

贵阳医学院学报

2015 年 第 40 卷 第 3 期

目 次

专题研究

- 贵州省 3 个少数民族 *HLA-G* 基因 14 bp 插入/缺失的多态性研究 何 燕, 赵孝梅, 左 娅, 等(217)
- 荔波少数民族人群 HBV 感染与 *ESR α* 基因 *Pvu II* 和 T29C 位点基因多态性研究
..... 左 娅, 何 燕, 赵孝梅, 等(222)
- 贵州省荔波地区少数民族 8 项血液学指标分析 赵孝梅, 何 燕, 张 婷, 等(225)

基础研究

- IL-31RA 基因敲除小鼠纯合子模型的建立 江 涛, 高 婧, 岳 欢, 等(229)
- 非小细胞肺癌组织中 PEDF、VEGFR-2 的表达 王世君, 黄 莉, 谢婷婷, 等(234)
- 可吸收防粘连液对大鼠实验性腹壁粘连的抑制作用 付凌云, 刘小红, 文 波, 等(237)
- 不同时程海洛因依赖大鼠胃窦 CD4、CD8 和 IL-2 表达 夏白娟, 李一欣, 洪 艳, 等(241)
- 蓝莓对酒精性脂肪肝小鼠肝组织 HO-1 表达及抗氧化能力的影响 黄 超, 任婷婷, 王豫萍, 等(245)
- 贵州省部分地区阴道毛滴虫与人型支原体共生情况 匡贵榕, 衣凤芸, 杨宇箭, 等(249)
- 三聚氰胺对雄性小鼠精液质量的影响 夏凤琼, 黄 健, 杨国珍(253)
- 弓形虫 PRU 株感染妊娠期小鼠动物模型的建立 程树强, 王正蓉(257)
- 实施基本药物制度对贵州省基层医疗机构用药行为的影响 王 云, 宋沈超(260)
- 贵阳市农村初中学生膳食营养状况调查 冯光霞, 王时敏, 贾沛茹, 等(264)
- 子宫内膜异位症与 TNF- β G252A 基因的相关性研究 余鸿标, 姚吉龙(267)
- 真皮下血管网皮瓣成活质量的实验研究 苗雨露, 梁 杰(270)

临床研究

- 青年和老年乳腺癌临床病理特征比较 张 馨, 杨海松, 毛大华, 等(274)
- 老年人前牙慢性根尖炎一次法根管治疗术的疗效观察 官 丹, 陶 杰, 闫玉东, 等(277)
- 成分输血培训教育对血浆临床合理使用率的影响 任 民, 丁显平(281)
- 脑脊液流式细胞术检测非霍奇金淋巴瘤中枢神经系统受累的价值 陈梦翔, 黄韵红, 胡云飞, 等(283)
- 辅助放化疗在 I ~ II 期乳腺癌保乳术后的治疗效果 罗代琴, 冉 立, 常建英, 等(288)

盐酸多奈哌齐联合尼莫地平治疗血管性痴呆的疗效 王 璐,付 蓉,赵 晶,等(291)

右美托咪定用于七氟醚诱导气管插管时血流动力学及 BIS 的变化 咸淑悦,周妙苗,马 敏,等(294)

药物结合心理干预对高血压患者血压、抑郁情绪和生活满意度的影响 张石磊,王 栋,权 伟(297)

乙酰半胱氨酸片辅助治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期的效果和作用机制
..... 洪克付,王士国,邓爱华(301)

hFAM92A1 在人宫颈癌细胞不同周期时相的表达 方 娟,王 珺,龚 坚,等(304)

重组人生长激素对老年胸外伤患者蛋白质代谢及免疫功能的影响 何 鹏,周青山(307)

单纯性主动脉瓣关闭不全患者主动脉夹层的治疗 刘 萍(310)

瑞芬太尼联合七氟烷对小儿麻醉苏醒期躁动的效果 周海东(313)

教学法研究

医学院校不同专业毕业生医学人文素质调查分析 彭安辉,胡洪瑞,刘 丽,等(316)

病例报道

儿童肺吸虫脑病 1 例 田 宜,艾 戎(319)

肠痿病人因 VitB1 缺乏引起的韦尼克脑病 1 例 耿维凤,李 明(321)

长期误诊的疣状皮肤结核 1 例 沙璐莹,汪 宇,魏羽佳(323)

临床医学论文中“°”与“度”的正确使用 (233)

一条参考文献 3 处著录差错 (256)

连续性数据分组的正确表示 (290)

关于医学符号的使用 (315)

《贵阳医学院学报》简介 (封二)

《贵阳医学院学报》稿约 (封三)

《贵阳医学院学报》编委会名单 (封四)

JOURNAL OF GUIYANG MEDICAL COLLEGE

Vol. 40 No. 3 2015

CONTENTS IN BRIEF

- Analysis of the 14 bp Insertion/Deletion Polymorphism in Human Leukocyte Antigen-G Gene in Chinese Buyi, Shui, and Miao Ethnic Groups in Guizhou Province
..... HE Yan, ZHAO Xiaomei, ZUO Ya, et al(217)
- Study on Association of *ESR α* *Pvu* II and T29C Gene Polymorphism with Susceptibility to Hepatitis B Virus Infection in Libo Minority Population of Guizhou Province
..... ZUO Ya, HE Yan, ZHAO Xiaomei, et al(222)
- Analysis on Eight Hematological Parameters of the Minority Nationality in Libo District of Guizhou Province ZHAO Xiaomei, HE Yan, ZHANG Ting, et al(225)
- Establishment of IL-31RA Gene Knockout Homozygous Mice Model
..... JIANG Tao, GAO Jing, YUE Huan, et al(229)
- The Expression of PEDF and VEGFR-2 in Patients with Non-small Cell Lung Cancer
..... WANG Shijun, HUANG Li, XIE Tingting, et al(234)
- Inhibitory Effect of Absorbable Anti-adhesion Fluid on Experimental Abdominal Adhesions in Rats
..... FU Lingyun, LIU Xiaohong, WEN Bo, et al(237)
- The Expression of CD4, CD8 and IL-2 in Gastric Antrum of Heroin-dependent Rats in Different Periods
..... XIA Baijuan, LI Yixin, HONG Yan, et al(241)
- The Influence of Blueberry on Heme Oxygenase-1 Expression and Antioxidant Ability of Mice with Alcoholic Fatty Liver Disease HUANG Chao, REN Tingting, WANG Yuping, et al(245)
- Investigation on Symbiosis of *Mycoplasma hominis* in *Trichomonas vaginalis* in Some Areas of Guizhou Province KUANG Guirong, YI Fengyun, YANG Yujian, et al(249)
- Effects of Melamine on Semen Quality in Male Mice
..... XIA Fengqiong, HUANG Jian, YANG Guozhen(253)
- Establishment of Pregnant Mice Infection Model with Prugniaud Strain of *Toxoplasma gondii*
..... CHENG Shuqiang, WANG Zhengrong (257)
- The Effect of Implementation of National Essential Drugs System on Drug Taking Behavior of Grassroots Medical Institutions WANG Yun, SONG Shenchao(260)
- Survey on Nutrition Status of Junior High School Students in Rural Area of Guiyang
..... FENG Guangxia, WANG Shimin, JIA Peiru, et al(264)

The Relationship between Endometriosis and TNF- β G252A Gene	YU Hongbiao, YAO Jilong(267)
An Experimental Study on Survival Quality of Subdermal Vascular Network Flap	MIAO Yulu, LIANG Jie(270)
Comparative Study of Clinical and Pathological Characteristics of Breast Cancer of Young and Senior Patients	ZHANG Xin, YANG Haisong, MAO Dahua, et al(274)
The Curative Effect of Single Visit Root Canal Therapy in Elderly Chronic Periapical Inflammation of Anterior Teeth	GONG Dan, TAO Jie, YAN Yudong, et al(277)
The Effect of Blood Component Transfusion Training on Rational Clinical Use of Plasma	REN Min, DING Xianping(281)
The Values of CSF Flow Cytometry in Detecting CNS Involvement in the Non-Hodgkin's Lymphomas	CHEN Mengxiang, HUANG Yunhong, HU Yunfei, et al(283)
Application of Adjuvant Chemoradiation in Breast Cancer with Stage I ~ II after Breast Conservative Surgery	LUO Daiqin, RAN Li, CHANG Jianying, et al(288)
The Curative Effect of Donepezil Combined with Nimodipine in the Treatment of Vascular Dementia	WANG Lu, FU Rong, ZHAO Jing, et al(291)
Effect of Dexmedetomidine on the Hemodynamic and BIS during Anesthetic Induction with Sevoflurane and Tracheal Intubation	XIAN Shuyue, ZHOU Miaomiao, MA Min, et al(294)
Effect of Antihypertensive Drugs Combined with Psychological Intervention on the Blood Pressure, Depres- sive Emotion and Life Satisfaction of Hypertension Patients	ZHANG Shilei, WANG Dong, QUAN Wei(297)
Treatment Efficacy of Fluimucil in Adjuvant Treatment of Acute Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmo- nary Disease and the Effects on Oxidative Stress, Pulmonary Function	HONG Kefu, WANG Shiguo, DENG Aihua(301)
Expression of hFAM92A1 in Different Cell Cycle Time Phases of Human Cervical Carcinoma HeLa Cells	FANG Juan, WANG Jun, GONG Jian, et al(304)
The Influence of Recombinant Human Growth Hormone on Protein Anabolism and the Immunologic Function in Elderly Thoracic Trauma Patients	HE Peng, ZHOU Qingshan(307)
Clinical Treatment of Aortic Dissection Characterized by Pure Aortic Regurgitation	LIU Ping(310)
The Effect of Remifentanyl Combined with Sevoflurane on Pediatric Anesthesia Emergence Delirium	ZHOU Haidong(313)

贵州省3个少数民族 *HLA-G* 基因 14 bp 插入/缺失的多态性研究*

何 燕, 赵孝梅, 左 娅, 张 婷, 邓 婕, 吴昌学, 禹文峰, 官志忠**

(贵阳医学院 分子生物学重点实验室, 贵州 贵阳 550004)

[摘 要] 目的: 了解贵州省3个少数民族(布依族、水族、苗族)群体人类白细胞抗原-G(*HLA-G*)基因 14 bp 插入/缺失多态性的分布规律及其与遗传背景之间的关系。方法: 采用 PCR 扩增、电泳及测序的方法对来自贵州地区的布依族、水族、苗族共 344 例健康个体 DNA 进行 *HLA-G* 基因 14 bp 插入/缺失多态性检测, 并与文献报道的仡佬族、壮族等 13 个民族群体的 *HLA-G* 基因 14 bp 插入/缺失多态性分布数据进行对比。结果: 布依族、水族和苗族人群的 +14 bp 等位基因频率分别为 23.7%、26.0% 和 38.1%, +14 bp/+14 bp 基因型频率分别为 9.40%、10.4% 和 15.9%, 14 bp 插入频率比较示布依族和苗族差异有统计学意义($\chi^2 = 11.345, P = 0.001$), 苗族与水族差异有统计学意义($\chi^2 = 6.125, P = 0.009$)而布依族和水族间比较差异无统计学意义($P > 0.017$); 与其他人群数据比较, 苗族群体的 14 bp 插入/缺失分布与其他人群相似, 而作为壮侗语族的布依族、水族则有自己独特的 14 bp 插入/缺失分布规律。结论: 布依族、水族人群的 14 bp 插入/缺失分布相似, 但是与苗族人群的分布存在一定的差异。

[关键词] 基因, *HLA-G*; 14 bp 插入/缺失多态; 布依族; 水族; 苗族; 贵州

[中图分类号] R394; R34-33; RZ273 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0217-05

Analysis of the 14 bp Insertion/Deletion Polymorphism in Human Leukocyte Antigen-G Gene in Chinese Buyi, Shui, and Miao Ethnic Groups in Guizhou Province

HE Yan, ZHAO Xiaomei, ZUO Ya, ZHANG Ting, DENG Jie, WU Changxue, YU Wenfeng, GUAN Zhizhong
(The Key Laboratory of Molecular Biology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the distribution of *HLA-G* gene 14 bp insertion/deletion polymorphism in Buyi, Shui and Gelao populations and their relationship with genetic background. **Methods:** PCR amplification, agarose gel electrophoresis and sequencing were used to explore the distribution of 14 bp insertion/deletion in *HLA-G* gene in 344 healthy people of these three ethnic groups, and the data were compared with that of 13 ethnic groups such as Gelao, Zhuang reported in the literature. **Results:** The frequencies of +14 bp in Buyi, Shui and Miao were 23.7%, 26.0% and 38.1% respectively. The genotype frequencies of +14 bp/+14 bp in Buyi, Shui and Miao were 9.40%, 10.4% and 15.9% respectively. The differences of 14 bp insertion frequencies between Buyi and Miao, between Miao and Shui were statistically significant ($P < 0.05$), while no significant difference was found between Buyi and Shui ($P > 0.05$). When compared with other groups, the distribution characteristic of +14 bp insertion/deletion in Miao was similar to them, but Buyi and Shui showed significance difference from others. **Conclusion:** The distribution characteristics of +14 bp insertion/deletion in Buyi is similar to Shui, but they are different from that of Miao.

* [基金项目] 国家“十二·五”科技支撑计划项目 (No: 2013BAI05B03); 贵州省科技厅社会发展攻关项目 [No: SY(2012)3135]

** 通信作者 E-mail: zhizhongguan@yahoo.com

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.0946.011.html>

[Key words] gene, *HLA-G*; + 14 bp insertion/deletion polymorphism; Buyi people; Shui people; Miao people; Guizhou

人类白细胞抗原-G(*HLA-G*)是非经典的 *HLA* I 类分子,位于 6 号染色体 *HLA-A* 端粒侧。*HLA-G* 基因的多态性水平较其它经典的 *HLA* I 类分子低,目前研究最多的是 14 bp 插入/缺失等位基因多态性。14 bp 插入/缺失多态性与各种原因引起的复发性流产、重度子痫前期、溃疡性结肠炎、系统性红斑狼疮及一些慢性炎症性疾病等的发病及进展有关^[1-6]。*HLA-G* 基因 14 bp 插入/缺失的多态性不仅与种族有关,还与民族起源相关^[7-8]。遗传背景会影响基因频率在群体中的分布,而遗传背景不同所造成的群体分层现象会导致一些研究(尤其是病例-对照研究)中假阳性结果的出现^[9-11]。本文选择同为汉藏语系的布依族、水族和苗族为研究对象,检测该群体健康个体的 14 bp 插入/缺失多态性分布频率,并结合文献,与仡佬族、壮族、傣族、毛南族、布朗族、佤族、基诺族、哈尼族、土族、裕固族、怒族、云南汉族、浙江汉族共 13 个民族群体进行对比,分析 14 bp 插入/缺失多态性和群体遗传背景的相互关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

根据知情同意原则,采集贵州省 3 个少数民族(布依族、苗族、水族)群体共 344 例健康无亲缘关系个体外周血 2~5 mL,用于 *HLA-G* 基因 14 bp 插入/缺失多态性分析。采样时,追溯采血对象 3 代以上均为本民族,以保证其代表性。

1.2 *HLA-G* 基因 14 bp 插入/缺失多态性检测

采用 QIAGEN 外周血 DNA 提取试剂盒提取 DNA,DU640 型核酸蛋白分析仪测定 DNA 浓度,琼脂糖凝胶电泳检测基因组 DNA 完整性,样品 DNA 稀释至 100 mg/L, -20℃ 保存备用。用 Primer Premier 5.0 软件设计 PCR 引物,上游系列为 5'-CCCTCACTGTGACTGATATG-3',下游系列为 5'-CAAAGAGGAGTCAGGGTTC-3'。25 μL PCR 扩增体系组成为 10 × buffer 2.5 μL,25 mmol/L MgCl₂ 1.5 μL,4 × dNTP(每种 2.5 mmol/L)2.0 μL, *Taq* DNA 聚合酶 1.25 U,10 μmol/L 上下游引物各 1 μL,模板 DNA 100 ng。PCR 扩增条件为:94℃ 变性 40 s,55℃ 退火 40 s,72℃ 延伸 40 s,30 次循环。PCR

产物经 3% 琼脂糖凝胶电泳及溴化乙啶染色后在凝胶成像仪上检测并记录结果。

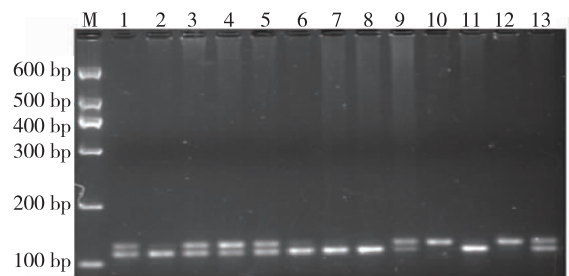
1.3 数据统计

计数该群体的基因型频率和相应的等位基因频率,用 Pypop0.7.0 软件对各群体进行 Hardy-Weinberg 平衡检验(Hardy-Weinberg Equilibrium, HWE),群体间等位基因频率比较用 SPSS 17.0 软件进行 χ^2 检验。

2 结果

2.1 14 bp 插入基因型判定

扩增产物为 134 bp 的单一一条带,基因型为 14 bp 插入型纯合子(+14 bp/+14 bp);扩增产物为 106 bp 单一一条带的为 14 bp 缺失型纯合子(-14 bp/-14 bp);两种条带均有为杂合子(+14 bp/-14 bp),如图 1。扩增的产物经纯化后测序,并将结果在 NCBI Blast 中进行比对,结果显示插入的 14 bp 片段的基因序列为 ATTTGTTCATGCCT,且该序列与 *HLA-G* 基因的 Exon8 的序列一致,说明本研究的分型方法可靠,见图 2。



注:M 为 DNA Mark I,1、3、4、5、9、13 为杂合子(+14 bp/-14 bp),2、6、7、8、11 为缺失型纯合子(-14 bp/-14 bp),10、12 为插入型纯合子(+14 bp/+14 bp)

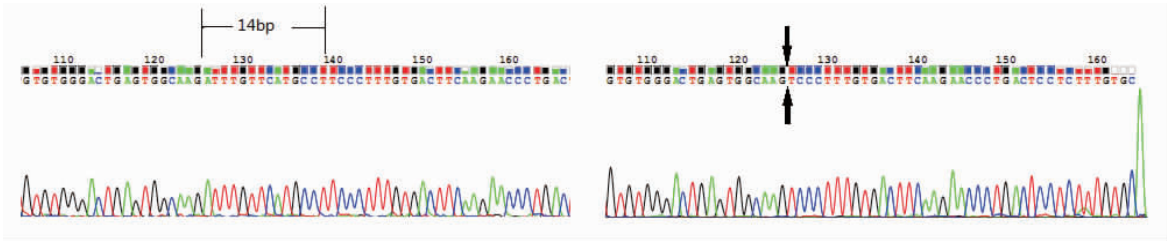
图 1 *HLA-G* 基因 PCR 扩增产物琼脂糖凝胶电泳图

Fig. 1 The agarose gel electrophoresis figure of *HLA-G* gene PCR products

2.2 民族群体中 *HLA-G* 14 bp 插入/缺失的等位基因、基因型频率和 Hardy-Weinberg 平衡检验

3 个民族(布依族、苗族、水族)群体的 14 bp 插入(+14 bp)等位基因频率分别为 0.237、0.381、0.260;+14 bp/-14 bp 基因型频率分别为 0.381、0.443、0.313;-14 bp/-14 bp 基因型频率分别为

0.525、0.398、0.583；+14 bp/+14 bp 基因型频率分别为 0.094、0.159、0.104；Hardy-Weinberg 平衡检验结果显示 3 个群体基因型频率均符合 Hardy-Weinberg 平衡,说明样品具有代表性。见表 1。



注:左图为含 14 bp 插入的基因序列图,插入的 14 bp 序列为 ATTTGTTTCATGCCT;右图为 14 bp 缺失的基因序列图,如图箭头所指出为 14 bp 缺失的位置

图 2 *HLA-G* 基因 Exon8 PCR 扩增产物测序图

Fig. 2 Sequence figures about the PCR products of the *HLA-G* gene Exon8 region

表 1 不同民族群体 *HLA-G* 基因 14 bp 插入/缺失基因型、等位基因频率及 Hardy-Weinberg 检验

Tab. 1 The genotype and allele frequencies of *HLA-G* gene 14 bp insertion/deletion polymorphism and Hardy-Weinberg test in different groups

民族群体	<i>n</i>	基因型频率			等位基因频率		HWE <i>P</i>	来源(文献)
		+14 bp/+14 bp	+14 bp/-14 bp	-14 bp/-14 bp	+14 bp	-14 bp		
布依族	160	15(0.094)	61(0.381)	84(0.525)	76(0.237)	244(0.763)	0.423	本研究
苗族	88	14(0.159)	39(0.443)	35(0.398)	67(0.381)	109(0.619)	0.573	本研究
水族	96	10(0.104)	30(0.313)	56(0.583)	50(0.260)	142(0.740)	0.191	本研究
仡佬族	174	14(0.800)	89(0.511)	71(0.408)	117(0.336)	231(0.663)	0.062	[12]
壮族	107	10(0.093)	40(0.374)	57(0.533)	30(0.280)	77(0.720)	0.474	[8]
傣族	122	10(0.082)	58(0.475)	54(0.443)	78(0.320)	166(0.680)	0.404	[13]
毛南族	96	12(0.125)	42(0.438)	42(0.438)	66(0.344)	126(0.656)	0.821	[8]
布朗族	116	24(0.207)	61(0.526)	31(0.267)	111(0.470)	125(0.530)	0.708	[8]
佤族	106	40(0.377)	49(0.463)	17(0.160)	129(0.609)	83(0.391)	0.84	[8]
基诺族	103	33(0.320)	44(0.427)	26(0.252)	110(0.534)	96(0.466)	0.166	[8]
哈尼族	147	37(0.252)	69(0.469)	41(0.279)	143(0.486)	151(0.514)	0.625	[8]
云南汉族	103	18(0.175)	48(0.466)	37(0.359)	85(0.408)	123(0.592)	0.84	[13]
浙江汉族	640	97(0.152)	322(0.503)	221(0.345)	516(0.403)	764(0.597)	0.512	[14]
土族	65	16(0.246)	26(0.400)	23(0.354)	58(0.446)	72(0.554)	0.133	[15]
裕固族	101	15(0.149)	46(0.455)	40(0.396)	76(0.376)	126(0.624)	0.833	[15]
怒族	110	20(0.182)	49(0.445)	41(0.373)	89(0.405)	131(0.595)	0.432	[15]

2.3 *HLA-G* 基因 14 bp 插入频率

3 个民族群体 *HLA-G* 基因 14 bp 插入频率的比较采用 χ^2 检验,结果经 Bonferroni 校正后,取 $P < 0.017$ 为差异具有显著的统计学意义。结果显示布依族和苗族差异有统计学意义($\chi^2 = 11.345, P = 0.001$);苗族与水族差异有统计学意义($\chi^2 = 6.125, P = 0.009$)而布依族和水族间比较差异无统计学意义($P > 0.017$)。见表 2。

2.4 16 个不同语族的民族群体的 *HLA-G* 14 bp 插入/缺失频率

结合已有报道的仡佬族、壮族、傣族、毛南族、布朗族、佤族、基诺族、哈尼族、土族、裕固族、怒族、

表 2 3 个民族群体的 14 bp 插入频率的 χ^2 检验配对比较

Tab. 2 The Chi-square test with paired comparison of 14 bp insertion frequency in three ethnic groups

民族群体	布依族(160)		苗族(88)		水族(96)	
	χ^2	<i>P</i>	χ^2	<i>P</i>	χ^2	<i>P</i>
布依族(160)						
苗族(88)	11.345	0.001				
水族(96)	0.34	0.222	6.125	0.009		

注: $P < 0.017$ 为有显著性差异,括号中数字代表所选择的该民族群体中所含的个体数

云南汉族、浙江汉族共 13 个民族群体的 *HLA-G* 14 bp 插入/缺失多态性分布数据^[12-15], 将 16 个民族群体按语系语族的不同分为 6 组, 见表 3。再对这 6 个组进行 14 bp 插入频率的 χ^2 检验, 结果经 Bonferroni 校正后, 取 $P < 0.003\ 3$ 为差异具有统计

学意义。结果显示汉藏语系壮侗语族与其余 5 个语族之间两两比较差异有统计学意义($P < 0.003\ 3$), 汉藏语系藏缅语族与汉藏语系汉语支比较差异有统计学意义($P = 0.001$), 其余各组间比较差异无统计学意义($P > 0.003\ 3$), 见表 4。

表 3 16 个民族群体的语系语族分组

Tab. 3 The family grouping about language branch in 16 ethnic groups

语系	语族	民族	分组名称
汉藏语系	壮侗语族	壮族、傣族、布依族、水族、毛南族、仫佬族	汉藏语系壮侗语族
	藏缅语族	怒族、哈尼族、基诺族	汉藏语系藏缅语族
	苗瑶语族	苗族	汉藏语系苗瑶语族
	汉语支	云南汉族、浙江汉族	汉藏语系汉语支
阿尔泰语系	蒙古语族	裕固族、土族	阿尔泰语系蒙古语族
南亚语系	孟高棉语族	佤族、布朗族	南亚语系孟高棉语族

表 4 6 个不同语族群体 *HLA-G* 基因 14 bp 插入等位基因频率

Tab. 4 14 bp insertion allele frequency of *HLA-G* gene in six ethnic groups

语系语族	汉藏语系 壮侗语族	汉藏语系 藏缅语族	汉藏语系 苗瑶语族	汉藏语系 汉语支	阿尔泰语系蒙 古语族	南亚语系孟 高棉语族
汉藏语系壮侗语族						
汉藏语系藏缅语族	<0.001					
汉藏语系苗瑶语族	0.003	<0.001				
汉藏语系汉语支	<0.001	0.001	0.3			
阿尔泰语系蒙古语族	<0.001	0.018	0.342	0.515		
南亚语系孟高棉语族	<0.001	0.491	0.018	0.004	0.024	

注: $P < 0.003\ 3$ 为差异有统计学意义

3 讨论

我国是一个多民族国家, 历史悠久, 各民族都形成了自己的民族文化和生活习俗。少数民族人口虽少, 但分布很广。由于地理环境和历史发展的原因, 多数少数民族仍然居住在较封闭的环境中, 成为一个遗传学上相对隔离的群体, 所以少数民族群体的遗传背景相对单纯, 这对进行人类遗传多样性分析以及遗传疾病基因定位研究具有一定的优势^[12-15]。

本研究选取贵州省黔东南地区的布依族、水族、苗族 3 个同为汉藏语系的民族进行 *HLA-G* 基因 14 bp 插入/缺失的 χ^2 配对比较, 结果显示苗族 14 bp 插入频率分别与布依族、水族比较差异有统计学意义, 而布依族和水族之间则无统计学意义。原因可能是布依族和水族同为汉藏语系壮侗语族, 都是由古代的“百越”族群发展而来, 多居于贵州黔南一带, 两个群体遗传背景相似; 而苗族属于汉

藏语系苗瑶语族, 在发展过程中由于多方面的原因导致其与布依族、水族之间遗传背景存在一定的差异^[12]。因此, 可以认为 *HLA-G* 基因 14 bp 插入频率可能因语族不同而有所差异, 这与 Tao Y 等^[8]的研究结果相吻合。

本研究对来自 6 个不同语族群体的 16 个少数民族群体的 *HLA-G* 基因 14 bp 插入/缺失多态性进行研究, 结果表明: (1) 在汉藏语系当中藏语族 14 bp 插入频率(0.405 ~ 0.534)^[8] 最高, 其次是汉语族(浙江汉族和云南汉族, 0.403 ~ 0.408^[13-14]) 和苗瑶语族(苗族, 0.381), 最低是壮侗语族(壮族、傣族、布依族、水族、毛南族、仫佬族, 0.260 ~ 0.344^[8, 12-13]); 各语族之间比较 14 bp 插入频率, 苗瑶语族(0.381) 与汉语族(0.403 ~ 0.408) 接近, 均低于藏语族(0.405 ~ 0.534), 同时该 3 个语族 14 bp 插入频率均高于壮侗语族(0.260 ~ 0.344) 差异有统计学意义。(2) 作为阿尔泰语系蒙古语族的土族、裕固族 14 bp 插入频率(0.376 ~ 0.446)^[15] 与南亚语系孟高棉语族的布朗族、佤族

(0.470 ~ 0.609)^[8] 接近;且均高于汉藏语系各语族,但只与壮侗语族(0.260 ~ 0.344)差异有统计学意义。根据如上的结果可以看出 *HLA-G* 基因 14 bp 插入频率具有语系及语族的分布特点^[15]。汉族群体 14 bp 插入频率与苗族群体、阿尔泰语系蒙古语族群体、南亚语系孟高棉语族群体均接近,原因可能是随着时代的发展,人们思想观念逐渐开放、经济条件日益好转、交通设施逐渐完善,使得各民族之间的交流逐渐增多,形成了一个“大杂居,小聚居”的局面,进一步地促进各民族之间的交流与融合。有研究者指出岭南和西南地区的越人,有的较早与汉族融合,已经逐渐演变形成今天的一些兄弟民族,这些兄弟民族就是属于汉藏语系壮侗语族的各民族^[16]。经过数百年的演变,百越与外族的交流融合已经是一个非常复杂的过程,既有外族成分融入百越,又不断有百越的成分流向外族,这使得百越族演变而成的这些民族群在不断的演变与进化过程中形成了自己独特的遗传背景,这可能是壮侗语族 14 bp 插入频率较本研究中提到的其余语族群体较低的一个原因。

本研究结果显示 3 个少数民族群体(布依族、水族、苗族)的基因型和等位基因分布与其他群体的分布有相同的趋势,在同一研究群体中基因型(+14 bp/+14 bp)频率和 +14 bp 等位基因频率都较低。与其它群体数据比较发现,苗族群体 14 bp 插入/缺失的分布与其他群体相似,而布依族和水族则有自己独特的等位基因和基因型分布规律,推测可能与其独特的遗传背景相关。

4 参考文献

- [1] Tripathi P, Abbas A, Naik S, et al. Role of 14-bp deletion in the *HLA-G* gene in the maintenance of pregnancy [J]. *Tissue Antigen*, 2004(6):706-710.
- [2] 邵剑春, 胡大春, 陈俊. *HLA-G* 14 bp 基因多态性及 *HLA-G* mRNA 表达水平与原因不明复发性流产的关系[J]. *实用妇产科杂志*, 2011(9):698-701.
- [3] 张展, 王婧彦, 张琳琳, 等. 人类白细胞抗原 G 基因 14 bp 缺失多态性与重度子痫前期发病的关系[J]. *中华妇产科杂志*, 2010(5):348-352.
- [4] 涂频, 张新华, 周航波, 等. 溃疡性结肠炎和克罗恩病的临床病理特征及 *HLA-G* 在其鉴别诊断中的应用[J]. *诊断病理学杂志*, 2008(3):165-168.
- [5] 吴凤霞, 武丽君, 罗雄燕, 等. 人白细胞抗原 G14 bp 插入/缺失多态性和血浆可溶性人白细胞抗原 G 表达水平与系统性红斑狼疮的相关性研究[J]. *中华临床医师杂志*, 2010(2):144-149.
- [6] 徐丹萍, 林爱芬, 颜卫华. *HLA-G* 与慢性炎症性疾病的研究进展[J]. *中华微生物学和免疫学志*, 2014(7):554-559.
- [7] 马薇, 周昌菊. *HLA-G* 多态性在生殖领域的研究进展[J]. *国际病理科学与临床杂志*, 2006(3):259-262.
- [8] Tao Y, Chen J, Yao Y, et al. Distribution of *HLA-G* -14 bp insertion/deletion polymorphism in six Chinese ethnic groups[J]. *Int J Immunogenet*, 2013(2):93-98.
- [9] Price AL, Zaitlen NA, Reich D, et al. New approaches to population stratification in genome-wide association studies[J]. *Nat Rev Genet*, 2010(7):459-463.
- [10] McEvoy BP, Montgomery GW, McRae AF, et al. Geographical structure and differential natural selection among North European population[J]. *Genome Res*, 2009(5):804-814.
- [11] Ripa J, Dieckmann U. Mutant invasions and adaptive dynamics in variable environments [J]. *Evolution*, 2013(5):1279-1290.
- [12] 孙倩倩, 黎明, 孙良先, 等. 水族和仡佬族 *HLA-G* 基因 14bp 插入/缺失多态性与其遗传背景的相互关系[J]. *中国优生与遗传杂志*, 2013(21):11-14.
- [13] 陈金宝, 史磊, 姚宇峰, 等. 云南傣族、汉族 *HLA-G* 基因 14 bp 插入/缺失多态性研究[J]. *遗传*, 2010(6):577-582.
- [14] Yan WH, Lin A, Li M, et al. Analysis of the 14 bp insertion and deletion polymorphism in Human leukocyte antigen-G gene in two Chinese ethnic populations. *Tissue Antigens*, 2008(3):227-233.
- [15] 张华, 陶玉芬, 史磊, 等. 中国 4 个民族群体 *HLA-G* 基因 14 bp 插入/缺失多态的分布特征及其 *HLA-A* 位点的相关性[J]. *遗传*, 2013(2):161-167.
- [16] 李月英. 百越族系民族及其文化特征[J]. *今日民族*, 2007(12):30-34.

(2015-01-09 收稿, 2015-02-25 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 周 凌

荔波少数民族人群 HBV 感染与 $ESR\alpha$ 基因 Pvu II 和 T29C 位点基因多态性研究*

左 娅**, 何 燕***, 赵孝梅, 张 婷, 王婵娟, 禹文峰, 官志忠

(贵阳医学院 分子生物学重点实验室, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 了解贵州荔波少数民族人群雌激素受体($ESR\alpha$)基因 Pvu II 位点和 T29C 位点多态性与乙型肝炎病毒(HBV)易感性的关系。方法: 选取贵州荔波县少数民族健康对照 91 例和 HBsAg 携带者 80 例, 采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)方法测定受检者基因组中 $ESR\alpha$ 基因 Pvu II 和 T29C 位点多态性, 分析两位点多态性与 HBV 易感性的关系。结果: 在荔波少数民族健康对照组和 HBsAg 携带组中均检出 $ESR\alpha$ 基因 Pvu II 和 T29C 位点 3 种基因型, 但 3 种基因频率和等位基因频率在两组间分布差异无统计学意义($P>0.05$)。结论: $ESR\alpha$ 基因的 Pvu II 和 T29C 基因多态性与荔波少数民族人群中乙肝感染无关。

[关键词] 少数民族; 基因; 雌激素受体; 乙型肝炎; 携带者; 感染; 多态性; 贵州荔波

[中图分类号] R394; R34-33; RZ273 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0222-03

Study on Association of $ESR\alpha$ Pvu II and T29C Gene Polymorphism with Susceptibility to Hepatitis B Virus Infection in Libo Minority Population of Guizhou Province

ZUO Ya, HE Yan, ZHAO Xiaomei, ZHANG Ting, WANG Chanjuan, YU Wenfeng, GUAN Zhizhong
(The Key Laboratory of Molecular Biology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** Analysis on the correlation of the polymorphism of estrogen receptor ($ESR\alpha$) gene Pvu II and T29C loci with hepatitis B virus (HBV) infection in Libo minority population of Guizhou province. **Methods:** Polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP) technique was used to analyze the polymorphism of Pvu II and T29C loci in 91 healthy controls and 80 HBsAg carriers, the correlation of these two loci with susceptibility to HBV was analyzed. **Results:** Three genotypes of $ESR\alpha$ Pvu II and T29C loci were detected in both control group and HBsAg group. Between two groups, the three kinds of gene frequency and allele frequency distribution showed no statistical difference ($P>0.05$). **Conclusions:** The Pvu II and T29C loci gene polymorphism of ESR is not associated with HBV susceptibility in Libo minority nationality.

[Key words] ethnic minorities; gene; estrogen receptor; hepatitis B; carries; infection; polymorphism; Guizhou, Libo

全球约有 4 亿人为乙型肝炎病毒(HBV)携带者, 每年约有 25 万人死于慢性肝炎、肝硬化和肝细胞癌^[1-3]。HBV 感染的慢性化是一个多因素的结果, 除与 HBV 的变异、宿主的年龄、性别和免疫状

态等有关外, 机体遗传基因的多态性可能也是导致 HBV 感染慢性化的另一个重要原因^[4]。雌激素主要通过与其受体 α (estrogen receptor α , $ESR\alpha$) 结合发挥作用^[5-7], 而 $ESR\alpha$ 基因突变会导致雌激素

*[基金项目] 国家“十二·五”科技支撑计划项目(No:2013BAI05B03); 贵州省科技厅社会发展攻关项目[No:sy(2012)3135]

** 贵阳医学院 2010 级生物技术专业本科生

*** 通信作者 E-mail: annieheyan@gmc.edu.cn

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.0943.010.html>

素功能的下降,引起 HBV 感染人群不同的遗传易感性^[8],贵州是一个多民族省份,少数民族人口众多,且大多聚居于较封闭偏远的山区,形成了遗传学上相对隔离的人群。选用这样相对封闭的隔离自然人群作为研究对象,可以最大限度的排除基因流(gene flow)现象对该人群等位基因频率、基因型频率的影响,对多基因疾病研究具有独特的优势。

1 对象与方法

1.1 研究对象

按照知情同意原则,随机对贵州省荔波县少数民族进行问卷调查和抽样分析,根据乙肝血清标志物、肝功能指标及 HBV 病毒 DNA 定量结果分别选取健康对照 91 例,男性 45 例,女性 46 例,(47.8 ± 1.57)岁;HBsAg 携带者 80 例,男性 41 例,女性 39 例,(48.5 ± 1.42)岁。所选的研究对象 3 代内无族外通婚史,彼此间无直接血缘关系,性别、年龄匹配,无乙型肝炎疫苗接种史。

1.2 全血 DNA 提取与定量

采用 Qiagen 公司的 FlexiGene DNA 提取试剂盒提取全血 DNA;紫外吸收法测定 DNA 浓度,并标化 DNA 模板浓度为 100 mg/L。

1.3 *ESRα* 基因 *Pvu* II 和 T29C 多态性位点基因扩增

采用聚合酶链式反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)法,根据 GenBank 中 *ESRα* 基因 *Pvu* II 和 T29C 多态性位点的基因序列,设计 *Pvu* II 多态位点引物,上游系列为 5'-TCTCCACCT-CAGCCTTAC-3',下游系列为 5'-ACCAATGCTC ATCCCAAC-3',扩增产物长为 448 bp。参照文献[9]设计 T29C 多态位点引物,上游系列为 5'-GACCATGACCCTCCACACCAAAGGA TC-3',下游系列为 5'-ACCGTAGACCTGCGCGTTG-3',扩增产物长 218 bp。引物由上海生物工程技术有限公司合成。反应采用 Touch-down PCR 法:94 °C 变性 40 s、62 °C 退火 50 s(每个循环降低 0.5 °C)、72 °C 延伸 40 s,扩增 14 个循环后改为 94 °C 变性 40 s、55 °C 退火 50 s、72 °C 延伸 40 s 继续 20 个循环。PCR 扩增产物用 2% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.4 PCR 产物的酶切

ESRα 基因 *Pvu* II、T29C 位点 PCR 产物分别以限制性核酸内切酶 *Pvu* II、*Msp* I 酶切,37 °C 恒温水浴过夜,酶切产物用 2.0% 琼脂糖凝胶电泳分离、鉴定。

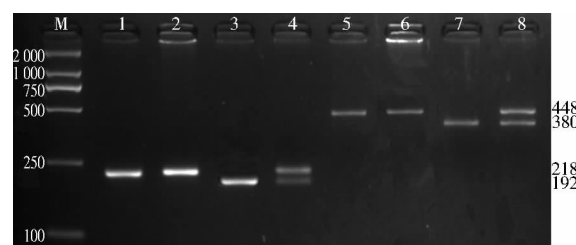
1.5 统计学方法

以 Hardy-Weinberg 平衡吻合度检验确定对照组遗传平衡状况,根据 PCR-RFLP 结果确定样本的基因型,用直接计数法计算基因型频率和等位基因频率;SPSS 19.0 统计软件的 χ^2 检验分析各基因型在 2 组人群中的分布。

2 结果

2.1 *ESRα* 基因 *Pvu* II 和 T29C 位点

PCR-RFLP 结果显示 *ESRα* 基因 *Pvu* II 位点的扩增产物长度为 448 bp,每例样本的目的条带清晰,适于后续 PCR 产物的 *Pvu* II 酶切反应。若 *ESRα* 基因 *Pvu* II 位点未发生突变,为野生型 CC,不产生酶切位点(仅见 448 bp 片段);若由野生型 C 突变成 T,为突变型 TT 片段中产生酶切位点,酶切后观察到 380 bp、68 bp 为突变型 TT,观察到 448 bp、380 bp、68 bp 3 个片段为杂合型 CT;因 68 bp 片段较小不易观察,故不作为观察项(见图 1)。*ESRα* 基因 T29C 位点的扩增产物长度 218 bp,每例样本的目的条带清晰,适于后续 PCR 产物的 *Msp* I 酶切反应。*ESRα* 基因 T29C 位点若为野生型 TT,无 *Msp* I 酶切位点(仅见 218 bp);若由野生型 T 突变成 C,片段中产生 *Msp* I 酶切位点,酶切后可为突变型 CC(观察到 192 bp、26 bp 2 个片段)、或杂合型 TC(观察到 218 bp、192 bp、26 bp 3 个片段);因 26 bp 片段较小不易观察,故不作为观察项。见图 1。



注:*ESRα* 基因 T29C 位点结果为 1、2、3、4,1 为 PCR 扩增产物,2-4 为酶切产物,2 为野生型 TT,3 为突变型 CC,4 为杂合型 TC;*ESRα* 基因 *Pvu* II 位点结果为 5、6、7、8,5 为 PCR 扩增产物,6-8 为酶切产物,6 为野生型 CC,7 为突变型 TT,8 为杂合型 CT

图 1 *ESRα* 基因 *Pvu* II 和 T29C 位点 PCR 扩增产物和酶切产物电泳图

Fig. 1 Electrophoresis of PCR amplification products and enzyme digestion products of *Pvu* II and T29C loci of *ESR* gene

2.2 HBV 感染与 *ESRα* 基因 *Pvu* II 和 T29C 位点的基因型频率和等位基因频率

ESRα 基因 *Pvu* II 和 T29C 位点基因型频率和

等位基因频率在贵州少数民族健康对照组和 HBsAg 携带组中的分布差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1,表 2。

表 1 HBV 感染与 *ESRα* 基因 *Pvu* II 多态性

Tab.1 Analysis on the polymorphism of *ESRα* gene *Pvu* II locus and HBV infection

组数	n	基因型频率(n,%)			等位基因频率(n,%)	
		CC	TC	TT	C	T
健康对照组	91	15(16.5)	40(43.9)	36(39.6)	70(38.5)	112(61.5)
HBV 携带组	80	13(16.3)	34(42.5)	33(41.2)	60(37.5)	100(62.5)
χ^2			0.05			0.03
P			0.97			0.91

表 2 HBV 感染与 *ESRα* 基因 T29C 位点多态性

Tab.2 Analysis on the polymorphism of *ESRα* gene T29C locus and HBV infection

组数	n	基因型频率(n,%)			等位基因频率(n,%)	
		TT	TC	CC	T	C
健康对照组	91	39(42.85)	39(42.85)	13(14.3)	117(64.3)	65(35.7)
HBV 携带组	80	34(42.5)	40(50.0)	6(7.5)	108(67.5)	52(32.5)
χ^2			2.24			0.33
P			0.39			0.57

3 讨论

雌激素受体是存在于靶器官的细胞内、可与激素发生特异性结合而形成激素-受体复合物、是使激素发挥其生物学效应的一种蛋白质分子,至今发现的 ESR 有 *ESRα* 和 *ESRβ* 两种亚型。人体中 *ESRα* 基因定位于第 6 号染色体短臂的第 2 区 5 号带中的第 1 亚带,由 140 kb 碱基构成,编码 595 个氨基酸的蛋白质,包括 8 个外显子和 7 个内含子^[10]。*ESR* 不同的基因型有可能决定不同个体间 ESR 的表达水平与功能差异,从而影响到病原体对宿主的易感性。1993 年,骆抗先等^[11]对中国 7 个民族的 HBV 感染调查发现 HBsAg 具有较高的阳性率,且这些民族间 HBV 感染存在差异。2006 年,谢建萍等^[12]研究发现,*ESRα* 基因 *Pvu* II 位点多态性与 HBV 感染后疾病进展密切相关;2009 年,郜玉峰等^[13]的研究显示 *ESRα* 基因 *Pvu* II 位点 C/T 基因型和 C 等位基因可能是乙型肝炎病毒感染慢性化的遗传易感基因。也有大样本研究发现,*ESRα* 基因 T29C 位点基因多态性与 HBV 持续性感染相关^[13];对甘肃地区人群的 *ESRα* 基因 T29C 位点基因多态性与 HBV 感染转归的研究结果也显示,*ESRα* 基因 T29C 位点 TT 基因型和 T 等位基因可能是 HBV 感染慢性化的遗传易感基因^[14]。但

本次研究结果却显示 *ESRα* 基因 *Pvu* II 和 T29C 位点基因多态性的分布在贵州荔波少数民族 HBV 感染组和健康对照组中差异无统计学意义,这与单可人等^[15]对贵州彝族 *ESRα* 基因 T29C 基因型分布与 HBV 感染研究结果一致,提示不同民族和城乡区域中 *ESRα* 基因 *Pvu* II 和 T29C 位点的分布存在差异,*ESR* 基因 *Pvu* II 和 T29C 位点基因多态性在 HBV 感染的发生发展中起主要作用还是辅助作用,或是协同作用,又或是 *ESR* 基因多态性是否真正与 HBV 感染密切相关,尚有待于进一步大样本的研究证实。

4 参考文献

- [1] Hvanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and eantrol measures [J]. J Viral Hepat, 2004 (2): 97 - 107.
- [2] 巫责成,周卫平,赵有蓉,等. 慢性乙型肝炎患者远期生存质量研究[J]. 中华肝脏病杂志, 2003 (5): 275 - 277.
- [3] 苏勤. 乙型肝炎病毒慢性感染和肝癌发生[J]. 世界华人消化杂志, 2003 (6): 791 - 795.
- [4] Thursz M. Genetic susceptibility in chronic viral hepatitis [J]. Antiviral Res, 2001 (2): 113 - 116.

(下转第 228 页)

贵州省荔波地区少数民族8项血液学指标分析*

赵孝梅**, 何燕***, 张婷, 邓婕, 吴昌学, 禹文峰, 官志忠

(贵阳医学院 分子生物学重点实验室, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 通过对贵州省荔波县的布依族、苗族、水族、瑶族人群的血常规分析, 了解该地区少数民族人群的健康状况及存在的问题。方法: 贵州省荔波县的布依族、苗族、水族及瑶族正常人群872例, 男性369例, 女性503例, 采集静脉血2 mL检测其白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血红蛋白含量(Hb)、红细胞压积(HCT)、红细胞平均压积体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)、血小板计数(PLT)血常规8项指标, 观察8项指标异常情况及在男女性别上差异。结果: 血常规8项指标中WBC、RBC、HCT、MCV及PLT在正常参考范围; 受检者男女各检测指标比较, WBC、RBC、Hb、HCT、MCV及MCH差异有统计学意义($P < 0.05$); 按男女进行各指标异常降低比较, 仅HCT异常减低的检出率在男女间差异有统计学意义($\chi^2 = 18.465, P < 0.01$), 异常增高指标中RBC、Hb、HCT、MCV异常增高检出率在男女间差异有统计学意义(χ^2 为7.183、30.093、17.07、13.379, $P < 0.01$)。结论: 贵州荔波少数民族地区部分血常规指标存在较高异常率, 且存在性别差异, 提示该地区男女健康状况不同, 有必要进行大规模性别相关疾病筛查并建立本地区参考范围。

[关键词] 血液; 血细胞计数; 血小板计数; 血红蛋白测定; 少数民族; 贵州; 荔波

[中图分类号] R446.11; RZ273 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0225-04

Analysis on Eight Hematological Parameters of the Minority Nationality in Libo District of Guizhou Province

ZHAO Xiaomei, HE Yan, ZHANG Ting, DENG Jie, WU Changxue, YU Wenfeng, GUAN Zhizhong
(Key Laboratory of Molecular Biology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To understand the health condition of minority groups of the Libo county of Guizhou province through analysis on routine blood test of the crowd of buyi, miao, shui and yao. **Methods:** A total of 872 cases of normal population of buyi, miao, shui and yao were selected from Libo county of Guizhou province. Venous blood sample was collected to carry out routine blood test: white blood cell (WBC), red blood cell (RBC), hemoglobin (Hb), hematocrit (HCT), mean hematocrit volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH), mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), platelet count (PLT). Abnormal condition of the 8 hematological parameters and the differences between men and women were observed. **Results:** WBC, RBC, HCT, MCV, PLT were in the normal reference range. The differences of RBC, Hb, HCT, MCV and MCH between male and female subjects were statistically significant ($P < 0.01$). There were statistical differences in the HCT abnormal reduction rate between men and women ($\chi^2 = 18.465, P < 0.01$); and there were statistical differences in RBC, Hb, HCT and MCV abnormal increase rates between men and women ($\chi^2 = 7.183, 30.093, 17.07, 13.379, P < 0.01$). **Conclusions:** The abnormal rates of some hematological parameters of minority nationalities in Libo county of Guizhou are relatively high, and there is a gender difference which suggesting that men and women have different health conditions. Large-scale screening of gender-related diseases is necessary. It should expand the sample size in the region to establish

*[基金项目] 国家“十二·五”科技支撑计划项目 (No:2013BAI05B03)

** 贵阳医学院 2013 级硕士研究生

*** 通信作者 E-mail: annieheyan@gmc.edu.cn

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.1002.018.html>

the reference range.

[**Key words**] blood; blood cell count; platelet count; hemoglobin test; minorities; Guizhou, Libo

荔波县位于贵州省黔南布依族苗族自治州南部,总面积 2 431.8 平方公里,少数民族人口 14.51 万人,占总人口的 90%。人口较多的少数民族有布依族、苗族、水族、瑶族。有学者认为,血细胞参数常因地区、种族、人群、性别、年龄等不同而有所变化^[1-2]。由于少数民族一般居住在偏远不发达地区,并常有一些特殊的习俗,可能会对血常规的某些指标有影响,本研究对贵州省荔波县的几个长居少数民族人群血常规 8 项指标进行检测,为当地居民的健康情况提供参考。

1 对象与方法

1.1 研究对象

随机抽取贵州省黔南布依族苗族自治州荔波县布依族、苗族、水族、瑶族人群 872 例,11~83 岁,平均 (49.2 ± 3.54) 岁;男性 369 例,11~85 岁,平均 (49.27 ± 13.43) 岁;女性 503 例,10~90 岁,平均 (49.2 ± 19.1) 岁。

1.2 标本采集

采集受检者空腹静脉血 2 mL,加入含乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝剂的采血管,立即充分混匀,4℃保存,所有血液标本必须在 48 h 内检测完毕。

1.3 检测方法 & 指标

采用日本 Sysmex 公司生产的 XT-1800i 全自动血细胞分析仪,使用配套试剂,检查受检者抗凝血液的白细胞(WBC)、红细胞(RBC)、血红蛋白含量(Hb)、红细胞压积(HCT)、红细胞平均体积(MCV)、平均红细胞血红蛋白含量(MCH)、平均红细胞血红蛋白浓度(MCHC)及血小板(PLT)8 项血液学指标。实验前采用贵州省临检中心统一配送的标准质控血液校正仪器,符合质量控制要求后使用。结果判断标准,女性 RBC、Hb 分别低于 $3.5 \times 10^{12}/L$ 、110 g/L 为异常,男性分别低于 $4.0 \times 10^{12}/L$ 、120 g/L 为异常;WBC、HCT、MCV、MCH、MCHC、PLT 的正常参考范围分别为: $(4.0 \sim 10.0) \times 10^9/L$ 、37.0%~50.0%、 $(82.0 \sim 95.0) fL$ 、 $(27.0 \sim 31.0) pg$ 、 $(320 \sim 360) g/L$ 、 $(100 \sim 300) \times 10^9/L$,结果大于或者小于正常参考范围视为异常。

1.4 统计学方法

数据采用统计学软件 SPSS 19.0 进行处理,计

数资料采用率(%)表示,两两比较比较采用 χ^2 检验。计量采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血细胞 8 项指标

本研究调查的 872 例样本,除 Hb、MCH 和 MCHC 检测平均值超出正常范围外,WBC、RBC、HCT、MCV、PLT 在正常参考范围,见表 1。受检人群按男女分类比较各参数的测定值,男性 WBC、RBC、Hb、HCT、MCV 及 MCH 高于女性,差异均有统计学意义($P < 0.05$),其余指标差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 1 荔波县 872 例少数民族受检者血液学 8 项指标与正常参考值比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of 872 subjects' eight hematological parameters with normal reference values

指标	实测平均值	正常参考值
WBC($\times 10^9/L$)	6.83 ± 0.35	4.0~10.0
RBC($10^{12}/L$)	4.58 ± 0.49	3.50~5.50
Hb(g/L)	148.04 ± 14.85	110~160
HCT(%)	41.71 ± 4.60	37.0~50.0
MCV(fL)	92.13 ± 0.14	82.0~95.0
MCH(pg)	32.91 ± 0.28	27.0~31.0
MCHC(g/L)	356.66 ± 143.54	320~360
PLT($\times 10^9/L$)	220.78 ± 14.85	100~300

表 2 荔波县 872 例少数民族男女受检者各项血液学指标检测结果($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Hematological parameter test results of 872 subjects

指标	男	女	P
	369 例	503 例	
WBC($\times 10^9/L$)	6.97 ± 1.86	6.73 ± 1.83	<0.05
RBC($\times 10^{12}/L$)	4.80 ± 0.93	4.41 ± 0.82	<0.01
Hb(g/L)	157.05 ± 28.68	141.43 ± 22.43	<0.01
HCT(%)	44.12 ± 8.08	39.95 ± 7.76	<0.01
MCV(fL)	93.07 ± 11.07	91.44 ± 9.89	<0.01
MCH(pg)	33.31 ± 5.96	32.62 ± 5.69	<0.01
MCHC(g/L)	358.37 ± 55.96	355.41 ± 51.02	>0.05
PLT($\times 10^9/L$)	216.82 ± 79.16	223.69 ± 78.85	>0.05

2.2 血常规异常情况

按性别分组,荔波男女性受检者血常规结果均有一定的异常检出率,男性的 WBC、RBC、HCT、MCV 及 PLT 的异常减低率均低于女性,但只有 HCT 差异有统计学意义($\chi^2 = 18.465, P < 0.01$); Hb、MCH 及 MCHC 低于正常的比例,男性均高于

女性,但差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。男性组 RBC、HCT 高于正常的比例高于女性组,差异有统计学意义($P < 0.01$); WBC、Hb、MCV、MCH、MCHC 及 PLT 高于正常的比例男性低于女性,但只有 Hb 和 MCV 差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 4。

表 3 荔波县 872 例少数民族受检者 8 项血液学指标低于正常的情况
Tab.3 The abnormal reduction rates of 8 hematological parameters of 872 subjects

性别	n	血液学指标低于正常(n,%)							
		WBC	RBC	Hb	HCT	MCV	MCH	MCHC	PLT
男	369	9(2.44)	21(5.69)	12(3.25)	46(12.47)	54(14.63)	46(12.47)	6(1.63)	16(4.34)
女	503	12(2.39)	37(7.36)	10(1.99)	121(24.06)	60(11.93)	45(8.95)	5(0.99)	20(3.98)
合计	872	21(2.41)	58(6.65)	22(2.52)	67(7.68)	114(13.07)	91(10.44)	11(1.26)	36(4.13)
χ^2		0.003	0.95	1.383	18.465	1.371	2.821	0.683	0.07
P		>0.05	>0.05	>0.05	<0.01	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05

表 4 荔波县 872 例少数民族受检者 8 项血液学指标高于正常情况
Tab.4 The abnormal increase rates of 8 hematological parameters of 872 subjects

性别	n	血液学指标高于正常(n,%)							
		WBC	RBC	Hb	HCT	MCV	MCH	MCHC	PLT
男	369	13(3.52)	81(21.95)	139(37.67)	46(12.47)	195(52.85)	278(75.34)	64(17.34)	46(12.47)
女	503	20(3.98)	75(14.91)	284(56.46)	24(4.77)	203(40.36)	368(73.16)	78(15.51)	74(14.71)
合计	872	33(3.78)	156(17.89)	423(48.51)	70(8.02)	398(45.64)	646(74.08)	142(16.28)	120(13.76)
χ^2		0.12	7.183	30.093	17.07	13.379	0.526	0.527	0.904
P		>0.05	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	>0.05	>0.05	>0.05

3 讨论

血常规检查由于具有简便、快速、结果易控制、筛查疾病广等特点,被临床上广泛用于疾病的筛查。本研究分析了贵州省荔波县 872 例少数民族受检者血常规结果,了解该地区少数民族的健康状况,为该地区制定相应的参考值提供参考,也有助于临床采取针对性的预防措施和适当的治疗方法。此次检查发现,RBC 及 Hb 白检测结果与《全国临床检验操作规程》^[3]的参考值范围一致,提示荔波地区人群贫血现象不明显。在参与本次被抽样分析的 872 例体检者中,贫血率仅为 2.52%、WBC 增高比例 3.78%,与 2004 年齐晓岚等^[4]的研究数据(贫血率 6.06% ~ 10.38%、WBC 增高率大于 10%)比较,贫血率和 WBC 增高率均显著降低,提示近年来少数民族的健康问题日益受到关注和重视,该地区人民生活水平已逐渐提高,从只关注温饱向注重饮食的合理性、健康性、科学性转变;同时也提示荔波少数民族地区人群健康水平已得到

改善,受感染的情况正逐渐减少。此次研究显示女性贫血率(1.99%)低于男性贫血率(3.25%),这与以往的研究结果存在差别^[5-6],可能是已往的研究结果大都强调女性贫血的严重性,忽略了男性中潜在的贫血问题,加之生活中男性对饮食的不注重可能导致了贫血问题的存在,另一方面可能是样本量不够大,需进一步扩大样本量调查。本次研究发现,不同性别少数民族的 RBC、Hb、HCT 及 MCV 存在差异($P < 0.01$),提示有必要建立荔波县少数民族地区不同性别的各血常规检测指标的正常参考范围。此次受检者血常规各项参数测定值偏高者居多,以 RBC、Hb、MCV、MCH、MCHC、PLT 较为明显,以 RBC 与 Hb 为最,可能与此次调查点位于山区,长期的低氧状态刺激机体肾脏产生促红细胞生成素,进而使周围血液中 RBC、Hb 增高,并且红细胞体积也增大,使得 MCV 偏高。同时此次受检者大多为农民,长期的重体力劳动也可能使 RBC 增高。由于生活水平的提高,当地居民多爱偏食猪肉,造成血液中脂类物质含量较高,异常血浆脂类

物质(脂蛋白、脂滴等)均可以产生一定的浊度,影响 Hb 比色的结果^[7],导致 Hb 的结果假性增高,引起 MCH、MCHC 假性增高。也可能与该地区人群患有某些潜在疾病有关^[8],建议进一步做溶血性贫血相关检查。

通过此次对贵州省荔波县少数民族地区血液学指标的分析,并与以往的研究比较发现,由于该地居民的生活水平已有很大程度的改善与提高,卫生状况改善、医疗条件好转、营养逐渐均衡、对健康的自我意识增强,使得该地区贫血与感染的情况大大改善。但是通过此次的调查发现,该地区居民的健康状况可能仍存在问题,需待进一步改善,应当引起相关部门的足够重视。

4 参考文献

- [1] 金丽艳,陈媛,韩喜明,等.高原地区 798 名健康人静脉血细胞参考分析及意义[J].青海医学院学报,2005(3):195-197.
- [2] 谢梦玲,吴昌学,单可人,等.贵州省从江县侗族八项血液学指标分析[J].贵阳医学院学报,2012(5):480-482.
- [3] 叶应妩.全国临床检验操作规程[M].3版.南京:东南大学出版社,2006:130.
- [4] 齐晓岚,单可人,谢渊,等.贵州省荔波县三个民族八项血液学指标分析[J].贵州医药,2004(3):208-210.
- [5] 郭李娜,刘金霞,韩纯杰,等.长治地区健康成人体检 1295 例血常规检测结果分析[J].医技影像,2012(4):91-92.
- [6] 丁妩娟,滕凯.镇江市 50~69 周岁成人血常规参考范围调查研究[J].实验与检验医学,2012(5):486-488.
- [7] 李峥嵘,罗纯苑,李忠信,等.探讨标本状态对全血细胞检测结果的影响[J].吉林医学,2011(10):1895-1896.
- [8] 孙宝云,康云平.MCHC 对慢性溶血性贫血的早期筛选价值[J].临床血液学杂志:输血与检验版,2007(3):104-105.
- (2015-01-06 收稿,2015-02-22 修回)
- 中文编辑:吴昌学;英文编辑:周凌
- (上接第 224 页)
- [5] Wasmuth HE, Lammert F, Matern S. Genetic risk factors for hepatic Fibrosis in chronic liver diseases[J]. Med Klin(Munich), 2003(12):754-762.
- [6] Giannitrapani L, Soresi M, La Spada E, et al. Sex hormones and risk of liver tumor[J]. Ann N Y Acad Sci, 2006(1089):228-236.
- [7] Villa E, Grottola A, Colantoni A, et al. Hepatocellular carcinoma: role of estrogen receptors in the liver[J]. Ann N Y Acad Sci, 2002(963):37-45.
- [8] Villa E, Dugani A, Moles A, et al. Variant liver estrogen receptor transcripts already occur at an early stage of chronic liver disease[J]. Hepatology, 1998(4):983-988.
- [9] Deng G, Zhou G, Zhai Y, et al. Association of estrogen receptor alpha polymorphisms with susceptibility to chronic hepatitis B virus infection[J]. Hepatology, 2004(2):318-326.
- [10] 李定国,刘清华.雌激素与肝纤维化研究现状[J].国外医学-消化系统疾病分册,2005(4):195-197.
- [11] 骆抗先,何超,何海棠,等.汉藏傣瑶维蒙黎族人群乙型肝炎病毒感染调查[J].中华流行病学杂志,1993(5):266-270.
- [12] 谢建萍,龚先琼,谭德明,等.雌激素受体基因多态性与乙型肝炎肝硬化的相关性研究[J].中南大学学报:医学版,2006(3):379-382.
- [13] 郜玉峰,魏少峰,张亚飞,等.雌激素受体基因 α 多态性与乙型肝炎病毒感染慢性化的相关性研究[J].实用肝脏病杂志,2009(2):95-97.
- [14] 周宁,李象霖,张月萍,等.甘肃地区人群雌激素受体 α -29 位基因多态性与 HBV 感染转归的关系[J].临床肝胆病杂志,2014(2):128-131.
- [15] 单可人,王婵娟,龙丽,等.贵州彝族乙型肝炎病毒感染与 IL-10 592 位点及 ESR1 T29C 位点多态性相关性研究[J].中国实用内科杂志,2010(4):334-336.
- (2015-01-09 收稿,2015-02-25 修回)
- 中文编辑:吴昌学;英文编辑:周凌

IL-31RA 基因敲除小鼠纯合子模型的建立^{*}

江 涛, 高 婧, 岳 欢, 高雅倩, 黄俊琼^{**}

(遵义医学院附属医院, 贵州 遵义 563000)

[摘 要] 目的: 建立 IL-31RA 基因敲除小鼠纯合子模型, 为 IL-31RA 基因相关研究提供动物模型。方法: IL-31RA 基因敲除小鼠严格按照 SPF 级要求的动物饲养标准进行饲养繁殖, 采用聚合酶链式反应 (PCR) 法鉴定子代小鼠的基因型, RT-PCR 法鉴定小鼠 IL-31RA mRNA 的表达, Western blot 鉴定 IL-31RA 蛋白的表达, HE 染色观察小鼠重要脏器的形态学变化。结果: PCR 法成功检测出子代小鼠的 3 种基因型, 纯合子基因敲除小鼠未检测出 IL-31RA mRNA 和 IL-31RA 蛋白的表达, IL-31RA 基因敲除小鼠的重要脏器的形态学特征与野生型小鼠比较无明显变化; 基因敲除小鼠可成功饲养繁殖, 亦可获得较多的基因敲除纯合子小鼠。结论: 成功构建了 IL-31RA 基因敲除小鼠纯合子模型。

[关键词] 白细胞介素 31; 基因敲除; 聚合酶链反应 (PCR); 反转录 PCR; Western blot; 模型, 动物

[中图分类号] R-332 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0229-05

Establishment of IL-31RA Gene Knockout Homozygous Mice Model

JIANG Tao, GAO Jing, YUE Huan, GAO Yaqian, HUANG Junqiong

(The Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563000, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the IL-31RA gene knockout homozygous mice model and lay the foundation for further study on IL-31 gene. **Methods:** IL-31RA gene knockout mice were bred and reproduced according to the SPF class animal feeding standard. PCR was used to identify the genotype of the offspring, the expression of IL-31RA mRNA was detected by RT-PCR, expression of IL-31RA protein was detected by Western blot, and morphological changes of vital organs were observed by HE staining. **Result:** Three genotypes of the offspring of IL-31RA gene knockout mice were successfully identified; expression of IL-31RA mRNA and IL-31RA protein was not detected in IL-31RA gene knockout homozygous mice. Compared with the wild type mice, morphological characteristics of vital organs of had no significant changes in IL-31RA gene knockout homozygous mice. IL-31RA gene knockout mice could be bred and reproduced successfully. **Conclusion:** The IL-31RA gene knockout homozygous mice model has been successfully established.

