DOI: 10.16016/j.1000-5404.202106061

AP39 通过上调 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬改善尿毒症大鼠心肌纤维化

宋 熊[1],肖 婷[2],刘 达[1],聂连桂[1],刘茂军[1],王 森[1],赵俊雄[1],汪刘洋[1],刘 星[1],江振涛[3],杨 军[1]
421001 湖南 衡阳,南华大学附属第一医院心血管内科[1]; 518110 广东 深圳,深圳市龙华区中心医院心血管内科[2]; 421001 湖南 衡阳,南华大学附属南华医院心血管内科[3]

[摘要] **目的** 阐明 AP39 对尿毒症大鼠心肌纤维化的改善作用及机制。**方法** 取 40 只 SD 雄性大鼠按随机数字表法分成 4 组($n=10$):假手术组(Sham 组)、尿毒症心肌病模型组(UCM 组)、AP39 干预组(UCM+AP39)组及 AP39 对照组。除 Sham 组及 AP39 对照组外,另外两组大鼠采用 5/6 肾切除的经典手术方法建立尿毒症心肌病大鼠模型。术后 UCM+AP39 组及 AP39 对照组大鼠予以 AP39(100 nmol/kg 1 次/d)腹腔注射,Sham 组及 UCM 组大鼠予以同等体积生理盐水腹腔注射。超声成像平台检测各组大鼠左心室缩短分数(left ventricular fractional shortening, LVFS)的变化,Masson 染色观察各组大鼠心肌间质组织中胶原沉积量,免疫组化观察各组大鼠心肌组织中胶原蛋白Ⅲ(Collagen Ⅲ, Col Ⅲ)蛋白量的表达,Western blot 检测 PINK1、Parkin、Atg5、LC3Ⅱ/Ⅰ、Beclin1 和 P62(也被称为 SQSTM1)等蛋白在各组大鼠心肌组织的表达水平。**结果** 与 Sham 组相比,UCM 组中大鼠的 LVFS 下降,心肌胶原沉积量明显增多($P<0.05$),Col Ⅲ表达增多($P<0.05$),心肌组织排列紊乱,并且 PINK1、Parkin、Atg5、LC3Ⅱ/Ⅰ、Beclin1 等蛋白的表达量明显下调($P<0.05$),P62 蛋白表达明显上调($P<0.05$);而与 UCM 组相比,UCM+AP39 组大鼠的 LVFS 升高,心肌胶原沉积量明显减少($P<0.05$),Col Ⅲ表达减少($P<0.05$),并且 PINK1、Parkin、Atg5、LC3Ⅱ/Ⅰ和 Beclin1 蛋白的表达量明显上调,P62 蛋白表达明显下调($P<0.05$)。**结论** AP39 能改善尿毒症大鼠心肌纤维化,其机制可能与上调 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬有关。

[关键词] AP39;心肌纤维化;尿毒症心肌病;线粒体自噬;PINK1/Parkin 通路
[中图法分类号] R542.23; R692.5; R966 [文献标志码] A

AP39 ameliorates uremic myocardial fibrosis in rats by upregulating PINK1/Parkin-mediated mitochondrial autophagy

SONG Xiong[1], XIAO Ting[2], LIU Da[1], NIE Liangui[1], LIU Maojun[1], WANG Sen[1], ZHAO Junxiong[1], WANG Liuyang[1], LIU Xing[1], JIANG Zhentao[3], YANG Jun[1] [1]Department of Cardiology, First Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang, Hunan Province, 421001; [2]Department of Cardiology, Shenzhen Longhua District Central Hospital, Shenzhen, Guangdong Province, 518110; [3]Department of Cardiology, Nanhua Hospital Affiliated to University of South China, Hengyang, Hunan Province, 421001, China

[**Abstract**] **Objective** To elucidate the ameliorative effect of AP39 on myocardial fibrosis in uremic rats and investigate its possible mechanism. **Methods** Forty SD male rats were randomly and equally divided into 4 groups: Sham group, uremic cardiomyopathy group (UCM group), AP39 intervention group (UCM+AP39 group) and AP39 control group ($n=10$). The rats in the UCM group and the UCM+AP39 group were treated with classical operation of 5/6 nephrectomy to establish the uremic cardiomyopathy model, and then the rats in the latter 2 groups were given intraperitoneal injection of AP39 (100 nmol/kg, once a day) for 4 weeks, while those of the Sham and model groups were intraperitoneally injected with the same amount of normal saline. Ultrasonic imaging platform was used to detect the value of left ventricular fractional shortening

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81870230);深圳市龙华区医疗卫生机构 2020 年区级科研项目(2020035);湖南省自然科学基金青年项目(2020JJ5505)
[通信作者] 杨 军,E-mail: yangjunincn@163.com

1000-5404/Copyright © 2021, 陆军军医大学(第三军医大学)。这篇开放获取文章遵循 CC BY 许可协议( )

