

## 研究论文

# 内源性CO在大鼠离体心脏缺血再灌注中的保护作用

周振, 马爽, 刘杰, 纪巧荣, 曹成珠, 李晓娜, 汤锋, 张伟\*

青海大学高原医学研究中心; 青海省高原医学应用基础重点实验室, 西宁 810001

**摘要:** 本文旨在观察研究内源性CO在大鼠离体心脏缺血再灌注中的作用。大鼠经内源性CO激动剂原卟啉氯化钴(CoPP)和内源性CO抑制剂锌原卟啉(ZnPP)处理后, 采用Langendorff离体心脏灌流系统完成心脏缺血再灌注模型, 停灌(缺血)时间设定为30 min, 分别采集离体心脏稳定和再灌注后30 min心功能指标参数, ELISA方法检测心肌组织cGMP含量, 比色法测定血浆中内源性CO的含量以及再灌注10 min时灌流液中肌酸激酶(creatine kinase, CK)、乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)等心肌酶的指标。结果显示, 停灌前离体心脏跳动平稳, CoPP组、ZnPP组和对照组心脏各项功能指标均保持稳定, 三组间心功能指标无明显差异; 再灌注后, 三组间心功能指标出现显著性差异( $P < 0.05$ ), 与停灌前相比, 对照组和ZnPP组心功能均明显下降( $P < 0.05$ ), 且ZnPP组下降较为显著, 而CoPP组仍能保持停灌前水平。与此同时, 三组大鼠体内CO含量、离体心肌酶学指标和再灌注后恢复稳定时间也有明显的差异( $P < 0.05$ ), 和对照组相比, CoPP组复灌稳定恢复时间减少, 灌流液中CK和LDH含量显著减少, 血浆内源性CO含量和心肌cGMP含量显著增加, 而ZnPP组则呈现截然相反的结果。以上结果提示, 内源性CO可维持一定的心脏舒缩能力、缩短心脏复跳时间, 在心脏缺血再灌注中起到了保护作用。

**关键词:** 内源性一氧化碳; 缺血再灌注损伤; Langendorff; 心脏功能; 肌酸激酶; 乳酸脱氢酶

**中图分类号:** R331.3; R392.7

## Protective effects of endogenous carbon monoxide against myocardial ischemia-reperfusion injury in rats

ZHOU Zhen, MA Shuang, LIU Jie, JI Qiao-Rong, CAO Cheng-Zhu, LI Xiao-Na, TANG Feng, ZHANG Wei\*

High Altitude Medical Research Center of Qinghai University; the Key Laboratory of High Altitude Medical Application of Qinghai Province, Xining 810001, China

**Abstract:** The present study is aimed to explore the effects of endogenous carbon monoxide on the ischemia-reperfusion in rats. Wistar rats were intraperitoneally injected with protoporphyrin cobalt chloride (CoPP, an endogenous carbon monoxide agonist, 5 mg/kg), zinc protoporphyrin (ZnPP, an endogenous carbon monoxide inhibitor, 5 mg/kg) or saline. Twenty-four hours after injection, the myocardial ischemia-reperfusion model was made by Langendorff isolated cardiac perfusion system, and cardiac function parameters were collected. Myocardial cGMP content was measured by ELISA, and the endogenous carbon monoxide in plasma and myocardial enzymes in perfusate at 10 min after reperfusion were measured by colorimetry. The results showed that before ischemia the cardiac functions of CoPP, ZnPP and control groups were stable, and there were no significant differences. After reperfusion, cardiac functions had significant differences among the three groups ( $P < 0.05$ ). Compared with pre-ischemia, the cardiac function decreased and obvious cardiac arrest was shown in control and ZnPP groups, while the cardiac function in CoPP group did not change significantly, maintaining a relatively stable level. At the same time, three groups' carbon monoxide level, myocardial enzymology and the cardiac function recovery time after reperfusion also had significant differences ( $P < 0.05$ ). Compared with those in control group, recovery after reperfusion was faster, activities of creatine kinase and lactic dehydrogenase were significantly decreased, plasma CO and myo-

Received 2017-09-08 Accepted 2017-11-01

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81560301, 81160012) and the Natural Science Foundation of Qinghai Province, China (No. 2017-ZJ-905).

\*Corresponding author. Tel: +86-971-8175560; E-mail: zw0228@sina.com

cardial cGMP contents were significantly increased in CoPP group, while these changes were completely opposite in ZnPP group. It is concluded that endogenous carbon monoxide can maintain cardiac function, shorten the time of cardiac function recovery, and play a protective role in cardiac ischemia-reperfusion.