[Key words] interleukin 31; gene knockout; polymerase chain reaction; reverse transcription-PCR; Western blot; model, animal

白细胞介素 31 (Interleukin 31, IL-31) 是 2004 年 Dillon 等^[1]发现的细胞因子, 属于白细胞介素 6 细胞因子家族成员, 主要由活化的 CD4⁺ Th2 细胞产生。IL-31 受体 (IL-31R) 是由 IL-31RA 与制瘤素 M 受体 B (oncostatin M receptor B, OSMRB) 组成的

异源二聚体, 在皮肤及支气管上皮组织中表达水平较高。国内外研究发现 IL-31 及其受体与皮肤损伤、秃发症、搔痒、特应性皮炎、气道超敏反应及炎症性肠病等疾病相关, 本课题组前期研究发现 IL-31 及其受体在过敏性哮喘小鼠肺组织中表达增

^{*} [基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No: 81260266); 贵州省优秀科技教育人才省长专项基金项目 (No: 黔省专合字 200951)

^{**} 通信作者 E-mail: junqiongh@aliyun.com

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.0956.015.html>

高,IL-31 可诱导肺组织分泌趋化因子^[2]。为进一步研究 IL-31 在过敏性哮喘中的作用,本研究成功构建并鉴定出 IL-31RA 基因敲除小鼠纯合子模型,报告如下。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 IL-31RA 基因敲除小鼠品系为 C57BL/6J,4 周龄,6 雄 2 雌,购自突变小鼠区域资源中心(MMRRC),在遵义医学院医学与生物学研究中心繁殖扩群。

1.1.2 主要试剂 Premix Taq(TaKaRa Taq™ Version 2.0 plus dye)(TaKaRa 公司),DL 500 Marker, GoldView,动物组织基因组 DNA 提取试剂盒(上海生工),总 RNA 提取试剂盒(天根生物),引物由上海生工合成,DEPC(Sigma 公司),兔抗鼠 IL-31RA 抗体、HRP 标记羊抗兔 IgG 抗体(北京博奥森公司),化学发光试剂及硝酸纤维素膜(GE 公司)。

1.2 方法

1.2.1 基因敲除小鼠杂合子模型 由 MMRRC 进行设计及完成。基因敲除过程简述如下:IL-31RA 基因组克隆来源于 129SvEvBrd 基因组文库,构建一个替换型载体替换 IL-31RA 的第 4 外显子,即 IL-31RA 基因组序列(MGI:2180511)中 8093 - 8172 碱基,共 80 bp;采用电穿孔法将此打靶载体转入 C57BL/6J 小鼠胚胎干细胞(ES 细胞),经 G418 筛选得到阳性克隆的 ES 细胞,并将此 ES 细胞植入假孕的 C57BL/6J 小鼠子宫内,发育得到杂合子的 IL-31RA 基因敲除小鼠。所有小鼠均饲养在遵义医学院医学与生物学研究中心的屏障系统(SPF)小鼠饲养室,饲料购自重庆第三军医大学生产的 SPF 级小鼠饲料【生产许可证号 SCXK(渝)2012-0004】,饮用水为消毒纯净水,小鼠所接触物品均高压预真空灭菌。小鼠的性成熟期约 35 d,妊娠期约 20 d,采用雄雌鼠各 1 只合笼繁殖。

1.2.2 基因敲除小鼠的鉴定 因引进的 IL-31RA 基因敲除小鼠均为杂合子,繁殖出的子代可出现野生型(Wild-type, WT) IL-31RA^{+/+}、杂合子 IL-31RA^{+/-}及突变型(Knockout, KO) IL-31RA^{-/-}3 种表型,对子代 IL-31RA 基因敲除小鼠作为模型需先鉴定其基因型。IL-31RA 基因敲除小鼠基因组 DNA 的提取:剪取小鼠尾巴末端约 0.6 cm,按说明书操作抽提 DNA,双蒸水溶解,4℃保存。聚合酶

链式反应(PCR)及琼脂糖凝胶电泳鉴定 IL-31RA 基因敲除小鼠子代基因型:按照参考文献[3]设计引物,WT 上游系列为 5'-GGGTGTGAACGCTG-GAATAATG-3'、KO 上游系列为 5'-GCAGCG-CATCGCCTTCTATC-3'(含有插入的 neo 基因序列,可鉴定插入的载体片段)、共用下游引物系列为 5'-GATCATCTCTCCAAATTTACATG-3'。WT 型目的片段长 274 bp, KO 型目的片段长 348 bp。反应体系(25 μL):Premix Taq 12.5 μL, WT 和 KO 上游及下游引物各 1 μL,模板 DNA 2 μL,加灭菌蒸馏水补足体积。循环条件为 95℃预变性 3 min; 95℃变性 30 s、60℃退火 30 s, 30 个循环,最后 72℃延伸 10 min。4℃保存备用。PCR 反应终产物 5 μL 进行 2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定 IL-31RA 基因敲除小鼠子代基因型,判断标准为 WT 型和 KO 型分别在 274 bp 与 348 bp 处出现单一的条带,杂合子则在 274 bp 和 348 bp 处同时出现目的条带。

1.2.3 IL-31RA 基因敲除小鼠 IL-31RA mRNA 的鉴定 采用 RT-PCR 法,IL-31RA 基因敲除小鼠总 RNA 的提取及 cDNA 的合成:取已经鉴定的 WT 及 KO 小鼠肺组织,按照总 RNA 提取试剂盒操作说明书抽提 RNA,逆转录合成 cDNA。逆转录体系(20 μL): 5×Prime Script™ Buffer 4 μL, Prime Script™ RT Enzyme Mix I 1 μL, Oligo dT Primer(50 μM) 1 μL, Random 6 mers(100 μM) 1 μL, Total RNA 10 μL, RNase Free dH₂O 补足体积。逆转录反应条件: 37℃, 15 min; 85℃, 5 s; cDNA 放于 -20℃保存。PCR 反应及琼脂糖凝胶电泳鉴定 mRNA,设计及合成含有 IL-31RA 基因第 4 号外显子的基因序列引物,上游系列为 5'-TCATTTCTCAGCGTCAGTGG-3'、下游系列为 5'-TCCTTCTCTGGTCTCCAAGTG-3';扩增的目的基因片段长为 389 bp。反应体系(25 μL): Premix Taq 12.5 μL, 上、下游引物各 1 μL, 模板 cDNA 2 μL, 灭菌蒸馏水补足体积。反应条件: 94℃预变性 2 min; 94℃变性 30 s、61℃退火 30 s、72℃延伸 30 s, 30 个循环;最后 72℃延伸 10 min。4℃保存备用。取 PCR 反应终产物 5 μL 进行 2% 琼脂糖凝胶电泳鉴定小鼠 IL-31RA mRNA。

1.2.4 IL-31RA 基因敲除小鼠 IL-31RA 蛋白的鉴定 采用 Western Blot 法,提取已经鉴定的 KO 及 WT 小鼠肺组织蛋白质,蛋白定量后以 4:1 比例与 Buffer 混合,100℃水浴 6 min,常规行 SDS-PAGE 电泳后转印至硝酸纤维素膜,用封闭液(含 50 g/L

脱脂奶粉的 TBST) 室温振摇封闭 2 h。依次加入兔抗鼠 IL-31RA 抗体及 HRP 标记羊抗兔 IgG, 化学发光法曝光显色, 观察结果。

1.2.5 IL-31RA 基因敲除对小鼠重要脏器的影响

脏器系数测定: 颈椎脱臼法处死小鼠, 称量小鼠体重及脏器(心脏、肝脏、肾脏、肺、胸腺及脾脏)的重量, 脏器系数 = $100 \times \text{脏器重量(g)} / \text{体重(g)}$ 。HE 染色: 心脏、肝脏、肾脏、肺、胸腺及脾脏于 4% 多聚甲醛中固定 48 h 后, 常规石蜡切片, HE 染色。在显微镜下观察各个脏器的形态学变化。

1.3 统计学处理

用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据分析, 以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用单因素方差分析, 组间比较用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 IL-31RA 基因敲除小鼠的生长繁殖情况

IL-31RA 基因敲除小鼠 (IL-31RA^{-/-}) 能成功繁殖 (已繁殖 5 代), 子代小鼠生长状况良好 (已观察 1 年零 6 个月)。小鼠约 35 d 性成熟, 性周期为 4~5 d, 妊娠期约 20 d, 哺乳期约 20 d, 每胎产仔数为 7~12 只, 成活率 > 98%。

2.2 IL-31RA 基因敲除小鼠基因型鉴定

小鼠基因型的鉴定结果如图 1, 其中 1、2 号小鼠为野生型 (IL-31RA^{+/+}), 仅出现 274 bp 条带; 3 号小鼠为杂合子 (IL-31RA^{+/-}), 同时出现 274 bp 和 349 bp 2 个条带, 4、5 号小鼠为突变型 (IL-31RA^{-/-}), 仅出现 1 个 349 bp 条带。

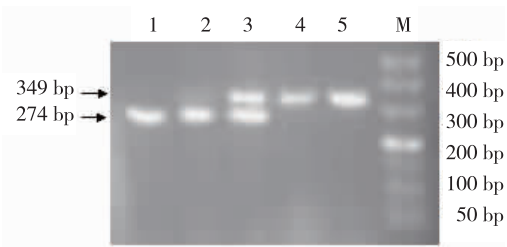


图 1 IL-31RA 基因敲除小鼠基因型鉴定
Fig. 1 Identification results of genotype of IL-31RA gene knockout mice

2.3 IL-31RA 基因敲除小鼠 IL-31RA mRNA 的鉴定

RT-PCR 结果示 WT 小鼠 (1、2 号) 检测出 389 bp 处的条带, 而 KO 小鼠 (3、4、5 号) 未检测出。见图 2。

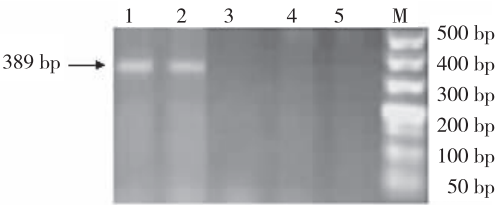


图 2 小鼠 IL-31RA mRNA 的 RT-PCR 鉴定
Fig. 2 Identification results of IL-31RA mRNA of the mice

2.4 IL-31RA 基因敲除小鼠 IL-31RA 蛋白鉴定

Western Blot 结果示 IL-31RA 基因敲除小鼠 IL-31RA 蛋白的相对分子质量为 83 kDa, WT 小鼠检测到相对分子量约为 83 kDa 片段, KO 小鼠未检出。见图 3。

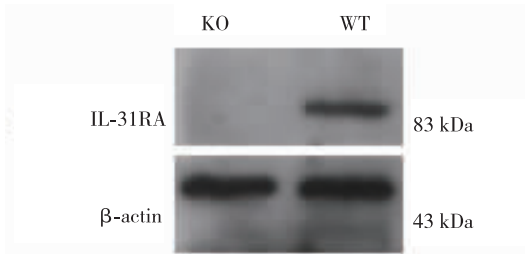


图 3 小鼠 IL-31RA 蛋白的 Western Blot 鉴定
Fig. 3 Identification results of IL-31RA protein of the mice

2.5 IL-31RA 基因敲除小鼠重要脏器系数及 HE 染色

纯合子 IL-31RA 基因敲除小鼠与野生型间各脏器的脏器系数比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 1; 两者间形态学也无明显改变, 见图 4。

表 1 IL-31RA 基因敲除小鼠心脏、肝脏、肾脏、肺、胸腺及脾脏的脏器系数 ($n = 8$)

Tab. 1 The coefficient of heart, liver, kidney, lung thymus and spleen of IL-31RA gene knockout mice ($n = 8$)

脏器	基因型	
	WT	KO
心脏	0.43 \pm 0.01	0.40 \pm 0.04
肝脏	4.70 \pm 0.26	4.85 \pm 0.09
肾脏 (单侧)	0.43 \pm 0.04	0.40 \pm 0.02
肺	0.49 \pm 0.06	0.51 \pm 0.05
胸腺	0.15 \pm 0.02	0.15 \pm 0.01
脾	0.28 \pm 0.03	0.29 \pm 0.02

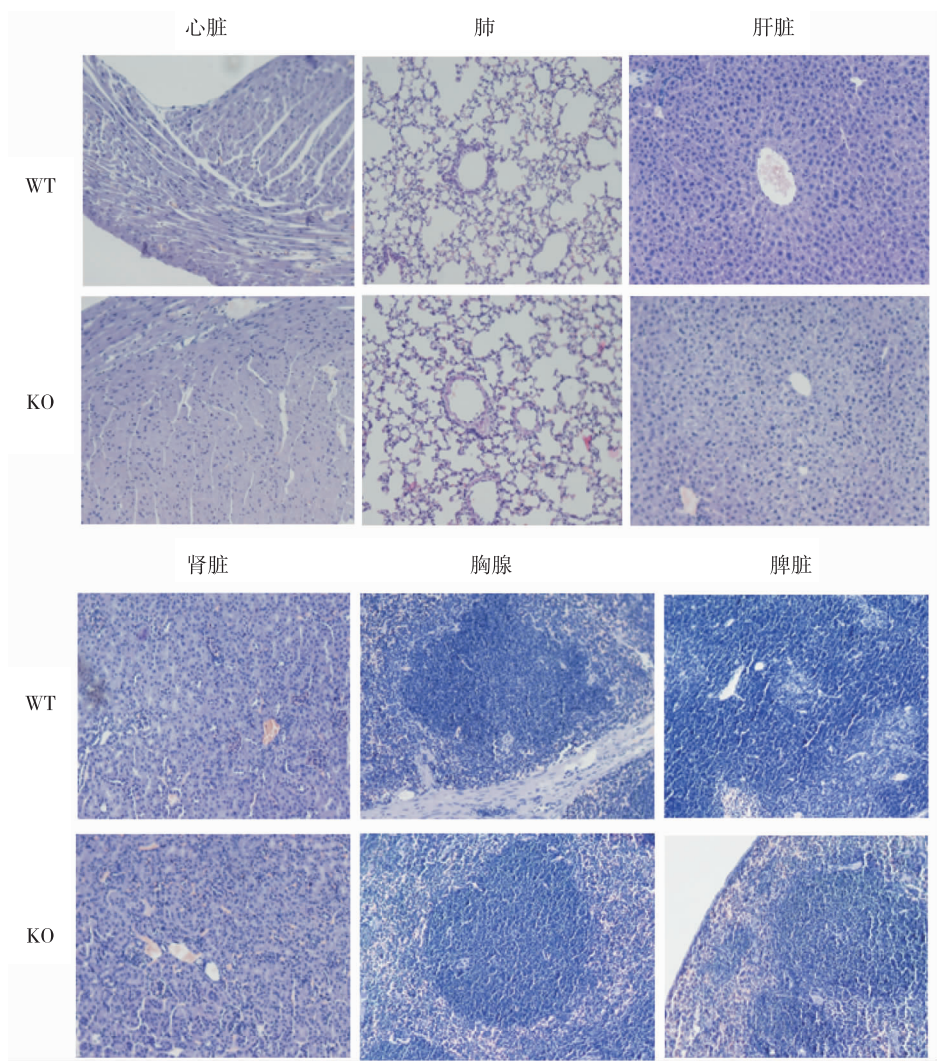


图 4 小鼠各脏器的 HE 染色结果(×200)

Fig. 4 HE staining results of each organ of mice

3 讨论

IL-31 的功能包括调节细胞增殖分化,调节造血和免疫反应,诱导炎性细胞因子和趋化因子分泌,参与调节炎症反应,是重要的炎症因子。IL-31 可诱导皮肤炎症,刺激表皮角质细胞分泌趋化因子、巨噬细胞炎性蛋白 3 β 、胸腺活化调节的趋化因子、T 细胞活化蛋白-3^[4-6]。Lei Z 等^[7]发现过敏性哮喘患者血清 IL-31 和外周血单核细胞 IL-31mRNA 均明显高于正常对照组,Shah SA 等^[8]研究发现 IL-31 可上调气道上皮细胞黏液素基因 MUC5AC 的表达;IP WK 等^[9]采用 IL-31 在体外刺激人支气管上皮细胞,通过荧光定量 PCR 检测发现单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)、血管内皮生长因子(VEGF)、上皮生长因子(EGF)表达增高;Stott B

等^[10]发现 IL-31 可由 IL-4 诱导表达,可以促进 Th2 型炎症反应,诱导促炎基因的表达。Liu W 等^[11]研究发现儿童过敏性鼻炎(AR)伴有哮喘患者血清和鼻灌洗液中 IL-31mRNA 和 IL-31 比正常对照组及单纯患 AR 组显著增高,并且增高趋势与 Th2 细胞因子及黏蛋白 5AC(MUC5AC)的表达一致。近年,越来越多的国内外研究证实 IL-31 在气道过敏性疾病中发挥重要作用,有望成为该疾病的诊断和(或)监测指标。

IL-31 在过敏性哮喘中发挥重要作用,但其具体机制尚不清楚。基因敲除小鼠技术是建立在同源重组理论基础上的的一种技术,借助细胞生物学、分子生物学、和动物胚胎学的方法,使小鼠体内某种基因的功能缺失,是阐明该基因功能最直接的手段之一,因此基因敲除技术成为后基因组时代最重要的研究方法和内容^[12]。本研究采用同源重组的

方法敲除小鼠 IL-31RA 基因包含在编码信号肽的基因序列内外显子 4,使 IL-31RA 失去功能,通过观察 IL-31RA 基因敲除小鼠生长繁殖情况,发现 IL-31RA 基因敲除小鼠与野生型小鼠具有一样的生长繁殖能力,并且 IL-31RA 基因敲除对小鼠的重要脏器没有明显影响。杂合子小鼠交配后子代可能出现 WT、KO 及杂合子 3 种基因型,故必须对它们进行基因型鉴定。本研究采用 PCR 法对 4 周龄基因敲除小鼠进行基因型筛选,进一步采用 RT-PCR 法及 Western Blot 法对筛选出的 WT、KO 小鼠进行 IL-31RA mRNA 及 IL-31RA 蛋白的表达进行鉴定,结果证明成功构建了 IL-31RA 基因敲除小鼠的纯合子模型,该模型的成功构建,为更好的探讨 IL-31-IL-31R 信号在过敏性哮喘中的作用提供了一个很好的动物模型。

4 参考文献

- [1] Stacey RD, Cindy S, Angela H, et al. Interleukin 31, a cytokine produced by activated T cells, induces dermatitis in mice[J]. Nat Immunol, 2004(7):752-760.
- [2] 杜清波,黄俊琼. IL-31 在哮喘小鼠肺组织中的表达及对肺组织细胞 ck 的影响[D]. 遵义:遵义医学院, 2012.
- [3] Bilsborough J, Mudri S, Chadwick E, et al. IL-31 receptor (IL-31RA) knockout mice exhibit elevated responsiveness to oncostatinM[J]. Immunol, 2010(10):6023-6030.
- [4] Raap U, Weißmantel S, Gehring M, et al. IL-31 significantly correlates with disease activity and Th2 cytokine levels in children with atopic dermatitis[J]. Pediatr Allergy Immunol, 2012(3):285-288.
- [5] Nobbe S, Dziunycz P, Mühleisen B, et al. IL-31 expression by inflammatory cells is preferentially elevated in atopic dermatitis[J]. Acta Derm Venereol, 2012(1):24-28.
- [6] 黄俊琼,谢宇锋,盛伟华,等. IL-31 对人表皮角化细胞的影响[J]. 中国免疫学杂志, 2007(4):369-373.
- [7] Lei Z, Liu G, Huang Q, et al. SCF and IL-31 rather than IL-17 and BAFF are potential indicators in patients with allergic asthma[J]. Allergy, 2008(63):327-332.
- [8] Shah SA, Ishinaga H, Hou B, et al. Effects of interleukin-31 on MUC5AC gene expression in nasal allergic inflammation[J]. Pharmacology, 2013(3-4):158-164.
- [9] Ip WK, Wong CK, Li ML, et al. Interleukin-31 induces cytokine and chemokine production from human bronchial epithelial cells through activation of mitogen-activated protein kinase signalling pathways: implications for the allergic response[J]. Immunology, 2007(122):532-541.
- [10] Stott B, Lavender P, Lehmann S, et al. Human IL-31 is induced by IL-4 and promotes TH2-driven inflammation[J]. Allergy Clin Immunol, 2013(2):446-454.
- [11] Liu W, Luo R, Chen Y, et al. Interleukin-31 promotes helper T cell type-2 inflammation in children with allergic rhinitis[J]. Pediatr Res, 2014(6):1038-1051.
- [12] Guan C, Ye C, Yang X, et al. A review of current large-scale mouse knockout efforts[J]. Genesis, 2010(48):73-85.

(2015-01-08 收稿,2015-02-27 修回)

中文编辑:吴昌学;英文编辑:周 凌

临床医学论文中“°”与“度”的正确使用

在编辑临床医学论文中,经常会遇到“Ⅰ°烧伤”、“扁桃体Ⅲ°肿大”、“Ⅱ°宫颈糜烂”等术语。这类表示是错误的。

根据 GB 3102.1—1993《空间和时间的量和单位》的规定,“°”是物理量平面角的法定单位“度”的符号。“°”与以阿拉伯数字表示的数值连用表达的是平面角的量值,如 15°。

而在医学论文中,像“Ⅰ°烧伤”,由罗马数字和“°”组合在一起,表示的是疾病的严重程度。由于病情的轻重程度并不是平面角,理所当然地不能用平面角的单位符号“°”来表示。在医学论文中,应当使用汉语里用以表示程度的量词“度”来表达。例如“Ⅰ度烧伤”、“扁桃体Ⅲ度肿大”、“Ⅱ度宫颈糜烂”、“Ⅰ度肾功能损害”、“Ⅱ度恶心”、“Ⅲ度中性粒细胞减少”以及“Ⅱ度贫血”等。

《贵阳医学院学报》编辑部

非小细胞肺癌组织中 PEDF、VEGFR-2 的表达^{*}

王世君, 黄莉, 谢婷婷, 夏曙华^{**}

(贵阳医学院附院 临检科, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 检测非小细胞肺癌(NSCLC)组织标本中色素上皮衍生因子(PEDF)、血管内皮生长因子受体(VEGFR-2)的表达,探讨 PEDF 在 NSCLC 血管新生中的作用及其与 VEGFR-2 之间关系。方法: 应用免疫组织化学法检测 28 例 NSCLC 患者癌组织和远离癌组织的对照组织中 PEDF 和 VEGFR-2 的表达;通过标记 CD34 计数微血管密度(MVD),比较癌组织中 PEDF 和 VEGFR-2 阴阳性表达时血管新生情况。结果: 癌组织中 PEDF 和 VEGFR-2 表达阳性率分别为 71.43%、64.29%,与对照组织不表达相比,差异有统计学意义($P < 0.05$);PEDF 和 VEGFR-2 的共表达率在癌组织和对照组织中分别为 39.29%、0%,差异有统计学意义($P < 0.01$);癌组织 MVD (29.30 ± 3.80)低于对照组织(98.86 ± 18.87),差异有统计学意义($P < 0.05$);癌组织中 PEDF 阳性表达的 MVD 显著低于阴性表达的 MVD,VEGFR-2 阳性表达的 MVD 显著高于其阴性表达的 MVD,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。结论: NSCLC 细胞 PEDF 和 VEGFR-2 阳性表达百分率高;PEDF 阳性表达和 VEGFR-2 的阴性表达可能与组织 MVD 有关。

[关键词] 癌,非小细胞肺;色素上皮衍生因子;血管内皮生长因子受体-2;新生血管化,病理性;免疫组织化学
[中图分类号] R734.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0234-03

The Expression of PEDF and VEGFR-2 in Patients with Non-small Cell Lung Cancer

WANG Shijun, HUANG Li, XIE Tingting, XIA Shuhua

(Department of Clinical Laboratory, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression of pigment epithelium derived factor (PEDF) and vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR-2) in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC), the function of PEDF in angiogenesis of non-small cell lung cancer and the relationship with VEGFR-2. **Methods:** The expressions of PEDF and VEGFR-2 were evaluated by immunohistochemical test in tumor tissues of 28 NSCLC patients and natural tissues. Comparing angiogenesis conditions of positive and negative expressions of PEDF and VEGFR-2 in cancer tissue by marking microvessel density (MVD) of CD34. **Results:** The positive rates of PEDF and VEGFR-2 were 71.43% and 64.29% respectively in tumor tissues, PEDF and VEGFR-2 didn't express in control group, there was statistical significance between the cancer group and control group ($P < 0.05$); the synchronous expression rate of PEDF and VEGFR-2 in cancer group was markedly higher than that in natural tissue (39.29% and 0%), differences were statistically significant ($P < 0.01$); MVD (29.30 ± 3.80) in cancer group was lower than that of natural tissue group (98.86 ± 18.87), there was statistical significance ($P < 0.05$); MVD in cancer tissue which positively expressed PEDF was remarkably lower than that of cancer tissue which negatively expressed PEDF, MVD in cancer tissue which positively expressed VEGFR-2 was remarkably higher than that of cancer tissue which negatively expressed VEGFR-2 ($P <$

^{*}[基金项目]高等学校特色专业建设点[教高函(2010)15];贵州省高等学校教改重点项目[黔教高发(2010)208];贵阳医学院科研基金(k2006-37)

^{**}通信作者 E-mail:xsh523@126.com

网络出版时间:2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.0939.009.html>

0.05)。 **Conclusions:** The positive rate of PEDF and VEGFR-2 were high in NSCLC tissue, and there is a correlation of PEDF positive expression and VEGFR-2 negative expression with tissue MVD.

[**Key words**] carcinoma, non-small cell lung; pigment epithelium derived factor; vascular endothelial growth factor receptor 2; neovascularization, pathologic; immunohistochemistry

色素上皮衍生因子(pigment epithelium derived factor, PEDF)是一种重要的内源性血管生成抑制因子,在同一环境下 PEDF 和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达呈负相关, PEDF 可通过血管内皮生长因子受体 1(vascular endothelial growth factor receptor-1, VEGFR-1)有效抑制 VEGF 诱导的血管生成^[1-5]。而 VEGF 主要通过血管内皮生长因子受体 2(vascular endothelial growth factor receptor-2, VEGFR-2)结合,调节血管内皮细胞相关反应^[1-4]。多种实体肿瘤的生长和转移依赖于血管新生,而肿瘤在其生长、演进过程中又分泌促血管生成的相关因子,诱导血管新生。目前多采用微血管密度(microvessel density, MVD)作为血管新生观察指标。本研究选取 28 例非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)患者的癌组织与远离癌组织的自身对照组织,采用免疫组织化学方法检测 PEDF 与 VEGFR-2 的表达,探讨 PEDF 在 NSCLC 血管新生中的作用及其与 VEGFR-2 之间的关系,报告如下。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 标本 临床病理学确诊为原发性 NSCLC 患者 28 例,经手术切除获得 NSCLC 标本,自身对照组织取材于同一病例距离癌组织 4 cm 以上的远端组织。

1.1.2 试剂 兔抗人 PEDF 多克隆抗体和兔抗人 VEGFR-2 多克隆抗体购于武汉博士德生物工程有限公司,鼠抗人 CD34 单克隆抗体购于北京中杉金桥生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 染色 应用免疫组织化学染色法测定 PEDF、VEGFR-2 及 CD34 表达,通过 CD34 检测反映微血管密度 MVD,阳性对照及阴性对照均由厂家提供,严格按照试剂盒说明进行操作。

1.2.2 评分标准 PEDF 的阳性表达主要定位于肿瘤细胞胞浆内。VEGFR-2 主要定位于肿瘤细胞的胞浆及胞膜。阳性细胞胞浆染成棕黄色,结合着

色程度和阳性着色范围进行评分,将未着色、浅黄色、黄棕色、深棕色分别定义为 0、I、II、III 级。在 10×40 倍视野下,每张切片至少观察 5 个视野的阳性细胞,计数不同染色级别细胞数,0 或 I 级阳性细胞计数<25%,为阴性(-);I 级及以上阳性细胞数≥25%,为阳性(+)。CD34 计数按照 Weidner 等^[6]方法并加以改进。

1.3 统计学方法

应用 SPSS 11.5 软件进行统计学分析,计量资料数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用独立样本 *t* 检验;计数资料以率(%)表示,采用 χ^2 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PEDF、VEGFR-2 和 CD34 表达及 MVD

PEDF、VEGFR-2 在癌组织中的阳性表达分别为 71.43%、64.29%,与对照组织中不表达比较,差异均有统计学意义(χ^2 为 31.11、26.53, *P* < 0.01)。CD34 定位于血管内皮细胞胞浆中,癌组织中 MVD 平均计数(29.30 ± 3.80)低于正常组织(98.86 ± 18.87),差异有统计学意义(*t* = 7.08, *P* < 0.05)。

2.2 癌组织中 PEDF、VEGFR-2 表达与 MVD 的关系

癌组织中 PEDF 阳性表达 20 例与阴性表达 8 例的平均 MVD 分别为 26.29 ± 8.92 、 36.83 ± 9.91 ,差异有统计学意义(*t* = 2.61, *P* < 0.05);癌组织中 VEGFR-2 阳性表达 18 例与阴性表达 10 例的平均 MVD 分别为 33.41 ± 9.96 、 21.90 ± 5.75 ,差异有统计学意义(*t* = 3.88, *P* < 0.05);PEDF 和 VEGFR-2 共表达在癌组织和对照组织分别为 39.29% 和不表达,差异具有统计学意义(χ^2 = 10.72, *P* < 0.01)。癌组织中, PEDF、VEGFR-2 共表达与非共表达间的 MVD 分别为 30.36 ± 9.18 、 28.61 ± 11.10 ,差异无统计学意义(*t* = 0.45, *P* > 0.05)。癌组织中, PEDF 阳性表达的 VEGFR-2 阳性率为 55%,阴性表达的 VEGFR-2 阳性率为 87.5%,差异无统计学意义(*P* > 0.05)。

3 讨论

本研究发现, NSCLC 组织中 PEDF 阳性表达的癌组织中 MVD 低, 而 PEDF 阴性表达的癌组织中 MVD 较高, 提示 PEDF 的表达可能与 NSCLC 组织的 MVD 有关, 这与 Mahtabifard 等^[7]报道 PEDF 通过降低 MVD, 可以明显抑制原发性和转移性肺癌的增长并延长小鼠的生存期的结果相一致。PEDF 的抗血管生成作用是诱导内皮细胞凋亡。Volpert 等^[8]研究表明, VEGF 等血管生成诱导因子诱导产生的内皮细胞表达 Fas 受体, 当被其配体 FasL 激活时, 即可启动 1 种 caspase 依赖的细胞凋亡级联反应, 而 VEGF 等血管生成诱导因子对 Fas 受体表达的易受 PEDF 作用。现已证实 VEGFR-2 参与了大多数实体肿瘤的生长, 如乳癌、神经胶质母细胞瘤等, 是判断这些肿瘤预后的独立指标, 提示 VEGFR-2 在肿瘤的血管生成方面起着重要作用^[9]。本研究发现, NSCLC 组织中 VEGFR-2 阳性表达的癌组织中 MVD 高, 而 VEGFR-2 阴性表达的癌组织中 MVD 较低, 提示 VEGFR-2 的表达与 NSCLC 组织的 MVD 成正比。VEGFR-2 在对照组织中呈低表达或不表达, 而在癌组织中高表达, 不仅表达于血管内皮细胞, 还表达在肿瘤细胞。

本研究发现, VEGFR-2 的阳性率在 PEDF 阴阳性表达间差异无统计学意义, 而 PEDF 与 VEGFR-2 共表达的 MVD 与非共表达的 MVD 无显著性差异, 提示 PEDF 和 VEGFR-2 之间无直接关系。Crawford 等^[10]证明雪旺氏细胞和分化的神经母细胞瘤细胞分泌的 PEDF 可抑制由碱性成纤维细胞生长因子 (basic fibroblast growth factor, bFGF) 或 VEGF 诱导的血管内皮细胞的移动, 体外实验结果表明 PEDF 能够抑制 VEGF 诱导的内皮细胞移行, 且具有剂量依赖现象, 其活性比血管抑素、内皮抑素活性更高^[11], 这可能是 PEDF 通过抑制 VEGF 诱导的内皮细胞移行来抑制 NSCLC 新血管的形成, 具体机制还在进一步研究中。有学者指出 PEDF 抗血管生成的作用在一定程度上是通过与 VEGFR-2 的特异性结合而抑制 VEGF 实现的^[12], 这与本研究中内皮抑素和 PEDF 可能不是通过减少 VEGFR-2 的表达来抑制血管新生的观点相一致。

本实验表明, NSCLC 细胞中 PEDF 升高, VEGFR-2 降低可能是抑制肿瘤血管新生的机制之一。

4 参考文献

- [1] Cai J, Jiang WG, Grant MB, et al. Pigment epithelium-derived factor inhibits angiogenesis via regulated intracellular proteolysis of vascular endothelial growth factor receptor 1 [J]. *J Biol Chem*, 2006(6):3604-3613.
- [2] Tong JP, Yao YF. Contribution of VEGF and PEDF to choroidal angiogenesis: a need for balanced expressions [J]. *Clin Biochem*, 2006(39):267-276.
- [3] Guan M, Yam HF, Su B, et al. Loss of pigment epithelium derived factor expression in glioma progression [J]. *J Clin Pathol*, 2003(4):277-282.
- [4] Ogata N, Nishikawa M, Nishimura T, et al. Unbalanced vitreous levels of pigment epithelium derived factor and vascular endothelial growth factor in diabetic retinopathy [J]. *Am J Ophthalmol*, 2002(3):348-353.
- [5] 张力建, 陈晋峰, 陆爱萍, 等. 胎盘生长因子和色素上皮衍生因子在非小细胞肺癌中的表达及其与预后的关系 [J]. *中华医学杂志*, 2005(47):22-25.
- [6] Weidner N. Current pathologic methods for measuring intratumoral microvessel density within breast carcinoma and other solid tumors (Review) [J]. *Breast Cancer Res Treat*, 1995(2):169-180.
- [7] Mahtabifard A, Merritt RE, Yarnada RE, et al. In vivo gene transfer of pigment epithelium-derived factor inhibits tumor growth in syngeneic murine models of thoracic malignancies [J]. *Thorac Cardiovasc Surg*, 2003(1):28-38.
- [8] Volpert OV, Zaichuk T, Zhou W, et al. Inducer-stimulated Fas targets activated endothelium for destruction anti-angiogenic thrombospondin-1 and pigment epithelium-derived factor [J]. *Nat Med*, 2002(4):349-357.
- [9] 蔡滕, 樊根涛, 吴苏稼. 色素上皮衍生因子在肿瘤生长及转移中的作用 [J]. *医学研究生学报*, 2013:105-107.
- [10] Crawford SE, Stellmach V, Ranalli M, et al. Pigment epithelium-derived factor (PEDF) in neuroblastoma: a multifunctional mediator of Schwann cell antitumor activity [J]. *J Cell Sci*, 2001(24):4421-4428.
- [11] Dawson DW, Volpert OV, Gillis P, et al. Pigment epithelium-derived factor: a potent inhibitor of angiogenesis [J]. *Science*, 1999(285):245-248.
- [12] 刘颖, 周清华, 张尚福, 等. 内皮抑素在非小细胞肺癌中的表达及其与肺癌临床病理生理特征的关系 [J]. *中国肺癌杂志*, 2002(06):51-54.

(2014-12-20 收稿, 2015-02-05 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 赵毅

可吸收防粘连液对大鼠实验性腹壁粘连的抑制作用*

付凌云^{1,2}, 刘小红^{1,2}, 文波^{1,2}, 肖可³, 徐旖旎¹, 沈祥春^{1,2,*}

(1. 贵阳医学院 天然药物资源高效利用重点实验室, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵阳医学院 中药药理教研室, 贵州 贵阳 550004; 3. 贵州金玖生物技术有限公司, 贵州 贵阳 550005)

[摘要] 目的: 观察可吸收防粘连液对大鼠实验性腹壁粘连的抑制作用。方法: 60只SD大鼠随机分为生理盐水组(A组)、医用透明质酸钠凝胶组(B组)、可吸收防粘连液组(C组)3组, 每组20只, 制作大鼠腹壁缺损/盲肠刮伤模型, 在造模后第7和第14天处死大鼠, 观察粘连分级积分、解剖学、病理组织学改变。结果: 可吸收防粘连液显著抑制大鼠实验性腹壁粘连, 降低粘连分级积分; 减少炎细胞浸润和炎性肉芽组织增生, 浆膜层组织变性较轻。结论: 可吸收防粘连液在一定程度上抑制术后粘连。

[关键词] 可吸收防粘连液; 大鼠, Sprague-Dawley; 模型, 动物; 粘连; 腹壁; 病理学

[中图分类号] R285; R619.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0237-04

Inhibitory Effect of Absorbable Anti-adhesion Fluid on Experimental Abdominal Adhesions in Rats

FU Lingyun^{1,2}, LIU Xiaohong^{1,2}, WEN Bo^{1,2}, XIAO Ke³, XU Yini¹, SHEN Xiangchun^{1,2}

(1. Key Laboratory of Optimal Utilization of Natural Medicine Resources, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. Department of Pharmacology of Traditional Chinese Medicine, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China; 3. Guizhou Jinjiu Biological Technology Limited Company, Guiyang 550005, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the inhibitory effect of absorbable anti-adhesion fluid on experimental abdominal adhesion in rats. **Methods:** Sixty SD rats were randomly divided into 3 groups as following: normal saline group (group A), medical sodium hyaluronate gel group (group B), and absorbable anti-adhesion fluid group (group C). The abdominal wall defect and cecal abrasion model was established. After 7 d and 14 d of operation, the rats were sacrificed and the following indexes including adhesion classification, gross anatomy observation, and histopathologic examination were checked. **Results:** The adhesion classification was significantly decreased in group C, there were significant differences compared to group A ($P < 0.05$). Histopathological examination confirmed that absorbable anti-adhesion fluid could attenuate inflammatory cell infiltration, granulation tissue proliferation, and serosal tissue degeneration. **Conclusions:** Absorbable anti-adhesion fluid can inhibit adhesion after operation.

[Key words] absorbable anti-adhesion fluid; rat, Sprague-Dawley; model, animal; adhesions; abdominal wall; pathology

腹部手术后约93%的患者发生腹腔粘连, 可导致小肠梗阻、慢性腹痛、不孕不育等并发症, 严重影响了患者的生活质量^[1-2]。改善术后粘连成为

当前医学研究的焦点之一^[3]。防术后粘连的药物主要是通过减少炎症反应, 建立相邻创面的屏障来达到预防粘连的作用^[4]。可吸收防粘连液是从植

* [基金项目] 贵州省工业攻关计划[黔科合GY字(2010)3063号]

** 通信作者 E-mail: shenxiangchun@126.com

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.1030.032.html>

物中分离制备的防止术后粘连的制剂,本研究通过复制大鼠腹壁粘连模型,观察可吸收防粘连液防手术后粘连的疗效,为临床应用提供方法和实验基础。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

(Sprague-Dawley) SD 大鼠 60 只,体质量 180 ~ 220 g,雌雄各半,Ⅱ级实验动物,由贵阳医学院实验动物中心提供,合格证号:SCXK(黔)2012-001。按体质量随机均分为生理盐水组(A组)、医用透明质酸钠凝胶(B组)、可吸收防粘连液组(C组),每组 20 只大鼠。

1.2 药品与试剂

可吸收防粘连液由贵州金玖生物技术有限公司提供,生产日期 20130701,批号 2130701,4℃保存。医用透明质酸钠凝胶由上海昊海生物科技股份有限公司生产,生产日期 20120811,批号 120817,特性粘数 $\geq 1\ 600\ \text{cm}^3/\text{g}$,储存条件为避光密封 25℃保存。水合氯醛由国药集团化学试剂有限公司,批号 20090724。

1.3 模型复制及给药

大鼠(手术前禁食 12 h)腹腔内注射水合氯醛 300 mg/kg 麻醉,中下腹正中纵行切口,长 4 cm,距切口约 1 cm 处锐性切除腹膜及大部分肌层,造成面积约 2 cm×1 cm 的腹壁缺损,15 号手术刀片在盲肠对系膜侧浆膜上单向轻刮 60 次,使盲肠浆膜下出现瘀斑,刮伤盲肠面积约 2 cm×1 cm,将刮伤盲肠与腹壁缺损处两者相对放置,使其相互接触,按分组将不同药物涂布于腹壁缺损及盲肠刮伤面。A 组为 1.5 mL 生理盐水,B 组为 1.5 mL 医用透明

质酸钠凝胶,根据临床使用剂量 C 组按照大鼠体质量 1 mL/100 g 用量给予可吸收防粘连液。分别于手术后第 7 和第 14 天各组选取 10 只动物用水合氯醛麻醉处死,倒(U)型切口掀起腹壁,观察腹膜粘连情况。

1.4 检测指标

根据参考文献[5]进行粘连程度分级,完全无粘连为 0 级,计 0 分;内脏间或内脏与腹壁间 1 条粘连带为 I 级,计 1 分;内脏间或脏与腹壁间 2 条粘连带为 II 级,计 2 分;多于 2 条粘连带而内脏未直接粘连至腹壁为 III 级,计 3 分;内脏直接粘连到腹壁,不管粘连带多少为 IV 级,计 4 分。分别取 3 组处死大鼠的腹腔内粘连部位组织(盲肠和腹膜粘连的组织处),无粘连大鼠取受损腹壁及盲肠壁组织,10% 福尔马林液固定,石蜡包埋切片后常规苏木精-伊红染色,进行病理组织学检查。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 统计软件包进行数据分析,样本两两比较采用 Wilcoxon 秩和检验(Wilcoxon rank sum test)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 粘连程度分级

术后第 7 天 A 组粘连以 III~IV 级为主,B 组粘连以 0~I 级为主,C 组粘连以 I~II 级为主,C、B 两组与 A 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。手术后第 14 天 A 组粘连以 III~IV 级为主,B 组粘连以 0~I 级为主,C 组粘连以 0~I 级为主。C、B 两组与 A 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1 和图 1。

表 1 各组大鼠术后第 7 天和第 14 天粘连程度分级

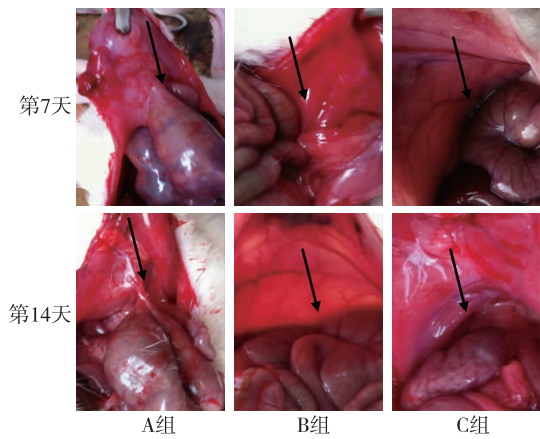
Tab. 1 Adhesion classification of rats in each group in the 7th and 14th day after operation

组别	n	手术后第 7 天粘连程度					手术后第 14 天粘连程度				
		0 级	I 级	II 级	III 级	IV 级	0 级	I 级	II 级	III 级	IV 级
A 组	10	0	0	0	5	5	0	0	2	4	4
B 组	10	3	4	1	0	2	3	4	1	0	2
C 组	10	0	2	4	3	1	4	2	1	1	2

2.2 病理组织学检查

病理组织学检查结果示,术后第 7 天,A 组肌层组织可见明显变性、坏死,大量炎细胞浸润,浆膜层组织可见重度变性、坏死,大量炎性肉芽组织增生、炎细胞浸润及脓肿形成,可见少量纤维组织增

生;术后第 14 天,A 组可见肌层组织轻度变性、坏死,少量炎细胞浸润,浆膜层组织中度变性、坏死,大量炎性肉芽组织增生及较多炎细胞浸润,大量纤维组织增生并玻璃样变性。B、C 组与 A 组相比,可见肌层组织轻度变性,少量炎细胞浸润;浆膜层

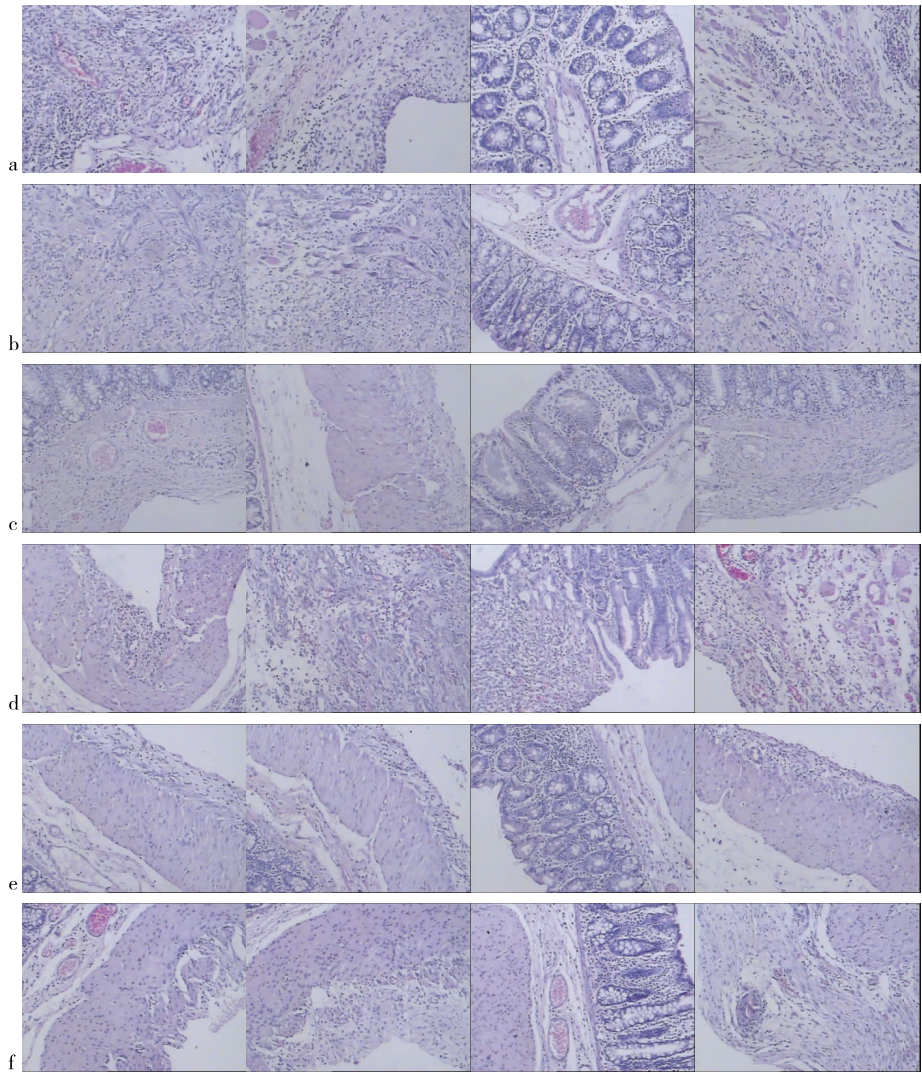


A 组箭头所指处发生粘连,B、C 组箭头所指处未发生粘连
图 1 手术第 7 和 14 天时大鼠腹壁解剖学观察
Fig. 1 Gross anatomy observation of rats' abdominal wall in the 7th and 14th day after operation

组织轻度变性,少量炎性肉芽组织增生及少量炎细胞浸润,少量纤维组织增生。从第 7 天~第 14 天,C 组较 A 组黏膜层有明显的脉管扩张,且 A 组黏膜下层水肿、炎细胞浸润较其他三组明显严重。提示 C 组具有预防组织粘连的作用。见图 2。

3 讨论

粘连是临床腹盆腔手术后的常见并发症^[1]。腹腔粘连是腹腔内创伤、炎症、感染、异物刺激等形成并相伴机体组织愈合的必然过程,是腹膜和脏器受到损伤之后,所发生的炎症反应^[2,6]。可能与细胞之间的作用有关^[7-8]。本研究制作腹腔手术粘连大鼠模型,术后第 7 和第 14 天结果生理盐水组动物腹壁 100% 发生粘连,提示生理盐水没有防术



a、c、e 为术后第 7 天时 A、B、C 组,b、d、f 为术后第 14 天时 A、B、C 组
图 2 大鼠术后腹壁粘连病理组织学检查(HE, ×100)

Fig. 2 Histological examination of abdominal adhesions of rats in the 7th and 14th day after operation

后粘连的作用,B、C组与A组相比均对术后防粘连起到了一定的抑制作用,临床可通过提高手术技巧减少组织损伤、应用生物屏障物质等都可以防治腹壁粘连^[9]。本次研究结果发现,A组有明显的粘连情况,盲肠与腹壁粘连严重,甚至与其他内脏产生粘连;B、C组结果提示透明质酸钠凝胶和可吸收防粘连液在一定程度上均有助于粘连的改善。HE染色结果显示,术后第14天与第7天生理盐水组粘连组织炎症反应由强到弱,组织坏死,变性,炎细胞浸润情况逐渐减弱,炎性肉芽组织增生逐渐减少、脓肿情况改善。在C组观察到损伤粘连处与A组比较,炎细胞浸润少,炎性肉芽组织增生少,坏死、变性减少。可以推测C组可能通过减少炎症反应,减少成纤维细胞增生来预防术后粘连的形成。提示可吸收防粘连液可以减少炎细胞渗出和损伤局部组织的炎症反应,进一步减少损伤局部组织在修复过程中的纤维肉芽组织的增生,抑制粘连纤维带的形成,到达预防粘连的效果。

可吸收防粘连液含有从植物纤维中提取纯化的纤维素多糖,分子中含有较多的亲水基团,使可吸收防粘连液具有可溶性,通过分子变性技术使其具有降解功能,可被机体吸收^[10-11]。可吸收纤维素多糖与凝血因子、纤维蛋白原能够均匀的有机结合,具有止血作用^[12]。可吸收防粘连液是具有自主知识产权的新型的止血、防粘连系列产品,通过本实验进一步证明其具有止血和防粘连作用,它能有效控制组织之间产生渗出,在临床最容易形成粘连的时间内,阻止粘连的形成。具有良好的术后防粘连作用,是一种组织相容性良好的新型制剂。

4 参考文献

- [1] 邝婉容,曾煦欣,杨安平,等. 丹参防治术后粘连的研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2009(14):17-18.
- [2] 赵义江,张国志,王长友,等. 腹腔粘连的研究现状分析[J]. 华北煤炭医学院学报, 2011(6):777-779.
- [3] Takagi K, Araki M, Fukuoka H, et al. Novel powdered anti-adhesion material: preventing postoperative intra-abdominal adhesions in a rat model[J]. International Journal of Medical Sciences, 2013(10):467-474.
- [4] Arung W, Meurisse M, Detry O. Pathophysiology and prevention of postoperative peritoneal adhesions [J]. World journal of gastroenterology: WJG, 2011(17):4545-4553.
- [5] 林建波,孙少川,刘国勤,等. S-100 预防大鼠术后腹腔粘连的实验研究[J]. 中国现代普通外科进展, 2010(13):169-172.
- [6] 曾德强,陈双,杨斌. 壳聚糖膜预防术后腹腔粘连及其作用机制的研究[J]. 岭南现代临床外科, 2005(5):94-96.
- [7] 王莲莲,曹霞,罗希,等. 几丁糖和透明质酸钠防粘连材料在妇产科的应用[J]. 中国组织工程研究, 2012(47):8923-8930.
- [8] 王涛,高成燕. 预防腹膜粘连临床实验有效性评价的基本考虑[J]. 中国临床药理学杂志, 2007(1):60-62.
- [9] 郑磊,邵斌,任艳丽,等. 玻璃酸钠预防开腹术后腹腔粘连的实验研究[J]. 医药论坛杂志, 2007(24):48-49.
- [10] 肖海军,侯春林,薛锋. 羧甲基壳聚糖-羧甲基纤维素防粘连膜的制备及其理化特性[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010(14):7069-7074.
- [11] Stawicki SP, Green JM, Martin ND, et al. Results of a prospective, randomized, controlled study of the use of carboxymethylcellulose sodium hyaluronate adhesion barrier in trauma open abdomens [J]. Surgery, 2014(2):419-430.
- [12] 张少锋,洪加源. 医用生物可吸收止血材料的研究现状与临床应用[J]. 中国组织工程研究, 2012(16):3941-3944.

(2014-12-25 收稿,2015-01-28 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 周 凌

不同时期海洛因依赖大鼠胃窦 CD4、CD8 和 IL-2 表达*

夏白娟, 李一欣, 洪艳, 韩晶, 梁文妹

(贵阳医学院 组织学与胚胎学教研室, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 探讨海洛因依赖期间大鼠胃窦内 CD4、CD8 及白细胞介素-2(IL-2)的表达。方法: 正常成年 SD 大鼠, 随机分为正常对照组(NCG)、盐水对照组(SCG组)和不同时期海洛因依赖组(HDG组); 采用免疫组织化学 SABC 法及图像分析法, 观察 SCG 组和 HDG 组造模第 10、17、24、31 及 38 天大鼠胃窦黏膜 CD4、CD8 和 IL-2 表达。结果: 与 NCG 组及 SCG 组比较, HDG 组大鼠胃窦 CD4、IL-2 阳性细胞数量减少, 染色变浅, 图像分析的细胞计数和平均灰度值差异也有统计学意义($P < 0.05$); HDG 组大鼠胃窦 CD8 阳性细胞较 NCG 及 SCG 组细胞数量增多, 染色变深, 在海洛因依赖第 24 天变化最为明显, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论: 在海洛因依赖期间, CD4、IL-2 在胃窦表达减弱, CD8 表达增强, 提示海洛因依赖对大鼠胃黏膜免疫功能造成损伤。

[关键词] CD4 阳性 T 淋巴细胞; CD8 阳性 T 淋巴细胞; 白介素 2; 胃窦; 海洛因; 大鼠, Sprague Dawley

[中图分类号] R329.44; R34-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0241-04

The Expression of CD4, CD8 and IL-2 in Gastric Antrum of Heroin-dependent Rats in Different Periods

XIA Baijuan, LI Yixin, HONG Yan, HAN Jing, LIANG Wenmei

(Department of Histology and Embryology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the expression of CD4, CD8 and interleukin-2 (IL-2) in gastric antrum of heroin-dependent rats. **Methods:** Adult SD rats were divided into normal control group (NCG), saline control group (SCG) and heroin-dependent group (HDG). Immunohistochemical SABC method and image analysis technique were performed to detect the expression of CD4, CD8 and IL-2 in the 10th, 17th, 24th, 31st day after establishing heroin-dependent model. **Results:** The number of CD4, IL-2 positive cells and intensity of immunohistochemical staining of CD4, IL-2 in HDG were decreased, compared with NCG and SCG. The results of image analysis showed that the difference of the number and the average gray degree of CD4, IL-2 were statistically significant ($P < 0.05$). Compared with NCG and SCG, the intensity of immunohistochemical staining and the number of CD8 positive cells in gastric antrum in HDG increased, the most obvious change appeared at 24th day of heroin dependence. **Conclusions:** The expression of CD4, IL-2 in gastric antrum is distinctly reduced, that of CD8 enhance during heroin dependence, suggesting that the immune function of rat antrum is damaged by heroin.