(LVFS) of rats in each group. Masson staining and immunohistochemical staining were performed respectively to observe collagen deposition and the expression of Collagen Ⅲ protein in the myocardial interstitial tissue of each group. Western blotting was adopted to determine the expression levels of PETN-induced putative kinase-1 (PINK1), Parkinson's disease protein (Parkin), autophagy-related gene-5 (Atg5), microtubule-associated protein-1 light chain-3 Ⅱ/Ⅰ (LCEⅡ/Ⅰ), Beclin1 and P62 (also called sequestosome, SQSTM1) in the myocardial tissue of each group. **Results** As compared with those in the Sham group, the rats in the UCM group had significantly decreased LVFS, increased collagen deposition content and Collagen Ⅲ protein level ($P<0.05$), and disordered arrangement in myocardial tissue. The expression levels of PINK1, Parkin, Atg5, LC3Ⅱ/Ⅰ and Beclin1 were significantly reduced, while the level of P62 was enhanced in the UCM group ($P<0.05$). By contrast, the rats in the UCM+AP39 group had higher LVFS, lower collagen deposition content and Collagen Ⅲ protein level than those in the UCM group ($P<0.05$), the expression levels of PINK1, Parkin, Atg5, LC3 Ⅱ/Ⅰ and Beclin1 were remarkably up-regulated, and the level of P62 down-regulated ($P<0.05$). **Conclusion** AP39 can improve uremic myocardial fibrosis in rats, which may be related to the up-regulation of PINK1/Parkin-mediated mitophagy.

[**Key words**] AP39; myocardial fibrosis; uremic cardiomyopathy; mitophagy; PINK1/Parkin pathway

Supported by the General Program of National Natural Science Foundation of China (8187230), the District-Level Scientific Research Project of Medical and Health Institutions in Longhua District, Shenzhen (2020035), and the Youth Project of Natural Science Foundation of Hunan Province (2020JJ5505).
Corresponding author: YANG Jun, E-mail: yangjunincn@163.com

尿毒症心肌病是尿毒症患者晚期由于高容量负荷、尿毒症毒素及内环境紊乱等造成的特异性心肌病病变。其典型特征是慢性肾脏病患者出现心脏舒张功能障碍、左心室肥厚和心肌纤维化,可明显增加终末期肾衰患者的病死率,其病理机制比较复杂,而心肌纤维化是其中关键环节[1-2]。心肌纤维化指的是心肌组织中胶原纤维沉积过多或成分发生改变,从而降低心室壁的顺应性最终可诱发心功能下降[3-4],已有研究发现改善心肌纤维化有助于改善心血管病预后[5-7];然而目前尚未发现抗心肌纤维化的针对性治疗策略。

硫化氢(H_2S)是一种新近被发现的内源性气体信号分子,近期研究表明其可通过抗炎、抗凋亡、抗氧化应激等对心血管系统有明确的保护作用[8]。而 AP39 [即 10-oxo-10-(4-(3-thioxo-3H-1,2-dithiol5yl))]是由 SZCZESNY 等[9]发明的一种靶向线粒体的稳定的 H_2S 供体,能在氧化应激状态下保护线粒体 DNA、线粒体氧化呼吸链的完整性和细胞活力,也能减轻高糖所导致的细胞毒性。有研究显示 AP39 可减轻缺血再灌注对心脏、肾脏和大脑的损伤,减轻其所致的线粒体 ROS 的产生[10];并能够延缓内皮细胞衰老[11],也能改善小鼠心脏移植后心肌纤维化[12];但 AP39 是否能延缓尿毒症所致的大鼠心肌纤维化尚不清楚。

线粒体自噬是一种选择性的自噬,其通过降解细胞内受损或衰老的线粒体维持线粒体稳态及细胞内环境稳态,对线粒体质量和数量的控制有着重要的意义[13]。有研究显示激活 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬可延缓糖尿病心肌纤维化[14],而且外源性 H_2S 供体硫氢化钠(sodinm hydrosnlfide, NaHS)能通过激活 PINK1/Parkin 所介导的线粒体自噬改善线粒体稳态,进一步改善高糖所致的大鼠主动脉内皮损伤[15]。前期本课题组也证实 NaHS 能改善尿毒症大鼠的心肌纤维化[16],但目前 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬是否参与尿毒症大鼠心肌纤维化发生机制尚不清楚。故本研究拟探讨线粒体靶向性 H_2S 供体 AP39 是否通过调控 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬延缓尿毒症大鼠心肌纤维化。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器

所有抗体购自 Proteintech 公司(美国),5×loading buffer、RIPA 裂解液购自上海碧云天生物技术有限公司,蛋白酶抑制剂、ECL 显影液购自沈阳万类生物科技有限公司,PVDF 膜购自 Millipore 公司(美国),AP39 购自 APExBIO 公司(美国)。恒温箱购自北京六一仪器厂,切片刀购自徕卡有限公司(Leica, 美国),切片机购自浙江金华益迪试验器材有限公司,包埋机购自常州中威电子仪器有限公司,精密 PH 计购自上海仪电科学仪器股份有限公司,显微镜购自中国厦门 Motic 实业集团有限公司,石蜡、中性树胶购自美国 Sigma 公司,Masson 染色试剂盒购自 Wellbio 公司(中国江苏)。

