

JOURNAL OF WANNAN MEDICAL COLLEGE

Vol. 39 No. 6 2020

- Linc00619 gene inhibits the proliferation and migration of BEAS-2B cells through AKT/ERK signaling SUN Tian, LÜ Yechao, FENG Yuling, *et al* (511)
- Total flavone of rhododendron alleviating rat cerebral ischemic injury through activating TRPV4, Kca3.1 and Kca2.3 channels in cerebral basilar arteries WANG Shufan, HE Yuxiang, CHENG Xiaolong, *et al* (516)
- Effects of puerarin with saxagliptin on the function of human umbilical vein endothelial cells under high glucose condition ZHANG Yishun, LI Shu, JIN Xin (520)
- γ -interferon-inducible lysosomal thiol reductase expression and its relationship with chemotherapy resistance in glioma CHEN Sansong, YAO Lin, WANG Qifu, *et al* (524)
- Correlation study on the expression of CD163 and ANGPTL4 in macrophages from malignant pleural effusions QIN Lilong, ZANG Leilei, QUAN Bin, *et al* (528)
- Correlation analysis of blood lipid level and intervertebral disc degeneration in patients with cervical spondylotic myelopathy ZHAN Wenhao, WANG Hong, WANG Lingting, *et al* (531)
- Effect of vitreoretinal surgery on blood glucose level in patients with diabetic retinopathy LI Jinping, KE Genjie, YAN Yuanye, *et al* (534)
- Expression of CXCL16 in non-small cell lung cancer ZHENG Rui, PU Chun (537)
- Clinical diagnosis and treatment of Guillain-Barré syndrome: Single-center retrospective analysis SHANG Xianjin, XU Xin, LI Gang, *et al* (540)
- Pregnancy outcome and pre-pregnancy BMI and weight gain in pregnancy in patients with polycystic ovary syndrome JIAN Fengping, LIN Xiufeng, KE Wangna, *et al* (544)
- Retrospective study of renal biopsies in 617 cases CHEN Bowen, CUI Caixia, CHANG Baochao, *et al* (547)
- Correlation study on blood glucose level and cognitive function in patients with type 2 diabetes ZHAO Dewei, GUO Dongliang, CHEN Mingwei (550)
- Clinical effects of closed prying reduction assisted by traditional Chinese medicine manipulative reduction and internal fixation with hollow nails in calcaneal fractures YANG Xueming, CHEN Xianjin, HUANG Ping (554)
- Clinical analysis of endovascular repair of abdominal aortic aneurysm in 20 cases XIA Youchuan, QIAO Tong, SI Chunqiang, *et al* (558)
- Clinical diagnosis and treatment management of suspected COVID-19: Analysis in 55 cases LI Qianbing, LIU Guodong, LIU Hejun, *et al* (561)
- Expression and significance of Ack1/MMP-14 in salivary adenoid cystic carcinoma ZHANG Xuan, AN Feng, MA Sai, *et al* (564)
- Randomized controlled clinical trial of apical micro-surgery and conventional apical surgery for apical periodontitis FAN Cong, YAO Lili (567)
- Predictive value of the quantitative tissue Doppler imaging for severe stenosis of the left main coronary artery in ischemic cardiomyopathy JI Wenyan, LIU Biaohu, HE Yi, *et al* (570)
- Clinical analysis on clinical value of initial chest CT findings in patients with COVID-19 YUAN Yushan, MA Peiqi, ZHANG Lei, *et al* (573)
- Evaluating the value of prenatal ultrasound diagnosis in fetal congenital vascular ring SUN Biyun, HONG Yun, ZHU Xiangming, *et al* (577)
- Survey and analysis on the psychological stress response and behavioral changes of medical professionals during COVID-19 epidemic CHEN Yan, HUANG Mengyun, JIN Yuelong, *et al* (580)
- Detection and analysis on the microorganism in barreled water and water dispensers at a university in Wuhu SHAO Jing, CHEN Tiantian, GUO Yufan, *et al* (585)
- Correlation analysis of *Helicobacter pylori* infection with serum pepsinogen and gastrin-17 in physical examination population YU Jiegen, LI Rong, LIU Shaofeng, *et al* (587)
- Controlled synthesis and characterization of $\text{Eu}(\text{OH})_3@ \text{Au}$ composite nanotubes ZHANG Longwei, JI Xiang, LI Xiangzi (591)
- Evaluation of applying Mini-CEX and DOPS dual-track system in instruction of residents undergoing standardized residency training in the department of endocrinology HE Chunling, XING Wen, CAO Ya, *et al* (595)
- Application of blended PBL with scenario simulation to instruction of the experimental curriculum for clinical anesthesia ZHENG Changjian, CHEN Yongquan (598)
- Outcomes of applying precision nursing to patients of oral cancer undergoing maxillofacial free skin flap transplantation TENG Xiaoju, FANG Yuanyuan, CHENG Ting, *et al* (601)
- Application of cluster nursing to critical patients undergoing continuous blood purification WAN Xiujian, DI Jiamei, ZHAO Feng, *et al* (604)
- Clinical outcomes applying eye position training apparatus to patients following cataract surgery by topical anesthesia XU Yanqun, TENG Xiaoju, CHEN Yan, *et al* (607)
- Gitelman syndrome: Report of 1 case with literature review HE Junjun, CHEN Yueping, ZHAO Yongli, *et al* (610)

目 次

基础医学

linc00619 通过 AKT/ ERK 信号抑制 BEAS-2B 细胞的增殖和迁移 ... 孙 甜 吕业超 凤羽龄等(511)

杜鹃花总黄酮通过激活大鼠脑基底动脉血管内皮细胞 TRPV4、Kca3.1 和 Kca2.3
通道改善缺血性脑损伤 王书凡 赫玉香 程小龙等(516)

葛根素联用沙格列汀在高糖环境下对人脐静脉内皮细胞的影响 ... 张一顺 李 曙 金 鑫 (520)

γ -干扰素诱导的溶酶体硫醇还原酶在胶质瘤中的表达及其与胶质瘤化疗耐药关系
..... 陈三送 姚 林 王其福等(524)

临床医学

恶性胸腔积液巨噬细胞 CD163、ANGPTL4 表达及相关性研究..... 秦立龙 臧蕾蕾 全 斌等(528)

血脂水平与脊髓型颈椎病患者椎间盘退变的相关性分析 詹文豪 王 弘 王凌挺等(531)

玻璃体视网膜联合术对糖尿病视网膜病变患者血糖的影响 李金平 柯根杰 闫原野等(534)

趋化因子配体 16 在非小细胞肺癌中的表达 郑 瑞 浦 春 (537)

单中心回顾性吉兰巴雷综合征诊治分析 尚贤金 徐 昕 李 刚等(540)

多囊卵巢综合征患者妊娠结局与孕前 BMI 及孕期体质量增长的相关性
..... 简凤萍 林秀峰 柯玩娜等(544)

617 例肾活检病理资料回顾性分析..... 陈博文 崔彩侠 常保超等(547)

2 型糖尿病患者血糖与认知功能相关性研究..... 赵德伟 郭东亮 陈明卫 (550)

跟骨骨折闭合撬拨辅以中医整复手法复位空心钉内固定术的临床疗效
..... 杨学明 陈先进 黄 平等(554)

20 例腹主动脉瘤腔内修复术的临床分析 夏友传 乔 彤 司春强等(558)

55 例疑似新型冠状病毒肺炎患者临床诊疗分析 李乾兵 刘国栋 刘和俊等(561)

口腔医学

Ack1 和 MMP-14 在涎腺腺样囊性癌组织中的表达与意义 张 璇 安 峰 马 赛等(564)

显微根尖手术和传统根尖手术的随机对照研究 樊 骢 姚莉莉 (567)

影像医学

定量组织多普勒超声成像对缺血性心肌病冠脉左主干狭窄的预测价值
..... 纪文艳 刘表虎 何 仪等(570)

COVID-19 病人首诊胸部 CT 的临床价值分析 袁玉山 马培旗 张 磊等(573)

胎儿先天性血管环的产前超声诊断分析 孙碧云 洪 云 朱向明等(577)

心理学

新型冠状病毒肺炎流行期医务人员心理应激反应及行为变化调查分析
..... 陈 燕 黄孟云 金岳龙等(580)

预防医学

芜湖市某高校桶装水及饮水机微生物检测分析 邵 靖 陈田田 郭雨凡等(585)

健康体检人群幽门螺杆菌感染程度与血清胃蛋白酶原、胃泌素 17 的相关性分析
..... 余结根 李 荣 刘少锋等(587)

大学生科技园地

Eu(OH)₃@ Au 复合纳米管的可控合成及表征 张龙威 季 翔 李祥子 (591)

医学教育研究

Mini-CEX 联合 DOPS 双轨系统在内分泌科住培医师教学中的应用评价
..... 何春玲 邢 文 曹 亚等(595)

PBL-情景模拟混合式教学法在临床麻醉实验教学中的应用 郑昌健 陈永权 (598)

护理学

精准护理在口腔肿瘤患者颌面游离皮瓣移植修复术中的应用 滕晓菊 方媛媛 程 婷等(601)

集束化护理在连续性血液净化危重患者中的应用 万秀娟 第加美 赵 泓等(604)

眼位训练仪在表面麻醉白内障手术中的应用效果 许艳群 滕晓菊 陈 艳等(607)

短篇报道

Gitelman 综合征 1 例报道并文献复习 何俊俊 陈月平 赵咏莉等(610)

[期刊基本参数] CN34-1068/R * 1974 * b * A4 * 102 * zh * P * ¥15.00 * 1 000 * 30 * 2020-12 * n

本期执行编委 王安才 汪萌芽 徐宏光

本期统计学审校 姚应水 金岳龙

本期英文审校 王先寅

皖南医学院学报

(双月刊 1974 年创刊)

第 39 卷 第 6 期(总 191 期)

2020 年 12 月出版

主管单位 安徽省教育厅

主办单位 皖南医学院

主 编 章 尧

编辑出版 皖南医学院学报编辑部

(安徽省芜湖市弋江区文昌西路 22 号 241002)

电话:0553-3932553

印 刷 安徽芜湖新华印务有限责任公司

发 行 中国邮政集团有限公司芜湖市分公司

(邮发代号:26-235)

责任编辑 聂 勇

Journal of Wannan Medical College

Bimonthly(Founded in 1974)

2020, Vol. 39, No. 6(Sum No. 191)

Dec. 2020

Responsible Institution Education Department of Anhui Province

Sponsor Wannan Medical College

Editor in Chief ZHANG Yao

Editing and Publishing Editorial Board of Journal of Wannan Medical College (22 West Wenchang Road, Wuhu 241002, Anhui China)

Tel:86-553-3932553

Printing Wuhu Xinhua Printing Co. Ltd

Publishing Wuhu Branch, China Post Group., Ltd

(License code:26-235)

Executive Editor NIE Yong

· 基础医学 ·

文章编号:1002-0217(2020)06-0511-05

linc00619 通过 AKT/ERK 信号抑制 BEAS-2B 细胞的增殖和迁移

孙 甜¹, 吕业超¹, 凤羽龄¹, 周萍萍¹, 湛孝东¹, 唐小牛¹, 姜玉新^{1,2}

(1. 皖南医学院 基础医学院, 安徽 芜湖 241002; 2. 嘉兴学院 医学院, 浙江 嘉兴 314000)

【摘要】目的:探讨长链非编码 RNA 00619(linc00619)在人肺上皮细胞 BEAS-2B 中的生物学作用。**方法:**用 RNA 原位杂交对 linc00619 进行 BEAS-2B 亚细胞定位;采用 CRISPR/Cas9 方法构建 linc00619 慢病毒敲除载体, CCK8 和 Transwell 试验检测 linc00619 敲除对 BEAS-2B 增殖和迁移的影响;lncRNA 芯片检测 linc00619 敲除后差异表达的 mRNAs 并进行 KEGG 富集分析;Western blot 检测 AKT、MEK 和 ERK 等增殖相关分子。**结果:**linc00619 定位于细胞质。linc00619 敲除促进了 BEAS-2B 的增殖和迁移。linc00619 敲除后得到了 3 461 个差异表达 mRNAs。共有 922 个 mRNAs 被富集进 KEGG 信号通路,其中 MAPK 信号是显著富集的信号之一。Western blot 证实,linc00619 敲除激活了 AKT 和 ERK。**结论:**细胞质表达的 linc00619 通过抑制 AKT/ERK 信号抑制了 BEAS-2B 的增殖和迁移。

【关键词】长链非编码 RNA 00619(linc00619);BEAS-2B 细胞;lncRNA 芯片;哮喘

【中图分类号】R 329.28;R 562.25 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.001

Linc00619 gene inhibits the proliferation and migration of BEAS-2B cells through AKT/ERK signaling

SUN Tian, LÜ Yechao, FENG Yuling, ZHOU Pingping, ZHAN Xiaodong, TANG Xiaoniu, JIANG Yuxin

School of Basic Medicine, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

【Abstract】Objective: To investigate the biological role of linc00619 gene in human lung epithelial cells. **Methods:** Linc00619 gene in BEAS-2B cells was subjected to subcellular localization using RNA *in situ* hybridization, and linc00619-knockout lentivirus was constructed using CRISPR/Cas9 technique. Then, the effect of linc00619 knockout on the BEAS-2B cell was observed through cell proliferation and invasion assays. LncRNA microarray was used to detect the differentially expressed mRNAs following linc00619 knockout, and KEGG signaling pathway was also enriched. The proliferation-related molecules, AKT, MEK and ERK were determined by Western blot. **Results:** Linc00619 was localized in the cytoplasm, and LINC00619 knockout promoted the proliferation and invasion of BEAS-2B cells. Linc00619 knockout resulted in 3 461 differentially expressed mRNAs after microarray screening. A total of 922 genes were enriched into the KEGG signaling pathway, in which MAPK signaling pathway was one of the significant enrichments, and AKT and ERK were activated by linc00619 knockout confirmed with Western blot. **Conclusion:** Highly expressed linc00619 in the cytoplasm may inhibit the proliferation and invasion of BEAS-2B cells via checking AKT/ERK signaling.

【Key words】linc00619; BEAS-2B cells; LncRNA microarray; asthma

过敏性哮喘是一种长期的慢性气道炎性疾病^[1]。慢性气道炎症、气道高反应性和气道重塑等是其主要临床病理特征^[2-3]。气道上皮细胞增生引起的气道阻力增加是导致过敏性哮喘病程加重的主要因素^[4]。作为常见的气传变应原,屋尘螨(house

dust mite, HDM)可刺激螨性过敏患者的气道上皮细胞产生炎症应答、气道重塑、黏液过度增多,进而加重哮喘^[5]。

长链非编码 RNAs(lncRNAs)是一类长度>200 nt 的非编码 RNAs,参与包括细胞增殖和分化、细胞

基金项目:国家自然科学基金项目(81172790,81671586);安徽高校自然科学研究重点项目(KJ2018A0263,KJ2019A0403);皖南医学院重点科研项目(WK2019Z06)

收稿日期:2020-05-20

作者简介:孙 甜(1994-),女,2017 级硕士研究生,(电话)17855326316,(电子信箱)aylasun0209@163.com;

唐小牛,男,教授,硕士生导师,(电子信箱)txniu@163.com,通信作者;

姜玉新,男,副教授,硕士生导师,(电子信箱)jiangyx@wnmc.edu.cn,通信作者。

周期等诸多生理和病理生理过程的调控^[6-9]。研究证实, lncRNAs 在气道平滑肌细胞 (airway smooth muscle cells, ASMCs) 中发挥关键作用, 进而调节哮喘的发病进程^[10-11]。例如, 浆细胞瘤变异易位 1 (plasmacytoma variant translocation 1, PVT1) 在糖皮质激素不敏感的重度哮喘患者中的表达显著高于糖皮质激素敏感的轻度哮喘患者; 抑制 PVT1 的表达可促进 ASMCs 增殖, 同时抑制 IL-6 的释放^[12]。RNA00882 在血小板源性生长因子处理的胚胎 ASMCs 中显著高表达, 抑制其表达导致胚胎 ASMCs 增殖下降^[13]。BCYRN1 通过上调瞬时受体电位 1 (transient receptor potential canonical 1, TRPC1) 的表达来促进哮喘大鼠 ASMCs 的增殖和迁移^[14]。GAS5 通过控制 miR-10a/BDNF 信号促进哮喘 ASMCs 增殖^[15]。此外, TCF7 通过靶向 TIMMDC1 并活化 Akt 信号促进 ASMCs 增殖^[16]。但目前大多数 lncRNAs 的功能未知。因此, 探讨哮喘中 lncRNAs 对肺上皮细胞增殖分化的调控机制, 不仅有利于深入认识哮喘的发病机制, 也有助于为哮喘的免疫治疗提供新的实验证据。

本研究首先检测长链非编码 RNA 00619 (linc00619) 的亚细胞定位; 随后探讨了其对 BEAS-2B 生物学功能的影响; 最后通过基因芯片分析 linc00619 对 BEAS-2B 影响的潜在分子机理, 从而为过敏性哮喘的免疫治疗提供实验基础。

1 材料与方 法

1.1 材料 细胞

293T 和人肺上皮细胞 BEAS-2B 购自中科院上海细胞库。主要试剂: DMEM 培养基、胎牛血清 (FBS) 购自上海 Gibco 公司。慢病毒载体 pLV6 购自上海吉玛制药技术有限公司。嘌呤霉素购自美国 Merck 公司。Genomic DNA Extraction kit 购自日本 Takara 公司; Max DNA 聚合酶购自南京维诺赞公司。CCK8 检测试剂盒、RIPA 裂解液购自上海生工生物。RNeasy mini Kit、RNase-free DNase set 购自德国 QIAGEN 公司。SBC Human (4×180K) lncRNA 芯片及配套试剂盒购自美国 Agilent 公司。FISH TagTM RNA Red Kit 购自美国 ThermoFisher 公司。其他试剂为国产分析纯。

1.2 方 法

1.2.1 细胞培养

293T 或 BEAS-2B 细胞用 DEME 培养基 (含 10% FBS、1.5 mg/L 谷氨酰胺、100 U/mL 青霉素、100 μg/mL 链霉素) 中, 于 37℃、5% CO₂ 饱和湿度下常规培养。

1.2.2 linc00619 的亚细胞定位

按 FISH TagTM

RNA Red Kit 说明书标记 linc00619 探针, 并对 BEAS-2B 细胞进行 RNA 原位杂交和 DAPI 复染。

1.2.3 linc00619 双突变载体的制备和细胞转染

根据 linc00619 (Gene ID: 414260) 核苷酸序列, 设计 3 对双导引 RNAs (dgRNA), 即 dgRNA1: CAT TAG AGG ACC GGA CAT GGT GG(+) 和 AAT AAA TCT GGA CCT ACA CAT GG(-); dgRNA2: CTT GCT TCT GAC GAA AGC TCA GG(+) 和 AGC CTA CAA TTC TAA GTA TTT GG(-); dgRNA3: CTC CAT TCC TGT GTT TAG GCA GG(+) 和 ATC TCG ATT CAA GTT TGT TGA GG(-), 分别产生 791、700 和 300 bp 突变体。将它们分别插入慢病毒 pLV6 中。

将 BEAS-2B 细胞 (2.5×10⁵ 细胞/孔) 铺于 24 孔板, 加入 0.5 mL 含 10% FBS 的 DMEM 于 37℃、5% CO₂ 过夜; 弃去培养液, 加入 0.5 mL 稀释后的不同病毒液 37℃、5% CO₂ 培养 12~24 h; 弃去培养液并加入 0.5 mL DMEM+10% FBS, 37℃、5% CO₂ 继续培养 24~48 h; 荧光显微镜观察细胞。

1.2.4 linc00619 突变体的鉴定

用 Genomic DNA Extraction kit 提取 BEAS-2B 基因组 DNA, PCR 扩增用下列引物: 正向 5'-ACA GCT TGC TTG GCA CTG AAA TG-3' 和反向 5'-AAC CAT CCC CTA CCA TCA TCC AT-3'。PCR 体系 (50 μL): 25 μL 2× Max buffer、1 μL dNTP Mix (10 mmol/L)、各 2 μL 正/反向引物 (10 μmol/L)、200 ng 基因组 DNA、2.5 U Max DNA 聚合酶、17 μL ddH₂O。PCR 反应程序: 95℃ 变性 3 min, 95℃ 5s、60℃ 15s、72℃ 40s 循环 42 次, 72℃ 5s, 终延伸 16℃ 1 min。

1.2.5 荧光定量 PCR

采用 Trizol 一步法提取细胞总 RNA, 并进行逆转录。逆转录反应体系 (10 μL): RNA 模板 1 μg, 引物 (50 pmol/L) 1 μL, dNTP (10 mmol/L) 1 μL, 补充 ddH₂O 至 10 μL。65℃ 5 min, 反应产物迅速置于冰上, 加入 2× 逆转录缓冲液 4 μL, 逆转录酶 100 U, ddH₂O 5.5 μL。混匀后 42℃ 60 min, 75℃ 15 min, 4℃ 保持。PCR 反应 (20 μL): 2× PCR Master Mix 10 μL, 正/反向引物 (10 μmol/L) 各 0.4 μL, cDNA 模板 1 μL, 补充 ddH₂O 至 20 μL。定量 PCR 反应程序: 95℃ 预变性 30 s, 95℃ 10 s, 60℃ 30 s, 共 40 个循环。

1.2.6 细胞增殖试验

将 100 μL linc00619 敲除的 BEAS-2B 细胞 (1×10⁵ 细胞/孔) 铺于 96 孔板, 37℃、5% CO₂ 培养 24 h; 弃去培养液, 根据 CCK8 试剂盒说明书加入 CCK8 试剂, 避光 37℃、5% CO₂ 孵育 2 h; 用酶标仪在 450 nm 处检测光密度值。

1.2.7 细胞迁移试验

向 Transwell 小室上层无血

清 DMEM 培养液(含 0.2% BSA)中加入 linc00619 敲除的 BEAS-2B 细胞(1×10^5 细胞/孔),下层培养液为含 10% FBS 的 DMEM,细胞培养 48 h 后,用 DAPI 染色,荧光显微镜下细胞计数。

1.2.8 Western blot 用 PBS 洗涤 linc00619 敲除的 BEAS-2B 细胞,加入 100 μ L/孔的 RIPA 细胞裂解液,4 $^{\circ}$ C 30 min,12 000 r/min 10 min 收集上清,12.5% SDS-PAGE 分离并转到 PVDF 膜,膜用 1% 的 BSA 37 $^{\circ}$ C 封闭 1 h 后,加入鼠抗人 p-AKT、AKT、p-MEK、MEK、p-ERK、ERK 及 β -actin 一抗(1:1000 稀释)37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h,1 \times TBST 缓冲液洗膜 3 次,5 分钟/次。加 HRP 标记的驴抗鼠 IgG 二抗(1:1000 稀释),37 $^{\circ}$ C 孵育 1 h,1 \times TBST 缓冲液洗膜 3 次,5 分钟/次。加化学发光液进行曝光。

1.2.9 芯片杂交、数据提取和分析 用 Trizol 一步法提取细胞总 RNA,用 NucleoSpin RNA Clean-up XS kit 和 RNase-Free DNase Set 纯化。按照 Agilent 表达谱芯片套装试剂盒操作说明扩增总 RNA 和荧光标记,并用 RNeasy mini kit 纯化。将 1.65 μ g 标记的 cRNA 用 Gene Expression Hybridization Kit 与芯片在 65 $^{\circ}$ C 杂交 17 h。Gene Expression Wash Buffer Kit 清洗芯片后,用 Agilent Microarray Scanner 扫描芯片,Feature Extraction software 12.0 读取数据,limma 软件包对数据进行分析。

1.2.10 统计分析 数据分析采用 GraphPad Prism 软件(版本 8.3.5)进行。数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组比较采用单因素方差分析和重复测量的方差分析,多组间两两比较采用 SNK 法。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果

2.1 linc00619 定位于细胞质 用荧光标记的 linc00619 探针对 BEAS-2B 细胞进行 linc00619 RNA 原位杂交及 DAPI 复染结果显示,linc00619 RNA 分布于细胞质(图 1)。

2.2 linc00619 敲除的鉴定 基因组 PCR 结果显示,dgRNA1 和 dgRNA3 均产生预期大小的突变体,并用于后续研究。定量 PCR 结果表明,与对照组相

比(1.0063 ± 0.1166),dgRNA1~3 均可抑制 linc00619 的表达,抑制效率分别 0.0011 ± 0.0002 、 0.0003 ± 0.0001 和 0.0046 ± 0.0007 ($P < 0.01$) (图 2B)。但 dgRNA2 未检测到突变体(图 2A),且其抑制 linc00619 表达的机制有待阐明。

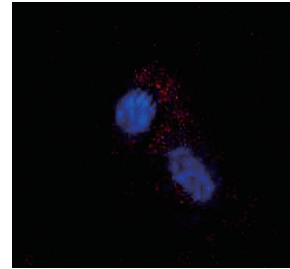
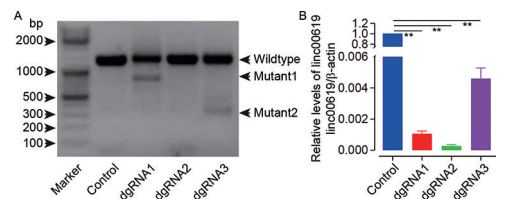


图 1 linc00619 定位于 BEAS-2B 细胞的细胞质(400 \times)



A. PCR 扩增基因组 DNA 中 linc00619 突变体;B. 荧光定量 PCR 分析 linc00619 敲除 BEAS-2B 细胞中 linc00619 表达($n = 3, F = 222.556, P = 0.000$;多组间两两比较, ** $P < 0.01$)。

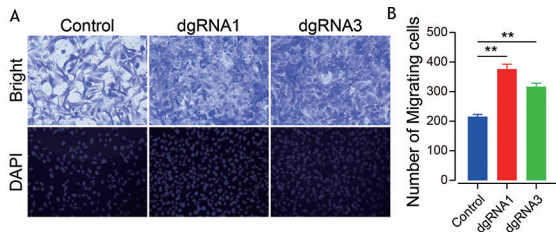
图 2 linc00619 敲除载体转染 BEAS-2B 细胞后的相对表达
2.3 linc00619 敲除促进了 BEAS-2B 增殖和细胞迁移 CCK8 结果表明,与对照组相比,dgRNA1 介导 linc00619 敲除 24 h 促进了 BEAS-2B 的增殖($P < 0.01$),但 dgRNA3 对 BEAS-2B 的增殖影响无统计学意义($P > 0.05$); dgRNA1 和 dgRNA3 介导 linc00619 敲除 48 h 均促进了 BEAS-2B 的增殖($P < 0.05$),但和 dgRNA1 相比,dgRNA1 的促进更明显且差异有统计学意义($P < 0.01$)。dgRNA1 介导 linc00619 敲除 72 h 促进了 BEAS-2B 的增殖($P < 0.01$),而 dgRNA3 抑制了 BEAS-2B 的增殖($P < 0.01$)。见表 1。迁移结果显示,相比于对照组(215 ± 8),dgRNA1 (376 ± 17) 和 dgRNA3 (317 ± 12) 介导 linc00619 敲除均促进 BEAS-2B 的迁移($P < 0.01$) (图 3)。

表 1 linc00619 敲除对 BEAS-2B 细胞增殖的影响

	细胞增殖倍数			
	0 h	24 h	48 h	72 h
对照组	1.004 \pm 0.008	1.811 \pm 0.005	3.565 \pm 0.008	6.337 \pm 0.007
dgRNA1	1.031 \pm 0.062	2.146 \pm 0.082 ^a	4.162 \pm 0.098 ^a	8.544 \pm 0.087 ^a
dgRNA3	1.000 \pm 0.004	1.814 \pm 0.003 ^b	3.766 \pm 0.087 ^{ab}	5.665 \pm 0.173 ^{ab}

$F_{\text{时间}} = 14507.402, P_{\text{时间}} = 0.000; F_{\text{组别}} = 309.929, P_{\text{组别}} = 0.000; F_{\text{时间} \times \text{组别}} = 344.074, P_{\text{时间} \times \text{组别}} = 0.000$

注:a 与对照组比, $P < 0.05$;b 与 dgRNA1 组比, $P < 0.05$ 。

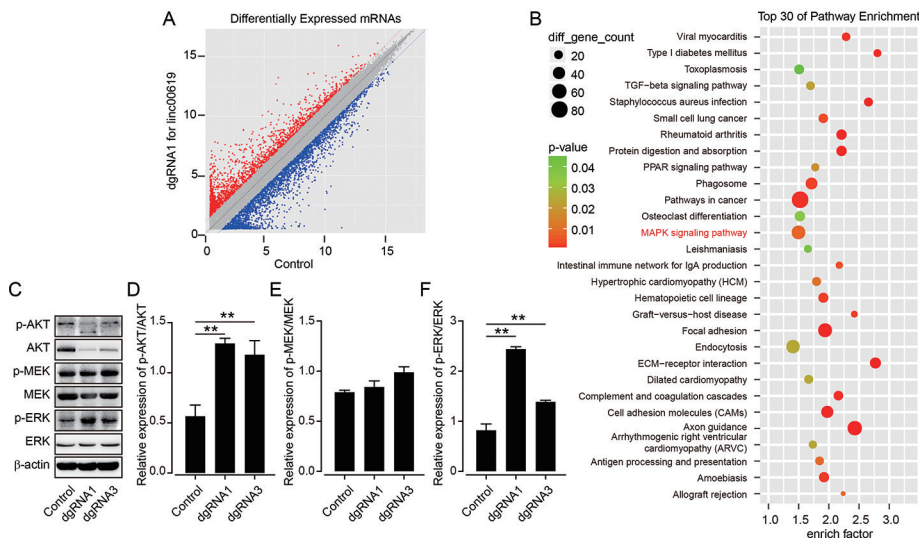


A. BEAS-2B 细胞迁移的代表性图片(200×);B. 计数并比较 A 中迁移的 BEAS-2B 细胞 ($n=3, F=120.139, P=0.000$;多组间两两比较, $** P<0.01$)。

图 3 linc00619 敲除对 BEAS-2B 细胞迁移的影响

2.4 linc00619 敲除对 mRNA 表达谱的影响 为探讨 linc00619 影响 BEAS-2B 细胞的潜在分子机理,

我们用 lincRNA 芯片分析 linc00619 敲除的差异表达 mRNAs,并进行 KEGG 信号富集。结果显示,共获得 3 461 个差异 mRNAs ($|$ 差异倍数 $|>2$),其中 1 298 个上调,2 163 个下调(图 4A)。有 922 个基因在 KEGG 信号通路被富集,图 4B 列出前 30 个信号通路,包括 MAPK 信号。本研究检测了增殖相关分子 AKT、MEK 和 ERK 的表达。结果表明, linc00619 敲除激活了 AKT 和 ERK [AKT:与对照组 (0.57 ± 0.11) 相比, dgRNA1 (1.29 ± 0.05) 和 dgRNA3 (1.18 ± 0.14) 升高 ($P<0.01$);ERK:与对照组 (0.82 ± 0.13) 相比, dgRNA1 (2.44 ± 0.05) 和 dgRNA3 (1.38 ± 0.03) 升高 ($P<0.01$)]。



A. 差异表达 mRNAs 的散点图;B. 差异表达 mRNAs 的 KEGG 信号通路富集的排名前 30 的信号通路;C. Western blot 分析 AKT、MEK 和 ERK 蛋白表达;D ~ F. 对 C 中 AKT、MEK 和 ERK 蛋白的灰度分析 ($n=3, F_{AKT}=39.588, P_{AKT}=0.000; F_{MEK}=2.389, P_{MEK}=0.173; F_{ERK}=300.118, P_{ERK}=0.000$ 。多组间两两比较, $** P<0.01$)。

图 4 linc00619 敲除对 mRNA 表达谱的影响及其 KEGG 信号通路富集分析

3 讨论

本研究首先检测到 linc00619 位于细胞质。随后发现 linc00619 敲除促进了 BEAS-2B 细胞的增殖和迁移。芯片结果表明 linc00619 敲除导致 MAPK 信号显著富集。Western blot 结果显示 AKT 和 ERK 被显著活化。这些结果表明, linc00619 可能通过 AKT/ERK 信号参与了 BEAS-2B 细胞的生物学功能。

lincRNAs 的亚细胞定位决定了其功能。细胞核 lincRNAs 可能参与包括染色质重塑和修饰及核小体等功能^[17];而细胞质 lincRNAs 主要参与包括 mRNA 周转、mRNA 修饰等^[18-19]。本研究发现 linc00619 位于细胞质,提示其可能参与了转录后调节,其详细机理有待阐明。

lincRNAs 在哮喘中也发挥重要作用。如 Hu 等用基因芯片筛选并获得了 224 个 TGFβ 处理的 BEAS-2B 中差异表达 lincRNAs^[20]。Li 等发现, LncRNA-ENST0000501520 可促进恶性 BEAS-2B 细胞的增殖^[21]。此外, BEAS-2B 中 lincRNAuc001. dgp. 1 可增强 PM2.5 诱导的肺部炎症^[22]。本研究发现, linc00619 敲除促进了 BEAS-2B 细胞的增殖和迁移。Gao 等也发现, lincRNA-DQ786227 沉默抑制了恶性 BEAS-2B 细胞的增殖^[23]。为清晰 linc00619 在 BEAS-2B 中的作用机理,我们用 lincRNAs 芯片筛选并获得了 3 461 个 linc00619 敲除的差异表达 mRNAs。其中有 922 个基因被富集到 KEGG 信号通路,包括 MAPK 信号。Western blot 证实, linc00619 敲除激活了 AKT 和 ERK。但其详细机理有待阐明。

综上所述,本研究表明,linc00619 位于细胞质,敲除该分子导致 BEAS-2B 细胞的增殖和迁移增加,以及 AKT 和 ERK 的活化。但其具体的分子机制有待进一步深入研究。

【参考文献】

- [1] BARRY LE,SWEENEY J,O'NEILL C,*et al.* The cost of systemic corticosteroid-induced morbidity in severe asthma: a health economic analysis [J]. *Respir Res*,2017,18:129.
- [2] CLIFFORD RL,SINGER CA,JOHN AE. Epigenetics and miRNA emerge as key regulators of smooth muscle cell phenotype and function [J]. *Pulm Pharmacol Ther*,2013,26(1):75-85.
- [3] 周萍萍,尹康,吴露依,等. 哮喘相关的 miR-201-3p 靶基因的预测及生物信息学分析[J]. *皖南医学院学报*,2015,34(6):511-517.
- [4] BUTTON B,ANDERSON WH,BOUCHER RC. Mucus hyperconcentration as a unifying aspect of the chronic bronchitic phenotype [J]. *Annals of the American Thoracic Society*,2016,13 (Supplement_2):S156-S162.
- [5] PINEIRO-HERMIDA S,GREGORY JA,LOPEZ IP,*et al.* Attenuated airway hyperresponsiveness and mucus secretion in HDM-exposed Igf1r-deficient mice [J]. *Allergy*,2017,72(9):1317-1326.
- [6] FATICA A,BOZZONI I. Long non-coding RNAs: new players in cell differentiation and development [J]. *Nat Rev Genet*,2014,15(1):7-21.
- [7] NAIR L,CHUNG H,BASU U. Regulation of long non-coding RNAs and genome dynamics by the RNA surveillance machinery [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*,2020,21(3):123-136.
- [8] RANSOHOFF JD,WEI Y,KHAVARI PA. The functions and unique features of long intergenic non-coding RNA [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*,2018,19(3):143-157.
- [9] GIL N,ULITSKY I. Regulation of gene expression by cis-acting long non-coding RNAs [J]. *Nat Rev Genet*,2020,21(2):102-117.
- [10] PERRY MM,TSITSIOU E,AUSTIN PJ,*et al.* Role of non-coding RNAs in maintaining primary airway smooth muscle cells [J]. *Respir Res*,2014,15(1):58-69.
- [11] NAROZNA B,LANGWINSKI W,SZCZEPANKIEWICZ A. Non-coding RNAs in pediatric airway diseases [J]. *Genes (Basel)*,2017,8(12):348-363.
- [12] AUSTIN PJ,TSITSIOU E,BOARDMAN C,*et al.* Transcriptional profiling identifies the long noncoding RNA plasmacytoma variant translocation(PVT1) as a novel regulator of the asthmatic phenotype in human airway smooth muscle [J]. *J Allergy Clin Immunol*,2017,139(3):780-789.
- [13] LIU Z,MEI L,HE Z. Long non-coding RNA00882 contributes to platelet-derived growth factor-induced proliferation of human fetal airway smooth muscle cells by enhancing Wnt/beta-catenin signaling via sponging miR-3619-5p [J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2019,514(1):9-15.
- [14] ZHANG XY,ZHANG LX,TIAN CJ,*et al.* LncRNAs BCYRN1 promoted the proliferation and migration of rat airway smooth muscle cells in asthma via upregulating the expression of transient receptor potential 1 [J]. *Am J Transl Res*,2016,8(8):3409-3418.
- [15] ZHANG XY,TANG XY,LI N,*et al.* GAS5 promotes airway smooth muscle cell proliferation in asthma via controlling miR-10a/BDNF signaling pathway [J]. *Life Sci*,2018,212:93-101.
- [16] FAN M,XU J,XIAO Q,*et al.* Long non-coding RNA TCF7 contributes to the growth and migration of airway smooth muscle cells in asthma through targeting TIMMDC1/Akt axis [J]. *Biochem Biophys Res Commun*,2019,508(3):749-755.
- [17] YAO RW,WANG Y,CHEN LL. Cellular functions of long noncoding RNAs [J]. *Nat Cell Biol*,2019,21(5):542-551.
- [18] CARRIERI C,CIMATTI L,BIAGIOLI M,*et al.* Long non-coding antisense RNA controls Uchl1 translation through an embedded SINEB2 repeat [J]. *Nature*,2012,491(7424):454-457.
- [19] WANG P,XUE Y,HAN Y,*et al.* The STAT3-binding long noncoding RNA lnc-DC controls human dendritic cell differentiation [J]. *Science*,2014,344(6181):310-313.
- [20] HU W,PEI W,ZHU L,*et al.* Microarray profiling of TGF-beta1-induced long non-coding RNA expression patterns in human lung bronchial epithelial BEAS-2B Cells [J]. *Cell Physiol Biochem*,2018,50(6):2071-2085.
- [21] LI Z,ZHANG Y,MENG L,*et al.* LncRNA-ENST00000501520 promotes the proliferation of malignant-transformed BEAS-2B cells induced with coal tar pitch mediated by target genes [J]. *Environ Toxicol*,2019,34(7):869-877.
- [22] LI X,JIA Y,NAN A,*et al.* CircRNA104250 and lncRNAuc001.dgp.1 promote the PM2.5-induced inflammatory response by co-targeting miR-3607-5p in BEAS-2B cells [J]. *Environ Pollut*,2020,258:113749.
- [23] GAO L,MAI A,LI X,*et al.* LncRNA-DQ786227-mediated cell malignant transformation induced by benzo(a)pyrene [J]. *Toxicol Lett*,2013,223(2):205-210.

杜鹃花总黄酮通过激活大鼠脑基底动脉血管内皮细胞 TRPV4、Kca3.1 和 Kca2.3 通道改善缺血性脑损伤

王书凡¹, 赫玉香¹, 程小龙², 徐杭杭², 沈学彬^{1,2}, 胡浩然^{1,2}, 周若瑜^{1,2,3}, 曹迪^{1,2,3}, 韩军^{1,2,3,4}

(皖南医学院 1. 安徽省皖南地区植物药活性物质筛选与再评价工程实验室;2. 药物研发中心;3. 安徽省多糖药物工程技术研究中心;4. 药理学教研室,安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的:研究杜鹃花总黄酮(TFR)是否通过大鼠脑基底动脉(CBA)血管内皮细胞瞬时受体电位通道4(TRPV4)、中电导钙激活钾通道(Kca3.1)以及小电导钙激活钾通道(Kca2.3)改善大鼠全脑缺血再灌注损伤(IR)的作用。**方法:**SD 雄性大鼠分为假手术组、模型组、TFR 组、TFR+TRPV4 阻断剂 HC-067047 组、TFR+Kca3.1 阻断剂 TRAM-34 组、TFR+Kca2.3 阻断剂 Apamin 组、HC-067047 组、TRAM-34 组及 Apamin 组。除假手术组,其余各组构建 IR 模型,上述药物术前 30 min 或 35 min 于尾静脉注射,再灌注结束后 24 h 处死大鼠。记录脑缺血前、缺血 25 min 及再灌注 2 h 脑电波;ELISA 法检测血清中丙二醛(MDA)含量与乳酸脱氢酶(LDH)活性;苏木精-伊红(HE)染色观察脑组织病理学改变;RT-qPCR 法检测 TFR 与各通道阻断剂对 IR 大鼠脑基底动脉内皮细胞中 TRPV4、Kca3.1、Kca2.3 mRNA 表达的影响。**结果:**用药 TFR 后,IR 大鼠脑组织病理损伤改善,血清 MDA 含量与 LDH 活性降低,CBA 内皮细胞 TRPV4、Kca2.3 及 Kca3.1 mRNA 表达增加。而此作用可被 HC-067047、TRAM-34、Apamin 取消。**结论:**TFR 改善 IR 大鼠缺血性脑损伤的作用可能与其诱导 CBA 内皮细胞 TRPV4 表达增多,增加其活性,继而激活 Kca3.1 和 Kca2.3 通道,改善脑血液循环,降低血清 MDA 含量与 LDH 活性有关。

【关键词】杜鹃花总黄酮;缺血性脑损伤;脑基底动脉;瞬时受体电位通道4;中电导钙激活钾通道;小电导钙激活钾通道

【中图分类号】R 332;R 285.5;R 743.3 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.002

Total flavone of rhododendron alleviating rat cerebral ischemic injury through activating TRPV4, Kca3.1 and Kca2.3 channels in cerebral basilar arteries

WANG Shufan, HE Yuxiang, CHENG Xiaolong, XU Hanghang, SHEN Xuebin, HU Haoran, ZHOU Ruoyu, CAO Di, HAN Jun

Provincial Engineering Laboratory for Screening and Re-evaluation of Active Compounds of Herbal Medicines in Southern Anhui, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

【Abstract】Objective: To investigate the role of total flavone of rhododendron (TFR) in regulating TRPV4, Kca3.1 and Kca2.3 channels in endothelial cells of cerebral basilar artery (CBA) of rats subjected to global cerebral ischemia/reperfusion (IR) injury. **Methods:** Male Sprague-Dawley rats were randomized to sham-operation group, IR group, TFR group, TFR + TRPV4 blocker HC-067047 group, HC-067047 group, TFR + Kca3.1 blocker TRAM-34 group, TRAM-34 group, TFR + Kca2.3 blocker Apamin group, and Apamin group. Rat models of IR were established in each group (except for the sham controls) by injection of the above drugs via tail vein at 30 min or 35 min before occlusion of the bilateral carotid arteries. After completion of the model development, all rats were sacrificed at 24 h. The electroencephalogram of rat was recorded before cerebral ischemia, at 25 min after ischemia and 2 h after reperfusion. The MDA content and LDH activity in serum were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The histopathological changes of brain tissues were detected using hematoxylin-eosin staining. RT-qPCR was performed to observe the effects of TFR and channel blockers on the expression of TRPV4, Kca3.1 and Kca2.3 mRNA in the endothelium cells in CBA of IR rats, and the effect of HC-067047 on the expression of Kca3.1 and Kca2.3 mRNA. **Results:** TFR significantly inhibited the pathological changes of brain tissue and reduced the content of MDA and activity of LDH, yet increased the expression levels of TRPV4, Kca2.3 and Kca3.1 mRNA in IR rats, which was obviously inhibited by either TRPV4 blocker HC-067047, Kca3.1 blocker TRAM-34 or Kca2.3 blocker Apamin. **Conclusion:** The findings suggest that the protective effect of TFR against cerebral ischemia-reperfusion injury may be related to up-regulated TRPV4 activity and activated Kca3.1 and Kca2.3 channels in the basilar artery of IR rats as well as improved blood circulation and decreased serum MDA content and LDH activity.

基金项目:国家自然科学基金面上项目(81973510);安徽高校自然科学研究重大项目(KJ2019ZD32);安徽高校自然科学研究重点项目(KJ2015A157)

收稿日期:2020-04-01

作者简介:王书凡(1995-),女,2017级硕士研究生,(电话)17775485148,(电子信箱)244130909@qq.com;

韩军,男,教授,硕士生导师,(电子信箱)hanjun@wnmc.edu.cn,通信作者。

[Key words] total flavone of rhododendron; cerebral ischemic injury; cerebral basilar artery; transient receptor potential vanilloid channel 4; intermediate conductance Kca; small conductance Kca

脑血管疾病是一种发病率高、致残率高、病死率高的疾病^[1-2]。缺血性脑血管疾病由于供应脑血流的主动脉狭窄或闭塞,致脑组织缺氧缺血,引发局部脑组织的缺血甚至坏死^[3]。发病后,应尽快恢复缺血组织血流,但再灌注又会引起更严重的脑损伤^[4-5]。其病理过程复杂,机制尚不清楚。

脑血管收缩和舒张因子引起的血管张力变化是缺血性脑血管病变化、发展及转归的关键因素。血管内皮衍生超极化因子(endothelium derived hyperpolarizing factor, EDHF)可由脑血管内皮细胞合成释放,促进血管内皮细胞钙激活钾通道(calcium-activated potassium channel, Kca),引起平滑肌细胞超极化,继而导致Ca²⁺内流减少,产生血管松弛作用^[6]。瞬时受体电位通道4(transient receptor potential vanilloid channel 4, TRPV4)是存在于细胞膜上的非选择性阳离子通道,可调节血管功能。在血管内皮细胞中,激活TRPV4可促使Ca²⁺内流,进而开放中电导钙激活钾通道(intermediate conductance Kca, Kca3.1)和小电导钙激活钾通道(small conductance Kca, Kca2.3),促进EDHF诱导的血管松弛反应^[6]。

杜鹃花是杜鹃花科植物,含槲皮素、映山红素、芦丁、金丝桃苷等成分^[7],有止咳、平喘、祛风湿等功效。杜鹃花总黄酮(total flavone of rhododendron, TFR)是从杜鹃花中提取的一种化合物^[6]。研究发现,TFR可减少脑梗死面积和缺氧复氧损伤神经元内Ca²⁺浓度,减轻脑水肿^[6]。前期研究表明^[6-7],在全脑缺血再灌注(ischemia-reperfusion, IR)大鼠脑基底动脉(cerebral basilar artery, CBA)中,TFR减轻缺血性脑损伤的保护作用可能与其激活血管内皮细胞和平滑肌细胞中TRPV4有关。但TFR是否通过激活TRPV4继而开放Kca3.1、Kca2.3通道产生保护作用,未见相关报道。

本研究建立IR大鼠模型,研究TFR改善缺血性脑损伤的保护作用与CBA血管内皮细胞TRPV4、Kca2.3及Kca3.1通道之间的关系。

1 材料与方法

1.1 试剂 TFR(≥85%)、HC-067047(批号:SML0143)、TRAM-34(批号:T6700)和Apamin(批号:A9459),购于上海源叶生物科技有限公司;Rat LDH Elisa kit(批号:CK-E30024)和Rat MDA Elisa kit(批号:CK-E30266R),购自苏州卡尔文生物科技

有限公司。

1.2 仪器 BL-310生物机能试验仪(成都泰盟科技有限公司),脑立体定位仪(美国哈佛公司),逆转录PCR仪(美国ABI公司)。

1.3 动物 72只雄性SD大鼠(8周龄),(250±20)g,南京青龙山动物繁殖场提供,许可证号:SCXK(苏)2014-0001。相对湿度55%~60%,室温(23±2)℃,自由饮食进水,适应性喂养1周。

1.4 实验方法

1.4.1 分组与给药 72只SD雄性大鼠,除假手术组,其余建立IR模型。随机分9组:假手术组、模型组、TFR组(100 mg/kg)、TFR联用HC-067047组(100 mg/kg + 10 mg/kg)、TFR联用TRAM-34组(100 mg/kg + 0.5 mg/kg)、TFR联用Apamin组(100 mg/kg + 0.3 mg/kg)、HC-067047组(10 mg/kg)、TRAM-34组(0.5 mg/kg)及Apamin组(0.3 mg/kg)。上述药物术前30 min或35 min于尾静脉注射。

1.4.2 Pulsinelli-Brierley四血管阻断法(four-vessel occlusion, 4-VO)^[3] 大鼠腹腔注射水合氯醛(300 mg/kg)麻醉,颈后正中切口2 cm,电凝颈椎两侧翼孔,阻断两侧椎动脉,缝合。24 h后麻醉,分离左右两侧颈总动脉,阻断两侧颈总动脉25 min,再灌注2 h。以大鼠可自主呼吸,翻正反射消失,脑电波低平为造模成功标志。假手术组不阻断双侧椎动脉和颈总动脉,其余操作相同。

1.4.3 ELISA法检测血清丙二醛(methane dicarboxylic aldehyde, MDA)含量与乳酸脱氢酶(lumbar disc herniation, LDH)活性 大鼠麻醉后,腹主动脉取血,分离血清后按试剂盒说明书检测血清中MDA含量与LDH活性。

1.4.4 HE染色 再灌注24 h后,处死大鼠,取脑组织浸泡于4%多聚甲醛溶液中。经脱水、浸蜡、包埋,切片、脱蜡、染色,显微镜观察各组病理学变化。

1.4.5 RT-qPCR法^[3] 免疫磁珠法分离脑基底动脉内皮细胞^[8],总RNA的提取按照Trizol一步法的说明书,纯化定量后,取2 μg总RNA逆转录合成cDNA(37℃ 15 min, 85℃ 5 s),置于-20℃冰箱。按Power SYBR Green PCR Master Mix试剂盒说明书扩增RT-PCR基因片段(95℃ 30 s, 95℃ 5 s, 60℃ 31 s),共40个循环,GAPDH为内参。采取7300 System SDS Software分析,算出每组RQ值及 $\Delta\Delta$ Ct值,分析每组mRNA表达情况。GAPDH,上游:5'-

GTGAAGGTCGGAGTCAACGGATTT-3',下游:5'-CA-CAGTCTTCTGGGTGGCAGTGTGAT-3';Kca3.1引物,上游:5'-GTGCGTGCAGGATTTAGGG-3',下游:5'-TGC-TAAGCAGCTCAGTCAGGG-3';Kca2.3引物,上游:5'-CACCTTCCCCAAAGCCAACA-3',下游:5'-CGAT-CACAAAGAGCTGTACTTCC-3';TRPV4引物,上游:5'-CCCGA GAGAACACCAAGTTTG-3',下游:5'-GA-CCGTCATTGTTAAGCACAGTCT-3'。

1.5 统计学分析 采用SPSS 18.0统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用SNK法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠血清MDA含量和LDH活性 模型组MDA含量及LDH活性较假手术组升高($P < 0.05$)。与模型组相比,TFR组及TFR联用各阻断剂组MDA含量及LDH活性降低($P < 0.05$)。与TFR组比较,TFR联用各阻断剂组MDA含量及LDH活性升高($P < 0.05$)。见表1。

表1 各组IR大鼠血清MDA含量和LDH活性比较($\bar{x} \pm s, n = 8$)

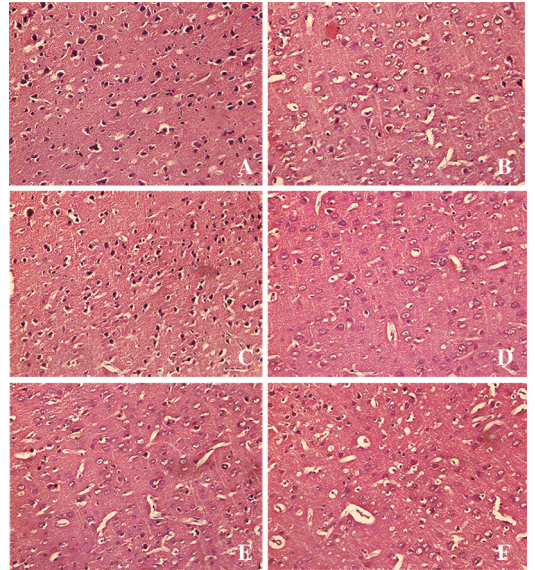
组别	MDA/(nmol/mL)	LDH/(U/L)
假手术组	3.63±0.28	3 698.81±313.05
模型组	8.82±0.55*	8 621.04±423.01*
TFR组	4.34±0.50 [#]	5 021.18±402.47 [#]
TFR+HC-067047组	6.27±0.40 ^{#&}	6 613.28±406.05 ^{#&}
TFR+TRAM-34组	6.02±0.58 ^{#&}	6 493.66±344.41 ^{#&}
TFR+Apamin组	6.01±0.56 ^{#&}	6 484.13±446.25 ^{#&}
F	54.113	72.049
P	0.000	0.000

* $P < 0.05$ vs. 假手术组;# $P < 0.05$ vs. 模型组;& $P < 0.05$ vs. TFR组。

2.2 HE染色结果 与假手术组相比,模型组大鼠可见大量脑组织出现细胞萎缩、空泡,神经纤维崩解等。而TFR组大鼠脑组织病理学改变明显改善。TFR联用各阻断剂组细胞变性坏死仍较明显,细胞周围间隙明显增大,但较模型组改善明显。见图1。

2.3 TFR及各阻断剂对IR大鼠CBA内皮细胞中TRPV4、Kca3.1、Kca2.3 mRNA表达水平的影响 与假手术组相比,模型组TRPV4、Kca3.1及Kca2.3 mRNA表达下降($P < 0.05$)。与模型组相比,TFR组及TFR联用各阻断剂组TRPV4、Kca3.1及Kca2.3 mRNA表达水平升高($P < 0.05$),HC-067047组TRPV4 mRNA表达水平下调($P < 0.05$),Apamin组和TRAM-34组TRPV4 mRNA表达差异无统计学意义

($P > 0.05$)。与TFR组相比,TFR联用各阻断剂组与各阻断剂组TRPV4、Kca3.1及Kca2.3 mRNA表达下降($P < 0.05$)。与TFR联用各阻断剂组相比,各阻断剂组TRPV4、Kca3.1及Kca2.3 mRNA表达下调($P < 0.05$)。见表2~4。



A. 假手术组;B. 模型组;C. TFR组;D. TFR+HC-067047组;E. TFR+Apamin组;F. TFR+TRAM-34组。

图1 各组大鼠脑组织病理学观察(×400)

表2 TFR及HC-067047对内皮细胞中TRPV4 mRNA表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	TRPV4 mRNA水平(相对单位)
假手术组	1.15±0.22
模型组	0.45±0.07*
TFR组	0.88±0.22 [#]
TFR+HC-067047组	0.68±0.11 ^{#&}
HC-067047组	0.26±0.05 ^{#&§}
F	40.977
P	0.000

* $P < 0.05$ vs. 假手术组;# $P < 0.05$ vs. 模型组;& $P < 0.05$ vs. TFR组;§ $P < 0.05$ vs. TFR+HC-067047组。

表3 TRAM-34对内皮细胞中Kca3.1 mRNA表达的影响($\bar{x} \pm s, n = 8$)

组别	Kca3.1 mRNA水平(相对单位)
假手术组	1.14±0.29
模型组	0.39±0.23*
TFR组	1.00±0.15 [#]
TFR+TRAM-34组	0.75±0.24 ^{#&}
TRAM-34组	0.24±0.11 ^{#&§}
F	26.249
P	0.000

* $P < 0.05$ vs. 假手术组;# $P < 0.05$ vs. 模型组;& $P < 0.05$ vs. TFR组;§ $P < 0.05$ vs. TFR+TRAM-34组。

表4 TFR及Apamin对内皮细胞中Kca2.3 mRNA表达的影响($\bar{x}\pm s, n=8$)

组别	Kca2.3 mRNA水平(相对单位)
假手术组	1.17±0.30
模型组	0.52±0.11*
TFR组	1.04±0.26#
TFR+Apamin组	0.82±0.13#&
Apamin组	0.36±0.11&§
F	24.060
P	0.000

* $P<0.05$ vs. 假手术组; # $P<0.05$ vs. 模型组; & $P<0.05$ vs. TFR组;§ $P<0.05$ vs. TFR+Apamin组。

3 讨论

缺血性脑血管疾病是一种常见的神经系统疾病^[8],其机制复杂,目前临床上尚无疗效确切的药物。我们的前期研究已证实TFR(100 mg/kg)可产生EDHF样舒张脑血管、改善脑组织病理损伤等作用^[6]。

瞬时受体电位通道(TRP)是Ca²⁺进入内皮细胞的非选择性阳离子通道^[9]。瞬时受体电位通道亚家族V(TRPV)是TRP通道的亚科,TRPV4是TRPV的成员,参与细胞增殖、分化与凋亡等。文献报道,激活TRPV4能改善缺血性脑损伤^[8]。前期研究发现,TFR预处理后,IR大鼠CBA内皮细胞中TRPV4蛋白表达明显升高,而此作用可以被TRPV4通道非选择性阻断剂(钆红)抑制。提示TFR可能通过激活TRPV4改善脑组织损伤,但具体机制尚不明确^[6]。研究证实,平滑肌细胞膜上Ca²⁺与K⁺通道可调节血管舒缩功能。平滑肌细胞膜K⁺通道^[10-11]分为Ca²⁺激活K⁺通道(Kca)、内向整流K⁺通道(Kir)、ATP依赖型K⁺通道(K_{ATP})及延迟整流K⁺通道(Kdr)。Kca对Ca²⁺浓度敏感,通过负反馈调节,影响胞内Ca²⁺浓度,调节血管舒缩功能。目前已知Kca有3种亚类^[10]:大电导Kca(BKca)、Kca3.1及Kca2.3。心脑血管疾病与这3类Kca联系紧密。其中BKca主要分布在平滑肌及某些神经元;Kca3.1分布广泛,如红细胞、血小板、上皮细胞、血管内皮细胞;Kca2.3在心房肌细胞的胞膜、胞质及胞核均有分布,血管内皮细胞中亦存在。通过抑制Kca3.1的表达,可减弱由乙酰胆碱激活的内皮依赖性超极化反应,减弱血管舒张功能^[12]。阻断Kca2.3则减小阻力血管直径,恢复Kca2.3活性时,此现象消失^[13]。敲除Kca3.1与Kca2.3两种基因,可减少巨噬细胞浸润,降低氧化应激^[14]。

当脑组织缺血缺氧时,乳酸累积,血清中LDH

活性升高加快分解乳酸^[15],不饱和脂肪酸和氧自由基可合成释放MDA^[16]。因此检测血清中LDH活性和MDA含量可间接反映缺血脑组织损伤程度。HC-067047、Apamin和TRAM-34分别是TRPV4^[17]、Kca2.3和Kca3.1选择性阻断剂^[18]。本实验发现用药TFR后,IR大鼠血清中MDA含量升高及LDH活性下降,脑组织病理损伤改善。而分别加入各相应阻断剂后,以上TFR的作用被抑制。提示TFR的作用可能与其开放TRPV4、Kca3.1、Kca2.3有关。RT-qPCR结果显示,用药TFR后,IR大鼠CBA内皮细胞中降低的TRPV4、Kca3.1和Kca2.3 mRNA表达升高。而各相应选择性阻断剂可抑制TFR的此作用,提示TFR改善大鼠脑组织损伤的作用可能与其激活CBA内皮细胞中TRPV4、Kca2.3及Kca3.1,促进其mRNA表达有关。研究表明,开放TRPV4可产生EDHF效应并激活Kca3.1和Kca2.3^[19]。因此,在IR大鼠CBA内皮细胞中,TFR可能通过激活TRPV4,促进其下游Kca2.3、Kca3.1基因表达,改善缺血性脑损伤。

综上所述,结合前期研究^[6-8]可知,缺血性脑损伤发生时,CBA内皮细胞TRPV4受到抑制导致下游Kca3.1与Kca2.3功能与活性降低,脑血管舒张功能减弱,脑血流降低,血清中LDH活性与MDA含量升高。用药TFR后,其作用于CBA内皮细胞激活TRPV4,继而开放Kca2.3与Kca3.1,促进内源性舒血管物质EDHF生成增多,诱导CBA舒张,降低MDA含量与LDH活性,减轻大鼠IR损伤。

【参考文献】

- [1] HILAL S, CHAI YL, VAN VELUW S, *et al.* Association between subclinical cardiac biomarkers and clinically manifest cardiac diseases with cortical cerebral microinfarcts [J]. *Jama Neurology*, 2017, 74(4):403-410.
- [2] HU X, DE SILVA TM, CHEN J, *et al.* Cerebral vascular disease and neurovascular injury in ischemic stroke [J]. *Circulation Research*, 2017, 120(3):449-471.
- [3] ZHAO P, ZHOU R, ZHU XY, *et al.* Matrine attenuates focal cerebral ischemic injury by improving antioxidant activity and inhibiting apoptosis in mice [J]. *International Journal of Molecular Medicine*, 2015, 36:633-644.
- [4] ZHAO K, LI R, BI S, *et al.* Combination of mild therapeutic hypothermia and adipose-derived stem cells for ischemic brain injury [J]. *Neural Regeneration Research*, 2018, 13(10):1759.
- [5] ASCI S, DEMIRCI S, ASCI H, *et al.* Neuroprotective effects of pre-gabalin on cerebral ischemia and reperfusion [J]. *Balkan Medical Journal*, 2016, 33(2):221-227.

葛根素联用沙格列汀在高糖环境下对人脐静脉内皮细胞的影响

张一顺¹,李 曙^{2a},金 鑫^{2b}

(1. 马鞍山市人民医院 药剂科,安徽 马鞍山 243000;2. 皖南医学院 a. 临床医学院;b. 药学院,安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的:观察葛根素联用沙格列汀在高糖环境下对人脐静脉内皮细胞(HUVEC)的影响,并探讨其可能机制。**方法:**选取处于对数生长期的 HUVEC 细胞,分为空白对照组、高糖模型组、葛根素给药组、沙格列汀给药组和葛根素联用沙格列汀给药组,观察药物对生长状况的影响,采用 MTT 法观察药物浓度作用效应;Annexin V-FITC/PI 双染检测细胞凋亡率,RT-PCR 检测 P-选择素和 NF-κB p65mRNA 的表达。**结果:**葛根素联用沙格列汀能降低高糖诱导的 HUVEC 凋亡率,降低胞内 P-选择素和 NF-κB p65 的表达。**结论:**葛根素联用沙格列汀对高糖环境下内皮细胞损伤具有一定的保护作用,并且可有效抑制高糖条件下诱导的内皮细胞损伤后 P-选择素的活化;其保护效应可能通过 NF-κB 信号通路发挥作用。

【关键词】葛根素;沙格列汀;人脐静脉内皮细胞

【中图分类号】R 285.5;R 543.5 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.003

基金项目:皖南医学院重点科研项目培育基金(WK2017Z04);安徽省高校优秀青年人才支持计划重点项目(gxyqZD2016172)

收稿日期:2020-05-18

作者简介:张一顺(1979-),男,主管药师,(电话)18905558268,(电子信箱)398524388@qq.com;

金鑫,男,讲师,(电子信箱)jinxin332@qq.com,通信作者。

[6] 韩军,程小龙,胡坤媚,等. 杜鹃花总黄酮对缺血/再灌注损伤模型大鼠脑基底动脉 TRPV4 的作用研究[J]. 中国药理学通报,2017,33(5):685-691.

[7] HAN J, HE GW, CHEN ZW. Protective effect and mechanism of total flavones from rhododendron simsii planch on endothelium-dependent dilatation and hyperpolarization in cerebral ischemia-reperfusion and correlation to hydrogen sulphide release in rats [J]. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2014,2014(1):904019.

[8] HAN J, XU HH, CHEN XL, *et al.* Total flavone of rhododendron improves cerebral ischemia injury by activating vascular TRPV4 to induce endothelium-derived hyperpolarizing factor-mediated responses [J]. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine, 2018,2018:1-12.

[9] ANDREAS B, GÖTZ VIKTORIA, SEN Q, *et al.* Functional characterization of transient receptor potential(TRP) channel C5 in female murine gonadotropes [J]. Endocrinology, 2017,158(4):887-902.

[10] 张楨桦,钱玲玲,郑杰,等. 肾素血管紧张素醛固酮系统对大电导钙激活钾离子通道影响的研究进展[J]. 中华心血管病杂志,2018,46(3):239-242

[11] 陈欢,王秀丽. G 蛋白门控的内向整流钾通道与化疗诱导神经病理性疼痛的研究进展[J]. 国际麻醉学与复苏杂志,2018,39(1):70-73.

[12] TYKOCKI NR, NELSON MT. Location, location, location: juxtaposed calcium-signaling microdomains as a novel model of the vascular smooth muscle myogenic response [J]. Journal of General Physiology, 2015,146(2):129-132.

