

本文引文格式:韩梦燃,陈文成,刘志忠,等.线粒体DNA拷贝数在儿童脑性瘫痪患者中的表达及临床意义[J].右江民族医学院学报,2022,44(2):174-179.

【论著与临床报道】

线粒体DNA拷贝数在儿童脑性瘫痪患者中的表达及临床意义

韩梦燃¹,陈文成¹,刘志忠²,凌赛泳³,黄艳新¹

(1. 右江民族医学院附属医院检验科,广西 百色 533000;

2. 北京市博爱医院检验科,北京 100068;

3. 右江民族医学院附属医院儿童保健康复科,广西 百色 533000)

摘要:目的 研究线粒体DNA拷贝数在脑性瘫痪儿童中的表达水平,探讨其在儿童脑性瘫痪中的临床价值。方法 2020年1月1日—2020年12月31日在右江民族医学院附属医院儿童保健康复科确诊的50例脑性瘫痪儿童(脑瘫病例组)运用微液滴数字PCR(Droplet Digital PCR, ddPCR)技术进行线粒体DNA拷贝数水平的检测,选取100例健康体检儿童作为健康对照组进行线粒体DNA拷贝数水平的检测。采用Logistic回归分析法和受试者工作特征曲线(ROC)分析线粒体DNA拷贝数与脑瘫发生的相关性和诊断价值。结果 无论是从性别、民族还是年龄方面对线粒体DNA拷贝数进行统计学分析,脑瘫病例组的线粒体DNA拷贝数都高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),但同组不同性别、不同民族或不同年龄之间的线粒体DNA拷贝数比较,差异没有统计学意义($P > 0.05$)。不同脑瘫类型间的线粒体DNA拷贝数比较,差异没有统计学意义($P > 0.05$)。Logistic回归分析在校正了脑性瘫痪相关危险因素后,结果显示线粒体DNA拷贝数表达水平与脑性瘫痪相关联($P < 0.05$)。ROC曲线显示线粒体DNA拷贝数诊断脑瘫的ROC曲线下面积为0.834,最佳诊断截断值为94.620个/细胞。线粒体DNA拷贝数的诊断效能的灵敏度、特异度分别为79.00%、78.00%。结论 脑瘫儿童的线粒体DNA拷贝数高于正常儿童,线粒体DNA拷贝数在儿童脑性瘫痪中具有一定的诊断价值,为儿童脑性瘫痪提供新的早期诊断的指标。

关键词: 儿童;脑性瘫痪;线粒体DNA拷贝数

中图分类号:R742.3

文献标识码:A

文章编号:1001-5817(2022)02-0174-06

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2022.02.007

The expression and clinical significance of mitochondrial DNA copy number in children with cerebral palsy

Han Mengran¹, Chen Wencheng¹, Liu Zhizhong², Ling Saiyong³, Huang Yanxin¹

(1. Department of Laboratory Medicine, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China; 2. Department of Laboratory Medicine, Beijing Bo'ai Hospital, Beijing 100068, China; 3. Department of Child Health Care and Rehabilitation, The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To investigate the expression of mitochondrial DNA copy number in children with cerebral palsy, so as to explore its clinical value in children with cerebral palsy. **Methods** This study selected a total of 50 children with cerebral palsy (cerebral palsy group) diagnosed in the Department of Child Health Care and Rehabilitation in The Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities from January 1, 2020 to December 31, 2020. Droplet Digital PCR (ddPCR) was employed to detect their mitochondrial

基金项目:广西自然科学基金项目(2020GXNSFAA297257)

