

锰对大鼠脑线粒体能量代谢的影响

张芳林, 徐兆发*, 高键, 徐斌, 邓宇, 贾克

(中国医科大学公共卫生学院环境卫生学教研室, 辽宁 沈阳 110001)

摘要: 目的 通过线粒体孵育液染锰并用 NAC 干预研究锰对大鼠线粒体能量代谢的影响及 NAC 的防护效果。方法 Wistar 大鼠 12 只, 麻醉后断头取脑, 梯度离心得线粒体液。将所得线粒体液分为 6 组, 第 1 组为对照组; 第 2~5 组为不同剂量染锰组, 分别加入 5 50 500 1 000 $\mu\text{mol/L}$ MnCl_2 ; 第 6 组为 NAC 预处理组, 线粒体液先用 500 $\mu\text{mol/L}$ NAC 预处理 1 h 后加 500 $\mu\text{mol/L}$ MnCl_2 。各组于培养箱内 30℃ 孵育 2 h 后测顺乌头酸酶、线粒体复合体 I 的活性和线粒体膜电位, 每个指标重复测量 6 次。结果 与对照组相比, 500 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 染锰组顺乌头酸酶活性显著降低 ($P < 0.05$), 50 500 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 染锰组线粒体复合体 I 的活性和线粒体膜电位显著降低 ($P < 0.05$), 且在一定范围内随着 MnCl_2 剂量增加, 顺乌头酸酶、线粒体复合体 I 的活性和线粒体膜电位有降低趋势。与单纯染锰组相比, NAC 预处理组顺乌头酸酶、线粒体复合体 I 的活性和线粒体膜电位显著升高 ($P < 0.05$)。结论 锰可以剂量依赖性诱导大鼠脑线粒体能量代谢降低; NAC 预处理能预防锰所致大鼠脑线粒体能量代谢降低。

关键词: 锰; N-乙酰半胱氨酸; 能量代谢; 线粒体损伤

中图分类号: O614.711 **文献标识码:** A **文章编号:** 1002-221X(2007)06-0367-04

Effect of manganese chloride on energy metabolism of brain mitochondria of rat

ZHANG Fanglin, XU Zhao-fa*, GAO Jian, XU Bin, DENG Yu, JIA Ke

(College of Public Health, China Medical University, Shenyang 110001, China)

Abstract: Objective To elucidate the effect of MnCl_2 exposure on energy metabolism of brain mitochondria of rat and the preventive effect of NAC in vitro. Method Mitochondria from Wistar rats' whole brain were prepared using gradient centrifugation, then were incubated with different concentrations of MnCl_2 (5 $\mu\text{mol/L}$, 50 $\mu\text{mol/L}$, 500 $\mu\text{mol/L}$, 1 000 $\mu\text{mol/L}$) at 30℃ for 2 h, only one group of mitochondria was pretreated with 500 $\mu\text{mol/L}$ of NAC for 1 h and incubated with 500 $\mu\text{mol/L}$ of MnCl_2 again. The activities of aconitase, mitochondrial complex I and the membrane potential of mitochondria were detected. Result The results showed that the aconitase activities in 500 $\mu\text{mol/L}$ 1 000 $\mu\text{mol/L}$ MnCl_2 groups were reduced, and the mitochondrial complex I activity, mitochondrial membrane potential in 50 500 1 000 $\mu\text{mol/L}$ MnCl_2 groups were also significantly decreased compared to the controls ($P < 0.05$). While in 500 $\mu\text{mol/L}$ NAC pretreated group, the activities of aconitase, mitochondrial complex I and the membrane potential of mitochondria were all increased compared to 500 $\mu\text{mol/L}$ MnCl_2 group ($P < 0.05$). Conclusion It is suggested that manganese could dose-dependently induce the decline of energy metabolism of brain mitochondria in rat; this change could be prevented by pretreating with NAC.

