香青兰总黄酮通过STING/NLRP3通路抑制心肌细胞焦亡改善多柔比星心脏毒性

卡尔布奴•木沙[1], 卡德尔业•卡德尔[2], 徐　磊[2], 邢建国[2*], 王　玥[2*]

(1. 新疆医科大学药学院, 新疆 乌鲁木齐 830011;　2. 新疆维吾尔自治区药物研究院, 新疆 乌鲁木齐 830002)

摘要: 基于STING/NLRP3信号通路探讨香青兰总黄酮 (total flavonoids of *Dracocephalum moldavica* L., TFDM) 对多柔比星 (doxorubicin, DOX) 诱导的心脏毒性的保护作用及可能的作用机制。本研究获得了新疆维吾尔自治区药物研究院动物伦理委员会的审核与批准 (批准号: XJIMM-20250201)。通过单次腹腔注射DOX (20 mg·kg^{-1}) 构建多柔比星心脏毒性 (doxorubicin-induced cardiotoxicity, DIC) 模型, 观察各组小鼠体重、心重和心脏指数变化并用心动超声仪评价心脏功能。HE染色和Masson染色观察小鼠心肌组织损伤情况, 使用相关试剂盒检测小鼠血清中心肌酶的活性及组织中氧化应激指标和心肌组织中炎症因子的水平。Western blot法检测心肌组织中STING/NLRP3通路及焦亡关键蛋白的表达。此外, 进一步在大鼠H9c2心肌细胞中评价了TFDM (100 μg·mL^{-1}) 对DOX或STING激动剂vadimezan (DMXAA) 刺激下炎症因子及STING/NLRP3信号通路的影响。小鼠体内研究结果显示, TFDM能够有效提高小鼠的体重、心重比、左室射血分数、左室短轴缩短率, 降低左心室舒张末期内径和左心室收缩末期内径; 抑制心肌酶、氧化应激指标和炎症因子的异常升高并改善心肌炎症浸润及纤维化程度。此外, 还能够抑制DIC小鼠STING/NLRP3通路的激活及焦亡关键蛋白的表达。体外实验结果表明, TFDM干预能有效降低炎症因子的释放, Western blot结果显示, DOX及DMXAA均显著提高STING通路及相关焦亡蛋白的表达, TFDM给药后其蛋白表达水平显著下降。综上所述, TFDM预处理可以有效缓解DIC, 抑制细胞焦亡和炎症级联反应, 减轻DIC小鼠心肌损伤程度并改善心脏功能, 从而发挥心肌保护和减轻多柔比星心脏毒性的作用, 其机制可能与抑制STING/NLRP3通路有关。

关键词: 香青兰总黄酮; 多柔比星心脏毒性; STING/NLRP3通路; 焦亡; 炎症

中图分类号: R966　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 0513-4870(2026)06-2192-12

Total flavonoids of *Dracocephalum moldavica* L. ameliorate doxorubicin-induced cardiotoxicity by inhibiting cardiomyocyte pyroptosis *via* the STING/NLRP3 pathway

MUSHA Kaerbunu[1], KADER Kaderyea[2], XU Lei[2], XING Jian-guo[2*], WANG Yue[2*]

(*1. College of Pharmacy, Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, China;　2. Xinjiang Institute of Materia Medica, Urumqi 830002, China*)

Abstract: This study aimed to investigate the protective effect and potential mechanism of total flavonoids of *Dracocephalum moldavica* L. (TFDM) against doxorubicin (DOX)-induced cardiotoxicity (DIC) *via* the STING/

收稿日期: 2025-09-28;　修回日期: 2026-02-13.

基金项目: 新疆维吾尔自治区自然科学基金 (2025D01B145); 新疆维吾尔自治区天山英才科技创新领军人才 (2023TSYCLJ0042); 新疆维吾尔自治区第二批“天山英才”-青年托举人才项目 (2023TSYCQNTJ0010); 新疆维吾尔自治区科研业务费 (KY2025076); 新疆维吾尔自治区科研业务费 (KY2025077).

*通讯作者 Tel: 13999178585, E-mail: xjguodd@qq.com;
Tel: 18935977635, E-mail: 1010726552@qq.com

DOI: 10.16438/j.0513-4870.2025-1161

NLRP3 signaling pathway. The protocol was approved by the Animal Ethics Committee of Xinjiang Institute of Materia Medica (approval No.: XJIMM-20250201). The DIC model was established by a single intraperitoneal injection of DOX (20 mg·kg^{-1}). Body weight, heart weight, heart index, and cardiac function (evaluated by echocardiography) were measured in each group. HE staining and Masson staining were used to observe myocardial tissue damage. Myocardial enzyme activities in serum, as well as oxidative stress indicators and inflammatory factor levels in myocardial tissue, were detected by corresponding kits. Western blot was performed to assess the expression of STING/NLRP3 pathway-related and pyroptosis key proteins in myocardial tissue. Additionally, the effects of TFDM (100 μg·mL^{-1}) on inflammatory factors and the STING/NLRP3 pathway in rat H9c2 cardiomyocytes stimulated by DOX or the STING agonist vadimezan (DMXAA) were further evaluated *in vitro*. *In vivo* experiments showed that TFDM effectively increased body weight, heart weight ratio, left ventricular ejection fraction (LVEF), and left ventricular fractional shortening (LVFS), while decreasing left ventricular internal diameter at end-diastole (LVIDd) and left ventricular internal diameter at end-systole (LVIDs) in DIC mice. TFDM inhibited the abnormal elevation of myocardial enzymes, oxidative stress indicators and inflammatory factors, and ameliorated myocardial inflammatory infiltration and fibrosis. Furthermore, TFDM suppressed the activation of the STING/NLRP3 pathway and the expression of pyroptosis-related proteins in DIC mice. *In vitro* results demonstrated that TFDM intervention reduced the release of inflammatory factors; Western blot confirmed that both DOX and DMXAA significantly upregulated the expression of STING pathway and pyroptosis-related proteins, which were markedly downregulated after TFDM treatment. In conclusion, TFDM pretreatment exerts a protective effect against DIC by alleviating myocardial injury and improving cardiac function, and its mechanism may be associated with the inhibition of the STING/NLRP3 pathway to suppress cell pyroptosis and inflammatory cascade reaction.

Key words: total flavonoids of *Dracocephalum moldavica* L.; doxorubicin-induced cardiotoxicity; STING/NLRP3 pathway; pyroptosis; inflammation

多柔比星 (doxorubicin, DOX) 属于蒽环类广谱抗癌药物, 广泛用于乳腺癌、淋巴瘤、急性白血病、卵巢癌等癌症的治疗[1]。但因其对心脏的选择性亲和力, 会对心脏造成不可逆的损伤[2], 这在很大程度上限制了多柔比星的临床应用。多柔比星心脏毒性 (doxorubicin-induced cardiotoxicity, DIC) 的病理机制复杂, 包括氧化应激、线粒体功能障碍、炎症反应、细胞凋亡、焦亡和自噬紊乱等[3]。近年来研究发现DOX可促进心肌NLRP3炎性小体的活化并引发心肌细胞焦亡, 进而加重炎症反应和心肌损伤[4], 因此细胞焦亡被认为是DIC进行性心肌功能障碍的主要原因之一, 但其机制尚未完全清楚。右丙亚胺 (dexrazoxane, DXZ) 是美国食品药品监督管理局 (FDA) 批准的唯一一种具有铁螯合活性的心脏保护剂, 用于防治蒽环类药物诱导的心脏毒性[5]。其发挥心脏保护作用的机制主要是通过铁螯合作用降低ROS的生成, 从而防止ROS诱导的心肌细胞死亡[6]。然而, DXZ对癌症生存率的治疗作用存在争议, 研究发现其存在骨髓抑制[6]和抵消化疗药物的抗肿瘤活性作用, 长期使用可能会导致继发性恶性肿瘤[7,8]。为此, 深入探究多柔比星引起心脏毒性的发病机制, 寻找安全有效的药物显得尤为重要。