**Key words:** endogenous carbon monoxide; ischemia reperfusion injury; Langendorff; cardiac function; creatine kinase; lactic dehydrogenase

多年来, 心血管疾病一直是影响人们健康的主要原因<sup>[1]</sup>, 其中缺血性心脏病(如心绞痛、心肌梗死等)的危害最大、严重程度最高, 对该病的预防和治疗也较为困难。这是由于缺血性心脏病的病因复杂且治疗手段单一, 治疗仅为恢复缺血区域血流供应。然而在恢复血流供应之后又容易发生更为严重的缺血再灌注损伤<sup>[2]</sup>。发生缺血再灌注损伤时, 由于有大量的自由基生成, 细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  超载以及白细胞大量聚集激活, 使得组织细胞大量地被破坏, 最终使得缺血部位发生更为严重的损害<sup>[3]</sup>。此外, 在心脏移植手术中也较易出现心肌缺血再灌注损伤, 这是导致心脏移植失败的重要因素<sup>[4]</sup>。因此, 减少或者抑制上述过程中发生的心肌缺血再灌注损伤是临床治疗成功的关键。

CO 是一种剧毒气体, 可以造成机体严重的缺氧<sup>[5]</sup>, 然而大量的研究表明, 机体内产生的 CO 却是一种重要的内源性气体分子, 调节着各种生命活动, 尤其在心血管、肝脏以及中枢神经系统活动中发挥着重要作用。内源性 CO 由血红素通过血红素氧合酶(heme oxygenase, HO)催化分解产生, 由于其特殊的分子结构, 可弥散进入各个器官系统, 参与抗凋亡、舒张血管平滑肌、调节炎症反应等过程<sup>[6]</sup>, 但是内源性 CO 在心肌缺血再灌注损伤中的作用尚不完全清楚。本文通过观察内源性 CO 激动剂和抑制剂对大鼠心脏缺血再灌注的影响, 初步探讨内源性 CO 在心脏缺血再灌注中的作用。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物** 清洁级雄性 Wistar 成年大鼠, 体重 240~260 g, 购自北京维通利华实验动物技术有限公司[许可证号: SCXK(京)2012-0001, No. 114007-00064575], 置于 23 °C、昼/夜交替、自由饮水和进食的条件下饲养。本研究的动物实验方案经青海大学医学院实验动物伦理委员会审核和批准。

**1.2 实验药品和试剂** 超纯水配制 Krebs-Henseleit (K-H) 液 (mmol/L): 118 NaCl, 3.2 KCl, 1.2  $\text{MgSO}_4$ , 25  $\text{NaHCO}_3$ , 1.18  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 2.5  $\text{CaCl}_2$ , 5.5 葡萄糖,

调节 pH 于 7.3~7.4 之间, 持续通入 95%  $\text{O}_2$  和 5%  $\text{CO}_2$  混合气体。乌拉坦(国药集团化学试剂有限公司, 批号 T20090811)用生理盐水配制成 20% 的溶液, 即配即用。原卟啉氯化钴 (protoporphyrin IX cobalt chloride, CoPP, C1900, MW: 655.03)、锌原卟啉 (protoporphyrin IX zinc, ZnPP, 282820, MW: 626.03) 均购自 Sigma 公司, 1 mol/L NaOH 溶液溶解后用稀 HCl 调 pH 至 7.2~7.4<sup>[7]</sup>, 再用生理盐水稀释到目标浓度。内源性 CO、乳酸脱氢酶 (lactic dehydrogenase, LDH)、肌酸激酶 (creatine kinase, CK)、环磷酸鸟苷 (cGMP) 检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

**1.3 实验仪器** Langendorff 心脏灌流装置: Powerlab 数据采集系统、聚乙烯导管、乳胶球囊、蠕动泵、压力传感器 (AD Instruments, 澳大利亚), pH 计 (雷磁 PHS-SC, 中国), 纯水仪 (ELGA UTL0000 1850, 英国), 离心机 (Sigma 3K15, 德国), 酶标仪 (TECAN Infinite 200pro, 瑞士)。

### 1.4 实验动物的处理以及 Langendorff 离体心脏灌流模型

实验大鼠随机分为三组, 每组 10 只, 在进行实验前 24 h 分别腹腔注射内源性 CO 的激动剂 CoPP (5 mg/kg)、内源性 CO 的抑制剂 ZnPP (5 mg/kg)<sup>[8]</sup> 以及等体积生理盐水, 24 h 后实验大鼠腹腔注射 20% 乌拉坦 (40 mg/kg) 麻醉, 实施手术, 腹主动脉采血并及时取出心脏, 置于 4 °C 的 K-H 液中, 分离升主动脉, 排净心脏内残余血液, 将灌注针置入升主动脉后立即固定悬挂于 Langendorff 离体灌流装置上, 用 37 °C K-H 液进行主动脉恒压 (40~60 mmHg) 逆向灌流。待心脏复跳, 左心耳剪开小口, 将连接有压力传感器的球囊通过左心耳置入左心室, 注水将球囊内压力维持在 5~9 mmHg, 通过 Powerlab 信号采集系统采集记录离体心脏左室压 (left ventricular pressure, LVP)、左室最大收缩速率 ( $+dP/dt_{\max}$ )、左室最大舒张速率 ( $-dP/dt_{\max}$ )、左室发展压 (left ventricular developed pressure, LVDP)、心率 (heart rate, HR) 和灌流压 (flow pressure, FP)。

