

·基础研究·

高压氧对缺血再灌注小鼠脑组织细胞因子 IL-10 及血脑屏障通透性的影响*

赵红¹ 聂志伟¹ 朱丽娜¹ 张海鹏² 陈学新³

摘要 目的:探讨高压氧(HBO)对缺血再灌注小鼠脑组织中细胞因子 IL-10 含量、mRNA 的表达、血脑屏障(BBB)通透性的影响。**方法:**复制清醒小鼠脑缺血再灌注模型,并于再灌注期间行 0.25MPa(CBFATA)HBO 治疗 5 次,在处死动物前 1h 经尾静脉注射 2%伊文思兰(Evans blue, EB),采用比色法、ABC-ELISA、RT-PCR 分别检测脑组织中细胞因子 IL-10 含量、mRNA 的表达及 EB 的含量的变化。**结果:**脑组织 EB 的渗出于缺血再灌注后第 4h 为最多,于再灌注后第 11h、23h、48h、72h 逐渐下降;HBO+脑缺血再灌注组脑组织 EB 的渗出与相应时间的脑缺血再灌注组相比明显降低($P<0.01$)。HBO 组脑组织 EB 的渗出与相应时间的假手术组相比变化不明显($P>0.05$)。脑缺血再灌注组细胞因子 IL-10 含量于再灌注 11h 开始增加并于再灌注 23h 达到高峰,再灌注 48h、72h 逐渐下降。脑缺血再灌注组细胞因子 IL-10 含量与相应时间的假手术组相比于再灌注后 11h、23h、48h、72h 都明显增高($P<0.01$)。HBO+脑缺血再灌注组细胞因子 IL-10 含量于再灌注后 11h、23h、48h、72h 与相应时间的脑缺血再灌注组相比变化不明显($P>0.05$);而 IL-10mRNA 的表达明显增加($P<0.01$)。HBO 组与相应时间的假手术组相比 IL-10 含量和 mRNA 的表达变化都不明显($P>0.05$)。**结论:**HBO 从基因水平可明显增加脑缺血再灌注 72h 细胞因子 IL-10mRNA 的表达,从而具有保护血脑屏障的作用;HBO 对正常脑组织中 IL-10 含量、mRNA 的表达作用不明显。

关键词 高压氧;血脑屏障;缺血再灌注;细胞因子

中图分类号: R651, R743, R493 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-1242(2008)-02-0110-04

The effect of hyperbaric oxygen on cytokine IL-10 in the brain tissues and blood-brain barrier after cerebral ischemia-reperfusion in mice/ZHAO Hong, NIE Zhiwei, ZHU Lina, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2008, 23(2): 110-113

Abstract Objective: To investigate the effect of hyperbaric oxygen (HBO) on cytokine IL-10 of the brain tissue and blood-brain barrier(BBB) after cerebral ischemia-reperfusion(IR) in mice. **Method:** Using conscious mice cerebral ischemia-reperfusion models, 0.25MPa (ATA) HBO were applied 5 times during the reperfusion period, and injected 2% Evans blue into tail veins an hour before the animals were sacrificed. The expression, content of IL-10, content of Evans blue and in brain tissue were examined by RT-PCR, ABC-ELISA and spectrophotometer method. **Result:** The contents of EB were markedly increased after ischemia-reperfusion for 4h. It decreased at the time of the 11st h, 23rd h, 48th h, 72nd h. The contents of EB in HBO + IRgroup decreased as compared with IRgroup($P<0.01$). The content of IL-10 were successively increased in the time of ischemia-reperfusion at the 11st h. The peak value was found after the time of ischemia-reperfusion at the 23th h, It decreased at the time of the 48th h, 72nd h. The contents of IL-10 in IRgroup increased successively as compared with the sham group ($P<0.05$). The contents of IL-10 in HBO+ IRgroup was similar to the sham group after the time of ischemia-reperfusion at the 72nd h ($P>0.05$). **Conclusion:** HBO can increase the level of IL-10 significantly after the time of ischemia-reperfusion at 72h, it can reduce the permeability of blood-brain barrier; But it has little effect on the content and expression of IL-10 in normal brain tissues.

