

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2022.04.003

基于 HIF-1 α -iNOS 信号通路探讨瑞舒伐他汀联合缺血后处理 对糖尿病小鼠的心肌保护作用*

詹海婷 古丽尼格尔·艾尔肯 胡振飞 李佳馨 吴建江^Δ

(新疆医科大学第一附属医院麻醉科 新疆 乌鲁木齐 830000)

摘要 目的:探讨瑞舒伐他汀联合缺血后处理对糖尿病小鼠心肌的作用并分析其保护作用的机制。**方法:**应用高脂高糖饮食的方法构建 2 型糖尿病小鼠动物模型,随机分为假手术组(sham 组)、缺血/再灌注组(I/R 组)、缺血后处理组(IpostC 组)及瑞舒伐他汀联合缺血后处理组(RPO+IpostC 组),每组 10 只。分析各组小鼠低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)蛋白表达及血浆炎症因子、血清一氧化氮(NO)水平变化,观察各组小鼠心肌梗死面积、心肌组织 HE 染色结构变化。**结果:**与 I/R 组、IpostC 组相比,RPO+IpostC 组 HIF-1 α , iNOS 蛋白表达显著上调 ($P<0.05$); 与 IpostC 组相比,RPO+IpostC 组小鼠血清 NO 和血浆 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平均明显降低,血浆 IL-10 升高 ($P<0.05$);经显微镜观察显示,sham 组小鼠的心肌细胞 HE 染色结构正常,RPO+IpostC 组小鼠心肌细胞 HE 染色后损伤相对较小;与 I/R 组相比,IpostC 组和 RPO+IpostC 组小鼠缺血面积(AAR/LV)、梗死面积(IRR/AAR)均明显减小,且 RPO+IpostC 组小鼠 AAR/LV、IRR/AAR 最小 ($P<0.05$)。**结论:**瑞舒伐他汀联合缺血后处理可以通过对糖尿病小鼠 HIF-1 α -iNOS 信号通路进行调节,进而上调 HIF-1 α -iNOS 蛋白表达,减轻炎症反应,降低心肌细胞缺血再灌注损伤,保护心肌。

关键词:HIF-1 α -iNOS 信号通路;瑞舒伐他汀;缺血后处理;糖尿病;缺血再灌注损伤

中图分类号:R-33;R587.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2022)04-610-05

Based on HIF-1 α -iNOS Signaling Pathway in Rosuvastatin Combined with Ischemic Post-Treatment in Protecting Myocardium in Diabetic Rats*

ZHAN Hai-ting, Gulniger·Elken, HU Zhen-fei, LI Jia-xin, WU Jian-jiang^Δ

(Department of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830000, China)

ABSTRACT Objective: To explore the protective effect of rosuvastatin combined with ischemic post-treatment in protecting myocardium in diabetic rats and analyze its protective mechanism. **Methods:** The rats animal model of type 2 diabetes mellitus was constructed by high fat and high sugar diet, and they were randomly divided into sham operation group (sham group), ischemia/reperfusion group (I/R group), ischemic post-treatment group (IpostC group) and rosuvastatin combined with ischemic post-treatment group (RPO+IpostC group), with 10 rats in each group. The expressions of hypoxia-inducible factor-1 α (HIF-1 α) and inducible nitric oxide synthase (iNOS) protein, the levels of plasma inflammatory factors and serum nitric oxide (NO) in each group were analyzed, and the changes of myocardial infarction size and HE staining structure in myocardial tissue were observed in each group. **Results:** Compared with I/R group and IpostC group, the expression of HIF-1 α and iNOS protein in RPO+IpostC group were significantly up-regulated ($P<0.05$). Compared with IpostC group, the levels of serum NO and plasma IL-1 β , IL-6 and TNF- α in RPO+IpostC group were significantly decreased, while plasma IL-10 was increased ($P<0.05$). Microscopic observation showed that the myocardial cells in the sham group had normal HE staining structure, while the myocardial cells in the RPO+IpostC group had relatively little damage after HE staining. Compared with I/R group, ischemic area (AAR/LV), infarct area (IRR/AAR) of rats in IpostC group and RPO+IpostC group were significantly decreased, and AAR/LV and IRR/AAR in RPO+IpostC group were the least ($P<0.05$). **Conclusion:** Rosuvastatin combined with ischemic post-treatment can regulate the HIF-1 α -iNOS signaling pathway in diabetic rats, raise the expression of HIF-1 α and iNOS protein, alleviating inflammatory response, reducing myocardial ischemia-reperfusion injury, and protecting myocardium.

