

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2015.08.019

论著 · 实验研究

脂多糖诱导脓毒症大鼠远期脑线粒体损伤的初步研究

吕娟娟 陈志江 项丹 郑贵浪 王斌 陶少华 谢美燕 刘翠 黄锦达 曾其毅

(南方医科大学珠江医院儿科, 广东 广州 510282)

[摘要] **目的** 初步探讨脓毒症大鼠远期脑线粒体结构和功能损伤。**方法** 将 Wistar 大鼠随机分为对照组和脓毒症组, 通过腹腔注射革兰阴性菌脂多糖 (LPS, 10 mg/kg) 建立脓毒症大鼠模型并进行生存率实验。脓毒症组大鼠分别在腹腔注射革兰阴性菌 LPS 后 12、24、48 和 72 h 各处死 8 只, 对照组大鼠 ($n=8$) 在给予等量生理盐水腹腔注射后处死, 取脑组织提取线粒体。通过流式细胞仪检测线粒体膜电位 (MMP) 及线粒体肿胀度, 使用试剂盒检测呼吸链复合物酶 (I ~ V) 活性。通过苏木精-伊红 (HE) 染色及电镜观察脑组织和线粒体形态学变化。**结果** 脓毒症组较对照组生存率明显下降 ($P<0.01$)。脓毒症组 MMP 和呼吸链复合物酶 (I ~ V) 活性较对照组明显下降 ($P<0.05$), 48 h 降至最低, 72 h 部分恢复; 脓毒症组线粒体肿胀度较对照组明显升高 ($P<0.05$), 48 h 达到峰值, 72 h 部分恢复; HE 染色可见脑组织结构明显破坏, 同时电镜结果观察到线粒体肿胀, 少量线粒体出现“空泡样变”。**结论** 在 LPS 诱导脓毒症大鼠模型中, 脑线粒体结构和功能均受损, 损伤高峰可能发生在 48 h 左右。

[中国当代儿科杂志, 2015, 17(8): 859-863]

[关键词] 脓毒症; 脑; 线粒体功能障碍; 线粒体膜电位; 线粒体呼吸链复合物; 大鼠

A preliminary study of long-term mitochondrial dysfunction in rat brain caused by lipopolysaccharide-induced sepsis

LYU Juan-Juan, CHEN Zhi-Jiang, XIANG Dan, ZHENG Gui-Lang, WANG Bin, TAO Shao-Hua, XIE Mei-Yan, LIU Cui, HUANG Jin-Da, ZENG Qi-Yi. Department of Pediatrics, Zhujiang Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510282, China (Zeng Q-Y, Email: zqy_88@163.com)

Abstract: Objective To preliminarily investigate the long-term structural and functional injuries of mitochondria in rat brain caused by sepsis. **Methods** Wistar rats were randomly assigned into sepsis and control groups. A rat model of sepsis was prepared by an intraperitoneal injection of 10 mg/kg lipopolysaccharide (LPS) of gram-negative bacteria, and the survival assay was performed. Eight rats in the sepsis group were sacrificed at 12, 24, 48, or 72 hours after LPS injection, while rats in the control group were sacrificed after an intraperitoneal injection of an equal volume of normal saline. Mitochondria were extracted from rat brain tissue. Mitochondrial membrane potential (MMP) and mitochondrial swelling level were determined by flow cytometry, and the activities of electron transport chain complexes (I-V) were measured using enzyme assay kits. Hematoxylin-eosin (HE) staining and electron microscopy were used to observe morphological changes in brain tissue and mitochondria. **Results** The sepsis group had a significantly lower survival rate than the control group ($P<0.01$). The MMP and activities of electron transport chain complexes (I-V) in the sepsis group, which were significantly lower than those in the control group ($P<0.05$), were reduced to the lowest levels at 48 hours and partially recovered at 72 hours. The mitochondrial swelling level in the sepsis group, which was significantly higher than that in the control group ($P<0.05$), increased to the peak level at 48 hours and partially recovered at 72 hours. Hematoxylin and Eosin staining revealed substantial damages in the structure of brain tissue, and electron microscopy showed mitochondrial swelling, and vacuolization in a few mitochondria. **Conclusions** In the rat model of LPS-induced sepsis, both structural and functional injuries are found in cerebral mitochondria, and achieve the peak levels probably at around 48 hours. [Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(8): 859-863]

