

· 论 著 ·

盐酸戊乙奎醚对缺血再灌注损伤大鼠海马 CA1 区神经细胞及 TNF- α 、IL-10 表达的影响

李钢, 陈旭

上海市第八人民医院神经内科, 上海 200235

摘要: **目的** 观察急性全脑缺血再灌注损伤大鼠脑组织中肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白细胞介素(IL)-10 表达的变化及盐酸戊乙奎醚对其的影响,探讨盐酸戊乙奎醚对急性全脑缺血再灌注损伤大鼠脑保护的作用机制。**方法** 75 只健康雄性 SD 大鼠随机分为 3 组:假手术组(S 组, $n = 25$),模型组(IR 组, $n = 25$),盐酸戊乙奎醚干预组(P 组, $n = 25$)。IR 组及 P 组大鼠根据四血管闭塞法建立急性全脑缺血再灌注模型。S 组只暴露椎动脉而不烧灼,只暴露颈总动脉而不夹闭。P 组在再灌注前立即腹腔注射盐酸戊乙奎醚 2 mg/kg,12、24、36 h 时再重复腹腔注射 1 次,剂量同前。依据缺血再灌注 3、6、12、24、48 h 5 个时间点将各组大鼠分为 5 个亚组,每个亚组 5 只 SD 大鼠。取完整全脑分离的海马组织,应用免疫组化法观察不同时间点大鼠海马 CA1 区 TNF- α 、IL-10 的表达情况,光镜和电镜下观察不同时间点大鼠海马 CA1 区的神经细胞病理形态变化及超微结构的变化。**结果** 与 S 组比较,IR 组和 P 组急性全脑缺血再灌注后各时间点 TNF- α 、IL-10 的表达均升高(P 均 < 0.01)。IR 组 TNF- α 和 IL-10 表达于再灌注 24 h 达高峰,48 h 开始降低。P 组在缺血再灌注各时间点 TNF- α 的表达均比 IR 组低($P < 0.05$, $P < 0.01$),IL-10 的表达均比 IR 组高($P < 0.05$, $P < 0.01$)。与 IR 组全脑缺血再灌注 24 h 亚组相比,P 组全脑缺血再灌注 24 h 亚组神经细胞病理形态及超微结构受损有所改善。**结论** 盐酸戊乙奎醚可能通过抑制缺血再灌注后 TNF- α 的表达、升高 IL-10 的表达,而减轻急性全脑缺血再灌注的损害,起保护脑组织的作用。

关键词: 全脑缺血再灌注; 四血管闭塞法; 大鼠; 海马 CA1 区; 盐酸戊乙奎醚; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-10

中图分类号: R 965 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2018)01-0051-05

Effects of penethylidene hydrochloride on the expression of TNF- α and IL-10 in the hippocampal CA1 region of rats with ischemia-reperfusion injury

LI Gang, CHEN Xu

Department of Neurology, Shanghai Eighth People's Hospital, Shanghai 200235, China

Abstract: Objective To investigate the change of expression of tumor necrosis factor (TNF)- α and interleukin (IL)-10 in brain tissue of ischemia-reperfusion injury rats, and the effect of penethylidene hydrochloride on them, in order to explore the mechanism of cerebral protection of penethylidene hydrochloride on acute cerebral ischemia reperfusion injury rats.

Methods A total of 75 healthy male SD rats were divided into 3 groups randomly: sham surgery group (group S, $n = 25$), model group (group IR, $n = 25$), and penethylidene hydrochloride group (group P, $n = 25$). Four-vessel occlusion was used to establish acute cerebral ischemia reperfusion injury rats models in group IR and group P. The vertebral artery were only exposed but non-burning and the common carotid artery were exposed but non-clamping in group S rats. The group P rats were injected with 2 mg/kg penethylidene hydrochloride intraperitoneally by the time before reperfusion and 12, 24, 36 hours after the reperfusion. The rats in each group were further divided into 5 subgroups according to 3, 6, 12, 24, 48 hours after reperfusion (5 rats each subgroup). The whole brain was taken to separate the hippocampal tissue. The expression of TNF- α and IL-10 in the hippocampal CA1 region of rats at different time points was observed by immunohistochemistry. Light and electron microscope were used to observe morphological changes and ultrastructural changes of nerve cells in the hippocampal CA1 region of rats at different time points. **Results** The expressions of TNF- α and IL-10 in all the time point after reperfusion in group IR and group P were all higher than those in group S (all $P < 0.01$). The TNF- α and IL-10 level