**1.5 离体心脏缺血再灌注损伤模型** 待心脏搏动稳定后记录 30 min 的稳定期数据, 停灌 30 min 后

复灌,待心脏恢复跳动记录 30 min 的复灌后各项指标。

**1.6 其他指标的测定** 用 EDTA 抗凝管采集各组大鼠腹主动脉血液, 2 775 g 离心 10 min 分离血浆, 应用比色法检测血浆内源性 CO 的含量。收集各组再灌注后 10 min 时的灌流液, 测定其 CK 以及 LDH。缺血再灌注实验完毕后, 取下心脏将其破碎匀浆, 离心取上清测定心肌 cGMP 含量。

**1.7 统计学方法** 使用 SPSS 22.0 统计软件进行统计分析, 所有数据为计量资料, 以 mean  $\pm$  SD 表示, 统计学检验选用配对 *t* 检验和 Fisher's LSD, 检验水准  $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 再灌注前后心功能参数的变化情况

表 1 与图 1、2 显示 CoPP 组、ZnPP 组和对照组停灌前稳定期心脏 LVP、左室  $\pm dP/dt_{\max}$  及 LVDP 变化趋势一致, 无显著性差异, HR 和 FP 保持平稳; 与停灌前相比, 对照组和 ZnPP 组再灌注后心功能的指标 LVP、 $\pm dP/dt_{\max}$  和 LVDP 明显下降 ( $P < 0.05$ ), 而 CoPP 组心脏仍能保持较为稳定的搏动状态, 各项心功能指标与停灌前保持一致, 参数无明显变化。与对照组相比, CoPP 组心脏再灌注后稳定性良好,

心功能维持在正常水平, 而 ZnPP 组心脏在再灌注后稳定性进一步减弱, 心功能指标下降更为明显 ( $P < 0.05$ )。与停灌前相比, 对照组和 CoPP 组再灌注后 FP 保持稳定, ZnPP 组 FP 明显上升 ( $P < 0.05$ ), 提示 ZnPP 组在再灌注后心脏舒缩功能明显障碍。与停灌前相比, 对照组再灌注后 HR 升高, CoPP 组 HR 保持稳定无明显差异, ZnPP 组再灌注后 HR 虽保持不变, 但各时间点波动明显。

### 2.2 复灌稳定恢复时间

图 3 显示各组离体心脏再灌注后心脏恢复跳动的情况, CoPP 组心脏再灌注 6 min 后全部恢复跳动, 复灌稳定恢复时间平均为  $(4.2 \pm 1.0)$  min。对照组再灌注稳定恢复时间为 6~16 min, 平均为  $(8.1 \pm 1.4)$  min。ZnPP 组再灌注稳定恢复时间为 16~30 min, 平均为  $(21.4 \pm 5.4)$  min。三组之间相比差异有显著性 ( $P < 0.05$ ), 与对照组相比, CoPP 组复灌后能快速恢复稳定跳动, 而 ZnPP 组心脏复灌恢复跳动所需时间较长。

### 2.3 心肌酶学参数的测定结果

表 2 显示了各组心脏再灌注 10 min 时灌流液中 CK 和 LDH 含量, 和对照组相比, CoPP 组灌流液中 CK 和 LDH 含量减少, 而 ZnPP 组 CK 和 LDH

表 1. 心脏再灌注前后各生理学指标的变化情况

Table 1. Changes of various physiological indicators between cardiac perfusion and reperfusion processes

Index	Control		CoPP		ZnPP	
	Perfusion	Reperfusion	Perfusion	Reperfusion	Perfusion	Reperfusion
LVP (mmHg)	109.9 $\pm$ 1.3	84.9 $\pm$ 1.1*	109.7 $\pm$ 1.3	109.5 $\pm$ 3.4 <sup>#</sup>	108.5 $\pm$ 3.7	65.0 $\pm$ 18.4* <sup>#</sup> $\Delta$
+dP/dt <sub>max</sub> (mmHg/s)	1 551.7 $\pm$ 13.0	1 108.2 $\pm$ 8.5*	1 503.9 $\pm$ 37.0	1 486.1 $\pm$ 21.0 <sup>#</sup>	1 580.0 $\pm$ 18.4	146.2 $\pm$ 19.2* <sup>#</sup> $\Delta$
-dP/dt <sub>max</sub> (mmHg/s)	-1 202.6 $\pm$ 52.0	-857.2 $\pm$ 46.0*	-1 204.7 $\pm$ 82.0	-1 174.6 $\pm$ 29.0 <sup>#</sup>	-1 225.92 $\pm$ 56.0	-140.0 $\pm$ 12.0* <sup>#</sup> $\Delta$
LVDP (mmHg)	95.0 $\pm$ 4.0	63.9 $\pm$ 6.4*	96.5 $\pm$ 1.6	95.9 $\pm$ 2.2 <sup>#</sup>	95.0 $\pm$ 3.2	38.5 $\pm$ 8.7* <sup>#</sup> $\Delta$
FP (mmHg)	51.5 $\pm$ 1.0	51.4 $\pm$ 0.8	49.7 $\pm$ 0.4	50.4 $\pm$ 0.3	51.52 $\pm$ 2.5	72.0 $\pm$ 1.7* <sup>#</sup> $\Delta$
HR (beats/min)	177.0 $\pm$ 2.9	199.2 $\pm$ 3.0*	175.2 $\pm$ 1.4	176.8 $\pm$ 1.2 <sup>#</sup>	177.5 $\pm$ 1.7	176.0 $\pm$ 33.0 <sup>#</sup>

Mean  $\pm$  SD,  $n = 10$ . \* $P < 0.05$  vs perfusion. After reperfusion, <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs control group;  $\Delta$  $P < 0.05$  vs CoPP group.

