

论著·基础研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2019.15.004

网络首发 http://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1097.r.20190626.1415.009.html(2019-06-27)

二甲亚砜对心脏毒性作用的机制研究*

邱全友¹, 张娟^{2#}, 范新荣³, 何容芳², 高小丽², 范泽楠², 李妙龄^{2△}

(1. 内江市中医医院麻醉科, 四川内江 641000; 2. 医学电生理教育部重点实验室/
四川省心血管预防和治疗协同创新中心/西南医科大学心血管研究所, 四川泸州 646000;
3. 西南医科大学附属医院心血管内科, 四川泸州 646000)

[摘要] **目的** 研究不同浓度的二甲亚砜(DMSO)对心功能的影响。**方法** 用 CCK8 试剂盒检测不同浓度(0、0.03%、0.10%、0.30%、1.00%、3.00%、10.00%, w/v) DMSO 对新生大鼠心肌细胞存活率的影响; 在离体豚鼠心脏 Langendorff 灌流条件下, 检测不同浓度 DMSO 对心率和左心室功能的影响。**结果** DMSO 浓度依赖性降低乳鼠心肌细胞的存活率; DMSO 浓度依赖性降低心率、左心室发展压(LVDP)和左心室内压最大上升速率(dp/dt_{max}), 而对左心室内压最大下降速率(dp/dt_{min})没有明显影响。**结论** 浓度 3.00% 以上的 DMSO 溶剂对心肌细胞的活力和心肌功能有影响, 且具有浓度依赖性。

[关键词] 二甲亚砜; 溶剂; 心脏毒性; 心脏功能

[中图分类号] R541.7

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2019)15-2532-04

Mechanism of the effect of dimethyl sulfoxide on cardiotoxicity*

QIU Quanyou¹, ZHANG Juan^{2#}, FAN Xinrong³, HE Rongfang²,

GAO Xiaoli², FAN Zenan², LI Miaoling^{2△}

(1. Department of Anesthesiology, Neijiang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Neijiang, Sichuan 641000, China; 2. Key Laboratory of Medical Electrophysiology of Ministry of Education/Sichuan Provincial Collaborative Innovation Center for Prevention and Treatment of Cardiovascular Disease/Institute of Cardiovascular Research, Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China; 3. Department of Cardiology, the Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China)

[Abstract] **Objective** To explore the effects of different concentrations of dimethyl sulfoxide (DMSO) on cardiac function. **Methods** The effects of different concentrations (0, 0.03%, 0.10%, 0.30%, 1.00%, 3.00%, 10.00%, w/v) of DMSO on the survival rate of cardiomyocytes in neonatal rats were detected by using CCK8 kit. And the effects of DMSO at different concentrations on heart rate and left ventricular function were detected under Langendorff perfusion conditions in isolated guinea-pig hearts. **Results** DMSO reduced the survival rate of cardiomyocytes of neonatal rats in a concentration-dependent manner. DMSO reduced the heart rate, left ventricular developed pressure (LVDP) and maximum rate of left ventricular pressure rise (dp/dt_{max}) in a concentration-dependent manner, but had no significant effect on the minimum rate of left ventricular pressure decline (dp/dt_{min}). **Conclusion** DMSO with a concentration over 3.00% has an effect on cardiomyocyte viability and myocardial function in a concentration-dependent manner.

