

· 基础研究 ·

虎杖苷对脂多糖介导的肺泡上皮细胞线粒体损伤的影响

邓加雄, 王香, 李桂成, 李云峰*

(湖南省郴州市第一人民医院重症医学科, 郴州 423000)

【摘要】 目的 探讨虎杖苷对脂多糖(LPS)介导的肺泡上皮线粒体损伤的影响及可能机制。方法 A549 细胞分为 4 组: 对照组为细胞仅接受 0.1% DMSO 处理 7 h; 模型组为细胞给予 DMSO 预处理, 1 h 后与 LPS(5 mg/L) 共孵育 6 h; 治疗组为细胞接受虎杖苷(50 μ mol/L) 预处理, 1 h 后与 LPS(5 mg/L) 共孵育 6 h; 抑制剂组为细胞接受沉默信息调节因子 2 相关酶 3(SIRT3) 抑制剂(50 μ mol/L 3-TYP) 及虎杖苷 50 μ mol/L 预处理, 1 h 后与 LPS(5 mg/L) 共孵育 6 h。细胞计数试剂盒-8(CCK-8) 检测细胞活性; 荧光素-荧光素酶法检测细胞 ATP 水平; 钙黄绿素-氯化钴探针检测线粒体通透性转变孔(mPTP) 状态; DCFH-DA 荧光探针检测细胞活性氧(ROS) 水平; 荧光探针 JC-1 检测线粒体膜电位(MMP); Western blotting 检测细胞 SIRT3 表达。应用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。组间比较采用单因素方差分析、LSD 两两比较或 Tamhane's T_2 检验。**结果** 与对照组比较, 模型组中 SIRT3 表达、JC-1 红色/绿色荧光、钙黄绿素荧光、ATP 水平及细胞活力分别显著下降至(73.3 \pm 4.5)%、(54.0 \pm 6.5)%、(2035 \pm 217)U、(72.2 \pm 4.8)%及(73.7 \pm 3.7)%, ROS 水平显著增加为(218.0 \pm 21.7)%; 与模型组比较, 治疗组中 SIRT3 表达、JC-1 红色/绿色荧光、钙黄绿素荧光、ATP 水平及细胞活力分别显著上升为(86.7 \pm 7.6)%、(75.8 \pm 7.6)%、(2571 \pm 199)U、(86.7 \pm 6.3)%及(83.0 \pm 3.6)%, ROS 水平显著下降为(180.0 \pm 18.1)%; 与抑制剂组比较, 抑制剂组中 SIRT3 表达、JC-1 红色/绿色荧光、钙黄绿素荧光、ATP 水平及细胞活力分别显著下降为(69.0 \pm 7.8)%、(62.8 \pm 6.2)%、(2116 \pm 254)U、(72.8 \pm 5.8)%及(73.3 \pm 4.1)%, ROS 水平显著增加为(212.0 \pm 18.2)%。**结论** 虎杖苷可以显著改善 LPS 介导的肺泡上皮线粒体损伤, 其机制可能与激活 SIRT3 有关。

【关键词】 虎杖苷; 脂多糖; 肺泡上皮细胞; 线粒体

【中图分类号】 R363

【文献标志码】 A

【DOI】 10.11915/j.issn.1671-5403.2019.07.112

Effects of polydatin on lipopolysaccharide-induced mitochondrial injury in alveolar epithelial cells

DENG Jia-Xiong, WANG Xiang, LI Gui-Cheng, LI Yun-Feng*

(Department of Critical Care Medicine, the First People's Hospital of Chenzhou in Hunan Province, Chenzhou 423000, China)