焦亡被确定为炎性半胱天冬酶 (主要是半胱天冬酶-1) 依赖性程序性细胞死亡, 其以核固缩、DNA断裂、细胞膜破裂和膜囊泡形成, 炎症因子的释放增加为主要特征[9], 在心血管疾病的发展进程中起着关键作用。研究表明核苷酸结合寡聚结构域样受体蛋白3 (nucleotide-binding oligomerization domain-containing protein 3, NLRP3) 炎性小体的异常激活与细胞焦亡关系密切。具体来说, NLRP3炎性小体的激活可以引起细胞内炎症微环境的改变, 促进促炎细胞因子白细胞介素IL-1β和IL-18的释放来放大炎症反应, 也可以通过裂解gasdermin D (GSDMD) 形成焦变膜孔[10], 从而诱导经典的细胞焦亡途径, 最终导致细胞焦亡。干扰素基因刺激因子 (stimulator of interferon genes, STING) 是胞质DNA传感器, 也是先天免疫的关键调节因子之一[11], 在与双链DNA结合后, 可被环鸟苷酸–腺苷酸合酶 (cGAS) 合成的2'3'-cGAMP激活。而STING可以通过激活脓毒症诱导的心肌病中的NLRP3来触发脂多糖诱导的心脏细胞焦亡[12]。此外, 对糖尿病心肌病 (diabetic cardiomyopathy, DCM) 的研究发现[13], DCM激活cGAS-STING和NLRP3炎症小体通路, 加重心肌细胞焦亡和心肌肥大。这些研究表明cGAS-STING通路可以激活NLRP3炎性小体, 从而加剧心肌炎症和心功能不全。DOX治疗会导致心肌

STING被激活进而促进NLRP3的活化, 引发细胞焦亡加重心肌损伤。研究发现[14]抑制STING/NRLP3信号通路能够减轻心肌细胞焦亡和炎症反应, 而使用STING激动剂二聚氨基苯并咪唑会逆转其心脏保护作用, 加重心肌损伤。这说明靶向心肌细胞STING/NLRP3通路和细胞焦亡可能是预防心肌病的潜在治疗策略, 这为探索多柔比星心脏毒性的机制提供了方向。

香青兰 (*Dracocephalum moldavica* L.) 在我国维吾尔医药中有着悠久的历史, 其全草均可入药, 具有确切疗效, 广泛应用于心脑血管疾病, 被收载于1998年版《中华人民共和国卫生部药品标准·维药分册》[15]。香青兰总黄酮 (total flavonoids of *Dracocephalum moldavica* L., TFDM) 提取于唇形科植物香青兰中, 能够减轻凋亡和氧化应激水平, 抑制炎症反应, 从而发挥心血管及神经保护作用和抗菌活性。此外, TFDM在心肌缺血再灌注损伤小鼠模型中显示出心脏保护作用[16]。然而, TFDM对DOX诱导的心脏毒性的干预效果及其潜在机制尚未完全清楚。因此, 本研究通过建立DIC小鼠模型和H9c2心肌细胞损伤模型, 以STING/NLRP3信号轴介导的细胞焦亡为切入点, 探讨TFDM对DOX诱导的心脏毒性的保护作用及分子机制, 为TFDM在预防DOX治疗后引起的心肌损伤的临床应用提供实验依据。

材料与方法

实验动物及细胞 6～8周龄C57BL/6J小鼠60只, 雄性, 体重20～25 g, 由斯克贝斯实验动物提供中心提供, 许可证号: SCXK (豫) 2020-0005。伦理审查号: XJIMM-20250201。小鼠购入后饲养于新疆维吾尔自治区药物研究院动物房, 环境温度为24 ± 2 ℃, 湿度为45%～65%, 光照和黑暗周期按照光照/黑暗12 h循环进行, 饮食饮水自由, 定期更换垫料。本实验使用大鼠H9c2心肌细胞 (CBP60588) 购自中国医学科学院基础医学研究所细胞资源中心, 将其置于5% CO_2、37 ℃培养箱中进行传代培养。

药品与试剂 TFDM (质量分数: 60.60%～62.35%, 批号: 20180406) 由新疆药物研究院自制; (DOX) HCl (货号: S1208)、STING激动剂vadimezan (DMXAA, 货号: S1537) 均购自于美国Selleck生物科技有限公司; 肌酸激酶同工酶 (creatine kinase MB isoenzyme, CK-MB) 试剂盒 (批号: E-EL-M0355)、肿瘤坏死因子-α (tumor necrosis factor-alpha, TNF-α) 试剂盒 (批号: E-EL-M3063)、白细胞介素1β (intreleukin-1β, IL-1β) 试剂盒 (批号: E-MSEL-M0003)、白细胞介素-6 (intreleukin-6, IL-6) 试剂盒 (批号: E-MSEL-M0001)、白细胞介素-10 (intreleukin-10, IL-10) 试剂盒 (批号: E-EL-M0046)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutamyl cysteinyl glycine, GSH) 试剂盒 (批号: E-BC-K030-M) 购自武汉伊莱瑞特生物科技股份有限公司; 丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 试剂盒 (批号: A003-1-2)、乳酸脱氢酶 (lactate dehydrogenase, LDH) 试剂盒 (批号: A020-2-2) 购自南京建成生物工程研究所; Masson染色试剂盒 (批号: G1340-7*100 mL) 购自北京索莱宝科技有限公司。苏木素染色液 (型号: Harris)、伊红染色液 (水溶性) 购自珠海贝索生物技术有限公司。

仪器 便携式彩色多普勒超声系统 (深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司, 型号: M7Vet); 台式高速冷冻离心机 (湖南湘仪实验室仪器开发有限公司, 型号: TGL-16k); 多功能微孔板检测仪 (瑞士TECAN SPARK公司, 型号: SPARK); 多功能成像系统 (法国VILBER公司, 型号: FUSION Fx6); 包埋机 (常州市中威电子仪器, 型号: BMJ-A); 光学显微镜 (日本OLYMPUS公司, 型号: CX21); 电热恒温鼓风干燥箱 (上海齐欣科学仪器有限公司, 型号: DGG-9240A); 超声波细胞粉碎机 (宁波新芝生物科技股份有限公司, 型号: JY92-IIN); 荧光倒置显微镜 (重庆奥特光学仪器有限责任公司, 型号: BDS-FL); 小动物智能麻醉机 (北京众实迪创科技发展有限公司, 型号: ZS-MV-IDV); 全自动雪花制冰机 (上海向帆仪器有限公司, 型号: IMS-50); CO_2培养箱 (美国Thermo Fisher Scientific公司, 型号: Heracell™ 240i)。

动物模型的建立、分组及给药 60只雄性C57BL/6J小鼠适应性喂养1周后, 采用随机分组法, 按照体重分层随机分为6组 (每组10只), 分别为对照组、模型组 (20 mg·kg^{-1})、TFDM低、中、高剂量 (45、90、180 mg·kg^{-1}) 组[17,18], DXZ (200 mg·kg^{-1}) 组[19,20]。首先, TFDM组小鼠分别按照不同浓度预给药, 持续2周。第8天除对照组外, 其余组单次腹腔注射DOX (生理盐水配制) 20 mg·kg^{-1}建立DIC模型[21,22], 右丙亚胺组在注射多柔比星前0.5 h通过腹腔注射给药。多柔比星给药后第7天对所有小鼠进行超声检测以确认造模是否成功。第8天取材, 取血, 分离血清和组织冻存待测。

小鼠体重、心重及心脏指数的测定 每天对各组小鼠进行称重, 记录体重变化情况。多柔比星给药第8天处理小鼠取材, 采血并摘取心脏, 用滤纸吸干心脏上残血后称重 (mg) 并计算心脏指数 (HW/BW)。心脏指数 = 心脏质量 (mg) /体重 (g) ×100%。

心脏功能评价 心动超声评估小鼠左心室功能, 使用1.5%异氟烷诱导小鼠麻醉后取仰卧位, 胸部及上

腹部脱毛, 充分暴露皮肤, 涂上适量超声耦合剂后, 使用高频超声探头在左室胸骨旁长轴切面进行超声检测, 在垂直于二尖瓣乳头肌后缘处描记超声图像, 各组小鼠选取至少4个连续的心动周期, 测量左心室舒张末期内径 (left ventricular internal diameter at end-diastole, LVIDd)、左心室收缩末期内径 (left ventricular internal diameter at end-systole, LVIDs), 计算小鼠左室射血分数 (left ventricular ejection fraction, LVEF) 及左室短轴缩短率 (left ventricular fractional shortening, LVFS)。

心肌损伤指标检测 将血液室温静置2 h, 然后以3 000 r·min^{-1}离心10 min, 取血清分装, 一部分用于后续检测, 另一部分储存至−80 ℃冰箱备用。取上述各组小鼠血清, 按照说明书操作步骤检测CK-MB、LDH水平。

氧化应激水平检测 取一部分小鼠心脏组织并用预冷的组织裂解液在细胞粉碎仪制备匀浆液。匀浆液在4 ℃离心 (12 000 r·min^{-1}, 10 min) 后取上清进行BCA定量, 按照试剂盒说明书中的操作步骤, 测定GSH活性, MDA含量。

