

· 基础研究 ·

对灰鼠延迟性神经元死亡模型中螺旋神经节细胞缺损的评估

丁大连^{1,3,4}, 王 坚^{2,3}, 付 勇^{1,5}, 蒋海燕¹, Richard Salvi¹

(1. Center for Hearing and Deafness, State University of New York at Buffalo, NY, U. S. A. ;2. School of Human Communication Disorders, Dalhousie University, Halifax, Canada;3. 上海交通大学耳鼻咽喉科学研究所,上海 200240; 4. 中南大学湘雅三医院耳鼻咽喉头颈外科,湖南长沙 410016;5. 浙江大学医学院附属第一医院耳鼻咽喉头颈外科,浙江杭州 310003)

摘要: 目的 探索观察耳蜗螺旋神经节细胞的简便定量研究方法,并在灰鼠延迟性螺旋神经节细胞死亡动物模型中验证本方法的实用性和可靠性。方法 15只成年灰鼠平均分为3组,第1组用于正常对照;第2组一次性同时肌肉注射庆大霉素(125 mg/kg)和静脉注射利尿酸钠(40 mg/kg),并在用药后2个月处死;第3组接受与第2组同样的药物注射,但在用药后4个月处死。耳蜗样品被常规应用环氧树脂包埋并制作成耳蜗中轴半薄切片,计数耳蜗各回蜗轴螺旋管腔切片截面内的螺旋神经节数量并进行统计分析。结果 灰鼠耳蜗底回起始端的蜗轴螺旋管腔比耳蜗底回中部和耳蜗中回大,因此耳蜗底回起始端蜗轴螺旋管内的螺旋神经节细胞数量多于耳蜗底回中部和耳蜗中回。耳蜗毛细胞被彻底破坏后2个月,与正常灰鼠耳蜗各回蜗轴螺旋管腔切片截面内的螺旋神经节细胞数量相比,耳蜗底回蜗轴螺旋管切片截面内的螺旋神经节细胞减少数量比耳蜗中回严重,提示延迟性螺旋神经节细胞死亡可能遵循着从耳蜗底回向顶回扩展的规律。耳蜗毛细胞被彻底破坏后4个月,全耳蜗蜗轴螺旋管内的螺旋神经节细胞基本上丧失殆尽。结论 计数耳蜗中轴切片各回蜗轴螺旋管腔切片截面内的螺旋神经节细胞数量是一种简便可靠的定量分析方法。

关键词: 螺旋神经节细胞;延迟性神经元死亡;灰鼠;庆大霉素;利尿酸钠

中图分类号: R764.4

文献标识码: A

文章编号: 1007-1520(2010)03-0169-07

Evaluation of spiral ganglion neuron missing in delayed neuron death model in chinchilla

DING Da-lian, WANG Jian, FU Yong, et al.

(Center for Hearing and Deafness, State University of New York at Buffalo, NY, U. S. A.)

Abstract: **Objective** To seek a handy method to quantitatively evaluate the missing of spiral ganglion neurons in delayed neuron death model in chinchillas. **Methods** 15 adult chinchillas were divided averagely into three groups. Animals in group 1 were used as normal control. Animals in group 2 were sacrificed two months after co-administration of gentamicin (125 mg/kg) and ethacrynic acid (40 mg/kg). Animals in group 3 were terminated four months after gentamicin and ethacrynic acid injection. The cochleae were routinely embedded in Epon-812 for cochlear sections. The number of spiral ganglion neurons in sections of Rosenthal's canal at various locations was counted and statistically analyzed. **Results** The size of Rosenthal's canal in cochlear hook

作者简介:丁大连,男,教授。

通讯作者:丁大连,Email:dding@buffalo.edu.

region in chinchilla was bigger than that of the upper turns of the cochlea that containing more spiral ganglion neurons in the base. Two months after the cochlear hair cell removal, more spiral ganglion neurons missing was found in the hook. This suggested that the delayed spiral ganglion neuron missing might develops from the base of the cochlea with gradient towards apex. Four months after co-administration of gentamicin and ethacrynic acid, most spiral ganglions disappeared due to lacking neuronotrophins. **Conclusion** Evaluation of cochlear spiral ganglion neurons in sections at Rosenthal's canal at different locations is a reliable approach to quantitative observations.

