

异戊酰胺对急性乙二醇中毒大鼠 脑损伤保护作用的研究

李鑫鹏 杨 凯 杨小平 许哲敏 肖克来提·霍加合买提 马雪纯 张 军 彭 鹏

摘 要 **目的** 探讨异戊酰胺(isovaleramide, ISO)在乙二醇(ethylene glycol, EG)诱导的急性中毒脑损伤大鼠模型中的保护作用及其可能的机制。**方法** 采用随机数字表法将55只SPF级SD雄性大鼠分成4组,EG中毒组(EG组)15只;按12ml/kg灌胃80%的EG溶液;空白对照组(NC组)10只;按12ml/kg灌胃0.9%氯化钠溶液;低剂量ISO干预组、高剂量ISO干预组(EG+ISO-L、EG+ISO-H组)各15只;按12ml/kg灌胃80%的EG溶液后通过尾静脉按1ml/kg用量分别注射配置好的10、20mg/ml ISO溶液。并于造模后24h行腹主动脉取血,处死大鼠,收集大脑等相关组织,通过酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测S100钙结合蛋白 β (S100- β)水平,大鼠脑组织含水量和行为学评分来判断脑水肿程度和行为学改变,HE染色及Pizzolato染色观察脑组织的病理变化与草酸钙结晶形成情况,Western blot法检测相关凋亡蛋白的表达,微量法检测各组大鼠肝内乙醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH)活性,可见光分光光度法检测各组大鼠血液中的草酸水平。**结果** EG组大鼠脑组织病理学改变明显,脑血管内有草酸钙结晶形成,脑含水量增加,行为学评分降低,血清S100- β 蛋白含量和凋亡蛋白表达增加($P<0.05$)。EG+ISO-L、EG+ISO-H两组相较于EG组ADH活性和草酸生成量明显下降($P<0.05$),大鼠脑组织病理学改变有所减轻,脑血管内草酸钙晶体较少,行为学评分增高,脑含水量、血清蛋白含量与凋亡蛋白表达较EG组减少($P<0.05$)。**结论** ISO对急性EG中毒脑损伤大鼠具有保护作用,其机制可能与抑制ADH活性进而减少EG代谢所产生的草酸有关。

关键词 乙二醇中毒 脑损伤 乙醇脱氢酶

中图分类号 R459.7

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2024.04.016

Protective Effect of Isovaleramide on Brain Damage in Rats with Acute Ethylene Glycol Poisoning. LI Xinpeng, YANG Kai, YANG Xiaoping, et al. Emergency - Trauma Center, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Xinjiang 830011, China

Abstract **Objective** To explore the protective effect of isovaleramide (ISO) in ethylene glycol (EG) - induced acute toxic brain injury rat model and its possible mechanism. **Methods** A total of 55 SPF SD male rats were divided into 4 groups by random number table method, and 15 rats in the EG poisoning group (EG group): 80% EG solution was injected into the stomach at the rate of 12ml/kg; 10 rats in the blank control group (NC group): they were given 12ml/kg of normal saline; 15 rats each in the low - dose ISO intervention group and the high - dose ISO intervention group (EG + ISO - L and EG + ISO - H group): they were given 80% EG solution at the rate of 12ml/kg, and then 10mg/ml and 20mg/ml ISO solution were injected through the tail vein at the rate of 1ml/kg, respectively. Blood was collected from the abdominal aorta 24 hours after the modeling and sacrificed, the brain and other related tissues were collected. The level of S100 calc - binding protein β (S100 - β), water content of the brain tissue and behavioral score of the rats were detected by enzyme - linked immunosorbent assay (ELISA) to determine the degree of cerebral edema and behavioral changes. HE staining and Pizzolato staining were used to observe the pathological changes and calcium oxalate crystal formation of the brain tissue. Western blot was used to detect the expression of related apoptotic proteins. Micromethods was used to detect the alcohol dehydrogenase (ADH) activity in liver of the rats. Visible light spectrophotometry was used to detect the level of oxalic acid in the blood of each group. **Results** The brain histopathological changes of EG group were obvious, calcium oxalate crystals formed in cerebral vessels, brain water content was increased, behavioral scores was decreased, serum S100 - β protein content and apoptotic protein expression were increased ($P<0.05$). ADH activity and oxalic acid production in EG + ISO - L and EG + ISO - H groups were significantly decreased compared with EG group ($P<0.05$), brain histopathological changes were alleviated, calcium oxalate crystals in cerebral vessels were less, behavioral scores were in-

