

线粒体氧化应激相关蛋白酶 PRDX3 在主动脉夹层中的表达及其意义

郑思豪 王志维

摘要 **目的** 探讨主动脉夹层(AD)患者体内过氧化还原酶 3 的表达及其意义。**方法** 选取 2018 年 8 月~2019 年 4 月于武汉大学人民医院确诊为 Stanford I 型主动脉夹层患者为 AD 组,另选接受心脏移植患者作为对照组。通过 Western blot 法和免疫组化染色检测主动脉夹层患者与正常对照组主动脉组织中 PRDX3 的表达差异;构建人主动脉血管平滑肌细胞(HASMC)氧化应激模型,提取细胞蛋白后使用 Western blot 法检测实验组与对照组的 PRDX3 表达差异;用 0.3% β -异氨基丙腈酯(BAPN)构建 SD 大鼠主动脉夹层动物模型,取两组大鼠主动脉组织做石蜡包埋,标本切片后处理步骤及检测指标同人体标本。**结果** 人体标本中 Western blot 法与免疫组化染色均发现,AD 组 PRDX3 的表达较对照组正常主动脉明显增高;动物实验中免疫组化染色发现,AD 组大鼠主动脉组织表达 PRDX3 显著增高;细胞实验中 Western blot 法结果显示随着 H_2O_2 浓度的升高 PRDX3 的表达也随之升高。**结论** PRDX3 与线粒体氧化应激水平升高密切相关,PRDX3 的升高说明在主动脉夹层中线粒体氧化应激水平升高。PRDX3 表达的上调可能与夹层的发生、发展密切相关,给主动脉夹层的治疗提供新的靶点。

关键词 主动脉夹层 线粒体氧化应激 过氧化物还原酶 3 活性氧

中图分类号 R654.3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2021.05.007

Expression and Significance of Mitochondrial Oxidative Stress – related Protease PRDX3 in Aortic Dissection. Zheng Sihao, Wang Zhiwei. Renmin Hospital of Wuhan University, Hubei 430000, China

Abstract **Objective** To investigate the expression and significance of mitochondrial oxidative stress – related protease PRDX3 in aortic dissection. **Methods** Patients who were diagnosed with Stanford tape I with a parallel thoracic aortic dissection from August 2018 to April 2019 were enrolled in the AD group, and patients who were operated with heart transplantation were enrolled as donors. Western blot and immunohistochemical staining were used to detect the express differences of PRDX3 in aortic tissue of patients with aortic dissection and normal control group. We established the human aortic smooth muscle cells (HASMC) oxidative stress model, and extraced the cell protein to detect the express differences of PRDX3 between the hydrogen peroxide treated group and the control group by Western blot. An animal model of aortic dissection in SD rats was established by using 0.3% β -isoamino – propanonitrel (BAPN). The aortic tissues of the two groups of rats were embedded in paraffin. The post – treatment procedures and detection indexes of the specimens were the same as those of human specimens. **Results** In human samples, Western blot and immunohistochemistry showed that the expression of PRDX3 in aortic vessels of AD group was significantly higher than that in control group ($P < 0.05$). In animal experiment, immunohistochemistry showed that the expression of PRDX3 was significantly increased in the aortic tissues of rats in AD group. Cell experiment also showed that the expression of PRDX3 in aorta of oxidative stress group was significantly higher than that of control group ($P < 0.05$). **Conclusion** PRDX3 is closely related to mitochondrial oxidative stress. The increase of PRDX3 indicates elevated mitochondrial oxidative stress levels in aortic dissection. The up – regulation of PRDX3 expression may be closely related to the occurrence and development of aortic dissection, providing a new target for the treatment of aortic dissection in the future.