Key words: Manganese; N-acetylcysteine; Energy metabolism; Mitochondrion damage

锰 (Mn) 是重要的环境和工业污染物, 过量摄入会对脑、肝、肾等产生有害影响, 甚至会导致畸、致突变^[1]。脑是锰毒作用的主要靶器官, 职业工人长期接触锰尘, 可出现类似帕金森病的临床表现^[2]。锰的毒性机制现在还不太清楚, 研究表明其很可能与线粒体的结构和功能异常有关。锰对线粒体具有特殊的亲和力, 它可蓄积于富含线粒体的组织中, 细胞内的锰约 2/3 特异地贮留在线粒体基质内^[3]。有研究发现锰可改变线粒体的形态, 使线粒体复合体 II 的活性降低, 从而使 ATP 合成下降^[4]。

锰还可以引起线粒体基因突变, 导致细胞凋亡^[5]。然而关于锰对线粒体功能影响的报道较少, 且线粒体功能的改变在锰中毒中的作用仍不清楚。N-乙酰半胱氨酸 (N-acetylcysteine, NAC) 是合成谷胱甘肽的前体, 为一种巯基供给剂, 同时 NAC 自身也是一种抗氧化剂^[6]。本实验通过线粒体孵育液染锰并用 NAC 干预研究锰对大鼠脑线粒体能量代谢的影响, 为阐明锰的毒性机制和锰中毒的治疗提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 脑线粒体的制备

由中国医科大学实验动物中心提供实验用 Wistar 大鼠 12 只, 雌雄各半, 体重 170~190 g。实验前适应性饲养 7 d。线粒体制备用梯度离心法, 方法如下: 大鼠麻醉断头处死取出整个大脑, 每次切取 0.15~0.20

收稿日期: 2007-06-25 修回日期: 2007-08-25

基金项目: 辽宁省教育厅科学研究项目 (项目编号: 2004Q025)

作者简介: 张芳林 (1983—), 硕士研究生, 研究方向: 环境毒理学。

* 通讯作者, 教授, 博士生导师, 研究方向: 环境毒理学。

脑组织分别放入 1.5 ml 匀浆液 (蔗糖 250 mmol/L, EDTA 0.5 mmol/L, Tris 10 mmol/L, pH 7.40) 中, 于玻璃匀浆器中手动匀浆 15 次, 2 000 g 离心 3 min 取上清, 于 12 000 g 离心 8 min 弃上清, 用 0.5 ml 3% Ficol 液 (Ficoll 3%, 甘露醇 120 mmol/L, 蔗糖 30 mmol/L, EDTA 25 μ mol/L) 将沉淀悬起, 加 1 ml 6% Ficol 液 (Ficoll 6%, 甘露醇 120 mmol/L, 蔗糖 30 mmol/L, EDTA 25 μ mol/L), 11 500 g 离心 30 min 弃上清, 加 1.0 ml 匀浆液, 将所得所有线粒体液混匀备用^[7] (以上过程均在 4℃ 下操作)。

1.2 线粒体的孵育

将所得线粒体液分为 6 组, 第 1 组为对照组; 第 2~5 组为不同剂量染锰组, 分别加入 5、50、500、1 000 μ mol/L $MnCl_2$; 第 6 组为 NAC 预处理组, 线粒体液先用 500 μ mol/L NAC 预处理 1 h 后加 $MnCl_2$ (浓度为 500 μ mol/L, pH 7.4)。各组于培养箱内 30℃ 孵育 2 h 后测顺乌头酸酶、线粒体复合体 I 的活性和线粒体膜电位, 每个指标重复测量 6 次。

1.3 指标测定及方法

1.3.1 顺乌头酸酶 取 50 μ l 线粒体孵育液加入顺乌头酸酶测定体系 (0.145 mmol/L 柠檬酸, 7.25 μ mol/L K_2PO_4 , pH 7.40, 体积 3 ml, 温度 25℃) 作用 1 min 于 240 nm 波长处 3 min 内动态测定吸光度^[8]。柠檬酸吸光系数为 3.41 mmol/(L·cm)。

1.3.2 线粒体复合体 I 在 A 管中分别加入 400 μ l 反应缓冲液 (Tris 10 mmol/L, KCl 50 mmol/L, KCN 2 mmol/L, pH 8.0), 100 μ l 线粒体孵育液, 37℃ 水浴 10 min 后, 加入 10 μ l 抗霉素 A (0.12 g/L)。在 B 管中加入 480 μ l 反应缓冲液, 10 μ l NADH (10 mmol/L), 10 μ l 卵磷脂 (10 g/L), 4 μ l 癸基泛醌 (10 mmol/L), 37℃ 水浴 5 min 将 A、B 管两管混合后于 340 nm 波长处 10 min 内动态测定吸光度^[9]。NADH 的吸光系数为 6.81 mmol/(L·cm)。