第一作者简介:韩梦燃(1995-),女,在读硕士研究生,初级技师,研究方向:脑瘫诊疗,E-mail:1608153739@qq.com

通讯作者简介:陈文成(1975-),男,博士,主任技师,博士研究生导师,研究方向:生殖免疫,E-mail:chwch@sina.com

DNA copy numbers. At the same time, 100 healthy children were selected as healthy control group and their mitochondrial DNA copy numbers were detected by ddPCR. Logistic regression analysis and receiver operating characteristic curve (ROC) were adopted to analyze the correlation between mitochondrial DNA copy number and cerebral palsy as well as the diagnostic value of mitochondrial DNA copy number in cerebral palsy. **Results** According to the statistical analysis of mitochondrial DNA copy number in terms of gender, ethnic groups and age, the mitochondrial DNA copy number of the cerebral palsy group was higher than that of the healthy control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). However, there was no significant difference in mitochondrial DNA copy number among different genders, ethnic groups or ages in the same group ($P > 0.05$). There was no statistically significant difference in mitochondrial DNA copy number among different types of cerebral palsy ($P > 0.05$). After adjusting risk factors related to cerebral palsy, Logistic regression analysis showed that the expression of mitochondrial DNA copy number was associated with cerebral palsy ($P < 0.05$). ROC curve showed that the area under ROC curve for the diagnosis of cerebral palsy by mitochondrial DNA copy number was 0.834, and the optimal diagnostic cut-off value was 94.620/cell. The sensitivity and specificity of mitochondrial DNA copy number were 79.00% and 78.00%, respectively.

Conclusion The mitochondrial DNA copy number of children with cerebral palsy is higher than that of normal children. Mitochondrial DNA copy number has certain diagnostic value in children with cerebral palsy and provides a new index for early diagnosis of children with cerebral palsy.

Key words: children; cerebral palsy; mitochondrial DNA copy number

脑性瘫痪(脑瘫, cerebral palsy, CP)是一系列姿势和运动障碍的非进行性综合征,是儿童残疾的常见原因之一^[1]。脑瘫的主要临床特征是肌肉张力、运动和运动技能异常^[2]。根据 2015 年中国脑性瘫痪康复指南,患病率约为每 1000 活产儿中有 2.0%~3.5%^[3]。儿童脑瘫的主要发病原因有缺氧缺血性脑病、颅内出血、高胆红素血症、感染、早产儿和宫内感染^[4]。目前已发现线粒体与多种脑部疾病的发生和发展有密切关系,每个细胞的线粒体 DNA(mitochondrial DNA, mtDNA)含量主要以拷贝数来衡量^{[5]2435}。因此寻找脑瘫与线粒体 DNA 拷贝数之间的联系是我们亟待解决的问题。本研究旨在分析线粒体 DNA 拷贝数在儿童脑性瘫痪中的表达,并进一步分析这项指标与脑性瘫痪临床特征的关系,从而为儿童脑性瘫痪的早期诊断和治疗提供依据,提高儿童脑瘫的早期诊断成功率。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取 2020 年 1 月 1 日—2020 年 12 月 31 日在右江民族医学院附属医院儿童保健康复科门诊确诊的 50 例脑性瘫痪儿童为脑瘫病例组,其中男性 31 例,女性 19 例,年龄 0~6 岁,年龄 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 为 1.3(1.0~2.4)岁。脑瘫临床分型通常为痉挛型 32 例、运动障碍型 14 例和共济失调型 4 例^[6];痉挛型脑瘫进一步分为双瘫 7 例、四肢瘫 21 例和偏瘫 4 例,符合中国脑性瘫痪康复指南(2015)中的脑瘫诊断标准^[3]。同期选取本院健康体检的 100 例儿童为健康对照组,其中男性 64 例,女性 36 例。年龄 0~6 岁,年

龄 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 为 2.1(1.1~4.1)岁,两组研究对象年龄、性别和民族差异无统计学意义。纳入标准:①本实验脑瘫病例组的研究对象是诊断后未经康复训练和治疗的初治脑瘫病例;②年龄在 0~6 岁,性别不限。排除标准:①佝偻病;②线粒体脑病;③其它神经相关疾病。本研究通过医院医学伦理委员会批准(批准文号:YYFY-LL-2021-15),受试者监护人均知情同意,并签署知情同意书。

1.2 仪器和试剂 线粒体 DNA 拷贝数检测所需的 Drop Maker 样本制备仪, Chip Reader 生物芯片分析仪均产自北京新羿生物有限公司,基因扩增仪产自杭州朗基科学仪器有限公司。DNA 提取试剂盒均为 Axygen 生产的试剂。

1.3 方法

1.3.1 全血标本的采集 采集研究对象外周静脉血 2 ml,置于 EDTA 抗凝管中,于 -80 °C 冰箱中进行储存,待行 DNA 的提取。

1.3.2 DNA 提取 使用 Axygen DNA 提取试剂盒进行 DNA 提取。使用紫外分光光度计分析 DNA 的浓度和纯度,所有 DNA 样品的 OD260/OD280 值为 1.7~2.0。所有的 DNA 样品在使用前都储存在 -80 °C 冰箱中。