1.2 动物模型建立

8 周龄雄性 SD 大鼠 40 只(购自南华大学实验动物学部),饲养于 SPF 级环境,12 h 交替灯光环境和黑夜环境。根据文献尿毒性心肌病造模方法[17],5%水

合氯醛 0.06 mL/kg 腹腔注射入大鼠体内麻醉大鼠后,常规固定大鼠于手术操作台、备皮、消毒铺巾;首先取大鼠左侧腹部切口 1 cm 左右,逐层分离后取出左肾并结扎肾动、静脉,待整个肾脏颜色变成深紫色后表示肾脏已停止血供,此时切除左肾,然后常规缝合组织及皮肤,继续喂养。1 周后,同样进行上述操作结扎右肾上下两端各 1/3,待两端肾脏变成深紫色后将肾脏轻轻还纳入腹腔,缝合后继续饲养。

1.3 实验动物分组

大鼠按随机数字表法分成 4 组:假手术组(Sham 组,仅肾脏游离,不结扎及切除肾脏,术后腹腔注射同等体积的生理盐水)、UCM 组(尿毒症心肌病模型组,结扎及切除肾脏,仅保留 1/6 肾脏功能,术后腹腔注射同等体积的生理盐水)、UCM+AP39 组(模型组动物术后予以 100 nmol/kg·d AP39 腹腔注射[10, 18],1 次/d,共 4 周)、AP39 对照组(Sham 组大鼠予以 100 nmol/kg·d AP39 腹腔注射,1 次/d,共 4 周),每组 10 只。当 UCM+AP39 组大鼠和 AP39 组大鼠给予 AP39 腹腔注射时间满 4 周后,经 5%水合氯醛腹腔注射 0.06 mL/kg 麻醉大鼠后,完成超声检测,之后通过大静脉抽血进行血生化检测,最后摘除心脏,一部分甲醛固定后用于 Masson 染色及免疫组化检测,一部分直接冻存于-80 ℃冰箱用于 Western blot 检测。

1.4 血生化检测

处死大鼠前抽取血液后离心机离心(4 000 r/min,10 min),取上清,然后用全自动血清自动生物化学仪(Beck-man CX7,美国)检测血清肌酐值(Scr)和尿素氮(BUN)。

1.5 心脏超声检测

腹腔注射 AP39 大鼠治疗 4 周后,经 5%水合氯醛 0.06 mL/kg 腹腔注射麻醉大鼠,固定于检测台上,用脱毛膏涂抹胸部皮肤进行脱毛,采用 M 型超声检测左心室的运动情况并记录各组大鼠的左心室缩短分数(left ventricular fractional shortening, LVFS)值,评价各组大鼠的心功能变化。

1.6 Masson 染色

取甲醛固定的心室肌组织,浓度梯度酒精脱水,石蜡包埋、切片、脱蜡至水化,核染液染色后流动水冲洗,再次滴加浆染液染色,流动水冲洗,最后滴加复染液无水乙醇冲洗,再次梯度酒精脱水,待吹干、透明、封片后在 100 倍显微镜下观察并拍照,每个切片随机选 3 个视野并用 Image J 软件进行分析,计算组织胶原体积分数(collagen volume fraction, CVF)。

1.7 免疫组化检测

取上述石蜡包埋后脱蜡至水化,然后进行抗原修复,封闭,孵育胶原蛋白Ⅲ(Collagen Ⅲ, ColⅢ)一抗(1∶100)过夜(4 ℃),次日经漂洗后孵二抗、漂洗、显色,再次复染、返蓝、脱水,最后中性树胶封片并于 100 倍显微镜下观察。每个切片随机选取 3 个视野,用 Image J 图像分析软件对 Masson 染色图片及免疫组化进行分析,计算染色部分面积与整个视野面积的比值(IOD/area)。

1.8 Western blot 检测

从-80 ℃冰箱取出心脏组织待冰融化,称量 0.1 g 心肌组织后加入 900 μL RIPA 裂解液和 9 μL 蛋白酶抑制剂,于冰上充分研磨后离心取上清液,定量、煮沸。每次取 20 μg 蛋白样品上样、电泳、转膜、封闭后于 4 ℃孵育一抗(稀释比例 1∶1 000)过夜,次日 TBST 洗膜后孵育二抗(稀释比例 1∶5 000)1 h,再次漂洗 PVDF 膜后均匀洒上 ECL 显影液,于显影仪下显影,用 Image J 分析蛋白条带灰度值,以 GAPDH 为内参。

1.9 统计学方法

采用 SPSS 25.0 统计软件,数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,各组间总体比较采用单因素方差分析,各组间两两比较采用最小显著性差异分析法(LSD)。$P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠血生化指标的变化

如表 1 所示,与 Sham 组相比,UCM 组大鼠血液中的肌酐值和尿素氮水平明显升高($P<0.05$),而 UCM+AP39 组明显下降($P<0.05$),结果提示 AP39 可减轻尿毒症大鼠体内的毒素水平。