[13] BILLAUD M, LOHMAN AW, JOHNSTONE SR, *et al.* Regulation of cellular communication by signaling microdomains in the blood vessel wall [J]. Pharmacological reviews, 2014,66(2):513-569.

[14] SONKUSARE SK, DALSGAARD T, BONEV AD, *et al.* AKAP150-dependent cooperative TRPV4 channel gating is central to endothelium-dependent vasodilation and is disrupted in hypertension [J]. Science Signaling, 2014,7(333):ra66.

[15] 王国军,张琳成,陈冰,等. 丹参中丹酚酸 B 对脑缺血再灌注损伤大鼠的保护作用研究[J]. 中华中医药学刊,2019(7):1566-1568.

[16] 赵丽萍,张琳成,陈冰,等. 丹参酮 II A 对脑缺血再灌注损伤大鼠神经保护作用的研究[J]. 中华中医药学刊,2019(9):2082-2085.

[17] BEHRINGER EJ, SEGAL SS. Membrane potential governs calcium influx into microvascular endothelium: integral role for muscarinic receptor activation [J]. The Journal of Physiology, 2015,593:4531-4548.

[18] DALSGAARD T, KROIGAARD C, SIMONSENU. Calcium-activated potassium channels—a therapeutic target for modulating nitric oxide in cardiovascular disease [J]. Expert Opinion on Therapeutic Targets, 2010,14:825-837.

[19] FILOSA JA, YAO X, RATH G. TRPV4 and the regulation of vascular tone [J]. Journal of Cardiovascular Pharmacology, 2013,61(2):113-119.

Effects of puerarin with saxagliptin on the function of human umbilical vein endothelial cells under high glucose condition

ZHANG Yishun, LI Shu, JIN Xin

Pharmacy, Ma'anshan People's Hospital, Ma'anshan 243000, China

[Abstract] Objective: To investigate the effects of puerarin combined with saxagliptin on and potential mechanisms in human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) under the condition of high glucose. **Methods:** The cells in logarithmic growth stage were divided into groups of blank control, high sugar, single puerarin and saxagliptin, and combined use of puerarin and saxagliptin to observe their effects on cell growth in each group. MTT assay was performed to measure the cell proliferation to different drug concentration. Apoptosis rate of cells was detected by Annexin V-FITC/PI staining, and the mRNA expression of P-selectin and NF- κ B p65 was examined by Q-PCR. **Results:** Puerarin combined with saxagliptin inhibited the cell viability and cell apoptosis induced by high glucose, and reduced mRNA expression of P-selectin and NF- κ B p65. **Conclusion:** Puerarin combined with saxagliptin can be certain protective effect on the injury of HUVECs, and induce activation of P-selectin after damage of HUVECs from high glucose condition. The potential mechanism of such protective effect must be involved in NF- κ B signaling pathway.

[Key words] puerarin; saxagliptin; human umbilical vein endothelial cells

随着社会环境和人们饮食习惯的逐渐改变,心血管疾病及其并发症的发生率也越来越高。截至2018年,全国心血管疾病的患病率已达20.8%,在居民疾病死亡构成中占比达到40%以上,居于首位^[1]。相关研究表明,血管内皮细胞结构损伤和功能异常是导致高血压、血栓、动脉粥样硬化等多种心血管疾病的病理基础^[2-3]。在糖尿病心血管疾病发病中,高糖诱导的血管内皮细胞损伤是重要基础^[4]。从葛根中提取的活性成分葛根素,属于异黄酮类化合物,具有抗氧化、抗炎等作用,在心血管系统疾病中具有重要作用^[5]。沙格列汀是一种高效的二肽基肽酶4(dipeptidyl peptidase 4, DPP-4)抑制剂,可通过选择性抑制DPP-4调节机体血糖的变化^[6],且对肾脏也具有保护作用。本研究探讨葛根素联合沙格列汀对高糖环境下人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cells, HUVEC)的损伤的影响,为临床上糖尿病的治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 药物与试剂 葛根素(方明药业);沙格列汀(中美上海施贵宝);DMEM低糖培养基,胎牛血清(Hyclone公司);Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒(上海贝博); β -actin上游引物序列为5'-CA-GAGCAAGAGAGGCATC-3',下游引物序列为5'-CT-GGGGTGTTGAAGTCT-3'(216 bp),P-选择素上游引物:5'-CCAGACAATGGACGGCAGCAG-3',下游引物:5'-AGGGCITGGGTCAAACGCAGCA-3'(424bp),NF- κ B p65上游5'-ATGTGCATCGGCAAGTGG-3',下游5'-CAGAAGTTGAGTTTCGGG TAG-3'(294 bp)(美国Santa Cruz)。

1.2 主要仪器 Beckman Coulter FC500 MCL流式

细胞仪、离心机(安科)、水套式CO₂培养箱(Thermo)、高速冷冻离心机(Thermo)、BIO-RAD梯度PCR仪。

1.3 方法

1.3.1 HUVECs的分离和培养 无菌环境下,取新生儿脐带组织,将脐静脉采用0.1%胶原酶消化、分离,细胞接种浓度为 1×10^6 ,37℃、5% CO₂培养箱内培养,0.125%胰酶-0.02% EDTA溶液消化传代。3~6代的细胞用于实验。

1.3.2 实验设计与分组 将葛根素溶于0.02%二甲亚砜中配置成葛根素的药物母液,将沙格列汀溶于0.02%二甲亚砜中配置成沙格列汀的药物母液。使用高糖培养基(30 mmol/L)刺激HUVECs细胞24 h,不同梯度浓度葛根素(5、10、20、40、80 μ mol/L)和沙格列汀(2.5、5、10、20、40 μ mol/L)观察药物效应,MTT法检测,实验重复3次,选择用药浓度后随机分为5组:空白对照组、高糖组、高糖组+沙格列汀组、高糖组+葛根素组、高糖组+沙格列汀+葛根素组(联合用药组),给药。处理时间为24 h。

1.3.3 观察指标

1.3.3.1 显微镜下观察 各组细胞状态并拍照。

1.3.3.2 Annexin V-FITC/PI检测细胞凋亡 待细胞生长至对数期,消化离心,种于6孔板,药物处理后,将细胞用胰酶(0.25%不含EDTA)消化,收集悬浮细胞于10 mL离心管中,离心5 min,弃去培养液。用孵育缓冲液洗涤重悬1次,离心5 min,孵育缓冲液重悬,置于流式管中,加入FITC 5 μ L避光孵育15 min,再加入PI避光孵育5 min,于1 h内上流式细胞仪检测。流式分析计算出不同分组凋亡细胞以及存活细胞百分比。

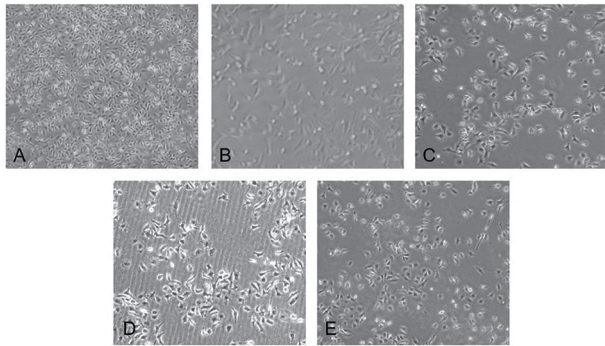
1.3.3.3 Q-PCR检测P-选择素和NF- κ B p65 mRNA表达水平 提取HUVECs细胞总RNA,按逆转

录试剂盒操作步骤进行 RT 反应。所得 cDNA 在实时荧光定量 PCR 仪(7300 Real Time PCR System, Applied Biosystem)上进行反应。用 7300 System SDS Software 分析数据,统计 $\Delta\Delta Ct$ 值,计算 RQ 值以比较各组 mRNA 的表达。

1.4 统计学方法 数据统计分析采用 SPSS 18.0 软件完成,采用 GraphPad Prism 7.0 绘制统计图。各组数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较用单因素方差分析,多组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 正常 HUVECs 的培养 显微镜下可见正常 HUVECs 单层贴壁生长,细胞呈短梭形或多角形,呈“铺路石”样(图 1A),与空白对照组相比,高糖组内皮细胞形态皱缩,细胞数目减少,细胞间隙变大,细胞形态不规则,细胞活力明显降低(图 1B),与高糖组相比,各给药组细胞形态改善,细胞数量增加,其中联合用药组最为明显(图 1C、D、E)。



A. 空白对照组;B. 高糖组;C. 沙格列汀用药组;D. 葛根素用药组;E. 联合用药组。

图 1 显微镜下观察各组细胞形态

2.2 MTT 检测 ①葛根素不同浓度组细胞增殖差异均有统计学意义;②其他各浓度组间细胞增殖差异均有统计学意义。根据浓度作用效果,结合相应参考文献^[7-9],本研究选用葛根素 20 $\mu\text{mol/L}$ 与沙格列汀 10 $\mu\text{mol/L}$ 分别作为单用药实验浓度,葛根素 10 $\mu\text{mol/L}$ +沙格列汀 5 $\mu\text{mol/L}$ 作为联用药实验浓度。见表 1。

2.3 流式细胞仪分析结果 与空白对照组(9.37±0.91)%比较,高糖可诱导内皮细胞明显凋亡,其凋亡率为(71.43±9.30)%,与高糖组比较,联合用药组可阻止高糖诱导内皮细胞凋亡,分别降至(52.17±9.31)%、(39.13±5.17)%。见图 2、表 2。

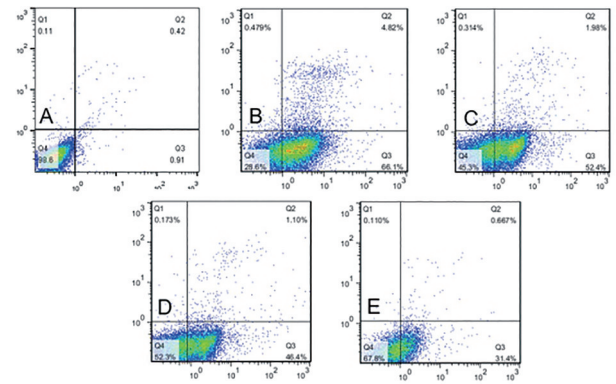
2.4 Real-time PCR 检测结果 与空白对照组相比,高糖组内皮细胞 P-选择素和 NF- κ B p65 mRNA

表达升高($P<0.05$)。与高糖组比较,联合用药组内皮细胞 P-选择素和 NF- κ B p65mRNA 表达水平降低($P<0.05$)。见表 3。

表 1 不同药物浓度组 MTT 值的比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

药物	浓度组	MTT 值	F	P
葛根素	5 $\mu\text{mol/L}$	0.17±0.01 ^a	212.373	0.000
	10 $\mu\text{mol/L}$	0.32±0.02 ^b		
	20 $\mu\text{mol/L}$	0.54±0.04 ^c		
	40 $\mu\text{mol/L}$	0.71±0.04 ^d		
	80 $\mu\text{mol/L}$	0.88±0.05 ^e		
沙格列汀	2.5 $\mu\text{mol/L}$	0.23±0.01 ^a	85.365	0.000
	5 $\mu\text{mol/L}$	0.36±0.02 ^b		
	10 $\mu\text{mol/L}$	0.61±0.04 ^c		
	20 $\mu\text{mol/L}$	0.75±0.08 ^d		
	40 $\mu\text{mol/L}$	0.83±0.06 ^d		

注:多组间两两比较,符号不同表示 $P<0.05$ 。



A. 空白对照组;B. 高糖组;C. 沙格列汀用药组;D. 葛根素用药组;E. 联合用药组。

图 2 流式细胞术结果

表 2 各组细胞凋亡率比较($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	凋亡率/%
空白对照组	9.37±0.91
高糖组	71.43±9.30 [*]
沙格列汀组	59.39±8.14 [*]
葛根素组	52.17±9.31 ^{*#}
联合用药组	39.13±5.17 ^{*#}
F	31.624
P	0.000

注: * $P<0.05$ vs. 空白对照组, # $P<0.05$ vs. 高糖组。

表 3 各组 P-选择素和 NF- κ B mRNA 的相对表达量($\bar{x}\pm s, n=3$)

组别	P-选择素	NF- κ B p65
空白对照组	1.08±0.17 [*]	0.92±0.07 [*]
高糖组	6.49±0.83 [*]	2.35±0.19 [*]
沙格列汀组	4.74±0.37 [*]	1.92±0.11 [*]
葛根素组	4.03±0.47 ^{*#}	1.73±0.09 ^{*#}
联合用药组	2.27±0.19 ^{*#}	1.32±0.11 ^{*#}
F	40.135	40.014
P	0.000	0.000

注: * $P<0.05$ vs. 空白对照组, # $P<0.05$ vs. 高糖组。

3 讨论

血管内皮细胞功能障碍、结构受损是多种心脑血管疾病重要始动环节之一。血管内皮是血管内膜的一道重要屏障,研究^[9-10]发现患者内皮细胞损伤发生心脑血管疾病的概率明显高于无内皮功能受损患者。高血糖是导致血管内皮功能损伤的主要因素之一,随着机体血糖浓度的升高,血管舒张功能下降^[11],且血管内皮细胞受高糖诱导发生损伤时,也会引起内皮细胞的功能紊乱,这也是诱发糖尿病患者出现心脑血管并发症的重要因素,然而糖尿病中心脑血管并发症又是主要致死致残原因^[12]。因此研究具有重要意义,本实验以高糖环境下培养 HUVECs 建立细胞损伤模型,探讨葛根素联用沙格列汀对人脐静脉内皮细胞的保护作用及可能机制。

P-选择素在多种疾病(血栓形成、炎症反应等)的发生过程中都起到重要作用,其主要通过介导细胞与细胞或细胞与细胞基质间的黏附^[13],同时 P-选择素在介导白细胞黏附以及血栓形成、肿瘤转移及细胞外信号传导等过程中均发挥重要作用^[14]。当高糖活化细胞后,P-选择素迅速与胞膜融合,在细胞膜上进行表达。该实验中,高糖组 P-选择素 mRNA 表达上调,使用药物处理后,P-选择素 mRNA 表达被逆转,表明葛根素与沙格列汀的联合使用可有效抑制白细胞与血管内皮细胞的黏附,进而抑制血小板的激活。因此,上述两种药物的联合使用可以抑制糖尿病心脑血管并发症的形成。

2004 年 Chandrasekar 等^[15]的研究阐述了细胞炎性反应的过程涉及了 NF- κ B 信号通路的激活,并且影响了炎性以及代谢性疾病的发生。2011 年 Oeckinghaus 等^[16]研究证明 NF- κ B 信号通路的激活可提高体内细胞因子的分泌进而诱发慢性炎症的过程,最终损伤细胞导致相应疾病。该研究中,高糖诱导的内皮细胞损伤,P-选择素和 NF- κ B mRNA 的表达明显升高,而在联合用药处理后,P-选择素和 NF- κ B mRNA 的表达水平也明显下调。提示高糖致血管内皮细胞损伤提高 P-选择素的表达可能涉及 NF- κ B 信号通路的参与,进而影响糖尿病心脑血管并发症形成。

综上所述,葛根素与沙格列汀的联合使用可有效抑制高糖条件下人脐静脉内皮细胞的凋亡,其机制可能是通过阻断 NF- κ B 信号通路转导,降低 P-选择素水平实现对 VEC 保护的生物学效应,为进一步研究葛根素联合沙格列汀用于预防糖尿病心脑血管

管并发症展现出乐观的前景。

【参考文献】

- [1] 胡盛寿,高润霖,刘力生,等.《中国心血管病报告 2018》概要[J]. 中国循环杂志,2019,34(3):209-220.
- [2] FALSKOV B, HERMANN TS, RAUNSFJ, *et al.* Endothelial function is unaffected by changing between carvedilol and metoprolol in patients with heart failure—a randomized study [J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2011, 10: 91.
- [3] SZYMANSKI MK, BUIKEMA JH, VAN VELDHOUSEN DJ, *et al.* Increased cardiovascular risk in rats with primary renal dysfunction; mediating role for vascular endothelial function [J]. *Basic Res Cardiol*, 2012, 107(2): 242-246.
- [4] 戴尧,赵丽丽,陈明卫,等. 利拉鲁肽通过抑制核因子 κ B p65 磷酸化调控人脐静脉内皮细胞一氧化氮合酶的表达[J]. 中华糖尿病杂志, 2014, 6(9): 678-682.
- [5] 伟唯,江培. 葛根素药理作用研究进展[J]. 黑龙江医药, 2014, 27(1): 51-55.
- [6] 陆菊明. 沙格列汀的临床研究进展[J]. 中国糖尿病杂志, 2012, 20(4): 316-320.
- [7] 张婷,张慧,宋小锋,等. 葛根素对高糖诱导 HUVEC-12 细胞氧化损伤的保护作用[J]. 中成药, 2018, 40(6): 1248-1252.
- [8] 韩白玉,卢岚敏,张丽萍,等. 沙格列汀改善过氧化氢诱导损伤的血管内皮细胞一氧化氮和内皮素-1 分泌异常的观察[J]. 中国糖尿病杂志, 2014, 22(10): 947-950.
- [9] 王燕. 血管内皮功能与高血压合并糖尿病相关性研究进展及临床观察[D]. 北京:北京中医药大学, 2014.
- [10] 尤良震,吴袁元,尹向东,等. 丹蛭降糖胶囊对高糖诱导的人脐静脉内皮细胞凋亡及线粒体途径与死亡受体途径的影响[J]. 中华中医药杂志, 2019, 34(8): 3675-3680.
- [11] 廖洁,雷闽湘,陈雄,等. 血糖波动对糖尿病大鼠血管内皮依赖性舒张功能的影响[J]. 中国糖尿病杂志, 2012, 20(2): 149-152.
- [12] 王志富,朱苗霞,王治平. 2 型糖尿病患者血糖波动与血管并发症关系的研究进展[J]. 心血管病学进展, 2018, 39(6): 196-200.
- [13] MERLE NS, PAULE R, LEON J, *et al.* P-selectin drives complement attack on endothelium during intravascular hemolysis in TLR-4/heme-dependent manner [J]. *Proc Natl Acad Sci*, 2019, 116(13): 6280-6285.
- [14] NOMURA S, OKAMAE F, ABE M, *et al.* Platelets expressing P-selectin and platelet-derived microparticles in stored platelet concentrates bind to PSGL-1 on filtrated leukocytes [J]. *Clin Appl Thromb Hemost*, 2000, 6(4): 213-221.
- [15] CHANDRASEKAR B, VEMULA K, SURABHI RM, *et al.* Activation of intrinsic and extrinsic proapoptotic signaling pathways in interleukin-18-mediated human cardiac endothelial cell death [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(19): 20221-20233.
- [16] OECKINGHAUS A, HAYDEN MS, GHOSH S. Crosstalk in NF- κ B signaling pathways [J]. *Nature Immunology*, 2011, 12(8): 695-708.

γ-干扰素诱导的溶酶体硫醇还原酶在胶质瘤中的表达及其与胶质瘤化疗耐药关系

陈三送¹,姚林¹,王其福¹,邵雪非¹,程礼敏²

(1. 皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 神经外科,安徽 芜湖 241001;2. 皖南医学院 形态学实验实训中心,安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的:探讨 γ-干扰素诱导的溶酶体硫醇还原酶(GILT)在胶质瘤中的表达及其与化疗耐药之间的关系。**方法:**分析美国癌症基因组图谱数据库(TCGA)和中国脑胶质瘤基因组数据库(CGGA)数据,探讨 GILT 在胶质瘤组织中的表达,其差异表达与胶质瘤 WHO 分级、IDH 突变、1 p/19 q 联合缺失以及生存期的关系。免疫组化检测胶质瘤标本中 GILT 蛋白的表达情况。分析 GILT 与经典的化疗耐药基因 O⁶-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(MGMT)、切除修复交叉互补基因 1(ERCC₁)、表皮生长因子 2(ERBB₂)的相关性,探讨其与胶质瘤化疗耐药之间的关系。**结果:**TCGA、CGGA 数据库(mRNAseq_325)结果均提示 GILT 在胶质瘤组织中高表达,且随着胶质瘤 WHO 分级的增高表达逐级增高。GILT 在 IDH 野生型、非 1 p/19 q 联合缺失型中表达分别高于 IDH 突变型及 1 p/19 q 联合缺失型。不论原发还是复发胶质瘤,GILT 高表达患者均具有较短的生存期,且 GILT 表达与 MGMT、ERCC₁、ERBB₂ 表达均成正相关,差异均具有统计学意义(P<0.05)。临床胶质瘤标本同样证实 GILT 在胶质瘤中高表达。**结论:**GILT 在胶质瘤组织中高表达并可能与胶质瘤化疗耐药相关。

【关键词】溶酶体硫醇还原酶;胶质瘤;化疗耐药

【中图分类号】R 749.41;R 392.1 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.004

γ-interferon-inducible lysosomal thiol reductase expression and its relationship with chemotherapy resistance in glioma

CHEN Sansong, YAO Lin, WANG Qifu, SHAO Xuefei, CHENG Limin

Department of Neurosurgery, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To investigate the expression of gamma-interferon-inducible lysosomal thiol reductase (GILT) and its relationship with chemotherapy resistance in glioma. **Methods:** By using the data of The Cancer Genome Atlas (TCGA) and Chinese Glioma Genome Atlas (CGGA), the expression level of GILT in glioma and non-tumor brain tissues was analyzed regarding the relationship between differential expression with WHO grade, IDH mutation, 1p/19q joint deletion and survival of patients. Immunohistochemistry technique was used to detect the expression of GILT protein in clinical glioma specimens. The correlation between GILT and classic chemotherapy resistance genes in gliomas such as O⁶-methylguanine-DNA-methyltransferase (MGMT), excision repair cross-complementary gene 1 (ERCC₁), epidermal growth factor 2 (ERBB₂) were also analyzed. **Results:** The data analysis of TCGA and CGGA database (mRNAseq_325) showed that GILT was highly expressed in glioma tissues, and the expression was gradually up-regulated with the increase of WHO grade. The expression of GILT in IDH wild type and non-1p/19q combined deletion type was higher than that of IDH mutant type and 1p/19q combined deletion type respectively. Regardless of the primary or recurrent glioma, patients with high expression of GILT had a shorter survival and GILT expression was positively correlated with MGMT, ERCC₁, ERBB₂ expression, and all the differences were statistically significant (P<0.05). Highly expressed GILT in glioma was also confirmed through determination of the clinical glioma specimens. **Conclusion:** GILT is highly expressed in glioma tissues, and may be related to chemotherapy resistance in gliomas.

【Key words】lysosomal thiol reductase; glioma; chemotherapy resistance

γ-干扰素诱导的溶酶体硫醇还原酶(lysosomal thiol reductase, GILT), 基因名称:IFI30, 在许多抗原

呈递细胞如 B 细胞、骨髓来源的树突状细胞和单核-巨噬细胞中组成型表达^[1-3], 负责催化抗原中二硫

基金项目:安徽省自然科学基金项目(1908085QH362);安徽高校自然科学基金项目(KJ2019A0406);皖南医学院中青年科研基金(WK2020F18)

收稿日期:2020-04-15

作者简介:陈三送(1986-),男,主治医师,(电话)15855992356,(电子信箱)mansion1006@163.com;

程礼敏,女,实验师,(电子信箱)630336548@qq.com,通信作者。

键的还原。研究发现 GILT 在黑色素瘤、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤、乳腺癌中差异表达,影响疾病预后^[4-6]。但其在胶质瘤中的表达情况及其与胶质瘤预后的关系报道较少。本研究旨在探讨 GILT 在胶质瘤中表达情况及其与胶质瘤化疗耐药之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究分析了 CGGA 数据库(mRNAseq_325)325 例胶质瘤患者以及 TCGA 数据库中非瘤脑组织 207 例、较低级别胶质瘤 518 例、胶质母细胞瘤 163 例中 GILT 相关数据信息。

1.2 临床标本 选用弋矶山医院神经外科手术后获取的胶质瘤组织标本进一步验证 GILT 的蛋白表达。其中低级别胶质瘤 10 例,胶质母细胞瘤 10 例。本研究取得医院伦理委员会批准,所有入选受试者或受试者家属均签署知情同意书,同意参与该项目,受试者信息予以严格保密。

1.3 免疫组化检测 按照免疫组化试剂说明书,先将切片脱蜡、抗原修复,再用 3% 过氧化氢溶液阻断内源性过氧化物酶。血清封闭后,加入一抗 4°C 孵育过夜。洗涤后,加入二抗,室温孵育 50 min。DAB 显色后,复染细胞核,脱水封片。显微镜镜检,采集图像。阳性判定标准:在细胞浆及细胞膜出现棕黄色颗粒为阳性。光镜下随机观察 8 个高倍视野,记录染色阳性的百分率。

1.4 统计分析 实时定量 PCR 测得 Ct 值、GILT 相对表达量以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验;多组间采用方差分析,多组间两两比较采用 *q* 检验。生存分析采用 Log-Rank 检验。两变量相关分析采用直线相关。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 GILT 在胶质瘤组织中高表达且与 WHO 分级、IDH 突变、1 p/19 q 联合缺失相关 TCGA 数据库分析显示 GILT 在较低级别胶质瘤(LGG)、胶质母细胞瘤(GBM)中表达均高于非瘤脑组织,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。CGGA 数据库(mRNAseq_325)分析显示 GILT 在 WHO II ~ IV 级中随着肿瘤级别增高,表达也逐级增高,且在 IDH 野生型、非 1 p/19 q 联合缺失型中(WHO II 级除外)表达分别高于 IDH 突变型及 1 p/19 q 联合缺失型($P < 0.05$)。见表 1、图 1。

2.2 GILT 在胶质瘤中高表达与生存期的关系 CGGA 数据库(mRNAseq_325)分析显示所有级别胶质瘤中不管是原发还是复发患者,GILT 高表达者生

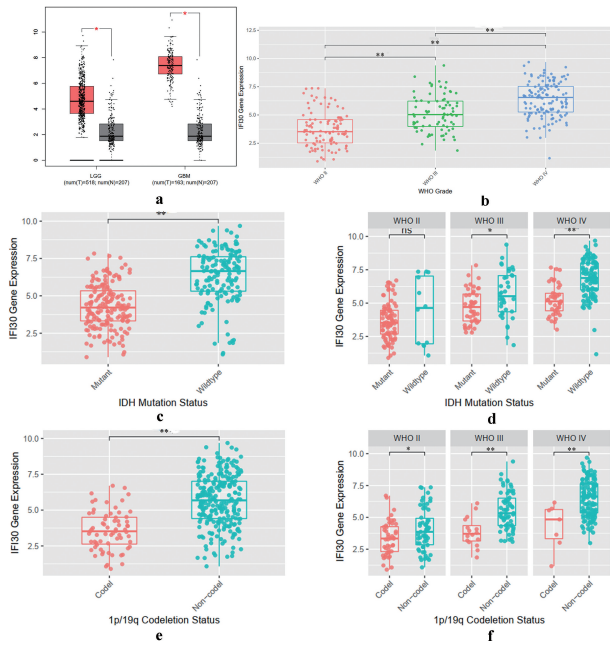
存期更短、预后更差(见图 2),差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

2.3 免疫组化检测临床胶质瘤标本中 GILT 蛋白的表达情况 结果显示 GILT 在低级别及高级别胶质瘤中均明显高表达(见图 3),与 TCGA、CGGA 数据库分析结果一致。

表 1 GILT 在胶质瘤中的表达及与 WHO 分级、IDH 突变、1 p/19 q 联合缺失的关系

类别	GILT 相对表达量	F/t	P
正常脑组织(n=207)	1.98±0.62 ^a		
较低级别胶质瘤(n=518)	4.61±1.13 ^b	1 343.586	0.000
胶质母细胞瘤(n=163)	7.24±0.78 ^c		
WHO II(n=103)	3.73±1.55 ^a		
WHO III(n=79)	5.16±1.58 ^b	86.538	0.000
WHO IV(n=139)	6.36±1.52 ^c		
NA(n=4)			
IDH 突变型(n=175)	4.30±1.46	11.111	0.000
IDH 野生型(n=149)	6.35±1.78		
NA(n=1)			
WHO II			
IDH 突变型(n=90)	3.66±1.38	0.989	0.342
IDH 野生型(n=12)	4.40±2.53		
NA(n=1)			
WHO III			
IDH 突变型(n=43)	4.73±1.28	2.645	0.010
IDH 野生型(n=36)	5.67±1.77		
WHO IV			
IDH 突变型(n=41)	5.24±1.15	6.947	0.000
IDH 野生型(n=98)	6.84±1.41		
NA(n=4)			
1 p/19 q 联合缺失型(n=67)	3.57±1.37	10.423	0.000
1 p/19 q 非联合缺失型(n=250)	5.68±1.79		
NA(n=8)			
WHO II			
1 p/19 q 联合缺失型(n=44)	3.36±1.36	2.273	0.025
非 1 p/19 q 联合缺失型(n=58)	4.04±1.64		
NA(n=1)			
WHO III			
1 p/19 q 联合缺失型(n=16)	3.84±1.15	4.952	0.000
非 1 p/19 q 联合缺失型(n=62)	5.54±1.48		
NA(n=1)			
WHO IV			
1 p/19 q 联合缺失型(n=7)	4.29±1.78	3.206	0.017
非 1 p/19 q 联合缺失型(n=129)	6.49±1.43		
NA(n=3)			
NA(n=4)			

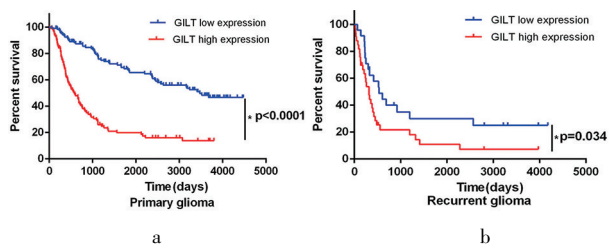
注:多组间两两比较,符号不同表示 $P < 0.05$;NA 为不适用的。



a. TCGA 数据库中 GILT 在胶质瘤及非瘤脑组织中的相对表达情况; b. CGGA 数据库 (mRNAseq_325) 中 GILT 在 WHO II ~ IV 级中的相对表达情况; c、d. CGGA 数据库中 GILT 在 IDH 野生型及突变型胶质瘤组织中的相对表达情况; e、f. CGGA 数据库中 GILT 在 1 p/19 q 联合缺失型及非缺失型胶质瘤组织中的相对表达情况。

图 1 TCGA、CGGA 数据库中 GILT 的差异表达与 WHO 分级、IDH 突变、1 p/19 q 联合缺失的关系

2.4 GILT 表达与化疗耐药基因之间的关系 CGGA 数据库 (mRNAseq_325) 结果显示,在原发和复发胶质瘤患者中,GILT 的表达与经典的化疗耐药基因 MGMT、ERCC₁、ERBB₂ 的表达均成正相关,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),详见表 3。



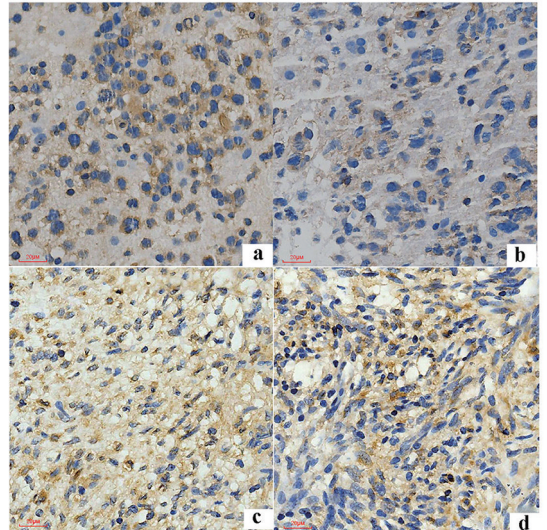
a. CGGA 数据库 (mRNAseq_325) 中原发胶质瘤中 GILT 表达与生存时间的关系; b. CGGA 数据库 (mRNAseq_325) 中复发胶质瘤中 GILT 表达与生存时间的关系。

图 2 CGGA 数据库 (mRNAseq_325) 中 GILT 的差异表达与生存期的关系

表 2 不同 GILT 表达的胶质瘤患者生存时间对比分析

类别	中位生存时间/d	χ^2 (Log-Rank test)	P
原发胶质瘤			
GILT 低表达 (n = 125)	3 470	60.390	0.000
GILT 高表达 (n = 104)	591		
复发胶质瘤			
GILT 低表达 (n = 28)	532	4.494	0.034

注:该数据库中还包括继发胶质瘤 30 例,NA 4 例。



a、b. 低级别胶质瘤; c、d. 高级别胶质瘤。棕黄色示阳性表达。
图 3 免疫组化检测临床胶质瘤标本中 GILT 蛋白的表达情况 (×400 倍)

表 3 GILT 与 MGMT、ERCC₁、ERBB₂ 表达的相关性

类别	r	t	P
GILT vs. MGMT			
原发胶质瘤 (n = 229)	0.345	5.539	0.000
复发胶质瘤 (n = 62)	0.401	3.393	0.001
GILT vs. ERCC ₁			
原发胶质瘤 (n = 229)	0.587	10.927	0.000
复发胶质瘤 (n = 62)	0.455	3.962	0.000
GILT vs. ERBB ₂			
原发胶质瘤 (n = 229)	0.372	6.045	0.000
复发胶质瘤 (n = 62)	0.315	2.570	0.013

注:该数据库中还包括继发胶质瘤 30 例,NA 4 例。

3 讨论

有研究报道 GILT 在抗原提呈及加工过程中起重要作用^[7]。近年来的研究发现其差异表达与黑色素瘤、弥漫性大 B 淋巴瘤、乳腺癌等预后相关^[4-6]。然而,其在胶质瘤中的表达情况及与预后的关系,相关报道不多。

TCGA 和 CGGA 数据库为胶质瘤的研究提供了丰富、可靠的基因组数据。笔者通过分析该数据库发现 GILT 在胶质瘤中高表达,且表达与 WHO 分级呈正相关。其在 IDH 野生型、非 1 p/19 q 联合缺失型中表达分别高于 IDH 突变型及 1 p/19 q 联合缺失型。研究已经证实 IDH 突变,尤其是 IDH₁ 突变显著影响胶质瘤对化疗敏感度。IDH₁ 突变型患者化疗效果较 IDH₁ 野生型好^[8-9]。1 p 和 19 q 联合缺失是胶质瘤,特别是少枝胶质细胞瘤预后的重要分子

指标。1 p/19 q 联合缺失与胶质瘤化疗敏感度相关^[10]。1 p/19 q 联合缺失者对含烷化剂的 PCV 方案及 TMZ 更敏感,具有较好的预后^[11-12]。然而,本研究中我们发现 GILT 在 IDH 野生型、非 1 p/19 q 联合缺失型中表达更高。这提示 GILT 高表达患者的化疗敏感度更差。CGGA 数据库中生存分析结果也佐证了这一结果。CGGA (mRNAseq_325) 数据库生存时间分析发现:不管是原发还是复发胶质瘤患者,GILT 高表达者均具有明显短的生存时间。以上结果表明胶质瘤中 GILT 高表达与化疗敏感度及预后相关。

GILT 是否也与胶质瘤化疗耐药相关?为此,我们分析了 GILT 与经典的化疗耐药基因 MGMT、ERCC₁、ERBB₂ 之间的关系。MGMT 属于一种 DNA 烷基化损伤修复酶,通过将 O⁶-甲基鸟嘌呤转移到自身半胱氨酸残基上,从而抵抗烷化剂的细胞毒作用,导致肿瘤细胞耐药^[13]。ERCC₁ 是核苷酸切除修复系统中一员,主要完成 DNA 交联形成后的切除修复过程^[14],其主要与氮芥类、顺铂的耐药相关^[15]。ERBB₂ 编码的穿膜受体样蛋白,是上皮生长因子受体家族中的一员,其高表达与环磷酰胺、阿霉素、5 氟脲嘧啶的耐药有关^[16-17]。以上 3 种基因属于不同作用机制的耐药基因,CGGA 数据分析后发现均与 GILT 表达呈正相关 ($P < 0.05$),已经发现的肿瘤化疗耐药基因还有很多,以上 3 种基因相关性分析尚不足以说明 GILT 表达与胶质瘤化疗耐药直接相关,但提示 GILT 可能与化疗耐药相关,可以为进一步体内外实验验证提供线索。

笔者通过临床胶质瘤标本同样证实了 GILT 在胶质瘤中高表达,结果与数据库分析吻合。至于 GILT 通过何种机制促进胶质瘤的发生、发展及与耐药相关,本课题组正在进行下一步研究,希望能为将来胶质瘤的治疗提供新思路。

【参考文献】

[1] ARUNACHALAM B, PHAN UT, GEUZE HJ, *et al.* Enzymatic reduction of disulfide bonds in lysosomes; characterization of a gamma-interferon-inducible lysosomal thiol reductase (GILT) [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(2): 745-750.

[2] LACKMAN RL, JAMIESON AM, GRIFFITH JM, *et al.* Innate immune recognition triggers secretion of lysosomal enzymes by macro-

phages [J]. *Traffic*, 2007, 8(9): 1179-1189.

[3] MARIC M, BARJAKTAREVIC I, BOGUNOVIC B, *et al.* Cutting edge: developmental up-regulation of IFN-gamma-inducible lysosomal thiol reductase expression leads to reduced T cell sensitivity and less severe autoimmunity [J]. *J Immunol*, 2009, 182(2): 746-750.

[4] PHIPPS-YONASH, CUI H, SEBATIO N, *et al.* Low GILT expression is associated with poor patient survival in diffuse large B-cell lymphoma [J]. *Front Immunol*, 2013, 4: 425.

[5] RAUSCH MP, IRVINE KR, ANTONY PA, *et al.* GILT accelerates autoimmunity to the melanoma antigen tyrosinase-related protein 1 [J]. *J Immunol*, 2010, 185(5): 2828-2835.

[6] XIANG YJ, GUO MM, ZHOU CJ, *et al.* Absence of gamma-interferon-inducible lysosomal thiol reductase (GILT) is associated with poor disease-free survival in breast cancer patients [J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e109449.

[7] MARIC M, ARUNACHALAM B, PHAN UT, *et al.* Defective antigen processing in GILT-free mice [J]. *Science*, 2001, 294(5545): 1361-1365.

[8] SONGTAO Q, LEI Y, SI G, *et al.* IDH mutations predict longer survival and response to temozolomide in secondary glioblastoma [J]. *Cancer Sci*, 2012, 103(3): 269-273.

[9] HOULLIER C, WANG X, KALOSHI G, *et al.* IDH1 or IDH2 mutations predict longer survival and response to temozolomide in low-grade gliomas [J]. *Neurology*, 2010, 75(11): 1560-1566.

[10] 周兴芹, 赵洪瑜, 沈超艳, 等. 低级别胶质瘤 1 p/19 q 和 IDH1 状态与疗效及预后的关系 [J]. *江苏医药*, 2019, 45(12): 1229-1232.

[11] 徐影, 刘畅. 染色体 1 p/19 q 缺失与 P53、IDH1 突变蛋白在少突胶质细胞肿瘤中的表达及相关性 [J]. *哈尔滨医科大学学报*, 2015, 49(3): 204-208.

[12] BACK MF, JAYAMANNE D, BACK E, *et al.* Reflecting on survivorship outcomes to aid initial decision making in patients treated for IDH-mutated anaplastic glioma [J]. *Cancer*, 2019, 125(19): 3457-3466.

[13] SIPPL C, URBSCHAT S, KIM YJ, *et al.* Promoter methylation of RB1, P15, P16 and MGMT and their impact on the clinical course of pilocytic astrocytomas [J]. *Oncol Lett*, 2018, 15(2): 1600-1606.

[14] 潘强, 杨学. 胶质瘤化疗药物耐药性分子机制的研究进展 [J]. *中国临床神经外科杂志*, 2010, 15(2): 118-121.

[15] 欧阳泉, 吴平辉. ERCC₁ 基因在结直肠癌中的研究进展 [J]. *皖南医学院学报*, 2019, 39(11): 1126-1128.

[16] THORD AD, BERRY DA, BUDMAN DR, *et al.* erbB2, p53, and efficacy of adjuvant therapy in lymphnode positive breast cancer [J]. *J Natl Cancer Inst*, 1998, 90(18): 1346-1360.

[17] 孙春明, 王之敏, 周幽心, 等. 人脑胶质瘤中 MGMT、erbB2 的表达及其意义 [J]. *江苏医药*, 2009, 35(12): 1416-1417.

恶性胸腔积液巨噬细胞 CD163、ANGPTL4 表达及相关性研究

秦立龙, 臧蕾蕾, 全斌, 牛永亮, 刘伟, 潘玲玲, 孙珍贵

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 呼吸内科, 安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:探讨恶性胸腔积液中巨噬细胞血红蛋白清道夫受体(CD163)、血管生成素样蛋白4(ANGPTL4)表达情况及两者的相关性。**方法:**收集2014年1月~2015年11月在我科住院治疗的40例初诊肺癌伴恶性胸腔积液(MPE)及20例结核性胸腔积液(TPE)患者胸水,免疫组化法检测胸水巨噬细胞CD163及ANGPTL4表达,计算阳性细胞百分比;ELISA法检测胸水上清液ANGPTL4浓度。**结果:**MPE组CD163+巨噬细胞中位数(97.32%)多于TPE组(26.41%)($P<0.05$);MPE组所有巨噬细胞均表达ANPTL4,TPE组表达ANGPTL4的巨噬细胞占(76.5±14.37)%;MPE组ANGPTL4浓度中位数(40.50 ng/mL)高于TPE组(27.25 ng/mL)($P<0.05$);MPE组CD163+巨噬细胞百分比与ANGPTL4浓度呈高度正相关($r_s=0.912, P<0.01$)。**结论:**CD163+巨噬细胞可能参与肺癌MPE形成过程,ANGPTL4可能是其中重要介质。

【关键词】恶性胸腔积液;巨噬细胞;血红蛋白清道夫受体;血管生成素样蛋白4

【中图分类号】R 561.3;R 392.7 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.005

Correlation study on the expression of CD163 and ANGPTL4 in macrophages from malignant pleural effusions

QIN Lilong, ZANG Leilei, QUAN Bin, NIU Yongliang, LIU Wei, PAN Lingling, SUN Zhengui

Department of Respiratory Disease, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To investigate the expression and correlation of macrophage hemoglobin scavenger receptor(CD163) and angiogenin-like protein 4(ANGPTL4) in malignant pleural effusion. **Methods:** Pleural fluid was collected from 40 newly diagnosed lung cancer patients with malignant pleural effusion(MPE) and tuberculous pleural effusion(TPE) in 20 patients treated in our department between January 2014 and November 2015. Immunohistochemistry was used to determine the expression of CD163 and ANGPTL4 in pleural macrophages, and the percentage of CD163 positive cells was calculated. ELISA was performed to measure ANGPTL4 concentration in pleural fluid. **Results:** The median concentration of CD163+ macrophages was significantly higher in the MPE group(97.32%) than in the TPE group(26.41%)($P<0.05$). ANPTL4 was totally expressed in all macrophages in the MPE group, and in(76.5±14.37)% of macrophages in the TPE group. The median concentration of ANGPTL4 was significantly higher in the MPE group(40.50 ng/mL) than in the TPE group(27.25 ng/mL)($P<0.05$). The percentage of CD163+ macrophages in MPE group were highly positively correlated with the concentration of ANGPTL4($r_s=0.912, P<0.01$). **Conclusion:** CD163+ macrophages may be involved in the formation of MPE in lung cancer, and ANGPTL4 may be an important mediator.

【Key words】 malignant pleural effusion; macrophages; hemoglobin scavenger receptor; angiogenin-like protein 4

恶性胸腔积液(malignant pleural effusion, MPE)是肺癌常见的并发症,15%肺癌患者初诊时合并MPE,50%患者在疾病过程中产生MPE^[1]。传统观点将MPE归因于肿瘤细胞转移至胸膜或纵膈淋巴结引起胸水生成与重吸收失衡,但新的观点认为血管生成、血管通透性增强或炎症反应促进MPE形成^[2],而宿主细胞与肿瘤细胞复杂的交互作用增强

血管生成、血管渗漏、炎症和癌细胞侵袭。虽然宿主免疫细胞如间皮细胞和淋巴细胞在MPE形成中的功能作用还有待确定,但巨噬细胞的重要性不断得到重视。

巨噬细胞是胸水细胞的重要组成部分,占有细胞一半以上。胸腔巨噬细胞源自通过胸膜间皮衬层迁移的外周血单核细胞,MPE发生过程中巨噬细

基金项目:安徽省自然科学基金项目(1608085MH192)

收稿日期:2019-12-23

作者简介:秦立龙(1989-),男,主治医师,(电话)13695673826,(电子信箱)787508319@qq.com;

孙珍贵,女,主治医师,(电子信箱)80705395@qq.com,通信作者。

胞被认为在胸水积聚,分泌细胞因子参与炎症和纤维化反应。巨噬细胞呈现两种表型:经典激活型(M1)和替代活化型(M2)。M1巨噬细胞表达促炎分子、触发Th1免疫反应,作为炎症应答及抗肿瘤免疫的重要细胞成分;M2主要表达抗炎分子和趋化因子,激活Th2免疫反应;通过促进血管生成、基质重塑和抑制适应性免疫促进肿瘤的发生和发展。M1缺乏可靠的表面标记物,M2表面受体包括血红蛋白清道夫受体(hemoglobin scavenger receptor, CD163)、甘露糖受体CD206(mannose receptor 206)和C型凝集素受体等,其中CD163仅限于单核细胞/巨噬细胞谱系,为M2巨噬细胞的一个特异性标记物^[3-4],部分研究将免疫组化鉴定的CD163+细胞作为M2巨噬细胞^[5]。CD163由抗炎信号如糖皮质激素和某些细胞因子(IL-6和IL-10)激活。研究表明,来自非恶性胸腔积液的巨噬细胞呈现M1表型,而MPE巨噬细胞呈现非经典性M2表型^[6]。MPE中CD163+巨噬细胞比例及在MPE促血管生成因子生成中的重要性仍不清楚。

血管生成和血管通透性增加有助于肿瘤转移,血管生成素样蛋白4(angiogenin-like protein 4, ANGPTL4)是血管生成素家族成员之一,也称为过氧化物酶体增殖活化受体PPAR γ 诱导的血管生成素相关蛋白,调节血管通透性、血管生成和炎症反应^[7]。ANGPTL4在转移性肿瘤中高表达,表明它可能在转移过程中起重要的作用;但研究也发现ANGPTL4抑制血管渗漏防止转移,说明ANGPTL4功能可能受肿瘤微环境影响并具组织特异性。ANGPTL4也可以是癌症诊断的潜在生物标志物。

本研究通过免疫组化技术分析巨噬细胞CD163、ANGPTL4表达及胸水中ANGPTL4水平,评估CD163+巨噬细胞与ANGPTL4的相关性,探讨CD163+巨噬细胞在肺癌MPE发病中的作用。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选择2014年1月~2015年11月在弋矶山医院呼吸内科住院确诊的肺癌伴MPE患者40例,其中男15例,女性25例,平均年龄(58.08 \pm 8.04)岁;包括肺鳞癌5例,肺腺癌30例,小细胞肺癌5例。结核性胸腔积液(tuberculous pleural effusion, TPE)患者20例,其中男女各10例,平均年龄(40.75 \pm 16.04)岁。所有患者均签署知情同意书。

肺癌MPE的诊断基于胸腔积液中找到癌细胞和(或)胸膜活检标本病理学确诊为原发性肺癌并排除任何其他转移性癌引起的胸腔积液。TPE的诊断依

据患者临床病史、胸水腺苷脱氨酶(ADA) \geq 40 U/L,同时胸膜活检标本显示干酪样肉芽肿。

1.2 胸水收集和处理 留取患者入院后首次胸穿获得的胸水约100~500 mL,3 000 r/min离心20 min,细胞沉淀制作成蜡块,收集上清液10 mL等分储存于-80 $^{\circ}$ C冰箱,待检ANGPTL4。

1.3 CD163、ANGPTL4免疫组化检测 将新鲜胸水标本以10%福尔马林固定、石蜡包埋,制成4 μ m组织切片。链霉素抗生物素-过氧化物酶连接法进行免疫组化检测。分别滴加鼠抗人CD163单克隆抗体(1:150)(北京中杉金桥公司)、鼠抗人ANGPTL4多克隆抗体(1:150)(北京博奥森公司),PV-6000山羊抗鼠IgG/HRP聚合物(北京中杉金桥公司)。DAB显色、苏木精复染。采用双盲法判定免疫组化结果:先在100倍光镜下选取4个视野较好的区域,后在400倍光镜下随机选择5个高倍视野(HPF)计数阳性细胞数,取其平均值,分别以CD163、ANGPTL4+巨噬细胞平均数除以巨噬细胞总数计算CD163、ANGPTL4+巨噬细胞百分比。

1.4 ELISA检测胸水中ANGPTL4浓度 ELISA法检测ANGPTL4浓度,操作步骤按试剂盒(武汉华美生物工程有限公司)说明书进行,ANGPTL4检测浓度是0.39 ng/mL。

1.5 统计学分析 采用SPSS 18.0统计软件进行统计分析。MPE组与TPE组CD163+细胞数、ANGPTL4浓度采用中位数表示,组间比较采用秩和检验,双变量相关性采用Spearman相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

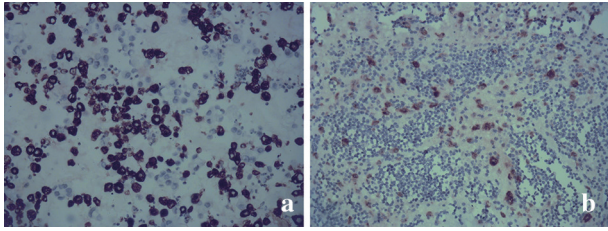
2 结果

2.1 CD163在MPE、TPE巨噬细胞表达及阳性细胞百分比比较 400倍光镜下结合CD163染色和细胞形态鉴定CD163+和CD163-巨噬细胞,CD163表达定位于胞质或胞膜,呈黄褐色至棕黄色颗粒状。MPE组CD163+巨噬细胞中位数97.32%(86%、126%)多于TPE组的26.41%(16.5%、33.5%),差异有统计学意义($Z=6.276, P=0.000$)。见图1。

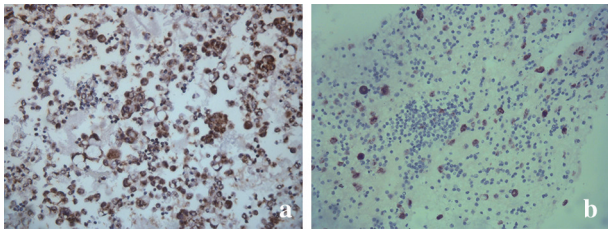
2.2 MPE和TPE胸水中ANGPTL4水平 ELISA检测胸水中ANGPTL4浓度,MPE组ANGPTL4浓度中位数40.50 ng/mL(26.64 ng/mL、101.75 ng/mL)高于TPE组的27.25 ng/mL(19.51 ng/mL、50.67 ng/mL),差异有统计学意义($Z=2.682, P=0.007$)。

2.3 ANGPTL4在MPE及TPE中巨噬细胞的表达 MPE多种细胞如巨噬细胞、间皮细胞、肿瘤细胞胞质或胞膜均表达ANGPTL4,呈黄褐色至棕黄色颗

粒状,所有巨噬细胞均呈阳性;TPE 部分巨噬细胞表达 ANGPTL4(图2),阳性细胞占(76.50±14.37)%。



a. MPE;b. TPE。
图1 MPE及TPE中巨噬细胞CD163表达(×400)



a. MPE;b. TPE。
图2 MPE及TPE中巨噬细胞ANGPTL4表达(×400)

2.4 MPE中CD163+巨噬细胞数量与胸水上清液中ANGPTL4浓度相关性 对MPE中CD163+巨噬细胞数与ANGPTL4浓度的关系进行秩相关分析,结果显示,CD163+巨噬细胞数与ANGPTL4浓度存在相关关系($r_s=0.912, P=0.000$)。

3 讨论

胸腔积液巨噬细胞是研究免疫细胞和肿瘤细胞相互作用的一种重要成分,已证明来自恶性胸腔积液的巨噬细胞自然杀伤活性和杀死肿瘤细胞能力削弱。M2巨噬细胞在癌症发生、发展中发挥重要作用,CD163为M2c巨噬细胞的特异性标记物^[3]。既往采用流式细胞仪研究MPE中巨噬细胞分类,发现恶性胸水中巨噬细胞以非经典性M2型为主^[6]。本研究着重于观察胸腔积液微环境中CD163+巨噬细胞比例及ANGPTL4的表达,将胸腔积液离心沉淀制成蜡块,采用免疫组化技术检测巨噬细胞CD163的表达,观察到相对于TPE,肺癌MPE中巨噬细胞数量和胞膜及胞质CD163染色强阳性的巨噬细胞百分比更高,此与以往研究结果基本一致,提示CD163+巨噬细胞在MPE发生发展中可能具有重要作用,更多的CD163+巨噬细胞有利于肿瘤细胞免疫逃逸,新生血管形成,而MPE微环境多种介质有利于巨噬细胞表型分化,促进MPE发展。我们认为巨噬细胞数量和百分比提供不同的信息和含义:MPE较TPE巨噬细胞细胞数量增多,这可能源于循环单核细胞更多的募集和分化;而百分比更好地反

映分化过程中的环境,CD163+巨噬细胞也可能成为鉴别良恶性胸腔积液的指标之一。此外,本研究中我们对CD163+巨噬细胞的形态观察发现多种CD163表达强阳性的细胞融合,提示MPE中巨噬细胞与肿瘤细胞可能发生异型细胞融合。

肿瘤微环境丰富的IL-4、IL-6、IL-10、TGF-β1等有利于M2型巨噬细胞极化,M2(M2c)巨噬细胞也分泌抗炎介质如IL-10^[5]。从另一方面证明CD163+巨噬细胞为M2型巨噬细胞,增多的IL-10促进血管生成和抗细胞凋亡从而增加肺肿瘤细胞系的转移潜能。

血管生成是实体瘤生长和转移获取养分的重要条件,ANGPTL4是一种新型分泌糖蛋白,可以促进血管生成、肿瘤发生、肿瘤侵袭、抗失巢凋亡^[8],其功能作用取决于组织环境和转录后修饰状态。本研究发现MPE中多种细胞如巨噬细胞、癌细胞、间皮细胞表达ANGPTL4,所有的巨噬细胞均为ANGPTL4阳性,同时上清液中ANGPTL4蛋白表达量也明显高于TPE;相关分析示MPE中ANGPTL4表达水平与CD163+巨噬细胞数量显著正相关,提示MPE中ANGPTL4部分可能分泌自CD163+巨噬细胞,对MPE形成产生重要影响,巨噬细胞分泌ANGPTL4并释放到MPE中,增加胸膜毛细血管通透性并便于癌细胞播散;恶性胸腔积液微环境中ANGPTL4表达增加也可能参与巨噬细胞极化类型的调节。MPE中ANGPTL4的上调与MPE缺氧微环境缺氧诱导因子1α有密切关系^[8]。

本研究局限性在于仅观察了CD163,而对M2巨噬细胞其他标志物及M1巨噬细胞标志物均未检测,因此可能会导致结论过于简单化;使用免疫细胞化学法分析属半定量测量,也可能导致不正确的解释。此外,本研究收集的样本例数偏小,可能引起结果产生一定的偏差。总之,CD163+巨噬细胞在肺癌MPE发生中的作用、是否与预后相关,有待进一步观察研究。

【参考文献】

[1] PENZ E, WATT KN, HERGOTT CA, *et al*. Management of malignant pleural effusion: challenges and solutions [J]. *Cancer Manag Res*, 2017, 9: 229-241.

[2] STATHOPOULOS GT, KALOMENIDIS I. Malignant pleural effusion: tumor-host interactions unleashed [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 186(6): 487-492.

[3] AMBARUS CA, KRAUSZ S, VAN EIJK M, *et al*. Systematic validation of specific phenotypic markers for in vitro polarized human macrophages [J]. *J Immunol Methods*, 2012, 375(1-2): 196-206.

血脂水平与脊髓型颈椎病患者椎间盘退变的相关性分析

詹文豪,王 弘,王凌挺,白 凡,朱孝峰,齐美涛

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 脊柱外科,安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:研究脊髓型颈椎病患者血脂水平与椎间盘退变的相关性。**方法:**收集弋矶山医院骨科44名脊髓型颈椎病患者年龄、高血压史等一般信息,男性18例,女性26例,并收集12例颈部脊髓损伤患者作为对照组。收集患者住院期间所做MRI检查以及空腹血脂参数,根据改良的Pfirman椎间盘退变分级对患者的致病椎间盘进行评分和记录。**结果:**脊髓型颈椎病患者年龄和颈椎退变呈正相关($P<0.05$)。在患者血脂参数与椎间盘退变的分析中,患者总胆固醇(GHOL)、甘油三酯(TG)水平与患者椎间盘退变呈正相关($P<0.05$),而低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL)与椎间盘退变相关性无统计学意义($P>0.05$)。**结论:**高龄、高甘油三酯和高总胆固醇能够加重椎间盘退变,是引起颈椎病的危险因素。

【关键词】血脂;脊髓型颈椎病;椎间盘退变

【中图分类号】R 687.3;R 446.11 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.006

Correlation analysis of blood lipid level and intervertebral disc degeneration in patients with cervical spondylotic myelopathy

ZHAN Wenhao, WANG Hong, WANG Lingting, BAI Fan, ZHU Xiaofeng, QI Meitao

Department of Spinal Surgery, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To investigate the correlation between blood lipid levels and cervical disc degeneration in patients with cervical spondylotic myelopathy. **Methods:** Forty-four patients (18 males and 26 females) with cervical spondylotic myelopathy treated in our department were included, and their general information, such as the patient's age and history of hypertension, was collected. Another 12 patients with cervical spinal cord injury were recruited as controls. The MRI and fasting lipid parameters of the patients during hospitalization were also obtained. The diseased discs were scored in patients and measured according to the modified Pfirman grading system. **Results:** The age of patients with cervical spondylotic myelopathy was positively correlated with cervical degeneration ($P<0.05$). Analysis of the patient's blood lipid indicators and intervertebral disc degeneration demonstrated that the patient's total cholesterol (GHOL) and triglyceride (TG) levels were positively correlated with the patient's intervertebral disc degeneration ($P<0.05$), yet low density lipoprotein (LDL) and high density (HDL) were not statistically associated with intervertebral disc degeneration ($P>0.05$). **Conclusion:** Old age, high triglycerides and high total cholesterol are risk factors for cervical spondylosis, and can aggravate intervertebral disc degeneration.

【Key words】 blood lipid; cervical spondylotic myelopathy; intervertebral disc degeneration

基金项目: 芜湖市科技计划项目(2019rkx4-2)

收稿日期: 2019-12-16

作者简介: 詹文豪(1994-),男,2018级硕士研究生,(电话)18895314970,(电子信箱)zxcvb6863@163.com;

王 弘,男,主任医师,副教授,(电子信箱)hwh111@126.com,通信作者。

[4] REINARTZ S, SCHUMANN T, FINKERNAGEL F, *et al.* Mixed-polarization phenotype of ascites-associated macrophages in human ovarian carcinoma; correlation of CD163 expression, cytokine levels and early relapse [J]. *Int J Cancer*, 2013, 134(1):32-42.

[5] EDIN S, WIKBERG ML, DAHLIN AM, *et al.* The distribution of macrophages with a M1 or M2 phenotype in relation to prognosis and the molecular characteristics of colorectal cancer [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10):e47045.

[6] KACZMAREK M, NOWICKA A, KOZŁOWSKA M, *et al.* Evalua-

tion of the phenotype pattern of macrophages isolated from malignant and non-malignant pleural effusions [J]. *Tumour Biol*, 2011, 32(6):1123-1132.

[7] GUO L, LI SY, JI FY, *et al.* Role of Angptl4 in vascular permeability and inflammation [J]. *Inflamm Res*, 2014, 63(1):13-22.

[8] HU K, BABAPOOR-FARROKHRAN S, RODRIGUES M, *et al.* Hypoxia-inducible factor 1 upregulation of both VEGF and ANGPTL4 is required to promote the angiogenic phenotype in uveal melanoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(7):7816-7828.