1.3.3 线粒体膜电位 各测定管加入 2.5 ml 反应缓冲液 (蔗糖 15 mmol/L, $MgCl_2$ 5 mmol/L, 琥珀酸钠 5 mmol/L, K_2HPO_4 5 mmol/L, Hepes 20 mmol/L, pH 7.40), 40 μ l Rh123 (26 μ mol/L), 补水至 3 ml 用单波长荧光分光光度计测量 (激发波长 503 nm, 发射波长 527 nm) 基础荧光值, 再加入 10 μ l 线粒体孵育液混匀, 室温放置 10 min 后观察样品荧光值的改变^[10]。

蛋白含量的测定用 Lowry 法^[11]。

1.4 统计分析

实验所得数据以平均值 $\pm$ 标准差表示, 用 SPSS13.0 软件单因素方差分析进行组间差异的显著

性检验, 两组间比较用 Q 检验 (students newman-keuls SNK)。

2 结果

2.1 大鼠脑顺乌头酸酶和线粒体复合体 I 活性

从表 1 可见, 与对照组比, 500、1 000 μ mol/L 染锰组顺乌头酸酶活性显著降低 ($P < 0.05$); 50、500、1 000 μ mol/L 染锰组线粒体复合体 I 活性显著降低 ($P < 0.05$)。且在一定范围内随着 $MnCl_2$ 剂量增加, 顺乌头酸酶和线粒体复合体 I 活性有降低趋势。

表 1 不同 $MnCl_2$ 浓度下大鼠脑线粒体顺乌头酸酶和线粒体复合体 I 活性 ($\bar{x} \pm s$) mol/(min·mg Pro)

$MnCl_2$ (μ mol/L)	n	顺乌头酸酶	线粒体复合体 I
0	6	22.58 $\pm$ 0.17	64.92 $\pm$ 0.81
5	6	22.09 $\pm$ 0.60	64.58 $\pm$ 1.52
50	6	22.06 $\pm$ 0.33	61.05 $\pm$ 1.52 [▲]
500	6	19.04 $\pm$ 0.48 ^{*▲}	50.85 $\pm$ 1.79 [▲]
1 000	6	18.21 $\pm$ 0.28 ^{*▲◆}	47.79 $\pm$ 1.37 ^{*▲◆}
F=251.34 P=1.56 $\times 10^{-23}$ F=167.41 P=5.71 $\times 10^{-21}$			

与对照组比较 * $P < 0.05$ 与 5 μ mol/L 染锰组比较, [▲] $P < 0.05$ 与 50 μ mol/L 染锰组比较 $P < 0.05$ 与 500 μ mol/L 染锰组比较 [◆] $P < 0.05$ 表 2 同。

2.2 大鼠脑线粒体膜电位

从表 2 可见, 与对照组比, 50、500、1 000 μ mol/L 染锰组线粒体膜电位显著降低 ($P < 0.05$)。且在一定范围内随着 $MnCl_2$ 剂量增加, 线粒体膜电位有降低趋势。

表 2 不同 $MnCl_2$ 浓度下大鼠脑线粒体膜电位平均荧光强度 ($\bar{x} \pm s$)

$MnCl_2$ (μ mol/L)	n	线粒体膜电位荧光强度
0	6	40.55 $\pm$ 0.56
5	6	39.09 $\pm$ 1.72
50	6	38.30 $\pm$ 0.93 [*]
500	6	26.85 $\pm$ 1.46 ^{*▲}
1 000	6	21.79 $\pm$ 1.46 ^{*▲◆}
F=317.21 P=5.14 $\times 10^{-25}$		

2.3 NAC 预处理大鼠脑顺乌头酸酶和线粒体复合体 I 活性

从表 3 可见, 与对照组比, 单纯染锰组顺乌头酸酶和线粒体复合体 I 活性显著降低 ($P < 0.05$); 与单纯染锰组比较, NAC 预处理组脑顺乌头酸酶和线粒体复合体 I 活性显著升高 ($P < 0.05$)。

2.4 NAC 预处理大鼠脑线粒体膜电位

从表 4 可见, 与对照组比, 线粒体膜电位显著降低 ($P < 0.05$); 与单纯染锰组比较, NAC 预处理组线粒体膜电位活性显著升高 ($P < 0.05$)。

