

文章编号: 1005-0957 (2021) 03-0352-06

· 动物实验 ·

温和灸预处理对幼鼠心肌缺血再灌注损伤的影响

葛瑜

(长江大学附属仙桃市第一人民医院, 仙桃 433000)

【摘要】 目的 观察温和灸预处理对幼鼠心肌缺血再灌注损伤(MIRI)的影响,探讨其作用机制。方法 将40只SD幼鼠采用随机数字表法分为模型组、假手术组、缺血预适应组、温和灸预处理组,每组10只。模型组、假手术组、缺血预适应组每日捆绑20 min,温和灸预处理组灸内关、足三里、关元,每日1次,连续7 d。第8天,通过可逆性左冠状动脉前降支结扎法复制心肌缺血再灌注模型,假手术组仅穿线不结扎,缺血预适应组予心肌缺血预适应处理。造模结束后取材,检测血清肌酸激酶同工酶(CK-MB)、心肌肌钙蛋白T(cTnT)、三磷酸腺苷(ATP)和超氧化物歧化酶(SOD)水平,HE染色法和透射电镜观察缺血区心肌组织病理形态和超微结构改变。**结果** 与假手术组比较,模型组血清CK-MB、cTnT浓度上升($P < 0.05$),ATP含量和SOD活性下降($P < 0.05$);与模型组比较,缺血预适应组和温和灸预处理组血清CK-MB、cTnT浓度显著降低($P < 0.05$),ATP含量和SOD活性显著增加($P < 0.05$);温和灸预处理组和缺血预适应组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。HE染色和透射电镜结果显示,假手术组心肌纤维轻微肿胀,细胞结构无明显异常;模型组心肌肌纤维溶解断裂,结构缺损,线粒体嵴不规则,自噬空泡较多;与模型组相比,缺血预适应组和温和灸预处理组心肌肿胀、坏死较轻,细胞核和线粒体结构基本完整,自噬空泡减少。**结论** 温和灸预处理能保护MIRI幼鼠的心功能,并产生与心肌缺血预适应相似的减轻MIRI的效应,作用机制可能与减轻心肌细胞线粒体自噬,维持心肌能量供应,增强心肌抗氧化能力有关。

【关键词】 心肌再灌注损伤;灸法;肌酸激酶同工酶;肌钙蛋白;三磷酸腺苷;超氧化物歧化酶;大鼠

【中图分类号】 R2-03 **【文献标志码】** A

DOI:10.13460/j.issn.1005-0957.2021.03.0352

Effect of Pretreatment with Mild Moxibustion on Myocardial Ischemia-reperfusion Injury in Young Rats GE Yu. *Xiantao First People's Hospital, Yangtze University, Xiantao 433000, China*

[Abstract] **Objective** To observe the effect of pretreatment with mild moxibustion on myocardial ischemia-reperfusion injury (MIRI) in young rats, and to discuss its action mechanism. **Method** Forty young Sprague-Dawley (SD) rats were divided into a model group, a sham operation group, an ischemic preconditioning group and a mild moxibustion pretreatment group, with 10 rats in each group. Rats in the model, sham operation and ischemic preconditioning groups were bound for 20 min each day, while rats in the mild moxibustion pretreatment group were given moxibustion at Neiguan (PC6), Zusanli (ST36) and Guanyuan (CV4), once a day for 7 consecutive days. On the eighth day, the myocardial ischemia-reperfusion model was replicated via reversible ligation of the left anterior descending coronary artery; the suture was only threaded but not ligated in the sham operation group; myocardial ischemic preconditioning was conducted in the ischemic preconditioning group. Samples were collected after modeling. Serum creatine kinase isoenzyme MB (CK-MB), cardiac troponin T (cTnT), adenosine triphosphate (ATP) and superoxide dismutase (SOD) were detected, and the pathomorphology and ultrastructure of the ischemic myocardial tissues were observed using hematoxylin-eosin (HE) staining under transmission electron microscope. **Result** Compared with the sham operation group, the concentrations of serum CK-MB and cTnT

基金项目:国家自然科学基金青年项目(81774420)

