中华危重病急救医学 2016 年 8 月第 28 卷第 8 期 Chin Crit Care Med, August 2016, Vol.28, No.8

· 论著 ·

氢气对雪旺细胞多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶-1依赖性细胞死亡的调控作用

于洋 焦洋 李波 马小叶 杨涛 谢克亮 于泳浩

300052 天津医科大学总医院麻醉科,天津市麻醉学研究所(于洋、焦洋、马小叶、杨涛、谢克亮、于泳浩);300211 天津医科大学第二附属医院麻醉科(李波)

通讯作者:于泳浩,Email:yuyonghao@126.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.08.002

【摘要】 目的 探讨氢气(H_2)对高糖诱导大鼠雪旺细胞多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶-1(PARP-1)依赖性细胞死亡(PARthanatos)的抑制作用,并探讨其机制。**方法** 将原代培养的大鼠雪旺细胞按随机数字表法分为空白对照组(C组)、H_2对照组(H_2组)、高渗对照组(M组)、高糖处理组(HG组)、H_2治疗组(HG+H_2组)5组。H_2组和HG+H_2组用饱和富氢培养基(含H_2 0.6 mmol/L)培养,3个对照组用低糖DMEM培养基(总含糖量5.6 mmol/L)培养。HG组和HG+H_2组加入44.4 mmol/L葡萄糖(培养基总含糖量50 mmol/L)培养,C组和H_2组加等量生理盐水,M组加等量甘露醇。各组相应处理48 h后计算乳酸脱氢酶(LDH)释放率以反映细胞毒性,用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定亚硝酸基阴离子($ONOO^-$)和8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)含量以反映氧化应激损伤和DNA损伤,用蛋白质免疫印迹试验(Western Blot)检测多聚二磷酸腺苷核糖(PAR)的蛋白表达,用免疫荧光法检测凋亡诱导因子(AIF)的核转位。**结果** 与C组相比,HG组和HG+H_2组细胞毒性明显增加〔LDH释放率:(61.40±2.89)%、(42.80±2.32)%比(9.92±0.38)%,均$P<0.01$〕,细胞内$ONOO^-$和8-OHdG含量明显增加〔$ONOO^-$(ng/L):853.58±51.00、553.11±38.66比113.56±14.22,8-OHdG(ng/L):1 177.37±60.97、732.06±54.29比419.67±28.77,均$P<0.01$〕,PAR蛋白表达明显增加(积分A值:0.603±0.028、0.441±0.010比0.324±0.021,均$P<0.01$);而HG+H_2组细胞毒性、$ONOO^-$和8-OHdG含量、PAR表达均较HG组明显降低(均$P<0.01$)。H_2组及M组各项指标与C组比较差异均无统计学意义。免疫荧光显示,C组、H_2组和M组AIF均表达在细胞质中;HG组AIF则在整个细胞中表达,且细胞核中表达尤为明显;HG+H_2组细胞核中有少量AIF表达。说明高糖可以刺激AIF的核转移,而H_2可以抑制这一过程。**结论** 高糖处理大鼠雪旺细胞可以使其DNA损伤增加,从而加强其PARthanatos;而H_2不仅可以减轻受损细胞的DNA损伤,亦可以抑制这一特殊的死亡过程,降低细胞毒性,具有细胞保护效应。

【关键词】 糖尿病周围神经病变; 雪旺细胞; 氢气; 多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶-1; PARthanatos

基金项目:国家自然科学基金(81372033)

Role of hydrogen gas in regulating of poly (ADP-ribose) polymerase-1 dependent cell death in rat Schwann cells

Yu Yang, Jiao Yang, Li Bo, Ma Xiaoye, Yang Tao, Xie Keliang, Yu Yonghao

Department of Anesthesiology, General Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin Institute of Anesthesiology, Tianjin 300052, China (Yu Y, Jiao Y, Ma XY, Yang T, Xie KL, Yu YH); Department of Anesthesiology, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China (Li B)

