

• 综 述 •

线粒体质量控制体系介导心肌缺血再灌注损伤的治疗策略

周曼丽¹, 俞赞丰¹, 冯 宇¹, 罗晓欣¹, 兰晓栋¹, 金梦雨¹, 简维雄^{1,2*}

1. 湖南中医药大学中医学院, 湖南 长沙 410208

2. 湖南中医药大学 国家重点学科中医诊断学湖南省重点实验室, 湖南 长沙 410208

摘 要: 冠状动脉疾病是最常见的心血管疾病, 最初的器官血流中断和随后的器官血流恢复所产生的心肌缺血/再灌注(ischemia reperfusion, I/R) 损伤是急性心肌梗死后伴随各种心脏再灌注治疗策略的重要临床难题。虽然血流量的恢复对于氧气的供应是必要的, 但再灌注在促进心肌梗死边缘区血流恢复和心肌细胞挽救的同时, 也加重了心肌损伤。线粒体功能障碍已被报道为 I/R 损伤的原因之一, 在介导心肌损伤病理生理过程中起着至关重要的作用。主要综述了 I/R 损伤中线粒体质量控制系统的分子机制以及确立了以线粒体为潜在治疗靶点的可能性。

关键词: 线粒体质量控制体系; 心肌缺血再灌注损伤; 药物治疗; 蛋白靶向降解嵌合体技术; 线粒体移植

中图分类号: R285 **文献标志码:** A **文章编号:** 0253-2670(2021)20-6381-10

DOI: 10.7501/j.issn.0253-2670.2021.20.029

Treatment strategy of myocardial ischemia reperfusion injury mediated by mitochondrial quality control system

ZHOU Man-li¹, YU Yun-feng¹, FENG Yu¹, LUO Xiao-xin¹, LAN Xiao-dong¹, JIN Meng-yu¹, JIAN Wei-xiong^{1,2}

1. College of Traditional Chinese Medicine, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, China

2. National Key Discipline of TCM Diagnostics, Hunan Provincial Key Laboratory, Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China

Abstract: Coronary artery disease is the most common cardiovascular disease. Myocardial ischemia/reperfusion (I/R) injury caused by the initial interruption of organ blood flow and subsequent restoration of organ blood flow is acute myocardial infarction accompanied by various hearts important clinical problems of reperfusion strategies. Although the recovery of blood flow is necessary for the supply of oxygen, reperfusion promotes the recovery of blood flow in the marginal zone of myocardial infarction and the rescue of myocardial cells, and it also aggravates myocardial damage. Mitochondrial dysfunction has been reported as one of the causes of I/R injury, and it plays a vital role in mediating the pathophysiological process of myocardial injury. The molecular mechanism of the mitochondrial quality control system in I/R injury was briefly reviewed in this paper, in order to establish the possibility of using mitochondria as a potential therapeutic target.

Key words: mitochondrial quality control system; myocardial ischemia reperfusion injury; drug therapy; PROTAC technology; mitochondrial transplantation

急性心肌梗死仍然是世界范围内最常见的死亡原因。经皮冠状动脉介入治疗及时恢复冠状动脉血流是目前指南推荐的急性心肌梗死患者的治疗方案^[1-2]。很大一部分心脏损伤发生在冠状动脉血流恢复后的再灌注早期^[3]。尽管已知再灌注后会发生损

伤, 但临床治疗总是侧重于立即再通^[4]。线粒体功能障碍和由此产生的氧化应激是包括心脏缺血性损伤在内的几种疾病发病机制的核心^[5]。尽管生命科学工作者们对缺血/再灌注(ischemia/reperfusion, I/R) 损伤的病理机制已经有了多年的研究, 但临床

收稿日期: 2020-03-24

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81973753); 湖南省自然科学基金资助项目(2018JJ2291); 研究生创新课题(2018CX28, 2020CX57)

作者简介: 周曼丽, 博士研究生。E-mail: 1378327198@qq.com

*通信作者: 简维雄, 教授, 博士生导师, 研究方向为中医心病的证治机制研究。E-mail: daxiong20001977@163.com

缺乏相应的治疗手段限制 I/R 损伤患者的预后一直未得到解决^[4]。线粒体的融合、分裂、生物发生、自噬及其错综复杂的相互作用构成了线粒体有效的质量控制系统^[6-7]。线粒体质量控制在维持细胞内稳态和细胞存活方面起着重要作用^[6]。损伤、老化和功能障碍的线粒体的移除是由线粒体自噬介导的，在线粒体动力学适当改变的帮助下，通过线粒体的生物发生产生新的线粒体以满足细胞的能量需求^[6]。本文主要综述 I/R 损伤中线粒体质量控制系统的分子机制以及确立以线粒体为潜在治疗靶点的可能性。

1 线粒体质量控制系统与 I/R 损伤

线粒体发生融合/分裂变化的过程被称为线粒体动力学^[8-9]。线粒体外膜融合蛋白 1 (mitofusins 1, Mfn1) 和 Mfn2 对于保护线粒体功能和胚胎发育都是必不可少的^[10]。Mfn1 的表达减少会使融合/分裂的平衡转向更多的分裂^[11]。Mfn2 的激活被证实可以逆转线粒体的损伤^[12-13]。定位于面向线粒体膜间隙的视神经萎缩症蛋白 1 (optic atrophy1, OPA1) 具备 S 型(可溶性存在于线粒体膜间隙)和 L 型(锚定于线粒体内膜) 2 种亚型^[14]。国内外研究一致认为, L-OPA1 与内膜融合有关, 而 S-OPA1 与应激条件下的内膜分裂有关^[15]。除了介导相邻线粒体内膜的融合, OPA1 还控制内膜嵴的完整性^[6,16], 并且通过嵴内可溶性细胞色素 C (cytochrome C, Cyt C) 的区域化来调节细胞凋亡^[17-18]。

线粒体分裂可以是有益的, 也可以是有害的, 这取决于具体情况^[19]。线粒体的分裂是线粒体生物发生所必需的, 也是通过线粒体自噬来控制其质量所必需的^[20]。动力相关蛋白 1 (dynammin-related protein 1, Drp1) 被认为是选择性移除受损线粒体的潜在上游效应因子^[21]。Drp1 敲除会破坏线粒体分裂, 形成延长的线粒体并抑制线粒体自噬, 从而在面临 I/R 损伤时导致更严重的心功能障碍^[22]。