心肌组织病理观察 HE染色用于观察心肌细胞形态及病理变化, Masson染色检测胶原沉积, 评估心肌纤维化程度。小鼠心肌组织置于4%多聚甲醛固定24 h后, 经脱水、浸蜡、包埋、切片 (厚4～5 μm)、烤片等步骤后, 按试剂盒说明书操作步骤进行HE和Masson染色, 使用中性树胶封片后置于显微镜下观察并拍照记录。

炎症因子含量检测 严格按照试剂盒说明书, 采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 检测小鼠心肌组织中炎症因子TNF-α、IL-1β、IL-6和IL-10的含量。

Western blot检测心脏组织STING/NLRP3信号通路相关蛋白的表达 将获取的心脏组织样本从−80 ℃冰箱取出, 剪下适当重量的心肌组织并剪成小碎片, 按照10 mg/100 μL的比例加入组织裂解液, 使用手持式组织匀浆器进行研磨破碎, 接着使用超声波细胞粉碎仪进一步充分裂解, 12 000 r·min^{-1}离心15 min后取上清液。采用BCA法测定样品的蛋白浓度, 加入5×蛋白上样缓冲液, 100 ℃金属浴加热5 min, 定量30～50 μg上样, 经SDS-PAGE凝胶电泳后转到PVDF膜上, 5%脱脂奶粉封闭2 h, 加入按照浓度比例稀释后的一抗 (p-STING、STING、NLRP3、C-caspase-1、pro-caspase-1、GSDMD-N、GSDMD、NF-κB、TNF-α、IL-1β) 4 ℃孵育过夜。第二日用1×TBST洗膜后加入二抗, 在室温条件下摇床孵育2 h, 最后洗膜并置于多功能成像系统进行拍摄记录。应用ImageJ软件测定蛋白条带的灰度值, 以内参 (GAPDH) 为基线进行归一化处理, 分析目的蛋白的相对表达水平。

细胞培养及模型的制备 用含10%胎牛血清的DMEM高糖培养基培养H9c2心肌细胞, 当细胞密度达到85%～90%时, 0.25%胰蛋白酶消化传代后, 将其置于37 ℃、5% CO_2, 湿度为70%～80%的培养箱中培养。首先使用0～200 μg·mL^{-1} TFDM检测药物对细胞的毒性反应, 筛选出安全的给药剂量。随后细胞随机分为对照组、DMXAA (10 μg·mL^{-1}) 组、DOX (1 μmol·L^{-1}) 组[23]、DOX+DMXAA+TFDM (100 μg·mL^{-1})、DOX+TFDM (100 μg·mL^{-1})。TFDM预处理12 h后用DOX或DMXAA诱导24 h, 建立心肌细胞损伤模型。

TFDM对细胞活力的影响 将H9c2细胞 (细胞数为1×10^{4}个/孔) 均匀接种于96孔板中, 按照“细胞培养及模型的制备”部分常规培养24 h后, 配制不同浓度梯度的香青兰总黄酮与H9c2细胞共培养48 h, 每个浓度设置6个复孔。随后按照CCK-8试剂盒说明书测定细胞活力, 酶标仪450 nm检测吸光度 (A) 值, 细胞活力 (%) = ($A_{实验}$−$A_{空白}$) / ($A_{对照}$−$A_{空白}$) ×100%。

炎症因子水平的检测 将H9c2细胞接种培养、分组, 给药处理后, 收集各组细胞培养液, 按照试剂盒说明书测定TNF-α、IL-6的活性。

Western blot检测H9c2细胞中STING/NLRP3通路相关蛋白的表达 取对数生长期H9c2细胞, 按每毫升1×10^{5}个的细胞数接种于6孔板中, 细胞长至70%～80%, 按照上述分组进行给药处理。弃去培养基后用预冷的PBS洗涤, 每孔加入200 μL RIPA裂解液裂解20 min。低温离心 (12 000 r·min^{-1}) 10 min, BCA试剂盒测定蛋白样品的浓度, 加入蛋白上样缓冲液, 金属浴95 ℃煮5 min, 置于−20 ℃保存备用。经电泳, 电转后加入适当浓度的一抗 (IL-10、GAPDH、p-STING、STING、NLRP3、C-caspase-1、pro-caspase-1、GSDMD-N、GSDMD) 4 ℃孵育过夜。第2日用1×TBST洗膜后加入二抗孵育2 h, 最后洗膜并置于多功能成像系统进行拍摄记录。应用ImageJ软件测定蛋白条带的灰度值, 分析目的蛋白的相对表达水平。

统计学分析 统计学分析采用GraphPad Prism 8.0软件进行数据统计学分析, 结果均以$\bar{x} \pm s$表示, 多组间比较采用单因素方差分析 (ANOVA), $P < 0.05$认为差异具有统计学意义。使用GraphPad Prism 6软件作图。

结果

1 TFDM能够缓解DOX诱导的小鼠心脏功能障碍

体重变化是评估多柔比星心脏毒性的重要指标之一, 心重比是评估心脏毒性程度的重要参数。各组间

初体重无显著差异 ($P > 0.05$), 腹腔注射多柔比星后, 对照组小鼠状况良好, 体重无明显变化, 无死亡。与对照组小鼠相比, 模型组小鼠普遍精神状况较差, 出现体重 (BW) 下降, 活动强度减弱等现象, 并有一只小鼠死亡。心脏重量 (HW) 和心脏重量/体重 (HW/BW) 比率显著降低 ($P < 0.01$)。与模型组小鼠相比, TFDM 低、中、高剂量组小鼠的体重均呈上升趋势, 高剂量组小鼠体重恢复较好, 一般情况均明显改善, TFDM 干预后 HW 和 HW/BW 比率升高 (图 1A～C), 这提示 TFDM 能够有效改善 DIC 小鼠一般状况及心脏指数的异常改变。

心脏超声检查是评估心脏功能和结构细微变化的重要手段, 有助于早期识别多柔比星心脏毒性[16]。超声心动结果显示, 与对照组相比, 模型组 LVIDd 轻微升高, 差异无统计学意义, LVIDs 显著升高 ($P < 0.01$), LVEF 和 LVFS 显著降低 ($P < 0.01$), 这说明模型组小鼠出现左心腔增大、室壁变薄、心功能降低等病理改变, DIC 模型构建成功; 与模型组比较, TFDM 各剂量组小鼠 LVIDd 无显著差异, LVIDs 有下降的趋势, LVEF 和 LVFS 显著升高 ($P < 0.01$)。说明香青兰总黄酮改善了 DIC 小鼠心脏功能障碍 (图 1D～H)。

2 TFDM 能够减轻 DOX 引起的小鼠心肌损伤

CK-MB 主要分布在心肌, 具有较高组织特异性, 其血清水平升高可特异性反映心肌细胞损伤或坏死[24], 为 DIC 的核心检测指标之一。LDH 分布位置较广泛, 不具有较好的组织特异性, 但在心肌损伤后 LDH 水平的持续升高可以用来评估心肌损伤的程度和范围。CK-MB 与 LDH 及心功能指标联合检测能够在早期评价心肌损伤及心功能下降的进程。与对照组比较, 模型组小鼠 CK-MB、LDH 水平显著升高 ($P < 0.05$), 结合心功能检测结果, 说明 DIC 小鼠模型成功; 与模型组比较, TFDM 各剂量组小鼠 CK-MB 水平显著

