

· 基础研究 ·

DOI: 10.13498/j.cnki.chin.j.ecc.2021.01.13

荳蔻素通过激活 PGC-1 β 发挥抗糖尿病心肌病作用

王 倩, 林文娟, 王 娜, 张 冰

[摘要]:目的 探究外源补充荳蔻素 (Orientin) 对链脲佐菌素 (STZ) 诱导的糖尿病心肌损伤是否发挥保护作用及其分子机制。方法 腹腔注射 STZ 构建 C57BL/6J 小鼠糖尿病模型 (DCM 组), DCM+orientin 组小鼠除腹腔注射 STZ 外, 每天通过口服灌胃方式外源补充荳蔻素, 8 周后超声心动图检测各组小鼠左心室心脏功能。HE 染色观察左室心肌组织, 用 RT-qPCR 法检测心肌氧化应激相关分子 mRNA 的表达。给予 H9C2 细胞高糖培养, 外源给予荳蔻素观察其对心肌细胞炎症和氧化应激的影响。Western-blot 检测各组 PGC-1 β 信号通路的影响。结果 8 周后 DCM 组小鼠左室心肌较对照组显著肥厚, 纤维化加重, 心功能显著下降, 氧化应激加重, 而 DCM+orientin 组小鼠能够显著改善上述病变, 且外源补充 orientin 能够显著升高心肌组织中 PGC-1 β 的表达, 且外源给予荳蔻素能够显著减轻高糖诱导的心肌细胞氧化应激损伤。结论 荳蔻素能够通过激活 PGC-1 β 在小鼠糖尿病心肌病模型中发挥抗氧化应激作用, 从而减轻心肌损伤。

[关键词]: 荳蔻素; 糖尿病心肌病; PGC-1 β ; 氧化应激; 大鼠; 心肌损伤; 心肌保护

Orientin protect against diabetic cardiomyopathy via activating PGC-1 β

Wang Qian, Lin Wenjuan, Wang Na, Zhang Bing

Department of Nutrition, Qingdao Special Servicemen Recuperation Center of PLA Navy, Qingdao 266071, China

[Abstract]: Objective To investigate whether exogenous supplementation of orientin had protective effects on streptozotocin (STZ) induced diabetic myocardial injury and its molecular mechanism. **Methods** C57BL/6J mouse model of diabetes mellitus (DCM group) was established by intraperitoneal injection of STZ. The mice in the DCM+orientin group were treated with oral administration of orientin by oral gavage every day except for intraperitoneal injection of STZ. Eight weeks later, echocardiography was used to detect left ventricular function of each group. Left ventricular myocardial tissue was observed by hematoxylin and eosin (HE) staining, and the expression of myocardial oxidative stress-related molecular mRNA was detected by RT-qPCR. H9C2 cells were cultured in high glucose medium, and the effect of exogenously administered orientin on myocardial cell inflammation and oxidative stress was observed. Western-blot was used to detect the effects of PGC-1 β signaling pathways in each group. **Results** After 8 weeks, the left ventricular myocardium of the DCM group was significantly hypertrophic compared with the control group, the fibrosis was aggravated, the cardiac function was significantly decreased, and the oxidative stress was aggravated. The DCM+orientin group could significantly improve the lesions above. The exogenous supplement of orientin could significantly increase the expression of PGC-1 β in myocardial tissue, and alleviate oxidative stress induced by high glucose. **Conclusion** Orientin can reduce myocardial damage by activating PGC-1 β in a mouse model of diabetic cardiomyopathy.

[Key words]: Orientin, Diabetic cardiomyopathy; PGC-1 β ; Oxidative stress; Mouse; Myocardial injury; Myocardial protection

糖尿病增加了患心脏病的风险, 50% 的糖尿病患者死于心血管疾病^[1]。炎症和氧化应激激活是糖尿病心肌损伤显著的病理生理过程, 也会导致心肌细胞内蛋白质量调控障碍, 目前仍亟待探索有效的药物和分子靶点来控制糖尿病心肌病的发展^[1-2]。糖尿病患者的心力衰竭发病率非常高, 而

且糖尿病患者的预后比非糖尿病患者更差。实验数据表明, 多种机制导致糖尿病患者收缩期和舒张期功能受损, 这些患者的心脏衰竭与冠状动脉疾病或相关危险因素无关^[3]。

