

• 论著 •

二氮嗪对新生儿窒息后血清诱导人近曲肾小管上皮细胞损伤时线粒体凋亡途径的影响

刘喜娟 董文斌 李清平 雷小平 翟雪松 熊涛 邓存良 陈枫

【摘要】 目的 研究二氮嗪对新生儿窒息后血清诱导人近曲肾小管上皮细胞(HK-2)损伤时线粒体凋亡途径的影响。**方法** 取培养好的 HK-2 细胞,接种于 6 孔板中,分为对照组、窒息组、二氮嗪组。以体积分数为 20% 的新生儿窒息后 24 h 血清作为攻击血清;以终浓度 100 mol/L 的二氮嗪进行干预。采用免疫组化法检测细胞内天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3(caspase-3)的表达;激光共聚焦显微镜下观察间接免疫荧光双染色 Omi/HtrA2 在细胞内的转位和线粒体膜电位的变化。**结果** 与对照组相比,窒息组 HK-2 细胞内 caspase-3 表达的吸光度(A)值明显增加(25.19 ± 3.33 比 13.63 ± 1.89 , $P < 0.01$),Omi/HtrA2 转位率明显升高[(56.01 ± 5.30)% 比 (37.59 ± 5.60)%, $P < 0.01$],线粒体膜红/绿荧光强度比值明显降低(0.79 ± 1.42 比 1.82 ± 0.23 , $P < 0.01$);与窒息组相比,二氮嗪组 HK-2 细胞 caspase-3 表达的 A 值(20.17 ± 2.19)明显降低,Omi/HtrA2 转位率[(46.91 ± 2.70)%]明显降低,线粒体膜红/绿荧光强度比值(1.47 ± 0.14)明显增加,但均未恢复至对照组水平(均 $P < 0.01$)。**结论** 二氮嗪通过减少 Omi/HtrA2 在胞内转位、减少 caspase-3 表达、稳定线粒体膜电位,从而明显减轻新生儿窒息后血清诱导的 HK-2 细胞损伤。

【关键词】 婴儿,新生; 窒息; 血清; 二氮嗪; Omi/HtrA2; 天冬氨酸蛋白酶类

Influence of diazoxide on mitochondrial apoptosis in human renal tubular cells induced by serum obtained from neonates with asphyxia LIU Xi-juan*, DONG Wen-bin, LI Qing-ping, LEI Xiao-ping, ZHAI Xue-song, XIONG Tao, DENG Cun-liang, CHEN Feng. * Department of Neonatology, Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan, China
Corresponding author: DONG Wen-bin, Email: dongwenbin2000@163.com

【Abstract】 Objective To study the influence of diazoxide on mitochondrial apoptosis pathway of human renal proximal tubular cells (HK-2 cells). **Methods** Cultured HK-2 cells were inoculated on 6-well plates, according to stochastic tables law, and they were divided into normal serum-treated group (NSTG), postasphyxial serum treatment group (PSTG), and postasphyxial serum and diazoxide treatment group (PSDTG). The serum from neonates 24 hours after asphyxia in a dilution of 20% (volume fraction) was used for challenge. Diazoxide in a final concentration of 100 mol/L, was used for intervention. The expression of caspase-3 was detected by immunohistochemical method. The translocation rate of Omi/HtrA2 and mitochondria membrane potential were determined by indirect immunofluorescence and confocal microscopy. **Results** Compared with that of NSTG, the expression of caspase-3 absorbance (A) value of HK-2 cells in PSTG was significantly increased (25.19 ± 3.33 vs. 13.63 ± 1.89 , $P < 0.01$), the translocation rate of Omi/HtrA2 of HK-2 cells in PSTG was significantly increased [(56.01 ± 5.30)% vs. (37.59 ± 5.60)%, $P < 0.01$], mitochondrial membrane red/green fluorescence intensity ratio was decreased significantly (0.79 ± 1.42 vs. 1.82 ± 0.23 , $P < 0.01$). Compared with the PSTG, the expression value of caspase-3 of HK-2 cells in PSDTG was significantly decreased (20.17 ± 2.19), the translocation rate of Omi/HtrA2 of HK-2 cells in PSDTG was significantly decreased [(46.91 ± 2.70)%], and mitochondrial membrane red/green fluorescence intensity ratio increased significantly (1.47 ± 0.14), but did not recover to the same degree as that of the NSTG (all $P < 0.01$). **Conclusion** The diazoxide may reduce the expression of caspase-3, intracellular translocation of Omi/HtrA2, and stability of mitochondrial membrane potential, thereby significantly alleviates HK-2 cells injury induced by postasphyxial-serum of neonate.

