

针灸防治心肌缺血再灌注损伤的线粒体通路研究进展

樊海龙 赵 凌 任玉兰 梁繁荣

(成都中医药大学针灸推拿学院, 成都, 610075)

摘要 目的:探讨针灸防治心肌缺血再灌注损伤的线粒体细胞信号转导机制,为后续研究提供思路。方法:通过对近年来国内外有关线粒体心脏损伤的研究入手,分析针灸防治心肌缺血再灌注损伤的线粒体通路的研究进展。结果:研究多以大鼠为观察对象,主要从针刺改善线粒体功能,减少线粒体活性氧类(ROS)产生过量引起氧化应激,防止细胞内 Ca^{2+} 超载和阻止线粒体通透性转换孔(mPTP)的开放等角度切入研究。结论:微小RNA(microRNA, miRNA)是基因网络、蛋白网络、代谢网络等的上游网络的调控环节。鉴于针灸作用的整体性特点,将miRNA引入针灸作用机制研究领域,可在基因或其他水平层面更好地揭示针灸作用机制。

关键词 针灸;心肌缺血再灌注损伤;线粒体功能障碍;线粒体通路;细胞信号转导

Acu-moxibustion Prevention and Control of Injured Mitochondrial Pathway due to Myocardial Ischemia-Reperfusion

Fan Hailong, Zhao Ling, Ren Yulan, Liang Fanrong

(College of Acupuncture-Moxibustion and Tuina, Chengdu University of TCM, Chengdu 610075, China)

Abstract Objective: To investigate acu-moxibustion protection of mitochondrial cellular signal transduction dysfunction due to myocardial ischemia-reperfusion injury. **Methods:** The research was made by studying research results published in recent years. **Results:** Most research used rats as study subjects and found acupuncture can improve mitochondria function, reduce mitochondrial reactive oxygen species (ROS) which caused excessive oxidative stress, prevent the intracellular Ca^{2+} overload and the mitochondrial permeability transition pore (mPTP) open. **Conclusion:** MicroRNA (miRNA) is the control factor of such upstream networks as genetic networks, protein networks, and metabolic networks. Given the overall characteristics of acupuncture effect, introducing the miRNA into the acupuncture mechanism research can better reveal acupuncture mechanism.

Key Words Acu-moxibustion; Myocardial ischemia-reperfusion injury; Mitochondrial dysfunction; Mitochondrial Pathway; Cellular signal transduction

中图分类号:R245-0 文献标识码:A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2015.04.006

据统计,1990年全球有超过520万人($n=5,211,790$)死于缺血性心脏病(Ischaemic Heart Disease, IHD),2010年则有超过700万人($n=7,029,270$),增长了35%^[1]。近年来,IHD的治疗随着动脉搭桥术、溶栓疗法、经皮腔内冠脉血管成形术以及体外循环心脏外科手术等的推广应用,心肌缺血再灌注损伤已成为临床普遍关注的问题。针灸对心肌缺血再灌注损伤的保护作用已被越来越多的实验研究所证实,我们在本文主要从线粒体心脏损伤作用机制入手,对针灸防治心肌缺血再灌注损伤的线粒体通路作一点滴探讨。

1 心肌缺血再灌注损伤的线粒体能量代谢障碍机制

心肌缺血再灌注损伤(Myocardial Ischemia Reperfusion Injury, MIRI)常见于急性心肌梗死后的复灌治疗,表现为心律失常和心脏舒缩功能降低,这与心肌能量代谢障碍、微血管损伤及心肌细胞凋亡有关;其中线粒体能量代谢障碍是引起MIRI的重要因素^[2],主要机制包括线粒体三磷酸腺苷(ATP)生成减少并产生过量的活性氧类(ROS)引起氧化应激、 Ca^{2+} 超载和线粒体通透性转换孔(mPTP)持续性开放^[3]。线粒体是缺血再灌注众多炎症因子激活的

基金项目:国家重点基础研究发展计划(973计划)项目(编号:2012CB518501);国家自然科学基金面上项目(编号:81373561);四川省科技厅项目(编号:2011SZ0302);成都市科技计划项目(编号:12DXYB215JH-002)

