

叶酸代谢相关酶基因多态性与不良孕产发生易感性的关系*

李茜西,伍萍芝,何琳琳,吕德欣,傅锦坚[△]

(广西壮族自治区柳州市市妇幼保健院妇科门诊,广西柳州 545001)

[摘要] 目的 分析妇女亚甲基四氢叶酸还原酶(MTHFR)C677T、A1298C 及甲硫氨酸合成酶还原酶(MTRR)A66G 基因多态性与不良孕产史的关联性。方法 采用病例对照研究的方法,以 549 例正常妇女(对照组)及 300 例有不良孕产史(观察组)妇女为对象,采集口腔黏膜上皮细胞,提取基因组 DNA,采用基因测序技术,进行 MTHFR 及 MTRR 基因多态性检测。结果 MTHFR 677TT 基因型在观察组的分布频率(10.00%)较对照组(3.46%)明显升高($\chi^2=15.25, P<0.01$);MTHFR-1298CC 基因型在观察组的分布频率(11.00%)较对照组(4.01%)明显升高($\chi^2=15.66, P<0.01$);MTRR 66GG 基因型频率分布两组比较差异无统计学意义($\chi^2=3.02, P=0.082$)。两个基因的交互作用分析表明同时携带 MTHFR A1298C 突变位点和 MTRR A66G 突变位点增加了不良孕产发生的可能性($OR=1.52, P=0.011$)。结论 MTHFR C677T 及 A1298C 与女性不良孕产的发生有一定的相关性。

[关键词] 亚甲基四氢叶酸还原酶;甲硫氨酸合成酶还原酶;不良孕产史;基因多态性

[中图分类号] R714.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-8348(2015)10-1330-04

Relationship between folic acid metabolism-related enzyme gene polymorphism and susceptibility of abnormal pregnancy*

Li Qianxi, Wu Pingzhi, He Linlin, Lv Dexin, Fu Jinjian[△]

(Liuzhou Municipal Maternity and Child Health Care Hospital, Liuzhou, Guangxi 545001, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the relationship between methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) C677T, A1298C and methionine synthase reductase (MTRR) gene polymorphism with abnormal pregnancy history. **Methods** 549 normal women (control group) and 300 women with the abnormal pregnancy history (observation group) were taken as the subjects by adopting the case control research method. The oral mucosa epithelial cells were collected for extracting genomic DNA. The MTHFR and MTRR gene polymorphisms were detected by the gene sequencing method. **Results** The distribution frequency of MTHFR 677TT genotype in the abnormal pregnancy group was significantly increased compared with the control group (10.00% vs. 3.46%, $\chi^2=15.25, P<0.01$); the distribution frequency of MTHFR-1298CC genotype in the abnormal pregnancy group was significantly increased compared with the control group (11.00 vs. 4.01%, $\chi^2=15.66, P<0.01$); the distribution frequency of MTRR A66G genotype had no statistical difference between the two groups ($\chi^2=3.02, P=0.082$). The interactive analysis of 2 genes indicated that simultaneous carrying the MTHFR A1298C mutation site and MTRR A66G mutation site increased the possibility of abnormal pregnancy occurrence ($OR=1.52, P=0.011$). **Conclusion** MTHFR C677T and A1298C have a certain correlation with female abnormal pregnancy occurrence.

[Key words] methylenetetrahydrofolate reductase; methionine synthase reductase; abnormal pregnancy history; gene polymorphism

流产、死胎、畸胎和新生儿死亡等不良孕产是生殖医学的一个研究热点,10%~15%的妊娠妇女有发生不良孕产的风险,给社会公共卫生带来沉重的经济和精神负担。不良孕产的发生主要是遗传因素和环境因素共同作用的结果。亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)和甲硫氨酸合成酶还原酶(methionine synthase reductase, MTRR)是叶酸代谢途径的关键酶,有研究表明, MTHFR 及 MTRR 基因多态性影响与新生儿神经管缺陷、唇腭裂、妊娠期高血压、女性胚胎停育、习惯性流产等不良孕产史密切相关^[1-6]。已发现 MTHFR 及 MTRR 基因存在多种基因多态性位点,其中最常见的是 MTHFR 基因的 C677T、A1298C 和 MTRR 的 A66G。这些基因多态性影响着编码酶的活性,导致血清中叶酸、维生素 B₁₂ 及血同型半胱氨酸发生改变。本研究