Key words: Sepsis; Brain; Mitochondrial dysfunction; Mitochondrial membrane potential; Electron transport chain complex; Rats

[收稿日期] 2014-12-12; [接受日期] 2015-02-09

[基金项目] 国家自然科学基金 (81272070); 广东省科技计划项目 (2010B031600238)。

[作者简介] 吕娟娟, 女, 博士, 主治医师。

[通信作者] 曾其毅, 男, 教授, 主任医师。

脓毒症定义为感染引起的全身炎症反应综合征,证实有细菌存在或有高度可疑的感染灶^[1]。流行病学调查研究发现所有住院病人中发生脓毒症的比例为2%,而ICU中的病人出现脓毒症的比例高达75%^[2]。脓毒症相关性脑病(sepsis-associated encephalopathy, SAE)指的是缺乏中枢神经系统感染的临床或实验室证据,由全身炎症反应引起的弥漫性脑功能障碍^[3]。文献报道有50%~70%的脓毒症患者发生SAE^[4],是脓毒症最常见的并发症^[5]。SAE是影响脓毒症患者预后的独立因素,SAE越严重,病死率就越高^[6]。如不能早期发现和及时治疗SAE患者,即使患者存活,也会遗留不同程度的认知障碍^[7],出现抑郁、焦虑和创伤后应激综合征的风险也很高^[8]。因此,更好地了解SAE的发病机制,并努力研究相应的治疗方案,对提高SAE患者的脑功能恢复及减少病死率有极其重要的作用。

儿童脓毒症的发病率和病死率都很高^[9]。根据一项流行病学调查显示,美国每年新增儿童脓毒症病例超过42000例,大约4400例死亡,病死率为10.3%,且每年的花费高达19.7亿美元^[10]。另外一项研究发现,44%的脓毒症儿童认知评分低于正常儿童25个百分点,而14%的儿童需要进入特殊学校进行学习^[11]。脓毒症目前的治疗依赖于早期对脓毒血症积极合理的整体治疗。袁远宏等^[12]研究发现,连续血液净化可以提高严重脓毒症患者受抑制的免疫功能,改善患儿预后,这可能是将来脓毒症治疗的方向之一。

大量的研究表明,线粒体功能障碍、氧化应激、血脑屏障的破坏和神经递质的失衡等与SAE密切相关^[5]。尽管现在有很多人研究脑病中线粒体功能变化,但是很少对脓毒症诱导的远期脑线粒体功能障碍进行系统研究^[13]。因此,在本项研究中,我们建立脓毒症模型,通过观察脑线粒体结构和功能变化的指标,探讨线粒体受损情况。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

将SPF级雄性Wistar大鼠(南方医科大学实验动物中心提供)体重250~300g,随机分为对照组和脓毒症组。通过腹腔注射革兰阴性菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)10 mg/kg建立脓毒症大鼠动物模型^[14]。分别在腹腔注射革兰阴性菌LPS后

12、24、48和72h各处死8只大鼠,取脑组织备用。对照组($n=8$)给予相应体积生理盐水腹腔注射后处死,取脑组织作为对照组备用。

1.2 主要试剂与仪器

革兰阴性菌LPS(*Escherichia coli* 0111:B4)购于Sigma公司;线粒体分离使用线粒体/胞浆制备试剂盒(普利莱基因技术有限公司);呼吸链复合物酶(I~V)活性检测试剂盒购于美国Genmed Scientifics公司;荧光染料四乙基苯并咪唑基羰化青碘(JC-1)购于海门碧云天生物技术研究;FACS Aria流式细胞仪(美国BD公司),ND1000酶标仪(NanoDrop公司)。