作者简介:樊海龙(1977—),男,博士研究生在读,研究方向:经穴效应循经特异性规律及关键影响因素基础研究,E-mail:zjfh1977@163.com

通信作者:梁繁荣(1956—),男,教授,博士生导师,研究方向:经穴效应特异性规律的临床与基础研究,E-mail:acuresearch@126.com

各种细胞通路的重要靶作用部位,缺血预处理(Ischemic Preconditioning, IPC)主要机制就是阻断一些炎症因子激活细胞通路,从而达到保护线粒体功能进而减轻心肌细胞损伤的目的。线粒体心脏损伤作用主要通过以下四点实现:ATP 合成减少;ROS;Ca²⁺超载;mPTP。

1.1 ATP 合成减少 心肌缺血使线粒体氧化磷酸化受阻,进而使 ATP 生成减少。ATP 的不足使一些 ATP 依赖酶类功能障碍,其中最显著的就是 Na⁺-K⁺-ATP 酶(Na⁺-K⁺-ATPase),它是维持细胞内离子平衡最重要的酶。当 ATP 生成障碍时,细胞内的 Na⁺无法被泵出,浓度不断升高;再灌注时细胞外 pH 值快速恢复使细胞内外形成显著的 pH 值梯度,这将激活肌膜 Na⁺/H⁺交换蛋白(NHE)引起 Na⁺大量内流。细胞内 Na⁺异常增多(Na⁺超载)会激活 Na⁺/Ca²⁺交换蛋白(NCX)的反向模式转运导致大量 Ca²⁺进入细胞,从而引起或加重心肌钙超载^[3-4]。故增强 Na⁺-K⁺-ATPase 活性,以维持膜内外环境的稳定,保护线粒体及心肌对防治心脏缺血再灌注损伤具有重要意义。

1.2 ROS 线粒体是 ROS 产生的主要来源,也是 ROS 的主要靶目标。缺血心肌再灌注时产生过量的 ROS 是引起 MIRI 的主要原因,而线粒体是心肌缺血再灌注过程中产生 ROS 的重要来源。当线粒体抗氧化酶包括谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等的抗氧化能力降低或线粒体 ROS 生成增多时,就会导致氧化应激。氧化应激不仅抑制线粒体呼吸酶活性,减慢呼吸链的电子传递,增加 ROS 产生;还可以上调解偶联蛋白(UCPs)表达^[5]。过度的 UCPs 表达是介导氧化应激引起线粒体功能障碍的效应分子。氧化应激致使线粒体功能障碍,引发链式脂质过氧化反应,损害线粒体膜的通透性,引起电子传递酶活性的进一步下降,进而形成恶性循环,最终造成心肌细胞凋亡和坏死^[6]。因此,抗氧化应激是防治 MIRI 的重要手段。

1.3 Ca²⁺超载 线粒体对心肌细胞内 Ca²⁺稳态的调节发挥关键作用,而线粒体对 Ca²⁺的吸收受 Ca²⁺单向转运体(uniporter)的调节。正常情况下,心肌细胞肌质网/内质网(SR/ER)Ca²⁺释放位点附近分布有丰富的线粒体,可通过 Ca²⁺单向转运体捕获大量的 Ca²⁺,该转运机制仅通过线粒体膜电位($\Delta\Psi_m$)来驱动,不与其他离子交换或共转运。线粒体 Ca²⁺浓度对细胞质 Ca²⁺的迅速回应是通过 NCX 和 H⁺/Ca²⁺交换蛋白(HCX)实现的,二者分别通过 Na⁺和

H⁺进入线粒体驱动 Ca²⁺的排出,维持线粒体基质、细胞质和 SR/ER 的内钙稳态。然而,当 Ca²⁺单向转运体摄入的 Ca²⁺浓度增加至 NCX 活力被饱和时,就会导致线粒体 Ca²⁺超载,从而触发 mPTP 开放。mPTP 开放会引起线粒体膜电位崩溃、呼吸链解偶联、细胞色素 C 及其他促凋亡因子释放、ATP 耗竭,这些代谢变化最终导致心肌细胞凋亡^[7]。有研究表明,当心肌缺血-再灌注时,肌细胞内 Ca²⁺严重过载,于是约占 35% 细胞容积的线粒体暂时吸收大量的 Ca²⁺,从而抑制过度收缩、Ca²⁺依赖性蛋白酶(又称“需钙蛋白酶”)激活和心律失常^[8]。最近研究发现,在缺血再灌心脏 MicroRNA-214 通过抑制编码 Na⁺/Ca²⁺交换蛋白的 mRNA 表达,调节细胞钙内流,并抑制钙介导的细胞死亡信号通路,发挥细胞保护作用^[9]。这些研究结果提示,调控线粒体内 Ca²⁺超载可能是防治 MIRI 的靶点之一。

