

• 论 著 •

维生素 C 注射液调节氧化应激抑制心肌缺血再灌注损伤大鼠的作用及机制研究^{*}

梁 霄, 张 杰, 徐 敏[△]

(遵义市第一人民医院心内科, 贵州 遵义 563000)

[摘 要] **目的** 探究维生素 C(VC)注射液通过调节氧化应激反应抑制心肌缺血再灌注损伤大鼠的作用及机制。**方法** 将 24 只 wistar 大鼠进行麻醉,建立心肌缺血再灌注损伤模型,并分为空白对照组(在左冠状动脉中上 1/3 处穿线但不结扎)、模型组(在左冠状动脉中上 1/3 处穿线并结扎)、VC 治疗组(在再灌注时静脉注射 VC 100 mg/kg)。通过 TTC 染色计算各组大鼠心肌梗死区在心室总面积的占比;采用免疫组织化学检测各组大鼠心肌肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-6(IL-6)的表达;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测分析氧化应激指标[丙二醛(MDA)和超氧化物歧化酶(SOD)]含量变化;采用 Western blotting 检测各组大鼠组织中炎症关键指标[核因子 κ B(NF- κ B)p65 及自噬过度激活蛋白(Beclin-1)]的表达。**结果** 心肌缺血再灌注大鼠的心肌梗死面积增加。空白对照组大鼠心肌结构正常,心肌细胞无肿胀,间质未见炎性细胞及纤维化改变。模型组可见大鼠心肌细胞肿胀,胞质淡染,心肌间质弥漫性出血,伴炎性细胞浸润,局部纤维化明显;TNF- α 、IL-6 表达水平上升,心室组织中 MDA 含量显著上升,SOD 含量显著下降,NF- κ B p65 和 Beclin-1 的蛋白表达水平均显著上调。VC 治疗组大鼠心肌梗死面积减少,心肌细胞肿胀改善明显,伴有轻度间质水肿和少量炎性细胞浸润,心肌出血及纤维化改善明显;TNF- α 、IL-6 表达水平下降,抑制了氧化应激,并下调了心肌组织中 NF- κ B p65 和 Beclin-1 的蛋白表达。VC 治疗组上述指标与空白对照组及模型组比较,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** VC 能够显著抑制心肌细胞缺血再灌注后氧化应激损伤,此过程与下调大鼠炎症关键指标(NF- κ B p65 和 Beclin-1)表达密切相关。

[关键词] 心肌缺血再灌注; 维生素 C; 氧化应激; 抑制机制; 大鼠

DOI:10.3969/j.issn.1009-5519.2023.09.003

中图法分类号:R541.4

文章编号:1009-5519(2023)09-1451-06

文献标识码:A

The effect and mechanism of vitamin C injection regulating oxidative stress response to inhibit myocardial ischemia reperfusion injury in rats^{*}

LIANG Xiao, ZHANG Jie, XU Min[△]

(Department of Cardiovascular Medicine, the First People's Hospital of Zunyi, Zunyi, Guizhou 563000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effect and mechanism of vitamin C (VC) injection regulating oxidative stress response to inhibit myocardial ischemia reperfusion injury in rats. **Methods** A total of 24 wistar rats were anesthetized to establish a model of acute myocardial ischemia-reperfusion injury model, and divided into the normal control group (threading but not ligated in the upper 1/3 of the left coronary artery), the model group (threading and ligated in the upper 1/3 of the left coronary artery), and the VC treatment group (100 mg/kg VC intravenously during reperfusion). Myocardial infarction area was measured by TTC staining, and the percentage of myocardial infarction area in ventricular area was calculated. Immunohistochemistry was used to detect the expression of myocardial tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) in each group of rats. The enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to analyze the content changes of oxidative stress indexes [malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD)]. Western blotting was used to detect the expression of key indicators of inflammation [nuclear factor- κ B (NF- κ B) p65 and autophagy-hyperactivated proteins (Beclin-1)] in the tissues of each group of rats. **Results** The area of myocardial infarction increased in myocardial ischemia-reperfusion rats. The myocardial structure of the normal control

