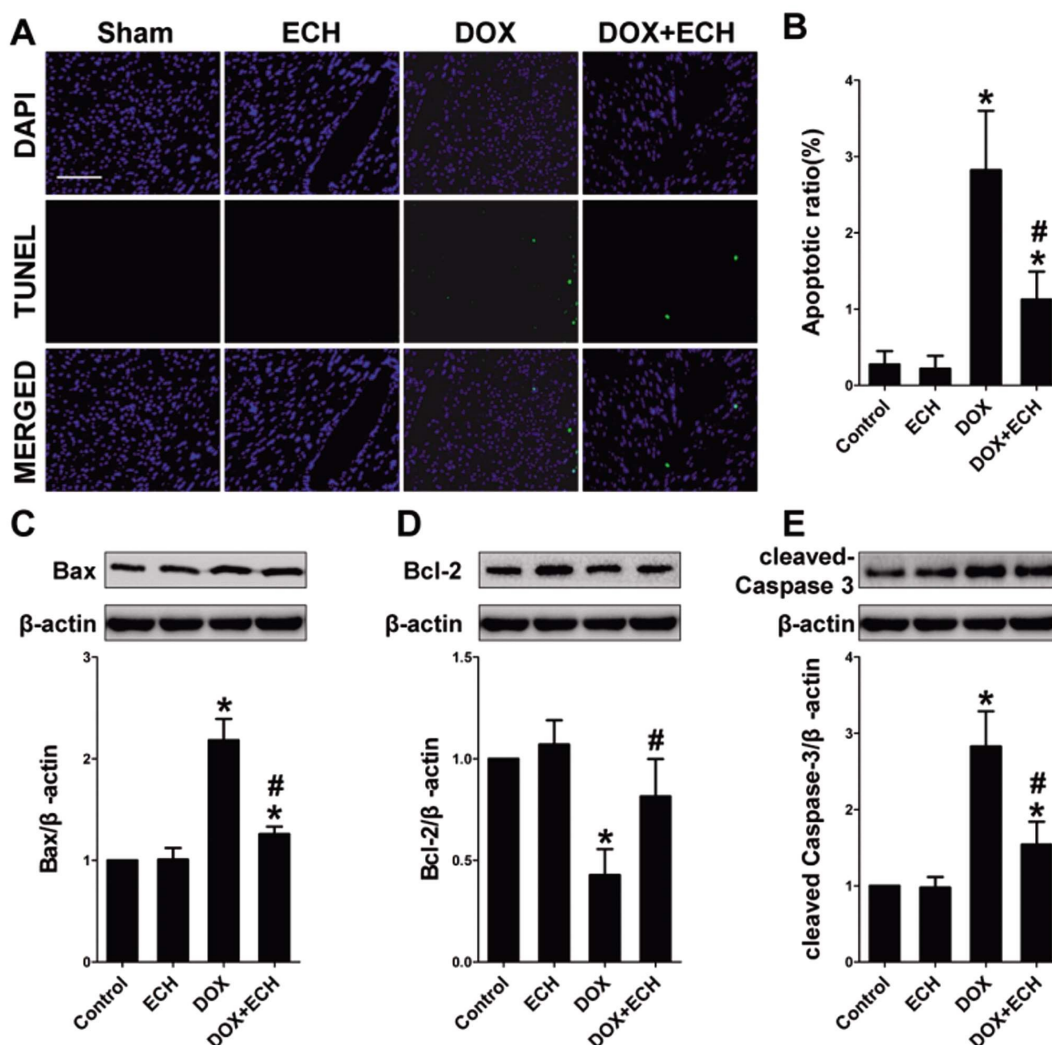


图3 松果菊苷对多柔比星处理后小鼠心肌凋亡的影响

Fig. 3 Effect of echinacoside on myocardial apoptosis in DOX-treated mice

注:A:典型 TUNEL 染色照片(400×),标尺 100 μm;B:凋亡率;C:Bax 表达水平;D:Bcl-2 表达水平;E:cleaved Caspase-3 表达水平。

n=6, * $P < 0.05$, 与 Control 相比, # $P < 0.05$, 与 DOX 组相比。

Note: A: typical TUNEL staining images (400×), scale 100 μm; B: apoptotic ratio; C: Bax expression level; D: Bcl-2 expression level;

E: cleaved Caspase-3 expression level. n=6, * $P < 0.05$, vs. the Control group; # $P < 0.05$, vs. the DOX group.