1.4 mPTP mPTP 是线粒体膜上连接细胞质与线粒体内部的孔道,它介导了线粒体和细胞基质的物质及信号交流。在 MIRI 中,ROS 本身也可以诱导线粒体产生更多的 ROS,这一现象称之为 ROS 诱导的 ROS 释放(RIRR),RIRR 是在过度氧化应激等条件下触发 mPTP 持续性开放,mPTP 持久开放使大量小分子进入线粒体,造成线粒体肿胀和外膜破裂膜电位崩溃,同时 mPTP 的持续性开放状态使游离的 B 细胞淋巴瘤因子相关 X 蛋白(Bax)^[10]移位到线粒体膜与 B 淋巴细胞瘤-2 基因(Bcl-2)结合^[11],阻止 Bcl-2 的激活,Bax 和 Bcl-2 表达的比例决定细胞是生存还是凋亡^[12]。另有研究表明,非 Ca²⁺依赖型蛋白激酶 C- δ (nPKC- δ)在心肌再灌注开始 5 min 时快速进入线粒体,导致超氧阴离子产生增多,线粒体功能丧失以及加强了细胞色素 C 的释放和激活下游促凋亡因子^[13]。nPKC- ϵ 的易位对缺血心肌保护效应的启动起到了十分重要的作用,其主要的作用是抑制了 mPTP 的开放^[14],进而减少心肌梗死面积。关闭 mPTP 可作为治疗 MIRI 的靶标之一^[15]。

2 线粒体 ATP 敏感性钾通道在 IPC 心肌保护中的作用

ATP 敏感钾离子通道(K_{ATP}通道)分为两种:一是位于细胞膜上的 K_{ATP}通道(sarcK_{ATP});二是位于线粒体膜上的 K_{ATP}通道(mitoK_{ATP})。目前,IPC 可以开放线粒体 mitoK_{ATP},阻止 mPTP 开放而发挥预处理作用^[16]。mitoK_{ATP}开放剂二氮嗪^[17]、尼可地尔^[18]等均可模拟这种预处理的心肌保护作用^[19]。Sasaki 等^[20],在大鼠离体心脏模型和兔心肌细胞模型中发

现, MCC-134, 一种 $\text{sarcK}_{\text{ATP}}$ 开放剂和 $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 抑制剂, 可以明显消除 IPC 的心肌保护作用, 说明 $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 在 IPC 心肌保护中发挥主导作用。研究表明一氧化氮 (NO) 介导 IPC 的延迟保护, 在清醒兔应用一氧化氮合酶抑制剂可取消 IPC 的延迟保护^[21], NO 是延迟相预适应心肌保护终末效应器 $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 通道的激活物^[22], 活化的 $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 能减少线粒体膜电位丧失, 从而防止线粒体钙超载及 mPTP 开放, 从而达到心肌保护作用。

3 针灸防治 MIRI 的线粒体细胞信号转导机制

3.1 针灸对 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 的影响 心肌缺血使线粒体氧化磷酸化受阻, ATP 生成减少, 可使心肌膜上 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性下降, 促使细胞内 Ca^{2+} 明显增多, 加重钙超载, 并且细胞内 H^+ 增多, 加重心肌细胞损伤。严洁等^[23] 采用冠状动脉结扎法建立心肌缺血再灌注模型大鼠。无机磷比色法测定缺血中心区心肌组织细胞膜钠泵活性, 用 RT-PCR 法分析钠泵的基因表达。结果显示: 缺血再灌注损伤后, 心肌组织 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ mRNA 表达下调, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性降低, 电针内关后可上调 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ mRNA 表达, 增强 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性。说明电针内关可能通过上调心肌细胞膜钠泵基因表达、增强钠泵活性, 以维持膜内外环境的稳定, 保护心肌。