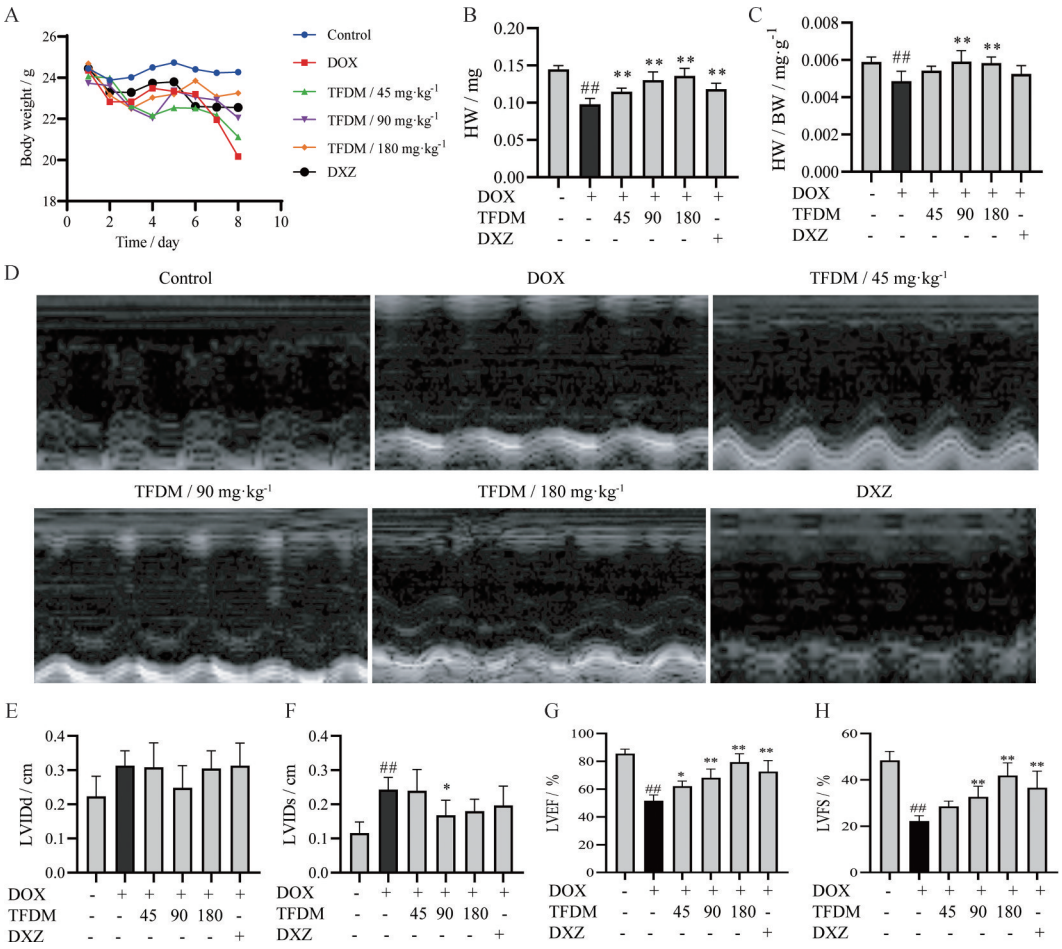


Figure 1 Total flavonoids of *Dracocephalum moldavica* L. (TFDM) can alleviate doxorubicin (DOX)-induced cardiac dysfunction in mice. A: Changes in body weight (BW) of mice within 7 days after doxorubicin injection; B: Changes in heart weight (HW) of mice; C: Changes in heart weight-to-body weight ratio (HW/BW) of mice; D: Representative M-mode echocardiograms; E: Quantitative data of left ventricular internal diameter at end-diastole (LVIDd); F: Quantitative data of left ventricular internal diameter at end-systole (LVIDs); G: Quantitative data of left ventricular ejection fraction (LVEF); H: Quantitative data of left ventricular fractional shortening (LVFS). $n = 6$, $\bar{x} \pm s$. $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* control group; $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ *vs* model group. DOX: 20 mg·kg^{-1}; TFDM: 45, 90 and 180 mg·kg^{-1}; DXZ: 200 mg·kg^{-1}

降低 ($P < 0.05$), TFDM低、中剂量组LDH水平无明显差异, 高剂量组LDH水平下降 ($P < 0.05$) (图2A、B)。TFDM低、中剂量对LDH无明显作用的原因可能与其非特异性及LDH对样本的高要求有关。采血、离心、运输不当等原因引起红细胞破裂或血小板破裂及激活, 释放大量LDH, 导致假性升高。因此, 可能出现TFDM对CK-MB与LDH的作用效果不完全一致的情况[25]。

HE染色结果显示, 对照组小鼠心肌细胞结构完整边缘清晰, 细胞形态正常, 肌纤维排列有序, 无明显炎症细胞浸润; 与对照组相比, 模型组明显可见心肌结构受损, 心肌纤维排列紊乱, 心肌细胞增大, 有明显的炎症细胞浸润; 与模型组比较, TFDM组心肌组织损伤明显改善, 心肌纤维排列紊乱减轻, 炎性细胞浸润伴核碎裂情况明显改善。Masson染色结果显示, 对照组小鼠心肌细胞形态正常, 细胞排列规则, 胶原纤维沉积程度较低。与对照组比较, 模型组小鼠心肌间质中有大量胶原沉积, 心肌细胞形态不规则、排列紊乱, 与模型组比较, TFDM组小鼠心肌间质中胶原沉积程度减轻, 心肌细胞排列较为规则, 形态有所恢复 (图2C)。以上结果说明, TFDM有效预防DOX引起的心肌损伤, 具有心脏保护作用。

3 TFDM能够减轻DIC小鼠氧化应激和炎症因子水平

抗氧化能力的降低和氧化应激水平的升高是蒽环类药物导致心脏毒性的重要因素[26]。检测各组小鼠血清中的GSH、MDA水平, 结果显示, 与对照组相比, 模型组小鼠血清中MDA含量明显升高, GSH含量降低 ($P < 0.05$); 与模型组比较, TFDM低、中剂量组MDA及GSH水平无明显差异, 高剂量组MDA含量降低 ($P < 0.05$), TFDM高剂量组小鼠血清中GSH含量显著升高 ($P < 0.01$) (图3A、B)。

临床发现[27], DOX的使用能使多种炎症因子的释放和聚集增加, 引起炎症反应加重心脏的病理性改变。因此, 检测DIC小鼠组织中炎症因子水平, 结果显示, 与对照组相比, 模型组小鼠组织中TNF-α、IL-1β和IL-6水平显著升高 ($P < 0.01$), IL-10水平显著下降 ($P < 0.01$); 与模型组比较, TFDM低、中、高剂量组小鼠组织中促炎因子TNF-α、IL-1β和IL-6水平显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), TFDM低、中、高剂量显著升高促炎型因子IL-10含量 ($P < 0.01$, $P < 0.05$); 以上结果提示, TFDM在一定程度上提高了心肌抗氧化能力及降低促炎炎症因子的水平, 起到心脏保护作用 (图3C～F)。

4 TFDM下调DIC小鼠心脏组织中STING/NLRP3通路与焦亡关键蛋白的表达

NLRP3触发的炎症反应和细胞焦亡与DOX心脏毒性关系密切[27], 为进一步探索TFDM的心肌保护作用机制, 对STING/NLRP3通路相关蛋白水平进行检测。结果显示, 与对照组比较, 模型组小鼠心肌组织p-STING、NLRP3、C-caspase-1、GSDMD-N、IL-1β、

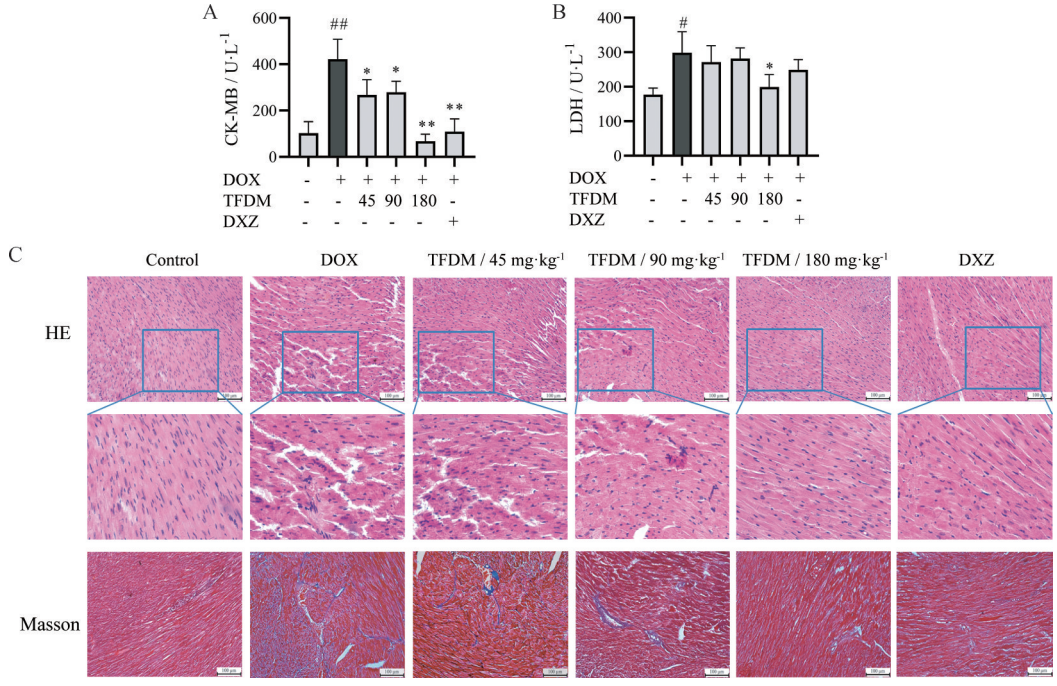


Figure 2 TFDM can alleviate DOX-induced myocardial injury in mice. A: Content of creatine kinase isoenzyme (CK-MB) in serum of mice; B: Content of lactate dehydrogenase (LDH) in serum of mice; C: Pathological abnormalities of mouse heart tissue were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining and Masson's trichrome staining (200× magnification), with a scale bar of 100 μm. $n = 6$, $\bar{x} \pm s$. $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* control group; $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ *vs* model group

