论著

文章编号:1000-5404(2014)10-1064-04

大气细颗粒物对G蛋白偶联受体激酶4的异常调节在尿钠排泄中的作用

曾 敬,芦 茜,陈 垦,姚勇刚,张 骏,曾春雨 (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所心血管内科,重庆市心血管病研究所)

[摘要] **目的** 探讨大气细颗粒物(fine particle, fine particulate matter,$PM_{2.5}$)对G蛋白偶联受体激酶4(G protein-coupled receptor kinase 4,GRK4)的异常调节及其影响尿钠排泄在高血压病发生、发展中的作用。**方法** 以Wistar-Kyoto(WKY)大鼠来源肾脏近曲小管上皮细胞(renal proximal tubule, RPT)株为研究对象,观察在$PM_{2.5}$刺激对细胞活力、Na^+-K^+-ATP酶活性以及GRK4、D1R表达的变化;以小干扰RNA(siRNA)技术沉默GRK4,观察$PM_{2.5}$对Na^+-K^+-ATP酶活性的影响。**结果** 不同浓度$PM_{2.5}$(10、50、100 μg/mL)处理WKY大鼠RPT细胞株24 h后,细胞活力无明显差异($P>0.05$)。$PM_{2.5}$干预组(100 μg/mL)Na^+-K^+-ATP酶活性明显高于对照组($P<0.05$),且对10^{-6} mol/L非诺多泮(fenoldopam)的作用较对照组减低($P<0.05$)。不同浓度$PM_{2.5}$(10、100 μg/mL)干预后RPT细胞的GRK4表达明显高于对照组($P<0.05$),多巴胺D1受体的蛋白表达明显低于对照组($P<0.05$)。以siRNA技术沉默GRK4后,$PM_{2.5}$对Na^+-K^+-ATP酶活性的作用较对照组无明显差异($P>0.05$)。**结论** $PM_{2.5}$通过调节GRK4表达,进而调控D1受体的表达和Na^+-K^+-ATP酶活性,参与了对尿钠排泄的调节。

[关键词] 大气细颗粒物;G蛋白偶联受体激酶4; Na^+-K^+-ATP酶;高血压
[中图法分类号] R122.7;R362;R544.1 [文献标志码] A

Role of $PM_{2.5}$ in regulation of G protein-coupled receptor kinase 4 in natriuresis *in vitro*

Zeng Jing, Lu Xi, Chen Ken, Yao Yonggang, Zhang Jun, Zeng Chunyu (Department of Cardiology, Chongqing Institute of Cardiology, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University; Chongqing, 400042, China)

[**Abstract**] Objective G protein-coupled receptor kinase 4 (GRK4) affects renal sodium excretion *via* impairment of renal dopamine receptor, resulting in sodium retention and an increase in blood pressure. Previous studies pointed out that $PM_{2.5}$ was a risk factor and etiological factor of hypertension. Whether or not $PM_{2.5}$ is involved in the regulation of GRK4 and renal sodium excretion is investigated in this study. Methods We observed the regulatory effect of $PM_{2.5}$ on cell viability, Na^+-K^+-ATPase activity and GRK4 expression in WKY rat renal proximal tubule (RPT) cells. Moreover, we observed the regulatory effect of $PM_{2.5}$ on Na^+-K^+-ATPase activity in WKY rat RPT cells treated by GRK4 siRNA. Results The cell viability showed no difference in WKY rat RPT cells treated by different concentrations of $PM_{2.5}$ (10, 50, and 100 μg/mL, $P>0.05$). Compared with controls, Na^+-K^+-ATPase activity was significantly increased in the cells treated by 100 μg/mL $PM_{2.5}$ ($P<0.05$), and decreased by 10^{-6} mol/L fenoldopam treatment ($P<0.05$). $PM_{2.5}$ leaded to a higher expression of GRK4 and lower expression of dopamine D1 receptor in WKY rat RPT cells ($P<0.05$). Na^+-K^+-ATPase activity in $PM_{2.5}$-treated cells showed no difference after blocking GRK4 by siRNA ($P>0.05$). Conclusion $PM_{2.5}$ increases GRK4 expression, decreases dopamine D1 receptor expression and increases Na^+-K^+-ATPase activity, showing regulatory effects on renal sodium excretion.

