

罗娟,楼迪栋,肖巧巧,等. 橙皮素通过 Nrf2/HO-1 信号通路对非酒精性脂肪肝体外模型氧化应激的保护作用 [J]. 中国比较医学杂志, 2022, 32(6): 1-6.

Luo J, Lou DD, Xiao QQ, et al. Protective effect of hesperidin against oxidative stress via the Nrf2/HO-1 signaling pathway in an *in vitro* model of non-alcoholic fatty liver [J]. Chin J Comp Med, 2022, 32(6): 1-6.

doi: 10.3969/j.issn.1671-7856.2022.06.001

橙皮素通过 Nrf2/HO-1 信号通路对非酒精性脂肪肝体外模型氧化应激的保护作用

罗娟^{1,2},楼迪栋³,肖巧巧³,李晓洁¹,李毅^{4*},周谊霞^{1,2*}

(1. 贵州中医药大学护理学院, 贵阳 550025; 2. 贵州医科大学护理学院, 贵阳 550001; 3. 贵州中医药大学基础医学院, 贵阳 550025; 4. 贵州医科大学分子生物学重点实验室, 贵阳 550001)

【摘要】 目的 探讨橙皮提取物橙皮素对非酒精性脂肪肝 (NAFLD) 体外模型中氧化应激的保护作用。**方法** CCK-8 法筛选油酸 (OA) 及橙皮素 (HES) 的药物浓度。通过 OA 作用于 LO2 细胞建立体外 NAFLD 模型, 设正常对照组 (NC 组)、模型组 (Model 组)、低剂量组 (L-HES)、中剂量组 (M-HES)、高剂量组 (H-HES 组)。低中高剂量组用 HES 干预 24 h, 行油红 O 染色, 检测细胞内 ROS、MDA、SOD、CAT 的含量, Western blot 检测 LO2 细胞内 Nrf2、HO-1、NQO1、GCLC 蛋白的表达。**结果** 与 NC 组相比, Model 组细胞内脂滴大量形成 ($P<0.05$); ROS、MDA 表达增加, SOD、CAT 表达减少 ($P<0.05$); Nrf2、HO-1、NQO1、GCLC 表达均下调 ($P<0.05$); 与 Model 组相比, HES 低中高组脂滴逐渐减少 ($P<0.05$); ROS、MDA 生成减少, SOD、CAT 含量增加 ($P<0.05$); Nrf2、HO-1、NQO1、GCLC 蛋白的表达均上调 ($P<0.05$)。**结论** HES 通过抗氧化应激对 NAFLD 体外模型具有保护作用, 可能与激活 Nrf2/HO-1 信号通路有关。

【关键词】 NAFLD; 橙皮素; 氧化应激; Nrf2; HO-1; ROS

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2022) 06-0001-06

Protective effect of hesperidin against oxidative stress via the Nrf2/HO-1 signaling pathway in an *in vitro* model of non-alcoholic fatty liver

LUO Juan^{1,2}, LOU Didong³, XIAO Qiaoqiao³, LI Xiaojie¹, LI Yi^{4*}, ZHOU Yixia^{1,2*}

(1. School of Nursing, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025, China.
2. School of Nursing, Guizhou Medical University, Guiyang 550001. 3. School of Basic Medicine, Guizhou University of Traditional Chinese Medicine, Guiyang 550025. 4. Key Laboratory of Molecular Biology, Guizhou Medical University, Guiyang 550001)

【Abstract】 Objective To investigate the protective effect of hesperidin extract from orange peel on oxidative stress in an *in vitro* model of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Methods** CCK-8 method was used to screen the drug concentrations of oleic acid (OA) and hesperidin (HES). An *in vitro* NAFLD model was established by OA action on LO2 cells, with a normal control group (NC group), model group (Model group), low-dose group (L-HES), medium-dose group (M-HES) and high-dose group (H-HES group). The groups were treated with HES for 24 h; oil red O staining

[基金项目] 国家自然科学基金(81860089,82160099); 贵州省省级科技计划项目资助, 黔科合基础-ZK[2021]一般 356; 贵州中医药大学博士启动项目(2021[02])。

[作者简介] 罗娟(1998—), 女, 在读硕士研究生, 研究方向: 脂代谢护理临床疾病与基础研究。E-mail: luojuan20210911@126.com

