

贵阳医学院学报

2015 年 第 40 卷 第 4 期

目 次

特约专论

- Wnt/ β -catenin 信号通路与器官纤维化的关系 石春花, 石明隽, 王圆圆, 等(325)
- DM 大鼠肾组织 Id2 蛋白表达变化与纤维化病变发生发展关系的研究 文箫颖, 苏 博, 肖 瑛, 等(330)
- 丹酚酸 B 对高糖培养肾小管上皮细胞转分化的影响及意义 张昌志, 石明隽, 王圆圆, 等(337)

基础研究

- 血清骨钙素水平与低促性腺激素性性腺功能减退症相关性研究 孙 超, 孙 发, 邢俊平, 等(342)
- 小鼠肠缺血再灌注诱发多器官功能障碍的动物模型研究 郑德义, 王 毅, 杜 娇, 等(346)
- 紫外分光光度法和蒽酮-硫酸法测定参芎葡萄糖注射液中总糖含量 朱 迪, 谭 丹, 侯靖宇, 等(349)
- 原花青素对小鼠脑缺血再灌注损伤的神经保护机制 张文艳, 孙宝飞, 余资江, 等(352)
- 线粒体 ATP 敏感性钾通道开放对大鼠肺缺血-再灌注损伤的保护作用 李 涛, 赖春风, 曾茂森, 等(356)
- 多聚赖氨酸与 EDTA 交联物对小鼠成纤维细胞的毒性研究 李英琦, 张海燕(360)
- 检测不同活动期强直性脊柱炎患者外周血 Th1、Th2 和 Treg 细胞的意义 王作龙, 钟乃凤, 马 莉(363)
- 老年居民社区卫生服务的利用现状及影响因素 卢 芸, 田 密, 朱 焱(368)
- 脐带血血清分离培养人胎盘间充质干细胞 周心涛, 赵黎丙, 闵新文, 等(373)

临床研究

- 健康教育对哮喘儿童家长认知水平及治疗依从性的影响 罗新兵, 朱晓萍, 李 波, 等(377)
- 氯吡格雷联合阿司匹林治疗老年短暂性脑缺血发作 黄 伟(381)
- 垂体后叶素治疗剖宫产术后宫腔积血 张 鹏, 陈爱华, 高晓艳, 等(384)
- 6 742 名小学生屈光状态调查 张丽娟, 裴付彬, 席秀芝, 等(388)

孟鲁司特联合布地奈德治疗儿童咳嗽变异性哮喘 张 静(391)

CT 仿真内镜与双对比造影检查诊断胃肠道间质瘤价值 李 津,陈晋平,张 林,等(394)

全胸腔镜肺叶切除术治疗直径大于 5 cm 的非小细胞肺癌 魏 巍,李勇生,钟 标,等(397)

灯盏花素联合前列地尔治疗脑梗死 周大淑(401)

前列腺液中白细胞、卵磷脂小体与慢性前列腺炎病情程度的相关性 潘秀芳,黎 滨,王玉丰(404)

康复训练联合消栓颗粒治疗对脑卒中患者预后的影响 刘 萍(407)

浓替硝唑含漱液治疗智齿冠周炎的临床疗效..... 侯 豫(410)

利用定量组织速度成像技术分析原发性高血压心室舒张功能 洪 刘,吴立荣,谭 青,等(413)

盆底肌群功能训练对初产妇顺产后尿失禁的效果..... 李俊英,贾秀荣,刘富霞(416)

宫颈环形电切术治疗宫颈癌前病变的临床效果..... 何金慧,汪 英(420)

参加家庭养护的残疾人心理状况调查研究 沈红艳,赵姣文,王洪英,等(423)

核磁共振扩散加权成像在宫颈癌分期中的价值..... 陈 杰,郭晓山(427)

病例报道

新生儿 Dandy-Walker 综合征 2 例 杨春霞,陈晓霞,陈茂琼(430)

《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. 4 2015

CONTENTS IN BRIEF

- Study on the Relationship of Changes of Id2 Protein Expression in Diabetic Rat Kidney Tissues with Occurrence and Development of Fibrosis Lesions WEN Qingying, SU Bo, XIAO Ying, et al(330)
- The Effect of Salvianolic Acid B on High-Glucose Induced Renal Tubule Epithelial Cell Epithelial-Mesenchymal Transition ... ZHANG Changzhi, SHI Mingjun, WANG Yuanyuan, et al(337)
- Correlation between Serum Osteocalcin and Hypogonadotropic Hypogonadism SUN Chao, SUN Fa, XING Junping, et al(342)
- Research on Multiple Organ Dysfunction Syndrome Model Induced by Intestinal Ischemia/Reperfusion in Mice ZHENG Deyi, WANG Yi, DU Jiao, et al(346)
- UV Spectrophotometry and Anthrone Sulfur Method Assaying Total Sugar in Shenxiong Glucose Injection ZHU Di, TAN Dan, HOU Jingyu, et al(349)
- The Protective Effect of Procyanidins on Cerebral Ischemia Reperfusion Injury in Mice ZHANG Wenyan, SUN Baofei, YU Zijiang, et al(352)
- Protective Effects of Opening of Mitochondrial ATP Sensitive Potassium Channel on Ischemia-reperfusion Injury in Rat Lung *in vivo* ... LI Tao, LAI Chunfeng, ZENG Maosen, et al(356)
- Toxicity Study of Conjugates of PLL and EDTA on Mouse Fibroblast LI Yingqi, ZHANG Haiyan(360)
- The Clinical Significance of Detection of Th1, Th2 and Treg Cells in Ankylosing Spondylitis Patients WANG Zuolong, ZHONG Naifeng, MA Li(363)
- The Present Situation and Influencing Factors of Community Health Service for the Elderly Residents LU Yun, TIAN Mi, ZHU Yan(368)
- Isolation and Culture of Human Placenta Derived Mesenchymal Stem Cells in Umbilical Cord Serum ZHOU Xintao, ZHAO Libing, MING Xinwen, et al(373)
- Effects of Health Education on the Cognitive Level and Treatment Compliance of Parents of Asthmatic Children LUO Xinbing, ZHU Xiaoping, LI Bo, et al(377)

The Curative Effect of Clopidogrel Combined with Aspirin on Transient Ischemic Attack	HUANG Wei(381)
Pituitrin Treatment on Postoperative Cesarean Section Hematometra	ZHANG Peng, CHEN Aihua, GAO Xiaoyan, et al(384)
Investigation and Analysis of Refractive Statws of 6 742 Pupils in Different Grades	ZHANG Lijuan, PEI Fubing, XI Xiuzhi, et al(388)
The Curative Effect of Montelukast and Budesonide on Children with Cough Variant Asthma	ZHANG Jing(391)
CT Virtual Endoscopy and Pneumo-barium Double Contrast in Diagnosis of Gastrointestinal Stromal Tumor	LI Jin, CHEN Jinping, Zhang Lin, et al(394)
Feasibility Study of Full Thoracoscopic Lobectomy Treatment on Non-small Cell Lung Cancer Tumor Greater than 5 cm Diameters	WEI Wei, LI Yongsheng, ZHONG Biao, et al(397)
Clinical Study on Effect of Breviscapine Combined with Alprostadil in the Treatment of Cerebral Infarction	ZHOU Dashu(401)
A Study on Correlation of Leukocyte and Lecithin Body with Chronic Prostatitis by EPSRT	PAN Xiufang, LI Bing, WANG Yufeng(404)
The Effect of Rehabilitation Training Combined with Xiaoshuan Particles on Improving Stroke Prognosis	LIU Ping(407)
Clinical Efficacy of Concentrated Tinidazole Gargles on Pericoronitis of Wisdom Tooth ...	HOU Yu(410)
Applying Quantitative Tissue Velocity Imaging Technique to Evaluate the Right Ventricular Diastolic Function in Essential Hypertension	HONG Liu, WU Lirong, TAN Qing, et al(413)
Effect of Pelvic Floor Muscle Training on Urinary Incontinence after Delivery of Primipara	LI Junying, JIA Xiurong, LIU Fuxia(416)
Clinical Effect of Loop Electrosurgical Excision Procedure on Cervical Intraepithelial Neoplasia	HE Jinhui, WANG Ying(420)
An Investigation on Psychological Status of the Handicapped in Family Care	SHEN Hongyan, ZHAO Jiaowen, WANG Hongying, et al(423)
The Value of NMR DWI in Cervical Cancer Staging	CHEN Jie, GUO Xiaoshan(427)

Wnt/ β -catenin 信号通路与器官纤维化的关系*

石春花, 石明隽**, 王圆圆, 肖 瑛, 张昌志, 孙 兰, 郭 兵

(贵阳医学院 病理生理学教研室, 贵州 贵阳 550004)

[关键词] Wnt; β -catenin; 信号传导; 纤维化

[中图分类号] R730.26 [文献标识码] A [文章编号] 1000-2707(2015)04-0325-05

Wnt 基因是一种原癌基因, 1982 年 Nusse 等^[1]在用小鼠乳头瘤病毒(mouse mammary tumor virus, MMTV)诱导小鼠乳腺癌过程中发现了 Wnt 基因, 由于该基因的激活依赖 MMTV 的插入(insertion), 因此被命名为 Int-1。后研究发现 Int-1 基因与 1973 年 Sharma 报道的果蝇的无翅基因 Wingless (wg) 为同源基因, 因此将两者合并称为 Wnt 基因^[2]。在人类已发现和经实验证实共有 19 个 Wnt 基因家族成员^[3], 其编码的 Wnt 蛋白属于分泌型糖蛋白, 根据信号转导的不同方式方式, Wnt 信号转导途径可分为两条: 经典 Wnt/ β -catenin 途径 (canonical Wnt/ β -catenin signal pathway) 和非经典的 Wnt 信号途径 (noncanonical Wnt signal pathway), 后者又包括 Wnt-平面细胞极性途径 (the planar cell polarity, PCP, 即 Wnt/PCP 途径) 和 Wnt- Ca^{2+} 途径^[4]。Wnt 信号通路参与调控细胞的增殖、分化、凋亡、癌变及机体免疫等生理病理过程。近期研究证实: Wnt 信号通路的异常与肾脏、肝、肺、皮肤等各种组织器官纤维化疾病的发生与进展关系密切。

本文拟对目前认识比较清楚的 Wnt/ β -catenin 信号通路的组成、信号转导过程、调节及其在器官纤维化中的作用做一简要综述。

1 参与 Wnt/ β -catenin 信号通路的主要信号分子

Wnt/ β -catenin 信号通路主要由细胞外因子 Wnt 蛋白、7 次跨膜卷曲蛋白受体佛力子 (Frizzled, Fzd)、低密度脂蛋白相关蛋白 5/6 (low density lipo-

protein-related proteins 5/6, LRP5/6)、散乱蛋白 (disheveled, Dvl/Dsh)、糖原合成激酶 3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)、结肠腺瘤性息肉蛋白 (adenomatous polyposis coli, APC)、轴蛋白 (Axin)、酪蛋白激酶 1 (CK1)、 β -连环蛋白 (β -catenin) 及核内转录因子 T 细胞因子/淋巴增强因子 (TCF/LEF) 等信号分子组成^[5]。

1.1 配体 Wnt 蛋白

Wnt 蛋白是由 Wnt 基因编码的一类分泌型糖蛋白, 长度约 350 ~ 400 个氨基酸。在脊椎动物进化过程中, Wnt 蛋白序列中氨基酸替换出现的频率极低。即使相关性很高的成对蛋白如 Wnt3 和 Wnt3a、Wnt5a 和 Wnt5b、Wnt7a 和 Wnt7b 等之间的差异早在 400 亿年前就形成, 因此, 人类同小鼠 Wnt 蛋白比较无明显差异^[6]。

Wnt 蛋白既可与自产细胞的膜受体结合发挥自分泌调节作用, 也可与邻近细胞的膜受体结合发挥旁分泌调节作用。不同的 Wnt 蛋白既可有相同的作用, 也可有不同的效应, 这种复杂作用一方面可能是各种 Wnt 蛋白在不同物种、不同组织细胞中表达具有一定特异性, 另一方面与 Wnt 蛋白通过结合不同的特异性受体而发挥活性作用有关^[7]。

1.2 接收 Wnt 信号的受体

Fzd 家族是 Wnt 蛋白的特异膜受体, 是一类反复 7 次穿越细胞膜的跨膜蛋白, 目前发现在哺乳类该家族由 10 个成员组成。Fzd 受体可分为含一段半胱氨酸富集结构域 (cysteine-rich ligand-binding domain, CRD) 的胞外区、七螺旋跨膜区和胞质内羧基端 3 个部分。其中 CRD 是 Fzd 与 Wnt 蛋白相

* [基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (编号: 81360116); 贵州省科技厅基金资助项目 [No: 黔科合 J 字 (2012) 2163 号]

** 通信作者 E-mail: smjtyf@126.com

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1834.006.html>

结合的部位,CRD 区域氨基酸残基的突变会导致 Fzd 与 Wnt 相互作用的消失^[8]。Wnt 蛋白与 Fzd 受体结合后可将信号传入胞内,并且这种结合有一定特异性。但 Wnt 结合 Fzd 受体后如何启动胞内信号传导过程目前尚不清楚。

另一类受体为 LRP5/6^[9-10]。LRP5/6 是单跨膜蛋白,含有 3 个保守区域,分别为胞外区表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)重复序列和低密度脂蛋白受体(low-density lipoprotein-receptor, LDLR)重复序列、跨膜区以及胞内区。LRP5/6 是 Wnt 辅助膜受体,对启动经典的 Wnt 途径就是必须的,其突变丢失膜内结构域将阻滞 Wnt 传导。LRP5/6 胞外区可结合 Wnt 蛋白和 Fzd 受体相互作用将 Wnt 信号从胞外传入胞内。

1.3 散乱蛋白(disheveled, Dvl/Dsh)

Dvl/Dsh 是 Wnt/ β -catenin 通路信号从受体传递至胞内的中心分子,广泛存在于机体组织细胞胞浆中,由 670 个氨基酸残基组成,是一种磷蛋白,其丝氨酸和苏氨酸残基易受 Wnt 信号激活而被磷酸化,磷酸化的 Dvl/Dsh 定位到细胞膜。不同种属的 Dvl/Dsh 基因已被克隆和测序,通过同源比较发现,Dvl/Dsh 蛋白 3 个高度保守的结构域是激活 Wnt 信号所必须的:N 端的 DIX 结构域,中间 PDZ 结构域及 C 端 DEP 结构域。这 3 个结构域在 Dvl/Dsh 调节信号转导中有不同的功能:Dvl 能通过它的 N 端 DIX 结构域和 PDZ 与 DEP 之间的一部分序列与 Axin 相互作用;PDZ 结构域可与 Fzd 的 C 端一个保守的 SXV 结构相互作用;DEP 结构域是转膜所必需的,DEP 结构域包含一个 PH 结构域,通常 PH 结构域有转膜的功能^[11]。

1.4 β -catenin 降解复合物

β -catenin 降解复合体主要由糖原合酶激酶-3 β (glycogen synthase kinase-3 β , GSK-3 β)、结肠腺瘤样息肉病基因产物(adenomatous polyposis coli, APC)、Axin、酪蛋白激酶 1(casein kinase 1, CK1)等构成。

GSK3 β 属丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,存在于所有真核生物组织中,GSK3 β 广泛参与各种细胞功能的调节,包括代谢调节、基因表达调节及细胞骨架完整性的维持^[12]。GSK3 β 在 β -catenin 破坏复合体中起关键作用,其主要功能是磷酸化 β -catenin N 端的丝氨酸/苏氨酸后使其可被泛素-蛋白酶体识别而降解,从而调节 β -catenin 的胞内含量、定位和功能^[13-14]。

APC 蛋白家族包括 APC、APC-L/2、H-APC、D-APC、E-APC 等同源物。最早发现且存在较为普遍的蛋白质为 APC,具有 2 844 个氨基酸,分子量约为 300 kD^[15]。APC 蛋白有多个功能区域,其中磷酸化位点及 β -catenin 结合位点在中间区域。 β -catenin 主要结合点位于 1 020 ~ 1 169 位氨基酸之间的 3 个 15 个氨基酸重复片段。此外有个结合位点于 1 342 ~ 2 075 位氨基酸残基之间,该区域包含 7 个 20 个氨基酸重复片段,结合位点受 GSK-3 β 调节。APC 蛋白一个重要的功能是促进 β -catenin 被磷酸化,可调节细胞浆内 β -catenin 水平,对 β -catenin 起到负调节的作用。

体轴抑制因子(axis inhibitor, Axin)基因是 1997 年 Zeng 等^[16]从一种称为 Fused 的天然小鼠突变系基因克隆分析中发现的编码 AXIN 蛋白的基因。Axin 蛋白是正常体轴形成过程中的抑制物,目前发现 Axin 家族有 2 个成员,Axin (Axin1)及其同源物 Axil (Axin like)。Axin 具有与 Wnt 信号途径中许多成员相互结合的蛋白-蛋白结合功能区域,如 N 末端结合 APC 的 RGS 结合区域、蛋白磷酸酶 2A(protein phosphatase 2A, PP2A)结合区域、CKI 结合区域、GSK3 β 结合区域、LRP 结合区域、 β -catenin 结合区域、Dvl 结合区域、Axin 形成寡聚体的区域等。Axin 以支架蛋白的形式在 Wnt 信号转导途径中起负调节作用^[17]。通过 C 末端形成寡聚体是 Axin 调节 β -catenin 所必需的。Axin 如果缺失了 C 末端,即使它能结合 GSK-3 β 和 β -catenin,也不能下调胞内 β -catenin 水平。

CK1 是一种广泛分布于从酵母到人类的真核生物中的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,在哺乳动物中 CK1 有 7 个家族成员: α 、 β 、 γ 1、 γ 2、 γ 3、 δ 和 ϵ 。CK1 家族的激酶结构域直接与 Axin 作用,还可直接磷酸化 Dvl。

1.5 β -catenin

catenin 分为 α 、 β 、 δ 3 个亚型,其中 β -catenin 是 CTNNB1 基因产生的大小为 88kD 的一种多功能蛋白质。德国细胞生物学家 Walt Birchmeier 于 1980 作为一种黏附分子首先发现的。 β -catenin 由 781 个氨基酸组成,含 12 个 Armadillo (arm) 重复区及独特的 N 末端和 C 末端结构。其 12 个 Armadillo (arm) 重复区形成的 36 个 α -螺旋在空间结构中围成一个棒状的超螺旋结构,这种超螺旋结构在与其它蛋白如 APC、Axin、Tcf/Lef 的结合过程中起着重要作用。 β -catenin 的 N 端由 130 个氨

氨基酸组成,富含 Ser/Thr 残基,控制着 β -catenin 的稳定性,C 端由 100 个氨基酸组成,调节下游靶基因的转录^[18]。 β -catenin 存在于 3 个不同的亚细胞区域:细胞膜黏连接处、游离细胞质、细胞核。 β -catenin 在细胞中具有双重作用:一是通过与细胞膜上钙黏蛋白 cadherin 相互作用,参与细胞间黏附,发生侵袭和转移;另一作用是作为经典 Wnt 信号通路中最重要的信息分子,调控细胞生长、分化和凋亡等^[19-20]。

1.6 核内转录因子 (T cell factor/lymphoid enhancer factor, Tcf/Lef)

Tcf/Lef 蛋白是序列特异的 DNA 结合蛋白,在 Wnt 经典通路激活时用来把 β -cat 定位于 Wnt 靶基因的启动子部位。Tcf/Lef 可从 3 个水平激活 Wnt 靶基因。初始水平包括效应器(如 MMP-7)、转录调节器(如 c-myc)和信号通路调节器(如 VEGF);次级水平包括效应器(如 c-myc 的靶基因 p21)及定向信号通路(如 VEGF 的受体酪氨酸激酶途径);第 3 水平包含定向信号通路的靶基因(如 VEGF 靶基因 DSCR1)。已证实活化的 Wnt 信号通路至少有 20 多种靶基因,包括细胞增殖调控基因、发育控制基因和与肿瘤发生相关基因,且不断发现有新的靶基因存在,调控细胞的增殖和分化。

2 Wnt/ β -catenin 信号转导的基本过程

当没有 Wnt 信号时,胞质内 GSK3 β 、APC、Axin 与 β -catenin 形成降解复合体,GSK3 β 对 β -catenin 的丝氨酸和苏氨酸残基磷酸化,磷酸化的 β -catenin 被转导素(β -TrCP)特异识别后经泛素-蛋白酶途径降解。当 Wnt 信号存在时,Wnt 与细胞表面受体 Fzd 和共受体 LRP5/6 结合,激活 Dsh,激活的 Dsh 通过募集 Axin 而使降解复合体解体,GSK3 β 不能对 β -catenin 磷酸化, β -catenin 被降解而在胞质内聚集,当 β -catenin 积累到一定程度,从胞质转位至核内,与 Tcf/Lef 结合,形成转录复合体,进而激活细胞周期蛋白 D1 (cyclin D1)、c-Myc 等靶基因的表达^[21]。

3 Wnt/ β -catenin 信号转导的调节

β -catenin 是经典 Wnt 信号通路的效应因子,在细胞内的水平受降解蛋白类和拮抗降解蛋白类的正向或负向调节。

Wnt 蛋白、Fzd 受体、Dsh/Dvl 的表达增加可阻断 β -catenin 磷酸化和泛素化,引起 β -catenin 在胞质内积累而进入细胞核,使得该信号通路过度激活,故被认为是 Wnt/ β -catenin 信号转导途径的正性调节子,LRP5/6 作为辅助受体参与了这一过程。Dsh/Dvl 对 β -catenin 的影响,除了通过 Wnt 上游信号传递来完成,其本身的浓度及活性在某一程度上也会影响 β -catenin 的变化。

Wnt 蛋白拮抗剂如分泌型卷曲受体相关蛋白(secreted frizzled-related protein, sFRP)、WIF-1、Cerbrus 和 Dickkopf 等抑制 Wnt 信号激活,下调胞浆中 β -catenin 水平,抑制 Wnt 信号的传递,阻断 Wnt 信号,因此被认为是 Wnt 信号通路的负性调节子。sFRP 家族、WIF-1 和 Cerbrus 通过直接结合 Wnt 从而改变其与 Fz 受体复合物的结合能力而发挥拮抗作用;Dickkopf 家族通过结合 Wnt 受体复合体 LRP5/6 来抑制 Wnt 信号转导通路;而 β -catenin 降解复合体中的 APC、GSK3 β 、CK1 等成员对 Wnt/ β -catenin 起着双相调节作用。APC 在 Wnt 信号通路中既能够介导 GSK3 β 对 β -catenin 的磷酸化作用,使 β -catenin 降解,抑制 Wnt 信号,又可能促进 Axin 的降解,导致 β -catenin 的聚集,对 Wnt 信号传导发挥正向调节作用,这些作用目前主要反映在对不同种属、或同一种属不同组织的发育调节上。GSK3 β 和 CK1 则通过使不同底物发生磷酸化发挥双向调节作用。在经典的 Wnt 信号通路中,GSK3 β 激酶活性可能受到 Dsh 的调节。CK1 和 GSK3 β 可使 LRP6 上的 PPPSPxS 磷酸化^[22-23],GSK3 β 在 Wnt 信号通路中通过磷酸化 LRP6 吸引 Axin,解离了降解复合体,从而正向调控,而在经典 Wnt 信号通路中,GSK3 β 可以磷酸化 β -catenin 而降解 β -catenin 起负向调控作用。Dsh 或者 Axin 复合物也可能将 CK1 招募到细胞膜上磷酸化 LRP6 从而正向调控 β -catenin;另一方面,CK1 能将 β -catenin 的 Ser45 磷酸化,有助于 APC、Axin、GSK3 β 、CK1 降解复合体的形成,显示出 CK1 的负向调节作用。

4 Wnt/ β -catenin 信号通路与器官纤维化

研究发现,Wnt/ β -catenin 信号通路的激活与各种组织器官纤维化疾病有关。

4.1 Wnt/ β -catenin 信号通路与肾纤维化

在小鼠单侧输尿管结扎术(unilateral ureteral obstruction UUO)模型中,MMP-7、FN、Twist、c-myc等大量 Wnt/ β -catenin 信号通路的靶基因被诱导表达,且表达程度与肾脏 β -catenin 的富集度密切相关。而给予 Wnt 拮抗因子 DKK1 和 sFRP4 基因治疗后能显著地减少肾脏 β -catenin 的富集与减轻肾脏纤维化程度^[24]。He W 等^[25]行 UUO 动态实验结果显示,在慢性肾损伤病程中 Wnt/ β -catenin 通路激活导致 β -catenin 累积并诱导下游靶基因表达,而用 DKK1 阻断治疗后能抑制基质胶原蛋白沉积。揭示 Wnt/ β -catenin 信号通路过度激活会促进肾间质纤维化。闫喆等^[26]高糖培养人近端肾小管上皮细胞结果显示,高糖增加 β -catenin 在胞浆尤其胞核的表达水平,伴随小管上皮细胞出现 α -SMA 表达增高 E-cadherin 蛋白表达下降等 EMT 特征性改变,提示高糖可能通过 Wnt/ β -catenin 信号途径参与了肾脏 EMT 过程。同时也有研究显示在高糖培养的人类肾小球内皮细胞中用 DKK1 抑制 Wnt/ β -catenin 信号通路的活性可以阻止内皮细胞向肌成纤维细胞转化,从而延缓肾小球硬化介导的肾脏纤维化^[27]。此外,Sha Hao 等^[28]通过构建稳定肾小管上皮细胞系转染 β -catenin 载体 pDel β -cat 过表达 β -catenin,结果显示,与转染空载 pcDNA3 相比,过表达的 β -catenin 导致 E-cadherin mRNA 下调和 E-cadherin 蛋白表达的缺失,同时诱导 FN 和 snail mRNA 的明显表达,证实 β -catenin 信号通路在促进肾脏纤维化的发生中发挥着重要的作用。

4.2 Wnt/ β -catenin 信号通路与肝纤维化

肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化是肝纤维化形成的中心环节,Xiong 等^[29]对发现活化期的 HSC 表达 Wnt-5a 的量显著高于静止期的 HSC。Myung 等^[30]体外培养人 HSC 向培养基中加入外源性 Wnt3a 后,TCF/LEF 转录子活性显著增加,I 型胶原和 α -SMA 表达上升,说明 Wnt/ β -catenin 信号通路通过启动 HSC 活化参与了肝纤维化的形成。翁志宏等^[31]用 TCF 负性突变体表达质粒 pcDNA-dn-TCF 转染大鼠肝星状细胞株 HSC-T6 阻断其 Wnt/ β -catenin 信号通路,结果活化的 HSC 凋亡增加,提示 Wnt/ β -catenin 信号通路参与肝纤维化的发生。也有学者在体内外实验中证实姜黄素通过下调 β -catenin 蛋白表达水平从而抑制 HSC 的活化,进而抑制肝纤维化的发生发展^[32]。

4.3 Wnt/ β -catenin 信号通路与肺纤维化

特发性肺纤维化是(idiopathic pulmonary fibro-

sis IPF)是一种最常见的肺纤维化疾病,与其它正常肺组织或其它肺间质性疾病相比,在 IPF 的肺脏中 Wnt2, Wnt5a, Fzd7 和 10 等基因过表达^[33],此外,有研究者用 RT-PCR 方法检测发现 Wnt1, Wnt7b, Wnt10b, Fzd2, Fzd3, β -catenin 以及 LEF 1 在特发性肺纤维化患者肺中的表达明显高于正常对照组,提示 Wnt/ β -catenin 参与了 IPF 肺纤维化过程^[34]。

4.4 Wnt 信号通路与心肌纤维化

Wnt 诱导的分泌型蛋白 1(WISP-1)受 Wnt 信号通路 β -catenin 水平的调控,心肌梗死后 WISP-1 过度表达,进而导致心肌细胞肥大、成纤维细胞增生和纤维化发生^[35]。还有研究证实 Wnt1/ β -catenin 信号通路激活可影响肌成纤维细胞生成,促进心肌修复^[36]。

4.5 Wnt/ β -catenin 信号通路与皮肤纤维化

近年研究表明,Wnt 信号通路的异常活化与皮肤纤维化的发生与进展关系密切,其可能机制是 TGF- β 通过下游信号因子 Smads 实现对 Wnt/ β -catenin 通路上调,使聚集在胞浆中的 β -catenin 转移入核,启动控制细胞增殖分化因子的转录和表达,进而使成纤维细胞中的胶原过度分泌,导致瘢痕形成。Wei J 等^[37]对 FABP4-Wnt10b 转基因小鼠进行研究,揭示过表达 Wnt10b 时皮肤的脂肪组织丧失,胶原沉积,纤维母细胞激活及肌成纤维细胞聚集,也提示了 Wnt/ β -catenin 信号通路与皮肤纤维化的发生密切相关。

5 结语

综上所述,Wnt/ β -catenin 信号通路参与器官纤维化发生已经得到大量实验证实,但 Wnt 信号转导通路的具体调控方式,与其他信号通路间的相互作用,各靶基因激活的后果等均有待进一步研究。因此深入研究 Wnt/ β -catenin 信号通路及其在器官纤维化中发生发展中的作用机制,调控该信号通路的转导,对找到新的治疗靶点防治器官纤维化病变,具有重要的临床意义。

6 参考文献

- [1] Nusse R, Varmus HE. Many tumors induced by the mouse mammary tumor virus contain a provirus integrated in the same region of the host genome[J]. Cell, 1982(1):99-109.

- [2] Nusse R, Brown A, Papkoff J, et al. A new nomenclature for int-1 and related genes: in the wnt gene family [J]. Cell, 1991(64):231–232.
- [3] Chien AJ, Conrad WH, Moon RT. A Wnt survival guide: from flies to human disease [J]. J Invest Dermatol, 2009(7):1614–1627.
- [4] Kristin D, Mona Aflaki, Stanley N. Role of the Wnt-Frizzled system in cardiac pathophysiology: a rapidly developing, poorly understood area with enormous potential [J]. J Physiol, 2013(Pt6):1409–1432.
- [5] Saito-Diaz K, Chen TW, Wang X, et al. The way Wnt works: components and mechanism [J]. Growth Factors, 2013(1):1–31.
- [6] Nusse R, Varmus HE. Wnt genes [J]. Cell, 1992(69):1073–1087.
- [7] Dawson K, Aflaki M, Nattel S. Role of the Wnt-Frizzled system in cardiac pathophysiology: a rapidly developing, poorly understood area with enormous potential [J]. J Physiol, 2013(6):1409–1432.
- [8] Qurrat U. Ain, Umair Seemab, Sajid Rashid, et al. Prediction of Structure of Human WNT-CRD (FZD) Complex for Computational Drug Repurposing [J]. PLoS One, 2013(1):e54630.
- [9] The FM. Kirby Neurobiology Center, Boston Children's Hospital, Boston, et al. Frizzled and LRP5/6 Receptors for Wnt/ β -Catenin Signaling [J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2012(12):a007880.
- [10] Victoria E. Ahn, Matthew Ling-Hon Chu, Hee-Jung Choi, et al. Structural basis of Wnt signaling inhibition by Dickkopf binding to LRP5/6 [J]. Dev cell, 2012(5):862–873.
- [11] Daniele V. F. Tauriello, Ingrid Jordens, Katharina Kirchner, et al. Wnt/ β -catenin signaling requires interaction of the Dishevelled DEP domain and C terminus with a discontinuous motif in Frizzled [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2012(14):E812–E820.
- [12] Cadigan KM, Liu YI. Wnt signaling: complexity at the surface [J]. J Cell Sci, 2006(119):395–402.
- [13] Zeng X, Huang H, Tamai K, et al. Initiation of Wnt signaling: control of Wnt coreceptor Lrp6 phosphorylation/activation via frizzled, dishevelled and axin functions [J]. Development, 2008(135):367–375.
- [14] Mi K, Dolan PJ, Johnson GV. The low density lipoprotein receptor related protein 6 interacts with glycogen synthase kinase 3 and attenuates activity [J]. J Biol Chem, 2006(8):4787–4794.
- [15] Jean Schneikert, Jan Gustav Ruppert, Jürgen Behrens, et al. Different roles for the axin interactions with the SAMP versus the second twenty amino acid repeat of adenomatous polyposis coli [J]. PLoS One, 2014(4):e94413.
- [16] Zeng L, Fagotto F, Zhang T, et al. The mouse fused locus encodes axin, an inhibitor of the Wnt signaling pathway that regulates embryonic axis formation [J]. Cell, 1997(1):181.
- [17] Waaler J, Machon O, Tumova L, et al. Axin, a novel tankyrase inhibitor decreases canonical Wnt signaling in colon carcinoma cells and reduces tumor growth in conditional APC mutant mice [J]. Cancer Res, 72(11):2822–2832.
- [18] Huber O, Bierkamp C, Kemler R. Cadherins and catenins in development [J]. Curr Opin Cell Biol, 1996(5):685–691.
- [19] MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/ β -catenin signaling: components, mechanisms, and diseases [J]. Dev Cell, 2009(17):9–26.
- [20] Veeman MT, Axelrod JD, Moon RT. A second canon. Functions and mechanisms of β -catenin in dependent Wnt signaling [J]. Dev Cell, 2003(3):367–377.
- [21] Kwon C, Qian L, Cheng P, et al. A regulatory pathway involving Notch1/ β -catenin/Is11 determines cardiac progenitor cell fate [J]. Nat Cell Biol, 2009(8):951–957.
- [22] Zeng X, Tamai K, Doble B, et al. A dual-kinase mechanism for Wnt coreceptor phosphorylation and activation [J]. Nature, 2005(7069):873–877.
- [23] Wu G, Huang H, Garcia AJ, et al. Inhibition of GSK3 phosphorylation of β -catenin via phosphorylated PPP-SPXS motifs of Wnt coreceptor LRP6 [J]. PLoS One, 2009(3):e4926.
- [24] Guo Y, Xiao L, Sun L, et al. Wnt/ β -Catenin Signaling: a Promising New Target for Fibrosis Diseases [J]. Physiol Res, 2012(4):337–346.
- [25] He W, Dai C, Li Y, et al. Wnt/ β -catenin signaling promotes renal interstitial fibrosis [J]. Apr, 2009(4):765–76.
- [26] 闫喆, 姚芳, 段惠军, 等. Wnt/ β -Catenin 信号途径在高糖诱导肾小管上皮细胞转分化中的作用 [J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2009(4):396–400.
- [27] Li L, Chen L, Zang J. C3a and C5a receptor antagonists ameliorate endothelial-myfibroblast transition via the Wnt/ β -catenin signaling pathway in diabetic kidney disease [J]. 2015(15):33–35.
- [28] Sha Hao, Weichun He. Inhibition of β -Catenin/CBP Signaling Ameliorates Renal Interstitial Fibrosis [J]. J Am Soc Nephrol, 2011(22):1642–1653.

(下转第 336 页)

DM大鼠肾组织Id2蛋白表达变化与纤维化病变发生发展关系的研究*

文箴颖, 苏博, 肖瑛**, 王圆圆, 李霜, 刘丽荣, 石明隽, 郭兵

(贵阳医学院病理生理学教研室, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 动态观察分化抑制因子2(Id2)在糖尿病大鼠血糖控制前后肾小管上皮细胞的表达变化, 探讨其在肾小管上皮细胞向间充质细胞转分化过程(EMT)中可能发挥的作用。方法: 雄性SD大鼠随机分为正常对照组(N)、糖尿病组(DM)、糖尿病胰岛素治疗组(DMT), 采用链脲佐菌素(55 mg/kg)尾静脉注射复制I型糖尿病大鼠模型, N组和DM组成模后分别于2周(2 w)、8周(8 w)、16周(16 w)、24周(24 w)时各处死6只; 成模13周(13 w)起, DMT组大鼠采用胰岛素个体化治疗, 以血糖控制在4~7 mmol/L, 尿糖阴性为准, 分别于16 w和24 w时处死6只大鼠; 观察大鼠血糖、24 h尿蛋白并计算肾脏指数, HE、PAS染色光镜下观察肾组织结构的变化, 免疫组化观察大鼠肾脏纤维连接蛋白(FN)的蛋白表达情况, Western blotting检测大鼠肾组织分化抑制因子(Id2)、E-钙粘素(E-cadherin)和 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)的蛋白变化, RT-PCR检测肾组织Id2 mRNA表达情况。结果: (1)与N组相比, 不同时间点DM组血糖、24 h尿蛋白量、肾脏指数均显著升高($P < 0.01$), 并出现肾组织形态学异常改变; 而DMT组血糖、24 h尿蛋白量、肾脏指数均低于DM组($P < 0.05$), 肾纤维化病变改善; (2)与N组比较, DM组肾组织Id2蛋白和mRNA的表达从2 w开始减少, 16 w、24 w显著减少($P < 0.05$), 并伴有E-cadherin的表达减少($P < 0.05$)、 α -SMA表达增加($P < 0.05$)和FN蛋白的沉积增多($P < 0.05$), 相关性分析显示Id2蛋白与FN蛋白成负相关($r = -0.931, P < 0.05$), 与E-cadherin蛋白成正相关($r = 0.900, P < 0.05$); (3)与DM组相比, DMT组大鼠肾组织Id2蛋白和mRNA表达均明显增加($P < 0.05$), 且E-cadherin的表达增加($P < 0.05$)、 α -SMA的表达及FN在间质沉积减少($P < 0.05$)。结论: 胰岛素在控制血糖能上调肾小管上皮细胞Id2蛋白的表达, 恢复Id2对肾纤维化的负调节作用, 进而逆转肾小管上皮细胞的EMT及减轻肾间质ECM的沉积, 改善DN肾纤维化病变。

[关键词] 糖尿病肾病; 纤维化; 分化抑制因子2; 纤维连接蛋白; E-钙黏素; α -平滑肌肌动蛋白; 大鼠, Sprague-Dawley

[中图分类号] R363 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0330-07

Study on the Relationship of Changes of Id2 Protein Expression in Diabetic Rat Kidney Tissues with Occurrence and Development of Fibrosis Lesions

WEN Qingying, SU Bo, XIAO Ying, WANG Yuanyuan, LI Shuang, LIU Lirong, SHI Mingjun, GUO Bing

(Department of Pathophysiology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the expressions of Id2 in the renal tubules of STZ-induced diabetic rats before and after blood glucose control, and explore their roles and relationship in the development of diabetic nephropathy. **Methods:** SD rats were randomly divided into control (N), diabetes mellitus (DM) and insulin-treated DM groups (DMT). DM model was constructed by injecting streptozotocin (STZ) via tail vein (55 mg/kg). 48 SD rats were randomly divided into 4 groups: 2 weeks, 8 weeks, 16 weeks and 24 weeks group. Each group included a control subgroup and a diabetic model subgroup. In addition, for 16 weeks group and 24 weeks group, each group still included an insulin-treated subgroup. Since the 13th week after modeling, rats in DMT group were given insulin individual-

*[基金项目] 国家自然科学基金(81360116); 贵州省科学技术基金[编号: 黔科合J字(2011)2120号]

**通信作者 E-mail: yxhx20060725@126.com

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1840.009.html>

ly. The blood glucose was controlled to the level of 4 ~ 7 mmol/L, and urine glucose remained negative. The blood glucose, 24 h urine protein were measured by biochemical method, and the kidney index was measured as well. And the renal fibrosis was examined by HE and PAS staining sections. Immunohistochemistry was employed to assay the expression of FN protein in the rat renal tissue. Western blotting was employed to assay the expression of Id2, E-cadherin and α -SMA protein in the rat renal tissue. In addition, the expression of Id2 mRNA was also examined by RT-PCR. **Results:** (1) Compared with group N, the blood glucose, 24 h urine protein and the kidney index of group DM increased significantly ($P < 0.01$), and renal tissue presented typical morphologic changes at different time points. By comparison, the blood glucose, 24 h urine protein and the kidney index of group DMT were significantly lower than those in group DM ($P < 0.05$). Lesions of renal fibrosis in DMT rats were obviously relieved. (2) The expression levels of Id2 protein and mRNA of group DM decreased significantly than that in N group at different time points ($P < 0.05$), accompanied by the decreased expression of E-cadherin ($P < 0.05$), increased expression of α -SMA ($P < 0.05$), and increased deposition of FN protein. Correlation analysis showed Id2 protein was negatively correlated with FN protein ($r = -0.931$, $P < 0.05$), but positively correlated with E-cadherin ($r = 0.900$, $P < 0.05$). (3) Compared with DM group, the protein and mRNA expression of Id2 and E-cadherin of DMT group increased significantly ($P < 0.05$), while the expression of α -SMA and FN protein decreased. **Conclusion:** Blood glucose control can up-regulate the expression of Id2 in renal tubular epithelial cells and restore Id2 negative regulation of renal fibrosis, reverse EMT and relieve renal interstitial ECM deposition, and improve DN lesions of renal fibrosis.

[**Key words**] diabetic nephropathy; fibrosis; inhibitors of differentiation; fibronectin; E-cadherin; α -smooth muscle actin; rats, Sprague-Dawley

越来越多的证据表明,肾小管上皮细胞向间质细胞转分化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是肾间质纤维化发生、发展的主要机制之一,也是 DN 肾小管间质纤维化的主要原因^[1-2],故抑制或逆转 EMT 对延缓 DN 病情发展具有重要的意义。EMT 过程涉及多种细胞事件和分子介质的参与和相互作用,影响因素众多且作用复杂,故对其分子机制的认识仍不甚清楚。分化抑制因子 2 或 DNA 结合抑制因子 2(inhibitors of differentiation or inhibitors of DNA binding)属于螺旋-环-螺旋(helix-loop-helix, HLH)转录因子家族,是一种广泛存在于哺乳动物细胞中的核转录因子的负调控蛋白。研究发现,Id2 蛋白除具有抑制细胞分化、促进细胞增殖作用、诱导细胞凋亡、维持细胞存活、促进血管形成等作用外^[3],Id2 蛋白与一些脏器纤维化有关,如肝纤维化、肺纤维化、晶状体等且可能有抑制 EMT 发生的作用。目前对于在 DN 肾脏纤维化过程中 Id2 与 EMT 的关系及 Id2 蛋白表达的动态变化,研究报道尚少。因此,本研究动态观察分化抑制因子 Id2 蛋白在糖尿病大鼠肾组织中的表达变化及胰岛素控制血糖后对 Id2 蛋白表达和纤维化病变的影响,初步探讨 Id2 负调节肾纤维化

的作用及可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 雄性清洁级 Sprague-Dawley (SD)大鼠,体重 180 ~ 220 g,购于北京华阜康生物科技投资有限公司,动物批号 SCXK(京)2009-0004。大鼠在清洁条件下适应性饲养,大鼠两次尿蛋白和尿糖定性均为阴性,空腹血糖 4.0 ~ 7.0 mmol/L。

1.1.2 主要试剂 链脲佐菌素(STZ, Sigma 公司,美国),Id2 兔多克隆抗体(Santa Cruze 公司,美国),E-钙粘蛋白(E-cadherin)、 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)、纤维连接蛋白(FN)(博奥森公司,北京), β -actin 单克隆抗体、DAB 显色剂(博士德公司,武汉),免疫组化 SP 两步法检测试剂(中杉金桥公司,北京),PVDF 膜、Whatman 3MM 滤纸(Millipore 公司,美国),RevertAidTM First Strand cDNA Synthesis Kit(Fermentas,立陶宛),超敏 ECL 化学发光试剂盒(碧云天生物研究所,北京),总 RNA 提取试剂盒、2 × Taq PCR MasterMix、Marker(天根生化科技有限公司,北京),Id2、 β -actin 引物(上海

生工生物工程技术服务有限公司)。

1.2 实验方法

1.2.1 动物模型及分组 60 只大鼠随机分为正常对照组(N 组)、糖尿病组(DM)组和糖尿病胰岛素治疗组(DMT)组,DM 组大鼠按 55 mg/kg 剂量尾静脉注射溶于 pH4.5、0.01 mol/L 无菌柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液的 STZ,48 h 后测空腹血糖,血糖 ≥ 16.7 mmol/L、且尿糖阳性大鼠认为造模成功;正常对照组于大鼠尾静脉注射无菌柠檬酸-柠檬酸钠缓冲液(STZ 溶媒),N 组和 DM 组分别取 6 只大鼠于成模后 2 周(2 w)、8 周(8 w)、16 周(16 w)、24 周(24 w)处死;DMT 组大鼠在 DM 成模 13 周(13 w)起采用胰岛素个体化治疗,以血糖控制在 4~7 mmol/L,尿糖阴性为准,分别于 16 w 和 24 w 时各处死 6 只大鼠。所有大鼠予标准饲料喂养,自由饮水。

1.2.2 血、尿及肾脏标本的采集 处死前 1 d 代谢笼收集 24 h 尿液,记录尿量。禁食 6~8 h,麻醉后称重,股动脉放血,收集血液,4℃离心,分离血清,-20℃保存;处死大鼠,开腹取胰腺和肾脏,胰腺及一侧肾脏固定于中性甲醛供制作石蜡切片用,另一侧肾脏于-80℃冰箱保存供 Western blotting 和 RT-PCR 检测。

1.2.3 生化指标测定 全自动生化分析仪检测血清葡萄糖浓度,考马斯亮蓝法测尿蛋白,按试剂盒说明书操作。尿蛋白浓度与尿量乘积为 24 h 尿蛋白量。

1.2.4 肾组织形态学观察 中性甲醛固定的肾脏组织制成 3 μ m 厚的石蜡切片,HE 和 PAS 染色光镜下观察肾组织形态结构的变化。以肾重(mg)与体重(g)比值作为肾脏指数。

1.2.5 肾组织中 FN 蛋白的表达 免疫组织化学 SP 法检测肾组织中 FN 蛋白的表达。常规二甲苯脱蜡,梯度酒精脱水,微波抗原修复,正常羊血清工作液封闭,滴加 FN 一抗 4℃,PBS 冲洗 3×5 min,滴加生物素标记二抗,DAB 显色,苏木素复染;结果判定:显微镜测微尺(0.5 网形目镜尺)下 10 个高倍(×400)视野内十字交叉点与阳性染色重合的点数,取均值代表 FN 的表达程度。

1.2.6 肾组织 Id2、E-cadherin 和 α -SMA 蛋白的表达 Western 印迹法检测肾组织 Id2、E-cadherin 和 α -SMA 蛋白的表达。取-80℃保存的各组大鼠肾皮质,每组 200 mg,用 BCA 试剂盒在酶标仪测定各组蛋白质浓度;经 SDS-PAGE 凝胶电泳分离,300 mV

1 h 转移至 PVDF 膜上;一抗孵育:加入 Id2、E-cadherin、 α -SMA 或 β -actin 一抗,工作浓度分别为 1:150、1:100、1:100 和 1:300,4℃孵育过夜;次日,TBST 洗膜 3×5 min,加入相应的辣根过氧化物酶标记的二抗(浓度为 1:5 000、1:5 000、1:5 000、1:8 000),加 ECL 荧光显色液,暗室胶片曝光;Quantity one 软件分析各条带的面积和灰度值,两者乘积为积分灰度值,每个样本重复操作 3 次。以 β -actin 蛋白条带作为内参,结果用目标蛋白/ β -actin 比值表示,即同一张胶上 Id2、E-cadherin、 α -SMA 与相应的 β -actin 条带所测积分灰度值的比值,即相对积分灰度值对 Id2、E-cadherin、 α -SMA 蛋白半定量。

1.2.7 肾组织 Id2 mRNA 的表达 RT-PCR 检测肾组织 Id2 mRNA 的表达。反应产物做 1.5% 琼脂糖凝胶电泳,Bio-Rad 凝胶成像系统扫描,应用 Quantity one 软件将各 Id2 条带的光密度值与 β -actin 条带光密度值的比值作为 Id2 mRNA 相对表达水平参数,进行半定量分析。

表 1 PCR 引物序列及扩增条件

Tab. 1 Sequences of primers and conditions used in PCR

引物名称	序列	片段大小	T(℃)
β -actin	sense: 5'-GAATCGTGCGTGA- CATTAAG-3' antisense: 5'-CTAGAAGCATT- GCGGTGGA-3	490 bp	57
Id2	sense: 5'-GTGGACGACCCGAT- GAGTC-3' antisense: 5'-TCGACATAAGCT- CAGAAGGGA-3'	295 bp	54

1.3 统计学方法

应用 SPSS 13.0 统计软件进行数据整理。各组数据用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间数据差异比较采用单因素方差齐性检验(One-way ANOVA 分析),直线相关分析相关性, $P < 0.05$ 表示差异有显著性意义。

2 结果

2.1 大鼠一般状况

STZ 诱导的糖尿病大鼠模型复制成功后,DM 组大鼠逐渐出现多饮、多尿、多食、消瘦等现象。N 组无变化,体重明显增加。而 DMT 组大鼠较同时

间未治疗组相比,多饮、多尿、多食现象有所改善,且体重较之增加。

2.2 生化指标及肾脏指数

各时间点 DM 组与 N 组相比,血糖、24 h 尿蛋白量、肾脏指数均显著升高($P < 0.01$),而 DMT 组上述各指标比相应时点 DM 组明显降低($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 各组大鼠的血糖浓度、尿蛋白量和肾指数($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Tab.2 Levels of blood glucose (BG), 24 h urine protein (24 h UP), kidney indexes (KI) in each group

组别	血糖浓度 (mmol/L)	24 h 尿蛋白量 (μ mol/L)	肾指数(mg/g)
N2w	6.49 \pm 0.57	12.35 \pm 2.35	7.82 \pm 0.70
N8w	6.37 \pm 0.72	10.24 \pm 1.35	7.95 \pm 0.32
N16w	7.32 \pm 0.12	11.32 \pm 0.34	6.79 \pm 0.78
N24w	5.84 \pm 0.32	15.42 \pm 0.53	7.55 \pm 0.42
DM2w	20.32 \pm 0.36 ⁽¹⁾	428.51 \pm 169.01 ⁽¹⁾	12.46 \pm 0.98 ⁽¹⁾
DM8w	26.29 \pm 0.78 ⁽¹⁾	530.62 \pm 231.00 ⁽¹⁾	12.95 \pm 0.16 ⁽¹⁾
DM16w	30.01 \pm 1.73 ⁽¹⁾	205.55 \pm 128.69 ⁽¹⁾	11.47 \pm 0.73 ⁽¹⁾
DM24w	31.23 \pm 1.95 ⁽¹⁾	299.87 \pm 87.75 ⁽¹⁾	13.21 \pm 0.30 ⁽¹⁾
DMT16w	4.67 \pm 0.29 ⁽²⁾	32.23 \pm 5.34 ⁽²⁾	9.59 \pm 0.56 ⁽²⁾
DMT24w	4.89 \pm 0.34 ⁽²⁾	39.32 \pm 8.03 ⁽²⁾	10.42 \pm 0.89 ⁽²⁾

⁽¹⁾ 与 N 组比较, $P < 0.01$; ⁽²⁾ 在相同时间点,与 DM 组比较, $P < 0.05$

2.3 肾组织形态变化

HE 染色见正常组大鼠肾小球形态完整,轮廓清晰,系膜细胞无增生,肾小管未见异常,基底膜完整。糖尿病大鼠可见肾小球系膜基质增生,肾小管管腔扩张,上皮细胞肿胀及空泡变性,基底膜不规则增厚,间质可见炎症细胞浸润。胰岛素治疗组大鼠肾脏病变有所改善,炎症细胞浸润减轻。见图 1A - C。PAS 染色显示正常大鼠肾小球及肾小管结构清晰,肾小管未见扩张、变性坏死,无 PAS 阳性染色物质沉积。糖尿病大鼠肾小球系膜区扩张,细胞外基质增多,肾小管上皮细胞变性,甚至可见萎缩和脱落细胞,间质有较多细胞浸润,肾小管间质区 PAS 染色阳性物质增多。治疗组大鼠肾脏病变有所改善,肾小球和肾小管间质区 PAS 染色紫红色的阳性物质明显减少。见图 1D - F。

2.4 FN 蛋白的表达

免疫组织化学染色显示 N 组大鼠肾小管基底膜内可见 FN 表达,排列呈线性,肾间质内未见表达。DM 组可见肾小管间质 FN 表达,从 2 w 开始逐渐增多($P < 0.05$),DMT 组较 DM 组 FN 表达显

著减少($P < 0.05$)。见图 2。

2.5 Id2、E-cadherin 及 α -SMA 蛋白的表达

N 组大鼠肾小管上皮细胞 Id2 蛋白表达较多,DM 组 Id2 随病程周数增加逐渐减少($P < 0.05$),至 24 w 几乎不表达,DMT 组 Id2 蛋白的表达显著增加,但仍低于正常对照组;E-cadherin 与 Id2 的变化同步,N 组表达较多,DM 组大鼠随病程进展 E-cadherin 进行性下降,DMT 组大鼠在胰岛素控制血糖后 E-cadherin 的表达明显恢复;而 α -SMA 在 N 组中表达极少,DM 组从 16 w 开始可见 α -SMA 蛋白表达明显增多,以后维持在较高水平上,DMT 组大鼠在给与胰岛素治疗后, α -SMA 表达明显降低($P < 0.05$)。见图 3。

2.6 Id2 mRNA 表达

Id2 mRNA 的表达同其蛋白表达趋势一致,DM 组大鼠肾组织中 Id2 mRNA 表达均显著低于 N 组($P < 0.05$)。DMT 组 Id2 mRNA 表达较同时间点 DM 组表达增多($P < 0.05$),但仍低于 N 组。见图 4。

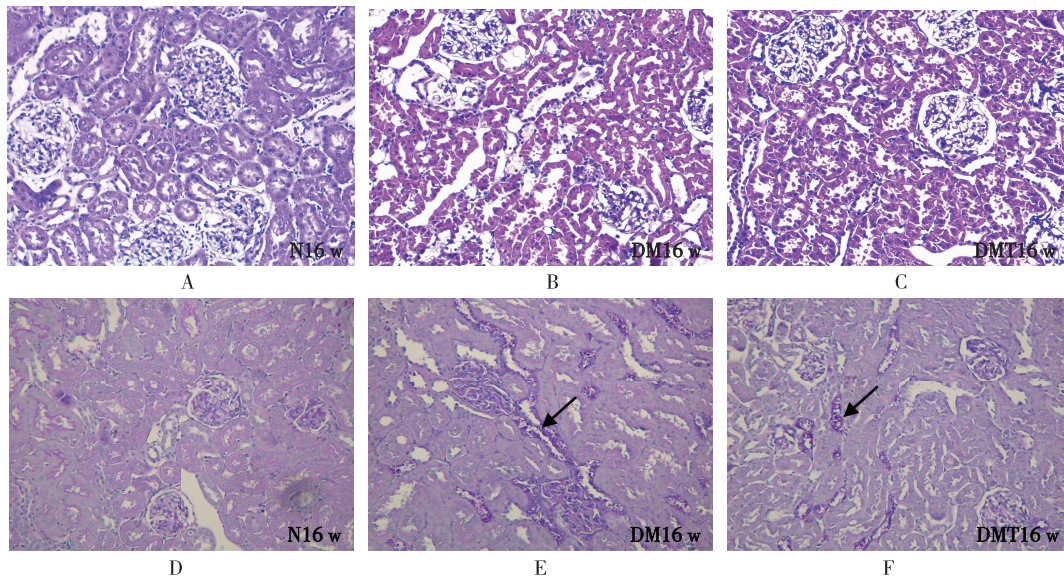
2.7 相关性分析

将各组大鼠肾小管 FN 蛋白免疫组化阳性结果以及 E-cadherin 蛋白的积分灰度值分别与各组肾小管中 Id2 蛋白免疫组化阳性表达量进行相关分析,结果显示 r 值分别为 -0.931 ($P < 0.05$) 和 0.900 ($P < 0.05$),说明 Id2 蛋白与 FN 蛋白成负相关,与 E-cadherin 蛋白成正相关。

3 讨论

本研究用 STZ 成功复制了大鼠 DM 模型。在整个实验期间实验组大鼠血糖持续在高水平。HE 和 PAS 染色显示了 DM 大鼠出现肾实质损害的表现,24 h 尿蛋白量和肾脏指数呈进行性升高,表明发生了 DN。

DN 肾损伤早期可出现肾小管的病变,且不依赖肾小球病变直接导致肾功能恶化,其主要分子机制之一为 EMT,而肾小管上皮细胞发生 EMT 的主要标志是上皮表型如 E-cadherin、角蛋白丝等逐渐消失,而获得间质表型如 α -SMA 出现并增多,细胞极性丧失,与周围细胞和基质的接触减少,细胞的迁徙和运动能力增强等^[4]。本研究结果显示 DM 组大鼠肾组织细胞外基质 FN 较 N 组表达显著增多,并且伴有肾小管上皮细胞表型标志物 E-cadherin 的显著减少而间质细胞表型标志物 α -SMA



注:图 A - C 为 HE 染色图片,图 D - F 为 PAS 染色图片

图 1 16 w 时正常对照组、糖尿病组和胰岛素治疗组大鼠肾组织形态(200 ×)

Fig. 1 Histological changes of kidney tissues in N, DM and DMT group at 16 w

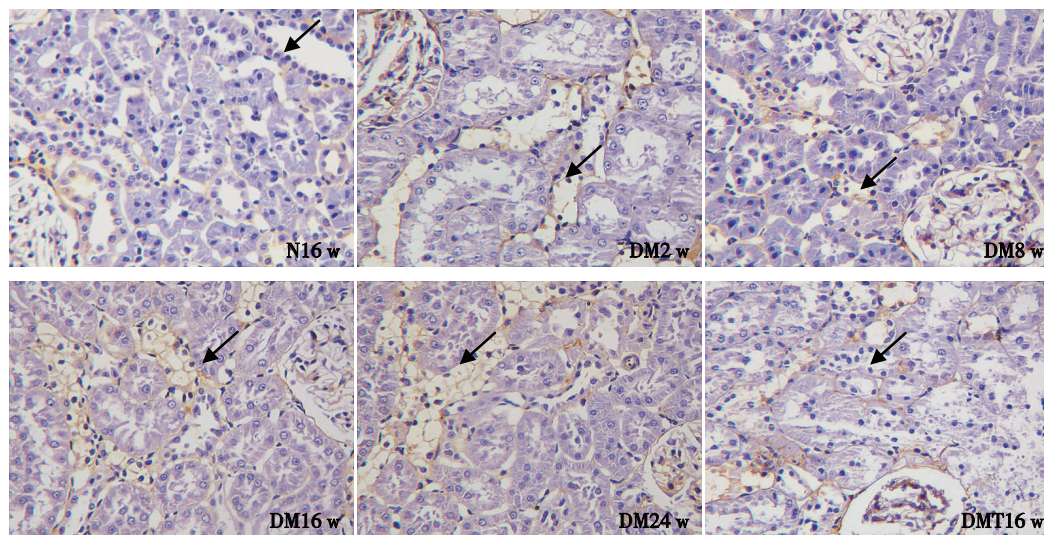


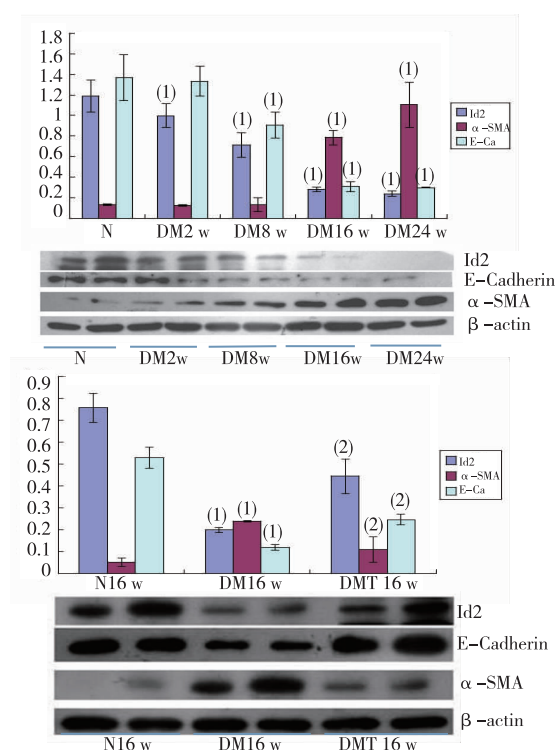
图 2 各组大鼠肾组织 FN 蛋白表达(SP 法, ×400)

Fig. 2 The levels of FN protein expressed in kidney tissues of each group

的大量表达;控制血糖后, FN 表达显著降低,同时 α -SMA 的表达显著减少,而 E-cadherin 的表达增加,表明随糖尿病病程的进展,肾小管上皮细胞发生了 EMT,引起细胞外基质的沉积,纤维化程度进行性加重,胰岛素控制血糖后肾小管上皮细胞 EMT 被逆转,肾脏纤维化程度减轻,这与本课题组以往的研究相一致^[5]。

