

ISSN1008—2514
CN61—1259/R

4
2002

中国中文医学科学核心期刊 中国学术期刊综合评价数据库来源期刊 中国科学引文数据库来源期刊

妇 幼 保 健 分 册

2002 年第 13 卷第 4 期

FUYOUBAOJIAN FENCE
SECTION OF MATERNAL AND CHILD HEALTH

目 次

综 述

PCOS 与胰岛素抵抗研究发展	初永丽综述	孙永玉审校(145)
母血中胎儿细胞的研究现状及进展	李金春综述	徐敏珠审校(148)
孕妇血浆中游离胎儿 DNA 的生物学特点及临床应用	赵 茵综述	邹 丽审校(150)
宫腔镜治疗异常子宫出血的现状	帅桂珍综述	程忠平审校(153)
不孕症子宫内膜细胞外基质的表达	李春芳综述	崔满华审校(156)
脐带缠绕的研究现状	丁 霞综述	乔福元审校(158)
新斯的明和分娩镇痛	李晓霞等综述	安瑞芳审校(160)
避孕套可得性与青少年生殖健康	梁 霁综述	钱 序审校(162)
激素替代疗法与妇科恶性肿瘤	张丽志综述	崔满华审校(164)
基质金属蛋白酶在妇产科生理与病理过程中的作用	郭 颖综述	刘 军审校(167)
胎盘凋亡的分子机制研究进展	孟 会综述	王晨虹审校(170)

西安交通大学第一医院承办

儿童期钙营养与骨矿代谢	姬巧云综述	吴康敏审校(172)
婴儿维生素 K 缺乏性出血症病因和预防进展	王美贞综述	姚月芳审校(175)
瘦素与男性青春期发育	陈 非综述	杨 勤等审校(177)
苯丙酮尿症筛查进展	文江平综述	唐爱国审校(179)
新生儿代谢异常的气相色谱 - 质谱分析法筛查	宋元宗综述	王自能审校(181)
低磷性佝偻病的分子生物学研究进展	金 玉等综述	刘 军审校(183)
小儿急症的入院前处理	张小妮综述	黄宝润审校(185)

经验与交流

产前健康教育对分娩的意义	庞 婷等	(187)
新生儿合胞病毒肺炎 32 例临床分析	于淑群等	(188)

介 评

子宫内膜活检刷在子宫内膜癌的诊断价值	杜 敏	(189)
间隔 6 个月用孕酮对抗小剂量酯化雌激素	吕淑兰等	(189)
多囊卵巢综合征妇女早孕期服用二甲双胍可减少自然流产	张 娜	(190)
用米索前列醇不同途径不同剂量促宫颈容受与引产效果比较	张竹梅	(190)

其 它

《中国优秀博硕士学位论文全文数据库》(CDMD)总体介绍		(191)
国家级继续医学教育项目《全国儿科发育诊断技术研讨班》通知		(192)
继续医学教育学习班通知		(封三)
稿约须知		(封四)

期刊基本参数 :CN61-1259/R * 1990 * q * A4 * 48 * zh * P * 5 .00 * 6000 * 24 * 2002 08

《国外医学》妇幼保健分册

(双月刊)

第 13 卷第 4 期

2002 年 8 月 15 日出版

2002 年 8 月 (总第 48 期)

总发行 :陕西省邮政报刊发行局

印刷者 :煤 科 院 印 刷 厂

广告经营许可证号 6100004000033

国际标准刊号 :ISSN1008—2514

国内统一刊号 :CN61—1259/R

邮发代号 52—135

定价 5.00 元

主管单位 :中华人民共和国教育部

主办单位 :西安交通大学

出版者 :西安交通大学第一医院

编辑者 :《国外医学》妇幼保健分册编辑部

电话 :(029)8546568 传真 :(029)5275049

地址 :西安市朱雀大街 205 号 邮政编码 :710061

网址 <http://gwyxfybj.periodicals.net.cn/>

<http://SANE.chinajournal.net.cn/>

<http://mch.xjtu.edu.cn/>

信箱 gwyxfybj@periodicals.net.cn

SANE@chinajournal.net.cn

bjbllm@mail.xjtu.edu.cn

主 编 张蕴璟

副 主 编 曹缵孙 苏祖佑

姚凯南 张明慧

责任副主编 刘黎明

责 任 编 辑 孙晓勉 韩 蓁

技术编辑、责任校对 王 懿 杨媛媛

国外医学妇幼保健分册

二

二年第十三卷第四期

国外医学妇幼保健分册

二

二年第十三卷第四期

国外医学妇幼保健分册

二

二年第十三卷第四期

国外医学妇幼保健分册

二

二年第十三卷第四期

国外医学妇幼保健分册

二

二年第十三卷第四期

国外医学妇幼保健分册

二

二年第十三卷第四期

综 述

PCOS 与胰岛素抵抗研究进展

华中科技大学同济医学院附属协和医院妇产科(430022) 初永丽综述 孙永玉审校

摘要 :多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)是妇科内分泌常见疾病,由于其生化特征、临床表现及发病机理的异质性而成为妇科内分泌领域最复杂的研究热点。近年来,许多代谢方面的研究都表明 PCOS 患者存在胰岛素抵抗,成为 PCOS 的重要发病原因。胰岛素抵抗是一种异常的病理生理状态,不但影响到排卵与生育,而且还与肥胖、糖尿病和高血压等疾病密切相关。因此,成为人们关注的研究热点。

关键词 :多囊卵巢综合征;胰岛素抵抗;高雄激素;胰岛素受体

中图分类号:R711.75;R587 文献标识码:A 文章编号:1008-2514(2002)04-0145-03

PCOS 是妇科内分泌常见疾病,其发生率约占生育年龄妇女的 10%。由于其生化特征、临床表现及发病机理的异质性而成为妇科内分泌领域最复杂的研究热点。多年来生殖功能异常一直被认为是 PCOS 重要临床特征和主要病理基础,因此有关发病机理的研究主要集中在性腺轴及卵巢局部,然而最近发现许多患者存在胰岛素抵抗(insulin resistance, IR),有发展为非胰岛素依赖性糖尿病的危险,而且发病年龄偏早,因此 IR 可能是 PCOS 重要的发病原因。

1 PCOS 临床及发病机理的研究现状

PCOS 典型特征有:月经稀发、闭经、不孕及双侧卵巢增大、不排卵及高雄激素血症,并伴有显著的代谢异常如:高胰岛素血症(hyperinsulinism, HI)、胰岛素抵抗及脂质代谢紊乱等。临床治疗主要以抗雄激素及促排卵等对症处理为主,尽管有一定的短期疗效,但存在停药复发或药物治疗无效问题。由于对其发病机理认识的局限性,临床也一直无法找到更有效的治疗方法。

近年来在 PCOS 的进一步研究中发现许多临床和实验现象单用性腺轴功能异常无法解释,如:大多数 PCOS 存在糖代谢异常,主要表现为 IR 及 HI。PCOS 患者糖尿病发生率较正常高 7 倍,发病时间也提前近 30 年;不同种族患者临床表现有差异,但 IR 表现却是共同的;青春期患者常先有 IR 及 HI,后表现出雄激素过多及排卵障碍;单用 LH 或 HCG 能诱导动物多囊卵巢,但并不出现 PCOS 一系列的生化表现,加用胰岛素后则可诱导出典型的 PCOS 动物模型;用胰岛素增效剂如噻唑烷二酮衍化物(thiazolidinediones, TZDs)可改善 PCOS 特征性的高雄激素血症及高黄体生成素血症,促进卵泡成熟、排卵及怀孕,而抗雄激素治疗并不能缓解 IR 及 HI。基于这些现象,国内外学者对 PCOS 的本质及其发病机理逐步有了新的认识,越来越多的学者认为:IR 及 HI 不仅是 PCOS 的另一重要生化特征,而且可能是 PCOS 发生的主要病理基

础^[1,2]。这一理论的提出不仅从根本上改变了 PCOS 发病机理的研究方向,而且为 PCOS 患者治疗开辟新的途径,也为其引起的严重代谢并发症的防治提供了理论依据。

尽管 IR 与 PCOS 的相关性及其在 PCOS 发病中的重要作用已逐步被认识,但有关 PCOS IR 发生的确切机理所知甚少。

2 胰岛素抵抗发病机理的研究进展

IR 是亚细胞、细胞、组织或机体的一种病理生理状态,本意指需要超过正常量的胰岛素才能在其效应器官产生正常的生理效应。但现在则泛指胰岛素在周围组织摄取和清除葡萄糖的作用减低。其产生机理可分为三类。

2.1 胰岛素受体前因素

包括:基因突变产生结构异常的胰岛素,使其生物活性下降或消失;内源性或外源性胰岛素抗体形成、胰岛素受体抗体形成,干扰胰岛素与受体的正常结合;胰岛素降解加速;药物(泼尼松、苯妥因钠)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor, TNF- α)及胰岛素拮抗剂过多^[3,4]。多见于一些急慢性疾病,特别是内分泌疾病,如感染、创伤、酮症酸中毒等。

2.2 受体缺陷

包括受体功能与结构的异常。前者如胰岛素受体(insulin receptor, InR)数目减少以及 InR 亲和力下降,导致胰岛素与其受体结合降低。后者多为 InR 基因突变致受体功能丧失或部分丧失^[5]。自 1988 年来已发现 50 余种突变,这些突变大致分为五类:抑制受体合成的突变,致使 mRNA 转录提前终止,某些沉默突变或基因调节区的突变使 mRNA 转录减少;削弱受体向膜转运的突变。裂解位点突变导致 mRNA 翻译后修饰障碍,影响其分子构型,从而阻碍其向细胞膜的转运;降低受体与胰岛素亲和力的突变:第 2 外显子与 β 亚单位 N 末端的突变可使受体与胰岛素的亲和力下降;抑制受体酪氨酸激酶活性的突变。在酪氨酸激酶区保守序列上的突变可明显抑制酪氨酸激酶的活性而致 IR;加速受体降解的突

收稿日期:2001-10-22

基金项目:国家自然科学基金(30100200)

作者简介:初永丽(1973—),女,山东省烟台市,在读博士,研究方向为优生优育与遗传。

变,使 InR 的再循环受到抑制而使受体降解相对占优势,导致细胞膜上受体数量下降。

受体缺陷常导致伴随严重 IR 的遗传综合征,临床表型有 A 型综合征、矮妖精貌综合征、Rabson - Mendenhall 综合征等。

2.3 受体后缺陷

指胰岛素与受体结合后信号向细胞内传递所引起的一系列代谢过程,包括信号传递、放大、蛋白质 - 蛋白质交联反应、磷酸化与脱磷酸化以及酶促级联反应等诸多效应的异常。胰岛素受体后信号传导障碍的分子机理是近两年国内外研究的热点。尽管有关基础研究已取得一定进展,但在 PCOS IR 发生机理方面国外才刚刚起步,目前仅限于一些相关蛋白质表达水平的检测。最近研究发现:PCOS IR 中胰岛素受体的表达及磷酸化并无异常,胰岛素与受体的结合也无障碍。因此,目前认为 PCOS IR 的主要原因是胰岛素受体后信号传导障碍^[6]。现仅就研究较多者加以讨论。

2.3.1 胰岛素受体底物 (insulin receptor substrate, IRS)

基础研究表明:在胰岛素受体后传导中,IRS 及磷酸酰肌醇 - 3 激酶 (phosphatidy inositol 3 - kinase, PI - 3 - kinase) 介导的 PI - 3 途径起关键作用^[7,8]。正常的信号传导主要通过 IRS 与 InR 的结合并发生酪氨酸磷酸化,进一步激活 PI - 3 激酶,通过一系列的作用使葡萄糖载体蛋白 (glucose transporter, Glut) 发挥由细胞外向细胞内转运葡萄糖的功能。因此 IRS 的表达缺乏或磷酸化障碍均可导致受体后信号传导异常引起 IR。Takano 等^[9]对 3T3 - L1 脂肪细胞的研究发现,由生长激素所诱导的细胞内胰岛素抵抗可能与 PI - 3 激酶及其下游信号解偶联所致。而且 PCOS IR 存在明显的 IRS 突变, Gly1057Asp IRS - 2 及 Gly972Arg IRS - 1 常见,因此推断 IRS 在 PCOS IR 的发病机制中发挥重要的作用^[10]。

近期国外学者应用基因敲除鼠及体外细胞实验研究发现 IRS - 1、2 的缺乏均可导致 PI - 3 激酶的活性降低而诱发 IR^[11]。Wu 等^[12]在对 PCOS 的研究发现:PCOS IR 患者存在明显的 IRS 相关性的 PI - 3 激酶活性低下,但卵巢颗粒细胞、卵泡膜细胞 IRS 的表达有所不同。PI - 3 激酶是胰岛素刺激葡萄糖转运过程重要的酶,但 Poretsky 等^[13]发现 PI - 3 激酶在胰岛素刺激卵巢产生激素的效应中可能不是必需的,提示在人卵巢细胞中存在不依赖于 PI - 3 激酶的胰岛素信号传导途径。因此我们推测:PCOS IR 中 PI - 3 激酶活性低下可能与 IRS 酪氨酸磷酸化障碍有关。

关于 IRS 酪氨酸磷酸化障碍的原因,目前尚无明确的定论。研究认为与胰岛素受体 β 亚单位上的结合位点改变有关。至今已发现的相关基因突变类型中大多数可引起胰岛素受体本身及 IRS 双重磷酸化异常^[5]。而在 PCOS IR 中胰岛素受体自身磷酸化并无异常,因此这些突变可能并不是 PCOS IR 的原因。最近, Bossenmaier 等^[14]在体外细胞中用基因突变的方法,人为地将胰岛素受体 β 亚单位上 COOH 端 16 个丝氨酸分别置换为丙氨酸,观察各自对下游信号的影响。结果发现:1177/78/82 丝氨酸的突变可导致 IRS - 1、2 的酪氨酸磷酸化障碍,并降低 PI - 3 激酶的活性,但对胰岛素受体自身磷酸

化并无影响。鉴于该变化与 PCOS 中变化特征的一致性,我们推测 PCOS IR 的酪氨酸磷酸化障碍可能与该部位的碱基突变有关。

2.3.2 葡萄糖载体蛋白 (Glut) 的异常

肌肉和脂肪细胞对胰岛素刺激的葡萄糖摄取,主要通过胰岛素敏感的 Glut,即 Glut4 来进行。在基础状态下,细胞表面 Glut4 很少,然而在胰岛素刺激下,IRS 酪氨酸磷酸化信号的内传使 IRS 磷酸化,从而活化 PI - 3 激酶,触发富含 Glut4 的小泡向细胞表面转位,使细胞表面 Glut4 增加,对葡萄糖摄取增加。Carvalho 等^[15]研究发现 IRS - 1 表达减少可以明显降低 PI - 3 激酶的活性,而且 IRS - 1 表达缺失的细胞,Glut4 表达也明显减少。

Glut4 基因突变时,Glut4 合成及转位受阻,从而导致 IR 及糖尿病。另有研究表明:伴随 HI 的 IR 与 Glut4 向肌细胞表面的重新分布有显著相关^[16]。Jaquet 等^[17]还发现 Glut4 基因突变可引起子宫营养不良,而导致胎儿宫内发育迟缓及新生儿存在 IR,且脂肪组织 Glut4mRNA 表达减少。

2.3.3 肿瘤坏死因子

目前发现 TNF - α 与胰岛素抵抗有关,通过 TNF - α 和 /或 p75 受体影响胰岛素信号传导过程。TNF - α 作用于肝细胞、脂肪细胞等,使 IRS - 1 的丝氨酸残基磷酸化,将正常胰岛素传导途径引入抑制状态。TNF - α 尚能调节脂肪细胞游离脂肪酸、瘦素等的产生,间接影响胰岛素的敏感性。在 ob/ob 基因突变的肥胖小鼠中,剔除 p55、p55 和 p75 双受体能够减轻 ob/ob 肥胖引起的空腹高血糖、HI 和 IR;p75 受体剔除与野生型表现相似;双受体剔除增强胰岛素敏感性的作用最显著,提示 p55 受体在 TNF - α 所致 IR 中起主要作用,p75 受体可能起辅助作用。

TNF - α 引起 IR 不是由于下调 Glut4 造成的,因为剔除 TNF - α 受体基因的小鼠脂肪组织 Glut4 mRNA 表达水平低于野生型,而 Glut4 蛋白含量相同;由胰岛素引起的受体酪氨酸磷酸化较野生型增强 2 倍,提示 TNF - α 是通过抑制胰岛素受体的活化产生胰岛素抵抗。Rui 等^[4]研究发现胰岛素/胰岛素样生长因子 - 1 及 TNF - α 通过抑制 IRS - 1 Ser307 位点刺激其磷酸化,在胰岛素反应的反馈调节中发挥重要作用。

2.3.4 糖原合成酶

糖原合成酶是糖原合成中的限速酶,研究表明,IR 主要是由于葡萄糖进入无氧氧化途径受阻,特别是肌糖原合成受阻,故肌糖原合成酶基因 1 (glycogen synthase - 1, GYS1) 被认为与肌肉组织 IR 密切相关。Iozzo 等^[19]研究发现即使是轻度、慢性的 HI 也可能直接通过影响糖原合成酶途径促进 IR 的发展。

3 其他

浆细胞分化抗原 - 1 具有抑制胰岛素受体酪氨酸激酶活性的作用。在伴有 IR 的患者骨骼肌细胞、脂肪细胞、成纤维细胞中均发现浆细胞分化抗原 - 1 有过度表达,基因转染试验也表明其过度表达可抑制胰岛素信号的传递,导致 IR。

过氧化物酶增殖物激活受体 (peroxisome proliferator - activated receptor, PPAR) 是一类由配体激活的核转录因子,分

PPAR α 、PPAR β 、PPAR γ 三种亚型。PPAR γ 是诱导脂肪细胞分化的特异性转录因子,与肥胖、IR 关系密切,同时又是胰岛素增敏剂如 TZDs 作用的靶分子,应用 TZDs 可以增强 IRS 的表达,明显改善 IR^[20]。Iwata 等^[18]发现匹格列酮(pioglitazone)可以恢复胰岛素受体/IRS - 1 的酪氨酸磷酸化,尤其在改善 TNF α - 诱导的 IR 中是必需的,可能以不依赖于 PPAR γ 成脂活性的方式调节胰岛素受体/IRS - 1 蛋白的表达水平。

β - 3 肾上腺能受体(beta(3) adrenergic receptor, β_3 AR)属 G 蛋白偶联的膜表面受体家族,主要分布于脂肪组织,与胰岛素信号传递系统间存在相互作用,在交感神经过度兴奋状态下,用 β_3 AR 激动剂预刺激,可减弱胰岛素受体、IRS 的酪氨酸磷酸化及与 IRS - 1 相关的 PI - 3 激酶的活性,而致 IR。

另外,还有特异性蛋白磷酸酶 1 调节亚单位 3、小肠脂肪酸结合蛋白 - 2 及其他相关因素等,都与 IR 有关,但确切的作用机理尚不清楚。

4 结语

PCOS 的高胰岛素血症和 IR 已得到公认,由此引起的高雄激素血症、高黄体生成素血症、肥胖及卵泡成熟障碍等现象也逐步得到重视。虽然对 IR 发生的机理研究已取得突破性的进展,但其确切的分子机理仍不十分清楚,有待于在已有的研究基础上,从基因结构和功能两方面更深入地探讨 PCOS IR 发生的分子机理,为临床诊断和治疗提供确凿的理论依据。

参考文献:

[1] Dunaif A, Wu X, Lee A, *et al*. Defects in insulin receptor signaling in vivo in the polycystic ovary syndrome (PCOS) [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001, 281(2): E392 - E399.

[2] Marsden PJ, Murdoch AP, Taylor R. Tissue insulin sensitivity and body weight in polycystic ovary syndrome [J]. *Clin Endocrinol*, 2001, 55(2): 191 - 199.

[3] Halse R, Pearson SL, McCormack JG, *et al*. Effects of tumor necrosis factor - alpha on insulin action in cultured human muscle cells [J]. *Diabetes*, 2001, 50(5): 1102 - 1109.

[4] Rui L, Aguirre V, Kim JK, *et al*. Insulin/IGF - 1 and TNF - alpha stimulate phosphorylation of IRS - 1 at inhibitory Ser307 via distinct pathways [J]. *J Clin Invest*, 2001, 107(2): 181 - 189.

[5] Fujioko T, Michio U. Involvement of insulin receptor substrates in epidermal growth factor induced activation of phosphatidylinositol 3 - kinase in rat hepatocyte primary culture [J]. *Eur J Biochem*, 2001, 268(1): 25 - 34.

[6] Jeffrey EP, Saltiel A. Signaling pathways in insulin action: molecular targets of insulin resistance [J]. *J Clin Invest*, 2000, 106(2): 165 - 169.

[7] Gerald I, Shulman R. Cellular mechanisms of insulin resistance [J]. *J Clin Invest*, 2000, 106(2): 171 - 176.

[8] Kubota N, Tobe K, Terauchi Y, *et al*. Disruption of insulin receptor substrate 2 causes type 2 diabetes because of liver insulin resistance and lack of compensatory beta - cell hyperplasia [J]. *Diabetes*, 2000, 49(11): 1880 - 1889.

[9] Takano A, Haruta T, Iwata M, *et al*. Growth hormone induces cellular insulin resistance by uncoupling phosphatidylinositol 3 - kinase and its downstream signals in 3T3 - L1 adipocytes [J]. *Diabetes*, 2001, 50(8): 1891 - 1900.

[10] Mkadem SA, Lautier C, Macari F, *et al*. Role of allelic variants gly972arg of irs - 1 and gly1057asp of irs - 2 in moderate - to - severe insulin resistance of women with polycystic ovary syndrome [J]. *Diabetes*, 2001, 50(9): 2164 - 2168.

[11] Deborah J, Burks D, Mora J F, *et al*. IRS - 2 pathways integrate female reproduction and energy homeostasis [J]. *Nature*, 2000, 407(21): 377 - 382.

[12] Wu X, Sallinen K, Anttila L, *et al*. Expression of insulin - receptor substrate - 1 and - 2 in ovaries from women with insulin resistance and from controls [J]. *Fertil Steril*, 2000, 74(3): 564 - 572.

[13] Poretsky L, Seto Y D, Shrestha A, *et al*. Phosphatidylinositol - 3 kinase - independent insulin action pathway(s) in the human ovary [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86(7): 3115 - 3119.

[14] Bossenmaier B, Strack V, Stoyanov B, *et al*. Serine residues 1177/78/82 of the insulin receptor are required for substrate phosphorylation but not autophosphorylation [J]. *Diabetes*, 2000, 49(6): 889 - 895.

[15] Carvalho E, Jansson PA, Nagaev I, *et al*. Insulin resistance with low cellular IRS - 1 expression is also associated with low GLUT4 expression and impaired insulin - stimulated glucose transport [J]. *FASEB*, 2001, 15(6): 1101 - 1103.

[16] Stuart CA, Wen G, Williamson ME, *et al*. Altered GLUT1 and GLUT3 gene expression and subcellular redistribution of GLUT4: protein in muscle from patients with acanthosis nigricans and severe insulin resistance [J]. *Metabolism*, 2001, 50(7): 771 - 777.

[17] Jaquet D, Vidal H, Hankard R, *et al*. Levy - Marchal C. Impaired regulation of glucose transporter 4 gene expression in insulin resistance associated with in utero undernutrition [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 2001, 86(7): 3266 - 3271.

[18] Iwata M, Haruta T, Usui I, *et al*. Pioglitazone ameliorates tumor necrosis factor - alpha - induced insulin resistance by a mechanism independent of adipogenic activity of peroxisome proliferator - activated receptor - gamma [J]. *Diabetes*, 2001, 50(5): 1083 - 1092.

[19] Iozzo P, Pratipanawatr T, Pijl H, *et al*. Physiological hyperinsulinemia impairs insulin - stimulated glycogen synthase activity and glycogen synthesis [J]. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001, 280(5): E712 - E719.

[20] Smith U, Gogg S, Johansson A, *et al*. Thiazolidinediones (PPARgamma agonists) but not PPARalpha agonists increase IRS - 2 gene expression in 3T3 - L1 and human adipocytes [J]. *FASEB*, 2001, 15(1): 215 - 220.

母血中胎儿细胞的研究现状及展望

天津市妇女保健所(300204) 李金春综述 徐敏珠审校

摘要 :母血中主要存在三种胎儿细胞,即滋养层细胞、胎儿白细胞及胎儿红细胞。其中胎儿有核红细胞被认为是最有前途的可用于进行产前诊断的胎儿细胞。目前富集和分离胎儿细胞的方法主要有荧光激活细胞分离技术和磁性细胞分离技术两种。利用母血中的胎儿细胞可进行胎儿性别预测和一些遗传性疾病的产前诊断。研究表明,母血中胎儿细胞的数量与一些妊娠并发症和产后自身免疫性疾病有关。

关键词 :有核红细胞 ;产前诊断 ;妊娠并发症 ;荧光原位杂交

中图分类号 :R714.5 文献标识码 :A 文章编号 :1008 2514(2002)04 0148 02

多年来人们一直试图寻求一种对母婴均无损害的产前诊断方法,母血中胎儿细胞的发现,胎儿细胞富集分离技术的改进,遗传技术的进步如荧光原位杂交技术,特别是单个细胞 PCR 技术的出现,使这一设想成为可能。

1 母血中胎儿细胞的类型及其用于产前诊断的可能性

1.1 滋养层细胞

1893 年 Schmarl 报道滋养层细胞是首先通过胎盘屏障进入母体循环的胎儿细胞,但由于以下问题使其不能成为诊断性靶细胞。滋养层细胞并不是在所有孕妇中出现。它的多核性使其极易陷入孕妇肺中并很快从母体循环中消失。其多样的遗传特性及镶嵌性阻碍荧光原位杂交(FISH)的使用。缺乏用来富集胎儿滋养层细胞的特异性抗体。目前已有一些用此种细胞进行组织相容性检测的成功报道。

1.2 白细胞

1969 年 Walknosk 等从怀有男婴孕妇淋巴细胞中证实 Y 染色体的存在。许多人的实验也相继证实上述事实。1979 年 Herzenberg 等用荧光细胞激活筛选 (fluorescence activated cell sorting, FACS) 法首次成功的从孕妇血中富集到了胎儿白细胞。但胎儿细胞在母体中存留多长的时间一直是人们研究的焦点问题。Schroder 等 1974 年通过检测经促细胞分裂后的淋巴细胞证实 Y 染色体存在的方法,检测曾怀过男婴的妇女,发现产后 1 年仍有胎儿淋巴细胞。也有人报道产后 6 年在母体中检测到胎儿 T- 淋巴细胞。胎儿白细胞在母体中存留时间较长,使其不能用作进行产前诊断的靶细胞。

1.3 胎儿红细胞

由于正常成人外周血中不存在有核红细胞(NRBC),胎儿血中其含量相当丰富,再者 NRBC 的生命周期短,在血循环中存留时间相对较短,故将其作为产前诊断的靶细胞可以避免前次妊娠的影响,因此对孕妇外周血中胎儿幼稚红细胞的研究也日益受到人们的重视,是一种非常有前途的可用于进行产前诊断的靶细胞。随着对红系干细胞和幼稚红细胞表面分化抗原研究的深入,已有可能利用红系特异性抗原标记来检测母血中胎儿幼稚红细胞。但利用 NRBC 进行产前诊断也有

一些问题需要解决,因为这些细胞并非全部来自胎儿,其一部分来自母体。Troeger 等^[1]应用单个细胞 PCR 技术检测母血中的 NRBC,发现约 51% 的 NRBC 来自胎儿。

2 富集和分离胎儿细胞的方法

因为母血中胎儿细胞含量极少,在妊娠早期(10weeks)母血中胎儿细胞与母细胞的比例为 $1:10^5 \sim 10^7$,如何富集分离母血中的胎儿细胞已成为当前研究热点。目前主要有两种方法,即荧光激活细胞分离技术(FACS)和磁性细胞分离技术(MACS)。FACS 是近年广泛应用的细胞自动分析分选技术,它可以快速测量悬浮于液体中的分散细胞的一系列生物物理和生物化学特征性参量,并根据预定的参选范围把指定的细胞亚群分选出来。FACS 自 1990 年由 Bianchi 首次成功应用于胎儿 NRBC 的分选,现已成为最有效的分离工具而被广泛应用于胎儿细胞的分离。FACS 方法的优点是富集的纯度较高,此法可将胎儿细胞富集 1 000 倍,但耗时较长,设备昂贵,技术复杂,需专业技术人员操作。MACS 法 1992 年由 Ganshirt - Ahlert 建立,其原理为在外加磁场的作用下,将结合磁性微粒的单克隆抗体标记的细胞分离出来。随后, Busch 又报道了双重 MACS 法。即先用携带磁性微粒的 CD45 和 CD12 的单抗标记细胞,再由携带磁性微粒的 CD71 单抗作阳性选择,富集胎儿的 NRBC,可大大提高分离效果。MACS 特别是微型 MACS 系统的优点是用时短,费用相对低廉,可同时分离多个样本。其缺点是富集纯度相对较低,因其只能在一个标准参数上进行筛选。应用这两种方法通常从 20mL 母血中至多只能富集到 20 个胎儿细胞。

此外,富集胎儿细胞的方法还有新的密度梯度法、磁性铁流法等通过细胞培养来提高胎儿细胞富集率。

3 胎儿细胞在诊断中的应用

3.1 遗传学诊断

利用母血中胎儿细胞进行分子诊断首先来自于胎儿性别鉴定的报道。Hamada 用 Y 染色体特异探针对母血标本中胎儿细胞进行检测,共检测 30 例孕妇,预测男胎准确率达 100% (12/12),女胎准确率为 78% (14/18),后者假阳性 4 例。Schda 等^[2]采用 Y 染色体特异探针对 28 例经 FACS 分离的孕妇外周

血 NRBC 进行胎儿性别检测,其特异性达 100%,敏感性为 88%。关于假阳性的原因主要可能是外源 DNA 的污染或前次妊娠残留胎儿细胞的干扰。假阴性的原因可能是由于待测 DNA 序列的拷贝数极低,样品内靶序列量太少(即母血中胎儿细胞量少)。从而难以保证结果的可重复性。因此,设计适宜母血胎儿细胞 DNA 的引物以及调整扩增条件,并在此基础上发展优化 PCR 技术以兼顾二者,是检测成败的关键。

利用母血中胎儿细胞进行基因诊断的一个成功范例是新近发展起来的胎儿 Rh 血型的分子诊断。其临床意义在于若能早期诊断,则可采取必要的预防和治疗措施,这对降低围产儿死亡率和遗传病极为重要。Geifman 等采用 FACS 法从 Rh 阴性孕妇外周血富集到的胎儿 NRBC 进行 Rh 位点的 PCR 扩增,预测胎儿的 Rh 血型,其特异性可达 100%,敏感性为 84%。

1990 年 Camashella 首次应用 PCR 方法从孕妇外周血中扩增出父源性血红蛋白 Lepore - Boston 基因特异性 DNA,正确诊断 2 例胎儿血红蛋白血症。

近年来应用 FISH 技术进行染色体水平的诊断也有很大的进展。1991 年 Price 首次应用 18 号染色体特异性探针对母血中胎儿细胞进行检测,诊断出 1 例 18 三体胎儿。1992 年 Bianchi 等也应用 FISH 技术从母血 NRBC 中成功地诊断出 21 三体。同年 Elias 等检出 18、21 三体胎儿及 47,XXY 胎儿。1998 年 Oosterwijk 等检出 13 三体胎儿。Zhong 等^[3]对 22 例 RhD(-) 孕母血浆 DNA 行性别、RhD 同时监测的多重套式 PCR,胎儿基因型符合率几乎 100%。

3.2 母血中胎儿细胞和妊娠并发症的关系

母血中胎儿细胞的数量和妊娠并发症之间的关系是近年来人们正研究的热点。在某些妊娠并发症中胎儿细胞数量明显增加,其数量增加是并发症的原因还是结果,仍需进一步的探索研究。1998 年 Holzgreve^[4]首次报道先兆子痫病人(9/1 000)血中的胎儿细胞数目明显高于对照组(2/1 000)。他们进一步研究发现先兆子痫病人血中 NRBC 数量显著增加(38:7)。1999 年 Lo 等^[5]报道在先兆子痫病人血及血清中胎儿 DNA 的含量明显增加。

1998 年 Leung 等^[6]报道早产病人血中胎儿 DNA 含量增加,并提出可将其列为早产先兆指标之一。

2000 年 Xiaoyan 等^[7]报道一例羊水过多病人,其血中 NRBC 的数量异常增加,为对照的 45 倍多(231/5)。应用单个细胞 PCR 技术对其中 NRBC 进行检测,发现 231 个 NRBC 中 122 个来自胎儿。应用定量 PCR 技术检测母血中细胞外胎儿 DNA 含量,发现羊水过多病人为正常对照的 2 倍(749/2/404),这可能是由于羊水过多导致宫腔内压力增加,从而使更多的胎儿细胞和游离的细胞外胎儿 DNA 进入母体循环。

3.3 母血中胎儿细胞与产后并发症

另外,还有研究表明胎儿细胞可能与产后皮肤病如硬皮病和一些自身免疫性疾病有关^[8,9]。1996 年 Bianchi 等报道过产后 27 年母血中仍存在胎儿原始细胞,这些妇女更易患一些自身免疫性疾病如硬皮病,随后 Artlett 等^[10]报道在硬皮病病人外周血中及受损组织切片中发现胎儿细胞。

4 问题和展望

尽管利用母血中胎儿细胞进行诊断已取得很大进展,但仍有很多问题尚未解决。需进一步提高胎儿细胞的富集率和分离纯度,尽可能排除母源细胞的干扰,减少胎儿细胞的丢失。应进一步寻找胎儿细胞特异性标记抗原,以保证诊断的可靠性。胎儿细胞的数量与妊娠期并发症及自身免疫性疾病的发生关系有待进一步的研究和证实,同时也为这些疾病的研究开拓了一个新领域。

目前虽然用胎儿细胞进行产前诊断仍处于实验室阶段,没有应用于临床,但随着科技的飞快进步,其应用前景非常广阔。这种方法有非常明显的优点,它可以进行无创伤性产前诊断,相对于羊膜腔穿刺及绒毛吸取术其危险性小,并发症少,更易于被广大孕妇接受,可以在 35 岁以下低危孕妇中进行。非常适用于一些先天缺陷疾病的产前诊断,如能应用于临床将大大降低出生缺陷发生率,提高人口素质。

参考文献:

- [1] Troeger C, Zhong XY, Burgemeister R. Proximately half of the erythroblasts in maternal blood are of fetal origin[J]. *Mol Hum Reprod*, 2000, 5:1162 - 1165.
- [2] Schda S, Arinami T, Hamada H, et al. The Proportion of fetal nucleated red cells in maternal blood: estimation by FACS analysis[J]. *Prenat. Diagn*, 1997, 17:743 - 752.
- [3] Zhong XY, Holzgreve W, Hahn S. Detection of fetal Rhese D and sex using fetal DNA from maternal plasma by multiplex polymerase china reaction[J]. *British Journal of Obstetrics and Gynaecoly*, 2000, 107(6):766 - 769.
- [4] Holzgreve W, Ghezzi F, Dinaro E, et al. Feto - maternal cell traffic is disturbed in preeclampsia[J]. *Obstetrics and Gynecology*, 1998, 91:669 - 672.
- [5] Lo YM, Leung TN, Tein MS. Quantitative abnormalities of fetal DNA in maternal serum in preeclampsia[J]. *Clin Chem*, 1999, 45:184 - 188.
- [6] Leung TN, Zhang J, Lau TK, Hjelm NM, et al. Maternal plasma fetal DNA as a marker for preterm labour[J]. *Lancet*, 1998, 352:1904 - 1905.
- [7] Xiaoyan Zhong, Wolfgang H, Jinchun Li, et al. High levels of fetal erythroblasts and fetal extracellular DNA in the periperal blood of a pregnant woman with idiopathic polyhydramnios: case report[J]. *Prenatal Diagnosis*, 2000, 20:838 - 843.
- [8] Artlett CM, Smith TB, Jimenez SA. Identification of fetal DNA and cells in skin lesions from women with systemsclerosis[J]. *N Engl J Med*, 1998, 338:1186 - 1191.
- [9] Nelson JL, Furst DE, Maloney S, et al. Micro - Chimerism and HLA - compatible relationship of pregnancy in scleroderma[J]. *Lancet*, 1998, 351:559 - 562.
- [10] Artlett CM, Welsh KI, Black CM, et al. Fetal - maternal HLA compatibility confers susceptibility to system sclerosis[J]. *Immunogenetics*, 1997, 47:17 - 22.