Key words: HIF-1 α -iNOS signaling pathway; Rosuvastatin; Ischemic post-treatment; Diabetic; Ischemia-reperfusion injury

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R587.2 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2022)04-610-05

* 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2019D01C293)

作者简介:詹海婷(1979-),女,硕士研究生,从事心肌保护方向的研究,E-mail: zhtcy123@163.com

^Δ 通讯作者:吴建江(1982-),男,博士研究生,从事心肌保护方向的研究,E-mail: 1449845707@qq.com

(收稿日期:2021-07-23 接受日期:2021-08-19)

前言

由于糖尿病会引发相关的冠状动脉粥样硬化和急性心肌梗死,探究围术期心肌的保护措施,可保证糖尿病患者手术和麻醉的安全性^[1]。目前临床上最为主要的缺血心肌恢复灌注的方法是血管成形术和溶栓,但如果再灌注损伤较为严重时,可能会对复灌的效果产生抵消甚至加重,如何使缺血心肌再灌注损伤得到明显减轻成为临床研究的重点问题^[2]。药物预处理和缺血预处理可对再灌注损伤进行有效减轻,但需要反复进行短暂性的缺血再灌注处理,操作的风险和难度相对较高,故而临床应用限制相对较大^[3,4]。药物后处理和缺血后处理是在缺血后持续再灌注前给予处理,而发挥心肌保护作用,缺血后处理较缺血预处理的可预测性和实施可控性较高,对缺血心肌细胞再灌注损伤的效果较佳^[5,6]。他汀类药物是目前临床上用于治疗冠心病的常用药物,对心肌具有一定的保护作用,已有研究表明,他汀类药物可以降低 PCI 术后心肌细胞再灌注损伤,在这一过程中存在多种复杂的机制共同参与,其中 HIF-1 α -iNOS 信号通路的作用引人注目^[7,8]。相关研究显示,在高血糖条件下增强心肌 HIF-1 α -iNOS 表达以应对缺血再灌注的治疗可能对糖尿病患者具有心脏保护作用^[9]。故本文基于 HIF-1 α -iNOS 信号通路探讨瑞舒伐他汀联合缺血后处理对糖尿病小鼠的心肌保护作用,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选择 40 只 15 周龄 db/db 小鼠(购自扬州有度和生物科技有限公司),雄性,体重 55-65 g。饲养于新疆医科大学实验动物中心 SPF 级实验室,采用高脂高糖饮食的方法构建 2 型糖尿病小鼠动物模型,饲料为 34.5%的脂肪、48%的制糖、17.5%蛋白质,日照周期 12 h,本次实验通过新疆医科大学第一附属医院动物实验医学伦理委员会批准。实验动物购于北京维通利华实验动物技术有限公司[许可证号 SCXK(京)2016-0010]。

1.2 主要仪器、试剂与药物

687 型小动物呼吸机(美国 HARVARD 公司),显微镜(日本 Nikon 生物显微镜),化学发光成像仪系统(Chemiscope 3000,中国上海勤翔科学仪器有限公司),Anti-HIF-1 α -antibody(美国 Thermo Fisher Scientific 公司),Anti-iNOS-antibody(美国 Thermo Fisher Scientific 公司),一氧化氮(NO)试剂盒(中国南京建成生物工程研究所),ELISA 试剂盒包括白细胞介素 10(IL-10),肿瘤细胞坏死因子 α (TNF- α),白细胞介素 6(IL-6),白细胞介素 1 β (IL-1 β),均购于中国上海江莱生物科技有限公司,瑞舒伐他汀钙片(阿斯利康药业有限公司,10 mg $\times$ 7 片,批号:501206)。

