

· 基础医学 ·

PI3K/Akt 调控糖尿病冠状动脉平滑肌细胞 BK 通道的作用机制

焦国庆^{1,2*}, 李明秋², 吴莹¹, 王如兴², 胡亚玲¹, 纪丽¹, LU Tong³¹无锡市转化医学研究所, ²南京医科大学附属无锡人民医院心脏外科, 江苏 无锡 214023; ³Mayo Clinic 细胞电生理研究室, 美国 明尼苏达州罗切斯特 55905

[摘要] 目的:探讨PI3K/Akt对糖尿病冠状动脉平滑肌细胞BK通道的调节作用。方法:采用正常糖浓度(5 mmon/L)、高糖浓度(15 mmon/L)、活性氧(reactive oxygen species, ROS)抑制剂GKT137831、PI3K抑制剂Wortmannin作用于人冠状动脉平滑肌细胞(human coronary artery smooth muscle cell, HCASMC)。以GKT137831喂饲链脲霉素(streptozocin, STZ)诱导的糖尿病大鼠, 免疫印迹测定HCASMC、大鼠冠状动脉PI3K超家族DNA-Pkcs、Akt、p-Akt(S473)及BK- α 亚基、BK- β 1亚基的表达, 2', 7'-二氯二氢荧光素二乙酸酯测定HCASMC及大鼠冠状动脉ROS表达。结果:高糖浓度下HCASMC及糖尿病大鼠冠状动脉ROS、DNA-Pkcs、Akt、p-Akt(S473)表达量增高, BK- β 1表达量降低($P < 0.05$)。GKT137831作用后的HCASMC及糖尿病大鼠冠状动脉中, ROS、DNA-Pkcs、Akt、p-Akt(S473)表达量降低, BK- β 1表达量明显增高($P < 0.05$)。Wortmannin作用后的HCASMC p-Akt(S473)表达量降低, BK- β 1表达量明显增加($P < 0.05$)。结论:PI3K/Akt通路参与糖尿病冠状动脉平滑肌细胞BK通道的调控。

[关键词] 糖尿病; 大电导钙激活钾通道 β 1亚基; 冠状血管**[中图分类号]** R329.26**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2022)02-166-06**doi:** 10.7655/NYDXBNS20220203

PI3K/Akt pathway mediates large conductance calcium-activated potassium in diabetic coronary smooth muscle cells

JIAO Guoqing^{1,2*}, LI Mingqiu², WU Ying¹, WANG Ruxing², HU Yaling¹, JI Li¹, LU Tong³¹Wuxi Institute of Translational Medicine, ²Department of Cardiology, Wuxi People's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Wuxi 214023, China; ³Division of Cardiovascular Diseases, Mayo Clinic, Rochester 55905, USA

[Abstract] **Objective:** This study aims to investigate the effect of PI3K/Akt pathway on the regulation of large conductance Ca^{2+} -activated K^+ channel (BK channel) in diabetic coronary smooth muscle cells. **Methods:** Human coronary artery smooth muscle cells (HCASMC) were incubated with different concentrations of glucose (5 mmol/L and 15 mmol/L), reactive oxygen species (ROS) inhibitor GKT137831 and PI3K inhibitor wortmannin. Streptozotocin-induced diabetic rats were established successfully by intraperitoneal injection. Expression of DNA-Pkcs, Akt, p-Akt (S473), BK- α subunit and BK- β 1 subunits were determined by Western blot. ROS generation in HCASMC was measured in terms of fluorescence using the cell-permeable fluorogenic probe DCFH-DA. **Results:** Compared with that of HCASMC incubated in 5 mmon/L glucose concentration, the expression of DNA-Pkcs, Akt, p-Akt (S473) increased significantly and BK- β 1 subunit decreased significantly ($P < 0.05$). Compared with the control group, the expression of p-Akt(s473) decreased significantly ($P < 0.05$) and BK- β 1 increased significantly ($P < 0.05$) after pretreated with Wortmannin. **Conclusion:** PI3K/Akt channel is involved in the regulation of BK channel expression in diabetic coronary smooth muscle cells.

