·麻醉专栏·

IGF-1 通过 TLR4/NF-κB 信号通路对心肺复苏大鼠心肌坏死性凋亡的影响

胡振飞，李　帆，戴晓雯
（新疆医科大学第一附属医院麻醉科，新疆 乌鲁木齐 830000）

［摘要］ **目的** 探究心肺复苏对胰岛素样生长因子 1（insulin-like growth factor-1，IGF-1）的表达及其调节大鼠心肌损伤的作用机制。**方法** 取 30 只 Sprague-Dawley 大鼠，随机平均分为 5 组，每组 6 只。随机选取 1 组为 sham 组，其余 4 组大鼠构建心室颤动型心脏骤停/心肺复苏模型，建模成功后，随机选取 1 组作为 CA/CPR，剩余 3 组分为补充 IGF-1、补充 TAK-242［Toll 样受体 4（Toll-like receptor 4，TLR4）/核因子 κB（nuclear factor κB，NF-κB）通路］抑制剂以及同时补充 IGF-1 和 TAK-242 组。利用伊文思蓝染色检测不同处理组大鼠的心肌损伤情况；利用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应（reverse transcription-polymerase chain reaction，RT-qPCR）检测 IGF-1 的表达水平；利用 Western blot 检测 TLR4、NF-κB、髓样分化因子（myeloid differentiation primary response protein 88，MyD88）、受体相互作用蛋白激酶 3（receptor-interacting protein kinase 3，RIPK3）、混合谱系激酶域样蛋白（mixed-lineage kinase domain-like，MLKL）的表达水平；利用酶联免疫吸附法检测白细胞介素 1β（interleukin-18，IL-1β）和白细胞介素 18（interleukin-18，IL-18）的表达水平。**结果** 与 sham 组相比，当大鼠心脏骤停后，利用心肺复苏恢复心脏自主循环后，大鼠的心肌组织均出现较为严重的损伤，其中 CA/CPR 组损伤严重，补充 IGF-1 和 TAK-242 组心肌损伤减轻；与 sham 组相比，CA/CPR 组大鼠心肌细胞 IGF-1 的表达量显著降低（$P<0.05$）；与 sham 组相比，CA/CPR 大鼠心肌组织中 IL-1β 和 IL-18 的表达水平显著升高，补充 IGF-1 和 TAK-242 组大鼠在所有模型大鼠中 IL-1β 和 IL-18 的表达量最低（$P<0.05$）；与 sham 组相比，CA/CPR 大鼠 TLR4、MyD88、NF-κB p65 的表达水平显著升高，其中模型组大鼠在所有模型大鼠中的表达水平最高，补充 IGF-1 和 TAK-242 组大鼠在所有模型大鼠中的表达水平显著降低（$P<0.05$）；与 sham 组相比，CA/CPR 大鼠 RIPK3、MLKL 的表达量显著升高，补充 IGF-1 和 TAK-242 组大鼠在所有 CA/CPR 大鼠中的表达水平降低（$P<0.05$）。**结论** 心脏骤停恢复自主循环后，IGF-1 的表达量会降低，IGF-1 可以通过抑制 TLR4/NF-κB 信号通路，抑制心肌细胞的坏死性凋亡，从而减轻大鼠的心肌损伤。

［关键词］ 肌细胞，心脏；心肺复苏；坏死性凋亡　　doi：10.3969/j.issn.1007-3205.2024.05.010
［中图分类号］ R542.2　　［文献标志码］ A　　［文章编号］ 1007-3205(2024)05-0549-06

Effect of IGF-1 on myocardial necroptosis in rats undergoing cardiopulmonary resuscitation via TLR4/NF-κB signaling pathway

HU Zhen-fei, LI Fan, DAI Xiao-wen
(*Department of Anesthesiology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi* 830000, *China*)

［**Abstract**］ **Objective** To explore the effect of cardiopulmonary resuscitation (CPR) on the expression of insulin-like growth factor-1 (IGF-1) and its regulatory mechanism on myocardial injury in rats. **Methods** Thirty Sprague-Dawley rats were selected and randomly divided into five groups, with 6 rats in each group. One group was randomly selected as sham operation group,