[通信作者] 周谊霞(1979—), 女, 教授, 博士, 研究方向: 脂代谢与动脉粥样硬化疾病研究。E-mail: zhouyixia2014@126.com

李毅(1978—), 男, 本科, 研究方向: 分子生物学。E-mail: 84275758@qq.com * 共同通信作者

was performed to detect intracellular ROS, MDA, SOD and CAT, and Western blot was used to detect the expression of Nrf2, HO-1, NQO1 and GCLC proteins in LO2 cells. **Results** Compared with result in the NC group, numerous intracellular lipid droplets were formed in the Model group ($P<0.05$); ROS and MDA expression increased, SOD and CAT expression decreased ($P<0.05$) and Nrf2, HO-1, NQO1 and GCLC expression were all down-regulated ($P<0.05$). Compared with observations the Model group, fewer lipid droplets were observed in the HES low-medium-high group ($P<0.05$). ROS and MDA production decreased, SOD and CAT contents increased ($P<0.05$) and Nrf2, HO-1, NQO1 and GCLC protein expressions were all upregulated ($P<0.05$). **Conclusions** HES has a protective effect on the NAFLD *in vitro* model through anti-oxidative stress, which may be related to the activation of Nrf2/HO-1 signaling pathway.

【Keywords】 NAFLD; hesperidin; oxidative stress; Nrf2; HO-1; ROS

我国是世界上非酒精性脂肪肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)患病率增长最快的国家,也是亚洲患病率、发病率、死亡率最高的国家^[1-2]。NAFLD 发病机制复杂^[3],且目前尚无特异性治疗药物。氧化应激是 NAFLD 的主要发病机制,肝发生氧化应激后会触发肝炎症,增加肝受损程度^[4-5]。因此,减轻肝的氧化应激水平,可能为防治 NAFLD 带来新思路。核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor erythroid-2 related factor 2, Nrf2)是机体重要的抗氧化因子^[6],可调节下游血红素加氧酶-1(HO-1)、谷氨酰胺半胱氨酸连接酶催化亚基(GCLC)以及醌氧化还原酶(NQO1),发挥抗氧化作用^[7-8]。已有多项研究报道 Nrf2 信号通路对 NAFLD 具有保护作用^[9-10]。橙皮素(hesperetin, HES)是一种富含于柑橘类水果中的生物类黄酮,是对抗超氧化物和羟基自由基的有效药物^[11-12],但是其能否通过影响 Nrf2/HO-1 信号通路缓解 NAFLD 尚不明确,本研究旨在通过体外 NAFLD 模型探讨 HES 是否缓解 NAFLD,并探讨其可能的作用机制。

1 材料和方法

1.1 细胞

人正常肝细胞 LO2 购自上海中乔新舟生物科技有限公司,货号 ZQ0031。

1.2 主要试剂与仪器

CCK-8、油酸(OA)购于大连美仑生物技术有限公司,货号 MA0218-2、MB2405;HES 购于上海麦克林生化科技有限公司,纯度 97%,货号 C10358475;饱和油红 O 染液,购于索莱宝科技有限公司,货号 G1260;丙二醛(MDA)测定试剂盒(TBA 法)购于万类生物科技,货号为 WLA048a;ROS、SOD、CAT 测试试剂盒购于南京建成科技有限公司,货号 E004-1-1、A001-3、A007-1-1;Nrf2、GCLC、NQO1、HO-1、 β -actin 以及羊抗兔 IgG 均购于 Affinity 公司,货号 AF0639、

DF8550、DF6437、AF5393、S0001。冷冻离心机,美国 Thermo Fisher 公司,型号 Heraeus Fresco 21;多功能酶标仪,美国 Bio-Tek 公司,型号 ELX800UV;正置光学显微镜,日本 Nikon 公司,型号 Nikon Eclipse E100;倒置荧光显微镜,日本 Nikon 公司;电泳仪,武汉赛维尔生物科技有限公司,型号 BV-2。

1.3 实验方法

1.3.1 细胞培养

LO2 细胞培养于含 10% FBS 及 1% 双抗的 DMEM 培养基中,将其置于含 5% CO₂ 的 37℃ 恒温培养箱中,2~3 d 换液 1 次,当细胞密度达 80%~90% 时用胰酶消化,按 1:3 进行传代。

1.3.2 细胞活力分析

以每孔 1.0×10^4 个细胞接种于 96 孔板中,待细胞贴壁后,将 OA 和 HES 以浓度梯度分组给药,继续培养 24 h,采用 CCK-8 法测定细胞活力。

