

JOURNAL OF WANNAN MEDICAL COLLEGE

Vol. 41 No. 2 2022

- Effects of *Brucea javanica* on the proliferation of non-small cell lung cancer cells and its mechanism
..... XU Wenjing, LI Zhenhan, LI Zilin, *et al* (103)
- Effect of Tectoridin on migration of lung adenocarcinoma cells and the mechanism
..... HUANG Yushu, CHEN Renjie, LU Rui, *et al* (108)
- Investigation on the mechanisms of 4-phenylbutyric acid in renal interstitial fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction
..... YU Jian, CHEN Xi, FANG Jie, *et al* (113)
- Effect of different disposal methods on the molecular weight and activity of polysaccharide from Jerusalem artichoke
..... HE Shuguang, YUAN Pingchuan, ZHOU Lingyun, *et al* (117)
- Application of one-step prone split-leg position to percutaneous nephrolithotomy
..... AO Ping, SHU Lin, ZHANG Baochao, *et al* (121)
- Construction and clinical transformation of early warning mechanism for chemotherapy resistance in pancreatic cancer based on Hsp90 α
..... QIAN Daohai, XI Shihang, WANG Guannan, *et al* (124)
- Application of CT/MRI image fusion technology for target delineation in radiotherapy of patients with intracranial tumor
..... WANG Yinhua, MA Jinzhu, WU Zhangjie, *et al* (128)
- Serum haptoglobin and von Willebrand factor level and early neurological deterioration in cerebral infarction patients following intravenous thrombolysis
..... SONG Min, GUO Rui (131)
- Outcomes of different preoperative cervical management in hysteroscopic surgery
..... WU Qi, MA Shaoping (135)
- Effect of repeated intracoronary thrombolysis on STEMI patients with high thrombus load
..... DAI Zhongli, QIAN Fudong, FENG Jun, *et al* (138)
- IL-6 and prognostic nutritional index and the prognosis in elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease in acute exacerbation stage
..... GAO Jianrong, YE Yalan, GAO Shuo, *et al* (142)
- Risk factors of decreased estimated glomerular filtration rate in elderly patients with type 2 diabetes mellitus
..... WANG Fen, WU Fangtuan, SUN Yan, *et al* (146)
- Value of semi-quantitative ultrasound in evaluating the curative effect of polymyalgia rheumatica
..... WANG Xiaowan, JIA Lanlan, FENG Dandan, *et al* (150)
- Clinical analysis on the effect of platelet antibody, platelet cross-matching and transfusion times on platelet transfusion in patients with hematological diseases
..... HAN Dongmei, WANG Qin, TANG Zongsheng (153)
- Analysis on the examination results of prenatal amniotic fluid chromosomes in 977 fetuses and the clinical significance
..... ZHANG Yilin, NI Guantai, WANG Yuping (157)
- Resveratrol regulating mitochondrial pathway to induce apoptosis of oral squamous cell carcinoma cells
..... YU Rui, WANG Jiaying, TAO Detao, *et al* (161)
- Effect of dexamethasone on lipopolysaccharide mediated osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells
..... HE Xiaoguang, ZHAO Jun, LI Na (166)
- Analysis on the ultrasonographic features and misdiagnosis of special type of nodular Hashimoto thyroiditis
..... ZHENG Zhi, CHENG Weibo, HAN Yunong (170)
- Sevoflurane induces autophagy in human neuroblastoma cells via mTOR signaling pathway
..... LÜ Jingjing, CHENG Hao, LIU Hu, *et al* (173)
- Outcomes of epidural dexmedetomidine plus ropivacaine assisting low-dose spinal anesthesia for parturients in secondary cesarean section
..... ZHU Haijuan, LIU Chenrong, HUANG Guijie, *et al* (177)
- Application of outcome-based education model in teaching laboratory medicine
..... ZHANG Yingying, CHENG Long, YANG Hui (181)
- Practice and exploration of mixed online-offline teaching mode based on Rain Classroom platform in teaching of Clinical Hematology Laboratory Test Technology
..... ZHANG Peng, LU Yong, LIU Fahu, *et al* (184)
- Experimental study on the effect of *Curcumae* Radix combined with Flos Caryophylli on hepatic fibrosis in mice
..... WANG Ju'an, SONG Xuemin, WANG Liqing, *et al* (187)
- Application of nasal high flow humidification oxygen therapy combined with evidence-based nursing intervention in patients in EICU
..... LUO Yuanyuan, TAO Xiubin, WANG Jiajun (190)
- Observation and nursing of intravenous indwelling needles at different puncture site in patients with chronic kidney disease
..... LIAO Maolei, WANG Lianmei, SONG Xia, *et al* (193)
- Current status and factors affecting the family resilience in patients with permanent colostomy from rectal cancer
..... WANG Yu'na, HUANG Ping, WANG Jiexiang, *et al* (196)
- Evaluation on the effect of seamless nursing cooperation mode in elderly patients with lumbar fracture surgery
..... XU Guixiang, WANG Yonghong, LI Shimin, *et al* (199)
- Acute ischemic stroke due to carotid webs: Computational fluid dynamics analysis in one case
..... MIAO Zhuang, HUANG Xianjun, GAN Weipeng, *et al* (202)

目 次

基础医学

鹅胆子对非小细胞肺癌细胞增殖的影响及机制	徐文静	李振汉	李子林等 (103)
射干苷对肺腺癌细胞迁移的影响及机制研究	黄禹舒	陈仁杰	陆 锐等 (108)
4-PBA 治疗单侧肾输尿管结扎小鼠肾脏纤维化的机制探讨	余 剑	陈 曦	方 洁等 (113)

药 学

不同处置方式对菊芋多糖分子量及活性的影响	何曙光	袁平川	周凌云等 (117)
----------------------------	-----	-----	------------

临床医学

俯卧分腿一站式体位在经皮肾镜取石术中的应用	敖 平	束 玲	张保朝等 (121)
基于 Hsp90 α 的胰腺癌化疗耐药预警机制构建及其临床转化	钱道海	奚士航	王冠男等 (124)
CT/MRI 图像融合技术在颅内肿瘤放疗靶区勾画中的应用	王银华	马金珠	吴章杰等 (128)
血清触珠蛋白、血管性血友病因子水平与脑梗死患者静脉溶栓后早期神经功能恶化的相关性研究	宋 敏	郭 锐	(131)
不同术前宫颈处理在宫腔镜手术中的效果评价	吴 琪	马少平	(135)
冠脉内重复溶栓对高血栓负荷 STEMI 患者的影响	代中礼	钱福东	冯 俊等 (138)
IL-6、PNI 与老年慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者预后的关系	高建荣	叶亚兰	高 硕等 (142)
老年 2 型糖尿病患者估算的肾小球滤过率降低的危险因素分析	王 芬	吴方团	孙 艳等 (146)
半定量超声在风湿性多肌痛疗效评估中的价值	汪筱莞	贾兰兰	冯丹丹等 (150)
血小板抗体、血小板配型及输注次数对血液病患者的临床价值	韩冬梅	汪 沁	唐宗生 (153)
977 例胎儿羊水染色体检查结果分析及其临床意义	章易琳	倪观太	王玉萍 (157)

口腔医学

白藜芦醇调控线粒体通路诱导口腔鳞状细胞癌细胞凋亡	于 瑞	汪佳颖	陶德韬等 (161)
地塞米松对脂多糖介导下人牙周膜干细胞骨向分化过程中的调控作用	何晓光	赵 君	李 娜 (166)

影像医学

特殊类型结节性桥本甲状腺炎的声像图特征及误诊分析	郑 直	程伟波	韩雨农 (170)
--------------------------------	-----	-----	-----------

麻醉医学

七氟醚通过 mTOR 信号通路诱导人神经母细胞瘤细胞自噬的发生	吕静静	程 浩	刘 虎等 (173)
硬膜外右美托咪啶辅助腰麻用于二次剖宫产术的麻醉效果	朱海娟	刘晨蓉	黄桂婕等 (177)

医学教育研究

OBE 理念在检验医学教学中的应用	张莺莺	程 龙	杨 辉 (181)
基于雨课堂平台线上线下混合教学模式在《临床血液学检验技术》教学中的实践探索	张 鹏	路 勇	柳发虎等 (184)

大学生科技园地

郁金配伍丁香对小鼠肝纤维化影响的实验研究 汪居安 宋雪敏 王俐晴等(187)

护理学

经鼻高流量湿化氧疗联合循证护理干预在 EICU 中的应用 罗元元 陶秀彬 王家俊 (190)

慢性肾脏病患者不同部位静脉留置针的观察与护理 廖茂蕾 王连梅 宋霞等(193)

直结肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力的现状及影响因素 王余娜 黄平 王甲香等(196)

高龄腰椎骨折手术患者采用无缝隙护理配合工作模式的效果评价
..... 徐桂香 王永宏 李士敏等(199)

短篇报道

1 例颈动脉蹼致急性缺血性脑卒中:基于计算流体力学分析 苗壮 黄显军 干伟鹏等(202)

[期刊基本参数]CN34-1068/R * 1974 * b * A4 * 102 * zh * P * ¥15.00 * 1 000 * 28 * 2022-04

本期执行编委 廖圣宝 钟树志 高家林

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 41 卷 第 2 期(总 199 期)

2022 年 4 月出版

主管单位 安徽省教育厅

主办单位 皖南医学院

主 编 廖圣宝

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 陈 蓓

Journal of Wannan Medical College

Bimonthly(Founded in 1974)

2022, Vol. 41, No. 2(Sum No. 199)

Apr 2022

Responsible Institution Education Department of Anhui Province

Sponsor Wannan Medical College

Editor in Chief LIAO Shengbao

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 CHEN Bei

鸦胆子对非小细胞肺癌细胞增殖的影响及机制

徐文静¹,李振汉²,李子林³,吴志浩^{1,4}

(皖南医学院 1. 肿瘤微环境研究室;2. 临床医学院;3. 影像学院;4. 医学生物学教研室,安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的:研究鸦胆子对非小细胞肺癌增殖的影响及其机制。**方法:**通过网络药理学分析获取鸦胆子有效成分及其相关抗肿瘤靶点;利用 GeneCards 数据库,获得鸦胆子治疗非小细胞肺癌的潜在靶点;借助 String 在线平台对鸦胆子抗肿瘤靶点进行了蛋白质-蛋白质相互作用(PPI)网络分析;采用噻唑蓝(MTT)实验测细胞增殖;Western blot 检测 P53、P21 蛋白表达水平;流式细胞术检测细胞周期;AnnexinV-FITC/PI 双染法测细胞凋亡。**结果:**获得鸦胆子有效成分 15 个;治疗非小细胞肺癌潜在靶点 14 个;鸦胆子油乳抑制 A549、PC-9 细胞增殖,呈剂量依赖性($P<0.05$);A545、PC-9 细胞中 P53 和 P21 蛋白表达量升高($P<0.05$),细胞周期主要阻滞在 G0/G1 期($P<0.05$);鸦胆子油乳、顺铂处理 PC-9 细胞,两者联用比单独处理细胞凋亡增加($P<0.05$)。**结论:**鸦胆子能够通过 P53 调控非小细胞肺癌的增殖活性,并且对化疗药物顺铂具有增敏作用。

【关键词】鸦胆子;网络药理学;非小细胞肺癌;P53

【中图分类号】R 734.2;R 285.5 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.001

Effects of Brucea javanica on the proliferation of non-small cell lung cancer cells and its mechanism

XU Wenjing, LI Zhenhan, LI Zilin, WU Zhihao

Tumor Microenvironment Research Laboratory, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

【Abstract】Objective: To investigate the effect of Brucea javanica on the proliferation of non-small cell lung cancer cells and the mechanisms. **Methods:** The effective components of Brucea javanica and their related anti-tumor targets were obtained via network pharmacology analysis. Then the potential targets of Brucea javanica for the treatment of non-small cell lung cancer were established by using GeneCards database. PPI protein network interaction analysis was performed on the anti-tumor targets of Brucea javanica with the help of the String online platform. Cell proliferation was detected by MTT, and P53 and P21 protein were measured by Western blot. Flow cytometry was applied to observing the cell cycle, and AnnexinV-FITC/PI double staining method was used to analyze the cell apoptosis. **Results:** Fifteen effective components of Brucea javanica were obtained, and 14 potential targets for the treatment of non-small cell lung cancer were established. MTT test showed that Brucea javanica oil emulsion inhibited the proliferation of A549 and PC-9 cells in a dose-dependent ($P<0.05$). Expression of P53 and P21 protein in A545 and PC-9 cells were up-regulated ($P<0.05$), and the cell cycle was primarily checked at G0/G1 phase ($P<0.05$). Treatment of PC-9 cells by Brucea javanica oil emulsion and cisplatin showed that combined use led to more cell apoptosis than single treatment with either of agents ($P<0.05$). **Conclusion:** Brucea javanica can not only regulate the proliferation activity of non-small cell lung cancer through P53, but also promote the efficacy of cisplatin.

【Key words】 Brucea javanica; network pharmacology; non-small cell lung cancer; P53

肺癌发病进展迅速、频繁复发、预后差、病死率高。目前治疗手段主要包括放射治疗、药物治疗和免疫治疗等^[1],而化疗药物的广泛应用,除了引起部分患者皮疹、腹泻、呕吐、肝功能障碍和细胞免疫缺陷外,越来越多患者表现出获得性耐药^[2]。天然药物因其复杂的元素结构和丰富的生物活性,逐渐

成为开发成抗癌药物的基础^[3],化疗药物与天然药物联用能发挥协同作用或叠加效应,获得更好的治疗效果^[4]。近年来,天然药物的使用量一直在增加^[5],其中鸦胆子已被证实在癌症的治疗过程中起着重要的作用^[6]。本研究旨在阐明鸦胆子对非小细胞肺癌的影响和分子机制,有助于对鸦胆子有效

基金项目:国家自然科学基金项目(81872371);安徽省自然科学基金项目(1708085MH203);分子肿瘤学国家重点实验室开放课题(SKL-KF-2019-11)

收稿日期:2021-03-15

作者简介:徐文静(1996-),女,2019级硕士研究生,(电话)15609631812,(电子信箱)1183504969@qq.com;

吴志浩,男,研究员,硕士生导师,(电子信箱)zwu2ster@163.com,通信作者。

活性成分的开发利用,为天然药辅助肺癌及其他类型癌症临床治疗开拓新思路。

1 材料与方法

1.1 网络药理学分析

1.1.1 鸦胆子活性成分的收集及其成分作用靶点预测 通过检索中药系统药理学数据库(TCMSP, <https://tcmssp.com/>) 鸦胆子活性成分,获得其分子编号、生物利用度(oral bioavailability, OB)、类药性(drug-likeness, DL)等。利用 GeneCards(<https://www.genecards.org/>) 数据库将药物活性成分靶点的蛋白名称转换成基因名称。

1.1.2 非小细胞肺癌疾病相关靶点收集 利用 GeneCards 数据库检索关键字“NSCLC”,筛选获得疾病靶点。利用在线韦恩分析工具(<http://bioinformatics.psb.ugent.be/>) 获取治疗肺癌的共同靶点。

1.1.3 蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络构建 将筛选得到的相关靶点信息导入 STRING 在线分析平台(<https://string-db.org/>),物种限定为“homo sapiens”,获取 PPI 信息,分析网络拓扑参数,获得 PPI 网络图,再利用 Cytoscape 软件对该网络模型做拓扑分析。

1.2 体外实验验证

1.2.1 细胞株、主要试剂及仪器 人非小细胞肺癌细胞系 A549、PC-9、H1299(中国科学院细胞库所赠予)。鸦胆子油乳(Brucea javanica oil emulsion, BJOE)购自延安制药股份有限公司(国药准字:Z61020267)、顺铂购自江苏豪森药业股份有限公司(国药准字:H20040813)、DMEM 培养基(GIBCO)、小牛血清(GIBCO)、青链霉素(Hyclon)、细胞培养箱(Eppendorf)、低温水平摇床(New Brunswick)、化学发光显影成像系统(GE)、BioTek 酶标仪(伯腾公司)、细胞周期检测试剂盒(凯基)、细胞凋亡检测试剂盒(碧云天)、流式细胞仪(BD)、 β -actin 抗体(Sigma)、P21 抗体(ABclonal)、P53 抗体(CST)、兔抗(CST)、鼠抗(CST)。

1.2.2 细胞培养 置于 37℃、5% CO₂ 的培养箱中,以 10% FBS 的 DMEM 培养基培养,于对数期用胰酶消化处理用于实验。

1.2.3 质粒转染 细胞密度生长至 80%,换液后加入的培养基于培养箱中静置 30 min,实验组和对照组分别加入空载体质粒、P53 质粒以及 Polyjet 转染试剂转染细胞,培养 48 h(转染后 6 h 需换液)。

1.2.4 噻唑蓝(MTT)细胞活力检测实验 加入 0、2、4、6、8、10 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 的 BJOE 处理 96 孔板中的细胞

12 h。两板中均加入新配的 0.5 mg/mL MTT 溶液 200 $\mu\text{L}/$ 孔,处理 3 h 后弃上清,加入二甲基亚砷 150 $\mu\text{L}/$ 孔,摇床避光震荡 15 min。酶标仪测定 570 nm 处吸光度。利用 Graphpad Prism 软件处理数据。

1.2.5 流式细胞术测细胞周期 加入 6 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ BJOE 处理细胞 12 h 后,细胞密度调至 $1 \times 10^6/\text{mL}$,加入冷的 70% 乙醇 4℃ 固定过夜,去除固定液,加入 PI/RNaseA 染液 500 μL ,室温避光静置 60 min,利用流式细胞仪检测细胞凋亡,数据用 FlowJO 软件分析。

1.2.6 AnnexinV-FITC/PI(propidium iodide) 双染法测细胞凋亡 按 BJOE 6 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 、顺铂 20 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ 处理六孔板中细胞,加入无 EDTA 胰酶消化收集细胞至收集管中,细胞密度调至 $1 \times 10^5/\text{mL}$,离心去上清,加入 500 μL 的 Binding Buffer 悬浮细胞,先后加入 5 μL AnnexinV-FITC 和 5 μL PI 染液混匀,室温避光孵育 15 min,利用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

1.3 统计学分析 采用 GraphPad Prism 软件进行数据分析与制图。计量数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验;多组间比较采用 *F* 检验,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 基于网络药理学探讨鸦胆子治疗非小细胞肺癌的作用机制

2.1.1 鸦胆子主要活性成分及其参数 利用 TCM-SP 数据库检索得到鸦胆子有效活性成分 67 个,根据 $OB \geq 30\%$ 和 $DL \geq 0.18$ 筛选得到 15 种生物利用度、药物相似性较好的活性成分(见表 1)。

2.1.2 PPI 网络构建及作用靶点分析 通过 TCM-SP 数据库筛选得到鸦胆子活性成分靶点 86 个和 GeneCards 数据库得到非小细胞肺癌靶点 4 384 个,韦恩在线分析平台获得鸦胆子治疗非小细胞肺癌的潜在靶点 70 个。利用 String 在线平台对这 70 个基因进行 PPI 网络分析(图 1),设置物种为人源,PPI 评分致信度为 0.9,隐藏离散的靶点。该图涉及 103 个节点及 295 条边,平均节点 5.73。根据 PPI 网络拓扑属性分析,选取“度中心性”(degree)及“介度中心性”(betweenness)均大于均值的点作为关键靶点,平均度值为 6.52,平均介度中心性为 2.30×10^{-2} ,得到 14 个鸦胆子治疗非小细胞肺癌潜在靶点(见表 2)。

表1 鸦胆子有效活性成分

分子编号	成分名称	0B/%	DL
MOL000358	beta-sitosterol	36.91	0.75
MOL000006	luteolin	36.16	0.25
MOL008068	bruceoside A _{qt}	31.05	0.75
MOL008073	brusatol	45.69	0.75
MOL008077	yadanzioside B	46.16	0.31
MOL008089	yadanzioside H	62.77	0.32
MOL008091	yadanzioside I	61.13	0.38
MOL008093	yadanzioside J	38.7	0.30
MOL008097	yadanzioside L	31.37	0.27
MOL008099	yadanzioside M	45.04	0.23
MOL008105	yadanzioside P	58.76	0.29
MOL008108	yadanziolide C _{qt}	31.8	0.66
MOL008109	yadanziolide D	55.76	0.65
MOL008110	bruceoside B	56.54	0.32
MOL008112	bruceine C	31.38	0.66

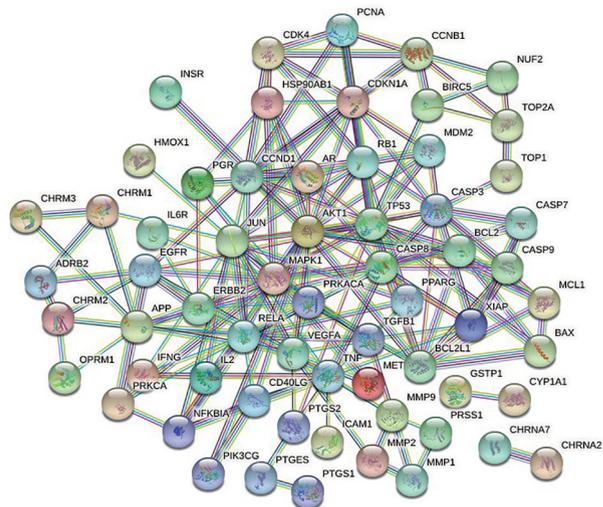


图1 鸦胆子治疗非小细胞肺癌靶点的PPI网络图

表2 根据 Degree 和 Betweenness 筛选的鸦胆子抗非小细胞肺癌 14 个靶点

Target name	Betweenness	Degree
TP53	0.230 002	23
AKT1	0.125 599	20
MAPK1	0.119 330	20
JUN	0.096 878	16
RELA	0.043 857	16
TNF	0.089 282	15
CASP8	0.068 579	15
VEGFA	0.131 354	14
CASP3	0.054 475	13
APP	0.078 776	11
CCND1	0.044 016	11
CDKN1A	0.027 043	11
EGFR	0.052 815	9
CCNB1	0.023 342	7

2.2 非小细胞肺癌体外实验验证

2.2.1 BJOE 抑制 A549、PC-9 细胞增殖 应用不

同浓度 BJOE 0、2、4、6、8、10 μg/μL 处理细胞,结果显示:A549、PC-9 细胞增殖能力随着 BJOE 浓度升高而下降 ($F_{A549} = 188.979, F_{PC-9} = 105.527, P < 0.001$),但对人支气管上皮细胞 HBE 增殖能力并无影响,差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

表3 鸦胆子对细胞增殖能力的影响(浓度依赖性)(n=4)

BJOE/(μg/μL)	HBE	A549	PC-9
0	1.000±0.036	1.000±0.078	1.000±0.119
2	0.931±0.065	0.948±0.108	0.855±0.111
4	0.952±0.035	0.847±0.141	0.585±0.083
6	0.909±0.029	0.595±0.047	0.501±0.009
8	0.849±0.030	0.357±0.069	0.483±0.031
10	0.854±0.166	0.239±0.052	0.384±0.053
F	0.267	188.979	105.527
P	0.092	<0.001	<0.001

2.2.2 BJOE 抑制非小细胞肺癌细胞周期 细胞周期检测结果显示,与对照组相比,实验组 A549、PC-9 细胞在 6 μg/μL BJOE 处理下,G0/G1 期细胞占比升高,S 期占比下降,G2 期 A549 细胞中占比上升、PC-9 细胞中占比下降,差异均有统计学意义($P < 0.05$),提示 BJOE 主要使细胞周期阻滞在 G0/G1 期,从而抑制细胞周期的进程,见图 2 和表 4。

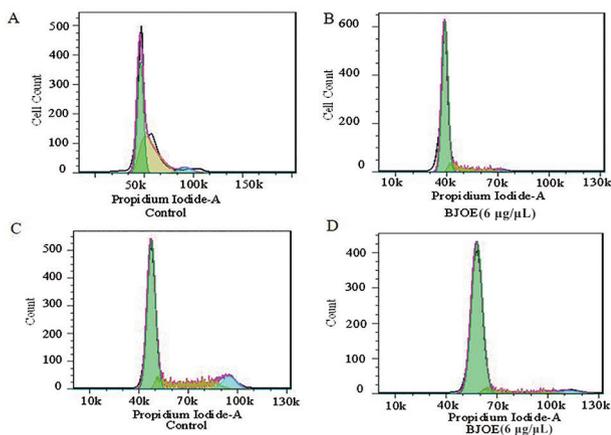


图2 BJOE 抑制 A549、PC-9 细胞周期

2.2.3 BJOE 可通过 P53 参与调控细胞周期

Western blot 结果显示,非小细胞肺癌 A549、PC-9 细胞内 P21 蛋白表达水平均上调,而 H1299 细胞 P21 蛋白表达水平下调(图 3A、B、C)。在 P53 缺失型的 H1299 细胞中过表达 P53cDNA 发现,与对照组相比,P21 水平明显升高(图 3C)。

2.2.4 BJOE 对化疗药物的增敏作用 MTT 和凋

亡实验结果表明,与空白对照组相比,BJOE(6 μg/μL)和 DDP(20 μmol/L)均能抑制细胞增殖、促进细胞凋亡,差异有统计学意义($P < 0.05$);与单独用药相比,药物联合处理对细胞增殖和促进凋亡的作用更为明显,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 4 和表 5。

表4 BJOE抑制A549、PC-9细胞周期量化表(n=3)

	A549		<i>t</i>	<i>P</i>	PC-9		<i>t</i>	<i>P</i>
	Ctrl	BJOE(6 μg/μL)			Ctrl	BJOE(6 μg/μL)		
G0/G1	67.033±0.351	87.433±0.737	43.275	<0.001	75.667±0.404	89.133±1.620	13.973	<0.001
S	26.633±0.351	3.237±0.076	112.800	<0.001	11.400±0.872	3.087±0.121	16.360	<0.001
G2	2.970±0.364	7.513±0.450	13.601	<0.001	11.967±1.210	6.553±1.402	5.063	0.007

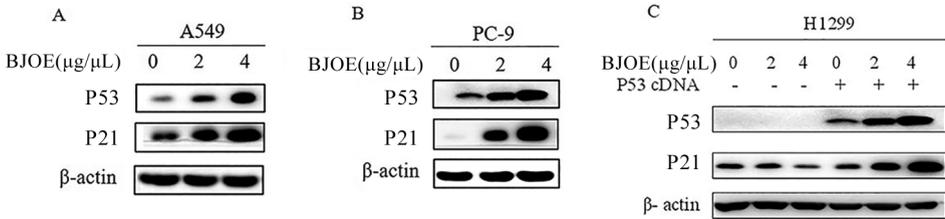


图3 BJOE通过P53调控细胞周期

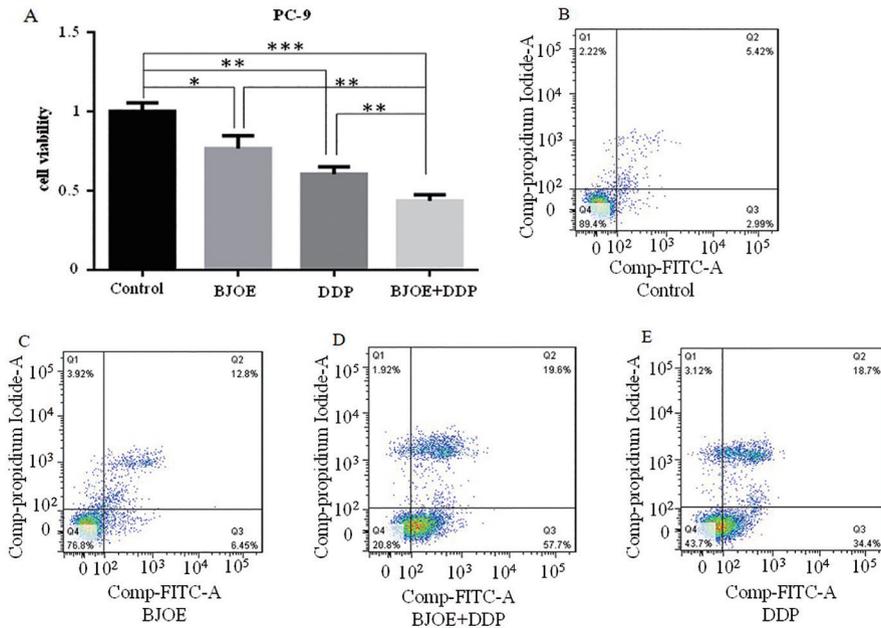


图4 BJOE与顺铂单独和联用处理对细胞凋亡的影响

表5 BJOE和顺铂单独与联用处理对细胞增殖和凋亡情况的影响(n=3)

	PC-9				<i>F</i>	<i>P</i>
	Ctrl	BJOE(6 μg/μL)	DDP(20 μmol/L)	BJOE+DDP		
细胞增殖	1.000±0.038	0.765±0.082 *#	0.604±0.046 *#	0.436±0.039 *	59.417	<0.001
早调	3.737±0.677	5.940±0.620#	16.167±2.196 *#	19.400±0.200 *	122.800	<0.001
晚调	6.273±0.801	13.067±0.252 *#	35.167±0.751 *#	56.767±2.157 *	1063.000	<0.001
凋亡总数	10.010±1.477	19.008±0.396 *#	51.330±1.550 *#	76.167±2.318 *	1097.000	<0.001

注:与对照组比较,**P*<0.05;BJOE组、DDP组分别与BJOE+DDP组比较,#*P*<0.05。

3 讨论

近几年大多数癌症的生存率都在稳步上升,而肺癌的5年生存率仍处于停滞状态^[7]。75%以上的患者初诊时已处于肺癌晚期,容易错失手术治疗的机会^[8]。目前非小细胞肺癌主要治疗方案均是以

铂类药物为基础的药物联合使用,其抗肿瘤疗效已得到证实^[9]。但是当肿瘤复发时,往往会产生耐药性,导致肺癌后续治疗更加复杂和困难。天然药物在某种程度上能够改善铂类药物耐药性的发生,如鸦胆子有助于提高肺癌治疗效果。

在本研究中,首先通过网络药理学对鸦胆子的成分进行了筛选出鸦胆子活性成分 15 个,发现鸦胆子主要活性成分有 β -谷甾醇、毛地黄黄酮、鸦胆子苷 M、鸦胆子苷 L、鸦胆子苷 P、鸦胆子苷 D、鸦胆子苷 B、鸦胆子苦醇等,这些活性成分的口服生物利用度、类药性均良好,提示鸦胆子有效成分的开发利用对于肿瘤治疗具有积极的临床意义。这些活性成分作用靶点收集结果得到鸦胆子治疗非小细胞肺癌潜在靶点 70 个,进一步筛选得到前 14 个靶点,包括 TP53、AKT1、MAPK1、JUN、RELA、TNF、CASP3、APP、CCND1、CDKN1A、EGFR、CCNB1 等,TP53 基因编码的 P53 蛋白排首位,提示 BJOE 治疗非小细胞肺癌分子机制很有可能与该靶点密切相关。

在体外验证实验中,首先发现 BJOE 能够抑制非小细胞肺癌细胞的增殖活性,并且具有剂量依赖性。有趣的是,在 A549 和 PC-9 细胞中细胞周期负性调控因子 P21 表达量随着 BJOE 剂量增加而增加,而在 H1299 细胞中表达量却降低,结合之前的网络药理学的靶点预测结果和 H1299 细胞遗传背景(P53 缺失突变),考虑这一相反的结果是否与 P53 蛋白表达有关,经实验验证,BJOE 的确能通过调控 P53 蛋白来控制 P21 蛋白的表达,流式检测周期结果为 BJOE 将细胞周期主要阻滞在 G0/G1 期。这可能与已知的经典 P53 依赖途径^[10-11]相关,即 BJOE 可能造成 DNA 损伤,P53 被激活,与 P21 启动子结合后激活 P21 蛋白的表达,后者再通过与 CDK4、CDK6/cyclin D 或 CDK2/cyclin E 结合,从而抑制细胞周期蛋白依赖激酶活性,使得细胞周期阻滞,抑制细胞增殖。接下来,考虑到化疗药物顺铂耐药性的产生对非小细胞肺癌治疗效果的影响,通过网络药理学分析发现非小细胞肺癌对铂类药物的耐药性可能存在作用靶点,通过 MTT 实验发现,BJOE 与顺铂的联合用药比单独用药能够更显著抑制细胞增殖活性和促进细胞凋亡。该实验结果提示,BJOE 对于化疗药物顺铂具有增敏作用,该增敏作用机制有待于进一步探究。

综上所述,综合网络药理学和体外实验结果均

表明,BJOE 对于治疗非小细胞肺癌具有很好的应用前景,其活性成分的开发和利用具有积极的临床意义。其能够抑制细胞增殖,促进细胞凋亡,提高顺铂的治疗效果。但临床上尚需进一步明确鸦胆子发挥作用的具体活性成分及其机制。

【参考文献】

- [1] ARBOUR KC, RIELY GJ. Systemic therapy for locally advanced and metastatic non-small cell lung cancer: a review [J]. *Jama*, 2019,322(8):764-774.
- [2] TONG CWS, WU WKK, LOONG HHF, *et al.* Drug combination approach to overcome resistance to EGFR tyrosine kinase inhibitors in lung cancer[J]. *Cancer Lett*, 2017,405:100-110.
- [3] LI X, XIN P, WANG C, *et al.* Mechanisms of traditional Chinese medicine in the treatment of mammary gland hyperplasia[J]. *Am J Chin Med*, 2017,45(3):443-458.
- [4] WATTANATHAMSAN O, HAYAKAWA Y, PONGRAKHAHANON V. Molecular mechanisms of natural compounds in cell death induction and sensitization to chemotherapeutic drugs in lung cancer[J]. *Phytother Res*, 2019,33(10):2531-2547.
- [5] OH H, SHIN S, LEE E. Herbal medicine for cervicogenic dizziness: a protocol for a systematic review and meta-analysis [J]. *Medicine (Baltimore)*, 2020,99(51):e23852.
- [6] FUHONG D, XIANG G, HAIYING L, *et al.* Evaluation of efficacy and safety for Brucea javanica oil emulsion in the control of the malignant pleural effusions via thoracic perfusion[J]. *BMC Cancer*, 2018,18(1):411.
- [7] CHEN Y, CHEN S, ZHANG Y, *et al.* Nab-paclitaxel in combination with cisplatin versus docetaxel plus cisplatin as first-line therapy in non-small cell lung cancer[J]. *Sci Rep*, 2017,7(1):10760.
- [8] SIEGEL R, MILLER KD, JEMAL A. Cancer statistics [J]. *CA Cancer J Clin*, 2020,70(1):7-30.
- [9] SENAN S, BRADE A, WANG LH, *et al.* Proclaim: randomized phase III trial of pemetrexed-cisplatin or etoposide-cisplatin plus thoracic radiation therapy followed by consolidation chemotherapy in locally advanced nonsquamous non-small-cell lung cancer [J]. *J Clin Oncol*, 2016,34(9):953-962.
- [10] KARIMIAN A, AHMADI Y, YOUSEFI B. Multiple functions of P21 in cell cycle, apoptosis and transcriptional regulation after DNA damage [J]. *DNA Repair (Amst)*, 2016,42:63-71.
- [11] SHAMLOO, BAHAR, SINEM USLUER. P21 in cancer research [J]. *Cancers (Basel)*, 2019,11(8):1178.

射干苷对肺腺癌细胞迁移的影响及机制研究

黄禹舒¹, 陈仁杰¹, 陆锐¹, 谢燃¹, 吴志浩^{1,2}

(皖南医学院 1. 肿瘤微环境研究室; 2. 医学生物学教研室, 安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的:研究射干苷对肺腺癌细胞系 H299 及 A549 细胞迁移的影响及作用机制。**方法:**噻唑蓝(MTT)细胞活力检测射干苷对细胞增殖的影响;流式细胞术检测细胞凋亡情况;细胞划痕实验探究射干苷对细胞迁移能力的影响;ROS 活性氧试剂盒测定射干苷对细胞内源活性氧生成的影响;Western blot 检测射干苷处理对细胞 PI3K/AKT 蛋白及 EMT 相关蛋白的表达水平。**结果:**MTT 实验结果表明,随着射干苷处理浓度提高和时间推移细胞增殖率均下降($P<0.05$);流式细胞术测凋亡显示射干苷可促进细胞凋亡($P<0.05$);细胞划痕实验结果表明,射干苷对细胞迁移能力明显抑制($P<0.05$);ROS 活性氧测定显示射干苷导致细胞 ROS 活性氧上升;Western blot 结果显示,随药物浓度增高,p-AKT 蛋白表达降低,上皮标记蛋白 E-cadherin 表达增多,而间质标记蛋白 Fibronectin 及 Snail 蛋白表达减少。**结论:**在肺腺癌细胞中,射干苷激发 ROS 抑制 PI3K/AKT 通路,从而下调 Snail 表达,抑制 EMT 的发生,从而减少肿瘤细胞迁移。

【关键词】射干苷;肺腺癌;迁移;PI3K/AKT;EMT

【中图分类号】R 734.2;R 285.5 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.002

Effect of Tectoridin on migration of lung adenocarcinoma cells and the mechanism

HUANG Yushu, CHEN Renjie, LU Rui, XIE Ran, WU Zhihao

Research Laboratory of Tumor Microenvironment, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

【Abstract】Objective: To investigate the effect of Tectoridin on migration of lung adenocarcinoma cell lines h299 and A549 and the mechanisms. **Methods:** MTT assay was used to detect the effect of Tectoridin on the cell proliferation, and flow cytometry was used to measure the cell apoptosis. Cell scratch test was performed to observe the effect of Tectoridin on cell migration. ROS kit was used to determine the effect of Tectoridin on the production of endogenous reactive oxygen species, and the expression levels of PI3K/AKT and EMT related proteins were measured with Western blotting. **Results:** MTT showed that the cell proliferation rate was decreased with added Tectoridin concentration and time ($P<0.05$). Flow cytometry demonstrated that Tectoridin could promote the cell apoptosis ($P<0.05$), and cell scratch test indicated that Tectoridin significantly inhibited the cell migration ($P<0.05$). The results of ROS showed that Tectoridin increased ROS in the lung adenocarcinoma cells, and Western blot results showed that with the increase of drug concentration, the expression of p-AKT was decreased, yet the expression of E-cadherin was up-regulated, and the expression of fibronectin and Snail was down-regulated. **Conclusion:** Tectoridin can induce ROS to inhibit PI3K/AKT pathway in the lung adenocarcinoma cells, thereby down regulating Snail expression and inhibiting EMT, eventually leading to reduced tumor cell migration.

【Key words】 Tectoridin; adenocarcinoma; migration; PI3K/AKT; EMT

肺腺癌的发生发展是一个多因素、多步骤和多基因参与的复杂过程,临床目前针对肺腺癌的治疗主要是手术治疗、放化疗、免疫治疗、靶向治疗等^[1]。大多数患者对化疗毒性和高昂的价格难以承受,需寻找成本相对低廉或无毒的药物^[2]。我国传统中医中药在抗肿瘤中也发挥着重要的作用,其

中射干苷的抗肿瘤作用备受关注,多篇中外文献先后报道其在卵巢癌^[3]、肝癌^[4]、前列腺癌^[5]等多种癌症中发挥抗肿瘤作用。在传统中医理论中射干味苦、性寒、归肺经^[6],因此本研究推测射干苷可能有较好的抗肺癌疗效,加之目前尚未报道过射干苷对肺腺癌细胞迁移的影响及相关机制。所以本研

基金项目:国家自然科学基金项目(81872371);安徽省自然科学基金项目(1708085MH203);分子肿瘤学国家重点实验室开放课题(SKL-KF-2019-11)

收稿日期:2020-04-02

作者简介:黄禹舒(1997-),男,2020级硕士研究生,(电话)19155378938,(电子信箱)1575841642@qq.com;

陈仁杰(2002-),男,2020级医学检验技术专业本科生,(电话)18755319742,(电子信箱)2644134598@qq.com,共同第一作者;

吴志浩,男,研究员,硕士生导师,(电子信箱)zwu2ster@163.com,通信作者。

究对射干昔在肺腺癌细胞迁移作用进行了机制探究,为今后的临床用药提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞系 人类非小细胞肺癌细胞系 A549、H1299,人类正常支气管上皮细胞系 HBE,获赠于中国科学院细胞库。

1.1.2 主要试剂与仪器 射干昔 98% (上海易恩化学技术有限公司, CAS 号: 611-40-5, 规格: 20 mg), DMEM 培养基, 小牛血清 (GIBCO), 噻唑蓝 (MTT)、DMSO、丽春红, 细胞培养箱, PBS 缓冲溶液, P/S 双抗溶液, 丙烯酸酯类、Tis-HCl (pH=8.8)、Tis-HCl (pH=6.8)、SDS、APS、TEMED, NC 膜, 电泳液、转移液、电泳仪、小型垂直电泳槽, 化学发光显影成像系统 (GE), 金属浴 D1100-230V, 细胞凋亡检测试剂盒 (碧云天), 流式细胞仪 (BD), BioTek 酶标仪 (伯腾公司), ROS 检测试剂盒 (碧云天), NAC 乙酰半胱氨酸, 抗体 β -actin (abcolon), 抗体 Snail、E-cadherin、Fibronectin、PI3K、 β -Catenin、NF- κ B、AKT、p-AKT、鼠抗/兔抗 (CST)。

1.2 方法

1.2.1 射干昔溶液配制 采用公司购置的标准射干昔干粉样本 20 mg, 以 DMSO 溶解, 再以 DMEM 配成 1 mg/mL 的工作液。然后封口超声震荡 30 min, 充分溶解后, 用 0.22 μ m 滤过滤器过滤, 4 $^{\circ}$ C 备用。DMSO 终浓度 < 0.3%。

1.2.2 MTT 细胞活力检测实验 在 48 孔板上培养细胞到融合度 80% 左右, 饥饿处理 12 h, 然后以溶媒组 (DMSO 0.3%), TEC 实验组 0.1、0.2、0.3、0.4、0.5 mmol/L 处理 48 h, 另外加入 0.5 mmol/L 射干昔分别处理 0、12、24、36、48、60 h。加入现配的 0.5 mg/mL MTT, 处理 4 h 后加入 DMSO 震荡 15 min。BioTek 酶标仪测定 570 nm 处吸光度。用 prism 作图软件绘制量-效关系曲线及时-效关系曲线。

1.2.3 Annexin V-FITC/PI 双染流式细胞测凋亡 以 6 孔板培养细胞, 饥饿过夜, 给予射干昔 (0、0.5 mmol/L) 及顺铂 (10 μ mol/L) 处理 24 h, 收集细胞, PBS 洗 2 次, 去上清收集细胞沉淀, 用 500 μ L Binding Buffer 吹打均匀, 同时加入 5 μ L PI 染液和 5 μ L FITC 染液, 黑暗中孵育 15 min, 最后用 0.22 μ m 的过滤膜将细胞过滤至上样管中。1 h 内用流式细胞仪检测。并用 Flow jo 7.6 软件分析结果。

1.2.4 细胞划痕实验 将实验细胞均匀铺在 6 孔板中, 饥饿 12 h, 划一条均匀直线, 用 PBS 洗 5~6 次。

分别加入 0、0.2、0.4 mmol/L 的射干昔, 倒置显微镜在 0 h 观察细胞并拍摄, 对拍摄点标记。将细胞放回培养箱继续培养, 分别观察细胞在 24、48 h 拍摄标记点迁移情况。并用 Image Pro 分析划痕面积。

1.2.5 活性氧检测实验 将细胞铺于 6 孔板中, 饥饿 12 h, 设置阳性对照组、阴性对照组及实验组, 实验组以射干昔 0.5 mmol/L 处理 24 h, 阳性对照组加入 ROSUP 激活剂 30 min, 阴性对照组不处理; 然后加入稀释后 DCFH-DA, 37 $^{\circ}$ C 孵育 20 min, 用无血清培养基洗涤 3 次, 最后采用酶标仪检测并拍摄荧光图片。

1.2.6 质粒 DNA 转染 将细胞铺于 6 孔板中, 更换含有无抗生素的血清培养基, 30 min 内转染 cDNA, 6 h 后更换新鲜培养基, 转染 48 h。射干昔处理 24 h 后将细胞裂解, 收集蛋白样品。

1.2.7 NAC 恢复实验 将细胞平铺于 6 孔板中, DMEM 饥饿 12 h, 再加入 0、0.2、0.4 mmol/L 射干昔, 每组两个复孔, 以其中之一作为对照组, 另一组加入 4 mmol/L 的 NAC, 两者同时处理 24 h 后将细胞裂解, 收集蛋白样品。

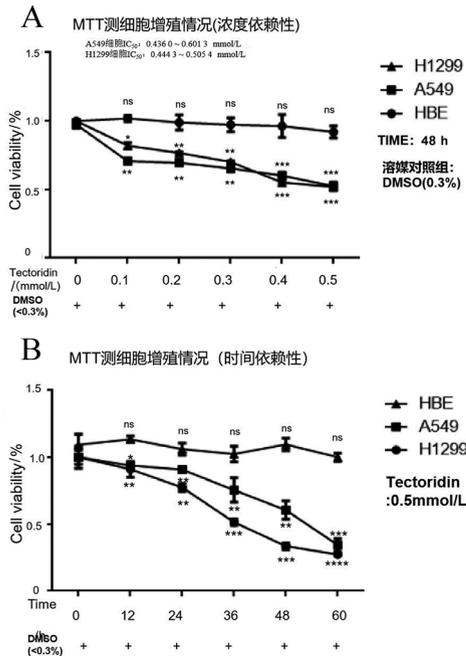
1.2.8 Western blot 实验 将细胞平铺于 6 孔板中, 饥饿 12 h; 加入不同浓度射干昔处理 24 h, 采用 1 \times buffer, 每孔加 80 μ L 细胞裂解液充分裂解后收集蛋白; 配好凝胶后, 取出样本加热 5 min, 再上样, 80 V 电泳分离蛋白, 将凝胶上的蛋白通过电泳-转膜, 转移至硝酸纤维素 (NC) 膜上; 然后用丽春红染色, BSA 封闭 1 h, 4 $^{\circ}$ C 孵一抗 12 h; TBST 清洗 3 次, 每次 5 min, 室温孵二抗 1 h, 洗二抗 3 次, 每次 5 min; 曝光, 保存条带, Image J 分析灰度值。重复以上实验步骤, 独立实验 3 次。

1.3 统计学分析 采用 GraphPad Prism (GraphPad, San Diego, CA, USA) 软件分析。所有数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较进行 *t* 检验; 多组间比较进行单因素方差分析, 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 射干昔能够有效抑制肺腺癌细胞增殖 A549、H1299 细胞中各浓度药物处理组细胞活力下降, 与溶媒对照组间差异均有统计学意义 (P < 0.05); 且随药物浓度增加, 其细胞活力呈下降趋势 ($F_{H1299} = 353.29, P < 0.05; F_{A549} = 70.92, P < 0.05$); 而在 HBE 细胞中各浓度药物处理组与溶媒对照组间差异无统计学意义 (P > 0.05) (图 1A)。A549、H1299 细胞中各时间处理组细胞活力降低, 与溶媒对照组间差异均有统计学意义 (P < 0.05); 且随时间

增加,其细胞活力呈下降趋势 ($F_{H1299} = 197.55, P < 0.05$; $F_{A549} = 73.9, P < 0.05$);而在 HBE 细胞中各时间处理组与溶媒对照组差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (图 1B)。



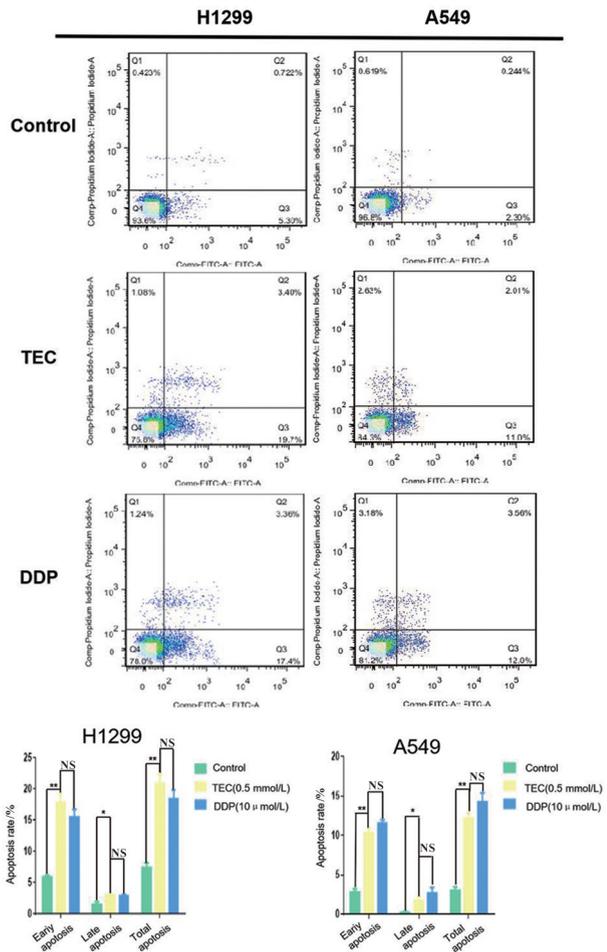
* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$, NS 表示 $P > 0.05$ 。

图 1 射干苷有效抑制肺腺癌细胞增殖

2.2 射干苷诱导肺腺癌细胞凋亡 根据 MTT 量效关系曲线结果,选定射干苷浓度为 0.5 mmol/L, 并采用顺铂(DDP)10 μ mol/L 处理组作为阳性对照来进行接下来的细胞周期检测。流式细胞技术检测细胞凋亡结果显示,H1299、A549 细胞与对照组相比,药物处理组中的早凋、晚凋以及总凋亡数均上升,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$);而与阳性组比较,差异均无统计学意义 ($P > 0.05$) (图 2)。

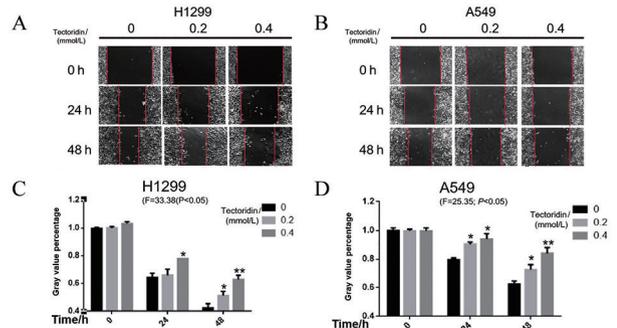
2.3 射干苷对肺腺癌细胞迁移的影响 图 3A、B 显示,对照组随时间增加划痕剩余面积逐渐减少,表明划痕愈合增多,则细胞迁移能力增加;而药物组随时间增加划痕剩余面积减少的量较对照组少,表明划痕愈合减少,则细胞迁移能力下降。图 3C、D 显示,H1299 细胞中 0 h 不同浓度划痕面积差异无统计学意义 ($P > 0.05$);24 h 时高浓度组划痕面积大于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);

而中浓度组与对照组划痕面积差异无统计学意义 ($P > 0.05$);48 h 时中、高药物浓度组划痕面积大于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。A549 细胞中 0 h 不同浓度划痕面积差异无统计学意义 ($P > 0.05$);24 h 及 48 h 时中、高药物浓度组划痕面积大于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, NS 表示 $P > 0.05$ 。

图 2 流式细胞技术检测细胞凋亡结果



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 。

图 3 不同浓度射干苷对肺腺癌细胞迁移的影响

2.4 射干苷对 EMT 相关蛋白表达的影响 与对照组相比,随药物浓度升高,上皮标志蛋白 E-cadherin 上调,间充质标志蛋白 Fibronectin 以及 EMT 关键蛋白 Snail 下调(图 4A)。与对照组(0 浓度组)对比,PI3K、AKT 表达量无明显变化,而 P-AKT 表达量降低(图 4B)。 β -Catenin 表达水平无明显变化,NF- κ B 通路关键蛋白 NF- κ B 虽有上升趋势,但与 Snail 蛋白表达不相符,表明射干苷并非通过 Wnt 通路与 NF- κ B 通路来影响 Snail 表达(图 4C)。

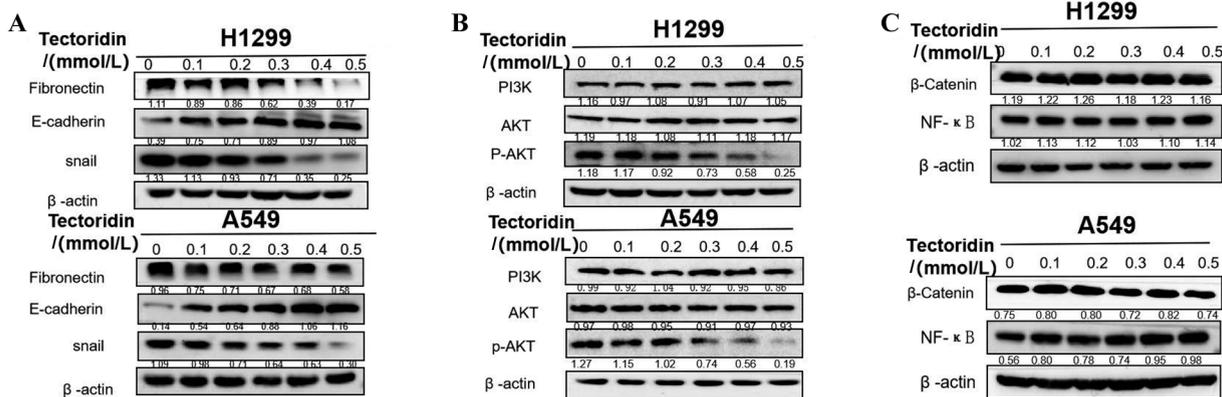


图4 不同浓度射干苷对 EMT 相关蛋白表达的影响

2.5 射干苷溶液通过 PI3K/AKT 通路下调 Snail 蛋白 转染后 p-AKT 也上调,抑制剂处理后 p-AKT 下降,Snail 的表达呈正相关。同时,随药物浓度的提

高,仍然能够影响转染后细胞蛋白水平的表达,表明 该药物可能通过抑制 PI3K/AKT 通路来抑制 Snail 表达,以此来影响肿瘤细胞迁移能力(图 5A、B)。

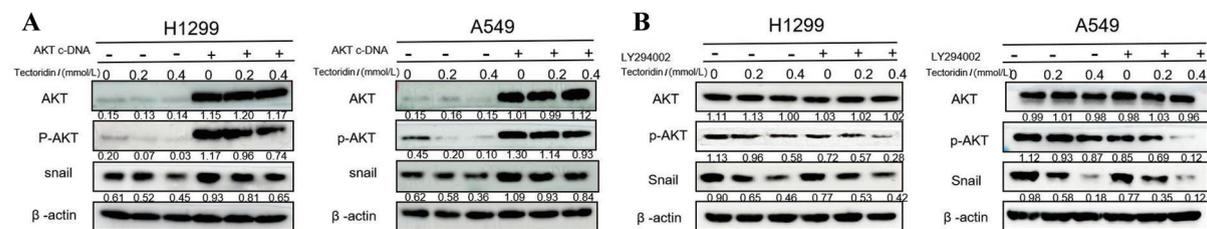


图5 射干苷溶液通过 PI3K/AKT 通路影响 Snail 蛋白表达

2.6 射干苷溶液通过激发活性氧 ROS 抑制 AKT 的磷酸化并实现对 AKT 下游蛋白的调控 ROS 活性氧试剂盒测出的结果显示,实验组较对照组的 ROS 活性氧有明显上升,正好与预期相符(图 6A)。为进一步验证射干苷激发的活性氧对 p-AKT 存在抑制作用,再次进行 L-乙酰半胱氨酸 NAC 恢复实验,结果显示,在 A549、H1299 细胞中,药物及 NAC 共处理实验组与单纯药物处理实验组相比,p-AKT 以及其调控的下游蛋白 Snial 的表达水平得到恢复,差异有统计学意义($P < 0.05$);而 T-AKT 蛋白水平差异无统计学意义($P > 0.05$)(图 6B)。最终利用 MTT 实验显示,药物及 NAC 共处理实验组与单纯药物处理实验组相比存在差异($P < 0.05$)(图 6C)。

ROS 的产生以及 caspase-8 和 caspase-9 的激活有关^[5]。磷脂酰肌醇-3-激酶(PI3K)/AKT 信号通路在调节细胞增殖和维持恶性细胞生物学特性中起着重要作用^[10]。越来越多的证据表明,细胞内 PI3K-AKT 途径是激活 EMT 诱导转录因子的关键信号传导介质^[11]。Hong 等^[12]使用 AKT 抑制剂治疗口腔癌导致 Snail 表达降低以及上皮表型 E-钙黏着蛋白表达上升。

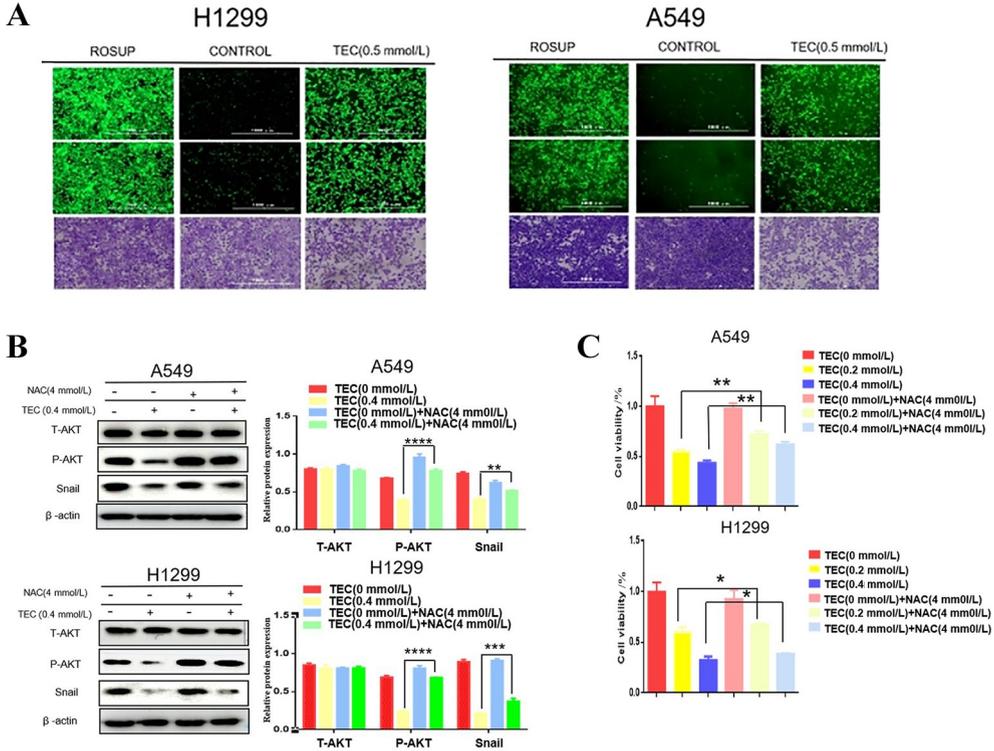
本研究中 MTT 实验提示射干苷对 A549、H1299 细胞增殖都有抑制效果,且呈剂量与时间依赖性;流式细胞术测凋亡显示射干苷可促进细胞凋亡;细胞划痕实验表明射干苷降低了肺腺癌细胞的迁移能力;Western blot 实验提示射干苷抑制了 EMT 关键蛋白 Snail 的表达,从而使迁移能力下降。为了探究射干苷如何调控 Snail 的表达,分别检测三个已知通路关键蛋白是否受射干苷调控,其中 Wnt 通路与 NF-κB 通路在射干苷处理组无明显变化,但 p-AKT 的表达能够受射干苷调控。为证明射干苷能否通过影响 p-AKT 表达而影响下游 Snail 表达,本研究过表达 p-AKT,并用 LY294002 抑制 AKT 活性,结果表明射干苷通过影响 p-AKT 表达而影响下游 Snail。为探明射干苷如何抑制 p-AKT,本研究通过查阅文献发现在异黄酮类中药刺激下,ROS 活性氧的激活

3 讨论

肺腺癌是临床常见肿瘤之一,因其发病率高,恶性程度大,易复发转移,目前仍是临床棘手问题。中药提取物射干苷,又名鸢尾黄酮苷、鸢尾苷、鸢尾种苷,为一异黄酮类化合物^[8]。射干苷对照品及标准品由于溶解性差,故利用 DMSO (<0.3%) 对其充分溶解^[9]。有研究显示,射干苷可通过调控 p27、p21^{WAF1} 等蛋白的表达抑制前列腺癌细胞生长^[6],Jiang 等研究表明,射干苷诱导的 HepG₂ 细胞凋亡与

可以抑制 AKT 的磷酸化,然后采用 ROS 试剂盒检测证明了射干苷能明显激活 ROS,再利用 ROS 清除剂(NAC)来验证 ROS 对 p-AKT 的抑制,NAC 处理可以恢复 p-AKT 活性,最终本研究认为 p-AKT 的抑

制可能与射干苷升高肺腺癌内 ROS 活性氧有关。总之,本研究结果表明在肺腺癌细胞中,射干苷通过激发 ROS 抑制 p-AKT 水平下调 Snail 表达,抑制 EMT 的发生,从而减少肿瘤细胞迁移。



* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$.

图6 射干苷通过激发 ROS 调控 AKT 磷酸化及下游蛋白表达

【参考文献】

[1] MOLINA JR, YANG P, CASSIVI SD, et al. Non-small cell lung cancer; epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship[J]. Mayo Clinic Proceedings, 2008, 83(5): 584-594.

[2] PAN MH, HO CT. Chemopreventive effects of natural dietary compoundson cancer development [J]. Chemical Society Reviews, 2008, 37(11): 2558-2574.

[3] 王丽娟, 史惠蓉. 射干苷对卵巢癌 SK-OV-3 细胞增殖迁移和侵袭的影响[J]. 中华肿瘤杂志, 2020, 42(7): 570-574.

[4] JIANG CP, DING H, SHI DH, et al. Pro-apoptotic effects of tectorigenin on human hepatocellular carcinoma HepG2 cells[J]. World Journal of Gastroenterology, 2012, 18(15): 1753-1764.

[5] MORRISSEY C, BEKTIK J, SPENGLER B, et al. Phytoestrogens derived from Belamcanda chinensis have an antiproliferative effect on prostate cancer cells in vitro[J]. The Journal of Urology, 2004, 172(6): 2426-2433.

[6] 钟鸣, 关旭俊, 黄炳生, 等. 中药射干现代研究进展[J]. 中药材, 2001, 24(12): 904-907.

[7] POORIMA P, WENG CF, PADMA VV. Neferine from Nelumbo nucifera induces autophagy through the inhibition of PI3K/Akt/mTOR pathway and ROS hyper generation in A549 cells[J]. Food Chemistry, 2013, 141(4): 3598-3605.

[8] 赏后勤, 秦民坚, 吴靳荣. 川射干的化学成分[J]. 中国天然药物, 2007, 5(4): 312-314.

[9] 袁崇均, 王笏, 陈帅, 等. 射干苷标准品质量标准研究[J]. 中国药房, 2008, 19(33): 2594-2596.

[10] XU W, YANG Z, LU N. A new role for the PI3K/Akt signaling pathway in the epithelial-mesenchymal transition[J]. Cell Adhesion & Migration, 2015, 9(4): 317-324.

[11] LIANG J, LI H, HAN J, et al. Mex3a interacts with LAMA2 to promote lung adenocarcinoma metastasis via PI3K/AKT pathway[J]. Cell Death Dis, 2020, 11(8): 1-15.

[12] HONG KO, KIM JH, HONG JS, et al. Inhibition of Akt activity induces the mesenchymal-to-epithelial reverting transition with restoring E-cadherin expression in KB and KOSCC-25B oral squamous cell carcinoma cells[J]. Journal of Experimental & Clinical Cancer Research, 2009, 28(1): 20-28.

4-PBA 治疗单侧肾输尿管结扎小鼠肾脏纤维化的机制探讨

余 剑,陈 曦,方 洁,徐爱萍,邵德翠

(皖南医学院 细胞电生理研究室,安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的:观察 4-苯基丁酸(4-PBA)对肾纤维化的疗效与机制。**方法:**雄性 C57BL/6J 小鼠行单侧输尿管梗阻(UUO)手术后分成 2 组(UUO 组与 4-PBA 组),4-PBA 组给予 4-PBA(300 mg/kg)灌胃。大鼠肾小管上皮细胞(NRK-52E)给予 4-PBA 和 TGF- β 处理。Western blot 检测 Fibronectin、p47phox、Collagen IV 和 GRP78 蛋白的表达量。**结果:**天狼星红染色结果显示,4-PBA 减轻 UUO 模型小鼠的胶原沉积,Western blot 显示,相较于 UUO 组,4-PBA 治疗组肾皮质 Fibronectin、Collagen IV 和 GRP78 蛋白表达降低($P < 0.05$)。在 NRK-52E 细胞,TGF- β 剂量依赖性增加 Fibronectin 和 GRP78 蛋白表达量,4-PBA(2 mmol/L)减轻 TGF- β (10 ng/mL)诱导的 Fibronectin、p47phox、Collagen IV 和 GRP78 蛋白高表达($P < 0.05$)。**结论:**4-PBA 可通过减轻内质网应激和氧化应激来治疗肾纤维化。

【关键词】内质网应激;4-苯基丁酸;氧化应激;肾纤维化;单侧输尿管梗阻

【中图分类号】R 692;R 965 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.003

Investigation on the mechanisms of 4-phenylbutyric acid in renal interstitial fibrosis in mice with unilateral ureteral obstruction

YU Jian, CHEN Xi, FANG Jie, XU Aiping, SHAO Decui

Laboratory of Cell Electrophysiology, Wannan Medical College, Wuhu 241002, Anhui, China

【Abstract】Objective: To investigate the efficacy and underlying mechanisms of 4-phenylbutyric acid (4-PBA) in management of renal fibrosis mouse models. **Methods:** Male C57BL/6J mice were initially undergone unilateral ureteral obstruction (UUO), and then randomly divided into 4-PBA group and UUO group. Mice in the experimental group were given 4-PBA (300 mg/kg) by gavage. Rat renal tubular epithelial NRK-52E cells were treated with 4-PBA and transforming growth factor (TGF- β). Western blot assay was used to measure the protein expression of fibronectin, collagen IV, glucose-regulated protein 78 (GRP78), and p47phox. **Results:** Sirius red staining showed that the 4-PBA treatment reduced collagen deposition in the mouse models with unilateral ureteral obstruction (UUO), Western blot revealed that the level of fibronectin, collagen IV and GRP78 was lower in mice treated by 4-PBA than that of UUO group ($P < 0.05$). TGF- β increased fibronectin and GRP78 level in NRK-52E cells in a dose-dependent fashion. Treating with 4-PBA (2 mmol/L) attenuated TGF- β induced fibronectin, p47phox, collagen IV and GRP78 protein expression in the cells ($P < 0.05$). **Conclusion:** 4-PBA may be a therapeutic strategy for treating renal fibrosis via selectively attenuating endoplasmic reticulum stress and oxidative stress.