荳蔻素 (Orientin) 是从天然植物中分离出来的黄酮类成分, 在近几年的研究中, 荳蔻素已被探究证实具有丰富的细胞组织保护特性, 如抗氧化应激、抗炎、抗癌和抗血栓活性^[4-5]。荳蔻素能够通过调节 Toll 样受体-4/核转录因子- κ B/肿瘤坏死因子- α 信号通路发挥抗炎作用, 从而对大鼠脑缺血/再灌注

作者单位: 266071 青岛, 海军青岛特勤疗养中心营养科 (王倩, 林文娟, 王娜), 710032 西安市, 空军军医大学西京医院心血管外科 (张冰)

通信作者: 王倩, Email: huaihua18@163.com

损伤发挥保护作用^[6]。近期研究证实,荳蔻素能够通过调节内皮型一氧化氮合酶/一氧化氮(eNOS/NO)信号通路发挥抗氧化应激作用,从而能够减轻小鼠心梗后心肌病理性重构^[7]。迄今为止,荳蔻素是否能对糖尿病心肌病发挥保护作用尚无研究报道。本研究将探究荳蔻素在糖尿病心肌病中发挥的作用及潜在的分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 雄性 C57BL/6 小鼠(20~25 g, 8~10 周龄)从实验动物中心获得,在 22~24℃ 的 12 h 的光/暗周期下被笼养,吃定期的颗粒饲料。

1.2 实验试剂 纯度>98%的荳蔻素(融禾,上海),检测超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性和丙二醛(malonaldehyde, MDA)含量试剂盒(南京建城)。抗 PGC-1 β 的抗体(Abcam, 美国),抗 GAPDH 的抗体(cmcTAG 公司, 美国),Trizol 试剂和 RNA 提取试剂盒(天根, 北京),引物合成(GenScript, 南京),评价 H9C2 细胞内活性氧(reactive oxygen, ROS)生成的荧光探针 2',7'-二氯荧光素二乙酸酯(DCFH-DA)(碧云天,上海)。

1.3 小鼠分组及处理方式 将雄性 C57 小鼠随机分为 3 组:同笼阴性小鼠分为对照组(CON 组, n=12)、糖尿病组(DCM 组, n=12)和按常规腹腔注射链脲佐菌素(Streptozotocin, STZ) 50 mg/kg 诱导小鼠糖尿病模型的外源补充荳蔻素小鼠糖尿病组(DCM+ORI 组, n=12)。DCM+ORI 组小鼠每天通过灌胃外源补充荳蔻素(溶于生理盐水,剂量为 40 mg/kg),DCM 组仅补充相同量的生理盐水。喂养 8 周后进行后续实验。

1.3.1 小鼠心脏超声检测 超声工作者完全未知研究方案和动物组。使用 VisualStolic 770 超声仪器进行小鼠心脏超声检查,30 MHz 的传感器记录左胸骨旁胸腺的长轴和短轴。超声心动图检测的指标包括左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)和左室缩短分数(left ventricular fractional shortening, LVFS)、舒张末期室间隔(intraventricular septal thickness end diastasis, IVSd)和舒张末期左室后壁(left ventricular posterior wall end diastasis, LVPWd)厚度。以上参数由 Vevo Lab 3.1.0 软件计算得出。

1.3.2 小鼠心肌组织学染色 用苏木精-伊红(HE)或 Masson 三色染色法分别对心肌组织的其他部分进行染色,以评估心肌细胞的横截面积和胶原沉积。切片用数字扫描成像系统(Olympus FV1000,

日本)进行可视化,心肌细胞横截面积和纤维化程度用 Image J 软件(NIH, Bethesda, MD, USA)进行量化。

1.3.3 小鼠心肌组织 MDA 和 SOD 的测定 检测心脏组织中氧化应激标记物 MDA 含量和 SOD 活性,步骤基于制造商的说明。通过 SpectraMax M5 装置使用分光光度法分析数据。

1.3.4 实时荧光定量聚合酶链反应(RT-qPCR) 检测 mRNA 表达 采集左心室壁部分组织,按照 RNA 提取试剂盒的指示从标本(或处理后培养的 H9C2 细胞)中提取总 RNA。然后利用上标第一链合成系统(Invitrogen, CA, USA)将 RNA 反向转化为互补 DNA。用 CFX96 实时聚合酶链反应系统 C1000 热循环仪(美国)进行 RT-qPCR。磷酸甘油醛脱氢酶(GAPDH)是靶基因转录水平正常化的标准基因。本研究使用的引物序列列于表 1 中。

