

ARDS 时 HO 抗氧化作用机制初探

刘和亮, 赵金垣

(北京大学第三医院职业病研究中心, 北京 100083)

摘要: 目的 探讨血红素氧合酶 (HO) 抗氧化性对急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 的保护作用及其机制。方法 采用电子自旋共振 (ESR) 技术直接测量活性氧 (ROS), 并结合化学发光法和脂质过氧化产物测定等技术来研究 ARDS 发生发展过程中 HO 对自由基的影响。结果 ESR 结果显示, 大鼠注射 OA 后 10 min ROS 含量即升高, 30 min 达到高峰, 以后逐渐下降; HO 组未见 ROS 显著增加; 而化学发光法定量检测和 SOD 检测结果与 ESR 波谱显示的结果完全一致; MDA 检测结果则提示 Hb 诱导 HO 有一定的副作用。结论 ROS 可能是 ARDS 启动的主要病因; HO 有一定的抗氧化能力。

关键词: 急性呼吸窘迫综合征; 血红素氧合酶; 活性氧; 电子自旋共振 (ESR)

中图分类号: R563. 8; Q55 文献标识码: A 文章编号: 1002-221X(2003)02-0067-05

The antioxidation of HO in ARDS induced by chemicals

LIU He-liang, ZHAO Jin-yuan

(Research Center of Occupational Medicine, The Third Clinical Hospital of Peking University, Beijing 100083, China)

Abstract; Objective To investigate the antioxidation of heme oxygenase (HO) in acute respiratory distress syndrome (ARDS) induced by injection of oleic acid. **Method** Reactive oxygen species (ROS) was measured by electron spin resonance (ESR) directly, chemical luminescence, MDA and SOD were used to investigate the effect of HO on free radicals in ARDS. **Result** The spectrum of ESR showed that the concentration of ROS increased at 10 minutes and got summit at 30 minutes after injection of oleic acid (OA), then dropped gradually, whereas it didn't increase greatly in HO-treated groups, moreover, the results of quantified measure by chemical luminescence and SOD assay corresponded with the tendency exhibited in ESR measurement, whereas MDA assay indicated that induction of HO by hemoglobin had some side effect. **Conclusion** The results demonstrated that ROS may be a key factor in the starting phase of ARDS. HO has definite ability of antioxidation.

Key words: Acute respiratory distress syndrome; Heme oxygenase; Reactive oxygen species; Electron spin resonance

血红素氧合酶 (heme oxygenase, HO) 已被发现对多种疾病具有保护作用, 其研究已成为热点之一^[1-3]。我们的初步实验曾发现, 预先诱导 HO 高表达对致死剂量油酸引起的急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 具有惊人的防治效果, 表明 HO 在 ARDS 发病及调控中占有重要地位; 但 HO 在 ARDS 发病机制中的确切作用仍有待阐明, 尤其是有关抗氧化作用机制还未有人涉及。本文拟利用电子自旋共振 (electron spin resonance, ESR)、化学发光法和脂质过氧化产物测定等方法来研究 ARDS 发生发展过程中 HO 对自由基的影响, 以进一步探索 HO 的抗氧化作用机制, 现报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验分组

健康成年雄性 SD 大鼠, 体质量 240~280 g (北京大学医学部实验动物中心提供), 随机分为对照组、ARDS 组、血红蛋白 (hemoglobin, Hb) 对照组和血红蛋白加油酸 (oleic acid, OA) 组。ARDS 组根据观察时间不同共分为 10 min、30 min、1 h、2 h、4 h、6 h 等 6 个亚组; Hb+OA 组按注射 Hb 剂量 (50 mg/kg 体质量、100 mg/kg 体质量和 200 mg/kg 体质量) 分为 3 个亚组, 每组大鼠各 5 只。Hb 临用前自制: 取健康 SD 大鼠颈动脉血, 2 000 r/min, 离心 20 min, 弃上清后加灭菌生理盐水混匀, 2 000 r/min, 离心 20 min; 如此反复洗涤 3 次, 弃上清, 加入注射用蒸馏水, 充分振摇使红细胞溶解、破碎, 再 3 000 r/min, 离心 30 min, 留上清液, 加入 NaCl 使成等渗溶液, 测血红蛋白浓度, 备用。各组大鼠腹腔注射质量分数