自噬体的大量积累既是对 I/R 应激的反应, 也是一种诱导线粒体自噬的情况^[23]。当线粒体动力学受损时, 由于彼此之间缺乏相互作用, 功能受损的线粒体发生群体积累^[24]。受损的线粒体不能恢复到健康状态时, 线粒体自噬很可能是在细胞凋亡和坏死之前移除受损的线粒体和维持细胞活性的最后保障^[6]。Mfn1/2 不仅调节线粒体外膜融合, 而且还能阻止受损线粒体与健康线粒体融合, 从而作为 Parkin 促进线粒体自噬的底物^[25-26]。Mfn2 对心脏线粒体自噬的积极作用已经被提出^[6]。Mfn2 的表达改善了 I/R 损伤表型, 而 Mfn2 的下调则加重了损伤表型^[27]。此外, Mfn2 在小鼠心肌代谢转变中起着核心作用, 胎儿心肌细胞中的线粒体经过磷酸酶及张力蛋白同源物诱导的蛋白激酶 1 (PTEN induced putative kinase 1, PINK1)-Mfn2-Parkin 介导的线粒体自噬, 在围产期发生从碳水化合物到脂肪酸的代谢转变, 以便它们被成熟的线粒体替代, 而不是转录重编程^[28]。

线粒体通过诱导生物发生参与能量平衡的调节。腺苷酸活化蛋白激酶 (AMP-activated protein kinase, AMPK)-过氧化物酶体增殖物激活受体 γ 辅助活化因子-1 α (peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-1alpha, PGC-1 α) 轴和沉默信息调节因子 2 相关酶 1 (sirtuin 1, Sirt1)-PGC-1 α 轴是调控线粒体生物发生的 2 条主要途径^[29]。I/R 损伤发生后, AMPK 可以直接磷酸化 PGC-1 α , 也可以通过提高烟酰胺腺嘌呤二核苷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide, NAD⁺) 水平激活 Sirt1。PGC-1 α 被磷酸化后, 从细胞质移位到细胞核, 触发线粒体的生物发生^[29-30]。积极调节线粒体质量体系的办法不仅是选择性地剔除个别受损的线粒体, 而是在 I/R 损伤发生后能量代谢危机时, 在整个细胞和器官范围内促进线粒体周转, 缓解细胞内环境压力^[28]。

线粒体质量控制系统的示意图见图 1。

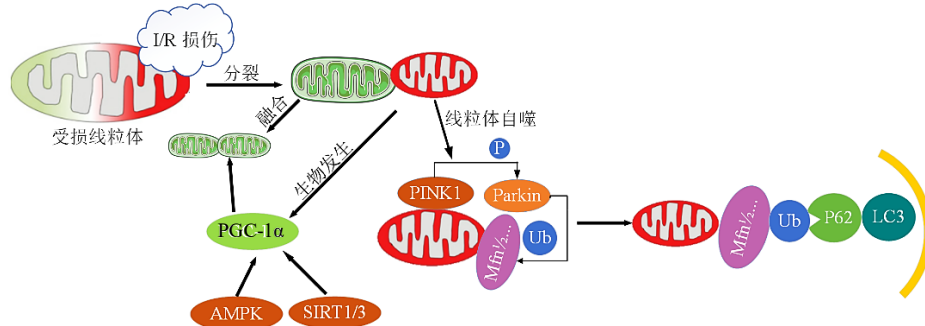


图 1 线粒体质量控制系统的示意图

Fig. 1 Schematic diagram of mitochondrial quality control system

2 治疗策略

虽然临床上针对冠心病形成病理因素的早期药物治疗已经层出不穷(临床上调脂、降压、抗血小板聚集等药物的运用),但不得不承认的是,当心脑血管疾病意外发生时,并没有比较适合的治疗手段去应对,尤其是面向21世纪人民生活日益优越的今天。关于线粒体质量控制体系的各个方面,包括融合和分裂动力学、线粒体的生物发生、线粒体自噬与线粒体移植,这些都是具有药物开发前途的领域^[31]。

2.1 药物治疗:抑制过度分裂,促进适当融合

2.1.1 抑制 I/R 损伤引起的线粒体过度分裂 过度的线粒体分裂与细胞死亡增加和心肌 I/R 损伤相关^[32]。心肌 I/R 后线粒体分裂显著增加。缺血诱导的分裂涉及 Drp1 移位到线粒体与线粒体分裂蛋白 1 (fission protein 1, Fis1) 的相互作用,而观察到的线粒体破碎被广泛认为是 Drp1 介导的线粒体分裂增加的证据^[33-34]。抑制线粒体过度分裂被认为是保护 I/R 损伤后心功能不全的潜在机制^[35]。

mdivi-1 是一种 Drp1 GTPase 抑制剂,可以选择性地抑制酵母和哺乳动物细胞中 Drp1 的组装和 GTPase 活性来抑制线粒体的碎裂^[31]。再灌注前 15 min 用 Drp1 小分子抑制剂 mdivi-1 (1.2 mg/kg),可显著抑制糖尿病小鼠 Drp1 移位到 I/R 后的线粒体外膜,减少线粒体的分裂,碎片化程度显著降低,线粒体动力学得到改善,线粒体变得更长、更饱满。免疫荧光结果分析显示线粒体网络增多^[36],线粒体向融合方向转变,细胞内三磷酸腺苷 (adenosine triphosphate, ATP) 浓度也增加^[37],末端标记法阳性细胞数量和半胱氨酸蛋白酶-3 (cysteinyl aspartate specific proteinase-3, Caspase-3) 活性均降低,线粒体功能和心功能得到显著改善^[32,38]。在小鼠心脏骤停体内模型中,mdivi-1 可以改善主动脉结扎引起的心力衰竭^[39],减少心肌梗死面积^[32],并提高模型组小鼠的存活率^[40]。目前,mdivi-1 正在考虑进行临床试验,在细胞和啮齿动物模型中,获得关于 mdivi-1 的全面的生化、分子、细胞生物学和电子显微镜数据是很重要的^[41]。然而,使用大型动物(猪)的急性心肌梗死模型,在再灌注开始时给予 mdivi-1 治疗未能保留左心室功能或缩小心肌梗死范围。此外,还发现 mdivi-1 治疗后分裂几乎没有变化,Ong 等^[42]实验研究也得出了相似的结果,与模型组相比,冠状动脉内单次注射 mdivi-1,并不能缩小急性

