

- ◉ 《中国期刊网》全文收录
- ◉ 《首席医学网》全文收录
- ◉ 《中国学术期刊(光盘版)》全文收录
- ◉ 《万方数据-数字化期刊群》全文收录
- ◉ 《中文生物医学期刊文献数据库—CMCC》全文收录
- ◉ 《超星期刊域出版平台》收录期刊
- ◉ “中国学术期刊综合评价数据库”统计源期刊

(1987年创刊)  
双月刊  
ISSN 2095-4646  
CN 42-1839/R

# 湖北科技学院学报

JOURNAL OF HUBEI UNIVERSITY OF SCIENCE AND TECHNOLOGY

第38卷 第4期  
2024.08

医学版  
MEDICAL SCIENCES



中国·咸宁



## 湖 科 学 人

**李月生**，1979年出生于湖北鄂州，中共党员，武汉大学物理化学专业理学博士学位，教授，博士生导师（兼）。湖北省、黑龙江省科技厅科技专家库评审专家，湖北省高新技术企业认定评审专家，“咸宁市高层次人才”，咸宁市科技专家库评审专家，咸宁市安全生产领域评估专家。学校首批“百人计划”入选者和学校首届“校长奖”唯一获得者，现为核技术与化学生物学院副院长。

主要从事功能性水凝胶与先进催化材料等方向研究。作为“湖北省高校优秀中青年科技创新团队”“湖北科技学院优秀科研创新团队”“湖北科技学院高质量应用研发团队”“湖北科技学院核技术研发团队”等团队的负责人，先后主持和参与973、863、国家自然科学基金等项目6项，省厅级项目8项，校级项目9项，指导国家级大学生创新创业项目2项；申请国家专利26项，2项国家专利技术成果实现转化，1项国家标准获批；近5年，组织国内外大型会议8次，受邀做大会报告30余次；获批省级成果登记14项，省级科技奖励20余项，其中，2018年湖北省高校教学成果奖二等奖（排3）、2019年获湖北省科技进步奖三等奖和2020年获咸宁市十大高质量发展贡献突出技术奖。

先后发表论文100余篇，其中在Appl. Catal. B、Appl. Surf. Sci、JPPB、JOC等国际权威学术期刊发表SCI论文50余篇，单篇论文最高影响因子IF=24.253。部分研究成果被本领域内Chemical Review等国际著名学术期刊多次引用并给予高度评价。

现为国际科学组织协会会士（Vebleo Fellow），中国核学会辐射研究与应用分会副理事长，湖北省军民融合复合材料产业联盟理事，湖北省化学化工学会青年委员会委员，湖北省化学化工学会物理化学专业委员会委员。担任《辐射研究与辐射工艺学报》第七届编委及其专栏主编，《化学与生物工程》编委，Gels、Polymers等期刊专栏客座编辑以及20多个国际期刊特邀审稿人。曾多次荣获湖北科技学院“十佳科研骨干”“十佳科研之星”“十佳青年教师”“优秀教师”“先进工作者”“优秀党员”等荣誉称号。





湖北科技学院学报(医学版)2024年8月第38卷第4期(总第190期)

# 目次

## 药学研究

- 白及多糖对脂多糖诱导的小鼠急性肝损伤的作用及其机制研究 ... 葛婷婷, 闵清, 白育庭, 等(277)
- 姜黄素改善糖尿病小鼠脑部 A $\beta$  沉积机制研究 ..... 张雨晴, 何昂, 郭西英, 等(282)
- 阿苯达唑对人食管鳞癌细胞 KYSE-150 的抑制作用 ..... 蔡敬, 贾爱亭, 宁志丰, 等(287)
- 双吗啉取代吡啶锌和铜配合物的合成、表征及抗癌活性初步研究 .....  
..... 汪清清, 潘耀, 王小波, 等(292)
- 蕲艾精油纳米乳的制备及伪三元相图的绘制 ..... 卢博成, 程丽媛, 丁洁琼, 等(297)

## 基础医学研究

- 基于 PBNPs-Ag 纳米粒子的 ROS 清除和抗菌协同作用促进伤口愈合行为研究 .....  
..... 唐冬旭, 刘坤, 李月生, 等(301)
- 基于碳点印迹聚合物的荧光传感器对磺胺甲恶唑的超灵敏检测 ... 支悦, 陈涛, 陈林枫, 等(306)
- 大鼠脱细胞肝支架的制备研究 ..... 陈宁, 郭安然, 李玲, 等(313)

## 临床医学研究

- 经输尿管导管逆行超声造影引导下经皮肾镜手术对复杂性肾结石患者结石清除率及肾功能的影响  
..... 王颺, 余志娟(319)
- 血清 FABP4、AFP、MCP-1 水平在胃腺癌患者中变化及其临床意义 ..... 屈世兴(323)



- 护肝布祖热颗粒治疗药物性肝损伤的疗效观察 ..... 陈晓明,曹文韬,樊学文,等(328)
- 超分子水杨酸联合强脉冲光对中重度痤疮的治疗作用研究 ..... 黄青丽,顾丽丽,李正时,等(332)
- 能谱 CT 静脉期多定量参数对于实性肺结节良、恶性诊断的价值 ..... 赵睿依,赵志伟(335)
- 医共体临床药学同质化服务研究 ..... 房树华,曹定雯,徐碧云,等(340)

## 护理学研究

- 快速反应团队模式在急性缺血性脑卒中患者救治中的应用效果 ..... 吴 慧,谢 莉,金 琳(344)
- 精细化护理在纤维支气管镜肺泡灌洗治疗儿童大叶性肺炎中的应用 ..... 黎 美(348)
- 中医饮食调理对肺癌患者营养状况的影响 ..... 董春华,何 婷(351)
- 湖北省三甲医院老年病房护士关怀行为现状及影响因素分析 ..... 王 芳,林云英,唐春花(355)

## 综 述

- 菝葜的化学成分及药用价值研究进展 ..... 高满军,陈 迷,张丹丹,等(360)
- 沉默信息调节因子 1 在治疗心力衰竭中的作用研究进展 ..... 李素云,阳 绅,姚志勇,等(364)

责任编辑 丁 磊 陈拥彬  
 英文审校 汪 雯 蔡 飞  
 欧阳昌汉 莫启贵  
 统计学审稿 范 杉



## CONTENTS OF MAIN ARTICLES

- Effect of the *Bletilla Striata* Polysaccharide on Lipopolysaccharide-Induced Acute Liver Injury in Mice and its Mechanisms** ..... *GE Ting-ting, MIN Qing, BAI Yu-ting, et al*(277)
- Curcumin Improved A $\beta$  Deposition in the Brain of Diabetic Mice Through PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$  Pathway** ..... *ZHANG Yu-qing, HE Ang, GUO Xi-ying, et al*(282)
- Inhibitory Effect of Albendazole on Human Esophageal Squamous Cell Carcinoma Cells KYSE-150**  
..... *CAI Jing, JAI Ai-ting, NING Zhi-feng, et al*(287)
- Preliminary Studies of Synthesis, Characterization and Anticancer Activity of Zinc and Copper Complexes Based on Bis-Morpholine Substituted Pyridine** .....  
..... *WANG Qing-qing, PAN Yao, WANG Xiao-bo, et al*(292)
- Preparation and Pseudo Ternary Phase Diagram Plotting Method of Nanoemulsion Containing Artemisia Argyi Essential Oil** ..... *LU Bo-cheng, CHENG Li-yuan, DING Jie-qiong, et al*(297)
- Study on the ROS Scavenging and Antibacterial Synergistic Effect of PBNPs-Ag Nanoparticles for Wound Healing** ..... *TANG Dong-xu, LIU Kun, LI Yue-sheng, et al*(301)
- Ultrasensitive Detection of Sulfamethoxazole by a Fluorescent Sensor Based on Carbon Dots Imprinted Polymers** ..... *ZHI Yue, CHEN Tao, CHEN Lin-feng, et al*(306)
- Preparation of Rat Decellularized Liver Scaffolds** ..... *CHEN Ning, GUO An-ran, LI Ling, et al*(313)
- Influence of Percutaneous Nephrolithotomy Guided by Retrograde Contrast-Enhanced Ultrasound via Ureteral Catheter on Stone Clearance Rate and Renal Function in Patients with Complex Renal Calculi** ..... *WANG Biao, YU Zhi-juan*(319)



**Changes and Clinical Significance of Serum FABP4, AFP and MCP-1 Levels in Patients with Gastric Adenocarcinoma** ..... *QU Shi-xing*(323)

**Observation on the Therapeutic Effect of Huga Buzure Granules in the Treatment of Drug-Induced Liver Injury** ..... *CHEN Xiao-ming, CAO Wen-tao, FAN Xue-wen, et al*(328)

**Treatment Effect of Supramolecular Salicylic Acid Combined with Intense Pulse Light on Moderate to Severe Acne** ..... *HUANG Qing-li, GU Li-li, LI Zheng-shi, et al*(332)

**Value of Multi-Quantitative Parameters in Venous Phase of Energy Spectrum CT in Diagnosis of Benign and Malignant Solid Pulmonary Nodules** ..... *ZHAO Rui-yi, ZHAO Zhi-wei*(335)

**Research on the Homogeneous Service of Clinical Pharmacy in the Medical Community** .....  
..... *FANG Shu-hua, CAO Ding-wen, XU Bi-yun, et al*(340)

**Application Effect of the Rapid Response Team Model Based on the Best Evidence Summary in the Treatment of Patients with Acute Ischemic Stroke** ..... *WU Hui, XIE Li, JIN Lin*(344)

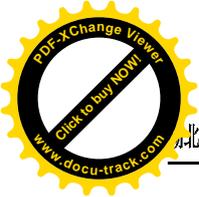
**Application of Refined Nursing Care in the Treatment of Lobar Pneumonia in Children with Fiberoptic Bronchoscopic Alveolar Lavage** ..... *LI Mei*(348)

**Effects of Traditional Chinese Medicine Dietary on the Nutritional Status of Lung Cancer Patients** ...  
..... *DONG Chun-hua, HE Ting*(351)

**Current Situation and Influencing Factors of Nursing Care Behavior in Geriatric Ward of Level A Tertiary Hospitals in Hubei Province** ..... *WANG Fang, LIN Yun-ying, TANG Chun-hua*(355)

**Research Progress in Chemical Constituents and Medicinal Value of *Smilax China* L.** .....  
..... *GAO Man-jun, CHEN Mi, ZHANG Dan-dan, et al*(360)

**Research Progress on the Effect and Mechanism of SIRT1 in the Treatment of Heart Failure** .....  
..... *LI Su-yun, YANG Shen, YAO Zhi-yong, et al*(364)



# 白及多糖对脂多糖诱导的小鼠急性肝损伤的作用及其机制研究

葛婷婷<sup>1</sup>, 陈 祺<sup>1</sup>, 王洁琼<sup>1</sup>, 杨洪飞<sup>1</sup>, 卢雨菲<sup>1</sup>, 孟丽媛<sup>1</sup>, 要 辉<sup>1</sup>, 闵 清<sup>1,3\*</sup>, 白育庭<sup>2\*</sup>

(1. 湖北科技学院医学部药学院, 湖北 咸宁 437100; 2. 湖北科技学院医学部临床医学院;  
3. 鄂南特色中药湖北省工程研究中心)

**摘要:**目的 研究白及多糖(BSP)对脂多糖(LPS)诱导小鼠急性肝损伤的作用与机制。方法 将60只昆明雄性小鼠随机分为空白组(Control组)、模型组(LPS 1mg/kg, Model组)、阳性对照组(2mg/kg 联苯双酯滴丸, BDP组)、BSP低、中、高剂量给药组(BSP 100、200、400mg/kg组), Control组和Model组给予生理盐水,其余4组按相应药物剂量,1次/d,连续灌胃7d,最后一次给药2h后,除Control组给予等体积生理盐水,其余5组腹腔注射LPS(1mg/kg)建立急性肝损伤模型,12h后取材,计算肝脏指数,测定血浆中AST、ALT、MDA、SOD、GSH-Px、CAT含量。光镜下观察HE染色后各组小鼠肝脏的组织变化,Western blot法检测各组小鼠肝组织中TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B和TNF- $\alpha$ /IL-1 $\beta$ /IL-6蛋白表达水平。结果 与Control组相比,Model组肝脏指数明显上升( $P < 0.01$ ),血浆中AST、ALT、MDA含量升高( $P < 0.01$ ),SOD、GSH-Px、CAT含量显著下降( $P < 0.01$ ),光镜下可见Model组肝小叶结构不清,伴有大量炎症细胞浸润;与Model组相比,BSP干预后降低了肝脏指数,增加了SOD、GSH-Px、CAT含量( $P < 0.01$ ),显著降低血浆中AST、ALT、MDA含量( $P < 0.01$ ),TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B和TNF- $\alpha$ /IL-1 $\beta$ /IL-6蛋白表达显著性下调( $P < 0.05$ )。结论 BSP对LPS诱导的小鼠急性肝损伤具有保护作用,其机制可能与抗氧化及抑制TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B信号通路蛋白和减少TNF- $\alpha$ /IL-1 $\beta$ /IL-6等炎症因子的表达有关。

**关键词:**白及多糖;脂多糖;急性肝损伤

中图分类号:R-332

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2024)04-0277-005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0277



## Effect of the *Bletilla Striata* Polysaccharide on Lipopolysaccharide-Induced Acute Liver Injury in Mice and its Mechanisms

GE Ting-ting, MIN Qing, BAI Yu-ting, et al

(School of Pharmacy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

**ABSTRACT: Objective** To study the effect and mechanism of *Bletilla striata* polysaccharide (BSP) on lipopolysaccharide (LPS)-induced acute liver injury in mice. **Methods** Sixty Kunming male mice were randomly divided into control group, model group (LPS 1mg/kg, Model group), positive control group (2mg/kg Bifenodate Pills, BDP group), low, medium and high dose BSP administration groups (BSP 100, 200, 400mg/kg group). The control group and the model group were given normal saline, and the other four groups were given the corresponding drug dose once a day for 7 days. Two hours after the last administration, except for the control group, the other five groups were intraperitoneally injected with LPS (1mg/kg) to establish the model of acute liver injury. Twelve hours after the modeling, liver and plasma were corrected. Subsequently, the liver index was calculated, and the contents of AST, ALT, MDA, SOD, GSH-Px, and CAT in plasma were measured. The expression levels of TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B and TNF- $\alpha$ /IL-1 $\beta$ /IL-6 proteins in the liver tissue of mice in each group were detected by Western blotting. **Results** Compared with the control group, the liver index of the model group was significantly increased ( $P < 0.01$ ), the contents of AST, ALT and MDA in plasma were increased ( $P < 0.01$ ), and the contents of SOD, GSH-Px and CAT were significantly decreased ( $P < 0.01$ ). The structure of liver lobule was not clear in the model group accompanied by a large number of inflammatory cell infiltration. Compared with the model group, BSP intervention significantly reduced the liver index, increased the contents of SOD, GSH-Px and CAT ( $P < 0.01$ ), and significantly decreased the contents of AST, ALT and MDA in plasma ( $P < 0.01$ ). The protein expressions of TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B and TNF- $\alpha$ /IL-1 $\beta$ /IL-6 were significantly down-regulated ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** BSP has a protective effect on LPS-induced acute liver injury in mice, and its mechanisms may be related to antioxidant and inhibition of TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B signa-

\* 通讯作者, E-mail: 2669661413@qq.com; haimin0628@163.com



ling pathway proteins and reduction of the expression of inflammatory factors such as TNF- $\alpha$ /IL-1 $\beta$ /IL-6.

**KEY WORDS:** *Bletilla striata* Polysaccharide; Lipopolysaccharide; Acute Liver Injury

白及又称白芨、连及草、甘根、冻疮药,是兰科植物白芨 [*Bletilla striata* (Thunb.) Reichb. f.] 的干燥块茎,生长于山谷、山野等较潮湿的地方,分布较广泛,于中国多个省市均有种植<sup>[1]</sup>。白及多糖(*Bletilla striata* polysaccharide, BSP)是白及的主要活性成分,因其有着显著的免疫调节、抗氧化、抗癌、止血、抗炎、抗菌、护胃、保肝等功效而备受关注<sup>[2-3]</sup>。肝脏在体内维持许多重要功能,包括解毒、代谢、蛋白质合成、宿主防御和免疫反应<sup>[4]</sup>。研究显示脂多糖(LPS)与相应的蛋白结合进入肝脏后与Toll样受体4(TLR4)连接,刺激TLR4介导的MyD88依赖性通路<sup>[5]</sup>,从而激活NF- $\kappa$ B通路,诱导脂质过氧化、产生促炎细胞因子,如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF $\alpha$ )、白细胞介素6(IL-6)和白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )<sup>[6]</sup>。贺国芳等<sup>[7]</sup>发现白及多糖对小鼠急性酒精性肝损伤有一定保护作用,能够明显降低肝组织中丙氨酸氨基转移酶(ALT)活性,提高肝组织中超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽(GSH)水平,对肝细胞肿胀、变性均有一定改善作用。Luo等<sup>[8]</sup>研究白及多糖对硫代乙酰胺诱导的肝硬化大鼠上皮屏障破坏的影响,发现白及多糖能够降低内毒素水平,抑制炎症细胞因子IL-6和TNF- $\alpha$ 。还有研究显示白及多糖可通过减少肝脏组织中的脂质积累和纤维化来治疗非酒精性脂肪肝<sup>[9]</sup>。为更好地开发利用白及多糖,在本研究中探讨了白及多糖对LPS诱导的急性肝损伤的保护作用及机制,以期对白及的开发利用提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试剂与仪器

60只健康雄性昆明系小鼠,体重(18 $\pm$ 2)g,购于辽宁长生生物技术股份有限公司,动物许可证号:SCXK(辽)2020-0001。

BSP(陕西泽朗生物科技有限公司,批号ZLSW221117-1,纯度 $\geq$ 98%);联苯双酯滴丸(BDP,万邦德制药集团有限公司,批号19J211148);LPS(Solarbio公司,批号325D031);ALT、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙二醛(MDA)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)、SOD、过氧化氢酶(CAT)试剂盒(南京建成生物工程研究所);TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、 $\beta$ -

actin、HRP-标记羊抗兔IgG抗体(武汉爱博泰克生物科技有限公司)。

SPARK型酶标仪(瑞士TECAN公司);电泳仪、转印槽、免疫印迹工作站(美国BIO-RAD公司);HI1210摊片机、HI1220烤片机、HistoCore组织脱水机、HistoCore Arcadia C石蜡包埋机、HistoCore AUTOCUT切片机、DM2000正置光学显微镜(Leica公司);低温高速离心机TGL-20M(湖南湘仪离心机仪器有限公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 分组及给药

将60只雄性昆明小鼠饲养在标准动物房内[温度22 $^{\circ}$ C~25 $^{\circ}$ C,湿度(50 $\pm$ 5)%],适应性喂养7d后,随机分为6组,每组10只,分别为:空白组(Control组)、模型组(LPS 1mg/kg, Model组)、阳性对照组(2mg/kg, BDP组)、低剂量给药组(BSP 100mg/kg组)、中剂量给药组(BSP 200mg/kg组)、高剂量给药组(BSP 400mg/kg组),除Control、Model组外,其他4组按照相应的药物剂量,1次/d,连续7d灌胃给药,末次给药2h后,采用腹腔注射LPS(1mg/kg)建立急性肝损伤模型,Control组给予等体积生理盐水,禁食,期间自由饮水,在LPS给药12h后眼球取血,处死小鼠取肝组织。

#### 1.2.2 HE染色

将小鼠肝组织浸泡于10%中性甲醛溶液中,固定保存24h,脱水透明、石蜡包埋切片后,用HE染色,树脂封片,在光学显微镜下进行观察。

#### 1.2.3 血浆生化指标的测定

将收集的血液离心分离血清(4 $^{\circ}$ C, 4000r/min, 10min)取上清液,依据试剂盒说明书测定ALT、AST、SOD、MDA、GSH-Px、CAT水平。

#### 1.2.4 蛋白免疫印迹法(Western blot)检测蛋白表达情况

将肝脏组织剪碎称取30mg,加入裂解液后离心,提取上清液,采用BCA法测定其浓度,95 $^{\circ}$ C高温变性,再加至10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)胶加样孔内进行恒压电泳;在220mA恒定电流转膜70min,将蛋白转至PVDF膜,使用脱脂牛奶在摇床上封闭60min后用TBST洗膜,取膜加入TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、内参 $\beta$ -actin与一抗稀释液(稀释度分别为1:1000、1:1000、1:1000、1:1000、1:1000、

1:1000、1:5000),4℃孵育过夜;次日以TBST洗膜3次后,加入HRP-标记羊抗兔IgG抗体(稀释度为1:10000),使用摇床在室温下孵育60min;TBST洗膜3次后采用ECL显影定影成像。使用Image Lab软件对图像进行灰度值分析,以目的蛋白/内参蛋白灰度值之间的比值表示相对表达量的变化,从而间接反映蛋白的表达量。

### 1.3 统计学方法

数据均采用( $\bar{x} \pm s$ )表示,正态性检验,采用Graphpad prism 8.0软件分析,one-way ANOVA方差分析,并设定 $P < 0.05$ 表明差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组小鼠体重和肝指数水平变化

从体重变化的结果来看,每组小鼠的平均体重都呈现出增长的趋势,表明小鼠在给药期间整体健康状况良好,没有明显的体重下降或生长受阻的情况;同时,观察到各组小鼠的被毛光泽程度正常,表明小鼠在摄食和营养吸收方面均正常;此外,各组小鼠的行为方式和活动情况也没有显著差别,说明药物没有对小鼠的日常行为活动产生负面影响。与Control组相比,Model组肝指数显著性升高( $P < 0.01$ ),提示肝脏可能存在肿大;与Model组相比,BDP组和BSP 200、400mg/kg组肝指数显著性降低( $P < 0.01$ )。见表1。

表1 BSP干预后对小鼠体重及肝指数的影响( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	给药前体重/g	给药结束体重/g	肝指数/%
Control	18.43 ± 0.38	21.89 ± 1.01	4.24 ± 0.53
Model	18.43 ± 0.26	21.53 ± 0.61	5.59 ± 0.41**
BDP	18.48 ± 0.49	22.22 ± 0.8	4.76 ± 0.43##
BSP 100mg/kg	18.22 ± 0.17	21.67 ± 1.15	5.25 ± 0.46
BSP 200mg/kg	18.41 ± 0.25	22.17 ± 0.89	4.96 ± 0.44##
BSP 400mg/kg	18.41 ± 0.34	23.10 ± 1.37	4.64 ± 0.42##

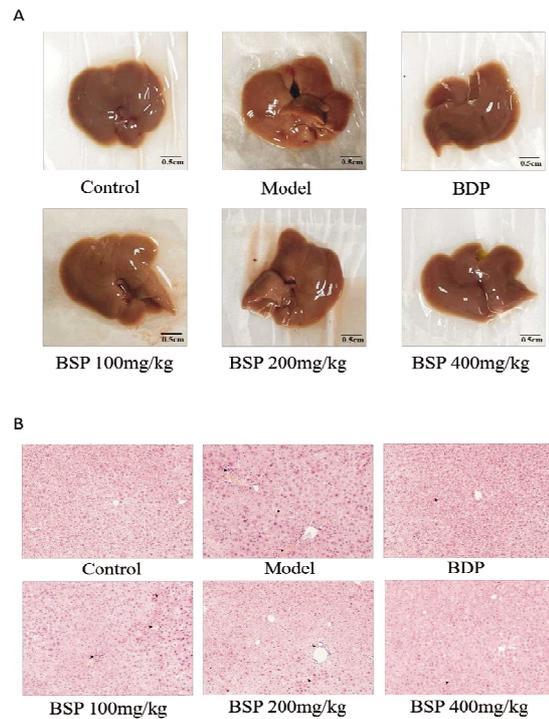
与Control组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与Model组比较,## $P < 0.01$ 。

### 2.2 小鼠肝组织外观形态学变化及肝脏组织的病理变化

Control组肝脏外观呈红褐色,表面光滑、质软,形态大小正常;Model组可以看出肝脏伴有点状出血,呈现不同程度的变黄,表面及边缘均有破损;BDP和各BSP给药组肝脏外观表面较为光滑,破损减轻,偶见出血点及异常变化。见图1A。

如图1B所示,Control组的肝小叶结构正常,细胞排列整齐有序,结构清晰,中央静脉附近未见炎性细胞浸润,无细胞坏死、变性等病理变化。

Model组肝组织伴有显著的病理变化,包括肝小叶结构不清、肝细胞排列失序、大量炎症细胞浸润、明显的空泡化。相反,与Model组比较,BDP和BSP给药组肝组织病理变化均有明显改善,巨噬细胞的浸润减少,病理改变减轻,BSP 400mg/kg组改善尤为明显,肝小叶结构较为完整,细胞空泡变性明显减少。



A. 小鼠肝组织外观形态学变化;B. 肝脏组织的病理变化(100×);▲:淋巴细胞、巨噬细胞聚集。

图1 小鼠肝组织外观形态学变化及肝脏组织的病理变化

### 2.3 BSP对LPS致急性肝损伤小鼠血浆中ALT、AST的影响

如表2所示,与Control组比较,Model组ALT和AST含量明显升高( $P < 0.01$ ),表明LPS诱导小鼠出现明显肝损伤;与Model组相比,BDP组及BSP各剂量给药组可显著降低LPS引起的血浆AST和ALT活性升高( $P < 0.01$ )。

表2 各组小鼠ALT、AST的含量( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	ALT/(U/mL)	AST/(U/mL)
Control	23.97 ± 6.58	29.67 ± 3.22
Model	90.55 ± 8.02**	130.00 ± 15.18**
BDP	41.59 ± 5.58##	59.65 ± 6.75##
BSP 100mg/kg	78.68 ± 4.16##	105.20 ± 4.23##
BSP 200mg/kg	66.97 ± 2.99##	81.92 ± 4.48##
BSP 400mg/kg	48.76 ± 3.61##	62.24 ± 4.31##

与Control组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与Model组比较,## $P < 0.01$ 。

## 2.4 BSP对LPS致急性肝损伤小鼠血浆中SOD、MDA、GSH-PX、CAT的影响

与Control组比较,Model组中MDA水平显著性升高,SOD、GSH-PX、CAT水平显著降低( $P < 0.01$ );与Model组相比,BDP组与BSP各给药组中MDA水平显著降低,CAT显著性升高( $P < 0.01$ ),BDP组与BSP 200mg/kg、400mg/kg组中SOD、GSH-PX水平显著性升高( $P < 0.01$ ),且具有统计学意义。见表3。

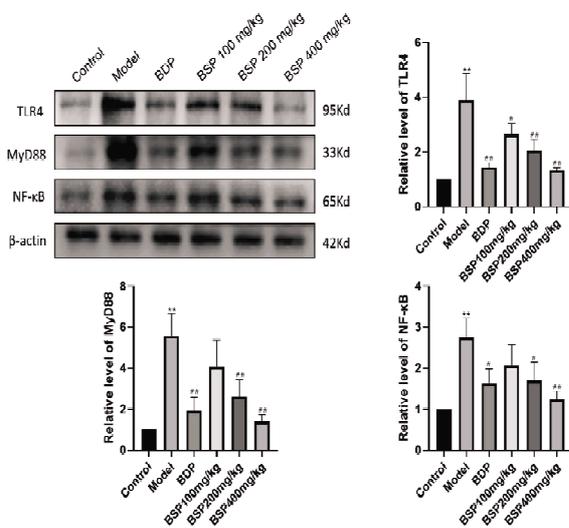
表3 各组小鼠SOD、MDA、GSH-PX、CAT的含量( $\bar{x} \pm s, n=10$ )

组别	SOD/(U/mL)	MDA/(nmol/L)	GSH-PX/(U/L)	CAT/(U/mL)
Control	111.70±4.48	3.67±0.55	110.40±12.59	104.90±4.82
Model	63.56±10.40**	8.83±0.55**	40.44±9.64**	37.60±6.91**
BDP	106.30±7.62###	4.59±0.52###	90.93±7.13###	101.80±8.59###
BSP 100mg/kg	71.35±11.01	7.84±0.48##	53.34±9.48	56.87±7.29##
BSP 200mg/kg	80.16±11.03###	6.22±0.44##	64.51±16.53###	78.38±7.67##
BSP 400mg/kg	90.90±11.97###	4.92±0.24##	78.42±13.79##	92.09±3.67##

与Control组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与Model组比较,## $P < 0.01$ 。

## 2.5 BSP对TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B信号通路蛋白表达的影响

由图2可知,与Control组相比,Model组中TLR4、MyD88、NF- $\kappa$ B的蛋白表达量显著升高( $P < 0.01$ );与Model组比较,在BSP 100mg/kg组中TLR4蛋白表达降低( $P < 0.05$ ),BSP 200mg/kg组NF- $\kappa$ B蛋白表达降低( $P < 0.05$ ),TLR4、MyD88蛋白表达显著降低( $P < 0.01$ ),BDP组和BSP 400mg/kg组中3种蛋白表达量均显著降低( $P < 0.01$ )。

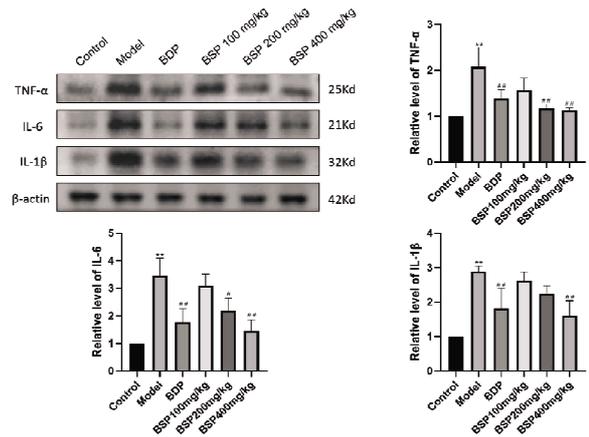


与Control组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与Model组比较,## $P < 0.05$ ,### $P < 0.01$ 。

图2 BSP干预对相关通路蛋白水平的影响( $n=3$ )

## 2.6 BSP对TNF- $\alpha$ /IL-6/IL-1 $\beta$ 炎症相关蛋白表达的影响

由图3可知,与Control组相比,Model组中TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$ 的蛋白表达量显著升高( $P < 0.01$ );与Model组相比,BSP 200mg/kg组中IL-6蛋白表达降低( $P < 0.05$ )、TNF- $\alpha$ 蛋白表达显著降低( $P < 0.01$ ),BDP组和BSP 400mg/kg组中3种蛋白表达量显著降低( $P < 0.01$ )。



与Control组比较,\*\* $P < 0.01$ ;与Model组比较,## $P < 0.05$ ,### $P < 0.01$ 。

图3 BSP干预对炎症相关蛋白水平的影响( $n=3$ )

## 3 讨论

肝脏是机体重要的代谢器官<sup>[10-11]</sup>,炎症是导致肝脏损伤的常见原因之一,由多种致病因素引起,如病毒、药物、酒精、自身免疫性因素等。LPS是免疫系统的有效刺激物,随着LPS浓度越高,增加了机体内炎症介质的表达,诱导体内器官产生炎症损伤<sup>[12]</sup>。TLR4是LPS的主要信号受体,与肝功能损伤的发病机制和治疗密切相关<sup>[13]</sup>,MyD88是TLR4与LPS相互作用的关键下游信号蛋白,在LPS的作用下,NF- $\kappa$ B通过TLR4-MyD88信号传导途径被激活<sup>[14-15]</sup>,最终导致炎症反应激活和炎症因子的释放。同时,几乎所有肝病都伴随着不同程度的氧化应激,所以有效抑制氧化应激也是保肝护肝的重要手段<sup>[16]</sup>,CAT是肝细胞清除活性氧效能最高的内源性抗氧化酶,是组织氧化应激水平的敏感标志物<sup>[17]</sup>。MDA为机体内脂质过氧化过程的氧化最终产物,过多会加重肝细胞损伤、坏死,促使炎症因子如TNF- $\alpha$ 、IL-6和IL-1 $\beta$ 的释放,这些炎症因子又反过来促进氧化应激,使肝损伤进一步加重。同时机体内存在的SOD和GSH-Px可以保护机体免受自由基和活性



氧化应激的损伤<sup>[18]</sup>。所以通过调节炎症信号转导途径抑制炎症及抗氧化,可能是防止 LPS 诱导的急性肝损伤的有效方法。

在本研究中,通过测定小鼠血浆中肝功能相关转氨酶 AST、ALT,观察组织病理变化,计算肝脏指数等多方面评价肝脏情况,发现 LPS 诱导的小鼠血浆 AST、ALT 水平显著性增高,小鼠肝脏细胞伴有大量炎症细胞浸润、肝索紊乱、肝脏结构不清晰,且小鼠肝指数显著性上升。以上变化都直接表明了腹腔注射 LPS 建立急性肝损伤模型是成功的,而给药组能够明显改善以上情况。通过检测氧化应激相关指标,Model 组比较于 Control 组 MDA 水平显著升高,SOD、GSH-Px、CAT 活性显著降低;而 BSP 中、高剂量均能显著降低 MDA 含量,提高 SOD 和 GSH-Px、CAT 活性,提示 BSP 中、高剂量可以有效降低 LPS 致急性肝损伤小鼠的氧化应激水平。Western blot 结果显示,BSP 的干预可以减少 LPS 诱导的小鼠肝组织中 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 的表达,TNF- $\alpha$ 、IL-6 和 IL-1 $\beta$  的炎症相关蛋白表达也有所下降。所以,BSP 对 LPS 引起的急性肝损伤小鼠有一定的保护作用,其机制可能与抗氧化及抑制 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路有关。本研究结果为 BSP 进一步开发应用提供一定的理论基础,为 BSP 作为 LPS 诱导的肝损伤的有效候选药物提供参考。

### 参考文献:

- [1] 葛婷婷,闵清,白育庭. 白及的药理作用与临床应用研究进展[J]. 湖北科技学院学报(医学版),2022,36(6):535
- [2] BAI L, WANG T, DENG Q, et al. Dual properties of pharmacological activities and preparation excipient: bletilla striata polysaccharides[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2024,254:127643
- [3] ZHU Z, LIANG T, DAI G, et al. Extraction, structural-activity relationships, bioactivities, and application prospects of Bletilla striata polysaccharides as ingredients for functional products: a review[J]. International Journal of Biological Macromolecules,2023,245:125407
- [4] ZHANG F, WANG X, QIU X, et al. The protective effect of esculentoside a on experimental acute liver injury in mice[J]. H. Guillou. PLoS ONE,2014,9(11):e113107
- [5] KHAN H U, AAMIR K, JUSUF P R, et al. Lauric acid ameliorates lipopolysaccharide(LPS)-induced liver inflammation by mediating TLR4/MyD88 pathway in Sprague Dawley (SD) rats[J]. Life Sciences,2021,265:118750
- [6] JI M, DENG Z, RONG X, et al. Naringenin prevents oxidative stress and inflammation in LPS-induced liver injury through the regulation of lncRNA-mRNA in male mice[J]. Molecules,2022,28(1):198
- [7] 贺国芳,丁伊玲,徐清霞,等. 白及多糖对小鼠急性酒精性肝损伤的保护作用[J]. 中国医院药学杂志,2015,35(18):1658
- [8] LUO L, ZHOU Z, XUE J, et al. Bletilla striata polysaccharide has a protective effect on intestinal epithelial barrier disruption in TAA-induced cirrhotic rats[J]. Exp Ther Med,2018,16(3):1715
- [9] HU B, YANG H, CHEN G, et al. Structural characterization and preventive effect on non-alcoholic fatty liver disease of oligosaccharides from Bletilla striata[J]. Food Funct,2022,13(8):4757
- [10] LIU J, DU S, KONG Q, et al. HSPA12A attenuates lipopolysaccharide-induced liver injury through inhibiting caspase-11-mediated hepatocyte pyroptosis via PGC-1 $\alpha$ -dependent acyl-coyl hydrolase expression[J]. Cell Death Differ,2020,27(9):2651
- [11] ZHANG Y, XUE W, ZHANG W, et al. Histone methyltransferase G9a protects against acute liver injury through GSTP1[J]. Cell Death Differ,2020,27(4):1243
- [12] 徐浩,张光霖,楼招欢,等. 肠源性内毒素异位激活肺癌巨噬细胞极化的研究进展[J]. 中华中医药杂志,2021,36(9):5393
- [13] SHI P, ZHU W, FU J, et al. Avicularin alleviates acute liver failure by regulation of the TLR4 / MyD88 / NF- $\kappa$ B and Nrf2/HO-1/GPX4 pathways to reduce inflammation and ferroptosis[J]. J Cell Mol Med,2023,27(21):3326
- [14] ENGELMANN C, SHEIKH M, SHARMA S, et al. Toll-like receptor 4 is a therapeutic target for prevention and treatment of liver failure[J]. J Hepatol,2020,73(1):102
- [15] CHEN S, TAN Y, XIAO X, et al. Deletion of TLR4 attenuates lipopolysaccharide-induced acute liver injury by inhibiting inflammation and apoptosis[J]. Acta Pharmacologica Sinica,2021,42(10):1610
- [16] ROMAN P, BUDZUŃSKI G, SUSZKA-Ś WITEK A, et al. Caspase-3 expression and ALT, AST, and GGT activity after 24 hours of porcine liver cold storage, depending on the type of transgenesis[J]. Transplantation Proceedings,2016,48(5):1829
- [17] 高进,殷娟,沈文娟,等. 山奈酚对脓毒症大鼠肝损伤的影响及其与 HIF-1 $\alpha$ /HK2 通路的关系[J]. 中国急救医学,2023,43(4):279
- [18] 韦敏,李波,王跃峰,等. 龙胆苦苷通过抑制 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路减轻小鼠急性肝损伤的作用[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(22):76

(收稿日期:2024-04-08)



# 姜黄素改善糖尿病小鼠脑部 A $\beta$ 沉积机制研究\*

张雨晴<sup>1</sup>, 何 昂<sup>1</sup>, 郭 霜<sup>2</sup>, 雷 敏<sup>2</sup>, 刘秀芬<sup>2</sup>, 郭西英<sup>2\*\*</sup>

(1. 湖北科技学院医学部药学院, 湖北 咸宁 437100; 2. 湖北科技学院糖尿病心脑血管病变湖北省重点实验室)

**摘要:**目的 结合网络药理学、分子对接及实验验证姜黄素(Cur)缓解糖尿病小鼠脑部  $\beta$ -淀粉样蛋白(A $\beta$ )沉积的分子机制。方法 应用网络药理学筛选 Cur 与糖尿病小鼠认知功能障碍(DCD)的共同靶点; Autodock 软件进行分子对接; Western blot、q-PCR 检测相关蛋白及 mRNA 表达水平。结果 Cur 与 DCD 的共同靶点主要富集于 PI3K/AKT 信号通路; 分子对接显示 Cur 与 AKT1、NF- $\kappa$ B 和 TNF- $\alpha$  结合; Western blot 显示, DM 小鼠 p-PI3K、p-AKT、p-GSK-3 $\beta$ 、BACE1 蛋白表达减少, APP 蛋白表达增加, Cur 给药逆转了相关蛋白的表达; DM 小鼠 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  炎症因子的 mRNA 水平显著增加, Cur 给药逆转了相关基因的表达。结论 Cur 可能通过 PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$  通路抑制炎症改善糖尿病小鼠脑部 A $\beta$  的沉积。

**关键词:**网络药理学; 糖尿病; 姜黄素; A $\beta$

中图分类号: R965.2

文献标识码: A

文章编号: 2095-4646(2024)04-0282-005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI: 10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0282



## Curcumin Improved A $\beta$ Deposition in the Brain of Diabetic Mice Through PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$ Pathway

ZHANG Yu-qing, HE Ang, GUO Xi-ying, et al

(School of Pharmacy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

**ABSTRACT: Objective** To investigate the molecular mechanism by curcumin (Cur) alleviates A $\beta$  deposition in the brain of diabetic mice through network pharmacology, molecular docking and experiments. **Methods** Network pharmacology was used to screen the common targets of Cur and cognitive dysfunction in diabetic mice (DCD). Autodock was used for molecular docking. Western blot and qPCR were used to detect the expression levels of related proteins and mRNA. **Results** The majority of the common targets between Cur and DCD were found to be enriched in the PI3K/AKT signaling pathway. Molecular docking revealed that Cur bound to AKT1, NF- $\kappa$ B, and TNF- $\alpha$ . Western blot demonstrated that DM mice had increased expression of APP proteins and decreased expression of p-PI3K, p-AKT, p-GSK-3 $\beta$  and BACE1 proteins, which could be reversed by the administration of Cur. DM mice had significantly increased levels of TNF- $\alpha$ , IL-6, and IL-1 $\beta$  inflammatory factors, and the expression of these genes could be reversed by the administration of Cur. **Conclusion** Cur may improve the deposition of A $\beta$  in the brain of diabetic mice through PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$  pathway.

**KEY WORDS:** Network pharmacology; Diabetes; Curcumin; A $\beta$

国际糖尿病联盟统计数据显示, 2021 年全球高血糖病例(20 ~ 79 岁)达 5.36 亿, 预计到未来几年内将发展至 7.83 亿<sup>[1]</sup>。糖尿病往往伴随许多并发症, 可以损害大脑, 导致糖尿病脑病的发生, 这是糖尿病最严重的并发症之一<sup>[2]</sup>。长期高

血糖甚至会导致痴呆, 造成学习、记忆、视觉、听力等方面能力的下降<sup>[3]</sup>。

$\beta$ -淀粉样蛋白(A $\beta$ )斑块的积累是阿尔茨海默病(alzheimer's disease, AD)的特异性病理标志。A $\beta$ 是一种蛋白质片段(或肽), 主要由不溶性纤

\* 基金项目: 湖北省科技计划项目(2021DFE025); 湖北省教育厅项目(BXLBX0808)

\*\* 通讯作者, E-mail: gxyangela@163.com



维组成,最终形成斑块,与AD密切相关<sup>[4]</sup>。A $\beta$ 病理直接影响A $\beta$ 寡聚体和A $\beta$ 斑块的积累,间接导致细胞代谢紊乱(如内质网应激和氧化应激),突触恶化和神经元凋亡。此外,A $\beta$ 以不同的方式促进tau蛋白磷酸化,进一步介导突触毒性<sup>[5]</sup>。过去20多年,开发了许多抗A $\beta$ 药物,但在临床实验上以失败而告终<sup>[6]</sup>。因此,开发抗A $\beta$ 药物依旧具有前景性。

大量证据表明,姜黄素(curcumin, Cur)具有抑制糖尿病的发展<sup>[7]</sup>、保护心血管系统<sup>[8]</sup>、减轻肝损伤<sup>[9]</sup>作用,并且在临床实践中取得了良好的效果。此外,有研究表明,姜黄素能够改善AD模型诱导的大鼠认知功能障碍<sup>[10]</sup>。前期的研究发现,姜黄素可以有效激活AKT/GSK3 $\beta$ 通路,从而减少tau蛋白过度磷酸化<sup>[11]</sup>。本研究采用网络药理学的方法,整合多种数据库的信息,对姜黄素改善糖尿病认知功能障碍的靶点、信号通路及分子对接进行综合分析,结合实验验证,系统探讨姜黄素对糖尿病小鼠A $\beta$ 沉积的保护作用,为进一步的实验研究和天然化合物的研发提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

SPF级雄性C57BL/6小鼠共有50只,均为7~8周龄,体重约为24~30g,购自武汉大学实验动物中心。将小鼠饲养于SPF级动物房,维持(22 $\pm$ 1) $^{\circ}$ C温度和(50 $\pm$ 10)%湿度,每天进行光暗循环,同时供给充足的饮用水和食物。经湖北科技学院医药研究院实验动物委员会的审核,并严格执行伦理委员会相关规定,获得了SCXK(鄂)2014-0004的认证。

### 1.2 药品与试剂

姜黄素(C17727, sigma); PI3K抗体(60225-1-Ig, proteintech); p-PI3K抗体(AF3242, Affinity); AKT抗体(60203-1-Ig, proteintech); p-AKT抗体(AP1266)、GSK-3 $\beta$ 抗体(A2081)、p-GSK-3 $\beta$ (AP0039)、BACE1抗体(A5266)、APP抗体(A16265)均购自ABclonal公司;  $\beta$ -Actin(GB15003, Servicebio); RNA提取液(G3013, Servicebio); Genius 2X SYBR Fast qPCR Mix(RM21204)、ABScript RT Master Mix for qPCR with gDNA Remover(RK20429)均购自ABclonal公司。

### 1.3 实验动物及分组

所有SPF级实验小鼠均进行1周的适应性喂

养后随机分为两组:接受普通饲料饮食喂养的小鼠为第1组( $n=20$ ),接受高糖高脂饲料饮食喂养的小鼠为第2组( $n=30$ )。第2组腹腔注射链脲佐菌素溶液(streptozotocin, STZ),由pH 4.5柠檬酸盐缓冲液调配,50mg/kg;第1组小鼠仅注射相同剂量的柠檬酸盐缓冲液。连续给药3周,最后一次腹腔注射72h后,空腹血糖 $\geq 11.0$ mmol/L表明DM小鼠造模成功。随后,第1组注射柠檬酸盐缓冲液的小鼠随机分为Con组( $n=6$ )和Con+Cur组( $n=6$ ),第2组注射STZ的小鼠随机分为DM组( $n=6$ )和DM+Cur组( $n=6$ )。DM+Cur组和Con+Cur组小鼠灌胃Cur,由1%的羧甲基纤维素钠配置,200mg/(kg $\cdot$ d);DM组和Con组分别给予同等量的生理盐水灌胃,1次/d,连续给药12周。

### 1.4 Western blot 检测脑组织相关蛋白的表达

称取30 $\mu$ g脑组织,提取蛋白,加入5倍Loading Buffer后,置于98 $^{\circ}$ C的金属浴煮沸8min,配置合适比例的SDS-PAGE胶,将蛋白质上样并进行电泳转移到PVDF膜中并封闭。将条带放入一抗4 $^{\circ}$ C冰箱摇床过夜,次日加入二抗在室温摇床1h,最后现配ECL显影液,用Image J分析灰度值。

### 1.5 qPCR 检测脑组织的炎症水平

使用RNA提取液分离小鼠大脑皮层的总RNA,使用ABScript RT Master Mix for qPCR with gDNA Remover(RK20429)试剂合成cDNA,总体积为10 $\mu$ L。逆转录后,选用Genious 2X SYBR Fast qPCR Mix(RM21204)试剂,荧光定量PCR仪器(美国Thermo Scientific)进行qPCR检测。所有引物由上海生工生物工程技术有限公司制备,所有引物序列见表1。

表1 引物序列

引物名称	引物序列
IL-1 $\beta$ -F	TGGACCTCCAGGATGAGGACA
IL-1 $\beta$ -R	GTTCACTCCGAGCCTGTAGTG
IL6-F	CTGCAAGAGACTCCATCCAG
IL6-R	AGTCGTATAGACAGGCTCTGTGG
TNF $\alpha$ -F	CAGGAGGGAGAAACAGAACTCCA
TNF $\alpha$ -R	CCTGGTGTGGCTGCTTGCTT
$\beta$ -Actin-F	CCCATCTATCAGCGGTACCC
$\beta$ -Actin-R	TTTAAATGTCACCGCAGCATTC

### 1.6 网络药理学分析及分子对接

通过分析Pubchem和genecards数据库中的信息,找到姜黄素的SMILES结构式,导入Swiss

Target Prediction, 利用在线韦恩图, 确定姜黄素和糖尿病认知功能障碍共同的靶点。为了更好研究两者的关系, 将获得的共同靶点录入 String 数据库, 建立蛋白质之间的 PPI 模型, 使用 cytoscape 软件优化。最后, 根据 degree 值确定核心靶点, 获得的靶点录入 David 数据库, 使用 KEGG 富集分析, 利用微生信作图。将获得的糖尿病认知功能障碍和姜黄素的关键靶点进行分子对接, 通过结合能的大小反应结合强度。

### 1.7 统计学方法

实验结果主要采用 Graphpad Prism 9.0 软件进行数据分析, 实验均重复 3 次, 结果以  $(\bar{x} \pm s)$  表示, 采用单因素方差分析评估不同组之间的差异,  $P < 0.05$  表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 姜黄素对小鼠脑组织的 BACE1、APP 的影响

$A\beta$  一直作为抗 AD 药物的靶点, 在脑内的异常聚集会导致认知功能减退、记忆能力降低。APP 作为  $A\beta$  的前体蛋白, 集中在神经元突触的膜内, 而 BACE1 作为  $\beta$  水解蛋白的主要成分, 在  $A\beta$  的形成中发挥关键作用<sup>[12]</sup>。结果发现, 与 Con 组比较, DM 组小鼠 BACE1 蛋白水平降低 ( $P < 0.05$ ), APP 蛋白水平增加 ( $P < 0.001$ ), 而与 DM 组相比, DM + Cur 组小鼠 BACE1 蛋白水平增加 ( $P < 0.01$ ), APP 蛋白水平降低 ( $P < 0.001$ ) (图 1A、B)。这表明, 姜黄素可能通过调节 APP 和 BACE1 的表达, 缓解 DM 小鼠中  $A\beta$  的积累。

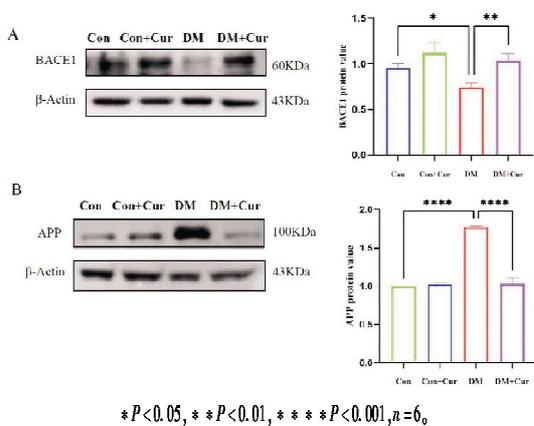


图1 姜黄素对小鼠脑组织 BACE1、APP 的影响

### 2.2 姜黄素对小鼠脑组织炎症的影响

神经炎症是认知功能障碍的重要特征之一, IL-

$1\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-6 等炎症因子的过表达, 会引发许多恶性循环的过程, 引发神经损伤<sup>[13]</sup>。与 Con 组比较, DM 组小鼠 IL-6、IL- $1\beta$ 、TNF- $\alpha$  的 mRNA 水平增加 ( $P < 0.001$ ,  $P < 0.001$ ,  $P < 0.001$ ), 而与 DM 组相比, DM + Cur 组小鼠的 IL-6、IL- $1\beta$ 、TNF- $\alpha$  的 mRNA 水平降低 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ,  $P < 0.05$ ) (图 2A、B、C), 表明姜黄素可缓解小鼠脑组织炎症。

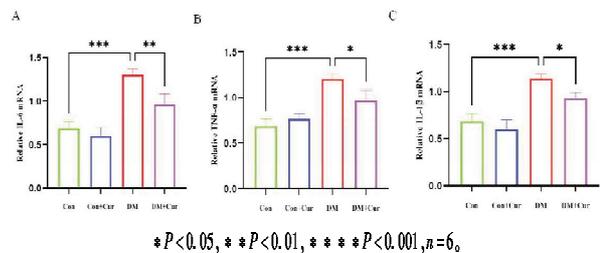
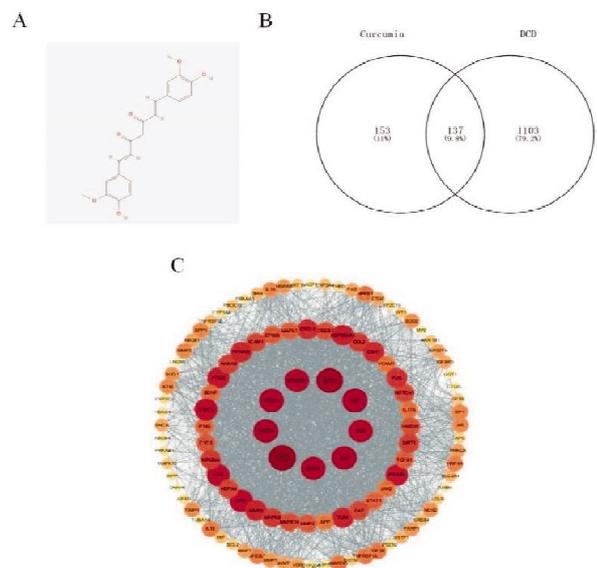


图2 小鼠脑组织炎症因子 IL- $1\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的 mRNA 表达情况

### 2.3 姜黄素与糖尿病相关认知功能障碍的潜在治疗靶点筛选

从 Pubchem 数据库获得姜黄素的 2D 结构 (图 3A)。将上述获得的姜黄素靶点与糖尿病认知功能障碍 (DCD) 靶点输入 Venny2.1 软件中, 共得到了姜黄素与糖尿病认知功能障碍 137 个靶点 (图 3B)。通过 String 数据库获得 PPI 作用网络数据 (图 3C), 运用 Cytoscape 3.9.1 软件绘制网络图并进行分析, 获得该网络各个节点的属性值, 包括介度、紧密度、聚类系数和连接度, 前 10 核心靶点有 TP53、AKT1、TNF、CASP3、IL-6、EGFR、VEGFA、CTNNB1、JUN、SRC、IL- $1\beta$ , 见表 2。



A. 姜黄素的 2D 结构; B. 姜黄素与糖尿病相关认知功能障碍靶点韦恩图; C. 蛋白质相互作用网络。

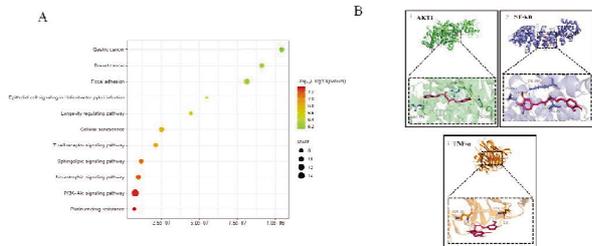
图3 潜在治疗靶点的筛选及 PPI 网络构建

表2 部分靶点属性

Target	Betweenness	Closeness	ClusteringCoefficient	Degree
TP53	0.055211	0.86153	0.46030	94
AKT1	0.0361	0.82962	0.48850	89
TNF	0.02234	0.80000	0.53930	84
CASP3	0.02360	0.79342	0.54334	83
IL6	0.02223	0.7943	0.54363	83
EGFR	0.02166	0.77777	0.53549	81
VEGFA	0.01840	0.77777	0.55462	81
CTNNB1	0.02756	0.77241	0.53607	80
JUN	0.02823	0.77241	0.57643	79
SRC	0.017963	0.75167	0.57859	76
IL1B	0.01418	0.73684	0.59747	75

### 2.4 姜黄素与糖尿病认知功能障碍潜在靶点分析及分子对接

对上述筛选到的靶点进行 KEGG 富集分析,我们发现姜黄素与糖尿病认知功能障碍有着密切的联系,主要体现在肿瘤信号通路、PI3K/AKT 信号通路,涉及炎症反应和免疫调节等多个方面(图 4A)。分子对接结果显示,姜黄素能够与 AKT1、NF- $\kappa$ B 和 TNF- $\alpha$  进行对接(图 4B,表 3),PI3K/AKT 通路在突触的形成、树突棘的发育和突触可塑性的维持方面发挥重要作用,不仅调节糖原合成酶激酶-3(GSK3 $\beta$ )活性,还能调控  $\beta$  淀粉样蛋白多肽(A $\beta$ )的代谢和 tau 蛋白磷酸化<sup>[14]</sup>。



A. 姜黄素抗糖尿病认知功能障碍靶点 KEGG 富集分析 KEGG 分析; B. 分子对接。

图4 靶点 KEGG 富集分析及分子对接

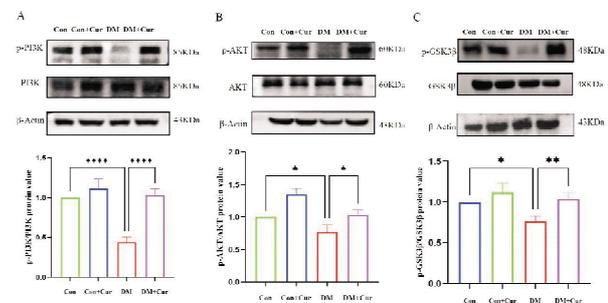
表3 分子对接表

序号	靶点	PDBID	颜色	能量
1	AKT1	6j3u	浅绿色	-5.78
2	NF- $\kappa$ B	7lnt	紫色	-5.45
3	TNF- $\alpha$	7oxn	橙色	-5.18

### 2.5 姜黄素对小鼠脑组织的 PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$ 通路的影响

基于网络药理学筛选可知,姜黄素与 PI3K/AKT 信号通路存在密切关系。为了更好探究两者关系,我们检测了该通路相关蛋白的表达。结果

表明,与 Con 组比较,DM 组小鼠 p-PI3K、p-AKT、p-GSK3 $\beta$  蛋白表达降低( $P < 0.001$  或  $P < 0.05$ ),而糖尿病小鼠经 Cur 处理后,p-PI3K、p-AKT、p-GSK3 $\beta$  蛋白表达显著增加( $P < 0.001$  或  $P < 0.05$ )(图 5 A、B、C)。这表明,姜黄素可能通过 PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$  信号通路发挥保护作用。



\* $P < 0.05$ , \*\* $P < 0.01$ , \*\*\* $P < 0.001$ ,  $n = 6$ 。

图5 姜黄素对小鼠脑组织 PI3K/AKT/GSK-3 $\beta$  的影响

### 3 讨论

糖尿病是以高血糖为特征的慢性代谢性疾病,目前患病率不断增加,由此带来的社会经济负担也显著增加。糖尿病认知功能障碍是糖尿病最严重的并发症之一,其发病机制十分复杂, $\beta$  淀粉样蛋白假说强调了其在发病机制中的关键作用<sup>[15]</sup>。近年来,也有研究发现,A $\beta$  假说与氧化应激、炎症、细胞凋亡等机制相关,与中药多靶点、多途径的特点相契合<sup>[16]</sup>。本研究用 STZ 诱发小鼠糖尿病模型,检测其脑内认知功能障碍的关键性蛋白 APP、BACE1 的表达变化。为了确定 DM 小鼠是否会影响 A $\beta$  的堆积,我们首先通过 Western blot 检测,评估了 DM 小鼠中 BACE1、APP 的表达情况。结果表明,DM 小鼠 BACE1 蛋白水平显著降低、APP 蛋白水平显著增加,这与苏晓琳等<sup>[17]</sup>研究一致。与 DM 组相比,姜黄素能够明显增加 BACE1、降低 APP 的蛋白表达水平,表明姜黄素可能参与降低糖尿病小鼠脑部 A $\beta$  水平。神经炎症参与认知功能障碍的发生发展过程,小胶质细胞和星形胶质细胞的过度激活时,会加速促炎因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的释放,进一步导致大脑功能受损<sup>[18]</sup>。Wang 等<sup>[19]</sup>研究发现,抑制 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  的蛋白表达能改善糖尿病大鼠认知功能障碍。本实验 qPCR 结果显示,DM 组的 TNF- $\alpha$ 、IL-6、IL-1 $\beta$  的 mRNA 水平增加。我们采用网络药理学的方法,PPI 网络分析进一步证实,TNF- $\alpha$ 、IL-6 是姜黄素改善糖尿病认知功能障碍的潜在靶标蛋白。



