· 基础研究 ·

*Sirt*3 在晚期糖基化终产物诱导的心肌老化中的作用及机制

徐婉莹[1*],查志敏[2],汤金梅[1]

([1] 苏州市第九人民医院老年医学科,江苏 苏州 215000;[2] 南京医科大学第一附属医院老年医学科,南京 210029)

【摘 要】 目的 研究沉默信息调节因子 3(*Sirt*3)在晚期糖基化终产物(AGEs)诱导心肌老化过程中的作用,并初步探讨黄山药总皂苷(TSDP)改善心肌老化的机制。**方法** 提取原代心肌细胞,AGEs 干预诱导细胞老化,转染小干扰 RNA(siRNA)敲降 *Sirt*3 表达。免疫印迹实验检测 P16、P53、超氧化物歧化酶-2(SOD2)及 SIRT3 的蛋白表达水平。半乳糖苷酶(SA-β-Gal)染色试剂盒检测细胞老化。2′,7′-二氯二氢荧光素二乙酸酯探针(DCFH-DA)检测细胞内活性氧(ROS)。TSDP 预干预 AGEs 诱导的心肌老化后,采用 SA-β-Gal 染色试剂盒检测细胞老化。采用 GraphPad Prism 统计软件进行数据分析。组间比较采用单因素方差分析。**结果** 和未转染慢病毒的对照组相比,转染阴性参照 NC siRNA 后加入 AGEs 的干预组 SIRT3 及 SOD2 的表达减少,P53 的表达增加,SA-β-Gal 染色阳性细胞比例及活性氧的水平增加。转染 *Sirt*3 siRNA 后加入 AGEs 的干预组与对照组相比,SIRT3 及 SOD2 表达减少,SA-β-Gal 染色阳性细胞比例及活性氧水平升高,且与转染 *Sirt*3 siRNA 组相比,P53 表达水平进一步增加。转染 NC siRNA 的 TSDP 预处理 AGEs 干预组较转染 NC siRNA 后 AGEs 干预组 SA-β-Gal 染色阳性细胞比例减少,但转染 *Sirt*3 siRNA 的 TSDP 预处理 AGEs 干预细胞后上述 TSDP 引起的 SA-β-Gal 改变作用消失。**结论** AGEs 可能是通过下调 *Sirt*3 的表达水平,减少抗氧化物蛋白 SOD2 的表达,加重线粒体氧化应激,促进 AGEs 诱导的心肌老化进程。TSDP 可能通过调控 *Sirt*3 的表达水平而影响老化。

【关键词】 晚期糖基化终产物;*Sirt*3;超氧化物歧化酶-2;活性氧;心肌;老化

【中图分类号】 R541 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2023.12.197

Role and mechanism of *Sirt*3 in advanced glycosylation end-products-induced cardiomyocyte aging

Xu Wanying[1*], Zha Zhimin[2], Tang Jinmei[1]

([1]Department of Gerontology, Suzhou Ninth People's Hospital, Suzhou 215000, Jiangsu Province, China; [2]Department of Gerontology, First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

【Abstract】 Objective To study the role of silent mating type information regulation 2 homolog-3 (*Sirt*3) in the process of cardiac senescence induced by advanced glycosylation end-products (AGEs) and to explore the mechanism of total saponins extracted from Dioscorea panthaica (TSDP) in cardiac senescence. **Methods** After neonatal rat cardiomyocytes were isolated and cultured and identified, the cells were incubated with AGEs. Small interfering RNA (siRNA) was used to knock down the expression of *Sirt*3 in the cells. Western blotting was used to detect the expression of P16 and P53 and superoxide dismutase-2 (SOD2). SA-β-Gal kit was employed to detect cardiomyocyte senescence, and 2,7-dichlorodi-hydrofluorescein diacetate (DCFH-DA) probe was used to detect intracellular reactive oxygen species (ROS). In the cells with TSDP pre-intervention after AGEs treatment, cardiac senescence was detected by SA-β-Gal kit. GraphPad Prism statistical analysis was performed. One-way ANOVA was conducted for data comparison between two groups. **Results** Compared with the control cells, the levels of SIRT3 and SOD2 were reduced, and that of P53 was increased, and the proportion of SA-β-Gal positive cells and production of ROS were elevated in the AGEs+negative control (NC) siRNA group. Same changing trends were observed in the AGEs+Sirt3 siRNA group, and the expression level of senescence-related protein P53 was also up-regulated. TSDP pre-intervention decreased the proportion of SA-β-Gal positive cells when compared with the AGEs+NC siRNA group, but the change was decreased after transfection with *Sirt*3 siRNA. **Conclusion** AGEs may decrease the expression of SOD2 by down-regulating *Sirt*3, then aggravate mitochondrial oxidative stress and promote cardiomyocyte aging. TSDP may affect cardiac senescence by regulating the expression of *Sirt*3.

