

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.20.001

· 基础研究 ·

ACEA 改善线粒体复合体活性诱导神经保护作用研究 *

牛 雯^{1,2} 白 洁¹ 田俊斌¹ 赵 静¹ 袁浩峥¹ 吕建瑞¹ 马 磊^{1Δ}

(1 西安交通大学第二附属医院麻醉科 陕西 西安 710004;

2 第四军医大学基础医学院生理与病理生理学教研室 陕西 西安 710032)

摘要 目的:探讨线粒体复合体活性对大麻素 CB1 受体选择性激动剂 ACEA 神经保护作用的影响。**方法:**将原代大鼠皮层神经元分为 4 组:对照组(Control)、氧糖剥夺组(OGD)、ACEA+OGD 组和溶剂(Vehicle)+OGD 组,分别检测各组神经元损伤程度和线粒体复合体 I、II 和 IV 的活性。为进一步证实线粒体复合体活性对 ACEA 神经保护的影响,将原代大鼠皮层神经元分为 5 组:对照组(Control)、氧糖剥夺组(OGD)、ACEA+OGD 组、线粒体复合体 I 抑制剂(rotenone)+ACEA+OGD 组和线粒体复合体 II 抑制剂(TTFA)+ACEA+OGD 组,检测和比较各组神经元细胞的损伤情况。**结果:**在 OGD 后 24 小时,ACEA 明显增加神经元活性,减少 LDH 释放,降低神经元凋亡率($P<0.05$),改善 OGD 损伤后线粒体复合体 I 和 IV 的活性($P<0.05$),而对复合体 II 的活性没有影响;rotenone 可以部分逆转 ACEA 的神经保护作用($P<0.05$),但 TTFA 却没有这一作用。**结论:**ACEA 可以诱导神经保护作用,其机制是与改善线粒体呼吸链复合体活性有关。

关键词:大麻素 CB1 受体;线粒体呼吸链复合体;氧糖剥夺;神经保护

中图分类号:R-33;Q244;R743 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)20-3801-04

Effect of Mitochondrial Complex Activity on ACEA-induced Neuroprotection*

NIU Wen^{1,2}, BAI Jie¹, TIAN Jun-bin¹, ZHAO Jing¹, YUAN Hao-zheng¹, LV Jian-rui¹, MA Lei^{1Δ}

(1 Department of Anesthesiology, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi, 710004, China;

2 Department of Physiology and Pathophysiology, Basic Medical College,

the Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of mitochondrial complex activity on cannabinoid CB1 receptor selective agonist ACEA-induced neuroprotection. **Methods:** The primary rat cortical neurons were divided into 4 groups: control group, OGD group, ACEA+OGD group and Vehicle+OGD group. The levels of neuron damage and the mitochondrial complex I, II and IV activity were detected respectively. To further confirm the effect of mitochondrial complex activity on ACEA neuroprotection, the primary rat cortical neurons were divided into 5 groups: Control group, OGD group, ACEA+OGD group, mitochondrial complex I inhibitor rotenone+ACEA+OGD group and mitochondrial complex II inhibitor TTFA+ACEA+OGD group. The levels of neuron damage were detected and compared between different groups. **Results:** ACEA increased the cell viability, attenuated the LDH release and reduced the apoptosis rate of neurons at 24 h after reoxygenation ($P<0.05$). Moreover, ACEA improved the activity of mitochondrial complex I and IV after OGD injury ($P<0.05$), but had no effect on the activity of mitochondrial complex II. The protective effects of ACEA were partially abolished by mitochondrial complex I inhibitor rotenone ($P<0.05$), while they were not reversed by mitochondrial complex II inhibitor TTFA. **Conclusion:** ACEA could induce neuroprotective effects by improving mitochondrial complex activity.