^{*} 基金项目:贵州省遵义市科学技术局市级联合科技计划项目(遵市科合社字[2018]172号)。

作者简介:梁霄(1988—),硕士研究生,主治医师,主要从事冠心病基础研究。 [△] 通信作者, E-mail:240418968@qq.com。

group was normal, myocardial cells showed no swelling, inflammatory cells and fibrosis changes were not observed in the interstitium. In the model group, myocardial cells were swollen, cytoplasmic staining, myocardial interstitial bleeding with inflammatory cell infiltration and obvious local fibrosis were observed. The expression of TNF- α and IL-6 increased, MDA content increased significantly, SOD content decreased significantly, NF- κ B p65 and Beclin-1 protein expression were significantly up-regulated. In the VC treatment group, the area of myocardial infarction was reduced, and myocardial cell swelling was significantly improved with interstitial edema and a small amount of inflammatory cell infiltration, and myocardial bleeding and fibrosis were significantly improved. The expression of TNF- α and IL-6 decreased, which inhibited oxidative stress and down-regulated the protein expression of NF- κ B p65 and Beclin-1 in myocardial tissue. The above indexes in the VC treatment group were statistically significant compared with the normal control group and the model group ($P < 0.05$). **Conclusion** VC can significantly inhibit the oxidative stress injury after myocardial ischemia reperfusion which was closely related to down-regulating the expression of key indicators of inflammation (NF- κ B p65 and Beclin-1) in rats.

[Key words] Myocardial ischemia reperfusion; Vitamin C; Oxidative stress; Inhibition mechanism; Rats

心肌缺血再灌注损伤是一种复杂的病理生理过程。近年来研究发现,心肌缺血再灌注的发病机制涉及氧自由基的作用、炎性反应、细胞凋亡,细胞内钙离子超载、线粒体能量代谢障碍等,最终导致微血管病变^[1]。缺血再灌注会进一步损害微血管内皮细胞结构,导致内皮细胞功能失调,进而阻碍了微血管内血液循环;同时缺血再灌注容易引起微动脉血管内壁粥样斑块破裂、脱落,形成微血栓,阻塞了心肌微血管,从而使心肌组织的血液灌注量降低,加重心肌缺血^[2]。

氧化应激(oxidative stress)被认为是活性氧(ROS)生成与细胞抗氧化能力的失衡,此过程主要与 ROS 大量生成或抗氧化系统的功能障碍有关。以往多项研究阐明了氧化应激及其一些产物,如 ROS、活性氮(RNS)和氧化酶(NOXs)等,与心血管多种主要病理进展有关,其中也包括心肌缺血再灌注损伤^[3]。心肌缺血再灌注是引起冠心病心肌损伤的重要病理机制,多见于冠心病溶栓、经皮冠状动脉介入治疗等过程中^[4]。而此过程中氧化应激可以通过影响心肌细胞代谢紊乱、线粒体功能障碍等机制使心肌缺血再灌注后心肌细胞产生机能失调和炎性反应^[5]。而鉴别氧化应激上游介质及氧化应激的下游信号通路是研究心肌缺血再灌注损伤的重要机制,因此靶向心肌缺血再灌注损伤过程中氧化应激的干预是减轻心肌坏死或凋亡、保护心脏功能、改善预后的主要途径和药理作用靶点。维生素 C (VC)是一种强抗氧化剂。有研究表明,心肌缺血再灌注会产生大量的氧自由基,从而引起心肌损伤^[6],为了消除这种损伤机制,抗氧化治疗旨在通过服用 VC 来增强抗氧化防御系统,从而减轻心肌损伤^[7-8]。此外,由于心肌缺血再灌注损伤是多因素影响的,细胞炎症、凋亡或者自噬均在其中发挥作用^[9],而 VC 对心肌损伤的具体保护机制

尚不明确。本研究旨在探讨 VC 注射液通过调节抗氧化应激反应在对 wistar 大鼠心肌缺血再灌注损伤中的保护机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 wistar 大鼠 200 g 24 只[许可证号:SCXK(京)2019-0010],由苏州西山生物技术有限公司提供,饲养条件:温度 18~26 °C,湿度:30%~70%。