综上所述,姜黄素抑制了相关促炎因子的表达,网络药理学结果表明了姜黄素作用的多靶点性,姜黄素改善糖尿病认知功能障碍可能与 PI3K/AKT 和炎症反应信号通路有着密切联系。分子对接结果也显示,AKT1 与姜黄素的结合效果最好。GSK3 $\beta$  是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶,属于 PI3K/AKT 通路下游靶蛋白,活化的 AKT 能与 GSK3 $\beta$  结合,诱导 GSK3 $\beta$  向细胞膜转位,磷酸化其 N 端的 Ser9 活性位点,保护大脑神经<sup>[15]</sup>。PI3K/AKT 水平的降低能通过抑制 GSK-3 $\beta$ ,长期的胰岛素抵抗受损,促进 A $\beta$  斑块的产生并加速 tau 过度磷酸化,影响大脑正常功能<sup>[20]</sup>。本研究 Western blot 结果表明,DM 小鼠 p-PI3K、p-AKT、p-GSK3 $\beta$  蛋白水平显著降低,姜黄素给药后促进了这些蛋白水平显著增加。这表明姜黄素对于胰岛素信号的恢复起到一定的保护作用。

综上所述,姜黄素在体内可减轻糖尿病小鼠的 A $\beta$  的堆积,其机制可能与抑制炎症和 PI3K/AKT/GSK3 $\beta$  有关。本研究为进一步研究糖尿病神经病变发病机制提供了依据,也为防治糖尿病提供了新思路。姜黄素对 A $\beta$  沉积和 PI3K/AKT/GSK3 $\beta$  的具体作用机制,还需更加深入的研究。

### 参考文献:

- [1] SUN H, SAEEDI P, KARURANGA S, et al. IDF diabetes atlas: global, regional and country-level diabetes prevalence estimates for 2021 and projections for 2045[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2022, 183:109119
- [2] MOORADIAN A D. Pathophysiology of central nervous system complications in diabetes mellitus[J]. *Clin Neurosci*, 1997, 4(6):322
- [3] FAATITHI K L, JUPITER D C. Diabetes-specific dementia: a structured literature review of cognitive assessment methods[J]. *J Foot Ankle Surg*, 2022, 61(2):401
- [4] HAMPEL H, HU Y, HARDY J, et al. The amyloid- $\beta$  pathway in Alzheimer's disease: a plain language summary[J]. *Neurodegener Dis Manag*, 2023, 13(3):141
- [5] CAI W, LI L, SANG S, et al. Physiological roles of  $\beta$ -amyloid in regulating synaptic function: implications for AD pathophysiology[J]. *Neurosci Bull*, 2023, 39(8):1289
- [6] ZHANG H, LI X, WANG X, et al. Cellular response to  $\beta$ -amyloid neurotoxicity in Alzheimer's disease and implications in new therapeutics[J]. *Animal Model Exp Med*, 2023, 6(1):3
- [7] MARTON L T, PESPININI-E-SALZEDAS L M, CAMARGO M E C, et al. The effects of curcumin on diabetes mellitus: a systematic review[J]. *Front Endocrinol (Lau-*
- [8] 寿曦缘,朱晓明,张飞雪,等.姜黄素调控 p38MAPK 通路改善糖尿病心肌病的机制研究[J]. *湖北科技学院学报(医学版)*, 2023, 37(1):1
- [9] QIAO B, HE Y, GAO X, et al. Curcumin attenuates AFB1-induced duck liver injury by inhibiting oxidative stress and lysosomal damage[J]. *Food Chem Toxicol*, 2023, 172:113593
- [10] 赵苗,柯婷梅,欧阳昌汉.姜黄素对阿尔茨海默病模型小鼠记忆获得和巩固障碍的影响[J]. *湖北科技学院学报(医学版)*, 2016, 30(5):372
- [11] WANG H, SUI H, ZHENG Y, et al. Curcumin-primed exosomes potently ameliorate cognitive function in AD mice by inhibiting hyperphosphorylation of the Tau protein through the AKT/GSK-3 $\beta$  pathway[J]. *Nanoscale*, 2019, 11(15):7481
- [12] THAKUR S, DHAPOLA R, SARMA P, et al. Neuroinflammation in alzheimer's disease: current progress in molecular signaling and therapeutics[J]. *Inflammation*, 2023, 46(1):1
- [13] 劳可静,陈嘉乐,黄梦宇,等.基于 A $\beta$  学说的抗阿尔茨海默病药物研究进展[J]. *食品与生物技术学报*, 2023, 42(8):1
- [14] YIN Z, YU H, CHEN S, et al. Asiaticoside attenuates diabetes-induced cognition deficits by regulating PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B pathway[J]. *Behav Brain Res*, 2015, 292:288
- [15] ALAWODE D O T, FOX N C, ZETTERBERG H, et al. Alzheimer's disease biomarkers revisited from the amyloid cascade hypothesis standpoint[J]. *Front Neurosci*, 2022, 16:837390
- [16] ZHANG H, WEI W, ZHAO M, et al. Interaction between A $\beta$  and tau in the pathogenesis of alzheimer's disease[J]. *Int J Biol Sci*, 2021, 17(9):2181
- [17] 苏晓琳,李媛,张婕,等.知母对糖尿病小鼠脑内 APP 和 BACE1 蛋白表达的影响[J]. *中医药信息*, 2015, 32(3):17
- [18] 万彬彬,张月,何昂,等.小檗碱抑制 JAK2/STAT3 信号通路改善糖尿病大鼠前额叶皮层神经元损伤[J]. *湖北科技学院学报(医学版)*, 2023, 37(4):292
- [19] WANG Z, FENG S, LI Q, et al. Dihydromyricetin alleviates hippocampal ferroptosis in type 2 diabetic cognitive impairment rats via inhibiting the JNK-inflammatory factor pathway[J]. *Neurosci Lett*, 2023, 812:137404
- [20] LEI M, GUO X, YAO Y, et al. Trelagliptin relieved cognitive impairment of diabetes mellitus rats: involvement of PI3K/Akt/GSK-3 $\beta$  and inflammation pathway[J]. *Exp Gerontol*, 2023, 182:112307

(收稿日期:2024-01-24)



# 阿苯达唑对人食管鳞癌细胞 KYSE-150 的抑制作用

蔡敬<sup>1</sup>, 贾爱亭<sup>1</sup>, 曾凤娇<sup>1</sup>, 赵冰洁<sup>1</sup>, 宁志丰<sup>2\*</sup>

(1. 湖北科技学院医学部药学院, 湖北 咸宁 437100; 2. 湖北科技学院医学部基础医学院)

**摘要:**目的 研究阿苯达唑对食管鳞癌 KYSE-150 细胞的抑制效果及作用机制。方法 通过 MTT 法和克隆形成实验评估 KYSE-150 细胞的增殖能力, 利用划痕和 Transwell 小室实验证明细胞的迁移和侵袭能力。同时, 采用凋亡与坏死检测试剂盒检测阿苯达唑是否能够诱导 KYSE-150 细胞凋亡, 并利用 Western blot 实验探讨凋亡相关蛋白 BAX、Bcl-2、P53 的表达水平。结果 阿苯达唑能够以剂量依赖性的方式抑制 KYSE-150 细胞的活力、增殖、迁移和侵袭能力。YO-PRO-1/PI 双染检测结果表明, 阿苯达唑能够诱导细胞凋亡, 同时使 Bcl-2 蛋白表达下调, 而 BAX、P53 蛋白表达上调。结论 阿苯达唑对食管鳞癌 KYSE-150 细胞的增殖与迁移具有显著抑制作用, 其机制可能与对凋亡相关蛋白的调控有关。

**关键词:**阿苯达唑; 食管鳞癌; 迁移; 凋亡

中图分类号: R978

文献标识码: A

文章编号: 2095-4646(2024)04-0287-006

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI: 10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0287



## Inhibitory Effect of Albendazole on Human Esophageal Squamous Cell Carcinoma Cells KYSE-150

CAI Jing, JIA Ai-ting, ZENG Feng-jiao, ZHAO Bing-jie, NING Zhi-feng, et al

(School of Pharmacy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

**ABSTRACT:** Objective To investigate the inhibitory effect and mechanism of albendazole on esophageal squamous cell carcinoma KYSE-150 cells. Methods The proliferation ability of KYSE-150 cells was evaluated by MTT assay and colony formation assay. The migration and invasion ability of KYSE-150 cells were demonstrated by wound healing assay and Transwell chamber assay. Meanwhile, the apoptosis and necrosis detection kit was used to detect whether albendazole could induce apoptosis of KYSE-150 cells, and the expression levels of apoptosis-related proteins BAX, Bcl-2 and P53 were investigated by Western blot. Results Albendazole inhibited the viability, proliferation, migration and invasion of KYSE-150 cells in a dose-dependent manner. The results of YO-PRO-1/PI double staining showed that the administration could induce cell apoptosis, and at the same time, it caused the down-regulation of the expression of Bcl-2 protein, while the up-regulation of the expression of BAX and P53 protein. Conclusion Albendazole has a significant inhibitory effect on the proliferation and migration of esophageal squamous carcinoma KYSE-150 cells, and the mechanism may be related to the regulation of apoptosis-related proteins.

**KEY WORDS:** Albendazole (ABZ); Esophageal cancer; Migration; Apoptosis

食管癌作为一种常见的恶性肿瘤,属于消化系统疾病。据统计,食管癌在全球癌症中的发病率排名第八,死亡率排名第六,每年约有 30 万人死于食管癌<sup>[1]</sup>。食管癌的病理类型主要分为鳞癌与腺癌,而我国最常见的是鳞癌。目前,食管鳞癌的主要治疗方式包括手术切除、放疗和化疗。然而,食管鳞癌有着浸润性生长的特点,患者常常会出现对长期化疗和放疗药物的耐药性。同时,一

些患者由于体质较差而难以忍耐放化疗带来的不良反应与毒副作用。因此,食管鳞癌的预后通常较差,患者的生存时间较短。

阿苯达唑(albendazole)是一种抗寄生虫药物,已获得美国食品药品监督管理局批准,具有良好的疗效和低毒性,在肠道内吸收缓慢,具有一定的脂溶性并能穿过血脑屏障。本研究旨在探讨阿苯达唑是否对食管鳞癌细胞具有抑制作用,并初步

\* 通讯作者, E-mail: 279503735@qq.com



研究其作用机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料来源

阿苯达唑购买自上海源叶生物科技有限公司。RPMI-1640 培养基和胎牛血清均购自 Gibco 公司,人食管鳞癌细胞 KYSE-150 实验室自行保存。YO-PRO-1/PI 凋亡检测试剂盒购自碧云天, GAPDH 抗体购自 Beyotime 生物公司,而 Bax、P53、Bcl-2 抗体购自 ABclonal 公司。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 细胞培养

将细胞从液氮中取出,在 37℃ 水浴锅中解冻复苏,并放置于 37℃、5% CO<sub>2</sub> 培养箱中。完全培养基含有 1640 基础培养基、双抗(青霉素、链霉素)以及胎牛血清混合液。待细胞长满后,进行传代保种操作:首先用 PBS 洗涤细胞 2 次,然后胰酶进行消化 1min,待细胞变圆后,加入细胞培养基终止消化,将混合物放入离心机中以 800rpm 的速度离心 5min;弃掉上清液,加入 1mL 培养液轻轻吹打,将细胞悬液移至含有 4mL 细胞培养基的细胞培养瓶,置于 37℃、5% CO<sub>2</sub>、饱和湿度的细胞培养箱中。一旦细胞状态良好,即可进行后续实验,实验重复 3 次。

#### 1.2.2 MTT 法实验

当食管鳞癌 KYSE-150 细胞处于对数生长期时,进行以下步骤:用 PBS 洗涤细胞两次,然后加入 1mL 胰酶消化 1min。待细胞形态变圆后,加入 1mL 细胞培养液终止消化,并将细胞悬液吸取至离心管中离心 5min,倒掉上清液。调整细胞浓度至每孔 12 000 个细胞,96 孔板最外一圈孔中加入 100μL PBS,其余每个孔中加入 100μL 细胞悬液。随后将 96 孔板放入细胞培养箱中静置 24h,待细胞贴壁后更换含不同浓度(0、1、2、4、8、16μmol/L)的阿苯达唑培养液 100μL/每个孔,每组设 6 个复孔。继续放培养箱培养 24h 后取出,避光下每个孔中加入 10μL MTT,包裹锡纸后在培养箱中孵育 4h 取出,每个孔加入 150μL DMSO 溶液进行震荡混合 10min。最后使用酶标仪以 490nm 波长检测吸光度值。

细胞存活率 = (药物组吸光度值/对照组吸光度值) × 100%。

#### 1.2.3 平板克隆形成实验

将生长对数期的 KYSE-150 细胞进行消化和

离心、计数,将细胞密度调整至每孔 5000 个细胞,每孔加入 2mL 完全培养基,放入培养箱中培养 24h。当细胞贴壁后,去除培养液,用 PBS 溶液洗涤 1~2 次。每孔给予 3mL 不同浓度(0、0.25、0.5、1、2、4μmol/L)的阿苯达唑培养液,连续处理 7d。肉眼可见到克隆后,丢弃含有药物的培养液,用 PBS 清洗 3 次。用 4° 甲醛固定细胞 30min,结晶紫染色,洗净晾干,最后进行拍照并计数。

#### 1.2.4 细胞划痕实验

处于生长对数期的 KYSE-150 细胞调整密度至每孔 30 万个,接种在 6 孔板中。等细胞贴壁长满后进行划痕实验,用枪头划出划痕,使用 PBS 清洗去除划痕处的细胞,随后加入含有不同浓度(0、1、2、4、8、16μmol/L)的阿苯达唑培养基培养 24h。在实验的 0、24h 时进行拍照。

#### 1.2.5 Transwell 迁移实验

将细胞浓度调整至  $1 \times 10^4$ /mL,含阿苯达唑的浓度梯度设置为 0、2、4、8μmol/L 作为实验组,而仅添加培养基的为对照组。将 500μL 含有 20% 血清的培养基加入下室(同时含 0、2、4、8μmol/L 阿苯达唑溶液),在上室内加入 200μL 的细胞悬液,放入培养箱中培养 24h。第 2 天取出上室,用 PBS 清洗 2 次,用甲醇溶液固定 20~30min,之后弃掉固定液,用 PBS 洗涤一次,使用 0.1% 结晶紫染色 20min,轻轻擦干后进行拍照和计数。

#### 1.2.6 Transwell 侵袭实验

调整细胞浓度为  $1 \times 10^4$ /mL,预先将基质胶从 4℃ 冰箱取出解冻,按比例将其注入小室底部,放入培养箱中烘 30min。与迁移实验一样,下室中加入 500μL 含 20% FBS 的培养基,药物浓度分别为 0、2、4、8μmol/L,然后用镊子将 Transwell 小室放置于 24 孔板内(注意:下层培养液和小室之间不应有气泡),在基质胶上方加入 200μL 细胞悬液后放入培养箱。24h 后取出,用 PBS 洗涤两次,甲醇中固定 20~30min,弃掉固定液,用 0.1% 结晶紫染色 20min,轻轻擦掉结晶紫,在干燥后选取适当的视野进行拍照和计数。

#### 1.2.7 YO-PRO-1/PI 细胞染色

在 24 孔板中接种 KYSE-150 细胞,每孔含 10 万个细胞,加入含有阿苯达唑(0、2、4、8μmol/L)的 1640 培养基培养 24h。根据说明书的比例进行染色,将板置于 37° 避光条件下孵育 30min。倒置荧光显微镜下观察并进行计数,拍摄照片。红色荧光代表 PI 染色阳性细胞,绿色荧光代表 YO-

PRO-1 染色阳性细胞。

### 1.2.8 蛋白检测

在不同浓度梯度(0、2、4、8 $\mu\text{mol/L}$ )阿苯达唑孵育细胞 24h 后,使用 PBS 清洗去除漂浮细胞,并利用滤纸吸干水分。加入适量的 RIPA 裂解液裂解细胞 20min,使用细胞刮刀将细胞粘液刮下并收集到 1.5mL 离心管中,在 4 $^{\circ}\text{C}$  下以 15 000rpm 的速度离心 15min,收集上清液,即为总蛋白溶液。随后按照 Western blot 实验步骤进行操作,包括蛋白上样、电泳、转膜、封闭、一抗孵育过夜,二抗孵育 1h,随后进行显影。使用 Image J 软件进行分析,计算 Bax、Bcl-2、P53 的灰度值与 GAPDH 的灰度值之比,以确定其相对表达量。

### 1.3 统计学方法

数据分析和绘图将使用 GraphPad Prism 9.0 软件进行。采用 One-Way ANOVA 进行统计数据分析,当  $P < 0.05$  时表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 阿苯达唑抑制人食管鳞癌 KYSE-150 细胞的增殖

通过 MTT 实验检测食管鳞癌细胞的活力情况,结果如图 1。在显微镜下观察不同浓度的阿苯达唑作用于细胞后,KYSE-150 细胞的活力明显下降,与空白对照组相比有显著差异( $P < 0.05$ ),表明阿苯达唑可以有效抑制 KYSE-150 细胞的增殖,且该抑制作用随着药物浓度呈现出一定的依赖性。

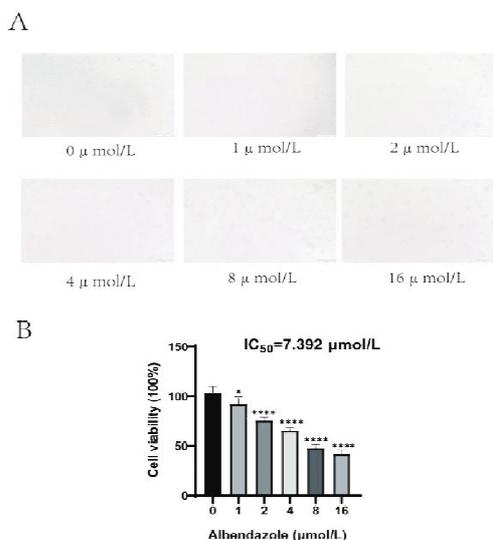


图 1 阿苯达唑对 KYSE-150 细胞增殖的影响

### 2.2 阿苯达唑抑制人食管鳞癌 KYSE-150 细胞克隆形成

在平板克隆实验中观察到,随着阿苯达唑给药浓度的增加,细胞集落的数量逐渐减少( $P < 0.05$ ),见图 2。这表明,阿苯达唑对 KYSE-150 细胞的克隆集落形成具有显著的抑制作用,并随着药物浓度的增加而增强( $P < 0.05$ )。

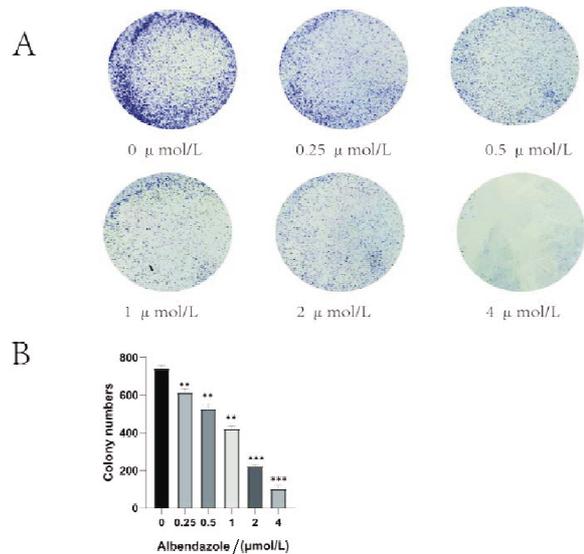


图 2 阿苯达唑对 KYSE-150 细胞克隆形成的影响

### 2.3 阿苯达唑抑制人食管鳞癌 KYSE-150 细胞横向迁移

划痕实验结果表明,经过不同浓度的阿苯达唑处理后,细胞在 24h 内的迁移能力明显低于对照组,且呈现出剂量依赖性。见图 3。与对照组相比,实验组的划痕宽度随着药物浓度的增加逐渐扩大,且实验组的细胞迁移率下降幅度在统计上显示出明显的差异( $P < 0.05$ )。

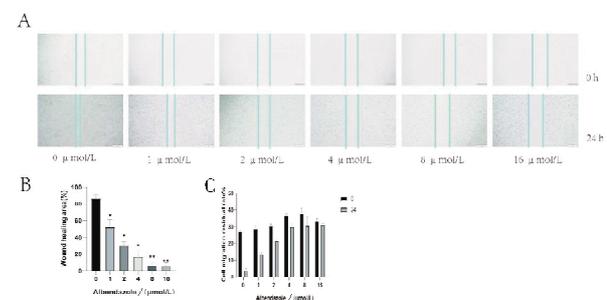
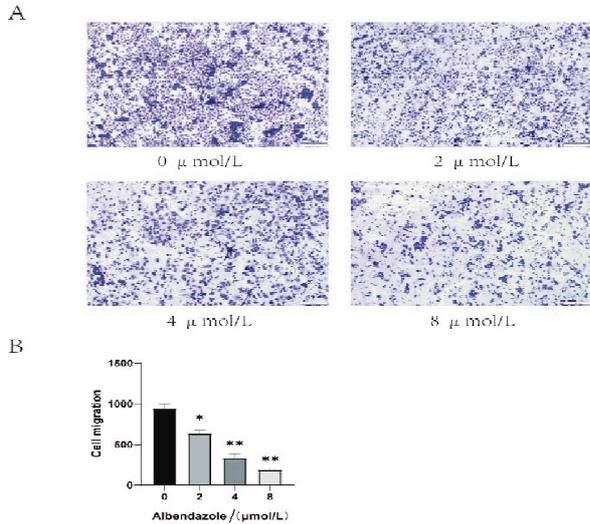


图 3 阿苯达唑对 KYSE-150 细胞横向迁移的影响

## 2.4 阿苯达唑抑制人食管鳞癌 KYSE-150 细胞纵向迁移

与空白对照组相比,随着阿苯达唑给药浓度的增加,细胞的迁移数量显著减少( $P < 0.05$ ),这表明阿苯达唑抑制了 KYSE-150 细胞的纵向迁移,并且这种抑制效果呈现出浓度依赖性。见图 4。

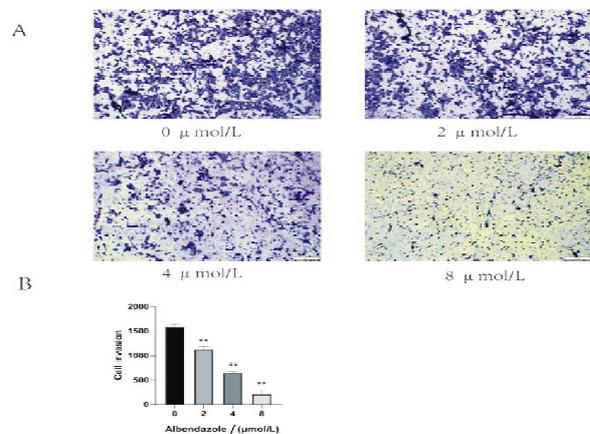


A. 不同浓度的阿苯达唑对 KYSE-150 细胞的纵向迁移情况(标尺:200μm);B. 阿苯达唑对 KYSE-150 细胞纵向迁移能力统计图(与空白对照组比较, \* $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ,  $n=3$ )。

图 4 阿苯达唑对 KYSE-150 细胞纵向迁移的影响

## 2.5 阿苯达唑抑制人食管鳞癌 KYSE-150 细胞横向侵袭

与空白对照组相比,随着阿苯达唑给药浓度的增加,细胞的侵袭率显著降低( $P < 0.05$ ),表明阿苯达唑能够抑制 KYSE-150 细胞的侵袭能力,并且这种抑制效果呈现出明显的浓度依赖性。见图 5。

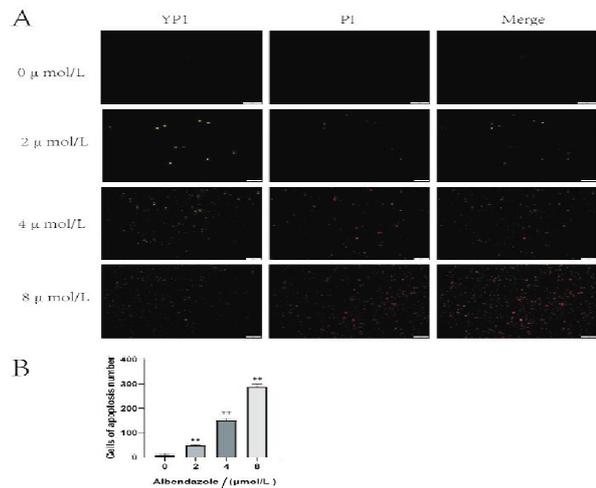


A. 不同浓度的阿苯达唑对 KYSE-150 细胞的横向侵袭情况(标尺:200μm);B. 阿苯达唑对 KYSE-150 细胞侵袭统计图(与空白对照组比较, \* $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ,  $n=3$ )。

图 5 阿苯达唑对 KYSE-150 细胞侵袭的影响

## 2.6 阿苯达唑诱导 KYSE-150 细胞凋亡

通过使用 YO-PRO-1/PI 染色法观察给药后细胞的凋亡情况。在相同曝光强度下,PI 标记的红色荧光和 YO-PRO-1 标记的绿色荧光的细胞数量逐渐增加。与对照组相比,随着阿苯达唑浓度的增加,阿苯达唑诱导食管鳞癌细胞凋亡的水平上升,如图 6 所示。

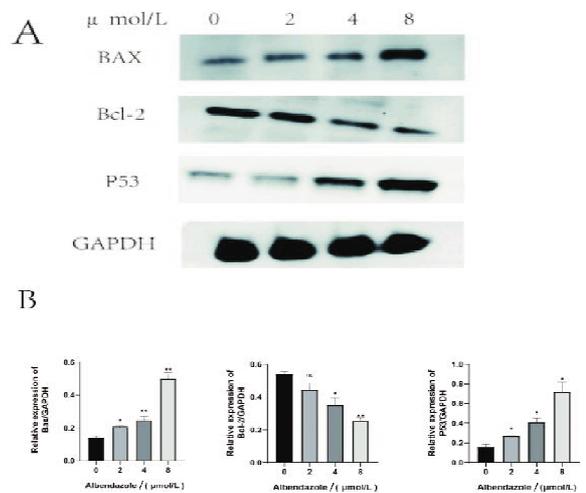


A. YO-PRO-1/PI 染色后细胞凋亡图(标尺:50μm);B. 细胞凋亡统计结果(与空白对照组比较, \*\* $P < 0.01$ ,  $n=3$ )。

图 6 阿苯达唑对 KYSE-150 细胞凋亡的影响

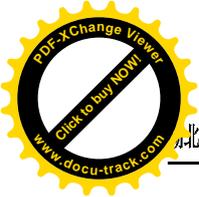
## 2.7 Western blot 实验检测肿瘤细胞 Bax、Bcl-2、P53 蛋白表达

不同浓度的阿苯达唑处理 KYSE-150 细胞 24h 后,Western blot 检测结果显示 Bcl-2 的表达下调,而 Bax 和 P53 的表达上调,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。见图 7。



与空白对照组比较, \* $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$ ,  $n=3$ 。

图 7 阿苯达唑对 KYSE150 细胞 Bax、Bcl-2、P53 蛋白表达的影响



### 3 讨论

根据2020年国家癌症中心的统计数据显示,食管鳞癌的发病率和死亡率在全国排名前五<sup>[2]</sup>。吸烟和饮酒是主要危险因素,化疗和放疗导致的耐药性和不良反应使治疗效果不佳。患者在早期往往没有明显的症状,而等到症状严重时已属晚期诊断。目前,中国治疗肿瘤的主要方式是手术切除为主,辅以放疗和化疗,但长期效果并不理想<sup>[3,4]</sup>。研究显示,中国食管鳞癌患者的5年生存率为20%<sup>[5]</sup>。鉴此,为开发安全性高、副作用小的药物用于治疗食管鳞癌患者以提高生存质量变得尤为重要。

阿苯达唑又称肠虫清,是一种抗寄生虫化合物,已在临床上使用了相当长的时间。该化合物能够破坏微管的形成,是一种广谱的苯并咪唑氨基甲酸酯类驱虫剂,具有较低的毒性,并被广泛用于人类和动物身上。阿苯达唑通过与 $\beta$ -微管蛋白结合并阻止微管的聚合,从而抑制寄生虫细胞的增殖。因此,它降低了寄生虫的存活和繁殖率。近年来,阿苯达唑也被用于癌症研究。阿苯达唑对肿瘤具有广泛的影响,包括抑制肿瘤生长、抑制增殖、阻滞细胞周期和促进细胞凋亡<sup>[6-8]</sup>。Kim等<sup>[9]</sup>的研究表明,阿苯达唑降低了蛋白 $\beta 1$ 和转录因子4的mRNA表达,并调节了Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路及其相关的Twist家族BHLH转录因子1和Bcl-2等靶点。阿苯达唑相关的氧化应激基因和Wnt/ $\beta$ -catenin信号蛋白表达的降低被认为与ROS的产生有关。Petersen等<sup>[10]</sup>研究发现,阿苯达唑对结直肠癌细胞的活性通过激活caspase-3、磷脂酰丝氨酸的暴露、DNA片段化、线粒体膜通透性和ROS产生等途径,促使细胞周期停滞在G<sub>2</sub>/M期,破坏微管蛋白聚合。

本研究观察到,在24h内以梯度浓度给予阿苯达唑作用于KYSE-150细胞后,与对照组相比,当给药浓度达到8 $\mu$ mol/L时,在显微镜下看细胞体积缩小且变圆;而当给药浓度增至16 $\mu$ mol/L及以上时,活细胞数量逐渐减少,表明阿苯达唑对KYSE-150细胞增殖的抑制具有浓度依赖性。在细胞凋亡试剂盒染色后的24h内,YO-PRO-1标记出绿色荧光的凋亡细胞,而PI标记的细胞则显示红色荧光。随着给药浓度的增加,凋亡和坏死细胞的数量逐渐增多,这表明阿苯达唑诱导KYSE-150细胞凋亡的效果与药物浓度相关。综上所述,研究结果表明阿苯达唑能有效抑制KYSE-150

细胞的增殖和迁移,并诱导细胞凋亡。

细胞凋亡是一种常见的程序性细胞死亡方式<sup>[11]</sup>,在维持组织稳态中发挥重要作用。然而,一旦信号通路发生变化,可能导致细胞凋亡失调,从而促进肿瘤的发生。细胞凋亡可以通过内源性和外源性途径,包括线粒体途径等多种方式展开。在内源性途径中,P53、Bcl-2和Bax蛋白是研究最为深入的效应器。P53通过与Bcl-2家族蛋白相互作用,参与调控内源性凋亡途径。Bcl-2家族蛋白在细胞凋亡过程中起着关键作用,其中,Bcl-2是一种抗凋亡蛋白,而Bax则是促凋亡蛋白,作为P53的下游信号,可被P53转录来抑制Bcl-2的活性,从而引发细胞的死亡。P53在调节细胞凋亡、细胞周期阻滞、衰老、DNA修复以及遗传稳定性方面发挥着主要调控作用,是细胞对多种刺激作出反应的重要协调者。

综上所述,体外实验结果显示,阿苯达唑能有效抑制KYSE-150的增殖和迁移,并通过上调Bax、P53以及下调Bcl-2蛋白表达来促进癌细胞的凋亡。然而,本研究仅完成了对体外实验的初步研究,后续计划进行动物实验,以验证阿苯达唑在动物体内是否具有类似的作用,从而为临床治疗食管鳞癌提供更为有效的手段。

### 参考文献:

- [1] THEN E O, LOPEZ M, SALEEM S, et al. Esophageal cancer: an updated surveillance epidemiology and end results database analysis[J]. World J Oncol, 2020, 11(2): 55
- [2] 刘宗超, 李哲轩, 张阳, 等. 2020全球癌症统计报告解读[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志, 2021, 7(2): 1
- [3] ZHANG X F, LIU P Y, ZHANG S J, et al. Principle and progress of radical treatment for locally advanced esophageal squamous cell carcinoma[J]. World J Clin Cases, 2022, 10(35): 12804
- [4] BELKHIRI A, EL-RIFAI W. Advances in targeted therapies and new promising targets in esophageal cancer[J]. Oncotarget, 2015, 6(3): 1348
- [5] THRIFT A P. Global burden and epidemiology of Barrett oesophagus and oesophageal cancer[J]. NAT REV GASTRO HEPAT, 2021, 18(6): 432
- [6] 刘胜莉, 章斌. 阿苯达唑抗肿瘤作用机制的研究进展[J]. 现代药物与临床, 2019, 34(6): 1927
- [7] CHAI J Y, JUNG B K, HONG S J. Albendazole and mebendazole as anti-parasitic and anti-cancer agents: an update[J]. Korean J Parasitol, 2021, 59(3): 189

(下转第296页)

# 双吗啉取代吡啶锌和铜配合物的合成、表征及抗癌活性初步研究\*

汪清清,潘耀,游双,黄鑫,熊衍才,王小波\*\*

(湖北科技学院医学部药学院,湖北咸宁437100)

**摘要:**目的 研究双吗啉取代吡啶锌、铜配合物( $Mor_2-Py-Zn$ 和 $Mor_2-Py-Cu$ )的合成,并探讨其抗癌活性。方法 以进入临床试验的拮抗剂AMD3100为先导化合物,设计、合成 $Mor_2-Py-Zn$ 和 $Mor_2-Py-Cu$ ,并以高分辨质谱法对它们进行表征。利用X射线单晶衍射法测定晶体结构,紫外-可见吸收光谱分析配合物与小牛胸腺DNA(CT-DNA)的相互作用,并利用形态学和MTT实验探索配合物对胶质瘤细胞的毒活性。结果  $Mor_2-Py-Zn$ 的晶体结构属于正交晶系,Pbca空间群,吡啶N、两个吗啉N及两个硝酸根的O原子与 $Zn^{2+}$ 形成了N3O2五配位的三角双锥构型。 $Mor_2-Py-Zn$ 和 $Mor_2-Py-Cu$ 均与CT-DNA在溶液中有一定的相互作用。 $Mor_2-Py-Zn$ 和 $Mor_2-Py-Cu$ 对U87的抑制活性都较弱,而对于U251则能显著抑制其增殖。MTT实验表明, $Mor_2-Py-Zn$ 和 $Mor_2-Py-Cu$ 对于U251细胞的 $IC_{50}$ 分别为 $18.11\mu mol/L$ 和 $14.66\mu mol/L$ 。结论  $Mor_2-Py-Zn$ 和 $Mor_2-Py-Cu$ 均表现出对U251胶质瘤细胞的抑制活性,具有继续深入研究其抗癌机理的价值。

**关键词:** 锌配合物;铜配合物;抗癌;人胶质瘤细胞;DNA相互作用;晶体结构

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2024)04-0292-005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0292



## Preliminary Studies of Synthesis, Characterization and Anticancer Activity of Zinc and Copper Complexes Based on Bis-Morpholine Substituted Pyridine

WANG Qing-qing, PAN Yao, WANG Xiao-bo, et al

(School of Pharmacy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

**ABSTRACT; Objective** To research the synthesis and anticancer activities of zinc and copper complexes based on bis-morpholine substituted pyridine ( $Mor_2-Py-Zn$  and  $Mor_2-Py-Cu$ ). **Methods** Taking the antagonist AMD3100, which entered the clinical trial, as the lead compound,  $Mor_2-Py-Zn$  and  $Mor_2-Py-Cu$  were designed and synthesized, and characterized by high resolution mass spectrometry. The crystal structure was determined by X-ray single crystal diffraction. The interaction between complexes and calf thymus DNA (CT-DNA) was studied by UV-Vis absorption spectroscopy, and the cytotoxicity against glioblastoma cells was further studied by morphological analysis and MTT assays. **Results**  $Mor_2-Py-Zn$  belongs to the orthorhombic system, pbca space group, pyridine N, two morpholine N and two nitrate O atoms form a triangular bipyramidal configuration of N3O2 pentagram with  $Zn^{2+}$ . Both  $Mor_2-Py-Zn$  and  $Mor_2-Py-Cu$  interacted with CT-DNA in solution to some extent. The two complexes showed weak inhibitory activity against U87, but obviously inhibited the proliferation of U251. Further, MTT assay showed that the  $IC_{50}$  of  $Mor_2-Py-Zn$  and  $Mor_2-Py-Cu$  for U251 cells were  $18.11\mu mol/L$  and  $14.66\mu mol/L$ , respectively. **Conclusion** Both  $Mor_2-Py-Zn$  and  $Mor_2-Py-Cu$  are valuable for further study of their anticancer mechanism, especially for U251 cells.

**KEY WORDS:** Zinc complex; Copper complex; Anticancer; Glioma cells; Interaction with DNA; Crystal structure

\* 基金项目:湖北省教育厅重点项目(D20212802)

\*\* 通讯作者, E-mail: eas7on@163.com

自顺铂被发现具有优异的抗癌活性以来,金属配合物作为一类区别于传统的有机小分子药物备受合成化学家和药物化学家的关注。尽管经典的铂类药物如顺铂、卡铂和奥沙利铂等在抗癌领域取得了巨大成就,但毒副作用、耐药性等问题一直成为制约其更广泛应用的瓶颈<sup>[1-2]</sup>。目前解决上述问题的思路有两种:①深入研究抗癌机理及其毒副作用和耐药性的根源,优化、改进配体结构,实现铂类药物的更新换代;②利用毒性更小、在生命体系中广泛存在的金属离子如 Zn、Cu 等取代 Pt,开发出具有良好抗癌活性且毒副作用更小的非铂类金属配合物,如锌、铜配合物。基于此,人们制备出了大量结构新颖、活性良好的金属配合物,包括 Pt、Ru、Os、Cu、Zn 配合物等<sup>[3-8]</sup>。

吗啉环作为含有 N、O 的六元杂环化合物,是一种具有生物活性分子的亚结构,包括止痛、抗炎、抗氧化、抗菌和抗癌等<sup>[9-11]</sup>。同时,N、O 由于富含孤对电子,容易与金属离子形成稳定的配位键。因此,将含吗啉的有机配体与  $Zn^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$  结合形成配合物<sup>[12-14]</sup>并研究它们的抗癌活性,也成为值得探索的研究方向。本课题拟在吡啶的 2,6 位对称性地引入两个吗啉环,并与  $Zn^{2+}$ 、 $Cu^{2+}$  形成配合物(图 1),研究其对胶质瘤细胞的抗癌活性。

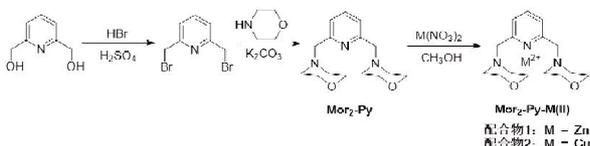


图 1 配合物  $Mor_2-Py-Zn$  与  $Mor_2-Py-Cu$  的合成路线

## 1 材料与方法

### 1.1 仪器与试剂

紫外-可见分光光度计(安捷伦 Cary 60), DRX-400 核磁共振仪(德国 Bruker), LCQ 电喷雾质谱仪(ThermoFisher), 荧光显微镜(奥林巴斯), 酶标仪(Gene Company Limited), 细胞培养箱(上海一恒科学仪器有限公司)等。

2,6-吡啶二甲醇(国药集团化学试剂有限公司), 氢溴酸(国药集团化学试剂有限公司), 浓硫酸(武汉化学试剂厂), 二甲亚砜(Adamas), 吗啉(Adamas),  $Cu(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ (Adamas),  $Zn(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ (Adamas), 小牛胸腺 DNA(Beyotime), 四甲基偶氮唑盐(Beyotime)等。

## 1.2 方法

### 1.2.1 $Mor_2-Py$ 的合成

2,6-二溴甲基吡啶的合成参见文献<sup>[8]</sup>。将 0.9g 的 2,6-二溴甲基吡啶(3.4mmol)溶于 20mL  $CH_3CN$ , 加入  $K_2CO_3$  约 1.4g。在  $85^\circ C$  下搅拌反应并逐渐加入含吗啉 0.6g (6.8mmol) 的 30mL  $CH_3CN$  溶液。滴完后,继续反应 14h。冷却至室温,过滤除去  $K_2CO_3$ , 减压旋干,得黄色油状粘稠液体。以 100mL 二氯甲烷溶解后加入适量无水硫酸钠,干燥过夜。抽滤,旋蒸,得淡黄色固体 0.8g, 产率 85%。通过  $^1H$  NMR、 $^{13}C$  NMR 和 ESI-MS 对该合成物进行鉴定。

### 1.2.2 $Mor_2-Py-Zn$ 和 $Mor_2-Py-Cu$ 的合成

称取 175.9mg  $Mor_2-Py$  (0.63mmol) 溶于 25mL 无水甲醇后,加入  $Zn(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$  (206.5mg, 0.69mmol)。于  $50^\circ C$  下搅拌反应 6h 后,减压旋蒸至干,得淡黄色  $Mor_2-Py-Zn$  固体粉末。 $Mor_2-Py-Cu$  的制备同  $Mor_2-Py-Zn$  类似,只是将  $Zn(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$  改为  $Cu(NO_3)_3 \cdot 6H_2O$ 。通过 HRMS 对两合成物分别进行鉴定。

### 1.2.3 $Mor_2-Py-Zn$ 的晶体结构测定

将  $Mor_2-Py-Zn$  粉末以适量无水甲醇微热溶解,静置挥发结晶。约一周后,析出淡黄色块状晶体。对于  $Mor_2-Py-Cu$ , 我们反复尝试改变晶体培养条件,都没有得到其单晶。晶体结构数据在东京理化四圆单晶衍射仪上收集。单晶采用  $Cu K\alpha$  射线( $\lambda = 0.154178nm$ )为入射光源,以  $\omega-\phi$  的扫描方式收集衍射点。以 SMART 和 SAINT 程序对数据进行还原和晶胞参数修正,以 SHELXTL-2014 和经验法进行吸收校正,结构用直接法求解。所有非氢原子均用全矩阵最小二乘法对  $F^2$  各相异性修正,氢原子的加氢方式为理论加氢。配合物  $Mor_2-Py-Zn$  的 CCDC 号为 2321997。由上述方法得到配合物  $Mor_2-Py-Zn$  的主要晶体学数据列于表 1。

表 1  $Mor_2-Py-Zn$  的晶体测试数据和解析精修参数值

晶体学参数	参数值	晶体学参数	参数值
化合物	$Mor_2-Py-Zn$	$\beta/^\circ$	90
分子式	$C_{15}H_{22}N_2O_4Zn$	$\gamma/^\circ$	90
分子量	466.75	晶体大小/ $nm^3$	3988.80(9)
温度/K	293	$h$	$-13 \leq h \leq 18$
晶系	正交	$k$	$-18 \leq k \leq 18$
空间群	Pbca	$l$	$-19 \leq l \leq 19$
$a/nm$	15.9335(2)	数据收集的 $\theta$ 范围/ $^\circ$	4.832 - 66.599
$b/nm$	15.4311(2)	$R(int)$	0.1316
$c/nm$	16.2231(2)	数据/几何限制/参数	3522/1/262
$Z$	8	$F^2$ 拟合度	1.163
$\omega/^\circ$	90	$R_1, wR_2 [I > 2\sigma(I)]$	0.0934, 0.2793

### 1.2.4 $Mor_2-Py-Cu$ 及 $Mor_2-Py-Zn$ 与 DNA 的相互

## 作用

通过向含有  $40\mu\text{mol/L}$  配合物的缓冲溶液中梯度加入 CT-DNA 的方法,采用紫外光谱法对比研究了  $\text{Mor}_2\text{-Py-Zn}$  和  $\text{Mor}_2\text{-Py-Cu}$  与 CT-DNA 的相互作用。

### 1.2.5 $\text{Mor}_2\text{-Py-Cu}$ 及 $\text{Mor}_2\text{-Py-Zn}$ 对 U87 及 U251 细胞的增殖抑制

选取 U87 和 U251 这两种人脑星形胶质母细胞瘤细胞和人神经胶质细胞瘤细胞作为实验对象。以  $0\mu\text{mol/L}$  的  $\text{Mor}_2\text{-Py-Zn}$  和  $\text{Mor}_2\text{-Py-Cu}$  为对照组,且以  $50\mu\text{mol/L}$  (PBS buffer, 0.03% DM-SO) 的  $\text{Mor}_2\text{-Py-Zn}$  和  $\text{Mor}_2\text{-Py-Cu}$  分别对上述细胞进行了 48h 孵育,然后通过荧光显微镜在  $\times 4$ 、 $\times 10$  和  $\times 20$  放大倍数下观察细胞形态的变化。再以  $0$ 、 $2.5$ 、 $5$ 、 $10$ 、 $20$ 、 $40$ 、 $50\mu\text{mol/L}$  的浓度梯度,通过 MTT 实验充分评估  $\text{Mor}_2\text{-Py-Zn}$  和  $\text{Mor}_2\text{-Py-Cu}$  对 U87 和 U251 的生物相容性与细胞毒性。细胞存活率计算公式为细胞存活率% = (加药细胞 OD/对照细胞 OD)  $\times 100$ 。

## 2 结果

### 2.1 $\text{Mor}_2\text{-Py}$ 、 $\text{Mor}_2\text{-Py-Zn}$ 和 $\text{Mor}_2\text{-Py-Cu}$ 的合成

$\text{Mor}_2\text{-Py}$  合成鉴定结果如下:  $^1\text{H}$  NMR ( $400\text{MHz}$ ,  $\text{CDCl}_3$ ):  $\delta$  7.63 (t,  $J = 7.6\text{Hz}$ , 1H), 7.32 (s, 1H), 7.31 (s, 1H), 3.73 (t, 8H), 3.67 (s, 4H), 2.52 (t, 8H), 见图 2。  $^{13}\text{C}$  NMR ( $100\text{MHz}$ ,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  157.7, 136.8, 121.5, 77.3, 76.7, 67.0, 64.8, 53.8, 见图 3。 ESI-MS:  $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_2$ , 理论值 277.36, 实测值  $[\text{M} + \text{H}]^+$ : 278.1854, 见图 4。

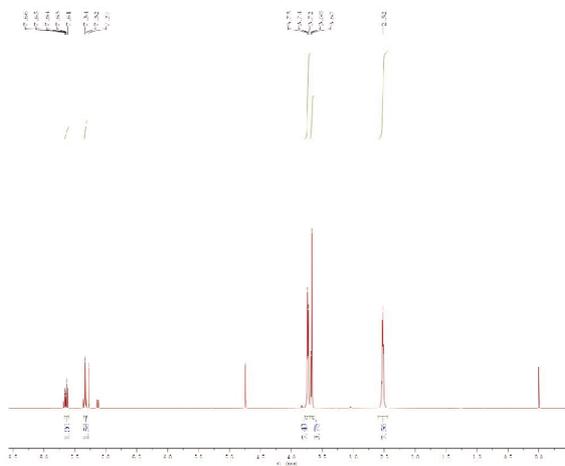


图2  $\text{Mor}_2\text{-Py}$  的  $^1\text{H}$  NMR 图 ( $400\text{MHz}$ ,  $\text{CDCl}_3$ )

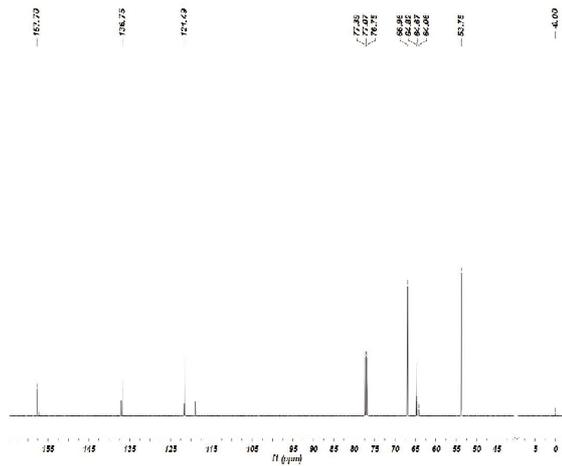


图3  $\text{Mor}_2\text{-Py}$  的  $^{13}\text{C}$  NMR 图 ( $100\text{MHz}$ ,  $\text{CDCl}_3$ )

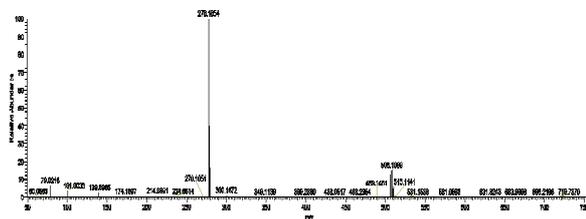


图4  $\text{Mor}_2\text{-Py}$  的质谱图

$\text{Mor}_2\text{-Py-Zn}$  合成鉴定结果如图 5 HRMS:  $[\text{Mor}_2\text{-Py-Zn} + \text{NO}_3^- + \text{H}_2\text{O}]^+$ , 理论值 422.1093, 实测值 422.1190。

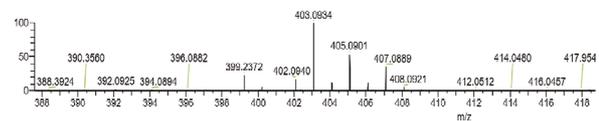
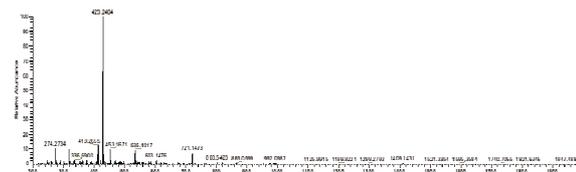


图5  $\text{Mor}_2\text{-Py-Zn}$  的高分辨质谱图

$\text{Mor}_2\text{-Py-Cu}$  的制备同  $\text{Mor}_2\text{-Py-Zn}$  类似,只是将  $\text{Zn}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  改为  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 。 $\text{Mor}_2\text{-Py-Cu}$  合成鉴定结果如图 6。HRMS:  $[\text{Mor}_2\text{-Py-Cu} + \text{NO}_3^- + 1.5\text{H}_2\text{O}]^+$ , 理论值 429.1118, 实测值 429.2404。



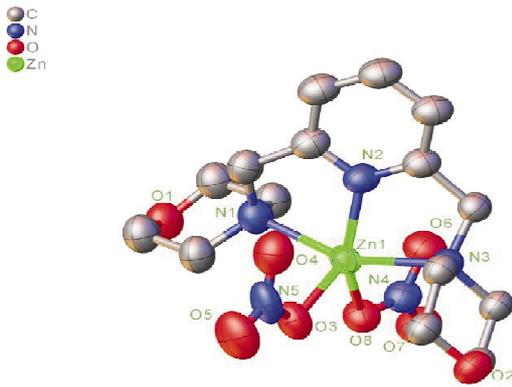


图7 Mor<sub>2</sub>-Py-Zn的晶体结构

表2 Mor<sub>2</sub>-Py-Zn晶体中的重要键长与键角

键名	键长/nm	键名	键角/°	键名	键角/°
Zn1-N1	0.2258(6)	N1-Zn1-N2	77.6(2)	N2-Zn1-O3	131.4(2)
Zn1-N2	0.2021(5)	N1-Zn1-N3	155.1(2)	N2-Zn1-O8	141.5(2)
Zn1-N3	0.2314(5)	N1-Zn1-O3	95.8(2)	N3-Zn1-O3	102.0(2)
Zn1-O3	0.2011(5)	N1-Zn1-O8	98.5(2)	N3-Zn1-O8	99.6(2)
Zn1-O8	0.2038(5)	N2-Zn1-N3	77.7(2)	O3-Zn1-O8	86.9(2)

### 2.3 Mor<sub>2</sub>-Py-Cu及Mor<sub>2</sub>-Py-Zn与DNA的相互作用

Mor<sub>2</sub>-Py-Zn和Mor<sub>2</sub>-Py-Cu与CT-DNA的相互作用结果,如图8所示,两个配合物的特征吸收峰均在263nm附近,随着CT-DNA的加入,吸收峰位置几乎未发生红移或蓝移,而峰的强度逐渐增加,即发生了增色效应,表明Mor<sub>2</sub>-Py-Zn和Mor<sub>2</sub>-Py-Cu均与CT-DNA发生了一定程度的相互作用,且两者的增色能力非常接近。但具体作用方式是否为嵌插结合、沟槽结合还是静电结合,以及结合能力的评估尚不明确,还需进一步通过其它实验如荧光滴定等来确定。

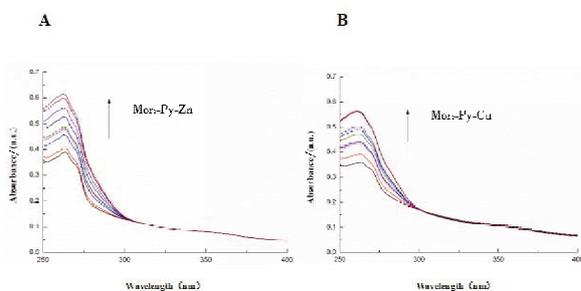
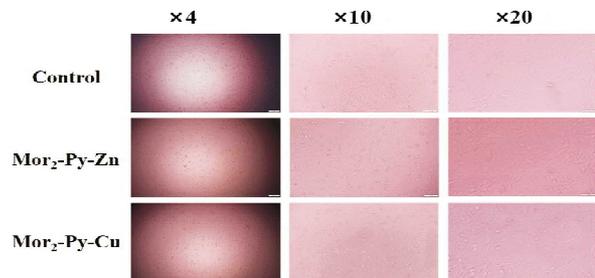


图8 紫外-可见吸收光谱图

### 2.4 Mor<sub>2</sub>-Py-Cu及Mor<sub>2</sub>-Py-Zn对U87和U251细胞的增殖抑制

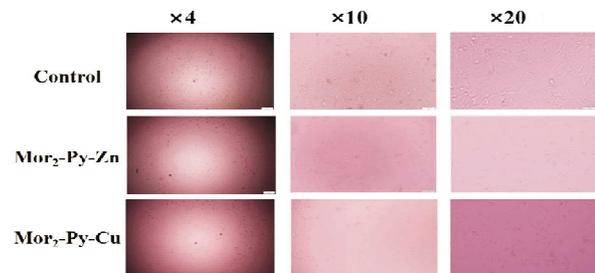
U87细胞分别在×4、×10和×20放大倍数

下观察,存活数量和形态均未明显改变,表明Mor<sub>2</sub>-Py-Zn和Mor<sub>2</sub>-Py-Cu(图9)对U87细胞的抑制活性都较弱。而对于U251细胞,分别在×4、×10和×20放大倍数下观察,细胞密度大幅减小,细胞活力也显著降低,说明Mor<sub>2</sub>-Py-Zn和Mor<sub>2</sub>-Py-Cu(图10)分别对U251具有较好的增殖抑制活性。



Control组为0μmol/L Mor<sub>2</sub>-Py-Zn和Mor<sub>2</sub>-Py-Cu; Mor<sub>2</sub>-Py-Zn组和Mor<sub>2</sub>-Py-Cu组均为50μmol/L。

图9 2个配合物对U87细胞的抑制情况

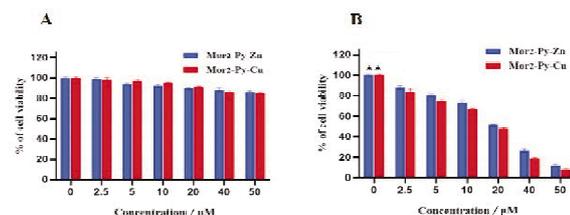


Control组为0μmol/L Mor<sub>2</sub>-Py-Zn和Mor<sub>2</sub>-Py-Cu; Mor<sub>2</sub>-Py-Zn组和Mor<sub>2</sub>-Py-Cu组均为50μmol/L。

图10 2个配合物对U251细胞的抑制情况

### 2.5 Mor<sub>2</sub>-Py-Zn及Mor<sub>2</sub>-Py-Cu对U87和U251细胞的生物相容性和细胞毒性

48h的MTT结果显示,在0~50μmol/L的浓度范围内,Mor<sub>2</sub>-Py-Zn及Mor<sub>2</sub>-Py-Cu对U87细胞的IC<sub>50</sub>均大于100μmol/L,表明2个配合物对U87细胞的抗癌活性均较差(图11A)。而对于U251细胞,细胞活力随着2个配合物浓度的增加均显著降低(图11B),IC<sub>50</sub>分别为18.11μmol/L和14.66μmol/L,且只有约8%~15%的细胞存活,表明2个配合物对U251细胞均具有较好的抗癌活性。



A.不同浓度的Mor<sub>2</sub>-Py-Zn和Mor<sub>2</sub>-Py-Cu共孵育U87细胞;B.不同浓度的Mor<sub>2</sub>-Py-Zn和Mor<sub>2</sub>-Py-Cu共孵育U251细胞(与0μmol/L对照组比较,\*P<0.05,n=5)。

图11 U87和U251细胞的细胞活力



### 3 讨论

本文围绕双吗啉取代吡啶类锌、铜配合物的合成、结构表征和抗癌活性展开了一系列研究。其中  $Mor_2-Py-Zn$  的晶体结构揭示它属于正交晶系,  $Pbca$  空间群, 三个 N 原子(分别来自吡啶环与两个吗啉环)及两个硝酸根的 O 原子与  $Zn^{2+}$  形成了  $N3O2$  的五配位构型。反复尝试仍没得到  $Mor_2-Py-Cu$  的晶体结构, 这可能是由于金属材料的导热性太好所造成, 晶体的形成受外界干扰越小越容易形成, 而金属铜相较金属锌具有更好的导热性能, 受外界干扰大, 故极难形成晶体。紫外-可见吸收光谱表明  $Mor_2-Py-Zn$  和  $Mor_2-Py-Cu$  与 CT-DNA 均有一定程度的相互作用能力。更重要的是, 细胞孵育实验显示我们所制备的两个过渡金属配合物对人神经胶质瘤细胞 U251 具有良好的抑制效果。MTT 实验表明,  $Mor_2-Py-Zn$  及  $Mor_2-Py-Cu$  对 U251 细胞的  $IC_{50}$  分别为  $18.11 \mu mol/L$  和  $14.66 \mu mol/L$ , 且以  $50 \mu mol/L$  浓度孵育细胞 48h 后, 只有约 8~15% 的细胞存活, 进一步证实了 2 个配合物对 U251 细胞均具有较好的抗癌活性。我们将在后续实验中深入研究其对 U251 胶质瘤细胞的抗癌机制。

### 参考文献:

- [1] 朱阳, 程璐洁, 刘扬中. 铂类抗肿瘤配合物的研究进展[J]. 药学进展, 2020, 44(4): 243
- [2] YU C, WANG Z, SUN Z, et al. Platinum-based combination therapy: molecular rationale, current clinical uses, and future perspectives[J]. J Med Chem, 2020, 63(22): 13397
- [3] 张劲祥, 黄伟国, 黄嘉良, 等. 高共轭性的四苯基卟啉-钌(II)联吡啶配合物的合成、光学性质及光动力抗癌活性[J]. 无机化学学报, 2022, 38(12): 2383
- [4] 张凯龙, 余志坚, 邱佳庆, 等. 小分子钌配合物的药学研究[J]. 化学通报, 2019, 82(11): 972
- [5] VAN RIJT S H, PEACOCK A F A, JOHNSTONE R D L,

et al. Organometallic osmium(II) arene anticancer complexes containing picolinate derivatives[J]. Inorg Chem, 2009, 48(4): 1753

- [6] 侯晓晓, 秦秀英. 铜配合物在抗肿瘤方面的研究进展[J]. 广东化工, 2021, 48(9): 172
- [7] 任丽磊, 彭晓霞, 王树军, 等. 5-氟尿嘧啶卟啉锰/锌配合物的合成、光电性质及抗癌活性[J]. 无机化学学报, 2019, 35(6): 965
- [8] 唐婉毓, 何雨慧, 张清茹, 等. 含多吡啶的铜、镍、锌配合物的合成与抗癌活性研究[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2023, 37(3): 196
- [9] 陈艳华, 侯照彦, 支德福, 等. 齐墩果酸和熊果酸衍生物的合成、表征及抗癌活性的研究[J]. 有机化学, 2016, 36(4): 795
- [10] 刘琴, 王晓宇, 韦昆, 等. 烯酰吗啉-福美双超低容量喷雾剂的制备与应用[J]. 化学试剂, 2020, 42(12): 1409
- [11] 王润宾, 韩天植, 李知敏, 等. 一种含吗啉修饰的多吡啶钌(II)配合物的合成、表征与抗金黄色葡萄球菌作用研究[J]. 人工晶体学报, 2023, 52(10): 1842
- [12] SALEEM S S, SANKARGANESH M, JOSE P A, et al. Design, synthesis, antioxidant, antimicrobial, DNA binding and molecular docking studies of morpholine based Schiff base ligand and its metal(II) complexes[J]. Inorg Chem Commun, 2021, 124: 108396
- [13] SANKARGANESH M, RAJESH J, KUMAR V G, et al. Synthesis, spectral characterization, theoretical, antimicrobial, DNA interaction and in vitro anticancer studies of Cu(II) and Zn(II) complexes with pyrimidine-morpholine based Schiff base ligand[J]. J Saudi Chem Soc, 2018, 22(4): 416
- [14] KUMAR R V, REDDY V P, DEEPIKA N, et al. Luminescent behavior of Ru(II) polypyridyl morpholine complexes, synthesis, characterization, DNA, protein binding, sensor effect of ions/solvents and docking studies[J]. J Fluoresc, 2016, 26(2): 689
- [15] 莫慧雯, 刘雅娴, 蔡戴宏, 等. 5-甲基-2-(2'-吡啶基)苯并咪唑及甘氨酸根铜(II)配合物的合成、DNA 结合及抗癌活性[J]. 无机化学学报, 2019, 35(3): 477

(收稿日期: 2023-12-12)

(上接第 291 页)

- [8] KWON H, YOO Y, CHO J, et al. Study on cytotoxic effects of anthelmintic albendazole in various human cancer and normal cell lines[J]. Korea Science Educ Soc Gifted, 2022, 14(3): 207
- [9] KIM U, SHIC C, KIM C Y, et al. Albendazole exerts anti-proliferative effects on prostate cancer cells by inducing reactive oxygen species generation[J]. Oncol Lett, 2021, 21(5): 395
- [10] PETERSEN JSSM, BAIRD S K. Treatment of breast and

colon cancer cell lines with anti-helminthic benzimidazoles mebendazole or albendazole results in selective apoptotic cell death[J]. J Cancer Res Clin, 2021, 147(10): 2945

- [11] ESCOBAR E, GOMEZ-VALENZUELA F, PENAFIEL C, et al. Aberrant immunexpression of p53 tumour-suppressor and Bcl-2 family proteins (Bcl-2 and Bax) in ameloblastomas and odontogenic keratocysts[J]. J Clin Exp Dent, 2023, 15(2): e125

(收稿日期: 2024-03-12)



# 蕪艾精油纳米乳的制备及伪三元相图的绘制

卢博成<sup>1</sup>,程丽媛<sup>1</sup>,彭小航<sup>1</sup>,丁洁琼<sup>2\*</sup>

(1. 湖北科技学院医学部药学院,湖北 咸宁 437100;2. 湖北科技学院医学部基础医学院)

**摘要:**目的 制备蕪艾精油纳米乳,提高艾叶精油稳定性,解决艾叶精油易挥发、易变质、不易长期保存的问题。**方法** 采用机械法制备蕪艾叶精油纳米乳,通过离心实验筛选乳化剂泊洛沙姆 188、吐温 20、吐温 80,助乳化剂无水乙醇、甘油、正丁醇,以及油水相的比例,制备的乳剂通过粒径分析仪、光学显微镜对粒径、PDI、 $\zeta$  电位、形态表征。采用含水量-电导率法绘制蕪艾精油纳米乳伪三元相图,确定最佳处方工艺。**结果** 经筛选制备的蕪艾精油纳米乳最佳工艺为:乳化剂泊洛沙姆 188、助乳化剂无水乙醇、油相大豆油、水相为去离子水、该乳剂的粒径 91.1nm、 $\zeta$  电位-6.63mv、PDI 为 0.225、Km 值为 0.375,高速离心后未见沉淀以及油水分离。**结论** 用该方法制备的蕪艾精油纳米乳制备工艺简单,稳定性好,为进一步推广蕪艾精油打下基础。

**关键词:**载药体系;纳米乳;伪三元相图;电导率; $\zeta$  电位;PDI

中图分类号:R966

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2024)04-0297-004

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0297



## Preparation and Pseudo Ternary Phase Diagram Plotting Method of Nanoemulsion Containing Artemisia Argyi Essential Oil

LU Bo-cheng, CHENG Li-yuan, DING Jie-qiong, et al

(School of Pharmacy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

**ABSTRACT; Objective** To prepare the nanoemulsion of *A. argyi* essential oil, improve the stability of *A. argyi* essential oil, and solve the problem of volatile deterioration and difficulty to long term storage of *A. argyi* essential oil. **Methods** The mechanical method was used to prepare the nanoemulsion of essential oil of *A. argyi* leaves, and the emulsifiers Poloxamer188, Tween 20, Tween 80, the co-emulsifier anhydrous ethanol, glycerol, n-butanol and the proportion of oil-water phase were screened by centrifugation. The prepared emulsion was characterized by a particle size analyzer and optical microscope for particle size, PDI,  $\zeta$  potential and morphology. The water content conductivity method was used to draw the pseudo-ternary phase diagram of *A. argyi* essential oil nanoemulsion to determine the optimal process. **Results** The optimal process for the preparation of *A. argyi* essential oil nanoemulsion were as follows: emulsifier Polysorbate 188, co-emulsifier anhydrous ethanol, oil phase soybean oil, aqueous phase deionized water, with a particle size of 91.1 nm,  $\zeta$  potential of -6.63 mV, PDI of 0.225 and Km value of 0.375. After high-speed centrifugation, no-precipitation or phase separation was observed. **Conclusion** The nanoemulsion of *A. argyi* essential oil prepared in this experiment was easily available and stable, and laid a foundation for the further promotion of *A. argyi* essential oil.