1.3.5 H9C2 心肌细胞的培养 将 H9C2 细胞按(1~2) $\times 10^5$ 个/ml 均匀种于六孔板中,于含 10%胎牛血清的低糖培养基中置于细胞培养箱(5% CO₂、饱和湿度、37℃)无菌培养。细胞分为 3 组:对照组、高糖组和高糖+荳蔻素组。高糖+荳蔻素组同时加入荳蔻素生理盐水溶液,使培养液中荳蔻素浓度为 10 μ mol,分别给予低糖和高糖培养基培养 48 h,进行后续实验。然后用 DCFH-DA 进行共聚焦染色,DCFH-DA 在 ROS 的作用下在细胞内脱酯化,转化为高荧光分子 2',7'-二氯荧光素。通过激发波长 488 nm 和发射波长 525 nm 28 的荧光强度测定细胞 ROS 的产生。

1.3.6 Western-blot 检测 PGC-1 β 的表达 用 RIPA 裂解缓冲液提取左心室组织和 H9C2 的总蛋白。测定蛋白浓度后用 10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离每个样品的蛋白质,再转移到聚偏二氟乙烯膜(Millipore, USA)。将 5%脱脂奶粉溶解在洗膜缓冲液中(150 mmol NaCl, 50 mmol Tris (pH 7.5)和 0.1%吐温-20℃封闭膜 2~3 h(20~25℃)。根据分子量分离膜,在 4℃下与相应的一级抗体孵育 12 h,再用相应的辣根过氧化物酶结合的第二抗体在 20~25℃孵育 2 h,加入电化学发光试剂,并使用 CeimDoc XR(Bio Rad, 美国)扫描印迹。对蛋白质条带的灰度值进行可视化分析,以 GAPDH 为内参对照。

1.4 统计学分析 应用 GraphPad Prism 7.0 进行处理和分析,所有数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间差异的统计学意义用单向 ANOVA 处理, $P < 0.05$ 有统计学意义。

2 结果

2.1 外源补充荳蔻素显著改善糖尿病导致的心功能损伤 8 周后小鼠心脏超声检测发现,DCM 组小鼠心功能较 CON 组显著损伤,表现为 LVEF 和 LVFS 显著降低,而 DCM+ORI 组能够显著改善小鼠心功能(图 1 A~C)。又检测了反映心脏重构的心肌肥厚指数之一心体比(heart weight/body weight, HW/BW),结果显示,DCM 组小鼠心体比较 CON 组显著升高,而 DCM+ORI 组小鼠心体比较 DCM 组显著下调(图 1 D)。

2.2 外源补充荳蔻素显著减轻糖尿病导致的心肌肥厚和纤维化 HE 染色结果显示,DCM 组小鼠心肌细胞较 CON 组显著肥大,而 DCM+ORI 组能够显著减轻 DCM 组小鼠心肌细胞病理性肥大(图 2 A 和 B)。MASSON 染色结果显示,糖尿病心肌病小鼠左室壁心肌组织纤维化较 CON 组显著加重,而 DCM+ORI 组小鼠心肌纤维化显著减轻(图 2 C 和 D)。

2.3 外源补充荳蔻素显著减轻糖尿病小鼠心肌组织氧化应激损伤 DCM 组小鼠心肌组织 MDA 含量较 CON 组显著升高,SOD 含量显著降低,而 DCM+ORI 组可以显著减弱这种效应(图 3 a 和 b)。进一步通过 RT-qPCR 检测氧化应激标志物 NOX2 和 NOX4 的 mRNA 表达,结果显示 DCM 组小鼠心肌组织 NOX2 和 NOX4 表达量较 CON 组显著升高,而 DCM+ORI 组能够显著降低 NOX2 和 NOX4 的表达(图 3 C 和 D)。

2.4 荳蔻素显著减轻高糖培养的 H9C2 细胞氧化应激损伤 高糖组 H9C2 细胞 ROS 生成量较对照

组显著升高,而 DCM+ORI 组能够显著减少高糖诱导的心肌细胞内 ROS 生成,从而减轻氧化应激损伤(图 4)。

2.5 荳蔻素显著增强糖尿病小鼠心肌组织和高糖培养 H9C2 细胞 PGC-1 β 的表达 糖尿病小鼠心肌组织 PGC-1 β 的表达量较 CON 组显著降低,而 DCM+ORI 组显著激活糖尿病小鼠心肌组织内 PGC-1 β 的表达(图 5 A)。高糖培养下 H9C2 心肌细胞内 PGC-1 β 表达量较对照组显著降低,而高糖+荳蔻素组心肌细胞内 PGC-1 β 表达量显著升高(图 5 B)。结果提示荳蔻素能够显著增强糖尿病小鼠心肌组织和高糖培养 H9C2 细胞 PGC-1 β 的表达。