1.3.3 线粒体 DNA 拷贝数检测 用荧光 FAM(5'-FAM/3'-TAMRA)和荧光 VIC(5'-VIC/3'-TAMRA)标记微液滴数字 PCR 系统的探针。线粒体 DNA 定量为线粒体基因(NADH 脱氢酶 1 基因, ND1)与单拷贝核基因(人 β 珠蛋白基因, HBB)的比率。每个细胞

的线粒体 DNA 拷贝数用公式 $2 \times \text{ND1}/\text{HBB}$ 计算。所用的特异性引物和探针如下：ND1：5'-ATTC-GATGTTGAAGCCTGAGACT-3'/R5'-TGACCCT-TGGCATAATATGATT-3'，probe5'-FAM-TTCG-GACTCCCCTTCGGCAAGG-TAMRA-3'；HBB：5'-AAAGGTGCCCTTGAGGTTGTC-3'/R5'-TGAAG-GCTCATGGCAAGAAA-3'，probe5'-VIC-CCZGGC-CATCATAAAGGCACCGA-TAMRA-3'。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 23.0 统计学软件分析数据，正态分布的计量资料采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示，采用两独立样本 t 检验；非正态分布的计量资料采用中位数及四分位数间距 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示，采用两独立样本比较的秩和检验；计数资料采用百分数表示，组间比较采用 χ^2 检验。相关性分析用 Logistic 回归分析，采用 ROC 曲线评估线粒体 DNA 拷贝数对脑瘫的诊断效能，以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 受试者资料比较 两组受试者的性别、年龄、民族资料比较，差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)，见表 1。

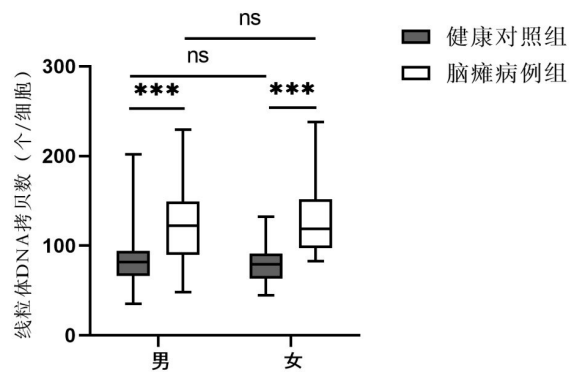
表 1 两组的一般情况比较

组别	n	性别 (男/女)	年龄/岁	民族(壮/汉/ 其他少数)
健康对照组	100	64/36	2.1(1.1~4.1)	53/37/10
脑瘫病例组	50	31/19	1.3(1.0~2.4)	32/12/6
Z/ χ^2		0.057	2.430	2.561
P		0.811	0.060	0.278

注：表内计量资料数据以 $M(P_{25} \sim P_{75})$ 表示，计数资料数据以例数表示。

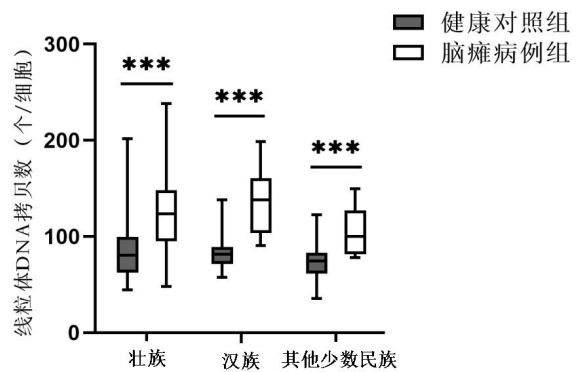
2.2 不同性别和民族脑瘫病例组与健康对照组线粒体 DNA 拷贝数水平比较 脑瘫病例组男性为 (124.33 ± 43.17) 个/细胞，女性为 (130.93 ± 41.15) 个/细胞，男性与女性线粒体 DNA 拷贝数水平对比： $t = -0.527$ ， $P = 0.600$ ；健康对照组男性为 (84.57 ± 27.44) 个/细胞，女性为 (79.09 ± 19.80) 个/细胞，男性与女性线粒体 DNA 拷贝数水平对比： $t = 1.052$ ， $P = 0.296$ 。脑瘫病例组和健康对照组男性线粒体 DNA 拷贝数水平对比： $t = 4.752$ ， $P < 0.001$ ；脑瘫病例组和健康对照组女性线粒体 DNA 拷贝数水平对比： $t = -5.509$ ， $P < 0.001$ 。脑瘫病例组壮族为 (127.28 ± 46.39) 个/细胞，汉族为 (136.07 ± 33.86) 个/细胞，其他少数民族为 (104.91 ± 27.64) 个/细胞，脑瘫病例组不同民族线粒体 DNA 拷贝数水平对比： $F = 1.106$ ， $P = 0.339$ ；健康对照组壮族为 (83.90 ± 29.14) 个/细胞，汉族为 (83.09 ± 18.39) 个/细胞，其他少数民族为

