

L-肉碱与辅酶 Q₁₀添加对腹水症肉鸡心肌细胞凋亡及抗氧化能力的影响

耿爱莲^{1,2,3} 李保明^{2,3} 芮于明¹

(1. 中国农业大学 动物科学技术学院, 北京 100094; 2. 农业部设施农业生物环境工程重点开放实验室, 北京 100083; 3. 中国农业大学 水利与土木工程学院, 北京 100083)

摘要 为探讨L-肉碱与辅酶 Q₁₀单独或共同添加时对腹水症肉鸡心肌细胞凋亡的影响,在饲料中添加 100 mg/kg L-肉碱和 40 mg/kg 辅酶 Q₁₀,采用常规温度缓慢降温和低温处理。结果表明:日粮中单独添加辅酶 Q₁₀可以显著降低低温组肉鸡 36 日龄时的红细胞压积(PCV)(0.41 vs. 0.31)($P < 0.05$),单独添加L-肉碱可以显著降低低温组肉鸡 42 日龄时的腹水心脏指数(AHI)(0.31 vs. 0.21)($P < 0.05$);单独添加L-肉碱或辅酶 Q₁₀以及二者同时添加都可以显著降低腹水症的死亡率($P < 0.05$)。正常肉鸡心肌细胞采用 H₂O₂ 诱导凋亡时,发现有细胞色素 C 大量释放到胞浆中,而不采用 H₂O₂ 诱导凋亡组则没有观察到该现象;腹水症肉鸡心肌细胞不论采用 H₂O₂ 诱导凋亡与否都发现有细胞色素 C 释放到胞浆中的现象。但各组 Caspase-3 活性并没有显著变化,L-肉碱与辅酶 Q₁₀同时添加时可显著提高腹水症肉鸡心肌线粒体谷胱甘肽(GSH)含量和血清中抗活性氧能力(A-RC)($P < 0.05$)。因此肉鸡发生腹水症与心肌细胞凋亡之间存在必然联系,但日粮单独或共同添加L-肉碱与辅酶 Q₁₀均能够显著降低肉鸡腹水症的死亡率。

关键词 L-肉碱; 辅酶 Q₁₀; 肉鸡; 腹水症; 细胞凋亡

中图分类号 S 852.43

文章编号 1007-4333(2007)02-0021-06

文献标识码 A

Effects of L-carnitine and CoQ₁₀ supplementation on cardiomyocyte apoptosis and antioxidative capability in ascites broilers

Geng Ailian^{1,2,3}, Li Baoming^{2,3}, Guo Yuming¹

(1. College of Animal Science and Technology, China Agricultural University, Beijing 100094, China;
2. Key Laboratory of Agricultural Bioenvironmental Engineering, Ministry of Agriculture, Beijing 100083, China;
3. College of Water Conservancy and Civil Engineering, China Agricultural University, Beijing 100083, China)

Abstract The effects of dietary L-carnitine and CoQ₁₀ supplementation on cardiomyocyte apoptosis were investigated in broilers with ascites. The factors included L-carnitine supplementation (100 mg/kg feed), CoQ₁₀ supplementation (40 mg/kg feed) and 2 temperature treatments. The results showed that CoQ₁₀ supplementation alone can significantly decrease packed cell volume (PCV) of 36 days old broilers (0.41 vs. 0.31) ($P < 0.05$); L-carnitine supplementation alone can significantly decrease ascites heart index (AHI) of 42 days old broilers (0.31 vs. 0.21) ($P < 0.05$). Dietary L-carnitine and CoQ₁₀ supplementation alone and in combination significantly reduced the ascites mortality ($P < 0.05$). A large amount of cytochrome C was released from cytosol only when H₂O₂ was added to the cardiomyocytes of normal broilers to induce apoptosis. The cytochrome C release was observed in cardiomyocytes of ascites broilers with or without H₂O₂. Caspase-3 activity was not altered significantly among groups. L-carnitine and CoQ₁₀ supplementation alone and in combination can significantly increase the level of GSH in cardiomyocytes of ascites broilers as well as the anti-reactive oxygen capability (A-RC). There was insufficient evidence to enunciate the necessary relationship between ascites and cardiomyocyte apoptosis, but dietary L-carnitine and CoQ₁₀ supplementation alone and in combination reduced ascites mortality of broilers.