【Key words】 endoplasmic reticulum stress; 4-phenylbutyric acid; oxidative stress; renal fibrosis; unilateral ureteral obstruction

慢性肾脏疾病(chronic kidney disease, CKD)已成为全球性公共卫生问题,各种危险因素如高血糖、高尿酸、肥胖等都可导致 CKD,其发病率逐年增加。肾脏纤维化是 CKD 的特征之一,以细胞外基质的过度沉积和大量肌纤维母细胞的浸润为其主要特征^[1]。对肾纤维化的机制认知尚不完全,仍缺乏非常有效、特异的治疗手段。

近年来,内质网应激(endoplasmic reticulum

stress, ERS)成为关注的新热点,内质网(endoplasmic reticulum, ER)是细胞内除核酸以外的生物大分子合成的场所。正常生理情况下,ER 具有强大的维持细胞内环境稳态的功能,当某种诱因(如葡萄糖或营养物质的缺乏、脂质过度负荷、Ca²⁺代谢失衡、氧化应激与缺血再灌注等)打破了这种稳态,使细胞内蛋白质合成速度过快,超过了 ER 折叠能力,导致 ER 处于一种生理功能紊乱状态,即形成 ERS^[2]。

基金项目:安徽高校自然科学基金项目(KJ2019A0408)

收稿日期:2021-03-25

作者简介:余 剑(1995-),男,2018 级硕士研究生,(电话)17775487303,(电子信箱)1648005669@qq.com;

邵德翠,女,副教授,(电子信箱)shaodecui@sina.com,通信作者。

ERS 与急性肾损伤向 CKD 的转变密切相关^[3-4]。4-苯基丁酸(4-phenylbutyric acid,4-PBA)是化学合成的小分子伴侣,可以减轻 ERS^[5]。故我们研究目的在于探讨 4-PBA 治疗是否可以缓解 UUO 所致的肾脏纤维化,并在培养的肾小管上皮细胞探讨其改善肾脏纤维化的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 动物 雄性 C57BL/6J 小鼠(20~25 g)购自南京青龙山。动物合格证号:SCXK(豫)2019-0002。

1.1.2 药物及主要试剂 DMEM 低糖培养基(Cat#8120459,Gbico)和新生牛血清(Gbico);100×的青霉素和链霉素溶液(Cat#BL008A,BIOMIKY)、ECL 化学发光试剂(Beyotime Biotechnology)、BCA 蛋白测定试剂(Beyotime Biotechnology);4-PBA(Sigma);一抗:Fibronectin、Collagen IV、GRP78 和 p47phox 抗体购自 abcam 公司;二抗:HRP 标记山羊抗兔 IgG(H+L)(Cat#A0208)、HRP 标记山羊抗小鼠 IgG(H+L)(Cat#A0216)购自 Beyotime Biotechnology。

1.1.3 主要仪器 EPOCH 全波长酶标仪(美国伯腾仪器有限公司)、多样品组织研磨机(上海净信 Tissuelyser-32)、垂直电泳仪(伯乐)、凝胶成像分析仪器(GE,Al600)。

1.2 方法

1.2.1 实验动物与分组 20~25 g 的雄性 C57BL/6J 小鼠进行单侧输尿管梗阻(unilateral ureteral obstruction,UUO)手术后随机分为 2 组:UUO 模型组,UUO+4-PBA 组。

1.2.2 UUO 模型制备与用药 参考文献[6]进行 UUO 手术。C57BL/6J 小鼠麻醉后取仰卧位固定于手术台上,腹部脱毛、消毒、铺巾,腹正中直切口约 2 cm,分离筋膜及肌肉,暴露出左侧肾脏和输尿管,在肾盂输尿管连接处游离输尿管,以 3-0 丝线在左肾下极结扎两道,确认无出血后逐层缝合并关闭腹腔。麻醉苏醒后常规喂食、水。手术后第 2 日开始灌胃给药,每日给予 4-PBA(300 mg/kg)灌胃,UUO 组给予等体积的生理盐水灌胃,共 14 d。

1.2.3 细胞培养 肾小管上皮细胞(NRK-52E)用 10% 新生牛血清的含青霉素和链霉素的 DMEM 低糖培养基置于 37℃、5% CO₂ 培养箱中。

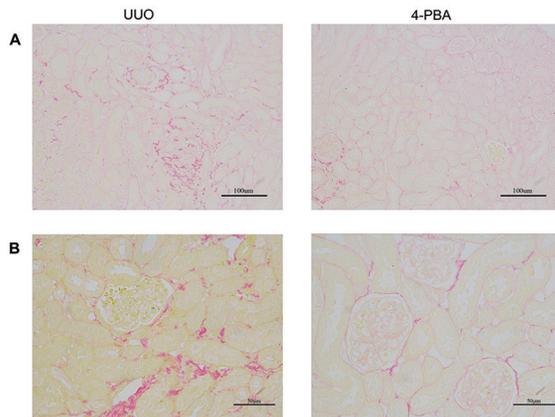
1.2.4 Western blot 如前所述进行 Western blot^[7],肾皮质研磨后,将组织匀浆于 4℃、5 000 r/min 离心

10 min 取上清,测定样品蛋白浓度。样品与(5×)缓冲液 4:1 混合,煮沸 5 min,放置-80℃冰箱保存备用。等量蛋白质上样,用 7.5%~10% 的 SDS-聚丙烯酰胺凝胶进行电泳。吸附了蛋白的 PVDF 膜用 5% 的牛奶(TBST 溶解)在室温下封闭 1 h,然后放入相应的一抗中,4℃ 孵育过夜。用 TBST 洗膜后,室温下二抗孵育 2 h,洗膜。避光显色,曝光。以 Actin 或 GAPDH 为内参照,Image J 软件进行光密度值定量分析。

1.2.5 统计分析 采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析。数据采用 $\bar{x} \pm s$ 或 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验或秩和检验;多组间比较采用单因素方差分析,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 4-PBA 减轻 UUO 小鼠肾脏纤维化和 ERS 天狼星红染色法观察梗阻侧肾脏胶原沉积变化的结果显示,相较于 UUO 组,4-PBA 治疗改善梗阻侧肾组织的红色胶原沉积(图 1)。

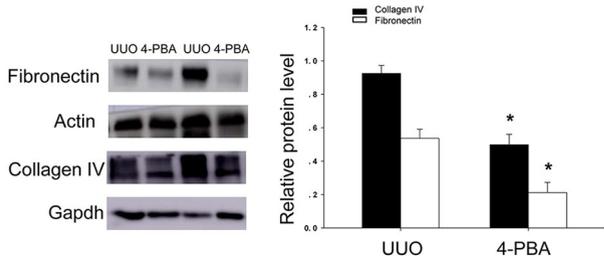


A. 200×;B. 400×。

图 1 天狼星红染色观察 4-PBA 对肾纤维化的影响

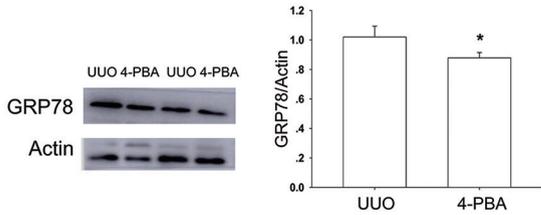
Western blot 显示,相较于 UUO 组,4-PBA 降低了梗阻侧肾皮质的 Fibronectin 和 Collagen IV 蛋白表达水平(*P*<0.05)(图 2);4-PBA 灌胃 14 d 降低了梗阻侧肾皮质的 ERS 标志蛋白 GRP78 的表达量(*P*<0.05)(图 3)。

2.2 4-PBA 减轻 TGF-β 诱导的 NRK-52E 细胞外基质合成、ERS 和氧化应激 用 5 ng/mL 和 10 ng/mL 的 TGF-β 处理 NRK-52E 细胞 48 h,Western blot 分析显示:相较于对照组(0 ng/mL),10 ng/mL 的 TGF-β 明显增加 NRK-52E 中 GRP78 和 Fibronectin 的蛋白表达水平(*P*<0.05)(图 4)。



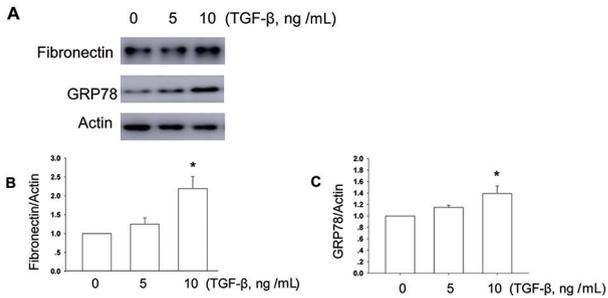
Western blot 分析 4-PBA 灌胃后对 UUO 小鼠梗阻侧肾皮质 Fibronectin 和 Collagen IV 的蛋白表达量的影响; $n=3, t_1=4.228, t_2=3.670, P_1=0.013, P_2=0.021$; 与 UUO 组比较, $*P<0.05$ 。

图 2 4-PBA 对 Fibronectin 和 Collagen IV 的蛋白表达影响



$n=3, t=-2.996, P=0.040$; 与 UUO 组比较, $*P<0.05$ 。

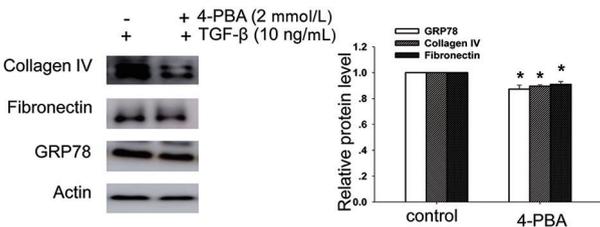
图 3 4-PBA 对梗阻侧肾皮质 ERS 的影响



分别用 5 ng/mL、10 ng/mL TGF- β 处理 NRK-52E 细胞 48 h; Western blot 观察与分析不同剂量的 TGF- β 对 Fibronectin 和 GRP78 蛋白表达量的影响; $n=3, F_1=9.210, P_1=0.015; n=5, F_2=6.580, P_2=0.012$; 与 0 ng/mL 比较, $*P<0.05$ 。

图 4 TGF- β 对 NRK-52E ERS 和纤维化的影响

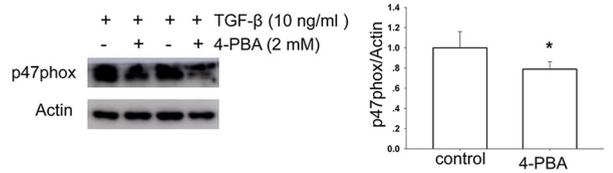
Western blot 显示, 4-PBA(2 mmol/L) 降低 TGF- β (10 ng/mL) 诱导的 GRP78、Fibronectin 和 Collagen IV 的蛋白表达水平 ($P<0.05$) (图 5)。



10 ng/mL TGF- β 、4-PBA(2 mmol/L) 处理 NRK-52E 细胞 48h; Western blot 显示 4-PBA 对 TGF- β 诱导的 Fibronectin、Collagen IV 和 GRP78 蛋白表达量的影响; $n=3, t_1=4.173, t_2=4.509, t_3=4.199, P_1=0.014, P_2=0.011, P_3=0.014$; 与对照组比较, $*P<0.05$ 。

图 5 4-PBA 对 TGF- β 诱导的 NRK-52E ERS 和纤维化影响

4-PBA 处理 NRK-52E 48 h, Western blot 显示, 4-PBA(2 mmol/L) 降低了 TGF- β (10 ng/mL) 诱导的 p47phox 蛋白表达量 ($P<0.05$) (图 6)。



10 ng/mL TGF- β 、4-PBA(2 mmol/L) 处理 NRK-52E 细胞 48h; Western blot 观察与分析 4-PBA 对 TGF- β 诱导的 p47phox 蛋白表达量的影响; $n=4, Z=2.309, P=0.021$; 与对照组比较, $*P<0.05$ 。

图 6 4-PBA 对 TGF- β 诱导的 NRK-52E 氧化应激的影响

3 讨论

近年来, 针对肾脏纤维化的治疗有抗 TGF- β 靶向治疗、肾素血管紧张素系统的药物研发, 但其临床疗效仍难以获得满意的治疗效果, 积极有效地针对靶点选择仍被视为防止肾纤维化的重要策略^[8]。ERS 在肾损伤中的作用已成为近年来的热门话题, UUO 小鼠肾纤维化模型上, ERS 导致小鼠肾细胞凋亡和随后的纤维化, 使用血管紧张素受体拮抗可明显改善纤维化, 其减轻肾纤维化与调控 ERS 信号通路有关, 提示 ERS 可能参与了肾纤维化的发病机制^[9], 减轻 ERS 有望成为预防肾纤维化的一个潜在靶点^[10]。

4-PBA 作为一种低分子量的化学伴侣, 可以防止错误折叠的蛋白质聚集并减轻 ERS。近年来, 其在防治肾纤维化中的作用逐渐得到学者的关注, 有研究表明 4-PBA 减弱 UUO 大鼠的肾纤维化, 并且 4-PBA 在体内外肾纤维化模型中显著减弱了 GRP78 蛋白的表达^[11]。这与我们在 UUO 小鼠肾纤维化模型的研究结果一致, 提示 4-PBA 可能通过减轻 ERS 而延缓肾纤维化的进展。

ERS 参与肾损伤的机制可能与氧化应激有关, ROS 积累可上调细胞凋亡硫氧还蛋白相互作用蛋白(TXNIP)的表达, 刺激磷脂酰肌醇 3 激酶(PI3K)通路、p38MAPK 信号通路与核细胞凋亡、转录因子(NF- κ B)信号通路, 这些信号通路在 CKD 的发病机制中起着至关重要作用^[12]。肾脏 ROS 的产生主要由多种 NADPH 氧化酶(NOX)介导^[13]。NOX 包括 NOX1、NOX2、NOX3、NOX4、NOX5 和双氧化酶 Duox(Duox1 和 Duox2)。NOX4 是目前与肾纤维化最为密切、研究最为广泛的 NOX 亚型, 沉默 NOX4 可显著抑制 TGF- β 诱导的 NOX 活性刺激, 抑制 TGF- β 受体^[14]。p47phox 和 p67phox 是 NOX2 的经典调节

亚单位。本研究中,4-PBA 可显著降低 TGF- β 诱导的 NRK-52E 的 ROS 生成和 p47^{phox} 蛋白的表达,提示除 NOX4 外,NOX2 可能参与肾纤维化,4-PBA 可以通过 NOX2 减少 ROS 的产生。

虽然本实验证实了减轻 ERS 可以缓解肾脏纤维化,但 ERS 信号通路错综复杂,ERS 是由位于内质网的三种不同跨膜蛋白质介导:蛋白激酶样内质网激酶(PERK)、肌醇需要酶 1(IRE1)和激活转录因子 6(ATF6)。正常状态下,IRE1、PERK 和 ATF6 蛋白与内质网上的 GRP78 结合,呈无活性状态;ERS 发生时,IRE1 和 PERK 从 GRP78 上分离后,形成二聚体,发生自身磷酸化后激活未折叠蛋白反应(UPR),而 ATF6 则转移至高尔基体被进一步的剪切与激活。IRE1、PERK 和 ATF6 三条通路激活强度以及持续时间,都可以改变细胞生理或病理反应的走向,从而决定细胞的命运:死亡或生存^[15-16]。后续的研究中我们将进一步探讨 ERS 不同通路在 UUO 肾纤维化的发生发展中所起的作用。

综上所述,本研究结果表明 4-PBA 在 UUO 小鼠模型和 TGF- β 诱导的细胞损伤中均能有效地对抗肾纤维化,其机制可能与减轻 ERS 和氧化应激有关,提示抑制 ERS 是潜在的防治肾纤维化的治疗靶点。

【参考文献】

- [1] ZHANG Y, ZOU J, TOLBERT E, *et al.* Identification of histone deacetylase 8 as a novel therapeutic target for renal fibrosis[J]. *FASEB J*, 2020, 34(6): 7295-7310.
- [2] CYBULSKY AV. Endoplasmic reticulum stress, the unfolded protein response and autophagy in kidney diseases[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2017, 13(11): 681-696.
- [3] JOHNSON BG, DANG LT, MARSH G, *et al.* Uromodulin p. Cys147Trp mutation drives kidney disease by activating ER stress and apoptosis[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(11): 3954-3969.
- [4] ZHAO JY, WU YB. Huaier extract attenuates acute kidney injury

- to chronic kidney disease transition by inhibiting endoplasmic reticulum stress and apoptosis via miR-1271 Upregulation[J]. *Biomol Res Int*, 2020, 2020: 9029868.
- [5] SHU S, ZHU J, LIU Z, *et al.* Endoplasmic reticulum stress is activated in post-ischemic kidneys to promote chronic kidney disease[J]. *EBio Medicine*, 2018, 37: 269-280.
- [6] 李颖, 张振, 赵博, 等. 异丙酚调控 TGF- β 1/smads 信号通路对 UUO 诱导的肾纤维化小鼠的保护作用[J]. *解剖科学进展*, 2020, 26(6): 664-667.
- [7] SHAO DC, MIAO NJ, LI JJ. Involvement of spliced x-box binding protein 1 in renal fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction in mice[J]. *生理学报*, 2016, 68(2): 157-164.
- [8] 孟晓明, 蓝辉耀. 转化生长因子- β 与肾脏纤维化的研究进展[J]. *生理学报*, 2018, 70(6): 612-622.
- [9] CHIANG CK, HSU SP, WU CT, *et al.* Endoplasmic reticulum stress implicated in the development of renal fibrosis[J]. *Mol Med*, 2011, 17(11-12): 1295-1305.
- [10] KE B, ZHU N, LUO F, *et al.* Targeted inhibition of endoplasmic reticulum stress: new hope for renal fibrosis (Review)[J]. *Mol Med Rep*, 2017, 16(2): 1014-1020.
- [11] LIU SH, YANG CC, CHAN DC, *et al.* Chemical chaperon 4-phenylbutyrate protects against the endoplasmic reticulum stress-mediated renal fibrosis in vivo and in vitro[J]. *Oncotarget*, 2016, 7(16): 22116-22127.
- [12] HAN Y, XU X, TANG C, *et al.* Reactive oxygen species promote tubular injury in diabetic nephropathy; the role of the mitochondrial ros-txnip-nlr3 biological axis[J]. *Redox Biol*, 2018, 16: 32-46.
- [13] NASSIF J, ABBASI S A, NASSAR A, *et al.* The role of NADPH-derived reactive oxygen species production in the pathogenesis of endometriosis: a novel mechanistic approach[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2016, 30(1): 31-40.
- [14] BONDI CD, MANICKAM N, LEE DY, *et al.* NAD(P)H oxidase mediates TGF- β 1-induced activation of kidney myofibroblasts[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2010, 21(1): 93-102.
- [15] READ D E, GUPTA A, CAWLEY K, *et al.* Downregulation of miR-17-92 cluster by PERK fine-tunes unfolded protein response mediated apoptosis[J]. *Life (Basel)*, 2021, 11(1): 11010030.
- [16] XU C, BAILLY-MAITRE B, REED JC. Endoplasmic reticulum stress: cell life and death decisions[J]. *J Clin Invest*, 2005, 115(10): 2656-2664.

不同处置方式对菊芋多糖分子量及活性的影响

何曙光^{1,2},袁平川^{1,2},周凌云¹,汤琳¹,汪瑞¹,陈靠山^{1,2}

(皖南医学院 1.药学院,安徽 芜湖 241002;2.安徽省多糖药物工程技术研究中心,安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的:考察延迟采收、砂藏、正常处理3种不同的处置方法对菊芋多糖分子量以及活性的影响。**方法:**利用热水法分别对3种不同方式处理后的菊芋进行多糖提取,经HPLC(GPC)测定多糖分子量,经羟自由基清除实验检测抗氧化活性、通过CCK8法分别测定RAW264.7细胞增殖活性、CT26细胞抑制活性。**结果:**3种不同方式得到的菊芋多糖具有不同的分子量,延迟采收组所得多糖分子量最小,砂藏组所得多糖分子量分布较广。3组多糖均具有较好的抗氧化活性、抗肿瘤活性以及免疫活性,其中砂藏组三种活性相对较弱,且差异有统计学意义。**结论:**在砂藏的处置方式下,多糖分子量分布变宽,活性稍弱,说明菊芋多糖在处置过程中聚合度的分布发生了变化,活性优异的多糖含量下降。

【关键词】菊芋;菊糖;分子质量;多糖聚合度;药理活性

【中图分类号】R 284.1;R 965.2 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.004

Effect of different disposal methods on the molecular weight and activity of polysaccharide from Jerusalem artichoke

HE Shuguang, YUAN Pingchuan, ZHOU Lingyun, TANG Lin, WANG Rui, CHEN Kaoshan

Department of Pharmacy, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

【Abstract】Objective: To observe the effects of three different disposal methods, including delayed harvesting, sand storage and normal treatment on the molecular weight and activity of polysaccharide derived from Jerusalem artichoke. **Methods:** Polysaccharide of Jerusalem artichoke treated by the three different ways was extracted using hot water method. The molecular weight of the polysaccharide was determined by HPLC (GPC), the antioxidant activity was studied by the hydroxyl radical scavenging experiment, and the proliferation activity of RAW264.7 cells and inhibitory activity of CT26 were measured using CCK8 method. **Results:** The molecular weight of Jerusalem artichoke polysaccharide obtained by the three methods was different, and minimal in delayed harvesting, yet greater in sand storage. Polysaccharide treated by three methods had better antioxidant, anti-tumor, and immunological activities, whereas the activity was relatively weak in the extracts of Jerusalem artichoke stored in sand. The difference was significant. **Conclusion:** The molecular weight distribution of polysaccharide appears wider, yet the activity is slightly weaker in the extracts of Jerusalem artichoke disposed in sand. The findings suggest that change has occurred in the distribution of polyglycosynthesis of Jerusalem artichoke polysaccharide during the disposal process, resulting in decreased content of polysaccharide with excellent activity.

【Key words】 Jerusalem artichoke; inulin; molecular mass; polyglycosynthesis; pharmacological activity

菊芋俗称洋姜,原产于北美洲,现在我国广泛栽培,食用部位为其块茎,目前亩产可高达4 000~15 000 kg,其鲜品中菊糖含量约占10%~20%,是生产菊糖的主要原料^[1]。菊芋块茎中富含菊糖、矿物质、维生素,且低脂肪低热量,在食品、医药、饲料等领域具有特殊价值^[2]。研究发现,菊糖具有清除氧自由基减少氧化损伤的作用^[5],长期服用菊糖可

改善人的血脂和血糖水平^[3];同时菊糖具有益生菌和双歧因子作用,可促进肠道中双歧杆菌的生长,调节肠道菌群,增强免疫力,降低胃肠疾病及肠癌发病风险^[4]。据报道,菊芋块茎在收获后及室温下储存后极易发生重量减轻和变质,主要表现为菊糖含量下降,还原糖增加^[6]。本研究考察菊芋在不同处置方式下菊芋多糖的分子量变化以及生物活性影

基金项目:安徽省高校自然科学研究重大项目(KJ2018ZD025);安徽省教育厅优秀青年人才基金(gxyq2019042);皖南医学院博士启动基金(WYRCCQD2018005);皖南医学院中青年科研基金项目(WK201916, WK201919)

收稿日期:2021-05-18

作者简介:何曙光(1986-),男,2018级硕士研究生,(电话)13956205021,(电子信箱)20070021@wnmc.edu.cn;

陈靠山,男,教授,(电子信箱)ksc313@126.com,通信作者。

响,以期为菊芋进一步开发提供参考和指导。

1 材料与试剂

菊芋产自陕西省渭南市华州区金堆镇,经皖南医学院药学院生药学教研室鉴定为菊科植物菊芋新鲜块茎。葡聚糖标准品 10 000、5 000、3 500、1 500、1 000 ku 为色谱纯,购自美国 Sigma-Aldrich 公司;DEAE-52 纤维素、SuperdexG-75 凝胶购自北京索莱宝科技有限公司;抗坏血酸、1 000 ku 透析袋购自上海源叶生物科技有限公司;羟自由基测试试剂盒购自南京建成生物研究所;胎牛血清、1% 青霉素/链霉素和 DMEM 和 1640 培养基购自美国 Gibco 公司。其他试剂均购自国药,均为分析纯。

2 方法与结果

2.1 方法

2.1.1 实验材料分组及处理 所有菊芋均产自同一块田地。每组提取如下:①10 月中旬应季正常采收,作为正常采收组(ZCCS);②应季采收后,用烘干后的干沙掩埋,装箱密封,在 4℃ 条件下保存至次年 3 月,作为砂藏组(SC);③延迟至第 2 年 3 月发芽前采收样品,为延迟采收组(YCCS)。

2.1.2 菊芋多糖的提取 取各组处置后的新鲜样品,经过洗净、切片、烘干(60℃)、粉碎、过筛,得菊芋干粉,备用。各组同时提取,其流程如图 1^[7-8]。

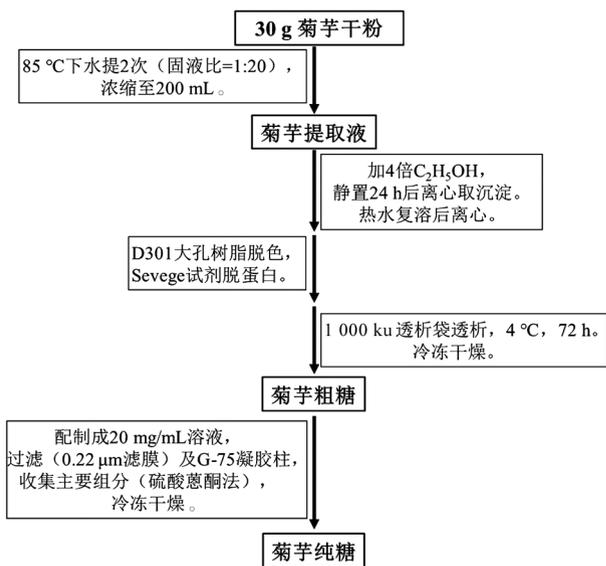


图 1 菊芋多糖的提取流程图

2.1.3 分子量测定 采用高效凝胶过滤色谱法(HPSEC)检测多糖的分子量。色谱分析条件:示差折光检测器;色谱柱:TSKgel G3000PW(7.8 mm×300 mm);进样量:20 μL;流动相为超纯水,流速为

0.7 mL/min;柱温箱及检测池温度 40℃。

精密称取样品和各葡聚糖标准品,分别配制成 5 mg/mL 溶液,0.22 μm 的微孔滤膜过滤,然后将样品转置于 1.5 mL EP 管中等待进样^[9]。

2.1.4 羟自由基清除实验 本研究采用 Fenton 反应考察多糖对 OH· 的清除作用。在进行正式检测之前需要进行预实验,从每组中取几个样本,确定最佳浓度和最佳取样量;本实验采用羟基自由基测定试剂盒,利用 Griess 试剂与体系中羟基自由基发生显色反应,测定显色物质的吸光值。样品溶液用超纯水配制成 8 个不同的梯度浓度,以等体积超纯水代替多糖样品溶液测定空白对照组吸光值,以等体积超纯水代替工作液测定样品本底吸光值(实验重复 3 次,每次共 5 个平行管)。在 550 nm 处测定吸光值,计算 OH· 的清除活性,公式如下^[10]:

抑制率 = $[1 - (A_s - A_0) / A_c] \times 100\%$, 其中 A_s 为样品组吸光值, A_0 样品本底吸光值, A_c 为空白对照组吸光值。

2.1.5 CCK-8 检测小鼠结肠癌细胞 CT26 的抑制实验 培养 CT26 细胞到对数期。将多糖溶于 RPMI-1640 培养基中,配置成不同浓度(0、0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6 mg/mL)留存。将均匀悬浮的 CT26 细胞接种于密度为 5×10^3 细胞/孔(每孔 100 μL)的 96 孔板中,孵育 24 h,待细胞贴壁后,将培养基吸出,每孔加入配置好的不同浓度的多糖培养基 100 μL,每个浓度设 5 个平行孔,各组加样后孵育 24 h(以等体积培养基代替多糖样品溶液测定空白组)。在各孔分别加入 10 μL 的 CCK-8 溶液,继续孵育 4 h 后。使用全自动酶标仪在 450 nm 处测量溶液的吸光度^[11](实验重复 3 次)。计算公式如下:

抑制率 = $(OD_{\text{空白}} - OD_{\text{样品}}) / OD_{\text{空白}} \times 100\%$, 其中 $OD_{\text{样品}}$ 和 $OD_{\text{对照}}$ 分别是各浓度多糖组和空白组的吸光度。

2.1.6 CCK-8 检测巨噬细胞 RAW264.7 增殖实验 培养 264.7 细胞到对数期。将多糖溶于 DMEM 培养基中,并提前配置成各种浓度(0、0.05、0.1、0.2、0.4、0.8、1.6 mg/mL)留存。将悬浮均匀的对数期 RAW264.7 细胞接种于密度为 5×10^3 个细胞/孔(每孔 100 μL)的 96 孔板中,孵育 24 h,待细胞贴壁后吸出培养基,每孔加入不同浓度的多糖培养基 100 μL,每个浓度设 5 个平行孔,各组加样后孵育 24 h(以等体积培养基代替多糖样品溶液测定空白组)。接着在每孔加入 10 μL 的 CCK-8 溶液,孵育 4 h 后^[12],使用全自动酶标仪在 450 nm 处测量溶液的吸光度(实验重复 3 次)。计算公式如下:

相对增殖率 = (OD_{样品} - OD_{空白}) / OD_{空白} × 100%，

其中 OD 样品和 OD 对照分别是各浓度多糖组和空白组的吸光度。

2.1.7 统计学分析 所有数据均采用 SPSS 18.0 统计软件进行分析。实验数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析和重复测量方差分析,多组间两两比较采用 LSD 法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 各组菊芋多糖分子质量对照表

分组	数均分子 量(Mn)	重均分子 量(Mw)	Z 均分子 量(Mz)	Z+1 均分子 量(Mz1)	黏均分子 量(Mv)	Mw/Mn	Mv/Mn	Mz/Mw	固有黏度	百分比/%
ZCCS	2 986	4 128	5 351	6 659	0	1.382 41	0	1.296 27	1	100
SC	2 689	4 332	6 617	9 441	0	1.610 78	0	1.527 35	1	100
YCCS	1 732	2 675	3 672	4 686	0	1.544 30	0	1.373 10	1	100

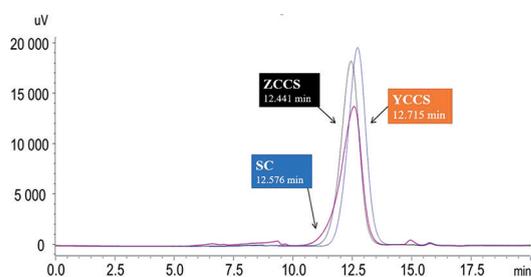
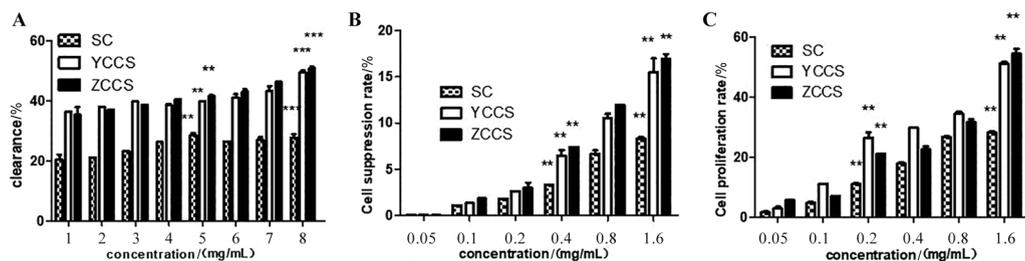


图 2 3 种处置方式后菊芋多糖液相色谱分析



A. 菊芋多糖对 OH· 自由基清除率($\bar{x} \pm s, n=8, F=85.768, P=0.000; ** P < 0.01, *** P < 0.001$); B. 菊芋多糖对 CT26 细胞的抑制率($\bar{x} \pm s, n=5, F=28.652, P=0.006; ** P < 0.01$); C. 菊芋多糖作用 RAW264.7 细胞的增殖率($\bar{x} \pm s, n=5, F=20.350, P=0.008; ** P < 0.01$)。* 代表两两比较均有统计学意义。

图 3 3 种处置方式后对菊芋多糖体外活性的影响

2.2.3 对小鼠结肠癌细胞 CT26 的抑制效果 小鼠结肠癌细胞 CT26 的抑制实验表明(图 3B),当 3 组多糖样品浓度为 1.6 mg/mL 时,3 组菊芋多糖对 CT26 细胞的抑制率分别 15.44%、8.32% 和 16.89%,且在样品浓度为 0.4 mg/mL 和 1.6 mg/mL 时,3 组两两比较差异有统计学意义;此时活性强弱顺序为 ZCCS>YCCS>SC,差异有统计学意义($P < 0.01$)。本实验所用的 3 组多糖对 CT26 细胞都有一定抑制作用,其中 SC 组多糖在抗肿瘤方面的活性相对薄弱。

2.2.4 对巨噬细胞 RAW264.7 增殖作用 巨噬细胞 RAW264.7 增殖作用实验表明(图 3C),3 组多糖浓度为 1.6 mg/mL 时,3 组多糖对巨噬细胞

2.2 结果

2.2.1 处置方式对多糖分子量的影响 经液相检测可知:ZCCS 组菊芋多糖保留时间为 12.441 min, SC 组为 12.576 min, YCCS 组为 12.715 min。YCCS 组菊糖分子量相对较小,ZCCS、SC 两组多糖分子量无明显差异(图 2)。SC 组多糖分子量分布较广,ZCCS 组和 C 组分子量分布较集中(表 1)。

2.2.2 不同处置方式所得菊芋多糖对 OH· 清除作用 ZCCS、SC、YCCS 3 组多糖在 8 mg/mL 浓度时对 OH· 清除率分别为 50.89%、27.82% 和 49.56%,且 3 组多糖在实验浓度为 5 mg/mL 与 8 mg/mL 时两两比较,ZCCS 组和 YCCS 组多糖对 OH· 均具有较强的清除能力,SC 组多糖的清除能力相对较弱,差异有统计学意义($P < 0.001$)(图 3A)。

RAW264.7 的增殖率分别 54.54%、28.32% 和 51.23%,且在样品浓度为 0.2 mg/mL 和 1.6 mg/mL 时,3 组两两比较差异有统计学意义;此时活性强弱顺序为 ZCCS>YCCS>SC,差异有统计学意义($P < 0.01$)。3 组菊芋多糖中,SC 组多糖增殖作用相对较弱。

3 讨论

菊糖具有抗氧化,改善血脂和调节血糖的功效,同时还可以调节肠道菌群,增强免疫力,降低胃肠疾病及肠癌的发病风险^[3-5]。本研究通过 3 种处置方法得到不同的菊芋多糖并分析了 3 组多糖的分子量和生物活性的差异。实验结果表明:3 组菊芋多糖

分子量有明显差异,其中 SC 组分子量分布较广,ZCCS 组和 YCCS 组分子量分布集中。菊芋多糖具有独特的分子量范围,其聚合度 2 ~ 100,菊芋多糖的长度、组成和分散性取决于收获时间、提取前处理和提取后过程,且活性最好的多糖是富含聚合度 < 30 的菊芋多糖^[9]。抗氧化活性方面,SC 组相比另两组多糖活性较弱。OH·清除能力与抗氧化物质供电子能力相关^[13],由于 3 种多糖都是菊芋多糖,所以 SC 组多糖清除能力下降可能是由于在处置过程中消耗了自身一部分有供电能力的多糖。3 组多糖均具有一定的抑制肿瘤细胞活性,其中 SC 组多糖活性较弱。目前,多糖的抑制肿瘤生长作用已经被很多的研究者证实,主要机理有:①口服多糖大大减少肿瘤的发生率;②部分种类多糖可以直接诱导肿瘤细胞凋亡,从而达到抗癌的作用;③增强免疫力,加强巨噬细胞对癌细胞的吞噬作用;④直接抑制肿瘤的转移扩散^[14]。3 组多糖的巨噬细胞增殖活性也出现了 SC 组较弱的现象。巨噬细胞属免疫细胞,其主要功能是以固定细胞或游离细胞的形式对细胞残片及病原体进行噬菌作用,并激活淋巴球或其他免疫细胞,令其对病原体作出反应,在机体免疫过程中起至关重要的作用^[12]。由于菊芋块茎在收获后及室温下储存后菊糖含量下降,还原糖增加^[6]。结合实验结果,菊糖会随着储存过程品质会逐渐下降,这对于菊芋块茎的储存和加工起着关键的指导意义。

本实验结果证明,在经过不同处置方式之后可以得到不同分子量、不同聚合度以及活性强弱不同的菊芋多糖。这与特定聚合度的多糖含量有关。在处置过程中 SC 组菊芋消耗了自身的多糖,导致其活性出现了下降,虽然多糖分子量只降低了一点,但是其多糖分子量分布变广,抗氧化、抑制肿瘤以及免疫活性的降低,说明了菊芋内部多糖聚合度发生了变化,即特定聚合度的多糖含量下降;在延迟采收过程中,菊芋自身的消耗可以从土壤中吸取,但其多糖分子量的减少,以及活性的略微降低,也在提醒着我们菊芋内部多糖聚合度发生了微量的变化。

通过不同处置方法得到不同活性的多糖对提高菊芋多糖生物活性具有重要指导意义。目前菊芋多糖生物活性与分子量及多糖聚合度的关系研究较少,由以往报道可知^[8-9,15],菊芋多糖的生物活性与特定聚合度的多糖有关。本实验为进一步深入研究菊芋多糖的化学结构、含量、各聚合度的比例及生物

学功能提供了参考,也为研究菊芋多糖与药理活性的构效关系提供了研究思路。

【参考文献】

- [1] JUDPRASONG K, ARCHEEPSUDCHARIT N, CHANTAPIRIYAPOON K, *et al.* Nutrients and natural toxic substances in commonly consumed Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tuber[J]. *Food Chem*, 2018, 238:173-179.
- [2] YUWEN MU, WENTING GAO, SHIQI LV, *et al.* The antioxidant capacity and antioxidant system of Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) tubers in relation to inulin during storage at different low temperatures [J]. *Industrial Crops & Products*, 2021, 161(113):229.
- [3] AHMED W, RASHID S. Functional and therapeutic potential of inulin; a comprehensive review[J]. *Food Sci*, 2019, 59(1):1-13.
- [4] SHOAI B M, SHEHZAD A, OMAR M, *et al.* Inulin: properties, health benefits and food applications[J]. *Carbohydrate Polymers*, 2016, 147:444-454.
- [5] OLSZOWY M. What is responsible for antioxidant properties of polyphenolic compounds from plants[J]? *Plant Physiol Biochem*, 2019, 144:135-143.
- [6] MAICAURKAEW S, JOGLOY S, HAMAKER BR, *et al.* Fructan: fructan 1- fructosyltransferase and inulin hydrolase activities relating to inulin and soluble sugars in Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* Linn.) tubers during storage [J]. *Food Sci*, 2017, 54(3):698-706.
- [7] 李璋,袁平川,王颜天池,等. 菊芋在腌制前后化学成分及菊芋多糖分子质量变化[J]. *食品科技*, 2018, 43(2):142-146.
- [8] 李璋,袁平川,王颜天池,等. 不同分子量菊芋多糖的生物活性研究[J]. *天然产物研究与开发*, 2018, 30(7):1226-1230.
- [9] LI W, ZHANG J, YU C, *et al.* Extraction, degree of polymerization determination and prebiotic effect evaluation of inulin from Jerusalem artichoke[J]. *Carbohydr Polym*, 2015, 121:315-319.
- [10] LI JE, WANG WJ, ZHENG GD, *et al.* Physicochemical properties and antioxidant activities of polysaccharides from *Gynura procumbens* leaves by fractional precipitation[J]. *Int J Biol Macromol*, 2017, 95:719-724.
- [11] WAN Y, XIN Y, ZHANG C, *et al.* Fermentation supernatants of *Lactobacillus delbrueckii* inhibit growth of human colon cancer cells and induce apoptosis through a caspase 3-dependent pathway [J]. *Oncol Lett*, 2014, 25(7):1738-1742.
- [12] SCHEPETKIN IA, QUINN MT. Botanical polysaccharides: macrophage immunomodulation and therapeutic potential [J]. *International Immunopharmacology*, 2006, 6(3):317-333.
- [13] LI LY, LI LQ, GUO CH. Evaluation of *in vitro* antioxidant and antibacterial activities of *Laminaria japonica* polysaccharides [J]. *Journal of Medicinal Plants Research*, 2010, 4(21):2194-2198.
- [14] ZONG A, CAO HZ, WANG FS. Anticancer polysaccharides from natural resources: a review of recent research [J]. *Carbohydrate Polymers*, 2012, 90(4):1395-1410.
- [15] 张宏志,马艳弘,黄开红,等. 菊芋菊糖的提取、聚合度分布及抗氧化活性的研究[J]. *食品与生物技术学报*, 2015, 34(10):1069-1077.

俯卧分腿一站式体位在经皮肾镜取石术中的应用

敖平^{1a}, 束玲^{1b}, 张保朝^{1a}, 卓栋^{1a}, 董昌斌^{1a}, 黄后宝^{1a}, 卫中庆²

(1. 皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 a. 泌尿外科; b. 手术室, 安徽 芜湖 241001; 2. 南京医科大学第二附属医院 泌尿外科, 江苏 南京 210011)

【摘要】目的:探讨俯卧分腿一站式体位在经皮肾镜取石术(PCNL)中的应用效果及可行性。**方法:**回顾性分析2019年4月~2020年11月弋矶山医院泌尿外科行PCNL治疗的102例上尿路结石患者的临床资料,根据手术体位的不同将患者分为俯卧分腿一站式体位组(观察组)39例和常规先膀胱截石位再俯卧位组(对照组)63例。统计分析两组患者的年龄、性别、结石侧别、结石分布、S.T.O.N.E评分、结石手术史、慢性合并症、术中输尿管导管插管时间、皮肾通道建立时间、通道大小、术毕双J管置管时间、总手术时间、术后住院时间、结石清除率、二期手术率及术后并发症等资料。**结果:**所有患者均由同一术者主刀完成手术。观察组总手术时间[(104.6±18.9)min]短于对照组[(118.3±19.0)min];结石清除率[76.9%(30/39)]高于对照组[57.1%(36/63)];二期手术率[10.3%(4/39)]低于对照组[28.6%(18/63)],差异均有统计学意义($P<0.05$)。两组的皮肾通道建立时间、通道大小、术后住院时间及并发症发生率差异均无统计学意义($P>0.05$)。**结论:**PCNL应用俯卧分腿一站式体位治疗上尿路结石安全、可靠,能缩短总手术时间,提高结石清除率,降低二期手术率。

【关键词】体位;经皮肾镜取石术;肾结石;输尿管结石

【中图分类号】R 692.4;R 693.4 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.005

Application of one-step prone split-leg position to percutaneous nephrolithotomy

AO Ping, SHU Lin, ZHANG Baochao, ZHUO Dong, DONG Changbin, HUANG Houbao, WEI Zhongqing

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

【Abstract】Objective: To assess the effectiveness and feasibility of one-step prone split-leg position applied to percutaneous nephrolithotomy (PCNL). **Methods:** The clinical data were reviewed in 102 patients of upper urinary calculi treated by PCNL in Yijishan Hospital between April 2019 and November 2020. All patients were divided into observational group ($n=39$, by one-step prone split-leg position) and control group ($n=63$, by conventional lithotomy position) according to the surgical position. Then the two groups were compared regarding the age, gender, the side and distribution of the stone, S. T. O. N. E. scoring, surgical history for the stone, chronic comorbidities, the time of ureteral catheter insertion and skin-renal channel establishment, channel size, time consumption in double J tube placement, operative time, days of post-operative hospital stay, the rate of stone-free, secondary operation and postoperative complications. **Results:** All patients underwent surgery by one surgeon. Patients in the observational group had shorter total operative time, higher rate of stone clearance, fewer secondary operation than those in the control group [(104.6±18.9) min vs. (118.3±19.0) min; 76.9% (30/39) vs. 57.1% (36/63); 10.3% (4/39) vs. 28.6% (18/63), all $P<0.05$, respectively]. There were no significant differences in the time of skin-renal channel establishment, channel size, days of postoperative hospital stay, and incidences of postoperative complications between the two groups ($P>0.05$). **Conclusion:** One-step prone split-leg position can be safe and reliable in PCNL for treating upper urinary calculi, and this position may not only reduce the total operative time, improve the stone-free, but bring down the rate of secondary operation.

【Key words】 position; percutaneous nephrolithotomy; renal calculus; ureteral calculus

俯卧位是经皮肾镜取石术(percutaneous nephrolithotomy, PCNL)最常用的手术体位^[1-2],但术中需反复更改体位、重复消毒铺单,还可能增加高龄、心肺功能差及肥胖患者的手术风险^[3]。研究既可

减少PCNL术中体位变动、又能方便高效地完成PCNL手术的方法,具有重要的临床价值。本研究探讨俯卧分腿一站式体位在PCNL中的应用效果及可行性,报道如下。

基金项目:安徽省高校自然科学研究重点项目(SK2018A0197)

收稿日期:2021-08-09

作者简介:敖平(1981-),男,副主任医师,副教授,(电话)15155355389,(电子信箱)81363604@qq.com;

束玲,女,主管护师,(电子信箱)shulingyjs@163.com,通信作者。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2019 年 4 月~2020 年 11 月弋矶山医院泌尿外科由同一术者主刀完成的 102 例 PCNL 患者的临床资料,根据手术体位的不同将患者分为俯卧分腿一站式体位组(观察组)39 例和先膀胱截石位再俯卧位的常规体位组(对照组)63 例。病例入选标准:①直径>2 cm 的肾结石、鹿角形结石、体外碎石或输尿管软镜碎石失败的肾结石;②重度肾积水、直径>1.5 cm 的输尿管上段结石或肾盂输尿管连接部结石;③多发性上尿路结石

表 1 两组患者术前一般资料比较

组别	年龄/岁	性别		侧别		结石分布			S. T. O. N. E 评分	结石 手术史	并发症
		男	女	左	右	A	B	C			
观察组(n=39)	56.4±11.4	22	17	24	15	28	4	7	8.7±1.5	8	9
对照组(n=63)	54.5±11.1	37	26	33	30	52	5	6	8.6±1.1	13	15
t/χ^2	0.842	0.053		0.819					0.287	0.000	0.007
P	0.402	0.818		0.365		0.383*			0.775	0.988	0.932

注:A.肾结石,B.输尿管上段结石,C.肾及输尿管结石;* Fisher 确切概率法。

1.2 方法

1.2.1 手术方法 观察组:患者全麻后取俯卧位,患侧下肢及腿板稍外展约 0°~10°,健侧腿板外展约 45°~60°使健侧下肢屈髋、屈膝、外展。经尿道逆行置入输尿管镜,合并输尿管结石者先进行输尿管镜下气压弹道碎石。插入输尿管导管辅助建立人工肾积水。超声引导下于腋后线与肩胛线区域第 12 肋下或第 11 肋间穿刺目标肾盏,扩张、建立 16Fr~18Fr 微通道或 24Fr 标准通道。肾镜下用超声、气压弹道或钬激光碎石清石。术毕逆行输尿管镜检查输尿管、经皮肾镜检查肾盂肾盏,未见残石后留置 5Fr 双 J 管。除外肾积水伴感染或重度积水、皮肾通道有明显出血者,一般不留置肾造瘘管。

对照组:患者全麻后先取膀胱截石位,插入输尿管导管,有输尿管结石者亦先用输尿管镜碎石。再改俯卧位超声引导下穿刺目标肾盏,建立经皮肾操作通道进行碎石清石,术毕留置 5Fr 双 J 管。同观察组,一般不留置肾造瘘管。

1.2.2 观察指标 记录两组患者术中的输尿管导管插管时间、皮肾通道建立时间、皮肾通道大小、术毕双 J 管置管时间、总手术时间、术后住院时间、结石清除率、二期手术率以及并发症发生率等。将术后 3 个月复查 KUB 或泌尿系 CT 平扫未见明显结石或残石直径≤4 mm 定义为结石清除^[1]。

1.2.3 统计学处理 采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验。计数资料采用 n(%) 表示,组间比较

伴中重度肾积水;④临床资料记录完整、由同一高级职称医师实施手术。排除标准:①非前述医师实施手术;②临床资料记录不完整。观察组男 22 例,女 17 例,年龄 28~79 岁。对照组男 37 例,女 26 例,年龄 27~85 岁。观察组既往有开放手术、输尿管镜或经皮肾镜手术病史 8 例,有高血压病、冠心病、糖尿病、脑梗死等合并症 9 例。对照组有手术史 13 例,有合并症 15 例。所有患者术前均完善超声、泌尿系平片(KUB)、CT 等检查。术前两组患者一般资料比较差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

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 两组患者手术时间比较 102 例患者均由同一术者主刀成功实施 PCNL。观察组总手术时间及术毕双 J 管置管时间均短于对照组($P<0.05$),而术中输尿管导管插管时间长于对照组($P<0.05$);两组患者术中皮肾通道建立时间及术后住院时间差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 2。

表 2 两组患者手术时间比较

组别	总手术	输尿管导	皮肾通道	术毕双 J	术后住
	时间	管插管时	建立时间	管置管时	院时间
	/min	间/min	/min	间/min	/d
观察组(n=39)	104.6±18.9	6.4±2.1	9.9±1.8	6.1±2.5	6.8±0.8
对照组(n=63)	118.3±19.0	5.4±1.8	9.7±1.9	7.7±2.4	7.1±0.8
t/χ^2	3.545	2.461	0.766	3.094	1.598
P	0.001	0.016	0.445	0.003	0.113

2.2 两组患者结石清除率比较 观察组结石清除率高于对照组($P<0.05$),而二期手术率低于对照组($P<0.05$)。二期术式包括 PCNL、输尿管镜碎石取石术,以输尿管软镜钬激光碎石为主。两组患者并发症发生率及皮肾通道大小差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 3。

2.3 术后并发症情况 观察组术后并发症 Clavien-Dindo 分级为 I 级 2 例(肾造瘘口疼痛 1 例、中低热 1 例)、II 级 1 例(输血)、III 级 1 例(胸腔积液需穿刺引流);对照组术后并发症 Clavien-Dindo 分级为 I 级

5例(肾造瘘口疼痛2例、呕吐1例、中低热2例)、Ⅱ级3例(输血)、Ⅲ级1例(双J管回缩需内窥镜下调整)。

表3 两组患者结石清除率比较

组别	n	结石	二期	并发症	皮肾通道大小	
		清除率 [n(%)]	手术率 [n(%)]	发生率 [n(%)]	标准 通道	微通道
观察组	39	30(76.9)	4(10.3)	4(10.3)	33	6
对照组	63	36(57.1)	18(28.6)	9(14.3)	54	9
t/χ^2		4.127	4.776	0.083	0.023	
P		0.042	0.029	0.774	0.879	

3 讨论

近年来,临床医生在不断探索新的 PCNL 体位,如仰卧位^[4]、斜侧卧位^[5]、腰肋悬空仰卧位^[6]、斜仰卧截石位^[7-9]、斜仰低拱位^[10]、腰肋悬空半截石位^[11]、俯卧分腿“蛙”式位^[12-13]及“片”字位^[14]等,这些体位各有特点,最佳体位目前仍无定论^[15]。改良的仰卧位 PCNL 术中经尿道操作简便易行,但经皮肾操作仍具有一定的难度和挑战^[16-17]。俯卧位下的经皮肾穿刺、扩张、建立皮肾通道更为安全,易于被术者掌握和开展。本研究中的俯卧分腿一站式体位就是一种改良的俯卧位,我们将其应用于 PCNL 中取得了良好的临床效果。

与对照组相比,观察组总手术时间更短、结石清除率更高、二期手术率及并发症发生率更低。这些临床指标提示俯卧分腿一站式体位较传统体位在 PCNL 术中具有明显优势,与文献报道类似^[12-14,18-20]。我们体会到,上述优势与 PCNL 术中应用该体位后可以节省更换体位及再次消毒铺巾的时间、自由切换经皮肾镜和经尿道逆行输尿管镜、轻松实现“双镜联合”有关。本研究结果表明,俯卧分腿一站式体位有助于提高 PCNL 的结石清除率。我们认为,采用该体位可在一种体位下同时实施或先后实施经皮肾镜碎石及输尿管镜碎石手术。这种“双镜联合”同时处理了肾结石和输尿管结石,术中下行到输尿管的一些碎石可以得到很方便的清除,由此提高了 PCNL 结石清除率。另一方面,该体位下的“双镜联合”不仅可以防止碎石下行引起输尿管梗阻导致双 J 管置管困难,而且可以通过镜下观察确保双 J 管在肾脏端和膀胱端的位置满意,而传统体位则可能需再次改回膀胱截石位行输尿管镜操作,这势必增加输尿管支架管置管时间及总体手术

时间。

俯卧分腿位经尿道操作输尿管镜需要一定学习曲线和经验积累。本研究结果显示,该体位经尿道输尿管导管的插管时间略长。该体位与膀胱截石位下经尿道入镜操作视角相反,输尿管间嵴类似位于靠近颈口的膀胱“天花板”上,双侧输尿管口大致位于 11 点及 1 点位置,一般找到输尿管口后即可导丝引导继续入镜。但少数患者输尿管开口异位、管口狭窄或者偏向一侧,输尿管镜操作需要术者更丰富的操作经验和技巧。

本研究结果表明,PCNL 应用俯卧分腿一站式体位在缩短总手术时间、提高结石清除率、降低二期手术率等方面具有一定的优势,是安全、可靠、值得临床应用的 PCNL 体位。但本研究仍有一些不足之处。该体位需要术者具有一定的 PCNL 经验,这有待今后进一步优化操作流程以利于更好地推广。此外,本研究系回顾性研究,样本量偏少,需要我们在未来的工作中扩大样本量,开展前瞻性多中心研究,进一步提高 PCNL 的安全性和有效性,有利于患者术后快速康复并减少术后结石残留。

【参考文献】

- [1] 中华医学会泌尿外科学分会结石学组,中国泌尿系结石联盟. 经皮肾镜取石术中国专家共识[J]. 中华泌尿外科杂志,2020,41(6):401-404.
- [2] 李宗明,焦德超,韩新巍,等. C 臂 CT 引导下经皮肾镜取石通道的建立[J]. 中华医学杂志,2020,100(47):3801-3805.
- [3] 肖路,奉友刚. 经皮肾镜碎石术手术体位选择的临床进展[J]. 中华腔镜泌尿外科杂志(电子版),2019,13(1):56-59.
- [4] DAVID T,TZOU,IAN S,et al. Ultrasound-guided access and dilation for percutaneous nephrolithotomy in the supine position: a step-by-step approach[J]. Urology,2019,133:245-246.
- [5] 陈苏,陈洪波,胡晓晖,等. 斜侧卧位多通道微创经皮肾镜取石术在治疗鹿角形肾结石中的临床应用研究[J]. 国际泌尿系统杂志,2017,37(6):812-815.
- [6] 陈冠峰,许景东,项华,等. 腰肋悬空仰卧位下经皮肾镜联合输尿管镜逆行操作清除输尿管残石[J]. 临床外科杂志,2015(5):398-399.
- [7] 李天,许可慰,谢清灵,等. 单通道微创经皮肾镜碎石取石术联合输尿管软镜碎石取石术在斜仰卧截石位下治疗鹿角形结石的临床分析[J]. 实用医学杂志,2019,35(12):2025-2028.
- [8] 孙志军,赖学佳,冯思睿,等. 斜仰卧截石位一期输尿管镜联合经皮肾镜治疗同侧肾输尿管结石[J]. 中国微创外科杂志,2020,20(6):520-522.
- [9] GIUSTI G,DE LISA A. PCNL in the prone position vs PCNL in the modified supine double-s position: is there a better position? a prospective randomized trial[J]. Urolithiasis,2020,48(1):63-69.

基于 Hsp90α 的胰腺癌化疗耐药预警机制构建及其临床转化

钱道海, 奚士航, 王冠男, 韩 猛, 孙卫东, 王小明

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 肝胆外科, 安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:观察热休克蛋白 90α(Hsp90α)在胰腺癌患者化疗耐药中的作用,并建立基于 Hsp90α 的化疗耐药预警机制。**方法:**选取 2018 年 1 月~2020 年 10 月弋矶山医院住院的胰腺癌患者 37 例,给予一线方案化疗,并定期复查血常规、肝肾功能、肿瘤标志物和影像学资料等;判定肿瘤进展还是稳定,进而分成敏感组(控制组, $n=20$)和耐药组(失控组, $n=17$),对比两组间上述各项指标的差异。**结果:**两组患者年龄、性别、BMI、血常规、肝肾功能等差异均无统计学意义($P>0.05$);耐药组出现疼痛的比例较敏感组升高($P<0.05$),且 CA199、Hsp90α 水平亦升高($P<0.05$);进一步通过多因素回归分析发现,疼痛、Hsp90α 是胰腺癌化疗耐药的独立危险因素;ROC 曲线分析显示 Hsp90α、疼痛用于诊断化疗耐药的灵敏度分别为 82.4% 和 70.6%,特异度分别为 70% 和 85%,两者联合诊断的灵敏度为 82.4%,特异度为 90%。Hsp90α 诊断临界值为 69.01 ng/mL。**结论:**Hsp90α 诊断胰腺癌化疗耐药的灵敏度较高,而 Hsp90α、疼痛联合诊断有助于提高其准确性和特异度;基于 Hsp90α 的化疗耐药预警机制的建立具有重要的临床应用价值。

【关键词】胰腺癌;化疗耐药;药物抵抗;早期诊断;临床应用

【中图分类号】R 735.9;R 969 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.006

Construction and clinical transformation of early warning mechanism for chemotherapy resistance in pancreatic cancer based on Hsp90α

QIAN Daohai, XI Shihang, WANG Guannan, HAN Meng, SUN Weidong, WANG Xiaoming

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

基金项目:中央引导地方科技发展专项基金项目(YDZX20183400004899);安徽省重点研究与开发基金项目(202004j07020051);弋矶山医院引进人才科研基金项目(YR201601, YR202122);弋矶山医院科技创新团队“攀峰”培育项目(KPF201911);弋矶山医院科研能力“高峰”培育项目(GF2019T03, GF2019G03)

收稿日期:2021-04-08

作者简介:钱道海(1984-),男,副主任医师,硕士生导师,博士,(电话)17755348249,(电子信箱)978969429@qq.com;

王小明,男,主任医师,教授,博士生导师,(电子信箱)wxm6901@aliyun.com,通信作者。

[10] 郭亮,张楠,张新恒,等.斜仰低拱位和俯卧位时肾和结肠位移变化的影像解剖学研究[J].中华泌尿外科杂志,2015,36(6):433-435.

[11] 彭伟,魏世平,李辉明,等.腰肋悬空半截石位与俯卧位经皮肾镜碎石术的前瞻性对照研究[J].中国微创外科杂志,2018,18(11):964-968.

[12] HAMAMOTO S, YASUI T, OKADA A, *et al.* Efficacy of endoscopic combined intrarenal surgery in the prone split-leg position for staghorn calculi[J]. J Endourol, 2015, 29(1):19-24.

[13] 谢江凌,林杰,徐东,等.分腿俯卧位双镜联合治疗 87 例上尿路结石的临床效果[J].现代泌尿外科杂志,2021,26(1):46-49.

[14] 王大明,于德新,谢栋栋,等.改良俯卧分腿位双镜联合处理复杂性肾结石合并同侧输尿管结石的临床研究[J].中华泌尿外科杂志,2019,40(9):685-689.

[15] PATEL RM, OKHUNOV Z, CLAYMAN RV, *et al.* Prone versus supine percutaneous nephrolithotomy: what is your position[J]? Curr Urol Rep, 2017, 18(4):26.

[16] BIROWO P, TENDI W, WIDYAHENING IS, *et al.* Supine versus prone position in percutaneous nephrolithotomy: a systematic review and meta-analysis[J]. F1000 Res, 2020, 9:231.

[17] PROIETTI S, RODRÍGUEZ-SOCARRÁS ME, EISNER B, *et al.* Supine percutaneous nephrolithotomy: tips and tricks [J]. Transl Androl Urol, 2019, 8(Suppl 4):S381-S388.

[18] KALER KS, PARKHOMENKO E, LIN CY, *et al.* A new twist on an old technique: lawson retrograde endoscopic-guided nephrostomy access for percutaneous nephrolithotomy in prone split-leg position [J]. J Endourol Case Rep, 2018, 4(1):190-194.

[19] SOEDARMAN S, RASYID N, BIROWO P, *et al.* Endoscopic-guided percutaneous nephrolithotomy (EPSL) with prone split-leg position for complex kidney stone: a case report [J]. Int J Surg Case Rep, 2020, 77:668-672.

[20] YUE G, LEI Y, KARAGOZ MA, *et al.* Comparison of the prone split-leg position (PSL) with the traditional prone position (TP) in percutaneous nephrolithotomy: a propensity score-matching study [J]. J Endourol, 2021, 35(4):1333-1339.

[Abstract] Objective: To observe the effect of Hsp90 α on chemotherapy resistance in patients with pancreatic cancer, and to establish an early warning mechanism for chemotherapy resistance based on Hsp90 α . **Methods:** Thirty-seven patients with pancreatic cancer treated by first-line chemotherapy in our hospital on hospital stay basis were included from January 2018 to October 2020. The clinical indicators, including the findings of regular routine blood tests, liver and kidney function, tumor markers and imaging data, were collected from all patients and reviewed to estimate whether the tumor was progressive or stable. Then the patients were divided into sensitive group (control group, $n=20$) and drug resistance group (observational group, $n=17$) to compare the differences of the above indicators between groups. **Results:** There was no significant difference in the age, gender, BMI, routine blood test results, liver and kidney function between the two groups ($P>0.05$), yet patients in the drug resistance group had significantly higher rate of pain than those in the sensitive group ($P<0.05$), and evidently elevated levels of CA199 and Hsp90 α were seen in patients in the drug resistance group ($P<0.05$). Further analysis by multivariate regression model showed that the pain and Hsp90 α were independent risk factors for chemotherapy resistance in patients of pancreatic cancer. ROC curve analysis indicated that the sensitivity of Hsp90 α and pain for the diagnosis of chemotherapy resistance were 82.4% and 70.6%, respectively, and the specificity was 70% and 85%, respectively for the two indicators. The sensitivity and specificity by combined diagnosis of Hsp90 α and pain were 82.4% and 90%, respectively, and the diagnostic threshold for Hsp90 α was 69.01 ng/mL. **Conclusion:** Hsp90 α has a high sensitivity in the diagnosis of chemotherapy resistance in pancreatic cancer, and Hsp90 α combined with pain degree can improve the accuracy and specificity of diagnosis. Therefore, establishment of early-warning mechanism for chemotherapeutic drug resistance based on Hsp90 α should be critical application value in clinic.