Corresponding author: Yu Yonghao, Email: yuyonghao@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the protective effects and underlying molecular mechanisms of hydrogen (H_2) on high glucose-induced poly (ADP-ribose) polymerase-1 (PARP-1) dependent cell death (PARthanatos) in primary rat Schwann cells. **Methods** Cultured primary rat Schwann cells were randomly divided into five groups: blank control group (C group), H_2 control group (H_2 group), high osmotic control group (M group), high glucose treatment group (HG group), and H_2 treatment group (HG+H_2 group). The cells in H_2 group and HG+H_2 group were cultured with saturated hydrogen-rich medium containing 0.6 mmol/L of H_2, and those in three control groups were cultured with low sugar DMEM medium containing 5.6 mmol/L of sugar, and the cells in HG and HG+H_2 groups were given 44.4 mmol/L of glucose in addition (the medium containing 50 mmol/L of glucose), the cells in C group and H_2 group were given the same volume of normal saline, and the cells in M group were given the same volume of mannitol. Cytotoxicity was evaluated using lactate dehydrogenase (LDH) release rate assays after treatment for 48 hours in each group. The contents of peroxynitrite ($ONOO^-$) and 8-hydroxy-2-deoxyguanosine (8-OHdG) reflecting oxidative stress injury and DNA

damage were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). Poly (ADP-ribose) (PAR) protein expression was analyzed by Western Blot, and immunofluorescence staining was used to determine the nuclear translocation of the apoptosis-inducing factor (AIF). **Results** The cytotoxicity in HG and HG+H_2 groups was significantly increased as compared with that of C group [LDH release rate: (61.40±2.89)%, (42.80±2.32)% vs. (9.92±0.38)%, both $P<0.01$], the levels of $ONOO^-$ and 8-OHdG were markedly elevated [$ONOO^-$ (ng/L): 853.58±51.00, 553.11±38.66 vs. 113.56±14.22; 8-OHdG (ng/L): 1 177.37±60.97, 732.06±54.29 vs. 419.67±28.77, all $P<0.01$], and the PAR protein expression was up-regulated (A value: 0.603±0.028, 0.441±0.010 vs. 0.324±0.021, both $P<0.01$). The cytotoxicity, the levels of $ONOO^-$ and 8-OHdG, and PAR expression in HG+H_2 group were significantly lower than those of the HG group (all $P<0.01$). There were no significant differences in above parameters between H_2 group as well as M group and C group. It was shown by immunofluorescence that AIF was expressed in the cytoplasm in C group, H_2 group and M group, AIF was expressed in the whole cell in HG group, and the expression in the nucleus was particularly increased. A small amount of AIF expression was found in the nucleus of HG+H_2 group, which indicated that high glucose could promote the AIF nuclear translocation, and that hydrogen-rich medium could prevent the process of translocation. **Conclusions** High glucose levels could enhance DNA damage that enhance PARthanatos in primary rat Schwann cells. However, H_2 can not only reduce DNA damage of injured cells, but also inhibit the special death process, reduce the cell toxicity, all of which have protective effects.

【Key words】 Diabetic peripheral neuropathy; Schwann cell; Hydrogen; Poly (ADP-ribose) polymerase-1; PARthanatos

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81372033)

糖尿病周围神经病变(DPN)是糖尿病最常见、最危险的慢性并发症之一[1],其典型症状包括感觉异常、感觉丧失、痛觉过敏及自发性疼痛等,不仅严重影响患者的生存质量,且至今尚无有效治疗方法[2-3]。多聚二磷酸腺苷核糖聚合酶-1(PARP-1)依赖性细胞死亡又称PARthanatos,是由PARP-1介导的一种程序性细胞坏死[4]。目前已有研究指出,PARthanatos广泛参与了神经退行性疾病、脑卒中、缺血/再灌注损伤及糖尿病的发病机制,并在其中扮演着重要角色[5],有望成为治疗DPN的新靶点。氢气(H_2)为一种选择性抗氧化剂,近年来被广泛应用于各种疾病的治疗[6]。本课题组前期研究发现,H_2对大鼠早期DPN具有良好的保护效应,但其机制尚需深入研究[7-8]。本研究采用高糖诱导大鼠雪旺细胞(RSC)建立DPN体外模型,以期在细胞水平探讨H_2治疗DPN的相关机制。

