

本文引用: 黄紫霞, 吴明月, 许峰, 等. 柴胡皂苷 A 通过抑制氧化应激和铁死亡减轻过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞损伤 [J]. 中国动脉硬化杂志, 2022, 30(1): 43-48.

[文章编号] 1007-3949(2022)30-01-0043-06

· 实验研究 ·

柴胡皂苷 A 通过抑制氧化应激和铁死亡减轻过氧化氢诱导的人脐静脉内皮细胞损伤

黄紫霞¹, 吴明月¹, 许峰¹, 龚俊¹, 熊韬¹, 王晞之², 王德明¹

(1. 南华大学衡阳医学院附属第二医院麻醉科, 湖南省衡阳市 421001; 2. 南华大学船山学院, 湖南省衡阳市 421001)

[关键词] 柴胡皂苷 A; 氧化应激; 人脐静脉内皮细胞; 铁死亡

[摘要] **目的** 探讨柴胡皂苷 A 对过氧化氢(H₂O₂)诱导的人脐静脉内皮细胞(HUVEC)氧化应激和铁死亡的影响。**方法** 利用 H₂O₂ 诱导建立 HUVEC 损伤模型, 设置对照组、H₂O₂ 组及柴胡皂苷 A 低、中、高剂量组。用 CCK-8 法检测细胞的存活率; 试剂盒法检测细胞内丙二醛(MDA)、谷胱甘肽(GSH)水平和超氧化物歧化酶(SOD)活性; qRT-PCR 法测定谷胱甘肽过氧化物酶 4(GPX4)、长链酯酰辅酶 A 合成酶 4(ACSL4)的 mRNA 含量; Western blot 法检测 GPX4、ACSL4 的蛋白表达。**结果** 与对照组相比, H₂O₂ 组 HUVEC 存活率显著下降($P < 0.05$), GSH 水平、SOD 活性显著降低($P < 0.05$), MDA 水平显著升高($P < 0.05$), GPX4 mRNA 及蛋白表达显著降低($P < 0.05$), ACSL4 mRNA 及蛋白表达显著升高($P < 0.05$); 与 H₂O₂ 组相比, 柴胡皂苷 A 能呈剂量依赖性地提高 HUVEC 存活率, 抑制氧化应激, 提高 GSH 水平和 SOD 活性($P < 0.05$), 降低 MDA 水平($P < 0.05$); 此外, 柴胡皂苷 A 呈浓度依赖性抑制铁死亡, 上调 GPX4 mRNA 及蛋白的表达($P < 0.05$), 降低 ACSL4 mRNA 及蛋白的表达($P < 0.05$)。**结论** 柴胡皂苷 A 对 H₂O₂ 诱导的 HUVEC 氧化应激和铁死亡有拮抗作用。

[中图分类号] R363; R5

[文献标识码] A

Saikosaponin A inhibits oxidative stress and ferroptosis and reduces the injury of human umbilical vein endothelial cells induced by hydrogen peroxide

HUANG Zixia¹, WU Mingyue¹, XU Feng¹, GONG Jun¹, XIONG Tao¹, WANG Xizhi², WANG Deming¹

(1. The Second Affiliated Hospital, Hengyang Medical School, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China; 2. Chuanshan College, University of South China, Hengyang, Hunan 421001, China)

[KEY WORDS] saikosaponin A; oxidative stress; human umbilical vein endothelial cells; ferroptosis