［收稿日期］2023－03－28
［基金项目］新疆维吾尔自治区自然科学基金（2019D01C324）
［作者简介］胡振飞（1987－），男，新疆乌鲁木齐人，新疆医科大学第一附属医院主治医师，医学学士，从事麻醉学、围术期器官保护研究。

and in the other four groups, cardiac arrest due to ventricular fibrillation/CPR models were established. After the successful modeling, one group was randomly selected as I/R, and the other three groups were divided into IGF-1 supplementation group, TAK-242 [Toll-like receptor 4 (TLR4)/nuclear factor κB (NF-κB) supplementation] inhibitor supplementation group and IGF-1 and TAK-242 supplementation group. The myocardial injury of rats in different treatment groups was detected by Evans blue staining. The expression level of IGF-1 was detected by real-time fluorescence quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-qPCR). The expression levels of TLR4, NF-κB, myeloid differentiation primary response protein 88 (MyD88), receptor-interacting protein kinase 3 (RIPK3) and mixed-lineage kinase domain-like (MLKL) were detected by Western blot. The expression levels of interleukin-1β (IL-1β) and interleukin-18 (IL-18) were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Compared with the sham operation group, the myocardial tissue of rats was seriously damaged after cardiac arrest and CPR, among which the model group had the most severe damage, and the IGF-1 and TAK-242 supplementation group had the least severe damage. Compared with sham operation group, the expression of IGF-1 in myocardial tissue of rats in model group was decreased significantly ($P<0.05$). Compared with sham operation group, the expression levels of IL-1β and IL-18 in myocardial tissue of model rats were significantly increased, among which the expression levels of IL-1β and IL-18 were the highest in the model group and the lowest in IGF-1 and TAK-242 supplementation group ($P<0.05$). Compared with sham operation group, the expression levels of TLR4, MyD88 and NF-κB p65 in model rats were significantly increased, among which the expression levels were the highest in the model group, and the lowest in IGF-1 and TAK-242 supplementation group ($P<0.05$). Compared with the sham operation group, the expression levels of RIPK3 and MLKL in model rats were significantly increased, among which the expression levels of model rats were the highest in the model group and the lowest in IGF-1 and TAK-242 supplementation group ($P<0.05$). **Conclusion** After cardiac arrest and restoration of autonomous circulation, the expression level of IGF-1 will decrease, and IGF-1 can inhibit necroptosis of myocardial cells by inhibiting TLR4/NF-κB signaling pathway, thereby reducing myocardial injury in rats.

[**Key words**] myocytes, cardiac; cardiopulmonary resuscitation; necroptosis

目前治疗心脏骤停(cardiac arrest,CA)的有效方法是尽早行高质量的心肺复苏(cardiopulmonary resuscitation,CPR)并在适时进行除颤[1-2]。但出现的心脏骤停后综合征(postcardiac arrest syndrome,PCAS)患者出院生存率仅1%[3-4],多伴有心肌损害等病理[5-7]。Wu等[8]表明,儿茶酚胺激增可以刺激β-肾上腺素表达,引起心肌损伤。胰岛素样生长因子1(insulin-like growth factor-1,IGF-1)能改善心肌梗死后患者的心脏功能[9],可能与调控受体相互作用蛋白激酶3(receptor-interacting protein kinase 3,RIPK3)介导的坏死性凋亡有关[10-11],而其对心肌细胞坏死性凋亡的调节作用暂未明确。本研究通过构建大鼠心室颤动型心脏骤停/心肺复苏(CA/CPR)模型,明确IGF-1对心肌细胞损伤的影响以及作用机制。