表 2. 心脏再灌注 10 min 时灌流液中心肌酶学参数的变化情况

Table 2. The changes of cardiac enzymes in perfusate at 10 min after reperfusion

	CK (U/mL)	LDH (U/mL)
CoPP	0.107 $\pm$ 0.095*	4.426 $\pm$ 0.341*
ZnPP	1.033 $\pm$ 0.113* <sup>#</sup>	12.910 $\pm$ 4.423* <sup>#</sup>
Control	0.835 $\pm$ 0.046	6.148 $\pm$ 0.375
<i>F</i>	410.441	50
<i>P</i>	0.000 01	0.000 01

Mean  $\pm$  SD,  $n = 10$ . <sup>#</sup> $P < 0.05$  vs CoPP group; \* $P < 0.05$  vs control group.

含量增高, 三组之间有显著差异 ( $P < 0.05$ )。

### 2.4 血浆内源性CO和心肌cGMP的测定结果

图 4 显示各组血浆内源性 CO 含量和心肌 cGMP 含量。和对照组相比, CoPP 组血浆内源性 CO 含量最高, ZnPP 组含量最低, 三组间差异均具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。各组心肌 cGMP 的含量变化与其血浆内源性 CO 含量的结果保持一致, 和对照组相比, CoPP 组含量最高, ZnPP 组含量最低, 且有显著性差异 ( $P < 0.05$ )。

