

· 综述 ·

线粒体靶向荧光探针与心血管疾病关系的研究进展

刘塞雨¹, 张 于², 袁 铭², 吴有盛³

(空军军医大学: 1.基础医学院四大队十六队, 2.第一附属医院心脏内科,

3.基础医学院基础医学教学实验中心, 陕西西安 710032)

摘要:线粒体是大多数真核细胞产生能量的场所,同时参与信号传递、氧化应激等重要生命活动。线粒体结构或功能异常是心血管疾病发生的重要致病基础,线粒体靶向型荧光探针通过标记线粒体相关分析物来研究其功能,有望成为深入研究心血管疾病的强大工具,对人类健康有重要的意义。

关键词:线粒体; 荧光探针; 心血管疾病

中图分类号: R54

文献标识码: A

文章编号: 1009-7236(2024)05-0570-06



DOI: 10.12125/j.chj.202310015

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):

网络出版地址: <http://www.heartj.cn/article/doi/10.12125/j.chj.202310015>

Research progress in mitochondria-targeted fluorescent probes

LIU Sai-yu¹, ZHANG Yu², YUAN Ming², WU You-sheng³

(1. Sixteen Teams, Fourth Brigade, School of Basic Medical Sciences, 2. Department of Cardiology, First Affiliated Hospital, 3. Experimental Teaching Center, School of Basic Medical Sciences, Air Force Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi, China)

Abstract: Mitochondria are where most eukaryotic cells produce energy and are involved in important life activities such as signal transmission and oxidative stress. Abnormal mitochondrial structure or function is an important pathogenic basis for the occurrence of cardiovascular diseases. Mitochondria-targeted fluorescent probes, by labeling mitochondria-related analytes to study their functions, are expected to become a powerful tool for in-depth study of cardiovascular diseases and are important to human health.

Key words: mitochondria; fluorescent probe; cardiovascular disease

线粒体是大多数真核细胞产生能量的场所,同时参与信号传递、氧化应激等重要生命活动。线粒体结构或功能异常如自噬、细胞凋亡、代谢产物过量、能量缺乏、金属离子稳态失衡等通常会导致心血管疾病 (cardiovascular disease, CVD) 的发生。荧光探针是一种灵敏度高、选择性强、快速、可视的分析技术,也是开发荧光显像最为关键的技术,已经广

泛应用于生物样品的检测与监测。随着技术的发展,线粒体靶向型荧光探针可以标记线粒体的一种或几种物质,还可以监测线粒体的微环境和自噬过程。通过标记线粒体相关分析物来研究其功能,明确其与 CVD 的关系,对于我们认识 CVD 的发生发展机制及人类健康有重要的意义。本文整理了针对线粒体代谢产物、金属离子 Ca^{2+} 、微环境和自噬相关的部分具有代表性的荧光探针结构特点及应用,以及各种探针在 CVD 中的潜在应用前景,并进行综述。

基金项目: 空军军医大学教学改革研究项目 (KJJYDXYB 024)

通讯作者: 袁铭, 副主任医师, 主要从事冠心病基础和复杂冠脉介入治疗研究 Email: 1446534236@qq.com

共同通讯作者: 吴有盛, 高级实验师, 主要从事实验教学改革与管理研究 Email: wuys@fmmu.edu.cn

作者简介: 刘塞雨, 本科生 Email: 2632701448@qq.com

1 代谢产物

线粒体中含有多种代谢产物,以维持细胞的正常生理功能,并参与细胞的生理活动及病理过程。

1.1 活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 线粒体在氧化还原产生三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)的同时,会制造大量 ROS。ROS 的大量蓄积会损伤细胞引起细胞凋亡,进而诱发癌症、神经疾病和代谢类综合征。而当心肌细胞遇到缺血再灌注损伤时,ROS 的浓度会升高,进而导致脂质过氧化、蛋白质氧化或者引发线粒体 DNA 突变等的发生。如今越来越多的证据表明,ROS 在信号传递、维持心肌细胞正常生理功能中有重要意义^[1]。慢性 CVD 已被认为与线粒体 ROS 的代谢失衡相关。因此,线粒体内活性氧类物质的精确检测与成像,对研究 CVD 发生发展具有重要意义。

1.1.1 过氧化氢(hydrogen peroxide, H_2O_2) 作为一种典型的 ROS, H_2O_2 是一种必需的氧代谢物,对生长发育的许多生理过程都有一定的调节作用,并参

与血管生成、血管管径的调节。有研究表明, H_2O_2 的异常过量产生和浓度过高可能会导致 CVD 的发生^[2-7]。

我们已知,聚集诱导发光(aggregation-induced emission, AIE)可以避免聚集引起的荧光淬灭,对于活体分析物检测十分重要。基于此,潘永鑫等^[8]制作了一种新型的基于四苯乙烯衍生物且具有 AIE 特性的荧光探针 TPE-H(探针 1, 图 1),可以在 CH_3OH/H_2O (v/v,2/8, PBS 20 mm, pH=7.4) 的溶液中特异性识别 H_2O_2 。该探针在对 H_2O_2 的检测方面,表现出抗干扰能力强、适用 pH 范围宽(7~13)、检出限低(1.77×10^{-7} m)等优点。该探针因其 AIE 特性,能对活细胞中的 H_2O_2 进行荧光成像,并且可以靶向标记活细胞中的线粒体,表明该探针在 CVD 的发生发展研究中具有非常高的潜在应用价值。

