

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.05.039

活性氧簇在脑缺血 - 再灌注损伤中的损伤与保护作用 *

刘思亮 李 燕 于 巍 王 颖 戚思华[△]

(哈尔滨医科大学附属第四医院 麻醉科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要:活性氧簇是细胞有氧代谢过程中产生的一类化学基团。线粒体是活性氧簇的主要生成位点。一般观点认为,在脑缺血 - 再灌注损伤过程中,活性氧簇发挥神经细胞损伤作用。活性氧簇不仅直接参与神经细胞氧化损伤过程,也可通过外源性途径和内源性途径,引起神经细胞凋亡。然而,除神经细胞损伤作用外,活性氧簇也可发挥神经细胞保护作用。活性氧簇可激活低氧诱导因子、核转录因子 κ B、PI3K/Akt 通路和 MAPK 通路等,参与神经细胞存活机制,减轻神经细胞损伤。本文对活性氧簇在脑缺血 - 再灌注损伤中的双重作用进行综述。

关键词:活性氧簇;脑缺血 - 再灌注损伤;文献综述

中图分类号:R743 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)05-969-06

The Disruptive Effects and Protective Effects of Reactive Oxygen Species in Cerebral Ischemia Reperfusion Injury*

LIU Si-liang, LI Yan, YU Wei, WANG Ying, QI Si-hua[△]

(Department of Anesthesiology, The Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT: Reactive oxygen species are a class of chemical groups which are produced during the aerobic metabolism in cells. At present, reactive oxygen species is mainly produced from mitochondria. In the physiological case, the reactive oxygen species generation and clearance maintain a dynamic balance. However, during the process of cerebral ischemia-reperfusion injury, the reactive oxygen species generation and removal has changed. In the ischemic period, the brain's acidic environment promotes the reactive oxygen species production. And during the reperfusion period, the changes of the mitochondrial membrane potential hyperpolarization and pro-oxidase activity can also promote the reactive oxygen species production. In addition, during the process of cerebral ischemia-reperfusion injury, the brain's ability to eliminate the reactive oxygen species also decreased. As a result, the generation of the reactive oxygen species increases. Reactive oxygen species has the dual functions in the process of cerebral ischemia-reperfusion injury. It is generally believed that reactive oxygen species play a role in neuronal injury during the cerebral ischemia-reperfusion injury. Reactive oxygen species can directly destroy the biological macromolecules including lipids, proteins and nucleic acids. Reactive oxygen species can also activate the extrinsic pathway and the intrinsic pathway leading to neuronal apoptosis. However, in addition to the role of neuronal injury, reactive oxygen species can also play a role in the protection of neurons. This may be related to the level of the reactive oxygen species, low levels of the reactive oxygen species can be used as signal molecules to promote cell survival. During the process of cerebral ischemia-reperfusion injury, reactive oxygen species can activate hypoxia inducible factor, nuclear factor kappa B, PI3K/Akt pathway and MAPK pathway, and participate in the survival mechanism of nerve cells and reduce the damage of nerve cells. In this paper, we will make a review about the dual functions of reactive oxygen species in the course of cerebral ischemia-reperfusion injury.

Key words: Reactive oxygen species; Cerebral ischemia-reperfusion injury; Review

Chinese Library Classification (CLC): R743 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)05-969-06

前言

脑缺血 - 再灌注损伤(Cerebral ischemia-reperfusion injury, CIRI)是指脑缺血致脑组织损伤,当缺血区血液供应恢复后,缺血性损伤进一步加重的病理现象,其在脑缺血性疾病发生发展

的过程中起着重要作用^[1]。CIRI是一种由多种机制参与的病理生理过程,涉及炎症反应、氧化应激、细胞内钙超载、兴奋性氨基酸毒性作用等。研究发现,以上机制均有活性氧簇(Reactive oxygen species, ROS)参与,ROS可能为CIRI过程中的关键物质^[2-4]。一般认为,过量生成的ROS可参与神经细胞损伤过程,

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81271456)

作者简介:刘思亮(1990-),硕士,研究方向:脑缺血再灌注损伤,脑保护,电话:15004646526, E-mail: liusiliang0451@sina.com

△ 通讯作者:戚思华(1965-),博士,教授,研究方向:脑缺血再灌注损伤,脑保护, E-mail: qisihua2007@sina.com

(收稿日期:2018-03-28 接受日期:2018-04-23)

然而,近年对缺血预处理的研究发现,ROS 也可作为信号分子,参与细胞存活机制,发挥神经细胞保护作用^[9]。因此,阐明 ROS 在 CIRI 过程中的作用对缺血再灌注损伤的防治具有重要意义。