Author's address College of Basic Medical Sciences, China Medical University, Shenyang, 110001

Key words hyperbaric oxygenation; blood-brain barrier; cerebral ischemia-reperfusion; cytokine

血脑屏障(blood brain barrier, BBB)是由内皮细胞的紧密连接,基膜及星形胶质细胞组成一个位于脑和微血管之间的物质调节界面,对进出的物质具有选择性通过作用^[1]。血脑屏障的破坏是脑缺血再灌注(ischemia-reperfusion, IR)脑损伤的重要的病理生理基础。脑缺血再灌注早期,伴随着细胞因子、黏附分子的表达,使缺血性损伤向炎症性、免疫性损伤

转变。炎症和免疫反应在脑缺血再灌注的病理生理中起重要作用,包括白细胞浸润,巨噬细胞激活等。白细胞激活后产生大量的蛋白水解酶,氧自由基和

* 基金项目:辽宁省教育厅高等学校科研基金资助项目(2005L456)

1 中国医科大学基础医学院机能实验中心,辽宁沈阳,110001

2 中国医科大学基础医学院病理生理教研室

3 中国医科大学附属第一医院临床医院高压氧科

作者简介:赵红,女,副教授,博士

收稿日期:2007-12-07

其他效应分子, 导致脑毛细血管内皮细胞及其基底膜损害, 破坏 BBB 的完整性^[2]。白细胞介素-10(IL-10)作为一种抑炎因子通过在体内、外抑制多种炎症介质的产生, 抑制脑缺血再灌注后的炎症反应和免疫损伤, 从而具有保护血脑屏障的作用^[3]。高压氧(hyperbaric oxygenation, HBO)作为治疗缺血性脑血管疾病中的一种非创伤性手段在临床上正得以应用。它具有改善组织缺氧, 维持细胞能量代谢, 减轻脑水肿作用^[4]。但 HBO 在脑缺血再灌注损伤中对血脑屏障的影响研究甚少, 本研究从细胞水平、基因水平进一步探讨高压氧在脑缺血再灌注损伤中对 IL-10 及血脑屏障通透性的影响, 为临床上应用高压氧治疗缺血性脑血管疾病提供有力的实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

主要试剂: 小鼠 IL-10 ABC-ELISA 检测盒 (Sigma 公司); IL-10 mRNA RT-PCR 一步法试剂盒 (PROMEGA 公司, DNA 引物 (上海生工有限公司); DNA marker (华美生物公司) TRIZOL Reagent (PROMEGER 公司)。

1.2 主要实验设备

Wellscan MK2 型酶标仪 (芬兰 LabSystem 公司); Wellwash 2 型洗板机 (芬兰 LabSystem 公司); 三 K30 离心机 (sigma 公司); PCR 扩增仪 (Sigma 公司); 自动电泳凝胶成像分析仪 (Alpha innotech corporation); 电泳仪; 高压氧舱 (浙江)。

1.3 实验方法

1.3.1 实验动物及分组: 健康昆明种小鼠, 雌雄各半, 体重为 (30±0.5)g (由中国医科大学动物部提供)。动物随机分为假手术组 (80 只)、高压氧组 (HBO 组, 60 只)、HBO+脑缺血再灌注组 (60 只)、脑缺血再灌注组 (80 只)。

1.3.2 脑缺血再灌注动物模型的复制: 采用清醒小鼠, 颈部手术分离双侧颈总动脉, 用橡皮泥固定拉紧丝线阻断双侧颈总动脉 30min, 松线后无菌缝合颈部皮肤^[5]。假手术组与高压氧组只作颈部手术, 不阻断颈总动脉血流。

1.3.3 实验鼠的高压氧处理: HBO 组与 HBO+脑缺血再灌注组于术后第 2h、9h、21h、45h、69h 进入 HBO 舱内, 待动物进舱后, 先用纯氧洗舱 10min, 使舱内 O₂ 浓度>90%, 加压速率为 0.0125MPa/min, 加压至 0.25MPa, 在高压氧状态下停留 60min, 其间用纯氧通气 10min。停留毕, 以 20min 匀速减至常压。假手术组与脑缺血再灌注组亦置于舱内, 模拟除压

力, 氧浓度外的类同实验组的其他处理过程和环境条件, 各组动物出舱后第 72h 处死^[6]。

1.3.4 脑组织 EB 测定: 参考 Baskawa MK^[7]用甲酰胺测定皮肤伊文思兰含量的方法加以改进。在处死动物前 1h 经尾静脉注入 2%EB 生理盐水 (1ml/kg), 在摘取脑组织前 20min 经心脏灌注生理盐水而直至流出清亮的液体为准。处死小鼠冰盘取脑组织用电子天平精确称其湿重后, 投入中试管中, 分别加入 3ml 甲酰胺, 加盖后于 45℃水浴箱孵育 48h 轻轻摇匀, 离心 15min (3000r/min), 取上清液在分光光度计比色 (r=623nm)。