[Key words] CD4 positive T Cells; CD8 positive T Cells; interleukin-2; gastric antrum; heroin; rats, Sprague-Dawley

阿片类物质滥用可对成瘾者消化系统造成明显的损害,引起胃肠蠕动减慢、消化道溃疡及胃肠

功能紊乱等症状,可能与胃肠道的免疫功能降低有关^[1-3]。T 淋巴细胞在机体免疫中起着重要作用,

*[基金项目] 贵州省卫生厅优秀青年基金(No:G2009-11); 贵州省科技厅基金[黔科合 J 字 2010(2153)]

网络出版时间:2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.0959.017.html>

主要包括 CD4 和 CD8 淋巴细胞两大亚群。分布在胃肠黏膜的 CD4 和 CD8 淋巴细胞能保护黏膜,防御病原菌的入侵^[4]。IL-2 (interleukin-2) 则是由 CD4 产生的一种细胞因子,能活化巨噬细胞,参与免疫防御^[5]。课题组前期研究曾报道过海洛因戒断、脱毒和复吸期间 CD4、CD8 和 IL-2 在大鼠胃窦的表达变化^[6],但目前对不同时期海洛因依赖大鼠胃黏膜免疫功能影响的研究少见报道,本实验通过建立相关大鼠模型,观察不同时期海洛因依赖期间(10、17、24、31、38 d),CD4、CD8 和 IL-2 在大鼠胃窦的表达,探讨海洛因依赖期间胃黏膜免疫功能的变化。

1 材料与方法

1.1 动物分组与试剂

成年雄性(Sprague Dawley, SD)大鼠 66 只,体重 180 ~ 220 g,由贵阳医学院实验动物中心提供;按配对原则随机分为正常对照组(normal control group, NCG)6 只,盐水对照组(saline control group, SCG)和海洛因依赖组(heroine dependent group, HDG),各 30 只。海洛因粉剂,纯度 61.48%,由贵州省公安厅提供,临用时用灭菌注射用水溶解。

1.2 方法

1.2.1 海洛因依赖大鼠模型 HDG 组按体重逐日递增皮下注射海洛因药液,首日剂量为 3 mg/kg,2 次/日(上午 8 时,下午 3 时),每日递增 3 mg/kg,连续注射 9 d 至成瘾,第 9 天剂量为 27 mg/kg。此后每日上午 8 时皮下注射海洛因一次,维持至取材,剂量为 27 mg/kg。SCG 组按体重每日注射 HDG 组相当剂量的生理盐水。NCG 组不予任何处理。

1.2.2 标本制备 HDG 组及 SCG 组分别于第 10、17、24、31、38 天取材,(分别为 HDG₁₀, HDG₁₇, HDG₂₄, HDG₃₁, HDG₃₈ 和 SCG₁₀, SCG₁₇, SCG₂₄, SCG₃₁, SCG₃₈ 组)每组每次处死 6 只, NCG 组每次处死一只。取胃窦组织,多聚甲醛液固定,常规石蜡包埋,制成 4 μ m 厚的连续切片。

1.2.3 CD4、CD8 和 IL-2 阳性细胞检测 免疫组织化学 SABC 法,切片常规脱蜡脱水,室温 10% 甲醇-H₂O₂ 10 min,正常羊血清(1:50)室温下封闭 20 min,分别滴加兔 CD4、CD8 和 IL-2 抗血清,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜;羊抗兔 IgG(1:100)37 $^{\circ}$ C 孵育 20 min,

SABC 复合物(1:100)37 $^{\circ}$ C 孵育 20 min, DAB-H₂O₂ 液显色,苏木精复染细胞核,中性树胶封片。方法对照采用 PBS 缓冲液代替特异性抗血清,其余步骤同上。

1.2.4 观察指标 随机选取 HDG 组各时间点和同期 SCG 组各胃窦切片 3 例, NCG 组 3 例于 40 倍物镜下,每例切片随机选取 5 个视野,大鼠胃窦黏膜中 CD4 阳性细胞经免疫组织化学染色之后可见免疫反应产物呈棕黄色,分布于黏膜固有层,胞体小,多呈圆形、椭圆形;CD8 阳性细胞经免疫组织化学染色之后可见免疫反应产物呈棕黄色或棕黑色,位于细胞膜和胞质内,多分布于胃窦黏膜固有层内;大鼠胃窦 IL-2 阳性细胞免疫反应产物呈棕黄色或棕黑色细颗粒状,存在于细胞胞质中,阳性细胞多分布于固有层腺底部的结缔组织中。用 BioMias 图像分析系统检测 CD4、CD8 和 IL-2 阳性细胞的平均灰度值。

1.3 统计学方法

数据用均数 \pm 标准差表示($\bar{x} \pm s$)。应用 SPSS 11.5 软件包对所得数据进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

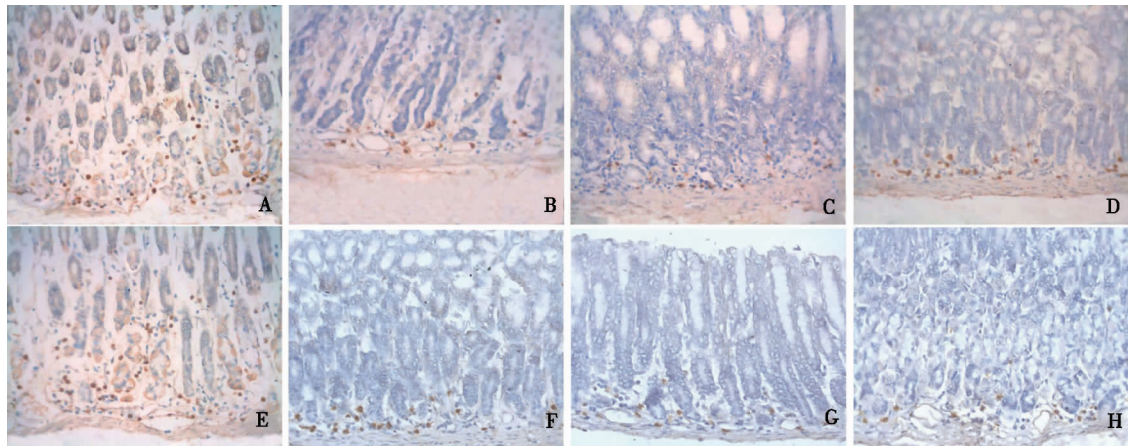
在实验过程中,SCG 组和 NCG 组大鼠皮毛光滑,饮食正常,无拉稀便等现象,体重逐渐增长;HDG 组大鼠随海洛因剂量的递增,从第 10 天开始出现典型的海洛因依赖症状。表现为:给药后动物呆滞、活动减少、嗜睡,四肢及躯体肌紧张,尾巴僵直上翘,两眼凸出、发亮,眼神迷离无光彩,用硬物戳之无反应,类似死后僵硬一般,这些表现持续约 30 min;此后开始出现兴奋状态,表现为活动增多,乱窜,快速不停地转圈运动,舔毛,咬前爪及磕铁笼等,兴奋持续时间约 90 min。

2.2 CD4、CD8 和 IL-2 表达

光镜下,SCG 各组 and NCG 组比较,大鼠胃窦中 CD4 阳性细胞的分布及免疫染色强度无明显差别(图 1-A);HDG 组大鼠胃窦黏膜内的 CD4 阳性细胞数量随着海洛因依赖时间的延长逐渐减少,且免疫染色强度减弱(图 1-B、图 1-C)。SCG 各组大鼠胃窦中 CD8 阳性细胞的分布及免疫染色强度与 NCG 组无明显差别,HDG 大鼠胃窦黏膜内 CD8 阳性细胞在海洛因依赖早期没有太大变化,于

依赖 24 d 时数量明显增加,免疫染色有所增强(图 1 - D、图 1 - E)。与 NCG 组比较,SCG 组 IL-2 阳性细胞的分布及免疫反应染色强度均无明显变化,

经统计学处理,该两组平均灰度值无显著差异($P>0.05$)(图 1 - F)。海洛因依赖大鼠组胃窦 IL-2 阳性细胞数量减少(图 1 - G、图 1 - H)。



A ~ C 为 SCG₁₀、HDG₃₁ 及 HDG₃₈ 组 CD4 阳性细胞,D ~ E 为 HDG₂₄ 及 HDG₃₈ 组 CD8 阳性细胞;F ~ H 为 SCG₃₁、HDG₁₇ 及 HDG₂₄ IL-2 阳性细胞

图 1 各组大鼠胃窦 CD4、CD8、IL-2 免疫反应阳性细胞(SABC ×400)

Fig. 1 The CD4, CD8 and IL-2 positive cells in gastric antrum of rats in each group

2.3 CD4、CD8 和 IL-2 阳性细胞数量

大鼠胃窦黏膜 CD4、CD8 和 IL-2 阳性细胞数在 NCG 与 SCG 各组之间的差异无统计学意义($P>0.05$)。HDG 组 CD4 和 IL-2 阳性细胞数量减少,与 NCG、SCG 比较差异有统计学意义($P<0.05$),且随着依赖时间的延长两种细胞减少的趋势越明

显,差异有统计学意义($P<0.05$);HDG 组 CD8 阳性细胞数量在海洛因依赖的第 10、17 天时无明显变化,在第 24 天时升高($P<0.05$),此后数量虽有所升高,但差异不具有统计学意义($P<0.05$),且 CD4/CD8 的比值明显 <1 。见表 1。

表 1 各组大鼠胃窦黏膜中 CD4、CD8、IL-2 阳性细胞数量

Tab. 1 The number of CD4, CD8 and IL-2 positive cells in gastric antrum of rats in each group

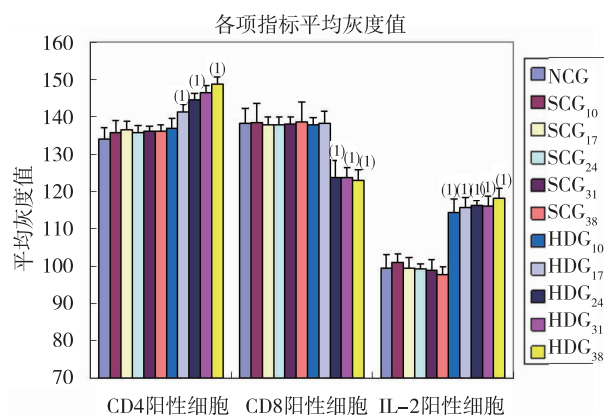
组别	阳性细胞数($\bar{x} \pm s, n=6$)					
	CD4	P	CD8	P	IL-2	P
NCG	27.833 ± 1.581 1		18.333 ± 2.249 2		23.808 ± 1.032	
SCG ₁₀	28.000 ± 1.328 4	0.769	18.389 ± 1.420 0	0.924	24.200 ± 1.207	0.108
SCG ₁₇	28.277 ± 1.673 5	0.434	18.444 ± 1.338 2	0.849	24.133 ± 1.125	0.137
SCG ₂₄	28.111 ± 2.323 5	0.624	18.944 ± 1.696 8	0.296	24.451 ± 1.356	0.136
SCG ₃₁	28.333 ± 1.495 1	0.378	18.278 ± 1.564 5	0.924	25.267 ± 3.452	0.077
SCG ₃₈	28.167 ± 1.723 5	0.557	19.00 ± 1.782 3	0.255	24.814 ± 2.628	0.058
HDG ₁₀	25.111 ± 1.323 5	0.000 1	18.722 ± 1.673 5	0.506	19.953 ± 1.926	0.000 1
HDG ₁₇	22.833 ± 1.886 5	0.002	19.833 ± 1.543 5	0.061	15.758 ± 3.682	0.000 1
HDG ₂₄	21.389 ± 2.033 2	0.000 1	25.667 ± 2.249 2	0.000 1	12.733 ± 0.389	0.000 1
HDG ₃₁	17.167 ± 1.581 1	0.000 1	27.056 ± 1.474 2	0.000 1	10.067 02 ± 2.492	0.000 1
HDG ₃₈	13.611 ± 1.460 8	0.000 1	28.611 ± 1.974 5	0.000 1	7.516 ± 2.703	0.000 1

2.4 CD4、CD8 和 IL-2 阳性细胞平均灰度值

CD4、IL-2 阳性细胞的平均灰度值在 NCG 和 SCG 各组分别比较,差异均无统计学意义($P>$

0.05); CD4 阳性细胞和 IL-2 阳性细胞平均灰度值在 HDG 组随着海洛因依赖时间延长而逐渐增加,CD4 差异有统计学意义($P<0.05$),而 IL-2 差

异无统计学意义($P > 0.05$)。HDG 组 CD8 阳性细胞平均灰度值在海洛因依赖第 24 天之后较 NCG 和 SCG 各组 HDG1、HDG2 组显著下降,差异具有统计学意义($P < 0.05$)。见图 2。



(1) 与本组内 NCG、SCG 各组比较 $P < 0.05$

图 2 各组大鼠胃窦黏膜中 CD4、CD8、IL-2 阳性细胞平均灰度值

Fig. 2 The average gray degree of CD4, CD8 and IL-2 positive cells in gastric antrum of rats in each group

3 讨论

CD4 淋巴细胞和 CD8 淋巴细胞参与了机体病毒免疫、抗肿瘤免疫等作用,在正常人体内的比例约为 2^[7-8]。CD4 是辅助性 T 细胞的表面标志,CD8 是杀伤性 T 细胞的表面标志。在免疫应答过程中,CD8⁺T 细胞发挥细胞毒作用,特异性直接杀伤靶细胞;CD4⁺T 细胞具有协助体液免疫和细胞免疫的功能。两者既相互联系、相互促进,又相互制约。其中任何一方异常、免疫调节失衡,即可出现病理状态^[9]。

研究发现阿片类物质对机体免疫系统有抑制作用^[10]。对海洛因依赖患者外周血的检测也发现,CD4 淋巴细胞数较正常值降低,CD4/CD8 的比值 < 1 ^[11-12]。本实验结果 CD4 淋巴细胞数随着海洛因依赖天数的增加而逐渐减少,免疫染色变浅,表明海洛因能加速 CD4 淋巴细胞凋亡使细胞数量减少,与 Yin 等^[13]报道相符。CD8 淋巴细胞数及免疫染色强度在海洛因依赖初期变化不明显,从第 24 天起细胞数增多,免疫染色逐渐加深,推测可能与 CD8 淋巴细胞具有抑制 T 细胞活性,对免疫应答有负调节效应有关,CD4/CD8 比值的降低也提

示胃黏膜免疫防御功能下降^[14]。本实验中,海洛因依赖大鼠胃窦 IL-2 细胞的细胞数减少,免疫反应强度减弱,与 Li HY 等^[15]的报道相符,表明 CD4 淋巴细胞数量减少,产生细胞因子 IL-2 的能力减弱。而 IL-2 能促进淋巴细胞的增殖,IL-2 分泌的减少,对 CD4 淋巴细胞的增殖造成了影响^[16]。在海洛因依赖期间,胃窦黏膜免疫功能受到严重损伤,这也是海洛因滥用者容易受病毒、细菌感染而出现相关临床并发症的原因之一。

4 参考文献

- [1] Dimitrijević I, Kalezić N, Ristić J, et al. Digestive system damage caused by substance abuse[J]. Acta Chir Iugosl, 2008(55):133-138.
- [2] Adam DF, Ella F, Qasim A. Opioids and the Gastrointestinal Tract - A Case of Narcotic Bowel Syndrome and Literature Review[J]. J Neurogastroenterol Motil, 2013(19):94-98.
- [3] Panchal SJ, Müller-Schwefe P, Wurzelmann JI. Opioid-induced bowel dysfunction: prevalence, pathophysiology and burden[J]. Int J Clin Pract, 2007(61):1181-1187.
- [4] Smith PM, Garrett WS. The gut microbiota and mucosal T cells[J]. Front Microbiol, 2011(2):111.
- [5] 冯静, 费瑜, 孟晓萍. CD4⁺和 CD8⁺T 淋巴细胞与动脉粥样硬化相关性研究进展[J]. 中国动脉硬化杂志, 2011(19):707-710.
- [6] 夏白娟, 梁文妹, 李一欣, 等. cd4、cd8 和 il-2 在海洛因戒断、复吸大鼠胃窦的表达[J]. 世界华人消化杂志, 2013(21):1589-1594.
- [7] Rehmann B. Hepatitis C virus versus innate and adaptive immune responses: a tale of coevolution and coexistence[J]. J Clin Invest, 2009(7):1745-1754.
- [8] Zamarron BF, Chen W. Dual roles of immune cells and their factors in cancer development and progression[J]. Int J Biol Sci, 2011(7):651-658.
- [9] 刘阳, 马涛, 武昕. CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞浸润与外阴上皮内非瘤样病变的相关性[J]. 中国医科大学学报, 2010(7):561-563.
- [10] Feng P, Wilson QM, Meissler JJ, et al. Increased sensitivity to Salmonella enterica serovar Typhimurium infection in mice undergoing withdrawal from morphine is associated with suppression of interleukin-12[J]. Infect Immun, 2005(12):7953-7959.
- [11] 徐靖, 张勇, 石向东, 等. HIV 阳性的海洛因依赖者戒毒前后 120 天 CD4⁺T 变化[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2008(14):91-93.

(下转第 252 页)

蓝莓对酒精性脂肪肝小鼠肝组织 HO-1 表达及抗氧化能力的影响^{*}

黄超^{**}, 任婷婷, 王豫萍, 程明亮^{***}

(贵阳医学院 感染科教研室, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 研究蓝莓对酒精性脂肪肝(AFLD)小鼠肝组织中血红素氧化酶-1(HO-1)表达水平及抗氧化能力的影响,探讨蓝莓对AFLD的保护作用及可能机制。方法: 40只C57/6J小鼠随机均分为对照组、蓝莓组、蓝莓+HO-1抑制剂(锌原卟啉,ZnPPIX)组及模型组,NIAAA法建立AFLD动物模型,油红O染色法检测模型建立情况及各组小鼠肝组织病理学变化;取眼眶血检测各组小鼠血清谷丙转氨酶(ALT),谷草转氨酶(AST),甘油三酯(TG),胆固醇(TC)含量;酶联免疫吸附法(ELISA)测定各组小鼠肝组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性及谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)的含量;Western blot法检测各组小鼠肝组织中HO-1蛋白的表达。结果: 蓝莓组肝组织脂肪沉积较模型组及蓝莓+ZnPPIX组明显减少,血清中ALT、AST、TG及TC含量降低($P < 0.05$),肝组织中SOD活性和GSH含量升高($P < 0.05$),MDA含量降低($P < 0.05$);蓝莓组HO-1蛋白表达量高于蓝莓+ZnPPIX组及模型组。结论: 蓝莓可减轻AFLD,其机制可能与上调小鼠肝脏HO-1的表达,增强机体抗氧化能力有关。

[关键词] 脂肪肝,酒精性;蓝莓;氧化应激;血红素氧化酶-1;肝功能试验

[中图分类号] R363.1; R575.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0245-04

The Influence of Blueberry on Heme Oxygenase-1 Expression and Antioxidant Ability of Mice with Alcoholic Fatty Liver Disease

HUANG Chao, REN Tingting, WANG Yuping, CHENG Mingliang

(Institute of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical college, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the influence of blueberry on heme oxygenase-1 (HO-1) and antioxidant ability of mice with alcoholic fatty liver disease (AFLD), and to explore the protective effects of blueberry on AFLD and possible mechanism. **Methods:** Forty C57/6J mice were randomly divided into control group, blueberry group, blueberry + ZnPPIX group and model group. AFLD model was established by using NIAAA method, pathological changes in the hepatic tissues were detected by oil red O staining, the orbital blood was taken to detect the levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), triglyceride (TG) and total cholesterol (TC). The superoxide dismutase (SOD) activity and glutathione (GSH) levels, malondialdehyde (MDA) contents in liver tissue were quantified by ELISA. The expression of HO-1 in liver tissue was detected by Western blot. **Results:** Compared with model group and blueberry + ZnPPIX group, lipid accumulation in liver tissue of mice in blueberry group decreased, serum ALT, AST, TG and TC levels decreased ($P < 0.05$). The hepatic MDA content also decreased ($P < 0.05$), while GSH contents, SOD activity and the HO-1

^{*}[基金项目] 贵州省科技厅攻关项目(No:D2010-7); 贵州省科技厅中药现代化项目(No:D2012-7)

^{**} 贵阳医学院 2012 级硕士研究生

^{***} 通信作者 E-mail: mlcheng@yeah.net.

网络出版时间:2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.1006.020.html>

levels increased ($P < 0.05$). **Conclusion:** Blueberry can alleviate AFLD, the mechanism may relate to raise the expression of HO-1 in mice, increase the antioxidant capacity.

[**Key words**] fatty liver, alcoholic; blueberry; oxidative stress; heme oxygenase-1; liver function test

乙醇代谢所引起的氧化应激、脂质过氧化、线粒体损伤以及细胞防御体系的激活是酒精性脂肪肝(alcoholic fatty liver disease, AFLD)的主要发病机制,临床上使用抗氧化剂治疗 AFLD 具有较好的疗效^[1-5]。血红素氧合酶-1(heme oxygenase-1, HO-1)对多种氧化损伤有良好的保护作用,已成为目前研究预防氧化攻击的首选靶基因之一^[6]。蓝莓中富含的花青素、多酚类和黄酮类化合物是果品中少有的特殊成分,具有明确的抗氧化活性,被称为果蔬中“第一号抗氧化剂”^[7]。本实验通过建立 AFLD 动物模型,以 HO-1 为研究重点,观察在蓝莓及 HO-1 抑制剂(ZnPPIX)干预下小鼠肝脏脂肪沉积、肝功能损伤指标、抗氧化指标及 HO-1 蛋白表达的变化,探讨蓝莓对小鼠 AFLD 的干预作用及可能作用机制。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

蓝莓(兔眼品种)产于麻江县蓝莓生产基地, -20℃保存,使用时临时榨汁提取原浆使用;利伯 DeCarli82 对照组饲料,利伯 DeCarli82 损伤饲料(江苏特洛菲饲料科技有限公司;F1259SP, F1258SP);锌原卟啉(ZnPPIX)溶液(Sigma 公司);谷胱甘肽(GSH)酶联免疫分析试剂盒、丙二醛(MDA)酶联免疫分析试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)酶联免疫分析试剂盒(上海凯基);HO-1 兔抗鼠多克隆抗体一抗(ABCAM),羊抗兔多克隆抗体二抗(上海基因工程),GAPDH 兔抗鼠抗体(武汉博士德生物技术有限公司);BCA 蛋白定量试剂(Biomiga 生物有限公司),ECL 化学发光试剂(百乐公司);显微镜图像采集系统(OLYMPUS, BX41),MSS 全波长酶标仪(BioTec),电泳仪(自北京市六一仪器厂,1DYCZ-24DN 型),高速低温离心机(sigma3K15);全自动生化分析仪(日本 ADVIA2400),其他试剂均用分析纯。

1.2 动物分组建模

C57BL/6J 雌鼠(购于贵阳医学院动物实验中心)40 只,8~10 周龄,体质量(16 ± 2)g;小鼠适应

性喂养 2 周,随机均分为对照组(A 组),蓝莓组(B 组),蓝莓 + ZnPPIX 组(C 组),模型组(D 组)。参照 NIAAA 法^[8],对照组饲喂 DeCarli82 对照饲料,其余各组饲喂 DeCarli82 损伤饲料,建立 AFLD 模型。各组小鼠均严格按照说明书流程饲喂对应的利伯 DeCarli82 饲料 10 d。B 组在饲喂损伤饲料的同时进行蓝莓原浆灌胃(1.5 mL/100 g);C 组灌胃蓝莓方法同 B 组,同时用 ZnPPIX 溶液(10 mg/kg)经腹腔注射。

1.3 观察指标

造模 10 d 后,各组小鼠禁食水 24 h,于处死动物前 9 h, A 组灌胃精糊(灌胃量 = 体质量 \times 20 μ L),其余各组灌胃 30% 乙醇溶液(灌胃量 = 体质量 \times 20 μ L)。9 h 后各组小鼠麻醉脊柱脱颈处死,取眼眶血分离血清检测谷丙转氨酶(ALT),谷草转氨酶(AST),甘油三酯(TG),胆固醇(TC)检测。取同部位肝脏部分肝组织置于液氮中行冰冻切片液中保存用于油红 O 染色检测肝组织脂肪化,其余肝组织放入冻存管后 -80℃冻存,用于检测下面两类指标:(1)肝组织中超氧化物歧化酶(SOD)活性、谷胱甘肽(GSH)及丙二醛(MDA)含量,以空白组为参数调零,450 nm 波长依序测量各孔的吸光度(OD 值),根据标准曲线公式计算得出肝组织中相应指标。(2)肝组织 HO-1 蛋白表达,以 GAPDH 表达水平作为内参照,蛋白的表达量以 HO-1 蛋白与内参 GAPDH 对照蛋白灰度值的对比值表示。

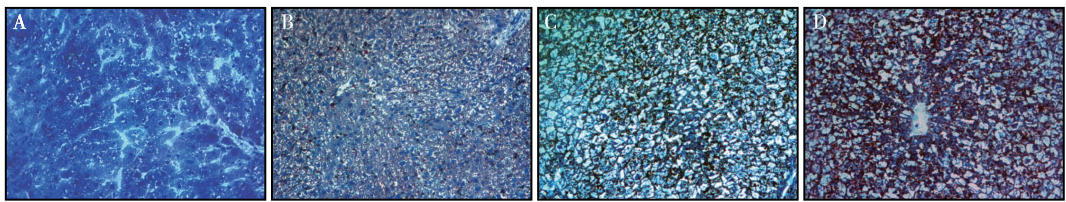
1.4 统计学方法

数据应用 SPSS 19.0 统计软件处理,数据采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较时,对于方差齐的情况采用 LSD 法,方差不齐的情况采用 Tamhane 法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠肝组织脂肪化程度鉴定

除 A 组外,B、C、D 组油红染色均可见细胞水肿及红色脂滴,而 B、C 组肝细胞内红色脂滴明显



A 为对照组,B 为蓝莓组,C 为蓝莓 + ZnPPiX 组,D 为模型组

图 1 各组小鼠肝组织油红 O 染色(×200)

Fig. 1 Pathological changes of mice liver in each group detected by oil red O staining
少于 D 组,B 组肝细胞水肿及脂滴沉积少于 C 组。于 D 组,差异有统计学意义($P < 0.05$);C 组 ALT、AST、TG、TC 含量明显高于 B 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 血清 ALT、AST、TG 及 TC

A、B 及 C 组血清中 ALT、AST、TG、TC 含量低

表 1 各组小鼠血清 ALT、AST、TG、TC 水平($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Serum ALT, AST, TG and TC levels in each group

组别	n	ALT(U/L)	AST(U/L)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)
A 组	10	52.42 ± 7.31 ⁽¹⁾	118.75 ± 17.29 ⁽¹⁾	1.46 ± 0.23 ⁽¹⁾	1.71 ± 0.17 ⁽¹⁾
B 组	10	82.52 ± 13.05 ⁽¹⁾	157.23 ± 12.99 ⁽¹⁾	1.93 ± 0.26 ⁽¹⁾	2.17 ± 0.23 ⁽¹⁾
C 组	10	97.26 ± 8.68 ⁽¹⁾⁽²⁾	191.98 ± 13.18 ⁽¹⁾⁽²⁾	2.29 ± 0.25 ⁽¹⁾⁽²⁾	2.85 ± 0.18 ⁽¹⁾⁽²⁾
D 组	10	126.44 ± 18.25 ⁽³⁾	228.06 ± 26.52 ⁽³⁾	2.81 ± 0.23 ⁽³⁾	3.39 ± 0.20 ⁽³⁾

⁽¹⁾与 D 组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾与 B 组比较, $P < 0.05$; ⁽³⁾与 A 组比较, $P < 0.05$

2.3 肝组织中 SOD、MDA、GSH

与 D 组比较,A、B、C 组肝组织中 SOD 活性、GSH 水平明显增高,MDA 水平明显降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与 B 组比较,C 组 SOD 活性、GSH 水平明显降低,而 MDA 水平明显增高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组小鼠肝组织中 SOD 活性、MDA 及 GSH 水平($\bar{x} \pm s$)

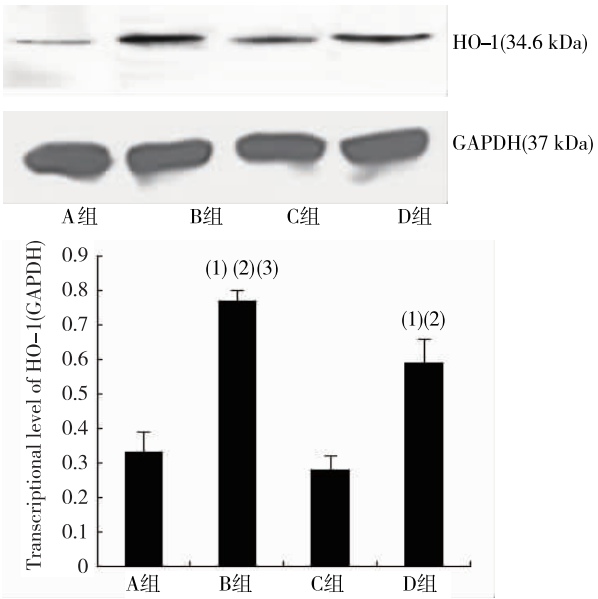
Tab. 2 Hepatic SOD activity, MDA and GSH contents in mice liver in each group

组别	n	SOD(U/mL)	MDA(mmol/L)	GSH(ng/L)
A 组	10	30.54 ± 1.97 ⁽¹⁾	0.87 ± 0.14 ⁽¹⁾	1.15 ± 0.15 ⁽¹⁾
B 组	10	40.09 ± 2.11 ⁽¹⁾	1.38 ± 0.12 ⁽¹⁾	1.87 ± 0.16 ⁽¹⁾
C 组	10	35.33 ± 2.63 ⁽¹⁾⁽²⁾	1.78 ± 0.13 ⁽¹⁾⁽²⁾	1.48 ± 0.13 ⁽¹⁾⁽²⁾
D 组	10	26.00 ± 2.09	2.16 ± 0.25	0.90 ± 0.18

⁽¹⁾与 D 组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾与 B 组比较, $P < 0.05$

2.4 肝组织中 HO-1 蛋白表达

B、D 组 HO-1 蛋白表达高于 A 组和 C 组差异均有统计学意义($P < 0.05$); B 组 HO-1 蛋白表达高于 D 组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见图 2。



⁽¹⁾与 A 组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾与 C 组比较, $P < 0.05$; ⁽³⁾与 D 组比较, $P < 0.05$

图 2 各组小鼠肝组织中 HO-1 蛋白的表达

Fig. 2 The levels of HO-1 in mice liver in each group

3 讨论

报告》显示,2012 年全球因有害食用酒精造成 330 万人死亡,超过艾滋病、肺结核、暴力事件死亡人数的总和,占全球死亡总数的 5.9%,其中因酒精性肝病死亡的比例占 1/2。而 AFLD 是酒精性肝病早期的病理改变,若能得到有效控制,将大大降低酒精性肝病的发生。乙醇在肝脏中被乙醇脱氢酶(ADH)、微粒体中的乙醇氧化系统(MEOS)以及过氧化物酶体中的过氧化氢酶分解为乙醛,而其代谢过程将使肝细胞内活性氧(ROS)和氧自由基增多;当生成的 ROS 和氧自由基超过 SOD 和 GSH 等抗氧化因子的清除能力时,将导致细胞的脂质过氧化造成肝细胞线粒体功能紊乱,引起肝细胞脂肪变性,进而发展为 AFLD^[9]。HO-1 是细胞微粒体酶,主要功能是降解血红素生成胆绿素、CO 及 Fe^{2+} ,而胆绿素经胆绿素还原酶的作用生成胆红素,二者均具有抗氧化功能; Fe^{2+} 可诱导细胞内铁蛋白的生成,减少自由态铁的含量发挥保护细胞效应。另一方面 HO-1 产生的 CO 则通过抑制细胞色素 P450 2E1 催化活性和激活生物信号传导,减少细胞氧化毒性损伤^[10]。有研究发现,HO-1 所主导的抗氧化机制与 AFLD 的发生发展有着密切的关系^[11]。有报道称当细胞处于应激状态时,HO-1 可作为保护性蛋白表达增加^[12]。

蓝莓由于其强大的抗氧化活性,被 WHO/FAD 列为最佳的健康食品之一^[13]。近年来蓝莓明确的抗氧化、抗炎作用被应用于各领域氧化损伤疾病的防治研究。本课题组在前期的动物实验研究中证实了蓝莓能够通过提高机体的抗氧化能力对 CCL_4 引起的急性肝损伤起到较好的保护作用^[14]。推测蓝莓拮抗 AFLD 的发生发展,机制可能与蓝莓所含的活性物质可调节肝脏中 HO-1 蛋白的表达并改善机体氧化应激有关。

本实验通过 NIAAA 法成功复制了小鼠 AFLD 模型。通过对蓝莓组及模型组小鼠油红染色、肝功能指标的检测发现,蓝莓组小鼠肝组织脂肪沉积明显少于模型组,血清 ALT、AST、TG、TC 明显低于模型组($P < 0.05$),提示蓝莓能够拮抗乙醇代谢引起的肝损伤,减少肝组织中脂肪的沉积。另一方面,蓝莓组较模型组肝组织中 MDA 水平下降($P < 0.05$)、SOD 活性及 GSH 水平增加($P < 0.05$)。而 MDA 是脂质过氧化的终产物,能够反映肝组织由于氧自由基过量产生所导致的细胞膜损伤程度,肝组织中 GSH 和 SOD 的含量及活性能反映肝脏抗氧化应激的水平。提示蓝莓能够增强机体的抗氧

化能力,减少乙醇代谢引起的氧化应激损伤。Western blot 结果还显示,模型组 HO-1 的蛋白表达高于正常组($P < 0.05$),表明当细胞处于氧化应激状态时,HO-1 会应激性地表达上升;蓝莓组 HO-1 表达高于模型组($P < 0.05$),提示蓝莓对 AFLD 的保护作用可能与上调 HO-1 蛋白的表达进而提高机体的抗氧化能力有关。本研究进一步通过经典 HO-1 抑制剂 ZnPPiX + 蓝莓处理模型小鼠,在灌胃蓝莓的同时抑制 HO-1 的表达,观察此条件下小鼠的肝脏脂质沉积、生化指标及抗氧化指标的变化。结果显示,蓝莓 + ZnPPiX 组小鼠油红染色脂肪沉淀、肝血清损伤指标及 MDA 含量明显高于蓝莓组($P < 0.05$),而肝组织中 HO-1 蛋白的表达、SOD 活性、GSH 含量低于蓝莓组($P < 0.05$),进一步证实了蓝莓对 AFLD 的保护作用与肝组织内 HO-1 的表达变化从而影响机体抗氧化能力与有关。

综上所述,蓝莓对 AFLD 具有较好的保护作用,其机制可能与诱导 HO-1 高表达,提高机体的抗氧化能力有关,而蓝莓对 AFLD 保护作用的深入机制则有待进一步的研究。

4 参考文献

- [1] Liu J, Wang L. Baclofen for alcohol withdrawal [J]. Cochrane Database Syst Rev, 2011(1):1-18.
- [2] 刘梅,陆伦根. 氧应激在脂肪性肝病发生中的作用 [J]. 胃肠病学, 2006(4):254-256.
- [3] 胡成穆,曹琦,李俊. 酒精性脂肪肝脂质代谢研究进展 [J]. 安徽医药, 2012(8):1045-1047.
- [4] Scaglioni F, Ciccio S, Marino M, et al. ASH and NASH [J]. Dig Dis, 2011(2):202-210.
- [5] 宋健,张沐新. 治疗脂肪肝的药物临床应用评价 [J]. 中国药物化学志, 2012(5):452-455.
- [6] 朱子夫,马莉. Ho-1 抗氧化损伤的研究进展 [J]. 医学综述, 2010(15):2266-2270.
- [7] 陈介甫,李亚东,徐哲. 蓝莓的主要化学成分及生物活性 [J]. 药学报, 2010(4):422-429.
- [8] Lieber CS, Decarli LM. Liquid diet technique of ethanol administration 1989 update [J]. Alcohol Alcoholism, 1989(3):197-211.
- [9] Liu J. Ethanol and liver: Recent insights into the mechanisms of ethanol-induced fatty liver [J]. World J Gastroenterol, 2014(40):14672-14685.
- [10] Tang Y, Tian H, Shi Y, et al. Quercetin suppressed CYP2E1-dependent ethanol hepatotoxicity via depleting heme pool and releasing CO [J]. Phytomedicine, 2013(8):699-704.

(下转第 252 页)

贵州省部分地区阴道毛滴虫与人型支原体共生情况*

匡贵榕¹, 衣凤芸², 杨宇箭¹, 程其会¹, 王丽娟¹, 吴家红^{3*}

(1. 安顺市人民医院 妇产科, 贵州 安顺 561000; 2. 《中国寄生虫学与寄生虫病杂志》编辑部, 上海 200025; 3. 贵阳医学院 寄生虫学教研室, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 了解贵州地区阴道毛滴虫临床分离株与人型支原体共生情况。方法: 以贵州部分地区女性阴道毛滴虫病患者阴道后穹窿分泌物中采集的阴道毛滴虫虫株, 实验室达到纯培养后, 采用 Chelex-100 的方法提取滴虫基因组 DNA, 设计人型支原体 16S rDNA 特异引物, 进行聚合酶链式反应 (PCR), 琼脂糖凝胶电泳法对 PCR 产物进行分析, 观察滴虫细胞内人型支原体共生情况。结果: 从临床共采集到 165 株虫株中, 83 株获得纯培养; 83 株中人型支原体检测结果显示有 47 株阳性, 阳性率为 56.6%。结论: 阴道毛滴虫虫株与人型支原体共生情况在我国贵州地区普遍性存在。

[关键词] 毛滴虫, 阴道; 支原体人型; 16S rDNA; 聚合酶链式反应; 共生

[中图分类号] R382.211 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0249-04

Investigation on Symbiosis of *Mycoplasma hominis* in *Trichomonas vaginalis* in Some Areas of Guizhou Province

KUANG Guirong¹, YI Fengyun², YANG Yujian¹, CHENG Qihui¹, WANG Lijuan¹, WU Jiahong³

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Anshun City people's Hospital, Anshun 561000, Guizhou, China;

2. Editorial Department, Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases, Shanghai 200025, China;

3. Department of Parasitology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the symbiosis of *Mycoplasma hominis* in *Trichomonas vaginalis* in Guizhou Province. **Methods:** The clinical strains of *T. vaginalis* were collected from the hospitals and family planning service stations in Guiyang city and Anshun city. After pure culture in lab, the genome DNA of *T. vaginalis* was extracted by Chelex-100, and 16S rDNA fragment of *M. hominis* was amplified by PCR with the specific primers. Agarose gel electrophoresis analysis was conducted and the symbiosis of *M. hominis* in *T. vaginalis* was observed. **Results:** A total of 165 strains were collected from the hospitals and family planning service stations, and 83 clinical strains attained pure culture, of which 47 strains were detected positively for *M. hominis*. The positive rate was 56.6%. **Conclusions:** The symbiosis of *M. hominis* in *T. vaginalis* is prevalent in Guizhou province.

[Key words] *Trichomonas vaginalis*; *Mycoplasma hominis*; 16S rDNA; polymerase chain reaction; symbiosis

阴道毛滴虫 (*Trichomonas vaginalis*) 是寄生在人体泌尿生殖系统的原虫, 能引起的阴道毛滴虫病; 这是世界范围内流行的非病毒性传播疾病, 是引起女性阴道炎的一个重要原因, 全球每年约有

1.7 亿人被感染^[1]。人型支原体 (*Mycoplasma hominis*) 是一种常见的寄生于人体泌尿道和生殖道的病原体, 既往曾认为它是对人类无害的共栖微生物, 近年来却发现, 人型支原体感染不仅可致阴道

* [基金项目] 贵州省省长基金项目 [黔科教办 (2005) 14 号]; 安市科合 [2012] 36 号; 贵阳医学院博士启动基金

* * 通信作者 E-mail: 657490050@qq.com

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.1021.028.html>

炎、宫颈炎等下生殖道的炎症,还可致子宫内膜炎、输卵管炎以及盆腔炎等疾病^[2]。国外的研究显示人型支原体能够进入毛滴虫细胞内长期存活并进行细胞内复制,形成稳定的共生关系,这种共生可保护人型支原体免受宿主防御机制和药物治疗等外环境的影响^[3]。2009 年 1 月~2012 年 9 月采用聚合酶链式反应(PCR)技术对贵州部分地区的阴道毛滴虫临床分离株内的人型支原体进行检测,初步了解贵州部分地区阴道毛滴虫与人型支原体的共生情况。

1 材料与方法

1.1 阴道毛滴虫的来源及培养

阴道毛滴虫采自贵阳市妇产医院、安顺市地区人民医院和安顺市计生站女性阴道毛滴虫病患者。于无菌条件下,使用消毒棉签取患者阴道后穹窿分泌物置入含抗生素(终浓度:青霉素 200 U/mL,链霉素 200 U/mL)及 10% 小牛血清的肝浸汤培养基中,保温条件下迅速送至实验室进行培养。37 ℃ 培养 24 h 后,吸取培养管近底部液体 10~20 μ L,在显微镜下观察是否有滴虫生长,如为阴性,继续培养 3 代,如果仍为阴性,灭菌后丢弃;如为阳性,48 h 后传代,共传代 3 次。取 1 mL 毛滴虫的混悬液接种到 Luria-Bertani 培养基(LB 培养基),37 ℃ 振荡培养 24 h,若未出现浑浊,且取样镜检未见污染,即证明该样品已达到纯培养,用于后续实验。

1.2 主要试剂和仪器

蛋白胨、L-一半胱氨酸盐酸盐和酵母浸出液均购自美国 Amresco 公司。dNTPs 和 *Taq* DNA 聚合酶购自宝生物工程(大连)有限公司,琼脂糖购自美国 Promega 公司,Chelex-100 购自美国 BIO-RAD 公司,其余试剂均为进口或国产分析纯。电泳仪(DYY2C)为北京六一仪器厂产品,凝胶成像分析系统为美国 GE 公司产品。

1.3 方法

1.3.1 DNA 提取^[4-5] 采用 chelex-100 的方法,将纯化的滴虫培养至对数生长期时,在血细胞计数板上计数滴虫,滴虫浓度达到 1×10^7 /mL 时,将培养液 12 000 r/min 离心 5 min 后收集滴虫虫体到 1.5 mL EP 管中,加入 200 μ L 5% Chelex-100 和 10 μ L 的 20 g/L 蛋白酶 K,振荡混匀,55 ℃ 孵育 45 min,沸水浴中 8~10 min,冰浴 2 min,室温下 12 000 r/min 250

离心 3 min,上清即为 DNA,将提取的 DNA 经紫外分光光度计检测浓度和纯度后,-20 ℃ 保存。

1.3.2 人型支原体的 16S rRNA 基因 参照文献[6]设计扩增人型支原体的 16S rRNA 基因序列的特异性引物,上游引物为 5'-CAATGGCTAATGCCG-GATACGC-3',下游引物为 5'-GGTACCGTCAGTC-CGCAAT-3'。片段大小为 334 bp,反应体系为模板 DNA 50 ng,10 \times PCRbuffer 2.5 μ L,MgCl₂ (2.5 mmol/L) 3 μ L,dNTPs (2.5 mmol/L) 2 μ L,*Taq* DNA 聚合酶 1.25 U,上、下游引物(25 μ mol/L)各 1 μ L,总体积 25 μ L。反应条件为:95 ℃ 10 min,95 ℃ 15 s、60 ℃ 1 min、72 ℃ 30 s、35 个循环,72 ℃ 5 min。产物经 1.5% 琼脂糖凝胶进行电泳分析,并在成像系统中成像。

2 结果

本实验共采集到 165 株阴道毛滴虫临床分离株,达到纯培养并用于本研究的有 83 株,达到纯培养的滴虫见图 1。对达到纯培养的 83 株虫株进行人型支原体 PCR 检测,结果显示共有 47 株分离株在约为 330 bp 处扩增出特异性产物(图 2),说明这 47 株分离株为人型支原体阳性,阳性率为 56.6% (47/83)。

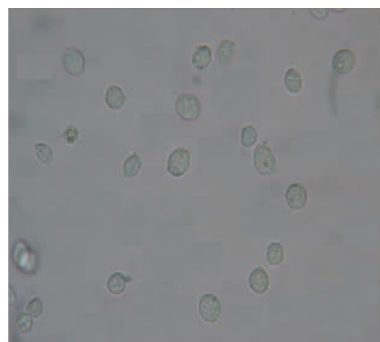
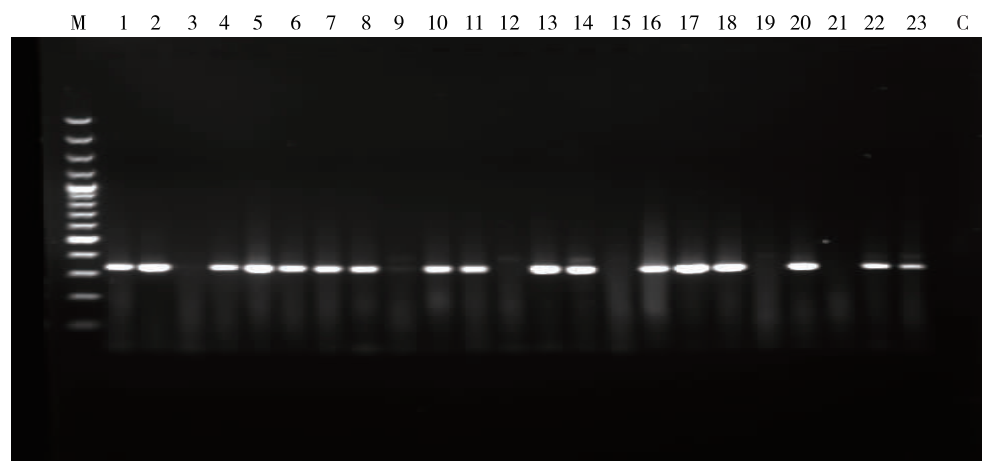


图 1 光镜下阴道毛滴虫滋养体(40 \times)

Fig.1 Trophozoite of *Trichomonas vaginalis*

3 讨论

1975 年,Nielsen^[7]通过电子显微镜观察到阴道分泌物和体外培养 6 周的阴道毛滴虫大食物泡内有支原体存在,从形态学上第 1 次发现阴道毛滴虫与人型支原体的共生关系。Rappelli 等^[8]体外感染实验发现只有人型支原体能感染无支原体感染的阴道毛滴虫,而作为泌尿生殖道感染的主要病原



M 为 100 bp DNA 标志物,1-23 为 23 个分离株的编号,C 为阴性对照

图 2 PCR 检测阴道毛滴虫临床分离株内人型支原体

Fig. 2 Detection of *M. hominis* in clinical strains of *T. vaginalis* by PCR

体解脲支原体和生殖支原体并不能感染。同时他们还发现感染有人型支原体的阴道毛滴虫可以将支原体传播给阴道上皮细胞,且阴道上皮细胞中的人型支原体也可感染阴道毛滴虫。从而证实了这两种营寄生生活的病原体之间存在共生关系。流行病学调查结果显示,从临床分离到的 35 株阴道毛滴虫中有 33 株内有人型支原体,阳性率为 94.3%。表明这两种生物的共生是一种普遍现象。本研究对从贵州省部分地区分离到的 83 株阴道毛滴虫虫株人型支原体感染调查显示有 47 株检测阳性,阳性率为 56.6%,这一结果和 Xiao 等^[9]报道的从中国广州地区分离到的 28 株阴道毛滴虫检测到 14 株人型支原体阳性虫株,阳性率 50% 的结果比较接近,但低于刘晓东等^[10]在郑州大学附属医院从 30 个阴道毛滴虫虫株中检出 25 株人型支原体阳性(83.33%),河南地区 41 株阴道毛滴虫虫株中检测出 34 株阳性的结果(82.9%)^[11],但却高于四川地区 160 株检出 61 株阳性(38.1%)^[12]和谢成彬等^[13]在四川省妇幼保健院妇科门诊检测 38.0% (76/200) 的结果。说明人型支原体与阴道毛滴虫的共生具有地域的差别。此外,最新的研究显示人型支原体的共生可上调促炎细胞因子的表达,表明人型支原体的共生可加重阴道毛滴虫对宿主的损害^[14]。这就提醒临床医生在发现阴道毛滴虫后有必要进一步做支原体的检测,同时也在治疗上也最好联合用药,以提高滴虫性阴道炎的治疗效果。当前,关于两者的共生与阴道毛滴虫产生抗药性是否有关的研究还很少,如能进一步从生理、药理和遗传等多方面了解这两种病原体的关系及其

对人体的影响,则意义显得更为重要。

4 参考文献

- [1] World Health Organization. Global prevalence and incidence of selected curable sexually transmitted infections: overview and estimates[M]. Geneva, Switzerland: WHO, 2001:27-29.
- [2] Vancini RG, Pereira-Neves A, Borojevic R, et al. *Trichomonas vaginalis* harboring *Mycoplasma hominis* increases cytopathogenicity in vitro[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2008(4):259-267.
- [3] Dessi D, Delogu G, Emonte E, et al. Long-term survival and intracellular replication of *Mycoplasma hominis* in *Trichomonas vaginalis* cells: potential role of the protozoon in transmitting bacterial infection [J]. Infect Immun, 2005(2):1180-1186.
- [4] 朱晓燕,王雅静,毕世樑,等. 四川地区阴道毛滴虫内人型支原体的 PCR 检测[J]. 四川动物, 2009(6):874-876.
- [5] Mayta H, Gilman RH, Calderon MM, et al. 18S ribosomal DNA-based PCR for diagnosis of *Trichomonas vaginalis* [J]. J Clin Microbiol, 2000(7):2683-2687.
- [6] van der schree C, Sluiter HJ, van der Meijden WI, et al. Host and pathogen interaction during vaginal infection by *Trichomonas vaginalis* and *Mycoplasma hominis* or *Ureaplasma urealyticum* [J]. J Microbiol Methods, 2001(1):61-67.
- [7] Nielsen MH. The ultrastructure of *Trichomonas vaginalis* Donné before and after transfer from vaginal secretions to Diamond's medium[J]. Acta Path Microbiol Scand, 1975

- (6):581-589
- [8] Rappelli P, Addis MF, Carta F, et al. *Mycoplasma hominis* parasitism of *Trichomonas vaginalis* [J]. *Lancet*, 1998 (9136):1286.
- [9] Xiao JC, Xie LF, Fang SL, et al. Symbiosis of *Mycoplasma hominis* in *Trichomonas vaginalis* may link metronidazole resistance in vitro [J]. *Parasitol Res*, 2006(1):123-130.
- [10] 刘晓东, 温雯静, 薛长贵. 阴道毛滴虫与人型支原体共生对铁氧还蛋白基因影响 [J]. *生物医学工程学杂志*, 2011(4):800-803.
- [11] 杨森, 刘素英, 王黎, 等. 阴道毛滴虫与人型支原体共生对 AP33 基因序列的影响 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2013(11):979-981, 996.
- [12] 王频佳, 谢成彬. 人型支原体共生与阴道毛滴虫甲硝唑耐药性的关系 [J]. *中国寄生虫学与寄生虫病杂志*, 2012(3):210-213.
- [13] 谢成彬, 王频佳, 吴雨露, 等. 人型支原体共生对甲硝唑临床治疗阴道毛滴虫感染的影响 [J]. *现代妇产科进展*, 2013(6):461-464.
- [14] Fiori PL, Diaz N, Cocco AR, et al. Association of *Trichomonas vaginalis* with its symbiont *Mycoplasma hominis* synergistically upregulates the in vitro proinflammatory response of human monocytes [J]. *Sex Transm Infect*, 2013(6):449-54.
- (2014-12-28 收稿, 2015-02-20 修回)
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 刘 华

(上接第 244 页)

- [12] 况应敏, 朱月春, 况颖, 等. 青少年吸毒者免疫细胞、细胞因子和生长激素的改变 [J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2007(23):821-823.
- [13] Yin D, Mufson RA, Wang R, et al. Fas-mediated cell death promoted by opioids [J]. *Nature*, 1999 (397):218.
- [14] 武冬梅, 李素清, 狄晓艳, 等. SO₂ 衍生物对 C57BL/6 小鼠肝脏 T 细胞亚群 CD4⁺/CD8⁺ 的影响 [J]. *生态毒理学报*, 2010(5):351-355.
- [15] Li HY, Zhang R, Cui CL, et al. Damage of splenic T lymphocyte proliferation and differentiation and its normalization by electroacupuncture in morphine-dependent mice mode [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2011(2011):424092.
- [16] Ahn G, Park E, Lee WW, et al. Enzymatic extract from *Ecklonia cava* induces the activation of lymphocytes by IL-2 production through the classical NF- κ B pathway [J]. *Marine Biotechnology*, 2011(13):66-73.
- (2015-01-07 收稿, 2015-02-23 修回)
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 周 凌

(上接第 248 页)

- [11] Louvet A, Teixeira CF, Chobert MN, et al. Cannabinoid CB₂ receptors protect against alcoholic liver disease by regulating Kupffer cell polarization in mice [J]. *Hepatology*, 2011(4):1217-1226.
- [12] Munoz S J, Chanez Cardenas ME. A review on hemeoxygenase-2: focus on cellular protection and oxygen response [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2014(14):167-192.
- [13] Manganaris GA, Goulas V. Berry antioxidants: small fruits providing large benefits [J]. *J Sci Food Agric*, 2014(5):825-833.
- [14] 王豫萍, 程明亮, 张宝方. 蓝莓对急性肝损伤大鼠抗氧化能力的影响 [J]. *肝脏*, 2012(9):633-635.
- (2015-01-04 收稿, 2015-02-17 修回)
中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 周 凌

三聚氰胺对雄性小鼠精液质量的影响^{*}

夏凤琼, 黄 健, 杨国珍^{**}

(贵州省骨科医院 检验科, 贵州 贵阳 550002)

[摘 要] 目的: 探讨三聚氰胺对雄性小鼠精液质量的影响。方法: 健康雄性昆明种小鼠 50 只, 随机分为阴性对照组(生理盐水)、阳性对照组(环磷酰胺)和三聚氰胺低、中、高剂量组, 分别予 0.01 mL/g 生理盐水灌胃, 40 mg/kg 环磷酰胺腹腔注射, 400 mg/kg (1/8LD₅₀)、800 mg/kg (1/4LD₅₀)、1 600 mg/kg (1/2LD₅₀) 三聚氰胺灌胃, 于首次染毒后第 35 天处死小鼠, 称量睾丸及附睾, 计算脏器系数; 显微镜下计数精子数量、精子活动率、精子畸形率。结果: 三聚氰胺各剂量组小鼠睾丸、附睾脏器系数下降, 其中, 中、高剂量组睾丸脏器系数与阴性对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 高剂量组附睾脏器系数与阴性对照组比, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 高、中、低三聚氰胺组小鼠的精子数量及精子活动率呈下降趋势, 精子畸形率呈上升趋势, 与阴性对照组比, 差异均有统计学意义($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论: 三聚氰胺对雄性小鼠的生殖细胞可产生一定的毒性作用。

[关键词] 小鼠; 三聚氰胺; 脏器系数; 精子计数; 精液质量

[中图分类号] R698.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0253-04

Effects of Melamine on Semen Quality in Male Mice

XIA Fengqiong, HUANG Jian, YANG Guozhen

(Department of Clinical Laboratory, Orthopedic Hospital of Guizhou Province, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effects of melamine on semen quality of male mice. **Methods:** Fifty male Kunming mice were randomly divided into saline negative control group, positive control group, low, medium, high doses of melamine groups with 10 mice in each group, and mice in each group were given 0.01 mL/g physiological saline, 40 mg/kg cyclophosphamide, 400, 800, 1 600 mg/kg melamine respectively. Thirty-five days after the first administration, mice were sacrificed. Organ coefficients of testes and epididymides were calculated, and the sperm number, sperm motility and sperm deformity were observed under optical microscope. **Results:** Organ coefficients of testes and epididymides in the three melamine groups were decreased, and there were statistical differences in organ coefficients of testes between middle, high doses of melamine groups and negative control group ($P < 0.01$) and in organ coefficients of epididymides between high dose group and negative control group ($P < 0.05$). Sperm number and motility decreased, and sperm deformity increased in the three melamine groups, compared with the negative control group, there were statistical difference ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusions:** Melamine has certain toxic effects on germ cells of male mice.