[Key words] pancreatic cancer; chemotherapeutic resistance; drug resistance; early diagnosis; clinical application

胰腺癌严重危害人类健康。近年来,随着多学科诊治模式的引入,胰腺癌患者的预后得到了显著改善,5年生存率从5%提高到8%^[1]。最新的NCCN指南和国内专家共识均将术后辅助化疗、术前新辅助和转化治疗纳入到胰腺癌诊疗规范中^[2-3]。然而,无论以吉西他滨为主还是以氟尿嘧啶为主的化疗方案,均难以避免肿瘤耐药性问题^[4],且现有的研究多聚焦于化疗耐药机制的揭示上,鲜少关注耐药性的早期监测,无法做到实时跟踪反馈,这不仅不利于疾病的治疗,还会导致医疗资源的浪费。因此,如何早期发现化疗耐药个体并对其现有的化疗方案及时修正,显得尤为重要和迫切。

热休克蛋白(hot shock protein, Hsp)是细胞和机体受到理化因素刺激后合成的一类应激蛋白,又被称为“分子伴侣”或“伴侣蛋白”,包括大分子Hsp(100~110 ku)、Hsp90(83~93 ku)、Hsp70(66~78 ku)、Hsp60以及小分子热休克蛋白(15~30 ku),其中Hsp90是分子伴侣中一组较为独特的蛋白质,除了作为分子伴侣参与蛋白质的折叠、运输和合成,还能和一系列参与肿瘤发生发展的信号转导分子和蛋白结合,调节它们的稳定性,影响肿瘤的生长和转移^[5]。

最近的研究发现,Hsp90还参与不同胰腺癌细胞株的耐药过程,而给予Hsp90抑制剂可以诱导细胞凋亡,其中对于 α 亚型研究较多^[6-8]。因此,本研究旨在观察Hsp90 α 在胰腺癌化疗耐药中的作用,进一步探索基于Hsp90 α 的胰腺癌化疗耐药预警机制建立的可行性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2018年1月~2020年10月弋

弋山医院住院的胰腺癌患者37例,年龄30~82岁,男性23例,女性14例;手术27例(18例行胰十二指肠切除,9例行胰体尾切除),单纯化疗10例;所有患者病理均证实为胰腺癌,采用一线化疗方案,包括吉西他滨联合替吉奥、奥沙利铂+伊立替康+氟尿嘧啶+亚叶酸钙(FOLFIRINOX)、吉西他滨联合白蛋白紫杉醇^[9]。

1.2 观察指标 每个化疗周期结束后,复查血常规、肝肾功能、血糖、肿瘤指标,如糖类抗原199(CA199)、糖类抗原125(CA125)、Hsp90 α 、癌胚抗原(CEA)、血管内皮生长因子受体(VEGFR)等,并记录患者是否疼痛、BMI值等。每隔2~3个月复查腹部B超、CT或MRI等,了解肿瘤复发、转移情况。

1.3 疗效判定标准 胰腺癌化疗疗效的判断参考实体瘤疗效评估标准^[10],包括完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial response, PR)、疾病稳定(stable disease, SD)和疾病进展(progressive disease, PD)。控制率=(CR+PR+SD)例数/总例数 \times 100%;失控率=PD例数/总例数 \times 100%。

1.4 临床分组 根据实体瘤疗效评判标准,将37例患者分成两组:敏感组(控制组,CR+PR+SD, $n=20$)和耐药组(失控组,PD, $n=17$)。

1.5 统计学方法 应用SPSS 18.0统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料用率(%)表示,组间比较采用Fisher确切概率法;影响因素分析采用多因素Logistic回归模型,同时绘制受试者工作曲线(receiver operating curve, ROC)。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般资料、血常规、生化指标对比

两组患者性别、年龄、BMI、白细胞、肝功能等差异均无统计学意义($P>0.05$),而耐药组患者疼痛发生率(64.71%)高于敏感组(15.00%),差异有统计学意义($P<0.01$),见表1。

2.2 两组患者肿瘤指标比较 两组患者 CA125、CEA、VEGFR 水平差异均无统计学意义($P>0.05$),而敏感组 CA19-9、Hsp90α 水平均低于耐药组,差异有统计学意义($P<0.01$),见表1。

表1 两组一般资料、疼痛、血常规、生化及肿瘤指标等对比

指标	敏感组(n=20)	耐药组(n=17)	t	P
年龄/岁	63.25±13.20	62.29±7.44	0.265	0.793
性别(男/女)	12/8	11/6		1.000*
BMI/(kg/m ²)	20.43±1.50	21.12±1.78	1.297	0.203
疼痛[n(%)]	3(15.00)	11(64.71)		0.003*
白细胞/(×10 ⁹ /L)	6.90±2.86	7.41±3.57	0.483	0.632
血红蛋白/(g/L)	103.40±19.15	106.71±15.93	0.565	0.576
血小板/(×10 ⁹ /L)	243.25±158.19	265.29±137.21	0.449	0.656
谷丙转氨酶/(U/L)	34.85±23.48	26.41±11.25	1.353	0.185
谷草转氨酶/(U/L)	21.78±11.18	20.07±9.00	0.504	0.617
白蛋白/(g/L)	29.82±12.71	29.98±10.92	0.041	0.967
前白蛋白/(g/L)	20.32±5.53	19.91±5.93	0.214	0.832
葡萄糖/(mmol/L)	5.60±2.05	6.04±1.37	0.752	0.457
超氧化歧化酶/(U/L)	105.75±17.90	97.00±15.92	1.558	0.128
CA199/(U/L)	245.31±466.25	658.36±490.46	2.622	0.013
CA125/(U/L)	84.67±23.48	78.85±84.46	0.163	0.872
CEA/(U/L)	5.60±10.39	8.20±10.94	0.740	0.464
Hsp90α/(ng/mL)	61.56±31.28	100.03±36.53	3.452	0.001
VEGFR/(ng/L)	299.57±256.90	501.26±420.57	1.418	0.170

注: * Fisher 确切概率法。

2.3 胰腺癌进展的影响因素分析 根据单因素分析结果,将 $P<0.10$ 的结果(CA199、Hsp90α、疼痛)纳入多因素 Logistic 回归模型(enter 法)。结果显示,Hsp90α($OR=1.037, 95\% CI: 1.005 \sim 1.071$)和疼痛($OR=10.999, 95\% CI: 1.563 \sim 77.419$)是胰腺癌化疗耐药的危险因素($P<0.05$),见表2。

表2 胰腺癌进展的影响因素分析

指标	B	S. E.	Wald χ^2	P	OR	95% CI
Hsp90α	0.037	0.016	5.234	0.022	1.037	1.005 ~ 1.071
CA199	0.002	0.001	2.961	0.085	1.002	1.000 ~ 1.004
疼痛	2.398	0.996	5.800	0.016	10.999	1.563 ~ 77.419
Constant	-4.914	1.708	8.276	0.004		

2.4 Hsp90α、疼痛以及两者联合诊断胰腺癌化疗

耐药的 ROC 曲线 结果显示,Hsp90α 单独诊断的临界值为 69.01ng/mL,其特异度为 70.00%,灵敏度为 82.40%;疼痛单独诊断胰腺癌进展的特异度为 85.00%,灵敏度为 70.60%;Hsp90α 和疼痛联合诊断的特异度为 90.00%,灵敏度为 82.40%,曲线下面积为 89.40%(表3、图1)。

表3 Hsp90α、疼痛及两者联合诊断胰腺癌化疗耐药的敏感度和特异度

	灵敏 度/%	特异 度/%	ROC 曲线下 面积/%	临界值 /(ng/mL)
Hsp90α	82.40	70.00	79.70	69.01
疼痛	70.60	85.00	77.80	-
Hsp90α 联合疼痛	82.40	90.00	89.40	-

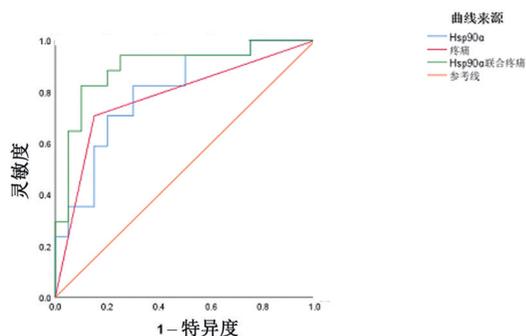


图1 Hsp90α、疼痛以及两者联合诊断胰腺癌化疗耐药的 ROC 曲线

3 讨论

胰腺癌恶性程度极高,流行病学数据显示,其发病率呈逐年上升趋势^[1]。由于其早期缺乏典型的临床表现,多数患者初诊时已系肿瘤晚期,仅有不到20%的患者可以手术治疗。近年来,以5-氟尿嘧啶(5-FU)或吉西他滨为主的联合化疗成为治疗胰腺癌的主要手段,可以延长患者生存期,但是化疗耐药却限制其临床疗效^[11]。化疗耐药可分为两类:本体耐药及获得性耐药。本体耐药是指在未进行治疗前,肿瘤细胞即已获得耐药性,不适合化疗,而获得性耐药指肿瘤细胞原本具有一定的药敏性,但在化疗过程中逐步产生耐药性^[12]。迄今为止,对于胰腺癌化疗耐药的机理仍不完全清楚,可能与非编码RNA、信号通路(如NF-κB等)、外泌体、肿瘤微环境、上皮间质转化等有关^[13-17]。Xiong等^[13]系统地阐述了非编码RNA参与胰腺癌化疗耐药的过程;Liu等^[14]发现LncRNA HCP5通过结合miR-214-3p调节肝癌衍生生长因子表达,调控胰腺癌耐药;杨仕凤等^[15]系统介绍了肿瘤微环境促进胰腺癌化疗耐药的形成。最近发现,Hsp90α可能是胰腺癌化疗耐

药的重要原因^[6-7],而针对 Hsp90 的靶向药物也处于临床试验阶段^[8]。

本研究中我们发现耐药组患者外周血 CA199、Hsp90 α 水平和疼痛发生率均高于敏感组 ($P < 0.05$),进一步通过多因素回归分析发现,疼痛和 Hsp90 α 是胰腺癌化疗耐药的独立危险因素 ($P < 0.05$)。通过 ROC 曲线分析,我们发现:Hsp90 α 、疼痛用于诊断化疗耐药的灵敏度分别为 82.4% 和 70.6%,特异度分别为 70% 和 85%,而两者联合诊断的灵敏度为 82.4%,特异度为 90%。Hsp90 α 的诊断临界值为 69.01 ng/mL。因此,对于胰腺癌化疗耐药的诊断较为敏感的指标是 Hsp90 α ,最为特异的指标是 Hsp90 α 联合疼痛。

对于胰腺癌化疗耐药的判定尚无统一、明确的标准。多数学者依据 CA199 的高低、患者的症状以及影像学结果等来综合判断。当胰腺癌患者出现体重减轻、失眠、全身不适、腰背部胀痛、恶心、呕吐、胃纳差等症状时,往往表示化疗耐药且疾病进展;如果继续原方案化疗,患者非但不能获益,反而使病情加重;此时如果更换化疗方案,往往效果不理想。因此,必须建立一种有效的预警机制,早期发现耐药个体,及时修正治疗方案,达到精准治疗的目的。CA199 一直被认为是胰腺癌患者化疗耐药的主要监测随访指标。

最近有研究发现,术后 CEA 和 CA125 作为 CA199 的补充,能更好地预测胰腺癌患者预后^[18];而在本研究中,我们观察到 Hsp90 α 和疼痛是胰腺癌化疗耐药的独立危险因素,且 Hsp90 α 用于诊断化疗耐药具有较高的敏感性,而联合疼痛提高了诊断的准确性和特异度,具有显著的临床应用价值。因此,基于 Hsp90 α 的胰腺癌化疗耐药预警机制的建立,对于及早发现耐药个体,更改治疗方案,提高治疗效果具有重要的临床应用价值。

【参考文献】

[1] MIZRAHI JD, SURANA R, VALLE JW, *et al.* Pancreatic cancer [J]. *Lancet*, 2020, 395 (10242): 2008–2020.

[2] 中国医师协会肿瘤医师分会, 中国医疗保健国际交流促进会胰腺疾病专家委员会, 中国医药教育协会腹部肿瘤专家委员会. 中国胰腺癌多学科综合治疗模式专家共识 (2020 版) [J]. *临床肝胆病杂志*, 2020, 36(9): 1947–1951.

[3] TEMPERO MA. NCCN guidelines updates: pancreatic cancer [J]. *J Natl Compr Canc Netw*, 2019, 17(5.5): 603–605.

[4] YU S, ZHANG C, XIE KP. Therapeutic resistance of pancreatic cancer: roadmap to its reversal [J]. *Biochim Biophys Acta Rev Cancer*, 2020, 1875(1): 188461.

[5] HOTER A, EL SABBAN ME, NAIM HY. The Hsp90 family: structure, regulation, function, and implications in health and disease [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(9): 2560.

[6] GHADBAN T, DIBBERN JL, REEH M, *et al.* Hsp90 is a promising target in gemcitabine and 5-fluorouracil resistant pancreatic cancer [J]. *Apoptosis*, 2017, 22(3): 369–380.

[7] BELALCAZAR A, SHAIB WL, FARREN MR, *et al.* Inhibiting heat shock protein 90 and the ubiquitin-proteasome pathway impairs metabolic homeostasis and leads to cell death in human pancreatic cancer cells [J]. *Cancer*, 2017, 123(24): 4924–4933.

[8] DAUNYS S, MATULIS D, PETRIKAITE V. Synergistic activity of Hsp90 inhibitors and anticancer agents in pancreatic cancer cell cultures [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9(1): 1–8.

[9] 王鑫龙, 孙备. 中国抗癌协会胰腺癌综合诊治指南 (2018 版) 更新解读 [J]. *临床外科杂志*, 2019, 27(1): 21–24.

[10] CHALIAN H, TORE HG, HOROWITZ JM, *et al.* Radiologic assessment of response to therapy: comparison of recist versions 1.1 and 1.0 [J]. *Radiographics*, 2011, 31(7): 2093–2105.

[11] ZENG S, POTTILER M, LAN B, *et al.* Chemoresistance in pancreatic cancer [J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(18): 4504.

[12] 张兰兰, 李向敏, 樊再雯. 免疫检查点抑制剂耐药机制的研究进展 [J]. *肿瘤防治研究*, 2020, 47(8): 636–640.

[13] XIONG G, FENG M, YANG G, *et al.* The underlying mechanisms of non-coding RNAs in the chemoresistance of pancreatic cancer [J]. *Cancer letters*, 2017, 397: 94–102.

[14] LIU Y, WANG J, DONG L, *et al.* Long noncoding RNA hcp5 regulates pancreatic cancer gemcitabine (GEM) resistance by sponging hsa-miR-214-3p to target HDGF [J]. *Onco Targets Ther*, 2019, 12: 8207–8216.

[15] 杨士凤, 孙备, 孔瑞. 胰腺癌化疗耐药与肿瘤微环境关系的研究进展 [J]. *中华胰腺病杂志*, 2018, 18(5): 356.

[16] LIU C, SHI J, LI Q, *et al.* STAT1-mediated inhibition of FOXM1 enhances gemcitabine sensitivity in pancreatic cancer [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2019, 133(5): 645–663.

[17] ZHENG X, CARSTENS JL, KIM J, *et al.* Epithelial-to-mesenchymal transition is dispensable for metastasis but induces chemoresistance in pancreatic cancer [J]. *Nature*, 2015, 527(7579): 525–530.

[18] XU HX, LIU L, XIANG JF, *et al.* Postoperative serum CEA and CA125 levels are supplementary to perioperative CA19-9 levels in predicting operative outcomes of pancreatic ductal adenocarcinoma [J]. *Surgery*, 2017, 161(2): 373–384.

CT/MRI 图像融合技术在颅内肿瘤放疗靶区勾画中的应用

王银华¹, 马金珠², 吴章杰¹, 施秀华¹, 胡俊¹, 刘飞¹, 叶斌¹

(1. 芜湖市第二人民医院 肿瘤放疗科, 安徽 芜湖 241000; 2. 皖南医学院 药学院, 安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的:探讨 CT/MRI 图像融合技术对颅内肿瘤调强放疗靶区勾画及正常组织剂量的影响。**方法:**对 20 例确诊的颅内肿瘤患者行 CT 模拟定位和 MRI 图像采集。用 Pinnacle 系统进行 CT/MRI 图像融合, 分别在模拟 CT 图像和 CT/MRI 融合图像上勾画肿瘤靶区和危及器官如脑干、脊髓、眼球、晶体、视神经, 比较肿瘤靶区大小和危及器官的剂量体积直方图参数差异。**结果:**大体肿瘤靶区(GTV)CT 勾画体积大于 GTV CT/MRI($P < 0.001$)。CT 与 CT/MRI 图像融合制定治疗计划后其危及晶体、眼球、视神经、脊髓及脑干器官剂量差异均无统计学意义($P > 0.05$)。**结论:**CT/MRI 图像融合技术可以提高颅内肿瘤靶区勾画的精确性, 进一步提高放射治疗的精确性。

【关键词】颅内肿瘤; 图像融合技术; 放射治疗

【中图分类号】R 730.44; R 739.41; R 445.2 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.007

Application of CT/MRI image fusion technology for target delineation in radiotherapy of patients with intracranial tumor

WANG Yinhua, MA Jinzhu, WU Zhangjie, SHI Xiuhua, HU Jun, LIU Fei, YE Bin

Department of Oncology, Wuhu No. 2 People's Hospital, Wuhu 241000, China

【Abstract】Objective: To investigate the effect of computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) fusion image technology on the target delineation of intensity-modulated radiation therapy of intracranial tumor and the dose of organ at risk. **Methods:** CT localization was initially simulated and MRI images were acquired in 20 patients confirmed as intracranial tumor. Then CT and MRI images were fused in all patients with Pinnacle system. The gross target volume(GTV) and the target of organ at risk were contoured in CT and fusion images, including brain stem, spinal cord, eyeballs, lens and optic nerves. Differences between these volumes and dose were compared in two groups with dosage volume histogram. **Results:** The GTV contoured was significantly greater in the CT than in CT/MRI fusion images($P < 0.001$), yet there was no significant difference in the dose of organ at risk described above following careful delineation of the radiotherapy based on image fusion ($P > 0.05$). **Conclusion:** CT/MRI image fusion technology can precisely outline the target at intracranial tumor, and further improve the accuracy of radiotherapy.

【Key words】intracranial neoplasms; image fusion technology; radiotherapy

随着放疗技术的日新月异, 精准放疗在颅内肿瘤治疗中的参与度越来越高。而精准放疗最关键的步骤就是确定靶区位置和大小, 目前颅内病灶放疗定位 CT 在部分病例中无法清晰显示病灶范围及其边缘, 而磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)由于成像的原理优势, 对颅内病灶可清晰显示。CT/MRI 图像融合(medical image fusion, MIF)技术可兼具头颅 CT 及 MRI 图像优势, 有助于颅内肿瘤的靶区勾画^[1-2]。本研究通过对比分析 CT/MRI 图像融合前后靶区体积以及危及器官剂量, 探

讨 CT/MRI 图像融合技术对颅内肿瘤的放疗靶区位置和体积准确性, 及正常组织剂量有无影响, 进一步探讨图像融合对颅内肿瘤放疗的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2014 年 5 月~2020 年 3 月芜湖市第二人民医院经 CT 模拟定位并行 MRI 检查的颅内肿瘤患者共 20 例, 其中肺癌脑转移 15 例, 肠癌脑转移 1 例, 喉癌脑转移 1 例, 脑胶质瘤 3 例, 均诊断明确, 所有患者既往均未接受过脑部放疗。年龄

基金项目:安徽省高校自然科学基金项目(KJ2017A256)

收稿日期:2020-12-21

作者简介:王银华(1978-),男,副主任医师,(电话)18055316775,(电子信箱)sam98157@sina.com;

施秀华,女,主治医师,(电子信箱)snjoin999@sina.com,通信作者。

46~79岁,中位年龄65.5岁,均无放疗禁忌证。

1.2 方法 全部患者行CT模拟定位,选择合适的头枕,以热塑面膜固定。激光定位灯定好位置后在双耳屏前、额头正中中线粘贴好金属标记,为CT定位的参考点。然后行全颅扫描,层厚3mm,完成扫描后确认病灶是否扫全、定位标记是否存在等,确认无误后将图像传输至Eclipse TPS。

所有患者行MRI全颅脑平扫+增强扫描,Siemens 1.5T或3.0T超导磁共振成像,采用标准头部正交线圈,MRI扫描范围与层厚同模拟CT,T1WI(TE/TR=11/500ms)、T2WI(TE/TR=95/4000ms)采用专用造影剂钆双胺增强,扫描T1加权、T2加权及T1增强抑脂图像备用。

图像融合。MRI图像导入至放疗治疗计划系统,利用系统具有的图像融合功能,由主治医师、物理师共同在计划系统(treatment planning system,TPS)中行CT与MRI的图像融合:先自动匹配进行粗融合,然后进一步以脑沟、脑池、脑干、眼球、视神经交叉等作为内参考点微调反复手动匹配,要求外轮廓、重要解剖结构和骨性标志等基本一致。然后由主治医师和物理师共同评估融合效果是否满意。

勾画靶区:由1名放疗科专业医师及1名影像科诊断医师一起读片,共同确定结果后于CT定位图像上完成靶区勾画,需要完成大体肿瘤靶区(gross target volume,GTV)、临床靶区(clinical target volume,CTV)、危及器官(organ at risk,OAR)(脊髓、脑干、左右眼球、左右晶状体、左右视神经、脑干)的勾画。其中GTV是指影像学可见的肿瘤体积。最

后两名医生一起在融合图像上完成以上靶区的勾画。脑转移瘤处方剂量为全颅剂量40Gy,每次2Gy,共20次,肿瘤剂量50Gy,每次2.5Gy,共20次,同步推量;III~IV级脑胶质瘤肿瘤/瘤床(GTVp/GTVtb)64.2Gy,每次2.14Gy,共30次,GTVp/GTVtb+5mm60Gy,每次2Gy,共30次,GTVp/GTVtb+20mm54Gy,每次1.8Gy,共30次。

1.3 观察指标 对CT和CT/MRI融合后勾画的GTV CT、GTV CT/MRI、OAR的受照射剂量进行对比。

1.4 统计学分析 在Eclipse TPS上计算并读取各个GTV体积,并在治疗计划完成后读取OAR剂量,同时采用SPSS 18.0统计软件进行数据处理。计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 或 $M(P_{25},P_{75})$ 表示,组间比较行配对t检验和配对符号秩和检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 图像融合前后的肿瘤靶区体积GTV CT与GTV CT/MRI的比较 GTV CT/MRI勾画体积小于GTV CT,差异有统计学意义($P<0.001$),详见表1。

表1 图像融合前后GTV CT与GTV CT/MRI的比较

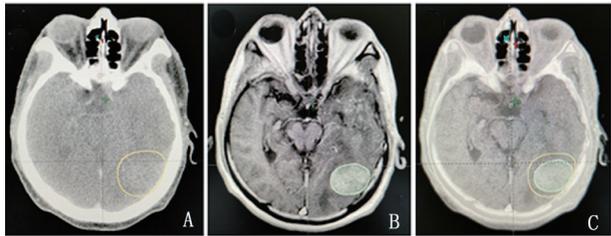
方法	平均体积/cm ³	体积范围/cm ³	Z	P
GTV CT	17.10(9.60,31.13)	3.20~64.80	3.920	<0.001
GTV CT/MRI	7.85(4.38,16.85)	0.80~41.90		

2.2 图像融合前后颅内OAR受照射剂量的比较 CT与CT/MRI图像融合制定治疗计划后的OAR受照射剂量差异均无统计学意义($P>0.05$),见表2。

表2 图像融合前后颅内OAR受照射剂量的比较

OAR	方法	平均剂量/cGy	剂量范围/cGy	t/Z	P
左侧晶状体	GTV CT	339.69±78.08	232.60~566.30	1.254	0.225
	GTV CT/MRI	347.70±96.97	226.10~679.40		
右侧晶状体	GTV CT	348.28±90.52	256.70~669.10	0.001	0.999
	GTV CT/MRI	348.28±111.84	244.00~769.50		
左侧眼球	GTV CT	3 842.75(1 972.93,4 199.78)	451.50~4 546.10	0.037	0.970
	GTV CT/MRI	3 818.75(1 999.03,4 176.80)	440.70~4 543.90		
右侧眼球	GTV CT	2 653.10(1 765.15,4 051.05)	710.40~4 314.30	0.859	0.391
	GTV CT/MRI	2 707.55(1 842.18,4 018.48)	718.40~4 340.80		
左侧视神经	GTV CT	4 187.16±182.31	3 615.20~4 474.20	0.593	0.560
	GTV CT/MRI	4 205.62±117.12	3 940.40~4 465.70		
右侧视神经	GTV CT	4 185.41±258.53	3 343.20~4 618.10	0.186	0.855
	GTV CT/MRI	4 193.33±165.03	3 740.50~4 574.00		
脊髓	GTV CT	3 368.35(647.78,3 731.45)	451.30~4 090.70	0.709	0.478
	GTV CT/MRI	3 351.30(646.45,3 754.43)	448.70~4 016.70		
脑干	GTV CT	4 441.74±197.06	4 199.90~4 816.70	1.543	0.139
	GTV CT/MRI	4 401.38±160.19	4 182.50~4 730.50		

2.3 图像融合前后的肿瘤靶区图像比较 本研究患者 CT/MRI 图像融合后的靶区在肿瘤周边水肿带、边界上更为清晰。CT/MRI 融合将 CT 和 MRI 图像的优势结合,提高了靶区勾画精确性,见图 1。



A. CT 模拟定位的肿瘤靶区;B. CT/MRI 融合后的肿瘤靶区;C. CT/MRI 勾画 GTV,边界更清楚。

图 1 图像融合前后的肿瘤靶区图像比较

3 讨论

颅内原发性恶性肿瘤以脑胶质瘤为主,手术治疗为主,不能手术者明确病理后可行放疗为主的综合治疗;继发性肿瘤由身体其他部位如肺、乳腺、子宫等转移至脑部。症状明显的脑转移患者可考虑外科手术切除、立体定向放疗或全颅放疗^[3],保证放疗精准度最关键的是能否精准实施靶区勾画,而清晰的肿瘤图像信息是精准靶区勾画的保障。因此,颅内肿瘤精准放射治疗计划高度依赖影像图片提供的信息^[4],肿瘤靶区位置确定和精准勾画靶区依据的影像图片的选择和处理是临床研究的重点。

目前的精准放疗模拟定位主要应用模拟 CT 进行图像采集,图像准确可靠且可三维重建便于设计三维放疗计划。此外,CT 值与组织密度值呈线性对应关系,可直接用 CT 值大小进行放疗计划的计算,尤其是多排螺旋 CT,图像质量优于单排模拟机 CT^[5]。对于颅内肿瘤,CT 图片在肿瘤的钙化、瘤内出血、骨化或骨质改变等鉴别诊断方面有优势。但 CT 对软组织结构区分能力差,肿瘤边界较模糊,不利于靶区勾画。增强 CT 扫描有所改善,但仍有部分病灶显示不清或不显示,且部分患者对碘剂过敏,无法行增强造影。因此模拟 CT 图像的局限性成为精确靶区勾画的难题。

MRI 在神经系统肿瘤靶区的确定上有更大优势^[6];对肿瘤的内部性质、空间分辨率以及与周围结构关系的判定较 CT 准确。相关研究显示^[7-9],MRI 的图像质量显著优于 CT,可更早、更清晰地显示肿瘤与周围组织结构的解剖关系,从而更清楚显示肿瘤侵犯范围,更好地区分肿瘤活性组织和水肿组织,弥补了模拟 CT 图像的不足。但当肿瘤出现钙化、瘤内出血、骨化或骨质改变时,MRI 不如 CT

图像显示直观。CT/MRI 图像融合技术克服了 CT 和 MRI 的图像缺点,实现了优势互补^[10]。因其结合了 CT 和 MRI 图像的优势在神经系统靶区勾画中逐渐得到重视,胡杰等^[11]研究表明 CT 与 MRI 融合技术在肿瘤放疗中能准确勾画靶区和 OAR,可靠性好。另有研究显示 CT/MRI 图像融合勾画肿瘤靶区 GTV 更准确^[12],由于 MRI 图像清晰,肿瘤和周边结构界限清楚,可使不同医生勾画的差异性减小,有利于保证靶区勾画的同质化。基于 CT/MRI 图像融合勾画肿瘤靶区 GTV 均小于基于 CT 图像上勾画的体积。本组研究也得出相似结论,GTV CT 和 GTV CT/MRI 体积分别为 17.10 (9.60, 31.13) cm³ 和 7.85 (4.38, 16.85) cm³,两组差异有统计学意义($P < 0.001$),图像融合后勾画的靶区小于基于模拟 CT 勾画的颅内肿瘤体积,降低了瘤周组织不必要的射线照射。GTV CT 和 GTV CT/MRI 体积的差异,分析原因可能为部分 CT 模拟图像由于边界不清晰,靶区勾画医生为了避免靶区遗漏,从而主观上将靶区范围外扩所致^[13]。

此外,颅内肿瘤放疗时 OAR 比较易于勾画,有文献报道融合前后 OAR 体积比较差异不明显^[14]。本研究结果显示各组计划制定后 OAR 放疗受照射剂量差异无统计学意义($P > 0.05$),分析原因可能为所选病例转移瘤占比较高,而转移瘤绝大多数瘤体体积较小,逆向调强计划制定时可设置相同 OAR 限量,有足够余地保证 OAR 达到临床剂量限制要求。如果颅内肿瘤靶区普遍较大,可能会有不一样的结果,值得临床进一步研究。

随着技术的进步,出现了磁共振放疗定位系统,可以使用 MRI 扫描定位。另外,由于 18F-FDG PET 在 III、IV 级脑胶质瘤及脑转移瘤中均表现为高代谢病灶,显影清晰。PET/CT 图像融合技术在临床也有较多的应用,但其价格较贵,一定程度上限制了该技术的广泛应用。

综上所述,颅内肿瘤患者精准放疗借助 CT/MRI 图像融合技术,可提高放疗靶区勾画的精准性,进一步实现精准放疗。该技术可操作性强,值得临床上进一步研究及推广应用。

【参考文献】

[1] 李坤成,李永忠,赵富强,等. CT 与 MRI 图像配准与融合技术在颅脑肿瘤的初步应用[J]. 中国医学影像技术,2001,17(9): 823-825.

[2] 李洋,李香兰,王业伟,等. CT/MRI 影像融合对肺癌脑转移放射治疗靶区勾画的影响[J]. 中国肺癌杂志,2012,15(8):476-480.

血清触珠蛋白、血管性血友病因子水平与脑梗死患者静脉溶栓后早期神经功能恶化的相关性研究

宋 敏¹, 郭 锐²

(安徽省皖南康复医院 1. 急诊内科; 2. 重症医学科, 安徽 芜湖 241000)

【摘要】目的:探讨血清触珠蛋白(HP)、血管性血友病因子(vWF)水平与脑梗死患者静脉溶栓后早期神经功能恶化(END)的关系。**方法:**选取2018年10月~2021年1月发病4.5 h内在皖南康复医院行阿替普酶静脉溶栓治疗的脑梗死患者168例作为研究对象,并依据其是否发生END分为非END组和END组。收集患者一般资料,酶联免疫法检测血清HP、vWF水平; Logistic多因素回归分析影响脑梗死患者静脉溶栓后发生END的危险因素;受试者工作特征(ROC)曲线评估血清HP、vWF水平对脑梗死患者静脉溶栓后发生END的预测价值。**结果:**与非END组相比,END组脑梗死患者具有糖尿病史比例、舒张压、入院NIHSS评分、HP、vWF水平及 Δ NIHSS评分升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$); Logistic多因素回归分析显示血清HP水平 ≥ 1.645 g/L、血清vWF水平 ≥ 144.100 μ g/L为影响脑梗死患者静脉溶栓后发生END的独立危险因素($P < 0.05$); END组脑梗死患者血清HP、vWF水平与 Δ NIHSS评分均呈正相关($r = 0.506, 0.396, P < 0.05$); ROC分析结果显示血清HP、vWF和联合预测脑梗死患者静脉溶栓后发生END的ROC曲线下面积分别为0.868、0.833和0.931。**结论:**脑梗死静脉溶栓后发生END患者血清HP、vWF水平升高,且均为影响END发生的独立危险因素。

【关键词】触珠蛋白; 血管性血友病因子; 脑梗死; 早期神经功能恶化

【中图分类号】R 743.33; R 446.11 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.008

基金项目:芜湖市科技计划项目(2020ms3-21)

收稿日期:2021-06-09

作者简介:宋 敏(1984-),女,主治医师,(电话)18009637869,(电子信箱)155232118@qq.com;

郭 锐,男,主治医师,(电子信箱)873101798@qq.com,通信作者。

- [3] RICCARDO S, UFUK A, BRIGITTA B, *et al.* Diagnosis and treatment of brain metastases from solid tumors: guidelines from the European Association of Neuro-Oncology (EANO) [J]. *Neuro Oncol*, 2017, 19(2): 162-174.
- [4] POPP I, WEBER WA, COMBS SE, *et al.* Neuroimaging for radiation therapy of brain tumors [J]. *Topics in Magnetic Resonance Imaging*, 2019, 28(2): 63-71.
- [5] 刘红艳, 鲁启洪, 陈佳权, 等. CT模拟机及模拟定位机在颅内肿瘤调强放射治疗靶区勾画与计划制定中的应用 [J]. *中国CT和MRI杂志*, 2020, 18(11): 7-9.
- [6] 陈露斯, 胡学峰, 石锦平, 等. MRI/CT融合与增强CT对鼻咽癌靶区勾画的比较 [J]. *实用癌症杂志*, 2010, 25(2): 172-174.
- [7] RAMAN S, CHIN L, ERLER D, *et al.* Impact of magnetic resonance imaging on gross tumor volume delineation in non-spine bony metastasis treated with stereotactic body radiation therapy [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2018, 102(4): 735-743.
- [8] CARAVATTA L, CELLINI F, SIMONI N, *et al.* Magnetic resonance imaging (MRI) compared with computed tomography (CT) for interobserver agreement of gross tumor volume delineation in pancreatic cancer: a multi-institutional contouring study on behalf of the AIRO group for gastrointestinal cancers [J]. *Acta Oncol*, 2019, 58(4): 439-447.
- [9] CARDOSO M, MIN M, JAMESON M, *et al.* Evaluating diffusion-weighted magnetic resonance imaging for target volume delineation in head and neck radiotherapy [J]. *J Med Imaging Radiat Oncol*, 2019, 63(3): 399-407.
- [10] 陈蒙. 基于CT和MRI的医学图像融合研究 [J]. *软件*, 2020, 41(5): 211-214.
- [11] 胡杰, 陶健民, 张莹, 等. CT和MRI图像融合技术在肿瘤放射治疗中的应用研究 [J]. *医疗设备信息*, 2002, 11(4): 18-20.
- [12] 杨军, 王颖拓, 李卓然, 等. CT与MR多序列融合指导胶质瘤靶区勾画 [J]. *现代肿瘤医学*, 2020, 8(28): 1353-1357.
- [13] 刘锐, 赵旭, 赵东利, 等. 基于MIM软件行CT-MRI图像融合技术在脑胶质瘤精确放疗中的应用 [J]. *西安交通大学学报(医学版)*, 2020, 41(5): 668-672.
- [14] 李小龙, 贺俊华, 陆婉玲, 等. 低分割放射治疗分次 γ -刀治疗后局部复发脑胶质瘤的疗效观察 [J]. *西部医学*, 2017, 29(6): 839-842.

Serum haptoglobin and von Willebrand factor level and early neurological deterioration in cerebral infarction patients following intravenous thrombolysis

SONG Min, GUO Rui

Emergency Department, Wannan Rehabilitation Hospital of Anhui Province, Wuhu 241000, China

[Abstract] Objective: To investigate the relationship between the level of serum haptoglobin (HP) and von Willebrand factor (vWF) and early neurological deterioration (END) in patients with cerebral infarction following intravenous thrombolysis. **Methods:** 168 patients with cerebral infarction undergone intravenous thrombolysis with alteplase within 4.5 h of onset were included from October 2018 to January 2021, and divided into non-END group and END group based on presence of END. The general data of the patients were collected and compared between two groups. Venous blood was obtained from the patients upon hospital admission, and measured for serum HP and vWF levels using enzyme-linked immunosorbent assay. Logistic multivariate regression model was used to analyze the risk factors of END after intravenous thrombolysis in patients with cerebral infarction. The predictive value of serum HP and vWF levels for the occurrence of END after intravenous thrombolysis in patients with cerebral infarction was evaluated with receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results:** The proportion of patients with a history of diabetes, diastolic blood pressure, NIHSS score at admission, serum HP, vWF levels, and Δ NIHSS score in the END group were significantly higher than those in the non-END group ($P < 0.05$). Logistic multivariate regression analysis showed that serum HP level ≥ 1.645 g/L and serum vWF level ≥ 144.100 μ g/L were independent risk factors for END after intravenous thrombolysis in patients with cerebral infarction ($P < 0.05$), and HP and vWF levels were positively correlated with NIHSS scores in patients in END group ($r = 0.506, r = 0.396$, respectively, $P < 0.05$). ROC analysis indicated that the area under the ROC curve for single HP or vWF level or combined use of the two indicators in predicting occurrence of END after intravenous thrombolysis was 0.686, 0.833 and 0.931, respectively. **Conclusion:** Serum HP and vWF levels are significantly increased in cerebral infarction patients complicated with END after intravenous thrombolysis, and are independent risk factors for predicting occurrence of END.

[Key words] haptoglobin; von Willebrand factor; cerebral infarction; early neurological deterioration

脑梗死是由于脑动脉粥样硬化、血管内皮细胞受损造成管腔狭窄,进而引起局部血栓形成导致的脑血管疾病^[1]。溶栓治疗是恢复脑梗死患者脑动脉血流的重要措施,但溶栓治疗过程中脑组织易发生缺血再灌注损伤,导致患者出现早期神经功能恶化(early neurological deterioration, END),严重影响患者预后^[2]。研究表明,炎症在脑梗死发生发展中起重要作用^[3]。触珠蛋白(serum haptoglobin, HP)是调节急、慢性炎症反应的急性时相反应蛋白,常作为脑梗死预后的生物学标志物^[4],但在END中的作用鲜有报道。血管性血友病因子(von Willebrand factor, vWF)是主要由血管内皮细胞合成、分泌的糖基化蛋白,其水平在一定程度上能反映内皮损伤程度,其表达升高对神经功能造成损伤,但对脑梗死静脉溶栓后发生END的预测价值尚无相关研究^[5]。本研究检测HP、vWF在脑梗死患者血清中的表达,分析两者与脑梗死患者神经功能恶化程度的相关性,并评估两者对脑梗死患者静脉溶栓后发生END的预测价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取2018年10月~2021年1月在皖南康复医院进行溶栓治疗发病4.5 h内的脑梗死患者168例作为研究对象。纳入标准:①脑梗死

诊断标准依据《中国急性缺血性脑卒中诊治指南2014》^[6],且经过头颅CT或MRI证实;②年龄18~80岁;③缺血性脑卒中急性发作,来院时间距发作时间4.5 h以内;④患者及家属签署知情同意书。排除标准:①有严重心肝肾功能损害;②CT扫描显示有颅内出血或尽管CT扫描未显示异常,仍怀疑蛛网膜下腔出血;③既往头部严重外伤、卒中病史并伴有糖尿病者、近3个月内有脑卒中病史;④入院前在其他医院行静脉溶栓或没有溶栓后影像学资料的患者;⑤近期颅内手术者;⑥脑卒中发作时伴随癫痫发作;⑦血小板计数低于 $100 \times 10^9/L$ 、血糖低于50 mg/dL或高于400 mg/dL、收缩压 >180 mmHg或舒张压 >100 mmHg。

1.2 分组及资料收集 所有研究对象均在症状发生后及时使用阿替普酶(商用名:爱通立)治疗,给药剂量参照0.9 mg/kg(最大剂量90 mg),总剂量的10%先从静脉推入,剩余剂量在随后60 min持续静脉滴注。采用美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS),于入院接受静脉溶栓治疗前评估所有患者的神经功能缺损情况,并由同一名神经内科医师于静脉溶栓治疗24 h内进行NIHSS复评, Δ NIHSS评分(较接受静脉溶栓治疗前增加) ≥ 4 分定义为END,并据此将脑梗死患者分为非END组(109例)和END组(59例)。收集患者入院时基础资料,包括性别、年龄、体质量指数(BMI)、吸烟史、饮酒史、高

血压病史、糖尿病史、高脂血症史、冠心病史、收缩压、舒张压、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、入院NIHSS评分、起病至入院时间。

1.3 血液采集及HP、vWF检测 入院接受静脉溶栓治疗前采集患者静脉血液,4℃ 3 000 r/min离心10 min,取上层血清检测HP、vWF水平,检测步骤按照HP、vWF酶联免疫(ELISA)试剂盒(购自上海泽叶生物科技有限公司)说明书进行,酶标仪(型号:Elx800,购自美国Perkin Elmer公司,λ=450 nm)测定血清样本和标准品吸光度值,绘制标准曲线,计算血清HP、vWF水平。

1.4 统计学分析 利用软件SPSS 26.0进行统计学分析。定性资料以n(%)表示,组间比较行χ²检验;定量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较行t检验。采用Logistic多因素回归分析影响脑梗死患者静脉溶栓后发生END的危险因素。采用受试者工作特征(ROC)曲线评估血清HP、vWF水平对脑梗死患者静脉溶栓后发生END的预测价值。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者临床资料比较 与非END组相比,END组脑梗死患者具有糖尿病史比例、舒张压、入院NIHSS评分、HP、vWF水平及ΔNIHSS评分升高,差异均有统计学意义(P<0.05)。见表1。

2.2 脑梗死患者静脉溶栓后发生END的Logistic多因素回归分析 将脑梗死患者静脉溶栓后是否发生END作为因变量,以糖尿病史、舒张压、入院NIHSS评分、血清HP、血清vWF作为自变量纳入多因素Logistic回归模型。结果显示,血清HP水平≥1.645 g/L、血清vWF水平≥144.100 μg/L为影响脑梗死患者静脉溶栓后发生END的独立危险因素(P<0.05)。见表2。

2.3 血清HP、vWF水平对脑梗死患者静脉溶栓后发生END的预测价值 ROC分析结果显示,血清HP水平预测脑梗死患者静脉溶栓后发生END的ROC曲线下面积为0.868(95%CI:0.829~0.906),截断值为1.645 g/L,灵敏度为79.4%,特异度为80.5%,约登指数为0.599;血清vWF水平预测脑梗死患者静脉溶栓后发生END的ROC曲线下面积为0.833(95%CI:0.787~0.878),截断值为144.100 μg/L,灵敏度为72.3%,特异度为89.6%,约登指数为0.619;血清HP、vWF水平联合预测脑梗死患者静脉溶栓后发生END的ROC曲线下面积为0.931

(95%CI:0.905~0.956),灵敏度为83.2%,特异度为91.8%,约登指数为0.750。见图1。

表1 两组脑梗死患者临床资料比较[n(%), $\bar{x}\pm s$]

指标	非END组 (n=109)	END组 (n=59)	χ ² /t	P
男性	87(79.82)	45(76.27)	0.286	0.593
年龄/岁	63.14±11.85	62.77±12.48	0.190	0.850
BMI/(kg/m ²)	24.36±3.96	25.05±3.12	1.242	0.216
吸烟	32(29.35)	13(22.03)	1.047	0.306
饮酒	35(32.11)	15(25.42)	0.819	0.366
高血压	34(31.19)	23(38.98)	1.036	0.309
糖尿病	20(18.35)	19(32.20)	4.122	0.042
高脂血症	25(22.94)	11(18.64)	0.419	0.518
冠心病	14(12.84)	6(10.17)	0.261	0.609
收缩压/mmHg	151.23±29.65	157.57±27.74	1.353	0.178
舒张压/mmHg	87.54±12.36	91.88±12.71	2.151	0.033
TG/(mmol/L)	1.54±0.36	1.60±0.34	1.051	0.295
TC/(mmol/L)	4.63±0.96	4.70±1.03	0.440	0.661
LDL-C/(mmol/L)	2.98±0.52	3.07±0.57	1.035	0.302
HDL-C/(mmol/L)	1.23±0.25	1.19±0.22	1.031	0.304
入院NIHSS评分/分	4.84±1.23	9.60±1.88	17.524	0.000
起病至入院时间/h	2.72±0.49	2.81±0.52	1.112	0.268
HP/(g/L)	1.43±0.26	1.88±0.29	9.705	0.000
vWF/(μg/L)	116.98±23.88	153.50±26.53	8.587	0.000
ΔNIHSS评分/分	2.93±0.60	5.05±0.55	21.067	0.000

表2 脑梗死患者静脉溶栓后发生END的Logistic回归分析

影响因素	B	S. E.	Wald χ ²	P	OR	95% CI
HP ^①	0.541	0.187	7.523	0.004	1.471	1.020~2.122
vWF ^②	0.441	0.137	9.378	0.001	1.643	1.256~2.149
Constant	1.342	0.452	2.864	0.012		

注:①以<1.645 g/L为对照;②以<144.100 μg/L为对照。

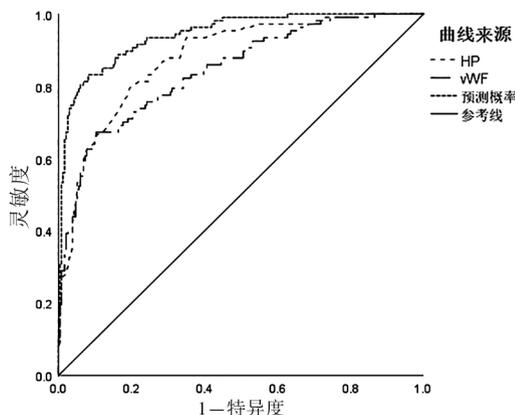


图1 血清HP、vWF水平单独及联合预测脑梗死患者静脉溶栓后发生END的ROC曲线

3 讨论

本研究中纳入脑梗死患者的END发生率为31.7%,略高于文献报道^[7],可能与患者的纳入排

除标准有关。如果能够早期筛选出容易出现 END 的脑梗死患者,并进行针对性治疗,可以降低溶栓后 END 发生率,改善患者溶栓治疗的预后。炎症反应在脑梗死发生发展过程中发挥重要作用,降低神经系统出现的炎症反应可显著改善脑梗死患者的神经功能,提高患者生活质量^[8]。廖涛等^[9]研究显示,HP 水平是急性脑梗死发生及预后不良的危险因素,其水平与梗死病灶体积、神经功能缺损情况显著相关。本研究显示,END 组脑梗死患者血清 HP 水平较非 END 组升高,说明 HP 参与 END 发生过程,且其水平与脑梗死静脉溶栓后发生 END 患者的神经功能恶化程度关系密切。Logistic 回归分析发现血清 HP 水平 ≥ 1.645 g/L 脑梗死患者在静脉溶栓后发生 END 风险是血清 HP 水平 < 1.645 g/L 的 1.471 倍,其水平 ≥ 1.645 g/L 可增加脑梗死患者静脉溶栓后发生 END 的概率,其可能通过结合由红细胞释放的游离血红蛋白(Hb),从而减弱其在人体内的氧化活性,这些 Hb-HP 复合物通过 CD163 清道夫受体被单核吞噬系统去除,从而抑制炎症反应,减轻脑水肿导致的缺血性脑损伤。ROC 分析显示血清 HP 水平预测脑梗死患者静脉溶栓后发生 END 的最佳截断值为 1.645 g/L,可用于筛选容易出现 END 的脑梗死患者,以便进行针对性治疗。

研究显示,阿替普酶溶解血栓的同时可能加重血小板聚集,因此,各国指南均推荐在静脉溶栓 24 h 后应予以抗血小板聚集治疗^[10]。赵彩霞^[11]研究发现,脑梗塞患者 vWF 水平较高,且与认知功能评分呈负相关。本研究显示,END 组脑梗死患者血清 vWF 水平较非 END 组升高,也说明 vWF 参与 END 发生,与脑梗死发生 END 患者的神经功能恶化有关。脑梗死患者纤维酶原的活性增强,血液黏稠度及纤维蛋白原的浓度提高,提示脑梗死患者存在凝血、纤溶活性异常,当脑梗死发生时,局部血液中断,凝血因子在局部进一步增加,加之血液黏度和纤维蛋白原浓度的改变,导致血栓蔓延,缺血缺氧范围扩大,神经功能恶化严重。进一步研究发现,血清 vWF 水平预测脑梗死患者静脉溶栓后发生 END 最佳截断值为 144.100 $\mu\text{g/L}$,且血清 vWF 水平 ≥ 144.100 $\mu\text{g/L}$ 脑梗死患者静脉溶栓后发生 END 风险是 < 144.100 $\mu\text{g/L}$ 的 1.643 倍,提示血清 vWF 水平可用于预测脑梗死患者静脉溶栓后是否发生 END,其血清水平 ≥ 144.100 $\mu\text{g/L}$ 时采取针对性治

疗有利于提高患者预后。此外,血清 HP、vWF 联合预测脑梗死患者静脉溶栓后发生 END 的 ROC 曲线下面积为 0.942,灵敏度为 83.2%,特异度为 91.8%,提示两者联合可一定程度提高预测效能,为临床筛选静脉溶栓 24 h 内容易出现 END 的脑梗死患者提供重要参考。

综上,脑梗死静脉溶栓后发生 END 患者血清 HP、vWF 水平均升高,其水平均与神经功能恶化程度密切相关,且是影响 END 发生的独立危险因素,两者联合可有效筛选静脉溶栓 24 h 内容易出现 END 的脑梗死患者,以便早期开展针对性治疗,改善预后。

【参考文献】

- [1] 王琳,刘彦虹.巨噬细胞诱导型 C 型凝集素受体在脑梗死中的研究进展[J].卒中与神经疾病,2018,25(6):733-735.
- [2] 徐芳,黄海滨,刘学春.脑梗死阿替普酶静脉溶栓后早期神经功能恶化的危险因素研究[J].中国临床医生杂志,2020,48(9):1050-1052.
- [3] HASHIMOTO Y, TATEISHI T. Atypical skull base osteomyelitis suspected of spreading inflammation from the ear canal with unilateral multiple cranial neuropathy and cerebral infarctions[J]. Rinsho Shinkeigaku, 2019, 59(4):205-210.
- [4] ZHANG T, XIANG L. Elevated plasma haptoglobin level as a potential marker for poor prognosis in acute cerebral infarction[J]. Eur Neurol, 2018, 79(3-4):154-160.
- [5] 朱华军,黄艳,王琼.果糖二磷酸钠片联合脑蛋白水解物对老年急性脑梗死病人血管内皮损伤和神经功能恢复的影响[J].中西医结合心脑血管病杂志,2018,16(12):1746-1749.
- [6] 中华医学会神经病学分会,中华医学会神经病学分会脑血管病学组.中国急性缺血性脑卒中诊治指南 2014[J].中华神经科杂志,2015,48(4):246-257.
- [7] HOU X, CHEN W, XU H, et al. The rate of early neurological deterioration occurring after thrombolytic therapy: a meta-analysis[J]. Brain Behav, 2019, 9(2):1-8.
- [8] 武桂荣.早期护理康复干预对急性脑梗死患者神经系统炎症反应及康复的影响研究[J].世界最新医学信息文摘,2019,19(55):282-283.
- [9] 廖涛,刘超.触珠蛋白与急性脑梗死患者病情程度及预后相关性分析[J].陕西医学杂志,2020,49(10):1292-1295.
- [10] POWERS WJ, RABINSTEIN AA, ACKERSON T, et al. 2018 guidelines for the early management of patients with acute ischemic stroke: a guideline for healthcare professionals from the american heart association/american stroke association[J]. Stroke, 2018, 49(3):E46-E110.
- [11] 赵彩霞. Hey、vWF、纤维蛋白原水平变化对脑梗塞患者神经功能的影响[J].实验与检验医学,2020,38(5):971-973.

不同术前宫颈处理在宫腔镜手术中的效果评价

吴 琪,马少平

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 妇产科,安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:回顾分析宫腔镜术前不同宫颈处理对宫颈扩张满意度及不良反应。**方法:**选取弋矶山医院40例行宫腔镜操作的患者,分为无菌导尿管置入宫颈管的机械组和纳卡前列甲酯栓的前列腺素类药物组,并对两组宫颈扩张满意度及不良反应进行比较。**结果:**两组宫颈扩张总满意度差异无统计学意义($P>0.05$),术后平均住院时间机械组长于药物组,在术后因副作用有不良体验对比上,药物组较机械组高($P<0.05$)。**结论:**虽然宫腔镜操作前机械扩张宫颈不能较药物提高宫颈扩张满意度,但可减少不良反应的发生率,有较高的临床应用价值。

【关键词】宫腔镜;卡前列栓;导尿管;扩张满意度;不良反应

【中图分类号】R 713.4 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.009

Outcomes of different preoperative cervical management in hysteroscopic surgery

WU Qi, MA Shaoping

Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To retrospectively analyze the satisfaction in softening the cervix and adverse reactions of different cervical management before hysteroscopy. **Methods:** Forty patients undergoing hysteroscopic operation in our hospital were divided into the mechanical treatment group (managed by insertion of sterile catheter into the cervical tube) and the prostaglandin group (managed by carboprost methylate suppositories). Then the two groups were compared regarding satisfaction in cervical dilation and adverse reactions. **Results:** The two groups remained no difference in satisfaction in cervical softening ($P>0.05$), yet patients in prostaglandin group had longer days of hospital stay on average as well as higher adverse response and discomfort experience than those in mechanical treatment group (all $P<0.05$). **Conclusion:** Although mechanical cervical dilatation before hysteroscopy cannot improve the satisfaction of cervical dilatation compared to drugs, yet still has higher clinical value, for it can significantly reduce the incidence of adverse reactions.

【Key words】 hysteroscopy; carboprost suppository; catheter; cervical dilation satisfaction; adverse reactions

宫腔镜是治疗妇科疾病常见的内窥镜,由镜体及外鞘组成,常见宫腔电切镜外鞘外径为7~9 mm。女性宫颈主要由结缔组织组成,弹力纤维及平滑肌纤维含量少,弹性差^[1],在非孕期女性宫颈内口处于闭合状态,未经阴道生育或绝经患者的宫颈组织则更加坚韧,因此,术前软化并扩张宫颈,是宫腔镜操作前第一步也是至关重要的一步^[2]。

目前用于宫腔镜操作前扩张宫颈的方式相对较多,但多数均有利弊,本研究通过分析弋矶山医院妇科2020年11月~2021年2月40名行宫腔镜术患者进行不同宫颈处理,即机械组使用14号无菌导尿管,药物组选用卡前列甲酯栓1 mg,进而对两组宫

颈扩张满意度及不良反应进行比较。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2020年11月~2021年2月我院妇科行宫腔镜操作患者共40例纳入研究。纳入标准:均已完善术前相关检查,无手术相关禁忌证及精神疾病史,术前宫颈TCT检查无异常,已排除生殖道疾病,无宫颈操作相关禁忌证。排除标准:对所用研究药物过敏,急性盆腔感染,生殖道感染,有使用前列腺素禁忌者(如哮喘、青光眼、严重心肝肾功能不全等)。随机分为机械组及药物组,每组各20例患者。

基金项目:弋矶山医院三新项目(Y20064)

收稿日期:2021-03-11

作者简介:吴 琪(1987-),女,住院医师,(电话)18955370861,(电子信箱)tian371279611@sina.com;

马少平,女,副主任医师,讲师,(电子信箱)371279611@qq.com,通信作者。

1.2 方法

1.2.1 机械性扩张(14号无菌导尿管) 术前晚常规消毒术野,无菌剪剪取14号无菌导尿管4~6cm,用卵圆钳将其缓慢轻柔送置于宫颈管内,外覆无菌纱布一块,防止导管脱落,于术前取出并核查其完整性。

1.2.2 药物扩张 距麻醉开始前2~3h常规消毒外阴阴道,用外科手套将卡前列甲酯栓1mg经阴道送至距宫颈约1cm位置,患者平卧10~15min,待药物完全融化,经阴道黏膜吸收进入循环系统,血药浓度约2~3h达峰值,持续有效时间6~8h^[3]。

1.3 观察指标

1.3.1 宫颈扩张总满意度 对比可轻松穿过的宫颈金属扩张棒大小,过程中有无阻力感及扩张宫颈所需时间、术中出血量及宫腔镜鞘进出宫颈有无过“梗”感综合判定两组患者宫颈扩张满意情况^[4]。

①扩张满意:9.5~10.0mm金属扩张棒穿过宫颈内口,过程中无明显或轻微阻力感、整个扩张过程<3min、术中出血量少于20mL,宫腔镜鞘进出宫颈无过“梗”感,为满意。②扩张基本满意:8mm金属扩张棒可顺畅穿过宫颈内口,阻力感不明显,经依次扩张,8.5~10.0mm金属扩张棒均可穿过宫颈内口,但扩张时有轻微阻力感;同时整个扩张过程时间为3~5min,术中出血量少于20mL,宫腔镜鞘进出宫颈无过“梗”感,为基本满意。③扩张不满意:6.5mm金属扩张棒可穿过宫颈内口,轻微阻力感,经依次扩张后7.0~8.5mm金属扩张棒可穿过,但过程中随着金属扩张棒依次递增,阻力感增加;同时整个扩张过程时间>5min,术中出血量20mL左右,宫腔镜鞘进出宫颈有轻微过“梗”感,为不满意。④扩张失败:4mm金属扩张棒可困难穿过宫颈内口,穿过宫颈口时过“梗”感明显,因宫颈坚韧,阻力大,金属扩张棒无法依次扩张,手术无法进行。宫颈扩张的总满意度=扩张满意+扩张基本满意^[5]。

1.3.2 不良反应 主要观察记录患者宫颈置管或阴道放置药物后,出现的阴道少量流血、下腹坠胀不适感、腹痛、呕吐、腹泻等症状。不良反应发生率=所有不良反应发生例数/总例数(合并多种不良反应的统计时按1人次统计)×100%。

1.4 统计学分析 采用SPSS 26.0软件进行数据录入和统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 或 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用 t 检验和秩和检验;分类资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验或秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般资料对比 两组患者在年龄、孕产史、婚育史、宫腔操作史、分娩次数等方面差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表1。

表1 两组患者一般资料对比[$n=20, M(P_{25}, P_{75})$]

组别	机械组	药物组	χ^2/Z	P
年龄/岁	43.50 (28.25, 47.75)	45.00 (33.00, 50.50)	0.907	0.364
有自然分娩史	8	9	0.102	0.749
有宫腔操作史	1	0		1.000*
已绝经	2	6	1.406	0.236
未孕未育	3	1	0.278	0.598
仅有剖宫产史	7	4	1.129	0.288
分娩次数	0.0(0.0, 1.0)	0.5(0.0, 1.0)	0.666	0.505

注: * Fisher确切概率法。

2.2 两组患者扩张宫颈所需时间、出血量、宫腔镜鞘进出宫颈管顺畅度及总满意度对比 结果显示,两组在术中扩张宫颈所需时间、出血量、宫腔镜鞘进出宫颈管顺畅度及满意度上差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表2。

表2 两组患者术中扩张宫颈所需时间、出血量、宫腔镜鞘进出宫颈管顺畅度及总满意度对比[$n=20, n(\%)$]

组别	机械组	药物组	Z/χ^2	P	
扩张时间/min	<3	17	16	0.450	0.653
	3~5	2	2		
	>5	1	2		
术中出血量/mL	<10	9	9	0.170	0.865
	10~20	10	11		
	>20	1	0		
鞘进出宫颈管顺畅情况	顺畅	17	16	0.450	0.653
	基本顺畅	2	2		
	有过“梗”感	1	2		
	过“梗”感明显	0	0		
满意度	满意	17	16		
	基本满意	2	2		
	不满意	1	2		
总满意度	无效	0	0		
		19 (95.00%)	18 (90.00%)	0.000	1.000

2.3 两组患者术后一般情况对比 结果显示,两组在术后腹泻、术后腹痛和阴道坠胀发生情况上差异均无统计学意义($P > 0.05$);药物组不良体验发生情况高于机械组,差异有统计学意义($P < 0.01$),见表3。机械组术后平均住院时间(2.20 ± 0.75)d长于药物组(1.55 ± 0.50)d,差异有统计学意义($t = 3.153, P = 0.003$)。

表3 两组患者术后一般情况对比

组别	机械组(n=20)	药物组(n=20)	χ^2	P
术后腹泻	0	5	3.657	0.560
术后腹痛	1	6	2.771	0.960
阴道坠胀	0	4	2.500	0.114
不良体验	0	16	26.667	<0.001

3 讨论

宫腔镜通过直视宫颈管及宫腔内情况,对病灶进行精确取材,可显著降低漏诊率,临床应用日益广泛,且因其利用天然腔道无创的特点,患者易接受。但宫腔镜手术时间一旦过长,可导致稀释性低钠血症等并发症的发生,因此宫腔镜操作的总时间及顺利与否直接关系到术中术后并发症的发生情况及严重程度。女性宫颈,特别是绝经后的宫颈(因激素撤退萎缩)^[6],在非妊娠期不易扩张,作为宫腔镜鞘进出手术空间的必经之路,宫颈的软化及扩张程度直接影响到手术顺利与否。如宫颈扩张不充分,宫腔镜外鞘进出宫颈管会有过“梗”感,严重者可致宫颈撕裂、子宫穿孔等并发症^[7]。因此,满意的宫颈扩张不仅可缩短术中总操作时间,也降低相关不良反应的发生率^[8]。

我们通过对这两种方案的对比,发现两种方案在宫颈扩张总满意度上相似,但是术后平均住院时间机械组长于药物组,且在术后因副作用有不良体验对比上,机械组发生率低于药物组,这可能是由于卡前列甲酯栓分类属前列腺素类,遇热及黏液可溶解,能降低宫颈结缔组织羟脯氨酸含量,激活胶原溶解酶及弹性蛋白酶,进而分解胶原纤维^[9],具有促宫颈成熟、扩张宫颈作用,但因其同时对子宫平滑肌有明显的激动效果,可促进患者全身多个部位平滑肌的收缩^[10],患者用药后可出现腹痛、呕吐及腹泻等不良反应,甚至有些患者的不良反应延续到术后。

而导尿管机械扩张宫颈,其材料易获得,相比使用药物,价格更低廉,不会增加患者的经济负担,且放置过程简单,具有可逆性,而宫颈有效扩张能够减少术中扩张宫颈的时间,允许宫腔镜鞘顺畅进出宫颈管,缩短术中操作时间的同时也降低了总体并发症发生率,保证了手术成功率,患者亦不会因副反应而产生恐惧心理。

综上所述,虽然在宫腔镜术前宫颈预处理应用宫颈管置入14号无菌导尿管不能较药物提高宫颈扩张满意度,但其可以降低不良反应的发生率,且其易于操作、经济,值得临床推广。

【参考文献】

- [1] 单进芳. 子宫颈裂伤30例临床观察[J]. 基层医学论坛, 2014, 18(S1):157-158.
- [2] 肖福香, 李际红, 孟德祺, 等. 宫腔镜术前米索前列醇三种给药方式的临床观察[J]. 黑龙江医药, 2019, 32(1):8-10.
- [3] 林其德, 杨孜, 古航, 等. 卡前列甲酯临床应用专家共识(2013年版)[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2013, 29(6):431-433.
- [4] 赵辉, 冯力民, 周菁, 等. Lamiken-R 宫颈扩张棒的临床研究[J]. 中国妇产科临床杂志, 2017, 18(4):301-304.
- [5] 尹君, 于君, 刘娟蓉. 一次性导尿管联合间苯三酚在宫腔镜术前宫颈预处理的临床效果[J]. 中国综合临床, 2020, 36(6):544-547.
- [6] 谢幸, 孔北华, 段涛. 妇产科学[M]. 9版. 北京: 人民卫生出版社, 2018:83-92.
- [7] 夏恩兰, 刘玉环, 黄晓武, 等. 宫腔镜诊治术21892例的并发症分析: 中华医学会第十次全国妇产科学术会议妇科内镜会场(妇科内镜学组)[C]. 厦门, 2012.
- [8] 中华医学会妇产科学分会妇科内镜学组. 宫腔镜手术子宫颈预处理临床实践指南[J]. 中华妇产科杂志, 2020, 55(12):813-818.
- [9] 李晓燕, 郭琳雯, 王陶然, 等. 绝经后异常子宫出血患者宫腔镜术前三种宫颈预处理方法的临床比较[J]. 北京医学, 2019, 41(3):198-201.
- [10] 顾向应. 宫腔操作前宫颈预处理专家共识[J]. 中华生殖与避孕杂志, 2020(1):3-8.

冠脉内重复溶栓对高血栓负荷 STEMI 患者的影响

代中礼,钱福东,冯俊,储岳峰,朱杰

(安徽医科大学附属六安医院 六安市人民医院 心血管内科,安徽 六安 237000)

【摘要】目的:探讨冠脉内重复溶栓对高血栓负荷 ST 段抬高型心肌梗死(STEMI)患者的影响。**方法:**选取 120 例行急诊经皮冠脉介入(PCI)的高血栓负荷 STEMI 患者,分为单次溶栓组(60 例)和重复溶栓组(60 例)。单次溶栓组患者于梗死血管血栓内推注 10 mg 重组尿激酶原,然后行经皮冠脉腔内成形术(PTCA),重复溶栓组待 PTCA 术后再次于病变处推注 10 mg 重组尿激酶原,两组患者视情况决定支架植入策略。分析两组患者心肌梗死溶栓(TIMI)血流、出血并发症、心功能及主要不良心脏事件。**结果:**重复溶栓组患者 PTCA 术后 TIMI 血流、PCI 术后 Killip 分级优于单次溶栓组($P<0.05$),而两组出血事件差异无统计学意义($P>0.05$)。重复溶栓组患者 PCI 术后左室舒张末直径(LVEDD)、左室舒张末容积(LVEDV)低于单次溶栓组,左室射血分数(LVEF)高于单次溶栓组($P<0.05$)。两组患者 PCI 术后 B 型钠尿肽(BNP)均升高($P<0.05$),但重复溶栓组 BNP 升高幅度低于单次溶栓组($P<0.05$)。PCI 术后 3 个月,重复溶栓组患者 LVEDD、LVEDV 同样低于单次溶栓组,LVEF 高于单次溶栓组($P<0.05$),总主要不良心脏事件及心力衰竭发生率低于单次溶栓组($P<0.05$)。**结论:**冠脉内重复溶栓能够增加高血栓负荷 STEMI 患者 TIMI 血流,同时未增加出血风险,提高住院期间及术后 3 个月心功能,改善心脏预后。

【关键词】ST 段抬高型心肌梗死;血栓负荷;溶栓

【中图分类号】R 542.22 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.010

Effect of repeated intracoronary thrombolysis on STEMI patients with high thrombus load

DAI Zhongli, QIAN Fudong, FENG Jun, CHU Yuefeng, ZHU Jie

Department of Cardiology, The Affiliated Lu'an Hospital of Anhui Medical University/Lu'an People's Hospital, Lu'an 237000, China

【Abstract】Objective: To investigate the effect of repeated intracoronary thrombolysis on ST-segment elevation myocardial infarction(STEMI) patients with high thrombus load. **Methods:** One hundred and twenty STEMI patients with high thrombus load undergoing primary percutaneous coronary intervention (PCI) were included, and divided into single thrombolysis group(ST group, $n=60$) and repeated thrombolysis group(RT group, $n=60$). Patients in ST group received infusion of 10mg recombinant prourokinase into intracoronary thrombus in the infarcted vessel, followed by percutaneous transluminal coronary angioplasty (PTCA), and those in the RT group were infused with 10mg recombinant prourokinase into the lesion after PTCA. Stent implantation was decided according to the situation in both groups. The two groups were analyzed concerning thrombolysis in myocardial infarction(TIMI) blood flow, complicated bleeding, cardiac function and major adverse cardiac events. **Results:** Patients in RT group had better post-PTCA TIMI blood flow and post-PCI Killip level than those in ST group ($P<0.05$), yet no significant difference was observed in the occurrence of bleeding events between two groups ($P>0.05$). Patients in RT group had lower left ventricular end diastolic diameter(LVEDD), lower left ventricular end diastolic volume(LVEDV), and higher left ventricular ejection fraction(LVEF) than those in ST group post-PCI ($P<0.05$). B-type natriuretic peptide(BNP) was increased significantly in both groups post-PCI ($P<0.05$), whereas the increase extent of BNP in RT group was significantly lower than that in ST group ($P<0.05$). Patients in RT group also had lower LVEDD and LVEDV, yet higher LVEF than those in ST group three months following PCI ($P<0.05$), and lower incidence of total major adverse cardiac events and heart failure than that in ST group ($P<0.05$). **Conclusion:** Repeated intracoronary thrombolysis could improve TIMI blood flow of STEMI patients with high thrombus load without increasing the risk of bleeding, enhance the cardiac function during hospitalization and three months after PCI, and improve cardiac prognosis.