孕妇血浆中游离胎儿 DNA 的生物学特点及临床应用

华中科技大学同济医学院附属协和医院妇产科(430022) 赵茵综述 邹丽审校

摘要:已证实胎儿细胞存在于孕妇外周血中,但由于其数量较少,而且存在个体差异,所以很难将其应用于临床形成成熟的非创伤性产前诊断检测方法。1997年,Lo^[1]首次报道在母体血循环中发现了游离胎儿DNA,证实了母体血浆中的DNA是胎儿和母体DNA的嵌合物。随后又有一些学者相继证实了母体血循环中游离胎儿DNA的存在。近两年来,随着分子生物学等技术的完善,使得从母血循环中检测胎儿DNA并应用于临床成为可能,并为形成一种易于为广大患者接受、应用范围广泛的无创性产前诊断技术奠定了基础。

关键词: 胎儿DNA;血浆;血清;聚合酶链式反应PCR;无创性产前诊断

中图分类号:R714.5;R394.3 文献标识码:A 文章编号:1008-2514(2002)04-0150-04

1 孕妇血中游离胎儿DNA的发现

许多研究者一直致力于探索一种简便有效的无创性产前诊断方法。从孕妇血中分离胎儿细胞是无创性产前诊断的一种确定方法。但由于其细胞数量太少,不能广泛应用于临床。近来,众多学者对血浆中的游离DNA予以极大关注,这主要是由于肿瘤患者血清、血浆中癌源性DNA的发现,这种发现提示在其他临床应用中也存在发现游离DNA的可能性。在健康人和病人血浆或血清中均有少量的游离DNA,而在肿瘤病人血浆中DNA浓度升高。许多不同肿瘤患者检测结果提示,血浆DNA可以作为肿瘤非侵入性诊断及判断预后的一个适宜指标。而且,发现在其他的一些疾病如系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE),创伤后循环中DNA浓度水平也有升高,并有报道组织器官移植之后,在供者血清中也可以发现宿主来源的DNA。在孕期,胎儿与母体循环被胎盘隔膜分开,然而,大量证据表明这种屏障对分子交换的阻碍作用并非绝对。所以一些研究者定义胎盘为“假恶性”。胎儿对于母体就如同肿瘤对于机体,肿瘤DNA可以在患者血浆中检测到并可作为早期诊断的依据;同样,母体血浆中存在的胎儿DNA,也可作为产前诊断的来源物质。传统上,外周血DNA提取过程是弃去血浆,从有核细胞中得到,而从母体血浆中提取胎儿游离DNA,并不经过烦琐的细胞核DNA提取过程,直接从血浆或血清中即可提取到。这些都提示血中游离胎儿DNA可以作为产前诊断简便、有效的胎儿基因物质来源。随着分子生物学等技术的完善,使得从母血循环中检测胎儿DNA并用于临床成为可能,并为建立形成一种易于为广大患者接受、应用范围广泛的无创性产前诊断技术奠定了基础。

2 母血中胎儿DNA存在的证据

Lo等^[1]于1997年开始在母体血清、血浆中寻找胎儿DNA,利用一孕男胎妇女作为研究对象,提取血浆DNA,检测到Y染色体特异性DNA序列,这一结果第一次证实了母体血循环中存在游离胎儿DNA,并且认识到母体血浆中的DNA是胎儿和母体DNA的嵌合性混合物。其他研究者也通过Y染色体上的各种特异性DNA序列证明了循环胎儿DNA的存

在。

由Lo等^[1]设计的提取血清、血浆DNA的煮沸法,经普通PCR在血清和血浆中检测到胎儿DNA的敏感性分别为80%和70%;使用商业柱DNA提取方法和敏感实时定量PCR技术,可以将母血中检测到胎儿来源的Y染色体序列的敏感性提高到100%^[2]。Smid等^[3]使用敏感性较高的套式PCR,也能够从孕有男胎妇女血浆中获得Y染色体的可靠检测。这些都是母血中存在游离的胎儿DNA的可靠证据。

3 母血中游离胎儿DNA的来源和清除机制

胎儿DNA是如何释放入母血中的?胎儿细胞进入母体循环与细胞外游离胎儿DNA之间是否有一定的联系?胎儿DNA的释放有以下几种可能机制。胎儿细胞不断通过胎盘渗漏入母体循环,然后迅速被母体免疫系统破坏,胎儿DNA仍然留在血浆中。已有学者^[4]证实母血中有核细胞数量与游离胎儿DNA水平平行升高。

此外,凋亡也是胎儿DNA释放的一个原因。凋亡,即程序性细胞死亡,它是细胞对外源性刺激的一种反应。细胞核DNA分解为核酸片段是细胞凋亡的一大特点。当使用琼脂糖电泳时可以观察到特征性的DNA Ladder。在一项胎儿有核红细胞的研究中,对经荧光原位杂交鉴定的胎儿细胞进行TUNEL免化染色^[5],其中有42%具有凋亡标志。在另外一项研究中^[6],母血中的凋亡细胞通过不连续Percoll密度梯度离心法被检测到。这一结果表明母血中胎儿DNA部分来自于凋亡的胎儿细胞。另外,Lo等^[2]报道母血中大量的游离胎儿DNA很可能是来自于胎盘。人类胎盘的凋亡既发生于早期也发生于晚期。随着妊娠的进展胎盘的凋亡进程明显增高,而且母体血浆血清中胎儿DNA水平也明显增高,提示凋亡在此过程中可能有着重要的意义。

Lo^[7]通过检测阴道分娩和剖宫产前后母血中胎儿DNA的水平来研究母血中胎儿DNA的清除。研究发现大多数孕妇在产后2小时,血浆中的胎儿DNA已无法检测到,胎儿DNA的平均半衰期为16.3分钟(4~30分钟)。早期研究工作主要是对实验动物进行外源性DNA的输入,其显示出迅速的

清除动力学。血浆胎儿 DNA 被迅速清除,这与母血中胎儿有核细胞的清除有很大的差别。尽管产后大量的细胞在数周内从母体血液循环中被清除,但仍有某些细胞亚群在产后可持续存在,甚至达数十年。那么,在应用胎儿有核细胞进行无创性产前诊断时,持续存在的胎儿细胞是引起假阳性的主要原因。而应用游离 DNA 进行检测,以往妊娠对本次妊娠检测结果的影响较小,检测的假阳性率也明显降低。

胎儿细胞内 DNA 和细胞外游离 DNA 清除的显著差别提示:所涉及的优势细胞群是比较明确的。滋养细胞可能是将胎儿 DNA 释放至血浆、血清的主要细胞群。而胎儿红细胞是母血中存在的主要胎儿细胞群。

有关母血中胎儿 DNA 清除的组织系统仍在研究中。Bo tezatu 等^[8]证明肾脏在胎儿 DNA 清除中可能起到一定作用,因为在孕男胎妇女尿中发现了胎儿 DNA。这些结果不仅证明了血浆 DNA 清除的生物学通路,也有助于寻找一种通过孕妇尿液分析进行产前诊断的方法。

4 胎儿 DNA 的检测

通过对 Y 染色体上胎儿的特异性序列进行扩增,然后经琼脂糖凝胶电泳溴化乙啶染色,可以检测到母体血浆血清中胎儿 DNA。

从母体血浆血清提取 DNA,进行胎儿 DNA 检测,其效率远远高于从等量全血中富集有核细胞提取 DNA 后的检测率^[1]。Smid 等^[3]将从血浆中获取 DNA 后进行普通 PCR、套式 PCR;从胎儿有核细胞中获取 DNA 后进行套式 PCR 三种方法进行对比。应用套式 PCR,即以第一轮 PCR 的产物为模板,使用一对内部引物进行扩增。这种方法大大提高了 PCR 的敏感性和特异性。在他们的研究中,以血浆中 DNA 为模板进行套式 PCR 对胎儿性别鉴定具有较高的正确性。Houfflin 等^[9]进行了相似的研究,他们认为利用母体血浆获取 DNA 进行胎儿性别的鉴定,其敏感性明显高于血清来源(89%~46%)胎儿 DNA,他们利用全血获取 DNA,采用普通 PCR 检测胎儿性别未得到阳性结果。

后来,Lo 等^[2]采用实时定量 PCR 技术来检测母体血浆血清中胎儿 DNA 的浓度。这一方法相当敏感,可以检测到相当于一个细胞所含 DNA 的量。Lo 等^[3]认为实时 PCR 系统除了提高了检测的敏感性,也可以用于检测母体血清、血浆中的胎儿 DNA 浓度。通过对一系列不同孕龄孕妇的研究,Lo 等^[2]发现母体血清中胎儿 DNA 最早可在孕 7 周时检测到,且随妊娠进展,其绝对浓度逐渐增高,尤其在孕晚期有较大的升高。结果显示孕早期和晚期母体血浆中平均胎儿 DNA 浓度分别为 3.4%和 6.2%,母体血清中分别为 0.13%和 1%,母体血浆和血清中的胎儿 DNA 绝对浓度基本相当,这里所显示的差异是由于在形成血清时的凝血过程中母体 DNA 释放所造成。这些资料提示可以较容易的检测到母血中的胎儿 DNA,并且可能成为非侵入性产前诊断的极有价值的材料来源。

但以上方法仅适于孕男胎妊娠的检测,Pertl 等^[10]通过检测第 13,18 和 21 号染色体,检测到微卫星多态性,并证实使用荧光 PCR 方法来检测母血中循环胎儿 DNA。通过短串联重复序列的荧光多聚酶链式反应可以检测母血中男性和女性胎儿 DNA,该法突破了只能通过 Y 染色体序列检测母血中的

男性胎儿。另外,Targ 等^[11]通过相似方法检测到母体血清中胎儿来源的父系遗传性 X 染色体微卫星多态性。

5 在临床方面的应用

母血中游离胎儿 DNA 的发现以及该方法的相对简便性和可靠性为无创性产前诊断的发展提供了很好的理论基础。

5.1 性连锁疾病

母血中胎儿来源的 Y 染色体序列的检测对于 X 连锁异常的产前诊断具有一定可行性^[2,3],X 连锁隐性、显性及性染色体综合征的提前诊断对于指导优生具有一定意义。

5.2 Rh 血型不合

除了 Y 染色体外,研究者所关注的另外一个基因即 RHD 基因,该基因引起 RHD 阳性表型。在 RHD 阴性孕妇外周血清、血浆中检测到胎儿 RHD 基因表明 RHD 阳性胎儿的存在。一些研究者已经使用 RHD 基因的不同区带作为靶序列进行产前诊断研究。大量报道已证实这种方法具有高度的可靠性,尤其是用于孕中期妇女。

5.3 父系遗传性疾病

Amicucci 等^[12]证实父系遗传性疾病强直性肌营养不良的蛋白激酶基因可以在母血中检测到。Chen^[13]报道,使用母血微卫星分析方法可以检测到父系遗传性 3p 染色体远端易位,并且证明妊娠孕妇血浆中胎儿 DNA 分析检测父系遗传性非整倍体病。这些报道证实,母血中胎儿游离 DNA 分析可应用于某些遗传病产前诊断。

5.4 21 - 三体综合征

产前诊断胎儿 21 - 三体对于个人和社会都具有深远的意义。Binachi 等^[14]发现孕 21 - 三体儿孕妇血中胎儿细胞 DNA 含量是正常者的 6 倍。他们质疑是否母体血浆中的胎儿 DNA 浓度也平行升高,Lo 等^[15]在后来的研究中发现孕 21 - 三体胎儿孕妇血浆胎儿 DNA 浓度异常升高。这一研究说明母血中胎儿 DNA 对于某些染色体异常性疾病的检测具有一定意义,与其他血清生化学指标相联系更具诊断意义。然而,在某些染色体病的产前诊断方面,胎儿有核细胞的基因组分离和检测较胎儿游离 DNA 更具意义,如:从母血中分离出胎儿细胞后,进行荧光原位杂交来明确诊断胎儿染色体异常。

5.5 早产

正常孕妇血浆胎儿 DNA 浓度稳定于某一水平,可以此标准来研究妊娠并发症中胎儿 DNA 是否异常。胎儿 DNA 的含量测定可以作为预测早产的标志。孕妇血浆血清中胎儿 DNA 浓度的连续性检测显示,孕妇血中胎儿 DNA 的浓度随孕周进展而升高,在孕 32 周之后,有一个突然的升高^[7]。提示在母婴的胎盘接触面上可能发生了某些变化。这种胎儿 DNA 浓度的生理性升高预示着分娩的临近。Leung 等^[16]已证实该假说,随孕周进展母体血清中胎儿 DNA 浓度不断增高^[2],而且这种增高可能在早产时发生更早。孕妇血浆胎儿 DNA 浓度水平在足月产时要比早产时高,在妊娠最后 8 周,在母血中可检测高浓度的胎儿 DNA。而且,经过成功的产科保胎治疗后,胎儿 DNA 浓度有所下降。这些结论提示,我们可以应用此原理,对妊娠进行检测,可以区分真性早产和经产科治疗可治愈的早产。Leung 等^[16]认为在自发性早产之前母体血浆中胎儿 DNA 浓度升高的生物基础可能是在分娩前胎盘

屏障被打破所致。

5.6 产前子痫

产前子痫是较为常见的、有较高的母婴发病率和死亡率的妊娠并发症,它的早期诊断具有很大意义。妊高征的主要发病机制假说之一为:由于滋养细胞不能有效侵入蜕膜浸润动脉壁所致的胎盘缺陷。由于妊高征时存在胎盘异常,就有可能影响到胎盘交通。Lo 等^[4]使用实时定量 PCR 检测方法证实,与对照组相比,妊高征孕妇血中胎儿 DNA 浓度是正常者的 5 倍,但在产前子痫发生以前增高的胎儿 DNA 浓度是否能够被检测到,仍是一个需待解决的问题。

5.7 羊水过多

在羊水过多病例中,发现母体血浆中胎儿 DNA 浓度超过正常^[17]。此发现也进一步证实胎盘异常与母血中胎儿 DNA 浓度水平密切相关。

6 对未来的展望

自从第一次从孕妇血浆中检测到胎儿 DNA 已有三年。对于这一现象还有很多问题有待研究。胎儿 DNA 释放的机制还有待进一步阐明。胎儿 DNA 释放的主要来源细胞类型的鉴定问题仍有待继续解决。

母血中胎儿 DNA 对于产前诊断的潜在意义还未被充分认识,未来胎儿 DNA 提取技术的发展和检测方法的简化可以扩大此类检测方法的可行性。另外一个尚未解决的问题是母血中的游离胎儿 DNA 是否具有转录活性。目前,已有学者^[18]通过某些实验模型研究阐明了循环肿瘤 DNA 的功能。如果胎儿 DNA 的确具有转录活性,它将提示一种新的母婴之间具有的相互作用性。最近所认识到的母婴血浆 DNA 嵌合体,与细胞嵌合体相似,也是一种双向性现象。换言之,母体血浆中可以检测到胎儿 DNA,胎儿血浆中也同样可以检测到母体 DNA。这种母婴之间双方向和双形式(即细胞和细胞外 DNA)的交换为我们对母婴之间关系的理解提供了大量研究的空间。母体血浆中胎儿 DNA 的研究有利于我们对母婴生物和生理学的理解。母体暴露于相对较高浓度的外源性 DNA 的长期效应目前还不清楚。另外,某些胎儿成份通过母体血浆到达并沉积于母体组织中并在产后持续存在,近来研究已证明此现象对于某些自身免疫性疾病如系统性硬化病的发生具有潜在的危险性^[19],该发现有利于某些免疫性疾病及某些与免疫因素相关的疾病如产前子痫的发病机制的研究。

参考文献:

- [1] Lo YMD, Corbetta N, Chamberlain PF, *et al*. Presence of fetal DNA in maternal plasma and serum[J]. *Lancet*, 1997, 350: 485 - 487.
- [2] Lo YMD, Tein MS. Quantitative analysis of Fetal DNA in maternal plasma and serum: implication for noninvasive prenatal diagnosis[J]. *Am J Hum Genet*, 1998, 62: 768 - 775.
- [3] Smid M, Lagona F, Benassuti L, *et al*. Evaluation of different approaches for fetal DNA analysis from maternal plasma and nucleated blood cells[J]. *Clin Chem*, 1999, 45: 1570 - 1572.
- [4] Lo YMD, Leung TN, Tein MSC, *et al*. Quantitative abnormalities of fetal DNA in maternal plasma in preeclampsia [J]. *Clin Chem*, 1999, 45: 184 - 188.
- [5] Sckizawa A, Samura O, Zhen DK. Apoptosis in fetal nucleated erythrocytes circulating in maternal blood [J]. *Prenat Diagn*, 2000, 20: 886 - 889.
- [6] Van WIJ, De HAC, Jurhawan R, *et al*. Detection of apoptotic fetal cells in plasma of pregnant women[J]. *Clin Chem*, 2000, 46: 729 - 731.
- [7] Lo YMD, Zhang J, Leung TN, *et al*. Rapid clearance of fetal DNA from maternal plasma[J]. *Am J Hum Genet*, 1999, 64: 218 - 224.
- [8] Botezatu I, Serdyuk O, Potapova G, *et al*. Genetic analysis of DNA excreted in urine: a new approach for detecting specific genomic DNA sequences from cells dying in an organism[J]. *Clin Chem*, 2000, 46: 1078 - 1084.
- [9] Houfflin DV, O'Donnell H, Overton T, *et al*. High sensitivity of fetal DNA in plasma compared to serum and nucleated cells using un-nested PCR in maternal blood[J]. *Fetal Diagn Ther*, 2000, 15: 102 - 107.
- [10] Pertl B, Sckizawa A, Samura OOI, *et al*. Detection of male and female fetal DNA in maternal plasma by multiplex fluorescent polymerase chain reaction amplification of short tandem repeats [J]. *Hum Genet*, 2000, 106: 45 - 49.
- [11] Targ NLS, Leung TN, Zhang J, *et al*. Detection of fetal derived paternally inherited X chromosome polymorphisms in maternal plasma[J]. *Clin Chem*, 1999, 45: 2033 - 2035.
- [12] Amicucci P, Gennarielli MNG, Dallapiccola B. Prenatal diagnosis of myotonic dystrophy using fetal DNA obtained from maternal plasma[J]. *Clin Chem*, 2000, 46: 301 - 302.
- [13] Chen CP, Chen SR, Wang WF, *et al*. DNA in maternal plasma: the prenatal detection of a paternally inherited fetal aneuploidy[J]. *Prenat Diagn*, 2000, 20: 353 - 357.
- [14] Bianchi DW, Williams JM, Sullivan LM, *et al*. PCR quantitation of fetal cells in maternal blood in normal and aneuploid pregnancies[J]. *Am J Hum Genet*, 1997, 61: 822 - 982.
- [15] Lo YMD, Lau TK, Zhang J, *et al*. Increased fetal DNA concentrations in the plasma of pregnant women carrying fetuses with trisomy 21 [J]. *Clin Chem*, 1999, 45: 1747 - 1751.
- [16] Leung TN, Zhang J, Lau TK, *et al*. Maternal plasma fetal DNA as a marker for preterm labour [J]. *Lancet*, 1998, 352: 1904 - 1905.
- [17] Zhong XY, Holzgreve W, Li JG, *et al*. High levels of fetal erythroblasts and fetal extracellular DNA in the peripheral blood of a pregnant woman with idiopathic polyhydramnios[J]. *Prenat Diagn*, 2000, 20: 838 - 841.
- [18] Garcia OD, Garcia ODC, Ontanon J, *et al*. Tumor DNA circulating in the plasma might play a role in metastasis, the hypothesis of the genomestasis [J]. *Histol Histopathol*, 1999, 14: 1159 - 1164.
- [19] Artlett CM, Smith JB, Jimenez SA. Identification of fetal DNA and cells in skin lesions from women with systemic sclerosis [J]. *N Engl J Med*, 1998, 338: 1186 - 1191.

宫腔镜技术治疗异常子宫出血的现状

上海市杨浦区中心医院妇产科(200090) 帅桂珍综述 程忠平审校

摘要 :本文主要介绍近年来宫腔镜激光技术、单极电切割技术、双极汽化技术、热球技术、微波技术及宫腔热盐水循环灌注技术的临床应用情况。评价这些技术治疗子宫粘膜下肌瘤、内膜息肉、内膜异常生长等疾病引起异常子宫出血的临床效果。

关键词 :宫腔镜 ;子宫内膜去除术 ;异常子宫出血 ;子宫粘膜下肌瘤

中图分类号 :R711.74 文献标识码 :A 文章编号 :1008-2514(2002)04-0153-03

宫腔镜技术的发展日新月异,随着宫腔镜器械的不断革新,手术技巧不断成熟,目前宫腔镜技术已从检查诊断发展到手术治疗。除了单极电切技术,近年又有多种新技术应用于宫腔镜下手术,如激光技术、热球技术、双电极电汽化技术、微波技术、热盐水灌注技术等。本文就这些宫腔镜新技术及其临床应用情况作一综述。

1 激光技术

目前可供内窥镜使用的激光有四种:CO₂激光,氩气激光,磷酸甲钛(KTP)激光和掺钕钇石榴石晶体(ND:YAG)激光,其中最常用的是ND:YAG激光。ND:YAG激光的波长为1.064μm能穿过液体介质,可经纤维传导,组织穿透的深度达0.6mm~4.2mm,吸收能量不同可以达到止血、组织气化、切割的效果,尤其是能量吸收的颜色依赖性,使其具有更好的止血效果^[1],这一物理学的特征使ND:YAG激光更适合于宫腔镜的手术。文献介绍激光可以用于宫腔镜下宫腔粘连分解,子宫纵隔切除,粘膜下肌瘤切除,内膜息肉切除和子宫内膜切除删除术。膨宫介质可选择5%的葡萄糖液、生理盐水、甘氨酸或3%~5%的甘露醇等。激光手术的主要并发症是子宫穿孔,发生率在1%~10%左右,其次是灼伤和出血^[2]。术中组织毁坏难以进行组织病理诊断,这是该技术的不足之处。

Phillips等^[3]采用宫腔镜激光技术进行了1000例子官内膜去除术,其中746例(85.4%)行一次内膜去除手术,124例(14.2%)行再次手术,3例(0.4%)行三次手术。术后有762例(87.3%)经过6.5年的长期随访,结果37.6%患者术后闭经,86.3%患者月经减少,76.5%患者痛经症状改善,114例因症状复发或加重行子宫切除术,子宫切除率为21.0%,作者还对子宫切除者进行了危险因素分析,发现再次内膜去除术是子宫切除的高危因素($RR=2.93$,95% $CI=1.59\sim 5.40$, $P=0.0015$)。相反,存在子宫内膜息肉、肌瘤、宫腔形状异常等子宫切除的危险性反而降低($RR=0.26$,95% $CI=0.08\sim 0.86$, $P=0.0082$)。患者年龄、宫腔深度、手术时间、膨宫液吸收量、术前临床症状、术前内膜准备方法等因素均与子宫切除无关。

2 单电极电切割技术

宫腔镜单极电切割技术主要适应于子宫内膜息肉,粘膜下子宫肌瘤,功能失调性子宫出血,纵隔子宫,宫腔粘连(Asherman综合征)。可以根据宫腔病变情况和术者的操作习惯采用不同形状的电极,如切割套圈、切割刀(丝)、电凝球、环形电极、半环状的电极、滚筒状的单电极。手术输出功率一般在60w~120w,必须使用非电解质溶液作为膨宫液,如5%葡萄糖液,甘氨酸和3%~5%甘露醇等。单极电切割技术的优点

是手术时间短,切除物可以送病理,但是操作的技术要求较高,最常见的近期并发症有宫颈撕裂、子宫穿孔、肠管和膀胱的电击损伤、出血、水中毒等。远期并发症有感染、宫内粘连形成,肌瘤切除者还有再次妊娠子宫破裂的危险^[4],并发症的发生很大程度上取决于术者的经验和熟练程度。

Yin等^[5]对170例月经过多和月经紊乱的妇女进行了宫腔镜子宫内膜电切术。手术均在全麻下进行,选用5%的葡萄糖液膨宫,两侧宫角部用3毫米的滚球电极,功率为60W,峡部用切割套圈,电极功率为120w切割,出血点用滚球电极电凝止血。该组平均手术时间为21分钟(12~150分钟),液体吸收量平均435mL(0~2200mL)。术后随访6~18个月,127例(78.8%)中,术后99例(77.7%)妇女月经过多得到控制(18.1%闭经,42.5%月经稀少,17.3%正常量月经),治疗失败27例(21.2%),13例再次手术,7例接受了第二次内膜切除术,6例子官切除,该组手术并发症发生率为3%。研究者分析了手术失败的原因,认为手术成功与否与患者是否并发子宫肌瘤密切相关,该组27例治疗失败者并发子宫肌瘤11例(40.7%)。此外,该组病例术前均作诊断刮宫,研究者认为术前诊刮不但可以获得病理诊断,而且可以代替药物作术前的子宫内膜准备。考虑到手术的安全性和缩短手术时间,近年有学者仅使用滚球电极电凝作内膜去除术,要求输出功率在90w以上,沿内膜滚动两遍,破坏内膜深度为4mm~5mm,随访结果,术后1年闭经率为20%~40%,临床总有效率达到75%~80%,此法疗效与内膜切除术相似,但手术时间明显缩短,操作技术也易掌握,并发症发生率也较低^[6]。也有作者提出术前应用GnRH-a等药物可以缩小肌瘤体积,使内膜变薄,从而减少术中出血,缩短手术时间,降低手术并发症,提高治疗成功率^[6]。

Colgan等^[7]观察了子宫内膜电切术后组织病理学变化,术后3个月前取样6例,标本均存在不同程度的急性炎症反应和浅肌层坏死灶,其中5例有异物肉芽肿,术后3个月取样13例,标本均存在异物肉芽肿反应,但无浅肌层坏死灶,9例见有局灶内膜生长,可见电切术后标本存在特征性的病理学变化,易于区别其他原因引起的子宫内膜炎。Vercellini等^[8]则对108例粘膜下子宫肌瘤患者进行宫腔镜下单极电切割手术,其中带蒂粘膜下子宫肌瘤54例、不带蒂30例、向粘膜面生长的肌壁间子宫肌瘤24例,手术均获得成功,术后平均随访41个月。结果子宫肌瘤复发27例,占34%;月经过多复发20例,占30%;对术后要求再生育患者也作了统计,结果粘膜下带蒂肌瘤、不带蒂肌瘤、肌壁间子宫肌瘤组术后妊娠率

分别为 49%、36% 和 33% ,组间无显著性差异。术后子宫肌瘤和症状均有一定的复发率,但研究者认为此法仍不失为一种安全、简便、有效、价廉的方法。

3 双极汽化技术

双极汽化技术是近年来应用于临床的新技术,双电极电流只限于两个电极之间,不需要接地电极,电压电流均较低,使手术更加安全。两电极间产生高温达到组织凝固(球型电极)、组织切割(绞花型电极)、和组织气化(弹簧型电极),双电极气化的输出功率为 50W~70W。此术适用于多种宫腔内疾病,包括粘膜下子宫肌瘤及粘膜息肉切除术、子宫内膜切除术、子宫成形术等。手术过程采用生理盐水作为膨宫介质,组织吸收较快,因此应精确的计算液体的总量和进出液量差,以防止膨宫的介质过多过快进入循环导致电解质平衡紊乱和水中毒。此外,此术是通过汽化组织达到切割目的,难以获取病理诊断。

Vilos 等^[9]采用此项技术为 8 位病人(不孕症 6 例,月经过多 2 例)做了 5 种不同的手术:子宫纵隔切除术 3 例、宫腔粘连分解术 2 例、粘膜息肉切除术 2 例、粘膜下肌瘤切除术和内膜切除术各 1 例。术中使用直径为 1.6mm 的微型双极电极在 5mm 的宫腔镜下操作,术中膨宫生理盐水使用量为 200~1 000mL。结果 6 例不孕中 5 例成功妊娠,2 例月经过多症状得到明显改善。Vercellini 等^[10]则对子宫内膜双极汽化术和单极电切术进行了随机对照研究,结果双极汽化术组膨宫液吸收量为 $109 \pm 126\text{mL}$,单极电切术为 $367 \pm 257\text{mL}$,差异十分显著($P < 0.001$),两组手术时间分别为 9.2 ± 3.1 分钟和 10.7 ± 2.5 分钟,组间无差异,术后随访 1 年,双极汽化组闭经、月经减少或点滴出血、正常月经量、月经过多分别为 36%、43%、21% 和 0,单极电切术为 48%、32%、16% 和 5%,组间无明显差异。上述结果可见两组的治疗效果相似,但双极汽化组膨宫液吸收明显少于单极电切术组,可以降低水中毒等并发症的危险性。

4 热球子宫内膜去除术

近年热球技术的临床应用较多,该技术主要利用热物理效应使子宫内膜凝固、剥离、坏死达到治疗月经过多的目的。术前先作宫腔镜检查,了解宫腔内情况,明确诊断。治疗时经宫颈插入热球导管,球内注入非电解质液(5% 葡萄糖 5~30mL),使球内压力稳定在 21.3~24.0kPa(160~180mmHg),启动热球仪加热至 87℃,治疗时间为 8 分钟。手术可采用宫颈旁神经阻滞麻醉、短程静脉麻醉、或静脉使用镇静剂麻醉下进行。Shah 等^[11]对 20 例行子宫热球内膜去除术患者内膜组织进行了病理学研究,发现在 87℃,8 分钟的治疗条件下,子宫内膜热损伤最大深度为 3.4mm,因此热球治疗时术前应作充分的内膜准备,用 GnRH-a 等药物薄化子宫内膜,一般要求子宫内膜厚度不超过 4~6mm。

Buckshee 等^[12]对 15 例经药物或刮宫治疗无效的功能失调性子宫出血患者进行热球技术治疗,术后随访 2~19 个月,2 例闭经,12 例出血明显减少,1 例因月经过多和严重盆腔疼痛而进行子宫切除术。Amso 等^[13]进行的多中心前瞻性研究显示,300 例患者经热球治疗,无术时并发症发生,术后并发症发生率为 3%,主要是术后发热、宫腔积血等;291 例术后随访 6 个月,闭经达 14%、月经减少 35%、点滴出血 13%、正常月经量 29%、月经过多 9%;163 例术后随访 12 个月,闭经达 15%、月经减少 31%、点滴出血 17%,正常月经量 25%,月经过多 12%,两组疗效相似;作者发现,年龄大、球内压力高、宫

腔体积小、术前月经量轻度增加的患者治疗效果较好,术前采用 GnRH-a 作内膜准备者治疗效果明显优于用 Danazol 者和未作药物内膜准备而直接行子宫内膜去除术者。Gervaise 等^[14]学者则对热球治疗和单极电切治疗的安全性和有效性进行了比较,本组 73 例行热球术,74 例行单极电切术,结果发现热球组治疗有效率为 $83.0 \pm 5.0\%$,单极电切术组为 $76.3 \pm 6.0\%$,热球组高于单极电切组,但组间无统计学差异;热球组手术时间为 20.3 分钟,明显少于单极电切组的 44.8 分钟($P < 0.05$)。两组均未发生术中并发症,术后并发症也无差异;经过多元回归分析,作者还发现后位子宫患者热球治疗效果较差($OR = 6.2, P < 0.005$);而年龄 < 43 岁者单极电切术效果较差($OR = 3.89, P < 0.05$)。研究者认为热球术操作简单容易,手术安全性也较高,对宫腔镜技术不甚熟悉的医生也可以操作。

6 微波子宫内膜去除术

1995 年由 Sharp 等^[15]首先应用于宫腔镜下手术,呈现出良好的临床应用前景。微波仪采用计算机程控的高频率(9.2GHz)输出设计,微波输出功率为 30W,能量达到 1.5~9.3KJ,组织穿透深度为 5~6mm,微波探头直径为 8mm。Sharp 等^[15]报道了 23 例功能性子宫出血患者行微波子宫内膜去除术的临床结果,患者平均年龄为 42.6 岁,治疗前用 GnRH-a 或丹那唑使子宫内膜薄化,治疗温度为 80~95℃,平均治疗时间为 2.2min(0.8~5.2min);术后随访 6 个月,结果 13 例达到闭经(57%),6 例月经明显减少(26%),4 例无效(17%),一次治疗有效率达到 83%。4 例治疗失败者均接受了第二次微波治疗,3 例获得成功,治疗总有效率达到 96%,本组未发生手术并发症。之后,Milligan 等^[16]报道了微波子宫内膜去除术 1 年的随访结果,16 例月经过多患者平均年龄为 41.4 岁,平均治疗时间为 2.1 分钟,无严重并发症发生,治疗满意为 87.5%,1 例因盆腔痛于术后 10 个月行子宫切除术。Hodgson 等^[17]则总结了 43 例 3 年随访结果,闭经率为 37.2%,周期改善月经减少 25.6%,周期改善患者满意 20.9%,周期改善患者不满意 2.3%,1 例术后行子宫切除术,3 年总治疗满意率为 83.7%。Parkin 等^[18]对微波子宫内膜去除术的安全性进行了大样本前瞻性研究,他们统计了 1433 例月经过多患者微波治疗的并发症发生情况,结果严重并发症肠穿孔仅 1 例,占 0.07%,子宫穿孔 4 例,占 0.28%,子宫内膜炎 14 例,占 0.98%。就安全性而言,研究者认为微波技术优于其他子宫内膜去除术。Cooper 等^[19]对微波子宫内膜去除术和单极子宫内膜电切术的疗效进行了随机对照研究,微波组 129 例,电切组 134 例,两组病例术前均采用 goserelin 使内膜薄化,微波组手术时间明显短于电切组(11.4 vs 15.0 分钟, $P = 0.001$),微波组 1 例子官穿孔,电切组 1 例子官穿孔并作急诊子宫切除术,术后 12 个月两组总治疗满意率相似,分别为 77% 和 75%。总结上述文献,可以认为与其他治疗方法比较,微波子宫内膜去除术具有手术安全、疗效可靠、操作简单快速等优点。

