

· 论著 ·

甜菜碱对阿霉素心脏毒性的作用及机制

滕藤^{1,2} 唐其柱^{1,2}

(1. 武汉大学人民医院心血管内科, 湖北 武汉 430060; 2. 代谢与慢病相关湖北省重点实验室, 湖北 武汉 430060)

【摘要】目的 探究甜菜碱在阿霉素诱导的心脏毒性中的作用及机制。**方法** 给予小鼠单次腹腔注射阿霉素(15 mg/kg)构建阿霉素心肌病模型,采用随机数字表法将 48 只小鼠分为生理盐水+生理盐水组、生理盐水+甜菜碱组、阿霉素+生理盐水组以及阿霉素+甜菜碱组共 4 组,每组 12 只。模型构建当天开始连续 7 d 给小鼠进行甜菜碱灌胃($800 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$),对照组用同等体积生理盐水进行灌胃。灌胃结束后检测各组小鼠心脏超声并取材;用免疫组织化学染色检测脂质过氧化物水平;用 TUNEL 染色检测心脏凋亡水平;Western blot 检测相关蛋白激酶 B(AKT)、糖原合成酶激酶-3 β (GSK-3 β)表达水平;qPCR 检测相关基因 mRNA 水平;试剂盒检测心肌损伤标志物和丙二醛以及胱天蛋白酶(caspase)-3 水平。**结果** 与对照组小鼠相比,阿霉素可以导致小鼠心功能受损($P < 0.05$),心肌损伤标志物水平升高($P < 0.05$),而甜菜碱可以保护小鼠心功能($P < 0.05$),降低心肌损伤标志物水平($P < 0.05$)。与对照组小鼠相比,阿霉素导致心脏中丙二醛、4-羟基壬烯醛水平升高($P < 0.05$),以及抗氧化酶(超氧化物歧化酶-2、谷胱甘肽过氧化物酶-1、过氧化氢酶)的 mRNA 水平降低($P < 0.05$),甜菜碱可以降低丙二醛、4-羟基壬烯醛水平($P < 0.05$),上调抗氧化酶(超氧化物歧化酶-2、谷胱甘肽过氧化物酶-1、过氧化氢酶)的 mRNA 水平($P < 0.05$)。与对照组小鼠相比,阿霉素可以导致小鼠心脏中 caspase-3 活性增加($P < 0.05$),TUNEL 阳性细胞增多($P < 0.05$),甜菜碱处理可以降低 caspase-3 活性,降低 TUNEL 阳性细胞率($P < 0.05$)。与对照组小鼠相比,阿霉素小鼠心脏中 AKT 的活性降低,GSK-3 β 的活性增加($P < 0.05$),而甜菜碱可以增加 AKT 的活性,降低 GSK-3 β 的活性($P < 0.05$)。**结论** 甜菜碱可以减轻阿霉素引起的心脏氧化应激损伤和心肌细胞凋亡,而这些作用可能是通过激活 AKT/GSK-3 β 实现的。

【关键词】 甜菜碱;阿霉素心脏毒性;氧化应激;凋亡**【DOI】**10.16806/j.cnki.issn.1004-3934.2023.06.018

Role of Betaine in Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity

TENG Teng^{1,2}, TANG Qizhu^{1,2}

(1. Department of Cardiology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei, China; 2. Hubei Key Laboratory of Metabolic and Chronic Diseases, Wuhan 430060, Hubei, China)