[ABSTRACT] **Aim** To investigate the effect of saikosaponin A on oxidative stress and ferroptosis of human umbilical vein endothelial cells (HUVEC) induced by hydrogen peroxide (H₂O₂). **Methods** The oxidative injury model in HUVEC was established and cells were divided into control group, model group, saikosaponin A low-dose, medium-dose and high-dose groups. CCK-8 assay was used to detect cell viability. The levels of malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH) and superoxide dismutase (SOD) were detected by the kit assay. qRT-PCR was used to detect the mRNA levels of glutathione peroxidase 4 (GPX4) and acyl-CoA synthetase long chain family member 4 (ACSL4). The protein expression of GPX4 and ACSL4 were detected by Western blot. **Results** Compared with the control group, the survival rate of HUVEC, GSH level and SOD activity in H₂O₂ group were significantly decreased ($P < 0.05$), the level of MDA was significantly increased ($P < 0.05$), the expressions of GPX4 mRNA and protein were significantly decreased ($P < 0.05$), the expressions of ACSL4 mRNA and protein were increased ($P < 0.05$). Compared with the model group, saikosaponin A dose-dependently increased the survival rate of HUVEC, inhibited oxidative stress, improved the activity of SOD and GSH level ($P < 0.05$), and decreased the level of MDA ($P < 0.05$); In addition, saikosaponin A inhibited ferroptosis

[收稿日期] 2021-06-01

[修回日期] 2021-09-30

[基金项目] 湖南省卫健委资助项目(B2016134)

[作者简介] 黄紫霞, 硕士研究生, 研究方向为围术期器官功能保护, E-mail 为 huangzixia66@163.com。通信作者王德明, 博士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向为围术期器官功能保护, E-mail 为 wdm1998@163.com。

in a concentration-dependent manner, up-regulated the expression of GPX4 mRNA and protein ($P < 0.05$), and decreased the expression of ACSL4 mRNA and protein ($P < 0.05$).

Conclusion Saikosaponin A can protect HUVEC from oxidative stress and ferroptosis induced by H_2O_2 .

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)是世界范围内心血管疾病死亡和发病的主要原因^[1]。它的特点是血管内皮损伤、脂质堆积形成动脉粥样硬化斑块,导致血流供应减少,增加急性心肌梗死等不良心血管事件风险^[2-3]。内皮功能障碍是动脉粥样硬化斑块发展的始动环节和恶化因素^[4]。氧化应激在内皮功能障碍的发病机制中起主要作用^[5],通过改变内皮细胞氧化还原调节转录因子和信号转导导致内皮功能障碍,从而引起白细胞黏附和血管内皮屏障功能损害,导致 As 发生^[6-7]。因此,积极探寻并研究具有抗氧化活性的药物以及机制可能为防治 As 提供关键的靶点^[8]。

与其他细胞死亡模式相比,铁死亡依赖于铁积累和脂质过氧化反应而表现出特定的生物学和形态学特征^[9]。当细胞的内源性抗氧化状态受到损害时,会触发铁死亡,导致有毒的脂质活性氧(reactive oxygen species, ROS)积累,并破坏膜结构。因此,氧化应激和细胞的抗氧化水平是诱导这种新型细胞死亡脂质过氧化的重要调节因素^[10]。研究表明^[11-12]铁死亡是内皮细胞功能障碍的重要原因,这为 As 治疗策略的发展提供了新的方向。

柴胡皂苷 A 是从广泛应用的中药柴胡干根中分离得到的三萜皂苷,具有多种药理作用,如抗炎、抗氧化作用^[13-14]。柴胡皂苷 A 可以通过抑制 Toll 样受体 4 (toll-like receptor 4, TLR4) 转位到脂质筏^[15]中,随后抑制脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导的人内皮细胞氧化应激和炎症。在吸烟诱导的肺炎模型中,柴胡皂苷 A 可以显著减低髓过氧化物酶(myeloperoxidase, MPO)和丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量,抗氧化效应明显^[16]。虽然有研究表明柴胡皂苷 A 具有抗炎和抗氧化作用,但尚未见聚焦于柴胡皂苷 A 对氧化应激诱导的内皮功能障碍的影响。本研究通过采用过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2)建立人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)氧化应激损伤模型,探讨柴胡皂苷 A 对氧化应激诱导内皮功能障碍的影响,观察柴胡皂苷 A 是否有抑制内皮细胞氧化应激和铁死亡的作用。

