

[文章编号] 1007-3949(2020)28-03-0201-06

· 实验研究 ·

## 槲皮黄酮通过 AMPK 信号通路保护营养缺乏心肌 H9c2 细胞的损伤

罗丹, 赵劲波, 李玉慈

(恩施土家族苗族自治州中心医院内科心血管病中心, 湖北省恩施市 445000)

[关键词] 槲皮黄酮; 心肌细胞; 线粒体自噬; AMPK 信号通路; 营养缺乏

[摘要] 目的 研究槲皮黄酮对营养缺乏心肌 H9c2 细胞损伤的保护作用, 及其对 AMP 依赖的蛋白激酶 (AMPK) 信号通路的影响。方法 体外培养 H9c2 细胞, 并将其分为对照组、营养缺乏组 (NS 组)、槲皮黄酮组 (NS+Qu 组)、Compound C 组 (NS+CC 组)、Compound C+槲皮黄酮组 (NS+CC+Qu 组)。CCK8 法和 Hoechst 染色法检测 H9c2 细胞增殖活性, 流式细胞术检测 H9c2 细胞凋亡率和线粒体膜电位, ATP 测定分析 H9c2 细胞中 ATP 含量, Western blot 分析 H9c2 细胞中剪切型半胱天冬酶 3 (Cleaved caspase-3)、PTEN 诱导假定激酶 1 (PINK1)、线粒体融合蛋白 2 (MFN2) 和磷酸化 AMP 依赖的蛋白激酶 (p-AMPK) 蛋白的含量。结果 与对照组比较, NS 组 H9c2 细胞增殖活力明显降低 ( $P<0.05$ ), 细胞凋亡率和促凋亡蛋白 Cleaved caspase-3 的含量明显升高 ( $P<0.05$ ), ATP 含量、线粒体膜电位 (AMRE) 和线粒体自噬蛋白 PINK1 的含量明显降低 ( $P<0.05$ )。与 NS 组比较, NS+Qu 组 H9c2 细胞增殖活力明显升高 ( $P<0.05$ ), 细胞凋亡率和 Cleaved caspase-3 蛋白的含量明显降低 ( $P<0.05$ ), ATP 含量、AMRE 值、PINK1 和 p-AMPK 蛋白的含量明显升高 ( $P<0.05$ )。与 NS+Qu 组比较, NS+CC+Qu 组 H9c2 细胞增殖活力及 AMPK 磷酸化水平明显降低 ( $P<0.05$ )。结论 槲皮黄酮可通过调节 AMPK 信号通路活性改善营养缺乏诱导的心肌 H9c2 细胞损伤。

[中图分类号] R5

[文献标识码] A

### Quercetin protects H9c2 cells against nutritional stress-induced injury via AMPK signalling

LUO Dan, ZHAO Jinbo, LI Yuci

(Cardiovascular Medicine Center, Central Hospital of Enshi Autonomous Prefecture, Enshi, Hubei 445000, China)

[KEY WORDS] quercetin; cardiomyocytes; mitophagy; AMPK pathway; nutritional stress

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the protective effects of quercetin on H9c2 cells injury induced by nutritional deprivation, and observe its effect on adenosine 5'-monophosphate (AMP)-activated protein kinase (AMPK) signalling pathway. **Methods** H9c2 cells were cultured in vitro and divided into five groups: control group, nutritional stress group (NS group), quercetin group (NS+Qu group), compound C group (NS+CC group), and quercetin+compound C group (NS+CC+Qu group). The viability of H9c2 cells was determined by CCK8 assay and Hoechst staining. The apoptosis and mitochondrial membrane potentials of H9c2 cells were measured using flow cytometry. ATP content in H9c2 cells were observed. Western blot was used to detect the expression levels of Cleaved caspase-3, PTEN induced putative kinase 1 (PINK1), mitofusin2 (MFN2) and p-AMPK in H9c2 cells. **Results** Compared with control group, the viability of H9c2 cells in NS group was significantly decreased ( $P<0.05$ ), the apoptotic rate and Cleaved caspase-3 expression were greatly increased ( $P<0.05$ ), ATP level, mitochondrial membrane potentials (AMRE) and PINK1 expression were significantly decreased ( $P<0.05$ ). Compared with NS group, the viability of H9c2 cells in NS+Qu group was significantly increased ( $P<0.05$ ), the apoptotic rate and Cleaved caspase-3 expression were greatly decreased ( $P<0.05$ ), ATP level, mitochondrial membrane potentials (AMRE) and PINK1 expression were significantly increased ( $P<0.05$ ). Com-