越来越多的研究证明,螺旋-环-螺旋(helix-loop-helix, HLH)家族的一些成员也参与了 EMT 过程。Id 蛋白是一种广泛存在于哺乳动物细胞中的

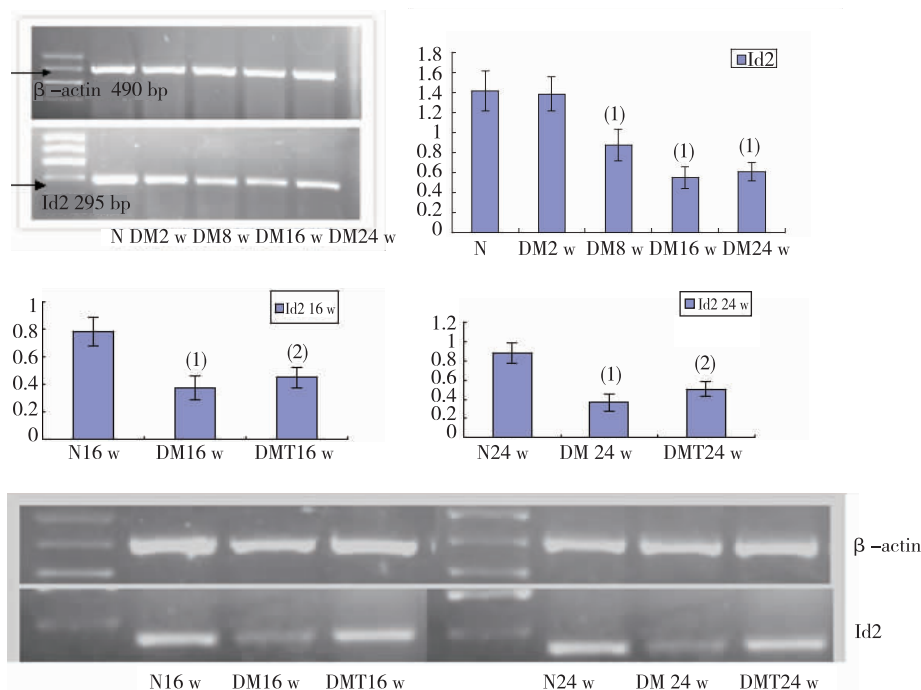
核转录因子的负调控蛋白,属于 HLH 转录因子家族特别成员,哺乳动物含有四种 Id 因子(Id1-Id4),含 119 ~ 199 个氨基酸残基,因 Id 蛋白本身缺乏 DNA 结合所必须的碱性结构域,与 bHLH 结合成异二聚体后,可抑制 bHLH 与 DNA 及其他组织特异性 bHLH 转录因子结合,具有抑制细胞分化、促进细胞增殖作用、诱导细胞凋亡、维持细胞存活、促进血管形成等作用^[6]。目前一些研究发现 Id 蛋白与一些脏器纤维化有关且可能有抑制 EMT 发生的作用。在鼠乳腺上皮 NMuMG 细胞系中, Id2 被认



注: ⁽¹⁾ 与 N 组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾ 在相同时间点, 与 DM 组比较, $P < 0.05$

图 3 各组大鼠肾皮质 Id2、E-cadherin 和 α -SMA 蛋白表达 (Western blot)

Fig. 3 The levels of protein Id2, E-cadherin, and α -SMA expression in kidney tissues of each group



注: ⁽¹⁾ 与 N 组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾ 在相同时间点, 与 DM 组比较, $P < 0.05$

图 4 Id2 mRNA 在各组大鼠肾组织中的表达 (RT-PCR)

Fig. 4 The expression of Id2 mRNA in kidney tissues of each groups showed by RT-PCR

为是 EMT 的负调控因子, TGF- β 1 可通过 Smad 依赖途径诱导 Id2/3 转录因子的下调^[7]。在肺纤维化中, 过表达 Id2 蛋白可影响肺泡上皮细胞表型改变, 对肺纤维化具有抑制作用^[8]。Veerassamy M 等^[9]研究发现了 TGF- β 1 处理人近曲肾小管上皮细胞可致 Id2 的表达减少, Id2 的减少对于 TGF- β 1 诱导 α -SMA 表达是至关重要的, 过表达 Id2 可阻止 TGF- β 1 诱导的 α -SMA, 而 BMP-7 不仅可以上调 Id2, 与 TGF- β 1 联合共同孵育可以恢复 Id2 至基础水平, BMP-7 的这种作用可能与 Smad1/5 信号通路有关且单个敲低 Smad1 或 Smad5 都不能阻断 BMP-7 对 Id2 的诱导作用。然而 Id2 在 DN 肾组织的动态变化如何及与肾脏纤维化的确切关系目前还不清楚。因此, 我们的研究在 I 型糖尿病大鼠模型中检测到 Id2 蛋白表达随糖尿病病程的进展逐渐减少, 至 DM24 w 几乎不表达, 而 mRNA 水平随病程延长逐渐减少, 至 24 w 仍有表达, 相关性分析显示 Id2 蛋白与 FN 蛋白成负相关, 与 E-cadherin 蛋白成正相关; 使用胰岛素控制大鼠血糖后发现大鼠肾组织 Id2 蛋白较同时间点糖尿病组表达有所增高, 但仍低于正常对照组, 而 mRNA 结果与蛋白变化一致, 与此同时 E-cadherin 的表达增加、 α -SMA 表达减少和 FN 在间质的沉积减少, 提示控制血糖能上调肾小管上皮细胞 Id2 的表达, 进而上调

E-cadherin 表达而下调 α -SMA 蛋白,起到抑制肾脏纤维化效应,延缓和减轻了肾小管上皮细胞的 EMT 及肾间质 ECM 的沉积,改善 DN 肾纤维化病变,但是有关在糖尿病肾病时的具体机制仍有待进一步的研究证实。另外我们设想是否可以通过提高 Id2 的表达来抑制高糖致纤维化的作用,并且通过 Id2 促进 E-cadherin 蛋白表达来逆转 EMT,从而达到改善糖尿病肾病预后的目的也待进一步研究。

4 参考文献

- [1] Carew RM, Wang B, Kantharidis P. The role of EMT in renal fibrosis[J]. *Cell Tissue Res*, 2012(1):103 – 116.
- [2] Bertinat R, Silva P, Mann E, et al. *In vivo* sodium tungstate treatment prevents E-cadherin loss induced by diabetic serum in HK-2 cell line[J]. *J Cell Physiol*, 2015 Feb 28. doi: 10.1002/jcp.24974.
- [3] Patil M, Sharma BK, Satyanarayana A. Id transcriptional regulators in adipogenesis and adipose tissue metabolism [J]. *Front Biosci (Landmark Ed)*, 2014(19):1386 – 1397.
- [4] Greening DW, Gopal SK, Mathias RA, et al. Emerging roles of exosomes during epithelial-mesenchymal transition and cancer progression[J]. *Semin Cell Dev Biol*, 2015 Feb 23. pii: S1084 – 9521 (15) 00035 – X. doi: 10.1016/j.semdb.2015.02.008.
- [5] 王圆圆, 刘丽荣, 李霜, 等. 蛋白酶体抑制剂 MG132 减轻糖尿病大鼠肾小管间质纤维化[J]. *基础医学与临床*, 2014(2):160 – 167.
- [6] Patel D, Morton DJ, Carey J, et al. Inhibitor of differentiation 4 (ID4): from development to cancer[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015(1):92 – 103.
- [7] Gervasi M, Bianchi-Smiraglia A, Cummings M, et al. JunB contributes to Id2 repression and the epithelial-mesenchymal transition in response to transforming growth factor- β [J]. *J Cell Biol*, 2012(5):589 – 603.
- [8] Yang J, Velikoff M, Agarwal M, et al. Overexpression of Inhibitor of DNA-Binding 2 Attenuates Pulmonary Fibrosis through Regulation of c-Abl and Twist[J]. *Am J Pathol*, 2015(4):1001 – 1011.
- [9] Veerasamy M, Phanish M, Dockrell ME. Smad mediated regulation of inhibitor of DNA binding 2 and its role in phenotypic maintenance of human renal proximal tubule epithelial cells[J]. *PLoS One*, 2013(1):51842.
- (2015-03-10 收稿, 2015-03-28 修回)
中文编辑: 刘 平; 英文编辑: 刘 华
-
- (上接第 329 页)
- [29] Xiong WJ, Hu LJ, Jian YC, et al. Wnt5a participates in hepatic stellate cell activation observed by gene expression profile and functional assays[J]. *World J Gastroenterol*, 2012(15):1745 – 1752.
- [30] Myung SJ, Yoon JH, Gwak GY, et al. Wnt signaling enhances the activation and survival of human hepatic stellate cells[J]. *FEBS Lett*, 2007(16):2954 – 2958.
- [31] 翁志宏, 雷延昌, 彭程, 等. 阻断 Wnt/ β -catenin 信号通路对活化肝星状细胞凋亡的影响[J]. *中华肝病杂志*, 2007(6):471 – 472.
- [32] Cui L, Jia X, Zhou Q, et al. Curcumin affects β -catenin pathway in hepatic stellate cell in vitro and in vivo. *J Pharm Pharmacol*, 2014(11):1615 – 1622.
- [33] Kanibski N, Rosas IQ. Gene expression profiling as a window into idiopathic pulmonary fibrosis pathogenesis: can we identify the right target genes? [J] *Proc Am Thorac Soc*, 2006(4):339 – 344.
- [34] Konigshoff M, Balsara N, Pfaff EM, et al. Functional wnt signaling is increased in idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *PLoS ONE*, 2008(5):e2142
- [35] Colston JT, de la Rosa SD, Koehler M, et al. Wnt-induced secreted protein-1 is a prohypertrophic and profibrotic growth factor[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007(3):H1839 – 1846.
- [36] Duan J, Gherghe C, Liu D, et al. Wnt1/ β -catenin injury response activates the epicardium and cardiac fibroblasts to promote cardiac repair[J]. *EMBO J*, 2012(2):429 – 442.
- [37] Chen J X, Zeng H, Reese J, et al. Overexpression of angiopoietin-2 impairs myocardial angiogenesis and exacerbates cardiac fibrosis in the diabetic db/db mouse model [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2012(4):H1003 – 1012.
- (2015-03-05 收稿, 2015-03-26 修回)
中文编辑: 刘 平

丹酚酸 B 对高糖培养肾小管上皮细胞转分化的影响及意义^{*}

张昌志, 石明隽^{**}, 王圆圆, 刘丽荣, 肖 瑛, 石春花, 严 瑞, 郭 兵
(贵阳医学院 病理生理学教研室, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 探讨丹酚酸 B 对高糖诱导肾小管上皮细胞分化的影响及可能机制。方法: 体外培养大鼠肾小管上皮细胞 NRK52E 随机分为正常糖(NG)组、高渗(HM)组、高糖(HG)组和高糖 + Sal B(HB)组, 分别培养 24 h; 采用免疫酶细胞化学染色对 NRK52E 细胞进行鉴定, MMT 法检测丹酚酸 B 对细胞生长活性的影响, 免疫荧光细胞化学和 Western blotting 检测各组 TGF- β 1、E-cadherin、 α -SMA 和 Col-IV 蛋白的表达。结果: 与 NG 组相比较, HG 组肾小管上皮细胞中 TGF- β 1、 α -SMA 和 Col-IV 蛋白表达增多($P < 0.05$), 而 E-cadherin 蛋白表达降低($P < 0.05$); 与 HG 组比较, HB 组肾小管上皮细胞中 TGF- β 1、 α -SMA 和 Col-IV 蛋白表达减少($P < 0.05$), 而 E-cadherin 蛋白表达增多($P < 0.05$)。结论: 丹酚酸 B 对高糖诱导肾小管上皮细胞的上皮-间充质转化(EMT)有明显抑制作用, 其机制可能是通过抑制 TGF- β 1 的表达, 改善了肾小管纤维化病变的发生发展。

[关键词] 肾小管上皮细胞; 高糖培养; 丹酚酸 B; 转化生长因子- β 1; 上皮-间充质细胞转化

[中图分类号] R363 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0337-05

The Effect of Salvianolic Acid B on High-Glucose Induced Renal Tubule Epithelial Cell Epithelial-Mesenchymal Transition

ZHANG Changzhi, SHI Mingjun, WANG Yuanyuan, LIU Lirong, XIAO Ying,
SHI Chunhua, YAN Rui, GUO Bing

(Department of Pathophysiology, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the effect of Salvianolic acid B (Sal B) on the high-glucose induced epithelial-mesenchymal transition (EMT) in renal tubule epithelial cells and the possible mechanism. **Methods:** NRK52E cells, the rat renal tubular epithelial cells, were cultured *in vitro*. The cells were randomly divided into normal glucose group (group NG), high mannitol group (group HM), high glucose group (group HG) and high glucose and Sal B group (group HB), and each group was cultured for 24 h. Immunocytochemistry was used to identify the renal tubule epithelial cells. MTT was adopted to the effect of Salvianolic acid B on cell growth activity. Immunofluorescence cytochemistry staining was used to assess the protein expression of E-cadherin and α -SMA. Western blotting was used to detect the protein expression of TGF- β 1, E-cadherin, α -SMA and Col-IV under different conditions. **Results:** Compared with group NG, the protein expression of TGF- β 1, α -SMA and Col-IV increased significantly ($P < 0.05$) while the expression of E-cadherin significantly decreased ($P < 0.05$) in renal tubular epithelium after treated with high glucose for 24 h. Compared with group HG, in group HB, Sal B decreased the expression of TGF- β 1, α -SMA and Col-IV ($P < 0.05$) and upregulated E-cadherin protein expression in renal tubular epithelium cells after treated with Sal B

^{*} [基金项目] 国家自然科学基金资助项目(编号:81360116); 贵州省社会发展攻关项目[编号:黔科合 SY 字(2012)3088 号]; 贵州省中药现代化科技产业研究开发专项项目[黔科合中药字(2012)5037]

^{**} 通信作者 E-mail: smjtyf@126.com

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1847.012.html>

for 24 h ($P < 0.05$). **Conclusion:** Sal B can significantly inhibit HG-induced expression of EMT through reducing the expression of TGF- β 1, which may ameliorate occurrence and development of renal tubule fibrosis lesion.

[**Key words**] renal tubular epithelial cells; high-glucose; Salvianolic acid B; transforming growth factor betal; epithelial-mesenchymal transition

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病(diabetes mellitus, DM)常见而严重的并发症,进行性发展至可导致终末期肾衰竭。DN 发病机制复杂,至今仍未充分阐明,而且治疗效果不佳。研究发现,在 DN 肾小管间质纤维化发展过程中,肾组织转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)表达显著上调,并通过激活 Smads 等信号通路,诱导肾小管上皮细胞发生上皮-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),促使细胞外基质(extracellular matrix, ECM)合成增加并抑制其降解而过度沉积,从而造成广泛的肾组织纤维化^[1]。本实验前期研究表明,“丹芪合剂”具有明显改善 DN 的功效,延缓了病变的进展,但疗效机制不甚清楚。丹酚酸 B 是丹芪合剂主药丹参的有效成分,具有抗炎、抗凋亡,改善微循环的作用^[2-3]。本实验以大鼠肾小管上皮细胞(NRK52E)为研究对象,探讨丹酚酸 B(salvianolic acid B Sal B)对高糖条件下肾小管 EMT 的影响及其可能机制,以期对糖尿病肾病治疗药物的选择提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料和主要试剂

大鼠肾小管上皮细胞(NRK52E),由上海复旦大学陆利民教授赠与。低糖培养基[(dulbecco's modified eagle's medium, DMEM), (美国 Hyclone 公司)],胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、胰蛋白酶和青霉素链霉素(美国 Gibco 公司),细胞培养皿(美国 Corning 公司),丹酚酸 B(贵州康成医药公司),PVDF 膜(Millipore, 美国);辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔 IgG(北京中杉金桥公司),荧光(TRITC)标记羊抗小鼠 IgG(苏州碧云天公司),荧光(FITC)标记羊抗兔 IgG(武汉博士德生物公司),抗 α -SMA 和抗 TGF- β 1(美国 Stan Cruz 公司),抗 Col-IV(美国 CST 生物公司),抗 CK-18、抗 E-cadherin 和抗 β -actin(北京博士德生物公司)。

1.2 肾小管上皮细胞培养及鉴定

用含有 10% FBS 的 DMEM 培养液培养 NRK52E 细胞,接种于 25 cm² 培养瓶中,置于 37 ℃、5% CO₂ 孵育箱培养,待细胞生长达到 90% 时进行传代,倒置显微镜观察细胞形态。免疫酶细胞化学检测上皮细胞标志性蛋白 CK-18。

1.3 丹酚酸 B 对 NRK52E 细胞活力的影响

将 NRK52E 细胞悬液以 $5 \times 10^3/100 \mu\text{L}$ 接种至 96 孔板,待细胞生长至 80%,用无血清 DMEM 将细胞静止 24 h,使细胞生长同步化,根据 DMEM 中丹酚酸 B 终浓度不同分为 9 组:空白对照(C)组,阴性对照(H)组,0.1 $\mu\text{mol/L}$ Sal B 组,1 $\mu\text{mol/L}$ Sal B 组,5 $\mu\text{mol/L}$ Sal B 组,10 $\mu\text{mol/L}$ Sal B 组,20 $\mu\text{mol/L}$ Sal B 组和 50 $\mu\text{mol/L}$ Sal B 组和 100 $\mu\text{mol/L}$ Sal B 组,每组设 4 个复孔,37 ℃、5% CO₂ 孵育箱培养 48 h 后吸弃上清,每孔加 5 g/L 的 MTT 溶液 10 μL 继续培养 4 h,每孔加入 100 μL Formazan 溶解液,继续培养至显微镜下观察紫色结晶全部溶解。在全自动酶联免疫检测仪上,检测在 570 nm 处的吸光度值(实验重复 3 次)。

1.4 细胞分组与处理

将传代并静止后的细胞随机分为:(1)正常糖(NG)组:DMEM(含糖 5.5 mmol/L) + 2% FBS 培养;(2)高渗(HM)对照组:DMEM(含糖 5.5 mmol/L) + 20 mmol/L D-Mannitol + 2% FBS 培养;(3)高糖(HG)组:DMEM(含糖 25 mmol/L) + 2% FBS 培养;(4)高糖 + Sal B(HB)组:DMEM(含糖 25 mmol/L) + 2% FBS + Sal B(含 Sal B 10 $\mu\text{mol/L}$)培养,每组均培养 24 h 进行观察。部分细胞接种至放入盖玻片的 6 孔板进行细胞爬片培养,每一实验组均设 3 个复孔,细胞处理及分组如上,用于免疫酶细胞化学和免疫荧光细胞化学染色检测。

1.5 免疫酶细胞化学染色及免疫荧光细胞化学染色

接种至 6 孔板的细胞,生长融合度达 80% 时,更换为无 FBS 的 DMEM 培养基培养 24 h,使细胞生长同步,从孵育箱取出进行免疫酶细胞化学染色。具体过程如下:4% 多聚甲醛室温固定 30 min;0.1% TritonX-100 打孔,室温 20 min;3% H₂O₂ 浸泡抑制内源性过氧化物酶,室温 20 min;用含 10%

小牛血清的 PBS 室温封闭 40 min;吸尽液体后加入一抗 CK-18 (1:50)、E-cadherin (1:100) 和 α -SMA (1:100),4 °C 过夜。次日,(1)免疫酶细胞化学染色:滴加即用型生物素标记的二抗,约 80 μ L/每孔,室温孵育 30 min;使用 DAB 室温显色 30 s ~ 5 min;苏木素复染 15 s;脱水,透明,晾干后,中性树胶封片;显微镜下观察并摄取图像。(2)免疫荧光细胞化学染色:滴加含 1% BSA 的 PBS 按 1:100 稀释的浓缩型生物素标记二抗 TRITC,37 °C 避光孵育 30 min;滴加含 3% BSA 的 PBS 按 1:100 稀释的浓缩型 FITC 标记二抗,37 °C 避光孵育 30 min;滴加 DAPI 染核剂 37 °C 避光孵育 10 min,封片,避光保存;倒置荧光显微镜观察并摄取荧光图像。

1.6 免疫酶细胞化学染色

接种至 6 孔板的细胞,生长融合度达 80% 时,更换为无血清 DMEM 培养基培养 24 h,使细胞生长同步,从孵育箱取出进行免疫荧光细胞化学染色。具体过程如下:细胞漂洗、固定、打孔、封闭如免疫酶细胞化学染色,一抗浓度 E-cadherin (1:100) 和 α -SMA (1:100)。次日,室温 30 min,0.01 mol/L PBS 洗涤 3 次,滴加含 1% BSA 的 PBS 按 1:100 稀释的浓缩型生物素标记二抗 TRITC,37 °C 避光孵育 30 min;滴加含 3% BSA 的 PBS 按 1:100 稀释的浓缩型 FITC 标记二抗,37 °C 避光孵育 30 min;室温下 PBS 洗涤 3 次,滴加 DAPI 染核剂 37 °C 避光孵育 10 min,PBS 洗涤,封片,避光保存;倒置荧光显微镜观察并摄取荧光图像。

1.7 Western Blotting 检测

细胞蛋白裂解液裂解细胞,离心取上清液,用 BCA 试剂盒测蛋白浓度,加样缓冲液煮沸 10 min 使蛋白变性,上样,经 SDS-PAGE 凝胶电泳,转移至 PVDF 膜上,5% 脱脂奶粉室温封闭 1 h,TBST 洗膜,加入 α -SMA、E-cadherin 和 Col-IV 一抗,浓度均为 1:1 000,TGF- β 1 和 β -actin 浓度为 1:400,4 °C 孵育过夜,次日用 TBST 洗膜后,加入相应的辣根过氧化物酶标记的二抗(浓度均为 1:5 000)室温孵育 1 h,TBST 洗膜,ECL 显影曝光,凝胶成像系统(Bio-Rad)扫描采集图片,QuantityOne 软件分析。以 β -actin 为内参照,结果用目的蛋白 TGF- β 1、 α -SMA、E-cadherin 及 Col-IV 与相应的 β -actin 灰度比值表示,即相对积分灰度值对 TGF- β 1、 α -SMA、E-cadherin 及 Col-IV 蛋白半定量。

1.8 统计学处理

数据采用 SPSS 17.0 软件进行统计处理,以均

数 \pm 标准差 (mean \pm SD) 表示,各组数据差异比较用单因素方差分析 (ANOVA),以 $P < 0.05$ 表示有统计学意义。

2 结果

2.1 CK-18 蛋白表达

免疫酶细胞化学结果显示,在培养的 NRK52E 细胞中 CK-18 蛋白表达阳性,说明培养的细胞为小鼠肾小管上皮细胞,见图 1。

2.2 E-cadherin 及 α -SMA 表达

免疫荧光细胞化学染色后,在同一个视野下切换不同的激发光发现,NG 培养 24 h 的细胞 E-cadherin 表达丰富,而 α -SMA 表达极少;当细胞在 HG 环境下培养 24 h E-cadherin 表达降低,而 α -SMA 表达增多,见图 2。

2.3 丹酚酸 B 对肾小管上皮细胞活力的影响

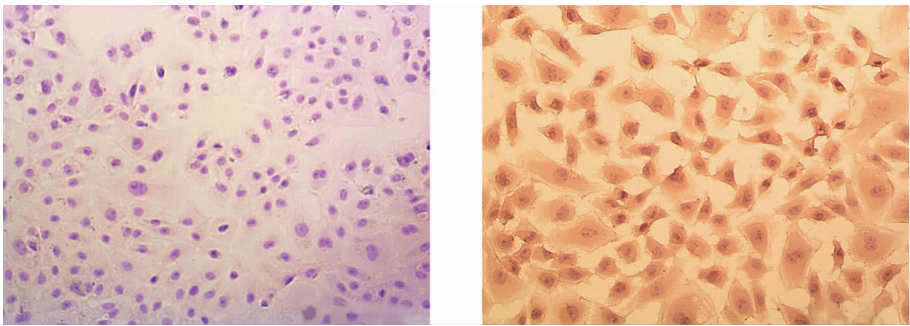
MTT 实验检测结果显示,100 μ mol/L Sal B 可增加细胞的相对活力,0.1 ~ 50 μ mol/L 范围内的 Sal B 对 NRK52E 细胞活力无明显影响,提示上述浓度的 Sal B 对 NRK52E 无明显的细胞毒性作用,见图 3。

2.4 TGF- β 1、E-cadherin、 α -SMA 及 Col-IV 蛋白表达

Western Blotting 结果显示,NG 组与 HM 组之间 TGF- β 1、E-cadherin、 α -SMA 及 Col-IV 蛋白表达差异无统计学意义,表明高渗对细胞生长无明显影响;与 NG 组比较,HG 培养 24 h TGF- β 1、 α -SMA 及 Col-IV 蛋白水平较 NG 组显著上调 ($P < 0.05$),E-cadherin 蛋白水平显著下调 ($P < 0.05$);与 HG 组比较,HB 组 TGF- β 1、 α -SMA 及 Col-IV 蛋白表达下调 ($P < 0.05$),E-cadherin 表达增加 ($P < 0.05$)。见图 4。

3 讨论

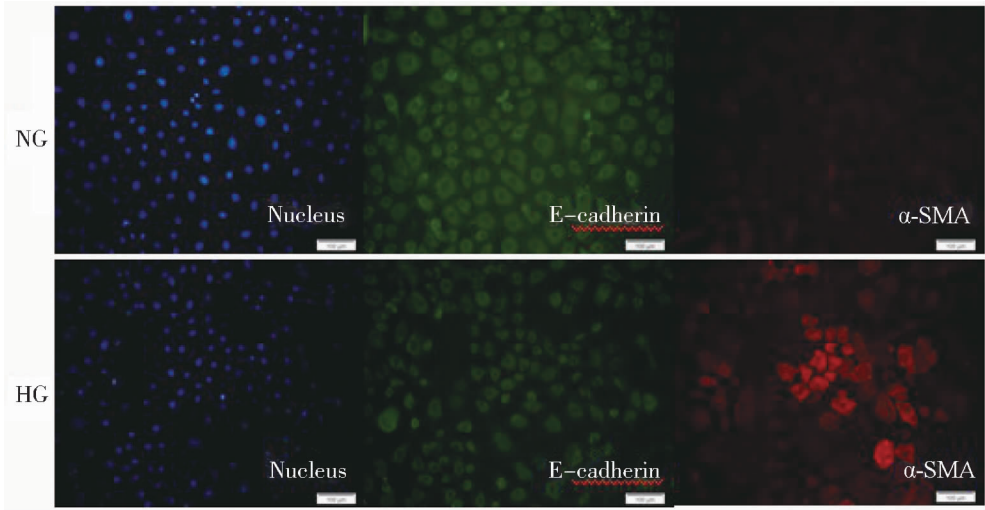
DN 是糖尿病最常见的严重微血管并发症之一,肾小球硬化和肾小管间质纤维化为其主要病理特征,其发病隐匿,早期不易被发现,出现症状时肾脏的病变已经不可逆转,如不加以有效的控制,最终将发展为终末期肾病(end-stage renal disease, ESRD),发生肾衰竭,只能依靠血液透析或肾移植来维持生命。由于 DM 发病率逐年增高,DN 已成为导致慢性肾衰竭的主要病因之一。然而,DN 发病机制至今尚未完全阐明,且缺乏有效的治疗药物,已成为导致终末期肾病和糖尿病患者死亡的主



阴性对照 CK-18

图 1 CK-18 在 NRK52E 细胞中的表达 (SABC, ×200)

Fig. 1 Expressions of CK-18 in NRK52E cells (SABC, ×200)



注：NG 代表正常糖；HG：代表高糖

图 2 糖处理 24 h 后 NRK52E 细胞中 E-cadherin 和 α -SMA 蛋白表达 (SABC, ×200)

Fig. 2 Expression of E-cadherin and α -SMA protein in cultured renal tubular epithelial cells after incubated with normal glucose and high glucose medium for 24 h

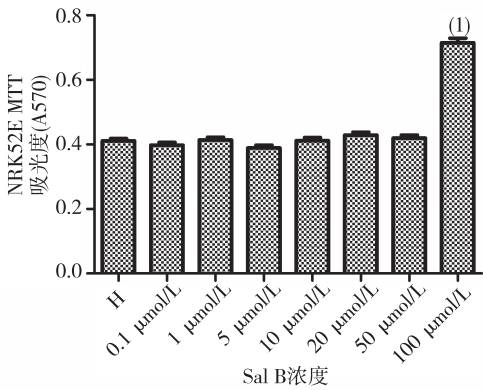


图 3 Sal B 对 NRK52E 细胞活力的影响 (MTT)

Fig. 3 The effects of Sal B on NRK52E cell viability

要原因。TGF- β 1 是目前已知的致纤维化作用最强的细胞因子,研究发现,在 DN 肾组织及高糖刺激的肾小管上皮细胞中,TGF- β 1 表达都显著上调,其可通过多条通路诱导肾小管上皮细胞向间质细胞的转分化 (EMT) 以及激活间质成纤维细胞,使肌成纤维细胞 (myofibroblast, MF) 大量聚集并合成胶原等 ECM,致使肾小管-肾间质纤维化进行性发展^[4-5]。EMT 是肾脏纤维化的中心环节,主要表现为肾小管上皮细胞原有的细胞表型发生改变,细胞间的紧密链接消失,E-cadherin 表达减少, α -SMA 重新表达,胶原蛋白表达增多^[6-7]。本研究结果显示,高糖处理 NRK52E 24 h 后,TGF- β 1 表达显著增高,上皮细胞标志物 E-cadherin 表达明显降低,而间质细胞标志物 α -SMA 表达明显增高并伴有胶原等 ECM 的异常沉积,进一步证明高糖可通过上

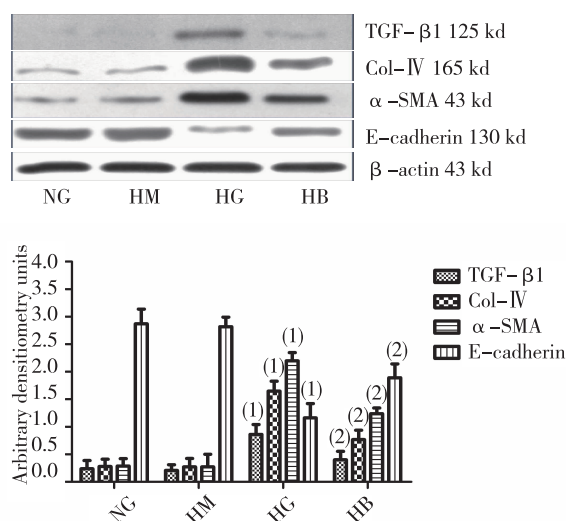


图4 正常、高渗、高糖和高糖 + Sal B (10 $\mu\text{mol/L}$) 处理 24 h 后 NRK52E 细胞中 E-cadherin、TGF- β 1、 α -SMA 及 Col-IV 蛋白的表达 (Western Blotting)

Fig. 4 Expression of E-cadherin, TGF- β 1, α -SMA and Col-IV protein in NRK52E cells after incubated with normal glucose, high mannitol, high glucose and high glucose plus Sal B for 24 h respectively. TGF- β 1 的表达激活 TGF- β 1/Smads 等信号通路,而诱导肾小管上皮细胞 EMT 的发生,促进肾小管-肾间质纤维化发生发展。

丹芪合剂是一种由丹参、黄芪、生地黄等中药组成的中药,具有活血化瘀,益气养阴,改善肾组织局部微循环,调节机体免疫力等功效。本研究结果表明丹芪合剂能显著改善糖尿病大鼠的血肌酐 (Scr)、尿素氮 (BUN) 含量等肾功能指标,纠正糖尿病大鼠的血脂代谢紊乱,使糖尿病大鼠的肾重/体重比值降低,以及减轻肾小球基质增生、肾小管和肾间质损害,减少 ECM 的沉积,从而减轻和延缓肾小管间质纤维化发生发展,发挥肾脏保护作用^[8-10],但对其疗效机制及发挥治疗作用的有效成分尚未进行深入研究。丹酚酸 B 是丹参的有效成分,已有研究报道丹酚酸 B 在心血管疾病起着抑制细胞迁移、增生、扩散的作用,能有效的下调 TGF- β 1 的表达,抑制 ERK 的磷酸化和血管紧张素 II 受体的表达而发挥抗肝纤维化作用,也可减轻输尿管梗阻引起的肾脏纤维化程度^[11-13],亦有研究发现丹酚酸 B 可通过抑制 TGF- β 1 诱导的 EMT 改变,发挥改善肺纤维化的作用^[14]。本研究结果显示,高糖培养肾小管上皮细胞 24 h 以后,肾小管上皮细胞 TGF- β 1 的表达量明显增加,E-cadherin 蛋

白表达显著减少,并伴有 α -SMA 及 Col-IV 蛋白表达明显增多,表明肾小管发生了明显的 EMT,而高糖培养肾小管上皮细胞予以丹酚酸 B 处理后,肾小管上皮细胞 TGF- β 1 的表达量显著减少,E-cadherin 和 α -SMA 蛋白的异常表达逆转,ECM 的沉积减少,EMT 程度明显减轻,提示丹酚酸 B 可能通过下调肾小管上皮细胞 TGF- β 1 蛋白表达水平,发挥其抑制 EMT 的作用。

综上所述,丹酚酸 B 对高糖诱导的肾小管上皮细胞 EMT 有明显抑制作用,其机制可能是通过抑制 TGF- β 1 的表达,减轻了肾小管纤维化病变的发生发展,研究结果对进一步明确丹芪合剂及其有效成分防治糖尿病肾病的具体作用机制提供了一定的实验依据。

4 参考文献

- [1] 杨勤,谢汝佳,韩冰,等. 转化生长因子胞内信号蛋白 Smad2/3 在糖尿病大鼠肾脏表达的动态观察及意义研究[J]. 中国病理生理学杂志, 2006 (22): 1879 - 1884.
- [2] Sun LQ, Xue B, Li XJ, et al. Inhibitory effects of salvianolic acid B on apoptosis of Schwann cells and its mechanism induced by intermittent high glucose[J]. Life Sci, 2012 (3 - 4): 99 - 108.
- [3] Liu XA. Effects of salvianolic acid B on in vitro growth inhibition and apoptosis induction of retinoblastoma cells [J]. Int J Ophthalmol, 2012 (3): 272 - 6.
- [4] 张飞飞,谭若云,熊明霞,等. 高糖通过转化生长因子 β 1-Smad 信号传递途径诱导肾小管上皮细胞转分化 [J]. 中国肾脏病杂志, 2008 (3): 174 - 178.
- [5] Veerasmy M, Phanush M, Dockrell ME. Smad mediated regulation of inhibitor of DNA binding 2 and its role in phenotypic maintenance of human renal proximal tubule epithelial cells[J]. Plos One, 2013 (1): e51842.
- [6] Kalluri R, Neilson EG. Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis[J]. J Clin Invest, 2003 (112): 1776 - 1784.
- [7] Disruption of E-Cadherin by Matrix Metalloproteinase Directly Mediates Epithelial Mesenchymal Transition Downstream of Transforming Growth Factor- β 1 in Renal Tubular Epithelial Cells[J]. Am J Pathol, 2009 (2): 580 - 591.
- [8] 石明隽,杨建军,肖瑛,等. 依拉普利和丹芪合剂对糖尿病大鼠肾组织结缔组织生长因子表达的影响[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2005 (5): 263.

(下转第 345 页)

血清骨钙素水平与低促性腺激素性腺功能减退症相关性研究^{*}

孙超¹, 孙发^{1,2,*}, 邢俊平³, 樊国军¹, 赵伊立¹, 王成跃¹, 唐开发^{1,2,*}

(1. 贵阳医学院附院 泌尿外科, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵阳医学院 医学科学研究所, 贵州 贵阳 550004; 3. 西安交通大学医学院第一附属医院 泌尿外科, 陕西 西安 710061)

[摘要] 目的: 通过测定低促性腺激素性腺功能减退症(HH)患者血清骨钙素(OC)水平及性激素水平, 探讨OC与HH的相关性。方法: HH患者98例为病例组, 正常健康男性100例为对照组, 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测两组外周血清OC、睾酮(T)、促卵泡生成素(FSH)、促黄体生成素(LH)、雌二醇(E2)、孕酮(P)和泌乳素(PRL)水平, 并分析血清FSH、LH及T与血清OC的相关性。结果: 病例组FSH、LH、T水平均明显低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.001$); 而PRL、P和E2在两组之间差异无统计学意义($P > 0.05$); 病例组OC显著低于对照组($P < 0.001$); 血清OC与T、FSH呈正性相关($\beta = 0.490, \beta = 0.240; P < 0.001, P = 0.001$), 与LH呈线性关系, 但无统计学意义($\beta = 0.093; P = 0.175$)。结论: 血清OC水平与HH存在密切相关性。

[关键词] 低促性腺激素性腺功能减退症; 骨钙素; 睾酮; 促卵泡生成素; 促黄体生成素; 人绒毛膜促性腺激素

[中图分类号] R691.9 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0342-04

Correlation between Serum Osteocalcin and Hypogonadotropic Hypogonadism

SUN Chao¹, SUN Fa^{1,2,*}, XING Junping³, FAN Guojun¹, ZHAO Yili¹, WANG Chengyue¹, TANG Kaifa^{1,2}

(1. Department of Urology, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. Institute of Medical Science, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China; 3. Department of Urology, the First Affiliated Hospital of Medical College of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, Shanxi, China)

[Abstract] **Objective:** To detect the serum osteocalcin (OC) and sex hormone levels in patients with hypogonadotropic hypogonadism (HH) and discuss the correlation between OC and HH. **Methods:** Ninety-eight HH patients were selected as patient group and 100 healthy males as normal control group. Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was adopted to detect the serum OC and sex hormones including testosterone (T), follicle stimulating hormone (FSH), progesterone (LH), estradiol (E2), progesterone (P) and prolactin (PRL) in patient group and normal control group. **Results:** The FSH, LH, and T levels in patient group were significantly lower than their counterparts in control group ($P < 0.001$), while there was no statistical difference for PRL, P, and E2 between the two groups ($P > 0.05$). The OC level in patient group was significantly lower than that in normal control group ($P < 0.001$). The serum levels of OC were positively related to T, FSH levels ($\beta = 0.490, \beta = 0.240; P < 0.001, P = 0.001$). There was a linear relationship between OC and LH, but there was no significant difference ($\beta = 0.093; P = 0.175$). **Conclusions:** The serum OC level is closely associated with HH.

[Key words] hypogonadotropic hypogonadism; osteocalcin; testosterone; follicle stimulating hor-

* [基金项目] 国家自然科学基金(81300541); 贵州省科学技术基金项目[黔科合J字(2013)2051号]; 贵阳医学院附属医院博士基金(C-2012-6)

** 通信作者 E-mail: doc.tangkf@hotmail.com; sfguizhou@163.com

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1857.014.html>

mone; luteotropic hormone; human chorionic gonadotropin

低促性腺激素性性腺功能减退症(hypogonadotropic hypogonadism, HH)是一种先天性促性腺功能低下或合并有嗅觉缺失联合出现的病征,发病率男性为 1/10 000,女性为 1/50 000,患者多因性功能低下、男性不育、两性畸形等原因就诊^[1-2]。目前临床上对 HH 的辅助检查包括下丘脑-垂体-性腺轴功能,染色体核型分析, GnRH 激发试验,人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)激发试验,头颅影像学检查,骨龄测定及性激素测定^[3]。骨钙素(osteocalcin, OC)又称骨钙蛋白,是由成骨细胞分泌的一种特异性非胶原蛋白,血清中 OC 水平变化,直接反映成骨细胞活性,是成骨细胞功能和骨质矿化的特殊标志物,作为骨转换标志物逐渐被临床应用,其作为骨代谢的标志物在临床应用中敏感性、特异性高^[4]。本研究通过测定 HH 患者血清骨钙素(OC)水平及性激素水平,探讨血清 OC 与 HH 的相关性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

选取 2007 年 3 月~2013 年 12 月低促性腺激素性性腺功能减退症男性患者 98 例作为病例组,并选取同期、同区域、同年龄匹配的健康男性 100 例作为对照组。病例组和对照组在年龄、性别、来自的区域等均匹配,经统计学分析两组之间无统计学差异($P > 0.05$)。病例组 98 例患者均为男性,年龄 15~26 岁,平均(17.38 ± 2.65)岁;正常对照组:100 例健康对照均为男性,年龄 16~28 岁,平均(17.40 ± 2.94)岁。所有研究对象均填写一个调查问卷包括:个人史、生育史、既往史及家族史等,并填写科研知情同意书,该项研究得到贵阳医学院附属医院医学伦理委员会批准。

1.2 诊断及纳入及排除标准

(1)性腺发育落后:表现为性腺发育障碍、幼稚体型,可伴随生长落后,性激素水平表现为低血清睾酮,低促卵泡生成素(follicle stimulating hormone, FSH)或合并低促黄体酮生成素(luteinizing hormone, LH);(2)或合并嗅觉功能障碍:X-性染色体连锁 KS 患者几乎均有不同程度的嗅觉缺陷;(3)或合并多种先天畸形:如色盲、听力减退、高腭弓、腭裂、单肾发育不全和先天性心脏病等;(4)染

色体核型分析:所有患者血淋巴细胞染色体核型均男性为 46, XY;(5) GnRH 激发试验:垂体对外源性 GnRH 激发反应差异较大;(6) HCG 激发试验:患者对 HCG 刺激反应波动较大;(7)头颅影像学检查:大多数患者无明显异常发现,或颅内 MRI 证实部分患者无嗅球和嗅管,并存在不同程度的大脑嗅沟非对称性发育不良;(8)骨龄测定:HH 患者骨龄通常较同龄人滞后。排除标准:排除 Klinefelter 综合征和 Turner 综合征。

1.3 研究方法

血清性激素检测 对所有研究对象空腹采取外周静脉血 5 mL, 2 000 g 离心 5 min 分离血清,采用酶联免疫吸附法(ELISA)分别测定血清 FSH、LH、泌乳素(prolactin, PRL),孕酮(progesterone, P),雌二醇(estradiol, E_2)和睾酮(testosterone, T),每份样本均行 3 次检测并取平均值。

1.4 血清骨钙素检测

所有研究对象空腹采取外周静脉血 5 mL, 2 000 \times g 离心 5 min 分离血清,采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清 OC,每份样本均行 3 次检测并取平均值。

1.5 统计学分析

该研究数据均采用 SPSS 11.6 进行处理,计量资料采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验,组间差异采用方差分析,血清 OC 与 FSH、LH 及 T 之间的相关性采用 logistic 回归分析,以 $P < 0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 血清性激素与 OC 水平

对照组 FSH、LH 及 T 明显高于病例组,差异具有显著统计学意义($P < 0.001$),而 PRL、P 和 E_2 在两组之间差异无统计学意义($P > 0.05$)。对照组 OC 水平明显高于病例组,差异具有显著统计学意义($P < 0.001$)。见表 1。

2.2 血清 OC 与 FSH、LH、T 相关性

在病例组中,采用 logistic 回归分析的方法对血清 T、FSH、LH 及 OC 水平分析,血清 OC 与 T 呈正性相关($\beta = 0.490$, 95% CI = 0.080~0.150, $P < 0.001$),OC 与 FSH 呈正性相关($\beta = 0.240$, 95% CI = 0.046~0.167, $P = 0.001$),OC 与 LH 无明显

相关性($\beta=0.093, 95\% \text{ CI} = -0.020 \sim 0.109, P = 0.175$)。见表 2。

表 1 对照组与病例组血清性激素及骨钙素水平
Tab. 1 The serum sex hormone levels and osteocalcin levels in normal control group and patient group

指标	对照组	病例组	<i>t</i>	<i>P</i>
年龄	17.40 ± 2.94	17.38 ± 2.65	0.56	0.955
<i>n</i>	100	98	—	—
FSH(IU/L)	10.25 ± 4.01	2.42 ± 1.25	18.45	<0.001
LH(IU/L)	10.46 ± 3.75	3.32 ± 1.45	17.61	<0.001
PRL(ng/L)	8.25 ± 2.56	9.01 ± 3.43	0.85	0.873
T(nmol/L)	20.01 ± 6.00	3.55 ± 1.28	26.57	<0.001
E ₂ (pmol/L)	98.16 ± 10.83	100.45 ± 6.24	1.98	0.058
P(nmol/L)	2.04 ± 0.83	2.28 ± 0.97	-1.85	0.066
OC(μg/L)	7.47 ± 1.56	18.05	<0.001	

表 2 病例组血清 OC 水平与 FSH、LH 及 T 回归分析
Tab. 2 The logistic analysis of OC and FSH, LH, and T in patient group

	非标准化系数		标准化系数	<i>t</i>	<i>P</i>	95% CI	
	B	标准误	β			下限	上限
	3.418	0.194		17.653	<0.001	3.036	3.800
T	0.115	0.018	0.490	6.429	<0.001	0.080	0.150
FSH	0.107	0.031	0.240	3.463	0.001	0.046	0.167
LH	0.045	0.033	0.093	1.362	0.175	-0.020	0.109

头颅影像学检查大多数患者无明显异常,但近年头颅 MRI 发现部分患者无嗅球和嗅管^[6]。目前在临床上 HH 患者的诊断主要通过临床表现、体格检查及辅助检查下丘脑-垂体-性腺轴功能检测,染色体核型分析,GnRH 激发试验,人绒毛膜促性腺激素(HCG)激发试验,头颅影像学检查以及骨龄测定等^[7-9]。

骨钙素又称骨 γ -羧基谷氨酸蛋白(BGP),是成熟成骨细胞合成和分泌的一种特异的非胶原蛋白基质蛋白^[10]。血清骨钙素主要生理功能是维持骨正常钙化速率,抑制软骨矿化速率,直接反映骨形成和骨重建^[11]。既往研究认为血清骨钙素水平与空腹血糖、胰岛素浓度,体脂含量呈负相关,确立了骨钙素调节糖代谢的重要作用,对其机制的了解将为治疗糖尿病提供新的靶点^[12]。Overvad 等^[13]研究发现血液中非羧基化骨钙素可作用于 β 细胞、脂肪细胞及睾丸间质细胞,促进胰岛素、脂联素和睾酮的分泌,对能量代谢和雄性生殖起调节作用。临床数据也显示骨钙素与糖尿病、非酒精性脂肪肝等多种能量代谢病存在密切的相关性。另外,Oury

3 讨论

1856 年 Maestrede Sanjuan 报道存在性功能低下伴嗅觉障碍这一疾病,1944 年美国纽约的精神病遗传学家 Kallmann 首先报道了 3 个家族中的 12 例类无睾症,其中 9 例伴有嗅觉缺失,并开始提出这是一种遗传性疾病,此后各国相继有多个家族性和散发病例报道。低促性腺激素性性腺功能减退症患者主要表现为第二性征低下、性功能障碍同时常伴有嗅觉缺失或部分缺失,且被认为是男性不育的重要原因之一^[1-5]。HH 在临床上主要表现为性腺发育落后(如性幼稚等),嗅觉功能完全丧失或减退,合并多种先天畸形(如腭裂、隐睾等)以及

等^[14]在研究骨骼系统和生殖的相关性中发现骨钙素可以影响睾丸对睾酮的产生和分泌。

在该项研究中发现,低促性腺激素性性腺功能减退症患者组骨钙素水平显著低于正常健康对照组($P < 0.001$);同时低促性腺激素性性腺功能减退症患者组血清睾酮、促卵泡生成素,促黄体酮生成素水平均显著低于正常健康对照组($P < 0.001, P < 0.001, P < 0.001$)。经 logistic 回归分析后发现血清骨钙素水平分别与血清睾酮、促卵泡生成素成正性相关($\beta = 0.490, P < 0.001; \beta = 0.240, P = 0.001$),而与血清促黄体酮生成素无明显相关($\beta = 0.093, P = 0.175$)。因此,导致低促性腺激素性性腺功能减退症患者血清睾酮降低的原因除了与血清促卵泡生成素水平低存在相关性,也可能与血清骨钙素水平较低存在相关性。然而,该研究仅从血清骨钙素水平以及性激素水平来分析骨钙素与低促性腺激素性性腺功能减退症的相关性。同时存在病例数较少、人种单一,单中心等因素。因此骨钙素与低促性腺激素性性腺功能减退症的相关性以及发病机制均有待于进一步研究。

4 参考文献

- [1] Tang KF, Wu QF, Zou TJ, et al. Molecular analysis of KAL-1 in a series of Kallmann syndrome and normosmic idiopathic hypogonadotropic hypogonadism patients from Northwestern China [J]. *Asian J Androl*, 2009(6):711 - 715.
 - [2] 肖帮惠,时立新,彭年春,等. 特发性低促性腺激素性性功能减退症 4 例[J]. *贵阳医学院学报*, 2013(3): 335 - 336.
 - [3] Zhang SL, Tang YP, Wang T, et al. Clinical assessment and genomic landscape of a consanguineous family with three Kallmann syndrome descendants [J]. *Asian J Androl*, 2011(1):166 - 171.
 - [4] Villafan-Bernal JR, Sanchez-Enriquez S, Munoz-Valle JF. Molecular modulation of osteocalcin and its relevance in diabetes (Review) [J]. *Int J Mol Med*, 2011(3): 283 - 293.
 - [5] 彭年春,时立新,张巧,等. Kallmann 综合征 2 例报告 [J]. *贵阳医学院学报*, 2008(3):325 - 326.
 - [6] Zaghouni H, Slim I, Zina NB, et al. Kallmann syndrome: MRI findings [J]. *Indian J Endocrinol Metab*, 2013(Suppl 1):S142 - S145.
 - [7] McCabe MJ, Bancalari RE, Dattani MT. Diagnosis and evaluation of hypogonadism [J]. *Pediatr Endocrinol Rev*, 2014(Suppl 2):214 - 229.
 - [8] Paun D, Gherlan I, Popescu I, et al. Phenotypic spectrum and hormonal profile in hypogonadotropic hypogonadism [J]. *J Med Life*, 2014(1):42 - 45.
 - [9] Hosseinfar H, Sabbaghian M, Chehraz M, et al. Assessment of deoxyribonucleic acid fragmentation index, testicular volume, semen parameters, and hormone profile in gonadotropin-treated men with hypogonadotropic hypogonadism [J]. *Urology*, 2013(6):1291 - 1295.
 - [10] Sarkar PD, Choudhury AB. Relationships between serum osteocalcin levels versus blood glucose, insulin resistance and markers of systemic inflammation in central Indian type 2 diabetic patients [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2013(12):1631 - 1635.
 - [11] 梁剑,黄玉宇,杜南进. 血清骨钙素、降钙素、睾酮及甲状旁腺激素在老年男性骨质疏松症中临床意义[J]. *广州医学院学报*, 2008(5):10 - 12.
 - [12] 张尧. 骨钙素(OC)对糖代谢的影响及其活性调节[J]. *复旦学报:医学版*, 2013(2):242 - 245.
 - [13] Overvad S, Bay K, Bojesen A, et al. Low INSL3 in Klinefelter syndrome is related to osteocalcin, testosterone treatment and body composition, as well as measures of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis [J]. *Andrology*, 2014(3):421 - 427.
 - [14] Oury F, Sumara G, Sumara O, et al. Endocrine regulation of male fertility by the skeleton[J]. *Cell*, 2011(5): 796 - 809.
- (2015-03-07 收稿,2015-03-18 修回)
中文编辑: 刘 平; 英文编辑: 刘 华
-
- (上接第 341 页)
- [9] 肖瑛,石明隽,桂华珍,等. 丹芪合剂和依拉普利对 DM 大鼠肾小管 BMP-7 及其受体表达的研究[J]. *时珍国医国药*, 2009(10):2495.
 - [10] 李晓颖,郭兵,刘瑞霞,等. 丹芪合剂和依拉普利对糖尿病大鼠肾小管 HGF 和 SnoN 表达的影响[J]. *时珍国医国药*, 2010(9):218.
 - [11] Jie Wang, Xing jiang xiong, Bo feng. Cardiovascular Effects of Salvianolic Acid B [J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2013(2013):247948.
 - [12] Shu Li, Lian Wang, Xiuchuan Yan, et al. Salvianolic Acid B Attenuates Rat Hepatic Fibrosis via Downregulating Angiotensin II Signaling[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012(2012):160726.
 - [13] 潘荣华,芮国华,姚刚,等. 丹酚酸 B 对输尿管梗阻大鼠肾小管上皮细胞转分化的影响[J]. *中国中西医结合肾病杂志*, 2008(9):779 - 781.
 - [14] Zhang M, Cao SR, Zhang R, et al. The effect of salvianolic acid B on TGF- β 1 induced proliferation and differentiation in lung fibroblasts[J]. *Exp Lung Res*, 2014(4): 172 - 185.
- (2015-03-11 收稿,2015-03-25 修回)
中文编辑: 刘 平; 英文编辑: 刘 华

小鼠肠缺血再灌注诱发多器官功能障碍的动物模型研究*

郑德义, 王 毅, 杜 娇, 李平洋, 肖向阳, 程代薇, 李自力

(贵州省人民医院 烧伤整形科, 贵州 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 探讨建立稳定的肠缺血再灌注(II/R)损伤诱发多器官功能障碍综合征(MODS)的实验动物模型。方法: C57 BL/6 小鼠 72 只, 根据观察指标随机分组; 分组 1, 肠缺血 30 min 组、40 min 组、50 min 组和 60 min 组后恢复灌注, 观察造模后 7 d 不同肠缺血时间动物生存率; 分组 2, 假手术组(Sham)、缺血 40 min 后再灌注组(II/R), 于再灌注 1 h、6 h 及 12 h 取标本, 检测血清 ALT、AST、Crea 及 LDH 水平, 同时取肺、肝及肾组织做病理学检查。结果: 随着肠缺血时间延长, 动物生存率明显降低, 肠缺血 40 min 小鼠 7 d 内生存率为 60%, 选择缺血 40 min 作为动物模型进行分组 2 实验; 肠缺血 40 min 后再灌注 6 h 时, 血清 ALT、AST、Crea 和 LDH 明显升高 ($P < 0.05$), 肺、肝脏及肾脏组织器官发生病理学改变。结论: 小鼠肠缺血 40 min 再灌注后 6 h, 是研究 II/R 损伤诱发 MODS 较理想的时间点。

[关键词] 肠; 缺血再灌注; 多器官功能障碍; 模型; 动物; 小鼠

[中图分类号] R363; R656.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0346-03

Research on Multiple Organ Dysfunction Syndrome Model Induced by Intestinal Ischemia/Reperfusion in Mice

ZHENG Deyi, WANG Yi, DU Jiao, LI Pingyang, XIAO Xiangyang, CHENG Daiwei, LI Zili

(Department of Burn and Plastic Surgery, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang 550002, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To establish an animal model of multiple organ dysfunction syndrome (MODS) induced by intestinal ischemia/reperfusion (II/R) in mice. **Methods:** C57 BL/6 mice were randomly divided into group 1 (intestinal ischemia 30, 40, 50 and 60 min subgroups) and group 2 (sham operation subgroup, II/R subgroup). The survival rates of mice were observed after different intestinal ischemia time in group 1. Biochemical indexes of ALT, AST, Crea and LDH in serum were measured, and pathological changes of the lung, liver and kidney were observed by optical microscope after II/R in group 2. **Results:** With intestinal ischemia time prolonged, mice survival rate was significantly reduced. Compared with intestinal ischemia 30 min group, the mice survival rates in more than 50 min intestinal ischemia group decreased significantly ($P < 0.05$). The mice survival rates in intestinal ischemia 60 min group decreased significantly than in less than 50 min intestinal ischemia group ($P < 0.05$). After intestinal ischemia 40 min and reperfusion 6 h, mice serum ALT, AST, Crea and LDH increased significantly ($P < 0.05$) and pathological changes of lung, liver and kidney could be observed. **Conclusion:** 6 h of reperfusion after mesentery ischemia for 40 ~ 50 min is the ideal choice to research MODS induced by II/R in mice.

