

达格列净对高糖诱导人视网膜血管内皮细胞凋亡及氧化应激的影响

汪 洋¹, 王 可², 刘宝兰¹

引用: 汪洋, 王可, 刘宝兰. 达格列净对高糖诱导人视网膜血管内皮细胞凋亡及氧化应激的影响. 国际眼科杂志 2022; 22(3): 378-382

作者单位: (430015) 中国湖北省武汉市红十字会医院¹ 药剂科; ² 内科

作者简介: 汪洋, 本科, 主管药师, 研究方向: 临床药学。

通讯作者: 刘宝兰, 本科, 主任药师, 研究方向: 临床药学. baolao888@126.com

收稿日期: 2021-05-22 修回日期: 2022-02-09

摘要

目的: 探讨达格列净对高糖诱导人视网膜血管内皮细胞(HRVECs)凋亡、氧化应激的影响及其对FOXO4的调控作用。

方法: 采用高糖诱导HRVECs建立细胞损伤模型(高糖组), 实验分组: 高糖+达格列净低剂量组(1ng/L)、高糖+达格列净中剂量组(5ng/L)、高糖+达格列净高剂量组(10ng/L)、高糖+达格列净高剂量+pcDNA组、高糖+达格列净高剂量+pcDNA-FOXO4组、正常糖组(5.5mmol/L D-葡萄糖)、高糖+si-NC组、高糖+si-FOXO4组; 采用流式细胞术检测细胞凋亡率; 根据试剂盒检测SOD、MDA的水平; 采用Western blot法检测FOXO4蛋白表达量。

结果: 与正常糖组比较, 高糖组细胞凋亡率升高, MDA的水平升高, FOXO4蛋白水平升高, SOD的水平降低(均 $P < 0.05$); 与高糖组比较, 高糖+达格列净中剂量组、达格列净高剂量组细胞凋亡率降低, MDA的水平降低, FOXO4蛋白水平降低, SOD的水平升高(均 $P < 0.05$); 与高糖+达格列净高剂量+pcDNA组比较, 高糖+达格列净高剂量+pcDNA-FOXO4组细胞凋亡率升高, MDA的水平升高, SOD的水平降低(均 $P < 0.05$)。

结论: 达格列净可通过下调FOXO4而抑制高糖诱导的HRVECs氧化应激及抑制细胞凋亡从而减轻细胞损伤。

关键词: 达格列净; 高糖; FOXO4; 人视网膜血管内皮细胞; 凋亡; 氧化应激

DOI: 10.3980/j.issn.1672-5123.2022.3.05

Effect of Dapagliflozin on high glucose-induced apoptosis and oxidative stress in human retinal vascular endothelial cells

Yang Wang¹, Ke Wang², Bao-Lan Liu¹

¹Department of Pharmacy; ²Department of Internal Medicine, Wuhan Red Cross Hospital, Wuhan 430015, Hubei Province, China

Correspondence to: Bao-Lan Liu. Department of Pharmacy,

Wuhan Red Cross Hospital, Wuhan 430015, Hubei Province, China. baolao888@126.com

Received: 2021-05-22 Accepted: 2022-02-09

Abstract

• **AIM:** To explore the effect of dapagliflozin on the apoptosis and oxidative stress of high glucose-induced human retinal vascular endothelial cells and its regulatory effect on forkhead FOXO4.

• **METHODS:** High glucose-induced human retinal vascular endothelial cells (HRVECs) were used to establish a cell injury model (high glucose group). Experimental groups include high glucose + dapagliflozin low-dose group (1ng/L dapagliflozin), high glucose + dapagliflozin medium-dose group (5ng/L dapagliflozin), high glucose + dapagliflozin high-dose group (10ng/L dapagliflozin), high glucose + dapagliflozin high-dose + pcDNA group, high glucose + dapagliflozin high-dose + pcDNA-FOXO4 group, and normal sugar group (5.5mmol/L D-glucose). Flow cytometry was used to detect the apoptosis rate. The levels of superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) were tested with corresponding kits. Western blot assay was used to detect the protein level of FOXO4.