旨在分析广西壮族自治区柳州地区育龄妇女 MTHFR 基因的 C677T、A1298C 和 MTRR 的 A66G 3 个多态性位点,分析此位点与不良孕产史的相关性,为该地区人群预防出生缺陷制定针对性的干预研究提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 12 月至 2014 年 5 月在本院进行孕期检查或不良孕产史门诊咨询的女性 300 例(观察组),年龄 18~35 岁,平均(25.70±7.40)岁。患者签署知情同意书,由经过培训的检验科技术人员现场进行口腔黏膜上皮细胞采样,问卷以无记名的方式由患者独立完成。纳入标准:(1)年龄 18~40 岁的女性。(2)按照《妇产科学》第 8 版^[7]的定义纳入病例,发生难免流产、稽留流产、复发性流产等自然流产史;有胎儿先天畸形、胎儿生长受限、生育巨大胎儿、胎儿窘迫等胎儿

* 基金项目:广西医药卫生自筹经费资助项目(Z2014373)。 作者简介:李茜西(1965—),副主任医师,硕士研究生,主要从事妇科内分泌研究。 [△] 通讯作者, Tel:(0772)2815306; E-mail: fujinjiana@126.com。

异常史以及有死胎、死产史等生育史的育龄妇女。对照组为妊娠不超过 20 周且无不良妊娠史的育龄妇女 549 例,年龄 19~36 岁,平均(25.40±7.20)岁,获得研究对象知情同意。

1.2 方法

1.2.1 试剂与设备 普通 PCR 仪 ABI7500;叶酸代谢障碍相关的 3 个单核苷酸基因多态性位点(Single nucleotide polymorphisms, SNP):MTHFR C677T、MTHFR A1298C、MTRR A66G 的引物由美国 ABI 公司合成,PCR 试剂及引物均购自美国 ABI 公司,DNA 提取试剂盒购自德国 Qiagen 公司。反应所用的基因多态位点引物信息,MTHFR C677T 上游引物:5'-GAA AAG CTG CGT GAT GAT G-3',下游引物:5'-TTG AAG GAG AAG GTG TC-3';MTHFR A1298C 上游引物:5'-AAG AAC GAA GAC TTC AAA-3',下游引物:5'-TGG GGG GAG GAG CTG AC-3';MTRR A66G 上游引物:5'-AGG CAA AGG CCA TCG CA-3',下游引物:5'-ATC CAT GTA CCA CAG CTT-3'。

1.2.2 样本 DNA 提取及叶酸基因分型 采集受检者的口腔黏膜上皮细胞,利用柱式抽提试剂盒抽提样本 DNA。采用基因测序技术,检测 MTHFR C677T、A1298C 和 MTRR A66G

的基因多态性。每个反应体系总体积 10.00 μL,包含 DNA 模板(20.00 ng/μL)1.00 μL,2×MasterMix 5.00 μL,20×引物 0.50 μL,去离子水 3.50 μL。反应条件为 95 ℃ 10 min,随后 92 ℃ 15 s,60 ℃ 1 min 进行 20 个循环,89 ℃ 15 s,60 ℃ 90 s 再进行 30 个循环。反应结束后把样本送至上海生物工程公司以进行基因测序,确定各个样本的基因分型结果。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行统计学分析,基因计数法统计基因型频率和等位基因频率。Hardy-Weinberg 遗传平衡检验、基因型及等位基因频率比较均使用 χ^2 检验,基因-基因交互作用采用 Logistic 回归,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组对象 MTHFR 基因 C677T、A1298C 位点基因型和等位基因频率分布比较 MTHFR 677TT 基因型及 MTHFR 677T 等位基因在观察组的分布频率显著高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$);MTHFR 基因 1298CC 基因型及 1298C 等位基因在观察组的分布频率均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1、2。

表 1 两组对象 MTHFR 基因 C677T 位点基因型分布和等位基因频率比较[n(%)]

组别	n	基因型频率			等位基因频率	
		CC	CT	TT	C	T
对照组	549	338(61.57)	192(34.97)	19(3.46)	868(79.05)	230(20.95)
观察组	300	166(55.33)	104(34.67)	30(10.00)	436(72.67)	164(27.33)
χ^2		3.12	0.01	15.25		8.88
P		0.077	0.929	0.000		0.003