[收稿日期] 2019-06-23

[修回日期] 2019-09-10

[基金项目] 湖北省恩施土家族苗族自治州科技计划项目 (E20180002)

[作者简介] 罗丹, 本科, 研究方向为心血管系统疾病, E-mail 为 50111125@qq.com。李玉慈, 本科, 研究方向为心血管系统疾病, E-mail 为 1015621814@qq.com。

pared with NS+Qu group, the viability of H9c2 cells and p-AMPK expression level in NS+CC+Qu group was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Quercetin can improve the injury of H9c2 cells via regulating AMPK signaling pathway.

哺乳动物心脏能够维持稳定的收缩,需要提供足够的能量才能保证其功能正常;营养不足会破坏心肌细胞的生理稳态,进而导致心脏疾病的发生<sup>[1]</sup>。葡萄糖是输送到心脏营养素的关键成分,葡萄糖被摄取后,可参与糖酵解、糖原合成、磷酸戊糖途径等多种生物过程<sup>[2]</sup>。葡萄糖供应不足会明显导致心肌细胞营养缺乏损伤,但是,有关心肌细胞在葡萄糖轻度或严重减少情况下的适应性反应的认识是有限的。

心肌细胞中含有丰富的线粒体,对于维持心肌细胞的稳态很重要。为了应对环境的变化,线粒体可以迅速改变能量的来源维持细胞收缩,通过释放参与细胞死亡途径的蛋白质而导致细胞死亡<sup>[3]</sup>。然而,细胞有一个综合的机制以抵消线粒体的损害,一个重要的部分是移除功能失调的线粒体,即线粒体自噬或吞噬<sup>[4]</sup>。在营养缺乏情况下,抑制线粒体自噬会增加心肌细胞的死亡<sup>[5]</sup>。

在营养缺乏状态下,作为主要细胞能量传感器和代谢调节因子的 AMP 活化蛋白激酶(adenosine 5'-monophosphate activated protein kinase, AMPK)被激活。AMPK 激活后,组织细胞会减少三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)的消耗,增高了 ATP 的产量<sup>[6]</sup>。AMPK 在调节线粒体功能中的作用已经得到了广泛研究,其中心肌缺血再灌注过程中,其对心肌细胞线粒体功能的影响是至关重要的<sup>[7-8]</sup>。更重要的是,AMPK 活化程度降低会减少线粒体自噬程度<sup>[9]</sup>。

槲皮黄酮(quercetin, Qu)主要存在于中草药及蔬果中,属于天然黄酮类活性物质(图 1),在抗炎、抗氧化、抗癌等方面效果显著<sup>[10]</sup>;并且研究报道其对糖尿病大鼠心脏功能具有保护作用<sup>[11]</sup>。但是,有关槲皮黄酮对营养缺失诱导的心肌细胞线粒体功能损伤的保护作用尚不清楚。本研究探讨了槲皮黄酮对营养缺失诱导下心肌 H9c2 细胞活力和凋亡的影响,以期对心脏病的预防和治疗寻找新的思路。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要材料

心肌 H9c2 细胞购自武汉巴菲尔生物公司;DMEM 培养基、胎牛血清(FBS)购自 Gibco 公司;槲

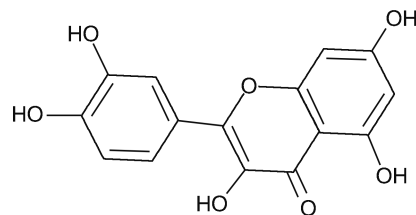


图 1. 槲皮黄酮分子结构式

Figure 1. The structural formula of quercetin

皮黄酮购自美国 Sigma 公司;细胞计数试剂盒(CCK8)购自上海碧云天有限公司;Hoechst 染色试剂盒购自上海 Thermo Fisher Scientific 公司;Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒购自江苏凯基生物有限公司;CellTiter-Glo 2.0 试剂盒购自北京 Promega 公司;Compound C (CC) 购自上海 Selleck 公司;Cleaved caspase-3、PINK1、MFN2、p-AMPK 和  $\beta$ -actin 购自英国 Abcam 公司。流式细胞仪购自 Thermo Fisher Scientific 公司,凝胶成像仪购自 Bio-Rad 公司。