【Key words】 Infant, newborn; Asphyxia; Serum; Diazoxide; Omi/HtrA2; Caspase

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.04.007

基金项目:四川省科技厅应用基础项目(2008JY0015);四川省杰出青年学科带头人培养基金项目(04ZQ026-033)

作者单位:646000 四川,泸州医学院附属医院新生儿科(刘喜娟、董文斌、李清平、雷小平、翟雪松、熊涛),医学实验研究中心(邓存良、陈枫)

通信作者:董文斌,Email: dongwenbin2000@163.com

在新生儿窒息后导致的多器官功能损伤中,肾损伤发生率高达 56%^[1]。研究表明,线粒体 ATP 敏感钾通道(mitoKATP)是组织缺血、缺氧保护的共同效应器,它可能通过减少线粒体内钙超载,维持线粒体容积的动态平衡,阻止线粒体通透性转变孔开放,稳定线粒体膜电位等机制,减轻缺血/再灌注损

伤。二氮嗪作为 mitoKATP 通道的特异性开放剂, 可通过开放 mitoKATP 通道, 明显减轻缺血、缺氧导致的损伤和细胞凋亡^[2-5]。本课题组前期研究已表明凋亡是新生儿窒息后肾小管细胞损伤的重要形式^[6-7], 并证实了 Omi/HtrA2 参与其发病机制^[8], 本研究拟在前期工作的基础上进一步探讨二氮嗪对窒息后肾损伤保护作用的机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料及试剂:人近曲肾小管上皮细胞(HK-2), DMEM/F12 培养基(美国 Gibco 公司), 胎牛血清(成都雅信科技公司), 胰蛋白酶、二甲亚砜(DMSO)购自美国 Sigma 公司。多克隆兔抗人天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3(caspase-3)抗体、免疫组化试剂盒购于武汉博士德生物技术公司; 羊抗人 Omi/HtrA2 多克隆抗体购自美国 Santa Cruz 公司, 兔抗羊 IgG、抗生物素蛋白过氧化物酶(SP)、3,3'-二氨基联苯胺(DAB)显色剂购自北京中杉金桥生物技术有限公司; 线粒体膜电位检测试剂盒由杰美公司提供; 二氮嗪购自美国 Alexis 公司; 细胞培养其他试剂均为市售分析纯。

1.2 窒息血清制备:选择 2007 年 9 月至 12 月收住本院的重度窒息新生儿(未使用免疫抑制剂, 无明显感染, 不分性别, 均征得家属知情同意, 符合伦理学要求); 采集生后 1 d 的血液 5 ml, 肝素抗凝, 离心分离血清, 经灭活补体、过滤除菌、加 DMEM/F12 培养液配成体积分数 20% 的血清备用。

1.3 HK-2 细胞的复苏、培养、传代:从液氮罐取出冻存的 HK-2 细胞尽快解冻。吸出解冻的 HK-2 细胞悬液并滴加 DMEM/F12 培养基, 混匀、离心, 用含 10% 胎牛血清的 DMEM/F12 培养液稀释混匀离心后的细胞悬液, 接种于培养瓶中, 37 °C 下 CO₂ 细胞培养箱中培养, 细胞长满成片约占培养瓶 80% 以上底部面积时, 用胰酶消化贴壁的细胞, 制成细胞悬液, 按 1:2 比例传代, 以后根据细胞生长状况和培养基颜色的变化及时更换培养基或传代。

1.4 实验分组和过程:当培养瓶中培养的 HK-2 细胞达到 70%~80% 融合时, 接种于有盖玻片的 6 孔板中培养, 待其长成单层后去培养液分为 3 组: 对照组加入胎牛血清培养液; 窒息组加入等量含新生儿窒息后血清的培养液; 二氮嗪组加入等量含二氮嗪的新生儿窒息后血清培养液, 二氮嗪的终浓度为 100 mol/L。将各组进行细胞爬片培养 24 h 后备用。

1.5 检测指标及方法

1.5.1 HK-2 细胞中 caspase-3 表达测定:采用 SP

法, 按免疫组化试剂盒说明书操作。用磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗作为对照。每张爬片任选 5 个高倍视野, 采用 Image-pro 6.0 图像分析软件进行分析, 测定吸光度(A)值。

1.5.2 Omi/HtrA2 的胞内转位:采用 SP 法, 按免疫组化试剂盒及线粒体染色试剂盒说明书分别进行操作。线粒体染色为红色荧光, Omi/HtrA2 染色为绿色荧光, 分别用红色及绿色通道扫描, 最后合成。以胞质中线粒体红色荧光与 Omi/HtrA2 绿色荧光重叠合成黄色荧光为阴性细胞, 代表 Omi/HtrA2 尚未发生转位; 反之, 胞质中红色荧光与绿色荧光未发生重叠而相互分离为阳性细胞, 代表 Omi/HtrA2 已经发生转位。随机取多个视野计数共 200 个细胞中的阳性细胞, 对其比例进行统计分析。

1.5.3 线粒体膜电位:按线粒体膜电位检测试剂盒说明书操作。将 1 ml JC-1 工作液(荧光探针与孵育缓冲液按 1:1 000 比例混合)加入装有细胞爬片的 6 孔板中, 避光孵育 20 min 后用 JC-1 冲洗, 抗荧光淬灭剂封片后, 用激光共聚焦显微镜在发射波长 530 nm 及 590 nm 处分别观察绿色和红色荧光。JC-1 是一种碳氮化合物类荧光染料, 在细胞内以聚合物和单体两种不同形式存在。在膜电位较高时, 形成聚合物, 590 nm 发射波下产生红色荧光; 在膜电位降低时, 527 nm 发射波下可以产生绿色荧光。用计算机采集图像荧光值, 计算红/绿荧光强度比值, 并进行统计分析。