Key words: Cannabinoid CB1 receptor; Mitochondrial complex; Oxygen deprivation; Neuroprotection

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q244; R743 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)20-3801-04

前言

脑卒中已成为目前中国人群的第一位死因,严重危害国人健康^[1]。目前唯一得到认可并已进行临床应用药物是组织型纤

溶酶原激活剂(tissue plasminogen activator, tPA),但此药物仅使 4.5 %患者受益^[2,3],因此,探索脑卒中防治措施一直是神经保护领域研究的热点问题。

线粒体不仅是细胞的能量工厂,还参与氧化应激和程序性

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81601148)

作者简介:牛雯(1982-),女,博士后,主要研究方向:器官保护,E-mail: nwen82@126.com

Δ 通讯作者:马磊(1983-),男,硕士生导师,主治医师,主要研究方向:神经保护,E-mail: malei0214@126.com,电话:13519134023

(收稿日期:2018-05-08 接受日期:2018-05-31)

细胞死亡等生理活动^[4,5]。在脑缺血再灌注等病理过程中,细胞线粒体功能损伤主要表现为细胞线粒体呼吸链复合体活性降低,造成电子传递障碍,引起活性氧(Reactive oxygen species, ROS)大量产生,这是造成脑缺血再灌注损伤的主要因素^[6-8],但目前仍然缺少安全有效的干预线粒体复合体活性的方法。

最近研究显示内源性大麻素对线粒体功能具有显著的调节作用^[9]。然而,脑缺血再灌注损伤后,激活大麻素受体是否可以调节线粒体复合体活性仍不清楚。因此,本研究选择原代大鼠皮层神经元氧糖剥夺 (Oxygen-glucose deprivation, OGD)模型,应用大麻素 CB1 受体选择性激动剂 ACEA,观察其是否通过改善线粒体复合体活性进而产生神经保护作用,以期为临床提供新的干预靶点。

1 材料与方法

1.1 材料

新生 24 小时内 SD 大鼠由第四军医大学实验动物中心提供;CB1 受体激动剂 ACEA 和胎牛血清购自美国 Sigma-Aldrich 公司;高糖 DMEM 培养液、无糖厄尔平衡盐溶液、胰蛋白酶和阿糖胞苷购自美国 Invitrogen 公司;线粒体分离试剂盒购自德国 Qiagen 公司;CCK-8 试剂盒和 LDH 细胞毒性检测试剂盒购自中国碧云天公司;Annexin-V/PI 流式细胞凋亡染色试剂盒购自德国 Bender 公司;NADH 脱氢酶活性检测试剂盒和细胞色素 C 氧化酶活性检测试剂盒购自美国 GENMED 公司;琥珀酸脱氢酶活性检测试剂盒购自中国南京建成生物公司;活化 caspase-3 抗体购自美国 Cell Signaling 公司;GAPDH 抗体和 HRP 二抗购自中国康为世纪公司;酶标仪购自美国 Biotek 公司;流式细胞仪购自美国 BD 公司;蛋白质电泳转膜装置和凝胶成像化学发光仪购自美国 Bio-Rad 公司。

1.2 实验方案

1.2.1 ACEA 对 OGD 损伤的神经保护作用 将原代大鼠皮层神经元细胞分为 4 组:对照组 (Control)、氧糖剥夺组(OGD)、ACEA+OGD 组和溶剂(Vehicle)+OGD 组。Control 组细胞不收到任何处理;另外 3 组细胞均接受 OGD 处理 3 小时,在 OGD 处理结束复氧复糖的同时向后两组细胞中分别加入 1 μ M ACEA 和等量的溶剂 (5 % DMSO)。在复氧复糖后 24 小时, WST-8 法检测各组细胞活性,同时检测乳酸脱氢酶(Lactate dehydrogenase, LDH)释放量和流式细胞凋亡率。