Key words L-carnitine; CoQ₁₀; broiler chickens; cardiomyocyte apoptosis; antioxidative capability

收稿日期: 2006-07-07

作者简介: 耿爱莲, 博士, 主要从事动物营养、环境调控与动物福利的研究, E-mail: ailiangengcau@126.com; 芮于明, 教授, 博士生导师, 通讯作者, 主要从事动物营养与饲料科学研究, E-mail: guoym@public.bta.net.cn

心肌细胞凋亡是导致心功能下降的主要原因之一^[1]。心肌细胞中,线粒体约占心肌细胞总体积的45%。当心肌细胞凋亡时,线粒体结构与功能发生明显改变,且与心肌细胞凋亡密切相关^[2],说明线粒体可以介导细胞凋亡的发生。

已有大量文献表明L-肉碱与辅酶Q₁₀均有利于细胞凋亡的调控。如L-肉碱可抑制外周血单核细胞的神经酰胺(细胞内的一种凋亡信使)产生下降^[3-4]。辅酶Q₁₀在某种程度上也可抑制或阻碍凋亡^[5]。质膜辅酶Q₁₀可作为调控氧化应激介导凋亡发生起始阶段的调控子^[6],辅酶Q₁₀对细胞的保护作用可能是通过提高细胞对凋亡步骤促发的抗性来调控的^[7]。

以往试验证实了^[8]日粮中单独或同时添加L-肉碱与辅酶Q₁₀均可显著降低肉鸡对腹水症的敏感性,降低腹水症的死亡率。肉鸡腹水症作为一种代谢性疾病,其发生的原因可能与各种心脏病变有关^[9],如左房室瓣心内膜炎是腹水症鸡心脏的常规症状之一^[10]。另外,Cawthon等^[11]首次提出了线粒体功能衰竭可能与腹水症发病病理有关。由此联想到:L-肉碱与辅酶Q₁₀对腹水症的调控作用除了与它们共同具有的抗氧化功能有关外,是否还与它们具有的对心肌细胞凋亡的调控作用有关,因为已有研究表明自由基产生和氧化应激不仅与腹水症的发生有关^[12-13],而且也是造成机体细胞凋亡的重要因素^[14]。

本试验旨在通过研究心肌细胞凋亡酶活性、线粒体细胞色素C的释放以及氧化应激情况来观察腹水症肉鸡是否存在心肌细胞凋亡的现象,探讨L-肉碱与辅酶Q₁₀单独或共同添加时对腹水症肉鸡的影响。

1 材料与方法

1.1 试验动物与日粮

选1日龄爱拔益加(AA)雄性肉仔鸡432只随机分为8组,每组设6个重复,每重复组9只。试验采用2×2×2因子安排。饲料中L-肉碱添加水平为100 mg/kg,辅酶Q₁₀添加水平为40 mg/kg;采用常规温度控制缓慢降温并从10日龄开始突然降低温度到15~18℃处理以诱发腹水症。L-肉碱和辅酶Q₁₀均从1日龄开始添加,其中L-肉碱购自香港龙沙公司(肉碱王,Carniking),辅酶Q₁₀由日本出光石油化学株式会社(Summit AGRO International Ltd.)赠送。采用玉米-豆粕型基础日粮,参照NRC(1994)肉仔鸡营养配制(代谢能3.2 Mcal/kg,粗蛋白育雏料为23%(质

量分数),育肥料为20%(质量分数))。

1.2 饲养管理

采用常规饲养管理,常规免疫,自由采食和饮水,白天自然光照,晚上人工光照。1日龄控制温度为33℃,3日龄为32.5℃,5日龄为32℃,以后每隔1d降低1℃,至9日龄时为30℃。相对湿度60%~65%。10日龄时关闭水暖,进行较低温(白天最高温18℃,夜间最低温15℃)处理以诱发腹水症,相对湿度为55%~60%。之后继续关闭水暖,自然光照和气温(17~20℃),相对湿度50%~60%。试验期间每天记录发病、死亡鸡只,并对死鸡逐个剖检确定死因。