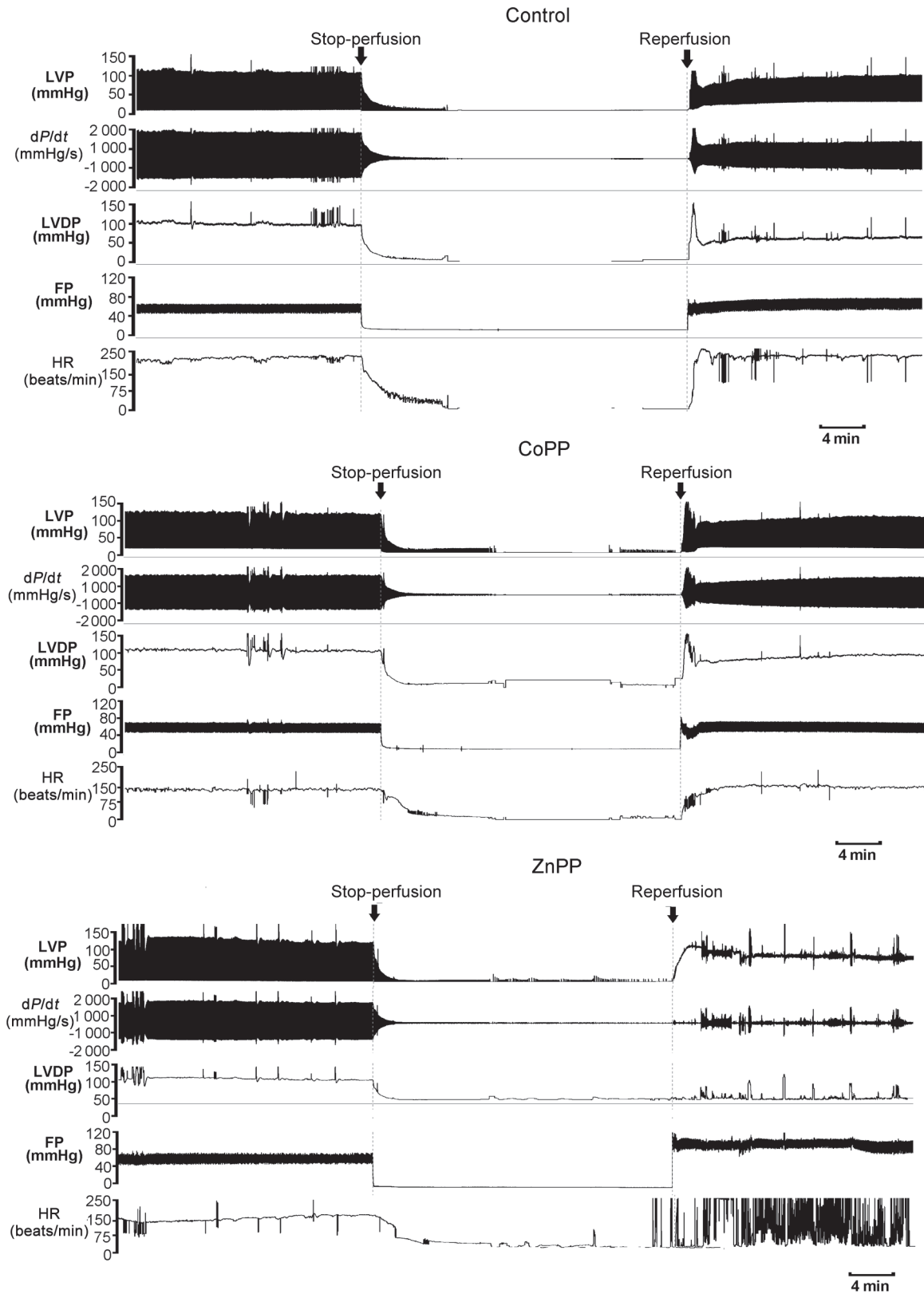


图 1. 缺血再灌注前后各组左心室生理学指标的变化描记图

Fig. 1. The representative recordings of the cardiac function indices before and after myocardial ischemia in control, CoPP, and ZnPP groups. Before stop-perfusion, LVP,  $\pm dP/dt_{\max}$ , LVDP, HR and FP kept the same trend and remained stable in 3 groups. After reperfusion, the cardiac physiological parameters in ZnPP and control groups were changed, but not in CoPP group.

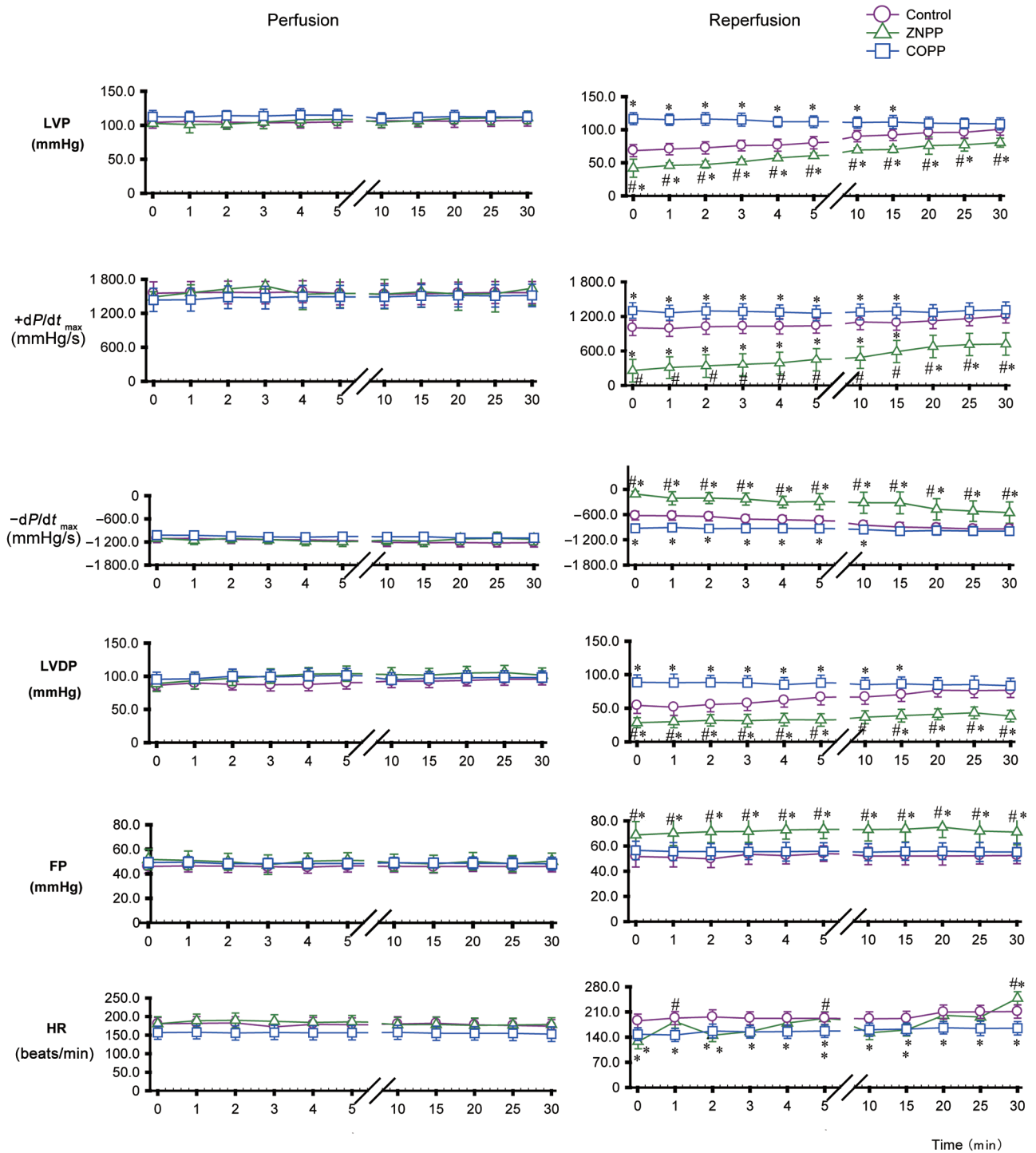


图 2. 停灌前及复灌后30 min内各生理学指标的变化趋势

Fig. 2. The time-course of mean cardiac function indices before and after myocardial ischemia. Mean  $\pm$  SD,  $n = 10$ . After reperfusion, # $P < 0.05$  vs CoPP group; \* $P < 0.05$  vs control group.