1.3 生存率观察记录

50只SPF级Wistar雄性大鼠,适应性喂养1周,剔除行动欠活跃,毛发光泽度差的大鼠10只。按随机数字表法分为对照组和脓毒症组,每组20只,模型制作如前所述。观察记录两组大鼠从造模到造模后7d的生存情况。

1.4 大鼠脑线粒体的提取

按照线粒体/胞浆制备试剂盒说明书步骤提取线粒体。将200 mg脑组织剪碎后加入1.5 mL预冷的Mito solution,上下研磨组织20次,匀浆液4℃差速离心后,线粒体沉淀在管底。使用RIPA裂解缓冲液裂解线粒体,BCA法测定蛋白浓度后备用。

1.5 大鼠脑线粒体膜电位及线粒体肿胀度检测

JC-1为亲脂性阳离子荧光染料,可特异性聚集于有活性的线粒体内,是一种广泛用于检测线粒体膜电位的理想荧光探针。向0.9 mL 5倍稀释的JC-1染色工作液中加入0.1 mL总蛋白量为50 μ g纯化的线粒体,室温反应10 min后放入流式细胞仪,采用常规的绿色荧光(FITC-H)和红色荧光(PI-H)进行检测。以红色荧光强度/绿色荧光强度计算膜电位,以前向角和侧向角平均荧光强度的比值(FSC/SSC)表示线粒体肿胀度^[15]。

1.6 大鼠脑线粒体呼吸链复合物酶活性测定

提取的脑组织线粒体,使用超声破碎线粒体膜。根据BCA法测定蛋白质浓度,调整线粒体蛋白浓度至100 μ g/mL,按照呼吸链复合物酶活性检测试剂盒说明进行操作。酶标仪上设置不同的检测波长读出OD值,根据公式计算出酶活性。

1.7 大鼠脑组织形态学及线粒体超微结构观察

大鼠麻醉后固定,迅速打开胸腔,剪开右心耳,自左心室灌注200 mL PBS后再断头取脑。左侧大脑

皮质脑组织切成约 4 mm 厚度的小块后, 浸于 10% 多聚甲醛固定过夜, 经常规脱水、透明、浸蜡、包埋、切片、脱蜡、苏木素-伊红 (HE) 染色、透明处理封片后, 在普通光镜下观察脑组织病理变化情况。右侧大脑皮质脑组织切成约 1 mm³ 大小, 置于 2.5% 戊二醛中固定后经锇酸后固定、脱水、包埋、切片、染色, 透射电镜下观察线粒体超微结构。

1.8 统计学分析

使用 SPSS 20.0 统计软件对数据进行分析, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 多样本间均数的比较采用单因素方差分析, 并用 Tukey 法进行组间两两比较; 使用 Kaplan-Meier 法进行生存率分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 生存率分析

使用 Kaplan-Meier 法进行生存率分析, 对照组生存率为 100%, 脓毒症组 12 h 生存率为 80%, 24 h 生存率为 50%, 48 h 生存率为 45%, 3 d 生存率为 45%, 7 d 生存率为 45%。采用 log rank 检验, 脓毒症组和对照组生存率比较差异有统计学意义 (P<0.01)。见图 1。

2.2 线粒体膜电位检测结果

脓毒症组大鼠脑线粒体膜电位从 12 h 开始下降, 48 h 降至最低, 与对照组相比, 差异有统计学意义 (P<0.05), 72 h 线粒体膜电位部分恢复, 与 48 h 组相比差异有统计学意义 (P<0.05), 但仍然低于对照组 (P<0.05)。见表 1。

2.3 线粒体肿胀度检测结果

脓毒症组大鼠脑线粒体肿胀度从 12 h 开始上升, 48 h 升至最高, 与对照组相比, 差异有统计学意义 (P<0.05), 72 h 线粒体肿胀度下降, 与 48 h 组相比差异有统计学意义 (P<0.05), 但仍然高于对照组 (P<0.05)。见表 1。

