

高脂血症合并脑缺血对模型大鼠炎症因子的影响

张振强¹, 贾亚泉¹, 宋军营¹, 李澎涛^{2*}, 潘彦舒², 王丛笑¹, 吕欢欢¹

(1. 河南中医学院, 郑州 450008; 2. 北京中医药大学, 北京 100029)

[摘要] **目的:**比较复合脑缺血模型和单纯脑缺血模型在不同时间炎症反应变化,分析高脂血症炎症因素对缺血脑组织的影响。**方法:**动物随机分为正常组、高脂对照组、假手术组、高脂假手术组、单纯缺血组和复合缺血组。取材时间是模型组脑缺血手术后3 d和7 d。采用高脂饲料饲养大鼠,复制经典的高脂血症动物模型,检测大鼠血清中血脂的含量以确定模型成功;复制大脑中动脉缺血模型,观察大鼠脑部缺血损伤情况。采用线栓法复制大鼠大脑中动脉缺血模型,观察大鼠脑部缺血损伤情况。用酶联免疫法(ELISA)检测血清中单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF- α)、C-反应蛋白(creactive protein, CRP)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的水平。**结果:**MCP-1, TNF- α 和CRP在复合脑缺血组和单纯脑缺血组与相应假手术组组内比较,脑缺血组在缺血3,7 d血清含量均多于相应的假手术组,差异显著($P < 0.05$);复合脑缺血组与单纯脑缺血组组间比较,MCP-1, TNF- α 在复合脑缺血组在缺血3,7 d血清含量均增多,差异显著($P < 0.05$);CRP在复合脑缺血组组织3 d血清含量均增多($P < 0.05$),缺血7 d血清含量均降低($P < 0.05$)。SOD在复合脑缺血组和单纯脑缺血组与相应假手术组组内比较,脑缺血组在缺血3,7 d活性均降低,差异显著($P < 0.05$);复合脑缺血组与单纯脑缺血组组间比较,复合脑缺血组在缺血3 d活性降低,差异显著($P < 0.05$)。**结论:**高脂血症条件下,炎症因子在缺血不同时期既有累积现象,又有特异性的表达,这可能在脑缺血恢复期有助于损伤的修复。

[关键词] 高脂血症; 脑缺血; 高脂血症模型; 高脂血症复合脑缺血模型; 炎症反应

[中图分类号] R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)08-0183-05

[doi] 10.11653/syfy2013080183

[收稿日期] 20121001(001)

[基金项目] 国家科技重大专项(2009ZX09502-014);河南省基础与前沿技术研究(122300410026)

[第一作者] 张振强,医学博士,副教授,从事中西医结合防治脑病基础研究,E-mail:zhang_zhenqiang@126.com

[通讯作者] *李澎涛,教授,博士生导师,E-mail:Lipengtao0413@hotmail.com

[参考文献]

[1] 李燕舞,黄秋凌,杜群,等. 溃结灵对溃疡性结肠炎大鼠结肠黏膜ITF、MUC2、TGF- α 动态变化的影响[J]. 中药药理与临床, 2010, 26(6):68.

[2] 陈治水,陈宁. 溃疡性结肠炎中西医结合研究新进展[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(4):437.

[3] 章美元,韩真. 肠三叶因子对肠黏膜保护与修复的研究[J]. 胃肠病学, 2012, 17(3):186.

[4] Beck P L, Ihara E, Hirota S A, et al. Exploring the interplay of barrier function and leukocyte recruitment in intestinal inflammation by targeting fucosyltransferase VII and trefoil factor 3[J]. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol, 2010, 299(1):G43.

[5] Ho S B, Niehans G A, Lyflogt C, et al. Heterogeneity of mucin gene expression in normal and neoplastic tissues[J]. Cancer Res, 1993, 53(3):641.

[6] Allen H J. Glycoconjugates: composition, structure, and

function[M]. New York: Marcel Dekker, 1992:167.

[7] Allen A, Hutton D A, Pearson J R. The MUC2 gene product: a human intestinal mucin[J]. Int J Biochem Cell Biol, 1998, 30(7):797.