【Abstract】 Objective To investigate the effects and mechanism of polydatin on the lipopolysaccharide-induced mitochondrial injury in alveolar epithelial cells. **Methods** A549 cells were assigned to four groups. Cells in the control group were treated with 0.1% DMSO for 7 h only; those in model group received the pretreatment of 0.1% DMSO for 1 h and were incubated with LPS (5 mg/L) for 6 h; those in the treatment group received the pretreatment of polydatin (50 μ mol/L) for 1 h and were incubated with LPS (5 mg/L) for 6 h; and those in the inhibitor group received the pretreatment of polydatin (50 μ mol/L) and silent information regulator 2 related enzyme 3 (SIRT3) inhibitor 3-TYP (50 μ mol/L) for 1 h, and were incubated with LPS (5 mg/L) for 6 h. The cells were then assessed for viability by CCK-8, ATP level by fluorescein-luciferase kits, status of mitochondrial permeability transition pore (mPTP) by Calcein-AM-CoCl₂ probe, reactive oxygen species (ROS) level by DCFH-DA fluorescent probe, mitochondrial membrane potential (MMP) by fluorescent probe JC-1, and expression of SIRT3 by Western blotting. SPSS statistics 22.0 was used for data analysis. One-way ANOVA, LSD test or Tamhane's T_2 test was used for comparison among groups. **Results** Compared with control group, SIRT3 expression in model group decreased to (73.3 \pm 4.5)%, JC-1 red/green to (54.0 \pm 6.5)%, Calcein fluorescence to (2035 \pm 217) U, ATP level to (72.2 \pm 4.8)% and cell viability of cells to (73.7 \pm 3.7)%, but ROS level increased to (218.0 \pm 21.7)%. Compared with model group, SIRT3 expression in treatment group increased to (86.7 \pm 7.6)%, JC-1 red/green to (75.8 \pm 7.6)%, Calcein fluorescence to (2571 \pm 199)U, ATP level to (86.7 \pm 6.3)% and cell viability of cells (83.0 \pm 3.6)%,

收稿日期: 2019-01-08; 接受日期: 2019-03-25

基金项目: 湖南省自然科学基金(2018JJ6004, 2018JJ3015); 郴州市科技计划(CZ2014018); 郴州市第一人民医院院内基金重点项目(N2016-002)

通信作者: 李云峰, E-mail: yunfengli_edu@163.com

but ROS level decreased to (180.0±18.1)%. Compared with treatment group, SIRT3 expression in inhibitor group decreased to (69.0±7.8)%, JC-1 red/green to (62.8±6.2)%, Calcein fluorescence to (2116±254) U, ATP level to (72.8±5.8)% and cell viability of cells (73.3±4.1)%, but the ROS level increased to (212.0±18.2)%. **Conclusion** Polydatin alleviates LPS-induced mitochondrial injury in alveolar epithelial cells possibly by the activation of SIRT3.

【Key words】 polydatin; lipopolysaccharide; alveolar epithelial cell; mitochondria

This work was supported by Natural Science Foundation of Hunan Province (2018JJ6004, 2018JJ3015), Science and Technology Plan of Chenzhou (CZ2014018), and the Major Project of Foundation of the First People's Hospital of Chenzhou (N2016-002).

Corresponding author: LI Yun-Feng, E-mail: yunfengli_edu@163.com

急性肺损伤(acute lung injury, ALI)是临床上常见的危重症,由于其治疗药物相对缺乏,具有极高的死亡率^[1-3],因此研究缓解 ALI 的有效药物具有重要的临床意义。虎杖苷是从中药虎杖的根茎中提取的单体,在抗休克、炎症及治疗烧伤方面有显著作用^[1,2,4]。我们的前期研究表明^[5],虎杖苷可以减轻脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)介导的 ALI 中细胞凋亡及炎症反应,但机制并不明确。另有研究表明,线粒体损伤是 ALI 发病过程中的重要环节,抑制线粒体损伤可以减轻 ALI 发病^[6,7]。而虎杖苷可以通过激活沉默信息调节因子 2 相关酶 3(silent information regulator 2 related enzyme 3, SIRT3)保护线粒体,从而减轻失血性休克导致的肠损伤^[4]。我们假设虎杖苷可通过 SIRT3 抑制线粒体损伤改善 ALI,并通过 LPS 刺激 A549 细胞模拟 ALI 的体外实验加以验证,探讨虎杖苷对 LPS 介导的线粒体损伤的影响,并进一步分析 SIRT3 在其中的可能作用。