【Abstract】 Objective To investigate the role and mechanism of betaine in doxorubicin-induced cardiotoxicity. **Methods** Doxorubicin-induced cardiomyopathy model was established by a single intraperitoneal injection of doxorubicin (DOX, 15 mg/kg) in mice. 48 mice were randomly divided into 4 groups, including normal saline + normal saline group, normal saline + betaine group, DOX + normal saline group, and DOX + betaine group, with 12 mice per group. Mice were given betaine ($800 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$) intragastric administration for 7 consecutive days from the day of model construction, and the control group was given the same volume of normal saline intragastric administration. At the end of intragastric administration, cardiac ultrasound was detected and samples were taken. The level of lipid peroxide was detected by immunohistochemical staining, TUNEL staining was used to detect cardiac apoptosis. Western blot was used to detect the expression levels of AKT and GSK-3 β mRNA levels of related genes were detected by qPCR. The levels of cTnI, LDH, MDA, 4-HNE, and caspase-3 were detected. **Results** Compared with the control group, DOX could damage the heart function of mice ($P < 0.05$) and increase the level of myocardial injury markers ($P < 0.05$), while betaine could protect the heart function of mice ($P < 0.05$) and decrease the level of myocardial injury markers ($P < 0.05$). Compared with the control group, DOX increased MDA and 4-HNE levels ($P < 0.05$), and decreased mRNA levels of antioxidant enzymes (SOD-2, GPx-1, and CAT) in the heart ($P < 0.05$). Betaine decreased MDA and 4-HNE levels ($P < 0.05$). The mRNA levels of antioxidant enzymes (SOD-2, GPx-1, and CAT) were up-regulated ($P < 0.05$). Compared with the control group, DOX could increase the activity of caspase-3 and TUNEL-positive cells in the heart of mice ($P < 0.05$). Betaine treatment could decrease the activity of caspase-3 and the rate of TUNEL-positive cells ($P < 0.05$). Compared with control mice, the activity of AKT in the heart of

基金项目:国家自然科学基金(U22A20269,81530012);国家重点研发计划资助(2018YFC1311300)

通信作者:唐其柱, E-mail: qztang@whu.edu.cn

doxorubicin-treated mice was decreased and the activity of GSK-3 β was increased ($P < 0.05$), while betaine increased the activity of AKT and decreased the activity of GSK-3 β ($P < 0.05$). **Conclusion** Betaine can reduce oxidative stress injury and apoptosis of cardiomyocytes induced by DOX, and these effects may be realized by activating AKT/GSK-3 β signaling pathway.

【Key words】 Betaine; Doxorubicin-induced cardiotoxicity; Oxidative stress; Apoptosis

阿霉素 (doxorubicin) 是一种广泛使用的蒽环类高效化疗药物, 用于治疗各种类型的癌症, 然而, 阿霉素的剂量依赖性心脏毒性极大地限制了其临床应用^[1]。目前为止还没有任何一种有效的疗法可以预防或者消除阿霉素的心脏毒性。活性氧的大量产生是阿霉素造成心脏损伤的主要因素, 这引起心肌细胞氧化损伤和心肌细胞凋亡, 最终导致心力衰竭的发生^[2]。

右雷佐生是美国食品和药物管理局 (FDA) 唯一批准用于阿霉素心脏毒性治疗的药物, 但由于其潜在的致癌性, 因此临床使用受到限制^[3-4]。许多天然化合物具有明显的抗氧化、抗炎症等作用^[5]。甜菜碱广泛存在于动植物体内^[6], 是动物代谢的中间产物, 是动物体内重要的甲基供体。甜菜碱可以促进肝脏和肾脏同型半胱氨酸的代谢^[7], 同时, 甜菜碱也具有较弱的抗炎、抗氧化以及抗凋亡作用^[8-10], 但关于其在阿霉素心脏毒性中的作用机制尚不清楚, 现探究甜菜碱在阿霉素心脏毒性中的作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 试剂与材料

甜菜碱 (betaine) 购于阿拉丁; 阿霉素购于深圳万乐药业有限公司; 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)、蛋白激酶 B (protein kinase B, AKT)、磷酸化蛋白激酶 B (phosph-protein kinase B, p-AKT)、糖原合成酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)、磷酸化糖原合成酶-3 β (phosph-glycogen synthase kinase-3 β , p-GSK-3 β) 均购于 CST 公司; 4-羟基壬烯醛 (4-hydroxynonenal, 4-HNE) 购于 Abcam 公司; TUNEL 凋亡检测试剂盒购于碧云天; 丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 检测试剂盒以及胱天蛋白酶 (caspase)-3 活性检测试剂盒购于南京建成生物工程研究所; 心肌损伤标志物试剂盒购于上海酶联生物科技有限公司。