【Key words】ST-segment elevation myocardial infarction; thrombus load; thrombolysis

急性 ST 段抬高型心肌梗死(ST-segment elevation myocardial infarction, STEMI)常继发血栓形成,

部分伴有大量血栓负荷。急诊经皮冠脉介入(percutaneous coronary intervention, PCI)是 STEMI 标准

基金项目:安徽省重点研究与开发计划项目(1704f0804045);安徽医科大学科学研究基金项目(2020xkj228)

收稿日期:2021-06-15

作者简介:代中礼(1985-),男,主治医师,(电话)18919770939,(电子信箱)daizhongli1985@126.com;

冯俊,男,主任医师,(电子信箱)fengbenjun2009@163.com,通信作者。

治疗方案,但伴有高血栓负荷的患者仍有较高比例发生无复流、远端血栓栓塞、支架内再狭窄及不良心血管事件^[1]。血栓抽吸曾作为该类患者主要治疗方法之一,但三项大型 RCT 研究显示常规血栓抽吸并不能改善 STEMI 患者预后,且有增加脑卒中风险^[2],2017 年欧洲心脏病学会(European society of cardiology, ESC)指南将常规血栓抽吸作为 III 类推荐^[3]。研究显示冠脉内溶栓改善冠脉血流,减少不良心血管事件^[4-5]。临床上高负荷血栓患者经过冠脉内溶栓后仍可见相当血栓残存,球囊扩张术后血栓碎裂、脱落,远端微血栓发生风险仍较大^[6],重复溶栓可能是解决方法之一。本研究探讨冠脉内重复溶栓对高负荷血栓 STEMI 患者心肌梗死溶栓(thrombolysis in myocardial infarction, TIMI)血流、出血并发症、心功能及主要不良心脏事件的影响。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取六安市人民医院 2018 年 1 月 ~ 2020 年 12 月 120 例首次发作并行急诊 PCI 治疗的高血栓负荷 STEMI 患者,男性 91 例,女性 29 例,年龄 36 ~ 87 岁。导丝通过后进行 TIMI 血栓分级(TIMI thrombus grade, TTG),TTG ≥ 3 级为高血栓负荷^[7],患者随机分为单次溶栓组 60 例和重复溶栓组 60 例。近 3 个月内有活动性消化道出血及脑出血史、凝血功能障碍、恶性肿瘤未治疗、冠脉血运重建手术史、院外已行溶栓及梗死血管再通者均排除本研究之外。

1.2 冠脉内溶栓操作 术中视血管情况选择预扩球囊,注射器针头刺破预扩球囊形成 6 个微孔,肝素盐水冲洗数次。待导丝到达梗死血管远端,单次溶栓组送入刺破球囊至梗死血管血栓内,10 mL 生理盐水充分溶解 10 mg 注射用重组人尿激酶原(天士力生物医药股份有限公司,生产批号 S20110003)并经球囊缓慢推注,持续 3 min,然后行经皮冠脉腔内成形术(percutaneous transluminal coronary angioplasty, PTCA)。重复溶栓组患者待 PTCA 术后,将原刺破球囊肝素盐水冲洗数次后,沿导丝送至病变处,再次缓慢推注 10 mg 注射用重组人尿激酶原,持续 3 min。上述操作术后复查造影评估效果,血栓负荷仍较重者,给予血栓抽吸处理,存在慢复流或无复流,给予联合应用替罗非班、硝酸甘油等处理。血栓消失且 TIMI 3 级者即刻支架植入处理,溶栓后冠脉狭窄不严重者,暂不考虑支架植入,其他患者择期复查冠脉造影,必要时延迟支架植入术。术中必要时应用主动脉球囊反搏(3 例)或临时起搏器植入术

(6 例)。

1.3 随访 术后 3 个月完成随访,随访内容为主要不良心脏事件,包括死亡、非致死性心肌梗死或再发心绞痛、心力衰竭(包括原有心衰复发、加重或出院后首次发作心衰)、靶血管重建。同时复查超声心动图,重点记录左室舒张末直径(left ventricular end diastolic diameter, LVEDD)、左室舒张末容积(left ventricular end diastolic volume, LVEDV)及左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)。

1.4 统计学分析 应用 SPSS 26.0 统计软件进行数据分析。正态分布计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间资料比较采用两独立样本 *t* 检验;偏态分布计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用 Mann-Whitney 检验;术前、术后 B 型钠尿肽(B-type natriuretic peptide, BNP)比较采用配对资料的 Wilcoxon 符号秩和检验;计数资料以例数表示,组间资料比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者住院期间基本资料比较 重复溶栓组患者术后 LVEDD、LVEDV 低于单次溶栓组, LVEF 高于单次溶栓组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组患者住院期间基本资料的比较($n=60, \bar{x} \pm s$)

基本资料	单次溶栓组	重复溶栓组	<i>t</i> / <i>Z</i> / χ^2	<i>P</i>
年龄/岁	61.5 ± 11.9	64.4 ± 12.1	1.331	0.186
性别(男/女)	46/14	45/15	0.045	0.831
高血压	30	28	0.133	0.715
糖尿病	15	13	0.186	0.666
吸烟	15	14	0.045	0.831
高血脂	10	12	0.223	0.637
发病至入门时间/h	4.0 (3.0, 7.9)	5.0 (3.0, 7.0)	0.743	0.458
门-球时间/min	67.0 (56.0, 77.5)	62.0 (56.5, 71.0)	0.583	0.560
超声心动图指标				
LVEDD/mm	49.5 ± 6.4	47.3 ± 5.1	2.081	0.040
LVEDV/mL	103.1 ± 13.9	98.2 ± 11.1	2.110	0.037
LVEF/%	49.0 ± 12.8	53.8 ± 13.2	2.040	0.044
出院时用药情况				
阿司匹林肠溶片	60	60	-	-
硫酸氢氯吡格雷片 或替格瑞洛片	60	60	-	-
他汀类药物	60	60	-	-
β受体阻滞剂	47	49	0.208	0.648
ACEI/ARB	41	40	0.038	0.845

注:ACEI 为血管紧张素转化酶抑制剂;ARB 为血管紧张素 II 受体阻滞剂。

2.2 两组患者冠脉病变特征及介入治疗情况 重复溶栓组患者 PTCA 术后 TIMI 血流、PCI 术后 Killip 分级优于单次溶栓组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),两组患者术后出血事件差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

2.3 两组患者术前及术后 BNP 分析 两组患者术前 BNP 差异无统计学意义($P > 0.05$),术后 BNP 均较术前升高,差异均有统计学意义($P < 0.05$),但重复溶栓组术后 BNP 升高幅度低于单次溶栓组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

2.4 两组患者术后 3 个月超声心动图指标分析 PCI 术后 3 个月,重复溶栓组患者 LVEDD、LVEDV 低于单次溶栓组,而 LVEF 高于单次溶栓组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

2.5 两组患者主要不良心脏事件比较 PCI 术后 3 个月,重复溶栓组总主要不良心脏事件及心力衰竭发生率低于单次溶栓组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而组间死亡、非致命性心肌梗死或再发心绞痛、靶血管重建发生率差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 5。

3 讨论

冠脉内定向注入重组尿激酶原溶栓具有用药少,直接作用血栓以及不增加出血及卒中并发症等优势,具有良好的有效性和安全性^[5,8]。高血栓 STEMI 患者 PCI 术前给予冠脉内溶栓仍有部分血栓残留,这些血栓经过球囊扩张挤压后碎裂、脱落并形成微血栓闭塞远端血管,严重影响血流恢复,恶化疾病预后^[9]。为此,我们选择冠脉内重复溶栓,以期增加血栓溶解,减少无复流,增加冠脉血流灌注。

表 2 两组患者冠脉病变特征及介入治疗情况

指标	单次溶栓组 (n=60)	重复溶栓组 (n=60)	t/Z/ χ^2	P
冠脉病变严重程度			0.136	0.713
单支病变	33	35		
双支/三支病变	27	25		
Syntax 评分	23.0±4.6	23.5±5.4	0.565	0.573
梗死血管分布情况			0.552	0.759
前降支	37	34		
右冠	19	20		
回旋支	4	6		
梗死血管病变特征				
钙化病变	6	5	0.100	0.752
分叉病变	5	7	0.370	0.543
完全性闭塞病变	42	39	0.342	0.559
血栓抽吸	8	3	2.502	0.114
术前 TIMI 血流			0.058	0.810
0~2 级	50	49		
3 级	10	11		
球囊扩张时间/s	10.9±4.1	10.0±3.8	1.240	0.217
PTCA 术后 TIMI 血流 [#]			4.183	0.041
0~2 级	13	5		
3 级	47	55		
支架植入策略			3.295	0.193
单纯球囊扩张	2	5		
即刻支架植入	52	53		
延迟支架植入	6	2		
支架植入数量/枚	1.0	1.0	0.826	0.409
	(1.0,1.0)	(1.0,2.0)		
术前 Killip 分级			0.141	0.707
I/II	36	38		
III/IV	24	22		
术后 Killip 分级			4.675	0.031
I/II	45	54		
III/IV	15	6		
血管活性药物	7	5	0.370	0.543
术后出血事件	4	5	0.000	1.000

注: #单次溶栓组即单次冠脉内溶栓+PTCA,重复溶栓组即两次冠脉内溶栓+PTCA。

表 3 两组患者术前、术后 BNP 水平比较

组别	n	术前	术后	差值	Z _{配对}	P _{配对}
单次溶栓组	60	137.2(97.4,195.1)	678.7(418.3,967.6)	530.9(293.3,801.1)	6.692	<0.001
重复溶栓组	60	117.9(80.1,179.6)	377.8(230.3,606.2)	233.5(48.1,454.5)	6.309	<0.001
Z		1.060		4.493		
P		0.289		<0.001		

表 4 两组患者术后 3 个月超声心动图指标分析

指标	单次溶栓组 (n=56)	重复溶栓组 (n=57)	t	P
LVED/mm	51.5±6.8	48.7±6.9	2.155	0.033
LVEDV/mL	114.4±12.4	108.0±10.0	3.010	0.003
LVEF/%	47.4±13.6	52.6±12.2	2.237	0.027

注: 单次溶栓组 3 个月内死亡 4 例(3 例心源性休克,1 例猝死),重复溶栓组死亡 3 例(1 例心源性休克,2 例猝死),予以剔除。

表 5 两组患者主要不良心脏事件比较

不良心脏事件	单次溶栓组 (n=60)	重复溶栓组 (n=60)	χ^2	P
死亡	4	3	0.000	1.000
非致死性心肌梗死 或再发心绞痛	4	2	0.175	0.675
心力衰竭	13	5	4.183	0.041
靶血管重建	0	0	-	-
总计	21	10	5.263	0.022

本研究重复溶栓组患者共发生 5 例非致命性出血(2 例穿刺点出血、2 例皮下淤血瘀斑、1 例牙龈出血),单次溶栓组发生 4 例非致命性出血(1 例穿刺点出血、1 例皮下淤血瘀斑、2 例牙龈出血),均未出现致命性出血事件,两者差异无统计学意义,说明冠脉内重复溶栓并不增加出血风险,有良好的安全性。

患者 PTCA 术后 TIMI 0 ~ 2 级血流总占比 15%,仍有相当部分患者发生无复流或慢复流,这一结果与高血栓负荷病变特征有关。患者大多来自丘陵山区,农村患者就医不便,有半数以上患者缺血时间(发病至入门时间+门-球时间)>6 h,研究显示缺血时间(发病至球囊扩张时间)>6 h 者,冠脉斑块纤维蛋白纤维成分显著增加,导致血栓更为浓厚、坚固,不利于血栓抽吸及溶解,影响血流恢复及预后^[10-11]。Zhang 等研究亦提示缺血时间与冠脉血栓组成成分相关,>6 h 者慢复流、无复流发生率显著升高^[12]。为此我们推测球囊扩张后血栓斑块结构变得松散,接触面发生改变,重复溶栓可能增加闭塞处及远端血栓溶解,减少无复流、慢复流的发生。与本研究人群相对应的高血栓负荷(TTG \geq 3 级)STEMI 患者血栓抽吸结果^[13]显示,血栓抽吸后 15.2% 存在血栓残留,无复流比例(TIMI \leq 2)达 27.6%,本研究单次溶栓组患者无复流发生率 21.67%,提示对于高负荷血栓患者,溶栓疗效不高于血栓抽吸,同时重复溶栓组无复流发生率(8.33%)低于单次溶栓组,说明冠脉内重复溶栓能够有效恢复高血栓负荷 STEMI 患者梗死冠脉血流。

重复溶栓组患者住院期间 Killip III/IV 级比例下降,术后 BNP 升高幅度降低,超声心动图指标改善,说明重复溶栓能够改善 STEMI 术后短期心功能。术后 3 个月,重复溶栓组患者仍具有较低 LVEDD、LVEDV 以及较高 LVEF,其总不良心脏事件发生率下降,主要表现为心力衰竭发病率的下降,符合超声心动图特点,提示冠脉内重复溶栓能够改善高血栓负荷 STEMI 患者术后 3 个月心功能及预后,这一结果可能主要得益于前向血流的恢复,继而延缓心室重构。

综上所述,冠脉内重复溶栓能够增加高血栓负荷 STEMI 患者 TIMI 血流,同时未增加出血风险,提高住院期间及术后 3 个月心功能,改善心脏预后。

【参考文献】

[1] KUMAR V, SHARMA AK, KUMAR T, *et al.* Large intracoronary thrombus and its management during primary PCI [J]. *Indian Heart J*, 2020, 72(6): 508-516.

[2] JOLLY SS, JAMES S, DŽAVÍK V, *et al.* Thrombus aspiration in ST-segment-elevation myocardial infarction: an individual patient meta-analysis; thrombectomy trialists collaboration [J]. *Circulation*, 2017, 135(2): 143-152.

[3] IBANEZ B, JAMES S, AGEWALL S, *et al.* 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation; the task force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC) [J]. *Eur Heart J*, 2018, 39(2): 119-177.

[4] PELLICCIA F, GRECO C, TANZILLI G, *et al.* Long-term outcome of patients with ST-segment elevation myocardial infarction treated with low-dose intracoronary thrombolysis during primary percutaneous coronary intervention; the 5-year results of the DISSOLUTION trial [J]. *J Thromb Thrombolysis*, 2021, 51(1): 212-216.

[5] GRECO C, PELLICCIA F, TANZILLI G, *et al.* Usefulness of local delivery of thrombolytics before thrombectomy in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention (the delivery of thrombolytics before thrombectomy in patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention [DISSOLUTION] randomized trial) [J]. *Am J Cardiol*, 2013, 112(5): 630-635.

[6] JAFFE R, CHARRON T, PULEY G, *et al.* Microvascular obstruction and the no-reflow phenomenon after percutaneous coronary intervention [J]. *Circulation*, 2008, 117(24): 3152-3156.

[7] JOLLY SS, CAIRNS JA, LAVI S, *et al.* Thrombus aspiration in patients with high thrombus burden in the TOTAL trial [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2018, 72(14): 1589-1596.

[8] FU Y, GU XS, HAO GZ, *et al.* Comparison of myocardial microcirculatory perfusion after catheter-administered intracoronary thrombolysis with anisodamine versus standard thrombus aspiration in patients with ST-elevation myocardial infarction [J]. *Catheter Cardiovasc Interv*, 2019, 93(S1): 839-845.

[9] PORTO I, BIASUCCI LM, DE MARIA GL, *et al.* Intracoronary microparticles and microvascular obstruction in patients with ST elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous intervention [J]. *Eur Heart J*, 2012, 33(23): 2928-2938.

[10] SILVAIN J, COLLET JP, GUEDENEY P, *et al.* Thrombus composition in sudden cardiac death from acute myocardial infarction [J]. *Resuscitation*, 2017, 113: 108-114.

[11] HUGELSHOFER S, ROFFI M, WITASSEK F, *et al.* Impact of total ischemic time on manual thrombus aspiration benefit during primary percutaneous coronary intervention [J]. *Am Heart J*, 2018, 204: 34-42.

[12] ZHANG MJ, LIU X, LIU LH, *et al.* Correlation between intracoronary thrombus components and coronary blood flow after percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction at different onset time [J]. *World J Clin Cases*, 2019, 7(15): 2013-2021.

[13] AHN SG, CHOI HH, LEE JH, *et al.* The impact of initial and residual thrombus burden on the no-reflow phenomenon in patients with ST-segment elevation myocardial infarction [J]. *Coron Artery Dis*, 2015, 26(3): 245-253.

IL-6、PNI 与老年慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者预后的关系

高建荣,叶亚兰,高 硕,仰 杰,孟凡亮

(安徽医科大学附属巢湖医院 呼吸科,安徽 合肥 238000)

【摘要】目的:探讨白细胞介素-6(IL-6)、预后营养指数(PNI)与老年慢性阻塞性肺疾病急性加重期(AECOPD)患者预后的关系。**方法:**选取2018年5月~2020年5月在安徽医科大学附属巢湖医院就诊且治疗好转出院的120例老年AECOPD患者为研究对象,根据患者出院后180d临床结局分为死亡组($n=45$)和存活组($n=75$),分析临床相关指标与老年AECOPD患者预后的关系。**结果:**多因素Cox回归分析结果显示高IL-6、低PNI为老年AECOPD患者预后的独立危险因素($P<0.05$)。生存分析发现高IL-6、低PNI患者平均生存时间较短。**结论:**高IL-6、低PNI与老年AECOPD患者不良预后关系密切。

【关键词】老年;慢性阻塞性肺疾病;白细胞介素-6;预后营养指数;预后

【中图分类号】R 563.9;R 446.11 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.011

IL-6 and prognostic nutritional index and the prognosis in elderly patients with chronic obstructive pulmonary disease in acute exacerbation stage

GAO Jianrong, YE Yalan, GAO Shuo, YANG Jie, MENG Fanliang

Department of Respiratory Medicine, Affiliated Chaohu Hospital of Anhui Medical University, Hefei 238000, China

【Abstract】Objective:To investigate the relationship between interleukin-6 (IL-6) level and prognostic nutritional index (PNI) and the prognosis in elderly patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease (AECOPD). **Methods:**One hundred and twenty elderly AECOPD patients treated in our hospital and discharged with recovery were included from May 2018 to May 2020. By the clinical outcomes in 180 days after discharge, the patients were divided into death group ($n=45$) and survival group ($n=75$). Then the relationship between clinically related indicators and the prognosis was analyzed in the elderly AECOPD patients. **Results:**Multivariate Cox regression analysis showed that high IL-6 level and low PNI were independent risk factors for the prognosis of elderly AECOPD patients($P<0.05$). Survival analysis demonstrated that patients with high IL-6 and low PNI had lower average survival time. **Conclusion:**High IL-6 level and low PNI are closely related to the poor prognosis of elderly AECOPD patients.

【Key words】the elderly; chronic obstructive pulmonary disease; IL-6; prognostic nutritional index; prognosis

慢性阻塞性肺部疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是以持续气流受限为特征的呼吸科常见的慢性疾病,好发于40岁以上人群,威胁中老年人健康。《全球疾病负担研究》显示,COPD位于全球死因榜第五位^[1]。慢性阻塞性肺部疾病急性加重期(acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease, AECOPD)是患者COPD病情突然进展加重,以咳嗽、呼吸困难等临床症状加重明显,可伴有呼吸衰竭,是COPD患者住院、死亡的主要原因^[2]。既往研究报道AECOPD院内病死率接近10%,3个月病死率接近40%^[3-4],危及患者

生命安全。因此,在临床工作中识别AECOPD预后不佳人群,进行早期干预,对降低AECOPD病死率意义重大。AECOPD潜在作用机制尚不明了,但有学者认为其预后与炎症反应、免疫应答、营养状况等因素存在相关性^[5]。基于此本研究中以易于检测的血常规、肝功能、白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)为指标,探讨其与AECOPD患者预后的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取2018年5月~2020年5月在

基金项目:安徽高校自然科学基金项目(KJ2018A0667)

收稿日期:2021-05-21

作者简介:高建荣(1987-),女,主治医师,(电话)15956507603,(电子信箱)504118513@qq.com;

孟凡亮,男,副主任医师,(电子信箱)13966337677@163.com,通信作者。

安徽医科大学附属巢湖医院就诊且治疗好转出院的120例老年AECOPD患者为研究对象,根据患者出院后180d临床结局分为死亡组($n=45$)和存活组($n=75$)。纳入标准:①根据相关标准诊断为AECOPD^[6];②年龄 ≥ 60 岁。排除标准:①存在严重的心、脑、肝、肾等疾病者;②合并肿瘤患者;③存在严重代谢性疾病;④存在自身免疫性疾病。出院后,根据患者GLOD稳定期分组标准分为A组2例(1.7%),B组5例(4.2%),C组10例(8.3%),D组93例(77.5%)(GLOD稳定期分组定义:近1年内急性加重未导致住院发生0~1次,且CAT评分 < 10 分,mMRC评分0~1分为A组;近1年内急性加重未导致住院发生0~1次,且CAT评分 ≥ 10 分或mMRC评分 ≥ 2 分为B组;近1年内急性加重发生 ≥ 2 次,或急性加重导致住院发生 ≥ 1 次,且CAT评分 < 10 分,mMRC评分0~1分为C组;近1年内急性加重发生 ≥ 2 次,或急性加重导致住院发生 ≥ 1 次,且CAT评分 ≥ 10 分或mMRC评分 ≥ 2 分为D组)。稳定期治疗方案:吸入长效胆碱拮抗剂4例(3.3%);糖皮质激素联合长效 β 受体激动剂21例(17.5%),糖皮质激素、长效 β 受体激动剂联合长效胆碱拮抗剂85例(70.8%)。末次随访中,患者服药完全依从46例(38.3%),服药部分依从44例(36.6%),服药完全不依从30例(25.0%)。随访结束时,45例患者死亡,其中26例死于呼吸衰竭,15例死于感染,4例死于合并疾病。

1.2 方法

1.2.1 一般临床资料 收集患者一般临床资料,如年龄、性别、婚姻状况等。

1.2.2 实验室指标 入院后第2日清晨抽取患者空腹肘静脉血5mL,采用迈瑞血常规分析仪检测患者血常规,包括血红蛋白(Haemoglobin, Hb)、红细胞分布宽度(red cell distribution width, RDW)、中性粒细胞(Neutrophil, NEUT)、淋巴细胞计数(Lymphocyte, LY)等,使用罗氏Cobas8000生化仪检测患者生化指标,包括白蛋白(Albumin, ALB)、前白蛋白(Prealbumin, PAB)、肌酐(Creatinine, Cr)、尿素氮(blood urea nitrogen, BUN),预后营养指数(prognostic nutritional indicators, PNI)=ALB+5 \times LY。采用酶联免疫吸附法检测C反应蛋白(C reactive protein, CRP)、IL-6、IL-8、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)等(试剂由武汉华联科生物科技有限公司提供)。

1.3 随访观察 对纳入研究的患者进行随访研究,随访中观察患者服药依从性,服药依从性根据近1周按照医嘱服药程度,分为完全依从(每周 > 5 d按时服药)、部分依从($5 \text{ d} \geq$ 每周按时服药 $\geq 3 \text{ d}$)、完全不依从(每周 $< 3 \text{ d}$ 按时服药),服药依从性=完全依从例数/总例数。随访时间为180d,以患者是否死亡为观察终点,记录患者临床结局。

1.4 统计学分析 应用SPSS 26.0软件进行数据分析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验,计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验拟合受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,确定各指标预测AECOPD的截断值,并采用单因素、多因素Cox风险回归模型分析影响AECOPD预后的因素,绘制Kaplan-Meier生存曲线。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者入院相关指标比较 死亡组患者年龄、IL-6、IL-8、TNF- α 、CRP、RDW高于存活组,而Hb、LY、ALB、PAB、PNI低于存活组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表1。

表1 两组患者入院相关指标比较[$\bar{x} \pm s, n(\%)$]

指标		存活组($n=75$)	死亡组($n=45$)	t/χ^2	P
性别	男	63(84.00)	37(82.22)	0.064	0.800
	女	12(16.00)	8(17.78)		
年龄/岁		77.45 \pm 4.81	80.33 \pm 4.91	3.149	0.002
IL-6/(pg/mL)		92.64 \pm 22.23	102.18 \pm 22.58	2.262	0.025
IL-8/($\mu\text{g/mL}$)		5.81 \pm 1.26	6.53 \pm 1.37	2.926	0.004
TNF- α /(ng/L)		4.85 \pm 1.77	5.89 \pm 2.70	2.562	0.012
CRP/($\mu\text{g/mL}$)		5.31 \pm 1.22	6.94 \pm 1.77	5.963	< 0.001
Hb/(g/L)		107.11 \pm 9.98	100.79 \pm 8.01	3.480	< 0.001
NEUT/($\times 10^9/\text{L}$)		5.20 \pm 1.22	5.31 \pm 1.15	0.488	0.626
LY/($\times 10^9/\text{L}$)		2.08 \pm 0.58	1.67 \pm 0.41	4.154	< 0.001
RDW		35.08 \pm 3.77	40.30 \pm 3.50	7.586	< 0.001
Cr/($\mu\text{mol/L}$)		55.83 \pm 27.13	64.16 \pm 27.97	1.609	0.110
BUN/($\mu\text{mol/L}$)		5.09 \pm 1.91	5.69 \pm 1.95	1.653	0.101
ALB/(g/L)		32.87 \pm 5.25	30.07 \pm 5.15	2.848	0.005
PAB/(mg/g)		129.51 \pm 26.51	117.42 \pm 24.47	2.488	0.014
PNI		43.27 \pm 5.54	38.42 \pm 5.49	4.658	< 0.001

2.2 AECOPD患者生存率的单因素Cox回归分析

单因素Cox回归分析结果显示年龄、IL-6、IL-8、TNF- α 、CRP、Hb、LY、RDW、BuN、PNI与老年AECOPD患者生存率存在相关性($P < 0.05$),见表2。

表2 AECOPD患者生存率的单因素Cox回归分析

指标	n	生存率/%	HR	95% CI	P
性别					
男	100	63.00	1.093	0.509 ~ 2.348	0.821
女	20	60.00			
年龄/岁					
60~79	69	73.91	2.513	1.383 ~ 4.569	0.003
80~	51	47.06			
IL-6/(pg/mL)					
<131.5	109	68.81	6.218	3.064 ~ 12.618	<0.001
≥131.5	11	0.00			
IL-8/(μg/mL)					
<7.15	86	70.93	2.496	1.384 ~ 4.499	0.002
≥7.15	34	41.18			
TNF-α/(ng/L)					
<7.45	98	72.45	3.970	2.177 ~ 7.240	<0.001
≥7.45	22	18.18			
CRP/(μg/mL)					
<7.45	104	69.23	4.647	2.419 ~ 8.926	<0.001
≥7.45	16	18.75			
Hb/(g/L)					
<126.5	94	57.45	0.411	0.193 ~ 0.704	<0.001
≥126.5	26	80.77			
NEUT/(×10 ⁹ /L)					
<4.35	33	69.70	1.498	0.742 ~ 3.028	0.260
≥4.35	87	59.77			
LY/(×10 ⁹ /L)					
<2.18	78	47.44	0.138	0.049 ~ 0.386	<0.001
≥2.18	42	90.48			
RDW					
<37.6	60	88.33	7.521	3.345 ~ 16.911	<0.001
≥37.6	60	36.67			
Cr/(μmol/L)					
<45.5	34	76.47	1.992	0.927 ~ 4.280	0.077
≥45.5	86	56.98			
BUN/(μmol/L)					
<5.5	32	100.00	38.994	2.881 ~ 527.695	0.006
≥5.5	88	48.86			
ALB/(g/L)					
<36.5	96	60.42	0.738	0.344 ~ 1.586	0.437
≥36.5	24	70.83			
PAB/(mg/g)					
<120.5	53	52.83	0.580	0.322 ~ 1.044	0.580
≥120.5	67	70.15			
PNI					
<36.2	31	38.71	0.329	0.181 ~ 0.596	<0.001
≥36.2	89	70.79			

2.3 AECOPD患者生存率的多因素Cox回归分析

根据单因素分析结果按照P<0.10的标准共有年龄、IL-6、IL-8等11个变量进入多因素Cox回归模型(向前法)。结果显示高IL-6、低PNI是老年AE-

COPD患者预后独立危险因素(P<0.05),见表3。

表3 AECOPD患者生存率的多因素Cox回归分析

变量	B	S. E.	Wald χ ²	P	HR	95% CI
IL-6	1.733	0.378	21.032	0.000	5.657	2.697 ~ 11.862
PNI	-1.176	0.317	13.750	0.000	0.309	0.166 ~ 0.574

2.4 不同IL-6、PNI的AECOPD患者生存曲线 将IL-6、PNI分别按照131.5pg/mL、38.2为截点值,将患者分为高水平组和低水平组。进一步进行生存分析发现,高IL-6、低PNI患者平均生存时间较短[(97.91±11.95)d vs. (154.43±4.35)d, (119.03±10.44)d vs. (159.78±4.06)d, Log Rankχ² = 33.364、14.932, P均<0.001)],见图1、2。

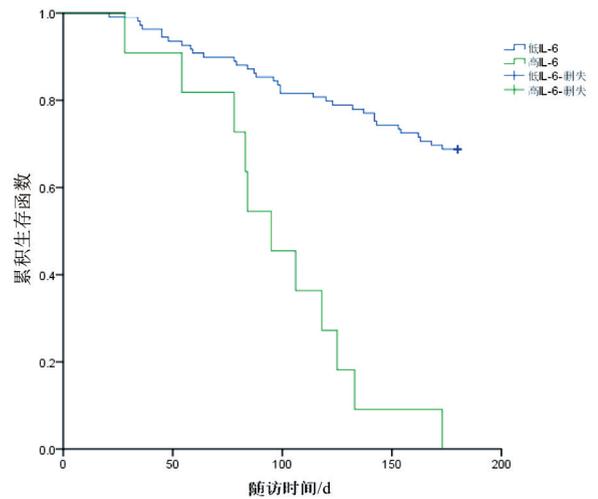


图1 不同IL-6的AECOPD患者生存曲线

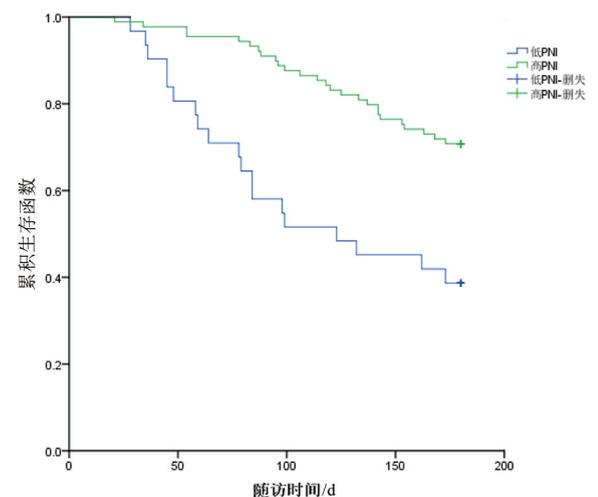


图2 不同PNI的AECOPD患者生存曲线

3 讨论

随着人口老龄化和环境污染不断加剧,COPD的患病率逐年增加,相关研究显示我国40岁以上人群COPD的患病率高达13.7%,已成为我国重要公

共卫生问题之一^[7]。AECOPD 是由于各种诱因引起的 COPD 持续恶化,增加 COPD 患者病死率。因此,早期发现 AECOPD 预后不良患者进行必要的干预、治疗对改善 AECOPD 患者临床结局意义重大。

相关研究表明炎症反应在 AECOPD 的发生发展中发挥重要作用,IL-6 是常见的炎症因子,其是由单核细胞、T 淋巴细胞等细胞产生,参与多种炎症反应^[8],在炎症状态下 IL-6 等炎症因子被释放,IL-6 通过增加气道局部胶原蛋白凝聚、沉淀进而诱导成纤维细胞增殖和细胞间质纤维化而改变气道结构和功能^[9],这些均表明 IL-6 与 COPD 密切相关,潘彬等^[10]研究发现 IL-6 的水平可作为 COPD 严重程度以及疗效观察的预测指标。而在 AECOPD 相关机制研究中亦发现升高的 IL-6 可将红细胞聚集,形成微血栓,进而影响血管修复,加重肺部功能受损^[11]。Liang 等^[12]在动物、人体的研究中均证明 IL-6 与 COPD 严重程度相关,另有 Meta 分析显示 AECOPD 患者 IL-6 水平明显高于稳定期^[13]。本研究结果发现死亡组患者入院后 IL-6 均高于存活组,多因素 Cox 回归分析发现高水平 IL-6 是 AECOPD 患者预后不良的危险因素,且在随访研究中发现高水平 IL-6 的 AECOPD 患者生存时间较短,均表明 IL-6 与 AECOPD 患者不良预后存在关联。

营养状况与各种疾病治疗效果、预后密切相关。COPD 患者长期低氧血症使胃肠道淤血,同时治疗使用的茶碱类药物,易使胃肠道菌群发生紊乱影响食物消化吸收。再者,COPD 患者气流持续受限,用于呼吸的能量消耗增加,这些因素均增加 COPD 患者营养不良的风险,使患者预后不佳^[13-14]。PNI 将患者营养状态、免疫状况综合一起,用于评价肿瘤、手术患者的预后^[15]。而最新的研究显示该指标亦可用于心血管疾病的预后评价^[16],但其在呼吸系统疾病中鲜有报道,本研究观察其与 AECOPD 患者预后的关系,结果发现 PNI 为 AECOPD 预后的保护因素,生存分析发现低 PNI 患者生存时间短于高 PNI。

综上所述,IL-6、PNI 易于检测,且不增加患者额外费用,对预测 AECOPD 患者预后有一定价值,值得临床医生关注,但本研究也存在不足之处,其样本量仅为 120 例,且该研究为单中心研究,故仍需要多中心、大样本的研究验证该结论。

【参考文献】

[1] 林展增. 中国慢性阻塞性肺疾病流行病学研究进展[J]. 河北北方学院学报(自然科学版),2020,36(8):49-51,56.

- [2] JACOBS DM, NOYES K, ZHAO JW, *et al.* Early hospital readmissions after an acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease in the nationwide readmissions database[J]. *Ann Am Thorac Soc*, 2018, 15(7):837-845.
- [3] ECHEVARRIA C, STEER J, HESLOP-MARSHALL K, *et al.* Validation of the DECAF score to predict hospital mortality in acute exacerbations of COPD[J]. *Thorax*, 2016, 71(2):133-140.
- [4] SAKAMOTO Y, YAMAUCHI Y, YASUNAGA H, *et al.* Development of a nomogram for predicting in-hospital mortality of patients with exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease[J]. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis*, 2017, 12:1605-1611.
- [5] 刘成, 胡俊峰. COPD 急性加重危险因素的研究进展[J]. 国际呼吸杂志, 2017, 37(7):520-526.
- [6] 中国老年医学学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 中国老年慢性阻塞性肺疾病临床诊治实践指南[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2020, 43(2):100-119.
- [7] WANG C, XU J, YANG L, *et al.* Prevalence and risk factors of chronic obstructive pulmonary disease in China (the China Pulmonary Health CPH study): a national cross-sectional study[J]. *Lancet*, 2018, 391(10131):1706-1717.
- [8] 潘美妮, 罗贵贵, 李霖霖, 等. IL-6 与慢性阻塞性肺疾病关系的研究进展[J]. 医学综述, 2018, 24(24):4796-4801, 4807.
- [9] SHAHRIARY A, PANAHY Y, SHIRALI S, *et al.* Relationship of serum levels of interleukin 6, interleukin 8, and C-reactive protein with forced expiratory volume in first second in patients with mustard lung and chronic obstructive pulmonary diseases: systematic review and meta-analysis[J]. *Postepy Dermatol Alergol*, 2017, 34(3):192-198.
- [10] 潘彬, 孙建, 郑鹏城, 等. 血清 TK1、PCT、IL-6 水平在 AECOPD 患者中的表达及其意义[J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27(7):1121-1124, 1129.
- [11] GHODADI H, ASLANI MR, HOSSEINIAN A, *et al.* The Correlation of serum brain natriuretic peptide and interleukin-6 with quality of life using the chronic obstructive pulmonary disease assessment Test[J]. *Med Princ Pract*, 2017, 26(6):509-515.
- [12] LIANG R, ZHANG W, SONG YM. Levels of leptin and IL-6 in lungs and blood are associated with the severity of chronic obstructive pulmonary disease in patients and rat models[J]. *Mol Med Rep*, 2013, 7(5):1470-1476.
- [13] CHEN YW, LEUNG JM, SIN DD. A systematic review of diagnostic biomarkers of COPD exacerbation[J]. *PLoS ONE*, 2016, 11(7):456-459.
- [14] 吴振云, 钮美娥, 陈奕, 等. 慢性阻塞性肺疾病患者营养支持的研究进展[J]. 护理管理杂志, 2016, 16(12):880-882.
- [15] 万芳竹, 李媛媛, 崔德芝. 慢性阻塞性肺疾病营养不良的研究进展[J]. 山东医药, 2015, 55(29):101-103.
- [16] 许文娟, 康妍萌, 周玲, 等. 预后营养指数评估中晚期非小细胞肺癌患者预后的临床应用价值[J]. 中华肿瘤杂志, 2017, 39(2):146-149.
- [17] 哈力努尔·奥斯曼. 预后营养指数与慢性心力衰竭合并房颤患者预后相关性研究[D]. 乌鲁木齐:新疆医科大学, 2020.

老年 2 型糖尿病患者估算的肾小球滤过率降低的危险因素分析

王 芬,吴方团,孙 艳,朱德发

(安徽医科大学第一附属医院 老年内分泌科,安徽 合肥 230000)

【摘要】目的:探讨老年 2 型糖尿病(T2DM)患者估算的肾小球滤过率(eGFR)下降的危险因素。**方法:**回顾性分析 90 例应用动态血糖监测(CGM)系统进行血糖监测的住院老年 T2DM 患者,根据 eGFR 分组,eGFR ≥ 90 mL/(min \cdot 1.73m²)为 eGFR 正常组(51 例);eGFR < 90 mL/(min \cdot 1.73m²)为 eGFR 下降组(39 例)。同时收集患者年龄、糖尿病病程、肾功能以及血脂、糖化血红蛋白(HbA1c)、尿微量白蛋白/肌酐比值(UACR)、平均血糖波动幅度(MAGE)等资料。比较两组患者各临床指标的差异,分析 eGFR 下降的危险因素。**结果:**两组患者在体质量指数(BMI)、HbA1c、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、肌酐(Cr)、UACR 和 MAGE 上差异均有统计学意义($P < 0.05$)。相关分析结果显示,eGFR 与年龄、BMI、HbA1c、LDL-C、Cr、UACR 及 MAGE 均呈负相关($P < 0.05$)。Logistic 回归分析显示,高 BMI、HbA1c、Cr 及 MAGE 水平是老年 T2DM 患者 eGFR 下降的独立危险因素($P < 0.05$)。**结论:**高 BMI、HbA1c、Cr 及 MAGE 是老年 T2DM 患者 eGFR 下降的独立危险因素。

【关键词】老年 2 型糖尿病;估算的肾小球滤过率;动态血糖监测;平均血糖波动幅度

【中图分类号】R 587.1;R 692.6 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.012

Risk factors of decreased estimated glomerular filtration rate in elderly patients with type 2 diabetes mellitus

WANG Fen, WU Fangtuan, SUN Yan, ZHU Defa

Department of Geriatric Endocrinology, The First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230000, China

【Abstract】Objective: To investigate the risk factors of decreased estimated glomerular filtration rate (eGFR) in elderly patients with type 2 diabetes mellitus (T2DM). **Methods:** Retrospective analysis was performed in 90 hospitalized elderly T2DM patients whose blood glucose were monitored by continuous glucose monitoring (CGM) system. Patients were grouped into normal eGFR [eGFR ≥ 90 mL/(min \cdot 1.73m²), $n = 51$] and declined eGFR [eGFR < 90 mL/(min \cdot 1.73m²), $n = 39$] according to eGFR. Clinical indexes, including the age, duration of diabetes, renal function, serum lipid concentration, glycosylated hemoglobin (HbA1c) level, urinary albumin-to-creatinine ratio (UACR) and mean blood glucose fluctuation (MAGE), were collected and compared for the differences between the two groups to analyze the risk factors of declined eGFR. **Results:** The two groups were significantly different in the body mass index (BMI), levels of HbA1c, triglycerides (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), creatinine (Cr), UACR and MAGE (all $P < 0.05$). Correlation analysis showed that eGFR was negatively correlated with age, BMI, HbA1c, LDL-C, Cr, UACR and MAGE (all $P < 0.05$), and logistic regression analysis indicated that higher BMI, levels of HbA1c, Cr and MAGE were independent risk factors for eGFR decline in T2DM patients (all $P < 0.05$). **Conclusion:** Higher BMI and levels of HbA1c, Cr and MAGE are independent risk factors of decreased eGFR in elderly patients with T2DM.

【Key words】 type 2 diabetes mellitus, the elderly; estimated glomerular filtration rate; continuous glucose monitoring; mean blood glucose fluctuation

在美国乃至全球,糖尿病都是慢性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)和终末期肾病(end-stage kidney disease, ESKD)的主要病因。目前临床上糖尿病肾病的分期主要依据尿白蛋白排泄率。有研究显示,估算的肾小球滤过率(estimated glomerular

filtration rate, eGFR)的下降可能作为预测糖尿病患者肾脏疾病的一个有用参数,而不依赖于尿蛋白的发生^[1]。目前,老年 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)患者 eGFR 降低的危险因素尚不明确。本研究通过对 90 例老年 T2DM 患者进行动

基金项目:安徽省高校自然科学研究重点项目(KJ2018A0196)

收稿日期:2021-06-01

作者简介:王 芬(1987-),女,主治医师,(电话)13955129466,(电子信箱)Wangfen13955129466@163.com;

朱德发,男,主任医师,(电子信箱)zdfa0168@sina.com,通信作者。

态血糖监测(continuous glucose monitoring, CGM)及收集相关临床资料,探讨老年 T2DM 患者 eGFR 下降的危险因素,为老年 T2DM 肾脏疾病的防治提供指导。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2018 年 11 月~2021 年 1 月于安徽医科大学第一附属医院内分泌科及老年内分泌科住院治疗的 90 例老年 T2DM 患者,年龄 62~75 岁,中位年龄 67 岁。将 90 例患者根据 eGFR 进行分组,eGFR \geq 90 mL/(min \cdot 1.73 m 2)为 eGFR 正常组(51 例);eGFR $<$ 90 mL/(min \cdot 1.73 m 2)为 eGFR 下降组(39 例)。纳入标准:①T2DM 诊断依据 1999 年世界卫生组织(WHO)的糖尿病分类和诊断标准进行;②两组均应用 CGM 系统进行连续 14 d 血糖监测。排除标准:①1 型糖尿病患者;②有糖尿病急性并发症的患者;③有肝病、甲状腺疾病、下丘脑、垂体等明显影响血糖的疾病;④糖尿病急性并发症;⑤有重症感染、脓毒血症等应激状态,伴其他重要组织疾病者。

1.2 观察指标及测定方法

1.2.1 基线资料 收集患者的一般资料,包括年龄、性别、病程,测量身高、体质量,计算 BMI。患者于入院后第 2 天清晨采集空腹静脉血,采用全自动生化分析仪测定血清尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)、糖化血红蛋白(HbA1c)、总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)等。所有患者均采集尿液送检,测定即时尿标本的白蛋白/肌酐比值(albumin-to-

creatinine ratio, UACR),参考范围 $<$ 2.5 mg/mmoL。eGFR 采用慢性肾脏病流行病学合作工作组(CKD-EPI)公式计算,即:eGFR = a \times [(血肌酐(mg/dL)/b)] $^c \times (0.993)^{\text{年龄}(y)}$ (其中女性 a=144, b=0.7;男性 a=141, b=0.9; c=-1.209)。

1.2.2 动态血糖监测(CGM) 所有入选的老年 T2DM 患者均佩戴雅培辅理善瞬感扫描式葡萄糖监测系统(型号:LibreH)14 d。瞬感监测系统每 5 分钟存储 1 个平均值,每天记录 288 个血糖测定值,共佩戴 14 d,14 d 后进行数据分析。血糖监测指标包括血糖平均值(MBG):血糖值的平均水平;血糖标准差(SDBG):血糖值的标准差;平均血糖波动幅度(MAGE):CGM 期间,当血糖波动幅度大于 SDBG 为 1 次有效波动,此次波动的峰值与谷值的差值为波动幅度,MAGE 为所有波动幅度的平均值。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 26.0 统计分析软件。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 或 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用 t 检验或非参数 Mann-Whitney U 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,组间比较采用 χ^2 检验。相关性分析采用 Pearson 或 Spearman 相关,并采用多因素 Logistic 回归模型分析老年 T2DM 患者 eGFR 下降的危险因素。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者基线指标比较 两组患者性别、年龄、病程、TC、HDL-C、BUN、MBG 及 SDBG 的差异无统计学意义($P > 0.05$);两组患者在 BMI、HbA1c、TG、LDL-C、Cr、UACR 和 MAGE 指标上差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者基线资料及单因素分析[$\bar{x} \pm s, M(P_{25}, P_{75})$]

基线资料	eGFR 正常组(n=51)	eGFR 下降组(n=39)	$t/\chi^2/Z$	P
性别(男/女)	32/19	19/20	1.771	0.183
年龄/岁	66.38(62,70)	68.50(64,75)	1.740	0.082
BMI/(kg/m 2)	23.72(22.47,25.56)	25.61(24.31,27.44)	3.398	0.001
病程/年	10.00(6.75,19.00)	12.50(10.00,20.00)	1.561	0.118
HbA1c/%	8.00(7.48,9.20)	9.45(8.15,11.75)	4.020	0.000
TC/(mmol/L)	4.22(3.53,4.77)	4.20(3.38,5.08)	0.303	0.762
TG/(mmol/L)	1.51(0.93,2.05)	1.72(1.40,2.50)	2.083	0.037
HDL-C/(mmol/L)	1.11(0.81,1.42)	1.04(0.85,1.18)	1.256	0.209
LDL-C/(mmol/L)	2.17(1.80,2.50)	2.68(2.11,3.54)	3.771	0.000
BUN/(mmol/L)	6.50 \pm 1.82	7.06 \pm 1.64	1.564	0.121
Cr/(μ mol/L)	62.03 \pm 10.55	81.34 \pm 11.27	8.351	0.000
UACR/(mg/mmoL)	2.79 \pm 0.95	21.23 \pm 9.03	12.704	0.000
MBG/(mmol/L)	9.08 \pm 1.71	9.15 \pm 1.72	0.224	0.824
SDBG/(mmol/L)	3.37 \pm 1.01	3.35 \pm 1.07	0.099	0.921
MAGE/(mmol/L)	4.97 \pm 1.15	6.56 \pm 1.26	6.433	0.000

2.2 eGFR 与各指标相关性分析 结果显示,eGFR 与年龄、BMI、HbA1c、LDL-C、Cr、UACR 及 MAGE 均呈负相关,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 影响 eGFR 的多因素 Logistic 回归分析 根据单因素分析结果, $P<0.10$ 的变量进入多因素模型。即以 eGFR 是否 $<90 \text{ mL}/(\text{min} \cdot 1.73\text{m}^2)$ 为因变量,

以性别、年龄、BMI、HbA1c、TG、LDL-C、Cr 及 MAGE 为自变量,进行二分类多因素 Logistic 回归分析。结果显示,高 BMI、HbA1c、Cr 及 MAGE 水平为老年 T2DM 患者 eGFR 下降的独立危险因素($P<0.05$)。见表3。

表2 eGFR 与各指标的相关性分析

	性别*	年龄*	BMI*	病程*	HbA1c*	TC*	TG*	HDL-C*	LDL-C*	BUN	Cr	UACR	MBG	SDBG	MAGE
<i>r</i>	-0.231	-0.352	-0.258	-0.078	-0.321	-0.019	-0.182	0.092	-0.316	-1.374	-0.741	-0.377	-0.052	0.068	-0.473
<i>P</i>	0.057	0.000	0.008	0.424	0.000	0.834	0.076	0.408	0.002	0.182	0.000	0.000	0.661	0.501	0.000

注:*为 Spearman 相关。

表3 eGFR 下降危险因素的 Logistic 回归分析

变量	变量赋值	<i>B</i>	<i>S. E.</i>	<i>Wald</i> χ^2	<i>P</i>	<i>OR</i>	<i>95% CI</i>
性别	男					1.000	
	女	1.679	0.982	2.925	0.087	5.361	0.783 ~ 36.724
年龄/岁	<65					1.000	
	≥ 65	1.064	0.896	1.409	0.235	2.898	0.500 ~ 16.793
BMI/(kg/m ²)	<24					1.000	
	≥ 24	3.546	1.279	7.690	0.006	34.677	2.829 ~ 425.125
HbA1c/%	<7					1.000	
	≥ 7	3.066	1.103	7.728	0.005	21.447	2.470 ~ 186.225
TG/(mmol/L)	<1.7					1.000	
	≥ 1.7	0.792	1.003	0.624	0.430	2.208	0.309 ~ 15.754
LDL-C/(mmol/L)	<2.6					1.000	
	≥ 2.6	0.911	4.664	0.038	0.845	2.487	0.000 ~ 23 214.585
Cr/($\mu\text{mol/L}$)	<73					1.000	
	≥ 73	4.244	1.397	9.222	0.002	69.661	4.503 ~ 1 077.686
MAGE/(mmol/L)	每增加1	1.441	0.424	11.578	0.001	4.226	1.842 ~ 9.694
Constant		-17.514	6.199	7.983	0.005		

3 讨论

糖尿病引起的慢性肾脏损伤日益受到关注,Metsarinne 等^[2]研究发现,T2DM 患者肾功能减退及白蛋白尿患病率较高,合并肾功能减退高于合并尿微量白蛋白的患病率。人们曾认为尿白蛋白中度升高是典型糖尿病肾小球病变临床可检出的最早生物标志物^[3],但现今研究表明,白蛋白尿作为糖尿病肾脏疾病早期标志物存在局限性^[4],eGFR 降低更有预后价值,eGFR 逐年下降与心血管事件的发生息息相关^[5-6]。因此,研究老年 T2DM 患者 eGFR 降低的危险因素,对其进行早期干预,具有更好的临床指导价值。

本研究结果显示,与 eGFR 正常组相比,eGFR 下降组 BMI、HbA1c、TG、LDL-C、Cr、UACR、MAGE 水平更高,提示 eGFR 下降组患者存在更明显的糖

脂代谢紊乱,尿白蛋白排泄率更高,血糖、血脂控制更不理想。相关分析结果显示,eGFR 与年龄、BMI、HbA1c、LDL-C、Cr、UACR 及 MAGE 均呈负相关,进一步 Logistic 回归分析显示,BMI、HbA1c、Cr、MAGE 为老年 T2DM 患者 eGFR 下降的独立危险因素。BMI 高通常提示患者体型偏胖,通常情况下存在脂代谢异常与胰岛素抵抗,本研究结果提示 eGFR 下降组 LDL-C 更高。Hirano^[7]研究表明,糖尿病高脂血症与胰岛素抵抗和心血管事件的发生有关,LDL-C 还可以通过与肾小球系膜细胞上的 LDL 受体相结合,导致系膜细胞和足细胞损伤加重,蛋白尿及肾小管间质纤维化进展,进而影响肾血流量以及肾小球滤过率。因此,积极控制体质量,纠正脂代谢紊乱对防治老年 T2DM 肾脏疾病具有重要意义。另外,本研究结果显示,eGFR 下降组 UACR 水平更高,与

eGFR 呈负相关。有研究显示,当尿白蛋白水平升高时,患者死亡风险、CKD 进展风险及 ESKD 风险均呈梯度升高,且不依赖于 eGFR^[8]。现有研究表明,在白蛋白尿发生之前或不伴白蛋白尿的情况下,也可以出现 eGFR 降低甚至是进展至 CKD 晚期^[4]。以上研究结果提示,相对于单独使用 UACR,联合使用 eGFR 和 UACR 可以更好地预测患者进展至 ESKD 的风险。这些研究结果对于早期干预糖尿病肾病进展至 ESKD 具有重要的指导意义。

本研究中所有入组患者均采用 CGM 系统进行连续 14 d 的血糖监测,可以更全面地反映患者的血糖控制情况,了解血糖波动趋势,便于指导患者治疗方案的调整并改善生活质量^[9]。HbA1c 是反映近期 2~3 个月血糖控制的良好指标之一。本研究中,eGFR 下降组 HbA1c 水平高于 eGFR 正常组,同时,MBG 显示两组患者血糖高于正常,均提示两组患者近期血糖控制不理想,且进一步 Logistic 分析提示 HbA1c 是 eGFR 下降的独立危险因素,糖尿病控制和并发症实验、英国前瞻性糖尿病研究等证据表明,良好的血糖控制能有效降低糖尿病肾病的风险。

良好的血糖控制不仅仅包括平均血糖控制良好,近年来血糖波动受到更多关注。根据 CGM 系统监测结果计算出的 MAGE 被公认为评估血糖变异性的“金标准”。血糖波动可能是糖尿病并发症发展关键的决定因素^[10]。本研究结果表明两组患者在 MBG 差异无统计学意义的情况下,MAGE 在 eGFR 下降组更高,是老年 T2DM 患者 eGFR 下降的独立危险因素。有研究^[11-13]表明高的血糖变异性与 T2DM 患者低血糖风险增加、心血管疾病风险增加以及病死率增加等有关。虽然其潜在机制尚未完全弄清,但越来越多的证据表明,血糖波动与内皮功能障碍、炎症和氧化应激有关^[13-14],这些因素与血管损伤和动脉粥样硬化的发病机制有关,与糖尿病血管并发症有密切关系^[11,15],提示平稳降糖对于延缓糖尿病肾脏疾病的发生同样有着重要的意义。

综上所述,出现 eGFR 下降的老年 T2DM 患者较 eGFR 正常的 T2DM 患者 BMI、HbA1c、血脂更高,血糖波动更明显。BMI、HbA1c、Cr、MAGE 为老年 T2DM 患者 eGFR 下降的独立危险因素。提示临床上老年 T2DM 患者通过积极控制体质量,平稳控制血糖达标,能够延缓糖尿病肾脏疾病的发生发展。

【参考文献】

- [1] PUGLIESE G. Updating the natural history of diabetic nephropathy [J]. *Acta Diabetol*, 2014, 51(6):905-915.
- [2] METSARINNE K, BROIJERSEN A, KANTOLA I, *et al*. High prevalence of chronic kidney disease in Finnish patients with type 2 diabetes treated in primary care [J]. *Prim care Diabetes*, 2015, 9(1):31-38.
- [3] MOGENSEN CE, CHRISTENSEN CK, VITTINGHUS E. The stages in diabetic renal disease: with emphasis on the stage of incipient diabetic nephropathy [J]. *Diabetes*, 1983, 32(Suppl 2):64-78.
- [4] KROLEWSKI AS, NIEWCZAS MA, SKUPIEN J, *et al*. Early progressive renal decline precedes the onset of microalbuminuria and its progression to macroalbuminuria [J]. *Diabetes Care*, 2014, 37(1):226-234.
- [5] KROLEWSKI AS. Progressive renal decline: the new paradigm of diabetic nephropathy in type 1 diabetes [J]. *Diabetes Care*, 2015, 38(6):954-962.
- [6] FUJISAWA T, SUZUKI S, ARITA T, *et al*. Decline in eGFR over time and incidence of cardiovascular events: Shinken database analysis [J]. *J Cardiol*, 2021, 77(6):626-633.
- [7] HIRANO T. Pathophysiology of diabetic dyslipidemia [J]. *J Atheroscler Thromb*, 2018, 25(9):771-782.
- [8] LEVEY AS, DE JONG PE, CORESH J, *et al*. The definition, classification, and prognosis of chronic kidney disease: a KDIGO Controversies Conference report [J]. *Kidney Int*, 2011, 80(1):17-28.
- [9] 纪立农. 工欲善其事,必先利其器—新的糖尿病监测和治疗手段正在将糖尿病治疗和管理带入新时代 [J]. *中国糖尿病杂志*, 2018, 26(1):1-2.
- [10] MATSUMOTO A, KUWATA H, KIMURA S, *et al*. Hollow fiber-combined glucose-responsive gel technology as an in vivo electronics-free insulin delivery system [J]. *Commun Biol*, 2020, 3(1):313.
- [11] UMPIERREZ GE, KOVATCHEV B. Glycemic variability: how to measure and its clinical implication for type 2 diabetes [J]. *Am J Med Sci*, 2018, 356(6):518-527.
- [12] CERIELLO A, MONNIER L, OWENS D. Glycaemic variability in diabetes: clinical and therapeutic implications [J]. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2019, 7(3):221-230.
- [13] KAZE AD, SANTHANAM P, ERQOU S, *et al*. Long-term variability of glycemic markers and risk of all-cause mortality in type 2 diabetes: the look ahead study [J]. *BMJ Open Diabetes Res Care*, 2020, 8(2):e001753.
- [14] 王亚双, 吕肖锋, 张敏郁, 等. 血糖波动对 2 型糖尿病下肢血管病变患者血管内皮功能的影响及危险因素分析 [J]. *解放军医药杂志*, 2014(26):21-25.
- [15] 宫倩倩, 吕肖锋, 洛佩. 2 型糖尿病患者血糖波动与下肢血管病变的关系 [J]. *解放军医药杂志*, 2013, 25(11):43-45.

半定量超声在风湿性多肌痛疗效评估中的价值

汪筱莞, 贾兰兰, 冯丹丹, 徐 亮

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 风湿免疫科, 安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:探讨肩、髋部位半定量多普勒超声检查在风湿性多肌痛(PMR)疗效评估中的应用价值。**方法:**收集30例初诊PMR患者临床资料,小剂量糖皮质激素治疗24周。分析多普勒超声半定量积分与实验室指标相关性,比较治疗前后实验室指标及多普勒超声半定量积分变化情况。**结果:**30例患者中27例(90%)有肱二头肌肌腱腱鞘炎,23例(76.67%)有股骨转子滑囊炎,8例(26.67%)有肩峰下三角肌滑囊炎。基线时肩、髋关节平均积液量为(528.77±306.15)mm²,平均超声半定量积分为8.17±3.84。血小板计数与肩、髋超声积液量($r_s=0.419$)及积分($r_s=0.441$)均呈正相关($P<0.05$)。10例患者治疗后ESR、CRP、PMR-AS等均较基线时改善($P<0.05$)。肩、髋总积液量及其半定量积分数值较基线时下降($P<0.05$);10例PMR患者治疗24周后临床明显缓解,部分患者仍存在超声下炎性表现。**结论:**超声下肩、髋积液量和半定量积分与PMR临床炎症并无显著相关性。PMR治疗临床缓解后,超声积液量有显著减少,但部分患者积液量并未完全消失。超声作为PMR疗效评估参数值得商榷。

【关键词】风湿性多肌痛;半定量多普勒超声;疗效评估

【中图分类号】R 445.1;R 593.2 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.013

Value of semi-quantitative ultrasound in evaluating the curative effect of polymyalgia rheumatica

WANG Xiaowan, JIA Lanlan, FENG Dandan, XU Liang

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

【Abstract】Objective:To assess the value of semi-quantitative Doppler ultrasonography in evaluating curative efficacy polymyalgia rheumatic (PMR) in shoulder and hip. **Methods:** Clinical data were obtained from 30 PMR patients undergone medication with low dose glucocorticoid for 24 weeks. The correlation was analyzed on the semi-quantitative scores by Doppler ultrasound and laboratory indicators, and the changes of laboratory indicators and semi-quantitative scores were compared before and after therapy. **Results:** In the 30 patients, 27 (90%) had biceps tenosynovitis of shoulder, 23 (76.67%) had trochanteric bursitis of hip joint, and 8 (26.67%) had subacromial/subdeltoid bursitis. The mean fluid volume of the shoulder and hip was (528.77±306.15)mm² at baseline, and the mean ultrasound semi-quantitative scoring was 8.17±3.84. Platelet count was correlated with ultrasonic effusion volume of shoulder and hip ($r_s=0.419, P=0.021$) and score ($r_s=0.441, P=0.015$). Erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP) and PMR activity score (PMR-AS) as well as the total effusion volume of shoulder and hip, together with semi-quantitative integral value were significantly improved in 10 patients after treatment compared with the baseline index (all $P<0.05$). Another 10 patients of PMR showed significant clinical remission, yet some patients still had inflammatory manifestations under ultrasound after 24 weeks of treatment. **Conclusion:** There is no significant correlation between the volume of shoulder and hip effusion and the semi-quantitative score by ultrasonography. Medication may lead to clinical remission of PMR and significantly decreased ultrasonic volume of effusion, yet the effusion does not disappear completely in some patients, which suggests that ultrasonography remains questionable as a parameter for evaluating the curative efficacy of PMR.

【Key words】polymyalgia rheumatic; semi-quantitative Doppler ultrasound; effect evaluation

风湿性多肌痛(polymyalgia rheumatica, PMR)是发生于50岁以上人群,仅次于类风湿关节炎的常见慢性炎症性风湿病,临床特征是颈、肩、髋疼痛和僵硬,伴有急性期反应物升高^[1]。2012年欧洲风湿病

联盟(European league against rheumatism, EULAR)/美国风湿病学院(American college of rheumatology, ACR)将肩、髋超声纳入分类标准^[1],提出肩峰-三角肌下(subacromial/subdeltoid, SAD)滑囊炎、肱二头

基金项目:芜湖市科技计划项目(2020ms3-4);皖南医学院中青年科研基金项目(WK2020F16)

收稿日期:2021-06-20

作者简介:汪筱莞(1989-),女,住院医师,(电话)13866652125,(电子信箱)m13866652125@163.com;

徐 亮,男,主任医师,(电子信箱)xuliang_6657@163.com,通信作者。

肌长肌腱(long head of the biceps, LHB)腱鞘炎、股骨转子滑囊炎等是诊断 PMR 的重要依据。

2015 年 EULAR/ACR 对于 PMR 的管理意见中推荐对 PMR 患者进行规律的随访,监测患者疾病的活动情况、实验室检查和不良反应^[3]。目前,临床上常用红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、视觉模拟评分法(visual analogue scale, VAS)计算 PMR 活动评分(PMR activity score, PMR-AS),用于判断疾病活动程度及评估疗效^[4]。但上述指标易受贫血、感染、高脂血症等外界因素及患者主观因素影响。近年来,人们对超声是否可以作为 PMR 疗效评估进行了研究, Maria 等^[5]的研究中采用超声影像是否存在异常作为评判标准, Ayano 等^[6]的研究采用半定量的 0~3 分进行疗效评定。

2018 年 8 月,我院风湿免疫科启动了 PMR 的小剂量糖皮质激素治疗的单中心、前瞻性、随机对照注册研究(注册号:ChiCTR 1800019715)。已有 30 例初诊患者入组,其中 10 例完成了为期 24 周的随访研究计划。本研究整理这些患者临床及超声资料,评价半定量多普勒超声在 PMR 疗效评估中的作用。

1 资料与方法

1.1 研究对象 30 例初诊 PMR 患者,男性 4 例,女性 26 例,年龄 50~78(66.07±9.02)岁。诊断符合 2012 年 EULAR/ACR 修订的 PMR 分类标准^[1],临床表现为巨细胞动脉炎或随访中诊断为其他疾病的患者予以排除。30 例患者均完成肩、髌超声检查。10 例完成 24 周随访,并于 24 周末进行超声复查。

1.2 研究方法 收集基线以及治疗 24 周时的临床资料、实验室指标和超声影像学数据。肩、髌多普勒超声由固定专职超声医生进行,使用 8~12 MHz 探头的 Aplio 超声设备(TOSHIBA Medical Systems),记录肩部 LHB 腱鞘炎积液量、肩部 SAD 滑囊炎积液量及股骨转子滑囊炎积液量。参考 Cantini 等^[7]研究对积液量进行半定量积分。无积液,记 0 分;积液量<50 mm²,记 1 分;50~100 mm²,记 2 分,>100 mm²记 3 分。

1.3 统计学分析 采用 SPSS 26.0 软件进行统计分析。符合正态分布的定量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,偏态资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用配对 *t* 检验或配对符号秩和检验。使用 Spearman 相关分析评估随访期间肩、髌超声与炎症性参数变化之间的相关性。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 初诊 PMR 患者临床资料 30 例患者从起病到诊断中位时间为 4.3 个月(0.3~12 个月);中位晨僵时间 120 min(60~240 min),平均 ESR(66.13±27.03)mm/h,平均 CRP(40.64±19.01)mg/L,平均血清铁蛋白(239.48±117.89)ng/mL,平均血红蛋白(103.73±13.68)g/L,平均血小板计数(259.93±75.02)×10⁹/L,中位 PMR-AS 为 30.32(25.82, 47.83)。

2.2 初诊 PMR 患者基线时超声表现 30 例 PMR 患者超声下均有阳性表现,其中 27 例(90%)有 LHB 腱鞘炎,23 例(76.67%)有股骨转子滑囊炎,8 例(26.67%)有 SAD 滑囊炎。30 例患者各部位平均积液量为(528.77±306.15)mm²,平均积分为 8.17±3.84(见表 1)。提示超声下 LHB 腱鞘炎最常见,股骨转子积液量最多。

表 1 初诊 PMR 患者肩、髌超声表现及半定量积分 [$\bar{x} \pm s, M(P_{25}, P_{75})$]

	<i>n</i>	积液量/mm ²	积分
左 LHB	27	44.80(25.20,71.40)	1.44±0.70
右 LHB	27	41.48(35.36,97.82)	1.56±0.85
左 SAD	8	36.30(19.40,79.20)	1.43±0.79
右 SAD	8	83.41(38.50,110.46)	2.13±0.83
左股骨转子滑囊炎	23	249.68±128.01	3.00±0.00
右股骨转子滑囊炎	23	245.47±86.09	2.96±0.21
肩、髌各部位	30	528.77±306.15	8.17±3.84

2.3 肩、髌积液量与 PMR 活动性相关分析 为评估半定量超声与 PMR 炎症的关系,对超声下积液量、积分与疾病炎症参数进行相关分析。结果显示,血小板计数与肩、髌超声积液量及半定量积分均呈正相关,差异有统计学意义(*P*<0.05),见表 2。

表 2 30 例初诊 PMR 患者超声与临床指标相关分析

指标	总积液量		半定量积分	
	<i>r_s</i>	<i>P</i>	<i>r_s</i>	<i>P</i>
晨僵时间/min	0.114	0.549	0.149	0.431
ESR/(mm/h)	-0.004	0.985	-0.023	0.903
CRP/(mg/L)	0.196	0.299	0.242	0.198
血红蛋白/(g/L)	-0.101	0.597	-0.071	0.708
血小板/(×10 ⁹ /L)	0.419	0.021	0.441	0.015
PMR-AS	0.183	0.333	0.290	0.121

2.4 10 例 PMR 患者临床与超声动态观察 10 例患者经小剂量糖皮质激素治疗,并完成 24 周的随访,治疗后晨僵时间、ESR、CRP、血红蛋白、血小板、PMR-AS 均较基线时改善(*P*<0.05),见表 3,提示小剂量皮质激素治疗 PMR 有效。

为评估超声下积液能否作为 PMR 治疗疗效的观察指标,对比分析这 10 例患者超声表现的动态变化。结果显示,肩、髌总积液量及其半定量积分数值较治疗前下降($P < 0.05$),见表 4。

10 例 PMR 患者治疗 24 周后临床症状显著缓解,但仍有 6 例存在超声下肩部积液,中位超声积液

表 3 10 例 PMR 患者治疗前后临床参数比较

	晨僵时间/min	ESR/(mm/h)	CRP/(mg/L)	血红蛋白/(g/L)	血小板/($\times 10^9/L$)	PMR-AS
治疗前	300.00(108.75,555.00)	64.45(42.55,77.83)	28.94(24.50,35.73)	103.80 \pm 10.12	277.90 \pm 83.45	50.09(27.32,71.12)
治疗后	0.00(0.00,0.00)	14.00(6.75,20.50)	3.25(0.92,7.43)	129.80 \pm 9.78	219.10 \pm 67.51	1.75(0.69,3.24)
Z/t	2.803	2.803	2.701	7.576	4.065	2.803
P	0.005	0.005	0.007	<0.001	0.003	0.005

表 4 10 例 PMR 患者治疗前后超声动态变化

	总积液量/ mm^2	半定量总积分
治疗前	558.87(285.62,745.06)	8.00(5.75,10.00)
治疗后	68.43(25.09,317.00)	2.00(1.50,6.00)
Z	2.701	2.670
P	0.007	0.008

3 讨论

PMR 是好发于 50 岁以上中老年人群的常见炎症性风湿病^[8],2012 年 EULAR/ACR 将肩、髌超声检查纳入 PMR 分类标准中^[1],此后超声在 PMR 诊断中的价值越来越得到重视^[9]。本研究发现,30 例 PMR 患者中 90% 出现肩部 LHB 腱鞘炎,76.67% 出现髌关节股骨转子滑囊炎,23.33% 出现肩部 SAD 滑囊炎。肩峰三角肌滑囊在长期负重、挤压或磨损等机械性刺激后,可在局部产生炎症,从而形成 SAD 滑囊炎^[10]。有研究表明^[11],肩关节炎性病变的发生过程中,存在滑膜组织或滑囊中炎症介质的参与,并发现肩峰下滑囊中 IL-1 α 和 TNF- α 表达增加;PMR 患者肌间质促炎细胞因子,如:IL-6、IL-1 α 、IL-1 β 、IL-8、TNF- α 水平升高,提示 PMR 患者肩、髌症状是炎性细胞因子介导的。本研究发现,髌关节股骨转子滑囊炎积液量及超声积分较其他部位更多,能否说明股骨转子处的病变较其他部位严重,需要进一步研究。

超声积液量、半定量积分与 PMR 炎性活动相关分析发现,除血小板外,其他炎症参数如 ESR、CRP、PMR-AS 等均无显著相关性。研究表明^[12],血小板不仅具有止血功能,还参与炎症反应,在抗原或炎症因子激活后,导致血小板活化聚集,并不同程度影响炎症信号通路;在活动期类风湿关节炎及脊柱关节

量为 55.69(45.34,81.68) mm^2 ,中位超声半定量积分为 2.00(1.75,2.25),4 例存在髌部积液,中位超声积液量为 289.70(222.00,408.51) mm^2 ,中位超声半定量积分为 6.00(3.75,6.00)。提示部分 PMR 患者治疗达临床缓解后,肩、髌仍有少量积液存在。

病中,同样可见血小板数值升高。但 Jiménez-Palop^[13]的研究中未发现临床证实、实验室数据和超声参数的变化之间存在显著相关性,说明半定量超声并不能完全反映 PMR 炎症活动程度。

本研究中 10 例 PMR 患者治疗 24 周后,肩、髌积液量及超声积分均有降低,超声改善与临床症状改善及急性时相反应物的降低相一致。尽管所有患者达到疾病缓解,仍有 6 例患者存在超声下肩部炎症,4 例患者存在超声下髌部炎症。目前尚不清楚超声下肩、髌部位持续性炎症是否与 PMR 的疾病活动度有关。本研究结果提示,是否有 PMR 亚临床炎症存在的可能。亚临床炎症常见于类风湿关节炎及强直性脊柱炎,在临床缓解的患者中,行腕关节或骶髂关节 MRI 检查,仍可发现影像学急性炎症存在,如骨髓水肿、滑膜炎、腱鞘炎。且以骨髓水肿影像表现的持续存在,随访中出现局部关节腔间隙的改变或骨破坏的危险性最高^[14]。对 PMR 持续存在超声炎症者,需进行长期随访,进一步明确有无预后不良现象出现。同时研究表明^[12],在类风湿关节炎、外周型脊柱关节病、肩周炎及正常人群中,均可出现 SAD 滑囊炎、LHB 腱鞘炎,仅发生率以及单侧或双侧受累的比例有所不同,表明不同疾病在超声中会出现相同影像学表现。因此,本研究治疗缓解的部分患者中,超声下仍有少量积液的持续存在是存在 PMR 亚临床炎症还是影像学异病同窗,或者是影像学滞后效应,有待进一步研究。

综上所述,超声下肩、髌积液量和半定量积分与 PMR 临床炎症并无显著相关性。PMR 治疗临床缓解后,超声积液量有显著减少,但部分患者并未完全消失。超声作为 PMR 疗效评估的价值,需要进一步大样本、长疗程的深入研究。

血小板抗体、血小板配型及输注次数对血液病患者的临床价值

韩冬梅,汪沁,唐宗生

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 输血科,安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:观察分析血液病患者的血小板抗体、血小板配型及输注次数,为提高临床血小板输注治疗效果提供依据及指导。**方法:**回顾分析26例进行62次单采血小板输注的血液病患者的一般资料,通过血小板输注后24h血小板计数增高指数(CCI)判定血小板输注疗效,分析血小板抗体检测(58次)、交叉配型(55次)和血小板输注次数对血小板输注效果的影响。**结果:**患者血小板输注后血小板计数(PLT)和血小板压积(PCT)水平较输注前升高($P<0.05$);血小板交叉配型患者的输注前后PLT增值($P<0.05$)及输注有效率阴性(72.73%)患者高于阳性(45.45%)患者($P<0.05$);而做血小板交叉配型后,血小板抗体阳性与阴性患者输注前后PLT增值及输注有效率差异均无统计学意义($P>0.05$);且患者输注次数对血小板输注效率有明显影响($P<0.05$)。**结论:**血小板交叉配型及患者PLT输注次数对血小板输注疗效至关重要。

【关键词】血小板输注疗效;血小板交叉配型;血小板抗体

【中图分类号】R 457.1 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.014

Clinical analysis on the effect of platelet antibody, platelet cross-matching and transfusion times on platelet transfusion in patients with hematological diseases

HAN Dongmei, WANG Qin, TANG Zongsheng

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

【Abstract】Objective: To observe and analyze the curative effect of platelet antibody, cross-match-compatible platelet components and transfusion times in patients with hematological disorder for evidence to improve platelet transfusion in clinic. **Methods:** The general information was obtained from and retrospectively analyzed in 26 patients undergone 62 apheresis platelet transfusions. Efficacy of platelet transfusion was determined by 24 h platelet corrected count increment (CCI), and the effects of platelet antibody testing (58 times), platelet cross-match (55 times) and transfusion times on the efficacy of platelet transfusion were analyzed. **Results:** The levels of platelet and plateletcrit were significantly increased after platelet transfusion ($P<0.05$). Platelet increment and transfusion efficiency of platelet cross-match-negative patients (72.73%) were significantly higher than those of patients with platelet cross-match-positive ones (45.45%) (both $P<0.05$), yet there was no significant difference in platelet increment and transfusion efficiency between patients with positive and negative platelet antibody before and after platelet infusion ($P>0.05$). Transfusion times had a significant impact on the efficiency of platelet transfusion ($P<0.05$). **Conclusion:** Platelet cross-matching and platelet transfusion frequencies can produce strong effect on platelet transfusion.