【Key words】 advanced glycation end-products; *Sirt*3; superoxide dismutase-2; reactive oxygen species; cardiomyocytes; aging

This work was supported by the Geriatric Health Research Project of Jiangsu Province (LD2021030) *and the Project of Promoting Health Through Science and Education of Wujiang District* (wwk201809).

Corresponding author: Xu Wanying, E-mail: xuwanyingnj@126.com

收稿日期: 2023-03-17; **接受日期:** 2023-06-02

基金项目: 江苏省老年健康科研项目(LD2021030);吴江区科教兴卫项目(wwk201809)

通信作者: 徐婉莹, E-mail: xuwanyingnj@126.com

晚期糖基化终产物(advanced glycation end-products,AGEs)是还原糖与核酸、蛋白质之间经过非酶促反应后进一步重排形成的不可逆终产物[1],参与了众多疾病如糖尿病、癌症、心血管疾病及衰老等过程,沉默信息调节因子3(*silent mating type information regulation* 2 *homolog*-3,*Sirt*3)是存在于线粒体内与维持线粒体氧化还原稳态密切相关的蛋白脱乙酰酶[2],和心脏肥厚、肾损伤、骨关节炎等发病机制相关[3],久坐不动的老年人与年轻人相比 *Sirt*3 水平减少了40%[4]。本实验研究原代心肌细胞中 *Sirt*3 改变是否参与 AGEs 致心肌衰老的过程。黄山药总皂苷(total saponins of dioscorea pathaica,TSDP)是薯蓣科植物黄山药根茎中提取物,主要成分为甾体皂苷类,具有治疗心肌缺血、降血脂和抗肿瘤等作用,本团队前期研究其保护作用可能与 *Sirt*3 升高相关,本实验将进一步探讨其中机制。

1 材料与方法

1.1 研究材料

出生1~3 d 清洁级 SD 乳大鼠购于南京青龙山动物养殖场;高糖培养基(Dulbecco's modified eagle medium,DMEM)及Ⅱ型胶原酶购于美国 Sigma 公司;AGEs(ab51995)购于美国 Abcam 公司;胎牛血清,磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffered saline,PBS)购于美国 Gibco 公司;p16、p53 抗体购于中国 Proteintech 公司;SIRT3 及超氧化物歧化酶-2(superoxide dismutase-2,SOD2)抗体购于美国 CST 公司;*Sirt*3 siRNA 购于中国吉玛基因公司;SA-β-Gal 染色试剂盒及活性氧(reactive oxygen species,ROS)检测试剂盒购于上海碧云天公司;TSDP 提取物原粉购于成都地奥制药公司。

1.2 方法

1.2.1 分离与培养原代心肌细胞 取 SD 乳大鼠,在无菌条件下剪开胸壁取出心脏,马上放于无菌预冷的 PBS 中清洗3次,随后剪碎,在0.1%的Ⅱ型胶原酶中反复消化7次,每次消化6 min,把每次消化后的液体收集后滴入含有完全培养基和血清的终止液里。将所有收集溶液于4 ℃,1 000 转/min 离心机中离心10 min,吸弃上清,加入含有10%的胎牛血清的 DMEM 培养基中重悬,随后铺板在10 cm 培养皿中,放置在37 ℃温箱中共1.5 h,所收集的上清液含有心肌细胞,用枪吹匀,在6孔板中铺板,继续培养48 h。

