

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2019.14.010

MitoQ 对高糖诱导的心肌细胞线粒体功能影响 *

李 鹏 胡 强[△] 张 颖 王 娟 孙理华

(新疆医科大学第五附属医院心内科 新疆 乌鲁木齐 830011)

摘要 目的:探讨 MitoQ 对高糖诱导的心肌细胞线粒体功能影响。**方法:**常规获取与纯化 SD 大鼠新生仔鼠心肌细胞,分为对照组、高糖组、实验组。对照组用含 10%血清的 DMEM 培养基(5.5 mmol/L 葡萄糖)培养;高糖组用含血清的高糖 DMEM 培养基(33 mmol/L 葡萄糖)培养;实验组用含血清的高糖 DMEM 培养基(33 mmol/L 葡萄糖)和 MitoQ。MTT 法检测心肌细胞存活率,氯离子荧光探针检测细胞内氯离子浓度,流式细胞术检测各组心肌细胞凋亡率,超氧化物阴离子荧光染色检测心肌细胞活性氧(reactive oxygen,ROS)含量,利用 ATP 检测试剂盒检测心肌细胞中的 ATP 水平,Western blot 法检测心肌细胞胱天蛋白酶 3(caspase-3)蛋白水平。**结果:**与对照组相比,高糖组的心肌细胞凋亡率、ROS 产生、氯离子相对浓度均明显增加,ATP 显著降低($P<0.05$),细胞内 caspase-3 蛋白表达显著上升($P<0.05$);与高糖组相比,实验组凋亡率降低,ROS 产生、细胞内 caspase-3 蛋白表达均显著降低($P<0.05$)。**结论:**高糖会引起心肌细胞线粒体障碍,造成心肌细胞凋亡,MitoQ 可降低细胞内 ROS 和 caspase-3 水平,抑制心肌细胞凋亡,改善心肌细胞线粒体功能。

关键词:线粒体辅酶 Q;心肌细胞;线粒体功能障碍

中图分类号:R-33;R541.61 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2019)14-2652-05

Effect of MitoQ on High Glucose-induced Mitochondrial Function in Myocardial Cells*

LI Peng, HU Qiang[△], ZHANG Ying, WANG Juan, SUN Li-hua

(Cardiology Department, The Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi, Xinjiang, 830011, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the effect of MitoQ on high glucose-induced mitochondrial function in cardiomyocytes. **Methods:** The neonatal rat cardiac myocytes of SD rats were routinely obtained and purified and were divided into control group, high sugar group and experimental group. The control group were cultured with 10% serum DMEM medium (5.5 mmol/L glucose); the high sugar group were cultured with high glucose DMEM medium containing serum (33 mmol/L glucose); the experimental group were treated with high glucose DMEM medium containing serum (33 mmol/L glucose) and MitoQ. The chlorine ion fluorescence probe were used to detect the concentration of intracellular chlorine ion, the rate of apoptosis were detected by flow cytometry, the content of active oxygen (ROS) was detected by superoxide anion fluorescence staining, detection of ATP levels in cardiomyocytes using the ATP detection kit, and caspase-3 protein levels were detected by Western blot. Level. **Results:** The relative concentration of chloride in the control group, the high sugar group and the experimental group were $(2.14 \pm 0.44)\%$, $(23.11 \pm 4.39)\%$ and $(5.20 \pm 0.92)\%$ respectively. Compared with the control group, the cardiomyocytes in the high glucose group increased the apoptosis and increased the ROS production, the ATP levels of cardiomyocytes in the control group and the experimental group were significantly higher than those in the high glucose group ($P<0.05$), and the caspase-3 protein level in the cardiomyocytes increased significantly ($P<0.05$). Compared with the high glucose group, the experimental group was apoptotic. Decreased, ROS production decreased, and caspase-3 protein levels in cardiomyocytes were significantly decreased ($P<0.05$). **Conclusion:** High glucose can cause the mitochondrial disorder and apoptosis of myocardial cells. MitoQ can improve the mitochondrial function of myocardial cell via reducing the intracellular ROS and caspase-3 levels, inhibit the apoptosis of cardiomyocytes.