收稿日期: 2002-12-25; 修回日期: 2003-02-18

基金项目: 国家自然科学基金课题 (编号: 30170799); 国家教育部博士点基金课题 (编号: 20010001092)

作者简介: 刘和亮 (1968-), 男, 河北唐山人, 副教授, 博士研究生

25%乌拉坦 (1.2 g/kg 体质量) 麻醉, ARDS 组经股静脉注射 OA (化学纯, 北京金龙化学试剂有限公司, 0.15 ml/kg 体质量)。Hb 对照组和 Hb+OA 组经尾静脉注射 Hb, 后者 16 h 后经股静脉再注射 OA。对照组只注射等量生理盐水。ARDS 模型是否成功由动脉血气分析及病理学观察验证。

1.2 样品的采集

各组大鼠在多道生理记录仪监控下经右颈外静脉作肺动脉插管, 并作左颈动脉插管, 插入左心室; 记录肺动脉压和心室压。之后分别采集肺动脉血、左心室血及股静脉血, 其中颈动脉血 0.5 ml 在 NOVA Stat Profile 3 型血气分析仪上做血气分析; 最后打开胸腔, 取出肺组织; Hb+OA 组在注射 OA 后 30 min 取样, 各样品测定见以下项目。

1.3 肺组织微粒体中血红素氧合酶活性测定

1.3.1 肺组织微粒体制备

取前述肺组织按 1:3 体积加入 0.02 mol/L, pH 7.4 的磷酸钾缓冲液 (内含 0.1 mmol/L EDTA, 135 mmol/L KCl) 匀浆 (potter 匀浆器), 双层纱布过滤。将匀浆转入预冷离心管中, 在日立高速冷却离心机 (RPR20-3 型) 上, 4 °C, 13 000 g 离心 20 min, 小心取出全部上清液在超速离心机 (Beckman L5-50E 型) 上, 4 °C, 105 000 g 离心 1 h, 所得沉淀即为肺组织微粒体, 加入 0.02 mol/L 磷酸钾缓冲液悬起, 待测。

1.3.2 HO 活性测定^[4]

1.3.2.1 试剂及其配制 氧化型烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸 (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADP)、6-磷酸葡萄糖脱氢酶 (glucose-6-phosphate dehydrogenase, G6PD)、6-磷酸葡萄糖 (glucose-6-phosphate, G6P) 和氯血红素 (hemin) (天象人生物工程有限公司, BM 产品): 准确称取 NADP 85.4 mg、G6PD 25 μl、G6P 43.74 mg 和 hemin 163 mg, 各加入 pH 7.4 的 0.1 mol/L 磷酸钾缓冲液分别至 40 ml、500 μl、20 ml 和 100 ml。

1.3.2.2 方法 胆红素标准曲线制备: 取胆红素标准 (北京大学第三医院检验科李国权技师惠赠) 加蒸馏水 3 ml 溶解后 (浓度为 0.171 mmol/L), 用 pH 7.4 的 0.1 mol/L 磷酸钾缓冲液稀释至 5.13 μmol/L, 再依次倍比稀释, 浓度分别为 2.57、1.28、0.64、0.32、0.16、0.08 μmol/L, 以 pH 7.4 的 0.1 mol/L 磷酸钾缓冲液调零, 采用双波长分光光度法 (SHIMDU UV-1601 UV-VISIBLE spectrophotometer) 测定 464 ~ 530 nm 下吸光度差值 (ΔA), 以 ΔA 为 x , 以血红素浓度为

y 得回归方程: $y = 12.051 x - 0.019$ ($r = 0.9999$)。

肺组织匀浆液中 HO 测定: 取肺组织匀浆 1 ml, 加肝细胞匀浆 120 μl (2 mg), NADP 1 ml (终浓度 0.8 mmol/L), G6P 0.5 ml (终浓度 1 mmol/L), G6PD 12 μl (终浓度 0.2 μmol/L), hemin 60 μl, 最后加 pH 7.4 的 0.1 mol/L PBS 至 1 ml, 避光, 37 °C 水浴 10 min, 采用双波长分光光度法测定 464 ~ 530 nm 下吸光度差值 (ΔA), 代入上述回归方程, 计算胆红素生成量。结果以生成的胆红素 nmol/ (mg·h) 来表示 HO 活性。