1.3.5 标本采集与测定: 术后第 72h 处死小鼠于冰盘上快速剥离脑组织, 以冰冷的 PBS 冲洗, 滤纸吸干, 立即于电子天平称重, 配成 10%脑组织匀浆, 匀浆液于 4℃ 以 4000r/min 离心 15min, 取上清液, 采用双抗体夹心 ABC-ELISA 法在波长 492nm 处理检测 IL-10 的含量。

1.3.6 RT-PCR 法检测脑组织中细胞因子的表达:

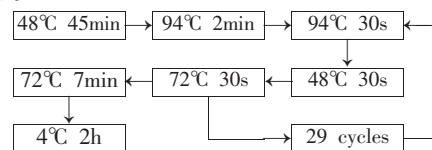
①引物合成: 种细胞因子引物根据 GENBANK 小鼠基因库设计, 由上海生工有公司合成引物序列如下:

IL-10: 上游引物: 5'-CAA ACA AAG GAC CAG CTG GA-3',
下游引物: 5'-GAG TCC AGC AGA CTC AAT AC-3',
产物长度 423 bp,
β-actin 内参照引物序列:
上游引物 P1: 5'-GTG GGC CGG TGT AGG CAC CA-3',
下游引物 P2: 5'-GGT TCG CCT TAG GGT TCA GG-3',
产物长度 238bp

②脑组织总 RNA 抽提: 同异硫氰酸胍“一步法”提取。取海马区脑组织 0.1g/ml TRIzol 中于冰上匀浆后, 放置 10min, 取上清加氯仿 200μl, 轻摇混匀, 4℃离心 10000r/min 15min 后, 取上清液加 500μl 异丙醇, 室温下放置 15min, 4℃离心 12000r/min 15min, 弃上清加 75%乙醇 1ml, 4℃离心 12000r/min 15min。室温干燥, 加无 RNA 酶水溶解。电泳扫描检测 RNA 含量, 置-70℃保存。

③RT-PCR: 逆转录总反应体积为 25μl。

扩增条件:



④RT-PCR 检测结果的凝胶图像分析: 以 β-actin 为内参对照, 对 RT-PCR 结果进行分析。扩增的产物在 8%的聚丙烯酰胺凝胶上电泳, 凝胶图像输入自动电泳凝胶成像分析仪, 应用 chemi imager

5500 分析软件进行表达强度分析。结果判断以同时扩增的内参照 β -actin 的表达强度为基准, 各细胞因子的相对含量按下式计算: 相对含量=(细胞因子基因表达密度/ β -actin A 表达密度) $\times 100$ 。

1.4 统计学分析

用 SPSS 统计学软件进行统计学处理, 所有资料用均数 $\pm$ 标准差表示, 两组均数间的比较用 t 检验。

2 结果

2.1 HBO 对脑缺血再灌注小鼠不同时间脑组织中 EB 含量的影响

见表 1, 脑缺血再灌注后以第 4h 脑组织 EB 渗出最多, 第 11h、23h、48h、72h 与第 4h 相比脑组织 EB 渗出逐渐减少 ($P<0.01$), HBO+脑缺血再灌注组于第 11h、23h、48h、72h EB 渗出明显低于相应时间的脑缺血再灌注组 ($P<0.01$)。HBO 组不同时间 EB

渗出与相应时间假手术组相比 $P>0.05$ 。

2.2 HBO 对脑缺血再灌注不同时间小鼠脑组织 IL-10 含量的影响

见表 2。可见脑缺血再灌注组与假手术组相比 IL-10 含量显著升高 ($P<0.05$), HBO+脑缺血再灌注组不同时间细胞因子较脑缺血再灌注组细胞因子 IL-10 含量变化不明显 ($P>0.05$), HBO 组与假手术组相比细胞因子含量差异不显著 ($P>0.05$)。

2.3 HBO 对脑缺血再灌注 72h 小鼠脑组织 IL-10 mRNA 表达的影响

见图 1。IR 组较假手术组脑组织中细胞因子 IL-10mRNA 表达明显增加 ($P<0.01$)。HBO 组与假手术组相比细胞因子 IL-10 的 mRNA 表达差异不显著 ($P>0.05$)。HBO+脑缺血再灌注组与脑缺血再灌注组相比较细胞因子 IL-10mRNA 表达显著增加 ($P<0.01$)。