3.2 针灸对 $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 的影响 心肌缺血性损伤时 eNOS mRNA 呈低表达, 一氧化氮合酶 (NOS) 活性降低, 心肌 NO 的合成和释放减少, 血清 NO 浓度下降^[24]。NO 是 $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 通道的激活物, $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 通道激活能减少线粒体膜电位丧失, 从而防止线粒体钙超载及 mPTP 开放, 从而达到心脏保护作用。宋春华等^[25] 电针心俞穴 30 min, 血清 NO 含量电针预处理组显著高于模型组 ($P < 0.01$)。王超等^[26] 采用冠脉结扎法建立心肌缺血再灌注模型大鼠, 电针内关穴 20 min, 硝酸还原酶比色法检测各组心肌组织 NO、NOS 的含量, 结果显示: 电针内关穴组与模型组比较, 心肌组织 NO、NOS 含量明显升高 ($P < 0.05$)。针灸内关穴预处理提高兔血清中 NO、NOS 及腺苷的含量^[27], 即可以增强延迟性保护机制的细胞信号转导通路中触发物质 NO、NOS、腺苷的活性和含量, 表明针灸预处理内关穴可以在 48 h 这一延迟时相产生针对缺血再灌注损伤心肌的保护作用。可见, 针灸对心肌保护作用, 可能通过增加 NOS 活性使 NO 合成和释放增多, 激活 $\text{mitoK}_{\text{ATP}}$ 通道实现的。

3.3 针灸的抗氧化应激 超氧化物歧化酶 (SOD) 为超氧阴离子自由基清除酶, 谷胱甘肽过氧化物酶

(GSH-Px) 为过氧化氢清除酶, 它们为氧自由基的主要清除酶, 通过与自由基反应生成稳定的基团而将其清除, 保护细胞免受损伤^[28]。过氧化氢酶 (CAT) 主要同细胞内线粒体与过氧体结合, 能迅速分解细胞代谢中产生的毒物- H_2O_2 , 进而减少自由基的生成。它和 SOD、GSH-Px 构成人体重要的抗氧化酶系统, 三者协同作用以减少活性氧基的产生, 防止脂质过氧化及其中间代谢产物对机体的损害, 具有十分重要的生理功能。测定 CAT、SOD 和 GSH-Px 活性间接反映了机体抗氧化损伤和清除自由基的能力。宋春华等^[25] 电针心俞穴 30 min, 血清 CAT 含量电针预处理组显著高于模型组 ($P < 0.01$)。林亚平等^[29] 采用冠脉左前降支结扎法造成心肌缺血模型家兔。用 754 紫外分光光度计检测 SOD、GSH-px。结果显示: 在缺血再灌注 40 min 后, 模型组心肌组织中 SOD、GSH-px 明显降低, 而缺血处理组、电针内关组可拮抗 SOD、GSH-px 降低, 与模型组比较 $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$ 。说明心肌缺血预处理与电针内关通过提高内源性氧自由基清除系统酶的活性, 抑制缺血再灌注心肌细胞膜脂质过氧化反应, 对缺血再灌注心肌具有明显的保护作用。

3.4 针灸对 Ca^{2+} 超载的调控 钙网蛋白 (CRT) 属于 KDEL (作为内质网滞留信号的四肽序列) 蛋白家族, 参与 Ca^{2+} 稳态、抗原递呈、细胞凋亡^[30]。CRT 过表达可抑制肾上皮 LLC-PK 细胞内质网 Ca^{2+} 释放, 减轻胞浆钙超载, 增强细胞抗氧化应激能力^[31], 从而抑制线粒体通过 Ca^{2+} 单向转运体对 Ca^{2+} 的吸收, 阻止线粒体内 Ca^{2+} 超载。王超等^[26] 在 Fluo-3/AM 染色后于激光共聚焦显微镜下检测缺血再灌注损伤心肌细胞内 Ca^{2+} 荧光强度, 电针内关穴组明显低于模型组 ($P < 0.01$), 说明针刺对缺血再灌注损伤心肌细胞内 Ca^{2+} 超载具有抑制作用。袁叶等^[32] 采用冠脉结扎法建立心肌缺血再灌注模型大鼠, 随机分为假手术组、缺血再灌注模型组、针刺内关治疗组、针刺郄门治疗组和针刺合谷对照组, 针刺上述穴位 20 min, 腹腔静脉取血并摘取心脏, 采用双抗体夹心酶标免疫分析法测定血清 CRT 含量及免疫组化染色检测心肌组织 CRT 基因表达, 结果显示: 针刺内关及郄门治疗组血清 CRT 含量明显升高, 心肌组织 CRT 基因表达呈高表达状态, 与缺血再灌注模型组比较均有统计学意义 ($P < 0.01$); 针刺合谷对照组与缺血再灌注模型组近似 ($P > 0.05$)。田岳凤等^[33] 观察针刺内关对心肌缺血再灌注损伤线粒体超微结构的影响, 发现模型组肌丝溶解, 线粒体水肿, 嵴数