Key words: Mitochondrial coenzyme Q; Cardiomyocytes; Pressure overload; Mitochondrial dysfunction

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R541.61 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2019)14-2652-05

前言

随着饮食质量的提高,人类对糖的摄入量逐渐增加,高糖

引发了高血压、心肌衰竭等一系列心血管疾病,慢性心力衰竭(Chronic heart failure)是常见并发症,当前在我国发病人数逐年上升,也有显著年轻化的趋势^[1,2]。基因表达改变、能量代谢障

* 基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金项目(2016D01C244)

作者简介:李鹏(1979-),男,本科,主治医师,主要研究方向:心内科(介入),电话:13999205249, E-mail: lipeng_197912@163.com

[△] 通讯作者:胡强(1980-),男,本科,主治医师,主要研究方向:心内科, E-mail: lipeng_197912@163.com

(收稿日期:2018-11-08 接受日期:2018-11-30)

碍、氧化应激、激素、凋亡等是心力衰竭的病因^[3]。心力衰竭病理生理机制为早期心肌细胞发生代偿性肥大,保留正常的射血功能,可对抗增高的后负荷^[4-6]。心力衰竭后线粒体障碍在临床上比较常见,可导致心肌细胞能量代谢障碍、心肌细胞凋亡等,直接影响患者的预后^[7]。心力衰竭后心肌细胞线粒体障碍的具体机制尚不完全明确,可能与氧化应激、内质网应激等多种因素有关^[8-10]。

线粒体辅酶 Q(MitoQ)是一种线粒体靶向抗氧化剂,聚集在线粒体中,降低线粒体活性氧水平,减少氧化,保护线粒体,进而保护心肌细胞。MitoQ 参与了心力衰竭后线粒体障碍过程,改善了心肌细胞代谢,减少心肌细胞凋亡,从而拯救濒死心肌细胞,对心力衰竭后线粒体障碍发挥保护作用;也能有效抑制细胞色素 C 的释放、胱天蛋白酶 3(caspase-3)蛋白的激活^[11]。本研究主要探讨了高糖诱导的大鼠心肌细胞线粒体功能障碍后,MitoQ 是否能保护线粒体,改善心肌细胞作用使恢复正常功能,以期防治心力衰竭提供更多的参考,现报道如下。

1 材料和方法

1.1 实验材料

0~3 d SD 大鼠的仔鼠购自空军军医大学(第四军医大学)实验动物中心。I 型胶原蛋白酶、0.22 μm 滤膜、胎牛血清、DMEM 培养基、5-溴脱氧尿嘧啶核苷(5-bromo-2-deoxyuridine, BrdU) 购自美国 sigma 公司;MitoQ 购自美国 Cell Signaling 公司;MTT 溶液购自深圳晶美公司;异硫氰酸荧光素标记的膜联素 V / 碘化丙啶(annexin V-FITC/PI)细胞凋亡检测试剂盒购自美国 sigma 公司;胰蛋白酶购自美国 sigma 公司;氯离子荧光探针(Chloride fluorescence probe, MQAE)购自美国 sigma 公司;超氧化物阴离子荧光探针购自美国 sigma 公司;4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)购自美国 sigma 公司;羊抗兔抗酶 3 (caspase-3) 抗体、羊抗兔抗 GAPDH 抗体购自美国 sigma 公司,荧光素酶标记的二抗购自美国 sigma 公司,显色剂购自美国 sigma 公司;抗 α 辅肌动蛋白(α -actinin)抗体购自美国 sigma 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 心肌细胞培养、鉴定和分组处理 无菌条件下,700 mL/L 酒精消毒仔鼠皮肤,剪开胸腔,去除血污与大血管,取出心脏,无菌冰 PBS 清洗 3 次,每次 5 min。将心脏置于小烧杯中,剪至 1 mm³ 左右的组织碎块。加入 1 mg/mL 的 I 型胶原蛋白酶,0.22 μm 过滤除菌,分 6~8 次将组织消化完全。静置后收集上清液,加入等体积含 50 mL/L 胎牛血清的 DMEM 培养基,1500 r/min 离心 10 min,重悬细胞后采用 200 目细胞筛过滤,再接种。

在心肌细胞的鉴定中,将细胞以 3×10^5 /孔的密度进行接种然后固定,一抗使用抗 α 辅肌动蛋白(α -actin)抗体,1:100 稀释,放于湿盒中 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜;二抗(1:5000 稀释)在 37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 20 min,DAB 显色、脱水透明、中性树胶封片。

培养 1 h 后,加入终浓度为 100 $\mu\text{mol/L}$ 的 BrdU 进行培养。将原代培养的心肌细胞分为 3 组:对照组、高糖组、实验组。对照组用含 10%血清的 DMEM 培养基(5.5 mmol/L 葡萄糖)培养;高糖组用含血清的高糖 DMEM 培养基(33 mmol/L 葡萄糖)