[Key words] intestine; ischemia reperfusion; multiple organ failure; models, animal; mice

*[基金项目] 国家自然科学基金(30730091); 贵州省科学技术基金[黔科合 LS 字(2011)15 号]

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1911.019.html>

肠道缺血再灌注(intestinal ischemia reperfusion, I/R)损伤是严重创(烧)伤后常见的病理生理过程,肠缺血再灌注不仅引起肠损伤,而且导致机体其他器官如肺、肝及肾脏等多器官损害^[1],发生多器官功能障碍综合征(MODS),甚至多器官衰竭死亡。国内文献多以大鼠、兔等较大型啮齿动物为实验对象^[2-3],且肠缺血及再灌注时间不一,本研究以小鼠为实验对象,探索建立稳定的 I/R 诱发 MODS 实验动物模型。

1 材料与方法

1.1 动物分组

10 周龄健康雄性 C57BL/6 小鼠 72 只,体重 22~26 g,根据观察指标随机分组。分组 1:肠缺血 30 min 组、40 min 组、50 min 组和 60 min 组,每组 12 只,手术后 7 d 时观察肠缺血不同时间小鼠的生存率。分组 2:假手术组(Sham, 6 只小鼠),肠缺血 40 min 后再灌注组(I/R, 18 只小鼠),分别于再灌注 1 h、6 h 和 12 h(各 6 只)时取标本。实验经过医院伦理学委员会批准。

1.2 方法

参照文献^[4]实验,所有小鼠术前禁食 12 h,自由饮水,腹腔注入 1% 戊巴比妥钠($50 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$)麻醉,开腹钝性分离肠系膜前动脉,用动脉夹夹闭肠系膜前动脉(SMA)造成小鼠肠缺血,缺血相应时间后松开动脉夹恢复血流再灌注,关闭腹腔;假手术组不夹闭 SMA(仅开腹后关闭腹腔)。术后立即腹壁皮下注入生理盐水 1 mL,自由进食。

1.3 检测指标

观察分组 1 中的 48 只小鼠 7 d 内的生存率,分组 2 中的 24 只小鼠分别于相应时间,心脏穿刺抽血,室温静置、离心($4\,000 \text{ g/min}$)15 min 分离血清, $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 保存,统一检测血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、肌酐(Crea)、乳酸脱氢酶(LDH)水平;肠缺血再灌注后 6 h 取右上肺叶、肝及肾脏组织做病理学检查。

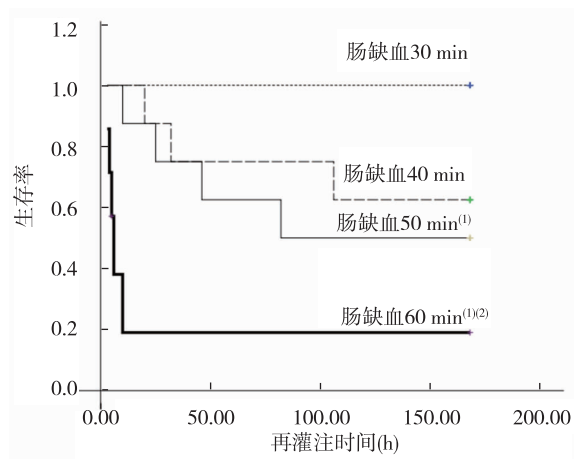
1.4 统计学处理

数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,SPSS 16.0 统计软件处理,组间差异采用单因素方差分析, Kaplan-Meier 生存曲线计算生存率,采用 Mantel-cox 检验比较生存率, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 I/R 小鼠生存率

观察肠缺血再灌注后 7 d 内动物生存状况,随着肠缺血时间延长,小鼠生存率明显降低。在观察期内,肠缺血 30 min 小鼠全部存活,缺血 40 min 动物生存率 60%,缺血 50 min 小鼠生存率仅 50% (在 82 h 半数动物死亡),肠缺血 60 min 小鼠生存率 $< 40\%$ (在 6 h 时半数动物死亡)。与肠缺血 30 min 比较,肠缺血 50 min 和 60 min 组小鼠死亡率明显增加($P < 0.05$),见图 1。



⁽¹⁾与肠缺血 30 min 比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾与肠缺血 ≤ 50 min 比较, $P < 0.05$

图 1 不同肠缺血时间小鼠的生存率

Fig. 1 Mice survival rate in different ischemia time groups

2.2 血清 ALT、AST、Crea 和 LDH

小鼠肠缺血再灌注 1 h 时,仅有 Crea 指标高于假手术组($P < 0.01$),肠缺血后再灌注 6 h,4 项血清学指标均明显高于假手术组($P < 0.01$);而在 12 h 血清指标中仅有 ALT 及 AST 明显高于假手术组($P < 0.01$)。结果提示,小鼠肠缺血再灌注损伤所引起的 MODS 在手术后 6 h 是最为显著,是最佳时间点。见表 1。

2.3 肺、肝和肾组织改变

假手术组小鼠肺、肝脏及肾脏组织形态正常。I/R 后 6 h 肺、肝脏及肾脏发生病理改变,主要肺组织充血,肺间质炎性细胞浸润;肝细胞水样变性、气球样变性,部分有炎性细胞浸润;肾小管上皮细胞水肿(图 2)。

表 1 肠缺血后不同再灌注时间血清生化指标变化($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 The serum biochemical index changes in different reperfusion time after ischemia

生化指标	sham	再灌注时间		
		1 h	6 h	12 h
ALT(u/L)	40.25 ± 2.63	56 ± 20.07	179.5 ± 141.59 ⁽¹⁾	128.33 ± 89.67 ⁽¹⁾
AST(u/L)	195.75 ± 57.53	156.67 ± 22.37	483.33 ± 176.31 ⁽¹⁾	365 ± 117.29 ⁽¹⁾
Crea(mmol/L)	5.25 ± 0.96	17.67 ± 12.58 ⁽¹⁾	10.33 ± 1.86 ⁽¹⁾	8.00 ± 2.65
LDH(u/L)	1496.75 ± 382.85	1406.33 ± 1136.55	3119 ± 947.58 ⁽¹⁾	1910.33 ± 369.85

⁽¹⁾与 sham 比较, $P < 0.01$

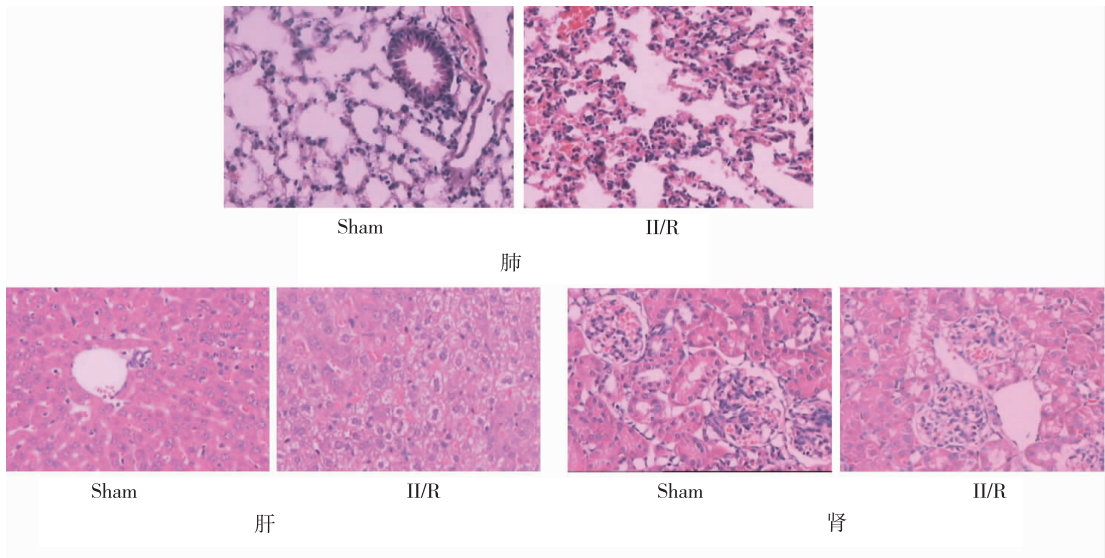


图 2 各组小鼠肺、肝和肾组织学表现(HE, ×100)

Fig. 2 The pathological change of lung, liver and kidney induced by II/R

3 讨论

肠缺血再灌注是严重创伤、烧伤休克后救治过程中可能发生的一个共同的病理生理阶段。肠缺血再灌注损伤后肠黏膜屏障受损及功能下降、促使肠道细菌及内毒素移位,氧自由基损害、中性粒细胞活化和各种炎性细胞因子的过度合成及释放,诱发全身炎症反应,导致肺、肝、肾脏等远隔脏器的损害^[1],是 ARDS 和 MODS 发生的重要原因^[5-6]。研究 II/R 损伤的发病机制,首先建立稳定、可靠的实验动物模型是关键。

本实验表明,随着肠缺血时间增加,动物存活率逐渐降低,肠缺血 60 min 组小鼠,再灌注 6 h 时半数动物死亡,显然不适合作为研究模型。肠缺血时间 40 ~ 50 min 小鼠在 1 周观察期内,半数以上存活,是较为理想的肠缺血时间。因此,选择肠缺血 40 min 后再灌注 1 h、6 h 及 12 h 时,观察肝、肾及全身组织器官功能损伤情况及血清 AST、ALT、

LDH 及 Crea 水平。LDH 几乎存在于所有器官组织细胞内,是有机体能量代谢过程中参与糖酵解的重要酶,当组织器官发生病变时,细胞膜通透性增加,释放更多的 LDH 到细胞间隙和体液,LDH 水平是反应细胞膜损伤较灵敏的指标之一,是目前比较公认测定细胞膜损伤的指标^[7]。本研究发现,小鼠肠缺血再灌注 1 h 时血清学指标仅有 Crea 高于假手术组,提示此时再灌注造成的损伤并不明显;12 h 时血清学指标仅有 ALT 和 AST 高于假手术组,提示再灌注 12 h 时组织器官的修复功能可能部分恢复;再灌注 6 h 时血清学 4 项指标明显高于假手术组,而且病理检查提示,肠缺血后再灌注 6 h,肺、肝脏及肾脏发生改变,主要表现为组织细胞水肿、变性,伴随炎症细胞浸润,提示小鼠缺血再灌注 6 h 是观察 MODS 模型的最佳时间点。模型制作过程中,因小鼠体形小,要求手术操作熟练、轻柔、精细,减少腹腔脏器的翻动,术中、术后注意保温,缺血期间断缝合或蚊式钳夹闭暂时关闭腹腔,以防肠组织及腹腔体液外渗。

(下转第 355 页)

紫外分光光度法和蒽酮-硫酸法测定参芎葡萄糖注射液中总糖含量*

朱迪¹, 谭丹¹, 侯靖宇², 向文英², 王爱民^{2,3}, 兰燕宇^{2,3}, 郑林^{1,3**}

(1. 贵阳医学院 贵州省药物制剂重点实验室, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵阳医学院 民族药与中药开发应用教育部工程研究中心, 贵州 贵阳 550004; 3. 贵阳医学院 药学院, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 建立参芎葡萄糖注射液中总糖含量的良好测定方法。方法: 采用紫外分光光度法和蒽酮-硫酸法, 以葡萄糖为对照品, 对参芎葡萄糖注射液中总糖进行含量测定。结果: 建立了以葡萄糖为对照品, 紫外分光光度法测定参芎葡萄糖注射液中总糖的含量测定方法, 且浓度在 0.008 ~ 0.03 g/L 范围内与吸光度线性关系良好, $A = 35.50C - 0.04180$, $r = 0.9993$, 平均回收率为 103.1%, RSD 为 2.9%。结论: 蒽酮-硫酸法测定参芎葡萄糖注射液中总糖含量, 测定方法简便、准确可靠, 可用于该制剂的质量控制。

[关键词] 参芎葡萄糖注射液; 总糖; 紫外分光光度法

[中图分类号] R284.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0349-03

UV Spectrophotometry and Anthrone Sulfur Method Assaying Total Sugar in Shenxiong Glucose Injection

ZHU Di¹, TAN Dan¹, HOU Jingyu², XIANG Wenying², WANG Aimin^{2,3}, LAN Yanyu^{2,3}, ZHENG Lin^{1,3}

(1. Guizhou Provincial Key Laboratory of Pharmaceutics, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. Engineering Research Center for the Development and Application of Ethnic Medicine and TCM, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China; 3. School of Pharmacy, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To establish the method for the determination of total sugar in Shenxiong glucose injection. **Methods:** Adopting UV spectrophotometry and anthrone sulfur method, using glucose as reference to measure total sugar content of Shenxiong injection. **Results:** Established the method of using glucose as reference to test total sugar of Shenxiong glucose injection by UV spectrophotometry, and it showed a good linear relationship between the absorbance and the concentration between 0.008 ~ 0.03 g/L, $A = 35.50C - 0.04180$, $r = 0.9993$; the average recovery was 103.1%, RSD was 2.9%. **Conclusions:** The method is practical, accurate and reliable, can be used as quality control method of Shenxiong glucose injection.

[Key words] Shenxiong glucose injection; total sugar; ultraviolet spectrophotometry

“参芎葡萄糖注射液”为上市的中药注射剂品种,由丹参和盐酸川芎嗪配伍组成,具有抗血小板聚集,扩张冠状动脉作用,临床用于闭塞性脑血管病及其它缺血性血管疾病的治疗^[1-3]。参芎葡萄糖注射液现行质量标准仅对丹参素和盐酸川芎嗪

进行定量控制,难以全面控制产品内在质量。为进一步完善参芎葡萄糖注射液质量控制方法,达到《中药、天然药物注射剂基本技术要求》所规定的“多成份制成的注射剂,所测成份应大于总固体量的 80%”要求,本研究建立了参芎葡萄糖注射液总

*[基金项目] 国家科技支撑计划课题(2013BAI1B01); 贵州省科技重大专项项目[黔科合重大专项字(2011)6019号]; 贵州省中药现代化专项项目[黔科合中药字(2013)5062号]

**通信作者 E-mail: mailofzl@126.com

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1927.027.html>

糖的含量测定方法,为产品的质量控制与综合评价提供科学的参考依据。

1 材料与方法

1.1 仪器与试药

紫外可见分光光度计(日本岛津公司,UV 2401),超声波清洗器(250 W,频率 27~34 kHz;北京医疗设备二厂),AE240 十万分之一电子天平(梅特勒-托利多仪器上海有限公司),超纯水机(四川沃特尔科技发展有限公司),TAISITE 水浴锅,移液枪(1 000 μ L,Eppendorf)。D-无水葡萄糖(批号 111506,中国食品药品检定研究院),蒽酮(30015014,国药集团化学试剂有限公司),浓硫酸[20131201,重庆川东化工(集团)有限公司]。8 个不同批次的参芎葡萄糖注射液(批号为:20131125-1,20131125-2,20130979-1,20130979-2,20131104-1,20131104-2,20131211-1,20131211-2)均由贵州景峰注射剂有限公司提供。

1.2 总糖含量测定方法

1.2.1 溶液的制备 对照品溶液的制备:精密量取 D-无水葡萄糖 20 mg,置 100 mL 容量瓶中,加水至刻度,摇匀,得对照品溶液。供试品溶液制备:取注射液 1 mL,加水定容至 50 mL,摇匀后,再取 1 mL 加水定容至 50 mL,得供试品溶液 A,取供试品溶液 A 2 mL,加入 8 mL 蒽酮试剂,摇匀后,沸水浴加热 10 min,放至室温后,冰浴冷却 5 min 后,室温放至 10 min。空白溶液制备:取纯化水 2 mL 于离心管中,加入 8 mL 蒽酮试剂,摇匀后,沸水浴加热 10 min,放至室温后,冰浴冷却 5 min 后,室温放至 10 min。蒽酮试剂的制备:取 0.2 g 蒽酮,加浓硫酸至 100 mL,即配即用。

1.2.2 检测波长 以水为参比,分别于紫外可见分光光度计上对标准系列溶液和供试品溶液进行全扫描,对照品溶液最大吸收波长为 620 nm,供试品溶液最大吸收波长为 625 nm,二者紫外光谱和最大吸收波长基本一致,故确定参芎葡萄糖注射液中总糖含量的测定波长为 620 nm。对照品和供试品紫外光谱,见图 1,空白紫外光谱,见图 2。

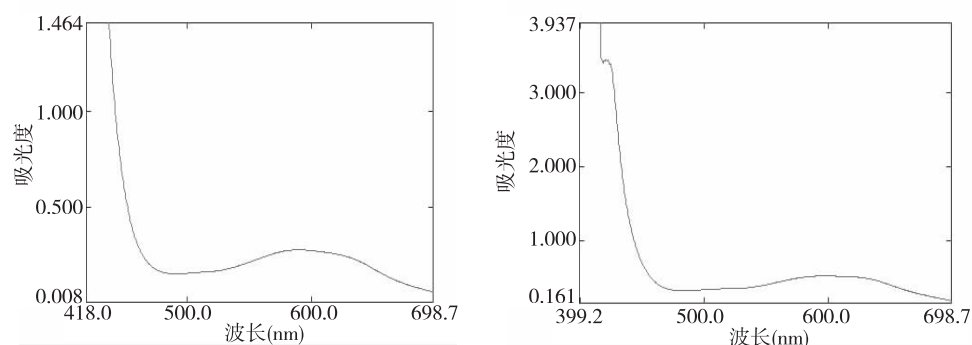


图 1 对照品和供试品紫外光谱图

Fig. 1 UV spectrogram of standards and samples

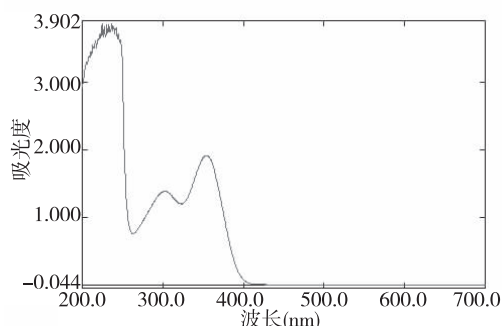


图 2 空白紫外光谱图

Fig. 2 UV spectrogram of blank

1.3 方法学考察

1.3.1 线性关系 用移液枪量取对照品溶液 0.40、0.60、0.80、1.00、1.50 至 10 mL 离心管中,再用移液枪加水至 2 mL,摇匀后,加入 8 mL 蒽酮试剂,摇匀后,沸水浴加热 10 min,放至室温后,冰浴冷却 5 min 后,室温放至 10 min,即得对照品工作液。分别取对照品工作液,以水为参比溶液,在 620 nm 波长处测定吸光度,以浓度 C 为横坐标,吸光度 A 为纵坐标,绘制标准曲线,计算回归方程为 $A = 35.500 C - 0.04180$, $r = 0.9993$,结果表明葡萄糖对照品浓度在 0.008~0.03 g/L 范围内与溶液的吸光度之间呈良好的线性关系。

1.3.2 精密度试验 取同一浓度的对照品工作液

(0.025 g/L),按上述建立的紫外分光光度法连续测定 6 次吸光度值,结果 6 次测定值的 RSD 为 0.79%,说明仪器精密度良好。

1.3.3 重复性试验 取同一批号参芎葡萄糖注射液(批号为:20131125-1)6 份,按“1.2.1”项下方法制备供试品溶液,分别测定吸光度值并计算含量,结果 6 次测定值的 RSD 为 2.7%,说明此方法的重复性良好。

1.3.4 稳定性试验 精密称取重复性试验项下参芎葡萄糖注射液,按“1.2.1”项下方法制备供试品溶液,按上述建立的紫外分光光度法,分别于 0,1,2,4,6,8,24 h 测定吸光度值,结果供试品溶液中总糖含量的 RSD 为 2.5%,表明供试品溶液在 24 h 内稳定性良好。

1.3.5 回收率试验 精密称取重复性试验项下参芎葡萄糖注射液 9 份,每份 0.5 mL,分别精密加入葡萄糖对照品溶液适量,按“1.2.1”项下方法制备供试品溶液,按上述建立的紫外分光光度法测定吸光度值并计算总糖的含量,结果表明:9 份供试品加样回收率结果在 98.17%~108.13% 之间,RSD 为 2.9%,说明此方法具有良好的回收率,见表 1。

表 1 回收率试验结果
Tab.1 Test results of recovery

编号	样品含量 (mg)	加入量 (mg)	测得量 (mg)	回收率 (%)	平均回收 率(%)	RSD (%)
1	27.10	21.07	50.17	104.15		
2	27.13	21.07	49.29	102.26		
3	27.07	21.07	50.55	105.01		
4	27.04	27.21	55.07	101.51		
5	27.51	27.21	53.72	98.17	103.1	2.9
6	27.63	27.21	59.3	108.13		
7	27.40	32.03	63.01	106.02		
8	27.11	32.03	61.07	103.26		
9	26.90	32.03	59.04	100.19		

1.4 样品测定

8 批参芎葡萄糖注射液,按“1.2.1”项下方法制备供试品溶液,按上述建立的紫外分光光度法测定吸光度值,分别计算供试品溶液中总糖含量,结果见表 2。

2 讨论

目前测定总糖的方法有苯酚 - 硫酸法和蒽酮 - 硫酸法,苯酚 - 硫酸法中苯酚需要进行蒸馏后才

能使用,污染较大,稳定性差,线性关系不好且重现性差^[4-14]。因此本研究采用蒽酮 - 硫酸法对参芎葡萄糖注射液进行总糖含量测定,研究结果表明线性关系理想,重现性、稳定性均良好,结果准确可靠,且简便可行。

表 2 8 批参芎葡萄糖注射液中总糖含量测定结果
Tab.2 Determination results of total sugar in 8
bottle of Shenxiong glucose injection

供试品	批号	总糖含量(g/L)
1	20131125-1	53.17
2	20130979-1	53.15
3	20131104-1	53.22
4	20131211-1	53.24
5	20130979-2	53.13
6	20131104-2	53.24
7	20131211-2	53.27
8	20131125-2	53.14
平均值		53.20

为更好的反映参芎葡萄糖注射液的内在质量,本研究对参芎葡萄糖注射液中主总糖进行了测定,探讨和建立科学、可靠、简便的总糖定量测定方法。建立的紫外可见分光光度法,经方法学考察,该方法可以较为简便、快速、准确地测定参芎葡萄糖注射液中总糖的含量,可为参芎葡萄糖注射液的质量评价提供检测标准。

3 参考文献

[1] 王珊珊,刘艳红.参芎葡萄糖注射液活血化瘀及耐缺氧将效应研究[J].现代中医杂志,2014(4):358-362.
[2] 陈兴坚,刘建红.参芎葡萄糖注射液的临床应用进展[J].中国实用医药,2010(13):247-249.
[3] 李达文,龚惠,叶勇,等.参芎葡萄糖注射液对缺血再灌注损伤心肌的保护作用[J].中国分子心脏病学杂志,2012(1):51-56.
[4] 郑林,庞秀清,兰燕宇,等.UFLC 法同时测定参芎葡萄糖注射液中 6 种主要成分[J].中成药,2012(7):1276-1279.
[5] 郑林,庞秀清,黄勇,等.参芎葡萄糖注射液的 UFLC 指纹图谱研究[J].中国医药工业杂志,2013(6):611-614.
[6] 张钰,覃容贵,安东琴,等.紫外可见分光光度法测定深裂竹根七多糖的含量[J].贵阳医学院学报,2014(3):371.
[7] 王欢,卢红梅,张义明,等.固态发酵食醋中还原糖、总糖含量测定[J].中国酿造,2011(9):172-175.

(下转第 355 页)

原花青素对小鼠脑缺血再灌注损伤的神经保护机制*

张文艳^{1,2**}, 孙宝飞¹, 余资江^{1***}, 余彦¹, 肖朝伦¹, 罗时鹏¹, 令狐艳¹, 杨丹¹

(1. 贵阳医学院 解剖学教研室, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵阳医学院附院 呼吸内科, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 探讨原花青素对小鼠脑缺血再灌注损伤的神经保护机制。方法: 120只昆明小鼠随机分成正常对照组、假手术组、14 d模型组、14 d治疗组、28 d模型组、28 d治疗组; 采用小鼠双侧颈总动脉结扎缺血15 min、再灌注15 min, 反复3次构建脑缺血再灌注损伤模型; 各治疗组在处死前7 d连续给予松树皮提取物灌胃治疗, 其余各组灌注等量生理盐水, 小鼠处死后取各组海马组织用ELISA法测定肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及白介素-6 (IL-6)的表达, western blot法检测海马内核因子- κ B (NF- κ B)的表达。结果: 各治疗组脑组织TNF- α 、IL-6及NF- κ B蛋白表达水平与同时点模型组比较均明显降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论: 原花青素对脑缺血再灌注损伤小鼠神经保护机制可能是通过降低NF- κ B、TNF- α 以及IL-6表达而实现。

[关键词] 脑缺血; 再灌注损伤; 原花青素; 炎症; 肿瘤坏死因子- α ; 白介素-6; 核因子- κ B

[中图分类号] R743.3; R322.81 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0352-04

The Protective Effect of Procyanidins on Cerebral Ischemia Reperfusion Injury in Mice

ZHANG Wenyan^{1,2}, SUN Baofei¹, YU Zijiang¹, YU Yan¹, XIAO Chaolun¹,
LUO Shipeng¹, LINGHU Yan¹, YANG Dan¹

(1. Department of Anatomy, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. Department of Respiratory, Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the protective effect and possible mechanism of procyanidins on cerebral ischemia reperfusion injury in mice. **Methods:** One hundred and twenty healthy Kunming mice were randomly divided into 6 groups: the normal control group, sham operation group, 14-day model group, 28-day model group, 14-day treatment group and 28-day treatment group. The model of cerebral ischemia reperfusion injury was constructed by gripping bilateral carotid artery of mice for 15 minutes, and conducting reperfusion for another 15 minutes and repeating the above process 3 times. The treatment group was continuously given procyanidins by intragastric administration for 7 days before execution, and other groups were given the same amount of normal saline by intragastric administration. The hippocampal tissue of mice was taken. ELISA was adopted to determine the expression of the tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-6 (IL-6) and the expression of nuclear factor- κ B (NF- κ B), and western blotting was adopted to observe the expression of NF- κ B. **Results:** Compared with the model group, in each treatment group TNF- α and IL-6 protein expressions in mice brain tissue were decreased significantly ($P < 0.05$). NF-kappa B protein expressions of hippocampal tissues in treatment group were decreased significantly compared with the model group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Procyanidins can protect hippocampal neurons and reduce the inflammation in cerebral ischemia reperfusion injury of mice, and the mechanism may be related to reduce the expression of NF- κ B, TNF- α and IL-6.

* [基金项目] 国家自然科学基金(NO:81060108); 贵州省科技厅社会发展攻关项目[黔科合SY字(2012)3144号]

** 贵阳医学院2012级硕士研究生

*** 通讯作者 E-mail: yzj0112@126.com

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1907.017.html>

[**Key words**] brain ischemia; reperfusion injury; procyanidin; inflammation; tumor necrosis factor- α ; interleukin-6; nuclear factor- κ B

松树皮提取物中含有大量原花青素(oligomeric proanthocyanidins, OPCs)的化合物, OPCs 具有抗炎、抗氧化及抗血小板聚集及改善学习记忆能力作用^[1-3]。海马内核因子- κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)在脑缺血后可被诱导激活, NF- κ B 通过调控多种基因的表达参与了多种细胞因子和炎症介质的转录调节, 在缺血性脑损伤中具有重要作用。NF- κ B 作为脑缺血损伤的治疗靶点, 对有效防治脑缺血炎症具有重要的理论和临床意义^[4]。目前中药在治疗脑缺血炎症方面虽已有许多报道, 但中药作用于 NF- κ B 信号转导途径的研究还较少。本实验采用 OPCs 治疗缺血再灌注模型小鼠, 探讨 OPCs 对缺血再灌注损伤后小鼠脑海马神经元的保护作用及其机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

健康成年昆明种小白鼠 120 只, 体重 20~22 g, 由贵阳医学院实验动物中心提供, 合格证号 SCXK(黔)2002-0001。按随机分组原则将 120 只小鼠分为正常对照组、假手术组、14 d 模型组、14 d 治疗组、28 d 模型组和 28 d 治疗组, 每组 20 只。饲养温度 $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$, 湿度 48%~60%。

1.2 动物模型建立

各组小鼠常规饮食, 术前 12 h 禁食, 4 h 禁水。小鼠以 3.5% 水合氯醛(10 mL/kg)腹腔注射麻醉, 仰卧位固定, 常规消毒, 自下颌骨到胸骨柄间作 5~8 mm 长的颈部正中切口, 游离双侧颈总动脉及伴行神经, 夹闭双侧颈总动脉, 缺血 15 min, 然后松开微动脉夹, 恢复血液灌注 15 min, 反复 3 次造成小鼠脑缺血再灌注损伤, 苏醒前小鼠保温。术后连续 3 d 给予青霉素 2 000 000 U 肌注抗炎, 分笼饲养。假手术组除不夹闭颈总动脉外, 其余操作同模型组。治疗组在处死前 7 d 给予 OPCs(100 mg/kg)灌胃治疗, 1 次/d, 正常对照组、假手术组、模型组灌注等量生理盐水。

1.3 海马组织炎症因子测定

每组取 10 只小鼠海马组织匀浆离心后取上清液, 采用 ELISA 法测定肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)以及白介素-6(interleukin-6,

IL-6)水平, 按照试剂盒说明书进行操作。

1.4 海马 CA3 区 NF- κ B 蛋白表达

Western blot 法检测, 每组各取 10 只小鼠断颈处死取出全脑分离出海马, 切取双侧海马 CA3 区组织, 称重, 以 1:10 加入 4 $^\circ\text{C}$ 预冷的匀浆缓冲液后抽提核蛋白, 恒温冷冻离心机 4 $^\circ\text{C}$, 14 000 r/min 离心 30 min, 收集上清液, Bradford 法测定蛋白含量, 加等体积的 2 \times 电泳样品缓冲液混合, 以 1 g/L 蛋白量上样, 10% SDS-PAGE 电泳分离后电转膜至硝酸纤维素膜, 膜片以 5% 脱脂奶粉室温封闭 2 h, 加入一抗(NF- κ Bp65 单克隆抗体) 4 $^\circ\text{C}$ 过夜, 洗涤后与二抗-辣根过氧化物酶(HRP)交联物反应, 强化学发光试剂(ECL)显色剂显色, 以柯达医学专用胶片曝光, 手工显影、定影、洗片, 显现特定的蛋白信号条带。BIO-RAD 生物图像处理系统(PDQUEST 6.1.1)进行灰度测定。按目的蛋白灰度值与相应 β -actin 灰度值计算每例标本相应指标的相对值。

1.5 统计学处理

数据用 SPSS 11.5 软件处理, 数据结果用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 数据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 一般情况

造模后观察到模型组小鼠出现惊厥、呼吸深慢、心跳加快等脑缺血模型特异性表现。表明造模成功。

2.2 海马组织中 NF- α 、IL-6 蛋白表达

ELISA 结果显示, 假手术组与正常对照组结果无差异($P > 0.05$), 各模型组小鼠 TNF- α 、IL-6 蛋白表达水平明显高于假手术组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 模型组中, 14 d 组升高更明显, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 各治疗组 TNF- α 、IL-6 水平低于同期模型组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

2.3 海马组织 CA3 区 NF- κ B 蛋白表达

假手术组海马 CA3 区 NF- κ B 蛋白水平与正常对照组比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 各模

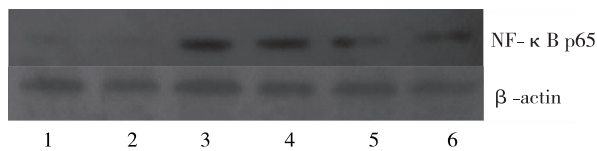
型组 NF-κB 蛋白水平显著高于假手术组,差异有统计学意义($P < 0.05$);各治疗组低于同期模型组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1,图 1。

表 1 各组小鼠海马组织中 TNF-α、IL-6 及 NF-κB 蛋白表达

Tab. 1 The protein expressions of TNF-α, IL-6 and NF-κB in hippocampal tissues of mice in each group

组别	n	炎症因子(ng/L)		NF-κB
		TNF-α	IL-6	
正常对照组	10	128.94 ± 7.31	145.56 ± 8.45	0.06 ± 0.01
假手术组	10	127.35 ± 3.50	154.77 ± 6.47	0.07 ± 0.01
14 d 模型组	10	191.92 ± 7.26 ⁽¹⁾	250.31 ± 11.24 ⁽¹⁾	0.31 ± 0.04 ⁽¹⁾
14 d 治疗组	10	162.68 ± 2.27 ⁽¹⁾⁽²⁾	231.54 ± 8.69 ⁽¹⁾⁽²⁾	0.25 ± 0.06 ⁽¹⁾⁽²⁾
28 d 模型组	10	175.05 ± 5.24 ⁽¹⁾	221.06 ± 10.35 ⁽¹⁾	0.24 ± 0.02 ⁽¹⁾
28 d 治疗组	10	146.64 ± 5.14 ⁽¹⁾⁽²⁾	194.27 ± 7.83 ⁽¹⁾⁽²⁾	0.19 ± 0.03 ⁽¹⁾⁽²⁾

⁽¹⁾与假手术组比较, $P < 0.05$;⁽²⁾与同期模型组比较, $P < 0.05$



注:1、2、3、4、5 及 6 分别为正常对照组、假手术组、14 d 模型组、28 d 模型组、14 d 治疗组及 28 d 治疗组

图 1 各组小鼠海马组织 CA3 区 NF-κB 蛋白表达(Western blot)

Fig. 1 Expressions of NF-κB in CA3 region in hippocampal tissues of mice in each group

3 讨论

脑缺血再灌注损伤(ischemia reperfusion injury)引起缺血组织一系列复杂的病理生理变化,涉及自由基产生、氧化应激、钙超载、兴奋性氨基酸毒性、炎症细胞因子损害和细胞凋亡等多个方面。NF-κB 是一类具有多向调节作用的核蛋白因子,当中枢神经系统缺血时,可被特异性激活,从而调控多种基因的表达,参与免疫、炎症、氧化应激、细胞凋亡等多种病理生理过程,与缺血再灌注损伤关系密切^[5]。NF-κB 存在于脑血管内皮细胞、神经元和神经胶质细胞中,是由 p50 和 p65 两个亚单位组成的异二聚体。NF-κB 未激活时与抑制蛋白 IκB 结合后位于胞质,在某些刺激因素作用下 IκB 降解,并与 NF-κB 解离后被激活,进入胞核与特定基因启动子结合,调控基因的转录^[6]。多种炎症递质

基因的启动子和增强子中包含 κB 位点,如 TNF-α、IL-1β、IL-2、IL-6 和 IL-12、血管细胞黏附分子-1、干扰素-γ 等,这些因子促进炎症反应,最终促使神经细胞从早期缺血到细胞死亡的不可逆损害演变,加重脑损伤,炎症细胞因子在缺血再灌注后所引发的继发性损伤起关键作用^[6]。

脑缺血早期 TNF-α 分泌的增加是缺血再灌注损伤形成的主要原因^[7],TNF-α 又可诱导 IL-6 的合成。本研究证实脑缺血后 NF-κB 蛋白表达水平明显升高,14 d 模型组高于 28 d 模型组,可能与机体自身修复有关,提示 NF-κB 是脑缺血再灌注损伤炎症机制中的一个关键性因子,在脑缺血中发挥重要作用。在脑缺血再灌注损伤后 TNF-α、IL-6 蛋白表达水平明显升高,提示脑缺血再灌注后损伤机制可能与此有关。

从松树皮中提取的 OPCs 是一种多酚类复合物,含量一般为 80% 左右,OPCs 通过抗氧化、抗凋亡等途径发挥改善脑缺血再灌注损伤的作用^[8-11]。李建玲等^[12]研究发现,OPCs 可以通过下调凋亡相关蛋白 caspase-3 对脑缺血产生保护作用。杨东斌^[13]发现 OPCs 能够明显改善脑缺血再灌注损伤,IL-6 和内皮素-1 可能与其减轻炎症反应有关。本研究采用 OPCs 治疗脑缺血再灌注损伤小鼠后,蛋白印迹结果显示海马 CA3 区 NF-κB 蛋白水平与同期模型组比较均降低,炎症因子 TNF-α 和 IL-6 水平均较同期模型组小鼠低,说明 OPCs 治疗对核因子 NF-κB 的表达具有明显的抑制作用,对小鼠缺血再灌注产生了一定的保护作用。提示如能通过某些方法、途径或药物来抑制 NF-κB 的激活,可有效地预防和治疗脑缺血再灌注损伤。抗 NF-κB 产生可能为预防和治疗脑缺血再灌注损伤提供一个新的思路和途径。

4 参考文献

- [1] Ren C, Gao M, Dornbos D, et al. Remote ischemic post-conditioning reduced brain damage in experimental ischemia-reperfusion injury[J]. Neurol Res, 2011(5):514-519.
- [2] Terra X, Valls J, Vitrac X, et al. Grape-seed procyanidins act as anti-inflammatory agents in endotoxin-stimulated RAW 264. 7 macrophages by inhibiting NFκB signaling pathway[J]. J Agric Food Chem, 2007(11):4357-4360.
- [3] 钟书辉,张艳,李乐雯. 原花青素对心肌缺血再灌注大鼠血清 T-AOC、CRP 及 NO 的影响[J]. 中国生化药物

- 杂志, 2011(3): 228-229.
- [4] Chen B, Liao WQ, Xu N, et al. Adiponectin protects against cerebral ischemia-reperfusion injury through anti-inflammatory action [J]. *Brain Res*, 2009(4):129-137.
- [5] Crack PJ, Taylor JM, Ali U, et al. Potential contribution of NF-kappaB in neuronal cell death in the glutathione peroxidase-1 knockout mouse in response to ischemia-reperfusion injury [J]. *Stroke*, 2006(6):1533-1538.
- [6] Ridder DA, Schwaninger M. NF-κB signaling in cerebral ischemia [J]. *Neuroscience*, 2009(3):995-1006.
- [7] Clark IA, Alleva LM, Vissel B, et al. The roles of TNF in brain dysfunction and disease [J]. *Pharmacol Ther*, 2010(3):519-548.
- [8] 段国平, 刘晓利, 赵丕文. 葡萄籽原花青素的药理学研究进展 [J]. *环球中医药*, 2014(4):313-316.
- [9] 顾冰. 原花青素在 D-半乳糖致衰老大鼠大脑、心脏组织中的抗氧化作用 [J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2011(22):1-3.
- [10] 吴岚, 刘开祥, 俸军林, 等. 原花青素对脑缺血再灌注损伤大鼠血脑屏障通透性和自由基含量的影响 [J]. *中西医结合心脑血管病杂志*, 2009(7):801-803
- [11] Annapurna A, Ansari MA, Manjunath PM, Partial role of multiple pathways in infarct size limiting effect of quercetin and rutin against cerebral ischemia-reperfusion injury in rats [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2013(4):491-500
- [12] 李建玲, 何斌, 李琳琳. 原花青素对大鼠脑缺血再灌注损伤的保护作用 [J]. *中国生化药物杂志*, 2011(6):463-466.
- [13] 杨东斌, 原花青素对大鼠脑缺血再灌注损伤脑组织中 TL-6 和 ET-1 的影响 [J]. *中国实用神经疾病杂志*, 2013(9):44-45.
- (2015-01-12 收稿, 2015-03-09 修回)
中文编辑: 刘平; 英文编辑: 刘华

(上接第 348 页)

综上所述, 应用阻断小鼠肠系膜上动脉 40 ~ 50 mm 再灌注 6 h, 既能保证动物生存率, 满足实验要求, 又能形成肠道及远隔器官损伤及功能障碍, 为进一步研究肠缺血再灌注诱发 MODS 发病机制的提供依据。

4 参考文献

- [1] Harward TR, Brooks DL, Flynn TC, et al. Multiple organ dysfunction after mesenteric artery revascularization [J]. *J Vasc Surg*, 1993(18):459-469.
- [2] 朱枝祥, 陈丁丁. 肠系膜动脉缺血再灌注诱发多器官功能障碍综合征模型研究 [J]. *抗感染药学*, 2010(2):93-96.
- [3] 宋富波, 杨牟, 车海杰. 兔急性肠道缺血再灌注损伤模型的建立 [J]. *青岛大学医学院学报*, 2010(2):166-170.
- [4] 郑德义, 王建明, 贾一韬, 等. p38 丝裂原活化蛋白激酶在小鼠肠缺血再灌注肺损伤中的作用 [J]. *第二军医大学学报*, 2010(3):254-257.
- [5] Takayama M, Ishibashi M, Ishii H, et al. Effects of neutrophil elastase inhibitor (ONO-5046) on lung injury after intestinal ischemia-reperfusion [J]. *J Appl Physiol*, 2001(4):1800-1807
- [6] Yao Y, Yu Y, Wu Y, et al. The role of gut as a cytokine-generating organ in remote organ dysfunction after intestinal ischemia and reperfusion [J]. *Chin med J*, 1998(6):514-518.
- [7] 王敏, 俞诗源, 刘佳昕, 等. X 射线辐射对小鼠肾组织中乳酸脱氢酶、Na⁺ - K⁺ ATP 酶活性及 caspase-3 蛋白、Bax 蛋白表达的影响 [J]. *甘肃农业大学学报*, 2014(2):41-47.
- (2015-01-23 收稿, 2015-03-11 修回)
中文编辑: 刘平; 英文编辑: 刘华

(上接第 351 页)

- [8] 翁霞, 辛光, 李云霞. 蒽酮比色法测定马铃薯淀粉总糖的条件研究 [J]. *食品研究与开发*, 2013(17):86-88.
- [9] 郭雷, 吕明生, 王淑军等. 苯酚-硫酸法测定樱桃酒中总糖 [J]. *食品研究与开发*, 2010(6):130-132.
- [10] 陈焕娜, 刘洋, 赵晓霞, 等. 分光光度法测定丹参总酚含量方法的研究 [J]. *亚太传统医药*, 2010(8):19-22.
- [11] 陈农, 丁宁, 彭国平, 等. 两种方法测定丹参滴注射液糖类含量 [J]. *医药导报*, 2013(5):672-674.
- [12] 阮鸣. 冠心宁注射液中大类成分的含量测定 [J]. *南京晓庄学院学报*, 2013(3):71-75.
- [13] 李萌, 刘新国, 吴金虎, 等. 前愈合方中多糖成分的提取工艺优选 [J]. *中国医院药学杂志*, 2011(24):2018-2021.
- [14] 孙淑玲, 刘坤, 杨新涛. 关于食品中总糖测定中几个问题的探讨 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2013(13):2852-2853.
- (2014-09-25 收稿, 2015-02-15 修回)
中文编辑: 刘平; 英文编辑: 赵毅

线粒体 ATP 敏感性钾通道开放对大鼠肺缺血-再灌注损伤的保护作用*

李涛¹, 赖春风^{2**}, 曾茂森¹, 陆德琴³

(1. 嘉应学院医学院 病理学与病理生理学教研室, 广东 梅州 514031; 2. 嘉应学院医学院 内科学教研室, 广东 梅州 514031; 3. 贵阳医学院 病理生理学教研室, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 探讨线粒体 ATP 敏感性钾通道(mitoKATP)开放对大鼠肺缺血-再灌注损伤(I/R)的保护作用。方法: 建立大鼠肺 I/R 模型, 设立假手术组、肺 I/R 组、mitoKATP 开放剂二氮嗪(DE) + I/R 组、mitoKATP 阻断剂 5-羟基葵酸(5-HD) + DE + I/R 组, 每组 10 只大鼠; 检测各组肺组织湿/干重比, HE 染色法观察各组肺组织形态学变化, 免疫组织化学染色法检测肺组织细胞色素 C 的表达, TUNEL 法检测肺细胞凋亡指数。结果: 与假手术组相比, I/R 组肺组织湿/干重比明显增加($P < 0.05$), 肺组织出现出血、水肿等损伤性病理学变化, 细胞色素 C 表达明显增多($P < 0.01$)、肺细胞凋亡指数明显增大($P < 0.01$); 与 I/R 组相比, DE + I/R 组肺组织湿/干重比明显降低($P < 0.05$)、肺组织损伤性病理变化明显减轻、肺细胞色素 C 表达明显减少($P < 0.05$)、细胞凋亡指数明显减小($P < 0.05$), 而 5-HD + DE + I/R 组各项指标与 I/R 组比较无差异($P > 0.05$)。结论: mitoKATP 的开放可减轻肺水肿、抑制细胞凋亡, 对大鼠肺缺血-再灌注损伤具有保护作用。

[关键词] 肺; 缺血; 再灌注损伤; 线粒体 ATP 敏感性钾通道; 细胞凋亡; 大鼠, Sprague-Dawley

[中图分类号] R363.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0356-04

Protective Effects of Opening of Mitochondrial ATP Sensitive Potassium Channel on Ischemia-reperfusion Injury in Rat Lung *in vivo*

LI Tao¹, LAI Chunfeng², ZENG Maosen¹, LU Deqin³

(1. Department of Pathology and Pathophysiology, Medical College of Jiaying College, Meizhou 514031, Guangdong, China;

2. Department of Internal medicine, Medical College of Jiaying College, Meizhou 514031, Guangdong, China;

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

[Abstract] **Objective:** To investigate the protective effect of opening of mitochondrial ATP sensitive potassium channel on lung ischemia-reperfusion injury in rats. **Methods:** Pulmonary ischemia-reperfusion injury rat model was established by left hilar ligation and reperfusion. Preconditioning was conducted by using the mitochondrial ATP sensitive potassium channel opener (diazoxide, DE). Forty rats were randomly divided into four groups ($n = 10$, respectively), i. e. sham-operation group, I/R group, DE + I/R group and 5-HD + DE + I/R group. The ratio of wet/dry weight of lung tissue and morphological change were observed. Cytochrome C expression and apoptosis index in lung tissue were assessed by immunohistochemical staining and TUNEL methods, respectively. **Results:** Compared with sham-operation group, the wet/dry weight ratio of lung tissue in I/R group was significantly increased ($P < 0.05$), the pathological changes such as hemorrhage and edema in lung tissue, the expression of cytochrome C increased significantly ($P < 0.01$) and the lung cell apoptosis index increased significantly. Compared with I/R group, the wet/dry weight ratio of lung tissue in DE + I/R group was signifi-

*[基金项目] 广东省梅州市科技局计划项目(2007B17)

**通信作者 E-mail: mzlcf2008@126.com

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1829.003.html>

cantly decreased ($P < 0.05$), the pathological changes in lung tissue were obviously alleviated, the expression of cytochrome C decreased significantly ($P < 0.01$) and the lung cell apoptosis index decreased significantly ($P < 0.01$). There was no difference in above-mentioned indexes between I/R group and 5-HD + I/R group ($P > 0.05$). **Conclusion:** The opening of mitochondrial ATP sensitive potassium channel can effectively alleviate pulmonary edema, inhibit apoptosis and play a protective role in the injury of lung ischemia-reperfusion *in vivo*.

[**Key words**] lung; ischemia; reperfusion injury; mitochondrial ATP sensitive potassium channel; apoptosis; rats, Sprague-Dawley

近年来,随着体外循环技术的广泛应用,肺缺血-再灌注损伤(ischemia reperfusion injury, I/R)所导致的肺功能障碍受到重视。低氧或缺血预处理(hypoxic/ischemic preconditioning, HPC/IPC)是抗脏器 I/R 有效防治手段之一,而线粒体 ATP 敏感性钾通道(mitochondrial ATP-sensitive potassium channel, mitoKATP)被认为是 IPC 的触发因子和后期保护作用的终末效应因子^[1]。mitoKATP 开放对低氧性肺损伤具有保护作用^[2]。本实验观察 mitoKATP 开放预处理对大鼠肺 I/R 的保护作用及其机制,为 I/R 的机制及其防治提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 成年 SD 大鼠 40 只,体质量 180~210 g,雌雄不拘,由汕头大学动物实验中心提供。常规饮食,自由饮水。

1.1.2 主要试剂及仪器 mitoKATP 开放剂二氮嗪(DE, sigma 公司)、阻断剂 5-羟癸酸(5-HD, sigma 公司);细胞凋亡检测试剂盒(TUNEL 法)、链酶亲和素-生物素-过氧化物酶法(SABC 法)试剂盒、DAB 显色试剂盒、细胞色素 C 抗体(武汉博士德生物工程有限公司),动物呼吸机(成都泰盟科技有限公司),CMS 显微镜(日本 Leica),BX41 图像采集系统(日本 OLYMPUS)。

1.2 方法

1.2.1 大鼠肺 I/R 模型复制 10% 水合氯醛 0.2 mL/100 g 腹腔麻醉,气管插管,接动物呼吸机。经左前胸第 5 肋间开胸,解剖左侧肺门,用盐水稀释肝素 50 U 至 500 μ L 经尾静脉注入,5 min 后于肺充盈末用手术丝线通过肺门双活结套扎左肺门,45 min 后开放,再灌注 120 min。假手术组左肺门穿线不结扎。实验结束后切取左肺备用。

1.2.2 实验分组 (1)假手术组:开胸后游离左

肺门,穿线不结扎,不进行其他处理。(2)I/R 组:用手术丝线通过肺门双活结套扎左肺门,45 min 后开放,再灌注 120 min。(3)DE + I/R 组:在缺血前 30 min 腹腔注入 DE 10 mg/kg 后,按(2)进行处理。(4)5-HD + DE + I/R 组:先给予 5-HD 10 mg/kg 静脉注射,15 min 后给予 DE 10 mg/kg 腹腔注入,30 min 后再按(2)处理。以上 4 组每组 10 只。

1.2.3 标本的采集和处理 实验结束时,取出大鼠左肺,切取中下段肺组织,置于新鲜 10% 中性缓冲福尔马林中固定 24 h,常规石蜡包埋切片,供 HE 染色、免疫组织化学染色及细胞凋亡检测。

1.2.4 肺组织细胞色素 C 免疫组织化学(SABC 法)检测。 切片置 3% H_2O_2 去除内源性过氧化酶,柠檬酸盐缓冲液中中高火进行抗原修复,滴加 1:120 的一抗过夜后加入山羊抗兔 IgG,DBA 显色,细胞浆呈棕黄色判定为细胞色素 C 阳性表达。于 400 \times 显微镜下随机取 5 个细胞总数超过 200 的视野,计数阳性细胞数及细胞总数,计算阳性细胞率(阳性细胞数/细胞总数 \times 100%)。

1.2.5 肺细胞凋亡 TUNEL 法检测。 在普通光学显微镜下调亡细胞的细胞核呈现棕黄色判定为阳性细胞,无细胞凋亡不显色则为阴性。在 400 \times 倍显微镜下任取 5 个细胞总数 200 个以上的视野,计数阳性细胞数及细胞总数,并计算细胞凋亡指数(阳性细胞数/细胞总数 \times 100%)。

1.3 统计学方法

所有数据用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用 SPSS 10.0 软件进行统计学分析,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 形态学观察

光镜下,可见假手术组肺泡腔内无水肿、充血及坏死,间隔无增宽,无炎细胞浸润,结构清晰可见(图1-A)。I/R组肺泡腔内可见明显的充血、水肿,血管扩张及炎细胞浸润,并有局灶性肺气肿,肺泡间隔增宽,偶见局灶性的坏死灶,组织、细胞结构紊乱(图1-B)。DE+I/R组可见少量的炎性细胞浸润,无明显的充血、水肿,组织、细胞损伤程度较I/R组明显减轻,与对照组相似(图1-C)。而5-HD+DE+I/R组亦可见明显的充血、水肿,肺气肿及炎性细胞浸润等,表现出近似I/R组的病理改变(图1-D)。

2.2 肺组织湿/干重比

与假手术组相比,I/R组及5-HD+DE+I/R组肺湿/干比显著增大,差异有统计学意义($P<0.01$),而DE+I/R组差异无统计学意义($P>0.05$);与I/R组相比,DE+I/R组明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。结果表明 mitoKATP 开放剂能够减轻肺组织损伤,减轻肺水肿,而使用 mitoKATP 抑制剂后可阻断此保护作用。见表1。

表1 各组大鼠肺组织湿/干重比的变化($\bar{x}\pm s$)

Tab.1 Comparison of wet/dry weight ratios of lung tissue between different groups

组别	<i>n</i>	肺组织湿/干重比
假手术组	10	4.35±0.20
I/R组	10	5.76±0.26 ⁽¹⁾
DE组	10	4.65±0.22 ⁽²⁾
5-HD+DE组	10	5.63±0.39 ⁽¹⁾

⁽¹⁾与假手术组比较, $P<0.05$; ⁽²⁾与I/R组比较, $P<0.05$

2.3 肺组织细胞色素C和凋亡指数

I/R组及5-HD+DE+I/R组肺组织细胞色素C的阳性细胞率均高于假手术组,差异有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$);与I/R组相比,DE+I/R组阳性细胞率明显减少,差异有统计学意义($P<0.05$),而5-HD+DE+I/R组差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2、图1。假手术组大鼠的肺组织仅偶见细胞凋亡的发生,I/R组及5-HD+DE+I/R组肺细胞凋亡指数均显著高于假手术组,差异有统计学意义($P<0.05$, $P<0.01$);与I/R组相比,DE+I/R组肺细胞凋亡指数明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2、图2。

3 讨论

I/R普遍发生于各个组织器官,大量实验证明

表2 各组肺组织细胞色素C阳性细胞率和细胞凋亡指数比较

Tab.2 Comparison of cytochrome C positive cell rates and apoptosis indexes in rat lungs of different groups

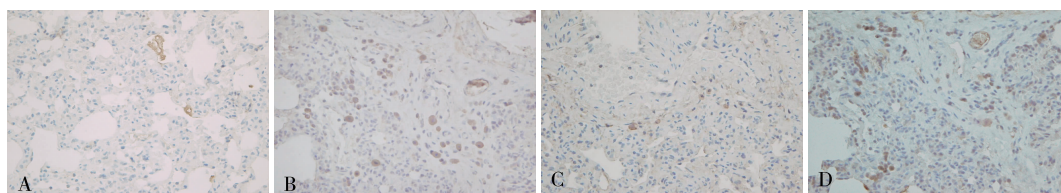
组别	<i>n</i>	细胞色素C 阳性细胞率(%)	细胞凋亡指数 (%)
假手术组	10	1.00±0.32	0.26±0.03
I/R组	10	14.00±1.29 ⁽¹⁾	8.11±1.15 ⁽¹⁾
DE组	10	4.56±0.74 ⁽²⁾⁽³⁾	1.95±0.68 ⁽²⁾⁽³⁾
5-HD+DE组	10	13.80±1.31 ⁽¹⁾	7.83±1.27 ⁽¹⁾

与假手术组比较,⁽¹⁾ $P<0.01$,⁽²⁾ $P<0.05$; ⁽³⁾与I/R组比较, $P<0.05$

I/R可加重心、脑、肾、肠、肺等器官损伤,是影响缺血治疗效果的一个重要因素。再灌注损伤发病机制复杂,氧自由基的作用、钙超载、中性粒细胞、细胞凋亡和补体激活等均可能参与了再灌注损伤的发病过程^[3-4]。肺I/R常常发生于心肺复苏、体外循环、肺栓塞、肺切除、肺移植等情况下,是影响术后肺组织功能恢复的关键性因素^[5]。肺I/R后病理改变主要是肺泡-毛细血管通透性增高,中性粒细胞渗出、蛋白漏出、肺间质与肺泡水肿,肺湿/干比增加,组织炎症与细胞损伤,以及肺细胞凋亡与坏死等,从而导致肺功能明显降低。本实验结果显示肺经I/R后,光镜下可见肺泡腔内可见明显的出血、水肿,炎性细胞浸润,组织、细胞结构紊乱,肺组织损伤明显;肺湿/干重比较假手术组明显增高。

实验和临床资料表明,HPC/IPC是减轻脏器I/R的有力防治措施,研究大多涉及心脏和脑组织,在本课题组之前的研究中也表明HPC对大鼠肺缺血再灌注损伤有保护作用,认为是细胞线粒体释放了细胞色素C,抑制细胞凋亡从而保护肺I/R损伤^[6-8]。

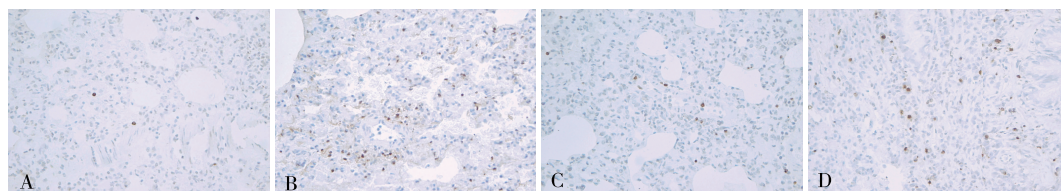
研究表明,在低氧HPC对抗低氧性肺损伤的保护作用机制中线粒体ATP敏感性钾通道起到了重要的作用,研究中发现 mitoKATP 的开放剂DE可以提高肺泡液体清除率,减轻肺水肿和肺损伤,而特异性抑制剂5-HD和格列苯脲可以阻断DE的保护作用^[2]。提示 mitoKATP 的开放对肺I/R也具有保护作用。为了进一步验证这一观点,本研究应用DE进行HPC/IPC,实验结果发现,DE对肺I/R有明显的保护作用,与I/R组相比,光镜下可见肺损伤性病理形态学改变明显减轻,肺/干重比明显下降。当应用5-HD关闭 mitoKATP 后,与DE组相比,光镜下肺组织损伤加重,肺湿/干重比明显升



A 为假手术组,B 为 I/R 组,C 为 DE + I/R 组,D 为 5-HD + DE + I/R 组

图 1 肺组织细胞色素 C 表达(SABC, ×400)

Fig. 1 Expression of cytochrome C in rat lung tissues of different groups (SABC, ×400)



A 为假手术组,B 为 I/R 组,C 为 DE + I/R 组,D 为 5-HD + DE + I/R 组

图 2 肺组织细胞凋亡(TUNEL, ×400)

Fig. 2 Lung tissue sections of different groups showing different amount of apoptosis cells(TUNEL, ×400)

高。实验表明 DE 能够减轻 I/R 所引起的肺损伤、肺水肿,5-HD 有阻断 DE 的作用加重肺损伤。

实验还发现,肺 I/R 后肺组织细胞色素 C 的阳性表达率明显增加,肺细胞凋亡指数也明显增加,DE 预处理可显著降低肺组织细胞色素 C 的阳性表达率和细胞凋亡指数,而预先应用 5-HD 后则肺组织细胞色素 C 阳性表达率增加,肺组织细胞凋亡明显,且与 I/R 组相比无显著性差异。这可能是由于 DE 引起 mitoKATP 开放和线粒体膜电位 $\Delta\psi_m$ 部分去极化,减少了细胞色素 C 从线粒体释放入胞浆,从而减少肺动脉平滑肌细胞的凋亡发生。

综上所述,mitoKATP 的开放可以减轻肺 I/R 所致的肺损伤、肺水肿,还可通过抑制线粒体细胞色素 C 释放至胞浆、抑制肺组织细胞凋亡对肺 I/R 损伤的发挥保护作用。

4 参考文献

[1] Ambros JT, Herrero-Fresneda I, Borau OG, et al. Ischemic preconditioning in solid organ transplantation: from experimental to clinics [J]. Transplant International, 2007(20):219-229.
[2] 胡焯琳,万笑笑,罗丹,等. 线粒体 ATP 敏感钾通道在低氧预处理抗低氧性肺损伤中的作用[J]. 华中医学

杂志, 2006(5):353-354,366.

[3] Lopera YE, Fantinelli J, Gonzalez-Arbelaes LF, et al. Antioxidant activity and cardiopr-otecive effect of a nonalcoholic extract of caccinium meridionale Swartz during ischemia-reperfusion in rats[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2013(2013):1115-1165.
[4] Ginsburg KS, Weber CR, Bers DM. Cardiac $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$ exchanger: dynamics of Ca^{2+} -dependent activation and deactivation in intact myocytes[J]. J Physiol, 2013(Pt-8):2067-2086.
[5] Den Hengst WA, Gielis JF, Lin JY, et al. Lung ischemia-reperfusion injury: a molecular and clinical view on a complex pathophysiological process[J]. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 2010(5):1283-1299.
[6] 李涛,陈莹,陆德琴,等. 大鼠整体低氧预处理减轻肺缺血再灌注损伤[J]. 贵阳医学院学报, 2008(6):632-634,639.
[7] 陈莹,陆德琴,李涛,等. 整体低氧预处理对大鼠肺组织细胞色素 C 表达和细胞凋亡的影响[J]. 贵阳医学院学报, 2009(5):504-507.
[8] 陆德琴,陈莹,李涛,等. 大鼠整体低氧预处理对在体肺缺血再灌注损伤的保护作用[J]. 重庆医学, 2010(15):1960-1962.

(2015-01-05 收稿,2015-02-25 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 刘 华

多聚赖氨酸与 EDTA 交联物对小鼠成纤维细胞的毒性研究^{*}

李英琦, 张海燕^{**}

(贵阳医学院附院 眼科, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 观察多聚赖氨酸与乙二胺四乙酸(EDTA)的交联物(PLE)对体外培养的小鼠成纤维细胞 L929 的毒性程度。方法: 小鼠成纤维细胞 L929 分为正常组、对照组、多聚赖氨酸组、PLE 组和 EDTA 组, 采用 MTT 法比较相同浓度下, EDTA、多聚赖氨酸与 EDTA 交联物对小鼠成纤维细胞 L929 相对增殖率的影响。结果: 以正常组作为标准(100%), 多聚赖氨酸组、EDTA 组、PLE 组和对照组对小鼠成纤维细胞 L929 的相对增殖度(RGR)分别为 79.87%、69.35%、81.47% 和 20.12%, 均较正常组下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 在质量浓度达为 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 时, EDTA 对小鼠成纤维细胞 L929 的毒性为 2 级, PLE 和多聚赖氨酸对小鼠成纤维细胞 L929 的毒性为 1 级。结论: 实验浓度的 PLE 和 EDTA 对小鼠成纤维细胞 L929 毒性较低, 具有一定的安全性。

[关键词] 多聚赖氨酸; 乙二胺四乙酸; 成纤维细胞; 细胞毒性

[中图分类号] R776.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0360-03

Toxicity Study of Conjugates of PLL and EDTA on Mouse Fibroblast

LI Yingqi, ZHANG Haiyan

(Ophthalmology Center, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the toxicity degree of PLE from EDTA and Poly-L-Lysine (PLL) on fibroblast L929 of mouse *in vitro* culture. **Methods:** Mouse fibroblast L929 were divided into normal group, control group, PLL group, PLE group and EDTA group, adopting MTT method to compare the effect of EDTA and PLE on proliferation of mouse fibroblast L929 under the same concentration. **Results:** Taking normal group as standard (100%), relative growth rate (RGR) of L929 in PLL group, EDTA group, PLE group and control group were 79.87%、69.35%、81.47% and 20.12%, lowered than normal group, differences were statistically significant ($P < 0.05$). As the mass concentration reached 1 000 $\mu\text{mol/L}$, toxicity of EDTA on fibroblast L929 reached level 2, PLE group reached level 1. **Conclusions:** Experiment concentration PLE and EDTA has minor toxicity on mouse fibroblast L929.