心肌梗死后的心肌梗死面积大小,没有显示出任何心脏保护作用。这些数据表明有必要使用更特异的 Drp1 抑制剂。

P110 选择性地抑制 Drp1/Fis1 的相互作用。除了竞争 Fis1 与 Drp1 的相互作用外,它还可以直接与 Drp1 结合,并抑制其 GTPase 活性^[43]。在常氧条件下,原代培养的心肌细胞只有不到 10% 的线粒体碎裂。缺血和复氧处理后,(30±5)% 的细胞表现出过度的线粒体碎裂(点状线粒体),这种作用在 P110 存在的情况下抑制了(58±4)%,同时 P110 处理使末端标记法阳性细胞减少了(38±2)%,活性氧(reactive oxygen species, ROS)含量降低到基础水平^[44]。在再灌注开始时,P110 对 Drp1/Fis1 相互作用的急性抑制减少了线粒体的异常分裂,改善了生物能量学,保护新生大鼠心肌细胞的线粒体形态和心肌细胞的功能^[31,44]。P110 选择性地抑制过度的但不是基础的线粒体分裂^[45],从而允许正常的线粒体自噬发生。对 R6/2 小鼠给予 P110 3 mg/(kg·d) 8 周,心肌线粒体结构显著改善,控制了增加的线粒体 Drp1 水平,并减少线粒体聚集^[45]。P110 不影响 Drp1 与另外 2 个线粒体接头蛋白 Mff 和 MiD51 的相互作用,也不影响与线粒体融合蛋白 Mfn1 或 Mfn2 的相互作用^[43]。用 P110 对野生型小鼠进行 5 个月的治疗是安全的,对线粒体结构或功能没有影响^[46-47]。Drp1 适配器蛋白可以为线粒体动力学失调引起的疾病提供新的治疗策略,这可能成为精准医学的诱人目标^[48]。此外,P110 被发现能够抑制 ROS 的产生,恢复线粒体膜电位和线粒体嵴的整合,并通过阻止 Drp1 移位到线粒体来防止线粒体肿胀,维持线粒体的完整性^[33,43,49]。Dynasore 是一种内吞途径的动力蛋白 GTPase 抑制剂。Dynasore 预处理培养的细胞可以保护其免受氧化应激诱导的线粒体分裂^[41],通过在应激细胞中维持线粒体形态和细胞内 ATP 的机制来保护心脏免受心肌震颤和限制细胞损伤^[31]。

2.1.2 改善 I/R 损伤引起的线粒体融合障碍 融合是线粒体的一种主要质量控制机制,它使基质成分能够混合,允许受损线粒体的功能互补^[50]。活跃的线粒体融合对于维持线粒体的完整性和减少线粒体 ROS 的产生非常重要。增加线粒体融合的发生率为线粒体相关疾病如 I/R 损伤提供了一个新的治疗方向^[51]。

BGP-15 是一种羟胺衍生物,具有广泛的细胞保

护作用^[52]。细胞培养实验结果表明 BGP-15 触发的线粒体融合需要激活的 OPA1、Mfn1/2 和蛋白激酶 B (protein kinase B, PKB/Akt), 预防 ROS 诱导的线粒体断裂需要存在活跃的外膜和内膜融合机制^[51]。此外, Szabo 等^[51]还发现 BGP-15 能够激活 OPA1 GTPase 并促进其在体外的聚合, 以一种独特的方式引起 OPA1 的 GTP 水解, 促进线粒体融合, 并稳定线粒体内的嵴膜。在 Gai 等^[53]的研究中, 与 1-甲基-4-苯基-吡啶离子 (1-methyl-4-phenylpyridinium, MPP⁺) 处理的人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞相比, 大补阴丸和牵正散处理后均能部分阻止 MPP⁺ 诱导的 Drp1 和 Fis1 的升高以及 Mfn1、Mfn2 和 OPA1 的降低, 通过维持线粒体动态平衡来改善线粒体损伤。

人参皂苷 Rg₁ 是人参二醇单体皂苷之一, 被认为是人参的主要药理活性成分, 具有抗氧化、抗炎、抗凋亡等作用^[54]。Dong 等^[54]利用心肌 H9c2 细胞缺氧/复氧 (hypoxia reoxygenation, H/R) 体外模型研究了人参皂苷 Rg₁ 对 H/R 心肌细胞线粒体动力学的影响。人参皂苷 Rg₁ 在 6.25~100 μmol/L 内呈剂量相关性地增加细胞抗缺氧再灌注损伤的存活, 这与人参皂苷 Rg₁ 已有的心肌保护作用一致。与对照组相比, 人参皂苷 Rg₁ 处理显著增加了 H9c2 细胞 Mfn2 蛋白的表达, 并呈剂量相关性地上调 Mfn2 mRNA 含量。相反, 人参皂苷 Rg₁ 对 Mfn1、OPA1、Drp1 的蛋白表达或 mRNA 水平没有显著影响。这些数据显示人参皂苷 Rg₁ 是通过增加 Mfn2 表达量来实现线粒体的重构, 达到对心肌 H/R 损伤的保护作用^[54]。骨髓间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 移植是一种潜在的心血管疾病治疗方法。低氧预适应可以提高 MSCs 的存活率, 瘦素通过增加 OPA1 依赖的线粒体融合在低氧预适应增强 MSCs 存活中起关键作用。通过 OMA1 泛素化增加 L-OPA1 的积聚, 从而诱导线粒体融合, 阻止 MSCs 的凋亡^[55]。

2.2 药物治疗: 激活线粒体自噬

自噬缺陷会导致废弃线粒体的积累和细胞凋亡, 从而增加心肌梗死范围, 恶化心室功能^[6]。在大多数情况下, 线粒体自噬被认为是一种保护或适应机制, 因为它有能力清除 I/R 损伤中积累的有缺陷的线粒体^[6]。

辛伐他汀处理的心肌 HL-1 细胞激活了线粒体分裂和自噬过程, 出现 Parkin 和 p62 向线粒体易位。通过上调 Parkin 介导的线粒体自噬来减少遭受 I/R 损伤的野生型小鼠的梗死范围, 这是在 Parkin 基

因敲除的小鼠中没有观察到的现象^[6,56]。七氟醚预处理和后处理已被证明对 I/R 损伤具有保护作用^[57-58]。七氟醚后处理治疗不需要任何缺血事件的先验信息, 在临床环境中比七氟醚预处理更方便。与 I/R 组比较, 七氟醚后处理组能显著抑制 I/R 损伤引起的 OPA1 下降和 Drp1、Parkin 升高, 降低微管相关蛋白 1 轻链 3 (microtubule-associated protein 1 light chain 3, LC3-II/I) 比值, 抑制 Beclin1、自噬相关基因 (autophagy related genes, Atg) 5 和 Atg7 的表达。七氟醚后处理诱导的线粒体自噬可作为一种促进生存的机制, 防止 I/R 损伤的进一步发展^[59]。具有多种治疗作用的白藜芦醇能够显著上调 D-半乳糖作用下 H9c2 细胞 Drp1 和线粒体自噬蛋白 LC3-II 的表达, 增加 Parkin 和 PINK1 的线粒体易位^[60], 通过 Drp1-parkin-PINK1 信号调节线粒体碎片和线粒体自噬, 以清除不健康的的心脏线粒体。尽管白藜芦醇预处理可有效预防心肌线粒体功能障碍, 但白藜芦醇对心肌线粒体动力学和线粒体自噬的有利作用仅在高剂量 (10 mg/kg) 白藜芦醇处理的 H9c2 细胞中观察到^[61]。天麻素是从天麻属植物天麻中提取的一种单体成分, 对心肌 I/R 损伤有保护作用^[62]。天麻素预处理通过 AMPK-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 信号通路诱导了 I/R 期间自噬的发生, 包括 p-AMPK/AMPK 的比值升高, p-mTOR/mTOR 的比值降低, LC3-II 的表达下调以及 p62 表达的增加。自噬和凋亡之间的竞争关系可能是天麻素减少凋亡的重要因素。与 I/R 模型组的小鼠相比, 天麻素预处理小鼠的心肌梗死面积明显缩小, 心功能有所提高^[62]。