1 材料和方法

1.1 主要试剂

柴胡皂苷 A、谷胱甘肽(glutathione, GSH)检测试剂盒购自美国 Sigma-Aldrich 公司,超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(MDA)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所,胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、高糖 DMEM 培养基、青霉素+链霉素双抗、0.25% 胰酶购自美国 Gibco 公司, CCK-8 购自美国 GLPBIO 公司, Trizol 试剂购自北京索莱宝科技有限公司,反转录试剂盒、荧光定量试剂盒购自日本 TaKaRa 公司,兔抗谷胱甘肽过氧化物酶 4 (glutathione peroxidase 4, GPX4)、长链酰辅酶 A 合成酶 4 (acyl-CoA synthetase long chain family member 4, ACSL4) 抗体购自英国 Abcam 公司, RIPA 裂解液购自上海士锋生物科技有限公司,辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗购自武汉博士德生物工程有限公司,增强型化学发光试剂(enhanced chemiluminescence, ECL)购自杭州弗德生物技术公司。

1.2 细胞培养和细胞处理

HUVEC(购自中国科学院上海细胞库)在含有 10% 胎牛血清、青霉素+链霉素双抗的高糖 DMEM 培养基中培养,置于 37 °C、5% CO_2 的培养箱中。每 2 天更换一次培养基,细胞传代培养。将正常的 HUVEC 随机分为 5 组:对照组、 H_2O_2 组及柴胡皂苷 A 低、中、高剂量组。对照组在正常生长条件下培养, H_2O_2 组在含有 0.5 mmol/L H_2O_2 培养基中孵育 24 h,柴胡皂苷 A 低、中、高剂量组分别用不同浓度的柴胡皂苷 A (3、6、12 $\mu\text{mol/L}$) 预处理 12 h,再向其添加 0.5 mmol/L H_2O_2 培养基孵育 24 h。

1.3 CCK-8 检测细胞增殖

将各组细胞以 1.0×10^4 个/孔接种于 96 孔板中,每组 6 个复孔,将细胞在 5% CO_2 培养箱中于 37 °C 培养 24 h 后,向每孔加入 CCK-8 溶液后,在培养箱中孵育 3 h,用酶标仪在 450 nm 处检测对应的吸光度值,并计算细胞存活率:细胞存活率(%) = [(实验孔 A 值 - 空白孔 A 值) / (对照孔 A 值 - 空白孔 A 值)] $\times 100\%$ 。

1.4 细胞内 MDA、GSH、SOD 测定

将细胞接种于 6 孔板中培养,待细胞长到 80% 融合,按照 1.2 分组方法操作后,分别根据每个试剂盒说明书操作步骤,检测细胞内 MDA、GSH 水平和 SOD 活性。

1.5 qRT-PCR 法检测细胞内 GPX4、ACSL4 mRNA 的表达

采用 Trizol 试剂从 HUVEC 中提取总 RNA,使用反转录试剂盒合成 cDNA,作为荧光定量模板。所有样品均以 GAPDH 为内参,结果用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计数相对表达量。引物序列如下:GPX4 上游引物为 5'-GAGGCAAGACCGAAGTAAACTAC-3',下游引物为 5'-CCGAAGTGGTTACACGGGAA-3';ACSL4 上游引物为 5'-CATCCCTGGAGCAGATACTCT-3',下游引物为 5'-TCACTTAGGATTTCCCTGGTCC-3';内参 GAPDH 上游引物为 5'-GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT-3',下游引物为 5'-GGCTGTTGTCATACTTCTCATGG-3'。

1.6 Western blot 法检测细胞内 GPX4、ACSL4 蛋白的表达

收集各组 HUVEC,加入 RIPA 蛋白裂解液提取细胞总蛋白,取蛋白样品进行十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳反应,转膜、封闭,加入 GPX4、ACSL4 与内参 GAPDH 一抗,于 4 °C 孵育过夜后,使用 TBST 洗涤,加入相应的二抗室温孵育 1 h 后使用 TBST 洗涤,蛋白条带以 ECL 试剂盒显色,然后以凝胶成像系统进行拍照保存,Image J 软件分析各条带灰度值。

