

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.09.009

急性肝损伤时肝脏内 Pink1/Parkin 的表达变化及意义*

拜云虎¹ 吴菲菲² 孔二亮³ 王亚云² 王全晖¹ 杨雁灵^{4a}

(1 联勤保障部队第九八八医院 郑州院区普外科 河南 郑州 450000; 2 空军军医大学解剖学教研室 陕西 西安 710032;

3 联勤保障部队第九八八医院郑州院区麻醉科 河南 郑州 450000; 4 空军军医大学第一附属医院肝胆胰脾外科 陕西 西安 710032)

摘要 目的:观察 C57 小鼠急性肝损伤(Acute liver injury, ALI)中线粒体自噬相关蛋白 Pink1/Parkin 表达的变化及意义。**方法:**领取 28 只小鼠,随机分为对照组、ALI 1 d 组、ALI 4 d 组、ALI 7 d 组。分别检测血清谷氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸转氨酶(AST)的变化;肝组织病理变化用 H&E 染色观察;Real Time quality PCR 检测 *Pink1/Parkin* 在 mRNA 水平的表达变化;进一步利用 Western Blot 方法分别检测肝组织中 Pink1/Parkin 蛋白水平的表达变化。**结果:**ALI 组 1 d、4 d、7 d 组与对照组相比,ALT、AST 表达显著升高,具有统计学意义($P<0.05$);肝组织病理学检查 ALI 组 1 d 和 4 d 组中,释放出大量的炎性细胞,肝细胞出现大面积坏死,7 d 组肝细胞坏死与 1 d 和 4 d 比较明显缓解;mRNA 水平检测 *Pink1/Parkin* 在 ALI 1 d(4.79/1.82 倍)、4 d(1.74/4.17 倍)和 7 d(2.91/1.25 倍)与对照组相比表达水平明显升高($P<0.05$);Pink1/Parkin 在蛋白水平检测时 ALI 1 d(2.03/1.82 倍)、4 d(1.78/4.17 倍)和 7 d(1.25/1.25 倍)时肝组织内表达也显著增加,差异具有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**急性肝损伤状态下 Pink1/Parkin 在 mRNA 和蛋白水平表达升高,且其表达量随着肝脏的损伤缓解而表达水平降低,提示 Pink1/Parkin 可能对于治疗急性肝损伤具有重要意义。

关键词:急性肝损伤;肝脏;Pink1;Parkin**中图分类号:**R-33;R657.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)09-1648-04

Expression of Pink1/Parkin in Liver during Acute Liver Injury and Its Significance*

BAI Yun-hu¹, WU Fei-fei², KONG Er-liang³, WANG Ya-yun², WANG Quan-hui¹, YANG Yan-ling^{4a}

(1 Department of General Surgery, Zhengzhou Hospital of the 988 Hospital of the People's Liberation Army, Zhengzhou, Henan, 450000, China; 2 The Air Force Military Medical University Department of Anatomy, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

3 Department of Anesthesiology, Zhengzhou Hospital of the 988 Hospital of PLA, Zhengzhou, Henan, 450000, China;

4 Air Force Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, the First Affiliated Hospital of Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China)

ABSTRACT Objective: To observe the change of mitochondrial autophagy-associated protein Pink1/Parkin expression in acute liver injury (ALI) of C57 mice and its significance. **Methods:** Twenty-eight mice were randomly divided into control group, ALI 1 d group, ALI 4 d group, and ALI 7 d group. The change of serum glutamate aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were detected respectively. The pathological changes of liver tissue were observed by H&E staining. The expression of Pink1/Parkin in mRNA level were detected by Real Time quality PCR. Next step, the expression of Pink1/Parkin in protein level of liver tissue were detected by the Western blot methods. **Results:** The level of ALT and AST in ALI groups at 1 d, 4 d and 7 d were significantly higher than in the sham group ($P<0.05$). H&E staining showed that a mass of inflammatory cells infiltration and cells degeneration were observed in ALI groups, and hepatocyte necrosis in 7 d group were significantly relieved than 1 d and 4 d. The result of real time quality-PCR indicated that the level of *Pink1/Parkin* enhanced significantly at 1 d (4.79/1.82 fold), 4 d (1.74/4.17 fold) and 7 d (2.91/1.25 fold) in ALI groups compared with sham group ($P<0.05$). Western blot results showed that the expression of Pink1/Parkin were detected in the extracted protein of liver tissue which were significantly increased in the group of ALI 1 d (2.03/1.82 fold), 4 d (1.78/4.17 fold) and 7 d (1.25/1.25 fold) compared with sham group ($P<0.05$). **Conclusion:** Pink1 and Parkin were highly expression in protein and mRNA levels of acute liver injury, and its expression level were decreased with the relief of liver tissue damage. In addition, Pink1/Parkin could be have a potential significance for the treatment of acute liver injury.

