

· 实验研究 ·

七氟醚对新生小鼠 fractalkine/CX3CR1 表达及学习记忆功能的影响

王爱桃 姚尚龙 包娜日素 武娜 郭冬梅 铁木尔

【摘要】 目的 探讨七氟醚对新生小鼠 fractalkine/CX3CR1 表达及学习记忆功能的影响。方法 取健康 6 日龄 C57BL/6 新生小鼠 36 只,分为对照组(C 组)、七氟醚 1 组(S1 组)、七氟醚 2 组(S2 组),每组 12 只。C 组小鼠出生后第 6、7 和 8 天每天接受 1 次 2 h 的 60% 氧浓度的吸入;S1 组小鼠出生后第 6、7 和 8 天每天接受 1 次 2 h 的 2% 七氟醚麻醉,吸入氧浓度为 60%;S2 组小鼠出生后第 6、7 和 8 天每天接受 1 次 2 h 的 3% 七氟醚麻醉,吸入氧浓度为 60%。三组分别于出生后第 9 天(T_1)及出生后第 34 天(T_2)时各处死 6 只小鼠,取脑组织,采用 Western blot 法检测海马脑片 fractalkine 和 CX3CR1 蛋白含量;real-time PCR 检测海马脑片 fractalkine 和 CX3CR1 mRNA 的表达量。三组剩余 6 只小鼠用药 3 周后即出生第 29 天时行为期 5 d 的 mirror 水迷宫实验进行学习记忆能力测试并记录。记录出生后第 29~32 天小鼠的逃避潜伏期和游泳速度、原平台穿越次数。**结果** 与 C 组比较,S1 组和 S2 组学习记忆功能降低且海马脑片 fractalkine 和 CX3CR1 蛋白含量和 mRNA 表达量明显降低($P < 0.05$);与 S1 组比较,S2 组学习记忆功能降低且海马脑片 fractalkine 和 CX3CR1 蛋白含量和 mRNA 表达量明显降低($P < 0.05$)。**结论** 6 日龄小鼠连续吸入七氟醚 3 d,3 周后出现七氟醚麻醉浓度递增的学习记忆能力障碍。小鼠吸入七氟醚可致幼龄小鼠海马脑片 fractalkine、CX3CR1 蛋白含量和 mRNA 表达量降低。

【关键词】 CX3CR1;Fractalkine;七氟醚;学习记忆;发育期大脑

Effects of sevoflurane on expression of fractalkine and CX3CR1 and learning and memory function in developing mouse brain WANG Aitao, YAO Shanglong, BAO Narisu, WU Na, GUO Dongmei, TIE Muer. Department of Anesthesiology, Inner Mongolia Autonomous Region People's Hospital, Hohhot 010017, China

Corresponding author: WANG Aitao, Email: tjxhmzk@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effects of sevoflurane on expression of fractalkine, CX3CR1 and learning and memory function in developing mouse brain. **Methods** Thirty-six healthy C57BL/6 newborn mice aged 6 days were randomly divided into three groups: control group (group C), sevoflurane 1 group (group S1) and sevoflurane 2 group (group S2), 12 rats in each group. The mice in group C received 60% oxygen inhalation 2 h daily for 3 days. The mice in group S1 received the mixture of 2% sevoflurane and 60% oxygen 2 hours daily for 3 days. The mice in group S2 were anesthetized with the mixture of 3% sevoflurane and 60% oxygen 2 hours daily for 3 days. Six mice were sacrificed on the 9th day (T_1) and 34th day (T_2) after birth, respectively, brain tissues were taken and the protein and mRNA expression of fractalkine and CX3CR1 in hippocampal slices was detected by Western blot and realtime PCR. Three weeks after medication (on the 29th day of birth) the learning and memory abilities in each group were tested by mirror water maze test for 5 days. The escape latency and swimming speed were recorded on the 29th 32th day after birth, and the times of crossing the original platform were recorded on the 33th day after birth. **Results** Compared with group C, the learning and memory function was decreased, and the protein and gene expression of fractalkine and CX3CR1 in hippocampal slices of groups S1 and S2 were decreased ($P < 0.05$). Compared with group S1, the learning and memory function was decreased, so were the protein and gene expression of fractalkine and CX3CR1 in hippocampal slices of group S2 ($P < 0.05$). **Conclusion** Sevoflurane anesthesia could cause in concentration-increased learning and memory disorders in 6-day old mouse. Sevoflurane treatment could decreased the level of fractalkine and CX3CR1 in hipp-