作者简介:葛瑜(1983—),男,主治医师,Email:gyu1983da@sina.com

increased ($P < 0.05$) and the content of ATP and activity of SOD decreased in the model group ($P < 0.05$); compared with the model group, the concentrations of serum CK-MB and cTnT decreased significantly ($P < 0.05$) and the content of ATP and activity of SOD increased significantly ($P < 0.05$) in the ischemic preconditioning group and mild moxibustion pretreatment group; there were no significant differences between the mild moxibustion pretreatment group and the ischemic preconditioning group ($P > 0.05$). HE staining and transmission electron microscope revealed that the myocardial fibers were slightly swollen while the cell structure was substantially normal in the sham operation group; in the model group, the myocardial fibers were dissolved and broken, presenting defected structure and irregular mitochondrial cristae and a great amount of autophagic vacuole; compared with the model group, the myocardial swelling and necrosis were less severe, the nuclei and mitochondrion were basically intact and less autophagic vacuole were found in the ischemic preconditioning and mild moxibustion pretreatment groups. **Conclusion** Pretreatment with mild moxibustion can protect the cardiac function in young MIRI rats and produce equivalent anti-MIRI effect compared to ischemic preconditioning, and the mechanism may be associated with the reduction of mitochondrial autophagy in myocardial cells, maintenance of the myocardial energy supply and elevation of myocardial antioxidant capacity.

[Key words] Myocardial reperfusion injury; Moxibustion; Creatine kinase isoenzyme MB; Cardiac troponin; Adenosine triphosphate; Superoxide dismutase; Rats

先天性心脏病(congenital heart disease, CHD)是胎儿期心脏及大血管发育异常或形成障碍或出生后本应关闭的通道未能闭合而引起的解剖结构异常,是最常见的先天畸形^[1]。我国每年约有15万先天性心脏病患者出生,发生率居我国主要先天畸形的第3位,仅次于神经管缺陷和唇腭裂,在婴儿死亡原因中已占到第2-4位^[2-3]。先天性心脏病患者大多心肌细胞发育不良,心肌细胞线粒体对氧的摄取和利用障碍,对心肌缺血再灌注损伤(myocardial ischemia/reperfusion injury, MIRI)尤其敏感,MIRI已成为影响先天性心脏病患者临床疗效的重要问题^[4]。心肌缺血再灌注时期,心肌细胞会出现氧自由基增多、线粒体损伤、钙超载、炎症反应、细胞自噬和凋亡等病理性修复,导致心肌超微结构进一步改变和不可逆性损伤,这一过程称心肌缺血/再灌注损伤^[5-7]。细胞自噬是真核生物细胞通过双层膜结构的自噬体将胞质内含物转运到溶酶体,降解长寿蛋白及过量或有缺陷的细胞器的过程。细胞自噬具有双面性^[8-9],急性心肌缺血期细胞自噬可促进ATP产生,维持心肌能量供应和心肌活力,而再灌注期心肌细胞过度自噬可引起自噬性凋亡导致心功能障碍。研究^[10-11]表明,中医疗法具有促进血管新生、抗氧化等作用,有效保护心肌,降低MIRI程度。艾灸疗法虽然在冠心病、心绞痛、急性心肌梗死、动脉硬化等成人心脑血管疾病方面的疗效值得肯定^[12-14],但在幼

心脏疾病方面的研究较少。本实验通过生化指标检测和缺血区心肌组织形态及超微结构变化,探讨温和灸预处理对MIRI幼鼠心肌的影响及作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

40只3~4周龄健康SD大鼠(湖北省医学科学研究院实验动物中心,实验动物设施使用证编号为No. 00133292),雌雄不限,体质量50~70 g,动物喂养于标准动物房。按照随机数字表法将幼鼠分为假手术组、模型组、缺血预适应组、温和灸预处理组,每组10只。本实验严格按照科技部[2006]398号《关于善待实验动物的指导性意见》文件要求进行实验。本实验经湖北省医学科学研究院实验动物中心伦理审查委员会审查批准(批准号No. SXDX2019050A)。