[Key words] mice; melamine; organ coefficient; sperm count; sperm quality

随着全球工业化的快速发展, 环境和食品污染对人体健康的影响日益突出, 男性生育能力逐年下

降, 导致的不育比例大概占不孕不育总数的一半^[1]。过去 50 年间, 男性精液质量下降十分显

^{*} [基金项目] 生殖工程中心项目经费资助; 贵州省科技厅项目[黔科合 LH 字(2014)7120]

^{**} 通信作者 E-mail: ygzandkj29@sina.com

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.0937.008.html>

著^[2]。三聚氰胺是一种三嗪类含氮杂环有机化合物,俗称三胺或者蛋白精,由于其含氮量高,再加上现有凯氏定氮法检测蛋白质含量的缺陷,许多不法分子便趁机将三聚氰胺添加于食品中来提高食品的含氮量^[3-5]。王玉燕等^[6]研究指出三聚氰胺具有肾脏和肝脏毒性,可促进雄性昆明鼠肺、肾、肝、脾细胞凋亡^[6-8]。目前关于三聚氰胺对雄性小鼠生殖毒性方面的研究报道甚少。本研究以健康雄性昆明种小鼠为研究对象,用不同剂量的三聚氰胺通过灌胃对小鼠进行染毒,观察睾丸附睾及脏器系数、观察精子数量及形态改变,初步探讨三聚氰胺对雄性小鼠的生殖毒性。

1 材料与方法

1.1 实验动物

选择6~8周龄健康雄性昆明种小鼠50只,体重25~30g,购于第三军医大学大坪医院野战外科研究所医学实验动物中心,许可证号SCXK(渝)2001-0005。

1.2 动物模型建立

将雄性小鼠随机分为5组,阴性对照组(生理盐水)、阳性对照组(环磷酰胺)和三聚氰胺低、中、高剂量组,每组10只。三聚氰胺低、中、高染毒剂量是参照三聚氰胺的LD₅₀(中华人民共和国国家标准:食品安全性毒理学评价的程序和方法及化妆品卫生规范)制定,分别为400 mg/kg(1/8LD₅₀)、800 mg/kg(1/4LD₅₀)、1 600 mg/kg(1/2LD₅₀),每天定时经口灌胃1次,连续5d,自由饮食饮水;阴性对照组0.01 mL/g生理盐水每天经口灌胃1次,连续5d;阳性对照组40 mg/kg环磷酰胺,每天腹腔注射1次,连续5d,自由饮食饮水。于第1次染毒结束后第35天,颈椎脱臼处死小鼠,取睾丸和附睾。

1.3 小鼠睾丸、附睾脏器系数测定

脱臼处死小鼠后,分离睾丸、附睾,将周围血管和周围组织剥离干净,吸干水分,称重,计算脏器系数。睾丸脏器系数(%) = 睾丸重量(g) ÷ 小鼠体重(g) × 100%,附睾脏器系数(%) = 附睾重量(g) ÷ 小鼠体重(g) × 100%。

1.4 精液质量分析

将完整分离的左侧附睾置于盛有37℃预温的1 mL 0.9%生理盐水中剪成小块,用吸管将悬浮液

轻轻吹打混匀15~20次,于37℃水浴箱中静置10 min,待精子自由流出。

1.4.1 精子活动率 22℃室温下,取新鲜制备的精子悬液10 μL镜检。连续计数200个精子中活动精子数,计算精子活动率,分级。整个操作和观察在室温下进行,10 min内结束。按照WHO推荐的方法,将精子活动分为四级:I级具有快速,直线的前向运动,II级慢速或迟钝的直线或非直线前向运动,III级具有不向前的运动,IV级不活动。精子活动度(%) = (I + II + III)精子数 / (I + II + III + IV)精子数 × 100%。

1.4.2 精子计数 将精子悬液置于60℃水浴箱中孵育10 min(杀死精子),取10 μL于血细胞计数板计数池内,按红细胞计数法,计数中央大方格内5个中方格内精子数,计算出每mL精液中的精子数。精子总数 = 5个中方格的精子总数 × 5 × 10 × 10³。

1.4.3 精子畸形率 取制备好的精子滤液涂片,空气中自然干燥后,用甲醛固定过夜,晾干,1.5%伊红染色90 min,细流水轻轻冲洗,自然干燥。每只小鼠检查完整精子1 000个,计算出畸形精子的百分率。精子畸形可分为无钩、胖头、无定形、大头、双头、香蕉头、双头、双尾等,轮廓不清、有头无尾、与其他精子或碎片重叠以及明显认为剪碎的精子均不列入计算。精子畸形率(%) = 畸形的精子数 / 检查的精子数 × 100%。

1.5 统计学方法

采用SPSS 17.0统计软件对数据进行分析,结果以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),组间比较采用LSD法,相关因素采用Pearson相关分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠睾丸、附睾脏器系数

随着染毒剂量增加,三聚氰胺各剂量组睾丸及附睾脏器系数均降低,其中,中、高三聚氰胺剂量组睾丸脏器系数比阴性对照组低,差异有统计学意义($P < 0.01$)。高剂量组附睾脏器系数低于阴性对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与阳性对照组相比,三聚氰胺中、高剂量组附睾脏器系数差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表 1 各组小鼠的睾丸、附睾脏器系数($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Organ coefficients of testes and epididymides in each group

组别	n	睾丸脏器系数(%)	附睾脏器系数(%)
阴性对照组	10	0.709 ± 0.099	0.200 ± 0.027
阳性对照组	10	0.407 ± 0.078	0.176 ± 0.021
三聚氰胺			
低剂量组	10	0.672 ± 0.043 ⁽¹⁾	0.199 ± 0.015 ⁽¹⁾
中剂量组	10	0.592 ± 0.064 ⁽¹⁾⁽²⁾	0.191 ± 0.014
高剂量组	10	0.604 ± 0.088 ⁽¹⁾⁽²⁾	0.179 ± 0.025 ⁽²⁾

⁽¹⁾与阳性对照组相比, $P < 0.05$; ⁽²⁾与阴性对照组相比, $P < 0.05$

2.2 小鼠精液质量

精子计数:与阴性对照组相比,三聚氰胺低、中、高剂量组精子数量降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$);与阳性对照组相比,三聚氰胺高剂量组差异无统计学意义($P > 0.05$)。精子活动率:与阴性对照组相比,三聚氰胺低、中、高剂量组精子活

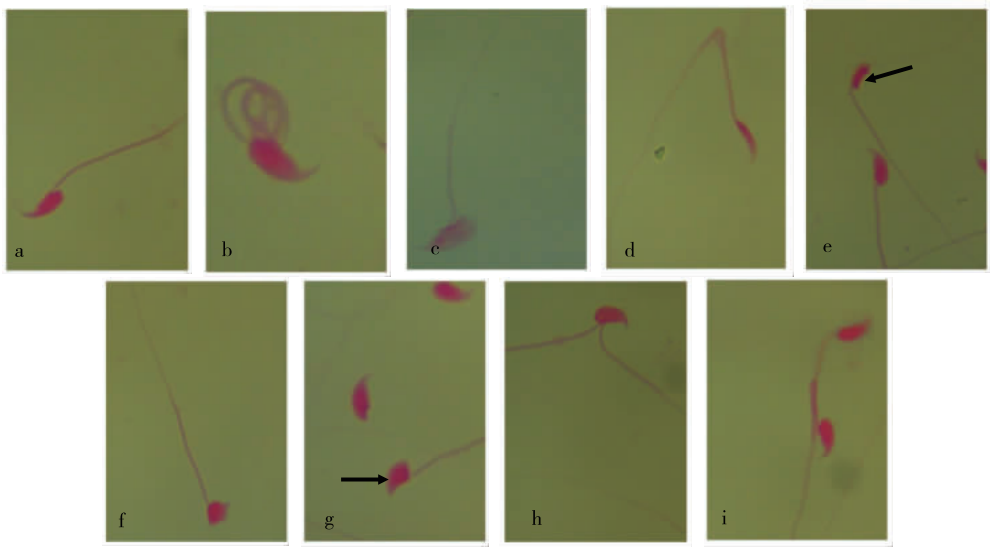
动率均降低,差异有统计学意义($P < 0.05$);与阳性对照组相比,三聚氰胺低、中、高剂量组差异无统计学意义($P > 0.05$)。精子畸形率:与阴性对照组相比,三聚氰胺低、中、高剂量组精子畸形率均升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2 和图 1。

表 2 各组小鼠的精液质量($n = 10$)

Tab. 2 Semen quality of mice in each group

组别	精液质量		
	精子数量 ($\times 10^6/\text{mL}$)	精子活动率 (%)	精子畸形率 (%)
阴性对照组	16.57 ± 2.33	92.25 ± 1.78	6.68 ± 1.56
阳性对照组	5.74 ± 3.93	51.60 ± 12.59	25.73 ± 5.17
三聚氰胺			
低剂量组	12.94 ± 3.40 ⁽¹⁾⁽²⁾	59.35 ± 12.32 ⁽¹⁾	10.00 ± 1.26 ⁽¹⁾⁽²⁾
中剂量组	11.22 ± 3.46 ⁽¹⁾⁽²⁾	54.40 ± 10.84 ⁽¹⁾	17.21 ± 3.07 ⁽¹⁾⁽²⁾
高剂量组	7.97 ± 2.94 ⁽¹⁾	57.95 ± 7.19 ⁽¹⁾	22.00 ± 4.50 ⁽¹⁾⁽²⁾

⁽¹⁾与阴性对照组相比, $P < 0.05$; ⁽²⁾与阳性对照组相比, $P < 0.05$



注: a 为正常精子形态; b~i 为异常形态精子, 分别为卷曲、胖头、小头、香蕉头、无定形、无钩、双尾和双头畸形

图 1 小鼠精子形态(400 ×)

Fig. 1 Sperm morphology of mice

3 讨论

睾丸和附睾是精子生成的场所,因此睾丸和附睾脏器系数的变化在一定程度上可反映外来化学物质对小鼠睾丸和附睾的损伤。同时脏器系数的变化可较好的反映化学毒物对该脏器的毒性综合情况,也是寻找毒物作用靶器官的有效途径^[9]。一般认为,脏器系数增大,表示该脏器可能发生水

肿、充血或者增生肥大;脏器系数减小,表示该器官可能有萎缩或者其他退行性改变^[10]。本次实验小鼠经三聚氰胺染毒后,中、高剂量三聚氰胺小鼠的睾丸脏器系数明显下降;高剂量三聚氰胺小鼠的附睾脏器系数明显下降,表明三聚氰胺可能引起了小鼠睾丸和附睾的萎缩。精液质量是评价雄性生育能力的重要指标,其中精子数量、活动率以及畸形率是决定精液质量的主要参数,可检测环境因子对精子生成、发育的影响,对已知的生殖细胞致突变

物有高度敏感性^[9,11]。精子数量减少常常是各种化学物质损伤各级生精细胞生长和发育的结果,精子活动率降低通常与精子能量代谢相关,精子形态检查是评价男性生育力的一个重要指标,与受孕有直接的关系^[12]。精子数量减低、活动率下降及畸形率增高通常可降低精子的授精能力,从而导致男性不育。本次研究所用的阳性对照剂为环磷酰胺是目前常用的一种烷化剂类抗肿瘤药物,临床常用于各种恶性肿瘤的化疗、自身免疫性疾病及类风湿关节炎的治疗^[13]。并且已有报道证实,环磷酰胺可对男性生精功能造成损害^[14],本次研究中,环磷酰胺组与阴性对照组比较,睾丸、附睾脏器系数及精液质量均下降,为本研究实验方法及技术的可靠性提供了强有力的保障。本次研究结果显示,三聚氰胺各剂量组精子数量及活动率均明显降低,精子畸形率显著增加,且呈剂量一反应关系。有文献报道三聚氰胺可破坏小鼠血睾屏障^[15]。综上所述,三聚氰胺对雄性小鼠的生殖细胞可产生一定的毒性作用,具有生殖遗传毒性。

4 参考文献

- [1] Kurpisz MK. New approaches to male infertility: Forum introduction [J]. Reprod Biol Endocrinol, 2004(3):8-9.
- [2] Shine R, Peek J, Birdsall M. Declining sperm quality in New Zealand over 20 years [J]. N Z Med J, 2008(121):50-56.
- [3] Chen JS. A worldwide food safety concern in 2008-melamine contaminated infant formula in China caused urinary tract stone in 290 000 children in China [J]. Chin Med J (Engl.), 2009(122):243-244.
- [4] Rumbeiha WK. Analysis of a survey database of pet food - induced poisoning in North America [J]. Med Toxicol, 2010(6):172-184.
- [5] Guan N. Melamine - contaminated powdered formula and urolithiasis in young children [J]. N Engl J Med, 2009(360):1067-1074.
- [6] 王玉燕,柴玮杰,高珉之,等.三聚氰胺肾毒性研究[J].环境与健康杂志,2009(8):696-700.
- [7] 高春起,张海军,武书庚,等.三聚氰胺对蛋鸭产蛋性能、血清指标和肝肾组织结构的影响[J].中国农业科学,2010(5):1050-1056.
- [8] 林居纯,鄢荣梅,曹三杰,等.三聚氰胺对小白鼠内脏器官及其细胞凋亡的影响[J].中国兽医科学,2012(3):314-317.
- [9] 李国华,席小平,贾继峰,等.Wistar大鼠主要脏器系数与体重相关性的探讨[J].山西医药杂志,2005(8):661-662.
- [10] 陈秋生.黄芪注射液拮抗柴油机尾气颗粒物诱导的雄鼠生殖能力的改变[D].福建中医学院硕士学位论文,2009:16-19.
- [11] 王文蔚,方芳,于清.氟化钠对小鼠的急性毒性实验研究[J].广东微量元素科学,2011(3):12-15.
- [12] 刘居理,罗明,熊国宝,等.精子形态与精子活力相关性分析[J].现代诊断与治疗,2009(2):71-72.
- [13] 杨群芳.环磷酰胺对雄性生殖系统毒性损伤的研究进展[J].儿科药理学杂志,2013(3):62-68.
- [14] 田中启干.抗癌剂对睾丸的毒性作用[J].国外医学肿瘤医学分册,1989(12):805.
- [15] Chang L, She R, Ma L, et al. Acute testicular toxicity induced by melamine alone or a mixture of melamine and cyanuric acid in mice [J]. Reprod Toxicol, 2014(4):1-11.

(2014-12-12 收稿,2015-01-23 修回)

中文编辑:文箫颖;英文编辑:周凌

一条参考文献3处著录差错

问 “万卜仿.对品牌期刊网站建设的思考[J].中国编辑:报刊廊,2005,(6):42—44”的著录正确吗?

答 依据 GB/T 7714—2005,这条文献的著录存在如下3处差错:

- 1) “中国编辑:报刊廊”应为“中国编辑”。《报刊廊》是《中国编辑》杂志的一个栏目,无须著录。
- 2) “2005,(6)”应为“2005(6)”。按照标志符号前置规则,“(期)”与其前面的著录要素相连接时不加标志符号。期刊设卷时著录为“2010,22(4)”,仅以年代著录时即为“2010(4)”。
- 3) “42—44”应为“42-44”。按照标准规定,起讫序号和起讫页码间的连接号是“-”。

《贵阳医学院学报》编辑部

弓形虫 PRU 株感染妊娠期小鼠动物模型的建立

程树强, 王正蓉*

(贵阳医学院附院 临检科, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] **目的:** 探讨建立弓形虫生殖毒性妊娠期小鼠动物模型的方法。**方法:** 将妊娠期 ICR 小鼠随机分为孕早期感染组、孕晚期感染组及相应对照组, 孕早期和孕晚期感染组小鼠再分别分为 3 小组, 分别以灌胃方式感染弓形虫 PRU 株包囊 10、20 及 40 个, 对照组灌胃生理盐水, 观察各组小鼠不良妊娠结局及产仔数量。**结果:** 弓形虫 PRU 株感染数量为 10 个包囊时, 孕早期感染组孕鼠的死亡率为 36.36%, 出现阴道流血、流产、早产等现象, 不良妊娠结局高达 85.71%, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 感染 20 包囊和 40 包囊时, 孕早期感染组孕鼠的死亡率高达 50% 和 100%; 孕晚期感染组孕鼠在妊娠期发病不明显, 产仔鼠数量较对照组减少, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); **结论:** 用 10 个 PRU 株包囊灌胃能建立妊娠期弓形虫感染小鼠动物模型, 为研究弓形虫 PRU 株所致生殖毒性奠定基础。

[关键词] 弓形虫病, 动物; 感染; 模型, 动物; 小鼠, 近交 ICR; 妊娠

[中图分类号] R382.33; R531.8 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0257-03

Establishment of Pregnant Mice Infection Model with Prugniald Strain of *Toxoplasma gondii*

CHENG Shuqiang, WANG Zhengrong

(Department of Clinical Laboratory Medicine, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To establish a suitable pregnant mice infection model with Prugniald (PRU) strain of *Toxoplasma gondii*. **Methods:** ICR mice were randomly divided into early-pregnancy infection group, late-pregnancy infection group and the control group, and mice of each infection group were divided into 3 groups and were orally infected with 10, 20 and 40 PRU strain cysts respectively, control group was given normal saline instead. Adverse pregnancy outcomes and litter amount were observed. **Results:** When infected with 10 PRU strain cysts, mortality of early-pregnancy mice was 36.6%, and vaginal bleeding, abortion, premature phenomena appeared, the incidence of adverse pregnancy outcomes reached to 85.71%, there were significant differences compared with control group ($P < 0.05$). Mortality of early-pregnancy mice was 50% and 100% respectively when infected with 20 cyst and 40 cyst. The morbidity of mice in late-pregnancy infection group was low, and litter amount reduced, but compared with the control group, there was no significant difference ($P > 0.05$). **Conclusions:** Pregnant mice infection model is established with 10 PRU strain cysts of *Toxoplasma gondii*, which lays the foundation for the further study of reproductive toxicity of PRU strain.

[Key words] toxoplasmosis, animal; infection; models, animal; mice, inbred ICR; pregnancy

刚地弓形虫 (*Toxoplasma gondii*) 是一种机会性专性细胞内寄生原虫, 可以感染包括人在内的所有哺乳动物、鸟类和爬行动物, 从而导致严重的人兽共患病^[1]。当孕妇感染弓形虫时, 弓形虫可经

胎盘感染胎儿导致流产、早产、胎儿畸形, 同时还可能导致存活的子代失明、精神发育迟缓等各种严重的远期后遗症^[1]。为了研究弓形虫感染所导致的不良妊娠和先天性弓形虫病的发病机制, 现已建立了

* 通信作者 E-mail: 34228560qq@.com

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.0935.007.html>

各种动物模型,主要有大鼠、小鼠、羊和灵长类动物等。但不同种系的动物对弓形虫的易感性、感染后的症状及转归各有不同,同种动物不同遗传背景,所表现的病理特征及免疫状态也不尽相同。同时弓形虫虫株多样性,毒力不一,对同一动物不同生理阶段的感染能力、所致的疾病特征也各有不同^[2]。本研究旨在建立合适而稳定的弓形虫先天性感染动物模型,为系统全面的研究弓形虫的生殖毒性及其致病机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 弓形虫虫株 弓形虫 *Prugnialud* (PRU) 株由蚌埠医学院孙新教授惠赠,在昆明小鼠体内传代保种。取已感染 PRU 株的昆明鼠脑组织,放入无菌匀浆器内,用 1 mL 无菌生理盐水进行研磨,制备成脑组织匀浆液。取 10 μ L 脑组织匀浆液压片后,在光学显微镜下共计数 6 张玻片包囊数量取平均值(必要时再进行稀释)。即得到该匀浆液中每 10 μ L 所含的包囊数,4 $^{\circ}$ C 保存脑匀浆液待感染动物。

1.1.2 实验动物 SPF 级 6~8 周龄 ICR 小鼠 86 只,体质量 20~25 g,购自北京维通利华实验动物技术有限公司,许可证号 SCXK(京)2006—0009。

1.2 方法

1.2.1 小鼠分组及感染 将 ICR 雌鼠 86 只、雄鼠 43 只按 2:1 随机合笼交配,每笼 6 只或 9 只。次晨开始查阴栓,查到阴栓者计为孕 0 d,共获孕鼠 77 只。38 只为孕早期组(孕 1 d),分为对照组 6 只、感染 1~3 组分别为 11、10 和 11 只;39 只为孕晚期组(孕 15 d),分为对照组 9 只和感染 1~3 组各 10 只。孕早期及孕晚期感染 1~3 组孕鼠,分别灌胃含弓形虫 PRU 株 10、20 和 40 个包囊的小鼠脑组织匀浆液,对照组灌胃等量生理盐水,分笼饲养,孕鼠正常取食和饮水。

1.2.2 观察指标 观察孕鼠生存状态、发病过程、不良妊娠结局及产仔数量。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,率(%) 的比较采用 χ^2 检验。

2 结果

2.1 孕早期感染弓形虫对孕鼠及子代的影响

孕早期孕鼠在感染后第 6~7 天开始发病,出现耸毛、倦怠、弓背、闭眼、食欲减退等症状(图 1),并于第 8 天开始出现死亡,3 个小组在整个妊娠期间分别死亡 4 只、5 只及 11 只,死亡率达 36.36%、50% 和 100%。对以 10 个包囊感染孕鼠的小组中死亡的 4 只孕鼠进行解剖见:腹水增加,甚至出现血性腹水,腹水涂片见大量白细胞、吞噬细胞和弓形虫假包囊;在整个妊娠过程中,从孕第 9 天开始 4 只孕鼠相继出现阴道流血,孕第 17 天见一只孕鼠早产出泡状胚胎组织,剖开胎膜见仔鼠并未发育成熟(图 2)。孕早期存活的 7 只孕鼠仅一只产仔 8 只,不良妊娠结局高达 85.71%。而对照组 6 只孕鼠,共分娩仔鼠 58 只,和感染组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。

2.2 孕晚期感染弓形虫对孕鼠及子代的影响

孕晚期感染后孕鼠在妊娠期发病不明显,在分娩时或分娩后表现烦躁不安,易咬食仔鼠。10 个包囊感染的 10 只孕鼠,产仔鼠 70 只,其中死胎 4 只;9 只对照组雌鼠产仔鼠 85 只,未观察到死胎,两组产仔数量比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。以 20、40 个包囊感染的孕鼠可正常分娩,但远期子代存活率小于 85%。

3 讨论

弓形虫 PRU 株为基因型 II 型虫株,属于弱毒株弓形虫,是在欧洲导致人群弓形虫病感染和先天性弓形虫病主要的虫株^[3-4]。我国对弓形虫研究的基础工作中多是基于导致严重眼弓形虫病(脉络膜视网膜炎)的基因型 I 型的 RH 毒力株,而对基因型 II 型的 PRU 株在我国人群先天性感染报道较少。本课题以基因型 II 型虫株来建立动物先天性传播模型。

动物模型是研究弓形虫的致病机理和防治方法的基础,小鼠是研究弓形虫感染最常用的实验动物之一。目前学者们多建立 ICR 小鼠的慢性感染模型来观察 PRU 株感染后包囊形成、病理改变、机体免疫状态等,显示该小鼠适用于研究弓形虫 PRU 株的感染^[5]。而用 ICR 小鼠建立先天性弓形虫传播的模式鲜见报道。本课题前期研究发现,用该虫株感染 ICR 小鼠后表现出了一个急性发病期和慢性期的过程,符合该虫株感染的病原学特性^[6],因此选择 ICR 小鼠作为先天弓形虫传播的实验动物。

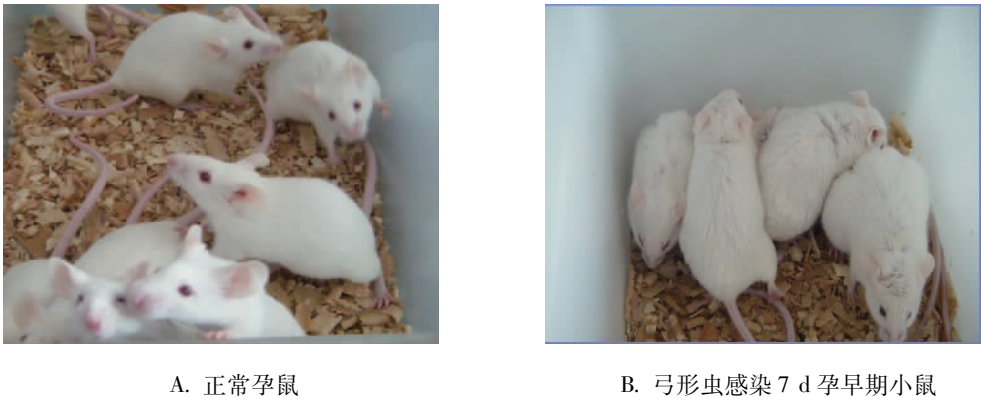


图 1 正常孕鼠和孕早期感染弓形虫孕鼠的临床表现

Fig. 1 Clinical manifestation of normal mice and early-pregnancy infection mice

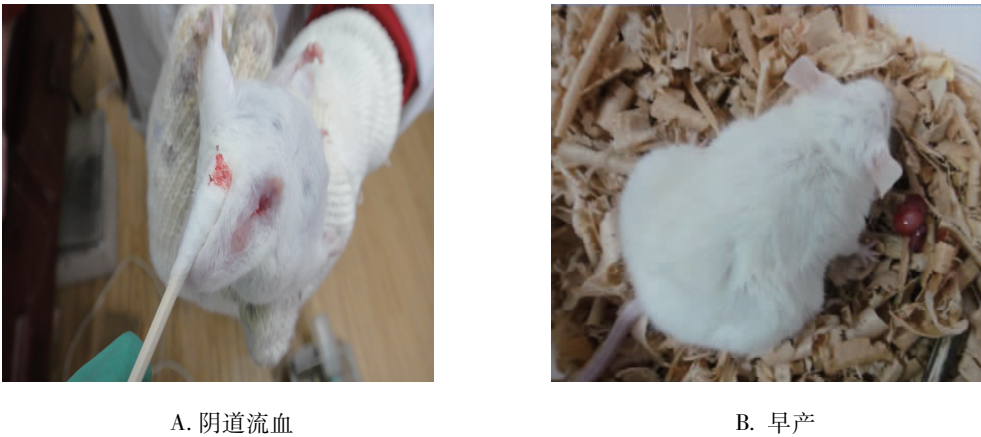


图 2 孕早期感染后不良妊娠结局表现

Fig. 2 Adverse pregnancy outcomes of early-pregnancy infection mice

弓形虫 PRU 株有速殖子和缓殖子两种状态,前者有较强侵袭性,后者可在宿主脑组织内形成包囊,当宿主免疫系统受到抑制或功能低下时,又可出现弓形虫病的复发。本研究用弓形虫 PRU 株对孕第 1 天小鼠进行感染,发现孕鼠感染后第 2~6 天并不表现明显的临床症状,但至孕程第 7 天后逐渐出现一个症状较重的急性期,到孕第 18 天后逐渐恢复正常,符合弓形虫 PRU 株的致病特点。

在建立动物模型的同时,由于同一动物不同生理阶段的感染能力、所致的疾病特征各有不同。因此有必要摸索 ICR 小鼠是否适合建立弓形虫垂直传播的模型,以及较佳的弓形虫感染剂量,便于以后的进一步研究。在本实验中当弓形虫 PRU 株感染剂量达 20 包囊时,孕鼠死亡率高达 50%;40 包囊感染时,孕鼠死亡率达到了 100%,说明这两种感染剂量导致孕鼠在哺乳期发病及死亡率加大,使子代存活率过低,不利于进一步观察弓形虫感染所致的生殖毒性。因此选用 10 包囊的低感染量,采用灌胃方式,模拟自然环境下的经口感染途径,建立垂

直传播动物模型,期望为下一步的研究打下基础。

本研究还发现,在急性期内孕鼠除表现耸毛,倦怠、食欲不振、弓背及闭眼外,以 10 包囊感染的孕早期组的孕鼠在孕程第 9 天后出现了流产、早产现象,孕鼠的死亡率达 36.36%,比吴升伟等^[6]直接用 PRU 株弓形虫感染非孕鼠死亡率(15%)高,并且急性感染症状几乎持续到妊娠末,导致不良妊娠结局发生率增高。孕晚期感染弓形虫对雌鼠所产仔数量影响不大,与孕早期感染弓形虫相比,对孕鼠和子代的影响不那么显著。同时观察到孕晚期感染组孕鼠在分娩过程及分娩以后,易咬食仔鼠,这可能是由于弓形虫对机体的毒性作用,导致雌鼠易激惹或弓形虫感染损伤了子代,致使雌鼠发生咬食仔鼠的现象,有待进一步研究。

综上所述,通过对 10 个、20 个、40 个弓形虫 PRU 株包囊感染孕早期和孕晚期 ICR 小鼠研究,发现以 10 个包囊的低数量感染妊娠期小鼠,可以建立弓形虫生殖毒性妊娠期小鼠动物模型,有利于进一步的研究。

(下转第 263 页)

实施基本药物制度对贵州省基层医疗机构用药行为的影响

王 云, 宋沈超*

(贵阳医学院 公共卫生学院 预防医学教研室, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 探讨基本药物制度的实施对贵州省基层医疗机构用药行为的影响。方法: 从贵州省实施国家基本药物制度试点县(区、市)中随机抽取15个样本试点县(区、市)全部220家政府办基层医疗机构, 对实施基本药物制度前(2009年)后(2010年)的门诊处方进行抽样调查, 比较单张处方用药数量、抗生素比例、激素比例、注射剂比例、国家基本药物种数和处方金额的变化。结果: 2010年单张处方药品品种数、单张处方联合用药5种以上处方比例低于2009年, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 单张处方国家基本药物数高于2009年, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 抗菌药物处方比例、抗菌药物三联及以上处方比例及平均每张处方抗菌药物数低于2009年, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 单种抗菌药物处方比例高于2009年, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 抗菌药物二联用处方比例、使用激素和注射剂的处方比例、单张处方金额无明显变化。结论: 基本药物制度实施使贵州省基层医疗机构用药行为发生了一定的改变, 基本药物使用有所增加, 滥用抗生素的行为有所减少, 但单张处方金额下降不明显。

[关键词] 基本药物制度; 基层医疗机构; 处方结构; 处方, 药物; 费用, 药物

[中图分类号] R197 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0260-04

The Effect of Implementation of National Essential Drugs System on Drug Taking Behavior of Grassroots Medical Institutions

WANG Yun, SONG Shenchao

(Department of Preventive Medicine, School of Public Health, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of implementation of national essential drugs system on drug taking behavior of grassroots medical institutions. **Methods:** A total of 220 grass-roots medical institutions run by government were randomly selected from 15 samples of pilot county (city, district) of national essential drugs system in Guizhou province, and the outpatient prescription sampling survey was conducted before implementation (2009) and after implementation (2010), which involved comparison of the number of drugs in a single prescription, the proportion of antibiotics, the proportion of hormone, the proportion of injection, the variety of national essential drugs and the amount of prescription. **Results:** The number of drug varieties in a single prescription of 2010 and the number of prescription of more than 5 drug combinations in a single prescription of 2010 were lower than those of 2009, which showed statistical differences ($P < 0.05$). The number of national essential drugs in a single prescription of 2010 was significantly higher than that of 2009 ($P < 0.05$). The proportion of antibiotics prescription, the proportion of antibiotics prescription of more than 3 drug combinations and the average number of antibiotics in a single prescription of 2010 were significantly lower than those of 2009 ($P < 0.05$). The proportion of single antibiotics prescription of 2010 was significantly higher

* 通信作者 E-mail: 393309916@qq.com

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.1024.031.html>

than that of 2009 ($P < 0.05$). There was no significant difference in the proportion of antibiotics prescription of 2 drug combinations, the proportion of hormone and injection prescription and the amount of prescription between 2010 and 2009. **Conclusion:** The implementation of national essential drugs system brings in some changes in drug taking behavior of grassroots medical institutions, including increased use of national essential drugs and decreased abuse of antibiotics. But the amount of single prescription is not obviously decreased.

[**Key words**] national essential drugs system; grassroots medical institutions; structure of prescription; prescription, drugs; expenses, drugs

推行国家基本药物制度目的在于规范医生用药行为,消除“以药养医”,解决群众“看病贵”的问题^[1-4]。贵州省于2010年2月正式启动了基层医疗机构基本药物制度试点^[5]。有研究表明,实施基本药物制度以来,实行分配制度改革,医务人员积极性更加高昂^[6]。为了解实施国家基本药物制度对贵州省基层医疗卫生人员用药行为的影响,本研究利用国家新医改中期评估资料对实施基本药物制度前(2009年)后(2010年)门诊处方用药及金额变化情况进行调查,报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象

随机抽取2010年2月贵州省实施国家基本药物制度的15个试点县(市、区)政府办基层医疗机构220家(217个乡镇卫生院和3社区服务中心)实施基本药物的情况进行普查。

1.2 研究方法

采用处方抽查的方法对220家政府办基层医疗机构实施基本药物的情况进行调查。对基本药物制度实施前后合理用药指标^[1]:处方的用药数量、国家基本药物使用品种数、抗菌药物、激素、注射剂使用情况和单张处方金额等信息进行抽查,调查由省卫生厅统一培训的人员进行,数据资料经县、市(州)、省三级卫生行政部门审核,采用随机抽样,于实施基本药物制度前(2009年3月、7月、11月)和后(2010年3月、7月、11月)第一个星期一的门诊处方中分别随机抽取20张,分别抽取处方13 200张,前后共26 400张处方。

1.3 统计学方法

通过Excel建立数据库,应用SPSS 13.0软件分析。计量资料(单张处方用药品种数、单张处方基本药物数、单张处方金额)经正态性检验,不服从正态分布采用秩和检验,计数资料采用 χ^2 检验。

$P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本情况

除去空白数据和不可靠数据,最终收集了194个乡镇卫生院和1家社区卫生服务中心的23 142张处方(2009年11 566张、2010年11 576张)。

2.2 处方药品品种数和基本药物使用情况

2010年单张处方药品品种数、单张处方联合用药5种以上处方比例低于2009年,差异有统计学意义($Z = -2.357, P = 0.018; \chi^2 = 6.045, P = 0.014$);单张处方国家基本药物数高于2009年,差异有统计学意义($Z = -6.497, P = 0.000$)。见表1。

表1 2009年与2010年处方药品数量
和基本药物使用情况

Tab.1 Comparison of drug varieties and the use
of essential drugs between 2009 and 2010

年度	药品品种 数(种)	单张处方	
		联合用药5种 以上处方数 (张,%)	基本药物数 (种)
2009	3.83	3 852(33.3)	2.07
2010	3.75	3 680(31.8)	2.60
检验统计量	$Z = -2.357$	$\chi^2 = 6.045$	$Z = -6.497$
P	0.018	0.014	0.000

2.3 抗菌药物处方分析

2010年抗菌药物处方比例、抗菌药物三联及以上处方比例及平均每张处方抗菌药物数低于2009年,差异有统计学意义($\chi^2 = 5.349, P = 0.021; \chi^2 = 4.363, P = 0.035; Z = -3.248, P = 0.001$);单种抗菌药物处方比例高于2009年,差异有统计学意义($\chi^2 = 6.133, P = 0.013$);抗菌药物二联用处方比例与2009年相比差异无统计学意义($\chi^2 = 2.466, P = 0.116$)。见表2。

表 2 2009 年与 2010 年抗菌药物处方分析

Tab.2 The analysis of antibiotics prescription in 2009 and 2010

年度	抗菌药物处方数(%)	使用单种抗菌药物处方数(%)	使用二联抗菌药物处方数(%)	使用三联及以上抗菌药物处方数(%)	单张处方使用抗菌药物数(种)
2009	7 535(65.15)	5 104(67.74)	2 007(26.64)	424(5.63)	0.97
2010	7 373(63.70)	5 133(69.62)	1 882(25.53)	358(4.86)	0.87
检验统计量	$\chi^2 = 5.349$	$\chi^2 = 6.133$	$\chi^2 = 2.466$	$\chi^2 = 4.363$	$Z = -3.248$
P	0.021	0.013	0.116	0.035	0.001

2.4 激素及注射剂使用情况

2009 年激素处方、注射剂处方比例与 2010 年比较,差异无统计学意义($\chi^2 = 2.621, P = 0.105; \chi^2 = 1.375, P = 0.241$)。见表 3。

表 3 2009 年与 2010 年激素与注射剂处方使用情况

Tab.3 Comparison of the use of hormone and injection prescription between 2009 and 2010

年度	处方总数(张)	激素处方(张,%)	注射剂处方(张,%)
2009	11 566	1 659(14.3)	3 747(32.4)
2010	11 576	1 575(13.6)	3 834(33.1)

2.5 实施基本药物制度前后处方金额与分布

2009 年抽取的 11 566 张处方中,单张处方最高费用为 847.30 元,最低费用为 0.10 元,平均处方费用 21.40 元,中位数为 15.005 元。2010 年抽取的 11 576 张处方中,单张处方最高费用为 500.00 元,最低费用为 0.10 元,平均处方费用 21.34 元,中位数为 15.05 元,两年比较差异无统计学意义($Z = -0.878, P = 0.380$)。基层医疗机构 2009 年、2010 年处方数量均以 20 元以下最多,20 元以下处方比例,2009 年占 63.2%,而 2010 年占 62.9%。基层医疗机构门诊处方中 100 元及以上的“大处方”所占比例,2010 年为 1.1%,略低于 2009 年,见表 4。

表 4 2009 年与 2010 年处方金额分布

Tab.4 Comparison of distributions of the amount of prescription between 2009 and 2010

金额分组	处方(张,%)			
	2009 年		2010 年	
≤20	7 314	63.2	7 283	62.9
20 -	2 764	23.9	2 792	24.1
40 -	964	8.3	883	7.6
60 -	302	2.6	359	3.1
80 -	99	0.9	146	1.3
>100	123	1.1	113	1.0

3 讨论

本次研究发现,国家基本药物制度实施后的 2010 年,贵州省政府办基层医疗机构处方中基本药物所占比例较 2009 年显著增加,与张丽青等^[7]的研究结果相同,说明基本药物制度在贵州省政府办基层医疗机构正逐步得到落实,但是基本药物的使用率与政府提倡的“基层医疗卫生机构全部配备和使用基本药物”的规定尚有一定差距。

实施国家基本药物制度对贵州省政府办基层医疗机构医务人员用药行为起到了一定的规范作用。数据显示,单张处方药品品种数显著减少,联合用药 5 种以上处方比例显著下降,100 元及以上的“大处方”所占比例有所降低,表明医生开大处方的行为有所减少^[8]。有抗菌药物的处方比例、单张处方抗菌药物的种类数、抗菌药物 3 种及以上联合使用的处方比例均较基本药物制度实施前显著下降,表明基层医疗机构滥用抗菌药物的情况有所改善,与李天平等^[9]研究结果基本相同。

本次研究结果表明,贵州省政府办基层医疗机构医务人员用药行为得到了一定的规范,但处方中注射剂的比例未见显著下降,且抗菌药物及注射剂比例均高于全国乡镇卫生院平均水平^[10]。本次调查还发现,抗菌药物的处方百分比、注射剂百分比、单张处方平均药品数也远高于 WHO 推荐的发展中国家基层医疗机构药物使用理想值^[11],表明要彻底改变基层医疗机构医务人员不规范用药和不合理用药行为尚有较长的路要走,政府在加强基本药物制度落实的监管和加大对基层医务人员《国家基本药物临床应用指南》和《国家基本药物处方集》的培训力度的同时,应开展鼓励基层医务人员遵循临床诊疗规范、积极使用基本药物的激励机制的研究,尽快使这一激励机制建立和完善。

本次调查数据显示,单张处方用药种数、大处方数均显著下降。国家基本药物制度实施也使贵

贵州省基层医疗机构医务人员用药行为发生了一定的改变,基本药物使用有所增加,滥用抗生素的行为有所减少,但单张处方金额并未显著下降。平均单张处方的药品金额也未显著下降,与预期不符,并未起到降低虚高药价、减轻群众门诊用药负担的作用。原因有待进一步研究。

总之,基本药物制度牵涉面广而复杂,涉及多方面利益关系的调整^[12]。要进一步完善国家基本药物制度,需要进一步规范医务人员处方行为,保证基本药物得到合理使用;要加快公立医院改革,完善医院补偿机制,做好政策协调和综合配套等工作。

4 参考文献

- [1] 李新泰,王文华,尹爱田,等. 山东省基本药物制度对乡镇卫生院合理用药的影响[J]. 中国卫生经济, 2011(4):22-23.
- [2] 徐竟然,傅鸿鹏. 基本药物制度对医疗卫生机构经济运行的影响[J]. 中国全科医学, 2012(13):1449-1450.
- [3] 于娣,马月丹,张抒,等. 国家基本药物制度实施过程中出现的问题和解决对策[J]. 中国卫生经济, 2011(12):12-13.
- [4] 邹榕,罗红叶,黎燕宁,等. 国家基本药物制度对广西乡镇卫生院门诊用药的影响研究[J]. 中国全科医学,

2012(13):1451-1453.

- [5] 贵州省卫生厅.《贵州省建立国家基本药物制度实施方案》[R]. 2010.
- [6] 郎大玲,丁园,夏显俊,等. 完善制度巩固和发展基层医改成果[J]. 安徽医学, 2011(9):1594-1595.
- [7] 张丽青,黄术生. 基本药物制度实施对乡镇卫生院的影响和建议[J]. 中国卫生事业管理, 2011(6):438-439.
- [8] 金承刚,杨洪伟,罗彬,等. 基本药物制度对浙江省试点机构门诊平均处方用药数的作用[J]. 中国卫生经济, 2012(1):37-39.
- [9] 李天平,梁(章华),于磊,等. 基本药物制度实施前后基层医疗机构合理用药情况对比[J]. 中国药业, 2012(14):1-3.
- [10] 应桂英,吕宇,甘华平,等. 四川省基层医疗机构门诊处方用药情况调查分析[J]. 中国卫生事业管理, 2010(10):665-667.
- [11] 李成,孙强,李凯,等. 基本药物制度实施前后安徽省乡镇卫生院处方质量分析[J]. 中国卫生经济, 2012(4):68-69.
- [12] 陈国儒,李江峰,王实诚,等. 基本药物制度实施在使用环节面临的主要挑战[J]. 中国卫生经济, 2010(11):69-70.

(2015-01-05 收稿,2015-02-23 修回)

中文编辑:吴昌学;英文编辑:刘 华

(上接第 259 页)

4 参考文献

- [1] Weiss LM, Kim K. The development and biology of bradyzoites of *Toxoplasma gondii* [J]. Front Biosci, 2000(5):391-405.
- [2] 刘媛,谷俊朝. 构建弓形虫病动物模型的方法和意义[J]. 中国热带医学, 2011(8):1028-1030.
- [3] Peyron F, Lobry JR, Musset K, et al. Serotyping of *Toxoplasma gondii* in chronically infected pregnant women: predominance of type II in Europe and types I and III in Colombia (South America) [J]. Microbes Infect, 2006(9-10):2333-2340.

- [4] Ajzenberg D, Cogne N, Paris L, et al. Genotype of 86 *Toxoplasma gondii* isolates associated with human congenital toxoplasmosis, and correlation with clinical findings[J]. J Infect Dis, 2002(5):684-689.
- [5] 李亚飞,王寒,潘长旺,等. PRU 株弓形虫包囊感染小鼠模型的建立[J]. 中国人兽共患病学报, 2010(8):769-771.
- [6] 吴升伟,包怀恩,葛爽,等. 弓形虫 Prugniaud 株感染小鼠后脑组织病理学动态观察[J]. 中国人兽共患病学报, 2011(9):796-800.

(2014-12-30 收稿,2015-01-20 修回)

中文编辑:周 凌;英文编辑:周 凌

贵阳市农村初中学生膳食营养状况调查^{*}

冯光霞^{1**}, 王时敏^{2**}, 贾沛茹^{1**}, 唐艳明^{3**}, 吴 宁^{4***}

(1. 贵阳医学院 口腔医学院, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵阳医学院 临床医学院, 贵州 贵阳 550004; 3. 贵阳医学院 公共卫生学院, 贵州 贵阳 550004; 4. 贵阳医学院 化学与生物化学实验室, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 了解贵阳市农村初中学生日常膳食与营养状况。方法: 对贵阳市 542 名农村初中学生进行调查, 采用 24 h 回顾法反映膳食状况, 结合身高、体重, 应用 Rohrer 指数评价营养状况。结果: 贵阳市农村初中学生能量、蛋白质等营养素普遍摄入不足, 其中 Ca^{2+} 、核黄素、维生素 A 摄入明显不足, 脂肪供能比较低, 碳水化合物供能比较高, 营养不良比率较高; 男学生中瘦弱的比例达 14%, 女学生中瘦弱的比例最高达 37%。结论: 贵阳市农村初中学生营养素摄入不足, 营养状况不达标。

[关键词] 膳食调查; 营养状况; 农村人口; 学生

[中图分类号] R153.2; R179 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0264-03

Survey on Nutrition Status of Junior High School Students in Rural Area of Guiyang

FENG Guangxia¹, WANG Shimin², JIA Peiru¹, TANG Yanming³, WU Ning⁴

(1. School of Stomatology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. School of Clinical Medicine, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China; 3. School of Public Health, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China; 4. Laboratory of Chemistry and Biochemistry, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the dietary conditions and nutrition status of junior high school students in rural area of Guiyang. **Methods:** Adopting 24 Hours Dietary Recall to reflect the dietary condition in 542 junior high school students in rural area of Guiyang; combined with individual height, weight, and Rohrer index to evaluate their nutrition status. **Results:** The daily intakes of these students were widely insufficient concerning energy, protein. Intakes concerning calcium, riboflavin, Vitamin A were strikingly insufficient; the proportion of fat energizes are low, and that of carbohydrate was high, which led to high rate of malnutrition. Emaciation rate among boys was 14%, while girls 37%. **Conclusions:** Nutrition intakes among junior high school students in rural area of Guiyang are far from enough, and nutrition condition of students is substandard.

[Key words] diet surveys; nutritional status; rural population; students

初中学生正处于生长发育的关键时期, 是人生第二次生长高峰, 也是学业负担较重, 活动量大的阶段, 对营养的要求明显高于其他时期^[1-2]。农村地区经济条件较差, 物资相对匮乏, 农村地区青少年的膳食营养状况值得引起重视。为了解农村地区的初中学生日常膳食及其营养状况, 对贵阳农村

地区两所中学的初中学生进行了营养学调查。

1 对象与方法

1.1 对象

按整群随机抽样原则选取贵阳农村地区 2 所

^{*} [基金项目] 贵阳医学院大学生创新创业项目 (No: 021203101)

^{**} 贵阳医学院 2010 级本科生

^{***} 通信作者 E-mail: 1638210715@qq.com

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.0933.006.html>

中学,共 542 名初中学生,其中男学生 298 名,女学生 244 名。

1.2 方法

1.2.1 膳食状况调查 应用 24 h 膳食回顾法,统一制定调查问卷和食物份额估计表(挂图),现场指导学生填写调查问卷,调查学生连续 3 d 摄入的食物种类及摄入量,参照中国疾病预防控制中心营养与食品安全所编著的《中国食物成分表 2004》应用营养计算器 v26.0c(标准版)计算每人每日能量和各类营养素的摄入量,根据中国营养学会 2000 年 10 月修订的《中国居民膳食营养素参考摄入量》(DRIs)和中国居民膳食指南进行评价^[3-4]。

1.2.2 营养状况调查 实地测量学生身高、体重,并应用 Rohrer 指数对学生营养状况进行评价,Rohrer > 156 为过度肥胖,156 ~ > 140 为肥胖,140 ~ > 109 为中等,109 ~ > 92 为瘦弱,< 92 为过度瘦弱^[5-6]。该指数计算公式为:Rohrer = [体重(kg)/

身高(cm)³] × 10⁷。

1.3 统计学方法

调查对象的膳食状况、身高、体重录入到统计分析软件 SPSS 16.0 中进行分析。计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组组间比较采用 *t* 检验,百分率组间比较采用 χ^2 检验,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各种营养素摄入

贵阳市农村初中学生每日能量及各营养素摄入量普遍不足,其中核黄素、维生素 A、维生素 C、Ca 的摄入严重不足(不足 DRIs 的 50%),尼克酸的摄入量高于推荐摄入量,铁摄入基本接近推荐摄入量。此外,相较于男学生,女学生蛋白质、维生素摄入不足更明显,见表 1。

表 1 贵阳市农村初中学生每日能量及各类营养素摄入量
Tab.1 Daily intakes of energy and nutrient of junior high school students in rural area of Guiyang

营养素	男(298 人)		女(244 人)	
	摄入量	DRIs	摄入量	DRIs
能量(kcal)	2 168.24 ± 685.25 (75%)	2 900	2 231.54 ± 764.06 (93%)	2 400
蛋白(g)	60.61 ± 28.79 (71%) ⁽¹⁾	85	47.62 ± 22.43 (60%)	80
脂肪(g)	25.18 ± 14.69		23.56 ± 15.41	
碳水化合物(g)	403.7 ± 183.4		457.78 ± 206.12	
硫胺素(mg)	1.07 ± 0.73 (71%)	1.5	0.73 ± 0.37 (61%)	1.2
核黄素(mg)	0.62 ± 0.23 (41%)	1.5	0.54 ± 0.25 (45%)	1.2
尼克酸(mg)	18.24 ± 9.08 (122%)	15	12.47 ± 4.69 (104%)	12
维生素 A(μgRE)	243.89 ± 187.84 (30%) ⁽²⁾	800	141.39 ± 125.84 (20%)	700
维生素 C(mg)	68.11 ± 58.71 (68%) ⁽¹⁾	100	38.40 ± 24.20 (38%)	100
Ca(mg)	253.15 ± 202.24 (25%)	1 000	216.91 ± 104.86 (22%)	1 000
Fe(mg)	21.58 ± 7.74 (108%)	20	21.67 ± 11.03 (87%)	25
Zn(mg)	11.31 ± 4.98 (60%) ⁽¹⁾	19	8.80 ± 3.25 (57%)	15.5
Se(mg)	30.81 ± 16.21 (62%)	50	27.69 ± 16.03 (55%)	50

注:百分数为实际摄入量与推荐摄入量的百分比,与女学生相比,⁽¹⁾ *P* < 0.05, ⁽²⁾ *P* < 0.01

2.2 三大营养素供能比

男学生的蛋白质供能比在合理水平,而女学生蛋白供能比较低;男女学生脂肪供能比显著低于合理水平,碳水化合物显著高于合理水平,见表 2。

2.3 蛋白质来源

男学生优质蛋白(动物类食物和豆类提供)的摄入比例为 42.40%,女学生为 34.12%,其余均由谷薯类提供,见表 3。

2.4 身高体重

贵阳市农村初中学生男学生的平均身高为

表 2 贵阳市农村初中学生 3 大营养素供能比

Tab.2 Energy supply ratio of three major nutrients of junior high school students in rural area of Guiyang

能量来源	营养素供能比(%)		
	男(298 人)	女(244 人)	合理供能比
蛋白质	11.92 ± 6.50 ⁽¹⁾	9.46 ± 5.70	10 ~ 15
脂肪	11.35 ± 6.70	10.28 ± 6.40	25 ~ 30
碳水化合物	76.73 ± 20.34	80.26 ± 18.04	55 ~ 65

⁽¹⁾ 与女学生相比,*P* < 0.05

表 3 贵阳市农村初中学生食物中蛋白质来源比例
Tab. 3 Sources of protein of junior high school students in rural area of Guiyang

性别	蛋白质来源(%)		
	动物类	豆类	谷薯类
男学生	36.94 ⁽¹⁾	5.46	57.60
女学生	29.52	4.60	65.98

⁽¹⁾与女学生相比, $P < 0.05$

162.12 cm,平均体重为 50.44 kg,与青少年身高标准体重比较,身高 162.12 cm 的正常体重为 54.2 ~ 61.4 kg,可见男学生体重低于正常;女学生的平均身高为 154.29 cm,平均体重为 47.50 kg,与青少年身高标准体重比较,身高 154.29 cm 的标准体重为 48.6 ~ 55.5 kg,女学生体重略低于正常。其中,男女学生身高差异有统计学意义($P < 0.05$)。

2.5 营养状况

贵阳农村初中学生营养状况正常的比例仅为 50% 左右,肥胖和瘦弱并存,男学生中过度肥胖和肥胖比例较高,达 32%;瘦弱和过度瘦弱比例也较高,达 16%,女学生中瘦弱的比例最高达 37%,见表 4。

表 4 贵阳农村初中学生营养状况
Tab. 4 Nutrition condition of junior high school students in rural area of Guiyang

性别	营养状况(n,%)				
	过度肥胖	肥胖	中等	瘦弱	过度瘦弱
男学生	24(8%) ⁽²⁾	72(24%) ⁽²⁾	155(52%)	42(14%) ⁽¹⁾	6(2%)
女学生	5(2%)	10(4%)	132(54%)	91(37%)	7(3%)

与女学生相比,⁽¹⁾ $P < 0.05$,⁽²⁾ $P < 0.01$

3 讨论

膳食方面,贵阳市农村初中学生各营养素普遍摄入不足,其中核黄素、 Ca^{2+} 、维生素 A 摄入尤为不足,这可能与该地区学生动物肝脏、禽畜肉类摄入较少有关。女学生碳水化合物摄入高于男学生,其余各种营养素摄入均低于男学生,这提示女学生主食摄入相对多,而其他辅食比如水果,肉类摄入均低于男学生,这可能与女学生挑食有关。3 大物质供能比中,脂肪供能比显著低于推荐比例,可能与该地区学生摄入动物类食物少,谷类摄入过多有关。日常膳食中蛋白质主要来源于谷薯类、动物类

食物和豆类,其中动物类食物和豆类所提供的是优质蛋白^[7]。贵阳市农村初中学生蛋白质来源中优质蛋白所占比例为 30% ~ 40%,达到了我国正常成人优质蛋白比重(30% ~ 50%),但对于青少年,优质蛋白应占蛋白总量的 50%,因此,该地区学生肉类和豆类的摄入量不足是其膳食状况中存在的主要问题。

营养状况,从统计数据中可以看出贵阳市农村营养状况正常的比例只有 50% 左右,整体而言该地区营养缺乏和营养过剩并存,男学生尤为明显,而女学生主要表现为营养缺乏,这可能与农村居民经济水平低下有较大关联,同时也反映出家长及学校对学生营养状况重视程度不够,青少年自身对营养膳食的观念不强。

初中学生正处于生长发育的关键时期,该时期的人群对营养素的要求普遍要高于正常成人,营养研究表明,营养失调对于青少年的生长发育会有明显的影响^[8]。当地学生家长、学校应重视学生日常膳食状况,开展对学生营养膳食的教育和指导,鼓励他们增加日常膳食,丰富食物种类,改除挑食、偏食的不良习惯,进一步提高他们的营养状况。

4 参考文献

- [1] 马军. 重视青春期发育与血压关系的研究[J]. 中华预防医学杂志, 2013(8):680-683.
- [2] 韩宪君. 合理营养与平衡膳食——谈中职学校学生膳食平衡[J]. 职业技术, 2012(11):62-62.
- [3] 吴欣耘,汪之頔,马秀玲,等. 称重法和 24 小时回顾法用于评估住院病人一日膳食的比较[J]. 营养与老年代谢病, 2011(12):76-79.
- [4] 中国营养学会. 中国居民膳食指南[M]. 西藏人民出版社, 2008:172-177.
- [5] 潘小梅,唐沂,李腾,等. 新生儿血清瘦素水平与生长发育关系研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2003(1):29-30,34.
- [6] 管惠彬,王翠蓉. 攀枝花市东区中小学生学习状况分析[J]. 基层医学论坛, 2008(8):251-252.
- [7] 钱轶. 优质植物蛋白质来源及其应用[J]. 食品安全导刊, 2013(5):48-49.
- [8] 杨年年,聂四平. 贵阳市 12 ~ 18 岁中学生体质指数标准探讨[J]. 贵阳医学院学报, 2012(2):148-151.

(2014-12-03 收稿,2015-02-15 修回)

中文编辑:周 凌;英文编辑:赵 毅

子宫内膜异位症与 TNF- β G252A 基因的相关性研究

余鸿标¹, 姚吉龙²

(1. 深圳市罗湖医院 妇科, 深圳 罗湖 518000; 2. 深圳市妇幼保健院 妇科, 深圳 福田 518000)

[摘要] 目的: 探讨肿瘤坏死因子(TNF- β) G252A 基因在子宫内膜异位症发病机制中作用。方法: 80 例经腹腔镜和病理确诊的内异症(Ems)患者为 Ems 组, 80 例同期需采用腹腔镜排除子宫内膜异位症的健康妇女为对照组, 取两组妇女静脉血, 采用限制性片段长度多态性聚合酶链反应(PCR-RFLP)技术检测 TNF- β G252A 基因的基因频率, 酶联免疫(ELISA)法测定血清 TNF- β 的含量, 分析子宫内膜异位症与 TNF- β G252A 基因之间的关系。结果: Ems 组血清 TNF- β 的含量明显高于对照组($P < 0.05$), 且 Ems 组血清中 TNF- β 的含量与 EMT 的分期呈正相关($r = 0.8532$); Ems 组的 A/A 基因型及 G/A 基因型频率均明显高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); A/A 基因型患 Ems 的危险度是 G/G 基因型的 3.5 倍。结论: Ems 患者血清中 TNF- β 的含量与 EMT 的分期呈正相关, A/A 基因型是患 Ems 的危险基因型。

[关键词] 子宫内膜异位症; 基因, TNF- β G252A; 基因频率; 相关性; 易感性; 新生血管生成

[中图分类号] R711.71 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0267-03

The Relationship between Endometriosis and TNF- β G252A Gene

YU Hongbiao¹, YAO Jilong²

(1. Department of Gynecology, Luohu hospital of Shenzhen, Shenzhen 518000, Guangdong, China; 2. Department of Gynecology, Maternal and Child Health Hospital of Shenzhen, Shenzhen 518000, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the role of TNF- β G252A gene in pathogenesis of endometriosis (Ems). **Methods:** Eighty Ems patients diagnosed by laparoscopy and histopathologic examination served as Ems group and 80 healthy women served as control group. PCR-RFLP was used to detect gene frequency of TNF- β G252A gene, and ELISA was applied to check the serum content of TNF- β . The relationship of Ems and TNF- β G252A gene was analyzed. **Result:** The serum level of TNF- β in Ems group was higher than that in control group ($P < 0.05$), and the serum level of TNF- β in Ems group was positively associated with EMT period. A/A and G/A genotypic frequencies in Ems group were significantly higher than those in control group. The risk of Ems of A/A genotype was 3.5 times of G/G genotype. **Conclusions:** The serum level of TNF- β in Ems patients is positively associated with EMT period, and A/A genotype is the risk genotype of Ems.

[Key words] endometriosis; gene, TNF- β G252A; gene frequency; relevance; susceptibility; angiogenesis

子宫内膜异位症(endometriosis, Ems)是一种生育期妇女常见的疾病,指腺体和间质等子宫内膜组织在子宫肌层以外的位置出现生长和浸润,可导致痛经乃至不孕,发生率为10%~15%^[1-2]。Ems具有明显的家族聚集性,患者的直系亲属患病率是

无家族史患者的6~7倍^[3]。有研究证实肿瘤坏死因子(TNF)与其它促血管生成因子之间的相互作用能够共同促进新血管生成,而血管的建立和维持是Ems发生、发展的重要环节。肿瘤坏死因子 β (TNF- β)是体内T细胞产生的淋巴毒素,基因位于

HLA- β 和 HLA-C2 之间,与 MHC 基因及 TNF- α 基因紧密连锁^[4]。TNF- β 基因 + 252 位点的等位基因 G/A 位于第 1 启动子,与限制性内切酶的识别密切相关,是 TNF- β 基因上最主要的多态性位点。本研究通过测定 TNF- β 基因 + 252 位点的基因多态性和血清中 TNF- β 的含量,分析 Ems 与 TNF- β G252A 基因之间的关系。

1 材料与方法

1.1 一般资料

2013 年 7 月~2014 年 7 月经腹腔镜和病理确诊的 Ems 患者 80 例作为 Ems 组,根据参考文献[5]进行分期,其中 I~II 期 45 例,III~IV 期 35 例;21~40 岁,平均(30.15 \pm 5.25)岁。需经腹腔镜等手段排除 Ems 的适龄妇女 80 例作为对照组,22~41 岁,平均(30.17 \pm 5.20)岁。全部受试者间均为无血缘关系,饮食结构相似,两组受试者基础资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。排除糖尿病疾病、肿瘤、甲状腺肝肾功能不全及严重营养不良并使用过激素治疗的患者。

1.2 方法

1.2.1 TNF- β 的含量测定^[6] 全部受试者均采用腹腔镜在空腹时抽取静脉血 3 mL,3 500 r/min 离心 10 min 后收集上清,分 2~3 管置 -70 $^{\circ}$ C 保存。采用 TNF- β 酶联免疫试剂盒(购自上海森雄科技实业有限公司)按照说明检测血清中 TNF- β 含量,每份标本做 2 个副孔。

1.2.2 TNF- β G252A 位点多态性检测^[7] 采用酚-氯仿法提取白细胞中的 DNA^[8],设计并合成(大连宝生物工程有限公司)PCR 引物^[11]。TNF- β G252A 上游引物为 5'-CCGTGCTTCGTGCTTTTGACTA-3',下游引物为 5'-AGAGCTGCTGGGACATGTCTG-3'。PCR 体系 50 μ L(含 10 \times 缓冲液 6 μ L,2 mol/ μ L 的 dNTP 3 μ L,上、下游引物浓度 0.4 mol/L,基因组 DNA 0.1 μ g,Taq DNA 聚合酶 2U)。循环条件:94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min,94 $^{\circ}$ C 30 s、60 $^{\circ}$ C 30 s、72 $^{\circ}$ C 1 min,35 个循环,72 $^{\circ}$ C 延伸 5 min。结果判定:出现 555 bp、185 bp 两条带为 G 等位基因纯合子(TNF- β 1/1 型);555 bp、185 bp、740 bp 3 条带为 G/A 杂合子(TNF- β 1/2 型);仅出现 740 bp 一条带为 A 等位基因纯合子(TNF- β 2/2 型)。

1.3 统计学处理

数据使用 SPSS 13.0 统计软件分析,计量资料

采用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两样本均数比较采用 t 检验,计数资料采用率(%)表示,比较采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清 TNF- β 含量与 EMT 分期的相关性

Ems 组血清中 TNF- β 含量明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);Ems 组 III、IV 期患者血清 TNF- β 含量明显高于 I、II 期患者,差异有统计学意义($P<0.05$);见表 1。Ems 组血清中 TNF- β 的含量与 EMT 分期之间正相关($r=0.853\ 2$)。

表 1 子宫内位异位症组与对照组
血清 TNF- β 含量

Tab. 1 The levels of TNF- β in Ems
group and the control group

组别	<i>n</i>	TNF- β 含量(μ g/L)
对照组	80	0.87 \pm 0.12
Ems 组		
I、II 期	45	1.10 \pm 0.09 ⁽¹⁾
III、IV 期	35	1.79 \pm 0.27 ⁽¹⁾⁽²⁾

⁽¹⁾与对照组比较, $P<0.05$;⁽²⁾与 I、II 期比较, $P<0.05$

2.2 TNF- β G252A 位点多态性及分布

PCR 扩增结果显示 Ems 组和对照组均检出 TNF- β G252A 位点 G/A 突变。TNF- β G252A 多态位点不同基因型如图 1 的电泳图谱所示。两组间各基因型分布差异有统计学意义($P<0.05$),A/A 基因型及 G/A 基因型频率在 Ems 组中均高于对照组。而 A/A 基因型患内异症的危险度是 G/G 基因型的 3.5 倍。见表 2。

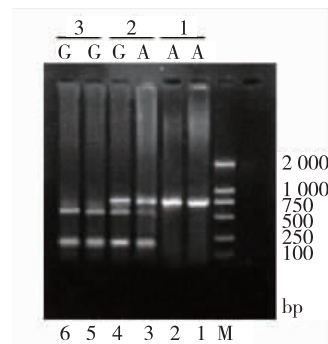


图 1 TNF- β G252A 位点扩增
产物电泳结果

Fig. 1 Electrophoresis results of PCR
product of TNF- β G252 gene

表 2 Ems 组与对照组 TNF-β
G252A 位点基因型频率
Tab.2 Comparison of genotypic frequencies
of TNF-β 252 gene between Ems
group and control group

组别	n	基因型频率(%)		
		G/G	G/A	A/A
Ems 组	80	8(10)	38(47.5)	34(42.5)
对照组	80	19(23.8)	36(45)	25(31.2)
OR		1	2.3	3.5

3 讨论

Ems 是一类良性肿瘤,但具有能够侵袭转移和复发的特点。对于 TNF 基因与 Ems 之间的关系,学说众多却均无定论。因此,探明其中的关系,对于 Ems 的诊断、治疗及预后方面将有重大意义^[1-2]。

本研究中,实验组血清中测得 TNF-β 含量显著高于对照组($P<0.05$),实验组Ⅲ、Ⅳ期明显高于Ⅰ、Ⅱ期($P<0.05$),实验组血清中 TNF-β 的含量与 EMT 分期之间正相关($r=0.8532$)。这可能是因为 TNF 是重要的血管生成因子,可促进内膜异位灶的血管形成和盆腔粘连^[5]。在 Ems 早期 TNF-β 可诱导产生多种细胞因子如 IL-1、IL-6 等炎症介质调控并促使种植灶中新生血管的生长、分化,最终形成内异症病灶。过量的 TNF 又可降低机体的免疫状态,使得 Ems 进一步发生、发展。因此,会伴随着 Ems 病情的加重,患者体内血清中 TNF-β 的浓度会逐步增高。

此外,两组间各基因型分布差异有统计学意义($P<0.05$),A/A 基因型及 G/A 基因型频率在实验组中均高于对照组。而 A/A 基因型患 Ems 的危险度是 G/G 基因型的 3.5 倍。说明等位基因 A 将使 Ems 的患病概率明显增加,与张良等^[9]的报道一致,但与车坤兰等^[10]报告的实验组和对照组间无差异结果不同。主要原因在于单一基因对 Ems 发病的作用,更多的受到了种族、生存环境、饮食习惯等因素的影响,探究多基因同疾病的关系更具借鉴意义。

综上,Ems 患者血清中 TNF-β 的含量与 EMT 的分期呈正相关,A/A 基因型是患 Ems 的危险基因型。但是由于单一基因对 Ems 发病的作用会受到了种族、生存环境、饮食习惯等因素的影响,同时存在研究样本量偏少等问题,需要进一步加大样本量研究。

4 参考文献

[1] 朱琳, 颜士杰, 沙玉成. 血清和腹腔液中 CA125, TNF-α 与子宫内膜异位症患者的相关性研究[J]. 中国妇幼保健, 2014(8):1196-1198.