Key words: Spiral ganglion neurons; Delayed neuron death; Chinchilla; Gentamicin; Ethacrynic acid

螺旋神经节细胞的存活数量与电子耳蜗的疗效有着十分密切的关系,可靠的螺旋神经节细胞定量观察方法,有效的延迟性螺旋神经节细胞死亡动物模型,以及如何保护耳蜗螺旋神经节使之避免延迟性神经元死亡,已经成为当前听力学研究的热门课题之一。

应用袪利尿剂可以选择性暂时阻断供应蜗管外壁的血流,引起血管纹上皮细胞的缺氧性病变,从而使蜗管外壁的血-迷路屏障暂时性开放^[1-3]。在耳蜗血-迷路屏障因血管纹缺血、缺氧而开放的时刻适时注射其他耳毒性药物,如庆大霉素或顺铂,前者可以一次性破坏全耳蜗毛细胞,但保留螺旋神经节^[4-5];而后者则不仅破坏耳蜗毛细胞,而且直接杀伤螺旋神经节。因此,顺铂引起的螺旋神经节细胞破坏不属于延迟性神经元死亡^[6-7]。但是氨基糖苷类抗生素引起的全耳蜗毛细胞破坏,可使螺旋神经节细胞由于丧失了来自毛细胞的电信号刺激和神经营养因子而在随后的一段时间逐渐发生退行性改变,直至延迟性神经元死亡的发生^[8-9]。因此,联合应用利尿酸钠和庆大霉素摧毁全耳蜗毛细胞^[4-5,10-11],彻底切断耳蜗内神经营养因子的来源,已经成为研究延迟性螺旋神经节细胞死亡的理想实验动物模型。

如何定量评估延迟性螺旋神经节死亡实验动物模型中螺旋神经节细胞的存活数量,目前主要有以下 3 种方法:①对全耳蜗连续切片上的螺旋神经节细胞进行逐片计数,或者每间隔数张切片对一张切片进行螺旋神经节细胞计数,然后再换算出全耳蜗螺旋神经节细胞的总数^[12-13]。②在高倍显微镜下对目镜视野中网格片内连续 4 张中轴切片螺旋神经节细胞进行计数,然后再换算出整个视野中网格所占面积内的蜗轴螺旋

管内有核神经节的细胞总数,并取其均值做为螺旋神经节在蜗轴螺旋管内的总密度^[14-15]。③应用计算机技术自动计数蜗轴螺旋管内的螺旋神经节细胞,并换算出神经元的密度^[16-17]。上述 3 种定量观察方法中,方法 1 对全耳蜗连续切片螺旋神经节细胞计数过于繁琐,而对全耳蜗连续切片间隔取片计数及其再换算过程容易产生较大的样品误差;方法 2 对各个网格内神经元的计数结果再换算无法反映耳蜗各回螺旋神经节损害的差异性分布,其正方形的测量网格也很难用于测量不规则形状的蜗轴螺旋管实际截面积;方法 3 应用计算机技术和显微镜对特定区域的螺旋神经节细胞进行自动计数,是与预先设定在软件中的正常细胞形态特征及其着色程度进行对比,但是如果样品的着色程度不一致,或者伴有细胞的病理性变化,该软件系统则无法评判这些改变。因此,上述 3 种方法在实际应用中显然都存在不足或缺陷。本研究在总结前人经验的基础上,对中轴切片不同平面的耳蜗各回完整蜗轴螺旋管内的螺旋神经节细胞分别进行了计数,并以单个蜗轴螺旋管切片截面中的螺旋神经节数量做为其表达方式。本方法与上述 3 种方法相比,不仅简单方便,而且可以如实反映耳蜗各回蜗轴螺旋管切片截面内的存活螺旋神经节数量的差别,其可靠性和实用性在同时注射庆大霉素和利尿酸钠引起的延迟性螺旋神经节细胞死亡动物模型中得到了有效验证。