[Key words] diabetes; large conductance calcium activated potassium channel β 1 subunit; coronal vessels

[J Nanjing Med Univ, 2022, 42(02): 166-170, 199]

[基金项目] 江苏省自然科学基金(BK20171151)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: jiaohaoyang333@163.com

糖尿病严重危害人类健康,往往合并心、脑、肾、视网膜等脏器和组织的并发症,其中以冠状动脉病变尤为严重,可导致心肌梗死、恶性心律失常和心脏猝死等严重并发症,已成为我国急性心肌梗死的最主要危险因素之一^[1]。大电导钙激活钾通道(BK通道)广泛分布于冠状动脉平滑肌细胞上,由4个 α 亚基和4个 β 亚基组成,其中 α 亚基形成BK通道的孔区, β 亚基为辅助亚基,对BK通道动力学起重要调节作用。在血管平滑肌细胞上,主要为 β_1 亚基,参与血管张力调节,对冠状动脉血管舒张收缩功能起重要调节作用^[2-3]。高血糖可上调超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的水平, SOD抑制过氧化氢酶表达,导致细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)显著增加,糖尿病患者体内ROS增高是糖尿病患者的普遍特征。ROS是BK通道的强力抑制剂,使BK通道的生理功能障碍,本课题组以前的研究证实,在糖尿病合并冠心病患者的冠状动脉平滑肌细胞中BK- β_1 降低, BK通道功能障碍^[4]。最近的研究表明,细胞氧化应激反应的核因子E2相关因子2(Nrf2)可能参与BK通道的调节,并可能与E3泛素连接酶引起的BK- β_1 的分解代谢加快, BK- β_1 降低有关^[5-6]。

DNA依赖的蛋白激酶催化亚单位(DNA-Pkcs)属于磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)超家族,与蛋白激酶B(Akt)的473丝氨酸(S473)的磷酸化(p-Akt)有关^[7]。以前的研究表明,ROS能激活细胞内DNA-Pkcs和PI3K/Akt信号传导通路,调节细胞的生长、分化及细胞凋亡^[8-9]。本研究探讨糖尿病中PI3K/Akt信号传导通路是否参与冠状动脉平滑肌细胞中BK- β_1 的调节。

1 材料和方法

1.1 材料

人冠状动脉平滑肌细胞(human coronary artery smooth muscle cell, HCASMC, 中科院上海细胞研究所), HCASMC培养基SMBM(Lonza Walkersville公司, 美国), ROS检测试剂盒、二甲基亚砜(DMSO)、PI3K抑制剂Wortmannin(上海碧云天公司), ROS抑制剂GKT137831(SELLECK公司, 美国)。链脲佐菌素(streptozocin, STZ)(Sigma公司, 美国)。抗BK-a抗体(Alomona公司, 以色列), 抗BK- β_1 抗体(Abcam公司, 美国), DNA-Pkcs、Akt、p-Akt(S473)(Santa Cruz公司, 美国)。SPF级Sprague Dawley 8~12周龄的雄性大鼠30只(江苏省血吸虫病

防治研究所动物中心), 体质量(200±30)g。本研究方案经南京医科大学实验动物伦理委员会批准, 实验动物的使用和喂养遵循ARVO声明。

1.2 方法

1.2.1 HCASMC的处理

HCASMC培养于SMBM培养基, 正常糖浓度培养基及高糖浓度培养基葡萄糖浓度分别为5 mmol/L及15 mmol/L。PI3K抑制剂Wortmannin处理组以不含血清的SMBM培养基加入Wortmannin(100 nmol/L)预处理细胞30 min, 再以高糖浓度培养基培养48 h(n=3), 对照组以终浓度0.1%(w/w)的二甲基亚砜(DMSO)的无血清培养基预处理细胞30 min, 再以高糖浓度培养基培养48 h(n=3)。ROS抑制剂GKT137831处理组以GKT137831(20 μ mol/L)加入高糖浓度培养的HCASMC作用48 h(n=3), 对照组以终浓度0.1%(w/w)的二甲基亚砜(DMSO)作用于高糖浓度培养的人平滑肌细胞(n=3)。用预冷的磷酸盐缓冲液冲洗细胞3次, 加入RIPA裂解液, 在冰上充分裂解, 离心后收集上清液, 采用二喹啉甲酸法测定蛋白浓度。