1 生理条件下 ROS 生成与清除

ROS 是一类氧的单电子还原产物,包括超氧阴离子($O_2^{\cdot-}$),过氧化氢(H_2O_2),羟自由基($\cdot OH$)等^[1]。目前认为线粒体是 ROS 生成的主要部位,线粒体内膜电子传递链(Mitochondrial electron transport chain,ETC)是 ROS 最主要的生成位点^[6]。原因可能是线粒体呼吸链酶系的酶活性远高于线粒体内其他酶系,且 ETC 内富含铁硫簇和血红素,它们为 ROS 的生成提供重要辅助因子^[7,8]。ETC 的主要功能是将电子传递至氧,并促使 ATP 生成。虽然传递电子的过程受到严格调控,但仍有一小部分电子可从 ETC 中漏出,形成电子漏^[9]。电子直接与氧结合生成 $O_2^{\cdot-}$ 。 $O_2^{\cdot-}$ 是最早生成的一类 ROS,并可衍生出其他种类的 ROS,如 $O_2^{\cdot-}$ 可与 H^+ 反应生成 H_2O_2 ,可与 H_2O_2 反应生成 $\cdot OH$,也可与 NO 反应生成 ONOO⁻ 等^[9]。

除 ETC 外,位于线粒体外膜的单胺氧化酶、细胞色素 b5 还原酶、NADPH 氧化酶(NADPH oxidase,NOX)等也可促进 ROS 的生成,但以上几种酶对 ROS 生成总量的影响显著低于 ETC^[7]。

如前所述,目前认为 ROS 主要由 ETC 和氧分子之间的非特异性反应所生成,但近年有学者对 ROS 大量生成的始发位点提出了新的观点。Chouchani 等认为,三羧酸循环的中间产物琥珀酸参与 ROS 的产生,并提出琥珀酸可能是引发 ROS 大量生成的始发因子之一^[10]。因此,琥珀酸可成为一个抑制 ROS 生成的干预靶点,这将为脑缺血-再灌注损伤的防治提供一个新的方向。

正常情况下,脑内 ROS 的生成和清除维持动态平衡。小部分氧(约占机体耗氧量的 0.1%~2%)可与电子结合生成 ROS,同时脑内存在抗氧化酶可清除 ROS,如超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase,SOD),过氧化氢酶等。另外,一些抗氧化物也对 ROS 有解毒作用,如维生素 E,谷胱甘肽等^[7]。然而,在 CIRI 过程中,ROS 的生成与清除发生了变化。

2 CIRI 过程中 ROS 生成与清除

在 CIRI 过程中,脑内环境的改变将使 ROS 的生成发生变化。缺血期,脑内生成的乳酸可使脑内形成酸性环境,这种酸性环境可促使 ROS 大量生成,原因可能有如下两个方面:(1)酸性环境下,结合 Fe^{2+} 发生解离,导致游离 Fe^{2+} 浓度升高。根据 Fenton 反应: $Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow \cdot OH + OH^- + O_2$,游离 Fe^{2+} 不仅可与 H_2O_2 反应生成毒性更强的 $\cdot OH$,也可使 OH^- 生成增多。(2)酸性环境下, $O_2^{\cdot-}$ 转变成 H_2O_2 的速率提高,也更易生成活性更强的 $HO_2^{\cdot}$ ^[11]。

再灌注期,ROS 大量生成可能与线粒体膜电位及促氧化酶有关。研究发现,线粒体膜电位发生超极化(超过 140 mv)可使电子漏发生率增加,并促使 ROS 生成呈指数性增长^[12]。Newington JT 等发现抑制膜电位超极化可减少 ROS 生成,减轻神经细胞损伤^[13]。另外,再灌注时,黄嘌呤氧化酶催化次黄嘌呤转变为黄嘌呤,此过程释放大电子并与氧结合,导致 H_2O_2 和

OH 大量生成。NOX2 于再灌注期活性增高,也是促进 ROS 生成的因素之一^[14]。除此之外,在 CIRI 过程中,由于抗氧化酶活性下降,抗氧化物的消耗,脑内对 ROS 的清除能力也下降。因此,ROS 的生成远大于脑内抗氧化系统的清除能力,ROS 生成与清除平衡被破坏,导致 ROS 过量生成^[15]。

3 ROS 在 CIRI 过程中的作用

ROS 在 CIRI 过程中具有双重作用:一是神经细胞损伤作用,ROS 损伤生物大分子或诱导细胞凋亡。二是神经细胞保护作用,ROS 参与细胞存活信号的传递与调节。

3.1 ROS 的神经细胞损伤作用

3.1.1 ROS 直接损伤生物大分子 ROS 可直接损伤生物大分子包括脂质、蛋白质及核酸。对脂质的损伤主要是脂质过氧化作用。ROS 与膜磷脂成分具有较高亲和力,可破坏细胞膜,造成细胞膜通透性增加,同时 ROS 也可破坏线粒体膜,造成线粒体损伤,从而导致细胞崩解与死亡。不仅如此,脂质过氧化后的产物 4-羟基壬烯醛(4-HNE)也对神经元和少突胶质细胞等具有毒性,它可直接破坏细胞结构,也可激活 JNK,caspase-3 等促凋亡因子导致细胞凋亡^[16,17]。抑制 ROS 的脂质过氧化作用将有助于减轻缺血再灌注损伤。Chen LF 等在大脑中动脉栓塞模型中发现,反复高压氧治疗可抑制脂质过氧化作用减轻脑损伤^[18]。Zhao H 等也发现缺血后处理可抑制 ROS 脂质过氧化作用减轻 CIRI^[19]。