1 材料与方法

1.1 细胞培养:原代RSC细胞株购于美国ScienCell公司,参照文献[9-11]报告的高糖诱导雪旺细胞模型的方法,将细胞接种于含5%胎牛血清、1%雪旺细胞生长因子及1%青链霉素的低糖(5.6 mmol/L)DMEM培养基,于37 ℃、5% CO_2培养箱中贴壁培养。待细胞80%融合时,用0.05%胰酶消化传代,取第3代及其以后长势良好的细胞用于实验。

1.2 饱和富氢培养基制备:参照文献[12]方法加以改进制备饱和富氢培养基。用GCH-300高纯氢气发生器产生H_2,将DMEM培养基置于高纯H_2中,在0.4 MPa压力下加压暴露4 h,直至H_2溶解于培养基中并达到饱和状态。用氢电极检测培养基中H_2浓度至0.6 mmol/L,过滤消毒后4 ℃保存备用。为保证培养基中H_2浓度,饱和富氢培养基需每周新鲜制备。

1.3 分组及处理:将培养好的细胞按照随机数字表法分为空白对照组(C组)、高渗对照组(M组)、H_2对照组(H_2组)、高糖处理组(HG组)、H_2治疗组(HG+H_2组)。H_2组和HG+H_2组用饱和富氢培养基,C组、M组、HG组用低糖DMEM培养基(总含糖量5.6 mmol/L)。HG组和HG+H_2组加44.4 mmol/L葡萄糖(培养基总含糖量50 mmol/L),C组和H_2组加等量生理盐水,而M组加等量甘露醇。各组分别于培养48 h后进行指标检测。

1.4 细胞毒性检测:用天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(caspase)抑制剂(Z-VAD-FMK)预处理细胞后制成单细胞悬液,调整细胞密度为5×10^4/mL,接种于96孔板,并设置无细胞培养液的空白对照孔、最大酶活性对照孔、药物处理孔以及样品对照孔,每组均设3个复孔。按照乳酸脱氢酶(LDH)试剂盒(美国Biovision公司)说明书的步骤操作,于波长490 nm处测定吸光度(A)值,并计算LDH释放率,以反映细胞毒性〔LDH释放率(%)=(药物处理孔A值-样品对照孔A值)/(最大酶活性对照孔A值-样品对照孔A值)×100%〕。

1.5 酶联免疫吸附试验（ELISA）检测亚硝酸基阴离子（$ONOO^-$）和 8- 羟基脱氧鸟苷（8-OHdG）含量：用 Z-VAD-FMK 预处理细胞后分组培养 48 h，分别按照上海越研生物科技有限公司和日本 JaICA 公司的 ELISA 试剂盒步骤检测细胞上清液中 $ONOO^-$ 和 8-OHdG 的含量。

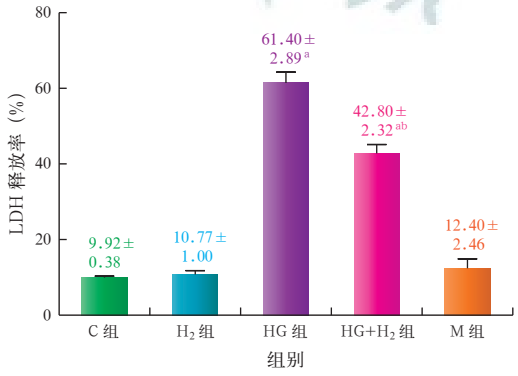
1.6 蛋白质免疫印迹试验（Western Blot）检测多聚二磷酸腺苷核糖（PAR）蛋白表达：用 Z-VAD-FMK 预处理细胞后分组培养 48 h，收集细胞，采用 BCA 法测定蛋白浓度。取 50 μL 蛋白样品，经凝胶电泳、转膜、封闭后，分别加入一抗、二抗后室温孵育，免疫印迹化学发光（ECL）显影、定影，采用图像分析系统进行扫描。以目的蛋白与内参照 β- 肌动蛋白（β-actin）条带的积分 *A* 值比值代表目的蛋白的表达水平。