1.7 统计分析

应用 SPSS 26.0 软件进行数据分析,计量数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同浓度 H_2O_2 对 HUVEC 存活率的影响

为了确定最适宜的氧化应激刺激条件,我们用不同浓度的 H_2O_2 (0.1 ~ 2 mmol/L) 处理 HUVEC,并采用 CCK-8 实验检测 HUVEC 的活力。结果显示,在 0.1 ~ 2 mmol/L 范围内, H_2O_2 可以显著降低 HUVEC 活力(图 1)。当浓度为 0.5 mmol/L 时,其细胞存活率为(52.59% ± 0.83%),显著低于对照组。同时为了保证有足够活力的细胞进行后续实验,本实验选择 0.5 mmol/L H_2O_2 干预细胞 24 h^[17] 作为氧

化应激刺激条件。

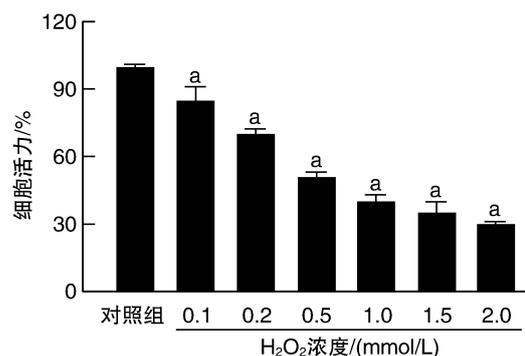


图 1. 不同浓度 H_2O_2 对 HUVEC 存活率的影响 ($n=6$)

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较。

Figure 1. Effects of different concentrations of H_2O_2 on the cell viability of HUVEC ($n=6$)

2.2 柴胡皂苷 A 对 H_2O_2 诱导的 HUVEC 存活率的影响

为了评估柴胡皂苷 A 预处理是否能保护 HUVEC 免受氧化应激损伤的影响,我们采取 CCK-8 实验来评估柴胡皂苷 A 对 HUVEC 活力的影响。结果显示 0.5 mmol/L H_2O_2 干预细胞 24 h 后,细胞存活率显著下降,而柴胡皂苷 A (3、6、12 μ mol/L) 预处理 12 h^[15] 可减轻 H_2O_2 诱导的损伤,并呈剂量依赖性地改善氧化应激后的细胞存活率(图 2)。

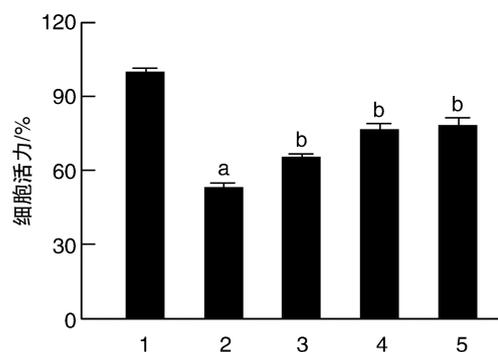


图 2. 柴胡皂苷 A 对 H_2O_2 诱导的 HUVECs 存活率的影响 ($n=6$)

1 为对照组,2 为 H_2O_2 组,3 ~ 5 依次为柴胡皂苷 A 低、中、高剂量组。

a 为 $P < 0.05$, 与对照组比较; b 为 $P < 0.05$, 与 H_2O_2 组比较。

Figure 2. Effect of saikosaponin A on the cell viability of H_2O_2 -induced HUVEC ($n=6$)

2.3 柴胡皂苷 A 对 H_2O_2 诱导的 HUVEC 中 MDA、GSH 水平和 SOD 活性的影响

为了探讨柴胡皂苷 A 对 H_2O_2 诱导的 HUVEC

氧化应激损伤的影响,我们分别检测了细胞内MDA、GSH的水平 and SOD活性。结果显示在H₂O₂刺激下,细胞内GSH水平和SOD活性降低,MDA水平升高。而柴胡皂苷A预处理后,细胞内GSH水平和SOD活性升高,MDA水平降低(表1)。