激,进而减轻阿霉素诱导的心脏毒性。Chen 等^[25]证实,三阳血倭可通过抑制 ROS 介导的细胞凋亡,从而抵抗 DOX 诱导的骨髓抑制和心脏毒性。通过检测脂质过氧化产物 MDA 的含量,我们证实,在 DOX 处理的动物心肌组织中 MDA 含量显著增加,而 ECH 处理可以明显降低 MDA 含量。此外,我们检测了心肌组织内抗氧化酶活性的变化。结果显示,在 DOX 处理的动物中 SOD 和 GSH-Px 的活性显著降低,而 ECH 处理可以明显提高 SOD 和 GSH-Px 活性,即 ECH 可以明显提高心肌组织抗氧化应激能力。以上结果显示,ECH 可通过抑制心肌组织氧化应激损伤从而减轻 DOX 心脏毒性。

DOX 处理可诱导心肌发生氧化应激损伤,促进肌浆网钙释放导致细胞质钙含量明显增加。在心肌细胞中,线粒体位于肌浆网上的钙释放位点附近并且可以捕获大量释放的钙,继发线粒体钙超载。线粒体钙超载进而引发线粒体通透性发生变化,导致线粒体膜电位丧失,线粒体肿胀和外膜破裂,从而释放线粒体细胞色素 c,激活线粒体途径凋亡通路^[26]。充分研究表

明,细胞凋亡对于 DOX 心肌损害发挥关键作用,而抑制 DOX 引起的心肌细胞凋亡也被证实能有效缓解 DOX 心脏毒性。褐藻胶寡糖预处理可通过抑制 Caspase-12 的活性、降低 Bax 表达水平和提高 Bcl-2 的表达水平抑制心肌细胞凋亡,从而改善 DOX 心肌损害^[27]。Zhu 等^[28]证实,Klotho 可通过激活 MAPKs 信号通路,降低心肌组织 ROS 产量,并抑制 ROS 介导的心脏细胞凋亡,从而缓解 DOX 引发的心脏功能障碍。在本研究中,我们证实 ECH 可以明显降低 DOX 处理小鼠心肌凋亡率、cleaved Caspase-3 和 Bax 的表达量,并提高 Bcl-2 的表达量。以上数据显示,ECH 可通过抑制心肌凋亡从而减轻 DOX 心脏毒性。

近年来,越来越多学者探究将化疗药物与心肌保护药物联合用于治疗肿瘤患者,希望杀灭肿瘤细胞的同时预防化疗药物心脏毒性,从而改善肿瘤患者长期生存和生活质量。值得注意的是,ECH 已被证明对多种肿瘤细胞具有杀伤或抑制作用。Wang 等^[29]证实,ECH 可通过诱导肿瘤细胞 ROS 的产生和破坏肿瘤细胞线粒体膜电位引发细胞凋亡,从而显著抑制胰腺癌细

细胞的增殖。Dong 等^[30]证实,松果菊苷通过诱导 DNA 氧化损伤导致 SW480 结直肠癌细胞发生细胞周期停滞和凋亡,从而抑制结直肠癌的进展。此外,松果菊苷还被报道可通过阻断 TGF- β 表达来抑制人脑胶质瘤细胞的迁移和侵袭^[31]。本研究证实,ECH 与 DOX 的组合确实改善了 DOX 诱导的心脏毒性,但是 ECH 是否影响 DOX 癌细胞杀伤能力尚需进一步论证。

综上所述,我们的研究首次证实松果菊苷处理能够明显改善多柔比星引起的心脏毒性,其具体作用机制为抑制心肌氧化应激损伤和心肌凋亡。我们的研究为临床上应用松果菊苷治疗多柔比星心脏毒性提供了新的理论依据。

参考文献(References)