1.6 统计学分析:结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用单因素方差分析, 各组比较用 LSD 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 二氮嗪对窒息后血清诱导 HK-2 细胞表达 caspase-3 的影响(表 1; 彩色插页图 1):caspase-3 表达染色为金黄色和黄褐色, 位于胞质。窒息组阳性细胞表达明显强于对照组; 二氮嗪组较窒息组明显减弱, 但未恢复到对照组水平。对每张爬片任选 5 个高倍视野中阳性细胞的 A 值进行分析, 发现窒息组 caspase-3 表达的 A 值明显高于对照组($P < 0.01$); 二氮嗪组 caspase-3 表达较窒息组明显下降, 但仍高于对照组(均 $P < 0.01$)。

2.2 二氮嗪对窒息后血清诱导 HK-2 细胞 Omi/HtrA2 胞内转位的影响(表 1; 彩色插页图 2):对照组胞质中为黄色荧光, 尚未发生转位; 窒息组胞质中红色荧光与绿色荧光未发生重叠; 二氮嗪组有部分红色荧光与绿色荧光重叠。窒息组 HK-2 内 Omi/

HtrA2 转位率较对照组明显增加($P<0.01$);二氮嗪组 HK-2 内 Omi/HtrA2 转位率较窒息组明显降低,但仍高于对照组(均 $P<0.01$)。

表 1 二氮嗪对新生儿窒息后血清诱导 HK-2 细胞 caspase-3 表达、Omi/HtrA2 转位率和线粒体膜电位的影响($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | 样本数 | caspase-3 表达(A 值) | Omi/HtrA2 转位率(%) | 红/绿荧光强度比值 |
|------|-----|--------------------------|--------------------------|-------------------------|
| 对照组 | 8 | 13.63±1.89 | 37.59±5.60 | 1.82±0.23 |
| 窒息组 | 8 | 25.19±3.33* | 56.01±5.30* | 0.79±1.42* |
| 二氮嗪组 | 8 | 20.17±2.19 ^{ab} | 46.91±2.70 ^{ab} | 1.47±0.14 ^{ab} |

注:HK-2 细胞:人近曲肾小管上皮细胞,caspase-3:天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶 3;与对照组比较,* $P<0.01$;与窒息组比较,^b $P<0.01$

2.3 二氮嗪对窒息后血清诱导 HK-2 细胞线粒体膜电位的影响(表 1;彩色插页图 3);双通道对照组中细胞呈橙红色荧光;窒息组中细胞呈黄绿色荧光;二氮嗪组呈黄色荧光。说明窒息组线粒体膜电位明显下降,JC-1 红/绿荧光强度比值较对照组明显下降($P<0.01$);与窒息组相比,二氮嗪组线粒体膜电位有所恢复,JC-1 红/绿荧光强度比值上升,但仍低于对照组(均 $P<0.01$)。

3 讨论

本实验中采用二氮嗪干预新生儿窒息后血清处理的 HK-2 细胞,结果证明二氮嗪可通过减少 Omi/HtrA2 在胞内的转位,减少 caspase-3 表达及稳定线粒体膜电位,从而能明显减轻窒息后血清诱导的 HK-2 细胞损伤。

mitoKATP 是存在于线粒体上的蛋白质分子,分布广,对于维持线粒体的功能起着十分重要的作用。mitoKATP 是影响线粒体膜电位的重要因素^[9-11]。本课题组在前期实验中已证实,窒息后肾组织炎症细胞因子的产生和白细胞滞留相互作用是造成肾损伤的重要环节^[12-13],凋亡是肾损伤的一种形式^[6-7]。在此基础上,本研究进一步证实,窒息后血清可导致培养的 HK-2 线粒体膜电位下降,说明线粒体功能紊乱参与了窒息后血清所致的细胞凋亡。

二氮嗪是一种选择性 KATP 开放剂,本实验中观察到,二氮嗪组细胞线粒体膜电位下降有所恢复,且 Omi/HtrA2 在胞内转位和 caspase-3 表达减少,证明开放 mitoKATP 可阻止窒息后血清诱导 HK-2 细胞凋亡。这可能是二氮嗪导致 mitoKATP 被激活而开放时,线粒体膜电位发生去极化,抑制线粒体膜间隙蛋白质,如细胞色素 C、caspase 级联反应活化因子、凋亡诱导因子、Omi/HtrA2(丝氨酸蛋白酶)