in group IR peaked at 24 hours after the reperfusion, and began to decrease after 48 hours. The expression of TNF- α in group P was lower than that in group IR at every time point after the reperfusion ($P < 0.05, P < 0.01$). The expression of IL-10 in group P was higher than that in group IR at every time point after the reperfusion ($P < 0.05, P < 0.01$). Compared to the 24 hours after reperfusion subgroup of group IR, the pathological morphology and ultrastructure damage of nerve cells were improved in the 24 hours after reperfusion subgroup of group P. **Conclusion** Penethylidine hydrochloride may reduce the damage of acute global cerebral ischemia-reperfusion and protect brain tissue by inhibiting the expression of TNF- α so that increasing the expression of IL-10 after ischemia-reperfusion.

Key words: Cerebral ischemia reperfusion; Four-vessel occlusion; Rat; Hippocampal CA1 region; Penethylidine hydrochloride; Tumor necrosis factor- α ; Interleukin-10

盐酸戊乙奎醚(长托宁)是我国自主研发的新型抗胆碱药^[1-2],它可以通过血-脑脊液屏障,选择性地作用于脑组织 M1 胆碱能受体,改善脑的微循环,从而改善脑组织氧代谢。其在防治脑缺血再灌注损伤方面的作用机制并不十分清楚,需进一步进行研究。本实验以四血管闭塞法(pulsinelli four-vessel occlusion)建立大鼠急性全脑缺血再灌注模型,观察盐酸戊乙奎醚对大鼠海马 CA1 区肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白细胞介素(IL)-10 免疫阳性细胞表达的影响,从炎症因子表达方面来探讨盐酸戊乙奎醚对急性全脑缺血再灌注损伤的保护作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 健康雄性 SD 大鼠 75 只,SPF 级,体重 200 ~ 250 g,由我院动物实验中心提供,许可证号:SCXK2016-0004,我院动物实验中心分笼饲养,自由进食饮水,术前禁食 12 h 但不禁水。主要试剂及药品:盐酸戊乙奎醚注射液(规格 1 mg/支):成都力斯特制药股份有限公司;多聚甲醛(固体甲醛):国药集团化学试剂有限公司;水合氯醛(水合三氯乙醛):国药集团化学试剂有限公司;氢氧化钠:国药集团化学试剂有限公司;盐酸:国药集团化学试剂有限公司;TNF- α 免疫组化试剂盒:福州迈新生物技术开发有限公司;IL-10 免疫组化试剂盒:福州迈新生物技术开发有限公司;DAB 显色试剂盒:武汉博士德生物工程有限公司;0.9% 氯化钠注射液:安徽双鹤药业有限责任公司;消毒医用碘酒、酒精:我院动物实验中心提供。

1.2 方法

1.2.1 实验动物分组 75 只健康雄性 SD 大鼠随机分为 3 个组:假手术组(S 组),模型组(IR 组),盐酸戊乙奎醚干预组(P 组),每个组再依据缺血再灌注 3、6、12、24、48 h 5 个时间点分为 5 个亚组,每个亚组各 5 只 SD 大鼠。

1.2.2 模型制备 IR 组及 P 组根据四血管闭塞法建立大鼠急性全脑缺血再灌注模型。术中术后用白炽灯照射动物以维持直肠温度(37.0 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 左右,

直到恢复活动;室温控制在(22.0 ± 2.0) $^{\circ}\text{C}$,相对湿度为(50.0 ± 10.0)%。S 组大鼠麻醉及手术过程相同,但只暴露椎动脉而不烧灼,只暴露颈总动脉而不夹闭。

1.2.3 给药方式及剂量 P 组在再灌注前立即腹腔注射盐酸戊乙奎醚 2 mg/kg,12、24、36 h 时再重复腹腔注射 1 次,剂量同前。IR 组和 S 组给予等量 0.9% 氯化钠注射液腹腔注射。实验中有死亡、翻正反射存在、一直抽搐、痉挛、眼球不变灰的大鼠不纳入实验。