1 材料与方 法

1.1 动物分组

15 只体重在 530 ~ 620 g 的成年灰鼠被平均分为 3 组,每组 5 只。第 1 组动物做

为正常对照;第2组灰鼠一次性肌肉注射庆大霉素(125 mg/kg)和静脉注射利尿酸(40 mg/kg)后2个月处死;第3组动物一次性肌肉注射庆大霉素(125 mg/kg)和静脉注射利尿酸(40 mg/kg)后4个月处死。

1.2 实验方法

处死动物时先按照每公斤体重36 mg剂量肌肉注射氯胺酮麻醉动物。剪开颈部皮肤,暴露颈内静脉,并用止血钳夹持以备放血。打开胸腔暴露心脏,将连接输液管的针头刺入左心室并向左心室内灌入37℃生理盐水,同时剪开预先暴露的颈内静脉放血,灌流液从左心室灌入,经颈内静脉切开处流出。待颈内静脉切开处流出的液体呈澄明时,向左心室内灌入2.5%戊二醛磷酸盐缓冲液,直至动物颈项强直,同时伴有鼻腔流出泡沫状液体为止。取出听泡后在蜗尖钻孔并摘除镫骨,同时打开圆窗,从蜗尖小孔再向耳蜗内灌入2.5%戊二醛磷酸盐缓冲液,以充分固定耳蜗组织,然后存放到4℃冰箱内继续浸泡固定24 h。在解剖显微镜下取出耳蜗,将耳蜗浸入Decal溶液脱钙24 h。用PBS缓冲液漂洗样品后,再用2%四氧化锇磷酸盐缓冲液浸泡2 h。样品经梯度酒精脱水后常规用环氧树脂Epon-812包埋。在包埋步骤的最后一步,将脱水后浸透丙酮和环氧树脂Epon-812的耳蜗样品浸入包埋槽中的环氧树脂,将耳蜗平放,使耳蜗中轴平行于包埋框的边缘,并使耳蜗的下缘紧靠包埋框(这里所说的耳蜗下缘是指相对于动物正常头位的耳蜗位置关系,即蜗尖朝前,蜗底在后,上鼓室方向为上,而下鼓室方向为下,因此这里所说的耳蜗下缘是指切片将从耳蜗下鼓室方向开始进行的平行蜗轴的水平切片)。按照此位置将耳蜗植入在包埋槽中的环氧树脂,可使每个耳蜗样品在包埋后都处于一个基本相同的位置。当用剃须刀片沿平行中轴的平面从耳蜗下缘切开耳蜗暴露蜗轴时,由于耳蜗底回的直径大于耳蜗中回,而耳蜗中回的直径大于耳蜗顶回。因此,平行耳蜗中轴的切入总是首先切开耳蜗底回,然后切开耳蜗中回,直至正中轴时恰好切开耳蜗顶回,并使耳蜗各回都处于正中轴的同一切面,以确保每个耳蜗

切片样品都取自相同的角度和部位,从而使来自不同样品的耳蜗切片可以在相同的切面和相同的部位进行有效的相互比较。在超薄切片机上用玻璃刀切取耳蜗中轴的半薄切片,片厚4 μm,分别收集含有耳蜗底回起始段、底回中段以及中回起始段的中轴切片,每隔5张切片收集一张中轴切片,每回的蜗轴螺旋管共收集5张切片。切片经0.5%甲苯胺蓝染色后,用中性树胶封片。

1.3 统计学方法

在放大400倍的普通光学显微镜下,对切片样品中耳蜗各回每个完整蜗轴螺旋管内的螺旋神经节细胞进行计数。以5张切片中同一蜗轴螺旋管内的螺旋神经节细胞数量的平均数作为该回蜗轴螺旋管截面内的神经元数量。计数结果用 t 检验进行统计学比较。

2 结果

实验发现,灰鼠耳蜗各回蜗轴螺旋管的截面积并不完全相同,其中相对于耳蜗钩端螺旋器的蜗轴螺旋管腔最大,相对于耳蜗底回中部和耳蜗中回的蜗轴螺旋管腔相对较小(图1A)。我们没有测量耳蜗顶回的蜗轴螺旋管腔截面内的螺旋神经节数量,这是因为耳蜗顶回蜗轴的直径很小,切面略有偏斜就可能因剖开侧面的蜗轴螺旋管腔而使顶回的蜗轴螺旋管切片截面扩展到侧面的蜗轴螺旋管腔内,因此耳蜗顶回蜗轴螺旋管切片截面中的螺旋神经节细胞数量未予记录。