1.2 主要仪器及试剂

ALC-V8S小动物呼吸机(上海奥尔科特生物科技有限公司),ECG-1106G六道自动分析心电图机(深圳凯沃尔电子仪器有限公司)、蕪艾艾灸条(4 mm×120 mm,蕪春李时珍地道中药材有限公司)、超声细胞粉碎机(宁波新芝生物)、台式高速冷冻离心机(Heal Force)、全自动研磨仪(武汉赛维尔生物)、酶标检测仪(BioTeK)、全自动生化分析仪(深圳雷杜生命科技)、病理切片机(上海徕卡仪器有限公司)、正置光学显微

镜(日本尼康)、透射电子显微镜(FEI)、812包埋剂(SPI)、电镜固定液(武汉谷歌生物)。

1.3 实验方法

1.3.1 预处理方法

模型组、假手术组、缺血预适应组取材前连续捆绑7 d, 每日1次, 每次20 min; 温和灸预处理组幼鼠仰卧固定于鼠板上, 自制艾灸器距皮肤2~3 cm, 温和灸内关、足三里、关元, 参照《大鼠穴位图谱的研制》^[15], 每日1次, 每次20 min, 连续治疗7 d, 每次治疗时左、右足三里穴和内关穴任选一侧, 交替进行。

1.3.2 模型制备^[16-17]

各组幼鼠预处理结束后第8天造模。

模型组: 10%水合氯醛(0.25 ml/100 g)腹腔注射麻醉, 起效后仰卧位捆绑于(37±3)℃的鼠台上, 接心电图监护仪, 标准II导联监测心电图, 颈胸部去毛, 切开颈部皮肤, 于气管软骨环处行气管切开术, 接入呼吸机。沿胸骨正中线左侧第3、4肋间隙处横向切开皮肤, 钝性分离各肌层及胸膜, 挑开心包膜, 暴露心脏, 用2×6带线无创缝合针在左心耳根部下方进针, 深度为2~3 mm, 绕过冠状动脉左前降支在肺动脉圆锥旁出针, 丝线上方垫一空心硅胶管, 结扎冠状动脉30 min后采用推管法再灌注120 min。

假手术组: 麻醉、气管插管、开胸、穿线方法同上, 穿线后不结扎, 150 min后取材。

缺血预适应组: 麻醉、气管插管、开胸、穿线方法同上, 打活结结扎冠状动脉缺血5 min, 松解扎线再灌注5 min, 重复3次, 后续缺血/再灌注操作同模型组。

温和灸预处理组: 造模方法模型组。

造模成功评价标准^[18], ①结扎左冠状动脉前降支后, 左心室前壁变青紫或苍白, 左心室前壁向外膨胀, 搏动减弱。心电图表现为ST段抬高(≥0.25 mV), R波增宽, 即为心肌缺血标志。②再灌注成功后, 左心室前壁缺血区颜色恢复正常, 同时出现反应性充血水肿, 抬高的ST段至少下降1/2左右。具体为心电图显示, 结扎前幼鼠心电图稳定, 缺血30 min及再灌注120 min过程中, II导联ST段均显著抬高, 表现为明显的缺血状态, 与缺血时段相比, 再灌注过程中幼鼠II导联ST段回落且大于1/2, 说明MIRI模型成功。

1.4 指标检测

1.4.1 标本采集

造模结束后取材, 心脏取血2 mL, 3000 r/min离心

10 min, 分离血清, -20℃保存。模型组、缺血预适应组、温和灸预处理组幼鼠均取结扎下段缺血区心肌组织, 假手术组取穿线下段组织, 0.9%氯化钠清洗, 再将各组组织修剪成3份1 mm³的组织块, 1份投入电镜固定液中4℃固定2~4 h; 1份投入4%多聚甲醛中固定24 h以上; 1份装入EP管后冻存于-80℃冰箱。

1.4.2 生化指标检测

紫外分光光度法检测血清CK-MB、cTnT, 上样后全自动生化分析仪器自动检测, 考马斯亮蓝法测定ATP、SOD, 严格按试剂盒说明书操作测出CK-MB、cTnT、ATP含量及SOD活性。