7 热盐水宫腔循环灌注子宫内膜去除术

热盐水宫腔内循环灌注的整个操作过程由计算机程控热疗仪完成,这是近年新开展的临床新技术,也称宫腔热疗术,其治疗原理是用加热的盐水直接冲洗宫腔,使子宫内膜热损伤,达到破坏子宫内膜的目的。除了操作简便,设备设计了防外漏装置,系统液体减少 5mL 即自动停机,增加了手术的安全性。扩张宫颈后直接插入导管置于宫颈管内口处,启动热疗仪循环灌注 90℃ 的生理盐水,宫腔压力设定 6.67kPa(50

mmHg) 治疗时间为 10 分钟。适合于月经过多或功能失调性子宫出血的病人,内膜下小肌瘤不影响治疗^[20]。Richard 等^[21]对 32 例行子宫切除术前做了宫腔热疗术,对子宫各部位浆膜面的温度进行了观察,并使用氧化酶 NADH 染色法研究内膜坏死的深度,结果发现 90% 的生理盐水灌注宫腔 10 分钟子宫底部、体部、角部温度均未超过 36℃;而子宫内膜坏死深度达 2~4mm。Bustos 等^[22]则将治疗温度控制在 70~85℃,治疗时间为 15 分钟,结果子宫内膜全层及浅肌层 1~2mm 均热损伤坏死。Dores 等^[20]学者报告了 26 例宫腔热疗术的治疗结果,所有患者术前 2 个月使用 goserelin 两次,第二次给药后的 3~6 周进行 HTA,未发生手术并发症,但有 25% 的病人出现术后疼痛,使用镇静剂 24 小时内缓解。随访发现术后 3 个月闭经 36%、月经减少 40%、正常月经 20%;术后 6 个月闭经 41%、月经减少 36%、月经正常 18%;术后 12 个月分别是 47%、41% 和 6%;术后 18 个月闭经或月经减少为 87.5%。该组 2 例接受二次 HTA 治疗,1 例因持续出血行子宫切除术。研究者认为此法有以下优点:热盐水与子宫内膜充分接触,使内膜破坏更为彻底,治疗不受子宫的位置和宫腔形状的影响,可以避免激光、电切割和热球等漏切漏烫的可能;HTA 手术插管浅、进入宫腔的器械少,可以减少创伤性并发症。

8 小结

与子宫切除术相比,宫腔镜手术具有创伤小、恢复快、并发症少、术后生活质量高等优点,这也是近年来手术宫腔镜快速发展的原因之一。热球、微波和热疗技术主要进行异常子宫出血的子宫内膜去除术,激光、单极电切及双极汽化技术不仅可以完成内膜去除术,还可以进行粘膜下肌瘤、内膜息肉切除。总结文献,各种技术完成的子宫内膜去除术的临床疗效相似,总有效率为 70%~80% 左右,术后子宫切除率为 10%~20% 左右。在进行子宫内膜去除术前内膜条件直接影响治疗效果,正常子宫内膜腺体生长可达肌层 2~3mm,卵泡期内膜厚度为 1~2mm,黄体期可达 10~12mm,为了尽可能完全除去内膜,术前应作充分的内膜准备,要求子宫内膜厚度不超过 4~6mm。除了宫腔镜手术自身的并发症外,内膜去除术者较高的术后子宫切除率和子宫肌瘤切除术较高的复发率应引起临床医生的重视。

参考文献:

- [1] Schenk LM, Coddington CC. Laparoscopy and hysteroscopy[J]. *Obstet Gynaecol*, 1999, 26: 1 - 20.
- [2] Isaacson KB. Complication of hysteroscopy[J]. *Obstet Gynaecol*, 1999, 26: 39 - 50.
- [3] Phillips G, Chien PF, Cary R. Risk of hysterectomy after 1 000 consecutive endometrial laser ablation[J]. *Br J Obstet Gynaecol*, 1998, 105: 897 - 903.
- [4] Tulandi T, Took S. Endoscopic myomectomy[J]. *Obstet Gynaecol*, 1999, 26: 135 - 147.
- [5] Yin CS, Wei RYC, Chao TC. Hysteroscopic endometrial ablation without endometrial preparation[J]. *Inter J Gynaecol Obstet*, 1998, 62: 167 - 172.
- [6] Kammerer DDN, Rogers RG. Endometrial ablation: electrocautery and laser techniques[J]. *Clin Obstet Gynaecol*, 2000, 43: 561 - 574.
- [7] Colgan TJ, Shah R, Leyland N, et al. Post-hysteroscopic ablation reaction: a histopathologic study of the effects of electro-surgical ablation[J]. *Inter J Gynecol Pathol*, 1999, 18: 325 - 331.
- [8] Vercellini P, Zama B, Yaylayan L, et al. Hysteroscopic myomectomy: Long-term effects on menstrual pattern and fertility[J]. *Obstet Gynaecol*, 1999, 94: 341 - 346.
- [9] Vilos GA. Intrauterine surgery using a new coaxial bipolar electrode in normal saline solution [Versapoint]: a pilot study[J]. *Fertil Steril*, 1999, 72: 740 - 743.
- [10] Vercellini P, Oldani S, Yaylayan L, et al. Randomized comparison of vaporizing electrode and cutting loop for endometrial ablation[J]. *Obstet Gynaecol*, 1999, 94: 521 - 527.
- [11] Shah AA, Stabinsky SA, Klusak T, et al. Measurement of serosal temperatures and depth of thermal injury generated by thermal balloon endometrial ablation in ex vivo and in vivo models[J]. *Fertil Steril*, 1998, 70: 692 - 697.
- [12] Buckshee K, Banerjee K, Bhatla H. Uterine balloon therapy to treat menorrhagia[J]. *Inter J Gynaecol Obstet*, 1998, 63: 139 - 143.
- [13] Amso NN, Stabinsky SA, McFaul P, et al. Uterine thermal balloon therapy for the treatment of menorrhagia: the first 300 patients from a multi-centre study[J]. *Br J Obstet Gynaecol*, 1998, 105: 517 - 523.
- [14] Gervaise A, Fernandez H, Capella-Alloc S, et al. Thermal balloon ablation versus endometrial resection for the treatment of abnormal uterine bleeding[J]. *Human Reproduction*, 1999, 14: 2743 - 2747.
- [15] Sharp NC, Cronin N, Feldberg I, et al. Microwaves for menorrhagia: a new fast technique for endometrial ablation[J]. *Lancet*, 1995, 346: 1003 - 1004.
- [16] Milligan MP, Etokowo GA. Microwave endometrial ablation for menorrhagia[J]. *J Obstet Gynaecol*, 1999, 19: 496 - 499.
- [17] Hodgson DA, Feldberg IB, Sharp N, et al. Microwave endometrial ablation: development, clinical trials and outcomes at three years[J]. *Br J Obstet Gynaecol*, 1999, 106: 684 - 694.
- [18] Parkin DE. Microwave endometrial ablation (MEATM): A safe technique? Complication data from a prospective series of 1400 cases[J]. *Gynaecol Endosc*, 2000, 9: 385 - 388.
- [19] Cooper KG, Bain C, Parkin DE. Comparison of microwave endometrial ablation and transcervical resection of the endometrium for treatment of heavy menstrual loss: a randomized trial[J]. *Lancet*, 1999, 354: 1859 - 1863.
- [20] Dores GB, Richard RM, Nicolau SM, et al. Evaluation of hydrothermablator for endometrial destruction in patients with menorrhagia[J]. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*, 1999, 6: 275 - 278.
- [21] Richard RM, Dores GB, Nicolau SM, et al. Histologic studies of the effects of circulating hot saline on the uterus before hysterectomy[J]. *J Am Assoc Gynecol Laparosc*, 1999, 6: 269 - 273.
- [22] Bustos LHH, Baggish M, Valle RF, et al. Assessment of the safety of intrauterine instillation of heat saline for endometrial ablation[J]. *Fertil Steril*, 1998, 69: 155 - 160.

不孕症子宫内膜细胞外基质的表达

吉林大学第二临床学院妇产科(130021) 李春芳综述 崔满华审校

摘要 :不孕症发病机理越来越引起人们的重视。其中部分不孕症患者在着床方面的缺陷,尤其是内膜接受性的异常,可能是导致发病的一个关键因素。近年来对不孕症患者子宫内膜进行研究发现,细胞外基质纤维粘连蛋白、层粘连蛋白、IV型胶原在子宫内膜的不同部位、不同时期表达不同,并参与子宫内膜的功能变化及胚泡的着床环节。胚胎的着床受滋养层介导,在着床过程中具有侵蚀力的滋养层可遇到大量的细胞外基质,分泌中、晚期子宫内膜过量的细胞外基质表达阻止胚泡植入而导致不孕。

关键词 :不孕症 ;子宫内膜 细胞外基质

中图分类号 :R711.6 文献标识码 :A 文章编号 :1008-2514(2002)04-0156-03

不孕症是妇科常见病之一,据国内外资料统计,约占育龄夫妇的10%~25%,其中女性因素约占60%。女性不孕80%由解剖、内分泌异常及感染等因素所致,20%为不明原因不孕。近年来关于子宫内膜细胞外基质与不孕关系的研究成为国内外研究的热点。本文就近年来文献报道的研究成果,综述如下。

子宫内膜细胞外基质(ECM)包括I、II、III型胶原蛋白(CL)、纤维粘连蛋白(FN)、层粘连蛋白(LN),主要分布在子宫内膜腺上皮细胞及基底膜,血管内皮细胞及基底膜和间质细胞,随月经周期的变化而明显变化。增生期子宫内膜ECM的变化:I型CL在增生早期子宫内膜上表达减少,中期增高,晚期减少。LN除增生早期表达增高外,增生中、晚期表达减少。FN在增生期子宫内膜早、晚期表达减少,中期增加。FN、LN、III型CL在分泌期子宫内膜的变化:FN、LN、III型CL在分泌中期呈强表达,早期次之,晚期减弱,对胚泡着床可能有重要意义。FN、LN、III型CL在早期表达低,有利于胚泡植入,中期表达增高对胚泡发育有增进细胞粘附分化作用,晚期表达减弱使组织疏松,利于胚泡着床。妊娠蜕膜中也有ECM表达,妊娠蜕膜中ECM的变化如下:在着床前,子宫内膜ECM已开始发生变化以便更好的接受孕卵植入,为中期胚泡着床做准备工作,首先ECM表达低,以利于胚泡侵入,着床过程进一步刺激了细胞外基质,使ECM在着床后表达量进一步升高,着床完成后ECM趋于稳定,逐渐下降至正常水平。证明ECM在妊娠调控中有重要作用。人子宫内膜周期中的分泌期正是胚泡的着床期,正常子宫内膜仅在一个极短的关键期内允许胚胎着床,而且与胚胎发育同步。这一时期代表着子宫内膜接受性达最高的时期,被称为“着床窗”,约为月经周期的第20~24天,为分泌中晚期。分泌中晚期ECM过高表达可抑制植入细胞的增殖,限制细胞植入导致着床失败而不孕。

1 细胞外基质的结构与功能

ECM是指位于上皮或内皮细胞下层,结缔组织细胞周围,为组织、器官甚至整个机体的完整性提供力学支持和物理强度的物质。Suedka等^[1]认为ECM具有供给生物获得多机能,维持高级生命现象养料的作用,在个体发生中起着不可缺少的重要作用。胚胎的着床受滋养层介导,在着床过程中,最

早接触到的ECM是子宫内膜表面上皮的基底膜。基底膜成份主要由CL、LN、FN等各种蛋白多糖组成,这些成分与细胞的连接、移动、分化和增殖等生命活动关系密切。

FN是ECM的主要成分之一,是一种多机能性的不溶性的纤维粘连糖蛋白,主要分布于子宫内膜表面上皮、腺上皮和血管的基底膜,间质中也有部分分布。分子巨大,其亚单位分子量介于235~270KDa,能与人体的各种分子呈非共同性的结合,由2条约220KDa的链组成,共400KDa左右。FN分子上的不同部位可以和胶原肝素、硫酸肝素及细胞纤维蛋白结合,这种结合是FN活跃的重要结构基础。FN可增进细胞粘附、影响迁移及分化,参与细胞骨架构建和细胞形态形成。

LN是一种基底膜糖蛋白。位于基底膜局部的分子量为800~1000KDa,由A链(约400KDa)、B₁链(约2000KDa)和B₂链(约200KDa)组成。除有细胞连接功能外,还表现在移动、分化等方面。具有促进细胞分化以及降解成纤维细胞的粘附作用,对维持基底膜的正常形态与功能是必要的。

IV型CL是一个由多种糖蛋白分子组成的家族,至今为止,大约有16种以上的胶原三聚体糖蛋白分子。只有在基底膜结构中才存在着IV型胶原,分子结构中含有一段很长(大约350nm)的三螺旋位点结构,其中含有大约20个较短的序列结构。IV型CL通过4个亚基之间以及氨基末端广泛的二硫键的形成,构成网状结构。这种网状结构有滤过功能,通过与细胞的整合素α₁β₁及α₂β₁之间的相互作用,以支持细胞与基底膜之间粘附。IV型CL的作用之一是胶原纤维自身具有抑制细胞DNA的合成,从而限制细胞增殖速度的作用。

2 细胞外基质在正常子宫内膜的表达及意义

子宫内膜由多种细胞、细胞外基质构成,并具有周期性的改变,这需要特殊的细胞—细胞、细胞—细胞外基质间相互作用,并随月经周期呈周期性变化。

Craven等^[2]研究证明:FN在月经周期的增殖期,特别是增殖中期子宫内膜表达增高,分泌期特别在分泌早期和分泌晚期子宫内膜中表达降低。基底膜中FN在增生期增多,排卵以后急速减少,同时可见子宫内膜表面上皮和血管内皮基底膜的FN在整个分泌期均有表达,但间质细胞中仅有部分FN分布,呈现明显的周期性变化。低浓度的FN对胚泡发育

收稿日期:2001-08-20

修回日期:2002-04-10

作者简介:李春芳(1962-),女,副教授,硕士研究生,研究方向为不孕症。

有增进细胞粘附分化作用,而浓度过高则起抑制作用。分泌早期在子宫内膜内表达低,提示对胚泡的植入起解除抑制的作用,即为胚泡的植入提供一个有利于生长发育的微环境。Yoshimura 等^[3]发现胶原纤维的形成与 FN 有密切关系,在阻碍 FN 的形成时,可见胶原纤维的形成也同时受阻碍。另外, FN 还有促进间质细胞增殖,与 CL、LN 构成子宫内膜的纤维骨架,对细胞起物理性支持作用,同时也是高分子通过的屏障。FN 与蜕膜细胞表面的 IV 型 CL 及 V₁、整合素结合,由此完成母儿粘着。

LN 是 ECM 的主要成份, Fazleabas 等^[4]探讨了 LN 在子宫内膜中的变化结论为: LN₁ 和 LN₂ 亚基是最先检测出的 ECM 成份,在小鼠胚胎的 2~4 细胞期即可检测到。Amsterdam 等^[5]用 LABC 免疫组织化学方法对子宫内膜 LN 在月经周期中的变化进行研究,发现 LN 总量在分泌期,特别在分泌中期子宫内膜表达强度增高的同时在增生早期子宫内膜上表达也增高,增生中、晚期表达减少。首先,在排卵期基底膜中表达增加,以后子宫内膜表面上皮基底膜中 LN 可见持续性增加,提示 LN 可为胚泡着床提供有利的连接条件,植入子宫内膜的胚泡为了摄取营养,在侵入子宫内膜上皮细胞及基底膜后将含有丰富营养物质的内膜血管作为植入的又一目标,在子宫内膜血管内皮细胞基底膜上呈阳性表达。在分泌早期子宫内膜间质、血管内皮基底膜中 LN 表达增加,与此同时在分泌中期间质中 LN 也增加,提示 LN 在胚泡侵入时有重要连接作用。在子宫内膜间质中只有 LN 有外源性的半乳糖转移酶,这种酶给胚泡的植入提供了连接系统。

LN 可促进子宫内膜上皮细胞增殖,诱导子宫内膜上皮细胞产生适合胚泡粘附和植入的变化,诱导子宫内膜上皮与间质相互作用,传递 LN 的生物学信息,使细胞内某些蛋白激酶的酪氨酸磷酸化,使细胞浆 pH 增高,细胞内 Ca²⁺ 浓度增加,调节基因表达方式,将细胞内信号传向细胞外,并参与细胞的增殖、分化、粘附、迁移等过程。

IV 型 CL 在子宫内有重要作用,胶原纤维自身抑制细胞 DNA 合成速度,限制细胞增生速度,细胞 DNA 的合成速度随胶原纤维密度的增加而被抑制。Palecek 等^[6]在 IV 型 CL 在子宫内膜中表达情况中发现从分泌中期开始,子宫内膜中 IV 型 CL 急速增加,这一现象提示胚泡进一步向子宫内膜深层植入时 IV 型 CL 的增加可抑制植入细胞的增殖速度,从而限制胚泡的过度植入。IV 型 CL 在生育组子宫内膜的表达均为分泌中期较早期升高,分泌晚期急剧减少,根据 IV 型 CL 的功能推测,分泌早、晚期表达减少可能对胚泡的植入和生长解除抑制,使着床过程顺利进行。

3 细胞外基质在不孕症子宫内膜的表达及意义

近年来有人对不孕症患者子宫内膜 ECM 进行了一些研究^[1]。对生育组和原因不明不孕组通过免疫组化方法检测分泌期子宫内膜 ECM 如 FN、LN、IV 型 CL 的表达,结果显示 FN、LN、IV 型 CL 在不孕组分泌各期表达均高于生育组,尤以分泌中、晚期表达显著增高,过量的细胞外基质阻碍胚泡正常植入,导致着床失败。ECM 在维持正常组织结构与功能及细胞生长分化过程中起到非常重要作用,但它不是静止不动的,而是处在不断更新、降解、重塑的动态平衡中。Sharpe 等对细胞外基质金属蛋白酶的关系进行了探讨证明:基质金属蛋白酶(MMPs)以 FN、LN、IV 型 CL 等为底物,能使其分解, MMPs 为一

组锌结合蛋白酶,包括胶原酶、明胶酶、基质溶解酶等,可以分解所有 ECM。MMP-2、MMP-9 为人类子宫内膜分泌的主要明胶酶,其中 MMP-2 浓度在分泌期增加,提示其在胚泡种植中起一定作用。TIMPs 为 MMPs 的抑制物,在正常子宫内膜上呈周期性分泌,通过调节 MMPs 活性而调节 ECM。不孕症在分泌中、晚期子宫内膜上 MMPs 功能紊乱导致 ECM 增加,不利于着床。ECM 的合成与降解过程之间的平衡,决定组织器官中 ECM 含量以及代谢状态,ECM 合成降解过程都处于严格的调控和调节之下,其中哪一过程出现变化,都会导致 ECM 代谢异常。

FN 存在于子宫内膜滋养层组织中,其过度表达可能影响胚泡对母体子宫内膜的识别、定位、粘着,从而导致着床失败^[4]。Beliard 等^[7]也实验证明了 FN 作为一种不溶性的纤维粘连蛋白,其过高表达可导致子宫内膜胶原纤维的形成增多,胶原纤维密度增加,抑制细胞 DNA 的合成速度。母体血液不能正常流入发育中的滋养细胞空隙,使胚泡发育不良,导致着床失败。

同时还发现 FN 在滋养层壳形成以后的母儿粘着面中存在,即细胞滋养层和蜕膜的粘着面,可增进细胞粘附,参与细胞骨架构建,有防止流产的作用,而过高表达则使子宫内膜胶原纤维密度增加,阻碍胚泡正常发育和植入^[3]。

LN 在胚泡植入时有重要连接作用,可促进细胞分化以及降解成纤维细胞的粘附,而过量的 LN 则抑制植入细胞的增殖,限制胚泡的植入。不孕组分泌中、晚期子宫内膜 LN 表达评分显著高于生育组同期水平,由于分泌期子宫内膜过高表达,使子宫内膜发育延迟,子宫内膜与胚泡发育不同步,从而导致不孕。不孕组随临床分期由早期到晚期子宫内膜发育延迟天数及延迟比例增加,越到晚期子宫内膜发育延迟越严重^[5],其原因为泌乳素(PRL)、胰岛素样生长因子粘连蛋白-1(IGFBP-1)被认为是子宫内膜间质细胞蜕膜化的标志, LN 通过调节 ECM 上 PRL、IGFBP-1 的基因表达,减少体外培养子宫内膜间质细胞 PRL、IGFBP-1 的合成与释放,抑制子宫内膜间质细胞蜕膜化,使子宫内膜发育延迟,子宫内膜与胚泡发育不同步,从而导致不孕。

IV 型 CL 主要分布在基底膜,形成网状结构,支持基底膜与细胞间粘附并有滤过功能,IV 型 CL 作为胶原纤维具有抑制细胞 DNA 的合成,限制细胞增殖速度。随着 IV 型 CL 在子宫内膜组织中表达增高,细胞 DNA 的合成速度受到抑制,导致胚泡发育不良及着床失败。Müller 等^[8]对生育组与不孕组细胞外基质的表达情况进行比较证明:IV 型 CL 在不孕组分泌中、晚期子宫内膜表达明显高于生育组。Huang 等^[9]对锌结合蛋白主要对胶原酶、明胶酶、基质溶解酶等进行了研究,结果显示:IV 型 CL 酶与组织的降解有关, LN 提高胶原酶特别是 IV 型胶原酶的活性,使 IV 型 CL 表达增加。过多的 IV 型 CL 沉积使 MMPs 在 ECM 中的平衡调节功能减弱,使 ECM 增多,组织致密,屏障作用增强,并可见胚泡在与血管基底膜的双向识别时使滋养层内 MMPs 基因活力减弱,分泌 MMPs 减少, MMPs 水解基底膜 ECM 作用减弱,不能使 ECM 分解,致使 ECM 在子宫内膜中表达增高,胚泡不能穿破内膜血窦,母体血液不能正常流入正在发育中的滋养细胞空隙,胚泡不能顺利植入子宫内膜,其结果可能对母体子宫内膜的识别、定位和粘着不利。ECM 作为一类广泛分布于人体的许多细胞上的重要蛋白,在不孕症患者子宫内膜上呈特征性表达。对 ECM

在不孕症子宫内膜表达的研究必将大大提高人类辅助技术的成功率,造福于不孕症患者,为探讨不孕症发病机理提供理论依据。

参考文献:

- [1] Sueoka K, Kuji N, Shiokawa S, *et al*. Integrins and reproductive physiology: expression and modulation in fertilization, embryogenesis, and implantation[J]. *Fertil Steril*, 1997, 67:799 - 811.
- [2] Craven EM, Zhao L, Ward K. Lateral placental growth occurs by trophoblast cell invasion of decidual veins [J]. *Placenta*, 2000, 21(2 - 3):160 - 169.
- [3] Yoshimura Y, Miyakoshi K, Hamatani T. Role of $\alpha 1$ integrins in human endometrium and decidua during implantation [J]. *Horm Res*, 1998, 50(suppl 2):46 - 55.
- [4] Fazleabs AT, Bell SC, Fleming S, *et al*. Distribution of integrins and the extracellular matrix proteins in the baboon endometrium during the menstrual cycle and early pregnancy[J]. *Biol Reprod*, 1997, 56(2):348 - 356.

- [5] Amsterdam A, Dantes A, Hosokawa K, *et al*. Steroid regulation during apoptosis of ovarian follicular cells[J]. *Steroid*, 1998, 63(5 - 6):314 - 318.
- [6] Palecek SP, Loftus JC, Ginsberg MH, *et al*. Integrin - ligand binding properties govern cell migration speed through cell - substratum adhesiveness[J]. *Nature*, 1997, 385:537 - 540.
- [7] Beliard A, Dinnez J, Nisolle M, *et al*. Localization of laminin, fibronectin, E - cadherin, and integrins in endometrium and endometriosis[J]. *Steril*, 1997, 67:266 - 272.
- [8] Muller U, Wang D, Dend S, *et al*. Integrin $\alpha 8\beta 1$ is critically important for epithelial - mesenchymal interactions during kidney morphogenesis[J]. *Cell*, 1997, 88:603 - 613.
- [9] Huang HY, Wen Y, Irwin JC, *et al*. Cytokine - mediated regulation of 92 - kilodalton type collagenase, tissue inhibitor of metalloproteinase - 1 (TIMP - 1), and TIMP - 3 messenger ribonucleic acid expression in human endometrial stromal cells[J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1998, 83(5):1721 - 1729.

脐带缠绕的研究现状

湖北省武汉市桥口区妇幼保健院(430030) 丁霞

湖北省武汉市同济医院妇产科(430030) 乔福元

摘要:脐带缠绕是产科常见并发症之一。其发生与脐带长度,胶质含量,脐带圈卷指数,胎动,羊水量,产次,孕龄,胎方位,人种,性别,胎盘位置等因素有关。脐带缠绕影响胎先露衔接和下降,导致胎儿窘迫甚至宫内死亡,以及其它对母儿的不良影响。现代超声技术、胎儿监护仪、胎儿心电图及其它先进手段的应用对于脐带缠绕的诊断和治疗起着重要作用。

关键词:脐带缠绕;病因学;诊断;治疗

中图分类号:R714.56 文献标识码:A 文章编号:1008-2514(2002)04-0158-02

脐带(umbilical cord)是母体与胎儿血气交换的必由通道,也是胎儿获得营养的重要桥梁。脐带缠绕(card entanglement)是产科的常见并发症,占总分娩数的15.8%~33%。脐带缠绕以缠绕胎儿颈部(umbilical cord around neck,UCAN)最多,其次为躯干及肢体,缠绕1~2圈者居多,3圈及以上者少见。脐带缠绕是引起胎儿窘迫的主要原因之一,其发生率为25.2%~48.8%。也可引起死胎、死产,增加分娩中手术产率,严重危害母婴健康。本文就脐带缠绕的相关因素、对母儿的影响及诊疗综述如下。

1 相关因素

脐带缠绕与以下因素相关:与脐带的长度密切相关。据报道,绕颈1圈者脐带平均长度为54.1cm,2圈者为64.29cm,3圈者为84.13cm,4圈者88.90cm,5圈者102cm,而不绕颈者平均仅为46.2cm。凡脐带过长者72%发生脐带绕颈,脐带过短者发生绕颈者甚少;且脐带越长,缠绕圈数越多。脐带最长达160cm,绕颈8周。目前临床上产前尚不能准确预测脐带长度;与胎动和羊水量有关。若胎动增加,羊水量多,胎儿活动范围增大,发生脐带缠绕的机率大;与产次有关。

经产妇腹壁松弛,胎头迟迟不衔接,胎儿有较大的活动范围,也易发生脐带缠绕;与脐带华通胶(wharton jelly)含量有关。胶质含量多者,脐带缠绕发生率低;与孕龄有关。Larson等^[1]对13895名单胎妊娠妇女的资料进行了分析,结果显示,脐带缠绕的发生率(其中包括缠绕1圈及多圈)由孕20周时的5.8%明显地增加到孕42周时的29.0%;与胎方位有关。据报道,头位分娩胎儿脐带缠绕发生率为19.0%,臀位为12.1%,横位为5.1%;与人种和性别有关。Janet^[2]对8565例分娩资料进行统计发现,白种人发生多圈脐带缠绕的机率大,为63.2%,黑种人的发生率低。男性胎儿脐带缠绕的发生率高,占54.6%;与胎盘的位置有关。Collins等人对400例脐带缠绕胎儿的胎盘附着位置进行统计发现,后壁胎盘脐带缠绕发生率为62.5%,前壁胎盘为25%;与脐带圈卷指数有关。脐带圈卷指数(umbilical coiling index)是指用脐带血管螺旋卷曲的圈数(卷曲360°为1圈)除以脐带长度所得的比值(coil/cm)。Strong^[3]报道,脐带血管的卷绕密度和脐带缠绕之间存在一定的关系。脐带缠绕胎儿的脐带卷圈指数(0.18±0.09 coils/cm),明显低于非脐带缠绕组(0.21±0.07 coils/cm)

收稿日期:2001-04-09

作者简介:丁霞(1974—),女,主治医师,硕士研究生,研究方向围产优生。

($P < 0.01$)。脐带圈卷指数 0.10 coils/cm 的胎儿 42% 有脐带缠绕,而脐带圈卷指数 0.30 coils/cm 仅有 4.8% 有脐带绕颈 ($P = 0.007$)。研究者认为脐带圈卷指数高的脐带不易缠绕胎儿,即使发生缠绕,脐带也不易拉伸和受压。

2 临床表现及对母儿的影响

一般情况下,脐带之安全长度须超过从胎盘附着处达母体外阴的距离。若胎盘附着于子宫底部,则脐带之安全长度至少应达 32 厘米。脐带缠绕使可移动部分之脐带变短,在分娩前往往无临床征象,但临产后常出现异常情况。影响胎先露衔接和下降,脐带缠绕时,由于可移动部分脐带变短,使胎先露高浮,先露部迟迟不能入盆,跨耻征阳性,并常发生胎膜早破。有的虽可入盆,但不能正常下降,致产程延长或停滞,须行剖宫产或阴道助产以结束分娩;引起胎儿窘迫甚至宫内死亡。脐带缠绕较松时对胎儿影响较小,若缠绕圈数过多脐带受压或临产后胎儿下降脐带被牵拉过紧,使胎儿血循环受阻、颈静脉受压,导致胎儿缺血缺氧,引起宫内窘迫,甚至宫内死亡。据报道,由于脐带缠绕导致的围生儿死亡率为 9.78%;其他。分娩时若产力过强,迫使胎儿下降,脐带过度牵拉,可发生脐带断裂出血,引起胎儿死亡。也可造成胎盘早剥、羊水栓塞、子宫内翻或胎儿脐疝等严重并发症。

也有报道脐带缠绕可引起胎儿宫内生长迟缓 (intrauterine growth retardation, IUGR),可导致新生儿贫血、新生儿球结膜下出血 (subconjunctival hemorrhage, SCHN)、儿童内分泌疾病如脑垂体生长激素缺乏、脑瘫、肺出血^[4]。脐带缠绕胎儿在子宫收缩时,脑血流量明显增加;分娩时可引起腋窝下动脉痉挛,导致臂部局部缺血。较紧脐带缠绕 (tightly cord-entangled, TCE) 可产生脂质过氧化反应 (LPO) 活跃,其 LPO 反应产物丙二醛和有机过氧化物浓度增高^[5]。

3 辅助诊断

3.1 超声多普勒腹部听诊

首先确定胎头位置,然后沿胎儿颈部搜索脐带血流多普勒讯号,如为连续单高音,似吹哨,频率与胎心一致,且音响沿胎儿颈部呈线状分布,则提示脐带绕颈,若无此音响,提示无脐带绕颈。用超声多普勒行脐带绕颈定位检查,其符合率为 91.07%。

3.2 B 型超声诊断^[6]

其符合率不尽相同,有报道其符合率高达 98.5%,但一般诊断符合率为 75%~80%,假阳性发生率较高。脐带绕颈诊断的准确性与检查距分娩时间的长短有关,检查越接近分娩,诊断准确性越高。脐带绕颈的声像图特征为当探头在胎儿颈部后方进行纵断扫查,观察颈部软组织时,如发现有“U”字形压迹,为脐带绕颈一周,有“W”形压迹为脐带绕颈二周,“VVV”形为脐带绕颈三周或三周以上。于压迹处见脐带断面呈数个等号“=”样光带或麻花样强回声,称为“云梯征”,为脐血管之横断面。探头在胎儿颈部横向扫查,可显示胎儿脐带长轴切面,经胎儿颈部向左右两侧延伸的、平行的、间断或连续的血管壁反射光条或光带,称为“双轨征”。这是诊断脐带绕颈的关键。据报道有学者通过测量胎儿颈部皮肤脐带压迹深度来预测脐带缠绕的松紧。若羊水过少脐带周围无透声窗,脐带过长飘浮于胎儿的颈侧部,都易造成假阳性。应将临床检查、胎儿监护与 B 超三者综合判断,以提高诊断准确率。

3.3 彩色多普勒超声

较 B 型超声简便而准确。彩色多普勒超声有血流频谱显示,可通过各项指标预测胎儿预后,较 B 型超声更有临床价值,已广泛应用于临床。彩色多普勒血流显像 (colour doppler flow imaging, CDFI) 近几年才应用于脐带绕颈的诊断^[7]。

3.4 胎儿监护仪

监测胎心率与胎动或宫缩后胎心率的变化,当宫缩应激试验 (contraction stress test, CST) 或催产素激惹试验 (OCT) 出现胎心率变异性减速 (VD),提示为脐带因素而引起的胎儿窘迫。

3.5 胎儿心电图

对早期诊断和处理脐带缠绕有重要的临床意义。胎儿心电图 (fetal electrocardiogram, FECG) 可在不同孕期多次测定,特别在围产期, FECG 的变化先于胎心率改变,比胎心监护更有临床意义。

3.6 纤维胆管镜

Petrikovsky 介绍,对产程中胎膜已破的孕妇用 Olympus 纤维胆管镜在直视下经宫颈管插入羊膜腔进行检查,可直接观察胎儿脐带情况,能准确地确定脐带病理的性质和类型,检查方法安全,母儿均未发生并发症。

4 处理

对脐带缠绕的处理以有无胎儿窘迫而定。对妊娠晚期可疑或高度可疑脐带缠绕者,应密切注意胎儿宫内情况,尤以胎动及胎心变化为重要,孕妇应作好胎动计数,每周一次无应激试验 (non stress test, NST) 试验或 B 超检查,或生物物理象评分 (fetal biophysical profile scoring, BPS)。由于被脐带缠绕的胎儿在妊娠期极少发生危险,故不必急于结束分娩。及早发现由脐带缠绕引起的各种胎儿危象是处理的关键。对可疑和确诊病例,临产后密切观察产程及先露下降情况,动态监测 FECG、胎心率 (fetal heart rate, FHR)、血流速度波形 FVWs 等变化,若出现异常,经改变体位、给氧等措施而不见好转者,应尽快结束分娩。对臀位合并脐带缠绕者,应放宽剖宫产指征^[8]。

参考文献:

- [1] Larson JD. Nuchal cord entanglements and gestational age [J]. Am J Perinatol, 1997, 14(9): 555 - 557.
- [2] Janet D. Tight nuchal cord morbidity and mortality [J]. Am J Obstet Gynecol, 1999, 180(1 Pt 1): 251.
- [3] Strong TH. Umbilical vascular coiling and nuchal entanglement [J]. J Matern Fetal Med, 1996, 5(6): 359 - 361.
- [4] Collins JH. Tight nuchal cord morbidity and mortality [J]. Am J Obstet Gynecol, 1999, 180(1 Pt 1): 251.
- [5] Osak R. Nuchal cord evident at birth impacts on fetal size relative to that of the placenta [J]. Early Hum Dev, 1997, 49(3): 193 - 202.
- [6] Wang CC. Lipid peroxidation in cord blood: the effects of umbilical nuchal cord [J]. Br J Obstet Gynaecol, 1997, 104(2): 251 - 255.
- [7] Sherer DM. Prenatal ultrasonographic morphologic assessment of the umbilical cord: a review [J]. Obstet Gynecol Surv, 1997, 52(8): 506 - 523.
- [8] Itakura A. Nuchal cord position in breech presentation [J]. J Matern Fetal Med, 2000, 9(2): 153 - 154.