(73.86 ± 22.76) 个/细胞，健康对照组不同民族线粒体 DNA 拷贝数水平对比： $F = 0.685$ ， $P = 0.506$ ；脑瘫病例组和健康对照组壮族线粒体 DNA 拷贝数水平对比： $t = 4.754$ ， $P < 0.001$ ；脑瘫病例组和健康对照组汉族线粒体 DNA 拷贝数水平对比： $t = 5.178$ ， $P < 0.001$ ；脑瘫病例组和健康对照组其他少数民族线粒体 DNA 拷贝数水平对比： $t = -2.443$ ， $P < 0.001$ 。同一性别或同一民族脑瘫病例组线粒体 DNA 拷贝数水平高于健康对照组，差异有统计学意义 ($P < 0.001$)，脑瘫病例组和健康对照组不同性别或不同民族间的线粒体 DNA 拷贝数水平比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，见图 1、图 2。



注：*** $P < 0.001$ ，ns： $P > 0.05$ 。

图 1 两组不同性别线粒体 DNA 拷贝数水平比较



注：*** $P < 0.001$ 。

图 2 两组不同民族线粒体 DNA 拷贝数水平比较

2.3 不同年龄阶段脑瘫病例组与健康对照组线粒体 DNA 拷贝数水平比较 脑瘫病例组 ~2 岁、~4 岁、~6 岁分别为 (131.55 ± 44.34) 个/细胞， (112.72 ± 28.13) 个/细胞， (120.73 ± 50.38) 个/细胞；脑瘫病例组三个年龄阶段的线粒体 DNA 拷贝数水平对比： $F = 0.826$ ， $P = 0.444$ ；健康对照组 ~2 岁、~4 岁、~6 岁分别为 (94.78 ± 25.26) 个/细胞， (78.28 ± 22.56) 个/细胞， (70.66 ± 19.86) 个/细胞，健康对照组三个年

龄阶段的线粒体 DNA 拷贝数水平对比: $F = 10.220$, $P < 0.001$; 三个年龄段的脑瘫病例组和健康对照组的线粒体 DNA 拷贝数水平对比: t 值分别为 4.330、3.930、4.053, P 值均 < 0.001 。脑瘫病例组的线粒体 DNA 拷贝数水平随着年龄的增长无变化, 差异没有统计学意义 ($P > 0.05$); 健康对照组的线粒体 DNA 拷贝数水平随着年龄的增长有变化, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。脑瘫病例组与健康对照组相同年龄阶段的线粒体 DNA 拷贝数水平比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3。

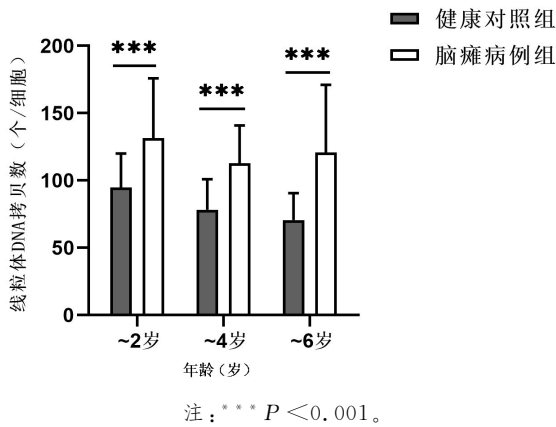


图 3 两组不同年龄阶段线粒体 DNA 拷贝数水平比较

2.4 不同脑瘫类型线粒体 DNA 拷贝数水平的比较
 痉挛型和非痉挛型脑瘫线粒体 DNA 拷贝数比较, 差

异无统计学意义 ($P > 0.05$); 痉挛型脑瘫中的双瘫、四肢瘫和偏瘫的线粒体 DNA 拷贝数比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