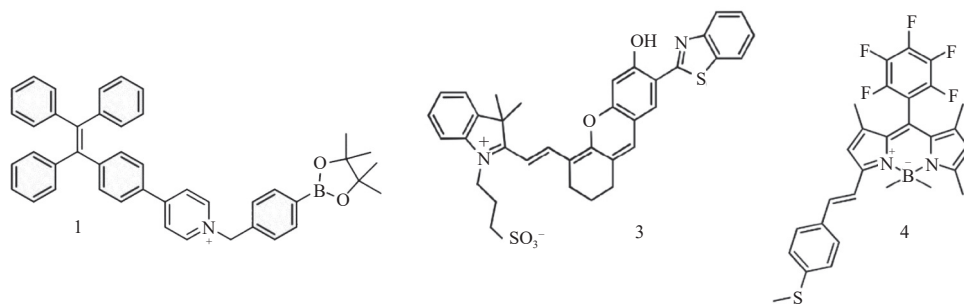


图 1 探针 1、3、4 的结构

线粒体产生的 ATP 是各种细胞正常工作的通用能源,例如心脏收缩是一个高能量、高要求的过程,这一过程所需的大部分能量以 ATP 的形式由线粒体产生。ATP 降低会导致的线粒体生物效能的降低,继而引起心肌细胞的收缩力减弱,对人体产生直接的不利影响。为了研究 H_2O_2 和 ATP 的动态模式, Wu 等^[9]开发的探针 TFP(探针 2, 图 2),通过实时成像并监测通道中 H_2O_2 和 ATP 的变化,既同时测定两个单独的荧光通道,且不会发生光谱串扰,揭示了细胞内线粒体中氧化应激过程中诱导的 H_2O_2 和 ATP 相关的细胞内功能。

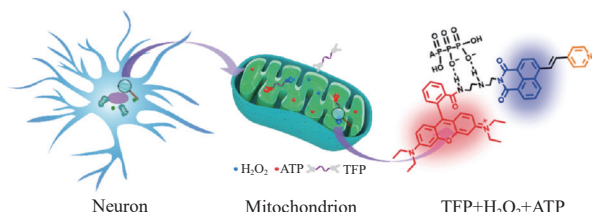


图 2 探针 2 的结构及其用于检测 H_2O_2 和 ATP 示意图^[9]

1.1.2 次氯酸(hypochlorous acid, HClO) 正常生理状态下,入侵细胞的细菌和病原体可以被 HClO 破

坏,诱导细胞凋亡,在免疫系统和调节细胞微环境的氧化还原稳态中起重要作用。病理状态下, HClO 过量对细胞产生毒性作用,导致动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)和心肌细胞损伤^[10-12]。线粒体是 HClO 的关键产地,对线粒体 HClO 水平的成像研究可以更准确地表达 CVD 与线粒体功能相关的生理病理过程^[13]。

半花菁染料是一种近红外荧光发色团,与紫外或可见光区域发射波长的荧光探针相比,具有上述荧光信号的荧光探针有组织穿透性深和光漂白效应少的特点。基于此, Jiang 等^[14]设计开发了探针 3(图 1),该探针具有两个互不干扰的发射峰,发射波长分别在 780 nm 和 449 nm,在用于靶向线粒体检测活细胞外源性和内源性 HClO 方面,具备优点包括:①响应时间超快(<10 s);②检出限超低(22.6 nm);③选择性高;④抗干扰能力强。若使用活体成像系统进行信号采集,探针 3 能够对活小鼠体内的 HClO 进行生物成像,有助于研究与 HClO 有关的 CVD。

此外,另一类应用于活细胞及小鼠体内内源性

HCIO 的荧光成像探针氟硼吡咯 (boron-dipyrromethene, BODIPY) 类荧光染料的衍生物具有许多优点, 如: ①光量子产率较高, 在溶剂中不易淬灭; ②光稳定性较强, 体现在分析时光信号的稳定, 不易在荧光分析过程中受激发光照射而光降解; ③光敏性能和检测灵敏度都很高, 有利于在生物领域方面的应用。基于此, Duan 等^[15]开发了一种新的基于 BODIPY 发色团的比率型荧光探针 4 (图 1), 该探针中反应位点为硫醚基团, 与 HCIO 反应后变为亚砷基团, 该探针具有一些独特的特征, 包括: ①高荧光亮度, 高亮度红色荧光, 其光稳定性强; ②检出限低至 59 nm, 在不同 pH 中荧光信号稳定, 且响应时间仅 30 s; ③优异的抗光漂白性; ④低细胞毒性; ⑤生物相容性良好。这些出色的性质使该探针能应用于活细胞及小鼠体内内源性 HCIO 的荧光成像, 实现了 HCIO 水平的实时监测, 对研究与 HCIO 有关的疾病和生理过程有重要意义。

