doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.07.002

不同烟熏强度大鼠伸趾长肌抗氧化能力和氧化应激损伤*

罗勇^{1,2} 潘俊² 程意² 高晶晶² 韩锋锋²

(1 上海交通大学医学院附属新华医院崇明分院 上海 202150; 2 上海交通大学医学院附属新华医院 上海 200092)

摘要 目的:研究不同烟熏强度对 SD 大鼠骨骼肌组织抗氧化能力及氧化应激损伤的影响,探讨 COPD 骨骼肌功能障碍的机制。**方法:**40 只 SD 大鼠随机分为对照组、实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组,每组各 10 只。实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组分别给予 4 周、12 周、20 周的烟熏强度,烟熏结束后取大鼠双侧伸趾长肌,用酶联免疫吸附测定法(ELISA)方法检测各组大鼠的伸趾长肌组织匀浆谷胱甘肽(GSH)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)的浓度,伸趾长肌组织蛋白质提取液羰基化蛋白(PC)的浓度、伸趾长肌组织 DNA 中 8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)的含量。**结果:**与对照组相比,实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组 GSH、GSH/GSSG、SOD 显著降低($P < 0.05 \sim P < 0.01$),GSSG 显著升高($P < 0.05$),实验 1 组 GPx 显著降低($P < 0.05$),实验 1 组 CAT 显著升高($P < 0.05$),实验 2 组、实验 3 组 MDA、8-OHdG 显著增高($P < 0.05 \sim P < 0.01$),实验 3 组 PC 显著增高($P < 0.05$)。**结论:**烟熏可使大鼠骨骼肌组织抗氧化/氧化失衡,导致氧化应激损伤,并与烟熏强度相关。

关键词:烟熏;大鼠;骨骼肌;抗氧化;氧化应激

中图分类号:R-33;R68 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2017)07-1206-04

Anti-oxidants and Oxygen Stress Damage of Skeletal Muscle in Rats with Different Intensities of Passive Cigarette Smoking*

LUO Yong^{1,2}, PAN Jun², CHENG Yi², GAO Jing-jing², HAN Feng-feng²

(1 Division of Respiratory Medicine, Xinhua Hospital Chongming Branch, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 202150, China; 2 Division of Respiratory Medicine, Xinhua Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai, 200092, China)

ABSTRACT Objective: To study the effect of anti-oxidants and oxygen stress damage on skeletal muscle in rats with different intensities of passive cigarette smoking and to explore mechanisms of skeletal muscle dysfunction in COPD. **Methods:** Forty rats were divided into 4 groups randomly: control group, experiment 1 group, trial 2 and 3 group. Rats of trial 1, 2, 3 groups were exposed passive cigarette smoking for 4 weeks, 12 weeks and 20 weeks respectively. GSH, GSSG, GPx, CAT, SOD and MDA, PC, 8-OHdG in the extensor digitorum longus of rats were detected through ELISA. **Results:** The expression levels of GSH, GSH/GSSG, SOD decreased and GSSG increased significantly in all trial groups ($P < 0.05 \sim P < 0.01$), GPx decreased and CAT increased significantly in trial 1 group ($P < 0.05$), and MDA, 8-OHdG in trial 2, 3 groups and PC in trial 3 group increased significantly in comparison with control group ($P < 0.05 \sim P < 0.01$). **Conclusions:** Cigarette smoking can cause imbalance of anti-oxidants /oxygen stress and results in oxygen stress damage in the distal skeletal muscle tissue.

Key words: Smoking; Rats; Skeletal muscle; Anti-oxidants; Oxygen stress

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R68 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)07-1206-04

前言

随着人口老龄化、大气污染的日益严重和吸烟人数的增加,慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)已成为人类最常见的致残和致死性疾病之一,预计 2020 年 COPD 将居世界疾病经济负担的第 5 位,全球致死病因的第 3 位^[1]。该病主要机制是有害气体和有害颗粒刺激气道所产生的气道的慢性炎症,最终导致气流受限。目前发现 COPD 除了明显的呼吸道症状之外,还往往伴有全身的症状,