[Key words] dimethyl sulfoxide; solvents; cardiotoxicity; cardiac function

二甲亚砜(dimethyl sulfoxide, DMSO)是一种高极性的双亲性分子, 是应用最广泛和最有效的化学溶剂或载体, 被称为“万能溶剂”。DMSO 还广泛作为渗透性保护剂, 能降低细胞冰点, 减少冰晶的形成, 减少自由基对细胞的损伤, 改变生物膜对电解质、药物和代谢产物的通透性。另外, DMSO 对心血管和神经系统还具有一定的治疗作用, 有研究报道在冠状动脉左

前降支结扎导致的心肌缺血大鼠模型上, 低剂量的 DMSO 可降低血管阻力和增加心排量^[1]。而在作为广谱溶剂时, 其不良反应常被忽略。早在 1995 年 OGURA 等^[2]研究发现, DMSO 浓度依赖性地延长豚鼠乳头肌动作电位时程, 降低动作电位 0 期最大上升速度(V_{max})。也有研究显示, 眼内注射 5 μL 浓度大于 1% 的 DMSO 可明显导致大鼠视网膜神经节细胞发

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81470022); 四川省教育厅项目(16ZA0192)。 作者简介: 邱全友(1973—), 住院医师, 本科, 主要从事心肌保护方面的研究。 # 共同第一作者: 张娟(1993—), 在读硕士研究生, 主要从事心脏毒理方面研究。 △ 通信作者, E-mail: limiaolingcc@163.com。

生凋亡,且呈剂量依赖性^[3]。在视网膜神经节细胞株细胞上也同样发现 DMSO 浓度在 2%(w/v)及以上可浓度依赖性地降低细胞的存活率,其半数抑制浓度为 2.14%(w/v)。另有研究也证实,实验室常用的 DMSO 可在体内低温条件下间接增加 Tau 蛋白的磷酸化或直接在体外明显增加 Tau 蛋白的磷酸化^[4]。DMSO 作为一种溶剂,通常还被用作骨髓和器官移植的冷冻保护剂。HANSLICK 等^[5]研究发现,DMSO 可导致不同年龄的小鼠大脑神经细胞发生凋亡。在体外大鼠海马神经元细胞培养条件下,0.5%和 1.0%的 DMSO 可导致神经元的减少,这表明 DMSO 可导致细胞毒作用。DMSO 在神经系统具有一定的毒性,但在心血管系统实验研究中需经常应用 DMSO 作为药物的溶剂,因此,针对心脏及心肌细胞,明确其最小的安全浓度具有重要的意义。因此,本研究以新生大鼠的心肌细胞和离体灌流的豚鼠心脏为研究对象,探究不同浓度的 DMSO 对心肌活力和心脏功能的影响,寻找 DMSO 溶剂的安全有效的浓度范围,为心血管疾病的基础与临床研究提供有效的保障。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 无特殊病原体(SPF)级健康成年豚鼠 12 只,体质量 250~300 g;乳大鼠(出生 1~3 d) 25 只,购于西南医科大学动物实验中心。

1.1.2 主要试剂 DMSO 购于美国 Sigma 公司,CCK8 试剂盒购于碧云天试剂公司。

1.2 方法

1.2.1 不同浓度 DMSO 对心肌细胞存活率的测定 新生 1~3 d 的乳大鼠 25 只分 5 次进行培养。新生大鼠置于 75%乙醇中消毒,仰卧位固定,开胸迅速取出心脏,将心脏剪成 3~4 块后,用磷酸盐缓冲液(PBS)清洗心肌组织内的淤血 2~3 次,再将心肌组织置于 0.25%胰酶中 4℃过夜;将过夜后的心肌组织用 PBS 清洗后置于 37℃恒温和的酶液(Ⅱ型胶原酶 1 mg/mL+牛血清清蛋白 5 mg/mL)中消化约 15 min,离心后接种于 10 cm 培养盘于培养箱内培养 2 h,此时成纤维细胞已贴壁,再将心肌细胞悬液接种于 96 孔板内培养 24 h,每个处理因素设 4 个复孔。DMSO 按体积比 0(对照)、0.03%、0.30%、1.00%、3.00%、10.00%加入,再培养 24 h 后终止培养,每孔加入 10 μ L CCK-8,37℃孵育 2 h,用酶标仪在 450 nm 处检测每孔的吸光度值(A 值),每组 4 孔取平均值,按公式计算细胞存活率:细胞存活率=(实验组 A 值-空白组 A 值)/(对照组 A 值-空白组 A 值),每组重复 5 次。