表 3 各组大鼠脑顺乌头酸酶和线粒体复合体 I 活性 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	顺乌头酸酶	线粒体复合体 I
		[nmol/(min·mg Pro)]	[nmol/(min·mg Pro)]
对照组	6	22.58±0.17	64.92±0.81
MnCl ₂	6	19.04±0.48*	50.84±1.78*
NAC+MnCl ₂	6	22.23±0.43▲	63.71±1.37▲

$$F=295.99 \quad P=3.85 \times 10^{-13} \quad F=191.12 \quad P=2.13 \times 10^{-11}$$

与对照组比较 * $P < 0.05$ 与单纯染锰组比较 ▲ $P < 0.05$ 表 4 同。

表 4 各组大鼠脑线粒体膜电位平均荧光强度 ($\bar{x} \pm s$)

分组	n	线粒体膜电位荧光强度
对照组	6	40.55±0.56
MnCl ₂	6	26.85±1.46*
NAC+MnCl ₂	6	39.41±0.78▲

$$F=617.66 \quad P=3.92 \times 10^{-15}$$

3 讨论

线粒体是能量代谢的主要场所,也是易受外来化合物累及的位点^[12]。线粒体基质的三羧酸循环酶系通过底物脱氢生成 NADH, NADH 通过呼吸链氧化导致跨膜质子移位形成跨膜电位, ATP 合成酶利用跨膜质子能量梯度合成 ATP。中枢神经系统中几乎无能量储备,且脑中 95% 以上的能量由葡萄糖代谢提供,因此中枢神经系统功能与线粒体能量代谢的状态密切相关。

顺乌头酸酶 (aconitase) 是三羧酸循环中的酶,催化柠檬酸生成异柠檬酸。本研究发现, 500、1 000 $\mu\text{mol/L}$ MnCl₂ 导致顺乌头酸酶活性降低,这与 Wei Zheng 等的研究结果是一致的^[13]。顺乌头酸酶含有 [4Fe4S] 中心, 3 个铁原子与半胱氨酸残基相结合,第四个铁原子 Fe α 暴露于胞浆中,催化柠檬酸生成异柠檬酸,然而由于 Fe α 暴露于胞浆中很容易受各种化合物的攻击。Wei Zheng 等认为锰和铁的原子的半径和化学性质相近,锰可以取代 Fe α ,使顺乌头酸酶活性降低^[13]。本研究中 NAC 预处理导致顺乌头酸酶活性升高,说明锰诱导的自由基增加也可使顺乌头酸酶活性降低。失活的顺乌头酸酶形成 [3Fe4S]⁺ 残基,同时释放等量的 Fe²⁺ 和 H₂O₂,而 Fe²⁺ 和 H₂O₂ 是 Fenton 反应的成分,他们可生成活性特别高的 $\cdot\text{OH}$ 。且 Gerald S Shade 发现顺乌头酸酶与线粒体 DNA 紧密相连形成“类核体”^[14],所以产生的 $\cdot\text{OH}$ 可以攻击线粒体 DNA 引发一系列的后续损伤。另外顺乌头酸酶活性降低可导致线粒体能量代谢障碍,ATP 合成下降。线粒体复合体 I (mitochondrial complex I) 是呼吸链的入口,也是呼吸链上分子量最大和最重要的酶,许多线粒体疾病都与其缺乏和损伤有关^[15]。本研究中 50、500、1 000 $\mu\text{mol/L}$ MnCl₂ 导致线粒体复合体 I 活性降低, NAC 预处理组

活性升高,可能是锰损伤线粒体复合体 I 的 [Fe-S] 基团和导致 -SH 交联形成 S-S 而使其活性降低。线粒体复合体 I 活性降低可阻断 NADH 进入呼吸链进行电子传递,导致细胞能量代谢障碍,ATP 合成受阻;并且使 C α Q 部位聚集的电子增多,导致电子漏流增加,自由基产生增多。线粒体膜电位 (mitochondrial membrane potential, MMP) 是由线粒体内膜两侧质子及其他离子不对称分布形成的,为保持线粒体正常功能所必需的,是评价线粒体功能的敏感指标^[16]。本研究发现, 50、500、1 000 $\mu\text{mol/L}$ MnCl₂ 导致 MMP 降低, NAC 预处理导致 MMP 升高。MMP 下降,将导致线粒体能量代谢障碍,ATP 合成降低。同时 MMP 降低还是凋亡的一个早期事件,该过程早于 DNA 片断化和磷脂酰丝氨酸残基暴露于细胞表面。一旦 MMP 耗散,细胞将进入不可逆的死亡过程,即使消除凋亡因素,细胞也会发生凋亡^[17]。