Key words: Acute liver injury; Liver; Pink1; Parkin**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; R657.3 **Document code:** A**Article ID:**1673-6273(2020)09-1648-04

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81470843)

作者简介:拜云虎,硕士、住院医师,研究方向:急性肝损伤和肝癌的机制研究, E-mail: byunhu@163.com

△ 通讯作者:杨雁灵,副教授、博士、硕士生导师,研究方向:代谢性肝病机制研究, E-mail: yangylfmmu@163.com

(收稿日期:2019-10-03 接受日期:2019-10-28)

前言

急性肝损伤(Acute liver injury, ALI)过程常伴随有肝脏炎症、氧化应激和细胞凋亡状态,这些状态与肝功能衰竭和肝脏肿瘤的发生具有密切关联^[1]。自噬是一种细胞自我代谢的过程,负责溶解体内过量或异常的蛋白质和细胞器,去除并回收溶解所获得的大分子^[2]。对乙酰氨基酚(Acetaminophen, APAP)诱导的肝损伤与氧化应激和炎症等介质的参与有关^[3]。线粒体自噬相关蛋白(Pink1/Parkin)在HBV和HCV中通过抑制病毒的复制和清除受损的细胞器,从而发挥保护肝细胞的作用^[4,5]。既往表明Pink1/Parkin的基因发生功能丧失和编码突变与帕金森病具有密切的关系^[7,8]。2019年Hua Wang等人表明在APAP诱导急性肝损伤小鼠中联合敲除Pink1和Parkin基因较单敲除Pink1基因中线粒体自噬受损更加严重^[9]。然而,近些年的研究发现Pink1/Parkin基因在选择性清除受损线粒体中发挥着重要的保护作用,被称为线粒体自噬^[10]。当线粒体发生去极化时,Pink1转移至线粒体外膜,募集并激活Parkin,二者在线粒体外膜形成复合物,参与线粒体的自噬、分裂和融合等功能^[11,12]。Pink1/Parkin在多种疾病中发挥着重要的生物学作用,但是在急性肝损伤中的表达变化目前研究较少。本文通过制备急性小鼠肝损伤模型,并在不同时间内检测肝组织内Pink1/Parkin在蛋白和mRNA水平中的表达变化,观察Pink1/Parkin与急性肝损伤严重程度之间的关系,为急性肝损伤的发病机制提供一种可能的分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

取6~8周的健康雄性C57/BL小鼠,体重18~24 g(由空军军医大学实验动物中心提供),TAA(Sigma, USA), Pink1/Parkin抗体(CST, USA), β -actin(中杉金桥, 中国), GAPDH(中杉金桥, 中国), HRP(中杉金桥, 中国), 丙氨酸转氨酶试剂盒(南京建成, 中国), 天冬氨酸转氨酶试剂盒(南京建成, 中国), 线粒体提取试剂盒(QIAGEN, French), 显微镜(Olympus, Japan)。

1.2 方法

1.2.1 急性肝损伤模型的制备 将C57/BL小鼠随机分为四组:对照组、急性肝损伤1 d组、4 d组和7 d组。具体方法参照我们前期实验结果^[13]。简言之,实验组给予300 mg/kg TAA(溶于0.9% NaCl, 0.3 mL)腹腔内注射,每隔24 h注射一次,连续注射三日。对照组注射等剂量的NaCl。为防止出现低血钾、低血糖、肾衰及电解质的紊乱等症状,首次注射TAA 12 h后则皮下注射给予0.45% NaCl+0.2% KCl+5%葡萄糖混合液0.5 mL。

1.2.2 ALT、AST水平检测 小鼠麻醉后,经眼球取血。4℃静置过夜,之后离心(3500 r/min, 20 min),弃底部的红细胞,吸取上层血清(-20℃储存备用)。ALT和AST含量的测定,完全按照南京建成试剂盒说明书操作。

1.2.3 肝脏H&E染色 取肝组织用石蜡块包埋,切片厚度为5 μ m, H&E染色,显微镜下观察肝细胞病理学变化。

1.2.4 Western Blot检测Pink1/Parkin蛋白的表达 分别提取肝脏全组织中的蛋白,使用BCA法进行蛋白定量。经SDS

PAGE电泳后,转移至PVDF膜上,用5%脱脂牛奶室温封闭2 h,用兔抗Pink1/Parkin(1:1000)、鼠抗 β -actin(1:5000),4℃过夜,PBST洗3次每次10 min,加入二抗HRP(1:5000),室温2 h,PBST洗3次每次10 min。显色剂显色,使用Image J软件计算蛋白相对灰度值。