1 材料与方法

1.1 心室颤动型CA/CPR大鼠模型构建 购买雄性Sprague-Dawley大鼠(6～8个月,450～550 g)30只,本实验已通过新疆医科大学第一附属医院动物伦理委员会审批,实验操作和动物处置符合实验动物伦理学标准和要求。所有大鼠在实验条件下(温度:22～25 ℃,湿度:50%～60%,光照时间:12 h)暂养10 d。实验开始前12 h禁食,可自由饮水。

参照Zhang等[12]和Lin等[13]的方法构建心室颤动型CA/CPR大鼠模型,简言之,经腹腔注射戊巴比妥钠(美国Sigma公司,45 mg/kg)麻醉后,对大鼠进行气管插管和股动静脉置管等操作。机械通气20 min,待动物状态稳定后记录动物基线心率和血压。随后,将5F冠状窦标测电极插入食管,随后

暂停机械通气，将气管导管与呼吸机脱离，开始经食管电刺激，当心电图波形变为心室颤动或室性心动过速，血压迅速下降，CA模型建立成功标准。4 min后，开始机械通气(100%氧气)，并进行CPR操作，按压频率约200次/min，深度约为胸廓前后径的1/3，保证胸廓充分回弹，同时静脉匀速缓慢推注肾上腺素(200 μg/kg，用生理盐水稀释配制)。观察心电图和血压的变化，恢复ROSC时停止按压。CA标准：①动物心率逐渐下降；②平均动脉压(mean arterial pressure，MAP)降至25 mmHg(1 mmHg＝0.133 kPa)以下。ROSC标准为：①心电图恢复窦性或室上性节律；②MAP升至60 mmHg以上且能维持至少10 min。

1.2　实验干预与分组　将所有大鼠随机分配为5组，按照Sun等[14]的方法对小鼠进行干预和分组，实验分组如下：①sham组，sham组大鼠在插管后48 h经腹腔注射生理盐水(150 μg/kg)，不进行其他干预，包括CA和CPR；②CA＋NC组，术前3 d，通过尾静脉注射生理盐水；③CA＋IGF-1组，术前3 d，通过尾静脉注射IGF-1(30 mg/kg)；④NC＋TAK-242组，术前3 d，通过尾静脉注射生理盐水和TAK-242(3 mg/kg；一种TLR抑制剂；Selleck，USA)；⑤IGF-1＋TAK-242组，术前3 d，通过尾静脉注射IGF-1和TAK-242。

1.3　伊文思蓝染色　为检测全身缺血－再灌注(ischemia-reperfusion，I/R)损伤后心肌组织损伤的程度，参照Wu等[15]的研究方法，利用伊文思蓝(Evans blue，EB)染色进行检测。简而言之，在再灌注期结束前24 h，按照5 μL/g给小鼠腹膜内注射的EB染料(10 mg/mL)。再灌注3 h后，处死小鼠，利用Tissue-Tek OCT(Sakura，USA)对心脏组织进行包埋处理，利用恒温冷冻切片机切片。低温切片利用iFluor 647-麦胚凝集素缀合物复染(Solarbio，China)对EBD阳性肌细胞进行定量。在共聚焦荧光显微镜(TCS SP8；Leica，Germany)下观察组织染色情况。

1.4　RNA提取以及实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(reverse transcription-polymerase chain reaction，RT-qPCR)分析　利用含有1×蛋白酶抑制剂和磷酸抑制剂(Thermo Fisher Scientific，USA)的裂解缓冲液(20 mmol/L Tris-HCl，pH 7.4；1% Triton X-100；1 mmol/L EDTA；30 mmol/L HEPES；50 mmol/L $Na_4P_2O_7$；100 mmol/L NaF)从大鼠心脏组织中提取心肌细胞。使用TRIzol试剂盒(thermo scientific，USA)提取大鼠心肌细胞的总RNA，使用SuperScript Ⅳ逆转录酶试剂盒(Thermo Fisher Scientific，USA)逆转录成cDNA。随后，利用RT-qPCR检测IGF-1的表达水平，引物如表1所示。