释放到胞质,进而抑制凋亡的发生^[14-15]。

本研究中将 mitoKATP 引入新生儿窒息后肾损伤的研究,为临床上防治窒息后肾损伤的发生找到了新的靶点,但如何安全而有效地将二氮嗪用于临床尚需进一步研究。

参考文献

- [1] Aggarwal A, Kumar P, Chowdhary G, et al. Evaluation of renal functions in asphyxiated newborns. J Trop Pediatr, 2005, 51: 295-299.
- [2] Sun Z, Zhang X, Ito K, et al. Amelioration of oxidative mitochondrial DNA damage and deletion after renal ischemic injury by the KATP channel opener diazoxide. Am J Physiol Renal Physiol, 2008, 294: F491-498.
- [3] 陈其彬, 喻田, 刘兴奎, 等. 二氮嗪预处理对大鼠心肌线粒体呼吸功能与呼吸酶活性的影响. 中国病理生理杂志, 2008, 24: 2302-2305.
- [4] Pasdois P, Beauvoit B, Tariosse L, et al. Effect of diazoxide on flavoprotein oxidation and reactive oxygen species generation during ischemia-reperfusion; a study on Langendorff-perfused rat hearts using optic fibers. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2008, 294: H2088-2097.
- [5] Nouri S, Mahdhaoui N, Beizig S, et al. Acute renal failure in full term neonates with perinatal asphyxia, prospective study of 87 cases. Arch Pediatr, 2008, 15: 229-235.
- [6] 董文斌, 曹敏, 王明勇, 等. 新生儿窒息后血清诱导人肾小管细胞凋亡的作用. 实用儿科临床杂志, 2005, 20: 1207-1209.
- [7] 张勇, 董文斌, 邓存良, 等. 窒息新生儿血清对肾小管上皮细胞内 Omi/HtrA2 表达的影响. 实用儿科临床杂志, 2008, 23: 436-437.
- [8] 张勇, 董文斌, 李清平, 等. Omi/HtrA2 在窒息后血清诱导人近曲肾小管上皮细胞凋亡中的作用. 中国危重病急救医学, 2009, 21: 346-348.
- [9] Kaasik A, Safiulina D, Zharkovsky A, et al. Regulation of mitochondrial matrix volume. Am J Physiol Cell Physiol, 2007, 292: C157-163.
- [10] Riess ML, Costa AD, Carlson R Jr, et al. Differential increase of mitochondrial matrix volume by sevoflurane in isolated cardiac mitochondria. Anesth Analg, 2008, 106: 1049-1055.
- [11] 胡红玲, 张珍祥, 汪涛, 等. 线粒体膜电位对缺氧大鼠肺动脉平滑肌细胞内细胞色素 C 分布及细胞增殖的影响. 华中科技大学学报(医学版), 2008, 37: 166-169, 280.
- [12] 董文斌, 唐章华, 陈红英, 等. 窒息新生儿尿中炎症细胞因子改变与肾小管损伤的关系. 中国危重病急救医学, 2003, 15: 94-96.
- [13] 董文斌, 冉隆瑞, 冯志强, 等. 白细胞参与新生儿窒息后肾损伤的作用及机制研究. 中国危重病急救医学, 2000, 12: 208-210.
- [14] Hadzimichalis NM, Baliga SS, Golfetti R, et al. Acetaminophen-mediated cardioprotection via inhibition of the mitochondrial permeability transition pore-induced apoptotic pathway. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2007, 293: H3348-3355.
- [15] Muñoz-Pinedo C, Guño-Carrión A, Goldstein JC, et al. Different mitochondrial intermembrane space proteins are released during apoptosis in a manner that is coordinately initiated but can vary in duration. Proc Natl Acad Sci USA, 2006, 103: 11573-11578.

(收稿日期: 2009-09-22 修回日期: 2010-01-08)

(本文编辑: 李银平)

胆碱酯酶抑制剂中毒大鼠肠屏障功能和形态结构变化及宾赛克嗪治疗作用的研究

(正文见197页)

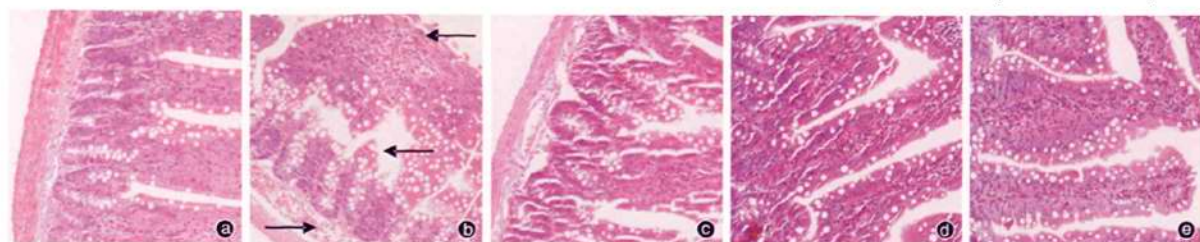


图1 光镜下观察维埃克斯染毒后3h大鼠空肠的病理变化以及宾赛克嗪的治疗作用 对照组(a)肠道黏膜结构基本正常,绒毛上皮完整并排列整齐,无上皮脱落和碎屑形成;模型组(b)肠腔明显变大,肠壁(肌层和固有层)变薄,皱壁变短,结构不清并排列紊乱(-);固有层毛细血管扩张充血,血管中可见积聚的红细胞并可见黏膜间质水肿(-);宾赛克嗪1、3、9mg/kg组(c、d、e)可以改善上述病理变化,其中以宾赛克嗪9mg/kg组效果最好,与对照组没有区别 HE×10

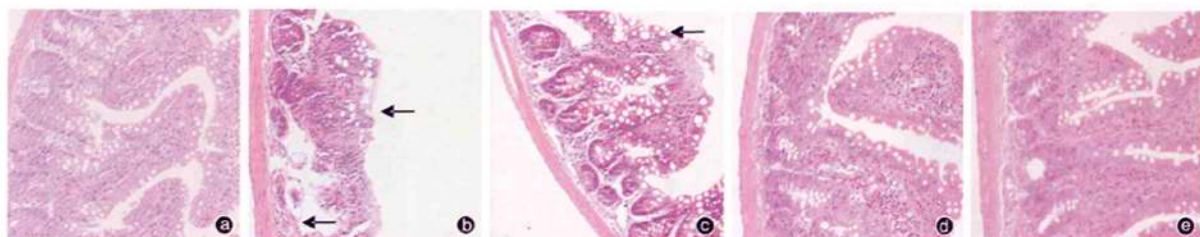


图2 光镜下观察维埃克斯染毒后3h大鼠回肠的病理变化以及宾赛克嗪的治疗作用 对照组(a)肠道黏膜结构基本正常,绒毛上皮完整并排列整齐;模型组(b)肠腔明显变大,肠壁(肌层和固有层)变薄,皱壁变短,结构不清并排列紊乱(-);宾赛克嗪1mg/kg组(c)肠黏膜绒毛上皮细胞结构仍不清,排列紊乱,但厚度较模型组增加(-),有一定的改善;宾赛克嗪3mg/kg组(d)和9mg/kg组(e)可以逆转上述病理变化,与对照组区别不明显 HE×10