1.3.3 细胞分组

将 LO2 细胞分为正常对照组(NC,正常培养基培养)、模型组(Model,0.125 mmol/L 的 OA 造模)、HES 低、中、高剂量组(L-HES、M-HES、H-HES,10、100、200 μ mol/L 的 HES 干预 24 h)。

1.3.4 油红 O 染色及定量

4% 多聚甲醛固定 30 min,60% 异丙醇快速浸洗,油红 O 染液室温染色 10 min,60% 异丙醇分化 10 s,洗去多余染料,苏木素复染细胞核 10 s,PBS 清洗两遍,于倒置显微镜观察细胞脂质蓄积情况。每孔加入 500 μ L 异丙醇,于脱色摇床上振荡 10 min,取 100 μ L 上清液于 96 孔板中,在 500 nm 处测 OD 值。

1.3.5 抗氧化指标(ROS、MDA、SOD、CAT)测定

收集细胞于 EP 管中,加入 PBS,超声裂解细胞,4℃,12000 r/min,离心 10 min,取上清液测定。具体操作步骤按测定试剂盒说明书进行,ROS 染色后置于荧光显微镜下拍摄。

1.3.6 Western blot 检测

将 LO2 细胞收集至 EP 管中,加入 RIPA 裂解液,超声裂解细胞,4℃,12000 r/min,离心 20 min,提取细胞总蛋白。蛋白样品用 10% SDS-聚丙烯酰胺凝胶进行电泳,电泳结束进行转膜、封闭,一抗 4℃ 孵育过夜,二抗室温孵育 1 h。最后用化学发光检测系统进行蛋白显影。蛋白密度值用 Image J 软件进行分析。

1.4 统计学方法

用 SPSS 22.0 进行统计学分析,用 Graphpad Prism 8 绘制统计图。符合正态分布的数据用平均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,多组间比较用单因素方差分析,组间比较用 LSD-*t* 检验。以 $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 细胞活力分析结果

与 0 mmol/L 相比,当 OA 浓度在 0.5~2.0 mmol/L 时细胞活力下降($P<0.01$);与 0 μmol/L 相比,当 HES 浓度达到 250 μmol/L 时,抑制细胞活力($P<0.05$)。因此,后续实验选用 0.125 mmol/L 的 OA,10、100、200 μmol/L 的 HES。见图 1。

2.2 HES 呈剂量依赖性减少 LO2 细胞内脂滴的形成

与 NC 组相比,Model 组细胞内的脂滴形成明显增多,可见细胞内大面积红染;与 Model 组相比,各 HES 组脂滴形成均明显减少,随着剂量的增加,各 HES 组内的红染面积逐渐减少。油红 O 定量结果与上述结果一致。见图 2。

2.3 HES 减轻 LO2 细胞的氧化应激

与 NC 组相比,Model 组 ROS、MDA 生成增加,

SOD、CAT 生成减少($P<0.01$);与 Model 组相比,高、中、低剂量 HES 组 MDA、ROS 生成逐渐减少,SOD、CAT 生成增多($P<0.05$)。见图 3。

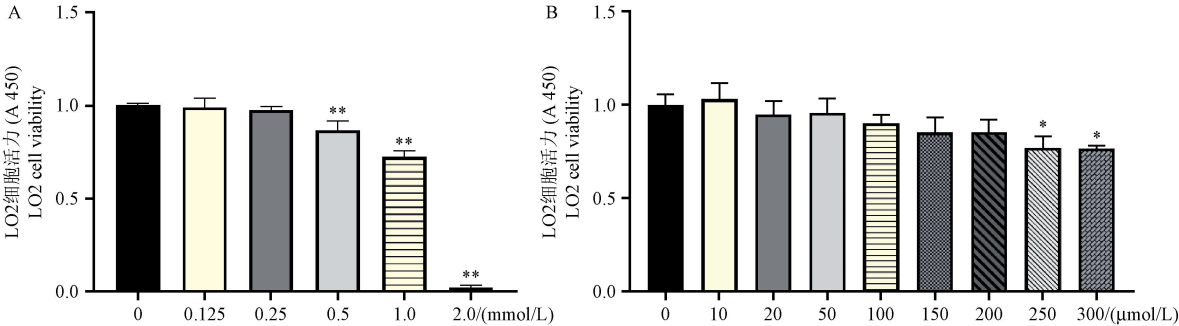
2.4 HES 对增加 Nrf2/HO-1 信号通路表达

与 NC 组相比,Model 组 HO-1、NQO1、GCLC、Nrf2 表达减少($P<0.05$);与 Model 组相比,HES 低、中、高剂量组上述蛋白表达水平逐渐升高($P<0.05$)。见图 4。