其中骨骼肌功能障碍近年来受到极大关注^[2-4],COPD 患者骨骼肌功能不仅与患者活动能力、生活质量密切相关,而且与 COPD 患者的预后有着重要的联系。营养不良、骨骼肌组织萎缩是 COPD 重要的全身性表现。有研究发现 COPD 患者的股四头肌功能明显受损,并与肺功能分级相关,肺功能 I 级、II 级、III 级和 IV 级的 COPD 患者其股四头肌功能障碍的发生率分别为 76.5%、95.2%、95.7%、100%^[5]。气道异常炎症反应、氧化应激、蛋白酶和抗蛋白酶失衡是 COPD 的主要发病机制,其中氧化/抗氧化失衡是 COPD 重要的发病机制之一,并可导致

* 基金项目:上海市卫生和计划生育委员会资助课题(20134141)

作者简介:罗勇(1965-),男,医学博士,主任医师,主要研究方向:COPD 的基础与临床研究,E-mail: dr_luoyong@sina.com

(收稿日期:2016-06-11 接受日期:2016-06-23)

COPD 患者局部和全身的一些临床表现^[6,7]。本文通过烟熏法制作 COPD 大鼠模型,并检测不同烟熏强度的 COPD 大鼠伸趾长肌的氧化和抗氧化的各项指标的变化,探讨 COPD 骨骼肌功能障碍的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

6 周龄的雄性清洁级 Sprague-Dawley (SD) 大鼠共 40 只,由上海交通大学医学院附属新华医院实验动物中心提供,购自上海西普尔-必凯实验动物公司,生产许可证号:SCXK(沪)2003-0002,使用许可证号:SYXK(沪)2003-0031,体重约 250 g。

1.2 方法

1.2.1 分组与烟熏 采用随机原则分成 4 组,每组大鼠 10 只,分别为对照组、实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组。实验组为大鼠烟熏组,分别暴露于不同剂量的香烟烟雾。每组大鼠总共饲养 20 周,从开始实验起除对照组正常饲养外,实验 1 组烟熏暴露强度为 4 周(为保持和其它试验组的可比性,先正常饲养 16 周,第 17 周起开始烟熏)、实验 2 组烟熏暴露强度为 12 周(先正常饲养至第 9 周起烟熏)、实验 3 组烟熏暴露强度为 20 周。每 5 只大鼠为一个单元饲养,饲养单元为 35 cm×40 cm×50 cm(容积 70 L)的有机透明玻璃箱,烟熏组大鼠每天暴露于 10 支大前门香烟(上海卷烟厂制造,每支含焦油量 12 mg,烟气烟碱量[尼古丁]0.9 mg,一氧化碳 14 mg),每次被动吸烟时间大于 30 分钟,一周六天。每天定时计算进食量,每两周测量身长,尾长,体重。所有大鼠均给予普通饮食饲养,自由进食、进水。第 21 周所有大鼠用速眠新 0.5 mL~0.8 mL 腹腔注射麻醉,消毒后开胸在麻醉状态下经心脏抽血致死。

1.2.2 抗氧化指标检测 处死大鼠 15 分钟内游离双侧伸趾长肌(Extensor digitorum longus, EDL)放入组织管液氮内冻存,统一用 ELISA 方法检测各组实验大鼠的 EDL 肌组织匀浆谷胱甘肽(GSH)、氧化型谷胱甘肽(GSSG)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPx)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)浓度。根据操作指南将不同浓度的标准品和样品加入相应的孔中,37 度孵育 2 h 后洗板。然后依次加入辣根过氧化物酶工作液、标准色液、终止液,用自动酶标仪处于 30 min 内读取光密度值(OD),根据标准曲线计算待测样品 GSH、GSSG、GPx、CAT、SOD 的含量。

1.2.3 氧化应激损伤检测 处死大鼠 15 分钟内游离双侧 EDL 放入组织管液氮内冻存,统一用 ELISA 方法检测各组实验大鼠的 EDL 肌组织匀浆丙二醛(MDA)的浓度、EDL 肌组织蛋白质提取液羰基化蛋白(PC)的浓度,以及 EDL 肌组织 DNA 中 8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)的含量。

1.3 统计学处理

以 SPSS11.0 统计软件进行统计,数据以($\bar{x} \pm s$)表示,对多样本比较采用方差分析(analysis of variance, ANOVA),两组组间比较采用配对 t 检验。P<0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠骨骼肌组织抗氧化指标检测