1.2.2 实验分组与干预 为研究原代心肌细胞中 *Sirt*3 表达对 AGEs 诱导心肌老化的影响,把细胞分组如下:对照组(正常培养不转染 siRNA),阴性参照 AGEs+NC siRNA 组(转染 NC siRNA 后加入100 ng/ml AGEs 刺激48 h),AGEs+*Sirt*3 siRNA 组(转染 *Sirt*3 siRNA 后加入100 ng/ml AGEs 刺激48 h)。随后探讨 TSDP 对心肌老化的影响,将细胞分为空白对照组(正常培养不转染 siRNA),AGEs+NC siRNA 组(转染 NC siRNA 后加入100 ng/ml AGEs 刺激48 h),AGEs+TSDP+NC siRNA 组(转染 NC siRNA 后加入10 ng/ml TSDP 预干预细胞,2 h 后加入100 ng/ml AGEs 继续刺激48 h)及 AGEs+TSDP+*Sirt*3 siRNA 组(转染 *Sirt*3 siRNA 后加入 TSDP10 ng/ml 预干预心肌细胞,2 h 后加入100 ng/ml AGEs 继续刺激48 h)。

1.2.3 *Sirt*3 siRNA 干扰 在6孔板培养提取的原代心肌细胞,控制细胞密度约为每毫升 5×10^5 个。48 h 后观察心肌细胞,密度达70%~90%,并显示细胞已贴壁,搏动有力,换液培养,过夜后干预。配制试剂:无菌操作下取 EP 管,以125 μl DMEM 稀释7.5 μl lipfectamine 3 000,轻轻吹匀。取另一只 EP 管,以125 μl DMEM 稀释100 pmol *Sirt*3 siRNA 吹匀。放置于室温5 min。将上述两种溶液加在一起后于室温放置5 min 来形成 siRNA/lipofectamin 复合物。取出细胞吸弃培养基,加入上述配制好的复合物。用十字交叉法摇匀溶液,随后放入37 ℃含 CO_2 培养箱中培养。24 h 后吸除溶液,洗涤细胞换液培养继续实验。*Sirt*3 siRNA 序列信息:Sense 为5′-CCAUCUUUGAACUAGGCUUTT-3′;Anti-sense 为5′AAGCCUAGUUCAAAGAUGGTT-3′。阴性干扰序列信息:Sense 为5′-UUCUCCGAACGUGUCACGUTT-3′;Anti-sense 为5′-ACUUGACACGUUCGGAGAATT-3′。

1.2.4 测定半乳糖苷酶 SA-β-Gal 活性 吸弃培养基,每孔加染色固定液1 ml,静置室温15 min。吸弃固定液后用 PBS 清洗3次,随后每孔加染色工作液1 ml,用保鲜膜包裹,随后置于无 CO_2 的温箱中过夜。用光学显微镜观察并拍照计数。

1.2.5 测定活性氧 弃培养基后,在避光条件下将 DCFH-DA1 ml(10 μmol/ml)加入培养细胞。静置于培养箱20 min 后,用 DMEM 溶液清洗3次,随后用荧光显微镜观察细胞并拍照,用 image J 软件测荧光强度。

1.2.6 免疫印迹试验检测细胞内蛋白表达水平 用裂解缓冲液(radioimmunoprecipitation assay,RIPA)提取原代心肌细胞蛋白,用蛋白质定量法(bicinchoninic acid,BCA)法测细胞所含蛋白浓度。随后配胶与跑胶:分别配制好分离胶和浓缩胶,取出蛋白煮沸5 min 后室温冷却。加样,电泳,直至溴酚蓝到达分离胶的底部关闭电源。用100 V 电压转膜1 h,4 ℃条件下在牛奶中封闭2 h。加入一抗 SOD2,β-actin,P53,P62 (1∶1 000)过夜。第2天洗膜,放入二抗2 h 后,继续洗膜3次,用增强型化学发光(enhanced chemiluminescence, ECL)试剂盒发光,显示蛋白目标条带。

1.3 统计学处理

采用 GraphPad Prism 统计软件进行数据分析。计量资料用均数±标准差($\bar{x}\pm s$)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 *Sirt*3 siRNA 干预 AGEs 诱导的心肌细胞后对老化的影响