[8] Gum J R, Byrd J R, Hicks J W, et al. Molecular cloning of human intestinal mucins cDNAs[J]. J Biol Chem, 1989, 264(11):6480.

[9] Mizoguchi A, Mizoguchi E. Inflammatory bowel disease, past, present and future: lessons from animal models[J]. J Gastroenterol, 2008, 43(1):1.

[10] Playford R J. Trefoil peptides: what are they and what do they do? [J]. J R Coll Physicians Lond, 1997, 31(1):37.

[11] Kim Y S, Ho S B. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress [J]. Curr Gastroenterol Rep, 2010, 12(5):319.

[责任编辑 聂淑琴]

Hyperlipidemia Merger of Cerebral Ischemia in Rat Models of Inflammation Factor Influence

ZHANG Zhen-qiang¹, JIA Ya-quan¹, SONG Jun-ying¹, LI Peng-tao^{2*},
PAN Yan-shu², WANG Cong-xiao¹, LV Huan-huan¹

(1. Henan University of Traditional Chinese Medicine, Zhengzhou 450008, China;

2. Beijing University of Traditional Chinese Medicine, Beijing 100029, China)

[Abstract] Objective: To study the character of hyperlipidemia concurrent cerebral ischemia and analyze the influence of hyperlipidemia inflammation factor on cerebral ischemia by comparing inflammation change in different time change between hyperlipidemia and cerebral ischemia model and normal rat. **Method:** Dividing experimental rats into normal control, normal sham operation group, day 3, day 7 after normal ischemia and hyperlipid, sham operation group, day 3, day 7 after ischemia with hyperlipidemia. Based on time is day 3 or day 7 after cerebral ischemia. Building classic hyperlipidemia rat model with high fat diet, to confirm a successful model and detect the concentration of serum lipid. Constructing middle cerebral artery occlusion model, and observe the brain ischemia injury of rat. Detect the concentration of monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), tumor necrosis factor (TNF- α), creactive protein (CRP) and superoxide dismutase (SOD) in serum between groups by ELISA. **Result:** The concentration of MCP-1, TNF- α and CRP were increased in day 3 and day 7 after cerebral ischemia model. Compared to normal cerebral ischemia group, in hyperlipidemia concurrent cerebral ischemia group, the concentration of MCP-1, TNF- α were higher with significant difference in day 3 and in day 7 after ischemia ($P < 0.05$). The concentration of CRP were higher with significant difference in day 3 and were prominently decreased in day 7 after ischemia ($P < 0.05$). The concentration of SOD was prominently decreased in the serum after cerebral ischemia in hyperlipidemia and normal groups, compared to sham operation groups and hyperlipidemia sham operation groups. SOD was prominently decreased in day 3 hyperlipidemia concurrent cerebral ischemia ($P < 0.05$). **Conclusion:** Under the condition of hyperlipidemia, the inflammatory factors have not only accumulated phenomenon, but also specific expression in the difference of cerebral ischemia period, which is contributed to the recovery of the lesion in recovery phase.

[Key words] hyperlipidemia; ischemia; hyperlipidemia model; hyperlipidemia concurrent cerebral ischemia model; inflammatory response

单纯脑缺血在临床上发病率较低,仅见于房颤附壁血栓脱落、感染性脓栓、脂肪性栓子、癌细胞栓子、寄生虫卵栓子等引起的栓塞。大多数脑缺血是在某些基础病变条件下发生的,如高血压、高脂血症、糖尿病等^[1-2];这些基础性病变本身就是缺血性中风的高危因素,在其影响或作用下,脑缺血虽然伴随脑水肿、血液高凝状态、自由基损伤、炎症反应、神经细胞坏死及凋亡等共同的病理生理过程,但是也存在一些差异,如缺血程度、炎症反应、神经功能缺损的程度及神经细胞死亡的方式等并不完全一样。这些差异可能在整个病理过程中起重要作用;本文对单纯脑缺血和高脂合并脑缺血从炎症反应这一方面进行对比,以期在实际临床应用中达到满意的治

疗效果。

1 材料

1.1 动物 健康雄性 SPF 级 12 周龄 Wistar 大鼠,体重 280 ~ 300 g,购于北京维通利华实验动物技术有限公司 [SCXK(京)2007-0001],质量合格证号 0243109。