1.2.2 Langendorff 灌流豚鼠心脏检测 DMSO 对心率、心电图和室内压的影响 豚鼠雌雄不限,肝素 1 000 IU/kg 腹腔注射 20 min 后,用 1%戊巴比妥钠(30 mg/kg)麻醉后快速取出心脏,分离主动脉后迅速将主动脉固定于 Langendorff 灌流装置上(注意插管不宜过深,0.5~1.0 cm),再用氧饱和的含钙(CaCl₂

1.8 mmol/L)台式液恒流、恒温(37℃)灌流心脏,整个灌流过程中尽量不要有气泡,灌流 20~30 min 待心脏灌流液清亮,心脏收缩平稳后于左心耳根部剪一小切口将制备好的球囊经左心房、房室瓣固定于左心室内,球囊远端与 AD instruments 电生理仪相连的压力传感器相连。通过连接于三通管上的注射器向心室内球囊缓慢注射适量的台式液,以调整左心室的舒张末期压力,且灌流速度控制在 6 mL/min 左右。左心室球囊固定好后,于心尖处和主动脉根部分别固定心电图记录电极的正负极,电极远端连于电生理仪的心电导联接口,通过电生理记录软件同步记录不同浓度 DMSO[0(对照)、0.03%、0.10%、0.30%、1.00%、3.00%、10.00%,每个浓度给药时间为 10 min]对豚鼠心室内压、心电图和心率的影响。通过 AD instruments 电生理记录软件分析 DMSO 对左心室发展压(LVDP,LVDP=左心室收缩压-左心室舒张压)、左心室内压最大上升速率(dp/dt_{max})和左心室内压最大下降速率(dp/dt_{min})的影响。通过记录的心电图分析心率、PR 段、QRS 波、QTc 和 ST 段的变化。

1.3 统计学处理 采用 SPSS14.0 统计软件进行统计分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,自身给药前后比较采用配对 *t* 检验,组间比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

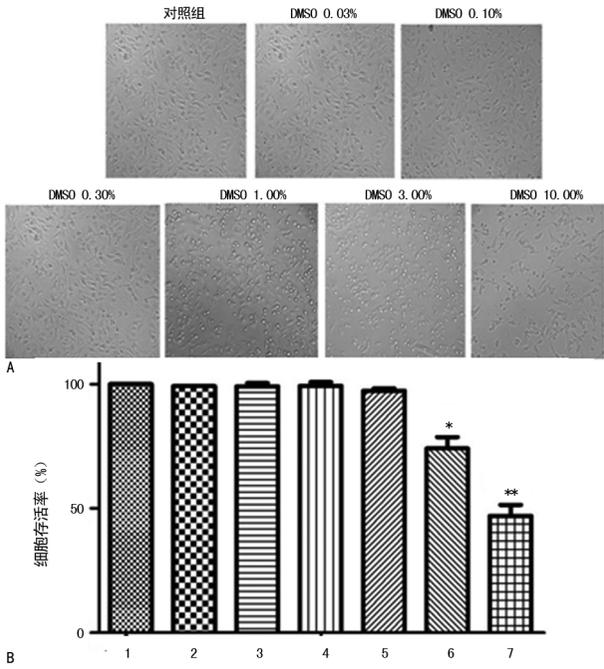
2 结果

2.1 DMSO 对乳鼠心肌细胞活性的影响 乳大鼠心肌细胞培养 24 h 后,给予不同浓度 DMSO(0、0.03%、0.10%、0.30%、1.00%、3.00%、10.00%)培养 24 h 后,镜下可观察到随着 DMSO 浓度的增加心肌细胞的数量逐渐减少,见图 1A。CCK-8 结果显示 3.00%、10.00%的 DMSO 均明显减少心肌细胞的存活率,见图 1B。