1.4 肺组织 ROS 的 ESR 测定

试剂: *N*-特丁基- α -苯硝酮 (*N*-tert-butyl- α -phenyl-nitron, PBN, 美国 Sigma 公司), 二乙三胺五乙酸 (diethylenetriamine pentaacetic acid, DETAPAC), 乙酸乙酯 (分析纯, 北京化工厂)。捕集剂配制: 100 mmol/L PBN, 2 mmol/L DETAPAC 溶于 pH 7.4 的 PBS 中。

取 2 g 肺组织, 加 1 ml 捕集剂, 电动匀浆 2 min, 取出后加入 0.6 ml 乙酸乙酯, 14 000 r/min 离心 10 min (或 15 000 r/min, 5 min)。取上层乙酸乙酯分离入 EP 管内, 0 ~ 4 °C 保存, 2 h 内检测。

ROS 测定采用 ESR 波谱仪测定: 使用 Varian E-109E ESR 波谱仪, 检测条件: 中心磁场 3 445 G, X 波段微波功率 20 mW, 调制 100 kHz, 调制幅度 2.5 G, 扫宽 200 G, 磁场频率 9.47 GHz, 时间常数 0.128。

1.5 化学发光法测定超氧阴离子

WDD-1 型发光测试仪 (北京第二光学仪器厂)。试剂: 碳酸缓冲液, pH = 10, 0.1 mol/L; 发光液 (Luminol, 10 mmol Luminol 贮备液冷藏保存, 用时稀释 100 倍)。操作过程: 顺序加入邻苯三酚 10 μl、4 mmol/L NaOH 80 μl、Luminol 900 μl, 血清样品 10 μl, 混合后检测, 记录读数。

1.6 丙二醛 (MDA) 及超氧化物歧化酶 (SOD) 的测定

采用南京建成生物工程研究所提供的 MDA、SOD 测定试剂盒, 具体操作见说明书。

1.7 统计学分析

数据经 SPSS 10.0 软件程序处理, 结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 不同组别、不同取血途径数值比较采用方差分析; 采用 Macrocal Origin 6.0 软件作图。

2 结果

2.1 肺组织匀浆 (微粒体) 中 HO 活性水平

表 1 可见, 给大鼠注射 Hb 后 16 h, Hb 对照组和 Hb+OA 组肺组织匀浆中 HO 活性均见明显增加, 表明 Hb 已成功诱导了 HO 的高表达。

表 1 肺组织匀浆中血红素氧合酶 (HO) 活性 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	HO [nmol/ (mg·h)
对照组 (control)	5	2.41 ± 0.29
Hb 对照组 (Hb control)	5	5.26 ± 1.01 **
Hb+OA 组	5	6.30 ± 0.78 **

与对照组比较: ** $P < 0.01$

2.2 肺组织中 ROS 测定

如图 1 所示, 肺组织中 ROS 的含量早期即显著升高, 30 min 达到最高, 以后逐渐下降, 到 6 h 已接近正常。Hb 对照组也有一定的自由基信号, 但 Hb+OA 组并未见 ROS 显著增加, 其信号强度大致相当于 ARDS 组 6 h, 亦即大致恢复至正常的水平。

2.3 化学发光法测定超氧阴离子 (O_2^-)

由 ESR 结果可知, 肺中自由基含量在注射 OA 30 min 后达到高峰, 故确定 Hb+OA 组在注射 OA 后 30 min 取样, 测定结果见表 2。由表 2 结果可知, 注射 OA 后 O_2^- 含量显著升高, 至 30 min 最高, 之后逐渐下降, 与 ESR 波谱显示的结果一致。不同取血途径结果比较则显示, 10 min 至 4 h 组左心室显著高于其他途径; 1 h、2 h 和 4 h 肺动脉和静脉取血途径间差异有显著性; 6 h 时左心室仍显著高于静脉血, 见图