1.3 模型建立

采用腹腔内注射 1%戊巴比妥钠(50 mg/kg)对小鼠进行麻醉处理后,经口直视下采用 20# 静脉留置针行气管插管,深度为 1.5-2 cm。将插好的气管插管与呼吸机相连接,进行机械通气,设定呼吸频率 120 次/min,潮气量 0.8-1.0 mL。于胸骨左缘第 3 根肋处开胸,暴露小鼠心脏,以左心耳右缘与肺动脉圆锥交点和心尖的连线作为标志,在显微镜下寻找冠状动脉前降

支。确定冠状动脉前降支位置后应用 6-0 丝线于左心耳根部下方 1-2 mm 处进针,结扎血管根部。结扎线拉紧后,可观察到心肌血液的颜色由鲜红色转为暗红色,心电图结果显示,II 导联的 T 波高耸和 ST 段抬高或倒置呈现弓背向上单曲线,作为心肌缺血的标志。60 min 以后,将结扎线放松,冠状动脉再次相通,心肌颜色又转变为鲜红色,心电图结果显示,高耸 T 波下降或者抬高的 ST 段降低 50%,即为再灌注成功^[10]。

1.4 分组及方法

40 只 db/db 小鼠随机分为 4 组:①假手术组(sham 组):将小鼠麻醉后剖胸,用缝线穿过小鼠冠状动脉,但不进行结扎处理,构成假手术;②缺血/再灌注组(I/R 组):将小鼠麻醉后剖胸,用缝线穿过小鼠冠状动脉并结扎冠状动脉进行缺血,60 min 后松开结扎线,进行再灌注 2 h;③缺血后处理组(IpostC 组):小鼠结扎左前降支 60 min 后即刻进行 3 个循环的缺血 5 min-灌注 5 min,随后再灌注 15 min;④瑞舒伐他汀联合缺血后处理组(RPO+IpostC 组):在再灌注前 3 min,给予 5 mg/kg 的瑞舒伐他汀进行颈外静脉缓慢推注,缺血后处理同 IpostC 组。

1.5 观察指标

1.5.1 低氧诱导因子-1 α (HIF-1 α)、诱导型一氧化氮合酶(iNOS)蛋白表达测定 采用 Western blotting 法进行测定^[11]:再灌注后处死实验小鼠并剪下左心室缺血心肌组织保存于液氮中。实验时从液氮中取出心肌组织标本,研磨后加入细胞裂解液并震荡提取总蛋白,使用 BCA 法测定蛋白浓度。100 $^{\circ}$ C 沸水加热处理 5 min,使蛋白充分变性。蛋白样品行 SDS-PAGE 电泳,采用 100V 恒压转膜,使用含 5%脱脂奶粉的封闭 1 h。以 β -actin 作为内参,滴加已稀释的 HIF-1 α 、iNOS、 β -actin 生物学一抗(稀释比例 1:1000),4 $^{\circ}$ C 下孵育过夜。避光条件下滴加已稀释的生物学二抗(稀释比例 1:5000),室温避光条件孵育 1 h。使用 ChemiScope mini 化学发光仪检测、拍照,以 β -actin 作为内参,计算心肌组织中 HIF-1 α 、iNOS 蛋白的表达。

1.5.2 血清 NO 和血浆炎症因子测定 各组小鼠静脉采血,室温静置 24 h,2000 rpm 离心 10 min,收集血清,-20 $^{\circ}$ C 冰箱冻存待查,使用 NO 试剂盒检测血清 NO 水平。采用酶联免疫吸附法检测血浆 IL-10、TNF- α 、IL-6 和 IL-1 β 水平,试剂盒购自上海江莱生物有限公司,严格按照试剂盒说明书操作。