颈椎病(cervical spondylosis)是影响我国人群健康的常见疾病^[1],椎间盘退变为其主要病因,常需手术治疗。随着人们生活水平的发展和提高,颈椎病发病率逐渐增加。血脂水平是影响人们健康的一大重要指标,本研究旨在探讨脊髓型颈椎病患者血脂水平和颈椎椎间盘退变的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集弋矶山医院2018年10月~2019年10月44例颈椎病住院手术患者,其中男性18例,女性26例,平均年龄(54.52±9.54)岁;并收集同期12名颈部脊髓损伤患者,其中男性9例,女性3例,平均年龄(49.83±1.14)岁。脊髓型颈椎病患者纳入标准:①术前血脂以及颈椎MRI检查资料完整;②既往无相应手术病史。排除标准:①严重慢性病史患者;②椎管内存在后纵韧带骨化(OPLL);③颈椎骨折、感染、肿瘤及先天性畸形等疾病。对照组纳入标准:①颈部脊髓损伤;②入院前无颈椎病相应症状。

1.2 研究方法 记录患者空腹血脂参数水平,包括总胆固醇(GHOL)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白(LDL)、高密度脂蛋白(HDL),以及患者年龄、性别、血压等一般资料。根据颈椎MRI记录患者病变

表2 两组患者血脂水平比较

	GHOL/(mmol/L)	TG/(mmol/L)	LDL/(mmol/L)	HDL/(mmol/L)	改良Pfirman评分
脊髓型颈椎病患者组	4.38±1.09	2.20±1.21	2.35±0.78	1.45±0.41	4.80±1.40
对照组	4.05±0.61	1.61±0.70	2.33±0.56	1.43±0.26	3.83±1.11
<i>t/t'</i>	2.031	2.237	0.091	0.162	2.213
<i>P</i>	0.047	0.033	0.928	0.873	0.031

2.3 脊髓型颈椎病患者年龄及血脂水平和颈椎椎间盘退变的相关性分析 相关性分析显示,脊髓型颈椎病患者年龄与颈椎退变呈正相关($P<0.05$)。在患者血脂参数与椎间盘退变的分析中,患者GHOL、TG水平与患者椎间盘退变呈正相关($P<0.05$),而LDL、HDL与椎间盘退变相关性无统计学意义($P>0.05$)。见表3。

表3 脊髓型颈椎病患者年龄及血脂水平与颈椎椎间盘退变的相关性分析

指标		<i>r</i>	<i>P</i>
年龄/岁	54.52±9.54	0.281	0.032
GHOL/(mmol/L)	4.38±1.09	0.413	0.005
TG/(mmol/L)	2.10±1.21	0.491	0.001
LDL/(mmol/L)	2.35±0.78	-0.013	0.931
HDL/(mmol/L)	1.45±0.41	0.101	0.513

节段,并根据改良型Pfirmann椎间盘退变分级^[2]方法对患者相应节段椎间盘进行分级。

1.3 统计方法 采用SPSS 18.0统计软件进行分析和处理。计数资料采用率(%)表示,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间对比分别采用 χ^2 检验和*t/t'*检验;相关性采用Pearson直线相关分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般临床资料比较 脊髓型颈椎病患者组与对照组术前年龄、性别、是否高血压等差异无统计学意义($P>0.05$),两组具有可比性。见表1。

表1 两组患者一般临床资料比较

	年龄/岁	性别 (男/女)	高血压 (有/无)
脊髓型颈椎病患者组	54.52±9.54	18/26	15/29
对照组	49.83±1.14	3/9	5/7
<i>t/\chi^2</i>	1.689	0.453	0.021
<i>P</i>	0.097	0.501	0.884

2.2 两组患者血脂水平比较 对照组GHOL、TG水平以及颈椎椎间盘退变评分低于脊髓型颈椎病患者组,差异有统计学意义($P<0.05$);而两组HDL、LDL比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表2。

3 讨论

3.1 血脂对椎间盘退变的影响 既往研究表明高血脂水平与腰椎间盘突出及退变有明显相关性^[3-5]。然而,血脂水平对颈椎间盘退变影响原因仍不明确。李祖新等^[6]认为脂代谢异常与其引起动脉粥样硬化易引起相应节段椎动脉狭窄,从而减少了对椎间盘的供血,加速椎间盘的老化,并认为狭窄程度与椎间盘退行性变的严重程度呈正相关。Longo等^[8]对169例腰椎间盘突出患者的研究认为腰椎间盘突出和甘油三酯及总甘油三酯的升高具有统计学意义,由于高血脂引起的椎间盘供血不足是椎间盘变性的关键之一。王倩倩等^[7]研究表明甘油三酯的升高与颈椎间盘突出呈正相关,其原因就是甘油三酯的升高造成颈动脉斑块形成使得颈椎

间盘养分减少脱水变性。Kang 等^[9]发现颈椎病或颈椎间盘突出变性时周围会自发产生白介素-6、NO 等炎症因子,其加重周围组织的破坏及病情的变化,孙东升等^[10]在研究降血脂药物时发现实验肥胖小鼠体内白介素-6 与血脂浓度具有明显的相关性,所以我们结合两者的结论考虑体内较高的甘油三酯水平通过炎症因子的产生对椎间盘的变性起了一定的作用,当然该结论还需继续研究论证。

3.2 椎间盘退变的影响因素 椎间盘的退变受多种因素影响,大部分原因早已被大家所认知,仍有部分因素值得深入研究。终板软骨是提供椎间盘养分的重要场所,椎间盘内并无血管组织依靠终板以及相应毛细血管提供养分,终板软骨和椎间盘退变有着密切的相关性^[11],终板软骨的钙化可减少椎间盘的血供,直接影响椎间盘的养分供给。有研究指出维生素 D 的缺乏更容易出现椎间盘的退变^[12],因为维生素 D 会作用于椎间盘纤维环等,并且有研究指出骨质疏松症程度同椎间盘退变呈正相关^[13],而这样的情况多出现在绝经期女性,由于雌激素水平的降低导致了破骨细胞活跃加速椎间盘退变。基因对椎间盘影响的研究已经逐渐清晰,多种不同类型的基因参与了椎间盘退变的过程^[14],其中包括了椎间盘结构、骨质疏松、细胞因子相关基因,还包括各种非编码 RNA。随着对于个体基因的研究,笔者认为对基因的研究可预测个体椎间盘退变的风险并在早期提供相关有效的预防。脂肪细胞因子的体内富集加速椎间盘细胞凋亡及促使椎间盘内出现炎症反应直接影响椎间盘退变,巨噬细胞也参与椎间盘退变的过程^[15],因为巨噬细胞是唯一进入髓核的炎症细胞,其通过复杂的炎症反应引起椎间盘退变,目前该研究仍在继续深入。笔者认为以上研究能够让我们更好地了解及预防椎间盘退变。

血脂异常可增加颈椎椎间盘退变的风险。高龄、高甘油三酯和高总胆固醇能够加重椎间盘退变,是引起颈椎病的危险因素。

【参考文献】

- [1] 张一龙,陈仲强,孙宇,等. 脊髓型颈椎病患者术后神经功能与生活质量的变化及其之间的相关性分析[J]. 中国脊柱脊髓杂志,2016,26(9):782-790.
- [2] 何杰,康志雷,李晓娜. 磁化传递率与腰椎间盘退变的相关研究[J]. 临床放射学杂志,2014,33(1):90-94.
- [3] ZHANG Y,ZHAO Y,WANG M, *et al.* Serum lipid levels are positively correlated with lumbar disc herniation—a retrospective study of 790 Chinese patients [J]. *Lipids in health and disease*,2016,15(1):80.
- [4] OHTORI S,INOUE G,ITO T, *et al.* Tumor necrosis factor-immunoreactive cells and pgp 9.5-immunoreactive nerve fibers in vertebral endplates of patients with discogenic low back pain and modic type 1 or type 2 changes on MRI [J]. *Spine*,2006,31(9):1026-1031.
- [5] 许建文,钟远鸣,尹利军,等. 肥胖与腰椎间盘退变的关联性临床研究 [J]. 中国临床新医学,2011,4(12):1108-1110.
- [6] 李祖新. 血脂代谢异常与腰椎间盘突出相关性研究 [J]. 国际检验医学杂志,2018,39(22):2825-2827,2831.
- [7] 王倩倩. 血脂水平升高与颈椎间盘突出关系:病例对照研究 [J]. 解放军医学杂志,2014,39(8):628-631.
- [8] LONGO UG,DENARO L,SPIEZIA F, *et al.* Symptomatic disc herniation and serum lipid levels [J]. *European spine journal*,2011,20(10):1658-1662.
- [9] KANG JD,GEORGESCU HI,MCINTYRE-LARKIN L, *et al.* Herniated cervical intervertebral discs spontaneously produce matrix metalloproteinases, nitric oxide, interleukin-6, and prostaglandin E2 [J]. *Spine(Phila Pa 1976)*,1995,20(22):2373-2378.
- [10] 孙东升,赵湘,武立华. 血脂康对肥胖大鼠血脂及白介素-6 的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2011,27(5):398-400.
- [11] XIAO L,NI C,SHI J, *et al.* Analysis of correlation between vertebral endplate change and lumbar disc degeneration [J]. *Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research*,2017,23:4932-4938.
- [12] 徐浩伟,王善金,李丽丽,等. 维生素 D 与椎间盘退变的相关性研究进展 [J]. 中国矫形外科杂志,2020,28(3):239-243.
- [13] SHEVDE NK,BENDIXEN AC,DIENGER KM, *et al.* Estrogens suppress RANK ligand-induced osteoclast differentiation via a stromal cell independent mechanism involving c-Jun repression [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2000,97(14):7829-7834.
- [14] 秦集斌,宋洁富,荆志振,等. 椎间盘退变的相关遗传易感基因研究进展 [J]. 中华骨科杂志,2016,36(18):1208-1212.
- [15] 朱健,孙凯强,史建刚. 巨噬细胞与椎间盘退变的研究进展 [J]. 第二军医大学学报,2019,40(12):1350-1355.

玻璃体视网膜联合术对糖尿病视网膜病变患者血糖的影响

李金平^{1,2},柯根杰^{2,3},闫原野¹,王一赛⁴,董 凯²

(1. 皖南医学院 研究生学院,安徽 芜湖 241002;2. 中国科学技术大学附属第一医院 安徽省立医院 眼科,安徽 合肥 230001;3. 上海交通大学附属第一人民医院 眼科,上海 200080;4. 安徽医科大学 研究生学院,安徽 合肥 230032)

【摘要】目的:评价伴有糖尿病视网膜病变(DR)患者行玻璃体视网膜联合术后的血糖变化,并分析相关影响因素。**方法:**选择行玻璃体视网膜联合术的DR患者20例,分别测定术前24h至术后72h内5个时间点血糖。采用重复测量的方差分析和Pearson相关分析探讨术后血糖变化及其与糖尿病病程、术前血糖水平、术前基础血糖水平、眼压、体位、血压和手术时间的相关性。**结果:**DR患者行玻璃体视网膜联合术后血糖高于术前基础血糖水平($P<0.05$),在手术当天测得的5个时间点血糖中于晚餐后2h达高峰。术后血糖变化有一个过程,即先缓慢升高,后逐渐下降($P<0.05$)。术后血糖升高和糖尿病病程、术前血糖水平、术前基础血糖水平及入院当天血压均呈正相关($P<0.05$)。**结论:**DR患者行玻璃体视网膜联合术后血糖变化存在先升高后下降,且在手术当天的5个时间点血糖中于晚餐后2h达高峰的规律。术后血糖变化主要影响因素为糖尿病病程、术前血糖水平、术前基础血糖水平和入院当天血压。

【关键词】糖尿病视网膜病变;糖尿病;血糖;玻璃体视网膜联合术

【中图分类号】R 587.2;R 774.1 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.007

Effect of vitreoretinal surgery on blood glucose level in patients with diabetic retinopathy

LI Jinping, KE Genjie, YAN Yuanye, WANG Yisai, DONG Kai

Graduate School, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

【Abstract】Objective: To observe the changes of blood glucose level in patients with diabetic retinopathy after vitreoretinal surgery, and analyze the influencing factors. **Methods:** Twenty patients of diabetic retinopathy undergoing vitreoretinal surgery were included, and subjected to blood glucose measurement at the five time points 24 h before operation and 72 h after surgery, respectively. Repeated measurement analysis of variance and Pearson correlation analysis were carried out to analyze the changes of postoperative blood glucose and its correlation with course of diabetes, preoperative blood glucose level, basal plasma glucose level before operation, intraocular pressure, body position, blood pressure and operative time. **Results:** The blood glucose level was significantly higher after operation than basal plasma glucose level before surgery in patients of diabetic retinopathy following vitreoretinal surgery ($P<0.05$). Of the blood glucose measured at the five time points, the blood glucose level was peaked at 2 h after dinner on the operation day, and tended to increase increased slowly, and then gradually decrease ($P<0.05$). Elevation postoperative blood glucose level was positively correlated with the course of diabetes, preoperative blood glucose level, basal plasma glucose level before surgery and blood pressure on the day of admission ($P<0.05$). **Conclusion:** The blood glucose in patients with diabetic retinopathy after vitreoretinal surgery is characterized by initial increase and subsequent decrease, peaking at 2 h after dinner in the five time measurement points on the operation day. The main factors affecting variation of postoperative blood glucose level are involved in course of diabetes, preoperative blood glucose level, basal plasma glucose level before surgery and blood pressure on the day of admission.

【Key words】diabetic retinopathy; diabetes mellitus; blood glucose; vitreoretinal surgery

糖尿病(diabetes mellitus, DM)是一种常见的慢性代谢性疾病,目前全球约有3.66亿糖尿病患者^[1],其中我国约占1.09亿^[2]。其随着病程延长可引起多种并发症,其中糖尿病视网膜病变(diabet-

ic retinopathy, DR)是DM患者常见的一种严重影响视力的微血管并发症,是血糖血脂代谢异常和内分泌功能紊乱在视网膜上的表现。DR的发生发展是一个多因素相互作用的复杂过程,如高血糖、血脂代

基金项目:国家自然科学基金项目(81400407);安徽省自然科学基金项目(1408085QH159;2019ZC047);上海市眼底病重点实验室资助

收稿日期:2020-02-09

作者简介:李金平(1991-),男,2018级硕士研究生,(电话)19965397895,(电子信箱)nulidietiancai@163.com;

董 凯,男,副主任医师,硕士生导师,(电子信箱)happysubmission@163.com,通信作者。

谢紊乱、氧化应激、炎症途径等,其中高血糖可能是其他病理过程的起始环节^[3],相关研究亦证实高血糖是 DR 发病的唯一独立危险因素。对于 DR 引起的玻璃体积血和牵拉性视网膜脱离,临床上主要采用玻璃体视网膜联合术来清除玻璃体积血和复位视网膜。与其他外科手术相比,玻璃体视网膜联合术具有组织损伤小、手术时间短并可在局麻下完成等优点,但其对 DM 患者术后血糖有无影响及如何影响,国内外相关报道较少。现有研究仅记录了术前,术后 1~2 h 血糖和手术当天,术后 1、3、5 d 的空腹血糖^[4],并没有分析术前 1 d 和术后其他时间点的血糖值,所以尚不能充分反映 DM 患者术后血糖变化规律。为此我们筛选出 20 例相对完整的 DR 患者临床资料,详细记录患者术前 24 h 至术后 72 h 内的不同时间点血糖,以及 DM 病程、眼压、体位、入院当天血压和手术时间,现将结果分析如下。

1 资料和方法

1.1 一般资料 选择 2017 年 6 月~2019 年 7 月在中国科学技术大学附属第一医院行玻璃体视网膜联合术的 DR 患者 20 例,所有患者均严格按照《我国糖尿病视网膜病变临床诊疗指南(2014 年)》,明确诊断为糖尿病视网膜病变。其中男 12 例,女 8 例;年龄 33~73 岁,平均(50.20±10.28)岁。糖尿病病程 2~25 年,平均(12.00±6.58)年;病程≤10 年者 7 例,>10 年者 13 例。术前平均血糖(10.71±4.12) mmol/L(3.90~18.80 mmol/L);术前血糖≤8.00 mmol/L 者 5 例,>8.00 mmol/L 者 15 例。由于 20 例患者均在上午接受手术,即测量早餐后 2 h 血糖后、午餐后 2 h 血糖前完成手术,故选取术前 24 h 的午餐后 2 h、晚餐后 2 h、晚上 11 时和次日早上空腹、早餐后 2 h 这 5 个时间点的血糖值作为术前基础血

糖,将手术当天的早餐后 2 h 血糖作为术前血糖。血糖测量统一使用罗氏 YZB/GER 5513-2014 血糖仪采集患者手指末端静脉血。考虑到患者住院时间较短等因素,选取术前 24 h 至术后 72 h 内的 5 个时间点血糖作为其取值点。

1.2 手术方法 玻璃体视网膜联合术的手术指征为玻璃体积血和牵拉性视网膜脱离。术前检查包括视力、眼压、裂隙灯显微镜检查、间接眼底镜检查、角膜地形图、眼科 A 超、眼科 B 超。术中利多卡因和罗哌卡因 5 mL 球后眶周注射麻醉。采用标准三切口 23 G 微创玻璃体切割手术,行巩膜套管穿刺,固定眼内灌注管,置入眼内照明和玻璃体切割头,切除中轴及周边混浊玻璃体,充分剥除增殖膜,对于黏附较紧的增殖膜,仅残留与血管粘连紧密的蒂;可疑出血点予以电凝止血,依次行全视网膜激光光凝,术毕眼内注入曲安奈德 2 mg。眼内硅油填充患者术后需严格俯卧位 1 月以上,常规对症治疗,降糖药物治疗同术前。定期随访。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用重复测量的方差分析比较 DR 患者术前及术后血糖变化;Pearson 相关分析探讨术后血糖变化与有关影响因素的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术前 24 h 至术后 72 h 不同时间点血糖比较 分别比较术前 24 h 和术后 24、48、72 h 内 5 个时间点血糖。结果显示,午餐后 2 h 血糖在术后 48 h 高于术前 24 h,差异有统计学意义($P < 0.05$);晚餐后 2 h 和晚上 11 点血糖在术后 24 h、48 h 和 72 h 均高于术前 24 h,差异有统计学意义($P < 0.05$)。详见表 1。

表 1 术前及术后 72 h 内不同时间点血糖比较

	术前 24 h	术后 24 h	术后 48 h	术后 72 h
午餐后 2 h	8.42±3.51	10.81±4.07	11.75±3.85**	10.81±3.82
晚餐后 2 h	10.13±4.94	17.75±5.61**	16.89±5.27**	16.17±6.07**
晚上 11 点	9.52±3.67	13.32±3.97**	12.84±3.93*	12.31±4.91*
次日早上空腹	7.41±2.81	9.59±3.51	8.39±2.88	8.46±2.97
次日早餐后 2 h	10.71±4.12	12.98±4.44	11.37±3.27	11.57±3.84

$F_{\text{组别}} = 12.146, P_{\text{组别}} = 0.000; F_{\text{时间}} = 26.651, P_{\text{时间}} = 0.000; F_{\text{交互}} = 2.970, P_{\text{交互}} = 0.001$

注:与术前 24 h 相比,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

2.2 术前 24 h 和术后 24 h 内 5 个时间点血糖间相关性分析 结果显示,术前 24 h 和术后 24 h 晚餐后

2 h 血糖及次日早上空腹血糖呈正相关,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。详见表 2。

表2 术前24 h及术后24 h内5点血糖间相关性分析

时间点	r	P
午餐后2 h	0.212	0.370
晚餐后2 h	0.672	0.001
晚上11点	0.098	0.682
次日早上空腹	0.634	0.003
次日早餐后2 h	0.328	0.158

2.3 手术当天午餐后2 h血糖和术前血糖、糖尿病病程、手术时间、收缩压、舒张压的相关性分析 结果显示,术前血糖、糖尿病病程、收缩压、舒张压和手术当天午餐后2 h血糖呈正相关,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。详见表3。

表3 午餐后2 h血糖和术前血糖、DM病程、手术时间、收缩压、舒张压的相关性分析

影响因素	午餐后2 h血糖	
	r	P
术前血糖	0.640	0.002
DM病程	0.467	0.038
手术时间	-0.278	0.235
收缩压	0.476	0.034
舒张压	0.514	0.020

2.4 术前眼压和术后体位 20例DR患者术前眼压均在正常范围(10~21 mmHg)内,术后体位均为俯卧位,故可排除术前眼压和术后体位对血糖的影响。

3 讨论

目前关于DM视网膜病变的研究很广泛,但对于DR患者行玻璃体视网膜联合术后血糖变化规律及相关影响因素的研究,国内外相关报道较少。颜华等发现DM患者行玻璃体切割术后血糖先升高后下降,于术后1~2 h达高峰,术后5 d左右恢复至术前水平^[4]。本研究发现DR患者行玻璃体视网膜联合术后血糖先升高后下降,且在手术当天测得的5个时间点血糖中于晚餐后2 h达高峰。随着术后时间的延长,血糖水平逐渐下降,至术后72 h的午餐后2 h、晚餐后2 h和晚上11时血糖仍显著高于术前基础水平。

术后血糖升高考虑与患者术前及术中精神紧张、手术创伤和刺激有关,后者主要通过增加肝糖原分解和促进糖异生导致高血糖。相关研究表明DM

患者在手术过程中由于内环境受到影响,可增强糖异生作用,从而对糖酵解通路的酶活性产生抑制,引起机体对胰岛素的敏感性下降,最终导致糖代谢障碍而诱发高血糖^[5]。高血糖又可分为长期持续性和短期波动性两种情况,相关研究提示后者对机体的损伤更大。Quagliaro等的体外研究表明相比持续性高血糖,波动性高血糖能更显著地激活蛋白激酶C(protein kinase C,PKC),从而导致细胞凋亡^[6]。Risso等的研究表明血糖波动对血管内皮细胞造成的损伤比持续性高血糖更为严重。主要表现为内皮细胞在持续性高糖培养液中促凋亡因子Bax表达显著增加,凋亡抑制因子Bcl-2表达显著减少,这种现象在间歇性高浓度组中更为严重^[7]。其原因可能是在长期高血糖状态下,机体产生了一定的适应,所以高血糖对内皮细胞造成的损伤较为稳定,而短期血糖波动可导致该适应能力受损,对内皮细胞的结构和功能造成破坏,因此对血管的损伤程度更大^[8]。20例DR患者术后降糖治疗同术前,故术后血糖升高与降糖治疗无关。

入院当天血压和术后血糖升高也有一定关系。有研究证实血压高低与DR的发生密切相关,且高血压是DR发生的高危因素^[9]。同时有调查结果表明,血压升高能明显加快DR的发生,其中收缩压的作用更显著,收缩压每升高10 mmHg,DM患者出现DR的危险程度就增加11%^[10]。相关研究亦证实高血压的发生和发展与糖代谢异常密切相关,血糖升高可引起胰岛素代偿性分泌增多,随之机体对胰岛素的敏感性下降并出现胰岛素抵抗,进而出现神经体液调节紊乱,交感神经过度兴奋,外周血管阻力增加,最终导致血压升高^[11]。20例DR患者中部分患有高血压,现有的降压治疗维持不变,故术后血糖升高与降压治疗无关。

DM病程、术前血糖水平和术前基础血糖水平在术后血糖升高中起重要作用。DM病程越长,术前血糖水平越高,术后血糖波动也相对更大。

综上所述,玻璃体视网膜联合术虽然具有损伤小、手术时间短并可在局麻下完成等优点,但仍可通过多种因素影响DR患者术后血糖。故正确分析和掌握DR患者术后血糖变化规律及相关影响因素,可为DR患者术后血糖控制提供参考,有助于减少术后并发症的发生。

趋化因子配体 16 在非小细胞肺癌中的表达

郑 瑞, 浦 春

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 检验科, 安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:探讨趋化因子配体 16(CXCL16)在 NSCLC(NSCLC)中的表达,及对 NSCLC 的应用价值。**方法:**检测 CXCL16 在肺癌细胞系、组织和血清中的表达,分析其表达与临床参数指标的相关性。**结果:**人肺腺癌细胞株(A549、H1299、H460、H446)中 CXCL16 表达均高于人正常肺上皮细胞株(B2B 细胞)($P < 0.05$);NSCLC 组织中 CXCL16 表达(84.0%)高于癌旁组织(44.0%),差异有统计学意义($P < 0.05$);NSCLC 患者组血清 CXCL16 表达水平(1761.28 ± 323.58)pg/mL 高于健康对照组(1035.25 ± 201.26)pg/mL($P < 0.05$)。**结论:**CXCL16 在 NSCLC 肺腺癌细胞株、组织和血清中均有高表达,提示 CXCL16 的表达与 NSCLC 的发生发展可能有一定关系,有望成为 NSCLC 预测的新指标。

【关键词】非小细胞肺癌;趋化因子配体 16;蛋白质印迹法;免疫组化;酶联免疫吸附实验

【中图分类号】R 734.2;R 446.11 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.000

Expression of CXCL16 in non-small cell lung cancer

ZHENG Rui, PU Chun

Clinical Laboratory, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To investigate the expression of C-X-C chemokine ligand 16(CXCL16) in non-small cell lung cancer NSCLC and its implications in diagnosis of this neoplasm. **Methods:** CXCL16 expression was measured in lung cancer cell lines, adjacent cancer tissues and sera in patients with NSCLC, and analyzed for the correlation with clinical parameters. **Results:** CXCL16 expression in human lung adenocarcinoma cell lines(A549, H1299, H460 and H446) was significantly higher than that in normal human lung epithelial cell lines(B2B cells)($P < 0.05$), and CXCL16 was highly expressed in NSCLC tissues compared to the adjacent tissues(84.0% vs. 44.0%, $P < 0.055$). Serum CXCL16 level was also higher in NSCLC patients than in subjects in the control group(1761.28 ± 323.58 vs. 1035.25 ± 201.26 , $P < 0.05$). **Conclusion:** CXCL16 is highly expressed in lung adenocarcinoma cell lines, NSCLC tissues and serum of NSCLC patients, suggesting that CXCL16 expression may be related to the occurrence and development of NSCLC, and be a new predictor in diagnosis of non-small cell lung cancer.

【Key words】non-small cell lung cancer; C-X-C chemokine ligand 16; Western blot; immunohistochemistry; enzyme-linked immunosorbent assay

进入 21 世纪以来,肺癌已成为我国病死率最高的恶性肿瘤。非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)是肺癌的主要形式,占原发性肺癌的 82%~87%,属最常见的组织学类型^[1]。大多数 NSCLC 患者在诊断时就已经是晚期或伴有合并症而不能行根治性手术。因此筛选肺癌特异性的蛋白对于肺癌患者实现早诊断、早治疗有重要意义。趋化因子配体 16(C-X-C chemokine ligand 16, CXCL16)是氧化低密度脂蛋白的清道夫受体,有跨膜型和可溶解型两种形式^[2]。CXCL16 对不同类型

人类癌症都有影响,如乳腺癌、前列腺癌、结直肠癌等^[3-5]。激活 CXCL16/CXCR6 可导致乳腺癌和前列腺癌的进展^[6-7]。Liang 等对生存曲线的分析提示,肺癌组织中 CXCL16 高表达,患者总体生存率降低,因此它可能是影响肺癌患者预后的消极因素^[8]。本研究通过检测人肺腺癌细胞株和 NSCLC 患者组织和血清中 CXCL16 的表达,分析其与临床病理参数的相关性,探讨 CXCL16 在 NSCLC 中的表达及临床意义。

基金项目:安徽省教育厅自然科学研究重点项目(KJ2016A722)

收稿日期:2020-03-26

作者简介:郑 瑞(1991-),女,2017 级硕士研究生,(电话)15617719957,(电子信箱)1197038469@qq.com;

浦 春,男,主任医师,教授,硕士生导师,(电子信箱)philepepu@163.com,通信作者。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究共使用4种人类肺腺癌细胞株(A549、H1299、H460、H446)及人正常肺上皮细胞株(B2B)。选取2018年9月~2019年5月在弋矶山医院就诊的NSCLC患者50例,收集患者的石蜡组织标本和外周血血清,同时选取40例健康体检者外周血血清。50例NSCLC患者的平均年龄为(60±8.28)岁,40例健康体检者年龄为(58±7.50)岁。所有患者的确诊均经术后病理检查,且术前未接受放、化疗或其他治疗。

1.2 试剂和原理 细胞株CXCL16的检测使用CXCL16一抗体(abcam, ab101404),购于美国Abcam Ltd公司,原理是蛋白质印迹法。组织CXCL16的检测使用兔抗人CXCL16抗体(13902-1-AP),购自Affinity公司,原理是免疫组织化学染色。其他试剂和材料主要有二甲苯、梯度乙醇、3%过氧化氢、1%盐酸乙醇、苏木精等。血清CXCL16的检测采用双抗体一步夹心法酶联免疫吸附试验,试剂盒购于苏州卡尔文生物科技有限公司。

1.3 方法及结果判断 WB检测CXCL16蛋白的表达:提取细胞株中的CXCL16蛋白,以90V恒压模式进行电泳,在350 mA、70 min恒流模式进行转膜,免疫反应后使用Bio-Rad成像系统和ECL试剂盒进行检测,分析条带的灰度值。组织标本按照免疫组化试剂盒说明书进行制片,镜下观察。CXCL16阳性表达表现为细胞质和细胞膜呈黄色或棕黄色颗粒。免疫组化评分依据阳性染色细胞的百分比及染色的强度计算,结果评判如下:<2,阴性表达(-);≥2,阳性表达;2~3,低表达(+);4~7,高表达(++~+++)。所有血清标本的采集都获得研究对象知情同意。抽取外周静脉血4 mL,静置30 min离心,留取血清用于检测。以标准品浓度作横坐标,对应OD值作纵坐标,绘制标准品线性回归曲线,按曲线方程计算各血清样本CXCL16浓度值。

1.4 统计学分析 实验所得数据均用SPSS 18.0统计学软件和GraphPad Prism 6.0进行分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,多组间两两比较采用LSD法;计数资料采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法,相关性分析采用Spearman相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CXCL16在人肺腺癌细胞株和人正常肺上皮细胞株的表达 WB检测显示,CXCL16在人正常肺上皮细胞B2B和肺腺癌细胞系A549、H1299、H460、

H446中均有表达,且相比于B2B细胞,4种肺癌细胞株中CXCL16的表达水平上调;与内参蛋白 β -actin相比,肺癌细胞株(A549、H1299、H460、H446)也高于正常肺上皮细胞株(B2B)($P < 0.05$,见图1、2)。

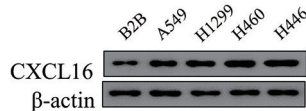
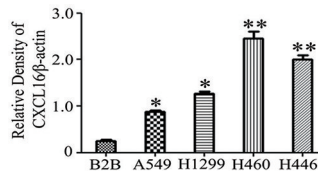


图1 CXCL16在肺腺癌细胞株与正常肺上皮细胞株的表达



$F = 46.218, P = 0.000$,与B2B比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.001$ 。

图2 CXCL16在肺腺癌细胞株与正常肺上皮细胞株的表达

2.2 CXCL16在NSCLC组织及癌旁组织中的表达

免疫组化结果显示,NSCLC组织和癌旁组织细胞均可见CXCL16的阳性表达,表现为细胞质和细胞膜中呈棕黄色或者棕褐色(见图3)。NSCLC组织中CXCL16表达[84.0%(42/50)]高于癌旁组织[44.0%(22/50)],差异有统计学意义($\chi^2 = 17.361, P = 0.000$)。

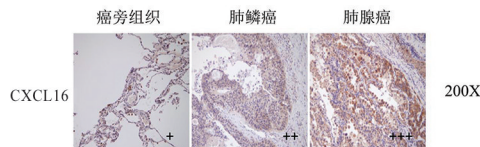


图3 CXCL16在NSCLC组织和癌旁组织中的表达

2.3 NSCLC组织中CXCL16的表达与临床参数的相关性

50例NSCLC标本中,CXCL16均呈阳性表达,其表达与性别、年龄、组织学分类、淋巴结转移、TNM分期、胸膜转移及分化程度等差异均无统计学意义($P > 0.05$,见表1)。

2.4 CXCL16在NSCLC组和对照组血清中的表达

NSCLC患者组血清CXCL16表达水平[(1761.28±323.58)pg/mL]高于对照组[(1035.25±201.26)pg/mL],差异有统计学意义($t = 12.34, P = 0.000$)(见图4)。

2.5 血清CXCL16与NSCLC组织表达的相关性

将组织中表达的免疫组化评分作为半定量值与血清中CXCL16的浓度值进行Spearman相关性分析。结果显示,血清与组织中CXCL16表达相关性无统计学意义($r_s = 0.032, P = 0.826$)。

表1 CXCL16 在 NSCLC 组织中的表达与临床参数资料的关系

临床参数	类别	n	CXCL16 表达		χ^2	P
			高	低		
性别	男	26	22	4	0.000	1.000
	女	24	20	4		
年龄/岁	<60	22	19	3	0.000	0.988
	≥60	28	23	5		
组织学分型	鳞癌	6	5	1	1.000*	
	腺癌	44	37	7		
TNM 分期	I + II	37	32	5	0.136	0.712
	III + IV	13	10	3		
淋巴结转移	是	12	10	2	0.000	1.000
	否	38	32	6		
胸膜转移	是	6	5	1	1.000*	
	否	44	37	7		
分化程度	高	10	7	3	0.331*	
	中	29	26	3		
	低	11	9	2		

注: * Fisher 确切概率法。

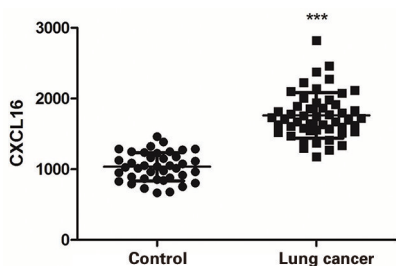


图4 CXCL16 在 NSCLC 组和对照组血清中的表达

3 讨论

我国肺癌的发病率和病死率非常接近,5 年生存率低,NSCLC 是肺癌最常见的组织学类型^[1]。CXCL16 属于趋化因子超家族成员之一,与其受体 CXCR6 的相互作用会促进肿瘤血管生成,促进肿瘤增殖和转移^[2]。2007 年,Hojo 等提出 CXCL16 高表达是结直肠癌的阳性预后因子^[9]。Hald^[10] 报道发现 CXCL16 在基质细胞高表达和基质细胞与癌细胞联合高表达是 NSCLC 独立的阳性预后因素。这些提示 CXCL16 可能在肿瘤的发生和转移中起重要作用,其表达情况有望为癌症患者预测及临床治疗提供参考价值。

Hu 等^[11] 发现 CXCL16 在人肺癌组织中高表达,也证明了 CXCL16/CXCR6 信号通路的激活可以促进肺癌细胞的侵袭。本研究通过检测 CXCL16 在

4 种肺腺癌细胞株和人正常肺上皮细胞株的表达,发现 CXCL16 在肺腺癌细胞株中的表达明显高于正常肺上皮细胞株,提示 CXCL16/CXCR6 轴在肺癌的发生发展机制中可能有某些生物学意义。

Wagsater 等发现 CXCL16 在多种癌症组织中表达失调^[5,12]。我们的研究显示 CXCL16 在 NSCLC 组织中呈阳性表达,且癌组织的表达较癌旁组织上调($P < 0.01$),这与 Kee^[5] 的结论一致。但 Hald 等^[10] 在对 NSCLC 的研究时发现癌组织中的 CXCL16 为低表达,敲除 CXCL16 时观察到肿瘤增殖增加,与我们的结论不一致。CXCL16 在 NSCLC 组织的表达与性别、年龄、组织学分型、TNM 分期、有无淋巴结和胸膜转移差异均无统计学意义($P > 0.05$),这与文献报道^[5] 的淋巴结转移组 CXCL16 的表达明显高于相应的非转移组不一致。可能与所选病例类型单一和样本量少有关,同时也决定了我们接下来的研究方向:适宜的扩大样本规模,增加基因检测等手段进一步探索 CXCL16 的表达机制,为 NSCLC 的预测提供新的思路。

CXCL16 可以稳定存在于血清中,在 NSCLC 的血清中检测出高水平的 CXCL16 尤其重要。张珺等^[13] 发现,NSCLC 患者血清中 CXCL16 高表达且与 TNM 分期有关,可能是预测 NSCLC 转移预后的指标。我们检测了血清 CXCL16 的表达,结果提示,NSCLC 组的表达比对照组上调($P < 0.05$),与之前的研究一致。我们将组织与血清中 CXCL16 的表达进行了相关性分析,发现两者无明显相关性。这可能是由于血清中 CXCL16 水平主要反映可溶性的 CXCL16,但可溶性 CXCL16 的水平可能不能代表肺中跨膜型 CXCL16 的水平。另外本研究的样本量小,前期研究对象的选择有偏移也会造成研究结果的偏差。

综上所述,CXCL16 在肺腺癌细胞系和 NSCLC 的组织中均高表达,同时血清中 NSCLC 组的表达较对照组也明显上调,但血清 CXCL16 对 NSCLC 的临床价值仍有待商榷,研究也有待进一步扩大样本量,同时检测组织中 CXCL16 的 mRNA 水平,更深一步的论证本研究结果的可靠性,CXCL16 对于 NSCLC 的作用机制也有待进一步研究。

【参考文献】

[1] SIEGEL RL, MILLER KD, JEMAL A, et al. Cancer statistics, 2018 [J]. CA Cancer J Clin, 2018, 68(1): 7-30.

单中心回顾性吉兰巴雷综合征诊治分析

尚贤金¹,徐 昕¹,李 刚²,丁小牛¹

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 1. 神经内科;2. 微机中心,安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:回顾分析弋矶山医院微机中心吉兰巴雷综合征临床诊治特点及疾病亚型分布情况。**方法:**通过 HIS 系统检索 2014 年 1 月~2019 年 5 月所有诊断急性吉兰巴雷综合征患者,分析其人口学、临床发病特征,脑脊液和神经电生理检查,以及治疗和随访临床结局,并依据患者的临床特点重新分类诊断。**结果:**共有 48 例急性吉兰巴雷综合征,患者临床表现多样,治疗过程和随访结局存在差异。其中急性四肢乏力伴肌腱反射减弱或消失仍是最常见发病类型(37/48,77.1%),其他表现为面瘫伴肢体感觉障碍(5/48,10.4%)、截瘫型(3/48,6.3%)、Miller-Fisher 综合征(2/48,4.2%)和咽-颈-臂无力(1/48,2.1%)。接受丙种球蛋白治疗后患者临床结局好转(31/36,86.1%),与其他药物治疗患者(12/12,100%)比较差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论:**四肢无力仍是皖江地区最常见的吉兰巴雷综合征表现类型,但不应漏诊其他表现亚型和少见类型,及时诊断和有效治疗是患者良好功能预后的前提。

【关键词】吉兰巴雷综合征;谱系疾病;分型诊断;临床结局

【中图分类号】R 745.43 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.008

基金项目:皖南医学院重点科研基金项目(WK2019ZF01)

收稿日期:2020-01-12

作者简介:尚贤金(1984-),男,主治医师,(电话)18355380492,(电子信箱)shangxj2013@wnmc.edu.cn;

丁小牛,男,副主任医师,(电子信箱)dingxn@aliyun.com,通信作者。

[2] 周慧芬,王定森,李勇,等. RNAi 沉默 CXCR6 基因对肺癌 A549 细胞增殖、体外侵袭力和裸鼠成瘤能力的影响 [J]. 癌症进展, 2016(4):335-339.

[3] MATSUMURA S, WANG B, KAWASHIMA N, *et al.* Radiation-Induced CXCL16 release by breast cancer cells attracts effector T cells [J]. The Journal of Immunology, 2008, 181(5):3099-3107.

[4] GUTWEIN P, SCHRAMME A, SINKE N, *et al.* Tumoural CXCL16 expression is a novel prognostic marker of longer survival times in renal cell cancer patients [J]. European Journal of Cancer, 2009, 45(3):478-489.

[5] KEE JY, ITO A, HOJO S, *et al.* CXCL16 suppresses liver metastasis of colorectal cancer by promoting TNF- α -induced apoptosis by tumor-associated macrophages [J]. Oncology Reports, 2013, 29(3):975-982.

[6] XIAO G, WANG X, WANG J, *et al.* CXCL16-CXCR6 chemokine signaling mediates breast cancer progression by pERK1_2-dependent mechanisms [J]. Oncotarget, 2015, 6(16):14165-14178.

[7] SINGH R, KAPUR N, MIR H, *et al.* CXCR6-CXCL16 axis promotes prostate cancer by mediating cytoskeleton rearrangement via ezrin activation and $\alpha\beta 3$ integrin clustering [J]. Oncotarget, 2016, 7(6):7343-7353.

[8] LIANG K, LIU Y, EER D, *et al.* High CXC chemokine ligand 16 (CXCL16) expression promotes proliferation and metastasis of lung cancer via regulating the NF- κ B pathway [J]. Medical Science Monitor International Medical Journal of Experimental & Clinical Research, 2018, 24:405-411.

[9] HOJO S, KOIZUMI K, TSUNEYAMA K, *et al.* High-level expression of chemokine CXCL16 by tumor cells correlates with a good prognosis and increased tumor-infiltrating lymphocytes in colorectal cancer [J]. Cancer Res, 2007, 67:4725-4731.

[10] HALD SM, KISELEV Y, Al-SAAD S, *et al.* Prognostic impact of CXCL16 and CXCR6 in non-small cell lung cancer; combined high CXCL16 expression in tumor stroma and cancer cells yields improved survival [J]. BMC Cancer, 2015, 15(1):441.

[11] HU W, LIU Y, ZHOU W, *et al.* CXCL16 and CXCR6 are coexpressed in human lung cancer in vivo and mediate the invasion of lung cancer cell lines in vitro [J]. PLoS One, 2014, 9(6):e99056.

[12] WÅGSÅTER D, HUGANDER A, DIMBERG J. Expression of CXCL16 in human rectal cancer [J]. International Journal of Molecular Medicine, 2004, 14(1):65-69.

[13] 张珺,阿祥仁. 青海地区 CXCL16、CXCR6、EGFR 及 sCXCL16 在非小细胞肺癌患者肺组织中表达及临床意义 [J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(22):122-127.

Clinical diagnosis and treatment of Guillain-Barré syndrome: Single-center retrospective analysis

SHANG Xianjin, XU Xin, LI Gang, DING Xiaoni

Department of Neurology, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

[Abstract] Objective: To retrospectively analyze the clinical pictures, subtype distribution, diagnosis and treatment of Guillain-Barré syndrome (GBS) based on a single-center observation. **Methods:** All cases meeting the characteristics of acute GBS were retrieved from January 2014 to April 2019 through HIS system, and analyzed concerning their demographic information, clinical features, laboratory findings in cerebrospinal fluid and neuroelectrophysiological examinations as well as treatment and clinical outcomes by follow-up. Then the eligible cases were reclassified and diagnosed according to the 2014 classification criteria based on their clinical information. **Results:** Acute GBS was identified in 48 cases, in whom clinical manifestations, treatment processes and outcomes by follow-up varied a lot. Most common type of this disorder was associated with acute weakness and areflexia/hyporeflexia in all four limbs (37/48, 77.1%), followed by bifacial weakness with paresthesias (5/48, 10.4%), paraplegia (3/48, 6.3%), Miller-Fisher syndrome (2/48, 4.2%), and pharyngeal-cervical-brachial weakness (1/48, 2.1%). Favorable clinical outcome was observed in about 86.1% (31/36) of the patients received gamma globulin, yet the outcome was not significantly different from that of patients received other medication (12/12, 100%) ($P > 0.05$). **Conclusion:** Limb weakness is the most common presentation of GBS in population living in areas of the Changjiang river within Anhui province. However, misdiagnosis can be seen in other subtypes and rare types of this condition, and timely diagnosis and effective treatment may be important for better functional prognosis in these patients.

[Key words] Guillain-Barré syndrome; spectrum diseases; classification and diagnosis; clinical outcome

吉兰巴雷综合征 (Guillain-Barré syndrome, GBS) 早在 1916 年就已报道, 临床表现为四肢远端肌力减退, 肌腱反射减弱或消失的自身免疫性周围神经病, 同时出现脑脊液蛋白-细胞分离现象。随着近些年 GBS 新的疾病亚型的认识, 如咽-颈-臂无力、下肢截瘫型、双侧侧面瘫伴感觉异常类型以及重叠类型等, 学者们开始认识到 GBS 是累及周围神经系统的一类自身免疫性谱系疾病^[1-2]。因此, 新的 GBS 疾病诊断与分类标准更强调依据患者临床特征早期诊断, 方法简单更全面, 但目前国内临床应用较少, 缺乏相关疾病亚型诊断数据^[3-5]。本研究参考新的 GBS 诊断标准, 利用弋矶山医院微机中心临床诊治样本库, 分析和总结皖江地区 GBS 临床特点和各亚型分型数据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 通过回顾性检索弋矶山医院 HIS 系统 2014 年 1 月 ~ 2019 年 5 月出院诊断 GBS 或格林巴利综合征的神经内科住院患者, 排除不符合或其他可解释病因病例 (见图 1)。患者的临床数据仅用于回顾性病例分析研究, 患者身份信息均已匿名化, 符合皖南医学院弋矶山医院伦理要求。

1.2 推荐诊断标准 入组 GBS 患者分型包括四肢无力型、急性截瘫型、咽-颈-臂无力型、面瘫伴肢体远端感觉障碍型, 以及 Miller-Fisher 综合征或 Bickerstaff 脑干脑炎, 具体标准参考文献^[2]。

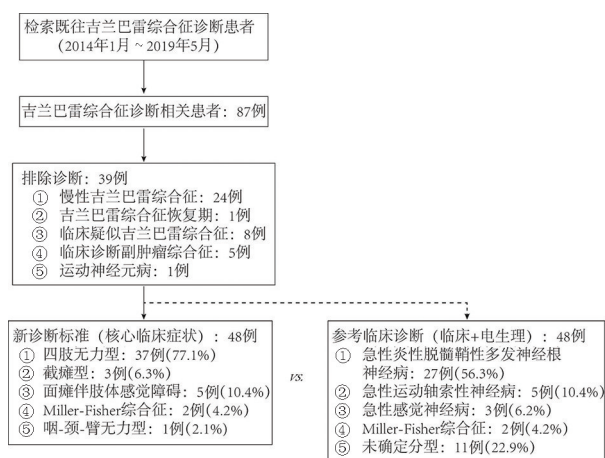


图 1 GBS 患者诊断流程图

1.3 收集数据和临床结局 收集患者人口学资料、临床特征、脑脊液检查、血液化验, 神经电生理检查、详细药物治疗过程, 以及 6 个月左右随访临床结局。随访临床结局采用通用 GBS 残疾量表评定, 方式是通过电话随访或门诊住院复诊情况判断, 量表分为 6 个水平: 0 分代表健康; 1 分代表有轻微症状, 但是可以跑动; 2 分代表无辅助下可以步行 10 米距离, 但是不能跑动; 3 分代表可在辅助下步行 10 米, 并通过空旷区域; 4 分代表卧床、转移需要轮椅辅助; 5 分代表日常需要人工辅助通气才能维持身体需要; 6 分代表死亡。将结局恢复好转定义为 6 个月左右 GBS 残疾量表评分 ≤ 2 分。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 18.0 进行数据分析。计数资料采用例数和百分比表示, 计量资料满足正态分布采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 非正态数据采用 $M(P_{25} \sim$

P_{75})表示;计数资料两组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

共检索 87 例急性 GBS 患者,排除慢性 GBS(包括急性发病的慢性 GBS)患者(24/87,27.6%),另有患者(8/87,9.2%)临床资料不全被剔除,同时排除副肿瘤综合征(5/87,5.7%),GBS 恢复期和运动神经元病患者各 1 例(2/87,2.3%)。最终纳入的 48 例患者的 GBS 分型和临床特征数据见图 1、表 1。

表 1 GBS 谱系疾病患者临床特征($n=48$)

	统计结果
性别(男)	32(66.7%)
年龄/岁	58(22~79)
住院天数/d	15.2±8.7
感染诱因	27(56.3%)
伴发疼痛	18(37.5%)
肌腱反射正常	4(8.3%)
白细胞/($\times 10^6/L$)	7.0±2.3
白蛋白/(g/L)	38.6(20.7~49.4)
低钠血症	5(10.4%)
脑脊液白细胞计数/($\times 10^6/L$)	6(1~16)
脑脊液蛋白浓度/(mg/dL)	78.69(6.78~211.6)
神经传导速度异常 [§]	34(70.8%)
治疗方案	
丙种球蛋白冲击	28(58.3%)
丙种球蛋白冲击+糖皮质激素	8(16.7%)
糖皮质激素	6(12.5%)
其他	6(12.5%)
6 个月功能恢复评分 [‡]	
0	20(41.7%)
1	18(37.5%)
2	5(10.4%)
3	2(4.2%)
4	1(2.1%)
6	2(4.1%)

注:§包括运动和感觉神经传导速度,F波和H反射检查;‡存在3例患者失访,均采用出院当日GBS残疾量表评分代替。

GBS 患者发病前呼吸道感染(20/48,41.7%)和/或胃肠道感染(8/48,16.7%)常见,47.9%(23/48)患者可能合并其他感染或不明诱因。患者因双下肢症状起病者多见(18/48,37.5%),29.2%(14/48)出现上、下肢运动和感觉同时受累,部分患者突出表现肢体或其他部位疼痛(18/48,37.5%),神经体检发现有 4 例患者(8.3%)肢体肌腱反射正常,未发现肌腱反射升高患者。脑脊液检测发现有 8 例(16.7%)患者正常,但多集中在症状出现后 1 周内(中位数 6 天);神经传导速度检测发现 34 例(70.8%)患者有周围神经损害证据,6 例(12.5%)

无明显异常,其余 8 例(16.7%)患者因为病情原因未行检查,但综合患者临床表现和脑脊液蛋白-细胞分离现象,排除其他可解释疾病后临床仍考虑 GBS,相关诊断分类如图 1 所示。

有 75.0%(36/48)患者同意使用丙种球蛋白治疗,相对于未使用丙种球蛋白治疗患者(12/48,25%),其临床治疗好转(GBS 残疾量表评分 ≤ 2 分),差异无统计学意义(86.1% vs. 100%; $\chi^2 = 0.670, P=0.413$),2 例死亡患者分别因呼吸肌及咽喉肌无力继发肺部感染死亡。

3 讨论

本研究回顾分析我院神经内科既往诊治病例,采用 GBS 谱系疾病诊断与分类标准,综合患者临床发病特点,总结了皖江地区 GBS 各类型发病比例和疾病诊治特点。

研究发现 GBS 患者成年男性居多,超过半数患者存在感染诱因,临床症状和体征复杂多样,符合既往研究报道,所以针对不典型症状、体征的周围神经疾病患者,临床病因需要仔细鉴别^[1]。尽管脑脊液和神经电生理检查能够协助诊断,但研究发现 GBS 患者发病后 1 周内,仅约 80% 患者腰穿脑脊液有典型的蛋白-细胞分离现象;神经传导检查异常高峰期通常发生在肢体无力出现后 2 周内,早期电生理检查可能正常^[6,7]。本研究发现 16.7% GBS 患者脑脊液检查蛋白浓度正常,检查中位时间为 6 天;12.5% 患者神经传导速度正常,检查过早可能是主要原因。因此,对于考虑 GBS 诊断的周围神经病患者,需要警惕临床检查结果假阴性现象,必要时进行动态腰穿和电生理检测协助诊断和治疗。

目前临床广泛应用的 GBS 诊断标准主要参考 1990 年修订标准,该标准纳入 GBS 必要和强烈支持诊断的临床证据,以及需要鉴别其他疾病,用于临床研究目的^[8]。2001 版修订的 GBS 诊断共识将疾病分为感觉运动型、纯运动神经、Miller-Fisher 综合征和脑干类型^[9]。上述分类不包括近年发现的一些 GBS 不典型或症状重叠患者。2011 年布雷顿诊断标准强调依赖神经电生理、腰穿辅助检查,临床诊断特异度提高的同时,降低了诊断灵敏度^[10]。因此,2014 年新发表 GBS 诊断分类和标准全面地描述了四肢无力型 GBS,Miller-Fisher 综合征及其亚型,包括 GBS 各谱系疾病的诊断特点,依据患者临床特征综合诊断,提高了诊断的灵敏度^[2]。基于新诊断标准,尽管部分患者没有或早期缺乏典型的神经电生理表现,仍能准确分型。本研究发现四肢乏力或

腱反射减弱或消失的典型症状起病患者发病率(77.1%)高于其他类型,是最常见的发病类型,截瘫型、面瘫伴肢体感觉障碍型、Miller-Fisher 综合征亚型和咽-颈-臂无力型分别达到了6.3%、10.4%、4.2%和2.1%,区别于美国地区各亚型的2%、1%、5%和3%^[2],中国台湾地区存在7% Miller-Fisher 综合征、7% 脑干类型、5% 咽-颈-臂型和5% 多颅神经炎型^[11],还有荷兰研究报道6% 截瘫型和1% 咽-颈-臂无力型^[10]。不同地区人群发病率差异原因考虑以下两点:一是环境气候和地区感染病原体差异,因为分子模拟机制是GBS发病的主要机制之一,不同神经部位受累可导致不同的临床症状;二是不同地区人群或个体的遗传易感性差异所致^[12-13]。其具体原因仍需进一步大样本、国际多中心研究阐明。

新诊断标准依据患者核心临床表现进行诊断,不仅提高GBS早期诊断率,也有助于更早地进行有效治疗(静脉使用免疫球蛋白等)。然而,以前的诊断标准需要依靠患者临床特点以及脑脊液、电生理检查确定诊断,因此患者诊断资料不全或辅助检查不及时,可能导致个体诊断分型困难。即使依靠电生理结果,也可能发现24%~38% GBS患者亚型诊断有误^[14-15]。值得强调的是,新的GBS诊断分类标准将神经电生理和血清抗体检测作为疾病的支持证据,如Miller-Fisher综合征或亚型患者,抗GQ1b或GD1b抗体检测阳性对于其诊断有重要辅助价值^[2,16]。本研究中多数患者未进行抗神经节苷脂抗体检测是局限性之一,但由于抗体检查费用昂贵和周期长,在目前GBS要求尽快诊断、及早治疗的情况下,抗体检测临床应用价值有限。另外,单中心回顾性观察研究也是该研究局限性之一。

综上所述,急性炎症性脱髓鞘性周围神经病仍是皖江地区人群最常见的GBS发病类型,同时临床工作中不应漏诊其他亚型,及时诊断和有效治疗仍是患者良好功能预后的前提。

【参考文献】

[1] ESPOSITO S, LONGO MR. Guillain-Barre syndrome [J]. *Autoimmun Rev*, 2017, 16(1): 96-101.
 [2] WAKERLEY BR, UNCINI A, YUKI N, *et al.* Guillain-Barre and

Miller Fisher syndromes——new diagnostic classification [J]. *Nat Rev Neurol*, 2014, 10(9): 537-544.
 [3] 谷亚伟, 林杰, 张利霞, 等. 妊娠合并吉兰-巴雷综合征分型诊疗[J]. *中华医学杂志*, 2019, 99(18): 1401-1405.
 [4] 宋长栋, 李六一, 冯淑艳, 等. 吉兰巴雷综合征及其谱系病的神经电生理特点分析[J]. *中华物理医学与康复杂志*, 2019, 41(3): 223-226.
 [5] 姚绍莉, 陈虹西, 张勤, 等. 吉兰-巴雷综合征患者血清尿酸和白蛋白及 β 羟基丁酸水平与疾病严重程度的关系[J]. *中国神经免疫学和神经病学杂志*, 2019, 26(1): 12-15.
 [6] FOKKE C, VAN DEN BERG B, DRENTHEN J, *et al.* Diagnosis of Guillain-Barre syndrome and validation of Brighton criteria [J]. *Brain*, 2014, 137(Pt 1): 33-43.
 [7] HADDEN RD, CORNBLATH DR, HUGHES RA, *et al.* Electrophysiological classification of Guillain-Barre syndrome; clinical associations and outcome [J]. *Ann Neurol*, 1998, 44(5): 780-788.
 [8] ASBURY AK, CORNBLATH DR. Assessment of current diagnostic criteria for Guillain-Barre syndrome [J]. *Ann Neurol*, 1990, 27 Suppl: S21-24.
 [9] VAN DER MECHE FG, VAN DOORN PA, MEULSTEE J, *et al.* Diagnostic and classification criteria for the Guillain-Barre syndrome [J]. *Eur Neurol*, 2001, 45(3): 133-139.
 [10] SEJVAR JJ, KOHL KS, GIDUDU J, *et al.* Guillain-Barre syndrome and Fisher syndrome: case definitions and guidelines for collection, analysis, and presentation of immunization safety data [J]. *Vaccine*, 2011, 29(3): 599-612.
 [11] LIN JJ, HSIA SH, WANG HS, *et al.* Clinical variants of Guillain-Barre syndrome in children [J]. *Pediatr Neurol*, 2012, 47(2): 91-96.
 [12] GELEIJNS K, ROOS A, HOUWING-DUISTERMAAT JJ, *et al.* Mannose-binding lectin contributes to the severity of Guillain-Barre syndrome [J]. *J Immunol*, 2006, 177(6): 4211-4217.
 [13] SANG D, CHEN Q, LIU X, *et al.* Fc receptor like 3 in Chinese patients of han nationality with Guillain-Barre syndrome [J]. *J Neuroimmunol*, 2012, 246(1-2): 65-68.
 [14] UNCINI A, MANZOLI C, NOTTURNO F, *et al.* Pitfalls in electrodiagnosis of Guillain-Barre syndrome subtypes [J]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 2010, 81(10): 1157-1163.
 [15] KOKUBUN N, NISHIBAYASHI M, UNCINI A, *et al.* Conduction block in acute motor axonal neuropathy [J]. *Brain*, 2010, 133(10): 2897-2908.
 [16] ITO M, KUWABARA S, ODAKA M, *et al.* Bickerstaff's brainstem encephalitis and fisher syndrome form a continuous spectrum: clinical analysis of 581 cases [J]. *J Neurol*, 2008, 255(5): 674-682.

多囊卵巢综合征患者妊娠结局与孕前 BMI 及孕期体质量增长的相关性

简凤萍¹,林秀峰²,柯玩娜²,陈 昂³

(中山市博爱医院 1 产科;2 生殖医学中心;3 科教科,广东 中山 528403)

【摘要】目的:探讨多囊卵巢综合征(PCOS)患者临床妊娠后结局与孕前 BMI 及孕期体质量增长的相关性。**方法:**采用前瞻性的研究设计,以中山市博爱医院生殖中心 2017 年 5 月~2019 年 2 月接诊的 PCOS 病例并于 2019 年 12 月前追踪到妊娠结局者为研究对象。跟踪孕期体质量增长情况,随访妊娠结局。**结果:**PCOS 患者孕前 BMI 超重或肥胖组的 GDM、巨大儿发生率均高于孕前 BMI 正常组($P<0.05$)。对于 PCOS 患者孕前 BMI 正常组,增重>16 kg 组妊娠高血压、妊娠期糖尿病(GDM)、巨大儿、早产、出生窒息发生率高于增重≤16 kg 组($P<0.05$)。对于 PCOS 患者孕前 BMI 超重或肥胖组,增重>11.5 kg 组妊娠高血压、GDM 的发生率高于增重≤11.5 kg 组($P<0.05$)。**结论:**PCOS 患者孕前 BMI 越高,发生不良妊娠结局风险越大。按照 PCOS 患者的孕前 BMI 水平对孕期体质量增长范围进行控制可预防不良妊娠结局。

【关键词】多囊卵巢综合征;体质量指数;体质量增长;妊娠结局

【中图分类号】R 711.75;R 714.14 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.009

Pregnancy outcome and pre-pregnancy BMI and weight gain in pregnancy in patients with polycystic ovary syndrome

JIAN Fengping, LIN Xiufeng, KE Wangna, CHEN Ang

Department of Obstetrics, Boai Hospital of Zhongshan City, Zhongshan 528403, China

【Abstract】Objective: To investigate the correlation between the outcome of clinical pregnancy in patients with polycystic ovary syndrome(PCOS) and pre-pregnancy BMI and weight gain during pregnancy. **Methods:** Prospective study was performed in PCOS patients admitted to the reproductive center of our hospital between May 2017 and February 2019. The pregnancy outcome was documented by December 2019. Weight gain during pregnancy and pregnancy outcomes were followed. **Results:** The incidence of gestational diabetes mellitus(GDM) and macrosomia in the PCOS group were higher than that in the control group($P<0.05$). For PCOS patients with normal pre-pregnancy BMI, the incidence of pregnancy hypertension, GDM, macrosomia, preterm birth and birth asphyxia was higher in women with weight gain>16 kg group than in those with that≤16 kg group($P<0.05$), and for PCOS patients with high pre-pregnancy BMI, the incidence of gestational hypertension and GDM in the weight gain>11.5 kg group was higher than that of≤11.5 kg group($P<0.05$). **Conclusion:** The higher BMI of PCOS patients before pregnancy, the greater risk of adverse pregnancy outcome will be. The findings suggest that controlling weight gain during pregnancy by pre-pregnancy BMI can prevent adverse pregnancy outcomes in women with PCOS.

【Key words】 polycystic ovary syndrome; BMI; weight gain; pregnancy outcome

多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是女性的常见疾病,研究发现 PCOS 患者妊娠后出现高血压疾病、糖代谢异常、早产和产后出血等不良妊娠结局的风险大^[1]。另外孕妇体质量也与妊娠结局关系密切,超重或肥胖易导致不良妊娠结局,世界卫生组织提出用体质量指数(body mass index, BMI)对妊娠结局进行管理^[2]。目前正常孕妇孕期 BMI 增长已有相关推荐,而理论上对于 PCOS

孕妇孕前和孕期体质量控制应该比正常孕妇更加严格,因此,笔者通过研究 PCOS 孕妇孕前 BMI 及孕期体质量增长,并追踪妊娠结局,进行相关性分析,进而为探讨 PCOS 孕妇孕前 BMI 及孕期的体质量增长控制提供依据。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取中山市博爱医院生殖中心

基金项目:中山市社会公益科技研究专项(2019B1029)

收稿日期:2020-05-13

作者简介:简凤萍(1981-),女,副主任医师,(电话)13702523663,(电子信箱)2817741357@qq.com。

2017年5月~2019年2月接诊的PCOS病例,并于2019年12月前追踪到妊娠结局者为研究对象。纳入标准:PCOS诊断标准按照2003年鹿特丹会议修正的标准^[3];排除标准:孕前合并糖尿病、心脏病、肾脏病、高血压等慢性疾病,双胎妊娠,以及患有高血脂、甲状腺功能异常等代谢性疾病,孕期BMI < 18.5 kg/m²。PCOS病例共随访1240例,截止到2019年12月,有306例临床妊娠并追踪到妊娠结局。

1.2 研究对象分组与随访 按照孕前BMI进行分组,BMI正常组(18.5~24.0 kg/m²)及超重或肥胖组(BMI>24.0 kg/m²)。妊娠后利用我市妇幼保健信息系统进行建档追踪。每次产检时,记录好体质量数据及其他一般信息。追踪随访到分娩,如孕期出现不良妊娠结局,做好登记。不良妊娠结局包括妊娠期糖尿病(gestational diabetes mellitus, GDM)、妊娠高血压、产后出血、巨大儿、早产、出生窒息等,参照人民卫生出版社《妇产科学》第八版进行诊断。参照美国医学研究所推荐的不同孕前体质量指数下孕期增重适宜值^[4],对孕前BMI正常研究对象,按照孕期增重是否超过16 kg分组;对于孕前BMI超

重或肥胖研究对象,按照孕期增重是否超过11.5 kg分组。

1.3 数据处理与分析 采用SPSS 18.0对数据进行统计分析。对计数资料采用频数和百分比描述,对计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 描述;计数资料组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况 共纳入研究对象306例,年龄(29.81±3.64)(21~40)岁,孕前体质量(60.50±11.03)(40~86.5)kg,孕前BMI(23.97±4.09)(16.20~34.60)kg/m²。孕前BMI超重或肥胖148例(48.37%)。妊娠结局为妊娠高血压67例(21.89%)、GDM 90例(29.41%)、产后出血35例(11.44%)、巨大儿60例(19.61%)、早产43例(14.05%)、出生窒息44例(14.38%)。见表1。

2.2 PCOS患者孕前BMI与妊娠结局相关性 P-COS患者孕前BMI超重或肥胖组的GDM、巨大儿发生率均高于孕前BMI正常组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而两组其他妊娠结局差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表1 孕前BMI正常组和超重或肥胖组妊娠期并发症发生情况比较[n(%)]

组别	n	妊娠高血压	GDM	产后出血	巨大儿	早产	出生窒息
孕前BMI正常组	158	28(17.72)	37(23.42)	15(9.49)	21(13.29)	20(12.66)	19(12.03)
孕前BMI超重或肥胖组	148	39(26.35)	53(35.81)	20(13.51)	39(26.35)	23(15.54)	25(16.89)
χ^2		3.328	5.653	1.219	8.269	0.526	1.470
P		0.068	0.017	0.270	0.004	0.468	0.225

2.3 不同孕前BMI状况的PCOS患者孕期体质量增长与妊娠结局相关性 对于PCOS患者孕前BMI正常组,增重>16 kg组妊娠高血压、GDM、巨大儿、早产、出生窒息发生率均高于增重≤16 kg组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而两组产后出血发生率差

异无统计学意义($P > 0.05$)。对于PCOS患者孕前BMI超重或肥胖组,增重>11.5 kg组妊娠高血压、GDM发生率均高于增重≤11.5 kg组,发生率差异有统计学意义($P < 0.05$),而两组其他妊娠结局差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

表2 两组孕期体质量增长范围与妊娠期并发症发生情况比较[n(%)]

组别	n	妊娠高血压	GDM	产后出血	巨大儿	早产	出生窒息
孕前BMI正常组							
增重≤16 kg	90	11(12.22)	15(16.67)	6(6.67)	4(4.44)	7(7.78)	6(6.67)
增重>16 kg	68	17(25.00)	22(32.35)	9(13.23)	17(25.00)	13(19.12)	13(19.12)
χ^2		4.337	5.314	1.945	14.201	4.505	5.676
P		0.037	0.021	0.163	0.000	0.034	0.017
孕前BMI超重或肥胖组							
增重≤11.5 kg	50	8(16.00)	11(22.00)	5(10.00)	9(18.00)	6(12.00)	6(12.00)
增重>11.5 kg	98	31(31.63)	42(42.86)	15(15.31)	30(30.61)	17(17.35)	19(19.39)
χ^2		4.169	6.266	0.798	2.714	0.721	1.287
P		0.041	0.012	0.372	0.099	0.396	0.257

3 讨论

3.1 PCOS 及孕前 BMI 对妊娠结局影响 PCOS 在育龄女性中患病率可达 10%，研究发现 PCOS 孕妇妊娠期高血压疾病和糖代谢异常风险高^[5]，PCOS 的胰岛素抵抗易导致早产、产后出血等不良妊娠结局，并且其风险增加独立于 BMI。本研究追踪 PCOS 病例 1240 例，共 306 例有临床妊娠结局，具有较高的不良妊娠结局，其中，妊娠高血压发生率为 21.89%，GDM 发生率为 29.41%。

肥胖是 PCOS 的重要特征^[6]，肥胖本身可以引起流产、GDM、妊娠高血压、巨大儿、早产等不良结局。本研究孕前 BMI 超重或肥胖占 48.37%，而这部分患者发生 GDM 和巨大儿的比例高于孕前 BMI 正常组，与文献报道结论一致^[1,7]。另外，本研究妊娠症的差异 ($P=0.068$) 虽然没有统计学意义，也可能是样本量较小引起的假阴性。分析原因可能是一方面随着 PCOS 孕妇体质量指数的增高、内脏脂肪堆积，以及其他病理生理改变，相应增加 GDM 的发生率，及孕前 BMI 与 GDM 风险存在线性关系^[8]，而 GDM 又是巨大儿出生的危险因素^[9]；另一方面，胰岛素抵抗及继发的高胰岛素血症可能通过激活交感神经系统，引起水钠潴留、血管平滑肌肥大等，升高血压^[10-11]。因此，PCOS 患者孕前即应重视综合治疗，加强 BMI 调整^[9]。

3.2 PCOS 患者孕期体质量对妊娠结局影响 PCOS 以及孕前 BMI 超重会增加不良妊娠结局的风险，然而如果孕期严格控制体质量，也可能会逆转该风险。本研究数据显示：对于 PCOS 患者孕前 BMI 正常组且增重 ≤16 kg 组，以及对于 PCOS 患者孕前 BMI 超重或肥胖组且增重 ≤11.5 kg 组，其妊娠高血压、GDM 等发生率较低。提示 PCOS 孕妇孕期体质量管理可能会改善妊娠结局，这一基础治疗手段应被高度重视并结合健康宣教和行为方式干预。

本研究数据显示 PCOS 患者孕期体质量控制不佳会促使巨大儿发生，可能原因是 PCOS 孕妇孕期能量摄入过多，孕期增重过多，孕妇高血糖血液引发胎儿高血糖，进而刺激胎儿胰岛 B 细胞分泌大量胰岛素，促进胎儿体内的糖原合成、降低脂肪分解等，使胎儿体质量增加，导致巨大儿^[12]。

3.3 PCOS 患者孕产期体质量管理 体质量的有效控制与妊娠结局密切相关。PCOS 患者怀孕后推荐的增重范围是 PCOS 管理的重要方面。最新的美国内分泌学会诊治指南强调 PCOS 管理的重要性。对于超重患者应先将其体质量降至正常范围后再妊

娠；对于 PCOS 患者，无论孕前 BMI 是否正常，均要严格控制孕期体质量增长。

对超重 PCOS 孕妇一经检出，即进行血糖筛查并进行系统营养宣教，给予个体化指导，调整生活方式^[6]。妊娠期饮食和运动干预对于 PCOS 孕妇降低妊娠期体质量增加，进而预防妊娠高血压、巨大儿等具有重要意义^[13]。当然，PCOS 孕产期的高效管理模式还需要更多临床证据来验证^[8]，除关注妊娠结局外也要关注子宫内膜癌、心血管疾病等远期并发症^[14]。

【参考文献】

- [1] 王婷婷,付翰林,陈立章,等.中国多囊卵巢综合征患者妊娠并发症发生率的 Meta 分析[J].中南大学学报(医学版),2017,42(11):1300-1310.
- [2] 李春明,张为远.孕前体质量指数与妊娠结局关系的评价[J].中华医学杂志,2014,94(1):36-38.
- [3] LEGRO RS. Diagnostic criteria in polycystic ovary syndrome [J]. Semia Reprod Med,2003,21(3):267-275.
- [4] YAKTINE AL. Weight gain during pregnancy: reexamining the guidelines [M]. Washington (DC): National Academies Press (US),2009,296.
- [5] MORGAN CL, JENKINS-JONES S, CURRIE CJ, et al. Evaluation of adverse outcome in young women with polycystic ovary syndrome versus matched, reference controls: a retrospective, observational study [J]. J Clin Endocrinol Metab,2012,87(9):3251-3260.
- [6] 张莉,李光辉,张为远.多囊卵巢综合征对超重或肥胖孕妇围产结局的影响[J].中国实用妇科与产科杂志,2011,27(9):688-691.
- [7] LI CM, LI CH, CHEN Y, et al. Effect of pre-pregnancy body mass index on pregnancy outcomes [J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi,2013,126(23):4585-4587.
- [8] 陈子江,崔琳琳.重视多囊卵巢综合征孕产期管理[J].中国实用妇科与产科杂志,2019,35(3):257-260.
- [9] 王慧春,刁艳霞,刘慧文,等.体质量指数对多囊卵巢综合征患者妊娠结局的影响[J].医学研究杂志,2016,45(7):150-152.
- [10] 卢永军,阮祥燕,田玄玄.多囊卵巢综合征综合治疗对妊娠结局的影响[J].首都医科大学学报,2014,35(4):428-432.
- [11] POOLSUP N, SUKSOMBOON N, AMIN M. Effect of treatment of gestational diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis [J]. PLoS One,2014,9(3):e92485.
- [12] 高颖.孕期增重对多囊卵巢综合征妊娠结局影响研究[J].中国实用妇科与产科杂志,2019,35(3):352-354.
- [13] MUKTABHANT B, LAWRIE TA, LUMBIGANON P, et al. Diet or exercise, or both, for preventing excessive weight gain in pregnancy [J]. Cochrane Database Syst Rev,2015,6:CD007145.
- [14] 彭真,张全,王丽娥,等.控制体质量对肥胖型多囊卵巢综合征患者的疗效观察[J].生殖医学杂志,2016,25(11):992-997.