1.1.2 实验试剂与仪器 2%氯化三苯基四氮唑(TTC)染色液(Cat # G3005,北京索莱宝科技有限公司),伊文思蓝(cas:134-13-6,北京索莱宝科技有限公司),抗坏血酸(50-81-7,CAS 上海凯士电子有限公司),大鼠超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒[MM-0386R2,酶联免疫吸附试验(ELISA)],大鼠丙二醛(MDA)试剂盒(MM-0385R2, ELISA),PVDF 膜(IPVH00010,Millipore 公司),超敏发光液(RJ239676,赛默飞世尔科技公司)。内参一抗:Rabbit Polyclonal Anti-Tubulin (10094-1-AP,美国 Proteintech 公司,1/1 000);二抗:辣根酶标记山羊抗鼠 IgG(H+L)(ZB-2305,北京中杉金桥生物技术有限公司,1/2 000)。目的一抗:Rabbit Anti 核因子- κ B(NF- κ B)p65 (66535-1-Ig,美国 Proteintech 公司,1/1 000);目的一抗:Rabbit Anti 自噬过度激活蛋白(Beclin-1)(11306-1-AP,美国 Proteintech 公司,1/1 000);目的二抗:辣根酶标记山羊抗兔 IgG(H+L)(ZB-2301,北京中杉金桥生物技术有限公司,1/2 000)。小动物呼吸机(DW-3000C,北京众实迪创科技发展有限公司),全自动酶标仪(WD-2102B,北京六一生物科技有限公司),蛋白垂直电泳仪(DYY-6C,北京六一生物科技有限公司),超高灵敏度化学发光成像系统[Chemi DocTM XRS+,伯乐生命医学产品(上海)有限公司],全自动

化学发光图像分析系统(Tanon-5200,上海天能科技有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 缺血再灌注造模及分组(中洪博元构建) 采用 1%戊巴比妥钠 150 mg/kg 腹腔注射进行麻醉,大鼠颈部麻醉后,剪开皮肤分离出气管,在气管上用针头扎出小孔插入气管,潮气量调至 10 mL。连接心电图机先测量正常大鼠心电图,打开大鼠胸腔,剪开心包膜暴露心脏。用 6-0 带线圆针在左冠状动脉中上 1/3 处穿过结扎,肉眼可见心肌变白,心电图检测确定造模,缺血 45 min。VC 治疗组在再灌注时静脉注射 VC,100 mg/kg,然后缝合胸腔,肌内注射青霉素。空白对照组在相同位置处穿线,但不结扎。

1.2.2 TTC-伊文思蓝双染色 再灌注 2 h 后,再次麻醉大鼠开胸,结扎冠状动脉,然后向心脏灌注 4%伊文思蓝,染色成功后进行冰冻,后将心脏切片成 2 mm 等量 5 片放入 2% TTC 染色液中,放入 37 °C 水浴锅 15 min,取出样本后进行压片固定拍照。

1.2.3 苏木精-伊红(HE)染色 心肌组织洗去血液,然后固定 48 h。采用不同浓度的乙醇脱水,石蜡包埋。将石蜡切片(5 μ m),HE 染色。图片由倒置荧光显微镜拍摄,利用 HMIAS22000 医学图像分析系统对图像进行分析。

1.2.4 Masson 染色 将心肌组织固定于 10%中性福尔马林固定液中,常规脱水包埋。切片厚 4 μ m,常规脱蜡至水。将切片放入 Bouin 液,置于 37 °C 的温箱内 2 h 进行媒染,然后流水冲洗至切片上的黄色消失。天青石蓝染液滴染 3 min,稍水洗。Mayer 苏木素染色液滴染 3 min,稍水洗。放入酸性乙醇分化液分化数秒,用流水冲洗 10 min。丽春红品红染色液滴染 10 min,用蒸馏水稍冲洗。放入磷钼酸溶液处理 10 min,倾去上清液,切片不用水洗,直接滴入苯胺蓝染色液浸染 5 min。弱酸溶液处理 2 min。用 95%乙醇快速脱水,再用无水乙醇脱水 3 次,每次 10 s。二甲苯透明 3 次,每次 2 min。中性树脂封固。

1.2.5 免疫组织化学检测心肌 TNF- α 、IL-6 的表达 4%多聚甲醛连续固定心肌组织 24 h,石蜡包埋,旋转切片机切片 4 μ m 厚。免疫组织化学实验中,用 3%过氧化氢孵育内源性过氧化物酶,用 5% BSA 封闭切片 20 min。然后用兔抗大鼠 TNF- α 和 IL-6 抗体在 4 °C 孵育过夜。随后用山羊抗兔过氧化物酶标记的 IgG 在 25 °C 下培养 1 h。最后将切片浸泡在碱性磷酸酶标记的二氨基联苯胺中。图片由倒置荧光显微镜拍摄,利用 HMIAS22000 医学图像分析系统对图像进行分析。