1.2.2 ACEA 在调节 OGD 后线粒体呼吸链复合体活性中的作用 原代细胞分组及处理同前。在 OGD 损伤复氧复糖后 24 小时,分离提取每组神经元细胞线粒体,分别测定其复合体 I、II 和 IV 的活性。

1.2.3 线粒体呼吸链复合体在 ACEA 神经保护中的作用 为了证实线粒体呼吸链复合体在 ACEA 神经保护中的作用,原代大鼠皮层神经元细胞被分为 5 组:对照组(Control)、氧糖剥夺组 (OGD)、ACEA+OGD 组、复合体 I 抑制剂 (rotenone) +ACEA+OGD 组和复合体 II 抑制剂(TTFA)+ACEA+OGD 组。对照组不接受任何处理;另外 4 组细胞均接受 OGD 处理 3 小时后复氧复糖 24 小时;后 3 组细胞均在复氧复糖的同时给药,给药剂量为 ACEA 1 μ M,rotenone 和 TTFA 均为 10 μ M。在复氧复糖结束后, WST-8 法检测各组细胞活性,同时检测 LDH 释

放量和凋亡蛋白活化的 caspase-3 表达。

1.3 方法

1.3.1 原代大鼠皮层神经元培养 用 75 %酒精将新生 24 小时内 SD 大鼠全身消毒,断头取出完整脑组织,确保全程无菌,小心取出皮层组织,充分剪碎后胰蛋白酶溶液消化,过滤后收集细胞悬液,加入阿糖胞苷用来抑制除神经元外其他细胞的过度生长。

1.3.2 细胞线粒体提取 使用差速离心法分离提取线粒体,简述为用细胞裂解液重新悬浮裂解细胞,在 4 $^{\circ}$ C 分别使用 1000 $\times$ g 转速离心 10 分钟、6000 $\times$ g 转速离心 10 分钟和 14000 $\times$ g 转速离心 15 分钟,每次均去除上清液,最后一次离心后所得沉淀即为分离纯化的线粒体。

1.3.3 细胞活性分析 (WST-8 法) 将细胞接种在 96 孔板中,按照 CCK-8 细胞活性检测试剂盒说明书进行实验流程,最后使用酶标仪在 490 nm 波长处测量每组细胞吸光度值。

1.3.4 LDH 释放测定 将细胞接种在 24 孔板中,按照分组处理完各组细胞后,吸出每孔细胞上清液,按照试剂盒说明,测定细胞上清液中 LDH 含量。

1.3.5 流式细胞凋亡检测 分别将各组细胞在缓冲液中悬浮,调节其密度为 1×10^6 个 /mL。随后将 100 μ L 细胞缓冲液加入到配好的染色液(5 μ L 异硫氰酸荧光素标记的抗 annexin-V 抗体及 2 mL 碘化丙啶溶液)中混匀,用流式细胞仪检测细胞凋亡率。

1.3.6 线粒体呼吸链复合体 I、II 和 IV 活性分析 分别按照线粒体 NADH 脱氢酶(复合体 I)、琥珀酸脱氢酶(复合体 II)和细胞色素 C 氧化酶(复合体 IV)活性检测试剂盒说明书操作。

1.4 统计学分析

使用 SPSS13.0 软件对实验数据进行统计分析。每组统计数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm SD$)表示,多组间计量资料比较采用单因素方差分析,进一步两组间比较采用 SNK-q 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 ACEA 减轻神经元细胞 OGD 损伤

OGD 损伤复氧复糖后 24 小时,ACEA 处理明显改善神经元活性($P < 0.05$, $n=8$),减少 LDH 释放量($P < 0.05$, $n=6$),降低神经元凋亡率($P < 0.05$, $n=5$),而溶剂(Vehicle)却没有相应作用,见图 1。

2.2 ACEA 改善 OGD 损伤后线粒体呼吸链复合体活性

在 OGD 损伤复氧复糖后 24 小时,线粒体复合体 I、II 和 IV 的活性较对照组降低($P < 0.05$)。ACEA 可以改善复合体 I 和 IV 的活性($P < 0.05$),却没有增加复合体 II 的活性;溶剂(Vehicle)对复合体活性没有改善,见图 2。

2.3 线粒体复合体抑制剂对 ACEA 神经保护作用的影响

在 OGD 损伤复氧复糖后 24 小时,线粒体复合体 I 抑制剂 rotenone 可以部分逆转 ACEA 诱导的神经元活性增加($n=8$)、LDH 释放量($n=6$)和凋亡蛋白 Cleaved caspase-3(Cl. Cas-3)表达($n=4$)减少,但线粒体复合体 II 抑制剂 TTFA 却没有这一作用,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见图 3。