【Key words】 platelet transfusion efficiency; platelet cross-match; platelet antibody

自17世纪第一次尝试输血以来,输血已经从输全血发展到只使用其成分(成分输血)用于特定的适应证^[1],其中,血小板是血液中对于止血至关重要的成分,血小板输注可以明显降低出血并发症的发生率,恢复机体的凝血功能^[2]。但是血小板输注并非对所有患者有效,有部分患者在进行输注后血小板计数(platelet count, PLT)并未明显增加或者临

床出血表现并未改善,导致血小板输注无效(platelet transfusion refractoriness, PTR),甚至同一患者在不同时期的输注效果也存在明显差异^[3-5]。在临床治疗过程中,对患者多次进行血小板输注治疗的现象较为普遍,这往往会导致免疫反应,最终影响血小板输注效果,所以在对患者采用血小板输注治疗前进行血小板交叉配型以及抗体检测十分必要。为探究

基金项目:皖南医学院大学生科研资助金项目(WK2020S60)

收稿日期:2021-08-05

作者简介:韩冬梅(1972-),女,主管检验师,(电话)15357023039,(电子信箱)204496676@qq.com;

唐宗生,男,主任技师,博士,(电子信箱)tangzongsheng@163.com,通信作者。

血小板抗体检测以及交叉配型分别对于患者血小板多次输注后输注效果的影响,本研究以2021年5月在弋矶山医院进行单采血小板输注治疗的26例患者的62次输注资料为研究对象,观察并分析其输注效果。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择弋矶山医院2021年5月26例血液病患者,其中侵袭性NK/T细胞白血病1例,多发性骨髓瘤1例,骨髓增生异常5例,急性白血病1例,急性淋巴白血病2例,急性髓系白血病8例,急性早幼粒白血病1例,慢粒急髓变1例,前体T细胞淋巴瘤母细胞瘤1例,全血细胞减少2例,血小板减少2例,再生障碍性贫血1例。男11例,女15例,年龄33~78(53.77±11.45)岁。患者共输注62次,有效次数40次,有效率64.52%。

1.2 方法 通过使用血小板抗体检测试剂盒(固相凝集法)(长春博德)对患者进行血小板抗体检测与血小板交叉配型。同时,分别检测输注前、输注后24h患者PLT、平均血小板体积(mean platelet volume,MPV)、大型血小板比例(platelet larger cell ratio,P-LCR)、血小板压积(Plateletcrit,PCT)水平。

1.2.1 血小板抗体检测方法 根据试剂盒使用说明书操作:制备血小板悬液加入到微孔板中,血小板悬液经离心洗涤后可在反应孔底部形成血小板单层。反应板中已包被抗人血小板单克隆抗体。向各孔中加入低离子强度溶液、患者血清或血浆、阳性及阴性对照,37℃水浴30min,让血清或血浆中抗体与血小板单层结合,未结合的成分通过洗涤被去除。后

经洗涤5次后再加入抗人IgG与指示红细胞,200g离心5min,并记录结果。

1.2.2 血小板交叉配型 制备与受者ABO同型的供者血小板悬液,根据血小板抗体检测方法进行操作。

1.2.3 检测结果判定 指示红细胞平铺在反应孔底部表面(阳性),或只结合到部分孔底(弱阳性)表明患者血清或血浆中含有血小板特异性抗体,血小板交叉配型不合;若指示红细胞在反应孔底部中央形成红细胞聚集(阴性),表明患者血清或血浆中不含血小板抗体,血小板交叉配型相合。

1.3 血小板输注有效判定方法 本研究采用血小板计数增高指数(corrected count increment,CCI)对血小板输注效果进行评估,其计算公式为 $CCI = [\text{输注后的PLT}(\mu\text{L}) - \text{输注前PLT}(\mu\text{L})] \times 10^{11} \div \text{体表面积}(\text{m}^2) \div \text{输入血小板总数}(\times 10^{11})$,1个治疗量的单采血小板数量为 2.5×10^{11} 。当患者输注血小板后24h,CCI>4500时可判断为血小板输注有效^[6]。

1.4 统计学分析 采用SPSS 18.0软件进行数据分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 或 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用秩和检验;计数资料采用 $n(\%)$ 表示,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 血小板输注前后相关参数变化 本研究评价血小板输注前后相关参数(因检测因素,部分参数指标结果缺失)变化,血小板输注患者输注前后PLT 62例次、PCT 28例次、MPV 28例次、P-LCR 22例次。结果显示,患者输注后PLT和PCT水平均较输注前升高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表1。

表1 血小板输注前后相关参数变化统计表

组别	PLT/($\times 10^9$ /L)(n=62)	PCT/(n=28)	MPV/fl(n=28)	P-LCR/(n=22)
输注前	11.000(5.000~16.250)	0.012(0.007~0.020)	9.750(9.300~10.650)	30.150(23.375~33.125)
输注后	23.500(10.000~34.250)	0.028(0.014~0.041)	9.900(9.600~10.975)	29.900(24.450~35.975)
Z _{配对}	5.735	3.810	1.779	0.990
P _{配对}	0.000	0.000	0.075	0.322

2.2 患者血小板抗体与血小板输注效果 本研究参照输注频次与输注效果的比较方法案例^[7-8]探讨了患者血小板抗体与血小板输注效果的关系。结果显示62次血小板输注前进行血小板抗体检测58次(阴性17次,阳性41次)两组标本输注前后血小板增加的均值变化,结果显示:血小板抗体阳性患者PLT增加10.000(0.000~20.500) $\times 10^9$ /L,与阴性患者14.000(4.000~22.500) $\times 10^9$ /L比较差异无统计学意义($Z = 0.675, P = 0.500$)。同时,对两组标本血小板输注后效果(抗体阳性:有效24次,无

效17次;抗体阴性:有效12次,无效5次)进行比较,结果可见阳性组有效率(58.53%)虽低于阴性组(70.59%),但差异无统计学意义($\chi^2 = 0.741, P = 0.389$)。

2.3 患者血小板交叉配型与血小板输注疗效 本研究中,62次血小板输注前进行交叉配型实验55次(交叉配型阴性33次,阳性22次),比较两组标本输注前后血小板增加的均值变化,结果显示血小板交叉配型阴性PLT增加高于交叉配型阳性患者($Z = 2.682, P = 0.007$)(图1)。此外,血小板交叉配

型阴性患者(输注有效 24 次,输注无效 9 次)输注有效率(72.73%)高于阳性患者(45.45%;输注有效 10 次,输注无效 12 次)($\chi^2=4.160, P=0.041$)。

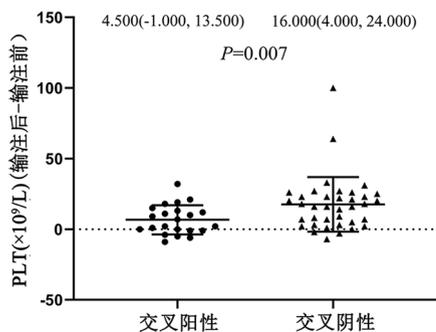


图 1 血小板交叉配型实验阳性与阴性患者输注前后 PLT 变化

2.4 患者血小板累计输注次数与血小板输注效果

在血小板临床输注治疗中,同一患者可能会进行多次输注,且存在同一患者随输注次数的增加其输注效果会出现不同的结果。为考察患者血小板累计输注次数与血小板输注效果的关系,本研究根据患者总输注次数分为两组: ≤ 3 次和 >3 次,比较血小板输注后 24 h CCI 及输注有效率。其中输注 ≤ 3 次患者的累计输注次数为 37 次(输注有效 29 次,输注无效 8 次),输注 >3 次患者的累计输注次数为 25 次(输注有效 11 次,输注无效 14 次),输注 ≤ 3 次患者有效率(78.38%)高于输注 >3 次的患者有效率(44.00%)($\chi^2=7.702, P=0.006$)。

3 讨论

血小板输注在治疗血小板生成严重减少或血小板功能障碍患者中发挥重要作用^[9-10]。但是随着临床上越来越多的治疗采用血小板输注技术,许多医生及研究者发现 PTR 的情况也时有发生。导致 PTR 的主要因素分为免疫因素和非免疫因素^[11-14]。免疫因素有 ABO 血型抗原、人类白细胞抗原(HLA)和血小板特异抗原(HPA)。非免疫因素包括患者的年龄、性别、累计输注次数、临床症状(如发热、感染)等。目前国内外对于血小板输注效果及其影响因素的研究表明,上述各种因素都可能对血小板输注效果产生影响,但是不同研究中的病例不同导致影响其效果的主要因素存在差异^[15-17]。

本研究根据临床输注血小板病例,对比分析了血小板相关参数在输注前后的变化,其中 PLT 和 PCT 输注后较输注前水平升高($P<0.05$),PLT 与 PCT 高度相关,提示输注后患者 PLT 的显著增加。但本研究由于检测因素,部分指标数据缺失,导致血小板不同参数输注例次各不相同,因此在后期的研

究中需要加大样本量进一步研究。

本研究发现血小板抗体阳性与阴性患者在输注血小板后 PLT 增加的均值变化差异无统计学意义,同时发现阳性患者输注有效率(58.53%)与阴性患者(70.59%)差异也无统计学意义。既往研究发现^[18],血小板抗体阳性患者输注后 CCI 值低于阴性患者,阳性患者血小板输注无效率明显高于阴性患者($P<0.05$)。本研究结果与其他研究者的结果不一致,主要原因可能为:①先前研究只进行了血小板抗体检测,然后对患者进行盲输,然而有些患者体内本身含有的抗体种类较为复杂,不仅有 HLA 抗体,还可能含有 HPA 抗体等。因此,临床输血中,不能将血小板抗体检测结果作为指导输血的唯一标准。而本研究不仅检测了血小板抗体,还进行了血小板交叉配型,更大程度保证了输注血小板的相合性。②本研究中抗体阴性患者样本量较阳性患者少,这也可能成为本次研究中血小板抗体阴性和阳性患者输注有效率比较差异无统计学意义的原因之一。③血液病患者可能接受了放化疗或移植治疗,血液制品的输注使得患者产生了更多抗体,且治疗期间间断或持续使用的药物或其他非免疫因素干扰了输注效果。

对患者输注前血小板交叉配型的结果显示:血小板交叉配型阴性患者在输注血小板后 PLT 增加高于交叉配型阳性患者($P=0.007$),且阴性患者输注有效率(72.73%)高于阳性患者(45.45%)。这提示在血小板输注前,对患者进行交叉配型实验是提高血小板输注有效率的必要措施。此外,本研究发现血小板输注次数增加会导致输注有效率下降,表明机体经多次输注刺激后可能产生多种不同抗体从而导致 PTR 发生概率的增加,因此,多次输血患者应谨慎考虑血小板抗体类型,且对患者输注前做预先检测及配型对于降低 PTR 的发生也尤为重要。

血小板的功能复杂且具有不可替代性。因此,探究并能明确血小板输注效果的重要影响因素对提高临床输注效率至关重要,这不仅仅局限于本研究中提到的血小板抗体、血小板交叉配型及输注次数,还需要更多地了解不同情况下的临床因素、药物因素、产品因素及病人因素等。优化临床血小板输注,降低血小板输注的风险和改善输注效果是输血医学领域一个重要的发展方向。

【参考文献】

- [1] 刘艳梅,张俊敏,张在谦.成分输血在大量输血患者中的合理应用[J].贵州医药,2020,44(12):1954-1955.

[2] THIELE T, GREINACHER A. Platelet transfusion in perioperative medicine[J]. *Semin Thromb Hemost*, 2020, 46(1):50-61.

[3] 陆华, 徐小敏, 戚超, 等. 5508 例血小板输注疗效回顾性多因素分析[J]. *中国输血杂志*, 2018, 31(5):468-473.

[4] 何作萍, 罗佩芳, 杨斌. 血小板输注疗效的影响因素分析[J]. *中国临床新医学*, 2020, 13(8):805-808.

[5] 龚道方, 龙海波, 刘昭国, 等. 临床 276 例次单采血小板输注效果及相关因素分析[J]. *临床输血与检验*, 2018, 20(4):365-368.

[6] 张洋, 付艳君. 186 例血小板输注前后血小板相关参数变化与疗效评估关系的分析[J]. *中国实用医药*, 2017, 12(28):82-83.

[7] CHAVAN A, SHARMA RR, SAIKIA B, *et al.* Efficacy of cross-match compatible platelets in multi transfused haemato-oncology patients refractory to platelet transfusion[J]. *Transfus Apher Sci*, 2019, 58(6):102657.

[8] 卿芸, 王栋芳, 杨培, 等. HLA 抗原选择性和常规交叉配型血小板输注效果比较[J]. *中国输血杂志*, 2020, 33(9):918-921.

[9] SHAMS HAKIMI C, SINGH S, HESSE C, *et al.* Effects of fibrinogen and platelet transfusion on coagulation and platelet function in bleeding cardiac surgery patients[J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 2019, 63(4):475-482.

[10] WANG J, ZHOU P, HAN Y, *et al.* Platelet transfusion for cancer secondary thrombocytopenia: platelet and cancer cell interaction[J]. *Transl Oncol*, 2021, 14(4):101022.

[11] 黄吉娥, 祝丽丽, 徐玲, 等. 血小板抗体筛查在多次输血的白血病患者中的应用分析[J]. *中国输血杂志*, 2016, 29(12):1361-1363.

[12] 黎斌, 潘素明. 对多次输血的恶性肿瘤患者应用血小板配型输注血小板的有效性观察[J]. *现代医院*, 2017, 17(7):1070-1072.

[13] PRODGER CF, RAMPOTAS A, ESTCOURT LJ, *et al.* Platelet transfusion; alloimmunization and refractoriness[J]. *Semin Hematol*, 2020, 57(2):92-99.

[14] DUNBAR NM. Does abo and rhd matching matter for platelet transfusion[J]? *Hematology Am Soc Hematol Educ Program*, 2020, 2020(1):512-517.

[15] HU X, CAI H, ZHENG L, *et al.* Clinical and immunological features of platelet transfusion refractoriness in young patients with de novo acute myeloid leukemia[J]. *Cancer Med*, 2020, 9(14):4941-4948.

[16] CHENNA D, SHASTRY S, BALIGA P. Evaluation and monitoring of response to platelet transfusion therapy; experience from a tertiary care center[J]. *Acta Clin Belg*, 2021, 76(4):300-303.

[17] YANAGAWA B, RIBEIRO R, LEE J, *et al.* Platelet transfusion in cardiac surgery: a systematic review and meta-analysis[J]. *Ann Thorac Surg*, 2021, 111(2):607-614.

[18] 张磊. 血小板抗体筛查对临床血小板输注疗效的影响分析[J]. *中国实用医药*, 2020, 15(8):94-96.

(上接第 152 页)

【参考文献】

[1] GONZÁLEZ-GAY, MIGUEL A, MATTESON EL, *et al.* Polymyalgia rheumatica[J]. *Lancet*, 2017, 390(10103):1700-1712.

[2] DASGUPTA B, CIMMINO MA, MARADITKREMERS H, *et al.* 2012 provisional classification criteria for polymyalgia rheumatica; a european league against rheumatism/American college of rheumatology collaborative initiative[J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2012, 64(4):943-954.

[3] DEJACO C, SINGH YP, PEREL P, *et al.* 2015 Recommendations for the management of polymyalgia rheumatica; a European league against rheumatism/American college of rheumatology collaborative initiative[J]. *Arthritis & Rheumatology*, 2015, 67(10):2569-2580.

[4] BINARD A, LEFEBVRE B, DE BM, *et al.* Validity of the polymyalgia rheumatica activity score in primary care practice[J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2009, 28(4):541-545.

[5] MICELI MC, ZOLI A, PELUSO G, *et al.* Baseline shoulder ultrasonography is not a predictive marker of response to glucocorticoids in patients with polymyalgia rheumatica; a 12-month followup study[J]. *Journal of Rheumatology*, 2017, 44(2):241-247.

[6] AYANO M, ARINOBU Y, TSUKAMOTO H, *et al.* Shoulder ultrasound and serum lactate dehydrogenase predict inadequate response to glucocorticoid treatment in patients with polymyalgia rheumatica[J]. *Rheumatology International*, 2020, 40(7):1101-1109.

[7] CANTINI F, NICCOLI L, NANNINI C, *et al.* Inflammatory changes of hip synovial structures in polymyalgia rheumatica[J]. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 2005, 23(4):462-468.

[8] CAMELLINO D, GIUSTI A, GIRASOLE G, *et al.* Pathogenesis, diagnosis and management of polymyalgia rheumatic[J]. *Drugs Aging*, 2019, 36(11):1015-1026.

[9] CAMELLINO D, DUFTNER C, DEJACO C. New insights into the role of imaging in polymyalgia rheumatic[J]. *Rheumatology (Oxford)*, 2021, 60(3):1016-1033.

[10] SLOUMA M, GHARSALLAH I. Bilateral subacromial-subdeltoid bursitis in elderly patients; a diagnostic challenge[J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2021, 39 Suppl 128(1):14-15.

[11] KREINER F, LANGBERG H, GALBO H. Increased muscle interstitial levels of inflammatory cytokines in polymyalgia rheumatica[J]. *Arthritis & Rheumatism*, 2014, 62(12):3768-3775.

[12] ZAMORA C, CANTÓ, ELISABET, *et al.* Binding of platelets to lymphocytes; a potential anti-inflammatory therapy in rheumatoid arthritis[J]. *Journal of Immunology*, 2017, 198(8):3099-3108.

[13] JIMÉNEZ-PALOP M, NAREDO E, HUMBRADO L, *et al.* Ultrasonographic monitoring of response to therapy in polymyalgia rheumatica[J]. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 2010, 69(5):879-882.

[14] MØLLER-BISGAARD S, HØRSLEV-PETERSEN K, EJBJERG B, *et al.* Effect of magnetic resonance imaging vs conventional treat-to-target strategies on disease activity remission and radiographic progression in rheumatoid arthritis; the imagine-ra randomized clinical trial[J]. *The Journal of the American Medical Association*, 2019, 321(5):461-472.

977例胎儿羊水染色体检查结果分析及其临床意义

章易琳¹,倪观太¹,王玉萍²

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 1. 妇产科;2. 检验科,安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:分析977例胎儿羊水染色体检查结果及临床意义。**方法:**回顾性分析2015年1月~2019年10月有产前诊断指征的977例高危孕妇病历资料,比较不同年龄组及不同产前诊断指征异常核型检出率;比较不良孕产史高龄产妇异常核型检出率;无创DNA高风险组高龄产妇异常核型检出率。**结果:**977例孕妇中羊水细胞培养成功973例,成功率为99.59%;在染色体结构异常上,其各种类型检出率较低;在染色体数目异常上,常染色体数目异常检出率较高(4.52%, $P<0.05$);染色体多态性共检出72例,其中短臂多态变异检出率为31.86%(31/973)、次缢痕区多态变异检出率为42.14%(41/973);35~39岁高危产妇异常核型检出率高于<35岁、≥40岁产妇($P<0.05$);无创DNA高风险产妇染色体异常核型检出率高于其他产前诊断指征($P<0.05$);不良孕产史高龄产妇各组异常核型检出率差异无统计学意义($P>0.05$);21三体高风险组异常核型检出率高于13三体高风险组及性染色体数目异常组($P<0.05$)。**结论:**对无创DNA 21三体高风险孕妇进行产前诊断具有重要意义,可有效降低染色体异常儿出生率。

【关键词】染色体异常核型;产前诊断;羊水检查

【中图分类号】R 714.5;R 446.7 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.015

Analysis on the examination results of prenatal amniotic fluid chromosomes in 977 fetuses and the clinical significance

ZHANG Yilin, NI Guantai, WANG Yuping

Department of Obstetrics and Gynecology, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To analyze the examination results of prenatal amniotic fluid chromosomes in 977 fetuses and the clinical implications. **Methods:** The medical data were retrospectively analyzed in 977 high-risk pregnant women with prenatal diagnosis indications diagnosed in our hospital between January 2015 and October 2019. The detection rate of abnormal karyotypes was compared in pregnant women with different ages and prenatal diagnosis indications, in elderly puerperae with history of abnormal pregnancy and childbirth and those of high-risk pregnancy undergone prenatal non-invasive DNA test. **Results:** Amniotic fluid was successfully cultured in 973 out of the 977 women, with a successful rate of 99.59%. The detection rate for diverse abnormal karyotype by chromosome structural abnormality was relatively lower, yet relatively higher for autosomal number abnormality than that of sex chromosomes ($P<0.05$). Chromosome polymorphism was detected in 72 women, and the detection rate was 31.86% (31/973) by short arm polymorphism variation and 42.14% (41/973) by polymorphic variation within secondary constriction region. High-risk pregnant women aged between 35 and 39 years had higher detected rate of abnormal karyotype than those aged <35 or ≥40 years ($P<0.05$). The detection rate of chromosomal abnormal karyotype was higher in high-risk puerperae undergone non-invasive DNA test than other prenatal diagnosis indications ($P<0.05$). There was no significant difference in detection rate of abnormal karyotypes in elderly puerperae with history of abnormal pregnancy and childbirth ($P>0.05$), yet the detected abnormal karyotype rate was higher in trisomy 21 high-risk group than in trisomy 13 high-risk group ($P<0.05$). **Conclusion:** Non-invasive test of trisomy 21 in women with high-risk pregnancy can be of great significance in prenatal diagnosis, which may effectively reduce the abnormal birth from chromosomal abnormalities.

【Key words】 abnormal chromosome karyotype; prenatal diagnosis; amniotic fluid examination

染色体变异是一种可遗传变异,主要包括结构变异和数目变异,可使生物体形状发生改变,胎儿染色体变异会使其发育异常,导致其出现先天缺陷,甚至出现胎儿畸形或死胎^[1]。产前诊断是降低出生

缺陷发生率的主要方式,可通过产前诊断尽早发现存在先天畸形或遗传缺陷的胎儿,并对其给予及时的宫内治疗或对严重缺陷儿给予终止妊娠,从而可降低缺陷儿出生率^[2]。羊水染色体检查是检查胎

基金项目:安徽高校自然科学研究项目(KJ2018A0267)

收稿日期:2020-07-06

作者简介:章易琳(1980-),女,主治医师,(电话)13956158828,(电子信箱)zylxh@sohu.com。

儿染色体及先天性代谢疾病的产前诊断方法,可通过羊膜穿刺术,对其进行染色体核型分析,能够了解胎儿细胞染色体核型,从而可诊断胎儿染色体是否异常^[3]。本研究分析 977 例胎儿产前羊水染色体检查结果,旨在探究羊水染色体检查的临床价值,为产前诊断提供理论依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料 回顾性分析 2015 年 1 月~2019 年 10 月在弋矶山医院就诊的有产前诊断指征的 977 例高危孕妇的病历资料,年龄 22~47 岁,平均(31.56±6.73)岁;产前诊断指征:高龄 296 例,唐筛高风险 412 例,无创 DNA 高风险 56 例,超声异常表现 79 例,不良孕产史 77 例,其他 53 例。纳入标准:①存在产前诊断指征^[4];②经我院伦理委员会审核通过,孕妇知情同意且签署知情同意书。排除标准:①严重心肝肾肾功能异常者;②存在相关检查禁忌证如先兆流产、体温超过 37.5℃、前置胎盘者。

1.2 方法

1.2.1 羊水细胞培养 抽取 20 mL 羊水,离心、混匀后吸取 0.5 mL 细胞悬液接种于 50 mL 培养瓶中,置于培养箱(37℃、5%)中行羊水培养。

1.2.2 染色体制备 羊水细胞镜检时可见多个细胞克隆后加入 20 μg/mL 秋水仙素,3 h 后刮刀法获取细胞,离心处理 10 min 后,取下层液体,加入 8 mL 0.075 mol/L 氯化钾溶液,并在 37℃ 环境下加 1 mL 固定液(甲醇:冰乙酸=3:1)固定 5 min,离心,弃上清液,然后按上述操作重复固定 2 次,固定完成后进行常规滴片、显带、染色处理,参照 ISCN2009 标准进行染色体核型分析。

1.3 观察指标 ①统计羊水细胞培养结果,并分析染色体异常核型及染色体多态性检出情况。②比较

不同年龄组及不同产前诊断指征异常核型检出率。③比较不良孕产史高龄产妇异常核型检出率。④比较无创 DNA 高风险组高龄产妇异常核型检出率。

1.4 统计学处理 本研究所得数据均采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据处理。计数资料以%表示,采用χ²检验或 Fihser 确切概率法比较组间差异;计量资料经正态检验后用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验比较组间差异。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 羊水细胞培养结果 977 例孕妇中因细胞过少及活力不足培养失败 4 例,羊水细胞培养成功 973 例,成功率为 99.59%。

2.2 染色体异常核型检出率 在染色体结构异常方面,其各种类型检出率较低;而在染色体数目异常方面,常染色体数目异常检出率较高(4.52%),见表 1。

表 1 染色体异常核型检出率

分类	n	检出率/%
染色体结构变异	嵌合体	7 0.72
	平衡易位	8 0.82
	多倍体	1 0.10
	其他结构变异	9 0.92
染色体数目变异	常染色体	44 4.52
	性染色体	5 0.52

2.3 染色体多态性检出情况 染色体多态性共检出 72 例,其中短臂多态变异检出率为 31.86%(31/973),次缢痕区多态变异检出率为 42.14%(41/973)。

2.4 不同年龄组异常核型检出率比较 35~39 岁高危产妇异常核型检出率高于<35 岁、≥40 岁产妇(χ²=19.763,P<0.05),见表 2。

表 2 不同年龄组异常核型检出率比较

年龄分组	n	21 三体综合征	18 三体综合征	13 三体综合征	性染色体异常	其他结构异常	嵌合体	多倍体	平衡易位	异常核型检出率[n(%)]
≥40 岁	135	3	0	0	1	1	2	0	2	9(6.67)
35 岁~	220	14	1	0	4	6	2	0	5	32(14.55)*
<35 岁	618	23	2	1	0	2	3	1	1	33(5.25)

注:与<35 岁、≥40 岁年龄组比较,*P<0.05。

2.5 不同产前诊断指征检出率比较 无创 DNA 高风险产妇染色体异常核型检出率高于其他产前诊断指征,差异均有统计学意义(P<0.05),见表 3。

2.6 不良孕产史高龄产妇异常核型检出率比较 夫妻一方存在染色体异常组、唐氏儿分娩史组、畸形

儿生育史组各组异常核型检出率比较,差异无统计学意义(P=0.081),见表 4。

2.7 无创 DNA 高风险组高龄产妇异常核型检出率 21 三体高风险组异常核型检出率高于 13 三体高风险组及性染色体数目异常组(P<0.05),见表 5。

表3 不同产前诊断指征异常核型检出率比较

产前诊断指征	n	异常核型检出率[n(%)]
单纯高龄	296	10(3.37)*
唐筛高风险	412	15(3.64)*
无创DNA高风险	56	32(57.14)
超声异常表现	79	6(7.59)*
不良孕产史	77	4(5.19)*
其他因素	53	7(13.21)*
χ^2		215.311
P		0.000

注:与无创DNA高风险组比较,*P<0.05。

表4 不良孕产史高龄产妇异常核型检出率比较

类型	n	异常核型检出率[n(%)]
唐氏儿分娩史	10	1(10.00)
夫妻一方存在染色体异常者	15	8(53.33)
畸形儿生育史	8	3(37.50)

注:采用Fisher确切概率法。

表5 无创DNA高风险组高龄产妇异常核型检出率

组别	n	异常核型检出率[n(%)]
21三体高风险	19	16(84.21)
18三体高风险	5	4(80.00)
13三体高风险	4	1(25.00)*
性染色体数目异常	13	5(38.46)*

注:采用Fisher确切概率法,P=0.013;与21三体高风险组比较,*P<0.05。

3 讨论

大多数出生缺陷儿为遗传因素所致,其中以染色体异常最为常见。有报道指出,通过产前诊断可降低缺陷儿的出生率^[5-6]。染色体核型分析是目前产前诊断染色体异常的主要方式,可采取羊水进行细胞培养,然后通过分析染色体核型来判断胎儿是否存在遗传缺陷或先天畸形^[7]。本研究对孕18~22周的高危孕妇进行羊水染色体检查,染色体异常核型检出率为7.61%,略高于Bhorat等^[8]的研究,主要因为Bhorat等的研究在进行羊水细胞培养前,已将B超筛查出的多发畸形胎儿排除在外,使其染色体核型异常检出率低于本研究。染色体核型异常主要可分为染色体结构异常和数目异常,但目前尚无报道指出何种染色体变异类型的发生率较高。本研究发现在染色体结构异常上,其各种类型检出率较低;而在染色体数目异常上,常染色体数目异常检出率较高,这主要是生殖细胞在第一次或第二次减数分裂时,染色体不分离导致的,而随着孕妇年龄的增长,其出现染色体不分离的概率也增加,且本研究

中高龄产妇所占比例较大,从而导致常染色体数目异常的检出率较高。

随着二孩政策的开放,高龄产妇也随之增加。先天愚型胎儿等缺陷儿的出生率会随着孕妇年龄的增加而成倍增加,这表明产妇的年龄与先天缺陷的发生率密切相关^[10]。高龄产妇的卵子质量远低于最佳孕龄女性,其染色体也会发生变化,易导致胎儿畸形的出现。本研究发现,35~39岁高危产妇异常核型检出率高于<35岁者,这说明染色体核型异常发生的风险性与年龄有关,因此需对高龄产妇做好排畸检查,以减少畸形儿的出生。但本研究结果显示35~39岁高危产妇异常核型检出率高于≥40岁产妇,与冯杏琳等^[11-12]研究结果存在差异,可能是由于40岁以上高龄组样本量较小,检出率低于实际发生率。

产前诊断一般分为创伤性、无创性两类,创伤性产前诊断主要包括羊膜腔穿刺、脐血取样等,超声和无创DNA是最常用的无创性产前诊断方法,但超声只能对已出现的器官或肢体畸形做出诊断,无法判断染色体异常疾病^[13]。无创DNA产前检测是一种新型产前检测方法,用于检测各种染色体数目异常类疾病,无创DNA高风险是指胎儿患先天愚型的概率较高^[14]。有报道指出,无创DNA检测染色体异常核型的准确率较高^[15]。本研究结果显示,无创DNA高风险产妇染色体异常核型检出率高于其他产前诊断指征(P<0.05),且超声诊断的检出率仅为7.59%,这说明无创DNA检测的准确率较高,与上述研究一致,因此可将无创DNA检查应用于产前诊断中,但无创DNA由于价格昂贵,现阶段尚不能完全普及。21三体综合征检查又称为唐氏综合征检查,本研究在进行无创DNA高风险检测时,发现21三体高风险组异常核型检出率高于13三体高风险组及性染色体数目异常组,与古丽娜孜·米吉提等^[16]的研究结果相同,说明胎儿染色体异常中21号染色体异常发生率较高,这主要是因为唐氏综合征的发病率高于其他染色体数目异常疾病。

不良孕产史是指患者曾经有过死胎、出生缺陷等非正常妊娠情况。有生育过畸形或染色体异常患儿的产妇再次出现染色体核型异常的概率远高于正常产妇,这表明不良孕产史与产妇再次生育时出现染色体核型异常具有相关性^[17]。夫妻一方存在染色体异常者生育染色体异常核型胎儿的概率较大,这主要是因为夫妻一方携带异常染色体时遗传给胎儿的概率远高于正常人群。但在本研究中,不良孕产史各组异常核型检出率比较差异无统计学意义,

这与唐敬龙等^[18]大样本不良孕产夫妇染色体核型分析结果不一致。笔者认为主要与本研究不良孕产史高龄组样本量较小有关,有待与进一步扩大样本量进行对照研究。在临床产诊中该类孕妇仍需按时进行孕检及相关检查,以做到早发现早干预,减少缺陷儿的出生。

综上所述,在染色体核型异常中,常染色体数目异常的检出率高于性染色体异常检出率,无创 DNA 检测诊断染色体异常核型的准确率高其他产前诊断指征。21 三体高危孕妇异常核型检出率高于其他染色体数目异常孕妇。因此,需加强高龄不良孕史及具有 DNA 高风险孕妇的唐氏儿无创产前筛查,以减少缺陷儿的出生,提高出生人口质量。

【参考文献】

[1] 夏开德,吴忠琴. 无创 DNA 产前检测高风险的羊水细胞遗传学分析及临床意义[J]. 中国优生与遗传杂志,2017,25(1):41-43.

[2] 章卫国,潘映秋,章霉,等. 胎儿羊水额外小标记染色体的细胞及分子遗传学分析[J]. 中华医学遗传学杂志,2017,34(2):187-191.

[3] 谢良玉,刘之英,秦利,等. 681 例 21-三体胎儿羊水染色体核型类型的结果分析及临床意义[J]. 中国优生与遗传杂志,2018,26(2):36-37.

[4] MARKIEWICZ B, SAJNOG A, LORENC W, *et al.* Multielemental analysis of 18 essential and toxic elements in amniotic fluid samples by ICP-MS: Full procedure validation and estimation of measurement uncertainty[J]. *Talanta*, 2017, 174(2): 122-130.

[5] NISHIYAMA M, YAN J, YOTSUMOTO J, *et al.* Chromosome abnormalities diagnosed in utero; a Japanese study of 28983 amniotic fluid specimens collected before 22 weeks gestations[J]. *Journal of Human Genetics*, 2015, 60(3): 133-137.

[6] 代鹏,孔祥东. 355 例产前胎儿羊水细胞易位染色体核型分析及遗传咨询[J]. 中国优生与遗传杂志,2019,27(5):560-563.

[7] RECEVEUR A, BRISSET S, MARTINOVIC J, *et al.* Prenatal diag-

nosis of isochromosome 20q in a fetus with vertebral anomaly and rocker-bottom feet[J]. *Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology*, 2017, 56(5): 677-680.

[8] BHORAT IE, BAGRATEE JS, PILLAY M, *et al.* Determination of the myocardial performance index in deteriorating grades of intrauterine growth restriction and its link to adverse outcomes[J]. *Prenatal Diagnosis*, 2015, 35(3): 266-273.

[9] CHO HY, CHO Y, SHIN YJ, *et al.* Functional analysis of cell-free RNA using mid-trimester amniotic fluid supernatant in pregnancy with the fetal growth restriction[J]. *Medicine*, 2018, 97(2): 9572-9573.

[10] EUGENIO B, GIUSEPPE G, MATTEO S, *et al.* Untargeted metabolomic analysis of amniotic fluid in the prediction of preterm delivery and bronchopulmonary dysplasia[J]. *Plos One*, 2016, 11(10): 164-169.

[11] 冯杏琳,申华,刘丹,等. 胎儿出生缺陷产前筛查及无创基因测序技术的临床应用研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2017,25(4):12-14.

[12] MALVESTITI F, AGRATI C, GRIMIB B, *et al.* Interpreting mosaicism in chorionic villi: results of a monocentric series of 1001 mosaics in chorionic villi with follow-up amniocentesis[J]. *Prenatal Diagnosis*, 2015, 35(11): 1117-1127.

[13] 陈志美,杜珍,王定珺,等. 妊娠中晚期胎儿超声异常与染色体异常关系及其妊娠结局研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2019,27(9):1077-1078.

[14] 王建华,张玢,许金秀,等. 常州地区 941 例高龄孕妇产前诊断及结果分析[J]. 中国妇幼保健,2017,32(4):789-790.

[15] 曹旭,梁玉,郭姗姗,等. 孕中期羊膜腔穿刺胎儿染色体核型分析的临床意义[J]. 蚌埠医学院学报,2016,41(6):779-780.

[16] 古丽娜孜·米吉提,丁娟,丁桂凤,等. 6389 例孕中期高危孕妇胎儿染色体核型产前诊断结果分析[J]. 中国优生与遗传杂志,2016,24(10):50-52.

[17] 罗颖花,黄际卫,邓新娥,等. 1659 例羊水染色体产前诊断结果及临床指征分析[J]. 国际遗传学杂志,2018,41(2):115-118.

[18] 唐敬龙,王丽媛,冯雪花. 不良孕产史夫妇染色体核型大样本分析[J]. 中华妇幼临床医学杂志,2019,15(3):314-319

白藜芦醇调控线粒体通路诱导口腔鳞状细胞癌细胞凋亡

于 瑞¹,汪佳颖¹,陶德韬²,王维康¹,黄 瑞¹,李先振¹,周静萍¹

(1. 皖南医学院 口腔医学院,安徽 芜湖 241002;2. 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:研究白藜芦醇诱导人口腔鳞状细胞癌细胞(HN4、Cal27、HN6)凋亡的机制。**方法:**不同浓度白藜芦醇处理3种细胞后,通过MTT法检测细胞活力的变化;蛋白质免疫印迹法(Western blot)、实时荧光定量PCR分别从蛋白以及mRNA水平检测细胞中的凋亡相关因子以及线粒体通路关键因子表达量的变化。**结果:**MTT结果表明50~400 $\mu\text{mol/L}$ 白藜芦醇对3种细胞活力均有抑制作用($P<0.05$),且在50~400 $\mu\text{mol/L}$ 浓度处理48 h后,3种细胞活力均低于24 h($P<0.05$)。与对照组0 $\mu\text{mol/L}$ 相比,在100、200 $\mu\text{mol/L}$ 浓度处理48 h后,Bcl-2蛋白和mRNA的表达均降低($P<0.05$);Bax蛋白和mRNA的表达均升高($P<0.05$);cleaved-caspase3蛋白表达也升高($P<0.05$);而cyt-c蛋白和mRNA的表达在50~200 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时升高($P<0.05$)。**结论:**白藜芦醇可以诱导口腔鳞状细胞癌细胞凋亡,可能与调控凋亡相关蛋白Bcl-2、Bax的表达以及激活线粒体凋亡通路有关。

【关键词】白藜芦醇;口腔鳞癌细胞;凋亡;线粒体通路

【中图分类号】R 285.6;R 739.8 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.016

Resveratrol regulating mitochondrial pathway to induce apoptosis of oral squamous cell carcinoma cells

YU Rui, WANG Jiaying, TAO Detao, WANG Weikang, HUANG Rui, LI Xianzhen, ZHOU Jingping

School of Stomatology, Wannan Medical College, Wuhu 241002, China

【Abstract】Objective: To study the mechanism of resveratrol in inducing apoptosis of human oral squamous cell carcinoma cells (HN4, Cal27, HN6). **Methods:** Human oral squamous cell carcinoma cells, including HN4, Cal27 and HN6, were initially treated with diverse dose of resveratrol, and then examined for their changes of viability using MTT method. Western blot and real-time quantitative PCR were performed to detect the changes apoptosis-related factor expression and expression quantity of the key factors in mitochondrial pathway at protein and mRNA levels. **Results:** MTT assay showed that resveratrol significantly inhibited viability of the three cells in dose of 50–400 $\mu\text{mol/L}$ ($P<0.05$), and the cellular viability was less than 24 h after treatment by concentration of 50–400 $\mu\text{mol/L}$ for 48 h ($P<0.05$). Compared with the control group at dose of 0 $\mu\text{mol/L}$, the expression of both Bcl-2 protein and mRNA was significantly lower, yet Bax protein and mRNA expression and cleaved-caspase3 protein were markedly higher after treatment at concentration of 100 and 200 $\mu\text{mol/L}$ for 48 h (all $P<0.05$). In contrast, cyt-c protein and mRNA expression were significantly elevated at dose of 50–200 $\mu\text{mol/L}$ ($P<0.05$). **Conclusion:** Resveratrol can induce apoptosis of oral squamous carcinoma cells. The mechanism is potentially involved in regulation of the expression of apoptosis-related proteins Bcl-2 and Bax and activation of the mitochondrial apoptotic pathway.

【Key words】resveratrol; oral squamous cell carcinoma cell; apoptosis; mitochondrial pathway

口腔鳞状细胞癌(oral squamous cell carcinoma, OSCC)是口腔颌面部一种较常见的恶性肿瘤^[1]。目前OSCC标准化的治疗是手术切除以及随后辅助放疗。其中手术治疗会造成颌面部较大面积的缺损,从而导致患者身体和心理上遭受较大的伤害;也

有很多患者由于化疗药物的副作用以及耐药性,而放弃治疗或最终治疗失败^[2]。所以,寻找出新的低毒高效的抗癌剂和化疗增敏药物是改善OSCC预后的关键。

白藜芦醇是一类天然的多酚类物质,其具有广

基金项目:安徽省大学生创新创业训练计划项目(201810368129);皖南医学院大学生科研资助金项目(WK2019S22);弋矶山医院引进人才科研基金项目(YR202108)

收稿日期:2021-05-08

作者简介:于 瑞(1998-),女,2016级口腔医学专业本科生,(电话)13033032662,(电子信箱)1758224119@qq.com;

周静萍,女,教授,硕士生导师,(电子信箱)378686050@qq.com,通信作者。

泛的药理作用和良好的生物学活性,可以调节代谢,保护心血管,抗炎和抗肿瘤等^[3]。有研究提到其能通过阻滞细胞周期、调节相关蛋白表达及活化线粒体等途径,诱导胃癌、肝癌和卵巢癌等肿瘤细胞凋亡的发生^[4-6]。但白藜芦醇对 OSCC 的相关研究报告较少,是否能作为一种天然的肿瘤化学预防剂应用于 OSCC,目前尚无明确的机制研究。本研究采用 HN4、Cal27、HN6 3 种细胞株作为研究对象,观察白藜芦醇对 OSCC 细胞凋亡的影响,探索线粒体通路在 OSCC 细胞发生凋亡的过程中起到的作用,为 OSCC 临床治疗提供新的方向。

1 材料与方法

1.1 实验材料 人 OSCC 细胞 HN4、Cal27、HN6 (ATCC 公司);DMEM-F12 培养基、DMEM、胰酶及胎牛血清(美国 GIBCO);白藜芦醇、线粒体分离试剂盒、二甲基亚砷(DMSO)、β-actin 鼠抗(上海碧云天);Bax、Bcl-2、caspase3、cytochrome C 兔抗(武汉 ABelonal);MTT 试剂盒、细胞裂解液、BCA 蛋白浓度测定试剂盒(凯基生物);Real Master Mix RT-PCR 试剂盒、逆转录试剂盒(北京天根)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 HN4、Cal27 在 DMEM 完全培养基中培养。HN6 在 DMEM-F12 完全培养基中培养。CO₂ 恒温培养箱保持 37℃ 左右,细胞生长至瓶底 90% 左右进行传代。

1.2.2 细胞处理 细胞贴壁后,分成对照组和处理组。对照组:未作任何处理的 3 种细胞;处理组:不同浓度梯度的白藜芦醇处理 3 种细胞。

1.2.3 MTT 法测定 OSCC 细胞的活力 细胞按 1×10⁴ 个/孔均匀铺在 96 孔板中,通过预实验确定白藜芦醇的作用浓度梯度。不同浓度梯度(25、50、100、200、400 μmol/L)的白藜芦醇处理 96 孔板 24、48 h,设置对照组和调零组,每组 6 个复孔。每孔加入 50 μL 1×MTT 至蓝色结晶出现后,使用 150 μL DMSO 充分溶解蓝色结晶。酶联免疫检测仪 570 nm 测定各孔的吸光值(即 OD 值)。细胞活力计算:细胞存活率=[(处理组 OD 值-空白组 OD 值)/(对照组 OD 值-空白组 OD 值)]×100%。本次实验共重复 3 次。

1.2.4 蛋白质免疫印迹法(Western blot) 将生长状态良好的 3 种细胞分别铺在 6 孔板上,细胞贴壁后处理组中分别加入 50、100、200 μmol/L 白藜芦醇处理 48 h,设置对照组(对照组不作处理)。细胞裂解液和 PMSF 提取细胞的总蛋白和胞浆蛋白,胞浆

蛋白提取时需加入线粒体分离试剂。采用 BCA 试剂盒测量浓度。用 10% SDS-PAGE 凝胶分离蛋白,通过湿法转印到 NC 膜上;脱脂牛奶封闭 1 h,后放入一抗 Bax、Bcl-2、Cyt-c、caspase3、cleared-caspase3 中 4℃ 摇床过夜,β-actin 为内参对照;二抗孵育 1.5 h 后用化学发光分析仪曝光,实验均重复 3 次。

1.2.5 实时荧光定量 PCR(RT-PCR) 细胞处理同 Western blot 处理组,β-actin 内参对照,目的基因引物序列由上海生工设计(表 1),Trizol 法提取总 RNA,按照 Real Master Mix RT-PCR 试剂盒说明进行反应液的配制,逆转录后使用 7500ABI real-time PCR 仪进行检测,实验重复 3 次。

表 1 RT-PCR 所需引物序列

基因名称	引物序列
BCL2	F:GTGGATGACTGAGTACCTGAACCG R:AGAGTCTTCAGAGACAGCCAGGAG
BCL2 associated X	F:CGAAGTGGACAGTAACATGGAG R:CAGTTTGCTGGCAAAGTAGAAA
CYCS(cytochrome c)	F:GCCAATAAGAACAAAGGCATCA R:TTAAGTCTGCCCTTTCTTCTCTT

1.3 统计学方法 本研究统计学分析采用 SPSS 19.0 软件处理。实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验;多组间比较采用随机区组设计方差分析,多组间两两比较采用 LSD 法。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 白藜芦醇降低了 OSCC 细胞的存活率 不同浓度白藜芦醇处理 24、48 h 后,OSCC 细胞数目明显减少,密度降低(图 1)。酶标仪读取 OD 值后计算细胞活力。在 25、50、100、200、400 μmol/L 白藜芦醇分别处理 3 种细胞 24、48 h 后(表 2),3 种细胞活力在 50 ~ 400 μmol/L 浓度上均低于 0 μmol/L 浓度 (*P* < 0.05);在 50 ~ 400 μmol/L 浓度处理 48 h 后,3 种细胞活力均低于 24 h (*P* < 0.05)。

2.2 Western blot 法检测白藜芦醇对相关凋亡蛋白表达量的影响

2.2.1 白藜芦醇处理后 Bax 和 Bcl-2 的蛋白表达量变化见图 2、表 3,与对照组 0 μmol/L 相比,在 100 和 200 μmol/L 浓度作用 HN4、Cal27 细胞时,Bcl-2 蛋白表达低于对照组 (*P* < 0.05);在 HN6 细胞中,50 ~ 200 μmol/L 浓度时 Bcl-2 蛋白表达低于对照组 (*P* < 0.05)。而在 50 ~ 200 μmol/L 浓度处理 HN4、HN6 细胞时,Bax 蛋白表达高于对照组 (*P* < 0.05);在 Cal27 中,100 和 200 μmol/L 浓度时 Bax 蛋白表达

高于对照组($P<0.05$)。说明白藜芦醇促凋亡过程中调控了 Bcl-2、Bax 的变化。

2.2.2 经白藜芦醇处理后,与对照组 0 $\mu\text{mol/L}$ 相比(图 3、表 4),不同浓度处理 3 种细胞总蛋白中 cyt-c 的表达量没有明显的变化($P>0.05$),接着提取 3 种细胞的胞浆蛋白,发现 50~200 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时胞浆蛋白内的 cyt-c 表达量高于对照组;且随着处理浓度的增加, cyt-c 表达量也在逐渐上升($P<0.05$)。白藜芦醇的促凋亡作用可能与 cyt-c 释放到胞浆内的过程密切相关。

2.2.3 与对照组 0 $\mu\text{mol/L}$ 相比(图 4、表 5),随着白藜芦醇处理浓度的增加,50~200 $\mu\text{mol/L}$ 浓度时 HN4、Cal27 细胞内的 caspase3 表达并未出现变化($P>0.05$);HN6 细胞内的 caspase3 表达在 200 $\mu\text{mol/L}$ 时略有下降($P<0.05$),而 3 种细胞 cleaved-caspase3 的表达在 100 和 200 $\mu\text{mol/L}$ 时均高于对照组($P<0.05$)。因此,可以说明在白藜芦醇的作用下 OSCC 中的 caspase3 被活化。

2.3 实时荧光定量 PCR 检测白藜芦醇处理后相关因子 mRNA 表达情况 不同浓度的白藜芦醇处理细胞 48 h 后,RT-PCR 检测 Bax、Bcl-2 及 cyt-c mRNA 的表达量变化,与对照组 0 $\mu\text{mol/L}$ 相比(表 6),3 种细胞 Bcl-2 mRNA 表达在 100 和 200 $\mu\text{mol/L}$ 时均低于对照组($P<0.05$),在 100、200 $\mu\text{mol/L}$ 浓度

作用 HN4、Cal27 细胞时,Bax、cyt-c mRNA 表达均高于对照组($P<0.05$);在 200 $\mu\text{mol/L}$ 浓度处理 HN6 时,Bax、cyt-c mRNA 表达高于对照组($P<0.05$)。说明白藜芦醇可能是通过调控 Bcl-2、Bax 来参与 OSCC 的凋亡过程,且其促凋亡的过程与 cyt-c 释放的过程有关。

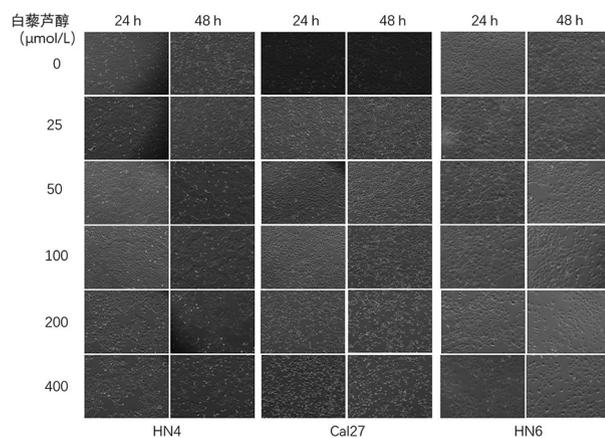


图 1 白藜芦醇对 HN4、Cal27、HN6 细胞数目的影响($\times 1,00$)

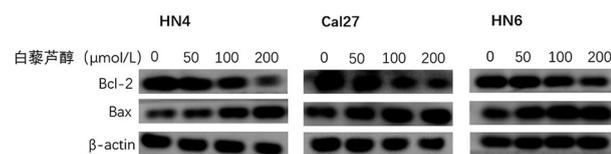


图 2 Western blot 检测白藜芦醇对 3 种细胞中 Bcl-2 和 Bax 蛋白的影响

表 2 白藜芦醇对 HN4、Cal27、HN6 细胞活力的影响($n=3, \%$)

指标	时间	0 $\mu\text{mol/L}$	25 $\mu\text{mol/L}$	50 $\mu\text{mol/L}$	100 $\mu\text{mol/L}$	200 $\mu\text{mol/L}$	400 $\mu\text{mol/L}$	F	P
HN4	24 h	100.03 \pm 4.66	92.96 \pm 2.94*	88.30 \pm 2.69**	81.61 \pm 3.26**	71.53 \pm 3.23**	59.41 \pm 3.08**	186.858	0.000
	48 h	100.04 \pm 6.29	92.17 \pm 4.13*	66.56 \pm 3.43**	51.79 \pm 4.72**	42.05 \pm 2.83**	35.03 \pm 3.91**	518.542	0.000
	t	0.002	0.270	8.640	9.008	11.881	8.477		
P	0.999	0.801	0.001	0.001	0.000	0.001			
Cal27	24 h	100.01 \pm 3.50	94.84 \pm 2.31	85.00 \pm 2.82**	76.23 \pm 2.76**	67.04 \pm 2.91**	48.00 \pm 3.40**	673.161	0.000
	48 h	100.01 \pm 6.98	88.01 \pm 4.01**	64.01 \pm 2.74**	48.01 \pm 2.48**	38.63 \pm 2.14**	29.87 \pm 2.87**	176.725	0.000
	t	0.001	2.553	9.238	13.184	13.641	7.059		
P	1.000	0.063	0.001	0.000	0.000	0.002			
HN6	24 h	100.01 \pm 9.79	95.00 \pm 3.94	86.27 \pm 3.25*	73.87 \pm 5.13**	65.01 \pm 4.42**	42.00 \pm 4.05**	227.192	0.000
	48 h	100.02 \pm 9.50	86.00 \pm 5.39**	66.00 \pm 4.01**	48.03 \pm 2.63**	42.00 \pm 3.46**	24.67 \pm 4.12**	366.896	0.000
	t	0.001	2.336	6.798	7.768	7.093	5.199		
P	0.999	0.080	0.002	0.001	0.002	0.007			

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs. 0 $\mu\text{mol/L}$ 组。

表 3 白藜芦醇对 3 种细胞处理后 Bcl-2 和 Bax 蛋白表达量变化(Gene/ β -actin, $n=3$)

因子	细胞	0 $\mu\text{mol/L}$	50 $\mu\text{mol/L}$	100 $\mu\text{mol/L}$	200 $\mu\text{mol/L}$	F	P
Bcl-2	HN4	1.278 \pm 0.048	1.176 \pm 0.043	0.970 \pm 0.108**	0.554 \pm 0.041**	271.729	0.000
	Cal27	1.286 \pm 0.053	1.182 \pm 0.074	0.959 \pm 0.069**	0.703 \pm 0.089**	36.594	0.000
	HN6	1.395 \pm 0.063	1.266 \pm 0.066*	1.033 \pm 0.038**	0.743 \pm 0.059**	88.035	0.000
Bax	HN4	0.755 \pm 0.131	1.070 \pm 0.176*	1.482 \pm 0.198**	1.624 \pm 0.121**	47.229	0.000
	Cal27	0.925 \pm 0.005	1.164 \pm 0.166	1.342 \pm 0.170**	1.462 \pm 0.155**	24.870	0.001
	HN6	0.845 \pm 0.040	1.045 \pm 0.091**	1.324 \pm 0.081**	1.428 \pm 0.061**	83.231	0.000

注: * $P<0.05$, ** $P<0.01$ vs. 0 $\mu\text{mol/L}$ 组。

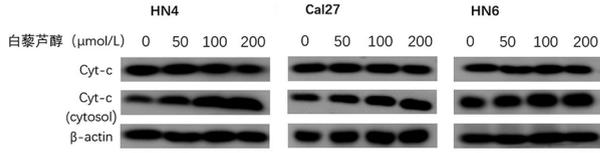


图3 Western blot 检测白藜芦醇作用后3种细胞中 cyt-c 蛋白表达量变化

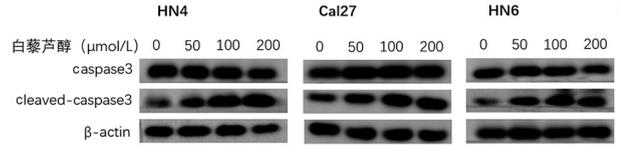


图4 Western blot 检测白藜芦醇作用后3种细胞中 caspase3 及 cleaved-caspase3 的蛋白表达量变化

表4 白藜芦醇对3种细胞处理后 cyt-c 蛋白表达量变化(Gene/β-actin, n=3)

因子	细胞	0 μmol/L	50 μmol/L	100 μmol/L	200 μmol/L	F	P
cyt-c	HN4	1.005±0.039	1.037±0.040	1.114±0.116	1.081±0.074	1.083	0.425
	Cal27	1.058±0.101	0.912±0.084	0.886±0.101	0.963±0.107	1.781	0.251
	HN6	0.937±0.046	0.979±0.049	1.031±0.098	0.967±0.051	2.228	0.186
cyt-c (cytosol)	HN4	0.516±0.045	0.629±0.032*	0.785±0.058**	0.840±0.046**	40.537	0.000
	Cal27	0.316±0.066	0.434±0.011**	0.630±0.019**	0.757±0.047**	75.919	0.000
	HN6	0.375±0.106	0.537±0.022*	0.639±0.082**	0.869±0.021**	31.090	0.000

注: *P<0.05, **P<0.01 vs. 0 μmol/L 组。

表5 白藜芦醇对3种细胞处理后 caspase3 蛋白表达量变化(Gene/β-actin, n=3)

因子	细胞	0 μmol/L	50 μmol/L	100 μmol/L	200 μmol/L	F	P
caspase3	HN4	1.102±0.077	1.208±0.036	1.159±0.050	1.102±0.151	0.905	0.492
	Cal27	1.026±0.073	1.098±0.060	1.080±0.106	1.119±0.116	0.456	0.723
	HN6	1.050±0.040	1.001±0.037	1.070±0.066	0.953±0.030*	10.241	0.009
c-caspase3	HN4	0.864±0.062	1.037±0.140	1.348±0.110**	1.546±0.061**	25.150	0.000
	Cal27	0.795±0.078	0.913±0.080	1.126±0.026**	1.257±0.078**	26.198	0.001
	HN6	0.575±0.051	0.825±0.102**	1.073±0.075**	1.199±0.070**	487.972	0.000

注: *P<0.05, **P<0.01 vs. 0 μmol/L 组。

表6 白藜芦醇处理后3种细胞 Bcl-2、Bax 及 cyt-c mRNA 表达量变化(Gene/β-actin, n=3)

因子	细胞	0 μmol/L	50 μmol/L	100 μmol/L	200 μmol/L	F	P
Bcl-2	HN4	1.005±0.076	0.837±0.170	0.612±0.091**	0.484±0.121**	76.372	0.000
	Cal27	0.974±0.088	0.740±0.151*	0.638±0.066**	0.435±0.093**	44.973	0.000
	HN6	1.021±0.130	0.876±0.151	0.769±0.064*	0.582±0.068**	51.068	0.000
Bax	HN4	1.023±0.153	1.150±0.217	1.467±0.064**	1.720±0.136**	53.853	0.000
	Cal27	0.983±0.167	1.047±0.172	1.327±0.073*	1.653±0.196**	96.006	0.000
	HN6	0.950±0.095	1.100±0.160	1.243±0.157	1.488±0.223*	53.495	0.000
cyt-c	HN4	0.450±0.128	0.545±0.081	0.740±0.065**	1.016±0.081**	20.907	0.001
	Cal27	0.519±0.033	0.600±0.048	0.753±0.141*	0.841±0.109**	5.897	0.032
	HN6	0.420±0.045	0.550±0.045	0.660±0.217	0.830±0.150**	7.976	0.016

注: *P<0.05, **P<0.01 vs. 0 μmol/L 组。

3 讨论

白藜芦醇作为天然抗氧化剂,多种肿瘤细胞的细胞活力能够被其抑制^[3],其抗肿瘤作用引起了广泛的关注。本研究中我们通过 MTT 法发现,在 25、50、100、200、400 μmol/L 白藜芦醇处理 OSCC 细胞后,对 OSCC 细胞存活率的影响呈现浓度和时间的依赖性。这提示了我们白藜芦醇可以明显抑制人 OSCC 细胞的细胞活力,对 OSCC 细胞可能有促进凋

亡的作用。但由于 25 μmol/L 白藜芦醇作用于 OSCC 细胞时,细胞活力的变化差异无统计学意义;而在作用浓度 400 μmol/L 时,细胞存活率较低,不具有实验意义,故选用浓度梯度为 50、100、200 μmol/L 白藜芦醇用于后续实验。

细胞凋亡过程的启动由细胞内一系列基因交叉控制。在线粒体凋亡通路中,Bcl-2 家族起到了较为重要的作用^[7]。Bcl-2 是家族中主要的抗凋亡蛋白,

其同源基因 Bax 可以与其形成异源二聚体 Bcl-2/Bax 来抑制凋亡,也可以自身形成同源二聚体 Bax/Bax 来促进凋亡发生,两者均广泛存在于线粒体中^[8]。所以,在线粒体凋亡通路中,Bcl-2/Bax 的比例决定着线粒体外膜通路开放的程度,是调节凋亡过程的“阀门”^[9]。本研究中我们发现,伴随着白藜芦醇诱导浓度的上升变化,Bcl-2 逐渐减少,Bax 逐渐升高。这一结果提示,白藜芦醇可能是通过调节 Bcl-2、Bax 的变化,形成大量 Bax/Bax 来促进 OSCC 发生凋亡,这一过程可能有线粒体的参与。

线粒体是真核细胞能量代谢的中心,功能异常会导致细胞凋亡的发生^[10]。在线粒体凋亡通路中 cytochrome C 释放入胞质,是线粒体通路激活的标志^[11]。本研究中我们发现白藜芦醇处理后,细胞总蛋白中 cyt-c 表达量没有明显变化,而胞浆蛋白中 cyt-c 的表达随白藜芦醇浓度的增加而上升。cytochrome C 释放后可以与 Apaf-1、Pro-caspase9 合成凋亡小体,最终激活 caspase3。而 caspase3 活化是 caspase 级联反应的最后一步^[12],其可以通过分解 DNA 修复酶、激活核酸内切酶来促进细胞凋亡的发生^[13]。本研究中我们发现 caspase3 的表达没有明显变化或略微下降,而 cleaved-caspase3 则随作用浓度增加而上升。有报道显示 Bax 可以增加线粒体通透性,激活线粒体通路促进凋亡发生^[7];而 Bcl-2 可以通过稳定线粒体膜电位,阻止 cytochrome C 释放到胞浆内,来发挥抗凋亡的作用^[8]。这提示我们,白藜芦醇作用后可能是通过调节 Bcl-2、Bax 的表达,活化线粒体通路,使 cyt-c 向胞浆内释放激活 caspase3,最终促使 OSCC 细胞发生凋亡。除此以外,在凋亡发生过程中,细胞内外 Ca^{2+} 交换、活性氧水平的改变和线粒体膜通透性的改变等都有可能影响 cyt-c 的释放^[14-15],以上这些仍待我们进一步的探究。

综上所述,本研究结果表明白藜芦醇可能是通过调节 Bax、Bcl-2 因子来激活线粒体通路,使 cyt-c 向胞浆内释放激活 caspase3,最后诱导 OSCC 发生凋亡。本研究结果为白藜芦醇的临床应用奠定了理论基础,然而,本研究仅是通过体外实验而得出的结论,对于白藜芦醇在临床上的应用仍需进一步探究。OSCC 细胞凋亡的过程是由多种因素调控的,除线粒体通路外,可能还存在与其他途径之间的相互关联,这也需要我们通过更进一步的研究来探讨。

【参考文献】

- [1] 林承重,刘骷麒,周文凯,等. G 蛋白信号调节因子 2 在调控口腔鳞状细胞癌细胞增殖、侵袭中的作用及分子机制[J]. 华西口腔医学杂志,2021,39(3):320-327.
- [2] CHERAGHLOU S, SCHETTINO A, ZOGG CK, *et al.* Changing prognosis of oral cancer: an analysis of survival and treatment between 1973 and 2014 [J]. *Laryngoscope*, 2018, 128(12):2762-2769.
- [3] JOZKOWIAK M, HUTCHINGS G, JANKOWSKI M, *et al.* The stemness of human ovarian granulosa cells and the role of resveratrol in the differentiation of MSCs-A review based on cellular and molecular knowledge[J]. *Cells*, 2020, 9(6):E1418.
- [4] 于明,荣家闵,葛雅琨,等. 白藜芦醇诱导胃癌 BGC-823 细胞凋亡的分子机制[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2019,39(9):1292-1297.
- [5] 劳玲娟,宋新江,徐佳,等. PTEN 在白藜芦醇对体外直肠癌癌细胞生长和凋亡的影响[J]. 中国中药杂志,2017,42(9):1730-1735.
- [6] 蓝鸿雁. 白藜芦醇诱导人卵巢癌 SKOV-3 细胞凋亡机制的研究[D]. 长春:吉林大学,2014.
- [7] WANG TS, COPPENS I, SAORIN A, *et al.* Endolysosomal targeting of mitochondria is integral to Bax-mediated mitochondrial permeabilization during apoptosis signaling[J]. *Dev Cell*, 2020, 53(6):627-645.
- [8] VOLKMANN N, MARASSI FM, NEUMEYER DD, *et al.* The rheostat in the membrane: Bcl-2 family proteins and apoptosis[J]. *Cell Death Differ*, 2014, 21(2):206-215.
- [9] HOSHYAR R, BATHAIE SZ, SADEGHIZADEH M, *et al.* Crocin triggers the apoptosis through increasing the Bax/Bcl-2 ratio and caspase activation in human gastric adenocarcinoma, AGS, cells[J]. *DNA Cell Biol*, 2013, 32(2):50-57.
- [10] QIN YM, JIANG X, YANG Q, *et al.* The functions, methods, and mobility of mitochondrial transfer between cells[J]. *Front Oncol*, 2021, 11(5):672781.
- [11] KANG J, JIA Z, PING Y, *et al.* Testosterone alleviates mitochondrial ROS accumulation and mitochondria-mediated apoptosis in the gastric mucosa of orchiectomized rats[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2018, 649(7):53-59.
- [12] HAMDY AAA, BASMA GE. Cisplatin induced testicular damage through mitochondria mediated apoptosis, inflammation and oxidative stress in rats: impact of resveratrol [J]. *Endocr J*, 2020, 67(9):969-980.
- [13] 丁大伟. 线粒体途径参与蟾毒灵诱导肺癌细胞凋亡的机制研究[D]. 南京:南京中医药大学,2015.
- [14] IVANOVA H, VERVLIET T, MONACO G, *et al.* Bcl-2-protein family as modulators of IP receptors and other organellar channels[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*, 2020, 12(4):a035089.
- [15] WANG Y, GUO SH, SHANG XJ, *et al.* Triptolide induces sertoli cell apoptosis in mice via ROS/JNK-dependent activation of the mitochondrial pathway and inhibition of Nrf2-mediated antioxidant response[J]. *Acta Pharmacol Sin*, 2018, 39(2):311-327.