1.7 免疫荧光法检测凋亡诱导因子（AIF）的核转位：用 Z-VAD-FMK 预处理细胞后分组培养 48 h，经乙醇、无水乙醇固定、曲通 X-100 穿透、封闭血清后，分别加入一抗和二抗孵育、染色、冲洗、封片，荧光显微镜下观察 AIF 的核转位情况。

1.8 统计学分析：使用 SPSS 21.0 软件进行数据分析，计量资料以均数 ± 标准差（$\bar{x}\pm s$）表示，多组间比较采用单因素方差分析（one-way ANOVA），两两比较采用独立样本 *t* 检验，方差齐性者采用最小显著差法（LSD）。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结　果

2.1 各组细胞毒性比较（图 1）：与 C 组相比，HG 组和 HG+H_2 组细胞毒性明显升高，但 HG+H_2 组细胞毒性较 HG 组明显降低（均 $P<0.01$）；而 H_2 组、M 组与 C 组相比差异无统计学意义（均 $P>0.05$）。



注：C 组为空白对照组，H_2 组为氢气对照组，HG 组为高糖处理组，HG+H_2 组为氢气治疗组，M 组为高渗对照组；与 C 组、H_2 组比较，$^aP<0.01$；与 HG 组比较，$^bP<0.01$

图 1 H_2 对高糖诱导大鼠雪旺细胞 48 h 后细胞毒性的影响

2.2 各组细胞内氧化应激损伤比较（表 1）：与 C 组相比，HG 组和 HG+H_2 组细胞内 $ONOO^-$ 含量均明显增多（均 $P<0.01$），但 HG+H_2 组细胞内 $ONOO^-$ 含量较 HG 组明显减少（$P<0.01$）；而 H_2 组、M 组细胞内 $ONOO^-$ 含量与 C 组差异均无统计学意义（均 $P>0.05$）。说明影响 $ONOO^-$ 生成增多的主要因素为高糖而非高渗，饱和富氢培养基可以有效抑制高糖诱导的 $ONOO^-$ 增多。

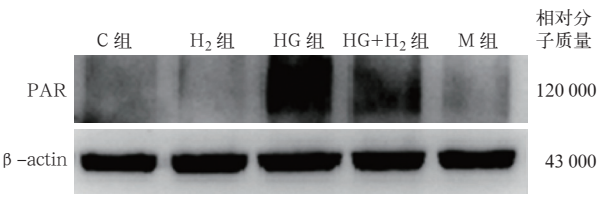
2.3 各组细胞内 DNA 损伤比较（表 1）：与 C 组相比，HG 组和 HG+H_2 组细胞内 8-OHdG 含量明显增多，但 HG+H_2 组较 HG 组明显减少（均 $P<0.01$）；而 H_2 组、M 组与 C 组差异无统计学意义（均 $P>0.05$）。说明高糖可以导致细胞 DNA 损伤，而 H_2 对其具有保护作用。

2.4 各组细胞内 PAR 蛋白表达比较（表 1；图 2）：与 C 组相比，HG 组和 HG+H_2 组细胞内 PAR 蛋白表达均明显增高，但 HG+H_2 组较 HG 组明显降低（均 $P<0.01$）；而 H_2 组、M 组与 C 组差异无统计学意义（均 $P>0.05$）。说明高糖可以上调细胞内 PAR 蛋白表达，而 H_2 可以抑制此蛋白表达。