1.5.3 心肌细胞组织 HE 染色 在各组小鼠中,随机抽取 3 只,再灌注 2 h 后,在缺血中心区域,取约 1 mm³ 的组织,采用电子显微镜对其心肌细胞组织结构进行观察。具体步骤:①二甲苯-梯度酒精水化脱蜡;②苏木素浸染 10 分钟,之后采用纯净水进行冲洗;③ 1%盐酸酒精进行 15s 的分化处理;④采用氨水进行 10s 的返蓝处理,之后采用纯净水进行冲洗;⑤伊红液体进行 5min 的染色;⑥脱水、透明、封片。

1.5.4 心肌缺血及梗死面积测定 随机抽取各组 6 只小鼠,再灌注 2 h 后,对 LAD 进行结扎,处死小鼠,之后将心脏迅速取出,除心间端外心脏平行房室沟,1-2 mm 切片,采用 Image J 软件计算梗死面积及缺血面积,梗死面积 = 左心室面积中危险区面积的占比(IRR/AAR),缺血面积 = 危险区面积中总梗塞区面积的占比(AAR/LV)^[12]。

1.6 统计学分析

应用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析联合组间两两比较的 LSD-t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

表 1 各组小鼠 HIF-1 α 、iNOS 蛋白表达变化(n=10)

Table 1 The expression of HIF-1 α and iNOS protein in each group(n=10)

Groups	HIF-1 α	iNOS
sham group	0.158 $\pm$ 0.022	0.503 $\pm$ 0.039
I/R group	0.251 $\pm$ 0.017 ^a	0.611 $\pm$ 0.046 ^a
IpostC group	0.363 $\pm$ 0.033 ^a	0.713 $\pm$ 0.048 ^a
RPO+ IpostC group	0.527 $\pm$ 0.051 ^{abc}	0.821 $\pm$ 0.050 ^{abc}
F	225.895	88.084
P	<0.001	<0.001

Note: Compared with sham group, ^a $P<0.05$. Compared with I/R group, ^b $P<0.05$. Compared with IpostC group, ^c $P<0.05$.

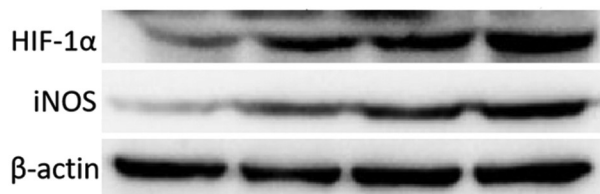


图 1 各组小鼠 HIF-1 α 、iNOS 蛋白表达情况

Fig.1 Protein expression of HIF-1 α and iNOS in each group of rats

2.2 各组小鼠血清 NO 和血浆炎症因子水平变化

I/R 组、IpostC 组、RPO+ IpostC 组小鼠血清 NO、血浆 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平显著高于 sham 组,血浆 IL-10 显著低于 sham 组 ($P<0.05$); IpostC 组、RPO+ IpostC 组小鼠血清 NO、血浆

2.1 各组小鼠 HIF-1 α 、iNOS 蛋白表达变化

各组 HIF-1 α 、iNOS 蛋白表达较 sham 组上调($P<0.05$),与 I/R 组、IpostC 组相比,RPO+ IpostC 组 HIF-1 α 、iNOS 蛋白表达显著上调($P<0.05$),见图 1,表 1。

IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平显著低于 I/R 组,血浆 IL-10 显著高于 I/R 组 ($P<0.05$); RPO+ IpostC 组小鼠血清 NO、血浆 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平均显著低于 IpostC 组,血浆 IL-10 显著高于 IpostC 组($P<0.05$)。见表 2。