1.3 指标测定与方法

28和36日龄时从每个重复组中随机抽取1只鸡,翼静脉采血2 mL,分别采用肝素钠抗凝和不抗凝处理,抗凝血立即采用温氏法^[15]测定红细胞压积(packed cell volume, PCV),不抗凝血分离血清后置-30℃冰箱待测。21、42日龄时从每个重复组中随机抽取1只鸡屠宰,分离心脏以检测腹水心脏指数(右心室重/总心室重,ascites heart index, AHI),测定方法参考Huchzermeyer等^[16]。

22日龄时分别从低温4个组中挑选具有典型腹水症症状的鸡,每组1~2只,共6只。从常温4个组中挑选正常鸡,对应低温组每组取1~2只,共6只,总计12只同时屠宰,将同组的心脏混合,马上分离提取心肌细胞。心肌细胞分离方法参考John等^[17],略加修改。分离的心肌细胞立刻采用CLONTECH公司BD ApoAlert™ Caspase Colorimetric Assay Kit(购自北京吉泰生物科技有限公司)进行测定。用0.5 mmol/L H₂O₂(30 min)诱导凋亡组作为阳性对照,而诱导组+抑制剂DEVD-fmk作为阴性对照。

43日龄时分别从4个低温诱导组中挑选具有典型腹水症症状的鸡,每组1只。从常温4个组中挑选正常鸡,每组1只,共8只同时屠宰,将同组的心脏混合,分离提取心肌细胞,最后使细胞数为5×10⁷/mL。采用CLONTECH公司ApoAlert Cell Fractionation Kit进行线粒体细胞色素C的定位分析。按照指定步骤将线粒体和胞浆部分分离,精确定蛋白(考马斯亮蓝法,1 μg/mL)后置于-80℃冰箱保存待测。分别取5~10 μg线粒体蛋白和胞浆蛋白进行12% SDS凝胶电泳,然后进行标准的Western Blot分析。用0.5 mmol/L H₂O₂(30 min)诱导凋亡组作为阳性对照。经转膜、封闭、脱色后分别做相应的抗体结合。使用ApoAlert Cell Fractionation Kit中自带的细胞色素C抗

体标记(1:100 稀释)。为确证线粒体部分从胞浆部分分离,另外取线粒体和胞浆部分进行电泳,使用 ApoAlert Cell Fractionation Kit 中自带的 COX4 抗体标记(1:500 稀释)。结合后 37 °C 恒温孵育 1 h,洗脱后再加二抗(鼠抗),重新孵育至少 45 min,洗脱几次,每次至少 5 min。显色后观察结果,进行拍照。

经过 Western blot 法求证后的线粒体,继续进行线粒体内还原型谷胱甘肽(GSH)含量以及活性氧含量的测定(试剂盒购自南京建成生物工程研究所),血清也进行以上测定。

1.4 数据统计

试验数据采用平均值 ± 标准差表示。运用 Spss10.0 for Windows 软件中单因素方差分析(ANOVA)和一般线性模型(GLM)进行统计。以 $P < 0.05$

为显著水平,符合正态分布的数据进行 Duncan 氏比较。

2 试验结果

2.1 添加 L-肉碱与辅酶 Q₁₀对肉鸡 PCV、AHI 和腹水症发生、死亡率的影响

28、36 日龄时肉鸡 PCV 低温组比常温组均显著升高($P < 0.05$) (表 1),说明肉鸡腹水症发生的敏感性显著提高。添加辅酶 Q₁₀可以显著降低低温组肉鸡 36 日龄时的 PCV(4.31 vs. 3.31) ($P < 0.05$),而对 28 日龄时 PCV 没有显著影响。肉鸡 21 日龄时 AHI 没有显著变化,而 42 日龄 AHI 显著升高($P < 0.05$),添加 L-肉碱可以显著降低低温组肉鸡 42 日龄时的 AHI(0.31 vs. 0.21) ($P < 0.05$)。肉鸡腹水症发生率是以

表 1 添加 L-肉碱和辅酶 Q₁₀对 PCV、AHI 和腹水发生、死亡率的影响

Table 1 Effects of L-carnitine and CoQ₁₀ supplementation on PCV, AHI, ascites incidence and mortality