培养;实验组用含血清的高糖 DMEM 培养基(33 mmol/L 葡萄糖)和 MitoQ 处理。

1.2.2 MQAE 检测心肌细胞氯离子浓度 采用氯离子荧光探针 (Chloride fluorescence probe, MQAE) 检测细胞内氯离子浓度,将按上述方法分组的心肌细胞接种于 48 孔板中,处理后吸弃培养基。每孔加入 100 μL 10 mmol/L MQAE 工作液,孵育 1 h;PBS 洗涤 5 min $\times$ 5 次,倒置荧光显微镜进行荧光检测,每个样本随机选取 5 个细胞,记录与计算荧光强度。

1.2.3 流式细胞术检测心肌细胞凋亡率 采用 annexin V-FITC/PI 双染法结合流式细胞术进行检测。用 2.5 g/L 胰蛋白酶消化心肌细胞,收集 1×10^6 个细胞,PBS 洗涤 1 次。重悬细胞后,选择 annexin V-FITC/PI 染色,采用流式细胞术检测与计算心肌细胞凋亡率。

1.2.4 超氧化物阴离子荧光染色检测心肌细胞 ROS 含量 采用 DHE 检测细胞内活性氧(active oxygen, ROS)水平来反映心肌能量代谢情况,将细胞接种于含盖玻片的 24 孔板中,按上述方法处理 72 h。吸出培养基,固定、洗涤、封闭。每片加 50 μL 5 $\mu\text{mol/L}$ DHE,37 $^{\circ}\text{C}$ 孵育后加入 DAPI 染液 50 μL ,37 $^{\circ}\text{C}$ 避光孵育 10 min,封片后在镜下记录与观察红色荧光强度,记录与计算 ROS 水平。

1.2.5 利用 ATP 检测试剂盒检测心肌细胞中的 ATP 水平 吸除心肌细胞培养液,加入裂解液裂解细胞,裂解后 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 5~10 min,取上清液用于后续测定。在检测管内加入 100 μL ATP 检测工作液,室温放置 3~5 min。然后在检测管中加入 100 μL 样品,迅速混匀,至少间隔 2 s 后,立即用液闪仪测定 CPM 值。最后根据标准曲线计算出样品中 ATP 浓度。

1.2.6 Western blot 法检测心肌细胞 caspase-3 蛋白水平 羊抗兔抗酶 3(caspase-3)抗体、羊抗兔抗 GAPDH 抗体购自美国 sigma 公司,荧光素酶标记的二抗购自美国 sigma 公司,显色剂购自美国 sigma 公司。采用 Western blot 法检测 caspase-3 表达情况,以 GAPDH 作为内对照,用凝胶分析软件分析各蛋白目的条带的吸光度(A)值,以 A 目的蛋白 / AGAPDH 比值表示目的蛋白的相对表达水平。

1.3 统计学分析

使用 SPSS21.00 软件对计量数据进行统计学处理,以($\bar{x} \pm s$)表示,多组间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 心肌细胞培养和鉴定

分离的细胞培养 48 h,呈现同步性搏动,可发生细胞融合,收缩明显而有力。 α -actinin 存在于横纹肌 Z 带上,显现细胞骨架结构。见图 1。

2.2 MitoQ 对高糖诱导的心肌细胞氯离子浓度的影响

对照组、高糖组、实验组的氯离子相对浓度分别为(2.14 ± 0.44)%、(23.11 ± 4.39)%、(5.20 ± 0.92)%,高糖组氯离子浓度显著高于对照组,而实验组氯离子浓度显著低于高糖组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

2.3 MitoQ 对高糖诱导的心肌细胞凋亡率的影响

对照组、高糖组、实验组心肌细胞凋亡率分别为(5.03 ± 1.91)%、

(26.73 ± 3.14)%、(16.63 ± 2.73)，高糖组心肌细胞凋亡率显著高于对照组，而实验组心肌细胞凋亡率显著低于高糖组，差异均有统计学意义($P < 0.05$)。