Key words Aortic Dissection; Mitochondrial oxidative stress; PRDXs; ROS

主动脉夹层(aortic dissection, AD)是一种极其凶险的大血管疾病,起病急骤,病死率高^[1]。典型的 AD 表现为主动脉内膜撕裂,血液由破口涌入中膜

内,主动脉中膜沿长轴分离,形成假腔。AD 主要病理改变为主动脉中层退行性变(aortic media degeneration, AMD),AMD 的特征是主动脉中层血管平滑肌细胞(vascular smooth muscle cell, VSMC)的损失、细胞外基质紊乱、弹性纤维断裂以及蛋白聚糖和葡糖胺聚糖的聚集。其组织学特征包括慢性外膜和中膜炎性细胞浸润、弹性蛋白断裂和变性以及由跨壁血管炎

基金项目:国家自然科学基金资助项目(82070481)

作者单位:430000 武汉大学人民医院心血管外科

通讯作者:王志维,电子信箱:wangzhiwei@whu.edu.cn

症、细胞外基质降解和血管平滑肌细胞 (VSMC) 内环境平衡失调构成的中膜衰减^[2]。

现有研究显示,线粒体氧化应激对调控细胞凋亡、细胞自噬、氧化应激等具有极其重要的作用,其在肿瘤、心力衰竭、扩张型心肌病、心肌梗死后的缺血再灌注损伤等中均发挥重要作用^[3]。但是线粒体氧化应激与 AD 发生、发展的关系及其在主动脉平滑肌 (VSMCs) 凋亡中的作用联系尚未有具体的研究。本研究通过分析线粒体氧化应激相关蛋白 - 过氧化还原酶 3 (PRDX3) 在 AD 患者和 AD 大鼠模型主动脉组织中的表达差异情况,研究其在主动脉夹层发生过程中的作用,旨在为主动脉夹层诊疗提供新靶点。

材料与方法

1. 标本与实验分组:选取 2018 年 8 月 ~ 2019 年 4 月于武汉大学人民医院确诊为 Stanford I 型夹层并行胸主动脉全弓置换患者 14 例为 AD 组 ($n = 14$),患者均经过 CTA 检查确诊为胸主动脉夹层,三维重建的结果显示破口位于升主动脉。所有患者术前均无冠心病、外周血管疾病、糖尿病、关节炎、膜性肾病。患者均在入院后行急诊手术,术中取 AD 患者病变组织。组织取出后用预冷的 0.9% 氯化钠注射液漂洗,一部分冻存于液氮中,一部分用 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋用于进行后续检测。另选取 5 例心脏移植患者作为对照组 (此 5 例患者均无大血管疾病,其在心脏移植术中取下的心脏主动脉血管可作为相对正常主动脉血管组织)。术前所有实验方案均已告知家属,并签署知情同意书,且该部分实验经武汉大学医学伦理学委员会审批同意 [伦理审批编号:WDRM 动 (福) 第 20201107 号]。

2. 实验动物与模型构建:选用 SPF 级野生型 4 周龄 SD 大鼠 18 只,实验动物均由武汉大学动物实验中心提供 [动物使用许可证号:SYXK (鄂) 2015 - 0027],饲养于武汉大学人民医院动物实验中心。将实验动物采用数字表法随机分为 AD 组 ($n = 9$) 及对照组 ($n = 9$)。AD 组饲喂含 0.3% β - 异氨基丙腈酯 (BAPN) 的维持饲料进行主动脉夹层动物模型构建,对照组饲喂普通饲料。动物模型构建后密切观察造模大鼠生存状况,若大鼠在造模过程中死亡,立即解剖明确死因,并收集主动脉撕裂范围的主动脉组织标本。4 周后各组存活大鼠统一取材 (AD 组取主动脉撕裂部位,对照组取相应部位血管),主动脉标本液氮冻存或 4% 多聚甲醛固定用于后续实验。

3. 氧化应激细胞模型构建:培养人主动脉血管平

滑肌细胞 (HASMC) 至 80% 后,实验组加入不同浓度的 H_2O_2 ,对照组不做处理。

4. 实验试剂:PRDX3 抗体购自中国北京 Bioss 生物技术公司; β - 氨基丙腈酯 (BAPN) 购自日本 TCI 公司 (货号 A0796); β - actin 抗体购自中国武汉 Servicebio 生物技术公司;抗兔二抗购自美国 Cell Signaling Technology 公司 (货号:5151P)。