3 讨论

目前 NAFLD 仍无特异性治疗药物,“二次打击学说”指出了氧化应激在 NAFLD 发病机制中的重要性,因此控制氧化应激有助于延缓 NAFLD 进程。HES 可以抗氧化和清除自由基,在 NAFLD 防治方面具有广阔前景^[13],但是目前还没有其他研究报道过 HES 对 NAFLD 模型脂质氧化及对 Nrf2/HO-1 信号通路的影响。本研究利用 LO2 细胞作为 NAFLD 体外模型,研究 HES 对 NAFLD 的作用及其机制。结果表明,模型组中脂滴大量形成,ROS 和 MDA 生成增加,SOD 和 CAT 含量减少,Nrf2/HO-1 信号通路蛋白表达水平减少,提示 NAFLD 体外氧化应激模型成功建立。

MDA 是机体脂质过氧化的主要代谢产物,具有细胞毒性;ROS 可以诱导多不饱和脂肪酸启动细胞内的脂质过氧化,扩大氧化应激影响范围^[14],两者生成量增多会损伤肝。SOD 是生物体内最重要的抗氧化酶^[15],CAT 参与活性氧代谢过程,二者与 POD 组成清除自由基的反应体系^[16]。本研究发现,HES 呈剂量依赖性减少 NAFLD 模型脂滴的形成,降低 MDA 和 ROS 的生成,增加抗氧化酶 SOD、

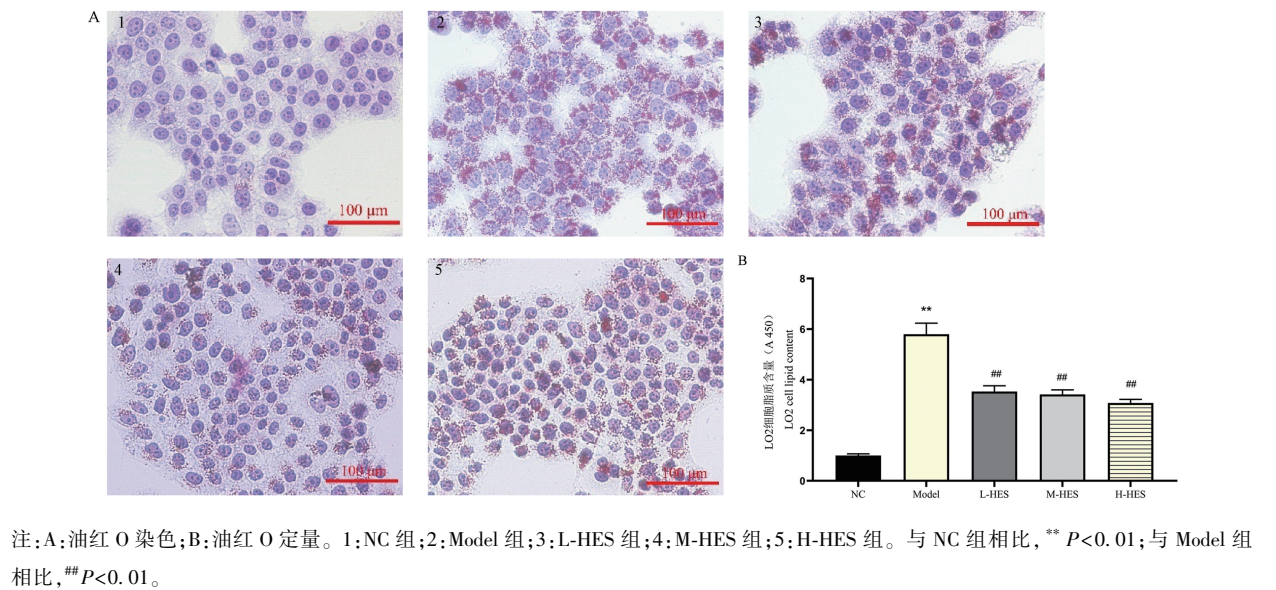


注:A:不同浓度 OA 对 LO2 细胞活力的影响;B:不同浓度 HES 对 LO2 细胞活力的影响。与 0 mmol/L 比,* $P<0.05$,** $P<0.01$ 。

图 1 不同浓度 OA 及 HES 对 LO2 细胞活力的影响

Note. A, Effect of different concentrations of OA on LO2 cell viability. B, Effect of different concentrations of HES on LO2 cell viability. Compared with 0 mmol/L, * $P<0.05$, ** $P<0.01$.