与对照组相比,实验 1 组、实验 2 组、实验 3 组 GSH、GSH/GSSG、SOD 显著降低(P<0.05~P<0.01),GSSG 显著升高(P<0.05),实验 1 组 GPx 显著降低(P<0.05),实验 1 组 CAT 显著升高(P<0.05),详见表 1。

表 1 不同烟熏强度对大鼠伸趾长肌抗氧化指标(U/L)的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 1 The effect of different intensities of passive cigarette smoking on anti-oxidants in extensor digitorum longus of rats

Groups	GSH	GSSG	GSH/GSSG	GPx	CAT	SOD
Control group	638.3±165.2	20.2±9.3	31.2±5.6	70.3±35.6	43.2±5.9	136.5±41.0
Smoking group 1	256.7±89.2 ^{▲▲}	29.8±10.6 [▲]	8.8±2.5 ^{▲▲}	42.3±22.3 [▲]	68.2±10.3 [▲]	85.3±12.3 ^{▲▲}
Smoking group 2	335.4±112.3 ^{▲▲}	24.7±11.8 [▲]	9.6±4.3 ^{▲▲}	68.2±24.9	52.3±7.8	89.2±16.8 ^{▲▲}
Smoking group 3	289.2±98.5 ^{▲▲}	28.2±9.2 [▲]	9.5±3.5 ^{▲▲}	59.8±29.5	48.6±8.4	84.6±11.8 ^{▲▲}
F value	8.23	5.62	10.25	4.55	4.39	7.14
P value	<0.01	<0.05	<0.01	<0.05	<0.05	<0.01

Note: Smoking groups compare with control group [▲]P<0.05, ^{▲▲}P<0.01.

2.2 大鼠骨骼肌组织氧化应激损伤检测

与对照组相比,实验 2 组、实验 3 组 MDA、8-OHdG 显著

增高(P<0.05~P<0.01),实验 3 组 PC 显著增高(P<0.05),详见表 2。

表 2 不同烟熏强度对大鼠伸趾长肌氧化应激损伤的影响($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The effect of different intensities of passive cigarette smoking on oxidative damage in extensor digitorum longus of rats

Groups	MDA(nmol/L)	PC(nmol/L)	8-OHdG (nmol/L)
Control group	3.05±1.02	6.95±1.60	69.81±15.51
Smoking group 1	3.12±0.82	7.18±1.06	63.49±38.94
Smoking group 2	4.38±1.25 [▲]	7.26±1.30	102.91±26.62 ^{▲▲}
Smoking group 3	5.17±0.93 ^{▲▲}	9.72±2.03 [▲]	128.98±37.94 ^{▲▲}
F value	6.89	4.52	9.75
P value	<0.05	<0.05	<0.01

Note: Smoking groups compare with control group [▲]P<0.05, ^{▲▲}P<0.01.

3 讨论

氧化应激是 COPD 的发病机制之一, COPD 患者局部气道和全身的氧化应激显著增加并导致局部和全身的一些临床表现(包括骨骼肌功能障碍)^[2-7]。香烟烟雾中含有大量的活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS), 每口香烟烟雾中大约有 1017 个氧自由基和 4700 种有害化学物质, 它们可以直接或间接地攻击细胞成分, 甚至杀伤细胞, 导致各种疾病的发生。在各种由卷烟烟雾导致的疾病中, 呼吸道疾病首当其冲, 尤其是 COPD、支气管肺癌等疾病最受影响^[4-9]。烟熏是制作 COPD 动物模型的方法之一。氧化应激的增加并不一定导致靶组织和靶器官的损伤, 而关键在于氧化/抗氧化两者是否平衡, 只有当氧化/抗氧化失衡才会导致 COPD 发生氧化应激损伤。有报道骨骼肌细胞为了适应氧化应激的增加, 上调了某些抗氧化酶, COPD 患者骨骼肌组织抗氧化能力较同龄健康者显著增强^[10,11], 为此我们测定了烟熏大鼠 EDL 匀浆中的包括 GSH、GPx、CAT、SOD 等多种抗氧化指标以探讨 ROS 是否会刺激大鼠提高其抗氧化能力, 以及这种抗氧化能力的改变及其规律。