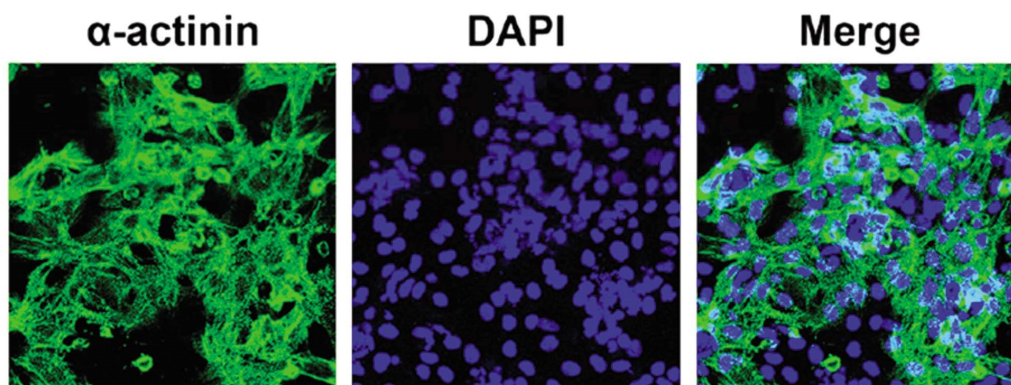


图 1 心肌细胞的镜下观察与染色处理

Fig.1 Observation and staining of cardiac myocytes under microscope

2.4 MitoQ 对高糖诱导的心肌细胞 ROS 含量的影响

与对照组相比，高糖组心肌细胞内 ROS 生成增加；与高糖

组心肌细胞相比，实验组心肌细胞内 ROS 生成减少，差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 2。

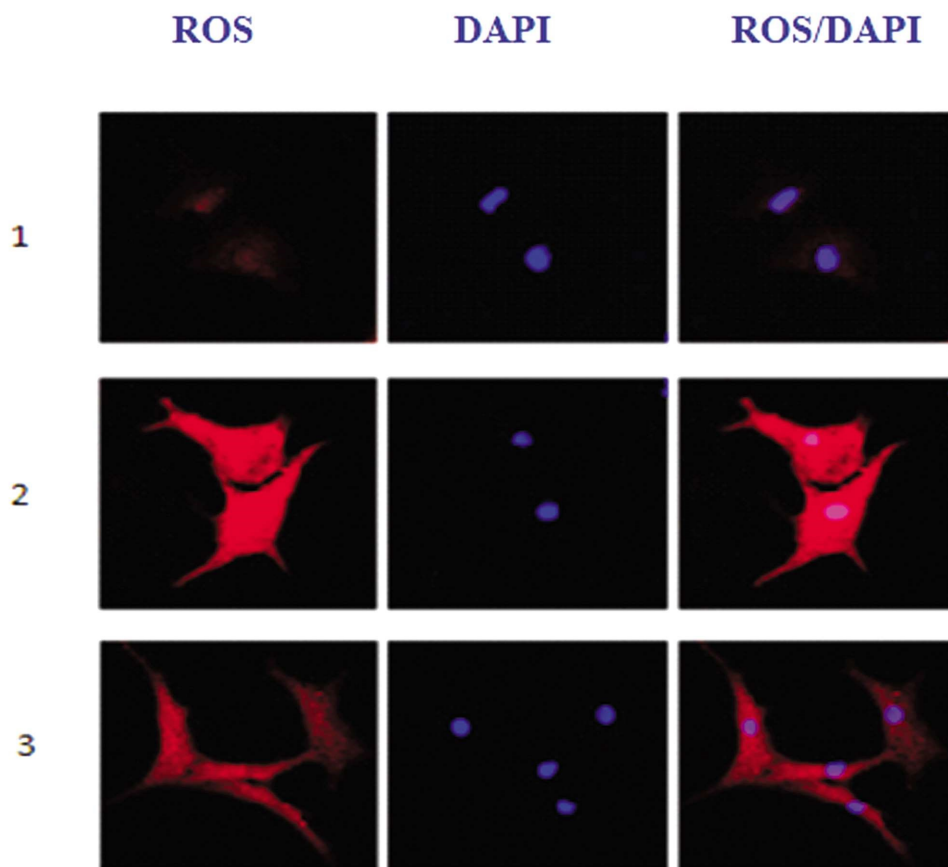


图 2 超氧化物阴离子荧光染色检测心肌细胞 ROS 含量

Fig.2 ROS content in myocardial cells detected by superoxide anion fluorescence staining