### 1.2 细胞培养与分组

心肌 H9c2 细胞培养于 37 °C、5% CO<sub>2</sub> 的细胞培养箱中,加入含 10% FBS 的 DMEM 培养基,每 2~3 天加入 0.25% 胰酶消化,加入完全培养基终止消化,按照 1:3 比例进行传代培养。取生长状态良好的细胞,随机分为 5 组:对照组采用正常完全培养液培养细胞;营养缺乏(NS)组采用不含葡萄糖和胎牛血清的培养液培养细胞 4 h;槲皮黄酮组(NS+Qu 组)用 40 mmol/L Qu 预先处理细胞 12 h 后,再采用不含葡萄糖和胎牛血清的培养液培养细胞 4 h;Compound C 组(NS+CC 组)用 10  $\mu$ mol/L CC 预先处理细胞 30 min,然后采用不含葡萄糖和胎牛血清的培养液培养细胞 4 h;NS+CC+Qu 组用 40 mmol/L Qu 预先处理细胞 12 h,10  $\mu$ mol/L CC 预先处理细胞 30 min,然后采用不含葡萄糖和胎牛血清的培养液培养细胞 4 h。每组实验重复 3 次。

### 1.3 CCK8 法检测细胞活力

将各组细胞以  $5 \times 10^3$  个/孔接种于 96 孔板培养过夜,每孔加入 CCK8 试剂 10  $\mu$ L,37 °C、5% CO<sub>2</sub> 条件下孵育 1.5 h,酶标仪检测细胞 570 nm 的吸光度(OD)值。

### 1.4 Hoechst 染色检测细胞增殖情况

将各组细胞以  $5 \times 10^4$  个/孔接种于 6 孔板培养 24 h, 收集细胞制备成悬液, 用醋酸-乙醇固定液固定, 0.01 mol/L LPBS 漂洗 5 min, Hoechst 33258 工作液室温染色 15 min, 0.01 mol/L LPBS 漂洗 3 次, 每次 5 min, 最后用甘油与 PBS 比例为 1:9 的混合液封片, 荧光显微镜观察。

### 1.5 流式细胞术检测细胞凋亡率

收集各组细胞, 加入 PBS 清洗 3 次, 加入胰酶, 调整其密度为  $1 \times 10^9$ /L, 吸取 0.5 mL 细胞悬浮液培养 24 h 后, 每孔加入 1.25  $\mu$ L 膜联蛋白 V-FITC 和 10  $\mu$ L 碘化丙啶, 4  $^{\circ}$ C 染色过夜, 流式细胞术分析凋亡率。

### 1.6 ATP 试剂盒检测 ATP 水平

收集各组细胞, 然后裂解细胞、离心、取上清, 采用 BCA 试剂盒检测总蛋白浓度。然后利用 ATP 试剂盒检测各组细胞中 ATP 含量, 采用化学发光仪测定吸光度值。

### 1.7 流式细胞术检测线粒体膜电位

收集各组细胞, 采用  $\Delta\Psi_m$ -敏感染料 (10 nmol/L 四甲基罗达明乙酯) 在 37  $^{\circ}$ C 条件下反应 15 min, 再利用流式细胞仪检测荧光强度。

### 1.8 Western blot

Western blot 分析 H9c2 细胞中剪切型半胱天冬酶 3 (Cleaved caspase-3)、PTEN 诱导假定激酶 1 (PINK1)、线粒体融合蛋白 2 (MFN2) 和磷酸化 AMP 依赖的蛋白激酶 (p-AMPK) 蛋白的含量。收集各组细胞、裂解、测定蛋白浓度。细胞裂解液中加入上样缓冲液, 100  $^{\circ}$ C 加热煮沸 10 min。电泳时, 每孔上样蛋白量为 40  $\mu$ g, 在 12% SDS-PAGE 凝胶中电泳分离, 浓缩胶电泳分离时电压设置为 70 V, 分离胶电泳时电压设置为 120 V; 分离完成后在 275 mA 电流转膜 60 min; 再将 NC 膜用 5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h; 一抗孵育过夜后, 再二抗常温下孵育 1 h, 洗膜 3