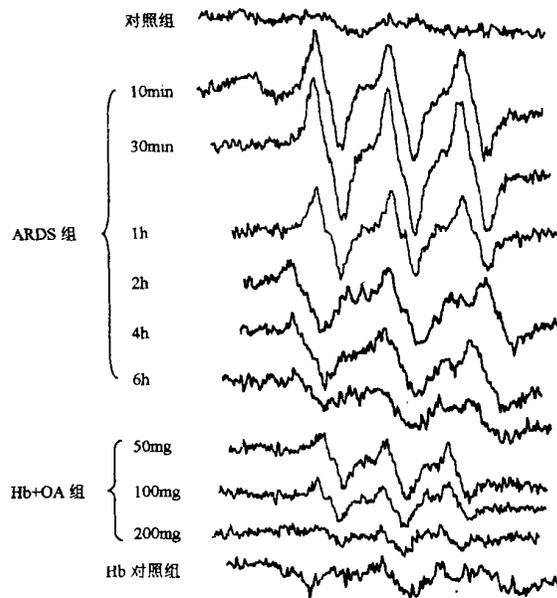


图 1 各组大鼠肺组织 ESR 波谱比较

2。Hb+OA 各组 O_2^- 生成虽仍高于对照组, 但总体来看, 其 O_2^- 含量仅相当于 ARDS 组 4 h 以后的恢复阶段, 与 ARDS 30 min 组相比 O_2^- 含量显著减少。各取血途径间差异没有显著性, 见图 3。

表 2 化学发光法超氧阴离子 (O_2^-) 测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

a. u.

组别	样本数	肺动脉血	左心室血	股静脉血
对照组 (control)	5	63.54 ± 2.30	64.58 ± 1.57	61.34 ± 2.35
Hb 对照组 (Hb control)	5	91.92 ± 11.46 *	91.82 ± 6.19 *	88.52 ± 10.55 *
ARDS 组 10 min	5	260.44 ± 18.54 * #	289.86 ± 12.06 *	250.96 ± 5.28 * #
ARDS 组 30 min	5	319.46 ± 6.99 * #	444.54 ± 6.16 *	314.44 ± 11.86 * #
ARDS 组 1 h	5	289.66 ± 15.18 * #△△	403.32 ± 6.00 *	259.40 ± 20.44 * #
ARDS 组 2 h	5	264.88 ± 15.34 * #△△	338.34 ± 13.22 *	211.38 ± 11.33 * #
ARDS 组 4 h	5	120.96 ± 10.18 * △	188.60 ± 19.53 *	100.36 ± 7.52 *
ARDS 组 6 h	5	93.44 ± 5.30 * #	101.82 ± 7.52 *	82.78 ± 11.42 *
Hb+OA 组 50 mg	5	162.66 ± 10.64 * ▲☆	165.50 ± 8.53 * ▲☆	156.40 ± 6.93 * ▲☆
Hb+OA 组 100 mg	5	148.30 ± 8.15 * ▲☆	152.02 ± 6.59 * ▲☆	140.06 ± 13.67 * ▲☆
Hb+OA 组 200 mg	5	125.72 ± 18.96 * ▲☆	142.46 ± 7.52 * ▲☆	120.70 ± 13.27 * ▲☆

与对照组比较, * $P < 0.01$; 与同时间点 LVB 比较, # $P < 0.01$; PA 与 FVB 比较, △ $P < 0.05$ △△ $P < 0.01$; 与 Hb 对照组比较, ▲ $P < 0.01$; 与 ARDS 30 min 组比较, ☆ $P < 0.01$

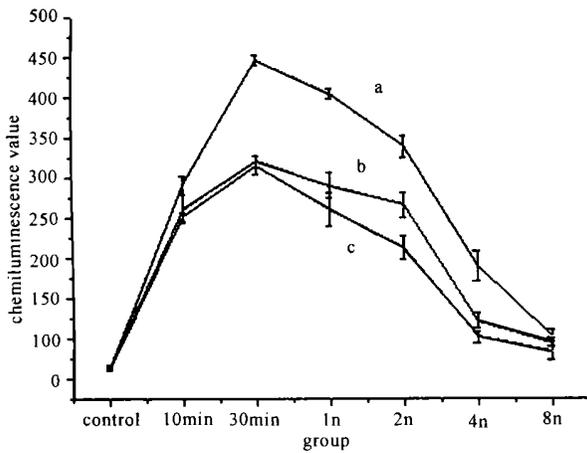
2.4 丙二醛 (MDA) 及超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的测定