表 1 各组大鼠血生化结果比较($n=8$, mmol/L, $\bar{x}\pm s$)

组别	肌酐值	尿素氮
Sham 组	31.75±1.65	11.21±0.84
UCM 组	72.11±2.42[a]	19.62±1.23[a]
UCM+AP39 组	61.50±3.13[b]	14.65±1.28[b]
AP39 组	33.00±1.92	11.08±0.80

a: $P<0.05$,与 Sham 组比较;b: $P<0.05$,与 UCM 组比较

2.2 各组大鼠心功能的变化

如表 2 及图 1 所示,与 Sham 组相比,UCM 组大鼠的 LVFS 值明显下降($P<0.05$),而 UCM+AP39 组大鼠的 LVFS 值明显上升($P<0.05$),结果提示 AP39 可以改善尿毒症心肌病大鼠的心功能。

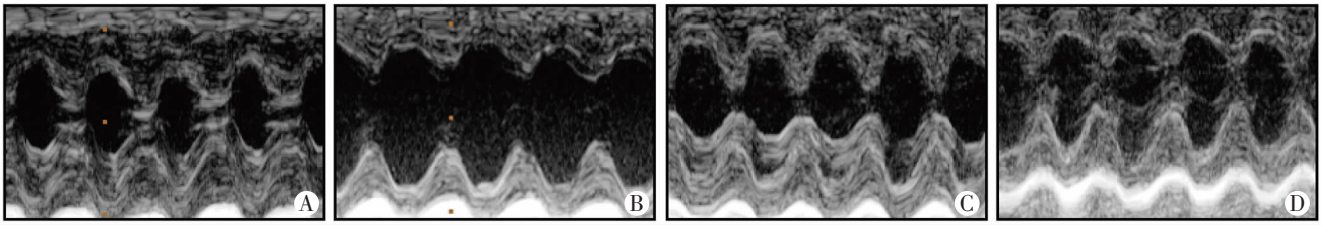
表 2 各组大鼠心功能比较($n=8$, %, $\bar{x}\pm s$)

组别	LVFS
Sham 组	49.25±3.51
UCM 组	41.70±2.45[a]
UCM+AP39 组	48.66±5.30[b]
AP39 组	48.43±3.92

a: $P<0.05$,与 Sham 组比较;b: $P<0.05$,与 UCM 组比较

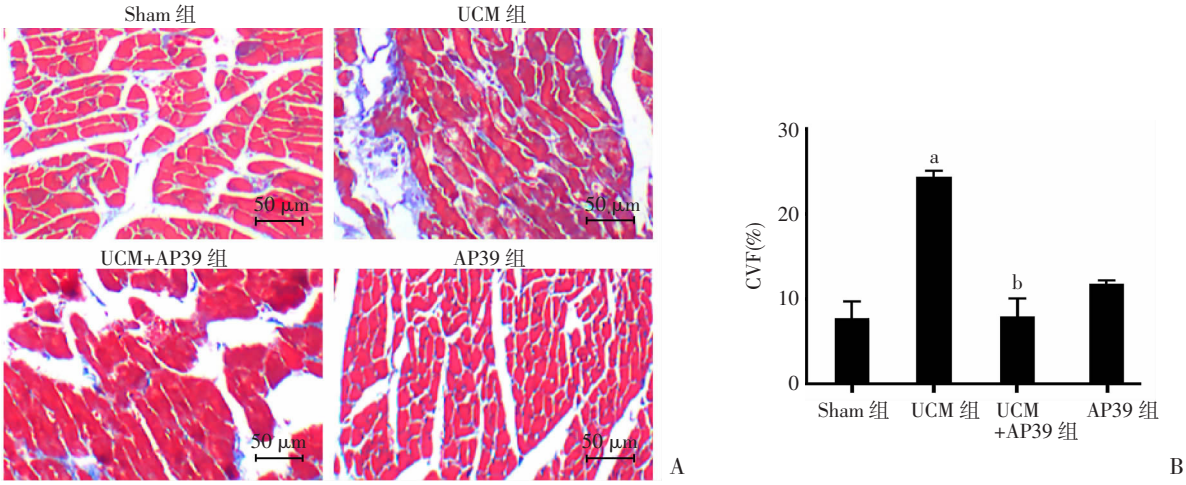
2.3　各组大鼠心肌间质组织胶原沉积及 Col Ⅲ的变化

如图 2、3 所示,与 Sham 组相比,UCM 组大鼠中心肌间质胶原纤维沉积量(蓝染部分)及 Col Ⅲ(棕色部分)量明显增多($P<0.05$),且心肌组织排列紊乱;而 UCM+AP39 组心肌间质胶原沉积量及 Col Ⅲ明显减少($P<0.05$),提示 AP39 可以改善尿毒症心肌病大鼠的心肌纤维化。