1.2.4 免疫组化检测 TNF- α 及 IL-10 蛋白的表达 处死大鼠,取完整全脑分离海马组织,应用免疫组化法观察不同时间点大鼠海马 CA1 区 TNF- α 、IL-10 的表达情况。取石蜡切片脱蜡:二甲苯 I 10 min,二甲苯 II 10 min;水化:无水乙醇 5 min,95% 乙醇 5 min,80% 乙醇 5 min,75% 乙醇 5 min,蒸馏水 10 min;将切片用柠檬酸微波修复;每张切片加 1 滴过氧化物酶阻断溶液(试剂 A),于室温下孵育 10 min,以阻断内源性过氧化物酶的活性。PBS 溶液冲洗 3 次,每次 3 min;除去 PBS 液,每张切片加 1 滴正常非免疫动物血清(试剂 B),于室温下孵育 10 min;除去血清,每张切片加 1 滴 TNF- α 抗体或 IL-10 抗体,4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜。PBS 溶液冲洗 3 次,每次 3 min;除去 PBS 液,每张切片加 1 滴链霉菌抗生物素-过氧化物酶试剂(试剂 D),于室温下孵育 10 min,PBS 溶液冲洗 3 次,每次 3 min;除去 PBS 液,每张切片加 2 滴 DAB 溶液,显微镜下观察 3 ~ 5 min;自来水冲洗,苏木素复染,自来水冲洗返蓝;1% 盐酸酒精分化;经酒精脱水,中性树胶封片;测算吸光度:所有免疫组化切片在显微摄影系统 OlympusBX50 下观察并拍照,细胞核内有棕黄色物质表达为阳性细胞,并采用 HPIAS2000 型图像分析软件测算出吸光度,以其表示蛋白的相对表达量。

1.2.5 光镜和电镜观察标本 将全脑组织迅速放入 4% 多聚甲醛溶液中,溶液应盖住标本,固定 24 h,其

余步骤严格按照相关试剂盒说明进行。电镜下观察标本制备:将取出的完整全脑组织放于冰盘上,在冰盘上分离海马,将海马组织迅速放入 2% 的戊二醛溶液中,溶液没过组织,于 4 °C 冰箱保存。纯丙酮溶液脱水 2 次:每次 15 min;EPON812:丙酮(1:1)浸透 30 min;纯 EPON812 包埋液浸透 1 h,浸透充分;纯 EPON812 包埋液 37 °C 固化 24 h,60 °C 固化 48 h;LKB-V 型超薄切片机切片:将包埋块修成四边光滑,尖端为梯形的椎体,切成约 600A0 度的超薄切片;染色:超薄切片用醋酸双氧铀和枸橼酸铅双重染色 30 min,双蒸水漂洗 3 次;电镜观察:日立 H-600 型透射电镜。

1.3 统计学处理 应用 SPSS 18.0 统计软件处理分析数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,比较采用多因素方差分析,两两比较采用 SNK-*q* 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 急性全脑缺血再灌注后海马 CA1 区 TNF- α 及 IL-10 的表达变化 (1)TNF- α :S 组大鼠急性全脑缺血再灌注后 TNF- α 的表达为极少量,不同时间点比较无统计学差异($P > 0.05$)。与 S 组比较,IR 组和 P 组各个时点 TNF- α 的表达均明显升高,差异有统计学意义(P 均 < 0.01)。IR 组大鼠急性全脑缺血再灌注后 3 h 就有 TNF- α 的表达,于再灌注后 24 h 达到高峰,再灌注后 48 h 开始下降。P 组与 IR 组相比,

TNF- α 每个亚组的表达都有降低,差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 1、图 1。(2)IL-10:S 组大鼠急性全脑缺血再灌注后 IL-10 的表达为极少量,不同时间点比较无统计学差异($P > 0.05$)。与 S 组比较,IR 组和 P 组 IL-10 的表达均明显升高,差异有统计学意义(P 均 < 0.01)。IR 组大鼠急性全脑缺血再灌注后 3 h 就有 IL-10 的表达,于再灌注后 24 h 达到高峰,再灌注后 48 h 开始下降。P 组与 IR 组相比,IL-10 每个时点亚组的表达都升高,差异有统计学意义($P < 0.05, P < 0.01$)。见表 2、图 2。

2.2 HE 染色光镜检查脑组织细胞形态学变化 如图 3 所示,S 组形态无异常,海马椎体细胞数目无明显变化;IR 组缺血再灌注 3 h 亚组排列较松散,有少量小胶质细胞浸润,有一些核固缩现象;缺血再灌注 6 h 亚组椎体细胞出现较多核固缩现象;缺血再灌注 12 h 亚组椎体细胞损失多,有核固缩现象;缺血再灌注 24 h 亚组椎体细胞核固缩多见,小胶质细胞浸润明显;缺血再灌注 48 h 亚组核固缩多见,小胶质细胞浸润显著;P 组较 IR 组神经细胞受损情况减轻,核固缩减少。