3 讨论

近年来,由于多种中草药被证实具有抗炎、抗凋亡、抗氧化应激的保护作用,成为心血管疾病领域的研究热点^[8]。荳蔻素就是其中之一,本研究首次证实荳蔻素治疗能有效地抑制高糖诱导的心肌细胞氧化应激,无论是在体内还是在体外,最终都能阻止糖尿病心肌病小鼠心肌纤维化和心肌肥厚,改善心功能。在机制上,荳蔻素能够通过激活心肌组织中的 PGC-1 β 发挥抗氧化应激作用,从而保护糖尿病心肌病小鼠心肌组织。

糖尿病心肌病引起的心脏重塑的重要标志是心肌肥厚和心肌纤维化,心肌肥厚也通过增加的心脏质量反映。心肌纤维化和心肌细胞肥大是解释糖尿病心肌病心脏改变的最常见机制。一些研究表明,糖尿病导致细胞钙转运缺陷、心肌收缩蛋白缺陷和胶原形成增加,导致心肌解剖和生理变化^[9]。本研

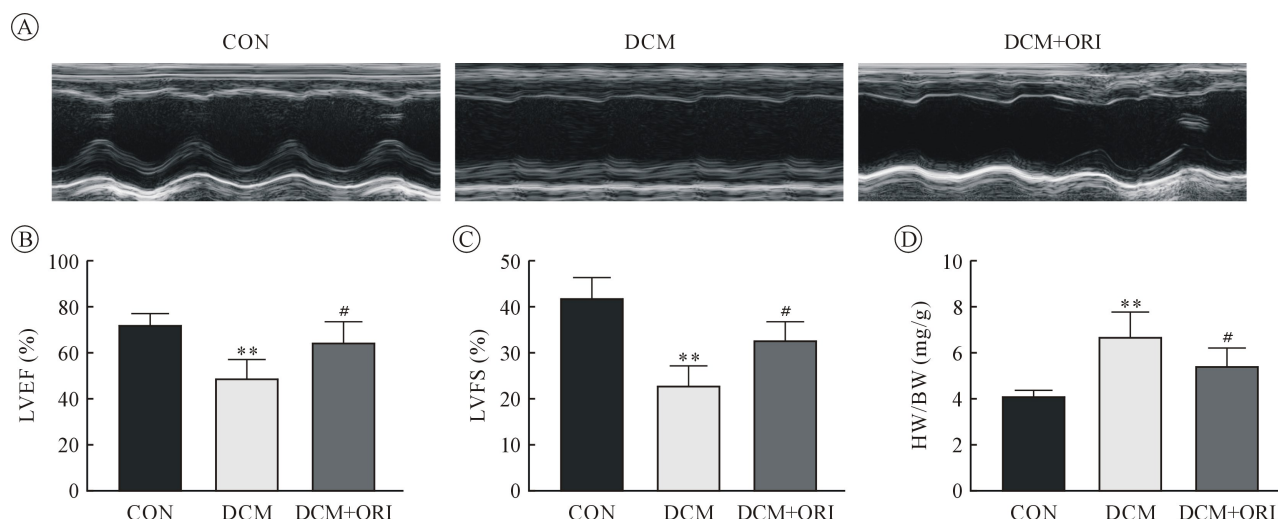


图 1 三组小鼠心脏超声检测 LVEF、LVFS 和 HW/BW 比较(n=6)

注:与 CON 组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 DCM 组比较 # $P < 0.05$