经对耳蜗不同部位蜗轴螺旋管内的螺旋神经节细胞计数,我们发现正常灰鼠耳蜗底回起始端相对于耳蜗钩端(Hook)的蜗轴螺旋管切片截面内的螺旋神经节细胞数量为 94.63 ± 13.00 ,耳蜗底回中部的螺旋管切片截面内的螺旋神经节细胞数量为 53.50 ± 6.57 ,耳蜗中回起始段的螺旋管切片截面内的螺旋神经节细胞数量为 46.25 ± 7.48 。可见随着蜗轴螺旋管切片截面从耳蜗底回向耳蜗顶回的逐渐变小,截面积较大的底回起始端蜗轴螺旋管显然比截面积较小的底回末端和中回中段螺旋管容纳着更多的螺旋神经节细胞(图1B,

1C)。统计分析结果显示蜗轴螺旋管切片截面内的螺旋神经节细胞数量在耳蜗底回起始端与耳蜗底回中部和耳蜗中回起始端之间均存在极显著性差异($P < 0.01$),但在耳蜗底回中部和耳蜗中回起始段之间无明显差异($P > 0.05$)。

在一次性肌肉注射庆大霉素和静脉注射利尿酸后2个月的灰鼠耳蜗样品,我们发现耳蜗底回起始端蜗轴螺旋管切片截面内的螺旋神经节细胞数量与正常动物相比减少了约55% (42.50 ± 7.09),耳蜗底回中部螺旋管截面积内的螺旋神经节细胞数量减少了约40% (32.83 ± 4.49),耳蜗中回起始段螺旋管截面积内的螺旋神经节细胞数量减少了约38% (28.83 ± 3.87) (图1D,图2)。从耳蜗各回蜗轴螺旋管单个切片截面中的螺旋神经节缺损百分比可

以看出,在耳蜗内外毛细胞被彻底消灭后2个月,耳蜗底回起始端的螺旋神经节细胞损失程度比耳蜗底回中部和中回起始端严重。 t 检验结果显示,将耳蜗各回蜗轴螺旋管内的螺旋神经节细胞分别与正常对照动物的资料相比,均有统计学意义($P < 0.01$)。

与正常动物耳蜗各回蜗轴螺旋管切片截面内的螺旋神经节细胞数量相比,一次性肌肉注射庆大霉素和静脉注射利尿酸后4个月的灰鼠耳蜗各回螺旋管内的螺旋神经节几乎丧失殆尽(图1E),其中耳蜗底回起始端蜗轴螺旋管单个切片截面内的螺旋神经节细胞数量仅存 1.50 ± 2.07 ,耳蜗底回中部螺旋管切片截面内的螺旋神经节细胞数量仅存 2.67 ± 1.63 ,耳蜗中回螺旋管切片截面内的螺旋神经节细胞数量仅存 3.17 ± 1.83 (图2)。