DOI: 10.12089/jca.2020.01.015

基金项目:内蒙古自治区人民医院博士科研启动基金(BS201511)

作者单位:010017 呼和浩特市,内蒙古自治区人民医院麻醉科(王爱桃、包娜日素、铁木尔);华中科技大学附属武汉协和医院麻醉科(姚尚龙);内蒙古医科大学研究生院(武娜、郭冬梅)

通信作者:王爱桃,Email: tjxhmzk@163.com

ocampal slices of young mice.

【Key words】 CX3CR1; Fractalkine; Sevoflurane; Learning and memory; Developed brain

人类大脑发育高峰期是在妊娠后期至出生后 6 个月。临床研究表明,两岁以内的婴幼儿实施全麻会导致较长时期的行为学改变,提示全麻药可能损害婴幼儿的中枢神经系统^[1]。七氟醚在临床中广泛用于婴幼儿的麻醉诱导、维持及短小手术中。七氟醚有神经毒性,会导致学习和记忆的损害^[2-3]。但也有研究显示,低剂量七氟醚对记忆功能没有影响,高剂量七氟醚会导致记忆减退^[4-5]。因此七氟醚是否会导致婴幼儿术后学习记忆功能损害目前还有分歧。fractalkine 降低加速神经凋亡^[6];其受体 CX3CR1 缺失会导致空间学习记忆能力降低^[7]。本研究新生小鼠吸入不同浓度的七氟醚麻醉,观察七氟醚是否会导致新生小鼠出现浓度相关的中枢毒性反应及初步探讨该过程中是否有 fractalkine/CX3CR1 信号通路的激活。

材料与方法

实验动物与分组 本研究选取 6 日龄 C57BL/6 新生小鼠 36 只,由内蒙古医科大学微生物免疫学实验室提供。实验前适应环境 3 d,室温 22~24 °C,昼夜交替,自由进食水。本研究通过动物保护协会批准,并在本院伦理委员会监督下进行。采用随机数字表法,将 36 只小鼠随机均分为三组:对照组(C 组)、七氟醚 1 组(S1 组)和七氟醚 2 组(S2 组),每组 12 只。C 组小鼠出生后第 6、7 和 8 天每天接受 1 次 2 h 的 60% 氧浓度吸入;S1 组小鼠出生后第 6、7 和 8 天每天接受 1 次 2 h 的 2% 七氟醚吸入麻醉,吸入氧浓度为 60%;S2 组小鼠出生后第 6、7 和 8 天每天接受 1 次 2 h 的 3% 七氟醚吸入麻醉,吸入氧浓度为 60%。

Morris 水迷宫实验检测 本实验采用的水迷宫是由自动摄像及分析系统和圆形水池两部分组成,图像自动采集处理系统主要由计算机、摄像机、图像监视器组成,动物入水后启动监测设备,记录动物游泳轨迹,实验结束后自动分析相应参数。理论上将水池分为 4 个象限,平台放置于其中一个象限区的中央。在出生后第 24~28 天的训练中,分别从四个象限将小鼠头朝池壁放入水中,记录小鼠找到水下平台的时间;如果时间超过 60 s,则引导小鼠到平台,且停留 10 s^[8-9]。从出生后第 29 天起撤掉平台,每只小鼠从固定的入口进入水池。记录出生后