表1　引物序列

Table 1　Primer sequence

基因名称	上游引物(5′-3′)	下游引物(5′-3′)
IGF-1	AGCTTTGCAGTGCCTTG	CAGCAGACGTTTAGC
GAPDH	ACCAGGTATCTTGGTTG	TAACCATGTCAGCGTGGT

1.5　Western blot　利用Western blot检测坏死性凋亡和TLR4/NF-κB信号通路相关蛋白的表达水平。简言之，收集组织或细胞，使用RIPA裂解缓冲液(Solarbio，China)提取总蛋白，并使用BCA蛋白检测试剂盒(Beyotime，China)进行定量。使用SDS-PAGE分离样本，并转移到PVDF膜(Bio-Rad)上。用含2%纯化牛血清白蛋白的磷酸盐缓冲液(phosphate buffer solution，PBS)－0.05% Tween 20在室温下封闭膜2 h，并与适当的一抗一起在4 ℃孵育过夜。本研究使用的一抗包括anti-RIPK3(ab286151，Abcam)、anti-MLKL(ab243142，Abcam)、anti-TLR4(ab217274，Abcam)，anti-MyD88(ab219413，Abcam)，anti-NF-κB(ab239882，Abcam)和β-actin(ab8226，Abcam)。孵育完成后，利用PBS洗涤，并与相应的二抗在室温下孵育1 h。再次利用PBST洗涤后，使用增强化学发光检测系统(Thermo Scientific，USA)和定量红外成像(FUSION SOLO S)对WB结果进行可视化。

1.6　酶联免疫吸附法(enzyme-linked immunosorbent assay，ELISA)　按照制造商的说明，使用ELISA试剂盒(R&D Systems，USA)检测心肌组织中白细胞介素1β(interleukin-1β，IL-1β)和白细胞介素18的表达水平。

1.7　统计学方法　应用Graphpad 8.0统计软件分析数据。计量资料采用t检验、单因素方差分析、SNK-q检验。$P<0.05$为差异有统计学意义。

2　结　果

2.1　IGF-1对心肌损伤的影响　为探究I/R对心肌损伤的影响，本研究构建了心室颤动型CA/CPR大鼠模型，随后利用EB染色验证大鼠心肌损伤的情况。结果显示，与sham组相比，CA/CPR组大鼠的心肌损伤明显(图1)。本研究利用RT-PCR对大鼠心肌细胞内IGF-1的表达水平进行检测。结果显示，与sham组相比，CA/CPR大鼠体内的IGF-1的表达水平显著降低($P<0.05$)。为验证IGF-1对

I/R大鼠的影响，向CA/CPR大鼠注射IGF-1，结果显示，与CA＋NC组相比，CA＋IGF-1组的心肌损伤情况显著降低（图1）。综合以上结果可以看出，当出现I/R时，大鼠体内IGF-1的表达水平降低，心肌组织会出现损伤，当补充IGF-1时，大鼠心肌损伤明显减轻。

2.2 I/R与TLR4/NF-κB信号通路和坏死性凋亡之间的关系 利用WB和ELISA进行检测。结果显示，与CA＋NC组相比，CA＋IGF-1组中TLR4/NF-κB信号通路相关蛋白TLR4、髓样分化因子（myeloid differentiation primary response protein 88，MyD88）和NF-κB的表达水平显著升高（图2A）。不仅如此，炎症相关蛋白IL-1β和IL-18的表达水平也呈现上升的状态（表2，图2B；$P<0.05$）。为探究I/R中TLR4/NF-κB信号通路对细胞坏死性凋亡的影响，本研究利用WB检测坏死性凋亡相关蛋白的表达水平。结果显示，与CA＋NC组相比，CA＋IGF-1组中RIPK3、混合谱系激酶域样蛋白（mixed-lineage kinase domain-like，MLKL）的表达水平显著升高（图2）。