1.2 活性硫 (reactive sulfur species, RSS) RSS 同样也是线粒体中极其重要的代谢产物之一, 包括

二氧化硫 (sulfur dioxide, SO_2) 及其衍生物如硫化氢 (hydrogen sulfide, H_2S)、亚硫酸氢盐 (bisulfite, HSO_3^-) 和亚硫酸盐 (sulfites, SO_3^{2-}) 等。既往的研究表明, 在生理情况下, 机体中少量的内源性 SO_2 及其衍生物具有舒张血管平滑肌和抗氧化的功能, RSS 和 ROS 通常处于动态平衡状态^[16,17], 而在病理状态下, RSS 和 ROS 水平浓度高于正常状态, 由于氧化应激, 过量的 H_2S 、 HSO_3^- 和 SO_3^{2-} 可能会引起呼吸系统、神经系统和心血管系统的多种疾病^[18-20]。因此, 合成高灵敏度特异性识别 SO_2 及其衍生物且靶向荧光探针, 能够实现对线粒体中 SO_2 及其衍生物的可视化监测, 对于 CVD 的预防和诊治均非常重要。2021 年, Gong 等^[21]合成了一种新型线粒体靶向型近红外荧光探针 MI- H_2S (探针 5, 图 3), 生物成像实验显示, 探针 5 具有良好的线粒体靶向能力和高对比度成像性能, 可快速检测 H_2S 。该探针可视化体现在能够在 663 nm 处产生具有高选择性和高灵敏度的荧光“on”信号, 从而实现了可在纯水溶液中对 H_2S 的快速检测。

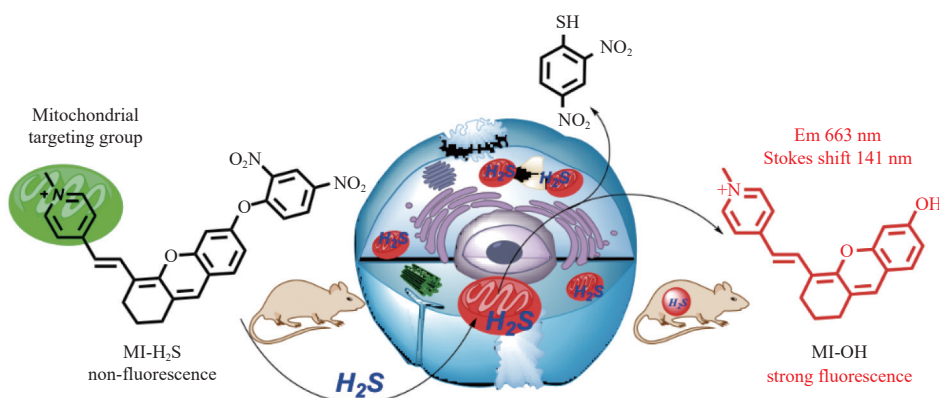


图 3 探针 5 用于 H_2S 的检测和成像^[21]

2 金属离子 Ca^{2+}

Ca^{2+} 作为重要的第二信使, 对线粒体功能和脏器能量供需匹配起关键调控作用, 其浓度变化可以调节心肌细胞的生命活动, 包括氧化磷酸化、自噬、凋亡等^[22-24]。线粒体 Ca^{2+} 稳态异常是线粒体功能障碍的重要因素, 是缺血/再灌注损伤、心肌梗死、心力衰竭 (heart failure, HF) 等 CVD 共同的病理生理学基础^[25-27]。荧光指示剂通常用于检测胞浆 Ca^{2+} 变化, 但是要求线粒体靶向 Ca^{2+} 探针需要具备相应的灵敏性和时空准确性^[28], 使荧光团能渗透线粒体内膜, 因为心肌细胞内不同细胞器的 Ca^{2+} 水平处在动态变化之中。线粒体中金属离子 Ca^{2+} 与多种 CVD 的发病机制密切相关, 与之相关的探针也在持续开发中^[29]。

2.1 线粒体 Ca^{2+} 探针与心律失常 线粒体 Ca^{2+} 增高可促进线粒体过度分裂、氧化磷酸化、三羧酸循环呼吸链电子漏出增多和 ROS 过量产生, 诱发细胞凋亡, 导致心律失常的发生^[30]。Rhod2-AM 是常用的线粒体 Ca^{2+} 化学指示剂。Rhod2-AM 进入细胞后, 吸收聚集于线粒体并被细胞内酯酶去酯化成为带正电荷的 Rhod2。Rhod2 记录线粒体 Ca^{2+} 超载, PKP2cKO 小鼠右心室肌细胞显示类似自发 Ca^{2+} 释事件频率增加^[31]。儿茶酚胺能多态室性心动过速中, 心肌型兰尼定受体 2 过度活跃会触发心律失常, 线粒体 Ca^{2+} 探针 mtRCaMP1h (探针 6, 图 4) 被用于监测心律失常药物处理后的线粒体 Ca^{2+} 超载降低^[32]。探针 6 的表达显示线粒体净 Ca^{2+} 减少, 并伴有线粒体基质的去极化。