第 29、30、31 和 32 天内小鼠 60 s 内在目标象限(平台第二次所在区)的逃避潜伏期和游泳速度,每天每只小鼠进行 4 次,每次间隔 30 min^[8-9];出生后第 33 天记录小鼠穿越平台次数,每只小鼠进行 3 次,取平均值。

海马脑片制备 每组分别于出生后第 9 天(T₁)及出生后第 34 天(T₂)时各处死 6 只小鼠,于冰上取脑组织,放入 95% 氧气、5% 二氧化碳氧饱和的 0~4 °C 人工脑脊液(ACSF)中。于大脑半球腹内侧分离出双侧海马,用 Vibroslice MA752 振动切片机(Campden 公司,英国)将其切成厚约 400 μm 的脑片。将切好的脑片置于持续通氧混合气的 ACSF 中,室温 22~25 °C 下孵育 2 h 后,移至 TC2202A 型恒温记录浴槽(Medical systems 公司,美国)中,2.0~2.5 ml/min 持续灌流 ACSF,温度 29~31 °C,并持续通入含氧混合气。ACSF 的成分为(mmol/L): NaCl 124, KCl 5, NaHCO₃ 26, KH₂PO₄ 1.2, MgSO₄ 1.3, CaCl₂ 2.5, C₆H₁₂O₆ 10, 调节 pH 值至 7.3~7.4。

海马脑片 fractalkine 及 CX3CR1 蛋白含量的测定 取 T₁、T₂ 时处死小鼠的海马脑片,采用 western blot 法测定 fractalkine 及 CX3CR1 蛋白含量。将上述处理过后的脑组织加入含有磷酸酶抑制剂的裂解液中进行匀浆,充分裂解后,上清液为胞浆沉淀,是胞核,取上清液测定蛋白含量。定量后-80 °C 储存。蛋白经聚丙烯酰胺凝胶电泳,然后转移到硝酸纤维素膜上。封闭 2 h 后,加入一抗(1:1 000 anti-fractalkine 抗体 abcam 公司: ab25088; 1:500 anti-CX3CR1 抗体 abcam 公司: ab8021; 1:1000 β-actin abcam 公司: ab75186) 4 °C 过夜。缓冲液洗膜,加入辣根过氧化物链接的二抗(1:2 000 碧云天公司: A0208) 37 °C 振荡孵育 2 h。漂洗后,加入化学发光底物溶液(天根: PA112) 1 min,用凝胶成像系统扫描图像。采用图像分析软件分析目的条带灰度值,以各蛋白灰度值与 β-actin 条带灰度值的比值反映各蛋白含量。

海马脑片 fractalkine 及 CX3CR1 mRNA 表达量的测定 取 T₁、T₂ 时处死小鼠的海马脑片,采用 RT-PCR 法测定 fractalkine 及 CX3CR1 基因表达量。采用 TRIZOL (INVITROGEN 公司: 15596026) 法提取总 RNA,紫外分光光度计检测 OD260 和 OD280,

计算总 RNA 的浓度及纯度。使用 RevertAid 1st cDNA Synthesis Kit 逆转录试剂盒 (Thermo 公司; K1622), 以总 RNA 为模板, 进行 cDNA 的合成。然后以逆转录 cDNA 为模板, 采用 Palmer 5.0 软件进行引物设计。使用 Maxima SYBR Green/ROX Qpcr Master Mix (Termo 公司; K0221) 试剂进行 RT-PCR, 循环 40 次。fractalkine 的引物序列: 正义 5'-CGC GTT CTT CCA TTT GTG TA-3', 反义 5'-CTG TGT CGT CTC CAG GAC AA-3'; CX3CR1 的引物序列: 正义 5'-AGC TGC TCA GGA CCT CAC CAT-3', 反义 5'-GTT GTG GAG GCC CTC ATG GCT GAT-3'。基因表达量用倍数变化来表示 2^{-(ΔΔCt)} 法。