目明显减少,线粒体嵴致密变性;而针刺内关组肌纤维排列较整齐,线粒体基本正常,嵴数目增多,大多数呈板层状形态,仅见部分轻度水肿。说明针刺手厥阴经穴可明显提高体内 CRT 含量,促进 CRT 基因表达的上调,抑制 Ca^{2+} 超载,减轻线粒体超微结构的病理变化,对缺血再灌注心肌具有保护作用。

3.5 针灸抑制 mPTP 的开放 Bcl-2 是第一个被发现参与凋亡调控的基因家族,mPTP 的开放使 Bax 与 Bcl-2 结合,阻止 Bcl-2 的激活,Bcl-2 蛋白可抑制细胞凋亡,从而促进凋亡。孔素平等^[34],采用结扎左冠状动脉前降支法建立心肌缺血再灌注模型大鼠。随机分为假手术组、模型组、电针夹脊组、电针内关组、电针阳陵泉组,电针上述穴位 20 min。采用 TUNEL 法检测心肌细胞凋亡,免疫组化法检测 Bcl-2 及 Bax 表达。结果显示:电针夹脊组、电针内关组与模型组相比,Bcl-2 蛋白表达均显著升高($P < 0.01$),而 Bax 蛋白表达显著下降($P < 0.01$);细胞凋亡指数(AI)显著下降($P < 0.01$)。说明电针夹脊穴、内关穴均对缺血再灌注损伤心肌有明显的保护作用,其机制可能与通过抑制 mPTP 的开放,阻止 Bax 与 Bcl-2 结合,激活 Bcl-2 蛋白,从而抑制细胞凋亡。

此外,有研究表明心肌线粒体缝隙蛋白 Cx43 参与保护免心肌缺血/再灌注损伤^[35-36]。针灸“内关”穴预处理可使缺血再灌注心肌细胞 Cx43 表达升高,参与心肌电耦联和代谢耦联来保护心肌细胞^[37]。

4 展望

综上所述,改善线粒体功能,减少线粒体 ROS 产生过量引起氧化应激,防止细胞内 Ca^{2+} 超载和阻止线粒体 mPTP 的开放均是针灸防治 MIRI 的作用机制。在脊椎动物,细胞凋亡途径主要由内源性途径(线粒体途径)介导,线粒体 mPTP 开放使细胞色素 C(Cyto-c),细胞凋亡蛋白酶激活因子(Apaf-1)等释放,通过半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(caspase)激活和死亡效应物生成,最终引起细胞死亡^[38]。Bax、Bcl-2、caspase-3 和 caspase-9 等为微小 RNA(microRNA,miRNA)调节内源性途径介导的细胞凋亡的主要相关蛋白;NO、 mK_{ATP} 及 mPTP 均是 miRNA 的作用靶点^[39]。miRNA 是基因网络、蛋白网络、代谢网络等的上游网络的调控环节^[40],广泛参与生物体的生长发育及各种病理生理过程,是打开基因调控机制的新窗口^[41-42]。鉴于针灸作用的整体性特点,将 miRNA 引入针灸作用机制研究领域,可在基因或其他水平层面更好地揭示针灸作用机