1.2 仪器 AU2700 型全自动生化分析仪(奥林巴斯),JEM-1400 型电镜(日本电子),MK3 型酶标仪(Thermo),FA/JA-B 型电子天平(上海精密科学仪器有限公司),BX61TRF 型光学显微镜(日本奥林巴斯)。

1.3 试剂 总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇

(LDL-C) (上海复星长征医学科学有限公司);肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、C反应蛋白(CRP)、单核细胞趋化蛋白(MCP-1)、超氧化物歧化酶(SOD)(美国R&D Systems公司)。

2 方法

2.1 动物分组 动物随机分为正常组、高脂对照组、假手术组、高脂假手术组、单纯缺血组和复合缺血组。其中对照组与假手术组每组10只,模型组设脑缺血手术后3 d和7 d组,每个时间点15只动物(按预实验死亡率25%计,保证造模成功后取材的动物数)。

2.2 高脂血症动物模型制备 高脂血症组大鼠每天以高脂饲料(组成:3.5%胆固醇、10%猪油、0.2%丙硫氧嘧啶、0.5%胆酸钠、5%白糖、80.8%基础饲料)喂养,正常组以清洁级正常饲料喂养,4周后正常组与高脂血症组分别断尾取血约0.5~1 mL,检测血脂4项,高脂血症组血脂指标与正常组相比较具有明显区别,则说明模型制备成功,否则继续饲养。模型制备成功后,继续饲养3周后,随机分为高脂血症对照组、高脂血症假手术组和复合缺血3,7 d组。

2.3 脑缺血模型制备 高脂血症模型制备成功后,将正常组与高脂血症组根据Longa^[3]报道的线栓法建立大鼠局灶性脑缺血再灌注模型加以改进,以10%水合氯醛溶液(0.30 mL·100 g⁻¹)腹腔注射麻醉。麻醉后将大鼠仰位固定,颈部正中切口,暴露左侧颈动脉三角,逐层分离组织,依次分离左侧颈总动脉(CCA)、颈外动脉(ECA)、颈内动脉(ICA)。分离ECA的分支甲状腺动脉,并电刀凝闭;分离颈外与颈内动脉之间的枕动脉,电刀凝闭。结扎游离ECA主干,分离ICA主干至翼腭动脉(PPA),用无损动脉夹分别夹闭CCA,ICA和PPA,用虹膜剪在ECA残端剪一楔形小口,由此插入钓鱼线(直径约0.25 mm,头端加热呈直径约0.3 mm的圆球形),轻推钓鱼线使之由颈外动脉通过分叉部进入颈内动脉,至大脑中动脉的起点,插入深度约18~22 mm,阻断大脑中动脉的血液供应,缝合颈部切口。假手术组手术过程与模型组相同,分离出左侧颈总动脉、颈外动脉及颈内动脉,但仅结扎颈外动脉。动物苏醒后进行神经功能评分,根据评分结果进行下一步实验。

2.4 行为功能的观察与评分 于造模大鼠苏醒后和取材前分别进行神经功能评分。评分标准参照Longa的5级评分方法评定动物的神经系统功能。

0级:无体征;1级:动物左侧前肢不能完全伸展;2级:左前肢瘫痪,出现追尾现象;3级:肢体瘫痪,不能站立;4级:动物昏迷,无自主性活动。评分为1级到3级的动物为造模成功,入组,于相应时间点再次评分后取材。计算方法:以各组动物造模苏醒时、取材前两次评分进行组间比较。

2.5 血清采集 模型制备成功后,每组各取动物5只,以10%水合氯醛(3.0 mL·kg⁻¹)ip麻醉,背位固定于鼠板上,腹主动脉取血5 mL,静置30 min,以3 000 r·min⁻¹离心15 min,取上清液,-20℃冰箱冷冻,备用。

2.6 检测血清中TC,TG,HDL-C,LDL-C的含量 取血清0.5~1 mL,置于5 mL试管中,按TC,TG,HDL-C,LDL-C试剂盒说明书,采用全自动生化分析仪进行检测。