1.2.6 ELISA 检测 采用 ELISA 法测定大鼠心肌组织中脂质过氧化 MDA 和 SOD 活性水平。具体操作方法:分别在标准孔和样品孔中加入稀释后的标准

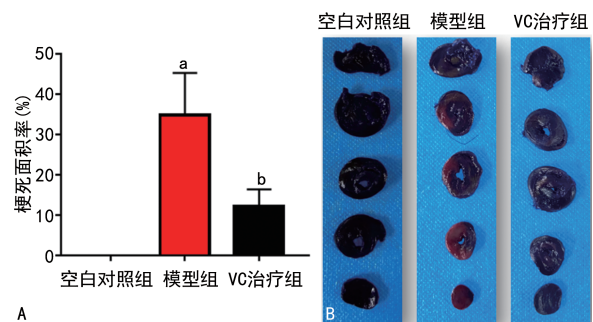
品和样品各 50 μ L,然后在标准孔和样品孔中加入生物素标记抗体 50 μ L。培养皿在 37 °C 孵育 60 min。用洗涤液洗涤 4 次后,每孔加入霉链亲和素辣根过氧化物酶(HRP)80 μ L,轻轻摇匀,37 °C 孵育 30 min。洗涤后,每孔加入底物 A、B 各 50 μ L,37 °C 暗孵育 15 min。最后每孔加入 50 μ L 的停止缓冲液,15 min 内用微滴板仪读取 450 nm 处的光密度。

1.2.7 Western blotting 检测 使用蛋白裂解缓冲液和蛋白酶抑制剂从大鼠心肌组织中提取总蛋白。根据制造商说明,用 BCA 试剂盒测定蛋白浓度。用 10% 聚丙烯酰胺电泳凝胶分离 40 μ g 蛋白质,转移到硝化纤维素膜。在 4 °C 磷酸盐缓冲盐水中,用 5% BS 封闭膜过夜后,用一抗抗体孵育 4 °C 过夜。用 TBST 洗涤膜,与 HRP 标记的二抗孵育 37 °C 放置 1 h,然后使用增强型化学发光检测试剂盒曝光液,在凝胶成像系统中曝光。用“Image Pro”软件分析各条带灰度值。

1.3 统计学处理 应用 SPSS19.0 软件进行统计分析。所有实验重复 3 次,定量结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组之间定量数值比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 法。检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。作图采用 Graphpad7.0 软件,灰度值分析采用 Image Pro J 软件。

2 结果

2.1 VC 对心肌缺血再灌注损伤大鼠梗死面积的影响 经 TTC 染色,空白对照组无明显梗死面积,而模型组心肌梗死面积率为 36.0%,升高显著,差异有统计学意义($P<0.05$),而 VC 治疗组心肌梗死面积显著减少(心肌梗死面积率为 13.0%),与其他 2 组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见图 1。



注:A.各组 TTC 染色测量心肌梗死面积率;与空白对照组比较, $^aP<0.05$;与模型组比较, $^bP<0.05$;B.各组大鼠心肌梗死组织。

图 1 各组大鼠心肌梗死面积比较

2.2 VC 对急性心肌梗死大鼠心肌缺血再灌注损伤病理结果的影响 空白对照组心肌结构正常,心肌细胞无肿胀,间质未见炎性细胞及纤维化改变。模型组可见大鼠心肌细胞肿胀,胞质淡染,心肌间质弥漫性出血,伴炎性细胞浸润,局部纤维化明显。VC 治疗组大鼠心肌细胞肿胀改善明显,伴有轻度间质水肿和少量炎性细胞浸润,心肌出血及纤维化改善明显。见图 2。

2.3 VC 对急性心肌梗死大鼠心肌缺血再灌注损伤 TNF- α 、IL-6 表达的影响 与空白对照组比较,模型组大鼠心肌组织中 TNF- α 、IL-6 表达水平上升,差异

均有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,VC 治疗组中心肌组织中 TNF- α 、IL-6 表达下降,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 3。