1.2 模型建立与动物分组

选取购自北京华阜康生物科技股份有限公司 8 ~ 10 周龄的雄性 C57/BL6 小鼠 48 只, 体重为 23.5 ~ 27.5 g, 饲养环境为 SPF 级, 恒温、恒湿, 12 h 昼夜节律, 并可自由饮食。本研究涉及的所有动物实验均通过武汉大学动物伦理委员会批准。小鼠经过适应性喂养 1 周后, 按照随机数字表分为 4 组, 每组 12 只, 分

别为生理盐水 + 生理盐水组、生理盐水 + 甜菜碱组、阿霉素 + 生理盐水组、阿霉素 + 甜菜碱组。实验开始第一天, 阿霉素组小鼠给予阿霉素 (15 mg/kg) 单次腹腔注射, 对照组小鼠腹腔注射同体积生理盐水; 甜菜碱组小鼠给予甜菜碱 (800 mg · kg⁻¹ · d⁻¹) 连续灌胃 7 d, 对照组小鼠给予同等体积生理盐水灌胃。

1.3 心功能检测及取材

各组小鼠结束灌胃后于异氟烷 (2% 浓度诱导, 1% 浓度维持, 氧流量 300 ~ 500 mL/min) 吸入麻醉下进行心脏超声检查, 评估心功能情况 [左室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF)]、[左室短轴缩短率 (left ventricular fractional shortening, LVFS)] 等。完成检测后处死小鼠、收集心脏标本并记录取材信息, 用于分子生物学检测和病理检测。

1.4 组织病理检测

1.4.1 免疫组织化学染色

将心脏组织脱蜡、水合、抗原修复、H₂O₂ 处理、封闭后滴加一抗 (4-HNE) 于 4 °C 过夜, 第二天进行二抗孵育以及 DAB 显色, 显色完全后及时终止, 经苏木素复染、脱水、透明后用树脂封片。

1.4.2 组织 TUNEL 染色

将心脏组织脱蜡、水合后, 按照 TUNEL 凋亡检测试剂盒说明书进行检测。

1.5 分子生物学检测

1.5.1 蛋白免疫印迹试验

取左心室组织样本提取蛋白并进行 BCA 定量。经 SDS-PAGE 电泳分离、转膜后, 于 4 °C 过夜进行一抗的孵育, 次日孵育对应种属二抗, 然后按照比例配置 ECL 化学发光显影液, 曝光显影, 然后用 Image Lab 软件对条带进行灰度分析。

1.5.2 实时荧光定量聚合酶链式反应试验

取左心室组织样本提取总 RNA, 逆转录成 cDNA 后, 进行目标基因的表达检测。

1.6 生化检测

将左心室组织制成匀浆后分别用心肌肌钙蛋白 I (cardiac troponin I, cTnI)、乳酸脱氢酶 (lactic dehydrogenase, LDH)、MDA 以及 caspase-3 活性检测试剂盒按照说明书进行检测。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 25.0 统计软件进行统计分析, 两组间

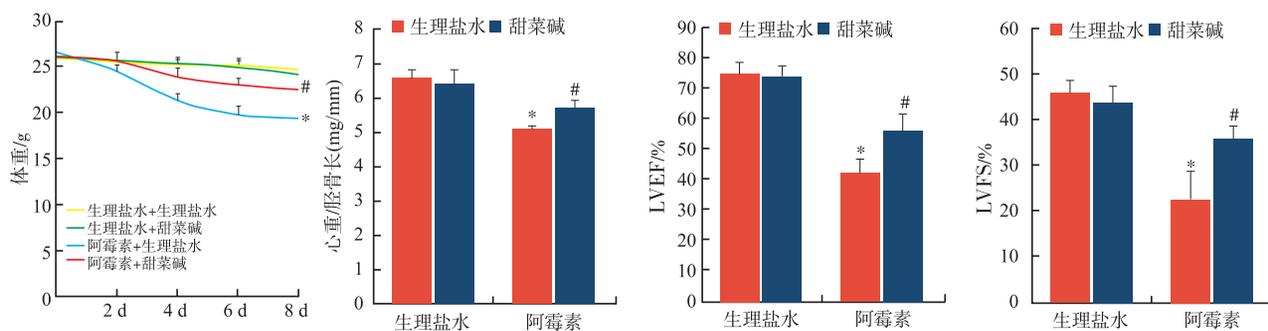
样本比较采用两独立样本 *t* 检验, 多组间样本比较采用单因素方差分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠一般情况及心功能比较