1.2.2 糖尿病大鼠动物模型的建立及处理

20只大鼠采用STZ 60 mg/kg腹腔内注射, 2周后测定大鼠血糖浓度, 如血糖浓度低于300 mg/dL, 则用等剂量STZ再次腹腔内注射, 持续8周血糖浓度高于300 mg/dL诊断为糖尿病。10只大鼠腹腔内注射生理盐水作为正常对照组(Nor, n=10)。20只糖尿病大鼠中, 10只以GKT137831[40 mg/(kg·d)]灌胃2周(DM+GKT, n=10), 10只糖尿病大鼠灌胃相同数量的饮用水2周(DM, n=10), 处死大鼠。分离正常大鼠、糖尿病大鼠及经GKT137831灌胃的糖尿病大鼠冠状动脉, 冠状动脉分离方法在课题组相关文献中已有详述^[6]。简言之, 处死的大鼠酒精消毒后, 切开大鼠胸腔, 将大鼠心脏连同出入心脏的大血管切下, 将切下的心血管组织浸入冰冷的缓冲液中(NaCl 145 mmol/L, KCl 4.0 mmol/L, CaCl₂ 0.05 mmol/L, MgCl₂ 1.0 mmol/L, HEPES 10 mmol/L, Glucose 10 mmol/L, pH7.20), 在外科手术显微镜下使用显微手术器械, 自大鼠主动脉根部冠状动脉起始部, 沿左侧及右侧冠状动脉走行途径, 细微分离右冠状动脉及左冠状动脉。冠状动脉血管组织用液氮速冻后储存于-80℃备用。将动脉组织匀浆化, 收集总蛋白。

1.2.3 HCASMC及糖尿病大鼠冠状动脉中ROS检测

用细胞渗透荧光探针DCFHDA检测人HCASMC及糖尿病大鼠冠状动脉中的ROS及GKT137831对

ROS的影响。HCASMC在5 mmol/L糖浓度(NG组, $n=3$)、15 mmol/L糖浓度(HG组, $n=3$)、15 mmol/L糖浓度+GKT137831(HG+GKT组, $n=3$)孵育48 h后,用PBS洗涤2次,然后加入DCFHDA 10 μ L和90 μ L无血清SMBM培养基37 $^{\circ}$ C培养30 min,孵育后用PBS洗涤2次,荧光显微镜480~525 nm检测DCF荧光强度。快速冰冻的大鼠冠状动脉血管环被切割成30 μ m厚的切片,并放置在玻璃玻片上(DM, $n=3$; DM+GKT, $n=3$)。DCFH-DA(25 μ mol/L)应用于组织切片,37 $^{\circ}$ C避光孵育30 min,荧光显微镜480~525 nm检测DCF荧光强度,将使用Scion Image软件对DCF信号进行进一步的密度分析。

1.2.4 采用蛋白免疫印迹(Western blot)检测HCASMC及大鼠冠状动脉BK-a亚基、BK- β 1亚基、DNA-Pkcs、Akt、p-Akt(S473)表达

等量蛋白分别行8%~12%丙烯酰胺凝胶电泳,5%脱脂牛奶室温封闭1 h,一抗4 $^{\circ}$ C封闭过夜,洗膜,HRP标记二抗室温封闭2 h。洗膜后再用GAPDH抗血清封闭,ECL试剂盒发光,吸光度分析法定量。

1.3 统计学方法

以SPSS 11.5统计分析软件进行分析,计量资料以均数士标准差($\bar{x} \pm s$)表示。采用*t*检验对正常组和糖尿病组BK-a、BK- β 1、DNA-Pkcs、Akt、p-Akt

(S473)蛋白表达进行比较, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同糖浓度下HCASMC中BK- α 、BK- β 1、DNA-Pkcs、Akt、p-Akt的表达