**KEY WORDS:** Drug-loading system; Nanoemulsion; Pseudo-ternary phase diagram; Electrical conductivity;  $\zeta$  potential; PDI

艾叶精油又叫艾草精油、艾叶挥发油,因其挥发油中含有多种有效活性成分而起到抗病毒、抗炎、抗菌等药理活性成份,在治疗疾病方面作用广泛<sup>[1]</sup>。艾叶精油含量最多成分是桉油精<sup>[2]</sup>,但桉油精因放置时间过久,易受空气、温度、湿度的因素影响,导致有效成分挥发分解<sup>[3]</sup>、长期保存易发生变质,稳定性较差,制备成纳米乳剂<sup>[4-5]</sup>能有效

解决该问题。

为更好的构建药物传递系统,发挥艾叶精油的神奇疗效,本实验针对艾叶精油易挥发的特点,设计了一种纳米乳的载药体系,采用机械法制备蕪艾叶精油纳米乳。在处方优化上,离心筛选乳化剂(泊洛沙姆 188、吐温 20、吐温 80),助乳化剂(无水乙醇、甘油、正丁醇),以及油水相的比例,进

\* 通讯作者, E-mail: djq197911@163.com



进一步优化纳米乳的载药结构并通过离心实验、粒径分析仪、光学显微镜对其纳米乳剂的粒径、PDI、 $\zeta$  电位、形态进行结构验证,确定纳米乳的最佳处方工艺。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料与仪器

泊洛沙姆 188(武汉拉那白医药化工有限公司)、吐温 80(天津市科密欧化学试剂开发厂)、吐温 20(天津市科密欧化学试剂开发厂)、正丁醇(天津欧博凯化工有限公司)、无水乙醇(国药集团化学试剂有限公司)、甘油(天津市博迪化工有限公司)、蕪艾精油(武汉市新洲区创华玻璃仪器经营部)。

FA224 电子分析(上海舜宇恒平仪器)、多头磁力加热搅拌器(常州国华电器有限公司)、Zetasizer Nano ZS90 型纳米粒度仪(英国 Malvern 公司)、SLDS- I 型电导率仪(南京桑力电子厂)、超声波细胞粉碎隔音箱(南京舜玛仪器设备有限公司)、台式高速离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 蕪艾纳米乳的制备方法

(1)蕪艾精油的提取。本品原料为湖北蕪春本地蕪艾,精油提取物由武汉市新洲区创华玻璃仪器经营部提供。将蕪艾采摘后,取其叶打粉,后加入 10 倍蒸馏水,浸泡 24h,采用水蒸馏法提取<sup>[6]</sup>,回流提取 4h,温度 105℃,即得。

(2)蕪艾纳米乳中乳化剂的初步筛选。为更好提高蕪艾纳米乳稳定性,应筛选出适合的乳化剂,本实验初步筛选了 3 种乳化剂,吐温 20、吐温 80、泊洛沙姆 188,并配置相同浓度 3%、5% 的水溶液,加入到相同量的艾叶精油与大豆油的混合油相中,超声乳化 2min,将制备的乳剂高速离心,观察有无油水分离现象。

(3)蕪艾纳米乳中助乳化剂的初步筛选。确定乳化剂后,同上述相同步骤,筛选助乳化剂。通过高速离心实验筛选 3 种助乳化剂(无水乙醇、甘油、正丁醇)。

(4)蕪艾纳米乳中  $K_m$  值的筛选。进一步地,确定了乳化剂与助乳化剂后,则可确定  $K_m$  值, $K_m$  值为乳化剂与助乳化剂的质量比,本实验设计了 3 种不同的  $K_m$  值 0.375、1、2,再通过 8000r/min 高速离心 15min,观察得出最佳  $K_m$  值。

(5)蕪艾纳米乳伪三元相图的绘制。在确定了乳化剂与助乳化剂后,配置一定质量乳化剂和助乳化剂于烧杯中,磁力搅拌 20min 左右,然后将上述混合表面活性剂(乳化剂与助乳化剂)与油相以质量比 9:1、8:2、7:3、6:4、5:5、4:6、3:7、2:8、1:9 混合置于 20mL 西林瓶中,总计混合质量为 1g,通过磁力搅拌器约 500r/min 搅拌 10min,将混合物在室温条件下静置 15min,用移液管逐渐滴加去离子水,边搅拌边滴加。反复操作观察乳剂形态的变化<sup>[7-8]</sup>。目测法测定溶液由澄清变半透明状态再到白色乳状。

(6)蕪艾纳米乳最大含水量的测定。取制备后的蕪艾精油纳米乳原液 2g,每次加入 0.2g 去离子水,500r/min 磁力搅拌 20s,测定电导率和含水量,直至含水量达到乳液总质量的 80%,记录反复上述操作,采用 Origin 2021 软件绘制电导率-含水量曲线,以电导率最大值对应的含水量为临界点。

#### 1.2.2 蕪艾精油纳米乳的稳定性评价

(1)纳米乳的粒径测定方法。取纳米乳样品 0.2mL,用去离子水稀释 5 倍,0.22 $\mu$ m 微孔滤膜过滤后用激光粒度仪测定粒径大小以及粒径分布<sup>[9]</sup>。

(2)纳米乳的  $\zeta$  电位测定。按上述步骤,测量纳米乳粒径的同时也可测得  $\zeta$  电位的大小。

(3)蕪艾精油纳米乳的稳定性考察。取制备后的蕪艾精油纳米乳在 8000r/min 离心 15min 后,观察有无明显沉淀或油水分离的情况。

#### 1.2.3 不同含水量下艾叶精油成乳的形态

采用光学显微镜,对制备的蕪艾精油纳米乳进行取样分析,观察不同含水量下纳米乳的形态、成乳情况。

## 2 结果

### 2.1 蕪艾精油的提取

经实验验证:艾叶与蒸馏水的液料比为 1:10,蒸馏水浸泡 24h 后,得到的精油为清亮透明液绿状,并伴有刺激性气味。

### 2.2 蕪艾纳米乳中乳化剂的初步筛选

将少量的艾叶精油加入到吐温 20、吐温 80、泊洛沙姆 188 中,并配置相同浓度 3%、5% 浓度的水溶液,超声 2min 后,高速离心,其实验结果见表 1。筛选乳化剂为泊洛沙姆 188 为 3%、5% 时,在 8000r/min,离心 15min 后均不分层,因此,筛选较低浓度 3% 的泊洛沙姆 188 为乳化剂。

表1 不同浓度乳化剂的分层情况

乳化剂	分层情况	乳化剂	分层情况
5%吐温20	分层	3%吐温20	分层
5%吐温80	未见明显分层	3%吐温80	未见明显分层
5%泊洛沙姆188	不分层	3%泊洛沙姆188	不分层

### 2.3 蕪艾纳米乳中助乳化剂的初步筛选

确定以3%的泊洛沙姆188为乳化剂后,筛选助乳化剂,选用无水乙醇做助乳化剂不分层(表2),因此,选用无水乙醇为助乳化剂。

### 2.4 蕪艾精油纳米乳中 $K_m$ 值的筛选

$K_m$  值为乳化剂与助乳化剂的质量比,在实际实验中,制备蕪艾精油纳米乳参照蕪艾精油在乳化剂、助乳化剂、以及油水相的分散情况进行配比。

实验结果表明: $K_m$  值约为0.375时,乳剂的稳定最好,在高速离心实验下不分层,见表2。

表2 不同  $K_m$  值、助乳化剂对蕪艾精油纳米乳剂的分层情况

乳化剂	助乳化剂	$K_m=0.375$	$K_m=1$	$K_m=2$
3%泊洛沙姆188	无水乙醇	未分层	未见明显分层	未见明显分层(流动性较好)
3%泊洛沙姆188	甘油	分层明显	分层明显	分层明显
3%泊洛沙姆188	正丁醇	未见明显分层	未见明显分层	未见明显分层

### 2.5 蕪艾纳米乳最大含水量的测定

确定乳化剂、助乳化剂、 $K_m$  值后,再确定乳剂的最大含水量,采用含水量-电导率法测得 O/W 型蕪艾精油纳米乳剂的最大含水量<sup>[10]</sup>,在常温下电导率仪测得 O/W 型最大含水量为 71.8% (图1),随着水相去离子水的进一步增加,乳液整体体积增大,乳剂离子浓度逐渐减小,因此电导率曲线出现下降趋势。

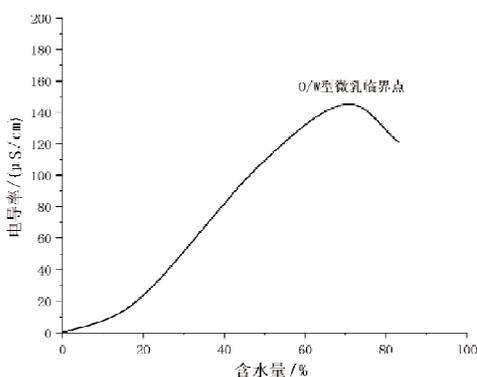


图1 处方中电导率-含水量曲线

### 2.6 蕪艾纳米乳伪三元相图的绘制

绘制的伪三元相图如图2所示,随着水相的不断增加,蕪艾纳米乳存在两种乳剂状态,一种是 W/O 型乳剂,另一种是 O/W 型乳剂(图3)。含水量的增加、水分子的逐渐渗透,乳剂由 W/O 向 O/W 逐渐过渡<sup>[11]</sup>。

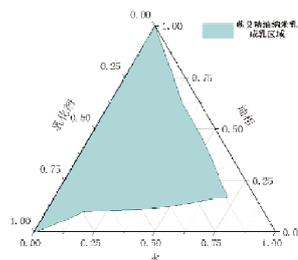


图2 蕪艾纳米乳伪三元相图的绘制



左 O/W 型,右 W/O 型。

图3 蕪艾纳米乳类型鉴别图

### 2.7 蕪艾精油纳米乳的质量评价

(1) 蕪艾精油纳米乳的粒径、PDI 测定。蕪艾精油纳米乳的外观如图4所示,粒径分布均匀、分散程度良好,粒径为 91.1nm (图5),PDI 为 0.225。



图4 蕪艾精油纳米乳实物图

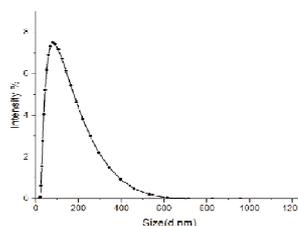


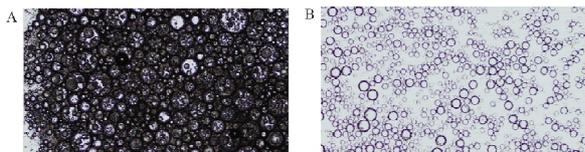
图5 蕪艾精油纳米乳的粒径分布均匀

(2) 纳米乳的  $\zeta$  电位测定。在测量粒径的同时,也可测得电位,经测定蕪艾精油纳米乳  $\zeta$  电位为  $-6.63\text{mv}$ 。

(3) 蕪艾精油纳米乳的稳定性考察。经  $8000\text{r}/\text{min}$ ,离心  $15\text{min}$  实验后的蕪艾精油纳米乳未见沉淀和油水分离,表明该乳液稳定。

## 2.8 不同含水量下艾叶精油成乳的形态

在光学显微镜下,蕪艾精油纳米乳存在两种不同的乳剂状态,一种是 W/O 型乳剂,另一种是 O/W 型乳剂。乳剂的转相是因为乳剂处方中油水比例不同,导致乳状结构发生变化,其中乳剂的油相越多,越易形成 W/O 型乳剂(图 6A),反之则越易出现 O/W 型乳剂(图 6B)。在实验中 7:3 到 4:6 乳剂的有机相为白色乳状,其他比例为半透明状,伪三元相图最大含水量比例在 5:5 到 6:4 之间。随着含水量的逐渐增加,乳剂从 W/O 型逐步过渡到 O/W 型并被无限稀释。



A. 光学显微镜下 W/O 型乳剂(含水量 30%);B. 光学显微镜下 O/W 型乳剂(含水量 70%)。

图 6 蕪艾精油纳米乳的形态

## 3 讨论

纳米乳是一种通过乳化剂交联<sup>[12]</sup>,使油相与水相按一定比例混合而成的非均相特殊载药体系。通过改变载药体系间的空间结构,使得相与相之间的表面活性张力发生变化,分子由开始无序的状态,发展成空间结构更为稳定的双电层结构,首先能够防止艾叶精油中的有效成分挥发分解,致使艾叶精油在常温下贮存更稳定。其次,纳米乳的结构比细胞的结构更小,因其独有的尺寸结构能够产生相应的小尺寸效应,更易被人体吸收而提高生物利用度<sup>[13]</sup>。

根据上述实验数据可得蕪艾精油纳米乳的最佳处方工艺为:乳化剂为 3% 泊洛沙姆 188;助乳化剂为无水乙醇; $K_m$  值约为 0.375。在制备蕪艾精油纳米乳的过程中选择与蕪艾精油相适应的乳化剂和助乳化剂是制备纳米乳的关键,其中筛选的乳化剂泊洛沙姆 188、助乳化剂无水乙醇能使该乳剂体系形成牢固的乳化膜,且乳剂的粒径较小乳化程度分散均一,高速离心后未见油水分层,证

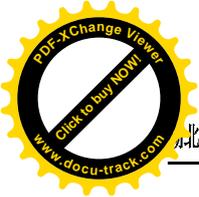
明该乳剂稳定性良好。但是伪三元相图显示,对于该实验的成乳区域,无法明显区分油包水型以及水包油型的具体成乳区域,在乳剂微观结构上还有待验证。

对已成功制备纳米乳的文献<sup>[7-8]</sup>方法进行对比查证表明,纳米乳剂的制备方法呈现普遍单一化趋势。通常包括逐一确定乳化剂、助乳化剂、油相和水相,然后进一步通过伪三元相图确定实际处方用量。因此,纳米乳在制备方法上仍然保持着传统单一的特点。另一方面,作为经皮给药的纳米乳存也在一些局限性,如局部给药能力有限、给药剂量误差大,且工艺放大困难。然而,相应的纳米乳剂虽然减少了药物的载药量,但却提高了纳米乳长期储存的稳定性,成功解决了艾叶精油易挥发、易变质、不易长期保存的问题,为制备蕪艾精油纳米乳提供了实际的处方依据。进一步期望对纳米乳的微观详细结构进行准确表征,通过设计结构更为精密合理的纳米制剂,以实现纳米乳载药量和靶向性的双重提升。

## 参考文献:

- [1] 吴雨泉,陈虹秀,张磊磊,等. 艾叶精油的应用进展及开发前景[J]. 安徽农业科学,2022,50(22):6
- [2] 杨成敏,李征,姚楠. 粉碎时间对艾叶中桉油精含量的影响[J]. 中国食品工业,2021(1):116
- [3] 周洁,李晔,刘洋,等. 不同产地艾叶中主要化学成分的研究现状分析[J]. 中草药,2022,53(15):4882
- [4] 张俊锴,苗青青,闫峰宾,等. 复合植物精油纳米乳的制备及其质量评价[J]. 中兽医医药杂志,2022,41(6):7
- [5] 邹灵辉,丁文雅,黄秋艳,等. 纳米乳在中药制剂领域的应用优势及其研究进展[J]. 中国实验方剂学杂志,2021,27(18):217
- [6] 谢雨,廖鹏,吴漫晔,等. 基于水蒸气蒸馏法的艾草精油提取工艺研究[J]. 科技经济市场,2020(4):13
- [7] 陈光宇,瞿昊宇,谢梦洲,等. 基于伪三元相图法探索湿疹纳米乳处方[J]. 中国药学杂志,2023,58(12):1110
- [8] 黄益穗,钟文嘉,刘灼波. 伪三元相图联合星点设计一响应面法优选鸦胆子油微乳处方[J]. 中国药业,2023,32(12):45
- [9] 李向辉,宋幸辉,冯李阳,等. 艾叶油纳米乳剂的研制及其质量评价[J]. 现代牧业,2017,1(4):9
- [10] 谢依侨,曾明莹,吕小迅,等. 乳剂微观结构研究方法综述[J]. 药物分析杂志,2015,35(4):575
- [11] SAWANT A, KAMATH S, KG H, et al. Solid-in-oil-in-water emulsion: an innovative paradigm to improve drug stability and biological activity[J]. AAPS PharmSciTech, 2021,22(5):199
- [12] 史小峰,王惠玲,曹莹. 功能性油脂纳米乳研究及应用进展[J]. 中国油脂,2023,48(8):45
- [13] 兰晓霞,葛宝健,李瑞欣,等. 蕪艾精油凝胶缓释系统的透皮效果评价[J]. 继续医学教育,2022,36(9):132

(收稿日期:2024-01-21)



# 基于 PBNPs-Ag 纳米粒子的 ROS 清除和抗菌协同作用促进伤口愈合行为研究

唐冬旭<sup>1</sup>, 刘坤<sup>1</sup>, 付婵丽<sup>1</sup>, 周士忠<sup>1</sup>, 张洋林<sup>1</sup>, 李月生<sup>2,3\*</sup>

(1. 湖北科技学院医学部药学院, 湖北 咸宁 437100; 2. 湖北科技学院辐射化学与功能材料湖北省重点实验室; 3. 湖北科技学院核技术与化学生物学院)

**摘要:**目的 利用普鲁士蓝纳米颗粒(PBNPs)与纳米银粒子(Ag)制备一种兼具 ROS 清除与抗菌作用的 PBNPs-Ag 纳米粒子以用于促进伤口愈合。方法 通过 XRD、IR、Zeta 电位、粒径测量对 PBNPs-Ag 进行表征。在细胞层面上,首先使用 MTT 法测试 PBNPs-Ag 的细胞毒性,接下来利用 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 作为 ROS 引发剂,建立细胞 ROS 预防模型。利用 DCFH-DA 对细胞内 ROS 直接染色。最后,利用抑菌圈法测试 PBNPs-Ag 对细菌的抑制效果。结果 PBNPs-Ag 纳米粒子粒径均匀,结晶度高,无明显细胞毒性,具有良好的 ROS 清除能力与抗菌能力。结论 PBNPs-Ag 是一种效果良好,具有前景的治疗皮肤损伤的纳米颗粒药物。

**关键词:**普鲁士蓝;银纳米粒子;ROS 清除;抗菌;皮肤损伤

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2024)04-0301-005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0301



## Study on the ROS Scavenging and Antibacterial Synergistic Effect of PBNPs-Ag Nanoparticles for Wound Healing

TANG Dong-xu, LIU Kun, LI Yue-sheng, et al

(School of Pharmacy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

**ABSTRACT; Objective** To combine Prussian blue nanoparticles(PBNPs) and silver nanoparticles(Ag) to synthesize PBNPs-Ag nanoparticles with both ROS scavenging and antibacterial effects for promoting wound healing. **Methods** X-ray diffraction(XRD), infrared spectroscopy(IR), Zeta potential analysis, particle size measurements were employed to characterize the physico-chemical properties of PBNPs-Ag. At the cellular level, the cytotoxicity of PBNPs-Ag was tested using the MTT assay followed by establishing a cellular model for ROS prevention utilizing H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> as a ROS initiator. Additionally, DCFH-DA staining was performed for direct visualization of the intracellular ROS levels. Finally, an inhibition circle assay was conducted to evaluate the inhibitory effect of PBNPs-Ag on bacteria. **Results** The synthesized PBNPs-Ag nanoparticles exhibited uniform particle size distribution, high crystallinity and negligible cytotoxicity. Moreover, they demonstrated excellent capability in scavenging ROS and antibacterial abilities. **Conclusion** PBNPs-Ag is an effective and promising nanoparticle drug for the treatment of skin injuries.

**KEY WORDS:** Prussian blue; Silver nanoparticles; ROS scavenging; Antibacterial; Skin injuries

活性氧自由基(ROS)是人体免疫反应过程中起重要作用的一种物质<sup>[1]</sup>,包含过氧化氢(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)、超氧阴离子(O<sub>2</sub><sup>·-</sup>)、羟自由基(·OH)等。这些化合物具有较强的氧化能力,能与生物体内的脂肪、蛋白质和核酸等分子发生反应,从而引发一系列细胞损伤和疾病。

在皮肤损伤中,ROS会被免疫细胞所分泌,用以消灭侵入伤口的细菌。但是ROS并不具有特异性,对正常的细胞与组织也有很强的杀伤作

用<sup>[2]</sup>。正常愈合的伤口中ROS的含量受到超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)等众多酶形成的负反馈调节网络的严密调控<sup>[3]</sup>。爆发的、失控的ROS增长会严重损伤正常细胞与组织,造成严重的慢性炎症。同时损伤的细胞会流出细胞液与蛋白,成为细菌感染温床<sup>[4]</sup>。因此,开发一种兼具ROS清除与抑菌效果的纳米颗粒具有重大意义<sup>[5]</sup>。

本研究利用水热法,成功制备了高结晶度的

\* 通讯作者, E-mail: frank78929@163.com



PBNPs 纳米粒子。利用一锅法成功将 Ag 纳米粒子复合在 PBNPs 上,制备了 PBNPs-Ag 纳米粒子,并且在细胞层面成功证明了该纳米粒子具有良好 ROS 清除与抗菌效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

聚乙烯吡咯烷酮(PVP)、铁氰化钾  $K_3[Fe(CN)_6]$ 、37% 过氧化氢( $H_2O_2$ )、无水乙醇、溴化钾(KBr)来自国药试剂(上海)。纳米银溶液(Ag, 20nm, 10mg/mL)来自阿拉丁(上海)。L929 细胞来源于 SAIOS(深圳), MTT 试剂盒, ROS 检测试剂盒(DCFH-DA), 细胞活死染色试剂盒(钙黄绿素, Hoechst 33342, 碘化丙啶)来自碧云天公司(上海)。金黄色葡萄球菌菌株(ATCC 27217)来源于中国科学院检验检疫科学中心。胰蛋白酶大豆汤(TSB)胰蛋白酶大豆琼脂(TSA)来自麦克林(上海)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 PBNPs 纳米颗粒制备

取 18g 聚乙烯吡咯烷酮溶于 240mL 1mol/L 稀盐酸,完全搅拌至透明,加入 0.7g 铁氰化钾搅拌 30min 制成橙红色的混合液。将橙红色的混合液放入 80℃ 水热釜中加热 20h 后在 12 000 转条件下离心 8min,将上清液倒出,收集底层沉淀。将沉淀水洗醇洗交替 4 次,得到 PBNPs 纳米颗粒。

取 1g PBNPs 分别与 1、2、3、4、5mL(10mg/mL) 纳米银溶液相混合,加入去离子水定容至 10mL,搅拌过夜。将所得溶液在 12 000 转条件下离心 8min,将上清液倒出,收集底层沉淀。取沉淀水洗醇洗交替 4 次,得到 5 种 PBNPs-Ag 纳米颗粒,分别标记为 1mL 组、2mL 组、3mL 组、4mL 组与 5mL 组。

#### 1.2.2 PBNPs-Ag 的表征

采用 X 射线衍射(XRD, Shimadzu)、傅里叶变换红外光谱(FTIR, Thermo Fisher Nicolet)、Zeta 电位(ZP, Brookhaven 90 Plus PALS)、激光粒度分析仪(LPSA, Brookhaven 90 Plus PALS)对所得纳米粒子进行表征。

#### 1.2.3 PBNPs-Ag 的细胞毒性

在 37℃ 5%  $CO_2$  环境下培养 L929 细胞。本研究所用细胞培养基由 MEM、10% 马血清(HRS)和 1% 青霉素/链霉素组成。向 10mL 浓度为 1mg/mL 的纳米银溶液加入培养基,将其定容成 100mL,再加入 1g 浓度为 10mg/mL 的 PBNPs。配置成含有

PBNPs 的培养基。将 1g 不同浓度的 PBNPs-Ag 加入 100mL 的培养基中配置成含有 PBNPs-Ag 的培养基,PBNPs-Ag 的浓度为 10mg/mL。

活细胞在 MTT 中会产生紫红色的甲瓞,而死细胞不会产生,所以 DMSO 溶解甲瓞后通过酶标仪检测溶液吸光度就可以直接分析出细胞死亡程度。甲瓞含量越低,细胞死亡程度越高。取长满细胞的 96 孔板,在对照组中加入 0.1mL 的空白培养基。实验组分别加入 0.1mL 不同浓度的 5 组 PBNPs-Ag 培养基培养。24h 后,吸出所有培养基,再向每孔加入 0.1mL 的 MTT 溶液培养 15min,再加入 0.1mL 的 DMSO。将 96 孔板放入酶标仪中启动摇板,摇板结束后检测 490nm 处吸光度。利用 MTT 法测试 5 组 PBNPs-Ag 的细胞毒性。

#### 1.2.4 PBNPs-Ag 的抑菌能力

利用胰蛋白酶大豆汤活化细菌,取活化后的菌液利用平板涂布法进行细菌涂布。使用直径 1.5cm 的滤纸分别蘸取 5 种含有不同浓度 PBNPs-Ag 培养基放入培养皿中,利用胰蛋白酶大豆琼脂进行抑菌圈实验,最后拍照比较抑菌圈大小。利用抑菌圈法分析 5 组 PBNPs-Ag 的抑菌能力。结合 MTT 法与抑菌圈法所得结果,挑选出综合能力最为优秀的 PBNPs-Ag 组别。

#### 1.2.5 构建 ROS 损伤预防模型

向 10mL 纳米银溶液加入培养基,将其定容成 100mL 含纳米银的培养基,纳米银浓度为 1mg/mL。将 1g 的 PBNPs 加入 100mL 培养基中配置成含有 PBNPs 的培养基,PBNPs 浓度为 10mg/mL。参考前文中的实验得出的最佳 PBNPs-Ag 制备方法制备 PBNPs-Ag 纳米颗粒,将 1g 的 PBNPs-Ag 加入 100mL 的培养基中配置成含有 PBNPs-Ag 的培养基,PBNPs-Ag 的浓度为 10mg/mL。

取长满细胞的 6 孔板,在对照组中加入 1mL 的空白培养基。实验组分别加入 1mL 含有纳米银溶液的培养基,1mL 含有 PBNPs 的培养基与 1mL 含有 PBNPs-Ag 培养基。培养 12h 后全部加入 0.5mL 含 0.1mol/L 的  $H_2O_2$  的培养基培养 12h,构建 ROS 损伤预防模型<sup>[6]</sup>。

#### 1.2.6 抗菌能力与细胞毒性对比

将优秀组别 PBNPs-Ag 与相应的对照组、纳米银组、PBNPs 组进行 MTT 实验与抑菌圈实验,以比较各组的细胞毒性与抗菌能力<sup>[7]</sup>。

#### 1.2.7 PBNPs-Ag 的 ROS 清除能力

采用活性氧试剂盒通过染色检测细胞内活性氧水平。按照制造商的说明,使用 DCFH-DA 进行

染色,染色时间为 20min。染色结束后,使用无菌 PBS 将染料冲洗干净。通过倒置荧光显微镜对荧光细胞进行拍照<sup>[8]</sup>。

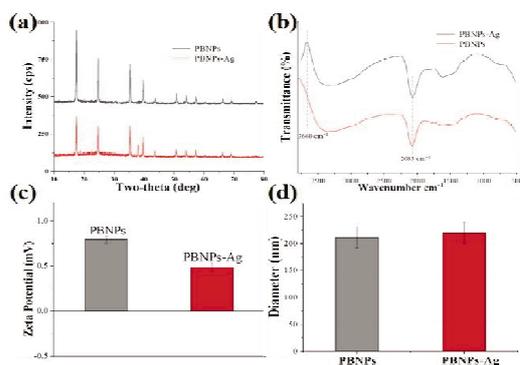
### 1.3 统计学方法

所有细胞实验重复 5 次,结果使用 ImageJ 软件对所得图像进行处理。使用 SPSS 软件中的单因素分析对所得数据进行相关性分析, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 PBNPs-Ag 的表征

分析 XRD 谱图(图 1a),对比 PBNPs 与已有文献<sup>[9]</sup>可知两者基本相同。PBNPs 峰型尖锐,峰信号强烈,结晶度高,纯度理想。PBNPs-Ag 与 PBNPs 谱图基本相同,但在  $37^\circ$  时出现了一个明显的小峰,对比文献<sup>[10]</sup>可知这个小峰来自于纳米银的晶体衍射。分析 IR 光谱图(图 1b),在  $2083\text{cm}^{-1}$  处 PBNPs 与 PBNPs-Ag 都存在明显的峰,这个峰来源于普鲁士蓝结构中的碳氮三键结构<sup>[11]</sup>。而在  $3660\text{cm}^{-1}$  处 PBNPs-Ag 存在特征峰,这个峰来源于负载在 PBNPs 上的纳米银。分析 Zeta 电位(图 1c),PBNPs 具有正电位,这与文献记载的一致<sup>[12]</sup>。在负载纳米银后,PBNPs 电位出现了一定程度的下降,这是因为纳米银粒子带有一定的负电性,中和了 PBNPs 上的正电<sup>[13]</sup>。粒径分析显示(图 1d),PBNPs-Ag 的粒径无明显上升。纳米银的粒径为  $20\text{nm}$ ,纳米银的负载对纳米粒子粒径整体没有明显影响。



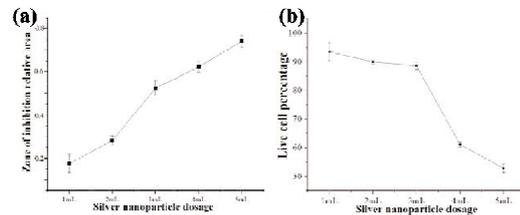
a: PBNPs 与 PBNPs-Ag 的 XRD 图谱;b: PBNPs 与 PBNPs-Ag 的 IR 光谱;c: PBNPs 与 PBNPs-Ag 的 Zeta 电位图谱;d: PBNPs 与 PBNPs-Ag 的粒径图谱。

图 1 PBNPs-Ag 与 PBNPs 纳米颗粒表征

### 2.2 性能最为优秀的 PBNPs-Ag

通过分析加入 5 种不同浓度纳米银溶液的 PBNPs-Ag 组分可以发现,随着纳米银溶液加入量

增多,材料抗菌性能呈现上升的趋势(图 2a),但是细胞毒性也明显上升(图 2b)。当使用的纳米银溶液含量超过  $3\text{mL}$  时,细胞毒性显著上升,对细胞的毒害作用大大增加。因此,综合考虑细胞毒性与抗菌性能之间的关系,性能最佳的是  $3\text{mL}$  组。

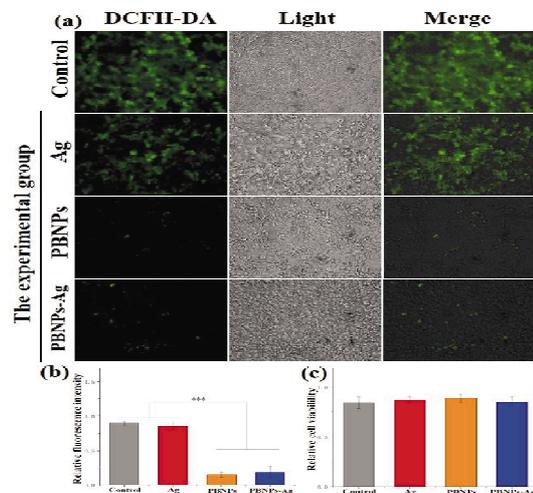


a. 抑菌圈面积随纳米银用量变化;b. 细胞存活率随纳米银用量变化。

图 2 不同组分 PBNPs-Ag 细胞毒性与抑菌能力

### 2.3 细胞内 ROS 染色与 MTT 毒理实验

利用 DCFH-DA 可以将活细胞内 ROS 染为绿色。分析 DCFH-DA 荧光染色照片(图 3a),绿色荧光强度与细胞内 ROS 数量成正比,这证明了 PBNPs 可以显著降低细胞内 ROS 含量。对照组与 Ag 组荧光强度远强于 PBNPs 组与 PBNPs-Ag 组,说明对照组与 Ag 组细胞内 ROS 含量比 PBNPs 组与 PBNPs-Ag 组高。这是因为 PBNPs 纳米粒子具有很强的 ROS 清除能力。利用 ImageJ 软件与 SPSS 软件中的单因素分析定量计算细胞照片中的荧光强度,得到荧光强度条形统计图(图 3b)。分析细胞的 MTT 毒理统计(图 3c)可知,PBNPs、纳米银溶液、PBNPs-Ag 组都没有明显的细胞毒性。因此,我们可以得出结论:PBNPs-Ag 有良好的 ROS 清除功能,其功能来源于 PBNPs 纳米颗粒,且未表现出细胞毒性。



a. DCFH-DA 检测 4 种材料对过氧化氢引发的 L929 细胞内 ROS 生成的荧光图;b. 对过氧化氢引发的 L929 细胞内 ROS 生成的统计图( $***P < 0.001, n = 5$ );c. 细胞 MTT 毒理实验。

图 3 细胞内 ROS 染色

## 2.4 细胞活死染色

本实验利用细胞活死染色的方法建立了 ROS 损伤预防模型。分析预防模型所得荧光图像可知(图 4a):受到 PBNPs 与 PBNPs-Ag 保护的细胞在 ROS 的侵害下存活率远高于对照组与 Ag 组。其原因是普鲁士蓝纳米颗粒拥有很强的 ROS 清除能力。PBNPs 保护了细胞免受 ROS 伤害,降低了细胞死亡率(图 4b),提高了细胞存活率(图 4c)。

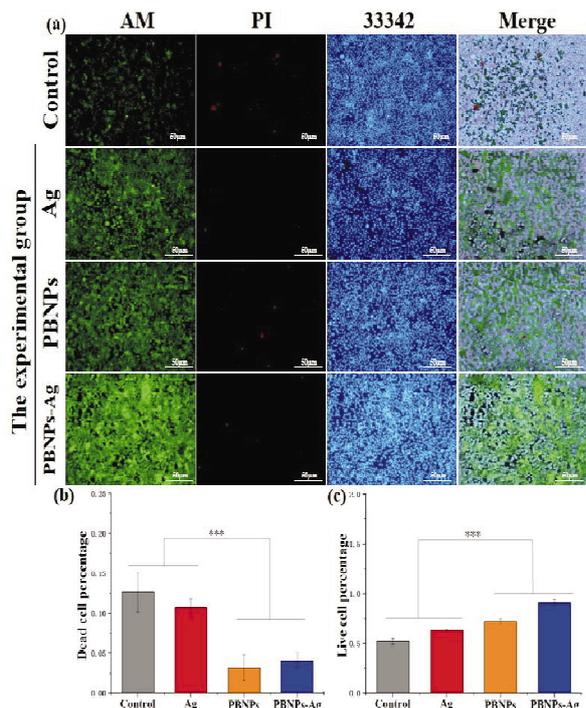


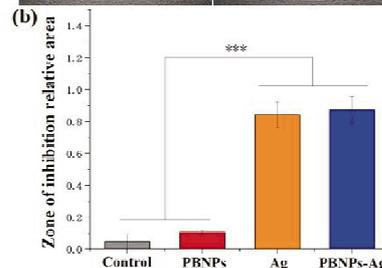
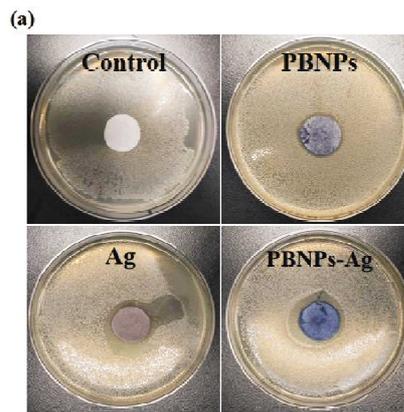
图 4 细胞损伤预防模型活死染色 a. 细胞活死染色荧光图; b. 对死细胞进行量化统计; c. 对活细胞进行量化统计(\*\*\* $P < 0.001, n = 5$ )。

图 4 细胞损伤预防模型活死染色

## 2.5 纳米材料抗菌实验

本实验培养了皮肤损伤中最常见的金黄色葡萄球菌,试验 3 种纳米材料对皮肤伤口感染的杀菌能力。

实验结果表明(图 5a)对照组细菌培养基中并没有出现抑菌圈,这证明对照组中细菌生长状况良好,并没有受到明显抑制,在无药的情况下无法抑制细菌生长。PBNPs 组略微出现抑菌圈,表明 PBNPs 纳米粒子对细菌略有抑制,但抑菌程度过小,与对照组没有明显差距,故视为抑菌效果不明显。Ag 组与 PBNPs-Ag 组出现明显抑菌圈,表现出良好的抑菌效果。经过 ImageJ 软件与 SPSS 软件单因素统计(图 5b)验证,PBNPs-Ag 组具有显著的抗菌效果。



a. 抑菌圈实验; b. 抑菌圈面积统计图(\*\*\* $P < 0.001, n = 5$ )。

图 5 不同组分材料抗菌实验

## 3 讨论

皮肤损伤的过程通常伴随着 ROS 增长与细菌感染,传统的抗生素往往只能抑制伤口细菌,但是对于 ROS 增长形成的慢性炎症却束手无策。特别是对于糖尿病溃疡、烧伤这样难以愈合的伤口更是如此。严重的皮肤伤口甚至会导致截肢等严重后果<sup>[14]</sup>。因此,本研究制备的兼具 ROS 清除能力与杀菌能力的非抗生素纳米药物意义重大<sup>[15]</sup>。

本研究制备了 PBNPs-Ag 纳米粒子,其结晶度高、杂质少的特性保证了其功能的结构基础。细胞 MTT 实验证明了 PBNPs-Ag 的低细胞毒性,提供了药物应用的基础。随后的 ROS 染色实验证明了 PBNPs-Ag 纳米粒子优异的 ROS 清除能力。同时,ROS 预防模型中,PBNPs-Ag 有效保护了细胞免受 ROS 攻击,避免了细胞的死亡。在抗菌试验中,PBNPs-Ag 表现出对金黄色葡萄球菌的抑制作用。

本实验的不足在于只在细胞层面验证了 PBNPs-Ag 的作用,后续将使用大鼠构筑糖尿病皮肤损伤模型进一步测试该纳米粒子的效果。同时,纳米药物因为发展时间短,缺少人体代谢方面的研究,可能存在潜在的药物毒性,纳米颗粒药物的应用还需要长期的毒理研究。

综上所述,PBNPs-Ag 纳米粒子兼具 ROS 清除



作用与抗菌作用,是一种有潜力的用于皮肤伤口治疗的纳米药物。

### 参考文献:

- [1] TANG D X, LIU K, YANG J Y, et al. Artificial nonenzymatic antioxidant Prussian blue/KGM-BSA nanocomposite hydrogel dressing as ROS scavenging for diabetic wound healing[J]. *Int J Biol Macromol*, 2024, 266 :131106
- [2] WANG Z, FU L, LIU D, et al. Controllable preparation and research progress of photosensitive antibacterial complex hydrogels[J]. *Gels*, 2023, 9(7) :571
- [3] LI D, LIU M, LI W, et al. Synthesis of prussian blue nanoparticles and their antibacterial, antiinflammation and antitumor applications[J]. *Pharmaceuticals*, 2022, 15(7) :769
- [4] CHEN J, ZENG S, XUE Q, et al. Photoacoustic image-guided biomimetic nanoparticles targeting rheumatoid arthritis[J]. *Pnas*, 2022, 119(43) :e2213373119
- [5] HADI A A, MALEK N A N N, MATMIN J, et al. Synergistic antibacterial effect of persicaria odorata synthesised silver nanoparticles with antibiotics on drug-resistant bacteria[J]. *Inorg Chem Commun*, 2024, 159 :111725
- [6] ZHANG W, HU S, YIN J J, et al. Prussian blue nanoparticles as multi-enzyme mimetics and reactive oxygen species scavengers[J]. *JACS*, 2016, 138(18) :5860
- [7] SCHAPER N C, VAN NETTEN J J, APELQVIST J, et al. Practical guidelines on the prevention and management of diabetic foot disease (IWGDF 2019 update) [J]. *Diabetes-Metab Res*, 2020, 36 :3266
- [8] SAYED R, SAAD H, HAGAGY N. SILIVE, et al. Nanoparticles: characterization and antibacterial properties[J]. *Rend Lincei-Sci Fis*, 2018, 29(1) :81
- [9] GRANDJEAN F, SAMAIN L, LONG G J, et al. Characterization and utilization of Prussian blue and its pigments [J]. *Dalton Transactions*, 2016, 45(45) :18018
- [10] KAUSHAL A, KHURANA I, YADAV P, et al. Advances in therapeutic applications of silver nanoparticles [J]. *Chemico-Biological Interactions*, 2023, 32(4) :110590
- [11] SHAN Y, ZHANG G, YIN W, et al. Recent progress in prussian blue/prussian blue analogue-derived metallic compounds[J]. *Bulletin of the Chemical Society of Japan*, 2022, 95(2) :230
- [12] LI Y, ZENG N, QIN Z, et al. Ultrasmall prussian blue nanoparticles attenuate UVA-induced cellular senescence in human dermal fibroblasts via inhibiting the ERK/AP-1 pathway[J]. *Nanoscale*, 2021, 13(38) :16104
- [13] MULFINGER L, SOLOMON S D, BAHADORY M, et al. Synthesis and study of silver nanoparticles [J]. *JCE*, 2007, 84(2) :322
- [14] TIAN Y, JIANG F, XIE H, et al. Conductive hyaluronic acid/deep eutectic solvent composite hydrogel as a wound dressing for promoting skin burn healing under electrical stimulation[J]. *Adv. Healthc. Mater*, 2024, 2024 :2304117
- [15] RAJCHAKIT U, LAMBA S, WANG K, et al. Size-controlled synthesis of gold nanoparticles tethering antimicrobial peptides with potent broad-spectrum antimicrobial and antibiofilm activities[J]. *Mol Pharm*, 2024, 21(2) :596

(收稿日期:2024-04-01)

# 基于碳点印迹聚合物的荧光传感器 对磺胺甲恶唑的超灵敏检测\*

支悦<sup>1</sup>,袁莹莹<sup>1</sup>,陈妃<sup>1</sup>,陈涛<sup>2\*\*</sup>,陈林枫<sup>1\*\*</sup>

(1. 湖北科技学院医学部药学院,湖北咸宁 437100;2. 湖北科技学院核技术与化学生物学院)

**摘要:**目的 开发一种新型的荧光传感器,用于检测尿液和血液样品中的磺胺甲恶唑(SMZ)。合成碳点(CDs)嵌入的二氧化硅分子印迹聚合物,实现对SMZ的特异和超灵敏检测。方法 以柠檬酸和尿素为碳源,采用水热法合成CDs。CDs的表面通过溶胶-凝胶聚合反应被MIPs基质(CDs@MIP)覆盖,CDs@MIP分别以SMZ、3-氨基丙基三乙氧基硅烷(APTES)和正硅酸四乙酯(TEOS)作为模板分子、功能单体和交联剂进行聚合反应。使用透射电镜(TEM)、扫描电镜(SEM)、红外光谱(FT-IR)和光学分析法等对其进行表征和测试。结果 在最佳的实验条件下,传感器的线性范围为0~20 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,检出限低至0.042 $\mu\text{g}/\text{mL}$ ,用于尿液及血液样品测定,加标回收率在86.2%~94.4%。结论 基于碳点印迹聚合物的荧光传感器能超灵敏识别SMZ,且简便、快速、选择性强、抗干扰性强,适用于血液及尿液样品中痕量SMZ的快速测定,有较好的实用价值。

**关键词:**磺胺甲恶唑;荧光传感器;碳点;分子印迹聚合物

中图分类号:R917

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2024)04-0306-007

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0306



## Ultrasensitive Detection of Sulfamethoxazole by a Fluorescent Sensor Based on Carbon Dots Imprinted Polymers

ZHI Yue, CHEN Tao, CHEN Lin-feng, et al

(School of Pharmacy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

**ABSTRACT; Objective** To develop a novel fluorescence sensor for the detection of sulfamethoxazole (SMZ) in urine and blood samples. Carbon dots (CDs) embedded silica molecular imprinted polymer was synthesized and fabricated for the selective and ultrasensitive detection of SMZ. **Methods** The CDs has been synthesized by hydrothermal method by using citric acid and urea as carbon source. The surface of the CDs was covered with MIPs matrix (CDs@MIP) via sol-gel polymerization. In this progress, SMZ, 3-aminopropyltriethoxysilane (APTES) and tetraethoxysilane (TEOS) were applied as a template, a functional monomer and a cross linker, respectively. The synthesized materials were characterized and tested by transmission electron microscopy (TEM), scanning electron microscope (SEM), fourier transform infrared spectrometry (FT-IR) and fluorometry. **Results** Under optimal experimental conditions, the optical sensor had a linear range of 0-20  $\mu\text{g}/\text{mL}$  with the detection limit down to 0.042 $\mu\text{g}/\text{mL}$ . This probe was successfully used for determination of SMZ in urine and blood samples. The recovery rate was between 86.2% -94.4%. **Conclusion** The fluorescence sensor based on CDs@MIP can identify SMZ ultrasensitively and the method is simple, rapid, highly selective and anti-interference, which make it suitable for the rapid determination of traces of SMZ in blood and urine samples. This method has a good practical value.