2.3 各组小鼠心肌组织 HE 染色显微镜下结构变化

经显微镜观察显示,sham 组小鼠心肌组织大体结构正常,局灶心肌细胞肿胀,少量慢性炎细胞浸润;I/R 组小鼠心肌组织排列紊乱,部分心肌细胞肿胀,空泡变性,部分心肌纤维断裂,较多慢性炎细胞浸润,局部可见坏死灶。IpostC 组心肌紊乱、心肌细胞肿胀、心肌纤维断裂及炎细胞浸润程度均减轻;RPO+ IpostC 组病变程度更轻于 IpostC 组,见图 2A-D。

表 2 各组小鼠血清 NO 和血浆炎症因子水平变化(n=10)

Table 2 Changes of serum NO and plasma inflammatory factors in each group(n=10)

Groups	IL-10 (pg/mL)	IL-1 β (pg/mL)	IL-6 (ng/L)	TNF- α (ng/L)	NO(μ mol/L)
sham group	426.10 $\pm$ 65.97	115.20 $\pm$ 13.20	60.11 $\pm$ 7.94	256.50 $\pm$ 20.62	4.55 $\pm$ 0.54
I/R group	203.60 $\pm$ 32.52 ^a	258.60 $\pm$ 42.40 ^a	122.50 $\pm$ 11.14 ^a	865.00 $\pm$ 121.50 ^a	8.20 $\pm$ 1.18 ^a
IpostC group	277.20 $\pm$ 26.38 ^{ab}	200.80 $\pm$ 16.27 ^{ab}	94.98 $\pm$ 6.75 ^{ab}	700.70 $\pm$ 106.80 ^{ab}	6.67 $\pm$ 0.62 ^{ab}
RPO+ IpostC group	330.80 $\pm$ 37.06 ^{abc}	146.20 $\pm$ 12.77 ^{abc}	73.74 $\pm$ 5.77 ^{abc}	409.10 $\pm$ 24.75 ^{abc}	5.63 $\pm$ 0.82 ^{abc}
F	46.901	66.405	111.282	111.585	35.283
P	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

Note: Compared with sham group, ^a $P<0.05$. Compared with I/R group, ^b $P<0.05$. Compared with IpostC group, ^c $P<0.05$.

2.4 各组小鼠心肌梗死面积变化

sham 组小鼠无心肌缺血情况出现,与 I/R 组相比,IpostC 组和 RPO+ IpostC 组小鼠 AAR /LV、IRR /AAR 均明显减小,且 RPO+ IpostC 组小鼠 AAR /LV、IRR /AAR 小于 IpostC 组($P<0.05$)。见表 3。

3 讨论

缺血后处理于 2003 年被提出,其对心肌具有较好的保护作用

用,这种效应已经在多种临床观察及动物模型实验中被证实^[13]。缺血后处理对缺血 / 再灌注损伤引起的心肌梗死具有较好的保护效果,但这种心肌保护机制相对较为复杂,有多种通路因素参与其中^[14]。HIF-1 α /iNOS 通路是重要的一种通路,在心肌缺血再灌注损伤发生发展过程中起着关键性的作用^[15]。另外,他汀类药物属于羟甲基戊二酸单酰辅酶 A 还原酶抑制剂,具有抗炎、改善血管内皮功能、稳定动脉粥样斑块等功效。近年来,多项研究显示,在 I/R 前期使用他汀类药物进行干预,可以有

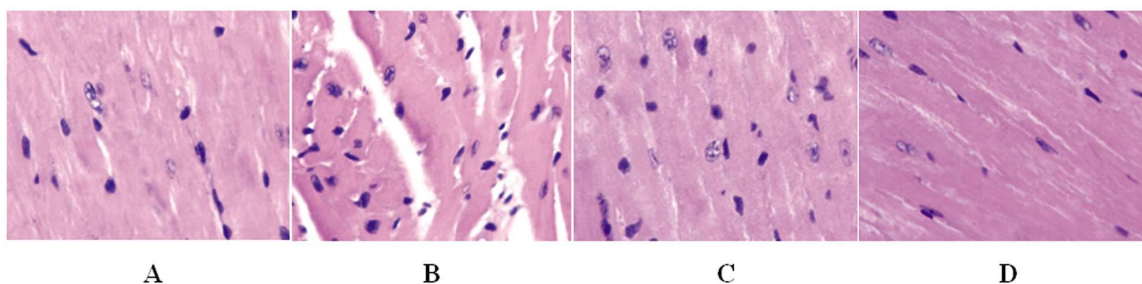


图 2 各组小鼠心肌组织 HE 染色结构图(×400)

Fig. 2 HE staining structure of myocardial tissue of rats in each group

Note: Fig. A: Sham group. Fig. B: I/R group.