1.4.3 石蜡切片HE染色实验

将组织从固定液中取出, 梯度乙醇脱水后浸蜡组织包埋。冻台冷却, 凝固后修整蜡块, 片厚4 μm。组织展平后捞起, 放进60℃烘箱内将蜡烤化备用。依次将切片放入二甲苯I 20 min-二甲苯II 20 min-无水乙醇I 10 min-无水乙醇II 10 min-95%乙醇5 min-90%乙醇5 min-80%乙醇5 min-70%乙醇5 min-蒸馏水洗。切片入Harris苏木素染3~8 min, 自来水冲洗, 1%的盐酸乙醇分化数秒, 冲洗, 0.6%氨水返蓝, 冲洗。切片入伊红染液中染色1~3 min。依次放入95%乙醇I 5 min-95%乙醇II 5 min-无水乙醇I 5 min-无水乙醇II 5 min-二甲苯I 5 min-二甲苯II 5 min中脱水透明, 稍晾干, 中性树胶封片。显微镜镜检, 图像采集分析。

1.4.4 透射电镜观察

细胞离心后弃去培养液, 加入电镜固定液4℃固定2 h。0.1 M磷酸缓冲液PBS(pH7.4)漂洗3次, 每次15 min。组织依次入50%-70%-80%-90%-95%-100%乙醇脱水, 每次15 min。丙酮:812包埋剂=1:1混合液渗透过夜, 纯812包埋剂渗透过夜。60℃聚合48 h。切片。铀铅双染色, 切片室温干燥过夜。透射电子显微镜下观察, 采集图像分析。

1.5 统计学方法

采用IBM-SPSS22.0软件进行实验数据分析。符合正态分布的计量资料均以均数±标准差表示, 多组间比较采用ANOVA分析。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血清CK-MB、cTnT、ATP浓度及SOD活性比较

由表1可见, 与假手术组相比, 模型组大鼠血清CK-MB、cTnT浓度均显著上升(P<0.05), ATP浓度和SOD活

性均显著下降 ($P < 0.05$)；与模型组比较，缺血预适应组和温和灸预处理组大鼠血清CK-MB、cTnT浓度均显著降低 ($P < 0.05$)，ATP浓度和SOD活性均显著增加 ($P <$

0.05)，其中，温和灸预处理组和缺血预适应组相比，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 各组血清 CK-MB、cTnT、ATP 浓度及 SOD 活性比较

($\bar{x} \pm s$)

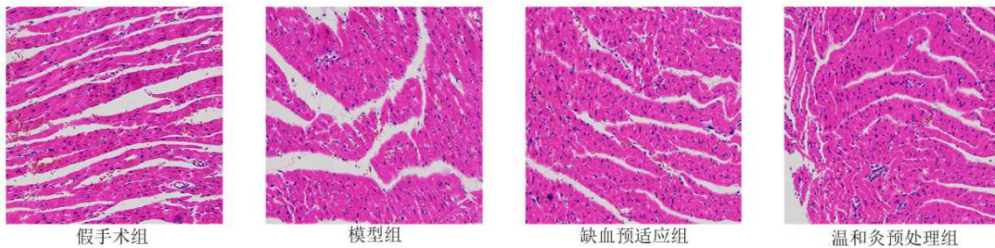
组别	n	CK-MB (U/mL)	cTnT ($\mu\text{g/L}$)	ATP ($\mu\text{mol/Kg}$)	SOD (U/mg pro)
假手术组	10	1.10 \pm 0.47	1.32 \pm 0.29	5.91 \pm 0.36	146.00 \pm 9.80
模型组	10	2.31 \pm 0.49 ¹⁾	8.80 \pm 2.43 ¹⁾	2.01 \pm 0.34 ¹⁾	70.10 \pm 8.50 ¹⁾
缺血预适应组	10	1.40 \pm 0.40 ¹⁾²⁾	5.20 \pm 1.83 ¹⁾²⁾	4.16 \pm 0.57 ¹⁾²⁾	99.10 \pm 6.10 ¹⁾²⁾
温和灸预处理组	10	1.38 \pm 0.42 ¹⁾²⁾	5.19 \pm 1.91 ¹⁾²⁾	3.99 \pm 0.51 ¹⁾²⁾	101.25 \pm 5.30 ¹⁾²⁾