新斯的明和分娩镇痛

重庆医科大学附属一院麻醉科(400016) 李晓霞 李秀英综述
西安交通大学第一医院(71006) 安瑞芳审校

摘要 :长期以来,人们一直在探索无痛分娩的理想药物和最适技术。随着妊娠和分娩疼痛机制的进一步阐明,新斯的明能否用于分娩镇痛逐渐引起了人们的关注。从动物实验到临床术后镇痛,再到分娩镇痛,走了很长一段路,但同时也积累了宝贵的资料和经验,为新斯的明最终能否应用于分娩镇痛奠定了基础。

关键词 新斯的明;镇痛/产科

中图分类号:R714.3 文献标识码:A 文章编号:1008-2514(2002)04-0160-02

分娩镇痛迄今已有 100 余年的历史。产科镇痛必须兼顾母体、胎儿、新生儿的安全。理想的分娩镇痛方法和药物应具备以下条件:效果确切,不影响宫缩,不影响胎儿,镇痛药物对母婴均无毒性反应,产妇清醒合作。人们为此进行了长期的研究和探索,到目前为止尚未找到一种药物符合以上全部条件,各种给药方式和药物都或多或少地有这样或那样的不足之处。新斯的明为胆碱酯酶抑制剂,经过大量的动物毒理实验证明硬膜外腔注入确有镇痛作用,被选作分娩镇痛的研究药物之一。

1 新斯的明和分娩疼痛

人们在关于妊娠和分娩痛调节中的阿片肽机制研究中,认为脊髓内源性 及 阿片受体系统激活是妊娠和分娩痛所必需的,且二者之间有明显的协调镇痛作用,而在基础条件下起主要作用的 μ 阿片受体镇痛系统似乎不参与妊娠镇痛,因而妊娠和分娩时应慎用 μ 受体类镇痛药如吗啡,否则,不仅达不到镇痛目的,反而增加成瘾、呼吸抑制等副作用。在尚未研制出高特异的针对 及 阿片受体的药物时,研究新斯的明在无痛分娩中的应用更具有重大意义。新斯的明为抗胆碱酯酶药,它能可逆地抑制胆碱酯酶,表现乙酰胆碱的 M 和 N 样作用,还能直接激动骨骼肌运动终板上的 N_2 胆碱受体以及促进运动神经末梢释放乙酰胆碱。临床主要应用于重症肌无力、腹胀气、尿潴留、阵发性室上性心动过速、肌松弛药过量中毒。近年来,有研究证实脊髓背侧的非阿片受体——毒蕈碱受体(即 M 型受体)同阿片受体一样能够抑制疼痛信号的传导^[1]。研究还发现椎管内注入胆碱能激动药可使动物呈现出行为性痛觉缺如,毒蕈碱拮抗药可抑制乙酰胆碱和合成的胆碱能激动药物的镇痛作用,提示毒蕈碱受体参与了镇痛作用。

2 新斯的明镇痛的有关实验

2.1 有关动物实验

Yaksh 等在已积累的资料上了解到:通过脊髓运输的胆碱酯酶抑制剂新斯的明能对大鼠产生镇痛作用,同时能增加实验羊 λ_2 激动剂的镇痛效应,设计了在大鼠和狗的鞘内长期应用新斯的明进行安全性研究的实验。实验结果证明:对于大鼠,新斯的明产生了剂量依赖性的热板试验,潜伏时间延长,伴有轻微震颤。在给药的导管周围,病理切片揭示有轻微的纤维变性以及急、慢性的混合炎性反应,给药组和给生理盐水组无显著性差异;虽然新斯的明对狗的血压无影响,但是产生

了心动过缓和肌张力增高。在鼠和狗,当新斯的明浓度为 1mg/mL 时,以及在狗当剂量增至 4mg/mL 时,没有发现由于药物所致的脊髓组织受损的毒理学证据。在这两个物种之间,新斯的明没有表现出毒理学的显著性差异,为其应用于人类提供了有力的证据。同时,还有新斯的明和可乐定用于羊的鞘内未发现神经毒性的报道。

2.2 有关临床试验

经过大量可靠的动物毒理实验,确认其有效的镇痛作用后,新斯的明被应用于临床疼痛治疗的研究。

Klant 等^[2]进行了鞘内单用小剂量重比重新斯的明(50ug 用 8% 葡萄糖水配制)或与吗啡联用于腰麻病人的镇痛效应与副作用的观察。此外,人们在膝关节术后镇痛、臂丛神经阻滞的手术后镇痛也进行了相应的观察和研究^[3~5],并将新斯的明的镇痛效应和氯安酮进行了比较。各实验组表现出不同程度的镇痛效应。其主要副作用是恶心、呕吐,其它副作用包括焦虑、嗜睡。大多数接受新斯的明与吗啡联用的病人表现为更严重的恶心、呕吐、嗜睡。基于此,Tan 等^[6]经过研究认为联用地塞米松能较有效地消除新斯的明所致的恶心、呕吐等副作用。

Mercadante^[7]还将新斯的明和可乐定作为辅助用药,与吗啡和布比卡因一起应用于癌症病人的疼痛管理,将药物注于硬膜外或鞘内,取得了较好的效果。Lauretti^[8]应用小剂量的硬膜外氯安酮或新斯的明(不用咪达坐仑)提高了晚期癌痛病人硬膜外吗啡的镇痛效果。但仍然存在问题尚未解决,如感染、家庭应用的推广、适应症等。

Chung 等^[9]将 79 例剖宫产病人随机分为四组,使用不同剂量的新斯的明鞘内镇痛。结果表明:鞘内应用新斯的明 25ug 与吗啡 100ug 所产生的镇痛效应相似,但是恶心、呕吐发生率较高。同时,Pan 等^[10]对剖宫产病人术后镇痛鞘内应用新斯的明和可乐定的效能和安全性进行了评估,证明可乐定 150ug 和新斯的明 50ug 联用比单用任一药物的术后镇痛效果均好,但是,运动阻滞、恶心、呕吐等副作用也更明显,建议降低剂量后重新实验。Krukowski 等^[11]选择了 24 名健康、足月妊娠,拟行剖宫产的病例,采用腰麻-硬膜外联合麻醉技术进行了鞘内应用新斯的明的安全性研究。结果新斯的明未影响胎心率和新生儿 Apgar 评分,与对照组相比减少了吗啡的用量,并能达到相似的镇痛效应。实验数据表明:剖宫产病人鞘

内注射新斯的明能产生 10 小时的镇痛效应,且对胎儿无不良影响,支持作进一步的前瞻性研究。

经过以上许多临床试验后,人们逐渐开始将新斯的明应用于无痛分娩的临床研究。Kenneth 等^[12]选择了 106 例健康、足月妊娠的孕妇,分为四个阶段研究鞘内应用新斯的明和芬太尼对分娩早期的镇痛效应。结果是鞘内单用 10 μ g 的新斯的明无镇痛效应和副作用,但是能使鞘内芬太尼的半数有效量(mean effective dose, ED₅₀)降低大约 25%,同时使芬太尼的量-效曲线左移,所产生的镇痛效应和副作用均相似。Medge^[13]等则应用小剂量的可乐定和新斯的明与布比卡因和芬太尼鞘内注射进行分娩镇痛,试验结果表明加入新斯的明和可乐定比仅用布比卡因和芬太尼的镇痛时间明显延长。之后 D' Angelo^[14]应用新斯的明联合布比卡因、可乐定和芬太尼脊麻分娩镇痛,也取得了较肯定的镇痛效果。共同存在的问题是加入新斯的明组恶心发生率增高,将其做为临床常规用药还需要做进一步的试验。

3 现状和展望

新斯的明从传统的临床用药到疼痛治疗,从一般的术后镇痛到分娩镇痛,是一个极为崭新的话题。文献提示,将新斯的明作为疼痛治疗研究的药物的最早报道大约是在 20 世纪 90 年代,而将新斯的明应用于无痛分娩的研究也就是近一、两年的时间,目前,处于试验和探索阶段,尚存在一些问题需进一步研究。

如新斯的明能引起恶心、呕吐、运动无力,多发生于剂量超过 100 μ g 时。Medge 等^[13]的研究表明:鞘内使用新斯的明的产妇有 40% 发生轻度的下肢无力(能屈膝,但不能抬腿),使用布比卡因和芬太尼的对照组为 7%,尽管二者无显著性差异,但可能与临床相关并干扰产妇的自由行走。如何降低其副反应,发挥最佳的镇痛作用,既如何解决应用的安全性与有效性问题,只有这个问题解决了,新斯的明在疼痛治疗以及分娩镇痛的应用才能得到认可和推广。

人们希望通过多种药物的联用(如局麻药+阿片类药物+新斯的明+可乐定,或者局麻药+非阿片类药物+新斯的明+东莨菪碱),作用于疼痛的各个环节,降低各种药物的用量,从而能增强镇痛效应和减少不良发应的发生率。近来,还有人将氟哌利多也应用于硬膜外镇痛,据报道能有效地对抗恶心、呕吐等不良反应,其可能是由于氟哌利多直接对脊髓和脊髓上(化学触发区、呕吐中枢)的多巴胺、5-羟色胺和肾上腺能通路的作用所致。能否将氟哌利多与新斯的明联用于镇痛以克服后者的恶心、呕吐等不良反应呢?其次,东莨菪碱作为胆碱能受体拮抗剂,对抗新斯的明的副反应具有特异性,也是一条研究的思路。有人在使用新斯的明鞘内镇痛时,还同时使用经皮硝酸甘油贴剂,结果使镇痛效果增强^[15]。

另外,人们在给药途径上也进行了探索,如从单纯的硬膜外间断给药到用镇痛泵持续给药,腰麻-硬膜外联合用药,目的均是为了用最少的药物达到最佳的效果。新斯的明从临床小范围的试验到推广使用,尤其是用于分娩镇痛,尚有待于继续研究。

参考文献:

[1] Gabriela R, Marlene P, William A, *et al*. Dose-response study of intrathecal morphine versus intrathecal neostigmine, their combination or placebo for postoperative analgesia in patients undergoing anterior and posterior vaginoplasty[J]. *Anesth Analg*, 1996,

82:1182.

- [2] Klamt JG, Garcia LV, Prado WA. Analgesic and adverse effects of a low dose of intrathecally administered hyperbaric neostigmine alone or combined with morphine in patients submitted to spinal anaesthesia: pilot studies[J]. *Anaesthesia*, 1999, 54(1):27-31.
- [3] Gentili M, Enel D, Szyskiewicz O, *et al*. Postoperative analgesia by intraarticular clonidine and neostigmine in patients undergoing knee arthroscopy[J]. *Reg Anesth Pain Med*, 2001, 26(4):342-347.
- [4] Tan PH, Chia YY, Lo Y, *et al*. Intrathecal bupivacaine with morphine or neostigmine for postoperative analgesia after total knee replacement surgery[J]. *Can J Anaesth*, 2001, 48(6):551-556.
- [5] Van Elstraete AC, Pastureau F, Lebrun T, *et al*. Neostigmine added to lidocaine axillary plexus block for postoperative analgesia[J]. *Eur J Anaesthesiol*, 2001, 18(4):257-260.
- [6] Tan PH, Liu K, Peng CH, *et al*. The effect of dexamethasone on postoperative pain and emesis after intrathecal neostigmine[J]. *Anesth Analg*, 2001, 92(1):228-232.
- [7] Mercadante S. Neuraxial techniques for cancer pain: an opinion about unresolved therapeutic dilemmas[J]. *Reg Anesth Pain Med*, 1999, 24(1):74-83.
- [8] Lauretti GR, Gomes JM, Reis MP, *et al*. Low doses of epidural ketamine or neostigmine, but not midazolam, improve morphine analgesia in epidural terminal cancer pain therapy[J]. *J Clin Anesth*, 1999, 11(8):663-668.
- [9] Chung CJ, Kim JS, Park HS, *et al*. The efficacy of intrathecal neostigmine, intrathecal morphine, and their combination for post-cesarean section analgesia[J]. *Anesth Analg*, 1998, 87(2):341-346.
- [10] Pan PM, Huang CT, Wei TT, *et al*. Enhancement of analgesic effect of intrathecal neostigmine and clonidine on bupivacaine spinal anesthesia[J]. *Reg Anesth Pain Med*, 1998, 23(1):49-56.
- [11] Krukowski JA, Hood DD, Eisenach JC, *et al*. Intrathecal neostigmine for post-cesarean section analgesia: dose response[J]. *Anesth Analg*, 1997, 84(6):1269-1275.
- [12] Kenneth EN, Robert DA, Michael LF, *et al*. Intrathecal neostigmine and sufentanil for early labor analgesia[J]. *Anesthesiology*, 1999, 91(5):1293-1298.
- [13] Medge DO, Ozer O, Sükran S, *et al*. Low-dose clonidine and neostigmine prolong the duration of intrathecal bupivacaine-fentanyl for labor analgesia[J]. *Anesthesiology*, 2000, 92(2):361-366.
- [14] D' Angelo R, Dean LS, Meister GC, *et al*. Neostigmine combined with bupivacaine, clonidine, and sufentanil for spinal labor analgesia[J]. *Anesth Analg*, 2001, 93(6):1560-1564.
- [15] Lauretti GR, Oliveira AP, Juliao MC, *et al*. Transdermal nitroglycerine enhances spinal neostigmine postoperative analgesia following gynecological surgery[J]. *Anesthesiology*, 2000, 93(4):943-946.

避孕套可得性与青少年生殖健康

复旦大学公共卫生学院(200032) 梁 霁综述 钱 序审校

摘要 :对于青少年 ,我们首先应将禁欲作为预防性病和非意愿妊娠的主要方法 ,但同时也要让他们接受避孕防病知识的教育。避孕套是一种适合青少年避免非意愿妊娠和预防青少年性病/艾滋病的有效方法 ,但目前有很多因素阻碍了青少年获取避孕套 ,为减少青少年获得避孕套的障碍和限制 ,国外在高中开展了避孕套可得性项目。虽然曾招致很多争论 ,但是 ,大部分研究表明该项目较为成功 ,研究显示 ,高中的避孕套推广项目并没有使青少年性活动增加 ,却能提高有性行为学生的避孕套使用率 ,是一种防止感染青少年性病/艾滋病及避免非意愿妊娠的有效方法 ,因此开展校内避孕套可得性项目是值得借鉴的。

关键词 青少年 ;生殖健康 避孕套 ;可得性

中图分类号 :R167 ;R169.41 文献标识码 :A 文章编号 :1008 2514(2002)04 0162 03

当前 ,少女妊娠和青少年性病/艾滋病(STDs/AIDS)的流行已经逐渐成为一个全球性的问题 ,根据美国疾病控制中心(CDC)的报告 ,在美国 ,年龄 18 岁的青少年中有 60.9% 报告有过性行为 ,另外 ,38.0% 未结婚的青少年在 15 岁时就有过性经历。许多青少年承认自己在高中时 ,就已经有 4 名及以上的性伙伴。青少年中如此高的未保护的性行为比例 ,主要造成两个健康问题 ,首先是 STDs 的高发病率 ,仅美国每年就有 3 百万青少年感染性病^[1] ,占全美 STDs 新发病例(1 千 2 百万)的 25%^[2]。另外 ,还有少女妊娠。在过去 10 年中 ,美国每年都有一百万少女(占 15~19 岁女孩的 12%)怀孕^[1]。

1 避孕套对于预防 STDs/HIV 和避免非意愿妊娠的作用

禁欲对于青少年避免感染 STDs 和意外妊娠来说是最有效的 ,但是对于处于性活跃期的青少年 ,要他们完全不发生性行为 ,是不可能的。因此 ,在提倡青少年禁欲的同时 ,也应当提倡在发生性行为时使用乳胶避孕套 ,因为它对于保护青少年 ,使其不感染 STDs 并避免意外妊娠是非常有效的。

目前 ,实验室研究已经证实 :乳胶避孕套对于预防单纯疱疹病毒、乙型肝炎病毒、沙眼衣原体、巨细胞病毒和人类免疫缺陷病毒(HIV)感染是有效的。临床的证据也表明避孕套可以降低妇女感染单纯疱疹病毒、淋病、滴虫的危险性 ,并减少衣原体、HIV 和人类乳头瘤病毒的感染。避孕套对于避免非意愿妊娠也是比较有效的 ,对于避孕套避孕效果的报道 ,各家不尽一致 ,Vessey 等调查的 12 492 妇女年中 ,避孕套失败率为 3.6% ,而一项比较各种避孕方法有效性的研究表明 ,使用避孕套的女性 ,在使用避孕套最初的 12 个月里 ,避孕失败率为 14.7% ,比口服避孕药(8.1%)要高 ,但低于单独使用安全期、体外射精、杀精剂的妇女 ,其避孕失败率分别为 25.3%、27.1% 和 29.0%^[3]。

导致避孕套功能失效的原因主要是破裂以及滑脱 ,Cook 等^[4] 的调查中乳胶避孕套的破裂率为 0.9% ,而聚氨酯避孕套的破裂率偏高 ,为 5.6% ;美国 CDC 的研究显示 ,乳胶避孕套破裂率小于 2%^[2]。Messiah 等^[5] 的研究中 ,避孕套的滑脱率为 1.1%。因此 ,使用乳胶避孕套是目前相对有效和可靠

的避孕方法。当然 ,以上这些研究中避孕套失败的原因并不完全取决于避孕套的质量 ,其破裂或滑脱与使用者的经验有关 ,主要归咎于不正确的使用和不能坚持使用 ,而不完全是制作上的缺陷或是破裂 ,包括使用油质的润滑剂 ,被指甲刮破甚至重复使用等 ,并且避孕效果与使用者本身的情况有关。1988 年全美国的调查显示 ,避孕方法的失败与使用者本人的特点有关 ,如教育程度、收入、婚姻状况、年龄等 ,这些特点对避孕方法有效性的影响甚至超过了避孕方法本身^[3]。对于青少年 ,由于其本身性知识和避孕知识的不足 ,因此失败的可能性还要更高一些。

目前 ,青少年中的避孕套使用正逐年增加。根据美国 CDC 的报告 ,美国 15~19 岁组男青年中 ,报告末次性交中使用避孕套的比例 1991 年为 54.5% ,到了 1997 年则增加到 62.5% ,而同年龄组女青年报告其性伴侣使用避孕套的比例也从 38.0% (1991 年)增加到 50.8% (1997 年)^[1,6]。但在使用避孕套时 ,青少年往往不能正确、有效和坚持使用避孕套。所谓坚持使用避孕套 ,是指必须在每次发生性行为时 ,都使用避孕套 ;正确使用则指要使用没有损坏的 ,未过期的避孕套 ,并使用水质润滑剂 ,同时还包括要正确地戴上和去除避孕套等 ,因此 ,青少年必须得到避孕套使用方面的指导 ,才能更好的发挥避孕套的作用。

总的来说 ,对于青少年来说 ,避孕套的优点在于 : 它有很好的避孕效果 ; 可减少感染 STDs 的危险 ; 不需要处方即可获取 ; 副反应较小 ; 可鼓励男性青少年承担避孕和预防 STDs 的责任。因此 ,避孕套是青少年避免感染 STDs/HIV 以及避免非意愿妊娠的良好选择。

2 青少年获取避孕套的影响因素

虽然避孕套对于青少年的性安全非常重要 ,但是在青少年获取和使用避孕套时 ,仍然会遇到许多困难和障碍。这里有青少年本身的因素 ,如 : 由于在获取避孕套时不能保密 ,因此青少年会感觉到隐私权受到侵犯 ; 青春期和未婚年轻人缺乏性面对的心理准备 ,在购买避孕套时 ,会感觉尴尬和困窘 ,他们也羞于从社区或医疗机构中的计划生育服务网络获取避孕药具 ; 青少年难以或不愿承担购买避孕套的费用 ;

青少年自我保护意识不足,往往认为自己意外妊娠或感染 STDs/HIV 的机会较低而忽视使用防护措施。

也有环境的因素,如避孕套的可及性不好、交通上不够便捷等,1996年,在华盛顿特区药店和便利店内进行的计划生育方法可及性研究发现:在83%的便利店以及15%的药店里,避孕套是放在柜台下的;只有33%的店清楚的标明了避孕套摆放的地点;另外在27%的情况下,青春期少女在要求购买避孕套时,受到来自店员的反对和责备,相对应10%的男孩有类似遭遇^[7]。

还有一些影响因素则来自父母的意识,有些父母反对子女接触避孕套,认为这样会对他们的子女产生不好的影响。因此,青少年要获得避孕套,受到了各种因素的制约,这对于降低青少年中 STDs/HIV 的发病以及减少意外妊娠的发生是非常不利的。

3 目前校内避孕套可得性项目的开展情况

为了给青春期的年轻人获取和使用避孕套提供便利,减少青少年获得避孕套的障碍和限制,一些国家开展了避孕套可得性项目(school based condom availability program),项目的组织者认为,虽然理论上年轻人在获得避孕套的同时应接受相关知识宣教,但是,实际上也应当在不需要教育的情况下,让年轻人更容易的获取避孕套。避孕套不仅可以通过家庭、医疗机构和商业渠道获取,也可以通过适当和经验丰富的人员获取,并尽可能免费获取,获得的地点应选择在青少年聚集的场所,如学校、青少年俱乐部以及为青少年服务的机构等^[8]。而目前,在校园内开展的避孕套可得性项目较为多见,因为在校园内比较容易组织和实施各项活动,同时,也便于将避孕套可得性项目和预防 STDs/HIV、避免非意愿妊娠的健康教育项目结合起来,从而产生更好的效果。发达国家高中的避孕套可得性项目开始于80年代,在发展中国家则是90年代早期。这些项目的宗旨是提高学生中的避孕套使用率,减少感染 STDs/HIV 的危险性并且预防非意愿妊娠。

在开展避孕套可得性项目的学校中,避孕套可通过多种渠道获取,可以是学校老师、校医咨询分发,也可以通过放置在学校卫生室的“避孕套篮”,以及通过使用避孕套自动售货机等^[9,10]。1995年,Douglas等^[11]研究了美国431所开展避孕套可得性项目的学校,其避孕套获取的渠道包括了学校护士,占54%;老师,占52%;健康咨询人员,占47%;其他卫生服务人员,占29%;校长,占27%;其他学校职工,占13%;避孕套篮子,占5%;自动售货机,占3%;同学,占2%(在那些开展同伴教育项目的学校,接受同伴教育培训的学生可以获取并分发避孕套);其中81%的学校,在允许学生获取避孕套之前需要得到其父母某种形式的同意。71%的学校除了父母书面要求不能获取避孕套的学生,其余所有学生均可获取避孕套。而在10%的学校则必须得到父母允许其子女获取避孕套的书面许可,学生才可以获取避孕套。开展避孕套可得性项目的学校,通常使用多种途径方便学生获取避孕套,只有7%的学校将老师或是咨询者作为避孕套的唯一来源,13%的学校将学校护士作为唯一的提供者,1%的学校将避孕套自动售货机作为唯一可获取避孕套的途径;而23%的学校则不仅通过教育者(校长、老师和咨询人员),同时还通过卫生保健人员(护士和其他卫生工作者)为学生提供避孕套。除了让学生获取避孕套外,这些学校还重视对于避孕套相关知识的宣教,大

部分的学校同时开展了预防性病/爱滋病和避免非意愿妊娠的健康教育项目,98%实施避孕套可得性项目的学校里,学生可以得到相关的咨询,在49%的学校,咨询的同时发放避孕套。咨询的内容包括有关禁欲的教育,正确保存和使用避孕套的介绍,在一些学校中还提供正确使用避孕套的示范。

4 校内避孕套可得性项目已经成功开展,但是争论依然存在

在高中开展避孕套可得性项目后,引起了很多争议,Hartigan^[12]认为为避免怀孕和感染 HIV 而给青少年提供避孕套是一种灾难,因为青少年过于冲动,也不能正确的使用避孕套。在旧金山 Balboa 高中的一个推广避孕套使用的项目中,学生在性行为中使用避孕套的比率成倍增长,但同时也导致学校中受孕的比率上升了25%^[12]。但是,大部分研究表明以学校为基础的避孕套可得性项目是成功的,它为有性行为的青少年提供了避孕方法,是一种防止感染 STDs/HIV 及非意愿妊娠的有效方法。Schuster等^[13]使用自填式匿名调查,在洛杉矶的高中生中调查了1945名9~12年级学生的性行为及相关的知识和态度,一年后,有1110名学生完成随访。结果显示,比较研究开展前后,在男性和女性性交的比率上,并没有发生显著性改变。报告在每次性交时都使用避孕套的男性的比率有显著性上升,从37%上升到50%,报告第一次性交即使用避孕套的男生比率则由65%上升至80%。在纽约市高中,已经开展了避孕套可得性项目,而情况类似的芝加哥则没有,因此Guttman等^[9]比较了两座城市公立高中性行为的发生率以及避孕套的使用率情况。在这次横断面调查中,对象来自12个随机选择的纽约学校7119名学生和来自10个芝加哥学校的5738名学生,结果显示,避孕套可得性项目可影响避孕套的使用率,学生报告在最近的一次性行为中使用避孕套的比率,纽约要高于芝加哥(60.8%和55.5%,统计学上有显著性),但并未增加性行为的发生率,两市高中生性行为的比率是一致的(纽约市为59.7%,芝加哥为60.1%)。在路易斯安娜实施的一项自1993年到1996年的避孕套社会营销项目中,Cohen等^[14]发现性伴数目在研究的过程中并没有增加。所以,校内避孕套可得性项目并不会促进青少年性活动的增加。

5 公众对校内避孕套可得性项目的支持情况

虽然对于校园内避孕套可得性项目存在一些争议,但很多争议是意识上的,并没有十足的证据,如一些人担心该项目会造成年轻人更早、更多的尝试性行为,目前看来,这种可能性很小,青少年是否发生性行为,更多的与所受到的教育和社会大环境有关,与是否便利的获得避孕套,并没有太大的关系,随着项目的开展,越来越多的人开始支持该项目,1993年纽约对公立高中学生家长的调查表明,67%的家长认为学生在学校应当可以方便的获得避孕套^[9];1992年Gallup^[8]的调查也有68%的成年人认为在学校中应当可以获取避孕套;1995年对丹佛高中学生的调查中,85%的学生赞成在自己的学校中可以获取避孕套^[15]。只要正确的开展避孕套可得性项目,并合理衡量项目的利弊,公众是可以予以支持和认同的。

6 小结

对于青少年,我们首先应当强调传统道德,即青少年应当禁欲,不应当有性行为,并将其作为预防青少年性病和避免非

意愿妊娠的主要方法,但对于作为性活跃人群的青少年,同样也要接受合理、有效使用避孕套的教育,同时在外围环境上使避孕套可得,这样才能切实保证青少年的生殖健康和身心健康的正常发展。因此,乳胶避孕套应当在学校中可以获取,当然,在允许青少年自由获取避孕套的同时,也要注意对他们的引导,给予他们正确的观念和自我保护的知识,这对于校园内的避孕套可得性项目的成功是必不可少的。

参考文献:

- [1] Centers for Disease Control. Trends in sexual risk behaviors among high school students united states, 1991 - 1997 [R]. MMWR, 1998, 47(36) 749 - 752.
- [2] Centers for Disease Control and Prevention. Facts about condoms and their use in preventing HIV infection and other STDs [R]. CDC HIV/AIDS Prevention, 1996, 1 - 3.
- [3] Haishan F, Jacqueline ED, Taylor H, *et al*. Contraceptive failure rates: new estimates from the 1995 national survey of family growth [J]. Fam Plann Perspect, 1999, 31(2) 56 - 63.
- [4] Cook L, Nanda K, Taylor D. Randomized crossover trial comparing the ez on plastic condom and a latex condom [J]. Contraception, 2001, 63(1) 25 - 31.
- [5] Messiah A, Dart T, Spencer BE, *et al*. Condom breakage and slippage during heterosexual intercourse: a French national survey [J]. Am J Public Health, 1997, 87(3) 421 - 424.
- [6] Piccinino LJ, Mosher WD. Trends in contraceptive use in the united states: 1982 - 1995 [J]. Fam Plann Perspect, 1998, 30(1) 4 - 10 & 46.

- [7] Advocates For Youth. 1996 update of teens' survey of stores in the district of colombia on accessibility of family planning methods [R]. Washington, DC: Advocates, 1996 2 - 3.
- [8] American College of Obstetricians and Gynecologists. Condom availability for adolescents [J]. J Adolesc Health, 1996, 18: 380 - 383.
- [9] Guttmacher S, Lieberman L, Ward D, *et al*. Condom availability in New York city public high schools: relationships to condom use and sexual behavior [J]. Am J Public Health, 1997, 87: 1427 - 1433.
- [10] Kirby D, Brener ND, Brown NL, *et al*. The impact of condom availability in seattle schools on sexual behavior and condom use [J]. Am J Public Health, 1999, 89(2) 182 - 187.
- [11] Kirby DB, Brown NL. Condom availability programs in U.S. schools [J]. Fam Plann Perspect, 1996, 28: 196 - 202.
- [12] Hartigan JD. The disastrous results of condom distribution programs [J]. Ccl Family Foundations, 1999, 25(5) 22 - 23.
- [13] Schuster MA, Bell RM, Berry SH, *et al*. Impact of a high school condom availability program on sexual attitudes and behaviors [J]. Fam Plann Perspect, 1998, 30(2) 67 - 72 & 88.
- [14] Cohen DA, Farley TA, Bedimo EJR, *et al*. Implementation of condom social marketing in Louisiana, 1993 to 1996 [J]. Am J Public Health, 1999, 89(2) 204 - 208.
- [15] Farburg JT, Kaplan DW, Naylor KE. Student opinions of condom distribution at a Denver, Colorado high school [J]. J Sch Health, 1995, 65: 181 - 185.