617例肾活检病理资料回顾性分析

陈博文,崔彩侠,常保超,刘磊,陈卫东

(蚌埠医学院第一附属医院 肾病科,安徽 蚌埠 233000)

【摘要】目的:分析肾活检的病理类型,研究不同时期肾活检病理的形态学特征及变化,以便指导临床诊治。**方法:**标本取自2013~2018年蚌埠医学院第一附属医院肾病科住院行肾活检患者,统计患者的年龄、性别、肾活检时间及病理类型,时间为2013~2014年、2015~2016年、2017~2018年,年龄分别为 ≤ 20 岁、21~40岁、41~60岁及 >60 岁,在此基础上观察肾小球肾炎的病理形态学特征及变化。**结果:**共纳入617例肾活检病例,原发性肾小球肾炎511例(82.82%),其中膜性肾病258例(50.49%)为最常见;继发性肾小球肾炎96例(15.56%),其中狼疮性肾炎54例(56.25%)为最常见;其他病理类型10例(1.62%)。按时间段分组统计,疾病构成比发生变化,其中原发性肾小球肾炎中膜性肾病占比由33.64%(2013~2014年)升至50.00%(2017~2018年);按不同年龄段统计,膜性肾病在 >20 岁患者中所占比例均最高。**结论:**膜性肾病是原发性肾小球肾炎中最常见的病理类型,膜性肾病在 >20 岁患者中所占比例最高,且所占比例逐年增加。

【关键词】流行病学;肾小球肾炎;疾病谱;肾活检

【中图分类号】R 692;R 181.2 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.010

Retrospective study of renal biopsies in 617 cases

CHEN Bowen, CUI Caixia, CHANG Baochao, LIU Lei, CHEN Weidong

Department of Nephrology, The First Affiliated Hospital of Bengbu Medical College, Bengbu 233000, China

【Abstract】Objective: To analyze the pathological types of renal biopsy, and examine the pathomorphological characteristics and changes of renal biopsy at different time periods for better guiding clinical diagnosis and treatment. **Methods:** The specimens were obtained from patients undergone renal biopsy in the Nephrology Department of our hospital between 2013 and 2018. Patient's age, gender, time to undergo renal biopsy and pathology types were statistically counted. The time consisted of 2013-2014, 2015-2016 and 2017-2018, and the age group were composed of patients ≤ 20 years, 21-40, 41-60 and over 60 years, on which basis the pathomorphological characteristics and changes of glomerulonephritis were examined. **Results:** Totally, 617 renal biopsies/cases were included, in which 511 cases (82.82%) were primary glomerulonephritis, membranous nephropathy was the most common type (50.49%, 258/511). Secondary glomerulonephritis occurred in 96 cases (15.56%), in which 54 were lupus nephropathy (56.25%). Ten cases were other pathological types (1.62%). By the statistics of time group, disease constitution of membranous nephropathy in primary glomerular disease changed from 34.26% (2013-2014) to 50.54% (2017-2018) ($P < 0.05$), and by statistics of different age groups, proportion of membranous nephropathy was the highest in patients aged over 20 years. **Conclusion:** Membranous nephropathy is the most common pathological type of primary glomerular disease, and is the highest prevalence in patients over 20 years old and tends to increase in yearly manner.

【Key words】epidemiology; glomerular disease; disease spectrum; kidney biopsy

肾穿刺活组织检查简称肾活检,是目前肾脏疾病特别是肾小球肾炎诊治过程中最重要的检查手段,是很多肾脏疾病明确诊断的金标准,也是一些少见病、疑难杂症诊断、制定治疗方案和判断预后的重要依据^[1-2]。疾病谱随着时间、环境、地区不同,构

成有差异。现对蚌埠医学院第一附属医院2013年1月1日~2018年12月31日住院行肾穿刺活检患者的病理结果进行分析比较,了解本地区肾小球肾炎的构成及各个病理类型变化趋势,为临床诊治肾小球肾炎提供依据。

基金项目:安徽省高校自然科学研究重点项目(KJ2019A0321);安徽省重点研究与开发计划项目(202004j07020011)

收稿日期:2020-05-21

作者简介:陈博文(1987-),女,住院医师,(电话)15212120853,(电子信箱)935790195@qq.com;

陈卫东,男,主任医师,教授,(电子信箱)cwd2012@163.com,通信作者。

1 资料和方法

1.1 研究对象 选取2013~2018年就诊于蚌埠医学院第一附属医院肾内科行肾活检的汉族患者617例,收集其临床资料。排除肾活检失败1例及临床资料缺失10例,病理类型叠加20例。按不同时段分为I组(2013~2014年)、II组(2015~2016年)和III组(2017~2018年)。按不同年龄段分为A组(≤20岁)、B组(21~40岁)、C组(41~60岁)、D组(>60岁)4个年龄分组。

1.2 临床资料 包括患者的性别、年龄、24 h尿蛋白定量,既往肾穿刺病理资料及其他辅助检查结果。

1.3 经皮肾活检 患者行超声引导下肾穿刺活检术,采用巴德全自动活检穿刺枪,18号薄型Menghini穿刺针。

1.4 肾脏病理检查 肾穿刺组织按病理中心要求留取标本,予以光镜、免疫荧光和电镜检查。光镜包括苏木精-伊红H-E染色、过碘酸雪夫染色、六胺银染色和马松染色,部分患者需行免疫组化及刚果红染色。免疫荧光染色包括IgA、IgM、IgG、C3、C4染色等。电镜观察肾组织微细结构。

1.5 肾脏病理诊断 参考2001年全国肾活检病理诊断研讨会上拟定的肾活检病理诊断标准指导意见

进行病理分型^[3]。

1.6 统计学分析 应用SPSS 18.0软件进行数据分析。计数资料采用频数或百分数表示,两组间比较采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肾脏病患者肾穿刺病理的分布及性别比 617例患者肾脏病理结果中原发性肾小球肾炎511例(82.82%),继发性肾小球肾炎96例(15.56%),其他病理类型10例(1.62%)。原发性肾小球肾炎中男女比例为1.09:1,继发性肾小球肾炎中男女比例为0.55:1;其他病理类型中包括1例脂蛋白性肾病,1例含铁血黄素沉着症性肾病,2例抗中性粒细胞胞浆抗体相关性肾小球肾炎,2例新月体性肾小球肾炎,2例淀粉样变肾病,2例膜增生性肾小球肾炎。原发性肾小球肾炎中膜性肾病最常见,所占比例为50.49%(258/511),IgA肾病21.53%(110/511)和微小病变21.33%(109/511)次之,其他病理类型较少;膜性肾病及微小病变中男性患者较多见。继发性肾小球肾炎中最常见的为狼疮性肾炎,所占比例为56.25%(54/96)。见表1。

表1 617例肾小球肾炎患者肾穿刺病理的分布及性别比[n(%)]

	病理类型	n	男	女	男:女
原发性肾小球肾炎	微小病变	109	56(51.38)	53(48.62)	1.06:1.00
	膜性肾病	258	155(60.08)	103(39.92)	1.50:1.00
	IgA肾病	110	43(39.10)	67(60.90)	0.64:1.00
	局灶节段性肾小球硬化	21	8(38.10)	13(61.90)	0.62:1.00
	系膜增生性肾小球肾炎	13	5(38.46)	8(61.54)	0.63:1.00
继发性肾小球肾炎	狼疮性肾炎	54	9(16.67)	45(83.33)	0.20:1.00
	乙肝相关性膜性肾病	19	16(84.21)	3(15.79)	5.33:1.00
	紫癜性肾炎	10	4(40.00)	6(60.00)	0.67:1.00
	糖尿病肾病	13	5(38.46)	8(61.54)	0.63:1.00

2.2 不同时间段肾小球肾炎构成比较 不同时间段肾小球肾炎构成差异有统计学意义($P<0.05$)。膜性肾病占比逐年上升,而微小病变和IgA肾病占比有下降趋势。见表2。

2.3 不同年龄段肾小球肾炎病理类型构成比较 不同年龄段肾小球肾炎病理类型构成差异有统计学意义($P<0.05$)。微小病变在≤20岁的年龄段中占比最高;膜性肾病在21~40岁、41~60岁、>60岁3个年龄段中占比均最高,且膜性肾病中老年患者较多;IgA肾病主要集中在21~40岁。见表3。

表2 不同时间段肾小球肾炎构成比较[n(%)]

病理类型	I组 (n=220)	II组 (n=209)	III组 (n=188)	χ^2	P
微小病变	49(22.27)	32(15.31)	28(14.89)	20.593	0.024
IgA肾病	45(20.45)	35(16.75)	30(15.96)		
膜性肾病	74(33.64)	90(43.06)	94(50.00)		
局灶节段性肾小球硬化	8(3.64)	4(1.91)	9(4.79)		
狼疮性肾炎	22(10.00)	18(8.62)	14(7.45)		
其他	22(10.00)	30(14.35)	13(6.91)		

表3 不同年龄段肾小球肾炎病理类型构成比较[n(%)]

	A组 (n=55)	B组 (n=248)	C组 (n=259)	D组 (n=55)	P
微小病变	16(29.09)	47(18.95)	39(15.06)	7(12.73)	0.000
IgA 肾病	10(18.18)	64(25.81)	32(12.36)	4(7.27)	
膜性肾病	13(23.64)	80(32.26)	138(53.28)	27(49.09)	
局灶节段性 肾小球硬化	2(3.64)	13(5.24)	5(1.93)	1(1.82)	
狼疮性肾炎	10(18.18)	26(10.48)	16(6.18)	2(3.64)	
其他	4(7.27)	18(7.26)	29(11.20)	14(25.45)	

Fisher 确切概率法。

3 讨论

肾小球疾病病理类型多样,肾穿刺活检术是诊断肾脏疾病的金标准,对临床诊断治疗有重要意义^[4]。目前肾脏病理学检查在临床上应用广泛,使治疗更具有针对性,更加规范化。随着时间、环境、地区、种族、饮食等各个方面的变化,肾穿刺活检病理结果也发生不同程度的变化^[5]。本研究结果显示:原发性肾小球肾炎 511 例,占行肾穿刺活检总人数的 82.82%,继发性肾小球肾炎 96 例,占 15.56%。肾小球肾炎中男性稍多于女性,本研究中行肾穿刺活检患者中男性略多于女性(1.02:1),与以往研究一致^[6]。

本研究对不同时间段肾穿刺活检病理进行统计显示:2013~2014 年膜性肾病占 33.64%,2017~2018 年膜性肾病占比为 50.00%,膜性肾病所占比例逐年升高,约以每年 13% 的速度增长^[3,7-8],与相关研究结论一致。有报道显示膜性肾病发病率增高可能与环境污染和代谢性疾病发病率增高有关^[14]。近年来空气污染有关研究报道,大气污染诱发足细胞 PLA2R 等抗原暴露,自身抗原抗体结合,致使足细胞靶抗原的损伤形成大量蛋白尿^[6,9]。也有研究发现工业废弃物的污染与膜性肾病呈正相关^[12]。对患有高血压、糖尿病等代谢性疾病的患者进行研究发现其膜性肾病的发病率增加,研究认为代谢性疾病会导致肾小球硬化和足细胞损伤,致膜性肾病发病率增加^[12]。

按不同年龄段分组,膜性肾病主要集中在 C 组(41~60 岁),IgA 肾病在 B 组较多,集中在 21~40 岁,狼疮性肾炎主要集中在育龄期,微小病变在 A 组(≤20 岁)的年龄段中占比最高,膜性肾病在 B、C、D 三个年龄组中占比都是最高的,考虑与我国人口老龄化越来越严重关系密切^[3]。膜性肾病在肾穿刺患者中的占比较高。

随着膜性肾病所占比例的逐年增多,膜性肾病越来越受到关注,而近年来研究发现新的诊断指标:

M 型磷酯 A 受体抗体、人 I 型血小板膜蛋白 7A、IgG 亚型等,对鉴别特发性膜性肾病与继发性膜性肾病有重要价值^[13-14],也可以在一定程度上反映疾病活动及判断预后^[13]。有报道^[14] 常规治疗 6 个月以上,尿蛋白仍持续>4 g/L 或高于基线 50% 以上者,建议积极加用免疫抑制剂,首选糖皮质激素联合环磷酰胺治疗;也有研究发现生物制剂对难治性膜性肾病效果肯定^[15],随着不断地探索,对膜性肾病的治疗方法越来越多。

本研究显示膜性肾病已超过 IgA 肾病成为原发性肾小球肾炎中主要的病理类型,与其他地区研究结果一致。临床医生需要在日常诊疗过程中加强对膜性肾病发病机制和疗效观察方面的研究,以提高诊疗效果。

【参考文献】

- [1] 邹万忠. 肾活检病理诊断标准指导意见[J]. 中华肾脏病杂志, 2001,17(4):270-275.
- [2] FIORENTINO M, BOLIGNANO D, TESARV, et al. Renal biopsy in 2015—from epidemiology to evidence-based indications [J]. Am J Nephrol, 2016,43(1):1-19.
- [3] 边琪, 何薇, 张陵艳. 单中心自体肾经皮肾穿刺活检临床病理特点的 10 年总结[J]. 第二军医大学学报, 2017,38(6):788-793.
- [4] 何雷, 张伟, 陈冰. 503 例肾活检的病理类型构成分析[J]. 包头医学院学报, 2016,32(10):14-16.
- [5] 陈惠萍, 周虹, 刘红. 10594 例肾活检病理资料分析[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 2000,9(6):501-509.
- [6] 杜娟丽, 王汉民, 于艳, 等. 肾活检 1542 例临床病理资料分析[J]. 第四军医大学学报, 2006,27(17):1599-1602.
- [7] XU X, WANG G, CHEN N, et al. Long-term exposure to air pollution and increased risk of membranous nephropathy in china [J]. J Am Soc Nephrol, 2016,27(12):3739-3746.
- [8] JALALAH SM. Patterns of primary glomerular diseases among adults in the western region of Saudi Arabia [J]. Saudi Journal Of Kidney Diseases & Transplantation, 2009,20(2):295-299.
- [9] 姜韩雪, 刘玉宁, 侠晨辉, 等. 特发性膜性肾病诊治进展[J]. 中国临床医生杂志, 2020,48(2):145-148.
- [10] LI J, CUI Z, LONG J, et al. Primary glomerular nephropathy among hospitalized patients in a national database in China [J]. Nephrol Dial Transplant, 2018,33(12):2173-2181.
- [11] 周广宇, 金玲, 于晶, 等. 成人膜性肾病患者血清抗 PLA2R 抗体与病情的相关性[J]. 中华肾脏病杂志, 2012,28(2):111-114.
- [12] TOMAS NM, JR BL, MEYER-SCHWESINGER C, et al. Thrombospondin type-1 domain-containing 7A in idiopathic membranous nephropathy [J]. N Engl J Med, 2014,371(24):2277-2282.
- [13] 余舒文, 王宇晖, 姜飞, 等. 膜性肾病的诊治进展[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2017,18(11):1026-1029.
- [14] 谢志勇, 李志莲, 董伟, 等. 膜性肾小球疾病谱演变和膜性肾病流行病学特点[J]. 临床肾脏病杂志, 2019,19(7):471-492.
- [15] RUGGENENTI P, CHURCHIU C, ABBATE M, et al. Rituximab for idiopathic membranous nephropathy: who can benefit [J]? Clin J Am Soc Nephrol, 2006,1(4):738-748.

2 型糖尿病患者血糖与认知功能相关性研究

赵德伟¹, 郭东亮¹, 陈明卫²

(1. 临泉县人民医院 内分泌科, 安徽 阜阳 236400; 2. 安徽医科大学第一附属医院 内分泌科, 安徽 合肥 230021)

【摘要】目的:探讨 2 型糖尿病(T2DM)患者血糖与认知功能相关性研究。**方法:**将临泉县人民医院 169 例 T2DM 患者分为血糖控制稳定组(WCG, $n=62$)和血糖不稳组(PCG, $n=107$), 招募 67 例健康志愿者组成对照组(HC), 所有研究对象采用数字广度(DS)、数字符号测试(DST)、连线测验(TMT)、词汇流畅性测验(VF)、2-Back 测验、Go-Nogo 测验等评估认知功能, 探讨 T2DM 患者认知功能与空腹血糖(FPG)、餐后 2 h 血糖(2 hPG)及糖化血红蛋白(HbA1C)之间的相关性。**结果:**①3 组在 TMT-B、2-Back 任务反应时间方面差异有统计学意义($P<0.05$)。两两比较发现 WCG 组仅在 2-Back 任务反应时高于 HC 组, 差异有统计学意义($P<0.05$), PCG 组在 TMT-B、2-Back 任务反应时间高于 HC 组($P<0.05$), PCG 组 2-Back 任务反应时高于 WCG 组, 差异有统计学意义($P<0.05$)。②PCG 组 2 hPG、FPG 与 2-Back 任务反应时间均呈正相关($r=3.383, P<0.001; r=0.368, P<0.001$)。WCG 组 2 hPG 与 2-Back 任务反应时间均呈正相关($r=0.488, P<0.001$)。③Pearson 相关分析显示中年组 FPG、2 hPG、HbA1C 与 2-Back 任务反应时间呈正相关($r=0.426, P<0.001; r=0.443, P<0.001; r=0.340, P<0.001$); 而在老年组则无类似发现。**结论:**T2DM 患者存在认知功能损伤, 尤其是血糖控制较差人群; T2DM 患者认知功能与 2 hPG 水平密切相关, 中年 T2DM 患者更加明显。

【关键词】2 型糖尿病; 认知; 因素

【中图分类号】R587.1; R 749.24 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.011

Correlation study on blood glucose level and cognitive function in patients with type 2 diabetes

ZHAO Dewei, GUO Dongliang, CHEN Mingwei

Department of Endocrinology, People's Hospital of Linquan County, Fuyang 236400, China

【Abstract】Objective: To investigate the correlation between blood glucose level and cognitive function in patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods:** 169 cases of T2DM diagnosed in our hospital were divided into well controlled blood glucose group (WCG, $n=62$) and poorly controlled blood glucose group (PCG, $n=107$). Another 67 healthy volunteers were recruited as controls (HC group). Cognitive function was evaluated in all subjects using Digit Span (DS) test, Digital Symbol Test (DST), Trall Making Test (TMT), Verbal Fluency (VF), 2-Back test and Go-NoGo test. Then the correlation was assessed between cognitive function and levels of fasting plasma glucose (FPG), 2-hour postprandial blood glucose (2 hPG) and glycosylated hemoglobin A1c (HbA1C) in the T2DM patients. **Results:** ①TMT-B score and reaction time by 2-Back test were statistically different among the three groups ($P<0.05$). Pairwise comparison showed that reaction time of 2-Back test in WCG group was higher than that of HC group ($P<0.05$). TMT-B score and reaction time of 2-Back test were higher in WCG group than in HC group ($P<0.05$), and the reaction time of 2-Back test was higher in PCG group than in WCG group ($P<0.05$); ②Pearson correlation analysis showed that 2 hPG and FPG level were positively correlated with reaction time of 2-Back test in PCG group ($r=3.383, P<0.001; r=0.368, P<0.001$), and 2 hPG level was positively correlated with reaction time of 2-Back test in WCG group ($r=0.488, P<0.001$); ③Pearson correlation analysis further demonstrated that FPG, 2 hPG and HbA1C levels were positively correlated with reaction time of 2-Back test in middle-aged patient group ($r=0.426, P<0.001; r=0.443, P<0.001; r=0.340, P<0.001$), yet there was no similar findings in elderly patient group. **Conclusion:** Cognitive impairment is seen in T2DM patients, especially in patients with poorer glucose control. Cognitive function is closely associated with 2 hPG level, particularly in the middle-aged T2DM patients.

【Key words】type 2 diabetes mellitus; cognition; influencing factors

基金项目: 中华医学会临床医学科研专项基金-默沙东糖尿病研究项目(17051250670)

收稿日期: 2020-06-04

作者简介: 赵德伟(1983-), 男, 主治医师, 硕士, (电话)15955877311, (电子信箱)a0421010109@163.com;

郭东亮, 男, 副主任医师, (电子信箱)768105066@qq.com, 通信作者。

糖尿病已经成为严重威胁人类健康安全一个世界性的公共卫生问题,全世界糖尿病患者已接近4.15亿,并且可能在2040年达6.42亿^[1],给患者及家属带来沉重的经济负担^[2]。Meta分析显示,2型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)与认知障碍密切相关^[3]。2014年世界痴呆学会指出,糖尿病是认知功能减退、阿尔茨海默氏症患病的危险因素之一^[4]。目前尚缺乏血糖控制达标与否与认知功能改变的相关性研究,本研究以认知功能为评价指标,评估不同血糖控制水平的T2DM患者认知功能,以及血糖水平与认知功能及相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2018年9月~2020年1月收治于临泉县人民医院的T2DM患者,纳入标准:①符合WHO糖尿病专家委员会提出的诊断和分型标准中2型糖尿病诊断标准^[5];②病史1年以上。排除标准:①糖尿病急性并发症,如糖尿病酮症酸中毒,高血糖高渗状态等;②其他因素引起的2型糖尿病,如慢性肾炎、嗜铬细胞瘤等;③合并精神或神经系统疾病。

血糖控制不稳(poorly controlled blood glucose, PCG)组:共107例,年龄24~69(51.71±7.21)岁;男性58例,女性49例;病程1~20(7.39±3.79)年;服用降糖药物不规律或未服药,门诊病历记载多次血糖相关指标高于正常参考值[空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)≥7.0 mmol/L或餐后2h血糖(2-hour postprandial blood glucose, 2 hPG)≥11.1 mmol/L;糖化血红蛋白(glycosylated hemoglobin A1c, HbA1C)≥6%]。FPG(13.85±1.91) mmol/L, 2 hPG(13.75±1.71) mmol/L, HbA1C(10.78±1.64)%。

血糖控制稳定(well controlled blood glucose, WCG)组:共62例,年龄35~69(53.97±7.91)岁;男性33例,女性29例;病程1~17(6.26±3.65)年;规律服用降糖药物,门诊病历中显示血糖相关指标控制在正常参考值范围[FPG<6.0 mmol/L, 2 hPG<7.8 mmol/L, HbA1C<6%];询问病史排除患者出现头晕、心慌等低血糖症状。FPG(5.76±1.12) mmol/L, 2 hPG(6.27±0.86) mmol/L, HbA1C(6.27±0.34)%。

健康组(healthy controls, HC)选取同时期临泉县某社区健康者67例,年龄39~69(53.16±7.41)岁;男性34例,女性33例。3组在年龄($t=1.969, P=0.142$)、性别($\chi^2=0.200, P=0.905$)、病程($t=-1.899, P=0.059$)方面差异无统计学意义。该研究

均获得研究对象知情同意。

1.2 方法

1.2.1 纸笔测试 ①数字广度(digit span, DS)^[6],研究对象正确复述或反向复述数字最大长度即为顺记或倒记得分,得分越大越好;②数字符号测试(digital symbol test, DST),研究对象在90 s内将连续出现数字替换成规定符号正确数即为得分,得分越高越好^[6];③连线测验(trall making test, TMT)^[6], TMT-A是将26个杂乱的数字依次连接起来, TMT-B是将26个两种颜色的数字按照红黄交替的原则从小到大连接,连线秒数即为得分,得分越低越好^[6]。

1.2.2 电脑测试 E-Prime运行2-Back任务,研究对象不停观看电脑中出现的大小写交替出现的字母;判断当前字母与2次前出现的字母是否相同,相同点击鼠标左键,不同点击鼠标右键,字母呈现3 500 ms,电脑自动记录正确数和反应时间。

1.3 统计学处理 统计软件SPSS 19.0数据处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,3组间比较采用方差分析,组内两两分析采用 q 检验,相关性分析采用Pearson相关分析,取双侧概率检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3组间认知状况比较 3组在TMT-B、2-Back任务反应时间方面差异有统计学意义($P<0.05$);两两比较发现:WCG组仅在2-Back任务反应时高于HC组,差异有统计学意义($P<0.05$),PCG组在TMT-B、2-Back任务反应时间高于HC组($P<0.05$),PCG组2-Back任务反应时间高于WCG组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

2.2 按照血糖控制水平分组

2.2.1 PCG组认知功能与血糖指标相关性分析 PCG组2 hPG、FPG与2-Back任务反应时间均呈正相关。见表2。

2.2.2 WCG组认知功能与血糖指标相关性分析 WCG组2 hPG与2-Back任务反应时间呈正相关。见表3。

2.3 T2DM组按年龄分组 以60岁为界,中年组(<60岁)145例,老年组(≥60岁)24例。

2.3.1 中年组认知功能与血糖指标相关性分析 中年组FPG、2 hPG、HbA1C与2-Back任务反应时间均呈正相关。见表4。

2.3.2 老年组认知功能与血糖指标相关性分析 老年组血糖与认知功能相关性均无统计学意义。见表5。

表1 3组间认知状况比较

指标	PCG组(n=107)	WCG组(n=62)	HC组(n=67)	F	P
DS					
顺记/分	9.50±1.20	9.47±1.21	9.72±1.22	0.890	0.412
倒记/分	4.99±1.42	5.23±1.29	5.19±1.10	0.836	0.435
DST/分	43.27±6.84	44.02±7.31	43.88±6.33	0.292	0.747
TMT					
A/s	49.70±15.03	51.61±16.69	48.81±11.62	0.621	0.538
B/s	102.19±22.59 ^a	96.18±21.02 ^b	92.24±16.65 ^b	5.035	0.007
2-Back 任务					
反应时间/ms	1 595.03±272.75 ^a	1 415.24±225.38 ^b	1 249.69±362.20 ^c	29.737	0.000
错误数/个	3.44±2.26	3.09±1.21	2.90±1.46	1.965	0.142

两两比较采用 q 检验,字母不同表示 P<0.05。

表2 PCG组认知功能与血糖指标 Pearson 相关分析

指标	FPG		2 hPG		HbA1C	
	r	P	r	P	r	P
DS						
顺记	0.056	0.564	0.138	0.157	0.141	0.147
倒记	-0.178	0.067	-0.072	0.464	-0.071	0.470
DST	-0.113	0.245	-0.110	0.259	-0.145	0.135
TMT						
A	-0.029	0.767	-0.050	0.606	-0.047	0.631
B	-0.128	0.187	-0.138	0.155	-0.001	0.994
2-Back 任务						
反应时间	0.383	0.000	0.368	0.000	0.188	0.053
错误数	-0.120	0.218	-0.124	0.202	-0.129	0.185

表3 WCG组认知功能与血糖指标 Pearson 相关分析

指标	FPG		2 hPG		HbA1C	
	r	P	r	P	r	P
DS						
顺记	0.076	0.557	0.089	0.490	0.079	0.543
倒记	0.169	0.189	0.112	0.385	-0.093	0.473
DST	-0.132	0.308	-0.200	0.120	-0.160	0.125
TMT						
A	-0.010	0.939	-0.005	0.966	0.125	0.333
B	0.014	0.917	0.047	0.716	-0.039	0.764
2-Back 任务						
反应时间	0.238	0.063	0.488	0.000	0.144	0.264
错误数	-0.201	0.117	0.043	0.743	-0.038	0.768

表4 中年组认知功能与血糖指标 Pearson 相关分析

指标	FPG		2 hPG		HbA1C	
	r	P	r	P	r	P
DS						
顺记	0.030	0.718	0.055	0.513	0.055	0.513
倒记	-0.117	0.162	-0.090	0.284	-0.146	0.081
DST	-0.094	0.262	-0.095	0.258	-0.111	0.185
TMT						
A	-0.063	0.451	-0.081	0.333	-0.050	0.547
B	-0.102	0.221	0.103	0.217	0.133	0.112
2-Back 任务						
反应时间	0.426	0.000	0.443	0.000	0.340	0.000
错误数	0.025	0.762	0.038	0.651	-0.008	0.923

表5 老年组认知功能与血糖指标 Pearson 相关分析

指标	FPG		2 hPG		HbA1C	
	r	P	r	P	r	P
DS						
顺记	0.053	0.804	0.058	0.789	0.047	0.828
倒记	-0.096	0.655	-0.083	0.700	0.082	0.702
DST	-0.010	0.964	-0.010	0.963	-0.047	0.826
TMT						
A	-0.148	0.491	-0.058	0.787	-0.232	0.275
B	-0.045	0.834	-0.034	0.874	-0.050	0.818
2-Back 任务						
反应时间	0.329	0.116	0.268	0.206	0.402	0.052
错误数	-0.088	0.682	-0.061	0.778	0.140	0.514

3 讨论

糖尿病患者认知功能减退是糖尿病中枢神经病变的主要表现,按照疾病严重程度分为认知功能障碍和痴呆^[7]。老年 T2DM 患者并发认知功能障碍的发生率较高,且与血糖波动关系密切^[8]。李忆琴等^[9]发现 T2DM 患者病程越长认知评分越低;不同 HbA1c 水平分组蒙特利尔认知评估量表各维度得分和总分差异均有统计学意义,HbA1c 水平越高得分越低;不同病程组 TMT-A 和 TMT-B 均有差异。陈浙丽等^[10]选取 193 例患者随访 2 年;WCG 和 PCG 组在随访中认知障碍患者人数比例均显著增加,但 PCG 组出现认知障碍人数比例高于 WCG 组。以上研究均提示 T2DM 患者存在认知功能异常,其异常程度与糖尿病病程、HbA1c 密切相关。

本研究中我们发现 3 组在 TMT-B、2-Back 任务反应时间方面差异有统计学意义(P<0.05)。两两比较显示:WCG 组仅在 2-Back 任务反应时间高于 HC 组,差异有统计学意义,PCG 组在 TMT-B、2-Back 任务反应时间高于 HC 组,PCG 组 2-Back 任务反应时间高于 WCG 组,差异有统计学意义。本研究提

示 T2DM 患者存在认知功能损伤,血糖控制较差的 T2DM 患者认知损伤更严重;Pearson 相关性分析显示 PCG 组 2 hPG、FPG 与 2-Back 任务反应时间均呈正相关;WCG 组 2 hPG 与 2-Back 任务反应时间均呈正相关;研究提示 T2DM 患者 2 hPG 水平与认知损伤程度密切相关;Pearson 相关分析显示中年组 FPG、2 hPG、HbA1C 与 2-Back 任务反应时间均呈正相关;而在老年组则无类似发现;研究提示中年 T2DM 患者血糖水平与认知功能相关性更加明显。研究结论与既往研究基本一致。

李俊等^[11]研究发现 HbA1C 水平与脑白质病变明显相关;脑白质病变与患者认知功能下降明显相关。金娜等^[12]研究显示 T2DM 合并认知功能障碍与海马体积缩小密切相关。磁共振成像显示 T2DM 患者的大脑出现 tau 相关的神经纤维缠结,可以导致脑梗死、脑实质变小、白质高信号增多、颞叶和海马萎缩等,血糖控制较差者表现出了更严重的认知功能障碍^[13]。慢性的脑血管功能失衡是糖尿病常见的病理生理改变,它通过影响微血管系统缺血和內皮细胞功能失衡导致慢性脑低灌注和局部脑血流异常,导致糖尿病患者出现认知障碍和痴呆^[14]。

本研究与丁文萃等^[8]研究的不同之处在于并未发现老年 T2DM 患者血糖水平与认知功能相关性,这可能与认知功能研究方法不同有关;Meta 分析也显示;并不是所有 T2DM 患者相关研究中均发现血糖与认知功能存在相关性^[15]。今后的研究可以扩大患者样本量,采用多种认知评估方法,继续开展相关研究。

【参考文献】

[1] YANG C, HUANG Z, SUN K, *et al.* Comparing the economic burden of type 2 diabetes mellitus patients with and without medical insurance: a cross-sectional study in China [J]. *Med Sci Monitor*, 2018, 24:3098-3102.

[2] DALL TM, YANG W, GILLESPIE K, *et al.* The economic burden

of elevated blood glucose levels in 2017: diagnosed and undiagnosed diabetes, gestational diabetes mellitus, and prediabetes [J].

Diabetes Care, 2019, 42(9):1661-1668.

- [3] ZHANG X, JIANG X, HAN S, *et al.* Type 2 diabetes mellitus is associated with the risk of cognitive impairment: a meta-analysis [J]. *J Mol Neurosci*, 2019, 68(2):251-260.
- [4] BAUMGART M, SNYDER HM, CARRILLO MC, *et al.* Summary of the evidence on modifiable risk factors for cognitive decline and dementia: a population-based perspective [J]. *Alzheimers Dement*, 2015, 11(6):718-726.
- [5] ALBERTI KG, ZIMMET PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation [J]. *Diabet Med*, 1998, 15(7):539-553.
- [6] 李畅, 杨琪放, 周丽娜, 等. 内嗅皮质萎缩评价糖尿病患者认知功能[J]. *中国医学影像技术*, 2018, 34(1):25-29.
- [7] 张洲, 毕艳. 关注 2 型糖尿病认知功能减退的早期筛查及诊断 [J]. *中华内分泌代谢杂志*, 2019, 35(9):731-734.
- [8] 丁文萃, 王丽晖, 杨洁, 等. 血糖波动与老年 2 型糖尿病患者并发认知功能障碍的关系研究 [J]. *解放军医药杂志*, 2019, 31(9):48-50, 59.
- [9] 李忆琴, 吴礼凤, 余晓君, 等. 中年 2 型糖尿病患者病程和 HbA1c 水平与认知功能相关性研究 [J]. *陕西医学杂志*, 2019, 48(6):722-724.
- [10] 陈浙丽, 倪琳, 沈鑫华, 等. 老年 2 型糖尿病患者随访 2 年认知功能进展及相关因素研究 [J]. *浙江医学*, 2019, 41(13):1377-1382.
- [11] 李俊, 苗轲轲, 王崇贤, 等. 2 型糖尿病脑白质病变与糖尿病性认知功能障碍的相关性分析 [J]. *中华全科医师杂志*, 2018, 17(10):811-814.
- [12] 金娜, 张丽. 新发 2 型糖尿病患者脑源性神经营养因子及海马体积与认知功能的相关性研究 [J]. *河北医药*, 2019, 41(19):2941-2943, 2947.
- [13] SINCLAIR AJ, VELLAS B. Diabetes mellitus and cognitive decline-prevention should not be delayed [J]. *JPA D*, 2018, 5(2):95-97.
- [14] 吴硕琳, 王春雪. 认知功能损伤、痴呆与糖尿病 [J]. *中华全科医师杂志*, 2018, 17(6):424-427.
- [15] PELIMANNI E, JEKONEN M. Type 2 diabetes and cognitive functions in middle age: a meta-analysis [J]. *J Int Neuropsychol Soc*, 2019, 25(2):215-229.

跟骨骨折闭合撬拨辅以中医整复手法复位空心钉内固定术的临床疗效

杨学明,陈先进,黄平

(芜湖市中医医院 骨科,安徽 芜湖 241000)

【摘要】目的:探讨跟骨骨折闭合撬拨复位空心钉内固定术的临床疗效。**方法:**选取2017年1月~2019年12月芜湖市中医医院收治的Sanders II、III型跟骨骨折患者60例60足为研究对象,均采用闭合撬拨辅以中医整复手法复位空心钉内固定术治疗。分析患者手术情况、手术前后距下后关节面移位、治疗效果、并发症发生率、治疗费用等。术前和术后2周均取空腹静脉血检测比较C反应蛋白(CRP)、白细胞介素-6(IL-6)、降钙素原(PCT)和D二聚体(D-D)等炎症指标水平。**结果:**患者术后2周的各项炎症指标水平均较术前降低($P<0.05$)。患者术后距下后关节面移位低于术前($P<0.05$)。患者治疗结果为优和良的比率分别为70.00%和26.67%,出血量、手术时间、术后住院时间、骨折愈合时间、术后2周VAS评分、治疗费用、并发症发生率分别为(45.65±8.45)mL、(50.22±8.79)min、(5.11±1.16)d、(71.44±5.88)d、(2.15±0.44)分、(5721.11±355.26)元和3.33%。**结论:**跟骨骨折闭合撬拨复位空心钉内固定术可行性和安全性均良好,值得临床推广应用。

【关键词】跟骨骨折;闭合;撬拨复位;空心钉;内固定

【中图分类号】R 687.32 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.012

Clinical effects of closed prying reduction assisted by traditional Chinese medicine manipulative reduction and internal fixation with hollow nails in calcaneal fractures

YANG Xueming, CHEN Xianjin, HUANG Ping

Department of Orthopedics, Wuhu Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhu 241000, China

【Abstract】Objective: To investigate the clinical effect of closed pry reduction and internal fixation with hollow nail for calcaneus fracture. **Methods:** Sixty patients (60 feet) with Sanders II and III calcaneal fractures admitted to and treated in our hospital were included from January 2017 to December 2019. All patients underwent closed prying reduction assisted by traditional Chinese medicine manipulative reduction and internal fixation with hollow nails. The clinical data were analyzed on the operation indexes, posterior subtalar articular surface displacement before and after operation, treatment effect, complication rate and medical cost. Fasting venous blood was taken before and 2 weeks after operation to detect and compare the levels of plasma C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6), procalcitonin (PCT) and D-Dimer (D-D). **Results:** The level of plasma inflammation index was lower in two weeks after operation than that before operation in all patients ($P<0.05$), and posterior subtalar articular surface displacement was better managed following surgery ($P<0.05$). By treatment effect, the ratio of excellence and better was 70.00% and 26.67%, respectively. The bleeding volume, operative time, postoperative hospital stays, fracture healing time, VAS scores in 2 weeks after treatment, treatment cost and complication rate were (45.65±8.45) mL, (50.22±8.79) min, (5.11±1.16) d, (71.44±5.88) d, (2.15±0.44) min, (5721.11±355.26) RMB yuan and 3.33%, respectively. **Conclusion:** Closed prying reduction and internal fixation with hollow nail can be feasible and safe to treatment of calcaneus fracture, and is worthy of wider clinical recommendation.

【Key words】 calcaneal fracture; closure; prying reduction; hollow nail; internal fixation

跟骨骨折在创伤骨科常见,占全身骨折发病率的2%,其中约四分之三为关节内骨折,超过五分之一的患者可存在跟骰关节损伤^[1]。跟骨骨折的发病率随着近年来建筑业、交通业的发展以及伴随的坠落及车祸伤增加而呈现不断增加的趋势。由于其

特殊的解剖特点及损伤机制,跟骨骨折后的复位及固定困难且常可伴发软组织并发症,治疗后仍可存在部分患者有持续性关节疼痛和足功能障碍,甚至可导致残疾的发生^[2-3]。跟骨骨折保守治疗通常存在距下关节炎、畸形愈合和关节功能不良等问题,故

基金项目:芜湖市科技计划项目(2017cg15)

收稿日期:2020-05-18

作者简介:杨学明(1979-),男,主治医师,(电话)13695533809,(电子信箱)26525824@qq.com。

目前应用手术方式治疗较多,常见的手术方式有经皮撬拨闭合复位空心钉内固定和切开复位钢板内固定,而跟骨骨折复位是影响疗效的关键^[4]。近年来有研究将中医手法应用于骨折受伤复位中,其可以清楚了解病人在受伤时的体位及力学的传导特点,而通过手法可有效恢复骨折及其周围的解剖关系,为治疗的顺利进行提供基础^[5]。因此,本研究分析闭合撬拨辅以中医整复手法复位空心钉内固定术治疗跟骨骨折的疗效以及安全性,旨在为闭合撬拨辅以中医整复手法复位空心钉内固定术治疗在跟骨骨折手术中的推广应用提供依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 前瞻性连续选取2017年1月~2019年12月芜湖市中医医院收治的Sanders II、III型跟骨骨折患者60例60足为研究对象,纳入标准:患者均存在跟骨疼痛肿胀及瘀斑,经CT检查确诊Sanders II、III型跟骨骨折,年龄18~70岁,骨折10 d内到院就诊,拟行手术治疗,患者全身状况良好,手术耐受,且同意进行手术治疗。排除标准:合并严重血液系统疾病,自身免疫疾病,心、肺、肝、肾功能障碍等严重内科疾病患者;开放性骨折患者,合并骨折周围血管神经损伤患者,陈旧性骨折或病理性骨折患者,哺乳期或孕期精神异常者。60例患者中男50例,女10例,年龄23~68岁,平均(39.66±15.26)岁;体质量指数18.25~27.58 kg/m²,平均(21.11±3.21) kg/m²。病因:未交通伤20例,高空坠落伤32例,摔伤8例;Sanders II型18例,Sanders III型42例。研究符合伦理学标准且经患者知情同意。

1.2 治疗方法 患者均采用闭合撬拨辅以中医整复手法复位空心钉内固定术治疗,术前常规进行X线摄片观察病情,确定治疗方案,手术采用腰硬联合麻醉,麻醉满意后采用健侧卧位,常规消毒铺巾,通过3.5 mm克氏针在患侧跟骨打入跟骨牵引钉,经牵引手法恢复跟骨长度和高度,并在足跖屈位给予跟骨内外侧壁对向挤压复位以恢复跟骨宽度,C臂X光机透视确定跟骨高度、长度、宽度均恢复理想。经跟骨结节于距下后关节面坍塌骨块的下方骨折处打入4.0 mm斯氏针一枚,C臂X光机透视下确定斯氏针位于骨块下方后,牵引撬拨复位后在跟腱边内侧钻入导针一枚,C臂X光机透视确定其位于前方跟骰处且未穿过关节面,而侧面见导针穿过骨折线位于距下关节面下方,Bohler、Gissane角恢复满意,

后距下关节面恢复良好,在其上方平行钻入另一导针,再次透视确定其位置良好后,选取合适长度直径7.3 mm空心螺钉经导针打入跟骨。术中可在外踝下一横指偏前处进针,向载距突钻入空心钉导针,透视轴位片见导针尖部在载距突内,测深,拧入合适长度直径4.0 mm的空心钉,透视下确定各解剖位置复位满意后冲洗并缝合切口,以无菌外敷料和无菌绷带包扎,完成手术治疗。术后患者活动踝关节,必要时患肢石膏托跖屈位固定,术后常规1~2 d的预防性抗感染治疗、甘露醇脱水和功能恢复锻炼。

1.3 观察指标和检测方法 分析患者手术时间、术中出血量、住院时间、手术前后距下后关节面移位距离、骨折愈合(局部无压痛和异常活动,无纵向叩击痛,复查X线见骨折线模糊,并可见连续性骨痂通过骨折端)时间、术后2周VAS评分等手术指标。术后90 d采用Maryland评分^[6]系统评估治疗效果,总分100分,包括疼痛45分、功能40分、外观10分和活动度5分,其中90~100分为优,75~89分为良,50~74分为中,低于50分为差。统计并发症发生率和治疗费用。分别在术前和术后2周抽取空腹静脉血3 mL检测C反应蛋白(CRP)、白细胞介素-6(IL-6)、降钙素原(PCT)和D二聚体(D-D)等炎症指标水平,获取的静脉血样本常规进行离心冷藏处理,检测均采用日立7010型全自动生化分析仪,试剂盒均购自上海江莱生物科技有限公司,具体检测步骤严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学方法 采用SPSS 18.0统计软件进行数据分析。计数资料采用例数表示,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示;计量资料组间比较采用 t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 跟骨骨折患者均采用闭合撬拨辅以中医整复手法复位空心钉内固定术治疗,典型病例手术前后情况见图1~2。

2.2 手术前后血中炎症指标水平及距下后关节面移位比较 患者术后2周的炎症指标水平均较术前降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。患者术后距下后关节面移位低于术前($P < 0.05$)。见表1。

2.3 治疗结果 患者疗效为优、良、中、差的例数分别为42例、16例、2例和0例,其对应比率分别为70.00%、26.67%、3.33%和0.00%,治疗效果良好。



患者 1,男,39 岁,跟骨骨折,A、B 为术前,C、D 为术后。

图 1 患者 1 的手术前后显示图



患者 2,男,35 岁,跟骨骨折,A、B 为术前,C、D 为术后。

图 2 患者 2 的手术前后显示图

表 1 手术前后炎症指标水平及距下后关节面移位情况比较

时间	n	CRP/(mg/L)	IL-6/(pg/mL)	PCT/(ng/mL)	D-D/(μg/mL)	距下后关节面移位/mm
术前	60	15.54±3.11	21.56±4.43	5.33±0.85	5.29±0.87	5.25±2.85
术后	60	9.72±1.55	14.18±3.06	2.11±0.49	3.87±0.63	0.31±0.12
$\bar{d}\pm s_d$		5.82±2.15	7.38±3.87	3.22±0.59	2.02±0.71	4.94±1.12
$t_{\text{配对}}$		20.968	14.771	42.275	22.038	34.165
$P_{\text{配对}}$		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 手术情况分析 患者平均手术出血量、手术时间、术后住院时间、骨折愈合时间、术后 2 周 VAS 评分、治疗费用分别为 (45.65 ± 8.45) mL、(50.22 ± 8.79) min、(5.11 ± 1.16) d、(71.44 ± 5.88) d、(2.15 ± 0.44) 分和 (5721.11 ± 355.26) 元。

2.5 治疗安全性分析 患者围术期无感染或内固定失效,2 例出现关节疼痛或足跟疼痛,总并发症发生率为 3.33% (2/60)。

3 讨论

跟骨是人体重要关节,担负着负重、行走、奔跑等重要环节,其损伤早期若无及时有效处理可影响患者劳动能力,患者亦可出现持续性疼痛、跛行等,严重影响其生存质量^[7-8]。跟骨骨折治疗中移位较小的骨折可进行保守治疗,但移位较大的骨折和关节内骨折需进行手术治疗,手术治疗有助于骨折后有效复位和功能恢复,其中骨折复位是其治疗重要环节^[9]。跟骨骨折患者的跟骨横径增宽、跟腓间隙变窄、Bohler 角变小等病理改变可明显影响跟骨骨折疗效和预后。因此,在其治疗过程中,骨折的解剖复位是其取得良好效果的关键^[10]。本研究分析闭合撬拨辅以中医整复手法复位空心钉内固定术治疗跟骨骨折的效果,旨在为闭合撬拨辅以中医整复手法复位空心钉内固定术在跟骨骨折治疗中的应用推广提供依据。本研究中闭合撬拨辅以中医整复手法

复位空心钉内固定术治疗跟骨骨折的手术时间短,术中出血量少,术后住院时间短,患者术后距下后关节面移位低于术前,并发症少,骨折愈合时间短,其治疗安全性良好,且费用低,是治疗跟骨骨折的安全有效方法。

跟骨骨折手术治疗中,术后切口感染、皮肤坏死等并发症以及术后内固定物的取出均可对患者造成明显痛楚,增加治疗困难及治疗费用^[11-12]。本研究中闭合撬拨辅以中医整复手法复位空心钉内固定术治疗跟骨骨折的手术创伤小,术后患者血浆 CRP、IL-6、PCT 和 D-D 等炎症指标水平较低,操作更简便易行,治疗费用低,术后切口感染、皮肤坏死等发生风险低,并发症相关干预支出较少,更有利于术后骨折愈合。本研究中根据 Maryland 评分系统进行手术治疗效果评价时,发现仍有 3.33% 的患者治疗效果为中,提示闭合撬拨辅以中医整复手法复位空心钉内固定术治疗跟骨骨折对术后患者功能康复的改善效果有待进一步提高,这可能与术后总体观察时间偏短,手术患者个体差异,且本研究的样本量较小等因素相关。跟骨骨折原因多为承受垂直暴力,多数患者的跟骨周围韧带保持完整,而这些韧带与跟骨周围软组织可限制距跟关节异常活动度,手法复位可有效利用跟骨周围韧带完整性限制关节异常活动,通过韧带的限制关节,使其不会过度张开;同时手法复位可促使关节骨块自压缩处牵引出来,其中

反复的内外翻与前后向运动复位操作可促使距下关节面恢复平整和正常活动^[13-15]。因此,本研究辅以手法复位可更有效进行骨折复位,为骨折愈合以及足功能的恢复提供良好基础。

综上所述,跟骨骨折闭合撬拨复位空心钉内固定术可快速缓解患者疼痛症状,创伤较小,可有效减少术后炎症反应和并发症,促进骨折愈合和足功能恢复,具有良好的可行性和安全性,治疗费用较低,可在临床推广应用。

【参考文献】

[1] 陈明,邓葵,曾晚辉,等.微创跗骨窦小切口手法复位内固定治疗 Sanders II、III型跟骨骨折[J].中华外科杂志,2017,55(3):220-223.

[2] SCHEPERS T, BACKES M, DINGEMANS SA, et al. Similar anatomical reduction and lower complication rates with the sinus tarsi approach compared with the extended lateral approach in displaced intra-articular calcaneal fractures [J]. J Orthop Trauma, 2017, 31(6):293-298.

[3] WANG C, HUANG D, MA X, et al. Sustentacular screw placement with guidance during ORIF of calcaneal fracture: an anatomical specimen study [J]. J Orthop Surg Res, 2017, 12(1):78-78.

[4] SONMEZ MM, ARMAGAN R, UGURLAR M, et al. Allografts versus equine xenografts in calcaneal fracture repair [J]. J Foot Ankle Surg, 2017, 56(3):510-513.

[5] 吴生华.中药熏洗辅助中医特色手法康复治疗跟骨骨折 54 例 [J].浙江中医杂志,2018,53(5):353.

[6] ARORA C, JAIN AK, DHAMMI IK. Outcome of percutaneous fixa-

tion of calcaneal fractures: a prospective analysis in an Indian population [J]. J Foot Ankle Surg, 2019, 58(3):502-507.

[7] PARK J, CHE JH. The sinus tarsi approach in displaced intra-articular calcaneal fractures [J]. Arch Orthop Trauma Surg, 2017, 137(8):1055-1065.

[8] YAO H, LIANG T, XU Y, et al. Sinus tarsi approach versus extensile lateral approach for displaced intra-articular calcaneal fracture: a meta-analysis of current evidence base [J]. J Orthop Surg Res, 2017, 12(1):43.

[9] 张元松.跗骨窦入路空心钉内固定和外侧扩大切口钢板内固定术治疗 Sanders II、III型跟骨骨折比较[J].创伤外科杂志,2016,18(11):666-670.

[10] 武胜,黄金星,董国良,等.微创治疗跟骨骨折的复位技巧与原理探讨[J].内蒙古中医药,2017,36(14):5.

[11] FAROUK A, IBRAHIM A, ABDELLA MM, et al. Effect of subtalar fusion and calcaneal osteotomy on function, pain, and gait mechanics for calcaneal malunion [J]. Foot Ankle Int, 2019, 40(9):1094-1103.

[12] AMANI A, SHAKERI V, KAMALI A. Comparison of calcaneus joint internal and external fractures in open surgery and minimal invasive methods in patients [J]. Eur J Transl Myol, 2018, 28(2):7352.

[13] 马印来,魏玉良,陈维栋.手法加撬拨复位及克氏针固定结合中医治疗跟骨骨折的临床体会[J].内蒙古中医药,2014,33(6):82-83.

[14] 聂伟志.7种骨折的中医优势技术介绍[J].中国中医骨伤科杂志,2017,25(7):70-75.

[15] 桂诗琪.中医手法撬拨复位结合切开内固定术治疗跟骨骨折的护理[J].中医药导报,2014,20(5):144-145.

(上接第 536 页)

【参考文献】

[1] 苏锐锋,苏畅,谭小波,等.PRP对DM视网膜病变患者神经纤维层厚度及视野的影响[J].国际眼科杂志,2020,20(1):154-157.

[2] JI L, SU Q, FENG B, et al. Structured self-monitoring of blood glucose regimens improve glycemic control in poorly controlled Chinese patients on insulin therapy: results from COMPASS [J]. Journal of Diabetes, 2017, 9(5):495-501.

[3] SAHAJPAL N S, GOEL R K, CHAUBEY A, et al. Pathological perturbations in diabetic retinopathy: hyperglycemia, AGEs, oxidative stress and inflammatory pathways [J]. Curr Protein Pept Sci, 2019, 20(1):92-110.

[4] 颜华,韩琪,许瀛海,等.玻璃体切割手术对DM患者血糖的影响[J].中华眼底病杂志,2000,16(3):22-24.

[5] 李站稳,刘喆,杨武臣,等.钠钾镁钙葡萄糖注射液对DM患者术中血糖及电解质的影响[J].中国老年学杂志,2015,35(11):3140-3141.

[6] QUAGLIARO L, PICONI L, ASSALONI R, et al. Intermittent high

glucose enhances ICAM-1, VCAM-1 and E-selectin expression in human umbilical vein endothelial cells in culture: the distinct role of protein kinase C and mitochondrial superoxide production [J]. Atherosclerosis, 2005, 183(2):259-267.

[7] RISSO A, MERCURI F, QUAGLIARO L, et al. Intermittent high glucose enhances apoptosis in human umbilical vein endothelial cells in culture [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2001, 281(5):E924-930.

[8] 陈王灵.老年2型DM患者视网膜病变与血糖波动的相关性[J].中国老年学杂志,2014,34(14):3824-3825.

[9] AL-RUBEAN K, ABU EL-ASRAR AM, YOUSSEF AM, et al. Diabetic retinopathy and its risk factors in a society with a type 2 diabetes epidemic: a Saudi National diabetes registry-based study [J]. Acta Ophthalmol, 2015, 93(2):e140-147.

[10] 陈淑惠,孟倩丽,张敏,等.2型DM视网膜病变与DM其他并发症的相关性[J].国际眼科杂志,2016,16(2):309-312.

[11] 王若琦,席波,李天资,等.原发性高血压患者胰岛β细胞功能和胰岛素抵抗研究[J].临床心血管病杂志,2010,26(3):196-198.

20 例腹主动脉瘤腔内修复术的临床分析

夏友传¹, 乔 彤², 司春强¹, 薛清泉¹, 梁双超¹, 冯桂林¹

(1. 皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 血管外科, 安徽 芜湖 241001; 2. 南京大学附属鼓楼医院 血管外科, 江苏南京 210000)

【摘要】目的:探讨血管腔内修复术(EVAR)治疗腹主动脉瘤(AAA)的临床疗效、并发症及处理对策。**方法:**回顾性分析弋矶山医院2015年6月~2020年6月收治的20例EVAR术后的AAA患者的临床资料。**结果:**术后出现I型内漏3例,III型内漏2例,经球扩后明显改善。术后出现臀部疼痛1例,随访6个月后臀部缺血症状基本改善。无瘤体破裂及死亡病例。**结论:**EVAR具有创伤小、恢复快、近期效果良好等优点,但远期治疗效果及相关并发症仍需要进一步的观察、随访并总结。

【关键词】腹主动脉瘤;血管腔内修复术;回顾性分析

【中图分类号】R543.16;R 654.3 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.013

Clinical analysis of endovascular repair of abdominal aortic aneurysm in 20 cases

XIA Youchuan, QIAO Tong, SI Chunqiang, XUE Qingquan, LIANG Shuangchao, FENG Guilin

Department of Vascular Surgery, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To observe the clinical efficacy and complications of endovascular repair of abdominal aortic aneurysm, and investigate the treatment strategies. **Methods:** Retrospective analysis was performed in 20 cases of abdominal aortic aneurysm treated by endovascular aneurysm repair (EVAR) in our hospital between June 2015 and June 2020. **Results:** Type-I and type-III endoleaks occurred respectively in 3 and 2 cases after operation, and generally managed by balloon expansion. Ischemia at hip was primarily improved after half a year of follow-up. There were no cases of tumor rupture or death. **Conclusion:** Endovascular repair of abdominal aortic aneurysm has merits of minor trauma and quick recovery with better short-term effect, yet the long-term outcome needs prolonged observation on follow-up basis.