表 2 两组对象 MTHFR 基因 A1298C 位点基因型分布和等位基因频率比较[n(%)]

组别	n	基因型频率			等位基因频率	
		AA	AC	CC	A	C
对照组	549	306(55.74)	221(40.26)	22(4.01)	833(75.87)	265(24.13)
观察组	300	150(50.00)	117(39.00)	33(11.00)	417(69.50)	183(30.50)
χ^2		2.57	0.13	15.66		8.09
P		0.109	0.721	0.000		0.004

表 3 两组对象 MTRR 基因 A66G 位点基因型分布和等位基因频率比较[n(%)]

组别	n	基因型频率			等位基因频率	
		AA	AG	GG	A	G
对照组	549	278(50.64)	236(42.99)	35(6.38)	792(72.13)	306(27.87)
观察组	300	132(44.00)	139(46.33)	29(9.67)	403(67.17)	197(32.83)
χ^2		3.42	0.88	3.02		4.59
P		0.064	0.348	0.082		0.032

表 4 Logistic 回归模型分析叶酸代谢基因-基因交互作用

基因-基因交互作用	B	SE	Wald	P	OR	95%CI
C677T-A1298C	0.34	0.22	2.39	0.122	1.41	0.91~2.18
C677T-A66G	0.29	0.18	2.77	0.096	1.35	0.95~1.92
A1298C-A66G	0.42	0.16	6.45	0.011	1.52	1.10~2.09

2.2 两组对象 MTRR 基因 A66G 位点基因型分布和等位基因频率分布比较 两组对象 MTRR 基因 66GG 基因位点的分布频率比较,差异无统计学意义($\chi^2_{3.84} = 5.05, P = 0.080$),观察组 66G 等位基因位点的分布频率高于对照组($\chi^2 = 4.59, P = 0.032$),见表 3。

2.3 叶酸代谢相关基因-基因交互作用与不良孕产的关系 经 Logistic 回归分析,MTHFR 基因 A1298C 位点与 MTRR 基因 A66G 位点分布之间存在交互作用,二者联合作用导致妇女发生不良孕产的危险性增高($OR = 1.52, P = 0.011$),见表 4。

3 讨 论

在体内 DNA 甲基化、DNA 合成、细胞分裂、组织生长、特别是在高速生长的细胞中,叶酸代谢过程均起了重要的作用。因此,有缺陷的叶酸代谢可能会导致 DNA 合成、参与胚胎形成过程中 DNA 甲基化受损^[8]。MTHFR 和 MTRR 是叶酸转运和代谢过程中关键的酶,这些酶基因多态性是过去 10 多年来的研究热点^[9-10]。越来越多的研究表明,MTHFR 和 MTRR 基因多态性与先兆子痫、胎儿生长受限、死胎、唇腭裂、反复自然流产、胎儿畸形发生等不良孕产结局有关^[1-6]。

MTHFR 存在多种基因突变类型,常见的突变是 cDNA 序列上第 4 外显子 677 位点胞嘧啶 C 被胸腺嘧啶 T 取代,这一变化造成编码的丙氨酸被缬氨酸取代。杂合子 CT 的多态性使得正常酶活性降低 35%,红细胞叶酸水平降低 10%。相对于正常的 CC 基因型,患者携带 TT 基因型的 MTHFR 仅有正常酶活性的 60%,红细胞叶酸水平下降了 18%^[11]。MTHFR 第 7 个外显子 1298 位点腺嘌呤 A 被胞嘧啶 C 替代后,使得编码谷氨酰胺转变为丙氨酸。而 MTRR 66 位点位于第 2 外显子,位点腺嘌呤 A 突变成鸟嘌呤 G 后,可引起编码氨基酸由异亮氨酸变为蛋氨酸。上述 3 个基因多态性位点的纯合子个体(677TT、1298CC、66GG)血浆叶酸和维生素 B12 水平较低,血浆同型半胱氨酸(Hcy)水平上升。总体而言,由于其潜在的降低 MTHFR 及 MTRR 酶活性的作用,引起血浆高 Hcy 和低叶酸水平,造成 Hcy 在体内蓄积,从而导致自然流产和胚胎发育异常等不良孕产的结局。