激素替代疗法与妇科恶性肿瘤

吉林大学第二医院妇产科(130041) 张丽志综述 崔满华审校

摘要 激素替代疗法可明显缓解卵巢功能衰退所致的一系列症状,但其同时作用于女性生殖系统,与妇科恶性肿瘤发生相关。国内外文献就此报道的结果差异很大,本文就激素替代疗法与妇科恶性肿瘤的关系进行综述。

关键词 激素替代疗法;妇科恶性肿瘤

中图分类号:R737.3 文献标识码:A 文章编号:1008-2514(2002)04-0164-04

随着生活水平的提高,人口寿命明显延长,妇女一生中将有 1/4 ~ 1/3 时间要在卵巢功能衰退情况下渡过。卵巢功能衰退必然会带来相应的激素缺乏症状,越来越多的妇女开始采用激素替代疗法(hormone replacement therapy, HRT)缓解不适症状,提高生活质量。1935 年 Sevringhans 最早应用雌酮制剂治疗绝经期症状获得成功。五十年代认识到雌激素(estrogen, E)可治疗骨质疏松,六七十年代雌激素替代疗法(estrogen replacement therapy, ERT)很快普及,1966 年到 1975 年 E 用量逐年倍增,1975 年发现单一 E 应用可使子宫内膜癌增加,使 E 用量锐减,1981 年证实 ERT 中加入孕激素(progesterin P)可降低内膜异常发生率,此后 HRT 的应用稳定上升。但 HRT 与妇科

恶性肿瘤关系如何,文献报道的结果差异很大,甚至截然相反,现对诸多观点进行综述,以便更好指导临床。

1 HRT 与子宫内膜癌风险

子宫内膜组织具有 E、P 受体,对内源性及外源性 E、P 均可产生反应,在应用 HRT 控制卵巢功能衰退所致激素缺乏的不适症状同时,这些外源性激素又会作用于子宫内膜。Feely 等^[1]报道 20% 应用 HRT 女性一年后将出现子宫内膜增生过长,而约 1.6% ~ 25% 的子宫内膜增生过长可发展为子宫内膜腺癌。正常人群中子宫内膜癌发生率约为 0.6% ~ 1.2%, HRT 可使子宫内膜癌风险增高已得到公认,只是相对危险度各家报道不一。Ziel 等人的研究结果显示采用 HRT 者比未用

收稿日期:2002-01-11

张丽志(1975—),女,硕士研究生,研究方向为妇产科肿瘤学。

者内膜癌相对风险高 7.6 倍,并为后来 Paganini 等人观察 5 160 例,共随访 23 786 人年的队列研究结果所支持,即 HRT 组的内膜癌较未用组相对危险度为 10.0。1978 年 Hoogland 等人的研究结果示 HRT 应用组内膜癌发风险较未用组高 2.2 倍。1995 年 Deborah 等对 37 篇研究资料进行总结,结果显示 HRT 应用组较未用组内膜癌相对危险度为 2.3(95% 可信限为 2.1~2.5)。HRT 致内膜癌的风险率差异之大,除与研究方法、选择对象有关外,亦与 HRT 的药物剂量、用药时间、用药方案有关。

Louiser 等采用病例对照分析 307 例内膜癌患者及 207 例对照者得出结论:用低剂量 E 内膜癌风险增加 1.9 倍,而高剂量 E 内膜癌风险增加 3.37 倍,且许多研究结果均显示内膜癌与激素剂量呈正相关。内膜癌发病风险与 E 应用总量有关,即激素用量越大,与子宫内膜受体结合越多,对子宫内膜影响越大。高剂量 E 必然导致更为严重的子宫内膜病变,包括腺囊型及腺瘤型子宫内膜增生过长,甚至出现息肉及不典型增生。Hewrik 等观察腺癌附近存在内膜增生,支持内膜癌由子宫内膜增生过长尤其腺瘤样增生过长发展而来的观点。有学者报道吸烟有抗 E 作用,吸烟者内源性 E 分泌较低,用 HRT 时其血中 E 浓度较低,认为吸烟对内膜癌存在保护作用;而另一部分学者则认为吸烟可使子宫内膜癌风险增加,认为吸烟者外源性 E 作用增强。虽然吸烟对 HRT 致内膜癌作用的结果不一致,但这些分析均以吸烟对血激素浓度和激素作用为基础,证明血中激素含量确实影响内膜癌风险。

关于激素作用时间与子宫内膜癌关系的报道很多。E 应用 1~3 年,其致内膜癌风险较未用者高 3.0 倍,而 E 应用 5~10 年其致癌风险较未用者高 6.0 倍,应用 10 年以上者风险较未用者有 10 倍之高。大多数研究资料显示停用 HRT 5 年甚至 15 年内仍有较高的内膜癌发风险;有资料报道停用 HRT 后内膜癌风险升高趋势至少存在 5 年,其较未用者相对危险度为 2.0,尤其是 HRT 使用时间较长者,停用 HRT 后其内膜癌升高的危险持续时间较长。另有研究结果显示应用大剂量硫酸雌酮后,停用 15 年其内膜癌风险仍有升高,其原因是停用 HRT 后其诱导内膜增生、瘤样病变、癌变作用虽停止,但由此引起的内膜增生、瘤样病变组织发展为癌、癌变组织发展为有临床症状的浸润癌需较长一段时间, Mattisson 等^[2]认为从子宫内膜增生过长发展为内膜癌需 5 年以上时间,故停用 HRT 后仍可出现内膜癌发生率升高这一现象。

HRT 的最初阶段是采用单一 E 制剂,当发现其有较高的致子宫内膜癌作用后,有人试图通过减少 E 用量,即每月只用 E 5~7 天以防内膜增生过长和癌变。但仍不能使内膜剥脱,故摒弃此法,开始采用 E、P 联合或 E、P 加用雄激素(androsten, T)方案。因为 E 可导致内膜增生,而 P 通过抑制 E 受体补充而发挥拮抗 E 对子宫内膜增殖作用。此外, P 还能使 E 引起的子宫内膜增生起假蜕膜效应,长期 P 作用可使内膜腺体萎缩, P 抗内膜增生程度依赖于 P 的足够剂量和时间,而这是影响 HRT 与内膜癌相关性差异之大的主要原因。有文献报道足量的 P 可引起腺瘤样增生退化甚至一些分化好的癌也退化,逆转癌发风险^[3]。E 联合 P 与单一 E 应用相比,内膜癌发生率下降,但较未用者高,其危险度为 1.2~2.0。Veiderpass 等人认为单一 E 应用大于 5 年较未用者相对危险度为 6.2,而加用 P 后其相对危险度降为 1.6。E、P 不同方案对子

宫内膜影响并不相同,序贯 HRT 疗法女性子宫内膜活检小部分显示萎缩性子宫内膜,大部分显示弱的分泌期子宫内膜,约 15% 显示增生活跃子宫内膜。每月加用 P 少于 10 天者,其内膜癌较未用者相对危险度为 2.0,而用 P 大于 10 天者相对危险度为 0.9, P 至少应用 6 个月,每月加用 P 不少于 10 天不增加癌发风险。一般认为每月用 P 10~14 天才能对抗 E 对子宫内膜作用。HRT 可能会引起不规则阴道出血或类似月经的撤退性出血,而这往往是患者停用 HRT 的主要原因。采用 E、P 联合连续方案可使约 41.9%~67.7% 的女性子宫内膜萎缩及闭经,且通过增加用药剂量,约 95.1% 的女性可出现闭经,而周期序贯疗法中约 81.9%~83.9% 用药周期出现撤退性出血,故应根据不同年龄、不同情况来选择不同方案。但 P 有致乳房肿胀、偏头痛,甚至出现更年期综合征的副作用,并可减低 E 对心血管疾病的保护作用,故应尽量采用最小剂量最少时间达到最理想效果。最近文献认为 HRT 中 P 用量 5mg/d 为保护子宫内膜,预防增生的有效剂量^[4],已有许多人已采用这一剂量。目前资料对 HRT 中的 E、P、T 联合方案报道较少,其与内膜癌风险关系有待进一步研究探讨。

关于 HRT 的药物种类和 HRT 的途径与内膜癌关系研究较少。美国主要用天然的结合 E 硫酸雌酮,而欧洲采用合成 E 即雌三醇(estriol, E₃),还有目前全球盛用绝经后女性适用的利维爱等。有文献报道用硫酸雌酮者内膜癌发生率比未用者高 2.5 倍,而用 E₃ 者内膜癌发生率比未用者高 1.6 倍,推测可能为后者促进内膜细胞有丝分裂较少之故。HRT 有多种用药途径,经皮与口服 HRT 对子宫内膜作用相似,即经皮 E、P 联用较经皮单一 E 应用子宫内膜增生过长率低^[5],而有资料报道 HRT 注射用药及阴道内用药不是导致内膜癌的主要危险因素,但具体机理不明。

幸运的是 HRT 所致的内膜癌多分化较好,浸润性弱,且预后好,目前研究 18% HRT 应用者所致内膜癌处于 a 期,有学者认为可能误将腺体增生混为早期内膜癌,因此评估 HRT 者癌发生率较高。但这些潜在偏倚不影响上述结果,因为二组之间差异显著,即使统计时忽略 a 期亦不改变结果。有学者从分子水平阐述 HRT 应用者所患内膜癌恶性程度较低。Ki-67 为一种与细胞增生相关的核抗原抗体,为单克隆抗体,可反应肿瘤的恶性程度,它在低分化内膜癌中升高明显,高水平 Ki-67 者预后差。Anetle 等的研究结果示 HRT 患者肿瘤 10% Ki-67 为阳性,而非 HRT 患者肿瘤 24% 为阳性,且在强 Ki-67 表达者中, HRT 患者比例明显低于非 HRT 患者,二组之间肿瘤 Ki-67 表达的明显差异支持二者具不同的生物学活性,即 HRT 应用组内膜癌恶性程度低。

关于内膜癌术后应用 HRT 与其预后关系的文献较多,内膜癌占女性恶性肿瘤的第 4 位,而这些患者术后将在激素缺乏的情况下渡过,其生存质量也有待提高。E 可与特定的大分子物质结合使 DNA 更易于损伤,故 E 可能为基因突变致肿瘤发生的起始因子,但 E 对于已发生的肿瘤不一定具有使其恶化的倾向。另外,病变的子宫内膜组织已在手术中切除,疾病再发是由于潜在的肿瘤细胞增生所致,而不是激素刺激使肿瘤发生的结果,而 P 抑制 E 对正常及增生子宫内膜的刺激作用,但其是否也能抑制 E 对已发生的肿瘤细胞的刺激作用并不明确,大部分文献认为内膜癌术后用 HRT 对其预后无不良影响。Suriano 等人研究 1 307 例内膜癌用 HRT,其中 49%

患者加用 P,结果显示 HRT 治疗组肿瘤再发率较低,有更长的疾病缓解期,但此资料有限,未能阐明 HRT 中加用 P 对内膜癌的作用。总之,内膜癌术后是否可应用 HRT 尚有争议,未能得出确切结论^[6]。

2 HRT 与上皮性卵巢癌风险

HRT 与卵巢癌风险关系尚不明确,文献报道的也不一致。大部分文献报道 HRT 组患卵巢癌风险为未用者的 1.2~1.6 倍,1996 年 Risch 的对照研究显示病例组与对照组应用 HRT 的暴露比值比 (odds ratio, OR) 为 1.3^[7],Polychronopoulou 的研究显示 HRT 应用组的卵巢癌发风险较未用组增高 5.73 倍,显示了 HRT 与卵巢癌的正性相关作用。因为正常卵巢组织及肿瘤组织中均存在 E 受体,E 可直接通过受体发挥作用。延长抗不孕药克罗米酚(E 受体结合的卵巢非甾体类诱导剂)使用时间,可使上皮性卵巢癌风险增加 2~3 倍,他莫昔酚(E 受体拮抗剂)却对卵巢癌有保护作用,证明 E 在卵巢癌中发挥一定的作用。Chien 等人进行体外试验支持上述观点,显示暴露于 E 中的人类卵巢癌细胞系可增殖。而另一部分文献显示 HRT 与上皮性卵巢癌无明显相关。Hartge 认为 HRT 有保护上皮性卵巢癌作用,可使卵巢癌发风险下降 40%。但总体看来,已发表的文献约 95% 示 HRT 应用组较未用组卵巢癌发风险的相对危险度大于 1,认为 HRT 组有轻度的升高卵巢癌发风险的作用^[8]。

在研究 HRT 与上皮性卵巢癌关系时,大多数资料均分析了 HRT 与卵巢癌亚型关系,且报道不一致,上皮性卵巢癌来源于卵巢表面生发上皮,而生发上皮来自原始体腔上皮,具有分化为各种苗勒上皮的潜能。组织学上,内膜样及透明细胞样卵巢肿瘤与子宫内膜组织相似,浆液性卵巢肿瘤与输卵管粘膜组织相似,粘液性肿瘤与宫颈粘膜相似。HRT 有增加子宫内膜癌作用,也就可能对其相似的组织即内膜样及透明细胞样肿瘤有一定作用,多数文献认为 HRT 与内膜样及透明细胞样卵巢癌有关。Risch 报道内膜样及透明细胞样卵巢癌与对照组比 HRT 的 OR 值为 1.89,并认为绝经后女性用 HRT 可引起子宫内膜增生,而使子宫内膜样及透明细胞样卵巢癌危险增加。已行子宫切除者用 HRT 对卵巢具有保护作用,使卵巢癌风险下降,单独行输卵管切除者 HRT 与卵巢癌关系不明显。也有少数文献报道 HRT 不增加内膜样及透明细胞样卵巢癌风险。对于粘液性及未分类肿瘤结果报道不一致,粘液性卵巢癌 HRT 致癌风险为 0.85~2.4,未分类肿瘤 OR 为 0.51~3.6。数据差别之大,可能为试验设计不同及病例数不足所致,结果不稳定,不能得出结论。

关于 HRT 使用时间与卵巢癌风险关系的研究,结论尚不明确,Pushkel 等人分析了六个研究显示 HRT 应用 1 年以下者,其致卵巢癌风险为未用组的 1.12 倍。用 HRT 1~5 年者,其风险为 1.02 倍,应用 HRT 大于 10 年者,其风险为 1.27 倍,而三者并无统计学差异,但资料显示 HRT 使用尤其超过 10 年者与浸润性上皮性卵巢癌增高有关,其中有两个文献资料包括交界性肿瘤,但对所得结果并无影响,说明 HRT 对浸润性肿瘤及交界性肿瘤影响相似。目前文献未显示不同治疗方案对卵巢癌风险的不同影响。

与子宫内膜癌一样,卵巢癌术后患者也由于激素缺乏而使生活质量下降,由于 HRT 与卵巢癌关系上的争议,使得卵巢癌术后患者仍不能常规应用 HRT。而大量资料显示卵巢癌

术后应用 HRT 对疾病再发率及疾病缓解时间无明显的不良影响^[9]。

3 HRT 与宫颈癌及其它

关于 HRT 与宫颈癌关系的报道很少。Parazzini^[10] 分析了 645 例宫颈浸润癌(57% 为鳞癌,18% 为腺癌,25% 未分类)与 749 例对照,显示 HRT 可明显降低宫颈癌风险,且随 HRT 使用时间延长,尤其大于 10 年者该作用更明显,但其并未对各组织类型宫颈癌进行具体分析。James^[11] 报道应用 E 可使宫颈腺癌增加 2.0 倍,而 E 联用 P 则与宫颈癌关系不大,暗示宫颈腺癌与子宫内膜癌存在潜在的相似性,并推测激素可能对子宫内膜样组织类型的腺癌关系更大些,但其研究的 13 例腺癌中仅 2 例为子宫内膜样腺癌亚型。人类乳头状病毒(human papilloma virus, HPV)为宫颈癌的一个致病因素,在其基因 5 位的核酸区含有对 P 应答的片断,P 可加强其损伤人体细胞的能力。孕期及口服避孕药女性由于体内 P 水平增高而使宫颈癌风险增高。E 可通过调节 P 受体水平增加 HPV 的损伤作用。HPV 感染的宫颈病变区在有激素作用时可能会发展为宫颈腺癌。且体外实验证明在甾体类激素存在情况下 HPV 确有致癌活性,支持 HRT 可使宫颈腺癌增加的观点。目前研究未显示 HRT 与宫颈鳞癌有关。有学者认为使用 HRT 女性的妇科病症及药物可能比 HRT 本身对宫颈腺癌更有影响,但由于条件有限,不能确定每个使用 HRT 者的个体原因。

此外,有一些文献对其母亲孕期曾接受 E 治疗的女性与阴道透明细胞癌(clear cell carcinoma, CCA)关系进行分析。Melnick 分析 705 例 CCA 病人,其中 60% 有己烯雌酚(diethylstilbestrol, DES)暴露史,在 DES 暴露史中这种罕见的癌发生率为 1%。这提示 E 可能在胚胎发育时期刺激苗勒上皮出现异常或抑制鳞状上皮替代柱状上皮的过程,从而导致阴道腺瘤和透明细胞癌。最近文献报道许多胚胎期有 DES 暴露史女性有良性生殖道改变包括宫颈形态学改变及阴道腺病,因而这些患者也有阴道腺癌发生的高危因素^[12]。

虽然 HRT 可使子宫内膜癌等生殖系统肿瘤的危险性升高,但可保护心脑血管,预防骨质疏松。据报道,应用 HRT 人群每年使乳腺癌增加 38/10 万,内膜癌增加 26/10 万,二者总死亡率增加 64/10 万,但可使缺血性心脏病下降 284/10 万,中风下降 49/10 万,骨质疏松所致骨折下降 49/10 万,使总死亡率下降 366/10 万。总之,对于 65~70 岁妇女未行子宫切除者死亡率下降 302/10 万,行子宫切除者死亡率下降 328/10 万。由此可见,HRT 利大于弊,故临床医生不应因其增加子宫内膜癌等恶性肿瘤的风险而拒绝为患者用 HRT,应选择合适病例,用适当治疗方案获得满意效果。

参考文献:

- [1] Feely KM, Wells M. Hormone replacement therapy and endometrium[J]. J Clin Pathol, 2001, 54(6): 435-440.
- [2] Mattisson LA, Bchoct HG, Gredmark T, et al. Continuous combined hormone replacement: randomized comparison of transdermal and oral preparations[J]. Obstet Gynecol, 1999, 94(1): 61-65.
- [3] Weiderpass E, Adami HO, Baron JA, et al. Risk of endometrial cancer following estrogen replacement with and without progestins[J]. J Natl Cancer Inst, 1999, 91(13): 1131-1137.
- [4] Bergeron C, Ferency A. Endometrial safety of continuous com-

- bined hormone replacement therapy with 17beta - oestradiol(1or 2mg) and dydrogesterone[J] . *Maturitas* ,2001 ,37(3) :191 - 199 .
- [5]Archer DF , Furst K , Tipping D , *et al* . A randomized comparison of continuous combined transdermal delivery of estradiol - norethindrone acetate and oestradiol alone for menopause combipatch study group[J] . *Obstet Gynecol* ,1999 ,94(4) :498 - 503 .
- [6]Kimberly AS , Michael M , Christine EM , *et al* . Estrogen replacement therapy in endometrial cancer patients a matched control study[J] . *Obstet Gynecol* ,2001 ,97(4) :555 - 560 .
- [7]Harvey A , Risch MD . Estrogen replacement therapy and risk of epithelial ovarian cancer[J] . *Gynecol Oncol* ,1996 ,63 :254 - 257 .
- [8]Pushkal PG , Karlak K , Leslee S , *et al* . Hormone replacement therapy and the risk of epithelial ovarian carcinoma :a meta - analysis[J] . *Obstet Gynecol* ,1998 ,92(3) :472 - 479 .

- [9]Franco G , Alexandros D . Estrogen replacement therapy for ovarian carcinoma survivors a randomized controlled trial[J] . *Cancer* ,1999 ,86(6) :1013 - 1018 .
- [10]Parazzini F , Lavecchia C , Negri E , *et al* . Case - control study of oestrogen replacement therapy and risk of cervical cancer[J] . *BMJ* ,1997 ,315(7100) :85 - 88 .
- [11]James VL , Louise AB , Willard AB , *et al* . Use of hormone replacement therapy and adenocarcinomas and squamous cell carcinomas of the uterine cervix[J] . *Gynecol Oncol* ,2000 ,77 :149 - 154 .
- [12]Arthur LH . Distinguished professor series :behavior of estrogen - associated female genital tract cancer and its relation to neoplasia following intrauterine exposure to diethylstilbestrol(DES) [J] . *Gynecol Oncol* ,2000 ,76 :147 - 156 .

基质金属蛋白酶在妇产科生理与病理过程中的作用

西安交通大学第二附属医院妇产科(710004) 郭颖综述
第四军医大学病原生物学教研室(710032) 刘军审校

摘要 :基质金属蛋白酶能够降解细胞外基质 ,在妇科生理与病理过程中发挥着重要的作用 ,本文综述了近年来基质金属蛋白酶在妇产科生理与病理过程中的作用。

关键词 基质金属蛋白酶 ;妇科肿瘤 ;女性生理

中图分类号 :R737.31 文献标识码 :A 文章编号 :1008-2514(2002)04-0167-03

细胞外基质是由胶原、蛋白多糖及糖蛋白等成分构成的细胞外骨架结构。许多蛋白酶可以降解细胞外基质 ,其中基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases ,MMPs)在妇科生理与病理过程中发挥着重要的作用 ,成为近来妇产科领域中的一个研究热点。

1 基质金属蛋白酶的结构及其生理功能

1962年 ,Gross和Lapière从蝌蚪尾巴中分离出了一种胶原酶 ,它能够降解蝌蚪尾巴中的胶原基质 ,在蝌蚪的变形过程中发挥着重要作用。这是基质金属蛋白酶家族的第一个成员 ,即MMP-1。目前发现的基质金属蛋白酶家族的成员有20余种 ,是不同基因的产物 ,但它们都具有下列结构特征^[1,2] N末端均有信号肽区 ,以使其分泌至细胞外 ;都含有一个约80个氨基酸的前肽区 ,除MMP-23外 ,该前肽区均有一个PRCG(V/N)PD的保守序列 ,其中的半胱氨酸与Zn²⁺连接 ,从而使基质金属蛋白酶原没有催化活性 ,催化区约170个氨基酸 ,含有一个Zn²⁺结合基序HEXXHXXGXXH ,Zn²⁺的结合对于基质金属蛋白酶的催化活性是必不可少的。

除这些共有的结构特征外 ,基质金属蛋白酶往往还具有其他的结构域 ,并根据这些结构域的不同将其分类。除MMP-7外 ,其他的基质金属蛋白酶在催化区的C端都有一个血红素结合蛋白样区 ,该区含约210个氨基酸 ,其功能是协助基质金属蛋白酶与底物或抑制物的结合。MMP-2和MMP-9

在催化区中插入了3个重复的II型纤连蛋白结构域 ,与底物识别有关。膜型的基质金属蛋白酶 ,包括MMP-14 ,15 ,16 ,17在其C端有跨膜区和胞内区。

基质金属蛋白酶能够降解细胞外基质的各种成分^[2,3] ,包括I、II、III、IV、V、VII、X型胶原、纤维蛋白、弹性蛋白、层粘连蛋白和纤维连接蛋白。细胞外基质的降解是体内多种生理过程的先决条件 ,基质金属蛋白酶在其中发挥着决定性的作用^[2,3]。这些过程包括受精卵的着床、胚胎发育、器官的形成、排卵、子宫内膜在月经周期中的变化、伤口愈合、血管形成等。基质金属蛋白酶的蛋白水解作用还可以改变细胞外基质中大分子的功能 ,调节生长因子与其受体的作用 ,因此参与神经的生长、细胞凋亡、细胞迁移等过程。

2 基质金属蛋白酶活性的调节

由于基质金属蛋白酶具有重要的生理功能 ,因此基质金属蛋白酶的活性在体内受到严格的调控。主要的调控机制发生在转录水平及激活水平。正常情况下 ,基质金属蛋白酶的表达水平极低 ,但在某些诱导条件下 ,其表达水平升高。这些诱导物包括生长因子、细胞因子、物理应激、某些化学物质和恶性转化。基质金属蛋白酶表达水平的升高还可以被某些抑制因子如TGF、视黄酸和糖皮质激素等下调^[2]。除膜型基质金属蛋白酶外 ,其他的基质金属蛋白酶均以无活性的酶原形式分泌至细胞外 ,需经活化后方能发挥作用。在体外 ,基质金

收稿日期 2001-08-20

作者简介 郭颖(1970—) ,女 ,主治医师 ,在读博士研究生。研究方向为妇科肿瘤。

属蛋白酶可被多种蛋白酶和某些化学物质激活,在体内可能被组织及血浆中的蛋白酶所激活。基质金属蛋白酶的组织特异性抑制物(tissue specific inhibitors of matrix metalloproteinases, TIMPs)是体内天然存在的基质金属蛋白酶的抑制物,目前已发现有4种。TIMPs可以与MMPs的酶原及活化形式相结合,抑制MMPs的活化及其活性。

3 基质金属蛋白酶在女性生殖系统生理及妊娠生理过程中的作用

女性生殖系统进入青春期后,在卵巢激素的作用下,细胞及细胞外基质不断地发生周期性的变化,表现为细胞的增殖、分化、凋亡及细胞外基质的合成及降解,在妊娠过程中,女性生殖系统也发生着类似的变化,在这些过程中,基质金属蛋白酶均发挥着重要的作用^[4]。

3.1 排卵、黄体形成及退化

排卵需要破坏三层细胞外基质:基膜卵泡膜、白膜。因此,基质金属蛋白酶被认为参与了排卵过程。小鼠的卵巢中可以检测到多种MMPs和TIMPs,其中MMP-19和TIMP-1在HCG诱导下可以升高5~10倍,并在HCG诱导后12小时,即相当于排卵时达到高峰^[5]。这表明MMP-19参与了排卵过程中的基质降解,而TIMP-1的升高则可能是机体的一种反馈机制,防止MMPs造成过多的基质降解。黄体形成及退化伴随着广泛的细胞外基质改变,细胞外基质可以促进黄体形成,细胞外基质的降解则导致黄体细胞的死亡^[6]。动物实验表明,TIMP-1可能促进黄体形成,而MMP-2则与黄体退化有关^[4]。

3.2 月经周期的子宫内膜变化

月经周期的子宫内膜可表达多种MMPs和TIMPs,且在月经周期的不同阶段,MMPs表达量、表达部位有所变化^[4]。在雌、孕激素存在的条件下,子宫内膜外植物可以维持其胶原含量,撤除激素,胶原含量下降,在培养基中加入MMPs的抑制物,可以抑制胶原含量的下降^[7]。孕激素可以降低体外培养的原代子宫内膜细胞MMPs的水平,升高TIMP-1和TIMP-3的水平^[8]。这些结果表明,月经周期的雌、孕激素的变化可以调节子宫内膜的MMP/TIMP的平衡,从而调节子宫内膜的细胞外基质的降解水平:增生及分泌期细胞外基质的降解水平低,月经期的降解水平高。

3.3 胚卵种植、胎盘形成及产后子宫复旧

在胚卵种植和胎盘形成过程中,滋养细胞侵入子宫内膜。滋养细胞的这种侵入与恶性肿瘤细胞的转移扩散相似,不同的是,正常情况下,滋养细胞的这种侵入能力受到严格的调控,使得滋养细胞只能侵入蜕膜层。研究表明,MMPs和TIMPs是关键的调控因子,滋养细胞产生的MMPs通过降解子宫内膜的细胞外基质促进滋养细胞的侵入,而蜕膜层产生的TIMPs则通过抑制MMPs抑制滋养细胞的侵入,在众多的MMPs和TIMPs中,MMP-9和TIMP-3可能是最主要的调控因子^[9]。产后子宫复旧过程中,细胞外基质被降解,MMPs在此过程中发挥着重要作用^[9]。

4 基质金属蛋白酶与妇科肿瘤

如前所述,肿瘤浸润和转移的先决条件是细胞外基质的降解,而基质金属蛋白酶能够降解细胞外基质的各种成分,因此人们曾一度认为,基质金属蛋白酶与肿瘤的浸润及转移密切相关。多方面的研究证据也支持这种观点^[1]。最近的研究

结果则表明,除参与肿瘤的浸润及转移外,MMPs在肿瘤的发生及进展中的每个阶段都起着重要作用^[1]。有关基质金属蛋白酶在妇科肿瘤发生、发展中作用的研究多集中在探讨基质金属蛋白酶与妇科肿瘤浸润、转移的关系。目前研究较多的是MMP-2、MMP-9及其抑制物TIMP-1、TIMP-2,随着一些新的MMPs和TIMPs的发现,它们在妇科肿瘤浸润、转移中的作用也日益受到重视。已有的研究结果显示,妇科肿瘤的浸润、转移与肿瘤组织中MMPs表达的升高有关,在MMPs表达升高的同时,往往伴有TIMPs的升高,但MMPs/TIMPs的比值在肿瘤组织中要高于正常组织,提示MMPs-TIMPs的失衡在妇科肿瘤浸润、转移中起着重要作用。对于MMPs的升高是否可作为判断预后的指标目前尚有争论。与不同种类的妇科肿瘤相关的MMPs也不尽相同,以下分别述之。

4.1 宫颈癌

Moser等^[10]用免疫组化的方法研究了IB期宫颈癌MMP-1、MMP-2、TIMP-2的表达情况,发现MMP-1与宫颈癌的淋巴结转移有关,但对于判断预后没有帮助。Davidson^[11,12]则报道MMP-2、MMP-9、TIMP-2的表达与宫颈癌的进展有关,MMP-2和TIMP-2的表达表明预后不良,MMP-9表达水平的升高和预后无关。Gilles等^[13]的研究显示与非侵袭性的CIN III级病变相比,侵袭型的宫颈癌及淋巴结转移灶中的MT-MMP的表达水平升高。MT-MMP是MMP-2体内主要的激活物,因此这也进一步证实了MMP-2活性的升高与宫颈癌的侵袭和转移有关。

4.2 子宫内膜癌

Ueno等^[14]用夹心酶免疫法检测了子宫内膜癌组织中MMP-1、MMP-2、MMP-3、MMP-7、MMP-8、MMP-9、MMP-13和TIMP-1、TIMP-2的表达,发现与非癌内膜组织相比,子宫内膜癌组织的MMP-7、MMP-8、MMP-9、TIMP-1的表达水平升高,但只有MMP-7的量与临床病理因素有关:转移组病人的MMP-7的量是非转移组病人的6.8倍。提示MMP-7在子宫内膜癌的侵袭和淋巴结转移中起着重要的作用。也有报道MMP-2和MMP-9 mRNA表达水平的升高,与子宫内膜癌的恶性程度和内膜侵蚀深度相关,表明MMP-2和MMP-9也可能参与了子宫内膜癌的侵袭及转移^[15]。

4.3 卵巢癌

Huang等^[16]用原位杂交和免疫组化的方法检测了90例卵巢上皮肿瘤的MMP-9和TIMP-1的表达,其结果显示腺癌的MMP-9的表达水平高于腺瘤和交界性肿瘤,而腺癌和交界性肿瘤的TIMP-1的水平要高于腺瘤,提示MMP-9的升高与卵巢肿瘤的侵入、转移有关,对于TIMP-1的升高,研究者认为或者TIMP-1在卵巢肿瘤中不起作用,或者由于TIMP-1的生长因子作用而促进肿瘤细胞的生长和/或转移。Shigemasa等^[17]报道,与正常组织相比,粘液性卵巢肿瘤,包括腺瘤、低度恶性肿瘤、腺癌的MMP-7的表达水平升高,但免疫组化中MMP-7的强阳性率在腺瘤、低度恶性肿瘤、腺癌间无统计学差异。Furuya等^[18]用酶图法及酶联法检测了卵巢粘液肿瘤囊液中的MMPs和TIMPs的表达,发现在检测的所有腺癌和交界性肿瘤及部分腺瘤的囊液中均有活化形式的MMP-9,且腺癌的囊液中MMP-9的浓度大于交界性肿瘤及腺瘤,腺癌及交界性肿瘤的囊液中TIMP-1大于腺瘤,交界性肿瘤的囊液中TIMP-2小于腺瘤,TIMP-2/MMP-2的比值则

是腺瘤大于腺癌和交界性肿瘤,提示 MMPs 和 TIMPs 在卵巢粘液性肿瘤的生长中发挥重要作用。Westerlund 等^[19]的研究表明, MMP - 2 阳性、阴性、阳性同时间质纤维母细胞 MMP - 2 阴性的卵巢肿瘤患者其相对生存率分别为 32%、57%、19%,而 5 年无疾病生存率则分别为 25%、57% 和 12.5%,表明 MMP - 2 与卵巢肿瘤的不良预后有关。

4.4 滋养细胞肿瘤

有关基质金属蛋白酶在滋养细胞肿瘤中的表达情况的报道较少。Vegh 等^[20]用免疫组化的方法发现,绒毛癌的 MMP - 1 的表达升高, MMP - 2 的表达在绒毛癌及葡萄胎均有升高,而 TIMP - 1 的表达在绒毛癌则下降,表明 MMPs 和 TIMPs 与妊娠滋养细胞疾病的发病有关。

5 展望

综上所述,基质金属蛋白酶在肿瘤的发生、发展中起着重要作用,其与妇科肿瘤的浸润及转移的关系也得到了初步的阐明,但尚有一些问题需要解决。这些问题是今后研究的重点: MMPs 和 TIMPs 家族新成员的发现及其功能。如上所述,目前已发现的 MMPs 有 20 余种, TIMPs 有 4 种,但 MMPs 和 TIMPs 家族共有多少成员,还是个未知数;在 MMPs 家族的众多成员中,哪种与肿瘤的发生、发展的关系最为密切?这对设计特异的以 MMP 为靶位的抗肿瘤药物有重要的意义;除基质金属蛋白酶外,其他类型的蛋白酶如纤溶酶系统也与肿瘤密切相关,在肿瘤的发生、发展过程中,基质金属蛋白酶与这些蛋白酶是否存在协同作用,这种作用又是如何实现的;在妇科肿瘤中,哪种 MMPs 和 TIMPs 可以作为诊断的标志物及判断预后的标准?以 MMPs 为靶位的治疗措施的疗效如何?随着研究的不断深入,这些问题将会有圆满的答案。

参考文献:

[1] Mccawley LJ, Matrisian LM. Matrix metalloproteinases: multifunctional contributors to tumor progression[J]. *Mol Med Today*, 2000, 6: 149 - 156.

[2] Nagase H, Woessner JFJ. Matrix metalloproteinases[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274: 21491 - 21494.

[3] Massova I, Kotra LP, Fridman R, et al. Matrix metalloproteinases: structures, evolution, and diversification[J]. *FASEB J*, 1998, 12: 1075 - 1095.

[4] Fata JE, Ho ATV, Leco KJ, et al. Cellular turnover and extracellular matrix remodeling in female reproductive tissues: functions of metalloproteinases and their inhibitors[J]. *Cell Mol Life Sci*, 2000, 57: 77 - 95.

[5] Hagglund AC, Ny A, Leonardsson G, et al. Regulation and localization of matrix metalloproteinases and tissue inhibitors of metalloproteinases in the mouse ovary during gonadotropin-induced ovulation[J]. *Endocrinology*, 1999, 140: 4351 - 4358.

[6] Smith MF, McIntush EW, Ricke WA, et al. Regulation of ovarian extracellular matrix remodeling by metalloproteinases and their tissue inhibitors: effects on follicular development, ovulation and luteal function[J]. *J Reprod Fertil Suppl*, 1999, 54: 367 - 381.

[7] Marbaix E, Kokorine I, Moulin P, et al. Menstrual breakdown of human endometrium can be mimicked in vitro and is selectively and reversibly blocked by inhibitors of matrix metalloproteinases[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 9120 - 9125.

[8] Marbaix E, Kokorine I, Henriot P, et al. The expression of interstitial collagenase in human endometrium is controlled by progesterone and by oestradiol and is related to menstruation[J]. *Biochem J*, 1995, 305: 1027 - 1030.

[9] Gomez DE, Alonso DF, Yoshiji H, et al. Tissue inhibitors of metalloproteinases: structure, regulation and biological function[J]. *Eur J Cell Biol*, 1997, 74: 111 - 122.

[10] Moser PL, Kieback DG, Hefler L, et al. Immunohistochemical detection of matrix metalloproteinases (MMP) 1 and 2, and tissue inhibitor of metalloproteinase 2 (TIMP 2) in stage IB cervical cancer[J]. *Anticancer Res*, 1999, 19: 4391 - 4393.

[11] Davidson B, Goldberg I, Kopolovic J, et al. MMP - 2 and TIMP - 2 expression correlates with poor prognosis in cervical carcinoma - a clinicopathologic study using immunohistochemistry and mRNA in situ hybridization[J]. *Gynecol Oncol*, 1999, 73: 372 - 382.

[12] Davidson B, Goldberg I, Kopolovic J, et al. Expression of matrix metalloproteinase - 9 in squamous cell carcinoma of the uterine cervix - clinicopathologic study using immunohistochemistry and mRNA in situ hybridization[J]. *Gynecol Oncol*, 1999, 72: 380 - 386.

[13] Gilles C, Polette M, Piette J, et al. High level of MT - MMP expression is associated with invasiveness of cervical cancer cells[J]. *Int J Cancer*, 1996, 65: 209 - 213.

[14] Ueno H, Yamashita K, Azumano I, et al. Enhanced production and activation of matrix metalloproteinase - 7 (matrilysin) in human endometrial carcinomas[J]. *Int J Cancer*, 1999, 84: 470 - 477.

[15] Iurlaro M, Loverro G, Vacca A, et al. Angiogenesis extent and expression of matrix metalloproteinases - 2 and - 9 correlate with upgrading and myometrial invasion in endometrial carcinoma[J]. *Eur J Clin Invest*, 1999, 29: 793 - 801.

[16] Huang LW, Garrett AP, Bell DA, et al. Differential expression of matrix metalloproteinase - 9 and tissue inhibitor of metalloproteinase - 1 protein and mRNA in epithelial ovarian tumors[J]. *Gynecol Oncol*, 2000, 77: 369 - 376.

[17] Shigemasa K, Tanimoto H, Sakata K, et al. Induction of matrix metalloproteinase - 7 is common in mucinous ovarian tumors including early stage disease[J]. *Med Oncol*, 2000, 17: 52 - 58.

[18] Furuya M, Ishikura H, Kawarada Y, et al. Expression of matrix metalloproteinases and related tissue inhibitors in the cyst fluids of ovarian mucinous neoplasms[J]. *Gynecol Oncol*, 2000, 78: 106 - 112.

[19] Westerlund A, Apaja S M, Hoyhtya M, et al. Gelatinase A - immunoreactive protein in ovarian lesions - prognostic value in epithelial ovarian cancer[J]. *Gynecol Oncol*, 1999, 75: 91 - 98.

[20] Vegh GL, Selcuk T Z, Fulop V, et al. Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gestational trophoblastic disease and normal placenta[J]. *Gynecol Oncol*, 1999, 75: 248 - 253.