1.2.5 肝脏Pink1/Parkin mRNA水平检测 取小鼠肝脏组织,利用Trizol试剂提取肝脏组织内的总RNA,利用紫外分光光度计测定RNA浓度。再以提取的RNA为模板合成相应的cDNA,进行qRT-PCR检测。Pink1引物序列,Forward:5'-CCTGGC TAC CAT GAT GAC CT-3';Reverse:5'-ACA GCC ATC TGA GTC CCA CT-3'。Parkin引物序列,Forward:5'-ATC TTG CTG GGA CGA TGT CT-3';Reverse:5'-CCT TGT CTG AGG TTG GGT GT-3'。对照内参为GAPDH(生工,北京)。设定程序为两步法Real-Time定量,反应条件如下:预变性95℃,15 s;之后每一步变性95℃,5 s;退火,延伸60℃30 s;共进行40个循环。扩增后做溶解曲线以检测产物的均一性。之后再将反应物进行凝胶电泳,进一步检测。计算相对含量采用 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 方法进行统计分析。

1.3 统计学方法

数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm SD$)表示,定量数据采用SPSS13.0软件统计分析。多组数据之间的比较用单因素方差分析中的Tukey检验分析, $P<0.05$ 差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 急性肝损伤后ALT、AST水平升高

制备急性肝损伤模型后观察小鼠一般精神状态,发现急性肝损伤组小鼠精神萎靡、毛发稀疏、失去光泽、活动量显著降低,并且小鼠攀爬运动等能力降低,4 d比1 d、7 d状态更差,且与对照组相比均表现较差。之后,制备急性肝损伤模型后分别于1 d、4 d、7 d后取血测定肝功能ALT、AST表达水平,如图1所示。血清水平检测肝损伤组AST表达,分别为肝损伤组1 d(306.10 U/L)、4 d(173.94 U/L)、7 d(144.77 U/L),与对照组AST表达相比均显著升高($P<0.01$),见图1.A。ALT在肝损伤组1 d(160.69 U/L)、4 d(96.37 U/L)、7 d(73.26 U/L),与对照组ALT表达相比均显著升高($P<0.05$),见图1.B。以上研究结果提示小鼠腹腔内注射TAA后肝功能受到损伤,提示急性肝损伤造模成功。

2.2 肝脏病理显示肝细胞损伤严重

H&E染色检测组织病理结果提示,对照组的肝细胞正常。

2.3 急性肝损伤后Pink1/Parkin在mRNA水平明显升高

如图3所示,在mRNA水平检测结果显示,Pink1在肝损伤后1 d(4.79倍, $P<0.01$)、4 d(1.74倍, $P<0.05$)、7 d(2.91倍, $P<0.05$)表达明显增高,与对照组相比均具有统计学意义($P<0.05$),见图3.A。凝胶电泳结果与mRNA水平表达基本一致(见图3.B),再一次验证急性肝损伤时Pink1在mRNA水平表达水平升高。同样的,Parkin在急性肝损伤1 d(3.10倍, $P<0.001$)、4 d(2.97倍, $P<0.01$)、7 d(1.75倍, $P<0.05$)表达也显著的增高,与对照组相比均具有统计学意义($P<0.05$),见图3.C。Parkin的凝胶电泳结果与mRNA水平表达也基本一致,见图3.D。以上结果说明,在急性肝损伤时Pink1/Parkin表达在mRNA

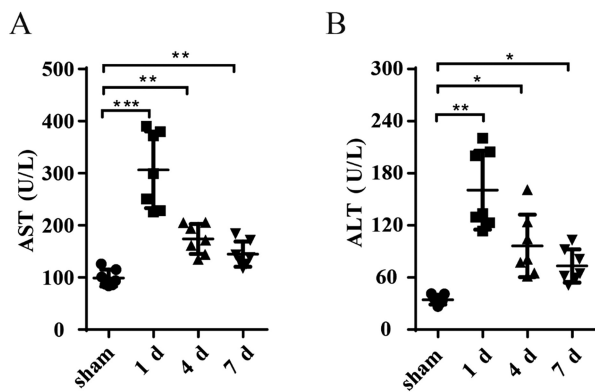


图1 肝损伤不同时间血清 ALT 和 AST 水平变化

Fig.1 Effect of different time of ALI on the ALT (A) and AST (B) levels.