### 3 讨论

缺血再灌注损伤是血管溶栓治疗、器官移植等过程中的常见隐患，在临床上也缺少有效的预防和治疗手段<sup>[9]</sup>。内源性CO作为一种气体分子对于心

血管功能调节的研究近些年来逐渐兴起，我们在先前的预实验中也发现，CO在离体组织缺血缺氧的过程中具有明显的抗损伤作用，故研究内源性CO在心肌缺血再灌注损伤中的作用可以阐明内源性

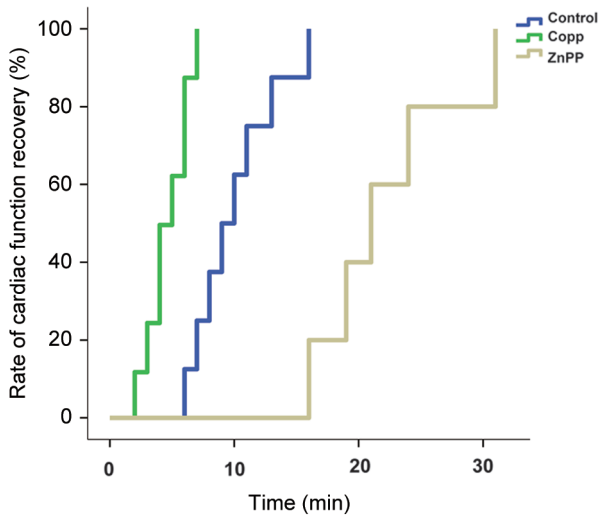


图 3. 再灌后心脏恢复跳动时间的比较

Fig. 3. The summary of cardiac function recovery rate after reperfusion. The cardiac function in CoPP group recovered stable very quickly, and all hearts recovered after 6 min of reperfusion. The cardiac function in control group recovered slowly, and all hearts recovered after 16 min of reperfusion. The cardiac function in ZnPP group recovered most slowly, and all hearts recovered after 30 min of reperfusion.

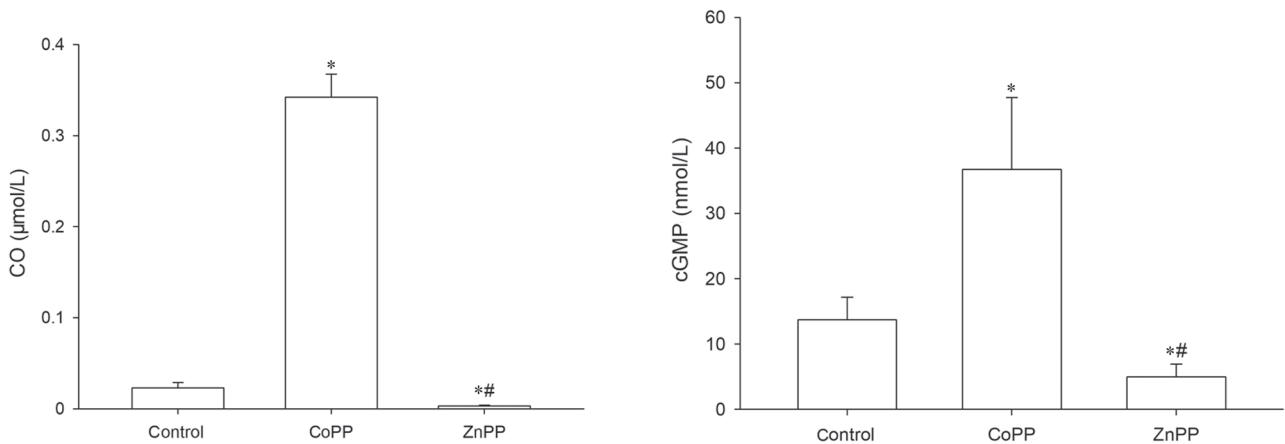


图 4. 血浆内源性CO和心肌cGMP的含量

Fig. 4. The contents of plasma endogenous carbon monoxide and myocardial cGMP. Mean  $\pm$  SD,  $n = 10$ . # $P < 0.05$  vs CoPP group; \* $P < 0.05$  vs control group.