胎盘凋亡的分子机制研究进展

中南大学湘雅二医院妇产科(410011) 孟 会综述 王晨虹审校

摘要 :胎盘细胞凋亡对于整个妊娠期间的影响都是至关重要的。其分子机制非常复杂,人们在不断的研究中发现胎盘凋亡与营养缺陷、免疫反应、氧化应激等有关,同时又受到一些凋亡相关基因家族的基因调控,一些不断发现的新分子对胎盘凋亡的作用也不容忽视。

关键词 胎盘;凋亡;基因;分子机制

中图分类号:R714.56 文献标识码:A 文章编号:1008-2514(2002)04-0170-03

凋亡是一种能导致细胞自我灭亡的依赖于细胞内部机制的形式,它是一种正常的生理现象,为胚胎发生、特殊情况下除去受损伤细胞、不同病理状态下对抗异常的细胞增殖所必须^[1]。其生化标志为 DNA 在核酸内切酶作用下于核小体连接部位断裂为 180~200bp 的单个或寡聚核小体,电泳图上呈特殊性梯带。镜下表现为细胞膜肿胀,胞浆内细胞器不完整,细胞核皱缩,核染色质浓集、汇聚,凋亡小体形成。凋亡在医学各领域已有较为广泛的研究,对于胎盘凋亡的研究也已深入。本文就近年来胎盘凋亡的分子机制研究进展工作作一综述。

1 胎盘凋亡与妊娠进展的关系

胎盘是哺乳动物妊娠过程中发展起来的一个联系母体与胎儿的暂时性内分泌器官。在整个孕期经历了巨大的发育、生长变化。胎盘凋亡的过程是妊娠进展的重要调节因素,对于母体及胎儿极为重要。胎盘细胞生长与凋亡的平衡紊乱可能导致胎儿发育异常如 IUGR 或胎盘发育异常如先兆子痫、胎盘粘连^[2]。Halperin^[1]将第二、三期妊娠与第一期妊娠胎盘进行比较,结果凋亡率均明显升高($P < 0.04$, $P < 0.01$)。第三期与第二期妊娠胎盘进行比较,凋亡率也明显升高($P < 0.03$)。将二至三期染色体正常与异常妊娠组比较,胎盘凋亡率无明显差别。他得出结论:在整个正常妊娠过程中有一个明显的逐渐增高的胎盘组织细胞凋亡趋势,表明凋亡在组织老化中扮演了重要的角色。由此提出假说:胎盘的细胞增殖一直持续至足月,但可能在最后几周细胞增殖与细胞丢失之间达到一个平衡^[3]。同时染色体正常与否或许并不影响胎盘凋亡率这一发现支持这个事实:染色体异常妊娠同样能孕至足月并经历分娩^[1]。

国内外部分学者研究表明,在妊娠早期胎盘中即有细胞凋亡发生,随妊娠进展细胞增殖下降,细胞凋亡升高。足月胎盘绒毛的凋亡可能对于母儿界面细胞交换有重要影响,通过凋亡的增加,逐渐增加胎盘交换弥补胎盘局部缺血缺氧。Nelson^[4]推测合体滋养层细胞凋亡导致滋养层连续性中断,某些大分子蛋白质可以通过母胎界面进行交换。并且合体滋养层被认为具有内分泌器官功能,能分泌甾体和蛋白质激素。凋亡发生在这一区带暗示着凋亡可能在调节胎盘内分泌功能上有重要作用,特别是它可能调节足月妊娠时甾体和蛋白质激素的总量、传递、以及时间控制。

2 叶酸缺乏与胎盘凋亡

叶酸是维生素 B 家族的一员,其分子由谷氨酸、对氨基

苯甲酸、2-氨基-4-羟基-6-甲基喋呤组成。叶酸在还原型辅酶 催化下生成四氢叶酸(FH₄)。后者是体内一氮单位转移酶的辅酶,在嘌呤、胸腺嘧啶核苷合成中起重要作用。故又与 DNA、tRNA 生物合成密切相关。由于叶酸是多种氨基酸和维生素代谢中酶转换的底物,而孕妇在妊娠期间快速分裂细胞增加,合成代谢旺盛,故孕期叶酸需要量约增加 5~10 倍。现已证明围生期额外补充的叶酸对母儿是有利的,叶酸盐缺陷引起的症状和体征能通过低剂量的叶酸补充而快速方便地得到控制。Stegers 等^[5]认为叶酸缺陷能诱导细胞滋养细胞凋亡,体外培养模式表明叶酸补充能诱导细胞增殖,营养缺失则诱导凋亡。其原因可能是由于叶酸盐缺陷导致细胞滋养细胞胸腺嘧啶合成减少,DNA 合成修复受损,进而诱导凋亡。反之小剂量的叶酸补充可能对抗这种情况。叶酸缺陷导致细胞增殖、叶酸依赖的氨基酸和维生素代谢受损,同型半胱氨酸再甲基化生成蛋氨酸这一过程被阻滞,引发高半胱氨酸血症。浓度升高的同型半胱氨酸可引起血栓形成、内皮损伤。Khong 等^[6]证实第三期胎盘滋养层血管生理性改变缺陷,急性动脉粥样硬化、梗塞,胎盘后血肿形成,绒毛老化加速。这些特征可能是由于下面三者的结合:叶酸缺陷之后发生的血栓症;凋亡加速、内皮受损;高半胱氨酸血症。人们已经认识到高半胱氨酸血症与心脑血管疾病、复发性流产、胎盘早剥、IUGR、先兆子痫、围产儿死亡有关。首先是叶酸缺陷,随后是高半胱氨酸血症,但究竟是通过什么机制来影响妊娠的仍然未知。

3 Fas 系统在胎盘凋亡中的作用

Fas 和 FasL 同为肿瘤坏死因子家族的膜蛋白。Fas(Apo-1,CD95)是一种 45KD 介导凋亡的跨膜糖蛋白,表达于多种组织如肝、肺、卵巢、阴道、睾丸、结肠、甲状腺等细胞表面。而作为 Fas 天然配体的 FasL 只出现于活化的 T 细胞。现在 Fas/FasL 系统在各种正常及病理细胞中被广泛认为是一种诱导凋亡的主要分子机制,近来也被认为与胎盘的凋亡诱导有关。

3.1 Fas 系统与免疫

人们认为 Fas 系统能导致免疫特许部位如眼前房和睾丸等处的炎症细胞死亡,表达 Fas 的外周 T 细胞能与那些免疫特许组织上的 FasL 结合,Fas 递送信号诱导外周淋巴细胞的凋亡^[7]。已有研究表明在整个妊娠期间 FasL 表达于人滋养层细胞,且能诱导循环中活化的 T 细胞凋亡,从而允许细胞滋养层细胞浸润子宫肌层,逃避免疫识别,使同种异体移植物得以成活^[8]。

表达 Fas 的滋养层细胞在浸润过程中也可能通过与表达 FasL 的 T 细胞结合而经受凋亡,由此限制浸润的深度。凋亡的这种相互诱导的平衡选择可能与一些胎盘形成异常有关的疾病如 IUGR、先兆子痫、胎盘植入、绒癌等相关。在这些病理妊娠中,对于外来胎盘,母体免疫耐受可能因为 Fas/FasL 系统的平衡偏倚而被打破。

3.2 Fas 系统与氧化应激

近年来研究结果表明妊高征血管内皮损伤可能与内皮细胞毒性因子有关,而这种毒性因子可能起源于胎盘。原因是:发育缺陷的胎盘滋养层细胞侵入子宫肌层较浅,局部缺血缺氧,缺血再灌时引发较多的脂质过氧化反应,释放毒性因子入母血循环。Ejima^[9]通过给小鼠腹腔内注射脂多糖(Lipopolysaccharides, LPS)50ug/kg 诱导胎盘炎性改变、机能障碍模型。研究证实氧化应激参与胎盘细胞凋亡,Fas 和 FasL 的增强表达与凋亡诱导有关。在暴露于 LPS 的胎盘中,原位末端标记法 TUNEL 阳性细胞数和 Fas、FasL 的表达呈时间依赖性上升。这可能可以由氧化应激、活性氧类(reactive oxygen species, ROS)产生、Fas 系统活化、凋亡诱导、LPS 鼠模型胎盘功能失调这一系列连续的事件来解释。LPS 能诱导多种细胞因子在胎盘的表达,包括 TNF- α 、IL-1、IL-8 等。而这些细胞因子均参与产生 ROS 包括 O₂⁻、H₂O₂、OH \cdot 。该研究组织学检测表明胎盘局部 FasL 阳性细胞绝大多数为淋巴细胞,可能是活化的 T 细胞或 NK 细胞。它们也能表达细胞因子如 TNF- α 和 TNF- β 。更有趣的是 HNE 修饰蛋白(氧化应激下不饱和脂肪酸的终产物以及脂质过氧化的一种标志物)的表达量与 Fas、FasL 的表达非常相关,使得 Fas 系统在 LPS 模型的胎盘凋亡诱导中成为一个值得注意的活性实体。其分子机制包括了复杂的细胞因子网络和 ROS。人为地调控 Fas/FasL 相互作用将可能提供一个临床方法,通过阻滞胎盘细胞凋亡的诱导来保护胎盘免于暴露在各种有害物质中^[9]。不过,胎盘 Fas/FasL 系统与氧化应激的关系仍不是太清楚。

4 Bcl-2 与 Bax 平衡改变对胎盘凋亡的影响

人们已经知道与凋亡有关的基因包括促凋亡基因 Fas、Bax、Bak 以及抑凋亡基因 TRPM-2、Bcl-2、Bcl-x、c-Myc 等。这些因子相互协调,起着抗凋亡与促凋亡作用,进而改变组织形态功能。其中 Bcl-2 与 Bax 属于 Bcl-2 家族基因,它们浓集后能激活 caspase 级联反应。而 caspase 是一个含有半胱氨酸活性的胞浆蛋白酶家族,各种凋亡诱导因素最后都通过 caspase 蛋白系统起作用。其中 caspase-3 蛋白的表达是各种细胞凋亡途径的最后关键步骤^[10]。在人类,Bcl-2 已经免疫定位于绒毛的合体滋养层,且从第一孕期开始一直持续至第三孕期。其表达水平随妊娠进展而逐渐下降,这似乎与胎盘的老化有着某种关联^[11]。Bcl-2 家族蛋白至少有 16 种同系物,其中一部分抑制凋亡,另一部分则通过磷酸化激活而促进凋亡。Bax 过量表达能促进细胞死亡,但 Bcl-2 的表达恰能平衡和拮抗这种作用。Oltvai 等^[12]把这种系统称为“生物变阻器”,它的功能是调定细胞凋亡的起始点。如果 Bcl-2 与它的对应物 Bax 形成异二聚体,则能阻抑细胞凋亡。如果 Bax/Bax 同二聚体增多,则细胞线粒体通透性升高,细胞凋亡。Donghai 等^[13]在他们的研究中发现 Bax 在整个孕期以一种相对稳定的水平表达,而 Bcl-2 的表达可变,这种 Bcl-2/Bax 比例改变可能调控着凋亡开始的“调定点”。早孕期升高的 Bcl

-2 表达能有效地使间质细胞免于退化,进而增殖、分化、蜕膜化,为着床及胎盘形成作准备,也可能就是以这种抑制细胞凋亡的方式提供某一类型的信号使母体接受并认可妊娠。而在晚期妊娠中,Bcl-2 表达水平相对下降,使得 Bax 占主要地位,这种比例失衡可能直接或间接活化 caspase 家族,引发凋亡路上的关键步骤。因为 Bcl-2 家族成员也是 caspase 的反应底物^[14]。

5 胎盘凋亡研究中发现的新分子

胎盘凋亡的分子机制非常复杂,包括了不断发现的信号分子,如上面介绍的免疫介导的细胞外配体和受体(Fas 和 FasL)以及内在的死亡信号如 Bcl-2 家族基因。随着研究的深入,近年来学者们又发现了数种新的凋亡家族基因。

5.1 KIAP 基因

Lin 等^[15]研究发现一个新的凋亡蛋白家族抑制素(inhibitor of apoptosis protein, IAP)成员(Kidney inhibitor of apoptosis protein, KIAP),通过荧光原位杂交分析确定其定位于 20 号染色体 q13.3 区。它编码一条单链 BIR 区和一个 RING 锌指结构区。Northern 印迹杂交显示 KIAP 基因主要表达于胎盘、淋巴结和胎肾。KIAP 的过度表达能抑制由 Bax 过度表达或由 Vit K₃(甲萘醌)引起的细胞凋亡,却无法阻抑由于 Fas 过度表达所引起的细胞凋亡。故研究者认为 KIAP 对于各种刺激引起的凋亡有多效的影响。其在胎盘凋亡中的作用值得进一步探讨。

5.2 Livin 基因

一种新的命名为 Livin 的 IAP 由 Kasof 等^[16]鉴定。它包括一个单链 BIR 区和一个羧基端 RING 锌指区。在大多数正常成人组织中未能发现 Livin,但却发现它存在于胎盘、发育中的组织和数种癌细胞系中。海拉细胞转染 Livin 可引发其对 Bax 表达所致凋亡细胞的保护作用。Livin 还能抑制由 TNF- α 所引起的 caspase 活性。与其它抗凋亡成员相似,Livin 抗凋亡活性依靠的也是 BIR 区。

5.3 胎盘滋养层凋亡的特定标志物 - M30

Kadyrok 等^[17]在他们的研究中发现,人类胎盘滋养层凋亡过程中,由 caspase-3(半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3)介导的细胞角蛋白 7 和 18 的细胞分裂可导致一种特定的新抗原决定簇形成。而这种新表位可被抗体 M30 所识别。他们分别用抗细胞角蛋白 7 和 18 的抗体,抗活性 caspase-3 的抗体,M30 以及 TUNEL 法对人类第一、三期胎盘的母胎连结带进行连续的切片染色。将 M30 免疫反应性与细胞角蛋白 7 和 18 免疫反应性及 TUNEL 阳性率进行比较,结果表明 M30 能特异地标记凋亡滋养层细胞。且 M30 免疫反应性多与活性 caspase-3 免疫反应性重复。与 TUNEL 反应对比,M30 对于凋亡滋养层似乎是一个高度可重复的标志物,在凋亡级联中,大量的细胞被 M30 染色。该研究者认为:对于滋养层细胞凋亡的检测,M30 是比 TUNEL 反应更好的标志物。其原因有三:一是细胞角蛋白 18 的细胞分裂早于 DNA 的崩解;二是核酸内切酶的活化在某些滋养层细胞可能不易察觉;三是其对凋亡具有特异性,且不易受一些人为因素如切片过程中的人工产物干扰。

总之,足够的胎盘发育,正常的胎盘功能对于整个孕期胎儿健康、生长、发育、成熟是至关重要的。胎盘的凋亡可能影响一系列的胎盘功能进而调节胎盘生长速度,调节胎儿、胎盘、母体间复杂相互关系的平衡。正确地认识胎盘凋亡对于

正常及异常妊娠都是非常必要的。

参考文献：

- [1] Halperin R, Peller S, Rotschild M, *et al*. Placental apoptosis in normal and abnormal pregnancies [J]. *Gynecol Obstet Invest*, 2000, 50: 84 - 87.
- [2] Mari PT, Voravit S, Kathleen H, *et al*. Apoptosis in human term placenta [J]. *Gynecol Obstet Invest*, 2000, 50: 88 - 91.
- [3] Qiao S, Nagasaka T, Harada T, *et al*. P53, Bax and Bcl-2 expression and apoptosis in gestational trophoblast of complete hydatidiform mole [J]. *Placenta*, 1998, 19: 361 - 369.
- [4] Nelson DM. Apoptotic changes occur in syncytiotrophoblast of human placental villi where fibrin type fibrinoid is deposited at discontinuities in The villous trophoblast [J]. *Placenta*, 1996, 17: 387 - 391.
- [5] Steegers T RP, Smith SC, Steegers EA, *et al*. Folate affects apoptosis in human trophoblastic cell [J]. *Br J Obstet Gynaecol*, 2000, 107: 1513 - 1515.
- [6] Khong TY, Hague WM. The placenta in maternal hyperhomocysteinemia [J]. *Br J Obstet Gynaecol*, 1999, 106: 273 - 278.
- [7] Griffith TS, Brunner T, Fletcher SM, *et al*. Fas ligand - induced apoptosis as a mechanism of immune privilege [J]. *Science*, 1995, 270: 1189 - 1192.
- [8] Bamberger AM, Schulte HM, Thunke T, *et al*. Expression of apoptosis inducing Fas ligand in human first and third Trimester placenta and choriocarcinoma cells [J]. *J Clin Endocrinol Metab*, 1997, 82: 3173 - 3175.
- [9] Ejima K, Koji T, Tsuruta D, *et al*. Induction of apoptosis in placentas of pregnant mice exposed to lipopolysaccharides: Possible involvement of Fas/Fas ligand system [J]. *Biology of Reproduction*, 2000, 62: 178 - 185.
- [10] Salvesen GS, Dixit VM. Caspase activation: The induced proximity model [J]. *PNAS*, 1999, 96: 159 - 164.
- [11] Kim CJ, Choe YJ, Yoon BH, *et al*. Patterns of Bcl-2 expression in placenta [J]. *Pathol Res Pract*, 1995, 191: 1239 - 1244.
- [12] Oltvai ZN, Korsmeyer SJ. Checkpoints of dueling dimers foil death wishes [J]. *Cell*, 1994, 79: 189 - 192.
- [13] Donghai D, Moulton BC, Ogle TF. Regression of the decidualized mesometrium and decidual cell apoptosis are associated with a shift in expression of Bcl-2 family members [J]. *Biology of Reproduction*, 2000, 63: 188 - 195.
- [14] Reed JC. Bcl-2 family proteins [J]. *Oncogene*, 1998, 17: 3225 - 3236.
- [15] Lin JH, Deng G, Huang Q, *et al*. KIAP, a novel member of the inhibitor of apoptosis protein family [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000, 279(3): 820 - 831.
- [16] Kasof GM, Gomes BC. Livin, a novel inhibitor of apoptosis protein family member [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(5): 3238 - 3246.
- [17] Kadyrov M, Kaufmann P, Huppertz B. Expression of a cytokerin 18 neo-epitope is a specific marker for trophoblast apoptosis in human placenta [J]. *Placenta*, 2001, 22(1): 44 - 48.

儿童期钙营养与骨矿代谢

四川大学临床医学院妇幼系(610041) 姬巧云综述 吴康敏审校

摘要：儿童的钙营养状况与骨矿密切相关。良好的钙营养是骨骼健康发育的基本保证和骨骼正常生长及形成峰值骨量的物质基础。成人期所达到的峰值骨量是决定老年期是否发生骨质疏松症的重要因素。因此，儿童期的钙营养应受到普遍的重视，调整膳食结构，改善儿童钙营养状况是我们需要尽快采取的措施。

关键词：儿童；钙营养；膳食结构；骨矿含量；骨质疏松

中图分类号：R726.8 文献标识码：A 文章编号：1008-2514(2002)04-0172-04

钙是人体含量最丰富的矿物元素，约占成人重量的 2%，是人体维持正常生理功能所必需的一种营养素。充足的钙营养不但可促进儿童的生长发育，而且对骨的完整性和健康生长非常重要。骨量的大部分累积发生在儿童和青少年期，从出生到青春期，骨量增加了大约 7 倍，而矿物质占 60% 的成熟骨量，且其中最重要的是钙盐，儿童合适的钙营养对骨的矿化有着至关重要的作用^[1]。它直接关系到成年后所达到的峰值骨量，进而降低因骨质疏松所引起的骨折的发生率^[2-3]。可见，钙营养贯穿于人的一生。有必要使人们了解儿童期钙营养对骨矿代谢方面的影响，以提高人们对处于生长期的儿童的钙营养重要性的认识。

1 钙营养

1.1 儿童对钙的需求及目前钙摄入量

膳食营养是人体生长发育的物质基础。钙营养是人体营养学中极为重要的一部分，人体内的钙基本来源于膳食。钙需要量受遗传及其它膳食成分结构的影响，这些因素相互作用，要制定统一的儿童钙需要量似乎不可能^[2]。对于膳食钙、蛋白质摄入量不同、有着不同遗传背景的种族来说，个别民族、国家的研究结果并不适用于全球所有人。

那么要达到最佳峰值骨量，摄入多少钙才合适呢？目前儿童的膳食钙推荐量对于在生长发育期要获得最佳骨量是不够的。Swaminathan^[4]总结了相关研究，认为钙是一种阈值

收稿日期：2001-11-21

作者简介：姬巧云(1974-)，女，硕士毕业，研究方向为儿童保健。

营养素,且这一阈值主要由遗传因素和代谢机制决定,确切的阈值随年龄和其它营养素的摄入情况不同而不同。多数研究认为钙摄入量低于此阈值时,骨钙沉积量随钙的摄入量而增加,而当钙摄入量高于此值时,则骨钙沉积稳定在一较高的常量,这一临界值在某种意义上可以说是“饱和量”,并且这一临界值高于目前的推荐量,从而使得在儿童和青少年期获得最佳骨量。绝大多数学者认为最佳的钙摄入水平虽没有完全确定,但可以肯定的是,至少高于现在的推荐量,多数人的研究结果均显示此临界值在 1 000mg/日以上。

但是由于膳食结构、食品来源、饮食习惯及经济发达水平等的影响,不同国家儿童的钙摄入量差异较大。一般来说欧美等发达国家儿童钙摄入量高,中国等发展中国家钙摄入量普遍较低,主要原因是与乳类制品摄入过少、人群对钙营养的认识有较大关系。我国近年来大量幼儿园调查结果虽有差异,但总的情况是低的。徐泳华研究了成都市两家条件较好的幼儿园,其儿童钙摄入量为 530mg/日左右。李文军等对贫困地区的膳食调查发现 1~5 岁儿童的钙摄入量约占膳食推荐摄入量的 27%~32%,约 93%~99%的儿童钙摄入量均低于 2000 年中国营养学会的膳食钙推荐量,加上我国膳食构成以谷类为主,奶及奶制品摄入较少,尤其是正处于长身体阶段的 1~5 岁儿童,2 岁以后几乎未饮用奶类,仍以谷类为主,豆类及豆制品较少,而蔬菜摄入量较大,植酸及植物纤维素摄入量相对较高,使本来钙摄入量就低的我国儿童,钙吸收受到影响,从而进一步影响钙营养。较之欧美钙摄入量普遍较高的儿童,我国儿童有着相对较高的佝偻病发病率和较低的骨量。亚洲女孩较白种人来说,全身骨密度较低,除与遗传因素有关外,可能与低钙摄入也有很大关系。有人提出在许多发展中国家低钙摄入量可能是限制儿童生长发育和骨骼矿化的一个重要因素。

1.2 钙营养状况的评价方法

钙营养状况的评定是尚未解决的问题。

1.2.1 血清钙

测定某些营养素在血清中的含量是营养学最常用的评定指标之一。由于血钙水平受严格控制的非常完整的自稳系统(包括一个巨大的骨钙库和参加骨钙-血钙平衡调节的甲状旁腺素、降钙素、VitD₃等)调节,使机体中血钙始终处于一个稳定水平,只有在极度缺乏或短期内大量摄入后方能使血钙值下降或上升。而且多数实验表明,血钙与摄入钙之间没有明显的相关关系,临床上以血钙高低来判断机体是否缺钙是不够全面的。但由于操作起来比较方便,目前仍在广泛应用。

1.2.2 尿钙

不是评价钙营养水平的最佳生化指标,因尿钙不但与膳食钙摄入有关,且与膳食钠和蛋白质密切相关,还受尿量及钙的需要量的影响。钙的示踪研究发现,蛋白质摄入加倍时,尿钙上升约 50%,而磷的补充可使尿钙下降。在成人,尿钙的排泄已被大家公认与钙摄入相关,其量的多少可作为钙生物利用度的一个指标,但在快速生长的儿童,二者关系不是很明显,尤其是对于低钙摄入的个体,摄入钙多储存于骨组织,而不是随尿排出。

1.2.3 骨矿物质含量测定方法

为无创性技术,国外已广泛应用于临床,目前较多国内外学者推荐采用骨矿含量的高低来评价钙营养状况。目前主要用双能 X 线测定法(DEXA)测腰椎、桡骨、跟骨等部位的骨密

度、骨量,因该方法有快速、准确、放射性低以及高度的可重复性等优点^[5]。定量超声是最近几年发展起来的新技术,它具有价廉、便携、无放射性等优点,它不仅受骨密度影响,同时也受骨的弹性、结构等影响。

在儿科工作中评价钙营养状况时,除了通过膳食分析钙摄入状况外,也可检测血中甲状旁腺素、血钙、尿钙等代谢指标来综合评定。有条件的话,最好做骨矿物质含量测定,因后者能比较灵敏地反映钙营养状况。

2 儿童钙营养与骨矿代谢

众所周知,钙是骨骼中最丰富的矿物元素,随着钙净储存量的增加,对骨的生长发育产生一定的影响。多数研究认为儿童和青少年期的钙营养状况决定成年后的峰值骨量,而后者则是老年发生骨质疏松的一个影响因素^[6]。近年来,对于儿童钙营养与骨矿物质含量代谢方面的关系研究较多,现从下列几方面分别叙述:

2.1 含量

骨矿含量,即骨量,是表示骨骼中矿物质沉积量的多少,骨量的大部分累积发生在儿童和青少年期,骨量主要受遗传因素影响(约 80%),另受许多环境因素的影响,诸如膳食钙、体育锻炼、甚至产前因素等^[1]。儿童钙营养状况与骨矿含量密切相关,已经肯定,生命早期充足的钙摄入不但可使在年轻时达到较高的骨量,而且对于一生中身体健康有着重要的作用,良好的营养状况,尤其是充足的钙摄入,是保证骨骼健康发育的基本保证和骨骼正常生长及形成峰值骨量的物质基础。每天钙摄入量高的儿童较钙摄入量低的儿童有更高的骨量和骨密度,发生在儿童期和青少年期的骨量沉积是成年后峰值骨量的一个决定因素,从而降低老年后因骨质疏松所引起骨折的危险性^[1]。生长期钙缺乏将影响成年后的峰值骨量和骨密度。这是由于钙缺乏时,虽然由于机体的代偿机制相应地增加钙吸收率,但体内骨骼钙的储留量低于高钙摄入者。对生长期的儿童和青少年来说,需要充足的钙营养,一方面满足机体骨的代谢和尿、汗、粪便等的丢失,另一方面提供骨生长发育所需,因此需处于正钙平衡,这也可以解释为何在低钙摄入的儿童,摄入钙与尿钙不成比例,即使增加钙摄入,尿钙也增加很少,因机体需要将这些钙储存起来以用于骨的生长发育。

国外对于在日常膳食的基础上,添加钙剂的效应也做了大量的研究,大多数研究均显示,补充钙剂后可促进骨矿沉积。提高早期钙的摄入,即使是那些钙摄入量已达到目前推荐量的儿童,也可以使骨矿含量显著的提高^[1]。王身笏对江门市基础钙摄入量不足 300mg/日的 7 岁儿童进行 18 个月的补钙研究,给实验组补充 CaCO₃ 300mg/日,结果 12 个月后两组 BMC 存在显著差异,实验组增加幅度较对照组高约 2.54%,而骨密度在 6 个月时两组已有显著差异,且一直持续到研究结束,证实增加钙摄入后对骨矿沉积有促进作用。徐泳华对成都市区学龄前儿童补钙 6 个月,认为钙剂补充对骨量发育有促进作用。我们对成都郊区膳食钙摄入仅为 250mg/日左右的学龄前儿童每日补充元素钙 300mg 6 个月后,骨矿含量、骨密度、骨面积均显著增加。从多数研究均可看出,儿童补充钙剂后可增加钙的沉积,提高骨量,也发现补钙后效应大小与儿童本身的基础膳食钙摄入量有关。Jeanphilippe 等^[1]发现,基础钙摄入量低者补充钙剂后骨矿获得是高钙摄入组的

3.5 倍,钙摄入量超过 1 000mg/日的青春前期女孩补钙后,发现实验组与对照组相比骨量无显著差异,而低钙摄入组的女孩中却可见补钙后两组骨量有显著差异。成都郊区与市区的结果相比较,骨矿沉积加速更为明显,腰椎骨矿含量、骨密度、骨面积增加值分别是其试验组相应增加值的 1.5、1.3、1.8 倍,表明钙剂补充在基础钙摄入量低的儿童效果更为显著,这很可能是高钙组女孩基础钙摄入量已经很接近或达到临界值。

在全身的许多部位均可见到补钙引起的骨矿变化,常见有腰椎(L1~L4)、挠骨骨干、股骨颈,变化幅度较大,其他如股骨大转子、股骨干等变化次之,这可能是因为腰椎骨、挠骨骨干主要由柱状骨构成,这样骨的转换速率就较皮质骨更快。

那么如果补钙效应持续存在,将影响成年后的峰值骨量,进而降低老年骨质疏松的发病率。一个重要的问题是:补充钙剂停止后,是否补钙效应将持续存在而最终影响峰值骨量呢?在儿童期增加钙摄入量可以提高峰值骨量及骨密度的说法由来已久。这方面仍有争议,Slemenda^[8]、Warren 等^[7]发现在停止补钙后实验组和对照组间的骨量差别消失;Jeanphilippe^[1]对青春前期女孩补钙 1 年,在停止钙剂补充一年后,骨量的获得和骨面积两组比较仍然有显著性。那么差别是否随着时间的推移而越来越小呢?一些横断面及回顾性研究显示生命早期钙摄入量对成年后的骨矿含量有影响,但这些仍需要长时间的观察,且需要前瞻性的研究来揭示,最好是从胎儿期观察到成人后期,将有很大的说服力,以确定长期提高儿童钙摄入对骨的影响。

2.2 丢失及骨质疏松

骨丢失在 20~40 岁就开始,每 10 年下降约 6%~8%,到 70 岁时将下降峰值骨量的 30%~40%。而骨量是骨质疏松的一个主要的决定因素,在骨成熟期较高的骨量被认为是与年龄相关的骨丢失的一个对抗因素。伴随着人口的老龄化,骨质疏松发病率呈上升趋势。因此在世界范围受到普遍关注,而成年后期的以骨量减少、骨折危险性增加为特征的骨质疏松症,可能始于儿童期。在儿童期摄入充足的钙对于获得较高的峰值骨量是必要的,且提高峰值骨量对于降低老年期骨质疏松的发生相当重要。成年后峰值骨量即使有小的升高,也会导致生命晚期骨质疏松发生率下降^[8]。长期的限制钙摄入将会使骨质脆性增加,相反地,提高钙的摄入状况将有助于防止一些严重的健康问题,诸如骨折、高血压、结肠癌、乳腺癌等。

3 提高钙摄入的途径

既然钙营养对骨矿化有着如此重要的影响,且膳食调查儿童的日钙摄入量普遍较低,那么该如何提高钙摄入量呢?主要有以下几个途径^[2,3,9,10]:

3.1 食物

钙是维持人体正常生理功能所必需的营养素,它的主要来源是食物,而食物中钙含量丰富的主要是奶及奶制品如奶酪、酸乳、冰淇淋。目前家长普遍对钙营养认识不足,对儿童的营养需要不注意均衡,甚至放任儿童偏食和吃零食等。另外豆制品及深绿色蔬菜含钙量也较高(菠菜除外,因其草酸盐含量较高,限制了钙的生物活性)。我国由于长期的饮食习惯,奶类、豆制品摄入较少,因此需调整膳食结构,增加奶类及豆制品的摄入,这对于我国不论从经济水平还是饮食习惯来

说,都将是一个长期的过程。

3.2 钙强化食品

国外解决钙缺乏问题的办法是生产钙强化食品,他们有较多品种和相当大产量的钙强化食品供应市场。在我国,虽然已开始试产钙强化面粉,总的来说,目前钙强化食品品种少,且有些口感较差,仅在小范围非目标人群中应用,建议钙强化食品的生产商们应该考虑营养素的全面,而不只是单一一种营养素。

3.3 补充钙剂

以上两种方法在近期皆不可能推广应用,目前唯一可供选择的途径就是添加钙剂。我国目前市场上钙剂种类繁多,由于补充钙剂是一长期行为,必须合理选择安全可靠、有效的钙制剂,高质量的钙剂可概括为以下几个特点:有效钙含量高。无机钙盐的钙含量较高,一般来说,选择钙含量高的钙剂,其成品的钙含量也相对较高,这样,儿童只需摄入较少的钙制剂就可满足需求,提供了方便;具有较好的化学活性和生物活性。化学活性是指在水溶液中钙离子化的程度,生物活性是指钙剂可被机体吸收、储留和利用的程度;安全可靠补钙是加强营养,促进健康,提高体质水平的长期行为,选用无毒无害的钙剂是重要的质量要求;口感好。只有这样才能为儿童所接受,从而提高依从性。综合以上各方面的考虑,多数学者推荐用 CaCO₃ 制剂及枸橼酸苹果酸钙制剂。

4 研究展望与建议

4.1 由于各个民族在遗传方面及膳食结构的影响,需找出各民族钙的最佳 RDA 量,以使儿童至成人后得到理想的峰值骨量,这样将有助于针对性地进行指导,从而全面改善人类钙营养状况。

4.2 加强钙强化食品的研究开发,生产、推广适合中国国情的产品。

4.3 要弄清长期钙剂补充对儿童生长发育、成人后峰值骨量、老年时骨质疏松的影响,有必要从婴幼儿期甚至胚胎期开始进行长期纵向追踪观察。

4.4 建议加强人们对钙营养、补钙的知识、提高峰值骨量的益处、骨质疏松等知识的普及,使全民都能意识到钙营养的重要性。

参考文献:

- [1] Jeanphilippe B, Anne LC, Serge F, *et al*. Calcium enriched foods and bone mass growth in prepubertal girls: a randomized, double blind, placebo controlled trial[J]. *J Clin Invest*, 1997, 99(6): 1287 - 1294.
- [2] American Academy of Pediatrics. Committee on Nutrition. Calcium requirements of infants, children, and adolescents[R]. *Pediatrics*, 1999, 104(5): 1152 - 1157.
- [3] Connie MW. Calcium requirements of physically active people[J]. *Am J Clin Nutr*, 2000, 72(suppl): 579s - 584s.
- [4] Swaminathan R. Nutritional factors in osteoporosis[J]. *Int J Clin Pract*, 1999, 53(7): 540 - 548.
- [5] Catherine G, Pierre B, Louis D, *et al*. Measurement of bone mineral content of the lumbar spine by dual energy x-ray absorptiometry in normal children: correlations with growth parameters[J]. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 70(5): 1330 - 1333.

[6]朱旭萍,廖二元,伍贤平.峰值骨量形成的某些影响因素[J].国外医学生理病理科学与临床分册,2000,20(1):15-17.

[7]Warren TKL, Sophie SFL, Dora MYL, et al. A follow-up study on the effects of calcium-supplement withdrawal and puberty on bone acquisition of children[J]. Am J Clin Nutr, 1996, 64:71-77.

[8]Slemenda CW, peacock M, Huis Zhou, et al. Reduce rates of

skeletal remodeling are associated with increased bone mineral density during the development of peak skeletal mass[J]. J Bone Miner Res, 1997, 12:676-682.

[9]韩宏裕,苏宜香.原发性骨质疏松与钙营养[J].国外医学妇幼保健分册,1998年,9(4):153-155.

[10]Gary M, Chan MD, Karen Hoffman, et al. Effects of dairy products on bone and body composition in pubertal girls[J]. The Journal of Pediatrics, Vol 126, Number 4, 551-555.