注：与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$ ；与模型组比较²⁾ $P < 0.05$

2.2 HE染色实验观察各组幼鼠心肌细胞病理变化

由图1可见，假手术组幼鼠心肌纤维排列基本规则，未见明显溶解断裂及坏死，细胞间隙正常；模型组心肌纤维排列紊乱，可见明显溶解断裂甚至坏死，组织水肿，间隙增大，部分细胞核及线粒体固缩，部分线粒体形态

结构不完整；缺血预适应组和温和灸预处理组心肌纤维排列紊乱程度、心肌细胞水肿程度及间质水肿程度较模型组均有所改善，坏死灶减轻，心肌纤维间隙轻度增宽，细胞核及线粒体形态结构基本正常，其中温和灸预处理组改善较明显。



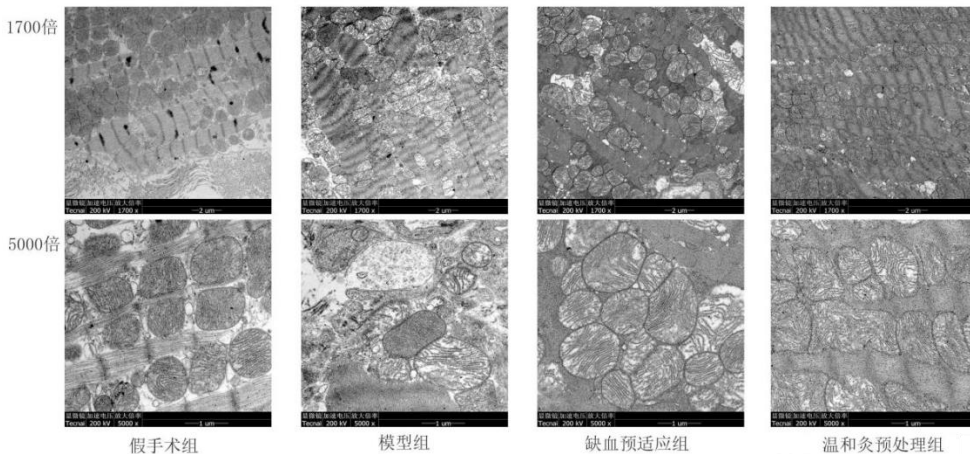
HE染色实验图片

图1 心肌组织HE染色切片的病理学检查 ($\times 200$)

2.3 透射电镜观察各组幼鼠心肌细胞超微结构变化

由图2可见，假手术组幼鼠心肌细胞排列基本规则，结构完整，横纹清晰，胞质充实；线粒体数量正常，结构清晰完整，可见少量自噬空泡。模型组心肌细胞结构模糊，肌纤维溶解断裂甚至坏死，横纹模糊不清，间隙增大；线粒体肿胀明显甚至破裂，线粒体嵴断裂、缺失；

可见多个自噬空泡、自噬溶酶体。与模型组相比，缺血预适应组和温和灸预处理组心肌纤维较清晰，细胞排列稍紊乱，间隙轻度增宽；线粒体结构基本完整，线粒体嵴未见明显断裂、缺失；细胞内自噬空泡和自噬溶酶体较少，其中，温和灸预处理组较缺血预适应组改善更明显。



透射电镜实验图片

图2 透射电镜观察心肌细胞的超微结构变化

4 讨论

先天性心脏病患者心肌细胞线粒体对氧的摄取和利用障碍,对心肌缺血再灌注损伤尤其敏感,在进行外科手术和介入治疗过程中心肌处于缺血缺氧状态,MIRI严重影响先心病患者临床疗效^[19]。婴幼儿心肌细胞尚未成熟,结构、功能、缺血、缺氧等方面与成人心肌存在明显差异,因此成人心脏手术中心肌保护技术并不适用于婴幼儿^[20-21]。大量研究^[22-24]证实,内关、足三里、关元在治疗急慢性心肌缺血、冠心病、血管粥样硬化等心血管疾病方面疗效显著,能够提高机体免疫力、提高线粒体抗氧化能力,降低心肌酶活性,减轻MIRI。