[2] 焦路阳, 郭庆合, 鲁广建. 血清 TNF-α, IL-6 与 IL-8 在子宫内膜异位症中的检测及意义[J]. 现代预防医学, 2012(17):4540-4540.

[3] 陈海霞. TNF-β 基因 A252G 位点多态性及其在血浆和组织中表达与淋巴瘤关系的研究[D]. 新疆医科大学, 2012.

[4] Steff AM, Gagne D, Page M, et al. Serum concentrations of insulin-like growth factor-1, soluble tumor necrosis factor receptor-1 and angiogenin in endometriosis patients [J]. Am J Reprod Immunol, 2004(2):166-173.

[5] 吴佩蔚. 子宫内膜异位症不孕患者血清 IL-6 及 TNF-α 水平变化研究[J]. 中国妇幼保健, 2013(10):1644-1646.

[6] 罗敏, 何援利, 彭冬先, 等. 子宫内膜异位症患者血清 TNF-α 和 TNF-β 的测定[J]. 中南大学学报, 2005(3):304-306.

[7] 陈晓, 王宇学. 实时荧光定量 RT-PCR 法检测 TNF-α mRNA 基因表达[J]. 现代检验医学杂志, 2006(4):13-15.

[8] 宋洁云, 刘芳宏, 马军, 等. 酚/氯仿法和盐析法提取人类外周血基因组 DNA 方法的比较[J]. 中国实验诊断学, 2013(5):802-805.

[9] 张良, 奚庆华, 鞠少卿. 肿瘤坏死因子 β 基因多态性与江苏子宫内膜异位症患者的相关性研究[J]. 医学检验与临床, 2008(6):10.

[10] 车坤兰, 罗程, 何凤仪, 等. 子宫内膜异位症与肿瘤坏死因子 TNFα-308G/A 和 TNFβG252A 基因多态性的关系[J]. 解剖学研究, 2010(1):21-24.

(2015-01-05 收稿, 2015-02-22 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 周 凌

真皮下血管网皮瓣成活质量的实验研究

苗雨露¹, 梁 杰²

(1. 深圳市龙岗区第二人民医院 外三科, 广东 深圳 518112; 2. 广东医学院附属第一医院 整形科, 广东 湛江 524023)

[摘要] 目的: 探讨真皮下血管网皮瓣成活质量。方法: 选择健康家猪 10 只, 设计真皮下血管网皮瓣 40 个(实验组), 传统皮瓣 40 个(对照组), 比较术后 8 d 家猪两侧皮瓣的成活长度和面积, 通过大体观察及组织学检测比较两组皮瓣的成活质量。结果: 术后 8 d, 实验组皮瓣成活长度均值以及成活面积均大于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 成活质量, 实验组与对照组均成活稳定, 质量好, 近蒂端皮瓣结果清晰, 胶原纤维排列有序, 两组皮瓣在术后 2 d 中远端即出现表皮细胞变性、坏死; 实验组皮瓣中远端皮瓣存活 3 例, 坏死 35 例, 对照组 38 例中远端全部坏死。结论: 真皮下血管网皮瓣近蒂端成活质量好, 中远端成活质量不稳定。

[关键词] 外科皮瓣; 移植物存活; 猪

[中图分类号] R622.12 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0270-04

An Experimental Study on Survival Quality of Subdermal Vascular Network Flap

MIAO Yulu¹, LIANG Jie²

(1. The Third Section of Surgery, the Second People's Hospital of Longgang District, Shenzhen 518112, Guangdong, China; 2. Department of Plastic Surgery, the First Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang 524023, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the survival quality of subdermal vascular net flap. **Methods:** Ten pigs were selected to design and make 40 subdermal vascular net skin flaps (experimental group) and 40 traditional skin flaps (control group) both on bodies of these pigs. In 8 days after the operation, the survival lengths and areas of the flaps on both sides of pigs were compared and the survival quality of flaps of the two group was compared by gross observation and histological test. **Results:** In 8 days after operation, the average survival length and area of flaps in experimental group were longer and larger than those of flaps in control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). Flaps in both groups showed good survival quality, the flaps near the pedicle were clear and collagen fibers were arranged in an orderly manner. In 2 days after operation, in both experimental group and control group, epidermal cell degeneration, and necrosis happened in the middle and far-end from pedicle. Three middle and far-end flaps survived and 35 necrosed in experimental group, while 38 middle and far-end flaps in control group necrosed. **Conclusion:** Subdermal vascular net flap near the pedicle exhibit good survival quality, but middle and far-end flaps are unstable.

[Key words] surgical flaps; graft survival; swine

近十几年来,有关真皮下血管网皮瓣超长成活的报道不少,主要从皮瓣血供、血流以及血管构筑等方面进行研究,阐述皮瓣成活机制,认为皮瓣的

成活仍是蒂部供血为主,但对皮瓣成活后的质地、色泽、毛发、皮瓣近远端差异等问题讨论不多。本研究对真皮下血管网皮瓣成活质量问题进行动物

实验,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料

健康家猪 10 只,纯白色,体质量 20 ~ 25 kg,雌雄不分,无皮肤病,皮肤无外伤及疤痕。

1.2 方法

3% 戊巴比妥钠以 1 mL/kg 剂量对家猪行肌肉注射全麻,按随机原则在一侧完成 1 个真皮下血管网皮瓣,对侧对称部位形成传统皮瓣,2 d 后重复,按照前述方法另做 1 个真皮下血管网皮瓣和传统皮瓣,共 4 次,每只猪共形成真皮下血管网皮瓣 4 个,传统皮瓣 4 个;40 个真皮下血管网皮瓣为实验组,40 个传统皮瓣为对照组。皮瓣大小 12 cm × 4 cm,间隙 4 cm,蒂距脊柱 8 ~ 10 cm。皮瓣的形成:切开皮肤、皮下组织达深筋膜表面,沿此表面掀起皮瓣,细心去除皮下脂肪组织,暴露并保留真皮下血管网,形成真皮下血管网皮瓣;不削皮下脂肪,原位缝合即形成传统皮瓣。术后加压包扎,宽胶布固定,抗生素预防感染。

1.3 观察指标

大体观察,观察家猪两侧皮瓣术后即时、3 ~ 5 min、10 min、2、4、6、8 ~ 12 d 皮瓣色泽、肿胀、水泡、成活、坏死等情况,术后 8 d 测定成活长度和面积。组织学检查,术后 2、4、6 和 28 d 在距皮瓣蒂近(2 cm)、中(4 cm)、远(6 cm)处取组织块,大小约 0.5 cm × 0.5 cm。经固定、脱水、浸、包埋、切片、HE 染色,显微镜下观察不同时间皮瓣结构层次及成活质量。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 13.0 软件包进行统计学分析,数据资料采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$),两组比较采用 *t* 检验,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组皮瓣术后的大体观察

40 个皮瓣中 1 例包扎不当,1 例撕脱。实验组与对照组近蒂端成活稳定,质量好,皮肤质软,毛发生长良好,分布均匀,色泽同正常皮肤;实验组中远端,出现紫绀、水泡、花斑、变性坏死、硬结等,其成活质量类似真皮下血管网皮片成活过程,对照组中远端全部坏死。见表 1。

表 1 家猪术后两侧皮瓣大体观察
Tab. 1 Gross observation of flaps on 2 sides of pig after the operation

观察时间(术后)	实验组(<i>n</i> = 38)	对照组(<i>n</i> = 38)
即时	近蒂端色泽同正常皮肤,中部微红,远端苍白	一过性微白,远端微紫
3 ~ 5 min	中间泛红区向远端移行	远端紫绀
10 min	远端有血液缓慢渗出 3 例,占 7.5%;远端出现紫绀 18 例,占 45%;远端苍白 19 例,占 47.5%	远端紫绀加重
2 d	明确地分近、中、远 3 部分,近蒂端色泽、毛发、质地同正常皮肤,中间部分呈粉红色区,远端紫绀,有的远端紫绀不明显,或出现水泡	近蒂端毛发色泽质地同正常皮肤,远端紫红、暗红,光泽较差或无光泽,明显肿胀
4 d	中间粉红色区移向远端	中间分界部分逐渐转清晰,远端紫绀加重,无光泽,无指压反应,逐渐发灰,发暗
6 d	可判断成活、坏死情况	成活坏死明确
8 ~ 12 d	全部成活 3 例,占 7.5%;远端坏死 35 例,占 80.5%。中远端成活部分微红泛白有花斑,毛发欠均匀,质地较硬;部分呈变性坏死,类似真皮下血管网皮片成活特征	远端坏死、收缩变硬,2 例感染

2.2 组织学观察

实验组及对照组家猪两侧皮瓣术后 2 d 中远端表皮细胞变性,远端表皮变性坏死。见表 2 和图 1。

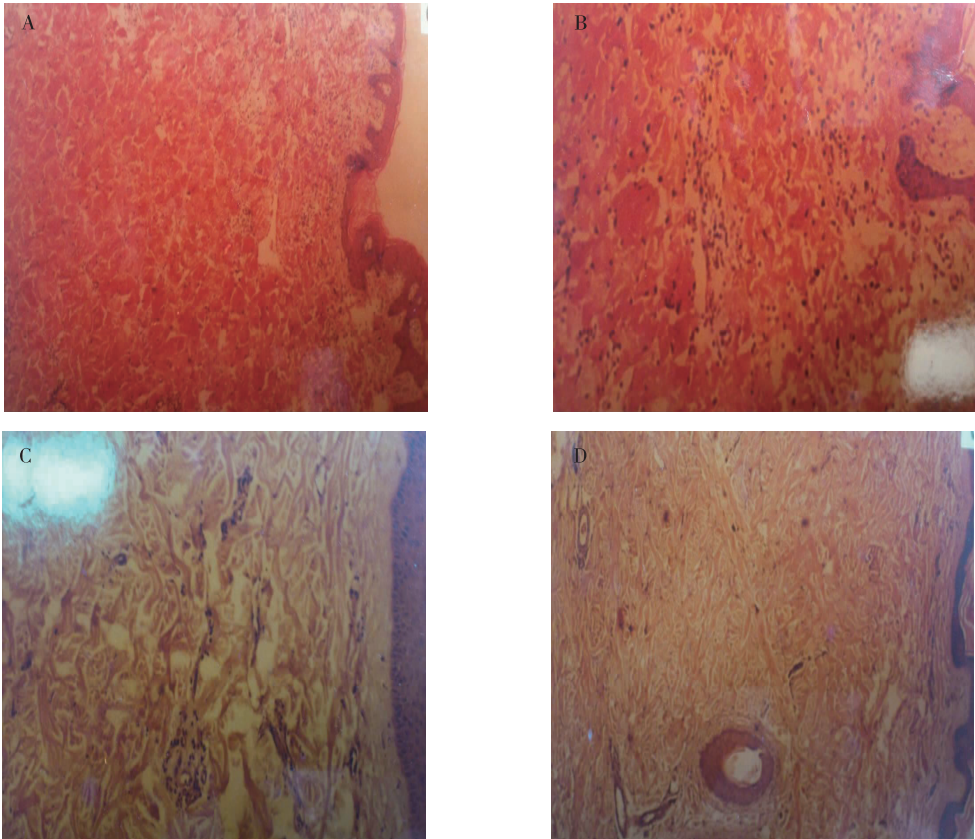
2.3 术后 8 d 皮瓣的成活情况

术后 8 d,实验组皮瓣成活长度均值以及成活面积均大于实验组,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 3。

表 2 家猪术后两侧皮瓣组织学观察(HE 染色)

Tab.2 Histological sections of skin flaps on 2 sides of pig after the operation (HE staining)

观察时间(术后)	实验组	对照组
2 d	近蒂端皮瓣结构清晰,胶原纤维排列有序,中间表皮细胞变性,远端明显	近蒂端结构清晰,中间表皮明显肿胀,甚至坏死,远端有表皮分离、坏死
6 d	真皮下有丰富的新生血管及充血小动脉,近蒂端结构清晰中间组织细胞增生明显,远端表皮分离,细胞肿胀、变性坏死	近蒂端皮瓣结构清晰,胶原纤维排列有序;中间部分结构欠清晰,明显变性、坏死
28 d	成活部分皮瓣结构基本正常,结构清晰,胶原纤维排列有序	成活部分皮瓣结构基本正常,结构清晰,胶原纤维丰富



注:A 为实验组术后 2 d 皮瓣远端,B 为对照组术后 2 d 皮瓣远端;C 为实验组术后 6 d 近蒂端皮瓣;D 为对照组术后 6 d 近蒂端皮瓣

图 1 家猪术后两侧皮瓣术后组织学观察(HE, ×100)

Fig.1 Histological sections of flaps after the operation (HE staining)

表 3 家猪两侧皮瓣术后 8 d 成活情况

Tab.3 Survival situation of skin flaps on 2 sides of pig in 8 d after the operation

组别	成活皮瓣	
	长度(cm)	面积(%)
实验组(n=38)	8.76±2.03	73.01±16.91
对照组(n=38)	7.21±2.21	60.10±12.50
t	2.28	2.35
P	0.033	0.027

3 讨论

真皮下血管网皮瓣主要特征是在传统皮瓣基础上将皮下组织脂肪修剪达真皮下血管网层,因此,研究真皮下血管网皮瓣成活质量选择皮肤结构与人一样(或相似)的具有明显的真皮下血管网及皮下脂肪的动物,是实验模型制作的基础,这种皮肤结构除猿猴外,只有猪与人相同,故实验选用家

猪作为皮瓣模型。国内外在皮瓣成活、坏死机制研究方面也多用猪进行实验,实验结果对临床参考价值较大。但对猪的饲养、管理、麻醉等相对复杂,且费用贵,术后管理又是皮瓣成活的重要外因之一。因此,本实验采用铁笼饲养猪,术后加压包扎,宽胶布固定,基本能达到实验要求。本实验用不同时间制作皮瓣,同一时间监测,可以一次获得不同时间皮瓣动态结果,但存在不同部位的皮瓣血供差异的影响,所以本实验采用随机化设计,对多次结果进行平均以克服上述问题。

本实验中实验组皮瓣成活长度均值以及成活面积均大于对照组,说明真皮下血管网皮瓣具有超长成活现象,超长成活范围为皮瓣中、远端,成活过程中出现紫绀、水泡、花斑、变性坏死、硬结等现象,成活质量与真皮下血管网皮片相似。大体观察结果与组织学检查镜下所见一致,实验组与对照组皮瓣的近蒂端成活稳定,质量好,皮肤质软,毛发生长良好,分布均匀,色泽同正常皮肤。这一结果与相关文献报道相吻合^[1-2]。曾有学者在修复手背疤痕挛缩畸形切除术后皮肤缺损时,将皮瓣削薄达真皮下血管网层且不损伤真皮下血管网的完整性,成活质量好质地软,无臃肿,不需二次削薄,削薄的范围是在传统皮瓣成活长宽比范围内,皮瓣长宽比之不超过(1~1.5):1,这与本实验中近蒂端成活质量相符。因此,真皮下血管网皮瓣中远端超长成活部分质量是不稳定的^[3-4]。张军威等^[5]认为,真皮下血管网皮瓣断蒂后成活,镜下与正常皮肤组织对比观察,发现存活皮瓣存在以下3个特点:(1)上皮组织增厚,皮肤附件减少。考虑原因可能为皮瓣断蒂后组织缺血萎缩及纤维增生压迫所致;(2)炎细胞浸润,可能为皮瓣缺血再灌注导致无菌性炎症,炎细胞在趋化因子作用下在组织中聚集;(3)纤维组织增生,致肌纤维分离,为组织损伤后修复

导致^[6]。本实验3例术中皮瓣远端有血液渗出,几乎全部成活,类似轴形皮瓣,是否真正是轴形皮瓣,有待进一步研究。

综上所述,真皮下血管网皮瓣比传统皮瓣成活时间长,其近蒂端成活质量好,中远端成活质量不稳定,临床应用需慎重。

4 参考文献

- [1] Ogawa R, Hyakusoku H, Iwakiri I, et al. Severe neck scar contracture reconstructed with a ninth dorsal intercostal perforator augmented "Super - Thin Flap" [J]. *Ann Plast Surg*, 2004(2):216-219.
- [2] Murakami M, Hyakusoku H. Reconstruction of a defect after harvesting a radial forearm flap using a narrow pedicled paraumbilical perforator-based subdermal vascular network (super-thin) flap [J]. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*, 2004(5):281-283.
- [3] Rei O, Hiko H. Problems and strategy of neck scar contracture [J]. *Reconstruction*. Sosyo, 2010(2):51-58.
- [4] Roshni R, Michel SC, Aye MT, et al. Prediction of post-operative necrosis after mastectomy: A pilot study utilizing optical diffusion imaging spectroscopy [J]. *World Journal of Surgical Oncology*, 2009(91):1-6.
- [5] 张军威,杨新明,赵自刚,等. 真皮下血管网皮瓣血流量与皮瓣成活关系[J]. *河北北方学院学报:医学版*, 2008(4):7-11.
- [6] Jokuszies A, Niederbichler A, Meyer-Marcotty M, et al. Influence of transendothelial mechanisms on microcirculation: consequences for reperfusion injury after free flap transfer. Previous, current, and future aspects [J]. *J Reconstr Microsurg*, 2006(7):513-518.

(2014-12-23 收稿,2015-01-25 修回)

中文编辑:文箫颖;英文编辑:刘 华

青年和老年乳腺癌临床病理特征比较^{*}

张馨, 杨海松, 毛大华^{**}, 邓英蕾

(贵阳医学院附院 乳腺外科, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 比较青年(≤ 35 岁)和老年(≥ 65 岁)乳腺癌的临床病理特征及雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、人表皮生长因子受体2(HER-2)的表达。方法: 比较青年乳腺癌患者(≤ 35 岁)57例及老年乳腺癌患者(≥ 65 岁)56例的临床病理特征, 采用免疫组织化学法检测两组ER、PR、HER-2的表达。结果: 青年组乳腺癌肿瘤直径长, 临床分期晚, 淋巴结转移率及多中心性乳腺癌所占比例高于老年组, ER、PR阳性表达率低于老年组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 两组病理类型、HER-2表达率的差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论: 青年乳腺癌较老年浸润性更强、发展更快、恶性程度更高。

[关键词] 乳腺肿瘤; 癌; 青年人; 老年人; 疾病特征; 受体, 雌激素; 受体, 孕激素; 受体, 表皮生长因子

[中图分类号] R737.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0274-03

Comparative Study of Clinical and Pathological Characteristics of Breast Cancer of Young and Senior Patients

ZHANG Xin, YANG Haisong, MAO Dahua, DENG Yinglei

(Department of Breast Surgery, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the clinical and pathological characteristics of breast cancer between young (≤ 35 years old) and senior (≥ 65 years old) patients and expressions of ER, PR and HER-2. **Methods:** The clinical and pathological characteristics of 57 young patients and 56 senior patients were compared, and the expressions of ER, PR and Her-2 were detected by means of immunohistochemical Envision. **Results:** The young patients group exhibited longer diameter of tumor, the rates of lymph node metastasis and multicentric breast cancer were higher than senior group, and the positive expression rates of ER and PR were lower than senior group, differences were statistically significant ($P < 0.05$); concerning pathological type of both groups and expression rate of HER-2, differences had no statistical significance ($P > 0.05$). **Conclusions:** Breast cancer in young patients are more invasive, faster and have higher malignant than senior patients.

[Key words] breast neoplasms; carcinoma; young people; senior; disease attributes; receptor, estrogen; receptor, progesterin; receptor, epidermal growth factor

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 每年约有130万人诊断乳腺癌, 约50万死于该病。我国乳腺癌的发病年龄高峰为40~49岁, 比西方国家早10年左右, 由于生活方式的改变及工作压力增大等因素, 我国乳腺癌的发病率逐年上升, 且有年轻化的趋势^[1]。青年和老年乳腺癌具有各自特殊

的临床病理特点和生物学行为, 本文通过比较青年乳腺癌与同期老年乳腺癌的临床病理特点及雌激素受体(ER)、孕激素受体(PR)、人表皮生长因子受体2(HER-2)的表达, 了解这两种人群的乳腺肿瘤异质性, 为青、老年乳腺癌的合理诊治及预后判断提供参考。

^{*} [基金项目] 贵阳市科技局基金[筑科合同(2013103)28号]

^{**} 通信作者 E-mail: maodahua1@medmail.com.cn

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.0931.004.html>

1 材料和方法

1.1 材料

收集 2010 – 2013 年间乳腺外科已手术切除的原发性乳腺癌患者标本共 113 例,其中≤35 岁的青年乳腺癌患者 57 例,22 ~ 35 岁,中位年龄 32 岁;≥65 岁的老年乳腺癌患者 56 例,65 ~ 87 岁,中位年龄 72 岁。入选标准:(1)患者均为女性,经超声、X 线及骨扫描等检查排除远处转移;(2)术前未经任何形式的治疗。

1.2 ER、PR、HER-2 的检测

采用免疫组织化学 Envision 法检测 ER、PR、HER-2 的表达。所有标本经 10% 福尔马林溶液固定,常规石蜡包埋,连续 4 μm 厚切片,HE 染色。ER、PR、HER-2 免疫组织化学染色,兔抗人 PR 多克隆抗体、兔抗人 ER 多克隆抗体和兔抗人 HER-2 多克隆抗体均购自基因公司。ER、PR 以细胞核呈清晰的棕色着色为阳性,根据 2011 年美国临床肿瘤协会(ASCO)阳性判断标准:阳性细胞数 < 1% 为阴性,阳性细胞数 ≥ 1% 为阳性。HER-2 蛋白定位于细胞膜和细胞质,阳性反应者显示为棕黄色颗粒,根据 2011 版中国 HER-2 检测指南:0(阴性)为无染色,1+(阴性)为 < 10% 的细胞膜染色或者任何比例肿瘤细胞着色不完整或不一致,2+(可疑)为 ≤ 30% 的肿瘤细胞着色强且完整,需行荧光原位杂交(FISH)检测,比值大于 2.2 为阳性,3+(阳性)为大于 30% 中等到强的完整的膜染色。本研究将 HER-2 呈 0 ~ 1+ 视为阴性,2+ ~ 3+ 视为阳性。

1.3 观察指标

比较两组患者肿瘤大小、临床分期、多中心性乳腺癌比例、淋巴结转移情况、病理类型、ER、PR、HER-2 表达情况。多中心性乳腺癌的诊断标准:同一乳腺内有 1 个以上各自独立、互不连续、组织学类型相同或不同的原发癌灶,两个癌灶之间有正常腺体和组织相隔,不存在乳腺导管、淋巴管、血管转移或直接侵犯的证据。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计软件包进行 χ^2 检验、FISH 确切概率法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床病理特征

青年组乳腺癌患者 57 例,占同期乳腺癌患者的 9.12% (57/635),老年组乳腺癌患者 56 例,占同期乳腺癌患者的 8.82% (56/635)。青年组肿瘤直径多为 T2(64.91%)及 T3(22.81%),临床分期多位于 II 期(64.91%)及 III 期(22.81%),而老年组肿瘤直径多为 T1(28.57%)及 T2(66.07%),临床分期多位于 I 期(26.79%)及 II 期(69.64%),组间比较差异有统计学意义。青年组多中心性乳腺癌的比例(15.79%)高于老年组(0.00%),青年组腋窝淋巴结转移率(42.11%)高于老年组(23.21%),组间比较差异有统计学意义。两组病理类型比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 青年组与老年组乳腺癌患者临床病理参数及 ER、PR、HER-2 阳性率
Tab. 1 Comparison of clinical and pathological characteristics between young and senior patients

指标	乳腺癌		P
	青年组	老年组	
肿瘤大小(cm)			
T1(≤2)	7	16	
T2(2~5)	37	37	
T3(>5)	13	3	0.008
临床分期			
I	7	15	
II	37	39	
III	13	2	0.004
多中心性			
是	9	0	
否	48	56	0.002
淋巴结转移			
有	24	13	
无	33	43	0.032
病理类型			
浸润性导管癌	52	46	
其他癌	5	10	0.155
ER			
阴性	22	9	
阳性	35	47	0.007
PR			
阴性	28	17	
阳性	29	39	0.042
HER-2			
阴性	28	31	
阳性	29	25	0.507

2.2 ER、PR、HER-2 阳性率

青年组乳腺癌 ER 阳性率为 61.40% (35/57), 老年组为 83.93% (47/56), 两组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 老年组 ER 阳性率高于青年组。青年组乳腺癌 PR 阳性率为 50.88% (29/57), 老年组为 69.64% (39/56), 两组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 老年组 PR 阳性率高于青年组。青年组乳腺癌 HER-2 阳性率为 50.88% (29/57), 老年组为 44.64% (25/56), 两组比较差异无统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

3 讨论

乳腺癌是女性最常见的恶性肿瘤之一, 全球乳腺癌发病率以每年约 2% 的速度递增, 且倾向于年轻化。我国乳腺癌罕见于青春女性, 25 岁后发病率逐渐升高, 40 ~ 50 岁为发病高峰年龄。本研究示, ≤ 35 岁的青年乳腺癌占同期所有乳腺癌的 9.12%, 国内报道青年乳腺癌约占同期乳腺癌的 10% 左右^[2-3], 与本文报道相符。本研究中 ≥ 65 岁的老年乳腺癌占同期乳腺癌的 8.82%, 而欧美国家 50% 以上乳腺癌患者为老年人。

一般认为, 青年乳腺癌的临床分期较晚, 更具侵袭性, 恶性程度高, 预后差。本研究显示, 青年乳腺癌患者的肿瘤体积偏大, 临床分期以 II、III 期居多, 这与国内报道一致^[3-4]。肿瘤大小一般由肿瘤生长速度及病程决定, 生长速度取决于肿瘤的生物学行为, 青年患者卵巢功能旺盛, 体内雌激素水平较高, 肿瘤细胞多处于 S 分裂期, 受雌激素的刺激作用强烈, 故生长速度较快; 再者, 青年患者腺体致密, 肿块不易扪及, 加上平时工作繁忙, 存在侥幸心理, 不及时就医。所以, 青年乳腺癌患者就诊时肿瘤体积较大, 分期较晚。由于老年乳腺腺体萎缩, 肿块易扪及, 且当代老年人的保健意识越来越强, 加上钼靶检查的普及, 很多老年乳腺癌能在早期发现。

腋窝淋巴结转移是评估乳腺癌复发转移风险的独立因素, 转移数目越多, 乳腺癌复发转移风险越大, 预后越差。本研究显示, 青年组乳腺癌腋窝淋巴结转移率高于老年组。证明青年乳腺癌更具侵袭性, 较老年乳腺癌复发转移风险高, 预后更差, 这与国内外研究结果类似^[3-6]。

多中心性乳腺癌也称多原发癌, 本研究青年组患者单侧多中心性乳腺癌所占的比例明显高于老

年组。国内外对多中心性乳腺癌的报告不多, 认为其多见于青年患者, 术后局部复发率高^[7]。但对于多中心性乳腺癌与单侧单发乳腺癌的预后却众说不一^[8]。多中心性乳腺癌是否是影响乳腺癌预后的独立因素, 还需进一步考证。

本研究显示, 青年乳腺癌中 ER、PR 的阳性表达率低于老年患者, HER-2 的阳性表达率两组间差异无统计学意义。乳腺癌表达 ER、PR, 说明癌细胞仍保留激素依赖性生长的特征, 其阳性表达者分化程度高, 恶性程度低, 淋巴结转移慢, 预后好, 两者均阳性时, 内分泌治疗有效率为 70%。ER、PR 缺失者生物学行为不再受雌激素控制, 肿瘤中异型细胞及分化不良细胞较多, 肿瘤生长速度快, 侵袭性强, 易转移, 对内分泌治疗不敏感。老年组患者 ER、PR 表达高, 表示老年乳腺癌较青年乳腺癌恶性程度低, 内分泌治疗效果良好, 预后好。青年组 ER、PR 表达低, 不仅提示肿瘤恶性程度高, 也阻碍了后续的内分泌治疗, 预后差。这与国内外多数报告一致^[2-3,9]。Her-2 癌基因定位于染色体 17q21 上, 是表皮生长因子家族的一员, 具有抑制凋亡、促进肿瘤细胞增生、增进肿瘤侵袭力的作用。Her-2 是乳腺癌预后不良的指标之一, 其过表达预示术后有较高的复发转移风险。Her-2 也是乳腺癌在临床上使用抗 Her-2 单克隆抗体 Herceptin 的重要依据, 是化疗药物选择的重要指标。国内外较多研究提示青年乳腺癌中 HER-2 阳性率高于老年乳腺癌, 与本研究报告不符, 可能与本次研究样本量小有关系, 需进一步研究统计^[2-4,9]。

目前乳腺癌的发病率在上升, 但死亡率反而有所下降, 这依赖于治疗技术的发展。Han 的研究显示, ≤ 35 岁的患者中, 年龄每下降 1 岁, 死亡风险增加 5%^[10]。本次对青老年乳腺癌临床病理特征的研究发现: 青年乳腺癌患者较老年患者就诊时肿瘤体积大, 分期晚, 腋窝淋巴结转移率高, 部分为多中心性乳腺癌, ER、PR 阳性率低, 肿瘤性质更恶劣。因此, 应加强对青年女性乳腺疾病知识的宣传, 增加普查力度, 早诊断, 早治疗, 提高患者的总体生存率。

4 参考文献

- [1] 林文照, 林英城, 曾德, 等. 潮汕地区 1920 例乳腺癌临床病理特点分析[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2009(24): 1905 - 1908.

(下转第 280 页)

老年人前牙慢性根尖炎一次法根管治疗术的疗效观察*

官 丹¹, 陶 杰¹, 闫玉东², 刘艳洁^{3**}

(1. 秦皇岛市第四医院 口腔科, 河北 秦皇岛 066000; 2. 秦皇岛市海港医院 口腔科, 河北 秦皇岛 066000; 3. 贵阳医学院 病理学教研室, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 观察一次法根管治疗术对老年人前牙慢性根尖炎的疗效。方法: 前牙慢性根尖炎老年患者80例, 40例采用一次法根管治疗术治疗, 40例采用传统多次法根管治疗术治疗, 记录两组术后(多次法为第一次术后)24 h、第7天患牙疼痛发生率、同时采集患者上述两时点静脉血2 mL, 采用Sysmex全自动血球分析仪检测白细胞(WBC)计数, 散射比浊法测定血清C-反应蛋白(CRP), 观察患牙疼痛发生率、WBC计数、CRP变化及1年后患牙临床疗效。结果: 两组患者术后24 h、第7天患牙疼痛发生率、WBC计数、CRP检测比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 1年后临床疗效的评定两组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论: 一次法根管治疗术在老年人前牙慢性根尖炎手术治疗效果与传统多次法相当, 值得临床推广。

[关键词] 老年人; 慢性根尖炎; 根管治疗术, 一次法, 多次法; 白细胞计数; C反应蛋白

[中图分类号] R781.34 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0277-04

The Curative Effect of Single Visit Root Canal Therapy in Elderly Chronic Periapical Inflammation of Anterior Teeth

GONG Dan¹, TAO Jie¹, YAN Yudong², LIU Yanjie³

(1. Department of Stomatology, the Fourth Hospital of Qinhuangdao City, Qinhuangdao 066000, Hebei, China;

2. Department of Stomatology, Harbor Hospital of Qinhuangdao City, Qinhuangdao 066000, Hebei, China;

3. Department of Pathology, Guiyang Medical College, Guizhou 550004, Guiyang, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the curative effect of single visit root canal therapy in the elderly chronic periapical inflammation of anterior teeth. **Methods:** Anterior teeth with chronic apical periodontitis of 80 elderly patients, 40 cases were given one time root canal therapy (group S), 40 cases were treated with traditional multiple root canal therapy (group M), the incidence of dental pain, white blood cell counts, C-reaction protein (CRP) levels in the two groups were observed (after the first operation in group M) in 24h and 7 days after operation, and clinical efficacy was assessed after 1 year. **Results:** No significant difference was found in the incidence of dental pain, white blood cell count, CRP levels in 24h and 7 days after operation and clinical efficacy between the two groups ($P > 0.05$). **Conclusions:** One visit root canal therapy has equivalent efficacy with multiple root canal therapy in the treatment of elderly chronic apical periodontitis of anterior teeth, and is worth the clinical promotion.

[Key words] elderly; chronic periapical periodontitis; root canal therapy, single method, multiple method; white blood cell count; C reactive protein

* [基金项目] 国家自然科学基金(No:82160417); 贵州省科技厅联合基金[黔科合 LG 字(2012)006 号]

** 通信作者 E-mail: 553013022@qq.com

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.0949.013.html>

慢性根尖炎是指发生于根尖周围组织的炎症性疾病,属于口腔科常见病和多发病。根管治疗术是慢性根尖炎的主要治疗方法,且效果良好,但需要多次手术才能达到良好的治疗效果,这也是导致部分病例无法完成治疗的原因之一^[1]。随着医学水平的不断进步,一次法根管治疗术开始在治疗慢性根尖炎中得到了应用^[2]。为了探求一次法根管治疗术对老年患者前牙慢性根尖炎疗效,对 40 例前牙慢性根尖炎老年患者采用一次法根管治疗术治疗,并与传统多次法根管治疗的疗效进行比较,报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2010 年 1 月~2013 年 1 月就诊的 80 例慢性根尖炎老年患者,60~75 岁,平均(68 ± 3)岁,男 46 人,女性 34 人,每位患者选取一颗前牙单根管患牙,患牙对叩诊无明显异常反应、术前 X 光片显示根尖无明显吸收、根尖阴影 $< 3 \text{ mm}$ 、无牙周-牙髓联合病变;不存在弯曲牙根、根管钙化不通畅,未做过根管治疗,无影响根管治疗的全身性疾病;最近一周内未服用消炎、止痛性药物。在知情同意的原则下,随机分为一次法根管治疗组(一次法组)和传统多次法根管治疗组(多次法组),每组各 40 例患者。一次法组患者 61~74 岁,平均(67 ± 3)岁,男 26 人,女性 14 人;多次法组患者 60~75 岁,平均(68 ± 3)岁,男 20 人,女性 20 人;两组患者年龄和性别比等基础资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 材料

牙胶尖(天津),根管长度测量仪(日本森田),手动不锈钢配套 K 型锉(日本 MANI),复合树脂充填材料(美国 3M),磷酸锌水门汀(上海),根管充填剂(上海),全自动血球分析仪(日本 Sysmex),GOL SITE 特定蛋白分析仪及超敏全血 C-反应蛋白测定试剂(深圳)。

1.3 方法

两组患牙均常规开髓,去净腐质,拔髓,冲洗髓腔及根管,测量并记录根管工作长度,K 型锉由 15[#]~40[#]依次使用,每号均达到根管工作长度,每更换 1 次器械,均使用 3% H_2O_2 和 0.9% NaCl 交替冲洗根管。一次法组根管预备完成后隔湿,用无菌纸尖吸干根管,置 FC 棉进行根管消毒,用根管

充填剂加牙胶尖做常规冷牙胶侧压法充填根管,X 线片示恰填及充填致密后,磷酸锌水门汀垫底及光固化复合树脂永久充填。多次法组根管预备完成后隔湿,用无菌纸尖吸干根管,封入 FC 棉球进行根管消毒即可,不做其他处理,第 7 天复查,根据患牙情况,给予再次换药,换药 3 次后患者无自觉症状,无明显叩痛,棉球无大量渗出液后行根管永久充填,方法与一次法相同。

1.4 观察指标

对两组患者治疗后(多次法为第一次治疗后)24 h 和第 7 天进行疼痛评估、静脉血 WBC 计数及血清 C-反应蛋白(CRP)检测;治疗一年后评估疗效。疼痛评估:0 级无疼痛,I 级仅有轻微疼痛、不影响咬合和进食、不需要处理,II 级有明显疼痛、对咬合和进食产生影响、需要药物治疗缓解,III 级疼痛严重且伴有局部肿胀。评估标准参考文献^[2]分为 0~III 级(级别越高疼痛程度越重)。疗效评估:根据患者的自觉症状、临床检查和参照根尖周指数(PAI)评级的复诊 X 线牙片结果进行疗效综合评定,标准为:(1)成功,牙无自觉症状,无叩痛及窦道,咀嚼功能正常,X 线片 PAI 为 I~II 级;(2)失败,牙有自觉症状,有叩痛和(或)窦道,咀嚼功能未见恢复,X 线片 PAI 为 III~IV 级。静脉血 WBC 计数及血清 CRP 检测:采集静脉血 2 mL,采用 Sysmex 全自动血球分析仪检测 WBC 计数,散射比浊法测定 CRP(GOL SITE 特定蛋白分析仪)。

1.5 统计学方法

利用 SAS 9.3 软件对数据进行处理,计量资料采用率(%)表示,两两比较采用 χ^2 检验,计数资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两两比较采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

两组根管治疗术后患牙疼痛发生率、WBC 计数及 CRP 检测及 1 年后 PAI 评级、综合疗效评价比较差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1~4。

3 讨论

慢性根尖炎是指根管内由于长期有感染病原刺激物的存在,根尖周围组织呈现出慢性炎症反应,表现为炎症性肉芽组织的形成和牙槽骨的破坏。根尖周组织所受到的这种损害是可以被修复

表 1 两组前牙慢性根尖炎老年患者术后疼痛率比较($n=40$)

Tab. 1 The incidence of dental pain of elderly patients with chronic apical periodontitis in anterior teeth in the two groups after treatment

时间	组别	术后疼痛率($n, \%$)				Z	P
		0 级	I 级	II 级	III 级		
24 h	一次法	21(52.5)	12(30.0)	5(12.5)	2(5.0)	1.346 6	0.178 1
	多次法	26(65.0)	11(27.5)	3(7.5)	0(52.5)		
7 d	一次法	35(87.5)	3(7.5)	2(5.0)	0(0.0)	-0.337 8	0.735 5
	多次法	34(85.0)	3(7.5)	3(7.5)	0(0.0)		

表 2 两组前牙慢性根尖炎老年患者术后 PAI 评定

Tab. 2 PAI assessment of elderly patients with chronic apical periodontitis in anterior teeth in the two groups after treatment

组别	n	PAI 评级($n, \%$)					Z	P
		I 级	II 级	III 级	IV 级	V 级		
一次法	40	14(35.0)	24(60.0)	1(2.5)	1(2.5)	0(0.0)	0.480 8	0.630 7
多次法	40	17(42.5)	20(50.0)	2(5.0)	1(2.5)	0(0.0)		

表 3 两组前牙慢性根尖炎老年患者术后 1 年疗效比较

Tab. 3 Curative effect of elderly patients with chronic apical periodontitis in anterior teeth in the two groups in 1 year after treatment

组别	n	术后 1 年疗效($n, \%$)		P
		成功	失败	
一次法	40	38(95.0%)	2(5.0%)	1
多次法	40	37(92.5%)	3(7.5%)	

的,一旦根除了根管内的病原刺激物,根尖部的炎症肉芽组织就会转化成纤维结缔组织,成骨细胞活动产生新骨,修复已破坏了的牙槽骨,重建牙周膜。根管治疗术作为一种常用的治疗根尖炎的方法,主要是通过清除根管内的炎症牙髓和坏死物质,并进行适当消毒,充填根管,去除根管内容物对根尖周围组织的不良刺激,防止发生根尖周病变或促进根尖周病变的愈合^[3]。根管治疗的关键是消除根管系统感染源,传统的多次法根管治疗术通过根管

表 4 两组前牙慢性根尖炎老年患者术后 WBC 计数及 CRP 变化($n=40$)

Tab. 4 WBC count and CRP levels of elderly patients with chronic apical periodontitis in anterior teeth in the two groups after treatment

时间	组别	WBC 计数($\times 10^9/L$)	t	P	CRP(mg/L)	t	P
24 h	一次法	8.65 \pm 0.82	2.12	0.249 7	10.56 \pm 0.95	1.227 4	0.223 4
	多次法	8.41 \pm 1.02			10.31 \pm 0.87		
7 d	一次法	8.43 \pm 1.09	1.444 7	0.152 5	8.56 \pm 1.01	1.483 1	0.142 1
	多次法	8.11 \pm 0.88			8.24 \pm 0.98		

预备,根管消毒,根管充填 3 个步骤的分次治疗,可进一步清除根管内的病原微生物,有效控制根管系统的致病菌,所以疗效确切的传统多次法根管治疗术是目前慢性根尖炎的首选治疗方法,但存在因多次手术治疗会增加治疗期间再感染和病人难以耐受的缺点^[4]。由于老年人全身各脏器功能衰退,行动不便,多次法根管治疗术对于口腔疾病高发群体的老年人来说治疗的依从性差,很难完成全部治疗步骤。一次法根管治疗术是指具备一定技术条件下根管预备,根管消毒和根管充填在一次治疗过

程中完成的治疗方法^[4]。随着根管填充材料、根管预备器械的进步及治疗技术的提高,一次法根管治疗术开始在治疗慢性根尖炎中应用^[2,5-6]。一次法根管治疗术具有可减少患者的就诊次数、节省费用、治疗时间缩短、可及早封闭根管、降低患者术后疼痛的发生等优点^[7]。老年人由于龋病发病率高,罹患慢性根尖炎的概率也较大^[8]。老年人的牙髓因钙化而导致根管管径狭窄甚至闭锁,根管消毒的药物不能达到病变部位;同时,老年人免疫功能减退,骨愈合能力减弱,均是导致老年患者根管

治疗失败的原因^[9-10]。WBC 计数及 CRP 在急性细菌感染时常早期出现增高,有研究表明 CRP 作为慢性炎症指标比 WBC 要敏感的多,尽管目前临床上仍把 WBC 作为监测炎症的重要指标,但由于 WBC 易受各种因素的影响,不能更准确的反应炎症的发生和治疗后的疗效,而 CRP 的影响因素较小,表现了较高的特异性^[11]。本研究对老年前牙慢性根尖炎患者在严格选择适应症的情况下,对一次法根管治疗与传统多次法根管治疗在术后疼痛的发生率、1 年后的疗效(包括根尖周指数评级)、WBC 计数及 CRP 进行了比较,差异无统计学意义($P>0.05$),说明老年人前牙一次法根管治疗术治疗慢性根尖炎有较好的疗效。

综上所述,在严格选择适应症及严格技术操作的前提下,一次法根管治疗术是减少老年根尖炎患者就诊次数,缩短就诊时间且安全有效的方法,值得临床借鉴和推广。

4 参考文献

- [1] 孙辉. 一次法根管治疗术治疗牙髓和根尖周病疗效研究[J]. 中国实用口腔科杂志, 2010(7):440-441.
 - [2] 周明,林松杉,王峰,等. 老年慢性根尖周炎根管一次性治疗临床疗效观察[J]. 人民军医, 2014(10):1102-1103.
 - [3] 樊明文. 牙体牙髓病学[M]. 1 版. 北京:人民卫生出版社, 2002.
 - [4] 邹群,韦界飞. 慢性无窦道型根尖周炎一次法与多次法根管治疗的疗效对比研究[J]. 继续医学教育, 2011(4):59-60.
 - [5] Dorasani G, Madhusudhana K, Chinni SK. Clinical and radiographic evaluation of single-visit and multi-visit endodontic treatment of teeth with periapical pathology: An in vivo study[J]. J Conserv Dent, 2013(6):484-488.
 - [6] Xavier AC, Martinho FC, Chung A, et al. One-visit versus two-visit root canal treatment: effectiveness in the removal of endotoxins and cultivable bacteria[J]. J Endod, 2013(8):959-964.
 - [7] 吕岩,袁一方,郭斌,等. 老年慢性根尖周炎根管治疗一次术及多次术术后疼痛的临床研究[J]. 中华老年口腔医学杂志, 2013(2):83-88.
 - [8] 潘炜,陈贵敏,杨洲慧,等. Vitapex 糊剂充填根管治疗老年根尖周炎 87 例[J]. 人民军医, 2011(9):759-760.
 - [9] 王文蕾. 老年人慢性根尖周炎疗效观察[J]. 中华老年口腔医学杂志, 2003(3):148-149.
 - [10] 李红,张宇红. 一次性根管治疗在慢性根尖周炎患者中的临床效果观察[J]. 中外医疗, 2013(17):85-87.
 - [11] 时念学,孙福祥,王秀荣. C-反应蛋白测定在慢性炎症诊断中的应用价值[J]. 济宁医学院学报, 2000(2):38.
 - (2015-01-07 收稿, 2015-02-21 修回)
 - 中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 周 凌
-
- (上接第 276 页)
- [2] 李梅芳,何建蓉,沈坤炜,等. 不同年龄段乳腺癌患者的临床病理特点[J]. 中华乳腺病杂志, 2010(5):558-565.
 - [3] 赵二保,张华一,曲隽渊,等. 青年和老年乳腺癌临床病理对比分析[J]. 中国药物与临床, 2011(7):835-836.
 - [4] 秦颖,张同先,张巍,等. 青年乳腺癌临床病理特点分子分型及预后分析[J]. 中国肿瘤临床, 2014(4):231-236.
 - [5] Narod SA. Breast cancer in young women[J]. Nat Rev Clin Oncol, 2012(8):460-470.
 - [6] 沈镇宙,邵志敏. 年轻乳腺癌(≤ 35 岁)患者死亡风险规律的分析[J]. 中国癌症杂志, 2007(2):118-120.
 - [7] 杨丽丽,张银华,赵峰. 若干生物学指标对多中心性乳腺癌的影响及意义[J]. 广东医学, 2012(21):3300-3302.
 - [8] Newman LA, Sahin AA, Cunningham JE, et al. A case-control study of unilateral and bilateral breast carcinoma patients[J]. Cancer, 2001(10):1845-1853.
 - [9] 汤红平,谢闰娥,黄犁,等. 106 例青年女性乳腺癌临床病理特点的回顾性分析[J]. 中华乳腺病杂志, 2013(3):184-187.
 - [10] Han W, Kang SY. Relationship between age at diagnosis and out-come of premenopausal breast cancer: age less than 35 years is a reasonable cut-off for defining young age-onset breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat, 2010(1):193-200.
 - (2014-12-01 收稿, 2015-01-23 修回)
 - 中文编辑: 周 凌; 英文编辑: 赵 毅

成分输血培训教育对血浆临床合理使用率的影响

任 民^{1,2}, 丁显平^{1*}

(1. 四川大学 生命科学学院, 四川 成都 610064; 2. 贵阳中医学院第一附属医院 输血科, 贵州 贵阳 550001)

[摘要] 目的: 通过对成分输血知识的培训后效果调查, 探讨提高血浆合理使用率的方法。方法: 调查 2012 年 2 月~2013 年 3 月临床成份输注情况, 按照卫生部《临床输血技术规范》、《医疗机构临床用血管理办法》要求对临床医生进行培训, 比较培训前后血浆成份输注合理利用的变化。结果: 培训前临床输注血液成份不合理使用率中, 血浆最高, 其次为血小板和冷沉淀; 培训后血浆合理使用率由培训前 47.92% 提升到 84.56%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 临床医生规范输血培训能提高血浆的合理使用率。

[关键词] 血浆; 血液成分输血; 培训; 合理化; 规范

[中图分类号] R192.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0281-02

The Effect of Blood Component Transfusion Training on Rational Clinical Use of Plasma

REN Min^{1,2}, DING Xianping¹

(1. College of Life Science, Sichuan University, Chengdu 610064, Sichuan, China; 2. Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Guiyang Traditional Chinese Medicine College, Guiyang 550001, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the method to improve rational use rate of plasma through all-round blood component transfusion training. **Methods:** The cases of clinical blood component transfusion from February, 2012 to March, 2013 were selected and investigated. After all-round blood component transfusion training for clinician under the requirements of "the technical specifications of clinical blood transfusion" and "the management measures of blood for clinical use in medical institutions" issued by the ministry of health, the rational usage of blood component was analyzed and compared before and after training. **Results:** Before training, in terms of the rate of irrational use of blood components, the highest was plasma, followed by platelets and cryoprecipitate. After training, the rate of rational use increased from 47.92% to 84.56% and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion:** The blood component transfusion training can obviously improve the rate of rational use of plasma.

[Key words] plasma; blood component transfusion; training; rationalization; normalization

成分血具有一血多用、节约血源、针对性强、疗效好、副作用少及便于保存和运输等优点^[1]。目前, 临床上成分输血的比例已高达 90%, 使用较多的成份血有悬浮红细胞、血浆、血小板等^[1]。输注血浆是临床上补充多种凝血因子的主要方法, 应用

越来越广泛, 但如何提高血浆的临床合理应用率, 是目前急需解决的问题^[2-4]。2013 年 2 月按照卫生部《临床输血技术规范》、《医疗机构临床用血管理办法》对在岗临床医生进行培训, 对培训前后的成分血的合理使用情况进行调查, 报告如下。

* 通信作者 E-mail: brainding@scu.edu.cn

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.0948.012.html>

1 对象与方法

1.1 调查对象

调查 2012 年 3 月 ~2013 年 2 月临床输注的红细胞、新鲜冰冻血浆 (fresh frozen plasma, FFP)、普通冰冻血浆 (frozen plasma, FP)、浓缩血小板、冷沉淀等各种血液成份使用量和合理使用率,同时对临床输注血液成份中最不合理使用成分的合理使用方法和成分输血知识进行培训,分析培训前后该成分的合理使用情况。

1.2 合理使用的概念

单个凝血因子缺乏的补充、肝病病人获得性凝血功能障碍、大量输血伴发的凝血功能障碍、口服香豆素类药物过量、血浆置换、纠正先天性凝血因子缺乏等;不合理使用包括扩容、补充蛋白和营养、增强免疫力、与红细胞搭配输注等进行血浆分类统计,分析临床对 FFP、FP 的合理使用情况。200 mL 全血或所制备的任何一种血液成分均为 1 U,1 人份机采血小板按 10 U 成分血计算;血浆使用率的计算方法:血浆使用率 (%) = [FFP 或 FP 单位数

(U)/所有成分血单位数(U)] × 100%。

1.3 统计学方法

数据采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析,计数资料采用率 (%) 表示,两两比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

培训前临床输注血液成份不合理使用率,血浆最高,其次为血小板和冷沉淀,见表 1。培训后血浆合理使用率由培训前 47.92% 升高到 84.56%,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 2。

表 1 培训教育前临床不合理输注血液成份情况

Tab.1 The rate of irrational use of blood components before training

输注血液成份	使用量	使用比例 (%)	不合理使用 (%)
悬浮红细胞	3 986 U	42.98	9.63
血浆	3 806.5 U	41.04	52.09
血小板	994 U	10.72	23.36
冷沉淀	488 U	5.26	14.92
合计	9 274.5 U	100	100

表 2 培训教育前后血浆 (FP 和 FFP) 使用情况

Tab.2 Comparison of usage of plasma (FP and FFP) before and after training

组别	合理使用 (U)						不合理使用 (U)					合计 (U)	合理情况 %
	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k		
培训前	392	978	208	64	113	69	386	454	386	313.5	443	3 806.5	47.92
培训后	597	1 689	436	175	164	113	98	119.5	96.5	142.5	123	3 753.5	84.56

注: a 为单个凝血因子缺乏的补充, b 为肝病病人获得性凝血功能障碍, c 为大量输血伴发的凝血功能障碍, d 为口服香豆素类药物过量, e 为血浆置换, f 为血栓性血小板减少性紫癜; g 为治疗低蛋白血症和补充营养, h 为扩充血容量, i 为增强机体免疫力, j 为促进伤口愈合, 防止伤口感染, k 为与红细胞搭配输注 (重组血液)。

3 讨论

合理输血是指给确实有输血指征的患者输注合理的血液成分,有明确的目的和能达到预期的疗效,能用其它血液替代品的尽量减少输血^[4]。血浆的合理应用主要包括:单个凝血因子缺乏的补充,肝病病人获得性凝血功能障碍,大量输血伴发的凝血功能障碍,口服香豆素类药物过量,血浆置换,血栓性血小板减少性紫癜等。

本调查发现,培训前本院输注的成分血中血浆的不合理使用率最高,达 52.09%,不合理输注主要包括补充营养、纠正低蛋白血症、扩容、提高免疫

力、术中与红细胞搭配输注、术后用于加快伤口愈合等,其主要原因是临床医生没有完全掌握血浆输注的所有适应证、未做凝血 4 项检查、无血浆输注循证,甚至很多医生并不明白检验报告实际意义,未严格按《临床输血技术规范》规定执行。根据这些情况,2013 年 2 月按照卫生部《临床输血技术规范》、《医疗机构临床用血管理办法》对临床医生进行培训,建立建全临床输血疗效评价和考核制度^[5-8]。通过全面培训和加强监督管理后,血浆合理使用率由培训前的 47.92% 提升到 84.56%,不合理使用率由 52.09% 下降到 15.44% 降,培训后取得明显成效,说明通过临床医生规范输血培训能提高血浆的合理使用率。

(下转第 287 页)

脑脊液流式细胞术检测非霍奇金淋巴瘤中枢神经系统受累的价值*

陈梦翔, 黄韵红**, 胡云飞, 申苗苗, 黄德佩

(贵州省肿瘤医院 肿瘤科, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 评价脑脊液流式细胞术(CSF-FCM)在非霍奇金淋巴瘤(NHL)中枢神经系统(CNS)受侵的诊断和预后的价值。方法: 18例 NHL 初治患者, 脑脊液(CSF)采用 CSF-FCM 和脑脊液细胞学(CSF-C)方法检测, 比较两种方法检测中枢神经系统(CNS)受累的阳性率, 同时观察患者性别、年龄、临床分期、B 症状、乳酸脱氢酶(LDH)、国际预后指数(IPI)评分、体能状态 PS 评分等相关临床因素的关系。结果: CSF-FCM 检测 NHL 患者 CNS 受侵的诊断阳性率高于 CSF-C, 差异有统计学意义($P=0.045$); 单因素分析结果显示 CSF-FCM 在检测 NHL 累及 CNS 时免疫表型阳性与年龄、B 症状及 LDH 有关($P=0.039, 0.001$ 及 0.009)。结论: NHL 累及 CNS 时 CSF-FCM 免疫表型检测优于传统细胞学检查。

[关键词] 非霍奇金淋巴瘤; 中枢神经系统; 脑脊液; 流式细胞学; 细胞学

[中图分类号] R733.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0283-05

The Values of CSF Flow Cytometry in Detecting CNS Involvement in the Non-Hodgkin's Lymphomas

CHEN Mengxiang, HUANG Yunhong, HU Yunfei, SHEN Miaomiao, HUANG Depei

(Department of Oncology, Guizhou Cancer Hospital, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the value of diagnosis and prognosis with cerebrospinal fluid flow cytometry (CSF - FCM) in non-hodgkin's lymphoma (NHL) of the central nervous system (CNS) invaded. **Methods:** CSF-FCM and CSF cytology were employed to detect cerebrospinal fluid (CSF) of 18 NHL patients of initial treatment, positive rate of central nervous system (CNS) involvement detected by the two methods were compared, at the same time, the correlation among clinical factors such as patients' gender, age, clinical stage, B symptoms, lactate dehydrogenase (LDH), international prognostic index (IPI) score, PS score of physical state was observed. **Results:** The diagnostic positive rate of CSF-FCM in detecting NHL patients with CNS invaded was higher than that of CSF-C, the difference was statistically significant ($P=0.045$). Single factor analysis showed that immune phenotypes of NHL which CNS invaded detected by CSF-FCM was correlated to age, B symptoms and LDH ($P=0.039, 0.001$ and 0.009). **Conclusions:** CSF-FCM immune phenotypic detection is superior to the conventional cytology when CNS involvement in NHL.