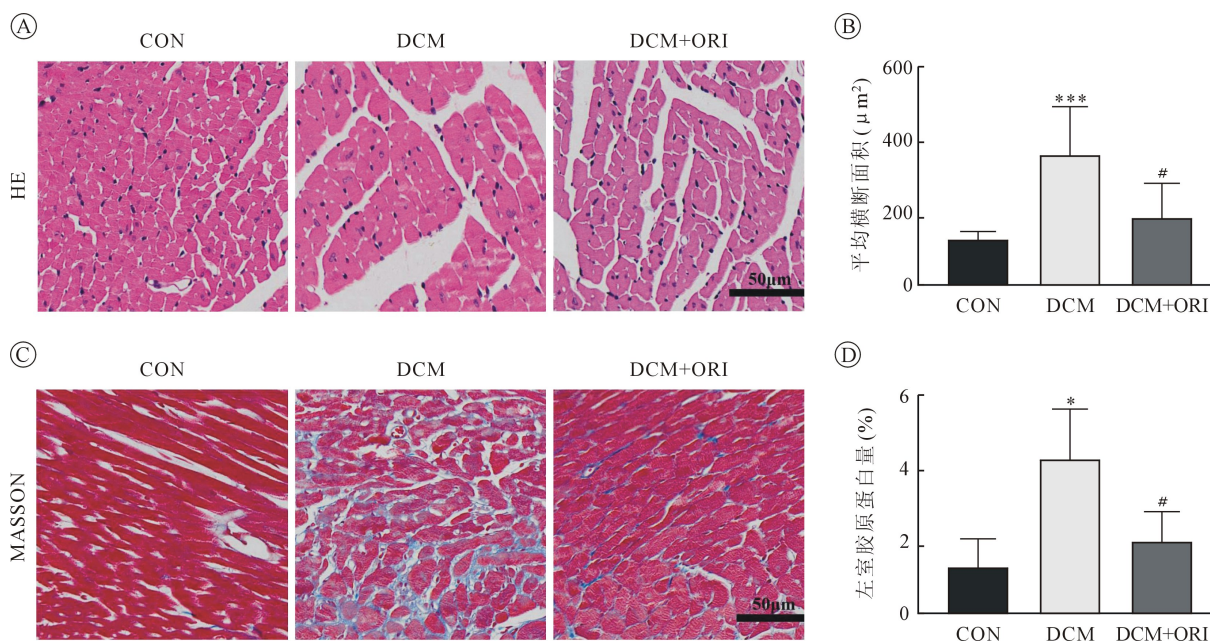


图2 三组小鼠 HE、MASSON 染色及横截断面积、左室胶原蛋白量比较 (n=6)

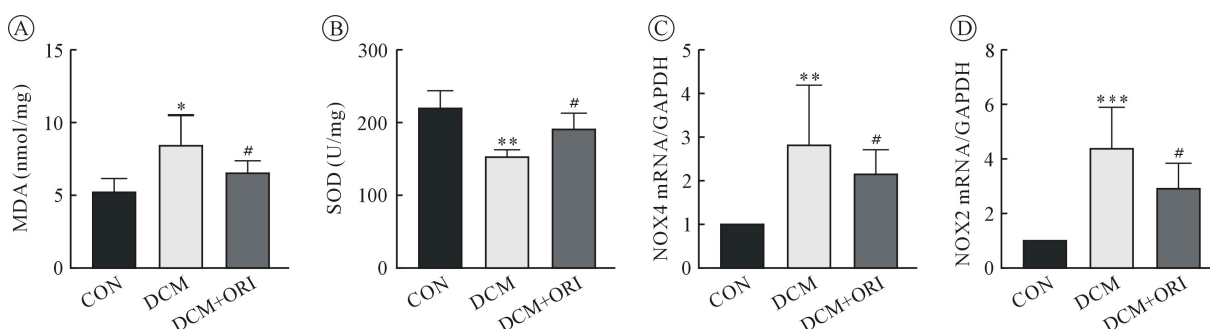
注:与 CON 组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.001$;与 DCM 组比较 # $P < 0.05$ 

图3 三组小鼠 MDA、SOD、NOX4 和 NOX2 表达的比较 (n=6)

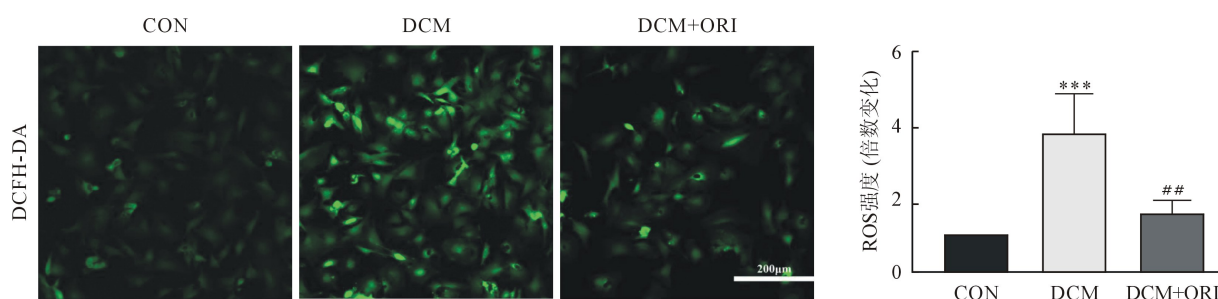
注:与 CON 组比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, ** $P < 0.001$;与 DCM 组比较 # $P < 0.05$ 