婴儿维生素 K 缺乏性出血症病因和预防进展

合肥市妇幼保健所(230061) 王美贞 任效娥综述 姚月芳审校

摘要 :随着全世界对维生素 K 缺乏性出血症的深入研究,人们认为引起婴儿发病的主要因素是维生素 K(Vit K)不易通过胎盘,新生儿对维生素 K 吸收率低。有 VKDB 高危因素的婴儿更容易发生出血。用维生素 K 预防可使本病发生率下降 90%~95%,预防效果较好。

关键词 婴儿;维生素 K;病因和预防

中图分类号:R977.2⁺6;R722.15 文献标识码:A 文章编号:1008-2514(2002)04-0175-02

婴儿维生素 K 缺乏性出血症(VKDB)是危害婴儿健康的最常见出血性疾病之一,其发病急、病死率高、致残率高,与其他儿科常见疾病比较而言,认识 VKDB 的历史不长。近 20 年来,国外在病因、诊断、发病机理、预防措施等方面做了大量研究,我国医学界近 10 年来也对婴儿 VKDB 问题引起广泛关注。

1 VKDB 的分型和发病情况

1.1 VKDB 的分型

根据 VKDB 的发病时间不同可分为早期的、经典的、晚发的,如下表。

附表	婴儿 VKDB 的分型	
VKDB	发病时间	常见出血部位
早期	0~24 小时	头部血肿、颅内、胸腔、腹腔
经典	1~7 天	胃肠、皮肤、鼻、包皮环切术后
晚发	2~12 周	颅内、皮肤、胃肠道

早在 1946 年, Rapoport 报告过晚发 VKDB,但未引起重视。1966 年 Gollman 等再次报告 5 例。此后报告的病例增多。70 年代末和 80 年代初,晚发 VKDB 在世界各地纷纷报道,日本还进行了全国性普查。1981 以来,我国医学期刊发表了大量 VKDB 的文章。

1.2 VKDB 发病情况

全球各地众多有关婴儿 VKDB 的研究表明, VKDB 是世界性婴儿发病和死亡的重要原因。世界公认远东地区是婴儿 VKDB 的高发地区。日本、泰国、马来西亚、新加坡均有不少病例报告,欧洲国家的发病率远远低于亚洲国家^[1],为十万分之几^[2]。1980 年日本进行了第一次全国调查, VKDB 发病率为 1/4 000,母乳喂养为 1/1 700,经过多年预防性投药,1988 年第三次全国调查显示该病发病率显著下降,约为 1980 年的 1/4。发展中国家本病发病率较高,大约 0.6%~3%。我国缺乏

全国性 VKDB 发病资料。万氏等调查 5 个县非预防组发病率分别为 3.15%~14.28%,平均 9.05%。刘氏等调查资料表明,城市发病率为 1.84%,农村 2.86%,平均发病率 2.40%,明显高于日本,从目前资料看,我国是 VKDB 的高发地区。

2 VKDB 的病因

2.1 VKDB 发病主要因素

2.1.1 Vit K 不易通过胎盘

母体内 Vit K 难以通过胎盘,脐带血 Vit K 含量仅为母血的三十分之一左右,导致新生儿脐血中基础 Vit K 浓度低。Shapin 等测定 934 例正常足月新生儿脐带血标本,维生素缺乏诱生蛋白质- (PIVK-) 阳性率高达 29%,说明胎儿期已存在缺乏。PIVKA- 是由肝脏产生,在羧化酶和 Vit K 作用下,全部转变为凝血酶原,血液检测不到 PIVKA-,当 Vit K 缺乏时, PIVKA- 则不能完全转化为凝血酶原,循环血液中可以检测到 PIVKA-。因此, PIVKA- 出现是与 Vit K 缺乏状况同步的。PIVKA- 可准确、敏感地反映机体 Vit K 的营养状况。

2.1.2 新生儿对 Vit K 吸收率较低

新生儿肠道菌群尚未建立,合成 Vit K 少,肠道对 Vit K 吸收率低,约为 26%左右,而成人 40%~60%。

2.1.3 VKDB 发病高危因素

婴儿 Vit K 缺乏受多种因素影响,母乳喂养、母亲妊娠期服药、婴儿腹泻、早产、黄疸、肺炎等疾病是 VKDB 的高危因素,已被众多学者所公认。

有人认为,单纯母乳喂养儿 VKDB 发病率 1/200~1/400,未给 Vit K 预防的纯母乳喂养婴儿发病率比用 Vit K 预防或牛奶喂养者高 15~20 倍。近年来, VKDB 与母乳喂养有关已被国内外学术界公认。这是因为母乳中 Vit K 含量比牛乳中低,仅为牛乳的 1/4,为配方乳的 1/20,且母乳中含多种抗体,这些

抗体对减少呼吸道和肠道感染是有利的,但它能抑制新生儿肠道内正常细菌产生 Vit K^[3]。刘氏等报告母乳喂养儿出血发生率 2.47%,而人工喂养儿或混合喂养儿发病率为 1.12%。统计学检验有差异^[6]。孕晚期服用抗癫痫、抗结核、抗凝血药物可诱导肝线粒体酶增加,从而加快 Vit K 的降解或阻断 Vit K 循环产生缺乏现象。婴儿患腹泻,由于 Vit K 的吸收减少,排泄增多,同时破坏了肠道正常菌群合成 Vit K 而致 Vit K 缺乏出血。

早产儿和有(潜在性)肝胆疾患的婴儿 VKDB 发生率高、出血发生早,国外已有不少报道^[6]。我国刘氏等报告早产儿出血发生率(10.11%),明显高于足月产儿(2.2%),与国外文献一致。

2.2 中国 VKDB 发病率高的因素

2.2.1 孕妇可能存在亚临床 Vit K 缺乏

神经管畸形(NTDs)全球各地均有发生,丹麦报道发病率为 1.4%,美国约 1%,我国是 NTDs 的高发地区,为 2.74%^[3]。神经管畸形的主要发病原因是母体缺乏叶酸。叶酸来自绿色植物, Vit K 也来源于绿色植物以及肝脏类。孕妇缺乏叶酸意味着 Vit K 缺乏。亚临床 Vit K 缺乏没有任何临床表现,也无可靠的诊断方法。部分孕妇在怀孕期间有牙龈出血现象,可能就是提示 Vit K 缺乏。由于母体孕期有亚临床 Vit K^[10] 缺乏,使小儿在出生之前就处于 Vit K 先天不足境地。

2.2.2 分娩后产妇饮食结构注定乳汁中 Vit K 缺乏

在我国,传统分娩后,前 1~2 月饮食结构十分不合理,尤其是广大农村地区。饮食中以鸡汤、鸡蛋、谷类为主,缺乏蔬菜,使小儿出生后处于 Vit K 后天失养状况。

2.2.3 较高母乳喂养率

我国是传统母乳喂养国家,在创建爱婴医院,大力提倡母乳喂养后,母乳喂养率得到进一步提高。较高母乳喂养率使小儿出生后 Vit K 后天失养,故 VKDB 发病率高。

3 VKDB 的预防

3.1 早期 VKDB 的预防

孕期母亲用药是早期 VKDB 常见病因。对孕妇产前是否常规补充 Vit K 预防新生儿早期的 VKDB,到目前为止尚无一致意见。但如孕妇接受了抗惊厥治疗或应用阿斯匹林、抗凝剂、某些抗生素(头孢菌素)、抗结核药等,则应在产前补充 Vit K,因以上药物可加速 Vit K 的破坏而导致 Vit K 缺乏。另外孕妇有早产先兆,产前也应注射或口服 Vit K,以减少严重的早产儿颅内出血发生率^[10]。

3.2 经典、晚发 VKDB 预防

使用 Vit K 预防 VKDB,早在 1961 年美国儿科学会就推荐所有新生儿在出生后 24 小时内肌注 Vit K 0.5~1mg 来预防新生儿出血,这已被许多国家所采纳。自 80 年代以来,无论是发病率高的日本、泰国及其它部分亚洲国家,还是西方国家都针对 VKDB 采取了预防性用药措施。我国抽样调查报告显示新生儿一次应用 Vit K 达 42.3%。作为小儿特定年龄的一种维生素缺乏营养性疾病,其预防效果极好。Lane 认为,出生后一次应用 Vit K 对经典新生儿出血症预防效果是肯定的,但不能完全控制早期的和晚发的出血。同时肌注 Vit K 的弊端也逐渐被人们注意到。如:较高超生理血药浓度,注射部位出血,感染,引起的肌肉挛缩,注射液中的辅剂等。尤其是英国一流行病学调查报告提出肌肉注射 Vit K 与以后儿童加倍发生癌症有关^[7]。尽管尚未得到进一步证实,除瑞典和美国之

外,许多欧洲国家已改为口服预防,并趋向更受欢迎。

近年来,国内外都在预防用药的方法、途径和剂量方面进行积极研究。英国儿科协会建议新生儿常规应用口服 Vit K 预防,而对那些有 Vit K 缺乏高危因素的小儿保留肌注预防^[4,8]。关于口服 Vit K 的量和间隔时间,在不同国家,甚至同一国家的不同地区也不相同。英国、德国多数在出生时、生后 4~10 天、4~6 周各口服 Vit K 1mg。在德国和日本调查,预防使本病下降至原先的 1/10~1/20^[5]。我国万氏提出了口服 Vit K 预防 VKDB 方案:生后开始口服 Vit K 1.5mg,每 10 天一次(最多不超过 15 天)至生后 3~4 个月。单纯母乳喂养儿以后如有感染、服广谱抗生素等情况,应再临时补充一次至 10 个月。生后注射了 Vit K 者,20 天后仍应按上述口服补充。Frank 等^[9]报道,在出生时肌注 Vit K 1 的单纯母乳喂养儿可通过母亲口服 Vit K 1 提高乳汁浓度、婴儿血清浓度,从分娩后开始持续服 12 周,每日 5mg 比 2.5mg 效果更好^[6]。何氏等提出分娩后乳母每 10 天口服 Vit K 10mg,共 10 次的方法,有效地预防了经典和晚发的出血。通过母亲连续口服 Vit K 以持续提高乳汁 Vit K 水平,预防 VKDB 认为更适合中国国情,可操作性强,便于家属接受。我国已经自行开发研制生产了 Vit K 1 口服片剂(5mg 和 10mg),正在开发 Vit K 滴剂,这为我国开展预防性用药提供了物质基础。VKDB 发病在儿科,预防的任务在妇产科,预防该病是需要儿科、妇产科以及妇幼保健工作者共同协作的。

参考文献:

- [1] Shearer MJ. Vitamin K [J]. *Lancet*, 1995, 345(11): 229.
- [2] Victora CG, Haecke PV. Vitamin K prophylaxis in less developed countries: Policy issue and relevance to breastfeeding promotion [J]. *Am J Public Health*, 1998, 88: 203.
- [3] Ubbink JB. Folate Status, homocysteine metabolism and methylene tetrahydrofolate reductase genotype in rural South African blacks with a history of pregnancy complicated by neural tube defects. *Metabolism*, 1999, 48(2): 269-274.
- [4] Thorp JA, Gaston L, Gastons DR, et al. Current concepts and controversies in the use of Vitamin K [J]. *Drugs*, 1995, 49: 376.
- [5] Barton JS, Tripp JH, Meninch AM. Neonatal Vitamin K prophylaxis in the British Isles: current practice practice and trends [J]. *BMJ*, 1995, 310: 623.
- [6] Sutor AH, Dages N, Niederhoff H. Late form of Vitamin K deficiency bleeding in Germany [J]. *Klin Padiatr*, 1995, 207: 89.
- [7] Suzuki K, Fukushima T, Meguro K, et al. Intracranial hemorrhage in an infant owing to Vitamin K deficiency despite prophylaxis [J]. *Childs Nerv Syst*, 1999, 15(6-7): 292-294.
- [8] Wariyar U, Hilton S, Pagan J, et al. Six year's experience of prophylactic oral Vitamin K [J]. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed*, 2000, 82(1): 64-68.
- [9] Frank RJ, Gillinov AM, Smdira NG, et al. Vitamin K reduces bleeding left ventricular assist device recipients [J]. *J Heart Lung Transplant*, 1999, 18(4): 346-350.
- [10] Crowther CA, Henderson DJ. Vitamin K prior to preterm birth for preventing neonatal periventricular haemorrhage [J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2000, 2: 121-125.

瘦素与男性青春期发育

湖北省妇女儿童医院(430070) 陈 非综述 杨 勤 徐再娣 林明理审校

摘要 :瘦素 ,是瘦素基因的产物 ,是由脂肪细胞分泌的一种激素。瘦素通过作用于下丘脑影响 GnRH 的脉冲释放而影响青春期的发育。它可能是独立于性激素之外的青春发育的主要启动因子之一。瘦素浓度的变化在男性青春发育各期具有一定的规律性 ,它的峰值出现时间可能是青春期开始的标志。

关键词 瘦素 ;男性青春期发育

中图分类号 339.3⁺5 文献标识码 A 文章编号 :1008 2514(2002)04 0177 02

瘦素(Leptin)是瘦素基因的产物 ,是由脂肪细胞分泌的一种激素 ,主要功能是向中枢传递体内脂肪存储的负性反馈信号 ,有减少摄食、增加能量消耗和抗肥胖作用。它与体内各种激素之间的相互作用在瘦素的作用机制中具有重要意义 ,如 :与神经肽(NPY)、甲状腺激素、糖皮质激素以及性激素等的相互作用 ,近年来日益受到重视。在与性激素的相互作用方面 ,瘦素对男性和女性青春期发育可能起着不同的作用。目前发现 ,血清瘦素水平在女孩与年龄和体重指数(BMI)值呈明显正相关 ,而在男孩则随着年龄增长呈现出一定的阶段性变化。国内外研究瘦素与青春期发育的关系 ,关注女性较多 ,对男性的研究与报道不多。本文就瘦素在男性青春期发育中可能起的作用进行综述。

1 瘦素在青春期的变化规律

不论男女 ,青春期的发动都与下丘脑促性腺素释放激素(GnRH)脉冲释放峰度和频率增加的触发作用密切相关 ,尤其是夜间促性腺素释放激素脉冲式分泌的增加 ,很多学者认为可以作为青春期开始启动的标志。人们早已观察到体格发育的差异与青春发育的早晚相关 ,充足的营养影响着青春期的发育 ,一定的体重和体脂的积累影响青春期的发动。这些在动物试验、人群调查和临床观察中已被证明。1994 年发现瘦素基因和瘦素 ,更为体脂含量、下丘脑促性腺素释放激素和青春期发育之间的关系作出诠释。

许多研究表明 ,瘦素水平与年龄、体重和 BMI 至少在青春发育前和青春发育初期是呈明显正相关的 ,以后的阶段则表现出男女性的差异。唐金凤、陈名道等学者对上海地区 222 名儿童和青少年血清瘦素水平与肥胖度、青春期发育关系的研究表明 ,在 Tanner I 期和 II 期 ,男孩和女孩的血清瘦素水平接近 ,而且呈上升趋势 ,而在 III 期以后 ,女孩的血清瘦素水平仍逐步上升 ,男孩则逐渐下降。在年龄、性别、BMI、Tanner 分期等因素中 ,BMI 是影响瘦素浓度最为显著的因素。孙长颢等学者对哈尔滨市 600 名儿童血清瘦素水平对青春发育作用的研究表明 ,随着年龄增长 ,女孩瘦素水平呈增高趋势 ,而男孩则呈“低—高—低”变化。这些结论与国外学者^[1-4]的研究结果是一致的。关于血清瘦素水平呈现这种规律性的机理 ,英国学者 Quinton 等的研究显示 :瘦素在血循环中与一种可溶性蛋白(瘦素受体)结合。初生时瘦素结合活性较低 ,青春前期升高 ,青春期又下降 ,成年期则保持一较稳定的水平。他们认为 ,瘦素结合活性随年龄和青春期的进行而变化 ,是因为短型瘦素受体的表达逐渐减少而利于长型瘦素

受体与瘦素的结合。这种结合传递了瘦素的生物学信号。目前认为 ,短型瘦素受体是一种分泌型受体 ,而长型瘦素受体则是主要的功能型受体 ,在下丘脑高度表达。Quinton 等^[5]认为 ,当脑垂体—性腺轴处于相对静止期时 ,瘦素结合活性处于较高水平 ,随着瘦素与长型受体充分结合 ,瘦素结合活性也随之下降 ,同时瘦素在下丘脑相关功能部位的表达增加 ,这一系列变化在一定程度上可解释瘦素水平在青春发育期出现的规律性变化及其影响。

Garcia^[4]的研究表明 ,伴随青春发育的各种激素中 ,瘦素水平最先升高 ,之后才有卵泡刺激素 FSH、黄体生成素 LH、雄激素 T 的逐渐增高。亦有研究表明 ,男孩初次遗精时间与血清瘦素水平突增的时间具有明显的相关性 ,提示瘦素突增时间可能为青春期开始时间。Suter 等^[6]检测了 5 例无生殖腺的少年雄性猴子青春前期和青春发育期的血清瘦素、生长激素 GH 和胰岛素样生长因子 - 1(insulin like growth factor ,LGF - 1) 的浓度变化 ,发现在青春发育启动前 30 天夜间瘦素水平明显升高。另外 ,在青春发育前早期到青春发育启动前 30 天夜间的 GH 和 LGF - 1 的浓度增高。显然 ,这些变化与性功能无关。因此 ,这些发现提供了瘦素和由 GH 导致的 LGF - 1 浓度增高对发育作用的证据 ,特别是与之相关的夜间脉冲性促性腺激素分泌并诱导青春发育启动的作用。

2 瘦素对青春期发育的作用

目前认为瘦素作为与体脂含量正相关的能量储存信号作用于下丘脑 ,从而间接参与对下丘脑促性腺素释放激素(GnRH)的调控 ,产生于下丘脑弓状核的 NPY 可能是瘦素作用的中介物质之一。有人发现 NPY 对机体代谢有调控作用 ,当机体处于不利的代谢状况下(如长期饥饿) ,NPY 在下丘脑的表达增加 ,对 GnRH 神经元产生抑制 ,从而使 LH 水平下降 ,性发育延迟。

孙长颢等学者对 300 名 10 ~ 16 岁肥胖男孩的对照研究表明 ,从青春发育前期到青春发育期开始的几个年龄段内 ,肥胖组男孩血清睾酮水平始终低于对照组 ,血清瘦素水平则明显高于对照组 ,而肥胖组男孩的初次遗精时间早于对照组 ,因此推测青春发育的启动可能与性激素无关 ,而与血清瘦素水平密切相关。Palment 等对中枢性性早熟(CPP)患儿的研究亦表明 ,瘦素的昼夜节律并不依赖于垂体——性腺轴的活性。Weimann 等^[7]对一些优秀的少年体操运动员青春发育、血清瘦素水平及其它相关因素的对照研究显示 :由于体操运动员强大的运动负荷和形体要求 ,他们的体脂含量和血清瘦素水

收稿日期 2001-12-14

作者简介 :陈 非(1979 -) ,男 ,医师 ,研究方向为小儿神经、内分泌疾病。

平明显低于普通人群;在男性青春发育 期未出现血清瘦素峰值,他们的青春发育相对推迟。这些观察说明瘦素在男性青春发育的启动中起着重要作用,血清瘦素水平可能是独立于性激素之外的主要启动因子之一。

进入青春发育期后,男孩体内血清瘦素水平从峰值逐渐下降,与此同时,血清睾酮水平则逐步上升。从这个阶段开始,男性血清瘦素水平与血清睾酮水平呈现出明显的负相关,这可能是睾酮对瘦素分泌抑制作用的表现。Jockenorel^[8]的研究显示,雄性激素可抑制 OB 基因的表达,使血清瘦素水平下降。Garcia^[4]的研究亦表明,瘦素与 FSH、LH、T 均呈负相关关系($P < 0.005$)。还有研究显示,在调整脂肪含量后,血清瘦素浓度随青春期发育阶段的增加而下降。认为儿童相对的瘦素抵抗是正常生长过程的一部分。因为性成熟需要蓄积足够的脂肪含量,因而在青春期发育前期,中枢产生暂时的瘦素抵抗以蓄积必要的能量,而后随着青春期发育的逐渐成熟,抵抗也逐渐减弱^[9]。因此,瘦素水平的阶段性变化是受中枢和外周多种因素调控的综合结果。

瘦素在维持两性青春期发育方面是否具有同样重要的作用呢?目前许多学者认为瘦素在维持女性青春期发育中有一定作用,但不是维持男性青春期发育所必需的^[10]。Bronson 等进行的动物实验证实,雄性鼠青春期开始后,限制其饮食和减轻体重并不会阻碍青春期的完成。但 Andreevli 等^[11]对瘦素缺乏的脂肪缺乏性糖尿病患者生育功能状况的调查研究却显示,尽管瘦素水平低,患者的青春发育和生育功能却均正常,认为瘦素也不是维持女性正常生殖功能和青春发育的根本要求。Laughlin 等^[12]学者的研究则认为瘦素的昼夜规律性(而非血清瘦素浓度)才是影响人类生殖系统的更重要的因素。的确,瘦素在维持男性青春期发育和生殖功能方面的作用,国内外对人群研究的报道还很少,尚需进一步探讨。

3 瘦素与肥胖男孩青春期发育

关于男性肥胖儿青春期发育的问题,众多学者的研究普遍显示肥胖儿青春发育提前。其机理可能与增高的瘦素水平或夜间瘦素脉冲释放的提前对生殖轴的启动有关。但有些学者则认为肥胖儿性征发育并非由垂体促性腺功能过早发动引起,而可能与肾上腺皮质功能提前发动或性激素结合球蛋白的变化对肥胖儿性激素活性增加的影响有关。认为肥胖儿性激素结合球蛋白水平下降,因而游离性激素水平升高,可能促进性征发育。另外脂肪细胞能使雄性激素通过芳香化转为雌激素,所以男性肥胖患儿体内雌激素水平可能升高,使部分肥胖患儿乳房增大,但一般无其它女性化表现,一旦体重减轻,性激素结合球蛋白和性激素水平均可逆转恢复正常。

过去一直认为,肥胖患儿不存在性腺功能紊乱的问题,少数第二性征发育落后的男患儿可能需要除外一系列伴发肥胖的综合征(如“肥胖性生殖无能综合征”等)以及由于会阴部脂肪堆积造成的“隐匿性阴茎”。但临床上的确有一些肥胖男孩表现出的第二性征发育落后和睾酮水平低于正常无法找到令人满意的解释。肥胖男孩血清瘦素水平的增高可能导致青春发育启动的提前,睾酮水平的升高又可能通过减少体脂含量、对肌肉组织的同化作用和降低循环血中瘦素结合蛋白的水平来抑制瘦素的表达。但这种相互调节(促发与反馈抑制)是否具有一个调控点以及如何调控值得探讨。而且青春发育启动后的第二性征发育和青春发育的维持可能是更多、更复杂的机制相互作用的结果。目前国内对肥胖男孩青春发育状况、

相关激素水平以及相互影响的大样本调查尚不多,进行更长期、更广泛、更深入的研究已成为儿童保健和临床工作的迫切需要。

综上所述,瘦素通过作用于下丘脑影响 GnRH 的脉冲释放从而影响青春期的发育。它可能是独立于性激素之外的青春发育的主要启动因子之一。瘦素浓度的变化在男性青春发育各期具有一定的规律性,它的峰值出现时间可能是青春期开始的标志。瘦素在维持男性青春期发育中所扮演的角色及其具体作用方式与机制尚需进一步探索与研究,以便为临床诊疗和预防保健工作提供更多、更有力的理论依据和指导。

参考文献:

- [1] Clayton PE, Gill MS, Hall CM, et al. Plasma leptin through childhood and adolescence[J]. Clin Endocrinol, 1997, 46: 727 - 733.
- [2] Ahmed MR, Ong KKL, David J, et al. Longitudinal study of leptin concentrations during puberty: sex difference and relationship to changes in body composition [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1999, 84: 899 - 905.
- [3] Blum WF, Engluro P, Hanitsch S, et al. Serum leptin levels in healthy children and adolescence: dependence on body mass index, body fat mass, gender, puberty stage, and testosterone [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1997, 82: 2904 - 2909.
- [4] Garcia MRV, Andrade MA, Rios M, et al. Serum leptin levels in normal children: relationship to age, gender, body mass index, pituitary - gonadal hormones and pubertal stage [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1997, 82: 2849 - 2855.
- [5] Quinton ND, Smith RF, Clayton PE, et al. Leptin binding activity changes with age: the link between leptin and puberty [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1999, 84(7): 2336 - 2341.
- [6] Suter KJ, Pohl CR, Wilson ME. Circulating concentrations of nocturnal leptin, growth hormone, and insulin - like growth factor - I increase before the onset of puberty in agoradial male monkeys: potential signals for the initiation of puberty [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2000, 85(2): 808.
- [7] Weimarn E, Blum WF, Witzel C, et al. Hypoleptinemia in female and male elite gymnasts [J]. Eur J Clin Invest, 1999, 29(10): 853 - 860.
- [8] Jockenorel F, Blum WF, Vogel E, et al. Testosterone substitution normalizes elevated leptin serum levels in hypogonadal men [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1997, 82: 2510 - 2513.
- [9] 李燕琴, 岳亚飞. 瘦素与女性青春期发育 [J]. 国外医学妇幼保健分册, 2001, 12(3): 102 - 104.
- [10] Mantoros CS, Flier JS, Rogol AD, et al. A longitudinal assessment of hormonal and physical alterations during normal puberty in boys V. Rising leptin levels may signal the onset of puberty [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1997, 82: 1066 - 1070.
- [11] Andreevli F, Hanaire BH, Laville M, et al. Normal reproduction function in leptin - deficient patients with lipotrophic diabetes [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2000, 85(2): 715.
- [12] Laughlin GA, Yen SSC. J Hypoleptinemia in women athletes: absence of diurnal rhythm with amenorrhea [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1997, 82(1): 318 - 321.

苯丙酮尿症筛查进展

湖南长沙中南大学湘雅二医院临床检验学教研室(410011) 文江平综述 唐爱国审校

摘要 :苯丙酮尿症是严重危害新生儿健康的遗传代谢疾病之一。进行早期筛查是早期发现苯丙酮尿症患者并及时予以治疗的关键所在,因此发展一种敏感度、特异性、准确度、重复性好且有利于大范围人群筛查的方法是其根本目的。现在国际上广泛采用的方法有细菌抑制法、荧光光度法、酶法、高效液相色谱法、质谱串联。研究表明质谱串联是进行新生儿遗传代谢疾病早期筛查的发展方向。

关键词 苯丙酮尿症 ;血液 ;尿液

中图分类号 :R722.11 文献标识码 :A 文章编号 :1008 2514(2002)04 0179 03

苯丙酮尿症(phenylketonuria, PKU)是指因苯丙氨酸羟化反应障碍所导致的一种较为常见的常染色体隐性遗传代谢疾病(发病率为 1/1 万~1.5 万)。由于苯丙氨酸羟化酶(phenylalanine hydroxylase, PHA)活性,四氢生物喋呤(tetrahydrobiopterin, BH4)辅因子的合成和 BH4 的再循环障碍,婴儿自出生后血液中苯丙氨酸浓度持续升高。高浓度苯丙氨酸及其旁路代谢产物的神经毒性作用使 PKU 患儿皮肤毛发色素变浅,生长发育落后,智力严重障碍,并且大约 25% 的患儿继发癫痫,病人的骨骼、皮肤、脑白质等均可有异常。如果早期予以低苯丙氨酸饮食治疗,使患儿血液中的苯丙氨酸维持在理想范围[60~120 μmol/L(1~2 mg/dL)]^[1],可防止智力严重障碍以及继发癫痫等疾病的发生。因此 PKU 的新生儿筛查是早期发现患儿并及时予以治疗的关键所在。

自从 Guthrie 于 1961 年建立细菌抑制法以来,相继出现荧光分光光度法、苯丙氨酸脱氢酶法、高效液相色谱法(包括氨基酸分析仪法、反相高效液相色谱法等)、高效毛细管电泳法、高效液相色谱质谱串联(HPLC/MS)、串联质谱(MS/MS)等等方法进行新生儿筛查和监测患儿饮食治疗时的苯丙氨酸浓度。本文就近年来 PKU 的筛查进展作一综述。

1 细菌抑制法

1961 年, Guthrie 首先提出:由于琼脂糖培养基中的噻吩丙氨酸可以抑制枯草杆菌(*Bacillus subtilis*, ATCC6051)的生长,同时苯丙氨酸及其代谢产物苯丙酮酸,苯基乳酸可以抑制噻吩丙氨酸的此种作用。因此可以将浸有血液或尿液的滤纸片置于培养基表面上,然后在 35~37℃ 过夜培养,通过抑菌圈的大小来计算样本中的苯丙氨酸浓度。Guthrie 用此法从 3 118 名人群中筛查出 21 名 PKU 患者(同时用纸色谱法及氧化酶法确认),且假阳性率低,其结果与三氯化铁法相比较有更高的敏感性与特异性。同时将此方法成功的运用于 21 例低苯丙氨酸饮食治疗的苯丙酮尿症患者的苯丙氨酸浓度监测。此方法不需要特殊的仪器,简便易行,试剂成本较低,并且可以用滤纸片收集血液标本进行检测,极大的方便了大范围内的人群筛查。而且样品量小,可同时测定婴儿血液、尿液的苯丙氨酸浓度。因此该法不断完善的同时在全世界范围推广应用,已成为国际上筛查苯丙酮尿症的常规方法。但是此法仅能半

定量分析,且血液中苯丙氨酸浓度偏低时准确性不高。Wang^[2]运用受试者工作特性曲线(receiver operating characteristic plots, ROC), Youden 指数(youden's index)来分析细菌抑制法,荧光分光光度法,苯丙氨酸脱氢酶法等方法的 PKU 筛查效能。结果表明, Guthrie 细菌抑制法的假阳性率为 0.07%, ROC 值为 0.9982(最佳效能 ROC 值为 1)。造成假阳性的原因主要是肝脏苯丙氨酸羟化酶不成熟,生物喋呤代谢缺陷,肝脏损伤以及肠外氨基酸营养。由此可见,虽然此法仅能半定量分析,但仍然是各国进行苯丙酮尿症筛查的常用方法。

2 荧光光度法

荧光光度法是一种灵敏度较高,能定量测定苯丙氨酸浓度的方法。其基本原理是,苯丙氨酸与茚三酮试剂反应产生荧光,再加入亮氨酸-丙氨酸二肽和铜试剂增强荧光,通过测定荧光强度来计算苯丙氨酸浓度。Fingerhut^[3]将 ISOLAB NCS 试剂盒(荧光光度法为基本原理)与 Quantase 试剂盒(苯丙氨酸脱氢酶法为基本原理), Guthrie 细菌抑制法(BIA),离子交换色谱法等来测定样品中的苯丙氨酸进行比较。结果表明 NCS 试剂盒(荧光光度法为基本原理)与离子交换色谱法比较来测定干血纸片和血浆苯丙氨酸浓度,均数差分别为 -25 μmol/L, -10 μmol/L, 标准差(s)分别为 91 μmol/L 和 50 μmol/L,一致性甚好,同样与其他三种方法也有良好的一致性。Wang 等^[2]应用 ROC, Youden 指数(youden's j index), (likelihood ratio, LR)来评价 ISOLAB 苯丙氨酸测定试剂盒(荧光光度法为基本原理)与 Quantase 试剂盒(苯丙氨酸脱氢酶法为基本原理), Guthrie 细菌抑制法(BIA)的筛查效能。结果表明:对于荧光光度法,当苯丙氨酸浓度为 0.18 mmol/L 时,其敏感度即真阳性率(TPR)为 100%,假阳性率(FPR)为 1.5%。三种方法的 ROC 值分别为 0.9968, 0.9972, 0.9982, 统计学无显著差异($P=0.16$, $P>0.05$)即三种方法筛查效能相似。因此荧光光度法也是国际上采用的进行 PKU 筛查的常用方法之一。

3 高效液相色谱法

在 PKU 筛查阳性的患儿中,有一部分患儿是四氢生物喋呤(tetrahydrobiopterin, BH4)缺陷所致。BH4 缺乏的患儿尽管采用低苯丙氨酸饮食治疗,但是由于 5-羟色胺、多巴胺的合成障碍,仍会出现神经系统症状如进行性肌张力低下^[4]。因此

收稿日期:2002-02-28

作者简介:文江平(1974—),男,在读硕士研究生,研究方向为临床生物化学。

及时早期鉴别经典型 PKU 与 BH4 缺乏症十分重要。应用高效液相色谱法筛查 PKU 分为二部分:测定血液中的苯丙氨酸和酪氨酸的浓度以及对患儿进行尿蝶呤谱分析。

3.1 血液中的苯丙氨酸和酪氨酸的分析

应用高效液相色谱法来筛查苯丙酮尿症是快速有效的方法,包括离子交换色谱法,反相高效液相色谱法(RP-HPLC)等。结果分析表明此类方法有良好的敏感性及特异性,且所需样品量较少,可以用滤纸片收集血液标本进行检测。

新生儿苯丙酮尿症的筛查是在新生儿出院之前测定干血滤纸片的苯丙氨酸浓度来进行的。McCabe 等(1983 年)发现新生儿在出生后的 14 天内,血液中苯丙氨酸的水平是持续升高的。这意味着苯丙氨酸症筛查的可靠性随婴儿的年龄增长而增大。因此可能有一部分 PKU 患儿由于住院期较短,其血液中苯丙氨酸的水平未达切割点,所以出现假阴性。McCabe 通过调查发现(血液中苯丙氨酸切割点为 4mg/dL):如果在婴儿出生 0~12 小时内收集血样,则有 34% 的 PKU 患儿为假阴性;在出生后 12~24 小时收集血样,则有 9.7% 为假阴性;在出生后第二天收集血样,则有 2.4% 为假阴性;在第三、四天则分别有 0.15%、0.05% 的假阴性。美国儿科协会(1992 年)认为,如果第一次筛查的取样时间是在出生后 24 小时内进行的,则必须进行二次取样来筛查。现常用的细菌抑制法,荧光光度法,高效液相色谱法测定苯丙氨酸,均以 4mg/dL 作为切割点来减少假阴性。然而超过 90% 的新生儿(其苯丙氨酸浓度 > 4mg/dL)随后被证实为假阳性即无苯丙酮尿症。