[Key words] non-Hodgkin's lymphoma; central nervous system; cerebrospinal fluid; flow cytometry; cytology

* [基金项目] 贵州省科技厅社发攻关项目[黔科合 LG 字(2012)063 号]

** 通信作者 E-mail: pdhuangyh@sina.com

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.1017.025.html>

侵犯中枢神经系统 (central nervous system, CNS) 的非霍奇金淋巴瘤 (non-hodgkin, s lymphoma, NHL) 是一种严重危及患者生命的肿瘤, 治疗效果不佳, 预后差, 病死率高^[1]。在临床上检测 NHL 是否侵犯 CNS, 对 NHL 的治疗和预后显得尤为重要。目前诊断 NHL 患者 CNS 受累的方法主要包括脑脊液细胞学检查 (cerebrospinal fluid cytology, CSF-C) 和脑脊液流式细胞术 (cerebrospinal fluid flow cytometry, CSF-FCM), 其中 FCM 已被较为广泛的应用到淋巴造血系统疾病的诊断和研究中^[1-3]。本研究旨在比较 CSF-FCM 与传统 CSF-C 两种检查方法在检测 NHL 患者 CNS 受累情况中的优越性及关系, 为临床检测 NHL 中枢神经系统受累情况提供依据。

1 材料与方法

1.1 对象

收集淋巴瘤科 2012 年 3 月 ~ 2013 年 3 月 NHL 患者 18 例, 男性 13 例, 女性 5 例, 年龄 7 ~ 74 岁, 中位年龄 49 岁。入组病例均经淋巴结或结外组织病理确诊为 NHL, 既往无鞘内注射化疗史, 参照 2012 年 NCCN 指南, 同时至少具备以下条件之一: (1) 病理类型为淋巴母细胞淋巴瘤 (lymphoblastic lymphoma, LBL)、Burkitt 淋巴瘤 (burkitt lymphoma, BL) 等高度侵袭性淋巴瘤; (2) 病变累及鼻窦、睾丸、乳腺、硬膜外、大细胞淋巴瘤侵犯骨髓或本身为艾滋病 (human immunodeficiency Virus, HIV) 合并 NHL; (3) 有 ≥ 2 个结外部位受累和乳酸脱氢酶 (lactic dehydrogenase, LDH) 升高, 结外器官受累 ≥ 2 个是重要危险因素; (4) 儿童 NHL, 主要包括 LBL、BL、间变大细胞淋巴瘤以及弥漫大 B 细胞淋巴瘤; (5) 排除其他原因所致的神经学缺陷以及精神状态改变。

1.2 方法

记录患者的性别、年龄、临床分期、功能状态 (performance status, PS) 评分、B 症状、LDH 水平、国际预后指数 (international prognostic index, IPI) 评分等临床资料, 应用 CSF-C 和 CSF-FCM 检测患者 CSF 标本的细胞免疫表型, 比较两种方法检测 NHL 合并中枢受累诊断的阳性率, 分析两种方法与患者年龄、临床分期、B 症状及血清 LDH 等相关临床因素的关系。

所有入组患者均进行腰穿收集 CSF, 每位患者

的 CSF 分为 2 份, 每份 2 ~ 3 mL, 分别用于 CSF-C 及 CSF-FCM 检查。(1) CSF-C 新鲜 CSF 标本, 2 000 r/min 离心 5 min, 弃上清液。采用 CSF 沉淀室法制片, 置于 4 °C 冰箱中过夜, 自然干燥。CSF-C 染色采用迈 - 格 - 姬 (May-Grunwald-Giemsa, MGG) 染色法, 光镜下观察^[4]。(2) CSF-FCM 制备单细胞悬液, 进行表面标志染色。取 3 支试管, 每管中分别加入 20 μ L 以下抗体或同型对照 (管 1: CD45、CD20、CD22、CD10、CD5、CD19; 管 2: CD45、CD2、CD3、CD4、CD38、CD8、CD15、CD13、CD117、CD33、CD14; 管 3: CD45、CD16、CD64、CD11b、CD34、HLA-DR、CD45、Kappa、Lambda、CD19、CD45、FCM7、CD13、CD23; 抗体及同型对照均来自于美国 Becton-Dickinson 公司)。新鲜 CSF 标本低速离心, 1 000 r/min 5 min, 弃上清。在显微镜下行 CSF 细胞计数, 调整细胞浓度 $\leq 1 \times 10^6$ /mL, 取 80 μ L 离心后 CSF 标本, 分别加入 3 支流式管中, 流式管中均需加入荧光试剂 (PerCP-CY5.5、FITC、PE、APC、PE-CY7、APC-CY7)。混匀后室温避光孵育 15 min, 再加入 1 mL PBS 混匀, 低速 1 000 r/min 5 min 离心, 弃上清, 洗涤 2 次。分别再加入 200 μ L PBS 上机检测, 使用 Becton-Dickinson 公司 FACSDiva Version 6.1.2 软件进行分析。(3) 阳性标准 CSF-C 检测是对 CSF 细胞的形态学研究, CSF 中发现瘤细胞是诊断的唯一可靠依据^[5]。CSF-FCM 免疫表型阳性需结合 WHO (2008) 血液淋巴瘤分类 4th Edition 进行分类, 并参照白血病脑脊液 FCM 结果分析^[6]。FCM 阳性: CSF 不混血, FCM 可检测到异常免疫表型; CSF 混血或血性 CSF, FCM 异常免疫表型比例高于外周血幼稚细胞比例。

1.3 统计学方法

用四格表资料的 χ^2 检验比较两种方法的优越性; CSF-FCM 检测阳性与临床相关风险因素的关系用 Logistic 回归分析; 两种检查方法一致性用 kappa 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。经 SPSS 19.0 统计软件包分析。

2 结果

2.1 CNS 受累情况

CSF-C 与 CSF-FCM 检测 NHL 患者 CNS 受累患者的病例数分别为 0 例和 5 例, 诊断阳性率分别为 0 和 27.8%。CSF-FCM 诊断 NHL 患者 CNS 受

累阳性率高于 CSF-C, 差异有统计学意义 ($P = 0.045$)。NHL 患者年龄 < 60 岁、Ann Arbor III-IV 期、有 B 症状及 LDH 升高时, CSF-FCM 优于 CSF-CC, P 值分别为 0.042、0.041、0.021、0.029, 见表 1。

表 1 两种方法与总病例临床因素检测结果(n)

Tab. 1 Clinical data of the patients detected by the two methods

临床因素	n	CSF-C		CSF-FCM		P
		+	-	+	- (fisher $\hat{\chi}$)	
性别						
男	13	0	13	4	9	0.096
女	5	0	5	1	4	1.000
年龄						
≥ 60 岁	3	0	3	0	3	
< 60 岁	15	0	15	5	10	0.042
Ann-Arbor 分期						
I ~ II	4	0	4	0	4	
III ~ IV	14	0	14	5	9	0.041
PS 评分						
0 ~ 1 分	12	0	12	3	9	0.217
≥ 2 分	6	0	6	2	4	0.455
B 症状						
有	7	0	7	5	2	0.021
无	11	0	11	0	11	
LDH						
正常	9	0	9	0	9	
升高	9	0	9	5	4	0.029
细胞来源						
B 细胞	11	0	11	2	9	0.476
T 细胞	7	0	7	3	4	0.192
原发部位						
结内	10	0	10	4	6	0.087
结外	8	0	8	1	7	1.000
IPI 评分						
0 ~ 2	13	0	13	4	9	0.096
3 ~ 5	5	0	5	1	4	1.000

2.2 NHL 患者 CSF-FCM 结果

CSF-FCM 检测阳性率与年龄有关, 平均 (24 ± 16) 岁 ($t = -2.255, P = 0.039$), 并与有 B 症状 ($\chi^2 = 10.879, P = 0.001$) 及 LDH 升高 ($\chi^2 = 6.923, P = 0.009$) 有关, 见表 2。本组病例经 CSF-C 细胞学检查未见阳性样本, 暂不能推断 FCM 及细胞学两种检查方法在诊断 NHL 侵犯 CNS 时一致性的吻合度。CSF-FCM 检测阳性的 5 例患者, 结合临床表现及辅助检查, 明确 NHL 侵犯 CNS 的有 2 例, 1 例为 48 岁女性 (左乳腺弥漫大 B 细胞淋巴

瘤), 见图 1-A; 1 例为 7 岁男孩 (淋巴母细胞淋巴瘤), 见图 1-B; 2 例患者于诊断 CNS 受累后 2 ~ 3 月内死亡。

表 2 FCM 与临床因素回归分析
Tab. 2 The regression analysis of FCM with clinical factors

临床因素	CSF-FCM	
	P	χ^2/t
性别	0.648	0.209
年龄	0.039	-2.255
Ann Arbor 分期	0.160	1.978
PS 评分	0.710	0.138
B 症状	0.001	10.879
LDH	0.009	6.923
细胞来源	0.255	1.298
IPI 评分	0.648	0.209
原发部位 (结内和结外)	0.196	1.675

3 讨论

CNS 侵犯是非霍奇金淋巴瘤的严重并发症, 易导致患者死亡^[7-10]。研究统计淋巴瘤发生 CNS 受累患者中数生存期为 2.4 ~ 4.4 个月^[9-11]。有 CNS 侵犯的 NHL 患者, 为避免延误治疗或治疗过度, 临床上迫切需要寻找 NHL 侵犯 CNS 的确切诊断依据。

细胞形态学检查易受主观因素影响, CSF-C 检查需要一定的细胞数量, 若细胞浓度太低, 则很难获得准确的结果^[12]。本组 18 份 CSF 标本中, 经 CSF-C 检查未发现阳性样本, 而 CSF-FCM 检查发现 5 例阳性病例, 可以认为是 CSF-C 检查的局限性, 造成漏诊。但由于样本较少, 还不能对 CSF-FCM 及 CSF-C 两种检查方法诊断 NHL 侵犯 CNS 进行评价。

当形态学检查难以区别时, 免疫表型参数对各种淋巴瘤的诊断和鉴别诊断有决定性作用。Hegde U 等^[13]应用轻链与 B 和 T 细胞多种抗体系列的多色 FCM 来检测其相应抗原的新生物细胞, 在 CSF 总淋巴细胞数仅占 0.2% 时仍可检出。FCM 极为敏感, 能检出异常的单克隆 B 细胞, 而单克隆 B 细胞仅占淋巴细胞总数的 0.01%。本组 18 份 CSF 标本中, 脑脊液 FCM 阳性率为 27.8%, 而最终结合临床特征发现确切的 CNS 受侵的样本数为 2 例, 而这两例患者经 CSF-C 检查均未见异常, CSF-

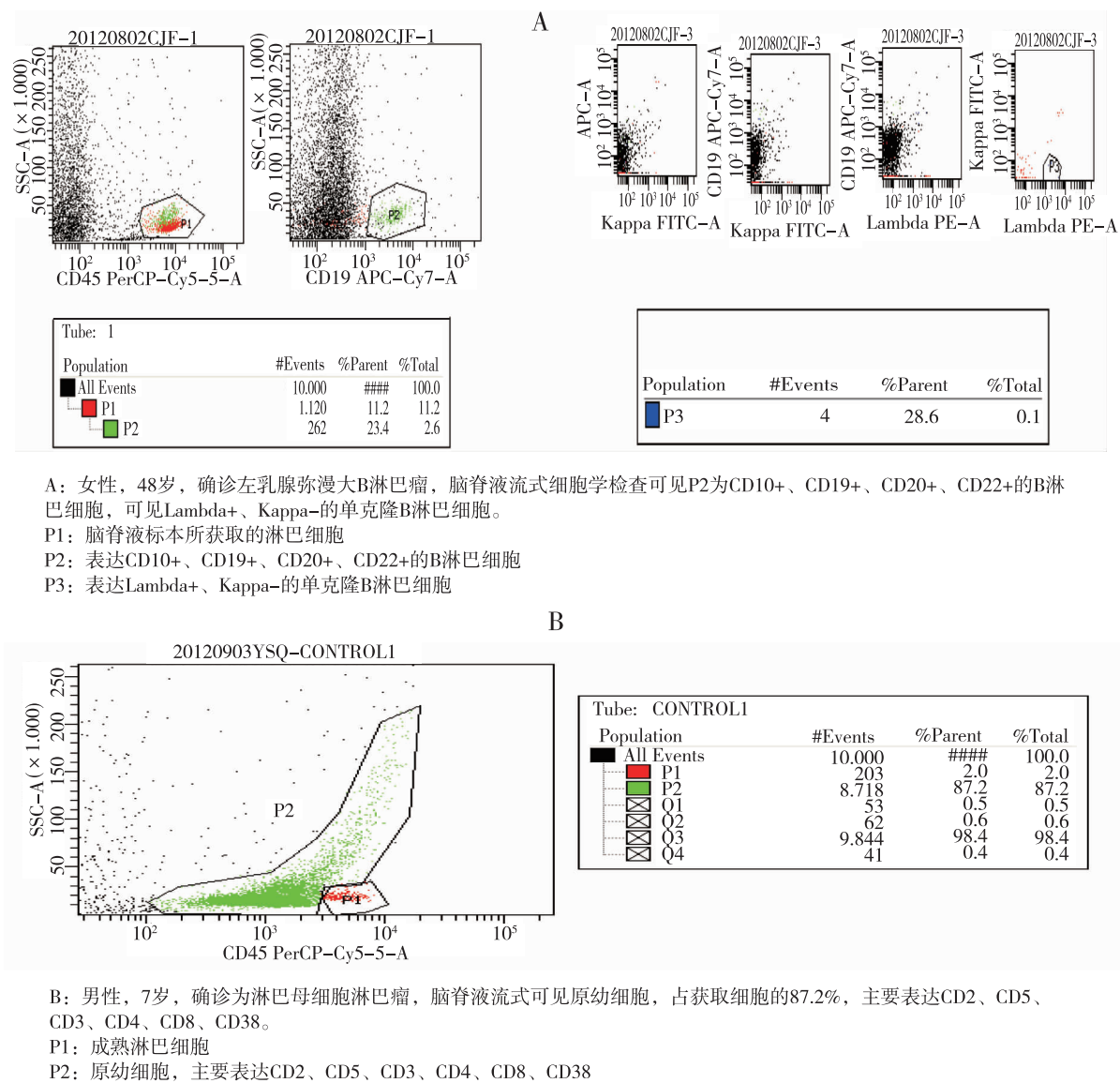


图 1 NHL 患者 CSF-FCM 阳性脑脊液检测
Fig. 1 CSF-FCM results of two NHL patients

FCM 证实为 CNS 侵犯的患者分别于诊断 CNS 受累后 2 ~ 3 月死亡,与文献报道一致^[9-11]。本组 CSF-FCM 诊断阳性率高于 CSF-C 检查,可见 CSF-FCM 在检测 NHL CNS 侵犯时诊断阳性率比细胞学高,更容易发现 CSF 的病变,能对细胞学假阴性结果所致的遗漏给予补充。

本组病例中有 1 例确诊 B 细胞来源的淋巴瘤细胞淋巴瘤患儿,经 CSF-FCM 检查证实 CNS 受累,原幼细胞占获取细胞的 87.2%,主要表达 CD2、CD5、CD3、CD4、CD8、CD38,提示为 T 细胞来源的淋巴瘤细胞淋巴瘤。因此,CSF-FCM 检查能提示 NHL 中枢受累时 B 或 T 细胞来源,为临床治

疗提供正确的指导。

结果显示在检测 NHL 侵犯 CNS 时,CSF-FCM 检查免疫表型优于传统细胞学,与年龄 < 60 岁、Ann Arbor III-IV 期、有 B 症状及 LDH 升高有关。因此在临床工作中,对高度怀疑 CNS 侵犯,而 CSF-C 未发现确切证据的 NHL 病例,建议行 CSF-FCM 检查,可能更容易获取诊断依据。

4 参考文献

[1] Chamberlain MC, Glantz M, Groves MD, et al. Diagnostic tools for neoplastic meningitis: detecting disease, identif-

- ying patient risk, and determining benefit of treatment [J]. *Semin oncol*, 2009(36):35-45.
- [2] Chamberlain MC, Johnston SK, Glantz MJ. Neoplastic meningitis: prognostic significance of the Karnofsky performance status[J]. *Arch Neural*, 2009(66):74-78.
- [3] Chamberlain MC. Neoplastic meningitis[J]. *Neurologist*, 2006(4):179-187.
- [4] 关鸿志,王长华,郭玉璞,等. 脑脊液细胞学的特异性发现[J]. *中华神经科杂志*, 2004(37):65-67.
- [5] 栗秀初,孔繁元. 神经系统临床脑脊液细胞学[M]. 北京:人民军医出版社, 2001:34-36.
- [6] 杨文钰,竺晓凡. 脑脊液流式细胞学检测技术在急性淋巴细胞白血病儿童并发中枢神经系统白血病中的诊断价值[J]. *中国实验血液学杂志*, 2012(1):38-42.
- [7] Ismaili N, Bentama O, Errihani H. An unusual presentation of non-Hodgkin lymphoma[J]. *J Cancer Res Exp Oncol*, 2010(1):15-18.
- [8] Pui CH, Thiel E. Central nervous system disease in hematologic malignancies: Historical perspective and practical applications [J]. *Semin Oncol*, 2009(4, Suppl 2):2-16.
- [9] Herrlinger U, Glantz M, Schlegel U, et al. Should intra-cerebrospinal fluid prophylaxis be part of initial therapy for patients with non-Hodgkin lymphoma: What we know, and how we can find out more[J]. *Semin Oncol*, 2009(4):25-34.
- [10] Boehme V, Zeynalova S, Kloess M, et al. Incidence and risk factors of central nervous system recurrence in aggressive lymphoma a survey of 1693 patients treated in protocols of the German high-grade Non-Hodgkin's lymphoma study Group (DSHNHL) [J]. *Ann Oncol*, 2007(18):149-157.
- [11] Bernstein SH, Unger JM, LeBlanc M, et al. Natural history of CNS relapse in patients with aggressive non-Hodgkin's lymphoma: a 20-year follow-up analysis of SWOG 8156-Southwest Oncology Group [J]. *J Clin Oncol*, 2009(1):114-119.
- [12] Renshaw AA, Hughes JH, Wang E, et al. Leukemia/lymphoma in cerebrospinal fluid: Distinguishing between cases that performed well and poorly in the College of American Pathologists Inter-laboratory Comparison Program in Non-gynecologic Cytology[J]. *Arch Pathol Lab Med*, 2006(12):1762-1765.
- [13] Hegde U, Filie A, Little RF, et al. High incidence of occult leptomeningeal disease detected by flow cytometry in newly diagnosed aggressive B-cell lymphomas at risk for central nervous system involvement: the role of flow cytometry versus cytology [J]. *Blood*, 2005(105):496-502.

(2014-12-13 收稿, 2015-01-25 修回)

中文编辑: 文箫颖; 英文编辑: 周 凌

(上接第 282 页)

4 参考文献

- [1] 刘利明,陈蓉. 成分输血不合理现象浅析[J]. *中国输血杂志*, 2006(6):486.
- [2] 牛强,陈波斌. 血浆的循征输注[J]. *中国输血杂志*, 2013(11):1143-1145.
- [3] 杨宝成,孔令魁,邵超鹏,等. 2 597 份临床输血病历用血合理性调查分析[J]. *中国输血杂志*, 2008(3):193-199.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 临床输血技术规范[S]. 北京, 2000-06-01.
- [5] 陈颜,傅雪梅,杜鹃,等. 四川省临床医生输血相关知识调查分析及干预[J]. *现代预防医学*, 2010(12):2244-2245.
- [6] 中华人民共和国卫生部. 医疗机构临床用血管理办法[S]. 北京 2012-08-01.
- [7] 张伟强. 输血科在科学合理用血中的作用[J]. *临床血液学杂志*, 2009(10):528-520.
- [8] 林嘉,何屹. 临床合理用血评估与管理系统的研究与应用[J]. *中国输血杂志*, 2013(8):774-777.

(2015-01-08 收稿, 2015-02-24 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 刘 华

辅助放化疗在 I ~ II 期乳腺癌保乳术后的治疗效果

罗代琴, 冉立*, 常建英, 洪卫, 栗慧芹, 李凤虎, 李杰慧

(贵州省肿瘤医院 乳腺妇科肿瘤科, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 观察 I ~ II 期乳腺癌保乳手术后辅助放化疗的效果。方法: I ~ II 期乳腺癌患者 65 例, 行乳腺癌保留乳房手术治疗, 术后采用蒽环类或紫杉类药物为主的联合化疗, 辅助放疗采用调强放疗技术行全乳房照射; 观察患者辅助放化疗的毒副反应、乳房美容效果、局部复发、远处转移及生存情况。结果: 随访 12 ~ 78 个月, 4 年生存率为 100%, 3 例发生远处转移 (4.6%), 放疗主要急性毒副反应为 I ~ II 度皮肤反应 (87.7%) 及 I 度骨髓抑制 (46.1%), 化疗主要毒副反应表现为 I ~ II 度骨髓抑制 (86.4%)、I ~ II 度消化道反应 (88.1%) 及 II ~ III 度脱发 (74.6%); 乳房美容效果优良 57 例 (88%); 不满意者 8 例 (12%)。结论: I ~ II 期乳腺癌患者行保乳手术后辅助放化疗疗效肯定, 毒副反应可以耐受, 治疗结束后乳房满意度良好。

[关键词] 乳腺肿瘤; 放射疗法, 计算机辅助; 化学疗法, 辅助; 外科手术, 保乳; 预后

[中图分类号] R737.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0288-03

Application of Adjuvant Chemoradiation in Breast Cancer with Stage I ~ II after Breast Conservative Surgery

LUO Daiqin, RAN Li, CHANG Jianying, HONG Wei, SU Huiqin, LI Fenghu, LI Jiehui

(Department of Breast and Gynecologic Oncology, Guizhou Cancer Hospital, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of adjuvant chemoradiation in breast cancer with stage I ~ II after breast conservative surgery (BCS). **Methods:** Sixty-five patients of breast cancer (I ~ II) received treatment of breast conservative surgery and the combination chemotherapy of anthracycline or taxane were adopted in postoperative therapy. The intensity modulated radiotherapy (IMRT) was used for the whole breast irradiation in adjuvant radiotherapy. The toxicity and side reactions, breast cosmetic result, local recurrence, distant metastasis and overall survival situation were observed. **Results:** After follow-up of 12 to 78 months, it was observed that 4-year survival rate was 100%, of which 3 cases appeared distant metastasis (3/65, 4.6%). In radiotherapy the major acute toxicity and side reactions were I ~ II degree skin reactions (87.7%) and I degree myelo suppression (46.1%). The main side effects of chemotherapy were I ~ II degree myelo suppression (86.4%), I ~ II degree gastrointestinal reactions (88.1%) and II ~ III degree hair loss (74.6%). In breast cosmetic result, 57 cases were excellent, accounting for 88%. 8 cases were unsatisfactory, accounting for 12%. **Conclusions:** The curative effect is certain for I ~ II stage breast cancer treated with BCS plus adjuvant chemoradiation. The toxic and side effects are mild and the breast cosmetic result is satisfactory.

[Key words] breast cancer; radiotherapy, computer-assisted; chemotherapy, assisted; breast conservative surgery; prognosis

* 通信作者 E-mail: ranli171@hotmail.com

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.1023.030.html>

乳腺癌是女性常见恶性肿瘤,随着乳腺癌诊治水平的快速发展及患者对完美体型的要求, I ~ II 期乳腺癌的保乳手术(BCS)已显示出良好的应用前景。乳腺癌 BCS 加辅助放化疗作为 I ~ II 期乳腺癌治疗的主要手段,与乳腺癌根治术有相同的远期疗效,且保持了乳房形体的完整,提高了乳腺癌患者生活质量^[1]。本研究对 65 例 I ~ II 期乳腺浸润性导管癌行保乳手术后辅助放化疗的患者临床疗效及毒副反应进行观察,报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

2007 年 1 月 ~ 2012 年 10 月经病理检查明确诊断并分期为 I ~ II 期的乳腺浸润性导管癌女性患者 65 例。16 ~ 74 岁,平均(46 ± 1)岁;绝经 25 例,绝经前 40 例; I 期 34 例(52.3%), II 期 31 例(47.7%);肿瘤位于左侧 37 例,右侧 28 例;外上象限 42 例,外下象限 3 例,内上象限 16 例,内下象限 4 例。所有患者均行保留乳房手术,术后切缘阴性 65 例,行放疗 65 例,按照 2005 年 St Gallen 会议指南,化疗 59 例。化疗结束后根据激素受体情况选择内分泌治疗,内分泌治疗 50 例。

1.2 方法

化疗方案采用表阿霉素 + 环磷酰胺或表阿霉素联合环磷酰胺序贯多西他赛方案化疗 4 ~ 6 周期,化疗结束后采用调强放疗行全乳房预防性照

射,全乳腺照射 50.4 Gy,瘤床同步加量至 60.2 Gy。按 CTC3.0 标准评价化疗毒副反应,按 RTOG 标准评价放疗毒副反应^[2]。定期复查,按手术后 2 年内每 3 个月复查 1 次,以后每半年复查 1 次,复查项目包括体检(乳房美容效果评价)、胸片、腹部 B 超及全身骨显像等,必要时行乳房核磁共振(MRI)检查,可疑病灶行活检术。乳房美容效果评价标准^[3]:优,双乳对称、两侧乳头水平高度相差 ≤ 2 cm、外形与对侧无明显差异、外观正常、无瘢痕所致的乳房上提或变形、手感与对侧无差别及皮肤正常;良,双乳对称、两侧乳头水平高度相差 ≤ 3 cm、外形基本正常或略小于对侧、手感略差及皮肤色素沉着;差,双乳明显不对称、两侧乳头水平高度相差 2 ~ 3 cm、外形较对侧明显缩小、手感差、皮肤变厚及粗糙。

1.3 观察指标

观察患者局部复发、远处转移及生存情况,辅助放化疗的毒副反应以及乳房美容效果。

2 结果

2.1 近期毒性反应

放疗主要急性毒副反应为 I ~ II 度皮肤反应(87.7%)及 I 度骨髓抑制(46.1%);化疗主要毒副反应表现为 I ~ II 度骨髓抑制(86.4%)、I ~ II 度消化道反应(88.1%)及 II ~ III 度脱发(74.6%),详见表 1。

表 1 乳腺癌保乳术后辅助放化疗的毒副反应

Tab. 1 Toxic and side effects about chemoradiation therapy after breast conservative surgery

类型	放疗毒副反应(n, %)					化疗毒副反应(n, %)				
	0	I	II	III	IV	0	I	II	III	IV
骨髓抑制	3(47.7)	30(46.1)	4(6.2)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	22(37.2)	29(49.1)	7(11.9)	1(1.7)
放射性肺炎	6(100)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	-	-	-	-	-
皮肤反应	0(0.0)	22(33.8)	35(53.8)	6(9.2)	2(3.1)	-	-	-	-	-
消化道反应	-	-	-	-	-	3(5.1)	14(23.7)	38(64.4)	4(6.8)	0(0.0)
脱发	-	-	-	-	-	0(0.0)	15(25.4)	18(30.5)	26(44.1)	0(0.0)

注:“-”未做统计分析

2.2 乳房美容效果、无病生存时间及生存率

放疗结束后每 3 月评价患者乳房美容效果,符合优良标准的有 57 例,占 88%;不满意者 8 例,占 12%。随访 12 ~ 78 个月,中位随访时间为 41.1 个月;随访期间共有 3 例出现远处转移,2 例在治疗结束后第 21、22 个月发生骨转移;1 例治疗结束后第 32 个月发生对侧腋窝淋巴结转移。随访期间总

远处转移率为 4.6%,随访期间无死亡患者,患者总生存率为 100%;随访期间所有患者无局部复发,局部控制率为 100%。

3 讨论

乳腺癌是临床常见的恶性肿瘤,多见于女性,

对女性的生理和心理都造成严重的影响^[4]。早期乳腺癌行保乳手术显著提高了女性的生活质量,成为治疗的重要手段^[5]。由于肿瘤细胞可以通过相关的淋巴渠道扩散,导致局部复发甚至远处转移,因此降低术后复发率尤为重要^[6]。有研究证实保乳手术加术后放疗与乳腺癌根治术的生存结果相同^[3]。国外近 30 年的大样本前瞻性研究发现保乳手术综合治疗的局部控制率及远期生存率与改良根治术相当,保乳术后辅助放化疗的 8 年局部复发率仅 2.8%^[7-8]。本组患者 4 年总生存率为 100%,随访期间总远处转移率为 4.6%,稍高于文献报道,可能与样本量少有关^[8]。本组患者近期疗效及治疗毒副反应显示放疗主要急性毒副反应为 I ~ II 度皮肤反应(87.7%)及 I 度骨髓抑制(46.1%),化疗主要毒副反应表现为 I ~ II 度骨髓抑制(86.4%)、I ~ II 度消化道反应(88.1%)及 II ~ III 度脱发(74.6%),患者总体 III - IV 度毒副反应发生率低,治疗副反应可以耐受。本组患者治疗结束后中位随访 4 年符合优良标准的占 88%,患者乳房外形满意度良好,与文献报道一致^[9]。随访中还发现患者死亡率及局部复发率与远处转移率均较低,与靳迎军等^[10]报道一致。综上,早期乳腺癌实施保乳手术,患者保留女性第二性征,手术创伤小,术后辅以放化疗,治疗毒副反应可以耐受,疗效可靠,更长期的生存率有待于继续随访。

4 参考文献

- [1] Botteri E, Bagnardi V, Rotmensz N, et al. Analysis of local and regional recurrences in breast cancer after conservative surgery[J]. Ann Oncol, 2010(21):723-728.
- [2] Fisher B, Dignam J, Wolmark N, et al. Lumpectomy and radiation therapy for the treatment of intraductal breast cancer: finding from national surgical adjuvant breast and bowel project[J]. Clin Onco, 2010(3):441-452.
- [3] 刘君, 方志沂, 肖春花, 等. 背阔肌皮瓣修复在乳腺癌保乳手术中的应用[J]. 中华肿瘤杂志, 2011(33):305-307.
- [4] 罗轲, 杨海松, 邓英蕾, 等. 滑石粉混悬液治疗乳腺癌术后淋巴漏 34 例[J]. 贵阳医学院学报, 2010(4):431-432.
- [5] 程岩, 徐玲, 刘倩, 等. 乳腺癌新辅助治疗疗效相关因素分析[J]. 中国实用外科杂志, 2012(11):950-952.
- [6] 张晓峰, 汪临奇. 早期乳腺癌患者行乳腺癌根治术和保乳术后放疗的生存比较[J]. 肿瘤基础与临床, 2011(2):135-136.
- [7] Early Breast Cancer Trialists' Collaborative Group (EBCTCG). Effects of radiotherapy and differences in the extent of surgery for early breast cancer on local recurrence and 15-year survival: an overview of the randomized trials. Lancet, 2005(9472):1687-1717.
- [8] Fisher B, Bryant J, Dignam JJ, et al. Tamoxifen, radiation therapy, or both for prevention of ipsilateral breast tumor recurrence after lumpectomy in women with invasive breast cancers of one centimeter or less[J]. J Clin Oncol, 2002(20):4141-4149.
- [9] 袁家宾, 林洋, 刘洪, 等. 早期乳腺癌保乳手术的疗效分析[J]. 中国普外基础与临床杂志, 2008(7):477.
- [10] 靳迎军, 李保中, 刘志强, 等. 保乳术治疗早期乳腺癌疗效观察[J]. 肿瘤基础与临床, 2011(3):224-225.

(2015-01-10 收稿, 2015-02-05 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 刘 华

[1] Botteri E, Bagnardi V, Rotmensz N, et al. Analysis of local

连续性数据分组的正确表示

问 “0 ~ ≤10 岁, >10 ~ ≤20 岁, >20 ~ ≤30 岁……” 的表示正确吗?

答 这其实是一个涉及连续性数据正确分组的问题。在少数书刊中, 这组数据被莫名其妙地错写为“0 ~ 10 岁, ~20 岁, ~30 岁……”。而在众多书刊中, 这组数据写为“0 ~ 10 岁, 10 ~ 20 岁, 20 ~ 30 岁……”。显然也是错误的, 错在相邻 2 组数据中都有一个数值重叠, 如 20 岁, 既可属于“10 ~ 20 岁”组, 也可属于“20 ~ 30 岁”组。将其改写为“0 ~ ≤10 岁, >10 ~ ≤20 岁, >20 ~ ≤30 岁……”, 纠正了相邻 2 组数据中存在数值重叠的错误, 当然是正确的; 但是, 从科学表述的角度去衡量, 这一表示中明显存在完全多余的符号“≤”, “0 ~ ≤10 岁”就是“0 ~ 10 岁”, 因此, 这组数据最科学、简明、正确的表示应为“0 ~ 10 岁, >10 ~ 20 岁, >20 ~ 30 岁, ……”。

《贵阳医学院学报》编辑部

盐酸多奈哌齐联合尼莫地平治疗血管性痴呆的疗效

王璐, 付蓉, 赵晶, 李昌, 彭忠勇

(贵阳市第二人民医院 神经内科, 贵州 贵阳 550000)

[摘要] 目的: 观察盐酸多奈哌齐联合尼莫地平治疗血管性痴呆的临床疗效。方法: 血管性痴呆患者 60 例, 随机分为观察组和对照组, 对照组服用盐酸多奈哌齐 (5 mg/d), 每晚临睡前口服; 观察组在对照组的用药基础上联用尼莫地平片 30 mg, 3 次/d, 疗程 8 周; 采用简易精神状态检查表 (MMSE)、临床痴呆量表 (CDR) 及日常生活自理量表 (ADL) 于治疗前、治疗 4 周及治疗 8 周时对 2 组患者进行评分, 评价疗效, 同时观察两组不良反应。结果: 观察组治疗后 MMSE、CDR 及 ADL 评分均较治疗前明显改善, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.01$); 对照组治疗后 MMSE、CDR 评分较治疗前明显改善, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), ADL 分数虽较治疗前减少, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 两组均无严重不良反应。结论: 盐酸多奈哌齐联合尼莫地平治疗血管性痴呆的疗效优于单独使用盐酸多奈哌齐。

[关键词] 痴呆, 血管性; 综合征; 盐酸多奈哌齐; 尼莫地平; 简明精神病状态评定量表

[中图分类号] R749.13 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0291-03

The Curative Effect of Donepezil Combined with Nimodipine in the Treatment of Vascular Dementia

WANG Lu, FU Rong, ZHAO Jing, LI Chang, PENG Zhongyong

(Department of Neurology, the Second People's Hospital of Guiyang City, Guiyang 550000, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the clinical curative effect of donepezil combined with nimodipine in the treatment of vascular dementia. **Methods:** Sixty patients with vascular dementia were randomly divided into observation group (donepezil combined with nimodipine) and control group (single donepezil group), the patients in control group were given oral donepezil (5mg/d) every night before going to sleep; based on the treatment of control group, the patients in observation group was treated with nimodipine tablets 30 mg tid for 8 weeks, all the subjects were followed up every 4 weeks. Mini mental state examination (MMSE), the clinical dementia rating scale (CDR) and daily living scale (ADL) were used to evaluate the curative effect. **Results:** MMSE, CDR and ADL scores in the observation group were significantly improved after treatment ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.01$). MMSE, CDR scores in the control group were significantly improved after treatment ($P < 0.01$, $P < 0.05$), ADL score was decreased after treatment in control group, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). There was no serious adverse reaction in both the two groups. **Conclusions:** The therapeutic effect of donepezil combined with nimodipine in the treatment of vascular dementia is better than single use of donepezil hydrochloride.

[Key words] dementia, vascular; syndrome; donepezil; nimodipine; mini mental state examination

血管性痴呆 (vascular dementia, VD) 是指由各种脑血管病 (cerebrovascular disease, CVD) 所致的

痴呆综合征, 是全球居第 2 位的痴呆类型, 亚洲国家 VD 的发病率和患病率明显高于西方国家, 我国

VD 的发病率北方为 1.9%, 南方为 0.9%, 且以男性居多^[1]。VD 患者脑内局部乙酰胆碱水平降低可以引起记忆和学习等认知功能的障碍, 盐酸多奈哌齐可特异性抑制脑内乙酰胆碱(ACh)的降解, 提高脑内 ACh 浓度, 从而改善 VD 的临床症状^[2-3]。尼莫地平则是一种高效的 Ca^{2+} 通道拮抗剂, 选择性作用于脑血管平滑肌, 扩张脑血管改善脑供血, 可用于 VD 的预防与治疗^[4]。本研究采用盐酸多奈哌齐与尼莫地平两种药物联合治疗 VD 患者, 报告如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料

选择 2010 年 1 月~2013 年 12 月收治的 VD 患者 60 例, 男性 35 例, 女性 25 例, 65~85 岁, 平均 (71.48 ± 18.36) 岁。所有入院的 VD 患者均符合以下标准: (1) 美国精神病学会 DSM-IV 制定的血管性痴呆诊断标准^[2]; (2) 简易精神状态检查 (MMSE) 评分, 文盲 < 17 分, 小学 < 20 分, 中学及其以上 < 24 分; (3) 卒中史经头颅 CT 或磁共振 (MRI) 检查证实, 且卒中前无认知功能障碍。随机分为观察组和对照组各 30 例, 两组患者性别年龄、文化程度、病程比较差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性, 见表 1。排除其它神经系统损害所致的痴呆、合并严重心肾功能不全等内科疾患、活动性癫痫、精神障碍患者, 排除病程中服用抗惊厥、抗抑郁及抗精神病药物, 或已知对胆碱类药物过敏患者。

表 1 两组一般资料比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of general data between the two groups

指标	观察组	对照组
<i>n</i>	30	30
男性(<i>n</i>)	17	18
年龄(岁)	71.8 ± 6.4	73.2 ± 5.9
受教育时间(年)	6.4 ± 4.3	6.9 ± 5.1
病程(年)	4.5 ± 2.3	3.8 ± 2.7

1.2 方法

对照组口服盐酸多奈哌齐片剂, 每晚 5 mg 临睡前口服。观察组服用盐酸多奈哌齐同时联用尼莫地平片 30 mg 口服, 每日 3 次。疗程 8 周, 每 4 周随访 1 次。

1.3 评价指标

于治疗前、治疗 4 周及治疗 8 周时进行评价, (1) 疗效评定: 用 MMSE 和临床痴呆量表 (CDR) 检测患者的疗效及痴呆的严重程度, 日常生活自理量表 (ADL) 检测患者的日常个人生活能力。(2) 不良反应评价: 分别在上述时点各测定一次血、尿常规、血生化及心电图。

1.4 统计学处理

所有数据均采用 SPSS 12.0 软件进行处理, 数
据资料采用均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗前后各量表评分

观察组治疗后 MMSE、CDR 及 ADL 评分均较治疗前明显改善, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.01$); 对照组治疗后 MMSE、CDR 评分较治疗前明显改善, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, $P < 0.05$), ADL 分数虽较治疗前减少, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 两组同时段比较, 治疗 8 周时, 观察组 MMSE 评分优于对照组 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组治疗后 MMSE、CDR 及 ADL 评分 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 MMSE, CDR and ADL scores of the two groups

组别	<i>n</i>	MMSE 评分	CDR 评分	ADL 评分
观察组				
治疗前	30	12.68 ± 3.15	2.30 ± 0.47	47.23 ± 6.58
治疗 4 周	30	12.78 ± 3.21	2.28 ± 0.51	46.98 ± 6.49
治疗 8 周	30	$15.27 \pm 2.98^{(1)}$	$2.01 \pm 0.51^{(2)}$	$40.56 \pm 7.39^{(1)}$
对照组				
治疗前	30	12.36 ± 2.56	2.42 ± 0.58	46.51 ± 7.23
治疗 4 周	30	12.41 ± 2.62	2.40 ± 0.52	45.62 ± 7.18
治疗 8 周	30	$13.74 \pm 2.43^{(1)(3)}$	$2.17 \pm 0.53^{(2)}$	41.62 ± 6.81

与治疗前同时段比较, ⁽¹⁾ $P < 0.01$, ⁽²⁾ $P < 0.05$; ⁽³⁾ 与观察组同时段比较, $P < 0.05$

2.2 不良反应评价

观察期间两组均无死亡或严重不良反应出现, 两组主要不良反应为恶心、呕吐、腹泻、食欲不振等消化道症状, 观察组 5 例, 对照组 6 例, 症状均较轻, 呈一过性, 给予对症处理症状基本消失, 均不影响继续用药。所有患者在服药治疗期间生命体征平稳, 血尿常规、血生化及心电图检查在治疗前后均无明显变化。

3 讨论

VD 是一组由各种脑血管疾病导致的智力及认知功能障碍综合征,可由出血或缺血性卒中及全脑性缺血缺氧所致。根据病因及病理不同,VD 的可分为多发性腔隙性梗死性痴呆、大面积脑梗死痴呆、皮质下动脉硬化性脑病(Binswanger 病)、脑淀粉样血管病痴呆、常染色体隐性遗传性脑动脉病及动脉硬化伴皮质下梗死及白质脑病、缺血和缺氧性低灌注综合征引起的痴呆、出血性病变引起的痴呆等^[5]。

VD 的治疗主要包括治疗原发脑血管疾病和脑功能恢复两方面。研究认为脑缺血后会出现相关区域的乙酰胆碱水平下降,脑局部乙酰胆碱水平下降则会引起记忆、学习等认知功能减退的痴呆表现,这为乙酰胆碱酯酶(AChE)抑制剂治疗 VD 提供了理论基础^[6],目前已经把神经递质水平胆碱能缺陷作为治疗的核心与靶点。盐酸多奈哌齐作为新型 AChE 抑制剂,通过选择性可逆性抑制 AChE 对 Ach 的水解,从而提高体内特别是脑内 Ach 的浓度。与传统 AChE 不同的是,盐酸多奈哌齐是一种新型的六氢吡啶衍生物,它对中枢神经系统的 AChE 具有高度选择性,其作用活性持续时间长且没有外周作用,能够提高中枢神经系统特别是大脑皮层和基底节神经突触中 Ach 浓度,从而改善认知功能^[7]。Ca²⁺通道拮抗剂尼莫地平作为一种高度选择性的脑血管扩张剂,对于改善脑供血、营养脑神经疗效确切,近年来在治疗 VD 方面积累了大量的循证医学证据。

本研究采用了随机对照的方法,通过盐酸多奈哌齐和尼莫地平治疗 VD,并观察其疗效,经过 8 周的治疗和临床观察发现,盐酸多奈哌齐和尼莫地平联用组 MMSE 评分较治疗前提高($P < 0.01$),痴呆

程度较治疗前显著减低,CDR 评分较治疗前明显改善($P < 0.05$),日常生活自理能力较治疗前明显改善,ADL 评分较治疗前减少($P < 0.01$)。单用盐酸多奈哌齐治疗 8 周后 MMSE、CDR 评分均较治疗前有显著改善($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),而 ADL 分数虽较治疗前减少,但无统计学差异。结果表明盐酸多奈哌齐联用尼莫地平不仅可有效改善 VD 患者的认知功能和日常生活能力,且较单用盐酸多奈哌齐治疗 VD 患者更有优势。综上所述,在治疗 VD 的时候盐酸多奈哌齐和尼莫地平联用与单用盐酸多奈哌齐相比,具有较好的有效性,有利于 VD 患者的康复和护理,值得临床上推广应用。

4 参考文献

- [1] 胡俊斌. 盐酸多奈哌齐治疗老年性痴呆临床疗效观察[J]. 海峡药学, 2012(4):192-193.
- [2] 叶建新,林航,穆军山,等. 血管性痴呆患者血清碱性成纤维细胞生长因子及 hs-CRP 的变化[J]. 实用临床医药杂志, 2014(19):178-181.
- [3] 王彤宇,刘建杰. 盐酸多奈哌齐联用盐酸美金刚治疗中重度阿尔茨海默病的疗效分析. 中国医师进修杂志, 2010(10):56-58.
- [4] 买买提热夏提. 单用多奈哌齐与多奈哌齐、尼莫地平联用治疗阿尔茨海默病的对照研究[J]. 中国当代医药, 2010(8):49-50.
- [5] 贾建平. 神经病学[M]. 6 版. 北京:人民卫生出版社, 2009:225-228.
- [6] 孙菊光,王娟,史江峰,等. 中医药治疗老年性痴呆临床观察[J]. 实用临床医药杂志, 2014(研究专辑2):160-162.
- [7] 王益旺. 盐酸多奈哌齐治疗血管性痴呆的临床疗效观察. 吉林医学, 2010(5):1827-1829.

(2015-01-08 收稿,2015-02-23 修回)

中文编辑:吴昌学;英文编辑:周 凌

右美托咪定用于七氟醚诱导气管插管时血流动力学及 BIS 的变化*

咸淑悦, 周妙苗, 马 敏, 王成天**

(武汉大学中南医院 麻醉科, 湖北 武汉 430071)

[摘要] 目的: 观察右美托咪定对七氟醚诱导气管插管时血流动力学及镇静深度的影响。方法: 择期全麻下行耳鼻喉手术患者 36 例, ASA 分级 I ~ II 级, 随机均分为对照组(A 组)、高剂量芬太尼组(B 组)、右美托咪定组(C 组), A、B 组诱导时分别给予芬太尼 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 和 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$, C 组麻醉诱导前 15 min 内静脉泵注右美托咪定 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 诱导时给予芬太尼 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$; 3 组均给予七氟醚“潮气量法”诱导, 记录 3 组患者给药前(T_0)、开始吸入七氟醚即刻(T_1)、气管插管前即刻(T_2)、气管插管后即刻(T_3)的收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、心率(HR)、脑电双频指数(BIS)并分析。结果: 3 组患者 T_0 时点基础 BIS、SBP、DBP 及 HR 比较; 差异无统计学意义($P > 0.05$); T_1 与 T_0 时点比较, C 组 SBP、HR 及 BIS 值显著低于 A、B 两组, T_2 时点 C 组患者的 SBP 显著高于 A、B 两组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); T_3 时点 C 组患者的 SBP、DBP 及 HR 显著低于 A 组, BIS 低于 A、B 两组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论: 七氟醚诱导插管时右美托咪定在降低 BIS 的同时可维持稳定的血流动力学。

[关键词] 右美托咪定; 七氟醚; 脑电双频指数; 血流动力学; 插管法, 气管内

[中图分类号] R614.24 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0294-03

Effect of Dexmedetomidine on the Hemodynamic and BIS during Anesthetic Induction with Sevoflurane and Tracheal Intubation

XIAN Shuyue, ZHOU Miaomiao, MA Min, WANG Chengyao

(Department of Anesthesiology, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the effect of dexmedetomidine on the hemodynamic and BIS during anesthetic induction with sevoflurane and tracheal intubation. **Methods:** Thirty-six American Society of Anesthesiology (ASA) physical status I and II patients, undergoing selective otorhinolaryngologic operation under general anesthesia were randomly divided into three groups. Group A received saline solution 15 minutes before anesthetic induction and fentanyl 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ during induction; Group B received saline solution 15 minutes before anesthetic induction and fentanyl 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ during induction; Group C received dexmedetomidine at an initial dose of 1.0 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 15 minutes before anesthetic induction and fentanyl 2 $\mu\text{g}/\text{kg}$ during induction. Patients of the three groups all received tidal breathing induction with sevoflurane. The hemodynamic parameters: systolic blood pressure(SBP), diastolic blood pressure(DBP), heart rate(HR) and BIS were recorded at four time points: the moment before the use of saline solution or dexmedetomidine (T_0), the moment before sevoflurane induction(T_1), the moment before intubation(T_2) and the moment after intubation(T_3). **Results:** Compared with T_0 , SBP and HR of Group C at T_1 were significantly lower than those of Group A and Group B ($P < 0.05$); SBP of Group C was significantly higher than that of Group A and Group B at T_2 ($P < 0.05$); At T_3 , SBP, DBP and HR of Group C were significantly lower than those of Group A ($P < 0.05$) while BIS of

*[基金项目] 武汉大学自主科研青年教师项目(No:2042014k0188)

**通信作者 E-mail: my-307@163.com

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.1014.024.html>

Group C was lower than that of Group A and Group B ($P < 0.05$). **Conclusion:** Dexmedetomidine can reduce BIS value and make the hemodynamic stable during the induction with sevoflurane and tracheal intubation.

[**Key words**] dexmedetomidine; sevoflurane; bispectral index; hemodynamic; intubation, intra tracheal

七氟醚用于麻醉诱导有较好的有效性和安全性^[1]。较低浓度的七氟醚对循环系统的抑制作用小于其它静脉麻醉药物,但不能有效的抑制气管插管对血流动力学产生的应激反应;高浓度的七氟醚对循环系统的抑制增加,易造成血流动力学紊乱,因此常需联合使用其它药物使麻醉诱导插管过程更加平稳^[2]。有研究报道麻醉前使用右美托咪定可维持麻醉诱导时血流动力学平稳,并可减少麻醉药物用量^[3]。本文用 $1.0 \mu\text{g/kg}$ 负荷剂量右美托咪定联合七氟醚进行麻醉诱导,探讨美托咪定用于七氟醚诱导气管插管时血流动力学及双频指数(BIS)的变化,报道如下。

1 资料与方法

1.1 对象及分组

择期全麻下行耳鼻喉手术治疗的患者 36 例, ASA 评分 I ~ II 级, 年龄 20 ~ 55 岁, 体重指数 $< 28 \text{ kg/m}^2$, 所有患者术前无心血管、呼吸及内分泌系统疾病史, 未使用心血管活性药物, 无精神病史及药物过敏史, 无电解质紊乱、肝肾功能异常。在获医院伦理委员会批准, 病人知情同意情况下, 随机将手术患者均分为对照组(A组), 高剂量芬太尼组(B组), 右美托咪定组(C组)。3 组患者性别比、年龄、体重、体重指数比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 方法

所有受试者术前 45 min 给予阿托品 0.5 mg 静脉注射, 入室连续监测患者 BIS、收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、心率(HR)及脉搏氧饱和度(SpO_2), 监测呼气末二氧化碳浓度($P_{\text{ET}}\text{CO}_2$)及呼气末七氟醚浓度($C_{\text{ET}}\text{Sev}$)。A、B 两组诱导时分别给予芬太尼 $2 \mu\text{g/kg}$ 和 $4 \mu\text{g/kg}$; C 组患者于麻醉诱导前 15 min 内静脉泵注浓度 $4 \mu\text{g/mL}$ 的右美托咪定 $1.0 \mu\text{g/kg}$, 诱导时给予芬太尼 $2 \mu\text{g/kg}$ 。3 组患者均给予七氟醚“潮气量法”诱导, 吸入七氟醚浓度为 8%, 新鲜氧流量为 6 L/min , 半紧闭回路, 紧闭面罩嘱患者平静呼吸, 开始吸入七氟醚时立即给予芬太尼, 30 s 内推注, 待患者睫毛反射消失后将七

氟醚浓度调至 5%, 同时给予罗库溴铵 0.6 mg/kg , 行辅助控制通气。吸入诱导 3 min 后行气管插管(男性 7.5 号弹簧管, 女性 7.0 号弹簧管)。1 min 内完成插管, 之后行机械通气 IPPV 模式, 潮气量 $8 \sim 10 \text{ mL/kg}$, 呼吸频率 12 次/min, 吸呼比 1:2。

1.3 观察指标

记录给予右美托咪定前(T_0)、开始吸入七氟醚即刻(T_1)、气管插管前即刻(T_2)及气管插管后即刻(T_3)4 个时点的 BIS、SBP、DBP 及 HR。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据处理。计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 不同时段组间及组内比较采用单因素方差分析(ANOVA), $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

三组患者 T_0 时点基础 BIS、SBP、DBP 及 HR 比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。 T_1 与 T_0 时点比较, C 组患者 SBP、HR 及 BIS 均低于 A、B 两组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。 T_2 时点与 T_1 时点比较, A 组与 B 组患者的 SBP、DBP、HR、BIS 均显著降低, C 组患者仅 SBP 与 BIS 显著降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。 T_3 时点与 T_2 时点比较 A、B 组患者 SBP、DBP、HR、BIS 均显著升高($P < 0.05$), 而 C 组患者则无显著变化($P > 0.05$)。 T_1 时点 C 组患者的 HR、BIS 显著低于 A、B 两组, T_2 时点 C 组患者的 SBP 显著高于 A、B 两组, T_3 时点 C 组患者的 SBP、DBP、HR 显著低于 A 组, BIS 值显著低于 A、B 两组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

3 讨论

全身麻醉诱导后行气管插管可引起强烈的心血管反应, 主要由于刺激了位于咽喉部和气管内的感受器, 导致交感-肾上腺髓质系统兴奋性增强^[4]。研究显示, 喉镜置入之后 30 ~ 45 s 时的心血管反应最为强烈, 大约持续 3 ~ 5 min^[5]。而机

表 1 三组手术患者各时点 BIS、SBP、DBP 及 HR ($\bar{x} \pm s, n=12$)
Tab. 1 Comparison of BIS, SBP, DBP and HR among the three groups

组别	BIS				SBP (mmHg)				DBP (mmHg)				HR (次/min)			
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃
A 组	95.3 ± 1.6	96.0 ± 1.3 ⁽³⁾	43.4 ± 5.9 ⁽¹⁾	46.9 ± 7.3 ⁽²⁾⁽³⁾	126 ± 24	127 ± 23	86 ± 15 ⁽¹⁾⁽³⁾	148 ± 31 ⁽²⁾⁽³⁾	69 ± 13	68 ± 14	54 ± 11 ⁽¹⁾	77 ± 15 ⁽²⁾⁽³⁾	65 ± 15	69 ± 24 ⁽³⁾	64 ± 20 ⁽¹⁾	87 ± 24 ⁽²⁾⁽³⁾
	95.7 ± 1.2	95.3 ± 1.9 ⁽³⁾	41.2 ± 5.1 ⁽¹⁾	45.6 ± 8.9 ⁽²⁾⁽³⁾	124 ± 18	126 ± 16	79 ± 22 ⁽¹⁾⁽³⁾	108 ± 36 ⁽²⁾	67 ± 11	66 ± 12	48 ± 9 ⁽¹⁾⁽³⁾	60 ± 16 ⁽²⁾	69 ± 9	67 ± 8 ⁽³⁾	61 ± 12 ⁽¹⁾	72 ± 13 ⁽²⁾
B 组	94.8 ± 1.8 ⁽¹⁾	71.7 ± 3.9	37.2 ± 6.2 ⁽¹⁾	37.8 ± 8.8	128 ± 16 ⁽¹⁾	119 ± 18	109 ± 15 ⁽¹⁾	114 ± 15	65 ± 10	58 ± 12	57 ± 13	58 ± 10	67 ± 13 ⁽¹⁾	53 ± 8	55 ± 8	58 ± 8
	94.8 ± 1.8 ⁽¹⁾	71.7 ± 3.9	37.2 ± 6.2 ⁽¹⁾	37.8 ± 8.8	128 ± 16 ⁽¹⁾	119 ± 18	109 ± 15 ⁽¹⁾	114 ± 15	65 ± 10	58 ± 12	57 ± 13	58 ± 10	67 ± 13 ⁽¹⁾	53 ± 8	55 ± 8	58 ± 8

⁽¹⁾与组内 T₁ 时点比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾与组内 T₂ 时点比较, $P < 0.05$; 与 C 组同一时点比较, ⁽³⁾ $P < 0.05$

体血压与心率的变化同血浆儿茶酚胺的水平是一致的^[6]。右美托咪定是一种强效的、高选择性的 α_2 肾上腺素受体激动剂,通过减少去甲肾上腺素在神经效应接头的释放,产生降低交感神经张力的作用,使血压轻度下降和心率中度下降^[7]。当持续输注右美托咪定时,能达到期望的稳定的血流动力学反应^[8]。本研究结果显示给予负荷量右美托咪定后,患者血压、心率显著降低,与 Kunisawa 等^[9]的研究结果一致。C 组患者麻醉诱导插管过程中血压与心率波动较小,表明麻醉诱导前给予 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 负荷剂量右美托咪定能够使七氟醚吸入麻醉诱导插管过程血流动力学更加平稳。

BIS 可用于定量监测大脑的镇静深度, BIS 值与患者的镇静深度具有良好的一致性^[10]。在七氟醚麻醉中 BIS 也可作为可靠的监测镇静水平和麻醉深度的指标^[11]。本试验输注右美托咪定后 C 组 BIS 值显著降低 ($P < 0.05$)。而气管插管后 C 组 BIS 值无明显变化, A 组和 B 组 BIS 值较插管前升高 ($P < 0.05$), 且高于 C 组 ($P < 0.05$), 表明右美托咪定可加强七氟醚麻醉的镇静效应。

综上所述,麻醉前给予 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 负荷剂量右美托咪定可降低 BIS 值同时可维持七氟醚诱导插管过程中稳定的血流动力学。

4 参考文献

- [1] Liu SJ, Li Y, Sun B, et al. A comparison between vital capacity induction and tidal breathing induction techniques for the induction of anesthesia and compound A production [J]. Chin Med J (Engl), 2010(17):2336-2340.
- [2] 颜学滔,程晓莉,高涛,等. 右美托咪定对七氟醚吸入麻醉诱导气管插管应激反应的影响[J]. 湖北民族学院学报:医学版, 2012(1):1-3.

- [3] Hye WS, Hye NY, Dong HK, et al. Preanesthetic dexmedetomidine 1 $\mu\text{g}/\text{kg}$ single infusion is a simple, easy, and economic adjuvant for general anesthesia [J]. Korean J Anesthesiol, 2013(2):114-120.
- [4] Heeseung Lee. The Pentax airway scope versus the Macintosh laryngoscope: Comparison of hemodynamic responses and concentrations of plasma norepinephrine to tracheal intubation [J]. Korean J Anesthesiol, 2013(4):315-320.
- [5] 李民,蔡宏伟,陈雪华. 舒芬太尼诱导对气管插管条件和血流动力学的影响 [J]. 贵阳医学院学报, 2010(3):268-271.
- [6] 吴伟强. 盐酸右美托咪啶在全身麻醉腹部手术拔管期的应用 [J]. 贵阳医学院学报, 2013(4):404-405.
- [7] Yu J, Lu Y, Dong C, et al. Premedication with intravenous dexmedetomidine-midazolam suppresses fentanyl-induced cough [J]. Ir J Med Sci, 2012(4):517-520.
- [8] Pyry AV, Tuula AS, Andrew W, et al. Population Pharmacokinetics of Dexmedetomidine in Critically ill Patients [J]. Clin Drug Investig, 2013(8):579-587.
- [9] Kunisawa T, Nagata O, Nagashima M, et al. Dexmedetomidine suppresses the decrease in blood pressure during anesthetic induction and blunts the cardiovascular response to tracheal intubation [J]. J Clin Anesth, 2009(3):194-199.
- [10] Saeed A, Reihanak T, Babak J, et al. Bispectral index response to cricoid pressure during induction of general anesthesia [J]. J Res Med Sci, 2011(1):63-67.
- [11] Tae KS, Min KH, Hee JL, et al. Bispectral index and their relation with consciousness of the patients who receive desflurane or sevoflurane anesthesia during wake-up test for spinal surgery for correction [J]. Korean J Anesthesiol, 2012(1):13-18.

(2015-01-05 收稿, 2015-02-21 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 刘 华

药物结合心理干预对高血压患者血压、抑郁情绪和生活满意度的影响^{*}

张石磊¹, 王 栋², 权 伟^{3**}

(1. 长安大学 心理健康教育与咨询中心, 陕西 西安 710021; 2. 中国人民解放军第十五医院 药械科, 新疆 乌苏 833000; 3. 西安市精神卫生中心, 陕西 西安 710061)

[摘要] 目的: 探讨心理干预对高血压患者治疗效果的影响。方法: 将不同程度抑郁状态的70例高血压患者随机分为对照组和干预组, 两组均接受常规药物治疗, 干预组在药物治疗的基础上进行5周综合心理干预; 比较两组患者汉密尔顿抑郁量表(HAMD)评分和生活满意度量表(SWLS)评分, 并测定治疗前后的血压, 分析心理干预对高血压患者抑郁情绪、生活满意度以及血压的影响。结果: 治疗5周后, 干预组HAMD评分由(24.14±8.08)分下降至(12.91±4.27)分, 与对照组比较, 差异有统计学意义($P<0.01$); 干预组SWLS评分由(15.88±4.27)分提高到(26.15±2.95)分, 与对照组比较, 差异有统计学意义($P<0.01$); 治疗后干预组平均收缩压及舒张压分别下降(21.08±14.38)mmHg和(12.88±8.77)mmHg, 对照组平均收缩压及舒张压分别下降(2.42±8.92)mmHg和(2.31±8.17)mmHg, 干预组下降幅度明显大于对照组($P<0.01$)。结论: 药物结合心理干预治疗能有效缓解高血压患者的抑郁情绪, 可有效控制血压, 提高患者生活满意度。

[关键词] 心理疗法; 干预性研究; 高血压; 抑郁; 生活满意度

[中图分类号] R544.11 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0297-04

Effect of Antihypertensive Drugs Combined with Psychological Intervention on the Blood Pressure, Depressive Emotion and Life Satisfaction of Hypertension Patients

ZHANG Shilei¹, WANG Dong², QUAN Wei³

(1. Mental Health Education and Consultation Center, Chang'an University, Xi'an 710021, Shaanxi, China;

2. Drug and Equipment Section, The 15th Hospital of PLA, Wusu 833000, Xinjiang, China;

3. Mental Health Center of Xi'an City, Xi'an 710061, Shaanxi, China)

[Abstract] Objective: To explore the effects of antihypertensive drugs combined with psychological intervention on the blood pressure, depressive emotion and life satisfaction in hypertension patients.

Methods: Among 235 patients with essential hypertension, 70 depressed patients were selected by Hamilton Depression Scale(HAMD) and The Satisfaction with Life Scale(SWLS), and randomly divided into psychological intervention group ($n=34$, receiving routine treatment and comprehensive psychotherapy for five weeks) and control group ($n=36$, routine treatment alone). The blood pressure, depressive emotion and life satisfaction were compared between intervention group and control group.