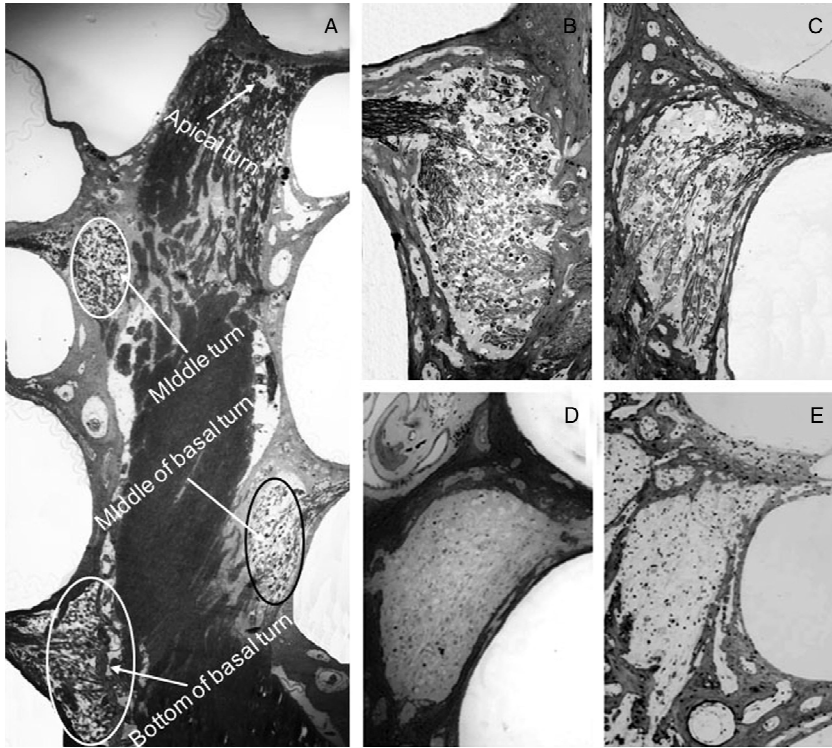


图1 图1A显示正常灰鼠的整个中轴切片,可见耳蜗底回起始端的蜗轴螺旋管腔截面明显比耳蜗底回中部和耳蜗中回起始段的蜗轴螺旋管腔截面大。图1B显示正常灰鼠耳蜗底回起始端的蜗轴螺旋管腔切片。图1C显示正常灰鼠耳蜗底回中部的蜗轴螺旋管腔切片。图1D显示注射庆大霉素和利尿酸后2个月的灰鼠耳蜗底回中部蜗轴螺旋管切片。图1E显示注射庆大霉素和利尿酸后4个月的灰鼠耳蜗底回中部蜗轴螺旋管切片

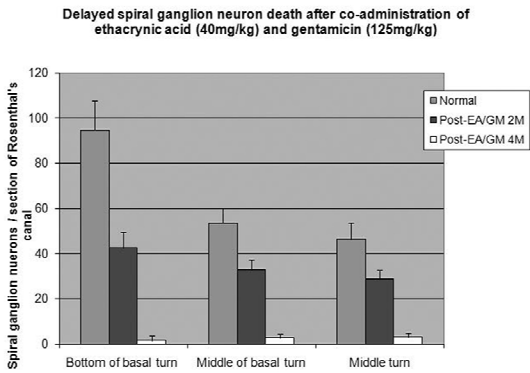


图2 3组数据从左至右分别显示耳蜗底回起始端、耳蜗底回中部和耳蜗中回起始端蜗轴螺旋管切片截面内的螺旋神经节数量,灰色柱显示正常灰鼠蜗轴螺旋管截面各部所含螺旋神经节数量。可见灰鼠耳蜗底回起始端的蜗轴螺旋管内容纳着更多的螺旋神经节细胞。黑色柱显示毛细胞被破坏后2个月的灰鼠蜗轴螺旋管截面各部所含螺旋神经节数量,可见此时耳蜗底回起始端蜗轴螺旋管内的螺旋神经节损失程度明显比耳蜗底回中部和耳蜗中回严重。白色柱显示毛细胞被破坏后4个月的灰鼠耳蜗蜗轴螺旋管截面各部所含螺旋神经节数量,耳蜗各回蜗轴螺旋管内的螺旋神经节细胞几乎全部消失

3 讨论

庆大霉素在耳蜗内的主要攻击目标是耳蜗毛细胞,但并不构成对螺旋神经节细胞的直接破坏。螺旋神经节细胞之所以在耳蜗毛细胞被彻底摧毁之后的一段时间会发生延迟性死亡,其根本原因在于螺旋神经节由于失去了与Corti器的联系而丧失了必要的神经营养因子和有效的神经刺激信号。因此,在丧失Corti器的实验动物模型中,如果向螺旋神经节提供外源性神经营养因子或者电刺激信号,均可有效维持螺旋神经节细胞的生命。延迟性螺旋神经节细胞死亡有时也可以被看作为是一种废用性的退行性改变。动物实验证明,虽然长期慢性单纯应用氨基糖苷类抗生素药物可以造成大部分耳蜗外毛细胞的破坏,但是难以彻底摧毁耳蜗内毛细胞和顶回的内外毛细胞。在慢性全身单纯性应用氨基糖苷类抗生素的实验动物模型中,耳蜗中回和顶回的大部分内