2.5 MitoQ 对高糖诱导的心肌细胞 ATP 水平的影响

对照组、高糖组、实验组心肌细胞 ATP 水平分别为 (148.55 ± 17.12)nmol/g、(103.71 ± 15.68)nmol/g、(137.15 ± 15.36)nmol/g，对照组与实验组心肌细胞 ATP 水平均显著高于高糖组 ($P < 0.05$)。

2.6 MitoQ 对高糖诱导的心肌细胞 caspase-3 蛋白表达的而影响

与对照组相比，高糖组心肌细胞内 caspase-3 蛋白水平显

著上升($P < 0.05$)；与高糖组心肌细胞相比，实验组心肌细胞内 caspase-3 蛋白水平显著降低($P < 0.05$)，见图 3。

3 讨论

心力衰竭后可以引起心肌细胞线粒体障碍，线粒体是一种重要的细胞器，是细胞能量生成与储存的重要场所，心肌线粒体占了心肌细胞体积的 30%左右。心肌细胞的凋亡是心力衰竭

后线粒体障碍的核心病理改变,可造成心肌的修复性纤维化^[12]。MitoQ 既是细胞内唯一的内源性亲脂抗氧化剂,能够独立地减少线粒体 ROS 的生成,在乙醇处理的细胞中加入辅酶 Q

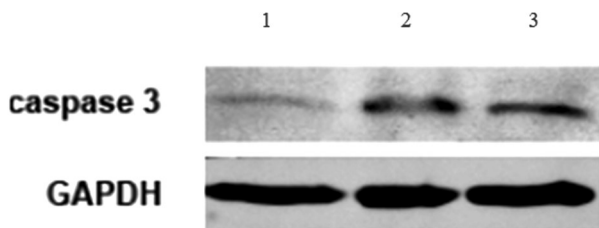


图3 Western blot 法检测心肌细胞 caspase-3 蛋白水平。1:对照组;2:高糖组;3:实验组

Fig.3 Western blot method was used to detect the level of caspase-3 protein in cardiac myocytes. 1: control group; 2: heart failure group; 3: experimental group

能够使线粒体功能恢复而发挥抗凋亡作用。心肌细胞中 ROS 主要由线粒体产生,ROS 也参与细胞其它生理过程中,比如细胞阴离子通道的激活、MitoQ 开放等^[13-15]。国内外 MitoQ 对高糖诱导的心肌细胞线粒体功能研究目前还没有报道。

本研究用高糖诱导心肌细胞,结果显示高糖组氯离子浓度显著高于对照组,而实验组氯离子浓度显著低于高糖组。说明在实验组加入 MitoQ 后,可以降低氯离子的浓度,使恢复正常。氯离子浓度增高,能影响细胞存活信号通路及下游分子,诱导心肌细胞凋亡。高糖组心肌细胞凋亡率显著高于对照组,而实验组心肌细胞凋亡率显著低于高糖组,说明高糖增加了心肌细胞的凋亡率,加入 MitoQ 后,能够减少细胞凋亡。通过氯离子的浓度变化与细胞凋亡试验共同说明了,高糖能够诱导心肌细胞的凋亡,原因可能是高糖阻碍了心肌细胞线粒体能量代谢,当心肌细胞体内的葡萄糖过多时,线粒体代谢过程中的膜电位不平衡,氯离子浓度增加,使线粒体膜渗透性转化为孔开放,线粒体膜电位下降或消失,呼吸链断裂造成细胞凋亡^[16-18]。

心肌细胞内 ROS 含量,与对照组相比,高糖组心肌细胞内 ROS 生成增加;与高糖组心肌细胞相比,实验组心肌细胞内 ROS 生成减少。说明加入 MitoQ 后,损伤环境下心肌细胞中 ROS 的生成量明显减少。对照组与实验组心肌细胞 ATP 水平均显著高于高糖组,表明加入 MitoQ 后,损伤环境下心肌细胞 ATP 水平明显升高,即 MitoQ 可促进线粒体功能的恢复。相关研究显示 MitoQ 主要通过抑制氧化应激和阻断胱天蛋白酶 3 依赖的细胞死亡通路而发挥神经细胞保护作用,可聚集在线粒体内,可通过减少氧化损伤来保护线粒体,从而促进线粒体功能的恢复^[19-22]。当前也有研究发现心力衰竭的心肌功能紊乱与线粒体氧化应激和 ROS 过量产生有关,一些抗氧化剂能对相应靶器官损伤起一定保护作用^[23-27]。