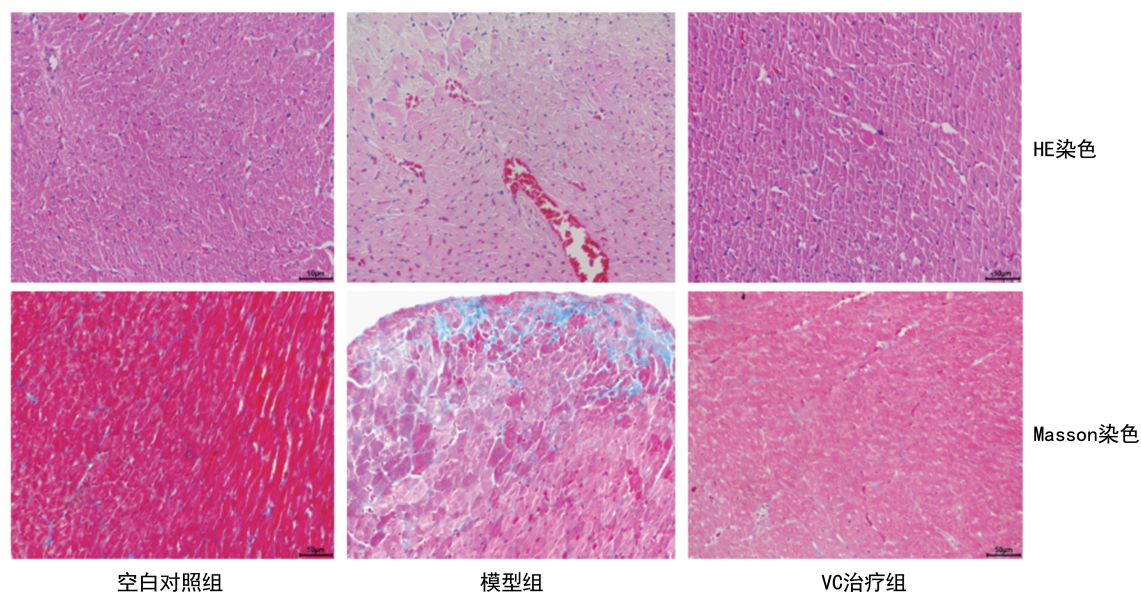
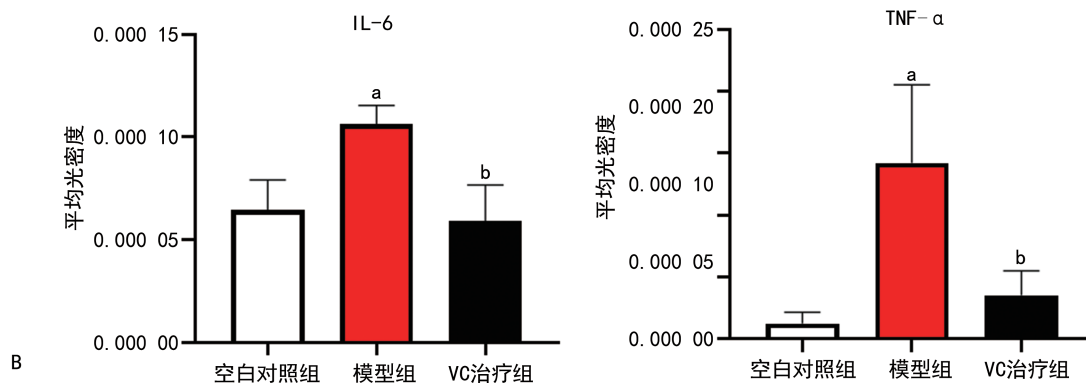
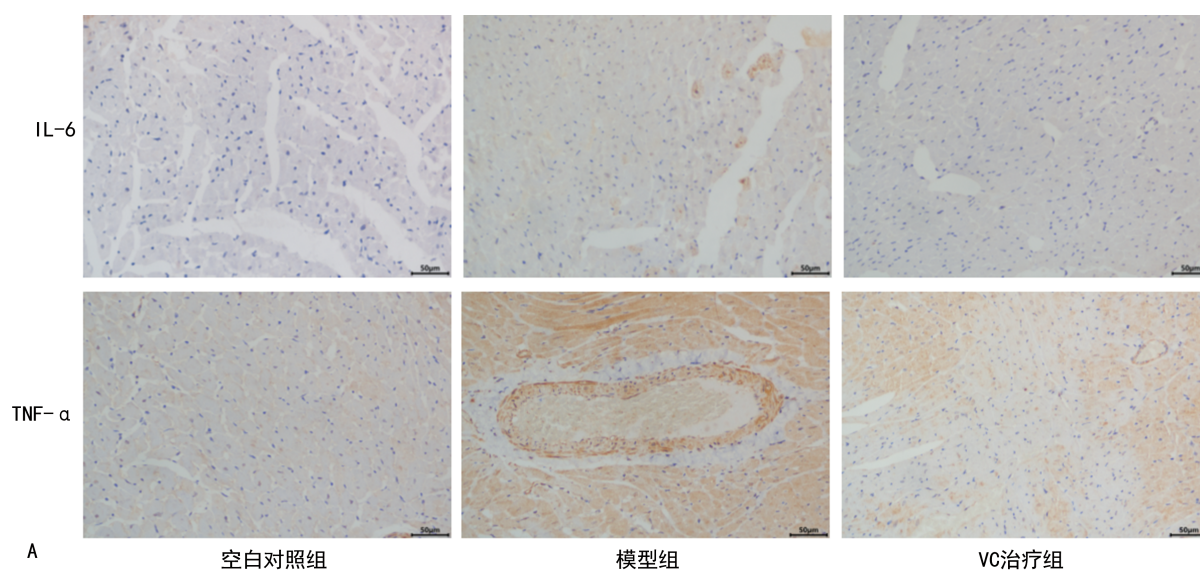