二氮嗪对新生儿窒息后血清诱导人近曲肾小管上皮细胞损伤时线粒体凋亡途径的影响

(正文见214页)

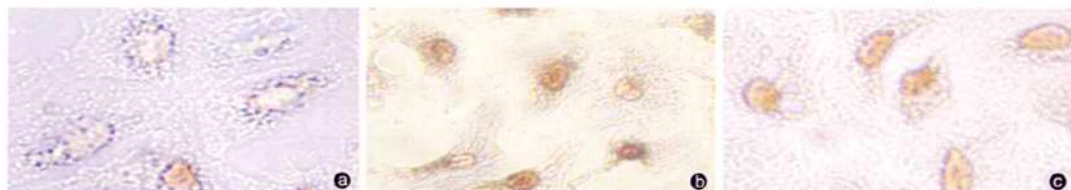


图1 倒置相差显微镜下观察二氮嗪对新生儿窒息后血清诱导人近曲肾小管上皮细胞(HK-2)天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶3(caspase-3)表达的影响 caspase-3阳性表达染色为金黄色和黄褐色,位于胞质,窒息组(b)caspase-3阳性表达明显强于对照组(a);二氮嗪组(c)阳性表达则较窒息组(b)明显减弱 免疫组化×400

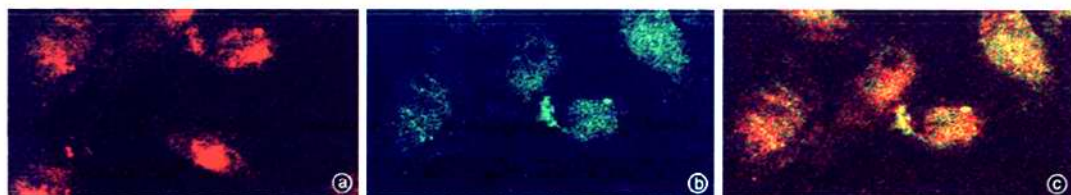


图2 激光共聚焦显微镜下观察二氮嗪对新生儿窒息后血清诱导HK-2细胞Omi/HtrA2胞内转位的影响 对照组(a)胞质中线粒体红色荧光与Omi/HtrA2绿色荧光重叠合成黄色荧光,代表Omi/HtrA2尚未发生转位;窒息组(b)胞质中红色荧光与绿色荧光未发生重叠而相互分离,代表Omi/HtrA2已经发生转位;二氮嗪组(c)有部分红色荧光与绿色荧光重叠 间接免疫荧光双染色×400

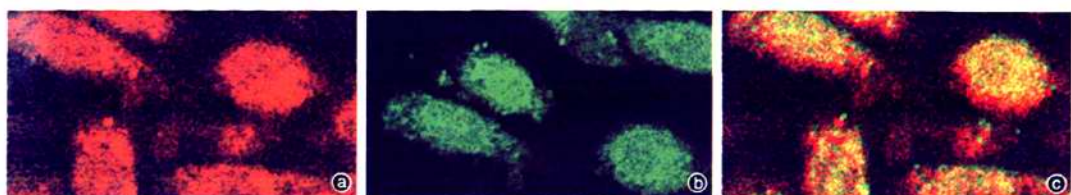
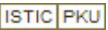


图3 激光共聚焦显微镜下观察二氮嗪对新生儿窒息后血清诱导HK-2细胞线粒体膜电位的影响 当膜电位较高时,可产生红色荧光,膜电位较低时,产生绿色荧光;对照组(a)细胞呈橙红色荧光;窒息组(b)细胞呈黄绿色荧光;二氮嗪组(c)细胞呈黄色荧光 JC-1荧光染色×400

二氮嗪对新生儿窒息后血清诱导人近曲肾小管上皮细胞损伤时线粒体凋亡途径的影响

作者：[刘喜娟](#), [董文斌](#), [李清平](#), [雷小平](#), [翟雪松](#), [熊涛](#), [邓存良](#), [陈枫](#)
作者单位：[刘喜娟, 董文斌, 李清平, 雷小平, 翟雪松, 熊涛 \(泸州医学院附属医院新生儿科, 四川, 646000\)](#), [邓存良, 陈枫 \(医学实验研究中心, 四川, 646000\)](#)
刊名：[中国危重病急救医学](#) 
英文刊名：[CHINESE CRITICAL CARE MEDICINE](#)
年, 卷(期): 2010, 22(4)
被引用次数: 0次

参考文献(15条)