2.3 投射电镜检查脑组织细胞超微结构变化 如图 4 所示,S 组线粒体大量存在于胞质内,成杆状,椭圆状,嵴排列整齐。IR 组线粒体数量减少,损伤严重,线粒体肿胀,嵴断裂、溶解、消失,胞质空泡化。P 组较 IR 组减轻,大部分嵴完整。

表 1 脑缺血再灌注后 TNF- α 蛋白相对表达量的变化 ($n = 5, \bar{x} \pm s$)

组别	3 h 亚组	6 h 亚组	12 h 亚组	24 h 亚组	48 h 亚组	P 值
S 组	0.0057 \pm 0.0013	0.0100 \pm 0.0011	0.0113 \pm 0.0011	0.0202 \pm 0.0021	0.0118 \pm 0.0019	> 0.05
IR 组	0.2829 \pm 0.0037 [#]	0.3014 \pm 0.0030 [#]	0.3476 \pm 0.0072 [#]	0.4219 \pm 0.0082 [#]	0.3983 \pm 0.0029 [#]	< 0.01
P 组	0.1723 \pm 0.0038 ^{#Δ}	0.2006 \pm 0.0018 ^{#Δ}	0.2509 \pm 0.0056 ^{#Δ}	0.3360 \pm 0.0030 ^{#Δ}	0.3070 \pm 0.0070 ^{#Δ}	< 0.01
P 值	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	

注:与 S 组比较,[#] $P < 0.01$;与 IR 组比较, ^{Δ} $P < 0.05$, ^{\blacktriangle} $P < 0.01$ 。

表 2 脑缺血再灌注后 IL-10 蛋白相对表达量的变化 ($n = 5, \bar{x} \pm s$)

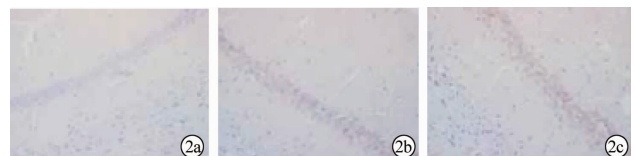
组别	3 h 亚组	6 h 亚组	12 h 亚组	24 h 亚组	48 h 亚组	P 值
S 组	0.0068 \pm 0.0015	0.0087 \pm 0.0014	0.0089 \pm 0.0012	0.0035 \pm 0.0014	0.0052 \pm 0.0012	> 0.05
IR 组	0.1496 \pm 0.0048 [#]	0.1995 \pm 0.0035 [#]	0.2574 \pm 0.0022 [#]	0.3208 \pm 0.0046 [#]	0.2914 \pm 0.0053 [#]	< 0.01
P 组	0.2419 \pm 0.0025 ^{#Δ}	0.2720 \pm 0.0029 ^{#Δ}	0.3160 \pm 0.0048 ^{#Δ}	0.4016 \pm 0.0065 ^{#Δ}	0.3620 \pm 0.0084 ^{#Δ}	< 0.01
P 值	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	< 0.01	

注:与 S 组比较,[#] $P < 0.01$;与 IR 组比较, ^{Δ} $P < 0.05$, ^{\blacktriangle} $P < 0.01$ 。



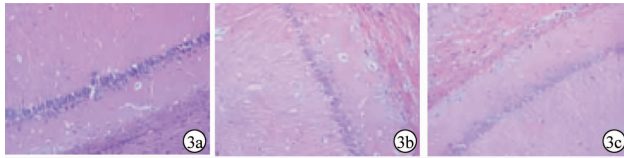
注:1a:S 组;1b:IR 组;1c:P 组。

图 1 急性全脑缺血再灌注后海马 CA1 区 TNF- α 的免疫组化结果($\times 200$)



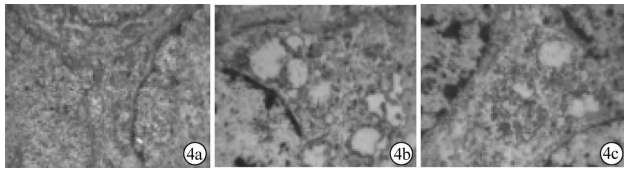
注:2a:S 组;2b:IR 组;2c:P 组。

图 2 急性全脑缺血再灌注后海马 CA1 区 IL-10 的免疫组化结果($\times 200$)