指 标	L-肉碱/ (mg/ kg)	辅酶 Q ₁₀ / (mg/ kg)	PCV/ %		AHI		腹水发 生率/ %	腹水死 亡率/ %
			28 日龄	36 日龄	21 日龄	42 日龄		
常温	0	0	0.35	0.33 bc	0.20	0.25 abc	7.94 b	1.85 b
	0	40	0.33	0.31 c	0.20	0.21 bc	8.89 b	0 b
	100	0	0.32	0.31 c	0.19	0.20 bc	13.81 b	0 b
	100	40	0.33	0.31 c	0.18	0.17 c	7.94 b	0 b
低温	0	0	0.44	0.41 a	0.24	0.31 a	58.00 a	7.41 a
	0	40	0.36	0.31 c	0.20	0.28 ab	20.83 b	0 b
	100	0	0.37	0.37 ab	0.18	0.21 bc	15.48 b	0 b
	100	40	0.41	0.31 c	0.19	0.22 abc	13.99 b	0 b
SEM			0.013	0.008	0.007	0.011	0.034	0.006
P	L-肉碱		0.692	0.363	0.103	0.002	0.037	0.031
	辅酶 Q ₁₀		0.553	0.001	0.508	0.323	0.072	0.031
	温度		0.020	0.008	0.334	0.023	0.008	0.187
	L-肉碱 × 辅酶 Q ₁₀		0.174	0.216	0.471	0.502	0.211	0.031
	L-肉碱 × 温度		0.810	0.756	0.638	0.500	0.032	0.187
	辅酶 Q ₁₀ × 温度		0.905	0.004	0.606	0.425	0.085	0.187

注:同列数据无相同字母者表示差异显著($P < 0.05$),下同。

1~7 周末试验肉鸡全群屠宰解剖后观察心脏、肝脏以及腹腔是否有积水的症状而得出的结果,表明低温组肉鸡腹水症发生率显著提高,而日粮中添加 L-肉碱或辅酶 Q₁₀以及二者共同添加可以显著降低腹水症的死亡率。

2.2 添加 L-肉碱与辅酶 Q₁₀对肉鸡心肌细胞凋亡影响

本试验测定腹水症肉鸡和正常肉鸡的心肌细胞 Caspase-3 活性时并没有观察到有显著变化($P > 0.05$),而且 L-肉碱与辅酶 Q₁₀单独或共同添加时对

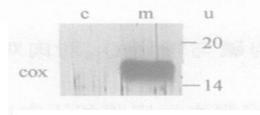
Caspase-3 酶的活性也没有显著的影响(表 2)。

表 2 添加 L-肉碱和辅酶 Q₁₀ 对心肌线粒体 Caspase-3 活性的影响

Table 2 Effects of L-carnitine and CoQ₁₀ supplementation on Caspase-3 activity

指 标	L-肉碱/ (mg/ kg)	辅酶 Q ₁₀ / (mg/ kg)	线粒体 Caspase-3 活性/ U
正常鸡	0	0	4.77
	0	40	3.72
	100	0	5.08
	100	40	5.84
腹水鸡	0	0	5.43
	0	40	6.41
	100	0	7.11
	100	40	6.46
SEM			0.564
P	L-肉碱		0.419
	辅酶 Q ₁₀		0.994
	肉鸡状况		0.249
	L-肉碱 × 辅酶 Q ₁₀		0.972
	L-肉碱 × 肉鸡状况		0.892
	辅酶 Q ₁₀ × 肉鸡状况		0.904
	L-肉碱 × 辅酶 Q ₁₀ × 肉鸡状况		0.421