[**Key words**] fine particle, fine particulate matter; G protein-coupled receptor kinase 4; Na^+-K^+-ATPase; hypertension

Corresponding author: Zeng Chunyu, E-mail: chunyuzeng01@163.com

越来越多的研究证实环境污染物可严重影响人类健康并诱发疾病,特别是直径≤2.5 μm的可吸入细颗粒物[(fine particle, fine particulate matter,$PM_{2.5}$),粒

[通信作者] 曾春雨,E-mail:chunyuzeng01@163.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140328.0952.004.html(2014-3-28)

径≤2.5 μm]。这一类颗粒物主要来源于燃料燃烧、工业废气和机动车尾气,因其粒径小、易进入呼吸及循环系统、在大气中悬浮时间长、表面积大,更易吸附更多的有害物质,对人体健康的危害更大[1]。

$PM_{2.5}$对高血压病的危害已得到证实[2-3],但$PM_{2.5}$影响高血压病的机制尚未完全明确。而肾脏是人体尿钠排泄的重要器官,其对原发性高血压病的发生所起的作用得到人们的公认[4-6]。G蛋白偶联受体激酶4(G protein-coupled receptor kinase 4,GRK4)在肾脏表达丰富,它们通过对多巴胺受体进行调节,影响肾脏水钠重吸收,进而影响血压的水平[7-8]。Tsai等[9]对健康志愿者的研究表明生活环境中的PM_{10}与夜间血压升高及日间尿钠排泄的减少明显相关。本实验为明确$PM_{2.5}$对肾脏近曲小管上皮细胞(renal proximal tubule, RPT)的影响,并探讨其中的作用机制,为$PM_{2.5}$影响高血压病的可能机制进行研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 大气$PM_{2.5}$采集及处理 在2012年11月至2013年3月期间,于天气晴好时,在重庆市内非工业区使用智能中流量空气总悬浮微粒采样器(武汉市天虹仪表有限责任公司)采集大气颗粒物,每天8:00~18:00收集样品,阴雨天除外,收集到的颗粒物吸附在采样器中的玻璃纤维滤纸(武汉市天虹仪表有限责任公司)上。将收集到的所有滤膜剪成1 cm×2 cm小块,浸于三蒸水中超声震荡30 min,共4次,将收集到的震荡液用6层纱布过滤。滤液用玻璃平皿冷冻真空干燥,钴60放射灭菌后,存放于-20 ℃冰箱中备用。临用前,称取一定量的$PM_{2.5}$用无菌PBS液制成混悬液,超声震荡混匀,4 ℃保存。

1.1.2 其他材料 WKY的RPT细胞株由美国Georgetown大学Dr. Pedro A. Jose实验室提供。RPT细胞株来源于4~8周的WKY大鼠,既往实验已证实其与活体RPT细胞具有相同特性[10-12]。DMEM(F12)培养液、胎牛血清、胰酶购自美国Gibco公司;兔抗鼠GRK4多克隆抗体、兔抗鼠D1受体多克隆抗体、兔抗鼠GAPDH多克隆抗体购自美国Santa Cruz公司。CCK-8试剂盒购自日本同仁化学研究所。细胞膜Na^+-K^+-ATP酶活性测定所用试剂0.75 mol/L异咪唑、0.12 mol/L叠氮钠、0.02 mol/L pH=7.0 Na_4EGTA、10 mmol/L毒芪毛苷均购自美国Sigma公司,1 mol/L Tris-HCl购自美国Novono公司。其他试剂均为国产分析纯。核酸蛋白分析仪为德国Beckman公司产品。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 RPT在含有95%空气和5% CO_2的培养箱常规培养,所用培养基为DMEM(F12)培养基(含10%胎牛血清),在使用$PM_{2.5}$干预前,细胞先用无血清培养基饥饿24 h。本研究$PM_{2.5}$对RPT的干预分为不同浓度干预组:低剂量组:10 μg/mL、高剂量组:100 μg/mL。

1.2.2 细胞活力检测(CCK-8法) 将培养好的RPT细胞种到96孔板,上述培养方法常规培养。待细胞长到80%融合后,用无血清培养基饥饿24 h后,换DMEM(F12)培养基(含10%胎牛血清),给予不同浓度$PM_{2.5}$干预:低剂量组(10 μg/mL)、中浓度(50 μg/mL)、高剂量组(100 μg/mL),培养24 h后,每孔加入10 μL的CCK-8溶液,1 h后用酶标仪在450 nm测定光密度[$D(450)$],用下述公式计算细胞活力:细胞活力=[$D(450)_{干预组}-D(450)_{空白组}$]/[$D(450)_{对照组}-D(450)_{空白组}$]×100%。