细胞自噬是细胞的一种自我保护机制,细胞利用自噬溶酶体降解受损、变性或衰老的大分子物质及细胞器,平衡自身代谢,在调节细胞生存和死亡的过程中起着重要的作用^[25]。正常心脏中维持心肌功能的自噬活性水平较低,在心肌梗死、MIRI等心脏应激期间自噬较活跃^[26]。目前研究普遍认为,自噬是MIRI的重要机制之一,在心肌缺血/再灌注过程中起着双重作用,缺血期通过缓解能量危机和降解受损细胞器保护心肌,再灌注期过度的自噬激活会引起细胞自噬性凋亡,因此许多学者认为通过调控细胞自噬可减轻MIRI^[27-28]。自由基介导的氧化应激反应是导致MIRI的又一重要致病机制,氧自由基的主要清除酶是超氧化物歧化酶(SOD),早期抗氧化治疗能明显减轻MIRI^[29]。“缺血预适应”是Murry CE等^[30]提出的一种内源性心脏保护机制,是指在梗死性缺血发生之前反复实施数次规律、短暂的非损伤性缺血/再灌注的过程,后期实验证明,心肌缺血预适应可以调控自噬,增强心肌细胞自噬活性,使心肌处于应激状态,增强心脏对后期严重缺血缺氧的抵抗力与耐受力,减少最终心肌梗死范围,从而达到保护心肌的作用^[31-32]。本实验中,温和灸预处理能明显提高SOD活性,降低心肌ATP消耗速度,与模型组相比,温和灸预处理组和缺血预适应组自噬空泡和自噬溶酶体较少,初步说明温和灸预处理能维持心肌能量供应,增强心肌抗氧化能力,能产生与缺血预适应相似的调控细胞自噬,减轻细胞过度自噬造成的损伤,保护心脏。总的来说,本实验结果表明,温和灸预处理能增强心肌抗氧化能力,维持心肌细胞能量供应,减轻MIRI对心肌超微结构造成的伤害,其作用机制可能与调控细胞自噬相关。此外,与心肌缺血预适应干预相比,艾灸预处理

操作方便,避免了剖开胸腔时造成的损伤,具有较大的临床应用价值。但由于本次实验样本量较小,缺少对自噬相关基因的研究,因此仍需后期大样本、全方位、分子生物学方面的实验进一步证实。

参考文献

- [1] Donofrio MT, Moon-Grady AJ, Hornberger LK, *et al.* Diagnosis and treatment of fetal cardiac disease: a scientific statement from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2014, 129(21):2183-2242.
- [2] 姜迪,王丽雯,白晨晓,等. 中国人群先天性心脏病发病母体因素的 Meta 分析[J]. 护理学杂志, 2019, 34(3): 36-41.
- [3] Sadowski SL. Congenital cardiac disease in the newborn infant: past, present, and future[J]. *Crit Care Nurs Clin North Am*, 2009, 21(1):37-48, vi.
- [4] 石玉秀,郭玉坤,王占友,等. 法鲁氏三联症心肌细胞超微结构的电镜观察[J]. 电子显微学报, 1994, (5):401.
- [5] Vilahur G, Badimon L. Ischemia/reperfusion activates myocardial innate immune response: the key role of the toll-like receptor[J]. *Front Physiol*, 2014, 5:496.
- [6] Sanada S, Komuro I, Kitakaze M. Pathophysiology of myocardial reperfusion injury: preconditioning, postconditioning, and translational aspects of protective measures[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2011, 301(5):H1723-H1741.
- [7] Schulze CJ, Wang W, Suarez-Pinzon WL, *et al.* Imbalance between tissue inhibitor of metalloproteinase-4 and matrix metalloproteinases during acute myocardial [correction of myocardial] ischemiareperfusion injury[J]. *Circulation*, 2003, 107(19):2487-2492.
- [8] Ahn J, Kim J. Nutritional status and cardiac autophagy[J]. *Diabetes Metab J*, 2013, 37(1):30-35.
- [9] Nemezc M, Alexandru N, Tanko G, *et al.* Role of Micro-RNA in Endothelial Dysfunction and Hypertension[J]. *Curr Hypertens Rep*, 2016, 18(12):87.
- [10] 孙晓昕,杨楠,康琳,等. 中药及其成分抗心肌缺血作用机制研究进展[J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2019, 21(2):190-196.
- [11] Yang HS, Wu S, Zheng QY, *et al.* Meta-analysis on protective effect of electroacupuncture at “Nèiguān” (PC