5. Western blot 法实验:按照分组要求处理组织后,取约 100mg 组织于 1.5ml EP 管内,加入含有适量比例的 Cocktail 及 PMSF 蛋白酶抑制剂的 RIPA 裂解液,液氮研磨仪研磨组织。所得样品于冷冻离心机中以 4℃ 12000r/min 离心 20min,取上清,所收集上清液置于冰上超声碎裂。根据所获得蛋白上清液的体积,以适当的比例加入 5 × 蛋白上样缓冲液混匀,100℃ 金属浴 15min,所获蛋白样本冻存于 - 80℃ 冰箱中。每孔蛋白上样量为 10 μ g,电泳电压 90V,电流 40mA,以 12% SDS - PAGE 丙烯酰胺凝胶进行 Western blot 法电泳。在电流 200mA,电压 100V 条件下电转 2h。其后 TBST 洗膜,5% 脱脂奶粉封闭 1.5 ~ 2.0h,一抗 (anti - PRDX3) 4℃ 摇床孵育过夜, β - actin 为内参,以山羊抗兔荧光二抗显影,在 Odyssey 荧光扫膜系统上扫膜,并对结果进行半定量分析。

6. 免疫组织化学实验:各组标本经 4% 多聚甲醛固定,石蜡包埋后进行切片。选取适量切片后将切片置于 65℃ 恒温烘箱中加热融蜡 2h,然后放入二甲苯溶液中脱去残留的石蜡,进行常规的水化步骤后用 PBS 漂洗。用 triton 试剂破膜 15min,而后在枸橼酸缓冲溶液中进行微波加热修复。自然冷却后,用 3% 过氧化氢消除内源性过氧化物酶,血清常温封闭 1h,一抗 4℃ 孵育过夜。室温复温 1h,二抗避光孵育 1h。用 DAB 染色液在显微镜下显色,显色后苏木精染核,盐酸乙醇分化,漂洗干净后进行风干,中性树脂封片,最后在全自动显微镜下观察拍照。

7. 统计学方法:以 Graphpad 软件进行统计学处理,至少取 3 次独立实验结果。计量资料的两组间比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 两组人体主动脉组织中 PRDX3 表达比较:Western blot 法检测发现,AD 组患者主动脉血管 PRDX3 的表达在 mRNA 水平及蛋白水平均较对照组主动脉明显增高,差异有统计学意义 ($P = 0.000$,图 1);人体组织免疫组化结果显示,AD 患者主动脉组织中 PRDX3 表达较对照组明显增高,表现为显微

镜下主动脉血管中膜中出现大量高表达的阳性型号(图2),用Image J软件进行阳性率统计分析发现,AD组与对照组之间比较,差异有统计学意义。

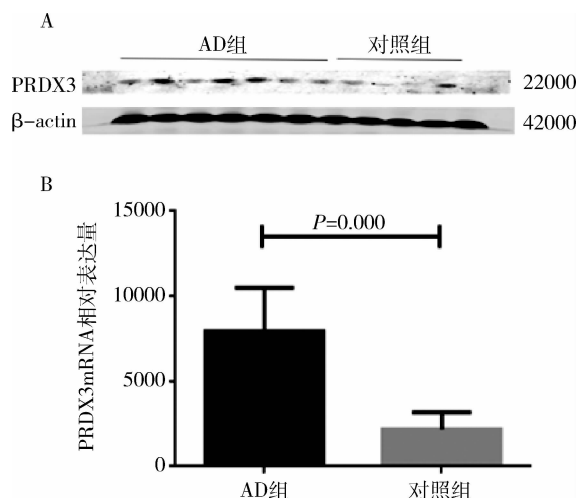


图1 Western blot法检测人体组织PRDX3表达

A. Western blot法结果;B. PRDX3相对表达量

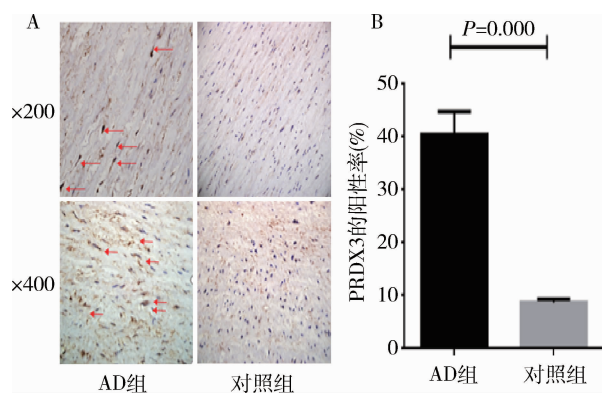


图2 人体主动脉组织标本间免疫组织化学染色

A. 免疫组化检测人主动脉PRDX3表达,红色箭头示高表达的阳性型号;B. PRDX3的阳性率

2. 两组大鼠主动脉组织中PRDX3的表达:免疫组化染色结果发现,AD组较对照组PRDX3表达明显增高,表现为显微镜下主动脉组织胞质中出现大量高表达的阳性型号(图3)。