表 1　H_2 对高糖诱导大鼠雪旺细胞 48 h 后氧化应激损伤、DNA 损伤及 PAR 表达的影响（$\bar{x}\pm s$）

组别	样本数（孔）	$ONOO^-$（ng/L）	8-OHdG（ng/L）	PAR/β-actin（积分 *A* 值）
C 组	3	113.56±14.22	419.67±28.77	0.324±0.021
H_2 组	3	104.67± 7.46	402.29± 7.24	0.311±0.011
HG 组	3	853.58±51.00 ^{a}	1 177.37±60.97 ^{a}	0.603±0.028 ^{a}
HG+H_2 组	3	553.11±38.66 ^{ab}	732.06±54.29 ^{ab}	0.441±0.010 ^{ab}
M 组	3	119.97±21.43	443.84±40.06	0.320±0.019

注：C 组为空白对照组，H_2 组为氢气对照组，HG 组为高糖处理组，HG+H_2 组为氢气治疗组，M 组为高渗对照组；$ONOO^-$ 为亚硝酸基阴离子，8-OHdG 为 8- 羟基脱氧鸟苷，PAR 为多聚二磷酸腺苷核糖，β-actin 为 β- 肌动蛋白；与 C 组、H_2 组比较，$^aP<0.01$；与 HG 组比较，$^bP<0.01$



C 组为空白对照组，H_2 组为氢气对照组，HG 组为高糖处理组，HG+H_2 组为氢气治疗组，M 组为高渗对照组；PAR 为多聚二磷酸腺苷核糖，β-actin 为 β- 肌动蛋白

图 2 蛋白质免疫印迹试验（Western Blot）检测 H_2 对高糖诱导大鼠雪旺细胞 48 h 后 PAR 表达的影响

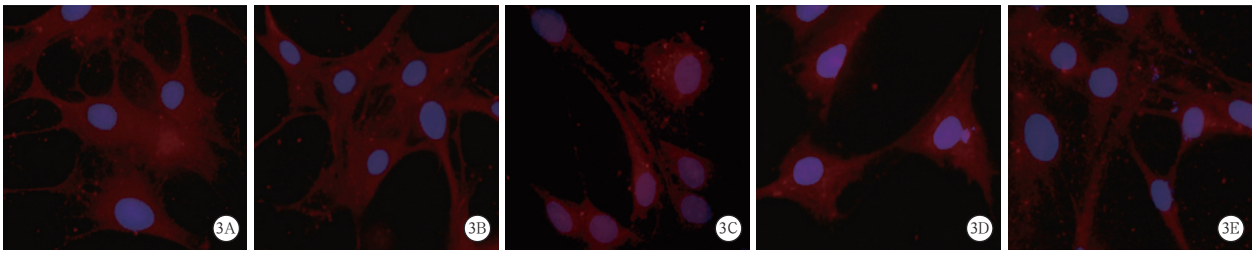


图 3 荧光显微镜下观察各组大鼠雪旺细胞凋亡诱导因子(AIF)的表达 红色荧光代表 AIF 表达,蓝色荧光代表细胞核。空白对照组(C 组,A)、氢气对照组(H_2 组,B)和高渗对照组(M 组,E)AIF 均在细胞质中表达,只有很少部分在细胞核中表达;高糖处理组(HG 组,C)细胞核和细胞质中均有 AIF 表达,且细胞核中 AIF 表达明显强于 C 组;氢气治疗组(HG+H_2 组,D)细胞核中 AIF 表达明显弱于 HG 组,说明氢气可以抑制 AIF 的核转位 免疫荧光染色 高倍放大