**KEY WORDS:** Sulfamethoxazole; Fluorescence sensor; Carbon dots; Molecularly imprinted polymers

\* 基金项目:湖北省自然科学基金青年项目(2022CFB877);湖北省教育厅科研计划项目(Q20222807);湖北科技学院博士启动项目(BK202215);湖北科技学院科研创新团队项目(2022T03)

\*\* 通讯作者, E-mail: taochen518@163.com; chenlf@hbust.edu.cn

SMZ 属于磺胺类抗生素(SAs)中的一种,其抗菌谱广,抗菌作用强,临床上广泛用于抗感染治疗;同时,由于其价格低廉,性质稳定,又被广泛用于畜牧业和水产养殖业,用以预防或治疗细菌感染,但其残留问题又会引发食品安全问题和环境污染风险<sup>[1]</sup>。目前,SMZ 的检测方法极大的依赖于色谱和质谱这类大型仪器,尽管这些方法选择性好、灵敏度高,但仪器昂贵,检测成本高,且前处理复杂,十分耗时,很难在现场快速分析。因此,发展低成本、快速、灵敏且便捷的检测方法具有重要的现实意义。

荧光分析法具有灵敏度高、信号丰富、材料丰富、检测成本低及设备简单等优点,可以实现简单便捷、低成本、快速、超灵敏等快速检测。Dong 等<sup>[2]</sup>报道了一种以水相合成的 CdTe 量子点为荧光探针,基于荧光内滤效应建立了一种定量检测 SAs 的简单、快速的荧光分析方法。Chen 等<sup>[3]</sup>构建了一种以蓝色发射 CDs 为标准信号、红色发射 CdTe 量子点为响应信号的荧光探针,通过肉眼方便地检测了牛奶中的磺胺二甲嘧啶。然而,荧光分析法不具备分离能力,对于与目标分析物具有相似结构和性质的物质难以有效区分。而 SAs 结构类似,有共同的母体对氨基苯磺酰胺,这些类似物对荧光检测有一定干扰作用。

分子印迹技术(MIT)通过形成一个在空间结构和官能团上都与模板分子(目标物)相匹配的具有特异功能的空腔<sup>[4]</sup>,模拟酶-底物或抗体-抗原之间的相互作用,可实现对复杂样品中目标物的特异定向识别。

基于此,本研究以 CDs 为荧光信号,SMZ 为模板分子,APTES 为功能单体、TEOS 为交联剂,构建高选择性的荧光传感器 CDs@MIP(图1)。利用 SMZ 能淬灭 CDs@MIP 荧光强度的原理,探究高选择性、超灵敏识别 SMZ 的方法,期望能实现对尿液和血清中 SMZ 的高效、超灵敏检测,为发展简单、高效、低成本、便捷的 SMZ 检测方法提供实验依据。

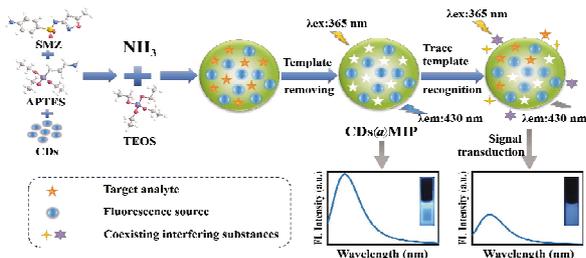


图1 实验流程机理图

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

#### 1.1.1 药品与试剂

SMZ(CAS:723-46-6)、磺胺嘧啶(SD,CAS:68-35-9)、磺胺甲基嘧啶(SM,CAS:127-79-7)、磺胺二甲嘧啶(SM<sub>2</sub>,CAS:122-11-2)、磺胺噻唑(STZ,CAS:72-14-0)、磺胺二甲异恶唑(SFZ,CAS:127-69-5)、磺胺间甲氧嘧啶(SMM,CAS:1220-83-3)、磺胺二甲氧嘧啶(SDM,CAS:122-11-2)、磺胺醋酰(SAC,CAS:144-80-9)、磺胺甲氧哒嗪(SMP,CAS:80-35-3)、谷胱甘肽(GSH,CAS:70-18-8)、谷氨酸(Glu,CAS:3929-61-1)、L-半胱氨酸(Cys,CAS:52-90-4)、APTES(CAS:919-30-2)、TEOS(CAS:78-10-4),上述试剂均从上海阿拉丁试剂有限公司购得;柠檬酸、尿素、无水乙醇、甲醇、氢氧化钠(NaOH)、石油醚(60~90℃)、氢氧化铵(NH<sub>4</sub>OH)、氟化铵(NH<sub>4</sub>F)、二水合磷酸二氢钠、十二水合磷酸氢二钠,上述试剂均从国药集团化学试剂有限公司购得,均为分析纯,实验用水为超纯水。

#### 1.1.2 设备与仪器

Spectrum Two 型傅里叶红外光谱仪(铂金埃尔默股份有限公司);Tecnai G2 F20 型场发射透射电子显微镜(美国 FEI 公司);GeminiSEM 300 型蔡司场发射扫描电子显微镜(德国蔡司);XRD-6100 型 X 射线衍射仪(岛津国际贸易有限公司);K-Alpha 型 X 射线光电子能谱仪(美国 Thermo Scientific 公司);TDL-5A 型台式低速离心机(常州崂崂仪器有限公司);F96pro 型荧光分光光度计(上海棱光技术有限公司);UV1901 型紫外可见分光光度计(上海奥析科学仪器有限公司)。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 CDs@MIP 的合成

(1)氨基化 CDs 合成。氨基化 CDs 相比于普通 CDs 更容易与二氧化硅基质作用,其合成方法为<sup>[5]</sup>:取 0.21g 的柠檬酸和 0.1g 的尿素,超声并溶解在 25mL 的去离子水中。然后在 180℃ 的烘箱中反应 4h。反应完成后用 1mol/L 的 NaOH 溶液将 pH 调至 7。取上述 CDs 溶液 7mL,加入 0.5mL APTES,混合均匀后在 40℃ 的水浴中反应 30min,冷却后用石油醚对氨基化的 CDs 进行沉淀纯化,并将纯化后的 CDs 分散在乙醇中。

(2)CDs@MIP 合成。通过溶胶-凝胶聚合法

制备  $CDs@MIP^{[6]}$ :取 0.025g 的 SMZ 溶解在 5mL 的无水乙醇,向上述混合液中加入 12mL 的氨基化  $CDs$  溶液(体积比为 1:1),2.4mL TEOS,3.6mL APTES;在搅拌状态下加入 0.6mL 催化溶液(2g  $NH_4F$ 、23mL  $NH_4OH$  溶解在 100mL 水中);在 25℃ 下搅拌 30min。离心收集产物,用无水乙醇清洗产物除去多余杂质,并用甲醇反复超声洗脱至上清液检测不出 SMZ,烘箱干燥,制得  $CDs@MIP$ 。非分子印迹聚合物( $CDs@NIP$ )不加模板分子 SMZ,其余过程与  $CDs@MIP$  合成一致。

### 1.2.2 荧光测定

向 100mL PBS 缓冲溶液(pH = 9)中加入 50mg  $CDs@MIP$ ,剧烈搅拌以制备原液。依次向 5mL 离心管中加入 2mL 原液和一定体积不同浓度的 SMZ 标准溶液,得到 SMZ 终浓度为 0、0.65、1.5、2.7、4、5、6.5、7.5、11、17.5 和 20 $\mu g/mL$  的混合液。将传感器溶液和 SMZ 均匀混合,然后在室温(25℃)下反应 30min,激发波长为 365nm 处测试荧光发射光谱。

为了验证  $CDs@MIP$  对 SMZ 的选择性,我们用同样的方法检测了其他 SAs 及常见干扰物对传感器的荧光响应。同时,在先加入上述结构类似物质的基础上,再次加入 SMZ,观察荧光强度的变化以探究传感器对上述干扰物的抗干扰能力。

### 1.2.3 加标回收测试与实际样品分析

选取小鼠血清、大鼠血清和兔血清 3 种空白生物基质进行加标回收测试。首先取 4mL 解融后的血清,加入 4mL 甲醇沉淀蛋白,离心取上清液,并用 PBS 缓冲液稀释至 20mL 备用。每种血清样本分 4 份,其中 1 份作为空白对照,另外 3 份分别加入不同量的 SMZ 标准样品,制成最终浓度分别为 1、5、15 $\mu g/mL$  的 SMZ 加标样品,并直接用 1.2.2 所示方法测试。为验证结果准确性,我们参照 GB 29694-2013 法,利用 HPLC 对测试结果进行验证。HPLC 条件参数如下:色谱柱为 ODS-3 $C_{18}$ (250mm  $\times$  4.5mm,粒径 5 $\mu m$ ),流动相为 0.1% 甲酸水溶液和乙腈(V/V, 50/50),流速为 1.0mL/min,柱温为 30℃,进样体积为 20 $\mu L$ ,UV 检测波长为 270nm。

为进一步验证方法的实用性,我们选用尿液为实际样品进行分析。受试者首先口服复方磺胺甲恶唑两片(0.4g/片),在 3、6、9h 采集尿液样品,随即离心取上清液 4mL,用 PBS 缓冲液稀释至 10mL,并直接用 1.2.2 所示方法测试。测试结果的准确性参照上述色谱条件进行验证。

## 2 结果

### 2.1 $CDs@MIP$ 的表征

合成得到的  $CDs$  具有十分优异的荧光性能,在 365nm 波长的激发下,在 444nm 处有非常强的荧光发射峰(图 2A),相对于罗丹明 6G,其荧光量子产率达到了 18%。 $CDs$  溶液在 334nm 处有一个紫外吸收峰,可归因于 C = O 和其他表面部分的 n-p\* 跃迁<sup>[5]</sup>。将  $CDs$  作为信号源,与模板 SMZ 共聚得到印迹聚合物,在洗脱 5 次后就能将模板 SMZ 完全清洗干净(图 2B),得到具有识别能力的荧光传感器  $CDs@MIP$ 。如图 2A 所示,相比于  $CDs$ ,传感器  $CDs@MIP$  的最大发射波长略有蓝移,发射峰位置为 440nm,发射强度有大幅度下降,量子产率为 12%。

通过 FT-IR 检测对  $CDs$ 、 $CDs@MIP$ -SMZ、 $CDs@MIP$ 、 $CDs@NIP$  的结构进行分析。如图 2C 所示, $CDs$  在 3438 $cm^{-1}$  处有较宽的 O-H 伸缩振动,1620 $cm^{-1}$  处出现 C = O 拉伸峰,证明羟基和羧基存在于  $CDs$  边缘和表面<sup>[7]</sup>。 $CDs@MIP$ -SMZ、 $CDs@MIP$  和  $CDs@NIP$  在 459 和 780 $cm^{-1}$  处有显著吸收,归属于 Si-O 伸缩振动峰,在 1030 $cm^{-1}$  和 1122 $cm^{-1}$  附近的强而宽的峰归因于 Si-O-C 和 Si-O-Si 不对称伸缩振动峰,这表明 TEOS 被成功地掺入,并表现出了很强的交联能力<sup>[8]</sup>。此外,在 1554 $cm^{-1}$  和 3420 $cm^{-1}$  处的 FT-IR 峰为 N-H 伸缩振动,在 2937 $cm^{-1}$  处的峰为 C-H 伸缩振动,表明  $CDs@MIP$  中存在 APTES<sup>[5]</sup>。1636 $cm^{-1}$  处的峰是由于 HN-CO 键合振动发生。与相同波段的  $CDs$  相比, $CDs@MIP$  红外光谱中 1380 $cm^{-1}$ 、1554 $cm^{-1}$  处吸收峰的强度降低。以上结果表明,成功合成了分子印迹聚合物,并包被在  $CDs$  表面上形成了  $CDs@MIP$  和  $CDs@NIP$ 。 $CDs@MIP$  和  $CDs@NIP$  的 FT-IR 光谱比较相似,表明它们具有相似的化学组成和表面基团。

通过 TEM 和 SEM 检测对  $CDs$ 、 $CDs@MIP$  及  $CDs@NIP$  的表面形态和尺寸大小进行观察和分析。TEM 显示  $CDs$  呈点状分布(图 2D),其粒径分布较窄,为 2.6 ~ 4.9nm。如图 2E、2F 所示, $CDs@NIP$  与  $CDs@MIP$  微观形态相似,呈球形,这是溶胶-凝胶法制备 MIP 过程中小颗粒聚集导致的<sup>[8]</sup>。 $CDs@MIP$  表面较粗糙,形成较厚的印迹层, $CDs@NIP$  因不具有特异识别空腔的印迹层,平均尺寸相对较小,表面较光滑。

通过 X 射线衍射仪(XRD)检测对 CDs@MIP 的晶体结构进行分析(图 2G), CDs@MIP 与 CDs@NIP 均在  $2\theta = 15^\circ \sim 35^\circ$  处显示较宽的衍射峰, 这可归因于非晶形二氧化硅相(JCPDS No. 29-0085), 表明纳米复合材料中存在二氧化硅聚合物层, 且两者在晶体结构上相似, 其显示已经将 CDs@MIP 中的模板分子洗脱干净。

通过 X 射线光电子能谱(XPS)检测对 CDs@MIP 的化学成分、元素种类、含量和氧化态进行分析(图 2H), CDs@MIP 的 XPS 谱图在 532、399、284、153 处呈现 5 个典型的峰, 分别与 O1s、N1s、C1s、Si2s 和 Si2p 相关。C、N、O 和 Si 的重量百分比分别为 35.27%、7.7%、36.37% 和 20.67%。其中, Si2p 的 XPS 光谱(图 2I)在 102.2eV 处的峰对应 Si-N 键, 102.7eV 处的峰属于 Si-O 和 Si-C 键, 表明 SiO<sub>2</sub> 有很强的交联能力, 且成功与 CDs 交联。

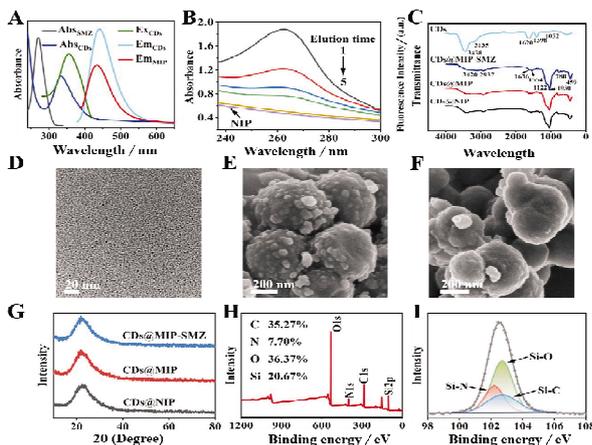


图 2 CDs@MIP 的表征  
A: SMZ 的紫外光谱图, CDs 的紫外光谱图、荧光激发和发射光谱图和 CDs@MIP 的荧光光谱图;  
B: CDs@MIP 洗脱不同次数的紫外光谱图; C: CDs@MIP-SMZ、CDs@MIP、CDs@NIP 的 FT-IR 图;  
D: CDs 的 TEM 图; E、F: CDs@MIP 和 CDs@NIP 的 SEM 图; G: CDs@MIP-SMZ、CDs@MIP、CDs@NIP 的 XRD 图。  
H、I: CDs@MIP 的全谱图和 Si2p 图。

图 2 CDs@MIP 的表征

## 2.2 测试条件优化

### 2.2.1 CDs@MIP 的最佳检测浓度

CDs@MIP 浓度对荧光检测 SMZ 的灵敏度有一定影响。过量的 CDs@MIP 会降低检测 SMZ 的灵敏度, 少量的 CDs@MIP 会导致检测的线性范围狭窄。本实验探究了 5 μg/mL SMZ 对浓度范围 200 ~ 600 μg/mL 内 CDs@MIP 的荧光淬灭率 ( $F_0 - F$ )/ $F_0$  的影响。如图 3A 所示, 当浓度为 500 μg/mL 时, SMZ 对 CDs@MIP 的荧光淬灭率最高。由于传感器的灵敏度与信噪比成正比, 当 CDs@MIP 浓度低于 500 μg/mL 时, 传感器较低的荧光强度

和信噪比会降低检测的灵敏度。当 CDs@MIP 浓度高于 500 μg/mL 时, 荧光自吸收现象也会降低检测的灵敏度<sup>[9]</sup>。因此, 选择浓度为 500 μg/mL 的 CDs@MIP 进行后续实验。

### 2.2.2 pH 值的优化

pH 对传感器的灵敏度有显著影响, 过高过低的 pH 值都会影响传感器的稳定性以及与 SMZ 的结合效率。如图 3B 所示, 探究 CDs@MIP 在不同 pH 值溶液中荧光淬灭率的变化。其中,  $F_0$  和  $F$  分别代表不存在和存在浓度为 5 μg/mL SMZ 时 CDs@MIP 的荧光强度。在较低的 pH 下, 传感器对 SMZ 的淬灭效率较低, 这主要是由于溶液中过多的氢离子会影响传感器与 SMZ 之间的氢键结合, 导致 SMZ 的氨基质子化, 难以被有效识别。此外, 硅壳可在高碱性条件下电离使表面缺陷, 导致结合位点结构破坏<sup>[10]</sup>, 这会影响 CDs@MIP 对模板分子的特异识别能力。在 pH = 9 时荧光淬灭效果最好, 且传感器的稳定性也符合检测要求, 因此, 选择 pH = 9 的 PBS 缓冲溶液进行荧光测试。

### 2.2.3 CDs@MIP 的稳定性和响应时间

探究 CDs@MIP 在 pH = 9 的缓冲溶液中的稳定性(图 3C)。每间隔 5min 对 CDs@MIP 的荧光强度进行测试, 其在连续 60min 内具有相对稳定性, 故 CDs@MIP 稳定性良好。继续探究 CDs@MIP 与 SMZ 的作用时间。测试了 500 μg/mL 的 CDs@MIP 在 120min 内对浓度为 5 μg/mL SMZ 的荧光响应变化。如图 3D 所示, 荧光信号在 0-30min 内淬灭, 此后下降速度趋缓, 在 60min 后逐渐达到平衡, 表明传感器与 SMZ 响应达到了平衡。故最终选择 30min 为 CDs@MIP 检测 SMZ 的最佳响应时间。

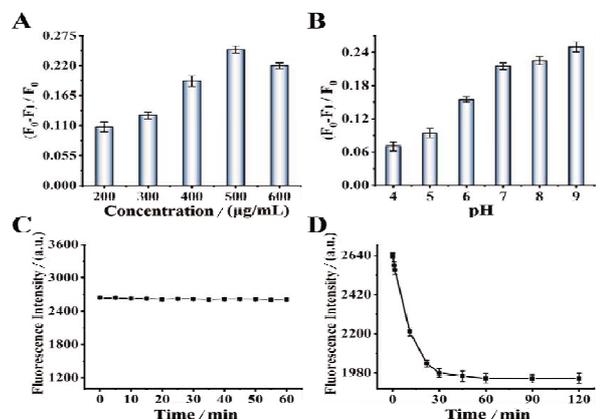


图 3 CDs@MIP 的测试条件优化  
A、B: CDs@MIP 的浓度、溶液的酸碱度对体系荧光淬灭率的影响; C: CDs@MIP 在 60min 内的荧光强度; D: CDs@MIP 的响应时间。

图 3 CDs@MIP 的测试条件优化

### 2.3 CDs@MIP 对 SMZ 的定量识别检测

在确定最优检测条件后,将 CDs@MIP 和 CDs@NIP 分别对不同浓度的 SMZ 进行定量识别检测。如图 4A 所示,随着 SMZ 浓度的增加,CDs@MIP 荧光强度呈大幅下降趋势,在浓度 0~20 μg/mL 内呈现出良好的线性关系(图 4B)。但在加入相同浓度 SMZ 后,CDs@NIP 荧光强度下降程度显著小于 CDs@MIP(图 4C),这是由于 CDs@MIP 具有与 SMZ 在空间形状及官能团上相匹配的大量特异识别位点。

所制备的 CDs@MIP 的荧光猝灭机制可能是由于 CDs@MIP 向 SMZ 的能量转移或电荷转移。SMZ 的吸收光谱接近 CDs@MIP 的间隙带(图 4D),SMZ 的吸收光谱与 CDs@MIP 的发射光谱之间没有光谱重叠(图 2A),由于猝灭剂的吸收光谱和荧光团的发射光谱在通过能量转移进行荧光猝灭时必须重叠,故电荷转移可能是 CDs@MIP 荧光猝灭的主要原因。通常,当光以最佳激发波长照射时,电子从价带转移到导带,在价层中产生一个空穴,电子-空穴对的结合引起荧光发射。但 SMZ 与 CDs@MIP 的结合引起了 CDs 上电子-空穴对辐射复合的干扰。这样,来自 SMZ 的电子进入空穴并阻止受激电子的返回,从而导致荧光猝灭<sup>[9]</sup>。

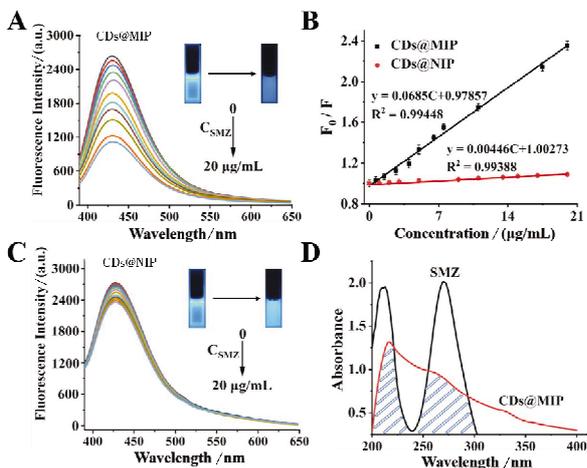


图 4 CDs@MIP 的检测效果  
A. CDs@MIP 检测浓度范围为 0~20 μg/mL SMZ 的荧光光谱图(插图:365nm 紫外灯下分别存在 0 μg/mL 和 20 μg/mL SMZ 的照片);B. CDs@MIP、CDs@NIP 分别检测浓度范围为 0~20 μg/mL SMZ 的标准曲线;C. CDs@NIP 检测浓度范围为 0~20 μg/mL SMZ 的荧光光谱图;D. SMZ 和 CDs@MIP 的紫外光谱图。

图 4 CDs@MIP 的检测效果

进一步评估 CDs@MIP 和 CDs@NIP 识别 SMZ 检测的灵敏性。模板分子 SMZ 与 CDs@MIP 之间的猝灭关系可以用 Stern-Volmer 方程来表示:

$$F_0/F = 1 + K_{sv} [C]$$

其中,  $F_0$  和  $F$  分别代表不存在和存在 SMZ 时 CDs@MIP 或 CDs@NIP 的荧光强度,  $[C]$  代表猝灭剂 SMZ 的浓度,  $K_{sv}$  代表 Stern-Volmer 方程的猝灭常数。如图 4C 所示,为 CDs@MIP 和 CDs@NIP 的线性方程。印迹因子 IF ( $IF = K_{sv, MIP} / K_{sv, NIP}$ ) 高达 15.3, 印证了 CDs@MIP 对 SMZ 的超灵敏检测, 再次证明 CDs@MIP 探针中产生了大量的识别位点, 对 SMZ 的选择性显著优于 CDs@NIP。

本方法的检出限(LOD,  $LOD = 3\delta/k$ ,  $\delta$  为空白测量值的标准偏差,  $k$  为拟合曲线的斜率,  $n = 6$ ) 低至 0.042 μg/mL。通过与之前报道的其他检测 SMZ 方法相比(表 1), 本方法的灵敏性要显著优于同类型的方法, 甚至是优于一些权威的色谱类方法。本方法的超灵敏的检测性能主要是源于传感器内部大量的特异性识别位点。

表 1 检测 SMZ 不同方法的最低检出限比较

方法	线性范围/(μg/mL)	检出限/(μg/mL)	参考文献
PDA-MIP	0.2-42.5	0.200	[11]
MIP/MWCNT/GCE	0.6-5.9	0.203	[1]
MnO <sub>2</sub> /GCE	2.5-25	0.036	[12]
MASPE	1-50	0.500	[13]
MMIPs	0.2-5	0.060	[14]
CNTs	0-50	0.223	[15]
Our method	0~20*	0.042*	本方法

### 2.4 CDs@MIP 的选择性及可再生性

用同样的方法验证传感器的选择性, 在最佳测试条件下检测了传感器对 SMZ (11 μg/mL) 和 12 种结构类似的 SAs 及常见干扰物 (50 μg/mL) 的荧光响应。如图 5A 所示, 传感器对 SMZ 的选择性显著优于其他结构类似的 SAs, 表现出优异的选择性。这主要是由于在合成洗脱 CDs@MIP 的过程中, 产生了大量的与 SMZ 结构、大小和形状相似特异性识别位点。当首先加入其他的干扰物, 再次加入 SMZ 时, 发现荧光会重新显著猝灭, 表明荧光传感器也具备很强的抗干扰能力。

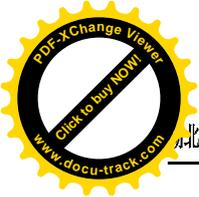
基于优异选择性的基础上, 对传感器的循环利用性进行探究, 在相同的测试条件下, 通过洗脱-结合-洗脱-再结合多次循环进行重复荧光测试。先在 pH 值为 9 的溶液中检测空白传感器的荧光强度  $F_0$ , 再检测加入 11 μg/mL SMZ 后溶液的荧光强度  $F$ , 用甲醇溶液反复超声洗脱离心去除 SMZ, 再次得到 CDs@MIP。如图 5B 所示, 在进行 6 次循环利用后, CDs@MIP 的荧光猝灭率仅略微





- [3] CHEN L, XU Y, SUN L, et al. Convenient determination of sulfamethazine in milk by novel ratiometric fluorescence with carbon and quantum dots with on-site naked-eye detection and low interferences [J]. *Analytical Letters*, 2018, 51(13):2099
- [4] FU D, CHEN T, CHENG Y, et al. A molecularly imprinted electrochemical sensing platform based on the signal amplification system fabricated with the theoretically optimized monomer for specific determination of formaldehyde [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2021, 344:130260
- [5] WANG L, WEN L, ZHAO L, et al. Development of fluorescence sensor and test paper based on molecularly imprinted carbon quantum dots for spiked detection of domoic acid in shellfish and lake water [J]. *Analytica Chimica Acta*, 2022, 1197:339515
- [6] 张育珍, 张博, 余双, 等. 碳量子点及新型半胱氨酸分子印迹传感器的制备 [J]. *化学工程师*, 2022, 36(10):80
- [7] AMIRI A, FARIBOD F, ZOUGHI S. An optical nanosensor fabricated by carbon dots embedded in silica molecularly imprinted polymer for sensitive detection of ceftazidime antibiotic [J]. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 2021, 408:113111
- [8] REN Y, FAN Z. Synthesis of fluorescent probe based on molecularly imprinted polymers on nitrogen-doped carbon dots for determination of tobramycin in milk [J]. *Food Chem*, 2023, 416:135792
- [9] SISTANI S, SHEKARCHIZADEH H. Fabrication of fluorescence sensor based on molecularly imprinted polymer on amine-modified carbon quantum dots for fast and highly sensitive and selective detection of tannic acid in food samples [J]. *Anal Chim Acta*, 2021, 1186:339122
- [10] CHULLASAT K, NURERK P, KANATHARANA P, et al. A facile optosensing protocol based on molecularly imprinted polymer coated on CdTe quantum dots for highly sensitive and selective amoxicillin detection [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 254:255
- [11] TURCO A, CORVAGLIA S, MAZZOTTA E, et al. Preparation and characterization of molecularly imprinted mussel inspired film as antifouling and selective layer for electrochemical detection of sulfamethoxazole [J]. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 2018, 255:3374
- [12] KHANFAR M F, ABU-NAMEH E S M, SAKET M M, et al. Detection of hydrochlorothiazide, sulfamethoxazole, and trimethoprim at metal oxide modified glassy carbon electrodes [J]. *International Journal of Electrochemical Science*, 2020, 15(2):1771
- [13] DIMPE K M, MPUPA A, NOMNGONGO P N. Microwave assisted solid phase extraction for separation preconcentration sulfamethoxazole in wastewater using tyre based activated carbon as solid phase material prior to spectrophotometric determination [J]. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 2018, 188:341
- [14] LAMAOU A, LAHCEN A A, GARCÍA-GUZMÁN J J, et al. Study of solvent effect on the synthesis of magnetic molecularly imprinted polymers based on ultrasound probe: Application for sulfonamide detection [J]. *Ultrasonics Sonochemistry*, 2019, 58:104670
- [15] PATHAK A, PARVEEN S, GUPTA B D. Fibre optic SPR sensor using functionalized CNTs for the detection of SMX: comparison with enzymatic approach [J]. *Plasmonics*, 2018, 13:189

(收稿日期:2023-12-23)



# 大鼠脱细胞肝支架的制备研究\*

陈宁<sup>1</sup>,郭安然<sup>1</sup>,刘安娜<sup>1</sup>,张玲<sup>2</sup>,王彩<sup>2</sup>,邢君<sup>2</sup>,郑敏<sup>2</sup>,李玲<sup>2\*\*</sup>

(1. 湖北科技学院医学部药学院,湖北咸宁 437100;2. 湖北科技学院医学部生物医学工程与医学影像学院)

**摘要:**目的 本研究旨在探索优化脱细胞肝支架的简易脱细胞方案,可为脱细胞肝的下一步应用研究提供良好的生物材料。**方法** 依次采用 0.9% 氯化钠注射液 500mL 冲洗 1h、0.5% 乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸 1500mL 冲洗 3h 和 1% 十二烷基硫酸钠溶液 3000mL 冲洗大鼠肝脏 6h,速度均为 120 滴/min,用来制备脱细胞肝支架。通过 HE 染色、扫描电镜和免疫荧光染色、DNA 含量检测、X 线下显影测试和流动性测试等方式检测脱细胞肝的结构完整性和主要成分。**结果** 经过 10h 的灌注,肝脏中的血管清晰可见,HE 染色中显示脱细胞肝去除了细胞核,免疫组织化学染色见胶原蛋白 I、纤连蛋白和层粘连蛋白表达,扫描电镜显示支架呈疏松多孔的结构,DNA 含量显示 <50ng/mg,X 线测试表明对注射进入的显影剂有良好的显影效果,流动性测试表明脱细胞肝保留了较为完整和通畅的血管系统。**结论** 本研究所采用的脱细胞方法成功制备了脱细胞肝脏模型,达到了较为理想的脱细胞效果。

**关键词:**脱细胞肝;肝组织工程;脱细胞支架;肝脏

中图分类号:R318

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2024)04-0313-006

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0313



## Preparation of Rat Decellularized Liver Scaffolds

CHEN Ning, GUO An-ran, LI Ling, et al

(School of Pharmacy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

**ABSTRACT; Objective** To explore and optimize the simple decellularization scheme of decellularized liver scaffolds, which can provide good biomaterials for the next application research of decellularized liver. **Methods** The rat liver was rinsed with 500ml of 0.9% sodium chloride injection for 1 hour, followed by 1500ml of 0.5% ethylene glycol bis(2-aminoethyl ether) tetraacetic acid for 3 hours, and then with 3000ml of 1% sodium dodecyl sulfate solution for 6 hours, all at a rate of 120 drops per minute, to prepare the acellular liver scaffold. The structural integrity and the preservation of major components within the decellularized liver were assessed through various methodologies including HE staining, scanning electron microscopy, immunofluorescence staining, DNA content analysis, X-ray radiography and fluidity testing. **Results** After 10 hours of perfusion, the blood vessels in the liver were clearly visible. HE staining showed that the decellularized liver had removed the cell nuclei. Immunohistochemical staining showed the expression of collagen I, fibronectin and laminin. Scanning electron microscopy further confirmed the loose and porous nature of the scaffold. The DNA content was <50 ng/mg. X-ray radiography demonstrated robust imaging development post-injection. Fluidity tests showed that the decellularized liver retained a relatively intact and unobstructed vascular network. **Conclusion** The decellularization method used in this study successfully prepared a decellularized liver model and achieved a relatively ideal decellularization effect.

**KEY WORDS:** Decellularized liver; Liver tissue engineering; Decellularized scaffold; Liver

肝癌发病率日趋增加,是危害人类生存发展的重要因素之一。其中全球肝癌新发病例和死亡

人数分别为每 10 万人 9.5 例和 8.7 例,东亚、北非和东南亚的发病率和死亡率最高<sup>[1]</sup>。终末期肝

\* 基金项目:湖北省自然科学基金面上项目(2023AFB538,2022CFB755);国家自然科学基金青年项目(82003308,52303182);湖北科技学院博士启动基金(BK202118);湖北科技学院科研创新团队项目(2023T10)

\*\* 通讯作者, E-mail: lilin02@hbust.edu.cn

病是一种严重危及人类的公共健康危害,而肝移植是唯一可行的补救措施。对于传统肝移植治疗存在肝源不足和长期服用免疫排斥药物等缺点,迫切需要研发一种新的治疗替代方法<sup>[2]</sup>。近年来,脱细胞肝脏支架的研究引起了广泛的关注<sup>[3]</sup>,有研究将多种动物和废弃的人类肝脏进行脱细胞支架的制备,其中保存了肝脏的细胞外基质(extracellular matrix, ECM),里面包含了多种细胞支持结构<sup>[4]</sup>。将原代肝细胞、内皮细胞和干细胞重新植入脱细胞支架,借助肝细胞的再生能力使得脱细胞肝脏重新恢复为新的肝脏,帮助减少免疫排斥反应和减轻肝源不足的问题<sup>[5]</sup>。

在目前的脱细胞方案中有研究<sup>[6-7]</sup>采用了蒸馏水、Triton X-100、乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸[ethylene glycol bis(2-aminoethyl ether) tetraacetic acid, EGTA]和十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)联合进行灌注,但是 Triton X-100 是一种有毒刺激性物质<sup>[8]</sup>,对人体呼吸道和皮肤具有毒性,而且此类方法存在耗时较长,化学试剂使用较多和操作过程繁琐等弊端。基于此,本研究仅使用生理盐水、EGTA 和 SDS 进行灌注,简化了操作步骤,降低了对操作者的健康危害,在较短的时间内完成了脱细胞肝脏的制备,优化了现有的脱细胞方案,为脱细胞肝脏的研究提供了更好的制备方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

20 只 SPF 级别 12 周龄 400g 雄性 SD 大鼠,购自湖北省疾病预防控制中心,其中 10 只用于制备脱细胞肝脏,另外 10 只用于对照。饲养条件:湖北科技学院实验动物中心,给予白天 12h 和黑夜 12h 循环照射,自由饮食水,饲养温度为 22℃ ~ 25℃,相对湿度为 50% ~ 60%。实验所有步骤均经湖北科技学院实验动物伦理委员会审批通过,批准文号:2024-02-002。

### 1.2 实验设备及材料

SZ680 体式显微镜(重庆奥特光学仪器有限公司);输液泵(BYS-820,长沙比杨医疗器械有限公司);乙二醇双(2-氨基乙基醚)四乙酸(Macklin);十二烷基硫酸钠(Aladdin);碘克沙醇(江苏恒瑞医药股份有限公司);罗丹明-B(Aladdin);PBS 缓冲液(Biosharp);一次性输液器(江西洪达医疗器械有限公司);0.9%氯化钠注射液(四川科

伦药业股份有限公司);一次性静脉输液针(武汉市王冠医疗器械有限公司)。

### 1.3 实验方法

#### 1.3.1 脱细胞肝制备

10 只大鼠通过二氧化碳窒息法实行安乐死,死亡后沿腹部正中切口,暴露出肝脏。分离周围筋膜组织找到肝门静脉,将 20mL PBS 通过 24G 一次性静脉输液针从肝门静脉进行注射,使用止血钳进行固定。冲洗后取出完整肝脏,使用生理盐水溶液 250mL 进行肝脏表面冲洗,去除肝脏表面残留的血液,之后放入 -80℃ 冰箱内保存。肝脏在冰箱冷冻 24h 后取出,室温下解冻,解冻后使用生理盐水 500mL 用输液泵沿门静脉进行冲洗,冲洗时间为 1h。500mL 生理盐水冲洗完毕后更换 0.5% EGTA 1500mL 冲洗 3h,再更换 1% 十二烷基硫酸钠 3000mL 冲洗 6h,冲洗速度均为 120 滴/min,直至肝脏变为透明白色。

#### 1.3.2 病理学检查

将正常肝脏和脱细胞后的肝脏在 4% 多聚甲醛固定 24h,组织梯度乙醇脱水,氯仿透明和采用标准石蜡包埋技术制备肝脏标本,观察细胞是否清洗干净,之后切片厚度为 4μm。采用苏木精和伊红(HE)染色进行组织学分析。观察其中的细胞核和周围组织,与脱细胞后的肝脏进行对比。

#### 1.3.3 免疫荧光检测

离体后的正常肝脏和脱细胞肝脏加入无血清冻存液后放入 -80℃ 冰箱保存。二者采用兔多克隆抗 I 型胶原抗体(Abcam, ab254349)、兔多克隆抗层粘连蛋白抗体(Abcam, ab11575)和兔多克隆抗纤连蛋白抗体(Servicebio, GB13091)进行免疫荧光评价。样品用 DAPI 核酸(Servicebio, G1012)反染色。使用尼康 Eclipse Ci-L 荧光显微镜进行图像采集。

#### 1.3.4 扫描电镜观察

使用扫描电子显微镜(SU8100)观察肝脏的形态。将正常肝脏和脱细胞后的肝脏经过 2.5% 戊二醛固定 24h,通过乙醇溶液脱水 15 ~ 20min, -80℃ 下冷冻 2h,然后通过冷冻干燥 24h。用 10nm 的铂层溅射喷涂正常肝脏和脱细胞肝脏,在 3kV 的加速电压下捕获扫描电镜(SEM)图像。

#### 1.3.5 DNA 含量测定

脱细胞肝脏冲洗 10h 后,采用真空冷冻干燥机冷冻干燥脱细胞肝脏和正常肝脏,按照 DNA 提取试剂盒的操作说明提取 DNA。采用 Nanodrop

2000 检测 DNA 浓度。

## 1.4 观察方法

### 1.4.1 脱细胞前后质量对比

将脱细胞后的肝脏与脱细胞之前的肝脏进行质量(g)对比。正常肝脏经过生理盐水冲洗后,去除表面水分进行称量;脱细胞肝脏灌注完毕后,去除表面水分进行称量。

### 1.4.2 显影性观察

使用数字化医用 X 射线摄影系统(DP528-B)观察脱细胞肝脏的显影性能。电压 55kV, 电流 320.00mA, 时间 12.00ms, EI:57338, 161.86uGy。首先,将脱细胞肝脏放到机器下进行拍摄,获得图像;再将碘克沙醇沿门静脉注射到脱细胞肝脏内,迅速放到机器下进行拍摄,获取图像。

### 1.4.3 流动性观察

将脱细胞后的肝脏放到 SZ680 体式显微镜下进行观察,调整位置和焦距。将混有罗丹明-B 的纯水通过门静脉,以 0.5mL/s 的速度进行注射,并在 1、3、5 和 7s 时观察其进入血管的通畅性程度及血管完整性。

## 1.5 统计学方法

应用 SPSS 26.0 统计学软件分析数据,其中计量资料采用( $\bar{x} \pm s$ )进行表示,组间数据比较用 Student's t-test 检验, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 脱细胞肝脏的大体观

本研究采用生理盐水、0.5% EGTA 溶液和 1% SDS 在经过长达约 10h 的灌注,可以观察到前期肝门静脉周围组织变白的速度较快,肝脏较为肥厚的区域变白较慢。随着时间延长,整个肝脏逐渐由红色变为黄色,直至变为透明白色,取得了血管清晰可见的脱细胞肝脏模型,结果见图 1。



图 1 脱细胞肝脏洗脱过程示意图

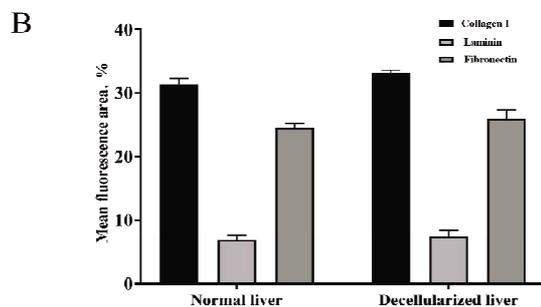
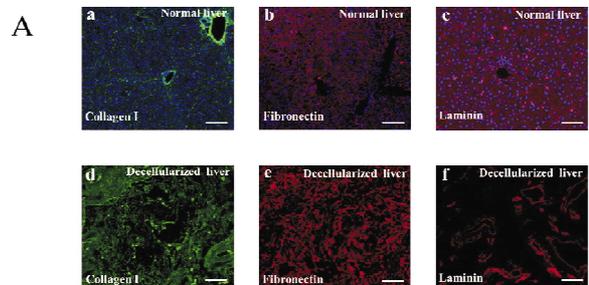
### 2.2 病理切片、荧光和电镜分析

通过病理染色可见,正常肝脏有着完整的细胞结构,肝细胞、肝血窦和细胞核等清晰可见,结

果见图 2A。脱细胞后的肝脏消除了大部分的细胞核和肝细胞,结果见图 2B。免疫荧光染色显示脱细胞肝脏相比正常肝脏去除了肝细胞,保留了细胞外基质蛋白,包括胶原 I 型蛋白(Collagen I)、纤连蛋白(Fibronectin)和层粘连蛋白(Laminin),结果见图 3A。正常肝脏的 3 种蛋白平均荧光面积(图 3B)中 Collagen I 为(31.50 ± 1.21)%、Fibronectin 为(29.12 ± 2.56)%和 Laminin 为(6.50 ± 0.57)%;脱细胞后的肝脏 3 种蛋白平均荧光面积分别为(32.60 ± 2.51)%、(33.12 ± 2.06)%和(7.50 ± 2.57)%。经过统计学分析后表明脱细胞后的肝脏蛋白含量与正常肝脏差别无异( $P > 0.05$ ),表明该制备方法较好的保留了 3 种蛋白。扫描电镜图像表明脱细胞肝细胞外基质疏松多孔,呈蜂窝状结构,仅保留肝脏血管的形态结构,与正常肝脏紧密的细胞外基质结构形成对比,结果见图 4。

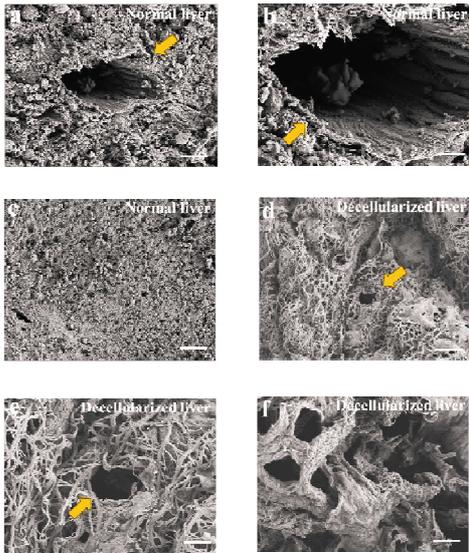


图 2 正常肝脏与脱细胞肝脏的 H&E 对比图(标尺:50μm)



A. 正常肝脏(a,b,c)和脱细胞肝脏(d,e,f)细胞外基质的比较,从左到右:胶原 I(a,d),纤连蛋白(b,e)和层粘连蛋白(e,f)染色(标尺:50μm);B. 正常肝脏与脱细胞肝脏的胶原蛋白 I、纤连蛋白和层粘连蛋白免疫荧光面积对比( $P > 0.05, n = 10$ )。

图 3 正常肝脏与脱细胞肝脏主要结构蛋白免疫组织化学检测结果



a,b,c.正常肝脏;d,e,f.脱细胞肝脏。黄色箭头代表血管,从左至右:血管周围基质(a,d),标尺:50 $\mu$ m;放大的血管周围基质(b,e),标尺:25 $\mu$ m;细胞外基质实质(c,f),标尺:50 $\mu$ m。

图4 正常肝脏与脱细胞肝脏的扫描电镜对比图

### 2.3 DNA含量及脱细胞前后质量分析

DNA含量显示,脱细胞前的DNA含量为(1715.38 $\pm$ 18.07)ng/mg,脱细胞后的DNA含量为(38.50 $\pm$ 3.90)ng/mg,DNA含量小于50ng/mg,达到了国际公认标准,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ),结果见图5。脱细胞前后质量显示,脱细胞前的肝脏质量为(17.56 $\pm$ 1.22)g,脱细胞后的肝脏质量为(5.96 $\pm$ 0.40)g,差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ),结果见图6。

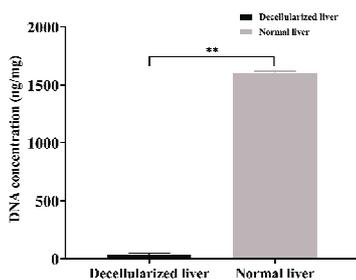


图5 正常肝脏和脱细胞肝脏DNA含量对比(\*\* $P < 0.01, n = 10$ )

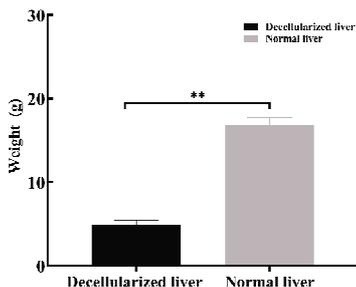
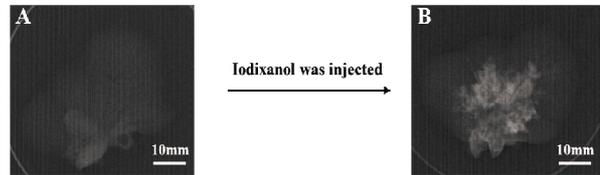


图6 正常肝脏和脱细胞后肝脏的质量对比(\*\* $P < 0.01, n = 10$ )

### 2.4 显影分析

通过数字化医用X射线摄影系统的拍摄显示,注射碘克沙醇后的脱细胞肝沿门静脉通过血管网络向周围扩散,表明造影剂在脱细胞肝中具有较好的显影性,结果见图7。



A.注射碘克沙醇前的脱细胞肝脏;B.注射碘克沙醇后的脱细胞肝脏。

图7 数字化医用X射线摄影系统拍摄的脱细胞肝脏前后对比图

### 2.5 流动性分析

通过SZ680体式显微镜的拍摄结果可见,混有罗丹明-B的纯水在1、3、5和7s到达了末端血管分支,表明脱细胞肝的血管具有良好的通畅性和完整性,结果见图8。

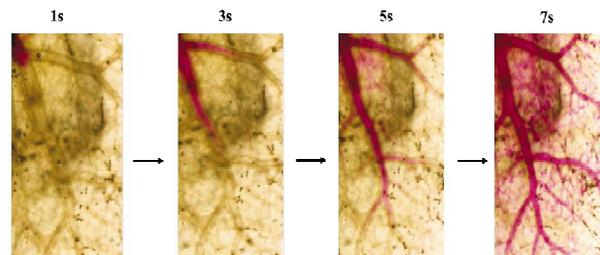
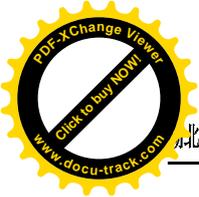


图8 SZ680体式显微镜拍摄的注射混有罗丹明-B纯水脱细胞肝不同时间的过程( $\times 400$ )

## 3 讨论

经过长时间器官组织工程的探索,脱细胞生物工程支架的种类变得越来越多。其中脱细胞支架的成功制备表现在心脏<sup>[9]</sup>、肾脏<sup>[10]</sup>、肺脏<sup>[11]</sup>和骨<sup>[12]</sup>的组织器官研究中。

目前大部分脱细胞肝采用了肝门静脉灌注化学试剂以除去细胞成分。肝脏主要由门静脉进行供血<sup>[13]</sup>,其余来自肝动脉。由于肝动脉的血管直径非常的细,所以难以灌注操作。常用的灌注试剂是Triton X-100、EGTA和SDS,但由于Triton X-100对人体具有一定的毒性,本研究便采用EGTA与SDS进行配合使用,EGTA可以用于临床医疗<sup>[14]</sup>,毒性相对Triton X-100较低,且在本研究操作过程中对人体未见明显损伤。之前未见有研究仅使用EGTA和SDS进行洗脱,但经过本次研究证明,也确实得到了较为理想的脱细胞效果。



本研究将离体肝脏放在  $-80^{\circ}\text{C}$  的目的是可以有效破坏细胞膜使得细胞发生裂解<sup>[15]</sup>,破坏其中的细胞成分和结构,使用生理盐水冲洗的目的是去除部分细胞和残存的血液。EGTA 是一种金属离子螯合剂,可以使蛋白质发生断裂,破坏细胞与 ECM 的黏附作用和减少残留的 DNA<sup>[16-17]</sup>。但是,单独的金属离子螯合剂并不能完全去除细胞,应当与洗脱剂结合使用<sup>[18]</sup>(如 SDS)。SDS 的作用在于溶解细胞膜、破坏细胞外基质的微观结构和减少生长因子的含量<sup>[16,19]</sup>。Triton X-100 能够破坏脂质-脂质、脂质-蛋白质和 DNA-蛋白质的相互作用,从而破坏细胞膜和细胞核的结构。Triton X-100 与 SDS 同属于表面活性剂,而且作用类似,可替换使用,但与 Triton X-100 相比,SDS 的去细胞核效率更高<sup>[20]</sup>。在以往的实验方案<sup>[21-22]</sup>中,SDS 浓度通常为 1% ~ 4%,EGTA 浓度为 0.02% ~ 0.2%,Triton X-100 浓度为 2% ~ 4%,本研究尝试采用了较高浓度的 EGTA 和 1% SDS,简略了操作步骤,相应缩短了灌流时间。采用输液泵、生理盐水、0.5% EGTA 和 1% SDS 进行灌注的研究优势在于:①输液泵可以精细调节流速,防止流速过快导致肝脏血管损伤和肝脏破裂;②取材方便,输液泵和生理盐水是临床常用的医疗设备和液体,与之配套的一次性 24G 静脉输液针可以轻松插入大鼠门静脉,帮助临床医生进一步研究脱细胞肝的使用价值;③操作简易性,有研究<sup>[23-24]</sup>将导管插入门静脉和胆管,二者同时进行灌流,而本研究尝试只将输液针插入门静脉进行灌流,灌流的液体通过肝门静脉出入,灌流完成后未发现肝脏破损,使用了相对较少的化学试剂,便于开展基础性的研究;④采用相对较高浓度 SDS 和 EGTA 可缩短灌流时间,避免长时间灌流导致肝脏膨胀破损,损坏其完整性。目前,脱细胞的程度主要由残留 DNA 决定,一般公认的脱细胞标准<sup>[25]</sup>如下:①双链 DNA 含量  $< 50\text{ng}/\text{mg}$ ;②DNA 片段长度  $< 200$  碱基对;③DAPI 或 HE 染色缺乏可见的核含量。本研究脱细胞后的 DNA 含量为  $(38.50 \pm 3.90)\text{ng}/\text{mg}$ ,低于标准所规定的  $50\text{ng}/\text{mg}$ 。而且 DAPI 和 HE 染色中未见有细胞核,达到了国际上所公认的标准。免疫组化染色中,脱细胞肝支架中保留了胶原蛋白、纤连蛋白和层粘连蛋白。脱细胞后的三种蛋白质的荧光面积与正常肝脏相比无明显差异性,表示本研究较好的保留了三种蛋白,尽可能保存了细胞外基质的完整性。

扫描电镜提示本实验脱细胞肝细胞外基质疏

松多孔,血管口径清晰可见,与正常肝脏细胞外基质致密的结构形成了鲜明对比。脱细胞肝可在数字化医用 X 射线摄影系统下观察液体显影的能力,测试栓塞剂的显影效果。SZ680 体式显微镜下拍摄的注射罗丹明-B 纯水过程,这是为了验证脱细胞肝血管的完整性和液体在其中是否具有良好的流动性。理想的是,经过本研究证实了脱细胞肝血管保存完整以及显影程度良好,是液体栓塞剂用于体外验证性能的良好生物材料。

随着组织工程技术的进步,脱细胞方案的不断创新与发展,脱细胞肝脏的研究取得了巨大的进展。但值得注意的是,安全的脱细胞方案、更方便快捷的制备方式和尚未发掘的利用价值依然是脱细胞肝脏发展的重点。本研究发现,采用输液泵、生理盐水、EGTA 和 SDS 进行灌注制备的大鼠脱细胞肝脏,支架无细胞成分、DNA 含量低、血管网络清晰可见,为肝脏脱细胞的研究贡献了理想的脱细胞支架材料。与传统方法相比,该制备过程相对安全、操作简易和灌注时间较短。

综上所述,本次研究优化了脱细胞肝脏的制备方法,为以后脱细胞肝脏的发展奠定了一定的基础。

## 参考文献:

- [1] RUMGAY H, ARNOLD M, FERLAY J, et al. Global burden of primary liver cancer in 2020 and predictions to 2040[J]. *J Hepatol*, 2022, 77(6): 1598
- [2] MULLER P C, KABACAM G, VIBERT E, et al. Current status of liver transplantation in Europe[J]. *Int J Surg*, 2020, 82S: 22
- [3] CHOUDHURY D, YEE M, SHENG Z, et al. Decellularization systems and devices: State-of-the-art[J]. *Acta Biomater*, 2020, 115: 51
- [4] SHAHEEN M F, JOO D J, ROSS J J, et al. Sustained perfusion of revascularized bioengineered livers heterotopically transplanted into immunosuppressed pigs[J]. *Nat Biomed Eng*, 2020, 4(4): 437
- [5] LIU P, TIAN B, YANG L, et al. Hemocompatibility improvement of decellularized spleen matrix for constructing transplantable bioartificial liver[J]. *Biomater*, 2019, 14(2): 25003
- [6] SHIMODA H, YAGI H, HIGASHI H, et al. Decellularized liver scaffolds promote liver regeneration after partial hepatectomy[J]. *Sci Rep*, 2019, 9(1): 12543
- [7] MINAMI T, ISHII T, YASUCHIKA K, et al. Novel hybrid three-dimensional artificial liver using human induced pluripotent stem cells and a rat decellularized liver scaf-



- fold[J]. *Regen Ther*, 2019, 10:127
- [8] JHO E H, YUN S H, THAPA P, et al. Changes in the aquatic ecotoxicological effects of Triton X-100 after UV photodegradation[J]. *Environ Sci Pollut Res Int*, 2021, 28(9):11224
- [9] GHIRINGHELLI M, ABBOUD Y, CHORNA S V, et al. Using decellularization/recellularization processes to prepare liver and cardiac engineered tissues[J]. *Methods Mol Biol*, 2021, 2273:111
- [10] DESTEFANI A C, SIRTOLI G M, NOGUEIRA B V. Advances in the knowledge about kidney decellularization and repopulation[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2017, 5:34
- [11] TSUCHIYA T, SIVARAPATNA A, ROCCO K, et al. Future prospects for tissue engineered lung transplantation: decellularization and recellularization-based whole lung regeneration[J]. *Organogenesis*, 2014, 10(2):196
- [12] TRAN H, DOAN V N, TO Q M, et al. Decellularization of bone tissue[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2021, 1345:225
- [13] XIAO J, YANG D, FANG X, et al. Near infrared-absorbing nanoparticle-mediated endovascular photothermal precision embolization of tumor feeding vessels for starvation treatment[J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2023, 9(6):3660
- [14] CHUANG E Y, LIN K J, SU F Y, et al. Calcium depletion-mediated protease inhibition and apical-junctional-complex disassembly via an EGTA-conjugated carrier for oral insulin delivery[J]. *J Control Release*, 2013, 169(3):296
- [15] TAO M, LIANG F, HE J, et al. Decellularized tendon matrix membranes prevent post-surgical tendon adhesion and promote functional repair[J]. *Acta Biomater*, 2021, 134:160
- [16] DAI Q, JIANG W, HUANG F, et al. Recent advances in liver engineering with decellularized scaffold[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 10:831477
- [17] ZHAO C, LI Y, PENG G, et al. Decellularized liver matrix-modified chitosan fibrous scaffold as a substrate for C3A hepatocyte culture[J]. *J Biomater Sci Polym Ed*, 2020, 31(8):1041
- [18] ALABY P F L, SUHETT D G, HOFF V, et al. Optimizing the decellularized porcine liver scaffold protocol[J]. *Cells Tissues Organs*, 2022, 211(4):385
- [19] FELGENDREFF P, SCHINDLER C, MUSSBACH F, et al. Identification of tissue sections from decellularized liver scaffolds for repopulation experiments[J]. *Heliyon*, 2021, 7(2):e6129
- [20] WILLEMSE J, VERSTEGEN M, VERMEULEN A, et al. Fast, robust and effective decellularization of whole human livers using mild detergents and pressure controlled perfusion[J]. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, 2020, 108:110200
- [21] ZHANG X, CHEN X, HONG H, et al. Decellularized extracellular matrix scaffolds: recent trends and emerging strategies in tissue engineering[J]. *Bioact Mater*, 2022, 10:15
- [22] 杨加敏, 胥义, 党航宇, 等. 组织器官脱细胞支架的制备及研究进展[J]. *生物工程学报*, 2022, 38(6):2169
- [23] GAO Y, LI Z, HONG Y, et al. Decellularized liver as a translucent ex vivo model for vascular embolization evaluation[J]. *Biomaterials*, 2020, 240:119855
- [24] GAO X, CHEN Z, CHEN Z, et al. Visualization and evaluation of chemoembolization on a 3D decellularized organ scaffold[J]. *ACS Biomater Sci Eng*, 2021, 7(12):5642
- [25] NARCISO M, OTERO J, NAVAJAS D, et al. Image-based method to quantify decellularization of tissue sections[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(16):8399

(收稿日期:2024-04-17)

# 经输尿管导管逆行超声造影引导下经皮肾镜手术对复杂性肾结石患者结石清除率及肾功能的影响

王 彪<sup>1</sup>, 余志娟<sup>2\*</sup>

(1. 咸宁市中心医院/湖北科技学院附属第一医院泌尿外科, 湖北 咸宁 437100; 2. 湖北科技学院医学部公共卫生与健康学院)

**摘要:**目的 探讨经输尿管导管逆行超声造影引导下经皮肾镜手术对复杂性肾结石患者结石清除率及肾功能的影响。方法 回顾性收集我院 120 例肾结石患者的临床资料,按手术方式分为两组,其中采用经输尿管导管逆行超声造影引导经皮肾镜手术的患者作为观察组( $n=63$ ),采用单纯超声引导经皮肾镜手术的患者作为对照组( $n=57$ )。对比两组围术期指标(手术时间、失血情况、疼痛情况及住院时间)、术中穿刺情况、结石清除率、肾功能指标及并发症发生情况。结果 观察组手术时间及住院时间均较对照组短( $P<0.05$ ),手术后血红蛋白下降值及术后 6h 疼痛视觉模拟评分法(VAS)评分均低于对照组( $P<0.05$ );观察组 1 次穿刺成功率及 I 期清除率均较对照组高( $P<0.05$ );观察组术后的血清胱抑素(Cys-C)、血尿酸(BUA)水平和血肌酐(Scr)均低于对照组( $P<0.05$ );观察组并发症发生率低于对照组( $P<0.05$ )。结论 经输尿管导管逆行超声造影引导在经皮肾镜手术治疗复杂性肾结石中应用价值显著,可提高 1 次穿刺成功率及 I 期清除率,减少术中失血量,且对患者肾功能的影响较小,术后并发症少,可缩短患者术后住院时间,减轻术后疼痛。

**关键词:**复杂性肾结石;经皮肾镜手术;超声造影;结石清除率;肾功能

中图分类号:R692.4

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2024)04-0319-004

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0319



## Influence of Percutaneous Nephrolithotomy Guided by Retrograde Contrast-Enhanced Ultrasound via Ureteral Catheter on Stone Clearance Rate and Renal Function in Patients with Complex Renal Calculi

WANG Biao, YU Zhi-juan

(Department of Urinary Surgery, Xianning Central Hospital, Xianning Hubei 437100, China)

**ABSTRACT; Objective** To explore the influence of percutaneous nephrolithotomy under the guidance of retrograde contrast-enhanced ultrasound via urinary catheter on stone clearance rate and renal function in patients with complex renal calculi. **Methods** The clinical data of 120 patients with renal calculi were retrospectively collected, and divided into two groups according to the surgical methods. The patients who received retrograde contrast-enhanced ultrasound-guided percutaneous nephrolithotomy through ureteral catheter were regarded as observation group ( $n=63$ ), and the patients who received simple ultrasound-guided percutaneous nephrolithotomy were included in control group ( $n=57$ ). The perioperative indicators (surgical time, blood loss status, pain status and hospital stay), intraoperative puncture status, stone clearance rate, renal function indicators and the occurrence of complications were compared between these two groups. **Results** The surgical time and hospital stay in observation group were shorter than those in control group ( $P<0.05$ ), and the decrease of hemoglobin after surgery and visual analogue scale (VAS) score at 6 hours after surgery were lower than those in control group ( $P<0.05$ ). The success rate of one-time puncture and stage I clearance rate were higher in observation group ( $P<0.05$ ). Compared with control group, the levels of serum cystatin (Cys-C), blood uric acid (BUA), serum creatinine (Scr), and the incidence rates of complications in observation group were lower ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Percutaneous nephrolithotomy guided by retrograde contrast-enhanced ultrasound via ureteral catheter has significant application value on complex renal calculi. It can enhance the success rate of one-time puncture and stage I clearance rate, reduce the intraoperative blood loss, decrease the influence on renal function and postoperative complications of patients, shorten the postoperative hospital stay, and relieve the postoperative pain.