• **RESULTS:** Compared with the normal sugar group, the apoptosis rate ($P < 0.05$), the level of MDA ($P < 0.05$) and FOXO4 ($P < 0.05$) were increased, but the level of SOD was decreased ($P < 0.05$) in high-glucose group. Compared with the high glucose group, cell apoptosis rate ($P < 0.05$), the level of MDA ($P < 0.05$) and the protein level of FOXO4 were decreased ($P < 0.05$), but the level of SOD was increased ($P < 0.05$) in high glucose + medium-dose dapagliflozin group and high glucose + high-dose dapagliflozin group. Compared with high glucose + dapagliflozin high-dose + pcDNA group, the apoptosis rate ($P < 0.05$) and the level of MDA ($P < 0.05$) were increased, but the level of SOD was decreased ($P < 0.05$) in high glucose + dapagliflozin high-dose + pcDNA-FOXO4 group ($P < 0.05$).

• **CONCLUSION:** Dapagliflozin could inhibit oxidative stress and cell apoptosis in high glucose-induced HRVECs by down-regulating FOXO4, thereby reducing cell damage.

• **KEYWORDS:** Dapagliflozin; high glucose; FOXO4; human retinal vascular endothelial cells; apoptosis; oxidative stress

Citation: Wang Y, Wang K, Liu BL. Effect of Dapagliflozin on high glucose-induced apoptosis and oxidative stress in human retinal vascular endothelial cells. *Guoji Yanke Zazhi (Int Eye Sci)* 2022; 22(3):378-382

0 引言

据调查研究显示,截止 2035 年全球糖尿病发病率将增加 55%,7 次全国性糖尿病调查中,我国糖尿病发病率增长了 17 倍,糖尿病可引起多种并发症,其中糖尿病视网膜病变是其重要并发症之一,视网膜血管病变、视网膜神经退行性病变等是糖尿病视网膜病变的主要临床表现^[1-4]。达格列净属于钠-葡萄糖转运蛋白 2 的抑制剂,可减少机体对葡萄糖的吸收,其可用于控制 2 型糖尿病,但关于其对糖尿病视网膜病变的影响及其作用机制尚未阐明^[5]。叉头框转录因子 O4 (Forkhead Box Protein O4, FOXO4) 在高糖诱导的视网膜内皮细胞中表达水平升高,miR-96-5p 可靶向 FOXO4 抑制高糖诱导的大鼠视网膜血管内皮细胞凋亡,减轻细胞损伤^[6]。但达格列净是否可调控 FOXO4 而参与高糖诱导人视网膜血管内皮细胞 (HRVECs) 损伤过程尚未可知。因此,本研究采用高糖诱导 HRVECs 建立细胞损伤模型,探讨达格列净对高糖诱导 HRVECs 凋亡、氧化应激的影响及其对 FOXO4 的调控作用。

1 材料和方法

1.1 材料

达格列净 (20191103) 购自阿斯利康制药有限公司;HRVECs 购自美国 ScienCell;DMEM 培养基、胎牛血清购自美国 Hyclone 公司;胰蛋白酶购自美国 Gibco 公司;Lipofectamine2000 试剂购自美国 Invitrogen 公司;Annexin V-FITC/PI 双染法细胞凋亡检测试剂盒购自美国 Sigma 公司;pcDNA 购自武汉森灵生物科技有限公司;SOD (20191002)、MDA (20191005) 检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所;si-NC (UGUCAGUCGAUGCUAGUCGAU)、si-FOXO4 (UAGUCAGUCGUAGCUAGUCGAUC)、pcDNA (CAUGUACGUAGCUGAUC)、pcDNA-FOXO4 (AUGUCGAUCGUAGCUAUC) 购自上海吉玛制药技术有限公司;RIPA 裂解液 (20190905)、BCA 定量检测试剂盒 (20190506)、ECL 试剂 (20190916) 购自北京索莱宝科技有限公司;兔抗人 FOXO4 多克隆抗体购自武汉艾美捷科技有限公司;辣根过氧化物酶 (HRP) 标记的山羊抗兔二抗购自美国 Abcam 公司。

1.2 方法

1.2.1 实验分组

HRVECs 细胞培养后,在 6 孔板中培养,分别培养于含 5.5mmol/L D-葡萄糖的培养液中,将其置于培养箱内继续培养 24h 为正常糖组。HRVECs 培养于含 25mmol/L D-葡萄糖的培养液中,将其置于培养箱内继续培养 24h^[7] 为高糖组。HRVECs 分别培养于含有不同浓度 (1、5、10ng/L) 达格列净与 25mmol/L D-葡萄糖的培养液中^[8],将其置于培养箱内继续培养 24h 分别为高糖+达格列净低剂量组、高糖+达格列净中剂量组、高糖+达格列净高剂量组。将 si-NC、si-FOXO4 分别转染入 HRVECs 后加入 25mmol/L D-葡萄糖的培养液培养 24h,分别为高糖+si-NC 组、高糖+si-FOXO4 组。pcDNA、pcDNA-FOXO4 分别转染入 HRVECs 后加入 10ng/L 达格列净与 25mmol/L D-葡萄糖的培养液中,将其置于培养箱内继续培养 24h 分别为高糖+达格列净高剂量+pcDNA 组、高糖+达格列净高剂量+pcDNA-FOXO4 组。