细胞色素 C 的定位作为一种常用的指标一直被用于研究线粒体参与凋亡的过程。图 1 表明心肌线粒体与胞浆部分完全分开。正常肉鸡心肌细胞采用 H₂O₂ 诱导凋亡时,发现有细胞色素 C 大量释放到胞浆中,而不采用 H₂O₂ 诱导凋亡组则没有观察到该现象;腹水症肉鸡心肌细胞不论采用 H₂O₂ 诱导凋亡与否都发现有线粒体中细胞色素 C 大量释放到胞浆中,这一结果表明腹水症肉鸡心肌细胞中存在凋亡发生的前提基础,即线粒体释放细胞色素 C 进入胞浆。单独添加 L-肉碱以及 L-肉碱与辅酶 Q₁₀ 共同添加组中均没有观察到线粒体细胞色素 C



m 为线粒体, c 为胞浆

图 1 确证线粒体与胞浆部分

Fig. 1 Identification of mitochondria and cytosol

释放到胞浆中,而单独添加辅酶 Q₁₀ 的一组有该现象发生,说明单独 L-肉碱以及肉碱与辅酶 Q₁₀ 协作可以调控线粒体细胞色素 C 的释放。

2.3 添加 L-肉碱与辅酶 Q₁₀ 对肉鸡心肌细胞线粒体、血清 GSH 含量及抗活性氧能力的影响

从表 3 结果看出,腹水症肉鸡同正常肉鸡相比,虽然心肌线粒体抗活性氧能力没有显著变化,但线粒体 GSH 含量、血清 GSH 含量和抗活性氧能力显著降低 ($P < 0.05$),其中腹水症对照组心肌线粒体 GSH 含量显著低于正常鸡对照组 GSH 含量。单独添加 L-肉碱可以显著提高血清中 GSH 含量以及线粒体、血清中抗活性氧能力 ($P < 0.05$);添加辅酶 Q₁₀ 可以显著提高正常组肉鸡心肌线粒体 GSH 含量 ($P < 0.05$),而对血清中 GSH 含量以及线粒体、血清中抗活性氧能力没有显著影响;二者共同添加时可显著提高腹水症肉鸡心肌线粒体 GSH 含量和血清中抗活性氧能力 ($P < 0.05$)。

3 讨 论

1) 心肌细胞凋亡虽然与多种疾病有关,但以往还没有文献记载腹水症与细胞凋亡的关系。凋亡发生是复杂的、由蛋白酶介导的级联反应过程,天冬氨酸特异的半胱氨酸蛋白酶-3 (Caspase-3) 是参与调节和执行凋亡最重要的蛋白酶之一,同时也是凋亡发生的标志酶^[18]。本试验结果表明肉鸡发生腹水症时存在有心肌细胞凋亡发生的前提基础,即线粒体细胞色素 C 大量释放到胞浆中,但并没有观察到后续胱冬肽酶-3 (Caspase-3) 活性的显著变化,尽管发生腹水症肉鸡的 Caspase-3 活性要比正常对照组肉鸡高,而且心肌线粒体 GSH 含量各组间差异显著。GSH 是细胞内主要的低分子质量的硫醇,它在细胞抗氧化和亚硝化应激中起重要作用,一般在细胞凋亡的早期阶段会有 GSH 水平的降低。表 3 显示了腹水症肉鸡心肌线粒体 GSH 含量较正常肉鸡的 GSH 含量显著降低,说明存在细胞凋亡的现象。由于判断凋亡发生的指标有很多,因此推断腹水症肉鸡心肌细胞虽然存在凋亡发生的可能性,但尚没有充足的证据说明肉鸡发生腹水症与心肌细胞凋亡存在必然的关联。

2) Navas 等^[19] 证明来源于去除血清的细胞质膜上的辅酶 Q₁₀ 可预防神经酰胺依赖的 Caspase-3 的活化,而本试验没有得出有关辅酶 Q₁₀ 对 Caspase-3 有所作用的结论。考虑其原因一方面是由于辅酶

表 3 L-肉碱和辅酶 Q₁₀添加对线粒体和血清中谷胱甘肽含量和抗活性氧能力的影响Table 3 Effects of L-carnitine and CoQ₁₀ supplementation on GSH and A-RC capability in mitochondria and serum