GSH 属于含巯基的小分子肽类物质, 具有重要的抗氧化作用和整合解毒作用。在机体解毒、氨基酸转运及代谢过程中 GSH 可以保护某些重要的蛋白质和酶分子上的巯基不被氧化而维持这些体内重要蛋白质和酶的活性。下呼吸道上皮衬液中所含的 GSH 被认为是抗击气道氧化应激的第一道防线, 其含量是血液中的 140 倍^[12]。有研究发现长期吸烟者, 其肺泡下呼吸道上皮衬液中的 GSH 明显升高, 是不吸烟者的数倍, 一些体外实验和动物体内实验提示其可能机制是氧化应激激活了促炎基因和抗氧化剂保护性基因的上调^[13]。但本实验发现烟熏各组大鼠的骨骼肌组织匀浆中的 GSH 明显下降, 而烟熏各组之间比较未见显著差异, 我们推测烟熏后 GSH 水平的降低是由于其抗氧化时消耗过多所引起, 并未见代偿性增高。

GSH 在体内可以通过 GPx 催化被氧化成 GSSG, 在生理条件下体内以还原型 GSH 为主, GSH 还原酶可催化两型之间的互相转化。在正常生理代谢状态下 GSH/GSSG 维持在高比例, 一般认为 GSSG 约占总 GSH 含量的 1%~10% 左右。但是在氧化应激增加的情况下, GSH 氧化成 GSSG, GSH/GSSG 比率下降, 因此可以通过测量该比率来评估氧化应激的程度^[14]。本实验发现 GPx 在烟熏 4 周时有一过性下降, 以后又几乎恢复, 推测开始烟熏后氧化应激反应造成了大量的消耗, 以后机体产生代偿使其有所恢复。而烟熏组大鼠骨骼肌匀浆中的 GSSG 与对照组相比明显上升, 烟熏组 GSH/GSSG 比率却明显下降, 提示骨骼肌氧化应激程度非常显著。

CAT 广泛存在于原核和真核生物中, 同时在动物的主要组织中也广泛存在。CAT 可催化两个 H₂O₂ 分子发生氧化还原反应, 最后生成 H₂O, 并释放出 O₂。本研究中有众多的体内的内源性抗氧化剂, CAT 是本研究的各项指标中唯一的一种在烟熏组反而一过性增高的抗氧化剂, 烟熏 4 周的大鼠其骨骼肌组织匀浆 CAT 含量高于对照组和烟熏 12 周和 20 周的实验大鼠。我们估计这是机体的一种代偿性增高, 有一些研究者发现吸烟者肺泡灌洗液中维生素 C 的含量要比非吸烟者高出很多, 年轻吸烟者的肺泡巨噬细胞中的抗氧化剂 SOD 与 CAT 的活

性也是升高的, 其可能机制是氧化应激激活了促炎基因和抗氧化剂保护性基因的上调^[15]。SOD 是抗氧化防御体系中一类重要的金属酶类, 所有 SOD 同功酶的共同生物学作用都是催化 O₂ 歧化为 H₂O₂ 和 O₂, 从而阻止 O₂ 在需氧生物体内积聚, SOD 是机体内唯一以 O₂·为作用底物的酶。需氧代谢的细胞中都含有 SOD, 它使氧自由基产生歧化反应, 生成 O₂ 和 H₂O₂, H₂O₂ 又在 CAT 的作用下, 生成 O₂ 和 H₂O。于是有毒的 O₂·在 SOD 和 CAT 的共同作用下, 变成了无毒的 O₂ 和 H₂O, 实现了清除机体内氧自由基, 维持细胞内氧化还原平衡、控制 ROS 在无害低水平状态^[15]。本实验的结果提示大鼠骨骼肌组织 SOD 在烟熏的 4 周就开始下降, 并在整个烟熏的过程中没有恢复, 提示烟熏过程中大鼠骨骼肌组织中的内源性抗氧化剂的消耗十分明显, 抗氧化/氧化平衡完全被打破。