统计分析 实验数据用 SPSS 13.0 统计软件包处理分析, 样品测定数据以均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用方差分析, 组内比较采用重复测量的方差分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

Morris 水迷宫测试学习记忆能力 与 C 组比较, 出生后第 29、30、31、32 天 S1 和 S2 组逃避潜伏期明显延长 (P < 0.05); S1 和 S2 组逃避潜伏期组内组间差异无统计学意义。三组小鼠游泳速度组内组间差异无统计学意义 (表 1)。

出生后第 33 天小鼠穿越平台次数 C 组为 (9.0 ± 1.8) 次/分, S1 组为 (6.7 ± 2.1) 次/分, S2 组为 (5.1 ± 1.9) 次/分。与 C 组比较, S1 组和 S2 组穿越平台次数明显减少; 与 S1 组比较, S2 组穿越平台次数明显减少 (P < 0.05)。

海马脑片 fractalkine 及 CX3CR1 蛋白含量和 mRNA 表达量的测定 与 C 组比较, T₁ 和 T₂ 时 S1 组和 S2 组海马脑片 fractalkine 和 CX3CR1 蛋白含量和 mRNA 表达量明显降低 (P < 0.05); 与 S1 组

比较, T₁ 和 T₂ 时 S2 组海马脑片 fractalkine 和 CX3CR1 蛋白含量和 mRNA 表达量明显降低 (P < 0.05) (图 1—2, 表 2)。

讨 论

突触塑型阶段是神经细胞快速分化、迁徙、树突快速形成神经网络系统的关键时期^[10], 也是啮齿类动物神经细胞的易损期, 对各种刺激性伤害防御能力弱。这期间中枢神经系统非常活跃, 对内外环境变化相当敏感^[11]。有研究显示小鼠出生后第 6~8 天是大脑发育的高峰时期, 相当于人类胎儿期 32~36 周龄^[12], 是人类胎儿神经快速发育的阶段, 故本实验选择 6 日龄小鼠建立实验动物模型。

依据新生小鼠七氟醚的 1MAC 值约为 2.3%^[12], 临床工作中, 七氟醚的 ED₉₉ 值约为 1.3MAC, 研究显示吸入 2.3%~3.5% 七氟醚对小鼠呼吸、循环及重要脏器血流灌注影响轻微^[13]。因此, 本实验目标浓度设定为 2% 和 3% 七氟醚。多数手术进程需要 1~3 h, 故本实验造模时间选择为 2 h。本实验七氟醚吸入造模期间, 三组小鼠呼吸、循环等生命体征平稳, 显示本实验制作吸入七氟醚模型是成功的。

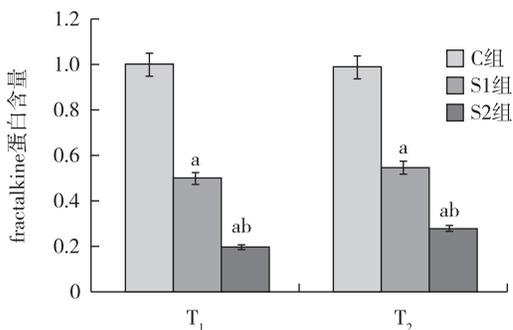
Morris 水迷宫是目前研究学习记忆功能的金标准实验^[14]。Morris 水迷宫实验中最为重要的两个部分是定位航行试验和空间探索试验, 逃避潜伏期反映动物空间位置觉和方向觉记忆的情况, 用于判定学习能力水平; 而穿越平台次数考察小鼠对原平台的记忆, 反映动物记忆的保持能力。本实验三组小鼠出生后第 29 天开始行水迷宫试验检测七氟醚对小鼠的学习记忆功能的影响^[8-9], 在定位航行试验中, 逃避潜伏期 C 组明显短于 S1 和 S2 组; 在空间探索实验中, 穿越平台次数 C 组多于 S1 和 S2 组,