表 1 HBO 对脑缺血再灌注小鼠不同时间脑组织中 EB 含量的影响

($\bar{x}\pm s$)

组别	鼠数	第 4h	第 11h	第 23h	第 48h	第 72h
假手术组	11	10.14 $\pm$ 3.87	10.21 $\pm$ 3.18	10.09 $\pm$ 3.02	10.06 $\pm$ 3.10	10.12 $\pm$ 3.04
脑缺血再灌注组	15	114.77 $\pm$ 12.99 ^①	78.99 $\pm$ 6.17 ^①	69.48 $\pm$ 9.97 ^①	53.38 $\pm$ 4.58 ^①	38.19 $\pm$ 9.08 ^①
HBO 组	13	9.97 $\pm$ 4.06 ^②	10.14 $\pm$ 3.36 ^②	10.22 $\pm$ 3.86 ^②	10.55 $\pm$ 3.37 ^②	10.59 $\pm$ 3.27 ^②
HBO+脑缺血再灌注组	20	94.52 $\pm$ 12.74 ^③	72.13 $\pm$ 7.38 ^③	60.34 $\pm$ 4.76 ^③	44.82 $\pm$ 2.07 ^③	33.62 $\pm$ 8.38 ^③

与假手术组比: ① $P<0.01$, ② $P>0.05$; ③与脑缺血再灌注组比 $P<0.01$

表 2 HBO 对脑缺血再灌注小鼠不同时间脑组织 IL-10 含量的影响

($\bar{x}\pm s$)

组别	第 4h	第 11h	第 23h	第 48h	第 72h
假手术组	--	84.01 $\pm$ 5.54	150.4 $\pm$ 5.56	54.71 $\pm$ 6.26	89.63 $\pm$ 11.9 ^③
HBO 组	--	85.5 $\pm$ 4.14 ^②	149.5 $\pm$ 5.26 ^②	76.15 $\pm$ 2.12	150.16 $\pm$ 3.21 ^③
HBO+脑缺血再灌注组	--	98.2 $\pm$ 3.72 ^③	132.9 $\pm$ 2.80 ^③	64.45 $\pm$ 7.39 ^②	86 $\pm$ 18.13 ^①
脑缺血再灌注组	--	106.3 $\pm$ 2.75 ^①	130.36 $\pm$ 2.75 ^①	78.23 $\pm$ 1.16 ^②	134.5 $\pm$ 2.21 ^①

与假手术组比较: ① $P<0.05$, ② $P>0.05$; 与脑缺血再灌注组比较: ③ $P>0.05$

3 讨论

血脑屏障是脑屏障的重要组成部分, 是由内皮细胞, 内皮细胞的紧密连接, 基膜及星形胶质细胞组成一个位于脑和微血管之间的物质调节界面, 对进出脑的物质有选择性通过作用^[8]。通常以 EB 的含量作为衡量血脑屏障通透性的检测指标。EB 系小分子, 与血浆蛋白结合后, 不在通过血脑屏障, 是常见的 BBB 指示剂^[9]。只有当 BBB 破坏时, 依文思蓝与血浆白蛋白结合后通过受损的血脑屏障进入脑组织, 使 BBB 受损区出现蓝染, 本实验通过检测脑组织 EB 的含量作为血脑屏障破坏程度的指标。实验观察到脑缺血再灌注后第 4h EB 的渗出量最多, 再灌注后第 11h、23h、48h、72h 脑组织 EB 的含量逐渐减少, 表明脑缺血再灌注后第 4h BBB 受损最严重 IL-10 是近年来发现的具有生物活性的免疫抑制因子, 在脑缺血再灌注损伤中具抗炎作用并能抑制免疫反应。其基因定位于 1 号染色体, 由 4 个外显子及 3 个内含子组成, 成熟分子含 160 个氨基酸, 分子量