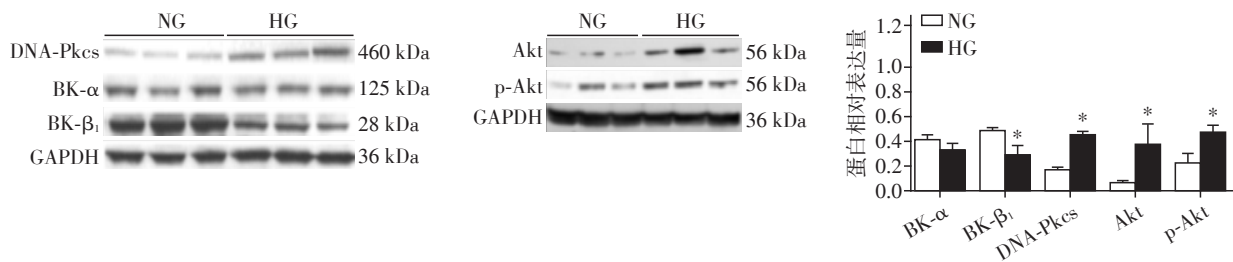
与5 mmol/L葡萄糖浓度下的HCASMC比较,15 mmol/L葡萄糖浓度下HCASMC中BK- α 表达无明显变化, BK- β 1蛋白表达降低($P < 0.05$), DNA-Pkcs、Akt、p-Akt的表达增高($P < 0.05$,图1)。

2.2 Wortmannin处理HCASMC后BK- β 1、DNA-Pkcs、Akt、p-Akt的表达

HCASMC以Wortmannin(100 nmol/L)预处理30 min后,在15 mmol/L葡萄糖浓度的SMBM中培养48 h并和对照组相比较,Wortmannin处理组, DNA-Pkcs、Akt的表达无明显变化($P > 0.05$), p-Akt蛋白表达量明显降低, BK- β 1的表达量明显增高($P < 0.05$,图2)。

2.3 GKT137831作用于15 mmol/L糖浓度下的HCASMC 48 h后BK- β 1、DNA-Pkcs、Akt、p-Akt的表达

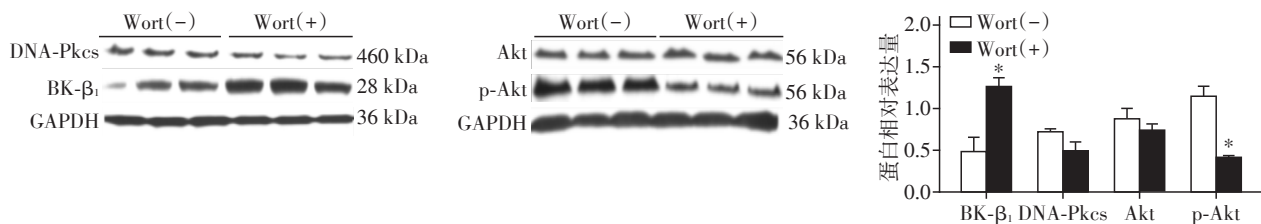
与15 mmol/L糖浓度下的HCASMC比较,15 mmol/L糖浓度下HCASMC经GKT137831处理48 h后, DNA-Pkcs、Akt、p-Akt蛋白表达降低($P < 0.05$), BK- β 1表



NG:5 mmol/L葡萄糖浓度;HG:15 mmol/L糖浓度,与NG组比较,* $P < 0.05$ ($n=3$)。

图1 Western blot检测不同葡萄糖浓度下HCASMC中BK- α 、BK- β 1、DNA-PKcs、Akt、p-Akt(S473)的表达

Figure 1 Expression of BK- α , BK- β 1, DNA-PKcs, Akt and p-Akt (S473) of human coronary artery smooth muscle cells in different glucose concentrations by Western blot