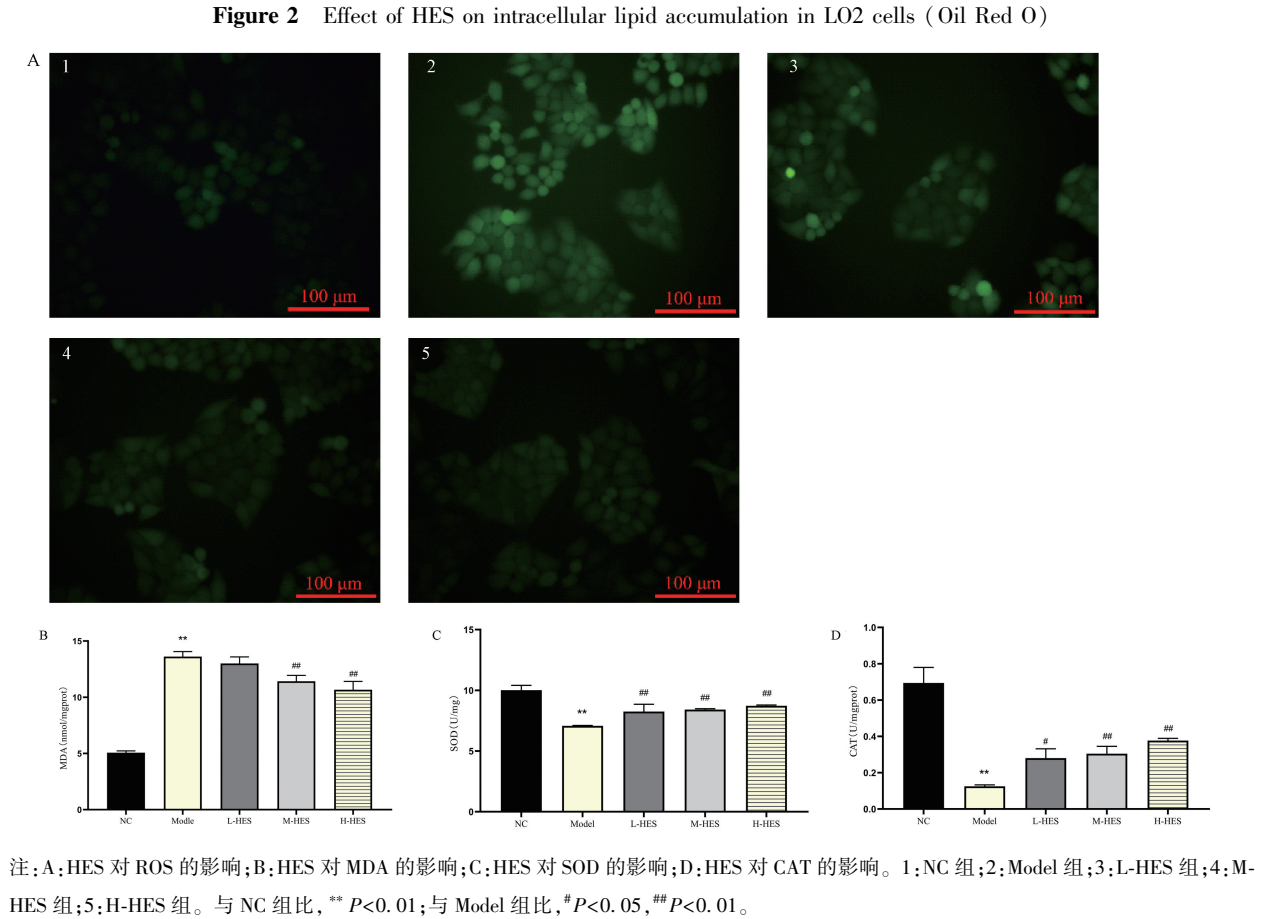
Figure 1 Effect of different concentrations of OA and HES on the viability of LO2 cells



注:A:油红 O 染色;B:油红 O 定量。1:NC 组;2:Model 组;3:L-HES 组;4:M-HES 组;5:H-HES 组。与 NC 组相比, ** $P < 0.01$;与 Model 组相比, ## $P < 0.01$ 。

图 2 HES 对 LO2 细胞内脂质蓄积的影响 (油红 O)