ROS 可作用于蛋白质中的氨基酸残基,可使酪氨酸,色氨酸残基等发生不可逆的亚硝基化作用,这种作用可抑制蛋白质磷酸化和腺苷酰化,从而影响蛋白质功能^[20]。另外,ROS 可使蛋白质裂解、交联及聚合,使蛋白质丧失生物学活性,抑制多种重要酶的活性,如线粒体呼吸链复合酶, Na^+-K^+-ATP 酶等^[15]。保护脑内重要酶的活性将有助于减轻 CIRI。Yang W 等发现 Malibatol A 可清除 ROS,保护线粒体呼吸链复合酶减轻 CIRI^[21]。Jia D 等发现银莲花素可通过改善 Na^+-K^+-ATP 酶活性,保护神经细胞^[22]。

ROS 可损伤细胞内核 DNA 与线粒体 DNA。ROS 几乎可损伤核 DNA 的所有部位,如核糖、碱基及它们之间的糖苷键,使 DNA 发生片段化^[23]。与核 DNA 不同,线粒体 DNA 更易受到 ROS 的破坏,可能是由于 ROS 主要产自线粒体且线粒体 DNA 的修复能力有限^[24]。DNA 碱基的氧化产物 8-羟化脱氧鸟苷可作为一种标志性产物,若能早期发现此类产物,则可为 CIRI 的预防提供一个方向^[25]。抑制 ROS 造成的神经细胞 DNA 损伤是保护神经细胞的重要手段。Shin MJ 等发现 PRAS40 可抑制 ROS 所致的 DNA 片段化作用,减轻脑缺血损伤^[26]。Sohn EJ 等发现 NOL3 也可通过抑制 DNA 片段化作用,保护海马细胞^[26]。

3.1.2 ROS 引起细胞凋亡 在 CIRI 过程中,ROS 可通过两种途径引起神经细胞凋亡,即外源性和内源性途径。外源性途径也称死亡受体途径,涉及 Fas/FasL,TNF- α /TNFR1 等信号通路。Fas 是细胞表面重要的死亡受体,它在 ROS 的刺激下,可与 caspase8 前体形成死亡诱导信号复合物(DISC),DISC 可激活 caspase8,caspase3 等凋亡蛋白酶导致细胞凋亡^[27]。异鼠李素是从沙棘、银杏中提取出来的黄酮类化合物,近年研究发现异鼠

李素可通过抑制 Fas/FasL 途径减轻氧糖剥夺导致的细胞损伤^[28]。

在内源性途径中,ROS 或其代谢产物可作为凋亡信号分子,通过激活 P53、MAPK 等信号通路,破坏抗凋亡蛋白(Bcl-2, Bcl-w)与促凋亡蛋白(Bax)之间平衡,使促凋亡蛋白/抗凋亡蛋白比值增加,引起细胞凋亡。ROS 也可调节线粒体膜通透性转换孔的开放,导致细胞色素 C 释放。细胞色素 C 与细胞凋亡激活因子 1(AIF-1)形成复合体,激活 caspase-9, caspase3。活化的 caspase3 可破坏 DNA 修复酶加重神经细胞 DNA 损伤,导致细胞凋亡^[29,30]。抑制内源性凋亡途径将有助于保护神经细胞。研究发现虎杖的提取物虎杖苷可抑制内源性途径减轻 CIRI, 发挥脑保护的作用^[31]。Vahidinia Z 等也发现雌激素与黄体酮也可抑制内源性途径减少神经细胞凋亡^[32]。

3.2 ROS 的神经细胞保护作用

如前所述,过量生成的 ROS 可能造成神经细胞损伤。然而近年研究表明,ROS 也具有神经细胞保护作用,这可能与 ROS 的水平有关,低水平的 ROS 可作为信号分子促进细胞存活^[30]。此过程可能涉及低氧诱导因子(Hypoxia inducible factor, HIF)、核转录因子 κ B (Nuclear factor-kappa B, NF- κ B)、磷脂酰肌醇-3- 激酶 / 蛋白激酶 B (Phosphoinositide3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt) 通路和丝裂原活化蛋白激酶(Mitogen-activated protein kinases, MAPK)通路等。

3.2.1 HIF HIF 是细胞内感受氧浓度并促进细胞对低氧环境产生适应性的一种重要的转录因子。HIF 可通过调节下游基因的表达来发挥神经细胞保护作用,如促红细胞生成素(Erythropoietin, Epo), 血管内皮生长因子(Vascular endothelial growth factor, VEGF)等^[33]。Ryu MG 等发现 HIF 活化后可促进 Epo 的表达,减轻缺氧再复氧后所造成的海马神经元损伤^[34]。同样, Badawi Y 等发现 HIF 表达上调后,可维持星形胶质细胞形态和生存能力,以抵抗谷氨酸的毒性作用^[35]。另外, HIF 也可上调葡萄糖转运蛋白体的表达,增加葡萄糖的利用率,减轻能量耗竭所带来的损伤^[35]。