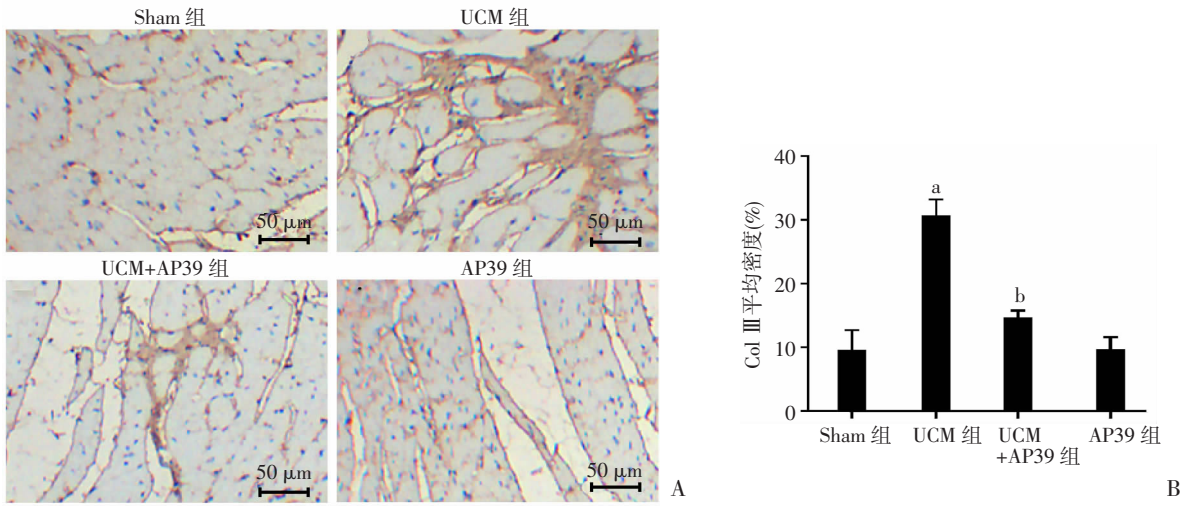
A: Sham 组;B:UCM 组;C:UCM+AP39 组;D:AP39 组

图 1　各组大鼠心功能超声图像表现



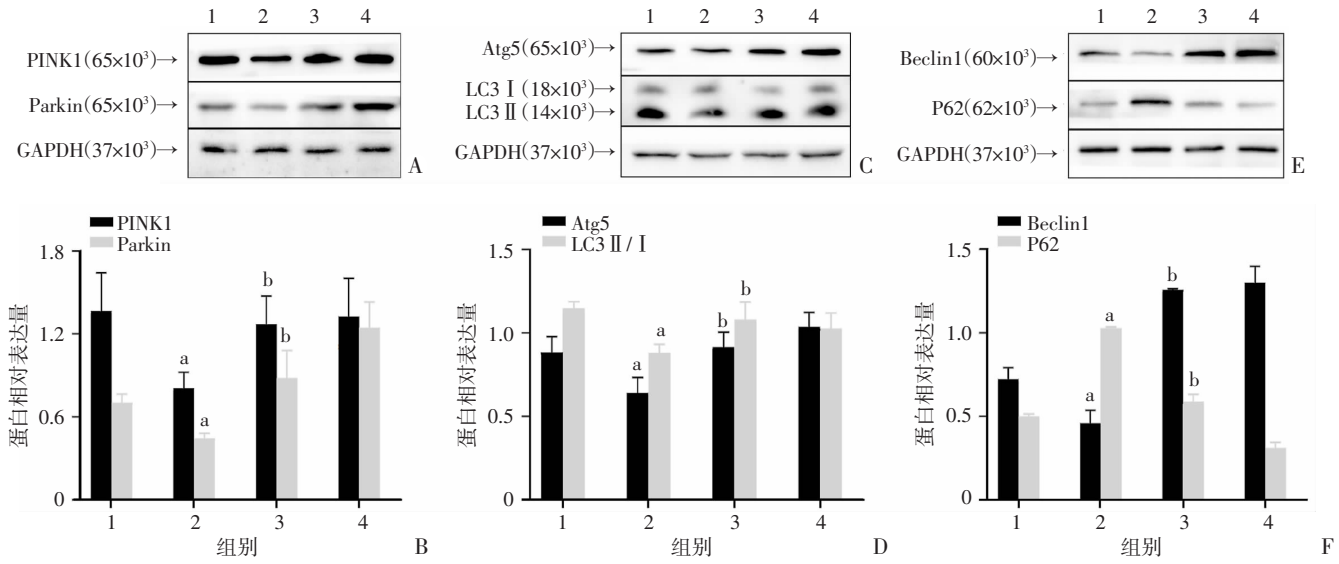
A: Masson 染色观察各组心肌纤维化;B:纤维化面积统计　a: $P<0.05$,与 Sham 组比较;b: $P<0.05$,与 UCM 组比较

图 2　AP39 对尿毒症心肌病大鼠心肌组织中胶原纤维沉积量的影响　($n=8$, $\bar{x}\pm s$)



