

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.10.006

姜黄素预处理通过上调 miR-21 缓解多柔比星心肌毒性 *

郭 显^{1,2#} 史承勇^{1#} 李 攀¹ 刁繁荣¹ 唐文栋¹ 侯 攀¹ 赵仙先^{1Δ}

(1 海军军医大学附属长海医院心血管内科 上海 200433; 2 中国人民解放军 95247 部队医院 广东 惠州 516259)

摘要 目的:探究 miR-21 是否介导姜黄素(Cur)预处理抗多柔比星(DOX)心肌毒性作用。**方法:**体外分离培养大鼠原代心肌细胞,用 DOX 处理 24 h 建立心肌毒性离体模型。姜黄素于 DOX 处理前 12 h 加入心肌细胞培养液中。实验分组如下:Control 组;Cur 组;DOX 组;Cur+DOX 组;miR-21i(miR-21 抑制剂)+Cur+DOX 组;miR-21i+DOX 组。DOX 处理 24 h 后检测 miR-21 表达情况、细胞活力、凋亡和氧化应激相关指标。**结果:**与 DOX 组相比,姜黄素预处理可呈剂量依赖性地提高 DOX 处理后心肌细胞活力,且浓度为 5 μ M 时效果最佳。此外,姜黄素预处理可以明显提高 Bcl-2 和 miR-21 表达,降低心肌 Bax 和 cleaved Caspase-3 表达、凋亡率以及心肌细胞活性氧(ROS)产量和丙二醛(MDA)含量。而用 miR-21i 下调 miR-21 表达可明显削弱姜黄素预处理对 DOX 心肌损伤的上述保护作用(均 $P < 0.05$)。**结论:**姜黄素预处理可通过上调 miR-21 表达,缓解心肌凋亡和氧化应激损伤,进而缓解 DOX 心肌毒性。

关键词:姜黄素;预处理;多柔比星心肌毒性;miR-21;凋亡;氧化应激

中图分类号:R-33;R285.5;R730.5 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)10-1829-06

Curcumin Pretreatment Relieves Doxorubicin-induced Cardiotoxicity through up-regulating miR-21*

GUO Xian^{1,2#}, SHI Cheng-yong^{1#}, LI Pan¹, DIAO Fan-rong¹, TANG Wen-dong¹, HOU Pan¹, ZHAO Xian-xian^{1Δ}

(1 Department of Cardiology, Affiliated Changhai Hospital, Naval Medical University, Shanghai, 200433, China;

2 95247 Military Hospital, PLA, Huizhou, Guangdong, 516259, China)

ABSTRACT Objective: To investigate whether miR-21 mediates the cardioprotective effects of curcumin (Cur) pretreatment against doxorubicin (DOX)-induced cardiotoxicity. **Methods:** Neonatal rat cardiac myocytes (NRCMs) were isolated and cultured *in vitro*, and then treated with DOX for 24 h to establish the cardiotoxicity model *in vitro*. Curcumin was added to the culture medium 12 h before DOX treatment. The experiments were grouped as follows: Control group; Cur group; DOX group; Cur+DOX group; miR-21i (miR-21 inhibitor)+Cur+DOX group; and miR-21i+DOX group. The expression of miR-21, cell viability and indicators of apoptosis and oxidative stress were detected 24 h after DOX treatment. **Results:** Compared with the DOX group, curcumin pretreatment increased the cell viability of DOX-treated NRCMs in a dose-dependent manner, and the optimal concentration was 5 μ M. In addition, curcumin pretreatment significantly increased the expression of Bcl-2 and miR-21, and decreased the expression of Bax and cleaved Caspase-3, apoptotic ratio, and the production of reactive oxygen species (ROS) and malondialdehyde (MDA) in NRCMs. Down-regulation of miR-21 expression by miR-21i significantly attenuated the protective effects of curcumin pretreatment on DOX-induced cardiotoxicity mentioned above (all $P < 0.05$). **Conclusions:** Curcumin pretreatment can up-regulate the expression of miR-21, thereby alleviating myocardial apoptosis and oxidative stress, and mitigating the cardiotoxicity of DOX.

Key words: Curcumin; Pretreatment; Doxorubicin-induced cardiotoxicity; miR-21; Apoptosis; Oxidative Stress

Chinese Library Classification (CLC): R-33; R285.5; R730.5 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2019)10-1829-06

前言

化疗药物广泛用于治疗多种恶性肿瘤,然而化疗药物引起的临床副作用明显限制了它们在肿瘤治疗方面的应用^[1]。多柔比星(doxorubicin, DOX)是一种蒽环类抗生素,具有广谱抗肿

瘤活性,对白血病/恶性淋巴瘤和多种实体肿瘤都有很好的治疗效果^[2,3]。然而,DOX 可剂量依赖性地诱发不可逆性心肌损伤和充血性心力衰竭,成为限制 DOX 临床应用的最主要因素^[4]。虽然目前为止 DOX 诱发心肌毒性的具体机制尚未完全阐明,但多数研究人员认为氧化应激损伤和细胞凋亡是 DOX 心肌毒

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81570208);上海市卫生系统优秀人才培养计划(2017YQ029)

作者简介:郭显,博士,主治医师,主要研究方向:冠心病基础与临床研究,E-mail: guoxian1608@163.com;