指 标	L-肉碱/ (mg/ kg)	辅酶 Q ₁₀ / (mg/ kg)	线粒体谷胱 甘肽/ (g/ g)	血清谷胱甘 肽/ (g/ L)	线粒体抗活性氧 能力/ (U/ mg)	血清抗活性氧 能力/ (U/ mL)
正常鸡	0	0	2.866 c	0.501 d	40.78 c	32.07 ab
	0	40	3.300 b	0.759 d	45.38 ab	31.33 c
	100	0	2.267 d	0.570 d	41.96 bc	32.19 ab
	100	40	4.594 a	0.738 d	45.14 ab	32.31 ab
腹水鸡	0	0	2.522 d	1.448 bc	40.15 c	32.38 ab
	0	40	2.359 d	1.180 c	42.03 bc	32.90 b
	100	0	1.787 e	1.881 a	46.41 a	32.29 ab
	100	40	4.110 ab	1.708 ab	45.14 ab	34.06 a
SEM			0.176	0.080	0.610	0.165
P	L-肉碱		0.057	0.001	0.010	0.042
	辅酶 Q		0.001	0.961	0.115	0.112
	肉鸡状况		0.001	0.001	0.774	0.001
	L-肉碱 × 辅酶 Q ₁₀		0.001	0.988	0.206	0.047
	L-肉碱 × 肉鸡状况		0.091	0.004	0.064	0.981
	辅酶 Q ₁₀ × 肉鸡状况		0.278	0.005	0.304	0.008
	L-肉碱 × 辅酶 Q ₁₀ × 肉鸡状况		0.034	0.535	0.304	0.711

Q₁₀的来源不同,作用部位不同;另一方面也可能 Caspase-3 酶的活性是受某些因素介导的,如可以刺激细胞色素 C 和受体分子凋亡蛋白酶激活因子相结合的因素缺乏。另外本试验所采用的 Caspase-3 测定试剂盒是针对哺乳动物设计的,采用该试剂盒测定肉鸡心肌细胞 Caspase 酶的活性变化必然有一定的影响。有关这方面还需进一步研究。

3) 通过采用 H₂O₂ 人工诱导心肌细胞凋亡的方法,本试验还观察到,在腹水症肉鸡心肌细胞中,无论诱导凋亡与否,对照组均有线粒体中细胞色素 C 释放到胞浆的现象,而单独添加 L-肉碱、L-肉碱与辅酶 Q₁₀ 共同添加组则没有观察到该现象。表明单独添加 L-肉碱以及 L-肉碱与辅酶 Q₁₀ 共同添加对腹水症肉鸡心肌细胞的线粒体细胞色素 C 释放有着一定的调控作用,对正常肉鸡的心肌细胞没有明确的结果予以支持。这与 Furuno 等^[20]报道的 L-肉碱可抑制由类辅酶 A 物诱导的线粒体功能衰竭和细胞色素 C 释放相符。辅酶 Q₁₀ 及其类似物对凋亡的调控作用,是与其能够调控线粒体中膜通道转运孔 (PTP) 的开放,抑制线粒体去极化,抑制细胞色素 C

从线粒体内释放有关^[21]。

本试验进一步证明了以往得出的日粮中添加 L-肉碱与辅酶 Q₁₀ 有利于降低肉鸡腹水症发生是与二者能提高机体的抗氧化能力有关的结论^[8],具体表现在肉鸡 36 日龄 PCV 和 42 日龄 AHI 显著降低,肉鸡腹水症的发生率和死亡率显著降低,腹水症肉鸡心肌线粒体 GSH 含量和血清中的抗活性氧能力显著提高。

4 结 论

本试验结果中没有充分的证据表明肉鸡发生腹水症与心肌细胞凋亡之间存在必然联系。日粮添加 L-肉碱与辅酶 Q₁₀ 能够显著降低肉鸡对腹水症发生的敏感性,其机制与其能够提高心肌细胞线粒体和血清中抗氧化能力有关,而对腹水症肉鸡心肌细胞凋亡酶 Caspase-3 的活性没有显著影响。

参 考 文 献

- [1] Tanaka M, Ito H, Adachi S, et al. Hypoxia induces apoptosis with enhanced expression of Fas antigen mes-