2.2 DMSO 对 Langendorff 灌流豚鼠心率和心电图的影响 Langendorff 灌流豚鼠心脏上固定好检测室内压的球囊和心电检测电极后,待室内压力稳定,可同步记录室内压、心率和心电图。给予不同浓度的 DMSO(0、0.03%、0.10%、0.30%、1.00%、3.00%、10.00%,每个浓度按 6 mL/min 速度持续给药 10 min, $n=12$),给药过程持续记录。结果显示,DMSO 浓度依赖性地抑制心率,对照组的心率为(215.23 \pm 5.34)次/分钟,0.30% DMSO 作用后的心率为(214.42 \pm 3.16)次/分钟;3.00% DMSO 作用后的心率为(204.67 \pm 3.75)次/分钟,与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),而 10.00% DMSO 作用后的心率降至(191.41 \pm 2.98)次/分钟,与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$),见图 2。

心电图分析结果显示,不同浓度的 DMSO 对 QRS 波宽和 QTc 间期没有明显的作用。10.00% DMSO 可导致 ST 段形态的改变,ST 段的抬高或压低;10.00% DMSO 还可导致 ST 段明显延长,与对照组相比,ST 段时长由(0.44 \pm 0.13) ms 增加到

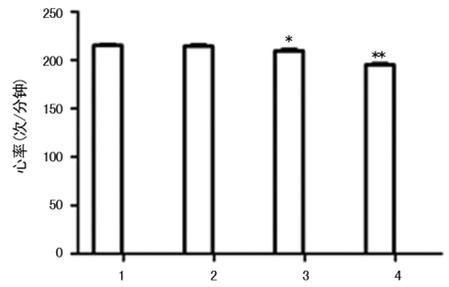
(0.90 ± 0.21)ms($n=12, P<0.01$)。10.00% DMSO 还可使 T 波形态发生明显的改变,由原来的钝圆形变为高尖的 T 波,见图 3。



A:不同浓度 DMSO 作用 24 h 后的细胞形态学变化;B:不同浓度 DMSO 处理细胞 24 h 后 CCK-8 检测的细胞存活率;* : $P<0.05$,** : $P<0.01$,与对照组比较;1:对照组;2:DMSO 0.03%;3:DMSO 0.10%;4:DMSO 0.30%;5:DMSO 1.00%;6:DMSO 3.00%;7:DMSO 10.00%

图 1 不同浓度的 DMSO 对心肌存活率的影响 ($n=5$)

2.3 DMSO 对 Langendorff 灌流豚鼠心脏功能的影响 Langendorff 恒流恒温灌流豚鼠心脏后,固定好心电电极和左室内球囊电极,待心室内压力和心电稳定 30 min 后给予不同浓度的 DMSO(0、0.30%、3.00%、10.00%,每个浓度 6 mL/min,持续给药 10 min 后浓度梯度连续给药, $n=12$),观察 DMSO 对心脏功能的影响,结果显示,对照组的 LVDP 为(38.34 ± 1.27) mm Hg,0.30% DMSO 作用后的 LVDP 为(38.21 ± 1.16)mm Hg,3.00% DMSO 作用后的 LVDP 为(33.54 ± 1.54)mm Hg,10.00% DMSO 作用后的 LVDP 为(31.81 ± 1.32)mm Hg,DMSO 浓度依赖性抑制 LVDP,见图 4。DMSO 浓度超过 3.00% 可明显抑制豚鼠 LVDP,同时 DMSO 浓度大于 3.00% 可明显抑制 dp/dt_{max} ,而对 dp/dt_{min} 没有明显的抑制作用,见图 5。



* : $P<0.05$,** : $P<0.01$,与对照组比较;1:对照组;2:0.30% DMSO;3:3.00% DMSO;4:10.00% DMSO

图 2 DMSO 对离体灌流豚鼠心脏心率的影响 ($n=12$)