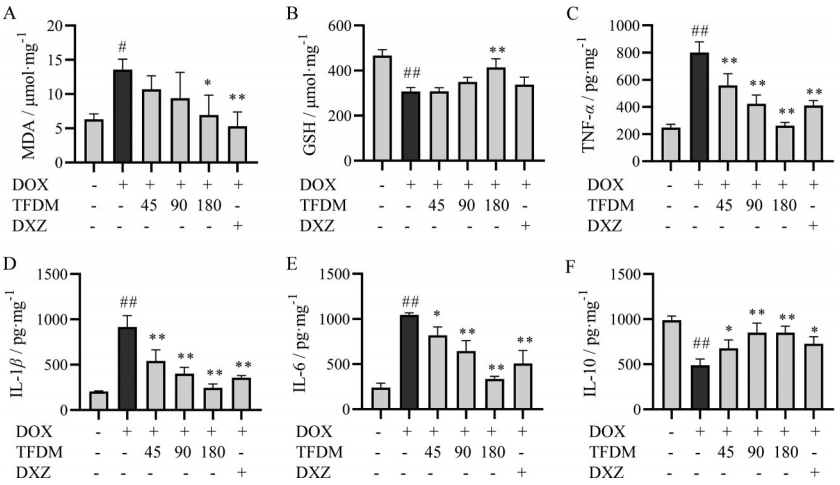


Figure 3 TFDM attenuate oxidative stress and reduce the levels of inflammatory factors in mice with DOX-induced cardiotoxicity (DIC). A: Content of malondialdehyde (MDA) in heart tissue of mice; B: Content of glutathione peroxidase (GSH) in heart tissue of mice; C: Content of tumor necrosis factor-α (TNF-α) in heart tissue of mice; D: Content of interleukin-1β (IL-1β) in heart tissue of mice; E: Content of interleukin-6 (IL-6) in heart tissue of mice; F: Content of interleukin-10 (IL-10) in heart tissue of mice. $n = 6$, $\bar{x} \pm s$. $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* control group; $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ *vs* model group

TNF-α、NF-κB等蛋白表达水平明显升高, IL-10蛋白表达显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$); 与模型组比较, TFDM高剂量组小鼠心肌组织p-STING、NLRP3、C-caspase-1、GSDMD-N、TNF-α、IL-1β、NF-κB蛋白水平降低, IL-10蛋白表达水平明显升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。综上, TFDM可通过抑制STING/NLRP3炎症小体通路, 减轻炎症级联反应和细胞焦亡, 减轻DOX引起的心脏毒性 (图4)。

5 TFDM降低DOX损伤的H9c2细胞上清中炎症因子的水平

CCK8法检测结果显示, 与空白组相比, 0～100 μg·mL^{-1} TFDM对心肌细胞活力无显著的影响 ($P > 0.05$), 而200 μg·mL^{-1} TFDM干预后细胞活力出现小幅度的降低 ($P < 0.05$) (图5A)。与对照组相比, 模型组细胞活力显著降低 ($P < 0.01$), 体外水平的多柔比星心肌细胞损伤模型构建成功。与模型组比较, TFDM中、高 (50、100 μg·mL^{-1}) 组细胞活力明显升高 ($P < 0.01$) (图5B)。这表明TFDM可改善DOX损伤的H9c2细胞生存率。结合实验结果和课题组前期研究选择100 μg·mL^{-1} TFDM开展后续研究。

DMXAA为STING特异性激动剂, 当其作用于细胞时, 触发STING磷酸化和寡聚化, 进而激活下游炎症通路, 最终导致促炎因子的分泌增加。而多柔比星在诱导细胞焦亡与坏死过程中, 间接促进炎症因子的释放。检测炎症因子水平结果显示, 与对照组相比, DMXAA组与模型组细胞上清液中IL-6、TNF-α的含量均显著上升 ($P < 0.01$); 与模型组比较, TFDM干预后细胞上清中炎症因子的含量明显降低 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), 而DMXAA激活STING通路加剧炎症反应, TFDM对炎症的抑制作用受到部分拮抗 (图5C、D)。

6 TFDM下调DOX损伤的H9c2细胞中STING/NLRP3信号通路相关蛋白表达

Western blot结果 (图6A～E) 显示, 与对照组相比, DMXAA组与模型组中p-STING、NLRP3、C-caspase-1、GSDMD-N等蛋白的表达均显著上升 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 其中DMXAA组比模型组上升的幅度更大, 说明DMXAA可有效激活STING通路, 提高STING及下游蛋白的表达。与模型组比较, TFDM组p-STING、NLRP3、C-caspase-1、GSDMD-N的水平降低显著降低 ($P < 0.05$, $P < 0.01$), 而给予激动剂DMXAA部分减弱了TFDM对上述蛋白的抑制作用。以上结果表明, TFDM能降低DOX诱导的心肌细胞焦亡及炎症反应, 其机制可能是通过调控STING/NLRP3通路和抑制细胞焦亡, 从而发挥心肌保护作用。

讨论

目前恶性肿瘤已经成为严重威胁人类健康的重大疾病, 给国家和个人带来巨大的经济负担。DOX为蒽环类抗癌药物, 具有广谱抗肿瘤作用, 已成为临床上常用的化疗药物, 而其相关的心脏毒性仍是一个重大的临床挑战。研究表明, DOX相关的心脏损伤会随用药剂量累积而加重, 往往呈进展性和不可逆性[28]。针对蒽环类药物的心脏毒采用了很多治疗策略, 传统治疗策略主要通过限制蒽环类药物的累积剂量、改变药物