2.3 药物治疗: 促进线粒体生物发生

线粒体生物发生相关信号的紊乱与人类心血管疾病发生相关。线粒体的生物发生是在病理条件下试图改善生物能量学参数和细胞质量的潜在药理靶点^[63]。瘦素通过激活线粒体生物发生的主要调控因子 PGC-1 α 的表达以及新线粒体形成所必需的另一个重要因子线粒体单链 DNA 结合蛋白表达水平来增加 mtDNA 复制, 以提高生物能量产生效率^[64]。七氟醚是一种常用的挥发性麻醉剂, 已在临床和实验研究中表现出了对心肌 I/R 损伤的保护作用^[65-66]。临床上, 七氟醚后处理在再灌注开始时立即实施比麻醉预处理更有吸引力, 因为后干预可以在再灌注时进行, 而不必预测缺血发作^[67]。七氟醚后处理持续给药后, 可显著提高线粒体功能相关基因转录水

平, 线粒体蛋白 Nrf-1 和 PGC-1 α 的表达显著上调^[59]。褪黑素已被证明在各种心血管疾病中发挥保护作用^[68-69], 对线粒体功能的影响是多方面的, 远远超出其对线粒体动力学的调节。褪黑素在病理条件下增加了 PGC-1 α 的表达, 并促进了线粒体的生物发生。同时, PGC-1 α 通过与 Drp1 启动子结合直接负向调节 DRP1 的表达, 阻止线粒体分裂, 进一步发挥心肌保护作用^[70]。具有心脏保护作用的白藜芦醇也被发现通过激活 AMPK-PGC-1 α -雌激素受体相关受体

α (estrogen receptor related receptor α , ERR α) 信号以依赖于沉默信息调节因子 3 的方式调节线粒体的生物发生, 从而显示出对氧化应激的保护作用^[71]。PGC-1 α 被称为线粒体生物发生的“分子开关”^[72], 目前大多数被研究的治疗药物集中在激活 PGC-1 α 及其靶基因上, 以待激活线粒体生物发生过程, 改善 I/R 损伤背景下的能量危机。

不同治疗药物参与线粒体质量控制体系的作用见表 1。

表 1 不同治疗药物参与线粒体质量控制体系的作用

Table 1 Role of different therapeutic agents in mitochondrial quality control system

实验药物	线粒体融合	线粒体分裂	生物发生	线粒体自噬	参考文献
mdivi-1	+	+	-	-	31,36,41
P110	-	+	-	+	43,45
Dynasore	-	+	-	-	41,31
BGP-15	+	-	-	-	51
大补阴丸和牵正散	+	+	-	-	53
人参皂苷 Rg ₁	+	-	-	-	54
瘦素	+	-	+	-	55
辛伐他汀	-	+	-	+	6
七氟醚	+	+	+	+	59
白藜芦醇	-	+	+	+	60-61,71
天麻素	-	-	-	+	62
褪黑素	-	+	+	-	70

+: 具备该功能 -: 不具备该功能

+: features -: features not available

2.4 运用分子生物学手段: 蛋白靶向降解嵌合体的引入

蛋白质的泛素化是细胞翻译后修饰的一种, 通过在底物上添加泛素部分而实现^[73]。E3 连接酶在这个酶级联中起着极其重要的作用, 因为他们要选择被修饰的特定底物^[74]。维持蛋白平衡的关键因子是一个称为泛素的小蛋白分子。当它被链接到蛋白上后, 会导致这些蛋白被运送到蛋白酶体中进行降解。作为近年来生物化学研究的重大成果之一, 泛素化成为研究、开发新药物的新靶点。

蛋白靶向降解是药物研发领域的一个新兴方向, 有别于传统小分子是通过阻断蛋白功能来发挥作用。蛋白靶向降解嵌合体 (proteolytic targeting chimera, PROTAC) 分子在进入细胞后, 其结构中的目标蛋白 (protein of interest, POI) 配体可特异性地与相应的靶蛋白结合, 而另一端可以募集 E3 连

接酶从而形成 POI-PROTAC-E3 ligase 三元复合物, 其中 E3 连接酶可介导泛素结合酶 E2 对 POI 泛素化。三元复合物解离后, 被泛素标记的 POI 被蛋白酶体识别并降解从而选择性地降低靶蛋白的水平。此过程无需靶蛋白配体长时间占据结合位点, 只需三元复合物短暂的形成便可瞬时完成目标蛋白的泛素化, 并且 PROTAC 在细胞内可多次循环发挥作用。由于蛋白靶向降解策略, 不需要直接抑制目标蛋白的功能活性, 药物不需要与目标蛋白长时间和高强度的结合来达到选择性降解蛋白的目的, 因此理论上这个策略可以用于任何一个蛋白质。在基因编辑、细胞治疗新技术层出不穷的今天, PROTAC 技术作为一种全新的药物发现策略, 对于新药的开发意义重大。

受到 PROTAC 的启发, 有必要开始利用 PROTAC 介导的降解来消除 I/R 损伤中参与病理形成过程的

线粒体质量控制蛋白^[75]，靶向线粒体病理改变是对抗 I/R 损伤的一种有前途的策略^[76-77]。利用已有的临床和非临床药物筛选合适的 PROTAC，根据线粒体自噬已知的途径探讨现有 E3 的底物范围，设计正确的临床方案。如基于高分辨质谱，在一个化合物池/库中筛选分析成千上万个化合物，提高筛选通量。应用于发现配体时，该方法能够从高复杂性的化合物池中重复鉴定出高亲和力靶标。通过该筛选方案，利用不同的 E3 连接酶突变体，进行多轮筛选，可解决 E3 连接酶突变带来的 PROTAC 分子耐药性问题。PROTAC 技术以其全新的药理学作用模式，及其所带来的诸多优势，展现出了在小分子药物开发领域极为广阔的应用前景。PROTAC 技术示意图见图 2。