2.4 柴胡皂苷A对H₂O₂诱导的HUVEC中GPX4和ACSL4的mRNA表达的影响

为了研究柴胡皂苷A预处理是否影响铁死亡相关基因GPX4和ACSL4的mRNA表达,我们采用qRT-PCR检测GPX4和ACSL4的mRNA表达。结果显示在H₂O₂刺激下GPX4 mRNA表达下调,ACSL4 mRNA表达上调;柴胡皂苷A能逆转H₂O₂引起的GPX4和ACSL4 mRNA表达的变化(图3)。

表1. 柴胡皂苷A对H₂O₂诱导的HUVEC中MDA、GSH水平和SOD活性的影响(n=3)

Table 1. Effects of saikosaponin A on levels of MDA, GSH and SOD in H₂O₂-induced HUVEC(n=3)

分组	MDA/ ($\mu\text{mol/g}$)	GSH/ ($\mu\text{mol/g}$)	SOD/ (U/mg)
对照组	4.11±0.23	17.19±2.56	45.01±1.43
H ₂ O ₂ 组	12.01±1.04 ^a	10.37±2.19 ^a	32.18±2.09 ^a
柴胡皂苷A低剂量组	9.23±0.96 ^b	13.44±1.76 ^b	36.64±1.26 ^b
柴胡皂苷A中剂量组	7.38±1.09 ^b	15.98±0.81 ^b	40.08±0.93 ^b
柴胡皂苷A高剂量组	6.86±0.87 ^b	16.06±1.63 ^b	40.86±1.84 ^b

注:a为P<0.05,与对照组比较;b为P<0.05,与H₂O₂组比较。

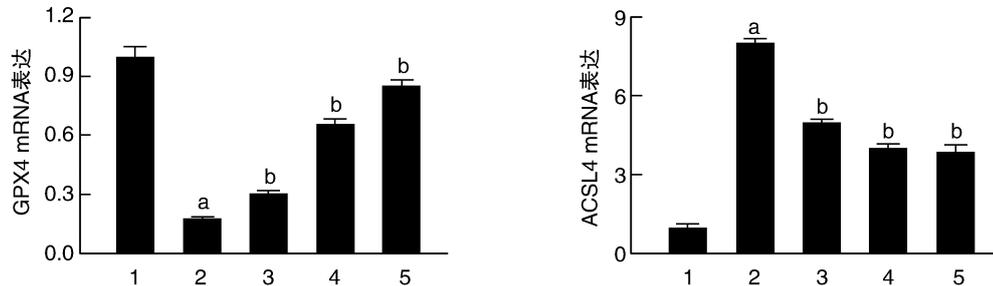


图3. 柴胡皂苷A对H₂O₂诱导的HUVEC中GPX4和ACSL4 mRNA表达的影响(n=3)

1为对照组,2为H₂O₂组,3~5依次为柴胡皂苷A低、中、高剂量组。

a为P<0.05,与对照组比较;b为P<0.05,与H₂O₂组比较。

Figure 3. Effects of saikosaponin A on GPX4 and ACSL4 mRNA expression in H₂O₂-induced HUVEC(n=3)

2.5 柴胡皂苷A对H₂O₂诱导的HUVEC中GPX4和ACSL4蛋白表达的影响

为了研究柴胡皂苷A预处理是否影响铁死亡相关基因GPX4和ACSL4的蛋白表达,我们采用

Western blot法检测GPX4和ACSL4蛋白的表达。结果显示在H₂O₂刺激下GPX4蛋白表达降低,ACSL4蛋白表达升高;柴胡皂苷A能逆转H₂O₂引起的GPX4和ACSL4蛋白表达的变化(图4)。