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金资助项目(2022D01C226);新疆维吾尔自治区研究生实践创新项目(XJ2023G164)

作者单位:830011 乌鲁木齐,新疆医科大学第一附属医院急救创伤中心(李鑫鹏、杨凯、肖克来提·霍加合买提、彭鹏),护理部(马雪纯),新生儿科(张军);401121 重庆两江新区人民医院重症医学科(杨小平);510180 广州市第一人民医院急诊科(许哲敏)

通信作者:彭鹏,电子邮箱:869564571@qq.com

creased; brain water content, serum protein content and apoptotic protein expression were decreased compared with EG group ($P < 0.05$). **Conclusion** ISO has protective effect on brain injury caused by acute EG poisoning in rats, which may be related to inhibiting the activity of ADH and reducing oxalic acid produced by EG metabolism.

Key words Ethylene glycol poisoning; Brain damage; Alcohol dehydrogenase

乙二醇(ethylene glycol, EG)又名甘醇,为无色、无臭的黏稠液体,有特殊的甜味。EG 通常用作工业溶剂或防冻剂等。随着经济和工业的发展 EG 中毒在临床实践中变得更常见^[1]。EG 原型常被认为是无毒的,当摄入并经肝内乙醇脱氢酶(alcohol dehydrogenase, ADH)以及其他关键酶代谢后其产物却是有毒的。起初仅出现类似乙醇中毒的表现但随后就会出现一系列神经系统症状,包括言语不清、眼震颤、共济失调等,大剂量摄入后还会出现幻觉、抽搐、昏迷甚至产生危及生命^[2]。目前国内外针对 EG 中毒的治疗常选择应用乙醇或使用甲吡唑以及联合应用血液透析治疗,使用乙醇时需要足够剂量才能够竞争性抑制 EG 的代谢,这就会造成额外的肝肾损伤以及神经系统抑制问题^[3]。甲吡唑作为 ADH 竞争性抑制剂可有效降低 ADH 活性,减少 EG 代谢所产生的有毒产物。相较乙醇而言使用甲吡唑不需要频繁的血液监测也不存在神经系统抑制问题,但甲吡唑药价昂贵且在中国大陆地区无供货^[4,5]。所以开发一种新药或许可为今后临床治疗 EG 中毒提供新的思路及更多的方案选择。

异戊酰胺(isovaleramide, ISO)是从缬草中分离的一种抗惊厥分子,目前在第 2 代抗癫痫类药物中进行临床试验,其已被证实是一种肝脏 ADH 非竞争性抑制剂,其结合理论上不受体内 EG 浓度的影响,且血液透析时其血药浓度的改变对其疗效的影响相对甲吡唑、乙醇而言小,这就相较于甲吡唑及乙醇更有优势^[6]。而作为 EG 体内代谢的关键酶,ADH 的活性如若被抑制则会减少 EG 代谢产物的产生,从而减少器官功能的损害^[7]。本研究通过构建 SD 大鼠的急性 EG 中毒模型并以 ISO 进行干预,进而探讨 ISO 在 EG 诱导的急性中毒脑损伤大鼠模型中的保护作用及其可能的机制。

材料与方法

1. 试剂与仪器:乙二醇购自天津鑫铂特化工有限公司;异戊酰胺、草酸含量检测试剂盒以及乙醇脱氢酶活性检测试剂盒均购自北京索莱宝科技有限公司;S100 钙结合蛋白 β (S100- β) 检测试剂盒购自上海源桔生物科技中心;Bax、Bcl-2、GAPDH 抗体均购自

英国 Abcam 公司;cleaved-caspase-3 抗体购自美国 CST 公司;高速冷冻离心机购自安徽中科中佳科学仪器有限公司。

2. 实验动物:本实验选择 6~8 周龄健康雄性 SD 大鼠 55 只,体质量 220g~240g,均购自新疆医科大学动物实验中心,使用许可证号:SYXK(新)2018-0003。本研究已通过新疆医科大学医学伦理学委员会审批(伦理学审批号:IACUC-20230217-6)且处置方法符合动物伦理学标准。