1.2.2 流式细胞术检测细胞凋亡率

取各组 HRVECs,采用 PBS 洗涤细胞后加入 0.25% 胰蛋白酶,将 DMEM 培养

液加入其中后制备细胞悬液,将其放入 15mL 的离心管内,1000r/min 转速离心 5min 后弃上清,将预冷 PBS 加入其中后离心弃上清,加入 100 μ L Binding Buffer 后分别将 5 μ L Annexin V-FITC 与 1 μ L PI 染液加入其中,室温避光孵育 15min 后将 400 μ L Binding Buffer 加入其中,于 1h 内应用 FACS Calibur 流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.2.3 检测 SOD 和 MDA 的水平

严格按照试剂盒说明书进行操作,采用反复冻融法裂解各组 HRVECs,用黄嘌呤氧化酶法检测 SOD 的水平,用硫代巴比妥酸法检测 MDA 的水平。

1.2.4 Western blot 检测 FOXO4 蛋白表达

取各组 HRVECs 加入 500 μ L RIPA 裂解液提取细胞总蛋白,根据 BCA 试剂盒说明书操作检测蛋白浓度,将 5 \times SDS 上样缓冲液加入蛋白样品中,将其置于沸水中煮 10min 蛋白变性,取 50 μ g 蛋白样品进行 SDS-PAGE 电泳反应,将分离的蛋白凝胶转移至 PVDF 膜后使用 5% 脱脂奶粉封闭 2h,分别加入一抗稀释液 (1:1000) 后置于 4 $^{\circ}$ C 条件下孵育 24h,采用 TBST 洗涤后加入稀释比为 1:5000 的二抗稀释液,将其置于室温条件下孵育 1h,采用 TBST 洗涤后滴加 ECL 显影,应用 Image J 软件分析各条带灰度值。同时采用脂质体转染法将 si-NC、si-FOXO4、pcDNA、pcDNA-FOXO4 分别转染至 HRVECs 后按照上述方法检测 FOXO4 蛋白相对表达量。

统计学分析:应用 SPSS21.0 统计学软件分析数据,计量资料均符合正态分布以 ($\bar{x}\pm s$) 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 达格列净对高糖诱导 HRVECs 凋亡的影响

各组凋亡率比较差异有统计学意义 ($P<0.01$)。与正常糖组比较,高糖组细胞凋亡率升高,差异有统计学意义 ($P<0.05$);与高糖组比较,高糖+达格列净中剂量组、高糖+达格列净高剂量组细胞凋亡率降低,差异均有统计学意义 ($P<0.05$),见图 1,表 1。

2.2 达格列净对高糖诱导 HRVECs 氧化应激的影响

各组 SOD 和 MDA 比较差异均有统计学意义 ($P<0.01$)。与正常糖组比较,高糖组 SOD 的水平降低,差异有统计学意义 ($P<0.05$),MDA 的水平升高,差异有统计学意义 ($P<0.05$);与高糖组比较,高糖+达格列净中剂量组、高糖+达格列净高剂量组 SOD 的水平升高,差异均有统计学意义 ($P<0.05$),MDA 的水平降低,差异均有统计学意义 ($P<0.05$),见表 1。

2.3 达格列净对高糖诱导 HRVECs 中 FOXO4 蛋白表达水平的影响

各组 FOXO4 蛋白表达水平比较差异有统计学意义 ($P<0.01$)。与正常糖组比较,高糖组 FOXO4 蛋白表达水平升高,差异有统计学意义 ($P<0.05$);与高糖组比较,高糖+达格列净中剂量组、高糖+达格列净高剂量组 FOXO4 蛋白表达水平降低,差异有统计学意义 ($P<0.05$),见表 1,图 2。