**KEY WORDS:** Complex renal calculi; Percutaneous nephrolithotomy; Contrast-enhanced ultrasound; Stone clearance rate; Renal function

\* 通讯作者, E-mail: 27967847@qq.com



肾结石是泌尿外科常见疾病,其中巨大型、鹿角形、多发性及由于解剖位置异常导致取石困难的结石统称为复杂性结石,可出现腰痛、尿血等症状,严重影响患者身体健康及生活质量<sup>[1]</sup>。经皮肾镜手术是治疗复杂性结石的首选手术方式,相较于传统开放性手术,创伤性更小、术后恢复更快<sup>[2]</sup>。在无明确定位情况下盲目寻找复杂性结石会增加手术难度、增加输尿管损伤、加重术后尿路感染等并发症发生风险,超声实时定位可解决这一问题,但对于复杂性结石而言,单纯超声定位引导效果有限<sup>[3]</sup>。近年来,有研究<sup>[4]</sup>认为,经输尿管导管逆行超声造影应用于复杂性结石手术中效果良好。基于此,本研究旨在探讨经输尿管导管逆行超声造影引导下经皮肾镜手术在复杂性肾结石中的应用价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 纳入及排除标准

纳入标准:①符合肾结石诊断标准,且为复杂性肾结石<sup>[5]</sup>;②结石直径 $\geq 2.5\text{cm}$ ;③年龄18~75岁;④术前合并泌尿系感染者经抗感染治疗均得以有效控制;⑤符合手术指征<sup>[6]</sup>。排除标准:①合并肾脏良恶性肿瘤、慢性肾炎等疾病或先天性肾脏畸形;②既往有肾脏手术史;③双侧肾结石;④术前存在严重肾功能异常;⑤合并免疫系统疾病或全身感染性疾病者;⑥严重且控制不良的高血压及糖尿病患者;⑦术前存在明显肾积水;⑧临床资料不全。

### 1.2 一般资料

回顾性收集我院2020年6月至2023年6月收治的120例肾结石患者的临床资料。按手术方式分为两组,其中采用经输尿管导管逆行超声造影引导下经皮肾镜手术的患者作为观察组( $n=63$ ),采用单纯超声引导下经皮肾镜手术的患者作为对照组( $n=57$ )。两组年龄、性别等一般资料比较无统计学意义( $P>0.05$ ),见表1。

表1 两组一般资料比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	年龄/岁	性别(n)		体重指数/ ( $\text{kg}/\text{m}^2$ )	结石直 径/cm	结石体 积/ $\text{cm}^3$	结石位置(n)	
			男	女				左侧	右侧
对照组	57	50.13 $\pm$ 3.47	37	20	25.12 $\pm$ 3.01	3.73 $\pm$ 0.88	4.12 $\pm$ 0.09	30	27
观察组	63	49.02 $\pm$ 4.21	39	24	24.87 $\pm$ 3.43	3.81 $\pm$ 1.03	4.10 $\pm$ 0.08	33	30

### 1.3 方法

两组均接受经皮肾镜手术,术中采用全麻,手

术由同一组手术团队完成。对照组采用传统单纯超声引导:麻醉后患者取截石位,逆行置入输尿管至患侧肾盂,留置导尿管,固定导管后转俯卧位并垫高腹部使腰背齐平,使用B超探头探查肾情况并给结石定位,于11或12肋间腋后线与肩胛线之间初步定位穿刺点,用注射器抽取生理盐水,由输尿管导管注入,建立人工肾积水,再次行B超定位精确定穿刺点,使用18G肾穿刺针在B超引导下穿刺进入目标肾盏(抽取针芯见尿液流出提示穿刺成功),经穿刺针置入导丝,利用球囊扩张器扩张通道至F22,置入穿刺外鞘,撤出球囊扩张器,完成通道建立。经通道置入肾镜,确定结石位置,采用EMS碎石系统碎石、取石,确认无结石残留且无活动性出血,置入导丝并在导丝引导下置入F5双J管,取出输尿管导管,留置1根F14肾造瘘管,连接引流袋,术毕。

观察组采用经输尿管导管逆行超声造影引导:麻醉后,患者截石位,患侧行膀胱镜输尿管逆行插管,导管固定后转俯卧位并垫高腹部使腰背齐平,采用18G肾穿刺针沿穿刺架刺入肾周筋膜,调节成像模式为对比脉冲序列,缓慢沿输尿管导管注射造影剂(Sono Vue微泡液+生理盐水制成微泡混悬液,微泡直径平均 $2.5\mu\text{m}$ , $8\mu\text{L}$ 六氟化硫/ $\text{mL}$ 混悬液)直至普通超声模式下呈现出“翻滚的雪花效应”,确认目标盏后经穹隆部将肾穿刺针刺入,拔出针芯,无论是否有尿液流出均注入造影剂混悬液,确认穿刺针头端位于肾盏集合系统内,置入斑马导丝并扩张通道至F22,再置入Amplatz鞘建立碎石、取出通道,使用EMS碎石系统进行手术,手术方式及剩余步骤均同对照组。

两组术后1周内均常规进行抗感染治疗,术后24h复查血常规,术后1周撤出导尿管及肾造瘘管。

### 1.4 观察指标

(1)围术期指标:包括手术时间、住院时间、术后6h疼痛程度及失血情况等。其中疼痛程度采用视觉模拟评分法(VAS)<sup>[7]</sup>,0~10总分,分值越高疼痛程度越严重。失血情况采用血红蛋白下降值进行评估,血红蛋白下降值=术前血红蛋白-术后即刻血红蛋白。

(2)穿刺情况及结石清除率:术后1个月复查腹部泌尿系平片,未见残留直径 $\geq 0.4\text{cm}$ 的结石判为结石清除<sup>[8]</sup>。

(3)肾功能指标:统计两组手术前、术后24h



的血清胱抑素(Cys-C)、尿酸(BUA)水平和血肌酐(Scr),其中血清Cys-C、BUA采用肌氨酸氧化酶法测定,试剂盒购自中新科炬,Scr采用全自动生化分析仪检测。标本均为患者空腹静脉血。

(4)并发症:统计两组术后尿路感染、出血等并发症发生情况。

### 1.5 统计学方法

采用SPSS 22.0软件统计数据。计数资料以 $n(\%)$ 表示,采用卡方检验或Fisher确切概率法;计量资料符合正态分布,以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两组间比较采用独立样本 $t$ 检验,组内比较采用配对样本 $t$ 检验。检验水准 $\alpha = 0.05$ ,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组围手术期指标比较

观察组手术时间及住院时间均较对照组短,手术后血红蛋白下降值及术后6h VAS评分均低于对照组( $P$ 均 $< 0.05$ ),见表2。

表2 两组围手术期指标比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	手术时间/min	住院时间/d	术后6h VAS评分/分	血红蛋白下降值/(g/L)
对照组	57	104.76±8.55	8.22±1.21	2.86±0.44	14.45±2.14
观察组	63	91.32±7.41*	7.02±1.01*	2.62±0.36*	11.45±2.11*

与对照组比较,\* $P < 0.05$ 。

### 2.2 两组穿刺情况及结石清除率比较

观察组1次穿刺成功率及结石I期清除率均较对照组高( $P < 0.05$ ),见表3。

表3 两组穿刺情况及结石清除率比较[ $n(\%)$ ]

组别	例数	穿刺情况		结石清除率	
		1次穿刺	2次穿刺	I期清除	II期清除
对照组	57	41(71.93)	16(28.07)	43(75.44)	14(24.56)
观察组	63	58(92.06)*	5(7.94)	59(93.65)*	4(6.35)

与对照组比较,\* $P < 0.05$ 。

### 2.3 两组肾功能指标比较

术前,两组血清Cys-C、BUA及Scr比较无统计学意义( $P > 0.05$ );术后,观察组各指标均低于对照组( $P < 0.05$ ),见表4。

表4 两组肾功能指标比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	Cys-C/(mg/L)		BUA/( $\mu$ mol/L)		Scr/( $\mu$ mol/L)	
		术前	术后	术前	术后	术前	术后
对照组	57	0.84±0.11	0.95±0.21	344.25±30.13	464.25±43.58*	76.39±6.31	83.44±7.11*
观察组	63	0.83±0.13	0.87±0.17#	346.32±28.47	404.15±40.63**	77.44±7.17	80.44±6.38**

与同组治疗前比较,\* $P < 0.05$ ;与对照组比较,\*\* $P < 0.05$ 。

### 2.4 两组并发症发生率比较

观察组并发症发生率低于对照组( $P < 0.05$ ),见表5。

表5 两组并发症发生率比较[ $n(\%)$ ]

组别	例数	输尿管损伤	尿路感染	出血	总发生率
对照组	57	1(1.75)	5(8.77)	2(3.51)	8(14.04)
观察组	63	1(1.59)	1(1.59)	0(0.00)	2(3.17)*

与对照组比较,\* $P < 0.05$ 。

## 3 讨论

复杂性肾结石由于结石大小、形状、分布位置等较一般结石复杂,且该类患者常伴尿路感染或肾功能受损等症状,导致其治疗难度大。近年来,随着医学微创技术的发展,经皮肾镜手术治疗在肾结石治疗中应用越来越广泛,目前已逐渐取代传统开放性手术成为治疗复杂性肾结石的首选手术方式。林川等<sup>[9]</sup>的研究表明,经皮肾镜手术治疗复杂性肾结石疗效显著,且安全性好;丁琪等<sup>[10]</sup>的研究也表明,经皮肾镜手术在治疗复杂性肾结石中应用价值显著。但对于多发性结石、巨大鹿角形结石等复杂性肾结石的清除率仍较低,且由于经皮肾镜手术在肾通道建立及碎石过程中无法避免肾损伤,仍有感染、出血等并发症发生风险。若在手术过程中得以精确定位结石,则可提高1次穿刺成功率,减少反复穿刺对肾脏造成的损伤,提高结石清除率。目前,临床常利用超声引导定位,可有效显示肾脏及周围组织结构,确保穿刺过程中不损害其他重要器官,一定程度减少手术副损伤<sup>[11]</sup>。但对于复杂性肾结石,单纯超声定位作用有限。

本研究采用经输尿管导管逆行超声造影定位,将造影剂制成一种微泡气体,其比重较水轻,俯卧时微泡会聚向高位置的肾盏,这可辅助选择最佳穿刺盏,提高结石清除率;且无论有无积液造影剂的增强均有助于确认肾小盏及穹窿部位和确认穿刺针头端是否进入肾盏集合系统内,同时还

能显示整个穿刺通道,利于在扩张通道前评估穿刺入路的精确性。

本研究结果显示,观察组手术时间及住院时间均较对照组短,手术后血红蛋白下降值及术后6h VAS 评分均低于对照组,且1次穿刺成功率及I期清除率均较对照组高,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),这表明经输尿管导管逆行超声造影引导定位下行经皮肾镜手术治疗复杂性肾结石,可提高穿刺成功率及结石清除率,还可缩减手术时间,减轻手术损伤,减少失血量,减轻术后疼痛,缩短术后住院时间。建立肾通道是经皮肾镜手术成功的关键,经皮肾镜手术的出血主要源于经皮肾穿刺,形态复杂的结石往往难以建立有效的通道,且多发性的散在结石术中难以寻找且费时,寻找结石过程中也可能导致出血,而一旦出血则会影响视野,进一步增加手术难度,延长手术时间。另外,术中还发现逆行超声造影所产生的增强显示持续时间较短,在术中可根据需求即时增加造影剂量,避免与结石的回声混淆,不会干扰穿刺。

经皮肾镜手术后肾损伤无法完全避免,经皮肾镜手术过程中肾脏穿刺会直接导致肾实质损伤,建立人工肾积水过程中造成的高灌注会导致肾脏灌注损伤,且手术创伤激活炎症及应激反应,进一步加重损伤<sup>[12]</sup>。本研究中观察组术后的血清 Cys-C、BUA 及 Scr 均低于对照组( $P < 0.05$ ),提示经输尿管导管逆行超声造影定位下行经皮肾镜手术的复杂性肾结石患者肾功能的影响较小。席启林等<sup>[13]</sup>的研究认为,经输尿管导管逆行超声造影引导对于轻度积水或无积水的肾结石患者而言,可更加清晰的显示肾盏及穿刺位置,提高穿刺的精确性,降低穿刺相关并发症发生风险。经输尿管导管逆行超声造影定位情况下即可对轻度肾积水及无肾积水的肾结石患者进行经皮精确穿刺,而造影剂制成的微泡悬液比重轻于水,可减轻肾灌注损伤。刁长会等<sup>[14]</sup>的研究结果显示,经输尿管导管逆行超声造影应用于复杂性肾结石经皮肾镜手术治疗中安全性较高,可减轻患者术后炎症反应。本研究还发现,观察组并发症发生率较对照组少( $P < 0.05$ ),表明经皮肾镜手术治疗复杂性肾结石时术中采用输尿管导管逆行超声造影定位可减少手术并发症发生率。

综上所述,经输尿管导管逆行超声造影引导在经皮肾镜手术治疗复杂性肾结石中应用价值显著,可提高1次穿刺成功率及结石清除率,减少术

中失血量,且对患者肾功能的影响较小,术后并发症少,可缩短术后住院时间,减轻术后疼痛。本研究局限之处在于样本量较少,可能存在选择偏倚,且有关经输尿管导管逆行超声造影引导是否能减少结石复发率值得进一步探讨。

### 参考文献:

- [1] 张宝勋,蒋胜利,吴文弼,等. 经皮肾镜联合输尿管软镜治疗复杂肾结石[J]. 中国微创外科杂志,2021,21(10):875
- [2] 罗杰,吴强. 复杂性肾结石的微创治疗研究进展[J]. 河北医科大学学报,2023,44(4):492
- [3] 叶宗岳,林金生,曹石金,等. 内镜下肾内联合手术与多通道经皮肾镜术治疗复杂肾结石的前瞻性随机对照研究[J]. 中国现代手术学杂志,2020,24(3):218
- [4] 王赫,张羽白,孙长华. 经输尿管导管逆行超声造影引导经皮肾镜治疗复杂肾结石[J]. 医学研究杂志,2019,48(1):108
- [5] 陈孝平,汪建平,赵继宗. 外科学[M]. 第九版. 北京:人民卫生出版社,2018:112
- [6] 中国医促会泌尿健康促进分会,中国研究型医院学会泌尿外科学专业委员会. 经皮肾镜碎石术安全共识[J]. 现代泌尿外科杂志,2020,25(4):296
- [7] 严沁,潘玉龙,席翔,等. 逆行输尿管软镜手术与微通道经皮肾镜取石术治疗上尿路结石的效果比较[J]. 中国临床医生杂志,2022,50(3):323
- [8] 王大明,丁德茂,谢栋栋,等. 超声联合内镜与联合X线引导经皮肾镜取石术治疗复杂性肾结石有效性的对比研究[J]. 中华泌尿外科杂志,2023,44(3):173
- [9] 林川,王海波,章久武,等. 负压吸引清石鞘辅助经皮肾镜取石术治疗肾结石的疗效及术后感染的影响因素分析[J]. 临床外科杂志,2023,31(8):768
- [10] 丁琪,范波,朱海亮,等. 斜卧位截石位下超微通道经皮肾镜联合输尿管软镜治疗2.0~3.0cm肾结石的临床疗效分析[J]. 现代泌尿外科杂志,2023,28(9):759
- [11] 朱李,胡洋,徐旻. 经皮肾镜碎石取石术中超声持续辅助定位肾结石的效果观察[J]. 浙江医学,2023,45(15):1654
- [12] 古月,魏仁波,严沁,等. 输尿管上段结石微通道经皮肾镜和经尿道输尿管软镜钬激光碎石术对患者肾功能、血流动力学及血气指标的影响[J]. 实用医院临床杂志,2022,19(4):64
- [13] 席启林,王子贤,马超,等. 腔内造影超声引导经皮肾镜取石术在治疗轻度积水或无积水肾结石患者中的应用[J]. 中华泌尿外科杂志,2017,38(9):679
- [14] 刁长会,王雷,邱晓东,等. 经输尿管导管 RSUG 在复杂肾结石经皮肾镜治疗中的诊治价值[J]. 分子诊断与治疗杂志,2021,13(1):30

(收稿日期:2024-04-08)



# 血清 FABP4、AFP、MCP-1 水平在胃腺癌患者中变化及其临床意义

屈世兴

(延安大学医学院, 陕西 延安 716000)

**摘要:**目的 探讨血清脂肪型脂肪酸结合蛋白 4 (FABP4)、甲胎蛋白 (AFP)、单核细胞趋化蛋白-1 (MCP-1) 水平在胃腺癌患者中的变化及其临床意义。**方法** 选取某院收治的 43 例胃腺癌患者作为观察组,另选取同期接受体检的 40 例健康者作为对照组,比较两组血清 FABP4、AFP、MCP-1 水平,比较不同肿瘤直径、不同 TNM 分期患者的各指标水平,分析 FABP4、AFP、MCP-1 的相关性,进行单因素与多因素 Logistic 回归分析以明确胃腺癌进展程度的危险因素,以受试者工作特征曲线 (ROC) 分析其预测价值。**结果** 观察组 FABP4 水平较对照组更低 ( $P < 0.05$ ),AFP、MCP-1 水平更高 ( $P < 0.05$ );肿瘤直径  $> 3\text{cm}$  患者的 FABP4 水平较肿瘤直径  $\leq 3\text{cm}$  患者更低 ( $P < 0.05$ ),AFP 水平更高 ( $P < 0.05$ ),不同肿瘤直径 MCP-1 水平比较差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ );Spearman 相关性分析,FABP4 与 AFP 呈负相关 ( $r = -0.516, P < 0.05$ ),FABP4 与 MCP-1 呈负相关 ( $r = -0.577, P < 0.05$ ),AFP 与 MCP-1 呈正相关 ( $r = 0.612, P < 0.05$ );III ~ IV 期患者的 FABP4 水平较 I ~ II 期患者更低 ( $P < 0.05$ ),AFP、MCP-1 水平更高 ( $P < 0.05$ );多因素 Logistic 回归分析结果显示,AFP ( $OR = 2.165$ )、MCP-1 ( $OR = 1.832$ ) 是影响胃腺癌进展程度的独立危险因素 ( $P < 0.05$ ),FABP4 ( $OR = 0.729$ ) 是保护性因素 ( $P < 0.05$ );绘制 ROC 曲线显示,FABP4、AFP、MCP-1、FABP4 + AFP、FABP4 + MCP-1、AFP + MCP-1、并联联合检测预测胃腺癌进展程度的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.739、0.774、0.711、0.828、0.860、0.846、0.965。**结论** 胃腺癌患者的血清 AFP、MCP-1 水平偏高,FABP4 水平偏低,且与肿瘤直径、TNM 分期存在密切关系,可作为预测胃腺癌进展程度的重要指标,联合检测预测价值更高。

**关键词:**胃腺癌;脂肪型脂肪酸结合蛋白 4;甲胎蛋白;单核细胞趋化蛋白-1;临床意义

中图分类号:R735.2

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2024)04-0323-005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0323



## Changes and Clinical Significance of Serum FABP4, AFP and MCP-1 Levels in Patients with Gastric Adenocarcinoma

QU Shi-xing

(Yan'an University School of Medicine, Yan'an Shaanxi 716000, China)

**ABSTRACT; Objective** To explore the changes and clinical significance of serum levels of fatty acid binding protein 4 (FABP4), alpha fetoprotein (AFP), and monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1) in patients with gastric adenocarcinoma. **Methods** A total of 43 patients with gastric adenocarcinoma who were admitted in our hospital were selected as the observation group, and 40 healthy individuals who were underwent physical examinations during the same period were selected as the control group. The serum levels of FABP4, AFP and MCP-1 in both groups were compared. The levels of various indicators in patients with different tumor diameters and TNM stages were also compared. The correlation between FABP4, AFP and MCP-1 was analyzed. Univariate and multivariate logistic regression analysis was performed to clarify the risk factors for the progression of gastric adenocarcinoma, and their predictive values were analyzed using the receiver operating characteristic (ROC) curves. **Results** Compared with the control group, the FABP4 level in the observation group was lower ( $P < 0.05$ ), and the AFP and MCP-1 levels were higher ( $P < 0.05$ ). Compared with the patients with tumor diameter  $\leq 3\text{cm}$ , patients with tumor diameter  $> 3\text{cm}$  had lower FABP4 levels ( $P < 0.05$ ) and higher AFP levels ( $P < 0.05$ ), and there was no statistically significant difference in MCP-1 levels among different tumor diameters ( $P > 0.05$ ). Spearman correlation analysis showed negative correlation between FABP4 and AFP ( $r = -0.516, P < 0.05$ ), negative correlation between FABP4 and MCP-1 ( $r = -0.577, P < 0.05$ ), and positive correlation between AFP and MCP-1



( $r = 0.612, P < 0.05$ ). Compared with the patients with stage I - II, the FABP4 level in patients with stage III - IV was lower ( $P < 0.05$ ), and the AFP and MCP-1 levels were higher ( $P < 0.05$ ). The results of multivariate logistic regression analysis showed that AFP ( $OR = 2.165$ ) and MCP-1 ( $OR = 1.832$ ) were independent risk factors for the progression of gastric adenocarcinoma ( $P < 0.05$ ), and FABP4 ( $OR = 0.729$ ) was a protective factor ( $P < 0.05$ ). Drawing ROC curves shows that the area under curve (AUC) of FABP4, AFP, MCP-1, FABP4 + AFP, FABP4 + MCP-1, AFP + MCP-1, and parallel joint detection for predicting the progression of gastric adenocarcinoma were 0.739, 0.774, 0.711, 0.828, 0.860, 0.846, and 0.965, respectively. **Conclusion** Patients with gastric adenocarcinoma have elevated levels of serum AFP and MCP-1, while lower levels of FABP4, and they are closely related to tumor diameter, TNM staging. These indicators can be used as important indicators to predict the progression of gastric adenocarcinoma, and the combined detection has a higher predictive value.

**KEY WORDS:** Gastric adenocarcinoma; Fatty acid binding protein 4; Alpha fetoprotein; Monocyte chemotactic protein-1; Clinical significance

胃腺癌约占胃恶性肿瘤的95%,好发于50岁以上人群,对化疗、放疗均表现出低敏感性,具有较高的发病率和死亡率,整体预后差<sup>[1]</sup>。该病早期通常无任何症状,随着病情发展,患者可能出现胃部不适、消化不良、中腹部疼痛等非典型症状,需要选择高效、准确的筛查手段<sup>[2]</sup>。临床上诊断、评估胃腺癌以影像学检查和病理活检为主,具有一定的参考价值,但缺乏对胃腺癌发生、发展机制的研究。随着血清检测技术的不断进步,人们发现脂肪型脂肪酸结合蛋白4(fatty acid binding protein 4, FABP4)、甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)、单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)等血清指标在恶性肿瘤患者体内呈异常表达,可辅助医师评估患者病情<sup>[3]</sup>。本研究对43例胃腺癌患者与40例健康者进行分析,旨在探讨血清FABP4、AFP、MCP-1水平在胃腺癌患者中的变化及其临床意义。

## 1 资料与方法

### 1.1 纳入及排除标准

纳入标准:①符合胃腺癌诊断标准<sup>[4]</sup>,经病理活检证实;②患者意识清楚、生命体征稳定;③可配合检查。排除标准:①合并其他恶性肿瘤者;②合并其他胃部疾病者;③合并急慢性感染、严重内分泌疾病、自身免疫性疾病、血液系统疾病者;④合并肝肾功能不全者;⑤研究开展前接受过放疗者。

### 1.2 一般资料

选取某院2022年8月至2023年7月期间收治的43例胃腺癌患者作为观察组,其中男25例,女18例;年龄38~79岁,平均(60.35±7.11)岁。另选取同期接受体检的40例健康者作为对照组,排除严重脏器功能障碍、精神异常、免疫系统等疾病者,其中男23例,女17例;年龄40~78岁,平均(59.63±7.23)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。本研究经医院医学伦理委员会批准后开展,研究对象知情同意。

病者,其中男23例,女17例;年龄40~78岁,平均(59.63±7.23)岁。两组一般资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。本研究经医院医学伦理委员会批准后开展,研究对象知情同意。

### 1.3 方法

#### 1.3.1 血清FABP4、AFP、MCP-1水平检测

抽取受试者静脉血3mL(晨起空腹),以3500r/min转速离心15min,离心半径10cm,分离上层清液,置于-80℃条件下保存待检;测定血清FABP4(酶联免疫吸附法)、AFP(化学发光法)、MCP-1(酶联免疫吸附法)水平。

#### 1.3.2 TNM分期判定

根据美国癌症联合委员会(AJCC)发布的胃癌TNM分期进行判定,分为I、II、III、IV期。

#### 1.3.3 资料收集

查阅病历资料,收集患者年龄、性别、肿瘤直径、TNM分期、分化程度、肿瘤部位等信息,整理相关数据,录入统计学软件后进行分析。

#### 1.3.4 质量控制

加强研究期间的质量控制,积极纠正问题和缺陷;所有采集得到的血液样本均于1h内送至本院实验室进行检测,先由一组人员检测后,再由另一组人员复检,共同分析检测结果,确定无异议后,开始录入,录入数据时采用双录入法,由双人独立录入,再进行一致性检验,及时处理异常情况,确定数据准确无误。

### 1.4 统计学方法

采用SPSS 25.0统计学软件,计量资料用( $\bar{x} \pm s$ )描述,行 $t$ 检验,计数资料用率描述,行 $\chi^2$ 检验,相关性采用Spearman相关性分析,影响因素采用单因素与多因素Logistic回归分析,预测价值通过绘制受试者工作特征曲线(ROC)评估, $P < 0.05$ 表



明差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组血清 FABP4、AFP、MCP-1 水平比较

与对照组比较,观察组 FABP4 水平更低( $P < 0.05$ ),AFP、MCP-1 水平更高( $P < 0.05$ )。见表1。

表1 两组血清 FABP4、AFP、MCP-1 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	FABP4/(ng/mL)	AFP/(ng/mL)	MCP-1/(pg/mL)
对照组	40	17.12±2.60	19.26±2.31	80.09±12.23
观察组	43	15.34±2.29	61.18±11.05	202.34±25.71
<i>t</i>		3.315	23.511	27.326
<i>P</i>		0.001	0.000	0.000

### 2.2 不同直径的肿瘤血清 FABP4、AFP、MCP-1 水平比较

与肿瘤直径 $\leq 3$ cm患者比较,肿瘤直径 $> 3$ cm患者的 FABP4 水平更低( $P < 0.05$ ),AFP 水平更高( $P < 0.05$ );不同肿瘤直径 MCP-1 水平比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表2。

表2 不同肿瘤直径的血清 FABP4、AFP、MCP-1 水平比较( $\bar{x} \pm s$ )

肿瘤直径	例数	FABP4/(ng/mL)	AFP/(ng/mL)	MCP-1/(pg/mL)
$\leq 3$ cm	18	16.55±1.21	54.17±9.29	196.11±25.98
$> 3$ cm	25	14.69±2.38	65.62±8.30	205.35±26.16
<i>t</i>		3.038	4.246	1.146
<i>P</i>		0.004	0.000	0.259

### 2.3 FABP4、AFP、MCP-1 的相关性

Spearman 相关性分析,FABP4 与 AFP 呈负相关,FABP4 与 MCP-1 呈负相关,AFP 与 MCP-1 呈正相关( $P$ 均 $< 0.05$ )。见表3。

表3 FABP4、AFP、MCP-1 的相关性

变量		FABP4	AFP	MCP-1
FABP4	<i>r</i>	-	-0.516	-0.577
	<i>P</i>	-	0.000	0.000
AFP	<i>r</i>	-0.516	-	0.612
	<i>P</i>	0.000	-	0.000
MCP-1	<i>r</i>	-0.577	0.612	-
	<i>P</i>	0.000	0.000	-

### 2.4 胃腺癌进展程度的单因素分析

I ~ II期、III ~ IV期年龄、性别、分化程度、肿瘤部位比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );与I ~ II

期组比较,III ~ IV期组 FABP4 水平更低( $P < 0.05$ ),AFP、MCP-1 水平更高( $P < 0.05$ )。见表4。

表4 胃腺癌进展程度的单因素分析

因素	III-IV期(n=24)	I-II期(n=19)	$\chi^2$	<i>P</i>	
年龄( $\bar{x} \pm s$ ,岁)	60.62±7.59	60.13±8.25	0.202	0.841	
性别[n(%)]	男	16(66.67)	9(47.37)	1.623	0.203
	女	8(33.33)	10(52.63)		
分化程度[n(%)]	低分化	13(54.17)	7(36.84)	1.279	0.258
	中/高分化	11(45.83)	12(63.16)		
肿瘤部位[n(%)]	胃体	13(54.17)	12(63.16)	0.847	0.655
	贲门	5(20.83)	2(10.53)		
	胃窦	6(25.00)	5(26.32)		
FABP4( $\bar{x} \pm s$ ,ng/mL)	14.43±1.76	16.37±2.25	3.175	0.003	
AFP( $\bar{x} \pm s$ ,ng/mL)	66.10±11.35	54.93±10.22	3.347	0.002	
MCP-1( $\bar{x} \pm s$ ,pg/mL)	214.57±30.03	190.18±37.61	2.366	0.023	

### 2.5 胃腺癌进展程度的多因素 Logistic 回归分析

以单因素分析存在统计学差异的因素作为自变量,以进展程度作为因变量,分别进行赋值,见表5。建立多因素 Logistic 回归模型,发现 AFP ( $OR = 2.165$ )、MCP-1 ( $OR = 1.832$ )是影响胃腺癌进展程度的独立危险因素( $P < 0.05$ ),FABP4 ( $OR = 0.729$ )是保护性因素( $P < 0.05$ )。见表6。

表5 变量赋值表

变量	序号	赋值
进展程度	Y	I-II期=0,III-IV期=1
FABP4	X1	原值代入
AFP	X2	原值代入
MCP-1	X3	原值代入

表6 胃腺癌进展程度的多因素 Logistic 回归分析

因素	<i>B</i>	<i>S.E.</i>	<i>Wald</i>	<i>P</i>	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>
FABP4	-0.316	0.122	6.712	0.010	0.729	0.638-0.905
AFP	0.772	0.208	13.791	0.000	2.165	1.179-3.440
MCP-1	0.605	0.179	11.439	0.001	1.832	1.252-2.981

### 2.6 血清 FABP4、AFP、MCP-1 水平对胃腺癌进展程度的预测价值

ROC 曲线显示,FABP4、AFP、MCP-1、FABP4 + AFP、FABP4 + MCP-1、AFP + MCP-1、并联合检测预测胃腺癌进展程度的曲线下面积(AUC)分别为0.739、0.774、0.711、0.828、0.860、0.846、

0.965。见表7,图1。

表7 血清 FABP4、AFP、MCP-1 水平对胃腺癌进展程度的预测价值

因素	AUC	95%CI	截断值	灵敏度	特异度	P
FABP4	0.739	0.571~0.907	15.39	0.901	0.652	0.000
AFP	0.774	0.627~0.921	60.25	0.798	0.745	0.000
MCP-1	0.711	0.541~0.880	210.97	0.942	0.529	0.002
FABP4+AFP	0.828	0.696~0.959	-	0.963	0.677	0.000
FABP4+MCP-1	0.860	0.744~0.976	-	0.924	0.751	0.000
AFP+MCP-1	0.846	0.723~0.970	-	0.845	0.647	0.000
联合检测	0.965	0.825~0.993	-	0.925	0.904	0.000

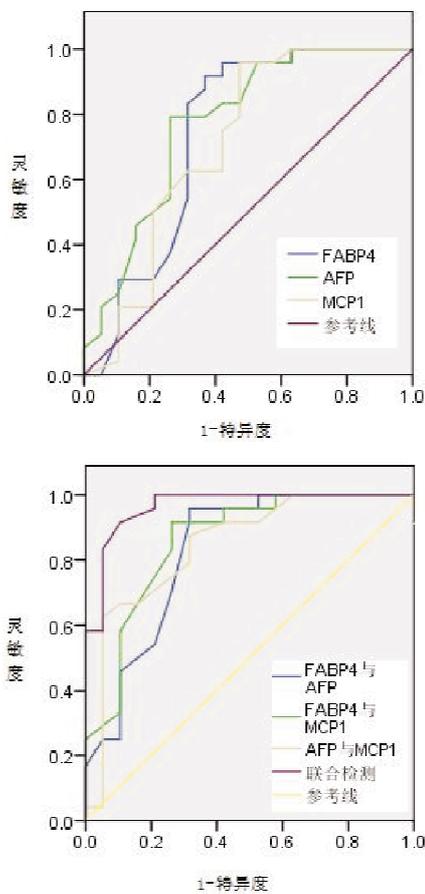


图1 血清 FABP4、AFP、MCP-1 水平预测胃腺癌进展程度的 ROC 曲线

### 3 讨论

胃腺癌由胃腺体细胞恶变而来,可在胃壁生长并蔓延、侵袭至相邻组织器官,还容易进入淋巴系统造成淋巴结转移,甚至造成远处转移,进一步缩短患者生存周期<sup>[5]</sup>。由于该病早期缺乏特异性症状,多数患者确诊时已经步入中晚期,错失手术治疗的最佳时机,预后较差,尽早诊断并采取针对

性治疗措施,有助于控制患者病情发展<sup>[6]</sup>。

FABP4 属于脂质伴侣蛋白,能够调节脂肪酸的摄取、运输,影响全身糖代谢,促进能量储存系统与器官沟通,以应对威胁生命的危险情况<sup>[7]</sup>。该物质能够对细胞粘附分子3(CADM3)产生调节作用,增强细胞间粘附能力,抑制癌细胞脱落、转移。AFP 作为一种单链糖蛋白,具有运输、免疫抑制、双向调节生长调节因子等功能,被认为与原发恶性肿瘤相关,在多种肿瘤中呈现出高表达<sup>[8]</sup>。MCP-1 属于CC类趋化因子家族,能够影响机体炎症反应、肿瘤免疫,并诱导基质金属蛋白酶大量分泌,促进细胞外基质的破坏与重构,为癌细胞转移创造条件<sup>[9]</sup>。

刘笠等<sup>[10]</sup>认为,FABP4 在患者血清中呈现出低表达,且与不良预后密切相关,可作为胃腺癌的新型诊断靶标和生物标志物。孔俊峰等<sup>[11]</sup>在研究中指出,血清 AFP 对胃癌的诊断价值较高,胃癌患者的血清 AFP 水平高于非胃癌者。本研究中,观察组 FABP4 水平较对照组更低,AFP、MCP-1 水平更高;肿瘤直径 >3cm 患者的 FABP4 水平与肿瘤直径 ≤3cm 患者比较更低,AFP 水平更高。考虑其原因,FABP4 能够影响胃腺癌细胞的粘附、增殖、侵袭等生物学行为,并通过参与脂质代谢、调控胆汁酸结合来影响胃腺癌的发生、发展,可作为潜在诊断靶标;血清 AFP 水平受到胃黏膜腺体细胞异常增殖的影响,呈现出显著高表达<sup>[12]</sup>;MCP-1 能够引发炎症反应,对胃腺体细胞产生刺激,诱导细胞癌变。本研究结果中,Spearman 相关性分析,FABP4 与 AFP 呈负相关( $r = -0.516$ ),FABP4 与 MCP-1 呈负相关( $r = -0.577$ ),AFP 与 MCP-1 呈正相关( $r = 0.612$ )。FABP4 能够影响三酰甘油的代谢、运转功能,诱导胃腺癌细胞凋亡,延缓患者的肿瘤生长和病情发展速度,胃腺癌患者中 FABP4 明显下调;AFP 能够调控细胞增殖、代谢,抑制机体对胃腺癌细胞的免疫应答,若 AFP 高表达,则患者体内癌细胞的增殖能力强、恶性程度高;MCP-1 能够通过多种途径刺激肿瘤新生血管形成,为胃腺癌细胞的生长、增殖创造有利条件,促进患者病情发展。

本研究中,FABP4、AFP、MCP-1 可对胃腺癌进展程度进行预测。①FABP4 ( $OR = 0.729$ ):高表达 FABP4 能够促进胃腺癌细胞间粘附,阻止胃腺癌细胞脱离原发病灶,对其迁移、侵袭产生抑制作用,从而抑制胃腺癌进展<sup>[13]</sup>。②AFP ( $OR = 2.165$ ):罗东明等<sup>[14]</sup>在研究中指出,血清 AFP 可



用于预测胃癌患者的淋巴结转移情况,相较于未发生转移的患者,淋巴结转移患者血清 AFP 水平显著升高。高表达 AFP 会增强胃腺癌细胞对淋巴结内皮细胞的侵袭能力,并使胃腺体细胞的分化、成熟过程异常,有利于胃腺癌细胞扩散、转移。③MCP-1 ( $OR = 1.832$ );MCP-1 能够诱导单核巨噬细胞浸润肿瘤及其周围组织,上调血管内皮生长因子的表达,促进肿瘤血管新生,加快胃腺癌细胞的生长、浸润、转移速度<sup>[15]</sup>。此外,ROC 曲线显示,FABP4、AFP、MCP-1、FABP4 + AFP、FABP4 + MCP-1、AFP + MCP-1、并联联合检测预测胃腺癌进展程度的 AUC 分别为 0.739、0.774、0.711、0.828、0.860、0.846、0.965,提示上述指标均可用于预测胃腺癌进展程度,联合检测预测价值更高,可辅助筛查高危风险患者,以便及时采取干预措施。

综上所述,胃腺癌患者的血清 AFP、MCP-1 水平偏高,FABP4 水平偏低,且其水平高低与肿瘤直径、TNM 分期关系密切,联合检测可用于预测胃腺癌进展程度,具有较高的价值。

### 参考文献:

- [1] 林有东,高杭珍.血清长链非编码 RNA AC004920.3 在胃腺癌表达和早期诊断中的应用[J].吉林医学,2023,44(9):2397
- [2] 张健,任晓燕.能谱 CT 联合长链非编码 RNA UCA1 在诊断胃腺癌淋巴结转移中的应用[J].影像科学与光化学,2022,40(6):1539
- [3] 周志华,赵海滨,王倩,等.首诊时伴血清甲胎蛋白升高胃癌的临床病理特点和预后分析[J].中国肿瘤临床,2023,50(20):1040
- [4] 中华医学会肿瘤学分会,中华医学会杂志社.中华医学会胃癌临床诊疗指南(2021 版)[J].中华医学杂志,2022,102(16):1169
- [5] 马逸婷,周新华,周向阳.胃癌患者血清 CEA、AFP、CA724、CA125 的检测联合病理学检查的临床诊断效果[J].实用癌症杂志,2021,36(2):312
- [6] 王志伟,王守立,申志成,等.TAP 联合 CEA、CA199、CA724 在诊断胃不同分化腺癌中的临床意义[J].检验医学与临床,2023,20(S02):61
- [7] 莫佳姪,苏引利,段浩然,等.脂肪酸结合蛋白 4 在卵巢癌中的表达及其对卵巢癌细胞上皮间充质转化的影响[J].河南医学研究,2022,31(14):2501
- [8] 梅彦侠,李明,文继航,等.产甲胎蛋白型胃癌中甲胎蛋白表达的调控机制及其与肿瘤细胞恶性生物学行为的关系[J].实用肿瘤杂志,2023,38(6):528
- [9] 于秀冰,夏志坤,丁保锋.结直肠癌患者组织 TNF- $\alpha$ 、MCP-1 表达水平与病理进展的相关性[J].临床和实验医学杂志,2022,21(5):505
- [10] 刘笠,邓文宏.FABP4 在胃腺癌患者血清中的表达及其临床意义[J].现代肿瘤医学,2023,31(12):2255
- [11] 孔俊峰,郑浩,李伦.血清癌胚抗原、甲胎蛋白、糖类抗原 19-9 单独及联合检测对胃癌的诊断价值[J].癌症进展,2022,20(24):2534
- [12] 田静,汪锐.血清甲胎蛋白、糖类抗原 72-4、糖类抗原 19-9 联合细胞角蛋白 19 片段检测老年胃癌应用价值研究[J].创伤与急危重病医学,2022,10(3):213
- [13] 贺晶,李艳,王延峰,等.FABP4 表达上调促进人子宫内膜癌细胞系 HEC-1-A 增殖和迁移[J].基础医学与临床,2022,42(9):1356
- [14] 罗东明,陈德伦,汪志华,等.血清中 AFP、FGA、PG、PSA 在预测早期胃癌患者淋巴结转移和手术疗效监测中的临床意义[J].中国老年学杂志,2022,42(5):1081
- [15] 赵豹,孙礼山,董磊,等.直肠癌患者术后血清 C 反应蛋白、白蛋白、单核细胞趋化蛋白的表达及对吻合口瘘的预测价值[J].现代生物医学进展,2021,21(16):3106

(收稿日期:2024-02-04)

# 护肝布祖热颗粒治疗药物性肝损伤的疗效观察

陈晓明<sup>1</sup>, 曹文韬<sup>1\*</sup>, 樊学文<sup>1</sup>, 沈会<sup>1</sup>, 李成武<sup>2</sup>

(1. 湖北科技学院附属第二医院, 湖北 咸宁 437100; 2. 湖北科技学院医学部基础医学院)

**摘要:**目的 探讨护肝布祖热颗粒治疗药物性肝损伤的疗效及安全性。方法 选取我院 61 例抗精神病药致药物性肝损伤患者, 随机分为观察组(30 例)和对照组(31 例)。对照组在常规抗精神病用药治疗的基础上服用甘草酸二铵胶囊, 观察组在常规抗精神病用药治疗基础上服用护肝布祖热颗粒, 比较两组患者治疗 6 周后的临床疗效、肝功能及不良反应发生情况。结果 观察组治疗 6 周后, 肝功能谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)降低, 指标优于对照组( $P < 0.05$ )。治疗后两组中医症候积分均有明显改善( $P < 0.05$ ), 且两组患者均未见明显不良反应。结论 观察组在降低抗精神病药所致药物性肝损伤患者肝功能 ALT、AST 指标上优于对照组, 起到较好的保肝护肝的作用, 可有效帮助患者改善恶心呕吐、口干口苦等临床症状, 且用药安全, 值得临床应用。

**关键词:** 药物性肝损伤; 护肝布祖热颗粒; 甘草酸二铵胶囊; 民族药; 维吾尔药

中图分类号: R29

文献标识码: A

文章编号: 2095-4646(2024)04-0328-004

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI: 10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0328



## Observation on the Therapeutic Effect of Hupan Buzure Granules in the Treatment of Drug-Induced Liver Injury

CHEN Xiao-ming, CAO Wen-tao, FAN Xue-wen, et al

(The Second Affiliated Hospital of Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

**ABSTRACT:** Objective To investigate the efficacy and safety of Hupan Buzure granules in the treatment of drug-induced liver injury. Methods Sixty-one patients with drug-induced liver injury caused by antipsychotic drugs were collected from our hospital and randomly divided into the observation group (30 cases) and the control group (31 cases). The control group took diammonium glycyrrhizinate capsules on the basis of conventional antipsychotic drug treatment, and the observation group took Hupan Buzure granules on the basis of conventional antipsychotic drug treatment. The clinical efficacy, liver function and adverse reactions of the two groups were compared after 6 weeks of treatment. Results After 6 weeks of treatment, levels of liver function indicators such as alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in the observation group were superior to the control group ( $P < 0.05$ ). After treatment, the TCM symptom scores of both groups were significantly improved ( $P < 0.05$ ), and no obvious adverse reactions were observed in both groups. Conclusion Hupan Buzure granules has good therapeutic effects in reducing the liver function ALT and AST indicators in patients with drug-induced liver injury caused by antipsychotic drugs, which played a better role in protecting the liver and effectively helped patients improve clinical symptoms such as nausea, vomiting, dry mouth and bitter taste. The medication was safe and worthy of clinical promotion and application.

**KEY WORDS:** Drug-induced liver injury; Hupan Buzure granules; Diammonium glycyrrhizinate capsules; Ethnic medicine; Uighur medicine

护肝布祖热颗粒是由菊苣子、芹菜根、芹菜子、菊苣根、小茴香、茴香根皮、菟丝子七味药材组成的中成药制剂<sup>[1]</sup>, 具有补益肝胃、散气止痛、利

胆、利水的功效, 现代药理学研究显示其具有较好的保肝、抗肝纤维化等作用<sup>[2-3]</sup>, 临床上主要用于肝寒、胃痛、脾阻肋痛及关节骨痛等的治疗。

\* 通讯作者, E-mail: 184475111@qq.com



药物性肝损伤(drug-induced liver injury, DILI)是指由药物本身和/或其代谢产物或由于机体对药物的特异质反应所导致的肝损伤<sup>[4-5]</sup>。可导致肝损伤的药物种类繁多,抗精神病药由于用药时间长、服药剂量大、种类多以及联合用药等原因,在控制精神症状的同时,可能会造成不同程度的DILI,这也是患者停止使用抗精神病药物最常见原因之一。及时停用可疑药物是终止肝损伤进展的必要措施,但同时还要考虑到药物适应性反应,避免贸然停药导致原发疾病加重的风险<sup>[6]</sup>。药物性肝损伤的治疗目标在于促进肝损伤尽早恢复;防止肝损伤的重症化或慢性化,避免急性肝衰竭(ALF)或慢性DILI,甚至肝硬化等终点事件发生,最终降低肝脏相关死亡风险;减少DILI事件对原发疾病治疗的影响<sup>[7]</sup>。为探究护肝布祖热颗粒治疗抗精神病药所致药物性肝损伤的疗效,我们与甘草酸二铵胶囊进行对比,现报道如下。

## 1 资料与方法

### 1.1 诊断及纳入排除标准

#### 1.1.1 西医药物性肝损伤诊断标准

参照中华医学会肝病分会药物性肝病学组制定的《药物性肝损伤诊治指南》(2015年版)中药物性肝损伤的诊断标准<sup>[8]</sup>:①能全面细致追溯可疑药物应用史,包括药物种类、剂量、疗程、起止日期、以往肝毒性信息、再用药反应;②具有肝损伤的症状、体征特点,实验室检查以及B超、CT、MRI等辅助检查结果符合肝病特征;③除外其他原因的肝损伤,包括病毒性肝病、酒精性肝病、自身免疫性肝病、胆汁淤积型肝病和遗传代谢性肝病等。

#### 1.1.2 药物性肝损伤的分型标准

参照《药物性肝损伤诊治指南》2015版本药物性肝损伤的分型标准<sup>[8]</sup>,将药物性肝损伤分为3型:①肝细胞型:血清谷丙转氨酶(ALT)  $\geq 3 \times$  ULN(正常值上限),血清碱性磷酸酶(ALP)正常,且  $R [R = (ALT \text{ 实测值}/ALT \text{ ULN}) / (ALP \text{ 实测值}/ALP \text{ ULN})] \geq 5$ ;②胆汁淤积型:ALP  $\geq 2 \times$  ULN,且  $R \leq 2$ ;③混合型:ALT  $\geq 3 \times$  ULN,ALP  $\geq 2 \times$  ULN,且  $2 < R < 5$ 。

#### 1.1.3 肝损伤与药物的因果关系评价

根据RUCAM评分标准<sup>[8]</sup>,对每例患者的药物治疗与症状出现时间关系、病程特点、危险因素、伴随用药、非药物因素、药物肝毒性的已知情况、再用药反应等方面信息进行评分。根据分值

进行判断:>8分高度可能;6~8分可能性大;3~5分可能;1~2分不大可能; $\leq 0$ 可除外。

#### 1.1.4 纳入及排除标准

纳入标准:①年龄18~70岁;②符合中华医学会肝病分会药物性肝病学组制定的《药物性肝损伤诊治指南》(2015年版)中药物性肝损伤的诊断标准;③ALT  $< 3$  ULN,血清总胆红素(TBil)  $< 2$  ULN,RUCAM量表评分 $\geq 3$ 。

排除标准:①服用除抗精神病药外其他药物的患者;②由病毒性肝炎、自身免疫性肝病、酒精性肝病、脂肪性肝病、胆汁淤积性疾病、代谢性肝病等其他原因所诱发的肝损伤患者;③患有心、肾、脑、呼吸、血液等系统或其他器官严重疾病的患者。

### 1.2 一般资料

采取回顾性研究方法,选取2022年1月至2023年1月因抗精神病药所致药物性肝损伤住院患者61例,均为男性,分为观察组30例,对照组31例。其中观察组平均年龄(35.77  $\pm$  6.91)岁,平均病程(8.21  $\pm$  5.05)年,RUCAM量表平均评分(3.47  $\pm$  0.63)分;对照组平均年龄(36.68  $\pm$  9.26)岁,平均病程(10.48  $\pm$  7.93)年,RUCAM量表平均评分(3.48  $\pm$  0.72)分。两组患者一般资料比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),具有可比性。

### 1.3 治疗方法

观察组使用护肝布祖热颗粒(规格:6g  $\times$  9袋;生产企业:新疆维吾尔药业有限责任公司;国药准字:Z65020168)进行治疗,餐后口服,6g/次,3次/d。对照组使用甘草酸二铵胶囊(规格:50mg;生产企业:江苏正大天晴药业股份有限公司;国药准字:H10940191)进行治疗,餐后口服,3粒/次,3次/d。两组患者均连续治疗6周,且常规服用抗精神病药。

### 1.4 观察指标与判定标准

观察两组治疗前后肝功能的相关指标及临床症状体征的改善情况,综合评价治疗效果。肝功能指标包括ALT、谷草转氨酶(AST)、TBil、直接胆红素(DBil)、间接胆红素(IBil)、ALP指标用药前后的变化情况。临床症状体征主要参照《中药新药临床研究指导原则》<sup>[9]</sup>:观察患者用药前后胁肋疼痛、食欲不振、恶心呕吐、脘闷腹胀、疲倦乏力、口干口苦、身目色黄、小便色黄、大便稀溏情况,将其临床症状体征分为正常、轻、中、重度4个等级,分别赋分记为0、2、4、6分。总疗效标准参照《中



药新药临床研究指导原则》<sup>[9]</sup>。临床痊愈:肝功能恢复正常,临床症状、体征消失或基本消失,证候积分减少 $\geq 95\%$ ;显效:肝功基本恢复正常症状、体征明显改善,证候积分减少 $\geq 70\%$ ;好转:肝功能下降幅度超过基线期的50%以上,症状、体征均有好转,证候积分减少 $\geq 30\%$ ;无效:肝功能、症状、体征均无明显改善,甚或加重,证候积分减少 $< 30\%$ 。

### 1.5 统计学方法

本研究结果采用 SPSS 26.0 分析数据。两组数据资料中计量资料使用( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用  $t$  检验,计数资料使用  $n(\%)$  表示,采用秩和检验、 $\chi^2$

检验。 $P < 0.05$  认为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组肝功能指标改善情况

治疗前两组 ALT、AST 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),但治疗 6 周后,两组水平均有所下降( $P < 0.01$ )。且观察组下降较对照组更为显著( $P < 0.05$ )。两组治疗前后 ALP 指标比较差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),对照组治疗前后 TBil、IBil 指标比较差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 两组治疗前后肝功能指标比较结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	ALT/(U/L)	AST/(U/L)	TBil/( $\mu\text{mol/L}$ )	DBil/( $\mu\text{mol/L}$ )	IBil/( $\mu\text{mol/L}$ )	ALP/(U/L)
观察组( $n=30$ )	治疗前	79.63 $\pm$ 17.99	55.83 $\pm$ 19.72	13.82 $\pm$ 5.68	3.56 $\pm$ 1.89	10.27 $\pm$ 5.20	77.69 $\pm$ 25.91
	治疗后	33.43 $\pm$ 8.37** $\Delta$	31.07 $\pm$ 8.13** $\Delta$	12.43 $\pm$ 4.44	3.87 $\pm$ 2.06	8.58 $\pm$ 2.83	64.98 $\pm$ 22.92*
对照组( $n=31$ )	治疗前	86.19 $\pm$ 20.72	66.29 $\pm$ 25.42	14.70 $\pm$ 5.85	4.68 $\pm$ 2.72	10.02 $\pm$ 4.50	95.66 $\pm$ 47.38
	治疗后	42.01 $\pm$ 19.35**	40.74 $\pm$ 21.09**	12.43 $\pm$ 5.19*	5.03 $\pm$ 3.00	7.48 $\pm$ 3.40*	70.70 $\pm$ 25.38*

与同组治疗前比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$ ;与对照组比较, $\Delta P < 0.05$ 。

### 2.2 两组中医证候积分比较

两组治疗前后中医证候积分比较差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),治疗后两组相比无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 2。

表 2 两组中医证候积分比较( $\bar{x} \pm s$ ,分)

组别	例数	治疗前	治疗后
观察组	30	6.40 $\pm$ 1.22	0.93 $\pm$ 1.02*
对照组	31	6.39 $\pm$ 2.70	1.10 $\pm$ 1.47*

与同组治疗前比较,\*\* $P < 0.05$ 。

### 2.3 两组疾病综合疗效比较

观察组治愈率 96.67%,与对照组的 93.55% 比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表 3。

表 3 两组治疗效果比较

组别	例数	痊愈/ $n$	显效/ $n$	好转/ $n$	无效/ $n$	总治愈率/%
观察组	30	20	9	0	1	96.67
对照组	31	20	9	0	2	93.55

### 2.4 安全性指标评定

两组患者治疗前后血常规无明显异常,且治疗观察期内,未见明显不良反应,说明安全性均较好。

## 3 讨论

当前随着新药种类的增多,药物性肝病的发病率呈逐年上升趋势,可引起药物性肝病的药物包括抗菌药物、解热镇痛药、抗结核药、抗肿瘤药、抗精神病药物等<sup>[10]</sup>。抗精神病药物在临床上被广泛用于治疗精神分裂症、躁狂症和其他精神病性精神障碍<sup>[11]</sup>。抗精神病药物在治疗精神疾患的同时,常通过细胞色素 P450 酶系统在肝脏内代谢。有研究<sup>[12-13]</sup>表明,超过 160 种精神药物会产生肝脏不良反应,即使在治疗剂量内也可能表现出肝毒性。

陈英颖等<sup>[14]</sup>对精神药物致药物性肝损伤的临床特点及危险因素分析研究,结果表明血脂异常、初次用药和联合用药是抗精神病药物导致 DILI 的危险因素。药物及其代谢物通过氧化应激直接引起肝毒性,还可引发炎症和脂质累积,导致肝脏结构和功能受损<sup>[15-16]</sup>。药物性肝损伤的发生,不可避免的会对精神分裂症患者的治疗造成一定阻碍,因此,如何积极治疗抗精神病药物所致的 DILI,已然成为临床关注点。

研究结果显示,治疗 6 周后,采用护肝布祖热颗粒治疗抗精神病药所致药物性肝损伤的观察组和采用保肝药物甘草酸二铵胶囊的对照组治愈率



分别为 96.67%、93.55%，疾病综合疗效相当；观察组肝功能 ALT、AST 降低指标优于对照组 ( $P < 0.05$ )，治疗后两组中医症候积分均有明显改善 ( $P < 0.01$ )，且观察期间未见明显不良反应。这提示护肝布祖热颗粒用于抗精神病药所致药物性肝损伤患者，可在改善患者恶心呕吐、口干口苦等临床症状的同时，发挥较好的保肝作用，显著降低患者肝功能 ALT、AST 水平，且安全性较好。

部分非典型抗精神病药物例如氯氮平和奥氮平也能造成血清胆红素轻度升高，尤其是在合并使用其他药物、体重超标、有饮酒史的患者中更为常见，虽然造成严重后果如胆汁淤积性黄疸、慢性胆管减少综合征甚至肝硬化十分罕见，比例仅有 0.1%~1%<sup>[17]</sup>，但临床使用抗精神病药物中，建立患者 DBil、IBil、TBil 基线并定期关注还是有必要的，本研究中，两组患者胆红素水平大多在正常值水平内，虽然对照组治疗前后 TBil、IBil 指标比较差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ )，可能提示甘草酸二胺能降低胆红素水平，但无法说明两种护肝药物对胆红素病理性升高有确切疗效，这也是本研究试验局限之处。

本研究为护肝布祖热颗粒的临床应用提供了一定的临床参考价值，但其具体作用机制有待临床研究进一步验证阐明，从而为护肝布祖热颗粒干预 DILI 提供更多的循证医学证据。

### 参考文献：

[1] 中国民族医药学会. 少数民族临床用药指南[M]. 北京: 中国中医药出版社, 2019: 59

[2] 杨秀娟, 杨建华, 何红艳, 等. 维吾尔药方护肝布祖热抗大鼠急性肝损伤作用的研究[J]. 新疆医科大学学报, 2017, 33(8): 1479

[3] 张彩, 张珂, 田星, 等. 护肝布祖热颗粒对四氯化碳诱导的小鼠肝纤维化的治疗作用[J]. 石河子大学学报: 自然科学版, 2016, 34(3): 355

[4] European Association for the Study of the Liver. EASL clinical practice guidelines: drug-induced liver injury[J].

J Hepatol, 2019, 70(6): 1222

[5] CHALASANI N P, MADDUR H, RUSSO M W, et al. ACG clinical guideline: diagnosis and management of idiosyncratic drug-induced liver injury[J]. Am J Gastroenterol, 2021, 116(5): 878

[6] 许艺凡, 邢卉春. 药物性肝损伤诊断与治疗研究进展[J]. 药物不良反应杂志, 2022, 24(5): 258

[7] 中国医药生物技术协会药物性肝损伤防治技术专业委员会, 中华医学会肝病学会分会药物性肝病学组. 中国药物性肝损伤诊治指南(2023年版)[J]. 胃肠病学, 2022, 27(6): 341

[8] 中华医学会肝病学会分会药物性肝病学组. 药物性肝损伤诊治指南[J]. 临床肝胆病杂志, 2015, 31(11): 1752

[9] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 143

[10] 沈骏, 黄昕, 王誉雅, 等. 我国药物性肝损伤流行病学研究现状[J]. 临床肝胆病杂志, 2018, 34(6): 1152

[11] 杨德森. 基础精神医学[M]. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1996: 582

[12] SLIM M, MEDINA-CALIZ I, GONZALEZ-JIMENEZ A, et al. Hepatic safety of atypical antipsychotics: current evidence and future directions[J]. Drug Saf, 2016, 39(10): 925

[13] VUKOTIC N T, DORDEVIC J, PEJIC S, et al. Antidepressants and antipsychotics-induced hepatotoxicity[J]. Arch Toxicol, 2021, 95(3): 767

[14] 陈英颖, 王美娟, 孙赓冰, 等. 我院精神药物致药物性肝损伤的临床特点及危险因素分析[J]. 中国药物应用与监测, 2023, 20(1): 40

[15] 邹慧琴, 姜淑珍, 熊江红, 等. 1158例精神科药品不良反应回顾性分析[J]. 中国药物滥用防治杂志, 2022, 28(2): 218

[16] 徐会玲, 邱心怡, 王萍, 等. 脂肪肝危险因素病例对照研究及预测作用分析[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2023, 37(4): 349

[17] ATASOY N, ERDOGAN A, YALUG I, et al. A review of liver function tests during treatment with atypical antipsychotic drugs: a chart review study[J]. Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry, 2007, 31(6): 1255

(收稿日期: 2024-01-09)



# 超分子水杨酸联合强脉冲光对中重度痤疮的治疗作用研究

黄青丽<sup>1</sup>, 李正时<sup>2\*</sup>, 邹逸群<sup>1</sup>

(1. 黄石市第四医院皮肤科, 湖北 黄石 435006; 2. 黄石市第二医院麻醉科)

**摘要:**目的 分析在中重度痤疮治疗中超分子水杨酸联合强脉冲光的应用价值。方法 将某院近年来收治的中重度痤疮患者共60例作为本次观察对象,以随机法(数字表法)分组,观察组30例采取超分子水杨酸联合强脉冲光治疗,对照组30例采取超分子水杨酸治疗,比较两组临床疗效及治疗前后红斑评估量表(CEA)、躯干痤疮严重程度量表(TRASS)评分,皮损计数(粉刺、炎性丘疹、脓疱、囊肿、结节)。结果 治疗4次后,观察组临床疗效高于对照组( $P < 0.05$ );观察组CEA、TRASS评分、皮损计数较对照组改善更明显( $P$ 均 $< 0.05$ )。结论 在中重度痤疮治疗中采取超分子水杨酸联合强脉冲光治疗可提高治疗效果,减轻痤疮严重程度,较单独用超分子水杨酸治疗更能减少皮损计数,减轻红斑症状,有助于促进治疗后康复。

**关键词:**超分子水杨酸;强脉冲光;中重度;痤疮;皮损

中图分类号:R758.73

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2024)04-0332-004

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0332



## Treatment Effect of Supramolecular Salicylic Acid Combined with Intense Pulse Light on Moderate to Severe Acne

HUANG Qing-li, LI Zheng-shi, ZOU Yi-qun

(Dermatology Department, The Fourth Hospital of Huangshi, Huangshi Hubei 435006, China)

**ABSTRACT:** Objective To analyze the application value of supramolecular salicylic acid combined with intense pulse light treatment in the treatment of moderate to severe acne. Methods A total of 60 cases of moderate-to-severe acne patients admitted to a hospital in recent years were used as the subjects of this observation, grouped by randomization method (digital table method), 30 cases in the observation group were treated with supramolecular salicylic acid combined with intense pulsed light, and 30 cases in the control group were treated with supramolecular salicylic acid, and the clinical efficacy of the two groups was compared. Compare the clinical efficacy of the two groups and the scores of Erythema Evaluation Scale (CEA) and Trunk Acne Severity Scale (TRASS) before and after treatment, and the count of skin lesions (acne, inflammatory papules, pustules, cysts, nodules). Results After 4 treatments, the clinical efficacy of the observation group was higher than that of the control group ( $P < 0.05$ ); the CEA, TRASS score, and lesion count of the observation group improved more significantly than that of the control group (all  $P < 0.05$ ). Conclusion The use of supramolecular salicylic acid in combination with intense pulsed light in the treatment of moderate to severe acne improves the treatment effect, reduces the severity of acne, reduces lesion counts and erythema symptoms more than supramolecular salicylic acid alone, and helps to promote healing after treatment.