1 材料与方法

1.1 主要试剂

荧光素-荧光素酶试剂盒购自美国 Promega 公司;线粒体膜电位 JC-1 探针及钙黄绿素-氯化钴购自美国 Sigma 公司;DCFH-DA 活性氧(reactive oxygen species, ROS)荧光探针购自上海碧云天公司;细胞计数试剂盒(cell count kit-8, CCK-8)购自上海 Dojindo 公司;SIRT3 单克隆抗体、3-磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)及辣根过氧化物酶标记的二抗购自美国 ABclonal 公司;A549 细胞购自广州赛库生物公司。

1.2 分组及处理

将 A549 细胞分为 4 组($n=6$):对照组为细胞仅接受 0.1% DMSO 处理 7 h;模型组为细胞给予 DMSO 预处理,1 h 后与 LPS(5 mg/L)^[3]共孵育 6 h;治疗组为细胞接受虎杖苷(50 μmol/L)^[8]预处理,1 h 后与 LPS(5 mg/L)共孵育 6 h;抑制剂组为细胞接受 SIRT3 抑制剂(50 μmol/L 3-TYP)^[9]及虎杖苷 50 μmol/L 预处理,1 h 后与 LPS(5 mg/L)共孵育 6 h。

1.3 细胞活性检测

在 96 孔板中接种 200 μl 的细胞悬液,根据实验分组,细胞经过不同条件处理后弃上清,加入 10 μl 的 CCK-8 溶液及培养液,继续孵育 2 h 后酶标仪检测 $A_{450\text{nm}}$ 值,并以对照组进行标准化。

1.4 细胞 ATP 含量测定

采用荧光素-荧光素酶法检测线粒体腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP)水平。将细胞悬液加入 96 孔白板,每孔 100 μl(约 2×10^4 个细胞)。于室温下加入等体积的 CellTiter-Glo 检测试剂,混匀细胞,并孵育 10 min,用 Spectra Max M5 酶标仪检测荧光强度,并以对照组标准化。

1.5 细胞线粒体通透性转变孔状态检测

通过钙黄绿素-氯化钴检测线粒体通透性转变孔(mitochondria permeability transition pore, mPTP)状态。各组细胞经不同处理后,加入 1 ml(浓度为 1 μmol/L)染色工作液,并混合均匀,在 37℃ 振荡器中孵育 10 min 后,用 Spectra Max M5 酶标仪检测荧光强度(激发波长 488 nm,发射波长 530 nm)。荧光强度下降表明 mPTP 开放,荧光强度增加表明 mPTP 开放被抑制。

1.6 细胞 ROS 检测

采用 DCFH-DA ROS 荧光探针检测细胞 ROS 水平。各组细胞经不同处理后与 5 μmol/L 浓度的 DCFH-DA 工作液在 37℃ 下共孵育 10 min,酶标仪检测荧光强度,并且在荧光显微镜下观察细胞荧光,并以对照组标准化。

1.7 细胞线粒体膜电位测定

各组细胞处理后经 PBS 缓冲液洗涤,重悬,与荧光探针 JC-1(工作浓度 5 μmol/L)在 37℃ 孵育 15 min 后共聚焦显微镜下观察。以红色与绿色荧光的比值来衡量线粒体去极化的程度,并以对照组进行标准化。比值越高表明线粒体去极化降低,线粒体膜电位(mitochondria membrane potential, MMP)增加,反之则去极化增加,膜电位下降。

1.8 SIRT3 含量测定

Western blotting 检测 SIRT3 表达水平。各组细

胞充分裂解,凝胶电泳后转膜,免疫化学发光法曝光并进行灰度值分析。以目的蛋白与内参三磷酸甘油醛脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)的灰度比值表示目的蛋白相对表达量,并以对照组进行标准化。