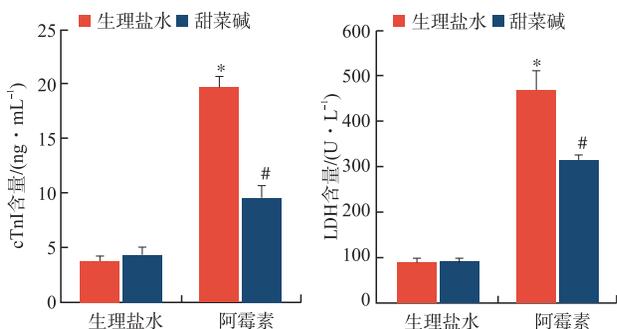
阿霉素 + 甜菜碱组的小鼠体重以及心重/胫骨长的下降程度较阿霉素 + 生理盐水组的小鼠明显减轻

($P < 0.05$)。阿霉素处理的小鼠较对照组小鼠的 LVEF 以及 LVFS 明显降低 ($P < 0.05$), 甜菜碱治疗可以明显改善阿霉素损伤的心功能 ($P < 0.05$) (图 1)。阿霉素处理的小鼠的心肌损伤标志物 cTnI 以及 LDH 较对照组小鼠明显升高 ($P < 0.05$), 而甜菜碱治疗可以明显减轻小鼠由阿霉素导致的心肌损伤 ($P < 0.05$) (图 2)。