**KEY WORDS:** Supramolecular salicylic acid; Strong pulsed light; Moderate and severe; Acne; Skin lesions

痤疮是一种毛囊皮脂腺的慢性炎症性疾病,多见于面部、下颌等位置,部分患者发生于躯干<sup>[1]</sup>。痤疮的发生可致患者出现程度不同的疼痛、瘙痒等症状,甚至有面部皮损改变,影响容貌,对日常生活与身心健康造成严重影响,还需及时

治疗<sup>[2]</sup>。超分子水杨酸是一种相对新型的化学剥脱剂,主要采取突破性新型缓控释超分子水杨酸专利技术制成,能有效地将非水溶性活性成分溶解并稳定于水中,起到溶脂杀菌、消炎退红等功效,同时还可减轻瘙痒,有效改善患者皮肤状

\* 通讯作者, E-mail: 36781363@qq.com



态<sup>[3]</sup>。强脉冲光能够利用高强度光源对痤疮进行治疗,是目前临床上应用较为广泛的光疗技术,可显著改善红斑、脓疱等症状,减少痤疮皮损,有助于皮损恢复<sup>[4]</sup>。基于此,我们分析超分子水杨酸联合强脉冲光治疗中重度痤疮的应用价值,为该病临床治疗提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 纳入及排除标准

纳入标准:①经临床影像学检查、实验室检查确定病型<sup>[5]</sup>;②患者均已知情本次研究内容,自愿加入;③患者临床资料完整、意识清晰,能够配合治疗。

排除标准:①近期内进行过相关治疗,包括糖皮质激素、光敏性药物等;②治疗后出现过敏或不耐受症状;③器质性病变、肝肾功能异常;④严重皮损;⑤精神或认知障碍;⑥妊娠或哺乳期女性;⑦其他严重皮肤病、凝血功能障碍。

### 1.2 一般资料

将黄石市第四医院2022年1月至2023年6月收治的中重度痤疮患者共60例作为本次观察对象,以随机法(数字表法)分为观察组与对照组,每组各30例。其中观察组男17例,女13例;年龄22~43岁,平均(31.26±2.64)岁;重度痤疮13例,中度痤疮17例;病程5个月至4年,平均(2.06±0.34)年。对照组男14例,女16例;年龄20~41岁,平均(31.29±2.58)岁;重度痤疮15例,中度痤疮15例;病程3个月至4年,平均(2.09±0.31)年。两组患者、性别、年龄、痤疮严重程度、病程等资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。研究均经医院伦理委员会批准。

### 1.3 方法

对照组于患处常规清理后涂抹超分子水杨酸(上海瑞志医药科技有限公司,H20113362,10mL)治疗,1次/月,共4次治疗。

观察组采取强脉冲光联合超分子水杨酸治疗。患者取平卧位,患处涂抹冷凝胶,佩戴防护眼镜后根据其皮损特点、肤色及耐受度调整参数:治疗头波长560nm,脉冲宽度3ms,脉冲延时35ms,能量密度23J/cm<sup>2</sup>,对有炎症的患处需进行2次照射,强脉冲光完成后清洗面部,给予超分子水杨酸涂抹,使用蒸馏水保持湿润,持续时间为10min,1次/月,共4次治疗。

### 1.4 观察指标

(1)临床疗效<sup>[5]</sup>。分为痊愈、显效、有效、无效。痊愈:主要症状及伴随症状消失,皮损数较治疗前减少>95%;显效:患者主要症状显著改善,伴随症状消失,皮损数较治疗前减少71%~95%,且新生痤疮数≤5个;好转:主要症状与伴随症状有所减轻,皮损数30%~70%,新生痤疮数≤10个;无效:主要症状及伴随症状无改善,或加重,皮损数减少不足30%,新生痤疮>10个。

(2)红斑评估量表(CEA):总分为63分,分数越高提示红斑症状越重。

(3)躯干痤疮严重程度量表(TRASS):总分为19分,分数越高提示症状越重。

(4)皮损计数:包括粉刺、炎性丘疹、脓疱、囊肿、结节的例数。

### 1.5 统计学方法

采用SPSS 25.0处理数据,计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,行独立样本 $t$ 检验;计数资料以[ $n(\%)$ ]表示,行 $\chi^2$ 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组治疗后临床疗效比较

治疗后,可见观察组有效率高于对照组,有统计学意义( $P<0.05$ ),详见表1。

表1 两组治疗后临床疗效对比[ $n(\%)$ ]

组别	例数	痊愈	显效	好转	无效	总有效
观察组	30	23(76.7)	5(16.7)	1(3.3)	1(3.3)	29(96.7)*
对照组	30	6(20.0)	11(36.7)	5(16.7)	8(26.7)	22(73.3)

与对照组比较,\* $P<0.05$ 。

### 2.2 两组治疗前后CEA、TRASS评分比较

两组治疗前CEA、TRASS评分差异无统计学意义( $P>0.05$ ),治疗后两组上述指标明显降低( $P<0.05$ ),观察组各项评分与计数改善更明显,对比有统计学意义( $P<0.05$ ),详见表2。

表2 两组治疗前后CEA、TRASS评分对比( $\bar{x} \pm s$ ,分)

组别	例数	CEA		TRASS	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	30	43.26±2.64	15.13±2.51**	15.24±1.51	11.25±1.11**
对照组	30	43.16±2.51	23.65±3.46*	15.16±1.48	12.36±1.17*

与同组治疗前比较,\* $P<0.05$ ;与对照组比较,\*\* $P<0.05$ 。



### 2.3 两组治疗前后皮损计数比较

两组治疗前比较皮损计数差异无统计学意义( $P>0.05$ ),治疗后两组皮损计数明显降低,且观

察组改善更明显,对比有统计学意义( $P<0.05$ ),详见表3。

表3 两组治疗前后皮损计数对比( $\bar{x}\pm s$ ,个)

组别	例数	粉刺		炎性丘疹		脓疱		囊肿		结节	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
观察组	30	28.53±3.61	11.12±3.51**	28.62±3.46	7.13±2.51**	15.46±2.51	6.22±0.13**	5.46±1.15	2.16±0.24**	6.23±0.35	1.03±0.22**
对照组	30	28.46±3.55	18.25±1.54*	28.55±3.53	9.26±1.67*	15.42±2.44	8.52±1.74*	5.42±1.12	3.52±0.74*	6.25±0.38	2.64±0.27*

与同组治疗前比较,\* $P<0.05$ ;与对照组比较,# $P<0.05$ 。

### 3 讨论

近年来,痤疮在我国每年患病率呈增长趋势,已经成为影响我国居民外貌美观、心理情绪的主要因素,同时,还可在一定程度上影响患者的生活质量。目前,在临床中主要以中重度痤疮较为常见,多是由于轻度时患者并不重视,导致疾病进一步发展引起。中重度痤疮治疗相对困难,需要药物配以物理联合治疗。

超分子水杨酸是一种从柳树皮中提取或人工合成的 $\beta$ -羟基酸,具有双向调节作用,即可剥脱老化角质,又可促进表皮细胞的更新,对皮损处祛痘、红斑消退等的修复有重要作用。与果酸相比较而言,超分子水杨酸具有更强效的抗炎与亲脂特性,能够缩小毛孔,促进油脂排出,有助于提高皮肤清洁效果。另有研究发现,超分子水杨酸治疗具有较高的局部耐受性,能够适用于炎症性损害患者,但在治疗完成停药后可能出现复发,加重病情,因此,还需联合物理治疗<sup>[6]</sup>。临床研究结果表明,痤疮丙酸杆菌在细胞内产生大量卞啉,是导致痤疮发生的主要原因,强脉冲光能够直接作用于皮肤后产生光动力效应,抑制痤疮丙酸杆菌生长,从而达到治疗目的<sup>[7]</sup>。正常情况下,血红蛋白在吸收特定波长范围能量后,热能可传导至血管壁造成血管内皮细胞肿胀,导致血管痉挛收缩,形成血栓,进一步引起血管闭塞退化,封闭血管以减轻炎症状态,这与体内炎症反应的减轻有至关重要的作用。近年来,我国学者研究强脉冲光联合药物治疗痤疮获得了良好效果<sup>[8]</sup>。超分子水杨酸联合强脉冲光治疗明显减少了系统性及外用药物的使用,有效减轻药物或强脉冲光对皮肤可能造成的影响,又能改善痤疮处皮损与红印,因此,更有助于提高治疗效果。不仅如此,由于该治疗方

法明显减少了就医次数,患者的治疗依从性与满意度明显提高,促进医患关系的和谐发展<sup>[9]</sup>。

本文主要分析超分子水杨酸联合强脉冲光治疗中重度痤疮的应用价值。研究数据表明,观察组临床疗效明显高于对照组。这是由于,两种联合治疗方式能够通过不同层面加强对痤疮的治疗,起到优势互补的治疗原则。本文研究还发现,治疗后两组CEA、TRASS评分、皮损计数比较,观察组各项评分与计数改善更明显。超分子水杨酸能促进角质剥脱、溶解粉刺,抗炎作用强,使患处炎症与痤疮改善<sup>[10]</sup>。强脉冲光可起到非特异性抗炎作用,还能抑制皮脂腺分泌,从根本上解决患者的皮肤问题,因此,更能提高治疗预后。

综上所述,在中重度痤疮治疗中采取超分子水杨酸联合强脉冲光治疗可提高疾病治疗效果,减轻痤疮严重程度,较单独用超分子水杨酸治疗更能减少皮损计数,减轻红斑症状,有助于促进治疗后康复。

### 参考文献:

- [1]高丽娟,陈贝贝,焦丹红.超分子水杨酸联合强脉冲光治疗玫瑰痤疮的临床观察[J].临床医学,2024,44(1):75
- [2]朱新华,张二佳,付梦瑶.强脉冲光联合富血小板血浆注射治疗玫瑰痤疮疗效观察[J].中国美容医学,2023,32(10):102
- [3]马艺珍,李亭亭,王超,等.果酸换肤术联合强脉冲光对中度寻常性痤疮患者皮肤屏障功能及TEWL的影响[J].中外医疗,2023,42(28):31
- [4]龙森,任宏珊,张世园.果酸换肤联合强脉冲光对痤疮后色素沉着改善的疗效观察[J].中国美容医学,2023,32(8):81

(下转第339页)



# 能谱 CT 静脉期多定量参数对于实性肺结节良、恶性诊断的价值\*

赵睿依,赵志伟\*\*

(咸宁市中心医院/湖北科技学院附属第一临床学院放射科,湖北 咸宁 437100)

**摘要:**目的 探讨静脉期能谱 CT 多定量参数对于鉴别肺部实性结节良、恶性的诊断价值。**方法** 回顾性分析 69 例经能谱 CT 静脉期扫描的实性肺结节患者多定量参数,包括静脉期 40~90keV 虚拟单能量 CT 值、能谱曲线斜率、碘浓度、标准碘浓度及有效原子序数。以病理检查结果作为诊断金标准,对比良、恶性实性肺结节各定量参数情况,并分析其作用于判断肺结节良、恶性的诊断效能。**结果** 恶性实性肺结节在静脉期 40~90keV 虚拟单能量 CT 值、能谱曲线斜率、碘浓度、标准碘浓度及有效原子序数均高于良性结节( $P < 0.05$ ),ROC 曲线显示,静脉期 40~90keV 虚拟单能量 CT 值、能谱曲线斜率、碘浓度、标准碘浓度及有效原子序数对于实性肺结节良、恶性鉴别均有良好的诊断效能。**结论** 静脉期能谱多定量参数能有效鉴别实性肺结节的良、恶性。

**关键词:**能谱 CT;肺结节;虚拟单能量;有效原子序数

中图分类号:R445

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2024)04-0335-005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0335



## Value of Multi-Quantitative Parameters in Venous Phase of Energy Spectrum CT in Diagnosis of Benign and Malignant Solid Pulmonary Nodules

ZHAO Rui-yi, ZHAO Zhi-wei

(Department of Radiology, Xianning Central Hospital, Xianning Hubei 437100, China)

**ABSTRACT; Objective** To investigate the diagnostic value of multi-quantitative parameters of intravenous energy spectrum CT in differentiating benign and malignant solid pulmonary nodules. **Methods** The multi-quantitative parameters of 69 patients with solid pulmonary nodular lesions were retrospectively analyzed, including the virtual single-energy CT value of 40-90keV in the venous phase, the slope of the energy-spectrum curve, the iodine concentration, the standard iodine concentration, and the effective atomic number. The pathological findings were used as the diagnostic gold standard to compare the quantitative parameters of benign and malignant solid pulmonary nodules and to analyze their role as the diagnostic efficacy for determining the benign and malignant nature of pulmonary nodules. **Results** The virtual single-energy CT value, slope of the energy spectrum, iodine concentration, standard iodine concentration and effective atomic number of malignant solid lung nodules were higher than that of benign nodules in the venous phase 40-90keV ( $P < 0.05$ ). The ROC curve showed that the virtual single-energy CT value of 40-90keV in the venous phase, the slope of the energy spectrum, the iodine concentration, the standard iodine concentration and the effective atomic number had good diagnostic efficacy for the differentiation of benign and malignant solid pulmonary nodules. **Conclusion** Multiple quantitative parameters of energy spectrum in the venous stage could effectively distinguish benign and malignant solid pulmonary nodules.

**KEY WORDS:** Energy spectrum CT; Pulmonary nodules; Virtual single energy; Effective atomic number

\* 基金项目:咸宁市中心医院院级科研项目(2020XYB001)

\*\* 通讯作者, E-mail: fly123sky@163.com

随着肺结节的检出不断增多,其良、恶性的鉴别一直是医生讨论的重点。通过准确定性肺结节可以及时让患者的病情得到控制,并防止非癌性的病患接受过度的医疗处理。目前,传统的增强计算机断层扫描(CT)是一种用于检测肺部肿瘤的通用成像方法,但它很少提供病变的生物学特征。CT灌注、<sup>18</sup>F脱氧葡萄糖正电子发射断层扫描CT可以提供比单独CT多得多的关于肿瘤血管和代谢的信息,但这些模式与过多的辐射剂量和高成本有关。近年来,磁共振成像已被用于检测肺部病变,但微弱信号和呼吸运动伪影的不良影响需要克服。能谱CT是一种无创且相对安全的成像方法,可以区分各种组织成分,并提供更多关于不同病变生物学特征的信息,使得结节的鉴别从以往的定性分析转变为定量分析。有研究<sup>[1]</sup>证明,在碘浓度图中,静脉期图像的分析具有很高的临床实用性。本研究的目的是通过一些参数,包括静脉期40~90keV虚拟单能量CT值、能谱曲线斜率、碘浓度、标准碘浓度及有效原子序数,采用静脉期增强能谱模式,从而探讨静脉期能谱CT多定量参数对鉴别实性结节良、恶性的诊断价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 诊断及纳入排除标准

诊断标准:以病理结果作为肺结节良性和恶性诊断的金标准。纳入标准:①患者均为首次检查,在此之前未进行任何药物或手术治疗;②无碘对比剂不良反应,无甲状腺功能亢进、严重肾功能不全病史;③病例均经过手术或穿刺得到病理结果;④患者能配合检查,图像质量符合诊断及后处理操作要求。排除标准:①病灶呈斑片状或磨玻璃表现;②缺乏诊断的组织病理学确认;③共存另一种癌症;④病灶能谱定量参数值过大或过小,不在正常范围内。

### 1.2 一般资料

回顾性分析2020年12月至2022年1月在我院进行手术并经病理证实的69名肺结节患者,术前均行GE Revolution CT单期-静脉期增强扫描。患者年龄35~70岁,平均(53.67±7.25)岁;结节平均最大径(2.05±0.57)cm;恶性结节组共36例,包括鳞癌15例、腺癌21例;良性结节组共33例,包括肉芽肿性炎20例、炎性病变13例。

### 1.3 实验方法

患者在静脉期使用快速kVp切换能谱CT的

双能CT扫描仪进行检查。造影剂注射后的延迟时间为90s。其他参数设置:管电压80~140kVp;球管旋转时间0.5s;管电流为630mA;螺距为1.375:1;小视野设定为50.0cm;准直设定为55mm;视野设定为400mm×400mm。以4.0mL/s的速率给每个患者注射碘克沙醇(400mg/mL,1mL/kg)增强扫描,随后以相同流率注射生理盐水20mL,选取支气管分叉下方水平同层胸主动脉监测CT值,触发阈值180HU,到达阈值后延迟90s进行静脉期扫描;扫描方向为头足方向,扫描范围从胸廓入口到膈肌水平。

### 1.4 图像后处理

将扫描得到的原始图像上传至后处理工作站AW Volume Share 4.7,并在能谱CT后处理工作站上对图像进行多参数分析。将感兴趣区域(ROI)置于结节的密度相对均匀区域,测量静脉期虚拟单能量图像40~90keV的CT值、能谱曲线斜率、碘浓度图像中的碘浓度值和有效原子序数。见图1~2。

由两名拥有超过五年能谱CT诊断经验的医生,对之前获取的图像进行解析,并对良性和恶性结节的相关能谱CT定量指标进行测定。对于无争议的测量值视为最终结果,存在争议的测量值由医师通过协商方式确定。以病理检查结果作为金标准,分析良、恶性实性肺结节各定量参数的差异。

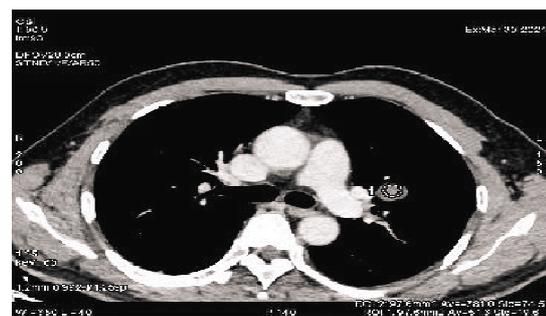


图1 错构瘤患者静脉期虚拟单能量测量



图2 鳞癌患者静脉期有效原子序数测量



## 1.5 统计学方法

应用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析。采用 S-W 检验对各组进行正态分布检验,计量资料描述采用( $\bar{x} \pm s$ )表示,对于符合正态分布的计量资料,比较两组间的差异,采用两独立样本  $t$  检验,对于不符合满足正态分布的计量资料,比较两组间的差异,采用 Mann-Whitney 秩和检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 静脉期良、恶性实性肺结节虚拟单能量图像 CT 值比较

在虚拟单能量图像上,肺结节在 40 ~ 90keV 显示出不同 CT 值。以 5keV 的间隔进行测量,依据统计分析显示,在对比增强的静脉期阶段,恶性实性肺结节 CT 值均大于良性,两者间差异均具有统计学意义( $P$  均  $< 0.05$ ),结果见表 1。

表 1 静脉期虚拟单能量 40 ~ 90keV 良、恶性结节 CT 值比较( $\bar{x} \pm s$ ,HU)

虚拟单能量/keV	良性(n=33)	恶性(n=36)	$t$	$P$
40	150.51 ± 22.64	185.58 ± 22.98	-5.237	0.000
45	123.66 ± 22.99	154.89 ± 18.62	-5.135	0.000
50	104.14 ± 19.82	130.00 ± 14.75	-5.057	0.000
55	89.82 ± 19.94	110.67 ± 12.32	-5.170	0.000
60	78.37 ± 19.27	95.63 ± 10.61	-4.551	0.000
65	68.56 ± 19.11	83.92 ± 9.89	-4.137	0.000
70	60.04 ± 19.43	74.55 ± 9.22	-3.135	0.002
75	52.42 ± 19.98	66.98 ± 8.83	-2.865	0.004
80	48.52 ± 19.5	60.91 ± 8.71	-2.505	0.012
85	43.34 ± 20.05	55.85 ± 8.55	-2.469	0.014
90	39.97 ± 20.15	51.88 ± 8.62	-2.325	0.020

### 2.2 静脉期良、恶性实性肺结节能谱曲线斜率比较

由于在 40 ~ 90keV 虚拟单能量区间内,实性恶性结节的 CT 值均高于良性结节( $P < 0.05$ )。因此,本文选择以  $k = (90\text{keV CT 值} - 40\text{keV CT 值})/50$  做为能谱曲线的斜率。实验数据表明,静脉期恶性实性肺结节的能谱曲线斜率( $2.67 \pm 0.44$ )均高于良性( $2.21 \pm 0.41$ ),两者间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 2.3 静脉期良、恶性实性肺结节碘浓度、标准碘浓度比较

在静脉期碘图上,测量实性肺结节碘浓度。标准碘浓度取肺结节与同层面降主动脉碘浓度的比值。实验数据表明,静脉期恶性实性肺结节的碘浓度、标准碘浓度均大于良性( $P$  均  $< 0.05$ ),结果见表 2。

表 2 静脉期良、恶性结节碘浓度、标准碘浓度比较( $\bar{x} \pm s$ ,mg/cm<sup>3</sup>)

参数	良性(n=33)	恶性(n=36)	$t$	$P$
碘浓度	16.74 ± 3.76	19.61 ± 3.67	-3.206	0.002
标准碘浓度	0.37 ± 0.11	0.43 ± 0.09	-2.461	0.016

### 2.4 静脉期良、恶性实性肺结节有效原子序数比较

在有效原子序数图上,测量实性肺结节原子序数值。实验数据表明,恶性实性肺结节原子序数值( $8.79 \pm 0.20$ )大于良性肺结节( $8.58 \pm 0.23$ ),两者间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 2.5 静脉期各参数对良、恶性实性肺结节诊断的诊断效能

对 40 ~ 90keV 虚拟单能量参数进行 ROC 曲线分析,上述各能量级对应 CT 值均能有效鉴别良、恶性实性肺结节,且在虚拟单能量为 40KeV 时 CT 值诊断效能最高,对应曲线下面积为 0.867 (95% CI: 0.781 ~ 0.953,  $P < 0.001$ ),截断值为 159.05HU,敏感度 94.4%,特异度 69.7%。故取虚拟单能量为 40KeV 时 CT 值、能谱曲线斜率、碘浓度、标准碘浓度及有效原子序数进一步进行 ROC 曲线分析,结果表明各参数对良、恶性实性结节均有较好的诊断效果,结果见图 3、4 及表 3。

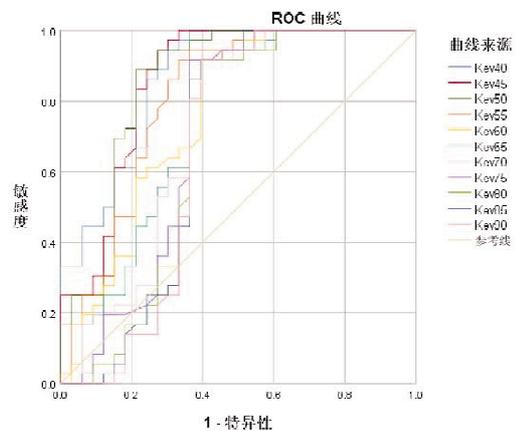


图 3 静脉期 40 ~ 90keV 虚拟单能量诊断效能 ROC 曲线

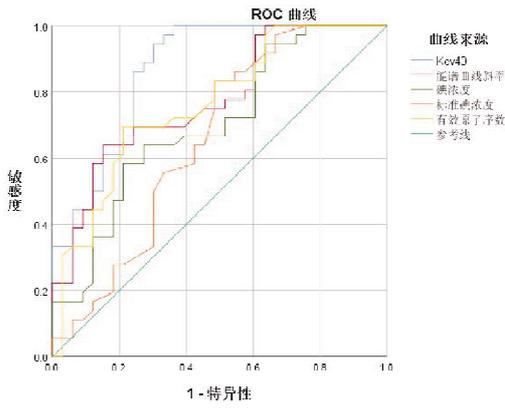


图4 静脉期各参数诊断效能 ROC 曲线

表3 静脉期各参数诊断效能

参数	截断值	敏感度/%	特异度/%	AUC	95% CI
40KeV	159.05	94.4	69.7	0.867	0.781-0.953
能谱曲线斜率	2.487	63.9	84.8	0.774	0.664-0.883
碘浓度	18.785	78.3	78.8	0.701	0.578-0.825
标准碘浓度	0.345	83.3	71.5	0.756	0.523-0.789
有效原子序数	8.68	69.4	78.8	0.762	0.649-0.875

### 3 讨论

在常规 CT 增强上,恶性结节的显著增强与毛细血管的灌注和通透性增加有关,这是微血管密集程度增加的结果<sup>[2]</sup>。新生肿瘤血管形成过程对于肿瘤扩散和转移起到了极其重要的影响,部分恶性肿瘤伴随相关生化因子水平波动<sup>[3]</sup>。先前的许多研究<sup>[4-6]</sup>都揭示了肺结节在 CT 上动态增强的特征,以帮助区分恶性结节和良性结节。Yi 等<sup>[7]</sup>报告显示,恶性结节呈现出更高的峰值和净增强,这种增强程度揭示了潜在的微血管密度和肿瘤血管的形成。尽管如此,用传统 CT 测量结节强化的参数单一,且常常需要结合平扫 CT 综合判断。

能谱 CT 是一种新的、快速出现的成像技术,它提供了重要的新功能和特定信息,在适当的扫描能量的情况下,基于碘浓度分析,静脉注射碘造影剂对能谱 CT 局灶性病变的评估有影响<sup>[8]</sup>。

在 CT 增强扫描过程中,增强程度可以通过肿瘤中的血管内碘含量反映<sup>[9]</sup>。本研究证明在静脉期,恶性结节的 40~90keV 范围内虚拟单能量 CT 值、能谱曲线斜率、碘浓度、标准碘浓度及有效原子序数均高于良性。ROC 曲线分析显示虚拟单能量为 40keV 时 CT 值、能谱曲线斜率、碘浓度、标准碘浓度、有效原子序数的最佳阈值分别为 159.05、2.487、18.78、0.345、8.68,其中虚拟单能量为 40keV 时 CT 值对于结节良恶性的诊断价值

最高,对应 AUC 值为 0.867。有文献认为虚拟单能量为 60keV 时相当于 120 kVp 的标准增强 CT 采集<sup>[10]</sup>。而本研究中鉴别结节良恶性的最佳虚拟单能量为 40Kev,可能是由于本文研究中结节直径范围在 2cm 左右,对 X 射线束的吸收程度低于标准能量级。本文中,碘浓度、标准碘浓度及有效原子序数对于结节良恶性的鉴别价值稍低于虚拟单能量,可能是由于肺结节直径较小,而导致肿瘤中积累造影剂碘浓度不足,良恶性结节间差异不甚明显,亦或者是由于样本量过少,而影响结果的准确性。在后续研究中,会进一步完善。通常,肿瘤中的碘浓度主要取决于肿瘤微血管密度和漏入细胞间隙的碘造影剂的定量。正常肺组织中的毛细血管内皮细胞连接紧密,基底膜完整,碘化造影剂很少渗漏到细胞间隙。然而,癌症患者的肺部病变形形成大量新的微血管,其中毛细血管内皮细胞连接松散,基底膜不完整。血管生成的程度表示生存能力、恶性程度和血管来源<sup>[11]</sup>。碘作为造影剂的主要成分,可以评估血管床和细胞间隙,并基于恶性病变表现出更高等度的造影增强的假设,促进身体不同部位病变的分化<sup>[12-13]</sup>。因此,碘化造影剂很容易泄漏到细胞间隙。此外,肺肿瘤中的微血管排列复杂且曲折,造影剂在这些肿瘤组织中流动缓慢。由于这些因素,恶性肺结节会摄取更多的造影剂。并且就辐射剂量而言,能谱 CT 是一种无创且相对安全的成像方法。总之,静脉期期间的 40keV~90keV 虚拟单能量 CT 值、能谱曲线斜率、碘浓度、标准碘浓度及有效原子序数在实性肺良性结节与恶性结节之间有显著差异,在静脉期期间测量这些定量参数有助于区分结节的良、恶性。

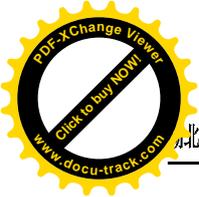
### 参考文献:

[1] WEN Q, YUE Y, SHANG J, et al. The application of dual-layer spectral detector computed tomography in solitary pulmonary nodule identification[J]. Quant Imaging Med Surg, 2021, 11(2): 521

[2] MILLER K, CHAP L, HOLMES F, et al. Randomized phase III trial of capecitabine compared with bevacizumab plus capecitabine in patients with previously treated metastatic breast cancer[J]. J Clin Oncol, 2005, 23(4): 792

[3] 张艺, 徐雷, 徐旭燕. 非小细胞肺癌患者血清 sST2、suPAR 表达水平及其临床意义[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2022, 36(3): 244

[4] 邢媛媛, 张庆, 赵佳佳, 等. CT 靶扫描联合三期增强扫描对孤立性肺结节的临床鉴别诊断价值[J]. 中国老



- 年学杂志,2021,41(7):1405
- [5]周森,马学进,江林,等.增强CT扫描和99mTc-MIBI-SPECT/CT同机融合显像鉴别孤立性肺结节的临床研究[J].临床放射学杂志,2021,40(7):1303
- [6]张杰,王建,项昆,等.CT增强直方图在良恶性肺结节鉴别诊断中的价值[J].中国CT和MRI杂志,2022,20(10):41
- [7]YI C A, LEE K S, KIM E A, et al. Solitary pulmonary nodules; dynamic enhanced multi-detector row CT study and comparison with vascular endothelial growth factor and microvessel density[J]. Radiology, 2004, 233(1):191
- [8]ZEGADŁO A, ZABICKA M, KANIA-PUDŁO M, et al. Assessment of solitary pulmonary nodules based on virtual monochrome images and iodine-dependent images using a single-source dual-energy ct with fast kVp switching[J]. J Clin Med, 2020, 9(8):2514
- [9]LIU K, WANG M, XU Y, et al. Value of spectral computed tomography-derived quantitative parameters based on full volume analysis in the diagnosis of benign/malignant and pathological subtypes of solitary pulmonary nodules[J]. Quant Imaging Med Surg, 2023, 13(6):3827
- [10]田双凤,夏建国.能谱CT在肺癌中的应用进展[J].中国医学影像学杂志,2024,32(2):199
- [11]娄宁,杨帆,王莉芝,等.肺腺癌组织中TCF21、VEGF表达与微血管密度及预后的相关性分析[J].临床与实验病理学杂志,2021,37(7):851
- [12]LI Q, TAN H, LV F. Molecular characterization of solitary pulmonary nodules in dual-energy CT nonlinear image fusion technology[J]. J Recept Signal Transduct Res, 2022, 42(1):95
- [13]ZHU B, ZHENG S, JIANG T, et al. Evaluation of dual-energy and perfusion CT parameters for diagnosing solitary pulmonary nodules[J]. Thorac Cancer, 2021, 12(20):2691  
(收稿日期:2024-03-14)

(上接第334页)

- [5]鞠强.中国痤疮治疗指南(2019修订版)[J].临床皮肤科杂志,2019,48(9):583
- [6]杨红霞.非剥脱点阵激光与强脉冲光联合非剥脱点阵激光治疗痤疮瘢痕近期效果和生活质量对比研究[J].河南外科学杂志,2023,29(4):136
- [7]徐莲莲,涂红琴,吕永全,等.小剂量多西环素联合强脉冲光对中重度痤疮患者皮损症状、炎性反应及 Acne-QOL 评分的影响[J].现代生物医学进展,2023,23(13):2550
- [8]钱佳丽,刘久利,何静岩,等.两种强脉冲光治疗红斑毛细血管扩张型玫瑰痤疮的效果对比[J].中国美容医学,2023,32(7):110
- [9]韩洁,訾绍霞,刘爱英.复合酸辅助强脉冲光治疗玫瑰痤疮的疗效及安全性分析[J].中国美容医学,2023,32(7):118
- [10]闫美荣,李忠贤,朱世花,等.超脉冲二氧化碳点阵激光联合强脉冲光治疗面部痤疮凹陷性瘢痕的疗效分析[J].中国医疗美容,2023,13(4):17  
(收稿日期:2024-03-07)



# 医共同体临床药学同质化服务研究\*

房树华<sup>1</sup>, 曹定雯<sup>1</sup>, 刘玲<sup>2</sup>, 徐碧云<sup>1\*\*</sup>

(1. 南京市溧水区人民医院/东南大学附属中大医院溧水分院, 江苏南京 211200;  
2. 南京市溧水区东屏社区卫生院)

**摘要:**目的 探讨我院医共同体临床药学同质化服务的应用效果。方法 我院自2021年1月应用同质化临床药学服务模式,随机选择82例慢病患者、28名医务人员(其中药师12名,医师16名)为实施前后的研究对象,2020年为实施前,2021年为实施后,比较实施前后的管理效果。结果 经过临床药学的培训,医共同体医师和药师的合理用药能力测试成绩( $83.63 \pm 7.63$ 、 $84.33 \pm 8.77$ )较前( $63.13 \pm 8.69$ 、 $61.08 \pm 9.47$ )得到明显提升;对患者实施慢性病教育的人均病种数( $2.74 \pm 1.38$ )较前( $0.90 \pm 0.79$ )明显增加;患者用药依从性量表得分( $5.37 \pm 1.41$ )较前( $4.50 \pm 1.58$ )明显增加;处方、医嘱合理性(94.00%)较前(87.20%)显著提高;患者用药满意度( $90.95 \pm 0.36$ )较前( $88.09 \pm 0.21$ )明显增加,所有对比项目数据差异均具有统计学意义( $P$ 均 $<0.05$ )。结论 实施医共同体临床药学同质化服务可以树立基层医院的药学服务意识,提升医师药师的合理用药能力,增加患者服药依从性,提高用药的合理性,改善医共同体单位的临床药学工作质量。

**关键词:**医共同体;临床药学;同质化服务

中图分类号:R95

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2024)04-0340-004

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0340



## Research on the Homogeneous Service of Clinical Pharmacy in the Medical Community

FANG Shu-hua, CAO Ding-wen, XU Bi-yun, et al

(Nanjing Lishui People's Hospital/Zhongda Hospital Lishui Branch, Southeast University, Nanjing Jiangsu 211200, China)

**ABSTRACT; Objective** To explore the application effect of the homogeneous service of clinical pharmacy in the medical community. **Methods** Since January 2021, the hospital has applied the homogeneous clinical pharmacy service model, with 2020 as the pre-implementation period and 2021 as the post-implementation period, and 82 patients with chronic diseases and 28 medical staff (including 12 pharmacists and 16 physicians) were randomly selected to compare the management effects before and after the implementation. **Results** After the training of clinical pharmacy, the test results of rational drug use ability of physicians and pharmacists in the medical community ( $83.63 \pm 7.63$ ,  $84.33 \pm 8.77$ ) were significantly improved compared with the previous ones ( $63.13 \pm 8.69$ ,  $61.08 \pm 9.47$ ). The number of per capita diseases ( $2.74 \pm 1.38$ ) that providing chronic disease education to patients had significantly increased compared to before ( $0.90 \pm 0.79$ ). The score of the medication adherence scale ( $5.37 \pm 1.41$ ) significantly increased compared to before ( $4.50 \pm 1.58$ ). The rationality of prescriptions and medical orders (94.00%) was significantly improved compared to before (87.20%). The patients' medication satisfaction ( $90.95 \pm 0.36$ ) has significantly increased compared to before ( $88.09 \pm 0.21$ ). All the data were compared, and the differences were statistically significant (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** The homogeneous service of clinical pharmacy in the medical community can establish the awareness of pharmaceutical service in primary hospitals, improve the ability of physicians and pharmacists to use drugs rationally, increase patients' compliance with medication, improve the rationality of drug use, and improve the quality of clinical pharmacy work in medical community units.

**KEY WORDS:** Medical community; Clinical pharmacist; Homogenization

\* 基金项目:南京市药学会—常州四药医院药学科研基金项目(2021YX007);南京市溧水区人民医院引进人才科研项目(2021YJ04);浙江长三角健康科研基金项目(2023CSJ-2-A007)

\*\* 通讯作者, E-mail: 18752070468@163.com



近年来,国家要求进一步加强以患者为中心、以合理用药为核心的临床药师队伍建设,逐步实现药学服务全覆盖<sup>[1]</sup>。当前,我国药学服务在各级医疗机构中呈现出差异化、碎片化的特点,特别是社区、乡镇卫生院、村卫生室等基层医疗机构药学人员配备不足,临床药师和临床药学工作基本处于空白,这在一定程度上影响了医疗质量和患者的治疗效果。县域医疗服务体系是连接基层医疗服务和城市优质医疗资源的重要枢纽,是推动我国分级诊疗制度落实、实现健康中国的关键环节<sup>[2]</sup>。2013年,国家层面提出开展“医疗联合体”建设<sup>[3]</sup>,2019年5月,国家卫生健康委会同国家中医药管理局颁布了《关于推进紧密型县域医疗卫生共同体建设的通知》,强调应建成目标明确、权责清晰、分工协作的新型县域医疗卫生服务体系,逐步形成服务、责任、利益、管理的共同体;病种的不断复杂化使得患者对医疗卫生事业提出了更高的要求,疾病的诊疗往往需要医院各部门、各岗位的通力合作,临床药学服务在用药过程中的作用也在日益凸显<sup>[4-5]</sup>。

我区是国家紧密型县域医共体建设试点、国家基本药物制度综合改革试点、全省医共体医保支付方式改革试点,也是省基层卫生健康信息化建设提档升级试点地区,我院与6家镇街卫生院建立紧密型医共体,成立了医共体办公室,出台了《业务垂直管理方案》《医疗技术下沉实施方案》《资源整合方案》等系列文件制度,全力推进医共体建设,临床药学服务同质化就是其中一项重要内容,参考国内外药师服务标准<sup>[6-8]</sup>,我们进行以下研究。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

医院自2021年1月起对接受药物治疗的患者应用临床药学同质化服务模式,2020年为实施前,2021年为实施后,通过His系统随机选择2020年具有就诊记录的82例患者、具有工作记录的28名医务人员(其中药师12名,医师16名)为研究对象,进行前后对照研究,比较实施前后的管理效果。患者纳入标准:在研究所选定的时间范围内,因罹患各类慢性疾病在医共体医院内接受药物治疗,患者的年龄大于18周岁,意识清楚、思维正常,能进行语言沟通,且愿意合作,有实施前后的研究数据,并签署关于此次调研的知情同意

书的患者。医务人员纳入标准:在研究所选定的时间范围内,年龄大于18周岁,具有从业资格证明,可参与本次的调查问卷填写,意识清楚、思维正常、愿意合作,未超过3个月休假,并签署关于此次调研知情同意书的医务工作人员。

纳入研究的患者共82例,其中男44例,女38例;年龄30~78岁;大专及以下69例,本科13例;医务人员28名,其中男17名,女11名;年龄为25~50岁;初级职称15名,中级职称9名,高级职称4名,研究期间医务工作人员无变化。

### 1.2 方法

药学同质化服务实施前采取常规医疗服务,根据患者诊断开具并发放药物,告知药物的使用方法,未实施特殊的临床药学服务。药学同质化服务实施方法如下。

#### 1.2.1 培养药师、医师合理用药能力

组织药师、医师进行药学服务标准培训<sup>[9]</sup>,协助医共体药师、医师掌握相关临床药学服务内容、服务方法、服务技巧,并组织考试。测试题库根据临床药学基本工作和本医疗机构的临床药学工作组建,共组建三份试题,随机抽取,试题不重复使用,在实施前、后各进行一次理论能力测试。

#### 1.2.2 开展基层医院慢性病教育

基层医院就诊患者主要以高血压、糖尿病、高脂血症、脑梗塞、慢性阻塞性肺病为主,且均存在不同程度的治疗欠缺,急需要进行慢病用药教育,经过核心医院带教,药物咨询门诊、慢病教育讲座及出院带药教育等形式逐步开展慢性病教育<sup>[10-11]</sup>,教育过程中主动向患者介绍相关疾病知识,详细介绍药物的种类、作用机制、使用方法、相互作用、可能发生的不良反应、监测指标及特殊注意事项,使患者能够正确使用药物,提高治疗效果,增强患者疾病预防观念。

#### 1.2.3 开展处方、医嘱点评

开展医共体临床药学同质化服务后,药师能力得以提升,可以常规开展处方、医嘱点评,及时发现和纠正不合理用药现象,提高患者的用药安全性和治疗效果<sup>[12]</sup>。如冠状动脉支架植入术后的患者双抗时间长达3年以上,与指南推荐的双抗1年后改为单抗治疗不符,通过了解病史后纠正用药可减少医疗费用且能减少严重出血等不良反应的发生,使患者获益。

#### 1.2.4 开展临床药学查房

通过开展医共体临床药学服务同质化工作



后,由核心医院临床药师带领基层医院药学人员进行药学查房,让基层药师参与到临床治疗中,为医生提供专业的药学建议和用药方案<sup>[13]</sup>,以此来培养基层药师查房能力和提高临床合理用药水平,确保患者用药安全。

### 1.3 观察指标及评估方式

参与药师、医师合理用药能力测试人员需在实施培训前、后各进行一次理论能力测试,记录参与试验的28名医务人员的有效得分进行统计分析,以此来评估能力提升程度;记录核心医院带教前后参与研究的82例多病患者开展教育的病种数,以及使用Morisky服药依从性量表得分(总分8分)来评估慢病教育的成效;抽查实施处方医嘱点评前后同时期的处方各200份、医嘱各50份进行点评,观察两组数据的合理率,以此来评估用药合理性的提高程度;记录核心医院带领开展药学查房前后平均每月的查房天数、查房患者人数及满意度调查评分表分析患者用药满意度,以此来评估基层药师的服务水平。

### 1.4 统计学方法

使用SPSS 27.0统计学软件对数据进行处理,以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示计量资料,使用 $t$ 检验;以百分比表示计数资料,使用 $\chi^2$ 检验计数,若 $P < 0.05$ 则可视差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 合理用药能力测试结果

总计收到培训前后有效检测成绩28份(其中药师12份,医师16份),分析发现,药师、医师合理用药能力较实施合理用药培训前得到显著提升( $P < 0.05$ ),具体见表1。

表1 医共体单位药师、医师合理用药能力测试情况( $\bar{x} \pm s$ ,分)

类型	实施前	实施后
药师( $n=12$ )	61.08±9.47	84.33±8.77*
医师( $n=16$ )	63.13±8.69	83.63±7.63*

与实施前比较,\* $P < 0.05$ 。

### 2.2 慢性病教育开展情况比较

参与研究的82例患者,统计分析慢性病教育开展前后慢性病教育病种数和依据药物依从性评分量表评价患者的用药依从性情况,分析发现对患者慢性病教育的病种数和用药依从性得分明显

增加( $P < 0.05$ ),具体见表2。

表2 医共体单位慢性病教育开展情况( $\bar{x} \pm s$ )

类型	实施前( $n=82$ )	实施后( $n=82$ )
慢性病教育病种数/ $n$	0.90±0.79	2.74±1.38*
患者用药依从性评分/分	4.50±1.58	5.37±1.41*

与实施前比较,\* $P < 0.05$ 。

### 2.3 处方、医嘱点评情况

处方、医嘱点评常规开展后点评量明显增加,随机抽取开展前后各200份处方及50份医嘱,发现实施前处方、医嘱点评合格率87.20%(218/250),实施后处方、医嘱点评合格率94.00%(235/250),实施后处方、医嘱点评合理性较实施前显著提高( $P < 0.05$ ),具体分布情况见表3。

表3 医共体单位处方、医嘱点评情况

不合理处方、医嘱分类	实施前	比例/%	实施后	比例/%
不规范				
开具处方未写临床诊断或临床诊断书写不全的	4	12.50	2	13.33
无特殊情况下,门诊处方超过7日用量,急诊处方超过3日用量	2	6.25	1	6.67
不适宜				
适应症不适宜	4	12.50	1	6.67
遴选的药品不适宜	5	15.63	2	13.33
药品剂型或给药途径不适宜	2	6.25	2	13.33
用法、用量不适宜	5	15.63	3	20.00
联合用药不适宜	5	15.63	2	13.33
有配伍禁忌或者不良相互作用	1	3.13	0	0
超常				
无正当理由超说明书用药	4	12.50	2	13.33
总计	32	100	15	100

### 2.4 药学查房开展情况

药学查房常态化,统计药学查房实施前后参与研究的12名药师每月药学查房天数、查房患者人数及患者用药满意度,发现以上数据均明显增加( $P < 0.05$ ),具体见表4。

表4 医共体单位开展药学查房情况( $\bar{x} \pm s$ )

类型	实施前( $n=12$ )	实施后( $n=12$ )
每月药学查房天数/ $d$	0.00±0.00	4.50±1.00*
每月药师查房患者入次数/ $n$	0.00±0.00	21.08±10.32*
患者用药满意度/分	88.09±0.21	90.95±0.36*

与实施前比较,\* $P < 0.05$ 。



### 3 讨论

医共体临床药学同质化服务模式是一种通过标准化和规范化的药学服务,提升医疗质量和安全性的服务模式。该模式致力于确保不同医疗机构间的药学服务具备相同的高质量标准,以满足患者的医疗需求。由于人员配备不足,且观念陈旧,基层医院仍存在合理用药能力水平不足、未实施处方医嘱点评、欠缺规范化的用药教育及未开展药学查房等问题。本研究通过医共体临床药学服务同质化,提高了服务的一致性和可靠性;药师参与到临床治疗中,能及时发现和纠正不合理用药现象,可以促进治疗方案的优化和科学化;通过实施规范化的用药交代,可有效减少用药错误。综上,本次研究一方面可以弥补基层医院药师队伍欠缺,临床药学工作空白等问题;另一方面,可以发挥临床药师能力,对基层药师进行实践带教,从实践中积累专业知识和处理问题的能力,实现慢性病教育、医嘱处方点评、药学查房等常规工作,从根本上促进基层合理用药<sup>[14]</sup>。

临床药学同质化服务模式是一个持续改进和优化的过程。为确保同质化服务的实施效果,需要对临床药学服务质量进行定期评估。评估指标应包括患者满意度、医疗质量、安全性等多个方面<sup>[15]</sup>。通过评估结果,可以及时发现问题并采取改进措施。同时,医疗机构应关注患者需求和行业动态,不断调整和完善服务模式,以适应市场的变化和患者的需求。同时,医疗机构还应积极寻求与外部机构的合作和资源共享,提升自身的服务能力和竞争力。

提升医共体临床药学同质化服务能力,需要从多个方面来综合考虑,既要考虑提升药师的临床药学服务能力,又要提升临床医生的合理用药水平,同时还要关注基层慢病患者用药教育,如何才能真正实现同质化服务,尚需要在实际工作中不断摸索、实践。

#### 参考文献:

[1] 国家卫生健康委,国家中医药管理局. 关于加快药学

服务高质量发展的意见[J]. 中华人民共和国国家卫生健康委员会公报,2018(11):16

- [2] 张杨,张文科,叶成刚. 医共体双向转诊的全程跟踪管理[J]. 中国卫生产业,2019,16(32):73
- [3] 赵锐,高晶磊,赵琨,等. 我国医疗联合体建设现状与发展思考[J]. 中国医院管理,2021,41(2):1
- [4] 杭永付,徐燕,李琳,等. 腹膜透析患者全程智慧化药学服务模式的建立[J]. 中国药房,2023,34(21):2644
- [5] 王阿明,尹存林,黄磊,等. 临床药师基于颅内肿瘤患者切除术后感染风险列线图模型的药学服务模式探讨[J]. 中国现代应用药学,2023,40(10):1383
- [6] 中国药师协会. 药师药学服务胜任力评价标准(试行)[J]. 中国合理用药探索,2017,14(9):1
- [7] 中国医学科学院北京协和医院,美国中华医学基金会,中国医院协会药事专业委员会. 中国临床药师核心胜任力框架专家共识(2023)[J]. 协和医学杂志,2023,14(2):257
- [8] SASEEN J J, RIPLEY T L, BONDI D, et al. ACCP clinical pharmacist competencies [J]. *Pharmacotherapy*, 2017, 37(5):630
- [9] 黄小舟,黄际薇,董玲,等. 社区卫生服务中心药学服务工作实践与探索[J]. 中国药业,2022,31(8):124
- [10] 宋碧辉,余江恒,孔文强,等. 医联体建设中一体化药学服务模式的建立及应用研究[J]. 中国药业,2021,30(11):5
- [11] 何舜娟,高卉. 乡村卫生服务一体化管理下药师药学服务模式的探索[J]. 湖北科技学院学报(医学版),2018,32(5):430
- [12] 蓝丽萍,廖世雄. 医联体下药学服务效果分析及工作模式探讨[J]. 海峡药学,2021,33(6):212
- [13] 万素馨,方伟,孙秋艳. “互联网+医联体”一体化药学服务体系的构建及实践[J]. 中国药房,2019,30(23):3199
- [14] 陈亚芳,陈浩,梁燕. 药学服务联动模式在医联体建设中的实践与探索[J]. 基层医学论坛,2019,23(22):3237
- [15] 陈礼江,胡传峰,覃朝晖,等. 基于安德森模型的紧密型县域医共体就诊患者满意度及其影响因素分析[J]. 中国全科医学,2024,27(4):427

(收稿日期:2024-02-07)

# 快速反应团队模式在急性缺血性脑卒中患者救治中的应用效果

吴慧,谢莉,金琳

(铜陵市立医院,安徽 铜陵 244000)

**摘要:**目的 拟分析基于最佳证据总结的快速反应团队(RRT)模式在急性缺血性脑卒中(AIS)患者救治中的应用效果。方法 选取2021—2023年我院收治的86例AIS患者作为研究对象,其中2021年1月至2022年6月收治的41例纳入对照组,2022年7月至2023年12月收治的45例纳入RRT组。对照组采取常规救治模式,RRT组在对照组基础上采取基于最佳证据总结的RRT模式。比较两组患者主要耗时指标、溶栓前后美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)评分、溶栓效率及不良事件发生率。结果 RRT组入院至实验室结果获取时间、入院至CT报告获取时间及入院至给予静脉溶栓时间(DNT)均短于对照组( $P$ 均 $<0.05$ );两组入院至接诊时间比较无统计学差异( $P>0.05$ )。两组治疗后NIHSS评分随时间呈下降趋势,且RRT组各时点NIHSS评分均低于对照组( $P$ 均 $<0.05$ )。RRT组DNT达标率、血管再通率显著高于对照组( $P$ 均 $<0.05$ );两组溶栓有效率比较无统计学差异( $P>0.05$ )。两组不良事件发生率比较无统计学差异( $P>0.05$ )。结论 将基于最佳证据总结的RRT模式应用于AIS患者救治中,可有效缩短救治时间,优化急救流程,改善患者功能,提高DNT达标率和血管再通率,安全可行。

**关键词:**最佳证据总结;快速反应团队;急性缺血性脑卒中;神经功能

中图分类号:R743

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2024)04-0344-005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0344



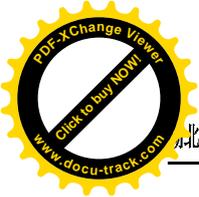
## Application Effect of the Rapid Response Team Model Based on the Best Evidence Summary in the Treatment of Patients with Acute Ischemic Stroke

WU Hui, XIE Li, JIN Lin

(Tongling Municipal Hospital, Tongling Anhui 244000, China)

**ABSTRACT; Objective** To analyze the application effect of the rapid response team (RRT) model based on the best evidence summary in the treatment of patients with acute ischemic stroke (AIS). **Methods** A total of 86 patients with AIS admitted to the hospital from 2021 to 2023 were selected as the study subjects. Among them, 41 patients who were admitted from January 2021 to June 2022 in control group received conventional treatment, and the other 45 patients who were admitted from July 2022 to December 2023 received treatment with RRT model. The time consumption indicators, Stroke Scale (NIHSS) scores before and after thrombolysis, thrombolysis efficiency and adverse events were compared between the two groups. **Results** The time from admission to obtaining laboratory results, time from admission to obtaining CT report, and door-to-needle time (DNT) in the RRT group were shorter than those in control group ( $P < 0.05$ ). After treatment, the NIHSS scores of both groups showed a decreasing trend over time, and the RRT group had lower NIHSS scores than the control group at all time points ( $P < 0.05$ ). The standard-reaching rate of DNT and vascular recanalization rate in RRT group were significantly higher than those in control group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion** Applying the RRT model based on the best evidence summary in the treatment of patients with AIS can effectively shorten the treatment time, optimize first-aid process, improve the patients' function, and increase the standard-reaching rate of DNT as well as vascular recanalization rate.