次, 显色成像。

### 1.9 统计学分析

采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析, 数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用单因素方差分析检验, 以  $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结 果

### 2.1 槲皮黄酮提升 H9c2 细胞增殖活性

营养缺乏 (NS) 4 h 后, H9c2 细胞增殖活力明显降低 ( $P < 0.05$ )。采用不同浓度槲皮黄酮 (Qu) 预处理 H9c2 细胞 12 h, 发现其可以明显诱导营养缺乏的 H9c2 细胞的增殖活力 ( $P < 0.05$ ); 槲皮黄酮浓度在 20 ~ 80 mmol/L 范围内, 随着药物浓度升高, H9c2 细胞的增殖活力也随着增高; 而在 120 mmol/L 浓度点则有降低的趋势 (表 1), 后续实验槲皮黄酮浓度固定为 40 mmol/L。

Hoechst 染色发现, NS 组 Hoechst 阳性细胞减少, 而 NS+Qu 组 Hoechst 阳性细胞相对 NS 组则增多 (图 2)。

表 1. 槲皮黄酮对 H9c2 细胞活力的影响 ( $n=3$ )

Table 1. Effects of quercetin on the viability of H9c2 cells ( $n=3$ )

分组	浓度	细胞相对活力
对照组		1.00 $\pm$ 0.05
NS 组		0.54 $\pm$ 0.04 <sup>a</sup>
NS+Qu 组	20 mmol/L	0.69 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>
	40 mmol/L	0.81 $\pm$ 0.04 <sup>b</sup>
	80 mmol/L	0.83 $\pm$ 0.05 <sup>b</sup>
	120 mmol/L	0.76 $\pm$ 0.03 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与 NS 组比较。

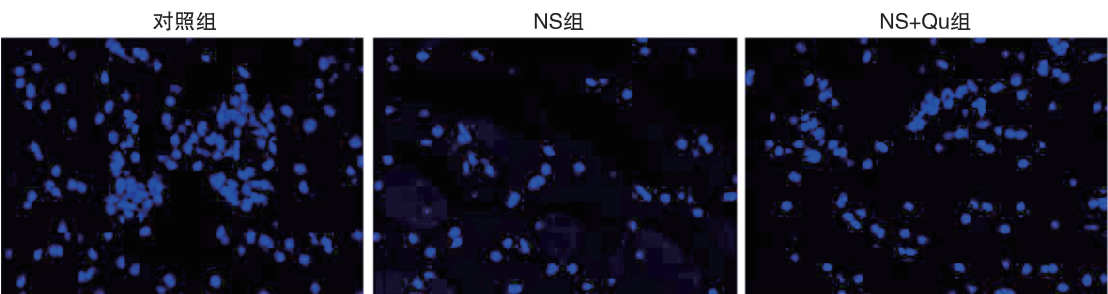


图 2. 槲皮黄酮对 H9c2 细胞增殖的影响 (Hoechst 染色, 200 $\times$ )

Figure 2. Effects of quercetin on the proliferation of H9c2 cells (Hoechst, 200 $\times$ )

## 2.2 槲皮黄酮降低 H9c2 细胞凋亡

与对照组比较, NS 组 H9c2 细胞中促凋亡蛋白 Cleaved caspase-3 的含量明显升高, 同时细胞凋亡率也明显增高 ( $P < 0.05$ ); 与 NS 组比较, NS+Qu 组 H9c2 细胞中促凋亡蛋白 Cleaved caspase-3 的含量明显降低, 同时细胞凋亡数也明显减少 ( $P < 0.05$ , 图 3 和图 4)。