原代心肌细胞中 AGEs+NC siRNA 组和 AGEs+*Sirt*3 siRNA 组分别同对照组相比,SIRT3 蛋白表达水平减少,P53、P16 蛋白表达水平升高,SA-β-Gal 染色阳性的细胞百分比升高,差异均有统计学意义($P<0.05$)。AGEs+*Sirt*3 siRNA 组与 AGEs+NC siRNA 比较,P53 表达水平进一步升高,差异有统计学意义($P<0.05$);而 P16 表达水平及 SA-β-Gal 染色比例增高差异无统计学意义(图 1)。

2.2 *Sirt*3 siRNA 及 AGEs 对抗氧化蛋白 SOD2 及氧化应激的影响

AGEs+NC siRNA 组和 AGEs+*Sirt*3 siRNA 组分别同对照组相比,SOD2 表达水平减少,ROS 升高,差异有统计学意义($P<0.05$);AGEs+*Sirt*3 siRNA 组与 AGEs+NC siRNA 比较,SOD2 及 ROS 改变差异无统计学意义(图 2)。

2.3 TSDP 保护 AGEs 诱导的心肌老化过程中 *Sirt*3 的作用

AGEs+NC siRNA 组较空白对照组 SA-β-Gal 阳性细胞比例增加;AGEs+TSDP+NC siRNA 组较 AGEs+NC siRNA 组,SA-β-Gal 阳性细胞比例减少($P<0.05$);AGEs+TSDP+*Sirt*3 siRNA 较 AGEs+TSDP+NC siRNA 组相比,上述对 SA-β-Gal 阳性细胞比例减少的作用消失(图 3)。

3 讨 论

AGEs 随着年龄的增长而急剧累积,通过氧化应激引发炎症进展,导致心血管疾病、糖尿病、甚至癌症等疾病进展。在心脏中,AGEs 参与心力衰竭过程,尤其是在糖尿病心肌病和衰老过程中起着重要的作用[4]。我们的前期细胞水平研究发现:老龄大鼠心肌的 AGEs 含量明显升高,舒张功能下降,发生心肌重构,其机制与氧化应激、线粒体自噬功能异常相关。心脏是人体的生命之泵,它需要正常功能的线粒体来满足心肌对能量的高需求,但线粒体同时也是重要的 ROS 来源,大约 90%的细胞 ROS 在线粒体中产生。ROS 生成与清除之间的不平衡对细胞功能不利,其过量产生影响线粒体 DNA 修复及细胞功能。本课题组前期研究也证明了 AGEs 致心肌细胞衰老可能是通过增加了氧化应激进而导致的线粒体功能损伤所致[5]。因此,寻找有效的抗氧化物,抑制氧化应激,维持线粒体正常功能成了延缓心肌衰老的思路。*Sirt*3 是存在于线粒体的一种烟酰胺腺嘌呤二核苷酸依赖性蛋白脱乙酰酶,具有强大的脱乙酰酶活性,和维持线粒体氧化还原稳态密切相关[2]。本实验旨在探讨心肌老化机制,研究 *Sirt*3 在心肌老化中的作用,寻找老化干预靶点。