[Key words] poly-L-Lysine; ethylene diamine tetracetic acid; fibroblasts; cytotoxicity

白内障是世界范围内主要的致盲眼病之一,随着我国人口的老龄化,有学者预计在 2020 年我国 50 岁及以上人群的患病比例约为 25%^[1]。目前治疗白内障的唯一有效的方法就是通过手术来恢复视觉功能,但术后的后囊膜混浊 (posterior capsular

opacification, PCO) 是最常见并发症。PCO 的出现亦可能引起患者再次发生视力障碍 (又称后发性白内障)。现代白内障手术保留了囊袋,囊袋由部分前囊和整个后囊组成,起到隔离房水和玻璃体的作用,大部分囊袋内放置了人工晶状体。白内障

^{*} [基金项目] 贵州省科技厅攻关项目 [黔科合 OZ 字 (20092)]

^{**} 通信作者 E-mail: jiany110@sina.com

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1929.028.html>

术后剩余前囊膜的晶状体上皮细胞会顽固地残留,这些残留的晶状体上细胞(lens cells, LEC)黏附、增殖、移行,导致后囊 epithelial 混浊^[2]。LEC 需要黏附才能正常生长,细胞黏附的破坏可以致细胞凋亡。整合素是一类 ca^{2+} 依赖的介导细胞间或细胞与基质间相互作用的黏附分子,维持正常细胞内外信号传导,其与细胞凋亡的关系密切。刘建亭^[3]研究发现,EDTA 可破坏细胞间连接,减轻后囊膜混浊。张海燕等^[4]研究发现聚赖氨酸与乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetracetic acid, EDTA)的交联物(polylysine-EDTA, PLE)可显著降低兔 PCO 的发生率。本实验在体外培养的小鼠成纤维细胞 L929 中加入 PLE,观察其对细胞的毒性作用。

1 材料和方法

1.1 材料

DMEM/1640(美国 Sigma 公司), PBS 片溶剂(美国 Sigma 公司), 胰蛋白酶(美国 Solarbio 公司), RPMI-1640 培养基(美国 GIBCO 公司), MTT(美国 Solarbio 公司), EDTA(美国 Sigma 公司), DMSO(重庆川东化工), 多聚赖氨酸(Poly-L-Lysine, 美国 Sigma 公司), 乙二胺四乙酸二钠(EDTA, 湖南湘中地质实验研究所)。Olympus 倒置显微镜 CKX-41(日本, Olympus), 板式酶标仪 ZS-2(北京, 新凤机电), 二氧化碳培养箱 MCO-175(日本, 三洋), 超净工作台 BHC-1300(苏洲, 安泰)。

1.2 方法

1.2.1 实验分组 小鼠成纤维细胞 L929, 购于第四军医大学实验动物中心, 成纤维细胞分 5 组: 正常组, 加入 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 的 DMSO 细胞培养液; 对照组, 加入含 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 的二甲基亚砷培养液; 多聚赖氨酸组, 加入含 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 的多聚赖氨酸培养液; PLE 组, 加入 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 的 PLE 培养液; EDTA 组, 加入 1 000 $\mu\text{mol/L}$ 的 EDTA 培养液。

1.2.2 试验步骤 参照使用说明书, 利用 EDC 将 EDTA 与多聚赖氨酸结合起来, 将所得 PLE 40 mL(含 2.687 mmol/L EDTA)放入冷冻干燥机中浓缩, 加蒸馏水至 100.748 mL(含 1 000 $\mu\text{mol/L}$ EDTA), 同时用 5.6% NaHCO_3 调 pH 值至 7。参照 GB/T16886.5-ISO10993-5^[5], 将处于对数生长期的小鼠成纤维细胞 L929 用质量浓度为 2.5 g/L 的胰蛋白酶进行消化, 制成终浓度为 $5 \times 10^7/\text{L}$ 的细胞悬液, 接种于 96 孔培养板中, 每孔 100 μL 。待细

胞生长至亚融合状态时进行试验。于 37 $^{\circ}\text{C}$ 、体积分数 5% CO_2 环境下培养 48 h 后终止培养, 在倒置显微镜下观察细胞生长状态, 而后每孔加入新配制的 5 g/L MTT 液 20 μL , 继续培养 4 h 后, 弃去孔中上清液, 每孔加入二甲基亚砷 150 μL 溶解甲瓚沉淀, 用微型超声振荡器震荡摇匀 10 min, 使紫色培结晶充分溶解, 在酶标仪上于 490 nm 波长下测定吸光值。

1.3 观察指标

根据测定的吸光值按下式计算相对增殖度(RGR), 并按表 1 的毒性分级标准对试验结果进行评估。 $\text{RGR}\% = A \text{ 试验组} / A \text{ 正常组} \times 100\%$ 。

表 1 毒性分级标准
Tab. 1 Toxicity grading criteria

相对增殖度(%)	毒性分级
≥ 100	0
75 ~ 99	1
50 ~ 74	2
25 ~ 49	3
1 ~ 24	4
0	5

1.4 统计学处理

试验数据采用用平均值 \pm 标准差表示。应用 SPSS 13.0 统计软件, 采用单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 成纤维细胞的相对增殖度

由表 2 可知, 以正常组作为标准(100%), 多聚赖氨酸组、EDTA 组、PLE 组、对照组对小鼠成纤维细胞 L929 的相对增殖度(RGR)分别为 79.87%、69.35%、81.47% 和 20.12%, 均较正常组下降, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 多聚赖氨酸组、EDTA 组、PLE 组 RGR 值与对照组比较, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 多聚赖氨酸组、PLE 组之间 RGR 值比较无统计学意义($P < 0.05$)。

2.2 各试验组对成纤维细胞的毒性

EDTA 对小鼠成纤维细胞 L929 的毒性为 2 级, PLE 和多聚赖氨酸对小鼠成纤维细胞 L929 的毒性为 1 级。见表 2。

3 讨论

后发性白内障是因术后残留的前囊膜下及赤
361

表 2 各实验组小鼠成纤维细胞 L929
相对增殖度及毒性

Tab. 2 Effect of PLE on relative
growth rates of L929 cells

组别	相对增殖度 (%)	毒性分级
正常组	100	0
多聚赖氨酸组	79.87 ± 10.6 ⁽¹⁾⁽²⁾	1
EDTA 组	69.35 ± 9.28 ⁽¹⁾⁽²⁾	2
PLE 组	81.47 ± 8.22 ⁽¹⁾⁽²⁾	1
阳性对照组	20.12 ± 6.46 ⁽¹⁾	4

⁽¹⁾与正常组比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾与阳性对照组比较, $P < 0.01$

道部晶体上皮细胞,增殖转化为纤维细胞,并沿后囊膜迁徙,使晶状体后囊出现混浊^[6]。利用药物和免疫方法,抑制晶状体上皮细胞的增殖和纤维化反应,是预防后发性白内障研究中的热点。EDTA 是一种常用的 Ca^{2+} 螯合剂,它在水中溶解度高,不易透过细胞膜,相对无毒,分子量 372 道尔顿;在体外实验中常用于分离上皮细胞与基底膜^[7]。利用 EDTA 分散组织细胞的特性, Humphry 等^[8] 和 Nishi 等^[9] 实验证实,EDTA 能够很好地松解晶状体上皮细胞;Bretton 等^[10] 研究发现多聚赖氨酸可选择性地与晶状体囊膜结合;杨金玲等^[11] 将 EDTA 与多聚赖氨酸交联后特异性作用于晶状体囊,以达到有效地清除晶状体上皮细胞的目的。

细胞毒性试验大大减少了实验动物的使用量、测试时间较短、灵敏度较高、重现性较好,可以用于药物安全性的快速筛查和初步筛查。目前国内外一般使用 MTT 法和形态学观察法对药物的细胞毒性进行分析^[12]。形态学观察法检测药物毒性最为常用,在显微镜下逐日观察细胞形态变化,药物浓度高对细胞有毒性时细胞会变圆、固缩性坏死和脱落,但此法主观性强,结果可靠性不高。目前 MTT [3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐] 比色法在体外肿瘤细胞化疗药敏试验的应用越来越广泛,成为评价药物安全的重要指标,检测原理为活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶能使外源性 MTT 还原为水不溶性的蓝紫色结晶甲瓖并沉积在细胞中,而死细胞无此功能。二甲基亚砜(DMSO)能溶解细胞中的甲瓖,用酶联免疫检测仪在一定波长处测定其光吸收值,可间接反映活细胞数量,此法优点是灵敏度高、经济。本试验分别采用 MTT 法,分析测定结果以评价 PLE 对小鼠成纤维细胞 L929 的毒性,结果显示,以正常组作为标准(100%),

多聚赖氨酸组、EDTA 组、PLE 组和对照组对小鼠成纤维细胞 L929 的相对增殖度(RGR)分别为 79.87%、69.35%、81.47% 和 20.12%,均较正常组下降,差异有统计学意义($P < 0.05$);在质量浓度达为 $1\,000\,\text{umol} \cdot \text{L}^{-1}$ 时,EDTA 对小鼠成纤维细胞 L929 的毒性为 2 级,PLE 和多聚赖氨酸对小鼠成纤维细胞 L929 的毒性为 1 级。

本研究实验结果表明,PLE 对细胞的生长增殖表现出良好的细胞相容性,其细胞相对增殖率较高而细胞毒性较低,具有一定的安全性。

4 参考文献

- [1] 姜尚. 我国老年性白内障流行病学的调查研究[J]. 南昌大学学报:医学版, 2012(6):98-99,101.
- [2] Awasthi N, Guo S, wagner BJ. Posterior capsular opacification; a problem reduced but not yet eradicated, 2009(4).
- [3] 刘建亭, 张素华, 钱军, 等. 依地酸二钠预防兔后发性白内障的实验研究[J]. 眼视光学杂志, 2009(1):38-39.
- [4] 张海燕, 李英琦, 张苏炯, 等. 多聚赖氨酸-乙二胺四乙酸交联物抑制兔晶状体上皮细胞生长的研究[J]. 中华实验眼科杂志, 2011(9):831-833.
- [5] 《医疗器械生物学评价》GB/T16886.1-2002.
- [6] Marcantonio JM, Vrensen GF. Cell biology of posterior capsular opacification[J]. Eye (Lond), 1999(Pt 3b):484.
- [7] Goncalves C, Dinis T, Batista MT. Antioxidant properties of proanthocyanidins of Uncaria tomentosa bark decoction; a mechanism for anti-inflammatory activity[J]. Phytochemistry, 2005(1):89-98.
- [8] Humphry RC, Davies EG, Jacob TJ, et al. The human anterior lens capsule: an attempted chemical debridement of epithelial cells by ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and trypsin[J]. Br J Ophthalmol, 1998(6):406-408.
- [9] Nishi O, Nishi K, Hikida M. Removal of lens epithelial cells following loosening of the junctional complex [J]. J Cataract Refract Surg, 1993(1):56-61.
- [10] Bretton RH, Swearingen A. Use of a polylysine-saprin conjugate to prevent posterior capsule opacification[J]. J Cataract Refract Surg, 1999(7):921-929.
- [11] 杨金玲, 张海燕, 张苏炯, 等. 多聚赖氨酸与 EDTA 的交联物防治兔眼后囊膜混浊的研究[J]. 眼科研究, 2008(26):893-896.
- [12] 徐爱凤, 方玉, 侯本祥. 天然生物膜的细胞毒性的实验研究[J]. 北京口腔医学, 2004(1):30-31.

(2014-10-18 收稿, 2015-02-14 修回)
中文编辑: 刘 平; 英文编辑: 赵 毅

检测不同活动期强直性脊柱炎患者外周血 Th1、Th2 和 Treg 细胞的意义*

王作龙¹, 钟乃风², 马 莉^{1**}

(1. 贵阳医学院附院 中心实验室, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵阳医学院 生物与工程学院生物技术教研室, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 研究强直性脊柱炎(AS)不同活动期辅助性T细胞1(Th1)、辅助性T细胞2(Th2)和调节性T细胞(Treg)量的改变及临床意义。方法: 采用细胞内因子染色技术(ICS)及流式细胞术(FCM)检测78例AS患者(其中高活动性AS 34例、低活动性AS 44例)和30例健康体检者(正常对照组)外周血中Th1细胞、Th2细胞和Treg细胞数量,分析其与AS活动性的相关性。结果: 在高活动性AS组、低活动性AS组和AS组外周血Th1细胞的量均明显高于正常对照组($P < 0.01$),低活动性AS组外周血Th1细胞的量明显低于高活动性AS组($P < 0.01$);高活动性AS组和AS组外周血Th2细胞的量均明显低于正常对照组和低活动性AS组($P < 0.05$);AS患者外周血Treg细胞,AS疾病组与正常对照组差异无统计学意义($P > 0.05$),AS患者低活动性组外周血Treg细胞与正常对照组差异无统计学意义($P > 0.05$),但高活动性AS组外周血Treg细胞与对照组比较明显减低,差异有统计学意义($P < 0.01$),AS患者高活动性组外周血Treg细胞与AS患者低活动性组比较明显减低,差异有统计学意义($P < 0.01$);相关性分析显示,AS患者外周血Th1细胞比例与Bath强直性脊柱炎病情活动指数(BASDI)呈正相关,Th2细胞和Treg细胞与BASDI均呈负相关。结论: AS患者外周血Th1、Th2、Treg细胞数量的改变,与AS的发生、发展有明显的相关性,检测AS患者外周血Th1、Th2、Treg细胞的数量有助于AS病情的判断。

[关键词] 脊柱炎,强直性;辅助性T细胞1;辅助性T细胞2;调节性T细胞Treg;免疫失衡

[中图分类号] R446.62 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0363-05

The Clinical Significance of Detection of Th1, Th2 and Treg Cells in Ankylosing Spondylitis Patients

WANG Zuolong¹, ZHONG Naifeng², MA Li¹

(1. Department of Central Laboratory, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China;

2. School of Biology and Engineering, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the changes of T helper cells 1 (Th1), T helper cells 2 (Th2) and regulatory T cells (Treg) in the peripheral blood of ankylosing spondylitis (AS) patients in the different active stages of development of AS and their clinical significance. **Methods:** Seventy-eight cases of AS patients were selected as AS group and 30 cases as healthy group (normal control group), and AS group was divided into low activity AS group (44 cases) and high activity AS group (34 cases). The flow cytometry (FCM) and intracellular cytokine staining technique (ICS) were adopted to determine the number of Th1, Th2 and Treg cells in peripheral blood of all groups and analyzed the correlation between these cell number and AS activity. **Results:** The number of Th1 cells in high-activity AS group, low-activity AS group and AS group was significantly higher than that of normal control group ($P < 0.01$), while the number of Th1 cells in low-activity AS group were significantly lower than that in high-activity group ($P < 0.01$). The number of Th2 cells in high-activity AS group and AS group were significantly lower than that in low-activity group and control group ($P < 0.01$). There was no statistical difference in the number of Treg cells between low-activity AS group, AS group and normal control group ($P > 0.05$). The number of Treg cells in high-activity AS group was significantly

* [基金项目] 贵州省科技厅社会发展攻关项目(黔科合 LG 字[2011]034 号)

** 通信作者 E-mail: 18608505639@163.com

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1931.029.html>

lower than that in low-activity AS group and normal control group ($P < 0.01$). Correlation analysis showed the percentage of Th1 cells was positively correlated to bath ankylosing spondylitis disease activity index (BASDI) while the percentage of Th2 and Treg cells was negatively correlated to BASDI.

Conclusions: The percentage changes of Th1 cells, Treg cells in the peripheral blood of AS patients are significantly related to occurrence and development of AS. The detection of Th1 cells, Th2 cells and Treg cells in the peripheral blood can contribute to judgement of AS disease.

[**Key words**] spondylitis, ankylosing; T helper cells 1; T helper cells 2; regulatory T cells; immunologic dissonance

强直性脊柱炎(ankylosing spondylitis, AS)是一种与 HLA-B27 有明显相关性的全身性自身免疫性疾病,一般以骶髂关节为首发部位,逐渐累及人类各种软骨组织、脊柱及四肢关节^[1]。AS 发病机制目前尚不清楚,近年来有多种假说被提出,诸如遗传假说、免疫假说、细菌感染假说、DNA 甲基化,未折叠蛋白反应假说等^[2-3]。免疫系统的异常是自身免疫性疾病发生、发展和预后的中心环节,已有文献报道在 AS 疾病中,人类 T 细胞亚群的失衡起关键作用^[4]。依据 CD4 + T 细胞分化和功能将其分为辅助性 T 细胞 1 (Th1)、辅助性 T 细胞 2 (Th2),以及发挥负调节功能的调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)等亚群。已有不少研究发现 AS 患者外周血 Th1 细胞明显增高和 Treg、Th2 细胞减低,但同时对 Th1、Th2 及 Treg 细胞在 AS 患者外周血中的检测,报道较少,在 AS 患者中是否存在 Th1/Th2/Treg 失衡,以及这种失衡对 AS 的相关性,本研究通过检测 AS 患者外周血中 Th1 (CD3⁺CD8⁻INF- γ ⁺)、Th2 (CD3⁺CD8⁻IL-4⁺)、Treg (CD4 + CD127_{LOW}CD125⁺) 细胞^[5],分析 Th1、Th2、Treg 细胞数量改变与 AS 发生、发展的相关性,以期了解 AS 的免疫平衡状态,为 AS 的临床诊断及治疗提供新思路新方法。

1 材料与方法

1.1 研究对象

78 例 AS 患者,男 65 例,女性 13 例,17 ~ 53 岁,平均(26 + 7.8)岁,AS 疾病的诊断,符合 1984 年纽约修订标准,HLA-B27 均为阳性,均未经任何治疗^[6]。排除标准:(1)合并其他慢性病;(2)明显血液学指标异常;(3)其他自身免疫性疾病;(4)免疫抑制类药物治疗史;(5)免疫相关性疾病;(6)肝、肾功能异常。采集标本前,患者均自愿签署知情同意书,填写病例调查表以及 Bath AS 功能指数

(BASFI)、Bath AS 病情活动指数(BASDAI)表格。依据 Bath AS 病情活动指数,将 AS 组分为低活动性 AS 组(BASDI < 4 分,44 例)、高活动性 AS 组(BASDI \geq 4 分,34 例),两组间年龄及性别构成差异无统计学意义($P > 0.815$)。选取 30 名健康体检者作为正常对照组,其中男 16 名、女 14 名,15 ~ 52 岁,平均年龄(25 \pm 8)岁,无 HIV 感染及重大疾病史。AS 组与正常对照组之间性别构成及年龄差异无统计学意义($P > 0.773$)。

1.2 方法

1.2.1 标本采集 所有 AS 患者及正常对照组受检者均于上午 8:00 ~ 10:00 空腹抽取静脉血 2 ~ 3 mL 于 EDTA-K2 抗凝管中,2 h 内用于 Th1、Th2、Treg 细胞检测。

1.2.2 细胞体外刺激活化 取上述经 EDTA-K₂ 抗凝的静脉血,用淋巴细胞液分离密度梯度离心法获取单个核细胞,用 RPMI 1640 调整细胞浓度至 2×10^6 /mL 接种于 6 孔培养板,加入 PMA 和 Io,使终浓度分别为 1 和 1.7 μ g/mL。然后置于 37 $^{\circ}$ C 的 5% CO₂ 细胞培养箱中,刺激培养 4 ~ 6 h。以上试剂均购自美国 BD 公司。

1.2.3 CD69 的检测 通过检测 CD3⁺CD8⁻T 淋巴细胞膜表面的 CD69 表达,监测激活效果。当 CD69 表达 > 90% (图 1) 方可进行 Th1、Th2 细胞的检测。

1.2.4 Th1、Th2、细胞检测 取两支试管,一个标记为同型对照管,另一个为测试管,分别加入 CD3-FITC、CD8-PECy7 抗体各 20 μ L,再加入 50 μ L 已刺激培养后的全血,混匀,室温避光孵育 15 min;溶血,PBS 洗涤 2 次,加入破膜剂 1 mL,进行胞内细胞因子染色,分别加入对应抗体标记同型对照(-)及 Th1/Th2(+),混匀,室温避光孵育 15 min;PBS 洗涤 1 次后,上机检测。Th1、Th2、细胞的结果分别以 CD3⁺CD8⁻INF- γ ⁺、CD3⁺CD8⁻IL-4⁺ 细胞的百分率表示。

1.2.5 Treg 细胞检测 取两支试管,第一管做同型对照并加入 IgG1-APC、IgG2a-Alexflour672 抗体 20 μ L,第二管加入 Treg Cocktail(CD4-FITC、CD25-APC、CD127-Alexflour672) 20 μ L,再分别加入 EDTA-K2 抗凝外周血 50 μ L,混匀,室温避光孵育 15 min,其余步骤同 Th1,上机检测。Treg 细胞的结果以 CD4 + CD127LOWCD25 + 细胞的百分率表示。流式细胞仪为美国 BD 公司生产的 Canto II。

1.3 统计学处理

流式分析数据采用 Diva 分析软件,统计分析采用 SPSS 18.0 统计软件。以($\bar{x} \pm s$)表示各组检测指标数据。采用 *t* 检验进行组间比较;采用 Pearson 相关分析方法进行相关性分析,当 $|r| > 0.7$ 时为高度相关,当 $0.4 \leq |r| < 0.7$ 时为中度相关,当 $|r| < 0.4$ 时为低度相关。当 $P < 0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外周血中 Th1、Th2 及 Treg 亚群

AS 组外周血 Th1 细胞均明显高于正常对照组(P 均 < 0.01 ,表 1、图 2),高活动性 AS 组明显高于低活动性 AS 组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。

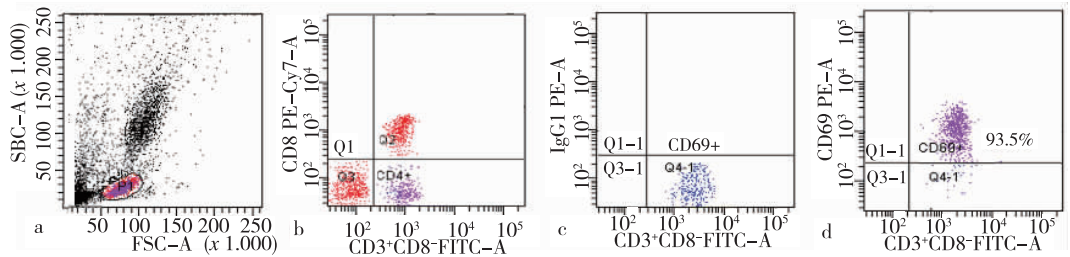
高活动性 AS 组和 AS 组外周血 Th2 细胞均低于低活动性 AS 组和正常对照组(P 均 < 0.05 ,表 1、图 3),且高活动性 AS 组明显低于低活动性 AS 组($P < 0.01$),差异有统计学意义;而低活动性 AS 组与正常对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。AS 组外周血 Treg 细胞与正常对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);AS 低活动性组外周血 Treg 细胞与健康对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);AS 高活动性组外周血 Treg 细胞明显低于正常对照组和 AS 低活动性组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见表 1、图 4。

表 1 AS 组及正常对照组外周血 Th1、Th2、Treg 细胞量的比较(%)

Tab. 1 Comparison of quantity of Th1, Th2 and Treg cells between the AS group and normal control group in peripheral blood

组别	例数	Th1 细胞	Th2 细胞	Treg 细胞
正常对照组	30	12.05 \pm 1.78	1.98 \pm 0.60	8.16 \pm 2.16
AS 组	78	15.86 \pm 3.30 ⁽²⁾	1.51 \pm 0.51 ⁽¹⁾	7.59 \pm 1.97
低活动性 AS 组	44	14.18 \pm 2.35 ⁽²⁾	1.90 \pm 0.51	8.18 \pm 2.08
高活动性 AS 组	34	17.75 \pm 3.14 ⁽²⁾⁽³⁾	1.31 \pm 0.41 ⁽²⁾⁽³⁾	6.62 \pm 1.35 ⁽²⁾⁽³⁾

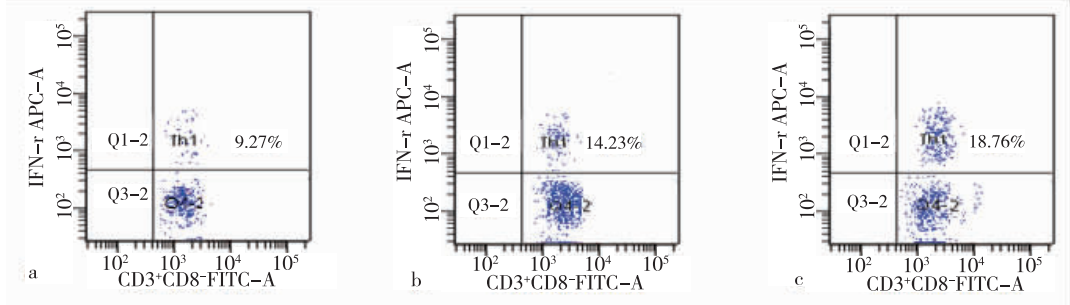
与正常对照组比较,⁽¹⁾ $P < 0.05$ 、⁽²⁾ $P < 0.01$;与低活动性 AS 组比较,⁽³⁾ $P < 0.01$



注:a 为正常对照;b 为低活动性 AS 患者;c 为高活动性 AS 患者

图 1 流式细胞术检测 CD3 + CD8 - CD69 + 细胞(CD69 细胞)设门分析方法

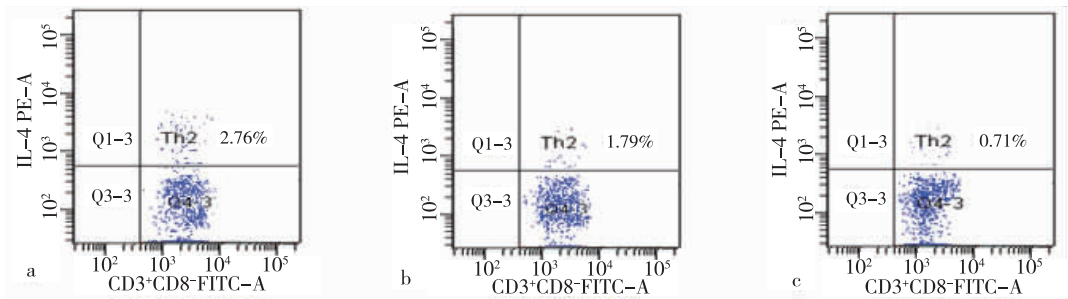
Fig. 1 CD3 + CD8 - CD69 + cells detected by flow cytometry



注:a 为正常对照;b 为低活动性 AS 患者;c 为高活动性 AS 患者

图 2 Th1 细胞所占的百分数

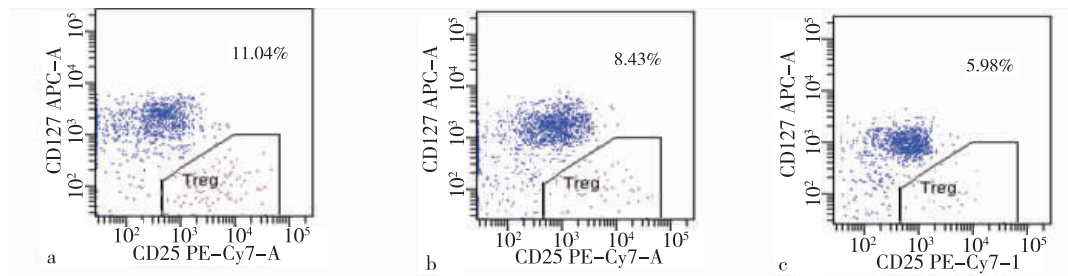
Fig. 2 The percent of Th1 cells (%)



注:a 为正常对照;b 为低活动性 AS 患者;c 为高活动性 AS 患者

图 3 Th2 细胞所占的百分数 (%)

Fig. 3 The percent of Th2 cells (%)



注:a 为正常对照;b 为低活动性 AS 患者;c 为高活动性 AS 患者

图 4 Treg 细胞所占的百分数 (%)

Fig. 4 The percent of Treg cells (%)

2.2 外周血 Th1、Th2、Treg 细胞与 AS 活动性的相关性

AS 患者外周血 Th1 细胞比例与 Bath 强直性脊柱炎病情活动指数 (BASDI) 呈正相关, Th2 细胞和 Treg 细胞与 BASDI 均呈负相关。见表 2。

表 2 AS 患者外周血 Th1、Th2、Treg 细胞与 BASDI 的相关性分析

Tab.2 The analysis for correlation of Th1, Th2 and Treg cells in peripheral blood of AS patients with BASDI

统计值	Th1 细胞	Th2 细胞	Treg 细胞
<i>r</i>	0.809	-0.340	-0.265
<i>P</i>	0.000	0.002	0.019

3 讨论

AS 被认为与遗传、环境、感染相关一种严重的慢性炎性风湿性疾病^[7]。目前发现在 AS 这类自身免疫性疾病的发病机制中, 免疫功能紊乱起重要作用, 如 B 淋巴细胞亚群^[8]、CD4⁺T 淋巴细胞异常^[9]。初始 CD4⁺T 细胞, 在 IFN- γ 、IL-2 等细胞因子的诱导下, 分化为 Th1 细胞, 在 IL-4 等细胞因子的诱导下分化为 Th2 细胞, 在 TGF- β 、IL-10 等细胞

因子的诱导下分化为 Treg 细胞^[10]。

Th1 细胞分泌 IFN- γ 、IL-2、TNF- β 等细胞因子, 主要参与介导细胞免疫应答、细胞毒性 T 细胞和巨噬细胞活化, 以及迟发型超敏反应, 增强其抗感染能力, 同时可抑制过度的 Th2 细胞介导的免疫反应。本研究结果显示, AS 患者 Th1 细胞增高, 符合与 Nurieva 等^[11]对 AS 患者 Th1、Th2 细胞的研究结果。本研究还发现, 患者外周血 Th1 细胞与 BASDI (即 AS 活动性) 呈明显正相关。低活动性 AS 组 (也就是 AS 早期), 就出现 Th1 细胞数量的异常增高, 且伴随 AS 活动性的增高, Th1 细胞异常增高的程度更为显著。由此可见, AS 是一类由 Th1 细胞亚群驱动的疾病, 且与疾病活动性高度相关。Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-5 和 IL-6 等细胞因子, 主要参与抗体介导的免疫应答、B 细胞和嗜酸性粒细胞活化以及 IgE 的生成, Th2 细胞分泌的 IL-4 是重要的抑制炎症因子, 在体内发挥抗炎作用, 调节 Ig 类别的转化。本研究结果显示, AS 患者 Th2 细胞与 AS 活动性呈负相关, 且在 AS 患者外周血中, 表现为细胞百分含量的降低。低活动性 AS 组外周血 Th2 细胞稍降低, 但与对照正常组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 伴随着 AS 患者病情的进展, 导致高活动性 AS 组 Th2 细胞明显低于正常对照组 ($P < 0.01$)。提示在 AS 早期, 在 AS

患者自身免疫系统中, Th2 细胞抑制炎症作用并不明显, 而 AS 晚期, Th1 细胞的增高, 可能导致了 Th2 细胞的大幅度降低, Th1 和 Th2 产生的细胞因子间, 存在交叉调节作用。由 Th1 细胞分泌的 IFN- γ 可抑制 Th2 细胞分化增殖。本研究在 CD4 + Th 细胞亚群中, Th1 细胞介导的炎症反应在 AS 患者中为主导, Th1 细胞的明显增多导致 Th2 细胞负调节作用减弱, 产生了过多的炎症细胞因子, 致使抗炎介质的缺乏, Th1 激活程度低下, Th2 激活程度增强, 最终导致 Th1/Th2 失衡。并且这种失衡是一种渐进的趋势。

Treg 细胞根据来源分为天然 Treg 细胞 (nTregs) 和诱导性 Treg 细胞 (iTregs), nTregs 由胸腺细胞自然分化发育而来, iTregs 由外周成熟的 CD4 + CD25-T 淋巴细胞受到特异性抗原刺激并在细胞因子的诱导下转化而来, 具自身特异性, 免疫负性调节功能^[12], 外周的 iTregs 通过分泌 IL-10、TGF- β 等具抑制性的细胞因子, 抑制 Th1 细胞产生细胞因子及其活性, 调控免疫应答的强度, 减轻对机体组织损伤作用^[13-14], AS 疾病中有关 Treg 细胞的研究存在上、下调结论的不一致性, 王朋等^[15]对 AS 患者 Treg 细胞检测结果呈上调与 Crispin 等关于自身免疫性疾病外周血 Treg 细胞表达水平下降的结论恰好相反^[16]。本研究结果显示, AS 患者外周血 Treg 细胞低于健康对照组, 支持 Crispin 等的结论。本研究小组所得结果显示, AS 患者体内存在 Th1、Th2、Treg 数量的失衡。Th2 细胞和 Treg 细胞数量减少, Th1 细胞增加, 破坏了免疫系统的稳态, 从而引起免疫应答异常^[17]。故在 AS 的治疗中, 纠正 Th1、Th2、Treg 细胞量的失衡、调节其数量和功能状态可能是治疗 AS 的有效方法。

综上所述, 本研究表明, AS 患者存在 Th1、Th2、Treg 细胞的失衡。伴随着 AS 疾病活动度的增高, 由 Th1 细胞介导的细胞免疫功能在患者体内表达亢进, 而 Th2 细胞和 Treg 细胞介导的免疫抑制作用减弱。联合检测 AS 患者外周血 Th1、Th2、Treg 细胞, 对 AS 发病机制研究、病情变化以及治疗监测可能会成为较好的检测项目, 可能为 AS 诊疗提供新思路。

4 参考文献

- [1] DiCarlo EF, Kahn LB. Inflammatory diseases of the bones and joints[J]. Semin Diagn Pathol, 2011(1):53-64.
- [2] Díaz-Peña R, López-Vázquez A, López-Larrea C. Old and new HLA associations with ankylosing spondylitis[J]. Tissue Antigens, 2012(3):205-213.
- [3] Onuora SL. Spondyloarthritis: Evidence from animal studies supports the 'enthesal stress' hypothesis of ankylosing spondylitis. [J] Nat Rev Rheumatol, 2012(8):248.
- [4] Taylan A, Sari I, Akinci B, et al. Biomarkers and cytokines of bone turnover: extensive evaluation in a cohort of patients with ankylosing spondylitis [J]. BMC Musculoskelet Disord, 2012(12):1471-1474.
- [5] Ciccia F, Accardo-Palumbo A, Giardina A, et al. Intestinal CD4(+) CD25(high) regulatory T cells are expanded in ankylosing spondylitis patients: A putative role for IL-10 in preventing intestinal Th17 response [J]. Arthritis Rheum, 2010(62):3625-3634.
- [6] Van der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. A proposal for modification of the New York criteria [J]. Arthritis Rheum, 1984(4):361-368.
- [7] Nurieva RI, Podd A, Chen Y, et al. STAT5 protein negatively regulates T follicular helper Tfh cell generation and function [J]. J Biol Chem, 2012(14):11234-11239.
- [8] 吴洪坤, 周琳, 张玲珍, 等. 强直性脊柱炎患者外周血中 B 淋巴细胞亚群、B 细胞活化因子及其受体的表达研究 [J]. 检验医学, 2011(12):818-822.
- [9] 徐维家, 李志, 杨婷婷, 等. 系统性红斑狼疮患者 Th17 和 Th1 细胞及其细胞因子水平的变化及临床意义 [J]. 检验医学, 2013(5):396-399.
- [10] Dardalhon V, Awasthi A, Kwon H, et al. IL-4 inhibits TGF-beta-induced Foxp3 + T cells and, together with TGF-beta, generates IL-9 + IL-10 + Foxp3(-) effector T cells [J]. Nat Immunol, 2008(12):1347-1355.
- [11] Nurieva RI, Podd A, Chen Y, et al. STAT5 protein negatively regulates T follicular helper (Tfh) cell generation and function [J]. J Biol Chem, 2012(14):11234-11239.
- [12] Bluestone JA, Abbas AK. Natural Versus adaptive regulatory T cells [J]. Nat Rev Immunol, 2003(3):253-257.
- [13] Bertolini DR, Nedwin GE, Bfingman TS, et al. Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumor necrosis factor [J]. Nature, 1986(6053):516-51.
- [14] Sugiyama H, Gyulai R, Toichi E, et al. Dysfunctional blood and target tissue CD4 + CD25high regulatory T cells in psoriasis: mechanism underlying unrestrained pathogenic effector T cell proliferation [J]. Immunol, 2005(174):164-73.
- [15] 王朋. HLA-B27 阳性者中 CD4 + CD25bright Treg 细胞的检测及意义 [J]. 实验与检验医学, 2010(28):579-580.
- [16] 李冬梅, 李向培. 强直性脊柱炎患者外周血 CD4 + CD25 + CD127low- T 细胞检测及其意义, 中华临床免疫和变态反应杂志, 2008(4):266-271.
- [17] Prevosto C, Goodall JC, Hill Gaston JS. Cytokine secretion by pathogen recognition receptor-stimulated dendritic cells in rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis [J]. J Rheumatol, 2012(10):1918-1928.

(2014-08-21 收稿, 2015-02-08 修回)
中文编辑: 刘平; 英文编辑: 刘华

老年居民社区卫生服务的利用现状及影响因素^{*}

卢芸^{**}, 田密^{***}, 朱焱^{****}

(贵阳医学院 公共卫生学院, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 分析老年居民对社区卫生服务的利用情况及影响因素, 为基层医疗机构更好地开展老年卫生服务提供依据。方法: 选择贵阳市云岩区某社区为调查区域, 采用分层随机抽样的方法, 对509名60岁及以上老年居民进行问卷调查。结果: 509名社区老年居民两周患病率为14.3%, 慢性病患者率为54.2%, 两周就诊率为12.4%; 经济月收入低者患病率较高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 老年女性、初中及以上学历的老年居民慢性病患者率较高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 独居老年人、经济月收入低者就诊率较高, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 门诊常见病诊治、慢性病防治、健康档案管理、家庭访视等社区老年卫生服务在文化程度高与经济收入高者中的利用度较低, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 慢性病患者在慢性病防治、慢性病管理、用药指导和饮食指导中的利用度较高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论: 老年居民社区卫生服务项目的整体利用率不高, 年龄偏大、文化程度高、无慢性病、医保报销属地都是影响社区老年居民卫生服务项目利用率的因素。

[关键词] 社区卫生服务; 老年人; 卫生调查

[中图分类号] R195 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0368-05

The Present Situation and Influencing Factors of Community Health Service for the Elderly Residents

LU Yun, TIAN Mi, ZHU Yan

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

[Abstract] **Objective:** To discuss utilization and influencing factors of community health services for elderly residents and provide the basic for grassroots medical institutions to carry out community health services better. **Methods:** Stratified random sampling technique was adopted to conduct a questionnaire survey in 509 elderly people. **Results:** Among 509 elderly people, two-week prevalence rate was 14.3%, the prevalence rate of chronic diseases was 54.2% and two-week visiting rate was 12.4%. The less monthly income, the higher the prevalence rate ($P < 0.05$). The elderly women and the elderly people with education of junior high school or above had higher rates of chronic diseases than other residents ($P < 0.05$). The solitary elderly people and the elderly people with lower income had higher rates of visiting a doctor within two weeks than others ($P < 0.05$). The community elderly health services including clinic diagnosis and treatment of common diseases, chronic disease prevention, health file management, and home visit were not frequently utilized in those elderly people who were highly-educated and in those elderly people with high income ($P < 0.05$). The prevention of chronic diseases, chronic disease management, medication and diet guidance were utilized frequently in those elderly patients with chronic diseases ($P < 0.05$). **Conclusion:** As a whole, the community elderly health services are not fully utilized in elderly residents, and influencing factors include education, medicare reimbursement dependency, etc.

[Key words] community health services; aged; health surveys

^{*} [基金项目] 贵州省科技厅科技计划课题[黔科合 LH 字(2014)7095 号]

^{**} 贵阳医学院公共卫生学院 2012 级研究生

^{***} 贵阳医学院 2010 级预防医学本科生

^{****} 通信作者 E-mail: 584684662@qq.com

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1915.020.html>

社区卫生服务是世界公认的最佳基层医疗模式,它提供的是一种面向社区以家庭为单位、以个人为中心的整体化服务,是实现人人享有卫生保健的重要载体^[1]。国内外研究表明,老年人是社区的特殊人群,对医疗的需求最为迫切,社区卫生服务中心(站)向老年群体提供基本医疗保健,是实现基本医疗服务的有效途径^[2-4]。如何为老年人提供优质、合理、有效的社区卫生服务是基层医疗机构所面临的重要挑战。本文对贵阳市某社区 60 岁及以上老年居民利用社区卫生服务的情况进行了抽样调查及分析,旨在为贵阳市社区老年卫生服务工作提供科学依据。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取贵阳市云岩区某社区作为调查区域,根据与社区卫生服务中心的距离远近将调查区域分为 3 层,每层随机抽取 1 个居委会,然后对居委会辖区内 60 岁及以上老年居民进行完全随机抽样调查。

1.2 研究方法及内容

采用问卷调查法,由经过培训合格的调查员进行面对面入户调查,根据调查问卷内容询问被调查者,最后由调查员逐项统一填写。共发放调查问卷 517 份,有效收回 509 份,有效回收率为 98.45%。调查内容主要包括一般人口学特征(性别、年龄、居住状况等),慢性病史,该社区目前所开展的门

诊常见病诊治、社区急救、慢性病防治、家庭出诊、免费健康体检、社区康复服务等项目。

1.3 观察指标

两周患病率、慢性病患者率、两周就诊率、两周患者就诊率以及社区卫生服务各项的利用率^[3-4]。两周患病率=(前 2 周内患病人数/调查人数)×100%,慢性病患者率=(确诊患慢性病人
数/调查人数)×100%,两周就诊率=(前 2 周内
就诊人数/调查人数)×100%,两周患者就诊率=
(前 2 周内患者就诊人数/2 周患者总人数)×
100%;截止调查时接受过社区卫生服务中心医
务人员提供的卫生服务项目中的某一项即为对该
服务项目的利用,利用率=(卫生服务项目利用人
数/调查人数)×100%。

1.4 统计学方法

采用 EpiData 3.1 双人双录入建立数据库,导
入 SPSS 19.0 进行统计学处理。计量资料用($\bar{x} \pm$
 s)表示,计数资料用率表示,组间比较采用 χ^2 检
验,采用非条件 Logistic 回归分析进行多因素分析。
检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 社区老年居民基本情况

共抽取 509 名老年居民,男性 227 名,女性 282
名,平均(71.77±8.13)岁,文化程度、居住状况、
经济收入、医保类型等情况,见表 1。

表 1 社区老年居民基本情况(n,%)
Tab.1 The basic situation of the elderly community residents

基本情况				基本情况			
		n	构成比(%)			n	构成比(%)
性别	男	227	44.60	月收入(元)	<500	83	16.31
	女	282	55.40		501~2 000	148	29.07
年龄(岁)	60~69	219	43.03		2 001~3 999	176	34.58
	70~79	186	36.54		>4 000	102	20.04
	80~89	97	19.06	医保类型	城镇职工医保	279	54.81
	≥90	7	1.37		城镇居民医保	86	16.90
文化程度	文盲及半文盲	100	19.65		机关事业养老医保	68	13.36
	小学	128	25.15		自费	24	4.72
	高中或中专	69	13.55		公费	8	1.57
	大专及以上	83	16.31		其他	44	8.64
居住状况	在婚单独居住	186	36.54				
	与子女同住	257	50.49				
	独居	66	12.97				

2.2 老年居民患病及就诊情况

509 名老年居民中,两周患病率为 14.34%,两周患者就诊率为 38.36%,慢性患病率为 54.22%,两周就诊率为 12.38%。月收入≤2 000 元者患病率较高,差异有统计学意义($P < 0.05$);老年女性、初中及以上学历的老年居民慢性病患病率较高,差异有统计学意义($P < 0.05$);独居老年人、月收入≤2 000 元者就诊率较高,差异有统计学意义($P < 0.05$);两周患者就诊率在不同特征人群间的比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 2 社区老年居民两周就诊、两周患病及慢性患病情况

Tab. 2 Two-week prevalence rate, the prevalence rate of chronic diseases and two-week visiting rate of the elderly community residents											
特征		人数	患病 (n,%)	χ^2	P	慢性病 (n,%)	χ^2	P	就诊 (n,%)	χ^2	P
性别	男	227	25 (11.01)	3.70	0.06	112	(49.34)	3.94	0.05	27	(11.89)
	女	282	48 (17.02)			164	(58.16)			36	(12.76)
年龄(岁)	60~69	219	29 (13.24)	2.12	0.35	95	(43.38)	18.73	0.00	25	(11.42)
	70~79	186	32 (17.20)			119	(63.98)			23	(12.37)
	≥80	104	12 (12.37)			62	(63.92)			15	(14.42)
文化程度	文盲及小学	228	37 (16.23)	1.20	0.27	112	(49.12)	4.33	0.04	32	(14.04)
	初中及以上	281	36 (12.81)			164	(58.36)			31	(11.03)
居住状况	非独居	443	60 (13.54)	1.77	0.18	234	(52.82)	2.71	0.10	10	(2.26)
	独居	66	13 (19.70)			42	(63.64)			53	(80.30)
经济收入(元/月)	≤2 000	231	41 (17.75)	4.00	0.05	120	(51.95)	0.88	0.35	37	(16.02)
	>2 000	278	32 (11.51)			156	(56.12)			26	(9.35)

2.3 社区卫生服务项目利用情况

老年居民对社区卫生服务项目利用率最高的三项是门诊常见病诊治、免费健康体检和家庭访视,其次为健康档案管理、用药指导、饮食指导、健康教育与咨询、慢性病管理、家庭出诊、慢性病防治、社区急救以及社区康复服务,见图 1。不同性别、年龄及居住状况的人群对各服务项目利用情况比较差异无统计学意义($P > 0.05$),不同文化程度、经济收入及有无慢性病的人群对社区急救和社

区康复服务利用情况比较差异无统计学意义($P > 0.05$);门诊常见病诊治、慢性病防治、健康档案管理、家庭访视、健康体检、用药指导、饮食指导以及健康教育与咨询在文化程度高及经济收入高者中利用度较低,差异有统计学意义($P < 0.05$);慢性病患者在慢性病防治、慢性病管理、用药指导和饮食指导中的利用度较高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

2.4 影响老年居民利用社区卫生服务的因素

以社区卫生服务项目的利用情况(“利用”定义为 1,“未利用”定义为 0)为因变量,以年龄、性别、文化程度、医保类型是否可在社区就诊报销、居住状况、经济月收入、是否患有慢性病、生病是否愿意到社区就诊作为自变量进行非条件 Logistic 回归分析(变量赋值见表 4)。结果显示,年龄偏大、文化程度高、没有患慢性病、医保不能在社区就诊报销、生病不愿意到社区就诊都是影响社区老年居民利用卫生服务的因素,见表 5。

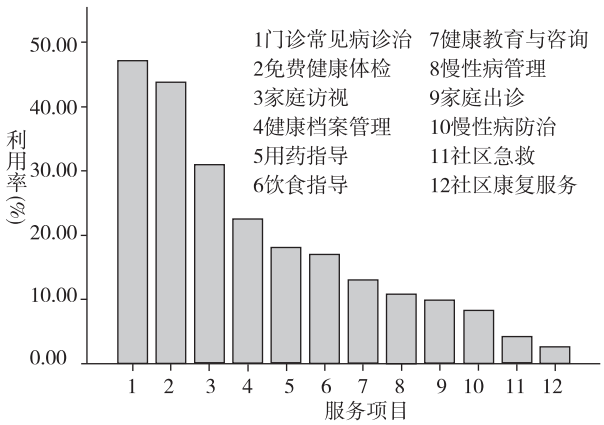


图 1 老年居民社区卫生服务项目利用率
Fig. 1 Utilization rate of community health services for elderly residents

3 讨论

与第四次全国卫生服务调查结果比较^[5],本调查结果显示两周患病率及慢性病患病率偏低,可能与调查选取的社区老年居民整体健康水平较好

表 3 社区老年卫生服务项目的利用情况(n,%)
Tab. 3 The utilization of community health services for elderly residents

卫生项目	文化程度			χ^2	P	经济月收入(元)				χ^2	P	慢性病		χ^2	P
	<小学	初中~ 高等	>大专			≤500	501~ 2 000	2 001~ 3 999	≥4 000			有	无		
门诊常见病诊治	137 (60.09)	93 (46.97)	10 (12.05)	56.36	0.00	46 (55.42)	90 (60.81)	83 (47.16)	21 (20.59)	40.18	0.00	136 (49.45)	104 (44.44)	1.09	0.30
慢性病防治	25 (10.96)	16 (8.08)	1 (1.20)	7.67	0.02	4 (4.82)	15 (10.14)	20 (11.36)	3 (2.94)	8.00	0.05	36 (49.45)	6 (2.56)	18.29	0.00
慢性病管理	30 (13.16)	23 (11.62)	2 (2.41)	7.52	0.02	5 (6.02)	19 (12.84)	25 (14.20)	6 (5.88)	7.28	0.06	46 (16.73)	9 (3.85)	21.49	0.00
健康档案管理	64 (28.07)	45 (22.73)	5 (6.02)	17.04	0.00	20 (24.10)	40 (27.03)	44 (25.00)	10 (9.80)	11.42	0.01	66 (24.00)	48 (20.51)	0.80	0.37
家庭访视	78 (34.21)	71 (35.86)	8 (9.64)	21.04	0.00	24 (28.92)	57 (38.51)	63 (35.80)	13 (12.75)	21.30	0.00	85 (30.91)	72 (30.77)	0.00	0.98
家庭出诊	27 (11.84)	20 (10.10)	3 (3.61)	4.68	0.10	2 (2.41)	20 (13.51)	20 (11.36)	8 (7.84)	8.48	0.04	29 (10.55)	21 (8.97)	0.32	0.57
健康体检	120 (52.63)	90 (45.45)	13 (15.66)	34.14	0.00	30 (36.14)	79 (53.38)	98 (55.68)	16 (15.69)	49.50	0.00	128 (46.55)	95 (40.60)	1.61	0.20
用药指导	51 (22.37)	38 (19.19)	3 (3.61)	14.73	0.00	18 (21.69)	41 (27.70)	26 (14.77)	7 (6.86)	19.40	0.00	60 (21.82)	32 (13.68)	5.47	0.02
饮食指导	43 (18.86)	38 (19.19)	5 (6.02)	8.36	0.02	15 (18.07)	37 (25.00)	26 (14.77)	8 (7.84)	13.16	0.00	58 (21.09)	28 (11.97)	7.28	0.01
健康教育与咨询	36 (15.79)	27 (13.64)	3 (3.61)	8.12	0.02	9 (10.84)	33 (22.30)	16 (9.10)	8 (7.84)	16.37	0.00	41 (14.55)	25 (10.68)	1.91	0.17

表 4 Logistic 回归分析相关变量赋值表
Tab. 4 Logistic regression analysis
of correlative variable

变量	赋值
性别	0 = 女; 1 = 男
文化程度	1 = 文盲及半文盲; 2 = 小学; 3 = 初中; 4 = 高中/技校/中专; 5 = 大专及以上
医保类型是否可报销	0 = 否; 1 = 是
居住状况	0 = 非独居; 1 = 独居
经济月收入	1 = ≤500 元; 2 = 501 ~ 2 000 元; 3 = 2 001 ~ 3 999 元; 4 = ≥4 000 元
是否患有慢性病	0 = 否; 1 = 是
生病是否愿意到社区就诊	0 = 否; 1 = 是

有关。60 岁以上女性和 70 ~ 79 岁男性居民慢性病患病率较高,与相关调查结果相符^[6],提示这部分人群是社区卫生服务关注的重点。调查显示,两周就诊率偏低,主要原因是病情不严重可以自己买药(86.67%)和经济困难(9.99%),与我省其他相关研究结果一致^[7],提示老年居民对社区卫生服务的利用程度不高,少部分老年人因贫不能及时就

医,应引起社区居委会(村委会)和民政部门的高度关注。

本调查结果显示,42.44% 的老年居民不愿意选择社区卫生服务中心就诊,原因依次是不知道社区卫生服务中心具体的位置(22.69%)、不是医保定点单位(21.30%)、离家路程较远(18.52%)和医疗技术水平低(15.28%),提示加大社区卫生服务机构的宣传以及提高服务质量可直接影响到老年居民对社区卫生服务的利用^[8-9],增加在社区就诊报销的医保类型以及医保范围,能吸引更多老年居民在社区就诊,对充分发挥社区卫生服务起到积极作用。老年居民文化程度的不同也影响着社区卫生服务的利用率,如文化程度较高者在慢性病防治、健康档案管理、家庭访视等服务中的利用率较低,这可能与学历较高的老年人多为政府机关或事业单位退休职工,单位福利较好,定期组织健康体检等工作有关,提示做好体检相关信息的沟通工作,可防治医疗资源的过度浪费;高龄老年人对家庭出诊的利用率较高,提示社区卫生服务中心人员有必要针对辖区高龄老年人定期家庭访视和电话咨询,若条件允许可提供固定的家庭医生管理高龄

表 5 社区卫生服务项目利用情况影响因素的 Logistic 回归分析
Tab. 5 Logistic regression analysis of influencing factors in utilization of community health services

变量	影响因素	B	S. E.	Wald	P	OR	OR 的 95% CI	
							下限	上限
门诊常见病诊治服务	文化程度	-0.24	0.11	4.70	0.03	0.78	0.63	0.98
	就诊意愿	2.56	0.25	107.74	0.00	12.93	7.98	20.97
慢性病防治服务	慢性病情况	1.77	0.46	14.62	0.00	5.84	2.36	14.44
	就诊意愿	1.97	0.56	12.36	0.00	7.18	2.39	21.54
慢性病管理服务	慢性病情况	1.55	0.38	16.89	0.00	4.72	2.25	9.88
	医保报销情况	1.04	0.40	6.79	0.01	2.83	1.29	6.19
	就诊意愿	2.23	0.51	19.02	0.00	9.26	3.41	25.17
健康档案管理服务	医保报销情况	0.62	0.26	5.67	0.02	1.86	1.12	3.10
	就诊意愿	1.52	0.29	27.25	0.00	4.57	2.58	8.09
家庭访视服务	医保报销情况	0.56	0.24	5.75	0.02	1.76	1.11	2.79
	就诊意愿	1.83	0.27	47.86	0.00	6.25	3.72	10.50
家庭出诊服务	年龄	0.05	0.02	5.04	0.03	1.05	1.01	1.09
	就诊意愿	1.86	0.48	15.22	0.00	6.44	2.53	16.43
健康体检服务	医保报销情况	1.09	0.22	23.97	0.00	2.97	1.92	4.58
	就诊意愿	1.59	0.22	51.17	0.00	4.89	3.17	7.55
用药指导服务	慢性病情况	0.62	0.26	5.75	0.02	1.86	1.12	3.08
	就诊意愿	1.83	0.36	25.90	0.00	6.23	3.08	12.60
饮食指导服务	慢性病情况	0.74	0.27	7.5	0.01	2.09	1.24	3.51
	医保报销情况	0.60	0.30	4.00	0.05	1.82	1.01	3.26
	就诊意愿	1.69	0.35	22.93	0.00	5.42	2.72	10.83
健康教育与咨询服务	医保报销情况	0.78	0.35	4.97	0.03	2.18	1.10	4.31
	就诊意愿	1.96	0.45	18.92	0.00	7.09	2.93	17.14

老年居民的身心健康;慢性病老年患者对慢性病防治、慢性病管理、用药指导及饮食指导服务的利用率较高,社区卫生服务中心人员应针对这部分人群做好宣传及管理工作。总之,老年居民作为社区卫生服务的特殊对象,应引起社区卫生服务中心人员的重视,积极探索适合辖区老年居民个性化的社区卫生服务形式。

4 参考文献

[1] 朱一胜,丁益民,顾朝阳,等. 2010 年江苏省常州市钟楼区居民社区卫生服务需求与利用分析[J]. 中国健康教育, 2013(3): 235 - 239.

[2] 马菲,曲成毅,王婷,等. 太原社区不同医保老年人卫生服务利用研究[J]. 中国公共卫生管理, 2008(3): 229 - 331.

[3] 陈英耀. 卫生服务评价[M]. 上海:复旦大学出版社, 2007(3): 46 - 54.

[4] 何顺锋,何旭研,林沛卿,等. 佛山市老年人社区卫生服务知晓与利用现状调查[J]. 广西医学, 2013(6): 796 - 798.

[5] 国家卫生和计划生育委员会统计信息中心. 2013 年中国卫生统计年鉴[R]. 北京:中国协和医科大学出版社, 2013: 254 - 258.

[6] 蔡毅媛,黄文湧,杨敬源,等. 毕节氟病区居民卫生服务需求与利用状况调查[J]. 中国公共卫生, 2014(4): 490 - 492.

[7] 黄文湧,王森,杨敬源,等. 贵州省城乡老年人卫生服务需求与利用调查[J]. 贵阳医学院学报, 2009(6): 609 - 612.

[8] 王佳. 德阳市老年居民社区卫生服务机构利用情况和满意度调查[J]. 社区医学杂志, 2013(1): 52 - 53.

[9] 张小曼,王洪侠,李慧敏. 徐州市老年居民社区卫生服务利用状况及影响因素分析[J]. 中国实用护理杂志, 2013(16): 5 - 7.

(2015-01-15 收稿,2015-03-20 修回)
中文编辑: 戚璐; 英文编辑: 刘 华

脐带血血清分离培养人胎盘间充质干细胞

周心涛, 赵黎丙, 闵新文, 陈 娇, 郎明健*

(湖北医药学院附属东风医院, 湖北 十堰 442000)

[摘要] **目的:** 探讨脐带血清(UCBS)分离、培养人胎盘间充质干细胞(PMSCs)的增殖及分化能力。**方法:** 将UCBS处理后用于分离、培养PMSCs作为实验组,同体积FBS分离、培养PMSCs作为对照组,用相差显微镜观察实验组与对照组PMSCs的形态、流式细胞仪检测PMSCs表面标志、MTT法检测PMSCs的增殖能力。**结果:** 10% UCBS的培养液分离纯化的PMSCs成梭形、增殖能力强,具有分化为成骨细胞和脂肪细胞的能力,高表达CD29、CD44及CD105,低表达或不表达CD34、CD45及HLA-DR;与对照组相比,UCBS组细胞增殖能力更强。**结论:** 脐带血清能分离、培养及扩增PMSCs,培养的PMSCs的增殖能力及分化潜能好于FBS。

[关键词] 脐带; 血清; 间充质干细胞; 流式细胞术; 细胞培养

[中图分类号] R329.24; R34-33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0373-04

Isolation and Culture of Human Placenta Derived Mesenchymal Stem Cells in Umbilical Cord Serum

ZHOU Xintao, ZHAO Libing, MING Xinwen, CHEN Jiao, LANG Mingjian

(The Affiliated Dongfeng Hospital of Hubei Medical College, Shiyan 442000, Hubei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the proliferation and differentiation abilities of human placenta mesenchymal stem cells (PMSCs) isolated and cultured in human umbilical cord blood serum (UCBS). **Methods:** PMSCs isolated and cultured in UCBS served as experiment group and the same volume PMSCs isolated and cultured in FBS served as the control. PMSCs cell's morphology were observed under phase contrast microscope, flow cytometry were used to detected cell surface markers, MTT were used to test cell proliferation activity. **Results:** PMSCs isolated and cultured in 10% UCBS were spindle shaped, having high reproductive activity and could be induced to osteoblasts and adipocytes, highly expressed CD29, CD44 and CD105, but lowly expressed or didn't express CD34, CD45 and HLA-DR. The proliferation of experiment group was stronger than that of control group. **Conclusions:** UCBS can be used to isolate and culture PMSCs, and the proliferation and differentiation abilities of PMSCs in UCBS are better than those in FBS.