毛细胞以及耳蜗顶回的内外毛细胞往往在停止用药后仍然存活。由于耳蜗内的神经营养因子NT3和BDNF主要来源于内毛细胞,而全身慢性用药模型的这种不完全耳蜗损害模式难以杜绝那些存活的内毛细胞继续向螺旋神经节细胞提供必要的神经营养因子。因此,全身慢性单纯应用氨基糖苷类抗生素很难导致理想的延迟性螺旋神经节细胞死亡。需要说明的是,联合应用利尿酸钠和庆大霉素造成全耳蜗内外毛细胞死亡的实验模型完全不同于慢性长期单纯性全身应用氨基糖苷类抗生素的动物模型,其耳蜗损害机制主要是利用利尿酸钠首先造成血管纹上皮细胞的缺血缺氧性破坏,使之形成血-迷路屏障的开放,从而使氨基糖苷类抗生素通过这个“短路”迅速进入耳蜗内外淋巴液,使耳蜗外淋巴液中的氨基糖苷类抗生素浓度经一次性同时注射利尿酸钠和庆大霉素后迅速达到相当于慢性连续单纯性全身应用庆大霉素20次以上的积累损害浓度,一旦外淋巴液中庆大霉素药物的峰值浓度大于每毫升24 μg ,而其半衰期浓度大于每毫升12 μg ,则足以一次性彻底摧毁全耳蜗内外毛细胞^[3,5,9-11]。

观察螺旋神经节细胞的存活数量是评判听觉神经系统损害的重要观察指标之一。在人工电子耳蜗的实验研究中尤为重要,这是因为存活螺旋神经节细胞的数量直接关系到人工电子耳蜗的疗效。长期以来对螺旋神经节细胞的定量观察大都是采用对整个中轴连续切片进行螺旋神经节细胞逐片计数的方法,这种方法过于繁琐,而且难以反映耳蜗各回蜗轴螺旋管内局部螺旋神经节细胞的缺损状况。本文介绍了一种简便的螺旋神经节定量评估方法,只要在耳蜗中轴切片各回蜗轴螺旋管切片中间隔收集5张切片,然后对这5张中轴切片中的耳蜗底回起始段、底回中部以及中回起始段的蜗轴螺旋管腔截面内的螺旋神经节细胞进行分别计数,取其均值做为该回蜗轴螺旋管腔切片截面内的螺旋神经节数量。经对正常灰鼠和同时注射庆大霉素和利尿酸钠引起的延迟性螺旋神经节细胞死亡动物模型耳蜗样品的观察,证明本方法简单可靠,可以

发现耳蜗各回蜗轴螺旋管腔截面内螺旋神经节细胞损失数量上的差别。我们在全耳蜗毛细胞被破坏后 2 个月的蜗轴切片中发现,延迟性螺旋神经节细胞死亡的发生率在耳蜗底回起始端明显比耳蜗中回严重,提示延迟性螺旋神经节细胞死亡的发生可能也如同毛细胞的破坏顺序一样,遵循着从耳蜗底回向耳蜗顶回发展的规律,但这种从蜗底向蜗顶的病变扩展速度看来发展得非常迅速,在全耳蜗内外毛细胞被破坏后 4 个月,耳蜗各回蜗轴螺旋管腔内已经是空空如也。