图4 探针6的结构^[32]

2.2 线粒体 Ca^{2+} 探针与 HF 线粒体中许多代谢酶可被 Ca^{2+} 激活,如丙酮酸脱氢酶、异柠檬酸脱氢酶和 α -酮戊二酸脱氢酶,使 Ca^{2+} 成为线粒体功能的重要调节剂,也是 HF 发展的潜在参与者。HF 后期主要包含病理性心室重构,最终导致 HF^[33]。在大鼠 HF 模型中,线粒体 $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 交换系统活性的增加会导致线粒体 Ca^{2+} 减少,心肌细胞凋亡增加。线粒体 Ca^{2+} 浓度增加刺激了三羧酸循环的活性,增加了还原型辅酶 I 水平和 ATP 的合成,促进氧化应激、炎症过程和心肌细胞凋亡,在病理性心肌梗厚的发展过程中发挥关键作用^[34]。Miranda-Silva 等^[33] 运用线粒体靶向探针 4mtD3cpv,用来测定射血分数保留性 HF 大鼠模型中线粒体 Ca^{2+} 的增加,提示射血分数保留性 HF 与线粒体 Ca^{2+} 超载有关。

2.3 线粒体 Ca^{2+} 探针与 AS 线粒体内 Ca^{2+} 超载、线粒体膜电位丢失、ROS 过度产生以及细胞色素 C 释放,造成内皮细胞凋亡^[35],并且内皮凋亡是 AS 发展中的重要起始步骤。Charoensin 等^[36] 发现,线粒体 Ca^{2+} 摄取调节多种内皮细胞功能,并且还与一氧化氮的产生有关,线粒体 Ca^{2+} 摄取是通过影响内皮细胞中一氧化氮合成酶,进而影响一氧化氮的生成,在 AS 中有重要指示意义。但遗憾的是,目前还没有与 AS 相关的线粒体 Ca^{2+} 探针应用于临床。

3 线粒体微环境

线粒体微环境,如粘度、极性、温度以及 pH 等,对细胞功能的发挥至关重要。线粒体微环境异常与 AS、HF、高血压等许多 CVD 的发生发展均密切相关。

3.1 粘度 细胞内粘度在信号传递、生物大分子相互作用、电子传递、代谢物扩散等过程中均起着重要作用。线粒体粘度的异常变化会影响细胞的新陈代谢,甚至引发组织和机体的炎症反应,从而导致 CVD 的发生发展。因此,对活细胞理化参数的测定,可以提供特定于单个细胞器的信息,帮助我们了解细胞器在健康和疾病中的作用。

2020 年,Chen 等^[37] 合成开发了一种粘度响应的小分子有机探针 Coupa(探针 7,图 5),用于监测线粒体和溶酶体的功能,以及在活细胞中的相互作用关系。由于其荧光对粘度敏感,该探针还能够精确定位线粒体与溶酶体接触的部位,并揭示线粒体与溶酶体接触相关的线粒体局部粘度增加。探针 7 还可以同时用蓝色荧光标记线粒体、用红色荧光标记溶酶体,实现功能性荧光转换,并且红蓝色荧光强度之间的相关性表明线粒体与溶酶体接触的紧密程度及相互作用。

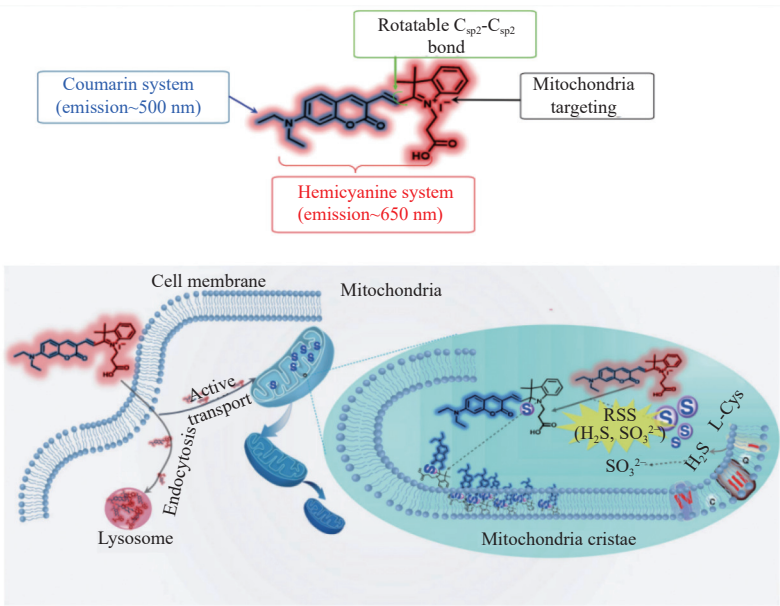


图5 双重标记粘度探针7的设计^[37]