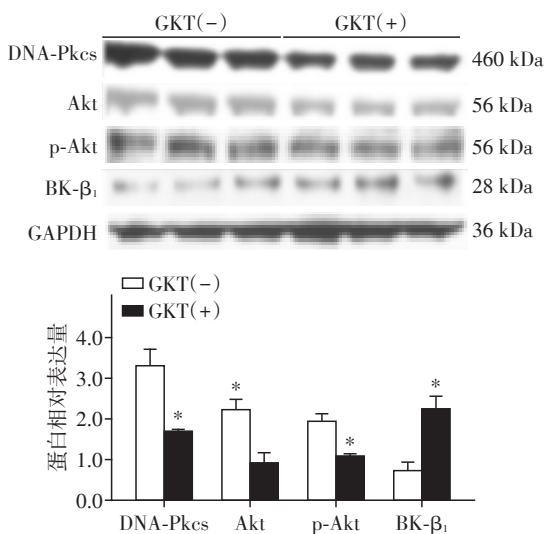


Wortmanin预处理HCASMC 30 min后在15 mmol/L糖浓度下培养48 h,与正常对照组比较,* $P < 0.05$ ($n=3$)。

图2 Western blot检测Wortmannin作用于HCASMC后BK- β 1、DNA-Pkcs、Akt、p-Akt(S473)的表达

Figure 2 Expression of BK- β 1, DNA-Pkcs, Akt and p-Akt (S473) of human coronary artery smooth muscle cells treated with Wortmannin by Western blot

达量增高($P < 0.05$,图3)。



GKT137831 (20 $\mu\text{mol/L}$) 和对照组 0.1% (w/w) 的二甲基亚砜 (DMSO) 作用于 15 mmol/L 糖浓度下的 HCASMC 48 h, 与正常对照组比较, $P < 0.05$ ($n=3$)。

图3 Western blot检测GKT137831作用HCASMC 48 h后BK-β1、DNA-Pkcs、Akt、p-Akt的表达

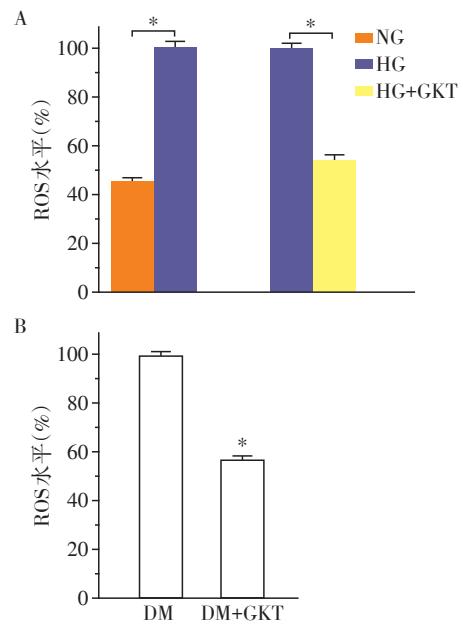
Figure 3 Expression of BK-β1, DNA-Pkcs, Akt and p-Akt (S473) of human coronary artery smooth muscle cells after treated with ROS inhibitor GKT137831 for 48 h by Western blot

2.4 GKT137831对HCASMC及大鼠冠状动脉中ROS的影响

DCFH-DA进入细胞,容易被细胞内酯水解将ES转化为非荧光形式的DCFH,在多种ROS存在下迅速转化为荧光DCF。15 mmol/L葡萄糖浓度下的HCASMC中ROS明显高于5 mmol/L葡萄糖浓度($P < 0.05$)。经GKT137831处理48 h后,和15 mmol/L葡萄糖浓度组相比,GKT137831处理后的HCASMC中ROS含量降低约40% ($P < 0.05$)。STZ诱导的糖尿病大鼠经GKT137831灌胃2周后,冠状动脉中ROS含量较未经GKT137831处理组降低40% ($P < 0.05$,图4)。

2.5 大鼠冠状动脉BK-β1、DNA-Pkcs、Akt、p-Akt的表达

和正常大鼠相比较,STZ糖尿病模型大鼠冠状动脉DNA-Pkcs、Akt、p-Akt(S473)表达量分别增加约50%、30%、30% ($P < 0.05$),BK-β1表达量降低约45% ($P < 0.05$);和糖尿病大鼠相比较,GKT137831喂饲2周后的糖尿病大鼠冠状动脉DNA-Pkcs、Akt、p-Akt(S473)蛋白表达量明显降低 ($P < 0.05$)、BK-β1表达量明显增高接近于正常大鼠水平 ($P < 0.05$,图5)。