Results: In five weeks after treatment, the depression symptoms and the level of satisfaction were significantly improved in psychological intervention group. The HAMD score dropped from 24.14 ± 8.08 to 12.91 ± 4.27 while the score in control group was 22.55 ± 8.51 ($P<0.01$); The SWLS score rose to 26.15 ± 2.95 from 15.88 ± 4.27 while the score in control group was 17.52 ± 3.95 ($P<0.01$).

^{*} [基金项目] 2014年长安大学辅导员工作研究课题; 2014年中央高校基本科研业务费专项

^{**} 通信作者 E-mail: xajwzyjk@163.com

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.0930.003.html>

The mean systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) decreased by (21.08 ± 14.38) and (12.88 ± 8.77) mmHg in psychological intervention group, while in control group the SBP and DBP were decreased by (2.42 ± 8.92) and (2.31 ± 8.17) mmHg respectively. **Conclusion:** Comprehensive psychotherapy combined with antihypertensive drugs can effectively control the blood pressure, alleviate depressive emotion and improve life satisfaction in hypertensive patients.

[**Key words**] psychotherapy; intervention studies; hypertensive disease; depression; life satisfaction

原发性高血压是一种最常见的慢性病,也是心脑血管病最主要的危险因素,脑卒中、心肌梗死、心力衰竭及慢性肾脏病是其重要并发症。高血压的发生系遗传因素、生物学因素和心理社会因素综合作用的结果,其中心理、社会因素所致的情绪障碍对血压影响较大^[1-3]。随着医学模式的转变,心理干预在临床的应用愈见广泛^[4-6]。本研究通过对高血压患者采用药物辅助心理干预的方式进行治疗,观察患者血压、抑郁情绪和生活满意度的变化。

1 对象和方法

1.1 对象及分组

2012 年 1 月 ~ 2013 年 11 月 235 名高血压患者,符合《中国高血压防治指南》高血压诊断标准(收缩压 ≥ 140 mmHg 或舒张压 ≥ 90 mmHg)。排除标准:(1)明显智能障碍、严重认知功能障碍、精神病家族史和个人史、各类继发性高血压、急进性高血压及检查不合作者;(2)冠心病、糖尿病,明显心、脑、肝肾功能不全及有药物滥用史者;(3)严重抑郁患者或者伴有自杀倾向患者。分别采用汉密尔顿抑郁量表(hamilton depression scale, HAMD)和生活满意度量表(the satisfaction with life scale, SWLS)进行初次测量,将筛选出有抑郁状态的 70 例患者随机分为对照组(36 例)和干预组(34 例),对照组男性 16 例,女性 20 例,35 ~ 83 岁,平均 (58 ± 6.3) 岁;干预组男性 17 例,女性 17 例,37 ~ 81 岁,平均 (62 ± 5.6) 岁,两组一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$)

1.2 方法

1.2.1 评定工具 (1)HAMD 由焦虑/躯体化、体重、认知障碍、日夜变化、迟缓、睡眠障碍、绝望感 7 类因子分组成,共 24 个条目。采用 0 ~ 4 分的 5 点评分,得分越高,抑郁症状越严重。总分 < 8 分,无抑郁症状;总分 > 8 分,为有抑郁症状;超过 20 分,轻或中度的抑郁。该量表属于他评量表,即医生与患者交谈之后,由医生填写^[7]。(2)SWLS 由 Man-

takYuen 翻译并修订的中文生活满意度量表,共包含 5 个条目,要求受测者对每一种描述情况同意程度打分,采用 7 点评分方法,1 分代表非常不同意,7 分代表非常同意,分数越高代表生活满意度水平越高。本研究中量表的 Cronbach α 系数为 0.826^[8]。

1.2.2 实验方法 患者知情同意后首先完成问卷初评,将出现不同程度的抑郁状态的患者随机分为两组。两组均进行常规药物治疗(非洛地平 5 mg, 每日 1 次)。干预组在药物治疗的同时,采取团体和个体心理治疗相结合的方式进行 5 周心理干预。团体心理治疗:将干预组分成 4 组,每组 9 ~ 10 人,各由 1 名经过培训的心理学专业研究生带领,每周 1 次,每次 50 ~ 60 min,共 5 次团体活动,分别为小组建立、接纳阶段、行动阶段、训练阶段和分享阶段。主要依据第三代认知行为疗法,即接纳与承诺疗法的具体关键技术,目标在于提高组员对高血压等这类疾病的认识程度,注重提高他们的心理灵活性,在团体中分享对高血压病的认识,接纳并更好的进行认知融合^[9-11]。个体心理治疗:根据患者具体情况,详细解答患者提出的问题,针对其不合理信念进行认知干预。5 周后进行 2 次量表评定得出两组患者的 HAMD 及 SWLS 评分。由统一的医护人员分别测定两组患者心理干预前、后血压变化,两次测定分别取 3 次静息位右肱动脉血压平均值。测量时间统一为早晨 7 时卧位血压采集。

1.3 统计学处理

所有数据采用 SPSS 14.0 统计软件包处理。分别对干预前后两组患者评分做配对 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HAMD 评分

两组患者在干预前 HAMD 抑郁程度基本相同,差异无统计学意义($P > 0.05$)。干预治疗 5 周后,两组 HAMD 分值均降低,抑郁程度有好转趋

势;干预组疗效明显好于对照组,两组平均下降值比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 两组高血压患者干预治疗前后
HAMD 评分
Tab.1 HAMD scores of hypertensive patients before
and after psychological intervention

组别	HAMD 评分(分)		<i>t</i>	<i>P</i>
	治疗前	治疗后		
干预组(<i>n</i> = 34)	24.14 ± 8.08	12.91 ± 4.27	10.900	<0.01
对照组(<i>n</i> = 36)	22.83 ± 8.88	22.55 ± 8.51	1.068	>0.05
<i>t</i>	0.646	5.937		
<i>P</i>	>0.05	<0.01		

2.2 SWLS 评分

两组患者在干预前 SWLS 评分基本一致,差异无统计学意义($P > 0.05$)。干预治疗 5 周后两组

SWLS 分值均增加,生活满意程度有提升趋势;干预组疗效明显好于对照组,两组平均下降值比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 2。

表 2 两组高血压患者干预治疗前后 SWLS 评分
Tab.2 SWLS scores of hypertensive patients
before and after psychological intervention

组别	SWLS 评分(分)		<i>t</i>	<i>P</i>
	治疗前	治疗后		
干预组(<i>n</i> = 34)	15.88 ± 4.27	26.15 ± 2.95	14.512	<0.01
对照组(<i>n</i> = 36)	17.22 ± 4.45	17.52 ± 3.95	1.281	>0.05
<i>t</i>	1.284	10.309		
<i>P</i>	>0.05	<0.01		

2.3 治疗前后血压

治疗 5 周后,两组收缩压和舒张压均下降,干预组下降幅度明显大于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表 3。

表 3 两组高血压患者干预治疗前后收缩压和舒张压比较(mmHg)
Tab.3 The mean systolic blood pressure and diastolic blood pressure of hypertensive
patients before and after psychological intervention

组别	收缩压				舒张压			
	治疗前	治疗后	<i>t</i>	<i>P</i>	治疗前	治疗后	<i>t</i>	<i>P</i>
干预组(<i>n</i> = 34)	150.91 ± 14.28	129.82 ± 6.43	8.552	<0.01	96.73 ± 10.75	83.85 ± 6.41	8.570	<0.01
对照组(<i>n</i> = 36)	148.12 ± 15.46	145.63 ± 5.95	1.626	>0.05	95.66 ± 12.06	93.36 ± 9.67	1.693	>0.05
<i>t</i>	0.794	6.423			0.390	4.820		
<i>P</i>	>0.05	<0.01			>0.05	<0.01		

3 讨论

高血压是心脑血管疾病中最重要的危险因素,已成为全球范围内日益严重的公共卫生问题^[1-3]。原发性高血压患者多数都伴有不同程度的情绪障碍,其中抑郁情绪最为常见^[2-3]。研究表明,单纯的药物降压治疗效果不佳,不能调节情绪因素对血压的影响^[12]。研究证实药物联合心理干预不但对高血压效果显著,还可以减少降压药物的使用剂量,减少药物带来的不良反应,缓解患者的药物经济负担,同时具有安全高效的优点^[1,4-6,13]。本研究对伴有抑郁情绪的高血压患者采用药物降压联合心理干预的治疗方法,通过团体和个体治疗相结合的手段,给患者一个排遣抑郁情绪的平台,结果显示药物结合心理干预能有效缓解高血压患者的抑郁情绪,明显提高患者生活满意度水平,对血压的控制效果较单纯降压药物治疗更好。

本研究的特色是基于第三代认知行为疗

法——接纳与承诺疗法进行综合团体和个体心理干预,对高血压患者的抑郁情绪的缓解和病情的改善起到了非常好的效果。接纳与承诺疗法由美国内华达州大学心理学教授 Steven C. Hayes 博士及其同事于 20 世纪末至 21 世纪初创立,是一种以人类语言、认知的关系框架理论和功能性语境主义哲学为基础的经验性行为心理治疗,采用接纳、认知解离、正念、观察自我以及价值、承诺行为等的改变以创造心理灵活性(psychological flexibility),临床研究已证明该疗法在相当广泛的临床问题上都取得了良好效果,能成功治疗抑郁等许多心理问题,并在与 CBT 等传统疗法的对比中展现优势,如社交恐惧、工作压力、晚期癌症的悲痛、吸烟、二型糖尿病自我管理^[9-15]。本研究结果显示,干预治疗 5 周后干预组的 HAMD 分数较干预前明显下降,SWLS 分数明显增加,抑郁程度和生活满意程度均显著改善($P < 0.01$);干预组和对对照组收缩压、舒张压较干预前下降显著,但干预组疗效明显好于对照组。说明结合药物降压治疗,接纳与承诺

疗法进行综合团体和个体心理干预对高血压患者抑郁情绪、生活满意度以及血压控制疗效显著,可以消除和改善患者的紧张、焦虑、抑郁情绪,并提高了患者的生活满意程度。今后研究可以同时设定对照实验,比较一般心理干预疗法与接纳与承诺疗法的干预效果,同时还可研究干预后的即时和延迟效果,为本研究提供进一步实证支持。

临床治疗中,医护人员一定要关注病人的心理状况,在药物治疗的基础上,辅助相关的心理干预十分必要。高血压患者大多都伴有一定的抑郁情绪,两者的相互作用能够使其生活满意度降低。本研究中和对照组相比,干预组的生活满意度水平有显著地改善,说明心理干预可以提高高血压患者的生活满意度水平。另外,心理干预能够有效缓解抑郁情绪,同时可以降低抑郁情绪对躯体状态的影响,同时抑郁情绪还使患者不适主诉增多。以往研究证明降压药物和抗抑郁药物联合使用能够有效改善抑郁情绪^[16-17]。但是服用抗抑郁药物会存在一定的副作用,如服药者出现代谢综合征的风险会很快增加等。综上所述采用单纯降压药物辅助有效的心理干预,能够使其血压显著且平稳的下降,在缓解抑郁情绪的同时,提高患者的生活满意度水平,值得在临床上推广应用。

4 参考文献

- [1] 中国高血压防治指南起草委员会. 中国高血压防治指南[J]. 高血压杂志, 2000(1):94-102.
- [2] 张红,赵庆华. 原发性高血压患者焦虑抑郁情绪及其应对方式的相关性研究[J]. 重庆医科大学学报, 2007(7):749-750.
- [3] Scalco AZ, Scalco MZ, Azul JB, et al. Hypertension and depression[J]. Clinics, 2005(3):241-250.
- [4] 丁品,酆洁. 心理治疗对 64 例老年高血压病人康复的影响[J]. 心血管康复医学杂志, 1999(2):16-18.
- [5] 段书,赵水平,朱熊兆. 心理干预降低原发性高血压患者降压药物剂量的临床研究[J]. 中国临床心理学杂志, 2005(1):100.
- [6] 张志锐,陈学诗,王金岩,等. 原发性高血压综合心理治疗的远期疗效观察[J]. 中华精神科杂志, 1996(3):170-173.
- [7] 汤毓华,张明园. 汉密顿抑郁量表(HAMD)[J]. 上海精神医学, 1984(2):61-64.
- [8] Diener ED, Emmons RA, Larsen RJ, et al. The satisfaction with life scale [J]. Journal of personality assessment, 1985(1):71-75.
- [9] 曾祥龙,刘翔平,于是. 接纳与承诺疗法的理论背景,实证研究与未来发展[J]. 心理科学进展, 2011(7):1020-1026.
- [10] 黄薛冰,张亚林. 认知疗法新进展[J]. 国外医学:精神病学分册, 2000(2):116-118.
- [11] 张琦,王淑娟,祝卓宏. 接纳与承诺疗法的心理病理模型和治疗模式[J]. 中国心理卫生杂志, 2012(5):377-381.
- [12] Routledge F, McFetridge-Durdle J. Nondipping blood pressure patterns among individuals with essential hypertension: a review of the literature [J]. European Journal of Cardiovascular Nursing, 2007(1):9-26.
- [13] 王东升,邱建国,周晋源. 心理治疗和改善睡眠降低血压变异性的临床研究[J]. 山西医科大学学报, 2012(4):279-281.
- [14] Hayes SC, Luoma JB, Bond FW, et al. Acceptance and commitment therapy: model, processes, and outcomes [J]. Behaviour Research and Therapy, 2006(44):1-25.
- [15] 骆桂秀,马梁红,唐柳云. 原发性高血压心理社会因素调查分析[J]. 右江民族医学院学报, 2005(3):306-307.
- [16] 梁婉仪,林伟春,洪建康,等. 药物联合综合性心理干预治疗高血压对照研究[J]. 临床心身疾病杂志, 2008(1):33-34.
- [17] 段书,肖晶,赵水平,等. 心理干预及抗抑郁药物治疗对高血压病伴抑郁情绪的患者血压和生活质量的影响[J]. 中南大学学报:医学版, 2009(4):313-317.

(2014-12-23 收稿,2015-02-21 修回)

中文编辑:文箫颖;英文编辑:刘 华

乙酰半胱氨酸片辅助治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期的效果和作用机制

洪克付, 王士国, 邓爱华

(宜城市人民医院 呼吸内科, 湖北 宜城 441400)

[摘要] 目的: 观察乙酰半胱氨酸片辅助治疗对慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)患者治疗效果和作用机制。方法: 96例AECOPD患者, 随机分为对照组($n=46$)和观察组($n=50$), 对照组给予COPD常规治疗, 观察组在常规治疗基础上辅以乙酰半胱氨酸片治疗, 比较两组治疗前后血清丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)含量及超氧化物歧化酶(SOD)表达水平, 同时比较两组AECOPD患者治疗前后残气容积(RV)/肺总量(TLC)、1秒用力肺活量(forced expiratory volume, FEV1)变化。结果: 与治疗前比较, 治疗后两组AECOPD患者MDA、RV/TLC明显降低($P<0.05$), GSH-PX、SOD表达水平以及FEV1明显升高($P<0.05$), 且观察组各项指标改善幅度明显优于对照组($P<0.05$)。结论: 乙酰半胱氨酸片通过抑制氧自由基, 提高GSH-PX、SOD表达等调节氧化应激反应, 从而改善AECOPD患者肺功能。

[关键词] 乙酰半胱氨酸片; 氧化应激; 慢性阻塞性肺疾病加重期; 肺功能; 丙二醛; 超氧化物歧化酶; 谷胱甘肽过氧化物酶

[中图分类号] R563.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0301-03

Treatment Efficacy of Fluimucil in Adjuvant Treatment of Acute Exacerbation of Chronic Obstructive Pulmonary Disease and the Effects on Oxidative Stress, Pulmonary Function

HONG Kefu, WANG Shiguo, DENG Aihua

(Department of Respiratory, People's Hospital of Yicheng City, Yicheng 441400, Hubei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the curative effects of fluimucil in treating acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD) and its mechanism. **Methods:** A total of 96 AECOPD patients were randomly divided into control group ($n=46$) and observation group ($n=50$), the patients in control group were given routine COPD therapy, on the basis of treatment in control group, patients in observation group were treated with fluimucil, the levels of malondialdehyde (MDA), glutathione peroxidase (GSH-PX) and superoxide dismutase (SOD) were detected before and after treatment. Residual volume (RV) / total lung capacity (TLC) and forced expiratory volume in 1 second (FEV1) were compared in the two groups before and after treatment. **Results:** MDA levels and RV/TLC of the two groups were decreased significantly after treatment ($P<0.05$), GSH-PX, SOD levels and FEV1 were increased significantly after treatment ($P<0.05$); and the improvement of the indexes in observation group was more obvious than that control group ($P<0.05$). **Conclusion:** Fluimucil can inhibit oxygen free radicals, increase GSH-PX and SOD expression levels and regulate of oxidative stress reaction, thus improve lung function in patients with AECOPD.

[Key words] acetylcysteine tablets; oxidative stress; acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease; pulmonary function; malondialdehyde; superoxide dismutase; glutathione peroxidase

慢性阻塞性肺疾病 (COPD) 以呼吸时气流受限为临床特征,常因感染而诱发急性加重,出现咳嗽、气促、喘息以及痰液增多等临床症状,并伴发热等感染加重表现^[1-2]。COPD 急性加重期 (AECOPD) 可能引起肺性脑病、呼吸及心力衰竭等严重并发症,临床死亡率较高^[3-4]。有研究发现,肺部氧化应激反应在 COPD 发生及急性加重中具有重要作用^[5]。乙酰半胱氨酸片 (富露施) 主要由 N 酰半胱氨酸 (NAC) 等化学成分构成, NAC 巯基团能还原 GSH 前体,合成有活性的 GSH,从而增加细胞内 GSH 表达水平,间接产生抗氧化作用^[6-7]。本研究对 50 例 AECOPD 患者在常规治疗的基础上辅以乙酰半胱氨酸片治疗,观察治疗后患者氧化应激以及肺功能相关指标的变化,报道如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料

2012 年 3 月 ~ 2014 年 5 月收治的 96 例 AECOPD 患者,经院伦理委员会批准,患者签署知情同意书。采用随机分层法分为对照组和观察组,对照组 46 例,男 22 例,女 24 例,45 ~ 76 岁,平均 (65.5 ± 8.7) 岁,急性加重病程 1 ~ 5 d,合并高血压 12 例、冠心病 15 例、糖尿病 6 例、心律失常 12 例;观察组 50 例,男 25 例,女 25 例,44 ~ 83 岁,平均 (65.8 ± 8.6) 岁,急性加重病程 2 ~ 5 d,合并症高血压 13 例、冠心病 12 例、糖尿病 9 例、心律失常 10 例;两组临床一般资料比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 治疗方法

对照组给予头孢哌酮舒巴坦抗生素抗感染治疗,2.0 g/次,每天 2 次,静脉点滴;长效茶碱 0.2 g/次,每天 2 次;沙美特罗替卡松 (沙美特罗 50 μg 和丙酸氟替卡松 100 μg) 吸入,每天 2 次;溴化异丙托品,剂量 80 μg 吸入,每 8 h 一次等 COPD 常规治疗,同时避免使用维 E、免疫抑制剂、维 C 等其他抗氧化药物。观察组在 COPD 常规治疗基础上辅以乙酰半胱氨酸片 600 mg,每晚 1 次,治疗 15 d。

1.3 观察指标

记录治疗前后 AECOPD 患者残气量 (RV)/肺总量 (TLC)、1 秒用力肺活量 (forced expiratory volume, FEV1); AECOPD 患者于治疗前后清晨抽取空腹静脉血 5 mL,采用硫代巴比妥酸法、黄嘌呤氧化酶法、化学比色法分别测定血清 MDA、GSH-PX 含

量及 SOD 活力 (试剂盒均购自南京建成生物研究所)。

1.4 统计学方法

数据采用 SPSS 13.0 软件统计分析,计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料以 n (%) 表示,两两比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 MDA、GSH-PX 含量及 SOD 活力

治疗前,两组 AECOPD 患者血清 MDA、SOD、GSH-PX 比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),治疗后,两组 AECOPD 患者 MDA 降低,而 SOD、GSH-PX 升高,观察组 3 项指标变化幅度大于对照组 ($P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组 AECOPD 患者治疗前后 MDA、SOD、GSH-PX 比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of MDA, GSH-PX and SOD expression levels of AECOPD patients between the two groups before and after treatment

组别	时间	MDA (mmol/L)	SOD (U/L)	GSH-PX (ng/L)
观察组	治疗前	8.16 ± 2.14	65.47 ± 10.63	140.39 ± 32.09
	治疗后	5.48 ± 2.86 ⁽¹⁾⁽²⁾	79.58 ± 8.68 ⁽¹⁾⁽²⁾	167.43 ± 41.58 ⁽¹⁾⁽²⁾
对照组	治疗前	8.13 ± 2.15	65.41 ± 10.49	140.33 ± 32.01
	治疗后	6.33 ± 2.94 ⁽¹⁾	70.28 ± 8.49 ⁽¹⁾	150.02 ± 40.63 ⁽¹⁾

⁽¹⁾ 与同组治疗前比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾ 与对照组同时段比较, $P < 0.05$

2.2 RV/TLC、FEV1 肺功能指标

治疗前,两组患者 RV/TLC、FEV1 比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);治疗后, RV/TLC、FEV1 等肺功能指标均显著改善,且观察组改善幅度明显优于对照组 ($P < 0.05$),见表 2。

表 2 两组治疗前后 RV/TLC、FEV1 指标变化 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of RV/TLC and FEV1 of AECOPD patients between the two groups before and after treatment

组别	时间	RV/TLC	FEV1 (%)
观察组	治疗前	56.71 ± 11.19	50.63 ± 11.13
	治疗后	44.09 ± 7.01 ⁽¹⁾⁽²⁾	65.77 ± 8.74 ⁽¹⁾⁽²⁾
对照组	治疗前	56.72 ± 10.21	50.21 ± 11.52
	治疗后	51.69 ± 7.05 ⁽¹⁾	54.71 ± 8.11 ⁽¹⁾

⁽¹⁾ 与同组治疗前比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾ 与对照组同时段比较, $P < 0.05$

3 讨论

AECOPD 多因 COPD 患者受感染、或烟雾环境等因素影响而导致机体气道氧化/抗氧化机制失衡,产生氧化应激反应,致使气道损伤,临床表现为咳嗽、气道黏液高分泌量、喘息加重、咳痰并伴随支气管痉挛、发热,或感染加重。研究发现,氧化应激刺激可使中性及嗜酸粒细胞、淋巴细胞及巨噬细胞等多种炎症细胞产生聚集效应,释放出对气道上皮细胞具有刺激作用的 H_2O_2 、 O_2 、 HO^\cdot 等活性氧,刺激其分泌出高分子复合糖,使其黏膜功能受损,通透性增强;肺泡 II 型上皮细胞更多的被溶解,前列腺素以及白三烯释放,从而使得气道损伤进一步加重,引起肺形态以及功能的改变^[9]。临床上对 AECOPD 患者均给与积极地呼吸道抗感染及治疗其他诱发因素,同时给予祛痰、纠正氧化/抗氧化失衡处理以减缓 COPD 患者肺功能的急剧恶化。

MDA 可与蛋白质、脂类以及核酸等交联引起生物膜变性,促使细胞衰老、死亡^[10]。血清中 MDA 含量表达与氧自由基生成呈平行相关性,测定 MDA 含量可反映体内脂质过氧化水平,从而间接反映自由基表达情况以及细胞受损严重程度。GSH-PX 可特异性催化 GSH 还原 H_2O_2 ,有效清除 H_2O_2 以及脂质过氧化产物,GSH-PX 亦被大量消耗,GSH 含量是衡量机体抗氧化功能的一项重要参考因素^[11]。SOD 能清除体内氧自由基,从而起到保护组织的作用,使其免受超氧阴离子损伤,SOD 表达变化亦能反映机体抗氧化能力^[12]。

乙酰半胱氨酸片所含 NAC 中的巯基团能与具有氧化损伤作用的 ROS 亲电子基团结合,生成无活性的 NAC 巯基中间体,从而发挥抗氧化作用^[6-7]。本研究结果表明,乙酰半胱氨酸片辅助治疗可显著改善 AECOPD 病人血浆中 MDA、SOD、GSH-PX 水平,从而有效缓解体内氧化应激反应;减少机体的氧化损伤。研究还发现 NAC 亦能改善 AECOPD 患者肺功能,通过升高 FEV1、降低 RV/TLC 指标达到减轻 AECOPD 患者临床症状的作用,其机制可能与对氧化应激相关指标的改善作用有关。

综上所述,富露施可通过抑制氧自由基,提高 GSH-PX、SOD 表达等调节氧化应激反应,从而治疗

AECOPD,改善患者肺功能。

4 参考文献

- [1] 夏敬文,董樑,龚益,等. 连花清瘟(LHQW)胶囊对慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)患者诱导痰炎症因子的影响[J]. 复旦学报:医学版, 2014(2):243-247.
- [2] 崔正森,李菡,姜宝珍,等. 慢性阻塞性肺疾病、肺炎和肺癌患者血清 HMGB1 水平及临床意义[J]. 安徽医科大学学报, 2014(6):812-815.
- [3] 戚春辉,施国华,汪永锋,等. D-二聚体、血液流变学检测在慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者中的临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2014(5):806-807.
- [4] 周琦,李爱华. 全身激素治疗对慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者糖代谢的影响[J]. 山东医药, 2014(21):42-44.
- [5] 张连东,裴新军,谭美春,等. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期血清瘦素与肺功能关系的临床研究[J]. 中国急救医学, 2014(8):708-710.
- [6] 王卫,陈燕明. N-乙酰半胱氨酸联合沙美特罗氟替卡松治疗慢性阻塞性肺疾病临床疗效[J]. 国际呼吸杂志, 2013(11):813-818.
- [7] 郝月琴,张春. 富露施对慢性阻塞性肺疾病患者急性加重期疗效及氧化/抗氧化失衡的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2007(9):1123-1125.
- [8] 买尼沙本·亚生. 乙酰半胱氨酸辅助治疗慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者的疗效及其对氧化应激、肺功能的影响[J]. 实用临床医药杂志, 2014(17):47-51.
- [9] 刘婷婷,康焰,许照敏,等. 高频胸壁震荡在慢性阻塞性肺疾病急性加重期有创通气患者治疗中的作用[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2014(4):255-259.
- [10] 高静珍,陈宝元. 盐酸氨溴索不同持续使用时间对慢性阻塞性肺疾病急性加重期的治疗效果[J]. 中华老年医学杂志, 2014(3):294-296.
- [11] 杨雪梅,叶艳. N-乙酰半胱氨酸联合沙美特罗/氟替卡松对慢性阻塞性肺疾病急性加重的疗效分析[J]. 实用医学杂志, 2013(22):3751-3753.
- [12] 鞠善良,李超,王在义,等. N-乙酰半胱氨酸联合小剂量糖皮质激素治疗特发性肺间质纤维化疗效的 Meta 分析[J]. 中国循证医学杂志, 2013(6):717-722.

(2015-01-08 收稿,2015-02-25 修回)

中文编辑:吴昌学;英文编辑:周 凌

hFAM92A1 在人宫颈癌细胞不同周期时相的表达^{*}

方娟¹, 王珺¹, 龚坚¹, 王燕¹, 阮绪芝^{2**}

(1. 湖北医药学院 基础医学研究所, 湖北 十堰 442000; 2. 湖北医药学院 科技处, 湖北 十堰 442000)

[摘要] 目的: 探讨 hFAM92A1 在人宫颈癌 HeLa 细胞不同周期时相的表达差异。方法: 常规培养 HeLa 细胞, 应用血清饥饿法将 HeLa 细胞同步化于 G1 期, 胸腺嘧啶核苷双阻断法同步化于 S、G2 期, 秋水仙素阻断法同步化于 M 期, 应用流式细胞术检测同步化效率, 应用 RT-PCR 方法检测 hFAM92A1 在人宫颈癌 HeLa 细胞不同周期时相的表达水平。结果: 流式细胞仪检测细胞同步化效率 G1 期为 77.5%、S 期为 85.5%、G2 期为 61.9%、M 期为 44%; FAM92A1 基因在各期均有表达, 但存在差异, 以 S 期表达最高。结论: FAM92A1 基因在 HeLa 细胞不同周期时相的表达有较大差异。

[关键词] 基因; 子宫颈; 癌; 细胞周期

[中图分类号] R737.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0304-03

Expression of hFAM92A1 in Different Cell Cycle Time Phases of Human Cervical Carcinoma HeLa Cells

FANG Juan¹, WANG Jun¹, GONG Jian¹, WANG Yan¹, RUAN Xuzhi²

(Institute of Basic Medicine, Hubei Medical College, Shiyan 442000, Hubei, China; 2. Division of Science and Technology, Hubei Medical College, Shiyan 442000, Hubei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expression differences of hFAM92A1 in different cell cycle time phases of HeLa cells of human cervical carcinoma. **Methods:** HeLa cells were conventionally cultured and synchronized in G1 phase using serum starvation, synchronized in G2 and S phase using double thymidine blocking, synchronized in M phase using colchicine blocking, and synchronizing efficiency was tested by flow cytometry. RT-PCR method was adopted to detect the expression of hFAM92A1 in different cell cycle phases of HeLa cells. **Results:** Flow cytometry instrument detected cell synchronization efficiency as follows: G1 phase 77.5%, S phase 85.5%, G2 phase 61.9%, M phase 44%. FAM92A1 genes were expressed in each period but with differences, the highest expression was in S phase. **Conclusions:** FAM92A1 gene of HeLa cell expression in different cycle phases exhibit notable differences.

[Key words] genes; cervix uteri; carcinoma; cell cycle

细胞周期是指连续分裂的细胞从一次有丝分裂结束到下一次有丝分裂的整个连续的过程。细胞周期的运行受多个因素的影响, 有 2 个调控点, 一个是 G1/S 期转折点, 另一个是 G2/M 期转折点, 细胞周期失控运行将导致癌的发生。因此, 增殖相关基因在肿瘤细胞周期调控中的作用研究是认识肿瘤发生机制的重要内容。FAM92A1 基因是

在前期研究中发现的一个位于细胞核的基因^[1-2], 在人多种正常组织和癌组织中广泛表达^[3], 可能参与细胞周期调控。细胞周期调节异常是癌症研究领域的一个热点^[4-8]。已有文献报道宫颈癌有细胞周期失控现象存在^[9]。本实验通过研究 hFAM92A1 在人宫颈癌 HeLa 细胞不同周期时相的表达差异, 为研究 hFAM92A1 基因的生物学功能

^{*} [基金项目] 湖北医药学院硕士启动金项目 (No:2012ZRQDJ09)

^{**} 通信作者 E-mail: ranxuzhi@163.com

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.0926.001.html>

奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料和仪器

人宫颈癌 HeLa 细胞株由本室保存,DMEM 培养基、胎牛血清购自 Gibco 公司,胸腺嘧啶核苷、秋水仙素购自 Sigma 公司,Trizol 购自 Invitrogen,RT-PCR 引物由上海生工合成,逆转录试剂盒购自 Promega,细胞周期检测试剂盒购自凯基生物科技发展有限公司。所需仪器有 CO₂ 培养箱、低温冷冻离心机 (Eppendorf)、倒置显微镜 (莱卡)、PCR 仪 (Eppendorf)、荧光定量 PCR 仪 (ABI),流式细胞仪 (FAC Scalibur),紫外分光光度仪 (UV-3802)。

1.2 HeLa 细胞培养及同步化

用含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,5% CO₂ 培养箱中培养,细胞密度 90% 时,接种到 6 孔板中,取对数生长期细胞用于实验。G1 期细胞同步化采用血清饥饿的方法,当细胞密度达 80% 时,换成无血清培养基培养 42 h 后收集 G1 期细胞。S 期细胞同步化采用胸腺嘧啶核苷双阻断法,细胞密度达 80% 时,加入含终浓度为 2 mmol/L 胸腺嘧啶核苷的培养基培养 16 h,弃去培养基,PBS 洗 2 遍,换成含 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,5% CO₂ 培养箱中培养 9 h,再加入含终浓度为 2 mmol/L 胸腺嘧啶核苷的培养基培养 16 h,弃去培养基,PBS 洗 2 遍,换成 10% 胎牛血清的 DMEM 培养基,5% CO₂ 培养箱中培养 6 h 收集 S 期细胞;G2 细胞同步化采用胸腺嘧啶核苷双阻断法,在第二次阻断释放后培养 9 h 收集 G2 期细胞。M 期细胞同步化采用秋水仙素阻断法,细胞融合率达 80% 时,换成秋水仙素终浓度为 1 mg/L 的培养基,5% CO₂ 培养箱中培养 7 h 后收集 M 期细胞。

1.3 细胞周期同步化效率检测

收集到的各期细胞加 75% 的冰乙醇 5 mL 4 ℃ 固定过夜,1 000 r/min 离心 5 min 弃上清,加 PBS 洗涤,1 000 r/min 离心 5 min,弃上清,加 100 μL RNaseA 37 ℃ 水浴 30 min,加 400 μL 碘化丙定 (PI) 染色混匀,4 ℃ 避光 30 min,用流式细胞仪检测同步化效率。

1.4 细胞总 RNA 的提取

收集到的各期细胞分别加 500 μL Trizol 液充分裂解细胞,收集到无 RNA 酶的 EP 管中,加入 100 μL 氯仿,室温静置 3 min,4 ℃ 12 000 r/min 离

心 15 min,吸取上清,加入等体积的异丙醇,剧烈震荡 15 s,室温静置 10 min,4 ℃ 12 000 r/min 离心 10 min,弃上清,加入预冷 75% 乙醇 800 μL,4 ℃ 7 500 r/min 离心 5 min,弃上清,干燥 5 min,加入无 RNA 酶水 20 μL,取 1 μL RNA,按照 1:50 的比例稀释后用紫外分光光度仪检测 A₂₆₀ 和 A₂₈₀ 的值,对总的 RNA 浓度进行定量分析,余下的放 -80 ℃ 保存。

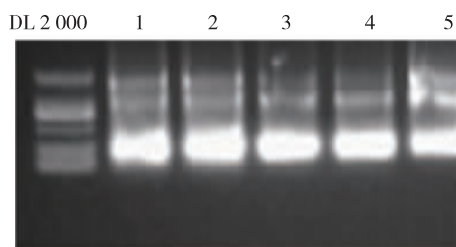
1.5 RT-PCR

收集同步化的各个周期时相的细胞,以不做任何处理 HeLa 细胞为对照,以 GAPDH 为内参,检测 HeLa 细胞中 FAM92A1 的表达。按照 Promega 逆转录试剂盒说明书操作,取 1 000 ngRNA 为模板,总体积为 20 μL,逆转录条件,70 ℃ 5 min,42 ℃ 1 h,95 ℃ 5 min,-20 ℃ 保存;RT-PCR,将上述逆转录产物稀释 10 倍后取 2 μL 为模板,反应总体积为 25 μL,反应条件为 95 ℃ 2 min 预变性,95 ℃ 15 s,55 ℃ 22 s,72 ℃ 20 s,72 ℃ 5 min,36 循环,用琼脂糖凝胶方法分析。

2 结果

2.1 总 RNA 纯度

紫外分光光度仪检测吸光度结果,G1 期 A₂₆₀ 值为 0.245,A₂₆₀/A₂₈₀ 比值为 1.91;S 期 A₂₆₀ 值为 0.320,A₂₆₀/A₂₈₀ 比值为 2.01;G2 期 A₂₆₀ 值为 0.224,A₂₆₀/A₂₈₀ 比值为 1.95;M 期 A₂₆₀ 值为 0.106,A₂₆₀/A₂₈₀ 比值为 1.96。电泳结果清晰显示 5 S、18 S、28 S 三个条带,且 18 S 和 28 S 的灰度比为 1:2,表明所提 RNA 纯度很高,能够满足下一步实验要求。见图 1。



注:DL2000 为标准分子量参照物大小为 2 000 bp、1 000 bp、750 bp、500 bp、250 bp,HeLa 细胞 1-5 分别为正常,G1、S、G2、M 各时相

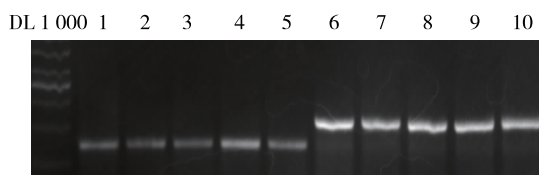
图 1 HeLa 细胞总 RNA 电泳图
Fig. 1 Electrophoresis of total RNA of HeLa cells in each phase

2.2 HeLa 细胞同步化效率检测

HeLa 细胞各期同步化后,经流式细胞仪检测,G1 期同步化效率为 77.5%,S 期同步化效率为 85.5%,G2 期同步化效率 61.9%,M 期同步化效率为 44%。

2.3 FAM92A1 表达

RT-PCR 结果显示 FAM92A1 的表达随细胞周期时相的变化而存在差异,以 S 期表达量最高(如图 2)。



1~5 为对照、M 期、G2 期、S 期及 G1 期 HeLa 细胞中 FAM92A1 的表达,6~10 为对照、M 期、G2 期、S 期及 G1 期 HeLa 细胞中 GAPDH 内参的表达

图 2 HeLa 细胞不同周期时相 FAM92A1 基因的表达

Fig. 2 FAM92A1 gene expression of HeLa cells in different phases

3 讨论

FAM92A1 基因是近期发现的一个新基因,与细胞增殖关系密切,在正常生长旺盛的组织和肿瘤组织中高度表达,参与细胞周期调控^[10],但是其生物学功能目前尚不明确。

细胞正常的分裂、增殖、分化与衰老维持着机体的稳定,细胞周期的异常会导致这一过程的紊乱。许多生长因子、细胞因子、激素及癌基因产物对 DNA 代谢的调节都是通过影响细胞周期实现的,许多基因的表达又受到细胞周期的制约。调控细胞周期的核心因子就是细胞周期蛋白依赖性激酶(CDK,cyclin dependent kinase),它与不同的细胞周期蛋白形成多种复合物,作用于细胞周期的不同时期,决定着细胞周期的进程。而近几年来陆续发现的多种细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白(CKI,cyclin dependent kinase inhibitor),更加深了对肿瘤发生机制的了解。

基因突变或基因表达异常是肿瘤发生的关键。为了深入研究 FAM92A1 基因的生物学功能,本研究从细胞周期入手,首先通过细胞同步化方法,将细胞同步化于 G1,S,G2,M 期,运用流式细胞仪检测同步化效率,接着运用 RT-PCR 证实 FAM92A1

在 HeLa 细胞各个时期均有表达,以 S 期表达量最高,G1,G2,M 期表达较低,这种各时期表达的差异性可能与 FAM92A1 在细胞周期中所起的调控作用关系密切。又知 S 期细胞的主要活动是进行 DNA 复制,DNA 复制完成与否直接影响细胞增殖周期的运行,hFAM92A1 基因过表达时发生 S 期阻滞,提示其与 DNA 复制有关。那么 FAM92A1 基因在其它肿瘤细胞各时期的表达及其具体的生物学功能又是怎样的?有待于进一步的研究。

4 参考文献

- [1] Ruan XZ, Yang HS, Yao SH, et al. Isolation and characterization of a novel *Xenopus* gene (xVAP019) encoding a DUF1208 domain containing protein[J]. *Mol Reprod Dev*, 2007(12):1505-1513.
- [2] Liang S, Gong F, Zhao X, et al. Prokaryotic expression, purification of a new tumor-related protein FAM92A1-289 and its characterization in renal cell carcinoma[J]. *Cancer Lett*, 2009(1):81-87.
- [3] 陈洁,李瑞明,方娟,等. siRNA-FAM92A1_289 对 HeLa 细胞增殖的影响[J]. *湖北医药学院学报*, 2011(2):105-108.
- [4] Kaida A, Miura M. Visualizing the effect of tumor micro-environments on radiation-induced cell kinetics in multicellular spheroids consisting of HeLa cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2013(4):453-458.
- [5] Ramaiah MJ, Pushpavalli SN, Lavanya A, et al. Novel anthranilamide-pyrazolo(1,5-a)pyrimidine conjugates modulate the expression of p53-MYC associated micro RNAs in neuroblastoma cells and cause cell cycle arrest and apoptosis[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2013(20):5699-5706.
- [6] Yang F, Yi F, Han X, et al. MALAT-1 interacts with hnRNP C in cell cycle regulation[J]. *FEBS Lett*, 2013(19):3175-3181.
- [7] Aviner R, Geiger T, Elroy-Stein O, et al. Novel proteomic approach (PUNCH-P) reveals cell cycle-specific fluctuations in mRNA translation[J]. *Genes Dev*, 2013(16):1834-1844.
- [8] Choudhary AS, Suryavanshi SA, Kaul-Ghanekar R, et al. The aqueous extract of *Ficus religiosa* induces cell cycle arrest in human cervical cancer cell lines SiHa (HPV-16 Positive) and apoptosis in HeLa (HPV-18 positive) [J]. *PLoS One*, 2013(7):70127.
- [9] 周玉宇,余海浪,马文丽. Let7a 在人宫颈癌 HeLa 细胞不同周期时相表达[J]. *南方医科大学学报*, 2009(3):442-445.
- [10] Annunziata C, Buonaguro L, Buonaguro FM, et al. Tornesello ML. Characterization of the human papillomavirus (HPV) integration sites into genital cancers[J]. *Pathol Oncol Res*, 2012(4):803-808.

(2014-12-06 收稿,2015-02-21 修回)

中文编辑:周凌;英文编辑:赵毅

重组人生长激素对老年胸外伤患者蛋白质代谢及免疫功能的影响

何 鹏¹, 周青山^{2*}

(1. 湖北省孝感市中心医院, 湖北 孝感 432000; 2. 武汉大学人民医院, 湖北 武汉 430060)

[摘要] 目的: 探讨重组人生长激素(rhGH)对老年胸外伤患者蛋白质代谢及免疫功能的影响。方法: 98例老年胸外伤患者随机均分为观察组和对照组, 对照组给予标准肠内营养治疗, 观察组在对照组治疗基础上给予rhGH治疗, 观察并比较2组患者治疗前后血清蛋白水平和免疫功能变化。结果: 治疗前, 两组患者血清白蛋白、血清前白蛋白以及血清转铁蛋白浓度比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 治疗后观察组显著高于治疗前($P < 0.01$), 而对照组无明显变化($P > 0.05$); 治疗后观察组显著高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 治疗前, 两组患者血清IgA、IgG、IgM、CD3、CD4、CD8及CD4/CD8比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 治疗后观察组IgA、IgG、IgM、CD3及CD4/CD8均显著高于治疗前, 对照组仅IgA、IgG、IgM显著增高, 而CD3、CD4、CD4/CD8显著降低, 差异均有统计学意义($P < 0.01$); 治疗后观察组IgA、IgG、IgM、CD3、CD4及CD4/CD8均显著高于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.01$)。结论: rhGH用于老年胸外伤治疗能促进机体蛋白质含量增加, 并能够提高CD3、CD4及CD4/CD8水平, 改善患者机体免疫功能。

[关键词] 人生长激素; 重组蛋白质类; 血清白蛋白; 老年人; 胸外科学; 免疫力; 免疫球蛋白类

[中图分类号] R655 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0307-03

The Influence of Recombinant Human Growth Hormone on Protein Anabolism and the Immunologic Function in Elderly Thoracic Trauma Patients

HE Peng¹, ZHOU Qingshan²

(1. Central Hospital of Xiaogan City, Xiaogan 432000, Hubei, China; 2. People's Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the influence of recombinant human growth hormone (rhGH) on protein anabolism and immunologic function in elderly thoracic trauma patients. **Methods:** A total of 98 elderly thoracic trauma patients were randomly divided into observation group and control group. Observation group were treated with standard enteral nutrition plus rhGH, and control group were treated with standard enteral nutrition alone. The serum protein levels and immunologic function before and after treatment were compared between the two groups. **Results:** Before treatment, there was no significant difference of serum albumin level, prealbumin level and serum transferrin level between the two groups ($P > 0.05$). After treatment the levels of serum albumin, prealbumin and serum transferrin in observation group were significantly higher than their counterparts before treatment ($P < 0.01$), while in control group there was no significant difference ($P > 0.05$). After treatment the level of serum albumin, prealbumin and serum transferrin in observation group was significantly higher than their counterparts in control group ($P < 0.01$). Before treatment, there was no significant difference in the levels of IgA, IgG, IgM, CD3, CD4, CD8, CD4/CD8 between the two groups ($P > 0.05$). After treatment the levels of IgA, IgG, IgM, CD3, CD8, CD4/CD8 in observation group were significantly higher than their counterparts before treatment ($P < 0.01$). After treatment, the levels of IgA, IgG, IgM in control group were significantly increased ($P < 0.01$), while the levels of CD3, CD4, CD4/CD8 were

* 通信作者 E-mail: 344274205@qq.com

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.1020.027.html>

significantly decreased ($P < 0.01$). **Conclusions:** RhGH can effectively promote protein synthesis, reduce the protein decomposition rate, increase the immunoglobulin synthesis and secretion, increase the levels of T lymphocyte subsets and improve immune function in the treatment of the elderly thoracic trauma patients.

[**Key words**] human growth hormone; recombinant proteins; serum albumin; the elderly; thoracic surgery; immunity; immunoglobulin

老年人不仅各器官系统功能出现减退,蛋白质合成能力也会降低,呼吸肌肉力量可不同程度减弱或较易疲劳,若发生胸部外伤,会出现咳嗽无力,导致痰液排出不畅,严重者可造成医院内获得性肺炎、肺不张、呼吸机脱机困难及呼吸功能不全等严重并发症^[1-2]。重组人生长激素(recombinant human growth hormone, rhGH)能够促进机体蛋白质的合成并促进营养物质的吸收和利用^[3],为了探讨 rhGH 对老年胸外伤患者蛋白质代谢以及机体免疫功能的影响,对 49 例老年胸外伤患者使用 rhGH 进行了治疗。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2012 年 7 月~2013 年 6 月胸外科收治的胸外伤患者 98 例,男性 69 例,女性 29 例,年龄 54~76 岁,平均(65.6±9.3)岁。车祸伤 48 例,摔倒跌伤 36 例,高空坠落伤 10 例,打击伤 4 例;肋骨骨折数目 2~8 根,平均(4.2±2.8)根;合并血气胸患者 35 例,均行胸腔闭式引流。所有患者既往均无严重心、肺功能障碍,无严重肝肾疾病,无凝血障碍及血液系统疾病。所有患者在知情同意的原则下被随机均分为观察组与对照组,两组患者在性别、年龄、致伤原因、肋骨骨折数目、是否合并血气胸以及既往病史等方面差异无统计学意义($P > 0.05$),具可比性。

1.2 方法

对照组给予标准肠内营养治疗。标准肠内营养治疗方法:采用全能力肠内营养液(无锡纽迪希亚制药有限公司,国药准字 H20010284),蛋白质 40g/L、脂肪 39 g/L、碳水化合物 123 g/L、膳食纤维 15 g/L、多种维生素 300 g/L、热量 4 180 kJ/L。营养液剂量:根据热量需求给予 105 kJ/(kg·d),使用蠕动泵经鼻胃管在 24 h 内匀速输注。观察组在对照组治疗组的基础上,加用 12 U/D 的 rhGH 皮下注射治疗,8 d 为一疗程。

1.3 疗效观察

治疗前及治疗一疗程后采集两组患者空腹静脉血,检测血清白蛋白、血清前白蛋白、血清转铁蛋白浓度,免疫球蛋白 IgA、IgG、IgM, T 淋巴细胞亚群 CD3、CD4、CD8。

1.4 统计学方法

数据使用 SPSS 13.0 统计软件分析,计量资料采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两样本均数比较采用 t 检验,计数资料采用率(%)表示,比较采用检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清蛋白水平

治疗前两组患者血清白蛋白、血清前白蛋白及血清转铁蛋白浓度比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),观察组治疗后均显著高于治疗前,差异有统计学意义($P < 0.01$);对照组变化不明显($P > 0.05$);治疗后观察组显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 1。

表 1 两组老年胸外伤患者治疗前后血清蛋白质水平($\bar{x} \pm s, n = 49$)

Tab. 1 Comparison of protein levels before and after treatment in the two groups

血清蛋白水平(g/L)	治疗前		治疗后	
	对照组	观察组	对照组	观察组
血清白蛋白	34.2±2.1	34.5±2.4	35.2±2.4	38.8±2.2 ⁽¹⁾⁽²⁾
血清前蛋白	236.1±50.2	235.7±49.9	237.3±53.2	287.6±52.1 ⁽¹⁾⁽²⁾
血清转铁蛋白	2.2±0.6	2.1±0.8	2.1±0.5	2.5±0.7 ⁽¹⁾⁽²⁾

⁽¹⁾与本组治疗前比较, $P < 0.01$; ⁽²⁾与对照组治疗后比较, $P < 0.01$

2.2 免疫功能比较

两组患者治疗前 IgA、IgG、IgM、CD3、CD4、CD8、CD4/CD8 比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$)。观察组治疗后 IgA、IgG、IgM、CD3、CD4/CD8 均显著高于治疗前,对照组仅 IgA、IgG、IgM 显著高于治疗前,而 CD3、CD4、CD4/CD8 则显著降低,差异均有统计学意义($P < 0.01$);治疗后观察

组 IgA、IgG、IgM、CD3、CD4、CD4/CD8 均显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表2。

表2 两组老年胸外伤患者治疗前后免疫功能比较
Tab.2 Comparison of immune function indexes before and after treatment between the two groups

免疫功能 指标	治疗前		治疗后	
	对照组	观察组	对照组	观察组
IgA(g/L)	1.94±0.30	1.92±0.31	2.11±0.32 ⁽¹⁾	3.41±0.33 ⁽¹⁾⁽²⁾
IgG(g/L)	8.84±2.19	8.82±2.21	9.14±2.21 ⁽¹⁾	13.8±2.23 ⁽¹⁾⁽²⁾
IgM(g/L)	1.23±0.54	1.22±0.53	1.31±0.56 ⁽¹⁾	1.91±0.55 ⁽¹⁾⁽²⁾
CD3(%)	66.1±3.4	65.5±3.2	60.9±3.1 ⁽¹⁾	71.3±2.9 ⁽¹⁾⁽²⁾
CD4(%)	42.1±2.0	42.4±1.9	34.2±2.3 ⁽¹⁾	41.6±2.1 ⁽²⁾
CD8(%)	26.3±1.6	26.2±1.7	25.7±1.4	25.4±1.5
CD4/CD8	1.64±0.58	1.62±0.61	1.42±0.56 ⁽¹⁾	1.74±0.59 ⁽¹⁾⁽²⁾

⁽¹⁾与本组治疗前比较, $P < 0.01$;⁽²⁾与对照组治疗后比较, $P < 0.01$

3 讨论

创伤及外科手术后,机体会出现以高代谢、高分解为主要特征的应激性反应。随着年纪增大,老年人自身蛋白质合成速度减慢,遭受到胸外伤时,蛋白质分解加速,体内蛋白质供需平衡被打破,造成负氮平衡^[4]。胸外伤老年患者肌肉蛋白的分解可直接造成呼吸肌易疲劳且力量减弱,咳嗽时难以将呼吸道内的痰液及分泌物及时排出,导致医院获得性肺炎发病率增高,延长呼吸机脱机时间,增加脱机难度^[4-5]。老年胸外伤患者在应激反应期间,由于机体对营养物质的利用度降低,使机体代谢负荷增加,导致机体代谢紊乱进而影响患者的免疫功能^[6]。rhGH 在能有效促进蛋白质合成,同时促进营养物质的吸收利用。外源性 rhGH 能促进外科手术后患者蛋白质的合成,减缓蛋白质分解,提高患者肌肉力量,增强免疫功能、促进创口愈合^[7-8]。对 49 例患者采用 rhGH 治疗(观察组)和 49 例患者常规治疗(对照组)结果显示,观察组血清白蛋白、血清前蛋白以及血清转铁蛋白浓度经上述治疗均显著增高($P < 0.01$),但对照组未见明显变化,且治疗后观察组显著高于对照组($P < 0.01$),表明 rhGH 能够促进患者蛋白质的合成。对人体免疫功能状态反映较为明确且较为敏感的指标主要包括血清免疫球蛋白(IgA、IgG、IgM)、外周血 T 淋巴细胞亚群(CD3、CD4、CD8、CD4/CD8)等^[9-10]。在对患者免疫功能影响的研究中,检测 IgA、IgG、IgM、CD3、CD4、CD8 等免疫蛋白及细胞因子结果显示,

观察组因 rhGH 的使用,治疗后 IgA、IgG、IgM、CD3、CD4/CD8 均显著增高($P < 0.01$),而对照组未使用 rhGH 治疗,经常规治疗后仅见 IgA、IgG、IgM 显著增高($P < 0.01$),而 CD3、CD4、CD4/CD8 显著降低($P < 0.01$),且治疗后观察组 IgA、IgG、IgM、CD3、CD4、CD4/CD8 均显著高于对照组($P < 0.01$)。说提示 rhGH 能有效提高患者机体免疫功能,与国内相关研究结果相似^[11-12]。

综上所述,rhGH 用于老年胸外伤治疗能促进机体蛋白质含量增加,并能够提高 CD3、CD4 及 CD4/CD8 水平,改善患者机体免疫功能。

4 参考文献

[1] 许月明,陈虎平. 65 例老年重度胸外伤后呼吸功能保护分析[J]. 西南国防医药, 2009(1): 69-71.
[2] 王海松. 重症胸外伤致急性呼吸窘迫综合征 30 例[J]. 齐齐哈尔医学院学报, 2014(6): 846-847.
[3] 袁媛,王峰,赵欣,等. 重组人生长激素干预消化道肿瘤患者术后蛋白代谢 Meta 分析[J]. 肿瘤学杂志, 2011(6): 412-415.
[4] 刘建明,廖前德,唐文祥,等. TNF- α 对慢性阻塞性肺疾病模型鼠营养状态和呼吸肌蛋白质分解代谢的影响[J]. 南方医科大学学报, 2012(4): 548-552.
[5] 赵士利,焦伟. 颅脑外伤伴蛋白质营养不良患者营养支持分析[J]. 徐州医学院学报, 2013(11): 774-775.
[6] 张娟娟,虞文魁,朱维铭,等. 两种雾化吸入方案对老年腹部外科病人术后肺部并发症影响研究[J]. 中国实用外科杂志, 2012(2): 152-155.
[7] 朱美抒,刘海燕,朱美慧,等. 急性外伤患者早期应用核黄素对免疫功能的影响[J]. 海南医学院学报, 2014(3): 371-373.
[8] 李鹏,黄冰,李力,等. 胸科手术中不同通气方式的患者血清中蛋白质组学的研究[J]. 中国癌症防治杂志, 2013(1): 16-19.
[9] 张玉梅,王家晓. 人参皂甙 Rg3 对 Lewis 肺癌细胞体外增殖及荷瘤小鼠免疫功能的影响[J]. 实用临床医药杂志, 2014(1): 5-8.
[10] 沈晓玲,张爱丽,季伟. 小儿肺炎支原体感染后免疫功能的变化研究[J]. 临床肺科杂志, 2011(10): 1613-1614.
[11] 王娟,段全纪,张迎春. 地塞米松对支原体肺炎肺外并发症患儿免疫指标的影响[J]. 贵阳医学院学报, 2012(1): 60-63.
[12] 李洪光,王子明. 重组人生长激素对老年人骨质疏松蛋白质代谢及免疫功能的影响[J]. 创伤外科杂志, 2007(5): 418-420.

(2014-12-22 收稿,2015-02-27 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 刘 华

单纯性主动脉瓣关闭不全患者主动脉夹层的治疗

刘 萍

(北京市房山区中医医院 内科, 北京 102488)

[摘要] 目的: 探讨单纯主动脉瓣关闭不全的主动脉夹层患者的临床治疗方法及效果。方法: 确诊并接受治疗的18例表现为单纯主动脉瓣关闭不全的主动脉夹层患者, 根据主动脉内膜撕裂程度, 窦部破坏情况及既往病史等情况选择不同术式, 5例行单纯主动脉瓣成形术, 4例行Wheat术, 9例行Bentall术; 观察3种手术的治疗效果, 记录3组患者手术前后左心室舒张末期内径(LVDd)、左心室射血分数(LVEF), 患者出院后随访半年, 记录术后死亡率及并发症发生情况。结果: 3组患者术后仅1例死于慢性肾功能不全, 死亡率为5.56%; 11例治愈, 治愈率为61.1%; 术前3组患者LVEF比较, 差异无统计学意义($P=0.269$, $F=1.421$), LVDd差异有统计学意义($P<0.001$, $F=8.464$); 术后及随访半年后LVDd、LVEF组间比较, 差异无统计学意义($P>0.05$); 但组内术后及随访半年与术前比较, LVDd差异有统计学意义($P<0.05$), 而LVEF差异无统计学意义($P>0.05$); 术后17例存活患者中有4例出现并发症, 发生率为23.53%, 经及时对症处理后, 症状均得到缓解或好转。结论: 根据单纯主动脉瓣关闭不全的主动脉夹层患者个体具体情况及辅助检查结果选择合适的术式可有效提高该病治疗效果。

[关键词] 主动脉夹层; 主动脉瓣关闭不全; 左室射血分数; 主动脉瓣成形术; Wheat术; Bentall术

[中图分类号] R654.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0310-03

Clinical Treatment of Aortic Dissection Characterized by Pure Aortic Regurgitation

LIU Ping

(Department of Internal Medicine, Traditional Chinese Medicine Hospital of Fangshan District, Beijing 102488, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the clinical treatment and the curative effect of aortic dissection characterized by pure aortic insufficiency. **Methods:** Eighty cases of aortic dissection characterized by pure aortic insufficiency were selected, surgical approach was chosen based on the degree of aortic intimal tear, sinus destruction conditions and past medical history, 5 underwent aortic valvuloplasty alone, 4 Wheat routine operation, 9 Bentall routine operation. The curative effects were observed, left ventricular end diastolic diameter (LVDd) and left ventricular ejection fraction (LVEF) were detected, The patients were followed up for half year to observe the mortality and complications. **Results:** One patient died of chronic renal insufficiency, the mortality was 5.56%; 11 cases cured, accounted for 61.1%. No statistical difference was found in preoperative LVEF values among the three groups ($P=0.269$, $F=1.421$), while LVDd values among the three groups before surgery were statistically different ($P<0.001$, $F=8.464$). Six months after the surgery, LVDd and LVEF values among the three group swere not statistically different ($P>0.05$), there were statistical differences in LVDd values before and after treatment in each group ($P<0.05$), while LVEF values had no statistical difference ($P>0.05$). Four cases in 17 survival patients had complications, accounted for 23.53%, after symptomatic treatment, symptoms were relieved or improved. **Conclusions:** Choosing surgical approach based on patient history and supplementary examination results can effectively improve the therapeutic

effect aortic dissection characterized by pure aortic insufficiency.