3 讨论

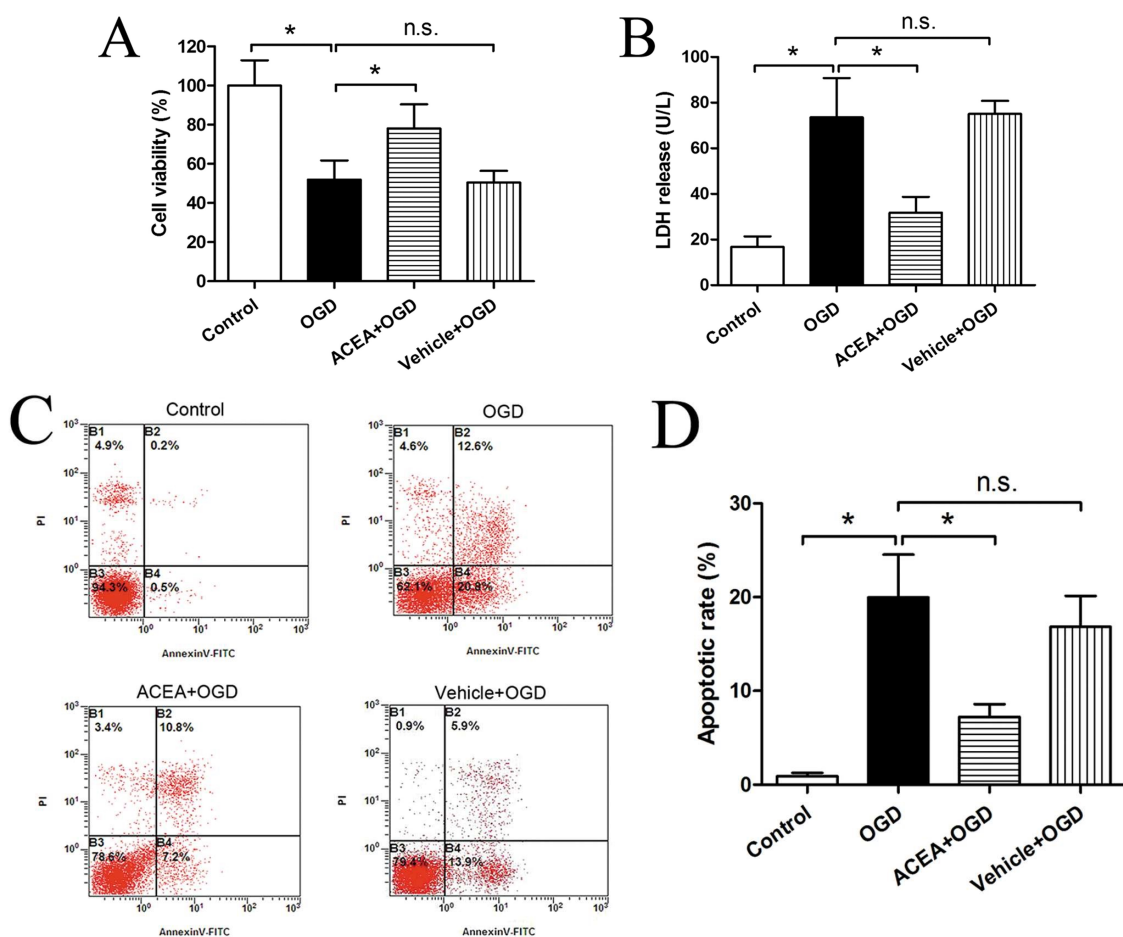


图1 ACEA 增加 OGD 损伤后神经元活性,降低 LDH 释放和神经元凋亡率

Fig.1 ACEA increased cell viability, attenuated LDH release and decreased apoptotic rate