2.5 线粒体移植

替代目前心脏保护方案的另一种治疗措施是替换缺血和再灌注期间受损的线粒体。再灌注前被证明是挽救心肌组织和恢复/增强心肌功能的关键时期^[78-79]。从未受缺血影响的组织中分离出新鲜的呼吸能力强的线粒体，然后在再灌注前注射到缺血

区^[75]，这是否能获得局部或整体缺血后心功能恢复的强大受益^[80]？为了提高这一有希望的新治疗策略的临床适用性，Cowan 等^[80]开始研究将外源性线粒体运送到受损心脏的替代方法。对 Langendorff 灌流的兔心进行 30 min 的缺血，然后再灌注 10 min。利用罗丹明 6G 荧光染料对线粒体进行标记。标记的线粒体直接注射到缺血区域，或在再灌注开始时通过冠状动脉进行血管灌注。注射的线粒体定位于注射部位附近，而血管灌注的线粒体导致迅速而广泛的弥散在心脏各处^[80]。通过血管灌注传递的线粒体显著增强了整体和局部心肌功能，再灌注结束时测得的梗死面积也通过血管灌注自体线粒体而显著减少。这些发现有助于增加这项技术在心肌梗死后冠状动脉旁路移植术和血运重建的临床应用^[81]。线粒体移植示意图见图 3。

为了提高临床实用性和减少免疫原性并发症，应从同一有机体（自体）中的远程非缺血组织中分离线粒体以移植到心肌缺血区^[82]。在体兔局部心肌缺血再灌注模型中，从同一生物的胸大肌中分离出自体线粒体，并在缺血 29 min 后，再灌注前立即注

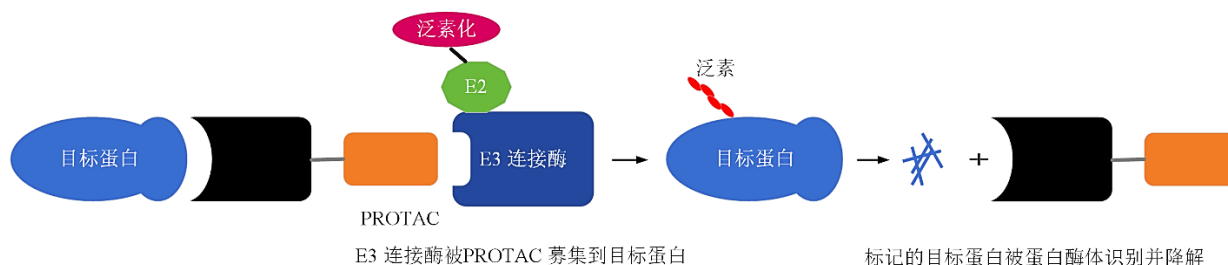


图 2 PROTAC 技术示意图

Fig. 2 Schematic diagram of PROTAC

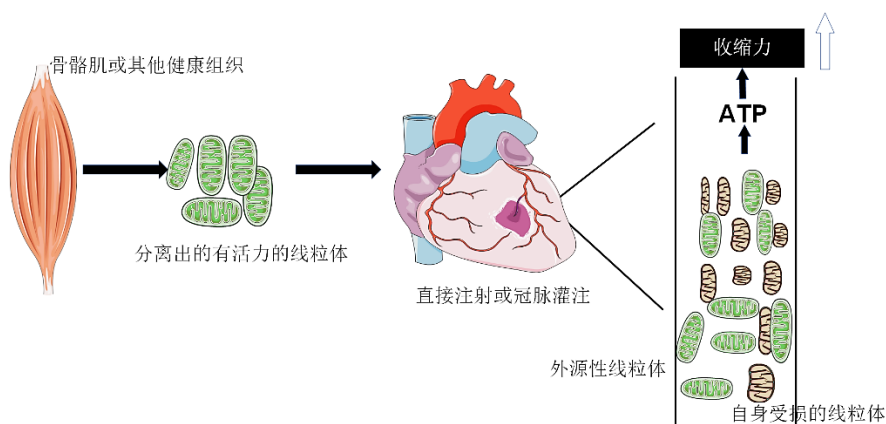


图 3 线粒体移植示意图

Fig. 3 Schematic diagram of mitochondrial transplantation

入心肌^[83]。结果表明, 线粒体移植可显著缩小心肌梗死面积, 提高心肌细胞活力, 恢复4周时的心功能。此外, 通过多重实验室检测, 自体线粒体移植没有诱导任何自身免疫^[83], 没有显示与心脏移植排斥反应相关的炎症细胞因子的增加。来自相同个体不同组织类型及其亚群(肌膜下或纤维间)的移植线粒体的心肌保护作用没有发现明显差异^[84]。Bertero等^[85]从自体骨骼肌及人心肌成纤维细胞分离线粒体, 于再灌注前1 min经心外膜注入缺血心脏^[83-84]或再灌注后即刻经冠状动脉血管灌注^[81]。在10 min内, 注意到左心室血流动力学的改善, ATP含量在数小时内得到提高, 这样的治疗效益甚至维持到了再灌注后21~28 d^[80,83-84]。这一系列的研究结果表明, 线粒体移植为缺血性心脏病的心脏保护提供了一种有价值的策略, 并为深入了解线粒体的功能和治疗潜力打开了大门^[82]。