低水平的 ROS 可促进 HIF 表达,发挥细胞保护作用。研究发现,在低氧条件下,ROS 可防止 HIF 羟基化,使 HIF 表达上调并增强 HIF 的保护作用^[36,37]。Chang 等发现,低水平 H_2O_2 可促进 HIF 的表达,减轻缺血对皮层神经元造成的损伤^[38]。Liu 等也发现,ROS 可促进 HIF 和 Epo 的表达,避免了低氧造成的神经细胞凋亡^[39]。以上研究提示我们,ROS 可能通过调节 HIF 的表达来发挥神经保护作用。虽然多数研究认为,ROS 可促进 HIF 表达,但也有研究发现 ROS 大量生成可抑制 HIF 表达^[40]。可以看出 ROS 对 HIF 的调节可能是双向的,但 ROS 调节 HIF 表达的具体机制尚不清楚,需要进行深入研究。

3.2.2 NF- κ B NF- κ B 是一类对氧化还原反应敏感的核转录因子,可参与免疫、炎症、细胞增生、细胞分化等过程的基因表达调控。与 HIF 类似,ROS 对 NF- κ B 的调节作用也是双向的,这可能取决于 ROS 的浓度水平。研究发现,低水平 ROS 可激活 NF- κ B,但若 ROS 生成过多则可抑制 NF- κ B 活性^[41]。

NF- κ B 激活后具有一定的神经保护作用。研究表明 NF- κ B 激活后可引起 Bcl-x1、Bcl-2、神经元凋亡抑制蛋白 XIAP 表达增加,来发挥抑制神经细胞凋亡的作用。活化的 NF- κ B 也能促

进超氧化物歧化酶生成,从而清除过量生成的超氧化物,减轻神经细胞氧化性损伤^[41,42]。

然而,也有研究认为 ROS 激活 NF- κ B 后可促进细胞凋亡。Yang CM 等人发现高浓度糖可促使星形胶质细胞内 ROS 生成增加,并激活 NF- κ B 使血红素氧化酶-1 表达上调,从而导致细胞凋亡^[43]。可见,ROS 激活 NF- κ B 在不同条件下将产生不同的效应,但具体的总和效应是什么尚有待研究。

3.2.3 PI3K/Akt 通路 PI3K/Akt 通路在细胞增殖、分化、凋亡、迁移等过程中发挥着关键作用。PI3K 为一种磷脂酰肌醇激酶,可磷酸化肌醇,生成磷脂酰肌醇-3,4- 二磷酸和磷脂酰肌醇-3, 4,5- 三磷酸,这两种产物可激活 Akt。Akt 也称作蛋白激酶 B, 为一种重要的抗凋亡蛋白。Akt 激活后可导致促凋亡蛋白如 BAD、caspase-9、P53 等失活, 并促进抗凋亡蛋白基因表达增加,如 Bcl-2、Bcl-X1、Mcl-1 等,从而抑制神经细胞凋亡^[44]。Zhu H 等在鼠大脑中动脉栓塞模型中发现,PI3K/Akt 通路激活后大鼠脑梗死面积降低,神经细胞凋亡减少,神经功能损伤减轻^[45]。Wang J 等也发现,PI3K/Akt 通路活化后可减轻由缺氧-复氧所造成脑血管内皮细胞的损伤^[46]。

ROS 可能通过激活 PI3K/Akt 通路,发挥细胞保护作用。Cheng D 等发现 ROS 可抑制人第 10 号染色体缺失的磷酸酶(PTEN)活性,进而激活 PI3K/Akt 通路,促进细胞存活^[47]。Gebremedhin D 等也发现,氧化应激下 PTEN 的活性下降为 PI3K/Akt 通路激活的重要因素之一^[48]。Gnocchi D 等在体外研究中发现低水平的 ROS 可作为第二信使, 激活 PI3K/Akt 通路,促进细胞的增殖与分化^[49]。以上研究可提示我们,ROS 可能作为信号分子,发挥细胞保护作用,然而,目前在神经科学领域,对于 ROS 具体处于何种浓度水平,才能发挥神经保护作用的研究较少。

尽管 ROS 激活 PI3K/Akt 通路具有一定的细胞保护作用,然而,也有一些研究得出了相反的结论。Jayasooriya RG 等人也发现,脂多糖可促进小胶质细胞内 ROS 的生成,并激活 PI3K/Akt,导致促炎症因子一氧化氮和前列腺素 E2 的生成^[50]。另外,在其他组织细胞中也发现了类似的现象。Guo C 等人在脐静脉血管内皮细胞研究中发现,二氧化硅可促进 ROS 的生成,进而激活 PI3K/Akt 通路导致细胞凋亡^[51]。Yu SM 等在软骨细胞的研究中也发现,ROS 可通过激活 PI3K/Akt 通路导致细胞凋亡^[52]。由此可见,ROS 激活 PI3K/Akt 通路在某种情况下也可造成细胞损伤,其原因尚未可知,这可能 ROS 的生成部位和来源有关。

3.2.4 MAPK 通路 MAPK 家族为细胞内一类可被多种细胞外刺激激活的丝氨酸 / 苏氨酸蛋白激酶,包括细胞外信号调节激酶(Extracellular signal regulated kinase, ERK), c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-term inal kinase, JNK),大丝裂素活化蛋白激酶等。其中,ERK 可能参与了 ROS 介导的细胞存活过程。ERK 激活后可使促凋亡蛋白 BAD 失活,并可促进抗凋亡蛋白 Bcl-2 的表达增加,抑制神经细胞凋亡^[53]。Dal-Cim T 等研究发现, MAPK/ERK 通路的激活可增强海马神经元对缺氧损伤的耐受能力^[54]。Su L 等在 PC12 细胞氧糖剥夺模型中发现,ERK 通路激活后可减少细胞凋亡,促进细胞增殖^[55]。