3. 模型的制备及分组:采用随机数字表法将实验大鼠分成 4 组,分别为空白对照组(NC 组, $n = 10$)、EG 中毒组(EG 组, $n = 15$)、低、高剂量 ISO 干预组(EG + ISO-L 组, $n = 15$; EG + ISO-H 组, $n = 15$)。其中,EG 组使用 99.8% 浓度的 EG 原液与 0.9% 氯化钠溶液配制成 80% 的 EG 溶液,按 12ml/kg 剂量灌胃并通过死亡率、行为学改变、血清相应指标变化来客观评估大鼠 EG 中毒模型。NC 组按 12ml/kg 灌胃 0.9% 氯化钠溶液;EG + ISO-L 组与 EG + ISO-H 组按 12ml/kg 灌胃 80% EG 溶液后即可经尾静脉分别注射由 0.9% 氯化钠溶液和 ISO 配制成的 10mg/ml 与 20mg/ml ISO 溶液,按 1ml/kg 计算用量来构建低、高剂量 ISO 干预 EG 中毒模型。

4. 病理学观察:造模 24h 后取各组大鼠新鲜脑组织置于 4% 多聚甲醛中固定后进行石蜡包埋,将标本用切片机以 5 μ m 为厚度制成切片进行 HE 染色并在光镜下观察乙二醇中毒大鼠的大脑病理改变。Pizzolato 染色时将配置好的 AgNO₃-H₂O₂ 溶液滴加在切片上,紫外灯照射 25min 后进行常规 HE 染色并通过光镜观察脑组织内的草酸钙结晶生成情况。

5. ELISA 检测大鼠血清 S100- β 水平:造模 24h 后抽取约 6ml 各组大鼠腹主动脉血并在 4℃ 条件下分离血清,使用 ELISA 试剂盒并规范按照说明书进行操作来检测血清中 S100- β 蛋白水平。

6. 大鼠脑组织含水量测定:各组大鼠处死后迅速断头取出脑组织用滤纸吸去其表面的液体,使用电子天平称取脑组织湿重后将其置于 65℃ 烘干箱至少 40h,以多次称量至质量不再改变作为脑组织干重。脑含水量(%) = (湿重 - 干重)/湿重 $\times 100\%$ 。

7. 大鼠行为学评分:采用改良 Garcia 评分,分别从自主活动、体态对称性、前肢伸展情况、抓爬能力、两侧身体对针刺反应及胡须碰触反应共 6 方面来评估大鼠的神经功能状态,评分范围为 3~18 分^[8]。得分越低,神经功能损伤越严重。

8. Western blot 法检测目标蛋白表达:取每组大鼠脑组织约 0.75g 加入蛋白裂解液充分匀浆后离心提取上清液并检测蛋白浓度。经凝胶电泳、转膜后加入一抗 Bax、Bcl-2、cleaved-caspase-3、GAPDH(均 1:1000)在 4℃ 条件下孵育过夜并于次日加入酶标二抗(1:20000)孵育 2h 后显影,应用 Image J 软件以目标蛋白灰度值和内参蛋白(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)灰度值之比来分析目标蛋白相对表达量。

9. ADH 活性检测:取每组大鼠肝脏组织约 0.15g 加入 10 倍比例的提取液进行冰浴匀浆,4℃ 条件下离心取上清液,使用 ADH 活性检测试剂盒并严格按照试剂盒说明书规范操作来测定大鼠肝脏内 ADH 活性。

10. 草酸含量检测:造模 24h 后抽取约 6ml 各组大鼠腹主动脉血并在 4℃ 条件下分离血清,使用草酸含量检测试剂盒并规范按照试剂盒说明书操作来检测大鼠体内草酸水平。

11. 统计学方法:应用 GraphPad Prism 8.0 统计

学软件对数据进行统计分析。符合正态分布的计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间差异采用单因素方差分析,两组间的比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 各组大鼠存活情况:观察并记录各组大鼠在造模后 24h 内的死亡和存活数量,其中 NC 组死亡 0 只,存活 10 只;EG 组死亡 7 只,存活 8 只;EG + ISO-L 组死亡 5 只,存活 10 只;EG + ISO-H 组死亡 3 只,存活 12 只。