2.5 各组 AIF 核转位比较(图 3):C 组、H_2 组、M 组 AIF 主要表达在细胞质中,而很少表达于细胞核中;HG 组细胞核内 AIF 表达明显增多,而细胞质中表达相对减少;HG+H_2 组细胞核内 AIF 表达明显少于 HG 组。说明高糖可以刺激 AIF 向细胞核内迁移,而 H_2 可以抑制高糖刺激引起的 AIF 核转位,由此减轻 PARthanatos 这一死亡过程。

3 讨 论

雪旺细胞作为一种特殊的神经胶质细胞被广泛用于神经系统疾病的体外研究。有研究表明,雪旺细胞损伤可引起一系列的周围神经系统损伤,如神经脱髓鞘、降低神经传导速度、加速轴突萎缩以及抑制神经纤维的损伤、修复等[13],这些都可导致 DPN 的发生[14]。由于雪旺细胞通过非胰岛素途径吸收葡萄糖,所以对高糖较为敏感,易受其伤害[15]。因为 DPN 所受损伤为可逆性[16],所以本实验用高糖诱导雪旺细胞作为 DPN 体外模型进行相关研究。

PARthanatos 是 PARP-1 激活导致的细胞死亡过程,其既不同于普通的细胞凋亡,也不同于一般的坏死和自噬,是一种特殊的程序性细胞坏死[17]。PARP-1 是一种特殊的 DNA 修复酶,是 PARthanatos 的关键物质。当各种伤害刺激导致 DNA 的单链或双链损伤时,PARP-1 激活并启动修复程序对 DNA 进行修复,以维持基因稳定。但当 DNA 损伤严重或其他原因引起 PARP-1 过度激活时,则启动细胞的程序性死亡,即 PARthanatos[18]。有研究表明,在 PARthanatos 中,RARP-1 过度激活可在细胞核中以自身为原料合成 PAR,PAR 由细胞核转位到细胞质中,并刺激线粒体释放 AIF,将其由细胞质转移到细胞核,并在其中聚集。细胞核内过多的 AIF 可引起染色质浓集、大片 DNA 断裂,引发 PARthanatos[19],由于此过程不受 caspase 家族影响,故又为非 caspase 依赖性细胞凋亡[20]。为防止 caspase 对实验的干扰,本实验所用雪旺细胞均经广谱 caspase 不可逆抑制剂 Z-VAD-FMK 预处理。结果显示,高糖处理雪旺细胞可使其 $ONOO^-$ 生成明显增加,细胞毒性增强,加剧 DNA 损伤,大量表达 PAR,促使 AIF 核转位,引发 PARthanatos,造成细胞死亡。而经 H_2 处理后,这一过程受到明显抑制,证明 H_2 对 PARthanatos 具有保护作用,且这一作用不受 caspase 家族影响。但 H_2 是通过何种途径抑制 PARthanatos 还需要进一步研究。

综上所述,高糖可以通过 PARthanatos 途径引起雪旺细胞死亡,而 H_2 可以缓解这一死亡过程,从而对高糖诱导的雪旺细胞损伤具有保护作用。

参考文献

[1] Callaghan BC, Cheng HT, Stables CL, et al. Diabetic neuropathy: clinical manifestations and current treatments [J]. Lancet Neurol, 2012, 11 (6): 521-534. DOI: 10.1016/S1474-4422(12)70065-0.

[2] 姜丽娟, 戴红双, 尹晓梅, 等. 环孢素 A 对晚期糖尿病大鼠多器官的保护作用 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2015, 22 (5): 472-477. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.05.006.
Jiang LJ, Dai HS, Yin XM, et al. Protective effects of cyclosporine A on multiple organs in diabetic rats at advanced stage [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2015, 22 (5): 472-477. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.05.006.

[3] 肖正华, 周倩, 陈定宇, 等. 不同肾脏功能状态对糖尿病足部溃疡疗效及预后的影响[J]. 中华危重病急救医学, 2005, 17 (11): 667-669. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2005.11.008.
Xiao ZH, Zhou Q, Chen DY, et al. Relationship between different renal functional state with therapeutic effect on diabetic foot ulcers [J]. Chin Crit Care Med, 2005, 17 (11): 667-669. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2005.11.008.