1.9 统计学处理

应用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,方差齐时组间比较采用单因素方差分析和 LSD 两两比较;方差不齐时使用 Tamhane's T_2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 4组细胞 ATP 水平、细胞活性及钙黄绿素荧光强度比较

与对照组比较,模型组、治疗组及抑制剂组细胞中 ATP、细胞活性及钙黄绿素荧光均显著下降($P<0.05$);与模型组比较,治疗组细胞上述指标均显著增加($P<0.05$);与治疗组比较,抑制剂组细胞上述指标又显著下降($P<0.05$;表 1)。

表 1 4组细胞 ATP 水平、细胞活性及钙黄绿素荧光强度比较

Table 1 Comparison of ATP level, cell activity and calcein fluorescence intensity among four groups ($n=6, \bar{x}\pm s$)

Group	ATP (%)	Cell viability (%)	mPTP (U)
Control	100.0±5.3	100.0±4.2	3259±276
Model	72.2±4.8*	73.7±3.7*	2035±217*
Treatment	86.7±6.3*#	83.0±3.6*#	2571±199*#
Inhibitor	72.8±5.8*△	73.3±4.1*△	2116±254*△

ATP: adenosine triphosphate; mPTP: mitochondria permeability transition pore. Compared with control group, * $P<0.05$; compared with model group, # $P<0.05$; compared with treatment group, △ $P<0.05$.

2.2 4组细胞 ROS 水平比较

与对照组(100.0±6.3)%比较,模型组、治疗组及抑制剂组细胞 ROS 水平均显著增加($P<0.05$),依次为(218.0±21.7)%、(180.0±18.1)%和(212.2±18.2)%。与模型组比较,治疗组 ROS 水平显著下降($P=0.001$);与治疗组比较,抑制剂组 ROS 水平又显著增加($P=0.003$;图 1)。

2.3 4组细胞 MMP 比较

与对照组[(100.0±7.2)%]比较,模型组、治疗组及抑制剂组细胞 MMP 均显著下降($P<0.001$),依次为(54.0±6.5)%、(75.8±7.6)%和(62.8±6.2)%;与模型组比较,治疗组细胞 MMP 显著增加;

与治疗组比较,抑制剂组细胞 MMP 又显著下降($P=0.004$;图 2)。

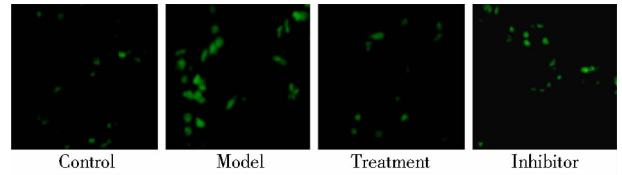


图 1 DCHF-DA 法检测 4 组细胞 ROS 水平

Figure 1 Detection of ROS level in four groups by DCHF-DA ($\times 100$)
ROS: reactive oxygen species.

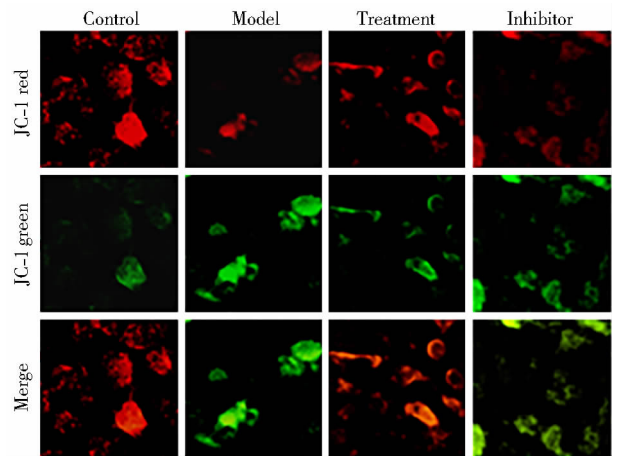


图 2 JC-1 法检测 4 组细胞 MMP 变化

Figure 2 Detection of MMP changes in four groups by JC-1 ($\times 600$)
MMP: mitochondria membrane potential.