氧化损伤是自由基介导损伤的主要形式, 细胞 90% 以上为膜性结构, 细胞膜上含有的大量不饱和脂肪酸是最容易受到 ROS 攻击的生物分子, 它们极易产生过氧化作用。脂类过氧化反应是一个典型的自由基连锁反应。丙二醛(malondialdehyde, MDA)是脂质过氧化的重要指标, 也是组织氧化应激损伤的重要证据^[6]。蛋白质是构成生物体的重要组成部分, 蛋白质自身以及组成蛋白质的氨基酸都是容易被 ROS 攻击的靶分子, ROS 可使蛋白质的肽链断裂, ROS 还可使蛋白质的二级、三级和四级结构破坏, 折叠减少, 无规律卷曲增加。当蛋白质经受上述这些改变后其生物功能发生很大变化, 由于蛋白质受到 ROS 攻击后必然生成羰基衍生物, 因此羰基是判断蛋白质是否被氧化的标志。核酸尤其是 DNA 是生物体的重要成分, ROS 能使 DNA 的双链和(或)单链断裂, 使 DNA 的碱基变成自由基, 有 ROS 产生的 DNA 氧化损伤可以破坏核酸分子的完整性和构型, 在 DNA 氧化的损伤中鸟嘌呤是最易发生氧化损伤的碱基, 鸟嘌呤氧化可发生在 DNA 双链上, 在自由基的攻击下以鸟嘌呤 8 位碳原子氧化后可形成 8-OHdG。在各种氧化损伤中, 以鸟嘌呤 8 位碳原子氧化后形成 8-OHdG 最为常见, 因此 8-OHdG 也成为 DNA 损伤最普遍的标志物。同样的情况也在 RNA 中发生, 只不过是由鸟嘌呤 8 位碳原子氧化后形成 8-羟基-鸟嘌呤, 其也被作为 RNA 损伤的重要检测指标^[16]。

我们的研究发现随着烟熏强度的增加, SD 大鼠 EDL 无论是骨骼肌组织的脂质、还是蛋白质, 或核酸都发生了氧化应激损伤, 烟熏 4 周的大鼠骨骼肌组织 MDA、8-OHdG、烟熏 12 周的大鼠骨骼肌组织 PC 的浓度并未见明显增高, 但最终 MDA、PC、8-OHdG 随着烟熏时间的上升而明显增加, 提示大鼠骨骼肌组织的氧化应激损伤与烟熏有一定的剂量依赖关系。有研究发现 COPD 患者呼出气冷凝液中 MDA 明显升高, 且与 COPD 的严重程度相关^[17]。我国有研究者也发现用持续 5 个月时间气管内滴注弹性蛋白酶制作肺气肿的动物模型, 其腓肠肌中脂褐素(lipofusion)较对照明显升高^[18]。MDA 与蛋白质或核酸交联后可形成惰性的脂褐素, 脂褐素正是自由基介导的蛋白质或脂质发生氧化后能激发出荧光的色素产物。该实验的数据与本实验的结果均提示吸烟(或针对气道的其它损害, 如气道内滴注弹性蛋白酶)不仅造成局部呼吸道的损伤, 对全身其它远隔系统和脏器(如骨骼肌组织)同样造成脂质过氧化损伤。已有研究发现 COPD 的氧化应激负担加重是全身性的, 并不仅仅只累

及呼吸系统^[68]。我们的上述的研究证实香烟烟雾暴露至一定时间和强度后会导致大鼠气道发生异常炎症反应,这种反应同时也会导致远隔组织--骨骼肌组织的氧化应激负荷加重,包括骨骼肌组织的脂质、蛋白质和 DNA/RNA 的氧化损伤。

综上所述,烟熏可使大鼠骨骼肌氧化/抗氧化失衡,最终导致骨骼肌氧化应激损伤。COPD 患者普遍存在的骨骼肌功能障碍与氧化应激损伤有密切联系。目前 COPD 抗氧化治疗有不少研究^[19,20],是否会改善 COPD 患者的骨骼肌功能还有待于进一步观察。

参考文献(References)