本研究发现,观察组与对照组妇女相比,其纯合突变 677TT 型及等位基因 677T 基因型频率分布,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示 677 位点突变基因与不良孕产结局的发生有密切关系。Yang 等^[4]的 Meta 分析结果表明,产唐氏综合征患儿的孕妇比正常妇女更容易携带 677TT 基因($OR = 1.28, 95\%CI = 1.22 \sim 1.46$)。本研究结果表明,677T 等位基因型也影响着不良孕产结局的发生($\chi^2 = 8.88, P = 0.003$),这与国外的研究一致^[12]。Zhao 等^[1]对纳入的 9 篇关于 MTHFR C677T 基因多态性与唇腭裂关系的 Meta 分析结果表明,亚洲儿童中,MTHFR C677T 基因多态性导致发生非综合征性唇腭裂(nonsyndromic cleft lip and palate, NSCL/P)的危险性增高($OR = 1.41, 95\%CI = 1.23 \sim 1.61$),并且这一关系在生出 NSCL/P 患儿的母亲中得到证实($OR = 1.70, 95\%CI = 1.19 \sim 2.42$)。Yang 等^[3]对 114 篇关于妊娠高血压的文献进行荟萃分析,该 Meta 分析纳入了 15 411 例有妊娠高血压综合征(妊高征)的孕妇及 21 970 正常孕妇,结果表明,C677T 基因多态性显著影响着妊高征的发生($OR = 1.21, 95\%CI = 1.08 \sim 1.32$)。Stangler Herodež 等^[5]对 353 个自然流产胚胎及 222 个正常胚胎进行 MTHFR C677T 及 A1298C 基因多态性分析,在自然流产胚胎组发现有较高的 MTHFR 677 杂合子基因型(CT)携带($P < 0.01$)。

MTHFR A1298C 基因多态性与不良孕产结局发生的相

关性早已备受关注^[13]。本研究发现对携带 1298AA 基因型而言,无论是 1298CC 纯合子突变型还是 1298C 等位基因型,其发生不良孕产结局的风险均比对照组风险增加($P < 0.05$)。相同的结果也在一些研究报道中得到证实。Chedraui 等^[2]对 150 例有先兆子痫的孕妇及正常妇女检测 MTHFR C677T 及 A1298C 基因型,结果发现,携带 1298CC 纯合子突变型的孕妇更容易发生先兆子痫(病例组 TT 频率 15.3%,对照组 TT 频率 0.7%, $P < 0.05$)。Nair 等^[6]发表的对 1 080 例不明原因反复流产妇女及 709 例正常妇女 MTHFR 基因 A1298C 多态性进行分析,结果表明,与正常基因型 1298AA 相比,携带纯合子基因的风险是前者的 4.83 倍($95\%CI = 1.71 \sim 13.61$),携带杂合子基因的风险是正常型的 1.98 倍($95\%CI = 1.23 \sim 3.18$)。Stangler Herodež 等^[5]以携带 1298AA 基因型胚胎为对照组,与携带 MTHFR A1298C 的杂合型及纯合子突变型 1298CC 相比,后者发生自然流产的风险是对照组的 3.01 倍及 1.54 倍($P < 0.05$),而不管胚胎是单倍体型还是正常核型,说明自然流产可能与母亲和胎儿基因之间的相互作用有关。

MTRR 在叶酸代谢途径中保持甲硫氨酸合成酶在催化 Hcy 重甲基化为蛋氨酸过程中的活性,间接参与体内甲基化过程。MTRR 基因多态性与不良孕产结局的关系研究较少。本研究显示,MTRR A66G 多态本身似乎与不良孕产发病风险无关,但发现对 66G 等位基因型而言,其发生不良孕产结局的风险要较携带 66A 基因型者风险增加($P = 0.032$),提示 66G 等位基因的影响也存在,但效应不如 MTHFR C677T 及 A1298C 明显。Yang 等^[4]研究表明,MTRR A66G 基因多态性显著影响着唐氏综合征患儿的出生($OR = 1.22, 95\%CI = 1.02 \sim 1.46$)。Pozzi 等^[14]对在意大利产唐氏综合征患儿的 74 例妇女和产正常儿的 184 例妇女进行病例对照研究,结果表明,突变的 G 等位基因无论是以杂合或纯合的形式存在,在产唐氏综合征母亲中更为常见($OR = 2.21, 95\%CI = 1.11 \sim 4.40$)。