[Key words] umbilical cord; serum; mesenchymal stem cell; flow cytometry; cell culture

来源于正常足月分娩胎盘的人胎盘间充质干细胞(human placenta mesenchymal stem cells, PMSCs)具有来源广、免疫原性低等优点,还具有自我更新和无限增殖的能力,能向多谱系分化^[1-2]。本实验通过利用正常足月分娩的脐带血清(umbilical cord blood serum, UCBS)分离、培养PMSCs,观察细胞形态、数量、扩增所用时间、细胞周期及培养前

后细胞的表型、分化能力的改变,探讨UCBS分离、培养及扩增PMSCs的可能性。

1 材料和方法

1.1 主要试剂

L-DMEM(Gibco)、胎牛血清(Gibco)、胰蛋白

*通信作者 E-mail:lmjian1976@163.com

网络出版时间:2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1824.002.html>

酶(北京天根生物技术有限公司),L-谷氨酰胺、MTT kit (Promega)。间充质干细胞成脂、成骨分化试剂盒(广州赛业生物技术有限公司)。

1.2 UCBS 制备

无菌条件下取健康产妇足月脐血,4℃静置4~16 h,20℃、1 500 g 离心10 min 收集上层血清,0.22 μm 滤器过滤,56℃水浴30 min 灭活补体,-20℃保存备用。

1.3 PMSCs 分离、培养及扩增

经孕妇本人及家属知情同意、医院伦理委员会批准,无菌条件下取健康胎儿(血清学检查 HBV, HCV, HIV 和梅毒均为阴性)小块胎盘组织,PBS 充分洗涤后剔除胎儿面脱膜并剪碎。0.1% IV 型胶原酶消化15~30 min,100 目筛网过滤,收集细胞接种于 T75 细胞培养瓶,分别以含 10% UCBS(实验组)和 10% FBS(对照组)的 α-MEM 培养基于 37℃,5% CO₂ 的饱和湿度环境下进行培养。培养生长至 80% 融合后(1~2 周),用 0.05% 的胰酶消化传代。

1.4 PMSCs 相关鉴定

1.4.1 PMSCs 体外诱导分化 将实验组与对照组中生长至第 3 代的 PMSCs,以低密度接种至 6 孔板,第 2 天将基础培养液更换为诱导液。成骨诱导液为高糖 DMEM、10% UCBS、地塞米松(10~8 mol/L)、磷酸甘油(10 mmol/L)及抗坏血酸(50 g/mL)。成脂肪细胞诱导液为高糖 DMEM、10% UCBS、地塞米松(1 nmol/L)、0.5 μmol/L 3-isobutyl-1-methylxanthine、5 mg/L 胰岛素及 200 mg/L 吡哆美辛。每 2~3 d 换液 1 次。诱导 2~4 周后,分别用茜素红(成骨细胞)和油红 O(脂肪细胞)染色鉴定。

1.4.2 PMSCs 表面标志鉴定 将实验组与对照组中生长至第 5 代的细胞,用 0.05% 胰蛋白酶消化后,调整细胞密度至 1×10^6 /mL,分为每管 100 μL,分别加入鼠抗人 CD105 (PE, Sigma)、CD34 (PE, Sigma)、CD45 (CY5, Sigma)、HLA-DR (FITC, Sigma)、CD44 (FITC, Sigma) 及 CD29 (FITC, Sigma) 单克隆抗体,避光 4℃孵育 30 min,4% 多聚甲醛固定后流式细胞仪进行检测。

1.5 不同血清对 PMSCs 增殖活性的影响

MTT 法检测不同血清对 PMSCs 增殖活性的影响,用 0.05% 胰蛋白酶分别将实验组与对照组中生长至第 4 代的 PMSCs 消化成单细胞悬液,调整浓度为 10^4 个/mL,每孔 100 μL 接种于 96 孔板,每

组细胞培养液根据不同的时间点,各设置 5 个平行孔和一个空白对照。按试剂盒操作指南分别于接种后的第 1、3、5、7 天每孔 20 μL 加入 MTT 工作液。37℃,5% CO₂ 孵育 4 h 后,用酶标仪在 490 nm 处测定 OD 值。

2 结果

2.1 PMSCs 的鉴定

2.1.1 PMSCs 形态 实验组 PMSCs 在 2~3 d 时开始贴壁生长,贴壁细胞呈梭形,形态饱满,以后细胞数逐渐增多形成漩涡状集落,原代细胞培养 1~2 周达 80% 以上融合后可传代。对照组 PMSCs 在 3~4 d 时开始贴壁生长,细胞形态与实验组无明显差异。两组细胞传代后生长速度均明显加快,约 4 d 可传代 1 次。传代 2~3 次后细胞纯度提高,形态较原代均一,呈平行排列或漩涡状生长,见图 1。

2.1.2 PMSCs 体外诱导分化 实验组细胞在进行成骨细胞诱导时,随着诱导的进行,PMSCs 由梭形逐渐变成方形,并开始出现聚集。诱导 21 d 后茜素红染色可以将胞质被染成红色,且实验组茜素红染色阳性细胞明显多于对照组;成脂诱导后 PMSCs 逐渐开始出现油滴,诱导 28 d 后油红 O 染色阳性,实验组与对照组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 2。

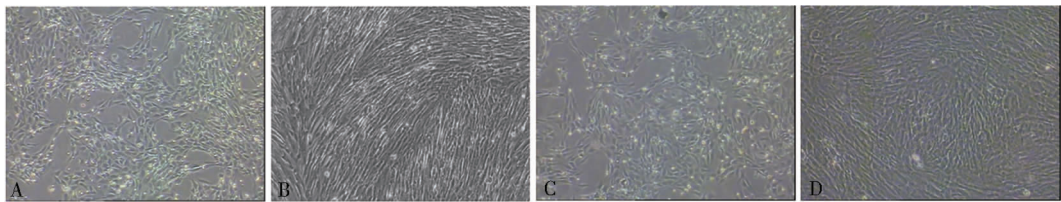
2.1.3 PMSCs 表面标志 经流式细胞术检测,无论是实验组还是对照组中,PMSCs 都高表达 CD29、CD44 及 CD105,不表达或低表达 CD34、CD45 及 HLA-DR,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 3。

2.2 MSCs 在含 UCBS 培养液中的生长曲线

PMSCs 在实验组与对照组中培养时均表现为第 2~5 天成对数生长,第 6~7 天后进入平台期,生长变缓,而且实验组的增长率明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),图 4。

3 讨论

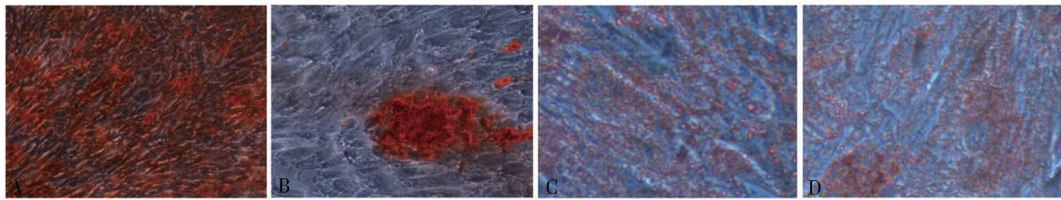
PMSCs 是从人胎盘组织中分离的一类具有自我更新和多向分化潜能的细胞,除了能分化为脂肪、软骨、成骨细胞等本胚层细胞外,在适当的条件性还能转分化为骨骼肌细胞、心肌细胞、肝细胞及神经细胞等胚层的细胞。PMSCs 在缺血性卒中、帕金森氏症及脊髓损伤等各种神经功能障碍疾病模型中的治疗效果已经得到了证实^[3],但常规用



注:A 为实验组 0 代第 7 天;B 为实验组第 5 代第 5 天;C 为对照组 0 代第 7 天;D 为对照组第 5 代第 5 天

图 1 实验组和对照组培养 PMSCs 原代细胞生长形态(40 ×)

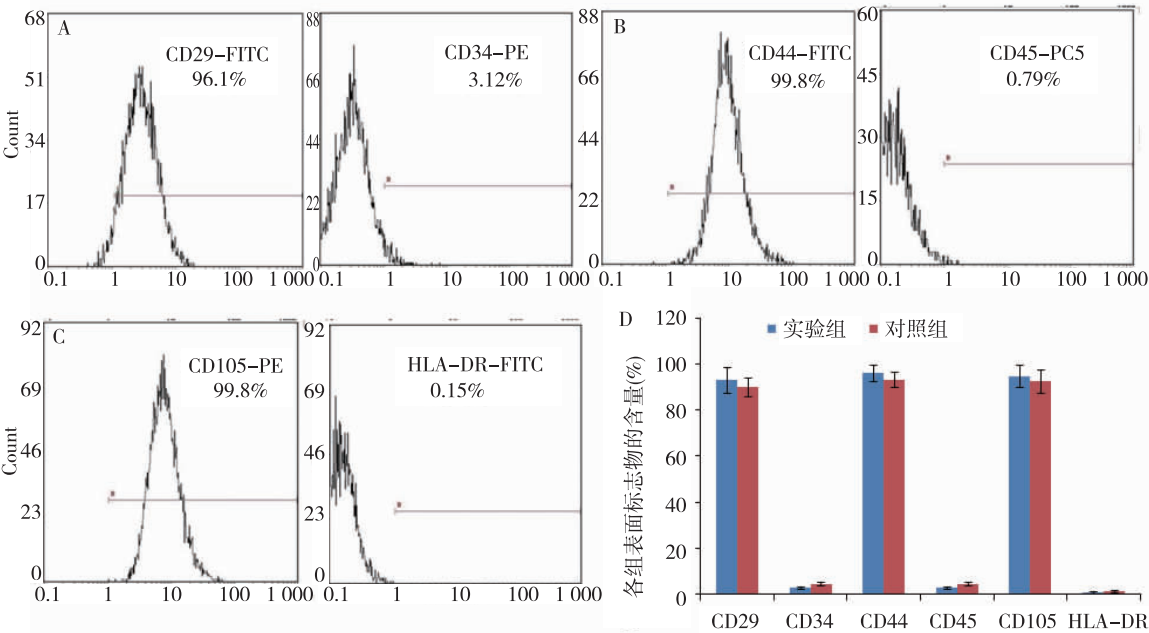
Fig. 1 The morphology of PMSCs in experimental and control groups



注:A、B 分别为实验组和对照组成骨分化(茜素红);C、D 分别为实验组和对照组成脂分化(油红 O)

图 2 PMSCs 体外成骨和成脂诱导分化 (200 ×)

Fig. 2 Osteogenesis and adipogenesis differentiation of PMSCs *in vitro*



注:A、B 和 C 为实验组 PMSCs 的表面标志流式图;D 为实验组与对照组 PMSCs 表面标志物百分含量柱状图

图 3 PMSCs 的免疫表型鉴定

Fig. 3 The immunophenotype identification of PMSCs

于 PMSCs 体外培养的 FBS 中含有异源性蛋白及未知的细胞因子,这些蛋白和细胞因子可能会对人體有害,因而影响 MSC 的临床应用^[4]。

近年,很多人源性的替代品已经被用来代替动物血清进行干细胞培养,并取得了理想的效果^[5]。UCBS 比 FBS 含有更高浓度的细胞因子和生长因子,有利于干细胞扩增,细胞形态更好、免疫原性更

低^[6-8]。利用 UCBS 代替 FBS 培养人骨髓来源的 MSC(human bone marrow -derived MSC, BM- MSC),在连续传代的过程中一直保持 MSC 的形态和高的增殖活性^[9-11]。有学者利用处理过的脐带血浆分离的带间充质干细胞(human umbilical cord-derived MSC, hUC- MSCs)能保持较高的增殖活性和分化潜能^[12],CBS 培养的 MSC 即使在高代数时仍具有

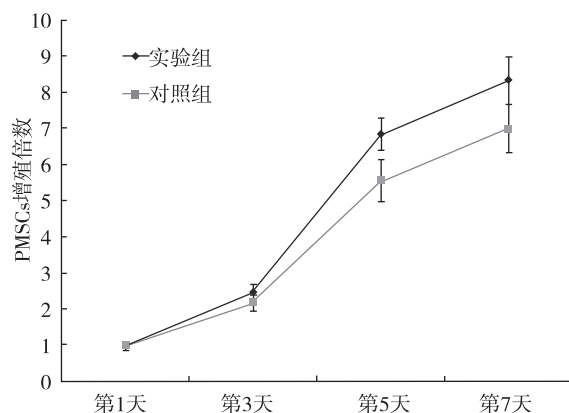


图4 PMSCs在两种培养液中的生长曲线

Fig.4 The growth curves of PMSCs in the two groups 较高的克隆形成潜能和 MSC 相关特性^[13]。UCBS 培养各种 MSC 的报道较多,但用于分离 PMSCs 的报道并不多见。UCBS、PMSCs 及 hUC-MSCs 同为胎儿附属物,理论上 UCBS 中所含细胞因子的浓度、比例等应该更适合 PMSCs 及 hUC-MSCs 的生长。本研究利用 UCBS 进行 PMSCs 的分离培养,并对培养的结果 PMSCs 进行鉴定。结果显示 PMSCs 在含 UCBS 的培养液中可稳定生长,显微镜下其形态呈梭形,达到一定的密度后呈漩涡状生长,复苏及传代贴壁率、贴壁时间都正常,在成骨诱导培养液中培养 21 d 后茜素红染色成棕红色,成脂诱导 28 d 后油红 O 染色阳性;流式细胞分析检测其高表达 CD29、CD44 及 CD105,低表达 CD34、CD45 及 HLA-DR。PMSCs 在含 UCBS 的培养液中能长期稳定生长,并保持其活力和间充质干细胞特性。而且 PMSCs 在 UCBS 培养液中的增殖率明显高于含 FBS 的培养液。表明 UCBS 可以替代 FBS 用于分离、纯化、培养、扩增 PMSCs,因人脐带血血浆完全是人源性的,可符合临床对 PMSCs 的培养要求。

4 参考文献

- [1] 张芬熙,洪艳,梁文妹. 人脐带间充质干细胞的分离培养及超微结构特点研究[J]. 贵阳医学院学报, 2013(1):5-9,15.
- [2] Montanucci P, Basta G, Pescara T, et al. New simple and rapid method for purification of mesenchymal stem cells from the human umbilical cord Wharton jelly [J]. Tissue Eng Part A, 2011(17):2651-2661.
- [3] 姚旺祥. 胎盘干细胞在组织工程中的应用进展[J]. 中国现代医生, 2012(36):9-11.
- [4] Spees JL, Gregory CA, Singh H, et al. Internalized antigens must be removed to prepare Hypoimmunogenic mesenchymal stem cells for cell and gene therapy [J]. Mol Ther, 2004(5):747-756.
- [5] Tekkotte C, Gunasingh GP, Cherian KM, et al. "Humanized" stem cell culture techniques: the animal serum controversy [J]. Stem Cells Int, 2011(2011):504-723.
- [6] Ang LP, Do TP, Thein ZM, et al. Ex vivo expansion of conjunctival and limbal epithelial cells using cord blood serum-supplemented culture medium [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2011(9):6138-6147.
- [7] Nimura A, Muneta T, Koga H, et al. Increased proliferation of human synovial mesenchymal stem cells with autologous human serum[J]. Arthritis Rheum. 2008(2):501-510.
- [8] Lin HT, Tarnag YW, Chen YC, et al. Using human plasma supplemented medium to cultivate human bone marrow-derived mesenchymal stem cell and evaluation of its multiple-lineage Potential [J]. Transplant Proc, 2005(10):4504-4505.
- [9] Shetty P, Bharucha K, Tanavde V. Human umbilical cord blood serum can replace fetal bovine serum in the culture of mesenchymal stem cells [J]. Cell Biol Int, 2007(3):293-298.
- [10] Ma HY, Yao L, Yu YQ, et al. An effective and safe supplement for stem cells expansion ex vivo: cord blood serum[J]. Cell Transplant, 2012(5):857-869.
- [11] Ding Y, Yang H, Feng JB, et al. Human umbilical cord-derived MSC culture: the replacement of animal sera with human cord blood plasma [J]. In Vitro Cell Dev Biol Anim, 2013(10):771-777.
- [12] 刘玉磊,杨东生. 银屑病皮肤间充质干细胞中表皮生长因子、转化生长因子 β_1 的表达水平及其意义[J]. 实用临床医药杂志, 2014(16):78-81.
- [13] 邹金才. 顺产产妇产脐带血中抗氧化剂水平与分娩疼痛的相关性[J]. 贵阳医学院学报, 2014(2):221-224.

(2015-01-15 收稿, 2015-02-28 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 周 凌

健康教育对哮喘儿童家长认知水平及治疗依从性的影响^{*}

罗新兵, 朱晓萍^{**}, 李 波, 杨 俊

(贵阳医学院 儿科学教研室, 贵州 贵阳 550004)

[摘要] 目的: 探讨健康教育对哮喘儿童家长认知水平及治疗依从性的影响。方法: 将120例哮喘患儿随机分为两组, 即健康教育组和对照组, 均按照《儿童支气管哮喘诊断与防治指南》方案治疗, 对健康教育组在常规治疗的基础上给予系统性规范化哮喘健康管理。结果: 治疗1年后, 健康教育组患儿家长对疾病的认知水平、治疗依从性、哮喘控制水平均明显好于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。对照组治疗前后各项指标比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 健康教育组治疗前后各项指标比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论: 对哮喘儿童进行系统的健康管理有助于提高家长对疾病的认知水平, 显著提升治疗依从性, 有效改善哮喘防治水平。

[关键词] 哮喘; 儿童; 健康教育; 认知水平; 依从性

[中图分类号] R562.25 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0377-04

Effects of Health Education on the Cognitive Level and Treatment Compliance of Parents of Asthmatic Children

LUO Xinbing, ZHU Xiaoping, LI Bo, YANG Jun

(Department of Pediatrics, Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the effects of health education on the cognitive level and treatment compliance of parents of asthmatic children. **Methods:** A total of 120 asthmatic children were randomly divided health education group and control group, both the two groups were treated according to the "childhood asthma prevention and treatment guidelines", the health education group was given systematic standardized asthma health education management on the basis of conventional therapy. **Results:** After 1 year of treatment, the parents' cognitive level, treatment compliance and asthma control level in health education group were significantly better than the control group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The indicators in the control group before and after treatment showed no significant difference ($P > 0.05$), while the difference of the indicators in the health education group before and after treatment was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusions:** Health education on parents of asthmatic children helps to improve the parents' cognitive level and the treatment compliance, so as to effectively improve the level of prevention and treatment of asthma.

[Key words] asthma; child; health education; cognitive level; compliance

^{*} [基金项目] 贵州省科技厅社会发展攻关项目基金[黔科合SY字(2010)3018号]; 贵阳市科技局社会发展领域科技攻关项目基金(2010 筑农农合同字第1-社-23号)

^{**} 通信作者 E-mail: zxp_1963819@163.com

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1837.008.html>

支气管哮喘是儿童时期最常见的慢性呼吸道疾病,近年来患病率呈逐年上升趋势,给患儿身心健康造成严重损害,给家庭、社会造成巨大的经济负担,已成为广受人类关注的全球公共健康问题。但是,迄今为止,尚没有找到可以根治哮喘的有效办法。2011 年全球哮喘防治倡议(GINA)提出哮喘虽然不能治愈,但通过坚持长期、持续、规范及个体化的治疗和积极的健康教育管理,可以使哮喘患者喘息症状消失、严重发作次数减少,多数患者的肺功能几乎能够恢复正常,从而使哮喘儿童达到GINA 的最终管理目标^[1]。然而,2013 年公布的亚太地区哮喘现况调查系列研究结果显示,全球哮喘患者病情达到GINA 控制目标的情况并不理想^[2]。究其原因,一方面是因为大众尤其是患儿家长对于哮喘疾病的认知水平不足,导致治疗依从性差;另一方面在于当前哮喘管理体制尚不健全,患儿的健康教育管理工作未能有效开展。因此,积极有效的健康管理是提高哮喘患儿家长认知水平和治疗依从性的重要保证,是除药物治疗外的一项重要哮喘防治措施^[1]。本研究观察健康教育对哮喘患儿家长认知水平及治疗依从性的影响,报告如下。

1 资料与方法

1.1 对象

选择2013年3月~2014年3月在儿科哮喘门诊就诊的120例哮喘患儿为研究对象。纳入标准:年龄4~14岁,符合中华医学会儿科学分会呼吸学组制定的儿童哮喘诊断标准(2008年版)^[3],患儿及其家属从未接受过系统性哮喘健康管理。排除标准:患儿合并严重的心肺肝肾等重要脏器疾病,患儿及其家属不愿参加此次研究,不能配合调查及坚持随访。在知情同意情况下,将本研究入选患儿随机分为健康教育组和对照组。健康教育组60例,男34例,女26例,平均 (6.25 ± 1.78) 岁,平均病程 (2.52 ± 0.86) 年;对照组60例,男38例,女22例,平均 (6.32 ± 1.82) 岁,平均病程 (2.65 ± 0.58) 年。两组患儿性别、年龄、病程等方面差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法

健康教育组和对照组均按《儿童支气管哮喘诊断与防治指南》进行哮喘规范化治疗^[3],健康教育组在此基础上进行系统性规范化哮喘知识健康教育。

1.2.1 健康教育内容 (1)哮喘基本知识:哮喘的本质、病因、诱发因素、诊断标准及治疗方法等,指导家长如何控制哮喘,使患儿在哮喘发作时能够得到及时正确的治疗,并能预防严重哮喘发作。(2)环境控制健康教育:环境因素与哮喘的关系,如被动吸烟、过敏性鼻炎、各种吸入和食物过敏原等,使患儿尽量避免危险因素的接触,防止诱发哮喘发作。(3)药物治疗健康教育,坚持长期吸入治疗的必要性和重要性,指导如何用药,速效及缓释药物的应用原则和特点,药物吸入装置的使用方法和注意事项、应急处理手段、需要注意的不良反应等。(4)心理健康教育:哮喘是可以控制的,纠正激素类药物使用的认识误区,树立战胜疾病的信念。(5)日常生活健康教育:参加适当的体育锻炼,增强体质,学会应用PEF监测病情及记录哮喘日记等。(6)治疗依从性健康教育:哮喘的治疗具有长期性,不同个体治疗用药差异性较大。

1.2.2 评价内容及标准 在入组时和治疗1年后,分别对两组哮喘患儿及家长进行哮喘知识认知水平、治疗依从性及哮喘控制水平的问卷调查。(1)家长认知水平评价:以“全国哮喘儿童家长知行调查”协作组制定的调查问卷为蓝本自行设计调查问卷,问卷共分为3个大的部分,第1个部分为哮喘知识(哮喘的本质、病因、诱因、诊断标准及治疗方法等),第2个部分为信念和态度(哮喘是否能够控制、是否需要长期用药、是否担心长期用药副作用等),第3个部分为家长行为(环境因素的控制、急性发作时的处理、病情控制情况下的运动及日常病情监测等)。每部分10题,每题计1分,共计30分,得分越多提示家长对疾病认知水平越高。(2)治疗依从性评价:评价内容为是否坚持长期规范用药,是否避免诱发因素,是否正确使用吸入器、储雾罐,是否按计划复诊4个方面^[4]。4个方面评定按照执行情况,每个指标分为:好,计2分;一般,计1分;差,计0分。得分越高提示依从性越好。(3)哮喘控制水平评价:采用由中国哮喘联盟推荐的“儿童哮喘控制测试问卷(C-ACT)”对患儿及家长进行问卷测试,前4个问题由患儿独立完成,后3个问题由其家长完成,测试总分为0~27分, ≤ 19 分提示哮喘未控制,20~22分为部分控制, ≥ 23 分为控制^[5]。得分越高提示哮喘控制得越好。

1.3 统计学处理

采用SPSS 19.0软件对所得数据进行统计分

析,计数资料以率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用 t 检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 家长对哮喘知识认知水平

治疗前两组患儿家长对哮喘知识认知水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),而治疗1年后,健康教育组患儿家长认知水平较对照组明显提高,差异有统计学意义($P<0.05$);健康教育组治疗后家长认知水平较治疗前明显提高,差异有统计学意义($P<0.05$),而对照组治疗前后无明显变化($P>0.05$)。见表1。

表1 两组患儿治疗前后家长对哮喘
认知水平得分比较($\bar{x}\pm s$)

Tab.1 The cognitive level of parents of asthmatic
children in the two groups before
and after treatment

组别	n	家长对哮喘知识认知(分)		t	P
		治疗前	治疗后		
对照组	60	14.61 \pm 4.02	15.35 \pm 3.84	1.03	0.31
健康教育组	60	14.25 \pm 4.67	25.18 \pm 3.66	15.96	0.00
t		0.45	14.35		
P		0.65	0.00		

2.2 治疗依从性

治疗前两组患儿治疗依从性比较差异无统计学意义($P>0.05$),而治疗1年后,健康教育组患儿治疗依从性较对照组明显提高,差异有统计学意义($P<0.05$);健康教育组患儿治疗后依从性较治疗前明显提高,差异有统计学意义($P<0.05$),而对照组治疗前后无明显变化($P>0.05$)。见表2。

表2 两组患儿治疗前后对治疗依从性得分($\bar{x}\pm s$)

Tab.2 The treatment compliance of parents of
asthmatic children in the two groups
before and after treatment

组别	n	治疗依从性(分)		t	P
		治疗前	治疗后		
对照组	60	4.82 \pm 1.34	5.14 \pm 1.48	0.51	0.61
健康教育组	60	4.47 \pm 1.51	7.06 \pm 1.42	10.28	0.00
t		1.34	7.25		
P		0.18	0.00		

2.3 哮喘控制水平

治疗前两组患儿哮喘控制水平比较差异无统

计学意义($P>0.05$),而治疗1年后,两组哮喘控制水平较治疗前明显提高,差异均有统计学意义($P<0.05$),且健康教育组治疗后患儿哮喘控制水平高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表3。

表3 两组患儿治疗前后哮喘控制
评价得分比较($\bar{x}\pm s$)

Tab.3 The asthma control level of parents of
asthmatic children in the two groups
before and after treatment

组别	n	哮喘控制评价(分)		P	
		治疗前	治疗后		
对照组	60	16.29 ± 1.42	21.35 ± 1.56	18.01	0.00
健康教育组	60	16.62 ± 1.25	24.46 ± 1.28	31.77	0.00
t		1.35	11.93		
P		0.18	0.00		

3 讨论

健康教育是一种以人为本的医学理念,它通过发挥患者本身的能动性而改善疾病的治疗效果。近年来,随着人们健康观念的转变和生物—心理—社会医学模式的出现,健康教育已成为促进患者身体健康和降低疾病不良影响的必要措施。哮喘是一种需要长期治疗的慢性疾病,在哮喘的防治措施中,积极充分的健康教育管理已经被证实为药物治疗之外的重要方法^[6]。新修订的“儿童支气管哮喘诊断防治指南”也强调,哮喘防治教育与管理是达到哮喘良好控制目标的最基本环节^[3]。但实际上,临床一般更重视药物治疗,而系统的健康管理则常被忽视。国外早已有研究证实,患者缺乏哮喘知识与未接受适当的教育管理是导致哮喘病情加重和高死亡率的重要原因^[7]。因此,积极有效的哮喘健康管理与正规治疗方案的结合在当下控制哮喘患病率及改善哮喘预后方面显得极为重要^[8]。

本研究通过对健康教育组患儿在常规治疗的基础上实施系统的哮喘健康管理,1年后健康教育组患儿家长认知水平较治疗前及对照组明显提高($P<0.05$),而对照组家长对哮喘知识的认识水平治疗前后无明显变化,这与曾慧琴等^[9]研究结果一致,提示通过系统规范化的哮喘健康教育,可以使患儿家长更详细的了解哮喘相关知识。健康教育前两组患儿对治疗依从性无明显差异,而经

过健康教育后,健康教育组患儿治疗依从性较治疗前及对照组明显提高($P < 0.05$),这与王红波等^[4]研究结果相似。临床研究表明,哮喘患儿对治疗依从性较低的主要原因是患儿家长对哮喘疾病和药物治疗认识不足,其次是对哮喘导致的危害缺乏足够了解或重视不够^[10]。本研究通过系统规范化健康教育,一方面使患儿家长详细了解哮喘相关知识,充分认识到坚持长期吸入治疗的必要性和重要性以及不规范治疗所导致的危害,从而引起家长的高度重视;另一方面,通过反复强调及耐心解释,消除家长对于激素类药物的使用误区和恐惧心理,让家长意识到哮喘是可以控制的,增强患儿与家长对哮喘控制的信心和决心,同时增进医患之间的了解和信任,提高哮喘患儿配合治疗的依从性。本研究结果显示,通过健康教育1年后,健康教育组患儿哮喘控制水平较对照组明显提高($P < 0.05$),表明健康教育在提高儿童哮喘控制水平中方面发挥着重要作用,此结果与近年来国内外关于哮喘患儿的教育管理研究结果一致^[11-12]。分析原因可能是健康教育能使哮喘患儿及家长很好地了解疾病的相关知识,让他们充分意识到坚持用药对控制哮喘、预防并发症的重要性,知晓不依从行为的后果,从而更加积极主动的参与疾病的防治,同时提高患儿及家长的健康意识,改变不良生活习惯,建立良好的遵医行为和健康行为观念,从而进一步提高哮喘控制水平。

由此可见,对哮喘儿童进行系统的健康管理有助于提高家长对疾病的认知水平和治疗依从性,从而有效提高哮喘的防治水平。健康管理是哮喘防治的关键环节,在今后工作中应进一步推广和加强。

4 参考文献

- [1] Global Initiative for Asthma. Global strategy for asthma management and prevention[EB/OL]. <http://www.gi-nasthma.org>.
- [2] Wong G W K, Kwon N, Hong J G, et al. Pediatric asthma control in Asia: phase 2 of the asthma insights and reality in Asia-Pacific (AIRIAP 2) survey[J]. *Allergy*, 2013(4): 524-530.
- [3] 中华医学会儿科学分会呼吸学组.《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童支气管哮喘诊断与防治指南[J]. *中华儿科杂志*, 2008(10): 745-753.
- [4] 王红波, 张晓红, 邓惠, 等. 家庭健康教育对儿童哮喘控制与依从性的影响[J]. *中国医刊*, 2013(7): 84-85.
- [5] 吴谨淮. 儿童哮喘控制测试及其临床应用价值[J]. *中国实用儿科杂志*, 2009(4): 261.
- [6] Jones CA, Clement LT, Morphey T, et al. Achieving and maintaining asthma control in an urban pediatric disease management program: the Breath mobile Program[J]. *Journal of allergy and clinical immunology*, 2007(6): 1445-1453.
- [7] Boushey H A, Sorkness C A, King T S, et al. Daily versus as-needed corticosteroids for mild persistent asthma[J]. *New England Journal of Medicine*, 2005(15): 1519-1528.
- [8] 高苗苗, 鲍一笑. 教育和管理在儿童哮喘防治中的作用[J]. *临床儿科杂志*, 2011(6): 592-595.
- [9] 曾慧琴. 健康教育路径对患儿及其家长哮喘相关知识知晓情况的影响[J]. *中国基层医药*, 2013(22): 3495-3497.
- [10] 童春晓. 个体化健康教育对小儿哮喘治疗依从性及哮喘控制率的影响[J]. *中国现代医生*, 2012(15): 131-132.
- [11] Ritz T, Rosenfield D, Meuret A E, et al. Hyperventilation symptoms are linked to a lower perceived health in asthma patients[J]. *Annals of Behavioral Medicine*, 2008(1): 97-104.
- [12] 王晓芬. 健康管理理念在儿童哮喘防治中的应用研究[J]. *中外医学研究*, 2013(25): 134-135.

(2015-01-09 收稿, 2015-02-15 修回)

中文编辑: 周 凌; 英文编辑: 周 凌

氯吡格雷联合阿司匹林治疗老年短暂性脑缺血发作

黄 伟

(房山区良乡医院 神经内科, 北京 房山 102488)

[摘 要] **目的:** 观察氯吡格雷联合阿司匹林治疗老年短暂性脑缺血发作的疗效;**方法:** 120 例老年短暂性脑缺血患者根据病例资料分为阿司匹林组、氯吡格雷组以及联合组, 每组 40 例; 分别采用阿司匹林、氯吡格雷、阿司匹林与氯吡格雷联合治疗, 采用免疫比浊法测定 3 组患者治疗前后患者血清超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP) 水平及血液流变学, 纤维蛋白原 (Fb)、血沉 (ESR)、低切变率下全血黏度 (nbl)、高切变率下全血黏度 (nbh), 比较治疗效果。**结果:** 3 组患者治疗后血清 hs-CRP 水平显著低于治疗前, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 而联合组治疗后血清 hs-CRP 水平和血液流变学 Fb、ESR、nbl、nbh 水平低于其它两组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论:** 阿司匹林联合氯吡格雷能有效改善老年脑缺血患者血流指标, 降低炎症因子对机体的影响。

[关键词] 脑缺血发作, 短暂性; 氯吡格雷; 阿司匹林; 血液流变学; C 反应蛋白质

[中图分类号] R743.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0381-03

The Curative Effect of Clopidogrel Combined with Aspirin on Transient Ischemic Attack

HUANG Wei

(Department of Neurology, Liangxiang Hospital in Beijing Fangshan District, Beijing 102488, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the curative effect of clopidogrel combined with aspirin on transient ischemic attack (TIA). **Methods:** A total of 120 TIA patients were divided into aspirin ($n = 40$), clopidogrel group ($n = 40$) and combination group ($n = 40$). The indicators of hemorheology such as Fb, ESR, nbl and nbh were detected and compared between each group. The levels of high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) of three groups were measured with immunoturbidimetry. **Results:** In the three groups, there were significant differences in serum hs-CRP levels before and after treatment ($P < 0.05$). The levels of Fb, ESR, nbl, nbh and serum hs-CRP of combination group after therapy were significantly lower than their counterparts of the other two groups ($P < 0.05$). **Conclusions:** Aspirin combined with clopidogrel can improve blood flow in TIA patients and reduce the impact of inflammatory factors on the body.

[Key words] ischemic attack, transient; clopidogrel; aspirin; hemorheology; C-reactive protein

阿司匹林及氯吡格雷是目前的心脑血管疾病抗血小板的常规性用药, 但两种药物效果及用药方式仍存在一定争议, 正确评价抗血小板药物对心脑血管疾病的治疗效果具有指导性意义^[1-2]。有研究指出, 短暂性脑缺血的发生发展与脑血液流变学指标改变及血管痉挛有关^[3]。本研究采用氯吡格

雷联合阿司匹林治疗老年短暂性脑缺血发作对患者, 观察血清超敏 C 反应蛋白 (hs-CRP) 水平及血液流变学指标纤维蛋白原 (Fb)、血沉 (ESR)、低切变率下全血黏度 (nbl)、高切变率下全血黏度 (nbh) 的影响, 为老年短暂性脑缺血患者发作时抗血小板用药提供参考。

1 资料及方法

1.1 临床资料

2011 年 1 月 ~2013 年 12 月收治的老年短暂性脑缺血患者 120 例,纳入标准:(1)经头部 CT 或 MRI 确诊为短暂性脑缺血;(2)近 2 周末使用抗凝、抗血小板药物;(3)知情同意及经本院医学伦

理委员会审批通。所有患者排除肝肾功能不全、出血性脑卒中、各种因素引起的小血小板凝血功能障碍、未经控制的 3 级高血压、对阿司匹林或氯吡格雷过敏者。随机将患者分为阿司匹林组、氯吡格雷组以及联合用药组,每组各 40 例,3 组患者性别、年龄、病程、高血压史、糖尿病史、吸烟史、高血脂症等基础数据比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 1。

表 1 3 组老年短暂性脑缺血患者临床资料($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Clinical data of TIA patients in 3 groups

组别	n	男(n,%)	年龄(岁)	病程(d)	高血压(n,%)	糖尿病(n,%)	吸烟史(n,%)	高血脂症(n,%)
阿司匹林组	40	25(62.50)	68.26 ± 4.12	2.69 ± 0.78	10(25.00)	5(12.50)	18(45.00)	3(7.50)
氯吡格雷组	40	23(57.50)	67.63 ± 4.68	2.34 ± 0.92	10(25.00)	4(10.00)	20(50.00)	4(10.00)
联合用药组	40	23(57.50)	68.02 ± 4.03	2.51 ± 0.67	8(20.00)	4(10.00)	19(47.50)	3(7.50)
χ^2/t		1.025	0.296	0.815	0.468	0.312	0.989	0.306
P		0.862	0.713	0.185	0.569	0.715	0.216	0.123

1.2 方法

1.2.1 抗血小板治疗 阿司匹林组口服阿司匹林(0.15 g/粒,天津力生制药股份有限公司,批号 060101)50 mg/次,2 次/d;氯吡格雷组口服氯吡格雷(0.25 g/粒,国药准字 H20000542,深圳信立泰药业股份有限公司)75 mg/次,1 次/d;联合组同时口服氯吡格雷(75 mg/次,1 次/d)和阿司匹林(50 mg/次,2 次/d),3 组患者连续用药 2 周。

1.2.2 血流动力学指标和血清 hs-CRP 测定 两组患者分别于治疗前及治疗后抽取静脉血液 8 mL,3 mL 抗凝,采用 Bioz. Com 数字化无创血流动力学检测仪(美国 Cardiodynamics)测定患者 Fb、ESR、nbl、nbh 水平;5 mL 不抗凝,3 000 r/min 离心 3 min,留取血清,采用免疫比浊法测定血清 hs-

CRP,试剂盒由上海生物试剂有限公司提供。

1.3 统计学分析

数据应用 SPSS 17.0 软件分析,计量资料用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,数据比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-t 法;计数资料用率(%)表示,数据比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Fb、ESR、nbl 及 nbh

治疗前 3 组患者 Fb、ESR、nbl、nbh 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,联合组 Fb、ESR、nbl、nbh 水平低于其他两组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 3 组老年短暂性脑缺血患者 Fb、ESR、nbl 及 nbh($\bar{x} \pm s, n = 40$)

Tab. 2 The levels of Fb, ESR, nbl and nbh of TIA patients in 3 groups

组别		ESR(mm/h)	Fb(g/L)	nbl(mPa/s)	nbh(mPa/s)
阿司匹林组	治疗前	23.15 ± 3.79	389.02 ± 32.98	10.32 ± 1.69	6.36 ± 1.45
	治疗后	18.93 ± 4.39 ⁽¹⁾	320.78 ± 22.78 ⁽¹⁾	7.52 ± 1.86 ⁽¹⁾	4.23 ± 1.69 ⁽¹⁾
氯吡格雷组	治疗前	23.96 ± 3.52	386.12 ± 32.73	10.42 ± 1.53	6.28 ± 0.98
	治疗后	19.22 ± 4.32 ⁽¹⁾	321.24 ± 23.24 ⁽¹⁾	7.67 ± 1.46 ⁽¹⁾	4.37 ± 1.72 ⁽¹⁾
联合用药组	治疗前	23.29 ± 3.49	389.57 ± 34.24	10.35 ± 1.27	6.31 ± 1.22
	治疗后	14.36 ± 4.19	214.32 ± 22.96	4.86 ± 1.74	2.72 ± 1.63

⁽¹⁾与联合组治疗后比较, $P < 0.05$

2.2 血清 hs-CRP

治疗前 3 组患者血清 hs-CRP 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);治疗后,3 组治疗后血

清 hs-CRP 水平显著低于治疗前,联合组低于其他 2 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 3 3 组老年短暂性脑缺血患者治疗
前后血清 hs-CRP 水平($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of hs-CRP levels of TIA patients
in 3 groups before and after treatment

组别	n	hs-CRP		t	P
		治疗前	治疗后		
阿司匹林组	40	10.39 ± 2.15	2.158 ± 0.72	11.269	0.00
氯吡格雷组	40	10.98 ± 3.17	2.29 ± 0.96	10.789	0.000
联合用药组	40	10.23 ± 3.86	0.82 ± 0.13	12.009	0.000
F		0.978	7.025		
P		0.772	0.000		

3 讨论

短暂性脑缺血的发病机制与脑血液流变学改变以及血管痉挛有关,血管痉挛可导致脑部组织出现缺氧、缺血,引起大量 Ca^{2+} 往细胞内转移,造成血小板聚集,红细胞内 Ca^{2+} 浓度升高,血液黏稠度增加,从而导致脑组织微小血管栓塞,引起脑缺血^[4-5]。抗血小板药物能有效预防短暂性脑缺血患者发病及复发,但不同抗血小板药物及其组合治疗的临床疗效及安全性还存在一定的争议^[6]。

阿司匹林及氯吡格雷的是抗血小板聚集的常规性用药,但临床实践表明不同患者对血小板反应性差异较大,部分患者应用阿司匹林或氯吡格雷后可出现不同程度的抵抗作用^[7-8]。Mannacio 等^[9]对 58 例 PTAS 术后患者应用氯吡格雷,其结果显示超过 50% 的患者出现抵抗作用。李健等^[10]对缺血性脑卒中患者分别应用氯吡格雷及阿司匹林治疗,发现阿司匹林组患者血小板聚集率较氯吡格雷低,但阿司匹林组仍有患者出现抵抗作用。但有研究指出,氯吡格雷联合阿司匹林用药能有效减少患者抵抗作用的发生^[11]。本研究发现治疗前 3 组患者 Fb、ESR、nbl、nbh 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);而治疗后,联合组 Fb、ESR、nbl、nbh 水平低于其他两组,差异有统计学意义($P < 0.05$),表明阿司匹林及氯吡格雷能有效减轻血液黏稠度,促进血液循环,预防血管痉挛。联合组血小板抑制率均高于单纯应用阿司匹林或氯吡格雷组患者。

hs-CRP 是由肝脏细胞合成的急性时相反应蛋白,在正常状态下含量少,当机体处于炎症急性期时,其含量可显著增加,能准确有效地反映机体循环系统活性及炎症细胞因子水平^[12]。目前大量研

究表明老年短暂性脑缺血与 hs-CRP 有密切关系,hs-CRP 可刺激组织因子表达,促使血管内皮细胞表达趋化因子、粘附分子及内皮素,使得血管狭窄,诱导血栓形成,引起老年短暂性脑缺血^[13-15]。本研究结果显示,阿司匹林或氯吡格雷均具有抗炎作用,3 组患者治疗后与治疗前相比,血清 hs-CRP 水平显著下降,且联合组下降幅度较大,表明阿司匹林与氯吡格雷联合应用可有效提高机体抗炎能力,减少机体过度分泌 hs-CRP,促进患者预后。

综上所述,阿司匹林联合氯吡格雷能有效改善脑缺血患者血流指标,降低炎症因子对机体的影响。

4 参考文献

[1] 王热华,林锋,陈诗泉,等. 血栓弹力图评估阿司匹林和氯吡格雷血小板抑制率的临床应用[J]. 中国老年学杂志, 2013(17):4111-4112.

[2] 李敏,刘玲,葛良,等. 血栓弹力图评价抗血小板药物疗效对颅内动脉支架术后再狭窄的影响[J]. 中华老年多器官疾病杂志, 2013(2):120-124.

[3] Nakagawa I, Wada T, Park HS, et al. Platelet inhibition by adjunctive cilostazol suppresses the frequency of cerebral ischemic lesions after carotid artery stenting in patients with carotid artery stenosis[J]. J Vasc Surg, 2013(13)1702-1703.

[4] Choi SW, Choi DH, Kim HW, et al. Clinical outcome prediction from mean platelet volume in patients undergoing percutaneous coronary intervention in Korean cohort: Implications of more simple and useful test than platelet function testing[J]. Platelets, 2013(4):863.

[5] 刘莅欣,胡桃红,丁力平,等. PCI 术后口服三联抗血小板治疗的有效性和安全性研究[J]. 中国心血管病研究, 2013(7):493-496.

[6] Panova-Noeva M, Marchetti M, Russo L, et al. ADP-induced platelet aggregation and thrombin generation are increased in Essential Thrombocythemia and Polycythemia Vera[J]. Thromb Res, 2013(1):88-93.

[7] Li R, Fries S, Li X, et al. Microfluidic assay of platelet deposition on collagen by perfusion of whole blood from healthy individuals taking aspirin[J]. Clin Chem, 2013(8):1195-1204.

[8] 王伊龙,孟霞,赵性泉,等. 氯吡格雷用于急性非致残性脑血管事件高危人群临床研究结果解读[J]. 中国实用内科杂志, 2014(2):180-182.

垂体后叶素治疗剖宫产术后宫腔积血^{*}

张 鹏¹, 陈爱华¹, 高晓艳², 张 玲², 佐满珍^{1**}

(1. 三峡大学人民医院 妇产科, 湖北 宜昌 443000; 2. 三峡大学人民医院 超声影像科, 湖北 宜昌 443000)

[摘 要] 目的: 观察垂体后叶素治疗剖宫产术后宫腔积血的临床疗效。方法: 将162例剖宫产术后发生宫腔积血的产妇随机分为观察组和对照组, 观察组肌注垂体后叶素, 对照组肌注缩宫素, 观察宫腔积血的治疗效果、子宫复旧情况及用药后的不良反应。结果: 两组阴道出血时间比较, 观察组短于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.01$); 与对照组比较, 术后第14天观察组宫腔积血明显减少, 清宫率显著降低($\chi^2 = 6.39, P < 0.05$); 观察组的子宫复旧明显好于对照组, 宫腔积血治愈率达到91.4% (74/81), 高于对照组的(77.8%, 63/81); 观察组5例产妇呕吐, 治疗组10例出现恶心、呕吐、腹泻。结论: 垂体后叶素子宫肌注治疗剖宫产术后宫腔积血效果显著。

[关键词] 垂体后叶素; 剖宫产术; 子宫积血; 子宫复旧

[中图分类号] R714.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0384-04

Pituitrin Treatment on Postoperative Cesarean Section Hematometra

ZHANG Peng¹, CHEN Aihua¹, GAO Xiaoyan², ZHANG Ling², ZUO Manzhen¹

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, People's Hospital of Sanxia University, Yichang 443000, Hubei, China; 2. Department of Ultrasonic Imaging, People's Hospital of Sanxia University, Yichang 443000, Hubei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate clinical effect of pituitrin therapy on hematometra after cesarean section. **Methods:** A total of 162 patients with hematometra after cesarean section were randomly divided into observation group and control group. They were injected intramuscularly with pituitrin (observation group) or oxytocin (control group). Observing treatment effect of hematometra, involution of uterus and adverse reaction after treatment. **Results:** Comparing vaginal bleeding time, observation group was significantly shorter than control group, differences were statistical significant ($P < 0.01$); 14 days after surgery, hematometra of observation group reduced significantly, curettage rate decreased remarkably ($\chi^2 = 6.39, P < 0.05$); involution of uterus in observation group was also significantly better than control group, hemorrhage cure rate was 91.4% (74/81), higher than that of control group (77.8%, 63/81). 5 patients of observation group vomited, 10 patients of control group were nausea, vomited and diarrhea. **Conclusion:** The effect of pituitrin treatment on hematometra after cesarean section is remarkable.

[Key words] pituitrin; cesarean section; hematometra; uterine involution

近年来,随着剖宫产手术率的增多,术后宫腔积血的发生率也逐步增高,特别是择期手术比例增高^[1-2]。剖宫产时子宫颈未经扩张,导致剖宫产术

后宫腔积血,使术后出血量增多而不能及时排出,子宫复旧不良,若积血未得到及时清除,可能引起晚期产后出血及继发感染等并发症^[3-5]。本研究

^{*} [基金项目] 国家自然科学基金(31260248); 宜昌市卫生科技项目(A14301-21)

^{**} 通信作者 E-mail: ycy_zmz@126.com

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1904.016.html>

采用垂体后叶素治疗剖宫产术后宫腔积血,取得了较好疗效,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

收集 2012 年 1 月~2014 年 8 月子宫下段剖宫产产妇 3 012 例,对子宫底下降缓慢者于术后第 3 天给予超声检查,将 162 例存在不同程度的宫腔积血者进行研究。162 例宫腔积血产妇占同期剖宫产 5.4%,21~41 岁,平均(30.5±7.5)岁,孕周 36⁺⁵~41⁺⁴周,平均孕周(38±2.3)周。162 例产妇行剖宫产原因分别为:双胞胎 18 例,臀位 23 例,羊水过多 25 例,巨大胎儿 21 例,产前子痫 14 例,瘢痕子宫 42 例,社会因素 19 例。将 162 例产妇随机分为观察组和对照组,两组年龄、孕周、产次、新生儿体重以及妊娠合并症情况差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

两组产妇术后均要求下床活动和母乳喂养以促进子宫复旧,并于产后第 3 天开始随机分组用药治疗。对照组给予肌内注射 10 U 缩宫素,2 次/d,连用 3 d;观察组子宫下段肌注垂体后叶素 6 U,2 次/d,连用 3 d。(1)比较两组术后阴道出血时间;(2)比较两组产妇子宫复旧情况:于产后第 14 天复查 B 超,评价宫腔积血的治疗效果及子宫复旧情况。(3)疗效判定标准:治愈,临床症状消失,B 超显示宫腔积血完全消失;有效,临床症状明显减轻,积血仍然持续存在,但最大径线低于 1.5 cm;无效,临床症状未改善,积血最大径线大于 1.5 cm。所有产妇均于产后 14 d 做超声检查,观察宫腔积血的治疗效果、子宫复旧情况及用药后的不良反应。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 18.0 统计学软件进行统计学分析,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,同组内比较采用配对 t 检验,两组间比较采用两独立样本 t 检验,等级资料比较采用 Mann-Whitney U 非参数检验,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 术后阴道出血时间

两组产妇阴道出血时间比较,观察组短于对照组,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 1。

表 1 两组产妇术后阴道出血时间

Tab. 1 Comparison of vaginal bleeding time of puerperants between the two groups

组别	<i>n</i>	阴道出血时间(d)			
		<7	8~14	15~28	>28 d
观察组	81	41	33	6	1
对照组	81	25	29	20	7
<i>U</i>		2 302.001			
<i>P</i>		<0.01			

2.2 宫腔积血

两组产妇服药后于剖宫产术后第 14 天再次行超声检查,对宫腔内积血最大径>2 cm 产妇在超声引导下清宫术,清出组织送病检,病检结果显示为凝血块及少许蜕膜组织。与对照组比较,观察组宫腔积血明显减少,清宫率低于对照组,见表 2($\chi^2=6.39,P<0.05$)。

表 2 两组产妇宫腔内积血治疗效果($n,\%$)

Tab. 2 Curative effect of hematometra of puerperants in the two groups

组别	<i>n</i>	治愈	好转	无效	有效率(%)
观察组	81	74(91.4)	4(4.9)	3(3.7)	96.3
对照组	81	63(77.8)	9(11.1)	9(11.1)	88.9
χ^2		6.39			
<i>P</i>		<0.05			

2.3 子宫复旧

两组产妇在产后第 3 天超声测量子宫三径之和及积血无明显差异,经治疗后产后第 14 天子宫三径之和均较前显著减小,并且观察组较对照组子宫复旧效果好,超声下宫腔测量缩小程度差异有显著性($a-b$),($P<0.01$)。提示剖宫产术后肌注垂体后叶素促进子宫复旧的效果优于肌注缩宫素,见表 3。

表 3 两组产妇子宫复旧

Tab. 3 Involution of uterus of puerperants in the two groups

组别	<i>n</i>	术后宫腔深度(cm)		差值(cm)
		第 3 天	第 14 天	
观察组	81	21.1±0.6	13.3±0.6	7.9±0.7
对照组	81	21.0±0.7	17.6±0.8	3.5±0.9
<i>t</i>		1.718	22.234	23.199
<i>P</i>		>0.05	<0.01	<0.01

2.4 不良反应

观察组轻度恶心 5 例(6.2%),未做特殊处理,未停药,自行缓解;无呕吐腹泻病例发生。对照

组 10 例(12.3%) 出现恶心、呕吐、腹泻,其中 9 例对症处理后好转,未停药,1 例呕吐腹、腹泻较重者停药。

3 讨论

由于社会因素及病理产科等因素的影响,择期剖宫产的产妇比例逐年上升^[6-7]。宫腔积血作为择期剖宫产术后的常见并发症之一,严重影响产妇的健康。剖宫产术后晚期产后出血发病往往较晚,以术后 3 周以上为多,甚至发生在产褥期以后^[5,8],其病因有子宫切口感染、溃疡、产后子宫复旧不良、胎盘胎膜残留等,宫腔积血是引起子宫切口感染、溃疡、产后子宫复旧不良的原因中重要因素之一。与顺产相比,剖宫产术后发生宫腔积血的概率较高,其主要原因与下列因素有关:(1)在未经试产或根本未临产时实施手术,宫颈口尚未扩张,宫颈管依然存在,术后宫腔积血和蜕膜组织排出不畅;(2)手术导致子宫肌壁完整性遭到破坏,子宫收缩力明显下降;(3)术后产妇活动受限,同时血液高凝,致使宫腔积血存在;(4)手术因素导致盆腔解剖结构恢复不良,子宫过屈导致积血排除不畅;(5)对于有妊娠高血压疾病、胎盘早剥、双胎妊娠、巨大胎儿等宫产患者,其原发病也会影响术后子宫收缩,导致宫腔内积血难以排出^[9]。宫腔积血又会反过来影响子宫平滑肌收缩,使子宫复旧不良进一步加重,更易诱发产后出血^[10-11]。因此积极处理剖宫产术后宫腔积血对减少产后出血及产褥感染的发生具有重要的意义。

临床上常用缩宫素治疗剖宫产术后宫腔积血。使用缩宫素可增强子宫平滑肌收缩,促进宫腔积血排出,小剂量可增强子宫的节律性收缩,大剂量能引起子宫平滑肌的强直性收缩,使子宫肌层内血管受压迫而起止血作用^[12-14]。但缩宫素体内半衰期短、清除快、药效时间短,且易导致恶心、呕吐、心律失常等不良反应^[13,15]。垂体后叶素是从动物脑垂体后叶中提取的水溶性成分,每 1 mL 中含 6 U 加压素和 10 U 缩宫素两种活性成分^[16]。垂体后叶素的半衰期为 10 ~ 15 min,使用后 3 ~ 5 min 开始起效,可维持 20 ~ 30 min。注射垂体后叶素,除缩宫素发挥子宫收缩作用外,加压素还可与血管平滑肌细胞膜上的加压素受体 I 结合,通过鸟苷酸调节蛋白激活细胞膜内侧的磷脂酶 C,促进三磷酸肌醇(IP3)生成,进而促使内膜网释放 Ca^{2+} ,收缩血

管尤其是小动脉和毛细血管,发挥升压与抗利尿作用。同时,无论妊娠期还是生育期女性的子宫肌膜上存在大量的血管加压素受体 I,加压素可直接强烈收缩子宫平滑肌,使子宫体中的血流量锐减^[17-18]。由于垂体后叶素中的血管加压素对血管平滑肌有强烈的收缩作用,在发挥局部缩宫、止血作用的同时,同样对全身血管尤其是内脏小动脉和毛细血管前括约肌显示出明显的收缩作用^[19]。

本研究观察组采用术后第 3 天肌注垂体后叶素,对照组采用肌注缩宫素。结果显示,剖宫产术后阴道出血时间上,观察组总体短于对照组($P < 0.01$)。至术后第 14 天复查 B 超,对照组治愈 63 例,占 77.8%;观察组治愈 74 例,占 91.4%,观察组疗效显著优于对照组($P < 0.01$),且观察组清宫率明显低于对照($P < 0.05$)。术后第 14 天观察组宫腔深度较对照组缩小更为显著($P < 0.01$),提示观察组子宫复旧情况较对照组好。两组总体疗效比较,提示垂体后叶素较缩宫素更能促进宫腔积血的排出,促进子宫复旧,临床疗效更为显著。两组的不良反应进行对比,结果显示,对照组不良反应发生率为 12.3(10/81),显著高于观察组的 6.2%(5/81)。说明剖宫产术后肌注垂体后叶素较缩宫素能一定程度上减少不良反应,其具体机制尚待进一步探讨。

综上所述,垂体后叶素治疗剖宫产术后宫腔积血效果显著,减少了不良反应发生率,特别值得在基层医疗单位推广应用。

4 参考文献

- [1] Bergenhenegouwen LA, Meertens LJ, Schaaf J, et al. Vaginal delivery versus caesarean section in preterm breech delivery: a systematic review[J]. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 2014(172): 1-6.
- [2] Roberts CL, Nicholl MC, Algert CS, et al. Rate of spontaneous onset of labour before planned repeat caesarean section at term[J]. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 2014(14): 125.
- [3] Li J, Yu YX, Zheng LY, et al. [Clinical research on bilateral arcuate artery suture hemostasis of corpus uteri for postpartum hemorrhage due to uterine inertia during caesarean section][J]. *Zhonghua Fu Chan Ke Za Zhi*, 2013(3): 165-170.
- [4] 肖欢. 益宫颗粒联合缩宫素治疗剖宫产术后宫腔积血的临床疗效分析[J]. *浙江创伤外科杂志*, 2014(2):

- 193 - 194.
- [5] Pearson GA, MacKenzie IZ. Blood loss and blood transfusion at caesarean section: a prospective observational study covering 30 years[J]. *European Journal of Obstetrics, Gynecology, and Reproductive Biology*, 2014 (181C): 72 - 77.
- [6] Brown HK, Hill J, Natale R. Caesarean section rates in southwestern ontario: changes over time after adjusting for important medical and social characteristics[J]. *Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada; JOGC = Journal D'obstetrique Et Gynecologie Du Canada : JOGC*, 2014(7): 578 - 589.
- [7] Gama SG, Viellas EF, Schilithz AO, et al. Factors associated with caesarean section among primiparous adolescents in Brazil, 2011 - 2012 [J]. *Cadernos De Saude Publica*, 2014(Suppl 1): S117 - S127.
- [8] Ismail S, Siddiqui S, Shafiq F, et al. Blood transfusion in patients having caesarean section: a prospective multi-centre observational study of practice in three Pakistan hospitals[J]. *International Journal of Obstetric Anesthesia*, 2014(3): 253 - 259.
- [9] 付景丽, 郑剑兰, 张小琼. 剖宫产后出血的临床分析[J]. *现代妇产科进展*, 2012(3): 215 - 217.
- [10] Graham N, Mahoney C, Dickson M. Risk factors for surgical site infection following caesarean section in England [J]. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*, 2013(4): 509.
- [11] Gregson H. Reducing surgical site infection following caesarean section[J]. *Nurs Stand*, 2011(50): 35 - 40.
- [12] Ajmal M. Oxytocin at caesarean section-are we giving too much? [J]. *BJOG : an international journal of obstetrics and gynaecology*, 2010(1): 118 - 119; author's reply 119.
- [13] Larciprete G, Montagnoli C, Frigo M, et al. Carbetocin versus oxytocin in caesarean section with high risk of post-partum haemorrhage[J]. *Journal of Prenatal Medicine*, 2013(1): 12 - 18.
- [14] Pursche T, Diedrich K, Banz-Jansen C. Blood loss after caesarean section: depending on the management of oxytocin application? [J]. *Archives of Gynecology and Obstetrics*, 2012(3): 633 - 636.
- [15] Weale N, Laxton C. Prophylactic use of oxytocin at caesarean section: where are the guidelines? [J]. *Anaesthesia*, 2013(10): 1006 - 1009.
- [16] Gao Y, Du G, Wu Y, et al. [Protective effect and mechanisms of pituitrin on acute paraquat-induced lung injury in rats][J]. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*, 2014(4): 306 - 309.
- [17] 温兰英, 张桂芬, 齐爱英. 垂体后叶素预防产后出血 200 例临床分析[J]. *中国现代药物应用*, 2008(16): 75 - 76.
- [18] 蒋俐华, 吴竟, 金海英, 等. 垂体后叶素、米索前列醇和缩宫素联合治疗产后出血的临床观察[J]. *中国医药科学*, 2013(19): 87 - 89.
- [19] 冯建萍, 王静云, 蒋秀红. 垂体后叶素在腹腔镜下子宫肌瘤剔除术中血流动力学影响的研究[J]. *实用临床医药杂志*, 2010(21): 126 - 127.
- [20] Zhang Z, Shi HW, Sun JH, et al. Use of hypophysis in hypotensive patients with low systemic vascular resistance following cardiopulmonary bypass [J]. *International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2013(8): 615 - 619.

(2014-08-16 收稿, 2015-02-26 修回)

中文编辑: 刘 平; 英文编辑: 赵 毅

(上接第 383 页)

- [9] Mannacio VA, Di Tommaso L, Antignan A, et al. Aspirin plus clopidogrel for optimal platelet inhibition following off-pump coronary artery bypass surgery: results from the CRYSSA (prevention of Coronary artery bypaSS occlusion After off-pump procedures) randomised study [J]. *Heart*, 2012(23): 1710 - 1715.
- [10] 李健, 曹剑, 王成彬, 等. 阿司匹林或氯吡格雷作用下血小板不同活化途径的反应特点[J]. *中国心血管杂志*, 2012(4): 272 - 275.
- [11] Patal R, Jonas-Kamahi T, Margalit N, et al. The effect of platelet transfusion on traumatic intracranial hemorrhage among patients treated with aspirin[J]. *Harefuah*, 2012(1): 29 - 33.
- [12] 许强, 张玉霄, 卢才义, 等. 氯吡格雷抵抗对老年冠心病合并糖尿病患者介入治疗预后的影响及其危险因素[J]. *中华老年多器官疾病杂志*, 2013(5): 354 - 357.
- [13] Labarthe B, Babin J, Bryckaert M, et al. Effects of P2Y₁ receptor antagonism on the reactivity of platelets from patients with stable coronary artery disease using aspirin and clopidogrel[J]. *Br J Pharmacol*, 2012(1): 221 - 231.
- [14] 任晓楠, 王乐丰, 王明生, 等. 早期应用大剂量替罗非班对急性 ST 段抬高型心肌梗死患者急诊介入术后血小板聚集功能及活性的影响[J]. *中华心血管病杂志*, 2012(2): 131 - 135.
- [15] 吴小利, 李健, 向代军, 等. 血栓弹力图异常图形分析及临床意义[J]. *中华检验医学杂志*, 2013(5): 400 - 404.

(2014-11-15 收稿, 2015-02-19 修回)

中文编辑: 吴昌学; 英文编辑: 刘 华

6 742 名小学生屈光状态调查

张丽娟¹, 裴付彬², 席秀芝², 邵娟²

(1. 沧州市新华区卫生局, 河北 沧州 061000; 2. 沧州市人民医院, 河北 沧州 061000)

[摘要] 目的: 调查不同年级小学生人群的屈光状态及年级分布的特点。方法: 1~6 年级学生, 按年级分组为 6 组; 采用标准对数视力表 (GB11533-89) 对学生的裸眼视力及屈光度进行检查, 检查结果按照年级统计。结果: 在 13 484 只眼中, 视力 1.0 以上者 (包括 1.0) 9 185, 占受检总数的 68.12%, 小于 1.0 者 4 299 眼, 占 31.88%, 视力低下率为 31.88%; 近视眼 3 994 眼, 占受检总数的 29.6%, 远视眼 297 眼, 占 2.2%, 其他眼病 8 眼, 占 0.06%; 1~6 年级视力低下检出率逐渐增高, 且各年级学生视力低下率比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论: 沧州市新华小学在校小学生视力低下发生率较高, 其中近视为主要因素, 屈光矫正不足较严重, 因此加强近视防治工作以及减少视力损害, 对提高儿童屈光不正矫正质量有重要意义。

[关键词] 视力; 屈光状态; 小学生; 近视; 远视; 调查

[中图分类号] R778.11 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0388-03

Investigation and Analysis of Refractive Statws of 6 742 Pupils in Different Grades

ZHANG Lijuan¹, PEI Fubing², XI Xiuzhi², SHAO Juan²

(1. Sanitary Bureau of Xinhua District, Cangzhou 061000, Hebei, China; 2. People's Hospital of Cangzhou City, Cangzhou 061000, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate vision and ametropia of the primary school students and analyze distribution characteristics of vision problems in different grades. **Methods:** The pupils were divided into six groups according to their grades and the standard logarithmic visual acuity chart was adopted in this study to investigate their naked vision and ametropia. The statistics was conducted according to their grades. **Results:** A total of 7 000 primary school students were examined and complete information of 6 742 students was collected. Among the 13 484 eyes, there were 9 185 eyes whose vision was above 1.0 (including 1.0), accounting for 68.12% of the total number of the subjects; there were 4 299 eyes whose vision was under 1.0, accounting for 31.88% of the total number of the subjects. Poor eyesight rate was 31.88%. There were 3 994 myopic eyes, accounting for 29.6% of the total number of subjects; there were 297 presbyopia eyes, accounting for 2.2% of total number. In addition, there were 8 diseased eyes, accounting for 0.06% of total number. There was a significant increase of poor vision from grade one to grade six. There was a statistically significant difference in the incidence of myopia in different grades, and showed statistical significance between grades. **Conclusion:** The incidence of poor vision of students in Xinhua district of Cangzhou city is very high, with myopia being the most common. Meanwhile, there exists serious shortage of refractive correction. Thus, it is significant to strengthen the prevention and control of myopia and reduce visual impairment so that refractive correction can be enhanced.