图4 H9C2 细胞培养 ROS 荧光强度比较 (n=5)

注:与对照组比较 *** $P < 0.001$;与高糖组比较 ## $P < 0.01$

究结果显示荳蔻素外源补充能够显著减轻糖尿病心肌病小鼠心肌组织肥厚和纤维化程度,提示荳蔻素能够显著改善糖尿病心肌损伤。在动物在体实验中也有类似的发现,与对照动物相比,糖尿病动物的心率、收缩压和收缩分数显著降低^[10]。临床研究也提

示,糖尿病与左室心肌收缩和舒张功能的附加损害独立相关^[11]。这些研究表明糖尿病是收缩功能障碍的原因之一,而本研究证实外源补充荳蔻素能够显著改善高糖导致的小鼠心功能障碍,也显示了荳蔻素的心肌保护作用。

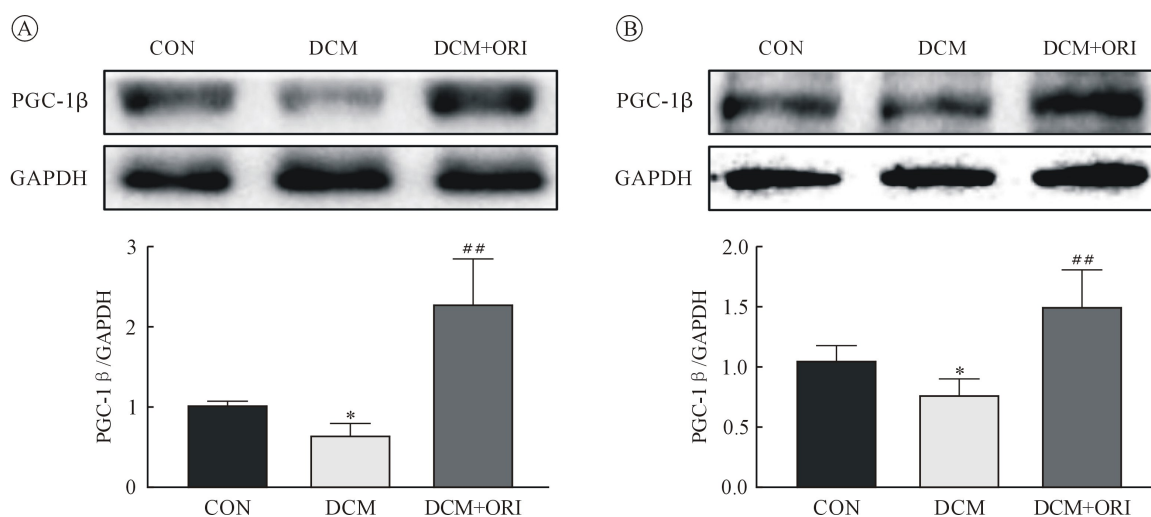


图5 三组小鼠心肌组织和高糖培养 H9C2 细胞 PGC-1 β 的表达

注:A(n=6):与 CON 组比较 * $P < 0.05$;与 DCM 组比较 ** $P < 0.01$;