2.4 FOXO4 过表达和抑制转染效率的检测

与 si-NC 组 (0.25 ± 0.03) 比较,si-FOXO4 组 FOXO4 蛋白表达水平 (0.11 ± 0.01) 降低,差异有统计学意义 ($t = 7.668, P = 0.002$);与 pcDNA 组 (0.24 ± 0.03) 比较,pcDNA-FOXO4 组

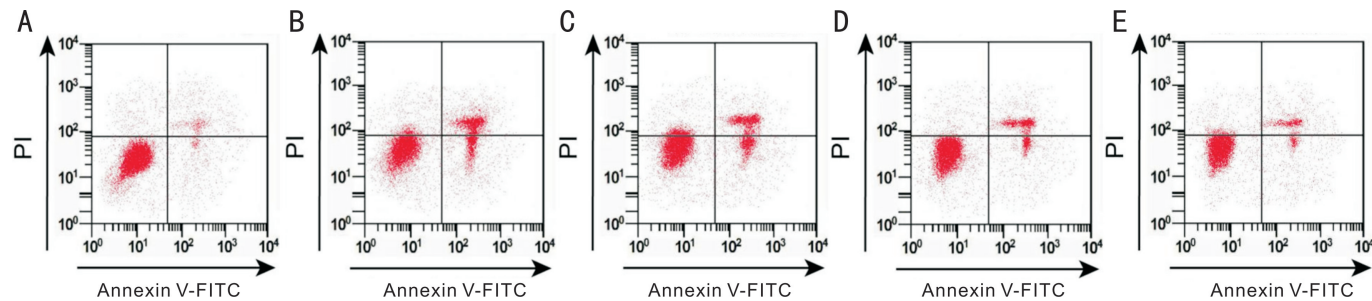


图1 达格列净对高糖诱导 HRVECs 凋亡的影响 A: 正常糖组; B: 高糖组; C: 高糖+达格列净低剂量组; D: 高糖+达格列净中剂量组; E: 高糖+达格列净高剂量组。

表1 达格列净对高糖诱导 HRVECs 凋亡和氧化应激的影响 (n=3, $\bar{x} \pm s$)

分组	凋亡率 (%)	SOD (U/L)	MDA (nmol/mL)	FOXO4
正常糖组	7.45±0.35	366.83±17.37	60.08±6.45	0.25±0.02
高糖组	25.75±0.98 ^a	105.78±8.28 ^a	221.86±11.11 ^a	0.83±0.06 ^a
高糖+达格列净低剂量组	25.62±1.12	105.98±7.60	222.06±11.77	0.83±0.06
高糖+达格列净中剂量组	21.60±0.62 ^c	186.23±11.38 ^c	146.92±9.28 ^c	0.61±0.05 ^c
高糖+达格列净高剂量组	14.99±0.52 ^c	268.73±15.65 ^c	84.03±6.94 ^c	0.36±0.03 ^c
F	307.805	234.767	194.916	96.518
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

注: ^aP<0.05 vs 正常糖组; ^cP<0.05 vs 高糖组。

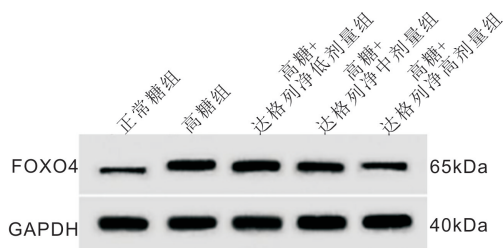


图2 达格列净对高糖诱导 HRVECs 中 FOXO4 蛋白表达情况的影响。

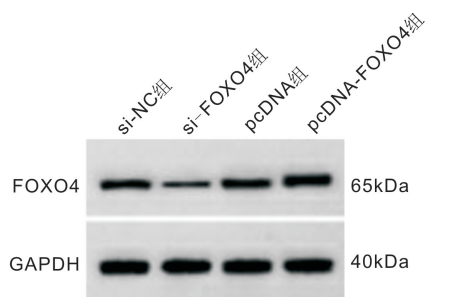


图3 FOXO4 蛋白表达情况。

FOXO4 蛋白表达水平 (0.69±0.07) 升高, 差异有统计学意义 (t=10.234, P=0.001), 见图3。

2.5 抑制 FOXO4 对高糖诱导 HRVECs 凋亡和氧化应激的影响 与高糖+si-NC 组比较, 高糖+si-FOXO4 组细胞凋亡率降低, SOD 的水平升高, MDA 的水平降低, 差异均有统计学意义 (P<0.01), 见表2, 图4。