Note: Data were expressed as $\bar{x} \pm SD$, $n=7$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$,

*** $P < 0.001$, compared with sham group.

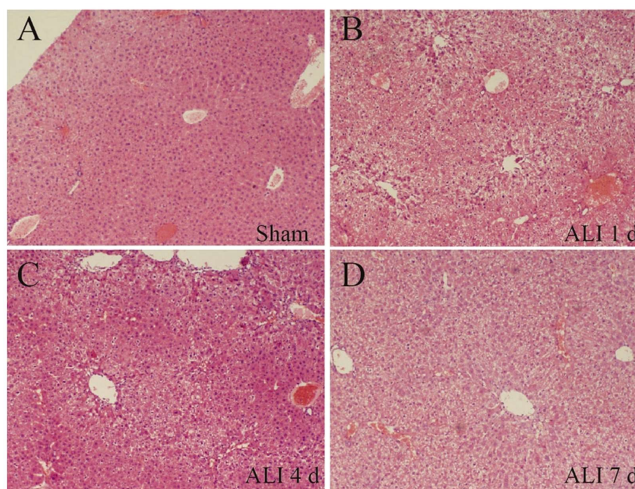


图2 急性肝损伤小鼠肝脏病理切片 (HE 10 × , $n=7$)

Fig.2 HE dyed paraffin section of liver tissue in optical microscope

(HE 10 × , $n=7$)

水平显著升高。

2.4 急性肝损伤时 Pink1/Parkin 在蛋白水平表达增多

制备急性肝损伤模型成功后,提取肝脏组织蛋白,分别进一步检测 *Pink1*/*Parkin* 蛋白水平的表达,见图4。*Pink1* 在蛋白水平表达具体如下,在肝损伤 1 d (2.03 倍, $P < 0.01$)、4 d (1.78 倍, $P < 0.01$)、7 d (1.25 倍, $P < 0.05$)表达均明显升高,且与对照组相比均有统计学意义 ($P < 0.05$),见图4. A, B。进一步检测 *Parkin* 在蛋白水平的表达,在肝损伤组 1 d (1.82 倍, $P < 0.01$)、4 d (4.17 倍, $P < 0.001$)、7 d (1.25 倍, $P < 0.05$)也均显著升高,且与对照组相比均有统计学意义 ($P < 0.001$),见图4. C, D。以上研究结果说明在急性肝损伤后肝脏组织 *Pink1*/*Parkin* 在蛋白的水平表达均明显升高。

3 讨论

肝脏疾病是一个全球性的健康问题,特别是急性肝损伤伴随着高死亡率^[14]。目前已知急性肝损伤发病的分子机制过程涉及自噬、氧化应激、细胞凋亡和坏死的复杂相互作用^[15]。自噬是一种维持稳态的降解过程,真核细胞通过溶酶体去除受损的细胞器或细胞质成分,对于维持正常的细胞稳态和渗透压至关重要

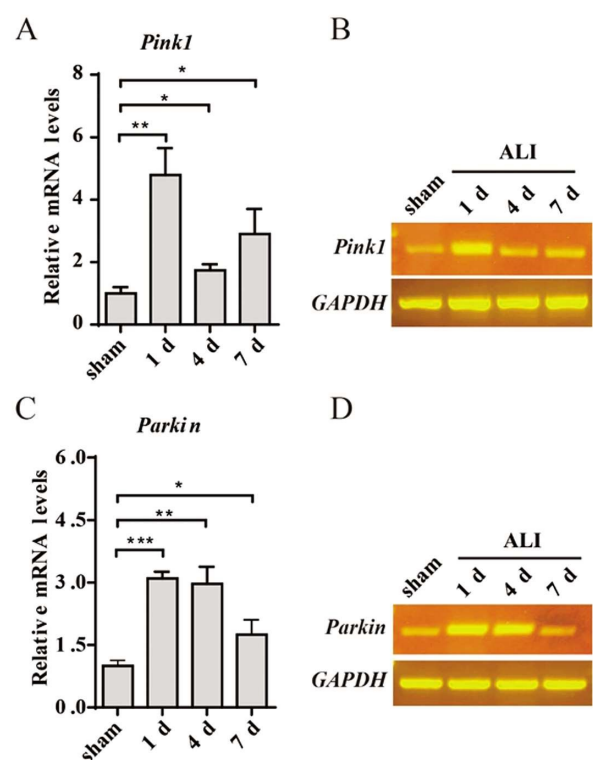


图3 急性肝损伤后 *Pink1* 和 *Parkin* 在 mRNA 水平表达增加

Fig.3 The Real Time quality PCR results of *Pink1* and *Parkin* after acute liver injury