**KEY WORDS:** Best evidence summary; Rapid response team; Acute ischemic stroke; Neurological function



据统计,脑卒中是导致全球死亡和残疾的主要原因之一<sup>[1]</sup>,发病率高,进展快,且近年来逐渐呈年轻化趋势<sup>[2]</sup>。急性缺血性脑卒中(AIS)是脑卒中常见类型,部分AIS患者在接受治疗后,仍不可避免遗留永久性功能障碍,如言语不利、一侧肢体偏瘫及认知功能障碍等,严重影响其生活质量,同时给家庭带来沉重负担。对于AIS患者的急救在于尽早开通闭塞血管、促进血流恢复,挽救缺血半暗带。静脉溶栓是促进血管再通的有效治疗手段<sup>[3]</sup>,可显著改善患者预后。静脉溶栓有严格时间窗要求,患者起病至准备溶栓时间不得超过4.5h<sup>[4]</sup>,现已在国际上被广泛认可,但中国目前时间窗内静脉溶栓达标率仍有待提高。对静脉溶栓治疗时间窗的影响因素主要分为两大类,即院前和院内,在中国,基于患者文化水平、地域、医疗条件等诸多因素影响,可造成院前延误;AIS患者达到医院后,入院至给予静脉溶栓时间(DNT)是影响溶栓治疗时间的另一重要原因,可引起院内延误,严重影响患者预后。缩短DNT、提升溶栓治疗成功率,是改善AIS患者预后的关键。有学者<sup>[5]</sup>提出,采取快速反应团队(RRT)模式可有效缩短行体外膜肺氧合患者的抢救时间,提高救治效率。

基于此,本研究拟分析基于最佳证据总结的RRT模式在AIS患者救治中的应用效果。

## 1 资料与方法

### 1.1 纳入及排除标准

纳入标准:①均符合相关诊断标准<sup>[6]</sup>,且影像学检查结果提示AIS;②首次发病;③均符合溶栓适应证,美国国立卫生研究院卒中量表(NIHSS)<sup>[7]</sup>评分 $\geq 4$ 分;④意识清楚,可配合治疗;⑤患者及家属均知情同意。排除标准:①确诊为脑出血;②存在视、听、写及认知障碍,或精神类疾病,无法正常沟通者;③对溶栓药物过敏,或存在溶栓绝对禁忌证者;④存在严重肝、肾功能障碍者;⑤临床资料缺失;⑥依从性差,不配合治疗及随访者。

### 1.2 一般资料

选取2021—2023年我院收治的86例AIS患者作为研究对象,其中2021年1月至2022年6月收治的41例纳入对照组,2022年7月至2023年12月收治的45例纳入RRT组。两组一般资料比较无统计学差异( $P > 0.05$ ),见表1。本研究已通过医学伦理审批。

表1 两组一般资料比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数	性别[n(%)]		年龄/岁	发病至入院时间/h	溶栓前NIHSS评分/分	既往病史[n(%)]			
		男	女				高血压	冠心病	糖尿病	血脂异常
RRT组	45	26(57.78)	19(42.22)	63.28 $\pm$ 10.75	2.95 $\pm$ 0.46	15.36 $\pm$ 2.47	28(62.22)	10(22.22)	8(17.78)	17(37.78)
对照组	41	23(56.10)	18(43.90)	65.14 $\pm$ 11.09	3.04 $\pm$ 0.58	14.85 $\pm$ 2.19	22(53.66)	8(19.51)	6(14.63)	14(34.15)

### 1.3 方法

对照组采取常规救治模式。患者进入急诊科后,由接诊医生对病情进行快速评估,若符合溶栓时间窗要求,则告知护士立即启动AIS绿色通道,并通知神经内科卒中医生,将患者送至抢救室,由抢救室医生再次进行病情评估,并迅速下达相关医嘱,如开放静脉通道、抽取血液标本、完成影像学检查等,由抢救室护士迅速执行。结合病情、生化及影像学检查结果,评估患者是否符合静脉溶栓适应证标准,若符合标准,立即告知患者及家属,签署溶栓同意书后,由抢救室护士配制溶栓药物并进行治疗,记录溶栓时间及过程。

RRT组在对照组基础上采取基于最佳证据总结的RRT模式。具体如下。

(1)构建RRT:RRT由急诊科主任担任组长,

护士长担任副组长,团队内医生均为主治医师及以上职称,包括院前急救、急诊科、神经内科、影像科、检验科及介入室医生,已熟知AIS的诊治方案,对其病情可进行准确评估;团队内护士在急诊科工作时间不少于5年,已掌握AIS绿色通道流程,具有较高操作水平,可快速、熟练地完成静脉穿刺和其他相应治疗,沟通表达能力强;确保团队内医护人员分工明确,实行轮岗排班制,医护人员在接到通知后迅速各司其职,反应时间不得超过10min;定期对团队内医护人员进行培训考核,培训内容主要分为理论知识和实践操作两大类,其中理论知识包括AIS患者病情评估、脑卒中绿色通道、急救和护理措施、救治要点及注意事项等,确保团队内所有医护人员均通过理论知识考核,熟练掌握相关知识;使用情景模拟方式进行实践操作考核,确保团队内所有医护人员均可熟练完



成救治过程,尤其是自身负责环节;建立 RRT 工作群,团队内医护人员在群内可交流工作经验,确保在救治 AIS 患者过程中迅速掌握各方面信息。

(2) 评估预警:在 AIS 患者转运过程中,由院前急救人员进行病情评估,并迅速电话通知院内 RRT 成员,启动救治通道;人员迅速到达急诊科抢救室,责任护士负责准备溶栓药物,待患者抵达后,卒中医生快速评估患者病情,责任护士立即开放静脉通道、抽取血液标本送检,同时由另 1 位护士向影像科、检验科及介入室发出预警,使其做好准备工。

(3) 证据总结:启动脑卒中绿色通道,由卒中医生陪同患者完成影像学检查,检验科、影像科医生迅速判读检查结果,并于第一时间发送至工作群内,根据患者症状、体征、既往病史、本次就诊时生化及影像学检查结果进行综合分析,基于最佳证据总结的评估结果,若患者符合溶栓条件,则立即启动溶栓治疗准备工作,配制静脉溶栓药物;若患者需行介入治疗,则迅速送至介入室。

(4) 健康宣教:在患者抵达医院后的救治过程中,由 RRT 医护人员通过就诊间隙对患者及家属进行健康宣教,可采用语言、宣传手册等方式告知其 ASI 相关知识、早期救治的重要作用、静脉溶栓治疗的优势及并发症风险,促使患者及家属尽快完成溶栓决策,节省救治时间;患者或家属签署溶栓同意书后,由责任护士立即配制溶栓药物,并对患者进行相应治疗,另 1 位护士记录 DNT 及溶栓治疗过程等。

(5) 心理疏导:患者就诊过程中,由医护人员安抚患者及家属,缓解其恐惧、焦虑心理,告知其关于 AIS 治疗、护理及后续康复的健康知识,坚定患者及家属的治疗信心,以提升治疗效果、促进预后改善。

## 1.4 观察指标

### 1.4.1 主要耗时指标

记录两组入院至接诊时间、入院至实验室结果获取时间、入院至 CT 报告获取时间及 DNT,并进行比较。

### 1.4.2 神经功能

在溶栓治疗后 24h 和 48h,使用 NIHSS 评分,分别对两组神经功能进行评估。NIHSS 主要内容包括 10 个维度,分别是凝视、忽视、视野缺损、面瘫、感觉、意识水平、共济失调、语言、构音障碍及肢体运动障碍,总分为 42 分。分数与神经功能成

反比,即分数越高,则神经功能缺损越严重。

### 1.4.3 溶栓效率

分别使用 DNT 达标率、血管再通率和溶栓有效率进行评价。若  $DNT \leq 60\text{min}$ ,则判定为 DNT 达标<sup>[8]</sup>。行静脉溶栓治疗后立即对两组患者血管再通情况进行评估,使用工具为改良脑梗死溶栓分级(mTICI),若 mTICI 为 2b 级或 3 级,则判定为血管再通成功<sup>[9]</sup>。与静脉溶栓治疗前比较,溶栓后 1 周,若患者 NIHSS 评分下降  $>90\%$ ,判定为显效<sup>[10]</sup>;若 NIHSS 评分下降  $50\% \sim 90\%$ ,则判定为有效;若 NIHSS 评分下降  $\leq 50\%$ ,则判定为无效。

### 1.4.4 不良事件

经溶栓治疗后,密切观察患者病情变化,记录患者溶栓后 24h 内是否发生不良事件,如脑低灌注、脑高灌注、进展性脑梗死、出血转化及死亡。

## 1.5 统计学方法

使用 SPSS 24.0 统计软件对所得数据进行分析,符合正态分布的计量资料以  $(\bar{x} \pm s)$  表示,两组间比较行独立样本  $t$  检验,组内比较行配对  $t$  检验;计数资料以  $n(\%)$  表示,组间比较行  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  提示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组主要耗时指标比较

经比较可知,RRT 组入院至实验室结果获取时间、入院至 CT 报告获取时间及 DNT 均短于对照组( $P < 0.05$ );两组入院至接诊时间比较,无统计学差异( $P > 0.05$ )。见表 2。

表 2 两组主要耗时指标比较( $\bar{x} \pm s, \text{min}$ )

组别	例数	入院至接诊时间	入院至实验室结果获取时间	入院至 CT 报告获取时间	DNT
RRT 组	45	1.95 ± 0.32	38.26 ± 5.14*	22.76 ± 4.35*	47.13 ± 6.28*
对照组	41	2.08 ± 0.39	42.79 ± 6.85	28.15 ± 4.63	54.26 ± 7.39

与对照组比较,\* $P < 0.05$ 。

### 2.2 两组 NIHSS 评分比较

溶栓治疗后,两组 NIHSS 评分随时间呈下降趋势,且 RRT 组低于对照组( $P < 0.05$ )。见表 3。

表 3 两组 NIHSS 评分比较( $\bar{x} \pm s, \text{分}$ )

组别	例数	溶栓后 24h	溶栓后 48h
RRT 组	45	11.38 ± 1.64*	8.27 ± 1.05**
对照组	41	12.73 ± 1.95	9.64 ± 1.38*

与对照组比较,\* $P < 0.05$ ;与同组 24h 比较,\*\* $P < 0.05$ 。



### 2.3 两组溶栓效率比较

经比较可知,RRT组DNT达标率、血管再通率显著高于对照组( $P < 0.05$ );两组患者溶栓有效率比较,无统计学差异( $P > 0.05$ )。见表4。

表4 两组溶栓效率比较[n(%)]

组别	例数	DNT达标率	血管再通率	溶栓有效率
RRT组	45	41(91.11)*	42(93.33)*	43(95.56)
对照组	41	30(73.17)	31(75.61)	34(82.93)

与对照组比较,\* $P < 0.05$ 。

### 2.4 两组不良事件发生率比较

两组均未发生死亡,不良事件发生率比较,无统计学差异( $P > 0.05$ )。见表5。

表5 两组不良事件发生率比较[n(%)]

组别	例数	脑低灌注	脑高灌注	进展性脑梗死	出血转化	总发生率
RRT组	45	0(0)	1(2.22)	2(4.44)	2(4.44)	5(11.11)
对照组	41	1(2.44)	0(0)	1(2.44)	1(2.44)	3(7.32)

## 3 讨论

一旦发生AIS,患者需尽快就诊,若未及时采取有效治疗措施,堵塞血管周围可出现脑组织病变,随着病情进展,缺血半暗带逐渐扩大,患者病情也持续加重。静脉溶栓是救治AIS的有效手段,可使缺血脑组织在发病急性期实现有效再灌注,抢救脑缺血半暗带,但其疗效呈明显时间相关性。以往研究<sup>[11]</sup>证实,静脉溶栓时间越早,疗效及患者预后越好。患者初诊为AIS后,各项辅助检查的等待时间是影响溶栓院内延误的重要环节,主要与各辅助科室相互合作度不高有关。延误抢救时间可引起AIS患者致残、致死风险上升<sup>[12]</sup>,因此,消除院内延误、缩短DNT是临床医师救治AIS患者的有效方法。目前临床上针对急危重症患者,已广泛开展急诊绿色通道模式,使其在院内就诊过程中获取便利,尽量减少在检查、治疗等方面的耗时,以提高救治效率、避免院内延误。受文化水平、心理应激、急诊流程复杂等诸多因素影响,仍有部分AIS患者就诊时已超过溶栓时间窗要求,导致病情延误。因此,有必要采取措施进一步优化患者就诊流程、缩短就诊时间。

观察研究结果发现,RRT组入院至实验室结果获取时间、入院至CT报告获取时间及DNT均短于对照组( $P < 0.05$ );两组患者入院至接诊时

间比较,无统计学差异( $P > 0.05$ )。DNT是评估AIS患者静脉溶栓用时的重要指标,一般建议不超过60min。上述结果提示采取基于最佳证据总结的RRT模式可有效缩短AIS患者救治时间,与唐宇等<sup>[13]</sup>研究结果类似。构建基于最佳证据总结的RRT,可确保团队医护人员培训、考核的统一标准化,提升参与人员的专业水平与能力,提高对疾病评估的准确性。让各科室遵照既定目标执行,不仅有利于强化目标落实的行政指令,提升各科室参与自我控制的主动性,还能减少因部门工作不协调、配合度不高造成的时间浪费。

本研究提示,经溶栓治疗后,两组NIHSS评分随时间呈下降趋势,且RRT组各时点评分均低于对照组( $P < 0.05$ ),说明采取基于最佳证据总结的RRT模式可有效改善患者神经功能,促进恢复。与之类似,江帆等<sup>[14]</sup>通过院前院内协同救治平台,采取多个科室协作模式,达到提高AIS患者静脉溶栓救治时效性的目的。最后,RRT组DNT达标率、血管再通率显著高于对照组( $P < 0.05$ ),两组患者溶栓有效率比较,无统计学差异( $P > 0.05$ )。李霞等<sup>[15]</sup>提出,急诊医护团队主导AIS患者静脉溶栓救治,不仅可有效促进患者及家属进行溶栓决策,还能缩短DNT时间、改善患者预后,与本研究结论类似。两组患者不良事件发生率比较,无统计学差异( $P > 0.05$ ),说明采取基于最佳证据总结的RRT模式未增加安全风险。

综上所述,将基于最佳证据总结的RRT模式应用于AIS患者救治中,可有效缩短救治时间,优化急救流程,改善患者功能,提高DNT达标率和血管再通率,安全可行。但本研究样本量偏小,来源相对集中,观察时间较短,研究结果可能产生一定的偏倚,未来可延长观察时间,行大样本多中心研究以进一步证实。

### 参考文献:

- [1] FEIGIN V L, BRAININ M, NORRVING B, et al. World Stroke Organization (WSO): global stroke fact sheet 2022 [J]. Int J Stroke, 2022, 17(1): 18
- [2] JACOB M A, EKKER M S, ALLACH Y, et al. Global differences in risk factors, etiology, and outcome of ischemic stroke in young adults—a worldwide meta-analysis: the GOAL initiative [J]. Neurology, 2022, 98(6): e573
- [3] 蔡毅, 承欧梅. 基于倾向性评分匹配法评估机械取栓联合阿替普酶静脉溶栓对急性脑梗死的疗效及预后影响 [J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2022, 36(3): 228

(下转第354页)



# 精细化护理在纤维支气管镜肺泡灌洗治疗 儿童大叶性肺炎中的应用

黎 美

(咸宁市中心医院/湖北科技学院附属第一医院儿内科,湖北 咸宁 437100)

**摘要:**目的 探讨纤维支气管镜肺泡灌洗治疗大叶性肺炎患儿的精细化护理措施。方法 将我科住院行纤维支气管镜肺泡灌洗治疗的168例大叶性肺炎患儿随机分为观察组和对照组,每组84例。对照组行常规护理,观察组在常规护理基础上实行精细化护理干预,比较两组患儿的治疗依从性、临床疗效及不良反应发生率。结果 与对照组相比,观察组患儿治疗依从性高,发热、咳嗽及肺部啰音消失时间短,白细胞(WBC)、C反应蛋白(CRP)和CT恢复正常时间短,不良反应发生率低,差异均有统计学意义( $P$ 均 $<0.05$ )。结论 纤维支气管镜肺泡灌洗治疗儿童大叶性肺炎中应用精细化护理有助于治疗依从性的提升、临床疗效的提高和不良反应发生率的降低,值得大力推广。

**关键词:**精细化护理;纤维支气管镜肺泡灌洗;大叶性肺炎;儿童

中图分类号:R473.72

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2024)04-0348-003

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0348



## Application of Refined Nursing Care in the Treatment of Lobar Pneumonia in Children with Fiberoptic Bronchoscopic Alveolar Lavage

LI Mei

(Department of Pediatrics, Xianning Central Hospital, Xianning Hubei 437100, China)

**ABSTRACT:** **Objective** To explore the refined nursing measures of children with lobar pneumonia treated with fiberoptic bronchoscopic alveolar lavage. **Methods** 168 children with lobar pneumonia treated with fiberoptic bronchoscopic alveolar lavage in our department were divided into the observation group and the control group according to the method of random number table, with 84 cases in each group. The control group received routine nursing care, and the observation group received refined nursing intervention on the basis of routine nursing care. The treatment compliance, clinical efficacy and incidence of adverse reactions of the two groups of children were compared. **Results** Compared with the control group, children in the observation group had higher treatment compliance, shorter time for the disappearance of fever, cough and lung rales, shorter recovery time of white blood cells (WBC), C-reactive protein (CRP) and CT to normal, and lower incidence of adverse reactions, and the differences were statistically significant (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** The application of refined nursing in the treatment of lobar pneumonia in children with fiberoptic bronchoscopic alveolar lavage can help improve treatment compliance, enhance clinical efficacy and reduce the incidence of adverse reactions, and is worthy of vigorous promotion.

**KEY WORDS:** Fine nursing care; Fiberoptic bronchoscopic alveolar lavage; Lobar pneumonia; Children

大叶性肺炎是儿童时期常见的呼吸道感染性肺炎之一,起病急骤,以寒战、高热、咳嗽、咳痰等为主要表现,严重者可出现呼吸衰竭、心力衰竭、中毒性脑病甚至感染性休克,治疗不及时可能导致病情迁延不愈,出现肺不张、肺纤维化等不良后果<sup>[1]</sup>。作为儿童大叶性肺炎的重要治疗手段,纤维支气管镜肺泡灌洗可有效清除呼吸道分泌物畅通气道,改善肺脏气体交换功能,且纤维支气管镜

管径小、材质软,操作起来不易出现堵塞气道和气道受损出血等情况。但由于肺泡灌洗属侵入性操作,患儿及家属容易产生害怕、紧张、抗拒等心理,导致治疗效果不尽人意<sup>[2]</sup>。李玉侠等<sup>[3]</sup>报道,有效的护理干预可提高纤维支气管镜肺泡灌洗的治疗依从性,明显改善预后。纤维支气管镜肺泡灌洗常规护理工作以术前准备、用药和观察生命体征为重心,而精细化护理则重点关注患儿的心理



和生理,通过一系列人性化心理护理和规范化健康宣教等身心干预措施来保障治疗效果。本文将精细化护理理念贯穿于纤维支气管镜肺泡灌洗治疗大叶性肺炎患儿的全过程中,观察其临床效果并进行分析。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

选择2021年6月至2023年10月在我科行纤维支气管镜肺泡灌洗治疗的168例大叶性肺炎患儿作为研究对象,按随机数字表法分为观察组和对照组,两组均84例。观察组:男51例,女33例;年龄2~13岁,平均(7.50±1.60)岁;病程5~14d,平均(8.50±0.89)d;对照组:男50例,女34例;年龄3~14岁,平均(7.55±1.45)岁;病程6~15d,平均(8.56±0.80)d。所有病例均符合第9版《儿科学》<sup>[4]</sup>中大叶性肺炎的诊断标准,而且有纤维支气管镜肺泡灌洗治疗的适应征。纳入标准:入院前未使用抗生素治疗;肺部CT检查显示病变占全肺叶;无其他呼吸系统疾病如肺结核、支气管哮喘及肺气肿等。排除标准:存在原发性或继发性免疫系统障碍;合并有严重的心、肝、肾等器质性病变;意识不清或有精神异常;对药物过敏或不耐受;参与过类似研究。两组患儿年龄、性别、病程比较无统计学差异( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究经医院医学伦理委员会审核通过,患儿家属已签署知情同意书。

### 1.2 方法

所有患儿均接受纤维支气管镜肺泡灌洗治疗。对照组行常规护理,包括术前禁食禁水6h,完善相关检查,术中严密监测患儿生命体征,术后保持呼吸道通畅,嘱家属2h后试喂少量温开水,患儿饮水2~3次后无呕吐、呛咳方可摄入少许流质饮食,2d后清淡饮食,3d后恢复正常饮食。

观察组除常规护理外,还应用精细化护理措施,内容包括:①多样化宣教:除口头宣教外,还通过模型演示、播放动画视频等方式向患儿及家属讲授纤维支气管镜肺泡灌洗的目的、流程和优势,期间护理人员就注意事项进行重点强调。②个性化心理护理:病房内播放轻快的儿歌,允许患儿适当观看自己喜欢的动画片,护理人员通过讲故事、玩游戏等与患儿及家属互动沟通,缓解不良情绪,营造乐观积极的氛围,对患儿的配合行为第一时间竖大拇指,并送上小玩具给予肯定。③舒适化

术中护理:患儿镇静后,护理人员将其头部用双手固定,依照患儿的年龄、体重等选择相应型号的支气管镜。将灌洗液加温至37℃左右,术中灌洗液总量控制在5mL/kg以下,尽量减少对气管黏膜的不良刺激。及时清理鼻腔内的灌洗液,保持颈部干燥清洁。④针对性排痰训练:术前护理人员指导患儿取站立位,深吸气后屏气3~5s,猛然内收胸腹肌,一次训练5min,4次/d。同时嘱家属五指并拢呈空心掌,沿支气管分布方向由远及近、由外向内叩击病变部位60s以上,2次/d。术后指导患儿进行深呼吸、吹气球等训练。⑤延续性随访指导:患儿出院后1个月内,护理人员采用电话微信等方式与家属建立联系,除询问患儿的恢复情况和解答家属的一些问题外,还指导家属加强卫生管理,注重患儿日常饮食的搭配和营养的均衡,加强保暖,适当运动,若有不适及时来院就诊。

### 1.3 观察指标

①治疗依从性:患儿无抵抗情绪,全程主动配合医护人员完成纤维支气管镜肺泡灌洗操作为完全依从;患儿出现抵抗情绪,偶有哭闹行为,但能坚持配合完成操作为部分依从;患儿全程哭闹不止,抗拒治疗为不依从。治疗依从性=(完全依从例数+部分依从例数)/总例数×100%。②临床疗效:包括发热、咳嗽、肺部啰音消失时间和白细胞(WBC)、C反应蛋白(CRP)和CT恢复正常时间。③不良反应发生率:对发生呼吸道黏膜损伤出血和短暂性低氧血症等不良反应的病例数进行登记。

### 1.4 统计学方法

选用SPSS 20.0统计软件将两组患儿的治疗依从性、临床疗效和不良反应发生率进行比较,治疗依从性和不良反应发生率用 $\chi^2$ 检验,临床疗效行 $t$ 检验, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组治疗依从性比较

经统计,观察组治疗依从性显著高于对照组( $P<0.05$ )。见表1。

表1 两组治疗依从性比较[n(%)]

组别	n	完全依从	部分依从	不依从	治疗依从性
观察组	84	51(60.71)	29(34.52)	4(4.76)	80(95.23)*
对照组	84	34(40.48)	36(42.86)	14(16.67)	70(83.33)

与对照组比较,\* $P<0.05$ 。



## 2.2 两组临床疗效比较

观察组发热、咳嗽及肺部啰音消失时间低于对照组,CT、WBC及CRP恢复正常时间短于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表2。

表2 两组临床疗效比较( $\bar{x} \pm s, d$ )

组别	n	发热消退时间	咳嗽缓解时间	肺部啰音消失时间	CT恢复正常时间	WBC恢复正常时间	CRP恢复正常时间
观察组	84	2.81±1.37*	6.84±1.92*	6.18±2.32*	6.75±2.43*	5.58±1.32*	5.76±1.68*
对照组	84	4.25±2.16	8.96±2.74	8.77±2.40	7.95±2.46	6.57±2.08	6.93±2.21

与对照组比较,\* $P < 0.05$ 。

## 2.3 两组不良反应发生率比较

观察组呼吸道黏膜损伤出血及短暂性低氧血症等不良反应发生率低于对照组( $P < 0.05$ )。见表3。

表3 两组不良反应发生率比较[n(%)]

组别	n	呼吸道黏膜损伤出血	短暂性低氧血症	不良反应发生率
观察组	84	2(2.38)*	4(4.76)*	6(7.14)*
对照组	84	10(11.90)	19(22.62)	29(34.52)

与对照组比较,\* $P < 0.05$ 。

## 3 讨论

儿童大叶性肺炎病变范围大,常累及一个肺段或整个肺叶,可引起肺实变和肺不张,严重可产生后遗症,影响患儿的肺功能<sup>[5]</sup>。有研究报道,应用纤维支气管镜使炎症病灶肉眼可见,病变性质和程度一目了然,同时肺泡灌洗也能清除患儿气道内的炎性分泌物,恢复有效的通气,改善肺功能<sup>[6]</sup>。但由于患儿心智发育不成熟,配合度较差,给操作治疗增加了不小的难度。因此,为提高纤维支气管镜肺泡灌洗治疗大叶性肺炎患儿的临床效果,需切实可行的护理手段来保障。

研究报道<sup>[7]</sup>精细化护理能提高小儿大叶性肺炎电子支气管镜肺泡灌洗治疗的依从性和有效率。本文中多样化宣教生动地介绍了纤维支气管镜肺泡灌洗治疗大叶性肺炎的相关知识,有效提升了患儿及家属的信心和配合度。个性化心理护理重点关注了患儿的心理状态,拉近了患儿与护理人员的距离,消除了患儿对操作治疗的恐惧和焦虑。舒适化术中护理减少了对气道黏膜的不良刺激,提高了患儿的舒适度。针对性排痰训练对患儿进行了排痰指导,促进了痰液的有效排出,保

持了呼吸道的通畅。而延续性随访指导将护理工作延伸到了院外,加强了日常生活中家属对患儿疾病的防护,进一步巩固了就医的效果。本研究结果显示观察组治疗依从性高于对照组,不良反应发生率低于对照组( $P$ 均 $< 0.05$ ),分析原因在于个性化心理护理和舒适化术中护理更加注重给患儿提供良好的生理与心理支持,增强了患儿的安全感,有效提高了患儿的舒适度,与宋洁<sup>[8]</sup>等报道一致。同时观察组患儿咳嗽、发热和肺部啰音消失时间、CT、WBC及CRP恢复正常时间均短于对照组( $P < 0.05$ ),考虑原因是多样化宣教满足了家属对疾病认知的需求,针对性排痰训练可有效刺激气道,促进咳嗽反射,有利于痰液的顺利排出,而延续性随访指导,通过护理人员与家属定期联系,减轻了家属的心理压力,增强了照顾患儿的信心<sup>[9]</sup>。当然,本研究中患儿的临床疗效与个性化治疗方案诸如用药等因素的关联方面未涉及,有必要在下一步的研究中完善。

综上所述,在纤维支气管镜肺泡灌洗治疗儿童大叶性肺炎中应用精细化护理,有助于提升治疗依从性,提高临床疗效,减少不良反应,具有临床推广价值。

## 参考文献:

- [1]谢心怡,张阿敏,郑文字,等.基于准确病原的儿童大叶性肺炎炎症特点[J].山东大学学报(医学版),2022,60(12):52
- [2]张悦鸣,张雯.影响儿童大叶性肺炎支气管镜下治疗次数的危险因素分析[J].临床肺科杂志,2021,26(1):70
- [3]李玉侠,崔亚.集束化护理在大叶性肺炎纤维支气管镜灌洗术患儿中的应用[J].全科护理,2021,19(11):1505
- [4]王卫平,孙锷,常立文.儿科学[M].第九版.北京:人民卫生出版社,2018:122
- [5]吉祥灵,雷智贤,吴守业,等.儿童肺炎支原体感染支气管肺炎与大叶性肺炎临床及血液学特征[J].中华医院感染学杂志,2021,31(2):281
- [6]卢保霞,陈荣寿,汪珊,等.纤维支气管镜下肺泡灌洗治疗小儿肺炎支原体大叶性肺炎的临床疗效分析[J].中华全科医学,2021,19(7):1138
- [7]叶秋莲.精细化护理对小儿大叶性肺炎电子支气管镜肺泡灌洗治疗依从性及有效率的影响[J].岭南急诊医学杂志,2021,26(4):428
- [8]宋洁,周雅琼.重症肺炎患儿行纤维支气管镜术后并发症预防措施的研究进展[J].当代护士:下旬刊,2021,28(4):31
- [9]张程,张昀,张海先.优质护理在电子支气管镜术治疗儿童难治性肺炎中的应用[J].齐鲁护理杂志,2020,26(14):1

(收稿日期:2024-05-06)



# 中医饮食调理对肺癌患者营养状况的影响

董春华,何婷\*

(咸宁市第一人民医院,湖北咸宁437000)

**摘要:**目的 探讨中医饮食调理对肺癌患者营养状况的影响。方法 选取80例肺癌患者,随机均分为对照组和观察组。对照组实施常规护理,观察组在常规护理的基础上实施中医饮食调理方法。干预3个月后,比较两组体重、BMI、血红蛋白、血清前白蛋白、血清白蛋白、PG-SGA得分、营养不良发生率。结果 观察组体重、BMI、血清前白蛋白均高于对照组,PG-SGA得分和重度营养不良的发生率均低于对照组( $P$ 均 $<0.05$ )。结论 中医饮食调理可以提高肺癌患者体重、BMI、血清前白蛋白的水平,降低重度营养不良的发生率。中医饮食调理是一种有效的营养管理方式,值得在临床中推广应用。

**关键词:**中医;饮食;营养;肺癌

中图分类号:R247.1

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2024)04-0351-004

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0351



## Effects of Traditional Chinese Medicine Dietary on the Nutritional Status of Lung Cancer Patients

DONG Chun-hua, HE Ting

(The First People's Hospital of Xianning, Xianning Hubei 437000, China)

**ABSTRACT: Objective** To explore the effects of traditional Chinese medicine dietary on the nutritional status of patients with lung cancer. **Methods** 80 patients with lung cancer were randomly divided into a control group and an observation group (40 patients in each group). Patients in the control group received routine care, while patients in the observation group received traditional Chinese medicine dietary on the basis of routine care. After three months of intervention, the weight, BMI, hemoglobin, serum prealbumin, serum albumin, PG-SGA score and malnutrition incidence were compared between the two groups. **Results** The body weight, BMI and serum prealbumin in the observation group were higher than those in the control group, while the PG-SGA scores and the incidence of severe malnutrition in the observation group were lower than that in the control group (all  $P < 0.05$ ). **Conclusion** Traditional Chinese medicine dietary can improve the weight, BMI, and serum prealbumin levels of lung cancer patients and reduce the occurrence of severe malnutrition in lung cancer patients. The traditional Chinese medicine dietary approach is an effective nutritional management method and is worthy of promotion and application in clinical practice.

**KEY WORDS:** Chinese medicine; Dietary; Nutrition; Lung cancer

肺癌是一种严重威胁人类健康的恶性肿瘤,其高发和高致死率给世界各地的医学界带来了严峻的挑战<sup>[1]</sup>。肺癌的治疗过程常常伴随严重的身体消耗和营养失衡,这不仅影响了患者的生活质量,还可能对治疗效果产生不良影响<sup>[2]</sup>。

中医饮食调理强调个体化、全面化的治疗理

念,主要通过合理搭配食物,调整饮食结构,达到阴阳平衡、调理气血的目的<sup>[3]</sup>。

然而,目前对中医饮食调理在肺癌患者中的具体影响及其机制的了解仍然相对有限。因此,本研究旨在深入探讨中医饮食调理方法对肺癌患者营养状况的影响,并试图为其在肺癌治疗中的

\* 通讯作者, E-mail: 379714199@qq.com



应用提供更为科学的依据。

## 1 资料与方法

### 1.1 纳入及排除标准

纳入标准:①患者病理活检确诊为肺癌,已完成各项检查,年龄18~80岁,首次接受放化疗;②患者神志清楚,能看懂文字,语言沟通无障碍;③无口腔疾病;④患者对本研究知情同意。排除标准:①胃部疾病或胃部手术史;②已有远处转移者。

### 1.2 一般资料

于2022年8月至2023年8月,随机选取在我院实施治疗的80例肺癌患者作为研究对象,根据营养管理方法将患者分为对照组和观察组,每组各40例。两组一般资料比较无显著性差异,具有可比性( $P>0.05$ ),见表1。

表1 两组一般资料比较( $n$ )

组别	性别		年龄				学历				分期			
	男	女	18~60岁	61~80岁	小学及以下	初中	高中	大专及以上	I	II	III	IV		
对照组( $n=40$ )	28	12	7	33	10	18	9	3	1	8	10	21		
观察组( $n=40$ )	30	10	11	29	8	21	6	5	2	5	15	18		

### 1.3 方法

对照组实施常规营养护理,即患者入院后,护士进行饮食指导并观察其进食情况,患者主诉进食困难时予以营养指导。

观察组在常规营养护理的基础上,实施中医饮食调理,主要内容如下:①进食时间和方式:每天在固定时间点让患者进食,原则上应少食多餐,叮嘱患者进食时细嚼慢咽,保证食物充分嚼碎,避免食物摩擦消化道黏膜。②食物选择:中医建议选择优质蛋白以提供充足的营养支持,帮助患者维持体力和免疫功能。食物要新鲜、清洁、松软,禁止或者减少食用富含粗纤维的食物,避免刺激

肠道,还要多补充维生素以及微量元素等。③药膳干预:在合理饮食的前提下结合中医药膳调理,可以考虑搭配一些中药汤剂,以增强治疗效果。例如,可以选用具有益气健脾、清热解毒功效的中药,如黄芪、白术、当归等,制成汤剂或药膳食用。④根据体质调整食物属性:中医强调因人而异,因此,在制定饮食调理方案时,首先要根据患者的体质进行调整。肺癌患者的体质可能存在阴虚、气虚等情况,因此,需要针对性地选择食材。⑤合理控制进食量和进食频次:针对肺癌患者的特殊情况,建议合理控制进食量,避免食用过多油腻和刺激性食物。分多次少量进食,保持饮食的均衡和轻松,有助于提高食欲和减轻消化负担。

两组均进行营养管理3个月。

### 1.4 观察指标

干预前后收集数据,包括患者体重、BMI、血红蛋白、血清前白蛋白、血清白蛋白、PG-SGA评分和营养不良发生率。

PG-SGA分级标准:无营养不良(0~1分),可疑或轻度营养不良(2~3分),中度营养不良(4~8分),重度营养不良( $\geq 9$ 分)<sup>[4]</sup>。

### 1.5 统计学方法

采用SPSS 26.0统计分析,计量资料采用 $t$ 检验,计数资料采用 $\chi^2$ 检验,偏态资料或等级资料采用秩和检验。以 $P<0.05$ 表示有统计学差异。

## 2 结果

### 2.1 两组体重、BMI、血红蛋白、血清前白蛋白、血清白蛋白比较

干预后,两组体重、BMI、血红蛋白、血清前白蛋白、血清白蛋白因病情进展均降低( $P<0.05$ ),但观察组体重、BMI、血清前白蛋白均高于对照组( $P<0.05$ )。详见表2。

表2 两组体重、BMI、血红蛋白、血清前白蛋白、血清白蛋白比较( $\bar{x}\pm s$ )

组别	例数	体重/kg		BMI( $\text{kg}/\text{m}^2$ )		血红蛋白/(g/L)		血清前白蛋白/(g/L)		血清白蛋白/(mg/L)	
		干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后	干预前	干预后
对照组	40	58.75 $\pm$ 10.97	53.28 $\pm$ 9.74*	21.89 $\pm$ 3.07	19.90 $\pm$ 2.87*	139.64 $\pm$ 14.47	113.64 $\pm$ 15.58*	266.17 $\pm$ 71.20	187.83 $\pm$ 53.90*	50.44 $\pm$ 64.39	35.98 $\pm$ 2.74*
观察组	40	62.59 $\pm$ 10.82	57.93 $\pm$ 10.41*#	22.90 $\pm$ 3.42	22.05 $\pm$ 3.19#	133.59 $\pm$ 18.46	115.57 $\pm$ 27.76*	256.26 $\pm$ 67.36	212.89 $\pm$ 55.92*#	43.40 $\pm$ 18.27	35.98 $\pm$ 4.06*

与同组干预前比较,\* $P<0.05$ ;与对照组比较,# $P<0.05$ 。



## 2.2 两组 PG-SGA 得分比较

两组干预前 PG-SGA 得分无明显差异,干预后两组得分均明显升高,但观察组升高较缓慢,得分低于对照组( $P < 0.05$ ),见表 3。

表 3 两组 PG-SGA 得分比较( $\bar{x} \pm s$ , 分)

组别	例数	干预前	干预后
对照组	40	3.48 ± 1.87	7.95 ± 2.59*
观察组	40	3.35 ± 1.56	5.15 ± 2.95*#

与同组干预前比较,\* $P < 0.05$ ;与对照组比较,# $P < 0.05$ 。

## 2.3 两组营养情况比较

观察组重度营养不良的发生率低于对照组( $P < 0.05$ ),见表 4。

表 4 两组营养情况比较[ $n(\%)$ ]

组别	例数	可疑营养不良	中度营养不良	重度营养不良
对照组	40	3(7.5)	17(42.5)	20(50.0)
观察组	40	10(25.0)*	21(52.5)	9(22.5)*

与对照组比较,\* $P < 0.05$ 。

## 3 讨论

肺癌是常见的恶性肿瘤之一<sup>[5]</sup>,肺癌患者常出现不同程度的营养不良,研究表明肺癌患者营养不良发生率为 34.5% ~ 69.0%<sup>[2,6]</sup>。中医饮食调理注重调整饮食结构和食物烹饪方式,以增强身体的营养吸收和免疫力<sup>[7]</sup>,有利于肺癌患者营养状况的改善。此外,中医饮食调理还可以根据个体情况进行针对性调整。

本研究结果显示,在常规护理的基础上,通过引入中医饮食调理方法,观察组的体重和 BMI 显著高于对照组( $P < 0.05$ )。这提示中医饮食调理方法在促进肺癌患者身体质量维持和增加体重方面具有一定的效果。中医饮食调理方法强调根据个体体质、病情特点调整饮食,这有助于满足肺癌患者的营养需求,从而改善其体重和 BMI。

相较对照组,观察组血清前白蛋白有所提高。前白蛋白的水平直接关系到患者的营养状况<sup>[8]</sup>。这表明中医饮食调理方法在促进蛋白质合成和改善患者营养状态方面具有积极的效果。这一点对于肺癌患者的康复至关重要,因为良好的营养状态有助于提高免疫功能、减轻治疗相关的不良反应,并有助于提高患者的生活质量。

在 PG-SGA 得分方面,观察组低于对照组。PG-SGA 是评估患者营养状况的一种常用工具,它综合考虑了体重变化、摄食情况、症状及生理状态等多个方面,对患者的营养状况进行了较为全面的评估。因此,观察组患者 PG-SGA 得分的降低可能表明其在饮食调理的干预下,整体营养状况得到改善。这进一步印证了中医饮食调理方法在改善肺癌患者整体营养状况方面的积极作用。

然而,两组患者在血红蛋白和血清白蛋白方面的比较结果并未显示出统计学意义。这可能表明中医饮食调理方法对于这两个指标的改善效果相对较弱,或者在本研究中未能达到显著水平。这也提醒我们在今后的研究中需要更深入地探讨中医饮食调理方法对不同指标的影响机制,以更全面地了解其在肺癌患者营养管理中的作用。

本研究对象均为肺癌患者,虽然分别对两组患者实施了常规护理和中医饮食调理,但是 3 个月,两组患者的体重均出现了下降和 PG-SGA 分数增加。其主要原因如下:首先,两组患者均接受了放化疗,治疗会导致食欲不振、恶心、呕吐、口腔溃瘍和消化不良等副作用,这常常会让患者的进食量和营养摄入减少,进而导致体重下降和营养不良的发生率升高。其次,肿瘤消耗大量营养物质,同时产生的代谢产物会加重身体的营养负担。此外,两组患者在面对癌症诊断和治疗时会经历巨大的精神和心理压力,可能导致抑郁和焦虑等情绪问题,这些问题会进一步影响患者的食欲和进食习惯,导致体重下降和营养状况恶化。两组患者免疫系统功能的下降也会增加感染和其他并发症的风险,影响营养摄入和利用。虽然常规护理和中医饮食调理有助于营养状况的改善,但还是不足以完全改善因为病情、治疗以及心理等原因导致的营养不良和体重的降低。

综合而言,本研究结果表明中医饮食调理方法在提高肺癌患者体重、BMI、血清前白蛋白水平方面具有显著的效果,同时能够减少重度营养不良的发生率,这为中医饮食调理方法在肺癌患者营养管理中的应用提供了实证支持。然而,仍需更多大样本、多中心的研究来验证这一结论,并深入挖掘中医饮食调理方法对不同营养指标的影响机制,以更好地指导其在临床实践中的应用。此外,应进一步关注中医饮食调理方法的具体操作步骤和个体化调整策略,以更好地满足不同患者的特殊需求,提高其在实际临床应用中的有效性。



## 参考文献:

- [1] 刘宗超,李哲轩,张阳,等. 2020 全球癌症统计报告解读[J]. 肿瘤综合治疗电子杂志,2021,7(2):1
- [2] 易海维,马东波,宋悦,等. 肺癌患者营养不良状况的调查和分析[J]. 肿瘤代谢与营养电子杂志,2017,4(4):453
- [3] 王博峰,杨建刚,赵参军,等. 浅谈肿瘤患者的中医饮食调理[J]. 肿瘤学杂志,2018,24(9):875
- [4] 王昌利,吴向华,张江涛,等. PG-SGA 评分与胃癌患者病理分期的相关性研究[J]. 世界肿瘤研究,2021,11(2):59
- [5] 支修益,杨跃,王长利,等. 原发性肺癌诊疗规范(2015年版):外科部分[J]. 中国医学前沿杂志:电子版,2015(2):28
- [6] DUAN B,ZHANG Y,WANG X, et al. Effect of megestrol acetate combined with oral nutrition supplement in malnourished lung cancer patients:a single-center prospective cohort study[J]. *Frontiers in nutrition*,2021,8:654194
- [7] 唐艺. 中医饮食疗法对脑卒中康复的影响及作用机制[J]. 护理学,2023,12(5):839
- [8] WANG P,SOH K L,YING Y, et al. Risk factors for malnutrition in patients with nasopharyngeal carcinoma[J]. *Supportive Care in Cancer*,2023,31(12):723
- (收稿日期:2024-02-03)
- 
- (上接第 347 页)
- [4] 高天理. 不同时间窗急性缺血性脑卒中患者及不同药物在静脉溶栓治疗中的临床应用推荐:2021 版《欧洲卒中组织急性缺血性脑卒中静脉溶栓指南》解读[J]. 实用心脑血管病杂志,2021,29(7):1
- [5] 盖玉彪,郭小婧,辛晨,等. ECMO 快速反应团队的建立和管理实践[J]. 中华危重病急救医学,2021,33(3):349
- [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 2018 [J]. 中华神经科杂志,2018,51(9):666
- [7] 张磊,刘建民. 美国国立卫生研究院卒中量表[J]. 中华神经外科杂志,2014,30(1):79
- [8] 丁雪萍,雍先毅,任周明,等. 优化静脉溶栓流程对基层医院高级卒中中心建设的影响研究[J]. 中国全科医学,2020,23(17):2163
- [9] 高鹏,马妍,王亚冰,等. 颅内大动脉慢性闭塞血管内再通的可行性和安全性分析[J]. 中国脑血管病杂志,2017,14(8):405
- [10] 王耀辉,张重阳,孙伟,等. 优化溶栓流程对轻型急性缺血性卒中院内延误及预后的影响[J]. 中国卒中杂志,2019,14(12):1205
- [11] 王虹,王柳清,张万里,等. 静脉溶栓时间与急性轻型脑梗死及短暂性脑缺血发作患者早期认知功能的关系[J]. 中华全科医学,2023,21(1):45
- [12] 袁定新,詹华清,鲁观春,等. 基层医院绿色通道流程改进对急性缺血性脑卒中静脉溶栓主要时间节点的影响[J]. 海南医学,2021,32(2):218
- [13] 唐宇,罗华,何金跃,等. 卒中急救地图及持续流程优化对急性缺血性脑卒中患者静脉溶栓的影响[J]. 神经损伤与功能重建,2022,17(5):285
- [14] 江帆,叶丽萍,孙克玉,等. 院前院内协同救治平台在急性缺血性脑卒中静脉溶栓中的应用[J]. 护士进修杂志,2022,37(18):1682
- [15] 李霞,金伦,季学丽,等. 急诊医护团队主导急性缺血性脑卒中患者静脉溶栓的救治效果评价[J]. 中国急救复苏与灾害医学杂志,2023,18(10):1331
- (收稿日期:2024-03-17)



# 湖北省三甲医院老年病房护士关怀行为现状及影响因素分析

王芳<sup>1</sup>, 林云英<sup>2</sup>, 唐春花<sup>3\*</sup>

(1. 咸宁职业技术学院, 湖北 咸宁 437100; 2. 潍坊科技学院; 3. 湖北科技学院附属第二医院)

**摘要:**目的 通过观察湖北省三甲医院老年病房护士关怀行为现状,分析其影响因素。方法 应用中文版护士关怀行为评价量表,采用护士自评和患者他评的方式对湖北省12所三甲医院的580名护士和620名老年住院患者进行调查。结果 护士和患者对人文关怀行为的评价总分均较高,多因素分析结果显示是否清楚人文关怀的定义、与患者交流时间、医院对人文关怀的相关制度、家人及同事的关心程度是影响护士关怀行为总分的主要因素,自我照顾能力及患者的疼痛程度则是影响患者对护士关怀行为评价得分的主要因素。结论 老年病房护士及患者在关怀行为的给予及需求方面还存在较大差异,医院应从患者及护士方面提高老年病房护士的关怀行为,以满足越来越多的老年住院患者的需求。

**关键词:**老年病房;护士关怀行为;影响因素

中图分类号:R473

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2024)04-0355-005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0355



## Current Situation and Influencing Factors of Nursing Care Behavior in Geriatric Ward of Level A Tertiary Hospitals in Hubei Province

WANG Fang, LIN Yun-ying, TANG Chun-hua

(Xianning Vocational and Technical College, Xianning Hubei 437100, China)

**ABSTRACT:** Objective To understand the current status and influencing factors of nurses' caring behavior in geriatric wards of level A tertiary hospital in Hubei Province. Methods The Chinese version of the Nursing Care Behavior Evaluation Scale was used to survey 580 nurses and 620 elderly hospitalized patients in 12 level A tertiary hospitals in Hubei Province by means of self-evaluation by nurses and patients. Results The total scores of nurses and patients' evaluation of humanistic care behavior were high. The results of multi-factor analysis showed the understanding level on the definition of human care, the time of communication with patients, the related system of hospital care for humanities, the concern of family and colleagues were the main factors for the total score of care behavior from nurses. Self-care ability and the degree of pain of patients were the main factors affecting the score of patients' evaluation of nurse care behavior. Conclusion There is still a big difference in the care and demand of caring behavior between nurses and patients in the geriatric wards. The hospital should improve the caring behavior of the nurses in the elderly wards from the perspective of patients and nurses to meet the needs of more and more elderly hospitalized patients.

**KEY WORDS:** Geriatric ward; Nursing care behavior; Influencing factors

关怀行为是护理人员对住院患者实施关怀的具体表现,是表达关怀的护患沟通过程,是及时为

患者提供所需要的护理,提供生活上的便利及满足患者合理需求的行为<sup>[1]</sup>。关怀行为的维度

\* 通讯作者, E-mail: 575797567@qq.com



是<sup>[2]</sup>:尊重他人,保护患者健康,积极的联系,以及专业技能和知识。目前,湖北省老龄化已进入快速发展阶段,湖北60岁及以上老龄人口达到1302万,占比22.28%,已进入中度老龄化社会,老龄化程度居全国前列、中部第一;预计到2031年,占比将达30%<sup>[3]</sup>,进入重度老龄化阶段。随着老年人口的快速增长,相应的,住院老年患者也随之增加,老年患者一般住院时间较长,加之家属陪伴相对不足,患者心理问题也随之凸显,其中以焦虑、恐惧、孤独、失落感为主<sup>[4]</sup>,这是社会人文关怀和医疗人文关怀缺乏所致的结果<sup>[5]</sup>。研究表明,对老年住院患者实施人文关怀后,能够改善患者的不良用药情况<sup>[6]</sup>,减少患者重复入院率<sup>[7]</sup>,减少患者的心理恐惧和陌生感,有利于疾病恢复,减少并发症,提高护理质量<sup>[8]</sup>。另外,柏晓玲等<sup>[9]</sup>研究显示,绝大多数患者护理关怀需求程度为“非常需要”,可见患者对护理人文关怀需求较高,他们不仅需要解除病痛,也需要精神、心理、情感等方面的护理。本研究运用中文版护士关怀行为评价量表调查湖北省三甲医院老年病房护士对老年住院患者的关怀行为现状并分析相关影响因素,从而为护理老年患者的医护人员提供意见,改善护理人员的关怀行为,以满足越来越多的老年住院患者的关怀需求。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

2022年7月,我们采用分层抽样法,选择湖北省6个地级市,从每个地级市中随机抽取2所三甲医院,共纳入12所医院;然后将这12所医院老年病房的所有符合条件的护士和患者作为本次研究的调查对象。护理人员纳入标准:①湖北省三甲医院在老年病房工作的注册护士;②工作时间在三个月以上;③愿意参加本次研究。排除标准:调查期间在职不在岗的护理人员。老年病房住院患者纳入标准:①年龄在60岁及以上;②病情稳定、意识清醒且住院时间在48h以上;③知情同意,自愿参加本次研究者。排除标准:①有听力障碍者;②不具备口语表达能力者。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 研究工具

基本资料调查表:包括年龄、性别、家庭所在地等。采用达朝锦等<sup>[10]</sup>编制的中文版护士关怀行为评价量表进行问卷调查,该量表共3个维度

24个条目。14组量表选项中绝大多数对测试结果起决定作用的选项包括从“从不”到“总是”共6级,分别赋值1~6分,满分144分。得分越高,说明老年病房护士对老年住院患者的关怀行为越到位;最后,依据调研结果形成老年病房护士和患者对人文关怀行为的评价得分。总量表的Cronbach's  $\alpha$ 系数是0.959,三个维度的Cronbach's  $\alpha$ 系数分别是0.897、0.906、0.928,三个维度的重测信度分别为0.794、0.633、0.575。因为本次调查采用护士自评和患者他评相结合的方式,因此,护士和患者采用的是同一份问卷,仅在基本资料上有所差异。本次护士调查问卷的Cronbach's  $\alpha$ 系数为0.896,患者调查问卷的Cronbach's  $\alpha$ 系数为0.902。

#### 1.2.2 资料收集方法

在取得医院护理部同意的基础上,中文版护士关怀行为评价量表在问卷星上制成电子版,通过微信平台发放,患者评价是纸质问卷,由论文组向受试者发放,住院患者自行填写,或由调查人员根据老年住院患者的口头回答进行填写。本研究共发放电子问卷580份,纸质问卷620份,回收有效问卷分别为567份和601份,有效回收率分别为97.8%和96.9%。

### 1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0进行分析。采用频数描述老年患者和护士的一般资料,采用(均数 $\pm$ 标准差)描述护士关怀行为评价量表得分;采用相关分析分析一般资料与量表总得分的相关性,分别采用独立样本 $t$ 检验、单因素方差分析比较不同人口社会学特征的老年患者及护士对关怀行为评价得分上的差异,将单因素分析有意义的一般资料作为自变量,将量表总得分作为因变量作多重线性回归分析,探索护士和患者关怀行为评价量表得分的影响因素,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 影响护士关怀行为单因素分析

567名护士和601名患者作为调查对象参与本次研究,其中,护士男3人,女564人;年龄20~50岁,平均(31.14 $\pm$ 6.129)岁。患者男297人,女304人;年龄60~90岁,平均(68.67 $\pm$ 15.217)岁。其次,护士的家庭所在地、婚姻状况、从事老年护理工作年限、职务、职称、是否为独生子女、最终学历、家人及同事的关心程度、岗位聘用形式、



在校是否上过人文关怀方面的课程、在院是否接受过人文关怀方面的培训、是否清楚人文关怀的定义、医院重视程度、对护理工作的职业认同感、与患者互动的时问、是否学习及掌握一定的心理学知识、医院是否有人文关怀的相关政策;患者的家庭所在地、婚姻状况、是否为本地人、文化程度、目前的就业状况、医疗付费方式、月收入、近五年住院次数、目前住院天数、入院方式、自我照顾能

力、疼痛程度、自我评价的身体状况、目前住院是否为家属照护均作为一般资料进行分析,因分析的因素较多,表1~2中仅列出了差异有统计学意义的项目。其中护士因素中差异有统计学意义的见表1,患者因素中差异有统计学意义的见表2 ( $P < 0.05$ )。老年病房护士和患者对人文关怀行为的评价得分,见表3。

表1 护士关怀行为得分的单因素分析( $n = 567$ )

项目	人数	方差检验结果( $\bar{x} \pm s$ )	T/F	P	项目	人数	方差检验结果( $\bar{x} \pm s$ )	T/F	P		
老年护理工作年限	1年以内	160	119.16 ± 15.22	4.73	0.012	家人及同事的关心程度	非常不关心	11	128.82 ± 13.98	5.964	0.000
	1-5年	369	129.68 ± 14.42				不关心	30	117.84 ± 16.47		
	5-10年	27	124.47 ± 15.74				一般	82	112.5 ± 6.36		
	10年以上	11	121.95 ± 16.49				关心	275	121.53 ± 16.67		
最终学历	初中、中专	94	127.25 ± 15.17	2.695	0.046	对护理工作的职业认同感	非常关心	169	135.62 ± 12.13	7.316	0.000
	高职、高中	57	123.83 ± 16.30				非常不认同	8	119.46 ± 15.91		
	大专	217	121.29 ± 15.92				不认同	19	113.60 ± 14.92		
	本科及以上	199	124.56 ± 12.93				一般	164	125.00 ± 18.52		
岗位聘用形式	合同制	367	128.9 ± 15.03	7.583	0.001	与患者互动时间	认同	275	123.05 ± 16.15	6.500	0.000
	人事代理	56	121.23 ± 16.05				非常认同	101	131.66 ± 13.25		
	正式在编	144	121.31 ± 16.07				非常少	25	108.56 ± 10.53		
是否上过人文关怀课程	否	188	121.66 ± 13.73	4.694	0.026	是否学习及掌握一定的心理学知识	少	108	105.00 ± 12.83	4.533	0.036
	是	379	125.37 ± 15.73				一般	284	117.23 ± 14.93		
是否清楚人文关怀的定义	完全不清楚	24	110.27 ± 13.53	8.717	0.000	医院是否有关怀照护的相关政策或者列入护理质量考核	多	82	119.87 ± 16.90	8.006	0.000
	部分不清楚	75	114.14 ± 15.51				非常多	68	127.04 ± 15.17		
	一般	278	117.41 ± 16.96				否	431	114.32 ± 14.53		
	大致清楚 部分清楚	129	123.13 ± 15.78				是	136	118.06 ± 13.76		
非常清楚	61	131.47 ± 12.56			否	464	115.62 ± 14.76				
							是	103	121.38 ± 13.52		

表2 患者评价护士关怀行为得分的单因素分析( $n = 601$ )

项目	人数	总分( $\bar{x} \pm s$ )	T/F	P	项目	人数	总分( $\bar{x} \pm s$ )	T/F	P			
婚姻状况	未婚	1	118.63 ± 18.31	4.002	0.008	此刻疼痛程度	完全能自理	136	113.47 ± 18.55	3.391	0.019	
	已婚	514	127.00 ± 18.31				重度疼痛	53	124.00 ± 19.24			
	离异	7	103.00 ± 8.49				中度疼痛	126	122.18 ± 21.73			
	丧偶	79	104.53 ± 13.35				轻度疼痛	230	120.46 ± 16.56			
自我照顾能力	完全不能自理	41	127.1 ± 17.55	4.612	0.001	没有疼痛	192	113.34 ± 18.42	5.26	0.032		
	部分能自理	97	120.79 ± 14.36				是否为家属照护	否			113	112.31 ± 15.56
	一般	113	119.00 ± 19.45					是			488	122.86 ± 14.58
	部分不能自理	214	124.00 ± 16.61									

表3 对人文关怀行为的评价得分( $\bar{x} \pm s$ )

变量	护士(n=567)	患者(n=601)	T	P
知识和技能	123.12±0.79	119.08±0.78	7.68	0.000
尊重和联系	113.12±1.02	113.11±0.98	0.25	0.80
支持和保证	124.54±0.79	123.18±0.75	6.81	0.031
总分	122.33±0.93	118.91±1.10	22.75	0.00

## 2.2 影响护士关怀行为多因素分析

分别以护士和患者的量表总得分为因变量,以单因素分析结果有统计学意义的因素为自变量进行多元线性回归分析。结果是否清楚人文关怀的定义、与患者交流时间、医院对人文关怀的相关制度、家人及同事的关心程度是影响护士关怀行为总分的主要因素,见表4。患者的自我照顾能力及疼痛程度是影响患者对护士关怀行为评价得分的主要因素,见表5。

表4 影响护士关怀行为的回归分析结果

变量	$\beta$	SE	$\beta'$	T	P
常数项	128.602	2.153	-	59.745	0.000
是否清楚人文关怀的定义	-3.464	1.173	-0.422	-3.806	0.000
医院对人文关怀的相关制度	-3.103	1.332	-0.178	-3.079	0.002
与患者交流时间	-1.546	0.664	-0.140	-2.329	0.021
家人及同事的关心	-1.250	0.574	-0.223	-2.178	0.030

表5 影响患者关怀行为评价得分的回归分析结果

变量	$\beta$	SE	$\beta'$	T	P
常数项	102.242	5.376	-	19.020	0.000
自我照顾能力	2.978	1.104	0.178	2.696	0.008
疼痛程度	3.143	0.914	0.127	2.132	0.020

## 3 讨论

本研究老年病房护士自评和患者他评得分均较高,但在三个维度中,尊重和联系维度,护士和患者两者比较差异无统计学意义,知识和技能、支持和保证两个维度,两者比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),可能与护士及患者在关怀行为方面的认知差异有关。国外有研究表明患者对护士的专业知识和技能即工具性表达行为要求较高,而护士则认为耐心倾听患者的诉说即表达性关怀行为是自己最重要的关怀行为<sup>[11-12]</sup>。国内学者岑慧红等<sup>[13]</sup>也得出了相同的结论,其通过对老年患者需求研究得出,老年患者以操作性行为需求为主,

对表达性关怀行为需求较低。患者对尊重和联系的评分最低,对知识和技能的评分最高,王呼萍等<sup>[14]</sup>研究显示,内科住院患者对满足基本需求的护理评价最高,对帮助、信任关系的建立和保持评价最低。这可能与老年住院患者与内科住院患者病情较为一致有关。而王艳红等<sup>[15]</sup>的研究显示,真诚、同情、尊重的评分高于专业照顾行为,这可能与研究对象所在科室不同有关。

本研究通过多因素分析结果显示,护士是否清楚人文关怀的定义、与患者交流时间的长短、医院对人文关怀的相关制度如奖惩制度,将人文关怀纳入质量管理和考核,家人及同事的关心程度是影响老年病房护士关怀行为的主要因素。通过本研究我们看到了积极的方面,即影响护士关怀行为的主要因素都是可干预因素。是否清楚人文关怀的定义从完全不清楚到非常清楚,评分在不断增高,这说明医院可以根据科室情况进行自主培训,使老年病房护士掌握人文关怀的定义,从而提高护士的关怀行为。由表1可知,随着与患者互动时间的增长,护士评分也在不断增长,有研究表明<sup>[16]</sup>,台湾护士认为,由于工作量很大而常常导致自己在工作中缺乏关怀行为。因此,医院可以通过护理信息化或增加护理人力资源等方式给护士减负,从而增加护患沟通时间,满足患者关怀需求。刘义兰等<sup>[17]</sup>认为人文关怀是护理质量管理的重要组成部分,也应当像其他护理工作如护理技术、护理查房等纳入整个护理管理的范畴,这样才能真正使患者、护士、医疗机构、社会等多方受益。但目前国内人文关怀的开展主要靠护理管理者的意识及护理人员的内在修养,缺乏统一的、规范的标准及相应的管理制度,护理人文关怀实践远未达到应有的力度和效果<sup>[18]</sup>。家人及同事的关心也是影响护士关怀行为的因素,研究显示<sup>[19]</sup>,家人及同事给予的关心越多,护士感受的关怀越多,人文关怀知识掌握的越好,人文关怀感知越强,人文关怀理念越深入。因此,医院可以通过加强护士和家人及同事的关系来增强关怀行为,如带家人参加医院娱乐活动,带家人参加医院组织的郊游等,既加强了跟家人及同事的关系,又让家人更加充分的了解自己的工作,在关怀的氛围中增强关怀行为。

本研究显示,患者的自我照顾能力及疼痛程度是影响老年住院患者对护士关怀行为评价的主要因素,而与性别、年龄、学历等无关,这与王洋<sup>[20]</sup>等的研究结果一致。原因可能是自我照顾



能力弱、疼痛程度强的患者对护士的人文关怀行为要求较高。2016年国务院发布《“健康中国2030”规划纲要》<sup>[21]</sup>明确提出要“加强医疗服务人文关怀,构建和谐医患关系”。因此,医院要遵从中共中央及国务院指示,从患者角度减轻痛苦、增强人文关怀行为。越来越多的研究表明<sup>[22]</sup>,与护士进行关怀接触的患者回馈了更高的满意度,减少了焦虑情绪,提高了患者的应对能力,对于护士来说,关怀经历提高了他们的个人和职业满意度,增强了自我实现感,并提高了护理质量。

一般资料的评价受主观性影响较大,且本研究只采用了量性研究方法,缺少质性研究,今后可以量性研究与质性研究相结合,以便更加准确的反映护士人文关怀行为现状。

综上所述,护士和患者对人文关怀行为的评价总分均较高,多因素分析结果显示是否清楚人文关怀的定义、与患者交流时间、医院对人文关怀的相关制度、家人及同事的关心程度是影响护士关怀行为总分的主要因素,自我照顾能力及患者的疼痛程度则是影响患者对护士关怀行为评价得分的主要因素。此外,影响老年病房护士关怀行为的主要因素都是可干预因素,因此,医院可以通过加强护士和家人及同事的关系来增强关怀行为。

## 参考文献:

- [1] 吴为,刘义兰,胡德英,等.住院患者对护理人文关怀标准观点的质性研究[J]. 护理学杂志,2017,32(10):65
- [2] KAUR D, SAMBASIVAN M, KUMAR N. Impact of emotional intelligence and spiritual intelligence on the caring behavior of nurses: a dimension-level exploratory study among public hospitals in Malaysia[J]. *App Nurs Res*, 2015,28(4):293
- [3] 王成蓬. 山东省老年人卫生服务利用研究[D]. 济南: 山东大学,2016
- [4] 刘明霞,陈祥莺. 老年住院患者常见的心理问题与干预措施[J]. *中国实用医药*,2015,10(14):273
- [5] 陈国英,石小毛. 以强调护士职业道德为主导的老年病人人文关怀实践[J]. *全科护理*,2017,15(19):2401
- [6] MAHONEY D F, LADD E. More than a prescriber: gerontological nurse practitioners' perspectives on prescribing and pharmaceutical marketing[J]. *Geriatr Nurs*,2010,31(1):17
- [7] ENGUIDANOS S, GIBBS N, JAMISON P. A brief nurse practitioner intervention for vulnerable older adults[J]. *J Gerontol Nurs*,2012,38(3):40
- [8] 刘菲,牛文月,王成洲. 人文关怀在老年患者护理中的应用[J]. *中西医结合心血管病电子杂志*,2017,5(21):106
- [9] 柏晓玲,楼婷,罗梅梅,等. 住院患者护理人文关怀需求调查与分析[J]. *中国卫生事业管理*,2015,32(2):102
- [10] 达朝锦. 关怀行为量表的汉化及其中文版的信度、效度研究[D]. 兰州:兰州大学,2016
- [11] KARLOU C, PAPADOPOULOU C, PAPATHANASSO-GLOU E, et al. Nurses' caring behaviors toward patients undergoing chemotherapy in greece: a mixed-methods study[J]. *Cancer Nurs*,2018,41(5):399
- [12] VON ESSEN L, SJÖDÉN P O. The importance of nurse caring behaviors as perceived by Swedish hospital patients and nursing staff *International Journal of Nursing Studies* (1991),28,267-281[J]. *Int J Nurs Stud*,2003,40(5):487
- [13] 岑慧红,余亦冰,黄玉莲,等. 老年患者对护理关怀行为需求的调查分析[J]. *现代临床护理*,2011,10(12):5
- [14] 王呼萍,周会琼,朱便茹. 内科住院患者对护理关怀行为的评价[J]. *护理学杂志*,2014,29(17):58
- [15] 王艳红,郭玉萍,杨叔禹,等. 住院患者对护士关怀行为评价的研究[J]. *解放军护理杂志*,2017,34(11):13
- [16] HSU T C, CHIANG-HANISKO L, LEE-HSIEH J, et al. Effectiveness of an online caring curriculum in enhancing nurses' caring behavior[J]. *J Contin Educ Nurs*,2015,46(9):416
- [17] 刘义兰,吴红艳,胡德英,等. 护理人文关怀质量管理的思考[J]. *护理学杂志*,2017,32(23):4
- [18] 杨雪娇,吴为,刘义兰,等. 护理人文关怀标准化建设的思考[J]. *护理研究*,2017,31(28):3509
- [19] 杨甜甜. 临床护士人文关怀品质现状调查及相关影响因素分析[D]. 长春:吉林大学,2014
- [20] 王洋,刘婉露,刘敏. 住院患者对护理人文关怀需求的调查与研究[J]. *中国医药科学*,2017,7(17):131
- [21] 中国共产党中央委员会,中华人民共和国国务院. “健康中国2030”规划纲要[J]. *中国实用乡村医生杂志*,2017,24(7):1
- [22] LABRAGUE L J, MCENROE-PETITTE D M, PAPATHANASSIOU I V, et al. Nursing students' perceptions of their own caring behaviors: a multicountry study[J]. *Int J Nurs Knowl*,2017,28(4):225

(收稿日期:2024-03-20)

# 菝葜的化学成分及药用价值研究进展\*

高满军<sup>1</sup>, 黄兴琼<sup>1</sup>, 莫启贵<sup>1,2</sup>, 赵宝清<sup>1,2</sup>, 陈迷<sup>1,2\*\*</sup>, 张丹丹<sup>1,2\*\*</sup>

(1. 湖北科技学院医学部药学院, 湖北 咸宁 437100; 2. 糖尿病心脑血管病变湖北省重点实验室)

**摘要:**菝葜来源于百合科植物菝葜(*Smilax China* L.)的干燥根茎,含有丰富的甾体皂苷、黄酮、苯丙烷类和芪类等成分,以利湿去浊、祛风除痹、解毒散瘀的功效为人所知。菝葜具有较好的抗炎、调节糖脂代谢、抗氧化等生物活性,具有很高的药用价值。本文通过查阅近年来相关文献,对菝葜的化学成分及药理作用进行了系统的阐述,为菝葜在药品开发和利用中提供了充足的理论依据,以期进一步推动中药菝葜产业的健康、稳定、可持续发展。

**关键词:**菝葜; 甾体皂苷类; 黄酮类; 抗炎; 糖脂代谢

中图分类号: R914

文献标识码: A

文章编号: 2095-4646(2024)04-0360-005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI: 10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0360



## Research Progress in Chemical Constituents and Medicinal Value of *Smilax China* L.

GAO Man-jun, CHEN Mi, ZHANG Dan-dan, et al

(School of Pharmacy, Xianning Medical College, Hubei University of Science and Technology, Xianning Hubei 437100, China)

**ABSTRACT:** *Smilax china* rhizoma, from the dried rhizome of *Smilax china* L., is rich in steroidal saponins, flavonoids, phenylpropanes and astragalus, etc. It is known for its effects of promoting dampness and removing turbidity, dispelling wind and paralysis, detoxifying and dissipating blood stasis. Modern studies have shown that *Smilax china* L. possess potent anti-inflammatory, glycolipid metabolism-regulating, and antioxidant bioactivities. By reviewing the relevant literature in recent years, the paper elaborated systematically the chemical composition and pharmacological effects of *Smilax china* L., which provides sufficient theoretical basis for the development and utilization of *Smilax china* L. in pharmaceutical development, with a view to further promoting the healthy, stable and sustainable development of the Chinese medicine *Smilax china* L. industry.