A: 5 mmol/L糖浓度(NG)、15 mmol/L糖浓度(HG)、15 mmol/L糖浓度+GKT137831(HG+GKT)状态下HCASMC细胞中ROS的表达,两组比较, $P < 0.05$ ($n=3$)。; B: STZ诱导的糖尿病大鼠经GKT137831灌胃(DM+GKT组)2周后,和未经GKT137831处理组(DM组)相比较, $P < 0.05$ ($n=3$)。与DM组比较, $P < 0.05$ ($n=3$)。

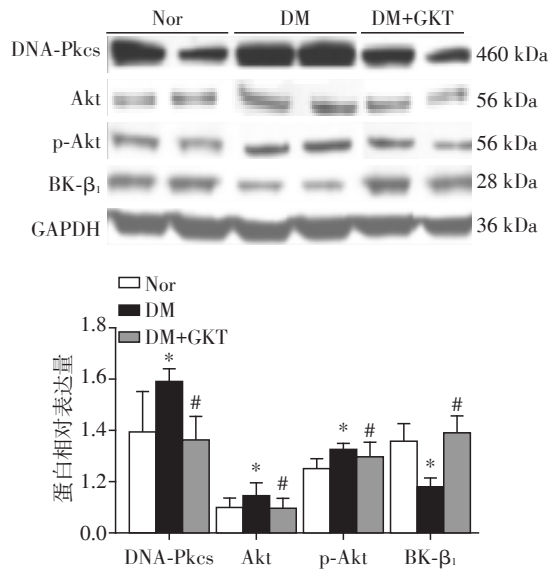
图4 GKT137831对HCASMC及糖尿病大鼠冠状动脉ROS的影响

Figure 4 ROS Expression of human coronary artery smooth muscle cells and coronary artery from STZ induced diabetic rats treated with GKT137831

3 讨论

BK通道是大电导钙激活钾通道的一种,广泛存在于人体的组织细胞和血管平滑肌细胞中,BK通道调节着血管张力,与血管的血流有关。BK通道电流约占冠状动脉平滑肌细胞总钾离子电流的65%,是冠状动脉平滑肌细胞上最主要的钾通道,在糖尿病等疾病状态下,冠状动脉平滑肌细胞BK通道开放减少,电流密度降低,蛋白表达减弱,BK通道功能障碍,可能是冠状动脉功能受损的最主要原因^[10],因此,积极寻求糖尿病状态下BK通道蛋白表达减少及功能障碍的原因,对糖尿病状态下冠状动脉疾病的防治,具有重大临床意义。

高糖状态可上调SOD的水平,导致细胞内ROS显著增加。超氧阴离子自由基和NO反应产生的过氧化亚硝基(OONO⁻)可抑制大鼠大脑动脉血管平滑肌细胞膜上的BK通道^[11]。本课题组以前的研究证实,高糖(22 mmol/L)状态下,转染表达钙激活钾离子通道(hSlo)的HEK293细胞及HCASMC中,BK通



正常大鼠(Nor)、糖尿病大鼠(DM)、糖尿病大鼠GKT137831灌胃2周后。大鼠DM+GKT与Nor组比较,* $P < 0.05(n=3)$;与DM组比较,# $P < 0.05$ 。

图5 Western blot检测GKT137831对糖尿病大鼠冠状动脉的BK-β1、DNA-Pkcs、Akt、p-Akt(S473)的影响

Figure 5 Expression of BK-β1, DNA-Pkcs, Akt and p-Akt (S473) of coronary artery from STZ induced diabetic rats treated with GKT137831 by Western blot