2.6 过表达 FOXO4 对高糖诱导 HRVECs 凋亡和氧化应激的影响 与高糖+达格列净高剂量+pcDNA 组比较, 高糖+达格列净高剂量+pcDNA-FOXO4 组凋亡率升高, SOD 的水平降低, MDA 的水平升高, 差异均有统计学意义 (P<0.01), 见表3, 图5。

3 讨论

体内持续高糖水平是诱导患者视网膜病变的重要原

因之一, 氧化应激、细胞凋亡等是促进糖尿病视网膜病变的主要诱导因素, 目前糖尿病视网膜病变的发病机制尚未完全阐明, 因而深入探究糖尿病视网膜病变的发病机制, 以及研发有效预防及治疗药物均具有重要意义, 既往研究证实, 天麻素通过调节 SIRT1/TLR4/NF-κBp65 信号通路抑制高糖诱导的人视网膜内皮细胞凋亡^[9]。山奈酚靶向雌激素相关受体 α, 并在高葡萄糖条件下抑制人视网膜内皮细胞的血管生成^[10]。绿原酸可通过降低 VEGF 的表达并抑制 VEGF 介导的视网膜新生血管生成而减轻糖尿病视网膜病变^[11]。但仍有部分药物对糖尿病视网膜病变的作用机制尚未阐明。

达格列净是一种新型的降糖制剂, 其具有降压、降血糖等作用, 并可预防及减轻糖尿病心血管并发症的发生及发展^[12]。达格列净可明显改善糖尿病心肌缺血大鼠心功能, 并可恢复其心肌及血管功能^[13]。本研究结果显示, 高糖诱导的 HRVECs 凋亡率升高, 而达格列净可明显降低高糖诱导的 HRVECs 凋亡率, 且达格列净高剂量细胞凋亡率明显低于达格列净中剂量组, 提示达格列净可抑制高糖诱导的 HRVECs 凋亡。氧化应激是高糖诱发内皮细胞凋亡的重要原因之一, SOD 属于抗氧化酶, 若 MDA 等过氧化酶类生成量过多可促进细胞内氧化应激反应的发生, 进而通过一系列通路促进细胞凋亡^[14-15]。本研究结果显示, 高糖诱导的 HRVECs 中 SOD 的水平降低, MDA 的水平升高, 与上述研究报道结果相似, 而达格列净可明显提高高糖诱导的 HRVECs 中 SOD 的水平, 降低 MDA 的水平, 且达格列净中剂量组、达格列净高剂量组间 SOD、MDA 的水平比较具有明显差异, 提示达格列净可抑制高糖诱导的 HRVECs 氧化应激而抑制细胞凋亡从而减轻细胞损伤。

为进一步探究达格列净治疗糖尿病视网膜病变的作用机制, 本研究采用 Western blot 实验检测 FOXO4 的表达量, 本研究结果显示, 高糖诱导的 HRVECs 中 FOXO4 蛋白水平升高, 而达格列净可明显降低高糖诱导的 HRVECs 中 FOXO4 蛋白水平, 且达格列净高剂量组 FOXO4 蛋白水平

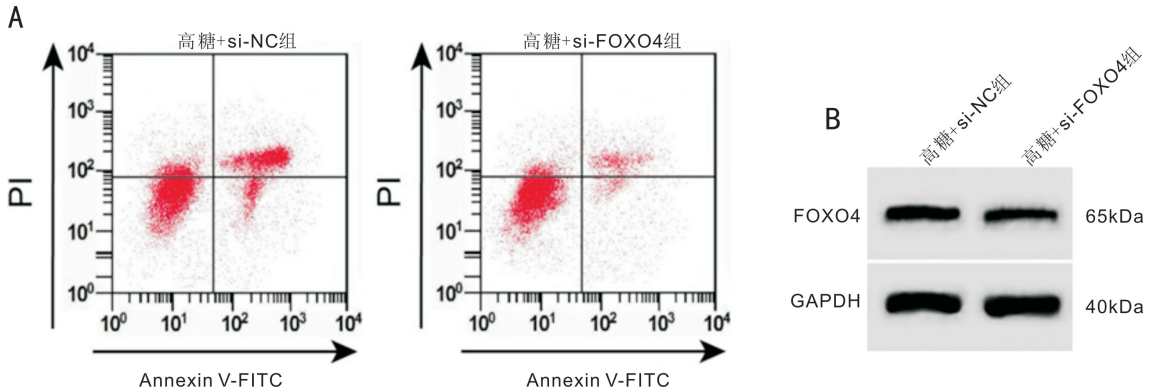


图4 抑制 FOXO4 对高糖诱导 HRVECs 凋亡和 FOXO4 蛋白表达的影响 A: 流式细胞术检测细胞凋亡率; B: Western blot 检测 FOXO4 蛋白表达量。