Note: Data were expressed as $\bar{x} \pm SD$, $n=4$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$,

*** $P < 0.001$, compared with sham group.

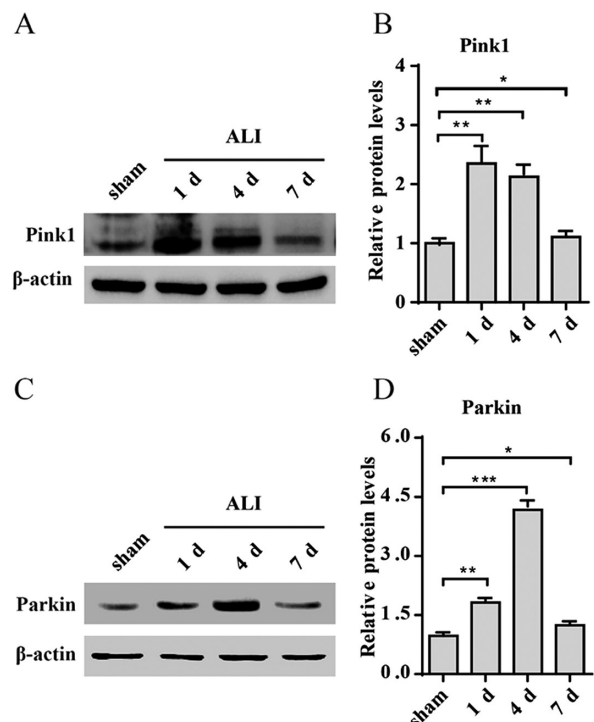


图4 急性肝损伤后 *Pink1* 和 *Parkin* 蛋白水平表达增多

Fig.4 The western blot results of *Pink1*/*Parkin* after acute liver injury.

Note: Data were expressed as $\bar{x} \pm SD$, $n=3$. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$,

*** $P < 0.001$, compared with sham group.

要^[16]。自噬包括清除聚集的蛋白质,受损的线粒体,过氧化物酶体,细菌和病毒^[17]。虽然最初发现自噬可以增强细胞的存活,但

越来越多的证据表明自噬参与了各种生物事件^[18]。自噬可以通过为肝细胞提供能量或者降低氧化应激等方式保护由缺血再灌注^[19]或者 APAP^[20]引起的急性肝损伤所诱导的肝细胞损伤。

在 APAP 诱导的肝损伤模型中发现自噬通路被激活,并且发现其与线粒体功能具有密切关联。APAP 在临床中广泛应用于解热镇痛,而 APAP 的服用过程中有约 50% 的患者会出现肝脏的损伤,研究表明主要是由于 APAP 被肝细胞色素 P450 2E1 代谢成活性中间体 N-乙酰基-对苯醌亚胺(N-acetyl-P-benzoquinoneimine, NAPQI),然后通过与 GSH 结合而解毒,而过量的 NAPQI 通过与细胞蛋白共价结合而消耗肝细胞 GSH,ATP 耗竭和氧化应激的产生,导致线粒体功能障碍^[21]。Kabeya 等人研究显示大剂量的使用 APAP 可以诱导小鼠肝细胞和原代培养的肝细胞中自噬通路的激活,自噬通路的激活可以反过来保护 APAP 诱导的肝毒性^[22]。当自噬增强时,LC3 被促进与磷脂酰乙醇胺(Phosphatidylethanolamine, PE)结合,PE 共轭形式的 LC3(LC3-II)易位至自噬体膜,有助于形成双膜自噬体^[23]。也有研究报称,抑制自噬则会显著恶化 APAP 诱导的肝损伤^[24]。Lee 等人进一步研究报称,自噬可以通过降低氧化应激水平,从而缓解线粒体的损伤,进而缓解肝细胞的损伤^[22]。肝组织的氧化应激对于肝组织的损伤以及纤维化的形成具有促进作用,应用抗氧化剂硒、维生素 E、谷胱甘肽、丹参等抗氧化剂对于肝脏损伤具有重要保护作用^[25]。而自噬可以选择性地去除受损的细胞器,尤其是线粒体,防止线粒体损伤所诱导的氧化应激和坏死细胞进一步的死亡,起到重要的。