【Key words】 abdominal aortic aneurysm; endovascular aneurysm repair; retrospective analysis

腹主动脉瘤(abdominal aortic aneurysm, AAA)是指腹主动脉壁退变、遗传或一些先天因素致血管壁逐步扩张,一般将瘤体直径增大超过50%以上称之为动脉瘤,患者多伴有长期的高血压、糖尿病等慢性疾病。AAA一旦出现瘤体破裂,病人病死率极高^[1-2]。目前随着生活水平的改善,医疗条件的提高,通过体检发现有越来越多的无症状性或以腹部搏动性包块为首要表现的动脉瘤患者来院就医。在20世纪90年代以前主要是采取将AAA切除并置换人工血管来治疗,而在1990年以后出现了一种以覆膜支架进行主动脉腔内修复的技术,随着支架设计及材料的逐步改进、介入操作技术及经验的积累,

有越来越多的AAA患者首选血管腔内修复术(endovascular aneurysm repair, EVAR)治疗^[3],现将弋矶山医院2015年6月~2020年6月收治的经EVAR治疗的20例AAA患者的临床资料报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析弋矶山医院2015年6月~2020年6月收治的经EVAR治疗的20例AAA患者的临床资料。其中13例男性,7例女性;平均年龄(71.3±9.3)岁;合并高血压12例,糖尿病1例,冠心病2例,心脏支架植入1例,单侧髂内动脉被覆盖者3例,单侧髂内动脉弹簧圈栓塞后覆盖者

基金项目:江苏省“六大人才高峰”资助项目(2012-WS-094)

收稿日期:2020-06-23

作者简介:夏友传(1981-),男,主治医师,(电话)13855305405,(电子信箱)xye34241419@sina.com;

乔 彤,男,主任医师,教授,(电子信箱)qiaotongmail@aliyun.com,通信作者。

3 例。

1.2 手术方法 所有患者均在 DSA 室全麻后手术,消毒后行双侧腹股沟纵行切口游离出股总动脉并置鞘,用金标导管行肾动脉下方腹主动脉造影,测量 AAA 的瘤颈直径及长度,选定好支架,其中植入先健(Ankura)10 例、COOK(Zenith)9 例、Medtronic 1 例。选择好支架后,开始全身肝素化,置入超硬导丝(landquist)于主体侧,退出金标导管,并同时金标导管从对侧置入肾动脉上方,将拟放置的支架通过超硬导丝引导至肾动脉水平,通过对侧预置的导管造影,标记最低肾动脉位置。将覆膜支架起始部分从最低位肾动脉下方开始释放至对侧短腿弹出,固定主体支架,退下金标导管,超选主体支架短腿,用金标导管造影证实进入支架后,明确髂内动脉开口的位置及测量需要放置髂支的长度及直径,选择合适支架置入加硬导丝释放,然后释放主体支架的长腿,再次行髂动脉造影,标记髂内动脉起始的位置,植入髂支,行腹主动脉造影后如无特殊缝合血管及切口,包扎。

2 结果

所有病例均顺利植入支架,术后 2 周内均痊愈出院,无术中、术后瘤体破裂及死亡病例,术中出血少。经球囊贴服处理后术中造影出现的 3 例 I 型内漏及 2 例 III 型内漏均明显好转,经 6 个月后的 CTA 复查随访内漏均消失。术后腹股沟切口出现脂肪液化、淋巴漏 3 例,经引流换药处理后愈合;出现臀肌痉挛疼痛者 1 例,给予口服抗血小板、扩张血管等药物治疗,随访 6 个月后疼痛不适症状改善,未出现肠缺血及臀肌坏死病例。

3 讨论

3.1 EVAR 治疗 AAA 的效果 治疗 AAA 的目的是避免瘤体增大破裂,而采取保护病变的血管或者切除病变血管并置换,重建血流通道达到解除病患是治疗 AAA 的方式。传统开放手术成熟,效果好^[4],但存在创伤大,失血量较多,恢复慢,因此部分年纪较大又合并冠心病、糖尿病、肺部疾患等病人由于难以耐受手术而放弃治疗或术后出现严重并发症甚至导致患者死亡。1991 年 Parodi 等^[5]首次报道采用 EVAR 治疗 AAA 获得成功,在此之后 EVAR 在各国广泛开展,得益于材料的进步,新型支架的出现和影像技术的发展,尤其近 10 年来发展迅速, EVAR 在国内很多医院成为常规手术进行开展。

本组病例中均采用了 EVAR 治疗的 AAA 患者,

从患者术后及随访的影像结果看是满意的,无明显内漏、支架移位、断裂、扭曲、闭塞等情况,无瘤体破裂、肠道缺血、肢体跛行等并发症。有研究^[6]统计 EVAR 及传统手术术后 1 个月的病死率分别为 1.7% 及 4.6%,另一实验^[7]为 0.5% 及 3.0%,两者均有统计学意义,评估了 EVAR 的安全性和有效性。

3.2 EVAR 治疗的适应证 所有 AAA 患者拟行 EVAR 前,需要 CTA 检查来评估瘤颈条件,瘤体长短、远端髂动脉的直径等情况,行 EVAR 治疗需要满足这些条件,方能安全有效的治疗,否则易出现手术相关并发症甚至需要中转行开放性手术治疗,因此术前的评估很重要。AAA 需要符合下列的一些条件方能手术,其中瘤颈直径需要在 28 mm 内,瘤颈的长度要在 15 mm 以上,瘤颈的角度应在 60° 以下,远端髂动脉锚定区直径要 <20 mm,不能有严重钙化、狭窄及重度扭曲,血管入路直径在 7 mm 以上。随着材料的改进及技术的进展,也有一些超适应证的病例选择 EVAR 治疗,Gallito 等^[8]报道了 60 例超适应症短瘤颈手术病例,显示了 EVAR 术后的良好效果。本组病例中有 1 例患者瘤颈角度 >60°,但经过 EVAR 术后,影像学效果满意,瘤腔消失,未见明显内漏(见图 1)。



A. 术前 CTA 的影像; B. 术中造影的影像; C. 支架植入后的造影影像; D. 半年后复查 CTA 的影像。

图 1 1 例瘤颈角度 >60° 的经 EVAR 术的 AAA 患者的手术前后影像

3.3 EVAR 手术并发症的处理

3.3.1 入路血管的损伤出血 多是由于股动脉或髂动脉硬化狭窄所致。管腔狭小,难以通过输送系统,或者在髂支支架放置完毕后远端球囊扩张导致

血管破裂出血。对于前者在术前评估中要考虑到预先处理入路问题,如狭窄处行球囊预扩张,内膜剥脱术或者向上延伸切口游离髂动脉,在满意的血管处端侧缝合一根人工血管建立入路通道。对在术中造成损伤的病人,给予局部球囊加压暂时堵住血管破裂口,并紧急大量补液抗休克治疗,尽快放置覆膜支架封堵血管破口。如髂支支架展开受限,可辅助支架内球囊扩张,但要注意球囊内压力不可过大,且球囊尽量位于支架内扩张,根据造影情况考虑是否需要植入自膨式支架。

3.3.2 内漏 目前主要分为四型, I 型是支架近远端与动脉壁贴合不佳; II 型内漏主要是由于开口于瘤壁内的分支血管由于血流动力学的变化,血液返流入瘤腔内,普通的 CTA 难以诊断,主要是造影剂并不直接从主动脉流出,所以显影较迟,CT 难以捕捉到其显影; III 型是由于支架腿支及髂支衔接不良或支架破裂所致; IV 型也叫膜性渗漏,主要是由于支架编织缝隙过大血液从缝隙内渗入瘤腔。目前还有另外一种情况,其主要表现未见明确的造影剂流入和流出,但瘤腔内压力始终是升高的,有人称为内张力型内漏^[9],有导致瘤体破裂可能,可能与支架的材料等有关。这类病人要做好随访及影像学监测,必要时行外科手术治疗避免出现瘤体破裂。对于 I 型内漏主要是用顺应性大球囊扩张支架近远端,造影后发现内漏严重的可能需要在支架的近端植入 Cuff,远端植入延长支,也可以考虑瘤腔内注射生物胶堵塞封堵内漏^[10],部分内漏较轻微的可以随访观察; II 型内漏以随访观察为主,必要时行造影并栓塞相应返流动脉; III 型内漏如是支架间衔接不紧密可以用顺应性球囊贴服,若是脱节或破裂则需要再次植入支架; IV 型可观察,无需处理。

3.3.3 支架的移位 在放置主动脉支架时可能出现定位不准确或在支架的释放过程中有移位导致部分或全部低位肾动脉被覆盖,为保护肾功能需要尽快开通堵塞的肾动脉,如果发生这种情况可以考虑采用在支架顶端用大球囊扩张后向下牵拉支架,但力度要轻柔均匀,避免支架过度下滑,尤其是瘤颈较短和瘤腔较大时更要注意。另外亦可以采用将一根导丝从支架的两个髂支内用圈套器牵引出,牵拉两侧髂支内的导丝使支架下移。如植入支架后发现有明显下滑可能需要在支架的近端继续植入一短段 Kuff 防止内漏,并增加支架的稳定性。

3.3.4 支架的闭塞 在覆膜支架植入后有时可能

出现髂支受压、扭曲、血栓形成导致支架闭塞,这主要是由于瘤颈角度过大、髂动脉的过度扭曲所致,所以在进行腔内治疗前应充分遵循 AAA 腔内治疗的适应症,应考虑这些对手术有重大影响的因素,尤其是对于没有开放性外科手术治疗经验的更是如此,一旦出现并发症可能导致病人出现难以挽回的局面,轻者截肢重则危及生命。对出现髂支闭塞的病人如果合并有较多的血栓,可能需要行取栓或溶栓治疗,必要时行球囊扩张后植入支架,改善血流通畅性,如腔内介入治疗不理想可能需要开腹行瘤体切除置换人工血管,或者行双侧股动脉人工血管转流来改善患侧肢体血供。

3.3.5 其他少见的并发症 低热伴腰痛是支架植入后的常见症状,患者一般口服消炎类药物有效。臀肌痉挛性疼痛、性功能障碍等主要是术中弹簧圈栓塞或支架覆盖了髂内动脉,髂内动脉的通畅可以减少此类并发症的发生,如必须要两侧均覆盖则在术前至少做好一侧的髂内动脉血运重建或者是分次行栓塞手术,观察患者有无症状,如无不适可以择期再次行另一侧的髂内动脉栓塞术,如术后出现了臀部疼痛等不适,可以服用沙格雷酯及贝前列素等药物治疗来改善症状。术后肾功能的恶化可能与造影剂有关,尤其是术前肾功能不良加上麻醉后术中血流动力学的不稳定更易导致肾功能变差,术中注意造影剂的用量并适度水化,注意心功能。其他如切口血肿、淋巴漏、感染等均应引起重视,需要切口引流通畅,加强抗感染治疗,因为一旦导致移植物感染将是灾难性的。

微创、高效是 EVAR 的优点,但远期可能不一定非常理想,有的需要再次行腔内或开放手术治疗,因此对于 EVAR 术后的病人的远期疗效及并发症需要较长时间的随访观察。目前支架耐疲劳实验是以 10 年期来评估的,超过这一年限后支架性能还无法确定,支架形态相对固定,瘤体可能随时间是有变化的,因此对比较年轻的患者采用 EVAR 治疗需要慎重,蔡舟等^[11]认为 AAA 的开放性手术治疗成熟,已经过长时间的检验,远期并发症少,疗效可靠,建议对年轻患者尤其年龄 50 岁以下的 AAA 病人采用传统动脉瘤切除+血管置换手术治疗,慎用腔内治疗。将来如果在支架的设计及材料学方面有进一步突破,EVAR 的适应证必将会进一步扩大。

(下转第 563 页)

55例疑似新型冠状病毒肺炎患者临床诊疗分析

李乾兵¹,刘国栋²,刘和俊¹,黄彩凤³,江 斓⁴,程南生⁵

(安庆市第一人民医院 1.呼吸内科;2.心血管内科;3.重症医学科;4.内分泌科;5.影像中心,安徽 安庆 246003)

【摘要】目的:回顾性分析新型冠状病毒肺炎(COVID-19)疑似病例的临床资料,为排除COVID-19疑似病例提供参考。**方法:**对55例疑似COVID-19病例的临床资料作回顾性分析。**结果:**44例患者发热,52例患者干咳,30例患者乏力;52例患者外周血白细胞计数正常或减少,16例患者淋巴细胞计数降低,外周血白细胞和淋巴细胞计数同时减少者4例;14例影像学无肺炎表现,41例出现不同程度的肺炎影像学改变。44例发热患者入院48h内体温降至正常36例,入院4d后体温降至正常5例;41例肺部CT表现为肺炎的患者48~72h内复查肺部CT,33例有不同程度吸收,5例1周内好转,3例进展为COVID-19确诊病例。**结论:**55例COVID-19疑似患者,根据诊疗方案诊断、治疗和评估,52例为排除病例,均达到解除隔离和出院标准,3例为COVID-19确诊普通型患者,转运至定点医院隔离治疗。

【关键词】疑似新型冠状病毒肺炎;临床分析;排除病例;确诊病例

【中图分类号】R 563.1;R 45 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.014

Clinical diagnosis and treatment management of suspected COVID-19: Analysis in 55 cases

LI Qianbing, LIU Guodong, LIU Hejun, HUANG Caifeng, JIANG Lan, CHENG Nansheng

Department of Respiratory Diseases, The First People's Hospital of Anqing, Anqing 246003, China

【Abstract】Objective: To retrospectively analyze the clinical data in patients with suspected COVID-19 for reference to differential diagnosis of this infection. **Methods:** Retrospective analysis was performed in 55 suspected cases of COVID-19. **Results:** Fever was seen in 44 cases, dry cough in 52 and weakness in 30. Normal or decreased peripheral white blood cell count occurred in 52 cases, and decreased lymphocyte count occurred in 16. Four patients had both decreased peripheral white blood cell count and lymphocyte count. Fourteen patients had no signs of lung infection in imaging, yet imaging changes denoting pneumonia were observed in 41 cases. The body temperature was dropped to normal within 48 h after admission in 36 of the 44 cases, and 4 d after admission in 5 of the 44 cases. Of the 44 patients with typical lung infection by CT findings, repeated CT examination within 48 h to 72 h demonstrated different degree of absorption in 33, and improvement in 5. Another 3 were confirmed as COVID-19. **Conclusion:** Fifty-two of the 55 patients suspected with COVID-19 were excluded by diagnosis, treatment and evaluation in accordance with the guidelines, and discharged. Another 3 were confirmed as mild COVID-19, and transferred to designated hospital for further therapy.

【Key words】 suspected COVID-19; clinical analysis; excluded cases; confirmed cases

新型冠状病毒肺炎(corona virus disease 2019, COVID-19)简称“新冠肺炎”,是由2019新型冠状病毒^[1-2]感染引起的肺炎,具有明显的传染性。根据《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》诊断标准主要依靠流行病学史和(或)临床表现。现将安庆市第一人民医院救治的COVID-19疑似患者的临床资料进行回顾性分析如下。

1 资料与方法

1.1 资料来源 2020年1月26日~2020年2月

13日按隔离要求收住安庆市第一人民医院发热病房治疗的55例COVID-19疑似患者。

1.2 诊断标准 根据国家卫生健康委办公厅、国家中医药管理局办公室国卫办医函[2020]184号《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》(简称诊疗方案(试行第七版))诊断标准^[3]疑似病例:有流行病学史中的任何1条,且符合临床表现中任意2条。无明确流行病学史的,符合临床表现中3条。

1.3 统计学处理 计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用SPSS 11.0软件作统计处理,组间比较采

基金项目:安庆市新型冠状病毒感染疫情应急科技计划项目(2020Z1008);安庆市医学重点学科建设计划(宜卫人教[2017]168号)

收稿日期:2020-02-25

作者简介:李乾兵(1972-),男,副主任医师,(电话)13966958937,(电子信箱)leeqian-b@163.com。

用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者病史特点 55 例 COVID-19 疑似患者年龄 15 ~ 79 岁, 男性 27 例, 平均年龄(36.85±15.48) 岁, 女性 28 例, 平均年龄(40.96±12.68) 岁, 性别差异无统计学意义($t = 1.079, P = 0.286$); 符合诊疗方

案(试行第七版)诊断标准流行病学史中至少 1 条的患者 31 例(56.36%), 无明确流行病学史的, 符合临床表现中 3 条的患者 24 例(43.64%); 以发热、干咳、乏力为主; 多为白细胞总数正常或降低, 部分患者淋巴细胞计数减少; 大多患者肺部影像学表现为不同程度的肺炎(见表 1)。

表 1 55 例 COVID-19 疑似患者的病史特点[n(%)]

性别		诊断标准						发热	干咳	乏力	WBC 正常 或降低	LYM 减少	肺部 HRCT 表现	
男	女	1	2	3	4	1~4	5						无肺炎 表现	有肺炎 表现
27 (49.09)	28 (50.91)	9	2	18	2	31 (56.36)	24 (43.64)	44 (80.00)	52 (94.55)	33 (60.00)	52 (94.55)	14 (25.45)	14 (29.79)	41 (74.55)

诊断标准: 1. 符合诊疗方案(试行第七版)流行病学史(简称流行病学史); 2. 符合流行病学史; 3. 符合流行病学史; 4. 符合流行病学史; 5. 符合诊疗方案(试行第七版)临床表现中的 3 条。

2.2 41 例 COVID-19 疑似患者胸部 HRCT 特点 55 例患者中 41 例行 HRCT, 具体特点见表 2。

属(后该亲属确诊为 COVID-19)多次家庭聚餐, 3 例均为普通型 COVID-19, 均以发热伴干咳入院, 2 例有乏力表现, 肺部 HRCT 表现为左下肺单发磨玻璃影 1 例, 多发小斑片影及间质改变 2 例, 病变分布于中外侧肺野, 靠近胸膜下, 其中 1 例为单侧肺部病变。

表 2 41 例 COVID-19 疑似患者胸部 HRCT 特点[n(%)]

胸部 HRCT 影像学						
A	B	C	D	A+C	C+D	A+C+D
29(70.73)	6(14.63)	0(0)	0(0)	4(9.76)	1(2.44)	1(2.44)

胸部 HRCT 影像学表现: A. 多发小斑片影及间质改变; B. 双肺多发磨玻璃影、浸润影; C. 肺实变; D. 胸腔积液。

2.3 55 例 COVID-19 疑似患者均行咽拭子新型冠状病毒核酸检测, 1 例(1.82%) 第一次检测阳性, 2 例(3.63%) 第二次检测阳性, 均按照《新型冠状病毒感染的肺炎病例转运工作方案》(试行)转运至我市定点医院隔离治疗, 后经省级诊断机构确诊为 COVID-19 病例; 52 例(94.55%) 连续至少两次呼吸道标本核酸检测(采样时间至少间隔 1 天)为阴性, 为排除病例。

3 讨论

2019 年 12 月以来, 湖北省武汉市陆续发现了多例新型冠状病毒感染的肺炎(COVID-19)的蔓延, 我国其他地区及境外也相继发现了此类病例^[3]。COVID-19 的传染性比较强, 我市与湖北毗邻, 人员往来密集, 随着疫情的蔓延, 我市及周边地区也出现 COVID-19 疑似或确诊患者并呈蔓延趋势。我院作为我市救治 COVID-19 患者的后备医院, 收治 COVID-19 疑似患者, 予以隔离治疗。

2.4 治疗效果评价 55 例 COVID-19 疑似患者均按照诊疗方案(试行第七版)治疗。44 例(80.00%) 发热患者, 入院 48 h 内体温降至正常 36 例(81.82%), 入院 4 天后体温降至正常 5 例(11.36%), 3 例(6.82%) 体温未控制的均为确诊 COVID-19, 52 例(94.55%) 患者有干咳症状, 43 例(82.69%) 1 周内均有好转或改善; 41 例肺部 HRCT 显示有肺炎表现的 COVID-19 疑似患者 3 天内复查胸部 HRCT 均有不同程度吸收的 33 例(80.49%), 7 天内有不同程度吸收的 5 例(12.19%), 3 天内病灶进展的 3 例(7.32%), 为确诊 COVID-19。

本次收治的 55 例 COVID-19 疑似病例中, 有流行病学史患者 27 例(57.45%), 其中 3 例(6.38%) 为确诊 COVID-19, 以输入性和接触性病例为主。COVID-19 以发热、干咳、乏力为主要表现^[3], 55 例 COVID-19 疑似病例中, 患者表现以发热、干咳、乏力为主, 分别占 80.00%、94.55% 和 60.00%; 多有外周血白细胞总数正常或降低(94.55%), 部分患者淋巴细胞计数减少(25.45%)。大多患者肺部影像学表现为不同程度的肺炎, 考虑为轻症患者多未就诊或居家隔离留观有关。41 例肺部影像学表现为不同程度肺炎的 COVID-19 疑似病例中, 患者的胸部 HRCT 影像学表现多分布于肺外周, 以多发小斑片影及间质改变的 29 例(70.73%), 符合诊疗方案(试行第七版)中 COVID-19 的影像学特点, 但近一

2.5 3 例确诊 COVID-19 临床特点 根据诊疗方案(试行第七版)诊断标准^[3], 2 例为湖北武汉人或工作长期居住在武汉, 1 例与在湖北武汉经商返乡亲

半为单侧病变,且3例(6.38%)确诊普通型 COVID-19 中2例表现为单侧小斑片影及间质改变。6例(14.63%)表现为双肺多发磨玻璃影、浸润影,这与 COVID-19 早期肺部 CT 表现有差异^[4],可能收治的 COVID-19 病例较少且部分为非 COVID-19 疑似病例有关。少数病例中肺部间质改变、肺胸膜下斑片状磨玻璃影与肺实变、胸腔积液并存,考虑患者合并肺部感染和基础疾病有关。

诊疗方案(试行第七版)中呼吸道标本(鼻咽拭子或痰液标本)行实时荧光 RT-PCR 检测新型冠状病毒核酸阳性的患者为确诊病例,但我院收治的 COVID-19 疑似病例中,仅早期有流行病学史的3例患者呼吸道标本核酸检测阳性,均按照《新型冠状病毒感染的肺炎病例转运工作方案》(试行)转运至我市定点医院隔离治疗,为 COVID-19 确诊病例。52例(94.55%)患者呼吸道标本核酸检测为阴性,考虑为咽拭子阳性率最低有关^[5],可能部分为假阴性,但患者临床和影像学表现不能完全排除 COVID-19 疑似病例,而 CT 检查是临床筛检和诊断 COVID-19 的首选方式之一,且 HRCT 已被强烈推荐为 COVID-19 患者筛查和诊断的首选检查方法之一^[4,6],如患者肺部 CT 检查有 COVID-19 疑似病例的特点,均按照 COVID-19 疑似病例予以隔离治疗。因 COVID-19 患者核酸检测有假阴性,治疗后均按照诊疗方案(试行第七版)解除隔离和出院标准:体温恢复

正常3天以上、呼吸症状明显好转、肺部影像学显示急性渗出性病变明显改善和连续两次呼吸道标本核酸检测阴性(采样时间至少间隔1天)的确定为排除病例,避免部分假阴性患者流入社会,从而控制本地区 COVID-19 疫情蔓延。

【参考文献】

- [1] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 国家卫生健康委关于新型冠状病毒肺炎暂命名事宜的通知[EB/OL]. (2020-02-07) [2020-02-15]. <http://www.nhc.gov.cn/yzygj/s7653p/202002/18c1bb43965a4492907957875de02ae7.shtml>.
- [2] WHO. Novel coronavirus (2019-nCoV) situation report-22 [EB/OL]. (2020-02-11) [2020-02-11]. <https://www.who.int/docs/default-source/coronavirus/situation-reports/20200211-sitrep-22-nCoV.pdf?>
- [3] 国家卫生健康委办公厅,国家中医药管理局办公室. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)国卫办医函[2020]184号[EB/OL]. (2020-03-03). http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-03/04/content_5486705.htm.
- [4] 郑颖彦,马昕,王慧英,等. 新型冠状病毒肺炎的薄层高分辨率计算机断层扫描征象[J]. 上海医学,2020,43(5):261-265.
- [5] 徐凯进,蔡洪流,沈毅弘,等. 2019 冠状病毒病(COVID-19)诊疗浙江经验[J]. 浙江大学学报(医学版),2020,49(2):147-157.
- [6] 靳英辉,蔡林,程真顺,等. 新型冠状病毒(2019-nCoV)感染的肺炎诊疗快速建议指南(标准版)[J]. 解放军医学杂志,2020,45(1):1-20.

(上接第560页)

【参考文献】

- [1] 杨丽霞. 腹主动脉瘤围手术期的护理体会[J]. 江西医药,2006,41(12):1041-1042.
- [2] DE BRUIN JL, BAAS AF, BUTH J, *et al.* Long-term outcome of open or endovascular repair of abdominal aortic aneurysm [J]. *Journal of Vascular Surgery*, 2010, 52(2):1881-1889.
- [3] DUA A, KUY S, LEE CJ, *et al.* Epidemiology of aortic aneurysm repair in the United States from 2000 to 2010 [J]. *J Vasc Surg*, 2014, 59(6):1512-1517.
- [4] CONRAD MF, CRAWFORD RS, PEDRAZA JD, *et al.* Long-term durability of open abdominal aortic aneurysm repair [J]. *J Vasc Surg*, 2007, 46(4):669-675.
- [5] PAROD JC, PALMAZ JC, BARONE HD. Transfemoral intraluminal graft implantation for abdominal aortic aneurysms [J]. *Ann Vasc Surg*, 1991, 5(6):491-499.
- [6] GREENHALGH RM, BROWN LC, EPSTEIN D, *et al.* Endovascular aneurysm repair versus open repair in patients with abdominal aortic aneurysm (EVAR trial 1): randomised controlled trial [J].

Lancet, 2005, 365(9478):2179-2186.

- [7] LEDERLE FA, FREISCHLAG JA, KYRIAKIDES TC, *et al.* Outcomes following endovascular vs open repair of abdominal aortic aneurysm: a randomized trial [J]. *JAMA*, 2009, 302(14):1535-1542.
- [8] GALLITTO E, GARGIULO M, FREYRIE A, *et al.* Results of standard suprarenal fixation endografts for abdominal aortic aneurysms with neck length ≤ 10 mm in high-risk patients unfit for open repair and fenestrated endograft [J]. *J Vasc Surg*, 2016, 64(3):563-570.
- [9] VEITH FJ, BAUM RA, OHKI T. Nature and significance of endoleaks and endotension: summary of opinions expressed at an international conference [J]. *J Vasc Surg*, 2002, 35(5):1029-1035.
- [10] 包俊敏,景在平. 复杂瘤颈的腹主动脉瘤腔内隔绝术治疗的现今认识[J]. 外科理论与实践,2007,12(1):18-20.
- [11] 蔡舟,黄建华. 腹主动脉瘤腔内治疗是否应为首选[J]? 中国医学前沿杂志(电子版),2018,10(11):14-15.

Ack1 和 MMP-14 在涎腺腺样囊性癌组织中的表达与意义

张璇¹,安峰¹,马赛¹,刘振丽¹,刘博²

(河北北方学院附属第一医院 1. 口腔科;2. 病理科,河北 张家口 075000)

【摘要】目的:检测 Ack1、MMP-14 在涎腺腺样囊性癌(SACC)组织中的表达水平,分析两者与 SACC 发生和发展之间有无相关性。**方法:**以免疫组化 SABC 法分别检测 Ack1 和 MMP-14 在 49 例 SACC 组织、24 例涎腺正常组织中的表达水平。**结果:**在 SACC 组织、涎腺正常组织中,Ack1 的阳性细胞表达率分别为 63.3%、33.3% ($P<0.05$);MMP-14 的阳性细胞表达率分别为 67.3%、37.5% ($P<0.05$);在 SACC 组织中,Ack1 及 MMP-14 的表达水平与组织学类型、临床分期、肿瘤细胞是否会侵犯到颈部淋巴结以及是否转移至周围神经有关 ($P<0.05$),但与患者性别和年龄无关 ($P>0.05$);且两者在 SACC 组织中的表达呈正相关($r=0.372,P=0.009$)。**结论:**Ack1 和 MMP-14 与 SACC 的病情发展相关。

【关键词】涎腺腺样囊性癌;活化的 Cdc 42 相关酪氨酸激酶 1;基质金属蛋白酶 14;免疫组化

【中图分类号】R 739.87;R 392.1 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.015

Expression and significance of Ack1/MMP-14 in salivary adenoid cystic carcinoma

ZHANG Xuan,AN Feng,MA Sai,LIU Zhenli,LIU Bo

Department of Stomatology,The First Affiliated Hospital of Hebei North College,Zhangjiakou 075000,China

【Abstract】Objective:To determine the expression of activated Cdc42-associated tyrosine kinase 1(Ack1) and matrix metalloproteinase-14(MMP-14) in salivary adenoid cystic carcinoma(SACC) tissues,and analyze the correlation between Ack1 and MMP-14 in the development and progression of SACC.

Methods:Immunohistochemistry was used to determine both Ack1 and MMP-14 expressed in the tissues of 49 cases of SACC and normal salivary tissues from 24 subjets. **Results:**The positive rate of Ack1 and MMP-14 was 63.3% and 33.3% ,67.3% and 37.5% ,respectively in SACC tissues and in normal salivary tissues(both $P<0.05$). The expression of Ack1 and MMP-14 in SACC was closely associated with tumor histological grade,clinical stage,cervical lymph node invasion and metastasis in peripheral nerve(all $P<0.05$),yet not involved in patient's gender and age at diagnosis(both $P>0.05$). Expression of Ack1 and MMP-14 was positively correlated in SACC($r=0.372,P=0.009$). **Conclusion:**Present findings suggest that Ack1 and MMP-14 play a vital role in the progression of SACC.

【Key words】salivary adenoid cystic carcinoma; Ack1;MMP-14;immunohistochemistry

涎腺腺样囊性癌(salivary adenoid cystic carcinoma,SACC)是腺源性恶性肿瘤,临床较为多见。它的发生和发展相对较慢,但具有以下特征:强烈的侵袭性,易于沿神经传播,可以侵入血管内,经常复发和可伴远处转移^[1]。根据 SACC 在显微镜下的组织学形态的不同,可将其划分为两型,分别为分化相对良好的腺样/管状型和分化较差的实性型。由于现阶段的研究水平有限,对该肿瘤的发生和发展机制尚不明了,并且该肿瘤侵袭性较强,使得该肿瘤的治

疗难度加大,并且无法获得理想的预后,无法保证较长的生存时间。因此,为了得到有效的治疗和理想的预后,对 SACC 做深入研究很有必要。活化的 Cdc42 相关酪氨酸激酶 1(activated Cdc42-associated tyrosine kinase 1,Ack1)过度表达可激发细胞的肿瘤基因,使其活性和侵袭性增加。基质金属蛋白酶 14(matrix metal loproteinase-14,MMP-14)的降解活性是细胞周围环境的有效调节剂,可促进肿瘤的生长和侵袭。本研究应用免疫组化 SABC 技术检测

基金项目:张家口市科学技术研究与发展计划资助项目(1811032D-7);张家口市科技计划自筹经费项目(1921054D);河北北方学院科研一般项目(YB2018022)

收稿日期:2020-05-10

作者简介:张璇(1991-),女,住院医师,(电话)13303138895,(电子信箱)zhangx0523@163.com;

安峰,男,主任医师,教授,(电子信箱)kq126@126.com,通信作者。

Ack1 和 MMP-14 在 SACC、涎腺正常组织中的表达水平,分析两者与 SACC 的关系,并研究两者之间是否存在相关性,探寻其在 SACC 发生发展中可能存在的机制。

1 资料及方法

1.1 资料 实验组的标本采集:收集 2013 年 6 月~2018 年 6 月河北北方学院附属第一医院手术切除的标本蜡块。所有标本在术后均经病理检查,诊断为 SACC,共 49 例。病例的临床资料详实且术前 3 个月内未接受相关抗癌治疗。其中男 28 例,女 21 例;年龄 43~75 岁,中位年龄 58 岁,≥58 岁 25 例,<58 岁 24 例;组织学(2005 年制定的病理学分类标准)类型管状/筛孔型 29 例,实性型 20 例;临床分期(UICC 唾液腺癌 TNM 分类分期,2011) I~II 22 例,III~IV 27 例;颈淋巴结转移 10 例,未转移 39 例;神经系统侵犯 21 例,未侵犯 28 例。

对照组的标本采集:收集手术中切除的 24 例涎腺正常组织作为本研究的对照标本。

1.2 试剂 上海雅吉生物科技有限公司购买兔抗人 Ack1 亲和抗体,武汉维克赛思科技有限公司购买兔抗人 MMP-14 亲和抗体、SABC 检测试剂盒、DAB 试剂。

1.3 免疫组化 以 4 μm 的厚度将所有标本(实验组及对照组蜡块)制成实验切片。切片脱蜡至水后在枸橼酸盐缓冲液中煮沸进行抗原修复。PBS 缓冲液冲洗,每次 5 min,冲洗 2 次。一抗 Ack1、MMP-14 稀释浓度均为 1:200,进行 SABC 法染色(按照说明书操作),苏木精复染,脱水封片。

1.4 结果判定 免疫反应评分法(IRS)对实验结果进行综合评分。具体方法为 PP:实验切片中阳性细胞所占总细胞数的百分比,SI:实验切片中细胞的染色强度,两者相乘计算出最终得分($IRS = PP \times SI$)。在每个切片中选择 200 倍的随机高倍镜视野 10 个,并计算出阳性细胞所占总细胞比例,取平均数:无阳性细胞 PP 计 0 分, $0 < PP \leq 10\%$ 计 1 分, $11\% \leq PP < 50\%$ 计 2 分, $50\% \leq PP < 80\%$ 计 3 分, $PP \geq 80\%$ 计 4 分。无明显染色 SI 计 0 分,染色呈浅棕黄色 SI 计 1 分,染色呈棕黄色 SI 计 2 分,染色呈棕褐色 SI 计 3 分。最终得分 $IRS > 3$ 表示高表达, ≤ 3 表示低表达。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计软件进行数据分析。组间数据比较采用卡方检验,指标间相

关分析采用 Spearman 秩相关检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Ack1、MMP-14 在 SACC 及涎腺正常组织中的表达 阳性表达产物:Ack1 的染色部位主要集中在细胞的胞质和胞膜中,MMP-14 的染色部位大多集中在细胞的胞质中。

以免疫组化 SABC 技术所检测到的 Ack1、MMP-14 在 SACC 中的表达情况见图 1、2。

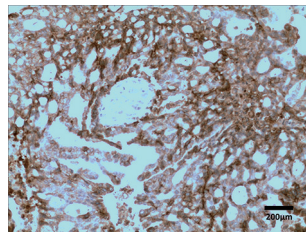


图 1 Ack1 在 SACC 中的表达($\times 100$)

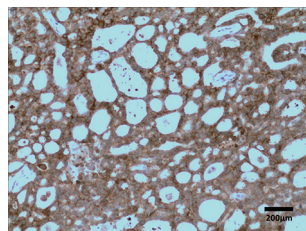


图 2 MMP-14 在 SACC 中的表达($\times 100$)

2.2 Ack1、MMP-14 在 SACC 组织中的表达情况及与 SACC 各临床病理因素之间的相关性 在 SACC 组织中,Ack1、MMP-14 的阳性细胞表达率分别是 63.3%、67.3%。在涎腺正常组织中的阳性细胞表达率分别是 33.3%、37.5%,且组间差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

在 SACC 组织中,Ack1、MMP-14 的表达水平同患者性别和年龄无关($P > 0.05$)。但与肿瘤的组织学类型、临床分期、肿瘤细胞是否会侵犯到颈部淋巴结以及是否转移至周围神经有关($P < 0.05$)。见表 1。

2.3 SACC 组织中 Ack1、MMP-14 的关系 在 SACC 组织标本中检测到 Ack1、MMP-14 同为阳性表达 25 例,同为阴性表达 10 例。两者在 SACC 组织中的表达呈正相关($r_s = 0.372$),差异有统计学意义($P < 0.05$)。

表1 SACC组织及涎腺正常组织中 Ack1、MMP-14 的表达情况及与临床病理因素之间的相关性

组别	n	Ack1		χ^2	P	MMP-14		χ^2	P
		高表达[n(%)]				高表达[n(%)]			
组织类型	SACC 组织	49	31(63.3)	5.800	0.016	33(67.3)	5.874	0.015	
	正常组织	24	8(33.3)			9(37.5)			
性别	男	28	20(71.4)	1.873	0.171	21(75.0)	1.740	0.187	
	女	21	11(52.4)			12(57.1)			
年龄/岁	≥58	25	18(72.0)	1.676	0.196	19(76.0)	1.738	0.187	
	<58	24	13(54.2)			14(58.3)			
组织学类型	管状/筛孔型	29	15(51.7)	4.072	0.044	16(55.2)	4.789	0.029	
	实性型	20	16(80.0)			17(85.0)			
临床分期	I ~ II	22	10(45.5)	5.450	0.020	11(50.0)	5.463	0.019	
	III ~ IV	27	21(77.8)			22(81.5)			
颈淋巴结转移	有	10	10(100.0)	5.445	0.020	10(100.0)	4.369	0.037	
	无	39	21(53.8)			23(59.0)			
神经侵犯	有	21	18(85.7)	7.969	0.005	18(85.7)	5.638	0.018	
	无	28	13(46.4)			15(53.6)			

3 讨论

Ack1 由 Edward 等发现,是一种非受体型的细胞内酪氨酸激酶,在癌细胞存活以及肿瘤形成和转移中具有重要作用。酪氨酸激酶是细胞内信号转导途径的关键调节剂,其活性受到严格控制。染色体易位、过表达或活化突变引起的酪氨酸激酶信号失调可能导致激酶活性和恶性转化的紊乱。其活化可导致细胞不依赖生长因子而大量生长繁殖,细胞凋亡抑制,血管生成,侵袭和转移。酪氨酸激酶的异常激活与人类癌症有因果关系。相关研究发现,Ack1 在人乳腺癌^[2]、食管癌^[3]、前列腺癌^[4]和其他肿瘤组织中具有各种水平的表达上调。在胃癌组织中更是存在明显的表达上调^[5]。Van 等^[6]通过实验发现,在相当一部分的人类肿瘤中,包括 Ack1 基因序列在内的 DNA 片段碱基对的基因拷贝数目显著增加,并证实了 Ack 1 基因的明显扩增。Phillips 等^[7]发现,小鼠肝脏肿瘤中的一系列基因(包括 Ack1)通过苯巴比妥的刺激,会发生明显的低甲基化。这种变化是由于肿瘤基因表达上调引起的。本研究表明,Ack1 在 SACC 组织中的表达水平增高,且同 SACC 的组织学类型、临床分期、肿瘤细胞是否会侵犯到颈部淋巴结以及是否转移至周围神经有关,这表明 Ack1 可作为判断 SACC 病情进展的一个依据。

MMP-14 又被称为 MT1-MMP,是基质金属蛋白酶(MMP)蛋白质家族的成员。MMP 是锌结合的内肽酶,负责细胞外空间中许多蛋白质的降解更新。大多数的肿瘤和其周围的基质细胞会过度表达 MMP,从而更易突破细胞基底膜(BM)和降解细胞

外基质(ECM),这是促进肿瘤生长、局部浸润和远处转移的重要因素^[8]。相关研究表明,MMP-14 在多种人类肿瘤中的表达水平相比正常组织增高,如结肠癌^[9]、肺癌^[10]、宫颈癌^[11]等,这是由于癌细胞上调了 MMP-14 的表达和活性,而 MMP-14 参与各种肿瘤相关的 ECM 的分解,并在肿瘤的转移过程中及高度侵袭性肿瘤或晚期中渗透 BM,从而分解白介素 8、CD44、pro-TNF、胶原蛋白、纤连蛋白、玻连蛋白和层粘连蛋白等一系列蛋白。通过不同的信号传导功能(包括凋亡、血管生成和免疫)促进肿瘤进展。本研究显示,MMP-14 的表达水平与 SACC 的组织学类型、临床分期、肿瘤细胞是否会侵犯到颈部淋巴结及是否转移至周围神经有关。提示 MMP-14 在 SACC 组织中同样可以降解 ECM,并同其他致癌基因一起突破 BM,分解抑癌基因,从而加剧肿瘤的恶性程度及浸润程度,使病情恶化。

将 SACC 组织中 Ack1、MMP-14 的表达水平进行综合性的统计学分析后发现,两者呈正相关($r=0.372, P=0.009$),提示两者间可能存在通路关系,可能因为 SACC 在侵袭及扩散过程中的物理屏障被 MMP-14 消除,为 Ack1 基因的扩增提供机会,从而促进肿瘤细胞的表达上调。但 Ack1 与 MMP-14 在 SACC 的发生过程中的具体机制仍需深入研究确定。

综上所述,Ack1、MMP-14 在 SACC 组织中呈现出高表达,并与部分临床病理因素密切相关。在 SACC 组织中两者的表达水平呈正相关关系。通过分析 Ack1、MMP-14 在 SACC 中的表达水平,有助于我们对 SACC 的临床诊断。

显微根尖手术和传统根尖手术的随机对照研究

樊 聰^{1,2},姚莉莉^{1,2}

(1. 安徽医科大学 合肥口腔临床学院,安徽 合肥 230001;2. 合肥市口腔医院 牙体牙髓科,安徽 合肥 230001)

【摘要】目的:评价显微根尖手术和传统根尖手术治疗难治性慢性根尖周炎的临床疗效。**方法:**82例难治性慢性根尖周炎患牙随机分为两组,研究组实施显微根尖手术,对照组行传统根尖手术,评价术后6个月及术后1年的临床和影像学结果。**结果:**研究组术后7d疼痛程度及疼痛发生率(9.76%)均低于对照组疼痛程度及疼痛发生率(31.71%)($P<0.05$),研究组术后6个月、1年复查成功率(92.68%、90.24%)均分别优于对照组(73.17%、70.73%)($P<0.05$)。**结论:**难治性慢性根尖周炎患牙施行显微根尖手术疗效优于行传统根尖手术。

【关键词】显微根尖手术;传统根尖手术;随机对照

【中图分类号】R 782.05 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.016

Randomized controlled clinical trial of apical micro-surgery and conventional apical surgery for apical periodontitis

FAN Cong, YAO Lili

Department of Endodontics, Hefei Stomatological Hospital, Anhui Medical University, Hefei 230001, China

【Abstract】Objective: To evaluate the clinical effect of apical micro-surgery and conventional apical surgery on refractory chronic periapical periodontitis. **Methods:** Eighty-two patients with refractory chronic apical periodontitis were randomly assigned into observational group and control group. Patients in the observational group underwent apical micro-surgery, and those in the control group were treated by conventional apical surgery. The healing results were clinically and radiographically evaluated at the 6th month and one year after surgery. **Results:** The occurrence rate of pain(9.76%) was significantly lower in the observational group than in the control group(31.71%) in 7 days($P<0.05$), and the successful rate by reexamination at the 6th month and one year following surgery was also higher in observational group than in the control group(92.68% vs. 90.24%; 73.17% vs. 70.73%, respectively, both $P<0.05$). **Conclusion:** Apical micro-surgery is superior to the conventional apical surgery in the treatment of patients with refractory chronic periapical periodontitis.

【Key words】 apical micro-surgery; conventional apical surgery; randomized controlled trial

慢性根尖周炎是一种口腔常见疾病,根管治疗术是治疗慢性根尖周炎最常用的方法。由于根管系统的复杂性,微生物种类及毒力变化,医者治疗技术水平的差异,使得仍有一些病例治疗效果不佳或者治疗失败,常需行根管再治疗,而对于长期不愈的根管外感染、根管外器械分离及真性囊肿等,则往往需行根尖外科手术^[1]。受设备、技术及器械等因素限制,传统根尖外科手术的成功率并不高,而显微根尖外科手术通过照明和放大功能可以明显改善手术视野,更加精准地进行各种操作^[2]。为进一步明确显

微根尖外科技术的临床应用价值,本研究对2017年8月~2019年5月82例符合根尖外科手术指征的慢性根尖周炎患者给予根尖外科手术治疗,评价术后6个月及1年的疗效。

1 资料与方法

1.1 研究对象 以2017年8月~2019年5月合肥市口腔医院牙体牙髓科初诊患者为本研究的筛选对象,将符合纳入标准和排除标准^[3-4]的82例慢性根尖周炎患者随机分配到研究组和对照组,随机过程

基金项目:合肥市卫生和计划生育委员会应用医学研究项目(hwk2017yb004)

收稿日期:2020-05-25

作者简介:樊 聰(1985-),男,主治医师,(电话)18919679150,(电子信箱)hanchel113@163.com;

姚莉莉,女,副主任医师,(电子信箱)yllwyzy@126.com,通信作者。

考虑性别、年龄及牙位因素。纳入标准:①已行根管治疗仍存临床症状;②医源性因素如根管超填、台阶、器械分离等致不能完成根管治疗或再治疗,且伴有临床症状;③解剖因素如根管钙化、根尖孔宽大等不能完成根管治疗。排除标准:①患牙伴有严重牙周病;②根长较短;③伴有严重的精神疾患或全身性疾病,无法耐受手术。所有治疗均由同一名牙髓病专科医师执行。

1.2 材料 牙科显微镜(Carl Zeiss OPMI Pro Ergo, 德国), iRoot BP Plus(Innovative BioCeramix Inc, 加拿大), 超声治疗仪(Satelec, 法国)。

1.3 手术过程 术前患牙常规 CBCT 检查, 0.2% 浓替硝唑含漱液稀释后漱口, 消毒铺巾, 4% 阿替卡因肾上腺素注射液进行局麻。

研究组采用显微根尖手术治疗, 除切开、翻瓣和缝合外, 其余操作均在手术显微镜下进行。患牙唇颊侧牙龈设计切口, 前牙设计为矩形瓣, 后牙设计为三角形瓣, 翻开全厚皮瓣, 有窦道者沿骨破损开窗处使用 45° 高速手机和金刚砂球钻去骨, 无窦道者根据牙根长度数据定位根尖病变位置后去骨, 暴露根尖病变区域。显微镜直视下清除根尖周肉芽组织以及炎症病变组织, 45° 高速手机垂直于牙根长轴切除根尖 3 mm。显微口镜反光下观察根尖切除断面, 亚甲基蓝染色确定根管及可能存在的峡部位置并明确有无根裂, 使用超声治疗仪和适宜角度的超声工作尖在根管末端沿牙根长轴制备洞型, 洞深 3 mm, 去除管间峡部, iRoot BP Plus 修复材料行根尖倒充填, 清理及检查骨腔, 复位瓣膜, 缝合, 1 周后拆线。

对照组采用传统根尖手术治疗, 常规切开、翻瓣、定位开窗及暴露根尖病变区域, 直视下彻底清除肉芽组织以及炎症病变组织, 45° 高速手机与牙根长轴呈 45° 角截除根尖, 球钻倒预备根管, iRoot BP Plus 修复材料行根尖倒充填, 清理及检查骨腔, 复位瓣膜, 缝合, 1 周后拆线。

1.4 随访和干预 术后 1 周、6 个月及术后 1 年随访复查, 行详细的临床检查及拍摄根尖 X 线片(术后 1 周除外)。对于术后随访失败且无保留价值的患牙, 明确病因后拔除, 有保留价值的患牙去除病因后继续随访。

1.5 临床疗效和评价标准

1.5.1 术后 7 d 疼痛反应 术后 7 d 复诊, 参照 VAS 疼痛评分法^[5], 对两组患者术后 7 d 的疼痛情况进行评价, 总分值 10 分, 0 分为无痛, 1~3 分为仅

有轻微疼痛, 4~6 分为中度疼痛, 7~10 分为重度疼痛。
1.5.2 术后 6 个月和术后 1 年疗效评价 对术后 6 个月和术后 1 年的临床及影像学结果进行评价, 影像学结果参照 Rud^[6] 愈合判定标准进行分类, 根尖区透射影像消失, 结构形态恢复正常认定为完全愈合; 根尖区透射影像明显缩小, 但硬骨板不完整, 认定为不完全愈合; 根尖区透射影像有缩小但不明显认定为疗效不确定; 根尖区透射影像无变化或变大认定为未愈合。

疗效评定结果分为成功和失败两种情况。成功为患者临床检查无任何不适, X 线片检查示完全愈合或不完全愈合。失败为患牙存在主观感觉不适、叩痛、形成窦道等, X 线片检查示疗效不确定或未愈合。患牙拔除或行截根术及术后 1 年仍有临床疼痛症状均判定为失败。

1.6 统计学方法 采用 SPSS 18.0 统计软件对数据进行统计分析。计数资料组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法, 等级资料组间比较采用 Wilcoxon 秩和检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基线情况 两组共入组 82 例, 男性 39 例, 女性 43 例, 年龄 20~60 岁。两组患者在性别、年龄及牙位上差异无统计学意义(P>0.05)。见表 1。

表 1 两组基线资料

因素		研究组	对照组	χ^2	P
性别	男	20	19	0.049	0.825
	女	21	22		
年龄/岁	20~	13	14	0.229	0.973
	30~	15	14		
	40~	8	7		
	50~60	5	6		
牙位	上颌前牙	12	11	0.990*	
	上颌前磨牙	9	8		
	上颌磨牙	2	1		
	下颌前牙	8	10		
	下颌前磨牙	8	9		
	下颌磨牙	2	2		

注: * Fisher 确切概率法。

2.2 两组患者术后 7 d 疼痛发生情况比较 施行根尖手术治疗 7 d 后, 研究组疼痛程度及疼痛发生率(9.76%) 均低于对照组疼痛程度及疼痛发生率(31.71%)(P<0.05)。见表 2。

表2 两组术后7 d疼痛发生情况比较[n(%)]

组别	疼痛程度分级				疼痛发生情况	χ^2	P
	无痛	轻度	中度	重度			
研究组	37(90.24)	4(9.76)	0(0.00)	0(0.00)	4(9.76)	6.011	0.014
对照组	28(68.29)	12(29.27)	1(2.44)	0(0.00)	13(31.71)		
Z	2.459						
P	0.014						

2.3 两组患者术后6个月及术后1年疗效评价
 术后6个月和术后1年复查,研究组成功率(92.68%和90.24%)均分别优于对照组(73.17%和70.73%)($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组术后6个月和术后1年临床疗效比较[n(%)]

组别	术后6个月临床疗效		术后1年临床疗效	
	成功	失败	成功	失败
研究组	38(92.68)	3(7.32)	37(90.24)	4(9.76)
对照组	30(73.17)	11(26.83)	29(70.73)	12(29.27)
χ^2	5.513		4.970	
P	0.019		0.026	

3 讨论

保存慢性根尖周炎患牙的首选方法是进行完善的根管治疗,但仍有部分患牙治疗后尖周病变长期不愈,当根管治疗失败而又难以行非手术性的根管再治疗时,根尖手术可能是唯一选择^[7]。

根尖外科手术的目的是通过彻底清除根尖周的病变组织,并在根管内感染物质和根尖周围组织之间形成屏障,促进病变愈合^[8-9]。随着口腔显微镜及显微器械广泛应用于临床,显微根尖技术在临床应用上也得到了大力发展,并逐渐受到临床认可。口腔显微镜具有放大和照明优势,可清晰观察根尖周病变范围,准确定位根尖、管间峡区、侧支根管、遗漏根管等结构,同时可减少手术创伤,达到精准倒预备和严密封闭根尖的效果,使得术后伤口愈合较快且术后反应较小^[10-11]。本研究中,显微组术后疼痛发生率为9.76%,低于传统组的31.71%;术后6个月及术后1年成功率为92.68%和90.24%,高于传统组的73.17%和70.73%,显示出显微根尖手术的良好效果。

根尖手术后的随访对预后维持和疗效判定十分重要,而长期随访对患者依从性要求较高。徐宁等比较术后1年和4年的疗效,结果显示两者成功率差异无统计学意义^[4]。本研究术后6个月复查,研究组和对照组均有1例因根裂治疗失败而拔除。两

组术后1年成功率均低于术后6个月,但观察期成功率差异无统计学意义,与徐宁等结论一致。

口腔显微镜的应用是牙体牙髓病学领域重大的发展之一,对需行根尖手术的难治性慢性根尖周炎患者采用显微根尖手术治疗,相对于采用传统根尖外科手术,其清除效果更为彻底,能够降低术后疼痛发生率,提高手术成功率,值得推广。

【参考文献】

- [1] KIM S, KRATCHMAN S. Modern endodontic surgery concepts and practice: a review [J]. J Endod, 2006, 32(7): 601-623.
- [2] 钱文昊, 洪瑾, 徐培成. 显微根尖手术探查根管治疗失败的可能原因分析[J]. 上海口腔医学, 2015, 24(2): 206-209.
- [3] 申静, 高静, 杜兴华, 等. 97例显微根尖外科手术短期疗效评估[J]. 口腔医学研究, 2015, 31(8): 807-810.
- [4] 徐宁, 王捍国, 余擎. 显微根尖外科手术1年和4年临床疗效对比研究[J]. 牙体牙髓牙周病学杂志, 2017, 27(4): 215-219.
- [5] HAYE R, DΦSEN LK, TARANGEN M, et al. Good correlation between visual analogue scale and numerical rating scale in the assessment of nasal obstruction [J]. J Laryngol Otol, 2018, 132(4): 327-328.
- [6] RUD J, ANDREASEN JO, JENSEN JE. Radiographic criteria for the assessment of healing after endodontic surgery [J]. Int J Oral Surg, 1972, 1(4): 195-214.
- [7] 邱小玲, 贾博, 韩久松, 等. 显微根尖手术联合MTA治疗难治性慢性根尖周炎的研究[J]. 口腔医学研究, 2017, 33(7): 770-772.
- [8] ZHOU W, ZHENG Q, TAN X, et al. Comparison of mineral trioxide aggregate and iroot bp plus root repair material as root-end filling materials in endodontic microsurgery: a prospective randomized controlled study [J]. J Endod, 2017, 43(1): 1-6.
- [9] SAFI C, KOHLI MR, KRATCHMAN SI, et al. Outcome of endodontic microsurgery using mineral trioxide aggregate or root repair material as root-end filling material: a randomized controlled trial with cone-beam computed tomographic evaluation [J]. J Endod, 2019, 45(7): 831-839.
- [10] 陈蕾, 童方丽. 显微根尖外科手术中的常见问题与解析[J]. 口腔疾病防治, 2016, 24(4): 197-203.
- [11] FLORATOS S, KIM S. Modern endodontic microsurgery concepts: a clinical update [J]. Dent Clin North Am, 2017, 61(1): 81-91.

定量组织多普勒超声成像对缺血性心肌病冠脉左主干狭窄的预测价值

纪文艳¹,刘表虎¹,何 仪¹,王 哲¹,朱向明¹,杨 浩²

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 1. 超声医学科;2. 心内科,安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:探讨定量组织多普勒超声成像技术(TDI)对缺血性心肌病患者冠脉左主干狭窄>75%的预测价值。**方法:**回顾性分析纳入103例缺血性心肌病冠脉左主干狭窄>75%的患者(病例组)和健康人群42例(对照组),行TDI测量超声相关参数,ROC曲线分析相关参数对缺血性心肌病患者冠脉左主干重度狭窄的预测价值。**结果:**病例组LVEF低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);与对照组比较,病例组V-bl、V-ba、V-bas、V-bp减小,差异有统计学意义($P<0.05$);V-bl、V-ba、V-bas和V-bp的ROC曲线下面积(AUC)分别约0.68、0.79、0.78、0.71,截点值分别约5.57、4.54、4.72、5.14,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**通过定量分析缺血性心肌病患者多超声参数,认为TDI对缺血性心肌病冠脉左主干重度狭窄具有预测价值,可作为临床诊断冠心病的辅助诊断方法。

【关键词】缺血性心肌病;左主干;组织多普勒超声成像;ROC曲线

【中图分类号】R 542.2;R 445.1 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.017

Predictive value of the quantitative tissue Doppler imaging for severe stenosis of the left main coronary artery in ischemic cardiomyopathy

Ji Wenyan, Liu Biaohu, He Yi, Wang Zhe, Zhu Xiangming, Yang Hao

Department of Ultrasound, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To assess the predictive value of quantitative tissue Doppler imaging (TDI) in severe stenosis (>75%) of the left main coronary artery (LM) in patients with ischemic cardiomyopathy (ICM). **Methods:** Retrospective study was performed in 103 cases of ICM with severe stenosis (>75%) of LM (case group), and 42 healthy subjects (control group). Both the patients and healthy controls underwent measurement of related parameters by quantitative TDI. ROC curve was used to analyze the value of related parameters in predicting the severity of stenosis of LM. **Results:** LVEF as well as levels of Vs-bl, Vs-ba, Vs-bas and Vs-bp was significantly lower in case group than in control group (all $P<0.05$). The area of V-bl, V-ba, V-bas and V-bp under the curve of ROC was 0.68, 0.79, 0.78 and 0.71, and the cut-off value was about 5.57, 4.54, 4.72 and 5.14, respectively. The difference was significant (all $P<0.05$). **Conclusion:** Quantitative analysis of the ultrasonic parameters in ICM patients indicates that TID can be valuable in predicting the severity of stenosis of LM, which may serve as a supplement diagnosis for ICM in clinic.

【Key words】 ischemic cardiomyopathy; left main coronary artery; tissue Doppler imaging; ROC curve

缺血性心肌病(ischemic cardiomyopathy, ICM)是冠状动脉硬化性心脏病的终末阶段,是导致患者发生慢性心力衰竭的重要病因^[1]。目前多采用冠脉造影(coronary arteriography, CAG)作为诊断ICM的金标准^[2],即至少一支冠状动脉狭窄程度>75%,但由于其有创性、局限性及费用高昂,适用性不广。

左主干(left main coronary artery, LM)病变约占冠脉造影阳性结果的3%~5%^[3],比例虽不高,但因

其特殊的解剖属性会导致严重的心肌缺血,病变更为棘手^[4],故在ICM中占据重要地位。本研究探讨组织多普勒超声成像技术(tissue Doppler imaging, TDI)对于缺血性心肌病冠脉左主干重度狭窄的预测价值,旨在为冠心病临床诊疗提供可靠的筛查方法。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选择2013年1月~2020年2月在

基金项目:安徽省中央引导地方科技发展专项项目(201707d08050007);弋矶山医院引进人才基金项目(YR201511)

收稿日期:2020-04-29

作者简介:纪文艳(1993-),女,2018级硕士研究生,(电话)18375342952,(电子信箱)18375342952@163.com;

刘表虎,男,副主任医师,硕士生导师,(电子信箱)lbhwuhu@163.com,通信作者。

弋矶山医院就诊并治疗的 103 例 ICM 患者,所有患者均经 CAG 证实为左主干严重病变,病变累及 1~3 支主要血管,包括左主干单支病变 11 例,左主干合并前降支或回旋支 50 例,左主干合并前降支、回旋支 42 例。见图 1。男 53 例,女 50 例,年龄 37~70 岁,平均年龄(57.48±9.64)岁。纳入标准:①符合缺血性心肌病诊疗指南;②病例中左主干病变均为慢性狭窄;③排除右冠脉狭窄者;④排除罪犯血管非左主干支狭窄程度>75%的病例;⑤无甲状腺功能亢进症、肾功能不全、先天性及瓣膜性心脏病、感染性疾病;⑥无自身免疫性疾病者;⑦排除妊娠期、哺乳期妇女。选取 42 例有相似症状就诊经 CAG 检查正常者作为对照组,男 22 例,女 20 例,年龄 35~65 岁,平均年龄(54.71±8.95)岁。

1.2 仪器与方法 飞利浦 EPIQ 7C 彩色多普勒超声诊断仪,配有 S5-1 二维经胸探头及 X5-1 三维探头,频率均为 1~5 MHz,配有分析软件,受检者左侧卧位,常规连接 ECG。常规二维超声心动图检查:采用双平面辛普森法测得左室射血分数(left ventricular ejection fraction,LVEF)。

获取心尖四腔、二腔及三腔切面超声二维图像在 TDI 模式下存储,每个切面取连续 3 个心动周期的图像以供脱机分析。选择 SQ 模式进行分析,选择 M-line,手动选取基底段室壁,将取样容积置于该节段各位点心内膜,适当调节将心内膜包络完整,得到组织速度运动曲线,分别记录侧壁、后间隔、前壁、下壁、前间隔、后壁的收缩期最大峰值速度,依次记为 V-bl、V-bs、V-ba、V-bi、V-bas、V-bp。见图 2。以上测量均重复 3 次,记录其平均值。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 18.0 及 MedCalc 15.2.2 软件进行数据分析与绘图。计数资料以 n(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用两独立样本 t 检验;同时计算灵敏度、

特异度等,并绘制工作特征(ROC)曲线。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料及常规二维超声参数比较 两组年龄、性别、高血压病、2 型糖尿病和 HR 指标差异均无统计学意义($P>0.05$);病例组 LVEF 指标低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

2.2 左室壁基底段收缩期峰值速度比较 与对照组比较,病例组 V-bl、V-ba、V-bas、V-bp 减小,差异有统计学意义($P<0.05$);而两组参数 V-bs、V-bi 比较差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

2.3 病例组超声参数 ROC 曲线分析 V-bl、V-ba、V-bas 和 V-bp 的 ROC 曲线下面积(AUC)分别约 0.68、0.79、0.78、0.71,截点值分别约 5.57、4.54、4.72、5.14,差异均有统计学意义($P<0.05$)。4 个参数的 AUC 比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3、图 3。

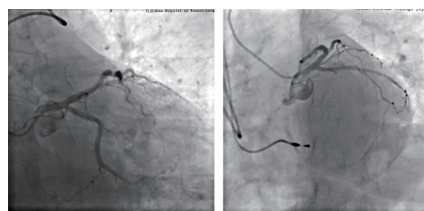


图 1 冠脉造影图

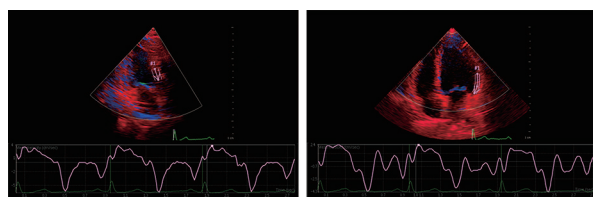


图 2 组织多普勒图

表 1 一般资料及常规二维超声参数比较($\bar{x}\pm s$)

组别	年龄/岁	男性	HBP	T2DM	HR/(次/分钟)	LVEF/%
对照组(n=42)	54.71±8.95	22	9	6	76.71±8.12	58.08±5.49
病例组(n=103)	57.48±9.64	53	22	15	77.31±9.32	39.31±3.93
t/χ^2	1.596	0.010	0.000	0.002	0.373	23.100
P	0.113	0.919	0.993	0.966	0.710	0.000

表 2 左室壁基底段收缩期峰值速度比较(cm/s, $\bar{x}\pm s$)

组别	V-bl	V-bs	V-ba	V-bi	V-bas	V-bp
对照组(n=42)	6.01±1.83	5.97±0.42	5.68±1.04	6.17±0.75	5.50±1.45	5.58±2.19
病例组(n=103)	4.62±1.80	5.80±0.51	3.98±1.61	5.93±0.82	4.23±0.93	3.78±1.37
t	4.243	1.800	6.305	1.647	6.291	5.987
P	0.000	0.074	0.000	0.102	0.000	0.000

表3 病例组超声参数 ROC 曲线分析

参数	SEN/%	SPE/%	Youden Index	cut off	AUC	95% CI	P
V-bl	79.61	57.14	0.37	5.57	0.68	0.60~0.76	0.000
V-ba	59.22	95.24	0.54	4.54	0.79	0.72~0.85	0.000
V-bas	67.96	83.33	0.51	4.72	0.78	0.71~0.85	0.000
V-bp	87.38	47.62	0.35	5.14	0.71	0.63~0.79	0.000

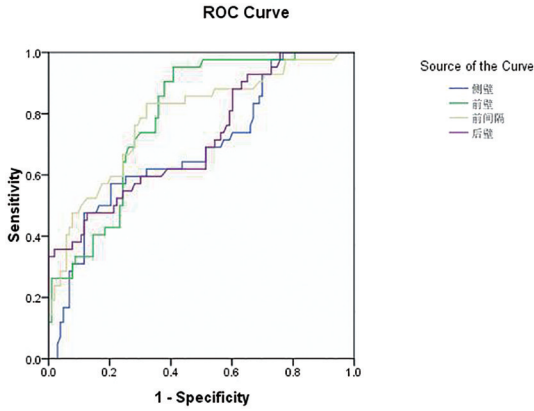


图3 病例组 ROC 曲线分析

3 讨论

ICM 是由于冠状动脉粥样硬化、多支血管管腔狭窄,心肌长期缺血所导致的心肌严重功能障碍性疾病,在临床上较为常见^[5],也是导致左心室功能不全的重要病因^[6]。诊断 ICM 冠状动脉狭窄的金标准为 CAG 发现至少一支冠状动脉狭窄程度 > 75%,但其风险和成本一直是困扰人们的问题。因此,选择一种无创、经济有效的检查方法作为 CAG 的替代或参考手段具有实际临床意义。目前超声对于 ICM 的研究多局限于参数与 ICM 间的定性关系,冠状动脉具体受累支的定量研究较为少见。TDI 技术可无创定量检测心肌运动异常与否,对局部心肌运动尤为敏感^[7],因此本研究采用 TDI 技术对 ICM 患者 LM 重度狭窄进行预测评估,旨在量化超声参数与 ICM 受累冠状动脉间的关系,进而为冠心病患者提供普适性检查方法。

既往循证临床研究表明心肌组织速度对于重大心血管不良事件具有很强的预测价值^[8],收缩功能可作为心肌活性的参考标准,因此本研究采用基底段收缩期峰值速度作为缺血心肌预测指标。右冠脉优势者的左心室 75% 的血供由 LM 提供^[9],侧壁、后壁的心肌具有双重血供,其中侧壁及后壁基底段的血供主要由左回旋支(left circumflex branch, LCX)供应,前壁及前间隔基底段的血供由左前降支(left anterior descending branch, LAD)供应,下壁及后间隔基底段的血供由右冠脉(right coronary artery,

RCA)供应。当 LM 严重狭窄时会造成总灌注量不足,而 LAD 对灌注量的敏感性较 LCX 高。本研究发现 ICM 患者左室前壁、前间隔、侧壁及后壁基底段收缩期峰值速度均较对照组减低,差异有统计学意义,以上说明 ICM 患者 LM 严重病变致使左心室基底段大部分心肌区域缺血、收缩功能明显受损,而对 RCA 供应的下壁及后间隔基底段影响不大。心肌在长期缺血状态下会建立冠状动脉侧支循环以平衡心肌血氧供需,本研究病例均存在慢性狭窄过程,因此多有良好的侧支循环。由于 LM 的解剖位置特殊,当 LM 严重病变时,侧支循环代偿已不足以维持心肌良好的收缩功能。ROC 曲线分析左室前壁、前间隔、侧壁及后壁基底段收缩期峰值速度指标中 AUC 均 > 50%,说明以上参数均对 ICM 患者 LM 重度狭窄具有预测价值,通过追踪心肌运动可识别狭窄冠脉所影响的区域,其中前壁、前间隔及后壁的 AUC > 70%,说明诊断准确度中等。大多数情况下 LM 的粥样硬化是弥漫性的,使 LM 的总灌注量显著减少,而 LM 的血运状态较大可能影响 LAD、LCX 的血供,LAD 对 LM 的血运状态更为敏感,严重时可能会造成所支配区域的心肌缺血,本研究结果与临床实际相符。以上结果说明 LM 严重病变会导致左冠脉严重缺血,以 LAD 更为敏感,且心肌缺血区域与受累冠脉密切相关,进而量化了超声参数与受累冠脉间的关系。

本研究尚存在不足之处,所采用的 TDI 技术具有角度依赖性,对图像质量要求较高。本研究为回顾性分析,样本量不够大,患者均来源于本院,选择偏倚无法避免。另外,孤立性冠脉左主干病变在临床上较为少见。这些不足之处有待进一步研究改进。

综上所述,TDI 技术对缺血性心肌病冠脉左主干重度狭窄具有预测价值,对于冠心病患者具有一定诊断价值,值得临床推广应用。

【参考文献】

- [1] ABUDERMAN A, ABBAS M. Morphological changes evaluation of left atrial appendage in patients with ischaemic heart disease [J]. Biomedical Journal, 2016, 39(4): 1-6.
- [2] HOUJUAN ZUO, YAN ZHANG, FEI MA, et al. Myocardial deformation pattern differs between ischemic and non-ischemic dilated cardiomyopathy: the diagnostic value of longitudinal strains [J]. Elsevier Inc, 2020, 46(2): 233-243.
- [3] RAJIV RAMPAT, DAVID HILDICK. Left main stem percutaneous coronary intervention data and ongoing trials [J]. Interventional Cardiology Review, 2015, 10(3): 132-135.