螺旋神经节细胞是否发生延迟性神经死亡取决于两个重要的因素:第一个重要因素是神经营养因子的产生。耳蜗内的神经营养因子 Brain Derived Neurotrophic Factor (BDNF) 和 Neurotrophin-3 (NT-3) 都是由耳蜗毛细胞所分泌,因此毛细胞是耳蜗内产生神经营养因子的唯一来源。一旦耳蜗毛细胞被全部破坏,则可以从根本上杜绝耳蜗内神经营养因子 NT-3 和 BDNF 的来源,而导致所有螺旋神经节细胞发生延迟性神经死亡。据实验研究报道,即使丧失绝大部分外毛细胞,只要有一部分内毛细胞存活,仍可维持不少螺旋神经节细胞的生命。这一现象说明只有彻底消灭全耳蜗内外毛细胞才是成功建立延迟性螺旋神经节细胞死亡模型的关键。我们以往的实验研究结果证实,按照本实验应用的药物剂量一次性同时注射庆大霉素和尿酸钠足以摧毁全耳蜗内外毛细胞^[1,4,5,9-11],因此本实验模型的建立确保切断了耳蜗内神经营养因子 BDNF 和 NT-3 的来源,从而引起延迟性螺旋神经节细胞的死亡。实现延迟性螺旋神经节细胞死亡的第 2 个重要因素关系到神经元对神经营养因子的吸收,螺旋神经节的细胞膜上含有两种神经营养因子受体,它们分别是 TrkB 和 TrkC,前者主要摄取神经营养因子 BDNF^[18],后者则专司吸收神经营养因子 NT-3^[19]。这两种神经营养因子受体保证了螺旋神经节细胞对神经营养因子 BDNF 和 NT-3 的正常吸收,从而也就确保了螺旋神经节细胞的正常生理功能和基本生命需求。实验证实,敲除 TrkB 和 TrkC 基因的小鼠由于无法吸收神经营养因子 BDNF 和 NT-3,而

发生螺旋神经节细胞的死亡^[20]。由此可见,如果螺旋神经节细胞丧失了神经营养因子受体,同样可以造成螺旋神经节细胞因缺乏神经营养因子而发生延迟性神经死亡。本实验模型不涉及神经元对神经营养因子 BDNF 和 NT-3 的吸收障碍,因此本实验模型中所发生的延迟性神经死亡只不过是毛细胞被彻底消灭而使螺旋神经节细胞因缺乏神经营养因子 BDNF 和 NT-3 而死亡。

参考文献:

- [1] 丁大连,蒋海燕,McFadden SL,等. 尿酸是打开血-迷路屏障的钥匙[J]. 中华耳科学杂志,2004, 2(1): 42-47.
- [2] Ding D, McFadden SL, Woo JM, et al. Ethacrynic acid rapidly and selectively abolishes blood flow in vessels supplying the lateral wall of the cochlea[J]. Hearing Research, 2002, 173(1-2): 1-9.
- [3] Ding D, McFadden SL, Browne RW, et al. Late dosing with ethacrynic acid can reduce gentamicin concentration in perilymph and protect cochlear hair cells[J]. Hearing Research, 2003, 185(1-2): 90-96.
- [4] McFadden SL, Ding D, Jiang H, et al. Chinchilla model of selective cochlear hair cell loss[J]. Hearing Research, 2002, 174(1-2): 230-238.
- [5] 丁大连, Richard Salvi. 氨基糖苷类抗生素耳毒性研究[J]. 中华耳科学杂志,2007, 5(2): 125-131.
- [6] Ding D, Jiang H, Wang P, et al. Cell death after co-administration of cisplatin and ethacrynic acid[J]. Hear Res, 2007, 226(1-2): 129-139.
- [7] 丁大连, 亓卫东, 张梅, 等. 顺铂及其耳毒性[J]. 中华耳科学杂志,2008, 6(2): 125-133.
- [8] McFadden SL, Ding D, Jiang H, et al. Time course of efferent fiber and spiral ganglion cell degeneration following complete hair loss in the chinchilla[J]. Brain Research, 2004, 997(1): 40-51.
- [9] Ding D, Salvi R. Review of cellular changes in the cochlea due to aminoglycoside antibiotics[J]. The Volta Review, 2006, 105(3): 407-438.
- [10] Ding D, Jiang H, Salvi R. Mechanisms of rapid sensory hair-cell death following co-administration of gentamicin and ethacrynic acid[J]. Hearing Research, 2010, 259(1-2): 16-23.
- [11] 丁大连, 张志坚, 朱巧英. 尿酸与庆大霉素耳毒作用协同影响的实验研究[J]. 听力学与言语疾病杂志,1995, 3(2): 76-79.
- [12] 丁大连, 王坚, 郑向阳, 等. 耳蜗毛细胞和螺旋神经