2.4 4组细胞 SIRT3 表达比较

与对照组(100.0±11.8)%比较,模型组、治疗组及抑制剂组细胞 SIRT3 表达显著下降($P<0.05$),依次为(73.3±4.5)%、(86.7±7.6)%和(69.0±7.8)%;与模型组比较,治疗组 SIRT3 表达显著增加;与治疗组比较,抑制剂组 SIRT3 表达又显著下降,差异均有统计学意义($P<0.05$;图 3)。

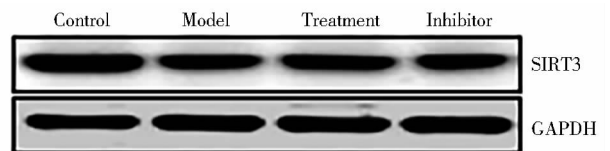


图 3 Western blotting 检测 4 组细胞 SIRT3 表达

Figure 3 Detection of SIRT3 expression in four groups of cells by Western blotting
GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase; SIRT3: silent information regulator 2 related enzyme 3.

3 讨论

ALI 是创伤、感染等临床危重症的常见并发症之一,具有非常高的死亡率,因此一直是临床工作中的棘手问题^[3]。我们前期研究证实,虎杖苷可以通过抑制细胞凋亡及炎症反应减轻 LPS 介导的 ALI,但机制尚未明确^[5]。线粒体是普遍存在于真核生物的细胞器,因生命活动所需的绝大多数能量都依赖于线粒体的合成,因此有细胞的“动力工厂”之称。不仅如此,线粒体还在自由基形成、细胞信息传递、中间代谢产物转化及内源性凋亡途径的启动调节中发挥重要作用^[10,11]。研究证实,肺泡上皮细胞线粒体损伤是 ALI 的重要发病机制,线粒体可以通过调节细胞凋亡及炎症反应参与 ALI^[6,12]。而大量研究证实,虎杖苷可以通过抑制线粒体损伤,在抗休克及抗炎症中发挥作用^[1,13]。因此,本研究中探讨了虎杖苷对肺泡上皮细胞线粒体的影响。

线粒体功能不全通常是由 mPTP 开放引起^[14]。在病理情况下,mPTP 激活开放,允许<1.5 ku 的小分子物质自由出入,此时线粒体内外的电荷梯度减小,线粒体跨膜电位降低;另外电子传递链复合酶质子泵功能发生故障时,H⁺泵入线粒体膜间隙不足同样也会引起线粒体跨膜电位降低^[13,15]。在本研究中,我们通过钙黄绿素-氯化钴检测 mPTP 开放情况及膜电位去极化现象。正常情况下,钴离子不能穿透线粒体膜,但在 mPTP 开放时,钴离子可以自由进入线粒体,淬灭线粒体内的钙黄绿素荧光。我们的结果显示,LPS 刺激导致细胞钙黄绿素荧光减弱,提示 mPTP 开放,而虎杖苷可以抑制 LPS 介导的 mPTP 开放。膜电位是维持线粒体正常功能的电位,正常线粒体是处于电压内负外正的极化状态,是由质子泵将 H⁺由内膜泵出到膜间隙所致,但在 mPTP 开放时,因为小分子物质(如 H⁺)可以自由出入线粒体,使线粒体内外的电荷梯度减小,跨膜电位降低^[16]。我们的研究结果显示,虎杖苷可以显著抑制 LPS 介导的线粒体膜电位下降,这也与我们起初的假设是一致的。其次,线粒体是 ATP 生成的主要细胞器,本研究检测了细胞的 ATP 水平,结果发现 LPS 刺激后的细胞 ATP 水平显著下降,而虎杖苷可以使细胞内 ATP 水平得到显著恢复,提示虎杖苷可以缓解线粒体损伤。再者,当线粒体损伤,电子传递链发生故障后,线粒体生成 ROS 增多,此时堆积的 ROS 将线