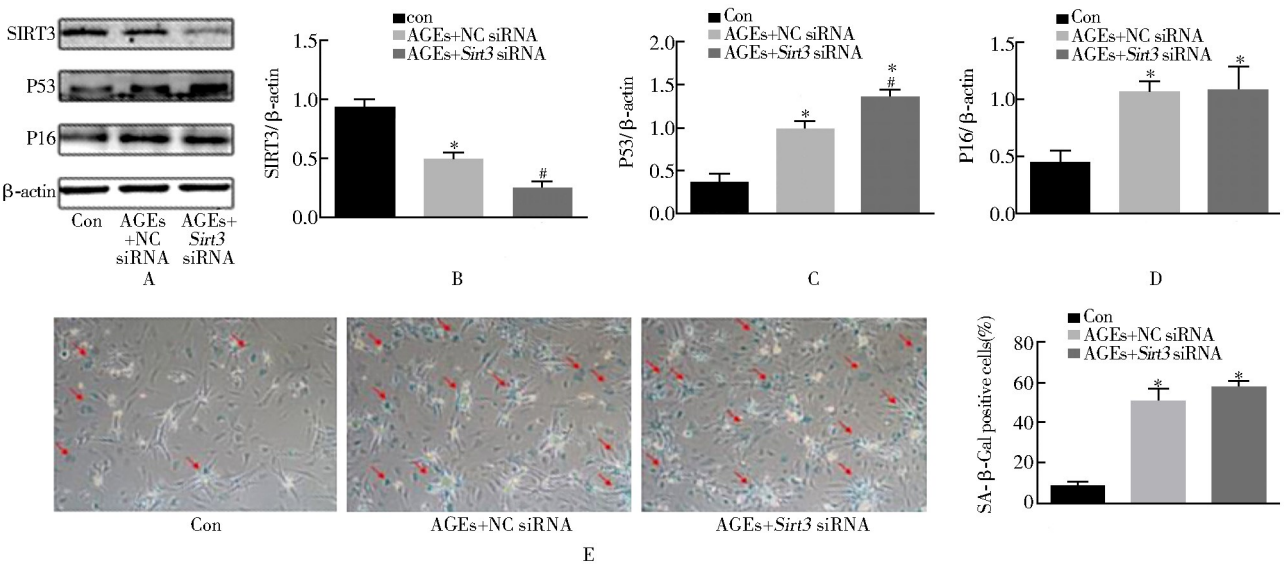

图 1 *Sirt*3 siRNA 对心肌老化的影响

Figure 1 Effect of *Sirt*3 siRNA on cardiac senescence ($n=3$)

A, B, C, D: expression level of p53, P16, and SIRT3 were determined by Western blot; E: SA-β-Gal positive cells were stained blue (indicated by red arrow; ×100). Con: control; AGEs: advanced glycation end products; NC: negative control; *Sirt*3: *silent mating type information regulation* 2 *homolog*-3; siRNA: small interferring RNA. Compared with control group, $^{*}P<0.05$; compared with AGEs+NC siRNA group, $^{\#}P<0.05$.

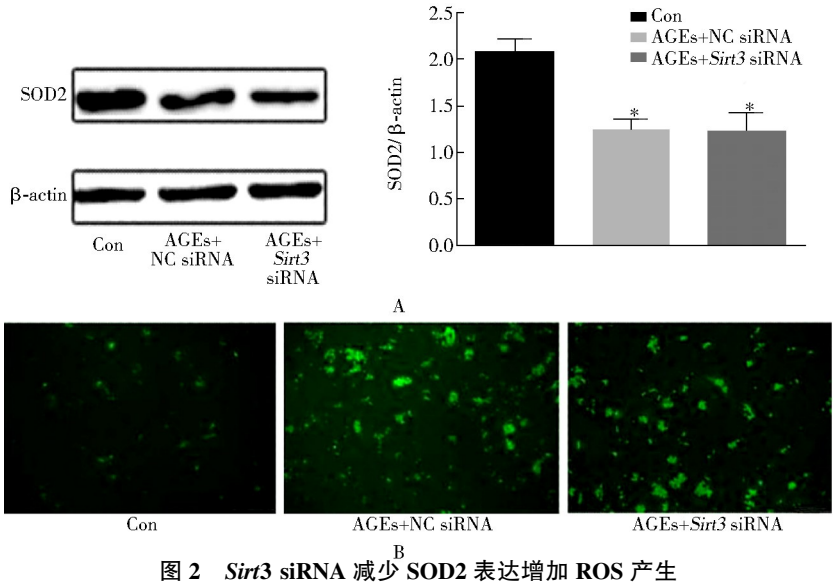

图 2 *Sirt3* siRNA 减少 SOD2 表达增加 ROS 产生

Figure 2 *Sirt3* siRNA decreased SOD2 expression and increased ROS production ($n=3$)

A: expression of SOD2 was determined by Western blot; B: green fluorescence intensity represented ROS expression level in cardiomyocytes (×100). Con: control; AGEs: advanced glycation end products; NC: negative control; siRNA: small interferring RNA; *Sirt3*: *silent mating type information regulation* 2 *homolog*-3; SOD2: superoxide dismutase-2. Compared with control group, $^{*}P<0.05$.