3. 不同组 H_2O_2 浓度下HVSMSs表达PRDX3的比较:HVSMSs培养至80%加入过氧化氢处理后,Western blot法检测发现, H_2O_2 实验组PRDX3的表达随着 H_2O_2 浓度的升高而增高(图4),并在蛋白水平较对照组明显增高,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。

讨 论

本研究发现,AD患者主动脉组织中过氧化物还原酶3的表达在mRNA水平及蛋白质水平均较正常对照主动脉组织明显增加,提示在主动脉夹层发病过程中

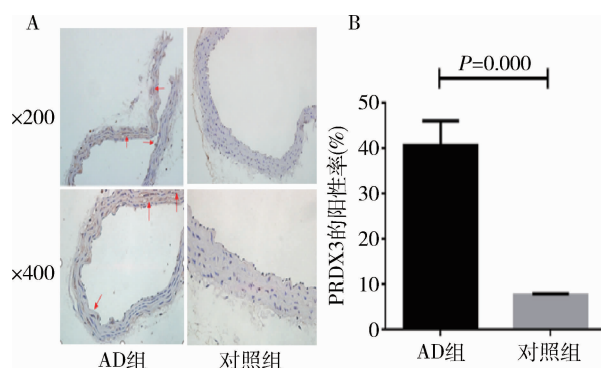


图3 大鼠主动脉组织免疫组织化学染色

A. 免疫组化检测大鼠主动脉PRDX3表达,红色箭头示高表达的阳性型号;B. PRDX3的阳性率

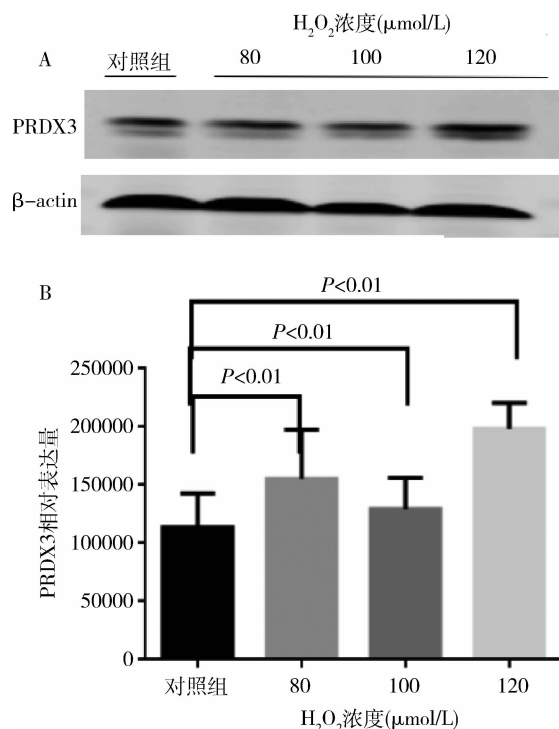


图4 Western blot法检测细胞模型内PRDX3表达

A. 不同处理组细胞蛋白Western blot法检测结果;

B. PRDX3相对表达量

线粒体氧化应激水平明显升高。同时在免疫组化染色中发现,在胞质中出现的大量阳性信号也提示在线粒体中可能发生了氧化应激水平的升高,表现为AD组中PRDX3的表达较正常对照组的明显增高。但是由于人体组织标本之间存在的年龄、性别、家族遗传、生活条件差异性可能带来不可避免的误差,会导致样本均一性相对较差。为此本研究构建了大鼠主动脉夹层动物模型,进一步证实线粒体应激相关蛋白PRDX3的表达升高可能与主动脉夹层具有密切的联系。