Fig. C: IPostC group. Fig.D: RPO+IPostC group

表 3 各组小鼠心肌梗死面积变化(n=6)

Table 3 Changes of myocardial infarction area in each group(n=6)

Groups	AAR /LV(%)	IRR /AAR(%)
sham group	0	0
I/R group	56.70± 7.34	48.65± 4.99
IpostC group	48.23± 4.52 ^a	34.34± 5.16 ^a
RPO+ IpostC group	37.71± 3.97 ^{ab}	24.55± 6.05 ^{ab}
F	166.678	114.156
P	<0.001	<0.001

Note: Compared with I/R group, ^aP<0.05. Compared with IpostC group, ^bP<0.05.

效对心肌进行保护^[16,17]。有研究显示,他汀类药物对缺血预处理保护糖尿病小鼠心肌的效应起到促进效果^[18]。

HIF-1 α 是近年发现的一种转录因子,是缺氧过程的关键分子,在缺氧过程中可以通过调节近 200 种基因的表达,介导机体对缺氧或缺血的适应性反应^[19,20]。在 I/R 过程中,HIF-1 α 可对相关特异性基因进行激活,从而减少心肌细胞的凋亡,促进其存活和增殖,进而使心肌损伤减轻^[21]。iNOS 是 HIF-1 α 的下游蛋白,机体缺氧引起心肌细胞 iNOS 表达增加,HIF-1 α 在缺氧调节 iNOS 基因表达中起重要作用^[22]。相关研究结果表明^[23],缺血性预处理晚期与 iNOS 选择性上调有关,并且靶向阻断 iNOS 基因可完全消除晚期预处理的心肌保护作用。体内的 L-精氨酸可被 NOS 催化形成 NO,NO 是一种主要由心血管系统内皮细胞产生的简单分子,具有细胞保护特性,可以通过对蛋白激酶 G 产生激活作用,进而减少细胞色素 C 的释放,心肌细胞凋亡减少^[24]。文中 RPO+ IpostC 组 HIF-1 α 、iNOS 蛋白表达显著上调,NO 下降,结果说明 RPO+ IpostC 可以更好地改善心肌细胞缺血后再灌注损伤,提示 RPO+ IpostC 可能通过 HIF-1 α -iNOS 信号通路对糖尿病小鼠心肌起到保护效应。有研究表明^[25],炎症反应是引发心肌缺血再灌注损伤的重要机制之一,在心肌缺血再灌注损伤中抑制其炎症反应可以有效降低缺血再灌注损伤,改善心功能。本研究中选择观察指标 IL-10、IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 等是炎症反应中的重要细胞因子。心肌缺血再灌注过程中会造成机体产生大量的 IL-6 和 TNF- α ,其中 IL-6 的释放量与机体心肌损伤的程度呈现一定正相关^[26]。IL-10 是一种重要的抗炎因子,可以一定程度抑制机体炎症反应的加剧^[27]。TNF- α 是机体发生创伤后产生的一种细

胞因子,可进一步加剧炎症因子产生级联反应,致使心肌再灌注损伤的加重^[28]。IL-1 β 是心肌再灌注损伤早期产生的一种细胞因子,可引发机体急性炎症反应的发生,同时也会诱导心肌缺血再灌注损伤的进一步加重^[29,30]。本文中结果表明 RPO+IpostC 可有效减轻模型小鼠的炎症反应,而炎症反应可一定程度加重心肌缺血再灌注损伤,故 RPO+IpostC 可间接对糖尿病小鼠心肌产生保护作用。RPO+ IpostC 组小鼠梗死面积相对较少,也进一步证实了其可在一定程度上对心肌缺血再灌注损伤进行保护。