3 结语与展望

心肌细胞由于其高能量利用率和无储备, 特别容易受到缺血的影响^[60]。线粒体适应多种生理需求, 汇聚应激反应, 维持细胞内环境平衡^[86-87], 是疾病期间细胞命运的关键调节者^[88], 是未来研究心肌I/R损伤的潜在治疗靶点^[5]。到目前为止, 还没有常规临床药物来保护心肌免受I/R损伤^[89]。因此, 需要新的治疗方法来减少梗死面积, 并可以作为经皮冠状动脉介入治疗的辅助治疗, 以提高患者的存活率和防止心力衰竭的发生^[90]。一般说来, 心肌保护的方法要么是联合的, 要么是间接的, 强调单一的机械路线或复合体, 或使用激活剂或抑制剂, 或作为单一的治疗方法, 或与其他方法结合使用。根据目前已经进行的研究成果, 发现成功的对再灌注损伤的临床干预很可能需要补充治疗, 在整个心肌恢复过程中处理不同的心脏损伤机制^[3]。无论是单独使用还是联合使用, 在很大程度上都有利于推动I/R损伤治疗方式的进一步完善。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Poh K K, Xu X, Chan M Y, et al. Safety of combination therapy with milrinone and esmolol for heart protection during percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction [J]. *Eur J Clin Pharmacol*, 2014, 70(5): 527-530.
- [2] Arslan F, Smeets M B, O'Neill L A, et al. Myocardial ischemia/reperfusion injury is mediated by leukocytic toll-like receptor-2 and reduced by systemic administration of a novel anti-toll-like receptor-2 antibody [J]. *Circulation*, 2010, 121(1): 80-90.
- [3] Mohsin A A, Chen Q, Quan N H, et al. Mitochondrial complex I inhibition by metformin limits reperfusion injury [J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2019, 369(2): 282-290.
- [4] Deng Y P, Yang M, Xu F, et al. Combined salvianolic acid B and ginsenoside Rg₁ exerts cardioprotection against ischemia/reperfusion injury in rats [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0135435.
- [5] Reshma P L, Sainu N S, Mathew A K, et al. Mitochondrial dysfunction in H9c2 cells during ischemia and amelioration with *Tribulus terrestris* L [J]. *Life Sci*, 2016, 152: 220-230.
- [6] Yang M J, Linn B S, Zhang Y M, et al. Mitophagy and mitochondrial integrity in cardiac ischemia-reperfusion injury [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(9): 2293-2302.
- [7] Liu Q L, Krishnasamy Y, Rehman H, et al. Disrupted renal mitochondrial homeostasis after liver transplantation in rats [J]. *PLoS One*, 2015, 10(10): e0140906.
- [8] Meyer J N, Leuthner T C, Luz A L. Mitochondrial fusion, fission, and mitochondrial toxicity [J]. *Toxicology*, 2017, 391: 42-53.
- [9] Park K S, Wiederkehr A, Wollheim C B. Defective mitochondrial function and motility due to mitofusin 1 overexpression in insulin secreting cells [J]. *Korean J Physiol Pharmacol*, 2012, 16(1): 71-77.
- [10] Chen H, Detmer S A, Ewald A J, et al. Mitofusins Mfn1 and Mfn2 coordinately regulate mitochondrial fusion and are essential for embryonic development [J]. *J Cell Biol*, 2003, 160(2): 189-200.
- [11] Ma C, Beyer A M, Durand M, et al. Hyperoxia causes mitochondrial fragmentation in pulmonary endothelial cells by increasing expression of pro-fission proteins [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2018, 38(3): 622-635.
- [12] Enzmann G, Kargaran S, Engelhardt B. Ischemia-reperfusion injury in stroke: Impact of the brain barriers and brain immune privilege on neutrophil function [J]. *Ther Adv Neurol Disord*, 2018, 11: 1756286418794184.
- [13] Rocha A G, Franco A, Krezel A M, et al. MFN2 agonists reverse mitochondrial defects in preclinical models of Charcot-Marie-Tooth disease type 2A [J]. *Science*, 2018, 360(6386): 336-341.
- [14] Son J M, Sarsour E H, Kakkerla Balaraju A, et al. Mitofusin 1 and optic atrophy 1 shift metabolism to mitochondrial respiration during aging [J]. *Aging Cell*, 2017, 16(5): 1136-1145.
- [15] Wai T, Langer T. Mitochondrial dynamics and metabolic regulation [J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2016, 27(2): 105-

- 117.
- [16] Pernas L, Scorrano L. Mito-morphosis: Mitochondrial fusion, fission, and cristae remodeling as key mediators of cellular function [J]. *Annu Rev Physiol*, 2016, 78: 505-531.
- [17] Olichon A, Baricault L, Gas N, et al. Loss of OPA1 perturbs the mitochondrial inner membrane structure and integrity, leading to cytochrome C release and apoptosis [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(10): 7743-7746.
- [18] Frezza C, Cipolat S, Martins de Brito O, et al. OPA1 controls apoptotic cristae remodeling independently from mitochondrial fusion [J]. *Cell*, 2006, 126(1): 177-189.
- [19] Lampert M A, Orogo A M, Najor R H, et al. BNIP3L/NIX and FUNDC1-mediated mitophagy is required for mitochondrial network remodeling during cardiac progenitor cell differentiation [J]. *Autophagy*, 2019, 15(7): 1182-1198.
- [20] Kim J E, Choi H C, Song H K, et al. Blockade of AMPA receptor regulates mitochondrial dynamics by modulating ERK1/2 and PP1/PP2A-mediated DRP1-S616 phosphorylations in the normal rat *Hippocampus* [J]. *Front Cell Neurosci*, 2019, 13: 179.
- [21] Lee Y, Lee H Y, Hanna R A, et al. Mitochondrial autophagy by Bnip3 involves Drp1-mediated mitochondrial fission and recruitment of Parkin in cardiac myocytes [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 301(5): H1924-H1931.
- [22] Ikeda Y, Shirakabe A, Maejima Y, et al. Endogenous Drp1 mediates mitochondrial autophagy and protects the heart against energy stress [J]. *Circ Res*, 2015, 116(2): 264-278.
- [23] Escobar-Henriques M, Joaquim M. Mitofusins: Disease gatekeepers and hubs in mitochondrial quality control by E3 ligases [J]. *Front Physiol*, 2019, 10: 517.
- [24] Agarwal S, Yadav A, Tiwari S K, et al. Dynamin-related protein 1 inhibition mitigates bisphenol A-mediated alterations in mitochondrial dynamics and neural stem cell proliferation and differentiation [J]. *J Biol Chem*, 2016, 291(31): 15923-15939.
- [25] Basso V, Marchesan E, Peggion C, et al. Regulation of ER-mitochondria contacts by parkin via Mfn2 [J]. *Pharmacol Res*, 2018, 138: 43-56.
- [26] Böckler S, Westermann B. ER-mitochondria contacts as sites of mitophagosome formation [J]. *Autophagy*, 2014, 10(7): 1346-1347.
- [27] Peng C, Rao W, Zhang L, et al. Mitofusin 2 exerts a protective role in ischemia reperfusion injury through increasing autophagy [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2018, 46(6): 2311-2324.
- [28] Gong G H, Song M S, Csordas G, et al. Parkin-mediated mitophagy directs perinatal cardiac metabolic maturation in mice [J]. *Science*, 2015, 350(6265): aad2459.
- [29] Li P A, Hou X L, Hao S C. Mitochondrial biogenesis in neurodegeneration [J]. *J Neurosci Res*, 2017, 95(10): 2025-2029.
- [30] Jiang S, Li T, Ji T, et al. AMPK: Potential therapeutic target for ischemic stroke [J]. *Theranostics*, 2018, 8(16): 4535-4551.
- [31] Jun W D, Nakatsuka A. Mitochondrial dynamics and mitochondrial dysfunction in diabetes [J]. *Acta Med Okayama*, 2016, 70(3): 151-158.
- [32] Ong S B, Subrayan S, Lim S Y, et al. Inhibiting mitochondrial fission protects the heart against ischemia/reperfusion injury [J]. *Circulation*, 2010, 121(18): 2012-2022.
- [33] Tian L, Neuber-Hess M, Mewburn J, et al. Ischemia-induced Drp1 and Fis1-mediated mitochondrial fission and right ventricular dysfunction in pulmonary hypertension [J]. *J Mol Med*, 2017, 95(4): 381-393.
- [34] Orogo A M, Gonzalez E R, Kubli D A, et al. Accumulation of mitochondrial DNA mutations disrupts cardiac progenitor cell function and reduces survival [J]. *J Biol Chem*, 2017, 292(27): 11348.
- [35] Maneechote C, Palee S, Chattipakorn S C, et al. Roles of mitochondrial dynamics modulators in cardiac ischaemia/reperfusion injury [J]. *J Cell Mol Med*, 2017, 21(11): 2643-2653.
- [36] Manczak M, Kandimalla R, Yin X L, et al. Corrigendum: Mitochondrial division inhibitor 1 reduces dynamin-related protein 1 and mitochondrial fission activity [J]. *Hum Mol Genet*, 2019, 28(5): 875-876.
- [37] Valenti D, Rossi L, Marzulli D, et al. Inhibition of Drp1-mediated mitochondrial fission improves mitochondrial dynamics and bioenergetics stimulating neurogenesis in hippocampal progenitor cells from a Down syndrome mouse model [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863(12): 3117-3127.
- [38] Ding M, Dong Q, Liu Z, et al. Inhibition of dynamin-related protein 1 protects against myocardial ischemia-reperfusion injury in diabetic mice [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2017, 16(1): 19.
- [39] Givvimani S, Munjal C, Tyagi N, et al. Mitochondrial division/mitophagy inhibitor (Mdivi) ameliorates pressure overload induced heart failure [J]. *PLoS One*, 2012, 7(3): e32388.
- [40] Sharp W W, Beiser D G, Fang Y H, et al. Inhibition of the mitochondrial fission protein dynamin-related protein 1 improves survival in a murine cardiac arrest model [J]. *Crit Care Med*, 2015, 43(2): e38-e47.
- [41] Oliver D, Reddy P H. Dynamics of dynamin-related protein 1 in Alzheimer's disease and other neurodegenerative diseases [J]. *Cells*, 2019, 8(9): E961.
- [42] Ong S B, Kwek X Y, Katwadi K, et al. Targeting