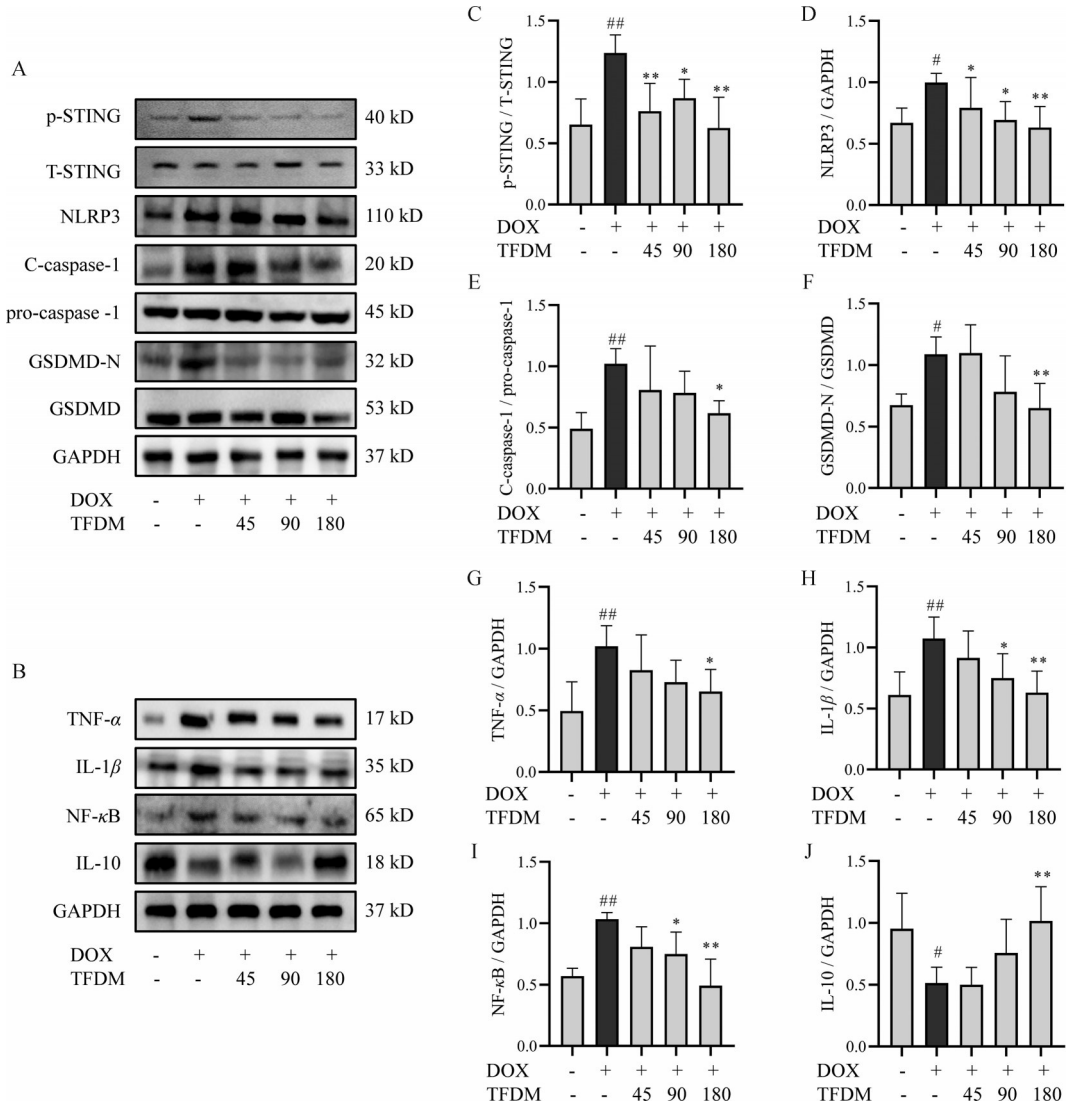


Figure 4 TFDM on the expression of STING/NLRP3 pathway-related proteins in heart tissue of DIC mice. A: Expression of STING/NLRP3 signaling pathway-related proteins; B: Expression of inflammation-related proteins; C: Quantitative data of p-STING/T-STING protein levels; D: Quantitative data of NLRP3/GAPDH protein levels; E: Quantitative data of C-caspase-1/pro-caspase-1 protein levels; F: Quantitative data of GSDMD-N/GSDMD protein levels; G: Quantitative data of TNF-α/GAPDH protein levels; H: Quantitative data of IL-1β/GAPDH protein levels; I: Quantitative data of NF-κB/GAPDH protein levels; J: Quantitative data of IL-10/GAPDH protein levels. $n = 5$, $\bar{x} \pm s$. $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* control group; $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ *vs* model group

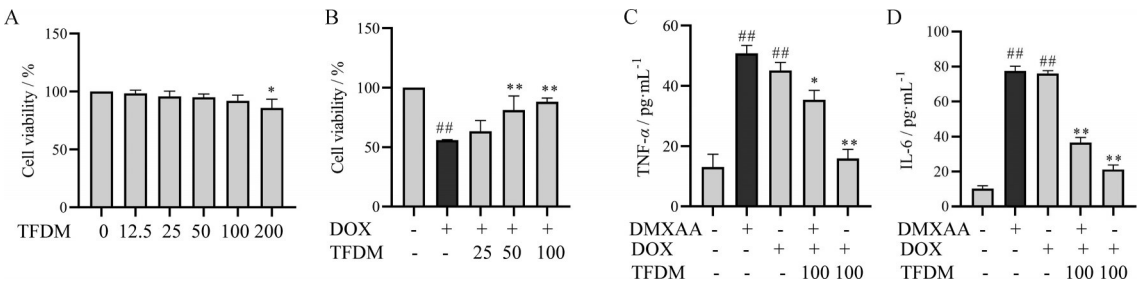


Figure 5 The viability of DOX-damaged H9C2 cardiomyocytes was improved, and the levels of TNF-α and IL-6 in the supernatant of injured cells were reduced by TFDM. A: Effects of different concentrations of TFDM on the viability of H9c2 cells; B: Effects of TFDM pretreatment on the viability of DOX-damaged H9c2 cells; C: Content of TNF-α in the cell supernatant; D: Content of IL-6 in the cell supernatant. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* control group; $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ *vs* model group. DMXAA: 10 μg·mL^{-1}; DOX: 1 μmol·L^{-1}; TFDM: 25, 50, 100 μg·mL^{-1}

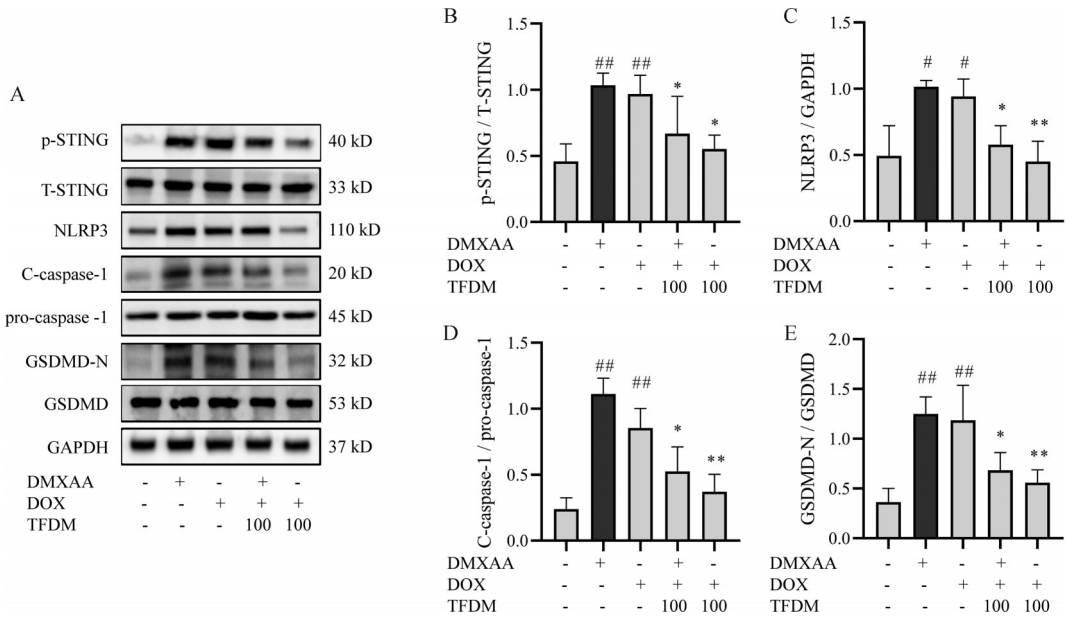


Figure 6 TFDM reduce the expression levels of key proteins in the STING/NLRP3 signaling pathway in H9c2 cells injured by DOX. A: Expression of STING/NLRP3 signaling pathway-related proteins; B: Quantitative data of p-STING/T-STING protein levels; C: Quantitative data of NLRP3/GAPDH protein levels; D: Quantitative data of C-caspase-1/pro-caspase-1 protein levels; E: Quantitative data of GSDMD-N/GSDMD protein levels. $n = 3$, $\bar{x} \pm s$. $^{\#}P < 0.05$, $^{\#\#}P < 0.01$ *vs* control group; $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$ *vs* model group

剂型 (如使用脂质体多柔比星) 以及联合使用心脏保护剂右丙亚胺等方法, 这些手段在一定程度上减轻了心脏毒性, 但仍有局限性。随着医学科技的飞速发展, 新的治疗策略不断涌现, 如纳米靶向技术、干细胞疗法、中医药的多靶点调控、远端缺血预处理等[29]。但研究发现只有减少治疗剂量和使用类似物才能在临床上有效地减轻心脏损伤。因此找到不影响疗效且能降低DOX心脏毒性的药物仍然是一个重大的挑战。文献[30-33]表明, 黄酮类化合物与DOX联合应用多呈现协同增效作用, 如木犀草素能够减轻DOX引起的心肌损伤, 增强心脏功能, 并增强DOX在体内的抗癌治疗效果[34]; 槲皮素和DOX联合可显著抑制骨肉瘤细胞 (MG-63细胞) 的增殖并诱导细胞凋亡, 且其联合治疗效果显著优于单药治疗。而青兰属植物中的黄酮类成分已被证实具有明确的抗肿瘤活性。因此本课题组前期对香青兰中的化学成分进行了系统筛选, 共鉴定出27种潜在活性化合物[35], 包括TFDM、田蓟苷、木犀草素等黄酮类成分。这提示TFDM作为香青兰的核心成分之一, 可能是具有潜在抗肿瘤活性的天然产物, 并非削弱化疗药物活性的“拮抗因子”。而这一猜想在课题组的研究中得以证实, 结果发现香青兰有效部位香青兰总黄酮在抗炎、抗氧化[15]、降血脂、改善线粒体损伤[36]方面有明显效果, 具有较好的心脏保护作用, 可能为DOX诱导的心脏毒性的潜在候选心脏保护药物。本实验结果与前期研究一致表明, TFDM能够改善心衰小鼠一般状况; 降低心脏指数, 改善小鼠心脏超声指标; 降低血清CK-MB、LDH水平, 显著改善心肌病理形态, 从而发挥心肌保护作用。DOX诱导的心脏毒性机制复杂多样, 涉及DNA/RNA合成抑制、氧化应激、钙稳态破坏和线粒体功能障碍等。此外, 最近的研究表明, 细胞死亡, 包括细胞凋亡、焦亡和铁死亡, 也可能与DIC的进展有关[37]。焦亡是细胞程序性死亡的新形式, 炎症小体激活和焦亡已被证明在心血管疾病的发展中起着关键作用[38]。各种心脏疾病, 包括心肌缺血/再灌注损伤、心肌梗死和心力衰竭, 都涉及心肌细胞和非心肌细胞焦亡[39]。研究发现DOX给药的小鼠中GSDMD和N端片段的表达明显增加, 说明GSDME介导的细胞焦亡参与了DOX诱导的心脏毒性。据报道[37], DOX激活的Toll样受体4 (TLR4) 促进NLRP3炎症小体的组装与活化, 从而激活caspase-1和GSDMD并引起焦亡。这些研究为DOX诱导的心脏毒性的治疗及机制的研究提供了新的思路, 因此, 焦亡被认为是DOX诱导的心脏毒性的新靶点。