2.4 线粒体呼吸链复合物酶 (I ~ V) 活性改变

脓毒症组大鼠脑线粒体呼吸链复合物酶 (I ~ V) 活性的变化趋势基本一致, 从 12 h 开始下降, 48 h 降至最低, 与对照组相比, 差异有统计学意义 (P<0.05), 72 h 酶活性部分恢复, 与 48 h 组相比差异有统计学意义 (P<0.05), 但仍然低于对照组 (P<0.05)。见表 2。

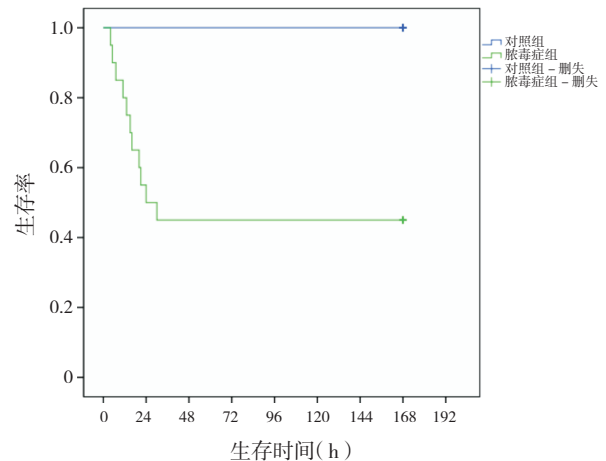


图 1 脓毒症大鼠生存率曲线

表 1 各组线粒体膜电位和线粒体肿胀度检测结果比较
($\bar{x} \pm s$)

组别	n	线粒体膜电位	线粒体肿胀度
对照组	8	1.48 $\pm$ 0.13	0.86 $\pm$ 0.04
脓毒症组			
12 h	8	0.92 $\pm$ 0.04 ^a	1.24 $\pm$ 0.04 ^a
24 h	8	0.54 $\pm$ 0.32 ^a	1.29 $\pm$ 0.03 ^a
48 h	8	0.18 $\pm$ 0.09 ^a	1.68 $\pm$ 0.29 ^a
72 h	8	0.76 $\pm$ 0.29 ^{a,b}	1.23 $\pm$ 0.02 ^{a,b}
F 值		16.537	14.029
P 值		<0.001	<0.001

注: a 示与对照组相比, P<0.05; b 示与脓毒症组 48 h 相比, P<0.05。

2.5 脑组织光镜检查结果

对照组大鼠脑组织经石蜡切片 HE 染色后, 光镜下可见对照组大鼠脑组织结构清晰完整, 神经细胞密集, 排列整齐, 神经元胞浆丰富, 淡染, 胞核居中, 核仁清楚; 正常胶质细胞结构完整, 排列紧密, 核仁清晰, 胞浆无红染, 细胞周围间隙致密无水肿。脓毒症组大鼠脑组织出现损伤性改变, 神经元数量减少, 神经元胞浆及胞膜形态不规则, 边界不清, 核固缩, 部分神经元细胞出现空泡变性; 小胶质细胞增生, 可见胶质细胞结节, 神经元、胶质细胞的细胞间隙和小血管周围间隙显著增宽。见图 2。

2.6 线粒体超微结构观察结果

电镜下观察对照组脑组织线粒体形态大致正常, 边界清楚, 基质均匀, 线粒体嵴致密。脓毒症组可见线粒体肿胀明显, 边界模糊不清, 部分膜发生破裂, 基质密度降低, 线粒体嵴疏松溶解,