地塞米松对脂多糖介导下人牙周膜干细胞骨向分化过程中的调控作用

何晓光,赵君,李娜

(合肥市口腔医院 安徽医科大学合肥口腔临床学院 药剂科,安徽 合肥 230001)

【摘要】目的:探讨地塞米松(Dex)对脂多糖(LPS)引起的炎症状态下人牙周膜干细胞骨向分化过程的影响及其可能的分子机制。**方法:**体外组织块法培养人牙周膜干细胞,并进行干细胞功能鉴定,取生长状况良好的第3代牙周膜干细胞,分为4组,正常对照组、 1×10^{-8} mol/L Dex组、10 μ g/mL LPS组、 1×10^{-8} mol/L Dex+10 μ g/mL LPS组。培养7 d后Elisa法检测炎症因子IL-6的表达情况;qRT-PCR检测骨相关基因ALP、RUNX-2、BSP表达水平;培养21 d后茜素红染色观察钙化结节形成情况;Western blot检测核蛋白中p65表达情况。**结果:**成功分离培养的人牙周膜干细胞,具有克隆形成能力以及多向分化的潜能;Elisa检测结果显示,LPS组IL-6的表达水平升高($P < 0.05$),Dex+LPS组IL-6的表达水平较LPS组降低($P < 0.05$);qRT-PCR结果显示Dex组骨相关基因ALP、RUNX-2、BSP表达水平上调($P < 0.05$),Dex+LPS组ALP、RUNX-2、OPN表达水平较Dex组下调($P < 0.05$);茜素红染色结果显示,Dex组钙化结节最多,Dex+LPS组次之,LPS组与空白对照组无钙化结节形成;Western blot检测结果显示,核蛋白中LPS组p65表达量较高($P < 0.05$),Dex+LPS组p65表达较LPS组降低($P < 0.05$)。**结论:**Dex具有促进牙周膜干细胞成骨分化及抗炎的作用,其可能是由于抑制了NF- κ B信号通路的关键分子p65入核降低了炎症反应的发生。

【关键词】地塞米松;脂多糖;牙周膜干细胞;骨向分化

【中图分类号】R 781.42;R 965 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.017

Effect of dexamethasone on lipopolysaccharide mediated osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells

HE Xiaoguang, ZHAO Jun, LI Na

Department of Pharmacy, Hefei Stomatological Hospital, Hefei 230001, China

【Abstract】Objective: To investigate the effect of dexamethasone (Dex) on osteogenic differentiation of human periodontal ligament stem cells in lipopolysaccharide (LPS)-induced inflammation and its possible molecular mechanism. **Methods:** Human periodontal ligament stem cells were cultured with *in vitro* technique, and the function of stem cells was identified. The third generation of periodontal ligament stem cells were obtained, and divided into blank control group, 1×10^{-8} mol/L Dex group, 10 μ g/mL LPS group and 1×10^{-8} mol/L Dex + 10 μ g/mL LPS group. Seven days after culturing, IL-6 expression was detected by ELISA, and expression levels of ALP, Runx-2 and BSP were measured by qRT-PCR. By day 21 after culturing, alizarin red staining was performed to observe the formation of calcified nodules, and Western blot was used to assay the expression of p65. **Results:** Human periodontal ligament stem cells were successfully isolated and cultured, which had the ability of clone formation and multi-directional differentiation. ELISA results showed that IL-6 expression in LPS group was significantly higher than that in Dex+LPS group ($P < 0.05$). qRT-PCR demonstrated that the expression levels of ALP, Runx-2 and BSP were up-regulated in Dex group ($P < 0.05$), whereas down regulated in Dex+LPS group compared to Dex group ($P < 0.05$). Alizarin red staining exhibited that calcified nodules were most found in Dex group, followed by Dex+LPS group, yet no calcified nodules were seen in LPS group and blank control group. Western blot assay indicated that p65 expression in LPS group was higher than that in Dex+LPS group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Dexamethasone can promote the osteogenic differentiation of and anti-inflammatory effect on the periodontal ligament stem cells. The potential mechanism may be associated with inhibition of p65, the key molecule of NF- κ B signaling pathway, into the nucleus and the reduction of inflammatory reaction.

【Key words】dexamethasone; lipopolysaccharide; human periodontal ligament stem cells; osteogenic differentiation

牙周膜干细胞是牙周组织中的成体干细胞,具有多向分化的潜能,其骨向分化能力在牙槽骨的改

建过程中起着重要的作用^[1],研究^[2]表明炎症状态下人牙周膜干细胞的骨向分化能力减弱,可能是通

基金项目:合肥市自主创新政策“借转补”资金项目(J2019Y03)

收稿日期:2021-06-02

作者简介:何晓光(1984-),男,主管药师,(电话)15077921134,(电子信箱)174321725@qq.com;

赵君,男,副主任医师,(电子信箱)81561632@qq.com,通信作者。

过 NF-κB 信号通路影响了其骨向能力的改变,从而解释了临床上牙周炎患者牙槽骨流失速度过快的原因。革兰阴性菌是牙周炎患者最常见的致病菌,其细胞壁的主要成分脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)是一种重要的炎症诱导因子,可以通过激活 Toll 样受体 4 的表达促发炎症因子的转录,形成炎性微环境^[3-4]。

在一些炎症性疾病、自身免疫性反应和过敏性反应的临床给药中,地塞米松(Dexamethasone, Dex)作为糖皮质激素的代表之一被广泛使用^[5-6]。研究^[7-8]显示, Dex 能够下调多条炎症相关通路的表达,包括 NF-κB 通路,从而发挥其抑制炎症反应、激活改善炎症环境等作用,而在牙周炎中 Dex 是否可以通过抑制 NF-κB 信号通路减缓牙周膜干细胞的炎性表达,从而达到促进成骨的目的为本研究拟探究的关键问题。

1 材料与方法

1.1 实验试剂及仪器 0.1% 茜素红及 Dex, 美国 Sigma 公司;牛血清白蛋白、α-MEM 培养液、LPS, 美国 Abcam 公司;CO₂ 恒温孵育箱, 美国 Thermo 公司;超净工作台, 中国苏州设备净化有限公司;体式显微镜及倒置相差显微镜及照相系统, 日本 OLYMPUS 公司;酶联免疫检测仪, 美国 BIO-TEK 公司;Real-time PCR 仪, 美国 Applied Biosystems 公司;细胞计数仪, 中国 Countstar 公司。

1.2 取材 离体牙取材于合肥市口腔医院因正畸拔除的患者, 年龄 14 ~ 20 岁。取材前征得患者及家属知情同意, 要求患者无全身性疾病, 牙周组织健康。

1.3 牙周膜干细胞的分离培养和纯化 本课题组借鉴牙周膜干细胞分离培养的方法^[2-3]并加以改良, 采取消化法(60 min)结合组织块贴壁法培养牙周膜细胞, 细胞爬出后 7 ~ 10 d 传代。取对数生长期的第 1 代细胞进行纯化, 将细胞进行低密度接种, 出现细胞克隆集落后常规传代培养。

表 1 引物序列

Gene	Forward primer	Reverse primer
RUNX-2	5'CACTGGCGCTGCAACAAGA3'	5'CATTCCGGAGCTCAGCAGAATAA3'
OPN	5'GCCGACCAAGGAAAACACTCACT3'	5'GGCACAGGTGATGCCTAGGA3'
ALP	5'GGACCATTCCACGCTCTTCAC3'	5'CCTTGTAGCCAGGCCATTG3'
β-actin	5'GGGAAATCGTGCGTGACATTAAGG3'	5'CAGGAAGGAAGGCTGGAAGAGTG3'

1.10 统计学分析 使用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析。计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 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 SNK 法。检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

1.4 多向分化潜能鉴定 分别对低密度克隆化培养的牙周膜细胞进行成骨、成脂诱导, 进行干细胞多向分化潜能的鉴定, 培养 21 d 后分别用茜素红、油红 O 对其进行钙化结节与脂滴的染色。

1.5 实验分组 将第 3 代细胞随机分为 4 组, 正常对照组为正常培养液培养的牙周膜细胞; Dex 组为含 Dex 终浓度为 1×10^{-8} mol/L 培养液培养的牙周膜细胞; LPS 组为 $10 \mu\text{g/mL}$ LPS 刺激的牙周膜细胞; Dex+LPS 组为同时含有 1×10^{-8} mol/L Dex 和 $10 \mu\text{g/mL}$ LPS 培养液培养的牙周膜细胞。

1.6 Elisa 检测炎症因子 IL-6 表达水平 分别于 24 h 后收集正常组、Dex 组、LPS 组及 Dex+LPS 组的培养液, Elisa 试剂盒检测培养液中 IL-6 的表达水平, 酶标仪 450 nm 波长读取光密度值, 制作标准曲线, 计算出各组 IL-6 的含量。

1.7 茜素红染色 将培养 21 d 的 4 组细胞弃上清液, PBS 清洗 2 遍控干后 4% 多聚甲醛固定 10 min。弃固定液 PBS 冲洗, 加入 1% 茜素红染液染色, 20 min 后 PBS 洗净, 倒置相差显微镜观察。

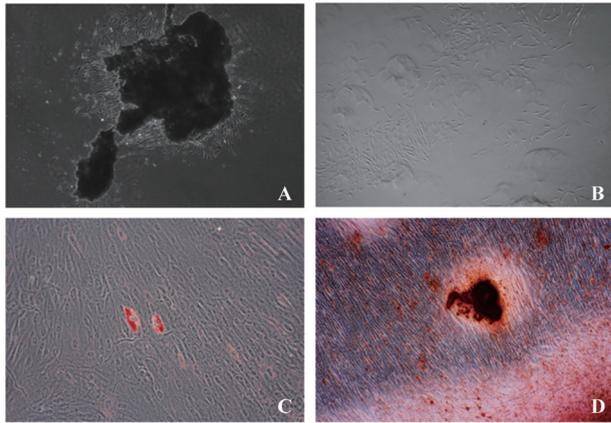
1.8 Real-time PCR 检测各组细胞骨向分化诱导后 RUNX-2、OPN、ALP 表达 将各组细胞培养 7 d 后利用 Trizol 试剂盒 mRNA, 酶标仪测定 mRNA 纯度及浓度, 按照逆转录试剂盒方法逆转录形成 cDNA。qRT-PCR 检测骨相关基因 RUNX-2、OPN、ALP 的相对表达量。引物由上海生工生物工程有限公司合成, 引物序列见表 1。

1.9 Western blot 检测各组细胞核蛋白中 p65 的表达水平 收集 4 组细胞, 吸取培养液控干培养瓶, 用预冷的 PBS 清洗 2 遍并控干, 利用核蛋白提取试剂盒提取细胞核蛋白, 过程中注意冰上操作, 电泳转膜后用 5% 脱脂牛奶室温封闭 2 h, 加入 p65 一抗, 4℃ 环境下孵育过夜。洗膜后加入二抗(1:5 000)孵育 2 h, TBST 洗涤 4 次, 每次 8 min, ECL 化学发光试剂曝光显影。采用 Image J 软件分析条带灰度值, 计算各目的蛋白与 GAPDH 灰度值的比值。

2 结果

2.1 人牙周膜干细胞培养与鉴定 常规培养液培养 7 d 左右观察到细胞从组织块周围爬出, 多成长梭形(图 1A), 取对数生长期的第 1 代细胞低密度接

种进行纯化,镜下可见克隆集落形成(图 1B),消化克隆细胞进行常规传代培养,并对其进行干细胞多向分化潜能的鉴定,成脂、成骨诱导 21 d 后分别可见形成脂滴(图 1C)和钙化结节(图 1D)。



A. 组织块周围有细胞爬出;B. 低密度接种后克隆集落形成;C. 成脂诱导 21d 后脂滴形成;D. 成骨诱导 21d 后钙化结节形成。

图 1 人牙周膜干细胞生长情况

2.2 Elisa 检测各组细胞炎症因子 IL-6 表达水平结果显示,LPS 组 IL-6 表达水平高于正常对照组($P < 0.05$),提示 LPS 诱导炎症反应产生,Dex+LPS 组 IL-6 表达水平较 LPS 组减轻($P < 0.05$),提示 Dex 起到了抗炎作用,见表 2。

表 2 各组细胞 IL-6 表达水平($\bar{x} \pm s, n=3$)

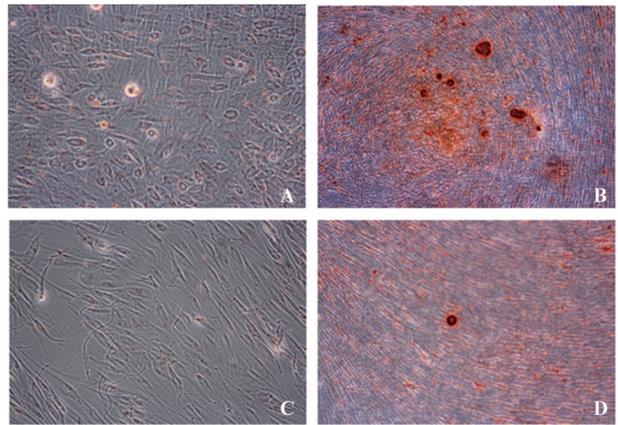
组别	IL-6/(ng/mL)
正常对照组	0.902 9±0.015 1
Dex 组	0.473 7±0.028 8
LPS 组	12.444 4±0.040 3 *
Dex+LPS 组	4.669 3±0.049 0 **
F	72 407.611
P	0.000

注: * $P < 0.05$ vs. 正常对照组;# $P < 0.05$ vs. LPS 组。

2.3 茜素红染色观察各组细胞钙化结节形成情况

将各组细胞培养 21 d 后,茜素红染色观察钙化结节形成情况,正常对照组(图 2A)、LPS 组(图 2C)未见明显钙化结节产生,Dex 组钙化结节明显可见(图 2B),Dex+LPS 组钙化结节明显较 LPS 组多,较 Dex 组少(图 2D),提示 Dex 可改善炎症状态下牙周膜干细胞骨向分化的能力。

2.4 Dex 对 LPS 刺激下牙周膜干细胞骨基因 ALP、RUNX-2、OPN mRNA 表达的影响 结果显示,Dex 组与 Dex+LPS 组骨相关基因 ALP、RUNX-2、OPN mRNA 表达量均较正常对照组上调($P < 0.05$);Dex+LPS 组骨相关基因 ALP、RUNX-2、OPN mRNA 表达水平均较 LPS 组增加($P < 0.05$),见表 3。



A. 正常对照组;B. Dex 组;C. LPS 组;D. Dex+LPS 组。

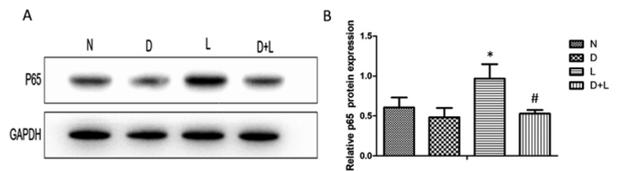
图 2 各组细胞钙化结节形成情况

表 3 各组细胞基因 ALP、RUNX-2、OPN mRNA 表达情况($\bar{x} \pm s, n=3$)

组别	ALP	RUNX-2	OPN
正常对照组	1.001±0.002	1.000±0.002	1.000±0.002
Dex 组	7.493±0.356 *	5.477±0.167 *	4.880±0.110 *
LPS 组	0.844±0.028	0.892±0.013	0.941±0.016
Dex+LPS 组	4.650±0.084 **	3.241±0.113 **	4.346±0.198 **
F	908.079	1 382.618	1 041.857
P	0.000	0.000	0.000

注: * $P < 0.05$ vs. 正常对照组;# $P < 0.05$ vs. LPS 组。

2.5 NF- κ B 信号通路关键分子 p65 核蛋白表达水平 结果显示,LPS 组 p65 核蛋白表达量升高($P < 0.05$),提示 LPS 刺激的炎症反应激活了 NF- κ B 信号通路,而 Dex+LPS 组 p65 核蛋白表达量较 LPS 组降低($P < 0.05$),提示 Dex 可能抑制了 NF- κ B 信号通路,见图 3。



A. 各组 p65 核蛋白表达;B. p65 核蛋白与 GAPDH 灰度值的比值。
* $P < 0.05$ vs. 正常对照组(N);# $P < 0.05$ vs. LPS 组(L)。n=3, $\bar{x} \pm s$;
F=8.803, P=0.006。

图 3 各组中 p65 核蛋白表达情况

3 讨论

牙周炎是一种炎症性、破坏性疾病,是由牙菌斑导致的牙周附着结构的破坏,是成人牙齿丧失的首要原因。我国是牙周病的高发国家,根据我国第四次全国口腔流行病学调查研究资料显示:中年人群的牙周炎患病率随着年龄的增长而逐渐升高,发展

到老年人群的失牙率和无牙颌率居高不下^[9]。牙周炎致病菌细胞膜外的LPS可通过Toll样受体4介导炎症反应的发生,在本研究中,课题组选用LPS刺激人牙周膜干细胞,并检测了炎症因子IL-6的表达,模拟了牙周炎的炎性微环境,并在此基础上探讨了Dex的抗炎作用以及对人牙周膜干细胞成骨的影响,研究结果显示,LPS刺激后加入Dex能明显降低炎症因子的表达,并可上调成骨相关基因ALP、RUNX-2、OPN mRNA表达水平,提示Dex在一定程度上恢复了炎症状态下牙周膜干细胞的功能,从而达到减缓牙槽骨的丧失改善牙周健康的目的。

Dex是临床上使用最广的一种糖皮质激素,具有抗病毒、抑制炎症及免疫应答、抗休克作用。糖皮质激素在口腔临床治疗中可以辅助用于口腔黏膜疾病、牙周牙髓联合病变、下颌埋伏阻生智齿拔除术以及牙拔除术后的抗感染、防止干槽症等方面,研究表明Dex可以减轻炎症介导的对血管内皮细胞的抑制作用^[10],亦可抑制人肺上皮细胞炎症反应^[11]。本研究中,课题组研究了牙周膜干细胞在不同刺激因素下NF- κ B信号通路中关键分子p65核蛋白表达水平,结果发现LPS刺激下人牙周膜干细胞p65核蛋白表达水平明显增高,提示NF- κ B信号通路被激活,而加入Dex后p65核蛋白表达水平降低,NF- κ B信号通路被抑制,成骨相关基因表达上升,提示Dex可能通过抑制炎症信号通路NF- κ B从而促进人牙周膜干细胞的成骨分化,但本研究尚未对p65上游分子进行研究,亦没有建立牙周炎动物模型验证Dex的治疗效果,这也为后续的研究提供了思路。

【参考文献】

- [1] 朱永翠,翟蕾,闫亚姿,等.过表达ADAM10通过调控NOTCH信号通路对牙周膜干细胞成骨分化的影响[J].口腔医学研究,2021,37(5):468-473.
- [2] 陈小燕,丁寅,金岩. TNF- α 通过NF- κ B信号通路对人牙周膜干细胞成骨分化调控作用的研究[J].口腔生物医学,2015,6(3):124-128.
- [3] SLOTS J. Periodontal herpesviruses: prevalence, pathogenicity, systemic risk[J]. Periodontology 2000,2015,69(1):28-45.
- [4] EBERSOLE JL, DAWSON D, EMECEN-HUJA P, et al. The periodontal war: microbes and immunity [J]. Periodontology, 2000, 2017,75(1):52-115.
- [5] HEX K, HEX J, LI B, et al. Dexamethasone impairs the differentiation and maturation of maturation of murine dendritic cells by Toll-like receptor4-nuclear factor- κ B pathway [J]. Chin Med J,2010,123(3):344-350.
- [6] 杨忻宸,周全红.地塞米松对脂多糖激活的核因子- κ B信号通路作用机制研究进展[J].南昌大学学报(医学版),2020,60(4):94-98.
- [7] LECOQ L, VINCENT O, LACOLE LAMOUREUX A, et al. Genomic and non-genomic effects of dexamethasone on equine peripheral blood neutrophils [J]. Vet Immunol Immunopathol,2009,128:126-131.
- [8] GABBIA D, POZZO L, ZIGIOTTO G, et al. Dexamethasone counteracts hepatic inflammation and oxidative stress in cholestatic rats via CAR activation [J]. PLoS One,2018,13(9):e0204336.
- [9] 孟焕新.牙周病学[M].5版.北京:人民卫生出版社,2020:1.
- [10] RYAN KM, BOYLE NT, HARKIN A, et al. Dexamethasone attenuates inflammatory-mediated suppression of β_2 -adrenoceptor expression in rat primary mixed glia [J]. J Neuroimmunol, 2020, 338:577082.
- [11] PATIL RH, NAVEEN KUMAR M, KIRAN KUMAR KM, et al. Dexamethasone inhibits Inflammatory response via down regulation of AP-1 transcription factor in human lung epithelial cells [J]. Gene,2018,645:85-89.

特殊类型结节性桥本甲状腺炎的声像图特征及误诊分析

郑直,程伟波,韩雨农

(皖南医学院第二附属医院 超声医学科,安徽 芜湖 241000)

【摘要】目的:探究特殊类型结节性桥本甲状腺炎(NHT)的超声声像图特征及误诊分析。**方法:**回顾性分析2017年12月~2021年1月皖南医学院第二附属医院经手术或细针穿刺病理证实的在正常甲状腺背景下的41例NHT患者的声像图特征,并结合中国甲状腺影像报告和数据系统(C-TIRADS)分析部分结节被误诊为恶性的原因;将患者分为甲状腺血清抗体升高组和正常组,分别观察NHT彩色血流分布类型。**结果:**①41个NHT结节均为实性,C-TIRADS 4a类20个,声像图表现为低回声、纵横比<1、边缘清晰,无钙化,低回声声晕;4b类12个,恶性特征为纵横比>1;4c类结节5个,恶性特征主要为纵横比>1,微钙化;5类结节4个,声像图表现为极低回声、纵横比>1、边缘不规则,微钙化;②NHT血流类型分布与甲状腺血清抗体浓度呈正相关($r_s=0.321, P=0.041$);③本研究41例患者41个结节中有高度恶性征象从而导致误诊的结节21个(51.22%),其中4b类结节12个,4c类结节5个,5类结节4个,导致误诊的恶性征象有纵横比>1、边缘不规则、微小强光点。**结论:**在正常甲状腺背景下的实质性低回声结节、边缘清晰、无钙化,特别是伴有低回声声晕时应考虑NHT的可能;当结节内部血流信号丰富且甲状腺血清抗体升高时,提示结节内部淋巴细胞浸润程度严重,有助于对NHT的诊断,结节呈“局限性火海征”时,可以确诊结节为NHT;当结节存在1项或多项恶性征象时,常规超声易误诊,需行超声引导下细针细胞学穿刺活检以提高诊断率。

【关键词】结节性桥本甲状腺炎;甲状腺影像报告和数据系统;甲状腺血清抗体

【中图分类号】R 581.4;R 445.1 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.018

Analysis on the ultrasonographic features and misdiagnosis of special type of nodular Hashimoto thyroiditis

ZHENG Zhi, CHENG Weibo, HAN Yunong

Department of Ultrasonography, The Second Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241000, China

【Abstract】Objective: To examine the ultrasonic property and analyze the misdiagnosis of special type of nodular Hashimoto thyroiditis (NHT). **Methods:** Retrospective analysis was performed on the sonographic features in 41 suspected cases of NHT confirmed as normal thyroid by surgery or pathological study via fine needle aspiration in our hospital from December 2017 to January 2021. All cases were divided into group of elevated or normal thyroid serum antibody. Then the causes leading to misdiagnosis as malignant nodule were analyzed in terms of C-TIRADS scores, and the color blood flow distribution of NHT was observed. **Results:** ①41 NHT nodules were solid, including 20 nodules of 4a. Sonogram showed low echo, aspect ratio<1, and clear edge, without calcification and hypoechoic halo. 4b was seen in 12 nodules, and the major malignant feature was aspect ratio>1. 4c was defined in 5 nodules, of which the primary malignant features were aspect ratio>1, with microcalcification. Five nodules were at grade 5, exhibited extremely low echo, aspect ratio > 1, irregular edge and microcalcification; ②Distribution of NHT blood flow types was positively related to the concentration of thyroid serum antibody ($r_s = 0.321, P = 0.041$); ③ In this study, 41 nodules of 41 patients were analyzed, of which 21 (51.22%) were misdiagnosed due to high malignant signs, including 4b in 12, 4c in 5 and grade 5 in 4 nodules. The malignant signs resulting in misdiagnosis were aspect ratio > 1, irregular edge, and small strong light spot. **Conclusion:** In normal thyroid sonography with low solid echo, clear nodule margin without calcification, NHT is possible, particularly in nodules with hypoechoic halo; Severity of the lymphocyte infiltration inside the nodule can be noted upon rich blood flow signal inside the nodule and elevated thyroid serum antibody, which is conducive to diagnosis of NHT, and NHT can be definitely confirmed when the nodule presents localized-fire-sea sign. Once the nodule has one or more malignant signs, misdiagnosis can be possible in conventional ultrasonography, for which ultrasound guided fine needle aspiration biopsy is needed to improve the diagnostic rate.

【Key words】nodular Hashimoto thyroiditis; thyroid imaging reporting and data system; thyroid serum antibody

基金项目:皖南医学院重点科研项目培育基金(WK2018ZF12)

收稿日期:2021-05-24

作者简介:郑直(1987-),男,主治医师,(电话)13637135912,(电子信箱)309193997@qq.com;

程伟波,男,主任医师,(电话)18955398882,(电子信箱)cwb960235@126.com,通信作者。

桥本甲状腺炎(Hashimoto thyroiditis, HT)是慢性甲状腺炎中最常见的一种亚型,由于 HT 内部各病理改变程度不一致^[1],其声像图表现也复杂多变^[2]。笔者在日常检查与随访中发现,HT 也可呈局灶性改变即结节性桥本甲状腺炎(nodular Hashimoto thyroiditis, NHT),当存在弥漫性 HT 背景时,甲状腺中的局灶性结节通常可以考虑到 NHT 的可能,但是在正常甲状腺背景下发现局灶性结节时,通常会忽视 NHT 的诊断,并且当 NHT 结节存在部分恶性征象时,容易误诊为恶性结节,从而接受不必要的手术治疗。本研究回顾性分析 41 个正常甲状腺背景下的 NHT 声像图特征,并结合中国甲状腺影像报告和数据库系统(Chinese thyroid imaging reporting and data system, C-TIRADS)^[3]分析将部分 NHT 误诊为恶性的原因,以期提高 NHT 的术前诊断准确率。

1 资料与方法

1.1 一般资料 纳入 2017 年 12 月~2021 年 1 月在皖南医学第二附属医院经手术病理证实 NHT 的患者 35 例,经细针穿刺病理证实 NHT 的患者 6 例,共 41 例为研究对象,其中男 5 例,女 36 例,年龄 16~71(46.02±12.28)岁,结节大小 3 mm×3 mm×5 mm~29 mm×20 mm×18 mm。纳入标准:①正常甲状腺背景;②患者均做过甲状腺血清抗体(TG-Ab、TPO-Ab)检查;③最终病理诊断为 NHT。排除标准:①合并甲状腺乳头状癌的患者;②有甲状腺手术病史者。

1.2 仪器与方法 东芝 Aplio500 彩色多普勒超声诊断仪,探头频率 8~12 MHz;由 3 名经验丰富的超声科医师在超声工作站调取图像,统一标准并协作评估结节特征。超声检查方法:①结合 C-TIRADS 指标,记录二维超声观察到的结节声像图特点;②将患者分为甲状腺血清抗体升高组(其中 1 个或 2 个指标都升高)与正常组,血流信号分为 0~Ⅲ级 4 级^[4],标准如下,0 级为结节内未见明显血流信号或少数点状血流信号;Ⅰ级为结节内中心见散在点状或条带状血流信号;Ⅱ级为结节周边见多发点状或条带样血流信号;Ⅲ级为结节内见大片融合五彩镶嵌样血流,包括“局限性火海征”;③启动弹性成像,以 5 分法作为诊断标准,获得结节弹性评分。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,计数资料采用 n (%)表示;相关性分析采用秩相关。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NHT 声像图特征 41 个 NHT 结节均为实性单发病灶,周边甲状腺组织回声正常,其中 C-TIRADS 4a 类 20 个,C-TIRADS 4b 类 12 个,C-TIRADS 4c 类 5 个,C-TIRADS 5 类 4 个。详见表 1 及图 1、2。

表 1 不同 C-TIRADS 分类结节特征

特征		4a	4b	4c	5
结构	实性	20	12	5	4
	回声				
纵横比	中等	8	2	0	0
	低	12	10	4	0
	极低	0	0	1	4
	<1	20	0	0	0
边缘	>1	0	12	5	4
	清晰	20	12	1	0
局灶强回声	不规则	0	0	4	4
	无	20	10	0	0
	粗大	0	2	0	0
低回声声晕	微小	0	0	5	4
	无	12	6	2	2
	有	8	6	3	2
病理	淋巴细胞浸润	10%~50%	>50%	>50%	>50%

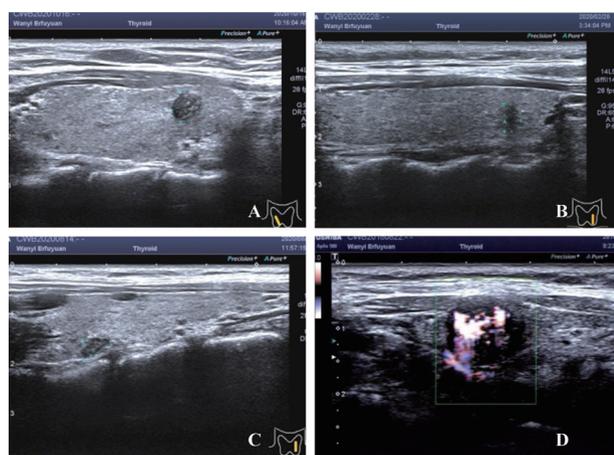


图 1 不同 C-TIRADS 分类结节声像图

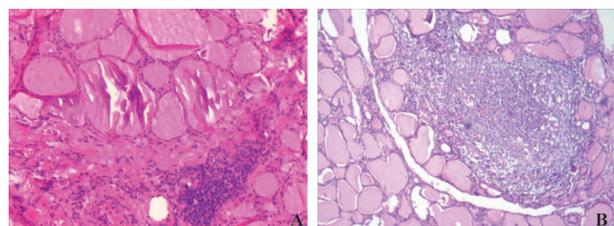


图 2 不同 C-TIRADS 分类结节病理图

2.2 41 个 NHT 结节血流分布类型 结节中血流信号 0 级 7 个(17.07%);Ⅰ级 13 个(31.71%);Ⅱ级 14 个(34.15%);Ⅲ级 7 个(17.07%),其中血

流信号Ⅲ级的结节中表现为“局限性火海征”的5个。

2.3 41个NHT结节弹性评分3分27个(65.85%),4分13个(31.71%),5分1个(2.44%)。

2.4 NHT血流分布类型与甲状腺血清抗体的相关性 NHT血流类型分布与甲状腺血清抗体浓度呈正相关($r_s = 0.321$),差异有统计学意义($P = 0.041$),见表2。

表2 不同NHT血流分布类型与甲状腺血清抗体浓度的比较[n(%)]

		血流分布类型				n
		0级	I级	II级	III级	
血清抗体	正常组	5(25.0)	8(40.0)	5(25.0)	2(10.0)	20
	升高组	2(9.52)	5(23.81)	9(42.86)	5(23.81)	21

2.5 误诊发生情况 本研究分析41例患者41个结节,有高度恶性征象从而导致误诊的21个(51.22%),其中4b类结节12个,4c类结节5个,5类结节4个,导致误诊的恶性征象有:纵横比>1、边缘不规则、微小强光点。

3 讨论

3.1 NHT的声像图特征 NHT是HT中的一个特殊类型^[5],病理特点为结节内部淋巴细胞呈局灶性浸润^[6],当淋巴细胞浸润严重且患者免疫力较低时,在弥漫性桥本背景下可有局灶性结节^[7],当遇到这类结节时应考虑NHT的诊断;患者在病变早期或免疫力较强时,淋巴细胞呈局灶性浸润且周边甲状腺组织正常^[7],NHT表现为正常甲状腺背景下的局灶性低回声结节^[8],容易导致误诊发生。本研究回顾性分析的41个NHT结节绝大部分都是呈低回声、边缘清晰,颈部淋巴结正常,部分结节见低回声晕,未发现一个结节有高回声声晕,当正常甲状腺背景下结节出现上述征象时,我们应该考虑到NHT的可能^[9]。

3.2 彩色血流与甲状腺血清抗体在诊断NHT的应用 Kather等^[10]研究发现甲状腺结节内部淋巴细胞浸润越严重血流越丰富,同时淋巴细胞浸润程度严重会导致甲状腺血清抗体的升高^[11],而本研究41个结节显示血清抗体升高与结节血流丰富呈正相关,依此可以推测当结节内部血流较丰富且甲状腺血清抗体升高时,提示结节内部淋巴细胞浸润程度较严重,有助于对NHT的诊断。在本组41个结节中,有5个结节血流信号呈“局限性火海征”,这一征象被认为是NHT的特异性征象^[12]。

3.3 超声诊断NHT的误诊分析 本研究41例患

者41个结节中有高度恶性征象导致误诊的21个(51.22%),误诊原因有:①纵横比>1的21个,其病理基础可能与NHT内部淋巴细胞呈局限性纵向浸润有关^[13],但是此类结节一般为病变早期,间质纤维化不明显,内部一般无微小钙化;②边缘不规则的8个,可能是结节邻近组织炎症反应形成组织粘连所致,但是此类结节周边不会产生浸润破坏包膜的征象;③微小强光点的9个,可能是由于甲状腺滤泡破坏及再生,同时大量间质纤维化所致^[14],但是此类结节因病理上有内部结构混杂,超声界面相对较多,回声一般呈中等或中等偏低回声。在误诊的21个NHT中伴有低回声声晕的11个,低回声声晕大多出现在良性结节中^[15],低回声声晕可以提高对NHT的诊断率。考虑到NHT声像图与甲状腺乳头状癌极其相似^[16],常规超声诊断时容易混淆,因此笔者认为当患者出现类似上述征象的结节时,均应行超声引导下细针穿刺,以提高诊断率^[17]。

在正常甲状腺背景下的实质性低回声结节、边缘清晰、无钙化,特别是伴有低回声声晕时应该考虑到NHT的可能;当结节内部血流信号丰富且甲状腺血清抗体升高时,提示结节内部淋巴细胞浸润程度严重,有助于对NHT的诊断,结节呈“局限性火海征”时,可以确诊结节为NHT;当结节存在1项或多项恶性征象时,常规超声容易发生误诊,需要进行超声引导下细针细胞学穿刺活检,以明确诊断。

【参考文献】

[1] CATUREGLI P, DE REMIGIS A, ROSE NR. Hashimoto thyroiditis: clinical and diagnos-Tic criteria [J]. Au-toimmun Rev, 2014, 13(4-5): 391-397.

[2] ZHANG JW, CHEN ZJ, GOPINATHAN A. Focal nodular hashimoto's thyroiditis: comparison of ultrasonographic features with malignant and other benign nodules [J]. Ann Acad Med Singap, 2016, 45(8): 357-63.

[3] 周建桥, 詹维伟. 2020年中国超声甲状腺影像报告和数据系统(C-TIRADS)指南解读 [J]. 诊断学理论与实践, 2020, 19(4): 350-353.

[4] ERDOGAN MF, ANIL C, CESUR M, et al. Color flow Doppler sonography for the etiologic diagnosis of hyperthyroidism [J]. Thyroid, 2007, 17(3): 223-228.

[5] WU H, ZHANG B. Ultrasonographic appearance of focal Hashimoto's thyroiditis: A single institution experience [J]. Endocr J, 2015, 62(7): 655-663.

[6] MOLNÁR C, MOLNÁR S, BEDEKOVICS J, et al. Thyroid carcinoma coexisting with hashimoto's thyreoiditis: clinicopathological and molecular characteristics clue up pathogenesis [J]. Pathol Oncol Res, 2019, 25(3): 1191-1197.

七氟醚通过 mTOR 信号通路诱导人神经母细胞瘤细胞自噬的发生

吕静静,程浩,刘虎,金孝炬,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:探讨七氟醚对人神经母细胞瘤细胞(SHSY-5Y 细胞)自噬的影响及 mTOR 信号通路在其中的作用。**方法:**将培养的 SHSY-5Y 细胞随机分为 4 组,空白对照组(C 组)、空白对照+雷帕霉素 50 nmol/L 组(C+R 组)、4.8%七氟醚 12 h 组(S 组)和 4.8%七氟醚 12 h+雷帕霉素 50 nmol/L 组(S+R 组)。各组分别于处理结束时采用 Western blot 法测定各组自噬相关蛋白 LC3-II、LC3-I、Atg5 以及 p-mTOR、t-mTOR、 β -actin 的表达水平;利用 mRFP-EGFP-LC3 质粒转染,共聚焦显微镜观察各组细胞内自噬小体以及自噬溶酶体的数量,从而判断七氟醚对 SHSY-5Y 细胞自噬流的影响及其具体机制。**结果:**与 C 组比较,C+R 组、S 组和 S+R 组自噬相关蛋白 LC3-II/LC3-I 比值、Atg5 表达水平均增高($P<0.05$);与 C+R 组和 S 组比较,S+R 组 LC3-II/LC3-I 比值、Atg5 表达水平也增高($P<0.01$)。与 C 组比较,C+R 组、S 组和 S+R 组 p-mTOR/t-mTOR 比值均降低($P<0.001$);与 C+R 组和 S 组比较,S+R 组 p-mTOR/t-mTOR 比值也降低($P<0.001$)。与 C 组比较,C+R 组、S 组和 S+R 组自噬小体、自噬溶酶体数量均增加($P<0.001$);与 C+R 组和 S 组比较,S+R 组自噬小体、自噬溶酶体数量也增加($P<0.001$)。**结论:**吸入麻醉药七氟醚通过 mTOR 信号通路诱导 SHSY-5Y 细胞自噬的发生。

【关键词】七氟醚;人神经母细胞瘤细胞;细胞自噬;mTOR 信号通路

【中图分类号】R 614;R 739.4 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.019

Sevoflurane induces autophagy in human neuroblastoma cells via mTOR signaling pathway

LÜ Jingjing, CHENG Hao, LIU Hu, JIN Xiaojun, CHEN Yongquan

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

基金项目:皖南医学院中青年科研基金项目(WK2020F12)

收稿日期:2021-06-26

作者简介:吕静静(1990-),女,住院医师,(电话)13695671945,(电子信箱)lvjingjing0829@126.com;

陈永权,男,主任医师,教授,硕士生导师,(电子信箱)chenyq263@163.com,通信作者。

- [7] AJJAN RA, WEETMAN AP. The pathogenesis of hashimoto's thyroiditis: further developments in our understanding[J]. *Horm Metab Res*, 2015, 47(10):702-710.
- [8] 李静, 红华, 孙爱童, 等. 局限性桥本氏甲状腺炎的声像图特征[J]. *中国实用医刊*, 2019, 46(19):21-23.
- [9] OPPENHEIMER DC, GIAMPOLI E, MONTOYA S, et al. Sonographic features of nodular hashimoto thyroiditis[J]. *Ultrasound Q*, 2016, 32(3):271-276.
- [10] KATHER JN, HÖRNER C, WEIS CA, et al. CD163+ immune cell infiltrates and presence of CD54+ Microvessels are prognostic markers for patients with embryonal rhabdomyosarcoma[J]. *Scientific Report*, 2019, 9:9211.
- [11] 郑蓉, 张丹, 李燕东, 等. 桥本甲状腺炎的超声与实验室检查的相关性研究[J]. *中华临床医师杂志*, 2016, 13(10):1875-1879.
- [12] 傅先水, 李志强, 张华斌, 等. 局限性桥本氏甲状腺炎的超声影像学特征[J]. *中国医学科学院学报*, 2014, 36(3):291-295.
- [13] 王晓庆, 魏玺, 徐勇, 等. 甲状腺部分囊性结节的超声特征及良性鉴别诊断的关系[J]. *中华肿瘤杂志*, 2014, 6(8):617-620.
- [14] 陈晶, 原韶玲, 徐恩伟, 等. 误诊为甲状腺癌的甲状腺良性结节的声像图特征与病理表现[J]. *中华医学超声杂志*, 2015, 12(5):413-418.
- [15] ZHENG X, JIANG Y, ZHAO C, et al. Prognostic value of hyperechoic echo halo in cN0 papillary thyroid microcarcinoma and its correlation with age and gender[J]. *Biomed Res Int*, 2020, 27(10):1155.
- [16] PENG Q, NIU C, ZHANG M, et al. Sonographic characteristics of papillary thyroid carcinoma with coexistent Hashimoto's thyroiditis: conventional ultrasound, acoustic radiation force impulse imaging and contrast-enhanced ultrasound[J]. *Ultrasound Med Biol*, 2019, 45(2):471-480.
- [17] HU F, YAN Z, MA B, et al. The impact of concurrent Hashimoto thyroiditis on thyroid nodule cytopathology assessed by ultrasound-guided fine-needle aspiration cytology[J]. *Postgrad Med*, 2020, 132(6):506-511.

[Abstract] Objective: To investigate the effect of sevoflurane on autophagy in human neuroblastoma SHSY-5Y cells and the role of mTOR signaling pathway in autophagy in human neuroblastoma cells. **Methods:** The cultured SHSY-5Y cells were randomized to blank control group (group C), blank control+rapamycin 50 nmol/L group (group C+R), 4.8% sevoflurane 12 h group (group S), and 4.8% sevoflurane 12 h+rapamycin 50 nmol/L group (group S+R). Autophagy-related protein LC3-II, LC3-I and Atg5 expression, p-mTOR and t-mTOR expression as well as β -actin level were measured by Western blotting at the end of treatment. The effect and mechanism of sevoflurane on the autophagy flux of SHSY-5Y cells were measured through transfection of the mRFP-EGFP-LC3 plasmid in each group. The number of autophagosomes and autophagolysosomes were observed by confocal microscope in 40 cells of each group at the end of treatment. **Results:** Compared with group C, the expression of autophagy-related proteins LC3-II/LC3-I and Atg5 was enhanced ($P < 0.05$), the ratio of p-mTOR/t-mTOR was decreased ($P < 0.001$), and the number of autophagosomes and autophagolysosomes were grown ($P < 0.001$) in group C+R and group S. When compared with group C+R or group S, the ratio of LC3-II/LC3-I and Atg5 expression were further increased ($P < 0.01$), whereas the ratio of p-mTOR/t-mTOR tended to decrease in group S+R ($P < 0.001$). The number of autophagosomes and autophagolysosomes were significantly increased in group S+R ($P < 0.001$). **Conclusion:** Inhalation of anesthetic sevoflurane can induce autophagy in SHSY-5Y cells through the mTOR signaling pathway.

[Key words] sevoflurane; human neuroblastoma cells; autophagy; mTOR signaling pathway

七氟醚由于其诱导及苏醒迅速、具有芳香气味、对血流动力学影响较小等优点,已成为目前临床上最常使用的吸入麻醉药之一,大量体外及在体实验研究表明其对发育中的大脑具有神经毒性^[1-2],并引起长期的学习记忆及神经行为学异常^[3]。发育大脑的神经细胞凋亡与七氟醚神经毒性密切相关^[4]。自噬是真核生物中进化上高度保守的细胞途径,参与神经细胞的存活、分化和死亡,并与多种神经退行性疾病相关^[5]。适当水平的自噬可以阻止细胞凋亡的发生^[6]。有研究表明七氟醚激活神经细胞自噬^[7],增加自噬可显著抑制七氟醚诱导的神经毒性^[8],但七氟醚激活自噬的具体机制并不十分明确。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)是一种非典型丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,是参与自噬调控的主要负调控因子^[9],本研究拟探讨七氟醚暴露对 SHSY-5Y 细胞自噬的影响及 mTOR 信号通路是否在其中发挥关键作用,从而为七氟醚发育神经毒性提供可能的治疗靶点。

1 材料与方法

1.1 主要试剂和仪器 人神经母细胞瘤细胞(SHSY-5Y 细胞)(上海中科院细胞库),雷帕霉素、lipofectamine2000、青霉素、链霉素、DMSO、 β -actin 一抗(Sigma 公司,美国),LC3B、Atg5、p-mTOR、t-mTOR 一抗、辣根过氧化物酶标记的二抗(Cell Signaling 公司,美国),胎牛血清、高糖 DMEM 培养基(Gibco 公司,美国),HERAcell 150i CO₂ 培养箱(Thermo 公司,美国),共聚焦显微镜(Zeiss 公司,德国),FluorChem E 化学发光高灵敏度凝胶成像与分析仪(Protein Simple 公司,美国)。

1.2 SHSY-5Y 细胞培养 使用高糖 DMEM 培养基,加入 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素、0.1 mg/mL 链

霉素,进行 SHSY-5Y 细胞的培养,将铺板的细胞置于 95% 空气、5% CO₂ 湿化的 37℃ 培养箱内,每 48 h 更换 1 次培养液,待细胞增长至 80% ~ 90% 汇合时进行传代或铺板,用于实验的细胞于 24 h 后进行药物处理。

1.3 实验分组及药物处理 取传 3 或 4 代的细胞随机分为 4 组($n = 12$),空白对照组(C 组)、空白对照+雷帕霉素 50 nmol/L 组(C+R 组)、4.8% 七氟醚 12 h 组(S 组)和 4.8% 七氟醚 12 h+雷帕霉素 50 nmol/L 组(S+R 组)。于细胞铺板 24 h 后,C+R 组及 S+R 组加入雷帕霉素 50 nmol/L,C 组及 S 组加入等体积的溶剂 DMSO,共培养 1 h 后将 S 组及 S+R 组置入 37℃ 培养箱内含 4.8% 七氟醚的密闭箱中处理 12 h,C 组及 C+R 组置入密闭箱外同一培养箱中继续培养 12 h,收集细胞进行 Western blot 实验。细胞铺板 24 h 后,使用 mRFP-EGFP-LC3 质粒转染 C 组、C+R 组、S 组、S+R 组 12 h,12 h 后 C+R 组及 S+R 组加入雷帕霉素 50 nmol/L,C 组及 S 组加入等体积的溶剂 DMSO,共培养 1 h 后将 S 组及 S+R 组使用 4.8% 七氟醚处理 12 h,C 组及 C+R 组继续培养 12 h,DAPI 染核后共聚焦显微镜观察各组细胞荧光点数。

1.4 自噬及 mTOR 途径相关蛋白的测定 采用 Western blot 法测定自噬相关蛋白 LC3-II、LC3-I、Atg5 以及 p-mTOR、t-mTOR、 β -actin 的表达水平。于七氟醚处理结束后,各组吸去上清,使用预冷的 PBS 清洗两次,加入裂解缓冲液 RIPA 200 μ l 提取总蛋白,采用 BCA 检测法测定蛋白含量。配平后取 40 μ g 蛋白样品上样,进行电泳、转膜、5% 脱脂牛奶室温封闭 1 h,加入一抗 LC3B(1:1 000)、Atg5(1:1 000)、p-mTOR(1:1 000)、t-mTOR(1:1 000)和 β -actin(1:2 000),4℃ 孵育过夜,洗膜后加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:3 000),室温孵育 2 h, TBST 洗膜后 ECL 显色,采用化学发光高灵敏度凝

胶成像与分析仪进行曝光,并采用 Image J 图像分析系统进行分析,以目的蛋白与内参蛋白的灰度值比值反应目的蛋白的表达水平,所有实验独立重复 3 次。

1.5 细胞自噬检测 (mRFP-EGFP-LC3 质粒转染)

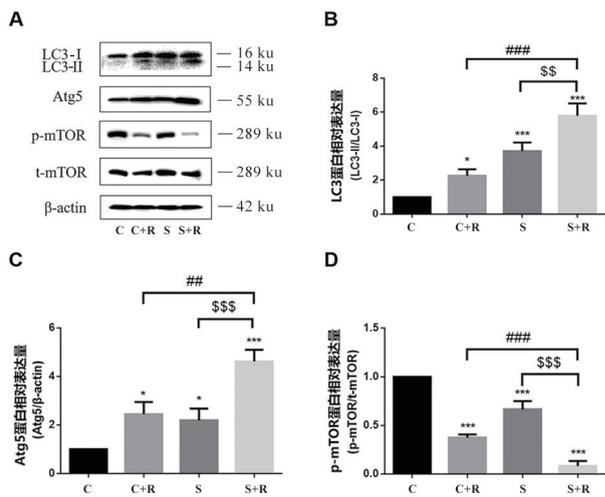
细胞转染及药物处理如 1.2 和 1.3 所述,处理结束后用冰 PBS 清洗两次,加入 5 μg/mL DAPI 室温孵育 10 min 染核,4% 多聚甲醛固定,使用共聚焦显微镜进行观察,每组随机选取 40 个细胞拍照,由非实验操作人员肉眼观察并计数各组 40 个细胞合成图片中 mRFP-EGFP-LC3 点的数量 (绿色荧光、红色荧光融合成黄色荧光点 GFP⁺RFP⁺ 表示自噬小体,单独的红色荧光点 GFP⁻RFP⁺ 表示自噬溶酶体),实验独立重复 3 次明确七氟醚对自噬流的影响及雷帕霉素在其中的作用。

1.6 统计学分析 采用 Graphpad Prism 6 统计学软件进行统计分析。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 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组自噬相关蛋白 LC3 和 Atg5 的表达比较

Western blot 结果显示,与 C 组比较,C+R 组、S 组和 S+R 组 LC3-II/LC3-I 比值、Atg5 表达均增高 ($P < 0.05$);与 C+R 组和 S 组比较,S+R 组 LC3-II/LC3-I 比值、Atg5 表达也增高 ($P < 0.01$) (见图 1A、B、C)。



A. 各组自噬相关蛋白条带图; B. $F = 54.73, P = 0.000$; C. $F = 37.82, P = 0.000$; D. $F = 168.9, P = 0.000$ 。* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$ vs. C 组; ### $P < 0.01$, #### $P < 0.001$ vs. C+R 组; \$ $P < 0.01$, \$\$\$ $P < 0.001$ vs. S 组。

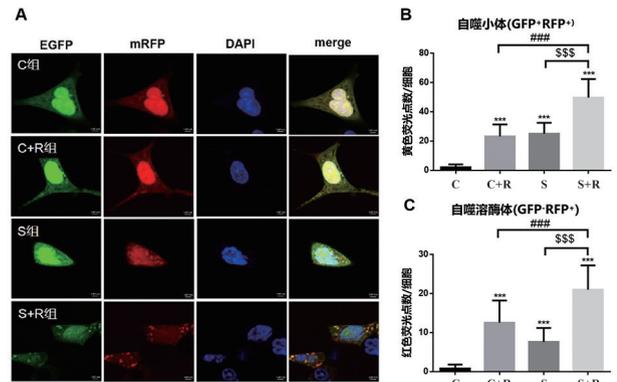
图 1 各组自噬相关蛋白的表达水平比较

2.2 各组 mTOR 信号通路相关蛋白表达比较

Western blot 结果显示,与 C 组比较,C+R 组、S 组和 S+R 组 p-mTOR/t-mTOR 比值均降低 ($P < 0.001$);

与 C+R 组和 S 组比较,S+R 组 p-mTOR/t-mTOR 比值也降低 ($P < 0.001$) (见图 1A、D)。

2.3 各组自噬小体和自噬溶酶体数量比较 mRFP-EGFP-LC3 质粒转染结果显示,与 C 组比较,C+R 组、S 组和 S+R 组自噬小体、自噬溶酶体数量均增加 ($P < 0.001$);与 C+R 组和 S 组比较,S+R 组自噬小体、自噬溶酶体数量也增加 ($P < 0.001$) (见图 2)。



A. 各组 mRFP-EGFP-LC3 质粒转染荧光图; B. $F = 214.2, P = 0.000$; C. $F = 136.7, P = 0.000$ 。*** $P < 0.001$ vs. C 组; ### $P < 0.001$ vs. C+R 组; \$\$\$ $P < 0.001$ vs. S 组。

图 2 各组自噬小体、自噬溶酶体数量比较

3 讨论

大量前期临床研究表明七氟醚诱导发育神经毒性^[1-4],减少神经细胞数量。Piao 等^[10]研究发现七氟醚通过增加细胞内活性氧来诱导发育大脑的神经毒性,使用活性氧的抑制剂 NAC 可以显著减轻七氟醚的神经细胞损伤。自噬是一种进化保守的细胞内自我吞噬的过程,主要去除受损的细胞器、聚集的蛋白质以及细胞内病原体等^[11]。Fan 等^[12]研究表明自噬降低 SHSY-5Y 细胞中活性氧的水平,抑制 C2-神经酰胺介导的细胞死亡。Xu 等^[7]发现 7 日龄大鼠暴露于七氟醚可激活海马神经元的自噬,增加 beclin1 和 LC3-II 的蛋白水平;同时七氟醚增加海马神经元的凋亡,自噬可能在七氟醚发育神经毒性中发挥重要的作用^[13]。在 H4 人神经胶质瘤细胞模型中,Zhou 等^[14]研究显示七氟醚诱导 ERS 并激活自噬,进一步激活自噬可抑制 ERS,减轻七氟醚介导的神经细胞凋亡。因此,自噬可能成为七氟醚发育神经毒性的有效预防和治疗手段,进一步探讨七氟醚激活自噬的具体机制有助于改善其发育神经毒性。

在本实验研究中,根据预实验及前期研究基础选用 4.8% 七氟醚 (等效于临床使用中的 2 MAC) 作用 12 h,结果表明七氟醚激活 SHSY-5Y 细胞自噬,增加 LC3-II/LC3-I 及 Atg5 蛋白表达水平,同时

mRFP-EGFP-LC3 质粒转染 SHSY-5Y 细胞,证实七氟醚诱导自噬小体及自噬溶酶体数量均显著增加,即自噬流增加。该结果与既往研究一致,七氟醚增加自噬,本实验使用 mRFP-EGFP-LC3 质粒转染,更清晰地显示了自噬流的变化。

mTOR 信号通路是参与自噬调控的主要负调控因子,与神经退行性疾病密切相关,抑制 mTOR 信号通路可诱导细胞自噬^[15]。PI3K/AKT/mTOR 通路是抑制细胞自噬的经典信号转导通路,Zhang 等^[16]研究表明七氟醚后处理可通过激活 PI3K/AKT/mTOR 信号传导保护大鼠心脏免受缺血再灌注损伤。Xu 等^[17]研究显示在小鼠原代神经元的发育过程中,吸入麻醉药异氟醚通过激活 mTOR 途径破坏突触形成。然而,目前关于 mTOR 信号通路在七氟醚发育神经毒性中的作用并未研究。本研究结果表明在 SHSY-5Y 细胞中,七氟醚抑制 mTOR 途径,降低 p-mTOR/t-mTOR,激活自噬;使用雷帕霉素可进一步抑制 mTOR 途径,增加自噬流。后续的研究需进一步证明 mTOR 依赖性自噬在七氟醚发育神经毒性中的作用,通过对 mTOR 信号通路的上下游信号分子进一步研究并使用基因敲除方法证实其关键性作用。

综上所述,本研究证明吸入麻醉药七氟醚通过 mTOR 信号通路诱导 SHSY-5Y 细胞自噬的发生。

【参考文献】

- [1] ZHU XQ, YAO YY, GUO MY, *et al.* Sevoflurane increases intracellular calcium to induce mitochondrial injury and neuroapoptosis [J]. *Toxicol Lett*, 2021, 336(11): 11–20.
- [2] ALVARADO MC, MURPHY KL, BAXTER MG, *et al.* Visual recognition memory is impaired in rhesus monkeys repeatedly exposed to sevoflurane in infancy [J]. *Br J Anaesth*, 2017, 119(3): 517–523.
- [3] RAPER J, DE BIASIO J, MERPHY K, *et al.* Persistent alteration in behavioural reactivity to a mild social stressor in rhesus monkeys repeatedly exposed to sevoflurane in infancy [J]. *Br J Anaesth*, 2018, 120(4): 761–767.
- [4] LU Y, WU X, DONG YL, *et al.* Anesthetic sevoflurane causes neurotoxicity differently in neonatal naïve and Alzheimer disease transgenic mice [J]. *Anesthesiology*, 2010, 112(6): 1404–1416.
- [5] DJAJADIKERTA A, KESHRI S, PAVEL M, *et al.* Autophagy induction as a therapeutic strategy for neurodegenerative diseases [J]. *J Mol Biol*, 2020, 432(8): 2799–2821.
- [6] MARIÑO G, NISO-SANTANO M, BAEHRECKE EH, *et al.* Self-consumption: the interplay of autophagy and apoptosis [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2014, 15(2): 81–94.
- [7] XU LL, SHEN JJ, YU LN, *et al.* Autophagy is involved in sevoflurane-induced developmental neurotoxicity in the developing rat brain [J]. *Brain Research Bulletin*, 2018, 140(5): 226–232.
- [8] XU LL, SHEN JJ, DAI SB, *et al.* Tetramethylpyrazine attenuated sevoflurane-induced neurotoxicity by enhancing autophagy through GPR50/CREB pathway in SH-SY5Y cells [J]. *Am J Chin Med*, 2020, 48(4): 945–966.
- [9] JIANG YH, ZHOU YJ, MA H, *et al.* Autophagy dysfunction and mTOR hyperactivation is involved in surgery-induced behavioral deficits in aged C57BL/6J mice [J]. *Neurochem Res*, 2020, 45(2): 331–344.
- [10] PIAO MH, WANG YY, LIU N, *et al.* Sevoflurane exposure induces neuronal cell parthanatos initiated by DNA damage in the developing brain via an increase of intracellular reactive oxygen species [J]. *Front Cell Neurosci*, 2020, 14(12): 1–21.
- [11] KHANDIA R, DADA M, MUNJAL A, *et al.* A comprehensive review of autophagy and its various roles in infectious, non-infectious, and lifestyle diseases: current knowledge and prospects for disease prevention, novel drug design, and therapy [J]. *Cells*, 2019, 8(7): 674–738.
- [12] FAN CH, LIU YY, ZHAO MM, *et al.* Autophagy inhibits C2-ceramide-mediated cell death by decreasing the reactive oxygen species levels in SH-SY5Y cells [J]. *Neurosci Lett*, 2017, 651(3): 198–206.
- [13] XU LL, SHEN JJ, YU LN, *et al.* Role of autophagy in sevoflurane-induced neurotoxicity in neonatal rat hippocampal cells [J]. *Brain Research Bulletin*, 2018, 140(5): 291–298.
- [14] ZHOU YF, WANG QX, ZHOU HY, *et al.* Autophagy activation prevents sevoflurane-induced neurotoxicity in H4 human neuroglioma cells [J]. *Acta Pharmacologica Sinica*, 2016, 37(5): 580–588.
- [15] HERAS-SANDOVAL D, PÉREZ-ROJAS JM, HERNÁNDEZ-DAMÍAN J, *et al.* The role of PI3K/AKT/mTOR pathway in the modulation of autophagy and the clearance of protein aggregates in neurodegeneration [J]. *Cell Signal*, 2014, 26(12): 2694–2701.
- [16] ZHANG J, WANG C, YU SC, *et al.* Sevoflurane postconditioning protects rat hearts against ischemia-reperfusion injury via the activation of PI3K/AKT/mTOR signaling [J]. *Sci Rep*, 2014, 4(12): 1–11.
- [17] XU J, MATHENA RP, XU M, *et al.* Early developmental exposure to general anesthetic agents in primary neuron culture disrupts synapse formation via actions on the mTOR pathway [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(8): 1–16.

硬膜外右美托咪啶辅助腰麻用于二次剖宫产术的麻醉效果

朱海娟,刘晨蓉,黄桂婕,汪胜友

(合肥市妇幼保健院 麻醉科,安徽 合肥 230601)

【摘要】目的:评价右美托咪啶硬膜外辅助腰麻用于二次剖宫产术的效果。**方法:**单胎足月二次剖宫产产妇60例,随机分为3组,常规腰麻(CON)组、低剂量腰硬联合(L-SE)组、低剂量腰硬联合加右美托咪啶(L-SDE)组。0.5%重比重罗哌卡因蛛网膜下腔注入,CON组15mg,L-SE和L-SDE组12mg。随后经硬膜外给予0.9%NaCl、0.75%罗哌卡因或0.75%罗哌卡因+0.5 μ g/kg右美托咪啶6mL。记录麻醉起效及维持时间、肌肉松弛度、牵拉反射、术后首次PCA时间。**结果:**L-SDE组感觉神经阻滞消退、术后首次PCA时间长于CON和L-SE组;牵拉反射、肌肉松弛度低于L-SE组($P<0.05$),T1~T4时点HR低于SBP高于CON组($P<0.05$),Ramsay评分高于CON和L-SE组($P<0.05$),低血压、恶心呕吐、产妇主诉不适发生率低于CON组($P<0.05$),寒战发生率均低于CON和L-SE组($P<0.05$)。3组新生儿出生1、5min Apgar评分、脐静脉血pH值及乳酸值差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论:**硬膜外右美托咪啶(0.5 μ g/kg)辅助低剂量腰麻用于二次剖宫产术,可优化麻醉和镇痛效果。

【关键词】右美托咪啶;二次剖宫产;腰硬联合麻醉

【中图分类号】R 614;R 719.8 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.020

Outcomes of epidural dexmedetomidine plus ropivacaine assisting low-dose spinal anesthesia for parturients in secondary cesarean section

ZHU Haijuan, LIU Chenrong, HUANG Guijie, WANG Shengyou

Department of Anaesthesiology, Hefei Women and Child Health Care Hospital, Hefei 230601, China

【Abstract】Objective: To evaluate the efficacy and safety of epidural dexmedetomidine plus ropivacaine as adjuvants to low dose spinal anesthesia for parturients in secondary cesarean section. **Methods:** Sixty full-term pluripara undergoing secondary cesarean section were randomly assigned to CON group (spinal anesthesia with normal dose), L-SE group (low-dose of ropivacaine for combined spinal-epidural anesthesia) and L-SDE group (epidural dexmedetomidine plus low-dose of ropivacaine for combined spinal-epidural anesthesia) ($n=20$ in each group). 0.5% hyperbaric ropivacaine was injected intrathecally in women in CON group in dose of 15 mg, and in those in L-SE and L-SDE groups in dose of 12 mg. Then 6 mL of dexmedetomidine was administered via the epidural needle (0.9% sodium chloride in the CON group, 0.75% ropivacaine in L-SE and 0.75% ropivacaine plus 0.5 μ g/kg dexmedetomidine in L-SDE). The indicators, including the highest level of sensory block and the time of sensory block regression, the time of the first postoperative PCIA, the outcome of mother and baby, were recorded. **Results:** The regression time of sensory nerve block and the first time of postoperative PCIA were significantly longer in L-SDE group than in CON and L-SE groups ($P<0.05$). From T1 to T4, HR were markedly lower, yet SBP was significantly higher than that of CON group ($P<0.05$). Ramsay score was significantly higher in L-SDE group than in CON and L-SE groups ($P<0.05$). The incidence of nausea and vomiting, hypotension syndrome was notably lower in L-SDE group than in CON group ($P<0.05$), yet women in L-SDE group had lower incidence of shivering than those in CON and L-SE groups ($P<0.05$). There were no significant differences in Apgar score for newborns at 1 minute or 5 minute, umbilical artery blood PH value and lactic acid value among three groups ($P>0.05$). **Conclusion:** Epidural dexmedetomidine (0.5 μ g/kg) plus 0.75% ropivacaine assisting with low-dose spinal anesthesia for parturients in secondary cesarean section can optimize the effect of anesthesia and analgesia without increased adverse effect.