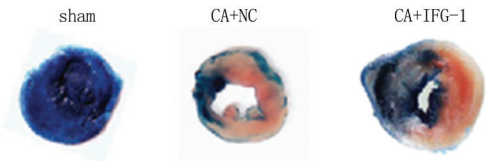


图1 IGF-1对I/R大鼠心肌损伤的影响

Figure 1 Effect of IGF-1 on myocardial injury in I/R rats

表2 CA/CPR大鼠体内的IGF-1表达水平

Table 2 IGF-1 expression levels in CA/CPR rats

（$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

组别	IGF-1
sham	0.99±0.15
I/R	0.81±0.12
t 值	2.295
P 值	0.045

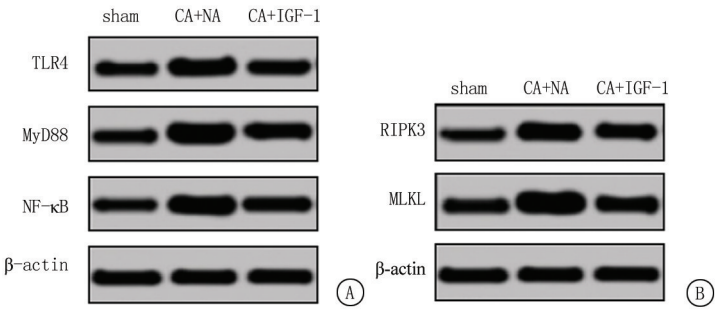


图2 TLR4/NF-κB信号通路对CA/CPR大鼠心脏的影响

A.不同分组大鼠心肌组织坏死性凋亡以及TLR4/NF-κB信号通路相关蛋白的表达水平；B.坏死性凋亡相关蛋白的表达水平

Figure 2 Effect of TLR4/NF-κB signaling pathway on the heart of CA/CPR rats

表3 炎症相关蛋白IL-1β和IL-18的表达水平

Table 3 Expression levels of inflammation-related protein IL-1 β and IL-18

（$n=6$，$\bar{x}\pm s$，ng/L）

组别	IL-1β	IL-18
sham组	22.54±4.26	17.36±3.84
CA＋NC组	64.28±7.82*	36.05±5.27*
CA＋IGF-1组	40.62±5.35*#	24.12±4.83#
F 值	73.078	24.481
P 值	<0.001	<0.001

*P值<0.05与sham组比较 #P值<0.05与CA＋NC组比较（SNK-q检验）

2.3 IGF-1通过TLR4/NF-κB信号通路促进大鼠心肌细胞的坏死性凋亡 为探究IGF-1与TLR4/NF-κB信号通路以及心肌细胞坏死性凋亡之间的关系，本研利用IGF-1和TLR4抑制剂处理CA/CPR大鼠模型。EB染色结果显示，不同处理组之间大鼠心肌损伤的情况表现差异，与CA＋NC组相比，NC＋TAK-242、IGF-1＋TAK-242和IGF-1＋TAK-242组的心肌损伤情况明显减轻（图3A）。WB结果显示，与CA＋NC组相比，NC＋TAK-242、IGF-1＋TAK-242和IGF-1＋TAK-242组的RIPK3；MLKL、TLR4、MyD88、NF-κB p65的表达显著降低（图3B）。利用ELISA检测炎症相关蛋白表达水平与CA＋NC组相比，NC＋TAK-242、IGF-1＋TAK-242和IGF-1＋TAK-242组中IL-1β和IL-18的表显著降低，见表4。这一结果显示，利用TLR4/NF-κB信号通路抑制剂处理大鼠，可以显著抑制心肌细胞的坏死性凋亡，而提高IGF-1的表达水平同样可以抑制TLR4/NF-κB信号通路。