B(n=5):与对照组比较 * $P < 0.05$;与高糖组比较 ** $P < 0.01$

糖尿病心肌病的代谢异常刺激 ROS 生成,如高血糖、高脂血症和晚期糖基化终产物的积累,最终导致细胞内氧化应激^[12]。持续升高的氧化应激状态有过度消耗内源性抗氧化剂的趋势,如 SOD,并伴随着氧化应激产物如 MDA 在心脏中的积累^[13-14]。检测 SOD、MDA 及 ROS 的含量成为检验细胞或组织中氧化应激程度的重要检测指标^[15]。为了抵抗持续氧化应激的损害,已经形成了一系列内源性抗氧化机制,其中之一是过氧化体增殖活化受体 γ 辅助活化受体因子(PGC-1 β)^[16]。PGC-1 β 主要在心脏等氧化组织中表达,并调节线粒体的生物合成和代谢以及包含电子传递链的蛋白质^[17]。以往的研究表明,PGC-1 β 在压力超负荷诱导的心肌肥大过程中具有良好的保护作用,通过维持葡萄糖代谢和减轻氧化应激来抗心肌肥厚^[18]。压力超负荷下,心肌组织 PGC-1 β 的表达显著降低,可导致心肌组织或心肌细胞 ROS 生成、MDA 含量和 NOX4 表达增加,SOD 活性降低,而通过激活 PGC-1 β 可以显著逆转这一效应^[17]。本研究结果显示,糖尿病心肌病小鼠心肌组织和高糖处理的 H9C2 细胞 PGC-1 β 的表达较对照组显著下调,而外源补充荳蔻素能够显著激活 PGC-1 β 的表达,提示荳蔻素能够通过激活心肌细胞内 PGC-1 β 的表达发挥抗氧化应激作用,从而减轻高糖对心肌细胞的损伤。所有这些证据表明,靶向 PGC-1 β 可能是治疗糖尿病心肌病的一种有前途的策略。荳蔻素前期被证实有多种药理活性,如抗氧化应激、抗炎、抗癌和抗血栓活性^[4-5]。

荳蔻素能够通过调节 TLR4/NF- κ B/TNF- α 信号通路发挥抗炎作用,从而对大鼠脑缺血/再灌注损伤发挥保护作用^[6]。近期研究证实,荳蔻素能够通过调节 eNOS/NO 信号通路发挥抗氧化应激作用,从而能够减轻小鼠心肌梗后心肌病理性重构^[7]。

综上所述,本研究从在体和离体两方面展示了荳蔻素对糖尿病心肌损伤的保护作用,在机制上荳蔻素能够通过激活 PGC-1 β 的表达,进一步减轻高糖诱导的心肌细胞氧化应激损伤,为糖尿病心肌病治疗提供重要药物治疗靶点。后续实验将进一步完善和深入,以增强论证强度,为荳蔻素进一步在临床中糖尿病患者的应用提供理论依据。

参考文献:

- [1] Goyal BR, Mehta AA. Diabetic cardiomyopathy: pathophysiological mechanisms and cardiac dysfunction[J]. Hum Exp Toxicol, 2013, 32(6): 571-590.
- [2] 毛予,李鹏,杨丽芳. 糖尿病性心脏病中的内质网应激及蛋白质质量调控概况[J]. 中国体外循环杂志, 2015, 13(2): 123-125.
- [3] Lehrke M, Marx N. Diabetes mellitus and heart failure[J]. Am J Med, 2017, 130(6s): S40-S50.
- [4] Yoo H, Ku SK, Lee T, et al. Orientin inhibits HMGB1-induced inflammatory responses in HUVECs and in murine polymicrobial sepsis[J]. Inflammation, 2014, 37(5): 1705-1717.
- [5] Xiao Q, Qu Z, Zhao Y, et al. Orientin ameliorates Lps-induced inflammatory responses through the inhibitory of the NF- κ B pathway and NLRP3 inflammasome[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2017, 2017: 2495496.
- [6] Wang X, An F, Wang S, et al. Orientin attenuates cerebral is-