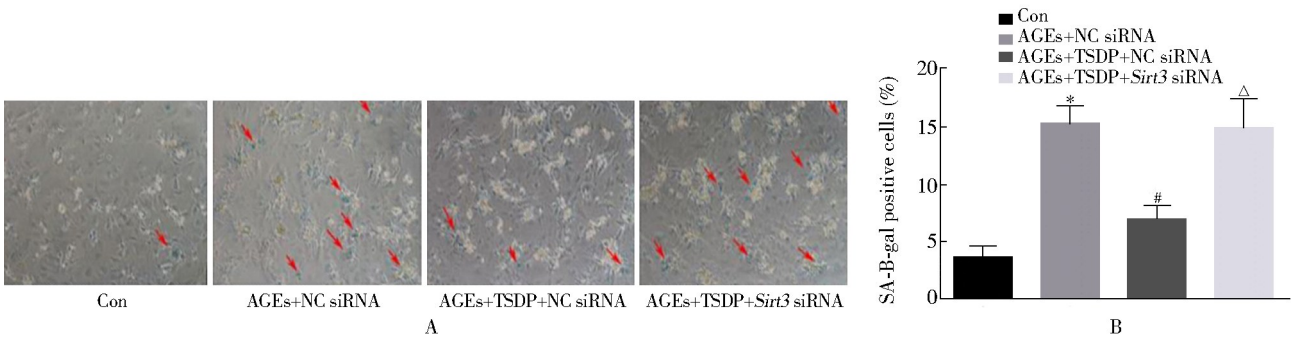

图 3 TSDP 干预 AGEs 诱导的心肌老化过程中 *Sirt3* siRNA 干预后的影响

Figure 3 Effect of TSDP on AGEs-induced cardiac senescence after *Sirt3* siRNA intervention ($n=3$)

A: SA-β-gal positive cells were stained blue (red arrow, ×100); B: quantitative analysis was performed on the proportion of SA-β-Gal positive cells. Con: control; AGEs: advanced glycation end products; NC: negative control; siRNA: small interferring RNA; TSDP: total saponins of dioscorea pathaica; *Sirt3*: *silent mating type information regulation* 2 *homolog*-3. Compared with control group, $^{*}P<0.05$; compared with AGEs+NC siRNA group, $^{\#}P<0.05$; compared with AGEs+TSDP+NC siRNA group, $^{\triangle}P<0.05$.

研究报道,在与氧化应激和线粒体相关的疾病如心脏肥厚、急性肾损伤、骨关节炎中均会出现 *Sirt3* 功能受损的现象[6],而通过靶向 *Sirt3*-COX4I2 轴重编程线粒体呼吸链复合体可减缓骨关节炎进展[6]。在阿尔茨海默症模型中,*Sirt3* 通过引起脱乙酰化蛋白的构象变化,参与线粒体抗氧化防御,*Sirt3* 的上调可维持线粒体稳态,因此它可能是包括神经退行性疾病在内的许多疾病的潜在治疗靶点[7]。在内皮祖细胞中,AGEs 干预减少了 *Sirt3* 表达水平,而过表达 *Sirt3* 则保护了 AGEs 所诱导的细胞功能障碍并增强了细胞抗氧化能力[8]。众多学者也研究了 *Sirt3* 对心脏的影响,有文献指出 *Sirt3* 去乙酰化可改善线粒体过渡孔的通透性,避免如心肌肥厚、缺血再灌注、间质纤维化和心力衰竭等疾病中的心肌细胞功能障碍[9]。然而,有争议的是,也有文献指出 *Sirt3* 升高可损伤细胞功能。在某些类型的癌症如结肠癌、胃癌、乳腺癌中[10],*Sirt3* 起到肿瘤启动子的作用,另有研究称在敲除 *Sirt3* 的年轻小鼠心脏中,心脏功能并未表现出任何缺陷[11]。此实验发现,AGEs 可减少 SIRT3 的表达,降低 SOD2 蛋白表达水平,升高 P16、P53 水平,引起细胞活性氧产生增加,促进衰老进程;siRNA 敲降 *Sirt3* 后 AGEs 干预组进一步增加了 AGEs 引起的 P53 升高幅度。我们分析,AGEs 减少抗氧化蛋白 SOD2 的表达,加重线粒体氧化应激,促进 AGEs 诱导的心肌老化进程,可能与下调 *Sirt3* 的表达水平有关。但 AGEs 致心肌老化基础上进一步敲降 *Sirt3* 后,P16 蛋白表达水平及 SA-β-Gal 的阳性细胞比例较 AGEs 组改变差异无统计学意义,可能因老化涉及通路众多,AGEs 已较大程度致使心肌老化,这有待更多实验验证。