- mitochondrial fission using mdivi-1 in A clinically relevant large animal model of acute myocardial infarction: A pilot study [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(16): E3972.
- [43] Qi X, Qvit N, Su Y C, *et al.* A novel Drp1 inhibitor diminishes aberrant mitochondrial fission and neurotoxicity [J]. *J Cell Sci*, 2013, 126(Pt 3): 789-802.
- [44] Disatnik M H, Ferreira J C, Campos J C, *et al.* Acute inhibition of excessive mitochondrial fission after myocardial infarction prevents long-term cardiac dysfunction [J]. *J Am Heart Assoc*, 2013, 2(5): e000461.
- [45] Joshi A U, Ebert A E, Haileselassie B, *et al.* Drp1/Fis1-mediated mitochondrial fragmentation leads to lysosomal dysfunction in cardiac models of Huntington's disease [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 127: 125-133.
- [46] Joshi A U, Saw N L, Shamloo M, *et al.* Drp1/Fis1 interaction mediates mitochondrial dysfunction, bioenergetic failure and cognitive decline in Alzheimer's disease [J]. *Oncotarget*, 2018, 9(5): 6128-6143.
- [47] Becker M A, Losman M J, Wilson J, *et al.* Superactivity of human phosphoribosyl pyrophosphate synthetase due to altered regulation by nucleotide inhibitors and inorganic phosphate [J]. *Biochim Biophys Acta*, 1986, 882(2): 168-176.
- [48] Atkins K, Dasgupta A, Chen K H, *et al.* The role of Drp1 adaptor proteins MiD49 and MiD51 in mitochondrial fission: Implications for human disease [J]. *Clin Sci Lond Engl*, 2016, 130(21): 1861-1874.
- [49] Haileselassie B, Mukherjee R, Joshi A U, *et al.* Drp1/Fis1 interaction mediates mitochondrial dysfunction in septic cardiomyopathy [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2019, 130: 160-169.
- [50] Varuzhanyan G, Rojansky R, Sweredoski M J, *et al.* Mitochondrial fusion is required for spermatogonial differentiation and meiosis [J]. *Elife*, 2019, 8: e51601.
- [51] Szabo A, Sumegi K, Fekete K, *et al.* Activation of mitochondrial fusion provides a new treatment for mitochondria-related diseases [J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 150: 86-96.
- [52] Gehrig S M, van der Poel C, Sayer T A, *et al.* Hsp72 preserves muscle function and slows progression of severe muscular dystrophy [J]. *Nature*, 2012, 484(7394): 394-398.
- [53] Gai C, Feng W D, Qiang T Y, *et al.* Da-bu-Yin-wan and Qian-Zheng-San ameliorate mitochondrial dynamics in the Parkinson's disease cell model induced by MPP [J]. *Front Pharmacol*, 2019, 10: 372.
- [54] Dong G T, Chen T B, Ren X C, *et al.* Rg1 prevents myocardial hypoxia/reoxygenation injury by regulating mitochondrial dynamics imbalance via modulation of glutamate dehydrogenase and mitofusin 2 [J]. *Mitochondrion*, 2016, 26: 7-18.
- [55] Yang F, Li B, Yang Y Y, *et al.* Leptin enhances glycolysis via OPA1-mediated mitochondrial fusion to promote mesenchymal stem cell survival [J]. *Int J Mol Med*, 2019, 44(1): 301-312.
- [56] Andres A M, Hernandez G, Lee P, *et al.* Mitophagy is required for acute cardioprotection by simvastatin [J]. *Antioxid Redox Signal*, 2014, 21(14): 1960-1973.
- [57] Qiao S G, Xie H, Wang C, *et al.* Delayed anesthetic preconditioning protects against myocardial infarction via activation of nuclear factor- κ B and upregulation of autophagy [J]. *J Anesth*, 2013, 27(2): 251-260.
- [58] Li H, Wang J K, Zeng Y M, *et al.* Sevoflurane post-conditioning protects against myocardial reperfusion injury by activation of phosphatidylinositol-3-kinase signal transduction [J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2008, 35(9): 1043-1051.
- [59] Yu P, Zhang J, Yu S C, *et al.* Protective effect of sevoflurane postconditioning against cardiac ischemia/reperfusion injury via ameliorating mitochondrial impairment, oxidative stress and rescuing autophagic clearance [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8): e0134666.
- [60] Ren X C, Chen L, Xie J, *et al.* Resveratrol ameliorates mitochondrial elongation via Drp1/parkin/PINK₁ signaling in senescent-like cardiomyocytes [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017: 4175353.
- [61] Arinno A, Apaijai N, Chattipakorn S C, *et al.* The roles of resveratrol on cardiac mitochondrial function in cardiac diseases [J]. *Eur J Nutr*, 2021, 60(1): 29-44.
- [62] Fu S S, Chen L L, Wu Y Z, *et al.* Gastrodin pretreatment alleviates myocardial ischemia/reperfusion injury through promoting autophagic flux [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2018, 503(4): 2421-2428.
- [63] Das S, Mitrovsky G, Vasanthi H R, *et al.* Antiaging properties of a grape-derived antioxidant are regulated by mitochondrial balance of fusion and fission leading to mitophagy triggered by a signaling network of Sirt1-Sirt3-Foxo3-PINK1-PARKIN [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014, 2014: 345105.
- [64] Blanquer-Rosselló M M, Santandreu F M, Oliver J, *et al.* Leptin modulates mitochondrial function, dynamics and biogenesis in MCF-7 cells [J]. *J Cell Biochem*, 2015, 116(9): 2039-2048.
- [65] Obal D, Dettwiler S, Favocchia C, *et al.* The influence of mitochondrial KATP-channels in the cardioprotection of preconditioning and postconditioning by sevoflurane in the rat *in vivo* [J]. *Anesth Analg*, 2005, 101(5): 1252-1260.
- [66] De Hert S G, Cromheecke S, ten Broecke P W, *et al.* Effects of propofol, desflurane, and sevoflurane on recovery of myocardial function after coronary surgery in elderly high-