3.2 极性 在生物系统,特别是在细胞水平上,极

性决定了蛋白质和酶的相互作用活性或反映了膜室

的渗透性。在不同细胞器中,局部极性差异很大,极性的异常变化与 CVD 密切相关,且与粘度也有着密切联系,在心肌细胞损伤的发生机制中扮演重要角色。但极性又是一个包含了一系列非共价相互作用的复杂因素,包括双极性/极化率和氢键等,因此,检测线粒体内极性的变化对于监测不同的细胞状态至关重要,可以帮助我们深入了解各种 CVD 的病理生理过程。

Kelley 教授课题组^[38]开发了线粒体靶向探针

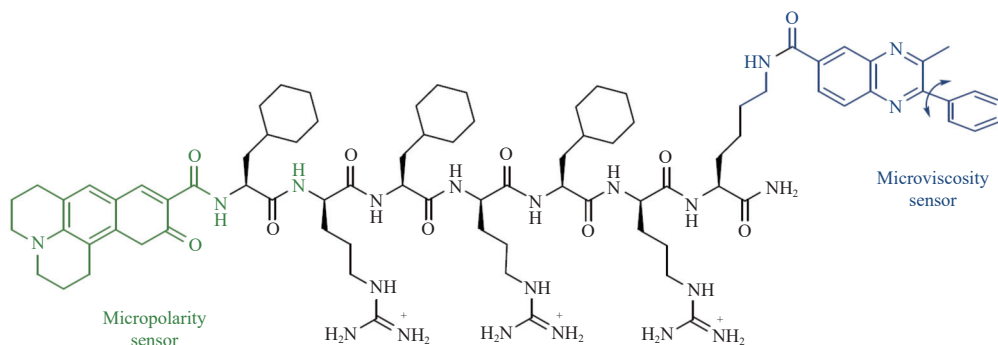


图 6 探针 8 的结构

3.3 温度 线粒体热力学是细胞内稳态和能量平衡相关活动的关键,线粒体代谢会产生大量热量,测量线粒体的温度可以更好的探索其功能,尤其是局部温度的变化是反映线粒体状态和功能的重要指标,异常的温度可能反映 CVD 引起的线粒体功能障碍。因此,从生物学研究和临床诊断的角度实时监测线粒体温度变化具有非常重要的意义,也为探明心肌细胞损伤的分子机理指明了方向。

考虑到线粒体的高度动态特征,Huang 等^[39]报道了第一种可固定的荧光分子温度计 Mito-TEM,以实时显示线粒体温度,避免随着线粒体状态的变化而发生不稳定的细胞内定位。该探针由罗丹明 B 和苯甲醛构成。其中罗丹明 B 通过与蛋白质的氨基结合,使其固定在线粒体中,从而实现长期的温度监测。Huang 等绘制出了线粒体温度与荧光强度的标准曲线。在类似的染色实验下,可以将线粒体中探针的荧光强度转换为温度,利用分布曲线图实现可视化和量化线粒体温度,并进一步应用于某些刺激下细胞的温度变化的监测,从而作为区分细胞正常生理或病理状态的手段。Huang 等^[40]进一步从一代探针 Mito-TEM 扩展到基于 Förster 共振能量转移机制的比例式探针,是 Mito-TEM 温度计探针的进阶版 Mito-TEM 2.0 温度探针(探针 9,图 7),即将荧光比率成像和醛基固定的策略相结合,通过两个发射波段的比率值变化定量指示线粒体内温度变化,能

MMP(探针 8,图 6),该探针是微极性和微粘度双重检测的,其突出特点为以多肽为骨架的传输系统,利用线粒体特异性载体——线粒体穿透肽将探针精确输送至线粒体,并将两种极性或粘度敏感的染料黏附在线粒体穿透肽两端,其中,中性苯基咪唑转子的荧光寿命则随粘度变化,而另一部分香豆素的荧光强度只受极性影响。故利用该探针,首次实现了对线粒体极性和粘度的同时测定。

可视化荧光比率成像定量监测活体斑马鱼在炎症过程中温度的变化,实现线粒体温度精准定量。

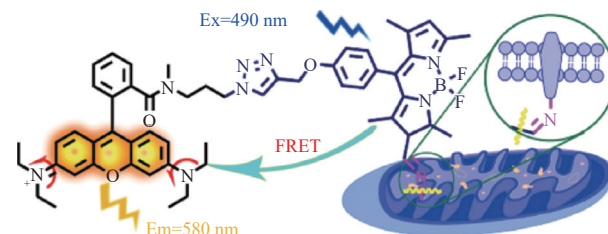


图 7 探针 9 的设计^[40]