图 2 各组大鼠心肌组织病理图(400 $\times$)

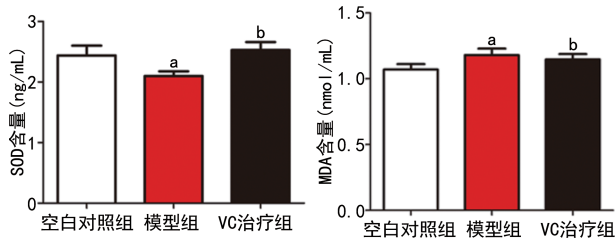


注:A. 免疫组织化学检测各组大鼠心肌组织中 TNF- α 、IL-6 表达水平;B. 与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

图 3 各组大鼠心肌组织 TNF- α 、IL-6 表达水平比较

2.4 VC 对急性心肌梗死大鼠心肌缺血再灌注损伤 氧化应激的影响 与空白对照组比较,模型组大鼠心

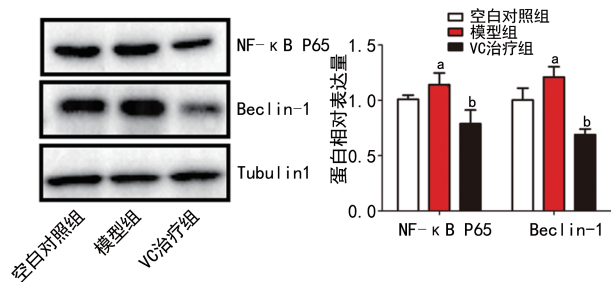
肌组织中 SOD 含量显著下降,MDA 含量显著上升,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,VC 治疗组大鼠心肌组织中 SOD 含量显著增加,而 MDA 含量则显著下降,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 4。



注:与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

图 4 各组大鼠心肌组织中 SOD 和 MDA 含量比较

2.5 VC 对急性心肌梗死大鼠心肌缺血再灌注损伤心肌组织中 NF- κ B P65 和 Beclin-1 表达的影响 与空白对照组比较,模型组中 NF- κ B P65 和 Beclin-1 的蛋白水平均显著升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与模型组比较,VC 显著抑制了 NF- κ B P65 和 Beclin-1 的蛋白表达水平,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见图 5。



注:A. Western blotting 检测各组大鼠心肌组织中 NF- κ B P65 和 Beclin-1 的表达水平;B. 与空白对照组比较,^a $P < 0.05$;与模型组比较,^b $P < 0.05$ 。