由表 3 结果可知, 大鼠注射 OA 后与对照组相比 SOD 活性下降, 至 30 min 达最低点, 以后逐渐上升, 6 h 后基本恢复正常; 而 MDA 与对照组相比则显著升高, 先是在 30 min 达到一个高峰, 然后下降, 4 h 后又明显升高。Hb 对照组和 Hb+OA 50 mg 组 SOD 活性

与对照组相比下降明显, 但都明显高于 ARDS 30 min 组; MDA 各组与对照组相比显著升高, Hb+OA 50 mg 和 100 mg 组更是显著高于 ARDS 30 min 组。

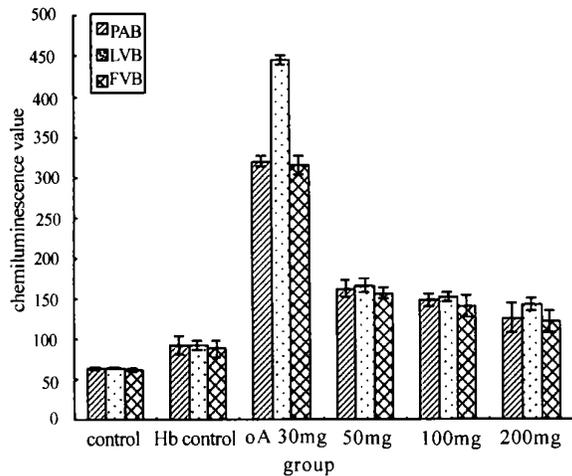
3 讨论

血红素氧合酶是一种催化血红素降解为一氧化碳、铁和胆红素的起始酶和限速酶, 有着重要的生物学作用^[3]。近年来发现它除了原有的降解血红素功能



a —— 左心室血; b —— 肺动脉血; c —— 股静脉血

图2 不同取血途径化学发光法超氧阴离子测定结果



PAB —— 肺动脉血; LVB —— 左心室血; FVB —— 股静脉血

图3 不同剂量Hb预防ARDS的化学发光法超氧阴离子测定结果

表3 ARDS大鼠左心室血中SOD及MDA的测定结果 ($\bar{x} \pm s$)

组别	样本数	SOD (NU/ml)	MDA (nmol/ml)
对照组 (control)	5	50 975 ± 1 975	1.187 ± 0.158
ARDS组 10 min	5	45 525 ± 1 784 **	3.905 ± 1.061 **
30 min	5	41 501 ± 2 109 **	4.455 ± 0.693 **
1 h	5	52 899 ± 4 614	3.015 ± 0.608 **
2 h	5	53 501 ± 2 481	2.755 ± 0.760 **
4 h	5	49 880 ± 2 214	4.550 ± 1.525 **
6 h	5	50 640 ± 6 041	5.327 ± 1.103 **
Hb 对照组 (Hb control)	5	46 254 ± 1 785 ** # #	5.034 ± 0.897 **
Hb + OA 组 50mg	5	45 701 ± 0 572 ** # #	6.345 ± 0.674 ** # #
100 mg	5	48 000 ± 2 562 # #	5.788 ± 0.396 ** # #
200 mg	5	48 375 ± 2 237 # #	5.503 ± 1.208 **

与对照组比较, ** $P < 0.01$; Hb组与ARDS 30 min组比较, # # $P < 0.01$

外,还在许多生理和病理过程中起重要的调节作用。

尤其是它还具有组织器官的保护作用,故已逐渐成为目前研究的一个热点^[1-3]。在我们对临床上常见的急危重症急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 发病机制的研究中已初步显示,投用HO的诱导剂如血红蛋白或血红素可完全预防致死剂量油酸引起的ARDS,提示HO在ARDS发病及调控中占有十分重要的地位,但HO这种保护作用的机制目前还不清楚,推测抗氧化在其保护作用机制中可能发挥重要作用。本研究采用电子自旋共振 (electron spin resonance, ESR)、化学发光等生物物理技术以及脂质过氧化反应的生化检测探索HO的抗氧化作用在ARDS发病过程中的价值。