1.2.3 Western blot $PM_{2.5}$干预后的RPT采用常规方法提取蛋白,Bradford法测定蛋白浓度。用8% SDS-PAGE电泳分离蛋白质,然后用半干法将蛋白质转移到NC膜上,TBS液洗3次,5%脱脂奶粉4℃封闭过夜。加入GRK4(1∶500)、D1受体(1∶200)、GAPDH一抗(1∶500)反应1 h,TBS液漂洗3次,加入羊抗兔IgG(1∶10 000),摇床避光孵育1 h,TBS漂洗3次,ODYSSEY红外凝胶扫描系统扫描,统计分析各条带的灰度值。

1.2.4 实时荧光定量PCR(q-PCR) $PM_{2.5}$干预后的RPT采用Trizol法提取RNA,用TaKaRa公司PrimeScriptTM RT reagent KitA(PERFECT REAL TIME)试剂盒进行反转录PCR,得到的cDNA放于-20 ℃中保存。行q-PCR反应及分析,反应体系(25 μL):ddH_2O 8 μL、上游引物1 μL、下游引物1 μL、cDNA 2.5 μL、SYBR® Premix Ex Taq^{TM} GC 12.5 μL。GRK4引物序列,上游:5′-AGTGATGGAGCCTCTGCTGT-3′;下游:5′-TAAATGGCCTCAGGATCAGG-3′。GAPDH引物序列,上游:5′-GACATGCCGCCTGGAGAAAC-3′;下游:5′-AGCCCAGGATGCCCTTTAGT-3′。

1.2.5 Na^+-K^+-ATP酶活性测定(毒芪毛苷法) 采用哇巴因法测定Na^+-K^+-ATP酶活性,并给予D1受体激动剂(非诺多泮,10^{-6} mol/L)以观察RPT细胞株的反应性,于740 nm处比色,用分光光度计测定产生的无机磷(Pi)含量,其中总的ATP酶活性为无毒芪毛苷存在下产生的Pi,Mg^+-ATP酶活性为有毒芪毛苷存在下产生的Pi,二者之差为Na^+-K^+-ATP酶活性。酶活性单位以每小时每毫克膜蛋白产生的Pi含量来表示,即μmol/(mg·/h)。

1.3 统计学方法

实验结果采用$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 17.0统计软件进行分析。两组间采用t检验,两组以上的比较采用单因素方差分析。

2 结果

2.1 $PM_{2.5}$对RPT细胞株细胞活力的影响

以不同浓度$PM_{2.5}$干预WKY大鼠的RPT细胞株24 h后,CCK-8法检测细胞活力显示:10 μg/mL组[(100.92±5.66)%]、50 μg/mL组[(96.94±6.34)%]、100 μg/mL组[(92.12±12.44)%]干预组的细胞活力与对照组(100%)比较无明显差异($P>0.05$)。

2.2 $PM_{2.5}$干预RPT细胞后Na^+-K^+-ATP酶活性变化

同样以不同浓度$PM_{2.5}$(10、100 μg/mL)干预WKY大鼠的RPT细胞株24 h,然后用哇巴因法检测其Na^+-K^+-ATP酶活性,发现$PM_{2.5}$干预组(100 μg/mL)的Na^+-K^+-ATP酶活性(0.19±0.01)明显高于对照组(0.15±0.01)。在给予非诺多泮(10^{-6} mol/L)作用后,$PM_{2.5}$干预组(100 μg/mL)的Na^+-K^+-ATP酶活性(0.18±0.01)较对照组(0.12±0.01)增高($P<$

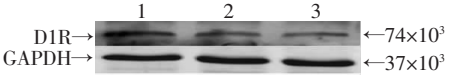
0.05，$n=6$），无非诺多体刺激后的下降趋势。

2.3 沉默GRK4后$PM_{2.5}$对Na^+-K^+-ATP酶活性变化

以siRNA技术沉默RPT细胞的GRK4后，$PM_{2.5}$（100 μg/mL）再次干预被沉默的RPT细胞，后测定Na^+-K^+-ATP酶活性发现，干预组的Na^+-K^+-ATP酶活性（1.04±0.08）较对照组（0.99±0.10）无差异，在非诺多泮（10^{-6} mol/L）作用后的Na^+-K^+-ATP酶活性下降反应性恢复（干预组：0.79±0.07；对照组：0.76±0.05）。