史承勇,博士,主治医师,主要研究方向:缺血性心脏病机制研究,E-mail: 15157167101@163.com

为共同第一作者

Δ 通讯作者:赵仙先,主任医师,教授,主要研究方向:冠心病和结构性心脏病基础与临床研究,E-mail: 13601713431@163.com

(收稿日期:2018-11-26 接受日期:2018-12-20)

性的关键性致病因素^[5]。DOX 可靶向结合正常心肌细胞的线粒体,破坏线粒体膜的稳定性,促进线粒体产生过量活性氧(reactive oxygen species,ROS),进而激活线粒体细胞凋亡途径^[6]。因此,越来越多的研究旨在通过应用具有抗氧化特性的天然药物来减轻 DOX 心肌毒性。

姜黄素是膳食香料姜黄的有效成分之一,具有多种药理和生物学特性,如抗氧化、抗凋亡、抗癌、抗炎、抗病毒以及抗菌等^[7-9]。近年来,姜黄素在心血管疾病中的保护作用越来越受到关注,已经有报道指出姜黄素能有效缓解心肌缺血再灌注损伤^[8]、心肌梗厚^[10]、心肌纤维化^[11]、心梗^[12]等多种心血管疾病。此外,多项研究表明,姜黄素对于减轻 DOX 引起的心肌毒性也发挥了积极作用^[13-15],但机制尚未完全阐明,成为限制姜黄素临床应用的重要原因。微小 RNA-21(microRNA-21,miR-21)是心血管系统中高度表达的一种 microRNA。近年来研究证实,激活 miR-21 能有效缓解放射性心肌损伤^[16]、多柔比星心肌毒性^[17]、糖尿病心肌病^[18]、缺血再灌注损伤^[19]等多种心血管疾病。此外,有研究发现,姜黄素可调节乳腺癌细胞内 miR-21 的表达^[20]。然而,miR-21 是否介导姜黄素抗 DOX 心肌毒性尚不清楚。

1 材料和方法

1.1 实验材料

DOX(D1515)和姜黄素(08511)购自 Sigma-Aldrich 公司;miR-21 mimics 和 miR-21 错义链购自上海吉玛制药技术有限公司;Lipofectamine 2000 购自 Invitrogen 公司;抗 Bcl-2、Bax、cleaved Caspase-3 和 β -actin 抗体购自 Cell Signaling Technology 公司;辣根过氧化物酶标记的羊抗鼠或羊抗兔 IgG 抗体和 ROS 产量检测试剂盒购自上海碧云天生物技术有限公司;末端标记法(TdT-mediated dUTP Nick-End Labeling,TUNEL)凋亡检测试剂盒购自 Roche 公司;丙二醛(malondialdehyde,MDA)含量检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所;胎牛血清和胰蛋白酶购自 Gibico 公司;PVDF 膜购自 Millipore 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 细胞培养和模型的构建 根据以往文献所记录的方法^[21],分离提取原代心肌细胞(neonatal rat cardiac myocytes,NRCMs)。简言之,将 1-2 日龄 SD 新生大鼠用 5%异氟醚吸入麻醉;快速切除心脏,通过 0.1%胰蛋白酶消化来收获心脏的细胞;将细胞贴壁 1.5 h 以去除非心肌细胞;将未贴壁的心肌细胞以 5×10^5 个细胞/mL 的密度接种在含有 10%胎牛血清的 DMEM/F12 培养基中;待细胞贴壁 48 h 后,吸去上清,去除未贴壁细胞。通过给予 DOX 处理构建 DOX 心肌毒性模型。

1.2.2 实验分组及给药方式 将 NRCMs 分为如下 6 组:对照(Control)组;Cur 组;DOX 组;Cur+DOX 组;miR-21i(miR-21 抑制剂)+Cur+DOX 组;miR-21i+DOX 组。DOX 给药浓度为 1 μ M,给药时间为 24 h。DOX 处理前 12 h 给予姜黄素预处理,姜黄素的给药浓度分别为 1 μ M、2 μ M、5 μ M 和 10 μ M。DOX 处理前 24 h 通过 Lipofectamine 2000 转染 miR-21i,miR-21i 的序列为 5'-UAGCUUAUCAGACUGAUGUUGA-3'。

1.2.3 细胞活力检测 使用 CCK-8 试剂盒(Dojindo 公司)检测心肌细胞的细胞活力。将细胞以每孔 10^4 个细胞的密度接种在

96 孔板中。DOX 处理 24 h 后,将 CCK-8 试剂加入细胞培养液中处理 2 h,使用酶标仪在 450 nm 的波长下测量各组细胞的吸光度。

1.2.4 TUNEL 染色检测心肌细胞凋亡率 根据说明书进行 TUNEL 染色以检测细胞凋亡情况。具体操作步骤如下:DOX 处理 24 h 后,将心肌细胞培养液吸出并用 PBS 洗涤 3 次,每次 5 min;将细胞用 4%多聚甲醛溶液固定 15 min 并用 PBS 洗涤 3 次,每次 5 min;在避光条件下将 TUNEL 反应混合物加入到细胞上,并在 37℃下孵育 1 h;用 PBS 洗涤 3 次,每次 5 min;在避光条件下用 DAPI 染液染细胞核 10 min;用 PBS 洗涤 3 次,每次 5 min;用 Olympus 激光共聚焦显微镜检测 TUNEL 阳性结果,并使用 Image-Pro Plus 软件计算心肌细胞凋亡率。