近年来的研究发现,疾病的发生常常是环境与基因因素相互作用的结果,而疾病与多个遗传位点多态性的联合作用有关,即存在基因-基因之间的交互作用。叶酸的代谢过程较复杂,涉及多个调控机制,任何调控步骤中发生遗传变异均可影响蛋白质功能,进而改变代谢物的平衡状态,以及基因-基因的交互作用。据 Robien 等^[15]报道,MTHFR 基因和胱硫醚 β -合成酶(CBS)基因联合突变,使得产脊柱裂畸形儿的风险比任何单基因(MTHFR 或 CBS)发生突变增加了 5 倍,提示在脊柱裂这一遗传病中存在基因-基因交互作用。本研究结果表明,MTHFR A1298C 基因与 MTRR A66G 基因存在交互作用,使得发生不良孕产结局的风险增加了 1.52 倍,其确切的致病机制尚待进一步的深入研究加以证实。

参考文献

- [1] Zhao M, Ren Y, Shen L, et al. Association between MTHFR C677T and A1298C polymorphisms and NSCL/P risk in Asians: a meta-analysis [J]. PLoS One, 2014, 9(3): e88242.
- [2] Chedraui P, Salazar-Pousada D, Villao A, et al. Polymorphisms of the methylenetetrahydrofolate reductase gene (C677T and A1298C) in nulliparous women complicated with preeclampsia [J]. Gynecol Endocrinol, 2014, 30(5): 392-396.
- [3] Yang B, Fan S, Zhi X, et al. Associations of MTHFR gene polymorphisms with hypertension and hypertension in

- pregnancy; a meta-analysis from 114 studies with 15411 cases and 21970 controls [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (2): e87497.
- [4] Yang M, Gong T, Lin X, et al. Maternal gene polymorphisms involved in folate metabolism and the risk of having a Down syndrome offspring: a meta-analysis [J]. *Mutagenesis*, 2013, 28 (6): 661-671.
- [5] Stangler Herodež S, Zagradišnik B, Erjavec Škerget A, et al. MTHFR C677T and A1298C genotypes and haplotypes in Slovenian couples with unexplained infertility problems and in embryonic tissues from spontaneous abortions [J]. *Balkan J Med Genet*, 2013, 16 (1): 31-40.
- [6] Nair RR, Khanna A, Singh R, et al. Association of maternal and fetal MTHFR A1298C polymorphism with the risk of pregnancy loss: a study of an Indian population and a meta-analysis [J]. *Fertil Steril*, 2013, 99 (5): 1311-1318.
- [7] 谢幸. 妇产科学 [M]. 8 版. 北京: 人民卫生出版社, 2013: 47-121.
- [8] Morrison K, Papapetrou C, Hol FA, et al. Susceptibility to spina bifida; an association study of five candidate genes [J]. *Ann Hum Genet*, 1998, 62 (Pt 5): 379-396.
- [9] García-Minguillán CJ, Fernández-Ballart JD, Ceruelo S, et al. Riboflavin status modifies the effects of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) and methionine synthase reductase (MTRR) polymorphisms on homocysteine [J]. *Genes Nutr*, 2014, 9 (6): 435.
- [10] Bravatà V. Controversial roles of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and folate in breast cancer disease [J]. *Int J Food Sci Nutr*, 2014, 10 (16): 1-7.
- [11] Molloy AM, Daly S, Mills JL, et al. Thermolabile variant of 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase associated with low red-cell folates; implications for folate intake recommendations [J]. *Lancet*, 1997, 349 (9065): 1591-1593.
- [12] Costa-Lima MA, Amorim MR, Orioli IM. Association of methylenetetrahydrofolate reductase gene 677C>T polymorphism and Down syndrome [J]. *Mol Biol Rep*, 2013, 40 (3): 2115-2125.
- [13] Madjunkova S, Volk M, Peterlin B, et al. Detection of thrombophilic mutations related to spontaneous abortions by a multiplex SNaPshot method [J]. *Genet Test Mol Biomarkers*, 2012, 16 (4): 259-264.
- [14] Pozzi E, Vergani P, Dalprà L, et al. Maternal polymorphisms for methyltetrahydrofolate reductase and methionine synthase reductase and risk of children with Down syndrome [J]. *Am J Obstet Gynecol*, 2009, 200 (6): 636.
- [15] Robien K, Ulrich CM. 5, 10-methylenetetrahydrofolate reductase polymorphisms and leukemia risk: a HuGE mini-review [J]. *Am J Epidemiol*, 2003, 157 (7): 571-582.