【Key words】 dexmedetomidine; secondary cesarean section; combined spinal-epidural anesthesia

蛛网膜下腔阻滞麻醉(腰麻)是剖宫产术中常用麻醉方式,起效快、肌松好,但麻醉维持时间短、不

良反应发生率高^[1]。二次剖宫产因网膜和腹肌、子宫等盆腔器官粘连,手术时间长、牵拉反应重,且疤

基金项目:合肥市卫生计生委应用医学研究项目(hwk2017zd003)

收稿日期:2021-05-07

作者简介:朱海娟(1981-),女,副主任医师,(电话)13966778885,(电子信箱)35880762@qq.com;

汪胜友,男,副主任医师,(电子信箱)hffywsy@sina.com,通信作者。

痕子宫复旧引起的术后宫缩痛明显,常规腰麻很难达到满意的麻醉维持时间和术后镇痛效果^[2]。本研究设计右美托咪啶(Dexmedetomidine, DEX)混合罗哌卡因硬膜外辅助低剂量腰麻的方案,旨在观察其相比传统腰麻在二次剖宫产术中的效果。

1 资料与方法

1.1 一般情况 经合肥市妇幼保健院伦理委员会批准(2017-09),患者签署知情同意书。选择2020年6~10月我院行二次剖宫产的单胎足月产妇60例,年龄21~40岁,孕周37~41周,BMI 21~31 kg/m², ASA I~II级。随机分3组(n=20):CON组,常规腰麻;L-SE组,低剂量腰硬联合麻醉;L-SDE组,低剂量腰硬联合加DEX。排除标准:椎管内麻醉禁忌者;伴严重妊娠合并症者;患精神系统疾病无法配合治疗者;合并严重心、肝、肾等系统性疾病者;阿片药物、局麻药以及DEX等相关药物过敏者。

1.2 麻醉方法 入室后开放上肢静脉并监测SBP、HR、SpO₂。于左侧卧位,选择L₃₋₄间隙行椎管内穿刺,成功后用25 G穿刺针刺破蛛网膜,向头端注入0.5%重比重罗哌卡因(Ropivacaine, RP),CON组注入3 mL,L-SE和L-SDE组各2.4 mL。退出腰麻针,经硬膜外针给予研究药液6 mL,CON组0.9% NaCl、L-SE组0.75% RP、L-SDE组0.75% RP+0.5 μg/kg DEX。仰卧头低15°体位,每隔2 min酒精擦拭法测感觉阻滞平面,达T₆后改平卧位。当SBP降低幅度大于基础值30%时静注去甲肾上腺素8 μg,HR低于60次/分钟时静注阿托品0.25 mg。室温维持在22~24℃。术毕接PCIA镇痛泵,配方为枸橼酸舒芬太尼2 μg/kg+格拉司琼6 mg+0.9% NaCl至100 mL。

1.3 观察指标 ①麻醉效果评定:记录感觉神经最高阻滞平面、起效和维持时间。记录术中牵拉反射分级。I级,舒适安静;II级,感到牵拉痛,但可以忍受;III级,感到牵拉痛严重,不能忍受且有呕吐等现象。达II级以上者静注纳布啡10 mg。记录腹肌松

弛程度。I级,肌肉松弛;II级,腹肌轻度紧张;III级,腹肌中度紧张;IV级,腹肌严重紧张。②术中血流动力学及镇静程度评定。记录基础值(T₀)、切皮时(T₁)、胎儿取出时(T₂)、探查腹腔时(T₃)、手术结束时(T₄)的SBP、HR及Ramsay评分。③术中不良反应评定。记录仰卧位低血压、呼吸抑制(SpO₂低于95%)、心动过缓(HR<60次/分钟)、恶心呕吐、寒战发生率。④新生儿转归评定。记录1、5 min Apgar评分及脐静脉血气分析。

1.4 统计学分析 采用SPSS 23.0软件分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用ANOVA分析和重复测量方差分析(多组间两两比较采用LSD法),非正态分布的资料用M(P₂₅, P₇₅)表示,组间比较采用秩和检验。计数资料以n(%)表示,组间比较采用χ²检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 3组产妇一般情况比较差异均无统计学意义(P>0.05)。见表1。

2.2 麻醉效果评定 L-SDE组感觉神经阻滞维持时间、术后首次PCA时间较CON和L-SE组延长(P<0.05),术中牵拉反射、肌肉松弛评分均低于L-SE组(P<0.05),与CON组相比差异无统计学意义(P>0.05),见表2。

2.3 术中血流动力学及镇静效果比较 T₁~T₄时点,L-SDE组HR低于CON组(P<0.05)、SBP高于CON组(P<0.05),Ramsay评分高于CON和L-SE组(P<0.05);T₂~T₄时点,L-SDE组HR低于L-SE组(P<0.05),见表3。

2.4 不良反应比较 L-SDE和L-SE组去甲肾用量低于CON组(P<0.05),L-SDE组低血压、恶心呕吐、产妇主诉不适发生率低于CON组(P<0.05),寒战发生率均低于CON和L-SE组(P<0.05),3组均未出现呼吸抑制及心动过缓。见表4。

表1 3组产妇一般情况比较[n=20, n(%), $\bar{x} \pm s, M(P_{25}, P_{75})$]

	CON	L-SE	L-SDE	F/χ ²	P
年龄/岁	30.40±3.49	32.50±4.44	32.25±3.19	1.876	0.163
BMI/(kg/m ²)	26.37±2.15	25.78±1.97	26.49±2.12	0.664	0.519
孕周	38.15±0.82	38.55±0.51	38.60±0.75	3.118	0.210
孕次	2.0(2.0,3.0)	3.0(2.0,3.5)	2.0(2.0,3.0)	3.231	0.199
手术时间/min	36.35±12.41	33.10±7.25	34.75±9.47	0.535	0.589
出血量/mL	365.00±104.00	330.00±65.79	350.00±82.72	1.512	0.470
ASA 分级					
I	11(55.00)	9(45.00)	8(40.00)	0.938	0.626
II	9(45.00)	11(55.00)	12(60.00)		

表2 3组麻醉效果比较[$n=20, \bar{x} \pm s$]

组别	感觉阻滞最高平面(T)	达最高平面时间/min	感觉阻滞维持时间/min	牵拉反射	肌肉松弛	首次PCA时间/h
CON	4.75±0.72	5.00±0.46	99.50±28.33	1.55±0.60	1.40±0.60	4.38±1.50
L-SE	5.25±0.97	5.35±0.93	304.00±62.10 ^a	2.10±0.45 ^a	1.90±0.64 ^a	7.23±1.77 ^a
L-SDE	4.80±0.52	5.25±0.72	612.00±88.06 ^{ab}	1.25±0.44 ^b	1.35±0.59 ^b	19.55±3.15 ^{ab}
F/χ^2	2.644	1.223	321.700	14.610	4.986	254.700
P	0.080	0.302	0.000	0.000	0.010	0.000

注:与CON组比较, $aP<0.05$;与L-SE组比较, $bP<0.05$ 。

表3 3组术中血流动力学及 Ramsay 评分比较($n=20, \bar{x} \pm s$)

项目	组别	T0	T1	T2	T3	T4
SBP/mmHg	CON	121.1±7.0	109.1±10.7 ^a	105.5±10.7 ^a	98.6±8.9 ^a	101.0±7.5 ^a
	L-SE	122.5±6.9	111.6±8.4 ^a	109.6±10.4 ^a	111.7±11.4 ^{ab}	107.2±8.2 ^{ab}
	L-SDE	123.4±6.8	117.1±3.6 ^b	114.2±4.0 ^{ab}	110.1±4.5 ^{ab}	109.5±5.0 ^{ab}
	$F_{\text{时间}}=58.728, P_{\text{时间}}=0.000; F_{\text{组间}}=30.962, P_{\text{组间}}=0.000; F_{\text{交互}}=13.811, P_{\text{交互}}=0.000$					
HR/(次/分钟)	CON	99.0±12.8	102.9±15.0	95.9±12.7	87.3±10.8 ^a	83.5±9.3 ^a
	L-SE	96.7±9.2	99.8±8.7	97.9±10.0	96.9±13.6 ^b	86.8±9.0
	L-SDE	101.7±11.9	95.1±9.2 ^{ab}	82.6±8.8 ^{abc}	71.6±6.0 ^{abc}	67.9±2.0 ^{abc}
	$F_{\text{时间}}=94.316, P_{\text{时间}}=0.000; F_{\text{组间}}=11.657, P_{\text{组间}}=0.000; F_{\text{交互}}=15.897, P_{\text{交互}}=0.000$					
SpO ₂ /%	CON	99.50±0.51	97.75±1.12 ^a	98.00±0.86 ^a	98.85±0.75 ^a	98.80±0.77 ^a
	L-SE	99.30±0.66	98.05±0.83 ^a	98.15±0.81 ^a	98.40±0.88 ^a	98.45±0.69 ^a
	L-SDE	99.40±0.75	98.15±0.88 ^a	97.75±0.91 ^a	97.05±0.89 ^{abc}	97.15±0.88 ^{abc}
	$F_{\text{时间}}=56.611, P_{\text{时间}}=0.000; F_{\text{组间}}=7.397, P_{\text{组间}}=0.001; F_{\text{交互}}=13.462, P_{\text{交互}}=0.000$					
Ramsay 评分	CON	1.15±0.37	1.10±0.31	1.60±0.50	1.75±0.44 ^a	1.85±0.37 ^a
	L-SE	1.45±0.51	1.30±0.47	1.30±0.47	1.40±0.50	1.45±0.51 ^b
	L-SDE	1.30±0.47	1.65±0.49 ^{bc}	2.10±0.45 ^{abc}	2.40±0.50 ^{abc}	2.25±0.44 ^{abc}
	$F_{\text{时间}}=32.724, P_{\text{时间}}=0.000; F_{\text{组间}}=16.621, P_{\text{组间}}=0.000; F_{\text{交互}}=9.313, P_{\text{交互}}=0.000$					

注:与同组T0时间点比较, $aP<0.05$;与CON组同时点比较, $bP<0.05$;与L-SE组同时点比较, $cP<0.05$ 。

表4 3组不良反应比较[$n=20, n(\%), M(P_{25}, P_{75})$]

组别	寒战	恶心呕吐	仰卧位低血压发生情况		
			去甲肾上腺素总量/ μg	SBP<90 mmHg	主诉不适
CON	8(40.0)	8(40.0)	8.0(8.0, 15.0)	11(55.0)	10(50.0)
L-SE	9(45.0)	7(35.0)	4.0(0.0, 8.0) ^a	8(40.0)	7(35.0)
L-SDE	0(0.0) ^{ab}	1(5.0) ^a	0.0(0.0, 7.0) ^a	3(15.0) ^a	2(10.0) ^a
F/χ^2	11.984	7.330	21.249	7.033	7.548
P	0.002	0.026	0.000	0.030	0.023

注:与CON组比较, $aP<0.05$;与L-SE组比较, $bP<0.05$ 。

2.5 新生儿转归 3组新生儿出生1、5 min Apgar 评分、脐静脉血 pH 值及乳酸(LAC)值差异均无统计学意义($P>0.05$),见表5。

表5 3组新生儿出生情况比较($n=20, \bar{x} \pm s$)

组别	Apgar 评分		pH	LAC/(mmol/L)
	1 min	5 min		
CON	9.00±0.46	9.80±0.41	7.30±0.03	2.01±0.38
L-SE	9.05±0.39	9.85±0.37	7.30±0.04	1.87±0.32
L-SDE	9.00±0.46	9.95±0.22	7.32±0.03	1.86±0.36
F	0.087	0.993	1.723	1.052
P	0.917	0.377	0.188	0.356

3 讨论

二次剖宫产术因腹腔粘连,手术时间长、牵拉反射重,所需腰麻药剂量大于初产妇。腰麻下剖宫产最常见的不良反应是仰卧位低血压,严重者可致意识丧失、心跳骤停,发生率和严重程度与腰麻药剂量、阻滞平面等有关^[3],低剂量腰硬联合麻醉可降低低血压发生率和严重程度,但肌肉松弛度低,内脏牵拉反射强^[4]。Yousef 等^[5]研究发现硬膜外0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DEX 联合常规量布比卡因腰麻可产生更好的术中麻醉和术后镇痛效果,但仰卧位低血压发生率未降低。本研究设计0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DEX 混合0.75% RP 6 mL 硬膜外给予,辅助低剂量腰麻(RP 12 mg)的优化方案,结果显示,L-SDE 组较 CON 组麻醉维持时间明显延长,仰卧位低血压发生率亦降低;较 L-SE 组肌肉松弛好、内脏牵拉反射小。L-SDE 组术中 HR 明显低于、Ramsay 评分明显高于其他两组,提示 L-SDE 组产妇紧张焦虑情绪和应激反应均明显缓解;术后首次 PCA 时间明显长于 CON 和 L-SE 组,提示其可改善术后镇痛效果^[5]。

DEX 为新型的 α_2 肾上腺素能受体 (α_2 -AR) 激动剂,具有镇静、镇痛和抗交感作用,研究显示鞘内或硬膜外给药可增加局麻药的镇痛和肌松作用,加

快起效时间、延长维持时间^[6],其机制为:DEX 激活脊髓背角的 α_2 -AR,促进 K^+ 外流,阻断 Na^+ 内流,增加局麻药的阻断效应^[7];抑制脊髓去甲肾上腺素分泌,从而抑制交感神经兴奋;通过硬膜外腔的脂肪组织吸收入血作用于脑干蓝斑核的 α_2 -AR,产生镇静作用^[8];兴奋血管壁 α_2 -AR,收缩血管,缓解腰麻后仰卧位低血压^[8]。依据文献[5]及临床预实验结果,选择低剂量(0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$) DEX 硬膜外给予,具有以下优点:改善术中麻醉和术后镇痛效果,缓解腰麻后仰卧位低血压,但不引起嗜睡、呼吸抑制和心动过缓。目前研究报道 DEX 辅助椎管内麻醉用于剖宫产术的给药途径有多种,如静脉^[9]、鞘内^[6]及硬膜外^[5]等,不同途径给药均能改善椎管内麻醉效果,但本研究显示3组产妇感觉神经最高阻滞平面及达最高平面时间差异无统计学意义,该结果与鞘内途径结论不一致,可能由于硬膜外 DEX 吸收慢,对腰麻起效时间无影响。相比其他给药途径,硬膜外 DEX 操作简单,药液不直接接触脊髓,吸收入血少。研究显示,DEX 经静脉途径的胎盘转移率为0.76^[10],硬膜外途径为0.68^[11],且 DEX 经母体循环代谢快于可乐定^[12],因此可安全用于剖宫产手术。本研究结果亦显示3组新生儿出生1、5 min Apgar 评分以及脐静脉血气分析差异无统计学意义,提示该方案对新生儿转归无不良影响。

综上所述,硬膜外单次给予0.5 $\mu\text{g}/\text{kg}$ DEX 混合0.75% RP 6 mL 辅助低剂量 RP(12 mg)腰麻的方案用于二次剖宫产术,可延长感觉阻滞维持时间,增强腹肌松弛和抗牵拉反射作用,降低仰卧位低血压发生率,改善术后镇痛效果,且对新生儿无不良影响。

【参考文献】

[1] 吴玥,牛居辉,傅倩,等. 超声评估颈内静脉直径预测产妇仰卧位低血压综合征[J]. 皖南医学院学报,2018,37(6):591-593.

- [2] 李欢欢,饶云,周群,等. 右美托咪定滴鼻预防再次剖宫产术中牵拉痛的临床效果[J]. 重庆医学,2020,49(13):2171-2175.
- [3] YU C, GU J, LIAO Z, *et al.* Prediction of spinal anesthesia-induced hypotension during elective cesarean section: a systematic review of prospective observational studies [J]. *International Journal of Obstetric Anesthesia*, 2021, 5(1):103175-103178.
- [4] OLAPOUR A, AKHONDZADEH R, RASHIDI M, *et al.* Comparing the effect of bupivacaine and ropivacaine in cesarean delivery with spinal anesthesia [J]. *Anesthesiology and Pain Medicine*, 2020, 10(1):4155-4161.
- [5] YOUSEF A, SALEM H, MOUSTAFA M. Effect of mini-dose epidural dexmedetomidine in elective cesarean section using combined spinal-epidural anesthesia: a randomized double-blinded controlled study [J]. *Journal of Anesthesia*, 2015, 29(5):708-714.
- [6] BI Y, WU J, ZHANG Y, *et al.* Effect of different doses of intrathecal dexmedetomidine as an adjuvant combined with hyperbaric ropivacaine in patients undergoing cesarean section [J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2020, 342(11):342-351.
- [7] LI X, LI Y, LV X, *et al.* The efficacy and safety of intrathecal dexmedetomidine for parturients undergoing cesarean section: a double-blind randomized controlled trial [J]. *BMC Anesthesiology*, 2020, 20(1):190-199.
- [8] 吴霞,韩传宝,蒋秀红,等. 右美托咪定不同给药途径对二次剖宫产术硬膜外麻醉效果影响的比较[J]. 中华麻醉学杂志, 2017, 37(4):485-489.
- [9] SHEN Q, LI H, ZHOU X, *et al.* Dexmedetomidine as an adjuvant for single spinal anesthesia in patients undergoing cesarean section: a system review and meta-analysis [J]. *The Journal of International Medical Research*, 2020, 48(5):1-13.
- [10] YU M, HAN C, JIANG X, *et al.* Effect and placental transfer of dexmedetomidine during caesarean section under general anaesthesia [J]. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*, 2015, 117(3):204-208.
- [11] WANG C, LIU S, HAN C, *et al.* Effect and placental transfer of dexmedetomidine during caesarean section under epidural anaesthesia [J]. *J Int Med Res*, 2017, 45(3):964-972.
- [12] ALA-KOKKO TI, PIENIMÄKI P, LAMPELA E, *et al.* Transfer of clonidine and dexmedetomidine across the isolated perfused human placenta [J]. *Acta Anaesthesiol Scand*, 1997, 41(2):313-319.

OBE 理念在检验医学教学中的应用

张莺莺¹,程 龙¹,杨 辉²

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 1. 检验科;2. 中心实验室,安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:探索成果导向教育(OBE)模式在检验医学教学中的应用优势。**方法:**选取进行住院医师规范化培训的检验科住院医师共 80 名,随机分为 OBE 模式教学组和传统教学组各 40 名,分别采用基于 OBE 理念的模式和传统教学模式进行教学,比较两组学生在理论成绩、实践能力、综合素质和满意度上的差异。**结果:**两组学生在性别、年龄、身份、学历和从业年限上差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。OBE 模式教学组学生理论成绩、实践能力和综合素质方面均较传统教学组有所提升($P<0.05$),且对于教学效果的满意度也高于传统教学组($P<0.05$)。**结论:**OBE 模式下的教学为检验医学教学过程中存在的问题提供了有效的解决思路,切实提高了学生的综合素质和教学满意度,值得推广和继续完善。

【关键词】OBE 理念;检验医学;医学教学改革

【中图分类号】G 642;R-4 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.021

Application of outcome-based education model in teaching laboratory medicine

ZHANG Yingying, CHENG Long, YANG Hui

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

【Abstract】Objective: To assess the methodology of outcome-based education (OBE) model in instruction of laboratory medicine. **Methods:** Eighty residents undergoing standardized training program in our department were enrolled, and randomly allocated to OBE group ($n=40$) and control group ($n=40$). Residents in the OBE group were instructed by student-centric teaching and learning methodology, and those in the control group were taught by lecture-based mode. Then the two groups were evaluated and compared regarding the achievement in theory, proficiency in clinical skills, comprehensive quality and satisfaction with the teaching at the end of curriculum. **Results:** There was no significant difference in age, gender, educational background and working experience between the two groups ($P>0.05$), and the results were comparable. Residents in OBE group had significantly better accomplishment in theory, proficiency in clinical skills and comprehensive quality as well as higher satisfaction with the teaching than those in the control group (all $P<0.05$). **Conclusion:** Reformed instruction of laboratory medicine by OBE model may be an effective and novel solution to the problems in conventional teaching of this curriculum, and is worthy of wider recommendation if it goes further improvement, since this teaching mode can practically improve the comprehensive quality and satisfaction of the learners.

【Key words】OBE concept; laboratory medicine; reform in medical teaching

检验医学是临床医学的重要组成部分,其涵盖内容广,检验科住院医师需要熟练掌握生物学、生理学、微生物学等多种临床基础学科知识。同时,检验医学的研究对象往往并不是具体的人,具有抽象复杂和微观的特点,而且不断进步的现代医学,使得检验医学也伴随着知识的频繁更替和新技术的出现。此外,受工作环境和类型所限,很多检验科医生不具备良好的临床知识,容易得出与临床背道而驰的检验结果^[1-2]。这些临床问题对检验医学的理论教学与实践教学提出了更高的要求。成果导向教育

(outcome-based education, OBE) 模式认为所有教学方法和教学设计的最终目的,应该是让学生取得相应的成果^[3]。OBE 模式在 1999 年被国外引入医学教育体系,并取得了良好的效果,在国外广受推广,而在国内尚未普及^[4-5]。通过 OBE 模式的正确引导,可以充分调动学生的学习热情,使其成为教学活动的主体,促进他们自主学习、自主思考,使得教学不再枯燥,从而充分调动他们的积极性与创造性。本研究探索 OBE 模式与传统教学模式相比,在检验医学教学中的优势。

基金项目:皖南医学院教学质量与教学改革工程项目(2020jyxm13);安徽省高等学校省级质量工程项目(2019jyxm1070)

收稿时间:2021-11-02

作者简介:张莺莺(1979-),女,副主任技师,副教授,硕士,(电话)15395333867,(电子信箱)ying-micky@163.com。

1 资料与方法

1.1 研究对象 选取在弋矶山医院进行住院医师规范化培训的检验科住院医师(含规培并轨的专业硕士)共 80 名,采取随机分组的方式,分为 OBE 模式教学组(研究组)和传统教学组(对照组)各 40 名,且 80 名住院医师均知情并同意此分组。

1.2 教学方法

1.2.1 传统教学组 按照《住院医师规范化培训结业理论考核大纲(试行)》和《住院医师规范化培训结业实践技能考核指导标准(试行)》的要求,每日组织住院医师进行集中授课。采用 PPT 课件形式,对临床知识和重点进行讲解,并组织学生进行提问和讨论。对学生实践技能的相关指导,对于一些知识点直接布置给学生自学研究。

1.2.2 OBE 模式教学组 ①根据《住院医师规范化培训结业理论考核大纲(试行)》和《住院医师规范化培训结业实践技能考核指导标准(试行)》的要求,确定该次教学的临床目的,制定教学计划^[6];②根据学习目标,设计相关的教学计划。每个教学计划都紧扣学习目标,力求具有代表性和趣味性^[7];③课前根据课堂内容,提前指导学生查阅相关书籍和文献,并在每次课前进行随机提问与交流,从而培养学生的自主学习能力^[8];④在每堂课开始时,进行正确的话题引入。可利用有趣的临床案例吸引学生注意,也可以将思政课程融入教学中来增加学生的认同感和专注度^[3];⑤教学过程中,要注意利用好网络资料来辅助学生学习。检验医学是医学的前沿学科,不断有新方法、新思路加入诊断,因而要培养学生阅读文献和掌握前沿发展的能力^[9];⑥临床示教过程中,要明确每次学习的目的和关键点,以结果为导向,让学生实际参与到学习中去,增加学生理解临床知识、解决临床问题的能力^[10];⑦在每次教学结束时,由教师进行总结,梳理重点,明确本次讲课的目的和重点,对学生的问题进行答疑。OBE 模式教学组亦采用每天一次的教学形式。

1.3 评价指标 通过多维度、多方面综合评价学生的学习成果,包括①理论与实践能力考核。将两组学生集中在一起,由两名副高以上职称医生监考,分为闭卷理论考试和实践操作考试。②综合素质考评。这部分包括文献查阅能力、临床证据获取能力、临床思维能力、知识理解能力、沟通表达能力、团队协作能力、临床问题分析解决能力、临床前沿把握能力。③学生对教学效果的满意度。通过匿名问卷调查对课程进行评价,包括课程吸引力、对理论能力提升的帮助、对实践能力提升的帮助、对前沿知识学习

的帮助、对查阅文献能力的帮助、对临床思维能力的帮助、对沟通与理解能力的帮助、再次参加课程的意愿、对课程推广的意向、对课程的总体打分。

1.4 统计方法 使用 SPSS18.0 版本统计软件进行数据分析。连续变量采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数变量采用 $n(\%)$ 表示,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 两组学生性别、年龄、身份、学历和从业年限差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

表 1 学生一般情况比较 [$n = 40, \bar{x} \pm s, n(\%)$]

指标		研究组	对照组	χ^2/t	P
性别	男	17(42.5)	16(40.0)	0.052	0.820
	女	23(57.5)	24(60.0)		
年龄/岁		26.1 ± 4.3	25.7 ± 3.9	0.436	0.664
身份	专业硕士	15(37.5)	13(32.5)	0.220	0.639
	住院医师	25(62.5)	27(67.5)		
学历	硕士及以上	20(50.0)	21(52.5)	0.050	0.823
	本科及以下	20(50.0)	19(47.5)		
从业年限/年		2.4 ± 0.6	2.6 ± 0.7	1.372	0.174

2.2 理论与实践能力考核结果 两组学生基于住院医师规范化培训大纲的理论与实践能力考核,成绩在 80 分以上定义为优秀。结果显示,研究组理论考核和实践考核平均成绩均高于对照组,且理论考核优秀率也高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);实践考核优秀率高于对照组,但差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 学生理论与实践能力考核结果 [$n = 40, \bar{x} \pm s, n(\%)$]

指标	研究组	对照组	t/χ^2	P
理论考核平均成绩	87.9 ± 14.2	81.3 ± 12.1	2.237	0.028
实践考核平均成绩	91.2 ± 16.8	84.3 ± 13.4	2.031	0.046
理论考核优秀率	34(85.0)	26(65.0)	4.267	0.039
实践考核优秀率	35(87.5)	30(75.0)	2.051	0.152

2.3 综合素质考评结果 本研究通过 8 个方面考察学生的综合素质,结果显示,研究组各维度综合素质得分均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

2.4 学生对教学效果的满意度比较 本研究从 10 个方面考察了学生对于两种模式的教学满意度,并计算总分分值和好评率。结果显示,研究组对课程的满意度评分(90.73 ± 5.72)及好评率(95.0%)均高于对照组(82.45 ± 5.27、75.0%),差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 4。

表3 学生综合素质考评结果比较[$n=40, \bar{x} \pm s$]

指标	研究组	对照组	<i>t</i>	<i>P</i>
文献查阅能力	8.9±1.2	8.3±1.1	2.331	0.022
临床证据获取能力	9.2±1.6	8.5±1.4	2.083	0.040
临床思维能力	9.3±1.6	8.5±1.3	2.454	0.016
知识理解能力	9.1±1.4	8.2±0.9	3.420	0.001
沟通表达能力	8.6±1.0	8.1±0.9	2.351	0.021
团队协作能力	8.2±0.7	7.6±0.5	4.411	<0.001
临床问题分析解决能力	9.2±1.6	8.3±1.1	2.932	0.004
临床前沿把握能力	8.1±0.6	6.9±0.9	7.016	<0.001

表4 学生对教学效果的满意度比较[$n=40, \bar{x} \pm s, n(\%)$]

指标	研究组	对照组	t/χ^2	<i>P</i>
对教学效果的满意度评分	90.73±5.72	82.45±5.27	6.733	<0.001
好评率	38(95.0)	30(75.0)	6.275	0.012

3 讨论

检验医学是隶属于临床医学的一门综合学科,其作用是结合临床判断和检验指标,为临床诊疗提供参考^[11]。新时代的检验医师不应该仅限于技术人员,还应该具备一定的临床知识,掌握实验室技能和临床专业知识^[12]。在这种新形势下,传统的填鸭式教学已经不能满足我们的需要,而OBE模式作为一种在国外备受推崇的教育模式,其优越性在于学生是教学的中心,学习成果是教学的风向标,一切教学活动的组织开展都应该围绕学习成果,目标是学生最终获得综合素质的提高。这和检验医师的培养要求非常符合^[13]。

本研究基于OBE教学理念,探索住院医师检验医学教育的模式改革。本研究采取了一系列精心设计的临床案例,力求还原临床事件,在教学中让学生有贴近临床之感。将以往的灌输式的教学方法,转变成积极互动、寓教于乐的新模式。这一模式充分调动了学生的积极性,让其全身心投入到课堂教学中,同时也提高了他们自主学习和发现问题的能力。此外,OBE教学注重实践,在教学中模拟临床处置,尽可能使教学与临床贴近。在每次课程结束后,带领学生进行总结回顾,将每节课的重点内容再次提出,加强记忆。本研究结果显示,OBE模式的教学方法能全面提升学生能力。学生的成绩提高不仅限于考核大纲要求的理论和临床实践能力,还在各种综合素质上得到了提高。相比于传统课堂的枯燥乏味,OBE模式更加有趣生动,这也从学生的教学满意度上得到了体现,大部分学生都愿意接受这种模

式的教学方法。

OBE模式由于引入国内时间不长,在操作方案上仍然属于归纳总结方案,尚未能形成相关方案指南。李晓岩等将OBE模式用于生物化学的基础教学,并总结出了丰富的经验,取得了优秀的教育成果,对临床教学亦有指导参考意义^[14]。本研究尚处于初步探索研究阶段,我们将在后续的研究中继续对现有经验进行归纳总结,从教学设计、评价体系等多方面优化OBE模式。

综上所述,OBE理念下的检验医学教学模式为检验医学教学过程中存在的问题提供了有效的解决思路,切实提高了学生的综合素质和满意度,值得推广和继续完善。

【参考文献】

- [1] 余登琼,陶方明. 检验医学模式的转变及设想[J]. 检验医学与临床,2007,4(6):559-560.
- [2] 岳娟娟,刘卫东. 现代医学模式下的检验医学发展趋势初探[J]. 中国高等医学教育,2011(4):19-20,22.
- [3] 李晓岩,毕冰,王晶英. 基于OBE理念的《生物化学》教学改革实践与探索[J]. 生命的化学,2019,39(3):623-626.
- [4] BARMAN L, SILÉN C, BOLANDER LAKSOV K. Outcome based education enacted; teachers' tensions in balancing between student learning and bureaucracy[J]. Advances in Health Sciences Education:Theory and Practice,2014,19(5):629-643.
- [5] DAVIS MH. Outcome-based education[J]. Journal of Veterinary Medical Education,2003,30(3):258-263.
- [6] 孙佳欢,李爱英,李仁玲,等. 检验医学教学中的辩证思维[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(6):760-762.
- [7] 牟永平,梁秀清,田晓燕. 临床与检验医学教学中加强医学检验技术专业学生沟通能力培养[J]. 中国医药科学,2017,7(23):43-46.
- [8] 张媛媛. 循证检验医学结合PBL教学在医学检验实践带教中的应用研究[J]. 中国卫生产业,2019,16(34):132-134.
- [9] 李燕,罗萍. 面向未来的检验医学教育教学改革与发展之探讨[J]. 中国卫生事业管理,2011,28(6):463-465.
- [10] 邵丽丽,米慧,赵先进,等. 检验医学住院医师规范化培训的临床教学[J]. 中国毕业后医学教育,2018,2(6):458-459.
- [11] 李海凤. 检验医学住院医师规范化培训临床化学专业带教探讨[J]. 检验医学与临床,2020,17(2):286-288.
- [12] 张曼,胡梅,刘娜. 新的检验专科医师培训与要求[J]. 继续医学教育,2013,27(8):53-54.
- [13] 年娣,孙俊杰,任丽,等. 基于OBE理念的检验核医学混合式教学改革探索[J]. 检验医学与临床,2021,18(11):1647-1650.
- [14] 李晓岩,毕冰,许志茹,等. 基于成果导向教育理念的生物化学多维度教学改革体系的构建[J]. 生物工程学报,2020,36(10):2226-2233.

基于雨课堂平台线上线下混合教学模式在《临床血液学检验技术》教学中的实践探索

张 鹏^{1a,2},路 勇²,柳发虎^{1a},张 军^{1a},叶彩宏^{1b}

(1.皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 a. 检验科;b. 超声医学科,安徽 芜湖 241001;2. 皖南医学院 检验学院,安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的:探讨线上线下混合教学模式在《临床血液学检验技术》教学中的应用效果。**方法:**从线上线下混合课程设置、教学活动设计、课程形成性评价、教学效果等方面开展基于雨课堂的混合教学模式的构建,选择2017级医学检验技术专业本科生作为实验组实施线上线下混合式教学,选择2016级医学检验技术专业本科生作为对照组实施传统式教学,比较两组期末总成绩、理论考核和技能操作成绩,并展开教学评价。**结果:**实验组与对照组期末总成绩分别为(80.15±6.58)分和(71.28±9.88)分,理论考核成绩分别为(79.52±7.85)分和(68.98±11.94)分,技能操作成绩分别为(81.64±14.19)分和(76.65±11.97)分,实验组总成绩、理论考核及技能操作成绩均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),教学反馈显示91.38%学生对线上教学资源非常满意和满意,87.93%学生对线上课程设置非常满意和满意,84.48%学生对线上教学效果非常满意和满意,82.76%学生对线下重点回顾非常满意和满意。**结论:**混合教学模式可帮助学生培养自主学习能力,增强师生互动,提高教学质量。

【关键词】混合教学模式;临床血液学检验技术;教学质量

【中图分类号】R-4;G 642;G 434 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.022

Practice and exploration of mixed online-offline teaching mode based on Rain Classroom platform in teaching of Clinical Hematology Laboratory Test Technology

ZHANG Peng, LU Yong, LIU Fahu, ZHANG Jun, YE Caihong

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

【Abstract】Objective: To investigate the application effect of mixed online-offline teaching mode in instruction of clinical hematology laboratory test technology. **Methods:** The mixed online-offline teaching mode was established based on the Rain Classroom platform in compliance with the curriculum, design of teaching activities, formative evaluation on the curriculum and assessment of the teaching effects. Undergraduates majoring in clinical laboratory test technology, enrolled in 2017, were given mixed online-offline instruction (observational group), and those enrolled in 2016 were taught by conventional mode (control group). The two groups were compared regarding the total scoring on final examination, test of the theory and operation skills, and the teaching effects were evaluated. **Results:** The total scoring on final examination, scoring on the test of theory commanded and operation skills were (80.15±6.58) points and (71.28±9.88) points; (79.52±7.85) points and (68.98±11.94) points; (81.64±14.19) points and (76.65±11.97) points, respectively, which were higher in observation group than in control group (all $P<0.05$). Feedback of the students on the teaching showed that 91.38%, 87.93%, 84.48% and 82.76%, respectively were very satisfied or satisfied with the online resources supplied in teaching, designed online curriculum, online teaching effect, and offline review of the key knowledge at any time. **Conclusion:** Mixed teaching mode can aid the undergraduates to develop their capacity in self-study, improve the interaction between teachers and students, and the quality of teaching.

【Key words】 mixed teaching mode; clinical hematology laboratory test technology; teaching quality

《临床血液学检验技术》是采用各种实验方法研究血液系统疾病的发生机制,用于造血系统疾病的诊断、鉴别诊断、疗效观察和预后监测的一门课程。目前国内该课程的教学仍是传统教学模式,即

以教师“满堂灌”讲授为主,学生被动接受,教学效果不理想^[1]。为帮助学生建立良好的自主学习习惯,提高教学质量,合理转变传统教学模式是教育教学改革的重要手段之一^[2]。近年来,随着智慧教学

基金项目:安徽省高等学校省级质量工程项目(2020xsxk463);皖南医学院教学质量与教学改革工程项目(2021jyxm03)

收稿日期:2021-08-03

作者简介:张 鹏(1983-),男,副主任医师,副教授,(电话)15805530527,(电子信箱)zp2169@163.com。

工具的迅速发展,将传统教学模式与网络教学模式相结合的线上线下混合教学模式能够充分调动学生学习的积极性和主动性,是一种符合教学规律的教学方法^[3]。我们以《临床血液学检验技术》线上线下载混合课程为例,开展混合教学模式在医学检验技术主干课程教学中的改革与探索,以期收获良好的教学效果。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取皖南医学院医学检验技术专业学生作为研究对象,2017级58名本科生为实验组,男26人,女32人,年龄(20.53±4.18)岁;2016级65名本科生为对照组,男29人,女36人,年龄(20.49±3.98)岁。实验组实施线上线下混合式教学,对照组实施传统式教学。两组授课教师均相同,副教授2人,讲师2人,助教3人。副教授负责课程整体设计、任务分配、协调物资技术保障,讲师负责教案撰写、课件制作、答疑互动,助教负责习题编写、网站维护等。两组学生性别构成、教育背景、教师配备等差异均无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 研究方法

1.2.1 教学活动设计 依据《临床血液学检验技术》教学目标,合理安排线上教学内容,针对线上教学的特点、教师的素质条件以及教学条件的可能性制定教学策略,包括导入式问题情境、诊断过程中学习情境等激发和鼓励学生学习的兴趣。同时采用传递、引导、示范、情境等教学程序,通过提出问题、建立假说、检验假说到运用巩固、总结提高让学生全面掌握新的知识。

1.2.2 教学资源选择 以《临床血液学检验技术》第一版(电子版)为核心教材,依托雨课堂平台(<https://www.yuketang.cn/web>),向学生提供教学大纲、每章节的教学PPT、视频、习题等,并拓展其他内容如病例讨论、测试答疑等。

1.2.3 教学课程设置 教师借助雨课堂平台在线发布教学计划和授课进程,引导学生利用线上资源开展每章节内容的深入学习,学生通过自主、启发式思考和在线讨论,由被动学习转为主动学习。线下授课则是对线上课程知识点的梳理,进行重难点讲解、问题探讨、经验交流等活动,进一步激发学生学习兴趣,同时通过学生学习反馈,及时补充、调整线上教学内容,完善线上线下混合教学模式。

1.2.4 教学实践内容 基于雨课堂教学平台,建设《临床血液学检验技术》在线课程,包括理论知识、病例讨论、阶段测试、扩展资料等,课题组教师根据

各自承担教学任务制作相关教学资源。根据该课程的教学特点,将概念性、常规性内容设置为线上教学,充分利用现代信息技术手段并配合教师讲解,使抽象的知识变得更加生动、直观,实施线上理论课40学时、实践课24学时;将讨论性、操作性内容设置为线下教学,采用PBL、CBL模式围绕问题展开研究,2学时/次,12~15人/组,联系前期线上学习内容,凝练并讲解重难点和核心知识点,引导学生主动整合各教学环节,强化并提高应用所学知识解决临床问题的能力,实施线下理论课10学时、实践课36学时。

1.3 教学效果评价 《临床血液学检验技术》课程考核内容分为线上和线下考核两部分。线上考核及评价手段包括课堂在线理论测验、在线读片测验、调查问卷等。线下考核及评价手段由理论考试和技能操作组成。教学活动结束后,两组学生均进行期末考试和问卷调查,期末考试包括理论题(70分)和技能操作题(30分),对所获成绩数据进行加权并统计分析,形成综合判断得出结果。问卷调查则是于课程结束后在实验组学生中发放调查问卷58份并全部收回,调查内容包括线上教学资源评价、课程设置评价、教学效果评价、线下重点回顾等。通过总体评价反馈进行教学目标和任务的调整,教学过程和内容的修改完善,评价指标体系的修订等。

1.4 统计学处理 应用SPSS 26.0统计软件进行数据处理。计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;计数资料采用例数表示,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 教学效果 教师在实验组开展了形式多样的教学活动,比如讲到血液凝固章节时,教学目标是掌握凝血系统的组成和功能,因此本教研组设计了案例“凝血因子的江湖”。课前学生查找相关资料,线上授课时各位同学把预习内容做成PPT发表在讨论版块,有的同学将所有凝血因子分门别类并标注各自在血液凝固中的绝技,整个凝血过程的描述非常完整。而有的同学仅提及凝血过程中有哪些凝血因子,功能及机制描述地不够全面和深入。在线讨论时,回答不完整的学生通过其他优秀学生的案例能弥补其不足。最后,通过教师针对该节内容进行线上线下系统讲解,学生结合自身案例制作体会,不但加深了对相关内容的理解,而且还能解决相关临床问题。这种教学方式烘托了课堂氛围,充分调动

了学生学习的主动性,深受学生欢迎,教学效果良好。

2.2 理论与技能操作成绩比较 实验组总成绩、理论考核及技能操作成绩均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表1。

表1 两组期末考试总成绩比较($\bar{x} \pm s$,分)

组别	理论考核	技能操作	总成绩
实验组($n=58$)	79.52±7.85	81.64±14.19	80.15±6.58
对照组($n=65$)	68.98±11.94	76.65±11.97	71.28±9.88
t	5.706	2.116	5.786
P	0.000	0.036	0.000

2.3 问卷调查 91.38%学生对线上教学资源非常满意和满意,87.93%学生对线上课程设置非常满意和满意,84.48%学生对线上教学效果非常满意和满意,82.76%学生对线下重点回顾非常满意和满意,见表2。

表2 课程实施调查问卷结果[$n(\%)$]

问卷内容	非常满意	满意	一般	不满意
线上教学资源	32(55.17)	21(36.21)	4(6.90)	1(1.72)
线上课程设置	33(56.90)	18(31.03)	5(8.62)	2(3.45)
线上教学效果	29(50.00)	20(34.48)	7(12.07)	2(3.45)
线下重点回顾	27(46.55)	21(36.21)	6(10.34)	4(6.90)

3 讨论

2018年10月,教育部发布了《关于加快建设高水平本科教育全面提高人才培养能力的意见》,提出教育要以学生发展为中心,通过教改促进学生主动学习,积极依托智慧教学工具,构建线上线下混合的立体式教学模式。传统教学模式对于信息量大、抽象且不易理解的知识点,教学效果不理想,对学生学习的主动性和积极性促进不高,容易导致理论与实践脱节,学习效率较低。雨课堂作为一种含有丰富教学资源的智慧教学工具,为学生自主学习提供了有效途径^[4],学生可借助该平台及时获得课程相关资源。基于雨课堂线上线下混合教学模式的实施,让学生提前预习,主动查阅资料、浏览文献并带着问题进入在线课堂,通过虚拟仿真等新技术帮助学生将理论与实践结合起来^[5],同时线下课堂教学实践中融入了PBL、CBL模式^[6-7],紧紧围绕线上教学内容进行相关案例分析和交流互动,促使“以教为中心”向“以学为中心”转变^[8]。在本次教学实践中,不论是理论考试还是技能操作考试,实验组成绩都显著高于对照组,调查结果也显示大多数学生认为线上线下混合教学模式学习效果更好。

在进行线上线下混合教学模式实践过程中,本

团队成员收获了以下几点经验:首先,要求教师不仅要具备丰富的专业知识储备,还要掌握现代教育技术方法,能够制作和更新网络教学资源,将教师角色转变为学生学习的向导。其次,课程设计和授课方式的转变是核心,课程设计是基础,教师需合理安排教学内容,更新整合知识点,设计出符合线上教学要求的精品课程,不但要发挥好教师引导、启发、监督教学全过程的作用,还要充分调动学生作为教与学过程主体的主动性、积极性、创造性。授课方式是表现形式,教师需适应视频录制的线上教学方式和互动交流的线下教学方式,使课程内容优化起来,课堂气氛活跃起来,学生学习忙碌起来。最后,对学生的问卷调查结果,也反映了该教学模式存在一些问题,少数学生对线上线下混合教学模式感觉一般或不满意,原因在于该教学模式需要在线花费较多时间,缺少全过程监管,部分案例与临床联系不紧密,网络信号有待改善等。针对存在的问题,我们下一步将加强课程设计,通过集体备课补缺补漏,不断完善这一教学模式。

总之,将线上线下混合教学模式引入《临床血液学检验技术》课程,向知识、能力、素质“三位一体”的教学目标更加迈进了一步,与传统教学模式相比,能够提高学生自主学习和自我管理的能力,明显改善教学效果^[9]。目前线上线下混合教学模式尚在实践过程,我们将进一步完善网络教学平台,积累经验,不断探索该模式的应用价值。

【参考文献】

- [1] 刘佳佳. 课堂教学模式转变问题探究[J]. 黑河教育, 2021, 4(4): 28-29.
- [2] 张璟. 预防医学传统教学模式向慕课教学模式转变途径的探究[J]. 中国高等医学教育, 2018(6): 1-2.
- [3] 楼天灵, 卢培苗, 叶剑尔, 等. 线上线下混合教学模式下的课程思政探索——以“食品微生物学”课程为例[J]. 教育教学论坛, 2021, 4(25): 185-188.
- [4] 韩莹, 杜国利, 周钰. “雨课堂”教学模式在中医学教学中的应用体会[J]. 中国继续医学教育, 2021, 13(11): 102-105.
- [5] 蒋露芳, 熊海燕, 朱献忠, 等. 医学微生物学实验课虚拟仿真教学应用需求分析[J]. 预防医学, 2021, 33(4): 422-423.
- [6] 王红梅. PBL、CBL联合应用于医学检验教学中的效果分析[J]. 中国继续医学教育, 2020, 12(9): 16-18.
- [7] 庞森. PBL模式教学在临床血液学检验实验教学中教学效果的探究[J]. 广东化工, 2019, 46(11): 241-242.
- [8] 闫宝龙, 梁昭晖. 《医学寄生虫学》线上线下混合式课程建设及应用[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2021, 39(3): 376-379.
- [9] 宓伟, 王玖, 胡倩. 基于QQ平台的混合课程在预防医学教学中的应用[J]. 中国高等医学教育, 2020(2): 69-70.

郁金配伍丁香对小鼠肝纤维化影响的实验研究

汪居安¹, 宋雪敏¹, 王俐晴¹, 王亚奇¹, 谢露红¹, 汪 炜¹, 王健君²

(皖南医学院 1. 临床医学院; 2. 组织学与胚胎学教研室, 安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的:探究郁金配伍丁香对肝纤维化小鼠的影响。**方法:**SPF级小鼠32只,随机等分为郁金组、丁郁组、空白组、模型组;10% CCl₄的橄榄油溶液腹腔注射建立肝纤维化模型,同时给予中药灌胃处理。持续7周后取血清检测ALT、AST、HA、IL-6、SOD、MDA含量,并取肝右叶行病理检测。**结果:**模型组的血清ALT、AST、HA、IL-6、MDA水平均高于空白组($P<0.05$),肝细胞结构模糊,细胞变性坏死并伴有炎细胞浸润与胶原纤维沉积。郁金组、丁郁组的血清ALT、AST、HA、IL-6、MDA水平均低于模型组而高于空白组($P<0.05$),丁郁组的血清AST、HA、IL-6水平低于郁金组($P<0.05$),郁金组、丁郁组的血清SOD水平均高于空白组和模型组($P<0.05$)。郁金组和丁郁组与模型组相比,细胞变性坏死、炎细胞浸润与胶原纤维沉积的数量和范围均有较大改善;郁金组和丁郁组两者比较,肝细胞变性坏死程度与范围相近,但后者炎细胞浸润与胶原沉积程度较前者轻。**结论:**CCl₄生成自由基与炎症反应造成肝纤维化,郁金单用或合用丁香均能通过消除自由基和减轻炎症反应干预纤维化,丁香能够增强郁金抗炎和抗纤维化的能力。

【关键词】丁香;郁金;“十九畏”;肝纤维化

【中图分类号】R 575.2;R 282.71 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.023

Experimental study on the effect of *Curcumae Radix* combined with *Flos Caryophylli* on hepatic fibrosis in mice

WANG Ju'an, SONG Xuemin, WANG Liqing, WANG Yaqi, XIE Luhong, WANG Wei, WANG Jianjun

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

【Abstract】Objective: To observe the effect of *Curcumae Radix* combined with *Flos Caryophylli* on hepatic fibrosis in mice. **Methods:** Thirty-two SPF mice were randomly divided into *Curcumae Radix* group, *Flos Caryophylli* group, blank control group and model group. Hepatic fibrosis models were established by intraperitoneal injection of 10% CCl₄ in olive oil solution, and underwent simultaneous intragastric administration with the Chinese medicine. After 7 weeks, serum ALT, AST, HA, IL-6, SOD and MDA were measured, and right lobe of liver was taken for pathological examination. **Results:** Serum levels of ALT, AST, HA, IL-6 and MDA were significantly higher in model group than in blank control group ($P<0.05$). The structure of hepatocytes was fuzzy, and the hepatocytes were denatured and necrotic, with inflammatory infiltration and deposition of collagen fibers. Serum ALT, AST, HA, IL-6 and MDA levels in simple *Curcumae Radix* group and *Flos Caryophylli-Curcumae Radix* group were significantly lower than those in model group, yet higher than those in blank control group ($P<0.05$). Serum AST, HA and IL-6 levels were lower in *Flos Caryophylli-Curcumae Radix* group than in simple *Curcumae Radix* group ($P<0.05$), yet the serum SOD level was markedly higher in *Curcumae Radix* group and *Flos Caryophylli-Curcumae Radix* group than in blank control group and model group ($P<0.05$). The number and range of hepatocytic degeneration and necrosis, inflammatory infiltration as well as deposition of collagen fibers were significantly improved in the *Curcumae Radix* group and *Flos Caryophylli-Curcumae Radix* group compared with the model group. However, the degree and range of hepatocytic degeneration and necrosis were similar between the *Flos Caryophylli-Curcumae Radix* group and simple *Curcumae Radix* group, whereas the severity of inflammatory infiltration and deposition of collagen fibers in the *Flos Caryophylli-Curcumae Radix* group was less than that in the *Curcumae Radix* group. **Conclusion:** The formation of free radicals of CCl₄ and inflammation may cause hepatic fibrosis. Single *Curcumae Radix* or combined use of it with *Flos Caryophylli* can interfere with the fibrosis by eliminating free radicals and alleviating inflammation, and *Flos Caryophylli* can enhance the anti-inflammatory and anti-fibrosis properties of *Curcumae Radix*.

【Key words】 *Flos Caryophylli*; *Curcumae Radix*; incompatibility of the nineteen herbal drugs; hepatic fibrosis

基金项目:安徽省大学生创新创业训练计划项目(S201910368025)

收稿时间:2021-04-24

作者简介:汪居安(2000-),男,2018级临床医学专业本科生,(电话)15385306535,(电子信箱)3176545598@qq.com;

王健君,男,副教授,(电子信箱)39001683@qq.com,通信作者。

“丁香莫与郁金见”是“十九畏”之一,最早来源于《医经小学》^[1],是中药配伍禁忌的主要内容之一。《中华人民共和国药典(2015年版)》也记载“丁香不宜与郁金同用”^[2]。然而丁香同方配伍郁金自古有之,如《春脚集》所载“十香返魂丹”用于治疗痰厥中风昏迷^[3],现代网络重叠社团^[4]发现,两药配伍还可应用于呃逆、胸痹(冠心病)等疾病的治疗。长期以来,“十九畏”同方配伍的禁忌争议不断,且缺乏足够的理论支持与科学验证结果^[5]。

肝纤维化是肝脏细胞外基质过度异常增生的病理过程,是多种慢性肝病向肝硬化进展的关键步骤,是所有慢性肝病的共同病理基础^[6-7]。中药郁金抗肝损伤、抗纤维化的确切作用已得到验证^[8-10],本研究以丁香配伍郁金,探究丁香的存在对郁金缓解小鼠肝纤维化的影响,以期进一步探索丁香郁金配伍的理论内涵,丰富和发展中药配伍禁忌内容。

1 材料与方法

1.1 动物 SPF级5周龄左右的健康雄性KM小鼠32只,体质量(25±2)g,由辽宁长生生物技术股份有限公司提供,实验动物生产许可证:SCXK(辽)2020-0001;实验动物使用许可证:SYXK(皖)2018-004,分笼饲养,室温25℃左右,自由进食和进水。

1.2 主要药品、试剂及器械 丁香粉、郁金粉(六安市丹贝尔生物科技有限公司);CCl₄(成都市科龙化工试剂厂,批号20130329);丙氨酸氨基转移酶(ALT)测试盒、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)测试盒、透明质酸(HA)测试盒、白细胞介素-6(IL-6)测试盒、超氧化物歧化酶(SOD)测试盒、丙二醛(MDA)测试盒(均购自南京建成生物工程研究所)。多功能酶标仪(美国BioTek公司);数码显微镜(北京京昊永成贸易有限公司);离心机(上海安亭科学仪器厂)。

1.3 药品配置 精确称取郁金粉2g,适量温水溶解,文火煮沸2h,蒸发浓缩至50mL(相当于生药浓度400mg/mL);药品总质量不变,丁香与郁金粉按

1:1配置,重复如上操作。冷却至室温后,放入冰箱备用。CCl₄与橄榄油按1:9比例混合,配成10%的CCl₄溶液,常温避光保存。

1.4 动物分组与给药方法 动物适应性饲养1周,随机均分为4组。郁金组、丁郁组按2mL/kg灌胃给药,空白组、模型组给予等量的生理盐水;灌胃同时,郁金组、丁郁组、模型组按2mL/kg腹腔注射10%CCl₄的橄榄油溶液,空白组腹腔注射等量橄榄油。每周3次,持续7周。

1.5 生化检测 于末次给药24h后摘取眼球取血,7500r/min离心2min,取血清用相应试剂盒检测小鼠ALT、AST、HA、IL-6、SOD、MDA含量。

1.6 动物标本的制备 取血后脊椎脱臼处死小鼠,迅速剖腹取肝,取肝右叶浸泡于福尔马林溶液固定24h后,脱水、石蜡包埋、苏木精伊红(HE)染色制成组织切片,通过数码显微镜检查各组小鼠肝脏的组织结构并摄像。

1.7 统计学处理 采用SPSS 26.0软件对实验数据进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间均数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 各组小鼠ALT、AST活性比较 模型组、郁金组、丁郁组的血清ALT、AST水平均高于空白组($P < 0.05$);郁金组、丁郁组的血清ALT、AST水平均低于模型组($P < 0.05$);丁郁组血清AST水平低于郁金组($P < 0.05$)。其他详见表1。

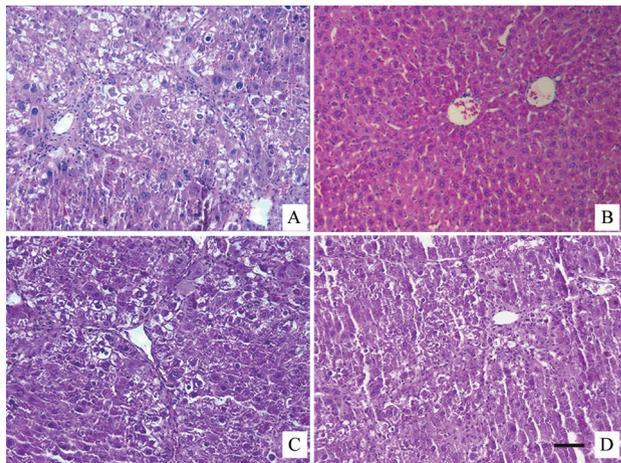
2.2 各组小鼠HA、IL-6、SOD、MDA水平比较 模型组的血清HA、IL-6、MDA水平均高于空白组($P < 0.05$);郁金组、丁郁组的血清HA、IL-6、MDA水平均低于模型组而高于空白组($P < 0.05$);郁金组、丁郁组的血清SOD水平均高于空白组和模型组($P < 0.05$);丁郁组的血清HA、IL-6水平低于郁金组($P < 0.05$)。其他详见表1。

表1 中药对小鼠血清HA、IL-6、SOD、MDA水平的影响($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	血清ALT活性/(U/L)	血清AST活性/(U/L)	HA/(μg/L)	IL-6/(ng/L)	SOD/(U/L)	MDA/(μmol/L)
空白组	80.65±9.77	52.94±9.60	51.78±7.09	150.36±10.82	78.88±6.84	38.72±4.12
模型组	182.74±4.21 ^a	524.07±14.11 ^a	172.52±7.32 ^a	194.59±7.85 ^a	75.49±2.89	101.28±9.03 ^a
郁金组	107.68±4.07 ^{ab}	226.35±11.62 ^{ab}	144.20±11.38 ^{ab}	181.48±9.92 ^{ab}	93.78±5.25 ^{ab}	51.83±6.05 ^{ab}
丁郁组	110.05±5.07 ^{ab}	212.18±13.29 ^{abc}	89.92±9.99 ^{abc}	169.10±9.18 ^{abc}	94.83±9.66 ^{ab}	55.03±9.20 ^{ab}
F	393.546	2050.112	281.313	31.368	18.143	108.559
P	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注:a $P < 0.05$,与空白组比较;b $P < 0.05$,与模型组比较;c $P < 0.05$,与郁金组比较。

2.3 肝组织病理切片观察 空白组肝细胞结构正常,无明显变性坏死与炎细胞浸润;模型组肝细胞结构模糊,可见大量气球样变、坏死、明显炎细胞浸润与胶原纤维沉积;郁金组和丁香组与模型组相比,细胞变性坏死、炎细胞浸润与胶原纤维沉积的数量和范围均有较大改善;郁金组和丁香组两者细胞变性坏死程度与范围相近,但后者炎细胞浸润与胶原沉积程度较轻。见图1。



标尺 500 μm 。A. 模型组;B. 空白组;C. 郁金组;D. 丁香组。

图1 各组小鼠肝组织切片($\times 200$)

3 讨论

CCl_4 是一种强溶脂性的有机溶剂,进入肝脏后经肝细胞色素 P450 依赖性功能氧化酶的代谢,生成自由基 $\text{CCl}_3\cdot$ 和 $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$ 破坏肝细胞膜结构,使膜磷脂过氧化而生成脂质过氧化物 (lipid hydroperoxide, LPO), 导使肝细胞损坏^[13]。ALT 和 AST 是胞内酶,当肝细胞损坏时会释放入血,引起血清含量升高。SOD 是体内主要的抗氧化酶,其通过催化超氧阴离子自由基歧化生成氧和过氧化氢,从而防止细胞膜脂质过氧化,保护细胞膜的完整性,其活力的高低反映了机体清除自由基的能力;MDA 是 LPO 的中间代谢产物之一,其水平可反映脂质过氧化的程度,间接地反映细胞受自由基攻击的程度^[14]。

CCl_4 作用于肝星状细胞使其激活和转化为肌成纤维细胞,肌成纤维细胞迅速增殖发展为肝纤维化^[15]。HA 为胶原成分之一,可较准确灵敏地反映肝内已生成的纤维量,其水平与肝纤维化的严重程度呈正相关。肝细胞变性坏死释放多种炎症因子,IL-6 是最主要炎症因子之一,可作用于肝脏成纤维细胞产生胶原进一步加重肝细胞损伤与纤维化^[16]。

本研究结果显示,模型组的血清 HA、IL-6、MDA 水平均高于空白组 ($P < 0.05$),镜检显示肝细胞结构模糊,可见大量气球样变、坏死、明显炎细胞浸润与胶原纤维沉积,说明本研究用 CCl_4 成功造模肝纤维化小鼠,验证了 CCl_4 通过自由基损伤与炎症反应两方面导致肝纤维化的形成。模型组血清 SOD 水平与空白组差异无统计学意义 ($P > 0.05$),可能是由于细胞被大量破坏导致 SOD 生成减少以及 SOD 抗氧化时的大量消耗。

本研究结果也显示,郁金组和丁香组肝细胞结构较模型组清晰,细胞变性坏死、炎细胞浸润与胶原纤维沉积的数量和范围均有较大改善,且两组血清 HA 水平均高于空白组 ($P < 0.05$) 但低于模型组 ($P < 0.05$),说明两组小鼠均发生纤维化但程度较模型组轻;郁金组和丁香组血清 ALT、AST、IL-6、MDA 水平均低于模型组 ($P < 0.05$),SOD 水平高于模型组 ($P < 0.05$),说明郁金单用或合用丁香均能减轻 CCl_4 对肝细胞的损伤与纤维化,减轻炎症反应,增强抗氧化能力。就两组中药而言,丁香组血清 AST 轻度降低 ($P < 0.05$),ALT、SOD、MDA 水平与郁金组差异无统计学意义 ($P > 0.05$),说明丁香、郁金两药合用对郁金抗肝损伤、抗氧化的作用无明显影响或可能有增强作用,两药在该方面不属“相畏”范畴;丁香组血清 HA、IL-6 水平与郁金组相比降低 ($P < 0.05$),说明两药配伍能够增强郁金抗炎与抗纤维化的能力,提示两药在该方面属“相使”范畴。值得注意的是,因两药合用能够显著减轻炎症反应,减轻胶原的沉积,我们推测,从长期来看,两药合用可能能够进一步延缓肝细胞变性坏死,从而表现出较郁金单用更强的抗肝损伤与氧化的作用。限于本研究时间较短,该推测需进一步研究验证。

综上所述, CCl_4 通过产生自由基和炎症反应两方面造成肝纤维化;郁金单用或合用丁香均能够通过增强抗氧化能力和减轻炎症反应干预肝纤维化;郁金合用丁香不影响郁金抗损伤、抗氧化能力,且能够提高郁金抗炎、抗纤维化作用;两药配伍就治疗肝纤维化而言不属“相畏”或似属“相使”范畴。

“十九畏”作为古代医家智慧的结晶,至今仍指导着中药临床应用。然而,“师古而不泥古”,当今中医药工作者应当充分开展实验与临床研究,取其精华,弃其糟粕,不断补充和发展中药配伍禁忌内容,形成更科学、严谨的中药配伍理论,用以指导临床应用。

经鼻高流量湿化氧疗联合循证护理干预在 EICU 中的应用

罗元元¹,陶秀彬²,王家俊¹

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 1. EICU;2. 护理部,安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:探讨经鼻高流量湿化氧疗联合循证护理干预在 EICU 中的应用价值。**方法:**选取 2019 年 9 月~2021 年 5 月 EICU 中的 120 例重症患者,均行经鼻高流量湿化氧疗,依据随机数字表法分为对照组($n=60$),实施临床常规护理;研究组($n=60$),在常规护理基础上开展循证护理,比较两组干预前后睡眠质量变化、高流量吸氧时间、EICU 停留时间及并发症发生率。**结果:**两组患者干预后睡眠状况较干预前均有所好转($P<0.05$),且研究组患者匹茨堡睡眠质量指数量表评分改善程度优于对照组($P<0.05$);研究组患者高流量吸氧时间及 EICU 停留时间均短于对照组($P<0.05$)。**结论:**经鼻高流量湿化氧疗联合循证护理干预能改善 EICU 患者睡眠质量,减少氧疗并发症出现,缩短其住院时间,促进其康复,值得临床应用。

【关键词】经鼻高流量湿化氧疗;循证护理;急诊重症监护室;并发症

【中图分类号】R 459.6;R 473.5 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.024

Application of nasal high flow humidification oxygen therapy combined with evidence-based nursing intervention in patients in EICU

LUO Yuanyuan,TAO Xiubin,WANG Jiajun

Emergency of Intensive Care Unit,The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College,Wuhu 241001,China

【Abstract】Objective:To assess the value of nasal high flow humidification oxygen therapy combined with evidence-based nursing intervention in patients in Emergency of Intensive Care Unit (EICU). **Methods:**One hundred and twenty critically ill patients in EICU were included from September 2019 to May 2021, and undergone nasal high flow humidification oxygen therapy. The patients were divided into control group ($n=60$, cared by routine clinical program) and study group ($n=60$, treated by nasal high flow humidification oxygen therapy combined with evidence-based nursing intervention) using random number table. The two groups were compared regarding the changes of sleep quality, high flow oxygen inhalation time, length of EICU stay and incidence of complications before and after intervention. **Results:**The sleep status were improved in the two groups after the intervention ($P<0.05$), and the scoring on Pittsburgh Sleep Quality Index was significantly better in the study group than in the control group ($P<0.05$), yet patients in the study group had shorter high flow oxygen inhalation time and days of EICU stay than those in the control group ($P<0.05$). **Conclusion:**Nasal high flow humidification oxygen therapy combined with evidence-based nursing intervention is worthy of recommendation because of this care can improve sleep quality, reduce complications of oxygen therapy, shorten the hospitalization time, and promote earlier recovery in patients in EICU.