道电流密度下降,通道激活和失活动力学减慢。ROS是BK通道的强力抑制剂,使BK通道的生理性激活功能丧失,并且这种抑制效能与敲除BK通道的β1亚基相同^[4]。本研究中为进一步探讨ROS是否为高糖状态下HCASMC中BK-β1表达降低的触发因素,测定了高糖浓度下HCASMC和糖尿病大鼠模型冠状动脉中ROS水平,证实高糖浓度下HCASMC和糖尿病大鼠模型冠状动脉中ROS表达量增高。将ROS抑制剂GKT137831作用于高糖培养的HCASMC发现,HCASMC中BK-β1表达增高,提示高糖状态下的ROS可能参与了HCASMC中BK-β1蛋白调节。

大量研究证据表明,氧化应激时PI3K/Akt信号通路被激活并通过核因子E2相关转录因子2(Nrf2)激活下游抗氧化基因的表达^[12-13]。为了探讨高糖是否通过PI3K/Akt通路影响BK-β1的表达,在高糖培养的HCASMC中发现,BK-β1表达明显减少的同时伴有DNA-Pkcs、Akt及p-Akt的表达增高。经GKT137831作用后的HCASMC中DNA-Pkcs、Akt、p-Akt表达量降低,以PI3K抑制剂Wortmannin(100 nmol/L)预处理细胞后,高糖状态下的HCASMC DNA-Pkcs、Akt未见明显变化,p-Akt的表达

明显降低,BK-β1表达明显增加。提示高糖状态下,ROS可能通过PI3K/AKT通路参与BK-β1的调节。

为了进一步验证糖尿病中ROS对冠状动脉平滑肌细胞BK-β1的调节作用,在STZ诱导的糖尿病大鼠中发现,糖尿病大鼠冠状动脉平滑肌细胞ROS、DNA-Pkcs、Akt及p-Akt表达增高,BK-β1的表达量降低。GKT137831灌胃2周后的糖尿病大鼠中冠状动脉平滑肌细胞ROS表达量降低,DNA-PKcs、Akt、p-Akt、BK-β1蛋白表达量接近于正常大鼠水平,进一步验证在STZ诱导的I型糖尿病大鼠冠状动脉平滑肌细胞中,ROS通过PI3K/AKT信号通路调节BK-β1亚基的代谢。

糖尿病中调节BK通道功能和代谢的因素较多,已有的研究结果证实,二十二碳六烯酸调节BK通道的电流和冠状动脉血管张力^[14]。Nrf2、MuF1通过泛素化降解途径影响BK-β1的分解代谢^[6]。本研究结果显示,糖尿病中ROS可能通过PI3K/AKT信号通路部分参与冠状动脉平滑肌细胞BK-β1的调节。本研究初步探讨了糖尿病中ROS对BK-β1调节的可能机制,局限于ROS对BK-β1蛋白表达量的研究,ROS对冠状动脉平滑肌细胞BK通道电流的影响以及对冠状动脉血管张力的影响尚有待进一步研究。

[参考文献]

- [1] 李俭强,李悦,薛竞宜,等. 冠心病患者血糖管理策略[J]. 国际心血管病杂志, 2013, 40(1): 38-40
- [2] SEVERINO P, D'AMATO A, NETTI L, et al. Diabetes mellitus and ischemic heart disease: The role of ion channels[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(3): e802
- [3] LI Q, YAN J. modulation of bk channel function by auxiliary beta and gamma subunits [J]. Int Rev Neurobiol, 2016, 128: 51-90
- [4] LU T, CHAI Q, JIAO G Q, et al. Downregulation of BK channel function and protein expression in coronary arteriolar smooth muscle cells of type 2 diabetic patients[J]. Cardiovasc Res, 2019, 115(1): 145-153
- [5] SUN X, QIAN L L, LI Y, et al. Regulation of KCNMA1 transcription by Nrf2 in coronary arterial smooth muscle cells[J]. J Mol Cell Cardiol, 2020, 140: 68-76
- [6] QIAN L L, LIU X Y, YU Z M, et al. BK channel dysfunction in diabetic coronary artery: role of the E3 ubiquitin ligases[J]. Front Physiol, 2020, 11: e453
- [7] RATHINASWAMY M K, BURKE J E. Class I phosphoinositide 3-kinase (PI3K) regulatory subunits and their roles in signaling and disease[J]. Adv Biol Regul, (下转第199页)