焦亡是一种高度炎症的程序性细胞死亡, 与炎症小体的激活密切相关, 细胞焦亡是对细胞损伤和感染的防御机制, 但过度焦亡会引发慢性炎症和免疫紊乱, 导致组织损伤和疾病的加重。细胞焦亡按激活机制可分为两种, 即经典途径 (典型炎性小体途径) 和非经典途径。经典焦亡途径由炎症小体 (如NLRP1、NLRP3和NLRC4, 最常见的为NLRP3) 激活caspase-1, 而非

经典细胞焦亡途径则由脂多糖 (LPS) 激活[10]。NLRP3炎性小体是众所周知的炎性小体, 心肌细胞中NLRP3炎性小体的形成具有激活caspase-1并诱导细胞焦亡的潜力, 因此抑制NLRP3的激活对于改善心脏功能以及心室重构有着重要作用。近年来多种天然黄酮类化合物被发现通过抑制NLRP3炎症小体激活发挥心脏保护作用, 如黄芪甲苷IV通过SIRT1/NLRP3通路抑制心肌细胞焦亡, 减轻DOX诱导的心脏毒性。5,7-二羟基黄烷酮通过激活Nrf2/Sirt3信号通路显著抑制DOX诱导的心肌细胞焦亡。而SIRT3通过自噬抑制NLRP3炎症小体激活[10], 从而减轻DOX诱导的细胞焦亡。此外, STING作为内质网相关蛋白, 可招募NLRP3至内质网并促进其去泛素化, 从而促进炎症小体活化[10], 也是NLRP3/GSDMD信号通路的上游调控靶点。研究证实cGAS-STING通路可以激活NLRP3炎性小体, 加剧心肌炎症和心功能不全[12]。而在心肌细胞中敲低STING后, IRF3磷酸化和核周易位被抑制, NLRP3介导的心肌细胞炎症和细胞焦亡减轻, 有效改善心脏功能并提高存活率。这些发现提示, STING是抑制细胞焦亡和炎症反应, 改善心脏功能的潜在分子靶点。有文献报道香青兰总黄酮可能通过AMPK/SIRT1/PGC-1α[40]、VEGF-B/AMPKα[41]、GRP78/PERK[18]、PI3K/Akt[36]等信号通路发挥心脏保护作用, 也可通过OX-4/ROS/p38 MAPK通路抑制氧化应激, 以及通过Bcl-2/Bax和PGC-1α通路阻断细胞凋亡[35]。但关于香青兰总黄酮是否会通过STING通路抑制心肌细胞焦亡发挥抗心脏毒性作用的研究还不够深入。本研究结果显示, DOX介导小鼠心脏功能障碍以外, 可引起STING的表达升高, 并激活下游NLRP3诱发焦亡和炎症, TFDM干预可有效改善DIC小鼠心脏功能障碍, 抑制DOX介导的炎症和焦亡相关蛋白上调, 包括STING、NLRP3、C-caspase-1、GSDMD-N、TNF-α、IL-1β、IL-6、NF-κB等。因此, 本课题组推测TFDM可能是通过靶向STING/NLRP3通路, 抑制心肌细胞焦亡和炎症级联反应发挥心脏保护作用, 从而改善DOX诱导的心肌损伤。为进一步深入研究TFDM的作用机制, 在H9c2细胞模型中, 联合使用STING特异性激动剂DMXAA, 其结果同体内研究结果一致, TFDM能够有效降低炎症因子水平, 且加入STING激动剂DMXAA后TFDM亦有效降低DMXAA引起的炎症反应及抑制STING信号通路和焦亡相关蛋白的表达, 发挥逆转炎症损伤及改善细胞焦亡的作用。上述结果表明, TFDM通过靶向STING这一上游调控分子抑制NLRP3炎症小体活化, 抑制了STING、NLRP3、caspase-1和GSDMD-N等蛋白的表达, 减少细胞焦亡, 这可能是其心脏保护作用的核心机制。但TFDM药物效应并未呈现明显的剂量依赖性, 可能受药物成分及作用特点的影响。TFDM作为黄酮类化合物, 成分复杂, 而非单体, 其心肌保护作用依赖抗氧化、抗炎、抗凋亡及线粒体功能调节等多靶点、多通路的协同效应, 可能存在靶点的竞争。其次, TFDM水溶性较差, 肠道对黄酮类成分的吸收能力有限, 过量药物无法被有效吸收进入血液循环, 可能会导致心肌组织中的药物浓度未随给药剂量增加而显著升高。因此, 改善黄酮类成分的吸收入血也是以后的研究方向。

综上所述, 本研究证实了香青兰总黄酮可抑制STING/NLRP3信号通路的激活, 抑制下游促炎因子的释放和周围炎性细胞的聚集, 减少心肌细胞焦亡的过度活化, 逆转DOX诱导的心肌细胞损伤, 改善心肌损伤小鼠的心脏功能。为临床研究香青兰总黄酮提供了新的实验依据, 针对STING/NLRP3这一靶点为治疗DOX心脏毒性提供了新的策略, 但未来研究仍需进一步深入研究和探讨其作用机制, 为蒽环类药心脏不良反应的防治提供新的理论依据和治疗方法。

作者贡献: 卡尔布奴•木沙进行相关实验操作、数据分析并撰写论文; 卡德尔业•卡德尔、徐磊监督和协助实验进行及实验数据分析和统计; 邢建国和王玥指导和监督实验过程并协助论文的撰写。

利益冲突: 本研究与任何组织和个人均不存在利益冲突。

References

[1] Qiu H, Huang S, Liu Y, et al. Idebenone alleviates doxorubicin-induced cardiotoxicity by stabilizing FSP1 to inhibit ferroptosis [J]. Acta Pharm Sin B, 2024, 14: 2581-2597.

[2] Lin L, Han J, Xu D, et al. Deubiquitinase USP13 alleviates doxorubicin-induced cardiotoxicity through promoting the autophagy-mediated degradation of STING [J]. Acta Pharm Sin B, 2025, 15: 2545-2558.

[3] Zhao L, Qi Y, Xu L, et al. MicroRNA-140-5p aggravates doxorubicin-induced cardiotoxicity by promoting myocardial oxidative stress *via* targeting Nrf2 and Sirt2 [J]. Redox Biol, 2018, 15: 284-296.

[4] Wu L, Wang L, Du Y, et al. Mitochondrial quality control mechanisms as therapeutic targets in doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. Trends Pharmacol Sci, 2023, 44: 34-49.

[5] Yu X, Ruan Y, Huang X, et al. Dexrazoxane ameliorates doxorubicin-induced cardiotoxicity by inhibiting both apoptosis and necroptosis in cardiomyocytes [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2020, 523: 140-146.

[6] Wei J, Lan G, Zhang W, et al. Targeting FDX1 by trilobatin to inhibit cuproptosis in doxorubicin-induced cardiotoxicity [J]. Br J Pharmacol, 2025, 182: 2409-2425.

[7] Tai P, Chen X, Jia G, et al. WGX50 mitigates doxorubicin-induced cardiotoxicity through inhibition of mitochondrial ROS and ferroptosis [J]. J Transl Med, 2023, 21: 823.