部分线粒体嵴断裂，出现“同心圆”变，少量线粒体出现“空泡样变”。见图 3。

表 2 呼吸链复合物酶 (I ~ V) 活性检测结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	呼吸链复合物				
		I [$\mu\text{mol NADH}/(\text{min} \cdot \text{mg})$]	II [$\mu\text{mol DCPIP}/(\text{min} \cdot \text{mg})$]	III [$\mu\text{mol CoQH}_2/(\text{min} \cdot \text{mg})$]	IV [$\mu\text{mol Cyt C}/(\text{min} \cdot \text{mg})$]	V [$\mu\text{mol NADH}/(\text{min} \cdot \text{mg})$]
对照组	8	6.19 ± 0.14	3.87 ± 0.32	5.77 ± 0.13	9.02 ± 0.32	10.50 ± 0.79
脓毒症组						
12 h	8	4.88 ± 0.17^a	3.36 ± 0.17^a	4.76 ± 0.12^a	7.03 ± 0.21^a	8.15 ± 0.29^a
24 h	8	2.92 ± 0.28^a	2.24 ± 0.06^a	2.90 ± 0.12^a	5.74 ± 0.57^a	6.01 ± 0.56^a
48 h	8	1.23 ± 0.14^a	1.10 ± 0.13^a	1.87 ± 0.13^a	4.05 ± 0.83^a	3.56 ± 0.35^a
72 h	8	$3.12 \pm 0.14^{a,b}$	$2.45 \pm 0.14^{a,b}$	$4.05 \pm 0.17^{a,b}$	$5.80 \pm 0.50^{a,b}$	$5.40 \pm 0.82^{a,b}$
F 值		328.866	102.345	383.224	35.974	59.096
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注：a 示与对照组相比， $P < 0.05$ ；b 示与脓毒症组 48 h 相比， $P < 0.05$ 。

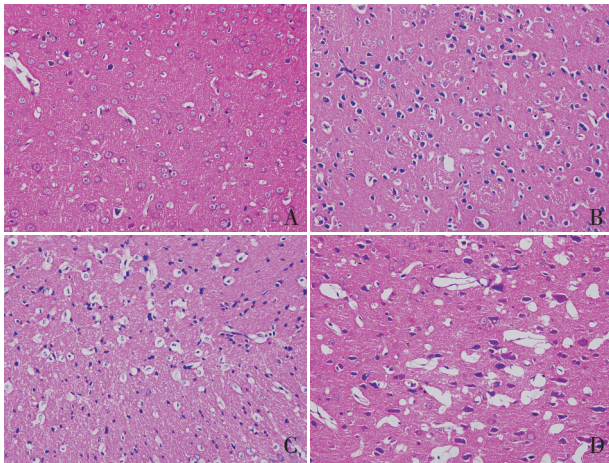


图 2 大鼠脑组织光镜下观察结果 (苏木精 - 伊红染色， $\times 400$) A：对照组脑组织结构清晰完整，神经细胞及胶质细胞排列紧密。B~D 均为脓毒症组腹腔注射 LPS 48 h 后，神经元胞浆及胞膜形态不规则，边界不清，核固缩 (B)，部分神经元细胞出现空泡样变 (C)；神经元、胶质细胞的细胞间隙和小血管周围间隙显著增宽 (D)。红色染色为胞浆，蓝色染色为细胞核。

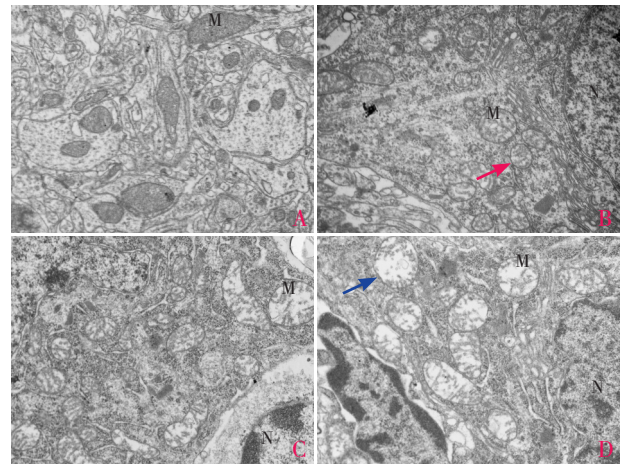


图 3 大鼠脑组织线粒体透射电镜扫描结果图 ($\times 30000$) A 为对照组大鼠脑组织线粒体电镜图，B、C、D 分别为脓毒症组腹腔注射 LPS 12、24、48 h 后。M 代表线粒体，N 代表细胞核。对照组脑组织线粒体形态大致正常，而脓毒症组可见线粒体肿胀明显，出现“同心圆”变 (红色箭头所示)，少量线粒体出现“空泡样变” (蓝色箭头所示)。