自旋捕集技术是通过电子自旋捕集剂与自由基先形成较为稳定的自旋加合物再行ESR检测,是目前检测自由基的最佳手段。先期研究已证实油酸造成的化学性ARDS模型中起主要作用的自由基是超氧阴离子 O_2^- (另文报道),故本研究应用化学发光法定量测量不同取血途径的 O_2^- 含量,结果显示ARDS大鼠肺组织中ROS的含量早期即显著升高,30 min达到最高,其改变早于病理形态^[9]。给Hb后成功诱导了HO的高表达,再给油酸后大鼠肺内自由基含量并没有显著增加,其信号强度大致相当于ARDS组4 h接近恢复的 O_2^- 水平;化学发光法测定结果与ESR波谱显示的一致,提示HO可明显降低 O_2^- 的含量。脂质过氧化测定进一步显示HO可维持一定水平的SOD活性,表明HO确实具有一定的抗氧化作用。

HO是目前发现的生物体内最易被诱导产生的抗氧化酶类,其抗氧化作用无疑与它的催化分解产物有关^[7]。近年的研究发现过去被视为有毒代谢废物的胆红素也是一种有效的抗氧化剂,其抗氧化能力甚至超过了维生素E和C。体外实验发现胆红素可保护培养的内皮细胞和神经细胞对抗氧化性损伤^[8-10]。CO是继NO后证实的体内另一种重要的气体信使分子,在体内有着重要的生理作用^[11,12];动物接受低剂量的CO (1/20的致死量)可大大提高动物对高氧性损害的耐受性,并能明显减轻高氧所致的胸腔积液、肺水肿、肺内中性粒细胞 (PMN) 聚集,降低肺支气管肺泡灌洗液中的蛋白含量,CO的此种保护作用可能与其抗炎症细胞浸润、抗内皮细胞凋亡有关^[13,14]。但铁是否参与HO的细胞保护作用还存在争议,一种观点认为铁明显参与了HO的细胞保护作用,主要由于铁可诱导铁蛋白生成,铁蛋白作为一个“储存库”可

限制铁参与过氧化氢及超氧阴离子生成而减少过氧自由基毒性反应^[1]；铁还可能通过 Fenton 反应参与活性氧如超氧阴离子和过氧化氢的生成而减弱 HO 的细胞保护作用^[15, 16]，因此铁是否参与 HO 的细胞保护作用还需进一步的实验验证。

本研究结果显示 HO 有一定的抗氧化能力，可防御自由基损伤，有效保护血管内皮细胞并进而防止 ARDS 的发生，但给 Hb 后对照组可见一定的自由基信号，同时 MDA 含量升高，提示应用 Hb 诱导 HO 有一定的副作用，这可能是 Hb 本身可产生羟自由基参与氧化性损伤，与 OA 引起的脂质过氧化产物堆积所致^[17]。由于 Hb 本身的副作用，限制了 HO 的抗氧化防御能力，如何能有效诱导 HO 的活性最大限度地发挥其抗氧化能力而不产生副作用，以及确定 HO 催化分解的产物究竟在抗氧化防御中起什么作用，都是今后值得进一步探索的课题。

ARDS 的研究已进行了多年，但目前仍缺乏有效的防治手段。研究 HO 的抗氧化防御机制不但可将 ARDS 发病机制的认识大大推进一步，且可为临床有效防治 ARDS 开拓一条新的思路，为开发临床有效的干预手段提供新的信息。

(本研究得到中科院生物物理所赵保路教授、张德良博士的大力协助，在此表示衷心的感谢！)

参考文献:

- [1] Immenschuh S, Ramadori G. Gene regulation of heme oxygenase-1 as a therapeutic target [J]. *Biochem Pharmacol*, 2000, 60 (8): 1121-1128.
- [2] Otterbein LE, Kolls JK, Mantell LL, et al. Exogenous administration of heme oxygenase-1 by gene transfer provides protection against hyperoxia induced lung injury [J]. *J Clin Invest*, 1999, 103: 1047-1054.
- [3] Otterbein LE, Choi AM. Heme oxygenase: colors of defense against cellular stress [J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2000, 279 (6): L1029-1037.
- [4] Canaway MS, Ghio AJ, Taylor JL, et al. Induction of ferritin and heme

oxygenase-1 by endotoxin in the lung [J]. *Am J Physiol*, 1998, 275 (3 Pt 1): L583-592.