1. [Nouri S;Mahdhaoui N;Beizig S](#) Acute renal failure in full term neonates with perinatal asphyxia,prospective study of 87 cases 2008
2. [Pasdois P;Beauvoit B;Tariosse L](#) Effect of diazoxide on flavoprotein oxidation and reactive oxygen species generation during ischemia-reperfusion:a study on Langendorff-perfused rat hearts using optic fibers 2008
3. [Kaasik A;Safiulina D;Zharkovsky A](#) Regulation of mitochondrial matrix volume 2007
4. [张勇;董文斌;李清平](#) Omi/HtrA2在窒息后血清诱导人近曲肾小管上皮细胞凋亡中的作用 2009
5. [张勇;董文斌;邓存良](#) 窒息新生儿血清对肾小管上皮细胞内Omi/HtrA2表达的影响[期刊论文]-实用儿科临床杂志 2008(6)
6. [董文斌;曹敏;王明勇](#) 新生儿窒息后血清诱导人肾小管细胞凋亡的作用[期刊论文]-实用儿科临床杂志 2005(12)
7. [薰文斌;唐章华;陈红英](#) 窒息新生儿尿中炎症细胞因子改变与肾小管损伤的关系[期刊论文]-中国危重病急救医学 2003(2)
8. [胡红玲;张珍祥;汪涛](#) 线粒体膜电位对缺氧大鼠肺动脉平滑肌细胞内细胞色素C分布及细胞增殖的影响[期刊论文]-华中科技大学学报(医学版) 2008(2)
9. [Riess ML;Costa AD;Carlson R Jr](#) Differential increase of mitochondrial matrix volume by sevoflurane in isolated cardiac mitochondria 2008
10. [陈其彬;喻田;刘奎奎](#) 二氮嗪预处理对大鼠心肌线粒体呼吸功能与呼吸酶活性的影响[期刊论文]-中国病理生理杂志 2008(12)
11. [Sun Z;Zhang X;Ito K](#) Amelioration of oxidative mitochondrial DNA damage and deletion after renal ischemic injury by the KATP channel opener diazoxide 2008
12. [Aggarwal A;Kumar P;Chowdhary G](#) Evaluation of renal functions in asphyxiated newborns 2005
13. [Mu\(n\)oz-Pinedo C;Guífo-Carrión A;Goldstein JC](#) Different mitochondrial intermembrane space proteins are released during apoptosia in a manner that is coordinately initiated but can vary in duration 2006
14. [Hadzirnichalia NM;Baliga SS;Golfetti R](#) Acetaminophen-mediated cardioprotection via inhibition of the mitochondrial permeability transition pore-induced apoptotic pathway 2007
15. [董文斌;冉隆瑞;冯志强](#) 白细胞参与新生鼠窒息后肾损伤的作用及机制研究[期刊论文]-中国危重病急救医学 2000(4)

相似文献(10条)

1. 期刊论文 [徐华, 张俊红, 韦明, 李侠, 杨春敏, 张映辉, XU Hua, ZHANG Jun-Hong, WEI Ming, LI Xia, YANG Chun-min.](#)

[ZHANG Ying-hui 窒息新生儿胃运动及影响因素的研究 -实用儿科临床杂志2005, 20\(2\)](#)

目的研究窒息足月新生儿胃电运动、血浆胃动素及血清一氧化氮(NO)变化规律,对窒息新生儿消化运动功能进行评价,为探讨有效的干预对策提供理论依据。方法对足月窒息新生儿29例餐后体表胃电图、血浆胃动素、血清NO进行检测,并以正常新生儿做对照。结果窒息组正常胃慢波百分比(PNSW)明显低于对照组,分别为(35.35±22.51)%与(49.78±18.80)%,两组比较 $P<0.05$,而异常慢波百分比(PUSW)却明显高于对照组,分别为(55.66±29.39)%与(31.99±13.79)%,两组比较 $P<0.01$ 。PNSW轻度窒息组明显高于重度窒息组($P<0.05$)。窒息组和对对照组餐后血浆胃动素分别为(301.47±73.31) ng/L和(436.58±185.57) ng/L,窒息组明显低于对照组($P<0.001$)。窒息组餐后血清NO为(110.61±13.75) μ mol/L,对照组为(98.66±0.72) μ mol/L,窒息组明显高于对照组($P<0.01$)。窒息组异常PUSW与血浆胃动素呈显著负相关($P<0.001$);PUSW与血清NO呈显著正相关($P<0.01$);血浆胃动素与血清NO呈显著负相关($P<0.01$)。结论窒息新生儿存在胃电基本节律紊乱、胃动素水平降低和NO水平升高,提示窒息后新生儿的胃肠动力障碍与神经体液调节异常有关。

2. 期刊论文 [刘坚, 乔发清, 罗小平, 何学琴, 吴彩萍, 赵建中, LIU Jian, QIAO Fa-qing, LUO Xiao-ping, HE Xue-qin.](#)

[WU Cai-ping, ZHAO Jian-zhong 窒息新生儿血浆N端脑钠肽原水平的变化 -实用儿科临床杂志2005, 20\(2\)](#)