[8] Rao Z, Zhu Y, Yang P, et al. Pyroptosis in inflammatory diseases and cancer [J]. Theranostics, 2022, 12: 4310-4329.

[9] Xiao Y, Zhao C, Tai Y, et al. STING mediates hepatocyte pyroptosis in liver fibrosis by epigenetically activating the NLRP3 inflammasome [J]. Redox Biol, 2023, 62: 102691.

[10] Sun Z, Liu H, Hu Y, et al. STING contributes to trauma-induced heterotopic ossification through NLRP3-dependent macrophage pyroptosis [J]. Clin Immunol, 2023, 250: 109300.

[11] Xu X, Huang Z, Huang Z, et al. Butyrate attenuates intestinal inflammation in Crohn's disease by suppressing pyroptosis of intestinal epithelial cells *via* the cGAS-STING-NLRP3 axis [J]. Int Immunopharmacol, 2024, 143: 113305.

[12] Liu J, Zhou J, Luan Y, et al. cGAS-STING, inflammasomes and pyroptosis: An overview of crosstalk mechanism of activation and regulation [J]. Cell Commun Signal, 2024, 22: 22.

[13] Fang G, Li X, Yang F, et al. Amentoflavone mitigates doxorubicin-induced cardiotoxicity by suppressing cardiomyocyte pyroptosis and inflammation through inhibition of the STING/NLRP3 signalling pathway [J]. Phytomedicine, 2023, 117: 154922.

[14] Kader K, Xing JG, Liu DW, et al. Total flavonoids of *Dracocephalum moldavica* L. inhibit oxidative stress against H9c2 cell ischemia-reperfusion injury *via* VEGF-B/AMPK pathway [J]. Acta Pharm Sin (药学学报), 2023, 58: 2685-2693.

[15] Ma ZW, Zhang X, Zhang P, et al. Protective effect of total flavonoids from *Dracocephalum moldavica* L. on the inflammatory responses to myocardial ischemia-reperfusion injury by the inhibition of NLRP3 inflammasome activation [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2025, 37: 1513-1521.

[16] Xinjiang Uygur Autonomous Region Institute of Materia Medica. Application of *Cymbidium goeringii* extract in the preparation of anticardiotoxic drugs: CN, 202111140838.7 [P]. 2021-11-12.

[17] Cui LS, Zheng RF, Wang Y, et al. Effect of total flavonoids of *Dracocephalum moldavica* in regulating endoplasmic reticulum stress and reducing doxorubicin induced cardiotoxicity by regulating GRP78/PERK signaling pathway [J]. Drug Eval Res (药物评价研究), 2025, 48: 1763-1770.

[18] Tan R, Cong T, Xu G, et al. Anthracycline-induced atrial structural and electrical remodeling characterizes early cardiotoxicity and contributes to atrial conductive instability and dysfunction [J]. Antioxid Redox Signal, 2022, 37: 19-39.

[19] Wei S, Ma W, Jiang C, et al. Hyperoside prevents doxorubicin-induced cardiotoxicity by inhibiting NOXs/ROS/NLRP3 inflammasome signaling pathway [J]. Phytother Res, 2023, 37: 4196-4209.

[20] Qin D, Yue R, Deng P, et al. 8-Formylophiopogonanone B antagonizes doxorubicin-induced cardiotoxicity by suppressing heme oxygenase-1-dependent myocardial inflammation and fibrosis [J]. Biomed Pharmacother, 2021, 140: 111779.

[21] Huo M, Tang Z, Wang L, et al. Magnesium hexacyanoferrate nanocatalysts attenuate chemodrug-induced cardiotoxicity through an anti-apoptosis mechanism driven by modulation of ferrous iron [J]. Nat Commun, 2022, 13: 7778.

[22] Yan Y, Fang M, Zhao C, et al. *DL*-3-*n*-Butylphthalide attenuates DOX-induced cardiotoxicity in mice by inhibiting Nrf2/Keap1 complex formation [J]. Front Pharmacol, 2025, 16: 1542296.

[23] Shang JC. Clinical value of different biochemical markers of myocardial injury in laboratory testing [J]. Lab Test (实验室检测), 2025, 3: 238-240.

[24] Dan M, Jiang YS. Advances in the early detection of anthracycline-associated cardiotoxicity [J]. Acta Med Univ Sci Technol Huazhong (华中科技大学学报(医学版)), 2025, 54: 267-274.

[25] Bockoven C, Benirschke RC, Lee HK. Elevated lactate dehydrogenase concentrations in plasma compared to serum [J]. Lab Med, 2022, 53: 479-482.

[26] Shi S, Chen Y, Luo Z, et al. Role of oxidative stress and inflammation-related signaling pathways in doxorubicin-induced cardiomyopathy [J]. Cell Commun Signal, 2023, 21: 61.

[27] Zhang L, Kong HW, Song XY, et al. Danggui Buxue decoction attenuates doxorubicin-induced cardiotoxicity by inhibiting ZBP1-mediated PANoptosis *in vivo* and *in vitro* [J]. Phytomedicine, 2025, 145: 157037.

[28] Chen T, Shen HM, Deng ZY, et al. A herbal formula, SYKT, reverses doxorubicin-induced myelosuppression and cardiotoxicity by inhibiting ROS-mediated apoptosis [J]. Mol Med Rep, 2017, 15: 2057-2066.

[29] Asnaashari S, Amjad E, Sokouti B. The effect of flavonoids on the doxorubicin efficacy in cancer treatment [J]. Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol, 2025, 398: 14961-14981.

[30] Shi Y, Li F, Shen M, et al. Luteolin prevents cardiac dysfunction and improves the chemotherapeutic efficacy of doxorubicin in breast cancer [J]. Front Cardiovasc Med, 2021, 8: 750186.

[31] Wang G, Zhang J, Liu L, et al. Quercetin potentiates doxorubicin mediated antitumor effects against liver cancer through p53/Bcl-xl [J]. PLoS One, 2012, 7: e51764.

[32] Korga A, Ostrowska M, Jozefczyk A, et al. Apigenin and hesperidin augment the toxic effect of doxorubicin against HepG2 cells [J]. BMC Pharmacol Toxicol, 2019, 20: 22.

[33] Cui L, Xia Q, Wang Y, et al. Luteolin-7-*O*-glucuronide alleviates doxorubicin-induced cardiotoxicity by inhibiting PPAR-mediated ferroptosis [J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2025, 500: 117381.

[34] Zheng RF, Kader K, Liu DW, et al. A network pharmacology approach to decipher the mechanism of total flavonoids from *Dracocephalum moldavica* L. in the treatment of cardiovascular diseases [J]. BMC Complement Med Ther, 2024, 24: 15.

[35] Du YW, Zheng RF, Zeng C, et al. Protective mechanism of total flavonoids from *Dracocephalum moldavica* against doxorubicin-

induced myocardial toxicity [J]. Chin Tradit Herb Drugs (中草药), 2019, 50: 6045-6051.

[36] Dai S, Chen Y, Fan X, et al. Emodin attenuates cardiomyocyte pyroptosis in doxorubicin-induced cardiotoxicity by directly binding to GSDMD [J]. Phytomedicine, 2023, 121: 155105.

[37] Liu L, Li MZ, Yao MH, et al. Melatonin inhibits atrazine-induced mitochondrial impairment in cerebellum of mice: Modulation of cGAS-STING-NLRP3 axis-dependent cell pyroptosis [J]. Sci Total Environ, 2024, 912: 168924.

[38] Gao Y, Shi H, Dong Z, et al. Current knowledge of pyroptosis in heart diseases [J]. J Mol Cell Cardiol, 2022, 171: 81-89.

[39] Zheng X, Zhong T, Ma Y, et al. Bnip3 mediates doxorubicin-induced cardiomyocyte pyroptosis *via* caspase-3/GSDME [J]. Life Sci, 2020, 242: 117186.

[40] Li C, Ma XL, Wen ZP, et al. Protective effects of *Dracocephalum moldavica* total flavonoids on oxidative stress and mitochondria in rats with myocardial ischemia-reperfusion injury [J]. Chin Tradit Pat Med (中成药), 2022, 44: 390-395.

[41] Li SJ, Su WL, Xu L, et al. Study of the protective effect of total flavonoids of *Dracocephalum moldavica* L. on doxorubicin induced injury in HUVECs based on VEGF-B/AMPKα pathway [J]. Chin Pharmacol Bull (中国药理学通报), 2022, 38: 726-732.