主动脉夹层作为一类致死率极高的主动脉疾病,其病理变化表现包括主动脉血管平滑肌细胞的丢失和凋亡过多,弹力纤维断裂,细胞外基质胶原沉积过多^[4]。既往研究更多地涉及血管组织的中膜结构,而对于线粒体这一细胞内重要细胞器涉及较少。线粒体作为体内主要的供能细胞器,其功能失调会导致内环境系统的紊乱^[5,6]。同时线粒体是大量的氧化还原反应的场所所在,主动脉夹层的发生、发展涉及多个器官系统的功能失调,细胞内超氧离子的聚集导致线粒体膜电位下降线粒体结构损伤从而功能受损,最终导致细胞凋亡发生主动脉夹层。线粒体对氧化还原应激的适应性反应可能涉及线粒体通道,如线粒体通透性转换孔(MPTP)和内膜阴离子通道(IMAC)。它们的激活导致线粒体内和线粒体间氧化还原环境的改变,从而导致 ROS 的释放^[7]。AD 的发展进程中长期全身炎性介质的释放可能参与其中,带来的是过量的 ROS 产生和聚集,而 ROS 的上升超过“正常”或“生理”的阈值水平,会导致一种通常被称为“氧化应激”的过程^[8,9]。在正常生理条件下,线粒体负责细胞内大部分 H₂O₂ 的产生,ROS 也能作为细胞内信号分子发挥作用,既往研究已经证明,H₂O₂ 可以诱导血管平滑肌细胞(VSMC)的表型改变,促进细胞凋亡,从而导致钙化等血管病变^[10,11]。

过氧化氢蛋白(peroxiredoxin,PRDX)是一个高度保守的过氧化物酶家族,其维持细胞内活性氧(ROS)的动态平衡^[12]。该家族成员在大多数生物体中都有表达并参与各种生物学过程,在活性氧(ROS)产生、炎症、肿瘤、动脉粥样硬化、心力衰竭等中均发挥相应作用^[13-16]。哺乳动物线粒体产生过量活性氧(ROS)所致的线粒体损伤是许多疾病中氧化损伤的基础。氧化应激下线粒体产生的过量活性氧(ROS)可导致线粒体蛋白质、线粒体膜和 DNA 的氧化损伤,损害线粒体合成 ATP 及其广泛代谢功能的能力,包括对大多数细胞正常运转至关重要的三羧酸循环、脂肪酸氧化、尿素循环、氨基酸代谢、血红蛋白合成和 FeS 中心组装^[17]。线粒体氧化损伤时还可以通过增加细胞色素 C(cyt C)等膜间隙蛋白从而激活细胞凋亡^[18]。PRDX3 作为一种内源性过氧化物清除剂,在正常生理情况下,PRDXs 的产生与 ROS 处于动态平衡的状态^[19]。当发生主动脉夹层等疾病导致内环境稳态失调,线粒体氧化应激产生大量的 ROS,随之而来的是线粒体内的过氧化物清除剂-过氧化氢蛋白 PRDX3 的升高,用以清除过量的 ROS。主动脉夹

层发生时产生的大量 ROS 时伴随而来的是机体随之而来的 PRDXs 的上调,当上调的 PRDXs 不足以清除过量的 ROS 时,过量的 ROS 会导致线粒体破碎,平滑肌细胞凋亡,最终导致主动脉夹层的发生。

综上所述,在主动脉夹层的发生、发展过程中,ROS 的爆发可以导致线粒体氧化应激的发生,使线粒体氧化应激相关过氧化氢蛋白 PRDX3 上调;如果过氧化物清除剂-PRDX3 的产生不足以清除过量的 ROS,线粒体稳态无法恢复,过量的 ROS 则会使得线粒体功能受损、破裂,同时诱导细胞凋亡,最终促进主动脉夹层的发生、发展。对主动脉夹层发病机制的进一步探究能够揭示主动脉夹层这一危险疾病的发病机制,从而为未来主动脉夹层的早期治疗提供新的治疗思路及靶点。