制,必将为针灸防治 MIRI 机制研究提供更广阔的空间。

参考文献

- [1] Moran AE, Roth GA, Narula J, et al. 1990-2010 global cardiovascular disease atlas[J]. Global Heart, 2014, 9(3): 16.
- [2] Perrelli MG, Pagliaro P, Penna C. Ischemia/reperfusion injury and cardioprotective mechanisms: role of mitochondria and reactive oxygen species[J]. World J Cardiol, 2011, 3(6): 186-200.
- [3] Penna C, Perrelli MG, Pagliaro P. Mitochondrial pathways, permeability transition pore and redox signaling in cardioprotection: therapeutic implications[J]. Antioxid Redox Signal, 2013, 18(5): 556-599.
- [4] Wu F, Wei GZ, Li WJ, et al. Low extracellular K^+ increases intracellular Ca^{2+} oscillation and injury by activating the reverse mode $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ exchanger and inhibiting the Na^+, K^+ ATPase in rat cardiomyocytes[J]. Int J Cardiol, 2010, 140(2): 161-168.
- [5] El-Khoury TG, Bahr GM, Echtay KS. Muramyl-dipeptide-induced mitochondrial proton leak in macrophages is associated with upregulation of uncoupling protein2 and the production of reactive oxygen and reactive nitrogen species[J]. FEBSJ, 2011, 278(17): 3054-306.
- [6] Lu N, Sun Y, Zheng X. Orientin-induced cardioprotection against reperfusion is associated with attenuation of mitochondrial permeability transition[J]. Planta Med, 2011, 77(10): 984-991.
- [7] Gomez L, Li B, Mewton N, et al. Inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening: translation to patients[J]. Cardiovasc Res, 2009, 83(2): 226-233.
- [8] Bers DM. Calcium cycling and signaling in cardiac myocytes[J]. Annu Rev Physiol, 2008, 70: 23-49.
- [9] Aurora AB, Mahmoud AI, Luo X, et al. MicroRNA-214 protects the mouse heart from ischemic injury by controlling Ca^{2+} overload and cell death[J]. J Clin Invest, 2012, 122(4): 1222-1232.
- [10] Di Lisa F, Canton M, Carpi A, et al. Mitochondrial injury and protection in ischemic pre- and postconditioning[J]. Antioxid Redox Signal, 2011, 14: 881-891.
- [11] Gupta S, Knowlton A A. Cytosolic heat shock protein 60, hypoxia, and apoptosis[J]. Circulation, 2002, 106(21): 2727-2733.
- [12] McClintock D S, Santore MT, Lee VY, et al. Bcl-2 family members and functional electron transport chain regulate oxygen deprivation-induced cell death[J]. Mol Cell Biol, 2002, 22(1): 94-104.
- [13] Churchill EN, Szveda LI. Translocation of delta PKC to mitochondria during cardiac reperfusion enhances superoxide anion production and induces loss in mitochondrial function[J]. Arch Biochem Biophys, 2005, 439: 194-199.
- [14] Argaud L, Gateau-Roesch O, Raissy O, et al. Postconditioning inhibits mitochondrial permeability transition[J]. Circulation, 2005, 111: 194-197.
- [15] Javadov S, Karmazyn M, Escobales N. Mitochondrial permeability