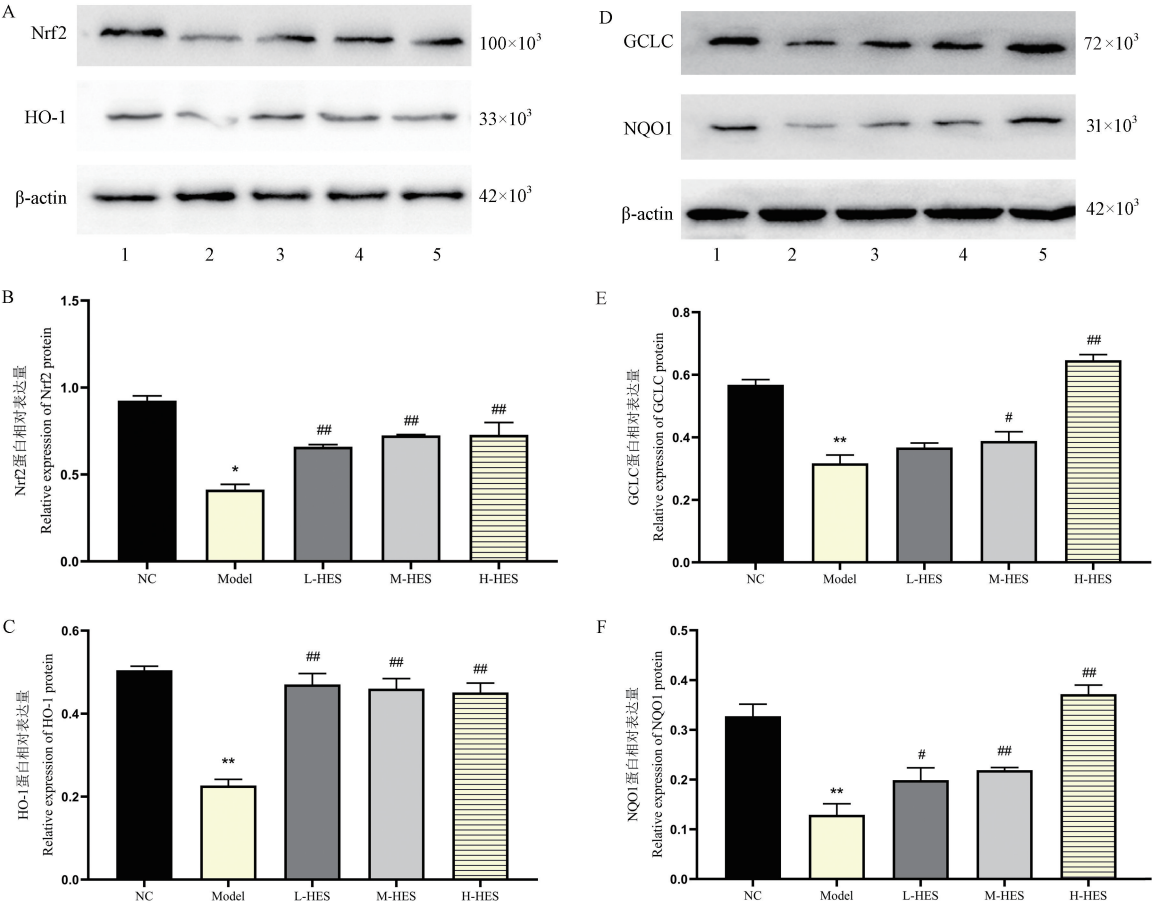
Note. A, Oil red O staining. B, Oil red O quantification. 1, Normal control group. 2, Model group. 3, Hesperidin low dose group. 4, Hesperidin medium dose group. 5, Hesperidin high dose group. Compared with NC group, ** $P < 0.01$. Compared with Model group, ## $P < 0.01$.



注:A:HES 对 ROS 的影响;B:HES 对 MDA 的影响;C:HES 对 SOD 的影响;D:HES 对 CAT 的影响。1:NC 组;2:Model 组;3:L-HES 组;4:M-HES 组;5:H-HES 组。与 NC 组比, ** $P < 0.01$;与 Model 组比, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$ 。

图 3 HES 对 LO2 细胞内 ROS、MDA、SOD、CAT 生成的影响

Note. A, Effect of HES on ROS. B, Effect of HES on MDA. C, Effect of HES on SOD. D, Effect of HES on CAT. 1, NC group. 2, Model group. 3, L-HES group. 4, M-HES group. 5, H-HES group. Compared with NC group, ** $P < 0.01$. Compared with Model group, # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$.