4 线粒体自噬

当发生线粒体局部损伤或线粒体突变时,可能出现线粒体自噬现象,通过溶酶体清除功能失调或多余的线粒体,从而微调线粒体数和保持能量代谢。研究表明,线粒体自噬是一种进化上保守的细胞过程,异常的线粒体自噬与 CVD 的发生发展密切相关。因此,深入研究线粒体自噬过程中的分子机制和微环境变化,讨论线粒体自噬在生理和病理条件下的关键作用对于深入了解线粒体致 CVD 的致病机制具有重大意义,也为相关药物的筛选提供理论基础。

Liu 等^[41]报告了以花菁为母体的新型近红外光探针分子(探针 10,图 8),该探针选择性地在线粒体中集聚,可以通过表现出不同的荧光特性用来同时

探测活细胞中的线粒体和自溶酶体。由于二者在 530 nm /650 nm 和 710 nm /750 nm 处的 E_x/E_m 表现出不同的吸收和发射,因此通过显示不同的荧光可以同时区分活细胞中的线粒体和自溶酶体,准确示踪线粒体自噬过程。

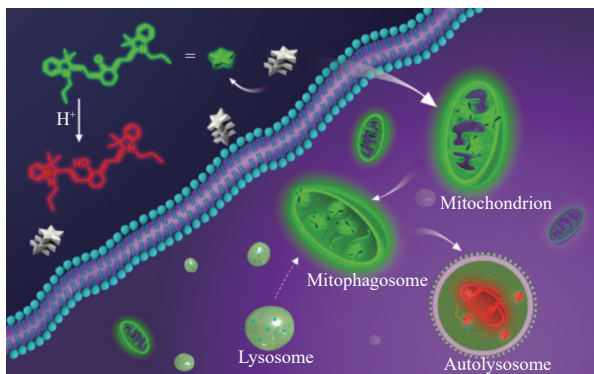


图8 探针10线粒体自噬过程的示意图^[41]

5 总结与展望

作为能量代谢网络的中心,线粒体在细胞中拥有不可撼动的重要地位,尤其是对维持心血管内环境的稳定至关重要。损伤的线粒体聚集在心肌细胞或内皮细胞的胞浆中,可以驱动致病性炎症反应,在一定程度上参与了各种 CVD 的发生发展。线粒体靶向型荧光探针的快速发展,代表着一个了解 CVD 病理生理机制的新方法。但是,该技术应用于临床 CVD 的精准治疗仍有一定的距离。目前,大多数荧光探针仅被证明适用于体外成像,探针标记的分析物多为氧化还原物质及微环境,依旧缺乏针对某些重要反应中的其他分析物的探针。还需要更好的解决办法来降低背景荧光、克服光淬灭和光漂白,继续提高线粒体靶向荧光探针的灵敏度和准确性。希望未来有更好的线粒体靶向型荧光探针问世,以推动基于线粒体治疗 CVD 方面的药物研发及相关研究的开展。

参考文献:

- [1] Zhong X, Yang Q, Chen Y, *et al*. Aggregation-induced fluorescence probe for hypochlorite imaging in mitochondria of living cells and zebrafish[J]. *J Mater Chem B*, 2020, 8(33): 7375 – 7381.
- [2] Wang S, Zhang Y, Wang TR, *et al*. A near-infrared fluorescent probe based on the hemicyanine skeleton for the detection of hydrogen peroxide in vivo[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2022, 266: 120435.
- [3] Star BG, Shahlaei M, Karami C. A novel fluorescent turn-on probe for hydrogen peroxide based on carbon dots[J]. *J Mater Sci: Mater Electron*, 2021, 32: 5615 – 5623.
- [4] Wei Y, Liu Y, He Y, *et al*. Mitochondria and lysosome-targetable fluorescent probes for hydrogen peroxide[J]. *J Mater Chem B*,