ROS 可能通过生长因子受体激活 ERK。研究发现 ROS 可能通过生长因子受体的作用激活 ERK, 并促进神经胶质细胞增殖, 减轻细胞损伤^[56]。虽然一般研究认为 ERK 的激活具有保护意义, 但也有研究得出相反的结论。Zhuo X 等发现抑制 ERK 可减轻由心搏骤停造成的脑损伤^[57]。Zhao ZY 等也发现依达拉奉可抑制 ERK 途径起到神经细胞保护作用^[58]。因此, ERK 的激活可能也是两面性的, 导致这种差异的原因尚不清楚, 但 ERK 的激活时程被认为是一个重要因素。

4 针对 ROS 保护作用的应用

预处理是一种神经保护措施, 它可为神经细胞提供亚致死性环境, 使细胞提前适应损伤环境, 以提高神经细胞对更严重损伤的耐受能力。预处理神经保护作用可能与 ROS 激活细胞存活通路有关^[5]。Correia SC 等研究发现使用氰化物预处理脑内皮细胞可通过 ROS/HIF 途径, 减轻高糖造成的神经细胞损伤^[59]。Su C 等也发现使用 H₂O₂ 预处理可激活 ERK 途径减轻海马细胞损伤^[60]。另外, 研究表明缺血预处理也可通过 ROS/HIF 实现神经细胞保护作用^[61]。由此可见, 预处理不仅是基于 ROS 保护作用的一种处理措施, 亦是促使 ROS 发挥保护作用的干预手段。除采用预处理的方法外, 使用抗氧化剂维持 ROS 在合适水平, 也是促使 ROS 发挥保护作用的重要方式^[5]。

5 展望

综上所述, ROS 在 CIRI 过程中具有双重作用, 即同时具有细胞损伤和细胞保护两种效应, 但造成 ROS 具有双重作用的原因尚不清楚, 可能与 ROS 的浓度水平、ROS 的种类及 ROS 来源不同有关。因此, 针对以上三点进行研究将有助于揭示 ROS 在 CIRI 过程中的具体作用。虽然 ROS 在某种情况下可发挥保护作用, 但过量表达的 ROS 仍会造成神经细胞损伤。因此, 使用自由基生成抑制剂和自由基清除剂来抑制 ROS 过量生成对于 CIRI 的治疗仍具有重要价值。然而, 鉴于 ROS 的双重作用, 对 ROS 的抑制还应控制在一定范围内, 甚至可以采用预处理等方式促进机体生成少量的 ROS, 使其发挥保护作用。因此, 应找到合理的干预方式, 既能减轻 ROS 的损伤作用, 又能增强它的保护作用, 这将对缺血再灌注损伤的防治具有重要意义。

参考文献(References)

- [1] Yu Dan-juan, Gao Hui-yang. Effect of propofol on mitochondrial ATP content and ATPase activity in hippocampus of rats with cerebral ischemia-reperfusion injury[J]. Saudi J Biol Sci, 2017, 24(2): 246-250
- [2] Kiselyov K, Muallem S. ROS and intracellular ion channels [J]. Cell Calcium, 2016, 60(2): 108-114
- [3] Ma M, Uekawa K, Hasegawa Y, et al. Pretreatment with rosuvastatin protects against focal cerebral ischemia/reperfusion injury in rats through attenuation of oxidative stress and inflammation [J]. Brain Res, 2013, 1519: 87-94
- [4] Lee JC, Won MH. Neuroprotection of antioxidant enzymes against transient global cerebral ischemia in gerbils [J]. Anat Cell Biol, 2014, 47(3): 149-156
- [5] Thompson JW, Narayanan SV, Perez-Pinzon MA, et al. Redox Signal-