2. 病理学观察:各组大鼠脑组织病理学切片如图 1 所示,NC 组大鼠海马组织细胞数目多且排列整齐、结构清晰完整,胞质丰富,胞核明显,未出现空泡化。与 NC 组比较,EG 组大鼠脑组织细胞数量减少且排列不规则,胞核固缩,胞质疏松并有大空泡形成。经 ISO 干预后的两组大鼠海马区细胞结构与 EG 组比较得到改善,排列较紧密、整齐,空泡样变减少,其中 EG + ISO-H 组更趋近于 NC 组。应用 Pizzolato 染色观察各组大鼠脑组织晶体沉积情况(图 2),并使用 Image J 软件进行分析(图 3)。可以观察到 EG 组大鼠脑血管内出现明显草酸钙晶体(黑色箭头),而 EG + ISO-L、EG + ISO-H 组大鼠脑血管内的草酸钙沉积情况减轻($P < 0.05$),其中 EG + ISO-H 组沉积情况减轻更明显($P < 0.05$)。

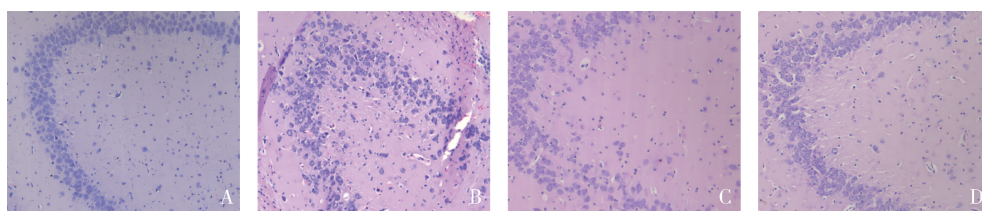


图 1 海马区 HE 染色($\times 100$)

A. NC 组;B. EG 组;C. EG + ISO-L 组;D. EG + ISO-H 组

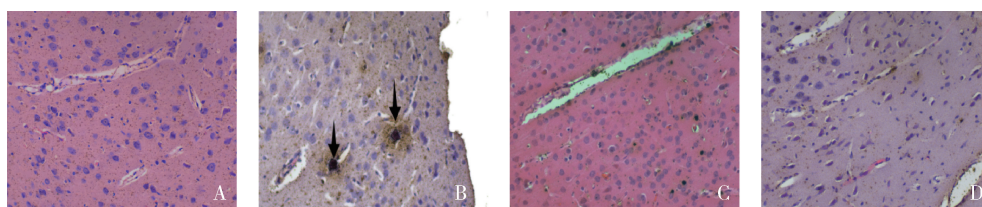


图 2 Pizzolato 染色($\times 200$)

A. NC 组;B. EG 组;C. EG + ISO-L 组;D. EG + ISO-H 组

3. 各组大鼠血清 S100- β 水平:与 NC 组比较,EG 组大鼠血清 S100- β 明显升高($P < 0.05$)。与 EG 组比较,EG + ISO-L、EG + ISO-H 组大鼠血清

S100- β 减低(均 $P < 0.05$),同时与 EG + ISO-H 组比较 EG + ISO-L 组下降趋势更明显($P < 0.05$, 图 4)。