表 1 三组小鼠不同时点逃避潜伏期和游泳速度的比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	只数	出生后			
			第 29 天	第 30 天	第 31 天	第 32 天
逃避潜伏期 (s)	C 组	6	48.5 ± 2.6	44.4 ± 4.3	42.2 ± 4.3	40.0 ± 4.1
	S1 组	6	55.1 ± 4.2 ^a	52.2 ± 5.2 ^a	50.0 ± 3.7 ^a	49.6 ± 3.3 ^a
	S2 组	6	59.6 ± 2.2 ^a	55.8 ± 3.3 ^a	54.4 ± 4.5 ^a	51.6 ± 3.3 ^a
游泳速度 (mm/s)	C 组	6	47.3 ± 2.5	45.3 ± 4.2	43.4 ± 4.2	41.3 ± 4.1
	S1 组	6	52.1 ± 4.2	48.2 ± 5.2	46.0 ± 3.7	45.6 ± 3.3
	S2 组	6	52.6 ± 2.2	49.8 ± 3.3	47.4 ± 4.5	46.6 ± 3.3

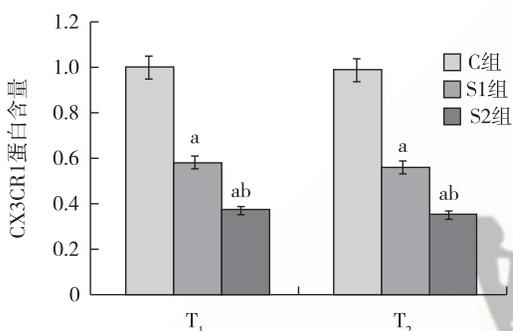
注: 与 C 组比较, ^aP < 0.05

提示小鼠于出生后 6~8 d 时连续 3 d 吸入七氟醚 2 h 会影响小鼠 3 W 后学习记忆功能。本实验显示连续 3 d 吸入 2%~3% 七氟醚 2 h, 可导致小鼠术后发生学习记忆功能下降, 与部分学者研究结果一致^[2-3]。



注:与 C 组比较,^a*P* < 0.05;与 S1 组比较,^b*P* < 0.05

图 1 三组小鼠 fractalkine 蛋白含量的比较



注:与 C 组比较,^a*P* < 0.05;与 S1 组比较,^b*P* < 0.05

图 2 三组小鼠 CX3CR1 蛋白含量的比较

表 2 三组小鼠不同时点 fractalkine mRNA 和 CX3CR1 mRNA 表达量的比较($\bar{x} \pm s$)

指标	组别	只数	T ₁	T ₂
fractalkine	C 组	6	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.01
mRNA/GAPDH	S1 组	6	0.58 ± 0.04 ^a	0.55 ± 0.03 ^a
mRNA	S2 组	6	0.40 ± 0.03 ^{ab}	0.43 ± 0.02 ^{ab}
CX3CR1	C 组	6	1.00 ± 0.01	1.00 ± 0.01
mRNA/GAPDH	S1 组	6	0.62 ± 0.05 ^a	0.57 ± 0.06 ^a
mRNA	S2 组	6	0.42 ± 0.05 ^{ab}	0.45 ± 0.05 ^{ab}

注:与 C 组比较,^a*P* < 0.05;与 S1 组比较,^b*P* < 0.05

大脑的功能是由无数正常神经元和胶质细胞的相互作用实现的,当外界环境激活两者的相互作用,就会影响到神经网络轴。fractalkine 表达于神经元,而其受体 CX3CR1 表达于小胶质细胞。研究显