[**Key words**] aortic dissection; aortic insufficiency; left ventricular ejection fraction; aortic valvuloplasty; Wheat routine surgery; Bentall routine surgery

主动脉夹层是指血液在主动脉中层撕裂层中流动,形成假腔,内膜及部分中层将真腔(原有的主动脉腔)和假腔分隔,产生多处破口使其相通,主动脉夹层的误诊率、漏诊率及并发症发生率均相对较高,是死亡率较高的心血管系统疾病之一^[1-2]。本研究以 18 例表现为单纯主动脉瓣关闭不全的主动脉夹层患者作为研究对象,采用不同术式进行治疗,取得较好成效,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

18 例主动脉夹层患者,均表现为单纯主动脉瓣关闭不全,男 10 例,女 8 例,年龄 31~56 岁,平均 (42.6 ± 6.4) 岁。根据主动脉根部病变情况进行诊断分型^[1-2]:A2 型 5 例,A3 型 13 例。根据主动脉内膜撕裂程度,窦部破坏情况及既往病史,5 例行单纯主动脉瓣成形术,4 例行 Wheat 术,9 例行 Bentall 术。彩色多普勒血流成像(CDFI)检查 AR 彩束平均面积为 (5.64 ± 5.01) cm²,左心室舒张末径(LVDd)平均为 (52.64 ± 8.94) mm,左心室收缩末径(LVDs)平均为 (35.54 ± 8.78) mm,左室射血分数(LVEF)平均 (64.38 ± 8.54) %。

1.2 方法

术前检测患者 LVDd、LVEF 等各项指标情况,静脉全麻,气管内插管,常规消毒,于右锁骨下方作横切口,显露锁骨下动脉,倒 T 型切开心包,建立体外循环全身降温,切开升主动脉,根据主动脉根部情况结合术前检查选择下列 3 种手术方式。(1)瓣膜成形术,对于主动脉窦无明显扩张患者,术中采取 4/0 Prolene 线先把交界部悬吊于主动脉壁上,人造血管与夹层双层近心端吻合时,进行升主动脉成形;(2)Wheat 术,采取全周间断加垫片褥式外翻缝合法缝合,在冠状动脉开口上 0.5~1.0 cm 外横断主动脉并修剪,人造血管与夹层双层近心端吻合行切除术;(3)Bentall 术,切除主动脉瓣瓣叶,采用全周间断加垫片褥式外翻缝合法缝合复合带瓣人造血管,行主动脉瓣人造瓣膜置换,以 5/0 Prolene 线缝合冠状动脉开口。观察 18 例患者的临床表现,出院后随访半年。

1.3 观察指标

随诊常规心电图、主动脉 CT 血管造影术(CTA)及心脏 CDFI 等检查掌握患者术后身体恢复情况,了解患者用药情况、门诊复查情况等。观察记录 3 组患者手术前后 LVDd、LVEF 指标,主动脉 CTA 检查有无增粗等情况,记录术后死亡率及并发症发生情况。

1.4 统计学方法

数据采用 SPSS 17.0 软件处理,计量资料以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,计数资料以例数(%)表示,计量资料比较采用单因素方差分析^[3],计数资料采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗效果

18 例患者术后仅主动脉瓣成形术组有 1 例因患有慢性肾功能衰竭,经治疗后肾功能无改善而死亡,死亡率为 5.56%;11 例治愈,治愈率为 61.1%。主动脉瓣成形术组存活患者与术前相比,术后升主动脉及窦部横径均减小,主动脉瓣对介良好;Wheat 术、Bentall 术两组患者机械瓣启闭良好,无明确瓣周漏,人工血管通畅。

2.2 LVEF、LVDd

术前 3 组患者 LVEF 比较,差异无统计学意义($P = 0.269$, $F = 1.421$),LVDd 差异有统计学意义($P < 0.001$, $F = 8.464$);提示 LVDd 可作为选择术式的依据之一;术后及随访半年后 LVDd、LVEF 组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);但组内术后及随访半年与术前比较,LVDd 差异有统计学意义($P < 0.05$),而 LVEF 差异无统计学意义($P > 0.05$);见表 1。

2.3 术后并发症

3 组患者仅 1 例死亡;17 例存活患者中有 4 例出现并发症,并发症发生率为 23.53%,其中行单纯主动脉瓣成形术术后早期出现 1 例右上肢运动障碍,1 例出现延迟苏醒,行 Bentall 术患者中出现 1 例主动脉瓣少量反流,行 Wheat 术出现 1 例肺部感染,经及时对症处理后,全部症状均得以好转。

表 1 三种主动脉夹层手术前及手术后 LVDd 和 LVEF

Tab. 1 LVDd and LVEF of three kinds of aortic dissection before and after treatment

分组	n	LVDd			LVEF		
		术前	术后	随访半年	术前	术后	随访半年
瓣膜成形术	5	48.57 ± 5.48	42.84 ± 5.19 ⁽³⁾	43.47 ± 6.41 ⁽³⁾	62.92 ± 7.46	64.75 ± 6.47	66.48 ± 6.71
Bentall	4	58.44 ± 6.37 ⁽¹⁾	47.73 ± 4.54 ⁽³⁾	48.46 ± 5.42 ⁽³⁾	61.44 ± 6.73	58.64 ± 7.94	59.49 ± 7.67
Wheat	9	55.67 ± 5.49 ⁽¹⁾⁽²⁾	46.61 ± 5.78 ⁽³⁾	46.89 ± 7.49 ⁽³⁾	62.48 ± 7.43	61.03 ± 5.94	62.17 ± 6.16
F		8.464	0.791	0.914	1.421	0.964	0.953
P		<0.001	0.764	0.648	0.269	0.547	0.564

⁽¹⁾与术前瓣膜成形术组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾与术前 Bentall 组比较, $P < 0.05$; ⁽³⁾与组内术前比较, $P < 0.05$

3 讨论

Bentall 术作为治疗主动脉瘤和主动脉夹层的金标准常应用于临床^[4],常用于伴有严重主动脉瓣关闭不全的患者,手术难度相对较小,术中风险低,但患者术后易形成血栓需终身抗凝,易发生主动脉瓣反流等^[5-8]。本研究中行 Bentall 术患者中出现 1 例主动脉瓣少量反流现象,经控制血压,调节情绪,注意休息等调理后,返流现象消失。Wheat 术技术操作简便,但残留部分瘤壁,远期有继续扩张的可能,且主动脉近段局部两个吻合口相距很近,增加出血机会,主要适用于主动脉瓣置换同时合并单纯升主动脉扩张的病人^[9]。主动脉瓣成形术除可以较好恢复左心室功能、降低手术死亡率外,还具有无须终生抗凝,能保留自体瓣膜的完整性等优点,适用于任何年龄段,逐渐成为治疗主动脉夹层的主流方法之一^[10]。本研究行单纯主动脉瓣成形术后早期出现延迟苏醒 1 例,经检查确诊为脑梗死,经过营养脑神经、高压氧等对症支持处理后,患者意识恢复正常,且无复发。

本研究根据 18 例表现为单纯主动脉瓣关闭不全的主动脉夹层患者的临床特点选择上述 3 种不同的治疗方法,检查结果和并发症均提示 3 组术后对左心室舒张功能的影响差异无统计学意义,临床疗效均良好,并发症发生率低。

主动脉夹层常被误诊,这是由于部分主动脉夹层在术前仅表现为主动脉瓣关闭不全,影像学表现不典型^[11]。本研究在诊断中除了重视患者的病史,对患者的病程长短及症状出现的先后顺序进行认真细致的研究,再结合 CT 及超声心动等检查综合分析,选择合适的术式,有效提高了单纯性主动脉瓣关闭不全的主动脉夹层治疗效果。

4 参考文献

- [1] 易定华,段维勋. 中国主动脉夹层诊疗现状与展望[J]. 中国循环杂志, 2013 (1):1062 - 1063.
- [2] 陈伟丹,常谦,李守军,等. 保留主动脉瓣主动脉根部置换术治疗主动脉根部瘤的疗效分析[J]. 中国胸心血管外科临床杂志, 2012 (5):485 - 487.
- [3] 陈俞宏,李富骊. David-I 手术治疗主动脉夹层合并主动脉瓣反流[J]. 临床心血管病杂志, 2012 (2):164 - 166.
- [4] 杨栋,潘扬. 腔内隔绝术治疗胸主动脉夹层动脉瘤[J]. 贵阳医学院学报, 2010(3):325 - 327.
- [5] 吴辉,杨俊,丁家望,等. 症状不典型主动脉夹层误诊为主动脉瓣关闭不全一例[J]. 中国心血管杂志, 2010 (2):136 - 138.
- [6] 刘江茹,苏宇芳,潘延平. 不典型主动脉夹层 22 例误诊分析[J]. 临床医药实践, 2010 (1):376 - 378.
- [7] 姚建民,赵向东,肖志斌,等. 支架“象鼻子”技术和主动脉瓣成形治疗 DeBakey I 型夹层主动脉瘤合并主动脉瓣关闭不全[J]. 中国急救医学, 2010(6):794 - 796.
- [8] Badiu CC, Eichinger W, Bleiziffer S, et al. Should root replacement with aortic valve-sparing be offered to patients with bicuspid valves or severe aortic regurgitation. European Journal of Cardio Thoracic Surgery, 2010(6):456 - 457.
- [9] 张宝仁,邹良建,徐志云,等. 风湿性瓣膜病二尖瓣与主动脉瓣置换术 1154 例长期效果分析[J]. 中华外科杂志, 2013(4):487 - 489.
- [10] 林梅香,申源生,陈建红. 主动脉夹层动脉瘤腔内隔绝术围手术期护理探讨[J]. 中国实用医药, 2010(6):746 - 748.
- [11] 马常天,吴观生. 主动脉全弓置换及支架象鼻术治疗主动脉夹层伴巨大升主动脉瘤 1 例[J]. 贵阳医学院学报, 2012(12):561 - 563.

(2015-01-04 收稿, 2015-02-14 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 周 凌

瑞芬太尼联合七氟烷对小儿麻醉苏醒期躁动的效果

周海东

(鄂尔多斯市中心医院 麻醉科, 内蒙古 鄂尔多斯 017000)

[摘要] 目的: 探讨瑞芬太尼联合七氟烷复合麻醉方法对小儿全麻苏醒期躁动的效果。方法: 择期行扁桃体切除术患儿60例, 年龄4~7岁, ASA I级, 按病例资料中麻醉方法分为瑞芬太尼组和对照组, 观察组给予瑞芬太尼泵注和吸入七氟烷复合麻醉; 对照组给予吸入七氟烷全凭麻醉; 记录两组手术时间、麻醉苏醒时间、躁动评分。结果: 瑞芬太尼复合七氟烷组在患儿躁动评分比例、躁动例数及躁动时间大于15 min患儿例数明显低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 两组手术时间和麻醉苏醒时间差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论: 瑞芬太尼复合七氟烷麻醉方法可以明显减少全麻苏醒期躁动, 效果优于全凭七氟烷吸入。

[关键词] 瑞芬太尼; 七氟烷; 儿童; 麻醉; 苏醒期; 躁动

[中图分类号] R971; R726.14 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0313-03

The Effect of Remifentanyl Combined with Sevoflurane on Pediatric Anesthesia Emergence Delirium

ZHOU Haidong

(Department of Anesthesiology, Central Hospital of Erdos City, Erdos 017000, Inner Mongolia, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effect of remifentanyl combined with sevoflurane on pediatric anesthesia emergence delirium (PAED). **Methods:** Sixty children of tonsillectomy, aged 4 to 7 years old and grade ASA I, were randomly divided into experimental group (remifentanyl plus sevoflurane group) and control group (sevoflurane group), 30 cases in each group. The operation time, the anesthesia recovery time and the agitation scores in two groups were recorded. **Results:** The agitation cases, agitation proportion and the cases whose agitation time was more than 15 min in remifentanyl plus sevoflurane group was significantly less than the counterparts in control group ($P < 0.05$); There was no significant difference in operation time and anesthesia recovery time for two groups ($P > 0.05$). **Conclusion:** The anesthesia method of remifentanyl combined with sevoflurane is better than sevoflurane anesthesia in children tonsillectomy surgery.

[Key words] remifentanyl; sevoflurane; children; anesthesia; recovery period; agitation

七氟烷作为一种新型的吸入麻醉剂, 虽具有呼吸道刺激性小, 血流动力学稳定、血气分配系数低、起效及苏醒迅速、可控性强等特点, 但在小儿扁桃体切除术全身麻醉后躁动的现象明显增多, 已成为小儿全麻术后的常见问题^[1-2]。瑞芬太尼是一种通过兴奋阿片受体达到镇痛目的, 具有起效快、代谢快、镇痛效果强、停药后苏醒快、苏醒质量好等特点^[3]。本文通过观察瑞芬太尼联合七氟烷吸入麻

醉患儿苏醒期躁动的情况与单纯应用七氟烷吸入全凭麻醉进行比较, 以求找到更适合于小儿扁桃体切除术的麻醉方法。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2013年1月~2013年12月收治的拟行全麻

下扁桃体切除术患儿 60 例,ASA I 级,年龄 4 ~ 7 岁,体重 14 ~ 36 kg,排除智力发育迟缓、注意力缺陷、障碍及有谵妄史的儿童。所有患儿按病例资料中麻醉方法分为瑞芬太尼复合七氟烷组(瑞芬太尼组)和全凭七氟烷组(对照组),每组 30 例。所有患儿术前无上呼吸道感染史、支气管哮喘史、药物过敏史、癫痫病史及手术麻醉史且心、肝、肾功能正常。两组患儿年龄、体重、性别、手术时间等一般情况差异无统计学意义。

1.2 麻醉方法

患儿术前常规禁食 8 h、禁饮 4 h,术前 30 min 肌内注射阿托品 0.02 mg/kg,术中不使用任何镇静药物。患儿入手术室后,连续监测收缩压(SBP)、舒张压(DBP)、血氧饱和度(SPO₂)、心电图(ECG)、心率(HR)、呼气末二氧化碳分压(P_{ET}CO₂)。麻醉前保证呼吸道通畅。两组患者常规快速诱导后气管内插管,行呼吸机正压通气,潮气量 8 ~ 10 mL/kg,呼吸频率 16 ~ 18 次/min,吸入氧浓度 100%,保持 P_{ET}CO₂ 在 4.655 ~ 5.985 kPa。观察组给予瑞芬太尼泵注 0.15 ~ 0.25 μg/(kg · min)、吸入七氟烷浓度为 1.5% ~ 2.5% 麻醉维持,对照组给予吸入七氟烷浓度为 3.0% ~ 4.0%。根据麻醉深浅调整瑞芬太尼量和七氟烷吸入浓度。瑞芬太尼组在手术结束前 10 min 停止吸入七氟烷,在手术结束时停止泵注瑞芬太尼。对照组在手术结束前 10 min 减浅七氟烷吸入浓度,在手术结束时停止吸入七氟烷;术毕停用麻醉药待患儿自主呼吸良好,吞咽、咳嗽反射恢复满意后拔除气管导管,观察平稳后送麻醉后恢复室(PACU)。

1.3 观察指标

术毕分别记录两组患儿手术时间、麻醉苏醒时间、躁动评分及躁动时间 > 15 min 的病例数,对两组患儿麻醉苏醒期躁动情况进行比较分析,麻醉苏醒时间为从停用麻醉药物到达到拔管指征并拔除气管导管所需时间。对患儿苏醒期状况进行评分,全麻苏醒期躁动评分标准:0 分,嗜睡、呼唤不醒;1 分,清醒、安静、合作;2 分,哭闹、需要安抚;3 分,烦躁、哭闹严重、不能安抚且需要制动;4 分,烦躁不安、定向力丧失、需要按压制动;0 分定义为镇静或麻醉状态,1 分清醒状态,2 ~ 4 分躁动状态。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 13.0 进行统计分析,所有计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,样本均数间比较采用方差分析,率的比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异

有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

两组体重、年龄、手术时间和苏醒时间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 两组患儿一般情况比较($\bar{x} \pm s, n = 30$)

Tab. 1 Comparison of general data in two groups of children

指标	瑞芬太尼组	对照组
(男/女)	(19/11)	(18/12)
年龄(岁)	5.4 ± 1.5	5.7 ± 1.2
体重(kg)	23.5 ± 5.7	24.4 ± 5.5
手术时间(min)	52.7 ± 15.4	51.3 ± 16.2
苏醒时间(min)	14.6 ± 5.1	15.7 ± 5.4

2.2 苏醒期躁动评分

瑞芬太尼复合七氟烷组在患儿躁动比例、躁动评分、躁动时间 > 15 min 患儿比例明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 两组患儿麻醉苏醒期躁动情况($\bar{x} \pm s, n = 30$)

Tab. 2 Comparison of recovery and agitation in two groups of children after anesthesia

指标	瑞芬太尼组	对照组
躁动($n, \%$)	7(23.3) ⁽¹⁾	16(53.3)
躁动评分(分)	1.78 ± 0.35 ⁽¹⁾	2.48 ± 0.41
躁动时间 > 15 min 患儿比例($n, \%$)	1(3.3) ⁽¹⁾	4(13.3)

⁽¹⁾与对照组比较, $P < 0.05$

3 讨论

躁动是指患儿全身麻醉苏醒期出现的一种意识与行为分离的精神状态,主要表现为兴奋、烦躁和定向障碍,出现如肢体的无意识动作、语无伦次、无理性言语、哭喊或呻吟、妄想思维等不适当行为,发生率 18% ~ 80%^[4]。由于小儿大脑调节能力差,苏醒时易出现烦躁,引起相应并发症,对患儿造成伤害,并延长 PACU 的观察时间。苏醒期躁动对患儿本身以及某些需要术后安静的手术都造成了很大的危害,严重时甚至会拔除引流管、导尿管、胃管,肢体的不自主运动以及抬高身体有可能会造成手术切口裂开、手术部位出血等。

七氟烷是一种新型的吸入麻醉药,诱导及消除迅速,具有血流动力学稳定,有水果香味,对气道刺激小,气道分泌物不多等优点,适合于小儿麻醉诱导和维持^[5]。但七氟烷单纯应用时不能有效抑制术中的应激反应,使用后患儿出现苏醒期谵妄和躁动等缺点^[5]。

瑞芬太尼是一种人工合成的超短效阿片类药物,通过兴奋阿片受体达到镇痛目的,具有起效快、代谢快、镇痛效果强、作用时间短、消除快等优点^[6-7]。瑞芬太尼主要经血液和组织中的非特异性酯酶水解代谢,对呼吸、循环以及肝肾功能影响小,停药后苏醒快且质量好,不良反应小,持续输注或重复给药不产生蓄积^[8]。

本研究中,瑞芬太尼联合七氟烷组在患儿躁动评分比例明显低于全凭七氟烷吸入组,在患儿苏醒期躁动的例数亦明显低于全凭七氟烷吸入组;但手术时间和苏醒时间无差别。说明瑞芬太尼和七氟烷两种药物联合应用,对小儿麻醉苏醒期躁动情况有显著的改善效果,减少了小儿全身麻醉苏醒期躁动的发生。瑞芬太尼复合七氟烷静吸复合全麻行小儿扁桃体摘除手术较单纯吸入七氟烷麻醉有一定优势。

4 参考文献

[1] Pieters BJ, Penn E, Nicklaus P, et al. Emergence delirium

and postoperative pain in children undergoing adenotonsillectomy: a comparison of propofol VS sevoflurane anesthesia[J]. Paediatr Anaesth, 2010(10):944-950.

[2] 卢桢楠,许冬妮,周嘉嘉,等. 小儿全身麻醉苏醒期躁动的危险因素分析[J]. 中山大学学报:医学科学版, 2013(2):240-243.

[3] 张满和,高金贵,徐凯智. 小儿和成年患者全麻时瑞芬太尼药代动力学的比较[J]. 中华麻醉学杂志, 2011(2):154-156.

[4] 杜立武,董琳,袁亮,等. 右美托咪定对七氟醚引起术后躁动的影响[J]. 临床麻醉学杂志, 2012(7):718-719.

[5] 冯春. 雷米芬太尼复合七氟烷联合喉罩麻醉在小儿眼科手术中的应用[J]. 中国医师进修杂志, 2011(20):48-49.

[6] 张恒胜,熊熠,杨龙飞,等. 瑞芬太尼、氯胺酮合剂在小儿外科手术中的应用[J]. 实用临床医药杂志, 2011(5):111-112.

[7] 吴隆延,薛庆生. 七氟醚复合瑞芬太尼或芬太尼用于婴儿先天性唇裂修复术的麻醉效果[J]. 临床麻醉学杂志, 2012(9):860-863.

[8] 聂洪峰. 不同剂量瑞芬太尼在妇科腹腔镜手术中的应用[J]. 贵阳医学院学报, 2014(1):135-140.

(2015-01-08 收稿,2015-02-23 修回)

中文编辑:吴昌学;英文编辑:刘 华

关于医学符号的使用

统计学符号不论用哪种字母,也不论大写或小写一律都用斜体。要注意区分拉丁字母和希腊字母。例如均数的符号是字母 \bar{x} , 卡方的符号是希腊字母 χ^2 , 自由度的符号是希腊文“v”, 不是拉丁文“V”。样本的相关系数是英文“r”, 不能误为希腊文“ γ ”。

化学元素及核素在医学写作时一般多采用符号,都是拉丁字母正体大写。离子态是在右上角用数字加“-”或“+”表示。例如 Na^+ , Ca^{2+} , P^{3-} 等等,不采用 Ca^{++} , P^{---} , Al^{+3} , O^{-2} 表示;核素的核子素(质量数)应写在元素符号的左上角,例如: ^{131}I , ^{32}P ;表示激发状态的 m 写在右上角,例如: $^{99}\text{Tc}^m$, $^{133}\text{In}^m$ 。在科技论文和专著中不应写核素的中文名称,即不能写成 131 碘、 133m 钢、 P^{32} 、 Tc^{99m} 。

近几年分子生物学发展很快,并已渗透到许多学科,大多数分子生物学名词术语的符号已有统一的确定形式,要对符号的来源及其内涵有深刻的了解,才能在使用时不致发生错误,例如:RNA 有 rRNA(ribosomal RNA)、tRNA(transfer RNA)、mRNA(messenger RNA)3 类。r、t、m 是表示类型的符号应小写,RNA 应大写。

《贵阳医学院学报》编辑部

医学院校不同专业毕业生医学人文素质调查分析^{*}

彭安辉¹, 胡洪瑞¹, 刘 丽², 赵小登^{1**}, 朱培嘉^{1***}

(1. 贵阳医学院 运动与健康学院, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵阳医学院 卫生统计学教研室, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 比较不同专业医学生医学人文素质的差异, 为医学院校培养和塑造学生医学人文理念提供可循环途径。方法: 某医学院校毕业生1 815人, 分为非医学组($n=153$)与医学组($n=1\,662$), 进行现场自填式问卷调查, 采用频数、构成比等指标比较被调查毕业生的性别、年龄及来源地等一般情况, 被调查毕业生的医学人文知识、对学校开设的医学人文课程的认识和评价、校园医学人文氛围和实践比较等方面差异。结果: 医学组与非医学组学生的医学人文知识水平、学校开设的医学人文课程的认识比较, 差异有统计学意义($P<0.05$); 在“构建和营造校园医学人文氛围的主导者”回答上的构成, 两组差异有统计学意义($P<0.01$)。结论: 医学院校各专业学生的医学人文知识水平有待提高, 医学人文课程应加大对非医学专业学生的倾斜力度。

[关键词] 教育; 医学; 人文科学; 课程; 评价研究

[中图分类号] G641 **[文献标识码]** B **[文章编号]** 1000-2707(2015)03-0316-03

医学是研究人并服务于人的科学, 它的本质属性就包含着人文性。由于受传统的生物医学模式思维的影响, 医生在医疗活动中往往忽略了患者作为“人”的属性, 视病人为疾病的载体, 医患关系日益疏远和紧张, 甚至出现了患者或其家属冲击、打砸医院, 杀害医务人员的恶性事件^[1], 促使人们对医学目的进行重新审视与反思。医学生肩负着未来保障人民生命健康的重任, 提高其医学人文素质, 对他们将来的医疗能力和综合素质的发展将产生极其重要的影响。本课题组以某医学院校2013年毕业生为研究对象, 通过对医学专业与非医学专业学生的人文素质比较, 探讨培养和塑造学生医学人文相关理想信念的可循途径。

1 对象和方法

1.1 调查对象

选择某医学院校2013年各专业毕业生发放调查表1 950份, 回收1 901份, 回收率97.49%。剔除漏项较多或逻辑错误者后, 最终获得有效调查表1 815份, 有效率95.48%。调查学生涉及临床医学、神经精神、肿瘤学、眼耳鼻喉、儿科学、急救医

学、麻醉学、口腔医学、法医学、医学生物技术、医学影像学、医学检验、预防医学、妇幼卫生、护理学、生物医学工程、药学、药物制剂、医学心理学、医学英语、医事法律、药品营销及户外体育等22个专业, 将医学心理学、医学英语、医事法律、药品营销、户外体育专业归类为非医学类专业组(简称非医学组), 其余专业归类为医学类专业组(简称医学组), 2组学生分别为153人(8.40%)和1 662人(91.60%), 见表1。

1.2 调查方法

根据研究目的自行设计调查表, 内容包括一般情况(如性别、年龄、来源地等)、医学人文知识、对学校开设的医学人文课程的认识和评价、校园医学人文氛围和实践比较等, 调查表统一发放, 学生填完后当场收回。

1.3 统计学方法

资料经统一编码后使用Epidate3.1软件建立数据库, 由2人2次平行录入, 在对数据进行逻辑查错及整理后, 形成最终分析数据库; 数据分析应用SPSS 13.0统计软件包, 使用频数、率、构成比等指标进行资料的一般性统计描述, 采用 χ^2 检验进行2组或多组资料比较, 检验水准取 $\alpha=0.05$ 。

^{*}[基金项目] 贵阳医学院党建创新研究项目(No:DJY-2012001)

^{**} 贵阳医学院2013级流行病与卫生统计学专业研究生

^{***} 贵阳医学院2012级公共卫生事业管理专业本科生

网络出版时间:2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.1019.026.html>

2 结果

2.1 学生一般情况

基本人口社会学特征比较,医学组与非医学组的性别、民族、来源地、政治面貌、贫困生等特征构成,差异均无统计学意义($P>0.05$),提示2组毕业生的基本人口社会学特征上具有可比性,均衡性较好。见表1。

表1 医学组和非医学组学生的一般情况比较($n, \%$)
Tab.1 Comparison of general condition of students in medical group and non-medical group

学生特征	医学组	非医学组	χ^2	P
性别				
男	613(36.9)	62(40.5)	0.795	0.373
女	1 049(63.1)	91(59.5)		
民族				
汉	1 150(69.6)	99(65.1)	1.287	0.257
少数	503(30.4)	53(34.9)		
来源地				
城市	427(26.5)	36(24.2)	0.376	0.540
农村	1 186(73.5)	113(75.8)		
政治面貌				
党(团)员	1 560(94.9)	145(94.8)	0.004	0.949
群众	84(5.1)	8(5.2)		
贫困生				
是	511(30.7)	52(34.0)	0.688	0.407
否	1 151(69.3)	101(66.0)		

2.2 对医学人文课程模式认识

在被问及“你认为现代医学模式是指什么?”时,两组学生回答排在首位的都是“生物-心理-社会医学模式”,非医学组学生“不知道”的比例高于医学组,医学组学生“生物医学模式”回答比例高于非医学组,差异有统计学意义($P<0.01$)。见表2。

2.3 对开设的医学人文课程的认识和评价

谈到“医学人文课程开设”的必要性时,两组学生之间认为“有必要”的比例差异有统计学意义($\chi^2=6.637, P=0.010$),医学组学生(1 360/1 645, 82.7%)明显高于非医学组(109/147, 74.1%);对开设医学人文课程的评价医学组学生满意率达(1 024/1 658, 61.8%)高于非医学组(77/149, 51.7%),差异有统计学意义($\chi^2=5.839, P=0.016$)。

2.4 校园医学人文氛围和实践比较

在“构建和营造校园医学人文氛围的主导者”回答上,两组学生均把“学校”和“其它”排在首位和末位,两组学生对“获得医学人文知识最佳的学习途径”上的认同、“是否参加过医学相关社会实践”和具体“医学相关社会实践地点”回答的构成上差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

3 讨论

医学模式是人类在与疾病抗争和认识自身生

表2 学生对医学人文课程模式的认识($n, \%$)

Tab.2 Cognition of students to medical humanities course pattern

问 题	选项	医学组	非医学组	χ^2	P
现代医学模式	生物医学模式	157(9.5)	7(4.8)	16.983	0.000
	生物-心理-社会医学模式	1 469(89.1)	132(89.8)		
	不知道	22(1.3)	8(5.4)		
合格的医学工作者最重要的基本素质	专业技术素质	877(53.9)	63(42.6)	14.914	0.002
	道德素质	608(37.3)	75(50.7)		
	文化素质	46(2.8)	7(4.7)		
	身体素质	97(6.0)	3(2.0)		

命过程的实践中得出的对医学本质的概括,不同的医学模式反映着不同历史阶段医学发展的特征、水平和目标,现代医学模式随着社会发展和医学研究的深入,由生物医学模式转变为生物-心理-社会医学模式^[2]。本次调查结果显示,在回答“现代医学模式是指什么”时,医学专业学生认为现代医学

模式仍旧是“生物医学模式”的比例高于非医学专业学生,而非医学专业学生回答“不知道”的比例则高于医学专业学生,提示医学专业背景的学生不能正确认识现代医学模式的转变,这将导致他们今后的临床诊疗水平和视野仍停留在疾病和患者的自然属性,而不是关注于患者的社会属性和心理特

表 3 学生对医学人文课程的认识和评价(n,%)
Tab.3 Cognition and evaluation of students to medical humanities courses

问 题	医学组	非医学组	χ^2	P
校园医学人文氛围的主导者				
学校	1 147(69.7)	98(66.7)	11.965	0.008
教师	228(13.9)	34(23.1)		
学生	255(15.5)	15(10.2)		
其它	15(0.9)	0(0.0)		
获得医学人文知识最佳途径				
课堂教育	223(13.7)	23(16.1)	7.852	0.097
医学社会实践	1 182(72.8)	98(68.5)		
校园医学人文氛围	132(8.1)	19(13.3)		
人文讲座或论坛	77(4.7)	3(2.1)		
其它	10(0.6)	0(0.0)		
参加过医学相关的社会实践				
是	1 329(80.6)	110(74.3)	3.405	0.065
否	319(19.4)	38(25.7)		
参加医学相关社会实践地点				
学校	574(35.7)	53(40.2)	1.050	0.305
校外	1 034(64.3)	79(59.8)		

征,从而无法准确诊疗患者。研究还表明即使在医学专科院校学习的非医学专业学生对现代医学模式也表现出了一定的“无知”。此外,53.9%的医学专业学生认为医学工作者最重要的基本素质是“专业技术素质”,一半以上的非医学专业学生则认为是“道德素质”,这种观点的差异再次体现出在传统学科范式影响下,医学教育过分强调医学技术类的知识传授,而社会人文因素对健康与疾病的影响未能受到应有重视。

在医学生中开设人文社科课程,目的是提高医学生的人文素质和培养医学人文精神。本次调查结果显示,医学专业学生对目前学校开设的医学人文课程评价较高,认为“有必要”的比例明显高于非医学组,同时对学校开设医学人文课程的评价也好于非医学专业学生,这提示医科院校目前开设的医学人文课程基本满足了医学专业背景学生的主观需要,但作为单科性医学院校在向综合性医科大学转变过程,如何让所有学生(尤其是非医学专业学生)在有限的教育时空中更全面地了解医学学科群的概貌,建立正确的医学整体观,医学人文学科的建设和研究显得尤为重要^[3]。医学人文学科建设和研究,究其根本就是对学生进行医学人文素质教育,引导他们如何做人,培养其具有高尚的道德情操、创造性思维能力和多维知识视野。然而,学生的医学人文素质的提高,需要相当长的时间才能出成效。因此,作为一项长期艰巨的任务,医学人文科学在医学中的作用必将从更高的层次、更广

的范围重新得到确立和重视^[4]。

国际医学教育专门委员会制定了医学教育的国际标准^[5],提出医学院校以文化素质教育为核心的人才培养模式,本质上就是通过人文素质教育的多样化途径,推动医学模式观念和 practices 的转变,达到国际医学教育的基本标准。文化素质的培养和提高主要取决于个人自身的努力和环境的熏陶,因此良好的校园人文环境对于培养创造性医学人才具有潜移默化的作用^[6],学生生活在其中,耳濡目染,他们的人生追求、价值取向和思想品格不知不觉地在提高。学校应成为营造浓厚医学人文氛围的主导者,两组学生中均 70% 的同学把“学校”作为“构建和营造校园医学人文氛围的主导者”。与此同时,医学人文素质教育必须通过实践活动,才能帮助学生将人文素质理念内化为医德认知,外化为符合医德规范的行为与习惯^[7]。本调查“获得医学人文知识最佳的学习途径”的结果也支持这一观点,以校外(非学校)实践居多,这也为医学院校的学生工作和人文素质教师提出更高的要求,加强与社会的沟通,为学生社会实践和人文素质的提高拓宽通道是学校和教师的职责。

4 参考文献

- [1] 佟春光,张斌. 论医患之间的信任[J]. 医学与哲学:人文社会医学版, 2007(5):34-36.

(下转第 322 页)

儿童肺吸虫脑病 1 例*

田 宜**, 艾 戎***

(贵阳医学院附院 儿科, 贵州 贵阳 550004)

[关键词] 吸虫感染; 肺吸虫病; 脑型; 儿童; 误诊

[中图分类号] R725.3 [文献标识码] B [文章编号] 1000-2707(2015)03-0319-02

肺吸虫病是由肺吸虫引起的人畜共患的寄生虫感染性疾病,常因生吃螃蟹或未煮熟的蟹、喇蛄、饮用生水感染^[1]。肺吸虫脑病是肺吸虫侵入人体脑组织所引起的中枢神经系统性疾病,属于重症肺吸虫病,可致残^[2]。由于肺吸虫脑病少见,且临床表现多样,缺乏特异性,极易误诊。现报告 2011 年 9 月收治儿童肺吸虫脑病 1 例。

1 临床资料

患儿,男性,来自农村,10 岁 8 月,因头痛、眼痛 15 d,加重伴发热 3 d,于 2011 年 9 月 19 日入院。症状为阵发性头痛、眼胀痛,无视物模糊;伴呕吐,2~3 次/d,喷射性,无抽搐、肢体运动障碍等,外院输液治疗(不详)后无好转,3 d 前出现发热,为弛张热,最高温度 39℃。4 年前因左眼外伤手术治疗,现左眼失明。查体:体温(T)37℃,心率(P)80 次/min,呼吸(R)23 次/min,血压(BP)103/78 mmHg,神清,对答切题,营养中等,急性病容,皮肤无黄染、皮疹及出血点,双上臂未见卡疤,浅表淋巴结未扪及,左眼失明,右侧瞳孔 2.5 mm,光敏,颈亢(+),心肺腹(-)。脊柱四肢无畸形,活动自如,肌力、肌张力正常。膝腱反射对称引出,布氏征(-)、克氏征(-)、巴氏征(-)。入院诊断:(1)化脓性脑膜炎?(2)病毒性脑炎?多次血常规中 1 次血常规示嗜酸性粒细胞百分率增高(7.1%),其它几次均无异常,肝肾功能、C 反应蛋白(CRP)无异常,血沉 36 mm/h。脑脊液常规示蛋白(+),细胞总数 $300.0 \times 10^6/L$,有核细胞数 $240 \times 10^6/L$,单

核细胞 30%,多核细胞 70%。脑脊液生化示葡萄糖降低(1.28 mmol/L),其余正常。脑脊液细菌培养、革兰染色、抗酸染色、墨汁染色均为(-)、脑脊液乙脑抗体(-);结核抗体(PPD)试验(-)。入院前头颅 MRI 示顶、枕叶异常信号影,考虑感染性病变(图 1a、b);胸部 CT 提示(1)右肺上叶支气管扩张、左侧上叶纤维灶,(2)右侧局部斜裂增厚,(3)肝右叶肝内胆管多发结石/钙化灶。入院后复查增强头颅 MRI(图 1c)示右顶、枕叶异常信号伴散在中等强化,考虑感染性病变。暂予青霉素、头孢曲松钠抗感染,阿昔洛韦抗病毒,甘露醇降颅压等对症治疗。5 d 后复查脑脊液生化及常规均较入院时好转,结果显示:生化(-),常规示蛋白(-)、细胞总数 $230.0 \times 10^6/L$ 、有核细胞数 $140 \times 10^6/L$ 、单核细胞数 44%、多核细胞 56%,脑脊液细菌培养(-)、墨汁染色(-)。但患儿病情依然加重,出现意识障碍、昏睡、失语、左侧肢体偏瘫,脑脊液好转与病情进展不吻合。予利福平、异烟肼、吡嗪酰胺、链霉素诊断性抗痨治疗,复查头颅增强 MRI 示右枕、顶叶感染性病变,累及小脑幕(图 1d),提示病情进展。考虑误诊,再次仔细追问病史,患儿既往喜喝生水,曾生吃螃蟹,提示脑寄生虫感染可能性大。行大便、痰、胃液查吸虫卵(-),血囊虫 IgG 抗体(-),血肺吸虫 IgG 抗体(+).修正诊断:肺吸虫脑病。予吡喹酮口服治疗,22 mg/(kg·次),3 次/d,3 d 为 1 疗程。吡喹酮治疗 1 疗程后,意识障碍好转,可配合进食、咀嚼,仍发热,复查头颅 CT 示:左顶叶新见病变,考虑进展可能(图 1e)。第 2 疗程后热退,神清,可发声,右

*[基金项目] 贵州省省长基金临床应用课题专项研究(No:2012118)

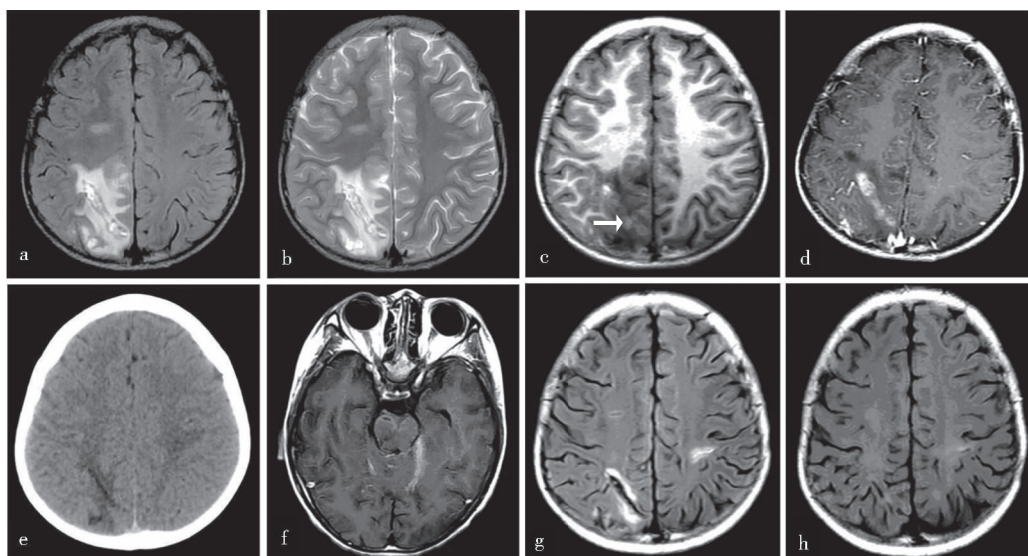
** 贵阳医学院 2012 级儿科学研究生

*** 通信作者 E-mail: airong068@126.com

网络出版时间:2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.1003.019.html>

眼可追物,吞咽好,左侧肢体活动明显好转。复查头颅 MRI 示:右侧顶、枕叶病灶较前吸收,呈“隧道样”改变,病灶边缘胶质增生;双侧顶叶及右侧小脑半球见新发病灶(图 1f、g)。第 3 疗程后可简单

言语,四肢肌力 4 级,肌张力正常。2 月后头颅 MRI:脑内病灶均较前明显好转(图 1h)。半年后随访患儿四肢活动自如。2 年后复查头颅 MRI:右顶叶虫体钙化。



注:a 为 T2/FLAIR 病灶呈条状高信号;b 为 T2WI 显示病灶边界清楚,无占位效应;c 为 T1WI 见右顶叶稍低信号,其内见高信号出血灶(箭头);d 为 T1WI 增强,双侧小脑幕呈条状强化,左侧为著;e 为 CT 显示右侧顶叶无占位效应;f 为 T1WI 增强后显示病灶多发;g 为 T2/FLAIR 见右侧顶叶病灶较前明显缩小,另左侧顶叶见新发病灶;h 为 T2/FLAIR 显示双侧顶叶病灶已基本消失

图 1 肺吸虫脑病头颅 CT 及 MRI 表现

Fig. 1 Cranial CT and MRI features of the patient with cerebral paragonimiasis

2 讨论

儿童肺吸虫病系进食不熟的石蟹(溪蟹)或喇蛄后将吸虫的囊蚴食入而致病,若成虫进入脑组织可导致脑水肿、出血并形成肉芽肿,累及附近脑组织,病变主要位于顶叶、额叶、白质、内囊、基底节、侧脑室^[1]。临床上可表现癫痫发作、剧烈头痛、恶心、呕吐、单侧肢体发麻、无力、活动障碍、发热等多种中枢神经系统受损的临床表现,常混合出现,极易误诊,误诊率达 80%^[2]。除骨骼系统以外,几乎所有组织脏器均可被肺吸虫侵犯,肺吸虫脑病致残率高,但如能及时确诊,合理治疗,预后较好^[3]。

本例患儿起病急,病程短,除发热、高颅压表现外,入院初头颅 MRI 提示脑实质损害,脑脊液常规示白细胞数增高,以多核细胞为主,葡萄糖降低,颅内感染诊断明确,脑脊液改变不典型,病因不明,首先考虑部分治疗后化脓性脑膜炎,伴脑实质损害,兼顾病毒性脑膜炎治疗,观察疗效,复查脑脊液进

一步排除结核性脑膜炎及新隐球菌脑膜炎。治疗后复查脑脊液好转,但临床症状加重,结合患儿来自农村,无卡疤,第 1 次脑脊液糖降低,伴脑实质损害表现,考虑结核性脑膜炎,故予诊断性抗痨治疗,仍未见好转。追问病史,得知患儿病前生吃螃蟹后方考虑脑寄生虫感染,参照肺吸虫脑病的诊断依据,完善寄生虫抗体相关检查后最终确诊^[4]。肺吸虫病首选吡喹酮治疗。每疗程总剂量 150 ~ 225 mg/kg,分 3 d 服,3 次/d。脑型和感染重者间隔 1 周重复 1 疗程^[5]。由于吡喹酮对肺吸虫幼虫效果不如成虫,吸虫感染多以幼虫形式存在,若疗效差,必要时需增加药物剂量与疗程^[6]。该患儿经过 2 疗程治疗后,临床症状明显好转,头颅影像学好转同时提示新增病变。最终经过 3 疗程吡喹酮治疗,症状消失,病灶消散,临床痊愈,预后良好。治疗中未发现严重不良反应。

病程中后期,头颅 MRI“隧道”征是肺吸虫脑病的典型病理特征^[7]。若同时伴有周围水肿,应

(下转第 322 页)

肠痿病人因 VitB₁ 缺乏引起的韦尼克脑病 1 例

耿维凤, 李明*

(贵阳医学院附院, 贵州 贵阳 550004)

[关键词] B 族维生素; 肠痿; 韦尼克脑病

[中图分类号] R656; R742 [文献标识码] B [文章编号] 1000-2707(2015)03-0321-02

韦尼克脑病(Wernicke's encephalopathy, WE)是维生素 B₁ (VitB₁) 缺乏所致的大脑神经系统疾病, 患者大多有慢性酒精中毒和长期酗酒史^[1]。WE 的病因是硫胺(VitB₁) 缺乏, 可分为酒精性 WE 及非酒精性 WE (nWE), 前者有长期酗酒史, 相对多见, 后者由于各种引起 VitB₁ 缺乏的因素而致病, 如妊娠剧吐、肠外营养、胃肠道手术等^[2]。2011 年 1 月 19 日收治 1 例肠梗阻患者, 2 次手术后发生肠痿, 继而引起 WE, 现报道如下。

1 临床资料

患者, 男, 52 岁, 因“持续腹胀伴肛门停止排气, 排便 2 d”急诊入住某市级医院。入院查体: 体温 36℃, 脉搏: 82 次/min, 呼吸 20 次/min, 血压 130/98 mmHg; 根据患者症状体征, 腹平片等检查结果确诊为机械性肠梗阻, 经保守治疗 1 d 后症状无缓解, 腹痛, 腹胀加重, 急诊行“肠粘连松懈并小肠浆膜修补术”, 术后第 2 天肛门排气, 继之排便, 后开始进食。术后第 8 天患者再次出现肠梗阻情况, 经保守治疗无缓解, 并出现持续腹痛并阵发性绞痛及腹膜炎体征, 再次行“剖腹探查术”, 术后第 2 天肛门排气, 继之排便。术后第 3 天出现小肠炎, 量 500~2 000 mL/d。治疗过程中患者进食后出现反复呕吐, 并出现顽固性呃逆, 精神、睡眠欠佳, 有烦躁、嗜睡症状, 继之出现神志不清、烦躁、言语紊乱、嗜睡, 呈阵发性发作, 时而呼之能应, 被动解除差, 四肢伴有阵发性痉挛, 随后患者出现昏迷, 经抢救苏醒后失忆症状严重, 并有幻觉情况。第 2 次手术后第 35 天, 病人肠痿闭合, 饮食及二便正常, 但逐渐出现行走不稳、需他人扶助等小脑共济失调症状。会诊后诊断为 VitB₁ 严重缺乏引起的 WE。

2 讨论

WE 是 VitB₁ 缺乏导致的急症。在中国精神疾病分类方案中, WE 归类于酒中毒所致精神障碍, 及时诊断和治疗可完全恢复, WE 的病死率为 10%~20%, 发病年龄为 30~70 岁, 男性稍多。健康人体内储存的 VitB₁ 可供人体 18 d 的消耗, 因此引起较长时间 VitB₁ 缺乏的因素均能导致 WE 的发生。

本例患者 2 次手术后出现肠痿, 肠痿患者的肠蠕动减弱和肠道功能减退, 导致营养物质吸收障碍, 并且由于大量消化液的丢失, 病人可出现明显的水、电解质紊乱及酸碱代谢失衡, 最终引起营养不良及 VitB₁ 缺乏而致小脑萎缩、共济失调的 WE^[3]。

WE 误诊率很高, 原因主要与临床医生对此病认识不足或者 WE 症状不典型有关, 仅有 1/3 的患者表现为典型的三联症(意识或精神障碍、眼外肌麻痹和共济失调)^[4]。临床上多数患者三联症不典型。

早期治疗 WE 患者, 眼外肌麻痹及意识障碍等症状可迅速得到改善, 但记忆障碍、共济失调和周围神经病变可能需要相当长的时间才能恢复, 甚至不能完全恢复, 延误治疗可能危及患者生命。WE 的病因治疗最为重要, 因慢性酒中毒患者胃肠吸收不良, VitB₁ 口服或肌注作用不大, 应立即静脉滴注 VitB₁。因为葡萄糖代谢可耗尽体内的 VitB₁, 当补充大量糖类可诱发典型的 WE 发作^[5]。伴意识障碍的慢性酒中毒、营养不良、低血糖和肝病等患

*通信作者 E-mail: xlm3@yeah.net

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.0928.002.html>

者,静脉输入葡萄糖前应通过非肠道补充 VitB1,防止诱发 WE。补充 VitB1 时还应禁用激素,避免患者加重丙酮酸堆积,导致患者昏迷,甚至死亡^[6]。慢性酒精中毒所致的 WE 患者可伴镁缺乏,在依赖硫胺素代谢的几个生化过程中镁是辅助因子,镁缺乏可降低硫胺素的作用,使硫胺素缺乏的病情恶化,故应补镁。

在临床上长期禁食或营养不良的病人如果出现无法解释的精神症状、眼症或共济失调时,应高度警惕 WE 的可能^[7]。早期及时补充大剂量 VitB1 有确切的疗效,临床症状可获得部分或完全逆转,但如未能及时诊断,WE 仍可能存在着不可逆的神经病理变化^[8]。

3 参考文献

[1] 朱春丽,黄显雄. 韦尼克脑病的诊断和误诊原因分析

[J]. 中华全科医学, 2011(1):65-66.

[2] 陈峰,刘涛. 非酒精性 Wernicke 脑病的临床和 MRI 表现[J]. 重庆医科大学学报, 2013(12):1517-1521.

[3] 张春礼,解寒冰. 肠外瘘并发韦尼克脑病的诊治分析[J]. 中华普通外科杂志, 2012(5):421.

[4] 雷鸣,张媛媛. 非酒精性 Wernicke 脑病 3 例报告[J]. 临床神经病学杂志, 2010(8):320.

[5] 徐园,邵钦树. 腹部大手术后并发韦尼克脑病[J]. 中华胃肠外科杂志, 2013(5):471-473.

[6] 陈秀利,秦震声. 手术相关性韦尼克病临床分析[J]. 医药前沿, 2013(7):48-49.

[7] 贺爱军,任羽. 长期禁食患者并发韦尼克脑病 10 例临床分析[J]. 吉林医学, 2011(12):2407.

[8] 秦震声,朱德祥. 胃肠道手术后并发 Wernicke[J]. 脑病中国实用外科杂志, 2012(8):690.

(2014-12-09 收稿,2015-01-30 修回)

中文编辑: 周 凌

(上接第 318 页)

[2] 宋强玲,零东智,骆洋,等. 现代医学模式下形势政策课与学生思想政治素质的培养[J]. 辽宁医学院学报: 社会科学版, 2013(3):26-31.

[3] 纪武昌,杨金花. 单科性医学院校人文素质教育现状及对策[J]. 广西教育, 2011(33):68-69.

[4] 王茜,徐靖. 高等医药院校医学人文社会科学研究存在的问题及对策[J]. 中华医学教育探索杂志, 2012(5):466-468.

[5] 武玉梅. 医学人文—医学生创新培养模式的标志成果

[J]. 山西师范大学学报:自然科学版, 2008(S1):135-137.

[6] 贺兰英. 医学生医学人文精神认知调查研究[J]. 卫生软科学, 2012(1):30-33.

[7] 许俊卿,詹健铨,黎琳. 中国大陆、香港、台湾三地人文教育的比较及其启示[J]. 医学教育探索, 2008(6):651-653.

(2014-12-25 收稿,2015-02-28 修回)

编辑: 吴昌学

(上接第 320 页)

高度怀疑肺吸虫脑病。但本例患儿除发病初有发热、高颅压、脑脊液异常、影像学异常等颅内感染表现外脑脊液改变不典型,影像学也未出现“隧道征”典型改变,造成诊断延误。通过本病例的诊治,给出以下几点建议,供临床参考:(1)临床医师应提高对寄生虫感染性疾病的认识,充分了解其临床表现复杂性;(2)详细流行病学询问有助诊断;(3)重视寄生虫感染的特殊检查,嗜酸性粒细胞增高常为诊断重要线索;(4)动态头颅 MRI 对肺吸虫脑病诊断有重要价值;(5)药物治疗个体化。

3 参考文献

[1] 胡亚美,江载芳. 褚福棠实用儿科学[M]. 7 版. 北京:

人民卫生出版社, 2002:1112-1115.

[2] 许应奎. 并殖吸虫病误诊 12 例分析[J]. 中国误诊学杂志, 2008(15):3641.

[3] 姚永秀,刘 娅,曹亚丽,等. 以多脏器损害为主要表现的肺吸虫病的诊治教训并文献复习[J]. 中国医药指南, 2010(34):131-132.

[4] 翟瑄,梁平,夏佐中,等. 小儿脑型肺吸虫病的诊治[J]. 中华小儿外科杂志, 2009(5):291-293.

[5] 黄新国. 小儿肺吸虫病 23 例临床分析[J]. 医学临床研究, 2007(4):658-659.

[6] 陈文碧,王光西,张锡林. 大剂量吡喹酮治疗脑脊髓型斯氏狸殖吸虫病的疗效观察[J]. 四川医学, 2010(1):48.

[7] 张伟强,陈美,孙继红. 肺吸虫脑病 MRI 表现[J]. 影像诊断与介入放射学, 2010(1):21-22.

(2015-01-07 收稿,2015-02-22 修回)

编辑: 吴昌学

长期误诊的疣状皮肤结核 1 例

沙璐莹*, 汪 宇, 魏羽佳**

(贵阳医学院附院 皮肤科, 贵州 贵阳 550001)

[关键词] 皮肤结核; 疣状; 临床表现; 皮肤组织病理

[中图分类号] R529.4 [文献标识码] B [文章编号] 1000-2707(2015)03-0323-02

皮肤结核为结核杆菌侵犯皮肤或其它脏器的结核病灶所继发的皮肤损害, 病程缓慢, 可迁延数十年或更久。临床分为原发性皮肤结核、再感染性皮肤结核及血行性皮肤结核或结核疹 3 大类, 其中原发性皮肤结核好发于暴露部位^[1]。现报告 1 例疣状皮肤结核。

1 临床资料

患者, 男性, 61 岁, 农民。因右侧面部皮疹 20 余年, 于 2014 年 1 月就诊。20 余年前无明显诱因, 患者右耳垂部出现一黄豆大小红色丘疹, 无明显自觉症状, 继而变成小硬结, 当地医院就诊, 诊断不详, 给予激光治疗后皮疹加重, 右侧耳垂部皮肤溃烂、流脓、坏死, 皮肤组织缺损; 其后皮疹缓慢向周围扩大, 并逐渐蔓延至右耳及右侧面部, 主要表现为浸润性红斑、斑块, 期间皮疹破溃, 可自愈, 愈合后局部形成疤痕及结节, 结节逐渐增大, 表面角质增厚, 粗糙不平, 有痂皮覆盖, 可相互融合呈疣状, 曾多次于当地医院就诊, 考虑“湿疹、真菌感染”等, 对症治疗但疗效不佳, 皮疹迁延不愈。近几年皮损逐步扩大, 表面凹凸不平, 有较多疣状结节, 偶有轻微瘙痒, 患者无午后低热、盗汗、咳嗽、咳痰、体重减轻等症状, 否认结核病史及结核接触史。体格检查示: 一般情况可, 各系统检查未见异常。皮肤科检查示右耳及右侧面部见境界清楚的浸润性暗红色斑块, 形状不规则、呈弧形、高出皮肤约 5 mm、疣状边缘、四周呈领圈样、暗红色红晕、表面凹凸不平且角化明显, 见较多灰白色鳞屑、深褐色痂壳及疣状结节, 疣状结节质硬、无压痛、边缘清

楚、呈堤状, 皮损部分疣状增殖结痂脱落, 留有萎缩性网状瘢痕(图 1-A)。实验室及辅助检查示血、尿常规, 肝肾功均正常。胸片未见活动性及陈旧性结核病灶, 未见其他异常, 皮损处组织液真菌镜检及真菌培养均阴性。皮损组织病理检查示: 角化过度, 角化不全, 角栓形成, 表皮萎缩、变薄; 真皮全层见上皮样细胞、淋巴细胞、组织细胞形成肉芽肿, 部分肉芽肿中央见干酪样坏死, 肉芽肿周边见少量多核巨细胞, 符合皮肤结核的病理改变, 见图 2。诊断: 疣状皮肤结核。明确诊断后, 给予正规抗结核治疗(异烟肼片 0.3 g/d, 利福平胶囊 0.45 g/d, 乙胺丁醇片 0.75 g/d, 吡嗪酰胺片 1.5 g/d, 顿服)。治疗后每月复诊一次(见图 1-B~D), 皮疹逐步变平、脱落, 未见新发皮疹, 每月复查肝肾功、电解质、血常规未见异常。治疗 5 后面部暗红色疣状斑块已变平, 颜色明显变淡, 疣状结节及痂壳脱落, 灰白色鳞屑明显减少。目前仍在随访治疗中。

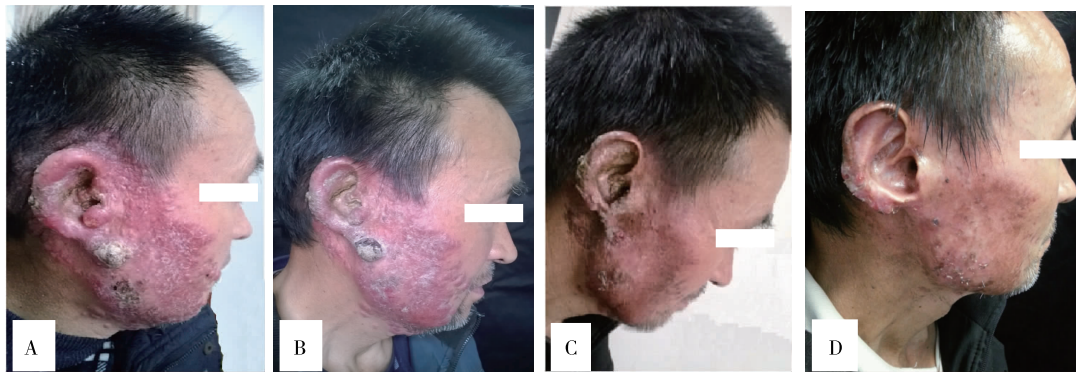
2 讨论

疣状皮肤结核是结核杆菌经皮肤外伤处侵入皮肤而发病, 好发于暴露部位, 如手指、手背、面部、臀部、小腿等处^[2-4]。皮肤结核典型的皮损表现为中央网状瘢痕、疣状边缘、四周红晕“三廓症状”。本例患者皮疹表现为面部的局限性肉芽肿, 伴增殖及萎缩, 病理组织表现为真皮的肉芽肿改变, 并有干酪样坏死及多核巨细胞, 抗痂治疗效果明显, 因此诊断疣状皮肤结核成立。临床上皮肤结核要与下列皮肤病相鉴别^[5-7]: (1) 着色真菌病, 临床上为斑块疣状增生、炎症明显、常有外伤史, 作真菌或

* 贵阳医学院 2012 级皮肤科研究生

** 通信作者 E-mail: 362971672@qq.com

网络出版时间: 2015-03-19 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150319.1010.022.html>



A 为治疗前,B、C、D 为治疗 1、3、5 月后

图 1 疣状皮肤结核患者外观

Fig.1 Appearance of the verrucous scrofuloderma patient

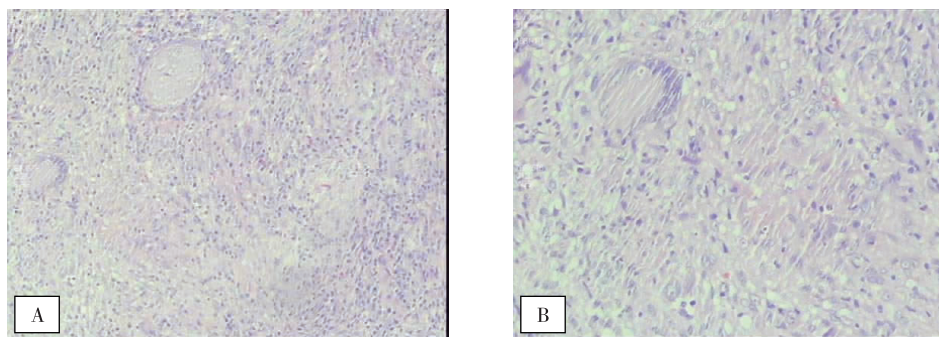


图 2 疣状皮肤结核患者组织病理结果(A: $\times 20$,B: $\times 40$;HE 染色)

Fig.2 Histopathological results of the verrucous scrofuloderma patient

病理检查能查到真菌;(2)北美芽生菌病,主要临床损害为化脓性肉芽肿,损害中心愈合结疤,边缘隆起呈疣状,组织学检查可见大量真菌孢子。根据患者临床表现、辅助检查结果及治疗效果反馈可与上述疾病鉴别。

本例患者有 20 余年的病史,长期误诊,这是本例报道的特殊之处。分析原因,与当地卫生工作人员对皮肤结核疾病的认识不足,同时未遵循正规的临床诊疗路径,对诊断不明的面部肉芽肿贸然进行激光治疗,导致患者病情加重^[8]。故在面部丘疹、结节等皮损未明确原因前,应及早行相关检查明确病因,规范治疗。

3 参考文献

[1] 张学军. 皮肤性病学[M]. 北京:人民卫生出版社,

2013:76-77.

- [2] 倪晓静,蒋亦秀,黄池清,等. 巨大疣状皮肤结核 1 例[J]. 临床皮肤科杂志, 2013(11):694-695.
- [3] 周大千. 面颈部皮肤结核临床治疗分析[J]. 医学信息杂志, 2013(2):149.
- [4] 颀玉胜,彭学标,范文成,等. 面颈部皮肤结核 12 例临床分析[J]. 中国美容医学, 2011(2):268-270.
- [5] 宋颖,杨剑强. 皮肤结核 21 例临床分析[J]. 现代实用医学, 2010(12):1372-1373.
- [6] 王小闽. 5 例皮肤结核回顾性分析[J]. 江西医药, 2011(9):848-849.
- [7] Sethuraman G,Ramesh V. Cutaneous Tuberculosis in children[J]. Pediatr Dermatol, 2013(1):7-16.
- [8] 周则琼. 皮肤型结核治疗的研究进展[J]. 临床肺科杂志, 2011(1):93-94.

(2014-12-22 收稿,2015-02-20 修回)

编辑: 吴昌学