本研究通过在小鼠急性肝损伤模型不同时间内,观察 Pink1/Parkin 的表达变化,并发现两者在损伤的肝组织中表达明显升高。并且,其表达水平随着肝细胞损伤的缓解而减少。Kim 等人在 HCV 和 HBV 感染的肝细胞中,观察发现线粒体自噬相关蛋白 Pink1/Parkin 表达升高,并通过 RNA 干扰(RNAi)的技术特异的降低 Pink1 或者 Parkin 的表达,进一步观察到病毒感染和肝细胞损伤增强^[6],此结果与本文肝损伤中 Pink1/Parkin 分子水平的改变相一致。陶立德等人在大鼠肝脏缺血再灌注损伤模型中发现丙二醛、髓过氧化物酶等氧化应激标志物在缺血再灌注组表达异常,提示氧化应激水平升高^[26]。本研究组前期在急性肝损伤小鼠黑质中发现线粒体的功能损伤^[13],氧自由基产生增多,氧化应激水平升高,并且还发现 Pink1/Parkin 参与线粒体自噬^[27],进一步说明 Pink1/Parkin 在急性肝损伤状态下的功能改变。但是, Pink1/Parkin 在急性肝损伤中到底扮演的角色,仍然需要进一步的研究和探讨。

综上所述, Pink1/Parkin 通路不仅在神经系统疾病的发生发展中具有重要的作用,在一些肺癌、直肠癌、胰腺癌、卵巢癌等肿瘤中也具有一定的保护作用。而本研究证实 Pink1/Parkin 在急性肝损伤时也可能通过调控线粒体自噬从而起到保护作用。根据 ALT/AST 水平和 Pink1/Parkin 的表达变化可看出, Pink1/Parkin 表达水平与 ALT/AST 的表达有正相关关系。但是,目前 Pink1/Parkin 在急性肝损伤中的具体作用及机制,仍需要进一步的研究及探讨。本文通过对 Pink1/Parkin 的实验研究,为急性肝损伤的发病的机制及治疗提供一种可能的机制假说或治疗靶点。

参考文献(References)

- [1] Malhi H, Kaufman R J. Endoplasmic reticulum stress in liver disease [J]. J Hepatol, 2011, 54 (4): 795-809
- [2] Voigt O, poggeler S. Self-eating to grow and kill: autophagy in filamentous ascomycetes [J]. APPI Microbiol Biotechnol, 2013, 97 (21): 9277-9290
- [3] Zhao S, Sheng D, Shi R, et al. Lipopolysaccharide protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity by reducing oxidative stress via the TNF-alpha/TNFR1 pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2019, 513(3): 623-630
- [4] Chae U, Kim H S, Lee H S, et al. Drp1-dependent mitochondrial fission regulates P62-mediated autophagy in LPS-induced activated microglial cells[J]. Biosci Biotechnol Biochem, 2018: 1-8
- [5] Kim S, Khan M, Quan J, et al. Hepatitis B Virus Disrupts Mitochondrial Dynamics: Induces Fission and Mitophagy to Attenuate Apoptosis[J]. PLoS pathogens, 2013, 9(12)
- [6] Kim S, Syed G, Siddiqui A. Hepatitis C Virus Induces the Mitochondrial Translocation of Parkin and Subsequent Mitophagy [J]. PLoS pathogens, 2013, 9(3)
- [7] Kitada T, Asakawa S, Hattori N, et al. Mutations in the parkin gene cause autosomal recessive juvenile parkinsonism[J]. Nature, 1998, 392(6676): 605-608
- [8] Valente E M, Abou-Sleiman P M, Caputo V, et al. Hereditary early-onset Parkinson's disease caused by mutations in PINK1 [J]. Science, 2004, 304(5674): 1158-1160
- [9] Wang H, Ni H M, Chao X, et al. Double deletion of PINK1 and Parkin impairs hepatic mitophagy and exacerbates acetaminophen-induced liver injury in mice[J]. Redox Biol, 2019, 22: 101148
- [10] Widdrington JD, Gomez-Duran A, Pyle A, et al. Exposure of Monocytic Cells to Lipopolysaccharide Induces Coordinated Endotoxin Tolerance, Mitochondrial Biogenesis, Mitophagy, and Antioxidant Defenses[J]. Front Immunol, 2018, 9: 2217
- [11] Wu Z, Wu A, Dong J, et al. Grape skin extract improves muscle function and extends lifespan of a Drosophila model of parkinson's disease through activation of mitophagy[J]. Exp Gerontol, 2018, 113: 10-17
- [12] Wang L, Cho Y L, Tang Y, et al. PTEN-L is a novel protein phosphatase for ubiquitin dephosphorylation to inhibit PINK1-Parkin-mediated mitophagy[J]. Cell Res, 2018, 28(8): 787-802
- [13] Bai Y, Bai Y, Wang S, et al. Targeted upregulation of uncoupling protein 2 within the basal ganglia output structure ameliorates dyskinesia after severe liver failure[J]. Free Radic Biol Med, 2018, 124: 40-50
- [14] Wu Z, Han M, Chen T, et al. Acute liver failure: mechanisms of immune-mediated liver injury[J]. Liver Int, 2010, 30(6): 782-794
- [15] Shi H, Han W, Shi H, et al. Augmenter of liver regeneration protects against carbon tetrachloride-induced liver injury by promoting autophagy in mice[J]. Oncotarget, 2017, 8(8): 12637-12648
- [16] Klionsky D J, Emr S D. Autophagy as a regulated pathway of cellular degradation[J]. Science, 2000, 290(5497): 1717-1721
- [17] Yang Y, Fiskus W, Yong B, et al. Acetylated hsp70 and KAP1-mediated Vps34 SUMOylation is required for autophagosome creation in autophagy[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(17): 6841-6846