图 5 各组大鼠心肌组织中 NF- κ B P65 和 Beclin-1 表达水平比较

3 讨论

急性心肌梗死的治疗是目前难以克服的一个世界性难题,目前,临床治疗急性心肌梗死的主要思路在于恢复心肌供血,实现心肌再灌注。然而,心肌缺血再灌注不能完全恢复心肌的正常生理环境,相反,其会导致更严重的心肌再灌注伤害^[10]。因此,寻找新的安全并且有效的临床治疗方式对于靶向治疗急性心肌梗死意义深远^[11-12]。VC 已在临床中广泛应用于缺血性心脏病的治疗。本研究结果显示,与空白对照组比较,模型组中心肌梗死面积显著增加,而 VC 治疗组静脉注射 VC 后心肌梗死面积显著减少,提示单独使用 VC 对心肌缺血再灌注损伤有一定的保护作用。

心肌缺血再灌注损伤时往往通过多种氧化系统、活化的免疫细胞及细胞中线粒体呼吸链功能异常均会导致氧自由基大量产生^[13]。大量 ROS 导致的氧化

应激是心肌细胞死亡、收缩与舒张功能下降的重要起始因素^[14]。使心肌组织处于急性缺氧/复氧状态下,由此心肌细胞线粒体电子转移障碍而产生大量的自由基。已有研究指出,VC 的生物效应主要包括选择性抗氧化、抗炎、抗凋亡和代谢调节^[15],其中,抗氧化作用较强是公认的。与其他抗氧化剂不同的是,VC 可以选择性地降低有害 ROS 的表达,特别是影响 SOD 的表达,促进 MDA 含量上升,本实验中的检测结果也说明了这一效果。此结果说明 VC 可以明显保护大鼠心肌缺血再灌注损伤,与其抗自由基反应相关。

目前研究指出,NF- κ B 在大多数细胞类型中是一种炎症诱导因子和氧化还原敏感转录因子^[16]。自噬是一种进化保守的“自我消化”形式,在心脏中起着双重作用。最近关于自噬的研究结果表明,自噬在心肌细胞中对氧化应激有保护作用 and 有害作用^[17]。有证据表明,NF- κ B 的调节与自噬反应之间存在很强的相关性^[18],而 NF- κ B 被认为介导自噬和凋亡之间的平衡。Beclin-1 是自噬体形成过程中所必需的分子,调控自噬体的形成和成熟^[19]。Beclin-1 上调可能是自噬过度激活的分子标志^[20]。本研究结果显示,模型组大鼠心肌组织中 NF- κ B P65 和 Beclin-1 表达水平显著上升。而 VC 组大鼠心肌组织中 NF- κ B P65 和 Beclin-1 表达水平显著下降。此结果说明 VC 通过抑制氧化应激和 NF- κ B 信号通路及自噬过度活化减轻心肌缺血再灌注损伤的影响。

综上所述,在心肌梗死患者的再灌注治疗过程中,心肌缺血再灌注损伤是急性心肌缺血再灌注损伤的重要原因,会导致治疗失败,因此减少心肌缺血再灌注损伤是提高疗效的重要靶点。本研究结果显示,VC 是一种有效的抑制心肌缺血再灌注损伤的方法,此过程主要跟抑制氧化应激有关。VC 通过调节 NF- κ B P65 和 Beclin-1 的表达为治疗心肌缺血再灌注损伤提供了新的治疗方法,因此,VC 有巨大的临床转化潜力,有望成为今后缺血性心脏病的一种新的有效治疗方法。

参考文献

- [1] LI Y, SHEN Z, YU X Y. Dectin-1 contributes to myocardial ischemia/reperfusion injury by regulating macrophage polarization and neutrophil infiltration[J]. Circulation, 2019, 140(5): e177-e178.
- [2] CHEN E, CHEN C, NIU Z, et al. Poly(I : C) preconditioning protects the heart against myocardial ischemia/reperfusion injury through TLR3/PI3K/Akt-dependent pathway[J]. Signal Transduct Target Ther, 2020, 5(1): 216.
- [3] OMELJANIUK W J, JABONSKA E, GARLEY