1.2.5 ROS 产量和 MDA 含量检测 严格按照说明书步骤分别检测心肌细胞内 ROS 产量和 MDA 含量。具体操作方法参考以往文献^[22]。

1.2.6 Bax、Bcl-2 和 cleaved Caspase-3 蛋白表达情况检测 用预冷的 PBS 洗涤 NRCMs 两次后,裂解细胞;BCA 蛋白质定量试剂盒检测蛋白质浓度;SDS-PAGE 凝胶上分离蛋白质样品,并转移到 PVDF 膜上;5%脱脂牛奶封闭 PVDF 膜 1 h,一抗 Bax(1:1000)、Bcl-2(1:1000)、cleaved Caspase-3(1:1000)和 β -actin(1:1000)孵育过夜;用含有 0.1%Tween 20 的 Tris 缓冲液(TBST)洗涤膜,并与辣根过氧化物酶标记的相应二抗(1:5000)室温孵育 2 h;用 ECL 化学发光检测试剂盒检测蛋白表达情况。

1.2.7 RT-PCR 检测 miR-21 表达水平 使用 TRIzol 试剂从 NRCMs 中提取总 RNA,逆转录为 cDNA,并按照试剂盒说明书进行 RT-PCR。miR-21 基因上游引物序列为:5'-TCGC-TAGCTTATCAGACTGA-3',下游引物序列为:5'-GT-GCAGGGTCCGAGGT-3';GAPDH 基因上游引物序列为:5'-GGTGGACCTCATGGCCTACA-3',下游引物序列为:5'-CTCTCTTGCTCTCAGTATCCTTGCT-3'。GAPDH 为内参。

1.3 统计分析

实验结果以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。差异显著性检验采用单因素方差分析,组间两两比较用 LSD-t 检验。用 SPSS 18.0 软件进行统计学分析。 P 值小于 0.05 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 姜黄素预处理提高 DOX 处理后心肌细胞内 miR-21 含量

首先,我们检测了不同剂量姜黄素(1 μ M、2 μ M、5 μ M 和 10 μ M)预处理对于 DOX 心肌毒性的保护作用。CCK-8 检测结果显示,姜黄素呈剂量相关性地改善 DOX 处理后心肌细胞的细胞活力,且姜黄素浓度为 5 μ M 时保护效果最佳,因此我们选取该浓度进行下一步机制探究。为了明确 miR-21 是否介导姜黄素预处理抗 DOX 心肌毒性的作用,我们进一步检测了 miR-21 的表达情况。结果显示,DOX 可明显降低正常心肌细胞内 miR-21 的表达量,而姜黄素预处理可以明显提高 DOX 处理后心肌细胞内 miR-21 的表达水平($P < 0.05$,见图 1A)。单纯给予正常心肌细胞姜黄素预处理可轻度增加 miR-21 的表达($P < 0.05$)。通过给予 miR-21i 抑制 miR-21 的表达,结果显示,与 Cur+DOX 组相比,miR-21i+Cur+DOX 组心肌细胞 miR-21

表达量明显下降($P < 0.05$, 见图 1B)。

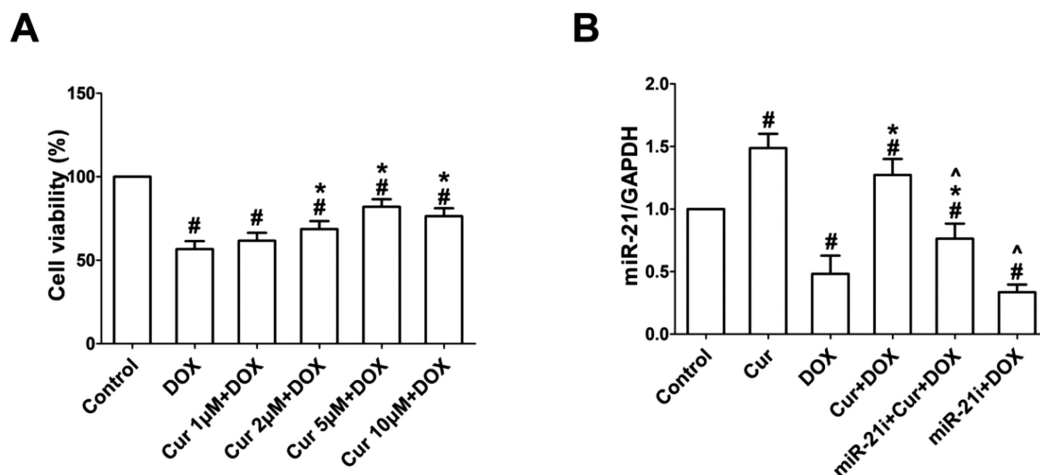


图 1 姜黄素预处理对 DOX 处理后心肌细胞的细胞活力和 miR-21 表达的影响

Fig. 1 Effect of curcumin pretreatment on the cell viability and the expression of miR-21 in DOX-treated NRCMs

注: A: 细胞活力; B: miR-21 表达情况。n=4, [#] $P < 0.05$, 与 Control 组相比; ^{*} $P < 0.05$, 与 DOX 组相比; [^] $P < 0.05$, 与 Cur+DOX 组相比。

Note: A: Cell viability; B: miR-21 expression. n=4, [#] $P < 0.05$, vs. the Control group; ^{*} $P < 0.05$, vs. the DOX group; [^] $P < 0.05$, vs. the Cur+DOX group.