(收稿日期: 2014-10-18 修回日期: 2014-12-28)

(上接第 1329 页)

好的术后准备、父母陪伴、各种模型玩具、小丑角色扮演、诱导时环境安静等是减少躁动的重要方法。

综上所述, 术后不同剂量的丙泊酚静脉注射预防七氟醚引起的 EA 效果明显, 1.00 mg/kg 两次静脉注射的剂量可以很好的预防术后 EA 的发生, 值得临床参考应用。

参考文献

- [1] 许文妍, 张马忠. 七氟烷在小儿麻醉中的应用 [J]. *上海医学*, 2010, 33 (6): 509-512.
- [2] 张亮. 小儿七氟烷麻醉的苏醒期躁动及其预防与处理 [J]. *医学综述*, 2009, 15 (21): 3308-3311.
- [3] Yuen VM. Dexmedetomidine: perioperative applications in children [J]. *Pediatric Anesthesia*, 2010, 20 (3): 256-264.
- [4] Yu D, Chai W, Sun X, et al. Emergence agitation in adults: risk factors in 2,000 patients Agitation aureveil chez l'adulte: facteurs de risque chez 2000 patients [J]. *Can J Anesth*, 2010, 57 (6): 843-848.
- [5] Marcelo M, Sol C, Santiago PL, et al. Irritability, psychomotor agitation and progressive insomnia induced by bilateral stimulation of the area surrounding the dorsal subthalamic nucleus (zona incerta) in Parkinson's disease patients [J]. *J Neurol*, 2009, 256 (8): 2091-2093.
- [6] Dahmani S, Stany I, Brasher C, et al. Pharmacological prevention of sevoflurane and desflurane related emergence agitation in children: a meta-analysis of published studies [J]. *Br J Anaesth*, 2010, 104 (2): 216-223.
- [7] 郭强, 徐桂萍. 七氟烷与丙泊酚用于小儿全身麻醉的状况 [J]. *医学综述*, 2010, 16 (15): 2364-2366.
- [8] Dahmani S, Stany I, Brasher C. Pharmacological prevention of sevoflurane and desflurane-related emergence agitation in children: a meta-analysis of published studies [J]. *Br J Anaesth*, 2010, 104 (14): 216-223.
- [9] 张海军, 李玉兰, 孙饶, 等. 七氟醚和丙泊酚全身麻醉对小儿术后躁动影响的系统评价 [J]. *中国循证医学杂志*, 2013, 13 (11): 1367-1372.
- [10] 刘丽英. 贫血患者七氟烷吸入与丙泊酚静脉麻醉效果的比较研究 [J]. *实用医学杂志*, 2012, 28 (16): 2819-2820.
- [11] 蒋晓红, 陈向阳, 葛衡江, 等. 麻醉睡眠平衡术治疗慢性失眠症的疗效评估 [J]. *中华神经医学杂志*, 2009, 8 (2): 174-176, 180.
- [12] 徐守权. 丙泊酚与丙戊酸钠对癫痫持续状态治疗效果的对比研究 [J]. *实用医学杂志*, 2013, 29 (23): 3955-3956.
- [13] 胡春华, 瑞芬太尼复合丙泊酚在小儿气管插管全身麻醉中的适宜剂量研究 [J]. *山东医药*, 2014, 54 (9): 68-69.
- [14] 谭永红, 王琼, 张国强. 不同剂量丙泊酚输注对七氟醚麻醉后苏醒期躁动的影响 [J]. *中国当代医药*, 2011, 18 (22): 65-66.
- [15] 王洪, 涂生芬, 柏林, 等. 不同剂量丙泊酚对儿童麻醉深度和应激反应的影响 [J]. *重庆医学*, 2012, 41 (4): 327-329.
- [16] 孙瑛, 许文音, 胡洁, 等. 曲马多复合小剂量丙泊酚对小儿七氟醚麻醉术后躁动的影响 [J]. *上海交通大学学报: 医学版*, 2010, 30 (1): 73-75.

(收稿日期: 2014-10-15 修回日期: 2014-12-26)