心肌细胞 caspase-3 蛋白表达结果显示,与对照组相比,高糖组心肌细胞内 caspase-3 蛋白水平显著上升;与高糖组心肌细胞相比,实验组心肌细胞内 caspase-3 蛋白水平显著降低。表明 MitoQ 在高糖诱导的心肌细胞凋亡中扮演了重要角色。Caspases 是凋亡过程的主要执行者,活化的 caspases-3 可经蛋白酶解过程激活后,最终引发细胞凋亡^[28-30]。MitoQ 可降低高糖

诱导的心肌细胞内 ROS 和 caspase-3 水平,抑制心肌细胞凋亡,提高心肌细胞 ATP 水平,可用于临床治疗心力衰竭后线粒体障碍引起的细胞凋亡。

本研究虽然也得到了一定的结果,说明了受到刺激时,MitoQ 在心肌细胞凋亡过程发挥了重要的恢复与保护作用,但是对于它的作用机制及其能量代谢的具体机制还需要进一步深入研究。

参考文献(References)

- [1] Khan NA, Abid M, Ahmad A, et al. Cardioprotective Effect of Coenzyme Q (10) on Apoptotic Myocardial Cell Death by Regulation of Bcl-2 Gene Expression [J]. J Pharmacol Pharmacother, 2017, 8(3): 122-127
- [2] Ribeiro Junior RF, Dabkowski ER, Shekar KC, et al. MitoQ improves mitochondrial dysfunction in heart failure induced by pressure overload[J]. Free Radic Biol Med, 2018, 3(117): 18-29
- [3] Suresh K, Servinsky L, Jiang H, et al. Reactive oxygen species induced Ca²⁺ influx via TRPV4 and microvascular endothelial dysfunction in the SU5416/hypoxia model of pulmonary arterial hypertension [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2018, 314(5): L893-L907
- [4] Dietl A, Maack C. Targeting Mitochondrial Calcium Handling and Reactive Oxygen Species in Heart Failure [J]. Curr Heart Fail Rep, 2017, 14(4): 338-349
- [5] Ahmed N, Linardi D, Muhammad N, et al. Sphingosine 1-Phosphate Receptor Modulator Fingolimod (FTY720) Attenuates Myocardial Fibrosis in Post-heterotopic Heart Transplantation[J]. Front Pharmacol, 2017, 15(8): 645-653
- [6] Jelinek A, Heyder L, Daude M, et al. Mitochondrial rescue prevents glutathione peroxidase-dependent ferroptosis[J]. Free Radic Biol Med, 2018, 3(117): 45-57
- [7] Jing X, Yang J, Jiang L, et al. MicroRNA-29b Regulates the Mitochondria-Dependent Apoptotic Pathway by Targeting Bax in Doxorubicin Cardiotoxicity[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 48(2): 692-704
- [8] Gao JL, Zhao J, Zhu HB, et al. Characterizations of mitochondrial uncoupling induced by chemical mitochondrial uncouplers in cardiomyocytes[J]. Free Radic Biol Med, 2018, 124: 288-298
- [9] Bocchi L, Savi M, Naponelli V, et al. Long-Term Oral Administration of Theophenon-E Improves Cardiomyocyte Mechanics and Calcium Dynamics by Affecting Phospholamban Phosphorylation and ATP Production[J]. Cell Physiol Biochem, 2018, 47(3): 1230-1243
- [10] Rineau E, Gaillard T, Gueguen N, et al. Iron deficiency without anemia is responsible for decreased left ventricular function and reduced mitochondrial complex I activity in a mouse model [J]. Int J Cardiol. 2018, 266: 206-212
- [11] Yang MY, Wang YB, Han B, et al. Activation of aldehyde dehydrogenase 2 slows down the progression of atherosclerosis via attenuation of ER stress and apoptosis in smooth muscle cells[J]. Acta Pharmacol Sin, 2017, 38(1): 81-85
- [12] Imai Y, Fink BD, Promes JA, et al. Effect of a mitochondrial-targeted coenzyme Q analog on pancreatic β -cell function and energetics in high fat fed obese mice [J]. Pharmacol Res Perspect, 2018, 6(3): e00393