[Key words] vision; refractive situation; pupils; myopia; hyperopia; investigation

屈光不正是造成儿童视力低下的主要原因,以近视为主要类型。近年来,儿童视力低常呈现高发病率、高增长率,低龄化等特点,视力低不仅是对卫生资源的挑战,其进展引发的其他疾病,如青光眼、视网膜脱落等各种问题,还会对我国的兵员素质、工作工种等各个方面带来极大的影响。为了了解沧州市新华区小学生的视力、屈光状态及屈光不正小学生的眼镜佩戴情况,于 2013 年 9 月对新华区 6 742 名小学生进行了屈光普查及综合分析,现报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象

调查对象源于沧州市新华区“新华”、“实验”、“北环”和“十三化建”4 所小学共 7 000 例,资料完整者共 6 742 例,排除做过屈光矫正手术、眼部有炎症、不能配合检查者;6 742 例 13 484 只眼,按照学生所在年级进行分组,每个年级为 1 组,共 6 组。其中一年级 1 133 例,二年级 1 185 例,三年级 1 177 例,四年级 1 118 例,五年级 1 036 例,六年级 1 093 例。按照 95% 可信区间和大约 90% 的受检率,整体抽样作用系数 1.25 ~ 2.00 抽取样本。

1.2 方法

由从事眼科临床工作的医护人员,以班级为单位进行视力检查。使用国际标准对数视力表检测视力,所有使用仪器已经进行校正,所有检查已告

知老师、学生和家長,并已得到同意。

1.3 诊断标准

两眼任一眼裸眼视力低于 5.0 者属于视力低下,4.8 < 裸眼视力 < 5.0 为轻度低下,4.5 < 裸眼视力 ≤ 4.8 为中度视力低下,裸眼视力 ≤ 4.5 为重度视力低下。

1.4 分组及统计学方法

按学生所在年级统计,使用 SPSS 16.0 统计软件分析,计数资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,进行方差分析;计量资料以率表示,进行 χ^2 检验。 $\alpha = 0.05$ 为检验水准。

2 结果

统计结果显示,视力 1.0 以上者(包括 1.0) 9 185 眼,占受检总数的 68.12%;视力小于 1.0 者 4 299 眼,占 31.88%。近视眼 3 994 眼,占受检总数的 29.6%;远视眼 297 眼,占 2.2%;其他眼病 8 眼,占 0.06%。一年级小学生近视率为 10.72%,二年级小学生近视率为 12.57%,三年级小学生近视率为 26.21%,四年级小学生近视率为 31.26%,五年级小学生近视率为 43.19%,六年级小学生近视率为 56.82%。一年级到六年级的近视率分别为:10.72%,12.57%,26.21%,29.91%,43.19%,56.81%。与前一个年级相比,近视率随年级呈现上升趋势,且 $P < 0.05$,差异具有统计学意义。各年级屈光状态见表 1。

表 1 各年级小学生屈光状态构成比较
Tab. 1 Comparison of refractive situation in each grade

级别(平均年龄)	受检眼数	正常视力	近视眼	远视眼	其他眼病	戴镜例数	近视率(%)
一年级(6.7 岁)	2 266	2 008	243	15	0	5	10.72
二年级(7.5 岁)	2 370	2 042	298	30	0	7	12.57 ⁽¹⁾
三年级(8.6 岁)	2 354	1 650	617	84	3	30	26.21 ⁽¹⁾
四年级(9.8 岁)	2 236	1 473	699	59	5	64	29.91 ⁽¹⁾
五年级(10.7 岁)	2 072	1 130	895	47	0	192	43.19 ⁽¹⁾
六年级(11.6 岁)	2 186	882	1242	62	0	283	56.81 ⁽¹⁾

⁽¹⁾ 与前一个年级的近视率相比, $P < 0.05$

3 讨论

屈光不正是指平行光线通过眼的屈光作用后,不能在视网膜上结成清晰的物像,而在视网膜前或后方成像,它包括远视、近视及散光。近视(Myopia)是眼在调节松弛状态下,平行光线经眼的屈光

系统的折射后焦点落在视网膜之前,不能正常看清物体的一种症状。在屈光静止的前提下,远处的物体不能在视网膜成像,而在视网膜之前形成焦点,因而造成视觉变形,导致远方的物体模糊不清^[1]。由于儿童视力发育随年龄增长而逐步完善,10 岁以前即使不采取特定的措施,视力也可以随年龄的增长而逐渐提高,10 岁以后视力低下率逐年增加,

这就是儿童视力发育的“马鞍形”波动现象^[2]。在本组调查资料中,近视眼 3 994 眼,占受检总数的 29.6%;其中一年级小学生近视率为 10.72%,二年级小学生近视率为 12.57%,三年级小学生近视率为 26.21%,四年级小学生近视率为 31.26%,五年级小学生近视率为 43.19%,六年级小学生近视率为 56.82%,近视发生率随学生的年级呈现一个逐渐上升的趋势。

相关研究显示,儿童青少年的屈光度演变呈现出一定的近视化规律,即儿童青少年过度过早出现眼球正视化。近视的发育性、进行性主要表现为正视眼不断近视化,近视程度由轻度逐渐发展到中度,并呈现出跳跃性缓进和急增特点^[3],学生的近视化并不因为近距离阅读而增加而导致,关键在于青少年丧失了对正常的缓冲补偿能力。研究显示,在校期间 5~18 岁的 -3.0D 的眼球近视化是正常青少年发育过程中眼球前后径从 22 mm 到 23 mm 的增长的结果^[4]。根据小学生视力发育规律以及本次调查结果,提示对小学生视力的干预刻不容缓,可以主要通过以下几个方面预防和控制近视发生,首先,定期对小学生进行屈光状态检测、屈光成分的综合评估,过度过早的眼球正视化,消耗了学龄前眼屈光度的 +3D 远视缓冲状态,当随身体青春发育期一起增长的 1 mm 眼轴产生的 -3D 近视屈光度时,角膜和晶状体屈光度已经无法补偿,从而呈显性近视^[5]。其次,及时纠正和严格控制小学生不健康的用眼习惯。研究显示,在 12 个年级不同程度屈光状态的变化呈现出一定规律,即以正视、远视构成比逐年下降,7 岁时远视缓存已基本完全消耗并且进入近视化,随之向低度近视、中度近视、高度近视逐年推进,同时伴随小学正视眼比例的迅速下降,低度近视构成逐步增加,初中伴随着中度近视比例的快速增加、低度近视构成下降,之后随高中的高度近视比例的升高、中度近视略微下降,形成近视的进展,达到平均中度近视^[3]。导致视缓存消耗的最主要原因是小学生长时间不健康的用眼习惯以及休息不足^[6]。因此,纠正和控制用眼习惯显得尤为重要。最后,加强视力保护的宣教工作,向在校领导、教师、学生及家长

宣传视力保护的重要性,一方面有利于增加对用眼知识的了解,另一方面还能对不健康的用眼习惯进行监督和纠正。例如,改善学习的环境设施,教室有良好的采光照明设施;合理安排学习与作息时时间,使学生在学的基础上,有足够的休息睡眠和课外活动时间;培养良好读写习惯,在阅读与书写时保持正确的坐姿与合适的书眼距离(33 cm),阅读时书本与桌面之间应保持 38~40°的角度,每次读写时间不宜过长,学习完以后向远眺望缓解睫状肌调节痉挛等;做好眼保健操指导工作,中小学生在每日做眼保健操 2 次,做前清洁双手,做时穴位按摩准确等^[7]。

此次调查发现,小学生屈光不正发生率较高,其中近视发生率尤高,并呈现随年级不断增长的趋势。因此,加强近视防治工作以及减少视力损害,提高儿童屈光不正矫正质量显得刻不容缓。

4 参考文献

- [1] Vitale S, Robert D, Frederrick L, Increased prevalence of myopia in the United States between 1971 - 1972 and 1999 - 2004[J]. Arch Ophthalmol, 2009(12):1632 - 1639.
- [2] 叶广俊. 儿童与少年卫生学[M]. 3 版. 北京:人民卫生出版社, 1998(4):53 - 55.
- [3] 高作书,杜晓琨,石一宁. 中小学生在 5 757 名近视化的演变过程及近视防控的临床意义[J]. 中国实用眼科杂志, 2013(7):927 - 932.
- [4] 石一宁,方严. 中国儿童青少年近视形成机制以及预测与防控[M]. 西安:陕西科技出版集团, 2012:1 - 1
- [5] 单武强,宋国玲,石一宁,等. 不同睫状肌麻痹剂对小学一年级学生屈光状况的影响及其相关生物参数测量[J]. 临床眼科杂志, 2012(5):399 - 405
- [6] 郭美华,韩秀霞. 浅谈中小学近视预防[J]. 中国保健营养, 2013(6):3383 - 3384.
- [7] 胡杰忠,曾永宜,方丽珍. 中小学生在预防近视干预效果观察[J]. 医学理论与实践, 2013(15):2091 - 2092.

(2015-02-15 收稿,2015-03-28 修回)

中文编辑:刘平;英文编辑:刘华

孟鲁司特联合布地奈德治疗儿童咳嗽变异性哮喘

张 静

(陕西省安康市中医院 儿科, 陕西 安康 725000)

[摘要] 目的: 观察孟鲁司特联合布地奈德治疗儿童咳嗽变异性哮喘(CVA)的临床疗效。方法: 180例CVA患儿随机分为孟鲁司特组(A组)、布地奈德组(B组)、孟鲁司特联合布地奈德(C组), 分别给予相应药物治疗2月, 观察3组患儿的临床疗效、治疗前后肺活量(FVC)、第1秒末用力呼气量(FEV1)及呼气峰流速百分比(PEF%), 哮喘发作次数、咳嗽持续时间及肺部哮鸣音存在时间, 评价3组CVA患儿的治疗效果。结果: C组总有效率93.3%, A组总有效率80.0%, B组总有效率78.3%, C组与A组、B组间差异均有统计学意义($P < 0.05$); 治疗前3组FVC、FEV1、PEF%等肺通气功能差异无统计学意义($P > 0.05$), 治疗后3组FVC、FEV1、PEF%均较治疗前均显著改善($P < 0.05$), C组肺通气功能与A组、B组之间差异均有统计学意义($P < 0.05$), A组、B组两组肺通气功能差异无统计学意义($P > 0.05$); 治疗后C组的哮喘发作次数较A组、B组减少, 咳嗽持续时间及肺部哮鸣音存在时间短于A组、B组($P < 0.05$)。结论: 孟鲁司特联合布地奈德治疗小儿咳嗽变异性哮喘的疗效确切, 安全稳定, 建议临床推广。

[关键词] 孟鲁司特; 布地奈德; 咳嗽变异性哮喘; 儿童; 疗效

[中图分类号] R743.3; R562.25 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0391-03

The Curative Effect of Montelukast and Budesonide on Children with Cough Variant Asthma

ZHANG Jing

(Department of Pediatric, Ankang Hospital of Traditional Chinese Medicine, Ankang 725000, Shanxi, China)

[Abstract] **Objective:** To explore the curative effect of montelukast and budesonide on children with cough variant asthma (CVA). **Methods:** A total of 180 CVA children were randomly divided into montelukast group (group A), budesonide group (group B) and montelukast combined with budesonide group (group C), and were treated with corresponding drugs respectively for 2 months. The clinical effects of three groups, vital capacity (FVC) before and after the treatment, the forced expiratory volume in 1 seconds (FEV1) and peak expiratory flow percentage (PEF%), number of asthma attacks, cough disappeared time and lung wheezing sound disappeared time were observed. **Results:** The total effective rate of group C was 93.3%, group A 80.0%, group B 78.3%, and the differences between group C and group A, group B were statistically significant ($P < 0.05$); The FVC, FEV1 and PEF% of 3 groups before treatment had no statistically significant difference ($P > 0.05$), and the indicators of the three groups after treatment were significantly improved ($P < 0.05$). The differences in pulmonary ventilation function between group C and group A and between group C and group B were statistically significant ($P < 0.05$), and difference between group A and group B had no statistical significance ($P > 0.05$); After treatment, the number of asthma attacks, cough disappeared time and lung wheezing disappeared time of group C was better than those of group A and group B ($P < 0.05$). **Conclusions:** Montelukast and budesonide treating children with CVA is effective and safety, and it is worth wide application and promotion.

[Key words] montelukast; budesonide; cough variant asthma; child; curative effect

儿童咳嗽变异性哮喘(cough variant asthma, CVA)的本质是持续慢性气道炎症、气道高反应性和可变性气道梗阻^[1],主要表现为咳嗽持续反复发作,伴有清晨或夜间发作性咳嗽、运动后加剧。CVA 病情迁延、容易反复,对儿童的正常生活造成严重困扰^[2]。目前,临床治疗小儿 CVA 的方法较多,但疗效差异较大。为寻找对 CVA 有效的治疗方案,本研究采用孟鲁司特联合布地奈德治疗 60 例 CVA 患儿,并观察其疗效。

1 资料和方法

1.1 一般资料

收集 2012 年 1 月~2013 年 6 月接受治疗的咳嗽变异性哮喘(CVA)患儿共 180 例,所有患儿均符合 CVA 的诊断标准^[3],且均给予阶梯式治疗 ≥ 14 d,症状未得到有效控制。180 例 CVA 患儿中男 102 例,女 78 例;年龄 3~12 岁,平均 (6.2 ± 1.6) 岁,病程 1~10 月 (3.5 ± 0.8) 月。纳入标准:依照诊断标准排除和咳嗽相关的其他类型疾病、病程 ≥ 1 月、未发现其他脏器严重疾患;治疗之前 14 d 内未使用白三烯受体拮抗剂和激素;能够严格遵照医嘱治疗、按时随访,具有良好的沟通能力。按照随机数字表法将所有患儿分为 A、B、C 3 组,3 组患儿性别、年龄、病程差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 分组

A 组:单纯给予孟鲁司特治疗,孟鲁司特钠咀嚼片(商品名顺尔宁,国药准字 J20070070; 4 mg/片,杭州默沙东制药有限公司),4 mg/d 口服,持续给药 2 月;B 组:单纯给予布地奈德治疗,布地奈德气雾剂(商品名普米克,200 $\mu\text{g} \times 100$ 喷,100 喷/瓶;国药准字 H20030410,阿斯利康制药有限公司)200 μg /次,吸入,早晚各 1 次,持续给药 2 月;C 组:孟鲁司特联合布地奈德治疗,药物用法、用量及持续时间同 A 组和 B 组。

1.3 观察指标

以肺功能检测仪监测并记录所有患儿的肺活量(FVC),第 1 秒末用力呼气量(FEV1),呼气峰流速百分比(PEF%);观察患儿的哮喘发作次数、咳嗽持续时间及肺部哮鸣音存在时间,对比 3 组患儿的临床疗效。疗效判定:显效,治疗 14 d 内咳嗽症状消失;有效,治疗 14 d 内咳嗽症状明显减轻,28 d 内消失;无效,治疗期间,咳嗽症状无缓解。

1.4 统计学处理

本组数据采用 SPSS 15.0 软件包进行处理,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较进行 t 检验,计数资料用例数、百分数描述,行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床疗效

C 组的总有效率均高于 A 组和 B 组($P < 0.05$),但 A 组和 B 组的总有效率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 肺通气功能

3 组 CVA 患儿治疗后 FVC、FEV1、PEF% 较治疗前均显著改善($P < 0.05$),C 组的肺通气功能优于 A 组、B 组,差异有统计学意义($P < 0.05$),A 组、B 组治疗后肺通气功能比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表 1 3 组 CVA 患儿临床疗效比较($n, \%$)

Tab. 1 Comparison of the clinical efficacy among the three groups

组别	临床疗效			
	显效	有效	无效	总有效率
A 组($n=60$)	27(45.0)	21(35.0)	12(20.0)	48(80.0)
B 组($n=60$)	25(41.7)	22(36.7)	13(21.6)	47(78.3)
C 组($n=60$)	38(63.3)	18(30.0)	4(6.7)	56(93.3) ⁽¹⁾
χ^2	15.326	12.181	17.227	14.822
P	0.035	0.026	0.015	0.024

⁽¹⁾与 A 组、B 组相比, $P < 0.05$

表 2 3 组 CVA 患儿治疗前后的通气功能比较($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Comparison of pulmonary ventilation function among the three groups before and after treatment

组别	FVC(L)		FEV1(L)		PEF%	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
A 组($n=60$)	1.38 \pm 0.37	1.57 \pm 0.42 ⁽¹⁾	1.42 \pm 0.36	1.56 \pm 0.38 ⁽¹⁾	71.38 \pm 6.73	85.34 \pm 7.83 ⁽¹⁾
B 组($n=60$)	1.41 \pm 0.36	1.59 \pm 0.43 ⁽¹⁾	1.43 \pm 0.35	1.58 \pm 0.36 ⁽¹⁾	71.23 \pm 6.71	85.24 \pm 7.93 ⁽¹⁾
C 组($n=60$)	1.42 \pm 0.41	1.87 \pm 0.45 ⁽¹⁾⁽²⁾	1.44 \pm 0.34	1.67 \pm 0.41 ⁽¹⁾⁽²⁾	73.56 \pm 7.12	93.57 \pm 8.46 ⁽¹⁾⁽²⁾
t	1.025	3.416	1.154	4.571	1.044	3.562
P	0.826	0.027	0.992	0.008	0.716	0.031

⁽¹⁾与治疗前对比, $P < 0.05$; ⁽²⁾与 A 组、B 组治疗后对比, $P < 0.05$

2.3 症状缓解时间

治疗后 C 组 CVA 患儿的哮喘发作次数、咳嗽持续时间及肺部哮鸣音存在时间优于 A 组、B 组 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 3 组 CVA 患儿症状缓解时间比较($\bar{x} \pm s$)

Tab.3 Comparison of symptom remission time among the three groups

组别	哮喘发作 (次/月)	咳嗽持续 (d)	哮鸣音存在 (d)
A 组($n=60$)	17.76 \pm 1.44	11.82 \pm 1.74	8.91 \pm 1.60
B 组($n=60$)	17.73 \pm 1.25	11.78 \pm 1.69	8.82 \pm 1.59
C 组($n=60$)	14.92 \pm 1.01 ⁽¹⁾	6.12 \pm 1.22 ⁽¹⁾	5.33 \pm 1.12 ⁽¹⁾
t	6.203	5.182	6.415
P	0.007	0.012	0.005

⁽¹⁾与 A 组、B 组比较, $P < 0.05$

3 讨论

CVA 是一种隐匿性哮喘,传统治疗方案与哮喘类似,治疗后 CVA 症状一般均可以得到缓解或者控制,但是在停药之后复发几率较高。大部分学者认为,儿童 CVA 的发病与肥大细胞、嗜酸性粒细胞及 T 淋巴细胞等多种细胞参与气道慢性炎症存在关联,而气道炎症则可以导致气道高反应,进而诱发可逆性气道阻塞性疾病^[4]。所以,清除气道炎症是治疗儿童 CVA 的重点。

孟鲁司特为新一代非甾体抗炎药物,是特异性半胱氨酰白三烯受体拮抗剂,能选择性抑制气道平滑肌中白三烯多肽的活性,减少气道因变应原刺激引起的细胞和非细胞性炎症物质,使气道及周围血液中嗜酸性粒细胞减少,从而抑制变应原激发的气道高反应性,改善肺功能^[5-6];布地奈德为第二代肾上腺皮质激素,有较高的糖皮质激素受体亲和力,具有较强的抑制炎症细胞迁移、浸润及活化,抑制细胞因子的生成、减少微血管渗漏等作用;两药联用能够有效提高治疗小儿 CVA 的临床效果。

本研究联合用药组治疗后总有效率(93.3%)明显高于单独用药组的 80.0% 和 78.3% ($P < 0.05$),而两单独用药组组间总有效率比较差异无

统计学意义($P > 0.05$),提示孟鲁司特钠与布地奈德联合可明显缓解患儿主要症状、体征,增强彼此疗效,从而提高总有效率。同时比较 3 组患儿治疗前、后的肺通气功能(FVC、FEV1、PEF%)水平,结果表明尽管 3 组患儿上述各项指标均较治疗前显著改善($P < 0.05$),但联合用药组患儿的肺通气功能优于单一用药组($P < 0.05$),而后二者治疗后肺通气功能差异无统计学意义($P > 0.05$),表明孟鲁司特钠与布地奈德单独应用均对 CVA 患儿肺通气功能有一定改善效果,二者联合应用则可增强肺活量、第 1 秒末用力呼气量及呼气峰流速百分比等水平,其较单一用药效果明显提高。表 3 结果也证实,治疗后联合用药组患儿不论从哮喘发作次数、咳嗽持续时间,还是肺部哮鸣音存在时间方面均优于单一用药组($P < 0.05$),提示孟鲁司特钠与布地奈德联合应用可缩短病程,对促进临床症状、体征消失有明显作用。

4 参考文献

[1] 肖井. 孟鲁司特钠、沙丁胺醇联合布地奈德治疗小儿咳嗽变异性哮喘的疗效观察[J]. 中国医学创新, 2011(13):139-140.

[2] 王雪梅,王卫民,董方爱. 孟鲁司特与布地奈德治疗儿童咳嗽变异性哮喘的临床观察[J]. 哈尔滨医药, 2011(3):168-169.

[3] 薛满,马春利,梁宽,等. 孟鲁司特钠治疗小儿咳嗽变异性哮喘的临床疗效及安全性研究[J]. 现代生物医学进展, 2012(17):3317-3319.

[4] 唐涛. 孟鲁司特钠治疗小儿咳嗽变异性哮喘 40 例疗效观察[J], 吉林医学, 2012(7):1421-1422.

[5] 李兰,蒋虹. 白三烯受体拮抗剂孟鲁司特钠治疗小儿感染后咳嗽疗效观察[J]. 四川医学, 2013(3):302-303.

[6] 陈惠英,刘桂珍,廖朝峰,等. 布地奈德与孟鲁司特治疗咳嗽变异性哮喘的疗效观察[J]. 实用临床医药杂志, 2012(22):54-56.

(2015-01-09 收稿,2015-03-15 修回)

中文编辑: 刘 平; 英文编辑: 周 凌

CT 仿真内镜与双对比造影检查诊断胃肠道间质瘤价值

李 津¹, 陈晋平¹, 张 林², 周玉刚¹, 华定新¹, 温峰云¹, 张慧君¹

(1. 河北省廊坊市中医医院, 河北 廊坊 065000; 2. 河北省廊坊市人民医院 影像科, 河北 廊坊 065000)

[摘要] 目的: 比较 CT 仿真内镜(CTVE)与气钡双重造影(双对比造影)对胃肠道间质瘤的诊断价值。方法: 89 例经手术证实的胃肠道间质瘤患者先进行双对比造影检查,待造影剂排空后行 CTVE 检查,比较两种检查方法对胃肠道间质瘤的检出率、部位及肿瘤大小。结果: CTVE 检出胃肠道间质瘤的阳性率高于双对比造影,尤其是胃、小肠及直肠间质瘤的检出;CTVE 对瘤体 <5 cm、瘤体 5~10 cm 的检出率明显高于双对比造影检查。结论: CTVE 对早期间质瘤检出敏感性高,能够生动反应瘤体大小及黏膜皱襞改变情况,具有一定早期诊断价值。

[关键词] 胃肠道间质瘤; 内窥镜检查; 胃肠道; 体层摄影术, X 线计算机; 气钡双重造影; 诊断

[中图分类号] R735 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0394-03

CT Virtual Endoscopy and Pneumo-barium Double Contrast in Diagnosis of Gastrointestinal Stromal Tumor

LI Jin¹, CHEN Jinping¹, Zhang Lin², ZHOU Yugang¹, HUA Dingxin¹, WEN Fengyun¹, ZHANG Huijun¹

(1. The Traditional Chinese Medicine Hospital of Langfang City, Langfang 065000, Hebei, China;

2. The People's Hospital of Langfang City, Langfang 065000, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To compare the values of CT virtual endoscopy (CTVE) and pneumo-barium double contrast in diagnosis of gastrointestinal stromal tumor. **Methods:** Pneumo-barium double contrast was carried out in 89 cases with gastrointestinal stromal tumor confirmed by surgery, after draining off contrast agent, CTVE was conducted. The detection rates of the two methods to gastrointestinal stromal tumor were compared. **Results:** The detection rate of CTVE to gastrointestinal stromal tumor (especially for tumor located in stomach, small intestine and rectum, and tumor whose size <5 cm or 5~10 cm) was higher than that of pneumo-barium double contrast. **Conclusions:** The detection rate of CTVE to gastrointestinal stromal tumor is high, and CTVE can lively show the tumor size and mucosal fold change, and help to early diagnosis of gastrointestinal stromal tumor.

[Key words] gastrointestinal stromal tumor; endoscopy, gastrointestinal; tomography, x-ray computed; pneumo-barium double contrast; diagnosis

胃肠道间质瘤是最常见的消化道原发性间叶组织的肿瘤,可发生于消化道的任何部位,常见于胃与小肠,早期发病隐匿,男女均可发病。传统双对比造影检查不能直接观察到肿瘤改变,容易遗漏较小的病灶,CT 仿真内镜(computed tomographic virtual endoscopy, CTVE)具有良好的软组织分辨能力及三维成像能力,不仅能够显示黏膜病变,还能够观察病变与周围邻近结构的关系,提高了对胃肠道间质瘤的诊断水平。本文通过 CTVE 技术与双对比造影对胃肠道间质瘤检出率的比较分析,探讨

CTVE 技术诊断胃肠道间质瘤的优势,旨在为临床提供可靠的影像学检查方法。

1 材料与方法

1.1 临床资料

收集 2010 年 4 月~2013 年 10 月胃肠道间质瘤患者 89 例,男 56 例,女 33 例,35~68 岁,平均 42 岁。触及腹部肿块伴腹部不适 43 例,便血 21 例,腹痛、腹胀 8 例,偶然发现 7 例。所有患者均进

行双对比造影及 CTVE 检查,均经病理检查证实。

1.2 仪器设备

应用东芝 800 mA 数字胃肠机进行造影检查,II 型硫酸钡干混悬剂(200 g/袋)购自山东青岛东风化工有限公司,产气剂(3 g/袋)购自山东青岛东风化工有限公司,654-2(10 mg/支)由天津津药生产。应用美国 GE 公司 64 层螺旋 CT(GE Light Speed VCT 型号)进行 CTVE 检查。

1.3 检查方法

检查前禁食禁水 8 ~ 10 h,所有患者均先进行气钡双重造影检查,于造影剂排空后进行 CTVE 检查。CT 扫描范围:患者屏气下自胸 11 椎体至耻骨联合下缘,层厚 5 mm。扫描参数:管电压 120 kV、管电流 350 mA、准直 64 mm × 0.625 mm、检查野 240 mm × 240 mm、矩阵 512 × 512、螺距 0.964: 1,球管旋转 1 圈 0.8 s,有效层厚 0.625 mm,重建间隔 0.625 mm;将薄层原始图像(0.625 mm)传至 AW4.3 工作站上进行图像后处理,运用 Vitrea 软件的 Auto Navigator 自动导航,调整域值 - 600 ~ - 800 Hu,从食道至直肠观察整个消化道情况,发现肿瘤时,结合多平面重组法(MPR)、曲面重建法(CPR)及最大密度投影法(MIP),多方位、多角度地观察肿瘤大小、突向黏膜情况、与肠黏膜的关系及浸润的深度等,同时通过调整图像伪彩和透明度逼真突显肿瘤全貌。影像资料由 3 名高年资医师共同阅片评估,分析并记录胃肠间质瘤形态、大小、分布、位置及邻近肠黏膜的关系。

1.4 统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计学软件数据录入和统计分析,计数资料应用卡方检验,组间采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胃肠间质瘤检出情况

89 例胃肠间质瘤患者均成功完成双对比造影、CT 检查及病理组织学检查,明确胃肠间质瘤:胃 42 例、小肠(空肠和回肠)36 例、结肠 5 例、直肠 3 例、食管 2 例、十二指肠 1 例;良性 7 例、低度恶性 66 例、高度恶性 16 例。内窥镜(病理取材)共检出 94 个病灶。CTVE 检出胃肠间质瘤阳性率高于双对比造影,差异有统计学意义($\chi^2 = 6.73, P < 0.01$),见表 1。CTVE 在检出胃、小肠及直肠的胃肠间质瘤优于双对比造影,差异有统计学意义($\chi^2 = 48.68; \chi^2 = 48.56; \chi^2 = 11.44; P < 0.05$);双对比造影、CTVE 对食管、十二指肠及结肠胃肠间质瘤检出的差异无统计学意义($\chi^2 = 4.46; \chi^2 = 0.12; \chi^2 = 5.49; P > 0.05$);见表 2。

2.2 检出的胃肠间质瘤大小

CTVE 显示 < 5 cm、5 ~ 10 cm 组的检出率明显高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2 = 28.53; \chi^2 = 229.84; P < 0.05$);双对比造影、CTVE 显示 > 10 cm 组的检出率差异无统计学意义($\chi^2 = 11.09, P > 0.05$)。见表 3。

表 1 双对比造影或 CTVE 显示胃肠间质瘤例数(n)

Tab.1 The detection rate of pneumo-barium double contrast and CTVE to gastrointestinal stromal tumor		
方法	双对比造影	CTVE
n	89	89
显示良好	66	76
不能显示	23	13
阳性率(%)	74.16	85.39

表 2 双对比造影或 CTVE 显示各部位胃肠间质瘤(n)
Tab.2 The detection rate of pneumo-barium double contrast and CTVE to gastrointestinal stromal tumor with different location

组别	例数	食管	胃	十二指肠	小肠	结肠	直肠	阳性率(%)
双对比造影	89	1	32	1	26	4	2	74.16
CTVE	89	2	37	1	29	4	3	85.39
χ^2		4.46	48.68	0.12	48.56	5.49	11.44	84.45
P		> 0.05	< 0.05	> 0.05	< 0.05	> 0.05	< 0.05	< 0.05

3 讨论

胃肠间质瘤是消化道原发性间叶组织的肿瘤,

光镜下可见梭形细胞,具有多向化特征,其发病与体内存在 c2-kit(CD117) 或 PDGFRa 基因突变有关,胃肠间质瘤主要依靠病理免疫组化技术确诊^[1-4]。胃肠间质瘤主要有腔内型、腔外型及腔内

表 3 双对比造影或 CTVE 检出胃肠间质瘤直径(n)

Tab.3 The detection rate of pneumo-barium double contrast and CTVE to gastrointestinal stromal tumor with different sizes

方法	胃肠间质瘤直径(cm)			阳性率 (%)
	<5 cm	5~10 cm	>10 cm	
双对比造影	6	43	9	70.21
CTVE	11	52	13	80.85
χ^2	28.53	229.84	11.09	
P	<0.05	<0.05	>0.05	

外型 3 种生长方式,具有局部淋巴结和远处脏器转移的情况,常好发于胃和小肠,亦发生于网膜和腹膜^[5-7]。临床主要表现腹部肿块伴肠梗阻,腹痛、腹部不适,呕血和黑便,贫血及恶液质体征。由于胃肠间质瘤早期发病隐匿,临床表现无特异性,患者就诊时往往肿块较大,临床早期诊断率较低。影像学检查是临床确诊胃肠间质瘤的主要方法。双对比造影胃肠间质瘤表现为腔内肿瘤呈圆形或规则充盈缺损,多见于直径>5 cm 肿瘤,肿瘤周围黏膜皱襞变平、消失,分界清晰,管壁柔软但对于小于 5 cm 较难以发现;对于大于直径>10 cm 的肿块形态常不规则,且肿瘤边界不清,黏膜皱襞中断,管腔管腔呈偏心性狭窄,管壁僵硬,常在肿瘤瘤体腔内侧发现龛影;本组病例显示对于腔外瘤体双对比造影检查未能检出,仅见肠管受压征象,因此双对比造影对于检出腔外性间质瘤存在一定局限性。CTVE 是螺旋 CT 一种新的三维重建技术,具有无创性、图像直观和整体性强的特点,不仅能够显示>5 cm 肿瘤,而且对于<5 cm 亦非常敏感^[5]。可见瘤与肠壁呈宽基底相连,腔外型胃肠间质瘤表现肠管黏膜皱襞明显增厚,局部黏膜形态不规则,恶性程度高者黏膜皱襞中断,肠腔变窄,近段肠管扩张。

双对比造影是利用高密度钡液与底密度的气体两种造影剂共同在胃肠腔内形成影像,可显示肿瘤侵犯的范围和深度,可以动态观察肠管及肠壁蠕动情况,能够清晰显示黏膜皱襞改变及表面溃疡情况,对较小黏膜下的病灶较容易遗漏^[8-9];CTVE 清晰观察较小病灶,对于黏膜下肿瘤仍难以发现^[10]。石珍等^[11]研究发现 CTVE 对定位诊断符合率均在 90% 以上,但对于原位癌,如息肉癌变等难以甄别。本研究结果显示,CTVE 检出胃肠间质瘤阳性率高于双对比造影,差异有统计学意义(P

<0.05)。CTVE 对于胃、小肠及直肠间质瘤的检出率高于双对比造影,差异有统计学意义(P <0.05),而对于食管、十二指肠及结肠间质瘤的检出率,差异无统计学意义(P >0.05),可能是食管、十二指肠及结肠肿瘤直径较大缘故。CTVE 对于<5 cm、5~10 cm 组的检出率明显高于双对比造影检查,差异有统计学意义(P <0.05)。双对比造影、CTVE 对于>10 cm 组的检出率,差异无统计学意义(P >0.05),说明 CTVE 对检出较小胃肠间质瘤具有显著优势,对胃肠间质瘤具有一定早期诊断价值。

4 参考文献

- [1] 张信华,何裕隆,陈创,等. 胃肠间质瘤 KIT 和 PDGFRA 基因突变的检测和意义[J]. 中华实验外科杂志, 2010 (8):1063-1065.
- [2] 冯强,黄振,裴伟,等. 27 例直肠胃肠间质瘤临床特点及预后分析[J]. 中华医学杂志, 2013 (13):1415-1417.
- [3] 王刚 张汝鹏,赵敬,等. 132 例胃的胃肠间质瘤治疗及预后分析[J]. 中华胃肠外科杂志, 2010 (17):492-496.
- [4] 俞文渊,严冬华,王鹏. 胃肠道间质瘤临床诊治及预后分析[J]. 实用临床医药杂志, 2013 (19):133-135.
- [5] 杨柳,廖翠薇,孙清荣. 胃肠道间质瘤钡剂造影与 CT 表现[J]. 第三军医, 大 2008 (16):1526-1528.
- [6] 黄丽军,陆志华,蔡为民,等. 多排螺旋 CT 在胃肠道间质瘤的临床应用[J]. 中国医学计算机成像杂志, 2011 (2):140-144.
- [7] 郭志军,韩书明,刘海涛,等. 多层螺旋 CT 仿真内镜技术在胃间质瘤与胃癌鉴别诊断中的临床应用值[J]. 中国医学影像学杂志, 2011 (6):420-423.
- [8] 杨冬生,李新,宫凤玲,等. CT 仿真内镜与双对比造影诊断小肠隆起性病变的价值[J]. 中国组织工程与临床康复, 2011 (22):4080-4083.
- [9] 张杰,张磊,郝建宇,等. CT 仿真内镜对小肠病变的诊断价值[J]. 中华消化内镜杂志, 2008 (1):18-21.
- [10] 蔡梅,钦胡冰,王辉,等. 多排螺旋 CT 仿真内镜与电子结肠镜对显示大肠肿瘤病变的对比探讨[J]. 实用放射学杂志, 2010 (6):847-851.
- [11] 石珍,廖家,智程,等. 下消化道间叶源性肿瘤 CT 仿真内镜与病理的对照研究[J]. 中华内科杂志, 2011 (6):485-488.

(2015-02-10 收稿,2015-03-27 修回)
中文编辑: 戚璐; 英文编辑: 周凌

全胸腔镜肺叶切除术治疗直径大于5 cm的非小细胞肺癌

魏 巍*, 李勇生, 钟 标, 黎佩建

(惠州市中心人民医院, 广东 惠州 516001)

[摘要] 目的: 探讨全胸腔镜肺叶切除手术治疗直径>5 cm的非小细胞肺癌(NSCLC)的可行性。方法: 选择肿瘤直径>5 cm的NSCLC患者53例, 观察组29例行全胸腔镜肺叶切除手术(VATS)治疗, 对照组24例行开胸手术(TOS)治疗, 比较两组患者围手术期资料及术后并发症, 随访观察两组患者1年、3年复发率和生存率。结果: 观察组与对照组比较, 术后引流时间和住院时间短, 失血量和引流量少, 术后VAS评分低, 差异有统计学意义($t_1 = 19.192, t_2 = 7.245, t_3 = 28.362, t_4 = 26.344, t_5 = 7.448, P < 0.05$); 观察组术后并发症发生率为17.24%, 对照组为16.67%, 两组比较差异无统计学意义($\chi^2 = 1.221, P > 0.05$); 观察组与对照组术后1年复发率、生存率分别为(10.35% vs. 8.33%)、(96.6% vs. 95.8%), 3年复发率、生存率分别为(34.48% vs. 33.33%)、(72.41% vs. 75%), 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论: 全胸腔镜肺叶切除术治疗直径大于5 cm NSCLC具有创伤小, 安全可行, 可取得与TOS治疗同样的近期和远期疗效。

[关键词] 胸腔镜; 胸外科手术; 癌, 非小细胞肺; 手术后并发症

[中图分类号] R655.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0397-04

Feasibility Study of Full Thoracoscopic Lobectomy Treatment on Non-small Cell Lung Cancer Tumor Greater than 5 cm Diameters

WEI Wei, LI Yongsheng, ZHONG Biao, LI Peijian

(The Centre People's Hospital of Huizhou, Huizhou 516001, Guangdong, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the feasibility of full thoracoscopic lobectomy (VATS) treatment on tumor diameter greater than 5 cm in non-small cell lung cancer (NSCLC). **Methods:** Fifty-three cases of NSCLC patients of tumor diameter larger than 5 cm were selected, 29 cases as the observation group were given VATS treatment, 24 cases as control group were given thoracotomy (TOS) treatment. Comparing perioperative data, complications and one-year, three-year recurrence rate and survival rate of both groups. **Results:** The observation group exhibited shorter drainage time, shorter hospital stay, less blood loss, less drainage volume, lower postoperative VAS scores, the differences were statistically significant ($t_1 = 19.192, t_2 = 7.245, t_3 = 28.362, t_4 = 26.344, t_5 = 7.448, P < 0.05$); postoperative complications occurred in observation group was 17.24%, the control group was 16.67%, the difference was not statistically significant ($\chi^2 = 1.221, P > 0.05$); one-year recurrence rate after surgery, survival rate of the observation group and control group were (10.35% vs 8.33%) and (96.6% vs 95.8%); three-year recurrence rate, survival rate were (34.48% vs 33.33%) and (72.41% vs 75%), there was no significant difference ($P > 0.05$). **Conclusions:** Full thoracoscopic lobectomy treatment on tumor diameter greater than 5 cm in NSCLC is safe and feasible, which can achieve the same short-term and long-term curative efficacy.

[Key words] thoroscopes; thoracic surgical procedures; carcinoma; non-small cell-lung; postoperative complications

* 通信作者 E-mail: w7weiwei@163.com

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1924.025.html>

近年来胸腔镜在胸外科手术中的应用日趋成熟,尤其是适用于直径 $<5\text{ cm}$ 的肺内结节病变的切除,具有显著微创优势,避免了开胸手术(TOS)创伤大的缺点^[1-2],但是对全胸腔镜手术(VATS)治疗直径 $>5\text{ cm}$ 的非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)尚存在一定争议^[3]。随着手术方法及腔镜器械性能的不断改进,全VATS治疗直径 $>5\text{ cm}$ 的NSCLC得到越来越广的应用,本研究自2009年开始采用全VATS治疗直径大于 5 cm 的NSCLC,报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择2009年1月~2012年6月收治的NSCLC患者53例,纳入标准:病理证实为NSCLC;单发病灶,无手术禁忌征,肿瘤直径 $>5\text{ cm}$,无远处转移征象,可耐受全身麻醉及开胸手术。排除标准:合并转移灶,有胸膜广泛粘连、钙化者,患者拒绝手术治疗,术后未进行系统抗肿瘤治疗者。53例NSCLC患者运用数字列表法随机分为两组。观察组29例,肿瘤直径 $5.22\sim 8.17\text{ cm}$,采用全VATS治疗;对照组24例,肿瘤直径 $5.12\sim 8.32\text{ cm}$,采用传统TOS治疗;两组患者年龄、性别、肿瘤直径、肿瘤病理类型及分期病情等方面差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表1。本研究报经伦理委员会批准,所有患者签订知情同意书。

表1 NSCLC 两组患者一般资料($n=53$)

Tab. 1 General data of NSCLC patients in the two groups

指标	观察组	对照组	χ^2/t	P
性别 男	18	16	1.142	0.551
女	11	8		
年龄(岁)	58.85 ± 12.77	56.89 ± 12.48	2.473	0.369
肿瘤直径(cm)	7.45 ± 2.02	7.49 ± 2.09	1.442	0.563
肿瘤部位右肺上叶	6	5	3.125	0.263
右肺中叶	2	2		
右肺下叶	7	5		
左肺上叶	8	6		
左肺下叶	6	6	2.152	0.389
病理类型 鳞癌	9	6		
腺癌	19	17		
腺鳞癌	1	1	2.338	0.334
TNM 分期 II a	10	9		
II b	17	14		
III a	2	1		

1.2 手术方法

观察组:选择健侧卧位,采用双腔气管内插管麻醉,手术中单肺通气,于腋中线第7~8肋间取 2 cm 长切口,置入胸腔镜,于腋前线第4或第5肋间取长约 $5\sim 6\text{ cm}$ 切口作为主操作口,于腋后线第7~8肋间取长约 2 cm 切口,作为副操作口;根据手术步骤配合置入器械,按照传统的开胸解剖性肺叶切除方法,依次分离病灶肺叶血管、肺裂、支气管等,行病变肺叶切除,取出切除组织;然后行肺门、纵隔淋巴结系统性清扫。对照组:麻醉方法及体位选择同观察组,一般选择患侧第4或第5肋间后外侧切口,长 $12\sim 18\text{ cm}$,应用牵引器牵开肋骨,常规行病变肺叶切除及肺门、纵隔淋巴结清扫。两组患者术后均给予多西他赛+卡铂方案辅助化疗4周期,并连续随访至2014年6月。

1.3 观察指标

观察两组患者手术时间、失血量、术后引流时间、纵隔淋巴结清扫数、术后疼痛视觉评分(VAS)、术后住院时间;术后并发症发生率,术后1年和3年复发率和生存率。

1.4 统计学方法

所得数据应用医学统计学软件SPSS 17.0 分析,计量资料用 $(\bar{x}\pm s)$ 表示,采用 t 检验,计数资料采用 χ^2 检验, $P<0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

两组患者手术过程顺利,围手术期未发生死亡,观察组术中无转开胸手术。观察组较对照组患者术后引流时间、住院时间短,失血量、引流量少,术后VAS评分低,但手术时间较对照组长,两组比较差异有统计学意义($P<0.05$),两组纵隔淋巴结清扫数比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。两组术后并发症发生率比较,差异无统计学意义($P>0.05$),见表3。两组患者术后1年、3年复发率、生存率比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表4。

3 讨论

美国NCCN肺癌治疗指南曾明确指出,全VATS应用于早期可切除肺癌的治疗,具有显著微创优势,且其近远期疗效与常规开胸手术无差异,肯定了该手术方法具有可行性及安全性^[4],在早

表 2 两组患者围手术期指标比较($\bar{x} \pm s$)
Tab. 2 Comparison of perioperative indexes of NSCLC patients in the two groups

组别	<i>n</i>	手术时间(min)	失血量(mL)	术后引流 时间(h)	引流量(ml)	纵隔淋巴结清 扫数(个)	术后 VAS 评分	住院时间(d)
观察组	29	119.50 ± 30.33	161.55 ± 25.54	54.23 ± 9.75	155.75 ± 23.18	8.75 ± 4.36	6.45 ± 1.46	10.5 ± 2.5
对照组	24	106.77 ± 19.56	186.58 ± 25.35	66.55 ± 10.5	229.65 ± 26.87	9.36 ± 4.58	7.58 ± 1.56	13.55 ± 3.18
<i>t</i>		11.145	28.362	19.192	26.344	4.111	7.448	7.245
<i>P</i>		0.012	0.006	0.009	0.007	0.091	0.020	0.021

表 3 两组患者术后并发症发生率比较
Tab. 3 Comparison of complication incidence
of NSCLC patients in the two groups

指标	观察组	对照组
<i>n</i>	29	24
肺持续性漏气	2	1
肺复张不良	1	1
切口感染	0	1
大出血	1	0
喉返神经损伤	1	0
ARDS	0	
发生率(%)	17.24	16.67
χ^2	1.221	
<i>P</i>	0.872	

期 NSCLC 的研究中,直径 < 5 cm 的周围型肺癌,因肿瘤体积小,肺组织翻动比较容易,且多不伴淋巴结转移,处理肺门及叶间裂血管的风险相对较小,被认为是全 VATS 治疗的最佳适应症^[5-6];但直径 > 5 cm 的周围型肺癌因肺组织翻动较为困难,肺叶切除范围相对增大,视野相对狭小,切除组织不易取出,另外多数病例需进一步做淋巴结清扫,故全 VATS 操作难度较大,通常不采取该种治疗方法^[7]。但近年来随着手术方法及器械的不断进步,应用全 VATS 治疗直径 > 5 cm 的 NSCLC 已经不再是临床禁忌^[8-9]。

表 4 两组患者术后复发率及生存率比较
Tab. 4 Comparison of recurrence rate and survival rate of NSCLC patients in the two groups

组别	<i>n</i>	术后 1 年		术后 3 年	
		复发率(%)	生存率(%)	复发率(%)	生存率(%)
观察组	29	10.34(3/29)	96.6(28/29)	34.48(10/29)	72.41(21/29)
对照组	24	8.33(2/24)	95.8(23/24)	33.33(8/24)	75(18/24)
<i>t</i>		4.119	3.315	3.882	4.395
<i>P</i>		0.112	0.185	0.164	0.103

全 VATS 治疗 NSCLC 的微创优势已经非常明确,安全性是考量手术方式可行性的关键指标^[10],卜梁等^[11]对比研究全 VATS 与 TOS 治疗直径 > 5 cm 的 NSCLC 患者疗效,证实全 VATS 在手术时间、出血量、住院时间等方面具有显著微创优势,同时并发症发生率与 TOS 治疗组患者无异。本研究结果显示,全 VATS 手术治疗的观察组患者较采用常规 TOS 治疗的对照组患者术后引流时间和住院时间短,失血量和引流量少,且术后 VAS 评分低(均 $P < 0.05$),同时观察组患者无术中开胸手术病例发生,术后并发症仅 17.24%,与开胸手术对照组的 16.67% 比较差异无统计学意义($P > 0.05$),与卜梁等研究结果趋于一致,充分证实全 VATS 治疗直径 > 5 cm 的 NSCLC 同样具有良好的微创效果,且具有较高的安全性。本研究还显示,全 VATS 治疗组患者手术时间较 TOS 治疗组长,与

卜梁等研究结果存在差异,分析原因考虑与术者手术熟练程度及操作步骤等有关。
术后复发率及生存期限也是考虑手术方式选择的主要指标^[12],本研究显示,两组患者术后 1 年、3 年复发率均处于较低水平,同时 1 年生存率均在 80% 以上,3 年生存率在 70% 以上,两种术式对患者预后均有良好效果,差异无统计学意义($P > 0.05$),说明全 VATS 治疗直径 > 5 cm 的 NSCLC 具有良好效果。分析原因考虑与全 VATS 清除淋巴结方面可取得与 TOS 治疗同样效果有关。
值得注意的是本研究中,全 VATS 治疗的 NSCLC 患者存在肺持续性漏气、肺复张不良、大出血、喉返神经损伤多种并发症,提示全 VATS 术式仍要严格掌握适应症,肿瘤体积较大者,术中首先应减少翻动与挤压,动作要轻柔,避免过度翻动肺

叶造成继发损伤^[13];另外结扎血管放在首位,且尽量彻底,一次性成功^[14];再一方面,处理纵隔淋巴结,尤其是后纵隔淋巴结,须严格避让毗邻结构^[15-16],如喉返神经、食管等。

综上所述,全 VATS 术治疗直径 > 5 cm 的 NSCLC 安全可行,与传统开胸手术的近远期效果相似,同时在围手术期体现了创伤小,术后恢复快的优势,值得临床积极推广应用。

4 参考文献

- [1] Zhao Jing, Pei Yingxin, Liu Jifu. Effect evaluation of video-assisted thoracoscopic surgery in the treatment of early non-small cell lung cancer[J]. China Medical Herald, 2012(1):44-46.
- [2] Farjah F, Wood DE, Mulligan MS, et al. Safety and efficacy of video-assisted versus conventional lung resection for lung cancer[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2009(6):1415-1421.
- [3] Zang Xin, Zhao Hui, Wang Jun, et al. Lobectomy by video-assisted thoracoscopic surgery versus thoracotomy for clinical stage I/II non-small cell lung cancer: a multi-center comparative study[J]. Chinese Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 2014(5):285-289.
- [4] McKenna RJ, Houck W, Fuller CB. Video-assisted thoracic surgery lobectomy: experience with 1100 cases[J]. Ann Thorac Surg, 2010(2):421-426.
- [5] Sugi K, Kobayashi S, Sudou M, et al. Long-term prognosis of video assisted limited surgery for early lung cancer[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2010(2):456-460.
- [6] Li Yun, Sui Xi-zhao, Jiang Guan-chao, et al. Experience of completely video-assisted thoracoscopic lobectomy in non-small cell lung cancer: series of consecutive 500 patients in single-center[J]. Chinese Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery, 2012(1):3-6.
- [7] Zhou Sheng-nian, Gao Li-jing, Zhang Chao-dong, et al. The video-assisted thoracoscopy in diagnosis and treatment of chest diseases[J]. Anhui Medical Journal, 2012(6):679-681.
- [8] Li Yun, Wang Jun, Sui Xi-zhao, et al. Operative technique optimization in completely thoracoscopic lobectomy: Peking University experience[J]. Chinese Journal Of Thoracic And Cardiovascular Surgery, 2010(5):300-306.
- [9] Tian Jie-yong, Ma Dong-chun, Xu Mei-qing, et al. Clinical analysis of complete video-assisted thoracoscopic surgery lobectomy for patients with peripheral lung cancer[J]. Chinese Journal of Clinical Thoracic and Cardiovascular Surgery, 2012(5):479-483.
- [10] Gonzalez-Rivas D, Torre M, Fernandez R, et al. VideoSingle-incision video-assisted thoracoscopic right pneumonectomy[J]. Surg Endosc, 2012(7):2078-2079.
- [11] Bu Liang, Li Yun, Yang Fan, et al. A retrospective comparative study of the safety, completeness and efficacy of videoassisted thoracoscopic lobectomy versus open lobectomy for non-small-cell lung cancer patients whose tumor size was greater than 5 cm[J]. Journal of Peking University(Health Sciences), 2011(6):866-872.
- [12] Yamashita S, Tokuishi K, Anami K, et al. Thoracoscopic segmentectomy for T1 classification of non-small cell lung cancer: a single center experience[J]. Eur J Cardiothorac Surg, 2012(1):83-88.
- [13] Li Bin, Tan Xue-mei, Yuan Ning. A comparative study of complete video-assisted thoracoscopic pneumonectomy and open pneumonectomy in treatment of lung cancer at early stage[J]. ChongQing Medicine, 2011(18):268-269.
- [14] Dienemann H, Hoffmann H. VATS lobectomy in stage I lung cancer standard or experimental procedure[J]. Zentralbl Chir, 2012(3):228-233.
- [15] Soukiasian HJ, Hong E, McKenna RJ. Video-assisted thoracoscopic trisegmentectomy and left upper lobectomy provide equivalent survivals for stage IA and IB lung cancer[J]. J Thorac Cardiovasc Surg, 2012(3):23-26.
- [16] 唐中明, 徐鑫. 全胸腔镜肺叶切除与开胸肺叶切除治疗非小细胞肺癌疗效对比研究[J]. 实用临床医药杂志, 2013(12):62-65.
(2014-10-23 收稿, 2015-02-13 修回)
中文编辑: 刘平; 英文编辑: 赵毅

灯盏花素联合前列地尔治疗脑梗死

周大淑

(自贡市第一人民医院 神经内科, 四川 自贡 643000)

[摘要] 目的: 探讨脑梗死患者采用灯盏花素联合前列地尔的治疗效果及其对神经功能缺损和血液流变学的影响。方法: 100例脑梗死(CI)患者随机分成观察组和对照组, 对照组给予灯盏花素注射液治疗, 治疗组在对照组基础上加用前列地尔治疗, 比较两组患者临床疗效及治疗前后的神经功能缺损评分(NIHSS)和血液流变学指标。结果: 治疗后, 观察组的总有效率为96.00%, 显著高于对照组的72.00%, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 两组患者治疗后的NIHSS评分均低于治疗前, 以观察组更明显($P < 0.05$); 两组治疗后, 血液流变学指标水平均显著低于治疗前, 以观察组更明显($P < 0.05$)。结论: 在CI患者中采用灯盏花素联合前列地尔治疗, 可有效提高临床疗效、减轻患者神经功能缺损程度、改善血流变, 具有较高的应用价值。

[关键词] 灯盏花素; 前列地尔; 神经功能缺损; 脑梗塞; 血液流变学

[中图分类号] R743.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0401-03

Clinical Study on Effect of Breviscapine Combined with Alprostadil in the Treatment of Cerebral Infarction

ZHOU Dashu

(Department of Neurology, First People's Hospital of Zigong City, Zigong 643000, Sichuan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the curative effect of breviscapine combined with alprostadil in patients with cerebral infarction as well as its effect on neurological deficit and hemorheology. **Methods:** One-hundred patients of cerebral infarction were randomly divided into observation group and control group, the control group were treated with breviscapine injection, the observation group was treated with breviscapine injection combined with alprostadil, the NIHSS score, blood rheology indexes before and after treatment and clinical effect of both groups were compared. **Results:** Total effective rate in the observation group was 96%, significantly higher than 72% of the control group, the differences was statistically significant ($P < 0.05$); after treatment, NIHSS of both groups were significantly lower than pre-treatment, and decrease of observation group was more significant ($P < 0.05$); the blood rheology index levels were significantly lower than pre-treatment, and decrease of observation group was more significant ($P < 0.05$). **Conclusions:** Breviscapine combined with alprostadil therapy in patients with cerebral infarction can effectively improve the clinical curative effect, reduce the nerve function damage degree and improve blood rheology.

[Key words] breviscapine; alprostadil; nerve function impairment; cerebral infarction; blood rheology

脑梗死(cerebral infarction, CI)是一种严重的缺血性脑血管疾病,近年来的发病率、死亡率及致残率呈上升趋势^[1],成为威胁人类健康与生命的常见疾病之一^[2],如何提高脑梗死患者的治疗效

果,已经是临床探究的重点。本研究通过观察灯盏花素联合前列地尔对脑梗死患者的神经功能缺损和血液流变学的影响,为临床治疗脑梗死提供依据,报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象

选取 2012 年 4 月 ~ 2014 年 4 月收治的 100 例 CI 患者,均符合《全国第四届脑血管病学术会议标准》中关于 CI 的诊断标准^[3]。男性 55 例,女性 45 例,35 ~ 81 岁,平均 (58.58 ± 9.87) 岁。纳入标准:(1)经 MRI 或头颅 CT 诊断显示存在责任病灶,且颈部血管超声检查结果显示存在颈动脉粥样硬化斑块;(2)发病时间 < 72 h;(3)患者均签署知情同意书。排除标准:(1)合并恶性肿瘤、出血性脑梗死、肺肾功能不全、风湿性心脏病、在时间窗内已溶栓急性脑梗死及其他脑部器质性疾病患者;(2)血压、血糖等控制不佳患者;(3)孕妇及哺乳期妇女;(4)使用过血管紧张素转化酶抑制剂治疗患者。按照随机数表法,分成观察组与对照组,每组 50 例,两组患者在年龄、性别、发病时间及病情程度等方面比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.2 治疗方法

两组患者均给予调控血压、脑保护、抗血小板聚集、改善脑部循环等常规治疗及对症治疗,并给予 0.1 g 阿司匹林肠溶片口服,1 次/d。此外,对照组取 500 mL 10% 葡萄糖溶液,加入 15 mL 灯盏花素注射液静滴,1 次/d。治疗组在对照组基础上加用前列地尔治疗,取 250 mL 5% 葡萄糖溶液,加入 100 μ g 前列地尔注射液,静滴,1 次/d,两组均连续治疗 1 个月。

1.3 观察指标

观察两组治疗后的临床疗效,比较两组治疗前后神经功能缺损评分(national institutes of health stroke scale,NIHSS)及血液流变学指标等。NIHSS 评定方法按照《脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分标准》^[4]进行评定。临床疗效参照韦朝霞等^[5]的方法进行判定:痊愈,治疗后的 NIHSS 评分显著下降,幅度 91% ~ 100%,残疾程度量表(mRS)评分为 0 分;显效,治疗后的 NIHSS 评分下降幅度在 46% ~ 90%,mRS 评分为 1 ~ 3 分;有效,治疗后的 NIHSS 评分下降幅度 18% ~ 45%;无效,治疗后的 NIHSS 评分无明显改变,甚至上升;治疗总有效率(%) = 痊愈率(%) + 显效率(%) + 有效率(%)。分别于治疗前及治疗后第 2 天,采集两组患者的清晨空腹静脉血 3 mL,使用全自动血

液流变分析仪检测全血与血浆的黏度、红细胞压积以及纤维蛋白原水平。

1.4 统计学分析

采用统计学软件 SPSS 19.0 进行分析,计数资料采用百分率表示,行 χ^2 检验,计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 治疗效果

观察组治疗后的总有效率为 96.00%,显著高于对照组的 72.00%,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组脑梗死患者治疗效果比较

Tab. 1 Comparison of curative effect of patients in the two groups

组别	<i>n</i>	痊愈	显效	有效	无效	有效率(%)
对照组	50	14	10	24	2	96.00
观察组	50	10	6	20	14	72.00
χ^2	-	0.493	0.670	0.365	9.003	9.003
<i>P</i>	-	0.482	0.413	0.546	0.003	0.003

2.2 治疗前后 NIHSS

两组患者治疗前的 NIHSS 对比,差异无统计学意义($P > 0.05$);两组治疗后,NIHSS 评分均低于治疗前,而观察组的评分更明显,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组脑梗死患者治疗前后 NIHSS 对比

Tab. 2 Comparison of NIHSS scores of patients in the two groups before and after treatment

组别	<i>n</i>	NIHSS(分)	
		治疗前	治疗后
对照组	50	24.72 \pm 9.98	16.01 \pm 9.02
观察组	50	24.54 \pm 10.31	5.39 \pm 2.24
<i>t</i>		0.089	8.080
<i>P</i>		0.930	0.000

2.3 血液流变学指标

两组患者治疗前全血黏度、血浆黏度、红细胞压积及纤维蛋白原比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);两组治疗后,血液流变学指标水平均显著低于治疗前,以观察组更明显,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组脑梗死患者治疗前后的血液流变学指标比较

Tab. 3 Comparison of blood rheology indexes of patients in the two groups before and after treatment

组别	全血黏度(mPa·s)		血浆黏度(mPa·s)		红细胞压积(%)		纤维蛋白原(g/L)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组(n=50)	2.15±0.24	1.17±0.11	2.14±0.22	1.22±0.13	50.36±5.02	31.02±0.30	5.41±0.55	3.30±0.30
对照组(n=50)	2.16±0.26	1.90±0.20	2.15±0.24	1.88±0.22	50.68±5.10	45.32±0.41	5.45±0.56	4.92±0.51
t	0.200	22.615	0.217	18.263	0.316	19.034	0.360	19.360
P	0.842	0.000	0.829	0.000	0.753	0.000	0.719	0.000

3 讨论

由于脑梗死患者的大动脉粥样硬化的梗死病变区域周围组织具有恢复正常的可能,若能对该缺血组织加强灌注,则有利于减少脑梗死病变面积、恢复病变区域的功能。因此,促使脑梗死患者脑动脉血管的通畅、重建侧支循环,是治疗该类患者的重要手段。目前临床上所采用的抗血小板凝集等常规药物对恢复脑梗死病变区周围的脑组织缺乏满意的疗效。

灯盏花素是灯盏花乙素、灯盏花甲素等的混合物,在心脑血管疾病患者中已经得到广泛的应用,具有降低血黏度、血管阻力及血脂,并抑制血小板凝集、扩张脑血管、改善脑部循环等功能^[6];前列地尔是一种血管活性药物,是缺血性疾病的常用药物,它通过对激活细胞内的腺苷酸环化酶引起血管扩张,进而起到改善血液循环的效果^[7]。此外,前列地尔还能对脑缺血部位产生特异性作用,可显著扩张病变血管,从而促进脑组织缺氧、缺血等的缓解。杨长恩^[8]研究发现患者的血浆黏度、红细胞压积及纤维蛋白原等血液流变学指标等均得到改善。全血黏度作为一个综合性指数,是反映血液随不同流动状况及评估血栓性疾病的诊疗效果的重要依据。本研究结果发现,采用采用灯盏花素联合前列地尔治疗的观察组患者,不仅在以上血液流变学指标得到改善,且观察组治疗后的全血黏度水平亦显著低于对照组,进一步证实了灯盏花素联合前列地尔比单纯使用灯盏花素注射液疗法,更能恢复血流速度。此外,本研究发现观察组患者治疗后的总有效率显著高于对照组患者,且观察组治疗后的NIHSS显著低于对照组,这在范秀博^[9]研究中得到证实,说明灯盏花素联合前列地尔比单纯使用灯盏花素,更能减轻脑梗死患者的神经功能缺损程度,临床疗效更显著。有研究指出,前列地尔通过提高细胞膜钠离子-钾离子-三磷酸腺苷

酶的活性,促进神经细胞内环磷酸腺苷的含量水平与神经内膜血流量,从而起到改善局部脑血流量的作用^[10]。本研究中虽然两组患者治疗前的各项血液流变学指标水平对比,差异不显著,但观察组治疗后的全血与血浆的黏度、红细胞压积以及纤维蛋白原等血液流变学指标水平,均显著低于对照组患者,这说明灯盏花素联合前列地尔治疗法更能够改善脑梗死患者的血流变。在脑梗死患者中采用灯盏花素联合前列地尔治疗,可有效提高临床疗效、减轻患者神经功能缺损程度、改善血流变,具有较高的应用价值。

4 参考文献

[1] 刘艳,甘学军,刘志广,等. 80 例脑梗死患者记忆障碍的调查分析[J]. 安徽医药, 2014(3):519-521.