粒体 DNA 及 mPTP 作为靶点,反过来加重线粒体损伤。由此我们又检测了细胞内 ROS 水平,结果发现虎杖苷同样可以抑制 LPS 介导的 ROS 生成增加。基于以上结果,本研究认为虎杖苷可以显著改善 LPS 介导的线粒体功能障碍。进一步地,我们探讨了虎杖苷减轻线粒体损伤的可能机制。

SIRT3 是线粒体主要的去乙酰化酶,可通过调节线粒体代谢关键酶的乙酰化水平,参与线粒体代谢及生成等,因此调控 SIRT3 可能作为治疗线粒体损伤的作用靶点^[17,18]。本课题组既往研究证实,大鼠休克后,内皮细胞内 SIRT3 表达下调,但上调 SIRT3 可以促进细胞自噬,抑制内皮细胞线粒体凋亡信号的激活^[9]。同时 SIRT3 也可以通过修饰呼吸链复合体减轻线粒体损伤^[19]。本次研究发现 LPS 刺激导致肺泡上皮细胞 SIRT3 表达显著下降,而虎杖苷可以显著提高 SIRT3 水平表达。研究证实,休克后线粒体锰超氧化物歧化酶(SOD2)乙酰化水平增加,导致线粒体 ROS 清除能力下降,而虎杖苷可以通过激活 SIRT3,提高 SOD2 去乙酰化,清除 ROS,发挥线粒体保护作用,从而改善失血性休克中的小肠损伤^[4]。也有研究表明,虎杖苷可以通过 SIRT1 调节 SOD2 乙酰化修饰,抑制线粒体损伤,减轻失血性休克中肝细胞损伤^[20]。本研究结果发现 SIRT3 抑制剂 3-YTP 可以逆转虎杖苷对线粒体的保护作用,提示虎杖苷可能通过激活 SIRT3 改善了 LPS 介导的线粒体功能障碍,但关于虎杖苷上调 SIRT3 的机制尚需进一步研究。

综上,虎杖苷可以显著改善 LPS 介导的肺泡上皮细胞线粒体功能障碍,而这有可能与虎杖苷激活 SIRT3 有关。

【参考文献】

- [1] Zeng Z, Chen Z, Li T, et al. Polydatin: a new therapeutic agent against multiorgan dysfunction[J]. J Surg Res, 2015, 198(1): 192-199. DOI: 10.1016/j.jss.2015.05.041.
- [2] Li T, Cai S, Zeng Z, et al. Protective effect of polydatin against burn-induced lung injury in rats[J]. Respir Care, 2014, 59(9): 1412-1421. DOI: 10.4187/respcare.02831.
- [3] 付春来. 右美托咪定通过 PI3K/AKT 途径抑制线粒体凋亡信号改善急性肺损伤[D]. 南方医科大学, 2017.
Fu CL. Dexmedetomidine attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting mitochondria-dependent apoptosis via PI3K/AKT[D]. Southern Med Univ, 2017.
- [4] Zeng Z, Yang Y, Dai X, et al. Polydatin ameliorates injury to the