- risk patients [J]. *Anesthesiology*, 2003, 99(2): 314-323.
- [67] Yao Y T, Li L H, Chen L, *et al.* Sevoflurane postconditioning protects isolated rat hearts against ischemia-reperfusion injury: The role of radical oxygen species, extracellular signal-related kinases 1/2 and mitochondrial permeability transition pore [J]. *Mol Biol Rep*, 2010, 37(5): 2439-2446.
- [68] Liu X, Zhang Y, Yang B F. Melatonin prevents endothelial cell pyroptosis via regulation of long noncoding RNA MEG3/miR-223/NLRP3 axis [J]. *中国药理学与毒理学杂志*, 2018, 64(2): 269-270.
- [69] Simko F, Baka T, Paulis L, *et al.* Elevated heart rate and nondipping heart rate as potential targets for melatonin: A review [J]. *J Pineal Res*, 2016, 61(2): 127-137.
- [70] Ding M G, Feng N, Tang D S, *et al.* Melatonin prevents Drp1-mediated mitochondrial fission in diabetic hearts through SIRT1-PGC1 α pathway [J]. *J Pineal Res*, 2018, 65(2): e12491.
- [71] de Oliveira M R, Nabavi S F, Manayi A, *et al.* Resveratrol and the mitochondria: From triggering the intrinsic apoptotic pathway to inducing mitochondrial biogenesis, a mechanistic view [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1860(4): 727-745.
- [72] Zhao Z, Pu Y H. Lixisenatide enhances mitochondrial biogenesis and function through regulating the CREB/PGC-1 α pathway [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 508(4): 1120-1125.
- [73] Kwon Y T, Ciechanover A. The ubiquitin code in the ubiquitin-proteasome system and autophagy [J]. *Trends Biochem Sci*, 2017, 42(11): 873-886.
- [74] Zheng N, Shabek N. Ubiquitin ligases: Structure, function, and regulation [J]. *Annu Rev Biochem*, 2017, 86: 129-157.
- [75] Li M X, Yang Y Q, Zhao Q Y, *et al.* Degradation versus inhibition: Development of proteolysis-targeting chimeras for overcoming statin-induced compensatory upregulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase [J]. *J Med Chem*, 2020, 63(9): 4908-4928.
- [76] Bugger H, Abel E D. Mitochondria in the diabetic heart [J]. *Cardiovasc Res*, 2010, 88(2): 229-240.
- [77] Yan W J, Zhang H F, Liu P L, *et al.* Impaired mitochondrial biogenesis due to dysfunctional adiponectin-AMPK-PGC-1 α signaling contributing to increased vulnerability in diabetic heart [J]. *Basic Res Cardiol*, 2013, 108(3): 329.
- [78] Lasley R D, Keith B J, Kristo G, *et al.* Delayed adenosine A1 receptor preconditioning in rat myocardium is MAPK dependent but iNOS independent [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289(2): H785-H791.
- [79] Piper H M, Abdallah Y, Schäfer C. The first minutes of reperfusion: A window of opportunity for cardioprotection [J]. *Cardiovasc Res*, 2004, 61(3): 365-371.
- [80] Cowan D B, Yao R, Akurathi V, *et al.* Intracoronary delivery of mitochondria to the ischemic heart for cardioprotection [J]. *PLoS One*, 2016, 11(8): e0160889.
- [81] McCully J D, Levitsky S, Del Nido P J, *et al.* Mitochondrial transplantation for therapeutic use [J]. *Clin Transl Med*, 2016, 5(1): 16.
- [82] Shin B, Cowan D B, Emani S M, *et al.* Mitochondrial transplantation in myocardial ischemia and reperfusion injury [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2017, 982: 595-619.
- [83] Masuzawa A, Black K M, Pacak C A, *et al.* Transplantation of autologously derived mitochondria protects the heart from ischemia-reperfusion injury [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2013, 304(7): H966-H982.
- [84] McCully J D, Cowan D B, Pacak C A, *et al.* Injection of isolated mitochondria during early reperfusion for cardioprotection [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2009, 296(1): H94-H105.
- [85] Bertero E, Maack C, O'Rourke B. Mitochondrial transplantation in humans: "Magical" cure or cause for concern? [J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(12): 5191-5194.
- [86] Chan D C. Fusion and fission: Interlinked processes critical for mitochondrial health [J]. *Annu Rev Genet*, 2012, 46: 265-287.
- [87] Youle R J, van der Bliek A M. Mitochondrial fission, fusion, and stress [J]. *Science*, 2012, 337(6098): 1062-1065.
- [88] Anzell A R, Maizy R, Przyklenk K, *et al.* Mitochondrial quality control and disease: Insights into ischemia-reperfusion injury [J]. *Mol Neurobiol*, 2018, 55(3): 2547-2564.
- [89] Hu M Y, Ye P, Liao H, *et al.* Metformin protects H9C2 cardiomyocytes from high-glucose and hypoxia/reoxygenation injury via inhibition of reactive oxygen species generation and inflammatory responses: Role of AMPK and JNK [J]. *J Diabetes Res*, 2016, 2016: 2961954.
- [90] Hausenloy D J, Yellon D M. Ischaemic conditioning and reperfusion injury [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2016, 13(4): 193-209.

[责任编辑 崔艳丽]