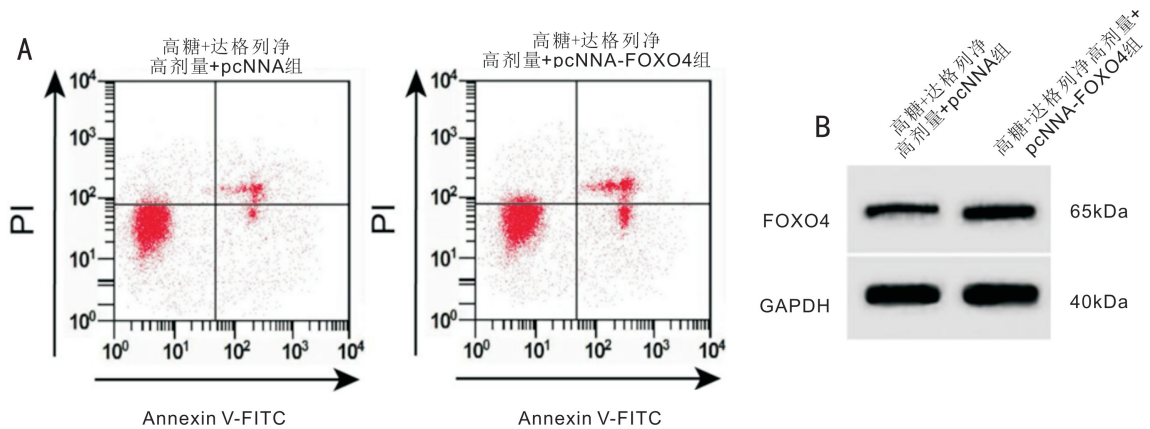


图5 过表达 FOXO4 对高糖诱导 HRVECs 凋亡及 FOXO4 蛋白表达的影响 A: 流式细胞术检测细胞凋亡率; B: Western blot 检测 FOXO4 蛋白表达量。

表2 抑制 FOXO4 对高糖诱导 HRVECs 凋亡和氧化应激的影响

(n=3, $\bar{x} \pm s$)

分组	FOXO4	凋亡率 (%)	SOD (U/L)	MDA (nmol/mL)
高糖+si-NC 组	0.82±0.06	25.80±1.07	106.81±9.35	219.86±10.76
高糖+si-FOXO4 组	0.30±0.03	11.42±0.69	281.73±12.34	73.34±5.49
t	13.426	19.563	19.569	21.009
P	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

表3 过表达 FOXO4 对高糖诱导 HRVECs 凋亡和氧化应激的影响

(n=3, $\bar{x} \pm s$)

分组	FOXO4	凋亡率 (%)	SOD (U/L)	MDA (nmol/mL)
高糖+达格列净高剂量+pcDNA 组	0.36±0.03	14.80±0.47	269.33±16.51	83.49±6.03
高糖+达格列净高剂量+pcDNA-FOXO4 组	0.72±0.06	23.42±0.79	126.68±9.00	172.03±10.50
t	9.295	16.242	13.140	12.665
P	0.001	<0.01	<0.01	<0.01

明显低于达格列净中剂量组,提示达格列净可能通过下调 FOXO4 而发挥作用。FOXO4 属于叉头框蛋白家族成员,其可通过影响细胞生物学行为而发挥作用,研究表明 FOXO4 表达异常与糖尿病并发症的发生密切相关,糖尿病视网膜病变中 FOXO4 的表达水平升高,抑制 FOXO4 表达可明显降低高糖诱导的细胞氧化应激及抑制细胞凋亡^[16]。FOXO4 高表达可促进心肌梗塞后的早期炎症反应^[17]。miR-328-3p 通过靶向 FOXO4 减轻低密度脂蛋白诱导的血管内皮细胞损伤^[18]。本研究结果显示,pcDNA 组是空载体,是过表达的对照,FOXO4 过表达与达格列净高剂量联合处理高糖诱导的 HRVECs,结果显示,细胞凋