众多文献报道 *Sirt*3 与维持线粒体氧化还原稳态密切相关,在心血管疾病方面,*Sirt*3 激活了 SOD2 和过氧化氢酶,通过转录因子的去乙酰化抑制活性氧 ROS 产生[12]。*Sirt*3 基因敲除小鼠的肝细胞中可观察到 SOD2 活性降低,线粒体 ROS 产生增加,进而影响细胞正常功能。而 *Sirt*3 的上调使 SOD2 去乙酰化并增强其活性,降低线粒体氧化应激[13];内皮祖细胞中 *Sirt*3/SOD2 信号通路的上调可增强细胞的再内皮化能力,保存线粒体氧化还原稳态[14]。在此实验中,采用 *Sirt*3 siRNA 预处理 AGEs 干预组、NC siRNA 预处理 AGEs 干预组,并分别与对照组相比发现,SIRT3 下降同时伴随着 SOD2 下降及线粒体 ROS 产生增加。结合既往文献,考虑心肌细胞中 SOD2 可能是 *Sirt*3 影响细胞氧化应激的一个靶标。

一些天然产物已被证明可激活 *Sirt*3 活性,目前研究最多的药物之一是白藜芦醇。其保护机制可能是通过上调 *Sirt*3 活性提供多巴胺能神经保护,从而激活 SOD2 活性减少体内的氧化攻击。高剂量茶多酚 HBP 能有效增加线粒体功能蛋白 *Sirt*3 的表达,抑制骨骼肌 AGEs,减少骨骼肌的氧化应激[15]。与 *Sirt*3 相关的药理学研究也表明,其激活剂如二甲双胍,可以显著降低动脉粥样硬化 AS 的风险[16]。我们前期研究发现,TSDP 预干预 AGEs 诱导的细胞后,增加 *Sirt*3 及 SOD2 蛋白的表达水平,减少了 ROS 的产生,并减少了衰老相关蛋白 P53 水平表达,其可能是通过增加 *Sirt*3 蛋白的表达水平而改善 AGEs 诱导的心肌老化进程[17]。在此实验中,敲降 *Sirt*3 后,TSDP 引起的老化心肌 SA-β-Gal 染色阳性细胞比例减少现象被逆转;这种敲降 *Sirt*3 后心肌老化改善的现象被抵消,表明在一定程度上,TSDP 可能是通过调控 *Sirt*3 表达水平来影响老化。后续,我们将进一步完善 *Sirt*3 过表达对心肌细胞的影响,及 *Sirt*3 对线粒体功能的影响,找出其中联系进一步探讨老化机制。

综上,AGEs 减少心肌细胞抗氧化物蛋白 SOD2 的表达,加重线粒体氧化应激,促进 AGEs 诱导的心肌老化进程,可能与下调 *Sirt*3 的表达水平相关。TSDP 可能是通过调控 *Sirt*3 的表达水平而影响老化。但进一步沉默 *Sirt*3 表达水平未明显加重 AGEs 诱导的氧化应激及老化相关指标表达,可能与 AGEs 已较大程度减少了 *Sirt*3 表达进而致心肌细胞老化有关。目前的研究有一些局限性,我们仅研究了 *Sirt*3 及氧化应激信号通路,它不是老化的唯一通路;其次,细胞水平的研究相对单一,动物实验需跟进,过表达 *Sirt*3 实验未完善。然而此次研究也找到了一个影响心肌老化的切入点,未来我们将继续研究过表达 *Sirt*3 对心肌老化的影响。上调 *Sirt*3 水平有望成为延缓 AGEs 诱导的心肌衰老的潜在靶点。

【参考文献】

[1] Chaudhuri J, Bains Y, Guha S, *et al*. The role of advanced glycation end products in aging and metabolic diseases: bridging association and causality[J]. Cell Metab, 2018, 28(3): 337-352. DOI: 10.1016/j.cmet.2018.08.014.

[2] Kumar S, Lombard DB. Mitochondrial sirtuins and their relationships with metabolic disease and cancer[J]. Antioxid Redox Signal, 2015, 22(12): 1060-1077. DOI: 10.1089/ars.2014.6213.