示, fractalkine 减弱应激引起的小胶质细胞激活^[15]。在空间学习后的短暂时间窗内海马 fractalkine 表达上调,其目的可能是调节谷氨酸介导的神经传递,fractalkine 对神经毒素四氢吡啶诱导的帕金森病具有神经保护作用^[16]。还有研究显示,抑制 CX3CR1 功能可加重缺血引起的慢性认知功能障碍。这些数据支持这种趋化因子 fractalkine 及其受体 CX3CR1 在突触结构可塑性过程中可能的保护作用。通过本实验检测了在七氟醚麻醉中神经元和小胶质细胞的相互作用情况,结果显示出生后第 6 天的幼龄小鼠吸入 2%~3% 七氟醚麻醉 2 h, 连续 3 d, 出生后第 9 天 S1 和 S2 组小鼠海马 fractalkine 和 CX3CR1 明显降低;出生后第 34 天两组小鼠海马 fractalkine 和 CX3CR1 依然降低;S1 和 S2 组小鼠学习记忆能力明显降低,且 S2 组小鼠学习记忆能力明显低于 S1 组,显示七氟醚吸入麻醉后可能抑制小鼠 fractalkine 和 CX3CR1 蛋白和基因的表达。因此推测 fractalkine/CX3CR1 降低可能与七氟醚致新生小鼠学习记忆功能障碍相关,但其机制还不清楚。已有研究显示,fractalkine/CX3CR1 参与突触发育和海马可塑性^[17];通过调节 A₂ 型腺苷受体活性和 D-丝氨酸释放的机制增强 N-甲基-D-天冬氨酸受体(NMDAR)功能,促进兴奋性神经传递,增强学习和记忆过程^[18]。由已有的研究推测,fractalkine 在增强学习和记忆的过程中不仅仅扮演一个趋化因子的角色,可能是兴奋性神经传递过程中一个重要递质。

本研究也存在不足之处。首先,本研究选择小鼠出生后第 6~8 天行七氟醚麻醉,出生后第 29 天的小鼠进行水迷宫测试,检测七氟醚麻醉对短期记忆的影响^[19]。但不清楚在更长的时间后,水迷宫测试是否能检测到同种异常。其次,本研究未探讨 fractalkine/CX3CR1 在七氟醚引起的学习记忆功能障碍中的作用机制。需要下一步进行深入研究。

综上所述,七氟醚麻醉可致新生小鼠 fractalkine、CX3CR1 蛋白和基因表达降低及学习记忆功能障碍,且吸入的浓度越高对学习记忆功能的影响越大。

参 考 文 献

[1] Brioni JD, Varughese S, Ahmed R, et al. A clinical review of inhalation anesthesia with sevoflurane; from early research to emerging topics. J Anesth, 2017, 31(5): 764-778.
 [2] Tang X, Li Y, Ao J, et al. Role of α 7nAChR-NMDAR in sevoflurane-induced memory deficits in the developing rat hippo-