2.7 血清中MCP-1,TNF- α ,CRP和SOD检测 依照酶联免疫方法(ELISA)试剂盒说明书步骤进行操作。

2.8 统计方法 采用GraphPad 4.0数据分析软件对所有实验数据进行统计处理。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用两因素方差分析法比较组间差异,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

3 结果

3.1 各组神经功能评分的差异 对各模型组造模苏醒后及3,7 d取材前评分进行比较,各组间没有明显差异;复合脑缺血组与单纯脑缺血组在造模苏醒后和3,7 d取材前评分差值比较,3 d时组间没有明显差别,复合脑缺血组7 d时组间比较差值增大,差异显著($P < 0.05$)。见表1。

表1 各组造模苏醒后和相应时间点取材前的神经功能评分的差异($\bar{x} \pm s, n=5$) 分

组别	造模苏醒后评分	取材前评分	差值
假手术	0	0	0
单纯缺血3 d	2.00 ± 0.17	1.83 ± 0.11	0.16 ± 0.11
单纯缺血7 d	1.92 ± 0.15	1.67 ± 0.14	0.25 ± 0.13
高脂假手术	0	0	0
复合缺血3 d	2.00 ± 0.17	1.58 ± 0.15	0.41 ± 0.15
复合缺血7 d	2.08 ± 0.19	1.42 ± 0.15	0.67 ± 0.14 ¹⁾

注:复合脑缺血组与单纯脑组神经功能评分差值相比较¹⁾ $P < 0.05$ 。

3.2 血脂检测 与正常组比较,高脂血症组大鼠血清中TC,TG,LDL-C显著升高,HDL-C显著降低($P < 0.01$)。见表2。

表 2 血脂 4 项检测比较 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

mmol · L⁻¹

组别	TC	TG	HDL-C	LDL-C
正常对照	2.07 ± 0.06	0.61 ± 0.04	0.72 ± 0.02	1.17 ± 0.02
高脂血症	3.03 ± 0.23 ²⁾	3.05 ± 0.07 ²⁾	0.31 ± 0.03 ¹⁾	3.30 ± 0.02 ¹⁾

注:与正常组相比较¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ 。

3.3 炎症因子 MCP-1, TNF- α , CRP 及 SOD 的检测

3.3.1 MCP-1, TNF- α 在伴有脑缺血模型各时间点呈高表达趋势,单纯脑缺血组 3 d 与相应假手术组,差异显著 ($P < 0.05$);复合脑缺血组与单纯脑缺血组比较,表达增高,3,7 d 时组间差异显著 ($P < 0.05$)。

3.3.2 CRP 在伴有脑缺血模型各时间点均有高表达,复合脑缺血组和单纯脑缺血组与相应假手术组比较,差异显著 ($P < 0.05$);复合脑缺血组与单纯

脑缺血组比较,复合脑缺血组在 3 d 时表达增高、7 d 时表达降低,差异显著 ($P < 0.05$)。

3.3.3 SOD 在伴有脑缺血模型时间点均表现为活性降低,复合脑缺血组和单纯脑缺血组与相应假手术组组间比较,差异显著 ($P < 0.05$);复合脑缺血组与单纯脑缺血组组间比较,复合脑缺血组在缺血 3 d 与 3 d 比较,活性降低 ($P < 0.05$),缺血 7 d 活性无显著差异。见表 3。

表 3 高脂血症合并脑缺血模型对大鼠炎症因子 MCP-1, TNF- α , CRP 的表达和 SOD 活性的影响 ($\bar{x} \pm s, n = 5$)