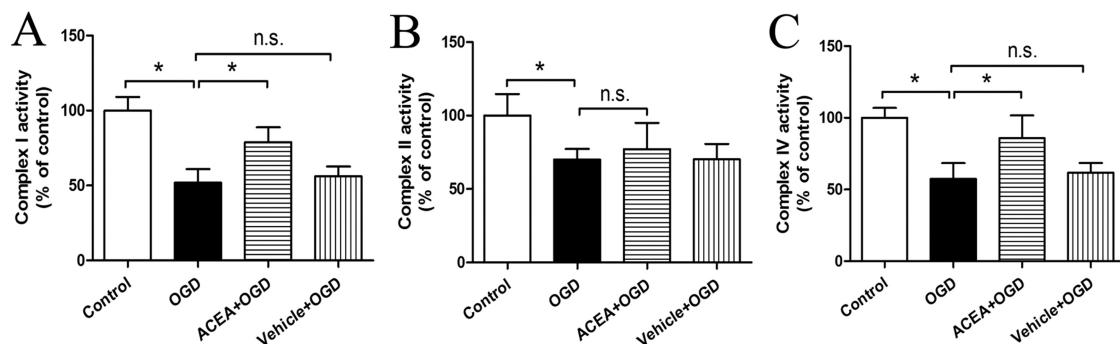
Note: Data were expressed as $\bar{x} \pm SD$, * $P < 0.05$.

图2 OGD 损伤复氧复糖后 24 小时线粒体复合体 I、II 和 IV 活性检测

Fig.2 Detection of neuronal mitochondrial complexes I, II and IV at 24 h after reoxygenation

Note: Data were expressed as $\bar{x} \pm SD$, n=6, * $P < 0.05$.

本研究所采用的 OGD 模型是一种在体外模拟脑缺血再灌注损伤的经典模型,已经被研究者广泛使用^[10,11]。我们在前期研究中探索了 OGD 神经元细胞损伤的最佳时间点,发现给予细胞剥夺氧和糖 3 小时,复氧复糖 24 小时可对神经元细胞造成有效损伤,能更好的模拟体外缺血损伤。本研究所使用的检测神经元损伤的方法包括 WAT-8 法测定神经元活性,比 MTT 法更灵敏、更易溶、更稳定^[12,13];LDH 释放实验和流式细胞凋亡检测均可以有效检测细胞损伤程度^[14,15]。实验结果显示大麻素 CB1 受体选择性激动剂 ACEA 能够诱导神经保护作用,表现

为神经元细胞活性增加、LDH 释放量降低和细胞凋亡减少,说明 ACEA 可以在体外诱导神经保护作用,但其机制仍不清楚。

线粒体作为细胞内的能量工厂,能够通过氧化磷酸化作用产生 ATP,为细胞进行增殖、分化等生理活动提供能量。除此之外,线粒体还可调节细胞分化及信息传递、程序性细胞死亡和氧自由基的产生等过程。脑缺血再灌注损伤等病理过程会造成线粒体结构、形态和功能异常,诱导凋亡级联反应,最终造成整个细胞损伤、凋亡。既往研究表明 ROS 的大量产生可以诱导线粒体通透性转换孔 (Mitochondrial permeability transition pore,