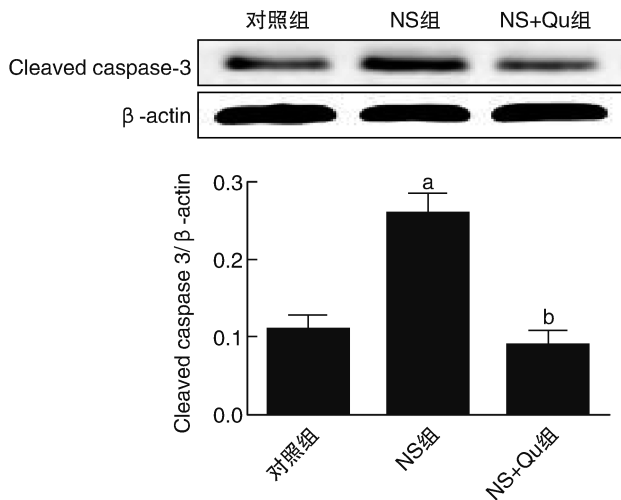


图 3. 槲皮黄酮对 Cleaved caspase-3 蛋白表达的影响 ( $n=3$ )  
a 为  $P < 0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与 NS 组比较。

Figure 3. Effect of quercetin on the expression of Cleaved caspase-3 ( $n=3$ )

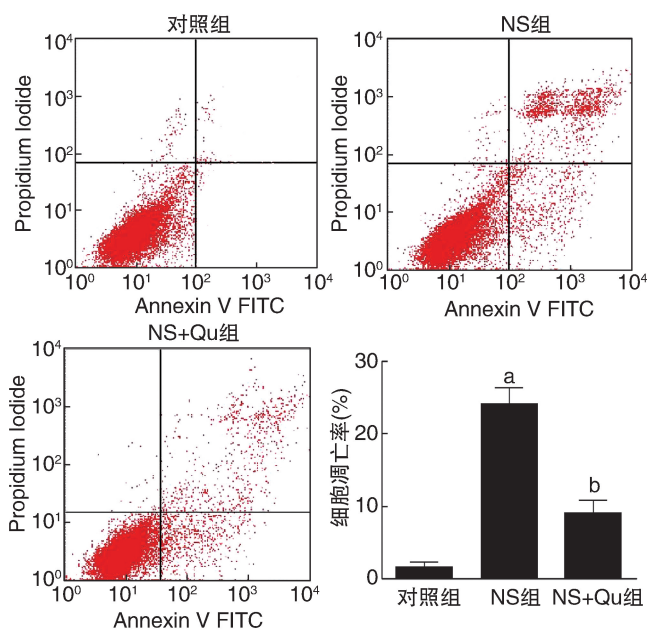


图 4. 槲皮黄酮对 H9c2 细胞凋亡的影响 ( $n=3$ ) a 为  $P < 0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与 NS 组比较。

Figure 4. Effects of quercetin on the apoptosis of H9c2 cells ( $n=3$ )

## 2.3 槲皮黄酮改善 H9c2 细胞线粒体功能

与对照组比较, NS 组 H9c2 细胞中 ATP 水平和线粒体膜电压 (AMRE) 明显降低, 同时线粒体自噬蛋白 PINK1 的含量也明显降低 ( $P < 0.05$ ), 而 MFN2 蛋白的含量没有明显变化 ( $P > 0.05$ ); 与 NS 组比较, NS+Qu 组 H9c2 细胞中 ATP 水平和线粒体膜电压 (AMRE) 明显升高, 同时线粒体自噬蛋白 PINK1 的含量也明显增高 ( $P < 0.05$ ), 而 MFN2 蛋白的含量没有明显变化 ( $P > 0.05$ , 表 2、图 5)。

表 2. 槲皮黄酮对 ATP 水平和 AMRE 的影响 ( $n=3$ )

Table 2. Effect of quercetin on the ATP level and AMRE ( $n=3$ )