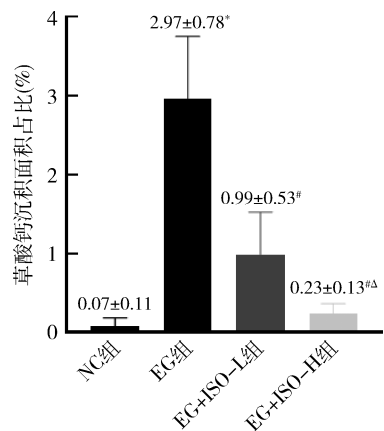


图3 各组大鼠脑血管草酸钙沉积情况

与NC组比较,* $P<0.05$;与EG组比较,[#] $P<0.05$;
与EG+ISO-L组比较,^Δ $P<0.05$

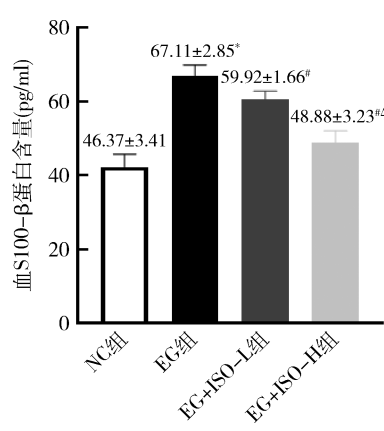


图4 各组大鼠血清S100-β蛋白ELISA结果

与NC组比较,* $P<0.05$;与EG组比较,[#] $P<0.05$;
与EG+ISO-L组比较,^Δ $P<0.05$

4. 大鼠脑组织含水量与行为学评分:与NC组比较,EG组大鼠脑含水量明显升高,行为学评分明显低于NC组(P 均 <0.05)。与EG组比较,EG+ISO-L、EG+ISO-H组大鼠脑含水量明显下降且相对于EG

组其行为学评分有明显的上升(P 均 <0.05),同时EG+ISO-H组大鼠脑含水量下降程度相较于EG+ISO-L组更明显($P<0.05$)但行为学评分之间比较,差异无统计学意义($P>0.05$,图5)。

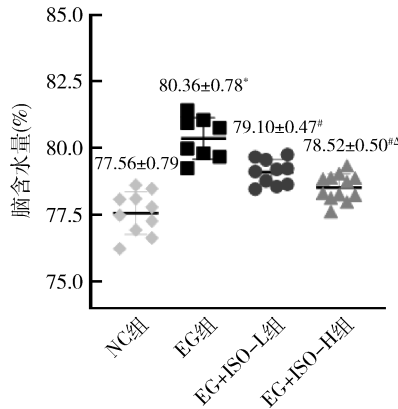
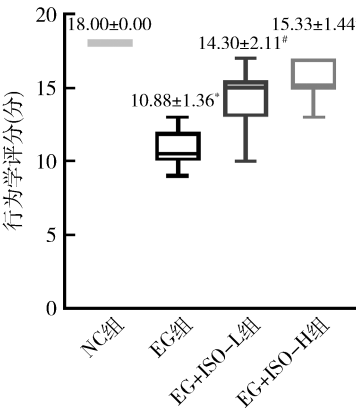


图5 各组大鼠脑含水量及行为学评分测定结果

与NC组比较,* $P<0.05$;与EG组比较,[#] $P<0.05$;与EG+ISO-L组比较,^Δ $P<0.05$



5. 大鼠肝组织ADH活性检测:EG组ADH活性与NC组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),说明EG组大鼠肝组织ADH活性没发生显著变化。与EG组比较,经ISO干预的两组大鼠肝组织内ADH活性降低($P<0.05$),其中EG+ISO-H组差异更明显($P<0.05$),说明ISO可有效降低大鼠肝内ADH活性同时高剂量的抑制效果优于低剂量($P<0.05$,图6)。

6. 各组大鼠体内草酸含量:与NC组比较,EG组大鼠体内草酸含量明显增多($P<0.05$)。与EG组比较,EG+ISO-L、EG+ISO-H组大鼠体内草酸含量下降明显($P<0.05$),同时、EG+ISO-H组相较于EG+ISO-L组下降更明显($P<0.05$,图7)。

7. 大鼠脑组织凋亡蛋白表达:与NC组比较EG组Bax/Bcl-2相对表达量明显增高($P<0.05$)同时cleaved-caspase-3蛋白表达也显著增加($P<0.05$),而与EG组比较EG+ISO-L、EG+ISO-H组的凋亡蛋白表达水平出现下降(P 均 <0.05),其中EG+ISO-H组Bax/Bcl-2相对表达量与cleaved-caspase-3蛋白表达比较EG+ISO-L组下降更明显($P<0.05$,图8)。