[2] 陈朝林. 丁咯地尔联合灯盏花素治疗急性脑梗死的疗效观察[J]. 实用心脑血管病杂志, 2012(9):1537-1538.

[3] 中华神经科学会中华神经外科学会. 格雷奥血管疾病诊断要点[J]. 中华神经科杂志, 1996(6):379-380.

[4] 全国第四届脑血管病学术会议组. 脑卒中患者临床神经功能缺损程度评分标准(1995)[J]. 中华神经内科学杂志, 1995(6):381-383.

[5] 韦朝霞,祁凤,刘祖佑,等. 尤瑞克林治疗急性脑梗死的临床疗效及安全性[J]. 山东医药, 2013(5):79-80.

[6] 何苗,李敏清,文曦娜,等. 灯盏花素防治急性脑梗死作用机制及应用进展[J]. 中国医药科学, 2012(22):30-31.

[7] 庄会艳,付怀栋,杜守云,等. 疏通通联合前列地尔治疗急性脑梗死 48 例疗效分析[J]. 重庆医学, 2012(30):3216-3217.

[8] 杨长恩. 灯盏花素联合前列地尔对急性脑梗死患者神经功能缺损及血液流变性的影响[J]. 河北医药, 2013(12):1856-1857.

[9] 范秀博. 灯盏花素联合前列地尔对脑梗死神经功能缺损及血液流变性的影响[J]. 海南医学院学报, 2012(10):1406-1408.

[10] 张士森. 灯盏花素联合前列地尔治疗急性脑梗死的疗效及对血液流变学的影响[J]. 中国实用神经疾病杂志, 2014(18):33-34.

(2014-11-03 收稿,2015-03-02 修回)
中文编辑: 刘 平; 英文编辑: 赵 毅

前列腺液中白细胞、卵磷脂小体与慢性前列腺炎病情程度的相关性

潘秀芳, 黎 滨, 王玉丰

(海南省农垦三亚医院 检验科, 海南 三亚 572000)

[摘要] 目的: 研究前列腺液常规检查(白细胞、卵磷脂小体)与慢性前列腺炎病情严重程度的关系。方法: 以452例慢性前列腺炎患者为研究对象, 分析前列腺液白细胞及卵磷脂小体计数与NIH-CPSI评分与之间的关系。结果: 不同NIH-CPSI评分的慢性前列腺炎患者前列腺液白细胞计数以及卵磷脂小体计数比较均无统计学差异($P > 0.05$), 前列腺液中白细胞计数与NIH-CPSI评分无相关性($r = 0.256, P = 0.234$), 前列腺液中卵磷脂小体计数与NIH-CPSI评分无相关性($r = -0.198, P = 0.275$), 白细胞计数与卵磷脂小体计数呈负相关($r = -0.624, P < 0.001$)。结论: 单独前列腺液常规检查不能作为前列腺炎疾病严重程度的评估指标, 需结合临床症状等多方面因素对患者进行评估。

[关键词] 慢性前列腺炎; 白细胞; 卵磷脂; NIH-CPSI评分

[中图分类号] R697.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0404-03

A Study on Correlation of Leukocyte and Lecithin Body with Chronic Prostatitis by EPSRT

PAN Xiufang, LI Bing, WANG Yufeng

(Department of Laboratory Test, Sanya Nongken Hospital, Sanya 572000, Hainan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the correlation between EPSRT (leukocyte and lecithin body) and severity of chronic prostatitis. **Methods:** A total of 452 patients with chronic prostatitis were involved in the study, analyzed the relationship between NIH-CPSI score and the leukocyte count and lecithin body count. **Results:** Leukocyte count and lecithin body count in chronic prostatitis patients with different NIH-CPSI scores showed no statistical difference ($P > 0.05$); the NIH-CPSI score was not relevant with leukocyte count ($r = 0.256, P = 0.234$); the NIH-CPSI score was not relevant with the lecithin body count ($r = -0.198, P = 0.275$); a negative correlation existed between leukocyte count and lecithin body count ($r = -0.624, P < 0.001$). **Conclusions:** EPSRT should not serve as evaluation index as prostatitis disease severity, clinical symptoms and other factors should be taken into consideration.

[Key words] chronic prostatitis; leukocytes; lecithin; NIH - CPSI score

慢性前列腺炎(chronic prostatitis, CP)是临床常见的男性泌尿系疾病,既往在诊断CP时较为重视前列腺液(expressed prostatic secretion, EPS)中白细胞数,并将其作为前列腺炎的基本筛选条件之一,本研究通过对452例CP患者NIH-CPSI评分与

EPS中白细胞(white blood cell, WBC)计数、卵磷脂小体(small particle of lecithin, SPL)计数的相关性进行了分析,旨在探讨EPS常规检查对CP的诊断及病情评估的临床价值。

1 对象与方法

1.1 对象与分组

选取 2013 年 1 月~2014 年 1 月男科门诊 452 例 CP 患者为研究对象,诊断标准^[1]:(1)尿频、尿急、尿痛以及尿后滴白;(2)出现腰骶部、腹股沟区、耻骨上区、会阴部疼痛;(3)性功能减退,可排除尿路感染及良性前列腺增生、其他盆腔器官疾病,病程超过 3 月者可诊断为 CP。患者年龄 19~52 岁,平均(38.7±7.4)岁,最长病程 18 年,平均(18.9±9.2)月。根据 NIH-CPSI 评分将研究对象分为轻度组(1~14 分)、中度组(15~29 分)及重度组(30~43 分)^[1]。

1.2 方法

所有研究对象需禁欲 3 d 以上,采用直肠按摩收取前列腺液于洁净玻片覆盖,立即送检,40 倍高

倍镜对白细胞、卵磷脂小体进行半定量计数。计数标准:白细胞 0~9/HP(-)、10~20/HP(+)、21~30/HP(++)、31~40/HP(+++)、40 以上/HP(++++) ;卵磷脂小体无或散在为(-)、1/4 视野为(+)、1/2 视野为(++)、3/4 视野为(+++)、满视野为(++++)。

1.3 统计学分析

采用统计学软件 SPSS 19.0 进行统计学处理,构成比、率比较采用卡方检验,相关性分析采用 Spearman 秩相关分析。 $P<0.05$ 认为有统计学意义。

2 结果

2.1 前列腺液白细胞计数

NIH-CPSI 评分轻度、中度、重度 3 组 CP 患者 EPS 常规检查白细胞计数构成比差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 不同 NIH-CPSI 评分各组 CP 患者 EPS 中白细胞计数($n, \%$)
Tab. 1 Leukocyte counts in EPS of CP patients with different NIH-CPSI scores

组别	n	EPS 中 WBC				
		-	+	++	+++	++++
轻度组	89	10(11.2%)	8(9.0%)	36(40.4%)	25(28.1%)	10(11.2%)
中度组	146	16(11.0%)	20(13.7%)	52(35.6%)	25(17.1%)	33(22.6%)
重度组	217	20(9.2%)	36(16.6%)	68(31.3%)	49(22.6%)	44(20.3%)
χ^2				11.650		
P				0.168		

2.2 前列腺液卵磷脂小体计数

NIH-CPSI 评分轻度、中度、重度 3 组 CP 患者

EPS 常规检查卵磷脂小体计数比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 不同 NIH-CPSI 评分各组 CP 患者 EPS 中卵磷脂小体计数($n, \%$)
Tab. 2 L lecithin body counts in EPS of CP patients with different NIH-CPSI scores

组别	n	EPS 中卵磷脂小体				
		-	+	++	+++	++++
轻度组	89	12(13.5%)	21(23.6%)	39(43.8%)	10(11.2%)	7(7.9%)
中度组	146	31(21.2%)	27(18.5%)	48(32.9%)	23(15.8%)	17(11.6%)
重度组	217	41(18.9%)	44(20.3%)	65(30.0%)	33(15.2%)	34(15.7%)
χ^2				10.271		
P				0.246		

2.3 NIH-CPSI 评分、白细胞计数及卵磷脂小体之间 Spearman 秩相关性分析

将每个研究对象的 NIH-CPSI 评分、白细胞计数及卵磷脂小体计数进行正态性检验,显示 3 者均不符合正态分布。选用 Spearman 秩相关分析,NIH-CPSI 评分与白细胞计数的秩相关系数为 $r =$

$0.256, P = 0.234 (P > 0.05)$; NIH-CPSI 评分与卵磷脂小体计数的秩相关系数为 $r = -0.198, P = 0.275 (P > 0.05)$;白细胞计数与卵磷脂小体计数的秩相关系数为 $r = -0.624, P = 0.000 (P < 0.05)$ 。白细胞计数、卵磷脂小体计数与 NIH-CPSI 评分无相关性,白细胞计数与卵磷脂小体计数呈负

相关,有统计学意义。

3 讨论

CP 是成年男性常见疾病,以 50 岁以下年龄发病率较高,往往病情反复、迁延难愈,严重影响患者的生活质量^[2]。既往研究认为 CP 多与特异性的感染相关,病原包括细菌、病毒、支原体、衣原体等^[3]。EPS 常规检查是诊断前列腺炎的主要手段,其中白细胞与卵磷脂小体的计数是区分炎性与非炎性前列腺炎的重要指标之一^[4-5]。美国国立卫生研究院根据患者在疼痛、排尿以及生活质量等方面的不同表现,制定 NIH-CPSI 指数,作为 CP 疾病严重程度的评估指数。NIH-CPSI 指数在前列腺炎疾病严重程度的判断上有较高的实用价值,在临床应用广泛。

本研究对不同 NIH-CPSI 评分 CP 患者的 EPS 常规检查进行比较,结果显示:在不同 NIH-CPSI 评分分组 CP 患者中,白细胞与卵磷脂小体计数分布均无统计学差异,在部分轻症患者白细胞计数可表现为 +++ ~ + + + +,而卵磷脂小体计数呈现阴性;部分重症患者白细胞计数呈现阴性,而卵磷脂小体计数 + + + ~ + + + + 也较为常见;NIH-CPSI 评分与白细胞、卵磷脂小体计数均无相关性。Nickel 等^[6]认为,部分前列腺炎的发病可能为微生物感染以外的因素引起,诸如功能性躯体综合症、抑郁、机体功能失调,盆骶神经痉挛等非致炎因素。部分学者认为前列腺的解剖特点是造成 EPS 检查临床价值不大的因素之一,EPS 以前列腺中央带分泌液为主,部分炎症位置处于周围带的腺管可因肿胀阻塞导致排除不畅,难以反映病情的变化^[7]。因检查过程引起的尿路白细胞污染也是需要造成偏差的因素之一^[8]。单纯依靠白细胞及卵磷脂小体计数难以准确反映 CP 疾病的真实状况和严重程度。

在本研究中,白细胞计数与卵磷脂小体计数呈负相关,白细胞为炎症的标志,卵磷脂小体为前列

腺上皮细胞所分泌,对精子具有保护作用,炎症细胞的浸润可导致前列腺上皮细胞分泌功能降低,炎症时巨噬细胞的吞噬作用也造成卵磷脂小体减少,有研究认为,卵磷脂小体的减少可一定程度反映前列腺炎性细胞的浸润作用^[9]。

综上所述,前列腺液常规检查不能作为前列腺炎疾病严重程度的评估指标,需结合临床症状等多方面因素对患者进行评估。

4 参考文献

- [1] 涂响安,邓春华. 慢性前列腺炎和性功能障碍研究进展[J]. 广东医学, 2008(10):1602-1604.
- [2] 陈国宏,李兰群,王传,等. 慢性前列腺炎症状评分与前列腺液白细胞及卵磷脂小体数量相关性分析[J]. 中国性科学, 2009(2):17-19.
- [3] 武立新,梁朝朝,唐智国,等. 前列腺液 WBC 计数与临床症状的相关分析[J]. 中华泌尿外科杂志, 2006(3):194-196.
- [4] Pons JM. Chronic pelvic pain syndrome: a non-prostatocentric perspective[J]. World J Urol, 2003;54-56.
- [5] 石理华. 慢性非前列腺炎的病因研究进展[J]. 中国男科学杂志, 2007(3):56-58.
- [6] Nickel JC, Alexander RB, Schaeffer AJ, et al. Leukocytes and bacteria, in men with chronic prostatitis/chronic pelvic pain syndrome compared to asymptomatic controls[J]. J Urol, 2003;818-822.
- [7] 刘雅峰,周灿权. 慢性前列腺炎症状评分与前列腺液白细胞数量相关性分析[J]. 中国男科学杂志, 2008(2):55-56.
- [8] 司保红,陈耘. 前列腺液白细胞计数与慢性前列腺炎诊断 96 例临床分析[J]. 中国民康医学, 2010(10):1225.
- [9] 陈永昌. CP 患者前列腺按摩液中细胞因子及相关酶测定的临床意义[J]. 放射免疫学杂志, 2009(3):224-226.

(2014-10-25 收稿,2015-02-11 修回)

中文编辑: 戚璐;英文编辑: 赵毅

康复训练联合消栓颗粒治疗对脑卒中患者预后的影响

刘 萍

(北京市房山区中医医院 内科, 北京 102488)

[摘要] 目的: 探讨康复训练联合消栓颗粒对中风偏瘫患者预后的影响。方法: 将124例脑卒中偏瘫患者随机分为观察组及对照组, 对照组患者给予功能训练, 观察组在对照组治疗的基础上口服消栓颗粒, 疗程为3个月, 分别于治疗前、治疗后3个月时应用Fugl-Meyer(FMA)评价肢体运动功能、Barthel指数评价日常生活能力、L-ROM工具评估关节活动度, 并比较治疗前后血沉(ESR)、纤维蛋白原(Fb)、低切变率下全血黏度(nbl)、高切变率下全血黏度(nbh)水平。结果: 观察组治疗后下肢功能FMA评分、膝关节、髋关节活动度, 日常生活能力显著高于治疗前($P < 0.05$), 亦高于治疗后对照组($P < 0.05$); 观察组治疗后ESR、Fb、nbl、nbh水平显著低于对照组治疗后, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论: 功能训练联合消栓颗粒能有效改善脑中风患者肢体功能及血流指标, 改善患者预后。

[关键词] 功能训练; 消栓颗粒; 脑卒中; 偏瘫; 血液流变学

[中图分类号] R277.7; R743 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0407-03

The Effect of Rehabilitation Training Combined with Xiaoshuan Particles on Improving Stroke Prognosis

LIU Ping

(Department of Internal Medicine, Chinese Traditional Medicine Hospital of Fangshan District, Beijing 102488, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss effect of rehabilitation combined with Xiaoshuan particles on prognosis of stroke patients. **Methods:** A total of 124 stroke patients with hemiplegia were randomly divided into observation group and control group. The control group was treated with functional training and the observation group received Xiaoshuan particles for six months plus functional training. Fugl-Meyer assessment (FMA) was adopted to assess extremity motor function, Barthel index was adopted to assess activity of daily living and L-ROM was used to assess joint range of motion before treatment and 6 months after treatment. ESR, Fb, nbl and nbh levels were compared before treatment and after treatment. **Results:** In observation group, the FMA score of lower limb function, the activity degree of knee joint, the activity degree of hip joint and Barthel index after treatment were significantly higher than their counterparts before treatment ($P < 0.05$) and significantly higher than their counterparts after treatment in control group ($P < 0.05$). In observation group, ESR, Fb, nbl and nbh levels after treatment were significantly lower than their counterparts after treatment. **Conclusion:** Functional training plus Xiaoshuan particles can effectively improve physical function, cerebral blood flow index of stroke patients, and improve patient prognosis.

[Key words] functional training; Xiaoshuan particles; stroke; hemiplegia; hemorheology

脑卒中是临床常见的脑血管疾病, 致残率、病死率高, 预后差^[1]。偏瘫是脑卒中常见的并发症, 患者由于运动功能丧失, 严重影响其日常生活及工

作^[2]。功能训练是目前治疗脑卒中后偏瘫的有效方法, 通过对患者实施系统性的功能训练, 可有效改善患者运动功能及肢体灵活性, 改善患者生活质

量^[3]。研究证实,脑卒中后患者病灶周围存在缺血性半暗带,半暗带的范围与脑功能恢复具有密切的关系,通过改善患者脑血流及病灶周围半暗带代谢,对患者预后具有重要的意义^[4]。本研究对脑卒中偏瘫患者在功能训练的基础上应用消栓颗粒治疗,现将治疗效果报告如下。

1 资料及方法

1.1 临床资料

选取2012年6月~2014年6月收治124例脑卒中瘫痪患者为研究对象,根据随机数字表将患者分为观察组及对照组,每组各62例。对照组:男32例,女30例;48~82岁,平均 (62.3 ± 3.4) 岁;病程2~12 d,平均 (6.5 ± 2.2) d。观察组:男30例,女32例;46~80岁,平均 (61.5 ± 3.5) 岁;病程2~15 d,平均 (6.8 ± 3.4) d。入组标准:经头颅MRI/CT确诊,符合1995年全国脑血管会议诊断标准,生命体征稳定1周,格拉斯哥量表(GCS)评分>9分,即意识正常;Fugl-Meyer运动功能评分<71分,为运动功能障碍;符合廖鸿石《康复医学理论与实践》中对注意力障碍的诊断标准^[5],均签署知情同意书。排除标准:肝、肾、心功能不全、脑干出血、脑血管瘤破裂出血、脑部手术、溶栓治疗、恶性肿瘤、癫痫病史、听力障碍及对利他林过敏的患者。两组患者性别、年龄、病程及脑卒中类型差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

两组患者在生命体征平稳72 h后进行功能康复锻炼:(1)尽可能在患者肢体正常活动的范围内协助患者被动活动肢体;(2)鼓励患者以健侧肢体协助患侧肢体进行活动;(3)鼓励及协助患者进行站立训练;(4)坐位训练,角度从低至高,逐渐增加角度至90°;(5)负重训练;(6)床上训练,包括平移、翻身、躯干训练、桥式训练、上肢控制能力训练;(7)日常生活功能训练,包括穿衣、进食、刷牙、洗

坐、如厕、负重、站立、离床等训练。观察组在康复锻炼基础上同时加服消栓颗粒(哈药集团中药二厂),4 g/次,3次/d口服。两组均以治疗1个月为1个疗程,治疗3个疗程后观察疗效。治疗期间通过电话、邮件或门诊随诊等方式加强对患者随访,随访期间无患者发生滑落。

1.3 评价指标

(1)下肢运动功能:采用Fugl-Meyer(FMA)评价患者肢体运动功能,总分为100分,96~99分为轻度运动障碍,85~95分为中度运动障碍,50~84分为明显运动障碍,<50分为严重运动障碍^[6]。(2)关节活动度:采用瑞士Hocoma医疗器械公司研发的L-ROM工具对患者关节活动度进行评估,L-ROM可精确测量患者在没有动力支持下膝关节及髋部被动活动的范围及肌肉完全放松下关节运动的弧度。(3)日常生活能力:采用Barthel指数评估患者日常生活能力,总分为100分,分数越高,生活自理能力越强^[7]。(4)血流指标:两组患者治疗前后抽取静脉血4 mL,以3 000 r/min离心15 min,取上清液-80℃冰箱中备用,采用美国Cardiodynamics公司生产的Bioz.Com数字化无创血流动力学检测仪监测血沉值(ESR)、纤维蛋白原(Fb)、低切变率下全血黏度(nbl)、高切变率下全血黏度(nbh)。

1.4 统计学方法

采用SPSS 17.0统计学软件进行数据分析,计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 膝关节功能及关节活动度

两组治疗后3个月FMA评分、膝关节、髋关节活动度显著高于治疗前($P<0.05$),治疗后观察组高于对照组($P<0.05$)。见表1。

表1 两组脑卒中患者治疗前后膝关节功能及关节活动度($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of low extremity motor function and activity degree of joint before and after treatment in the two groups

组别	n	下肢运动功能(分)		膝关节活动度(°)		髋关节活动度(°)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	64	28.25±8.85	50.39±12.58 ⁽¹⁾	11.65±2.78	28.48±2.36 ⁽¹⁾	8.36±1.02	17.02±3.35 ⁽¹⁾
对照组	64	28.78±8.98	40.12±14.02 ⁽¹⁾	11.22±2.56	21.23±2.58 ⁽¹⁾	8.42±1.07	14.63±1.36 ⁽¹⁾
t值		0.125	5.789	0.187	6.789	0.142	5.223
P值		0.789	0.000	0.823	0.000	0.812	0.002

⁽¹⁾与治疗前相比, $P<0.05$

2.2 日常生活能力

观察组治疗后 Barthel 指数均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 两组脑卒中患者治疗前后日常生活能力($\bar{x} \pm s$,分)

Tab. 2 The Barthel index before and after treatment in two groups

组别	n	日常生活能力(Barthel 指数)			
		治疗前	治疗后	t	P
观察组	64	28.96 ± 8.12	68.12 ± 20.45	12.252	0.000
对照组	64	29.12 ± 8.45	50.36 ± 19.11	5.986	0.002
t		0.185	6.396		
P		0.812	0.000		

表 3 两组脑卒中患者治疗前后 Fb、ESR、nbl、nbh 水平($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of ESR, Fb, nbl and nbh levels before and after treatment in two groups

组别	例数	ESR(mm/h)		Fb(g/L)		nbl(mPa·s)		nbh(mPa·s)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	64	23.29 ± 3.49	14.36 ± 4.19 ⁽¹⁾	389.57 ± 34.24	214.32 ± 22.96 ⁽¹⁾	10.35 ± 1.27	4.86 ± 1.74 ⁽¹⁾	6.31 ± 1.22	3.72 ± 1.63 ⁽¹⁾
对照组	64	23.96 ± 3.52	19.22 ± 4.32 ⁽¹⁾	386.12 ± 32.73	321.24 ± 23.24 ⁽¹⁾	10.42 ± 1.53	7.67 ± 1.46 ⁽¹⁾	6.28 ± 0.98	4.37 ± 1.72 ⁽¹⁾
t 值		0.472	4.452	0.523	7.235	0.242	5.252	0.412	3.825
P 值		0.798	0.012	0.821	0.000	0.352	0.000	0.128	0.000

⁽¹⁾与治疗前相比, $P < 0.05$

的突触被代偿使用,通过被动运动对患者进行功能锻炼可使正常功能的神经环路网络重新组合,大脑功能得到恢复。脑组织细胞的修复是一个缓慢的过程,患者需要持之以恒进行康复训练才能达到康复的目的,而对于部分锻炼依从性较差的患者由于锻炼强度及时间不够,从而影响其治疗效果^[10-11]。

中医认为治风先治血、血行风自灭,因此增加血流速度,增加脑血流量对改善脑中风患者预后具有积极的意义。消栓颗粒是在清代名方“补阳还五汤”的基础上研发生产的,能有效治疗中风半身不遂,药方由黄芪、地龙、川芎嗪、红花、赤芍等多种名贵药材组成。黄芪具有保护脑细胞、增加脑组织葡萄糖含量,促进脑组织复苏,改善微循环,抵抗自由基,降低血液黏稠度;地龙含有大量水解蛋白酶能有效溶解动脉斑块及血栓,软化血管,恢复血管弹性;川芎嗪可诱导及抑制血小板聚集,阻止血栓形成,增加冠脉血流量,降低冠脉阻力及脉压;红色素可改善血流,增加毛细血管数目,降低血细胞聚集程度及改善微循环;赤芍总苷可延长凝血活酶时间,激活纤溶酶原,溶解凝固的纤维蛋白,激活纤溶酶原及抑制凝血酶从而起到阻止血栓形成的作用^[12]。邹春颖等^[13]研究也指出消栓颗粒可有效

2.3 Fb、ESR、nbl 及 nbh

观察组治疗后 Fb、ESR、nbl、nbh 水平低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

3 讨论

研究认为,早期康复训练可有效降低脑卒中患者致残率,改善患者运动功能,提高患者生活质量^[8]。相关研究指出,脑卒中后病灶周围的半暗带存在活的细胞,早期康复的目的是为了刺激半暗带细胞,同时增加脑血流灌注,从而改善脑细胞活性^[9]。此外,中枢神经系统受损后,处于休眠状态

消除血管壁上脂质沉积斑,疏通心脑血管微循环,从而消除血栓形成因素。陈光明等^[14]研究发现消栓颗粒对实验性大鼠模型的血栓形成有明显抑制作用,进而表明消栓颗粒能有效改善脑卒中患者血液黏稠度,促进脑血管血流循环,有利于改善脑细胞功能,促进机体新陈代谢,改善患者预后。本研究结果显示,观察组治疗后下肢运动能力、关节活动度、日常生活能力评分高于对照组,Fb、ESR、nbl、nbh 水平低于对照组($P < 0.05$),从而表明功能训练联合消栓颗粒能有效改善脑中风患者肢体功能及脑血流指标,促进患者预后。

综上所述,功能训练联合消栓颗粒能有效改善脑卒中偏瘫患者关节活动度、日常生活能力,有助于促进脑卒中偏瘫患者康复。

4 参考文献

[1] 刘敏,于元英,初悦美,等.高压氧联合吞咽功能训练治疗脑卒中后吞咽困难[J].中国康复,2012(27):169-170.
[2] 韦坚.脑卒中偏瘫患者规范化康复研究[J].河北医学,2011(17):1014-1017.

(下转第 412 页)

浓替硝唑含漱液治疗智齿冠周炎的临床疗效

侯 豫

(贵阳市第一人民医院 口腔科, 贵州 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 观察浓替硝唑含漱液局部应用治疗冠周炎的临床疗效。方法: 将80例冠周炎患者随机分成观察组和对照组, 每组40例, 观察组采用浓替硝唑含漱液局部治疗, 对照组采用传统的双氧水、生理盐水局部治疗; 观察治疗后第3天两组冠周炎患者的临床疗效及对4类口腔厌氧菌的杀菌效果及清除率。结果: 治疗后, 观察组和对照组患者的总有效率分别为100%和65%, 观察组的有效率明显高于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 两组患者治疗后, 对4类口腔主要厌氧菌均有一定的杀菌效果, 总清除率分别为72%和49%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论: 浓替硝唑含漱液局部治疗冠周炎疗效显著, 值得临床推广应用。

[关键词] 浓替硝唑含漱液; 冠周炎; 厌氧菌; 口腔; 疗效

[中图分类号] R781.4 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0410-03

Clinical Efficacy of Concentrated Tinidazole Gargles on Pericoronitis of Wisdom Tooth

HOU Yu

(Department of Stomatology, the First People's Hospital of Guiyang City, Guiyang 550002, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the clinical efficacy of concentrated tinidazole gargles on pericoronitis. **Methods:** Eighty cases with pericoronitis were randomly divided into experimental group treated with concentrated tinidazole gargles and control group treated with conventional hydrogen peroxide and saline. Clinical efficacy of both the two groups in the 3rd day after treatment was observed, bactericidal effect and clearance rate of the four kinds of oral anaerobes were detected. **Results:** The clinical efficacy of the experimental group and the control group was 100% and 65% respectively, and the difference was significant ($P < 0.05$). Bactericidal effect on the four kinds of oral anaerobes in experimental group was better than that in control group. Further, the total clearance rate of the oral anaerobes was 72% in the experimental group and 49% in the control group, the difference was statistically significant as well ($P < 0.05$). **Conclusions:** The concentrated tinidazole gargles in treatment of pericoronitis is superior to conventional method, and this treatment is worthy of clinical application.

[Key words] concentrated tinidazole gargles; pericoronitis; anaerobes, oral; curative efficacy

智齿冠周炎是口腔科常见病及多发病,是指磨牙萌出不全或阻生时,牙冠周围软组织发生炎症,临床上以下颌第3磨牙发病率最高。智齿冠周炎多见于青壮年,具有起病急、发展快、症状重的特点,常伴有邻近组织间隙感染,邻牙远中龋、面部皮疹及骨髓炎等并发症^[1]。冠周炎是以厌氧菌感染为主的一种混合感染,如何有效控制厌氧菌的感染

是治疗冠周炎的关键^[2]。替硝唑对大多数厌氧菌有抗菌作用,但由于替硝唑口服制剂的不良反应多于局部用药,局部用药治疗智齿冠周炎是目前临床上最常用的治疗方法。本研究对40例智齿冠周炎患者采用浓替硝唑含漱液局部冲洗盲袋,并与临床上常用的双氧水及生理盐水交替冲洗盲袋的治疗方法比较,评价及观察其疗效,报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2013 年 5 月 ~ 2013 年 10 月在口腔科就诊智齿冠周炎患者 80 例,男 42 例,女 38 例,下颌第 3 磨牙部分萌出,远中和颊侧有牙龈瓣覆盖并形成盲袋,冠周软组织红肿、糜烂、疼痛、溢脓、无脓肿形成,有轻度或中度张口受限。经影像学检查确诊为智齿冠周炎但不伴有间隙感染和全身症状的患者,随机分为观察组和对照组,每组 40 例,排除对替硝唑类药物过敏者、孕妇、哺乳期妇女、糖尿病患者、肝肾功能障碍患者、治疗期间应用其他抗菌药物者。

1.2 方法

观察组采用浓替硝唑含漱液(浙江杭康药业有限公司,国药准字 H20010709,200 mL 中含 0.4 g 替硝唑)2 mL 加入 50 mL 温开水中冲洗盲袋,冲洗时要避免刺伤牙龈组织,针头尽量进入盲袋深部将盲袋内的脓液和食物残渣清洗干净,冲洗干净后再用浓替硝唑含漱液含漱 2 min。对照组用 3% 的双氧水(山东利尔康消毒科技股份有限公司,卫消字 2008 第 0119 号,规格 100 mL)和 0.9% 生理盐水(四川科伦药业股份有限公司,国药准字 H51021157,250 mL 中含 2.25 g NaCl)交替冲洗盲袋。两组患者冲洗完后均将盲袋隔湿、吹干后放置碘酚甘油(本院自己配制),2 次/d,连续治疗 3 d。

1.3 观察指标

1.3.1 疗效判断 于用药前及用药后第 3 天按照参考文献[2]评定疗效,计算总有效率。显效,临床症状明显好转,肿胀充血明显减退,疼痛明显减轻;有效,临床症状改善,肿胀充血减退,疼痛减轻;无效,临床症状无改善,冠周软组织仍肿胀充血,仍然有疼痛感。以有效数 + 显效数为总有效数。治疗 3 d 后对两组患者的总有效率进行比较。

1.3.2 治疗前后盲袋内细菌 参照参考文献[3]分别在每位患者初诊和用药后的同一部位采集盲袋内分泌物,用无菌生理盐水漱口 50 s,用无菌刮匙从冠周远中盲袋内刮取脓性分泌物采用厌氧培养技术进行细菌培养,根据生物学特性鉴定菌属,涂片染色,记录菌落数。记录治疗前后每种细菌的菌落数,相加得出每种细菌菌落治疗前后的总数,计算两组治疗对 4 类口腔厌氧菌的杀菌效果及清除率。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件进行数据处理,数据采用率(%)表示,两两比较采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组临床疗效

治疗后,观察组和对照组患者的总有效率分别为 100% 和 65%,观察组的有效率明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组冠周炎临床疗效比较

Tab. 1 Comparison of the clinical efficacy of pericoronitis in the two groups

组别	n	显效	有效	无效	总有效率(%)
观察组	40	35	5	0	100 ⁽¹⁾
对照组	40	17	10	3	67

⁽¹⁾ 与对照组比较, $P < 0.05$

2.2 两组治疗对 4 类口腔厌氧菌的杀菌效果

两组患者治疗后,对 4 类口腔主要厌氧菌均有一定的杀菌效果,治疗组优于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),对 4 类口腔主要厌氧菌的总清除率分别为 72% 和 49%,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结果见表 2。

表 2 两组治疗对 4 类口腔厌氧菌的杀菌效果

Tab. 2 The bactericidal effects on the four kinds of oral anaerobes in the two groups

组别		消化链球菌	伴放线杆菌	中间普氏菌	梭形杆菌	总菌落数	总清除率(%)
观察组	治疗前	17	10	12	8	47	72 ⁽¹⁾
	治疗后	3	3	4	3	13 ⁽¹⁾	
对照组	治疗前	15	9	16	7	47	49
	治疗后	8	5	8	4	25	

⁽¹⁾ 与对照组比较, $P < 0.05$

3 讨论

智齿冠周炎通常以急性炎症的形式出现,如果不及治疗,炎症可以通过淋巴管扩散,引起颌面部蜂窝组织间隙如咬肌间隙、翼颌间隙的感染,严重的还可以造成颌骨髓炎。冠周炎早诊断早治疗非常必要。

冠周炎是以厌氧菌感染为主的混合性感染,患

者感染后大量的细菌往往藏匿于阻生牙的冠周盲袋内,因此有效清除盲袋内的厌氧菌是治疗冠周炎的关键。浓替硝唑含漱液的主要成分是替硝唑,替硝唑为第2代5-硝基咪唑衍生物,具有较强的抗原虫和抗厌氧菌作用,作用机制为分子中所含硝基被厌氧菌的硝基还原酶还原成一种细胞毒素,抑制细菌的DNA合成,促使细菌细胞死亡。替硝唑的抗菌谱包括所有厌氧菌和嗜二氧化碳的微生物,比甲硝唑更易透入细菌内,抗菌效力是甲硝唑的2~4倍,不良反应发生率低^[4-5]。浓替硝唑含漱液性质比较稳定,常温下可以有效保存2年^[6]。本研究通过对治疗前后盲袋内4类厌氧菌菌株的测定,结果显示两组患者在治疗后,4种细菌均有所减少,且观察组的细菌数减少明显高于对照组。说明采用浓替硝唑含漱液局部冲洗的方法治疗冠周炎,在保持良好药效的同时大大减少了药物的用量,更减少了不良反应的发生,浓替硝唑含漱液局部应用没有出现不良反应,患者耐受性好。由此也可不难看出浓替硝唑能有效地抑制引起冠周炎的常见病原菌,疗效显著,本研究治疗总有效率达到100%,从根本上起到了治疗的作用,缩短了治疗的时间。本研

究还发现,采用浓替硝唑含漱液局部冲洗的观察组疗效和细菌的清除率均优于传统的双氧水、生理盐水局部冲洗的对照组,且组间比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。综上所述,浓替硝唑含漱液局部冲洗治疗冠周炎疗效显著,值得广泛应用于临床。

4 参考文献

- [1] 程传照. 500例智齿冠周炎的临床分析[J]. 临床口腔医学杂志, 2006(10):627-628.
- [2] 邱蔚六. 口腔颌面外科学. 北京:人民卫生出版社, 2001:124.
- [3] 李立芳,张勇. 局部应用中成药控释药条治疗急性冠周炎的临床观察, 2013(9)909-911.
- [4] 毛守慧. 替硝唑治疗牙周炎疗效观察[J]. 临床合理用药杂志, 2010(6):42.
- [5] 王伟洪. 甲硝唑与替硝唑治疗牙周炎的疗效比较[J]. 当代医学, 2009(1):140-141.
- [6] 潘细贵,王军,罗毅. 替硝唑漱口水稳定性研究[J]. 中国医院药学杂志, 1999(3):158-159.
(2015-01-11 收稿,2015-03-25 修回)
中文编辑:刘平;英文编辑:周凌
- [3] Kim K, Lee B, Lee W. Effect of gross motor group exercise on functional status in chronic stroke: a randomized controlled trial[J]. J Phys Ther Sci, 2014(26):977-980.
- [4] 陈光明,高丽芳,许慧娜,等. 消栓颗粒对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠脑组织 Bcl-2、Bax 蛋白的影响[J]. 实用儿科临床杂志, 2012(27):1603-1606.
- [5] 廖鸿石. 康复医学理论与实践[M]. 上海:上海科学技术出版社, 2000:1242-1243.
- [6] Burke E, Dobkin BH, Noser EA1, et al. Predictors and biomarkers of treatment gains in a clinical stroke trial targeting the lower extremity[J]. Stroke, 2014(45):2379-2384.
- [7] Tan Z, Liu H, Yan T, et al. The effectiveness of functional electrical stimulation based on a normal gait pattern on subjects with early stroke: a randomized controlled trial[J]. Biomed Res Int, 2014(5):189-192.
- [8] 朱丹. 消栓颗粒治疗脑血管病80例疗效分析[J]. 中国医药指南, 2013(14):285-285.
- [9] Austin MW, Ploughman M, Glynn L, et al. Aerobic exercise effects on neuroprotection and brain repair following stroke: A systematic review and perspective[J]. Neurosci Res, 2014(2):72-78.
- [10] 刘洁,刘彤,万勇,等. 早期功能训练对脑卒中急性下肢深静脉血栓形成的影响[J]. 中国康复, 2013(28):117-119.
- [11] 张志强. 脑卒中康复治疗[J]. 中国实用内科杂志, 2012(9):660-662.
- [12] 赵志丽. 消栓颗粒治疗脑梗死恢复期疗效观察[J]. 实用心脑血管病杂志, 2011(19):590-591.
- [13] 邹春颖,黄作义,张晓梅,等. 消栓颗粒治疗中风后遗症疗效分析与评价[J]. 临床合理用药杂志, 2011(4):49-50.
- [14] 陈光明,高丽芳,许慧娜,等. 消栓颗粒对缺氧缺血性脑损伤新生大鼠脑组织 Bcl-2、Bax 蛋白的影响[J]. 实用儿科临床杂志, 2012(27):1603-1606.
(2014-11-15 收稿,2015-03-10 修回)
中文编辑:刘平;英文编辑:刘华

利用定量组织速度成像技术分析原发性高血压心室舒张功能

洪 刘¹, 吴立荣¹, 谭 青², 刘廷筑^{1,3*}

(1. 贵阳医学院, 贵州 贵阳 550004; 2. 贵阳市第一人民医院 超声科, 贵州 贵阳 550002; 3. 贵阳市第一人民医院 心内科, 贵州 贵阳 550002)

[摘要] 目的: 利用定量组织速度成像技术(QTVI)探讨原发性高血压患者心室舒张功能减退的规律。方法: 选择原发性高血压患者151例作为实验组, 健康体检者40例作为对照组, 检测舒张早期(Em)及舒张晚期(Am)左右房室瓣环室间隔处、侧壁处组织速度峰值, 并计算Em/Am比值。结果: 实验组心室舒张功能减退发生率高于对照组, 随血压级别升高及病程进展室间隔、左心室游离壁舒张功能减退发生率逐渐增高, 病程1~4.9年患者单独右心室舒张功能减退发生率高于病程5~9.9年及10~15年患者。结论: 原发性高血压患者随病程、级别增加, 心脏局部舒张功能减退呈现由右室向室间隔及左室发展趋势, 右心室舒张功能减退早于左心室。

[关键词] 高血压; 超声检查; 定量组织速度成像技术; 心脏舒张功能

[中图分类号] R544.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0413-03

Applying Quantitative Tissue Velocity Imaging Technique to Evaluate the Right Ventricular Diastolic Function in Essential Hypertension

HONG Liu¹, WU Lirong², TAN Qing³, LIU Tingzhu¹

(1. Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou, China; 2. Department of Ultrasonography, the First People's Hospital of Guiyang, Guiyang 550002, Guizhou, China; 3. Department of Cardiology, the First People's Hospital of Guiyang, Guiyang 550002, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the rule of right ventricular diastolic function subsiding of essential hypertension by applying quantitative tissue velocity imaging technique (QTVI). **Methods:** A total of 151 patients with essential hypertension were assigned as experiment group and 40 healthy people as control group. Detecting the late diastolic (Am) and early diastolic (Em) of tissue velocity peaks: septum and sidewall of right and left atrioventricular annulus, and then calculating Em/Am ratio. **Results:** The incidence of right ventricular diastolic function subsiding in experiment group was higher than control group; the incidence of diastolic dysfunction of interventricular septum, left ventricular free wall gradually increased with the increase of blood pressure level and disease progression; single right heart diastolic dysfunction incidence of 1 to 4.9 years disease course group was higher than that of 5~9.9 years and 10~15 years disease course groups. **Conclusions:** With the increase of the course and severity of the disease in hypertensive patients, cardiac diastolic dysfunction exhibits by right ventricular developing to interventricular septum and left ventricular, the changes of right ventricular are earlier than left ventricular ones.

[Key words] hypertension; ultrasonography; quantitative tissue velocity imaging technique; cardiac diastolic function

* 通信作者 E-mail: liutingzhu@medmail.com.cn

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1822.001.html>

传统观点认为,原发性高血压病程发展到后期,左心室压力增高并通过肺循环系统传递到右心室后,才会引起右心室重构及舒张、收缩功能的改变,但常规超声心动图检查发现,部分患者早期即有右心室舒张功能的改变^[1]。本文应用定量组织速度成像(quantitative tissue velocity imaging, QT-VI)技术,对原发性高血压患者心室舒张功能进行评价,并探讨不同级别、不同病程原发性高血压患者心室舒张功能的变化规律。

1 资料和方法

1.1 一般资料

按照 2010 年中国高血压指南委员会确定的诊断标准及分类标准,选择门诊及住院原发性高血压患者 151 例作为实验组。高血压分级 1 级 90 例,2 级 53 例,3 级 8 例;高血压病程 1 年~4.9 年者 55 例,5 年~9.9 年者 59 例,10 年~15 年者 37 例;男 81 例,女 70 例;30~70 岁,平均(61 ± 6.5)岁。随机选择 40 名健康体检者作为对照组,男 28 例,女 12 例,32~68 岁,平均(57 ± 11)岁。

1.2 检测方法

采用飞利浦 IU22 型超声诊断仪,探头频率 2.5 MHz。受检者左侧卧位或平卧位;平静呼吸,取呼气末标准左心室长轴观二维图像及心尖四腔观二维图像,常规测量后,将取样容积分别放置于右房室瓣环侧壁(RAVP1)处,右房室瓣环室间隔(RAVP2)处,左房室瓣环室间隔(LAVP1)处及左房室瓣环侧壁(LAVP2)处,设取样容积 3 mm,并转换为 DTI 形式,启动 QTVI 功能软件(QLAB 软件包)在机定量分析组织速度频谱图,分别记录上述

部位舒张早期(E_m)与舒张晚期(A_m)的组织速度峰值,计算 E_m/A_m ,以 $E_m/A_m < 1$ 定义为局部舒张功能减退。按照心室局部 RAVP1、RAVP2、LAVP1、LAVP2 舒张功能减退情况,将实验组患者分为 5 组:A 组为仅 RAVP1 处舒张功能减退而其他部位正常,B 组为 RAVP1 + RAVP2 和(或) LAVP1 处舒张功能减退,C 组为 RAVP1 + LAVP2 处舒张功能减退,D 组为 RAVP1 + RAVP2 和(或) LAVP1 + LAVP2 处舒张功能减退,E 组无任何部位发生舒张功能减退。

1.3 观察指标

比较实验组和观察组性别、年龄、体重指数(BMI)、血糖(BS)、总胆红素(TBIL)、谷草转氨酶(AST)、尿素氮(BUN)、总胆固醇(TC)等指标,比较两组的心室舒张功能;观察实验组不同级别高血压患者心室舒张功能减退情况,同时分析不同病程高血压患者(A、B、C、D 和 E 组)四部位心室舒张功能减退情况。

1.4 统计学分析

数据处理采用 SPSS 19 软件。各项参数的数值以均数($\bar{x} \pm s$)表示,对数据进行正态检验后,采用 t 检验。 E_m/A_m 比值用卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本情况

两组被检者性别、年龄、体重指数(BMI)、血糖(BS)、总胆红素(TBIL)、谷草转氨酶(AST)、尿素氮(BUN)、总胆固醇(TC)比较,差异无统计学意义, $P > 0.05$ 。见表 1。

表 1 两组被检者年龄、性别、体重指数及血生化指标($\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Age, gender, heart rate, body mass index and biochemical indexes in each group

组别	例数	年龄(岁)	性别(男/女)	BMI (g/m^2)	BS(mmol/L)	TBIL ($\mu mol/L$)	AST(U/L)	BUN (mmol/L)	TC(mmol/L)
实验组	151	61 ± 6.5	81/70	25.3 ± 2.3	5.0 ± 0.7	12.3 ± 1.6	20 ± 6	5.0 ± 0.8	4.8 ± 0.7
对照组	40	57 ± 11	24/16	24.3 ± 2.6	4.8 ± 0.7	12.2 ± 1.3	21 ± 6	4.8 ± 0.6	4.6 ± 0.7
$t(\chi^2)$		1.591	0.516	1.314	1.138	0.113	-0.024	0.771	0.975
P		0.119	0.472	0.194	0.261	0.910	0.981	0.445	0.332

2.2 心室舒张功能

实验组患者 RAVP1、RAVP2、LAVP1、LAVP2 四点舒张功能减退的发生率均高于对照组,差异有

统计学意义, $P < 0.05$ 。实验组患者 RAVP2 与 LAVP1 两点舒张功能减退的发生率比较,差异无统计学意义, $P > 0.05$ 。见表 2。

表 2 两组四部位舒张功能减退发生率(*n*,%)

Tab. 2 Incidence of diastolic dysfunction of the four parts in control group and hypertension group

组别	<i>n</i>	Em/Am < 1 发生率				χ^2	<i>P</i>
		RAVP1	RAVP2	LAVP1	LAVP2		
对照组	40	28(70)	6(15)	6(15)	4(10)	19.201	0.000
实验组	151	146(96.7) ⁽¹⁾	117(77.5) ⁽¹⁾	117(77.5) ⁽¹⁾	91(60.2) ⁽¹⁾		

⁽¹⁾与对照组比较, $P < 0.05$

2.3 不同级别高血压患者心室舒张功能减退情况

高血压 2、3 级患者的 RAVP2、LAVP1 舒张功能减退发生率均高于高血压 1 级患者,差异有统计

学意义($P < 0.05$);高血压 3 级患者 LAVP2 处舒张功能减退发生率均高于高血压 1 级患者,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表 3 不同级别高血压患者心室舒张功能减退发生率(*n*,%)

Tab. 3 Incidence of ventricular diastolic dysfunction of patients with different grades of hypertension

高血压分级	<i>n</i>	Em/Am < 1			
		RAVP1	RAVP2	LAVP1	LAVP2
高血压 1 级	90	86(95.6)	61(67.8)	60(66.7)	50(55.6)
高血压 2 级	53	52(98.1)	48(90.6) ⁽¹⁾	49(92.5) ⁽¹⁾	34(64.2)
高血压 3 级	8	8(100)	8(100) ⁽¹⁾	8(100) ⁽¹⁾	7(87.5) ⁽¹⁾

⁽¹⁾与高血压 1 级比较, $P < 0.05$

2.4 不同病程高血压患者四部位心室舒张功能减退情况

对不同病程高血压患者进行分析,结果发现,A 组 1~4.9 年病程患者舒张功能减退的发生率较 5~9.9 年、10~15 年病程患者高,差异有统计学意义, $P < 0.05$;随病程进展,D 组 1~4.9 年、5~9.9

年、10~15 年病程患者舒张功能减退的发生率明显升高,差异有统计学意义, $P < 0.05$ 。不同病程高血压患者间舒张功能减退的总构成比,利用双向列联表进行卡方检验 Fisher 确切概率法,差异有统计学意义($\chi^2 = 37.303, P < 0.01$)。见表 4。

表 4 高血压组不同病程患者局部舒张功能减退在不同部位组合发生的比较(*n*,%)

Tab. 4 Incidence of ventricular diastolic dysfunction of patients with different hypertension courses

病程(年)	<i>n</i>	心室舒张功能减退(<i>n</i> ,%)					χ^2	<i>P</i>
		A	B	C	D	E		
1~4.9	55	15(27.2)	19(34.5)	4(7.3)	14(25.5)	3(5.5)	37.303	0.000 ⁽³⁾
5~9.9	59	2(3.4) ⁽¹⁾	24(40.7)	5(8.4)	27(45.8) ⁽¹⁾	1(1.7)		
10~15	37	1(2.7) ⁽¹⁾	4(10.8) ⁽¹⁾⁽²⁾	2(5.4)	29(78.4) ⁽¹⁾⁽²⁾	1(2.7)		

⁽¹⁾与 1~4.9 年比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾与 5~9.9 年比较, $P < 0.05$; ⁽³⁾高血压各病程间舒张功能减退的总构成比, $P < 0.01$

3 讨论

QTVI 技术能够从心肌组织提取多普勒频移信号,直接对心肌组织进行机械运动速率测量,检测结果受血流动力学、呼吸及心房压等影响较小,对于心室舒张功能的判断较传统脉冲血流多普勒测量更为准确。

RAVP1 位于右室侧壁与右房室瓣环交接点,其 Em/Am 反映的是右室舒张功能;LAVP2 位于左室侧壁与左房室瓣环交接点,其 Em/Am 反映的是左

室舒张功能;而 LAVP1、RAVP2 位置分别在室间隔与左、右房室瓣环交接点,其 Em/Am 分别反映了部分左、右室舒张功能。有研究表明,左、右房室瓣环室间隔处 Em/Am 比值由于心肌结构原因能共同预测两侧心室部分舒张功能^[1-2]。

传统观点认为右心室在循环中发挥的功能不甚重要,是腔静脉与肺动脉之间一个被动的容量管道,高血压病人右心室结构改变通常被认为是疾病晚期出现的一种机械性代偿改变。近年有研究表明,原发性高血压不但引起左室重构,而且早期即

(下转第 419 页)

盆底肌群功能训练对初产妇顺产后尿失禁的效果*

李俊英, 贾秀荣, 刘富霞

(张家口市第五医院 妇产科, 河北 张家口 075000)

[摘要] 目的: 探讨盆底肌群训练对初产妇顺产后压力性尿失禁(SUI)的治疗效果。方法: 选择初产妇顺产后尿失禁患者130例, 随机分为两组, 观察组于产后6周后将训练圆锥置入阴道, 并作收缩盆底肌动作, 每次15~20 min, 每天训练3次; 对照组口服盐酸米多君2.0 mg/次和替勃龙2.5 mg/次, 一日3次; 连续治疗两个月后, 观察两组产妇的盆底肌综合收缩力、盆底肌肉功能和尿道功能。结果: 治疗后, 观察组盆底肌肉综合收缩力优于对照组($P < 0.05$); 阴道静息压(VRP)、阴道收缩压(VSP)和阴道收缩持续时间高于对照组($P < 0.05$), 功能性尿道长度及最大尿道关闭压高于对照组($P < 0.05$)。结论: 产后盆底功能康复训练治疗, 能有效改善盆底肌肉及尿道功能, 降低尿失禁的发生率, 对于产后SUI发生具有一定的治疗效果。

[关键词] 盆底肌群; 功能训练; 初产妇; 顺产; 尿失禁

[中图分类号] R714.3; R714.69 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0416-04

Effect of Pelvic Floor Muscle Training on Urinary Incontinence after Delivery of Primipara

LI Junying, JIA Xiurong, LIU Fuxia

(Department of Gynecology and Obstetrics, Fifth Hospital of Zhangjiakou, Zhangjiakou 075000, Hebei, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the therapeutic effect of pelvic floor muscle training on stress urinary incontinence (SUI) after delivery of primipara. **Methods:** A total of 130 primiparas with SUI after delivery were divided randomly into two groups. In the observation group, training cone was inserted into vagina after 6 postnatal weeks and began pelvic floor muscle contraction, every time 15 ~ 20 minutes, three times a day; the control group was given midodrine hydrochloride 2.0 mg/ and tibolone 2.5 mg/time orally, three times a day. After two months, observing contraction force, pelvic floor muscle function and urethral function. **Results:** Pelvic floor muscle comprehensive contraction force of the observation group was better than the control group ($P < 0.05$); vaginal resting pressure (VRP), vaginal systolic blood pressure (VSP) and vaginal contraction duration were higher than the control group ($P < 0.05$); functional urethral length and the maximum urethral closure pressure were higher than that of the control group ($P < 0.05$). **Conclusions:** Pelvic floor muscle training can effectively improve the pelvic floor muscle and urethral function, reduce the incidence of urinary incontinence, and is effective for postpartum SUI.

[Key words] pelvic floor muscles; functional training; primipara; vaginal delivery; urinary incontinence

女性盆底功能障碍性疾病(pelvic floor dysfunctional disease, PFD)是指盆底组织支持结构损伤、缺陷及功能障碍造成的一种疾病, 主要表现为

盆腔器官脱垂(pelvic organ prolapse, POP)和压力性尿失禁(Stress Urinary Incontinence, SUI)。SUI指腹压增加导致尿液不自主地流出, 而不是由膀胱

*[基金项目] 河北省科学技术成果(编号: 20122024)

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1844.011.html>

逼尿肌收缩及膀胱壁对尿液的压力引起的排尿动作,而妊娠和分娩引起的机械性可损伤盆底肌肉及其支持组织,是导致尿失禁的重要因素,在咳嗽、喷嚏等腹压突然升高时发生不自主尿液流出,严重影响女性生活质量^[1]。传统的药物治疗虽然能够有效缓解尿失禁症状,但对盆底组织的改善无明显作用,本研究对初产妇进行盆底肌群康复训练治疗SUI,旨在探讨其对SUI临床效果。

1 临床资料

1.1 一般资料

选择2012年5月~2014年5月收治的初产妇顺产后尿失禁患者130例,所有患者均行阴道自然分娩,膀胱内压力正常,排除有神经源性膀胱炎,并且尿垫试验阳性,排除有泌尿系感染及肾脏疾病。所有患者随机分为两组,每组各65例。观察组初产妇年龄21~35岁,平均(26.5±5.7)岁,孕周36~40周,平均(38.5±6.2)周,分娩时体重64.5~79.3 kg,平均(67.8±11.5)kg;分娩的新生儿体重2 998.25~3 845.45 g,平均(3 268.15±265.45)g, Apgar评分8~10分。对照组初产妇年龄22~34岁,平均(25.8±6.2)岁,孕周36~41周,平均(38.8±5.9)周,分娩时体重65.8~79.7 kg,平均(68.1±11.3)kg,分娩的新生儿体重2 988.75~3 787.35 g,平均(3 316.20±270.35)g, Apgar评分8~10分。两组一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

观察组在产后6周给予盆底肌群康复训练,训练时,产妇阴道内置入训练圆锥,重量以恰好有向阴道外滑动感觉作为选择标准,指导患者做收缩盆底肌肉动作,每次15~20 min,每天训练3次,治疗

期间根据患者个体恢复情况增加圆锥重量。对照组口服盐酸米多君2.0 mg/次,一日3次;替勃龙2.5 mg/次,一日3次。两组患者均连续治疗两个月。

1.3 观察指标

1.3.1 盆底肌肉综合收缩力 参照盆底肌肉综合收缩力分级标准评定两组治疗前后盆底肌肉综合收缩力^[2]。0级:盆底肌肉无收缩力;Ⅰ级:盆底肌肉颤动持续时间>1 s;Ⅱ级:盆底肌肉不完全收缩持续时间1~2 s;Ⅲ级:盆底肌肉完全收缩持续2~3 s;Ⅳ级:盆底肌肉可完全收缩,并能持续对抗3~4 s;Ⅴ级:盆底肌肉能完全收缩,持续对抗时间>4 s以上。

1.3.2 盆底肌肉功能 采用盆底肌肉康复仪(法国PHENIX)测定两组治疗前后阴道静息压(VRP)、阴道收缩压(VSP)及阴道收缩持续时间。

1.3.3 尿道功能 采用Laborie尿动力学检查仪(美国)测定两组治疗前后功能性尿道长度、最大尿道关闭压。

1.4 统计学处理

采用SPSS 18.0统计学软件进行分析,组间计量资料比较采用 t 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 盆底肌肉综合收缩力

治疗前两组患者盆底肌肉综合收缩力比较差异无统计学意义($\chi^2=0.815, P>0.05$),治疗后两组产妇的肌肉综合收缩力均较治疗前改善($P<0.05$),观察组的肌肉综合收缩力改善情况优于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=5.685, P<0.05$)。见表1。

表1 两组产妇治疗前后盆底肌肉综合收缩力比较(n)
Tab.1 Comparison of pelvic floor muscle comprehensive contraction force between the two groups before and after treatment

组别	n	治疗前盆底肌肉综合收缩力			治疗后盆底肌肉综合收缩力		
		≤Ⅰ级	Ⅰ~Ⅲ级	Ⅲ~Ⅴ级	≤Ⅰ级	Ⅰ~Ⅲ级	Ⅲ~Ⅴ级
观察组	65	45	20	0	19 ⁽¹⁾⁽²⁾	35 ⁽¹⁾⁽²⁾	11 ⁽¹⁾⁽²⁾
对照组	65	44	21	0	27 ⁽¹⁾	30 ⁽¹⁾	8 ⁽¹⁾
χ^2			0.815			5.685	
P			>0.05			<0.05	

⁽¹⁾ 与治疗前比较, $P<0.05$; ⁽²⁾ 与对照组比较, $P<0.05$

2.2 VRP、VSP 和阴道收缩持续时间

治疗前两组 VRP、VSP 和阴道收缩持续时间比较无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗后两组 VRP、VSP 和阴道收缩持续时间高于治疗前 ($P < 0.05$), 观察组的 VRP、VSP 和阴道收缩持续时间明显高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 两组产妇治疗前后 VRP、VSP 和阴道收缩持续时间 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 VRP, VSP and vaginal contraction duration in the two groups before and after treatment

组别	n	治疗前			治疗后		
		VRP (cmH ₂ O)	VSP (cmH ₂ O)	阴道收缩时间 (s)	VRP (cmH ₂ O)	VSP (cmH ₂ O)	阴道收缩时间 (s)
观察组	65	28.9 ± 8.6	25.2 ± 8.4	3.0 ± 1.7	36.8 ± 10.7 ⁽¹⁾⁽²⁾	35.4 ± 11.8 ⁽¹⁾⁽²⁾	6.2 ± 1.2 ⁽¹⁾⁽²⁾
对照组	65	29.1 ± 7.8	25.6 ± 8.8	3.2 ± 1.1	32.8 ± 11.5 ⁽¹⁾	28.9 ± 11.4 ⁽¹⁾	4.1 ± 0.9 ⁽¹⁾
t		0.882 7	0.931	1.107	5.629	6.251	7.032
P		>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05

⁽¹⁾ 与治疗前比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾ 与对照组比较, $P < 0.05$

2.3 尿道功能

治疗前两组功能性尿道长度及最大尿道关闭压比较无统计学意义 ($P > 0.05$); 治疗后两组功能性尿道长度和最大尿道关闭压高于治疗前 ($P < 0.05$), 观察组的功能性尿道长度和最大尿道关闭压明显高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 两组产妇治疗功能性尿道长度及最大尿道关闭压比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab. 3 Comparison of functional urethral length and the maximum urethral closure pressure between the two groups before and after treatment

组别	n	治疗前		治疗后	
		功能性尿道长度 (mm)	最大尿道关闭压 (cmH ₂ O)	功能性尿道长度 (mm)	最大尿道关闭压 (cmH ₂ O)
观察组	65	24.9 ± 5.1	23.9 ± 6.2	39.5 ± 7.8 ⁽¹⁾⁽²⁾	37.5 ± 8.7 ⁽¹⁾⁽²⁾
对照组	65	24.7 ± 5.7	23.8 ± 6.9	34.6 ± 8.2 ⁽¹⁾	33.1 ± 9.3 ⁽¹⁾
t		0.877	0.792	5.851	5.471
P		>0.05	>0.05	<0.05	<0.05

⁽¹⁾ 与训练前比较, $P < 0.05$; ⁽²⁾ 与对照组比较, $P < 0.05$

3 讨论

PFD 是危害产后女性健康的疾病之一, 主要表现为大小便失禁、盆腔器官脱垂、性功能障碍等, 妊娠和分娩对盆底神经、肌肉等组织造成的损伤是 PFD 发生的主要因素, 尤其是与第一次妊娠和分娩过程中导致泌尿生殖器官脱垂及盆底支持功能受损有关^[3]。妊娠本身导致膀胱解剖位置下移和膀胱颈活动度增加, 妊娠期分泌大量雌激素、孕激素、松弛素等, 造成盆底组织结构及其胶原的变化, 降低下尿路支持结构强度, 而分娩过程中肌肉、筋膜、神经、韧带等盆底支撑相关的结构受到了过度牵拉, 进而导致肌肉及神经功能发生损伤, 尤以难产损害为严重, 因此妊娠、分娩会导致女性下尿路控尿系统发生改变, 是引起 SUI 的主要原因^[4]。国外资料显示, 孕期尿失禁的发病率在 42.2%, 有 30% 女性在第一次分娩后 5 年内发生 SUI^[5]; 国内文献报道产后 12 个月内 SUI 发生率为 30.5%, 部分产妇于分娩

后一段时间后 SUI 自行缓解, 有些却持续存在^[6]。尿道和膀胱颈主要受 α -肾上腺素能交感神经支配, 盐酸米多君是一种前体药, 经酶促水解, 代谢为有活性的脱甘氨酸米多君, 脱甘氨酸米多君为 α -肾上腺素能激动剂, 可致肾血流量轻度减少, 可以刺激膀胱颈部和尿道平滑肌收缩, 能提高尿道出口阻力, 改善控尿能力; 替勃龙能够稳定妇女更年期卵巢功能衰退后的下丘脑-垂体系统, 兼有雌激素活性、孕激素活性及弱雄激素活性, 能维持绝经后妇女的促性腺激素水平和抑制生育期妇女的排卵, 对阴道粘膜表现为雌激素作用, 可以提高女性性欲作用; 两药连用能缓解 SUI 的症状, 但临床远期疗效不甚理想^[7]。产后盆底肌功能训练及增加逼尿肌的稳定性是治疗 SUI 的机制和目的。阴道圆锥体训练法可唤醒会阴部神经, 增加反应能力及反应速度, 使其重新控制括约肌的关闭功能; 增强会阴肌弹性强度, 促进妊娠及分娩过程中造成括约肌损伤功能恢复; 还可以抑制膀胱肌的过度运动,

改善机能,其方法简单易行,安全有效而无副反应,80%患者可以获得成功^[8-10]。有研究发现,应用阴道圆锥体盆底肌肉训练,盆底肌不能随意收缩概率从34.0%降至6.0%,提示此锻炼对产后盆底肌功能恢复是有效的补充手段^[11]。本研究结果显示,训练后,观察组盆底肌肉综合收缩力明显优于对照组($P < 0.05$);观察组VRP、VSP和阴道收缩持续时间明显高于对照组($P < 0.05$);观察组功能性尿道长度及最大尿道关闭压也高于对照组($P < 0.05$),说明观察组采用盆底肌群康复训练能够通过有意识地对肛提肌为主的盆底肌进行自主性收缩,以加强盆底肌力量的恢复和控尿能力,进而改善盆底肌张力和收缩性,降低尿失禁的发生率,对于产后SUI发生具有防治作用,值得临床推广。

4 参考文献

- [1] 寇金玲,党丽君,冯秀清. 产后康复治疗对改善盆底功能的临床研究[J]. 中国医学创新, 2013(25):55-57.
- [2] 张耀华,邓萍萍,江小群. 盆底肌肉康复器防治产后压力性尿失禁的疗效观察[J]. 山西医药杂志, 2011(5):505-506.
- [3] 李兆艾,王莉,傅葵,等. 产后压力性尿失禁的盆底康复训练对比研究[J]. 实用妇产科杂志, 2009(10):609-612.