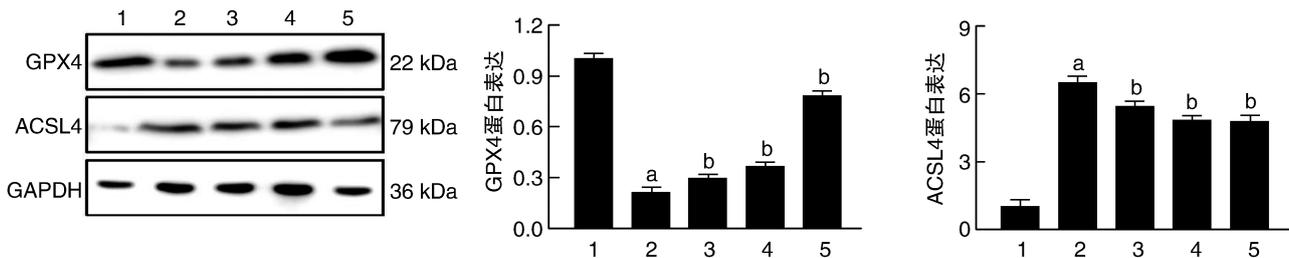


图4. 柴胡皂苷A对H₂O₂诱导的HUVEC中GPX4和ACSL4蛋白表达的影响(n=3)

1为对照组,2为H₂O₂组,3~5依次为柴胡皂苷A低、中、高剂量组。

a为P<0.05,与对照组比较;b为P<0.05,与H₂O₂组比较。

Figure 4. Effects of saikosaponin A on GPX4 and ACSL4 protein expression in H₂O₂-induced HUVEC(n=3)

3 讨论

血管内皮细胞参与维护血管屏障功能与稳态调节,促进血管^[18]的形成与修复。血管内皮功能障碍是心血管疾病(缺血再灌注损伤、动脉粥样硬化和高血压等)发生发展的关键因素^[19]。氧化应激及铁死亡在 As 病理生理过程中发挥重要作用,干预血管内皮细胞的氧化应激及铁死亡,是预防 As 发病的良好策略^[11,20-22]。

本研究中,我们选择 H₂O₂ 诱导的 HUVEC 损伤模型,研究柴胡皂苷 A 的作用及其潜在机制。结果显示 H₂O₂ 处理导致内皮细胞活力明显下降。然而,柴胡皂苷 A(3、6 和 12 μmol/L)预处理可以显著提高内皮细胞活力,证明柴胡皂苷 A 对 H₂O₂ 诱导的 HUVEC 氧化损伤有保护作用。

氧化应激是 As 形成的一个关键特征^[5],它被定义为体内氧化剂和抗氧化剂失衡的一种氧化还原状态。抗氧化防御系统涉及 SOD、过氧化氢酶和非酶抗氧化剂(如 GSH),在降低氧化应激水平中起着关键作用^[23]。当 HUVEC 发生氧化应激时,大量氧自由基与生物膜不饱和脂肪酸通过脂质过氧化反应生成 MDA,分泌的 MDA 会抑制 HUVEC 中的 DNA 合成,并阻碍这些细胞对损伤的自我修复,从而进一步参与 As 的形成^[24-25]。Li 等^[26]学者通过胆管注射牛磺胆酸钠建立 SD 大鼠急性胰腺炎模型,发现柴胡皂苷 A 通过增加 SD 大鼠血清中 SOD 活性,降低 MDA 水平来提高抗氧化能力。我们的研究表明,H₂O₂ 诱导的内皮细胞 GSH 水平和 SOD 活性显著降低,MDA 水平升高。而柴胡皂苷 A 可呈剂量依赖性地提高 GSH 水平和 SOD 活性,降低 MDA 水平,我们的研究结果与既往研究结果一致。表明柴胡皂苷 A 通过提高抗氧化剂水平和减少脂质过氧化反应产物减轻 H₂O₂ 诱导的氧化应激损伤。