- ing Pathways Involved in Neuronal Ischemic Preconditioning[J]. Current Neuropharmacology, 2012, 10: 354-369
- [6] Sarniak A, Lipińska J, Tytman K, et al. Endogenous mechanisms of reactive oxygen species (ROS) generation[J]. Postepy Hig Med Dosw (Online), 2016, 70(0): 1150-1165
- [7] Kalogeris T, Bao Y, Korthuis RJ. Mitochondrial reactive oxygen species: a double edged sword in ischemia/reperfusion vs preconditioning[J]. Redox Biol, 2014, 2: 702-714
- [8] Carroll J, Fearnley IM, Skehel JM, et al. Bovine complex I is a complex of 45 different subunits [J]. J Biol Chem, 2006, 281 (43): 32724-32727
- [9] Escobales N, Nunez RE, Jang S, et al. Mitochondria-targeted ROS scavenger improves post-ischemic recovery of cardiac function and attenuates mitochondrial abnormalities in aged rats [J]. J Mol Cell Cardiol, 2014, 77: 136-146
- [10] Chouchani ET, Pell VR, Gaude E, et al. Ischaemic accumulation of succinate controls reperfusion injury through mitochondrial ROS[J]. Nature, 2014, 515(7527): 431-435
- [11] Saeed SA, Shad KF, Saleem T, et al. Some new prospects in the understanding of the molecular basis of the pathogenesis of stroke[J]. Exp Brain Res, 2007, 182(1): 1-10
- [12] Sanderson TH, Reynolds CA, Kumar R, et al. Molecular mechanisms of ischemia-reperfusion injury in brain: pivotal role of the mitochondrial membrane potential in reactive oxygen species generation [J]. Mol Neurobiol, 2013, 47(1): 9-23
- [13] Newington JT, Rappon T, Albers S, et al. Overexpression of pyruvate dehydrogenase kinase 1 and lactate dehydrogenase A in nerve cells confers resistance to amyloid beta and other toxins by decreasing mitochondrial respiration and reactive oxygen species production [J]. J Biol Chem, 2012, 287(44): 37245-37258
- [14] Granger DN, Kvietys PR. Reperfusion injury and reactive oxygen species: The evolution of a concept[J]. Redox Biol, 2015, 6: 524-551
- [15] Cojocaru IM, Cojocaru M, Sapira V, et al. Evaluation of oxidative stress in patients with acute ischemic stroke [J]. Rom J Intern Med, 2013, 51(2): 97-106
- [16] Li Mao, Liao Yin-juan, Hou Guang-han, et al. Monosialotetrahexosylganglioside protect cerebral ischemia/reperfusion injury through upregulating the expression of tyrosine hydroxylase by inhibiting lipid peroxidation[J]. Biomed Pharmacother, 2016, 84: 1923-1929
- [17] Ikeda T, Takahashi T, Tsujita M, et al. Effects of AldA-1, an Aldehyde Dehydrogenase-2 Agonist, on Hypoglycemic Neuronal Death [J]. PLoS One, 2015, 10(6): e0128844
- [18] Chen Li-fan, Tian Yu-feng, Lin Cheng-hsien, et al. Repetitive hyperbaric oxygen therapy provides better effects on brain inflammation and oxidative damage in rats with focal cerebral ischemia[J]. J Formos Med Assoc, 2014, 113(9): 620-628
- [19] Zhao Hai-ping, Wang Rong-liang, Tao Zhen, et al. Ischemic postconditioning relieves cerebral ischemia and reperfusion injury through activating T-LAK cell-originated protein kinase/protein kinase B pathway in rats[J]. Stroke, 2014, 45(8): 2417-2424
- [20] Fukuyama N, Takizawa S, Ishida H, et al. Peroxynitrite formation in focal cerebral ischemia-reperfusion in rats occurs predominantly in the periinfarct region [J]. J Cereb Blood Flow Metab, 1998, 18(2):