注:3a:S组;3b:IR组;3c:P组。

图3 急性全脑缺血再灌注24 h后海马CA1区 HE染色结果($\times 200$)



注:4a:S组;4b:IR组;4c:P组。

图4 急性全脑缺血再灌注24 h后海马CA1区 电镜结果($\times 15\ 000$)

3 讨论

在本实验研究中,假手术组 TNF- α 几乎无表达;模型组全脑缺血再灌注后 3 h TNF- α 开始表达,在全脑缺血再灌注 24 h 时表达达到高峰,至全脑缺血再灌注 48 h 开始下降,5 个亚组的 TNF- α 表达均比假手术组高,与文献报道一致^[3]。TNF- α 是具有广泛生物学功能的单核细胞因子,主要由单核细胞和巨噬细胞产生,参与机体免疫应答,影响脂质代谢,参与炎症反应及机体损伤的病理生理过程。TNF- α 可通过抗原诱导 T 细胞的增殖,还可以通过促进免疫增强剂 IL-2 的产生而促进 T 细胞的活性增殖,并正反馈调节 B 细胞的分化、生长及抗体的产生,能介导 IL-6、前列腺素-2 等炎症介质的产生。它在脑缺血再灌注损伤的病理生理过程中具有致炎、破坏血脑屏障、诱导缺血耐受及神经生长因子生成等作用^[4]。脑缺血再灌注后,脑组织内 TNF- α 的合成和分泌迅速增加。TNF- α 可激活磷脂酶 A2 (PLA2),水解神经细胞膜磷脂,破坏神经细胞的结构,影响其功能,损伤神经细胞。同时,TNF- α 刺激血管内皮细胞,诱导其他炎症细胞因子 IL-1、IL-8、单核细胞趋化因子、细胞间黏附因子(ICAM)-1、白细胞-内皮细胞黏附分子克隆刺激因子等的合成、分泌与释放^[4-5]。这些细胞因子相互作用,参与炎症级联反应。表达升高的 TNF- α 还可诱导白细胞浸润聚集、黏附于毛细血管壁及小血管壁,刺激释放血管激活因子,使得小血管痉挛,毛细血管壁的通透性增加,血脑屏障开放,外周白细胞浸润增加,引起脑水肿,损伤内皮细胞,更进一步增加血脑屏障的通透性,加重脑组织的损伤。TNF- α 激活多形核白细胞,促进它的表达,多形核白细胞又进一步分泌炎症细胞介质及氧自由基,引起炎症连锁反应,产

生大量有害物质,加剧脑组织损伤。

IL-10 是一种由两个同源的亚基组成的酸性蛋白,是一种抑制性淋巴因子,主要由辅助性 T 细胞(Th)2 分泌。现已证实,除 Th2 细胞外,Th0 细胞、Th1 细胞正常 B 细胞、B 淋巴瘤细胞、单核巨噬细胞、角化细胞、活化的肥大细胞等也可分泌 IL-10^[6-7]。IL-10 在脑内主要由参与免疫调节的效应细胞——小胶质细胞产生。动物实验和人体研究均表明,IL-10 在脑组织缺血再灌注损伤后的表达含量发生了显著变化^[8-10],提示 IL-10 在脑缺血损伤中可能发挥着极其重要的作用。IL-10 在正常大鼠的血浆中含量较低,但在缺血再灌注损伤后表达明显增加。本实验研究显示,假手术组 IL-10 有微量表达;模型组全脑缺血再灌注后 3 h 就有 IL-10 的表达,于再灌注后 24 h 达到高峰,并持续到再灌注后 48 h,5 个时点亚组 IL-10 的表达均明显升高,提示在全脑缺血再灌注损伤时 IL-10 参与了脑组织的病理损伤过程。IL-10 可抑制 TNF- α 、IL-1 β 等炎性细胞因子的表达,对脑缺血再灌注具有保护作用。TNF- α 和 IL-1 β 是重要的炎性因子,在脑缺血再灌注损伤时其表达大幅上调,刺激其他炎症因子的释放,诱导白细胞浸润,发挥强大的致炎作用以及参与缺血后的炎症过程^[11]。降低 TNF- α 、IL-1 β 等炎性细胞因子的表达可以减轻白细胞的浸润,拮抗氧自由基的活性,从而减轻脑缺血再灌注损伤。IL-10 还可上调炎性因子拮抗剂的表达、抑制核转录因子(NF)- κ B 的活性等,通过不同途径抑制 TNF- α 和 IL-1 β 的活性^[12]。IL-10 能减少一氧化氮(NO)的合成和分泌,增加脑缺血再灌注时组织中抗氧化活性物质的含量[超氧化物歧化酶(SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)等],增强脏器抗自由基损伤的能力;它还能逆转多种炎性因子对中性粒细胞、巨噬细胞及神经胶质细胞的生物学效应,发挥抗炎效应;并可促进星形胶质细胞的合成,分泌神经生长因子,保护受损神经元;以及通过阻断细胞凋亡效应分子 caspase-3 发挥抗凋亡作用。