- campus. PLoS One, 2018, 13(2): e0192498.
- [3] Fang H, Wang ZH, Bu YJ, et al. Repeated inhalation of sevoflurane inhibits the information transmission of Purkinje cells and delays motor development via the GABAA receptor ϵ subunit in neonatal mice. Mol Med Rep, 2018, 17(1): 1083-1092.
- [4] 徐桂萍, 马雪萍, 瞿莉. 石杉碱甲预处理对七氟醚麻醉新生大鼠学习记忆的影响. 临床麻醉学杂志, 2015, 31(4): 376-378.
- [5] Zhou L, Wang Z, Zhou H, et al. Neonatal exposure to sevoflurane may not cause learning and memory deficits and behavioral abnormality in the childhood of Cynomolgus monkeys. Sci Rep, 2015, 5: 11145.
- [6] Mecca C, Giambanco I, Donato R, et al. Microglia and Aging: The Role of the TREM2—DAP12 and CX3CL1-CX3CR1 Axes. Int J Mol Sci, 2018, 19(1): E318.
- [7] Martin E, Delarasse C. Complex role of chemokine mediators in animal models of Alzheimer's Disease. Biomed J, 2018, 41(1): 34-40.
- [8] Vorhees CV, Williams MT. Morris water maze: procedures for assessing spatial and related forms of learning and memory. Nat Protoc, 2006, 1(2): 848-858.
- [9] D'Hooge R, De Deyn PP. Applications of the Morris water maze in the study of learning and memory. Brain Res Brain Res Rev, 2001, 36(1): 60-90.
- [10] Sadowski JH, Jones MW, Mellor JR. Sharp-wave ripples orchestrate the induction of synaptic plasticity during reactivation of place cell firing patterns in the hippocampus. Cell Rep, 2016, 14(8): 1916-1929.
- [11] Yang Y, Chen J, Guo Z, et al. Endophilin A1 Promotes actin polymerization in dendritic spines rRequired for synaptic potentiation. Front Mol Neurosci, 2018, 11: 177.
- [12] Wang C, Slikker W Jr. Strategies and experimental models for evaluating anesthetics: effects on the developing nervous system. Anesth Analg, 2008, 106(6): 1643-1658.
- [13] Satomoto M, Sun Z, Adachi YU, et al. Sevoflurane preconditioning ameliorates lipopolysaccharide-induced cognitive impairment in mice. Exp Anim, 2018, 67(2): 193-200.
- [14] Lam V, Takechi R, Albrecht MA, et al. Longitudinal performance of senescence accelerated mouse prone-Strain 8 (SAMP8) mice in an olfactory-visual water maze challenge. Front Behav Neurosci, 2018, 12: 174.
- [15] Ślusarczyk J, Trojan E, Głombik K, et al. Fractalkine attenuates microglial cell activation induced by prenatal stress. Neural Plast, 2016, 2016: 7258201
- [16] Morganti JM, Nash KR, Grimmig BA, et al. The soluble isoform of CX3CL1 is necessary for neuroprotection in a mouse model of Parkinson's disease. J Neurosci, 2012, 32(42): 14592-14601.
- [17] Schechter RW, Maher EE, Welsh CA, et al. Experience-dependent synaptic plasticity in V1 occurs without microglial CX3CR1. J Neurosci 2017, 37(44): 10541-10553.
- [18] Scianni M, Antonilli L, Chece G, et al. Fractalkine (CX3CL1) enhances hippocampal N-methyl-D-aspartate receptor (NMDAR) function via D-serine and adenosine receptor type A2 (A2AR) activity. J Neuroinflammation 2013, 10: 108.
- [19] Kodama M, Satoh Y, Otsubo Y, et al. Neonatal desflurane exposure induces more robust neuroapoptosis than do isoflurane and sevoflurane and impairs working memory. Anesthesiology, 2011, 115(5): 979-991.

(收稿日期:2019-02-13)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

《临床麻醉学杂志》中英文摘要撰写规范

论著文章须有中、英文摘要,内容必须包括目的(Objective)、方法(Methods)、结果(Results)和结论(Conclusion)四个部分,目的主要是回答为什么进行此项研究,说明提出问题的理由,表明研究的范围和重要性。方法中应简要说明研究课题的基本设计,所用的原理,条件,对象,材料,设备,如何分组对照,研究范围精确度,观察的指标等。结果部分应写出本研究的主要数据,被确定的关系,观察结果,得到的效果,有何新发现。结论是结果内容的升华,是由结果推论而出,是结果的分析,研究的比较,评价,应用,假设,启发,建议及预测等。摘要应具有独立性,即不阅读全文就能获得必要的信息,采用第三人称撰写,不用“本文”、“作者”等主语,不加评论和解释,摘要中首次出现的缩略语、代号等,非公认知者,须注明全称。考虑篇幅的限制,中文摘要可简略些,一般 300~500 字,英文摘要与中文摘要原则上相对应,考虑到国外读者的需要,可更详细,一般 500 个实词左右。英文摘要尚应包括文题(仅第一个字母大写)、所有作者姓名(姓在前,名在后;姓全大写,名字仅首字母大写)、第一作者单位名称和科室、所在城市名、邮政编码及国名。