壁溢流排污和循环水泵抽吸双级过滤循环等。

(4)优化胶塞硅化前的硅化工艺。胶塞硅化是为了在表面涂上一层硅油膜,减少胶塞在搬运过程当中药品与胶塞的摩擦,避免由摩擦造成胶屑微粒,同时能够防止药品与胶塞在存贮过程中发粘^[26,27]。硅化是另一个很重要的胶塞硅化的工艺,量太多太少都会造成胶塞不合格或影响药品的质量。所以,在硅化过程时,根据胶塞清洗工艺选择适当的硅油粘度,为了保证硅化厚度均一,也可采用超声波辅助硅油在清洗液中进行很好的扩散。所以研发一种高效、经济、先进、合理的胶塞清洗、硅化工艺值得探讨。

胶塞的质量直接影响着药品的质量,生产厂家应严格控制原材料的质量,选择合适的供应商,加强胶塞与药品相容性试验与稳定性试验,跟踪产品的市场销售情况和存在的不良反应。同时,胶塞生产厂家应改进胶塞的配方和硅化的工艺,在丁基胶塞和药品生产企业的协同合作下,解决胶塞对药品带来的不良影响,提高药品的质量,保障用药的安全。

参考文献(References)

- [1] 吴高芬,任荣军,刘伟,等. HPLC 法测定注射用氨曲南的有关物质[J]. 药物分析杂志, 2010, 30(12): 2381-2384
- [2] 王慧,葛艳. 注射用氨曲南致药物不良反应 32 例分析[J]. 临床合理用药杂志, 2013, 6(8): 30-31
- [3] 任康华. 大容量注射剂生产过程中可见异物的控制[J]. 科技视界, 2015, (5): 350-350
- [4] 杜晶晶,王庭慰,张恩波,等. 国产药用丁基胶塞中微量成分分析[J]. 橡胶工业, 2013, 60(11): 693-696
- [5] 刘海洪. 丁基胶塞的膜技术现状与发展趋势[J]. 中国橡胶, 2007, 35(16): 28-30
- [6] 蒲小聪,陈蕊,游延军,等. HPLC 法测定胶塞中抗氧化剂 1076 向米卡芬净钠注射液中的迁移[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(7): 160-165
- [7] 张艳惠,李海燕,岳洪水,等. 注射用益气复脉(冻干)与氯化丁基胶塞相容性研究中抗氧化剂和硫化剂的含量测定[J]. 药物评价研究, 2018, 41(3): 496-500
- [8] 朱碧君,李婷婷,孙会敏,等. HPLC 法同时测定药用卤化丁基胶塞中 5 种抗氧化剂和游离硫的含量[J]. 中国药房, 2018, 29(18): 2475-2478
- [9] 浦雨伟,崔萍,吴娟,等. 药用丁基胶塞中抗氧化剂 264、1010、5057 迁移研究[J]. 药物分析杂志, 2016, 36(12): 2231-2240
- [10] Zhao X, Jin S H, Hu C Q. The Effect of Rubber Closures on the Haze State of Ceftriaxone Sodium for Injection[J]. Drug, 2007, 33(1): 35-44
- [11] 赵霞. 药用丁基胶塞与头孢曲松钠的相容性研究[D]. 中国协和医科大学, 2006, 5
- [12] 杨洪贤,高秀珊,潘英新. 丁基胶塞与注射用青霉素钠相容性实验考察[J]. 实用药物与临床, 2005, 8(51): 8-9
- [13] 周华琴. 丁基胶塞在粉针剂使用中的问题及解决方法[J]. 中国制药装备, 2010, (17): 55-56
- [14] 殷果,秦斌,王铁杰,等. 药用丁基胶塞与注射用阿莫西林钠的相容性研究[J]. 中国抗生素杂志, 2012, 37(9): 699-701
- [15] 周劼,殷果,刘洪伟,等. 药用丁基胶塞中 BHT 的 GC-MS/MS 法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2013, 44(8): 801-803
- [16] 冯靖,蔡心怡,刘言. 药用丁基胶塞中抗氧化剂 BHT 和硫化剂可提取硫的测定[J]. 药物分析杂志, 2017, 37(4): 702-703
- [17] 赵霞,胡昌勤,金少鸿. 对考察药用丁基胶塞与药物相容性的思考与建议[J]. 中国药事, 2007, 21(10): 810-812
- [18] 李婷婷. 药用丁基胶塞与头孢唑林钠相容性研究[D]. 南昌大学, 2011: 28-33
- [19] 郑芳如,黄瑜,周兰贞,等. 丁基胶塞在注射剂领域中的选用策略[J]. 中国药事, 2016, 30(2): 137-140
- [20] 姚羽,王文艳,郭景文,等. 注射用氨苄西林钠中二甲硅油迁移量对澄清度的影响[J]. 药物分析杂志, 2013, 33(3): 508-510