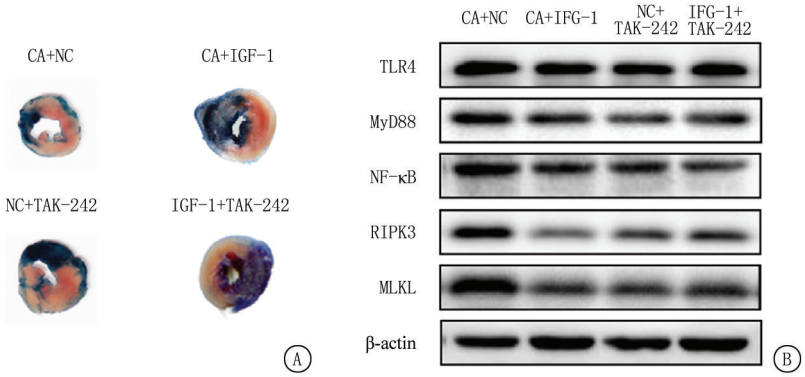


图3　IGF-1通过抑制TLR4/NF-κB信号通路调节的坏死性凋亡减轻I/R引发的心肌损伤

A.不同分组大鼠CA/CPR后心肌损伤情况；B.TLR4/NF-κB信号通路以及坏死性凋亡相关蛋白的表达水平

Figure 3　IGF-1 reducing myocardial injury induced by I/R by inhibiting TLR4/NF-κB signaling pathway-regulated necroptosis

表4　IL-1β和IL-18的表达水平

Table 4　Expression levels of IL-1β and IL-18

($n=6, \bar{x}\pm s$, ng/L)

组别	IL-1β	IL-18
CA+NC组	62.36±7.35	36.85±4.07
CA+IGF-1组	37.53±4.28*	26.19±2.74*
NC+TAK-242组	35.17±4.02*	30.84±3.08*#
IGF-1+TAK-242组	32.62±3.18*	24.77±2.65#△
F 值	46.170	17.553
P 值	<0.001	<0.001

*P值<0.05与CA+NC组比较　#P值<0.05与CA+IGF-1组比较　△P值<0.05与NC+TAK-242组比较(SNK-q检验)

3　讨　论

IGF-1在保护心脏、预防心脏损伤方面起着重要的作用，其机制可能是通过调控一些信号通路来发挥作用。研究证实，I/R会影响TLR4/NF-κB信号通路[16]，且TLR4/NF-κB信号通路与炎症因子的表达密切相关。另有研究表明，TLR4/NF-κB信号通路与细胞的坏死性凋亡显著相关[17]。一项研究证实，三碘甲状腺原氨酸T3可以通过激活IGF-1，从而介导磷酸肌醇-3激酶/蛋白激酶B信号通路来保护心肌细胞免受H/R诱导的损伤[18]。本研究对CA/CPR大鼠心肌细胞中的IGF-1的表达水平进行检测，发现I/R后大鼠心肌组织中的IGF-1表达水平显著降低。EB染色结果也显示，大鼠心肌组织较为严重的损伤。为验证IGF-1在心肌损伤中的作用，构建了补充IGF-1的CA/CPR大鼠模型，EB染色结果显示，大鼠的心肌损伤缓解。以上研究结果可以看出，大鼠经历CA后，心脏的I/R会抑制IGF-1的表达，而补充IGF-1可以有效缓解I/R给大鼠心脏带来的心肌损伤。

心脏由于I/R出现心肌损伤，导致大量炎性因子出现，其紧密黏附于血管内皮细胞，损伤血管内皮[19]。TLR4在心肌细胞和微血管内皮细胞中高度表达，能够通过MyD88依赖性途径促进干扰素β的表达并激活NF-κB[20]。在缺血、缺氧等条件下，磷酸化的TLR4增加，TLR4被激活，进一步提高NF-κB的磷酸化，激活TLR4/NF-κB通路，从而增加炎性因子的含量[21-23]。Luo等[24]研究表明，人参皂苷Rg1可以通过抑制TLR4/NF-κB/NLRP3信号轴，减轻脂多糖诱导的心肌细胞凋亡和炎症。本研究对心脏骤停后ROSC大鼠的心肌组织进行检测，发现心肌组织中TLR4/NF-κB信号通路相关蛋白的表达量显著升高，而补充IGF-1的大鼠TLR4/NF-κB信号通路相关蛋白的表达量虽然依旧呈现升高状态，但其上升幅度显著低于未补充组。以上结果表明，IGF-1可以显著抑制CA/CPR大鼠心肌细胞中TLR4/NF-κB信号通路的激活。