- [13] DeHart DN, Fang D, Heslop K, et al. Opening of voltage dependent anion channels promotes reactive oxygen species generation, mitochondrial dysfunction and cell death in cancer cells[J]. *Biochem Pharmacol*, 2018, 2(148): 155-162
- [14] Zhou J, Wang H, Shen R, et al. Mitochondrial-targeted antioxidant MitoQ provides neuroprotection and reduces neuronal apoptosis in experimental traumatic brain injury possibly via the Nrf2-ARE pathway[J]. *Am J Transl Res*. 2018, 10(6): 1887-1899
- [15] Maiti AK, Spoorthi BC, Saha NC, et al. Mitigating peroxynitrite mediated mitochondrial dysfunction in aged rat brain by mitochondria-targeted antioxidant MitoQ [J]. *Biogerontology*, 2018, 19 (3-4): 271-286
- [16] Rossman MJ, Santos-Parker JR, Steward CAC, et al. Chronic Supplementation With a Mitochondrial Antioxidant (MitoQ) Improves Vascular Function in Healthy Older Adults[J]. *Hypertension*, 2018, 71(6): 1056-1063
- [17] Rossman MJ, Santos-Parker JR, Steward CAC, et al. Chronic Supplementation With a Mitochondrial Antioxidant (MitoQ) Improves Vascular Function in Healthy Older Adults[J]. *Hypertension*, 2018, 71(6): 1056-1063
- [18] Ribeiro Junior RF, Dabkowski ER, Shekar KC, et al. MitoQ improves mitochondrial dysfunction in heart failure induced by pressure overload[J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 117: 18-29
- [19] Gioscia-Ryan RA, Battson ML, Cuevas LM, et al. Mitochondria-targeted antioxidant therapy with MitoQ ameliorates aortic stiffening in old mice[J]. *J Appl Physiol*, 2018, 124(5): 1194-1202
- [20] Dietl A, Maack C. Targeting Mitochondrial Calcium Handling and Reactive Oxygen Species in Heart Failure [J]. *Curr Heart Fail Rep*, 2017, 14(4): 338-349
- [21] Liu X, Murphy MP, Xing W, et al. Mitochondria-targeted antioxidant MitoQ reduced renal damage caused by ischemia-reperfusion injury in rodent kidneys: Longitudinal observations of T2-weighted imaging and dynamic contrast-enhanced MRI [J]. *Magn Reson Med*, 2018, 79 (3): 1559-1567
- [22] Dirain CO, Ng MRAV, Milne-Davies B, et al. Evaluation of Mitochondria-targeted antioxidant MitoQ for Protecting Against Amikacin-Induced Ototoxicity in Guinea Pigs[J]. *Otol Neurotol*, 2018, 39(1): 111-118
- [23] Hao L, Sun Q, Zhong W, et al. Mitochondria-targeted ubiquinone (MitoQ) enhances acetaldehyde clearance by reversing alcohol-induced posttranslational modification of aldehyde dehydrogenase 2: A molecular mechanism of protection against alcoholic liver disease[J]. *Redox Biol*, 2018, 4(14): 626-636
- [24] Li Y H H, Gong P L L. Neuroprotective effect of dauricine in cortical neuron culture exposed. [J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2007, 85(6): 621-627
- [25] Zhang C, He S, Li Y, et al. Bisoprolol protects myocardium cells against ischemia/reperfusion injury by attenuating unfolded protein response in rats[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 11859-11866
- [26] Veling M T, Reidenbach A G, Freiburger E C, et al. Multi-omic Mitoprotease Profiling Defines a Role for Oct1p in Coenzyme Q Production[J]. *Molecular Cell*, 2017, 68(5): 970
- [27] Gioscia-Ryan RA, Battson ML, Cuevas LM, et al. Mitochondria-targeted antioxidant therapy with MitoQ ameliorates aortic stiffening in old mice[J]. *J Appl Physiol* (1985), 2018, 124(5): 1194-1202
- [28] Gan L, Wang Z, Si J, et al. Protective effect of mitochondria-targeted antioxidant MitoQ against iron ion ⁵⁶Fe radiation induced brain injury in mice[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2018, 341: 1-7
- [29] Savino S, Marzano C, Gandin V, et al. Multi-Acting Mitochondria-Targeted Platinum(IV) Prodrugs of Kiteplatin with α -Lipoic Acid in the Axial Positions[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 14;19(7): 2050-2066
- [30] Ribeiro JA, Benfeito S, Cagide F, et al. Electrochemical Behavior of a Mitochondria-Targeted Antioxidant at an Interface between Two Immiscible Electrolyte Solutions: An Alternative Approach to Study Lipophilicity[J]. *Anal Chem*, 2018, 90(13): 7989-7996