- 6) in rats with reperfusion injury induced myocardial ischemia[J]. *World Journal of Acupuncture-Moxibustion*, 2015, 25(3):43-53.
- [12] 郑桂秋, 张登部, 刘佩云, 等. 冠心病的灸治疗方法研究[J]. 中国针灸, 1992, 12(3):27-28.
- [13] 吴中朝, 王玲玲, 刘跃光, 等. 艾灸对老年人血液载脂蛋白研究[J]. 中国针灸, 1998, 18(5):3-5.
- [14] 封荣华, 冯九庚, 龚晖, 等. 热敏灸治疗冠心病患者心率变异性 and 心脏变时性的疗效观察[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(10):4750-4752.
- [15] 华兴邦. 大鼠穴位图谱的研制[J]. 实验动物与动物实验, 1991, 1:24-26.
- [16] Song CL, Liu B, Wang JP, *et al.* Anti-apoptotic effect of microRNA-30b in early phase of rat myocardial ischemia-reperfusion injury model[J]. *J Cell Biochem*, 2015, 116(11):2610-2619.
- [17] Huang T, Li SD, Yang MH, *et al.* Experiences and Skills for Establishment of Rat Model of Myocardial Ischemia and Reperfusion[J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2018, 10(1):75-77.
- [18] 宋忠阳, 王功臣, 张志明, 等. 补阳还五汤联合 BMSCs 对心肌缺血再灌注损伤模型大鼠心肌的保护作用[J]. 北京中医药大学学报, 2020, 43(2):115-124.
- [19] Bull C, Cooper J, Stark J. Cardioplegic protection of the child's heart[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 1984, 88(2):287-293.
- [20] 苏肇伉. 先天性心脏病外科进展[J]. 上海第二医科大学学报, 2004, 24(3):153-158.
- [21] 袁海云, 庄建. 从广东资料看我国先天性心脏病外科的现状与进展[J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2018, 25(8):641-645.
- [22] 谢俊, 王华, 吴松, 等. 标本配穴对心肌缺血大鼠心肌沉默信息调节因子 1 的影响[J]. 中华中医药杂志, 2016, 31(7):2761-2764.
- [23] 谢俊, 陈泽斌, 吴松, 等. 标本配穴法电针对慢性心肌缺血大鼠心肌线粒体结构及线粒体 DNA 相关调控因子表达的影响[J]. 中华中医药杂志, 2017, 32(3):1251-1255.
- [24] 王洪彬, 李晓泓, 莫捷, 等. 灸法与治未病[J]. 中华中医药杂志, 2012, 27(9):2264-2266.
- [25] 邱冬梅, 陈莉. 细胞自噬:病理学研究的新热点[J]. 临床与实验病理学杂志, 2012, 28(3):309-313.
- [26] Mo Y, Tang L, Ma Y, *et al.* Pramipexole pretreatment attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury through upregulation of autophagy[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 473(4):1119-1124.
- [27] Zheng Y, Shi B, Ma M, *et al.* The novel relationship between Sirt3 and autophagy in myocardial ischemia-reperfusion[J]. *J Cell Physiol*, 2019, 234(5):5488-5495.
- [28] Dong Y, Undyala VV, Gottlieb RA, *et al.* Autophagy: definition, molecular machinery, and potential role in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2010, 15(3):220-320.
- [29] Huang ZQ, Shi GG, Zheng JH, *et al.* Effects of N-n-butyl haloperidol iodide on rat myocardial ischemia and reperfusion injury and L-type calcium current[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2003, 24(8):757-763.
- [30] Murry CE, Jennings RB, Reimer KA. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium[J]. *Circulation*, 1986, 74(5):1124-1136.
- [31] Jimenez RE, Kubli DA, Gustafsson ÅB. Autophagy and mitophagy in the myocardium: therapeutic potential and concerns[J]. *Br J Pharmacol*, 2014, 171(8):1907-1916.
- [32] Vázquez DE, Hermann R, Barreda Frank M, *et al.* Effects of wortmannin on cardioprotection exerted by ischemic preconditioning in rat hearts subjected to ischemia-reperfusion[J]. *J Physiol Biochem*, 2016, 72(1):83-91.

收稿日期 2020-09-21