既往研究表明，心肌缺血可以通过激活坏死性凋亡相关相通路引发心肌损伤。据报道，circRNA CNEACR通过促进Foxa2的表达，抑制了心肌细胞中RIPK3的表达水平，从而抑制RIPK3介导的坏死性凋亡，改善I/R损伤心脏的心脏功能[25]。此外TLR4/NF-κB信号通路在介导细胞坏死性凋亡中的作用也不可忽视，Yu等[26]研究表明，Klotho可以通过TLR4/NF-κB信号通路减弱血管紧张素Ⅱ诱导的心肌细胞坏死性凋亡。本研究对I/R大鼠心肌组织进行检测，发现心肌组织中TLR4/NF-κB信号通路相关蛋白表达量升高的同时，坏死性凋亡标志蛋白RIPK3和MLKL的表达量也明显升高。这些结果表明，由于I/R的出现，激活了TLR4/NF-κB信号通路，引发心肌细胞进行坏死性凋亡，从而造成心肌损伤。

综上所述，I/R会抑制心肌组织中IGF-1的表达，而IGF-1可以通过抑制TLR4/NF-κB信号通路，从而抑制CA/CPR大鼠心肌细胞的坏死性凋亡。这是首次证明IGF-1与TLR4/NF-κB信号通路之间的作用关系，及其诱导心肌细胞坏死性凋亡中作用机制。但本研究尚未探究IGF-1在心肌损伤中的下游调控基因，同时其与心肌细胞坏死性凋亡之间暂不清楚。在未来的研究中，将进一步完善

IGF-1/TLR4/NF-κB信号轴通过引发心肌细胞坏死性凋亡导致 CA/CPR 患者心肌损伤的作用机制，为验证 IGF-1 在减轻 CA/CPR 患者心肌损伤提供理论依据。

[参考文献]

[1] Henson T, Rawanduzy C, Salazar M, et al. Outcome and prognostication after cardiac arrest[J]. Ann N Y Acad Sci 2022,1508(1):23－34.

[2] Panchal AR,Bartos JA,Cabanas JG,et al. Part 3:Adult basic and advanced life support:2020 American heart association guidelines for cardiopulmonary resuscitation and emergency cardiovascular Care[J]. Circulation,2020,142(16_suppl_2):S366－S468.

[3] 中华医学会急诊医学分会复苏学组,中国医药教育协会急诊专业委员会,成人心脏骤停后综合征诊断和治疗中国急诊专家共识组.成人心脏骤停后综合征诊断和治疗中国急诊专家共识[J].中国急救医学,2021,41(7):578－587.

[4] 孟瑶,付明,赵雨琪,等.《心脏骤停复苏后血流动力学管理的专家共识》解读[J].河北医科大学学报,2022,43(6):621－626,281.

[5] Jozwiak M, Bougouin W, Geri G, et al. Post-resuscitation shock:recent advances in pathophysiology and treatment[J]. Ann Intensive Care,2020,10(1):170.

[6] Penketh J, Nolan JP. Post-cardiac arrest syndrome[J]. J Neurosurg Anesthesiol,2023,35(3):260－264.

[7] 黄吉霞,高鹏志,赵臣,等.JNK3 过表达促进心肌缺血再灌注损伤[J].河北医科大学学报,2020,41(2):200－203.

[8] Wu P, Cai M, Liu J, et al. Catecholamine surges cause cardiomyocyte necroptosis via a RIPK1-RIPK3-dependent pathway in mice[J]. Front Cardiovasc Med,2021,8:740839.

[9] 侯小路,乔书培,王凤新,等.海藻酸钠复合凝胶改善老龄急性心肌梗死大鼠心脏功能的实验研究[J].国际老年医学杂志,2019,40(1):18－21,34.

[10] De Giorgi A, Marra AM, Iacoviello M, et al. Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) as predictor of cardiovascular mortality in heart failure patients:data from the T.O.S.CA. registry[J]. Intern Emerg Med,2022 17(6):1651－1660.