GC, 增加心肌细胞内 cGMP 的含量<sup>[13]</sup>。这样, 实验中药物作用后的离体心脏可在无血红素的晶体液灌流时也体现出相应作用。而 Langendorff 离体心脏系统在制造缺血再灌注损伤模型的同时也使心脏脱离体内环境, 去除体液因素和神经系统的干扰<sup>[14]</sup>, 能更直接地观察内源性 CO 对心脏的作用。

本研究结果显示, CoPP 组大鼠血浆中 CO 含量明显高于对照组和 ZnPP 组, 同时反映离体心脏功

能 CO 在心血管系统中的具体效应。

内源性 CO 是通过体内 HO 催化分解血红素产生而来, 其中 HO-1 属于诱导型, 在机体发生应激反应和有害因素刺激的情况下大量激活, 参与对抗炎症反应、抑制细胞凋亡、舒张血管等作用; HO-2 是组成型, 在正常生理情况下普遍存在于全身各处, 产生的 CO 参与正常的生理过程调节<sup>[10]</sup>。本研究所使用的药物 CoPP 是内源性 CO 的有效激动剂<sup>[11]</sup>, 可诱导机体激活 HO-1, 使内源性 CO 生成增多; ZnPP 是一种和血红素具有相同环状结构的物质, 可以竞争性结合 HO-1 和 HO-2, 从而减少 HO 对血红素的催化分解, 是内源性 CO 有效的抑制剂<sup>[12]</sup>。在心脏离体灌注前 24 h 注射两种药物, CoPP 诱导 HO-1 增多, 而 ZnPP 抑制 HO-1 和 HO-2, 由于体内 HO 的含量改变, 其催化降解的血红素也增多或减少, 分解血红素产生的内源性 CO 的含量也随之变化; 与此同时, 由于内源性 CO 的分子特性, 可以通过细胞膜进入心肌细胞内, 和心肌细胞中的鸟苷酸环化酶 (guanylate cyclase, GC) 相结合, 激活

能的指标 LVP、 $\pm dP/dt_{max}$ 、LVDP 在缺血再灌注前后没有明显的变化; 对照组血浆中 CO 含量较少, 同时上述的离体心脏心功能指标也下降; 而 ZnPP 组血浆 CO 含量最低, 离体心脏的功能指标 LVP、 $\pm dP/dt_{max}$ 、LVDP 下降更为明显, 这可能是内源性 CO 进入心肌细胞发挥了调节作用。有研究表明<sup>[13]</sup>, 内源性 CO 可进入心肌细胞, 通过活化心肌细胞内 GC 增加 cGMP 来减少心肌细胞内的  $Ca^{2+}$ , 一方面

遏制心肌细胞内的  $\text{Ca}^{2+}$  堆积超载, 维持了心肌细胞的正常功能; 另一方面也阻止了心肌细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  过多而诱发的凋亡, 最终维持了心功能的稳定, 这与上述心功能指标的结果相一致。再灌注后, 和对照组比较, ZnPP 组 FP 明显上升, HR 各时间点出现波动, 这可能由于心脏缺血再灌注后, 心肌细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  的蓄积有关。与此同时, 与对照组相比, CoPP 组心肌内 cGMP 含量明显升高, ZnPP 组明显下降, 这说明内源性 CO 在一定程度上增加了心肌细胞内的 cGMP, 使得心肌细胞内 cGMP 的含量增多, 继而发挥了相应的保护作用。再灌注后 CoPP 组心脏在短时间内就全部恢复跳动, 而对照组和 ZnPP 组所需时间较长, 表明在极端情况下内源性 CO 能维持较好的心脏舒缩储备能力, 这也和上述所示结果相符合。本研究离体灌注时, HR 在  $(200 \pm 34)$  beats/min 的范围内, 这与他人报道的结果一致<sup>[15]</sup>。心率偏低的原因可能是一方面离体实验消除了机体整体神经、体液对在体心率的影响, 仅通过心脏窦房结发出的冲动维持基本的心跳, 另一方面由于灌流液不能完全代替血液, 故不能达到在体的水平。

CK 和 LDH 是存在于心肌细胞内的两种生物化学酶, 在心脏受损、心肌细胞被大量破坏时会释放到外周<sup>[16]</sup>, 故通过检测再灌注 10 min 时<sup>[17]</sup>灌流液中的 CK、LDH, 可以反映缺血再灌注发生后心脏的受损程度。与对照组比较, CoPP 组 CK、LDH 含量较低, 说明心脏受损程度较小, 被破坏的心肌细胞数目也较少; 而 ZnPP 组 CK、LDH 含量较高, 表明心脏受损程度较大, 心肌细胞破坏数目较多。这反映出在缺血再灌注损伤发生时内源性 CO 可以抑制心肌细胞的坏死和凋亡, 从而在一定程度上减轻心脏的损伤, 其机制可能与心肌细胞内增多的 cGMP 发挥抗炎、抗凋亡的作用有关。

综上所述, 在心脏缺血再灌注过程中, 内源性 CO 可以通过增加 cGMP 起到保护作用, 一方面保证了心脏的舒缩能力, 另一方面维持了心肌细胞的活性, 其可能机制为内源性 CO 活化心肌细胞内的 GC, 在增加 cGMP、减少心肌细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  的同时也抑制了心肌细胞的坏死和凋亡, 其具体过程还需要进一步研究。另外, 在体内可以通过 CoPP 和 ZnPP 来增加或减少内源性 CO 的含量, 应用内源性 CO 激动剂和抑制剂对心脏缺血再灌注的研究, 更有利于探讨内源性 CO 对于心脏损伤的保护机制, 为今后相关疾病的治疗提供理论依据。