- [4] 董晖. 不同分娩方式对初产妇早期盆底功能障碍的影响观察[J]. 临床医学, 2013(9):94-95.
- [5] Hay-Smith J, Morkved S, Fairbrother KA, et al. Pelvic floor muscle training for prevention and treatment of urinary and faecal incontinence in antenatal and postnatal women[J]. Cochrane Database Syst Rev, 2008(4):CD007471.
- [6] 李从霞. 分娩方式孕产妇发生尿失禁的影响[J]. 陕西医学杂志, 2013(12):1636-1637.
- [7] 郑世满. 生物反馈电刺激联合盐酸米多君治疗女性压力性尿失禁的临床观察[J]. 现代实用医学, 2013(12):1370-1371.
- [8] 那彦群,吴士良,杨勇. a-受体激动剂盐酸米多君治疗女性压力性尿失禁的临床研究[J]. 中华泌尿外科杂志, 2003(5):351-353.
- [9] 卢明霞,朱玉莲. 妊娠期及产后早期盆底肌肉锻炼的研究进展[J]. 医学综述, 2012(24):4195-4197.
- [10] 陈玉清,裴慧慧,陈蓓,等. 盆底康复训练对改善产后盆底肌功能的作用[J]. 中国康复医学杂志, 2013(3):234-237.
- [11] 鞠华妹,施如霞,吴国霞. 生物反馈电刺激联合阴道锥治疗女性压力性尿失禁的疗效观察[J]. 实用临床医药杂志, 2011(5):46-48.

(2014-09-29 收稿,2015-02-16 修回)

中文编辑: 刘 平; 英文编辑: 赵 毅

(上接第415页)

可导致右室结构功能发生变化^[3-4]。向明等^[5]研究表明高血压早期会同时出现左右心室舒张功能减退, Todiere G等^[6]通过MRI对25名高血压患者心脏功能评价,发现右室与左室舒张功能的减退同时出现,但他们的研究均未对高血压病程及级别进行分组分析。本实验结果显示原发性高血压患者心室舒张功能减退的发生率高于对照组,且随血压级别升高, LAVPl、RAVP2、LAVP2舒张功能减退发生率逐渐增高;病程在1~4.9年者单独RAVP1舒张功能减退发生率高于5~9.9年和10~15年者,10年以上高血压患者RAVP1、LAVPl、RAVP2、LAVP2同时发生舒张功能减退情况显著升高。研究结果表明原发性高血压患者随病程、级别增加,心室舒张功能减退呈现由右心室向室间隔、左心室发展的趋势,右心室舒张功能减退早于左心室。

4 参考文献

- [1] Ozdemir K, Altunkeser BB, Icli A, et al. New parameters in i-

- dentification of right ventricular myocardial infarction and proximal right coronary artery lesion[J]. Chest, 2003(1):219-226.
- [2] Christ M, Grimm W, Rostig S, et al. Association of right ventricular dysfunction and Cheyne-Stokes respiration in patients with chronic heart failure[J]. J Sleep Res, 2003(2):161-167.
- [3] Chakko S, de Marchena E, Kessler Km, et al. Right ventricular diastolic function in systemic hypertension[J]. Am J Cardiol, 1990(16):1117-1120.
- [4] Nunez BD, Messerli FH, Amodeo C, et al. Biventricular cardiac hypertrophy in essential hypertension[J]. Am Heart J, 1987(4 pt 1):813-818.
- [5] 向明,张依群. 高血压病患者右室舒张功能研究[J]. 贵阳医学院学报, 2000(2):5-7.
- [6] Todiere GI, Neglia D, Ghione S, et al. Right ventricular remodelling in systemic hypertension: a cardiac MRI study[J]. Heart, 2011(15):1257-1261.

(2014-09-28 收稿,2015-01-18 修回)

中文编辑: 戚 璐; 英文编辑: 赵 毅

宫颈环形电切术治疗宫颈癌前病变的临床效果

何金慧¹, 汪 英²

(1. 资阳市第二中医院 妇产科, 四川 资阳 642350; 2. 四川省人民医院 肿瘤科, 四川 成都 610072)

[摘要] 目的: 探讨宫颈环形电切术(LEEP)应用于宫颈癌前病变(CIN)的临床效果。方法: CIN患者221例, 采用LEEP手术进行治疗, 比较术前CIN级别与术后病理诊断符合率, 评价术前、术后1年和3年高危型人类乳头瘤病毒(HR-HPV)感染率, 术后并发症。结果: 221例CIN患者术前检查和术后病理确诊CIN I级的符合率达83.4%, CIN II级和CIN III级的符合率达90.4%; 病理结果示一次性切除病变组织189例(85.5%), 补切周边手术32例(14.5%); 1年和3年随访时HR-HPV感染率较术前明显降低; 3年HR-HPV感染者最低, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 7例出现并发症, 发生率为3%; 术后1年随访时未复发110例(49.8%), 随访3年未复发51例(23.1%)。结论: LEEP手术是治疗CIN安全有效的方法。

[关键词] 宫颈环形电切术; 宫颈肿瘤; 癌前病变; 乳头状瘤病毒, 人; 手术后并发症

[中图分类号] R737.33 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0420-03

Clinical Effect of Loop Electrosurgical Excision Procedure on Cervical Intraepithelial Neoplasia

HE Jinhui¹, WANG Ying²

(1. Department of Obstetrics and Gynecology, Second Hospital of Traditional Chinese Medicine in Ziyang City, Ziyang 642350, Sichuan, China; 2. Department of Oncology, Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, Sichuan, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate the clinical effect of loop electrosurgical excision procedure (LEEP) on cervical intraepithelial neoplasia (CIN). **Methods:** A total of 221 patients of CIN were treated by LEEP, the coincidence rate of CIN grades before treatment with pathological diagnosis after treatment was analyzed, and evaluating postoperative complications and infection rate of HR-HPV of patients pre-treatment, 1 year after treatment and 3 years after treatment. **Results:** Coincidence rate of CIN I of pre-treatment test and after-treatment confirmed diagnosis were 83.4%; coincidence rate of CIN II and CIN III were 90.4%; pathological results showed that 189 patients with one-time removal of pathological tissue(85.5%), 32 with peripheral operation(14.5%). After treatment visit in 1 year and 3 years showed that HR-HPV infection rate were obvious lower than pre-treatment stage; patients after 3 years of treatment showed the lowest HR-HPV infection rate, differences were statistical significant($P < 0.05$); 7 patients showed complications (3%); 110 patients showed no complications after 1 year of treatment (49.8%); 51 patients showed no complications after 3 year of treatment (23.1%). **Conclusion:** LEEP is an effective and safe therapy for CIN treatment.

[Key words] loop electrosurgical excision procedure; cervical neoplasms; cervical intraepithelial neoplasia; papillomavirus, human; postoperative complications

宫颈癌的高危因素是宫颈疾病(宫颈糜烂、宫颈肥大、宫颈息肉、陈旧性宫颈裂伤、宫颈腺囊肿及

宫颈上皮内瘤样变), 是妇产科致死率第2的恶性肿瘤, 90%以上的宫颈癌由高危型人类乳头瘤病

毒(high risk human papillomavirus, HR-HPV)感染引起^[1]。宫颈环形电切术(loop electro surgical excision procedure, LEEP)采用环型钨丝电极治疗各种宫颈病变,具有疼痛小、手术更安全、手术时间短、花费少、适应症多、疗效好等优点,已成为治疗宫颈疾病的新技术^[2]。LEEP 电切术后患者可保留生理功能,不影响妊娠。2010 年 1 月~2013 年 12 月,对 221 例宫颈癌前病变患者行 LEEP 电切术治疗,效果良好,报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2010 年 1 月~2013 年 12 月进行 LEEP 手术治疗的宫颈癌前病变(CIN)患者 221 例,22~51 岁,平均(38±6.8)岁,病程 1~11 年,均已婚。术前诊断 CIN I 级 42 例(19.0%)、II 级 85 例(38.5%)、III 级 94 例(42.5%),所有患者排除细菌感染及宫颈癌等宫颈恶性病变及无阴道手术的禁忌症^[3]。

1.2 方法

221 例 CIN 患者术前行血、凝血、白带常规等检查,于月经干净后 3~7 d 行 LEEP 手术,治疗前 3 d 无性生活。手术时常规阴道及宫颈消毒,在患者宫颈表面以 5% 的冰醋酸溶液对病灶界限进行确定。采用金科威 HF-120B 高频 LEEP 电刀,调至 50 W 切割频率,按照自上到下或从左到右,缓慢均匀的移动电环,切割病变区域后把电刀调节到电凝模式,以 30 W 功率在创伤面进行电凝止血,切下的组织标记后,10% 的中性福尔马林固定,送病理检查。术后患者外阴保持清洁,术后 2 个月禁止性生活、盆浴及冲洗阴道。同时口服抗生素及外用阴道栓剂,1 周后复诊。术后 3~6 个月行细胞学(TCT)检查、阴道镜检查。

1.3 观察指标

记录患者术前 CIN 级别与术后病理诊断,观察术后 1 周复诊时创面愈合情况。术前、术后 1 年和 3 年取患者阴道分泌物检测 HPV-DNA 确定 HR-HPV 感染患者数,手术前、手术后 1 年及 3 年的 HR-HPV 感染数,术后 1 个月阴道镜评估和 3 个月细胞学检查,术后 1 年、1 年半及 2 年分别进行随访,根据结果决定是否每年随访 1 次。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行分析,计量资料用均

数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,比较采用 *t* 检验;计数资料采用率(%)表示,比较用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CIN 患者术前分级与术后病理确诊对比

221 例 CIN 患者术前检查和术后病理确诊 CIN I 级的符合率达 83.4%,CIN II 级和 CIN III 级的符合率达 90.4%,见表 1。

表 1 CIN 患者术前分级与术后病理确诊对比
Tab.1 CIN grades before treatment and pathological confirmed diagnosis after treatment

术前诊断	n	LEEP 术后病理确诊(n,%)				
		宫颈炎	CIN I	CIN II	CIN III	浸润癌
CIN I	42	3(7.1)	35(83.4)	4(9.5)	0(0.0)	0(0.0)
CIN II	85	2(2.4)	4(4.8)	77(90.4)	2(2.4)	0(0.0)
CIN III	94	0(0.0)	0(0.0)	4(4.3)	85(90.4)	5(5.3)

2.2 治疗效果

221 例 CIN 患者病理结果显示一次性切除病变组织 189 例(85.5%),因病变面积较大进行补切周边手术 32 例(14.5%),5 例确诊为浸润癌后行子宫全切除术。术后 1 年和 3 年随访检查阴道分泌物 HR-HPV DNA,发现 HR-HPV 感染率较手术前明显降低;3 年 HR-HPV 感染者最少,与 1 年比较差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

表 2 LEEP 手术前 CIN 患者 HR-HPV 感染数
Tab.2 HR-HPV infection rate of CIN patients before accepting LEEP

时间	HR-HPV 感染	
	阳性数	阴性数
术前	221	0
术后		
1 年	134 ⁽¹⁾	87
3 年	6 ⁽¹⁾⁽²⁾	205

⁽¹⁾与手术前比较, $P < 0.05$;⁽²⁾与术后 1 年比较, $P < 0.05$

2.3 并发症

221 例 CIN 患者术后 7 例出现并发症,发生率为 3%;4 例术中下腹部有轻微胀痛感觉,手术结束后消失;3 例术后第 2 天出现阴道出血症状,检查创面可见有微量渗血,无菌纱布轻压止血 24 h 后取出,创面自行愈合。

2.4 术后随访

221 例 CIN 患者术后 1 年随访未发生复发 110 例(49.8%),3 年随访未复发 51 例(23.1%),术后 2 年有持续不洁性生活史病理诊断 CIN I 伴 HPV 感染 1 例。

3 讨论

宫颈癌(cervical cancer)是女性生殖系统常见的恶性肿瘤,在我国以每年 13 万的病例增加,患者年龄趋于年轻化^[4]。宫颈上皮内瘤样变(CIN)是宫颈癌的癌前病变,演变成宫颈癌一般需 10 年左右,HR-HPV 感染率上升已成为导致宫颈癌的关键因素^[4-5]。

本研究中,221 例 CIN 患者术后 7 例出现并发症,发生率为 3%。4 例术中下腹部有轻微胀痛感觉,手术结束后消失;3 例术后第 2 天出现阴道出血症状,检查创面可见有微量渗血,无菌纱布轻压止血 24 h 后取出,创面自行愈合,表明 LEEP 电切术用于治疗 CIN 并发症可控,安全可行^[5-7]。CIN 的主要临床表现不具有特异性,且有较长的可逆转癌前病变期,因此早发现、早治疗对预防及有效治疗宫颈癌有重要意义。根据病变深度 CIN 可分为 CIN I、CIN II 和 CIN III 3 个等级,CIN I 具有较高的逆转率,对患者采取监测、随访,可减少过度治疗造成的风险。LEEP 电切术具有可连续切除宫颈癌发病高危区,手术安全简单,对患者伤害较小。LEEP 电切术是采用高频无线电刀通 LOOP 金属丝由电极尖端产生 3.8 MHz 的超高频电波,在手术刀接触组织的瞬间释放出大量的热能,使细胞内水分迅速蒸发形成蒸汽波帮助完成切割、止血等功能,同时切割时不会出现组织拉扯及碳化现象,不会影响切口边缘其他组织的病理学检查。有研究

发现,检查宫颈病变的取活体组织后,能激活人体的免疫功能,消除术后未切除宫颈部位的残余病灶,通过刺激增强自身免疫达到治疗作用^[8]。本组的 221 例 CIN 患者经过 LEEP 电切术治疗,一次性切除病变组织 189 例(85.5%),术后创面的愈合时间为 4~10 周;1 年和 3 年的 HR-HPV 感染率较手术前明显降低;3 年复查时 HR-HPV 感染者最少,术后 1 年随访时未发生复发 51 例(23.1%),3 年随访时未复发 110 例(49.8%),目前还有 50 例(22.6%)在随访中,说明 LEEP 电切术对 CIN 患者的治疗和预防发挥了重要作用。

4 参考文献

- [1] 丛琪,陆明霞. LEEP 治疗宫颈癌前病变的疗效观察[J]. 临床医学, 2013 (8): 1688 - 1689.
- [2] 齐岩. LEEP 刀治疗宫颈癌前病变 120 例临床疗效分析[J]. 当代医学, 2012 (19): 76.
- [3] 徐水芳,王桂芳,顾明华. LEEP 术后病理检查与阴道镜宫颈活检对宫颈癌前病变的诊断准确性[J]. 实用癌症杂志, 2013 (3): 269 - 271.
- [4] 祝淑平. 干扰素联合 LEEP 刀治疗宫颈糜烂的临床效果分析[J]. 中国当代医药, 2014 (11): 29 - 30.
- [5] 金云霞. 子宫电环切除术在宫颈上皮内瘤变的应用分析[J]. 中外医学研究, 2012 (8): 3 - 4.
- [6] 刘鹤鸣,李昱珑. 子宫电环切除术治疗宫颈上皮内瘤 90 例疗效分析[J]. 当代医学, 2010 (32): 64 - 65.
- [7] 李芹,马汝婵. LEEP 在宫颈癌前病变诊治中的应用[J]. 河北医学, 2010 (1): 58 - 60.
- [8] 赵俊杰,韩淑霞. LEEP 治疗宫颈癌前病变的疗效观察[J]. 宁夏医学杂志, 2011 (7): 650 - 651.

(2014-08-25 收稿,2015-02-10 修回)

中文编辑: 刘平; 英文编辑: 赵毅

参加家庭养护的残疾人心理状况调查研究^{*}

沈红艳¹, 赵姣文¹, 王洪英², 刘 燕², 潘海芳²

(1. 上海市嘉定区精神卫生中心, 上海 201806; 2. 上海市嘉定区和谐家庭服务中心, 上海 201822)

[摘要] 目的: 探讨参加家庭养护的残疾人心理状况、社会支持程度以及与性别、年龄、婚姻状况、受教育程度的关系。方法: 采用随机抽样的方法对参加家庭养护的244名残疾人进行问卷调查, 其中男性153人, 女性91人; 并分为青年组(18~44岁)63人, 中年组(45~59岁)94人, 老年组(≥ 60 岁)87人; 受教育程度: 低学历(小学及以下)90人, 中等学历(初中)94人, 较高学历(高中及以上)60人; 已婚174人, 未婚59人, 离异8人(3.3%), 丧偶3人; 采用抑郁自评量表(SDS)、焦虑自评量表(SAS)及社会支持评定量表对残疾人的抑郁情绪、焦虑情绪及社会支持等心理状况进行评估。结果: 调查中有抑郁情绪的156例占63.9%, 各年龄段之间差异显著, 有统计学意义, 老年组(≥ 60 岁)有抑郁情绪的比例高于其他年龄组($\chi^2 = 9.300, P = 0.010$); 有焦虑情绪的94例占38.5%, 性别不同的残疾人焦虑量表得分差异有显著性($P = 0.031$), 女性有焦虑情绪的比例高于男性; 残疾人的社会支持在婚姻状况、受教育程度上差异有统计学意义, 已婚残疾人得分明显高于独身的残疾人, 初中及初中以上教育程度高于小学以下文化程度($t = 6.242, -2.466; P = 0.000, 0.014$), 中年组得分均高于青年组和高于老年组($P = 0.003$)。结论: 残疾人存在普遍心理问题, 其中老年残疾人心理问题居多, 婚姻和受教育程度是残疾人获得社会支持的重要因素。

[关键词] 心理; 残疾人; 抑郁; 焦虑; 社会支持

[中图分类号] B844 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0423-04

An Investigation on Psychological Status of the Handicapped in Family Care

SHEN Hongyan¹, ZHAO Jiaowen¹, WANG Hongying², LIU Yan², PANG Haifang²

(1. Jiading Mental Health Center, Shanghai 201806, China; 2. Harmonious Family Service Center of Jiading District, Shanghai 201822, China)

[Abstract] **Objective:** To discuss the psychological status and the social support of the handicapped in family care and their relationship with gender, age, marital status and educational background. **Methods:** The method of random sample was adopted to conduct questionnaire survey in 244 handicapped people, among whom there were 153 males and 91 females. All of them were divided into youth group (63 cases, from 18 to 44 years old), middle-aged group (94 cases, from 45 to 59 years old) and old-aged group (87 cases, over 60 years old). They were classified into 3 categories according to their education level: lower education level (primary school and below), secondary education level (junior middle school) and higher education level (high school and above). Among them, 174 were married, 59 unmarried, 8 divorced and 3 widowed. SDS, SAS and SSRS were adopted to evaluate psychological status such as depression, anxiety and social support of the handicapped. **Results:** The research showed that 156 (63.9%) handicapped people suffered from depression, and there were significant differences between different age groups. The percentage of those suffering from depression in old-aged group was higher than that in other groups ($\chi^2 = 9.300, P = 0.010$). The research also showed that 94 (38.5%) handicapped people suffered from anxiety, in whom the percentage of woman suffering from anxiety was higher than that of man suffering from anxiety. The score of SAS showed sig-

^{*} [基金项目] 上海市嘉定区卫生系统第三批学科(项目)建设《社区精神病学与老年精神病学》项目(GW03)

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1842.010.html>

nificant differences between different gender ($P = 0.031$). Different marital status and educational background played an important role in social support of the handicapped, and the differences were statistically significant. In SSRS assessment, the married handicapped people scored obviously higher than those single handicapped people while the lower-educated handicapped people (primary school education or lower) scored lower than the higher-educated handicapped people (junior middle school or above) ($t = 6.242, -2.466; P = 0.000, 0.014$); the middle-aged group scored higher than old-aged group in SDS, SAS and SSRS assessment ($P = 0.003$). **Conclusions:** Generally, many handicapped people suffer from psychological problems, especially old-aged handicapped people. Marital status and educational background are the important factors for the handicapped to get social support. [Key words] psychology; the handicapped; depression; anxiety; social support

目前在全世界由于各种原因引起的残疾人口规模不断上升,据 2012 年统计,全球共有 6.5 亿残疾人约占世界总人口的 10%,随着社会经济环境的巨大变化,中国的残疾人口也在迅速增长,1987 年和 2006 年 2 次全国残疾人抽样调查结果显示,1987-2006 年中国残疾人口的总规模从 5 164 万上升至 8 296 万,残疾人口占全国人口比例由 4.90% 上升至 6.34%^[1-2]。据推算 2010 年全国残疾人总数为 8 502 万人,其中重度残疾 2 518 万人,中度和轻度残疾人 5 984 万人^[3]。残疾人是一个特殊群体,他们的社会活动少,社交面窄,社会关系松散,社会支持水平较低,使得他们在日常生活、社会交往、教育与就业、婚姻等方面会带来更大的问题,容易产生更多的心理问题。本研究以参加家庭养护的残疾人为对象,了解残疾人的心理状况。

1 对象与方法

1.1 对象

采用随机抽样的方法对上海市某区参加家庭养护的残疾人(无能力答题者除外)进行问卷调查,共发放调查问卷 250 份,回收问卷后进行检查,剔除未完成的或无效问卷(例如全部填上同一数字),共回收有效问卷 244 份,有效回收率为 97.6%,其中男性 153 人(62.7%),女性 91 人(37.3%);年龄 21~86 岁,平均(53.38 ± 13.69)岁;青年组(18~44 岁)63 人(25.8%),中年组(45~59 岁)94 人(38.5%),老年组(≥ 60 岁)87 人(35.7%);受教育程度:低学历(小学及以下)90 人(36.9%),中等学历(初中)94 人(38.5%),较高学历(高中及以上)60 人(24.6%);已婚 174 人(71.3%),未婚 59 人(24.2%),离异 8 人

(3.3%),丧偶 3 人(1.2%)。

1.2 方法

1.2.1 测量工具 (1)抑郁自评量表(SDS)由 Zung^[4]编制,共 20 个条目,分为精神-情感症状、躯体性障碍、精神运动性障碍和心理障碍 4 组症状;1~4 级评分,标准分 = 原始分 $\times 1.25$,总分 ≤ 49 为无抑郁,50~59 为轻度抑郁,60~69 为中度抑郁, ≥ 70 分为重度抑郁。(2)焦虑自评量表(SAS)由 Zung^[4]编制,共 20 个条目;1~4 级评分,标准分 = 原始分 $\times 1.25$,总分 ≤ 49 分为无焦虑,50~60 为轻度焦虑,61~70 为中度焦虑, ≥ 71 分为重度焦虑。(3)社会支持评定量表由肖水源^[4]编制,共 10 个条目;2、6、7 为客观支持分,1、3、4、5 为主观支持分,8、9、10 为对支持的利用度。(4)自编一般情况问卷:包括性别、年龄、婚姻状况、受教育程度等基本人口学资料。

1.2.2 施测过程 采用随机抽样的方法对参加家庭养护的残疾人进行问卷调查,调查前对参加调查的工作人员进行培训,有标准化统一调查指导语的量表由被调查者自填为主,填表前讲明该研究的目的和意义,取得同意和配合。

1.3 统计学处理

统计数据分析采用 SPSS 11.5 统计软件,对数据进行一般描述性统计,行 χ^2 检验,计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,行 t 检验,当 $P < 0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结果

2.1 抑郁自评量表评分

无抑郁情绪的 88 例(36.1%),有抑郁情绪的 156 例(63.9%),不同性别、教育程度、婚姻状况的抑郁情况无显著差异,而各年龄段之间差异有统计

学意义($\chi^2 = 9.300, P = 0.010$),老年组(≥ 60 岁)有抑郁问题的比例高于其他组。见表1。

表1 参加家庭养护残疾人的抑郁自评量表评分($n, \%$)

		项目		χ^2	P
		无抑郁 (≤ 49 分)	有抑郁 (≥ 50 分)		
性别	男	53(34.6)	100(65.4)	0.361	0.548
	女	35(38.5)	56(61.5)		
年龄(岁)	18~44(青年)	24(38.1)	39(61.9)	9.300	0.010
	45~59(中年)	43(45.7)	52(54.3)		
	≥ 60 (老年)	21(24.1)	66(75.9)		
受教育程度	\leq 小学	27(30.0)	63(70.0)	2.282	0.320
	初中	37(39.4)	57(60.6)		
	\geq 高中	24(40.0)	36(60.0)		
婚姻状况	已婚	68(39.1)	106(60.9)	2.391	0.122
	单身(未婚、 离异、丧偶)	20(28.6)	50(71.4)		

2.2 焦虑自评量表评分

无焦虑情绪的150例(61.5%),有焦虑情绪的94例(38.5%),性别不同的残疾人焦虑量表得分差异有统计学意义($\chi^2 = 4.668, P = 0.031$),女性有焦虑情绪的比例高于男性,不同年龄、教育程度、婚姻状况的焦虑情绪没有明显差异。见表2。

2.3 社会支持评定量表评分

不同婚姻状况在社会支持总分、客观支持得分和主观支持得分方面上差异有统计学意义,已婚的

表2 参加家庭养护残疾人的焦虑自评量表评分($n, \%$)

		项目		χ^2	P
		无焦虑 (≤ 49 分)	有焦虑 (≥ 50 分)		
性别	男	102(66.7)	51(33.3)	4.668	0.031
	女	48(52.7)	43(47.3)		
年龄(岁)	18~44(青年)	40(63.5)	23(36.5)	2.365	0.307
	45~59(中年)	62(66.0)	32(34.0)		
	≥ 60 (老年)	48(55.2)	39(44.8)		
受教育程度	\leq 小学	48(53.3)	42(46.7)	4.055	0.132
	初中	63(67.0)	31(33.0)		
	\geq 高中	39(65.0)	21(35.0)		
婚姻状况	已婚	103(59.2)	71(40.8)	1.331	0.249
	单身(未婚、 离异、丧偶)	47(67.1)	23(32.9)		

得分明显高于单身的残疾人($P = 0.000$),不同教育程度之间社会支持量表总分、主观支持得分差异有统计学意义,小学以下教育程度得分低于初中及初中以上教育程度得分($P = 0.014, P = 0.003$)。见表3。各年龄段之间社会支持量表得分差异有统计学意义,中年组的量表总得分均高于青年组和高于老年组($t = -3.902, P = 0.000; t = 2.977, P = 0.003$)这其中主观支持得分中年组均高于青年组和老年组,差异有统计学意义($t = -4.917, P = 0.000; t = 3.316, P = 0.001$),男性和女性在社会支持总分差异无统计学意义($P = 0.947$)。

表3 不同婚姻状况、受教育程度被检者的社会支持自评量表评分($\bar{x} \pm s$)

分量表	婚姻状况		t	P	文化程度		t	P
	已婚($n = 174$)	单身(未婚、离异、 丧偶)($n = 70$)			\leq 小学 ($n = 90$)	\geq 初中 ($n = 154$)		
总分	34.27 \pm 9.18	26.44 \pm 8.01	6.242	0.000	30.08 \pm 8.98	33.16 \pm 9.68	-2.466	0.014
客观支持	8.00 \pm 2.75	6.57 \pm 2.70	3.698	0.000	7.26 \pm 2.52	7.79 \pm 2.94	-1.430	0.154
主观支持	19.24 \pm 6.42	13.40 \pm 5.04	6.810	0.000	15.96 \pm 6.44	18.51 \pm 6.54	-2.958	0.003
支持利用度	7.03 \pm 2.29	6.47 \pm 2.27	1.723	0.086	6.87 \pm 2.19	6.87 \pm 2.36	-0.011	0.991

3 讨论

残疾人作为一个特殊的群体,由于自身的残疾状况及所处的社会环境因素,更容易出现心理问题,容易产生消极悲观情绪,对将来生活丧失信心,表现抑郁、自责、退缩、厌世等症状,甚至出现自杀

行为等较为普遍的心理健康问题^[5-6]。洪伟等^[7]对老年肢体残疾患者抑郁状况所做调查认为抑郁等负性情绪在残疾人当中普遍存在,发病率和严重程度都明显高于一般人群,李文学等^[8]对武汉残疾人的调查也证实了这个观点。

本调查中残疾人有抑郁症状超过一半,有焦虑症状也占1/3,亦说明残疾人中存在着较为普遍的

心理健康问题,与以往有关研究结果类似。研究中未发现婚姻与否与残疾人焦虑抑郁发生情况的相关性,这与有的研究结果显示婚姻对残疾人的心理健康有保护作用,心理健康水平高于未婚残疾人有所不同^[7]。性别、文化程度、婚姻状况的抑郁情况无显著差异,这与董凌琳等^[9]的研究结果类似。

本调查结果显示,老年组(≥ 60 岁)有抑郁问题的比例高于其他组,究其原因可能是老年残疾人日常面临着更多地困难,精力不济,难以更好解决所面临的困境,生活照料更依赖于家属,而此时最贴心的父母大部分离世,依靠父母已不可能,能依靠的小辈又忙于工作无暇顾及,这让老年残疾人陷于两难境地,加重心理负担。调查中女性有焦虑情绪的比例高于男性,这可能与女性性格较男性更敏感有关。

不同婚姻状况在社会支持总分、客观支持得分和主观支持得分方面差异有统计学意义,已婚残疾人得分明显高于独身的残疾人,说明婚姻对残疾人获得社会支持有着重要的意义。不同文化程度残疾人的社会支持量表总分、主观支持得分差异有统计学意义,小学以下文化程度残疾人得分低于初中及初中以上文化程度残疾人得分,提示有较高文化程度的残疾人更能很好的融入周边的环境,取得别人的帮助。

通过调查,残疾人存在着普遍的心理问题,直接影响着残疾人的全面康复及回归社会,这是残疾人和家属以及全社会都应关注的问题,随着社会的发展,残疾人的心理问题也愈来愈引起全社会的关注,也开展了一些心理康复干预研究,分别采用个别辅导、家庭干预、团体咨询等心理综合干预措施,取得了一定的效果,对残疾人的心理康复有积极作用^[10-12],对残疾人康复干预措施的实际效果及进一步完善是今后研究的方向,亦是会工作者面临的长期工作。

4 参考文献

- [1] 全国残疾人抽样调查小组,中华人民共和国统计局. 关于全国残疾人抽样调查主要数据的公报[R]. 北京:全国残疾人抽样办公室,1987.
- [2] 第二次全国残疾人抽样调查领导小组,中华人民共和国国家统计局. 2006年全国第二次残疾人抽样调查主要数据公报[R]. 北京:全国残疾人抽样办公室,2006.
- [3] 汪向东,王希林. 心理卫生评定量表手册(增订版)[M]. 北京:中国心理卫生杂志社,1999:194-196,235-238,127-131.
- [4] 肖水源.《社会支持评定量表》的理论基础与研究应用[J]. 临床精神医学杂志,1994(2):98-100
- [5] 吴文源. 慢性病患者常见的抑郁障碍及其处理[J]. 中国全科医师杂志,2003(3):135
- [6] 吴清平,龙建. 肢体残疾成年人心理健康状况配对研究[J]. 武汉职工医学院学报,1998(1):25-27,46.
- [7] 洪伟,张南平,陈惠玲. 老年肢体残疾患者抑郁状态分析[J]. 实用老年精神医学,2009(5):89.
- [8] 李文学,钟宝亮,刘修军,等. 武汉地区肢体残疾人群抑郁症状的现状调查[J]. 中国心理卫生杂志,2012(12):943-948.
- [9] 董凌琳,吴景芬,肖军. 地震伤残人员心理健康及相关因素分析[J]. 中华物理医学与康复杂志,2008(12):801-803.
- [10] 杨竹洁,薛晶. 社区残疾人心理健康状况调查和干预初探[J]. 中国初级卫生保健,2012(6):19-21.
- [11] 黄凌谊,张翔. 心理干预对提高残疾人心理健康水平的作用[J]. 中国民康医学,2011(23):2968-2969.
- [12] 韩君华,葛军,史京衡. 社区残疾人抑郁心理干预研究[J]. 中国医药导报,2011(4):126-128.

(2015-02-15 收稿,2015-04-03 修回)

中文编辑:刘平;英文编辑:刘华

核磁共振扩散加权成像在宫颈癌分期中的价值

陈 杰¹, 郭晓山^{2*}

(1. 兴义市人民医院 医学影像科磁共振室, 贵州 兴义 562400; 2. 贵阳医学院附属肿瘤医院 影像科, 贵州 贵阳 550003)

[摘 要] **目的:** 探讨核磁共振扩散加权成像(DWI)技术在宫颈癌分期中的价值。**方法:** 通过双盲法将 32 例宫颈癌患者的 MRI 分期和临床分期分别与病理分期进行比较分析。**结果:** 32 例早期宫颈癌临床分期 I A 2 例、I B 20 例、II A 9 例, MRI 分期 I A 3 例、I B 13 例、II A 16 例, 病理分期 I A 2 例、I B 19 例、II A 11 例; 19 例临床分期与手术病理分期结果相吻合, 符合率为 59.4%; 24 例 MRI 分期与手术病理分期结果相吻合, 符合率为 75%; 子宫颈的 T₂WI 矢状位和短轴位是发现和观察宫颈癌的主要扫描序列之一; 在 DWI 上, 宫颈癌组织呈现高信号或稍高信号, ADC 图灰阶成像呈现低信号, 正常宫颈组织 ADC 值高于癌组织, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:** 宫颈癌 MRI 分期优于临床术前分期, 子宫颈的 T₂WI 矢状和短轴位及 DWI 可以作为宫颈癌精确定位、定性和分期的检测方法之一。

[关键词] 宫颈肿瘤; 分期; 磁共振成像

[中图分类号] R445.2 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2015)04-0427-03

The Value of NMR DWI in Cervical Cancer Staging

CHEN Jie¹, GUO Xiaoshan²

(1. Department of Radiology, the People's Hospital of Xingyi City, Xingyi 562400, Guizhou Province, China; 2. Department of Radiology, the Affiliated Tumor Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550003, Guizhou, China)

[Abstract] **Objective:** To investigate nuclear magnetic resonance diffusion weighted imaging in diagnosing cervical cancer staging. **Methods:** By means of double-blind grouping, respectively comparing and analyzing MRI staging and clinical staging with pathology staging of 32 cervical cancer patients. **Results:** 32 patients with early cervical cancer clinical staging: 2 cases of IA, 20 cases of IB, 9 cases of IIA; MRI staging: 3 cases of IA, 13 cases of IB, 16 cases of IIA; pathology staging: 2 cases of IA, 19 cases of IB and 11 cases IIA. Pathological staging results of 19 cases were consistent with surgery pathology results, coincidence rate was 59.4%; MRI staging results of 24 cases were consistent with surgery pathology, coincidence rate was 75%; concerning DWI, cervical cancer tissue showed high signal or higher signal. ADC gray scale showed low signal, the ADC value of normal cervical tissue was higher than that of cancer tissue, differences were statistically significant($P < 0.05$). **Conclusions:** Cervical cancer MRI staging is obviously superior to clinical preoperative staging; DWI can serve as a choice for the accurate positioning of cervical cancer, qualitative test and staging.

[Key words] cervical cancer; staging; magnetic resonance imaging

宫颈癌是女性生殖系统最常见的恶性肿瘤, 发病率占女性生殖道恶性肿瘤的 70%。随着全球范围内宫颈癌早期筛查普及和完善, 宫颈癌的发病率及死亡率已显著下降。但是近年来宫颈腺癌的

发病率却有增高趋势, 且年轻女性发病率不断升高^[1]。磁共振检查在宫颈癌检查中应用越来越广泛, 尤其是扩散加权成像(DWI)可以从分子水平上反映人体病理状态下组织中水分子的运动状况,

* 通信作者 E-mail: gzs-yx@163.com

网络出版时间: 2015-04-20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1908.018.html>

通过表观扩散系数(ADC)值量化水分子运动状况的变化,在对宫颈癌的诊断、准确分期中有较大的应用价值^[2]。本研究观察 32 例早期宫颈癌的 MRI 分期与病例分期的符合率,报道如下。

1 材料与方法

1.1 研究对象

于 2011 年 7 月~2011 年 12 月收集经临床病理确诊的早期宫颈癌 32 例,19~58 岁,中位年龄 44.1 岁,所有病例都均经手术病理证实,其中无症状 3 例(体检发现),不规则阴道流血 9 例,接触性出血 12 例,阴道不规则出血并接触性出血 8 例。参照国际妇产科协会(international federation of gynecology and obstetrics,FIGO)标准^[3],术后病理分期:I A 期 2 例、I B 期 19 例、II A 期 11 例;MRI 分期:I A 期 3 例、I B 期 16 例、II A 期 13 例;临床分期:I A 期 2 例、I B 期 20 例、II A 期 9 例(其中 I A 期 1 例临床术前漏诊)。正常宫颈组织平均 ADC 值是 $0.001\ 366 \pm 0.000\ 290$,宫颈癌组织平均 ADC 值是 $0.001\ 138 \pm 0.000\ 279$ 。

1.2 MRI 扫描方法

采用东芝公司产的 1.5T ATLAS 超导型磁共振成像仪及正交体线圈进行扫描成像。扫描范围为髂前上棘-耻骨联合下方 2 cm。常规扫描 T_1 WI 及 T_2 WI 轴位、 T_2 WI 宫颈长、短轴位、 T_2 WI 矢状和冠状位, T_2 WI-STIR 大范围轴位。 T_1 WI 用 IR 序列:TR 400~600 ms、TE 15~30 ms; T_2 WI 用 TSE 序列:TR 3 000~4 000 ms、TE 80~150 ms;STIR 采用 SE 序列:TR 1 500~2 000 ms、TE 60~90 ms。矩阵 256×256 ,层厚 3~5 mm,0.5~1.0 mm,FOV 30~40 cm。MR 扩散加权成像,采用平面回波技术(EPI)、频率脂肪饱和抑制法,轴位扫描,B 值:0、1 000 s/mm²,TR:2 900 ms、TE:93 ms,层厚 5 mm、层距 1 mm,FOV 25~30 cm。

1.3 图像后处理

选择面积 50~100 mm² 为感兴趣区(ROI),测量宫颈正常组织和宫颈癌组织 ADC 值各 3 次,取平均值为最终测量值,选择病灶最大层面,病灶显示明显区域作为感兴趣区,避开坏死、囊变区。

1.4 统计学方法

所得数据应用 SPSS 11.5 软件进行统计学分析,计数资料采用率描述;计量资料以均数 \pm 标准差表示,符合正态分布且方差齐,应用配对 t 检验

进行比较,检验水准为 0.05。

2 结果

2.1 术前临床分期、MRI 分期与病理分期

32 例宫颈癌术前临床分期中 19 例与术后病理分期结果一致,临床分期准确率为 59.4% (19/32)。32 例早期宫颈癌 MRI 分期中,无 1 例漏诊,敏感度达 100% (32/32)。32 例宫颈癌术前 MRI 分期中 24 例与术后病理分期结果一致,MRI 分期准确率为 75% (24/32),分期不吻合 8 例,其中过高分期 2 例,过低分期 6 例。见表 1。

表 1 32 例早期宫颈癌 MRI 分期、病理分期与术前临床分期结果比较(n)

Tab. 1 MRI staging, clinical staging and pathology staging of 32 cervical cancer

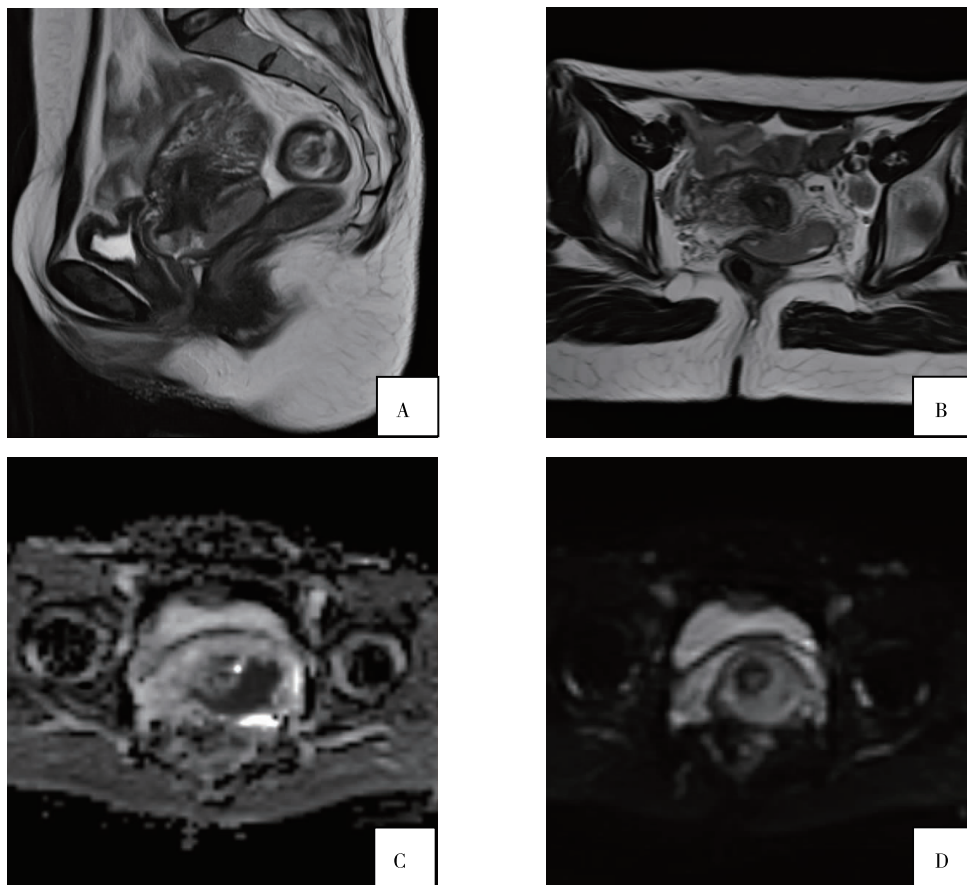
分期	I A	I B	II A
临床分期	2	20	9
MRI 分期	3	16	13
病理分期	2	19	11

2.2 宫颈癌 MRI 特点

本研究认为子宫颈的 T_2 WI 矢状位(图 1-A)和短轴位(图 1-B)是发现和观察宫颈癌的主要扫描序列之一。在 DWI 上,宫颈癌病灶呈高信号或稍高信号(图 1-D),清晰勾勒出病变形态范围,而宫颈周围阴道、膀胱、直肠等,随 b 值升高而信号减低,在 $b=1\ 000$ 时表现为低信号背景,而癌灶高信号,所以容易辨别。ADC 图灰阶成像呈现低信号(图 1-C),与正常宫颈组织存在信号差异,也易观察病灶的大小及范围。正常宫颈组织平均 ADC 值是 $0.001\ 366 \pm 0.000\ 290$,而宫颈癌组织平均 ADC 值是 $0.001\ 138 \pm 0.000\ 279$,因此,宫颈癌组织 ADC 值低于正常宫颈组织 ADC 值,差异有统计学意义($t=3.205, P=0.002$)。宫颈癌病灶为类圆形、椭圆形 5 例、分叶状 13 例、不规则状 12、沿宫颈环形生长 2 例的肿块;手术病理证实 3 例肿瘤无间质受侵,其余 29 例病理证实,均无宫旁侵犯,DWI 均判断正确。

3 讨论

宫颈癌的临床分期对判断宫旁、盆壁及宫体侵犯情况非常有限,也无法了解盆腔内及主动脉周围



注:A 为 T2WI 矢状位;B 为 T2WI 宫颈短轴位,病灶呈不规则稍长 T2WI 信号;
C 为横轴位 ADC 图病灶呈低信号;D 为横轴位 DWI,病灶呈稍高信号

图 1 宫颈癌的常规扫描和 DWI 扫描

Fig. 1 Regular and DWI scanning of the cervical cancer

有无淋巴结转移,因此,可信度和准确性非常低,据报道,宫颈癌临床分期的准确率为 61% ~ 66%^[4]。本研究为 59.4%,基本接近。MRI 检查不仅能清楚显示宫颈肿块的大小、范围,还可以观察宫旁、盆壁等是否有侵犯,周围器官,如膀胱、直肠、输尿管等是否受侵,盆腔内及腹膜后有无淋巴结转移等,而且 MRI 检查有较高的软组织分辨率和无辐射等优点,因此 MRI 扫描对宫颈癌分期非常有价值。特别是 T₂WI 矢状位和短轴位是发现和观察宫颈癌的主要序列之一,本组病例还增加了子宫颈的长轴位、冠状位扫描,多角度,多方位观察和显示肿块形态、大小和范围。宫颈癌术前 MRI 分期对临床医师选择治疗方案提供非常有价值的依据并且可以提供预后评估,可作为术前常规检查。本研究 32 例早期宫颈癌手术后病理证实,术前行 MRI 平扫和 DWI 检查均显示病灶, MRI 分期与病理分期一致 24 例,分期准确率为 75% (24/32),以张凤翔等^[5]作者报告相近,故 MRI 对早期宫颈癌诊断及

分期非常有价值,优于宫颈癌临床分期(临床分期为 59.4%);但分期不符 8 例,为了提高子宫颈癌分期的准确性,有学者进行了积极的探索,包括使用阴道内线圈联合相控阵线圈、与子宫颈的长、短轴位扫描和对比增强扫描。本研究在 MRI 常规平扫的基础上,增加扩散加权成像及子宫颈的 T2WI 长、短轴位扫描,明显提高宫颈癌分期的准确率,对宫颈癌治疗方法选择和预后评估提供重要临床价值。

DWI 可以检测人体组织中水分子扩散运动情况,从而间接地反映组织微观结构的变化,并以 ADC 值来量化水分子扩散运动的变化程度,宫颈癌组织的细胞密度高,水分子扩散运动受限,所以正常宫颈组织的 ADC 值高于宫颈癌组织的 ADC 值。目前, DWI 成像在宫颈癌方面的应用非常广泛, DWI 成像与常规 MRI 相比,组织对比度高,但空间分辨率低,不能单独作为宫颈癌分期标准,需

(下转第 432 页)

新生儿 Dandy-Walker 综合征 2 例*

杨春霞**, 陈晓霞***, 陈茂琼

(贵阳医学院 儿科教研室, 贵州 贵阳 550004)

[关键词] Dandy-walker 综合征; 脑积水; 重度窒息

[中图分类号] R442.8 [文献标识码] B [文章编号] 1000-2707(2015)04-0430-03

Dandy-Walker 综合征 (Dandy-Walker syndrome, DWS), 又称 Dandy-Walker 囊肿或先天性第四脑室中、侧孔闭锁, 是一种罕见的先天性非特异性中枢神经系统发育异常^[1], DWS 发病率低, 约为 1/30 000, 死亡率约为 20%, 存活者中 40% ~ 70% 患者出现智力和神经系统功能发育障碍^[2]。Dandy-Walker 综合征临床很少见, 现报道 2 例。

1 病例资料

病例 1, 男, 入院年龄 30 min, 因“胎龄 31 + 3 周, 窒息复苏后呻吟 30 min”入院, 母亲曾因“弓形虫感染”稽留流产 1 次, 未定期产检, 孕期 B 超未提示异常; 孕 29 + 2 周因“前置胎盘”予口服地屈孕酮、硫酸镁抑制宫缩、地塞米松促进胎肺成熟等治疗, 孕 31 + 3 周因“中央型前置胎盘”剖宫产娩出, BW 1 600 g, Apgar 评分 2 - 6 - 7/1 - 5 - 10 min, 入院诊断: (1) 新生儿重度窒息; (2) 新生儿呼吸窘迫综合征。入院后予呼吸机辅助通气、抗感染、营养心肌、静脉营养、强心等治疗, 病程中心脏可闻及 4/6 级收缩期粗糙性杂音, 可扪及震颤, 入院后第 18 ~ 23 天头围呈进行性增大, 囟门增宽, 张力增高, 骨缝分离增宽, 落日眼, 无尖叫、抽搐及瞳孔改变等, 生后第 23 天行头颅 CT 明确为“Dandy-Walker 综合征”, 生后第 24 天自请出院。现患儿 11 月, 智力运动发育落后, 不能独坐、站立等。

病例 2, 男, 入院年龄 45 min, 因“胎龄 34 + 1 周, 窒息复苏后 45 min”入院, 母孕期未定期产检, 孕期 B 超未见异常, 孕晚期发现严重贫血及血小板减低, 产前有镇静类药物使用史, 因“产程启动”

经阴道娩出, BW 1 700 g, Apgar 评分 1 - 1 - 5 - 8/1 - 5 - 10 - 15 min。入院诊断: (1) 新生儿重度窒息; (2) 早产儿 (34 + 1) 周。入院后予暖箱保暖、营养心肌、抗感染、静脉营养等治疗, 病程中无头围增大、囟门增宽、抽搐及瞳孔改变等, 生后第 21 天因重度窒息行头颅 CT 及头颅 MRI 均提示 Dandy-Walker 综合征, 查染色体检查未见异常。生后第 28 天自请出院, 失访。

2 讨论

典型 Dandy-Walker 综合征主要包括 3 种畸形, 即小脑蚓部部分或全部发育不良、第四脑室背侧与后颅凹囊腔相通、后颅凹扩张伴有小脑幕和窦汇抬高。DWS 常合并有其它畸形 (如胼胝体发育不良、多小脑回、灰质异位及先天性心脏病等)^[3], 有文献报道 9 例 DWS 中 6 例合并其他畸形胎儿, 均引产后经尸检证实, 3 例未合并其他畸形的胎儿, 产后可在儿童保健门诊进行发育跟踪, 均表现不同程度精神运动发育迟缓^[4]。本文中病例 1 有合并先天性心脏病可能, 病例 2 未发现明显合并畸形。DWS 发病原因目前尚不明确, 国内外研究显示可能与以下因素有关: (1) 基因病变, 小脑基因的两个临近锌指结构 ZIC1 和 ZIC4 异常; (2) 染色体异常, 18 - 三体综合征、13 - 三体综合征或第 13 号染色体长臂的部分缺失、9 号和 3 号染色体异常等^[5]; (3) 特殊病原体感染, 如巨细胞病毒、风疹病毒或弓形虫感染; (4) 母孕期疾病及使用药物情况, 如妊娠期患糖尿病, 孕期使用华法林等; (5) 母孕期不良生活习惯, 如酗酒等^[6]。多种因素在胚

* [基金项目] 贵州省科学技术基金项目 [黔科合 J(2010)2166]

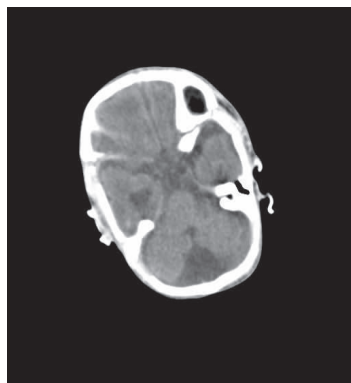
** 贵阳医学院 2012 级硕士研究生

*** 通信作者 E-mail: 2224208143@qq.com

网络出版时间: 2015 - 04 - 20 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20150420.1849.013.html>



A

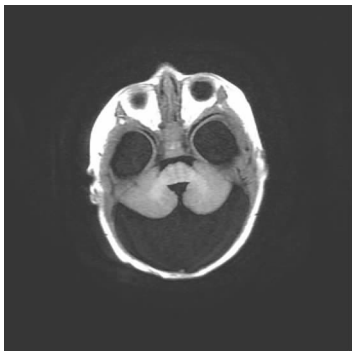


B

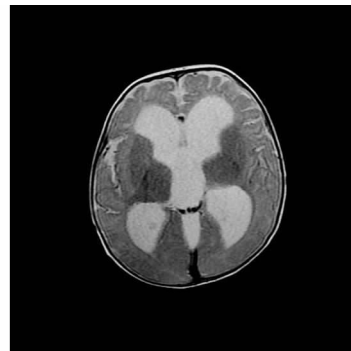
注:A 为双侧小脑半球体积缩小,第四脑室扩大并与后颅窝蝙蝠翼状脑脊液密度影相连续;B 为侧脑室下角扩大

图 1 病例 1 头颅 CT 影像

Fig. 1 Brain CT images of case 1



A



B

注:A 为 T1 第四脑室扩大并与后颅窝蝙蝠翼状脑脊液信号影相交通,双侧小脑体积缩小;

B 为 T2 第三脑室及双侧侧脑室扩大

图 2 病例 2 T2WI 和 T1WI 影像

Fig. 2 T2WI and T1WI images of case 2

胎发育第 5~12 周时引起第四脑室孔闭锁、小脑蚓部融合不良、神经管闭合不全等改变,从而阻断脑脊液由第四脑室向蛛网膜下腔的循环通路,致使第四脑室及颅后窝囊状扩大。本文中病例 1 患儿母亲有明确弓形虫感染史,病例 2 母亲孕晚期有严重贫血及血小板减低,均有异常产科病史,且两例孕妇均未定期产检,未能及时发现并给与干预,故应重视产前检查,早期发现并干预。

Dandy-Walker 综合征典型临床表现为:(1)共济失调,走路、站立不稳,眼球水平震颤等小脑症状;(2)头痛、呕吐等高颅压表现;(3)头围增大、落日眼征、前囟张力高及骨缝分离等脑积水;(4)智力障碍、精神运动发育迟滞和癫痫发作等大脑皮质受损表现,甚者压迫脑干呼吸中枢致呼吸衰竭而死亡。在大多数文献报道中,出现以上典型临床表现多在儿童期,极少有新生儿 Dandy-Walker 综合征

报道。本文中病例 1 有脑积水表现,但无小脑症状及大脑皮质受损表现,病例 2 无明显神经系统阳性症状体征,提示新生儿期该病临床表现不典型,但 2 例患儿均有重度窒息及早产病史,故高危儿在新生儿期均应重视对患儿头围监测、注重患儿神经系统体征,必要时行头颅 CT 或 MRI 检查协助诊断。

DWS 的诊断主要依靠影像学检查,不同时期需采用不同影像学检查手段。胎儿期 Dandy-Walker 综合征主要依靠超声检查,超声检查显示小脑蚓部完全缺失,枕池增宽 $>10\text{ mm}$ 、且与第四脑室之间有小管状连通。如超声检查怀疑胎儿 Dandy-Walker 综合征,即应进行产前诊断,包括进一步完善分子学诊断、染色体检查及超声会诊是否存在复合畸形等。DWS 该病预后不良,故孕早期确诊该病,应及时终止妊娠;晚期妊娠才明确诊断者,若合并严重染色体异常的胎儿,仍建议终止妊

娠。在本组病例中,2 例孕母孕期虽然未定期产检,但均行过超声检查,且均未提示异常妊娠。18 周后胎儿期 B 超对发现 Dandy-Walker 综合征有重要意义,故提高 B 超医师对 Dandy-Walker 综合征胎儿 B 超影像特征的识别能力较为重要。新生儿期及儿童时期主要依靠头颅 CT 或头颅 MRI 检查,本文中病例 1 的头颅 CT 示,小脑蚓部细小并下部缺如,后颅窝呈一囊性灶并与四脑室后部相连,第三脑室及侧脑室均明显扩张、变形,呈囊状,脑实质明显受压并密度不均匀减低;病例 2 的头颅 MRI 示,小脑体积缩小,两侧脑室、第三脑室、第四脑室及枕大池对称性扩大,均符合 Dandy-Walker 综合征的 CT 及 MRI 影像学特征表现^[7]。该病应与以下疾病鉴别:(1)后颅窝蛛网膜囊肿,该病 CT 表现为脑脊液密度的囊肿,但不与第四脑室相通,且第四脑室及小脑蚓部正常;(2)巨大枕大池,该病第四脑室和蛛网膜下腔之间自由交通,但第四脑室位置及形态正常。

Dandy-Walker 综合征无有效内科治疗手段,主要为外科手术治疗,手术目的主要是减轻脑室积水、降低颅内压、促进脑组织发育及改善神经系统功能等。本组 2 例患儿诊断为 Dandy-Walker 综合征后 1 例未予特殊处理,1 例予脱水降颅压治疗后

自请出院,未进一步治疗。1 例失访,1 例随访发现智力运动发育落后。

3 参考文献

- [1] 赖若沙,谢鼎华. Dandy. Walker 综合征致病基因的研究进展. 国际病理科学与临床杂志, 2010(1):65-70.
- [2] 马玉焕,陈倩,时春艳,等. 胎儿 Dandy-Walker 综合征 6 例分析及文献复习[J]. 国际妇产科学杂志, 2012(1):72-74.
- [3] Stoodley P, Braxton EE Jr, Nistico L, et al. Direct Demonstration of Staphylococcus biofilm in an external ventricular drain in a patient with a history of recurrent ventriculoperitoneal shunt failure [J]. Pediatric Neurosurg, 2010(2):127-132.
- [4] 覃艳玲. Dandy-Walker 综合征的产前超声诊断[J]. 中国计划生育学杂志, 2010(1):58-59.
- [5] Barkovich AJ. Developmental disorders of the midbrain and hindbrain[J]. Front Neuroanat, 2012(6):1-10.
- [6] 张春丽,吕红岩,武书丽,等. 新生儿 Dandy-Walker 综合征一例[J]. 内蒙古医学杂志, 2010(5):638.
- [7] 谢国强,陈晓雷. Dandy-Walker 综合征(4 例报告). 中国神经精神疾病杂志, 2012(9):540-543.

(2015-01-26 收稿,2015-03-16 修回)

中文编辑:刘平;英文编辑:周凌

(上接第 429 页)

要和常规 MRI 结合,对 FIGO 分期具有非常重要的辅助作用。国外一些学者对宫颈癌灶 ADC 值与病理分化程度的相关性的研究结果尚不一致,一些学者试图通过测量 ADC 值预测有无宫颈癌盆腔淋巴结转移,但尚无定论^[6]。相信将来 DWI 将来为活体分子水平研究宫颈癌提供更为广阔的空间。

本研究中病例数样本不大,在 MRI,IIA 期病灶是否超出宫颈的观察不够仔细和全面,故可能导致本组病例分期存在误差,从而导致分期准确率不高。今后将进一步增大样本量,增加中晚期宫颈癌患者,研究 DWI 在盆腔内淋巴结转移优越性。

MRI 术前分期明显优于临床术前分期,因此,MRI 检查对早期宫颈癌的诊断和分期有重要价值。宫颈癌组织的 ADC 值比正常宫颈组织 ADC 值低,DWI 对病灶边缘、大小及周围组织显示非常清晰。常规 T₂ WI,尤其是 T₂ WI 矢状位在早期宫颈癌诊断和分期中非常有价值。综上所述,对宫颈癌精确的定位、定性和分期除了常规 MRI 平扫外,有必要

加做 DWI 扫描。

4 参考文献

- [1] 刘颖,白人驹. DWI 在宫颈癌诊断中的应用价值及其与病理相关性[J]. 临床放射学杂志, 2009(2):225-229.
- [2] 于红艳. 磁共振 DWI 成像分析 ADC 及 b 值设定对宫颈癌分期应用的研究[J]. 牡丹江医学院学报, 2013(4):100-101.
- [3] Benedet JL, Odicino F, Maisonneuve P, et al. Carcinoma of the cervix[J]. FIGO Annual Report. J Epidemiol Biostat, 2001(3):5.
- [4] Sethi TK, Bhalla NK. Magnetic resonance imaging in carcinoma cervix—does it have a prognostic relevance[J]. Cancer Res Ther, 2005(2):103-107.
- [5] 张凤翔,原兰,张芳,等. 子宫颈癌的 MRI 诊断及分期[J]. 实用医学影像杂志, 2008(5):322-324.
- [6] 凌人男,单军,王晓枚,等. DWI 成像在宫颈癌分期中的应用[J]. 2011(4):470-472.

(2015-01-17 收稿,2015-03-25 修回)

中文编辑:刘平;英文编辑:赵毅