COVID-19 病人首诊胸部 CT 的临床价值分析

袁玉山¹, 马培旗¹, 张磊¹, 张杨¹, 彭彬¹, 乔阿龙¹, 王仲秋¹, 张宗夕¹, 陈飞², 方献冬³, 高友富⁴

(1. 阜阳市人民医院 影像中心, 安徽 阜阳 236000; 2. 临泉县人民医院 CT/MRI 室, 安徽 临泉 236400; 3. 阜南县第三人民医院 影像科, 安徽 阜南 236300; 4. 太和县中医院 影像中心, 安徽 太和 236600)

【摘要】目的:探讨新型冠状病毒肺炎(COVID-19)病人首诊胸部 CT 的临床价值。**方法:**回顾性分析 164 例 COVID-19 和疑似 COVID-19 病人首诊胸部 CT 表现及 COVID-19 病人的临床总病程。由两名高年资影像诊断医师进行阅片, 分析病灶密度(GGO、GGO 伴胸膜下条索影、实变影)、病灶内部特征(网格影、血管增粗、空气支气管征)、病灶分布(胸膜下且与长轴平行、非胸膜下沿血管束), 并对 COVID-19 患者的胸部 CT 进行半定量评分。以核酸检测结果为金标准, 评价 CT 筛查的灵敏度、特异度和漏诊率; 比较 COVID-19 组与疑似 COVID-19 组之间 CT 征象的差异性, 并分析 COVID-19 组 CT 评分与总病程的相关性。**结果:**COVID-19 核酸检测阳性 79 例(48.17%), 阴性 85 例(51.83%), CT 筛查 COVID-19 的灵敏度为 94.94%, 特异度为 35.29%, 漏诊率为 5.06%。COVID-19 组中 GGO、GGO 伴胸膜下条索影、网格影、胸膜下且与长轴平行高于疑似 COVID-19 组($P < 0.05$), COVID-19 组中实变影、非胸膜下沿血管束低于疑似 COVID-19 组($P < 0.05$), 两组间病灶内血管增粗、空气支气管征差异无统计学意义($P > 0.05$)。首诊 CT 评分与临床总病程呈正相关($r = 0.321, P < 0.05$)。**结论:**胸部 CT 在 COVID-19 筛查、鉴别诊断及临床预后方面均有较高的价值。

【关键词】新型冠状病毒肺炎; 肺炎; X 线计算机体层摄影

【中图分类号】R 445.3; R 563.1 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.018

基金项目:阜阳市重点研究与开发计划项目(FK20202815-1)

收稿日期:2020-04-02

作者简介:袁玉山(1965-), 男, 主治医师, (电话)13505581612, (电子信箱)fysyys@163.com。

- [4] PATRICIA A PELLIKKA, ADELAIDE ARRUDA OLSON, FAROOQ A. CHAUDHRY, *et al.* Guidelines for performance, interpretation, and application of stress echocardiography in ischemic heart disease: from the american society of echocardiography [J]. *Journal of the American Society of Echocardiography*, 2020, 33(1): 1-41.
- [5] KEVIN O'FEE, JULIO PANZA, DAVID BROWN. Long-term impact of inducible myocardial ischemia on outcomes in ischemic cardiomyopathy: ten-year follow-up of the stich trial [J]. *Elsevier Inc*, 2020, 75(11): 193-193.
- [6] PANZA JULIO A, ELLIS ALICIA M, AL KHALIDI HUSSEIN R, *et al.* Myocardial viability and long-term outcomes in ischemic cardiomyopathy [J]. *The New England Journal of Medicine*, 2019, 381(8): 739-748.
- [7] CHEN SHAOQI, CHEN XIAOXIA, ZHENG BAOQUN. Diagnostic usefulness of quantitative tissue velocity imaging and anatomic mode echocardiography for coronary artery diseases: a pilot study [J]. *Journal of Clinical Ultrasound*, 2015, 43(6): 346-352.
- [8] MOGELVANG RASMUS, BIERING-SØRENSEN TOR, JENSEN JAN SKOV. Tissue Doppler echocardiography predicts acute myocardial infarction, heart failure, and cardiovascular death in the general population [J]. *Oxford University Press*, 2015, 16(12): 1331-1337.
- [9] DE MARIA GIOVANNI LUIGI, BANNING ADRIAN P. Use of intravascular ultrasound imaging in percutaneous coronary intervention to treat left main coronary artery disease [J]. *Interventional Cardiology*, 2017, 12(1): 8-12.

Clinical analysis on clinical value of initial chest CT findings in patients with COVID-19

YUAN Yushan, MA Peiqi, ZHANG Lei, ZHANG Yang, PENG Bin, QIAO Along, WANG Zhongqiu, ZHANG Zongxi, CHEN Fei, FANG Xiandong, GAO Youfu

Medical Image Center, Fuyang People's Hospital, Fuyang 236000, China

[Abstract] Objective: To assess the clinical value of initial chest CT findings in patients with COVID-19. **Methods:** Retrospective analysis was performed in 164 cases of confirmed or suspected COVID-19 regarding the initial chest CT findings and total disease duration in clinic. The CT images were evaluated by two experienced radiologists, and abnormalities on CT were categorized into single density of the lesion (GGO, GGO with subpleural cable shadow, consolidation), internal features of the lesion (mesh shadow, intrapleural vascular thickening, air bronchogram), and distribution of the lesion (subpleural and parallel to the long axis, along the non-subpleural vascular bundle). The chest CT of patients with COVID-19 was semi-quantitatively scored. The sensitivity, specificity, and missed diagnosis rate of CT screening were calculated by the nucleic acid test results as the gold standard. Chi-square test was used to compare the differences in CT signs between the COVID-19 group and the suspected COVID-19 group. Pearson correlation analysis was performed to compare the correlation between CT score and total disease duration in the COVID-19 group. **Results:** Seventy-nine cases (48.17%) were positive for COVID-19 and 85 (51.83%) were negative for COVID-19 by nucleic acid test. The sensitivity, specificity and missed diagnosis rate of CT screening for COVID-19 was 94.94%, 35.29% and 5.06%, respectively. GGO, GGO with subpleural cable shadow, mesh shadow, subpleural and parallel to the long axis were higher than in the COVID-19 group than in the suspected COVID-19 group ($P < 0.05$), and patients in the COVID-19 group had lower imaging of consolidation, along the non-subpleural vascular bundle than those in the suspected COVID-19 group ($P < 0.05$). There was no significant difference in intrapleural vascular thickening and air bronchogram between the two groups ($P > 0.05$). The CT scoring at the first diagnosis was positively correlated with the total clinical course ($r = 0.321, P < 0.05$). **Conclusion:** Chest CT has higher value in screening, differential diagnosis and estimation of the clinical prognosis in patients with COVID-19.

[Key words] COVID-19; pneumonia; X-ray computed tomography

新型冠状病毒肺炎 (corona virus disease 2019, COVID-19) 是由新型冠状病毒引起的以发热、干咳、乏力为主要表现的一种新的冠状病毒肺炎, 部分患者会迅速发展为急性呼吸窘迫综合征、急性呼吸衰竭等严重并发症^[1], 该病具有极强的传染性, 目前累及全球范围, 确诊主要为新型冠状病毒核酸检测或者经病毒基因测序^[2]。胸部 CT 检查简便快捷, 被广泛应用于 COVID-19 筛查及临床治疗的评价。本研究通过回顾性分析 COVID-19 患者和疑似 COVID-19 患者首诊胸部 CT 影像及临床资料, 旨在探索首诊胸部 CT 在 COVID-19 筛查、鉴别诊断及临床预后方面的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性纳入 2020 年 1 月 20 日 ~ 2 月 15 日期间于阜阳市人民医院、临泉县人民医院、阜南县第三人民医院及太和县中医院确诊和疑似 COVID-19 患者的临床及胸部 CT 影像资料。入组标准: ①符合新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第七版) 确诊诊断标准且经过核酸检测证实为阳性^[3]; ②符合新型冠状病毒肺炎诊疗方案 (试行第七版) 疑似诊断标准且均经 2 次以上核酸检测为阴性; ③临床、影像资料完整。排除标准: ①临床和影像明显排除 COVID-19; ②临床、影像资料不完整。确诊 COVID-19 患者 79 例, 男 48 例, 女 31 例, 年龄

8 ~ 82 岁, 中位年龄 49 岁; 疑似 COVID-19 患者 85 例, 男 48 例, 女 37 例, 年龄 10 ~ 78 岁, 中位年龄 39 岁。记录确诊 COVID-19 患者从发病至出院标准时间为总病程。

1.2 检查方法 所有病人均行胸部 CT 检查, 所有扫描设备均为 16 排及以上 CT 设备, 扫描参数: 管电压 120 kV, 管电流 250 ~ 450 mA, 扫描层厚及层距均为 5 mm, 扫描结束自动重建出层厚及层距为 1 ~ 1.5 mm 的薄层图像并刻录为 DICOM 图像数据, 重建算法为 Lung 算法。视野 500 mm × 500 mm, 矩阵 512 × 512。采用 RadiAntDICOMViewer 软件进行图像浏览、多平面重建观察。扫描范围均为胸廓入口水平至膈肌水平, 于吸气末屏气完成扫描。观察肺窗 (窗宽 1600 HU、窗位 500 HU) 及纵隔窗 (窗宽 350 HU、窗位 50 HU) 影像。

1.3 CT 图像分析 两名从事胸部影像诊断高年资医师共同分析 CT 图像, 影像观察项目包括如下, ①病灶密度: 磨玻璃影 (ground glass opacity, GGO)、GGO 伴胸膜下条索影、实变影; ②病灶内部特征: 网格影、病灶内血管增粗、空气支气管征; ③病灶分布: 胸膜下且与长轴平行、非胸膜下沿血管束; ④CT 视觉评分: 参考甲型流感 H1N1 病变的定量分析方法^[4], 制定 COVID-19 肺部病变 CT 视觉评分方法, 半定量分析肺内病变程度, 首先选择主动脉弓、隆突、静脉汇合层面和膈上 4 个代表层面评估。0 分:

无异常密度影;1分:存在异常密度影,累及面积<5%;2分:累及面积<25%;3分:累及面积<50%;4分:累及面积<75%;5分:累及面积>75%;4层分数的总和得到最终评分结果。取两位观察者总计分的平均值作为最终CT评分。

1.4 统计学方法 采用SPSS 18.0统计软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料以频数和构成比表示。以新型冠状病毒核酸检测结果为金标准,核酸检测阳性诊断为COVID-19组,核酸检测阴性诊断为疑似COVID-19组,计算CT筛查的效能,包括灵敏度、特异度和漏诊率;采用 χ^2 检验比较COVID-19组(CT表现异常者)与疑似COVID-19组CT征象的差异性;采用直线相关分析比较COVID组CT评分与总病程的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胸部CT筛查效能结果 CT筛查COVID-19的灵敏度为94.94%(75/79),特异度为35.29%(30/85),漏诊率为5.06%(4/79)。见表1。

表1 胸部CT与核酸检测结果比较

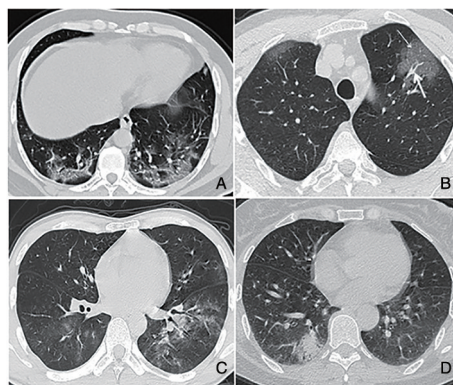
胸部CT	核酸检测		合计
	阳性	阴性	
阳性	75	55	130
阴性	4	30	34
	79	85	164

2.2 胸部CT征象比较 COVID-19组与疑似COVID-19组胸部CT阳性患者的征象比较结果显示,COVID-19组中以GGO和GGO伴胸膜下条索影为主,病灶内较易出现网格影,多于胸膜下分布且病变长轴与胸膜平行(见图1A、B);疑似COVID-19组中以实变影为主,分布以非胸膜下沿血管束为主(见图1C、D)。COVID-19组中GGO、GGO伴胸膜下条索影、网格影、胸膜下且与长轴平行高于疑似COVID-19组($P < 0.05$),COVID-19组中实变影、非胸膜下沿血管束低于疑似COVID-19组($P < 0.05$),两组间病灶内血管增粗、空气支气管征差异无统计学意义($P > 0.05$),见表2。

2.3 相关性分析 79例COVID-19患者首诊胸部CT评分(5.61 ± 3.31)分,临床总病程(21.43 ± 6.55)d,CT评分与临床总病程呈正相关,差异有统计学意义($r = 0.321, P = 0.004$)。

表2 COVID-19组与疑似COVID-19组胸部CT征象比较 [n(%)]

胸部CT征象	COVID-19组(n=75)	疑似COVID-19组(n=55)	χ^2	P
	GGO	34(45.33)		
GGO伴胸膜下条索影	26(34.67)	6(10.91)	9.651	0.002
实变影	15(20.00)	34(61.82)	23.632	0.000
网格影	70(93.33)	9(16.36)	78.850	0.000
病灶内血管增粗	41(54.67)	26(47.27)	0.691	0.405
空气支气管征	10(13.33)	6(10.91)	0.174	0.678
胸膜下且与长轴平行	56(74.67)	7(12.73)	48.700	0.000
非胸膜下沿血管束	14(18.67)	21(38.18)	6.142	0.013



A. 女,39岁,确诊为COVID-19,两肺下叶胸膜下条片影,且与长轴平行;B. 男,37岁,确诊为COVID-19,两肺上叶胸膜下磨玻璃影,左肺上叶病灶呈“网格影”(细箭头所示),内可见增粗血管影(粗箭头所示);C. 男,21岁,确诊为乙型流感病毒肺炎,两肺多发斑片影(部分实变),沿支气管束周围走行;D. 女,52岁,疑似COVID-19患者,最终抗感染治疗好转。右肺下叶沿支气管束走行分布实变影,达胸膜下。

图1 胸部CT征象

3 讨论

新型冠状病毒具有传染力强、传播迅速的特点,主要通过S-蛋白与人体黏膜细胞的血管紧张素转化酶II完成受体结合侵入细胞内部的^[5]。早发现、早隔离是疫情期间的重中之重。目前COVID-19确诊的主要方法为新型冠状病毒核酸检测,但囿于标本采集技术、试剂盒质量以及患者病毒载量等诸多原因,核酸检测结果存在较高的假阴性率^[6],致使疫情早期大量疑似患者无法得到及时收治。胸部CT不仅方便快捷,充分显示小病灶和早期病变,而且能显示肺内病变的形态和范围,是首诊最佳的影像检查方法。新型冠状病毒入侵呼吸道上皮细胞后,往往导致肺泡壁的结缔组织纤维网络结构,由于炎性浸润及肺泡内壁可能形成的玻璃样物质膜而引起肺泡壁的增厚,因而CT图像上病灶主要表现为磨玻璃密度,当渗出物较多时则可出现实变。本研

究中 COVID-19 病例有 45.33% 呈磨玻璃影, 34.67% 表现为磨玻璃密度伴胸膜下条索影, 与研究报道相似。在筛查灵敏度方面, Fang 等^[7] 通过对比分析 CT 和呼吸道标本实时荧光逆转录 PCR 检测对 COVID-19 的灵敏度, 发现胸部 CT 具有较高灵敏度。邓芷晴等^[8] 通过对 587 例研究对象的分析发现, CT 对筛查 COVID-19 的总体灵敏度约 97.7%, 本研究结果以新型冠状病毒核酸检测结果为金标准, 采用四格表数据计算 CT 筛查显示 CT 对筛查 COVID-19 的灵敏度约 94.94%, 与文献报道一致, 均具有较高灵敏度。因此在疫情防控期间对于 CT 高度提示疑似病例应及时做好隔离救治。

尽管胸部 CT 有高度的灵敏度, 但目前国内外研究均报道 COVID-19 胸部 CT 表现与一般病毒性肺炎在影像学上鉴别较为困难, 因此 CT 在筛查 COVID-19 的特异度方面相对较低。本研究显示 CT 筛查的特异度仅为 35.29%, 同时存在 5.06% 的漏诊率。因此, 寻求 COVID-19 特征性影像学表现, 至关重要。胡瑞等^[9] 报道 COVID-19 患者更容易出现胸膜下分布且病变长轴与胸膜平行。廖星男等^[10] 通过 COVID-19 与细菌性肺炎的胸部 CT 特征比较研究表明 COVID-19 患者出现磨玻璃影、网格影和铺路样外观的概率明显高于细菌性肺炎。傅晓彬等^[11] 提出蒲公英果实征是 COVID-19 特征性影像学表现, 即蒲公英花果实飘落后(如同支气管播散), 肺血管构成细长的种子, 渗出的病灶构成种子的冠毛, 随病情发展, 冠毛亦可为实性渗出病灶。本研究通过比较确诊 COVID 患者和疑似 COVID 患者 CT 征象, 发现 COVID-19 更易出现 GGO 和 GGO 伴胸膜下条索影, 且病灶内出现网格影、病灶沿胸膜下分布及病变长轴与胸膜平行等出现率较疑似病例组多。可能为 COVID-19 更易引起肺泡壁或肺泡间隔炎症, 导致网格状分布的小叶间隔增厚, 在磨玻璃阴影的背景下, 显示为网格样改变; 同时由于 COVID-19 以侵犯肺间质为主, 周围淋巴回流方向是向胸膜下和小叶间隔外周引流, 因此病灶容易沿胸膜下方向扩散, 形成平行于胸膜下趋势。

在显示预后方面, 研究报道^[12] 淋巴细胞数减少是 COVID-19 病人的常见特征, 可能是与疾病严重程度和病死率相关的关键因素。有学者^[13] 通过首诊 CT 半定量评分来描述胸部 CT 受累情况, 与淋巴细胞数有一定负相关性, 来推断首诊 CT 征象可能对患者预后具有一定提示意义。本研究通过将胸部 CT 影像上主动脉弓、气管隆突下、肺静脉汇合层面和膈上层 4 个层面病变累及范围进行半定量视觉

评分, 评分越高提示病变累及范围较广, 同时记录 COVID-19 患者总病程, 发现半定量 CT 评分与患者总病程具有一定相关性, 即首诊 CT 表现越重可能预示着患者总病程相对较长, 恢复较慢。

综上所述, 胸部 CT 在筛查 COVID-19 上具有较高的灵敏度, 但其特异度较低, 主要与其他病毒性肺炎影像表现存在共性。但当胸部 CT 的一些征象, 如 GGO、GGO 伴条索影、病灶内出现网格影或微血管增粗、病灶胸膜下分布且长轴平行胸膜走行等具有高度提示价值, 确诊仍需病毒核酸检测。首诊胸部 CT 表现的严重程度与临床病程有一定相关性, 对临床治疗方案有重要的参考价值。同时, 本研究尚存一些不足之处, 样本量有限, 研究中也未将每位患者是否合并基础疾病纳入研究分析范畴, 后期将进一步深入探索。

【参考文献】

[1] Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species Severe acute respiratory syndrome-related coronavirus; classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2 [J]. Nat Microbiol, 2020, 5(4):536-544.

[2] HUANG C, WANG Y, LI X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. Lancet, 2020, 395(10223):497-506.

[3] 国家卫生健康委办公厅, 国家中医药管理局办公室. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版) 国卫办医函[2020]184号 [EB/OL]. (2020-03-03). http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-03/04/content_5486705.htm.

[4] 乞文旭, 刘俊鹏, 高嵩, 等. 甲型 H1N1 流感患者胸部 CT 首诊表现 [J]. 中华放射学杂志, 2010, 44(2):130-133.

[5] SONG F, SHI N, SHAN F, et al. Emerging 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) pneumonia [J]. Radiology, 2020, 295(1):210-217.

[6] 里进, 叶光明, 陈良君, 等. 新型冠状病毒核酸检测假阴性结果原因分析及对策 [J]. 中华检验医学杂志, 2020, 43(3):221-225.

[7] FANG Y, ZHANG H, XIE J, et al. Sensitivity of chest CT for COVID-19: comparison to RT-PCR [J]. Radiology, 2020, 296(2):E115-E117.

[8] 邓芷晴, 张笑春, 李一荣, 等. 胸部 CT 筛查在新型冠状病毒肺炎暴发早期的价值 [J]. 中华放射学杂志, 2020, 54(5):430-434.

[9] 胡瑞, 黄楠, 陈文, 等. 新型冠状病毒肺炎确诊与疑似患者的临床和胸部 CT 影像比较 [J]. 中华放射学杂志, 2020, 54(5):440-444.

[10] 廖星男, 周军, 曹佳, 等. 新型冠状病毒肺炎与细菌性肺炎的胸部 CT 特征比较 [J]. 武汉大学学报(医学版), 2020, 41(3):349-352.

[11] 傅晓彬, 李杰生, 黄洲, 等. 蒲公英果实征: 9 例新型冠状病毒肺炎的 CT 征象 [J]. 南方医科大学学报, 2020, 40(2):159-163.

[12] DAWEI W, BO H, CHANG H, et al. Clinical characteristics of 138 hospitalized patients with 2019 novel coronavirus-infected pneumonia in Wuhan, China [J]. JAMA, 2020, 323(11):1061-1069.

[13] 马培旗, 袁玉山, 张磊, 等. 75 例新型冠状病毒肺炎病人首诊 CT 评分与检验结果分析 [J]. 国际医学放射学杂志, 2020, 43(2):127-130.

胎儿先天性血管环的产前超声诊断分析

孙碧云,洪云,朱向明,江峰,朱菲菲

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 超声医学科,安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:探讨规范化超声筛查在诊断胎儿先天性血管环(CVR)中的临床意义。**方法:**回顾性分析产前超声筛查诊断的37例CVR的超声声像图特征,根据胎儿心血管胚胎发育特点,进行CVR的分型并随访临床情况。**结果:**产前超声结果显示,37例CVR胎儿中,呈“U”形血管环29例,“O”形血管环5例,“C”形血管环3例,不同的血管环形状对应不同的分型,6例并发其他心内畸形,1例合并唇腭裂畸形,2例合并染色体异常。产后随访30例,28例无症状,2例有喘鸣症状。**结论:**产前超声检查可以明确显示CVR及其与食管、气管空间的关系,对预后评估具有指导价值。

【关键词】先天性血管环;超声检查;产前诊断

【中图分类号】R 445.1;R 714.53 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.019

Evaluating the value of prenatal ultrasound diagnosis in fetal congenital vascular ring

SUN Biyun, HONG Yun, ZHU Xiangming, JIANG Feng, ZHU Feifei

Department of Ultrasound, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To assess the clinical value of standardized ultrasound screening in the diagnosis of congenital vascular ring (CVR) in fetus. **Methods:** Retrospective analysis was performed in 37 cases of CVR undergone prenatal ultrasound screening in our hospital concerning the ultrasonographical features. Vascular ring was classified according to the characteristics of fetal cardiovascular and embryonic development, and the clinical results were obtained through follow-up. **Results:** Prenatal ultrasound findings showed that, in the 37 fetuses of CVR, 29 were in "U", 5 in "O" and 3 in "C" shaped vascular rings, respectively. Different vascular ring shape was matched with distinctively involved region. Six cases were complicated with other intra-cardiac malformations, 1 was complicated with cleft lip and palate deformities, and 2 were with chromosomal abnormalities. Follow-up in 30 fetuses after childbirth showed that 28 were asymptomatic, and 2 had wheezing symptoms. **Conclusion:** Prenatal ultrasound examination can clearly expose the congenital vascular ring and its spatial relationship with esophagus and trachea, which is of great significance for estimation of the prognosis in such fetuses.

【Key words】congenital vascular rings; ultrasonography; prenatal diagnosis

先天性血管环(congenital vascular ring, CVR)是一种罕见的心血管畸形,约占先天性心血管异常的1%,系主动脉弓及其分支完全或不完全地包围并压迫气管、食管甚至迷走神经和喉返神经,常并发其他心内外畸形或染色体异常^[1-2]。CVR患儿出生后临床表现取决于血管环的分型和周围器官的受压程度,常见症状包括在婴儿早期引起呼吸窘迫和进食问题、反复发作的上呼吸道感染、声音嘶哑等,容易被漏诊、误诊,严重者可危及生命^[3]。随着二孩政策的开放,产前准确诊断血管环对于优生优育及早期治疗干预方式选择有指导价值。本研究回顾性分

析中孕期胎儿CVR的超声影像学特征,探讨规范化产前超声筛查在胎儿CVR诊断及预后评估中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2017年6月~2019年6月在弋矶山医院经产前超声诊断的37例CVR胎儿患者,孕妇年龄22~39岁,平均(29.5±4.2)岁,孕20~28周,平均(23.6±2.8)周。纳入标准:①产前超声诊断经两位资深产前超声筛查医师共同确诊,二维超声图像清晰显示心脏结构、血管、气管及食管等

基金项目:中央引导地方科技发展专项基金(2017070802D152)

收稿日期:2020-06-03

作者简介:孙碧云(1984-),女,主治医师,(电话)15212275599,(电子信箱)113535091@qq.com;

洪云,女,副主任医师,(电子信箱)yxx2003@126.com,通信作者。

结构,三血管气管切面显示异常血管环绕气管周围;
 ②胎儿超声估测孕周与月经龄相符合。排除标准:
 妊娠后进行过治疗(药物或侵入性治疗)的自然受孕
 孕妇、试管辅助受孕者等。

1.2 仪器和方法 应用三星麦迪逊 WS80A 超声诊断
 仪,选用单晶体容积探头,频带宽 1.0 ~ 8.0 MHz。
 首先确定胎儿方位、进行产前超声常规检查并评估
 孕周大小;再进行胎儿心脏筛查,检查流程先在胎儿
 胸部行横切面扫查,确定标准四腔心切面,在此基础
 上寻找三血管-气管切面,再完善左右心室流出道切
 面、主动脉弓切面、动脉导管弓长轴切面等标准切面
 扫查,应用彩色多普勒血流显像以及高级精细血流
 成像技术(S-Flow)显像观察各血管的血流动力学情
 况。重点观察三血管气管切面,明确主动脉弓在此
 切面的走形、分支,判断气管食管的位置及其与血管
 之间的相对位置关系。若正常导管弓与主动脉弓的
 V 字形结构消失,气管后方存在血管结构走行,围绕
 气管或支气管,即可诊断为血管环形成。辅助应用
 S-Flow 技术可以检测出平时难以监测的细微血管和
 低速血流信号。

1.3 随访 对超声诊断 CVR 胎儿行定期超声监
 测,建议孕妇完善胎儿染色体检查,统计终止妊娠孕
 妇并尽量完善病理结果,产后对患儿呼吸情况进行
 评估,并随访 6 个月。

2 结果

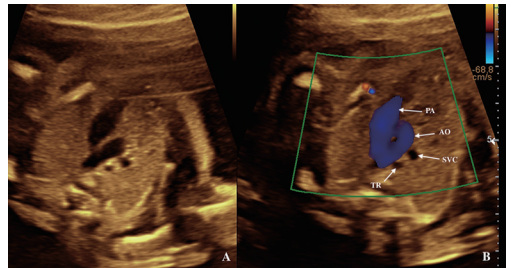
2.1 确诊孕妇胎儿超声表现 37 例 CVR 患者中,
 右位主动脉弓(right aortic arch, RAA)、左位动脉导
 管(left duct artery, LDA) 29 例,其中 13 例伴迷走左
 锁骨下动脉(aberrant left subclavicular artery, AL-
 SA),即 RAA-LDA-ALSA;双主动脉弓(double aortic
 arch, DAA) 5 例;左主动脉弓、左位动脉导管并迷走
 右锁骨下动脉(aberrant right subclavicular artery,
 ARSA) 3 例。在二维超声三血管气管切面(3VT)观
 察,血管、气管及食管表现为无回声,辅助彩色多普
 勒血流及 S-Flow 技术可以清晰显示血管的走行及
 血管与气管的位置关系。正常主动脉弓与导管弓的
 “V”形结构(图 1)消失,不同类型的血管环在超声
 图像上形成的环状结构有所差异(图 2、3)。合并肺
 动脉狭窄、永存左上腔静脉、室间隔缺损等心脏畸形
 的有 6 例,单纯合并唇腭裂畸形 1 例,详见表 1。

2.2 随访结果 37 例 CVR 胎儿中,32 例完善胎
 儿染色体检查,合并染色体异常 2 例,均为 13-三体综
 合征。合并严重心脏畸形或染色体异常选择引产终

止妊娠 5 例, 2 例失访。30 例活产儿中,28 例无症
 状,2 例伴有喘鸣症状。

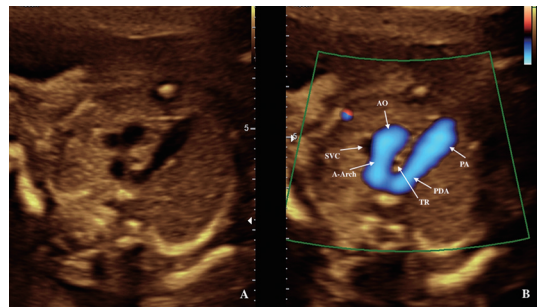
表 1 37 例 CVR 分型及合并畸形情况

分型	二维 3VT 表现	n(%)	合并 心内畸形
RAA-LDA	“U”形	16(43.24)	3
RAA-LDA-ALSA	“U”形	13(35.14)	1
DAA	“O”形	5(13.51)	1
ARSA	“C”形	3(8.11)	1
合计		37(100)	6



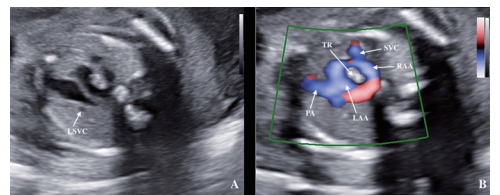
A. 二维声像图显示三血管气管切面“V”形结构;B. 彩色多普勒声像图显示三血管气管切面主动脉弓与导管弓的“V”形结构。其中 AO 为主动脉,PA 为肺主动脉,SVC 为上腔静脉,TR 为气管。

图 1 3VT 正常血管气管位置关系



A. 二维声像图显示主动脉弓走行于气管的右侧;B. S-Flow 多普勒声像图显示“U”形血管环结构,气管被 U 字包绕。其中 AO 为主动脉,A-Arch 为主动脉弓,PA 为肺主动脉,PDA 为动脉导管,SVC 为上腔静脉,TR 为气管。

图 2 RAA-LDA 血管气管位置关系



A. 二维声像图显示双主动脉弓型血管环,呈“O”形结构;B. S-Flow 多普勒声像图显示主动脉与动脉导管弓形成“O”形血管环结构。其中 AO 为主动脉,LAA 为左侧主动脉弓,RAA 为右侧主动脉弓,PA 为肺主动脉,SVC 为上腔静脉,TR 为气管,本病例可见合并永存左上腔静脉畸形(LSVC)。

图 3 DAA 血管气管位置关系

3 讨论

3.1 血管环的胚胎发育及病理机制 血管环的形成与胚胎主动脉弓系统的发育有关。胚胎在发育过程中形成六对原始主动脉弓。随着胚胎的发育,第1、2、3、5对弓动脉相继退化消失。正常情况下,主动脉弓位于气管左侧,第3对动脉弓退化形成颈总动脉和颈内动脉持续存在^[4-5]。左侧第4对动脉弓产生左主动脉弓和左锁骨下动脉,右第四弓退化为右锁骨下动脉持续存在。胚胎发育过程中正常应予保留的却退化消失,或应该消失的仍然保留,则形成了主动脉弓走行异常,与气管、食管的相对位置关系发生改变,将气管或食管包绕,形成了完整或不完整的动脉环。根据血管环的发育特点,血管环病理类型众多,有学者将CVR主要归纳为4种病理类型即RAA-LDA-ALSA、DAA、无名动脉压迫、肺动脉吊带^[6]。此外,还可以根据血管环包绕气管或食管的程度分为完全性和不完全性血管环。

3.2 超声监测胎儿CVR的体会 胎儿心脏超声检查要求包括众多切面,规范完整的切面扫查可以减少血管环的产前漏诊率^[7-8]。超声心动图检查胎儿CVR的关键在于正确扫查确定三血管气管切面,重点观察气管与主动脉弓的位置关系,典型表现为气管后方存在血管结构走行,围绕气管、食管形成“U”形、“O”形或“C”形环状。除常规心脏横断面扫查外,可以辅以冠状位扫查,特别是经胎儿降主动脉起始部冠状面的扫查,从不同切面观察血管与气管、食管的空间位置关系^[9-11]。标准的胎儿心脏切面对血管走行和空间构象的判断至关重要。二维图像联合彩色多普勒声像图可以清晰显示血管环及血流方向,利用灵敏度高的S-Flow技术能够全面提升血流的空间分辨率,便于观察细小动脉的走行分支。有研究表明,大多数血管环的主要血管构成是右位主动脉弓^[12-13]。Backer等^[6]将双动脉弓分为三种类型即右弓优势型、左弓优势型和左、右弓均衡型。不完全型血管环图像表现为“C”形,常见于一侧主动脉弓伴对侧迷走锁骨下动脉或无名动脉且伴同侧动脉导管,亦可见于绕食管主动脉弓伴对侧降主动脉、同侧动脉导管。本组病例中完全性血管环34例,其中“U”形血管环29例,13例合并左锁骨下动脉迷走,“O”形血管环5例;不完全性血管环3例,呈“C”形。血管环构成类型与文献报道一致,但因血管环发病率较低,因此本组资料中存在的血管环类型较少。此外,超声诊断血管环的患儿合并心脏其他畸形的风险增高,本组中6例合并永存左上腔静

脉、法洛三联症等其他心脏畸形,故应注意排除是否合并其他心脏畸形。有文献报道部分双主动脉弓患儿可伴有22q11基因的微小缺失,患儿表现为神经发育迟缓、语言障碍等症状^[14]。CVR胎儿条件允许的情况下建议完善染色体检查,排除染色体异常。

综上所述,产前超声检查可以明确显示CVR的形状,评估其与周围气管、食管的空间位置关系,规范化的超声操作流程以及结合S-Flow技术多普勒显像可以减少CVR的漏诊。对胎儿主动脉弓部的胚胎发育过程及血管的病理分型的理解,有助于超声医师做出正确诊断,为胎儿优生优育及后续治疗提供指导。

【参考文献】

- [1] 接连利. 胎儿心脏病理解剖与超声诊断学[M]. 北京:人民卫生出版社,2010;260-264.
- [2] YOSHIMURA N, FUKAHARA K, YAMASHITA A, *et al.* Congenital vascular ring [J]. *Surgery Today*, 2019, 50(10): 1151-1158.
- [3] YOUNG AA, HORNBERGER LK, HABERER K, *et al.* Prenatal detection, comorbidities, and management of vascular rings [J]. *American Journal of Cardiology*, 2019, 123(10): 1703-1708.
- [4] EVANS WN, ACHERMAN RJ, CICCOLO ML, *et al.* Vascular rings and slings: contemporary observations [J]. *Progress in Pediatric Cardiology*, 2019, 53: 42-46.
- [5] 任卫东. 心血管畸形胚胎学基础与超声诊断[M]. 北京:人民卫生出版社,2016;286-293.
- [6] BACKER CL, MONGÉ MC, POPESCU AR, *et al.* Vascular rings [J]. *Seminars in Pediatric Surgery*, 2016, 25(3): 165-175.
- [7] 中国医师协会超声医师分会. 中国胎儿心脏超声检查指南[M]. 北京:人民卫生出版社,2018;33.
- [8] 尹立雪. 胎儿超声心动图检查规范——美国超声心动图学会指南解读[J]. *实用医院临床杂志*, 2012, 9(5): 1-2.
- [9] 赵迎东, 殷伟红. 连续三血管观及冠状切面观在诊断血管环中的应用价值[J]. *影像研究与医学应用*, 2018, 2(24): 52-54.
- [10] 陈琳, 周柳英, 刘芳利, 等. 三血管气管切面和主动脉弓降部冠状切面诊断胎儿右位主动脉弓的价值分析[J]. *中华超声影像学杂志*, 2017, 26(6): 505-509.
- [11] 杨丽娟, 陈萍, 何萍, 等. 超声心动图多切面对胎儿右位主动脉弓分型诊断及其与双主动脉弓鉴别的价值[J]. *中国临床医学*, 2018, 25(3): 368-372.
- [12] 许燕, 接连利, 姜志荣, 等. 三血管观多切面扫查对胎儿先天性血管环的超声诊断价值[J]. *中国超声医学杂志*, 2015, 31(9): 807-809.
- [13] 牛华, 刘保民, 亢春苗, 等. 产前超声诊断胎儿主动脉疾病临床价值[J]. *中国超声医学杂志*, 2015, 31(4): 347-350.
- [14] MALDJIAN P, SANDERS AE. 22q11 deletion syndrome with vascular anomalies [J]. *Journal of Clinical Imaging Science*, 2018, 8(1): 1-3.

新型冠状病毒肺炎流行期医务人员心理应激反应及行为变化调查分析

陈燕¹,黄孟云¹,金岳龙¹,朱丽君¹,方正美¹,臧洪艳²,唐慧³,姚应水^{1,4}

(1. 皖南医学院 公共卫生学院 慢性病防制研究所,安徽 芜湖 241002;2. 盐城市妇幼保健院 群体保健科,江苏 盐城 224002;3. 铜陵市第二人民医院 办公室,安徽 铜陵 244000;4. 安徽中医药高等专科学校 医疗系,安徽 芜湖 241003)

【摘要】目的:分析新型冠状病毒肺炎(COVID-19)国内流行期间医务人员的心理应激反应和行为变化。**方法:**采用自行设计的电子问卷对医务人员进行匿名式网络抽样调查,调查内容包括基本信息、心理应激反应及行为表现等。**结果:**本次调查共收集有效问卷591份,男性205人(34.7%),城市477人(80.7%),年龄为33(28~41)岁。医务人员心理健康总分为8.19±4.10;女性8.53±4.19,40岁以下医务人员(<30岁8.61±4.08;30~岁8.59±4.17)心理健康状况相对较差。相关分析显示,医务人员健康状况越差、自觉感染风险越高其心理健康状况越差(r_s 分别为0.243、0.275),睡眠障碍($r_s=0.353$)和盲目消毒行为($r_s=0.564$)也越明显。医务人员防控行为执行率较高,其防控行为力度中恐慌和易怒症状得分呈正相关。行为改变意愿方面,调查对象选择加强体育锻炼以提高自身免疫力占比最高(93.7%);且各项行为改变意愿在不同年龄、学历和婚姻状况方面差异有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**新型冠状病毒肺炎流行期间,医务人员心理健康状况不容乐观,应采取针对性措施做好其心理健康维护,促进其良好行为的发生,从而更好地进行疫情防控。

【关键词】新型冠状病毒肺炎;医务人员;心理应激反应;行为

【中图分类号】R 563.1;R 395.6 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.020

Survey and analysis on the psychological stress response and behavioral changes of medical professionals during COVID-19 epidemic

CHEN Yan, HUANG Mengyun, JIN Yuelong, ZHU Lijun, FANG Zhengmei, ZANG Hongyan, TANG Hui, YAO Yingshui

School of Public Health, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

【Abstract】Objective: To analyze the psychological stress response and behavioral changes of medical professionals during epidemic of COVID-19. **Methods:** Anonymous network sampling survey was carried out with an electronic questionnaire consisting of basic information of the subjects, and items of psychological stress response as well as the behavioral changes. **Results:** A total of 591 participants completed the survey. Of the subjects, 205 were males (34.7%), and 477 were urban residents (80.7%). The age ranged from 28 to 41 years, with $M(P_{25}, P_{75})$ of 33 years. Overall mental health score was 8.19±4.10. Poor mental state was observed in female subjects (scoring: 8.53±4.19), and participants under 40 years old (scoring: 8.61±4.08 for participants aged <30 years; 8.59±4.17 for those aged >30 years, respectively). Correlation analysis showed that medical professionals with worse health condition had higher assumed risk of infection and poorer mental status ($r_s=0.243$; $r_s=0.275$, respectively), and were prone to suffering from sleep disorders ($r_s=0.353$) as well as irrational disinfection ($r_s=0.564$). The scoring on intensity of panic and irritability in participants with higher implementation rate was positively correlated with their higher prevention and control behaviors. In terms of behavioral change intention, most participants practiced immunity improvement through strengthening physical exercise (93.7%). The difference was significant in ages, educational background and marital status concerning the willingness to change their behaviors in all surveyed subjects ($P<0.05$). **Conclusion:** Poorer mental status was observed in medical professionals during the epidemic of COVID-19. The findings suggest that targeted measures should be taken to protect the mental health of the medical staff in order to improve their behavior in better prevention and control of the epidemic.

【Key words】 COVID-19; medical professionals; psychological stress; behavior

基金项目:安徽省第五批“特支计划”创新领军人才(T000516);安徽省名师工作室(2014msgzs151)

收稿日期:2020-03-13

作者简介:陈燕(1983-),女,高级实验师,(电话)18805531337,(电子信箱)bingyan-1209@163.com;

黄孟云(1989-),男,2019级硕士研究生,(电话)17856936968,(电子信箱)747414854@qq.com,共同第一作者;

姚应水,男,教授,硕士生导师,(电子信箱)yingshuiyao@163.com,通信作者。

2020年初,新型冠状病毒肺炎(COVID-19)的流行对人们的身体健康乃至生命安全造成严重威胁^[1-2]。随着疫情日益严峻,人们的心理健康和行为表现也随之发生变化。医务人员作为抗击疫情的主力军,由于工作性质特殊,长期处于急性应激状态,承受着救助与被救助、隔离与被隔离的双重压力。为初步了解医务人员心理行为特征,及时做好其心理健康防护。笔者于2020年1月30日~2月5日利用问卷星自行设计电子问卷开展了相关网络调查,现报道如下。

1 对象与方法

1.1 对象 以医务人员为调查对象,自行设计电子问卷,开展网络抽样调查。

1.2 调查内容 基本信息(性别、年龄、职业、地区、文化程度等);心理应激反应,涉及“紧张焦虑、恐慌、易怒、疲劳、悲观或失望”5个方面,按严重程度分别记:几乎没有=0分,较少出现=1分,一般=2分,较多出现=3分,频繁出现=4分,得分越高表示心理健康状况越差;行为表现,设15种防控行为和8种行为意向,按防控行为数目,≤5种为低防控力度,6~10种为中防控力度,>10种为高防控力度。行为意向各条目选“是”记1分,选“否”记0分。问卷不涉及任何隐私,所有题目限定必填,以保证应答率。

1.3 质量控制 正式调查前先进行预调查,完善问卷后按照自愿原则正式调查。为更好地保证样本的代表性,首先依据性别、地区、年龄和文化程度等因素选取20名对象作为“一级种子”,然后“一级种子”通过网络将问卷再发给20名好友作为“二级种子”,“二级种子”再继续转发。问卷填写有效起止时间为2020年1月30日16:00~2月5日12:00。

1.4 统计学分析 采用SPSS 18.0软件对数据进行逻辑核对、描述和分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 描述,计数资料采用率或构成比表示,各组间均数的比较采用 t/F 检验,率或构成比的比较采用 χ^2 检验,等级资料的比较采用非参数秩和检验,有序分类资料的相关性采用等级相关。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

2 结果

2.1 调查对象的基本情况 此次网络调查共调查医务人员591人,有效应答率100%,年龄为33(28~

41)岁。具体人口学特征见表1。

表1 调查对象一般人口学特征($n=591$)

组别		<i>n</i>	构成比/%
性别	男	205	34.7
	女	386	65.3
城乡	城市	477	80.7
	农村	114	19.3
婚姻	在婚	409	69.2
	其他	182	30.8
年龄/岁	<30	199	33.7
	30~	223	37.7
	40~	169	28.6
学历	大专及以下	77	13.0
	本科	417	70.6
	硕士及以上	97	16.4

2.2 调查对象的心理健康状况 591名医务人员心理健康总分为 8.19 ± 4.10 。其中,女性紧张焦虑、易怒、悲观失望症状得分以及心理总分均高于男性($P < 0.05$);在婚者悲观失望得分低于其他医务人员($P < 0.05$);年龄方面,除疲劳症状得分外,其他心理症状得分均显示>40岁医务人员得分最高($P < 0.05$)。各心理症状得分及心理总分在城乡、学历分布上差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表2。

2.3 调查对象心理健康状况与自我评价、心理行为的相关性 相关分析显示,自评健康状况越差、自觉感染风险越高,心理健康状况越差($P < 0.05$);同时,心理健康状况越差,睡眠障碍、盲目消毒行为频率也越高($P < 0.05$)。见表3。

2.4 医务人员的防控行为分析 调查显示,医务人员防控行为执行率较高,其防控行为力度在不同性别、城乡、学历、年龄、婚姻状况分布上差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表4。医务人员防控行为力度与心理健康状况的相关性分析见表3。

2.5 调查对象的行为改变意愿分析 调查对象中选择“加强体育锻炼、提高自身免疫力”的比例最高;大专及以下医务人员选择“注意保护公共环境卫生”的比例较高;<30岁者选择“增加医药卫生知识学习”的比例较高;在婚者选择“加强体育锻炼”和“健康合理饮食”的比例高于其他人群,而“增加医药卫生知识学习”比例较低,见表5。医务人员行为改变意愿与心理健康状况之间相关性无统计学意义($P > 0.05$),见表3。

表2 不同组别医护人员心理得分比较($\bar{x}\pm s, n=591$)

组别	<i>n</i>	紧张焦虑	恐慌	易怒	疲劳	悲观失望	心理总分	
性别	男	205	1.79±1.01	2.17±1.01	1.06±0.99	1.50±1.10	1.10±0.93	7.55±3.85
	女	386	1.97±1.04	2.29±1.01	1.41±1.02	1.58±1.04	1.29±1.08	8.53±4.19
	<i>t</i>		2.039	1.367	4.039	0.873	2.917	2.783
	<i>P</i>		0.042	0.172	<0.001	0.383	0.004	0.006
城乡	城市	477	1.94±1.02	2.27±1.01	1.30±1.00	1.58±1.04	1.22±1.04	8.31±4.03
	农村	114	1.75±1.07	2.13±1.01	1.27±1.08	1.44±1.15	1.11±1.02	7.70±4.36
	<i>t</i>		1.769	1.321	0.242	1.246	1.002	1.421
	<i>P</i>		0.079	0.187	0.809	0.213	0.317	0.156
婚姻	在婚	409	1.89±1.02	2.20±1.02	1.28±1.04	1.53±1.05	1.14±1.02	8.04±4.13
	其他	182	1.93±1.05	2.34±0.99	1.33±0.96	1.59±1.09	1.34±1.07	8.52±4.01
	<i>t</i>		0.394	1.472	0.588	0.580	2.188	1.310
	<i>P</i>		0.694	0.142	0.557	0.562	0.029	0.191
年龄	<30	199	1.94±1.03 ^a	2.39±0.97 ^a	1.40±1.04 ^a	1.56±1.10	1.32±1.05 ^a	8.61±4.08 ^a
	30~	223	2.02±1.04 ^a	2.38±0.98 ^a	1.37±1.01 ^a	1.57±1.07	1.25±1.07 ^a	8.59±4.17 ^a
	40~	169	1.70±0.99 ^b	1.89±1.01 ^b	1.07±0.97 ^b	1.50±1.00	0.99±0.94 ^b	7.17±3.86 ^b
	<i>F</i>		4.765	14.921	5.739	0.236	5.050	7.580
	<i>P</i>		0.009	<0.001	0.003	0.790	0.007	0.001
学历	大专及以下	77	1.74±1.02	2.10±1.11	1.10±1.05	1.51±1.07	0.97±1.00	7.43±4.13
	本科	417	1.93±1.04	2.28±0.98	1.32±1.03	1.53±1.05	1.22±1.04	8.27±4.08
	硕士及以上	97	1.94±1.01	2.22±1.06	1.32±0.92	1.67±1.11	1.30±1.04	8.44±4.10
	<i>F</i>		1.120	0.985	1.524	0.757	2.368	1.604
<i>P</i>		0.327	0.374	0.219	0.469	0.095	0.202	

注:多组间两两比较,字母不同表示 $P<0.05$ 。

表3 医护人员心理得分与自身评价和行为的相关性($r_s, n=591$)

题目	紧张焦虑	恐慌	易怒	疲劳	悲观失望	心理总分
感觉自己近期的健康状况	0.180**	0.166**	0.193**	0.266**	0.251**	0.243**
感染风险自评	0.235**	0.317**	0.198**	0.228**	0.234**	0.275**
对疫情的关注程度	0.080*	0.041	0.027	0.013	0.035	0.042
睡眠障碍	0.260**	0.225**	0.313**	0.384**	0.344**	0.353**
盲目消毒行为	0.406**	0.381**	0.492**	0.449**	0.519**	0.564**
防控行为力度	0.034	0.087*	0.081*	0.023	0.029	0.060
行为改变意愿	-0.017	0.062	0.014	-0.034	-0.043	-0.005

注:*表示 $P<0.05$,**表示 $P<0.01$ 。

表4 不同特征调查对象防控行为力度的比较[$n(\%), n=591$]

组别	<i>n</i>	低	中	高	Z/χ^2	<i>P</i>	
性别	男	205	15(7.3)	84(41.0)	106(51.7)	1.313	0.189
	女	386	22(5.7)	192(49.7)	172(44.6)		
城乡	城市	477	29(6.1)	216(45.3)	232(48.6)	1.540	0.124
	农村	114	8(7.0)	60(52.6)	46(40.4)		
婚姻	在婚	409	17(4.2)	196(47.9)	196(47.9)	1.375	0.169
	其他	182	20(11.0)	80(44.0)	82(45.1)		
年龄/岁	<30	199	18(9.0)	85(42.7)	96(48.2)	0.014	0.993
	30~	223	9(4.5)	98(49.2)	92(46.2)		
	40~	169	10(5.2)	93(48.3)	90(46.6)		
学历	大专及以下	77	3(3.9)	34(44.2)	40(51.9)	2.067	0.356
	本科	417	28(6.7)	191(45.8)	198(47.5)		
	硕士及以上	97	6(6.2)	51(52.6)	40(41.2)		

表5 医务人员行为改变意愿情况的比较[$n(\%)$, $n=591$]

组别	调查人数	比以前更注重室内卫生	加强体育锻炼,提高自身免疫力	健康合理饮食	增加医药卫生知识学习	注意保护公共环境卫生	杜绝或阻止食用野生动物的行为发生	更好地配合社区卫生服务工作	其他
性别									
男	205	158(77.1)	197(96.1)	182(88.8)	137(66.8)	166(81.0)	182(88.8)	154(75.1)	31(15.1)
女	386	293(75.9)	357(92.5)	343(88.9)	283(73.3)	326(84.5)	359(93.0)	305(79.0)	35(9.1)
χ^2		0.101	2.974	0.001	2.740	1.163	3.086	1.170	4.948
P		0.751	0.085	0.977	0.098	0.281	0.079	0.279	0.026
城乡									
城市	477	357(74.8)	449(94.1)	426(89.3)	335(70.2)	394(82.6)	439(92.0)	372(78.0)	50(10.5)
农村	114	94(82.5)	105(92.1)	99(86.8)	85(74.6)	98(86.0)	102(89.5)	87(76.3)	16(14.0)
χ^2		2.950	0.643	0.564	0.839	0.747	0.779	0.148	1.171
P		0.086	0.423	0.453	0.360	0.387	0.378	0.700	0.279
婚姻									
在婚	409	311(76.0)	389(95.1)	371(90.7)	279(68.2)	346(84.6)	380(92.9)	321(78.5)	46(11.2)
其他	182	140(76.9)	165(90.7)	154(84.6)	141(77.5)	146(80.2)	161(88.5)	138(75.8)	20(11.0)
χ^2		0.054	4.251	4.714	5.249	1.730	3.218	0.514	0.008
P		0.816	0.039	0.030	0.022	0.188	0.073	0.474	0.927
年龄/岁									
<30	199	162(81.4)	184(92.5)	174(87.4)	158(79.4) ^a	167(83.9)	182(91.5)	154(77.4)	26(13.1)
30~	223	167(74.9)	207(92.8)	197(88.3)	151(67.7) ^b	178(79.8)	199(89.2)	177(79.4)	21(9.4)
40~	169	122(72.2)	163(96.4)	154(91.1)	111(65.7) ^b	147(87.0)	160(94.7)	128(75.7)	19(11.2)
χ^2		4.697	2.986	1.340	10.320	3.633	3.672	0.745	1.412
P		0.096	0.225	0.512	0.006	0.163	0.159	0.689	0.494
学历									
大专及以下	77	60(77.9)	75(97.4)	71(92.2)	62(80.5)	72(93.5) ^a	72(93.5)	64(83.1)	12(15.6)
本科	417	318(76.3)	390(93.5)	369(88.5)	294(70.5)	349(83.7) ^b	383(91.8)	319(76.5)	42(10.1)
硕士及以上	97	73(75.3)	89(91.8)	85(87.6)	64(66.0)	71(73.2) ^c	86(88.7)	76(78.4)	12(12.4)
χ^2		0.171	2.446	1.075	4.631	12.898	1.474	1.673	2.160
P		0.918	0.294	0.584	0.099	0.002	0.479	0.433	0.340
合计	591	451(76.3)	554(93.7)	525(88.8)	420(71.1)	492(83.2)	541(91.5)	459(77.7)	66(11.2)

注:多组间两两比较,字母不同表示 $P<0.05$ 。

3 讨论

COVID-19 流行期,医务人员因其职业特殊性成为高危人群之一,并呈现出一系列的心理问题。调查显示,女医务人员的紧张焦虑、易怒和悲观失望得分高于男性,可能与女性内心体验更为丰富、应对压力的承受能力和情绪的管理方式与男性存在差异有关。<40岁医务人员紧张焦虑、恐慌、易怒和悲观失望得分均高于40岁以上人群,可能与其对突发公共卫生事件的适应能力相对较弱有关,与王金龙等^[3]报道的结果基本一致。提示应及时采取心理防御措施加强对医务人员心理干预,特别是对女性和年轻医务工作者。

调查发现,医务人员的心理健康状况与其对自身健康状况和感染风险自我评价存在相关性,健康状况越差、感染风险越高,其心理健康状况越差;同时,心理健康状况越差,其睡眠障碍和盲目消毒行为

频率越高。适度的紧张焦虑和恐慌可提高人的警觉水平^[4],而过度的紧张焦虑和恐慌,则会妨碍人们正确判断疫情,易出现过度防控、盲目消毒和睡眠障碍等行为。研究显示,医务人员各防控行为执行率均>90%,说明其能够积极应对疫情,主观能动性较高,防控意识较强。

另外,医务人员的行为改变意愿较强,特别是在加强体育锻炼、提高自身免疫力方面,说明通过此次疫情,医务人员更加注重自身健康素养的提高。而对于野生动物,不管是非典时的果子狸^[5],还是此次疫情的疑似宿主蝙蝠和穿山甲^[6-7],两次沉痛教训让人们更加敬畏自然,从而选择不去食用野生动物,并阻止此类行为的发生。<30岁者更多地选择增加医药卫生知识学习,提示年轻医务人员有更高的自我提升需求。在婚医务人员选择加强体育锻炼和健康合理饮食的比例较高,提示其婚后可能对体

育锻炼和饮食健康有所忽视,因此行为改变意愿较高。

本研究是在 COVID-19 疫情急性流行期间开展的现况调查,旨在了解当前医务人员的心理应激反应和行为变化,为做好其心理健康防护提供依据。但调查期间,因抗疫一线医务人员工作的紧迫性,样本人群有限,后续将扩大样本量进一步分析。

【参考文献】

[1] HUANG C, WANG Y, LI X, *et al.* Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [EB/OL]. [2020-01-30]. <https://www.sciencedirect.com/sdfe/reader/pii/S0140673620301835/pdf>.

[2] 沈银忠,卢洪洲. 提高对新型冠状病毒感染诊治的认识 [J]. 中华传染病杂志, 2020, 38(1): 6-8.

[3] 王金龙,殷文渊,张洪龙,等. 中国援外医疗队员一般心理健康现状及其影响因素分析[J]. 中华流行病学杂志, 2019, 40(5): 574-579.

[4] 梁宝勇. “非典”流行期民众常见的心理应激反应与心理干预 [J]. 心理与行为研究, 2003, 1(3): 223-230.

[5] 徐昌青. 传染性非典型肺炎的流行病学及其特征 [J]. 山东医药, 2003, 43(16): 1-2.

[6] 田怀玉. 2019-nCoV: 来自冠状病毒的新挑战 [J]. 中华预防医学杂志, 2020, 54(3): 235-238.

[7] 李立明,梁晓峰,姜庆五,等. 新型冠状病毒肺炎流行病学特征的最新认识 [J]. 中华流行病学杂志, 2020, 41(2): 139-144.

(上接第 566 页)

【参考文献】

[1] 张志愿. 口腔颌面外科学 [M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 369.

[2] LIU XIA, WANG XUAN, LI LIFANG, *et al.* Research progress of the functional role of Ack1 in breast cancer [J]. Bio Med Research International, 2019, 2019(3): 1-6.

[3] 李利军. 活化 CDC42 相关激酶 1 表达与食管鳞状细胞癌侵袭转移的相关性研究 [J]. 中华生物医学工程杂志, 2016, 20(1): 16-22.

[4] MAHAJAN NP, COPPOLA D, KIM J, *et al.* Blockade of ACK1/TNK2 to squelch the survival of prostate cancer stem-like cells [J]. Scientific Reports, 2018, 8(1): 1954.

[5] 徐松辉. ACK1 基因扩增调控胃癌发生和转移的机制及其与临床预后关系的研究 [D]. 广州: 暨南大学, 2016.

[6] VAN DHEH, DEGENHARDT YY, STRELOW A, *et al.* Metastatic properties and genomic amplification of the tyrosine kinase gene ACK1 [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2005, 102(44): 15901-15906.

[7] PHILLIPS JM, BURGOON LD, GOODMAN JI. Phenobarbital elic-

its unique, early changes in the expression of hepatic genes that affect critical pathways in tumor-prone B6C3F1 mice [J]. Toxicological Sciences, 2009, 109(2): 193-205.

[8] EGAWA N, KOSHIKAWA N, TOMARI T, *et al.* Membrane type 1 matrix metalloproteinase (MT1-MMP/MMP-14) cleaves and releases a 22-kDa extracellular matrix metalloproteinase inducer (EMMPRIN) fragment from tumor cells [J]. Journal of Biological Chemistry, 2006, 281(49): 37576-37585.

[9] 周银锁,范文兵. 基质金属蛋白酶-13、基质金属蛋白酶-14 和组织蛋白酶 D 在结肠癌中的表达及意义 [J]. 国际免疫学杂志, 2018, 41(1): 27-31.

[10] XIAO G, WANG P, ZHENG X, *et al.* FAM83A-AS1 promotes lung adenocarcinoma cell migration and invasion by targeting miR-150-5p and modifying MMP14 [J]. Cell Cycle (Georgetown Tex), 2019, 18(9): 1-14.

[11] SHEN H, WANG L, XIONG J, *et al.* Long non-coding RNA CCAT1 promotes cervical cancer cell proliferation and invasion by regulating the miR-181a-5p/MMP14 axis [J]. Cell Cycle (Georgetown Tex), 2019, 18(10): 1-12.

芜湖市某高校桶装水及饮水机微生物检测分析

邵靖¹, 陈田田¹, 郭雨凡¹, 金玲娟¹, 方文东¹, 张莺莺²

(1. 皖南医学院 检验学院, 安徽 芜湖 241002; 2. 皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 检验科, 安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:通过对芜湖市某高校桶装水及饮水机水样进行检测, 评估某高校桶装水及饮水机水样的微生物污染情况, 为提高高校饮用水卫生质量提供基础资料。**方法:**采集某高校由当地不同桶装水厂供应的教师办公室、教师公寓和学生宿舍未开封桶装水和饮水机冷水出水口水样, 依据 GB 4789.2.3.15-2010 分别进行细菌总数、大肠菌群、霉菌和酵母菌检测。**结果:**桶装水水样细菌总数的合格率(78.00%)高于饮水机水样细菌总数的合格率(50.00%), 差异有统计学意义($P < 0.05$), 而在大肠菌群、霉菌和酵母菌的合格率上差异无统计学意义($P > 0.05$)。桶装水综合指标合格率(72.00%)高于饮水机水合格率(45.45%), 差异有统计学意义($P = 0.031$)。**结论:**芜湖市某高校桶装水和饮水机存在微生物污染问题。

【关键词】桶装水; 饮水机; 微生物; 高校; 芜湖市

【中图分类号】R 155.5 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.021

Detection and analysis on the microorganism in barreled water and water dispensers at a university in Wuhu

SHAO Jing, CHEN Tiantian, GUO Yufan, JIN Lingjuan, FANG Wendong, ZHANG Yingying

School of Medical Laboratory Science, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

【Abstract】Objective: To detect the microbial contamination status in barreled water and water dispensers sampled from a higher institution based on Wuhu City for evidence to improve the quality of drinking water supplied in college campus. **Methods:** Water samples were collected from the intact water barrels and the cold outlets of water dispensers stored at teachers' office, teacher's flat and students' dormitories in a college campus, and detected for the total bacteria count, coliform, mold and yeast level in accordance with GB 4789.2.3.15-2010. **Results:** The qualified rate of total bacteria was significantly higher in barreled water samples(78.00%) than in water samples from water dispensers(50.00%) ($P < 0.05$), yet there was no significant difference in the qualification rate for coliforms, mold and yeast ($P > 0.05$). The qualified rate by comprehensive index was obviously higher for barreled water(72.00%) than for water samples from water dispenser(45.45%) ($P = 0.031$). **Conclusion:** Microbial contamination appears in the barreled water and water dispensers stored in a college campus in Wuhu City.

【Key words】 barreled water; water dispenser; microorganism; colleges and universities; Wuhu City

近年来,桶装饮用纯净水已成为部分高校师生的主要饮用水选择。高校饮用水卫生质量的好坏直接关系到全校师生的身体健康和生命安全^[1]。因桶装饮用纯净水市场的庞大,不少企业纷纷加入到饮用纯净水的生产销售中来,由于不同企业投入和重视程度不同,桶装饮用纯净水的卫生质量良莠不齐^[2];其次,桶装水经过饮水机流出很可能再次受到微生物污染^[3]。因此开展桶装水和饮水机微生物检测与分析的研究对确保高校师生用水安全、预

防疾病,为师生提供安全的生活饮用水和健康的学習生活环境具有重要的现实意义。

1 材料与方法

1.1 水样采集 2019年9~11月采用随机抽样的方法对芜湖市某高校教师办公室、教师公寓和学生宿舍进行桶装水和饮水机水样采集。

1.2 采样方法 依据 GB 4789.1-2010《食品微生物学检验总则》对所需水样进行采集。揭开未拆封的

基金项目:安徽省大学生创新创业训练计划项目(201810368138)

收稿日期:2020-03-04

作者简介:邵靖(1999-),男,2017级卫生检验与检疫专业本科生,(电话)15856616355,(电子信箱)15856616355@163.com;

张莺莺,女,主管检验师,副教授,(电子信箱)ying-micky@163.com,通信作者。

桶装水瓶盖,用75%酒精棉球消毒瓶口及周边,先倾倒弃去200 mL桶装水,再以无菌接水器接取250 mL水样进行标记,作为桶装水水样,并尽快送至实验室检验;用乙醇棉球对正在日常使用的饮水机冷水出水口进行消毒,再放水1 min后,用无菌接水器接取250 mL水样进行标记,作为饮水机水样,并尽快送至实验室检验。

1.3 检测方法 依据GB 4789.2.3.15-2010对水样进行细菌总数、大肠菌群、霉菌和酵母菌的测定。其评价标准依据GB17324-2003《瓶(桶)装饮用纯净水卫生标准》即细菌总数 ≤ 20 cfu/mL、大肠菌群 ≤ 3 MPN/100 mL、霉菌和酵母菌不得检出,其中任意一项超标即水样不合格。

表1 桶装水及饮水机水样检测结果[n(%)]

指标	标准	桶装水		饮水机水样		χ^2	P
		样品数	合格数	样品数	合格数		
细菌总数/(cfu/mL)	≤ 20	50	39(78.00)	22	11(50.00)	5.645	0.018
大肠菌群/(MPN/100 mL)	≤ 3	50	45(90.00)	22	19(86.36)	0.002	0.964
霉菌/(cfu/mL)	不得检出	50	40(80.00)	22	14(63.64)	2.182	0.140
酵母菌(cfu/mL)	不得检出	50	37(74.00)	22	12(54.55)	1.965	0.161

2.2 桶装水与饮水机水样综合指标合格率的比较
桶装饮用水合格率(72.00%)高于饮水机水合格率(45.45%),差异有统计学意义($\chi^2 = 4.666, P = 0.031$)。见表2。

表2 桶装水与饮水机水样综合指标合格率的比较[n(%)]

水样来源	样品数	合格数	合格率
桶装水	50	36	72.00
饮水机水样	22	10	45.45

3 讨论

本次研究发现芜湖市某高校桶装水存在微生物污染情况,综合指标合格率为72.00%,与张笑稚等^[4]报道的结果相近。调查中发现造成桶装水微生物超标的原因主要有:①一些桶装饮用水生产厂家忽视了对从业人员卫生观念的培养和对生产环境的改善^[5]。根据调查,芜湖市某纯净水厂因其灌装车间为敞开式且缺少超净工作台及虫鼠防护措施,人员和物流存在交叉污染,产品出厂检验设施未按期检测等原因而被停产整改。类似的违规生产现象很有可能仍潜伏于我们的日常生活,对人们的用水安全造成严重的威胁。②桶装水由于其特殊结构不

1.4 统计分析 运用EXCEL建立数据库,应用SPSS 18.0统计学软件进行统计处理。计数资料采用例数(%)表示,组间比较行 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 桶装水与饮水机水样检测结果 桶装水水样细菌总数的合格率(78.00%)高于饮水机水样细菌总数的合格率(50.00%),差异有统计学意义($P < 0.05$);而桶装水和饮水机水样在大肠菌群、霉菌和酵母菌的合格率上差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

利于清洁和消毒且反复回收使用,易造成微生物污染^[6]。桶装水空桶清洁消毒效果受多种因素影响^[7],确保空桶的品质过关后才能灌装,但一些小企业为了节省成本,在空桶消毒杀菌重要环节上未达到标准。③桶装水在运输、储存及销售等环节可能存在污染,导致桶装饮用水卫生质量的下降^[3]。

采样时发现学生宿舍饮水机的使用较少,大部分学生通过从水桶倾倒的方式直接饮用,所以饮水机水样采集数量有限。研究结果显示芜湖市某高校饮水机水微生物污染情况较为严重,合格率仅为45.45%。在调查中发现引起饮水机水样微生物超标的原因有:①高校师生安全隐患意识不强,未定期对饮水机内各结构清洗消毒或更换滤芯^[8]。芜湖地处长江中下游,属亚热带湿润季风气候,适宜各类细菌生存,随着饮水机使用时间的延长,饮水机的内胆和出水管道无疑成为了细菌孳生的温床。②饮水机进气孔直接导致空气中的灰尘或者细菌等污染物进入饮水机内,更容易造成二次污染^[9]。③研究时发现部分学生宿舍空气环境恶劣,通风较差,潮湿霉臭,为饮水机微生物污染提供了条件。

(下转第590页)

健康体检人群幽门螺杆菌感染程度与血清胃蛋白酶原、胃泌素 17 的相关性分析

余结根^{1a}, 李 荣^{2a}, 刘少锋^{2b}, 唐梦莎^{1a}, 徐朋辉^{1a}, 姚应水^{1b,3}

(1. 皖南医学院 a. 管理学教研室; b. 公共卫生学院 慢性病防制研究所, 安徽 芜湖 241002; 2. 皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 a. 健康管理中心; b. 消化内科, 安徽 芜湖 241001; 3. 安徽中医药高等专科学校 医疗系, 安徽 芜湖 241003)

【摘要】目的:探讨幽门螺杆菌(HP)感染程度在健康体检人群中的分布情况及其与血清胃蛋白酶原(PG)、胃泌素 17(G-17)水平的关系。**方法:**参与健康体检的 5 592 人,采用¹⁴C-尿素呼气试验检测受检者 HP 感染程度,酶联免疫法(ELISA)分别测定空腹 G-17、PG 水平,计算血清 G-17、PG 中位数水平及 PGR(PG I/PG II)。**结果:**男性体检者 HP 阳性感染率(32.6%)低于女性体检者(36.4%),差异有统计学意义($P<0.05$)。40~60 岁年龄段受检者 HP 阳性率高于<40 岁和>60 岁年龄段受检者。HP 阳性者 PG I、PG II 和 G-17 检测水平均高于 HP 阴性者($P<0.05$),PGR 检测水平低于 HP 阴性者($P<0.05$);但 HP 不同感染程度体检者 PG I、PGR 和 G-17 检测水平差异均无统计学意义($P>0.05$)。HP 感染程度为+++体检者 PG II 检测水平高于 HP +者($P<0.05$);单 HP 感染程度为+和++体检者、++和+++体检者间 PG II 检测水平差异均无统计学意义($P>0.05$)。相关性分析显示体检人群 HP 感染程度与血清 PG I、PG II 和 G-17 水平呈正相关;与血清 PGR 水平呈负相关,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**健康体检人群中 HP 感染状态与年龄、性别有一定关联;PG、G-17 水平与 HP 感染程度有一定相关性;解读 PG、G-17 需考虑 HP 的影响。

【关键词】幽门螺杆菌;胃蛋白酶原;胃泌素 17;健康体检人群

【中图分类号】R 573;R 194.3;R 195.4 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.022

Correlation analysis of *Helicobacter pylori* infection with serum pepsinogen and gastrin-17 in physical examination population

YU Jiegen, LI Rong, LIU Shaofeng, TANG Mengsha, XU Penghui, YAO Yingshui

Department of Management, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

【Abstract】Objective: To investigate the distribution of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection and its relationship with serum pepsinogen (PG) and gastrin-17 (G-17) level in population undergoing physical examination. **Methods:** Totally, 5 592 participants undergoing physical examination were included, and subjected to ¹⁴C-urea breath test to detect the degree of *H. pylori* infection. ELISA was performed to respectively measure the level of PG and G-17, and the median ratio of serum PG (PGR, PG I/PGII) was calculated. **Results:** The positive rate of *H. pylori* infection was lower in male participants (32.6%) than in females (36.4%), and higher in participants aged under 40 years or over 60 years than in those between 40 and 60 years old (both $P<0.05$). The measured level of PG I, PG II and G-17 was higher in participants with positive *H. pylori* than in those with negative *H. pylori* ($P<0.05$), and PGR was also lower than in participants with negative *H. pylori* ($P<0.05$). However, the difference was insignificant in levels of PG I, PGR and G-17 among participants with different severity of *H. pylori* infection ($P>0.05$). PG II level was higher in participants with *H. pylori* +++ than in those *H. pylori* + ($P<0.05$), yet remained no significant difference in between participants with *H. pylori* + and ++, as well as those with ++ and +++ ($P>0.05$). Correlation analysis showed that the *H. pylori* infection severity was positively related to PG I, PG II and G-17 levels, yet negatively to serum PGR in the physical examination subjects ($P<0.05$). **Conclusion:** *H. pylori* infection is associated with the age and gender as well as PG and G-17 level in the physical examination population, which suggests that interpretation of serum PG and G-17 should take the influence of *H. pylori* infection into account.