- senger RNA in cultured neonatal rat cardiomyocytes [J]. *Circ Res*,1994 , 75 :426 - 433
- [2] Chen E, Proestou G, Borbeau D, et al. Rapid up-regulation of peptide elongation factor EF-1 alpha protein levels is a immediate early event during oxidative stress-induced apoptosis [J]. *Exp Cell Res*,2000 , 259:140~148
- [3] Di Marzio L, Alesse E, Roncaioli P, et al. Influence of L-carnitine on CD95 cross-linking-induced apoptosis and ceramide generation in human cell lines: correlation with its effects on purified acidic and neutral sphingomyelinases in vitro [J]. *Proc Assoc Am Physicians*,1997 , 109: 154~163
- [4] Andrieu-Abadie N, Jaffrezou J P, Hatem S, et al. L-carnitine prevents doxorubicin-induced apoptosis of cardiac myocytes: role of inhibition of ceramide generation [J]. *FASEB J*,1999 , 13: 1501~1510
- [5] Crane F L. New functions for coenzyme Q [J]. *Protoplasma*,2000 , 213: 127~133
- [6] Lopez-Lluch G, Barroso M P. Role of plasma membrane coenzyme Q on the regulation of apoptosis [J]. *Biofactors*,1999 , 9: 171~178
- [7] Menke T, Gille G, Reber F, et al. Coenzyme Q10 reduces the toxicity of rotenone in neuronal cultures by preserving the mitochondrial membrane potential [J]. *Biofactors*,2003 , 18: 65~73
- [8] Geng A L, Guo Y M, Yuan J M. Effects of dietary L-carnitine and coenzyme Q10 supplementation on performance and ascites mortality of broilers [J]. *Arch Anim Nutr*,2004 , 58: 473~482
- [9] Currie R J W. Ascites in poultry: recent investigations [J]. *Avian Pathol*,1999 , 28: 313~326
- [10] Olkowski A A, Classen H L, Kumor L. Left atrio-ventricular valve degeneration, left ventricular dilation and right ventricular failure: a possible association with pulmonary hypertension and aetiology of ascites in broiler chickens [J]. *Avian Pathol*,1998 , 27: 51~59
- [11] Cawthon D, Beers K, Bottje W G. Electron transport chain defect and inefficient respiration may underlie pulmonary hypertension syndrome (ascites)-associated mitochondrial dysfunction in broilers [J]. *Poult Sci*, 2001 , 80: 474~484
- [12] Enkvetchakul B, Bottje W, Anthony N, et al. Compromised antioxidant status associated with ascites in broilers [J]. *Poult Sci*,1993 , 72: 2272~2280
- [13] Bottje W G, Jr Wideman R F. Potential role of free radicals in the pathogenesis of pulmonary hypertension syndrome [J]. *Poult Avi Biol Rev*,1995 , 6: 211~231
- [14] Forrest V J, Kang Y H, McClain D E, et al. Oxidative stress-induced apoptosis prevented by Trolox [J]. *Free Radic Biol Med*,1994 , 16: 675~684
- [15] Jain N C. In: Schalm's veterinary hematology [M]. 4th ed. Philadelphia:Lea and Febiger, 1986: 20~87
- [16] Huchzermeyer F W, De Ruyck A M C. Pulmonary hypertension syndrome associated with ascites in broilers [J]. *Vet Record*,1986 , 119: 94~96
- [17] John S M, Jules C H, Allan J L. Cultured adult cardiac myocytes: Future applications, culture methods, morphological and electrophysiological properties (Review) [J]. *Cardio Res*,1998 , 39: 280~300
- [18] Higuchi M, Aggarwal B B, Yeh E T. Activation of CPP32-like protease in tumor necrosis factor-induced apoptosis is dependent on mitochondrial function [J]. *J Clin Invest*,1997 , 99: 1751~1758
- [19] Navas P, Lopez-Lluch G, De Cabo R, et al. Ceramide-dependent caspase 3 activation is prevented by coenzyme Q from plasma membrane in serum-deprived cells [J]. *Free Radic Res*, 2002 , 36:369~372
- [20] Furuno T, Kanno T, Arita K, et al. Roles of long chain fatty acid and carnitine in mitochondrial membrane permeability transition [J]. *Biochem Pharmacol*,2001 , 62: 1037~1046
- [21] Papucci L, Schiavone N, Witort E, et al. Coenzyme Q prevents apoptosis by inhibiting mitochondrial depolarization independently of its free radical scavenging property [J]. *J Biol Chem*,2003 , 278: 28220~28228