综上所述,瑞舒伐他汀联合缺血后处理可以通过对糖尿病小鼠 HIF-1 α -iNOS 信号通路进行调节,上调 HIF-1 α 、iNOS 蛋白表达,减轻缺血再灌注部位的炎症反应,起到减轻心肌细胞缺血再灌注损伤和保护心肌的作用。

参考文献(References)

- [1] Taneja G, Sharma AK, Khanna D, et al. Effect of pantoprazole on I-R-induced myocardial injury in diabetic rats targeting inflammatory cytokine release and oxidative stress [J]. Iran J Basic Med Sci, 2021, 24(5): 615-622
- [2] Samidurai A, Ockaili R, Cain C, et al. Preclinical model of type 1 diabetes and myocardial ischemia/reperfusion injury in conscious rabbits-demonstration of cardioprotection with rapamycin [J]. STAR Protoc, 2021, 2(3): 100772
- [3] Fu Y, Zhao C, Saxu R, et al. Anastatin Derivatives Alleviate Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury via Antioxidative Properties [J]. Molecules, 2021, 26(16): 4779
- [4] 陈玲,胡阳,王煜,等. 远程缺血预处理 - 减轻心肌再灌注损伤的机制[J]. 实用医学杂志, 2021, 37(1): 121-124

- [5] Krylova IB, Selina EN, Bulion VV, et al. Uridine treatment prevents myocardial injury in rat models of acute ischemia and ischemia/reperfusion by activating the mitochondrial ATP-dependent potassium channel[J]. *Sci Rep*, 2021, 11(1): 16999
- [6] Shi Y, Hou SA. Protective effects of metformin against myocardial ischemia reperfusion injury via AMPK dependent suppression of NOX4[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 24(4): 712
- [7] Goetzenich A, Hatam N, Preuss S, et al. The role of hypoxia-inducible factor-1 α and vascular endothelial growth factor in late-phase preconditioning with xenon, isoflurane and levosimendan in rat cardiomyocytes[J]. *Interact Cardiovasc Thorac Surg*, 2014, 18(3): 321-328
- [8] Si J, Wang N, Wang H, et al. HIF-1 α signaling activation by post-ischemia treatment with astragaloside IV attenuates myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *PLoS One*, 2014, 9(9): e107832
- [9] Tan Z, Liu H, Song X, et al. Honokiol post-treatment ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury by enhancing autophagic flux and reducing intracellular ROS production [J]. *Chem Biol Interact*, 2019, 307(1): 82-89
- [10] 柴松波. 基于 ERK/Nrf2/HO-1 通路探讨益气养阴方对糖尿病大鼠心肌缺血再灌注损伤模型的保护作用 [J]. *中国病理生理杂志*, 2019, 35(10): 1743-1752
- [11] 周雯静, 李进, 张琳, 等. ROS 在二氯喹后处理上调 HIF-1 α 表达减轻大鼠离体心脏缺血再灌注损伤中的作用 [J]. *中华麻醉学杂志*, 2020, 40(12): 1520-1524
- [12] 李海艳, 迟艳飞. 远志皂苷预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤及高迁移率族蛋白 B1 表达的影响[J]. *中成药*, 2019, 41(5): 1165-1168
- [13] Hummitzsch L, Zitta K, Berndt R, et al. Remote ischemic preconditioning attenuates intestinal mucosal damage: insight from a rat model of ischemia-reperfusion injury [J]. *J Transl Med*, 2019, 17(1): 136
- [14] 王鹏, 赵仁亮, 吕敬雷, 等. 缺血后处理对大鼠局灶性脑缺血再灌注损伤时 TLR4 信号通路表达的影响 [J]. *现代生物医学进展*, 2012, 12(23): 4419-4423