- [21] 林黄静,朱涵超,张毅兰. 药用卤化丁基橡胶塞表面残留二甲硅油量的红外光谱法测定[J]. 中国医药工业杂志, 2017, 48(11): 1650-1653
- [22] 丁积飞. 从胶塞清洗机看丁基胶塞的清洗与硅化[J]. 中国制药装备, 2006, (12): 42-45
- [23] 赵霞,关皓月,孙会敏,等. 傅里叶变换衰减全反射红外光谱法测定药用卤化丁基橡胶塞表面残留硅油量[J]. 药物分析杂志, 2011, 31(3): 519-522
- [24] 周华琴. 粉针剂卤化丁基橡胶塞的风险评估及其控制措施[J]. 中国制药装备, 2018, 4(11): 36-40
- [25] 王备战,韩治军. 卤化丁基橡胶塞标准与外观常见异物缺陷[J]. 机电信息, 2017, (14): 52-55
- [26] 柳丰萍,邹叶青,夏立平. 丁基胶塞使用过程中的临床问题[J]. 包装工程, 2009, 3(67): 177-178
- [27] 张青坡. 丁基胶塞在注射剂领域中的选用策略思考[J]. 海峡药学, 2017, (8): 9-10

(上接第 1651 页)

- [18] Mizushima N, Levine B, Cuervo A M, et al. Autophagy fights disease through cellular self-digestion[J]. Nature, 2008, 451(7182): 1069-1075
- [19] Kanda T, Matsuoka S, Yamazaki M, et al. Apoptosis and non-alcoholic fatty liver diseases[J]. World J Gastroenterol, 2018, 24(25): 2661-2672
- [20] Ni H M, McGill M R, Chao X, et al. Removal of acetaminophen protein adducts by autophagy protects against acetaminophen-induced liver injury in mice[J]. J Hepatol, 2016, 65(2): 354-362
- [21] Zhang T, Wang N, Yan W, et al. Effect of a fish oil-based lipid emulsion on intestinal failure-associated liver disease in children[J]. Eur J Clin Nutr, 2018, 72(10): 1364-1372
- [22] Ni H M, Bockus A, Boggess N, et al. Activation of autophagy protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity[J]. Hepatology, 2012, 55(1): 222-232
- [23] Kabeya Y, Mizushima N, Ueno T, et al. LC3, a mammalian homologue of yeast Apg8p, is localized in autophagosome membranes after processing[J]. EMBO J, 2000, 19(21): 5720-5728
- [24] Ni H M, Bockus A, Boggess N, et al. Activation of autophagy protects against acetaminophen-induced hepatotoxicity[J]. Hepatology, 2012, 55(1): 222-232
- [25] 胡祖超,扶小华,戴东. 抗氧化剂治疗肝纤维化的研究进展[J]. 中国普通外科杂志, 2015, 24(07): 1038-1042
- [26] 陶立德,薛同敏,张杰,等. 缺血预处理对大鼠缺血再灌注肝组织 NF- κ B 表达、炎症及氧化应激反应的影响[J]. 中国普通外科杂志, 2015, 24(01): 70-74
- [27] Bai Y, Wang Y, Yang Y. Hepatic encephalopathy changes mitochondrial dynamics and autophagy in the substantia nigra[J]. Metab Brain Dis, 2018, 33(5): 1669-1678