2.2 姜黄素预处理通过上调 miR-21 改善 DOX 处理后心肌细胞活力

为探究 miR-21 是否介导姜黄素提高 DOX 处理后心肌细胞的细胞活力作用, 我们通过 CCK-8 比色法检测了各组心肌细胞的细胞活力。CCK-8 结果显示, 与 Cur+DOX 组相比, miR-21i+Cur+DOX 组心肌细胞的细胞活力明显下降($P < 0.05$)。

2.3 姜黄素预处理通过上调 miR-21 抑制 DOX 处理后心肌细胞凋亡

为探究姜黄素预处理能否抑制 DOX 引起的心肌细胞凋亡以及 miR-21 是否介导姜黄素的抗凋亡作用, 我们首先通过 TUNEL 染色检测了心肌细胞凋亡情况。如图 3A-B 所示, 与 Control 组相比, DOX 处理可明显增加心肌细胞凋亡率, 而姜黄素预处理可以明显降低 DOX 处理后心肌细胞凋亡率 ($P < 0.05$)。与 Cur+DOX 组相比, miR-21i+Cur+DOX 组心肌细胞的凋亡率明显增加($P < 0.05$)。此外, 我们检测了姜黄素预处理对凋亡相关蛋白表达情况的影响。如图 3C-E 所示, 与 Control 组相比, DOX 处理可明显增加心肌细胞 Bax 和 cleaved Caspase-3 表达量, 降低 Bcl-2 的表达($P < 0.05$)。而姜黄素预处理可以明显降低 Bax 和 cleaved Caspase-3 表达, 提高 Bcl-2 的表达($P < 0.05$)。与 Cur+DOX 组相比, miR-21i+Cur+DOX 组心肌细胞 Bax 和 cleaved Caspase-3 表达量明显增高, 而 Bcl-2 表达量明显降低($P < 0.05$)。

2.4 姜黄素预处理通过上调 miR-21 抑制 DOX 处理后心肌细胞氧化应激损伤

为探究姜黄素预处理能否抑制 DOX 引起的心肌氧化应激损伤以及 miR-21 是否介导姜黄素抗氧化应激作用, 我们检测了各组心肌细胞 ROS 产量和脂质过氧化产物 MDA 的含量。如图 4 所示, 与 Control 组相比, DOX 处理可明显增加心肌细胞 ROS 产量和 MDA 含量($P < 0.05$)。而与 DOX 组相比, 姜黄素预处理可以明显降低 ROS 产量和 MDA 含量($P < 0.05$)。与 Cur+DOX 组相比, miR-21i+Cur+DOX 组心肌细胞 ROS 产

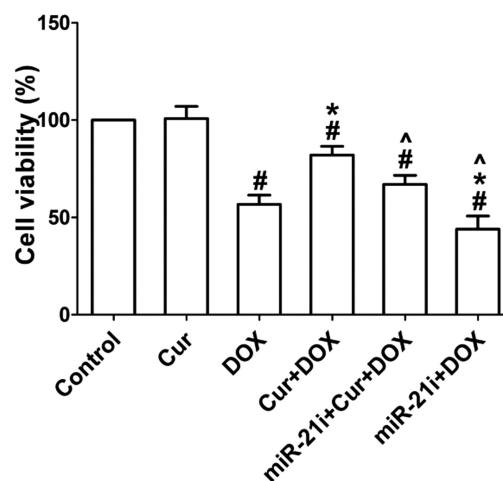


图 2 姜黄素预处理通过上调 miR-21 改善 DOX 处理后心肌细胞活力

Fig. 2 Curcumin pretreatment improves the cell viability of DOX-treated NRCMs by up-regulating miR-21

注: n=4, [#] $P < 0.05$, 与 Control 组相比; ^{*} $P < 0.05$, 与 DOX 组相比; [^] $P < 0.05$, 与 Cur+DOX 组相比。

Note: n=4, [#] $P < 0.05$, vs. the Control group; ^{*} $P < 0.05$, vs. the DOX group; [^] $P < 0.05$, vs. the Cur+DOX group.

量和 MDA 含量明显增高($P < 0.05$)。

3 讨论

DOX 是临床上应用最广泛的抗肿瘤药物之一, 但因其剂量相关心肌毒性, 临床应用大大受限。因此, 亟须寻求有效策略以减轻 DOX 心肌毒性。本研究证实, 姜黄素预处理可通过上调 miR-21, 降低心肌细胞凋亡率和促凋亡蛋白 Bax 和 cleaved Caspase-3 的表达水平, 提高抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达水平, 抑制心肌细胞氧化应激损伤, 最终发挥抗 DOX 心肌毒性的作用。