2.4 $PM_{2.5}$干预RPT细胞后多巴胺受体1（D1R）的蛋白表达

用不同浓度$PM_{2.5}$（10、100 μg/mL）干预RPT细胞株24 h后，免疫印迹显示$PM_{2.5}$干预组的蛋白表达下降，高剂量组的D1R表达水平（0.35±0.09）较对照组（0.71±0.10）下降明显（$P<0.05$，$n=6$，图1）。

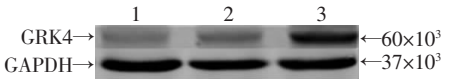


1：对照组；2：10 μg/mL组；3：100 μg/mL组

图1 Westen blot检测不同浓度$PM_{2.5}$干预RPT后细胞D1R蛋白表达的影响

2.5 $PM_{2.5}$干预RPT细胞后GRK4的mRNA表达及蛋白表达

以不同浓度$PM_{2.5}$（10、100 μg/mL）干预WKY大鼠的RPT细胞株24 h后，采用Trizol法提取RNA，反转录得到cDNA，用q-PCR法检测提示$PM_{2.5}$干预组的GRK4的mRNA表达［10 μg/mL组：（0.87±0.06）；100 μg/mL组：（1.34±0.06）］较对照组（0.64±0.09）显著增高（$P<0.05$，$n=6$）。为进一步确定不同浓度$PM_{2.5}$对RPT细胞株GRK4表达的影响，免疫印迹显示$PM_{2.5}$高剂量干预组的GRK4的蛋白表达（0.51±0.04）较对照组（0.27±0.04）明显增高（$P<0.05$，$n=6$，图2）。



1：对照组；2：10 μg/mL组；3：100 μg/mL组

图2 Westen blot检测不同浓度$PM_{2.5}$干预RPT后细胞GRK4蛋白表达的影响

3 讨论

$PM_{2.5}$作为空气污染物中的主要成分，是环境影响疾病发生、发展的重要影响因素。现已有多项循证医学证实$PM_{2.5}$与人群心血管疾病关系密切，尤其是会引起血压升高[2-3]，说明$PM_{2.5}$参与到高血压病的发病机制中。但$PM_{2.5}$引起高血压病的机制尚不完全明确。

GRK4是引起高血压病众多机制中现已明确的因素之一。GRK属丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶家族，有7种亚型，研究发现仅GRK4亚型的活性改变早于高血压的发生，且其表达主要集中肾脏、血管、心脏等组织[13]。高血压患者或自发性高血压大鼠GRK4表达增加，导致肾脏D1受体酸化程度增加，D1受体和G蛋白失偶联，失去对Na^+-K^+-ATP等钠泵的抑制能力，导致D1受体功能丧失，血压升高[14]。前期研究发现，GRK4变异体（R65L、A142V、A486V）与人高血压病有关。既往的研究发现，只有30%～50%高血压为遗传因素引起[15]，在高血压患者中GRK4表达升高，结果提示GRK4的表达异常升高受到了其他因素的调节。我们的研究发现，在$PM_{2.5}$处理后，RPT细胞株的GRK4的表达发生了明显变化。

我们据此设想：$PM_{2.5}$是通过GRK4引起D1受体及Na^+-K^+-ATP酶活性改变，从而引起水钠潴留，引发高血压病。该设想得到了$PM_{2.5}$处理后RPT细胞株Na^+-K^+-ATP酶研究结果的证实。本研究证实，$PM_{2.5}$干预组的RPT细胞株Na^+-K^+-ATP酶活性上升，给予D1受体激动剂（非诺多泮）后干预组的Na^+-K^+-ATP酶活性下降不明显。此结果证实$PM_{2.5}$可通过影响肾脏尿钠排泄引起血压升高。

为进一步证实GRK4在其中的作用，本研究对RPT细胞株进行了GRK4基因的干扰沉默。然后再给予$PM_{2.5}$干预，其结果发现沉默后干预组的Na^+-K^+-ATP酶活性较正常组无明显差异，对D1受体激动剂（非诺多泮）的反应恢复正常，上述实验证实了$PM_{2.5}$确是通过影响GRK4来达成对Na^+-K^+-ATP酶的影响，并进一步造成水钠潴溜引起高血压。

本研究检测了$PM_{2.5}$干预后RPT细胞株的D1受体、GRK4蛋白表达以及GRK4的mRNA表达，发现$PM_{2.5}$干预组的D1受体表达量较对照组下降，GRK4蛋白及其mRNA表达量较对照组升高。从而证实$PM_{2.5}$可引起GRK4表达增高，以致D1受体表达减少，从而可能影响尿钠排泄。