A:免疫组化观察各组 Col Ⅲ沉积量的变化;B:各组 Col Ⅲ平均密度统计　a: $P<0.05$,与 Sham 组比较;b: $P<0.05$,与 UCM 组比较

图 3　AP39 对尿毒症心肌病大鼠心肌组织中 Col Ⅲ表达的影响　($n=8$, $\bar{x}\pm s$)



1：Sham 组；2：UCM 组；3：UCM+AP39 组；4：AP39 组　a：$P<0.05$，与 Sham 组比较；b：$P<0.05$，与 UCM 组比较

A、C、E：Western blot 检测心肌组织中蛋白的表达；B、D、E：半定量分析

图 4　AP39 对尿毒症心肌病大鼠心肌组织中线粒体自噬相关蛋白表达的影响　($n=8$, $\bar{x}\pm s$)

2.4　各组大鼠心肌组织中 PINK1、Parkin、Atg5、LC3Ⅱ/Ⅰ、Beclin1 和 P62 的蛋白表达水平

如图 4 所示，与 Sham 组相比，UCM 组大鼠心肌组织 PINK1、Parkin、Atg5、LC3Ⅱ/Ⅰ和 Beclin1 的蛋白表达水平明显下降($P<0.05$)，P62 蛋白表达水平明显上升($P<0.05$)。与 UCM 组大鼠相比，UCM+AP39 组大鼠心肌组织 PINK1、Parkin、Atg5、LC3Ⅱ/Ⅰ、Beclin1 的蛋白表达水平明显上调($P<0.05$)，P62 蛋白表达水平明显下调($P<0.05$)，结果提示 AP39 可以上调尿毒症大鼠心肌组织的线粒体自噬水平。

3　讨论

尿毒症心肌病是尿毒症晚期的主要并发症之一，也是尿毒症患者死亡的主要原因，其病理特征包括心肌间质纤维化、心肌细胞肥大变性和心室重塑等[19]。而在我们前期研究中已发现 H_2S 能有效改善高同型半胱酸血症所致的大鼠心肌纤维化[20]；也有研究表明 H_2S 缓释剂供体 GYY4137 能明显缓解高血压和血管紧张素Ⅱ(Ang Ⅱ)所致的大鼠心肌纤维化[21]。同样，本研究也发现 AP39 能改善尿毒症大鼠心肌纤维化。

在 5/6 肾脏切除所致尿毒症心肌病大鼠的模型中，发现线粒体活性氧(ROS)生成和促炎症因子水平明显增加，从而导致线粒体功能障碍。而 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬的激活有助于保护线粒体免受 ROS、炎症、Ca^{2+} 超载等的损伤；并且清除过度损伤的线粒体，维持线粒体的质量水平与功能的正常，从而维持细胞内的稳态，进一步改善心肌损伤和心肌纤维化[22-23]。也有研究发现 Ang Ⅱ所诱发小鼠心肌纤维化模型中，PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬水平明显上调[24]，并且 Beclin1 所依赖的自噬可改善脓毒血症所诱发的心肌功能障碍及纤维化，其机制可能是通过上调 PINK1/Parkin 所介导的线粒体自噬[25]。另一方面，PINK1 基因敲除小鼠中，发现线粒体凋亡数目增多，ROS 水平增加，从而线粒体功能损伤，进一步促进心肌细胞肥大和心肌纤维化[26]。本研究也发现尿毒症大鼠伴随明显的心肌纤维化，同时心肌组织中 PINK1/Parking 所介导的线粒体自噬水平明显下调，由此合理推导尿毒症心肌纤维化的发生与 PINK1/Parin 所介导的线粒体自噬明显相关，并且线粒体自噬很可能成为延缓尿毒症心肌病进展的干预靶点。

H_2S 作为一种新发现的内源性气体信号分子，具有很强的抗氧化能力，目前已发现其具有心肌保护作用，但机制并不十分清楚。有研究显示在 db/db 高糖高脂小鼠模型中，外源性 H_2S 供体 NaHS 能通过硫巯基化修饰 USP8 从而促进与 Parkin 蛋白的相互作用，上调线粒体自噬水平，进一步改善线粒体功能，减少 ROS 的产生，从而改善心肌细胞损伤，延缓糖尿病心肌病的进展[27]。并且 NaHS 能有效改善高糖高脂所导致的大鼠主动脉内皮细胞损伤，其机制是通过上调线粒体自噬水平，减少线粒体 ROS 水平从而减少细胞

凋亡[15]。本研究发现 AP39 同样可以改善尿毒症心肌纤维化,并且同时也可改善心功能。为进一步探讨其是否通过 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬改善尿毒症心肌纤维化,本研究观察各组大鼠心肌组织中线粒体自噬通路蛋白 PINK1、Parkin 和自噬相关蛋白 Atg5、LC3Ⅱ/Ⅰ、Beclin1 和 P62 的变化,结果发现 AP39 能明显上调尿毒症大鼠心肌组织中 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬水平。由此推测 AP39 改善尿毒症所致的心肌纤维化,其机制可能是通过激活 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬,进而维持并改善尿毒症损伤应激性下的心肌细胞稳态。

综上所述,本研究发现线粒体靶向性 H_2S 供体 AP39 能有效改善尿毒症大鼠心肌纤维化,其机制可能是通过上调 PINK1/Parkin 介导的线粒体自噬,该发现有望为尿毒症心肌病的治疗提供新的靶点和潜在药物成分。

参考文献:

[1] GARIKAPATI K, GOH D, KHANNA S, *et al*. Uraemic cardiomyopathy: a review of current literature[J]. Clin Med Insights Cardiol, 2021, 15: 1179546821998347. DOI: 10.1177/1179546821998347.