本研究结果显示,锰引起大鼠脑线粒体顺乌头酸酶、线粒体酶复合体 I 活性和 MMP 降低,从而导致线粒体能量代谢降低,ATP 生成减少。另外顺乌头酸酶和线粒体复合体 I 活性降低可导致自由基产生增多,过多的自由基不能被及时清除,可引起生物膜结构蛋白质和脂质过氧化,损害线粒体膜的通透性,使 ATP 合成进一步下降,形成恶性循环,造成神经系统的损伤。MMP 下降,可以引起神经元的凋亡。另外,本研究显示 NAC 对锰致顺乌头酸酶和线粒体酶复合体 I 活性和 MMP 降低有很好的拮抗作用。由于 NAC 具有清除自由基、调节细胞代谢、抗细胞凋亡等作用,已较多应用于临床和实验研究中^[18],而在重金属特别是锰毒性的研究和治疗中却不多见,因此利用 NAC 深入研究锰的毒性机制和治疗锰中毒方面具有广阔的前景。

参考文献:

- [1] Aschner M, Erikson KM, Doman D C. Manganese dosimetry: species differences and implications for neurotoxicity [J]. Crit Rev Toxicol 2005; 35: 1-32.
- [2] Erikson KM, John C E, Jones S R, et al. Manganese accumulation in striatum of mice exposed to toxic doses is dependent upon a functional dopamine transporter [J]. Environ Toxicol Pharmacol 2005; 29: 390-394.
- [3] Gavin C E, Gunter K K, Gunter T E. Manganese and calcium efflux kinetics in brain mitochondria: relevance to manganese toxicity [J]. Biochem 1990; 266: 329-334.
- [4] Malecki E A. Manganese toxicity is associated with mitochondrial dysfunction and DNA fragmentation in rat primary striatal neurons [J]. Brain Res Bull 2001; 55 (2): 225-228.

(下转第 372 页)

3 讨论

已有的研究表明, PFIB吸入性急性肺损伤与其他因素如缺血再灌注、脂多糖、油酸等所诱发的急性肺损伤相似, 即亦存在着 NF- κ B 激活、致炎细胞因子 (如 IL-1 β 、IL-8、TNF α 等) 的过度表达、肺内中性粒细胞的聚集和扣押, 以及中性细胞分泌蛋白分解酶 (主要是弹性蛋白酶) 水平的显著升高等诸多环节^[1, 3, 4, 6]。而且我们前期的药物干预探索研究表明 PDTC 通过抑制 NF- κ B 活化对 PFIB 吸入性肺损伤具有预防性保护作用^[2, 3], 盐酸四环素对 PFIB 吸入性肺损伤具有一定的预防性保护和治疗作用^[4]。盐酸四环素对抗 PFIB 吸入性肺损伤的作用可能源于其对 PFIB 吸入性肺损伤中肺组织局部聚集和扣押的中性粒细胞释放的弹性蛋白酶的抑制 (实验数据尚未发表)。在此基础上, 通过比较 HDTC 预防和 Te 治疗以及二者联合应用对 PFIB 吸入性肺损伤的作用, 发现在 PFIB 较低剂量染毒条件下, HDTC 预防、Te 治疗以及二者联用均可以减轻肺损伤的病变严重程度 (图 1), 联合应用的防治效果较好, 但是方差分析的结果表明二者之间并不存在交互作用; 在 PFIB 较高剂量条件下, PDTC 预防和 Te 治疗联合应用对抗 PFIB 染毒小鼠死亡显著优于单独应用 HDTC 预防和 Te 治疗。从而说明针对不同作用靶标的药物联合应用的效果优于单独使用, 也进一步佐证了 PFIB 吸入

性肺损伤发生发展过程中的多环节性和复杂性。本文的实验结果一方面提示我们, 在进行 PFIB 吸入性肺损伤治疗过程中, 联合应用针对 PFIB 吸入性肺损伤的不同发病致损伤环节的药物将会取得比较好的疗效; 另一方面也激励着我们去深入研究并进一步阐明 PFIB 吸入性肺损伤发生发展的过程, 为研究 PFIB 吸入性肺损伤的防治复方奠定坚实的基础。