讨 论

关于EG中毒导致的神经系统损伤的历史解释多为EG代谢产生的乙醇酸和乙醛酸水平升高,当EG进入人体后首先被肝脏内的ADH氧化成乙醇酸,

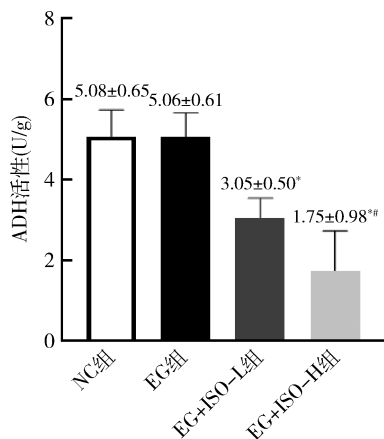


图6 各组大鼠肝组织 ADH 活性

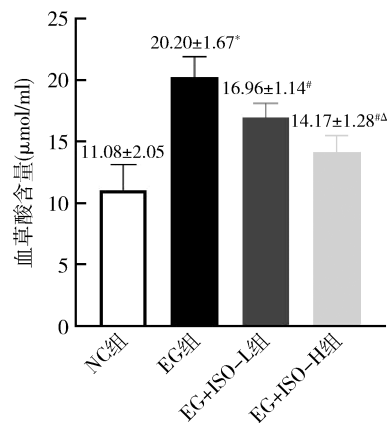
与 EG 组比较, * $P < 0.05$; 与 EG + ISO - L 组比较, # $P < 0.05$ 

图7 各组大鼠体内草酸含量

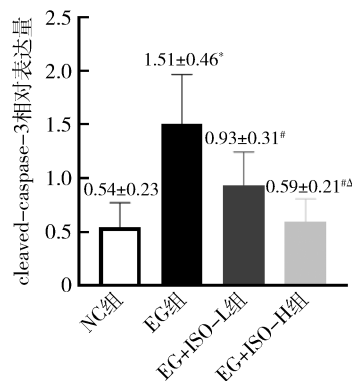
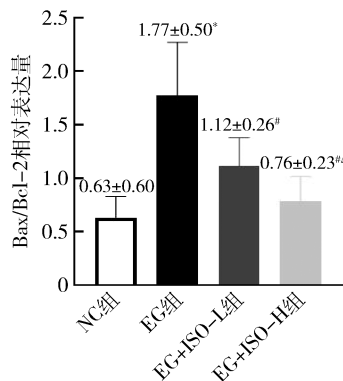
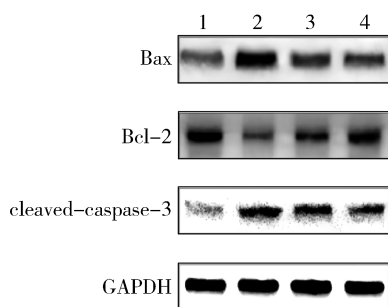
与 NC 组比较, * $P < 0.05$; 与 EG 组比较, # $P < 0.05$;
与 EG + ISO - L 组比较, Δ $P < 0.05$ 

图8 各组大鼠脑组织凋亡蛋白表达水平

1、2、3、4 分别代表 NC 组、EG 组、EG + ISO - L 组、EG + ISO - H 组;与 NC 组比较, * $P < 0.05$;
与 EG 组比较, # $P < 0.05$; 与 EG + ISO - L 组比较, Δ $P < 0.05$

然后被醛脱氢酶氧化成乙醇酸,因乙醇酸与乳酸结构相似,所以乙醇酸被乙醇酸氧化酶或乳酸脱氢酶氧化成乙醛酸而后又被乳酸脱氢酶或乙醛酸氧化酶代谢为草酸^[9]。其中乙醇酸会导致阴离子间隙增大及代谢性酸中毒而乙醛酸则可以抑制糖酵解和三羧酸循环进而影响大脑^[10,11]。但既往研究发现,在 EG 中毒的人类和动物中,血浆乙醛酸的蓄积量较小,同时这种情况下也未能检测出乙醇酸含量水平,其可能的原因是上述产物都是摄入 EG 早期生成并很快通过下一步代谢反应而消除^[12]。由于脑水肿是一种相对晚期现象,一般多在摄入 EG 后的 24h 左右发生,因此更可能是因另一种代谢物引起。本研究通过检测发现 EG 中毒大鼠草酸生成量明显增加同时脑血管内有草酸钙结晶产生,有研究表明,在没有酸中毒或乙醇酸蓄积的情况下,草酸钙的蓄积会导致相应的组织损伤,EG 代谢后形成的草酸可与 Ca^{2+} 结合导致低钙