3 讨论

大量的研究表明，氧化应激、能量代谢及线粒体功能障碍在脓毒症相关性脑病中起重要作用^[16]。因此，在本项研究中，我们建立脓毒症模型，通过检测大鼠脑组织线粒体膜电位的变化及线粒体呼吸链复合物酶 (I ~ V) 活性，反应线粒体功能受损情况。结果提示鼠脑线粒体功能损伤进展迅速，膜电位和线粒体呼吸链复合物酶 (I ~ V) 活性 12 h 已经明显下降，48 h 降至最低值，72 h 部分恢复。本研究中脓毒症组 12 h 生存率为 80%，

24 h 生存率为 50%，48 h 生存率为 45%，3 d 生存率为 45%，7 d 生存率为 45%，与文献报道类似^[7]，说明 48 h 后未再出现大鼠的死亡，与线粒体功能损害的时间相同，提示脓毒症时脑线粒体功能明显受损，48 h 是病变的转折点，恢复需要一个过程。线粒体呼吸链复合物酶活性的抑制，尤其是复合物 I，是脓毒症线粒体功能障碍的标志物^[17]。Comim 等^[18]研究发现鼠脑线粒体呼吸链复合物 I 的活性在脓毒症时会下降，其他研究中还发现呼吸链复合物 IV 的活性也受到抑制^[19]。我们的研究得到了类似的结果。而另外一项研究^[20]发现诱导

脓毒症后10 d,前脑皮质的呼吸链复合物酶II、III和IV的活性上调了。这些矛盾的结果可能与实验的设计、动物模型、组织和时间点的选择等有关系。

脓毒症时线粒体膜电位下降,伴随线粒体呼吸链复合物酶活性降低,会导致ATP生成下降,进而不足以维持线粒体的正常结构;同时,线粒体膜电位的下降与线粒体通透性转换孔的开放以及凋亡有直接的关系,可引起线粒体肿胀,加重线粒体功能障碍并导致线粒体出现结构损伤^[21]。通过流式细胞仪检测线粒体肿胀度,我们发现脓毒症时线粒体明显肿胀,48 h最明显。大鼠脑组织形态学的研究也得到与之相符的结果,病理切片证实脑组织结构受到破坏,电镜结果直观的显示出线粒体形态出现明显的变化。脓毒症动物模型中肠内皮细胞,肝细胞以及心肌细胞的线粒体电镜检查也有类似的发现^[19,22-23]。

总之,本研究中我们通过建立脓毒症模型,发现脓毒症大鼠脑组织线粒体结构和功能均明显受损,且损伤的高峰可能发生在48 h左右。未来的研究将专注于脓毒症早期导致脑线粒体功能障碍的原因,从而发现脓毒症相关性脑病新的机制,为发展更加有效的治疗方向提供理论支持。

[参 考 文 献]