- [1] Zhu W, Soonpaa M H, Chen H, et al. Acute doxorubicin cardiotoxicity is associated with p53-induced inhibition of the mammalian target of rapamycin pathway[J]. *Circulation*, 2009, 119(1): 99-106
- [2] 乔谷媛,陈良凤,马园园,等.多柔比星脂质体单药和联合洛铂方案治疗复发卵巢癌的临床研究[J].*现代生物医学进展*, 2018, 18(10): 1905-1908
- [3] 赵庆丽,马骥,刘颖,等.二甲双胍联合阿霉素应用对人乳腺癌细胞增殖和凋亡的影响[J].*现代生物医学进展*, 2013, 13(01): 42-46
- [4] 杨海松,毛大华,张世泳,等.紫杉醇联合表阿霉素新辅助化疗治疗三阴性乳腺癌的临床疗效评价及其对 Ki-67, p53, P-gp 和 GST- π 的影响[J].*现代生物医学进展*, 2017, 17(22): 4281-4284
- [5] Lipshultz S E, Alvarez J A, Scully R E. Anthracycline associated cardiotoxicity in survivors of childhood cancer[J]. *Heart*, 2008, 94(4): 525-533
- [6] Vejpongsa P, Yeh E T. Prevention of anthracycline-induced cardiotoxicity: challenges and opportunities [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 64(9): 938-945
- [7] Jiang Y, Tu P F. Analysis of chemical constituents in *Cistanche species*[J]. *J Chromatogr A*, 2009, 1216(11): 1970-1979
- [8] Wang T, Zhang X, Xie W. *Cistanche deserticola* Y. C. Ma, "Desert ginseng": a review[J]. *Am J Chin Med*, 2012, 40(6): 1123-1141
- [9] Freeman C, Spelman K. A critical evaluation of drug interactions with *Echinacea spp*[J]. *Mol Nutr Food Res*, 2008, 52(7): 789-798
- [10] Hudson J B. Applications of the phytochemistry *Echinacea purpurea* (Purple Coneflower) in infectious diseases [J]. *J Biomed Biotechnol*, 2012, 2012: 769896
- [11] Chen M, Wang X, Hu B, et al. Protective effects of echinacoside against anoxia/reperfusion injury in H9c2 cells via up-regulating p-AKT and SLC8A3[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 104: 52-59
- [12] Yuan Y P, Ma Z G, Zhang X, et al. CTRP3 protected against doxorubicin-induced cardiac dysfunction, inflammation and cell death via activation of Sirt1[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2018, 114: 38-47
- [13] Banco B, Grieco V, Servida F, et al. Sudden death in a dog after doxorubicin chemotherapy[J]. *Vet Pathol*, 2011, 48(5): 1035-1037
- [14] Susin S A, Zamzami N, Castedo M, et al. The central executioner of apoptosis: multiple connections between protease activation and mitochondria in Fas/APO-1/CD95- and ceramide-induced apoptosis [J]. *J Exp Med*, 1997, 186(1): 25-37
- [15] Olivieri J, Perna G P, Bocci C, et al. Modern Management of Anthracycline-Induced Cardiotoxicity in Lymphoma Patients: Low Occurrence of Cardiotoxicity with Comprehensive Assessment and Tailored Substitution by Nonpegylated Liposomal Doxorubicin [J]. *Oncologist*, 2017, 22(4): 422-431
- [16] Gupta S K, Garg A, Bar C, et al. Quaking Inhibits Doxorubicin-Mediated Cardiotoxicity Through Regulation of Cardiac Circular RNA Expression[J]. *Circ Res*, 2018, 122(2): 246-254
- [17] 蔡华,张颖,李满生,等.松果菊苷通过上调 miR-34a 减轻心肌细胞缺血再灌注损伤 [J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2018, 10(06): 739-742
- [18] Zhang Y, Long H, Zhou F, et al. Echinacoside's nigrostriatal dopaminergic protection against 6-OHDA-Induced endoplasmic reticulum stress through reducing the accumulation of Seipin [J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(12): 3761-3775
- [19] Tang F, Hao Y, Zhang X, et al. Effect of echinacoside on kidney fibrosis by inhibition of TGF- β 1/Smads signaling pathway in the db/db mice model of diabetic nephropathy [J]. *Drug Des Devel Ther*, 2017, 11: 2813-2826
- [20] Ye Y, Song Y, Zhuang J, et al. Anticancer effects of echinacoside in hepatocellular carcinoma mouse model and HepG2 cells [J]. *J Cell Physiol*, 2018
- [21] He H, Luo Y, Qiao Y, et al. Curcumin attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity via suppressing oxidative stress and preventing mitochondrial dysfunction mediated by 14-3-3 γ [J]. *Food Funct*, 2018, 9(8): 4404-4418
- [22] Huang C Y, Chen J Y, Kuo C H, et al. Mitochondrial ROS-induced ERK1/2 activation and HSF2-mediated AT1 R upregulation are required for doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(1): 463-475
- [23] Zhai M, Li B, Duan W, et al. Melatonin ameliorates myocardial ischemia reperfusion injury through SIRT3-dependent regulation of oxidative stress and apoptosis[J]. *J Pineal Res*, 2017, 63(2): e12419
- [24] Dong Q, Chen L, Lu Q, et al. Quercetin attenuates doxorubicin cardiotoxicity by modulating Bmi-1 expression [J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171(19): 4440-4454
- [25] Chen T, Shen H M, Deng Z Y, et al. A herbal formula, SYKT, reverses doxorubicin-induced myelosuppression and cardiotoxicity by inhibiting ROS-mediated apoptosis [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(4): 2057-2066
- [26] Zhang Y W, Shi J, Li Y J, et al. Cardiomyocyte death in doxorubicin-induced cardiotoxicity[J]. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2009, 57(6): 435-445
- [27] Guo J J, Ma L L, Shi H T, et al. Alginate Oligosaccharide Prevents Acute Doxorubicin Cardiotoxicity by Suppressing Oxidative Stress and Endoplasmic Reticulum-Mediated Apoptosis [J]. *Mar Drugs*, 2016, 14(12)
- [28] Zhu H, Gao Y, Zhu S, et al. Klotho Improves Cardiac Function by Suppressing Reactive Oxygen Species (ROS) Mediated Apoptosis by Modulating Mapks/Nrf2 Signaling in Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity[J]. *Med Sci Monit*, 2017, 23: 5283-5293
- [29] Wang W, Luo J, Liang Y, et al. Echinacoside suppresses pancreatic adenocarcinoma cell growth by inducing apoptosis via the mitogen-activated protein kinase pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(3): 2613-2618
- [30] Dong L, Yu D, Wu N, et al. Echinacoside Induces Apoptosis in Human SW480 Colorectal Cancer Cells by Induction of Oxidative DNA Damages[J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(7): 14655-14668
- [31] 李镇宇,王兆涛,汪继,等.松果菊苷对人脑胶质瘤细胞迁移和侵袭的影响及机制[J]. *山东医药*, 2018, 58(26): 1-4