姜黄素是一种具有强效抗氧化作用的天然药物, 以往研究证实, 姜黄素在多种心血管疾病中均发挥了心肌保护作用。

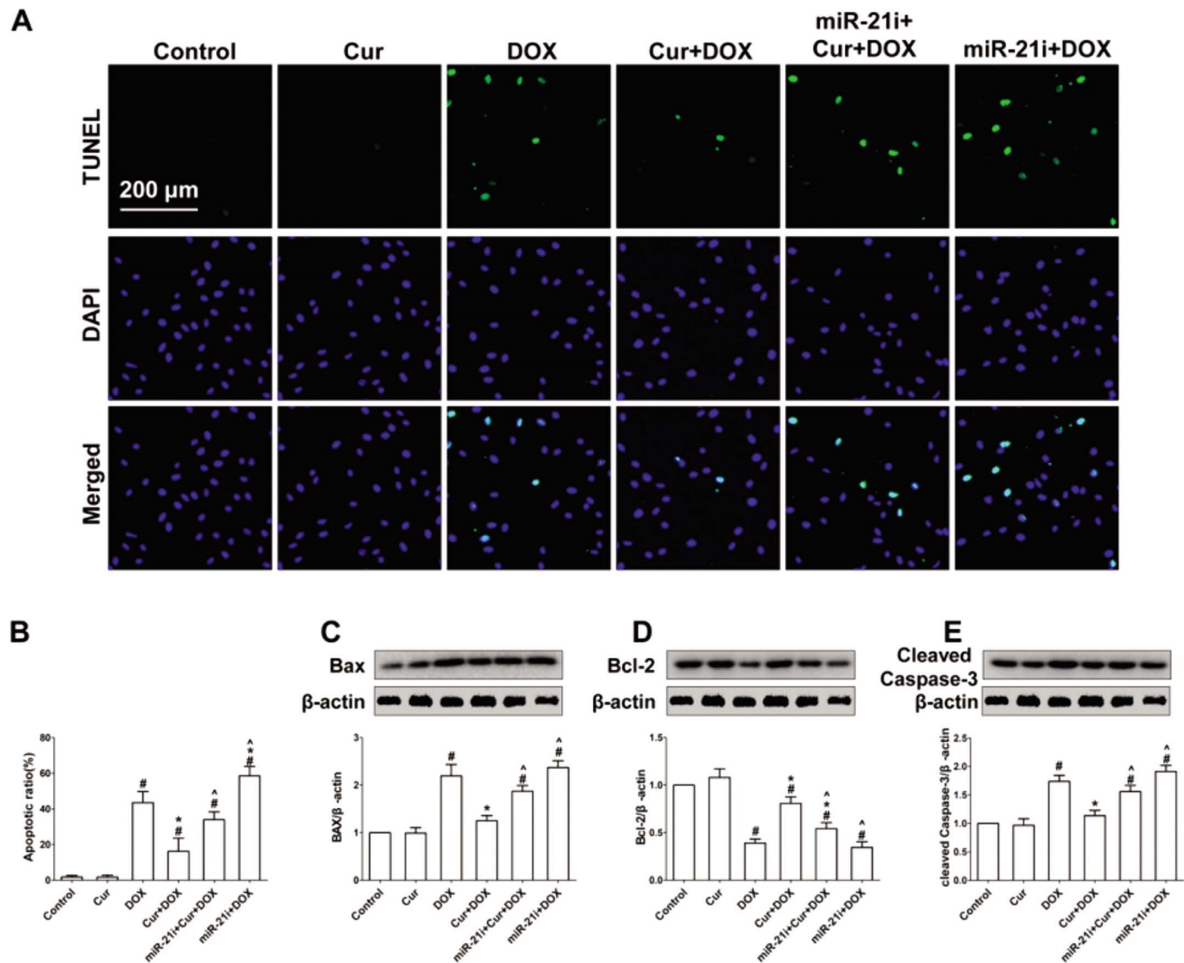


图3 姜黄素预处理通过上调 miR-21 抑制 DOX 处理后心肌细胞凋亡

Fig. 3 Curcumin pretreatment inhibits apoptosis of DOX-treated NRCMs by up-regulating miR-21

注: A: TUNEL 染色; B: 凋亡率; C: Bax 表达量; D: Bcl-2 表达量; E: cleaved Caspase-3 表达量。

n=4, [#]*P* < 0.05, 与 Control 组相比; ^{*}*P* < 0.05, 与 DOX 组相比; [^]*P* < 0.05, 与 Cur+DOX 组相比。

Note: A: TUNEL staining; B: Apoptotic ratio; C: Bax expression; D: Bcl-2 expression; E: cleaved Caspase-3 expression.

n=4, [#]*P* < 0.05, vs. the Control group; ^{*}*P* < 0.05, vs. the DOX group; [^]*P* < 0.05, vs. the Cur+DOX group.