[11] Lee SH, Shin JH, Song JH, et al. Inhibition of insulin-like growth factor receptor-1 reduces necroptosis-related markers and attenuates LPS-induced lung injury in mice[J]. Biochem Biophys Res Commun,2018,498(4):877－883.

[12] Zhang J, Liu S, Jiang L, et al. Curcumin improves cardiopulmonary resuscitation outcomes by modulating mitochondrial metabolism and apoptosis in a rat model of cardiac arrest[J]. Front Cardiovasc Med,2022,9:908755.

[13] Lin SR, Lin QM, Lin YJ, et al. Bradykinin postconditioning protects rat hippocampal neurons after restoration of spontaneous circulation following cardiac arrest via activation of the AMPK/mTOR signaling pathway[J]. Neural Regen Res,2022,17(10):2232－2237.

[14] Sun Z, Wu K, Gu L, et al. IGF-1R stimulation alters microglial polarization via TLR4/NF-kappaB pathway after cerebral hemorrhage in mice[J]. Brain Res Bull,2020,164:221－234.

[15] Wu JW, Hu H, Hua JS, et al. ATPase inhibitory factor 1 protects the heart from acute myocardial ischemia/reperfusion injury through activating AMPK signaling pathway[J]. Int J Biol Sci,2022,18(2):731－741.

[16] Zhang D, Wang Q, Qiu X, et al. Remifentanil protects heart from myocardial ischaemia/reperfusion (I/R) injury via miR-206-3p/TLR4/NF-kappaB signalling axis[J]. J Pharm Pharmacol,2022,74(2):282－291.

[17] 熊建团,顾铃,王青青,等.TLR4/NF-κB 信号通路对 $CBS^{+/-}$ 小鼠非酒精性脂肪性肝病的影响[J].中国病理生理杂志,2021,37(7):6.

[18] Zeng B, Liu L, Liao X, et al. Cardiomyocyte protective effects of thyroid hormone during hypoxia/reoxygenation injury through activating of IGF-1-mediated PI3K/Akt signalling[J]. J Cell Mol Med,2021,25(7):3205－3215.

[19] Algoet M, Janssens S, Himmelreich U, et al. Myocardial ischemia-reperfusion injury and the influence of inflammation[J]. Trends Cardiovasc Med,2023,33(6):357－366.

[20] Zhang Q, Wang L, Wang S, et al. Signaling pathways and targeted therapy for myocardial infarction[J]. Signal Transduct Target Ther,2022,7(1):78.

[21] Huang Z, Zhao D, Wang Y, et al. C1q/TNF-related protein 9 decreases cardiomyocyte hypoxia/reoxygenation-induced inflammation by inhibiting the TLR4/MyD88/NF-κB signaling pathway[J]. Exp Ther Med 2021,22(4):1139.

[22] Huang L, Li Y, Cheng Z, et al. PCSK9 Promotes endothelial dysfunction during sepsis via the TLR4/MyD88/NF-κB and NLRP3 pathways[J]. Inflammation,2023,46(1):115－128.

[23] 李越.MicroRNA-503 在心肌缺血再灌注损伤中的作用和机制研究[D].太原:山西医科大学,2021.

[24] Luo M, Yan D, Sun Q, et al. Ginsenoside Rg1 attenuates cardiomyocyte apoptosis and inflammation via the TLR4/NF-κB/NLRP3 pathway[J]. J Cell Biochem, 2020, 121(4):2994－3004.

[25] Gao XQ, Liu CY, Zhang YH, et al. The circRNA CNEACR regulates necroptosis of cardiomyocytes through Foxa2 suppression[J]. Cell Death Differ,2022,29(3):527－539.

[26] Yu S, Yang H, Guo X, et al. Klotho attenuates angiotensin II-induced cardiotoxicity through suppression of necroptosis and oxidative stress.[J]. Mol Med Rep,2021,23(2):66.

（本文编辑：刘斯静）