表 2 脑瘫病例组线粒体 DNA 拷贝数与临床特征的关系

临床特征	n	线粒体 DNA 拷贝数	F/t	P
脑瘫			-0.890	0.378
痉挛型	32	122.72 ± 42.74		
非痉挛型	18	133.79 ± 41.32		
痉挛亚型			1.027	0.371
双瘫	7	122.52 ± 53.85		
四肢瘫	21	117.43 ± 33.92		
偏瘫	4	150.82 ± 64.47		

注: ①表内计量资料数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示; ②非痉挛性包括运动障碍型和共济失调型。

2.5 线粒体 DNA 拷贝数表达与脑性瘫痪发生的关联性
 以健康对照中线粒体 DNA 拷贝数的平均数来衡量脑瘫病例组线粒体 DNA 拷贝数高低, 健康对照组线粒体 DNA 拷贝数的平均数是 82.60, 则线粒体 DNA 拷贝数的赋值为: $< 82.60 = 0$, $\geq 82.60 = 1$ 。单因素 Logistic 回归分析线粒体 DNA 拷贝数与脑性瘫痪的关联性, OR 及 95% CI 为 10.127 (3.952 ~ 25.948), 提示线粒体 DNA 拷贝数与脑性瘫痪的发生有关联; 多因素 Logistic 回归, 校正了性别、年龄、民族等因素后, 校正的 OR 及 95% CI 为 11.520 (4.271 ~ 31.070), $P < 0.001$, 有统计学意义, 表明高表达量线粒体 DNA 拷贝数与脑性瘫痪的发生有关联, 见表 3。

表 3 线粒体 DNA 拷贝数与脑性瘫痪的单因素、多因素 Logistic 回归分析

项目	变量	回归系数 (B)	标准误 (S.E)	Wald χ^2	P	OR (95% CI)
单因素	mtDNA	2.315	0.480	23.260	< 0.001	10.127 (3.592 ~ 25.948)
多因素 ^a	mtDNA	2.444	0.506	23.312	< 0.001	11.520 (4.271 ~ 31.070)

注: a: 代表校正了性别、年龄、民族因素

2.6 诊断价值 ROC 曲线评估线粒体 DNA 拷贝数水平对脑瘫儿童的诊断价值
 ROC 曲线分析结果显示, 线粒体 DNA 拷贝数鉴别诊断脑瘫儿童和正常儿童的 ROC 曲线下面积 (AUC) 为 0.834 (95% CI: 0.770 ~ 0.913)。根据 ROC 曲线计算 Cut-off 值, 得出线粒体 DNA 拷贝数的最佳诊断截断值为 94.620 个/细胞。根据此截断值计算鉴别诊断脑瘫儿童和正常儿童的灵敏度、特异度分别为 79.00%、78.00%, 见图 4。

3 讨论

脑瘫是由发育中的神经系统不同区域的各种损伤引起的, 具有永久性的、非进展性的特点^[7], 在大多数脑性瘫痪病例中, 脑损伤发生在早期胎儿脑发育过程中, 脑出血和脑室周围白质软化是脑性瘫痪早产儿的

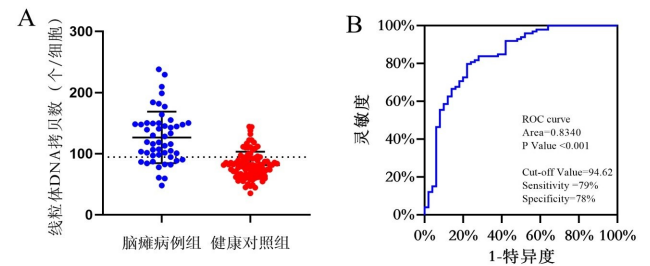


图 4 线粒体 DNA 拷贝数水平诊断脑瘫的 ROC 曲线

主要病理表现^[8]。线粒体是机体能量的制造中心, 广泛分布于真核细胞中^[9]。除了产生能量以外它还主导细胞过程, 如凋亡和增殖^[10-11], 并参与神经元功能, 如突触可塑性^[12]。线粒体功能的实现依赖于线粒体

DNA 基因复制、转录,而线粒体 DNA 拷贝数变化受环境、遗传等因素影响,其中氧化应激作用是重要因素之一,线粒体内线粒体 DNA 拷贝数变化必然引起线粒体功能改变,因此线粒体 DNA 拷贝数是线粒体功能的生物标记物^[13]。但是关于线粒体 DNA 拷贝数和儿童脑瘫相关的研究鲜有报道。