- M, et al. Biomarkers of neutrophil extracellular traps (NETs) and nitric oxide-(NO)-dependent oxidative stress in women who miscarried[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):13088.
- [4] QIU Z, MING H, ZHANG Y, et al. The protective role of bmal1-regulated autophagy mediated by HDAC3/SIRT1 pathway in myocardial ischemia/reperfusion injury of diabetic rats[J]. *Cardiovasc Drugs Ther*, 2022, 36(2):229-243.
- [5] YU D, LI M, TIAN Y, et al. Luteolin inhibits ROS-activated MAPK pathway in myocardial ischemia/reperfusion injury[J]. *Life Sci*, 2015, 122:15-25.
- [6] LEE J, KIM C, CHUNG M. Effect of high-dose vitamin C on oxygen free radical production and myocardial enzyme after tourniquet ischaemia-reperfusion injury during bilateral total knee replacement[J]. *J Int Med Res*, 2010, 38(4):1519-1529.
- [7] HAO J, LI W W, DU H, et al. Role of vitamin C in cardioprotection of ischemia/reperfusion injury by activation of mitochondrial KATP channel[J]. *Chem Pharm Bull (Tokyo)*, 2016, 64(6):548-557.
- [8] ABOGRESHA N M, MANSOUR G S, ABDELAZIZ E Z, et al. Remote effect of kidney ischemia-reperfusion injury on pancreas: Role of oxidative stress and mitochondrial apoptosis [J]. *Arch Med Ence*, 2016, 12:252-262.
- [9] LEHR H A, GERMAN G, MCGREGOR G P, et al. Consensus meeting on "Relevance of parenteral vitamin C in acute endothelial dependent pathophysiological conditions(EDPC)" [J]. *Eur J Med Res*, 2006, 11(12):516-526.
- [10] CAI Y, XIE X, PAN Q, et al. Rap1 exacerbates myocardial ischemia/reperfusion injury through activation of NF- κ B signaling pathway and NLRP3 inflammasome [J]. *FASEB J*, 2020, 34(S1):1.
- [11] LI J, CHENG R, WAN H. Overexpression of TGR5 alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury via AKT/GSK-3 β mediated inflammation and mitochondrial pathway[J]. *Biosci Rep*, 2020, 40(1):BSR20193482.
- [12] ZENG H, WANG L, ZHANG J, et al. Activated PKB/GSK-3 β synergizes with PKC- δ signaling in attenuating myocardial ischemia/reperfusion injury via potentiation of NRF2 activity: Therapeutic efficacy of dihydrotanshinone- I [J]. *Acta Pharm Sin B*, 2021, 11(1):71-88.
- [13] WU Y, WANG Q, FENG N, et al. Myocardial death and dysfunction after ischemia-reperfusion injury require CaMKII δ oxidation[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1):9291.
- [14] ZHAO J, ZHANG J W, LIU Q, et al. Hongjingtiao injection protects against myocardial ischemia reperfusion-induced apoptosis by blocking ROS induced autophagic- flux[J]. *Biomed Pharmacother*, 2021, 135:111205.
- [15] HEGER J, HIRSCHHÄUSER C, BORNBAUM J, et al. Cardiomyocytes-specific deletion of monoamine oxidase B reduces irreversible myocardial ischemia/reperfusion injury [J]. *Free Radic Biol Med*, 2021, 165:14-23.
- [16] CHEN Z, LIN C X, SONG B, et al. Spermidine activates RIP1 deubiquitination to inhibit TNF- α -induced NF- κ B/p65 signaling pathway in osteoarthritis[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(7):503.
- [17] XU D, KONG T, ZHANG S, et al. Orexin: A protects against cerebral ischemia-reperfusion injury by inhibiting excessive autophagy through OX1R-mediated MAPK/ERK/mTOR pathway[J]. *Cell Signal*, 2021, 79:109839.
- [18] AVCI N G, EBRAHIMZADEH-PUSTCHI S, AKAY Y M, et al. NF- κ B inhibitor with Temozolomide results in significant apoptosis in glioblastoma via the NF- κ B(p65) and actin cytoskeleton regulatory pathways[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1):13352.
- [19] ZHANG B, DENG F, ZHOU C, et al. ClC-3 induction protects against cerebral ischemia/reperfusion injury through promoting Beclin1/Vps34-mediated autophagy [J]. *Human Cell*, 2020, 33(4):1046-1055.
- [20] WEI X, HOGSTRAND C, CHEN G, et al. Zn Induces lipophagy via the deacetylation of Beclin1 and alleviates Cu-induced lipotoxicity at their environmentally relevant concentrations [J]. *Environ Sci Technol*, 2021, 55(8):4943-4953.

(收稿日期:2022-08-08 修回日期:2023-03-02)