

## Protective Effect of Protocatechuic Acid on Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVECs) and Underlying Mechanisms

Dongmei LIU <sup>1\*</sup>, Jiwen SHENG <sup>1\*</sup>, Yujie ZHANG <sup>2</sup>, Huimin QI <sup>1</sup>, Liang JING <sup>1</sup> & Chunling ZHAO <sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmacy, <sup>2</sup> Plastic Surgery Institute & <sup>3</sup> Department of Biological Science  
And Technology of Weifang Medical University, Weifang 261053, China

**SUMMARY.** The purpose of this study was to investigate the protective effect of protocatechuic acid (PCA) on human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) and the underlying mechanisms. The cell viability and apoptosis in HUVECs were investigated by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) cell viability assay and Annexin V-FITC/PI double stain method. The intracellular reactive oxygen species (ROS) level was determined by the oxidant-sensing fluorescent probe 2,7-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFH-DA). Silent information regulator 1 (SIRT1) protein expression was analysed by western blotting assay. As a result, the cell viability was increased to  $120.42 \pm 0.08\%$  after HUVECs were incubated with  $150 \mu\text{M}$  PCA. However, the cell viability was decreased to  $51.54 \pm 0.20\%$  after treated with  $\text{H}_2\text{O}_2$ . PCA protected HUVECs against  $\text{H}_2\text{O}_2$ -induced oxidative damage and the cell viabilities were respectively enhanced to  $69.91 \pm 0.16$  and  $64.03 \pm 0.30\%$  at 200 and  $300 \mu\text{M}$ . The apoptosis rates were reduced to  $6.07 \pm 0.32\%$  ( $p < 0.01$ ) and  $3.83 \pm 0.21\%$  ( $p < 0.05$ ) in with and without  $\text{H}_2\text{O}_2$ -treated cells. PCA inhibited the generation of ROS induced by  $\text{H}_2\text{O}_2$  and the fluorescent intensity was abated to  $9.69 \pm 0.78$ . Moreover, the SIRT1 protein level was enhanced. The protective effect of PCA on HUVECs might be due to the inhibition of ROS generation and cell apoptosis, and the upregulation of SIRT1 expression. These findings provide us a new perspective on the biological potential of PCA.

**RESUMEN.** El propósito de este estudio fue investigar el efecto protector del ácido protocatéquico (PCA) en las células endoteliales de la vena umbilical humana (HUVEC) y los mecanismos subyacentes. La viabilidad celular y la apoptosis en HUVECs se investigaron mediante el ensayo de viabilidad celular de metil tiazolil tetrazolio (MTT) y el método de doble tinción de anexina V-FITC /PI. El nivel de las especies reactivas de oxígeno intracelular (ROS) se determinó mediante sonda fluorescente sensora de oxidantes, el diacetato de 2,7-diclorodihidrofluoresceína (DCFH-DA). La expresión de la proteína del regulador de la información silenciosa 1 (SIRT1) se analizó mediante ensayo de transferencia Western. Como resultado, la viabilidad celular se incrementó a  $120.42 \pm 0.08\%$  después de que las HUVEC se incubaron con PCA  $150 \mu\text{M}$ . Sin embargo, la viabilidad celular se redujo a  $51.54 \pm 0.20\%$  después de tratarse con  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Las HUVECs protegidas con PCA contra el daño oxidativo inducido por  $\text{H}_2\text{O}_2$  y las viabilidades celulares se mejoraron respectivamente a  $69,91 \pm 0,16$  y  $64,03 \pm 0,30\%$  a 200 y  $300 \mu\text{M}$ . Las tasas de apoptosis se redujeron a  $6.07 \pm 0.32\%$  ( $p < 0.01$ ) y  $3.83 \pm 0.21\%$  ( $p < 0.05$ ) con y sin células tratadas con  $\text{H}_2\text{O}_2$ . PCA inhibió la generación de ROS inducida por  $\text{H}_2\text{O}_2$  y la intensidad fluorescente disminuyó a  $9.69 \pm 0.78$ . Además, se mejoró el nivel de proteína SIRT1. El efecto protector de PCA en HUVEC podría deberse a la inhibición de la generación de ROS y la apoptosis celular y a la regulación positiva de la expresión de SIRT1. Estos hallazgos nos proporcionan una nueva perspectiva sobre el potencial biológico de PCA.

**KEY WORDS:** apoptosis, HUVECs, protective effect, protocatechuic acid, SIRT1.

\* Authors to whom correspondence should be addressed. E-mail: ldmwfmcc@163.com (Dongmei Liu), sjwchcy@wfmcc.edu.cn (Jiwen Sheng)