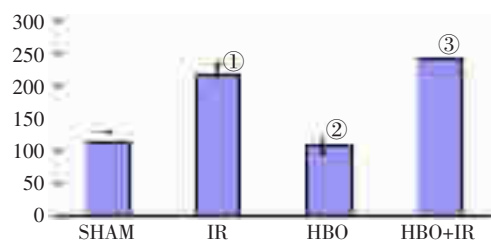


图 1 HBO 对脑缺血再灌注 72h 小鼠脑组织 IL-10 mRNA 表达的影响

与假手术组比较: ① $P<0.01$, ② $P>0.05$; 与脑缺血再组比较: ③ $P<0.01$ 为 18.7kD。小鼠仅有 Th2 亚群分泌 IL-10, 而人 Th2、Th1、Th0 细胞, 单核巨噬细胞, 活化的肥大细胞和角化细胞也可产生, 脑梗死后大量前炎症细胞因子的释放如 IL-1 和 TNF α 等可刺激 IL-10 分泌增加^[10]。本实验动态观察了脑缺血再灌注后 IL-10 的变化, 实验发现再灌注后第 23h IL-10 基因表达与含量最高, 表明 IL-10 在脑缺血再灌注中期发挥抗炎和免疫抑制功能, 从而对血脑屏障具有保护作用。其抗炎和发挥免疫抑制作用的具体机制可能为: ①抑制单核细胞依赖性 Th1 细胞增生, 并抑制 Th1 类

淋巴因子如 IL-2, IL-1, IFN γ , TNF α 等的合成及活性。②抑制单核细胞表面 MHC II 类分子 HLADR/DP 及 DQ 表达, 降低单核细胞的抗原提呈能力, 阻断抗原特异性的单核巨噬细胞因子如 IL-2, IL-6, IL-8, GM-CSF, TNF α 的产生。③通过间接抑制 IFN γ 的产生抑制 NK 细胞活性。④抑制 T 细胞凋亡。

高压氧作为临床上治疗脑部疾病的一种非创伤性手法应用正日益广泛^[1]。HBO 具有能有效增加氧的弥散能力, 扩大氧有效弥散范围, 提高氧分压, 具有明显改善脑缺血再灌注损伤过程中机体的状态。本实验发现高压氧从基因水平增加脑缺血再灌注第 72h 的 IL-10mRNA 的表达, 从而通过抗炎和免疫抑制作用对血脑屏障具有保护作用。在脑缺血再灌注的其他时间高压氧是否对 IL-10mRNA 的表达有影响有待于进一步探讨。

参考文献

[1] Fujimura M, Gache Y, Morita-Fujimura Y, et al. Early appearance of activated matrix metalloproteinase-9 and blood-brain barrier disruption in mice after focal cerebral ischemia and reperfusion[J]. Brain Res, 1999, 842 (1):92—100.

[2] Small DL, Morley P, Buchan AM, et al. Biology of ischemic cerebral cell death[J]. Prog Cardiovasc Dis, 1999, 42(3):185—207.
[3] Spera PA, Ellison JA, Feuerstein GZ, et al. IL-10 reduces rat brain reaction follow focal stroke [J]. Neurosci Lett, 1998, 251 (3):189—193.
[4] Tam D, Tam M, Maynard KI. Nicotinamide modulates energy utilization and improves function recovery from ischemia in the invitro rabbit retina[J]. Ann Y Acad Sci, 2005, 1053: 258—268.
[5] 岑德意, 周兰兰, 明亮, 等. 清醒小鼠反复脑缺血再灌注法致学习记忆障碍模型的建立[J]. 中国药理学通报, 2000, 16(2):220—223.
[6] Sukhotnik I, Krausz MM, Brod V, et al. Divergent effects of oxygen therapy in four models of uncontrolled hemorrhagic shock [J]. Shock, 2002, 18(3):277—284.
[7] Baskawa MK, Dogan A, Rao AM, et al. Neurprotection effects of citicotine on brain edema and blood-brain barrier breakdown after traumatic brain injury [J]. J Neurosurg, 2000, 92:448—452.
[8] Gong C, Qin Z, Betz AL, et al. Cellular localization of tumor necrosis factor alpha following focal cerebral ischemia in mice c[J]. Brain Res, 1998, 801(1—2):1—8.
[9] Hao HJ, Xiang J, Gao F, et al. Analysis of indexes of immune in cerebrospinal fluid with infection diseases of central nervous system [J]. China Journal of Modern Medicine, 2006, 16 (5): 683—685.
[10] Xia CF, Huo Y. The cytobiological effects and signal transduction of interleukin-10 [J]. Foreign Med Fascic Immunol, 2001, 24(5): 269—272.
[11] Nighossian N, Trouillas P. Hyperbaric oxygen in the treatment of acute ischemic stroke: an unsettled issue[J]. J Neurol Sci, 1997, 180(1):27—31.