目的探讨窒息新生儿血浆N端脑钠肽原(NT-proBNP)水平的变化,评价血浆NT-proBNP对新生儿窒息并心功能障碍的临床意义,并了解新生儿血浆NT-proBNP水平与日龄的关系。方法采用竞争性酶免疫法(EIA)测定41例健康新生儿(对照组)及33例窒息新生儿(窒息组)血浆NT-proBNP水平,同时测定窒息组血浆肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH1)及肌钙蛋白I(cTnI)水平。结果对照组<14 d的新生儿(n=28)血浆NT-proBNP水平较高[(2479.82±1400.01) fmol/L],而14 d后(n=13)降为(371.54±147.40) fmol/L,新生儿血浆NT-proBNP水平与月龄呈显著负相关($r=-0.735$ $P<0.0001$)。窒息组出生3 d内血浆NT-proBNP水平显著高于对照组中出生3 d内者(n=15)的水平:(3924±1030) fmol/L比(3192±1486) fmol/L($t=1.979$ $P<0.05$);重度窒息者(n=10)显著高于轻度窒息者(n=23):(4228±1087) fmol/L比(3540±992) fmol/L($t=3.17$ $P<0.01$)。多元线性回归分析揭示:LDH1和cTnI对血浆NT-proBNP水平的影响具有统计学意义。回归方程为:NT-proBNP=1202+1.46×LDH1+409×cTnI($F=40.7$ $P<0.0001$)。结论窒息新生儿血浆NT-proBNP水平能反映窒息新生儿的心功能损害及心肌损害的程度,疗效,评价心功能障碍的预后。

3. 期刊论文 [胡元元, 黄清明 42例窒息新生儿血生化变化分析 -右江民族医学院学报2001, 23\(3\)](#)

测定42例窒息新生儿(轻度窒息22例,重度窒息20例)及20例正常新生儿的血生化值,并比较窒息组与正常组,轻度窒息组与重度窒息组的血生化值的差异。结果表明:窒息新生儿血钠、氯、钙显著低于正常新生儿,血糖、尿素氮、肌酐显著高于正常新生儿;重度窒息新生儿血钠、氯、钙显著低于轻度窒息新生儿,血糖、尿素氮、肌酐亦高于轻度窒息新生儿;而血钾差异无显著性。认为窒息新生儿易合并低钠、低氯、低钙血症,高血糖血症和急性肾功能不全,新生儿重度窒息肾功能损害的程度重于轻度窒息。

4. 期刊论文 [张勇, 董文斌, 邓存良, 王明勇, 陈枫, 许开桂, ZHANG Yong, DONG Wen-bin, DENG Cun-liang, WANG Ming-yong, CHEN Feng, XU Kai-gui 窒息新生儿血清对肾小管上皮细胞内Omi/HtrA2表达的影响 -实用儿科临床杂志](#)

2008, 23(6)

目的 探讨窒息新生儿血清对人近曲肾小管上皮细胞(HK-2)内Omi/HtrA2表达的影响。方法 以HK-2为研究对象,将培养在孔板内的细胞随机分为正常对照组、窒息组。从新生儿病房经股静脉收集重度窒息24 h足月新生儿血,经肝素抗凝,3 000 r/min离心20 min,分离血清,56 ℃恒温水浴30 min灭活补体,微孔滤器过滤除菌,按体积比1:5配成窒息血清,200 mL/L作为攻击浓度。当细胞生长达到要要求后,窒息组加入窒息血清对HK-2细胞进行攻击,正常对照组采用正常培养基进行培养,24 h后终止培养和攻击,固定细胞,采用免疫组织化学法检测二组细胞Omi/HtrA2的表达。采用SPSS 10.0软件进行t检验。结果 Omi/HtrA2染色为金黄色或黄褐色分布于细胞质中,与正常对照组阳性细胞率[(9.0±2.5)%]相比,窒息组阳性细胞率[(25.15±3.5)%]明显增加,差异具有显著性意义($t=-15.322$ $P<0.01$)。结论 窒息新生儿血清可诱导Omi/HtrA2在HK-2细胞内的表达,Omi/HtrA2可能参与窒息新生儿血清诱导的HK-2凋亡。

5. 期刊论文 [肖力, 蔡定邦, 庄思齐, 梁星群 窒息新生儿免疫功能变化及其机制的探讨 -中国实用儿科杂志](#)

2004, 19(10)

目的观察窒息新生儿免疫功能及 β -内啡肽(β -EP)的动态变化。方法 2001年10月至2002年10月选择广东省肇庆市第一医院儿科住院窒息新生儿81例和同期健康新生儿20例。窒息儿随机分成两组:常规治疗组41例和纳络酮治疗组40例。均于生后第1和第7天两次采血,分别检测 β -EP、IL-2、TNF- α 、CD3、CD4、CD8、IgA、IgM、IgG及CH50等各项指标。结果生后第1天与对照组相比窒息组新生儿免疫功能明显抑制,且与窒息程度成正比,而 β -EP则显著升高;生后第7天,常规治疗组与对照组比较, β -EP、IL-2、TNF- α 、CD3、CD4/CD8等项仍有显著差异($P<0.05$),而纳络酮治疗组和常规治疗组比较,则 β -EP、IL-2、TNF- α 、CD3、CD8、CD4/CD8等项有显著差异($P<0.05$);除CD8外,常规治疗组 β -EP与各免疫指标两次检测差值的相关分析均有显著相关性($P<0.05$)。结论窒息新生儿免疫功能明显抑制,且与窒息程度成正比, β -EP参与了其中免疫的抑制性调节。