- [1] Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock, 2012[J]. *Intensive Care Med*, 2013, 39(2): 165-228.
- [2] Esper A, Martin GS. Is severe sepsis increasing in incidence AND severity?[J]. *Crit Care Med*, 2007, 35(5): 1414-1415.
- [3] Gofton TE, Young GB. Sepsis-associated encephalopathy[J]. *Nat Rev Neurol*, 2012, 8(10): 557-566.
- [4] Maramattom BV. Sepsis associated encephalopathy[J]. *Neurol Res*, 2007, 29(7): 643-646.
- [5] Siami S, Annane D, Sharshar T. The encephalopathy in sepsis[J]. *Crit Care Clin*, 2008, 24(1): 67-82.
- [6] Zhang LN, Wang XT, Ai YH, et al. Epidemiological features and risk factors of sepsis-associated encephalopathy in intensive care unit patients: 2008-2011[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2013, 125(5): 828-831.
- [7] Iwashyna TJ, Ely EW, Smith DM, et al. Long-term cognitive impairment and functional disability among survivors of severe sepsis[J]. *Jama*, 2010, 304(16): 1787-1794.
- [8] Boer KR, van Ruler O, van Emmerik AA, et al. Factors associated with posttraumatic stress symptoms in a prospective cohort of patients after abdominal sepsis: a nomogram[J]. *Intensive Care Med*, 2008, 34(4): 664-674.
- [9] Despond O, Proulx F, Carcillo JA, et al. Pediatric sepsis and multiple organ dysfunction syndrome[J]. *Curr Opin Pediatr*, 2001, 13(3): 247-253.
- [10] Watson RS, Carcillo JA, Linde-Zwirble WT, et al. The epidemiology of severe sepsis in children in the United States[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2003, 167(5): 695-701.
- [11] Bronner MB, Knoester H, Sol JJ, et al. An explorative study on quality of life and psychological and cognitive function in pediatric survivors of septic shock[J]. *Pediatr Crit Care Med*, 2009, 10(6): 636-642.
- [12] 袁远宏, 肖政辉, 张慧, 等. 连续血液净化对严重脓毒症患儿T细胞亚群的影响[J]. *中国当代儿科杂志*, 2014, 16(2): 194-197.
- [13] d'Avila JC, Santiago AP, Amancio RT, et al. Sepsis induces brain mitochondrial dysfunction[J]. *Crit Care Med*, 2008, 36(6): 1925-1932.
- [14] Semmler A, Frisch C, Debeir T, et al. Long-term cognitive impairment, neuronal loss and reduced cortical cholinergic innervation after recovery from sepsis in a rodent model[J]. *Exp Neurol*, 2007, 204(2): 733-740.
- [15] Lecoecur H, Langonne A, Baux L, et al. Real-time flow cytometry analysis of permeability transition in isolated mitochondria[J]. *Exp Cell Res*, 2004, 294(1): 106-117.
- [16] Bozza FA, D'Avila JC, Ritter C, et al. Bioenergetics, mitochondrial dysfunction, and oxidative stress in the pathophysiology of septic encephalopathy[J]. *Shock*, 2013, 39 Suppl 1: 10-16.
- [17] Brealey D, Karyampudi S, Jacques TS, et al. Mitochondrial dysfunction in a long-term rodent model of sepsis and organ failure[J]. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2004, 286(3): R491-R497.
- [18] Comim CM, Rezin GT, Scaini G, et al. Mitochondrial respiratory chain and creatine kinase activities in rat brain after sepsis induced by cecal ligation and perforation[J]. *Mitochondrion*, 2008, 8(4): 313-318.
- [19] Vanhorebeek I, De Vos R, Mesotten D, et al. Protection of hepatocyte mitochondrial ultrastructure and function by strict blood glucose control with insulin in critically ill patients[J]. *Lancet*, 2005, 365(9453): 53-59.
- [20] Comim CM, Cassol-Jr OJ, Constantino LS, et al. Alterations in inflammatory mediators, oxidative stress parameters and energetic metabolism in the brain of sepsis survivor rats[J]. *Neurochem Res*, 2011, 36(2): 304-311.
- [21] Kowaltowski AJ, Castilho RF, Vercesi AE. Mitochondrial permeability transition and oxidative stress[J]. *FEBS Lett*, 2001, 495(1-2): 12-15.
- [22] Crouser ED, Julian MW, Dorinsky PM. Ileal VO(2)-O(2) alterations induced by endotoxin correlate with severity of mitochondrial injury[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 1999, 160(4): 1347-1353.
- [23] Soriano FG, Nogueira AC, Caldini EG, et al. Potential role of poly(adenosine 5'-diphosphate-ribose) polymerase activation in the pathogenesis of myocardial contractile dysfunction associated with human septic shock[J]. *Crit Care Med*, 2006, 34(4): 1073-1079.

(本文编辑: 周勇)