本实验证实了$PM_{2.5}$可通过影响尿钠排泄促进高血压的发生进展，然而影响血压因素众多，$PM_{2.5}$对尿钠排泄的影响只是其中的机制之一。实验结果仅限于采样的$PM_{2.5}$，采样季节和地点可能导致成分有所差别。并且本研究使用的是$PM_{2.5}$总提取物，成分复杂，具体是何种成分损害了尿钠排泄有待以后进一步研究证实。

总之，通过对WKY大鼠RPT细胞株的研究，我们明确了$PM_{2.5}$对GRK4的异常调节作用，以及其相应调节信号通路的影响。$PM_{2.5}$通过影响GRK4表达量，降低D1受体表达，增高Na^+-K^+-ATP酶活性，引起水钠潴留，是引发高血压病的可能机制之一。

参考文献：

[1] Claxton L D, Matthews P P, Warren S H. The genotoxicity of ambient outdoor air, a review: Salmonella mutagenicity[J]. Mutat Res, 2004, 567(2/3): 347-399.

[2] Fuks K, Moebus S, Hertel S, *et al*. Long-term urban particulate air pollution, traffic noise, and arterial blood pressure[J]. Environ Health Perspect, 2011, 119(12): 1706 - 1711.
[3] Szyszkowicz M, Rowe B H, Brook R D. Even low levels of ambient air pollutants are associated with increased emergency department visits for hypertension[J]. Can J Cardiol, 2012, 28(3): 360 - 366.
[4] Jose P A, Eisner G M, Felder R A. Dopamine receptor-coupling defect in hypertension[J]. Curr Hypertens Rep, 2002, 4(3): 237 - 244.
[5] Zeng C, Sanada H, Watanabe H, *et al*. Functional genomics of the dopaminergic system in hypertension[J]. Physiol Genomics, 2004, 19(3): 233 - 246.
[6] Zeng C, Zhang M, Asico L D, *et al*. The dopaminergic system in hypertension[J]. Clin Sci (Lond), 2007, 112(12): 583 - 597.
[7] Villar V A, Jones J E, Armando I, *et al*. G protein-coupled receptor kinase 4 (GRK4) regulates the phosphorylation and function of the dopamine D3 receptor[J]. J Biol Chem, 2009, 284(32): 21425 - 21434.
[8] Chen K, Fu C, Chen C, *et al*. Role of GRK4 in the regulation of arterial AT1 receptor in hypertension[J]. Hypertension, 2014, 63(2): 289 - 296.
[9] Tsai D H, Riediker M, Wuerzner G, *et al*. Short-term increase in particulate matter blunts nocturnal blood pressure dipping and daytime urinary sodium excretion[J]. Hypertension, 2012, 60(4): 1061 - 1069.
[10] Zeng C, Liu Y, Wang Z, *et al*. Activation of D3 dopamine receptor decreases angiotensin II type 1 receptor expression in rat renal proximal tubule cells[J]. Circ Res, 2006, 99(5): 494 - 500.
[11] Zeng C, Wang Z, Hopfer U, *et al*. Rat strain effects of AT1 receptor activation on D1 dopamine receptors in immortalized renal proximal tubule cells[J]. Hypertension, 2005, 46(4): 799 - 805.
[12] Zeng C, Yang Z, Wang Z, *et al*. Interaction of angiotensin II type 1 and D5 dopamine receptors in renal proximal tubule cells[J]. Hypertension, 2005, 45(4): 804 - 810.
[13] Jose P A, Soares-da-Silva P, Eisner G M, *et al*. Dopamine and G protein-coupled receptor kinase 4 in the kidney: role in blood pressure regulation[J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1802(12): 1259 - 1267.
[14] Zeng C, Villar V A, Eisner G M, *et al*. G protein-coupled receptor kinase 4: role in blood pressure regulation[J]. Hypertension, 2008, 51(6): 1449 - 1455.
[15] Hajjar I, Kotchen T A. Trends in prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in the United States, 1988-2000[J]. JAMA, 2003, 290(2): 199 - 206.