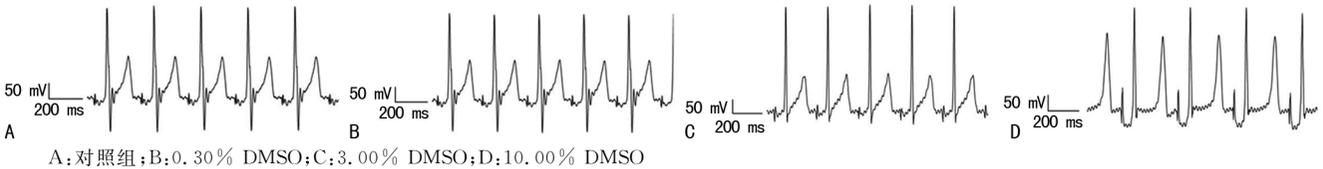


图 3 DMSO 对离体灌流豚鼠心脏心电图的影响 ($n=12$)

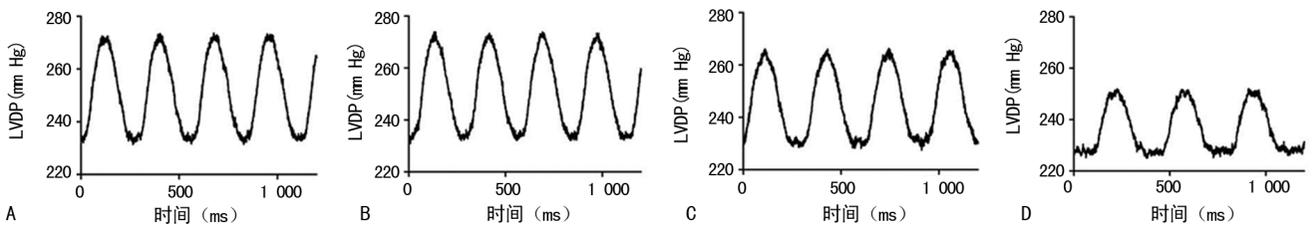
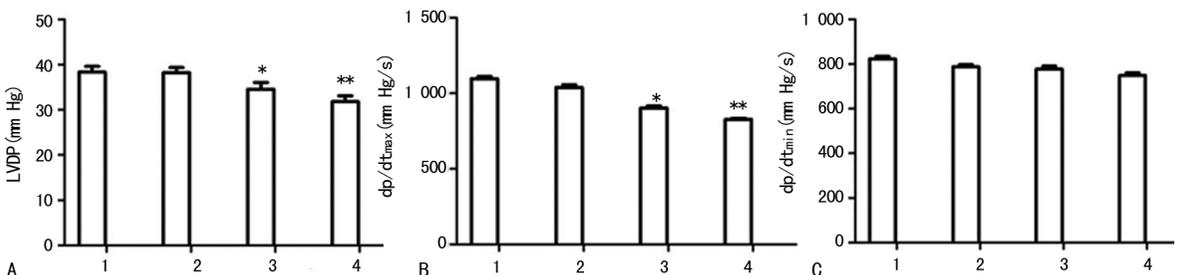


图 4 DMSO 对 Langendorff 灌流豚鼠心脏 LVDP 的影响 ($n=12$)



A:LVDP;B: dp/dt_{max} ;C: dp/dt_{min} ; * : $P<0.05$,** : $P<0.01$,与对照组比较;1:对照组;2:0.30% DMSO;3:3.00% DMSO;4:10.00% DMSO

图 5 DMSO 对 Langendorff 灌流豚鼠心脏功能的影响 ($n=12$)