- [15] Belaidi E, Beguin PC, Levy P, et al. Delayed myocardial preconditioning induced by cobalt chloride in the rat: HIF-1 α and iNOS involvement[J]. *Fundam Clin Pharmacol*, 2012, 26(4): 454-462
- [16] Guo DW, Wang CY, Shih HC. N-acetylcysteine and atorvastatin alleviates lung injury due to ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *J Chin Med Assoc*, 2019, 82(12): 909-914
- [17] Hassan SS, Rizk A, Thomann C, et al. Preconditioning with atorvastatin against renal ischemia-reperfusion injury in nondiabetic versus diabetic rats[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2019, 97(1): 1-14
- [18] 黄宏超, 李阳, 魏文峰, 等. 瑞舒伐他汀联合厄贝沙坦对心肌肥厚大鼠 MAPK/ERK 和 JNK 通路的影响 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2018, 17(16): 1703-1708
- [19] Ju S, Lim L, Wi K, et al. LRP5 Regulates HIF-1 α Stability via Interaction with PHD2 in Ischemic Myocardium [J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(12): 6581
- [20] Zheng J, Chen P, Zhong J, et al. HIF 1 α in myocardial ischemia reperfusion injury (Review)[J]. *Mol Med Rep*, 2021, 23(5): 352
- [21] 韦皓, 许玉霞, 秦莉, 等. HIF-1 α 通过 TLR4/NF- κ B 信号通路对心肌缺血 - 再灌注大鼠心肌损伤的保护机制分析 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2019, 18(10): 13-16
- [22] Wilmes V, Scheiper S, Roehr W, et al. Increased inducible nitric oxide synthase (iNOS) expression in human myocardial infarction[J]. *Int J Legal Med*, 2020, 134(2): 575-581
- [23] 杨龙, 吴建江, 王江, 等. HIF-1 α 在七氟醚后处理减轻大鼠心肌缺血再灌注致线粒体功能损伤中的作用研究[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2020, 6(3): 304-307
- [24] 赵焕新, 王晓樑, 武烨, 等. 后处理减轻心肌缺血 / 再灌注损伤与 HIF-1 α -iNOS-cGMP 通路激活的关系 [J]. *中国心血管病研究*, 2011, 5(6): 435-439
- [25] Xiang B, Zhong P, Fang L, et al. miR-183 inhibits microglia activation and expression of inflammatory factors in rats with cerebral ischemia reperfusion via NF- κ B signaling pathway[J]. *Exp Ther Med*, 2019, 18(4): 2540-2546
- [26] Wang JH, Zhao L, Pan X, et al. Hypoxia-stimulated cardiac fibroblast production of IL-6 promotes myocardial fibrosis via the TGF- β 1 signaling pathway[J]. *Lab Invest*, 2016, 96(8): 839-52
- [27] Shemer A, Scheyltjens I, Frumer GR, et al. Interleukin-10 Prevents Pathological Microglia Hyperactivation following Peripheral Endotoxin Challenge[J]. *Immunity*, 2020, 53(5): 1033-1049.e7
- [28] Güvenç M, Cellat M, Uyar A, et al. Nobiletin Protects from Renal Ischemia-Reperfusion Injury in Rats by Suppressing Inflammatory Cytokines and Regulating iNOS-eNOS Expressions[J]. *Inflammation*, 2020, 43(1): 336-346
- [29] Yang T, Feng C, Wang D, et al. Neuroprotective and Anti-inflammatory Effect of Tangeretin Against Cerebral Ischemia-Reperfusion Injury in Rats[J]. *Inflammation*, 2020, 43(6): 2332-2343
- [30] 朱俊超, 马虹, 王俊科. 急性心肌缺血再灌注损伤大鼠海马长时程增强及 TNF- α , IL-1 β 表达的变化[J]. *中国医科大学学报*, 2008, 37(1): 124-127