- transition pore opening as a promising therapeutic target in cardiac diseases[J]. *J Pharmacol Exp Ther*, 2009, 330(3): 670–678.
- [16] 欧袁, 杨双强. 线粒体通透性转换孔在心肌缺血/再灌注损伤中的作用[J]. *心脏杂志*, 2010, 22(4): 620–623.
- [17] Anastacio MM, Kanter EM, Makepeace CM, et al. Relationship between mitochondrial matrix volume and cellular volume in response to stress and the role of ATP-sensitive potassium channel[J]. *Circulation*, 2013, 128(11 Suppl 1): S130–135.
- [18] Ahmed LA, Salem HA, Attia AS, et al. Pharmacological preconditioning with nicorandil and pioglitazone attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in rats[J]. *Eur J Pharmacol*, 2011, 663: 51–58.
- [19] Fryer RM, Eellis JT, Hsu AK, et al. Ischemic preconditioning in rats: role for the mitochondrial K_{ATP} channel in the preservation of mitochondrial function[J]. *Am J Physiol*, 2000, 278(6): 305–312.
- [20] Sasaki N, Murata M, Guo Y, et al. MCC-134, a single pharmacophore, opens surface ATP-sensitive potassium channels, blocks mitochondrial ATP-sensitive potassium channels, and suppresses preconditioning[J]. *Circulation*, 2003, 107(8): 1183–1188.
- [21] Takano H, Marchikcalapudi S, Tang XL, et al. Nitric oxide synthase is the mediator of late preconditioning against myocardial infarction in conscious rabbits[J]. *Circulation*, 1998, 98(5): 441–449.
- [22] Rampino T, Collesi C. Macrophage-stimulating protein is produced by tubular cells and activates mesangial cells[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13(3): 649–657.
- [23] 严洁, 杨孝芳, 易受乡, 等. 电针“内关”对缺血再灌注损伤心肌细胞膜钠泵活性及其基因表达的影响[J]. *针刺研究*, 2007, 32(5): 296–300.
- [24] Antoniadou C, Tousoulis D, Vasiliadou C, et al. Genetic polymorphism on endothelial nitric oxide synthase affects endothelial activation and inflammatory response during the acute phase of myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2005, 46(6): 1101–1109.
- [25] 宋春华, 王爽, 杨龙. 电针心俞穴预处理对心肌缺血再灌注实验大鼠血清 NO、CAT 的影响[J]. *上海针灸杂志*, 2012, 4(31): 277–279.
- [26] 王超, 田岳凤, 周丹, 等. 电针“内关”穴对心肌缺血再灌注大鼠心肌组织一氧化氮、一氧化氮合酶和细胞内钙的影响[J]. *针刺研究*, 2010, 35(2): 113–117.
- [27] 阳晶晶, 严洁, 王超, 等. 针灸内关预处理对心肌缺血再灌注损伤兔血清 NO、NOS 及腺苷含量的影响[J]. *中国中医急症*, 2014, 7(23): 1209–1211, 1227.
- [28] Paradies G, Petrosillo G, Pistolese M, et al. Lipid peroxidation and alterations to oxidative metabolism in mitochondria isolated from rat heart subjected to ischemia and reperfusion[J]. *Free Radic Biol Med*, 1999, 27(12): 42–50.
- [29] 林亚平, 易受乡, 严洁, 等. 电针“内关”对心肌缺血再灌注损伤保护作用[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2004, 10(4): 66–68.
- [30] 汤晓燕. 钙网蛋白的生物学功能及其与自身免疫疾病的关系[J]. *国外医学免疫学分册*, 2005, 28(4): 230–233.
- [31] Fu HM, Liu CZ, Flutter B, et al. Calreticulin maintains the low threshold of peptide required for efficient antigen presentation[J]. *Mol Immunol*, 2009, 46(16): 3198–3206.
- [32] 袁叶, 田岳凤, 王军. 针刺手厥阴心包经穴对心肌缺血再灌注损伤大鼠钙网蛋白的影响[J]. *中医杂志*, 2011, 52(3): 227–230.
- [33] 田岳凤, 严洁, 林亚平, 等. 电针“内关”对心肌缺血再灌注损伤内皮素及超微结构的影响[J]. *中国针灸*, 2002, 22(8): 547–549.
- [34] 孔素平, 张昕, 谭奇纹. 电针“夹脊”穴对心肌缺血再灌注损伤大鼠心肌细胞凋亡及凋亡调控基因表达的影响[J]. *中国针灸*, 2013, 33(6): 529–532.
- [35] 庄梅, 罗红鹤, 刘晓冰, 等. 缺血预处理对心肌细胞超微结构及 Cx43 蛋白表达的保护作用[J]. *中山大学学报*, 2006, 27(5): 563–564.
- [36] 何燕, 曾志羽, 钟国强, 等. 线粒体 Cx43 参与 Heptanol 保护心肌缺血/再灌注损伤巨 J 习[J]. *中国药理学通报*, 2009, 25(12): 1660–1663.
- [37] 周丹, 李虹, 高智颖. 针灸预处理“内关”穴对心肌缺血再灌注兔心肌 Cx43 的影响[J]. *中国针灸*, 2013, 11(33): 1013–1016.
- [38] Zamzami N, Susin SA, Marchetti P, et al. Mitochondrial control of nuclear apoptosis[J]. *J Exp Med*, 1996, 183: 1533–1544.
- [39] 王国芹, 万征. 微小 RNA 在心肌缺血再灌注损伤中的作用及机制[J]. *中国心血管杂志*, 2013, 5(18): 387–390.
- [40] 卢圣锋, 于美玲, 唐勇, 等. 初探以微小核糖核酸为核心的分子网络调控在针灸作用机制研究中的意义[J]. *针刺研究*, 2013, 6(38): 506–510.
- [41] Ma JB, Yuan YR, Meister G, et al. Structural basis for 5'-end-specific recognition of guide RNA by the A. fulgidus Piwi protein[J]. *Nature*, 2005, 434(7033): 666–670.
- [42] Yekta S, Shih I, Bartel DP. MicroRNA-directed cleavage of HOXB8 mRNA[J]. *Science*, 2004, 304(5670): 594–596.

(2015-03-02 收稿 责任编辑: 洪志强)