亡率升高,SOD 的水平降低,而 MDA 的水平升高,提示 FOXO4 过表达可明显逆转达格列净对高糖诱导 HRVECs 凋亡及氧化应激的作用。

综上所述,达格列净可通过抑制 FOXO4 的表达而抑制高糖诱导的 HRVECs 氧化应激及抑制细胞凋亡从而减轻细胞损伤,FOXO4 可能作为达格列净治疗糖尿病视网膜病变的潜在靶标,但关于其具体作用机制仍需进一步探究。

参考文献

1 Jiang TT, Gu JX, Chen WW, et al. Resveratrol inhibits high-glucose-induced inflammatory “metabolic memory” in human retinal vascular

endothelial cells through SIRT1-dependent signaling. *Can J Physiol Pharmacol* 2019;97(12):1141-1151

2 Niu C, Chen ZW, Kim KT, et al. Metformin alleviates hyperglycemia-induced endothelial impairment by downregulating autophagy via the Hedgehog pathway. *Autophagy* 2019;15(5):843-870

3 Huang WY, Yan Z, Li DJ, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of blueberry anthocyanins on high glucose-induced human retinal capillary endothelial cells. *Oxid Med Cell Longev* 2018;2018:1862462

4 Wang ZL, Xing W, Song YL, et al. Folic acid has a protective effect on retinal vascular endothelial cells against high glucose. *Molecules* 2018;23(9):2326

5 李江雁, 随华, 吴苏豫, 等. 达格列净对糖尿病视网膜病变患者结缔组织生长因子表达的影响. *实用医学杂志* 2018;34(23):3971-3974

6 李欢, 路璐. miR-96-5p 靶向 FOXO4 对高糖诱导的大鼠视网膜血管内皮细胞增殖和凋亡的影响. *国际眼科杂志* 2020;20(8):1331-1338

7 位庚, 曹柳, 张苏明, 等. 通心络对高糖诱导人视网膜微血管内皮细胞损伤的保护作用. *中国医药导报* 2018;15(36):12-15

8 余莉莉. 达格列净对 2 型糖尿病患者血糖波动及氧化应激的影响研究. 长江大学 2019

9 Zhang TH, Huang CM, Cao X, et al. Gastrodin inhibits high glucose-induced human retinal endothelial cell apoptosis by regulating the SIRT1/TLR4/NF- κ Bp65 signaling pathway. *Mol Med Report* 2018;17(6):7774-7780

10 Wu Y, Zhang QM, Zhang R. Kaempferol targets estrogen-related

receptor α and suppresses the angiogenesis of human retinal endothelial cells under high glucose conditions. *Exp Ther Med* 2017;14(6):5576-5582

11 Mei XY, Zhou LY, Zhang TY, et al. Chlorogenic acid attenuates diabetic retinopathy by reducing VEGF expression and inhibiting VEGF-mediated retinal neovascularization. *Vasc Pharmacol* 2018;101:29-37

12 冷蔚玲, 梁自文. 达格列净对糖尿病血管并发症的影响研究进展. *医学综述* 2016;22(18):3628-3632

13 武卫党, 石磊, 张丹凤, 等. 达格列净对糖尿病心肌缺血大鼠心肌功能改善作用的实验研究. *陕西医学杂志* 2020;49(7):778-780

14 王喜欢, 张金华, 胡亚南, 等. 紫草素对高糖诱导的血管内皮细胞凋亡和氧化应激的影响. *中国病理生理杂志* 2018;34(7):1222-1227

15 王锐凡, 雷欣安, 成高丽, 等. 鳄嘴花总黄酮对高糖诱导血管内皮细胞损伤的保护作用及机制研究. *中国循证心血管医学杂志* 2019;11(9):1077-1080

16 陆骏, 秦瑜, 肖文玮, 等. FOXO4 对高糖环境下视网膜血管内皮细胞氧化应激和凋亡的影响. *国际眼科杂志* 2018;18(12):2146-2150

17 Zhu M, Goetsch SC, Wang ZN, et al. FoxO4 promotes early inflammatory response upon myocardial infarction via endothelial Arg1. *Circ Res* 2015;117(11):967-977

18 Qin XW, Guo JT. microRNA-328-3p protects vascular endothelial cells against oxidized low-density lipoprotein induced injury via targeting forkhead box protein O4 (FOXO4) in atherosclerosis. *Med Sci Monit* 2020;26(1):e921877-e921887