参考文献

- 1 Nienaber CA, Clough RE, Sakalihasan N, *et al.* Aortic dissection [J]. *Nat Rev Dis Primers*, 2016, 2(1): 16053
- 2 Dale MA, Ruhlman MK, Baxter BT. Inflammatory cell phenotypes in AAAs [J]. *Arterioscleros, Thromb Vasc Biol*, 2015, 35(8): 1746-1755
- 3 Kiyuna LA, Albuquerque R, Chen CH, *et al.* Targeting mitochondrial dysfunction and oxidative stress in heart failure: challenges and opportunities [J]. *Free Radic Biol Med*, 2018, 129: 155-168
- 4 Michel JB, Jondeau G, Milewicz DM. From genetics to response to injury: vascular smooth muscle cells in aneurysms and dissections of the ascending aorta [J]. *Cardiovasc Res*, 2018, 114(4): 578-589
- 5 Chen Q, Thompson J, Hu Y, *et al.* Cardiomyocyte specific deletion of p53 decreases cell injury during ischemia-reperfusion: role of mitochondria [J]. *Free Radic Biol Med*, 2020, 158: 162-170
- 6 Gutierrez PS, Piubelli Mlm, Naal KG, *et al.* Mitochondria in aneurysms and dissections of the human ascending aorta [J]. *Cardiovas Pathol*, 2020, 47: 107207
- 7 Zorov DB, Juhaszova M, Sollott SJ. Mitochondrial reactive oxygen species (ROS) and ROS-induced ROS release [J]. *Physiol Rev*, 2014, 94(3): 909-950
- 8 Awad MA, Aldosari SR, Abid MR. Genetic alterations in oxidant and anti-oxidant enzymes in the vascular system [J]. *Front Cardiovasc Med*, 2018, 5: 107-113
- 9 Zhang C, Vander Voort D, Shi H, *et al.* Matricellular protein CCN3 mitigates abdominal aortic aneurysm [J]. *J Clin Investigat*, 2016, 126(4): 1282-1299
- 10 Zeng J, Chen B, Lv X, *et al.* Transmembrane member 16A participates in hydrogen peroxide-induced apoptosis by facilitating mitochondria-dependent pathway in vascular smooth muscle cells [J]. *Br J Pharmacol*, 2018, 175(18): 3669-3684
- 11 Peng H, Zhang K, Liu Z, *et al.* VPO1 modulates vascular smooth muscle cell phenotypic switch by activating extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK 1/2) in abdominal aortic aneurysms [J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(17): e010069 (下转第 32 页)

连接蛋白表达上调对 CRS 疾病缓解的作用。后续需通过增加体外细胞实验及分子生物学实验才可以对该现象及假设进行进一步验证。

综上所述,本研究通过建立 CRS 的 BALB/c 小鼠模型,阐述了鼻上皮间紧密连接蛋白的破坏在烟曲霉菌提取物致小鼠鼻窦炎发生中的作用。但分子作用机制目前尚不十分明确,仍需增加体外实验进行深入探讨。