- small intestine induced by hemorrhagic shock *via* SIRT3 activation-mediated mitochondrial protection[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2016, 20(6): 645-652. DOI: 10.1080/14728222.2016.1177023.
- [5] Li T, Liu Y, Li G, *et al.* Polydatin attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury in rats[J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(12): 8401-8410.
- [6] Fu C, Dai X, Yang Y, *et al.* Dexmedetomidine attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury by inhibiting oxidative stress, mitochondrial dysfunction and apoptosis in rats[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 15(1): 131-138. DOI: 10.3892/mmr.2016.6012.
- [7] 章梦丽, 李文强. 二甲双胍对脓毒症急性肺损伤大鼠肺组织线粒体氧化应激的影响[J]. *中国急救医学*, 2017, 37(11): 973-976. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2017.11.002.
- Zhang ML, Li WQ. Effects of metformin on mitochondrial oxidative stress in lung tissue of rats with acute lung injury induced by sepsis[J]. *Chin J Crit Care Med*, 2017, 37(11): 973-976. DOI: 10.3969/j.issn.1002-1949.2017.11.002.
- [8] Li T, Liu Y, Xu W, *et al.* Polydatin mediates Parkin-dependent mitophagy and protects against mitochondria-dependent apoptosis in acute respiratory distress syndrome[J]. *Lab Invest*, 2019. DOI: 10.1038/s41374-019-0191-3. [Epub ahead of print]
- [9] Cai SM, Xu W, Li YF, *et al.* Genipin alleviates vascular hyperpermeability following hemorrhagic shock by up-regulation of SIRT3/autophagy[J]. *Cell Death Discov*, 2018, 4: 52. DOI: 10.1038/s41420-018-0057-2.
- [10] 张琪. 脓毒症线粒体功能障碍及复苏[J]. *中国小儿急救医学*, 2018, 25(7): 507-512. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4912.2018.07.007.
- Zhang Q. Mitochondrial dysfunction and resuscitation in sepsis[J]. *Chin Pediatr Emerg Med*, 2018, 25(7): 507-512. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4912.2018.07.007.
- [11] 盛悦, 王锦权. 脓毒症致线粒体损伤的研究进展[J]. *中华急诊医学杂志*, 2018, 27(5): 573-576. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2018.05.026.
- Sheng Y, Wang JQ. Progress on mitochondrial damage induced by sepsis[J]. *Chin J Emerg Med*, 2018, 27(5): 573-576. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2018.05.026.
- [12] 李香云, 余剑波. 线粒体的融合、分裂与炎症反应研究进展[J]. *中国病理生理杂志*, 2016, 32(12): 2295-2299. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2016.12.030.
- Li XY, Yu JB. Research progress in mitochondrial fusion, fission and inflammatory response [J]. *Chin J Pathophysiol*, 2016, 32(12): 2295-2299. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2016.12.030.
- [13] Gao Y, Zeng Z, Li T, *et al.* Polydatin inhibits mitochondrial dysfunction in the renal tubular epithelial cells of a rat model of sepsis-induced acute kidney injury [J]. *Anesth Analg*, 2015, 121(5): 1251-1260. DOI: 10.1213/ANE.0000000000000977.
- [14] 王兴民, 赵克森. 线粒体功能不全在重症休克发生中的作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2013, 29(4): 757-760, 768. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2013.04.033.
- Wang XM, Zhao KS. Role of mitochondrial dysfunction in genesis of severe shock[J]. *Chin J Pathophysiol*, 2013, 29(4): 757-760, 768. DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2013.04.033.
- [15] Lin B, Liu Y, Li T, *et al.* Ulinastatin mediates protection against vascular hyperpermeability following hemorrhagic shock [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(7): 7685-7693.
- [16] Li G, Li T, Li Y, *et al.* Ulinastatin inhibits oxidant-induced endothelial hyperpermeability and apoptotic signaling [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2014, 7(11): 7342-7350.
- [17] 马路. SIRT3与线粒体适应[J]. *医学综述*, 2015, 21(2): 233-235. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2015.02.015.
- Ma L. SIRT3 and mitochondrial adaptation[J]. *Med Recapitulate*, 2015, 21(2): 233-235. DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2015.02.015.
- [18] Parodi-Rullan RM, Chapa-Dubocq XR, Javadov S. Acetylation of mitochondrial proteins in the heart; the role of SIRT3 [J]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1094. DOI: 10.3389/fphys.2018.01094.
- [19] Rezaei M, Keshtzar E, Khodayar MJ, *et al.* SIRT3 regulates diabetogenic effects caused by arsenic: an implication for mitochondrial complex II modification [J]. *Toxicol Lett*, 2019, 301: 24-33. DOI: 10.1016/j.toxlet.2018.10.025.
- [20] Li P, Wang X, Zhao M, *et al.* Polydatin protects hepatocytes against mitochondrial injury in acute severe hemorrhagic shock *via* SIRT1-SOD2 pathway [J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2015, 19(7): 997-1010. DOI: 10.1517/14728222.2015.1054806.

(编辑: 张美)