盐酸戊乙奎醚是新型抗胆碱药,可选择性地拮抗 M1、M3、N1 及 N2 受体,对 M2 受体的选择性较弱,并可通过血脑屏障,对中枢和外周都有很强的抗胆碱作用,无心率增快的不良反应。其广泛用于麻醉前给药、有机磷农药中毒的治疗,在改善微循环障碍上也有应用。有研究结果证实,在体外循环期间使用盐酸戊乙奎醚,TNF- α 、IL-6、IL-8 升高值显著低于对照组,说明该药可减轻炎症反应,但不能完全阻止其发生^[13-15]。本实验结果与文献报道一致。本研究发现盐酸戊乙奎醚可减轻全脑缺血再灌注损伤后的炎症

反应,抑制 TNF- α 的表达,上调 IL-10 的表达,但具体作用机制并不是很清楚,笔者分析认为,盐酸戊乙奎醚作为新型抗胆碱药物,能够抑制炎症反应的发生,减轻神经细胞结构及功能的改变;抑制 NF- κ B 的生成与表达,进而抑制 NF- κ B 的靶基因产物 TNF- α 的表达;同时促进 IL-10 的分泌与释放,活化的 IL-10 又抑制 NF- κ B 的活性,抑制 TNF- α 的表达,增加抗氧化活性物质的释放,进而调控炎症反应的发展,减轻脑组织损伤,起脑保护作用。

综上所述,盐酸戊乙奎醚对炎症反应有干预作用,通过降低促炎因子的表达、激活抑炎因子的表达来调控炎症因子的释放,从而抑制炎症反应的发生、发展,减轻急性全脑缺血再灌注的损害,发挥脑保护的作用,这可能是它能改善脑缺血再灌注损伤的部分作用机制。本实验似可为心肺复苏后全脑缺血再灌注损伤时脑保护的临床治疗包括新药物的探求提供新的研究思路。但关于盐酸戊乙奎醚对全脑缺血再灌注损伤后 TNF- α 和 IL-10 调控的具体作用机制及是否存在其他机制和有剂量依赖性,其对炎症反应中其他炎症因子(IL-6、IL-8、IL-1 β 等)表达的影响,还需进一步的研究证实。

参考文献

[1] 刘玲,秦广平,王君艳. 盐酸戊乙奎醚在临床麻醉中应用的研究进展[J]. 北方药学,2012,9(5):29-30.
 [2] 李国良,何其通,张静,等. 盐酸戊乙奎醚对迷走神经兴奋性影响的研究进展[J]. 吉林医学,2011,32(1):139-140.
 [3] Pandya JD, Sullivan PG, Pettigrew LC. Focal cerebral ischemia and mitochondrial dysfunction in the TNF α -transgenic rat [J]. Brain

Res,2011,1384:151-160.