[2] 谢莹, 查艳, 林鑫, 等. 曲美他嗪联合左卡尼汀治疗尿毒症心肌病的疗效观察[J]. 中国临床新医学, 2019, 12(12): 1283-1286. DOI: 10.3969/j.issn.1674-3806.2019.12.07.
XIE Y, ZHA Y, LIN X, *et al*. Clinical effects of trimetazidine combined with L-carnitine on treatment of uremic cardiomyopathy[J]. Chin J New Clin Med, 2019, 12(12): 1283-1286. DOI: 10.3969/j.issn.1674-3806.2019.12.07.

[3] 张召才. 心肌纤维化的研究进展[J]. 临床心血管病杂志, 2004, 20(1): 58-60. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1439.2004.01.028.
ZHANG Z C. Research progress of myocardial fibrosis[J]. J Clin Cardiol, 2004, 20(1): 58-60. DOI: 10.3969/j.issn.1001-1439.2004.01.028.

[4] MEAGHER P B, LEE X A, LEE J, *et al*. Cardiac fibrosis: key role of integrins in cardiac homeostasis and remodeling[J]. Cells, 2021, 10(4): 770. DOI: 10.3390/cells10040770.

[5] CHEN L, WU Y T, GU X Y, *et al*. Magnolol, a natural aldehyde dehydrogenase-2 agonist, inhibits the proliferation and collagen synthesis of cardiac fibroblasts[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2021, 43: 128045. DOI: 10.1016/j.bmcl.2021.128045.

[6] YUN W J, QIAN L, YUAN R Q, *et al*. Periplocymarin protects against myocardial fibrosis induced by β-adrenergic activation in mice[J]. Biomedecine Pharmacother, 2021, 139: 111562. DOI: 10.1016/j.biopha.2021.111562.

[7] LI Y L, LIU M J, SONG X, *et al*. Exogenous hydrogen sulfide ameliorates diabetic myocardial fibrosis by inhibiting cell aging through SIRT6/AMPK autophagy[J]. Front Pharmacol, 2020, 11: 1150. DOI: 10.3389/fphar.2020.01150.

[8] 徐明星, 刘文秀, 梁雨亭, 等. 硫化氢在心血管疾病中的研究进展[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(21): 34-38. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.21.007.
XU M X, LIU W X, LIANG Y T, *et al*. Recent research of H2S and autophagy in cardiovascular diseases[J]. China J Mod Med, 2020, 30(21): 34-38. DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2020.21.007.

[9] SZCZESNY B, MÓDIS K, YANAGI K, *et al*. AP39, a novel mitochondria-targeted hydrogen sulfide donor, stimulates cellular bioenergetics, exerts cytoprotective effects and protects against the loss of mitochondrial DNA integrity in oxidatively stressed endothelial cells in vitro[J]. Nitric Oxide, 2014, 41: 120-130. DOI: 10.1016/j.niox.2014.04.008.

[10] KARWI Q G, BORNBAUM J, BOENGLER K, *et al*. AP39, a mitochondria-targeting hydrogen sulfide (H_2S) donor, protects against myocardial reperfusion injury independently of salvage kinase signalling[J]. Br J Pharmacol, 2017, 174(4): 287-301. DOI: 10.1111/bph.13688.

[11] LATORRE E, TORREGROSSA R, WOOD M E, *et al*. Mitochondria-targeted hydrogen sulfide attenuates endothelial senescence by selective induction of splicing factors HNRNPD and SRSF2[J]. Aging (Albany NY), 2018, 10(7): 1666-1681. DOI: 10.18632/aging.101500.

[12] ZHU C L, SU Y L, JURIASINGANI S, *et al*. Supplementing preservation solution with mitochondria-targeted H_2S donor AP39 protects cardiac grafts from prolonged cold ischemia-reperfusion injury in heart transplantation[J]. Am J Transplant, 2019, 19(11): 3139-3148. DOI: 10.1111/ajt.15539.

[13] 张妍, 刘昉. 线粒体动力学和线粒体自噬与心血管疾病的研究进展[J]. 中国心血管病研究, 2021(2): 169-174. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5301.2021.02.015.
ZHANG Y, LIU F. Relation of mitochondrial dynamics and mitochondrial autophagy with cardiovascular disease[J]. Chin J Cardiovasc Res, 2021(2): 169-174. DOI: 10.3969/j.issn.1672-5301.2021.02.015.