参考文献:

- [1] Wang H M, Ding R G, Ruan J X, et al. Perfluorooctylbromide induced acute lung injury and mortality are heralded by neutrophil sequestration and accumulation [J]. J Occup Health 2001; 43 (6): 331-338.
- [2] 赵建, 丁日高, 张宪成, 等. 四氢吡咯二硫代氨基甲酯对全氟异丁烯吸入性肺损伤的防治效果 [J]. 中国工业医学杂志, 2001; 14 (6): 331-335.
- [3] 赵建, 丁日高, 阮金秀, 等. NF- κ B 活化在四氢吡咯二硫代氨基甲酯对抗全氟异丁烯吸入性肺损伤中的预防作用 [J]. 中国工业医学杂志 2004; 17 (3): 145-148.
- [4] 赵建, 丁日高, 阮金秀, 等. 盐酸四环素对全氟异丁烯吸入性肺损伤的防治效果研究 [J]. 中国职业医学, 2005; 32 (1): 14-17.
- [5] 张宪成, 王文珠, 彭双清, 等. 不同吸附剂对 PFIB 防护性能的实验研究 [J]. 中国工业医学杂志, 1999; 12 (3): 136-138.
- [6] Lehnert B E, Amlund J D, Behr M J, et al. Lung injury after acute inhalation of perfluorooctylbromide: exposure concentration, response relationships [J]. Inhal Toxicol 1993; 5: 1-32.

(上接第 369 页)

- [5] 刘莉, 徐兆发, 贾克, 等. 谷胱甘肽与 α 硫辛酸对锰致大鼠神经元凋亡影响 [J]. Chin Public Health 2006; 22 (10): 1239-1240.
- [6] Zafarullah M, Li W Q, Sylvester J, et al. Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions [J]. Cell Mol Life Sci 2003; 60 (1): 6-20.
- [7] Zhang S, Fu J, Zhou Z. In vitro effect of manganese chloride exposure on reactive oxygen species generation and respiratory chain complexes activities of mitochondria isolated from rat brain [J]. Toxicol In Vitro 2004; 18 (1): 71-77.
- [8] Koen A L, Goodman M. Aconitase hydrolase isozymes: subcellular location, tissue distribution and possible subunit structure [J]. Biochim Biophys Acta 1969; 191: 698-701.
- [9] Zhang S, Fu J, Zhou Z. In vitro effect of manganese chloride exposure on reactive oxygen species generation and respiratory chain complexes activities of mitochondria isolated from rat brain [J]. Toxicol In Vitro 2004; 18 (1): 71-77.
- [10] Emswiler R K, Grunwald R, Lemaster J J. Rhodamine 123 as a probe of transmembrane potential in isolated rat liver mitochondria: spectral and metabolic properties [J]. Biochim Biophys Acta 1986; 850: 436-448.

- [11] Lowry O H, Rosenbrough N J, Farr A L, et al. Protein measurement with the Folin-phenol reagent [J]. Biol Chem 1951; 193: 265.
- [12] Yang S H, Chien C M, Lu M C, et al. Cardiotoxin III induces apoptosis in K562 cells through a mitochondria mediated pathway [J]. Clin Exp Pharmacol Physiol 2005; 32 (7): 515-520.
- [13] Wei Zhen, Sean Rep, Joseph H Graziano. Manganese inhibits mitochondrial aconitase: a mechanism of manganese neurotoxicity [J]. Brain Research 1998; 799: 334-342.
- [14] Gerald S Shadel. Mitochondrial DNA aconitase: wraps it up [J]. Trends in Biochemical Sciences 2005; 30: 294-296.
- [15] Jezek P, Hlavata L. Mitochondria in homeostasis of reactive oxygen species in cell tissues and organism [J]. Biochem Cell Biol 2005; 37 (12): 2478-2503.
- [16] Lucken-A-Eldjand, Martinou J C. Newcomers in the process of mitochondrial permeabilization [J]. Cell Sci 2005; 118 (3): 472-483.
- [17] Haeblerlein S L. Mitochondrial function in apoptotic neuronal cell death [J]. Neurochem Res 2004; 29 (3): 521-530.
- [18] 李毅敏, 赵树仪. N-乙酰半胱氨酸的研究进展 [J]. 天津药学, 2003; 15 (2): 50-53.