[4] Galluzzi L, Vitale I, Abrams JM, et al. Molecular definitions of cell death subroutines: recommendations of the Nomenclature Committee on Cell Death 2012 [J]. Cell Death Differ, 2012, 19 (1): 107-120. DOI: 10.1038/cdd.2011.96.

[5] Huang CT, Huang DY, Hu CJ, et al. Energy adaptive response during parthanatos is enhanced by PD98059 and involves mitochondrial function but not autophagy induction [J]. Biochim Biophys Acta, 2014, 1843 (3): 531-543. DOI: 10.1016/j.bbamcr.2013.12.001.

[6] 李媛, 谢克亮, 陈红光, 等. Nrf2 在氢气治疗严重脓毒症肠损伤中的作用 [J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (6): 415-419. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.06.010.
Li Y, Xie KL, Chen HG, et al. The role of Nrf2 in the hydrogen

treatment for intestinal injury caused by severe sepsis [J]. Chin Crit Care Med, 2014, 26 (6): 415-419. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.06.010.
[7] 于洋, 焦洋, 李波, 等. 氢气对高糖诱导大鼠雪旺细胞氧化应激损伤的影响: 与 parthanatos 的关系 [J]. 中华麻醉学杂志, 2015, 35 (1): 36-39. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1416.2015.01.012.
Yu Y, Jiao Y, Li B, et al. Effects of hydrogen on oxidative stress injury induced by high glucose in rat Schwann cells: the relationship with parthanatos [J]. Chin J Anesthesiol, 2015, 35 (1): 36-39. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1416.2015.01.012.
[8] Yu Y, Ma X, Yang T, et al. Protective effect of hydrogen-rich medium against high glucose-induced apoptosis of Schwann cells in vitro [J]. Mol Med Rep, 2015, 12 (3): 3986-3992. DOI: 10.3892/mmr.2015.3874.
[9] Sun LQ, Chen YY, Wang X, et al. The protective effect of alpha lipoic acid on Schwann cells exposed to constant or intermittent high glucose [J]. Biochem Pharmacol, 2012, 84 (7): 961-973. DOI: 10.1016/j.bcp.2012.07.005.
[10] Sun LQ, Xue B, Li XJ, et al. Inhibitory effects of salvianolic acid B on apoptosis of Schwann cells and its mechanism induced by intermittent high glucose [J]. Life Sci, 2012, 90 (3-4): 99-108. DOI: 10.1016/j.lfs.2011.10.001.
[11] Han J, Tan P, Li Z, et al. Fuzi attenuates diabetic neuropathy in rats and protects Schwann cells from apoptosis induced by high glucose [J]. PLoS One, 2014, 9 (1): e86539. DOI: 10.1371/journal.pone.0086539.
[12] Itoh T, Hamada N, Terazawa R, et al.Molecular hydrogen inhibits lipopolysaccharide/interferon γ-induced nitric oxide production through modulation of signal transduction in macrophages [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2011, 411 (1): 143-149. DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.06.116.
[13] 于洪静, 苑迅, 姜玫, 等. 四妙勇安汤对高胰岛素/高糖诱导兔血管平滑肌细胞外基质分泌的影响及机制 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2015, 22 (1): 38-41. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.01.009.
Yu HJ, Yuan X, Jiang M, et al. Effects of Simiao Yongan decoction on secretion of extracellular matrix of rabbit vascular smooth muscle cells induced by high insulin/high glucose and its mechanism [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2015, 22 (1): 38-41. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2015.01.009.
[14] Sango K, Suzuki T, Yanagisawa H, et al. High glucose-induced activation of the polyol pathway and changes of gene expression profiles in immortalized adult mouse Schwann cells IMS32 [J]. J Neurochem, 2006, 98 (2): 446-458. DOI: 10.1111/j.1471-4159.2006.03885.x.
[15] Muona P, Sollberg S, Peltonen J, et al. Glucose transporters of rat peripheral nerve. Differential expression of GLUT1 gene by Schwann cells and perineural cells in vivo and in vitro [J]. Diabetes, 1992, 41 (12): 1587-1596. DOI: 10.2337/diab.41.12.1587.
[16] Askwith T, Zeng W, Eggo MC, et al. Oxidative stress and dysregulation of the taurine transporter in high-glucose-exposed human Schwann cells: implications for pathogenesis of diabetic neuropathy [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2009, 297 (3): E620-628. DOI: 10.1152/ajpendo.00287.2009.
[17] Andrabi SA, Dawson TM, Dawson VL. Mitochondrial and nuclear cross talk in cell death: parthanatos [J]. Ann N Y Acad Sci, 2008, 1147: 233-241. DOI: 10.1196/annals.1427.014.
[18] Aredia F, Scovassi AI. Poly(ADP-ribose): a signaling molecule in different paradigms of cell death [J]. Biochem Pharmacol, 2014, 92 (1): 157-163. DOI: 10.1016/j.bcp.2014.06.021.
[19] Mashimo M, Kato J, Moss J. ADP-ribosyl-acceptor hydrolase 3 regulates poly (ADP-ribose) degradation and cell death during oxidative stress [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110 (47): 18964-18969. DOI: 10.1073/pnas.1312783110.
[20] Wang Y, Kim NS, Haince JF, et al. Poly(ADP-ribose) (PAR) binding to apoptosis-inducing factor is critical for PAR polymerase-1-dependent cell death (parthanatos) [J]. Sci Signal, 2011, 4 (167): ra20. DOI: 10.1126/scisignal.2000902.