本研究通过 ddPCR 技术绝对量化线粒体 DNA 拷贝数,从而发现脑瘫儿童线粒体 DNA 拷贝数显著高于健康儿童。本结论与 Lu B 等^[14]的研究结论不一致,分析可能是线粒体功能受损后的代偿性复制所导致的^[15],因为我们的研究对象未经康复训练和治疗,最大程度上体现机体对于脑部损伤的反应。无论是从性别、年龄或民族进行统计学分析,脑瘫儿童线粒体 DNA 拷贝数高于健康儿童。但同一组内不同性别或不同民族线粒体 DNA 拷贝数比较,差异没有统计学意义。这就说明线粒体 DNA 拷贝数变化是由于病理原因导致的,与性别和民族无关。本研究中我们将 0~6 岁分为三个年龄阶段:~2 岁、~4 岁、~6 岁,脑瘫病例组的线粒体 DNA 拷贝数随着年龄的变化没有显著差异,但健康对照组~2 岁与~4 岁和~6 岁线粒体 DNA 拷贝数比较,差异有统计学意义,而且脑瘫病例组和健康对照组线粒体 DNA 拷贝数都是~2 岁最高。这可能与人体的生长发育的需求有关,0~2 岁是儿童生长发育快速增长的时期,对各项物质的需求也是最高的。因此线粒体的功能和含量可能与机体的生长和发育有关。但线粒体 DNA 拷贝数随着年龄的变化还存在一定的争议。Xia CY 等^[5]²⁴³⁷发现随着年龄的增长,血液中的线粒体 DNA 拷贝数呈下降趋势。但 Lu B 等^[14]发现随着年龄从 2 岁增加到 4 岁,健康对照的线粒体 DNA 拷贝数在健康儿童中的年龄差异显著,呈现增加状态,然而线粒体 DNA 拷贝数在脑瘫儿童中的年龄差异不显著,提示脑瘫儿童的生长发育可能受到部分影响。痉挛型脑瘫和非痉挛型脑瘫线粒体 DNA 拷贝数比较,没有显著差异,这就说明线粒体 DNA 拷贝数在不同类型脑瘫的鉴别意义有限。本研究 Logistic 回归结果显示,线粒体 DNA 拷贝数与脑性瘫痪的发生有关联,呈正相关,说明线粒体 DNA 拷贝数的升高可能预示脑瘫的发生。本研究 ROC 曲线分析表示:线粒体 DNA 拷贝数诊断脑瘫的 AUC 为 0.83,说明线粒体 DNA 拷贝数诊断脑瘫具有一定的准确性。通过 ROC 分析,综合考虑敏感性和特异性时,诊断脑瘫的最佳线粒体 DNA 拷贝数阈值为 94.62 个/细胞,其相应的敏感性为 79.00%,特异性为 78.00%。

脑性瘫痪患者脑部血流量减少这一事实表明它与缺氧有很强的联系^[16]。在发育中的大脑中,氧气不足

和葡萄糖摄取受损会使细胞能量储备耗尽,进而导致脑损伤^[17]。能量消耗和氧化应激是新生儿脑损伤的早期事件^[18]。在病理状态下,活性氧和抗氧化剂之间的不平衡和 NO 诱导的氮自由基等损伤因子都会导致氧化应激^[19]。活性氧水平升高导致线粒体释放活性氧爆发,进而导致线粒体的破坏,这种破坏可能在线粒体间扩散,损害细胞本身^[20]。线粒体缺乏保护性组蛋白和有效的修复机制,所以线粒体 DNA 更容易受到氧化和其他基因毒性损伤^[5]²⁴³⁵。研究发现线粒体功能障碍与结直肠癌和多种神经疾病有关,例如阿尔茨海默氏病(AD)、创伤性脑损伤(TBI)、抑郁症、中风和帕金森氏病(PD)^[21-22]。线粒体功能的障碍必然导致神经系统的障碍,进而导致多种疾病的发生。线粒体 DNA 拷贝数直接体现了线粒体的状态,不同疾病线粒体 DNA 拷贝数改变可能不同,要根据病因和临床表现做具体分析。脑瘫的诊断需要临床医师丰富的经验和家长的全力支持,但目前广西基层医师水平参差不齐,容易造成脑瘫的误诊和漏诊,给国家、社会乃至家庭带来不可挽回的遗憾,因此寻找脑瘫的早期诊断标志物是我们目前急需解决的问题。本研究表明脑瘫儿童和正常儿童的线粒体 DNA 拷贝数确实存在显著差异,而且线粒体 DNA 拷贝数对于脑瘫具有一定的诊断价值,因此线粒体 DNA 拷贝数未来可能作为脑瘫的诊断标志物为儿童脑瘫的早期诊断提供理论依据。