[4] 何婵,罗华丽,季晖. 基于 TNF- α 的脑缺血再灌注损伤机制及相关药物研究进展[J]. 中国药房,2016,27(28):4016-4020.
 [5] 乐海浪,罗国强. 创伤后早期炎症因子 TNF- α 、IL-1、IL-6 的研究进展[J]. 现代诊断与治疗,2014,25(4):763-765.
 [6] 吴华仙,田广俊,陈曲波. IL-10 + 调节性 B 细胞在自身免疫性疾病中的研究进展[J]. 中国免疫学杂志,2016,32(7):1077-1079,1083.
 [7] 郑晶晶,顾玉海. 低氧条件下 IL-6、IL-8、IL-10 作用机制研究进展[J]. 国际呼吸杂志,2016,36(3):224-227.
 [8] 蔡孟,杨立伟,李有长,等. 盐酸戊乙奎醚通过 NF- κ B 信号通路对胎鼠脑缺血-再灌注损伤的影响[J]. 临床麻醉学杂志,2016,32(8):786-790.
 [9] 何宇航,李娟,王强,等. 炎症小体介导脑缺血损伤的进展[J]. 国际麻醉学与复苏杂志,2015,36(9):834-838.
 [10] 李国前,陈淑增,王杰华,等. 瑞舒伐他汀对大鼠脑缺血再灌注后炎症因子的影响研究[J]. 中国临床药理学杂志,2014,30(9):788-790.
 [11] 秦文熠,荣晓凤,陶涛,等. 核转录因子- κ B 拮抗剂对大鼠海马 CA1 区局灶性脑缺血再灌注损伤的影响[J]. 中华神经科杂志,2016,49(1):45-53.
 [12] 吕翠,王翠花,曾现伟. IL-10 基因修饰的 BMSCs 对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 实用医学杂志,2016,32(21):3520-3523.
 [13] 王元明,杨鹏. 盐酸戊乙奎醚对大鼠内毒素性脑损伤后血脑屏障损害的保护作用[J]. 中华急诊医学杂志,2015,24(5):506-508.
 [14] 黎笔熙,朱水波,殷桂林,等. 盐酸戊乙奎醚对体外循环心脏手术患者全身炎症反应的影响[J]. 中国体外循环杂志,2016,14(4):222-225.
 [15] 舒丽娟,魏新川. 盐酸戊乙奎醚对风湿性心脏病患者体外循环炎症反应的影响[J]. 中国体外循环杂志,2012,10(1):32-35.

收稿日期:2017-08-28 修回日期:2017-09-20 编辑:周永彬

(上接第 50 页)

[12] 饶远生,郭永丽,黄育北,等. 中国人群吸烟与口腔癌关系的系统综述及 Meta 分析[J]. 中国耳鼻咽喉头颈外科,2014,21(10):505-510.
 [13] Seo Y, Nonaka M, Tagaya E, et al. Eosinophilic otitis media is associated with asthma severity and smoking history [J]. Orl, 2015, 77(1):1-9.
 [14] 李莉,樊兆民,韩月臣,等. 中耳乳突再手术相关因素分析[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2016,51(5):333-337.
 [15] 褚莉萍,齐少恒,王洪飞. 慢性化脓性中耳炎 156 例脓培养及药敏试验分析[J]. 蚌埠医学院学报,2014,39(8):1018-1020,1023.
 [16] 喻继康. 咽鼓管功能障碍对慢性化脓性中耳炎患者疗效观察[J]. 陕西医学杂志,2016,45(8):979-981.
 [17] 龚继涛,赵春晨,杨少锋. 中耳炎术后发生不干耳的相关因素分析[J]. 广西医科大学学报,2016,33(4):626-629.
 [18] 顾兴智,牛良军,尤乐都斯·克尤木,等. 新疆地区慢性化脓性中耳炎及中耳脂肪瘤病原菌及药敏分析[J]. 听力学及言语疾

病杂志,2014,22(5):489-493.

[19] 姜娜,张亚仙,李卓艳,等. 综合护理模式在慢性化脓性中耳炎患者围手术期应用的效果分析[J]. 现代中西医结合杂志,2015,24(30):3398-3399,3401.
 [20] 袁丹,梅凌云. 鼓膜成形术与药物保守治疗单纯慢性化脓性中耳炎临床疗效观察[J]. 河北医学,2016,22(3):444-447.
 [21] 郝春艳,刘红宇,张贵,等. 慢性化脓性中耳炎患者耳道分泌物病原菌培养及药敏结果分析[J]. 山东医药,2016,56(18):76-77.
 [22] 付健,孔祥云,樊军. 慢性化脓性中耳炎患者真菌感染的临床分析[J]. 中华医院感染学杂志,2014,24(8):2008-2010.
 [23] 刘佳丽,王维,王子萌,等. 555 例慢性化脓性中耳炎的病原学及药物敏感性分析[J]. 第三军医大学学报,2016,38(21):2349-2352.
 [24] 官文君,李朝军. 慢性化脓性中耳炎细菌学研究进展[J]. 重庆医学,2015,44(6):842-844.

收稿日期:2017-07-19 修回日期:2017-08-20 编辑:石嘉莹