- 2021, 9(4): 908 – 920.
- [5] Zheng DJ, Yang YS, Zhu HL. Recent progress in the development of small-molecule fluorescent probes for the detection of hydrogen peroxide[J]. *TRAC Trend Anal Chem*, 2019, 118: 625 – 651.
- [6] Wen Y, Huo FJ, Yin CX. Organelle targetable fluorescent probes for hydrogen peroxide[J]. *Chinese Chem Lett*, 2019, 30(10): 1834 – 1842.
- [7] Liang X, Zhang L, Xu X, *et al*. An ICT-based mitochondria-targeted fluorescent probe for hydrogen peroxide with a large turn-on fluorescence signal[J]. *ChemistrySelect*, 2019, 4(4): 1330 – 1336.
- [8] 潘永鑫, 郭钺甜, 闫琦, 等. 一种线粒体靶向识别过氧化氢的荧光探针[J]. *渤海大学学报(自然科学版)*, 2022, 43(2): 119 – 125.
- [9] Wu Z, Liu M, Liu Z, *et al*. Real-time imaging and simultaneous quantification of mitochondrial H_2O_2 and atp in neurons with a single two-photon fluorescence-lifetime-based probe[J]. *J Am Chem Soc*, 2020, 142(16): 7532 – 7541.
- [10] Zhang LJ, Zhao X, Yang D, *et al*. A new water-soluble and mitochondria-targeted fluorescence probe for ratiometric detection of hypochlorous acid in living cells[J]. *Sensor Actuat B: Chem*, 2018, 276: 8 – 12.
- [11] Wang W, Ning JY, Liu JT, *et al*. A mitochondria-targeted ratiometric fluorescence sensor for the detection of hypochlorite in living cells[J]. *Dyes Pigments*, 2019, 171: 107708.
- [12] Wang TR, Zhang XF, Huang XQ, *et al*. Rapid and selective visualization of mitochondrial hypochlorite by a red region water-soluble fluorescence probe[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2021, 247: 119115.
- [13] Zhao XJ, Jiang YR, Chen YX, *et al*. A new "off-on" NIR fluorescence probe for determination and bio-imaging of mitochondrial hypochlorite in living cells and zebrafish[J]. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc*, 2019, 219: 509 – 516.
- [14] Jiang C, Li Y, Yan L, *et al*. A ratiometric fluorescence mitochondria-targeted probe for imaging HOCl in vitro and in vivo[J]. *Dyes Pigments*, 2022, 198: 109975.
- [15] Duan C, Won M, Verwilt P, *et al*. In vivo imaging of endogenously produced HClO in zebrafish and mice using a bright, photostable ratiometric fluorescent probe[J]. *Anal Chem*, 2019, 91(6): 4172 – 4178.
- [16] Taylor SL, Higley NA, Bush RK. Sulfites in foods: uses, analytical methods, residues, fate, exposure assessment, metabolism, toxicity, and hypersensitivity[J]. *Adv Food Res*, 1986, 30: 1 – 76.
- [17] Mcfeeters RF. Use and removal of sulfite by conversion to sulfate in the preservation of salt-free cucumbers[J]. *J Food Prot*, 1998, 61(7): 885 – 890.
- [18] Chan J, Dodani SC, Chang CJ. Reaction-based small-molecule fluorescent probes for chemoselective bioimaging[J]. *Nat Chem*, 2012, 4(12): 973 – 984.
- [19] Reist M, Jenner P, Halliwell B. Sulphite enhances peroxynitrite-dependent alpha1-antiproteinase inactivation. a mechanism of lung injury by sulphurdioxide?[J]. *FEBS Lett*, 1998, 423(2): 231 – 234.
- [20] Sang N, Yun Y, Li H, *et al*. SO_2 inhalation contributes to the development and progression of ischemic stroke in the brain[J]. *Toxicol Sci*, 2010, 114(2): 226 – 236.
- [21] Gong S, Zheng Z, Guan X, *et al*. Near-infrared mitochondria-targetable fluorescent probe for high contrast bioimaging of H_2S [J]. *Anal Chem*, 2021, 93(14): 5700 – 5708.
- [22] Pathak T, Trebak M. Mitochondrial Ca^{2+} signaling[J]. *Pharmacol Ther*, 2018, 192: 112 – 123.
- [23] Spat A, Szanda G. Mitochondrial cAMP and Ca^{2+} metabolism in adrenocortical cells[J]. *Pflugers Arch*, 2018, 470(8): 1141 – 1148.

- Pharmacol Sci*, 2020, 24(20): 10307.
- [32] Lemoine KA, Fassas JM, Ohannesian SH, *et al.* On the PHLPPside: emerging roles of PHLPP phosphatases in the heart[J]. *Cell Signal*, 2021, 86: 110097.
- [33] Surma M, Wei L, Shi J. Rho kinase as a therapeutic target in cardiovascular disease[J]. *Future Cardiol*, 2011, 7(5): 657 – 671.
- [34] Wang H, Xie Y, Guan L, *et al.* Targets identified from exercised heart: killing multiple birds with one stone[J]. *NPJ Regen Med*, 2021, 6(1): 23.
- [35] Bei Y, Lu D, Bär C, *et al.* MiR-486 attenuates cardiac ischemia/reperfusion injury and mediates the beneficial effect of exercise for myocardial protection[J]. *Mol Ther*, 2022, 30(4): 1675 – 1691.
- [36] Fernández-Ruiz I. Exercise protects against cardiovascular disease by modulating immune cell supply[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17(1): 5.
- [37] Bird L. Exercise lowers leptin and leukocytosis[J]. *Nat Rev Immunol*, 2020, 20(1): 2 – 3.
- [38] Frodermann V, Rohde D, Courties G, *et al.* Exercise reduces inflammatory cell production and cardiovascular inflammation via instruction of hematopoietic progenitor cells[J]. *Nat Med*, 2019, 25(11): 1761 – 1771.
- [39] Otaka N, Shibata R, Ohashi K, *et al.* Myonectin is an exercise-induced myokine that protects the heart from ischemia-reperfusion injury[J]. *Circ Res*, 2018, 123(12): 1326 – 1338.
- [40] Li Q, Tuo X, Li B, *et al.* Semaglutide attenuates excessive exercise-induced myocardial injury through inhibiting oxidative stress and inflammation in rats[J]. *Life Sci*, 2020, 250: 117531.
- [41] Sharma AK, Kumar A, Sahu M, *et al.* Exercise preconditioning and low dose copper nanoparticles exhibits cardioprotection through targeting GSK-3 β phosphorylation in ischemia/reperfusion induced myocardial infarction[J]. *Microvasc Res*, 2018, 120: 59 – 66.