血症以及癫痫发作,同时还会形成草酸钙结晶沉积在脑血管中造成脑损伤^[13,14]。

S100 - β 蛋白是诊断脑损伤的特异性指标其含量的高低与脑损伤严重程度具有相关性^[15]。Bax 和 Bcl - 2 同属于 Bcl - 2 蛋白家族,在凋亡过程中 Bax 蛋白表达会增多而 Bcl - 2 蛋白表达则会减少,导致 Bax/Bcl - 2 比例上升,cleaved - caspase - 3 作为整个凋亡过程下游的重要激活蛋白其升高和凋亡的发生有直接关系^[16,17]。本实验发现使用 ISO 干预的两组相较于 EG 组大鼠脑组织病理学改变有所减轻,脑含水量下降,行为学显著改善,血清 S100 - β 蛋白含量和凋亡蛋白表达均较 EG 组减少。这表明 ISO 对急性 EG 中毒大鼠脑损伤具有一定的改善作用。同时本研究还发现,与 EG 组比较 EG + ISO - L、EG + ISO - H 两组大鼠体内 ADH 活性与草酸含量下降,脑血管内形成草酸钙结晶减少,说明 ISO 可能是通过抑

制 ADH 活性从而减少 EG 代谢产生的草酸进而改善 EG 中毒大鼠相关脑损伤。本研究所选择使用的两种 ISO 剂量是通过文献查阅以及人与实验动物种属间剂量换算而来,并通过高低剂量使用对比确定 20mg/ml 剂量下能更好地缓解 EG 中毒所导致的脑损伤。

综上所述,ISO 可以达到减轻急性 EG 中毒相关脑损伤的效果,其机制可能与降低 EG 中毒时体内 ADH 活性进而减少草酸的产生有关,同时改善效果可能存在剂量依赖性,但 EG 中毒大鼠脑损伤的发生与 EG 代谢产生的其他产物是否有关以及 ISO 对 EG 中毒大鼠中枢神经系统以外的器官功能(如肝肾功能、酸中毒等)是否有影响,其安全性与不良反应、改善效果是否存在时间依赖性还需要进一步研究。

利益冲突声明:所有作者均声明不存在利益冲突。

参考文献

1 Ross JA, Borek HA, Holstege CP, *et al.* Toxic alcohol poisoning [J]. *Emerg Med Clin North Am*, 2022, 40(2): 327–341

2 Grigorasi RG, Nistor I, Corlade – Andrei M, *et al.* Outcomes of death and prolonged renal insufficiency in ethylene glycol poisoned patients [J]. *International Urology and Nephrology*, 2021, 54(1): 1–7

3 Judea – Pusta CT, Mutiu G, Pascalaus AV, *et al.* The importance of the histopathological examination in lethal acute intoxication with ethylene glycol. Case report[J]. *Rom J Morphol Embryol*, 2018, 59: 965–969

4 McMartin K, Brent J. Analysis of fomepizole elimination in methanol – and ethylene glycol – poisoned patients [J]. *J Med Toxicol*, 2022, 18(1): 19–29

5 Minhaj FS, Leonard JB. Evaluation of level of care for toxic alcohol ingestions receiving fomepizole[J]. *Am J Emerg Med*, 2021, 50: 795–796

6 Bialer M. New antiepileptic drugs that are second generation to existing antiepileptic drugs[J]. *Expert Opin Investig Drugs*, 2006, 15(6): 637–647

(接第 195 页)

15 孟庆辉,贾晨,肖鹏,等. 医学虚拟仿真实验教学平台在普通外科学教学中的应用[J]. *中华医学教育探索杂志*, 2020, 19(9): 1057–1060

16 姚小玲,袁元,潘志祥,等. 基于虚拟仿真软件的磁共振成像序列实验在医学影响技术专业本科教学中的应用[J]. *中华医学教育探索杂志*, 2021, 20(3):287–290