组别	MCP-1/ng · L ⁻¹	TNF- α /ng · L ⁻¹	CRP/ng · L ⁻¹	SOD/U · mL ⁻¹
正常对照	244.23 ± 16.37	83.25 ± 7.01	1 768 ± 239	229.85 ± 20.14
假手术	244.62 ± 16.23	87.73 ± 10.39	1 860 ± 526	230.46 ± 18.30
单纯缺血 3 d	277.69 ± 8.95 ¹⁾	151.04 ± 7.09 ¹⁾	2 524 ± 554 ¹⁾	178.46 ± 35.62 ¹⁾
单纯缺血 7 d	283.12 ± 7.06 ¹⁾	133.13 ± 25.79 ¹⁾	4 006 ± 367 ¹⁾	164.00 ± 29.82 ¹⁾
高脂血症	291.54 ± 41.74 ¹⁾	133.73 ± 16.96 ¹⁾	2 710 ± 106 ¹⁾	172.62 ± 12.53 ¹⁾
高脂假手术	289.19 ± 18.09 ¹⁾	134.77 ± 25.88 ¹⁾	2 734 ± 225 ¹⁾	175.11 ± 9.22 ¹⁾
复合缺血 3 d	314.35 ± 21.79 ^{1,2)}	205.75 ± 55.24 ^{1,2)}	2 920 ± 208 ^{1,2)}	155.38 ± 8.24 ^{1,2)}
复合缺血 7 d	319.62 ± 44.36 ^{1,2)}	197.29 ± 74.39 ^{1,2)}	3 072 ± 780 ^{1,2)}	154.03 ± 9.89 ¹⁾

注:与假手术组比较¹⁾ $P < 0.05$;与单纯缺血组相应时间点比较²⁾ $P < 0.05$ 。

4 讨论

高脂血症指血脂代谢发生紊乱,脂肪代谢或转运异常,表现为血浆中一种或几种脂质,包括血浆总胆固醇、甘油三酯过高、低密度脂蛋白胆固醇增高、高密度脂蛋白胆固醇水平过低。高脂血症引起血管内皮细胞损伤和功能的降低,从脂质堆积到斑块进展、血栓的形成,炎症反应在全程均有参与。炎性细胞、内皮细胞和平滑肌细胞的增殖和效应,通过炎症介质调控推动粥样斑块病变的程度和斑块结构的改变。主要参与的炎症因子有:①趋化因子,其中单核细胞趋化蛋白-1 (monocyte chermtach protein-1, MCP-1)是具有趋化作用的分泌型细胞因子,作为 C-C 细胞因子家族的一个成员,通过招募炎症细胞对组织损伤有作用^[4,5]。MCP-1 的活性是白细胞渗透能力增强的关键步骤,其表达随着脑缺血病灶加剧缺血性损伤^[6]。② C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)直接参与 AS 的形成,诱导内皮细胞化学增殖素 mRNA 和黏附分子的表达,在 AS 形成

过程中发挥重要作用^[7]。CRP 作为体内非特异性炎症标志物,是急性炎症反应的最显著的灵敏性指标。在急性或慢性炎症疾病中表达都是升高的。CRP 的表达升高增加了脑缺血即脑中风的危险,最新研究结果:CRP 在脑中风的血浆中表达增加,而且与脑梗死的大小有关^[8-9]。③白细胞表面分化抗原 40 (CD40)及其配体 (CD40L)是免疫及炎症反应中比较重要的信号转导系统^[10]。④黏附分子^[11]。⑤白细胞介素。有研究表明^[12],在动物模型和患者缺血性中风与活性氧的增加有关。SOD 作为抗氧化应激的组成成分,脑缺血中 SOD 活性的异常表达进一步加剧了脑部的紊乱^[13-15]。本实验结果显示,SOD 在复合脑缺血组与单纯脑缺血组组间比较,复合脑缺血组在缺血 3 d 活性降低 ($P < 0.05$),但在缺血 7 d 两组间活性比较无明显差异,说明 SOD 活性并未因高脂血症因素的作用而影响恢复,提示复合缺血恢复期抗自由基损伤的能力提高。复合脑缺血大鼠模型组 MCP-1, TNF- α 的表达在缺血 3, 7 d