分组	ATP 相对水平	AMRE 相对值
对照组	1.00±0.05	1.00±0.04
NS 组	0.21±0.04 <sup>a</sup>	0.63±0.02 <sup>a</sup>
NS+Qu 组	0.62±0.03 <sup>b</sup>	1.24±0.03 <sup>b</sup>

a 为  $P < 0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与 NS 组比较。

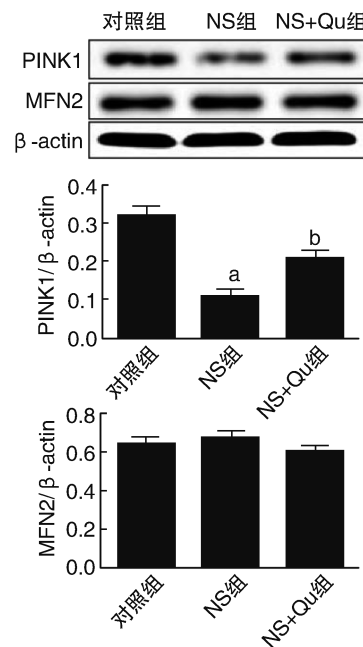


图 5. 槲皮黄酮对 H9c2 细胞线粒体功能的影响 ( $n=3$ )

a 为  $P < 0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与 NS 组比较。

Figure 5. Effects of quercetin on the mitochondria function of H9c2 cells ( $n=3$ )

## 2.4 槲皮黄酮通过 AMPK 信号通路改善 H9c2 细胞损伤

与 NS 组比较, NS+Qu 组 H9c2 细胞 p-AMPK 蛋白的含量明显升高 ( $P < 0.05$ , 图 6)。进一步检测了



槲皮黄酮和 AMPK 抑制剂 (CC) 对 H9c2 细胞增殖活力的影响 (表 3), 提示 NS+Qu 组 H9c2 细胞增殖活性相对于 NS 组明显升高, 而 NS+CC+Qu 组 H9c2 细胞增殖活性相对于 NS+Qu 组则明显降低 ( $P < 0.05$ )。NS+CC+Qu 组 H9c2 细胞 AMPK 磷酸化水平相对于 NS+Qu 组则明显降低 ( $P < 0.05$ , 图 7)。由此说明, 槲皮黄酮可通过上调 AMPK 信号通路改善 H9c2 细胞损伤。

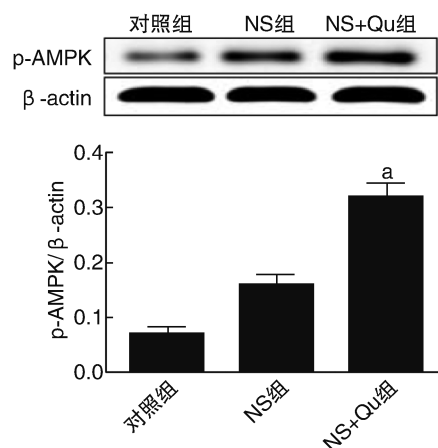


图 6. 槲皮黄酮对 p-AMPK 蛋白表达的影响 ( $n=3$ ) a 为  $P < 0.05$ , 与 NS 组比较。

Figure 6. Effects of quercetin on the expression of p-AMPK protein ( $n=3$ )

表 3. Compound C 对 H9c2 细胞增殖的影响 ( $n=3$ )

Table 3. Effect of Compound C on the proliferation of H9c2 cells ( $n=3$ )

分组	细胞相对活力
对照组	1.00±0.04
NS 组	0.56±0.03 <sup>a</sup>
NS+Qu 组	0.76±0.05 <sup>b</sup>
NS+CC 组	0.54±0.03
NS+Qu+CC 组	0.65±0.04 <sup>c</sup>

a 为  $P < 0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与 NS 组比较; c 为  $P < 0.05$ , 与 NS+Qu 组比较。

### 3 讨论

心肌细胞的功能稳态依赖于营养的充分供应, 葡萄糖、脂肪酸和氨基酸都可以作为心肌细胞中的营养素。通常情况下, 心肌细胞主要依靠脂肪酸氧化来维持代谢稳态, 而葡萄糖也是其代谢稳态的主要组成部分, 因为它是用于 DNA、RNA、蛋白质和脂质合成主要的能量来源<sup>[12]</sup>。然而, 人们对心肌细胞在葡萄糖缺乏状态下, 引起营养不良适应性反应的