- ESC Guidelines for the diagnosis and management of atrial fibrillation developed in collaboration with the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS): the task force for the diagnosis and management of atrial fibrillation of the European Society of Cardiology (ESC) Developed with the special contribution of the European Heart Rhythm Association (EHRA) of the ESC [J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(5): 373-498
- [11] KAMEL H, HEALEY J S. Cardioembolic Stroke [J]. *Circ Res*, 2017, 120(3): 514-526
- [12] AKBIK F, ALAWIEH A, CAWLEY C M, et al. Differential effect of mechanical thrombectomy and intravenous thrombolysis in atrial fibrillation associated stroke [J]. *J Neurointerv Surg*, 2020, 13(10): 883-888
- [13] FREEMAN W D, AGUILAR M I. Prevention of cardioembolic stroke [J]. *Neurotherapeutics*, 2011, 8(3): 488-502
- [14] BERKHEMER O A, FRANSEN P S, BEUMER D, et al. A randomized trial of intraarterial treatment for acute ischemic stroke [J]. *N Engl J Med*, 2015, 372(1): 11-20
- [15] GIRAY S, OZDEMIR O, BAS D F, et al. Does stroke etiology play a role in predicting outcome of acute stroke patients who underwent endovascular treatment with stent retrievers? [J]. *J Neurol Sci*, 2017, 372: 104-109
- [16] HUANG K, ZHA M, GAO J, et al. Increased intracranial hemorrhage of mechanical thrombectomy in acute ischemic stroke patients with atrial fibrillation [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2021, 51(2): 536-544
- [17] SINGER O C, HARING H P, TRENKLER J, et al. Age dependency of successful recanalization in anterior circulation stroke: the ENDOSTROKE study [J]. *Cerebrovasc Dis*, 2013, 36(5-6): 437-445
- [18] WANG Z, KORANTZOPOULOS P, LIU T. Carotid atherosclerosis in patients with atrial fibrillation [J]. *Curr Atheroscler Rep*, 2019, 21(12): 55
- [19] GUGLIELMI V, LECOUFFE N E, ZINKSTOK S M, et al. Collateral circulation and outcome in atherosclerotic versus cardioembolic cerebral large vessel occlusion [J]. *Stroke*, 2019, 50(12): 3360-3368
- [20] YANG P, ZHANG Y, ZHANG L, et al. Endovascular thrombectomy with or without intravenous alteplase in acute stroke [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382(21): 1981-1993
- [收稿日期] 2021-11-19
(本文编辑:唐 震)

(上接第 170 页)

- 2020, 75: e100657 3
- [8] LU Q, WANG W W, ZHANG M Z, et al. ROS induces epithelial-mesenchymal transition via the TGF-beta1/PI3K/Akt/mTOR pathway in diabetic nephropathy [J]. *Exp Ther Med*, 2019, 17(1): 835-846
- [9] ZHANG J, WANG X, VIKASH V, et al. ROS and ROS-mediated cellular signaling [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2016, 2016: e4350965
- [10] LI Y, WANG X L, SUN X, et al. Regulation of vascular large conductance calcium activated potassium channels by Nrf2 signalling [J]. *Diab Vasc Dis Res*, 2017, 14(4): 353-362
- [11] GONZALEZ-VICENTE A, GARVIN J L. Effects of reactive oxygen species on tubular transport along the nephron [J]. *Antioxidants (Basel)*, 2017, 6(2): e23
- [12] ZHUANG Y, WU H, WANG X, et al. Resveratrol attenuates oxidative stress-induced intestinal barrier injury through PI3K/Akt-Mediated Nrf2 signaling pathway [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2019, 2019: e7591840
- [13] NITURE S K, KHATRI R, JAISWAL A K. Regulation of Nrf2-an update [J]. *Free Radic Biol Med*, 2014, 66: 36-44
- [14] 钱玲玲, 陈恒建, 张桢焯, 等. 13, 14-环氧化二十二碳六烯酸舒张冠状动脉作用机制 [J]. *医学研究生学报*, 2018, 31(8): 790-794
- [收稿日期] 2021-07-19
(本文编辑:唐 震)