**KEY WORDS:** *Smilax china* L.; Steroidal saponins; Flavonoids; Anti-inflammation; Glucolipid metabolism

菝葜,又名金刚藤,主治风湿痹痛、肌肉麻木、消渴、淋浊、带下等,为湖北省道地药材“一县一品”建设品种之一。以菝葜为原料的中成药常用于妇科炎症疾患,疗效显著。近年来,炎性疾病、糖脂代谢疾病、肿瘤等疾病频发,严重危害人体身心健康,菝葜中主要的药理活性成分甾体皂苷类、黄酮及其苷类等,药用价值丰富,现代药理研究发现其具有治疗盆腔炎、溃疡性结肠炎、肥胖、胰岛素抵抗、脂肪肝、急性肝损伤、高脂血症等功效<sup>[1-5]</sup>。本文从菝葜的化学成分及药用价值两方面进行总结,为后续研究菝葜治疗相关疾病机制和治疗相关疾病药物开发奠定理论基础。

### 1 菝葜的化学成分

菝葜主要化学成分为甾体皂苷类、黄酮类,还包括芪类、苯丙素类、有机酸类、甾醇类等其他成分。通过对菝葜化学成分的研究,有利于阐明菝葜发挥药理作用的物质基础。

#### 1.1 甾体皂苷类

甾体皂苷类成分是菝葜中发挥药效的主要成分之一,是一类含有27个碳原子的螺甾烷类化合物衍生的寡聚糖,由皂苷元与糖基组合而成,大多存在于单子叶植物的百合科,易溶于水和醇,因在

\* 基金项目:湖北省自然科学基金(2023AFB513);糖尿病心脑血管病变湖北省重点实验室开放基金项目(2022TNB05);中药资源与中药化学省级重点实验室开放基金(KLRCCM2305)

\*\* 通讯作者, E-mail: 1280499642@qq.com; 1601652945@qq.com



同一植物中有很多结构相近的皂苷共存,所以皂苷的分离纯化十分困难。研究者运用不同的方法得到了如下甾体皂苷类成分<sup>[6-7]</sup>:槲皮素-7-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷和山柰酚-7-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷、薯蓣皂苷元-3-O- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 4)- $\alpha$ -L-吡喃鼠李糖-(1 $\rightarrow$ 4)- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖、hypoglucin G、薯蓣次苷 B、pregna-5、protodioscin、dioscoreside、diosgenin-3-O-[ $\alpha$ -L-rha(1-3- $\alpha$ -Lrha(1-4))- $\alpha$ -Lrha(1-4)]- $\beta$ -D-glucopyranoside、原薯蓣皂苷、22-O-甲基原薯蓣皂苷、细薯蓣皂苷、甲基原纤细薯蓣皂苷、甲基原薯蓣皂苷元、薯蓣皂苷次苷 A 和薯蓣皂苷等。

### 1.2 黄酮类

黄酮类化合物是菝葜的另一活性成分,是指两个具有酚羟基的苯环通过中央三碳原子相互联结而成的一系列化合物,其基本母核为 2-苯基色原酮,常连接有酚羟基、甲氧基、甲基、异戊烯基等官能团,与糖结合成苷,从菝葜中分离鉴定出的黄酮类成分有<sup>[8-9]</sup>:儿茶素-(7,8-bc)-(3,4-二羟基苯基)-二氢吡喃-2(3H)-酮、表儿茶素、儿茶素-3 $\beta$ -羟基-(1R-3,4-二羟基苯基)吡喃酮、儿茶素-3 $\beta$ -羟基-(1S-3,4-二羟基苯基)吡喃酮、3,5,7,4-四羟基黄酮-7-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷、5,5-二甲氧基落叶松树脂醇 4-O- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷和 3,4,5-三甲氧苯基-1- $\beta$ -D-吡喃葡萄糖苷、三聚黄酮、芦丁、异台黄杞苷等。

### 1.3 其他类成分

菝葜中除了上述成分外,研究者们还分离得到了如下成分<sup>[10-14]</sup>,具体见表 1。

表 1 芪类、苯丙素类、有机酸类、甾醇类等其他成分

类别	成分
芪类	白藜芦醇、氧化白藜芦醇-3,5,3',4'-四羟基芪-3,5,4'-三羟基芪和 3,5,2,4'-四羟基芪等
苯丙素类	(+)-lyoniresinol 3 $\alpha$ -O- $\beta$ -D-glucopyranoside, 岩白菜素, 3,4,5-三甲氧基苯酚, ethyl- $\beta$ -D-glucopyranoside Smilaside A-F, Smiglaside E, Helomioside B, 2,6-二乙酰基-3,6-二阿魏酰基蔗糖等
有机酸类	棕榈酸、丁二酸、正十六碳酸、月桂酸、乙二酸、丁香酸、琥珀酸、花生酸、 $\alpha$ -亚油酸、 $\beta$ -亚油酸、没食子酸、原儿茶酸、咖啡酸、龙胆酸、反式氧香豆酸、香草酸(4-羟基-3-甲氧基苯甲酸)等
氨基酸类	4-甲基谷氨酸、4-亚甲基谷氨酸谷氨酸、4-氨基丁酸、Na-(2-羟基丁二酸)精氨酸、Na-(2-羟基-2-羧基甲基丁二酸)-L-精氨酸等
甾醇类	$\beta$ -谷甾醇( $\beta$ -Sitosterol)、胡萝卜苷、麦角甾醇等
多糖类	中性多糖(SCLP1)、果胶多糖(SCLP3-2)等
酯类	棕榈酸、2-己酰基吡喃、二十酸甲酯等芳香酯、邻苯二甲酸-双-2-乙基己酯、香茅内酯、大豆甾苷 II、芝麻甾苷等

## 2 菝葜的药理作用

药物的成分决定了药物的药理作用,菝葜的主要活性成分为甾体皂苷类及黄酮类,甾体皂苷类为制备抗炎药的主要成分,验证了近年来菝葜主要用于治疗妇科炎症的药理活性<sup>[15-16]</sup>,黄酮类化合物具有抗炎、抗氧化、调节糖脂代谢等药理活性,其他药理成分含量较少,需要学者们的进一步深入研究。

### 2.1 抗炎

菝葜是发挥抗炎效用的传统用药。皂苷和黄酮类是菝葜发挥抗炎效应的主要活性成分。市场投入的以菝葜为原料制得的金刚藤胶囊在治疗盆腔炎等炎性疾病过程中表现出既抗炎又不易耐药的良好特性,具有用药安全有效、副作用小、费用较低等优点。

脂多糖是巨噬细胞的主要激活剂之一,巨噬细胞是参与抗炎反应的重要物质。在 LPS 的反应中,巨噬细胞产生炎症介质。Zhang、Jiang 等<sup>[2-3]</sup>从菝葜根茎中分离纯化出两种均质多糖(SCLP1 和 SCLP3-2),可通过抑制 LPS 刺激的细胞中的 NF- $\kappa$ B 和 MAPKs 通路来抑制促炎细胞因子(IL-6 和 TNF- $\alpha$ )的产生。Pan 等<sup>[17]</sup>研究从菝葜中纯化的多糖(SCLP)对葡聚糖硫酸钠诱导的溃疡性结肠炎的抗炎作用和潜在机制,结果表明,SCLP 可以通过抑制 NLRP3 炎症小体/IL-1 $\beta$  通路,显著改善溃疡性结肠炎小鼠的症状,减轻组织病理学损伤,减少炎症介质的分泌。Yang 等<sup>[4]</sup>研究发现乙醇提取物菝葜甾醇皂苷,不仅可以调节 TNF- $\alpha$  的产生,减轻炎症进展,还能显著抑制 TNF- $\alpha$  mRNA 的表达。白细胞介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )是导致炎症发生的重要物质,参与多种细胞活动,包括细胞增殖、分化和凋亡。陈佳倩等<sup>[18]</sup>研究发现菝葜黄酮化合物(-)-表儿茶素和二苯乙烯二聚体 scirpusin A 能够抑制 LPS 诱导的人单核细胞白血病细胞 IL-1 $\beta$  的表达,发挥抗炎效果。宋小英等<sup>[19]</sup>研究发现落新妇苷等 12 个菝葜单体成分均能增强脾淋巴细胞增殖,抑制炎症因子,发挥抗炎及免疫调节作用。刁建新等<sup>[20]</sup>在寻找强的松治疗溃疡性结肠炎的替代药研究中发现,经菝葜水提取物干预后,溃疡性结肠炎大鼠的大便隐血、肠道糜烂、溃疡、黏膜坏死等症状有明显改善,达到与强的松相同的抗炎治疗效果,且毒副作用较低。覃红珍等<sup>[15]</sup>研究金刚藤多糖对慢性盆腔炎治疗效果,发



现金刚藤多糖通过抑制炎症反应与盆腔粘连,达到治疗作用。李宏慧等<sup>[16]</sup>采用金刚藤片联合康复消炎栓治疗盆腔炎,研究发现联合药物对盆腔炎所致腹痛、白带增加、腰骶部酸痛等症状治疗效果显著,且复发率低。

抗炎为菝葜的主要药理活性,学者们采用现代技术挖掘出菝葜中发挥抗炎效用的单体成分,通过实验及临床验证探索出菝葜各种单体成分发挥效用的作用机制,对于阐明菝葜抗炎的药效物质基础,探索菝葜防治疾病的原理,改进菝葜药物制剂,提高临床疗效有重要意义。

## 2.2 调节糖脂代谢

糖脂代谢疾病已经引起社会的广泛关注,糖脂代谢失调会引起肥胖、糖尿病等疾病,寻找新的安全治疗方案迫在眉睫。

研究<sup>[12,21]</sup>发现菝葜具有降低 $\alpha$ -葡萄糖苷酶和 $\alpha$ -淀粉酶的作用。Xu等<sup>[22]</sup>发现菝葜多酚能够有效降低高脂肪饮食模型小鼠胰岛素抵抗、腹膜内脂肪组织指数、体重增加速率、肝脂质和血清炎症因子水平。过度肥胖是引起糖脂代谢紊乱的重要诱因。郑国栋等<sup>[23]</sup>研究发现菝葜可以调节脂肪氧化酶的活性和基因抑制脂肪沉积,降低体重,有良好的减肥效果。Lee等<sup>[24]</sup>研究发现从菝葜中分离出的化合物有显著的体外抗糖基化和大鼠晶状体醛糖还原酶抑制活性,研究结果证明菝葜对导致糖尿病发病相关的晚期糖基化终产物有显著抑制效果,表明菝葜对肥胖、高脂血症和脂肪肝具有潜在的治疗或预防作用。李欣等<sup>[25]</sup>研究发现菝葜醇提取物可通过激活脂肪酸合成酶及磷酸腺苷激活蛋白激酶活性及mRNA表达量,促进脂肪酸氧化,减少脂肪沉积和体重增加。Yang等<sup>[4]</sup>研究发现菝葜可通过抑制高脂饮食喂养小鼠的脂质合成,促进脂肪分解和脂肪酸 $\beta$ -氧化,导致体重增加速度和脂肪量降低。Kong等<sup>[26]</sup>研究发现菝葜多酚显著上调蛋白激酶A、脂肪甘油三酯脂肪酶等的表达,促进脂肪分解和 $\beta$ -氧化,通过促进脂肪细胞的分解,达到预防肥胖效果。肝脏是调节糖脂代谢的重要器官,菝葜能够通过调节相关指标达到改善肝功能调节糖脂代谢的目的。Li等<sup>[27]</sup>研究发现菝葜多酚可以通过调节肠道微生物群来预防肥胖和代谢性疾病,菝葜多酚增加了肠道微生物阿克曼氏菌、瘤胃球菌科等的多样性,并调节了几种与炎症相关的菌群(瘤胃球菌科UCF-014、未分类消化球菌科和链球菌),有缓解肝脂肪变性和

血脂异常的作用。Kim等<sup>[28]</sup>研究非发酵菝葜(SC)和米曲霉发酵菝葜叶提取物(FSC)对饮食诱导肥胖小鼠脂肪生成和抗氧化活性的影响,发现SC和FSC可通过降低血清生物标志物酶谷丙转氨酶和天冬氨酸转氨酶的活性来改善肝功能。以上研究表明菝葜的不同成分对调节糖脂代谢紊乱、预防肥胖等具有良好药效,对扩大菝葜的临床适应症,菝葜产品的二次开发具有重要意义。

## 2.3 抗肿瘤

研究发现,菝葜中的一些化学成分可作为中医治疗肿瘤的安全用药。Dalkl等<sup>[29]</sup>研究发现菝葜提取物能够抑制人乳腺癌、人卵巢癌和人肺癌细胞的增殖,并诱导癌细胞凋亡,用于癌症治疗。Li等<sup>[30]</sup>研究发现,经菝葜类黄酮物质干预人宫颈癌细胞后细胞周期停滞在G<sub>1</sub>期并发生凋亡,菝葜类黄酮物质可发挥抑制增殖作用。Fu等<sup>[31]</sup>研究菝葜提取物对人肺腺癌细胞的抑制作用,研究发现总黄酮和总单宁这两种提取物具有诱导细胞凋亡的能力,有效抑制了肺腺癌细胞的增殖。于丽秀等<sup>[32]</sup>研究发现,菝葜不同提取物有抑制卵巢癌细胞活性的效用,且对卵巢癌细胞的活性抑制作用呈剂量依赖性,也呈时间依赖性。郭红等<sup>[33]</sup>研究发现菝葜皂苷元能够通过调控相关基因表达抑制卵巢癌细胞增殖、迁移及侵袭。吴先闯等<sup>[34]</sup>研究发现环磷酸胺和菝葜乙酸乙酯可不同程度地抑制小鼠肝癌移植瘤的生长,其中高剂量菝葜乙酸乙酯提取物抑瘤效果与环磷酸胺相当,且药物毒性更低。

由于遗传、环境等因素的影响,癌症的发病率逐年上升,传统药物治疗副作用大,危害性高,患者们迫切希望研发出新的安全用药。通过对菝葜中各种成分的研究,发现了菝葜中确有对抗癌细胞的效应成分,这不仅扩大了菝葜的药用价值,更为患者带来了希望。

## 2.4 其它功效

菝葜还具有抗菌和抗氧化的作用。Joo等<sup>[35]</sup>研究发现菝葜的多种活性成分如槲皮素、白藜芦醇和氧化白藜芦醇能够有效对抗痤疮杆菌。Xu等<sup>[36]</sup>研究发现SCLP是一种潜在的天然抗菌物质,具有较强的抗菌活性,可与抗生素协同作用,减少抗生素的使用和对抗耐药菌。Wang等<sup>[37]</sup>研究发现菝葜多糖能够减轻肝脏组织病理学变化,逆转丙氨酸氨基转移酶、天冬氨酸转氨酶、丙二醛和活性氧化水平,逆转肝脏过氧化物酶活性的变



化,并增强对乙酰氨基酚处理小鼠的肝脏抗氧化剂水平,挽救 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 处理的小鼠肝细胞的细胞活力并减轻了氧化应激,表明菝葜多糖有较好的抗氧化作用。

此外,菝葜还具有治疗良性前列腺增生、增强免疫功能、抗高尿酸血症、不孕症、促进性腺激素快速分泌、减轻血管内皮损害、减少子宫内膜厚度、保护肾组织活性、改善肝组织纤维化程度、消肿、解毒、止痒、促进创口愈合、凝血止血等作用<sup>[38-39]</sup>。

### 3 结语与展望

本文系统地阐述了菝葜的化学成分及药理作用,发现菝葜化学成分丰富,主要为黄酮及甾体皂苷类等,有较高的药用价值,主要用于治疗妇科炎症。近年来,随着社会经济的快速发展,生活水平的不断提高,肥胖、高血脂、糖尿病等糖脂代谢疾病不断增多,因此,寻找疗效好副作用低的药物对抗糖脂代谢疾病亟待解决。本文通过综述发现菝葜在治疗糖脂代谢疾病有较好的前景,对糖尿病、肥胖、高血脂和脂肪肝等具有潜在的治疗或预防作用,因此,在后续的研究中,研究者们可以关注菝葜对糖脂代谢疾病的治疗,丰富菝葜的药用价值及临床适应症,促进菝葜产业的可持续发展。

### 参考文献:

- [1] FENG H X, HE Y, LA L, et al. The flavonoid-enriched extract from the root of *Smilax china* L. inhibits inflammatory responses via the TLR-4-mediated signaling pathway[J]. *J Ethnopharmacol*, 2020, 256: 112785
- [2] ZHANG Y, PAN X, RAN S, et al. Purification, structural elucidation and anti-inflammatory activity in vitro of polysaccharides from *Smilax china* L.[J]. *Int J Biol Macromol*, 2019, 139: 233
- [3] JIANG S, WEI Q, YE X, et al. The anti-inflammatory effect of *Smilax china* L. extract on LPS-stimulated THP-1 via downregulation of MAPK and NF-κB signaling pathway[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 16: 9958808
- [4] YANG L, ZHAO Y, PAN Y, et al. Dietary supplement of *Smilax china* L. ethanol extract alleviates the lipid accumulation by activating AMPK pathways in high-fat diet fed mice[J]. *Nutr Metab (Lond)*, 2019, 16(1): 6
- [5] XIE Y, HU D, ZHONG C, et al. Anti-inflammatory furostanol saponins from the rhizomes of *Smilax china* L.[J]. *Steroids*, 2018, 140: 70
- [6] ZHONG C, HU D, HOU L B, et al. Phenolic compounds from the rhizomes of *Smilax china* L. and their anti-inflammatory activity[J]. *Molecules*, 2017, 22(4): 515
- [7] 徐燕,王海燕,蒋家月,等.菝葜中的甾体皂苷及其细胞毒性[J].*中国实验方剂学杂志*, 2011, 17(11): 92
- [8] 周梦,刘星,李琳玉,等.小果菝葜根茎的化学成分研究[J].*中草药*, 2017, 48(24): 5099
- [9] 徐秀丹,边聪,金朱明,等.金剛藤化学成分研究[J].*黑龙江医药*, 2011, 24(3): 387
- [10] 冯锋,柳文媛,陈优生,等.菝葜中黄酮和芪类成分的研究[J].*中国药科大学学报*, 2003(2): 23
- [11] 赵钟祥,金晶,祝晨蓁,等.金剛藤抗氧化类成分的研究[J].*中药新药与临床药理*, 2008, 89(2): 123
- [12] 干国平,于伟,刘焱文.菝葜化学成分的研究[J].*时珍国医国药*, 2007, 141(6): 1404
- [13] 刘科兰,刘星,黄光玉,等.短梗菝葜根茎的化学成分研究[J].*时珍国医国药*, 2016, 27(5): 1064
- [14] 陈彦洁,罗鑫,蒋学青,等.菝葜标准汤剂的 HPLC 特征图谱建立、化学计量学分析及含量测定[J/OL].*中药材*, 2023(11): 2767
- [15] 覃红珍,黄臻,刘晓琰,等.金剛藤多糖对慢性盆腔炎大鼠的作用及机制[J].*中国临床药理学杂志*, 2020, 36(24): 4039
- [16] 李宏慧.金剛藤片联合康复消炎栓治疗盆腔炎的疗效观察[J].*内蒙古中医药*, 2022, 41(8): 30
- [17] PAN X, WANG H, ZHENG Z, et al. Pectic polysaccharide from *Smilax china* L. ameliorated ulcerative colitis by inhibiting the galectin-3/NLRP3 inflammasome pathway[J]. *Carbohydr Polym*, 2022, 277: 118864
- [18] 陈佳倩,金晨,徐博伦,等.菝葜总黄酮主成分鉴定及苯酚胺浆诱导大鼠盆腔炎的抗炎作用评价[J].*中国药学(英文版)*, 2021, 30(2): 157
- [19] 宋小英,罗丹,叶晓川,等.菝葜抗炎有效部位群的效应成分研究[J].*湖北中医药大学学报*, 2017, 19(3): 1
- [20] 刁建新,范钦,王启瑞,等.菝葜对 TNBS 诱导的溃疡性结肠炎大鼠 TNF-α、NF-κB 的影响[J].*世界科学技术-中医药现代化*, 2015, 17(3): 550
- [21] LEE S Y, KIM J H, PARK J M, et al. Antioxidant activity and inhibition activity against α-amylase and α-glucosidase of *Smilax china* L. [J]. *Korean Journal of Food Preservation*, 2014, 21(2): 254
- [22] XU M, XUE H, KONG L, et al. *Smilax china* L. polyphenols alleviates obesity and inflammation by modulating gut microbiota in high fat/high sucrose diet-fed C57BL/6J mice[J]. *J Funct Foods*, 2021, 77(8): 104332
- [23] 郑国栋,朱晓娟,张清峰,等.菝葜对小鼠肝脏脂肪代谢的影响[J].*中国食品学报*, 2016, 16(3): 30
- [24] LEE H, KIM J, WHANG W K. Chemical constituents of *Smilax china* L. stems and their inhibitory activities against glycation, aldose reductase, α-glucosidase, and lipase[J]. *Molecules*, 2017, 22(3): 451
- [25] 李欣,潘永芳,王娜,等.菝葜醇提物对小鼠脂肪代谢酶的影响[J].*江西农业大学学报*, 2020, 42(2): 385
- [26] KONG L, ZHANG W, LIU S, et al. Quercetin, engelitin and caffeic acid of *Smilax china* L. polyphenols, stimulate 3T3-L1 adipocytes to brown-like adipocytes via β3-AR/AMPK signaling pathway[J]. *Plant Foods Hum Nutr*, 2022, 77(4): 529



# 沉默信息调节因子 1 在治疗心力衰竭中的作用研究进展\*

李素云<sup>1</sup>, 阳 绅<sup>1</sup>, 陶 顺<sup>1</sup>, 姚志勇<sup>2\*\*</sup>

(1. 湖南医药学院医学院, 湖南 怀化 418000; 2. 湖南医药学院基础医学院)

**摘要:**心力衰竭(HF)是心血管疾病发展至终末状态的临床综合征,沉默信息调节因子1(SIRT1)是依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸的去乙酰化酶。本文主要介绍了 SIRT1 的结构特性及其在 HF 治疗中的相关作用机制,认为 SIRT1 上调或下调均能导致线粒体代谢紊乱,加重 HF,而靶向调控 SIRT1 可以减轻 HF 病理生理学发生和进展,为 HF 的治疗提供新的思路。

**关键词:**沉默信息调节因子1;心力衰竭;代谢紊乱

中图分类号:R541

文献标识码:A

文章编号:2095-4646(2024)04-0364-005

开放科学(资源服务)标识码(OSID):

DOI:10.16751/j.cnki.2095-4646.2024.04.0364



## Research Progress on the Effect and Mechanism of SIRT1 in the Treatment of Heart Failure

LI Su-yun, YANG Shen, YAO Zhi-yong, et al

(Medical school, Hunan University of Medicine, Huaihua Hunan 418000, China)

**ABSTRACT:** Heart failure is a clinical syndrome in which cardiovascular disease progresses to its end-stage. SIRT1 is a nicotinamide adenine dinucleotide-dependent deacetylase. This paper focused on the structural properties of SIRT1 and its relevant mechanism in the treatment of Heart failure, and concluded that up- or down-regulation of SIRT1 led to mitochondrial metabolic disorders and heart failure aggravation. Targeted regulation of SIRT1 may reduce the occurrence and progression of Heart failure, and provide a new idea for the treatment of Heart failure.

**KEY WORDS:** SIRT1; Heart failure; Metabolic dysfunction

心力衰竭(heart failure, HF)简称心衰,是指心脏出现收缩或舒张功能障碍,无法向组织和器官提供足够的氧和营养物质满足其生理功能需求的一系列复杂的临床综合征,也是各种心血管疾病发展的终末期表现之一<sup>[1]</sup>。目前我国 HF 的发病率为 1.3%,死亡率为 2.8%,严重危害着人们的生命健康和生存质量,是公共卫生事业面临的一大挑战<sup>[2]</sup>。以往研究<sup>[3]</sup>表明,调节心肌细胞能量代谢、减轻活性氧积累、改善心肌纤维化、降低细胞凋亡等都是遏制 HF 发生发展的有效途径<sup>[3]</sup>。随着研究的深入,发现乙酰化、磷酸化和泛

素化等蛋白质修饰也对 HF 有着重要的影响<sup>[4]</sup>。无论是染色质的组成成分组蛋白,还是完成四级结构组装的初级蛋白质,其翻译后修饰均可使自身结构和功能更成熟,改善受损细胞的功能<sup>[5]</sup>。沉默信息调节因子 1(sirtuin 1, SIRT1)是一类组蛋白去乙酰化酶<sup>[6]</sup>,通过对蛋白质中赖氨酸、苏氨酸及酪氨酸上残基进行去乙酰化修饰来调节下游基因或者蛋白的表达,改变器官或组织中能量代谢、氧化应激、纤维化、凋亡等在内的多种生物过程。我们通过检索近年来的国内外文献,对 SIRT1 在 HF 中的作用及其相关机制进行综述,以期治疗

\* 基金项目:国家级大学生创新创业训练计划项目(2022122140010);湖南省自然科学基金项目(2022JJ40294)

\*\* 通讯作者, E-mail: zhiyongyaohnum@163.com



HF 提供新的思路。

## 1 SIRT1 简介

Sirtuins 是一类在生命体中广泛存在的依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸(nicotinamide adenine dinucleotide, NAD<sup>+</sup>)的脱乙酰化酶,属于Ⅲ类组蛋白脱乙酰酶<sup>[7]</sup>。目前在哺乳动物中已发现 7 个 Sirtuin 家族蛋白,它们分别为 SIRT1-SIRT7,并各自分布在细胞内的不同位置:SIRT1、6、7 主要位于细胞核,SIRT2 主要位于细胞质,SIRT3、4、5 主要位于线粒体<sup>[8]</sup>。Sirtuin 家族蛋白成员的分子结构都有一个共同特征,即含有一个催化结构域,这个催化核心区域由一大一小两个结构域组成,包括大的 Rossmann 折叠结构域和小的锌指结合结构域,其本质是 NAD<sup>+</sup>/NADH 结合蛋白。SIRT1 是目前 Sirtuin 家族蛋白中研究最为广泛而深入的成员。SIRT1 基因位于染色体 10q21.3 上,有 9 个外显子编码,大小为 80 个碱基对(bp)到 2120bp 之间。SIRT1 的启动子包含一个 CCAAT 盒和许多个核因子- $\kappa$ B(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)与 GATA 转录因子结合位点,以及一个大小为 350bp 的 CpG 岛,可编码 747 个氨基酸的蛋白质。SIRT1 可对组蛋白和非组蛋白等转录因子进行脱乙酰化,主要包括过氧化物酶体增殖体激活受体- $\gamma$  共激活因子 1 $\alpha$ (peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  coactivator-1 $\alpha$ , PGC-1 $\alpha$ )、核因子红细胞系 2 相关因子 2(nuclear factor erythroid 2-related factor 2, Nrf2)、叉头蛋白转录因子(forkhead-transcription factor, FoxO)、转化生长因子- $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )和肿瘤抑制因子 p53 等,参与调节人体多种生理功能。研究<sup>[9]</sup>表明, SIRT1 在心脏组织中高表达,并具有较强的心脏保护功能。

## 2 SIRT1 与 HF

### 2.1 调节能量代谢

心肌细胞中线粒体生物氧化产生的 ATP 是维持心脏功能的主要能量来源。线粒体功能障碍和心脏能量代谢失调会导致心肌组织结构异常和收缩功能下降,逐渐发展成为 HF<sup>[10]</sup>。PGC-1 $\alpha$  是存在于线粒体内膜上的核受体转录辅激活因子,与 SIRT1 关系密切,PGC-1 $\alpha$  活性的下降可直接导致心脏能量代谢紊乱<sup>[11]</sup>。研究<sup>[12]</sup>发现, SIRT1 能作用于 PGC-1 $\alpha$ ,去乙酰化 PGC-1 $\alpha$  的赖氨酸残基,

增加其转录活性,促进心脏的能量代谢。Yu 等<sup>[13]</sup>研究发现,下调 SIRT1 的表达,会使 PGC-1 $\alpha$  的去乙酰化能力下降,损害了心肌细胞的氧化磷酸化功能和能量代谢基因转录,最终导致心功能受到损伤,促进 HF 的发生。Lu 等<sup>[12]</sup>研究发现, SIRT1/PGC-1 $\alpha$  信号通路的激活,可以促进线粒体生物合成,提高能量代谢,保护急性 HF 大鼠。Huang 等<sup>[14]</sup>研究发现,提高 SIRT1 的活性,可上调 PGC-1 $\alpha$  的表达,降低线粒体损伤和凋亡,抵抗心脏损伤。过氧化物酶体增殖物激活的受体- $\alpha$ (peroxisome proliferator activated receptor- $\alpha$ , PPAR $\alpha$ )能促进代谢基因的转录<sup>[15]</sup>。Kalliora 等<sup>[16]</sup>研究发现,PPAR $\alpha$  可以通过降低 SIRT1 蛋白的表达水平,增加 PGC-1 $\alpha$  的乙酰化,从而降低心肌细胞的线粒体功能。腺苷酸活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)是一种能量传感器<sup>[17]</sup>。He 等<sup>[2]</sup>研究报道,AMPK 的上调可以激活 SIRT1 的活性,增加 PGC-1 $\alpha$  的表达,加强心肌底物氧化代谢和 ATP 的正常产生。此外, Kawashima 等<sup>[18]</sup>研究发现, SIRT1 的低表达也会减少线粒体的数量和脂肪酸的摄入,最终造成心脏能量供应减少。有趣的是, SIRT1 的高表达也会明显导致线粒体功能的异常,这表明在不同的病理生理状态下, SIRT1 对下游蛋白的修饰可能存在平衡点,当其被打破后会影响到线粒体中能量的释放,后续需进一步探索其具体机制。总之, SIRT1 可被 PPAR $\alpha$ 、AMPK 所调控并主要通过上调 PGC-1 $\alpha$  的表达,来保护线粒体功能,调节能量代谢,保持心脏正常收缩和舒张的稳定。

### 2.2 调节活性氧生成

活性氧(reactive oxygen species, ROS)是机体进行氧化还原反应产生的代谢产物,主要由细胞中线粒体产生,正常情况下能被机体的内源性抗氧化剂消除。在心肌细胞中,ROS 生成超过一定水平时,诱发细胞出现病理生理性氧化应激状态,影响肌浆网钙离子的回摄、线粒体的功能及 ATP 合成,导致心律失常和心室重构障碍,加速 HF 的发病进程<sup>[19]</sup>。研究已证实 Nrf2 能上调体内抗氧化应激基因表达<sup>[20]</sup>。近年来,研究发现 SIRT1 能提高 Nrf2 的表达,增加机体的抗氧化能力,减少 ROS 的产生<sup>[21]</sup>。其次, FoxO 家族成员也在调节氧化应激中扮演着重要的角色<sup>[22]</sup>。Wang 等<sup>[23]</sup>研究报道, SIRT1 的表达减少,会使乙酰化的 FoxO1 增多,导致 ROS 的累积增加。而 Zhang 等<sup>[24]</sup>研究



发现,通过上调 SIRT1,可以增强 FoxO3a 的脱乙酰化程度,清除过量的 ROS。研究<sup>[25]</sup>发现,转录因子 NF- $\kappa$ B 是细胞炎症反应的关键核转录因子,参与氧化应激反应的调节。Ren 等<sup>[26]</sup>研究发现,上调 SIRT1 的表达可以促进 NF- $\kappa$ B 复合体的 p65 亚基去乙酰化,抑制其介导的炎症,抵抗氧化应激反应的发生。此外,还有研究<sup>[27]</sup>报道,成纤维细胞生长因子 21 (fibroblast growth factor 21, FGF21) 也可参与调节抗氧化途径编码基因的表达。Planavila 等<sup>[28]</sup>研究发现,上调 SIRT1 的表达,可诱导 FGF21 的分泌增多,从而减少心肌细胞中 ROS 的产生。总之, SIRT1 可以通过参与调控心肌组织中 Nrf2、FoxO、NF- $\kappa$ B、FGF21 等多种氧化应激因子的表达,减少体内 ROS 的生成,保护心肌细胞免受氧化应激损伤。

### 2.3 抑制心肌纤维化

心肌纤维化的典型特征是心肌细胞外基质的过度生成和胶原蛋白的沉积。心肌纤维化不仅减少心室的前负荷,还能降低其射血分数,长时间演变可发展为 HF<sup>[29]</sup>。TGF- $\beta$  是一种促心脏纤维化的蛋白,并有 TGF- $\beta$ 1、TGF- $\beta$ 2、TGF- $\beta$ 3 等 3 个亚型,其中 TGF- $\beta$ 1 普遍存在于心肌细胞中<sup>[30]</sup>。SIRT1 是 TGF- $\beta$  基因转录的调节因子,反馈调节 TGF- $\beta$  的表达量,从而发挥促纤维或抗纤维的作用<sup>[31]</sup>。Bugyei-Twum 等<sup>[32]</sup>研究发现,恢复压力过载小鼠模型的 SIRT1 活性,可以减少 TGF- $\beta$ 1 的激活,减轻心脏纤维化和心肌肥厚,降低心室重构的发生率。Han 等<sup>[33]</sup>研究发现,在高同型半胱氨酸血症合并 HF 患者中, SIRT1 的异常下调会导致 TGF- $\beta$  的表达上升,促使成纤维细胞的增殖和分化以及胶原蛋白的积累,继而加重 HF 病情。Capetta 等<sup>[34]</sup>研究证明了在阿霉素 (doxorubicin, DOX) 诱导的心肌病模型中,激活 SIRT1 可降低 TGF- $\beta$  水平,干扰纤维组织的生成,改善心功能,减缓心肌重构的进展。Liu 等<sup>[35]</sup>研究发现,在异丙肾上腺素 (isoproterenol, ISO) 诱导的心脏纤维化模型中, SIRT1 的过表达可以抑制 TGF- $\beta$ ,减少间质胶原沉积,减缓纤维化程度。简而言之,激活 SIRT1 可以下调 TGF- $\beta$  的表达水平,减少心肌组织中的成纤维细胞异常增殖和分化,进而抑制心肌纤维化的发生。

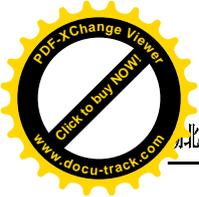
### 2.4 调控细胞凋亡

细胞凋亡是一种常见的细胞程序性死亡,在 HF 患者的病理组织中发现大面积的、弥散的心肌

细胞凋亡现象。在缺血性 HF 患者心肌组织中,心肌细胞凋亡被认为是主要病理生理因素<sup>[36]</sup>。以往研究<sup>[37]</sup>表明,心肌细胞凋亡受 Bcl-2 和 Bax 相关蛋白的表达及其上游蛋白的调控。Liu 等<sup>[38]</sup>研究发现, SIRT1 表达上调,可以通过增加 Bcl-2/Bax 的比例来抑制心肌细胞凋亡,减轻 HF 病理生理学发生和进展。Qi 等<sup>[39]</sup>研究发现, SIRT1 能够抑制线粒体分裂,减轻心肌细胞凋亡。而 Huang 等<sup>[40]</sup>研究发现,降解 SIRT1 会导致 HSF1 乙酰化增强,促进心肌细胞凋亡的发生。Prola 等<sup>[41]</sup>研究发现, SIRT1 可使 eIF2 $\alpha$  的赖氨酸 (K143) 残基去乙酰化,减少内质网应激诱导的心肌细胞凋亡,延缓 HF 进程。总而言之, SIRT1 可以对转录因子 HSF1、eIF2 $\alpha$  去乙酰化,通过调节凋亡相关蛋白的表达(如 Bcl-2, Bax 等),抑制 HF 患者的心肌细胞凋亡。

## 3 总结与展望

综上,已有大量研究证实 SIRT1 在 HF 中发挥了重要作用,诸如调节心肌细胞的能量代谢、减少 ROS 积累、改善心肌纤维化及降低细胞凋亡等。SIRT1 作为一种翻译后修饰的调节蛋白,其功能多样,目前已明确能参与上述多条重要信号通路的去乙酰化修饰。事实上,修饰蛋白质的功能复杂多样,尤其在研究其与转录因子的直接相互作用机制方面易受机体内环境变化的影响。如上, SIRT1 在不同的内环境下,不论其异常上调或异常下调均可能导致线粒体代谢发生紊乱,从而加重 HF。笔者认为转录因子作为基因转录的起始元件,能影响多种基因的表达,在不同模型或生理条件下, SIRT1 的表达可能会导致不同的结果,因此,深入研究 SIRT1 与转录因子的直接或间接机制是有必要的。其次,在目前国内外研究中,对 SIRT1 的靶分子还需充分挖掘,尤其是近年来新发现的环状 RNA、长链非编码 RNA。研究<sup>[42]</sup>发现, SIRT1 在肿瘤中广泛参与非编码 RNA 的调节,而在 HF 中 SIRT1 是否亦参与需要进一步研究。与探索 SIRT1 作用机制相比,寻找与 SIRT1 特异性结合的小分子药物可能是治疗 HF 更加有效的手段。槲皮素等黄酮类天然产物在介导 SIRT1 治疗心衰的过程中发挥着一定的作用,但是否还存在有类似作用的其他天然成分,仍需要我们进一步的探索与挖掘。随着未来研究的深入开展, SIRT1 的具体作用将被充分解析,为临床上治疗 HF 和开发有效新药提供可能。



## 参考文献:

- [1] 王伴. 不同剂量美托洛尔对慢性心力衰竭患者的治疗效果分析[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2023, 37(4):326
- [2] HE L, MA S, ZUO Q, et al. An effective sodium-dependent glucose transporter 2 inhibition, canagliflozin, prevents development of hypertensive heart failure in dahl salt-sensitive rats[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13:856386
- [3] OZAWA H, MIYAGAWA S, FUKUSHIMA S, et al. Sirtuin1 regulates the stem cell therapeutic effects on regenerative capability for treating severe heart failure in a juvenile animal model[J]. *Ann Thorac Surg*, 2016, 102(3):803
- [4] MARQUEZ J, LEE S R, KIM N, et al. Post-translational modifications of cardiac mitochondrial proteins in cardiovascular disease: not lost in translation[J]. *Korean Circulation Journal*, 2016, 46(1):1
- [5] LI P, GE J, LI H. Lysine acetyltransferases and lysine deacetylases as targets for cardiovascular disease[J]. *Nat Rev Cardiol*, 2020, 17(2):96
- [6] 张凤, 王煜嘉, 谢敏, 等. 鞘内给药 SRT1720 抑制炎症痛的病理机制研究[J]. 湖北科技学院学报(医学版), 2020, 34(3):205
- [7] MAUTONE N, ZWERGEL C, MAI A, et al. Sirtuin modulators: where are we now? A review of patents from 2015 to 2019[J]. *Expert Opin Ther Pat*, 2020, 30(6):389
- [8] WANG Y, HE J, LIAO M, et al. An overview of Sirtuins as potential therapeutic target: structure, function and modulators[J]. *Eur J Med Chem*, 2019, 161:48
- [9] ZHANG W, HUANG Q, ZENG Z, et al. Sirt1 Inhibits oxidative stress in vascular endothelial cells[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2017, 2017:7543973
- [10] BYUN J, OKA S I, IMAI N, et al. Both gain and loss of nampt function promote pressure overload-induced heart failure[J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2019, 317(4):H711
- [11] KULIKOVA T G, STEPANOVA O V, VORONOVA A D, et al. Pathological remodeling of the myocardium in chronic heart failure: role of PGC-1 $\alpha$ [J]. *Bull Exp Biol Med*, 2018, 164(6):794
- [12] LU X, ZHANG L, LI P, et al. The protective effects of compatibility of aconiti lateralis radix praeparata and zingiberis rhizoma on rats with heart failure by enhancing mitochondrial biogenesis via Sirt1/PGC-1 $\alpha$  pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2017, 92:651
- [13] YU H, ZHANG F, YAN P, et al. LARP7 protects against heart failure by enhancing mitochondrial biogenesis[J]. *Circulation*, 2021, 143(20):2007
- [14] HUANG Q, SU H, QI B, et al. A SIRT1 activator, ginsenoside re, promotes energy metabolism in cardiomyocytes and neurons[J]. *J Am Chem Soc*, 2021, 143(3):1416
- [15] HUANG C Y, OKA S I, XU X, et al. PERM1 regulates genes involved in fatty acid metabolism in the heart by interacting with PPAR $\alpha$  and PGC-1 $\alpha$ [J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1):14576
- [16] KALLIORA C, KYRIAZIS I D, OKA S I, et al. Dual peroxisome-proliferator-activated-receptor- $\alpha/\gamma$  activation inhibits SIRT1-PGC1 $\alpha$  axis and causes cardiac dysfunction[J]. *JCI Insight*, 2019, 5(17):e129556
- [17] LUO X Y, ZHONG Z, CHONG A G, et al. Function and mechanism of trimetazidine in myocardial infarction-induced myocardial energy metabolism disorder through the SIRT1-AMPK pathway[J]. *Front Physiol*, 2021, 12:645041
- [18] KAWASHIMA T, INUZUKA Y, OKUDA J, et al. Constitutive SIRT1 overexpression impairs mitochondria and reduces cardiac function in mice[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2011, 51(6):1026
- [19] TANG T J, WANG X, WANG L, et al. Liquiritin inhibits H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress injury in H9c2 cells via the AMPK/SIRT1/NF- $\kappa$ B signaling pathway[J]. *J Food Biochem*, 2022, 46(10):e14351
- [20] ZHANG W, WANG X, TANG Y, et al. Melatonin alleviates doxorubicin-induced cardiotoxicity via inhibiting oxidative stress, pyroptosis and apoptosis by activating Sirt1/Nrf2 pathway[J]. *Biomed Pharmacother*, 2023, 162:114591
- [21] ZHANG B, ZHAI M, LI B, et al. Honokiol ameliorates myocardial ischemia/reperfusion injury in type 1 diabetic rats by reducing oxidative stress and apoptosis through activating the SIRT1-Nrf2 signaling pathway[J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2018, 2018:3159801
- [22] HAN R H, HUANG H M, HAN H, et al. Propofol post-conditioning ameliorates hypoxia/reoxygenation induced H9c2 cell apoptosis and autophagy via upregulating forkhead transcription factors under hyperglycemia[J]. *Mil Med Res*, 2021, 8(1):58
- [23] WANG B, YANG Q, SUN Y Y, et al. Resveratrol-enhanced autophagic flux ameliorates myocardial oxidative stress injury in diabetic mice[J]. *J Cell Mol Med*, 2014, 18(8):1599
- [24] NI Y, DENG J, LIU X, et al. Echinacoside reverses myocardial remodeling and improves heart function via regulating SIRT1/FOXO3a/MnSOD axis in HF rats induced by isoproterenol[J]. *J Cell Mol Med*, 2021, 25(1):203
- [25] CHO M J, LEE D G, LEE J W, et al. Endothelial PTP4A1 mitigates vascular inflammation via USF1/A20 axis-mediated NF- $\kappa$ B inactivation[J]. *Cardiovasc Res*, 2023, 119(5):1265
- [26] REN B, FENG J, YANG N, et al. Ginsenoside Rg3 attenuates angiotensin II-induced myocardial hypertrophy through repressing NLRP3 inflammasome and oxidative stress via modulating SIRT1/NF- $\kappa$ B pathway[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 98:107841
- [27] LI Y, HE S, WANG C, et al. Fibroblast growth factor 21 inhibits vascular calcification by ameliorating oxidative stress of vascular smooth muscle cells[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2023, 650:39
- [28] PLANAVILA A, REDONDO-ANGULO I, RIBAS F, et al. Fibroblast growth factor 21 protects the heart from oxi-



- ductive stress[J]. *Cardiovasc Res*,2015,106(1):19
- [29] LI N,ZHOU H,MA Z G, et al. Geniposide alleviates isoproterenol-induced cardiac fibrosis partially via SIRT1 activation in vivo and in vitro[J]. *Front Pharmacol*,2018,9:854
- [30] BHANDARY B,MENG Q,JAMES J, et al. Cardiac fibrosis in proteotoxic cardiac disease is dependent upon myofibroblast TGF- $\beta$  signaling[J]. *J Am Heart Assoc*,2018,7(20):e010013
- [31] CHEN Y,HE T,ZHANG Z, et al. Activation of SIRT1 by resveratrol alleviates pressure overload-induced cardiac hypertrophy via suppression of TGF- $\beta$  signaling[J]. *Pharmacology*,2021,106(11-12):667
- [32] BUGYEI-TWUM A,FORD C,CIVITARESE R, et al. Sirtuin 1 activation attenuates cardiac fibrosis in a rodent pressure overload model by modifying Smad2/3 transactivation[J]. *Cardiovasc Res*,2018,114(12):1629
- [33] HAN L,TANG Y,LI S, et al. Protective mechanism of SIRT1 on Hcy-induced atrial fibrosis mediated by TRPC3[J]. *J Cell Mol Med*,2020,24(1):488
- [34] CAPPETTA D,ESPOSITO G,PIEGARI E, et al. SIRT1 activation attenuates diastolic dysfunction by reducing cardiac fibrosis in a model of anthracycline cardiomyopathy[J]. *Int J Cardiol*,2016,205:99
- [35] LIU Z H,ZHANG Y,WANG X, et al. SIRT1 activation attenuates cardiac fibrosis by endothelial-to-mesenchymal transition[J]. *Biomed Pharmacother*,2019,118:109227
- [36] GAO G,CHEN W,YAN M, et al. Rapamycin regulates the balance between cardiomyocyte apoptosis and autophagy in chronic heart failure by inhibiting mTOR signaling[J]. *Int J Mol Med*,2020,45(1):195
- [37] HAO M,JIAO K. Jatrorrhizine reduces myocardial infarction-induced apoptosis and fibrosis through inhibiting p53 and TGF- $\beta$ 1/Smad2/3 pathways in mice[J]. *Acta Cir Bras*,2022,37(7):e370705
- [38] LIU J,AI Y,NIU X, et al. Taurine protects against cardiac dysfunction induced by pressure overload through SIRT1-p53 activation[J]. *Chem Biol Interact*,2020,317:108972
- [39] QI J,WANG F,YANG P, et al. Mitochondrial fission is required for angiotensin II-induced cardiomyocyte apoptosis mediated by a Sirt1-p53 signaling pathway[J]. *Front Pharmacol*,2018,9:176
- [40] HUANG C Y,KUO W W,YEH Y L, et al. ANG II promotes IGF-1IR expression and cardiomyocyte apoptosis by inhibiting HSF1 via JNK activation and SIRT1 degradation[J]. *Cell Death Differ*,2014,21(8):1262
- [41] PROLA A,PIRES DA SILVA J,GUILBERT A, et al. SIRT1 protects the heart from ER stress-induced cell death through eIF2 $\alpha$  deacetylation[J]. *Cell Death Differ*,2017,24(2):343
- [42] MALAKOTI F,ALEMI F,YEGANEH S J, et al. Long noncoding RNA SNHG7-miRNA-mRNA axes crosstalk with oncogenic signaling pathways in human cancers[J]. *Chem Biol Drug Des*,2022,101(5):1151
- (收稿日期:2024-03-21)

(上接第363页)

- [27] LI X,CHU L,LIU S, et al. *Smilax china* L. flavonoid alleviates HFHS-induced inflammation by regulating the gut-liver axis in mice[J]. *Phytomedicine*,2022,95:153728
- [28] KIM M,SEO S B,KIM J, et al. Supplementation of standardized extract from fermented *Smilax china* L. leaf containing secondary metabolites moderated diet-induced obesity by modulating the activity antioxidant enzymes and hepatic lipogenesis[J]. *J Food Biochem*,2017,2017:e12357
- [29] DALKL S,KORKMAZ S,DALKL L K, et al. In vitro cytotoxic effects of *Smilax aspera* L. roots on cancer cell lines[J]. *Food Bioscience*,2022,46(2):890
- [30] LI Y L,GAN G P,ZHANG H Z, et al. A flavonoid glycoside isolated from *Smilax china* L. rhizome in vitro anti-cancer effects on human cancer cell lines[J]. *J Ethnopharmacol*,2007,113(1):115
- [31] FU S,YANG Y,LIU D, et al. Flavonoids and tannins from *Smilax china* L. rhizome induce apoptosis via mitochondrial pathway and MDM2-p53 signaling in human lung adenocarcinoma cells[J]. *Am J Chin Med*,2017,45(2):369
- [32] 于丽秀,胡丽玲,廖婧,等. 菝葜不同提取部位对卵巢癌细胞的活性影响[J]. *中国药师*,2015,18(3):373
- [33] 郭红,黄艳丽,邢辉,等. 菝葜皂苷元调控 circ-PRKCI/miR-130a-5p 抑制卵巢癌细胞 CAOV3 增殖、迁移及侵袭[J]. *时珍国医国药*,2021,32(12):2875
- [34] 吴先闯,宋卫中,宋晓勇,等. 菝葜乙酸乙酯部位对H22 荷瘤小鼠的抑瘤作用及其机制研究[J]. *中国药房*,2016,27(31):4370
- [35] JOO J H,HAN M H,KIM J I, et al. Antimicrobial activity of *Smilax china* L. root extracts against the acne-causing bacterium, cutibacterium acnes, and its active compounds[J]. *Molecules*,2022,27(23):8331
- [36] XU M,XUE H,LI X, et al. Chemical composition, antibacterial properties, and mechanism of *Smilax china* L. polyphenols[J]. *Appl Microbiol Biotechnol*,2019,103(21-22):9013
- [37] WANG K,YANG L,ZHOU J, et al. *Smilax china* L polysaccharide alleviates oxidative stress and protects from acetaminophen-induced hepatotoxicity via activating the Nrf2-ARE pathway[J]. *Front Pharmacol*,2022,13:888560
- [38] 朱应怀,胡建平,李正翔. 金刚藤的现代药学研究及临床应用进展[J]. *海峡药学*,2021,33(4):42
- [39] 王江威,苏晓琳,郑秀茜,等. 中药菝葜的化学成分及药理作用研究进展[J]. *化学工程师*,2020,34(2):50
- (收稿日期:2024-03-04)



## 《湖北科技学院学报(医学版)》稿约

《湖北科技学院学报(医学版)》是国内外公开发行的医药卫生类综合性学术期刊,以我校为重点,报道科研、医疗等方面的新成果、新技术、新经验。内容包括基础医学、临床医学、新技术、新方法、综述讲座等。欢迎投稿,欢迎订阅。来稿要求如下:

- 1 文稿应具有科学性、真实性,重点突出,文字简练,数据可靠。论著和综述一般6000字,经验、调查、技术方法一般5000字。
- 2 学术论文、研究报告一般分为引言、材料和方法、结果、讨论四部分;临床分析、个案报道一般分为临床资料和讨论两部分。论著需附250字左右的结构式中、英文摘要,摘要内容包括目的、方法、结果和结论,且中、英文要一致。在摘要后正文前附中、英文关键词3~8个和中国图书资料分类号(中图分类号)。关键词选用《医学主题词注释字顺表》中的术语。
- 3 文中各层次的标题应简短明确,节段层次序号分别用阿拉伯数字“1”“1.1”“1.1.1”形式表示。专用名词用统一医学科技名词,翻译名词应附原文。简化字按1986年10月10日国务院批准重新公布的《简化字总表》书写。统计学符号按GB3358—82《统计学名词及符号》的有关规定书写。
- 4 图表应少而精,其内容与文字不可重复。必要的图表应按规定绘制,表格用三线表,要有表序和表题、图序和图题。照片应对比度好,清晰可辨,并附说明。
- 5 参考文献以亲自阅读近5年的重要文献为主,提倡引用本学报的论文,勿引用未公开发表的文章。参考文献附于文末,按文中出现先后为序,在文中引用处的右上角标以带方格括号的数字。论著一般不超过10条,综述不超过20条。书写格式如下:

**期刊** [序号] 作者(一至三位作者,将其姓名均写出,之间用逗号隔开;三位以上作者,只写前三位作者,后加等).文题[J].刊名,年,卷(期):起页

[1]袁学文.输血传播病毒(TTV)研究新进展[J].咸宁医学院学报,1999,13(3):198

[2]OLIVETTI G, ABBIR, QUAINIF, et al. Apoptosis in the failing human heart [J]. N Engl J Med, 1997, 336: 1131

**书籍** [序号] 作者(主编).书名[M].卷次.版次.出版地:出版社,年:起页.(或作者.题目.见:主编.书名[M].卷次.版次.出版地:出版社,年:起页)

[3]王慕逖.儿科学[M].第5版.北京:人民卫生出版社,2001:285

[4]宁寿葆.循环系统疾病.见:王慕逖主编.儿科学[M].第5版.北京:人民卫生出版社,2001:285

6 稿件应以Word电子稿通过本网站 <http://xbbjb.hbust.edu.cn> 在线投稿系统投稿,来稿一律文责自负。编辑部对来稿有修改权,如不同意修改请在来稿时声明。

7 来稿请附作者单位介绍信,证明文稿的真实性,无一稿两投,署名无争议等情况。各级重大科技攻关和基金的科研成果论文,可以优先发表,请在介绍信中说明项目名称。

8 本刊已加入《中国学术期刊(光盘版)》、“中国期刊网”和“万方数据系统(ChinaInfo)数字化期刊群”。凡本刊录用的稿件,由编辑部统一纳入上述系统。不同意者在来稿时声明,以便另行处理。

9 本刊不退稿,作者请自留底稿。若投稿后3个月内未见回音,作者可另投他刊。投稿注册请写明稿件联系人的详细通讯地址、邮政编码和电话。

《湖北科技学院学报(医学版)》编辑部



《湖北科技学院学报(医学版)》编委会

主任: 吴基良

副主任: 白育庭

委员: (按姓氏笔画为序)

马萍 王诗 王俊芳 宁志丰 朱海丽 刘超 李岱  
李玲 李青春 闵清 沈定文 张侠 陈子敏 陈黄琴  
陈清杰 武阳 欧阳昌汉 周燕红 查文良 高卉 黄翠萍  
梅武轩 鲍翠玉 蔡飞 蔡慧兰

特邀委员: (按姓氏笔画为序)

邓启红 郑州大学教授、博士生导师  
李华 华中科技大学教授、博士生导师  
李秋柏 华中科技大学教授、主任医师、博士生导师  
杨旭 华中师范大学教授、博士生导师  
杨智宽 爱尔眼科医院集团有限公司教授、博士生导师



微信公众号



超星数字期刊

# 湖北科技学院学报(医学版)

Journal of Hubei University of Science  
and Technology ( Medical Sciences )

( 双月刊 1987年创刊 )

第38卷 第4期 ( 总第190期 )

2024年8月出版

主管单位: 湖北省教育厅

主办单位: 湖北科技学院

编辑出版: 湖北科技学院学报编辑部

主编: 吴基良

副主编: 白育庭 陈拥彬

封面设计: 张利平

网址: <http://xbbjb.hbust.edu.cn>

邮箱: [XNXYYXB@163.com](mailto:XNXYYXB@163.com)

邮编: 437100

电话: (0715)8266018

地址: 湖北省咸宁市咸宁大道88号

印刷: 咸宁市万达文化传媒有限公司

Administrated: Hubei Provincial Department of Education

Sponsored: Hubei University of Science and Technology

Edited, Published: The Editorial Department of Journal of Hubei  
University of Science and Technology

Chief Editor: WU Jiliang

Deputy Editor: BAI Yuting, CHEN Yongbin

Cover Designer: ZHANG Liping

Website: <http://xbbjb.hbust.edu.cn>

E-mail: [XNXYYXB@163.com](mailto:XNXYYXB@163.com)

Postcode: 437100

Telephone: (0715)8266018

Address: 88# Xianning Ave., Xianning City, Hubei

Printed: Xianning Wanda Culture and Media Co.td

国际标准刊号 ISSN 2095-4646

国内统一刊号 CN 42-1839/R

定价 15.00 元/期

ISSN 2095-4646



9 772095 464241