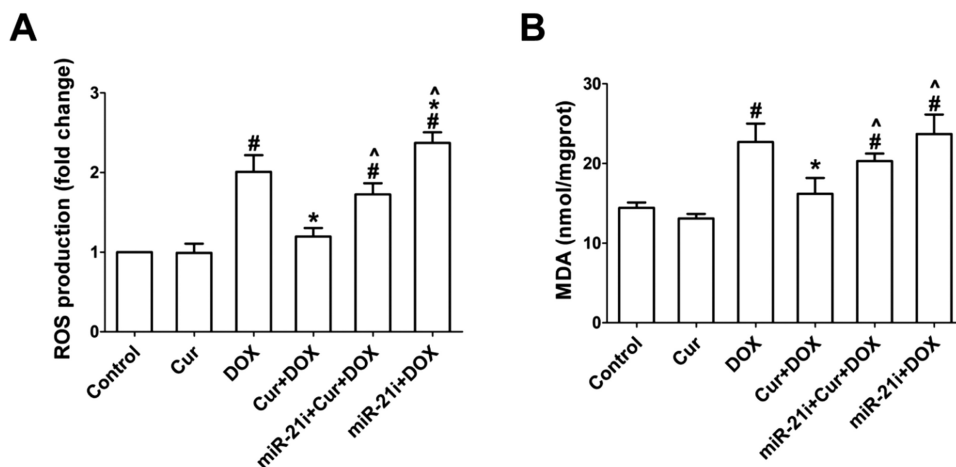


图4 姜黄素预处理通过上调 miR-21 降低 DOX 处理后心肌细胞 ROS 产量和 MDA 含量

Fig. 4 Curcumin pretreatment reduces ROS production and MDA content in DOX-treated NRCMs by up-regulating miR-21

注: A: 心肌细胞活性氧产量; B: 心肌细胞丙二醛含量。n=4, [#]*P* < 0.05, 与 Control 组相比;

^{*}*P* < 0.05, 与 DOX 组相比; [^]*P* < 0.05, 与 Cur+DOX 组相比。

Note: A: The ROS production of NRCMs; B: The MDA content of NRCMs. n=4, [#]*P* < 0.05, vs. the Control group;

^{*}*P* < 0.05, vs. the DOX group; [^]*P* < 0.05, vs. the Cur+DOX group.

Yang 等^[8]证实,姜黄素预处理可以通过激活 SIRT1 信号通路,抑制心肌细胞氧化应激损伤,减轻心肌细胞凋亡,进而改善心肌缺血再灌注损伤。Bai 等^[10]证实,姜黄素可通过上调 NCX 表达水平抑制压力负荷引起的心肌肥厚,改善心脏收缩/舒张功能以及提高血管内皮细胞的完整性。Ma 等^[11]发现,姜黄素能够显著降低异丙肾上腺素处理 4 W 后心肌间质和血管周围胶原沉积量,降低心肌 I/III 型胶原蛋白的表达水平,并抑制血管紧张素 II 诱导的心肌成纤维细胞增殖和分化。特别值得注意的是,充分证据显示姜黄素也可有效改善 DOX 引起的心肌毒性^[13-15]。但其具体分子机制尚未完全阐明。miR 是一类内源性的短链非编码 RNA,可通过降解 mRNA 或翻译抑制调节靶基因的表达^[23]。临床试验和动物实验均表明,miR 是干预 DOX 心脏毒性的关键作用靶点^[23,24]。miR-21 是心血管系统中高度表达的一种 miR。最新研究表明,上调 miR-21 表达可减弱 DOX 引发的心肌细胞凋亡,而抑制 miR-21 表达可加剧心肌细胞凋亡^[17]。在本研究中,我们发现 DOX 处理的原代心肌细胞中 miR-21 的表达量较正常心肌细胞明显降低,而姜黄素预处理可以明显提高 DOX 处理后心肌细胞内 miR-21 的表达。

氧化应激是 DOX 心肌毒性的重要分子机制之一。心磷脂是线粒体内膜的主要脂质之一,而 DOX 对心磷脂具有高度亲和力和力^[25]。故而 DOX 选择性地聚集到线粒体内,进而破坏线粒体氧化还原循环,并产生大量 ROS^[6]。过量 ROS 的产生可结合膜蛋白、酶、脂质、线粒体基因组等诱导其发生氧化损伤^[26]。此外,DOX 也可通过破坏心肌细胞内超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等抗氧化酶活性,增加心肌细胞对 ROS 的敏感性^[27]。以往研究证实,异氟醚可通过激活 miR-21/PDCD4 途径保护心肌细胞免受氧化应激损伤^[28]。在本研究中,我们发现 DOX 处理后心肌细胞内 ROS 产量和脂质过氧化产物 MDA 含量明显增加,而姜黄素预处理可以明显降低 ROS 产量和 MDA 含量。姜黄素抗氧化应激损伤的同时伴随 miR-21 表达的上调,而抑制 miR-21 表达后,心肌细胞内 ROS 产量和 MDA 含量明显增加。以上数据说明,姜黄素通过上调 miR-21 抑制氧化应激损伤缓解 DOX 心肌毒性。

心肌细胞凋亡是 DOX 心肌毒性的另一重要分子机制,而抑制心肌细胞凋亡被证实是缓解 DOX 心肌毒性的重要策略。Abdel-Daim 等^[29]证实,大蒜素可通过抑制细胞凋亡缓解 DOX 引起的急性心肌损伤。Liu 等^[30]证实,z 褪黑素可通过激活 AMPK/PGC1 α 信号通路抑制心肌细胞凋亡,进而缓解 DOX 心肌毒性。在本研究中,我们发现 DOX 处理后心肌细胞凋亡率、Bax 和 cleaved Caspase-3 的表达量明显增高,而 Bcl-2 的表达量明显降低。而姜黄素预处理可明显降低心肌细胞凋亡率、Bax 和 cleaved Caspase-3 的表达量,提高 Bcl-2 的表达量。而抑制 miR-21 表达后,心肌细胞凋亡率、Bax 和 cleaved Caspase-3 的表达量明显增高,而 Bcl-2 的表达量明显降低。以上数据说明,姜黄素通过上调 miR-21 抑制心肌细胞凋亡缓解 DOX 心肌毒性。