6. 期刊论文 [郑俊虎, 郑路颖, ZHENG Jun-hu, ZHENG Luo-ying 窒息后新生儿多脏器功能不全综合征相关围生危险因素分析 -小儿急救医学2005, 12\(1\)](#)

目的探讨窒息后新生儿多脏器功能不全综合征(MODS)发生相关围生危险因素。方法对140例窒息新生儿的性别、胎龄、出生体重、Apgar评分、复苏时间、宫内窘迫、羊水污染、孕母合并症、脐带异常、分娩方式及器官损害等情况进行检查。用单因素 χ^2 检验和多因素logistic回归分析筛选判定导致窒息后MODS发生的围生危险因素。结果窒息儿合并MODS发生率52.9%,logistic回归分析显示胎龄、出生体重、Apgar评分、复苏时间、宫内窘迫、羊水污染III度与窒息后MODS的发生有相关显著性($r=0.513$, $P<0.05$)。结论胎龄、出生体重、Apgar评分、复苏时间、宫内窘迫、羊水污染III度是导致窒息后MODS发生的重要围生危险因素。

7. 期刊论文 [刘宝琴, 熊虹, 王群思, LIU Bao-qin, XIONG Hong, WANG Qun-si 窒息新生儿血浆血管活性肠肽、超氧化物歧化酶、丙二醛水平与脑损伤的关系 -实用儿科临床杂志2007, 22\(14\)](#)

目的 探讨窒息新生儿血浆血管活性肠肽(VIP)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)水平与窒息后缺氧缺血性脑损伤的关系。方法 足月窒息新生儿68例(单纯窒息组15例,轻、中、重度HIE组分别为17、22、14例),对照组20例。分别于生后d1及d7采用放射免疫法、硫代巴比妥酸比色法及黄嘌呤氧化酶法测定血浆VIP、MDA、SOD水平,并进行比较。结果 各组新生儿d1及d7血浆VIP、MDA、SOD组间比较差异均有统计学意义($P<0.01$);HIE程度越重,VIP、MDA水平增高和SOD水平下降的幅度越大;中、重度HIE组d1血浆VIP、MDA水平显著高于d7($P<0.05$),d1血浆SOD水平显著低于d7($P<0.05$)。结论 1. HIE新生儿出生d1血浆VIP、MDA和SOD水平可作为窒息并脑损伤的早期诊断标志物。2. 血浆VIP、MDA和SOD水平可反映窒息后脑损伤的严重程度。

8. 期刊论文 [王有成, 汤小园, 施长春, WANG You-cheng, TANG Xiao-yuan, SHI Chang-chun 血清肌酸磷酸激酶同工酶及心肌肌钙蛋白早期诊断窒息新生儿心肌损害 -实用儿科临床杂志2005, 20\(3\)](#)

目的探讨血清肌酸磷酸激酶同工酶(CK-MB)及心肌肌钙蛋白I(cTnI)测定对窒息新生儿心肌损害的早期诊断价值。方法窒息组40例(轻度窒息、重度窒息各20例)、对照组20例,生后1、5、10 d测定血清CK-MB及cTnI水平。结果窒息组生后1 d血清CK-MB及cTnI明显高于对照组(P 均 <0.01),重度窒息组明显高于轻度窒息组(P 均 <0.01),治疗后呈逐渐下降趋势。血清CK-MB及cTnI对心肌损害诊断的敏感性无显著差异($P>0.05$)。结论血清CK-MB及cTnI可用于窒息新生儿心肌损害的早期诊断。

9. 期刊论文 [杨跃萍, 李腾 窒息新生儿肾功能损伤指标的诊断价值 -实用儿科临床杂志2002, 17\(4\)](#)

目的比较窒息新生儿肾损伤的实验室指标差异。方法测定38例窒息新生儿尿常规、尿 β 微球蛋白(β 2-MG)、血尿素氮(BUN)、血肌酐(Cr)、血尿酸

(Ua)的变化.结果窒息组各项检测指标的异常发生率明显高于对照组($P<0.05$);重度窒息组各项指标的异常发生率高于轻度窒息组($P<0.05$);同一组内尿 β 2-MG的异常发生率高于血Cr、BUN、Ua的异常发生率($P<0.05$);重度窒息组尿常规异常发生率明显高于轻度窒息组.结论尿常规检查和尿 β 2-MG检测是判断窒息后新生儿肾损伤的敏感指标之一.

10. 期刊论文 [邓春](#). [王洪高](#). [赵善和](#). [姚长军](#). [余加林](#). [吴仕孝](#). [徐天鹤](#) 窒息新生儿血乳酸、血糖检测的临床意义 -[实用儿科临床杂志](#)2002, 17(2)

目的研究窒息新生儿血糖、血乳酸的变化.方法对我院NICU 47例窒息新生儿进行血糖、血乳酸测定,并与对照组比较.结果窒息组血糖、血乳酸水平显著高于对照组($P<0.001$),且血糖、血乳酸水平与窒息程度成正比.结论窒息患儿血乳酸、血糖水平愈高,预后愈差,对窒息新生儿除进行新法复苏外,还应充分重视其应激状态下内环境的异常改变,重度窒息血糖、血乳酸检测应列为常规.

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgwzbjyx201004006.aspx

授权使用: qkzgz16(qkzgz16), 授权号: 6cc12dc0-aaaf-4098-b57f-9ede01592374

下载时间: 2011年5月9日