3 讨 论

DMSO 因具有特殊溶媒效应且易于溶解多种不易溶于水的物质,故被称为“万能溶剂”。DMSO 应用极为广泛,是最为常见的溶剂之一,然而也有研究发现 DMSO 具有一定的细胞毒性。有研究显示,浓度大于 0.25% 的 DMSO 对 Min6 胰岛细胞的活力具有抑制作用^[6];DMSO 对体外培养的眼组织也有一定的毒性^[7];DMSO 浓度大于 0.6% 可显著影响胚胎的发育^[8-9];DMSO 剂量依赖性地对耳蜗毛细胞具有毒性作用^[10]。DMSO 大于 0.8% 可明显抑制骨髓瘤细胞增殖,促进细胞凋亡^[11]。也有研究发现,DMSO 对 Langendorff 灌流的心肌具有正性或负性肌力作用,可抑制神经传导速度,抑制钠钾泵的活性^[12]。在 C57BL/6 小鼠的体内(0.3 mL/kg)和体外实验(0.5% 和 1.0%)中均证实 DMSO 可导致海马神经元的细胞凋亡。DMSO 具有对海马脑片的抗谷氨酸神经毒性作用^[13-14]。抗心律失常药物多数不溶于水,以 DMSO 作为溶剂,因此研究 DMSO 对心肌功能的影响尤为重要,有利于正确评价心血管药物及其他药物的有效性和细胞毒性。

本研究证实,浓度大于 3.00% 的 DMSO 作用 24 h 后可明显抑制体外心肌细胞培养条件下的心肌细胞存活率,且具有明显的浓度依赖性。随着 DMSO 浓度的增高不仅心肌细胞的存活率降低,而且心肌细胞的数量也明显减少,死亡细胞逐渐增多。这些结果表明,浓度超过 3% 的 DMSO 对心肌细胞有一定的毒副作用,在使用 DMSO 的过程中浓度应尽量低于 3%,<1% 相对安全。而在作为溶剂用于心血管系统的研究中也需要注意 DMSO 的浓度,在溶质能溶解的条件下,尽量减少 DMSO 的量,DMSO 不仅本身会影响心肌细胞的活性,减少心肌细胞的数量,而且可导致渗透压的变化,也会影响心肌细胞的活性。已有研究证实,DMSO 确实能改变灌流心脏台式液的渗透压,1% DMSO 可导致渗透压升高 1.5 倍^[2]。也有研究表明,在视网膜神经元细胞系细胞上发现 DMSO 浓度大于 1% 明确具有细胞毒性,可导致神经细胞的损伤^[3]。

在 Langendorff 灌流的豚鼠心脏上,本研究发现 3.00% 和 10.00% 的 DMSO 均能明显降低豚鼠心率、LVDP 和 dp/dt_{max} 。LVDP 和 dp/dt_{max} 主要反映左心室的收缩功能, dp/dt_{min} 主要反映左心室舒张功能。本研究结果表明,浓度超过 3% 的 DMSO 可通过减慢心率,降低室内压来明显降低心脏的收缩功能。而且,早在 1995 年就有研究发现 5% DMSO 可延长豚鼠乳头肌动作电位时程(APD),15%、10% DMSO 可延长 APD 达 33%。相反,MAN 等^[15]发现

DMSO(0.2%~0.8%)预处理可降低过氧化氢诱导的心肌细胞的损伤,降低心肌细胞的存活率,减少心肌细胞的凋亡和降低半胱氨酸蛋白酶-3(Caspase-3)的表达。本研究还发现 DMSO 浓度在高达 10.00% 时可致 ST 段延长,ST 段和 T 波形态发生改变,这表明 DMSO 可能会导致心肌损伤或心肌缺血。

有关 DMSO 对心肌的损伤影响的研究较少,本研究结果与 MAN 等^[15]的结果不一致可能是由于 DMSO 浓度范围的差异。低浓度的 DMSO(一般情况小于 1.00%)可能具有一定的降低损伤心肌凋亡的作用,但超过 1.00%,特别是高于 3.00% 可明显降低心肌的存活率、减慢心率和降低室内压,增加心肌的损伤。因此 DMSO 作为溶剂时需严格控制其浓度,以减少 DMSO 对心脏功能的影响。