参考文献:

- [1] Morgan C, Fahey M, Roy B, et al. Diagnosing cerebral palsy in full-term infants[J]. *J Paediatr Child Health*, 2018, 54(10):1159-1164.
- [2] Vitrikas K, Dalton H, Breish D. Cerebral Palsy: An Overview[J]. *Am Fam Physician*, 2020, 101(4):213-220.
- [3] 唐久来, 秦炯, 邹丽萍, 等. 中国脑性瘫痪康复指南(2015):第一部分[J]. *中国康复医学杂志*, 2015, 30(7):747-754.
- [4] 石晶, 母得志. 宫内感染与新生儿脑损伤[J]. *临床儿科杂志*, 2015, 33(9):767-770.
- [5] Xia CY, Liu Y, Yang HR, et al. Reference Intervals of Mitochondrial DNA Copy Number in Peripheral Blood for Chinese Minors and Adults[J]. *Chin Med J (Engl)*, 2017, 130(20):2435-2440.
- [6] Himmelmann K, Horber V, De La Cruz J, et al. MRI classification system (MRICS) for children with cerebral palsy: development, reliability, and recommendations[J]. *Dev Med Child Neurol*, 2017, 59(1):57-64.
- [7] Chiang KL, Kuo FC, Cheng CY, et al. Prevalence and demographic characteristics of comorbid epilepsy in children and adolescents with cerebral palsy: a nationwide population-based study[J]. *Childs Nerv Syst*, 2019, 35(1):149-156.

- [8] 吴德,唐久来. 婴幼儿围生期脑损伤的颅磁共振成像影像学临床评估[J]. 中华实用儿科临床杂志,2020,35(24):1846-1852.
- [9] Rose J,Brian C,Woods J, et al. Mitochondrial dysfunction in glial cells: Implications for neuronal homeostasis and survival[J]. Toxicology,2017,391:109-115.
- [10] Li MX,Dewson G. Mitochondria and apoptosis: emerging concepts[J]. F1000Prime Rep,2015,7:42.
- [11] Birsoy K, Wang T, Chen WW, et al. An Essential Role of the Mitochondrial Electron Transport Chain in Cell Proliferation Is to Enable Aspartate Synthesis [J]. Cell, 2015,162(3):540-551.
- [12] Raefsky SM, Mattson MP. Adaptive responses of neuronal mitochondria to bioenergetic challenges: Roles in neuroplasticity and disease resistance [J]. Free Radic Biol Med,2017,102:203-216.
- [13] 苏小明,郑炎,田美媛,等. 线粒体 DNA 拷贝数与缺血性脑卒中的研究进展[J]. 中西医结合心血管病电子杂志,2020,8(32):99.
- [14] Lu B, Zeng F, Xing W, et al. Decreased mitochondrial DNA copy number in children with cerebral palsy quantified by droplet digital PCR[J]. Clin Chim Acta,2020,503:122-127.
- [15] 李俊,王红娟,胡清源. 神经退行性疾病中线粒体 DNA 拷贝数的变化及其调控[J]. 中国生物化学与分子生物学报,2020,36(12):1431-1437.
- [16] Fukuda S, Mizuno K, Kawai S, et al. Reduction in cerebral blood flow volume in infants complicated with hypoxic ischemic encephalopathy resulting in cerebral palsy [J]. Brain Dev,2008,30(4):246-253.
- [17] Nair J, Kumar VHS. Current and Emerging Therapies in the Management of Hypoxic Ischemic Encephalopathy in Neonates [J]. Children (Basel),2018,5(7):99.
- [18] Leaw B, Nair S, Lim R, et al. Mitochondria, Bioenergetics and Excitotoxicity: New Therapeutic Targets in Perinatal Brain Injury [J]. Front Cell Neurosci,2017,11:199.
- [19] 卢勇,谭伟明,牛得草,等. 褪黑素对氯胺酮所致大鼠膀胱氧化应激损伤的保护作用[J]. 右江民族医学院学报,2018,40(1):13-16.
- [20] Hiebert JB, Shen Q, Thimmesch AR, et al. Traumatic brain injury and mitochondrial dysfunction [J]. Am J Med Sci,2015,350(2):132-138.
- [21] Uittenbogaard M, Chiaramello A. Mitochondrial biogenesis: a therapeutic target for neurodevelopmental disorders and neurodegenerative diseases [J]. Curr Pharm Des, 2014,20(35):5574-5593.
- [22] 王贲士,井楠,乔录新,等. 外周血游离线粒体 DNA 定量检测在结直肠癌患者中的表达及意义[J]. 临床检验杂志,2019,37(5):342-344.