注: * 表示与生理盐水 + 生理盐水组相比, $P < 0.05$; # 表示与阿霉素 + 生理盐水组相比, $P < 0.05$; $n = 12$ 。

图 1 各组小鼠体重、心重/胫骨长、LVEF 及 LVFS

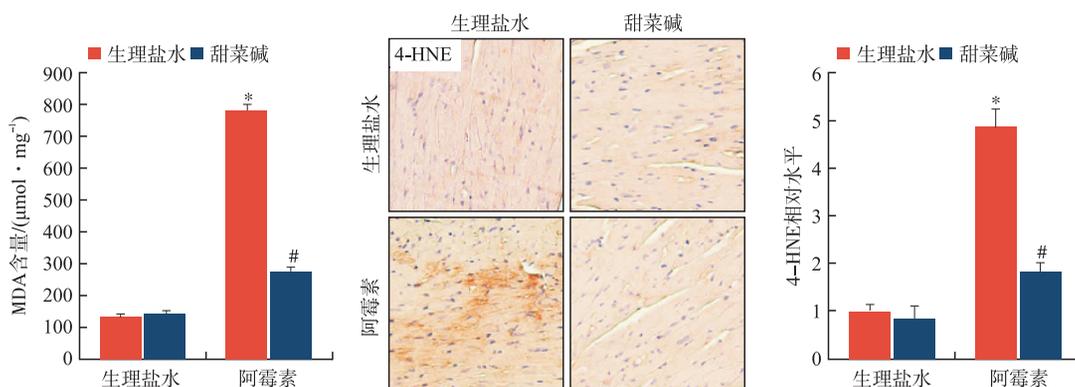


注: * 表示与生理盐水 + 生理盐水组相比, $P < 0.05$; # 表示与阿霉素 + 生理盐水组相比, $P < 0.05$; $n = 12$ 。

图 2 各组小鼠心肌损伤标志物 cTnI、LDH 水平

2.2 各组小鼠心脏氧化应激情况比较

阿霉素处理的小鼠心脏较对照组小鼠心脏中的 MDA 以及 4-HNE 含量明显升高 ($P < 0.05$), 甜菜碱治疗可以明显减少小鼠心脏中由阿霉素诱导的 MDA 以及 4-HNE 的生成 ($P < 0.05$) (图 3)。与对照组小鼠相比, 阿霉素处理的小鼠心脏中的超氧化物歧化酶-2 (superoxide dismutase-2, SOD-2)、谷胱甘肽过氧化物酶-1 (glutathione peroxidase-1, GPx-1) 以及过氧化氢酶 (catalase, CAT) 的 mRNA 表达降低 ($P < 0.05$), 甜菜碱治疗的小鼠心脏较阿霉素小鼠心脏中的 SOD-2、GPx-1 以及 CAT 的 mRNA 表达上调 ($P < 0.05$) (图 4)。



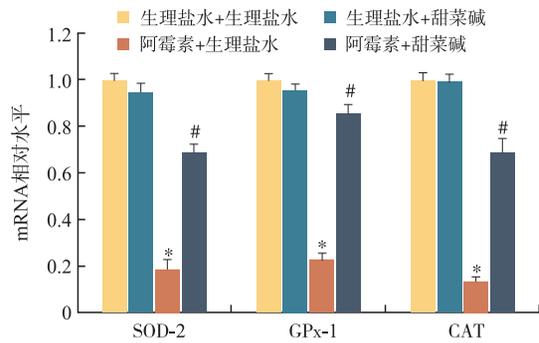
注: * 表示与生理盐水 + 生理盐水组相比, $P < 0.05$; # 表示与阿霉素 + 生理盐水组相比, $P < 0.05$; $n = 12$ 。

图 3 各组小鼠心脏中 MDA 和 4-HNE 相对水平

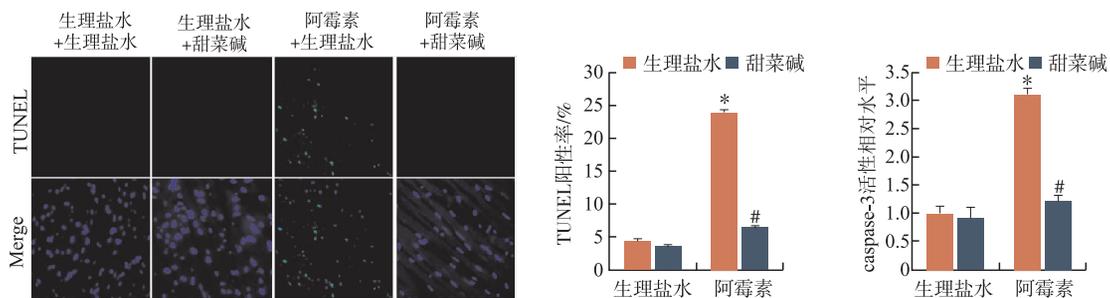
2.3 各组小鼠心肌细胞凋亡情况比较

与对照组小鼠相比, 阿霉素处理的小鼠心脏中 caspase-3 的活性明显增加 ($P < 0.05$), 甜菜碱治疗可以降低由阿霉素诱导增加的 caspase-3 活性 ($P <$