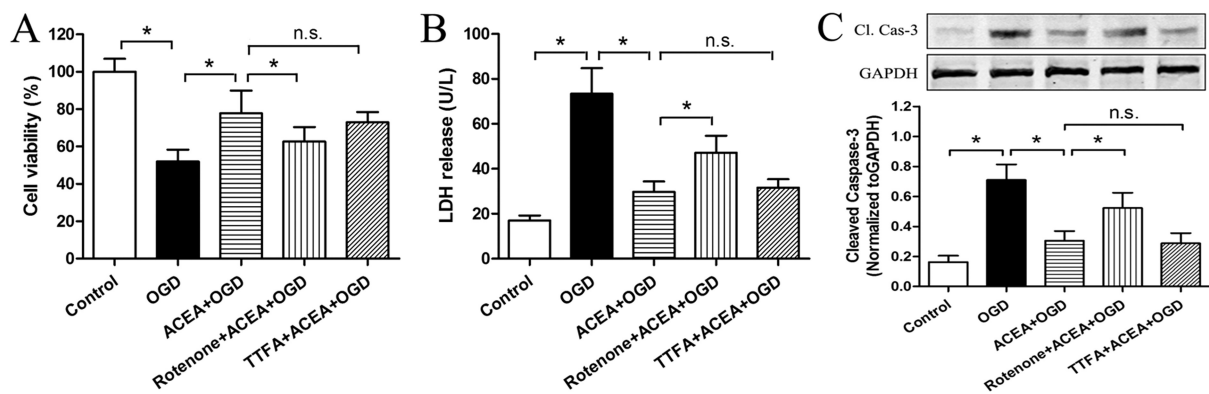


图3 线粒体复合体 I 和 II 抑制剂对 ACEA 神经保护作用的影响

Fig.3 Effect of mitochondrial complex I and II inhibitors on ACEA-induced neuroprotection

Note: Data were expressed as $\bar{x} \pm SD$, * $P < 0.05$.

MPTP)开放,引起细胞色素 c 等促凋亡因子从线粒体释放,并造成线粒体功能丧失,这是导致脑缺血再灌注损伤的主要因素^[7,16,17]。在细胞内,ROS 主要在线粒体呼吸链的电子传递中产生。因此,各种因素引起的线粒体呼吸链复合体活性异常可造成呼吸链电子传递障碍,进而诱导 ROS 产生^[18-20],造成神经细胞损伤。

位于线粒体内膜上的线粒体呼吸链由 5 个复合体组成,电子依次经过复合体进行传递,最终与 O_2 结合生成 H_2O 产生 ATP 为细胞进行生命活动提供能量^[21,22]。目前的研究认为线粒体呼吸链可分为主呼吸链和次呼吸链,电子主要经由主呼吸链进行传递,而很少通过次呼吸链进行传递^[23]。主呼吸链由复合体 I、III 和 IV 组成,电子经由复合体 I 开始依次进行传递;次呼吸链由复合体 II、III 和 IV 组成,电子经由复合体 II 开始依次进行传递^[23]。本实验中,在原代大鼠皮层神经元 OGD 损伤复氧复糖后 24 小时,各组细胞线粒体被分离纯化,用于检测呼吸链复合体 I、II 和 IV 的活性。本研究结果表明 OGD 损伤后线粒体呼吸链复合体 I、II 和 IV 的活性降低,给予 ACEA 可以改善复合体 I 和 IV 的活性,但却没有改变复合体 II 的活性。究其原因可能是在 OGD 损伤后,ACEA 主要改善了经由复合体 I 开始的线粒体主呼吸链的电子传递,但却对经由复合体 II 开始的次呼吸链的电子传递没有影响。

随后,我们分别使用了线粒体呼吸链复合体 I 和 II 的抑制剂来研究主、次呼吸链电子传递起始端的两个复合体是否参与了 ACEA 的神经保护作用。实验结果显示复合体 I 抑制剂 rotenone 仅能部分逆转 ACEA 诱导的神经保护作用,而 ACEA 的神经保护作用却不能被复合体 II 抑制剂 TTFA 所影响。这部分结果不仅证实了 ACEA 能够调节神经元细胞 OGD 损伤后线粒体复合体活性从而发挥神经保护作用,也明确了 ACEA 主要通过改善神经元线粒体主呼吸链而非次呼吸链的电子传递来部分实现其神经保护作用的。

综上所述,ACEA 可以诱导神经保护作用,其机制是通过改善线粒体呼吸链复合体活性,促进线粒体主呼吸链的功能改善来部分实现的。

参考文献(References)

[1] GBD 2016 Mortality Collaborators. Global, regional, and national under-5 mortality, adult mortality, age-specific mortality, and life

expectancy, 1970-2016: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2016[J]. Lancet, 2017, 390(10100): 1084-1150

[2] Snow SJ. Stroke and t-PA--triggering new paradigms of care [J]. N Engl J Med, 2016, 374(9): 809-811

[3] Bhaskar S, Stanwell P, Cordato D, et al. Reperfusion therapy in acute ischemic stroke: dawn of a new era[J]? BMC Neurol, 2018, 18(1): 8