- chemia/reperfusion injury in rat model through the AQP-4 and TLR4/NF- κ B/TNF- α signaling pathway[J]. J Stroke Cerebrovasc Dis, 2017, 26(10): 2199-2214.
- [7] Li F, Zong J, Zhang H, *et al*. Orientin reduces myocardial infarction size via eNOS/NO signaling and thus mitigates adverse cardiac remodeling[J]. Front Pharmacol, 2017, 8: 926.
- [8] 陈旭,冯建宇,马继鹏,等. 四氢姜黄素改善多柔比星诱导的心脏毒性作用的研究[J]. 中国体外循环杂志,2019,17(6): 369-374.
- [9] Russo I, Frangogiannis NG. Diabetes-associated cardiac fibrosis: cellular effectors, molecular mechanisms and therapeutic opportunities[J]. J Mol Cell Cardiol, 2016, 90: 84-93.
- [10] Ji L, Liu F, Jing Z, *et al*. MICU1 alleviates diabetic cardiomyopathy through mitochondrial Ca^{2+} -dependent antioxidant response[J]. Diabetes, 2017, 66(6): 1586-1600.
- [11] Ng ACT, Prevedello F, Dolci G, *et al*. Impact of diabetes and increasing body mass index category on left ventricular systolic and diastolic function[J]. J Am Soc Echocardiogr, 2018, 31(8): 916-925.
- [12] Seferovic PM, Paulus WJ. Clinical diabetic cardiomyopathy: a two-faced disease with restrictive and dilated phenotypes[J]. Eur Heart J, 2015, 36(27): 1718-1727.
- [13] Liao HH, Zhu JX, Feng H, *et al*. Myricetin Possesses Potential Protective Effects on Diabetic Cardiomyopathy through Inhibiting IkB α /NF κ B and enhancing Nrf2/HO-1[J]. Oxid Med Cell Longev, 2017, 2017: 8370593.
- [14] Zhang B, Zhai M, Li B, *et al*. Honokiol ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury in type I diabetic rats by reducing oxidative stress and apoptosis through activating the SIRT1-Nrf2 signaling pathway[J]. Oxid Med Cell Longev, 2018, 2018: 3159801.
- [15] 冯建梅,冯建宇,吴岩,等. 四氢姜黄素对 H9c2 细胞缺血再灌注损伤的影响及机制研究[J]. 中国体外循环杂志,2019,17(1):48-53.
- [16] Ramamoorthy TG, Laverny G, Schlagowski AI, *et al*. The transcriptional coregulator PGC-1 β controls mitochondrial function and anti-oxidant defence in skeletal muscles[J]. Nat Commun, 2015, 6: 10210.
- [17] Zhai M, Liu Z, Zhang B, *et al*. Melatonin protects against the pathological cardiac hypertrophy induced by transverse aortic constriction through activating PGC-1 β : in vivo and in vitro studies[J]. J Pineal Res, 2017, 63(3): e12433.
- [18] Riehle C, Wende AR, Zaha VG, *et al*. PGC-1 β deficiency accelerates the transition to heart failure in pressure overload hypertrophy[J]. Circ Res, 2011, 109(7): 783-793.

(收稿日期:2020-04-26)

(修订日期:2020-05-26)

(上接第 49 页)

- [4] 中国医师协会新生儿科医师分会,《中华儿科杂志》编辑委员会. 新生儿呼吸衰竭体外膜肺氧合支持专家共识[J]. 中华儿科杂志, 2018,56(5):327-331.
- [5] Munshi L, Walkey A, Goligher E, *et al*. Venovenous extracorporeal membrane oxygenation for acute respiratory distress syndrome: a systematic review and meta-analysis[J]. Lancet Respir Med, 2019, 7(2): 163-172.
- [6] Brodie D, Slutsky AS, Combes A. Extracorporeal life support for adults with respiratory failure and related indications: a review[J]. JAMA, 2019, 322(6): 557-568.
- [7] Extracorporeal Life Support Organization. ECLS registry report, international summary. 2020. www.else.org/Registry/Statistics/InternationalSummary.aspx
- [8] 洪小杨,封志纯. 儿童体外生命支持系统现状与研究方向[J]. 发育医学电子杂志,2016,4(3):135-139.
- [9] 洪小杨,程东良,林茹,等. 中国大陆儿科体外膜肺氧合转运的多中心调查分析[J]. 中华儿科杂志,2019,57(5):350-354.
- [10] 程燕,王斌. 足月儿和晚期早产儿急性呼吸窘迫综合征[J]. 中华产科急救电子杂志,2017,6(4):203-206.
- [11] Sweet DG, Carnielli V, Greisen G, *et al*. European consensus guidelines of the management of respiratory distress syndrome--2019 update[J]. Neonatology, 2019, 115(4): 432-450.
- [12] 洪小杨,封志纯. 体外膜肺氧合技术在新生儿重症救治中的应用[J]. 中华围产医学杂志,2015,18(10):721-724.
- [13] Santiago MJ, Gomez C, Magana I, *et al*. Hematological complications in children subjected to extracorporeal membrane oxygenation[J]. Med Intensiva, 2019, 43(5): 281-289.
- [14] Dalton HJ, Reeder R, Garcia-Filion P, *et al*. Factors associated with bleeding and thrombosis in children receiving extracorporeal membrane oxygenation[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2017, 196(6): 762-771.
- [15] Jenks CL, Zia A, Venkataraman R, *et al*. High hemoglobin is an independent risk factor for the development of hemolysis during pediatric extracorporeal life support[J]. J Intensive Care Med, 2019, 34(3): 259-264.

(收稿日期:2020-10-27)

(修订日期:2020-11-19)