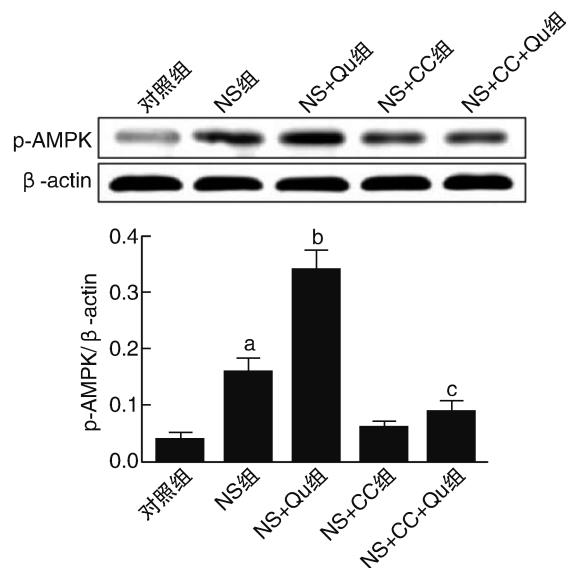


图 7. Compound C 对 p-AMPK 蛋白表达的影响 ( $n=3$ )

a 为  $P < 0.05$ , 与对照组比较; b 为  $P < 0.05$ , 与 NS 组比较; c 为  $P < 0.05$ , 与 NS+Qu 组比较。

Figure 7. Effects of Compound C on the expression of p-AMPK protein ( $n=3$ )

认识有限。槲皮黄酮在心脏保护和调节能量稳态中的作用已得到广泛的研究<sup>[11-13]</sup>。但是, 槲皮黄酮改善能量缺乏诱导的心肌细胞损伤机制还有待进一步阐明。因此, 通过槲皮黄酮的药理作用, 研究心肌细胞对葡萄糖缺乏引起的营养不良反应将很有意义。

在极度葡萄糖缺乏的情况下, 心肌细胞会死亡<sup>[14]</sup>。因此, 实验首先研究了槲皮黄酮对心肌细胞生存能力的影响, 发现槲皮黄酮能明显增强葡萄糖缺乏心肌细胞的增殖活性。早期研究表明, 细胞凋亡与葡萄糖剥夺引起的心肌细胞死亡有关<sup>[15]</sup>。实验结果发现槲皮黄酮能明显抑制葡萄糖缺乏诱导的心肌细胞凋亡, 从而保护了 H9c2 细胞免受营养缺乏引起的损伤。

心肌细胞主要依赖于 ATP 来作为能量来源, 随着营养缺乏细胞内 ATP 生成减少, 心肌细胞的凋亡机制将被激活。正常情况下, 心脏中生成 >95% 的 ATP 主要来源于线粒体中的氧化磷酸化<sup>[2]</sup>。因此, 维持线粒体功能对于心肌细胞适应能量缺乏是非常重要的。通过测量细胞内的 ATP 水平和线粒体膜电位, 发现槲皮黄酮可以显著改善因葡萄糖剥夺而引起的 H9c2 细胞线粒体功能障碍。在心肌细胞中, 线粒体功能主要由线粒体融合/裂变和线粒体自噬调节, 自噬体可对线粒体进行选择性的隔离和降解<sup>[16]</sup>。实验发现槲皮黄酮能够诱导 H9c2 细胞中

ATP 水平和线粒体膜电位的升高,还能促使线粒体自噬相关蛋白 PINK1 的含量增加。

AMPK 是心脏细胞能量代谢状况的监测因子,当细胞能量耗尽时,AMPK 信号通路激活可恢复细胞能量稳态<sup>[17]</sup>。心肌细胞在葡萄糖剥夺环境中,AMPK 被激活引起组织细胞反应,保护细胞免于死亡<sup>[18]</sup>。此外,葡萄糖剥夺期间心脏自噬是一种依赖 AMPK 和 mTOR 的适应性机制<sup>[19]</sup>。因此,实验检测了槲皮黄酮对葡萄糖剥夺的 H9c2 细胞中 AMPK 信号传导的影响,发现槲皮黄酮能进一步增强葡萄糖缺乏诱导的 H9c2 细胞中 AMPK 的磷酸化水平。当 AMPK 抑制剂 Compound C 阻断槲皮黄酮对 AMPK 磷酸化的激活作用时,槲皮黄酮对葡萄糖剥夺诱导的 H9c2 细胞损伤的保护作用就会减弱,表明槲皮黄酮对 H9c2 细胞损伤的保护作用取决于 AMPK 的活性。