- 123-129
- [21] Yang Wen-jie, Chen Xiang, Pan Jie, et al. Malibatol A protects against brain injury through reversing mitochondrial dysfunction in experimental stroke[J]. *Neurochem Int*, 2015, 80: 33-40
- [22] Jia Dong, Han Bin, Yang Shao-wei, et al. Anemonin alleviates nerve injury after cerebral ischemia and reperfusion (i/r) in rats by improving antioxidant activities and inhibiting apoptosis pathway [J]. *J Mol Neurosci*, 2014, 53(2): 271-279
- [23] Shin MJ, Kim DW, Jo HS, et al. Tat-PRAS40 prevent hippocampal HT-22 cell death and oxidative stress induced animal brain ischemic insults[J]. *Free Radic Biol Med*, 2016, 97: 250-262
- [24] Zhao Jun-jun, Yu Shu-qing, Zheng Yan, et al. Oxidative Modification and Its Implications for the Neurodegeneration of Parkinson's Disease [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(2): 1404-1418
- [25] Hsieh YW, Lin KC, Korivi M, et al. The reliability and predictive ability of a biomarker of oxidative DNA damage on functional outcomes after stroke rehabilitation [J]. *Int J Mol Sci*, 2014, 15(4): 6504-6516
- [26] Sohn EJ, Shin MJ, Eum WS, et al. Tat-NOL3 protects against hippocampal neuronal cell death induced by oxidative stress through the regulation of apoptotic pathways [J]. *Int J Mol Med*, 2016, 38(1): 225-235
- [27] Zhang Xia, Ha Tuan-zhu, Lu Chen, et al. Poly (I:C) therapy decreases cerebral ischaemia/reperfusion injury via TLR3-mediated prevention of Fas/FADD interaction[J]. *J Cell Mol Med*, 2015, 19(3): 555-565
- [28] Li Wen-lu, Chen Zhi-gang, Yan Min, et al. The protective role of isorhamnetin on human brain microvascular endothelial cells from cytotoxicity induced by methylglyoxal and oxygen-glucose deprivation[J]. *J Neurochem*, 2016, 136(3): 651-659
- [29] Vahidinia Z, Alipour N, Atlasi MA, et al. Gonadal steroids block the calpain-1-dependent intrinsic pathway of apoptosis in an experimental rat stroke model[J]. *Neurol Res*, 2017, 39(1): 54-64
- [30] Forman HJ, Maiorino M, Ursini F. Signaling functions of reactive oxygen species[J]. *Biochemistry*, 2010, 49(5): 835-842
- [31] Gao You-guang, Chen Ting, Lei Xiang-hui, et al. Neuroprotective effects of polydatin against mitochondrial-dependent apoptosis in the rat cerebral cortex following ischemia/reperfusion injury[J]. *Mol Med Rep*, 2016, 14(6): 5481-5488
- [32] Vahidinia Z, Alipour N, Atlasi MA, et al. Gonadal steroids block the calpain-1-dependent intrinsic pathway of apoptosis in an experimental rat stroke model[J]. *Neurol Res*, 2017, 39(1): 54-64
- [33] Badawi Y, Ramamoorthy P, Shi H. Hypoxia-inducible factor 1 protects hypoxic astrocytes against glutamate toxicity [J]. *ASN Neuro*, 2012, 4(4): 231-241
- [34] Ryou MG, Choudhury GR, Li W, et al. Methylene blue-induced neuronal protective mechanism against hypoxia-reoxygenation stress[J]. *Neuroscience*, 2015, 301: 193-203
- [35] Lawrence MS, Sun GH, Kunis DM, et al. Overexpression of the glucose transporter gene with a herpes simplex viral vector protects striatal neurons against stroke [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 1996, 16(2): 181-185
- [36] Guzy RD, Hoyos B, Robin E, et al. Mitochondrial complex III is required for hypoxia-induced ROS production and cellular oxygen sensing[J]. *Cell Metab*, 2005, 1(6): 401-408
- [37] Mansfield KD, Guzy RD, Pan Y, et al. Mitochondrial dysfunction resulting from loss of cytochrome c impairs cellular oxygen sensing and hypoxic HIF- α activation[J]. *Cell Metab*, 2005, 1(6): 393-399
- [38] Chang Sheng-jun, Jiang Xiang-ning, Zhao Chong, et al. Exogenous low dose hydrogen peroxide increases hypoxia-inducible factor-1 α protein expression and induces preconditioning protection against ischemia in primary cortical neurons [J]. *Neurosci Lett*, 2008, 441(1): 134-138
- [39] Liu Jing, Narasimhan P, Yu Feng-shan, et al. Neuroprotection by hypoxic preconditioning involves oxidative stress-mediated expression of hypoxia-inducible factor and erythropoietin[J]. *Stroke*, 2005, 36(6): 1264-1269
- [40] Guo Shu-hong, Bragina O, Xu Yue-xian, et al. Glucose up-regulates HIF-1 α expression in primary cortical neurons in response to hypoxia through maintaining cellular redox status [J]. *J Neurochem*, 2008, 105(5): 1849-1860
- [41] Turillazzi E, Neri M, Cerretani D, et al. Lipid peroxidation and apoptotic response in rat brain areas induced by long-term administration of nandrolone: the mutual crosstalk between ROS and NF- κ B [J]. *J Cell Mol Med*, 2016, 20(4): 601-602
- [42] Mo Shi-jing, Hong Jun, Chen Xu, et al. VEGF-mediated NF- κ B activation protects PC12 cells from damage induced by hypoxia[J]. *Neurosci Lett*, 2016, 610: 54-59
- [43] Yang CM, Lin CC, Hsieh HL. High-Glucose-Derived Oxidative Stress-Dependent Heme Oxygenase-1 Expression from Astrocytes Contributes to the Neuronal Apoptosis [J]. *Mol Neurobiol*, 2017, 54(1): 470-483
- [44] Yu JS, Cui W. Proliferation, survival and metabolism: the role of PI3K/AKT/mTOR signalling in pluripotency and cell fate determination[J]. *Development*, 2016, 143(17): 3050-3060
- [45] Zhu Hui-li, Zhang Yu-sheng, Shi Zhong-shan, et al. The Neuroprotection of Liraglutide Against Ischaemia-induced Apoptosis through the Activation of the PI3K/AKT and MAPK Pathways [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 26859
- [46] Wang Jin-ju, Chen Yu-sen, Yang Yi, et al. Endothelial progenitor cells and neural progenitor cells synergistically protect cerebral endothelial cells from Hypoxia/reoxygenation-induced injury via activating the PI3K/Akt pathway[J]. *Mol Brain*, 2016, 9: 12
- [47] Cheng Du, Zhang Lei-liang, Yang Guang-bo, et al. Hepatitis C virus NS5A drives a PTEN-PI3K/Akt feedback loop to support cell survival [J]. *Liver Int*, 2015, 35(6): 1682-1691
- [48] Gebremedhin D, Terashvili M, Wickramasekera N, et al. Redox signaling via oxidative inactivation of PTEN modulates pressure-dependent myogenic tone in rat middle cerebral arteries [J]. *PLoS One*, 2013, 8(7): e68498
- [49] Gnocchi D, Leoni S, Incerpi S, et al. 3,5,3'-triiodothyronine (T3) stimulates cell proliferation through the activation of the PI3K/Akt pathway and reactive oxygen species (ROS) production in chick embryo hepatocytes[J]. *Steroids*, 2012, 77(6): 589-595
- [50] Jayasooriya RG, Lee KT, Choi YH, et al. Antagonistic effects of acetylshikonin on LPS-induced NO and PGE2 production in BV2 microglial cells via inhibition of ROS/PI3K/Akt-mediated NF- κ B sig-