注:A:Nrf2、HO-1 的蛋白条带;B:Nrf2 的蛋白表达量;C:HO-1 的蛋白表达量;D:GCLC、NQO1 的蛋白条带;E:GCLC 的蛋白表达量;F:NQO1 的蛋白表达量。1:NC 组;2:Model 组;3:L-HES 组;4:M-HES 组;5:H-HES 组。与 NC 组比,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与 Model 组比,# $P<0.05$,## $P<0.01$ 。

图 4 HES 对 LO2 细胞 HO-1、NQO1、GCLC、Nrf2 蛋白表达的影响

Note. A, Protein bands of Nrf2, HO-1. B, Protein expression of Nrf2. C, Protein expression of HO-1. D, Protein bands of GCLC, NQO1. E, Protein expression of GCLC. F, Protein expression of NQO1. 1, NC group. 2, Model group. 3, L-HES group. 4, M-HES group. 5, H-HES group. Compared with NC group, * $P<0.05$, ** $P<0.01$. Compared with Model group, # $P<0.05$, ## $P<0.01$.

Figure 4 Effect of HES on HO-1, NQO1, GCLC, Nrf2 protein expression in LO2 cells

CAT 的含量,抵抗 NAFLD 体外模型的氧化应激,发挥保护作用。Kheradmand 等^[17]、Chen 等^[18]的研究也表明 HES 在阿尔兹海默病和肾损伤模型中具有减少 ROS、MDA,增加 SOD、CAT 生成的作用,这与我们的研究结果一致。以上的实验结果提示,HES 可能通过减轻 NAFLD 体外模型的氧化应激水平,发挥肝保护作用。

Nrf2/HO-1 信号通路是机体抵御氧化应激的重要信号通路,其激活可以促进下游多个抗氧化因子的表达^[19],可以治疗多种氧化损伤疾病。Nrf2 是氧化应激的中枢细胞感受器;HO-1 可以将血红素分解为具有抗氧化能力的胆绿素、一氧化碳和游离铁^[20];NQO1 可以催化醌类及其衍生物还原,降解

其毒性,从而阻止氧化还原反应和 ROS 生成^[21];GCLC 是 GCL 的组成亚单位,而 GCL 是细胞 GSH 的合成限速酶,可以调控 GSH 生成的量和速度,从而保护细胞免受氧化应激伤害。为进一步研究 HES 的在 NAFLD 体外模型中的抗氧化作用机制,进行蛋白免疫印迹实验检测 Nrf2/HO-1 信号通路的表达情况。Parhiz 等^[22]、Wan 等^[23]及 Prema 等^[24]的研究分别在药物肝损伤模型和心脏肥大模型中探讨 HES 对 Nrf2、HO-1、GCLC、NQO1 表达的影响,他们的研究结果均表明 HES 可以增加上述蛋白的表达并对疾病起到保护作用。本研究对 HES 在体外 NAFLD 模型中的抗氧化作用进行研究,证明了 HES 可以降低脂质蓄积,减少氧化应激产物的生

成,并发现 HES 可以增加 Nrf2、HO-1、GCLC、NQO1 的蛋白表达量,这表明 HES 对 NAFLD 的体外氧化应激模型具有保护作用。

综上所述,HES 对 NAFLD 的体外氧化应激模型具有保护作用,其作用机制可能与增加 Nrf2/HO-1 信号通路表达有关。

参考文献:

- [1] Zhou J, Zhou F, Wang W, et al. Epidemiological features of NAFLD from 1999 to 2018 in China [J]. *Hepatology*, 2020, 71 (5): 1851-1864.
- [2] Eguchi Y, Hyogo H, Ono M, et al. Prevalence and associated metabolic factors of nonalcoholic fatty liver disease in the general population from 2009 to 2010 in Japan: a multicenter large retrospective study [J]. *J Gastroenterol*, 2012, 47 (5): 586-595.
- [3] Zhang W, Sun Y, Liu W, et al. SIRT1 mediates the role of RNA-binding protein QKI 5 in the synthesis of triglycerides in non-alcoholic fatty liver disease mice via the PPAR α /FoxO1 signaling pathway [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 43 (3): 1271-1280.
- [4] Arroyave-Ospina JC, Wu Z, Geng Y, et al. Role of oxidative stress in the pathogenesis of non-alcoholic fatty liver disease: implications for prevention and therapy [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2021, 10(2): 174.
- [5] Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? [J]. *Gastroenterology*, 1998, 114(4): 842-845.
- [6] 景亮, 祁永章. 红景天苷对糖尿病足溃疡大鼠 Nrf2/Keap1 信号通路及伤口愈合的影响 [J]. *中国比较医学杂志*, 2021, 31(8): 48-54.
- [7] McMahon M, Itoh K, Yamamoto M, et al. Keap1-dependent proteasomal degradation of transcription factor Nrf2 contributes to the negative regulation of antioxidant response element-driven gene expression [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278 (24): 21592-21600.
- [8] Itoh K, Wakabayashi N, Katoh Y, et al. Keap1 represses nuclear activation of antioxidant responsive elements by Nrf2 through binding to the amino-terminal Neh2 domain [J]. *Genes Dev*, 1999, 13(1): 76-86.
- [9] Mohs A, Otto T, Schneider KM, et al. Hepatocyte-specific NRF2 activation controls fibrogenesis and carcinogenesis in steatohepatitis [J]. *J Hepatol*, 2021, 74(3): 638-648.
- [10] Zhang MH, Li J, Zhu XY, et al. Physalin B ameliorates nonalcoholic steatohepatitis by stimulating autophagy and NRF2 activation mediated improvement in oxidative stress [J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 164: 1-12.
- [11] Salomone F, Godos J, Zelber-Sagi S. Natural antioxidants for non-alcoholic fatty liver disease: molecular targets and clinical perspectives [J]. *Liver Int*, 2016, 36(1): 5-20.
- [12] Tirkey N, Pilkhwai S, Kuhad A, et al. Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbon tetrachloride in rat liver and kidney [J]. *BMC Pharmacol*, 2005, 5: 2.
- [13] Salomone F, Godos J, Zelber-Sagi S. Natural antioxidants for non-alcoholic fatty liver disease: molecular targets and clinical perspectives [J]. *Liver Int*, 2016, 36(1): 5-20.
- [14] 喻青青. 二氢姜黄素对油酸诱导的非酒精性脂肪肝体外模型的预防和治疗作用与机制研究 [D]. 武汉: 湖北大学, 2018.
- [15] 刘元刚, 张晨, 程欲, 等. 局部应用 PTD-SOD、SOD 对小鼠皮肤创伤的抗氧化应激损伤保护效果及其比较 [J]. *中国实验动物学报*, 2010, 18(6): 514-519, 446.
- [16] 田美杰, 孙英健, 官佳懿, 等. 橙皮苷对小鼠抗氧化作用及抗氧化酶基因表达的影响 [J]. *中国实验动物学报*, 2016, 24(2): 150-157.
- [17] Kheradmand E, Hajizadeh MA, Zare M. Neuroprotective effect of hesperetin and nano-hesperetin on recognition memory impairment and the elevated oxygen stress in rat model of Alzheimer's disease [J]. *Biomed Pharmacothex*, 2018, 97: 1096-1101.
- [18] Chen X, Wei W, Li Y, et al. Hesperetin relieves cisplatin-induced acute kidney injury by mitigating oxidative stress, inflammation and apoptosis [J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 308: 269-278.
- [19] Loboda A, Damulewicz M, Pyza E, et al. Role of Nrf2/HO-1 system in development, oxidative stress response and diseases: an evolutionarily conserved mechanism [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(17): 3221-3247.
- [20] Ryter SW. Heme Oxygenase-1, a cardinal modulator of regulated cell death and Inflammation [J]. *Cells*, 2021, 10(3): 515.
- [21] Zhu H, Li Y. NAD(P)H: quinone oxidoreductase 1 and its potential protective role in cardiovascular diseases and related conditions [J]. *Cardiovasc Toxicol*, 2012, 12(1): 39-45.
- [22] Parhiz H, Roohbakhsh A, Soltani F, et al. Antioxidant and anti-inflammatory properties of the citrus flavonoids hesperidin and hesperetin: an updated review of their molecular mechanisms and experimental models [J]. *Phytother Res*, 2015, 29(3): 323-331.
- [23] Wan J, Kuang G, Zhang L, et al. Hesperetin attenuated acetaminophen-induced hepatotoxicity by inhibiting hepatocyte necrosis and apoptosis, oxidative stress and inflammatory response via upregulation of heme oxygenase-1 expression [J]. *Int Immunopharmacol*, 2020, 83: 106435.
- [24] Prema V, Thangarajeswari M, Bhavani RD, et al. Targeting the Nrf2/ARE signalling pathway to mitigate isoproterenol-induced cardiac hypertrophy: plausible role of hesperetin in redox homeostasis [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2020, 2020: 9568278.