参考文献

- Fokkens WJ, Lund VJ, Hopkins C, *et al.* European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2020[J]. *Rhinology*, 2020, 58(Suppl S29): 1–464
- Stevens WW, Lee RJ, Schleimer RP, *et al.* Chronic rhinosinusitis pathogenesis[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2015, 136(6): 1442–1453
- Sugita K, Kabashima K. Tight junctions in the development of asthma, chronic rhinosinusitis, atopic dermatitis, eosinophilic esophagitis, and inflammatory bowel diseases[J]. *J Leukoc Biol*, 2020, 107(5): 749–762
- Tan HT, Hagner S, Ruchti F, *et al.* Tight junction, mucin, and inflammasome-related molecules are differentially expressed in eosinophilic, mixed, and neutrophilic experimental asthma in mice[J]. *Allergy*, 2019, 74(2): 294–307
- Wang M, Tan G, Eljaszewicz A, *et al.* Laundry detergents and detergent residue after rinsing directly disrupt tight junction barrier integrity in human bronchial epithelial cells[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2019, 143(5): 1892–1903
- Dykewicz MS, Rodrigues JM, Slavin RG. Allergic fungal rhinosinusitis[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2018, 142(2): 341–351
- Van de Veerdonk FL, Gresnigt MS, Romani L, *et al.* Aspergillus fumigatus morphology and dynamic host interactions[J]. *Nat Rev Microbiol*, 2017, 15(11): 661–674
- Feldman MB, Dutko RA, Wood MA, *et al.* Aspergillus fumigatus cell wall promotes apical airway epithelial recruitment of human neutrophils[J]. *Infect Immun*, 2020, 88(2): e00813–e00819
- Denning DW, Chakrabarti A. Pulmonary and sinus fungal diseases in non-immunocompromised patients[J]. *Lancet Infect Dis*, 2017, 17(11): e357–e366
- 王志远, 张革化. 慢性鼻-鼻窦炎小鼠模型及应用现状[J]. *山东大学耳鼻喉眼学报*, 2015, 29(5): 76–78
- Liang KL, Jiang RS, Wang J, *et al.* Developing a rabbit model of rhinogenic chronic rhinosinusitis[J]. *Laryngoscope*, 2008, 118(6): 1076–1081
- Lindsay R, Slaughter T, Britton-Webb J, *et al.* Development of a murine model of chronic rhinosinusitis[J]. *Otolaryngol Head Neck Surg*, 2006, 134(5): 724–730
- 胡小义, 王凌伟. 真菌相关嗜酸性粒细胞增多性疾病[J]. *中国真菌学杂志*, 2018, 13(6): 380–384
- Shin HW. Animal models in crs and pathophysiologic insights gained: a systematic review[J]. *Laryngoscope Investigat Otolaryngol*, 2016, 1(5): 116–123
- Persson EK, Verstraete K, Heyndrickx I, *et al.* Protein crystallization promotes type 2 immunity and is reversible by antibody treatment[J]. *Science*, 2019, 364(6442): eaaw4295
- Ahn BH, Park YH, Shin SH. Mouse model of aspergillus and alternaria induced rhinosinusitis[J]. *Auris Nasus Larynx*, 2009, 36(4): 422–426
- Zhang N, Van Crombruggen K, Gevaert E, *et al.* Barrier function of the nasal mucosa in health and type-2 biased airway diseases[J]. *Allergy*, 2016, 71(3): 295–307
- Samitas K, Carter A, Kariyawasam HH, *et al.* Upper and lower airway remodelling mechanisms in asthma, allergic rhinitis and chronic rhinosinusitis: the one airway concept revisited[J]. *Allergy*, 2018, 73(5): 993–1002
- Hupin C, Gohy S, Bouzin C, *et al.* Features of mesenchymal transition in the airway epithelium from chronic rhinosinusitis[J]. *Allergy*, 2014, 69(11): 1540–1549
- Wang Z, Chang L, Huang J, *et al.* Histological and computed tomographic characteristics of the sinonasal structure of BALB/c mice[J]. *Anat Histol Embryol*, 2020, 49(2): 222–226

(收稿日期: 2020-12-10)

(修回日期: 2020-12-19)

(上接第 27 页)

- Rhee SG. Overview on peroxiredoxin[J]. *Mol Cells*, 2016, 39(1): 1–5
- Wei B, Lin Q, Ji Y, *et al.* Luteolin ameliorates rat myocardial ischaemia-reperfusion injury through activation of peroxiredoxin II[J]. *Br J Pharmacol*, 2018, 175(16): 3315–3332
- Hampton MB, Vick KA, Skoko JJ, *et al.* Peroxiredoxin involvement in the initiation and progression of human cancer[J]. *Antioxidants Redox Sign*, 2018, 28(7): 591–608
- Sobotta MC, Liou W, Stocker S, *et al.* Peroxiredoxin-2 and STAT3 form a redox relay for H₂O₂ signaling[J]. *Nat Chem Biol*, 2015, 11(1): 64–70
- Jeong S, Kim S, Park J, *et al.* Prdx1 (peroxiredoxin 1) deficiency

reduces cholesterol efflux via impaired macrophage lipophagic flux[J]. *Autophagy*, 2018, 14(1): 120–133

- Sinha K, Das J, Pal PB, *et al.* Oxidative stress: the mitochondria-dependent and mitochondria-independent pathways of apoptosis[J]. *Arch Toxicol*, 2013, 87(7): 1157–1180
- Wechen E, Gonzalez DH. Cytochrome c, a hub linking energy, redox, stress and signaling pathways in mitochondria and other cell compartments[J]. *Physiol Plant*, 2016, 157(3): 310–321
- Zandalinas SI, Mittler R. ROS-induced ROS release in plant and animal cells[J]. *Free Rad Biol Med*, 2018, 122: 21–27

(收稿日期: 2020-11-23)

(修回日期: 2020-12-21)