## 参考文献

- 1 Yao Z (姚震), Chen L. Current status and prospect of cardiovascular disease in China. *Hainan Med J* (海南医学) 2013; 24(13): 1873-1876 (in Chinese).
- 2 Xu M (徐盟). Research on main mechanisms of MIRI and related drug therapy. *Pract Pharm Clin Remed* (实用药物与临床) 2014; 17(8): 1052-1056 (in Chinese with English abstract).
- 3 Radojkovic M, Stojanovic M, Stanojevic G, Radojkovic D, Gligorijevic J, Ilic I, Stojanovic N. Ischemic preconditioning vs adenosine vs prostaglandin E1 for protection against liver ischemia/reperfusion injury. *Braz J Med Biol Res* 2017; 50(8): e6185.
- 4 Zhang Y, Moszczynski LA, Liu Q, Jiang J, Zhao D, Quan D, Mele T, McAlister V, Jevnikar A, Baek SJ, Liu K, Zheng X. Over-expression of growth differentiation factor 15 (GDF15) preventing cold ischemia reperfusion (I/R) injury in heart transplantation through Foxo3a signaling. *Oncotarget* 2017; 8(22): 36531-36544.
- 5 Pan XW (潘晓雯). Carbon monoxide poisoning and hypoxia. *Chin J Pract Intern Med* (中国实用内科杂志) 2001; 21(3): 135-137 (in Chinese).
- 6 Brouard S, Otterbein LE, Anrather J, Tobiasch E, Bach FH, Choi AM, Soares MP. Carbon monoxide generated by heme oxygenase 1 suppresses endothelial cell apoptosis. *J Exp Med* 2000; 192(7): 1015-1026.
- 7 Wang Y (汪洋), Du Y, Xu HJ, Guo W, Chen YY, Shen YL. Role of heme oxygenase-1 in cardioprotection against anoxia/reoxygenation induced injury and its mechanisms. *Chin J Pathophysiol* (中国病理生理杂志) 2006; 22(6): 1087-1091 (in Chinese with English abstract).
- 8 Moon WS, Tarnawski AS. Nuclear translocation of survivin in hepatocellular carcinoma: a key to cancer cell growth? *Hum Pathol* 2003; 34 (11): 1119-1126.
- 9 Thummasorn S, Shinlapawattayatorn K, Chattipakorn SC, Chattipakorn N. High dose humanin analogue applied during ischemia exerts cardioprotection against ischemia/reperfusion injury by reducing mitochondrial dysfunction. *Cardiovasc Ther* 2017; 35(3): e12289.
- 10 Ryter SW, Alam J, Choi AM. Heme oxygenase-1/carbon monoxide: from basic science to therapeutic applications. *Physiol Rev* 2006; 86(2): 583-650.
- 11 Zhu XJ (朱晓洁), Liang F, Wang XH, Zhao WM, Gao X. Protective effect of COPP on hypoxia/reoxygenation injury of H9c2 myocyte. *Chin Pharmacol Bull* (中国药理学通报) 2009; 25(3): 352-356 (in Chinese with English abstract).
- 12 Manosso LM, Moretti M, Rosa JM, Cunha MP, Rodrigues ALS. Evidence for the involvement of heme oxygenase 1 in

- the antidepressant-like effect of zinc. *Pharmacol Rep* 2017; 69(3): 497–503.
- 13 Abramochkin DV, Kononova OP, Kamkin A, Sitdikova GF. Carbon monoxide modulates electrical activity of murine myocardium via cGMP-dependent mechanisms. *J Physiol Biochem* 2015; 71(1): 107–119.
- 14 Chen CJ (陈婵娟), Pan X, Zhao MJ, Wei LX. Establishment and assessment of a Langendorff perfused rat heart model of ischemia-reperfusion. *Chin J Comp Med (中国比较医学杂志)* 2013; 23(12): 21–27 (in Chinese with English abstract).
- 15 Li Y (李艳), Chen Z. Exogenous hydrogen sulfide postconditioning attenuates myocardial injury in isolated rat hearts after ischemia/reperfusion via PI3K-Akt signaling pathway and modulation of  $\beta_2$ -AR protein. *Mod Med J Chin (中国现代医药杂志)* 2014; 16(9): 1–5 (in Chinese with English abstract).
- 16 Islam O, Patil P, Goswami SK, Razdan R, Inamdar MN, Rizwan M, Mathew J, Inceoglu B, Stephen Lee KS, Hwang SH, Hammock BD. Inhibitors of soluble epoxide hydrolase minimize ischemia-reperfusion induced cardiac damage in normal, hypertensive and diabetic rats. *Cardiovasc Ther* 2017; 35(3): e12259.
- 17 Liu XN (刘显妮), Liu YN, Zhang W. The influence of altitude chronic hypoxia on isolated rat heart ischemia-reperfusion injury. *J Qinghai Med Coll (青海医学院学报)* 2014; 35(1): 31–35 (in Chinese with English abstract).