铁死亡不同于其他细胞死亡模式,在 2012 年首次被引入来描述一种非凋亡调节的细胞死亡^[10],其特征是细胞内铁积累和脂质过氧化^[27-28]。GPX4 是一种抗氧化酶,将细胞毒性脂质过氧化物(L-OOH)还原为无毒脂质醇(L-OH),清除脂质过氧化物在细胞内的积累,从而降低脂质过氧化,抑制铁死亡^[29]。而 ACSL4 是一种长链酯酰辅酶 A 合成酶 4,促进多不饱和脂肪酸发生脂质过氧化,是铁死亡发生的一个重要组成部分^[30]。铁死亡抑制剂 Ferrostatin-1 可部分抑制 ApoE^{-/-} 小鼠的铁积累和脂质过氧化,并逆转铁死亡指标溶质转运家族 7A11 (solute carrier

7A11,SLC7A11)和 GPX4 的表达来缓解 As^[11]。本研究表明,H₂O₂ 诱导的内皮细胞 GPX4 mRNA 和蛋白的表达显著降低,ACSL4 mRNA 和蛋白的表达增加,而柴胡皂苷 A 显著增加 GPX4 mRNA 和蛋白的表达,减少 ACSL4 mRNA 和蛋白的表达。Yang 等研究表明柴胡皂苷通过抑制细胞外信号调节激酶 1/2 (extracellular signal-regulated kinase 1/2,ERK1/2)和 p38 丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen-activated protein kinases,p38MAPK)信号通路抑制氧化型低密度脂蛋白(oxidized low-density lipoproteins,ox-LDL)诱导的 HUVEC 损伤^[31],与本研究结果类似。推测柴胡皂苷 A 通过抑制脂质过氧化逆转铁死亡相关蛋白抑制铁死亡,减轻 As 损伤。

综上所述,柴胡皂苷 A 对 H₂O₂ 诱导的 HUVEC 氧化应激和铁死亡有拮抗作用,有可能成为防治 As 药物的新选择。

[参考文献]

- [1] WEBER C, NOELS H. Atherosclerosis: current pathogenesis and therapeutic options [J]. *Nat Med*, 2011, 17(11): 1410-1422.
- [2] KAPOURCHALI F R, SURENDIRAN G, CHEN L, et al. Animal models of atherosclerosis [J]. *World J Clin Cases*, 2014, 2(5): 126-132.
- [3] 何欣, 顾宁. 免疫细胞与动脉粥样硬化斑块研究进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2021, 29(7): 629-634.
- [4] DAVIGNON J, GANZ P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis [J]. *Circulation*, 2004, 109(23 Suppl 1): III27-III32.
- [5] 郝阳, 郭晓辰, 张军平. 氧化应激和自噬在动脉粥样硬化中的作用研究新进展 [J]. *中国动脉硬化杂志*, 2017, 25(4): 404-410.
- [6] AHMAD K A, YUAN D, NAWAZ W, et al. Antioxidant therapy for management of oxidative stress induced hypertension [J]. *Free Radic Res*, 2017, 51(4): 428-438.
- [7] DRUMMOND G R, SELEMIDIS S, GRIENGLING K K, et al. Combating oxidative stress in vascular disease: NADPH oxidases as therapeutic targets [J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2011, 10(6): 453-471.
- [8] MO J, YANG R, LI F, et al. Scutellarin protects against vascular endothelial dysfunction and prevents atherosclerosis via antioxidation [J]. *Phytomedicine*, 2018, 42: 66-74.
- [9] 梅胜兰, 夏中元, 孟庆涛, 等. 细胞铁死亡发生机制的研究进展 [J]. *医学综述*, 2020, 26(21): 4207-4211.
- [10] DIXON S J, LEMBERG K M, LAMPRECHT M R, et al. Ferroptosis: an iron-dependent form of nonapoptotic cell death [J]. *Cell*, 2012, 149(5): 1060-1072.