[14] YU W J, GAO B L, LI N, *et al*. Sirt3 deficiency exacerbates diabetic cardiac dysfunction: Role of Foxo3A-Parkin-mediated mitophagy[J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2017, 1863(8): 1973-1983. DOI: 10.1016/j.bba-

dis.2016.10.021.

[15] LIU N, WU J C, ZHANG L X, *et al*. Hydrogen Sulphide modulating mitochondrial morphology to promote mitophagy in endothelial cells under high-glucose and high-palmitate [J]. J Cell Mol Med, 2017, 21(12): 3190-3203. DOI: 10.1111/jcmm.13223.

[16] 梁彪. 硫化氢调控 JAK2/STAT3 通路抑制细胞凋亡改善尿毒症大鼠心肌纤维化[D]. 衡阳: 南华大学, 2018.
LIANG B. Hydrogen sulfide alleviates myocardial fibrosis in rats with uremia through the inhibition of apoptosis by regulating JAK2/STAT3 signaling pathway[D]. Hengyang: University of South China, 2018.

[17] ZHAO G, ZHAO H, TU L, *et al*. Effects and mechanism of irbesartan on tubulointerstitial fibrosis in 5/6 nephrectomized rats[J]. Huazhong Keji Daxue Xuebao Yixue Yingdewen Ban, 2010, 30(1): 48-54. DOI: 10.1007/s11596-010-0109-1.

[18] WEPLER M, MERZ T, WACHTER U, *et al*. The mitochondria-targeted H_2S-donor AP39 in a murine model of combined hemorrhagic shock and blunt chest trauma[J]. Shock, 2019, 52(2): 230-239. DOI: 10.1097/shk.0000000000001210.

[19] 蒲玲. 尿毒症心肌病的诊断与治疗研究进展[J]. 疑难病杂志, 2020, 19(3): 302-306. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.03.020.
PU L. Research progress in diagnosis and treatment of uremic cardiomyopathy[J]. Chin J Difficult Complicat Cases, 2020, 19(3): 302-306. DOI: 10.3969/j.issn.1671-6450.2020.03.020.

[20] 易嘉莉, 聂连桂, 李亚灵, 等. 外源性硫化氢调节 TGF-β1/smad7 信号通路改善高同型半胱氨酸血症所致的大鼠心肌纤维化[J]. 重庆医科大学学报, 2021, 46(2): 151-155. DOI: 10.13406/j.cnki.cyxb.002569.
YI J L, NIE L G, LI Y L, *et al*. Exogenous hydrogen sulfide alleviates hyperhomocysteinemia-induced myocardial fibrosis in rats by regulating TGF-β1/Smad7 signaling pathway[J]. J Chongqing Med Univ, 2021, 46(2): 151-155. DOI: 10.13406/j.cnki.cyxb.002569.

[21] MENG G L, ZHU J B, XIAO Y J, *et al*. Hydrogen sulfide donor GYY4137 protects against myocardial fibrosis[J]. Oxid Med Cell Longev, 2015, 2015: 691070. DOI: 10.1155/2015/691070.

[22] GORTAN CAPPELLARI G, SEMOLIC A, RUOZI G, *et al*. Unacylated ghrelin normalizes skeletal muscle oxidative stress and prevents muscle catabolism by enhancing tissue mitophagy in experimental chronic kidney disease[J]. FASEB J, 2017, 31(12): 5159-5171. DOI: 10.1096/fj.201700126r.

[23] HUO S Q, SHI W, MA H Y, *et al*. Alleviation of inflammation and oxidative stress in pressure overload-induced cardiac remodeling and heart failure via IL-6/STAT3 inhibition by raloxifene[J]. Oxid Med Cell Longev, 2021, 2021: 6699054. DOI: 10.1155/2021/6699054.

[24] FAN G, CHEN M J, WEI J. Involvement of phosphatase and tensin homolog-induced putative kinase 1/Parkin-mediated autophagy in angiotensin II-induced cardiac hypertrophy in C57BL/6 mice[J]. J Int Med Res, 2020, 48(5): 300060519896143. DOI: 10.1177/0300060519896143.

[25] SUN Y X, YAO X, ZHANG Q J, *et al*. Beclin-1-dependent autophagy protects the heart during Sepsis[J]. Circulation, 2018, 138(20): 2247-2262. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.117.032821.

[26] BILLIA F, HAUCK L, KONECNY F, *et al*. PTEN-inducible kinase 1 (PINK1)/Park6 is indispensable for normal heart function[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(23): 9572-9577. DOI: 10.1073/pnas.1106291108.

[27] SUN Y, LU F H, YU X J, *et al*. Exogenous H_2S promoted USP8 sulfhydration to regulate mitophagy in the hearts of db/db mice[J]. Aging Dis, 2020, 11(2): 269-285. DOI: 10.14336/AD.2019.0524.

(**收稿**:2021-06-07;**修回**:2021-07-11)

(编辑 张 维)