均高于正常并缺血组,说明高脂血症损伤和缺血性损伤在这两个因子的表达上有累积作用,其生物学效应是累积损伤还是保护性耐受尚需进一步验证,根据我们总的实验结果来看,推测在缺血3 d起到损伤作用,在缺血7 d有抗损伤作用。CRP在复合脑缺血组与单纯脑缺血组比较,复合脑缺血组在3 d时表达增高($P < 0.05$),7 d时表达降低($P < 0.05$)。说明单纯脑缺血组炎症反应比复合脑缺血大鼠模型组持续时间较长,显示高脂血症因素对缺血恢复期的保护作用。以上结果提示,在高脂血症条件下,炎症反应的提前预刺激,可能会产生针对炎症损伤的复杂反馈机制,在复合缺血条件下,炎症因子的积累和(或特异性变化)通过这种反馈机制对脑组织产生一定影响,在恢复期可能表现为对缺血损伤的修复作用,其详细机制仍需深入研究。

脑缺血后炎症反应作为一个复杂的病理生理过程,各类细胞因子在这一过程中具有广泛的作用,或起促炎反应介导神经元损伤,或抗炎参与脑保护,但表达顺序和作用并不是孤立的,而是相互平衡、相互制约的关系。高血症条件下这种平衡、制约的网络关系如何变化,何时何种成分起到损伤或保护作用,需要更加全面的实验来明确。

[参考文献]

[1] 陈汉洪. 脑梗死危险因素与血管内皮功能[J]. 医学综述,2011,11(7):3054.

[2] 王岚,卢明瑜,任景怡,等. 高脂血症患者不同血脂异常分型与糖代谢的相关研究[J]. 北京大学学报:医学版,2011,43(3):58.

[3] Longa E Z, Weinstein P R, Carlson S, et al. Reversible middle cerebral artery occlusion without craniectomy in rats[J]. Stroke, 1989, 20(1):84.

[4] Chen Y, Hallenbeck J M, Ruetzler C, et al. Overexpression of monocyte chemoattractant protein 1 in the brain exacerbates ischemic brain injury and is associated with recruitment of inflammatory cells[J]. J Cereb Blood Flow Metab,2003, 23(6): 748.

[5] Minami M,Satoh M. Chemokines and their receptors in the brain: pathophysiological roles in ischemic brain injury[J]. Life Sci,2003, 74(2/3): 321.

[6] Con ductier G, Blon deau N, Guyon A, et al. The role of monocyte chemoattractant protein MCP1/CCL2 in neuro inflammatory diseases [J]. J Neuroimmunol, 2010, 224(1/2): 93.

[7] Yu Q, Li Y, Wang Y, et al. C-reactive protein levels are associated with the progression of atherosclerotic lesions in rabbits [J]. Histol Histopathol, 2012, 27(4): 529.

[8] Yu Q, Lin Y, Yang P, et al. C-reactive protein is associated with the progression of acute embolic stroke in rabbit model [J]. J Thromb Thrombolysis,2012, 33(4):301.

[9] Corso G, Bottacchi E, Brusa A, et al. Blood C-reactive protein concentration with ABCD (2) is a better prognostic tool than ABCD(2) alone [J]. Cerebrovasc Dis, 2011, 32(2): 97.

[10] Song Z, Jin R, Yu S, et al. Crucial role of CD40 signaling in vascular wall cells in neointimal formation and vascular remodeling after vascular interventions [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol,2012, 32(1): 50.

[11] 赵清超,胡久略,黄显章. 补肾醒脑方有效部位对脑缺血再灌注大鼠白细胞介素-1 β 和细胞间黏附分子-1表达的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2010, 16(15):136.

[12] Ziche M, Morbi delli L, Chou dhuri R, et al. Nitric oxide synthase lies downstream from vascular endothelial growth factor-induced but not basic fibroblast growth factor-induced angiogenesis [J]. J Clin Invest,1997, 99(11): 2625.

[13] Denes A, Thornton P, Rothwell N J, et al. Inflammation and brain injury: acute cerebral ischaemia, peripheral and central inflammation [J]. Brain Behav Immun,2010, 24(5): 708.

[14] Leinonen J S, Ahonen J P, Lonnröt K, et al. Low plasma antioxidant activity is associated with high lesion volume and neurological impairment in stroke [J]. Stroke, 2000, 31(1): 33.

[15] 王斌,于绍坤,孙建宁,等. 清脑宣窍滴丸对急性脑缺血损伤大鼠的保护作用及机理初探 [J]. 中国实验方剂学杂志, 2009, 15(1): 37.

[责任编辑 聂淑琴]