(上接 109 页)

肌细胞破坏的评估, 连续监测还可以预示病情的发展趋势, 鉴别急、慢性心肌疾病^[18]。

本研究显示大鼠心房肌 AST 表达量明显上调, 可能是在长期运动应激状态下, 心肌细胞缺血缺氧, 细胞内发生氧化代谢障碍, 只能依靠无氧酵解, 从而导致细胞内水肿, 心肌细胞能量衰竭, 致使细胞受损, 氧自由基及脂质过氧化物酶增高, 破坏细胞膜结构, 致使细胞通透性改变, 心肌释放 AST 增多^[19]。

在运动应激下, 大鼠心房肌发生差异性表达的蛋白质点为进一步深入研究运动对心脏结构与功能影响的新的目标蛋白提供了实验依据。2-DE 图谱中, 运动组表达量明显下调和消失的目标蛋白质, 经质谱鉴定, 与肌肉收缩、运动能力下降有关; 运动组表达量明显上调的目标蛋白质, 与长期运动对心肌组织细胞的损伤有关。

参考文献

[1] 王启荣, 等. 理气、扶正类中药、“体复康”改善运动性疲劳的大鼠心肌形态计量学研究[J]. 体育科学, 1999, 19(1):70—74.
[2] Bradford M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of Protein Dye Binding[J]. Anal Biochem, 1976, 72:248—254.
[3] Gorga, Obermaier, Boguth, et al. The current state of two-dimensional electrophoresis with immobilized pH gradients [J]. Electrophoresis, 2000, 21(6):1037—1053.
[4] 秦慧, 刘霆, 柳斌. 几种双向凝胶电泳蛋白质检测方法的比较[J]. 中国实验血液学杂志, 2006, 14(1):168—172.
[5] Neuhooff M, Arold N, Taube D, et al. Improved staining of pro-

teins in polyacrylamide gels including isoelectric focusing gels with clear background at nanogram sensitivity using Coomassie brilliant blue C-250 and R-250 [J]. Electrophoresis, 1988, 9:255—262.
[6] 陈主初, 梁宋平. 肿瘤蛋白质组学[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 2002. 10—22.
[7] 蔡明春. 模拟高原运动大鼠心肌重塑与肌球蛋白重链的适应性变化[J]. 第三军医大学学报, 2005, 27(21):2128—2130.
[8] 倪成志. 模拟运动负荷电刺激对蟾蜍骨骼肌肌球蛋白分解代谢影响的免疫印迹观察[J]. 航天医学与医学工程, 1999, 12(6):426—430.
[9] 孙小军, 杨建民. 烧伤后心肌损害的再评价[J]. 医学理论与实践, 2000, 13(7):432—433.
[10] 辛华, 郑雅娟, 韩振国. 内皮细胞肌球蛋白轻链激酶在肉瘤细胞向血管外游走过程中的调节作用 [J]. 中国病理生理杂志, 2003, 19(5):612—614.
[11] Karen SB. The modulation right ventricular ejection fraction measurements: room temperature injectate [J]. Crit Care Med, 1994, 22:1136—1141.
[12] Lowey S, Waller GS, Trbus KM. Skeletal muscle myosin light chains are essential for physiological speeds of shortening[J]. Nature, 1993, 365:454—456.
[13] 郎希龙, 张宝仁, 吴弘. 风湿性心脏病心力衰竭患者心室肌中心房型肌球蛋白轻链的检测及其临床意义[J]. 中华心血管病杂志, 2000, 28(2):105—107.
[14] Bonne G, Carrier L. Familial hypertrophic cardiomyopathy: from mutation to functional defects[J]. Circ Res, 1998, 83(6):580—593.
[15] 葛宏华, 肖亚中, 姚建平. 心室肌球蛋白轻链 1 基因的克隆及其体外的表达与纯化[J]. 安徽大学学报, 2004, 28(6):76—79.
[16] 金叔宣, 王彬尧. 心室肌球蛋白轻链工对急性心肌梗死的诊断价值[J]. 国外医学·心血管疾病分册, 2002, 29(1):32—33.
[17] 刘志芳, 胡守诚. 新生儿缺氧缺血性脑病谷草转氨酶的变化[J]. 中国当代儿科杂志, 1999, 1(2):101.
[18] 司端勤, 朱海斌, 刘峰. 线粒体天门冬氨酸转氨酶对心肌、肝疾病的诊断价值[J]. 临床荟萃, 2003, 18(5):257—258.
[19] 李敏, 陶世文. 新生儿窒息血清心肌酶的变化[J]. 新疆医科大学学报, 2004, 27(5):500—501.