- [5] Morse D, Choi AM. Heme oxygenase-1, the "emerging molecule" has arrived [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2002, 27: 8-16.
- [6] 刘宏, 赵金垣. 肺循环高凝状态——成人呼吸窘迫综合征的发病机理研究 [J]. *中华劳动卫生与职业病杂志*, 1996, 14 (4): 193.
- [7] Clark JE, Foresti R, Green CJ, et al. Dynamics of haem oxygenase-1 expression and bilirubin production in cellular protection against oxidative stress [J]. *Biochem J*, 2000, 348 Pt 3: 615-619.
- [8] Foresti R, Sarathchandra P, Clark JE, et al. Peroxynitrite induces haem oxygenase-1 in vascular endothelial cells: a link to apoptosis [J]. *Biochem J*, 1999, 339: 729-736.
- [9] Motterlini R, Foresti R, Intaglietta M, et al. NO-mediated activation of heme oxygenase: endogenous cytoprotection against oxidative stress to endothelium. *Am J Phys*, 1996, 270: H107-114.
- [10] Dore S, Takahashi M, Ferris CD, et al. Bilirubin, formed by activation of heme oxygenase-2 protects neurons against oxidative stress injury [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96: 2445-2450.
- [11] Snyder SH, Jaffrey SR, Zakhary R. Nitric oxide and carbon monoxide: parallel roles as neural messengers [J]. *Brain Res Rev*, 1998, 26: L167-175.
- [12] 陈莉, 赵金垣. 一种新的细胞信息分子——一氧化碳 [J]. *中华内科杂志*, 1999, 38 (4): 270-272.
- [13] Brouard S, Otterbein LE, Anrather J, et al. Carbon monoxide generated by heme oxygenase-1 suppresses endothelial cell apoptosis [J]. *J Exp Med*, 2000, 192 (7): 1015-1026.
- [14] Otterbein LE, Bach FH, Alam J, et al. Carbon monoxide has anti-inflammatory effects involving the mitogen-activated protein kinase pathway [J]. *Nat Med*, 2000, 6 (4): 422-428.
- [15] Dennery PA. Regulation and role of heme oxygenase in oxidative injury [J]. *Curr Top Cell Regul*, 2000, 36: 181-199.
- [16] Elbit KK, Bonkovsky HL. Heme oxygenase: recent advances in understanding its regulation and role [J]. *Proc Assoc Am Physicians*, 1999, 111 (5): 438-447.
- [17] Bruce R, Van D, Paul S. Hemoglobin: A mechanism for the generation of hydroxyl radicals [J]. *Free Radical Bio & Med*, 1996, 20 (7): 985-989.

关于举办国家级医学继续教育培训班的通知

经中华人民共和国卫生部继续教育委员会批准(项目编号: 2003-13-01-027), 中国医科大学第二临床学院拟于 2003 年第二季度, 在辽宁省沈阳市举办《临床药理学与治疗药物新进展》培训班, 届时将邀请国内知名药理学专家授课。培训班结束后, 将授予学员国家级继续医学教育学分(I 类 10 分), 热忱欢迎各级医院的临床医师、药师及护师踊跃报名参加。培训班报名工作现已开始, 请参加者尽早将包括“姓名、性别、年龄、职称/职务、单位全称、电话、地址、邮编、是否住宿”等内容的报名函寄至: 沈阳市和平区文化路 26 号, 中国医科大学第二临床学院药剂科邱枫收, 邮编: 110004。咨询电话: (024) 83956565, 传真: (024) 23925108。培训班具体开班时间、地点另行通知。