- 节以及神经纤维的联合定量观察[J]. 中国耳鼻咽喉颅底外科杂志, 1998, 4(4): 200 - 204.
- [13] Juiz JM, Ruada J, Merchan JA, et al. The effects of kainic acid on the cochlear ganglion of the rat [J]. Hear Res, 1989, 40(1): 65 - 74.
- [14] Covell WP. Pathologic changes in the inner ears of senile guinea pigs [J]. Laryngoscope, 1967, 67(1): 118 - 119.
- [15] 方耀云,姚行齐,姜泗长,等. 老化豚鼠耳蜗毛细胞和螺旋神经节细胞定量研究[J]. 中国体视与图象分析, 1996, 1(1): 64 - 67.
- [16] Miller JM, Le Prell CG, Prieskorn DM, et al. Delayed neurotrophin treatment following deafness rescues spiral ganglion cells from death and promotes regrowth of auditory nerve peripheral processes: effects of brain-derived neurotrophic factor and fibroblast growth factor [J]. J Neurosci Res, 2007, 85(9): 1959 - 1969.
- [17] Fujita K, Hakuba N, Hata R, et al. Ginsenoside Rb1 protects against damage to the spiral ganglion cells after cochlear ischemia [J]. Neurosci Lett, 2007, 415(2): 113 - 117.
- [18] Haniu M, Montestrucque S, Bures EJ, et al. Interactions between brain-derived neurotrophic factor and the TRKB receptor. Identification of two ligand binding domains in soluble TRKB by affinity separation and chemical cross-linking [J]. J. Biol. Chem. 1997, (United States) 272(40): 25296 - 25303.
- [19] Lamballe F, Klein R, Barbacid M. "trkC, a new member of the trk family of tyrosine protein kinases, is a receptor for neurotrophin-3" [J]. Cell, 1991, 66(5): 967 - 979.
- [20] Fritsch B, Silos-Santiago I, Bianchi LM, et al. Effects of neurotrophin and neurotrophin receptor disruption on the afferent inner ear innervation [J]. Semin Cell Dev Biol, 1997, 8(3): 277 - 284.
- (修回日期: 2010 - 01 - 27)

· 消息 ·

中国医师协会耳鼻咽喉科医师分会 第二次(2010)全国耳鼻咽喉头颈外科医师学术大会征文通知

由中国医师协会耳鼻咽喉科医师分会主办的第二次(2010)全国耳鼻咽喉头颈外科医师学术会议拟于2010年12月3~6日在广州召开。本次会议将授予一类继续教育学分。

大会主席:韩德民教授

本次会议是2010年度全国耳鼻咽喉头颈外科界唯一的一次大型综合性学术会议,是自中国医师协会耳鼻咽喉科医师分会成立以来的第二次全国学术盛会,同时又是分会的换届大会。预计1000多名代表参加,其中包括众多国内外知名专家学者等。

征文内容:耳鼻咽喉头颈科疾病的临床诊治、临床经验、病例分析,临床风险防范等相关内容。

征文要求:①论文应该科学合理、真实可信、逻辑严谨、观点鲜明、文笔流畅。②请提交中文论文摘要,800字左右,内容包括目的、方法、结论,不要图、表。③论文被选录后,将向第一作者寄发参加会议的通知,所有被选录的论文均编入本次会议的论文汇编。投稿时应写清作者姓名、单位、邮编、手机和电子邮件。

截稿日期:2010年10月30日

投稿方式:用Word文档以附件形式发送至 zsuenth@yahoo.com.cn 或用光盘寄至广州市中山二路58号,中山大学附属第一医院耳鼻咽喉科医院 张伟红收,邮政编码:510080。信封上请注明“全国耳鼻咽喉科医师学术大会征文”。请选择一种投稿方式,切勿重复投稿。

收到稿件后将发送确认邮件。

也可在以下网站投稿更多信息请访问会议网站:<http://www.chinaent.org>

中国医师协会耳鼻咽喉科医师分会
2010年5月22日