- naling and activation of Nrf2-dependent HO-1 [J]. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*, 2015, 51(9): 975-986
- [51] Guo Cai-xia, Yang Man, Li Jing, et al. Amorphous silica nanoparticles trigger vascular endothelial cell injury through apoptosis and autophagy via reactive oxygen species-mediated MAPK/Bcl-2 and PI3K/Akt/mTOR signaling [J]. *Int J Nanomedicine*, 2016, 11: 5257-5276
- [52] Yu SM, Kim SJ. Thymoquinone-induced reactive oxygen species causes apoptosis of chondrocytes via PI3K/Akt and p38kinase pathway [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2013, 238(7): 811-820
- [53] Sun Yu, Liu Wen-zhou, Liu Tao, et al. Signaling pathway of MAPK/ERK in cell proliferation, differentiation, migration, senescence and apoptosis [J]. *J Recept Signal Transduct Res*, 2015, 35(6): 600-604
- [54] Dal-Cim T, Ludka FK, Martins WC, et al. Guanosine controls inflammatory pathways to afford neuroprotection of hippocampal slices under oxygen and glucose deprivation conditions [J]. *J Neurochem*, 2013, 126(4): 437-450
- [55] Su Li, Du Hong-li, Dong Xin, et al. Raf kinase inhibitor protein regulates oxygen-glucose deprivation-induced PC12 cells apoptosis through the NF-kappaB and ERK pathways [J]. *J Clin Biochem Nutr*, 2016, 59(2): 86-92
- [56] Liu Quan-feng, Jeong H, Lee JH, et al. Coriandrum sativum Suppresses Abeta42-Induced ROS Increases, Glial Cell Proliferation, and ERK Activation[J]. *Am J Chin Med*, 2016, 44(7): 1325-1347
- [57] Zhuo Xiao-jun, Xie Lu, Shi FR, et al. The benefits of respective and combined use of green tea polyphenols and ERK inhibitor on the survival and neurologic outcomes in cardiac arrest rats induced by ventricular fibrillation[J]. *Am J Emerg Med*, 2016, 34(3): 570-575
- [58] Zhao Zhong-yan, Luan Ping, Huang Shi-xiong, et al. Edaravone protects HT22 neurons from H₂O₂-induced apoptosis by inhibiting the MAPK signaling pathway [J]. *CNS Neurosci Ther*, 2013, 19 (3): 163-169
- [59] Correia SC, Santos RX, Cardoso SM, et al. Cyanide preconditioning protects brain endothelial and NT2 neuron-like cells against glucotoxicity: role of mitochondrial reactive oxygen species and HIF-1α [J]. *Neurobiol Dis*, 2012, 45(1): 206-218
- [60] Su Chang, Sun Fen, Cunningham RL, et al. ERK5/KLF4 signaling as a common mediator of the neuroprotective effects of both nerve growth factor and hydrogen peroxide preconditioning[J]. *Age (Dordr)*, 2014, 36(4): 9685
- [61] Trachootham D, Lu W, Ogasawara MA, et al. Redox regulation of cell survival[J]. *Antioxid Redox Signal*, 2008, 10(8): 1343-1374

(上接第 1000 页)

- [35] Svensson M, Weigelt D. TRPA1 receptor antagonist [P]. EP, US 8859556 B2, 2014
- [36] Li Q, Cheng L, Liu C M, et al. Inhibiting the transient receptor potential A1 ion channel[P]. WO, US9394308, 2016
- [37] Mukhopadhyay I, Kulkarni A, Aranake S, et al. Transient receptor potential ankyrin 1 receptor activation in vitro and in vivo by pro-tussive agents: GRC 17536 as a promising anti-tussive therapeutic[J]. *Plos One*, 2014, 9(5): e97005
- [38] Defalco J, Steiger D, Gustafson A, et al. Oxime derivatives related to AP18: Agonists and antagonists of the TRPA1 receptor[J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2010, 20(1): 276-279
- [39] Chen J, Joshi S K, Didomenico S, et al. Selective blockade of TRPA1 channel attenuates pathological pain without altering noxious cold sensation or body temperature regulation[J]. *Pain*, 2011, 152(5): 1165
- [40] Brotherton-Pleiss C E, Chen Z, Erickson S D, et al. Substituted phenylcarbamate compounds[P]. US9353096, 2016
- [41] Copeland K W, Boezio A A, Cheung E, et al. Development of novel azabenzofuran TRPA1 antagonists as in vivo tools [J]. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 2014, 24(15): 3464
- [42] Lee K J, Wang W, Padaki R, et al. Mouse monoclonal antibodies to TRPA1 act as antagonists of multiple modes of channel activation[J]. *Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics*, 2014, 350(2): 223-231
- [43] Story G M, Peier A M, Reeve A J, et al. ANKTM1, a TRP-like channel expressed in nociceptive neurons, is activated by cold temperatures[J]. *Cell*, 2003, 112(6): 819-829