- [11] BAI T, LI M, LIU Y, et al. Inhibition of ferroptosis alleviates atherosclerosis through attenuating lipid peroxidation and endothelial dysfunction in mouse aortic endothelial cell [J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 160: 92-102.
- [12] YANG K, SONG H, YIN D. PDSS2 inhibits the ferroptosis of vascular endothelial cells in atherosclerosis via activating Nrf2[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2021, 77(6): 767-776.
- [13] ZHOU F, WANG N, YANG L, et al. Saikosaponin a protects against dextran sulfate sodium-induced colitis in mice [J]. *Int Immunopharmacol*, 2019, 72: 454-458.
- [14] 余刘勤, 贾爱梅, 宋永砚. 柴胡皂苷抗炎、抗氧化和降脂研究进展[J]. *中国动脉硬化杂志*, 2020, 28(1): 87-92.
- [15] FU Y, HU X, CAO Y, et al. Saikosaponin a inhibits lipopolysaccharide-oxidative stress and inflammation in human umbilical vein endothelial cells via preventing TLR4 translocation into lipid rafts [J]. *Free Radic Biol Med*, 2015, 89: 777-785.
- [16] CHEN R J, GUO X Y, CHENG B H, et al. Saikosaponin A inhibits cigarette smoke-induced oxidant stress and inflammatory responses by activation of Nrf2 [J]. *Inflammation*, 2018, 41(4): 1297-1303.
- [17] LI T, SONG X, ZHANG J, et al. Protection of human umbilical vein endothelial cells against oxidative stress by microRNA-210 [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 3565613.
- [18] MICHIELS C. Endothelial cell functions [J]. *J Cell Physiol*, 2003, 196(3): 430-443.
- [19] LIN X L, LIU Y B, LIU M H, et al. Inhibition of hydrogen peroxide-induced human umbilical vein endothelial cells aging by allicin depends on sirtuin1 activation [J]. *Medical Science Monitor*, 2017, 23: 563-570.
- [20] NOWAK W N, DENG J C, RUAN X Z, et al. Reactive oxygen species generation and atherosclerosis [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2017, 37(5): E41-E52.
- [21] WANG P, TIAN X, TANG J, et al. Artemisinin protects endothelial function and vasodilation from oxidative damage via activation of PI3K/Akt/eNOS pathway [J]. *Exp Gerontol*, 2021, 147: 111270.
- [22] XIAO S, MAO L, XIAO J, et al. Selenium nanoparticles inhibit the formation of atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice by alleviating hyperlipidemia and oxidative stress [J]. *Eur J Pharmacol*, 2021, 902: 174120.
- [23] CATALÃO C, SANTOS-JÚNIOR N N, DA COSTA L, et al. Brain oxidative stress during experimental sepsis is attenuated by simvastatin administration [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(9): 7008-7018.
- [24] TSIKAS D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: analytical and biological challenges [J]. *Anal Biochem*, 2017, 524: 13-30.
- [25] 武磊, 周学思, 杲修杰, 等. 离体大鼠主动脉内皮细胞氧化应激损伤模型的建立及评价 [J]. *中国应用生理学杂志*, 2016, 32(5): 390-394.
- [26] LI J, HAN J, LV J, et al. Saikosaponin A-induced gut microbiota changes attenuate severe acute pancreatitis through the activation of Keap1/Nrf2-ARE antioxidant signaling [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 9217219.
- [27] YANG W S, KIM K J, GASCHLER M M, et al. Peroxidation of polyunsaturated fatty acids by lipoxygenases drives ferroptosis [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113(34): E4966-E4975.
- [28] STOCKWELL B R, FRIEDMANN ANGELI J P, BAYIR H, et al. Ferroptosis: a regulated cell death nexus linking metabolism, redox biology, and disease [J]. *Cell*, 2017, 171(2): 273-285.
- [29] VISWANATHAN V S, RYAN M J, DHRUV H D, et al. Dependency of a therapy-resistant state of cancer cells on a lipid peroxidase pathway [J]. *Nature*, 2017, 547(7664): 453-457.
- [30] LEI G, ZHANG Y, KOPPULA P, et al. The role of ferroptosis in ionizing radiation-induced cell death and tumor suppression [J]. *Cell Res*, 2020, 30(2): 146-162.
- [31] YANG L, LIU J, QI G. Mechanism of the effect of saikosaponin on atherosclerosis in vitro is based on the MAPK signaling pathway [J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(6): 8868-8874.

(此文编辑 许雪梅)