【Key words】nasal high flow humidification oxygen therapy;evidence based nursing;Emergency of Intensive Care Unit;complications

呼吸衰竭是 EICU 患者较为普遍的症状,改善呼吸困难最有效的方法即为氧疗,正确的氧疗可改善呼吸衰竭导致的低氧血症,纠正机体缺氧^[1]。目前临床常用的氧疗方式为双腔鼻导管持续低流量给氧,氧气利用度不高,易出现气道黏膜干燥^[2]。经鼻高流量湿化氧疗通过对吸入的氧气加湿加温为患者提供恒温、恒湿、浓度恒定的氧气,已成为辅助治疗呼吸疾病的有效手段^[3]。EICU 氧疗康复期长,做好经鼻高流量湿化氧疗护理对促进患者疾病转归

有着重要意义^[4]。本研究分析经鼻高流量湿化氧疗联合循证护理干预在 EICU 患者中应用,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2019 年 9 月~2021 年 5 月弋矶山医院 EICU 120 例重症患者的临床资料,男 81 例,女 39 例;年龄 22~96(60.25±7.36)岁。疾病类型:多发伤 9 例、脑血管病 6 例、休克 17 例、

基金项目:弋矶山医院科技创新团队“攀峰”培育计划(PF2019014)

收稿日期:2021-05-25

作者简介:罗元元(1989-),女,主管护师,(电话)13505595384,(电子信箱)1506623158@qq.com。

心力衰竭 11 例、呼吸衰竭 49 例、其他 28 例。纳入标准:①经临床诊断符合相关疾病的诊断标准^[5];②男女不限,意识清醒且具备正常认知功能;③取得患者及其家属知情同意。排除标准:①精神类疾病者;②脑死亡患者;③未按规定完成治疗者;④因病情变化需行有创通气治疗者。依据随机数字表法入组分为对照组和研究组各 60 例,两组患者一般资料差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 两组患者一般资料比较($n=60, \bar{x} \pm s$)

一般资料	研究组	对照组	χ^2/t	P
性别				
男	40	41	0.038	0.845
女	20	19		
年龄/岁	60.30±5.28	61.26±5.34	0.990	0.324
疾病种类				
多发伤	4	5		0.978*
脑血管病	3	3		
休克	10	7		
心力衰竭	5	6		
呼吸衰竭	25	24		
其他	13	15		

注: * Fisher 确切概率法。

1.2 氧疗方法 采用经鼻高流量湿化氧疗系统,治疗时连接空氧混合器与压缩空气及氧气源,通过呼吸回路及鼻导管行高流量吸氧。流量:30~40 L/min,氧浓度 30%~45%,37℃、100% 相对湿度气体,血氧饱和度维持在 90% 左右,整个呼吸周期内气道压力为正压,维持时间每日 ≥ 5 h,治疗过程中根据患者临床表现及血气结果进行参数调整。

1.3 护理方法 对照组采用常规护理干预措施,重点对昏迷患者做好相应的防护措施,并加强管道护理,防止滑脱。研究组采用循证护理干预,①建立循证护理小组人员,对小组成员进行循证护理有关知识、技能培训,确定患者需求,制定针对性护理计划。②提出循证问题。结合以往经验与小组讨论方式确定循证问题为防止 EICU 重症患者接受经鼻高流量湿化氧疗期间出现并发症的护理方法。③护理证据检索和护理方案制定。明确关键词是 EICU 重症、经鼻高流量湿化氧疗、护理等,制定相应检索策略,探索问题解决有关证据,并筛选 EICU 重症患者行氧疗有关危险因素和护理措施。经系统检索护理证据开展归纳汇总,对以往临床的护理经验进行总结,制定出循证护理方案。④护理措施的实施。a. 健康宣教与心理护理。向患者宣教疾病的发病因素、相关治疗方案、预后情况等,提升患者对疾病的认知,使其配合。b. 加强呼吸道通畅管理。对呼吸道明显堵塞的患者及时清理其呼吸道分泌物;对于氧疗患者需密切观察各管道是否通畅,尤其注意观测其

呼吸道异常,帮助患者扣背及正确体位引流,促进有效排痰。c. 鼻导管固定护理。将鼻导管用工字型水胶体粘贴于鼻翼两侧,注意保护周围的皮肤。d. 气体恒温、恒湿护理。调制机器核心温度为 37℃ 并维持,同时以无菌注射用水辅助进行气体湿化,吸入恒温、恒湿的氧气可提高患者呼吸道黏膜纤毛的清除能力。e. 睡眠护理。制定耳塞、眼罩使用标准作业规范。将 EICU 清醒病人耳塞、眼罩使用标准规范纳入小夜班工作职责,进行使用方法教育。

1.4 观察指标及评价工具 ①采用匹茨堡睡眠质量指数量表(Pittsburgh sleep quality index, PSQI)进行评估,得分越高表示睡眠质量越差^[5],于入组时(干预前)及干预 1 周后进行评价。②两组高流量吸氧时间与 EICU 停留时间。③各组并发症发生率。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 26.0 统计学软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,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 干预前后 PSQI 评分比较 干预前两组患者睡眠状况差异无统计学意义($P>0.05$);干预后睡眠状况较干预前均有所好转,且研究组 PSQI 评分改善程度优于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表 2。

表 2 两组患者干预前后 PSQI 评分比较($n=60, \bar{x} \pm s$, 分)

指标	干预前	干预后	$\bar{d} \pm s_d$	$t_{配对}$	$P_{配对}$
睡眠时间					
对照组	1.97±0.82	1.58±0.79	0.38±0.52	5.669	0.000
研究组	2.00±0.76	1.32±0.65	0.68±0.57	9.331	0.000
t	0.231		3.010		
P	0.818		0.003		
睡眠效率					
对照组	1.90±0.80	1.48±0.77	0.42±0.53	6.088	0.000
研究组	1.92±0.72	1.20±0.68	0.72±0.58	9.491	0.000
t	0.120		2.944		
P	0.904		0.004		
睡眠障碍					
对照组	1.87±0.77	1.43±0.74	0.43±0.53	6.303	0.000
研究组	1.83±0.62	1.10±0.60	0.73±0.61	9.359	0.000
t	0.262		2.878		
P	0.794		0.005		
睡眠质量					
对照组	1.87±0.72	1.40±0.74	0.47±0.54	6.747	0.000
研究组	1.82±0.60	1.13±0.65	0.68±0.60	8.876	0.000
t	0.413		2.094		
P	0.680		0.038		

2.2 高流量吸氧时间及 EICU 停留时间比较 对照组患者高流量吸氧时间及 EICU 停留时间均长于研究组。差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 3 两组患者高流量吸氧时间及 EICU 停留时间比较

组别	n	高流量吸氧时间/d	EICU 停留时间/d
对照组	60	65.23±11.45	8.69±1.42
研究组	60	40.21±12.64	5.45±2.73
t		11.363	8.156
P		0.000	0.000

2.3 并发症比较 对照组患者并发症发生率(15.00%)高于研究组(3.33%),差异有统计学意义($\chi^2=4.904, P=0.027$),见表 4。

表 4 两组患者术后并发症发生率比较[n=60,n(%)]

组别	感染	导管脱落	严重痰液堵塞	鼻周皮肤破损	其他	总发生率
对照组	2(3.33)	1(1.67)	2(3.33)	1(1.67)	3(5.00)	9(15.00)
研究组	0(0.00)	0(0.00)	0(0.00)	1(1.67)	1(1.67)	2(3.33)

3 讨论

据统计^[7],EICU 患者中约有 40% 的急、慢性呼吸患者需接受氧疗来改善其通气氧合功能,常规氧疗或无创正压通气疗效易受多种因素影响。经鼻高流量湿化氧疗是一种通过高流量鼻塞设备,能提供恒定的供氧浓度以及可调控温度和湿度的高流量氧气,增加其有效潮气量,从而促使患者呼吸通畅^[8]。国内有研究者对急性高碳酸血症型呼吸衰竭患者加温湿化高流量鼻导管通气^[9],发现患者干预后 PaCO₂ 水平有效改善,不耐受、脓痰、鼻黏膜损伤发生率低,同时,外周血 Th1、Th2、sTREM-1 水平均得到有效改善。以高流量通气,有效缓解了黏液纤毛的压力,促使气道分泌物的清除。另外,解决了无创通气禁忌证较多的问题,提高了患者依从性,减轻了患者的经济负担,减少了护理人员工作量^[10]。

采用经鼻高流量湿化氧疗联合循证护理对 EICU 呼吸疾病的患者实施干预,发现前者具有良好的加温、加湿功能,有效缓解肌疲劳,增加其有效潮气量,从而促使患者呼吸通畅,提高患者舒适性和耐受性^[11];后者则是一种将临床护理问题当作出发点,通过证据解决各类护理问题的一种新型护理模式,和常规护理相比,其是将证据作为基础,更重视患者最终结局,能给其提供最佳护理方案^[12]。本研究将两者联合应用于 EICU 患者中,结果显示和对照组差异有统计学意义($P<0.05$),本研究发现,为患者提供舒适的环境,如通过规范医务人员医疗操

作、改善医疗相关设备噪声、加强睡眠评估标准作业规范及建立限定病房噪声控制制度等,可以有效地提升患者的睡眠质量。另外,研究组高流量吸氧时间及 EICU 停留时间均短于对照组($P<0.05$);研究组并发症发生率低于对照组。本研究结果证明循证护理联合高流量湿化吸氧疗法可提升患者的临床舒适性,加快病情康复,减少氧疗相关并发症,进一步改善其呼吸功能。分析其原因可能为,在循证护理中,将经过实践证实具备价值护理证据当作基础,后制定出相应护理方案的护理模式,该护理模式倡导护士开展研究,注重对于证据的评价,可以提升护理质量^[13]。

综上所述,经鼻高流量湿化氧疗联合循证护理干预应用于 EICU 患者中可有效改善睡眠质量,减少氧疗并发症出现,缩短其住院时间,促进其康复,值得临床应用。

【参考文献】

[1] 赵佳伊,田川. 经鼻高流量湿化氧疗联合循证护理干预治疗重症肺炎的临床研究[J]. 中国药物与临床,2020,20(15):2649-2651.

[2] 徐晓翠,王金柱,姚惠萍. 经鼻高流量湿化氧疗对 COPD 患者拔管后再插管及呼吸衰竭的影响[J]. 齐鲁护理杂志,2018,24(5):1-3.

[3] 许伟,王小红,夏春娟,等. 经鼻高流量氧疗在急性群发性窒息性气体中毒合并肺大泡治疗中的应用[J]. 中华劳动卫生职业病杂志,2020,38(10):757-759.

[4] 周敏,华玲玲,薛艳,等. 加温湿化高流量鼻导管吸氧在新生儿呼吸窘迫综合症中的应用效果研究[J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志,2018,13(10):985-987.

[5] 中华医学会呼吸病学分会呼吸危重症医学学组,中国医师协会呼吸医师分会危重症医学工作委员会. 成人经鼻高流量湿化氧疗临床规范应用专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志,2019,42(2):83-91.

[6] 黄李华,郝丽燕,李玉梅. 鼻腔雾化对慢性阻塞性肺疾病持续使用双腔鼻导管氧疗患者鼻腔舒适度的影响[J]. 解放军护理杂志,2015,32(3):39-40.

[7] 李志静,秦立娥,燕朋波,等. 经鼻高流量湿化氧疗治疗慢性阻塞性肺疾病患者的护理效果[J]. 武警后勤学院学报(医学版),2018,27(8):696-698.

[8] 朱莉,依宇琴. 经鼻高流量湿化氧疗对气管插管拔管后患者的临床疗效[J]. 西北国防医学杂志,2019,40(3):182-185.

[9] 陈素玲,王琼萍,黄文婷. 加温湿化高流量鼻导管通气在急性低氧性呼吸衰竭患者中的应用效果分析[J]. 临床护理杂志,2019,18(6):79-80.

[10] 韩秀娟,李瑞,朱虎林,等. 经鼻高流量湿化氧疗在呼吸衰竭低氧血症患者中的应用及护理[J]. 国际护理学杂志,2018,37(7):999-1001.

慢性肾脏病患者不同部位静脉留置针的观察与护理

廖茂蕾¹,王连梅¹,宋霞¹,朱敏¹,车恒英²

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 1. 肾脏内科;2. 护理部,安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的:探讨慢性肾脏病(CKD)患者不同部位外周静脉留置针的留置效果。**方法:**选取2021年2~4月在弋矶山医院肾脏内科住院的CKD患者81例,其中手背组40例,前臂组41例,观察并分析两组的留置时间、舒适度、穿刺疼痛评分及并发症发生情况。**结果:**手背组患者的留置时间长于前臂组,舒适度高于前臂组,且其液体渗出的发生率及穿刺疼痛评分均低于前臂组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论:**与前臂组相比,手背组结局较好。护士应在兼顾CKD患者病情的基础上,尽量选择手背留置针。

【关键词】慢性肾脏病;留置针;护理

【中图分类号】R 473.5 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.025

Observation and nursing of intravenous indwelling needles at different puncture site in patients with chronic kidney disease

LIAO Maolei, WANG Lianmei, SONG Xia, ZHU Min, CHE Hengying

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

【Abstract】Objective: To observe the effect of indwelling needles applied to different puncture of peripheral veins in patients with chronic kidney disease (CKD). **Methods:** Eighty-one hospitalized patients with CKD in the department of nephrology of our hospital were included from February to April of 2021, and divided into hand back group ($n=40$) and inner forearm group ($n=41$). The needle retention time, comfort, puncture pain score and complications were observed and analyzed in the two groups. **Results:** Patients in the hand back group had longer duration of needle retention, higher comfort, lower incidence of fluid leakage and scoring on puncture pain than those in the inner forearm group (all $P<0.05$). **Conclusion:** Indwelling needle applied to the back of the hand can lead to better outcomes than to the inner forearm. Nevertheless, nurses should make sound decision on the puncture site of indwelling needle based on the condition of patients with CKD.

【Key words】 chronic kidney disease; indwelling needle; nursing

外周静脉留置针是主要的临床输液治疗工具之一^[1],其留置时间长,可减轻护士工作量,但因此引起的静脉炎、静脉血栓、静脉闭塞等外周静脉损伤问题日益严重^[2]。研究发现,外周静脉留置针容易引起静脉内机化血栓,使血管腔变窄或半堵塞^[3],这种损伤对于慢性肾脏病(chronic kidney disease,

CKD)患者尤为明显。我国成年CKD患病率达10.8%,其中1%~3%的患者将转为终末期肾脏病(end-stage renal disease, ESRD),需要进行动静脉内瘘手术建立血管通路^[4]。资料显示高达80%的ESRD患者在接受动静脉内瘘成形术前即已存在不同程度的血管内皮改变,静脉穿刺可能是主要原因

基金项目: 芜湖市科技计划项目(2020rkx4-2)

收稿日期: 2021-04-22

作者简介: 廖茂蕾(1979-),女,主管护师,(电话)13866381678,(电子信箱)2569942830@qq.com;

车恒英,女,副主任护师,(电子信箱)2722659079@qq.com,通信作者。

[11] 朱加梅,侯为顺,全斌. 1例经鼻高流量湿化氧疗重型新冠肺炎患者的护理体会[J]. 热带病与寄生虫学,2020,18(3):190-192,168.

[12] 罗月,葛伟婷,张帅,等. ICU经鼻高流量湿化氧疗患者早期舒适度评估及管理方案构建[J]. 中国实用护理杂志,2020,36

(19):1467-1473.

[13] 梁舒镇,黄杰富,钟祥柱. 加温湿化高流量鼻导管通气对急性低氧性呼吸衰竭的疗效观察[J]. 检验医学与临床,2019,16(5):596-598,602.

之一^[5]。2018年欧洲外科血管协会发布的《血管通路临床实践指南》推荐使用桡动脉-头静脉瘘为血液透析患者长期血管通路,同时也指出避免对这类患者进行头静脉、贵要静脉、肘前静脉置管或穿刺^[6]。所以CKD患者静脉留置针常选择手背、前臂内侧血管进行穿刺。研究表明合适的解剖部位穿刺外周静脉留置针可有效降低静脉炎的发生率,对患者益处良多^[7]。CKD患者日益增多,血管资源保护意识亟待加强^[8]。本研究旨在比较不同部位的外周静脉留置针的留置时间、舒适度、穿刺疼痛评分及相关并发症发生率,为护士临床实践提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2021年2~4月在弋矶山医院肾脏内科住院的81例CKD患者为研究对象。纳入标准:①年龄18~90岁;②符合CKD 3~5期诊断标准;③住院期间输液天数>3 d;④一次性穿刺成功;⑤知情同意。排除标准:①入院前带有留置针者;②皮肤大面积损伤者;③过敏性皮肤病患者;④其他原因导致非计划拔针患者。手背留置针患者40例(手背组),前臂内侧留置针患者41例(前臂组);男49例,女32例;年龄24~86(58.42±14.92)岁。

1.2 穿刺方法 使用24 G的BD静脉留置针,用0.5%碘伏消毒液进行消毒,消毒范围>8 cm×8 cm,穿刺成功后以穿刺点为中心,使用无菌透明敷料无张力法固定穿刺针,外加医用输液贴辅助U形固定留置针,并记录穿刺者、穿刺时间。

1.3 冲封管方法 输液前采用生理盐水5 mL脉冲式冲管,评估留置针通畅情况;输液结束时生理盐水5 mL脉冲式冲管,正压封管,妥善固定。

1.4 拔针指征 ①液体输注不畅;②穿刺部位有液体外渗,局部肿胀;③穿刺部位静脉炎迹象;④患者主诉留置部位明显不适。

1.5 资料收集 ①一般人口学资料,包括性别、年龄、自理能力评分(ADL评分)、有无陪护、每日输液总量等。②制作留置针每日巡视卡,记录静脉留置针留置日期、时间,留置部位、穿刺时疼痛评分,每日舒适度评分,记录并发症如静脉炎、堵管、意外脱针等情况,记录留置针拔针时间,计算留置时间。

1.6 评价指标 ①堵管。完全堵管:输液时液体不滴,推药前回抽无回血,难以注射药物。不完全堵管:输入滴速明显减慢,<20滴/分钟,挤压莫非滴管下段有阻力,推药前回血较慢^[9]。②依据视觉化静脉炎量表进行判断。0级为静脉穿刺部位无异常,1

级为静脉注射部位疼痛或轻微发红,2级为静脉注射部位疼痛、红斑、肿胀,3级为沿着留置针路径发生疼痛、硬化,4级为3级基础上出现或可触摸到条索状静脉,5级除以上表现外,还伴有全身症状如发热。③外渗。静脉输液过程中,液体进入静脉以外的周围组织,导致局部肿胀^[1]。④疼痛情况。使用疼痛数字分级量表评分。⑤留置期间舒适度评分。

1.7 统计学分析 使用Epidata 3.0录入数据,采用SPSS 24.0进行数据分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示;计数资料用 $n(\%)$ 表示。采用独立样本 t 检验、 χ^2 检验进行统计分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料比较 两组患者性别、年龄、有无陪护、ADL评分、输血量及方式差异均无统计学意义($P > 0.05$),见表1。

表1 两组患者一般资料比较[$n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]

项目	手背组($n=40$)	前臂组($n=41$)	χ^2/t	P
性别			0.30	0.59
男	23(57.5)	26(63.4)		
女	17(42.5)	15(36.6)		
年龄/岁	58.22±16.24	58.61±13.71	0.12	0.91
陪护			0.03	0.88
有	27(67.5)	27(65.9)		
无	13(32.5)	14(34.1)		
ADL评分	81.88±25.13	85.4±18.68	0.73	0.47
输血量/mL			3.55	0.17
<250	3(7.5)	9(22)		
250~500	32(80)	27(65.9)		
>500~1 000	5(12.5)	5(12.2)		
输入方式			2.26	0.69
静滴	19(47.5)	18(44)		
静滴+静推	17(42.5)	20(48.8)		
静滴+泵注	3(7.5)	1(2.4)		
静滴+静推+泵注	1(2.5)	1(2.4)		
静推	0(0.0)	1(2.4)		

2.2 留置时间及并发症比较 前臂组留置时间(108.59±33.09)h短于手背组(125.95±37.85)h,差异有统计学意义($P < 0.05$)。两组患者并发症比较见表2。

表2 两组患者留置部位并发症比较

分组	渗出		不全堵管		静脉炎	
	有	无	有	无	有	无
前臂组	16	25	23	18	2	39
手背组	2	38	36	4	2	38
χ^2	13.56		11.76		0.000	
P	<0.001		<0.001		1.000	

2.3 穿刺疼痛评分及舒适度比较 前臂组患者疼痛评分高于手背组,舒适度评分低于手背组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表3。

表3 两组患者疼痛及舒适度评分比较

项目	前臂组	手背组	<i>t</i>	<i>P</i>
疼痛评分	4.12±0.75	2.70±0.72	8.69	<0.001
舒适度评分	2.24±0.62	3.25±0.67	7.00	<0.001

3 讨论

输液外渗是指在静脉输液过程中液体渗出到血管通路以外的周围组织,局部出现肿胀、疼痛等刺激症状,严重时可引起组织坏死^[10]。本研究中手背组渗出发生率较前臂组低,与杨巧芳等^[11]研究结果一致;但与周娟等^[12]研究相反。可能与前臂内侧静脉相较于手背静脉静脉壁更薄,管腔更细有关,本研究收集的患者例数较少,后期应增加样本量扩大研究。

穿刺疼痛是皮肤感受到的穿刺的伤害性刺激,引起组织释放致痛物质如5-羟色胺、组胺、缓激肽等,作用于分布在血管壁上的神经末梢引起痛觉。本研究中手背组较前臂组穿刺疼痛感轻,可能与手背存在“乏神经区”有关^[13]。手背的中间区域神经分布较少,在此区域内穿刺,患者穿刺疼痛感低。而前臂内侧神经末梢丰富,皮肤敏感^[14-15],痛感较强。

手背组较前臂组患者舒适度高,可能与观察时间处于春天,患者衣物穿着较多,前臂组患者输液时需捋起衣袖,衣物摩擦留置针,穿脱衣服不方便,且前臂内侧皮肤敏感有关。建议患者穿宽松衣袖上衣,护士可协助患者穿脱衣服,提高患者舒适度。

肾脏病患者血管可选择范围少,且多数患者有水肿症状,血管穿刺难度较大,所以延长留置针使用时间可以保护患者有限的血管资源。静疗规范指出,外周静脉留置针应72~96 h更换一次,以降低静脉炎和血流感染的风险。最新指南^[16]建议,外周静脉留置针是否拔除不能完全依据留置时间,应综合评估穿刺部位或(和)全身并发症的症状和体征,当有临床指征时拔除导管。根据临床指征拔除静脉留置针能延长肾脏病患者留置针使用时间,但留置时间的差异性较大^[17]。本研究留置时间48~238 h,故必须加强对留置部位的观察,当发生症状时及时拔除留置针。

在有意识地保留前臂/肘部血管的前提下,护士应尽量选择手背行CKD患者静脉留置针,并在留置

过程中,加强输液观察,及时拔除有症状的留置针,最大限度保护患者血管,保证治疗安全。

【参考文献】

- [1] 朱小莉,邹敏,王红萍,等.老年住院患者外周静脉留置针出现临床指征拔针的安全性研究[J].中国实用护理杂志,2020,36(6):401-406.
- [2] DYCHTER SS, GOLD DA, CARSON D, et al. Intravenous therapy: a review of complications and economic considerations of peripheral access[J]. J Infus Nurs, 2012, 35(2):84-91.
- [3] 赵改婷,王丽敏,郝丽娟.外周静脉留置针拔管指征的实验研究[J].护理学杂志,2014,29(13):31-32,43.
- [4] 王雯雯,曹艳佩,黄晓敏,等.慢性肾脏病患者透析治疗决策困境现状及影响因素[J].护理研究,2020,34(23):4129-4134.
- [5] PUSHEVSKI V, DEJANOV P, GERASIMOVSKA V, et al. Severe endothelial damage in chronic kidney disease patients prior to haemodialysis vascular a-access surgery[J]. Pril(Makedon Akad Nauk Umet Odd Med Nauki), 2015, 36(3):43-49.
- [6] WILMINK T, VASCULAR ACCESS. Clinical practice guidelines of the European society for vascular surgery[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2018, 55(6):753-754.
- [7] COMPARCINI DANIA, SIMONETTI VALENTINA, BLOT STIJN, et al. Relationship between peripheral insertion site and catheter-related phlebitis in adult hospitalized patients: a systematic review[J]. Prof Inferm, 2017, 70(1):51-60.
- [8] 鄢成静,陈丛利,于洋,等.慢性肾脏病患者静脉治疗相关外周静脉损伤研究进展[J].中国中西医结合肾病杂志,2019,20(2):181-184.
- [9] 苑航,陈利芬,陈影洁,等.3种静脉留置针在成人住院患者使用效果对比分析[J].护理学报,2018,25(8):51-54.
- [10] 韩娟,胡露红,刘玮丽.静脉输液外渗处理方法的改进[J].护理学杂志,2013,28(4):53-54.
- [11] 杨巧芳,张灵芳,张新,等.不同穿刺部位静脉留置针渗出外渗的发生现状及结局差异分析[J].中华现代护理杂志,2020,26(36):5023-5027.
- [12] 周娟,董萍,程晓红,等.老年患者浅静脉留置针两种不同留置部位的效果观察[J].中华现代护理杂志,2015,21(23):2783-2785.
- [13] 李和珂,李晓琴,曾瑜,等.减轻静脉穿刺疼痛方法的研究进展[J].局解手术学杂志,2020,29(3):246-250.
- [14] 谢欢,尚丽丹,林惠明,等.静脉输液前馈控制现状[J].实用临床医药杂志,2014(12):176-178.
- [15] 高丽霞.静脉留置针最佳留置位置分析[J].临床合理用药杂志,2016,9(16):160-161.
- [16] GORSKI LA, HADAWAY L, HAGLE ME, et al. Infusion therapy standards of practice, 8th edition[J]. Journal of Infusion Nursing, 2021, 44(Supplement 1):S1-S224.
- [17] 钟慧群,张立力,赵洁,等.血液病患者外周静脉留置针不同留置部位的效果观察[J].解放军护理杂志,2019,36(6):59-61.

直肠癌肠永久性结肠造口患者家庭复原力的现状及影响因素

王余娜¹, 黄平¹, 王甲香¹, 刘倩²

(海南省人民医院 1. 肛肠外科; 2. 胃肠外二科, 海南 海口 570311)

【摘要】目的:了解本地区直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力现状及影响因素。**方法:**选取2019年12月~2021年4月在海南省人民医院就诊的直肠癌永久性结肠造口患者109例为研究对象,采用家庭复原力评估量表、社会影响量表、造口患者生活质量量表进行调查,分析直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力与一般临床资料、病耻感、生活质量的相关性。**结果:**直肠癌肠造口患者家庭复原力得分为(178.48±15.58)分,单因素分析结果显示,性别、居住地、婚姻状况与直肠癌造口患者家庭复原力有关($P<0.05$);Pearson相关分析结果显示,家庭复原力与病耻感呈负相关($P<0.05$),与生活质量呈正相关($P<0.05$);多元线性回归分析发现无配偶或配偶不在身边、病耻感高、生活质量低是直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力的危险因素($P<0.05$)。**结论:**在日常护理过程中,应重点关注对无配偶或配偶不在身边、病耻感高、生活质量低的患者,以提高患者家庭复原力,使患者快速恢复正常生活。

【关键词】结肠造口;家庭复原力;病耻感;生活质量

【中图分类号】R 473.73 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.026

Current status and factors affecting the family resilience in patients with permanent colostomy from rectal cancer

WANG Yu'na, HUANG Ping, WANG Jiexiang, LIU Qian

Department of Anorectal Surgery, Hainan Provincial People's Hospital, Haikou 570311, China

【Abstract】Objective: To understand the current status of local family resilience and the influencing factors in patients with permanent colostomy due to rectal cancer. **Methods:** One hundred and nine patients with permanent colostomy due to rectal cancer treated in our hospital were included from December 2019 to April 2021, and undergone survey with Family Resilience Assessment Scale, Social Impact Scale, and Quality of Life of Stoma Patients. Then the data were analyzed for observing the relationship between family resilience and general clinical data, stigma, and quality of life in patients with permanent colostomy due to rectal cancer. **Results:** The family resilience score was 178.48±15.58 for patients with permanent colostomy for rectal cancer. Univariate analysis showed that gender, residence and marital status were related to the family resilience ($P<0.05$). Pearson correlation analysis indicated that family resilience was negatively correlated with stigma ($P<0.05$), yet positively with quality of life ($P<0.05$). Multiple linear regression analysis demonstrated that the factors affecting family resilience were associated with such patients without spouse or spouse being not around, high stigma, and low quality of life ($P<0.05$). **Conclusion:** In the daily nursing process, attention should be paid to patients who have no spouse or whose spouse is not around, and those with high stigma and low quality of life, so as to improve the patient's family resilience and enable the patient to quickly return to a normal life.

【Key words】 colostomy; family resilience; stigma; quality of life

直肠癌以手术治疗为主,中低位直肠癌常采用腹会阴联合直肠癌根治术,此手术切除范围大,可能需要做永久性肠造口^[1]。肠造口患者通过造口排便,造口异常的外观、不能自主控制排便、特殊的气味会使患者产生负面心理,严重影响患者生活质量^[2]。家庭复原力是指家庭中有人处于困境,所有家庭成员一起抵抗困境,帮助患者从困境中摆脱出

来恢复正常生活的能力,为近期国外护理领域研究的热点,我国家庭复原力的相关研究较少,多集中于创伤后儿童。因此,本研究旨在了解本地区直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力现状及影响因素,以提高患者家庭复原力为最终目标,使患者快速恢复正常生活。

基金项目:海南省卫生健康行业科研项目(20A200361)

收稿日期:2021-05-09

作者简介:王余娜(1985-),女,主管护师,(电话)13976104263,(电子信箱)wangyuna1985@126.com。

1 资料与方法

1.1 对象 选取2019年12月~2021年4月在海南省人民医院就诊的直肠癌永久性结肠造口患者109例为研究对象,纳入标准:①年龄>18岁;②在我院行直肠癌永久性造口术的患者;③病情稳定无严重并发症;④能独立进行问卷填写且沟通无障碍。排除标准:①存在认知障碍或精神疾病者;②癌症远处转移者;③存在严重的心、肝、脑、肾脏疾病者;④不愿加入本研究者。

1.2 调查工具

1.2.1 一般资料调查表 由笔者团队共同商讨制定,包括性别、年龄、婚姻状态等。

1.2.2 家庭复原力评估量表 由戴艳编制,主要用于评价家庭复原力,总分49~245分,分值越高表明家庭复原力越好,量表Cronbach α 为0.912^[3]。

1.2.3 社会影响量表 由Fife^[4]编制,主要用于评价慢性病患者病耻感,总分24~96分,得分越高表明病耻感越严重,量表Cronbach α 为0.920^[5]。

1.2.4 造口患者生活质量量表 由Prieto等^[6]编制,总分为20~80分,得分越高表明生活质量越好,量表Cronbach α 为0.893^[7]。

1.3 调查方法 均于术后7d对患者进行问卷调查。参与调查人员均统一培训,培训合格后上岗。问卷被调查者独立完成,现场回收。研究中共发放问卷109份,回收109份,有效问卷105例。

1.4 统计学方法 采用Epidata 3.0软件建立数据库,采用SPSS 26.0软件进行数据分析,计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示, t 检验或 F 检验用于计量资料比较,计数资料采用构成比表示, χ^2 检验用于计数资料比较;相关分析采用Pearson分析,多因素分析采用多元线性回归分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力的现状 直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力得分为(178.48±15.58)分,家庭信念得分为(60.98±6.38)分,家庭力量得分为(117.50±11.92)分。

2.2 直肠癌永久性结肠造口患者病耻感的现状 直肠癌永久性结肠造口患者病耻感总得分为(59.98±9.38)分,社会排斥、经济歧视、内在羞耻感、社会隔离得分分别为(21.51±4.33)分、(8.29±1.89)分、(12.49±3.27)分、(17.69±4.12)分。

2.3 直肠癌永久性结肠造口患者生活质量的现状 直肠癌永久性结肠造口患者生活质量总得分

为(52.78±7.59)分。

2.4 直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力的单因素分析 结果显示,性别、居住地、婚姻状况与直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力相关,差异有统计学意义($P<0.05$),见表1。

表1 患者家庭复原力的单因素分析

		<i>n</i>	家庭复原力/分	<i>t/F</i>	<i>P</i>
性别	男	68	180.62±15.05	2.049	0.042
	女	37	174.54±13.49		
年龄/岁	<60	73	179.89±14.34	1.473	0.143
	≥60	32	175.26±15.89		
文化程度	初中及以下	53	176.68±14.45	1.125	0.328
	高中/中专	33	179.35±12.48		
	大专及以上	19	181.96±13.94		
居住地	乡村	63	176.33±12.49	2.107	0.037
	城镇	42	181.71±13.29		
家庭年收入/元	<50 000	52	177.56±14.43	0.268	0.765
	50 000~80 000	35	178.93±13.73		
	≥80 000	18	180.26±14.38		
职业	无业	12	175.13±13.58	0.703	0.552
	农民	31	176.85±12.95		
	经商	25	178.87±13.62		
	企事业单位	37	180.66±14.42		
医疗费用支付方式	自费	19	176.85±15.29	0.569	0.570
	医保	86	178.84±13.45		
婚姻状况	无配偶或配偶不在身边	28	174.00±14.38	2.011	0.046
	配偶在身边	77	180.11±13.54		
	完全需要他人	21	174.10±12.94		
自理程度	部分需要他人	53	177.78±13.43	2.805	0.065
	完全自理	31	182.64±12.68		
	<3	36	176.16±13.45		
3~6	30	178.47±14.35			
≥6	39	180.62±15.48			

2.5 直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力与病耻感、生活质量的相关性分析 结果显示,直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力总分与病耻感呈负相关($r=-0.465, P<0.001$),与生活质量呈正相关($r=0.291, P=0.003$)。

2.6 直肠癌永久性结肠造口患者的家庭复原力的多元线性回归分析 以家庭复原力为因变量,按照纳入($\alpha=0.05$)与排除($\beta=0.10$)标准,将符合的变量纳入自变量,同时进行赋值并进行多元线性回归分析(逐步法),结果显示,无配偶或配偶不在身边、病耻感高、生活质量低是直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力的危险因素($P<0.05$),见表2。

表2 患者家庭复原力的多元线性回归分析

	<i>B</i>	<i>S. E.</i>	<i>Beta</i>	<i>t</i>	<i>P</i>	95% <i>CI</i>
婚姻状况	5.975	2.398	0.200	2.492	0.014	1.219 ~ 10.732
病耻感	-0.627	0.108	-0.467	5.808	<0.001	-0.842 ~ -0.413
生活质量	0.551	0.133	0.329	3.131	<0.001	0.286 ~ 0.815
Constant	176.783	10.256		17.238	<0.001	156.439 ~ 197.127

3 讨论

3.1 直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力现状

家庭复原力是家庭面对重大压力、困难、逆境下如何面对、恢复的能力。本研究发现直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力得分为(178.48±15.58)分,低于颜彦等^[8]在老年脑梗死患者中的研究,表明直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力较低,可能由于直肠癌是恶性肿瘤,对患者及家庭的打击较大;手术治疗花费较高,增加患者和家庭的经济压力;直肠癌永久性结肠造口患者因存在异于常人的造口,易产生负面情绪,不愿意与家人、朋友交流。因此,在住院期间,及时了解患者心理变化并进行开导,有助于提升家庭复原力,使患者及家庭尽快恢复到正常生活。

3.2 直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力的影响因素

3.2.1 婚姻状况

家庭结构是家庭复原力的保护因素^[9]。Geng等^[10]在中国造口患者的多中心研究显示社会支持在帮助患者树立信心、提高生活质量中意义重大。配偶一般为造口患者的主要照顾者,保证患者正常生活,为患者提供支持。Juárez-Rojop等^[11]在一项墨西哥2型糖尿病队列研究中发现,有配偶者生活质量明显高于丧偶或离婚者。由于造口长期存在,患者往往存在负面情绪,贾春雨等^[12]研究显示54.84%的直肠癌造口术后存在焦虑、抑郁等情况,有配偶在身边照顾易于发现患者细微的情感变化,对患者进行鼓励、疏导亦有利于家庭复原力的提升。本研究中发现配偶在身边患者其家庭复原力明显高于无配偶或配偶不在身边,多元线性回归分析进一步验证了此结论。

3.2.2 病耻感

病耻感是因疾病原因而使患者产生的内心耻辱体验,主要为患者被歧视、被贴标签、不被理解等。国外研究显示大部分肠造口患者存在病耻感^[13],而本研究亦有相似发现,进一步分析发现病耻感与家庭复原力呈负相关,可能由于结直肠癌造口患者因造口的存在易产生负面心理,同时不受控制的排便、造口排出粪便特殊的气味易使患者回避与他人的社交活动,产生自卑、消极心理,影响患者与家庭成员之间的关系;造口患者无法体现自身

价值,同时日常生活常需要家人照顾,加剧患者自我否定,形成恶性循环,影响家庭复原力。

3.2.3 生活质量

生活质量是患者个体健康、心理、社会功能的体现。国外研究显示结肠造口患者生活质量低于正常人,且生活质量评分随着造口时间的延长而降低^[14]。本研究对直肠癌永久性结肠造口患者进行调查,发现其生活质量得分较低,相关分析发现生活质量与家庭复原力呈正相关,可能由于家庭复原力较高的患者,其家属在日常生活中不仅承担着照顾结肠造口患者的日常生活,而且对结肠造口患者进行心理引导,建立信心,使患者快速恢复到正常生活。

本地区直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力偏低,进一步分析婚姻状况、病耻感、生活质量是直肠癌永久性结肠造口患者家庭复原力的影响因素,因此,在日常护理工作中,常规开展社会影响、社会质量调查,发现目标人群,以提高患者家庭复原力,使患者快速恢复正常生活。本研究仍有不足之处,如样本量较少、单中心研究等,因此需要大样本多中心的研究去验证该结果。

【参考文献】

- [1] 王刚,江志伟,潘华峰.经腹会阴联合切除术的回顾与发展[J].山东大学学报(医学版),2020,58(5):6-10.
- [2] 李爽,孙丽娟,齐艳.同伴教育在结直肠癌造口患者健康教育中的研究进展[J].护理管理杂志,2017,17(9):644-646.
- [3] 朱洁楠,卞剑云,蒋洪霞.乳腺癌术后化疗患者家庭复原力与负性情绪、锻炼依从性的相关性[J].中华现代护理杂志,2019,25(2):232-235.
- [4] FIFE BL, WRIGHT ER. The dimensionality of stigma: a comparison of its impact on the self of persons with HIV/AIDS and cancer[J]. J Health Soc Behav, 2000, 41(1):50-67.
- [5] 徐芳芳,于卫华,王胜琴.肠造口患者病耻感与生活质量的相关性[J].中国心理卫生杂志,2016,30(2):97-101.
- [6] PRIETO L, THORSEN H, JUUL K. Development and validation of a quality of life questionnaire for patients with colostomy or ileostomy[J]. Health Qual Life Outcomes, 2005, 3:62.
- [7] 吴雪,金晓燕,尚少梅,等.造口病人生活质量量表中文译本的信度、效度分析[J].中国护理管理,2011,11(7):23-25.
- [8] 颜彦,张智.家庭复原力对老年脑梗死患者负性情绪和生活质量的影响[J].解放军护理杂志,2017,34(23):6-10.

· 护理学 ·

文章编号:1002-0217(2022)02-0199-03

高龄腰椎骨折手术患者采用无缝隙护理配合工作模式的效果评价

徐桂香,王永宏,李士敏,陈双凤,刘 玮

(马鞍山十七冶医院 骨二科,安徽 马鞍山 243000)

【摘要】目的:探讨并评价高龄腰椎骨折手术患者采用无缝隙护理配合工作模式的临床应用效果。**方法:**选取2018年1月~2020年12月在马鞍山十七冶医院接受腰椎骨折手术的62例患者为研究对象,2019年1月前收治的31例患者为对照组,接受常规护理干预;2019年1月后的31例患者为观察组,采用无缝隙护理配合工作模式进行干预。比较两组患者术后疼痛程度(VAS评分)和首次下床时间、术后并发症发生情况、术前和术后3个月的Harris评分。**结果:**与对照组相比,观察组患者的术后VAS评分下降($P<0.05$),下床时间缩短($P<0.05$),术后并发症发生率降低($P<0.05$)。两组患者术前Harris评分差异无统计学意义($P>0.05$);但术后3个月Harris评分均较干预前改善($P<0.05$),且观察组改善程度优于对照组($P<0.05$)。**结论:**高龄腰椎骨折手术患者采用无缝隙护理配合工作模式不仅能有效确保手术的顺利开展,减少并发症的发生,且能促进预后恢复。

【关键词】高龄;腰椎骨折手术;无缝隙护理配合工作;效果评价

【中图分类号】R 473.6 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.027

Evaluation on the effect of seamless nursing cooperation mode in elderly patients with lumbar fracture surgery

XU Guixiang, WANG Yonghong, LI Shimin, CHEN Shuangfeng, LIU Wei

Department of Orthopedics, 17th Metallurgical Hospital of Ma'anshan City, Ma'anshan 243000, China

【Abstract】Objective: To investigate and evaluate the clinical application effect of seamless nursing cooperation mode in elderly patients with lumbar fracture surgery. **Methods:** Sixty-two patients undergoing surgery for lumbar fracture in 17th Metallurgical Hospital of Ma'anshan city were included from January 2018 to December 2020, and randomly allocated to control group ($n=31$, treated before January 2019, and nursed by routine nursing intervention) and observational group ($n=31$, treated after January 2019, and received seamless nursing cooperation mode). Then the two groups were compared regarding the degree of postoperative pain, the initial off-bed, incidences of postoperative complications, Harris scores before and 3 months after operation.

Results: Compared with the control group, patients in the observational group had significantly reduced postoperative pain score, earlier initial off-bed activity, and decreased postoperative complications (all $P<0.05$). Harris scores before surgery remained no statistical difference between the two groups ($P>0.05$), yet were greatly improved after operation ($P<0.05$), and the improvement was better in observational group than in control group ($P<0.05$).

Conclusion: Elderly patients undergoing lumbar fracture surgery cared by seamless nursing mode can not only effectively ensure the smooth operation, reduce the incidence of complications, but also significantly promote the recovery and prognosis.

【Key words】 the elderly; lumbar fracture surgery; seamless nursing cooperation; effect evaluation

基金项目: 马鞍山市科技计划项目(YL-2017-21)

收稿日期: 2021-06-11

作者简介: 徐桂香(1981-),女,主管护师,(电话)13905550795,(电子信箱)1095845486@qq.com。

[9] 赵西西,孙霞,王雪芳,等.家庭复原力的研究进展及其对危机家庭的护理启示[J].中华护理杂志,2015,50(11):1365-1368.

[10] GENG ZH, HOWELL D, XU HL, et al. Quality of life in Chinese persons living with an ostomy: a multisite cross-sectional study [J]. J Wound Ostomy Continence Nurs, 2017, 44(3):249-256.

[11] JUAREZ-ROJOP IE, FORTUNY-FALCONI CM, GONZALEZ-CASTRO TB, et al. Association between reduced quality of life and depression in patients with type 2 diabetes mellitus: a cohort study

in a Mexican population [J]. Neuropsychiatr Dis Treat, 2018, 14: 2511-2518.

[12] 贾春雨,陈燕.延续护理干预对直肠癌造口术后病人焦虑状态的影响[J].临床和实验医学杂志,2012,11(12):940-941.

[13] MACDONALD LD, ANDERSON HR. Stigma in patients with rectal cancer: a community study [J]. J Epidemiol Community Health, 1984, 38(4):284-290.

[14] 蒺红涛,张宇,杨洋,等.结肠造口患者生活质量现状及影响因素研究[J].中国护理管理,2018,18(6):829-834.

腰椎骨折是临床最为常见的骨科疾病,随着老年人口数量的不断增加,因骨质疏松造成腰椎骨折而就诊的患者比例不断升高,腰椎骨折的发生不仅导致高龄患者生活质量下降,而且还会导致患者出现各类并发症^[1-2]。随着治疗手段的不断进步,腰椎骨折手术成为常见的手术类型;且由于老年患者对自身健康关注度的提高,手术的效果和安全性也获得了临床患者的广泛关注和重视^[3]。研究指出良好的手术结局不仅与医疗水平相关,更重要的在于护理干预措施是否得当,因此护理工作如何更加有效地配合和实施成为研究热点^[4]。无缝隙护理由传统护理发展而来,是指根据患者不同阶段的治疗特点,为其提供全程持续、全方位、整体的干预措施,使整个治疗期间的护理工作呈现紧密性和一体性^[5]。本研究评价高龄腰椎骨折手术患者采用无缝隙护理配合工作模式的临床应用效果,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2018年1月~2020年12月在马鞍山十七冶医院接受腰椎骨折手术的62例患者作为研究对象,纳入标准:①入组病例均明确诊断为腰椎骨折,且均在本院接受手术治疗;②患者病情稳定,临床资料完整;③年龄均≥60岁;④均知情本研究并签署知情同意书。排除标准:①合并严重器质性疾病;②手术禁忌证;③恶性肿瘤、出血倾向、全身感染;④严重精神疾病或无法正常沟通交流;⑤拒绝接受本研究者。其中2019年1月前收治的31例患者作为对照组,男18例,女13例,年龄60~79(70.38±9.54)岁,病因:骨质疏松性骨折16例,跌倒10例,交通事故5例。均接受常规护理干预;2019年1月后的31例患者作为观察组,均采用无缝隙护理配合工作模式进行干预。男20例,女11例,年龄60~80(71.02±10.47)岁,骨质疏松性骨折18例,跌倒9例,交通事故4例。两组患者在性别、年龄、病因等一般资料上差异均无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法 对照组患者均接受常规护理,具体包括术后生命指征监测、伤情对症处理、健康宣教、注意事项告知、术后并发症预防和处理、术后康复指导和运动指导等。观察组则在术后采用无缝隙护理配合工作模式进行护理干预,具体内容如下。

1.2.1 个案管理 各个小组的护理人员通过对患者术前相关信息的收集和整理,对患者术后可能出现的并发症以及不良反应的相关危险因素进行甄别和评估,并为患者制定个性化的个案管理台账,详细标注小组成员分工不同的任务细节。

1.2.2 认知和心理干预无缝隙 根据患者性别、年龄以及认知的不同,通过图片、视频、模型以及道具,向患者及家属进行术后注意事项的介绍,对可能发生的并发症或不良反应的症状及预防措施进行介绍和演示,提高患者对术后疾病自我管理的重视及依从性,缓解患者的紧张情绪。

1.2.3 小组排班无缝隙 合理安排各小组值班时间,确保小组成员均能够在充沛的精力和关注力下完成本职工作;加强交接班的无缝隙信息对接,本研究中护理人员除了通过常规的口头和书面内容的交接单外,还通过IPAD等多媒体信息工具,对相关护理的重点内容,如患者的并发症现状、下一步待进行的干预措施以图片、思维导图等形式进行,确保接班目标明确、措施得当且具有延续性。

1.2.4 并发症干预无缝隙 针对术前并发症风险因素的分析,为患者制定详尽的个体化预防措施,对可能引起的并发症风险因素进行全程监测,包括术前与手术室护士和手术医生进行详细的报告,术中积极辅助手术室人员完成手术,术后根据患者的手术情况和恢复状况,及时调整各风险因素的危险等级。所有信息均利用IPAD进行及时更新和共享,确保小组成员均能及时了解患者的病情和恢复情况。

1.2.5 术后康复无缝隙 加强与营养师、康复师的联系,术前初步制定患者的康复方案,并对患者进行相应的认知教育和指导,确保患者对术后康复具有较高的依从性;术后及时对患者状况进行重新评估,为其量身打造并及时修正康复方案,确保符合个体实际需要。

1.3 评价指标 比较两组患者术后疼痛程度和首次下床时间,疼痛程度采用视觉模拟评分法(visual analogue scale, VAS),得分越高疼痛程度越明显。比较两组患者术后并发症发生情况,包括下肢静脉血栓、压疮、泌尿系统感染;比较两组患者术前和术后3个月的Harris评分,得分越高则恢复越佳。

1.4 统计学处理 应用SPSS 26.0统计软件对本次研究数据进行统计分析。计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用 χ^2 检验或Fisher确切概率法;计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用两独立样本 t 检验和配对 t 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 术后疼痛评分和下床时间的比较 与对照组相比,观察组患者的术后VAS评分下降,下床时间缩短,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表1。

表1 两组患者术后VAS评分和下床时间的比较

组别	n	VAS 评分/分	下床时间/h
观察组	31	3.07±1.42	8.25±2.13
对照组	31	4.45±1.85	12.66±2.67
t		3.295	7.189
P		0.002	<0.001

2.2 术后并发症发生情况的比较 观察组未发生术后并发症,对照组出现术后静脉血栓3例,压疮1例,泌尿系统感染2例,总发生率16.36%,差异有统计学意义($\chi^2=4.613, P=0.032$)。

2.3 Harris 评分比较 两组患者术前 Harris 评分差异无统计学意义($P>0.05$);术后3个月两组患者 Harris 评分均较干预前改善,且观察组改善程度优于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),见表2。

表2 两组患者 Harris 评分比较($n=31, \bar{x}\pm s$,分)

组别	术前	术后3个月	$\bar{d}\pm s_d$	t _{配对}	P _{配对}
观察组	69.10±3.02	88.74±2.25	19.65±2.64	41.431	<0.001
对照组	69.29±2.96	79.39±3.69	10.10±2.91	19.293	<0.001
t	0.255		13.521		
P	0.799		<0.001		

3 讨论

3.1 无缝隙护理配合工作模式能够促进患者术后恢复 腰椎骨折属于有创手术,术后恢复的优劣不仅影响手术效果,还会对患者的生活质量造成影响。王亚绒等^[6]提出应当重视早期康复训练配合舒适护理来提高护理效果。本研究发现高龄患者的思想方式和行为意识较为古板且固执,早期贸然干预收益甚微;尤其是高龄患者围术期需要在病房、手术室、病房等不同环境的转变以及所接触护理人员不同均会导致患者依从性下降^[7]。无缝隙护理通过对患者自住院至出院之间的护理干预,体现整体连贯性和一致性。本研究对患者照护过程中人员变动、空间改变、时间变化等不同角度开展无缝隙护理配合工作模式,结果显示,与对照组相比,不仅术后VAS评分显著下降,而且下床时间明显缩短,说明患者依从性得到了显著提高^[8]。因为无缝隙护理强调整体性,使患者自住院、术前、术中和术后均获得同一标准的高质量护理干预,增加了患者对手术的安全性和护理人员的信任,提高了依从性,有利于各项干预措施的实施,确保了手术效果^[9]。

3.2 无缝隙护理配合工作模式能够提高护理服务效果 无缝隙护理与常规护理相比更加具有前瞻性和管理性,常规护理多依据症状而执行,工作划分不明确,护理人员之间沟通较少,缺乏相互配合的默契性;而护理人员在执行无缝隙护理时不仅对各自的

任务和职责非常明确,而且还能够通过事先制定的评估和预案确保干预措施根据患者的实际情况进行及时的调整、优化,减少了各类不良事件的发生,提高护理质量^[10-11]。对于患者而言,接受无缝隙护理配合工作干预不仅能够提高患者对整体护理目标的明确性,还有助于提高患者对术后康复以及预防并发症的重视程度和理解程度^[12]。患者在整个围术期接受到高质量的无缝隙护理干预的同时,也能够建立良好的自我管理和风险意识,本研究中观察组患者术后3个月的Harris评分改善程度优于对照组。

综上所述,高龄腰椎骨折手术患者采用无缝隙护理配合工作模式不仅能够有效确保手术的顺利开展,减少并发症的发生,而且还能够促进预后恢复,值得临床推广应用。

【参考文献】

- [1] 袁甜,赵衍,陈晶晶. 基于信息不对称理论的共同决策护理对胸腰椎体骨折患者围手术期康复效果的影响[J]. 中华现代护理杂志,2019,25(32):4194-4198.
- [2] 徐薇,蔡亚萍,邢娟,等. 腰椎术后以护士为主导的骨科康复一体化模式的康复效果[J]. 实用临床医药杂志,2020,24(3):118-120.
- [3] SOFFIN EM, BECKMAN JD, TSENG A, et al. Enhanced recovery after lumbar spine fusion: a randomized controlled trial to assess the quality of patient recovery[J]. Anesthesiology, 2020, 133(2):350-363.
- [4] 彭凯琴,彭惠欣. 医护一体化模式在胸腰椎骨折患者护理中的应用[J]. 临床医学工程,2020,27(5):665-666.
- [5] 寇丽华. 全流程无缝隙护理理念在手术室护理中的应用效果研究[J]. 中国药物与临床,2020,20(21):159-161.
- [6] 王亚绒. 早期康复训练配合舒适护理在老年腰椎压缩性骨折患者护理中的应用[J]. 贵州医药,2019,43(9):1496-1497.
- [7] 王茜,严缘园,洪小丽. 延续性护理对高龄胸腰椎压缩性骨折患者术后康复的影响[J]. 国际老年医学杂志,2019,40(4):214-217.
- [8] 张晓莹,张翠英,王元玲. 多学科协作护理模式在伴有基础疾病的老年胸腰椎骨折围术期中的应用[J]. 海南医学,2019,30(7):139-142.
- [9] 陈雪峰,林立国,郑桑,等. 整体化护理干预对胸腰椎骨折术后患者的应用效果[J]. 中华全科医学,2019,17(4):696-698.
- [10] KIM JH, SHIN YS. Effects of localized heating on pain, skin perfusion, and wound healing after lumbar decompression[J]. Journal of Neuroscience Nursing, 2020, 52(5):251-256.
- [11] 杨晓莹,胡蓉,杨小香. 全程无缝隙护理在手术室护理中的应用效果及患者预后改善的影响分析[J]. 贵州医药,2019,43(10):133-134.
- [12] 吕晨,古毅超,吕金菊. 基于微信的延续护理对腰椎间盘突出症患者术后功能锻炼依从性和生活质量的影响[J]. 中国医学创新,2019,16(1):88-91.

1 例颈动脉蹼致急性缺血性脑卒中:基于计算流体力学分析

苗 壮^{1a},黄显军^{1b},干伟鹏²,杨 倩^{1b}

(1. 皖南医学院第一附属医院 a. 医学影像中心;b. 神经内科,安徽 芜湖 241001;2. 皖南医学院 研究生学院,安徽 芜湖 241002)

【摘要】目的:探讨颈动脉蹼(CW)血流动力学变化与缺血性脑卒中的关系。**方法:**结合计算流体力学总结并分析1例CW导致的急性缺血性脑卒中的临床病例资料并回顾相关文献。**结果:**通过计算流体力学结合文献分析,CW所处位置存在二次流漩涡,低壁面剪切力(WSS)、低剪切力震荡因子(OSI)、高相对滞留时间(RRT)可能是刺激血栓形成的因素,从而增加急性缺血性脑卒中的风险。**结论:**CW血流动力学变化是缺血性脑卒中发生的重要机制。

【关键词】颈动脉蹼;脑卒中;计算流体力学

【中图分类号】R 743.3;R 445.2 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2022.02.028

Acute ischemic stroke due to carotid webs:Computational fluid dynamics analysis in one case

MIAO Zhuang,HUANG Xianjun,GAN Weipeng,YANG Qian

Medical Imaging Center,The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College,Wuhu 241001,China

【Abstract】Objective:To investigate the relationship between the changes of carotid web hemodynamics and ischemic stroke. **Methods:**A case of acute ischemic stroke involved in carotid web artery was retrospectively analyzed by computational fluid dynamics (CFD),and related literatures were reviewed.

Results:CFD analysis,together with review of the related literatures,demonstrated that presence of secondary flow vortexes at the location of carotid web,low wall shear stress(WSS),low shear force shock factor (OSI) and high relative residence time (RRT) were potential factors stimulating thrombosis,thus increasing the risk of acute ischemic stroke. **Conclusion:**The change of carotid web hemodynamics is an important mechanism of ischemic stroke.

【Key words】carotid web;stroke;computational fluid dynamics

颈动脉蹼(carotid web,CW)是 Momose 等^[1]首次发现并定义,他们将起自颈动脉窦部后壁,并延伸到血管腔内的薄膜样片状物称之为 CW。随后 Choi 等^[2]将 CW 的 CT 血管造影(computed tomograph angiography,CTA)影像表现描述为在斜矢状位上颈动脉分叉处沿颈动脉球后部的一种薄的腔内充盈缺损,在轴位上表现为薄层隔膜。该疾病的潜在组织病理学上表现为一种非典型的纤维肌发育不良^[3]。国内外多项临床研究证明 CW 是缺血性脑卒中的危险因素之一,尤其是在青年卒中患者中更为突出^[4]。CW 是一个未被重视和缺乏充分认识的脑卒中危险因素^[5]。现就弋矶山医院神经内科 2020 年 2 月收治的 1 例因 CW 导致的急性脑卒中患者的临床资料通过计算流体力学并结合相关文献进行分析,

旨在加深相关医务工作者对 CW 的认识。

1 病例资料

患者,男,59 岁。因突发肢体偏瘫 4 h 于 2020 年 2 月 19 日 11:00 时急诊入院,患者主要表现为左侧肢体偏瘫及构音障碍,既往无高血压病、糖尿病、吸烟等危险因素。入院查体:神志清楚,精神可,构音欠清,双侧瞳孔等大等圆,直径约 3.0 mm,对光反射灵敏,双侧眼球右侧凝视,双侧额纹对称,左侧鼻唇沟浅,示齿口角右偏,伸舌左偏。左侧肌力 1 级,右侧肢体肌力、肌张力正常,左侧指鼻试验、跟膝胫试验不合作。双侧深、浅感觉检查正常。左侧 Babinski 征阳性。颈软,Kernig 征、Brudzinski 征均阴性,NIHSS 评分 12 分。心电图检查:窦性心律,早期复

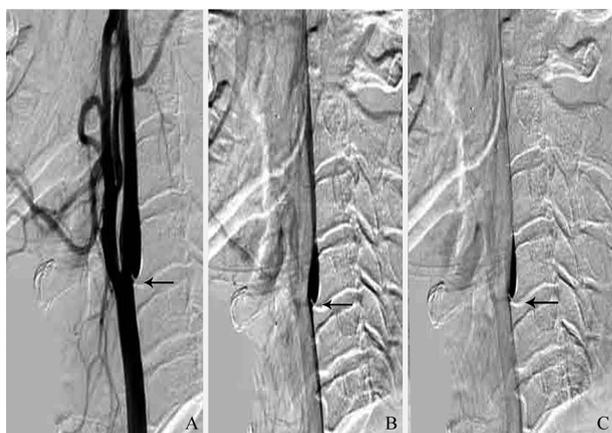
基金项目:皖南医学院中青年科研基金项目(WK2019F22)

收稿日期:2021-04-14

作者简介:苗 壮(1989-),男,技师,助教,(电话)15855978618,(电子信箱)944524711@qq.com;

杨 倩,女,主任医师,副教授,(电子信箱)yangqian_wuhu@sina.com,通信作者。

极。影像学检查,入院急诊 CT:颅内无明显脑出血。急诊行脑血管造影显示:Ⅱ型主动脉弓,左侧大脑中动脉及左侧大脑前动脉未见明显异常,前交通开放,代偿供应对侧大脑前动脉;右侧颈内动脉窦部 CW 形成(图 1),右侧大脑中动脉 M1 段闭塞,基底动脉及双侧大脑后动脉未见明显异常,右侧大脑后动脉经软脑膜支部分代偿右侧前循环部分血供,静脉系统显影未见异常。患者右侧大脑中 M1 段完全闭塞,考虑栓塞可能,予以 ACE60 抽吸导管(Penumbra 公司,美国)行抽吸取栓治疗,一次抽吸后右侧大脑完全再通,mTICI 分级 3 级。次日复查头颅 CT 可见右侧额颞岛叶,右侧基底节区脑梗死。术后 NHISS 评分 1 分,患者恢复良好,于 2021 年 2 月 25 日出院,给予双联抗血小板治疗,建议 1 个月后进行颈动脉支架或内膜剥脱术。



A. 动脉造影早期;B. 动脉造影晚期,右侧颈内动脉近端壁可见线状充盈缺损(箭头所示);C. 静脉期造影剂滞留明显。

图 1 右侧颈总动脉造影,显示 CW 存在(黑色箭头所示)

2 结果

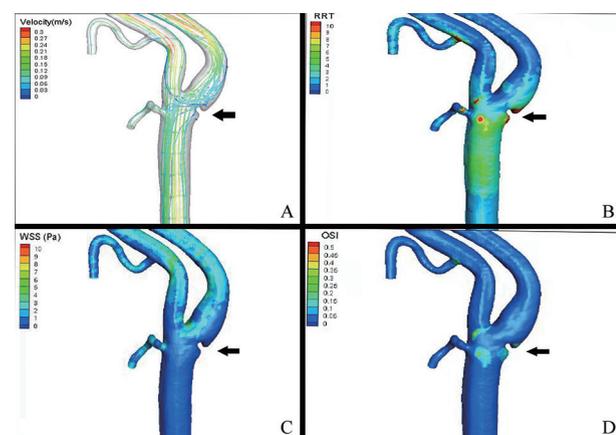
患者为急性颅内大血管闭塞,其既往无心房纤颤、高血压及糖尿病等卒中高危风险因素,急诊脑血管造影提示右侧颈内动脉窦部 CW 形成,右侧大脑中动脉闭塞,病因考虑为右侧 CW 所致血栓导致的动脉-动脉栓塞。

我们通过流体力学(computational fluid dynamics, CFD)计算软件(AneuFlow, V1.0.0 版本,杭州脉流科技有限公司)进行分析,显示 CW 所处位置存在二次流漩涡,低壁面剪切力(wall shear stress, WSS)、低剪切力震荡因子(oscillatory shear index, OSI)、高相对滞留时间(relative residence time, RRT)可能是刺激血栓形成的因素,从而增加急性缺血性脑卒中的风险,应尽早通过手术干预。

3 讨论

CW 是一个被低估的隐源性脑卒中危险因素^[6]。先前多数学者认为 CTA 是一种非侵入性检查手段^[3,5,7-8],但是检查的金标准依旧是 DSA^[5,9],DSA 具有较高的空间分辨率和时间分辨率,可准确识别造影剂在病变位置的湍流或充盈缺损。另外,磁共振血管成像(magnetic resonance angiography, MRA)检查对鉴别诊断 CW 有一定的帮助,MRA 检查可以提供血管壁组成以及 CW 周围血流等相关的信息^[5],虽然我国有学者认为超声在 CW 的形态和血流动力学的危险分层方面具备很大的潜力^[10],但国外大多数学者认为超声在诊断 CW 效果较差^[5,8]。国内外学者也在不断探讨其他影像学检查,作为腔内影像学的重要组成部分血管内超声(intravenous ultrasound, IVUS)在 CW 诊断中价值有限,而光学相干断层成像(optical coherence tomography, OCT)因其高分辨率,可能成为代替 CTA 和 DSA 检查,作为诊断 CW 有效的检查手段^[11]。

然而尽管上述检查可能增加 CW 的检出率,但 CW 导致血栓形成的具体机制并不明确。我们通过 CFD 软件对本例患者的 CW 进行分析并描述,发现 CW 存在较低流速的二次流漩涡,同样可以发现 CW 所处位置的 WSS,剪切力在一个心动周期方向的变化,OSI 较低以及血流在血管壁上的 RRT 较高(图 2)可能是导致血栓形成的因素,因此,CW 所致具体血流动力学紊乱可能是导致 CW 栓塞形成的重要机制。



A. 血流速度流线;B. RRT;C. WSS;D. OSI(震荡剪切指数)。箭头所示 CW 位置,A、B 图 CFD 计算数值显示 CW 所处位置存在较低流速的二次流漩涡,C、D 图 CFD 计算数值显示 WSS 及 OSI 值均较低。

图 2 对 CW(黑色箭头所示)进行计算 CFD 分析

目前关于 CW 的治疗尚缺乏统一标准。有文献指出,对有症状的 CW 患者使用抗血小板药物干预治疗,有超过半数出现卒中复发,因此对有症状的

CW 患者进行血管重建术可以有效地预防卒中的复发^[12],目前国内外文献中报道最多的血管重建术治疗方案是颈动脉内膜剥脱术,但颈动脉内膜剥脱术因其具有较高的手术风险,需要较高的手术技术以及术中、术后并发症的发生率相对较高,不易被患者所接受。但是根据 Elmokadam 等^[9]治疗 CW 的介入经验以及 Haussen 等^[13]多中心介入治疗症状性 CW 的经验,颈动脉支架置入术是一种可能代替内膜剥脱术并被患者所接受,使患者获益的治疗方式。

【参考文献】

[1] MOMOSE KJ, NEW PF. Non-atheromatous stenosis and occlusion of the internal carotid artery and its main branches[J]. Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med,1973,118(3):550-566.

[2] CHOI PMC, SINGH D, TRIVEDI A, et al. Carotid webs and recurrent ischemic strokes in the era of ct angiography[J]. American Journal of Neuroradiology,2015,36(11):2134-2139.

[3] ANTIGÜEDAD-MUÑOZ J, DE LA RIVA P, ARENAZA CHOPERA G, et al. Internal carotid artery web as the cause of recurrent cryptogenic ischemic stroke[J]. Journal of Stroke and Cerebrovascular Diseases,2018,27(5):e86-e87.

[4] COUTINHO JM, DERKATCH S, POTVIN A RJ, et al. Carotid artery web and ischemic stroke[J]. Neurology,2016,88(1):65-69.

[5] PACEI F, QUILICI L, MULLIN S, et al. Web of the carotid artery;

an under-recognized cause of ischemic stroke[J]. Journal of Clinical Neuroscience,2018,50:122-123.

[6] COMPAGNE K, VAN ES A, BERKHEMER OA, et al. Prevalence of carotid web in patients with acute intracranial stroke due to intracranial large vessel occlusion[J]. Radiology,2018,286(3):1000-1007.

[7] SAJEDI PI, GONZALEZ JN, CRONIN CA, et al. Carotid bulb webs as a cause of “cryptogenic” ischemic stroke[J]. American Journal of Neuroradiology,2017,38(7):1399-1404.

[8] MADAELIL TP, GROSSBERG JA, NOGUEIRA RG, et al. Multimodality imaging in carotid web[J]. Frontiers in Neurology,2019,10.

[9] ELMOKADEM AH, ANSARI SA, SANGHA R, et al. Neurointerventional management of carotid webs associated with recurrent and acute cerebral ischemic syndromes[J]. Interventional Neuroradiology,2016,22(4):432-437.

[10] LUO X, LI Z. Ultrasonic risk stratification of carotid web[J]. Echocardiography,2019,36(11):2103-2107.

[11] HASSANI S, NOGUEIRA RG, AL-BAYATI AR, et al. Intravascular ultrasound in carotid web[J]. Journal of NeuroInterventional Surgery,2019:2019-15387.

[12] ZHANG AJ, DHRUV P, CHOI P, et al. A Systematic literature review of patients with carotid web and acute ischemic stroke[J]. Stroke,2018,49(12):2872-2876.

[13] HAUSSEN DC, GROSSBERG JA, KOCH S, et al. Multicenter experience with stenting for symptomatic carotid web[J]. Interventional Neurology,2018,7(6):413-418.

(上接第 189 页)

【参考文献】

[1] 刘纯. 医经小学[M]. 北京:中国中医药出版社,2015:17.

[2] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典[M]. 北京:中国医药出版社,2015:4.

[3] 裘吉生. 珍本医书集成(第三册)[M]. 北京:北京中医药出版社,1998:523.

[4] 胡方媛,李梦雯,范欣生,等. 基于网络重叠社团发现的十九畏丁香-郁金同方配伍分析[J]. 中华中医药杂志,2019,34(1):316-319.

[5] 游琴,钟赣生. 近 30 年“十九畏”实验研究分析及展望[J]. 科技导报,2008(7):84-92.

[6] PAROLA M, PINZANI M. Liver fibrosis: pathophysiology, pathogenetic targets and clinical issues[J]. Molecular Aspects of Medicine,2019,65(1):37-55.

[7] HERNANDEZ-GEA V, FRIEDMAN SL. Pathogenesis of liver fi-

brosis[J]. Annual Review of Pathology,2011,6(1):425-456.

[8] 张技,蒋森,李白雪. 桂郁金对肝星状细胞 TGF-β1/Smad 信号通路的影响[J]. 中药与临床,2017,8(4):27-29.

[9] 李博雯,王莹,祖禄,等. 郁金及其 3 种功效成分对朱砂致大鼠肝毒性的保护作用[J]. 毒理学杂志,2020,34(4):311-314.

[10] 吴薇. 郁金散调控 MAPK 和 PI3K/Akt 信号通路改善肝纤维化的机制研究[D]. 延吉:延边大学,2019.

[11] 艾丁丁,罗伟生,蒋云霞. 动物肝纤维化模型建立研究进展[J]. 陕西医学杂志,2020,49(7):907-909.

[12] 蔡欣池,崔万丽. 肝纤维化发生机制的研究进展[J]. 吉林医药学院学报,2021,42(2):141-143.

[13] 付洪彦,龚作炯. 肝纤维化的发生机制及其诊疗研究进展[J]. 中西医结合肝病杂志,2018,28(2):125-128.

[14] LUCKEY SW, PETERSEN DR. Activation of Kupffer cells during the course of carbon tetrachloride-induced liver injury and fibrosis in rats[J]. Exp Mol Pathol,2001,71(3):226-240.

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。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