- [1] Vestbo J, Hurd SS, Agusti AG, et al. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2013, 87(4): 347-365
- [2] Gea J, Pascual S, Casadevall C, et al. Muscle dysfunction in chronic obstructive pulmonary disease: update on causes and biological findings[J]. *J Thorac Dis*, 2015, 7(10): E418-E438
- [3] De Brandt J, Spruit MA, Derave W, et al. Changes in structural and metabolic muscle characteristics following exercise-based interventions in patients with COPD: a systematic review [J]. *Expert Rev Respir Med*, 2016, 10(5): 521-545
- [4] Zhou J, Liu B, Liang C, et al. Cytokine signaling in skeletal muscle wasting[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2016, 27(5): 335-347
- [5] Kharbanda S, Ramakrishna A, Krishnan S. Prevalence of quadriceps muscle weakness in patients with COPD and its association with disease severity [J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2015, 10(9): 1725-1735
- [6] Garcia-Rio, Romero D, Lores V, et al. Dynamic hyperinflation, arterial blood oxygen and airway oxidative stress in stable patients with COPD[J]. *Chest*, 2011, 140(4): 961-969
- [7] Negewo NA, McDonald VM, Gibson PG. Comorbidity in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Respir Investing*, 2015, 53(6): 249-258
- [8] Malerba M, Montuschi P. Non-invasive biomarkers of lung inflammation in smoking subjects[J]. *Curr Med Chem*, 2012, 19(2): 187-196
- [9] Ellegaard PK, Poulsen HE. Tobacco smoking and oxidative stress to DNA: a meta-analysis of studies using chromatographic and immunological methods[J]. *Scand J Clin Lab invest*, 2016, 76(2): 151-158
- [10] Reis GS, Augusto VS, Silverira AP, et al. Oxidative stress biomarkers in patients with pulmonary hypertension [J]. *Pulm Circ*, 2013, 3(4): 856-861
- [11] Antus B, Harnasi G, Drozdovszky O, et al. Monitoring oxidative stress during chronic obstructive pulmonary disease exacerbations using malondialdehyde[J]. *Respirology*, 2014, 19(1): 74-79
- [12] Canyin AM, North SL, Hubbard RC, et al. Normal alveolar epithelial lining fluid contains high levels of glutathione [J]. *J Appl Physiol*, 1987, 63(2): 152-157
- [13] Rahman I. Regulation of glutathione in inflammation and chronic lung diseases[J]. *Mut Res*, 2005, 579(1): 58-80
- [14] 海春旭, 主编. 自由基医学 [M]. 第四军医大学出版社, 西安: 2004: 270-281
- Hai Chun-xu. Free Radical Medicine [M]. Publisher of Forth Military Medical University, Xi'an: 2004: 270-281
- [15] Nozik-Grayck E, Suliman HB, Piantadisi CA. Extracellular superoxide dismutase[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2005, 37(12): 2466-2471
- [16] Kinnula VL, Ilumets H, Myllarniemi M, et al. 8-Isoprostane as a marker of oxidative stress in nonsymptomatic cigarette smokers and COPD[J]. *Eur Respir*, 2007, 29(1): 51-55
- [17] Chhabra SK, Gupta M. Exhaled breath condensate analysis in chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Indian J Chest Dis Allied Sci*, 2012, 54(1): 27-37
- [18] Zhang X, Pang B, Hou X, et al. Oxidative stress and peripheral muscle dysfunction in rats with emphysema [J]. *Chin Med J*, 2010, 123(1): 40-44
- [19] Cazzola M, Calzetta L, Page C, et al. Influence of N-acetylcysteine on chronic bronchitis or COPD exacerbations: a meta-analysis [J]. *Eur Respir Rev*, 2015, 24(137): 451-461
- [20] Tse HN, Raiteri L, Wong KY, et al. Benefits of high-dose N-acetylcysteine to exacerbation-prone patients with COPD [J]. *Chest*, 2014, 146(3): 611-623
- [21] Wang S1, Xiang J, Li Z, et al. A plasma microRNA panel for early detection of colorectal cancer[J]. *Int J Cancer*, 2015, 136(1): 152-161
- [22] Tong WW, Tong GH, Kong H, et al. The tumor promoting roles of HSP60 and HIF2 α in gastric cancer cells [J]. *Tumour Biol*, 2016, [Epub ahead of print]
- [23] Kong Y, Trabucco SE, Zhang H. Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and the mitochondria theory of aging [J]. *Interdiscip Top Gerontol*, 2014, 39: 86-107

(上接第 1205 页)