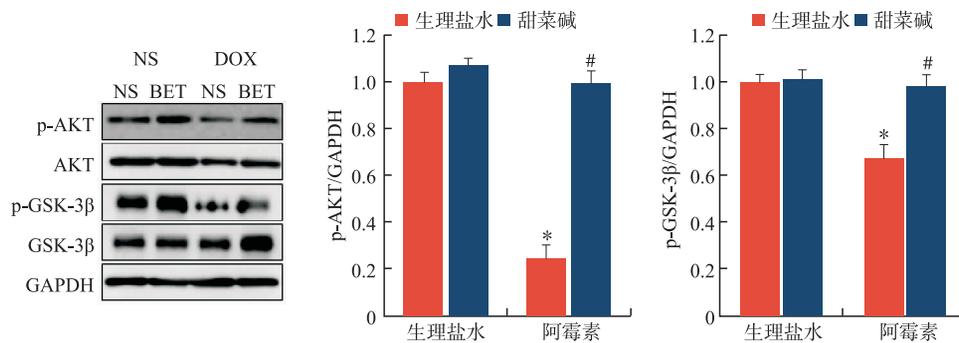
0.05)。TUNEL 染色显示, 阿霉素处理的小鼠心脏较对照组小鼠的心脏凋亡水平显著增加 ($P < 0.05$), 经过甜菜碱治疗, 阿霉素导致的小鼠心脏凋亡水平显著降低 ($P < 0.05$) (图 5)。



注: * 表示与生理盐水 + 生理盐水组相比, $P < 0.05$; # 表示与阿霉素 + 生理盐水组相比, $P < 0.05$; $n = 12$ 。
图 4 各组小鼠心脏中 SOD-2、GPx-1 和 CAT 的 mRNA 水平



注: * 表示与生理盐水 + 生理盐水组相比, $P < 0.05$; # 表示与阿霉素 + 生理盐水组相比, $P < 0.05$; $n = 12$ 。
图 5 各组小鼠心脏中 caspase-3 活性以及细胞凋亡情况



注: NS, 生理盐水; DOX, 阿霉素; BET, 甜菜碱; * 表示与生理盐水 + 生理盐水组相比, $P < 0.05$; # 表示与阿霉素 + 生理盐水组相比, $P < 0.05$; $n = 12$ 。
图 6 各组小鼠心脏中 p-AKT 以及 p-GSK-3β 蛋白表达水平

氧化应激被认为是阿霉素诱导心脏毒性的最主要机制,此前的许多研究^[12]表明,活性氧的过度产生会刺激脂质过氧化等损伤,并最终导致心力衰竭。Meng 等^[13]研究发现,甜菜碱可以减轻小鼠应激以及氧化应激引起的睾丸损伤。甜菜碱可以减轻乙醇引起的肝脏以及小脑的氧化应激损伤^[14-15]。Lv 等^[16]研究报道,在 ApoE^{-/-} 的小鼠中,补充甜菜碱可以减少血液中肿瘤坏死因子 α 等炎症因子,从而减小动脉粥样硬化的病变面积。Heidari 等^[17]报道,口服补充甜菜碱,可以减少氧化应激标志物,从而减轻胆汁淤积相关肾损伤。这些研究结果说明,甜菜碱具有较强的抗氧化作用。笔者研究也发现,甜菜碱可以提高阿霉素小鼠心脏中抗氧化酶的活性,并降低阿霉素小鼠心脏

2.4 相关通路改变情况

蛋白质免疫印迹结果显示,阿霉素组的小鼠心脏中,p-AKT、p-GSK-3β 显著降低($P < 0.05$);甜菜碱恢复了小鼠心脏中 p-AKT 和 p-GSK-3β 的含量($P < 0.05$) (图 6)。这说明,甜菜碱可能是通过 AKT/GSK-3β 通路发挥对阿霉素所致心肌损伤的保护作用。

3 讨论

许多癌症患者在接受治疗后因为阿霉素心脏毒性引起的心力衰竭导致生活质量显著降低^[11]。因此,寻找一种有前景的药物治疗阿霉素引起的心脏毒性成为迫切需要。

中过氧化物的水平。

阿霉素可以诱导细胞凋亡,Mizutani 等^[18]发现经阿霉素处理的人早幼粒白血病细胞表现出 caspase-3 蛋白的激活,导致细胞死亡。线粒体依赖的内源性通路在阿霉素心脏毒性中起着关键作用,这一途径是通过上调促凋亡蛋白,如 B 淋巴细胞瘤-2 基因关联 X 蛋白,促进细胞色素 C 从线粒体释放,导致 caspase-9 激活,进而导致效应器 caspase-3 激活^[19]。此外,阿霉素还可通过死亡受体(death receptor, DR)等外源性途径介导心肌细胞的凋亡。Zhao 等^[20]证实了阿霉素诱导的人多能干细胞来源的心肌细胞中 DR 的上调,如肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体、凋亡相关因子、DR4 和 DR5,这些上调的 DR 与其同源配体结合,触发