收稿日期:2021-12-13;修回日期:2022-02-11

(上接第 157 页)

参考文献:

- [1] O'Brien VP, Koehne AL, Dubrulle J, et al. Sustained *Helicobacter pylori* infection accelerates gastric dysplasia in a mouse model [J]. Life Sci Alliance, 2020, 4(2): e202000967.
- [2] 周艳萍. 幽门螺杆菌耐药机制的研究进展[J]. 中国社区医师,2020,36(25):5-6.
- [3] 左美玲. 乌药中异乌药内酯的含量考察[J]. 中国现代医学杂志,2013,23(33):58-60.
- [4] 魏国清,蒋合众,陈惠,等. 乌药化学成分研究进展[J]. 成都中医药大学学报,2013,36(3):103-105.
- [5] Rajina S, Kim WJ, Shim JH, et al. Isolinderalactone induces cell death via mitochondrial superoxide- and STAT3-mediated pathways in human ovarian cancer cells [J]. Int J Mol Sci,2020,21(20):7530.
- [6] Chuang CH, Wang LY, Wong YM, et al. Anti-metastatic effects of isolinderalactone via the inhibition of MMP-2 and up regulation of NM23-H1 expression in human lung cancer A549 cells [J]. Oncol Lett, 2018, 15(4): 4690-4696.
- [7] Yen MC, Shih YC, Hsu YL, et al. Isolinderalactone enhances the inhibition of SOCS3 on STAT3 activity by decreasing miR-30c in breast cancer [J]. Oncol Rep, 2016, 35(3):1356-1364.
- [8] 刘小凤,侯雯倩,刘东玲,等. 7 种单味中药及其组方体外抑菌效果及复方溶液脱色方法研究[J]. 中国药理学与毒理学杂志,2021,35(10):791.
- [9] 陈方亮,黄瑞平,陈青华,等. 乌药醚内酯对肝损伤模型大鼠的保护作用[J]. 中国现代应用药学,2016,33(12):1512-1515.
- [10] 王军伟,谭明明,季梦漂,等. 酒精性肝损伤与肠内毒素渗漏的关系及乌药的干预作用[J]. 中华中医药学刊,2017,35(10):2515-2517.
- [11] 谢巍. 天然活性产物乌药醚内酯和姜黄素 A 对肝脏糖代谢的调控作用及机制研究[D]. 上海:中国科学院大学(中国科学院上海药物研究所),2018.
- [12] 黄永毅,李如佳,黄干荣,等. 抗幽门螺杆菌的泽兰有效成分筛选[J]. 右江民族医学院学报,2020,42(6):698-700,709.
- [13] 桓娜,于俊生,刘玉萍. 乌药的中药学及临床应用文献综述[J]. 中国中医药现代远程教育,2017,15(9):148-150.
- [14] 张琳,杨连文,郑晓光,等. 中药对空肠弯曲菌与幽门螺旋菌的抑菌作用[J]. 中国中西医结合脾胃杂志,1994,2(1):32-33.
- [15] 母育成,邢相宜,晏子俊,等. 穿心莲内酯的抗菌作用研究进展[J]. 贵州中医药大学学报,2021,43(1):85-89.
- [16] 刘勇. 苦地胆内酯类化合物体外抗菌作用机理的初步研究[D]. 湛江:广东海洋大学,2010.
- [17] 曹妍. 小白菊内酯对水稻白叶枯病菌的生物学活性及其应用研究[D]. 南京:南京农业大学,2019.

收稿日期:2022-02-20;修回日期:2022-02-23