17 孙丽梅,邱雪杉,李庆昌,等. 人体形态学虚拟仿真实验教学平台和考试平台在病理学教学中的应用[J]. *中华医学教育杂志*, 2019, 39(11):872–875

18 李新华,罗依,罗雄,等. 虚拟仿真实验在医学生传染病教学中的应用分析[J]. *中华医学教育探索杂志*, 2020, 19(6):673–677

19 Plessas A. Computerized virtual reality simulation in preclinical dentistry: can a computerized simulator replace the conventional phantom

7 Basnayake BMDB, Wazil AWM, Nanayakkara N, *et al.* Ethylene glycol intoxication following brake fluid ingestion complicated with unilateral facial nerve palsy: a case report[J]. *Journal of Medical Case Reports*, 2019, 13(1): 1–4

8 卢小叶,吕倩忆,李棋龙,等. Zea – longa 评分与改良 Garcia 评分应用于针刺治疗 CIRI 大鼠神经功能缺损评估的研究[J]. *湖南中医药大学学报*, 2021, 41(9): 1356–1360

9 Tung RC, Thornton SL. Characteristics of laboratory confirmed ethylene glycol and methanol exposures reported to a regional poison control center[J]. *Kansas Journal of Medicine*, 2019, 11(3): 67–69

10 Steels S, De Bont E, Verbinen M, *et al.* A False – positive gamma – hydroxy butyric acid urine screening in a patient with high anion gap metabolic acidosis due to ethylene glycol poisoning[J]. *J Anal Toxicol*, 2023, 47(1): e10–e13

11 陈威立,刘新桥,孔令宣,等. 中西医结合治疗乙二醇中毒 1 例[J]. *长春中医药大学学报*, 2012, 28(5): 830–831

12 Froberg K, Dorion RP, McMartin KE. The role of calcium oxalate crystal deposition in cerebral vessels during ethylene glycol poisoning [J]. *Clinical Toxicology*, 2006, 44(3): 315–318

13 Noronha B, Kuster M, Forster C, *et al.* Ein süßer drink mit folgen [J]. *Praxis*, 2019, 108(16): 1097–1099

14 Sidlak AM, Marino RT, Van Meerbeke JP, *et al.* Single versus continued dosing of fomepizole during hemodialysis in ethylene glycol toxicity[J]. *Clin Toxicol*, 2020, 59(2): 106–110

15 Alserr AH, Elwan H, Antonopoulos CN, *et al.* Using serum s100 – β protein as a biomarker for comparing silent brain injury in carotid endarterectomy and carotid artery stenting[J]. *International Angiology: A Journal of the International Union of Angiology*, 2019, 38(2): 136–142

16 Edlich F. BCL – 2 proteins and apoptosis; recent insights and unknowns[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2017, 500(1): 26–34

17 Xiaobo Y, Meng Z, Meng W, *et al.* MicroRNA – 216a inhibits neuronal apoptosis in a cellular Parkinson’s disease model by targeting Bax[J]. *Metabolic Brain Disease*, 2020, 35(4): 627–635

(收稿日期: 2023 – 08 – 20)

(修回日期: 2023 – 08 – 27)

heads and humaninstruction? [J]. *Simul Healthc*, 2017, 12(5): 332–338

20 王紫薇,陈国勇,蔡磊,等. 医学影像技术虚拟仿真教学实践[J]. *中国医学教育技术*, 2020, 34(1):80–84

21 赵荣兰,彭效祥. 虚拟仿真实验平台在医学检验技术实验教学中的应用[J]. *中华医学教育探索杂志*, 2021, 20(5):537–540

22 句敏,郑瑾. 短视频情景模拟结合 OSCE 在临床护理实习生培训及考核中的应用[J]. *中国高等医学教育*, 2022, 3:81–82

23 王苗苗,高珍珍,李小红,等. 基于情景的高仿真模拟在急诊住院医师规范化培训二阶段考核中的应用研究[J]. *中国急救医学*, 2021, 41(12):1051–1055

24 唐晓艳,全美盈,李冀,等. 情景模拟教学在八年制医学生儿科见习中的应用[J]. *基础医学与临床*, 2022, 42(12):1965–1967

(收稿日期:2023 – 03 – 23)

(修回日期:2023 – 03 – 26)

• 85 •