综上所述,本研究首次证实 miR-21 是姜黄素缓解 DOX 心肌毒性的新机制,其保护作用的发挥主要与抗氧化应激损伤和抗心肌细胞凋亡密切相关。本研究为姜黄素临床上治疗 DOX 心肌毒性提供了新的依据。

参考文献(References)

- [1] Nafees S, Rashid S, Ali N, et al. Rutin ameliorates cyclophosphamide induced oxidative stress and inflammation in Wistar rats: role of NF κ B/MAPK pathway[J]. Chem Biol Interact, 2015, 231: 98-107
- [2] Alkreathy H, Damanhoury Z A, Ahmed N, et al. Aged garlic extract protects against doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats [J]. Food Chem Toxicol, 2010, 48(3): 951-956
- [3] Ajith T A, Aswathy M S, Hema U. Protective effect of Zingiber officinale roscoe against anticancer drug doxorubicin-induced acute nephrotoxicity[J]. Food Chem Toxicol, 2008, 46(9): 3178-3181
- [4] El-Sayed E, Mansour A M, Abdul-Hameed M S. Thymol and Carvacrol Prevent Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity by Abrogation of Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis in Rats [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2016, 30(1): 37-44
- [5] Mantawy E M, El-Bakly W M, Esmat A, et al. Chrysin alleviates acute doxorubicin cardiotoxicity in rats via suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis[J]. Eur J Pharmacol, 2014, 728: 107-118
- [6] Granados-Principal S, Quiles J L, Ramirez-Tortosa C L, et al. New advances in molecular mechanisms and the prevention of adriamycin toxicity by antioxidant nutrients[J]. Food Chem Toxicol, 2010, 48(6): 1425-1438
- [7] Ghosh S, Banerjee S, Sil P C. The beneficial role of curcumin on inflammation, diabetes and neurodegenerative disease: A recent update[J]. Food Chem Toxicol, 2015, 83: 111-124
- [8] Yang Y, Duan W, Lin Y, et al. SIRT1 activation by curcumin pretreatment attenuates mitochondrial oxidative damage induced by myocardial ischemia reperfusion injury [J]. Free Radic Biol Med, 2013, 65: 667-679
- [9] Wang R, Li J, Zhao Y, et al. Investigating the therapeutic potential and mechanism of curcumin in breast cancer based on RNA sequencing and bioinformatics analysis[J]. Breast Cancer, 2018, 25(2): 206-212
- [10] Bai X J, Hao J T, Wang J, et al. Curcumin inhibits cardiac hypertrophy and improves cardiovascular function via enhanced Na⁺/Ca²⁺ exchanger expression after transverse abdominal aortic constriction in rats[J]. Pharmacol Rep, 2018, 70(1): 60-68
- [11] Ma J, Ma S Y, Ding C H. Curcumin reduces cardiac fibrosis by inhibiting myofibroblast differentiation and decreasing transforming growth factor beta1 and matrix metalloproteinase 9/tissue inhibitor of metalloproteinase 1[J]. Chin J Integr Med, 2017, 23(5): 362-369
- [12] Wang N P, Wang Z F, Tootle S, et al. Curcumin promotes cardiac repair and ameliorates cardiac dysfunction following myocardial infarction[J]. Br J Pharmacol, 2012, 167(7): 1550-1562
- [13] Jain A, Rani V. Mode of treatment governs curcumin response on doxorubicin-induced toxicity in cardiomyoblasts [J]. Mol Cell Biochem, 2018, 442(1-2): 81-96
- [14] Benzer F, Kandemir F M, Ozkaraca M, et al. Curcumin ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity by abrogation of inflammation, apoptosis, oxidative DNA damage, and protein oxidation in rats [J]. J Biochem Mol Toxicol, 2018, 32(2)
- [15] Mohajeri M, Sahebkar A. Protective effects of curcumin against doxorubicin-induced toxicity and resistance: A review [J]. Crit Rev Oncol Hematol, 2018, 122: 30-51
- [16] Viczenczova C, Szeiffova B B, Egan B T, et al. Myocardial