caspase 级联反应,最终导致细胞凋亡。Veskovic 等^[10]发现,甜菜碱可以通过 AKT/mTOR 与自噬通路减轻肝脏氧化应激、炎症以及凋亡,从而发挥对于非酒精性脂肪肝的保护作用。本研究发现,在阿霉素处理的小鼠心脏中,caspase-3 活性明显升高,TUNEL 染色显示心肌细胞的凋亡水平也明显增加;但经过甜菜碱治疗,小鼠心脏中 caspase-3 的活性被明显抑制,TUNEL 阳性率也明显降低。这说明,阿霉素治疗会引起较为严重的心肌细胞凋亡发生,但甜菜碱可以明显减轻心肌细胞凋亡。

AKT 和 GSK-3 β 是胰岛素信号通路的两种重要蛋白激酶。当胰岛素与其受体结合时,Thr308 位点被磷酸化从而激活 AKT,活化的 AKT 磷酸化 GSK-3 β 并抑制其激酶活性^[21],而 GSK-3 β 活性升高会破坏线粒体膜电位,增加细胞内活性氧积累^[22]。既往研究^[23-24]表明,阿霉素诱导的损伤心脏中,AKT 的活性明显降低,而 AKT 磷酸化的增强促进了心肌细胞的存活,预防了阿霉素诱导的心功能障碍。本研究发现,阿霉素处理的小鼠心脏中,p-AKT 的含量显著降低,GSK-3 β 的活性明显增高;经过甜菜碱治疗,AKT 的活性明显增加,而 GSK-3 β 的活性则被明显抑制。这说明,甜菜碱对阿霉素心脏毒性的保护作用可能是通过 AKT/GSK-3 β 通路实现的。