参考文献

- [1] PARISI A,ALFIERI A,MAZZELLA M,et al. Protective effect of dimethyl sulfoxide on acute myocardial infarction in rats[J]. J Cardiovasc Pharmacol,2010,55(1):106-109.
- [2] OGURA T,SHUBAL M,MCDONALD T F. Action potentials,Ionic currents and cell water in Guinea pig ventricular preparations exposed to dimethyl sulfoxide[J]. J Pharmacol Exp Ther,1995,273(3):1273-1286.
- [3] GALVAO J,DAVIS B,TILLEY M. Unexpected low-dose toxicity of the Universal Solvent DMSO[J]. FASEB J,2014,28(3):1317-1330.
- [4] JULIEN C,MARCOUILLER F,BRETTEVILLE A,et al. Dimethyl sulfoxide induces both direct and indirect tau hyperphosphorylation[J]. PLoS One,2012,7(6):e40020.
- [5] HANSLICK J L,LAU K,NOGUCHI K K,et al. Dimethyl sulfoxide (DMSO) produces widespread apoptosis in the developing central nervous system[J]. Neurobiol Dis,2009,34(1):1-10.
- [6] 张红,张丽,张燕,等. 不同浓度 DMSO 对 Min6 胰岛细胞活力和 ROS 产生的影响[J]. 新疆医科大学学报,2015,38(4):442-448.
- [7] 赵春晖,兰碧菲,侯江平,等. 二甲基亚砷对体外培养眼组织细胞的毒性作用[J]. 中华实验眼科杂志,2015,33(3):216-220.
- [8] 郑康帝,陈梓珊,王成蹊. 二甲基亚砷对斑马鱼胚胎发育的影响[J]. 广东药学院学报,2014;30(5):636-638.
- [9] 许冰洁,张立将,李春启. 斑马鱼胚胎评价 5 种药物的发育毒性与模型验证[J]. 中国药理学通报,2016,32(1):74-79.
- [10] 王海霞,郭维维,杨仕明,等. 二甲基亚砷对在体耳蜗毛细胞的毒性作用[J]. 中华耳杂志,2012,10(1):108-112.
- [11] 李俊东,裴晓川,白春强. 二甲基亚砷(DMSO)对骨髓瘤细胞 RPM18226 影响的研究[J]. 吉林医学,2017,38(1):83-84.

创面外用 MEBO 后,其创面新生肉芽组织中 CK-20 阳性的 Merkel 细胞数量增加,CK-20 蛋白水平上调,创面触觉阈值降低。有研究提示,Merkel 细胞不表达细胞周期蛋白,因此,Merkel 细胞可能分化来源于周围未分化的多能基底角质细胞(pluripotential basal keratinocytes)^[18],因此,外用 MEBO 可能通过促进多能基底角质细胞分化为 Merkel 细胞,进而促进创面触觉功能的重建,本设想还需进一步研究证实。

综上所述,采用皮肤创面外用 MEBO 能够有效促进创面新生肉芽组织触觉功能重建。

参考文献

- [1] JOHNSTON B R, HA A Y, KWAN D. Surgical management of chronic wounds[J]. R I Med J, 2016, 99(2): 30-33.
- [2] HAN G, CEILLEY R. Chronic wound healing: a review of current management and treatments[J]. Adv Ther, 2017, 34(3): 599-610.
- [3] 邓呈亮,冯晶玮,鲁峰. 脂肪来源干细胞促进难愈性创面愈合研究进展[J]. 中华整形外科杂志, 2017, 33(6): 477-480.
- [4] GIRARD D, LAVERDET B, BUHÉ V, et al. Biotechnological management of skin burn injuries: challenges and perspectives in wound healing and sensory recovery[J]. Tissue Eng Part B Rev, 2017, 23(1): 59-82.
- [5] HALATA Z, GRIM M, BAUMAN K I. Friedrich sigmund merkel and his "merkel cell", morphology, development, and physiology: review and new results[J]. Anat Rec A Discov Mol Cell Evol Biol, 2003, 271(1): 225-239.
- [6] WOO S H, LUMPKIN E A, PATAPOUTIAN A. Merkel cells and neurons keep in touch[J]. Trends Cell Biol, 2015, 25(2): 74-81.
- [7] MAKSIMOVIC S, NAKATANI M, BABA Y, et al. Epidermal merkel cells are mechanosensory cells that tune mammalian touch receptors[J]. Nature, 2014, 509(752): 617-621.
- [8] 张力. 再生医学与中医. 中国烧伤创疡杂志[J]. 2004, 16