(**收稿**:2014-02-26;**修回**:2014-03-12)
(编辑 王 红)

(上接 1054 页)

2.4 两组患者痰液染菌情况

5 d 后研究组无 1 例患者发生下呼吸道感染,对照组有 11 例患者发生下呼吸道感染,占总数的 27.5%,且均发生在湿化液细菌污染阳性结果后,下呼吸道感染的致病菌主要是革兰阴性菌(铜绿假单胞菌最多),其次是真菌(主要是白色念珠菌)。

3 讨论

近几年,临床上关于氧气湿化液及管道受污染引起下呼吸道感染的报道较多[3],《医院感染管理规范》明确规定,氧气湿化液应使用无菌蒸馏水,并要按时更换湿化液,吸氧前后要做好消毒工作。国内临床在湿化液的实际使用过程中由于清洁消毒工作繁琐、湿化瓶内芯及瓶体易老化、操作不规范等原因,造成湿化液的污染率较高。本结果显示,使用蒸馏水作湿化液的对照组细菌污染率平均为 54.5%,使用扶舒清作湿化液的研究组细菌污染率为 0%。污染湿化液的细菌革兰阴性菌检出率高于革兰阳性菌,且大多数细菌是人体常居菌,由多到少依次是:铜绿假单胞菌、白色念珠菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、金黄色葡萄球菌。因为无菌蒸馏水本身没有抑菌作用,在适宜的温度下,特别适于细菌的生长繁殖,使得吸氧过程中下呼吸道感染的危险因素增加。本研究结果显示,湿化液污染严重的,患者下呼吸道感染的比例大大增加,且污染湿化液的细菌与致病菌高度的一致,虽然还不能确定两者具有同源性,但是湿化液没有污染的患者下呼吸道感染率显著降低,两者差异具有统计学意义。为降低湿化液的污染,医院方面应严格按照《医院感染管理办法》和《消毒技术规范》中有关要求,完善与氧疗有关的规章制度,加强对医护工作者消毒意识及无菌操作的培训,同时监测湿化瓶及湿化液消毒灭菌的质量。使用前将插入湿化液的通气管彻底消毒,以减少湿化液被再次污染。湿化瓶在使用前后都必须消毒。消毒后湿化瓶存放于干燥、洁净的房间。盛放湿化液的容器也要定期消毒,确保湿化液使用前的无菌性。

本研究所用扶舒清的进气孔是一种特制的纳米微晶滤棒,能有效的过滤给氧管路中引入的污染,保证患者所用氧气的洁净。扶舒清中具有较强的抑菌能力,对于革兰阳性菌、革兰阴性菌、真菌、酵母菌均有一定的抑制作用[4-6],ε-聚赖氨酸对人体无任何毒副作用,安全性好[7],扶舒清为一次性用品,较好的避免了患者间的交叉感染,目前临床尚无其不良反应的报道,含有的 ε-聚赖氨酸扶舒清是临床较为理想的氧气湿化液。在氧疗的过程中,医院应严把湿化液的质量关。本研究比较了无菌蒸馏水和扶舒清一定时间内的带菌率和吸氧患者下呼吸道感染的发生率,结果表明,用扶舒清作为氧气湿化液,可很好解决吸氧过程的污染,与用蒸馏水作湿化液相比,下呼吸道感染率显著减少,值得临床推广。

参考文献:

[1] 李秀云, 邹灯秀, 徐敏, 等. 两种氧气湿化液与呼吸道感染相关性研究[J]. 中国护理管理, 2010, 10(9): 68 - 70.
[2] 李琴, 姚楠, 杨瑞仪, 等. 壁式供氧装置消毒效果研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2007, 17(12): 1533 - 1534.
[3] 李俊娥. 不同氧气湿化液氧疗对呼吸道感染的影响[J]. 齐鲁护理杂志, 2013, 19(16): 123 - 124.
[4] 闫洪泉, 陈立琴, 仲崇涛, 等. ε-聚赖氨酸氧气湿化液的临床应用[J]. 护理研究, 2010, 24(3B): 702 - 703.
[5] 闫洪泉, 胡莉丽, 陈立琴, 等. ε-聚赖氨酸氧气湿化液在间断吸氧中的效果观察[J]. 中国误诊学杂志, 2010, 10(12): 2821 - 2822.
[6] 王晓莉, 王芳, 刘晓春. 蒸馏水和扶舒清氧气湿化液细菌污染检测及引起下呼吸道感染研究[J]. 护理研究, 2013, 27(11A): 3536 - 3537.
[7] 梁祥. 扶舒清替代蒸馏水行氧气湿化降低院内感染的研究[J]. 齐鲁护理杂志, 2011, 17(7): 121.

(**收稿**:2014-03-25;**修回**:2014-04-23)
(编辑 栾 嘉)