综上所述,甜菜碱可以减轻阿霉素引起的心脏氧化应激损伤和心肌细胞凋亡,而这些作用可能是通过激活 AKT/GSK-3 β 实现的。

参 考 文 献

- [1] Carvalho FS, Burgeiro A, Garcia R, et al. Doxorubicin-induced cardiotoxicity: from bioenergetic failure and cell death to cardiomyopathy[J]. *Med Res Rev*, 2014, 34(1):106-135.
- [2] Yamanaka S, Tatsumi T, Shiraiishi J, et al. Amlodipine inhibits doxorubicin-induced apoptosis in neonatal rat cardiac myocytes[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2003, 41(5):870-878.
- [3] Shaikh F, Dupuis LL, Alexander S, et al. Cardioprotection and second malignant neoplasms associated with dexrazoxane in children receiving anthracycline chemotherapy: a systematic review and meta-analysis[J]. *J Natl Cancer Inst*, 2016, 108(4):djv357.
- [4] Kalyanaraman B. Teaching the basics of the mechanism of doxorubicin-induced cardiotoxicity: have we been barking up the wrong tree? [J]. *Redox Biol*, 2020, 29:101394.
- [5] Yarmohammadi F, Rezaee R, Karimi G. Natural compounds against doxorubicin-induced cardiotoxicity: a review on the involvement of Nrf2/ARE signaling pathway[J]. *Phytother Res*, 2021, 35(3):1163-1175.
- [6] Day CR, Kempson SA. Betaine chemistry, roles, and potential use in liver disease [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1860(6):1098-1106.
- [7] Hoffmann L, Brauers G, Gehrman T, et al. Osmotic regulation of hepatic betaine metabolism[J]. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2013, 304(9):G835-G846.
- [8] Desai S, Baker SS, Liu W, et al. Paraoxonase 1 and oxidative stress in paediatric non-alcoholic steatohepatitis[J]. *Liver Int*, 2014, 34(1):110-117.
- [9] Zhang M, Zhang H, Li H, et al. Antioxidant mechanism of betaine without free radical scavenging ability[J]. *J Agric Food Chem*, 2016, 64(42):7921-7930.
- [10] Veskovic M, Mladenovic D, Milenkovic M, et al. Betaine modulates oxidative stress, inflammation, apoptosis, autophagy, and Akt/mTOR signaling in methionine-choline deficiency-induced fatty liver disease[J]. *Eur J Pharmacol*, 2019, 848:39-48.
- [11] Carvalho C, Santos RX, Cardoso S, et al. Doxorubicin: the good, the bad and the ugly effect[J]. *Curr Med Chem*, 2009, 16(25):3267-3285.
- [12] Wenningmann N, Knapp M, Ande A, et al. Insights into doxorubicin-induced cardiotoxicity: molecular mechanisms, preventive strategies, and early monitoring [J]. *Mol Pharmacol*, 2019, 96(2):219-232.
- [13] Meng X, Peng L, Xu J, et al. Betaine attenuate chronic restraint stress-induced changes in testicular damage and oxidative stress in male mice[J]. *Reprod Biol Endocrinol*, 2022, 20(1):80.
- [14] Alirezaei M, Jelodar G, Niknam P, et al. Betaine prevents ethanol-induced oxidative stress and reduces total homocysteine in the rat cerebellum [J]. *J Physiol Biochem*, 2011, 67(4):605-612.
- [15] Arumugam MK, Chava S, Perumal SK, et al. Acute ethanol-induced liver injury is prevented by betaine administration[J]. *Front Physiol*, 2022, 13:940148.
- [16] Lv S, Fan R, Du Y, et al. Betaine supplementation attenuates atherosclerotic lesion in apolipoprotein E-deficient mice [J]. *Eur J Nutr*, 2009, 48(4):205-212.
- [17] Heidari R, Niknahad H, Sadeghi A, et al. Betaine treatment protects liver through regulating mitochondrial function and counteracting oxidative stress in acute and chronic animal models of hepatic injury[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 103:75-86.
- [18] Mizutani H, Tada-Oikawa S, Hiraku Y, et al. Mechanism of apoptosis induced by doxorubicin through the generation of hydrogen peroxide[J]. *Life Sci*, 2005, 76(13):1439-1453.
- [19] Liu Y, Yang Y, Liu X, et al. Quantification of pegylated liposomal doxorubicin and doxorubicinol in rat plasma by liquid chromatography/electrospray tandem mass spectroscopy: application to preclinical pharmacokinetic studies [J]. *Talanta*, 2008, 74(4):887-895.
- [20] Zhao L, Zhang B. Doxorubicin induces cardiotoxicity through upregulation of death receptors mediated apoptosis in cardiomyocytes [J]. *Sci Rep*, 2017, 7:44735.
- [21] Popkie AP, Zeidner LC, Albrecht AM, et al. Phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K) signaling via glycogen synthase kinase-3 (Gsk-3) regulates DNA methylation of imprinted loci[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(53):41337-41347.
- [22] Quintanilla RA, Dolan PJ, Jin YN, et al. Truncated tau and A β cooperatively impair mitochondria in primary neurons [J]. *Neurobiol Aging*, 2012, 33(3):619.e25-619.e35.
- [23] Fan GC, Zhou X, Wang X, et al. Heat shock protein 20 interacting with phosphorylated Akt reduces doxorubicin-triggered oxidative stress and cardiotoxicity[J]. *Circ Res*, 2008, 103(11):1270-1279.
- [24] Kitamura Y, Koide M, Akakabe Y, et al. Manipulation of cardiac phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/Akt signaling by apoptosis regulator through modulating IAP expression (ARIA) regulates cardiomyocyte death during doxorubicin-induced cardiomyopathy[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(5):2788-2800.

收稿日期:2022-11-25