[4] Devine MJ, Kittler JT. Mitochondria at the neuronal presynapse in health and disease[J]. Nat Rev Neurosci, 2018, 19(2): 63-80

[5] Qu J, Chen W, Hu R, et al. The injury and therapy of reactive oxygen species in intracerebral hemorrhage looking at mitochondria[J]. Oxid Med Cell Longev, 2016, 2016: 2592935

[6] Kislin M, Sword J, Fomitcheva IV, et al. Reversible disruption of neuronal mitochondria by ischemic and traumatic injury revealed by quantitative two-photon imaging in the neocortex of anesthetized mice[J]. J Neurosci, 2017, 37(2): 333-348

[7] Shin B, Cowan DB, Emani SM, et al. Mitochondrial transplantation in myocardial ischemia and reperfusion injury [J]. Adv Exp Med Biol, 2017, 982: 595-619

[8] Lesnfsky EJ, Chen Q, Tandler B, et al. Mitochondrial dysfunction and myocardial ischemia-reperfusion: implications for novel therapies[J]. Annu Rev Pharmacol Toxicol, 2017, 57: 535-565

[9] Melser S, Lavie J, Bénard G. Mitochondrial degradation and energy metabolism [J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1853 (10 Pt B): 2812-2821

[10] Ma L, Niu W, Yang S, et al. Inhibition of mitochondrial permeability transition pore opening contributes to cannabinoid type 1 receptor agonist ACEA-induced neuroprotection [J]. Neuropharmacology, 2018, 135: 211-222

[11] Lin Y, Cai B, Xue XH, et al. TAT-mediated delivery of neuroglobin attenuates apoptosis induced by oxygen-glucose deprivation via the Jak2/Stat3 pathway in vitro[J]. Neurol Res, 2015, 37(6): 531-538

[12] Xie XC, Zhao N, Xu QH, et al. Relaxin attenuates aristolochic acid induced human tubular epithelial cell apoptosis in vitro by activation of the PI3K/Akt signaling pathway[J]. Apoptosis, 2017, 22(6): 769-776

[13] Chen F, Bai J, Li W, et al. RUNX3 suppresses migration, invasion and angiogenesis of human renal cell carcinoma[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e56241