(3): 224-227.

- [9] TANG Q L, HAN S S, FENG J, et al. Moist exposed burn ointment promotes cutaneous excisional wound healing in rats involving VEGF and bFGF[J]. Mol Med Rep, 2014, 9(4): 1277-1282.
- [10] MAKSIMOVIC S, BABA Y, LUMPKIN E A. Neurotransmitters and synaptic components in the Merkel cell-neurite complex, a gentle-touch receptor[J]. Ann N Y Acad Sci, 2013, 1279: 13-21.
- [11] CHALFIE M. Neurosensory mechanotransduction[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2009, 10(1): 44-52.
- [12] COSTE B, MATHUR J, SCHMIDT M, et al. Piezo1 and piezo2 are essential components of distinct mechanically activated cation channels[J]. Science, 2010, 330(6000): 55-60.
- [13] MARICICH S M, MORRISON K M, MATHES E L, et al. Rodents rely on Merkel cells for texture discrimination tasks[J]. J Neurosci, 2012, 32(10): 3296-3300.
- [14] MARICICH S M, WELLNITZ S A, NELSON A M, et al. Merkel cells are essential for light-touch responses[J]. Science, 2009, 324(5934): 1580-1582.
- [15] MOLL I, KUHN C, MOLL R. Cytokeratin 20 is a general marker of cutaneous Merkel cells while certain neuronal proteins are absent[J]. J Invest Dermatol, 1995, 104(6): 910-915.
- [16] MOLL I, PAUS R, MOLL R. Merkel cells in mouse skin: intermediate filament pattern, localization, and hair cycle-dependent density[J]. J Invest Dermatol, 1996, 106(2): 281-286.
- [17] CHRISTIANSON J A, RYALS J M, JOHNSON M S, et al. Neurotrophic modulation of myelinated cutaneous innervation and mechanical sensory loss in diabetic mice[J]. Neuroscience, 2007, 145(1): 303-313.
- [18] MOLL I, ZIEGER W, SCHMELZ M. Proliferative merkel cells were not detected in human skin[J]. Arch Dermatol Res, 1996, 288(4): 184-187.

(收稿日期:2019-03-14 修回日期:2019-04-24)

(上接第 2535 页)

- [12] SHLAFER M. Cardiac pharmacology of dimethyl sulfoxide and its postulated relevance to organ preservation in ischemic or hypoxic states[J]. Ann N Y Acad Sci, 1983, 411: 170-179.
- [13] 沈洪妹,姜正林. 二甲亚砷对大鼠海马脑片谷氨酸毒性损伤的影响[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志, 2002, 9(4): 197-199.
- [14] 沈洪妹,姜正林. 二甲亚砷对大鼠海马脑片谷氨酸毒性损

伤的保护作用[J]. 南通医学院学报, 2000, 20(4): 349-350.

- [15] MAN W, MING D, FANG D, et al. Dimethyl sulfoxide attenuates Hydrogen peroxide-induced injury in cardiomyocytes via heme oxygenase-1[J]. J Cell Biochem, 2014, 115(6): 1159-1165.

(收稿日期:2019-03-12 修回日期:2019-04-28)