综上所述,实验主要研究了槲皮黄酮促使 H9c2 细胞在葡萄糖缺乏引起的营养不良条件下的存活机制。本文发现槲皮黄酮是通过激活 AMPK 信号传导来促进细胞存活,这可能是心肌细胞对营养不良的一种新的适应性反应。

#### [参考文献]

- [1] Gibb AA, Lorkiewicz PK, Zheng YT, et al. Integration of flux measurements to resolve changes in anabolic and catabolic metabolism in cardiac myocytes [J]. *Biochem J*, 2017, 474(16): 2785-2801.
- [2] Noordali H, Loudon BL, Frenneaux MP, et al. Cardiac metabolism-a promising therapeutic target for heart failure [J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 182(5): 95-114.
- [3] Vestring S, Fernández-Morales JC, Méndez-López I, et al. Tight mitochondrial control of calcium and exocytotic signals in chromaffin cells at embryonic life [J]. *Pflugers Arch*, 2015, 467(12): 2589-2601.
- [4] Roberts RF, Tang MY, Fon EA, et al. Defending the mitochondria: the pathways of mitophagy and mitochondrial-derived vesicles [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2016, 79(4): 427-436.
- [5] Marques-Aleixo I, Santos-Alves E, Torrella JR, et al. Exercise and doxorubicin treatment modulate cardiac mitochondrial quality control signaling [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2018, 18(1): 43-55.
- [6] Qi D, Young LH. AMPK: energy sensor and survival mechanism in the ischemic heart [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2015, 26(7): 422-429.
- [7] Herzig S, Shaw RJ, Huang D. AMPK: guardian of metabolism and mitochondrial homeostasis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2018, 19(10): 121-135.
- [8] Zaha VG, Qi D, Su KN, et al. AMPK is critical for mitochondrial function during reperfusion after myocardial ischemia [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2016, 91(11): 104-113.
- [9] Tian W, Li W, Chen Y, et al. Phosphorylation of ULK1 by AMPK regulates translocation of ULK1 to mitochondria and mitophagy [J]. *FEBS Lett*, 2015, 589: 1847-1854.
- [10] Abdelhalim MAK, Moussa SAA, Qaid HAY. The protective role of quercetin and arginine on gold nanoparticles induced hepatotoxicity in rats [J]. *Int J Nanomedicine*, 2018, 13(5): 2821-2825.
- [11] Roslan J, Giribabu N, Karim K, et al. Quercetin ameliorates oxidative stress, inflammation and apoptosis in the heart of streptozotocin-nicotinamide-induced adult male diabetic rats [J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 86(7): 570-582.
- [12] Shin S, Buel GR, Wolgamott L, et al. ERK2 mediates metabolic stress response to regulate cell fate [J]. *Mol Cell*, 2015, 59(5): 382-398.
- [13] Mao W, Schuler MA, Berenbaum MR, et al. Disruption of quercetin metabolism by fungicide affects energy production in honey bees [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2017, 114(10): 130-144.
- [14] Troncoso R, Vicencio JM, Parra V, et al. Energy-preserving effects of IGF-1 antagonize starvation-induced cardiac autophagy [J]. *Cardiovasc Res*, 2012, 93(6): 320-329.
- [15] Li D, Wang J, Hou J, et al. Ginsenoside Rg1 protects starving H9c2 cells by dissociation of Bcl-2-Beclin1 complex [J]. *BMC Complement Altern Med*, 2016, 16(11): 146-153.
- [16] Song M, Dorn GW. Mitochondrial dysfunction: noncanonical functioning of dynamism factors in static mitochondria of the heart [J]. *Cell Metab*, 2015, 21(9): 195-205.
- [17] Nagendran J, Waller TJ, Dyck JR. AMPK signalling and the control of substrate use in the heart [J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2013, 366(4): 180-193.
- [18] Qi D, Young LH. AMPK: energy sensor and survival mechanism in the ischemic heart [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2015, 26(7): 422-429.
- [19] Salt IP, Hardie DG. AMP-activated protein kinase: an ubiquitous signaling pathway with key roles in the cardiovascular system [J]. *Circ Res*, 2017, 120(6): 1825-1841.

(此文编辑 朱雯霞)