- lung injury[J]. J Thorac Dis, 2016, 8(9): 2434-2443
- [6] Zhao H, Eguchi S, Alam A. The role of Nuclear factor-erythroid 2 related factor 2 (Nrf-2) in the protection against lung injury[J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2016: ajplung.00449.2016
- [7] Cho HY, SR Kleeberger. Nrf2 protects against airway disorders[J]. Toxicol Appl Pharmacol, 2010, 244(1): p. 43-56
- [8] Regev D, Surolia R, Karki S, et al. Heme oxygenase-1 promotes granuloma development and protects against dissemination of mycobacteria[J]. Lab Invest, 2012, 92(11): 1541-1552
- [9] Biswas C, Shah N, Muthu M, et al. Nuclear heme oxygenase-1 (HO-1) modulates subcellular distribution and activation of Nrf2, impacting metabolic and anti-oxidant defenses [J]. J Biol Chem, 2014, 289(39): 26882-26894
- [10] Cho HY, SP Reddy, SR Kleeberger. Nrf2 defends the lung from oxidative stress[J]. Antioxid Redox Signal, 2006, 8(1-2): 76-87
- [11] Imai Y, Kuba K, Neely GG, et al. Identification of oxidative stress and Toll-like receptor 4 signaling as a key pathway of acute lung injury[J]. Cell, 2008, 133(2): 235-249
- [12] Wu D, Pan P, Su X. Interferon Regulatory Factor-1 Mediates Alveolar Macrophage Pyroptosis During LPS-Induced Acute Lung Injury in Mice[J]. Shock, 2016, 46(3): 329-338
- [13] Deng Y, Yang Z, Gao Y. Toll-like receptor 4 mediates acute lung injury induced by high mobility group box-1 [J]. PLoS One, 2013, 8(5): e64375
- [14] Verbrugge SJ, Lachmann B, Kesecioglu J. Lung protective ventilatory strategies in acute lung injury and acute respiratory distress syndrome: from experimental findings to clinical application [J]. Clin Physiol Funct Imaging, 2007, 27(2): 67-90
- [15] Beitler JR, A Malhotra, BT Thompson. Ventilator-induced Lung Injury[J]. Clin Chest Med, 2016, 37(4): p. 633-646
- [16] Wolthuis EK, Vlaar AP, Choi G, et al. Mechanical ventilation using non-injurious ventilation settings causes lung injury in the absence of pre-existing lung injury in healthy mice[J]. Crit Care, 2009, 13(1): R1
- [17] dos Santos CC, Shan Y, Akram A, et al. Neuroimmune regulation of ventilator-induced lung injury [J]. Am J Respir Crit Care Med, 2011, 183(4): 471-482
- [18] Wagener FA, Volk HD, Willis D, et al. Different faces of the heme-heme oxygenase system in inflammation [J]. Pharmacol Rev, 2003, 55(3): 551-571
- [19] Hosick PA, Stec DE. Heme oxygenase, a novel target for the treatment of hypertension and obesity?[J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2012, 302(2): R207-14
- [20] Morse D, AM Choi. Heme oxygenase-1: from bench to bedside[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2005, 172(6): 660-670
- [21] Shi Y, Liang XC, Zhang H. Quercetin protects rat dorsal root ganglion neurons against high glucose-induced injury in vitro through Nrf-2/HO-1 activation and NF-kappaB inhibition[J]. Acta Pharmacol Sin, 2013, 34(9): 1140-1148
- [22] Li N, Wang M, Barajas B, et al. Nrf2 deficiency in dendritic cells enhances the adjuvant effect of ambient ultrafine particles on allergic sensitization[J]. Journal of Innate Immunity, 2013, 5(6): 543-554
- [23] Mehla K, Balwani S, Agrawal A, et al. Ethyl gallate attenuates acute lung injury through Nrf2 signaling [J]. Biochimie, 2013, 95(12): 2404-2414

(上接第 3804 页)

- [14] Ma L, Jia J, Niu W, et al. Mitochondrial CB1 receptor is involved in ACEA-induced protective effects on neurons and mitochondrial functions[J]. Sci Rep, 2015, 5: 12440
- [15] Sun B, Cai Y, Li Y, et al. The nonstructural protein NP1 of human bocavirus 1 induces cell cycle arrest and apoptosis in HeLa cells[J]. Virology, 2013, 440(1): 75-83
- [16] Yang Y, Luo L, Cai X, et al. Nrf2 inhibits oxaliplatin-induced peripheral neuropathy via protection of mitochondrial function [J]. Free Radic Biol Med, 2018, 120: 13-24
- [17] Ruiz A, Alberdi E, Matute C. Mitochondrial Division Inhibitor 1 (mdivi-1) Protects Neurons against Excitotoxicity through the Modulation of Mitochondrial Function and Intracellular Ca²⁺ Signaling[J]. Front Mol Neurosci, 2018, 11: 3
- [18] Grivennikova VG, Kareyeva AV, Vinogradov AD. Oxygen-dependence of mitochondrial ROS production as detected by Amplex Red assay[J]. Redox Biol, 2018, 17: 192-199
- [19] Angelova PR, Abramov AY. Role of mitochondrial ROS in the brain: from physiology to neurodegeneration [J]. FEBS Lett, 2018, 592(5): 692-702
- [20] Bleier L, Wittig I, Heide H, et al. Generator-specific targets of mitochondrial reactive oxygen species[J]. Free Radic Biol Med, 2015, 78: 1-10
- [21] Guo R, Gu J, Zong S, et al. Structure and mechanism of mitochondrial electron transport chain[J]. Biomed J, 2018, 41(1): 9-20
- [22] Hassanpour SH, Dehghani MA, Karami SZ. Study of respiratory chain dysfunction in heart disease[J]. J Cardiovasc Thorac Res, 2018, 10(1): 1-13
- [23] Sanderson T H, Reynolds C A, 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