【Key words】*Helicobacter pylori*; pepsinogen; gastrin-17; physical examination population

基金项目:安徽高校省级人文社会科学研究重点项目(SK2018A0190);安徽省哲学社会科学规划项目(AHSKY2018D55);安徽省第五批“特支计划”创新领军人才(T000516)

收稿日期:2020-06-01

作者简介:余结根(1974-),男,副教授,(电话)0553-3932991,(电子信箱)whyujg@163.com;

姚应水,男,教授,硕士生导师,(电子信箱)yingshuiyao@163.com,通信作者。

幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, HP) 是一种微需氧菌,1983 年首次被澳大利亚学者从人体胃黏膜分离出来,是迄今为止发现的唯一定植于人体胃部的细菌,HP 感染可导致慢性胃炎、消化性溃疡、胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤等多种胃部疾病,HP 持续感染是胃癌发生发展的主要致病因素之一^[1-2]。调查统计显示,我国民众 HP 感染率为 30%~50%,少数地区甚至达到 80%。血清胃蛋白酶原(pepsinogen,PG)、胃泌素 17(gastrin-17,G-17)是胃黏膜细胞分泌的激素,一定程度上反映了胃黏膜的功能状态,一些学者称其有“血清学活检”作用,联合 HP 检测用于早期胃癌筛查方案的制定^[3]。本研究探讨 HP 感染程度在普通体检人群中的表达情况及其与 PG、G-17 的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入标准:2019 年 5~9 月在安徽省某医院健康管理中心参加健康体检的表观健康人群 5 592 例,其中男性 2 869 例,女性 2 723 例,年龄 18~89 岁,同意进行¹⁴C-尿素呼气试验检测 HP 并抽血检测血清 PG 和 G-17。排除标准:年龄<18 岁;妊娠期、哺乳期;近两周使用过抗生素、质子泵抑制剂或其他制酸剂;患有严重心、肺、肝、肾疾病者,长期服用抗凝剂、非甾体类抗炎药者;胃肿瘤、消化性溃疡、胃出血、胃手术史等消化道疾病史患者。

1.2 仪器与试剂 ¹⁴C-尿素呼气试验试剂盒(深圳市中核海得威生物科技有限公司),卡式幽门螺杆菌检测仪呼吸卡(北京中西远大科技有限公司),幽门螺旋杆菌检测仪(北京中西远大科技有限公司),PG、G-17 试剂盒[必欧瀚生物技术(合肥)有限公司]。各项操作严格按照说明书中步骤由检验专业人员施行并进行质控。

1.3 方法 受检者清晨空腹采取静脉血 3 mL,室温 20~25℃静置 1 h,3 000 r/min 离心,取血清,-20℃保存,采用酶联免疫法测定 G-17、PG I 和 PG II 水平,计算 PG I/PG II 比值(PGR)。受检者空腹 20 mL 温水送服¹⁴C-尿素胶囊 1 粒,休息 15~20 min 后深吸口气后对着呼气卡进行持续吹气 3~5 min(呼气试验过程中避免倒吸气)。呼气卡插入检测仪中,等待 5 min 后读数。

1.4 参考范围 血清胃蛋白酶原正常值:PG I 70~165 μg/L,PG II 3~15 μg/L,PGR 7~20;血清胃泌素正常值:G-17 1~15 pmol/L。¹⁴C-尿素呼气试验:dpm ≥ 100 为 HP 阳性;dpm < 100 为 HP 阴性。HP 感染程度划分:dpm ≤ 99 为-,99 < dpm ≤ 499 为

+,499 < dpm ≤ 1 499 为++,1 499 < dpm ≤ 2 499 为+++ ,dpm > 2 499 为++++。

1.5 统计学分析 采用 SPSS 18.0 软件包行统计分析。计量资料以 M(P₂₅~P₇₅)表示,组间比较采用秩和检验;分类资料以频数(n)表示,组间采用χ²检验。相关分析采用等级相关。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同性别、年龄段体检人群 HP 感染率比较 结果显示,男性体检者 HP 阳性感染率(32.62%,936/2869)低于女性体检者(36.36%,990/2723),差异有统计学意义(χ²=8.619,P=0.003)。男性体检者中,年龄 40~60 岁者 HP 阳性感染率高于>60 岁者(P<0.05),其他年龄组间 HP 阳性感染率差异均无统计学意义(P>0.05);女性体检者中,年龄 40~60 岁者 HP 阳性感染率高于<40 岁者(P<0.05),其他年龄组间 HP 阳性感染率差异均无统计学意义(P>0.05)。年龄<40 岁组和>60 岁组,男女体检者 HP 阳性感染率差异无统计学意义(χ²=0.000,3.186;P=0.990,0.074);年龄 40~60 岁组,女性体检者 HP 阳性感染率高于男体检者(χ²=5.963,P=0.015)。见表 1。

表 1 不同性别、年龄段人群 HP 感染率比较[n(%)]

	n	HP(-)	HP(+)	χ ²	P
男性					
<40 岁	497	346(69.9)	151(30.4) ^{ab}	6.336	0.042
40~60 岁	1849	1216(65.8)	633(34.2) ^b		
>60 岁	523	371(70.9)	152(29.1) ^a		
女性					
<40 岁	435	303(69.7)	132(30.3) ^a	9.670	0.008
40~60 岁	1910	1183(61.9)	727(38.1) ^b		
>60 岁	378	247(65.3)	131(34.7) ^{ab}		

注:多组间两两比较,符号完全不同表示 P<0.05。

2.2 体检人群不同 HP 感染程度间血清 PG I、PG II、PGR 和 G-17 检测水平比较 结果显示,HP 感染程度为+、++和+++体检者 PG I 和 G-17 检测水平均高于 HP 阴性者(P<0.05),PGR 检测水平低于 HP 阴性者(P<0.05);但 HP 不同感染程度体检者 PG I、PGR 和 G-17 检测水平差异均无统计学意义(P>0.05)。HP 感染程度为+、++和+++体检者 PG II 检测水平高于 HP 阴性者(P<0.05),HP 感染程度为+++体检者 PG II 检测水平高于 HP(+)者(P<0.05);但 HP 感染程度为+和++体检者、++和+++体检者间 PG II 检测水平差异均无统计学意义(P>

0.05),见表2。

表2 体检人群不同HP感染程度间血清PG I、PG II、PGR和G-17检测水平比较[M(P₂₅~P₇₅)]

	<i>n</i>	PG I/(μg/L)	PG II/(μg/L)	PGR	G-17/(pmol/L)
HP(-)	3666	88.00(69.02~114.90) ^a	7.11(5.30~9.84) ^a	12.52(10.17~15.22) ^a	3.16(1.92~5.29) ^a
HP(+)	1238	115.95(90.06~146.33) ^b	14.32(11.03~18.80) ^b	8.09(6.51~10.03) ^b	5.79(3.69~8.84) ^b
HP(++)	659	116.94(91.17~150.87) ^b	15.87(12.39~20.17) ^{bc}	7.57(6.03~9.22) ^b	6.84(4.46~10.17) ^b
HP(+++)	29	116.23(94.42~144.89) ^b	16.34(13.62~19.92) ^c	6.98(5.89~8.67) ^b	8.31(5.34~12.57) ^b
χ^2		521.649	2062.453	1609.248	841.377
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.000

注:多组间两两比较,符号完全不同表示 $P < 0.05$ 。

2.3 体检人群HP感染程度与血清PG I、PG II、PGR和G-17水平的相关性 结果显示,体检人群HP感染程度与血清PG I、PG II和G-17水平呈正相关;与血清PGR水平呈负相关,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 体检人群HP感染程度与血清PG I、PG II、PGR和G-17水平的相关性

	PG I	PG II	PGR	G-17
r_s	0.302	0.603	-0.533	0.387
<i>P</i>	0.000	0.000	0.000	0.000

3 讨论

1994年WHO的国际癌症研究机构将HP列为I类致癌原,HP逐渐为世人所熟知。HP是一种定植于人体胃黏膜的革兰氏阴性杆菌,其鞭毛样结构、产生空泡毒素的特性使其不易被胃酸杀灭清除,导致胃黏膜长期受到炎症损伤刺激出现炎症反应,胃黏膜腺体逐渐破坏,出现胃黏膜萎缩、肠化、不典型增生、上皮内瘤变等变化,在遗传、环境等多种因素综合作用下,最终少部分感染者发展成胃癌,并且研究发现HP感染可通过激活ERK1/2信号通路,促进MMP-9的表达,从而在胃癌侵袭和转移过程中发挥重要作用^[4-5]。

本研究中HP感染率为34.4%,低于我国普通人群50%~80%的感染率^[6-7]。本研究中纳入的均为普通体检人群,无显性消化道症状,故较普通消化疾病门诊患者HP感染率低,同时作为主动参与体检者,自身经济条件及健康素养均高于平均水平,也是本研究中HP感染率略低的原因之一。本研究发现女性HP阳性率高于男性,差异有统计学意义,与王实等^[8]研究结果不同。这与胃癌发病率男性高于女性的事实并不一致,故HP感染在胃癌的发生发展中的作用仍有待进一步考量。本研究发现40~60岁年龄段HP感染率最高,与此年龄段人群多处于职场阶段,社交活动明显增多,外出应酬就餐及

吸烟、饮酒等原因有关。国内外研究显示HP感染随着年龄增长而增加^[9-10],而本研究中年龄>60岁者HP感染率并无明显上升,这可能与60岁以后胃黏膜萎缩肠化发病率增加,HP定植部位减少,故出现检测阴性的现象,因此对于胃癌高发地区,将胃癌早期筛查起始年龄定于40岁是必要的。

PG是由胃黏膜分泌的胃蛋白酶的无活性前体,分为PG I、PG II两个亚群,由胃酸激活发挥生理作用。G-17属胃窦G细胞分泌的一种肽类激素,主要作用于胃壁细胞刺激胃酸分泌。血清PG、G-17对于调节消化功能和维持消化道结构的完整性发挥了重要作用。联合检测血清PG、G-17水平及HP抗体一定程度上能够反映胃黏膜不同部位的功能状态。多项研究表明,HP感染可以影响血清PG、G-17水平,但研究结果不一,可能与HP感染的菌株、感染部位、感染阶段和宿主的遗传因素等有关^[11]。

本研究中HP阳性体检者PG I、PG II和G-17检测水平均高于HP阴性者($P < 0.05$),PGR检测水平低于HP阴性者($P < 0.05$),结果显示,体检人群HP感染程度与血清PG I、PG II和G-17水平呈正相关,与血清PGR水平呈负相关,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。HP主要通过刺激胃黏膜分泌胃酸的主细胞,增加主细胞内钙离子内流、cAMP和磷酸肌醇浓度,胃黏膜完整性破坏,加速炎症反应,进而刺激胃酸、PG的合成和分泌,胃泌素分泌增加,所以本研究中HP阳性组血清PG I、PG II和G-17水平升高,而PG I升高不如PG II升高明显,故PGR下降,与DE等的研究结果一致^[12]。2017年中国早期胃癌筛查流程专家共识意见建立新型胃癌筛查评分系统中将PGR<3.89分作为一项评价指标,认为低水平的PGR是胃癌的高风险信号^[13]。研究显示,根除HP治疗后,血清PG I、PG II、PGR和G-17水平较根除前明显改善,且胃癌发病率下降^[14]。这进一步证实了HP感染可以影响胃功能的变化,是导致多种胃部疾病的致病因素。本研究还发现,HP感

染程度为+++体检者 PG II 检测水平高于 HP+者 ($P < 0.05$), HP 感染程度为+和++体检者、++和+++体检者间 PG II 检测水平差异均无统计学意义 ($P > 0.05$), 与黄荣根等的研究有所差别^[15]。故 HP 感染阳性程度在根除 HP 时是否需要考虑仍需要进一步研究证实。

综上所述,健康体检人群中 HP 感染状态与年龄、性别有一定关联,血清 PG、G-17 水平与 HP 感染程度有一定关系,解读血清 PG 和 G-17 需考虑 HP 感染的影响,为临床根除 HP 提供理论依据。

【参考文献】

[1] 刘文忠,谢勇,陆红,等. 第五次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告[J]. 中华消化杂志,2017,37(6):364-378.

[2] TONKIC A, VUKOVIC J, VREVALOVIC P, et al. Diagnosis of Helicobacter pylori infection: a short review [J]. Wien Klin Wochenschr,2018,130(17):530-534.

[3] MIKI K. Gastric cancer screening by combined assay for serum anti-Helicobacter pylori Ig G antibody and serum pepsinogen levels-“ABC method” [J]. Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci,2011,87(7):405-414.

[4] ZHANG RG, DUAN GC, FAN QT, et al. Role of Helicobacter pylori infection in pathogenesis of gastric carcinoma [J]. World J Gastrointest Pathophysiol,2016,7(1):97-107.

[5] 李睿,龚林,李庚,等. 幽门螺杆菌感染与胃癌细胞侵袭转移的关系研究[J]. 实用癌症杂志,2020,35(1):1-4.

[6] NAGY P, JOHANSSON S, MOLLOY-BLAND M. Systematic review of timetrends in the prevalence of Helicobacter pylori infection in

China and the USA [J]. Gut Pathog,2016,8:8-21.

[7] 韩玉刚,崔云朋,李静,等. 济南地区自然人群幽门螺杆菌感染情况及其免疫分型研究[J]. 检验医学与临床,2020,5(17):630-632.

[8] 王实,张宏,赵劲松,等. 我院体检职工胃幽门螺杆菌感染情况及特点分析[J]. 中国现代药物应用,2019,13(20):232-234.

[9] KIM HY, KIM N, KANG JM, et al. Clinical meaning of pepsinogen test and Helicobacter pylori serology in the health check-up population in Korea [J]. European Journal of Gastroenterology & Hepatology,2009,21(6):606-612.

[10] 李兴川,王海东,张妮,等. 中国儿童及青少年幽门螺杆菌感染流行病学调查的系统评价和 meta 分析[J]. 临床儿科杂志,2017,35(10):782-787.

[11] LORENTE S, DOIZ O, TRINIDAD SM, et al. Helicobacter pylori stimulates pepsinogen secretion from isolated human peptic cells [J]. Gut,2002,50(1):13-18.

[12] DE RV, ORZES E, CANZONIERI V, et al. Pepsinogens to distinguish patients with gastric intestinal metaplasia and Helicobacter pylori infection among populations at risk for gastric cancer [J]. Clinical & Translational Gastroenterology,2016,7:e183-e190.

[13] 杜奕奇,蔡全才,廖专,等. 中国早期胃癌筛查流程专家共识意见(草案)(2017年,上海)[J]. 胃肠病学,2018,23(2):92-97.

[14] MASSARRAT S, HAJ-SHEYKHOLESAMI A, MOHAMADKHANI A, et al. Precancerous conditions after H. pylori eradication: a randomized double blind study in first degree relatives of gastric cancer patients [J]. Arch Iran Med,2012,15(11):664-669.

[15] 黄荣根,宋晓华,王春敏,等. 健康体检人群幽门螺杆菌感染程度与血清胃蛋白酶原水平的关系[J]. 标记免疫分析与临床,2013,20(4):203-206.

(上接第 586 页)

针对本次研究笔者提出如下建议:卫生监督部门应加强对桶装水生产企业日常的卫生质量监督,及时发现问题并及时整改^[3];桶装水生产厂家应增加产品自检环节,严禁不合格桶装水流入市场^[10];广大师生应尽量选择由正规企业生产的桶装水;加强宣传教育,指导师生正确使用桶装饮用水和饮水机;尽量将饮水机放置在避光处,在开盖后 3d 内饮用完,且最好饮用经饮水机加热煮沸过的水^[11];饮水机应每 2 周清洗消毒 1 次,要严格按标准程序^[4]进行清洗消毒。

【参考文献】

[1] 郭占春,戴恩成,关祥旭. 滕州市学校生活饮用水卫生状况 [J]. 中国学校卫生,2011(6):756-757.

[2] 吴惠刚,黄诚,陈华宣,等. 2001 年中山市桶装及瓶装饮用水卫生质量调查分析 [J]. 华南预防医学,2002,28(4):60-61.

[3] 徐述坚. 桶装饮用水卫生质量状况 [J]. 实用预防医学,2015,22(1):124-126.

[4] 张笑稚. 某地区桶装饮用水卫生细菌检测指标的分析及安全性研究 [J]. 中国农村卫生,2016(16):67.

[5] 刘瑾. 冷水江市 2012-2013 年桶装饮用水微生物检测与分析 [J]. 公共卫生与预防医学,2015(4):103-104.

[6] 马小惠,黄志超,张杰,等. 乌鲁木齐市高校桶装饮用水及饮水机卫生状况分析 [J]. 中国卫生产业,2015(8):36-37,39.

[7] 纪峰,崔崇威,李圭白等. 桶装水空桶和桶盖的杀菌消毒和清洗技术研究 [J]. 哈尔滨商业大学学报(自然科学版),2006(2):31-33.

[8] 李智彬. 柳州市学校直饮水机卫生现状调查及分析 [J]. 预防医学情报杂志,2013(3):266-267.

[9] 陈俭,辛瑞娜. 新型桶装水饮水机的研究 [J]. 科技创业月刊,2015(16):121-122.

[10] 张菲菲,沈静雯,卜菁. 江苏省包装饮用水微生物污染状况分析 [J]. 粮食流通技术,2018(8):194-196.

[11] 潘少兵,邱凤仙,陈茜. 2016 年夏季安庆市饮水机水质微生物污染状况调查与分析 [J]. 安庆师范大学学报(自然科学版),2017,23(1):96-98.

· 大学生科技园地 ·

文章编号:1002-0217(2020)06-0591-04

Eu(OH)₃@Au 复合纳米管的可控合成及表征

张龙威^{1,2}, 季翔^{1,2}, 李祥子¹

(皖南医学院 1. 材料合成应用研究所;2. 春晖科研兴趣小组,安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的:研究一种潜在药物佐剂 Eu(OH)₃@Au 纳米管的可控合成技术。**方法:**以氯化铕和氢氧化钠为原料,通过调节加样时间、水热温度及水热时间探索 Eu(OH)₃ 纳米管最佳合成条件。以氯金酸为还原剂,通过化学还原法对 Eu(OH)₃ 纳米管进行表面修饰,构筑 Eu(OH)₃@Au 复合纳米管。利用扫描电镜、透射电镜、X 射线粉末衍射仪及元素分析仪等对产物的形貌、尺寸及成分进行表征。**结果:**通过条件优化,可以控制性合成出长度 230~500 nm、直径 60~170 nm 的 Eu(OH)₃ 纳米管,其中前驱体合成过程中的加样时间是获得管状结构的关键因素。经表面修饰后,Eu(OH)₃ 纳米管表面负载的金纳米粒子直径约为 5 nm。**结论:**通过水热反应和化学还原二步法可在优化条件下构筑出 Eu(OH)₃@Au 复合纳米管。

【关键词】氢氧化铕;纳米管;水热合成;药物佐剂;生物材料

【中图分类号】O 643.36;TB 383 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.023

Controlled synthesis and characterization of Eu(OH)₃@Au composite nanotubes

ZHANG Longwei, Ji Xiang, Li Xiangzi

Institute of Synthesis and Application of Medical Materials, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

【Abstract】Objective: To investigate the controllable technology for synthesizing a potential drug adjuvant Eu(OH)₃@Au nanotubes. **Methods:** The optimum synthesis conditions of Eu(OH)₃ nanotubes were explored by adjusting the time to add samples, hydrothermal temperature and hydrothermal time using europium chloride and sodium hydroxide as raw materials. The as-prepared Eu(OH)₃ nanotubes were further reduced by chloroauric acid, and resulted in the Eu(OH)₃@Au composite nanotubes. The morphology, size and composition of the products were characterized by scanning electron microscopy (SEM), transmission electron microscopy (TEM), X-ray powder diffraction (XRD) and energy dispersive spectrometer (EDS). **Results:** Under the optimizing condition, the Eu(OH)₃ nanotubes with 230~500 nm in length and 60~170 nm in diameter can be synthesized in a controlled way, and the sample-adding time during the synthesis process of precursor was the key factor to obtain tubular structure. After surface modification, Au nanoparticles with ~5 nm diameter can load on the surface of Eu(OH)₃ nanotubes. **Conclusion:** The Eu(OH)₃@Au nanotubes can be constructed under the optimum conditions by two-step methods of hydrothermal reaction and chemical reduction.

【Key words】Eu(OH)₃@Au; nanotubes; hydrothermal synthesis; drug adjuvant; biological materials

随着纳米技术的不断发展,纳米光学材料因其尺寸小、光学性能优以及生物相容性好,被广泛用于生物标记物检测、生物成像及疾病诊疗等生物医学领域^[1-2]。其中,纳米金具有表面易修饰、无毒以及可调的表面等离子共振效应,并可通过改变纳米金尺寸方法调控其对红外光的吸收及光热转化,已成为一类常用的光学纳米佐剂用于体内示踪和癌症治

疗^[3-5]。此外,纳米金还可用于复合纳米材料的构建,通过纳米金及被修饰材料的协同作用,调控材料的荧光成像或热疗效果^[6]。例如,Au-Pt@PEDOT 纳米复合材料表现出较高的光致发光量子效率,有望成为具有超微细、低毒、蓝色区域荧光特点的纳米杂化材料^[7]。

稀土纳米材料因其 4f 电子易跃迁而表现出奇

基金项目:安徽省自然科学基金项目(2008085ME124);安徽省重点研究与开发计划项目(202004d07020005);安徽省学术和技术带头人及后备人选科研活动经费资助项目(2019H228);分子基材料安徽省重点实验室开放课题(fzj19016);安徽省大学生创新创业训练计划项目(201810368134)

收稿日期:2020-05-24

作者简介:张龙威(1998-),男,2016级医学检验专业本科生,(电话)17354279500,(电子信箱)1901627731@qq.com;

李祥子,男,教授,硕士生导师,(电子信箱)li-xiang-zi@163.com,通信作者。

特的光、电、磁性能,现已作为细胞毒性药物、辐射和光动力疗法佐剂、药物载体、生物传感和生物成像探针等得到广泛关注。Do 等^[8]制备出 $TbPO_4 \cdot H_2O$ 纳米棒与 CD133、PD-L1 单克隆抗体双偶联的纳米复合物,对 NTERA-2 细胞 3D 瘤球生长的抑制率可达 58.50%,显示出良好的抗肿瘤干细胞活性。尤其是稀土铈纳米棒,因具有良好的光稳定性、溶解性、生物相容性和细胞毒性,已逐渐引起国内外学者的兴趣。 $Eu(OH)_3$ 纳米棒能够产生活性氧并激活有丝分裂活化蛋白激酶,表现出优良的促增殖和血管生成活性^[9]。功能化的 $SiO_2@Eu(OH)_3$ 生物荧光探针,可以诱导 HepG2 细胞的凋亡,有望用于多种生物分子的光学成像^[10]。 $Eu(OH)_3$ 纳米簇具有良好的体内外生理稳定性和生物相容性,对人脐静脉内皮细胞具有良好的促增殖活性^[11]。一维 $Eu(OH)_3$ 纳米材料的合成方法主要包括水热法^[12-15]和搅拌沉淀法^[16-18]。其中水热法因具有操作简单、可调参数多、适用范围广等优点,一直是构建纳米结构的有效途径。目前已报道的一维 $Eu(OH)_3$ 纳米材料基本上均为棒状结构,管状结构鲜有报道,特别是未见水热法合成 $Eu(OH)_3$ 纳米管及其金修饰纳米管的研究。因此,本文利用水热合成技术,通过调节加样时间、水热温度及水热时间,控制性成功合成出 $Eu(OH)_3$ 纳米管,并通过化学还原法对 $Eu(OH)_3$ 纳米管进行表面修饰,获得 $Eu(OH)_3@Au$ 复合纳米管,进而为新型管状荧光药物佐剂的研究奠定基础。

1 仪器和试剂

1.1 主要仪器 扫描电子显微镜(SEM,S-4800,日本),透射电子显微镜(TEM,H800,日本),X-射线粉末衍射仪(XRD,MiniFlex600,日本),能谱仪(EDS,Regulus-8100,日本),超声清洗仪(KQ116,昆山),高速离心机(JW-2017H,合肥),鼓风干燥箱(DHG-9030A,合肥),酸度计(MP511,上海),纯水机(DZG-303A,合肥),真空干燥箱(DZK-K50B,合肥)。

1.2 主要试剂 氢氧化钠(NaOH),氯化铈($EuCl_3 \cdot 6H_2O$),无水甲醇(CH_3OH),无水乙醇(C_2H_5OH),氯金酸($HAuCl_4$),标准缓冲剂(pH 6.86,9.18),所有试剂均为分析纯。

2 实验方法

2.1 $Eu(OH)_3$ 纳米管的合成 准确称量 0.0636 g 的氯化铈固体溶于 100 g 去离子水中获得氯化铈溶液。在 pH 计监控下,边搅拌边向氯化铈溶液中分

次加入 2 mol/L 的氢氧化钠溶液,10 ~ 90 min 内滴加完毕,使混合液的 pH 为 13.00。然后将得到的反应前驱体溶液转移到 10 mL 的聚四氟乙烯反应釜中,封闭,放入钢套中,拧紧后置于鼓风干燥箱中,140℃加热 12 ~ 35 h,自然冷却到常温,取出产物,离心分离,获得白色固体,并用去离子水和无水乙醇离心清洗数次,真空干燥,备用。

2.2 $Eu(OH)_3@Au$ 复合纳米管的合成 参照文献^[19]方法,分别吸取 20 μ L 0.02 g/mL 的氯金酸水溶液和 200 μ L 甲醇,加入 3.0 mL 去离子水中,搅拌均匀,再加入 5.0 mL 0.01 mol/L 的氢氧化钠溶液,调节其 pH 至 7 ~ 8。称取 10 mg 实验所得的 $Eu(OH)_3$ 粉末,超声分散到 1.0 mL 去离子水中,获得白色分散液。边搅拌边将 $Eu(OH)_3$ 分散液加入调好 pH 的氯金酸溶液中,搅拌 1 h,然后转移到 10 mL 聚四氟乙烯反应釜中,封闭,放入钢套中,拧紧后置于鼓风干燥箱中,120℃加热 1 h,自然冷却到常温,取出产物,离心分离,将所得固体依次用去离子水和无水乙醇离心清洗数次,真空干燥,即得 $Eu(OH)_3@Au$ 复合纳米管。

2.3 产物的表征 利用扫描电子显微镜、透射电子显微镜对产物的形貌和尺寸进行分析。利用 X 射线粉末衍射仪和能谱仪对产物的结构和组成进行分析。

3 结果与讨论

3.1 $Eu(OH)_3$ 纳米管的条件 众多研究结果表明,当 OH^- 浓度较大时,高浓度的 $[OH^-]$ 和 $[Eu^{3+}]$ 迅速反应,促使 $Eu(OH)_3$ 沿着 c 轴各向异性生长,形成一维棒状结构^[18]。为获得管状结构,Wu 等^[20]利用特殊的模板溶胶凝胶技术获得氧化铈纳米管。但在水热过程中, $Eu(OH)_3$ 纳米管的合成仍然是一个挑战。因此,本研究通过改变反应条件对管状结构的形成进行探索。图 1 为不同反应条件下产物的 SEM 照片,表 1 为对应的反应条件。

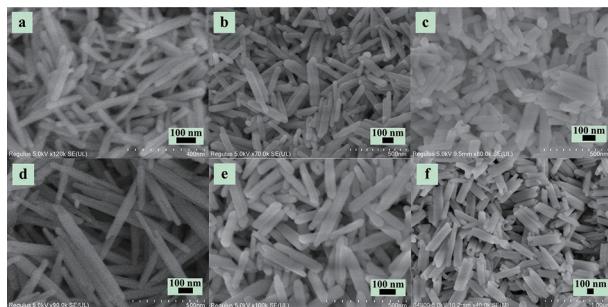


图 1 不同反应条件下 $Eu(OH)_3$ 纳米结构的 SEM 照片

表1 Eu(OH)₃纳米管的条件探索

编号	加样时间/min	水热温度/℃	水热时间/min
图1a	10	140	35
图1b	30	140	35
图1c	60	140	35
图1d	60	140	12
图1e	60	120	35
图1f	90	140	35

从表1和图1可以看出,当向氯化铕溶液加入NaOH的时间(加样时间)为10 min、水热温度为140℃、水热时间为35 h时,所得的产物为不规则的纳米棒形貌(图1a)。相同条件下,若将加样时间延长到30 min,所得产物仍以棒状为主,且尺寸不均匀,不过其中直径较大的产物出现了类似的“管口”(图1b),继续延长加样时间到60 min,虽然产物的尺寸仍不均匀,但管状产物相对增多(图1c)。在加样时间维持60 min不变的前提下,若只将水热时间缩短到12 h,发现产物变得细长(图1d);若只将水热温度降低为120℃,发现产物的尺寸均匀度略有增大(图1e)。然而,这两种情况下均不能获得管状产物或管状产物含量降低。进一步研究发现,当水热温度140℃、水热时间35 h,NaOH的加入时间延长至90 min,则可获得形貌规整的管状产物(图1f)。Zhang等^[18]在搅拌合成Eu(OH)₃纳米纺锤体时曾发现,老化时间会影响到产物形貌。在本研究中,水热温度和时间均能对Eu(OH)₃产物的形貌和尺寸产生一定影响,但延长加入NaOH时间则是影响管状形成的关键因素,实际上也同样增加了反应前驱体的老化时间。研究结果还发现,若进一步延长加样时间到2 h,产物仍然保持管状结构,但纳米管的内径略微增大,这表明控制前驱体的老化时间有可能会对Eu(OH)₃纳米管的孔径产生一定影响,具体影响结果还有待于后期的深入研究。

3.2 Eu(OH)₃纳米管的表征 按照最优化的反应条件,实验成功合成出典型Eu(OH)₃纳米管。图2a为实验所得Eu(OH)₃纳米管的SEM图。从该图可以看出,Eu(OH)₃纳米管长为230~500 nm,直径为60~170 nm,平均管壁厚度约35 nm,纳米管表面光滑、形貌统一、管口清晰,且呈典型六边形。透射电镜表征也发现,相对模板法合成出的Eu₂O₃纳米管^[20],本研究所得Eu(OH)₃的管壁相对较厚。不过从图2c可以发现,产物的径向中部区域颜色相对略浅,亦可表现出管状特征。图2b和2d分别为金颗粒修饰Eu(OH)₃复合纳米管的SEM和TEM照片。从图2b可以看出,Eu(OH)₃纳米管表面均匀

负载了很多颜色稍白的金纳米颗粒,透射照片中则是颜色更黑的球形颗粒,金颗粒的直径大多数为6 nm左右,从而证明了金纳米粒子的成功修饰。

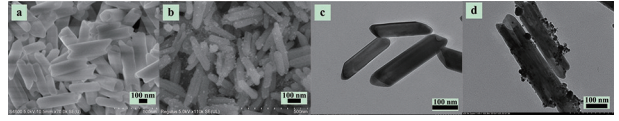


图2 Eu(OH)₃纳米管及Eu(OH)₃@Au复合纳米管的SEM(a,b)及TEM(c,d)照片

为验证产物的结构和组成,分别对两种纳米管进行了XRD表征(图3)。发现Eu(OH)₃纳米管在16.1、28.0、29.3、41.0、50.5等位置出现尖锐的衍射峰,均可很好地归属到六方相晶态Eu(OH)₃的(100)、(110)、(101)、(201)及(211)晶面(标准卡片号为83-2305)。相对而言,Eu(OH)₃@Au复合纳米管除了拥有Eu(OH)₃的特征衍射峰以外,还在38.1、44.3、64.5、77.5及81.7处出现新的衍射峰,这些峰也可完全归属到立方相晶态Au的(111)、(200)、(220)、(311)及(222)(标准卡片号为04-0784),该结果也与文献^[19]一致。此外,从Eu(OH)₃@Au复合纳米管的能谱图(图4)也可发现,产物呈现出Eu、O及Au三种元素,定量分析结果表明,Eu(OH)₃@Au中Au的原子比为2.81%。以上两种方式充分证实了实验所得纳米管的化学组成和结构。

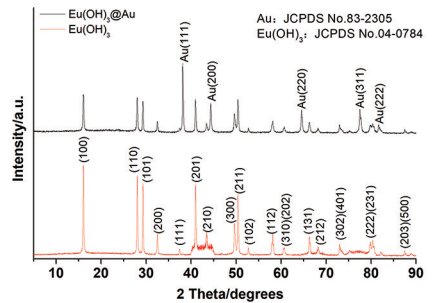


图3 Eu(OH)₃纳米管及Eu(OH)₃@Au复合纳米管的XRD图

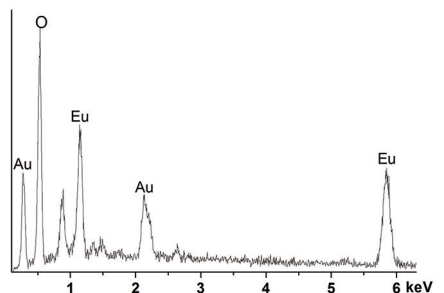


图4 Eu(OH)₃@Au复合纳米管的EDS图

利用水热技术,可以通过改变加样时间、反应温度和反应时间等控制性合成出 $\text{Eu}(\text{OH})_3$ 纳米管,其中加样搅拌时间是形成管状结构的关键因素。氯金酸还原法可成功在 $\text{Eu}(\text{OH})_3$ 纳米管表面进行纳米金修饰,获得 $\text{Eu}(\text{OH})_3 @ \text{Au}$ 复合纳米管。本研究可为 $\text{Eu}(\text{OH})_3 @ \text{Au}$ 复合纳米管的可控合成提供参考,以期为新型纳米荧光生物材料的构建及医学应用奠定基础。

【参考文献】

- [1] ZHU H, WANG Y, CHEN C, *et al.* Monodisperse dual plasmonic $\text{Au} @ \text{Cu}_{2-x}\text{E}$ (E = S, Se) core@ shell supraparticles: aqueous fabrication, multimodal imaging, and tumor therapy at in vivo level [J]. *ACS Nano*, 2017, 11(8): 8273–8281.
- [2] WANG M, WU JH, LI Y, *et al.* A tumor targeted near-infrared light-controlled nanocomposite to combat with multidrug resistance of cancer [J]. *J Control Release*, 2018, 288: 34–44.
- [3] LAKHANI PM, ROMPICHARLA SVK, GHOSH B, *et al.* An overview of synthetic strategies and current applications of gold nanorods in cancer treatment [J]. *Nanotechnology*, 2015, 26: 432001.
- [4] MORALES-DALMAU J, VILCHES C, MIGUEL ID, *et al.* Optimum morphology of gold nanorods for light-induced hyperthermia [J]. *Nanoscale*, 2018, 10(5): 2632–2638.
- [5] 李薇, 赵一凡, 曹媛媛, 等. 新型纳米棒药物载体的合成及性能研究进展 [J]. *化工进展*, 2017, 9: 3436–3446.
- [6] WANG C, XU L, XU X, *et al.* Near infrared Ag/Au alloy nanoclusters: tunable photoluminescence and cellular imaging [J]. *J Colloid Interf Sci*, 2014, 416: 274–279.
- [7] KHAN S, NARULA AK. Synthesis of a bimetallic conducting nanohybrid composite Au-Pt@ PEDOT exhibiting fluorescence [J]. *New J Chem*, 2018, 42: 2537–2544.
- [8] DO TT, LE NM, VO TN, *et al.* Cancer stem cell target labeling and efficient growth inhibition of CD133 and PD-L1 monoclonal antibodies double conjugated with luminescent rare-earth Tb^{3+} nanorods [J]. *Appl Sci*, 2020, 10(5): 1710.
- [9] DAS S, SINGH S, DOWDING JM, *et al.* The induction of angiogenesis by cerium oxide nanoparticles through the modulation of oxygen in intracellular environments [J]. *Biomaterials*, 2012, 33: 7746–7755.
- [10] ANSARI AA, HASAN TN, SYED NA, *et al.* In-vitro cyto-toxicity, geno-toxicity, and bio-imaging evaluation of one-pot synthesized luminescent functionalized mesoporous $\text{SiO}_2 @ \text{Eu}(\text{OH})_3$ core-shell microspheres [J]. *Nanomedicine: NBM*, 2013, 9: 1328–1335.
- [11] ZHANG L, HU WL, WU YD, *et al.* Microwave-assisted facile synthesis of $\text{Eu}(\text{OH})_3$ nanoclusters with pro-proliferative activity mediated by miR-199a-3p [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2018, 10: 31044–31053.
- [12] ZENG QG, DING ZJ, ZHANG ZM, *et al.* Photoluminescence and Raman spectroscopy studies of $\text{Eu}(\text{OH})_3$ rods at high pressures [J]. *J Phys Chem C*, 2010, 114: 4895–4900.
- [13] YANG XF, NING GL, LIN Y. Preparation of $\text{Eu}(\text{OH})_3$ and Eu_2O_3 nanorods through a simple method [J]. *Chem Lett*, 2007, 36(3): 468–469.
- [14] WU H, ZHANG YJ, ZHOU MZ, *et al.* Growth of $\text{Eu}(\text{OH})_3$ large single crystals by solid KOH assisted hydrothermal method and luminescent and magnetic properties [J]. *Cryst Res Technol*, 2016, 51(9): 508–512.
- [15] KANG JG, JUNG Y, MIN BK, *et al.* Full characterization of $\text{Eu}(\text{OH})_3$ and Eu_2O_3 nanorods [J]. *Appl Surf Sci*, 2014, 314: 158–165.
- [16] DU N, ZHANG H, CHEN BD, *et al.* Low temperature chemical reaction synthesis of single-crystalline $\text{Eu}(\text{OH})_3$ nanorods and their thermal conversion to Eu_2O_3 nanorods [J]. *Nanotechnology*, 2007, 18: 065605.
- [17] KATTE K, PARK JY, XU WL, *et al.* Surface coated $\text{Eu}(\text{OH})_3$ nanorods: a facile synthesis, characterization, MR relaxivities and in vitro cytotoxicity [J]. *J Nanosci Nanotechnol*, 2013, 13(11): 7214–7219.
- [18] ZHANG DS, YAN TT, SHI LY, *et al.* Template-free synthesis, characterization, growth mechanism and photoluminescence property of $\text{Eu}(\text{OH})_3$ and Eu_2O_3 nanospindles [J]. *J Alloy Compd*, 2010, 506: 446–455.
- [19] TIAN FS, LIU YL, GUO KK. Au nanoparticle modified flower-like ZnO structures with their enhanced properties for gas sensing [J]. *Mat Sci Semicon Proc*, 2014, 21: 140–145.
- [20] WU GS, ZHANG LD, CHENG BC, *et al.* Synthesis of Eu_2O_3 nanotube arrays through a facile sol-gel template approach [J]. *J Am Chem Soc*, 2004, 126: 5976–5977.

Mini-CEX 联合 DOPS 双轨系统在内分泌科住培医师教学中的应用评价

何春玲¹, 邢文², 曹亚³, 赵咏莉¹, 高家林¹

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 1. 内分泌科; 2 老年医学科; 3 麻醉科, 安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:探讨迷你临床演练评估(Mini-CEX)和临床操作技能评估(DOPS)双轨系统在内分泌科教学中的应用和效果评价。**方法:**选取2018年1月~2019年6月弋矶山医院内分泌科住院医师规范化培训的医师80名为研究对象,随机分配至实验组和对照组各40名。实验组在常规带教的基础上每2周进行Mini-CEX,在第3周和第6周进行DOPS考核,对照组行常规带教;在第8周对两组进行Mini-CEX、DOPS考核和出科理论及技能考核。**结果:**第8周实验组Mini-CEX 7个核心指标中职业素养、沟通交流、组织效率和综合能力4个方面得分高于对照组($P < 0.05$),实验组DOPS考核成绩、技能考核成绩及总成绩均高于对照组($P < 0.05$),两组出科理论考试成绩差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论:**Mini-CEX联合DOPS双轨评价系统能有效提高内分泌科住培医师的临床综合能力和操作技能水平,值得在教学工作中推广应用。

【关键词】迷你临床演练评估;临床操作技能评估;评价;内分泌科;教学

【中图分类号】R 58;G 642.4 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.024

Evaluation of applying Mini-CEX and DOPS dual-track system in instruction of residents undergoing standardized residency training in the department of endocrinology

HE Chunling, XING Wen, CAO Ya, ZHAO Yongli, GAO Jialin

Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To evaluate the effectiveness of applying both mini-clinical evaluation exercise (Mini-CEX) and directly observed procedural skills (DOPS) systems in instruction of residents undergoing standardized residency training in the department of endocrinology. **Methods:** Eighty residents undergoing standardized residency training in the department of endocrinology of our hospital were included from January 2018 to June 2019, and equally randomized into observational group and control group. Residents in the observational group underwent Mini-CEX training every other week on the regular training basis, and additional DOPS assessment was given at the 3rd and 6th week. Those in the control group were given mere regular training. By the 8th week, residents in both groups were assessed for the theoretical knowledge and clinical skills using both Mini-CEX and DOPS programs. **Results:** Evaluation conducted at the 8th week showed that residents in the observational group had higher scores on professional quality, ability of communication, organizational efficiency and comprehensive ability out of the 7 core indicators of Mini-CEX than those in the control group ($P < 0.05$). The scoring by DOPS assessment and for skills as well as total scores were better in the observational group than in the control group ($P < 0.05$), yet there was no statistical difference in the scores of the two groups in theoretical achievement ($P > 0.05$). **Conclusion:** Dural evaluation with Mini-CEX and DOPS can effectively improve the clinical capability and operational skills of residents undergoing standardized residency training in the department of endocrinology, and is worthy of recommendation in clinical teaching.

【Key words】 mini-clinical evaluation exercise; directly observed procedural skills; evaluation; endocrinology; teaching

住院医师规范化培训是目前世界上主流的医生培养方式。近年来,我国也开始严格执行住院医师规范化培训制度,弋矶山医院为国家级住院医师规范化培训基地,住培带教现已成为一项重要内容,如何在有限的轮转时间内有效地带教,进而促进教学

相长,是必须面临的问题。传统的带教方式存在一定的局限性^[1],为保证教学效果和提高教学质量,需要一个简单有效的形成性评价方式。迷你临床演练评估(mini-clinical evaluation exercise, Mini-CEX)是由美国内科医学会发展的评量住院医师临床能力

基金项目:安徽省教学质量工程项目(2019xfxm89);安徽省高等学校人文社会科学研究项目(SK2019A0214)

收稿日期:2020-06-28

作者简介:何春玲(1978-),女,副主任医师,(电话)13855334335,(电子信箱)849783086@qq.com。

的方法,同时该评估体系也对教师的业务能力和客观公正性提出了较高要求^[2]。临床操作技能评估(directly observed procedural skills, DOPS)最早由英国皇家内科医师协会设计而成,主要用于评估住院医师的临床操作技能,由教师直接观察并以客观量表评估学员临床操作技能的评估方法。这两种方法是形成性评价中常用的两种评价体系,常被联合使用在一线教学中^[3-5],本研究应用 Mini-CEX 联合 DOPS 双轨系统为形成性评价工具,以利于对内分泌科住院医师进行考核,提升医师内分泌科疾病临床诊疗思维和操作技能,收到了较好的教学效果,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取 2018 年 1 月~2019 年 6 月弋矶山医院内分泌科住院医师规范化培训医师 80 名,按入科顺序知情同意后随机分为实验组(Mini-CEX 联合 DOPS 考核)和对照组(常规带教)各 40 名,男 43 名(实验组 22 名),女 37 名(实验组 18 名)。

1.2 研究方法 住培医师进入内分泌科轮转后,按医院教育处制订的要求进行培养,正常实施临床带教,平时参与教学查房、各种教学讲座、科室疑难危重病例讨论和专业业务学习等教学活动,同时按照住培医师要求给予日常排班。在常规带教的基础上实验组每 2 周进行 1 次 Mini-CEX,并分别在第 3 周和第 6 周进行 DOPS 考核,对照组行常规带教,在第 8 周轮转结束前对两组均进行 Mini-CEX、DOPS 考核和出科理论及技能考核,分别记录考核结果,以评价 Mini-CEX 联合 DOPS 双轨系统对临床带教的应用效果。

1.3 考核方法

1.3.1 Mini-CEX 考核方法 参加实验组的住培医师每 2 周进行 Mini-CEX,具体操作为:在保证患者知情同意的情况下,由我科获得安徽省住院医师规培师资质证书的带教老师对住培医师进行考核。Mini-CEX 量表主要包括 7 个方面:职业素养、沟通交流、组织效率、问诊技巧、体格检查、临床判断、综合能力。判断标准:1~3 分不满意,4~6 分较满意,7~9 分很满意,总分为 63 分。每次考核结束后教师记分在册并及时对住培医师的表现进行面对面反馈。对照组在第 8 周进行 Mini-CEX,操作过程及判断标准同实验组。

1.3.2 DOPS 评分表的制作与考核法 按照内分泌科对住培医师轮转期间要求掌握的专科技能操作制订 DOPS 评分表,针对我科特点,主要包涵 11 个

方面内容:技能操作适应证与禁忌证的掌握、与患者有效沟通并知情同意、操作前准备、无菌观念、操作手法正确性、操作后处理、操作后告知患者注意事项、适时寻求或给予帮助、沟通能力、人文关怀、总体表现。实验组在第 3 周和第 6 周分别在示教室进行操作并进行考核,考核后老师给予及时的反馈。评分采用国际标准 4 等级 6 分制。标准:1~2 分未达预期,3 分接近预期,4 分为达预期,5~6 分超过预期,总分 66 分。在第 8 周对两组进行 DOPS 考核,考核后同样进行及时的面对面反馈。

1.3.3 出科考核 住培医师在我科轮转 8 周结束后进行出科考核。考核内容包括:基本理论、基本技能操作,理论考核从题库中随机抽取一套试题,技能考核为题库中随机抽取操作项目一项;平时表现、理论考核、技能操作分别按 30%、40% 及 30% 计算,最终算出出科考试总成绩。

1.4 统计方法 统计分析采用 SPSS 18.0 统计软件包进行数据处理。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较用 *t* 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 Mini-CEX 考核成绩比较 第 8 周实验组在 Mini-CEX 考核中职业素养、沟通交流、组织效率和综合能力 4 个方面得分均高于对照组,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表 1。

表 1 两组 Mini-CEX 考核成绩比较

考核内容	实验组	对照组	<i>t</i>	<i>P</i>
问诊技巧	7.825±0.903	7.750±0.927	0.367	0.715
体格检查	7.625±0.952	7.425±0.984	0.924	0.358
职业素养	7.325±1.141	6.800±1.202	2.006	0.048
临床判断	7.275±1.109	7.300±0.992	0.106	0.916
沟通交流	7.225±0.862	6.425±0.931	3.990	0.000
组织效率	7.425±1.083	6.875±1.265	2.090	0.040
综合能力	7.575±0.984	7.075±0.917	2.351	0.021

2.2 DOPS 考核及出科成绩比较 第 8 周实验组 DOPS 考核、出科技能考核得分和考核总成绩均高于对照组,差异均有统计学意义(*P*<0.05);而两组出科理论考试成绩差异无统计学意义(*P*>0.05)。见表 2。

表 2 两组 DOPS 考核和出科考核成绩比较

考核内容	实验组	对照组	<i>t</i>	<i>P</i>
DOPS	58.325±4.758	53.125±5.321	4.607	0.000
出科理论成绩	31.075±4.654	32.325±4.474	1.22	0.224
出科技能成绩	26.225±2.166	23.925±2.379	4.166	0.000
出科考核总成绩	84.475±8.867	79.725±10.432	2.194	0.031

3 讨论

3.1 Mini-CEX 联合 DOPS 双轨系统可作为内分泌科住院医师培训过程中的形成性评价方法 内分泌科是住院医师规范化培训中内科系统轮转的重要一部分,住院医师规范化培训中对内分泌科的培训提出了明确的要求,但是由于培训时间有限,如何在2个月内切实提高临床能力成为培训的重点,而培训效果的客观评价尤为重要。有学者^[6]研究发现 Mini-CEX 能有效提高内分泌科教学质量,同时与 Mini-CEX 的频次、师生间及时的互动密切相关。Mini-CEX 和 DOPS 均属医患互动的直接观察,均具有可行性高和信效度高的特点,通过 DOPS 培训能弥补 Mini-CEX 在操作技能方面的缺陷,Mini-CEX 则能够测评 DOPS 过程中住培医师的综合能力,特别是与患者的沟通交流、综合素养等多方面的临床能力,所以 Mini-CEX 联合 DOPS 评价系统可以互相应用,取长补短,充分发挥对住培医师的诊疗思维和技能操作相结合的作用^[7]。以上两种量表除具有评价功能外,同样具有教学功能。两种方法的联用作为内分泌科住培医师形成性评价工具具有易操作性、教学效果明显等优点,同时不影响临床工作,适合在住培教学中推广。

3.2 从评价结果看住院医师培养 本研究对评价结果进行了3项比较,①Mini-CEX 考核成绩。第8周实验组在 Mini-CEX 考核的7个核心项目中有4项得分均高于对照组($P<0.05$)。在 Mini-CEX 考核中,要求带教老师对住院医师具体评价,对存在的问题及时反馈,以指导下一步学习。通过与患者的沟通交流,提高了住培医师的组织效率和沟通交流水平,培养了住培医师的人文关怀及职业素养。在评价-反馈-总结-再评价的过程中不断提高住培医师的综合能力。及时反馈能够实现教学相长,学生通过自评分析自己的不足并加以改进;教师通过针对具体表现仔细剖析,提出指导性建设性意见和建议,同时也是教师体现自己教学效果的一面。②第8周两组 DOPS 考核得分。在日常工作中除了包含基本的临床操作外,还包括我科专科操作项目如血糖仪使用、尿比重的测定、糖尿病神经病变筛查等,实验组在常规带教的基础上结合 DOPS 考核培训,临床操作技能水平明显提高,本研究发现实验组 DOPS 考核得分高于对照组($P<0.05$),分析可能与带教老师

及时反馈,住培医师反复练习,更加关注操作中的各个细节有关。③出科考试成绩。研究发现两组出科理论考试成绩差异无统计学意义($P>0.05$),但实验组出科技能考核和考核总成绩高于对照组($P<0.05$),这与 DOPS 与出科技能考核有部分重叠有关,通过老师反馈意见进行反复练习,在出科技能考试中取得好成绩。同时有研究表明,Mini-CEX 联合 DOPS 系统在教学满意度方面显著高于传统带教方式^[8]。Mini-CEX 联合 DOPS 双轨系统能够结合住培医师实际情况进行个体化教学,真正做到“以学生为中心”的教学观,通过评价-反馈机制激发了学习的积极性,使得教学更加精准、个体化,切实提高了住培医师的临床综合能力。

综上所述,有效的形成性评价对于完善内分泌科住院医师规范化培训有重要意义,能够及时面对问题,提高培训效率。Mini-CEX 联合 DOPS 双轨评价系统能有效提高内分泌科住培医师的临床综合能力和操作技能水平,值得在教学工作中推广应用。

【参考文献】

- [1] 茆家定,徐艳,聂其学. 住院医师规范化培训存在的问题及对策研究[J]. 皖南医学院学报,2018,37(4):398-400.
- [2] 孙兴元,季佳,李晓华,等. 基于 Mini-CEX 及 OSCE 理念口腔临床实习质量的应用[J]. 中国继续医学教育,2019,11(16):14-17.
- [3] 刘波,邓李玲,季佳,等. Mini-CEX 和 DOPS 在住院医师规范化培训中的考核应用研究[J]. 中国卫生产业,2018,15(12):112-116.
- [4] 白志勋,罗宇,陈安健,等. Mini-CEX 联合 DOPS 在肾内科规培医师形成性评价的应用[J]. 中国继续医学教育,2019,11(25):33-36.
- [5] 李仕,朱华,张方毅,等. Mini-CEX 和 DOPS 考核在住院医师规范化培训中的应用与探索[J]. 中国高等医学教育,2020,12(2):21-22.
- [6] 陈宗存,符沙沙,陈金逸,等. Mini-CEX 在内分泌科住院医师规范化培训中的应用效果及影响因素分析[J]. 中国高等医学教育,2020,12(3):16-17.
- [7] ANDREA CL,FELICITAS-MARIA L,ZINEB MN, et al. The educational impact of mini-clinical evaluation exercise (Mini-CEX) and direct observation of procedural skills(DOPS) and its association with implementation: a systematic review and meta-analysis [J]. PloS One,2018,13(6):e0198009.
- [8] 宗璐,黄谱,潘怡霞,等. Mini-CEX 与 DOPS 系统在本科生妇产科教学中的应用评价[J]. 中国妇幼健康研究,2019,30(9):1115-1119.

PBL-情景模拟混合式教学法在临床麻醉实验教学中的应用

郑昌健,陈永权

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 麻醉科,安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:探讨基于问题的教学模式(PBL)-情景模拟混合式教学在临床麻醉实验课中的效果和作用。**方法:**选取皖南医学院2015级麻醉学本科1~4班122人,1、2班为混合教学组(60人),3、4班为传统教学组(62人),混合教学组采用基于SimMan3G模拟人的模拟手术室进行现场PBL教学,传统教学组采取传统PBL模式教学。所有实验课结束后通过综合测试、满意度评分、自我评价问卷3个方面进行对比。**结果:**与传统教学组相比,混合教学组课堂满意度及综合成绩较高,且在自我问卷分析中激发学习兴趣、提高自主学习能力、加深学习记忆和临床思维培养4个方面优于传统教学组($P<0.05$)。**结论:**混合式教学法有利于增加临床麻醉实验教学中学生的学习兴趣、提高教学效果。

【关键词】临床麻醉实验;基于问题的教学模式;混合式教学法

【中图分类号】G 642.0;R 614 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.025

Application of blended PBL with scenario simulation to instruction of the experimental curriculum for clinical anesthesia

ZHENG Changjian, CHEN Yongquan

Department of Anesthesiology, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To assess the role and effects of blended problem-based learning(PBL) with scenario simulation in instruction of the experimental curriculum for clinical anesthesia. **Methods:** Totally, 122 undergraduates majoring in anesthesia, enrolled in 2015 in our college, were included and allocated to two teaching groups. Students(from class 1-2, $n=60$) in one group received PBL plus scenario simulation in the simulation operating room based on SimMan3G simulators, and those(from class 3-4, $n=62$) in another group were provided with conventional PBL instruction. After completion of the curriculum, students in both groups underwent comprehensive tests on the theoretical knowledge and skills, self-rating of satisfaction towards the teaching and self-assessment of the learning effects by questionnaires for comparison of the teaching effects. **Results:** Students taught by blended PBL with scenario simulation had higher satisfaction with the course instruction and scores on the comprehensive test as well as better assessment on the four components, including motivated learning interest, improved self-learning ability, strengthened memory of the knowledge and improved clinical thinking than those received simple PBL teaching (all $P<0.05$). **Conclusion:** Blended PBL with scenario stimulation in instruction of the experimental curriculum for clinical anesthesia can improve the learning interest of students and teaching effect.

【Key words】experimental curriculum for clinical anesthesia; problem-based learning; blended teaching

临床麻醉学是医学中一门重要学科,不仅要求学生要有丰富的内科、外科及急救医学知识,同时还应具备很强的动手操作能力。麻醉学本科生需要经过反复练习操作和纠正才能真正掌握多项临床技能。然而,临床麻醉实验教学仍存在很多问题,如理论思维不扎实、理论与临床结合不紧密等,传统麻醉实验教学模式已经不能满足当前形势发展的需要^[1]。基于问题的教学模式(problem-based learn-

ing, PBL)是以激发学生的自主学习为出发点、以教学中学生能够自己发现及解决问题为主线、以授课老师为引导者的教学方法,其教学优势显著^[2-4]。但麻醉学科强调临床应急抢救和技能操作,单纯依靠PBL教学仍无法达到临床实际情景要求。本研究结合已有情景模拟手术室教学条件,引入PBL教学法,探讨PBL-情景模拟混合式教学法在临床麻醉实验教学中的应用效果。

基金项目:皖南医学院教学质量与教学改革工程项目(2017jyxm30);安徽省高等学校省级质量工程项目(2018jyxm1436)

收稿日期:2020-02-15

作者简介:郑昌健(1988-),男,主治医师,(电话)18365390153,(电子信箱)13758437060@163.com。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取皖南医学院已经完成所有内外科理论学习的2015级麻醉学本科1~4班学生共122人,将学生分为两组,1、2班为传统教学组,3、4班为混合教学组。

1.2 研究方法 本研究选择2018年7~12月在皖南医学院麻醉实训中心开展的临床麻醉学实验课,总共6个课时。混合教学组采用PBL结合情景模拟教学模式,首先根据实验指导及大纲整理出典型病例,完成PBL教案,而后根据PBL教案在模拟手术室中通过模拟人设定相应问题,要求学生组成小组进行讨论并在模拟手术室仪器和设备上进行处理演练,考察学生对突发问题的现场处理能力,做好相应记录。若处理正确,则进入下一步骤,若处理错误,老师参与其中并帮助纠正提示。完成整个流程后进行系统讲解相应问题处理要点,由学生开始下一个麻醉问题循环实验流程,直到完成所有实验课大纲要求任务,最后进行总结。传统教学组采用课前典型的麻醉科病历(包括患者的临床基本信息、专科查体、生化指标及影像检查资料、诊断与鉴别诊断资料、麻醉过程等),并设计问题(包括病史采集、专科查体、生化及影像学检查差异、临床诊断、病因诊断、发病机制及治疗方案等),根据上述资料准备PBL教案。

1.3 评价方法 主要通过3个方面进行学习效果评价。专科考核:考核内容包括理论测试考核(70分)、操作技能考核(30分),分值100分,分值越高表示学生实验课效果越好;学生满意度调查表:分为不满意、基本满意、很满意;学生自我评价调查问卷:分为激发学习兴趣、提高自主学习能力、加深学习记忆、临床思维培养4个方面。

1.4 统计分析 采用SPSS 18.0软件进行统计学分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间采用 t 检验;分

类变量资料采用百分率表示,率的组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组学生一般资料比较 两组学生在年龄、性别、摸底考试成绩方面对比差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。见表1。

2.2 考试成绩比较 混合教学组的理论成绩、临床操作成绩及综合成绩均优于传统教学组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表1 两组学生一般资料比较

组别	n	年龄/岁	性别比/(男/女)	摸底考试成绩/分
传统教学组	62	21.984±1.886	28/34	83.032±3.172
混合教学组	60	21.800±1.839	21/39	82.283±2.738
$\sqrt{\chi^2}$		0.545	1.310	1.394
P		0.587	0.252	0.166

表2 两组学生考核成绩比较

组别	n	理论成绩/分	操作成绩/分	综合成绩/分
传统教学组	62	51.436±4.072	21.468±2.873	72.903±5.184
混合教学组	60	58.033±4.885	23.167±3.076	81.200±6.246
t		8.114	3.154	7.994
P		0.000	0.002	0.000

2.3 学生满意度分析 本研究将满意与基本满意合并计算归入满意,结果显示,混合教学组学生总满意度[95%(57/60)]高于传统教学组[80.65%(50/62)],差异有统计学意义($\chi^2 = 5.827, P = 0.016$)。

2.4 教学效果自我评价调查问卷 两组学生的调查问卷结果表明,混合教学法在激发学习兴趣、提高自主学习能力、加深学习记忆和临床思维培养4个方面优于传统教学,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。见表3。

表3 两组学生自我评价问卷调查结果比较

问卷内容	传统教学组(n=62)			混合教学组(n=60)			χ^2	P
	是	否	%	是	否	%		
激发学习兴趣	49	13	79.032	56	4	93.333	5.200	0.023
提高自主学习能力	42	20	67.742	54	6	90.000	9.008	0.003
加深学习记忆	40	22	64.516	50	10	80.000	5.580	0.018
临床思维培养	50	12	80.645	58	2	96.667	7.705	0.006

3 讨论

与其他临床医学类专业不同,麻醉学专业涉及的医学领域广泛,学生不仅要有丰富的内科、外科及急救医学知识,同时还需要有很强的动手操作能力,

而且日常临床麻醉还参与很多有创操作,对学生的动手能力要求较高,而以往的教学方式多集中于理论学习,往往忽视了临床思维培养和技能实践培训,这成为麻醉学专业学生进入临床的主要障碍,也是

临床麻醉实验教学的主要任务,因此寻找一种行之有效的提高临床麻醉实验课教学质量的方法显得尤为重要^[5-6]。

传统实验课教学模式以指导老师采取 PPT 或者板书形式为主,主要遵循老师讲、学生听这一传统教学方法,是一种枯燥的单向传授知识的教学方法,在临床麻醉学教学中,术中麻醉的具体实施、管理过程的描述对于没有接触临床的学生来说很抽象,进入手术室后,学生往往很长一段时间都手足无措,更无法谈及学习。所以探索麻醉学专业相关课程教学方法的改革,提高教学质量是麻醉学教学面临的重要任务,提高学生灵活的临床思维和扎实的实践能力是医学教学改革的重点方向^[7-9]。而最近几年出现的 PBL 教学法很好地改变了以往的固化教学思维,其创新性地以问题为出发点,让教师成为学生的引导者,以临床问题为引导,使学生在不断探索中循序渐进地培养自我独立思维能力,这对于培养医学生强大的病例分析能力和思考能力具有极大的好处,同时也可以锻炼医学生的自主学习能力^[10-11]。

本研究结合以往的教学经验,通过基于 SimMan3G 系统的情景模拟教学与 PBL 相结合的混合式教学方式进行临床麻醉实验课教学,模拟手术室突发情况,进而提出相应问题^[12],取得较好的教学效果。以往的实验教学主要在课堂上完成教学任务,PBL 教学方法的引入虽然很好地启发了学生的思维,但是仍然无法调动学生积极性,本研究利用现有模拟手术室条件,让学生进入真实手术室环境中,大大增加了课程趣味性,有利于调动学生学习积极性,SimMan3G 模拟人是一种新型的教学机器人,其可以通过设定不同模式来模拟各种临床突发事件,使学生全身心投入到生动的病例环境中来,结果表明学生的学习记忆能力明显提高。同时我们要求学生在面对问题时可以进行一定时间和范围的分析与讨论,最后现场总结病例中各种临床问题的处理流程和要点。通过混合式教学法,使学生更好地掌握临床病例的关键处理点及处理流程,提高他们的应变能力。本研究使临床麻醉实验课内容由原先一个个独立的知识点通过系统化的整合和高度还原的虚拟情景演练呈现出来,从而达到教学方法的生动再

现,最终达到增强学生对知识的理解和掌握的目的。

本研究显示,混合式教学法能够提高临床麻醉学生的理论联系实践水平,使学生对教学不再抵触,调动了学生的积极性,增强了学生的学习兴趣,加深了实验课的记忆,也有助于临床思维的培养,使得麻醉学生以后进入临床实践后更好地将实践和理论相结合。虽然混合式教学法取得良好效果,但是因模拟手术室空间较小,设备较少,只能采取小组分批学习模拟,如何将该教学方法推广到人数更多的其他临床专业是我们下一步需要解决的问题。

综上所述,PBL-情景模拟混合式教学法在临床麻醉实验教学中的应用能够激发学生的学习兴趣,提高学生自主学习能力,加深学生理解记忆和多方面能力的培养,教学效果良好,授课满意度较高。

【参考文献】

- [1] GABA DM. Anaesthesiology as a model for patient safety in health care [J]. *BMJ*,2000,320(7237):785-788.
- [2] 曹亚,高家林,常燕,等. PBL 教学法在麻醉学临床实习教学中的应用[J]. *皖南医学院学报*,2017,36(3):294-296.
- [3] 沈扬,云艳红. 以问题为基础学习教学在医学教学中的情境创设探析 [J]. *中华医学教育杂志*,2016,36(3):416-418.
- [4] 徐明珠. PBL 教学法在生物化学教学中的初步应用与探讨[J]. *课程教育研究*,2017,5(57):185-186.
- [5] 杨博,范馨,莫利群,等. 基于微信、QQ 平台联合 PBL 教学法在麻醉科学生培训中的应用 [J]. *西南军医*,2019,12(6):594-596.
- [6] 李思远,牛晓丽,曹佩华,等. PBL 结合实例教学法在临床麻醉教学中的应用 [J]. *中国继续医学教育*,2019,10(31):8-11.
- [7] 鲁美静,张恺辰,杨柳,等. CPBL 教学法在麻醉学本科教学中的应用 [J]. *齐齐哈尔医学院学报*,2019,16(7):871-873.
- [8] 汪灵芝,黄焕森,朱卓丽. 提高麻醉学专业临床技能课教学质量探索 [J]. *西北医学教育*,2014,17(1):165-167.
- [9] 翟晶雯,邵秀芝,樊世文. 探讨麻醉教学中使用 PBL 教学的价值 [J]. *临床医学文献杂志*,2019,32(12):185-190.
- [10] 车春丽,郭庆峰,张一张,等. PBL 教学模式在高等医学教育中的应用思考 [J]. *中国高等医学教育*,2010(1):126-127.
- [11] 占高峰,李诚女,孙建良. PBL 教学法在产科麻醉带教中的应用 [J]. *中国高等医学教育*,2019(3):126-132.
- [12] ACERO NM, MOTUK G, LUBA J, et al. Managing a surgical exsanguination emergency in the operating room through simulation: an interdisciplinary approach [J]. *J Surg Educ*,2012,69(6):759-765.