（收稿日期：2016-03-11）
（本文编辑：保健媛，李银平）

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊常用不需要标注中文的缩略语

多器官功能衰竭（multiple organ failure, MOF）
脓毒症心肌抑制（septic myocardial depression, SMD）
重症加强治疗病房（intensive care unit, ICU）
容量负荷试验（volume expansion, VE）
凝血酶时间（thrombin time, TT）
凝血酶原时间（prothrombin time, PT）
凝血酶原活动度（prothrombin activity, PTA）
C-反应蛋白（C-reactive protein, CRP）
核转录因子-κB（nuclear factor-κB，NF-κB）
肿瘤坏死因子（tumor necrosis factor, TNF）
缺氧诱导因子（hypoxia-inducible factor, HIF）
乳酸脱氢酶（lactate dehydrogenase, LDH）
格拉斯哥昏迷评分（Glasgow coma scale, GCS）
盲肠结扎穿孔术（cecal ligation and puncture, CLP）
脉搏指示连续心排血量
（pulse-indicated continuous cardiac output, PiCCO）
全身炎症反应综合征（systemic inflammatory response syndrome, SIRS）
多器官功能障碍综合征（multiple organ dysfunction syndrome, MODS）
脓毒症相关性脑病（sepsis associated encephalopathy, SAE）
弥散性血管内凝血（disseminated inravascular coagulation, DIC）
诱导型一氧化氮合酶（inducible nitric oxide synthase, iNOS）
转化生长因子-β1（transforming growth factor-β1, TGF-β1）
高迁移率族蛋白 B1（high mobility group protein B1, HMGB1）
丝裂素活化蛋白激酶（mitogen activated protein kinase, MAPK）
细胞外信号调节激酶（extracellular signal-regulated kinase, ERK）
单核细胞趋化因子-1（monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1）
活化部分凝血活酶时间（activated partial thromboplastin time, APTT）
序贯器官衰竭评分（sequential organ failure assessment, SOFA）
SOAP Ⅱ研究（Shock Occurrence in Acutely ill Patients，
急性重症患者休克发生率研究）
ProCESS 研究（Protocolized Care for Early Septic Shock，
感染性休克早期程序化治疗研究）