(收稿日期: 2023-02-09; 接受日期: 2023-06-14)

(上接第 575 页)

- [24] Rossi A, Pizzo P, Filadi R. Calcium, mitochondria and cell metabolism: a functional triangle in bioenergetics[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Res*, 2019, 1866(7): 1068 – 1078.
- [25] Arduino DM, Perocchi F. Pharmacological modulation of mitochondrial calcium homeostasis[J]. *J Physiol*, 2018, 596(14): 2717 – 2733.
- [26] Ham PB 3rd, Raju R. Mitochondrial function in hypoxic ischemic injury and influence of aging[J]. *Prog Neurobiol*, 2017, 157: 92 – 116.
- [27] Bernardi P, Rasola A, Forte M, *et al.* The mitochondrial permeability transition pore: channel formation by F-ATP synthase, integration in signal transduction, and role in pathophysiology[J]. *Physiol Rev*, 2015, 95(4): 1111 – 1155.
- [28] Pendin D, Greotti E, Filadi R, *et al.* Spying on organelle Ca²⁺ in living cells: the mitochondrial point of view[J]. *J Endocrinol Invest*, 2015, 38(1): 39 – 45.
- [29] Bonora M, Wieckowski MR, Sinclair DA, *et al.* Targeting mitochondria for cardiovascular disorders: therapeutic potential and obstacles[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2019, 16(1): 33 – 55.
- [30] Zhou T, Prather ER, Garrison DE, *et al.* Interplay between ROS and antioxidants during ischemia reperfusion injuries in cardiac and skeletal muscle[J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(2): 417.
- [31] Kim JC, Pérez-Hernández M, Alvarado FJ, *et al.* Disruption of Ca²⁺ homeostasis and connexin 43 hemichannel function in the right ventricle precedes overt arrhythmogenic cardiomyopathy in plakophilin-2- deficient mice[J]. *Circulation*, 2019, 140(12): 1015 – 1030.
- [32] Hamilton S, Terentyeva R, Martin B, *et al.* Increased RyR2 activity is exacerbated by calcium leak-induced mitochondrial ROS[J]. *Basic Res Cardiol*, 2020, 115(4): 38.
- [33] Miranda-Silva D, Wüst RCI, Conceição G, *et al.* Disturbed cardiac mitochondrial and cytosolic calcium handling in a metabolic risk-related rat model of heart failure with preserved ejection fraction[J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2020, 228(3): e13378.
- [34] Oldfield CJ, Duhamel TA, Dhalla NS. Mechanisms for the transition from physiological to pathological cardiac hypertrophy[J]. *Can J Physiol Pharmacol*, 2020, 98(2): 74 – 84.
- [35] Yu S, Zhang L, Liu C, *et al.* PACS2 is required for ox-LDL-induced endothelial cell apoptosis by regulating mitochondria-associated ER membrane formation and mitochondrial Ca²⁺ elevation[J]. *Exp Cell Res*, 2019, 379(2): 191 – 202.
- [36] Charoensin S, Eroglu E, Opelt M, *et al.* Intact mitochondrial Ca²⁺ uniport is essential for agonist-induced activation of endothelial nitric oxide synthase(eNOS)[J]. *Free Radic Biol Med*, 2017, 102: 248 – 259.
- [37] Chen Q, Fang H, Shao X, *et al.* A dual-labeling probe to track functional mitochondria-lysosome interactions in live cells[J]. *Nat Commun*, 2020, 11(1): 6290.
- [38] Jiménez-Sánchez A, Lei EK, Kelley SO. A multifunctional chemical probe for the measurement of local micropolarity and microviscosity in mitochondria[J]. *Angew Chem Int Ed Engl*, 2018, 57(29): 8891 – 8895.
- [39] Huang Z, Li N, Zhang X, *et al.* Fixable molecular thermometer for real-time visualization and quantification of mitochondrial temperature[J]. *Anal Chem*, 2018, 90(23): 13953 – 13959.
- [40] Huang Z, Li N, Zhang X, *et al.* Mitochondria-anchored molecular thermometer quantitatively monitoring cellular inflammations[J]. *Anal Chem*, 2021, 93(12): 5081 – 5088.
- [41] Liu Y, Zhou J, Wang L, *et al.* A cyanine dye to probe mitophagy: simultaneous detection of mitochondria and autolysosomes in live cells[J]. *J Am Chem Soc*, 2016, 138(38): 12368 – 12374.

(收稿日期: 2023-10-08; 接受日期: 2024-03-06)