精准护理在口腔颌面肿瘤患者游离皮瓣移植修复围手术期的应用

滕晓菊,方媛媛,程 婷,刘 欢

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 口腔颌面外科,安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:探讨对口腔颌面外科肿瘤患者游离皮瓣移植修复术实施精准护理的效果,为进一步提高游离皮瓣移植修复术患者的预后提供参考依据。**方法:**选取弋矶山医院口腔颌面外科2015年2月~2018年2月收治的游离皮瓣移植修复术患者共44例为研究对象。对2017年1月前入院的患者实施常规护理(23例),2017年1月开始对入院患者实施精准护理(21例)。**结果:**精准护理组血肿、皮瓣局部坏死发生率分别为33.33%、19.05%,常规护理组血肿、皮瓣局部坏死发生率分别为47.83%、39.13%。精准护理组的VAS评分低于常规护理组($P<0.05$),随着时间的延长VAS得分下降($P<0.05$);精准护理组患者满意度平均得分(95.76 ± 2.47)高于常规护理组(90.61 ± 7.63)($P<0.05$);精准护理组患者住院天数[(21.71 ± 5.34)d]少于常规护理组[(28.43 ± 4.51)d]($P<0.05$)。**结论:**精准护理可以缓解颌面部肿瘤游离皮瓣移植修复术患者疼痛,减少住院天数,提高患者满意度。

【关键词】精准护理;口腔肿瘤;游离皮瓣;移植修复

【中图分类号】R 473.78 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.026

Outcomes of applying precision nursing to patients of oral cancer undergoing maxillofacial free skin flap transplantation

TENG Xiaoju, FANG Yuanyuan, CHENG Ting, LIU Huan

Department of Oral and Maxillofacial Surgery, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To observe the effect of precision nursing for patients of oral cancer undergoing maxillofacial free skin flap grafting for improving the prognosis in such patients. **Methods:** Totally, 44 patients with oral tumor undergone maxillofacial free skin grafting in our department were included from February 2015 to February 2018. Patients admitted before January 2017 received conventional nursing ($n=23$), and those admitted after January 2017 were given precision nursing ($n=21$). **Results:** The incidences of hematoma and flap local necrosis were 33.33% and 19.05%, respectively for patients by precision nursing, and 47.83% and 39.13% for those respectively by conventional nursing. Repeated measures and two-factor analysis of variance showed that patients received precision nursing had lower VAS scoring than those received conventional nursing ($P<0.05$), and the VAS scoring was decreased with prolonged time ($P<0.05$). The average satisfaction score was higher, and the days of hospital stay were lower in patients by precision care than in those by conventional care [(95.76 ± 2.47) points vs. (90.61 ± 7.63) points, $P=0.005$; (21.71 ± 5.34) days vs. (28.43 ± 4.51) days, $P<0.05$, respectively]. **Conclusion:** Precise nursing has certain clinical significance in relieving the pain, reducing the hospital stay and improving the nursing satisfaction in patients of oral cancer undergoing maxillofacial free skin flap transplantation.

【Key words】precision nursing; oral neoplasm; free skin flap; transplantation, repair

游离皮瓣移植修复术是口腔颌面外科重要的治疗手段,主要用于口腔颌面部软硬组织各种良恶性肿瘤切除术后的缺损畸形修复治疗,包括成釉细胞瘤、口腔鳞状细胞癌等。口腔肿瘤目前主要以手术治疗为主,而扩大切除病灶的同时会遗留口腔颌面部软硬组织的缺损畸形,修复方法主要有前臂皮瓣、

股前外侧皮瓣及腓骨肌皮瓣等游离皮瓣移植^[1-3]。皮瓣移植术后创面感染、血管危象等并发症会影响皮瓣成活,进而影响医疗效果,而环境温度、患者体位、口腔卫生、进食等因素则会导致皮瓣感染或血管危象的发生,故术后护理在临床治疗中显得尤为重要^[4]。精准护理是在精准医疗概念提出后,近年才

基金项目:皖南医学院质量工程项目(2018kfk06)

收稿日期:2020-04-19

作者简介:滕晓菊(1971-),女,副主任护师,(电话)13955370571,(电子信箱)3291323953@qq.com。

发展起来的一种新型护理模式,在临床各科室中广泛应用^[5]。随着精准医疗时代的到来,精准护理也成为护理工作发展的必然趋势^[6]。本研究探讨对进行口腔颌面外科游离皮瓣移植修复术患者实施精准护理的效果。

1 资料和方法

1.1 临床资料 选取弋矶山医院 2015 年 2 月 ~ 2018 年 2 月收治的游离皮瓣移植修复术患者 44 例为研究对象。2017 年 1 月前入院的患者实施常规护理(23 例),2017 年 1 月开始对进行口腔颌面外科游离皮瓣移植修复术患者实施精准护理(21 例);患者年龄 29 ~ 77 岁,其中男性 34 例,女性 10 例。诊断以舌、颊部、腭部等头面部肿瘤为主,皮瓣类型均为左前臂皮瓣,两组患者年龄及性别构成差异无统计学意义($P>0.05$),详见表 1。

表 1 两组患者一般情况

组别	年龄/岁	性别(男/女)
精准护理组	53.57±11.20	16/5
常规护理组	56.61±12.15	18/5
χ^2/t	-0.860	0.000
P	0.395	1.000

1.2 具体护理措施

1.2.1 常规护理 常规护理措施包括①心理护理:术前与主治医师沟通,详细了解总体治疗效果,术后和患者有效沟通,消除患者及其家属的疑虑;②一般护理:术后均需密切观察患者血压、呼吸、脉搏、血氧饱和度等变化,及时记录患者术后生命体征状况;③口腔护理:口内创口术后,护理人员需用 0.5% 氯己定液或生理盐水对牙齿、口腔黏膜及皮瓣表面、创口进行擦拭,以清除牙面的软垢或菌斑、黏膜表面渗液及附着物;④饮食护理:皮瓣移植术后患者应进行鼻饲饮食,以流质、高营养、高能量易消化流质为主,少量多次,并注意鼻饲流质的温度,避免过烫或过凉,7 ~ 10 d 后根据患者恢复情况考虑停止鼻饲饮食。

1.2.2 精准护理 在常规护理的基础上开展精准护理,具体措施①成立精准护理小组:由护士长担任组长,小组成员由 3 名主管护师、5 名护师职称的护士组成;②环境温度:皮瓣移植术后需对创面及室温进行控制,要保持室温不低于 25℃;③皮瓣观察:术后 72 h 内是皮瓣危象的高发时段,术后第 1 天每小时以无菌棉签轻压,观察皮瓣颜色及血供情况,以便发现问题及时处理^[7];④患者体位:皮瓣移植术后患

者头部应制动,以免牵拉血管蒂而影响皮瓣血供,保持患者头部固定或向手术侧偏斜 5 ~ 10°,告知并监督患者体位,以保证术后疗效^[8-9],若因患者体位引起皮瓣局部小块颜色变暗或紫,先调整患者体位,局部按摩皮瓣并及时通知医师,避免发生皮瓣危象;⑤疼痛护理:患者一般在全麻作用消失后 24 h 内疼痛最为剧烈,必要时可使用镇痛泵或根据医嘱注射镇痛药缓解疼痛;⑥功能锻炼:术后患者通过鼓腮、伸舌、张闭口、做表情等进行适当、有效的功能锻炼,面颊舌肌肉运动的幅度宜由小至大,次数由少到多;⑦出院指导:嘱患者注意口腔卫生,坚持以漱口液或盐水漱口,坚持功能锻炼,定期复诊。

1.3 评判指标 观察两组患者术后 VAS 疼痛评分、住院天数、皮瓣成活率以及患者满意度等指标。出院患者满意度采用本院自制患者满意度问卷,通过询问患者对医疗水平、护理服务、宣教、人文等方面的满意度进行评分,得分 ≥ 90 分为非常满意,75 ~ 89 分为较满意,60 ~ 74 分为基本满意, ≤ 59 分为不满意。

1.4 统计学方法 采用 SPSS 18.0 进行统计分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料采用 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验、 t 检验、重复测量方差分析或 SNK 法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组术后 VAS 评分比较 结果显示精准护理组的 VAS 评分低于常规护理组,差异有统计学意义($P<0.05$)。两组随着时间的延长 VAS 得分下降,差异有统计学意义($P<0.05$)。但不同护理措施与时间之间无交互效应($P>0.05$)。详见表 2。

表 2 两组患者术后 VAS 疼痛评分比较

组别	VAS-1	VAS-2	VAS-3
精准护理组	5.62±1.12	3.52±0.98 [#]	1.90±0.94 ^{#&}
常规护理组	7.26±1.10	4.74±1.01 [#]	3.04±0.88 ^{#&}
$F_{\text{组间}}=26.681, P=0.000; F_{\text{时间}}=408.095, P=0.000;$			
$F_{\text{组间} \times \text{时间}}=1.890, P=0.157$			

注:与精准护理组比较 $P<0.05$;与 VAS-1 比较,[#] $P<0.05$;与 VAS-2 比较,[&] $P<0.05$ 。

2.2 两组术后相关指标比较 精准护理组患者住院天数少于常规护理组,差异有统计学意义($P<0.001$);两组患者术后血肿、皮瓣局部坏死发生率差异均无统计学意义($P>0.05$)。详见表 3。

表3 两组患者术后相关指标比较

组别	住院天数/d	血肿 [n(%)]	皮瓣局部 坏死[n(%)]
精准护理组	21.71±5.34	7(33.33)	4(19.05)
常规护理组	28.43±4.51	11(47.83)	9(39.13)
χ^2/t	4.523	0.954	2.127
<i>P</i>	0.000	0.329	0.145

2.3 两组患者满意度比较 精准护理组患者满意度平均得分(95.76±2.47)高于常规护理组(90.61±7.63),差异有统计学意义($t=2.952, P=0.005$)。

3 讨论

随着精准医学的发展,护理研究者在症状学、健康促进、自我管理及临床护理决策等方面为精准护理的发展作出了重要贡献^[10]。Yuan等^[11]认为精准护理的核心是以患者需求为基础的护理,建立患者个性化的健康数据库,形成更多的可能会影响护理方法的电子化健康工具,有利于未来的护理研究;利用现有的大量的数据库,掌握分析工具与方法,对数据进行分析,进而为护士作出更有利于患者健康结局的决策服务;基于患者个性化特征和需求,开展精准护理干预措施是最终目标。

本研究结果显示,精准护理组血肿、皮瓣局部坏死发生率分别为33.33%、19.05%,常规护理组血肿、皮瓣局部坏死发生率分别为47.83%、39.13%。精准护理组与常规护理组相比,精准护理组的VAS评分低于常规护理组($P<0.001$),随着时间的延长VAS得分下降($P<0.001$),通过实施精准护理措施,在患者术后恢复方面取得了优异的成绩,有效地减少了皮瓣坏死等并发症的发生,并通过保持患者口腔卫生、合理饮食等,有效地缓解了患者的疼痛,减少住院天数,促进了患者创面的愈合。患者满意度是衡量护理服务质量的重要标志,制定符合患者疾病特点的护理措施,增加患者及其家属与医护人员间的沟通与合作,才可将优质护理落到实处^[12]。本研究中精准护理组患者满意度平均得分(95.76±2.47)高于常规护理组(90.61±7.63),通过精准护

理,有效地消除了患者的不良情绪,使他们能积极地配合治疗及护理,通过对疾病及治疗预后等的健康教育,提高了患者及其家属对疾病本身的认知水平,患者的满意度进一步提高。

精准护理的核心是以患者需求或者疾病需求为基础的护理,通过对21例颌面部肿瘤皮瓣移植修复术患者实施精准护理,缓解了患者的疼痛,减少了住院天数,提高了患者满意度。因此精准护理对颌面部肿瘤皮瓣移植修复术患者的预后有着重要的临床指导意义,值得推广。

【参考文献】

- [1] 常虹. 游离皮瓣移植修复口腔颌面部缺损的临床效果观察[J]. 中国美容医学, 2017, 26(5): 101-103.
- [2] 刘蓉, 邢育珍, 黄晓菲. 前臂游离皮瓣移植修复口腔癌术后软组织缺损的护理[J]. 华西医学, 2011, 26(5): 755-757.
- [3] 李永祥, 王慧明. 前臂游离皮瓣移植修复口腔癌术后软组织缺损的临床研究[J]. 医学研究杂志, 2012, 41(6): 150-152.
- [4] 徐泳, 钱超, 郑纪伟. 游离皮瓣移植修复颌面部恶性肿瘤病人术后组织缺损的护理[J]. 全科护理, 2012, 10(25): 2347-2348.
- [5] 李红, 原敏, 张欣, 等. 精准护理在批量救治边疆地区少数民族先心病患儿的应用[J]. 武警医学, 2016, 27(10): 1073-1075.
- [6] 杜娴, 李龙侗, 杨燕, 等. 永久性肠造口患者的精准护理[J]. 护理学杂志, 2018, 33(15): 22-25.
- [7] 汤慧, 毕晔, 刘岩, 等. 一例双侧游离PAP皮瓣移植即刻乳房再造患者的护理[J]. 天津护理, 2020, 28(1): 106-107.
- [8] 姜晶, 刘妮, 余思洁. 基于集束化管理策略预防口腔颌面皮瓣移植术后患者血管危象的效果观察[J]. 解放军预防医学杂志, 2020, 38(1): 53-55, 58.
- [9] 吴小榕. 临床护理路径在前臂皮瓣修复手术治疗恶性口腔头颈肿瘤患者中的应用效果观察[J]. 中国卫生标准管理, 2018, 9(9): 182-184.
- [10] FU MEI R, 田亚丽, 胡秀英, 等. 精准护理的应用领域及发展方向[J]. 中华护理杂志, 2017, 52(10): 1273-1275.
- [11] YUAN C. Precision nursing: new era of cancer care[J]. Cancer Nurs, 2015, 38(5): 333-334.
- [12] 吴丽娜, 姜桂春, 刘慧光. 头颈部恶性肿瘤根治切除术后皮瓣移植修复的围手术期护理[J]. 中国美容整形外科杂志, 2019, 30(6): 384-386.

集束化护理在连续性血液净化危重患者中的应用

万秀娟¹,第加美¹,赵 沅²,冯 文¹,陈月圆¹,刘 智¹

(淮南市第一人民医院 蚌埠医学院第四附属医院 1.血液净化中心;2.普外科,安徽 淮南 232001)

【摘要】目的:观察连续性血液净化(CBP)危重患者采取集束化护理的应用效果。**方法:**选择2016年1月~2018年12月淮南市第一人民医院血液净化中心收治并采取CBP危重症患者40例,分为常规组与集束化护理干预组,比较治疗前、中、后患者对病情的认知度、不良反应发生程度,患者及家属护理满意度等。**结果:**两组患者血压、心率和体温变化差异在上机治疗过程中均无统计学意义($P>0.05$)。干预组血氧饱和度、病情认知得分、满意度治疗后均高于常规组($P<0.05$)。两组患者在治疗过程中不良事件发生情况差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论:**集束化护理模式应用于CBP可以改善患者的氧代谢,改善呼吸功能,提高临床治疗效果及患者和家属对病情的认知度、护理满意度。

【关键词】集束化护理;连续性血液净化技术;危重患者

【中图分类号】R 473.5 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.027

Application of cluster nursing to critical patients undergoing continuous blood purification

WAN Xiujuan, DI Jiamei, ZHAO Feng, FENG Wen, CHEN Yueyuan, LIU Zhi

Hemodialysis Room, Huainan No. 1 People's Hospital, Huainan 232001, China

【Abstract】Objective: To observe the effect of cluster care of critical patients undergoing continuous blood purification. **Methods:** Forty patients undergoing continuous blood purification in the purification center of our hospital were included from January 2016 to December 2018, and allocated to conventional nursing group and cluster care group. All patients received survey on the knowledge on their conditions before therapy, in the course of purification and post-purification as well as degree of adverse event and satisfaction with the nursing from the patients and their families. **Results:** The difference was insignificant in blood pressure, heart rate and body temperature between the two groups during purification ($P>0.05$), yet patients in the cluster care group had better oxygen saturation, knowledge on the condition and higher satisfaction after treatment than those received simple conventional nursing ($P<0.05$). There was no significant difference in the occurrence of adverse events between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion:** Cluster nursing can significantly improve the oxygen saturation, respiration function, clinical efficacies, patients' knowledge on their condition and nursing satisfaction from the patients themselves and their families in critical patients undergoing continuous blood purification.

【Key words】 cluster nursing; continuous blood purification; critical patients

连续性血液净化技术(continuous blood purification, CBP)是所有连续、缓慢清除水分以及溶质治疗方式的总称^[1],其用来替代受损肾脏功能,适用于急慢性肾衰、心肾综合征、肺水肿、重症胰腺炎、全身炎症反应综合征等危重症治疗。危重症型疾病具有病情进展快、致残率、病死率高等特点^[2],不及时治疗可威胁患者生命安全。本研究收集2016年1月

~2018年12月淮南市第一人民医院血液净化中心收治并采取CBP危重症患者40例,探讨集束化护理对接受CBP患者进行干预的效果,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选择2016年1月~2018年12月我院血液净化中心收治的行CBP的危重症患者40

基金项目:安徽高校自然科学基金项目(KJ2019A0094;KJ2019A005);淮南市“50·科技之星”慢性肾衰竭继发性甲旁亢综合治疗团队项目(淮人才[2018]7号)

收稿日期:2019-08-05

作者简介:万秀娟(1974-),女,主管护师,(电话)18155491505,(电子信箱)2452698303@qq.com;

第加美,女,副主任医师,(电子信箱)dijiamei3648684@aliyun.com,通信作者;

赵 沅,男,主任医师,(电子信箱)840019938@qq.com,通信作者。

例,男性患者为26例,女性患者为14例,年龄范围为26~86岁,平均年龄为(55.30±16.97)岁;合并糖尿病13例,高血压20例,狼疮肾3例,肾病综合征1例,多囊肾1例,肾结石1例,其他1例;诊断为急性肾衰竭1例,慢性肾衰竭39例,并发心功能不全22例,高钾血症1例。其中2016年1月~2017年6月的20例患者为常规组,2017年7月~2018年12月的20例患者为干预组。本研究得到医院伦理委员会批准,告知患者及家属并签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 治疗方法 40例患者血管通路分别为31例中心静脉导管,9例动静脉内瘘。上机前保证血管通路通畅,根据患者的病情诊断选择最佳的CBP治疗模式。治疗中2~4h检测一次电解质,配方中钾、钠、镁等溶质的浓度水平,由原发病、电解质检测情况决定;根据患者凝血机制及本身出血现象,合理使用抗凝剂,有出血倾向者肝素减量或无肝素治疗,也可枸橼酸抗凝。血流量一般为100~200 mL/min,置换液和透析液流量35~45 mL/(h·kg)。

1.2.2 护理方法 常规组采用常规护理。干预组采用集束化护理,护理方案由科室职称较高的护师决定,培训考核需其他护理人员全员参与。①病情认知度护理:治疗前护士与患者及家属沟通,简单讲解治疗原理、目的,使其理解目前改善病情的有效治疗方式是连续性血液净化,治疗过程中如有问题医护人员会采取积极的处理措施,消除患者及家属疑虑,配合治疗。减少治疗中因烦躁不安,导致血流量不佳、体外循环管路打折、滑脱等并发症,做好预防措施,患者并发症发生率以及非计划性下机概率明显下降^[3]。②血管通路护理:治疗前须建立有效血管通路,内瘘患者按操作规范分别穿刺内瘘动、静脉端;无内瘘患者需置入中心静脉导管,置管前观察穿刺周围是否有红、肿、静脉曲张或一侧曾有脑卒中病史,如有上述情况,更改穿刺部位;导管穿刺点保持干燥、清洁,如有渗血,立即给予处理和减少抗凝剂用量。付敬^[4]研究认为上、下机前,使用0.5%碘伏以置管口为中心消毒≥2遍,碘伏不能用无菌纱布擦干,要确保其与皮肤充分接触,达到消毒时间,防止发生感染。③置换液配制:0.9% NaCl 3 000 mL、5% GS 750 mL、10% KCl 12 mL、25% MgSO₄ 3.2 mL、10% 葡萄糖酸钙 30 mL,根据血检结果调整葡萄糖、电解质的浓度及5% NaHCO₃ 静脉输入速度。配液须在治疗室内无菌操作,检查液体及各种电解质剂型剂量、有效期及药液有无浑浊。配置好后须在4h内使用。④监测生命体征及体外血路系统管理:治

疗过程中持续监测血压、心率、血氧饱和度。根据各项指标和血管通路是否通畅,调节血流量。根据CBP机器各项参数和护士的观察,判断是否发生凝血。⑤机器报警及解除:常见报警有动静脉压、跨膜压^[5],护士观察并及时解除报警,保证治疗正常进行。⑥病情观察和基础护理:认真巡视,及早发现病情变化,对症处理。糖尿病患者需定时测血糖,调整5%葡萄糖用量。给患者维持合适体位,防止发生压力性损伤;保持呼吸道通畅,通过湿化、叩背、吸痰等手段清理呼吸道,预防肺部感染。保证整个治疗过程严格遵守无菌技术操作及消毒隔离原则。

1.3 观察指标 ①治疗过程中观察两组生命体征和血氧饱和度变化。②采用自制问卷形式,评估两组患者对疾病认知度及护理满意度,问卷总分范围在0~100分,得分越高表明认知度或满意度越高。③观察治疗过程中两组低血压、心律失常等并发症发生率。④采用护理敏感指标资料收集的方法统计两组不良事件发生率;置管部位出血、导管或穿刺针滑脱、滤器及体外管路凝血(凝血级别按4级标准^[6]:0级、I级、II级、III级)。

1.4 统计学方法 采用SPSS 18.0统计软件进行数据分析。测量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验、重复测量的方差分析、SNK法。分类资料采用例数表示,组间比较采用秩和检验或Fisher确切概率法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者血压、心率、体温、血氧饱和度等变化 两组患者血压和心率变化差异在组别及时间上均无统计学意义($P > 0.05$)。两组患者体温变化差异在组别上无统计学意义($P > 0.05$),干预组患者体温上机6h和8h均高于上机前($P < 0.05$),上机8h体温均高于上机2h($P < 0.05$);在上机各时间点常规组患者体温变化差异均无统计学意义($P > 0.05$)。干预组血氧饱和度上机4、6和8h均高于上机前和上机2h($P < 0.05$),且干预组的血氧饱和度差异上机4、6和8h亦有统计学意义($P < 0.05$),但上机前和上机2h血氧饱和度差异无统计学意义($P > 0.05$);常规组血氧饱和度差异上机前及上机各时间点均有统计学意义($P < 0.05$);干预组在上机6h和8h血氧饱和度高于常规组($P < 0.05$)。见表1。

2.2 患者对病情认知度及护理满意度的评估 两组患者治疗前对病情认知得分差异无统计学意义($P > 0.05$);干预组和常规组治疗后对病情认知水平均高于治疗前,且干预组认知和满意度得分均高于

常规组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表1 患者治疗过程中血压、心率、体温、血氧饱和度指标比较($n=40$)

	组别	上机前	上机2 h	上机4 h	上机6 h	上机8 h
收缩压/mmHg	干预组	159.45±20.61	164.90±20.96	160.85±15.42	164.25±23.61	165.45±16.29
	常规组	160.15±27.31	158.65±29.89	159.05±23.75	157.90±20.32	163.75±21.07
$F_{\text{组别}}=0.265, P_{\text{组别}}=0.610; F_{\text{时间}}=0.862, P_{\text{时间}}=0.488; F_{\text{交互}}=0.549, P_{\text{交互}}=0.700$						
舒张压/mmHg	干预组	91.60±14.14	92.65±12.29	92.30±14.09	90.40±15.71	92.20±13.58
	常规组	93.35±15.83	90.25±15.17	91.65±15.20	91.75±17.50	92.95±16.13
$F_{\text{组别}}=0.001, P_{\text{组别}}=0.969; F_{\text{时间}}=0.247, P_{\text{时间}}=0.911; F_{\text{交互}}=0.425, P_{\text{交互}}=0.790$						
心率/(次/分钟)	干预组	86.50±15.39	86.60±14.43	86.55±11.38	84.15±11.75	87.30±12.27
	常规组	86.35±9.87	87.20±8.93	87.10±8.16	87.55±7.93	87.75±9.26
$F_{\text{组别}}=0.086, P_{\text{组别}}=0.770; F_{\text{时间}}=0.733, P_{\text{时间}}=0.571; F_{\text{交互}}=0.925, P_{\text{交互}}=0.451$						
体温/°C	干预组	36.40±0.20 ^a	36.43±0.16 ^{ab}	36.50±0.19 ^{abc}	36.54±0.16 ^{bc}	36.63±0.15 ^c
	常规组	36.49±0.19	36.50±0.21	36.53±0.19	36.57±0.15	36.62±0.13
$F_{\text{组别}}=1.036, P_{\text{组别}}=0.315; F_{\text{时间}}=12.279, P_{\text{时间}}=0.000; F_{\text{交互}}=1.053, P_{\text{交互}}=0.382$						
血氧饱和度/%	干预组	90.55±2.16 ^a	91.60±2.54 ^a	93.60±2.19 ^b	95.05±1.64 ^c	96.70±1.22 ^d
	常规组	89.60±1.70 ^a	90.70±1.75 ^b	92.55±1.64 ^c	93.90±1.45 ^{d*}	94.90±1.12 ^{e*}
$F_{\text{组别}}=6.039, P_{\text{组别}}=0.019; F_{\text{时间}}=186.984, P_{\text{时间}}=0.000; F_{\text{交互}}=1.134, P_{\text{交互}}=0.342$						

注:与干预组比较,* $P < 0.05$;同一组别,不同时间点两两比较,符号完全不同表示 $P < 0.05$ 。

表2 患者治疗过程中对病情认知度及护理满意度比较

组别	病情认知得分		$\bar{d} \pm s_d$	$t_{\text{配对}}$	$P_{\text{配对}}$	治疗后满意度得分
	治疗前	治疗后				
干预组	80.95±10.03	93.30±4.23	12.35±6.65	8.304	0.000	96.30±2.39
常规组	80.90±10.53	86.0±8.12	5.10±3.85	5.922	0.000	88.50±5.51
t	0.015	4.219				5.809
P	0.988	0.000				0.000

2.3 治疗过程中不良事件发生情况比较 两组患者治疗过程中凝血、出血、低血压、心律失常及导管或穿刺针滑脱等不良事件发生情况差异均无统计学意义($P > 0.05$)。见表3。

表3 患者治疗过程中不良事件发生情况

	凝血			出血	低血压	心律失常	导管或穿刺针滑脱
	I级	II级	III级				
干预组	1	0	0	0	0	1	0
常规组	1	2	2	1	1	0	0
Z	1.829						
P	0.067			1.000*	1.000*	1.000*	-

注:* Fisher 确切概率法。

3 讨论

血液净化中心危重患者以心衰、急、慢性肾衰,感染导致慢性肾衰急性加重多见。出现上述病情,炎症反应强、水负荷过重,从而引起全身水电解质、酸碱平衡紊乱^[7];李文华等^[8]研究得出患者组织细胞遭受各种扩血管物质伤害,发生心肌抑制、血液高凝状态等临床症状,各种毒性物质在体内蓄积过多损伤多个脏器,危及患者生命。CBP 可以纠酸、改善电解质失衡、水负荷过重,清除机体内部分

大、中、小分子毒素,改善患者临床症状。因治疗时间长且有体外循环,病情危重,生命体征变化快等特点,护理难度增加。集束化护理是通过循证医学确证对某种疾病进行综合性治疗和护理干预措施,是对从治疗到护理的一系列规范化管理^[9]。护士在整个治疗过程密切观察,防止凝血、导管滑脱等不良事件,保障患者身心安全。与患者及家属沟通交流,增强患者及家属对抗疾病的决心和信心,加深了对护士的信任度^[10]。此模式的应用改善患者氧代谢,改善呼吸功能,提高临床治疗效果及患者和家属对病情的认知度、护理满意度。在本研究中可以看到两组患者在上机过程中血压和心率变化差异无统计学意义,干预组的体温上机6 h和8 h后均较上机时升高,而常规组体温在上机过程中变化无统计学意义;两组的血氧饱和度在上机后都有所提高,但干预组在上机6 h和8 h血氧饱和度高于常规组;治疗后对病情认知与满意度得分均是干预组高于常规组。说明集束化护理的运用可以有利于护患交流,使其配合治疗,确保治疗的有效充分性。本研究表明干预组的护理效果优于常规组。

(下转第609页)

· 护理学 ·

文章编号:1002-0217(2020)06-0607-03

眼位训练仪在表面麻醉白内障手术中的应用效果

许艳群,滕晓菊,陈 艳,龙乐乐,张艳艳

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 眼科,安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:探讨表面麻醉白内障手术患者术前使用眼位训练仪训练眼位的效果。**方法:**将2018年4月~2019年3月弋矶山医院眼科80例需进行眼位训练的表面麻醉白内障手术患者分为观察组40例和对照组40例;对照组术前使用传统方法进行术前宣教,不进行眼球下转位训练,观察组术前使用眼位训练仪,进行眼球下转位训练。对两组患者术中一次性眼球下转位固视时长、术中因眼位配合不佳导致手术操作暂停次数进行分析。**结果:**观察组术中一次性眼球下转位固视时长大于对照组($P<0.05$);术中操作暂停的次数少于对照组($P<0.05$)。**结论:**表面麻醉白内障手术患者术前使用眼位训练仪进行眼位训练可以提高手术的时效性,减少手术感染的发生率,增强患者对医生、医院的依从性和信任,提高了病人的满意度,具有一定的临床实践意义。

【关键词】眼位训练仪;表面麻醉白内障手术;应用效果

【中图分类号】R 473.77 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2020.06.028

Clinical outcomes applying eye position training apparatus to patients following cataract surgery by topical anesthesia

XU Yanqun, TENG Xiaoju, CHEN Yan, LONG Lele, ZHANG Yanyan

Department of Ophthalmology, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To assess the efficacy of eye position training apparatus for training of eye position in patients after cataract surgery by topical anesthesia. **Methods:** Eighty patients (80 eyes) undergone cataract surgery in our department, requiring eye position training, were enrolled in the study from January to December 2019, and assigned to observational group ($n=40$) and control group ($n=40$). Patients in the control group received simple conventional training of the eye positioning before surgery, while those in the observational group were trained using the eye position training apparatus. Then the two groups were analyzed concerning the duration of one-off fixation of one eye and the number of procedure pausing from poor eye position coordination during operation. **Results:** Patients in the observational group had longer duration of downward position of the eyeball at one-time fixation, and fewer intraoperative suspension than those in the control group (both $P<0.05$). **Conclusion:** Eye position training apparatus has clinical significance, because it may improve the efficiency of operation, reduce the incidence of surgical complications, enhance the trust and compliance of patients to doctor as well as patient's satisfaction in patients undergoing cataract surgery by topical anesthesia.

【Key words】 eye position training apparatus; cataract surgery; application effect

眼睛是视觉器官,在五官之中有着“画龙点睛”的作用,所以眼科的治疗不但要考虑疾病本身的治愈效果,还要考虑一定的美容效果,眼科手术治疗要求高、精、准,这不但对治疗的技术、设备和环境有一定的要求,同时对患者自身的配合度也有一定的要求。不论是外眼手术还是内眼手术,只要是涉及到眼球的手术操作,对眼球的位置固定(固视)都有较

高的要求^[1],以局部麻醉为主的眼科手术中,其中眼位固定很大程度上依赖于患者的自我控制力^[2]。患者术中控制眼球活动对提高手术配合依从性和成功率的积极作用已被广大医护人员充分认识。而眼位训练原理简单,大部分是重复性操作,可以用仪器或工具进行代替,从而为医护人员节省大量时间和精力。弋矶山医院眼科医护人员设计的

基金项目:弋矶山医院三新项目(Y1865)

收稿日期:2020-05-19

作者简介:许艳群(1976-),女,副主任护师,(电话)18855352518,(电子信箱)xyq9601xyq@163.com;

滕晓菊,女,副主任护师,(电子信箱)3291323953@qq.com,通信作者。

“眼位训练仪”,帮助表面麻醉下白内障手术患者训练眼位,取得较好的效果,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

1.1.1 纳入病例 将2018年4月~2019年3月弋矶山医院眼科需要做白内障手术、术前要进行眼位训练的患者80例(80眼)随机分为观察组和对照组。观察组40例(40眼),男23例,女17例,年龄54~78岁,平均年龄(60.05±7.53)岁;对照组40例(40眼),男25例,女15例,年龄52~81岁,平均年龄(60.80±7.93)岁。两组患者视力均在光感以上,且两组患者在性别及年龄上差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究通过医院伦理委员会审查,所有参与患者均知情同意。

1.1.2 排除病例 意识不清患者、有眼外伤的患者、斜视术后1年内的患者。

1.2 研究方法

1.2.1 对照组 使用传统的方法,术前一日下午责任护士为患者介绍手术方式、方法及注意事项,并完善术前准备。

1.2.2 观察组 术前一日下午责任护士为患者介绍手术方式和方法及注意事项,完善术前准备,并向患者介绍眼位训练的目的、方法和意义^[3],使用眼位训练仪为患者进行眼位训练。

1.2.2.1 眼位训练仪的设计与组成 该仪器由5大部分组成,①主杆:有弹性可折叠;②光源:在主杆的顶端;③发声器:在主杆顶端临近光源,光源和发声器分控,也可同时使用;④电池盒:装在底端的固定夹里,里面装有电池,电池的导线连接到主杆顶端的声源、光源上;⑤固定夹:在主杆的底端,用于固定导视仪的位置(见图1)。

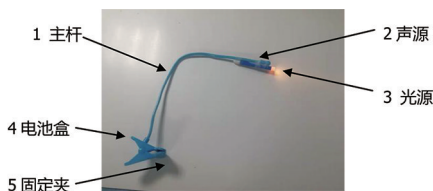


图1 眼位训练仪实物图

1.2.2.2 眼位训练仪的使用方法 术前一日责任护士根据患者的诊断和手术方式确定患者术眼眼位固视的方向、位置,然后将眼位训练仪固定在床尾,调整好光源的高度和亮度,患者模拟术中仰卧于病床上,要求病床和水平方向平行,患者面部向上、身

体平卧、放松正直、下颌和胸骨在同一条线上^[4],先放松头部,再放松肩颈、背部和四肢,训练中头部尽量不要移动^[5],要求术眼固视望向床尾眼位训练仪上的光源,从一次固视10s开始,逐渐延长时间至20s、30s,反复训练直至一次固视能坚持1min左右;这样在同一时间段一名护士可以巡回在3~4位患者之间指导完成眼位的训练,大大节省了护士的时间,提高了工作效率,也让患者最大限度地参与到自身疾病救治过程中。每位患者一次需要持续训练5min方能达到此效果。术前一日练习3~5次,手术时基本可以和医生良好配合。手术当天在术前再次检查患者术眼固视的情况并向医生汇报。

1.2.2.3 眼位训练仪的使用路径 在科主任和科护士长的领导下,组织我科相关护理人员学习眼位训练仪的使用目的、方法和意义;培训我科护理人员使用、维护眼位训练仪;术前一日开始使用眼位训练仪,使用前认真核对床号、姓名、诊断、术眼、手术方式等相关信息。每次训练5min;使用时原则上不需遮盖另一只眼,但是如果另一只眼有眼疾或者处于术后则根据患者情况具体处理;术毕对术中收集到的数据进行统计和分析。

1.3 评价指标 观察两组患者术中术眼单次保持眼球下转位固视的时长,术中因眼位配合不佳导致操作暂停的次数。

1.4 统计学方法 采用SPSS 18.0统计软件进行数据分析。计量和分类资料分别采用 $\bar{x}\pm s$ 和例数表示。计量资料比较采用 t 检验,计数资料比较采用 χ^2 检验,等级资料比较采用秩和检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者术中一次性眼球下转位固视时长比较 观察组经过使用眼位训练仪进行规范眼位训练后,在手术台上根据手术需要保持眼球下转位的时间长于对照组,差异有统计学意义($Z=5.873, P=0.000$),见表1。

表1 两组患者术中一次性眼球下转位固视时长比较

组别	<30 s	30~40 s	41~50 s	>50 s
观察组	3	8	19	10
对照组	28	5	7	0

2.2 两组患者术中眼位配合不佳手术暂停次数比较 观察组经过使用眼位训练仪进行规范眼位训练后,在手术台上能够保持较长时间的眼球下转位,使得手术医生能够连续完成手术步骤,手术暂停的次

数少于对照组,差异有统计学意义($Z = 3.783, P = 0.000$),见表2。

表2 两组患者术中眼位配合不佳手术暂停次数比较

组别	<4次	4~6次	7~9次	>9次
观察组	23	8	6	3
对照组	5	14	15	6

3 讨论

眼科又被称为“显微外科”,是因为大部分眼科手术都需要在显微镜下进行操作,术中暴露的术野也非常有限。表面麻醉白内障手术在眼球上的切口一般选择在上方角巩膜缘处(宽1.5 mm,是角巩膜缘最宽处,利于做切口),手术台上充分暴露上方角巩膜缘需要患者将眼球控制在下转位的位置,而正常情况下眼球向前平视、不做任何方向的转位才是最舒适的眼位,眼球向任何方向的转位都会有酸胀不适感,所以很难坚持。只有通过一定的训练才能获得眼球向某一方向的转位并坚持一定时长的能力。当表面麻醉白内障手术患者获得这种能力后,手术过程中就能通过自主控制眼位来配合操作^[6]。如果患者不熟悉术中眼位配合要领,术中就会多次出现抗手术眼位,导致手术暂停,不但延长了手术时间,也因为切口不能及时关闭增加了感染的风险^[7]。

眼位训练的作用主要有:①提高患者注意力,强化其掌握眼球活动的方法和技巧;②提高手术质量、

降低因配合不佳导致的手术失败率;③提高患者满意度和医疗服务质量^[8]。一名护士可同时巡回指导几个患者使用眼位训练仪进行眼位训练,提高了工作效率。我们设计并使用的眼位训练仪设置及操作均较简单,安全有效,属于非接触使用,定点干燥存放即可,每次用过后应及时充电、满电备用,该训练仪的使用能够让病人在手术台上很好地配合医生高效、有质量地完成手术,减轻了病人住院时间和经济上的压力,对医生也有积极的鼓励和肯定作用。

【参考文献】

[1] 陈薇, 褚中宁, 黄瑛, 等. 眼位训练在提高数字导航下白内障手术效的研究[J]. 微创医学, 2017, 12(6): 781-782.
 [2] 殷承英. 术前眼位注视训练在青光眼小梁切除术患者中的应用[J]. 齐鲁护理杂志, 2017, 23(16): 13-14.
 [3] 管映红, 吴妹. 对翼状胬肉患者在术前进行眼位训练和放松训练对其进行手术的影响[J]. 当代医药论丛, 2017, 15(13): 154-155.
 [4] 曾登芬, 孙强, 白继. 眼科表面麻醉手术前眼位和头位配合训练重要性评估[J]. 重庆医学, 2008, 37(2): 157-158.
 [5] 屈爱红. 术前眼位训练和放松训练对翼状胬肉患者的影响[J]. 临床医药实践, 2019, 28(9): 647-649.
 [6] 肖志红. 超声乳化白内障手术术前眼位训练的效果评价[J]. 深圳中西医结合杂志, 2014, 24(10): 91-92.
 [7] 陈洁. 表面麻醉下白内障手术眼位和头位配合训练的技巧[J]. 中国实用医药, 2009, 4(29): 208-209.
 [8] 赵丽红, 张艳霞. 眼科局麻手术患者术前眼位训练对手术质量和护理质量的影响[J]. 实用临床护理学杂志, 2018, 3(11): 68.

(上接第606页)

本研究旨在探讨CBP危重症患者接受集束化护理干预的效果。因研究纳入的病例较少,时间较短,需要更多的研究者纳入更多的病例进行为期更长的研究。集束化护理可以加深患者认知度、提升满意度,降低临床并发症发生率,维持和谐的医患关系,减少医疗纠纷的发生^[11],值得在临床上推广。

【参考文献】

[1] 季大玺. 连续性血液净化在危重病中的应用及研究热点[J]. 中国血液净化, 2003, 2(3): 117-120.
 [2] 王英. 床边连续性血液净化在危重症患者急救中的应用及其护理[J]. 心理医生, 2018, 24(23): 35-36.
 [3] 孙兰. 集束化干预策略在重症患者行CRRT治疗中的应用效果分析[J]. 医药前沿, 2019, 9(33): 100-101.
 [4] 付敬. 血液透析用中心静脉导管规范化护理进展[J]. 齐鲁护

理杂志, 2019, 25(3): 3-6.
 [5] 刘锋, 于坤, 王红巧. 浅析透析机压力参数的临床意义[J]. 中国保健营养, 2013, 10: 5958-5959.
 [6] 冉孟晓, 陈辉. 局部枸橼酸抗凝对老年终末期肾脏病维持性血液透析患者肾功能、凝血功能及体外循环凝血的影响分析[J]. 中国医学前沿杂志, 2019, 11(4): 49-52.
 [7] 段红年. 持续血液净化治疗儿童重症急性胰腺炎1例[J]. 临床合理用药, 2018, 11(2): 173.
 [8] 李文华, 闫宏伟, 刘波涛, 等. 床边连续性血液滤过在危重症患者中的临床应用[J]. 中国药物与临床, 2010, 10(8): 928-930.
 [9] 方丽. 集束化护理在预防血液透析导管相关性血流感染的效果分析[J]. 临床医药文献杂志, 2018, 5(85): 133-133.
 [10] 陈瑶. 妇科护理中开展优质护理服务的体会[J]. 妇儿专科护理, 2018, 12: 143-144.
 [11] 陈兵, 吴娅利, 刘国祥. 履行医疗告知义务中存在的缺陷及对策[J]. 解放军医院管理杂志, 2018, 25(5): 420-422.

Gitelman 综合征 1 例报道并文献复习

何俊俊¹, 陈月平¹, 赵咏莉¹, 华强¹, 孟祥健¹, 李勤¹, 张斌华², 高家林¹

(1. 皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 内分泌科, 安徽 芜湖 241001; 2. 皖南医学院第二附属医院 内分泌科, 安徽 芜湖 241000)

【摘要】目的:探讨 Gitelman 综合征(GS)的临床特征,提高临床认识,减少漏诊率。**方法:**总结分析弋矶山医院收治的 1 例 GS 患者临床资料并复习相关文献。**结果:**该患者低钾血症长期不能找到病因,入院后完善相关检查,明确诊断为 GS。**结论:**目前国内 GS 检出率低,临床上需仔细鉴别,有条件可行基因检测进行确诊。

【关键词】Gitelman 综合征;低钾血症;低镁血症

【中图分类号】R 692. 6;R 446. 11 **【文献标志码】**A

【DOI】10. 3969/j. issn. 1002-0217. 2020. 06. 029

Gitelman syndrome: Report of 1 case with literature review

HE Junjun, CHEN Yueping, ZHAO Yongli, HUA Qiang, MENG Xiangjian, LI Qin, ZHANG Binhua, GAO Jialin

Department of Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To investigate the clinical characteristics of Gitelman syndrome(GS) for improving clinical understanding and reducing the rate of missed-diagnosis. **Methods:** The clinical data were obtained and analyzed in one case of GS treated in our hospital, and related literatures were reviewed. **Results:** The patient was in long-lasting hypokalemia of unknown causes. After admission, he received relevant examinations, and was confirmed as GS. **Conclusion:** Current GS detection rate remains low in China. This disorder requires meticulous differentiation in diagnosis, and genetic test, if laboratory technology is available.

【Key words】Gitelman syndrome; hypokalemia; hypomagnesemia

Gitelman 综合征(Gitelman syndrome, GS)被认为是一种遗传性、肾小管失盐性、常染色体隐性疾病,主要特征为低血钾、低血镁(故又称为家族性低钾低镁血症)、低血氯、低尿钙、代谢性碱中毒,血压正常或偏低,肾素-血管紧张素-醛固酮系统(renin-angiotensin-aldosterone system, RAAS)激活^[1],发病机制为位于常染色体 16q13 的 SLC12A3 基因突变,进而导致编码肾远曲小管 Na⁺-Cl⁻协同转运通道(Na⁺-Cl⁻ cotransporter, NCCT)的基因发生突变^[2]。GS 在全球范围内发病并不罕见,既往认为中国人 GS 发病率低,可能与国内医师对该疾病认识不足及相关基因检测技术有限有关。本研究旨在对弋矶山医院内分泌科收治的 1 例 GS 患者的诊疗经过及相

关文献进行总结和复习,达到增加临床工作者对 GS 认识的目的。

1 病例资料

患者女,38 岁,因“四肢乏力、胸闷 10 年余,加重 1 月”入院。患者 2008 年开始出现四肢乏力、胸闷,多次于芜湖五院检查均提示低钾血症,予以口服补钾治疗,效果不佳,期间上述症状反复发生,间断口服氯化钾治疗,2018 年 11 月再次因四肢乏力入住当地医院,予以静脉联合口服补钾后症状有所缓解,建议上级医院进一步检查,未予重视,近 1 个月来患者自觉上诉症状较前加重,就诊弋矶山医院门诊,拟“低钾待查”收治。病程中患者常有面部麻木

基金项目:安徽省高校人文社科研究项目(SK2019ZD18);皖南医学院重点项目科研基金(WK2019ZF06)

收稿日期:2020-03-16

作者简介:何俊俊(1991-),女,住院医师,硕士,(电话)15855164056,(电子信箱)1475736332@qq.com;

高家林,男,副主任医师,教授,(电子信箱)gaojialin_xr@126.com,通信作者;

张斌华,男,主任医师,(电子信箱)yjszhbh2009@163.com,通信作者。

感,双下肢关节疼痛,偶有下肢水肿,无口干、多饮,夜尿增多,约2~3次/夜。既往无慢性胃肠道病史,否认服用利尿剂及其他药物史,饮食及睡眠可。17岁初潮,月经规律,发育正常,适龄婚配,育有1子,配偶及儿子体健。外祖父母为近亲婚配,母亲有兄弟姐妹5人,无一人发病,查电解质均正常。

查体:血压97/68mmHg,陶瑟征、面神经叩击征阴性,心、肺、腹均未见异常。

辅助检查:入院后多次复查相关检查。二氧化碳结合力26.5~28.9 mmol/L(参考值:22.0~31.0 mmol/L),血钾2.82~3.98 mmol/L(参考值:3.50~5.30 mmol/L),血镁0.47~0.54 mmol/L(参考值:0.65~1.20 mmol/L),血钠140.2~152.1 mmol/L(参考值:135.0~147.0 mmol/L),血钙2.04~2.53 mmol/L(参考值:1.90~2.50 mmol/L),血氯98.8~107.5 mmol/L(参考值:99.0~110.0 mmol/L),血磷1.15~1.21 mmol/L(参考值:0.80~1.50 mmol/L);尿常规示:尿pH 8.0(参考值:4.5~8.0);24 h尿电解质:尿量3.0 L,尿钾为65 mmol/24 h(参考值:25~100 mmol/24 h),尿钙0.5 mmol/24 h(参考值:2.5~7.5 mmol/24 h),尿钠183 mmol/24 h(参考值:130~260 mmol/24 h),尿氯172 mmol/24 h(参考值:170~255 mmol/24 h);血气分析(外院):pH 7.55, HCO₃⁻ 27 mmol/L, BE -9.2 mmol/L。入院后多次查卧位醛固酮6.41~13.00 ng/dL(参考值:3.00~23.60 ng/dL),卧位肾素活性:167.7~425.0 μIU/mL(参考值:2.8~39.9 μIU/mL);卧位血管紧张素 I 1.31 ng/mL(参考值:0.15~2.33 ng/mL)。甲状腺功能、性激素系列、皮质醇昼夜节律、甲状旁腺激素、肝肾功能、免疫全套均未见异常。心电图、心脏彩超、泌尿系彩超、肾动脉血管彩超、肾上腺CT平扫+增强未见异常。

基因检测由合肥金域医学检验中心完成检测。结果表明SLC12A3基因有2处错义杂合突变,其中一个位于第8号外显子,8c.1000C>T,对应的蛋白突变为:p. Arg334Trp;另一个突变位于第12号外显子,12c.1456G>A,对应的蛋白突变为:p. Asp486Asn。对其父母进行基因检测,父亲第8号外显子为杂合携带,第12号外显子未检测到突变,母亲第12号外显子为杂合携带,第8号外显子未检测到突变。

诊治与随访:结合症状、查体、辅检及基因结果,本例患者GS诊断明确。予口服氯化钾注射液1.0 g, tid纠正低钾、口服门冬氨酸钾镁596.0 mg, tid纠正低血镁,患者乏力、胸闷不适好转,夜尿次数减少,复查电解质较前好转。出院前血钾为3.98 mmol/L,

血镁为0.54 mmol/L。随访4个月,血钾波动在3.0~3.5 mmol/L,血镁波动在0.54~0.58 mmol/L。

2 讨论

GS属于常染色体隐性遗传疾病,只有当SLC12A3基因突变时才发病,临床上常见复合杂合突变和单杂合突变^[1]。本例患者为复合杂合突变,因此有典型的临床表现。根据孟德尔遗传学定律,携带者父母每次生育的子女成为患者的概率均为25%,这种携带相同致病突变基因的风险也存在于患者父母的其他亲属中,因此,如果患者属于近亲婚配或婚配同样的情况下,一个家系中可能连续两代出现GS患者。临床上有近亲婚配的后代发生GS的报道^[3]。本例患者外祖父与外祖母属于近亲婚配,因此对于临床上有低钾血症,且亲属为近亲婚配者,要考虑到GS的可能,完善基因筛查。

GS患者临床表现通常无特异性,诊断及鉴别诊断主要有赖于实验室结果(临床简称“五低一高”)。其中低血镁、低尿钙对GS的诊断及鉴别诊断至关重要^[4]。近年来国内也有血镁正常的GS的案例报道,据统计,经基因诊断确诊的血镁正常的GS患者约占8%~22%^[5-7]。目前血镁正常的GS被认为是一种临床表现较轻的亚型^[8]。根据发病机制,GS患者一般表现为RAAS系统激活,即醛固酮水平升高,但本例患者多次查醛固酮均正常,考虑可能为长期低血钾对醛固酮的抑制作用。

GS与Bartter综合征(Bartter syndrome, BS)临床表现极为相似,长期以来,GS被认为是BS的一种亚型,直至1996年Simon等^[9]通过基因分析才将两者作为两种独立的疾病区分开来。两者的主要鉴别点为血镁水平、尿钙水平、发病年龄、生产发育情况、基因突变位点等,详见表1^[4]。

表1 GS和BS的鉴别要点

	GS	BS
发病时间	青少年或成年	儿童期
血钾	降低	降低
PH值	有	有
肾素活性	升高	升高
血镁水平	降低	正常
尿钙水平	降低	正常或偏高
前列腺素E水平	正常	升高
生长发育情况	未成年发病可有发育迟缓	迟缓
病变部位	远曲小管	髓祥升枝粗段
突变基因	SLC12A3	CLCNKB

目前,基因检测在世界范围内被公认是诊断GS

的金标准^[2],基因依据是 SLC12A3 基因中检测到 2 个致病的突变位点。目前已发现的 SLC12A3 基因突变位点有 400 多个(人类基因突变数据库 <http://www.hgmd.org>)。本例患者的 2 个突变位点(A334T、A486A),虽不属于亚裔地区常见位点(T60M 和 D486N^[10-13]),但均收录在 dbSNP147 数据库中(rs770702194、rs753523115)。从基因结构改变的类型上看,目前已明确的 SLC12A3 常见基因突变有移码突变(框移突变)和碱基置换突变(剪切位点突变);按遗传信息的改变方式,其突变有无义突变和错义突变,错义突变最常见,占 60% 以上^[1]。本例患者即为碱基置换突变(错义突变)。

目前,全球范围内均无根治 GS 的办法,治疗主要以改善症状为主。治疗方法主要包括替代治疗(补钾、补镁)及针对病理生理机制的治疗(如使用保钾类利尿剂),其中以前者为最重要的干预方法,共识推荐“食补+药补”的原则。治疗目标是血钾 ≥ 3.0 mmol/L,血镁 ≥ 0.6 mmol/L^[14]。但长期的钾、镁制剂摄入而引起的胃肠道反应(如胃部刺激、腹泻等)是部分患者难以耐受、依从性差的原因之一,螺内酯是升高血钾较有效的方法,但使用时需要注意监测血压及补充镁制剂。本例患者血压偏低,故未使用螺内酯治疗。对于有基因突变携带而无临床症状者,可不予补钾治疗,每年复查电解质 1~2 次。

GS 被认为是罕见疾病,发病率约为 1/50 000,但杂合携带者约为 1/100,随着基因检测技术的发展,更多低钾血症最终被确诊为 GS^[15]。研究发现,近 1/3 的 GS 患者有明确家族史^[11]。因此,临床医生应增加对 GS 的认识,对可疑患者,必要时对其直系亲属行基因检测,减少临床漏、误诊。

【参考文献】

[1] LOU J, YANG X, LIANG J, *et al.* A pedigree analysis of two homozygous mutant Gitelman syndrome cases [J]. *Endocr J*, 2015, 62(1):29-36.
 [2] 石然然,李丛丛,方丽,等. Gitelman 综合征的临床及基因诊断[J]. *中华内科杂志*, 2017, 56(2):104-111.

[3] 杨静,叶玉燕,陈丽萍,等. 近亲婚配生育的 Gitelman 综合征 1 例[J]. *中国乡村医药*, 2019, 26(11):54-55.
 [4] Gitelman 综合征诊治专家共识协作组. Gitelman 综合征诊治专家共识[J]. *中华内科杂志*, 2017, 56(9):712-716.
 [5] JIANG L, CHEN C, YUAN T, *et al.* Clinical severity of Gitelman syndrome determined by serum magnesium [J]. *Am J Nephrol*, 2014, 39(4):357-366.
 [6] TSCNG MH, YANG SS, HSU YJ, *et al.* Genotype, phenotype, and follow-up in Taiwanese patients with salt-losing tubulopathy associated with SLC12A3 mutation [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2012, 97(8):1478-1482.
 [7] MATOS V, VAN MELLE G, BOULATO O, *et al.* Urinary phosphate/creatinine, calcium/creatinine, and magnesium/creatinine ratios in a healthy pediatric population [J]. *J Pediatr*, 1997, 131(2):252-257.
 [8] 蒋兰萍. Gitelman 综合征诊断方法的建立及维生素 D 阻断其肾素活化机制初探[D]. 北京:北京协和医院, 2015.
 [9] SIMON DB, KARET FE, HAMDAN JM, *et al.* Bartter's syndrome, hypokalaemic alkalosis with hypercalciuria, is caused by mutations in the NA-K-2CL cotransporter NKCC2 [J]. *Nature Genetics*, 1996, 13(2):183-188.
 [10] MA J, REN H, LIN L, *et al.* Genetic features of Chinese patients with gitelman syndrome; sixteen novel SLC12A3 mutations identified in a new cohort [J]. *Am J Nephrol*, 2016, 44(2):113-121.
 [11] QIN L, SHAO L, REN H, *et al.* Identification of five novel variants in the thiazide-sensitive NaCl co-transporter gene in Chinese patients with Gitelman syndrome [J]. *Nephrol (Carlton)*, 2009, 14(1):52-58.
 [12] SHAO L, REN H, WANG W, *et al.* Novel SLC12A3 mutations in Chinese patients with Gitelman's syndrome [J]. *Nephron Physiol*, 2008, 108(3):p29-p36.
 [13] SHAO L, LIU L, MIAO Z, *et al.* A novel SLC12A3 splicing mutation skipping of two exons and preliminary screening for alternative splice variants in human kidney [J]. *Am J Nephrol*, 2008, 28(6):900-907.
 [14] BLANCHARD A, BOCKENHAUER D, BOLIGNANO D, *et al.* Gitelman syndrome; consensus and guidance from a kidney disease:improving global outcomes(KDIGO) controversies conference [J]. *Kidney Int*, 2017, 91(1):24-33.
 [15] LU Q, ZHANG Y, SONG C, *et al.* A novel SLC12A3 gene homozygous mutation of Gitelman syndrome in an Asian pedigree and literature review [J]. *J Endocrinol Invest*, 2016, 39(3):333-340.

投稿须知

1 本刊为综合性医学期刊,主要反映科研、教学、医疗新成果和新经验,促进院内外学术交流。辟有基础医学、临床医学、法医学、口腔医学、麻醉医学、影像医学、预防医学、护理学、短篇报道等栏目,欢迎院内外作者投稿。凡属国家级科研资助项目或获奖成果论文,经审稿通过将优先发表。

2 本刊已入编《中国科技论文统计源期刊》(中国科技核心期刊)、《中国期刊网》、“万方数据数字化期刊群”、《中国生物医学文献数据库》(SinoMed)、英国《国际农业与生物科学研究中心》(CABI)等,在第四届《中国学术期刊评价研究报告(武大版)(2015-2016)》中被评为“RCCSE 中国核心学术期刊(A⁻)”。稿件一经录用,将同时被收录,如作者不同意收录,请予声明。文稿的著作权,除《著作权法》另有规定外,属于作者,文责自负。

3 来稿要求

3.1 文稿应具科学性、逻辑性,立意新颖,并有理论和实践意义。要求主题明确、病例真实、数据可靠、文句简练。

3.2 作者署名单行排序,应以主要参加工作并对本文有答辩能力者为限,协作人员可书写“致谢”列于文末。正文首页左下角列出作者单位、邮政编码、作者简介(通信作者亦请标明),有基金资助者请注明基金名称及编号,并附相应的批文复印件。

3.3 正文前请列出关键词3~5个,应有200字左右的中、英文摘要。中文摘要和关键词置于作者署名之后正文之前;英文题名、作者姓名(汉语拼音)和单位、摘要及关键词置中文摘要之后。中、英文摘要均采用结构式,即①目的(Objective):需与正文前言相一致,与结论相呼应。②方法(Methods):需包括文中所使用的主要方法的名称、病例(动物)数和必要的分组情况。③结果(Results):与研究结论相关的主要结果及数据、统计学意义均应列出,并与文内核实无误。④结论(Conclusion):需与研究目的相呼应。

3.4 文题应简明确切,一般不超过20字。英文题名与中文题名含义一致,一般不超过10个实词,首字母大写,其余均小写。文内标题力求简短,以15字为限,标题后不用标点符号。

3.5 正文的专业术语,应使用全国科学技术名词审定委员会公布的各学科名词(www.termonline.cn),且应全篇统一。统计学处理须写明假设检验的方法并列出具体的统计量数值,统计学符号应按GB/T 3358-2009《统计学词汇及符号》的有关规定书写(如 t 值、 F 值、 χ^2 值等)。文内所有英文字母(包括其他语种)的大小写、缩略词的上下角标,均应标注清楚。

3.6 图、表应有序号和中文标题,标题原则上不超过15字。表格采用三线式;所有图片均以图像文件格式单独作为附件发送,组织病理图片、免疫荧光染色图、免疫组化图片、电子显微镜图片应在左下方附注标尺。图的位置应在正文中标出,并注明图序号、图题和图注。

3.7 文末应列出10篇以上公开发行的参考文献,近3~5年内国内外文献不少于50%。正文引用的文献按文中首次出现的先后次序在引用处用方括号注角码[]标于右上角。参考文献按《信息与文献参考文献著录规则》GB/T 7714-2015中规定的“顺序编码”标注法著录,外文文献作者姓名全大写。

3.8 来稿请登录<http://xuebao.wnmc.edu.cn>进行在线投稿。需写明详细地址、邮政编码、电话和电子信箱。

3.9 文稿请自留底稿,如3个月后未接到修稿通知,可自行处理。

电话:0553-3932553 电子信箱:wnyxyxb@vip.163.com

通信地址:皖南医学院学报编辑部(安徽省芜湖市弋江区文昌西路22号) 邮编:241002