[3] Cheng A, Wang J, Ghena N, *et al*. *Sirt*3 haploinsufficiency aggravates loss of GABAergic interneurons and neuronal network hyperexcitability in an Alzheimer's disease model[J]. J Neurosci, 2020, 40(3): 694-709. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1446-19.2019.

[4] Perrone A, Giovino A, Benny J, *et al*. Advanced glycation end products (AGEs): biochemistry, signaling, analytical methods, and epigenetic effects[J]. Oxid Med Cell Longev, 2020, 2020: 3818196. DOI: 10.1155/2020/3818196.

[5] Zha ZM, Wang JH, Li SL, *et al*. Pitavastatin attenuates AGEs-induced mitophagy *via* inhibition of ROS generation in the mitochondria of cardiomyocytes[J]. J Biomed Res, 2018, 32(4): 281-287. DOI: 10.7555/JBR.31.20160116.

[6] Fu Y, Kinter M, Hudson J, *et al*. Aging promotes sirtuin 3-dependent cartilage superoxide dismutase 2 acetylation and osteoarthritis[J]. Arthritis Rheumatol, 2016, 68(8): 1887-1898. DOI: 10.1002/art.39618.

[7] He Y, Wu Z, Xu L, *et al*. The role of *Sirt*3-mediated mitochondrial homeostasis in osteoarthritis[J]. Cell Mol Life Sci, 2020, 77(19): 3729-3743. DOI: 10.1007/s00018-020-03497-9.

[8] Chang M, Zhang B, Tian Y, *et al*. AGEs decreased *Sirt*3 expression and *Sirt*3 activation protected AGEs-induced EPCs' dysfunction and strengthened anti-oxidant capacity[J]. Inflammation, 2017, 40(2): 473-485. DOI: 10.1007/s10753-016-0493-1.

[9] Sun W, Liu C, Chen Q, *et al*. *Sirt*3: A new regulator of cardiovascular diseases[J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, 2018: 7293861. DOI: 10.1155/2018/7293861.

[10] Torrens-Mas M, Pons DG, Sastre-Serra J, *et al*. *Sirt*3 silencing sensitizes breast cancer cells to cytotoxic treatments through an increment in ROS production[J]. J Cell Biochem, 2017, 118(2): 397-406. DOI: 10.1002/jcb.25653.

[11] Koentges C, Pfeil K, Meyer-Steenbuck M, *et al*. Preserved recovery of cardiac function following ischemia-reperfusion in mice lacking *Sirt*3[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2016, 94(1): 72-80. DOI: 10.1139/cjpp-2015-0152.

[12] He X, Zeng H, Chen JX. Emerging role of *Sirt*3 in endothelial metabolism, angiogenesis, and cardiovascular disease[J]. J Cell Physiol, 2019, 234(3): 2252-2265. DOI: 10.1002/jcp.27200.

[13] Yang Y, Wang W, Xiong Z, *et al*. Activation of *Sirt*3 attenuates triptolide-induced toxicity through closing mitochondrial permeability transition pore in cardiomyocytes[J]. Toxicol *In Vitro*, 2016, 34: 128-137. DOI: 10.1016/j.tiv.2016.03.020.

[14] He J, Liu X, Su C, *et al*. Inhibition of mitochondrial oxidative damage improves reendothelialization capacity of endothelial progenitor cells *via Sirt*3 (Sirtuin 3)-enhanced SOD2 (superoxide dismutase 2) deacetylation in hypertension[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2019, 39(8): 1682-1698. DOI: 10.1161/ATVBAHA.119.312613.

[15] Nie C, Li T, Fan M, *et al*. Polyphenols in highland barley tea inhibit the production of advanced glycosylation end-products and alleviate the skeletal muscle damage[J]. Mol Nutr Food Res, 2022, 66(18): e2200225. DOI: 10.1002/mnfr.202200225.

[16] Jing SH, Yu B, Qiao H. Correlation between endothelial cell apoptosis and *Sirt*3 gene expression in atherosclerosis rats[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2019, 23(20): 9033-9040. DOI: 10.26355/eurrev_201910_19305.

[17] 徐婉莹, 查志敏, 冯楚炎, 等, 黄山药总皂苷对晚期糖基化终产物诱导心肌老化的保护作用及机制[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2020, 19(7): 545-550. DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2020.07.128

(编辑: 温玲玲)