- connexin-43 and PKC signalling are involved in adaptation of the heart to irradiation-induced injury: Implication of miR-1 and miR-21 [J]. *Gen Physiol Biophys*, 2016, 35(2): 215-222
- [17] Tong Z, Jiang B, Wu Y, et al. MiR-21 Protected Cardiomyocytes against Doxorubicin-Induced Apoptosis by Targeting BTG2 [J]. *Int J Mol Sci*, 2015, 16(7): 14511-14525
- [18] Dai B, Li H, Fan J, et al. MiR-21 protected against diabetic cardiomyopathy induced diastolic dysfunction by targeting gelsolin [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2018, 17(1): 123
- [19] Jia Z, Lian W, Shi H, et al. Ischemic Postconditioning Protects Against Intestinal Ischemia/Reperfusion Injury via the HIF-1alpha/miR-21 Axis[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 16190
- [20] Wang X, Hang Y, Liu J, et al. Anticancer effect of curcumin inhibits cell growth through miR-21/PTEN/Akt pathway in breast cancer cell [J]. *Oncol Lett*, 2017, 13(6): 4825-4831
- [21] Zhai M, Liu Z, Zhang B, et al. Melatonin protects against the pathological cardiac hypertrophy induced by transverse aortic constriction through activating PGC-1beta: *In vivo* and *in vitro* studies[J]. *J Pineal Res*, 2017, 63(3): e12433
- [22] 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
- [23] Yin Z, Zhao Y, Li H, et al. miR-320a mediates doxorubicin-induced cardiotoxicity by targeting VEGF signal pathway [J]. *Aging (Albany NY)*, 2016, 8(1): 192-207
- [24] Lai L, Chen J, Wang N, et al. MiRNA-30e mediated cardioprotection of ACE2 in rats with Doxorubicin-induced heart failure through inhibiting cardiomyocytes autophagy[J]. *Life Sci*, 2017, 169: 69-75
- [25] Goormaghtigh E, Chatelain P, Caspers J, et al. Evidence of a complex between adriamycin derivatives and cardiolipin: possible role in cardiotoxicity[J]. *Biochem Pharmacol*, 1980, 29(21): 3003-3010
- [26] Berthiaume J M, Wallace K B. Adriamycin-induced oxidative mitochondrial cardiotoxicity[J]. *Cell Biol Toxicol*, 2007, 23(1): 15-25
- [27] Zhao L, Tao X, Qi Y, et al. Protective effect of dioscin against doxorubicin-induced cardiotoxicity via adjusting microRNA-140-5p-mediated myocardial oxidative stress[J]. *Redox Biol*, 2018, 16: 189-198
- [28] Olson J M, Yan Y, Bai X, et al. Up-regulation of microRNA-21 mediates isoflurane-induced protection of cardiomyocytes [J]. *Anesthesiology*, 2015, 122(4): 795-805
- [29] Abdel-Daim M M, Kilany O E, Khalifa H A, et al. Allicin ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity in rats via suppression of oxidative stress, inflammation and apoptosis [J]. *Cancer Chemother Pharmacol*, 2017, 80(4): 745-753
- [30] Liu D, Ma Z, Di S, et al. AMPK/PGC1alpha activation by melatonin attenuates acute doxorubicin cardiotoxicity via alleviating mitochondrial oxidative damage and apoptosis [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 129: 59-72

(上接第 1822 页)

- [19] D Varvarousis, G Varvarousi, N Iacovidou, et al. The pathophysiologies of asphyxial vs dysrhythmic cardiac arrest: implications for resuscitation and post-event management[J]. *Am J Emerg Med*, 2015, 33(9): 1297-1304
- [20] K M Poon, C T Lui, K L Tsui. Prognostication of out-of-hospital cardiac arrest patients by 3-min end-tidal capnometry level in emergency department[J]. *Resuscitation*, 2016, 102: 80-84
- [21] H Aminiahidasthi, S Shafiee, A Zamani Kiasari, et al. Applications of End-Tidal Carbon Dioxide (ETCO₂) Monitoring in Emergency Department; a Narrative Review[J]. *Emerg (Tehran)*, 2018, 6(1): e5
- [22] A Gouel-Cheron, L De Chaisemartin, F Jonsson, et al. Low end-tidal CO₂ as a real-time severity marker of intra-anaesthetic acute hypersensitivity reactions[J]. *Br J Anaesth*, 2017, 119(5): 908-917
- [23] T Yousuf, T Brinton, G Murtaza, et al. Establishing a gradient between partial pressure of arterial carbon dioxide and end-tidal carbon dioxide in patients with acute respiratory distress syndrome[J]. *J Investig Med*, 2017, 65(2): 338-341
- [24] M S Link, L C Berkow, P. J. Kudenchuk, et al. Part 7: Adult Advanced Cardiovascular Life Support: 2015 American Heart Association Guidelines Update for Cardiopulmonary Resuscitation and Emergency Cardiovascular Care [J]. *Circulation*, 2015, 132(18 Suppl 2): S444-464
- [25] K Lah, M Krizmaric, S Grmec. The dynamic pattern of end-tidal carbon dioxide during cardiopulmonary resuscitation: difference between asphyxial cardiac arrest and ventricular fibrillation/pulseless ventricular tachycardia cardiac arrest[J]. *Crit Care*, 2011, 15(1): R13
- [26] C Sandroni, G Ristagno. End-tidal CO₂ to detect recovery of spontaneous circulation during cardiopulmonary resuscitation: We are not ready yet[J]. *Resuscitation*, 2016, 104(A5-6)
- [27] 郭建, 陆晓晔, 杨倩, 等. ATP 敏感的钾通道相关研究进展[J]. *临床急诊杂志*, 2018, 19(1): 66-69
- [28] J Mu, G Zhang, D Xue, et al. Sudden cardiac death owing to arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy: Two case reports and systematic literature review [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(47): e8808
- [29] F Cittadini, N De Giovanni, M Alcalde, et al. Genetic and toxicologic investigation of Sudden Cardiac Death in a patient with Arrhythmogenic Right Ventricular Cardiomyopathy (ARVC) under cocaine and alcohol effects[J]. *Int J Legal Med*, 2015, 129(1): 89-96
- [30] N Haj Salem, M A Mesrati, R Hadhri, et al. Arrhythmogenic right ventricular dysplasia and sudden death: An autopsy and histological study[J]. *Ann Cardiol Angeiol (Paris)*, 2015, 64(4): 249-254