PKU 患者遗传缺陷包括肝脏苯丙氨酸羟化酶及其辅因子的合成缺陷,因此苯丙氨酸羟化为酪氨酸的效率降低,血液中苯丙氨酸水平升高而酪氨酸水平下降。Blitzer(1985 年)证实 Phe/Tyr 能显著区别对照组,苯丙酮尿症组和持续性高苯丙氨酸血症组病人。Qu(1991 年)测定了 210 名新生儿包括 9 名 PKU 患儿以及另外 50 个 PKU 患者的血样,发现所有的患者的苯丙氨酸与酪氨酸的比率(Phe/Tyr)均大于 2,因此建议用苯丙氨酸与酪氨酸的比率(Phe/Tyr)来筛查那些较早出院的婴儿。Ley^[5]以 4 个新生儿(其兄弟姐妹已确诊为苯丙酮尿症)和正常对照组为研究对象,分别在出生 4、8、24 和 48 小时采集血样进行分析,发现:如果仅以苯丙氨酸的浓度为判断指标,则有一例患儿将呈假阴性,而用苯丙氨酸与酪氨酸的比率(Phe/Tyr)则可以在出生后 24 小时内清楚的区别患儿与非患儿(两个患儿的 Phe/Tyr 值分别为 2.9 和 3.2,正常对照组的 Phe/Tyr 值均小于 1.0)。用此比率可使新生儿出院后不必进行二次筛查,并且可以减少由过高的假阳性所带来的费用负担。同时,在观察了 1 000 多例样本后发现苯丙氨酸与酪氨酸的比率(Phe/Tyr)的切割点为 1.5。这些研究表明,当苯丙氨酸与酪氨酸比率(Phe/Tyr)的切割点为 2 时,PKU 筛查的敏感性和特异性可达 100%。因此,Ley 推荐使用高效液相色谱法测定苯丙氨酸与酪氨酸比率来进行新生儿苯丙酮尿症的筛查。

3.2 尿蝶呤谱的分析

由于在 PKU 筛查阳性的患儿中,有部分患儿是四氢生物蝶呤(tetrahydrobiopterin, BH4)缺陷所致。因此及时早期鉴别经典型 PKU 与 BH4 缺乏症十分重要。运用高效液相色谱法来鉴别经典型苯丙酮尿症与四氢生物蝶呤缺乏症是十分有效的

方法。该方法分为直接法和间接法。直接法为直接测定尿液中的四氢生物蝶呤、新喋呤、二氢生物蝶呤来鉴别经典型苯丙酮尿症与各种类型四氢生物蝶呤缺乏症。间接法为将尿液处理后,二氢生物蝶呤、四氢生物蝶呤转化为生物蝶呤,再测定生物蝶呤、新喋呤的含量,求出二者之间的比值及生物蝶呤所占的百分比等来鉴别经典型苯丙酮尿症与各种类型四氢生物蝶呤缺乏症。

当尿蝶呤谱的分析有困难时, BH4 负荷试验也是快速、可靠的鉴别诊断试验。当尿蝶呤谱的分析疑为 BH4 合成酶即 6-丙酮酰四氢喋呤合成酶(PTPS)缺乏时,可以给患儿口服 BH4 片(7.5mg/kg)进行负荷试验。BH4 缺乏者在口服 BH4 片 4~6 小时,血苯丙氨酸浓度下降,而经典型苯丙酮尿症患者是苯丙氨酸羟化酶缺乏,故对 BH4 无反应。因此采用尿蝶呤谱的分析和 BH4 负荷试验可以有效的从 PKU 患儿中筛检出 BH4 缺乏症,使患儿尽早得到有效治疗。

4 质谱分析法

质谱分析是近年来发展起来的高灵敏分析技术。它是将化合物形成离子和碎片离子,按其质荷比(m/z)的不同进行分离测定。包括气相色谱-质谱联用(GC-MS),高效液相色谱-质谱联用(HPLC-MS),串联质谱(MS-MS)等。

Chace 等(1993 年)应用同位素稀释串联质谱测定干血纸片中的苯丙氨酸与酪氨酸来进行 PKU 筛查,仅需 2~3 分钟且所需样品量少,将用荧光光度法筛查过的婴儿成功的分为正常、PKU 患儿及假阳性,并且同时筛查出两例酪氨酸血症患儿。串联质谱也证实 Phe/Tyr,是进行 PKU 筛查的极好指标^[6]。Schulze^[7]用电喷雾串联质谱测定 Phe/Tyr,成功的将 78 例血苯丙氨酸水平升高(> 150mmol/L)的患儿分为 PKU(n=23)与非 PKU 高苯丙氨酸血症(n=35; P<0.001),大大减少假阳性率的出现。其它的疾病如甘氨酸血症,甲硫氨酸血症,枫糖尿症,同型半胱氨酸血症和脂肪酸代谢障碍等^[8]也可以在同一样品中进行检测。因此串联质谱是进行新生儿遗传代谢疾病筛查工作的有效手段。

5 小结

目前进行新生儿 PKU 筛查的方法发展很快。除去上述,还有苯丙氨酸脱氢酶法^[3]、高效毛细管电泳法、生物敏感电极法^[9]以及用分子生物学方法对 PHA 基因的突变位点筛查,进行产前诊断都是行之有效的方法。

综上所述,为使 PKU 病人得到有效的治疗,快速准确的测定血液中的苯丙氨酸浓度是非常重要的。自动氨基酸分析仪比较昂贵,因此不适合于做常规苯丙氨酸浓度的测定,但是可以用来测定大部分血浆氨基酸包括必需氨基酸的浓度。细菌抑制法、荧光光度法虽然简便易行试剂成本较低,但极费时间和人力,而且准确性、精密度与高效液相色谱法、串联质谱相比较差,血液中的干扰物质和样品质量也可以增加假阳性率。串联质谱虽然仪器昂贵,但是准确度、特异性好,高通量,易自动化,试剂费用低且能够同时检测出其它多种遗传代谢异常症,因此代表未来新生儿遗传代谢疾病筛查的发展趋势^[10]。

未来的新生儿筛查工作应积极进行高技术探索性研究,逐渐扩大筛查领域和病种。早期、准确进行筛查以保证患儿得到有效正确的治疗,防止不可逆脑损害,为新生儿的健康成

长做出贡献。

参考文献：

- [1] Tuchman M . Phenylalanine and Tyrosine quantification by isotope dilution liquid chromatography - mass spectrometry from filter paper blood spots[J] . Clin Chem ,1999 ,45(4) :571 - 572 .
- [2] Wang ST , Pizzolato S , Demshar HP . Receiver operating characteristic plots to evaluate Guthrie , Wallac , and Isolab phenylalanine kit performance for newborn phenylketonuria screening[J] . Clin Chem ,1997 ,43(10) :1838 - 1842 .
- [3] Fingerhut R , Stehn M , Kohlschutter A . Comparison of four different phenylalanine determination methods[J] . Clin Chim Acta ,1997 ,264(1) :65 - 73 .
- [4] Blau N , Thony B , Spada M , *et al* . Tetrahydrobiopterin and inherited hyperphenylalaninemia[J] . The Turkey J Pediatr ,1996 ,38(1) :19 - 35 .
- [5] Levy PA , Müller JB , Shapira E . The advantage of phenylalanine to tyrosine ratio for the early detection of phenylketonuria [J] . Clin Chim Acta ,1998 ,270(2) :177 - 181 .
- [6] Chace DH , Sherwin JE , Hillman SL , *et al* . Use of phenylalanine - to - tyrosine ratio determined by tandem mass spectrometry

to improve newborn screening for phenylketonuria of early discharge specimens collected in the first 24 hours[J] . Clin Chem ,1998 ,44(2) :331 - 339 .

- [7] Schulze A , Kohlmueller D , Mayatepek E . Sensitivity of electrospray - tandem mass spectrometry using the phenylalanine/tyrosine - ratio for differential diagnosis of hyperphenylalaninemia in neonates[J] . Clin Chim Acta ,1999 ,283(1 - 2) :15 - 20 .
- [8] Chace DH , Hillman SL , Millington DS , *et al* . Rapid diagnosis of homocystinuria and other hypermethionemias from newborns' blood spots by tandem mass spectrometry[J] . Clin Chem ,1996 ,42(2) :349 - 355 .
- [9] Uang T , Warsinke A , Kuwana T , *et al* . Determination of L - phenylalanine based on NADH - detecting biosensor [J] . Anal Chem ,1998 ,70(5) :991 - 997 .
- [10] Ytkovicz TH , Fitzgerald EF , Marsden D , *et al* . Tandem mass spectrometric analysis for amino , organic and fatty acid disorders in newborn dried blood spots : a two - year summary from the New England Newborn Screening Program [J] . Clin Chem ,2001 ,47(11) :1945 - 1955 .

新生儿代谢异常的气相色谱 - 质谱分析法筛查

暨南大学第一附属医院围产医学中心(510632) 宋元宗综述 王自能审校

摘要 :在筛查新生儿尿液发现遗传性代谢疾病和暂时性代谢异常方面 ,气相色谱 - 质谱分析法是一种准确、灵敏、特异和适应证广的技术。利用这种分析手段 ,尿液中的有机酸类、氨基酸类、糖类、糖醇类及核酸碱基等多种多样的复合物可以同时得以定量和定性分析。考虑到 IMD 的病情严重程度及其对治疗的反应等原因 ,目前主要用气相色谱 - 质谱分析法筛查甲基丙二酸尿症、丙酸血症、异戊酸血症等 20 多种遗传性代谢疾病。

关键词 :气相色谱 - 质谱分析法 ;遗传性代谢疾病 ;新生儿 ;尿液

中图分类号 :R722.11 文献标识码 :A 文章编号 :1008 2514(2002)04 0181-03

针对代谢性和内分泌性疾病进行新生儿筛查 ,以及早发现并及时治疗患儿是降低儿童弱智发生率 ,提高国民素质行之有效的措施。我国政府已于 1995 年将新生儿筛查正式列入母婴保健法 ,新生儿筛查已经成为我国妇幼保健工作的重要内容。本文将气相色谱 - 质谱分析法 (gas chromatography - mass spectrometry , GC - MS) 筛查新生儿代谢紊乱的进展作一综述。

1 新生儿代谢异常

新生儿代谢异常可分为暂时性和持续性两种。前者系由于早产、窒息等非遗传因素造成的暂时性代谢紊乱 ,若得不到及时纠正则可造成体重不增、学习障碍等不良后果 ;而后者则是由于特定基因表达异常而导致特定酶、受体或其他功能蛋白的作用异常 ,引起机体细胞和器官中生化反应的异常 ,反应底物或部分中间产物在体内大量蓄积 ,并引起一系列的临床

表现 ,即遗传性代谢疾病 (inherited metabolic diseases , IMD)。IMD 患儿若得不到及时诊治 ,则有发生猝死的危险 ,存活者亦会产生智力 - 运动发育迟缓等神经系统缺陷。IMD 患儿的病情要较暂时性代谢异常患儿更为严重 ,因此是新生儿筛查的主要目标。

新生儿代谢异常危害大 ,而其发生率并不低。Kuhara 等^[1]对 16 246 例日本新生儿进行了代谢异常的筛查 ,共发现代谢异常 238 例 ,占全部筛查新生儿的 1.5% ,其中暂时性及持续性病例分别为 227 例和 11 例 ,分别占阳性病例的 95.4% 和 4.6%。IMD 虽然单病种发病率较低 ,但此类疾病种类繁多 ,故其总的发病率并不低 ,尤其是在特定高危人群中。如一项针对我国北京两所医院高危儿童的筛查结果表明^[2] ,393 例病人中有 51 例患有 IMD ,阳性率约为 13%。IMD 新生儿常见的临床表现为呕吐、惊厥、昏迷、肌张力异常、代谢性酸中毒

收稿日期 :2001-11-14

作者简介 :宋元宗(1970—) ,男 ,主治医师 ,医学博士。

等非特异性临床表现^[3],因此临床医生往往难以作出具体的病因诊断。着眼于患儿的异常生化代谢产物进行代谢异常的筛查,对于及早发现从而及时治疗 IMD 十分必要。

2 气相色谱 - 质谱分析法

IMD 患儿体内蓄积产物往往通过尿液排出,而且尿液采样对机体无创伤性,因此尿液常被用来作为筛查此类疾病的样品。近年来 GC - MS 在检测新生儿代谢异常方面的应用得到重视。其原理是对尿液样品进行合适的处理后,先用气相色谱将尿液中混在一起的多种多样的成分有效地彼此分离,然后用质谱对各种成分进行结构分析,从而确定其性质,保证检测结果准确可靠;还可在尿液样品中加入内标物,根据待测物质与内标的相对总离子流面积来对待测物进行定量检测,其检测灵敏度相当高,某些物质的检测限甚至可达 10^{-15} mol 水平。GC - MS 的检测结果通常用总离子(total ion current, TIC)流图表示,由于不同 IMD 患儿尿液内的异常代谢物不同,TIC 图也就不同,因此 GC - MS 结果特异性较强。GC - MS 的特点除了准确、灵敏度高而特异性强以外,能够同时分析多种成分也是其重要特点。应用这种方法,可以同时检测

一个尿液样品的有机酸类、氨基酸类、糖类、糖醇类及核酸碱基等多种多样的复合物^[4],能够一次性筛查多种多样的 IMD 筛查适应征广。GC - MS 的上述特点使其在代谢异常的筛选方面有明显的优势,具有良好的应用前景。

3 GC - MS 筛查 IMD 的适应证

GC - MS 筛查 IMD 的发展过程也是其适应证不断扩大的过程。1966 年 Tanaka 等应用 GC - MS 发现第一例异戊酸血症。1991 年 Shoemaker 等发现用尿素酶处理尿液的方法,已能用 GC - MS 同时检测 103 种有机酸类、氨基酸类、糖类复合物,诊断胱氨酸尿症,赖氨酸尿症,中链酰基脱氢酶缺陷病,鸟氨酸氨基甲酰转移酶缺陷症,aspartylglucosaminuria,甲基丙二酸尿症,丙酸尿症和戊二酸尿症等 8 种 IMD。此后日本学者 Matsumoto 等^[5]对 GC - MS 检测尿液成分的方法作进一步改进,形成了比较成熟的方法流程。现在可通过 GC - MS 诊断的 IMD 已达 101 种,但考虑到 IMD 病种的发病率及对治疗的反应等因素,当前该方法筛查的 IMD 主要有 22 种^[6](见表 1)。

表 1 GC - MS 筛查的 22 种遗传性代谢疾病

编号	中文名称	英文名称
1	甲基丙二酸尿症	Methylmalonic aciduria
2	丙酸血症	Propionic acidemia
3	异戊酸血症	Isovaleric acidemia
4	- 甲基丁烯酸酰甘氨酸尿症	- methyl - - crotonylglycinuria
5	- 羟基 - - 甲基戊二酸尿症	- hydroxyl - - methylglutaric aciduria
6	- 酮硫解酶缺陷症	- ketothiolase deficiency
7	多羧酸酶缺陷症	Multiple carboxylase deficiency
8	戊二酸尿症 型	Glutaric aciduria type
9	酪氨酸血症	Tyrosinemia
10	尿素循环障碍及其他高氨血症 *	Urea cycle disorders and other hyperammonemia *
11	双羧酸尿症(包括戊二酸尿症 型)	Dicarboxylic aciduria including glutaric type
12	乳酸尿症(包括果糖 - 1,6 - 二磷酸酶缺陷症)	Lactic aciduria including fructose - 1,6 - biphosphatase deficiency
13	甘油尿症	Glyceroluria
14	黑酸尿症	Alkaptonuria
15	焦谷氨酸尿症	Pyroglutamic aciduria
16	- 氨基己二酸 / - 酮己二酸尿症	- aminoadipic / - ketoadipic aciduria
17	双碱性氨基酸尿症(胱氨酸尿症,赖氨酸尿症)	Dibasic amino aciduria(cystinuria, lysinuria)
18	非酮症高甘氨酸血症	Nonketotic hyperglycinemia
19	枫糖尿病	Maple syrup urine disease
20	苯丙酮尿症 - 高苯丙氨酸血症	Phenylketonuria - hyperphenylalaninemia
21	半乳糖血症	Galactosemia
22	高蛋氨酸血症 - 同型胱氨酸尿症	Hypermethioninemia - homocystinuria

* 鸟氨酸氨基甲酰转移酶缺陷症,瓜氨酸血症,精氨酸酶缺陷症和精氨酸代琥珀酸尿症四种尿素循环障碍可以被筛查。为了鉴别诊断以上疾病,需要通过其他方法进一步分析精氨酸,精氨酸代琥珀酸和瓜氨酸,氨基甲酰磷酸合酶和 N - 乙酰谷氨酸合酶的缺陷不能筛查。

4 问题与展望

近 10 年来,国际上已有 30 余个发达国家对新生儿开展了 20 余种 IMD 的筛查,覆盖率达 95% 以上,尤其是日本用 GC - MS 筛查的 IMD 种类已经超过 100 种。我国目前筛查的疾病还主要是苯丙酮尿症和先天性甲低两种,所用的方法主要是干滤纸血片法,覆盖率还不足 3%。近几年虽然开始有 GC

- MS 助诊 IMD 的报道,但从总体上讲,限于设备条件及技术水平,我们在应用 GC - MS 对 IMD 进行临床诊治和基础研究方面,与国际先进水平的差距仍十分显著。此外,随着分子生物学、分子遗传学的迅猛发展,在欧美及日本等发达国家,新的 IMD 种类不断被发现,GC - MS 在其发病机制和临床诊治方面的应用日趋广泛^[7-10],筛查的适应证还将进一步扩大,

我们所面临的挑战更加严峻。

面对与国际先进水平的巨大差距与严峻挑战,提高临床医生对此类疾病的认识水平及警惕性,在有条件的地方建立国家或地区性 GC-MS 筛查中心,积极开展新生儿尿液的 GC-MS 筛查工作,已经成为我国医务工作者一项十分必要和紧迫的任务,而围产医学工作者更是责无旁贷。遗传代谢性疾病已经成为临床医学中发展最迅速的学科之一。充分利用我国丰富的病例资源和 GC-MS 等技术,团结协作,扎实有效地从事 IMD 方面的临床与基础研究工作,我们将最终在国际学术界该领域占有一席之地。

参考文献:

- [1] Kuhara T, Shinka T, Inoue Y, *et al*. Pilot study of gas chromatography - mass spectrometric screening of newborn urine for inborn errors of metabolism after treatment with urease[J]. *J Chromatogr B*, 1999, 731: 141 - 147.
- [2] Xu K, Wang L, Cai H, *et al*. Screening for newborn errors of metabolism using gas chromatography - mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B*, 2001, 758: 75 - 80.
- [3] Burton BK. Inborn errors of metabolism in infancy: a guide to diagnosis[J]. *Pediatrics*, 1998, 102(6): E69.
- [4] Zhang C, Xu K, Dave UP, *et al*. Inborn errors of metabolism discovered in asian department of pediatrics and mental retardation research center[J]. *J Chromatogr B*, 2000, 746: 41 - 49.
- [5] Matsumoto I, Kuhara T. A new chemical diagnostic method for

inborn errors of metabolism by mass spectrometry - rapid, practical and simultaneous urinary metabolites analysis [J]. *Mass Spectrom Rev*, 1996, 15: 43 - 57.

- [6] Kuhara T. Diagnosis of inborn errors of metabolism using filter paper urine, urease treatment, isotope dilution and gas chromatography - mass spectrometry[J]. *J Chromatogr B*, 2001, 758: 3 - 25.
- [7] Ning C, Reynolds R, Chen J, *et al*. Galactose metabolism in mice with galactose - 1 - phosphate uridylyltransferase deficiency: sucklings and 7 - week - old animals fed a high - galactose diet [J]. *Mol Genet Metab*, 2001, 72(4): 306 - 315.
- [8] Costa CG, Guerand WS, Struys EA, *et al*. Quantitative analysis of urinary acylglycines for the diagnosis of beta - oxidation defects using GC - NCI - MS[J]. *J Pharm Biomed Anal*, 2000, 21(6): 1215 - 1224.
- [9] Podebrad F, Heil M, Reichert S, *et al*. 4,5 - dimethyl - 3 - hydroxy - 2[5H] - furanone (sotalone) - the odour of maple syrup urine disease[J]. *J Inherit Metab Dis*, 1999, 22(2): 107 - 114.
- [10] Kimura A, Kondoh KH, Okuda KI, *et al*. Diagnosis of the first Japanese patient with 3 - oxo - delta4 - steroid 5beta - reductase deficiency by use of immunoblot analysis[J]. *Eur J Pediatr*, 1998, 157(5): 386 - 390.

低磷性佝偻病的分子生物学研究进展

兰州医学院第一附属医院(730000) 金玉 张宏文综述 刘军* 审校

摘要:佝偻病等骨矿物质丢失性疾病是世界范围内关注的健康问题,其发病可以是家族性的、自发性的、肿瘤性的、饮食性的或内分泌性的。控制骨完整性的机制较为复杂,目前的研究热点为调节骨矿物质代谢的分子生物学机制,这将有助于该类疾病的诊治。

关键词:佝偻病;HYP;OHO;PHEX;MEPE

中图分类号:R591.44 文献标识码:A 文章编号:1008-2514(2002)04-0183-03

骨矿物质丢失疾患是世界范围内关注的主要健康问题,它的发病可以是家族性的、自发性的、肿瘤性的、饮食性的或内分泌性的。控制骨完整性的机制是复杂的。目前的研究主要致力于骨矿物质的代谢调节和两种特殊的骨疾病所涉及的一些主要因素,这两种疾病是 X 连锁的低磷性佝偻病(HYP)和肿瘤性低磷的骨软化(OHO)。HYP 的主要特征为一个有缺陷的锌金属肽链内切酶(PHEX),而 OHO 肿瘤的特征是一个和磷酸盐尿有关的糖蛋白(MEPE)。两种疾病都引起骨形态学的严重改变,并且有一个落后的病理生理^[1]。本文以 X 连锁低磷佝偻病和肿瘤性骨软化为重点,讨论了肾和其他器官在骨矿物动态平衡中主要作用的一些分子生物学最新进展。

1 HYP 和肿瘤性骨软化的临床特征

经典的维生素 D 抵抗性 HYP 的特征如下:低磷的;肾磷酸盐排泄形式为单位体积肾小球滤过的最大转运值较低(TMP04/GFR);不适当的维生素 D 代谢,伴有低的血清磷(低于正常血清 1,25 - 二羟维生素 D₃;骨化三醇);高的碱性磷酸酶;骨骼缺陷 OHO 的许多临床、生化和物理学特征和 HYP 相同。尽管许多不同的肿瘤类型曾被报道过,但它主要是间叶细胞起源的。有证据表明肾磷酸盐处理、维生素 D 代谢和骨矿化的改变是由 OHO 肿瘤分泌的因子所介导的,该肿瘤切除后临床症状消失且骨愈合亦支持这一观点^[2-4]。

2 佝偻病基因的克隆

收稿日期:2001-11-21

作者简介:金玉(1960-),女,主任医师,硕士,研究方向为新生儿疾病。

* 西安交通大学第一医院教授

佝偻病基因 PHEX(磷酸盐调节基因,有肽链内切酶活性,位于 X 染色体上),是一个锌金属肽链内切酶,同 M13 家族的一个型糖蛋白有密切的同源性。人类 PHEX 和它的 cDNA 已经被完全鉴定,广泛的突变分析证实 HYP 的缺陷导致了 PHEX 基因的最初突变。两个同族小鼠(HYP 和 Gy),已经证实为 X 连锁佝偻病,其 Phex 基因的缺陷分别在 3 端和 5 端被发现^[4,5]。

3 PHEX/Phex 的组织表达

经过筛查多种组织类型后,确定了 PHEX/Phex 的表达模式。鼠骨、鼠牙、人类胎儿骨、人肺和成人卵巢都表达 PHEX/Phex 的 mRNA,以骨和牙齿的表达水平最高。目前还没有肾脏表达 PHEX 的报道,但 OHO 肿瘤时有 PHEX 表达。PHEX 重组表达和它的亚细胞定位研究表明 PHEX 是一种型完整的膜糖蛋白^[6,7]。

4 HYP 和肿瘤骨软化的生理和分子生物学改变

对鼠佝偻病模型的广泛研究时发现该疾患几个明显的分子生物缺陷如下:肾磷处理(肾钠依赖性磷共同运输);维生素 D 代谢的许多方面;特殊的细胞外骨基质蛋白磷酸化(EBMPs);特殊的 EBMPs 的表达;蛋白激酶 C 和骨酪氨酸蛋白激酶的表达;造骨细胞功能和骨骼矿化。

现在已知所有的这些异常改变都是由于 PHEX 基因的原发缺陷所致。肿瘤骨软化与 HYP 的临床及生物特征非常相似,其可能机制为肿瘤分泌一种重要的因子,可以被 PHEX 调节或促进^[8,9]。

4.1 肾磷转运

从肾小球滤过的无机磷(PO_4)被许多 Na^+ 依赖性磷共运输体(NaPi)重吸收。已经证实的 NaPi 运输体有三类:NPT1(1 型)、NPT2(2 型)、病毒细胞受体 Glrv1 和 RAN1。这些运输体的许多异构形式也被发现,和肾 NPT2 有密切同源性的一个独立基因被克隆,这种新的运输体被分类为 2b 型(NPT2b),人类基因(NaPi3b)在小肠和肺中表达。同时,人类 NPT2(NaPi3)包括一个维生素 D3 反应因素,因此被钙在细胞核水平上调节。

在家族 X 连锁性佝偻病,在 HYP 鼠上进行早期肾磷转运的研究,发现其肾缺陷位于刷状边缘膜上的 NaPi 运输体,后来证实是由于 NPT2 类磷运输体的 mRNA 和蛋白下调所致。鼠基因缺失试验表明 NPT2 在调节磷代谢平衡和骨骼发育中有很大作用,但不产生 X 连锁性佝偻病的表现型。进一步研究发现了 HYP 鼠 NPT1 转运体的下调,尽管其下降比例为 20%,而 NPT2 为 50%。在副甲状腺切除后佝偻病鼠的磷缺陷继续存在,主要涉及一个高亲和力、低容量的 Na^+ -P 共转运体系统^[8,10]。

4.2 维生素 D 代谢

在 HYP 和 OHO,血清低磷并不引起钙的升高,相反其水平在 HYP 时低于正常,在 OHO 时则严重减少。另外,和正常鼠完全相反,HYP 鼠喂养低磷饮食能降低 $1,25-(OH)_2-D_3$ 水平,而喂养磷丰富饮食能增加血清 $1,25-(OH)_2-D_3$ 的浓度。至少肾 1 羟化酶和 24 羟化酶(上调)两种酶在血清钙异常时的迅速调节中起作用。

PHEX 表达被钙下调,因此推测在 HYP 维生素 D 代谢异常的可能机制为需要 PHEX 的存在以产生一个小分子,它直

接或间接调节维生素 D 代谢的多个方面,钙通过反馈抑制 PHEX 合酶来调节这一点。在 HYP 时 PHEX 活性的丧失也许干扰了这一调节机制,导致了不适当的 1 羟化酶和 24 羟化酶活性。另外由造骨细胞成熟引起 Phex 的表达增加也许与骨基质矿化有关。相反,钙抑制骨矿化,Phex 和钙的相互作用也许对适当的骨矿物化代谢平衡是需要的^[2,11]。

4.3 骨

HYP 和 OHO 时骨的形态学发生进一步的改变。在 HYP 鼠,固有的造骨细胞缺陷是明显的,它与低磷血症、肾磷峰值和/或改变的维生素 D 状态不是直接相关的。对移植细胞的组织形态学分析证明 HYP 造骨细胞矿化功能是固有的异常。培养的 HYP 造骨细胞对碱性磷酸酶和由磷调节的钙介导的增殖反应的主要不同也暗示一个固有的造骨细胞因子起作用。其他的骨骼相关缺陷也有报道,如增加的造骨细胞糖质新陈代谢和降低的细胞内 Ph 有关,减少的酪氨酸蛋白激酶活性和降低的骨基质(OPN)磷酸化等^[9,12]。

4.4 模型

有关磷/钙肾骨代谢平衡的重要特征已经明确,因此可以建立模型以便进一步研究。PHEX/Phex 也许清除或产生一个或多个因子,它们对磷处理、造骨细胞/成牙质细胞功能、矿化和生长是必要的。也可能是 PHEX/Phex 作为一个相同的二聚体和/或不同的二聚体在产生一个重要的肾磷调节因子中起关键作用,该因子直接或间接影响骨矿化/改造,它也可被蛋白水解以分裂产生许多生物活性多肽,进一步影响磷调节和/或骨矿化。HYP 时由于骨骼酪氨酸蛋白激酶活性低和造骨细胞表面 CK- 外激酶活性等发现说明了蛋白磷酸化的重要性。Phex 表达被钙抑制这一事实说明一个或多个这种肽链通过抑制或活化重要的分解代谢的酶来影响维生素 D 代谢的调节,例如 1 羟化酶和 24 羟化酶,这反过来又会影响造骨细胞和其功能。研究证明了 HYP 鼠内在的造骨细胞缺陷作用,以及 Phex 主要在造骨细胞·骨·牙齿中表达的发现,说明这些肽链中一些因子通过自分泌作用影响造骨细胞/成牙质细胞功能,而通过旁分泌作用调节肾磷代谢^[13,14]。

为了提高骨损失疾病(遗传或获得性)的临床诊治,有必要对控制骨-肾生化和生理的机制进行不断深入的研究。

参考文献:

- [1] Rowe PSN, Goulding JN, Francis, *et al*. The gene for X-linked hypophosphataemic rickets maps to a 200 - 300kb region in Xp22.1 and located on a single YAC containing a putative vitamin D response element(VDRE) [J]. *Hum Genet*, 1996, 97: 345 - 352.
- [2] Rowe PS, Ouder CL, Francis, *et al*. Distribution of mutation in the PEX gene in families with X-linked hypophosphataemic rickets(HYP) [J]. *Hum Mol Genet*, 1997, 6: 539 - 549.
- [3] Sulek A. Molecular aspects of familial hypophosphatemic rickets [J]. *Med Wieku Rozwoj*, 1999, 3(1): 97 - 112.
- [4] Rowe PS, Zoysa P, Dong R, *et al*. MEPE, a new gene expressed in bonemarrow and tumors causing osteomalacia [J]. *Genomics*, 2000, 67: 54 - 68.
- [5] Heuvel L, Kouk K, Knots E, *et al*. Autosomal recessive hypophosphataemic rickets with hypercalciuria is not caused by mu-

- tations in the type II renal sodium/phosphate cotransporter gene [J]. *Transplant* 2001, 16(1): 48 - 51.
- [6] Olivares JL, Ramos FJ, Carapeto FJ, *et al*. Epidermal nervous syndrome and hypophosphataemic rickets: description of a patient with central nervous system anomalies and review of the literature [J]. *Eur J Pediatr*, 1999, 158(2): 103 - 107.
- [7] Francis F, Strom TM, Hernig S, *et al*. Genomic organization of the human PEX gene mutated in X-linked dominant hypophosphatemic rickets [J]. *Genome Res*, 1997, 7: 573 - 585.
- [8] Carpenter TO. New perspectives on the biology and treatment of X-linked hypophosphatemic rickets [J]. *Pediatr Clin North Am*, 1997, 44: 443 - 466.
- [9] Rows PS. The role of the PHEX gene (PEX) in families with X-linked hypophosphatemic rickets [J]. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 1998, 7: 367 - 376.
- [10] Saggese G, Baroncelli GI. Hypophosphataemic rickets [J]. *Hum Res* 2000, 53: 57 - 60.
- [11] Nelson AE, Robinson BG, Mason RS. Oncogenic osteomalacia: is there a new phosphate regulating hormone [J]? *Clin Endocrinol*, 1997, 47: 635 - 642.
- [12] Rowe PS. The PEX gene: its role in X-linked rickets, osteomalacia and bone mineral metabolism [J]. *Exp Nephrol*, 1997, 5: 355 - 363.
- [13] Rowe PSN. X-linked rickets and tumor osteomalacia: PHEX and the missing link [J]. *Clinical and Experimental Nephrology*, 1998, 2: 183 - 193.
- [14] Zargar AH, Laway BA, Masoodi SR, *et al*. Hereditary hypophosphataemic rickets: report of a family from the Indian [R]. *Postgrad Med J*, 1999, 75(886): 485 - 487.

小儿急症的入院前处理

兰州市第一人民医院小儿科(730000) 张小妮综述 黄宝润审校

摘要:意外伤害是4岁以后儿童的主要死亡原因,而许多威胁生命、导致心搏停止的事件多发生于医院外,因此有效的入院前急救是减少儿童死亡率的重要因素。随着人们对入院前小儿急救工作重要性的认识和儿科领域急救工作者人数的不断增多,这将大大降低儿童的死亡率。

关键词: 小儿急救;入院前急救人员

中图分类号: R174+6 文献标识码: A 文章编号: 1008-2514(2002)04-0185-02

小儿死亡主要发生于1岁以前,尤以生后第一个月最为显著,且与围产期的一些情况密切相关。从1月到1岁死亡的最常见原因是婴儿猝死,在1至4岁之间先天性异常和外伤所致的死亡几乎相等,4岁以后儿童的死亡主要是由于外伤引起的。由此可见,许多威胁生命、导致心搏停止的事件更可能是发生于医院外,故有效的入院前急救服务是减少儿童死亡率的重要因素。

许多心搏停止多继发于缺氧或不常见的循环衰竭(休克),而不是原发性的心搏停止,因此如果早期充分的给氧及纠正休克常常可能挽救生命。那些到达医院时已经无脉搏和呼吸暂停的小儿,存活的机率很小,即使救活,发生神经缺陷的机率也很高^[1]。

在急救中心接到的急救电话中,大约仅10%是有关小儿的,且这其中仅有5%的需要复苏治疗。因此在社区中需要儿科医师急救机会是很少的,但一旦需要,必须迅速而有效的采取措施。

入医院前健康监护人员有很大的机会去改善那些严重患病或受伤小儿的预后,在小儿还没有入院前,他们在事故或严重疾病发生的最初阶段到达现场,这一段时间被称为复苏“黄金时间”。在这一时期给予简单的抢救生命的处理就能够阻止或逆转病情的进展,否则将不可避免地发展到心搏停止。

另外,他们有机会去分析急救时小儿的周围情况,这在分析外伤小儿的受伤原因时是特别有价值的,有时候在其他一些情况下如怀疑儿童被虐待等。

1 入院前环境条件的艰难性

大多数临床医生在医院特定的装备室可以学习和实践复苏技术,但医院外的情况则没有那么有利^[2]。一些体格的损伤也许可以很容易地被确定,但也有一些情况不能明确区分;设备的有限性,不仅仅是因为它们不常用,而且由于空间的限制,急救车内不可能准备用于各年龄段的急救设备;在不同的急诊事件中,院外可寻求的有经验的技术人员的数量不同;个人技术也是不同的,从急救中心的医生到一般救护人员再到父母,他们在小儿急救中受训的情况也不同;当遇到小儿急救时人们往往都很紧张,有时为了保护自己,草率地将小儿打发走,害怕或不愿意给予适当的治疗;最后,在决定什么时候将患儿送往医院这需要技术和准确的判断。在院外工作人员的培训规划时,所有这些因素都必须被考虑到。

2 入院前急救和及时送往医院间的矛盾

一个病危或严重受伤的小儿在院外不能得到精确的照顾,熟知这些治疗的人员只能在医院等特定场所找到,因此病危小儿必须被迅速运送至那里。有部分人认为所有的处理也许都可能耽搁患儿往医院的运送,因此不对患儿进行任何处

收稿日期: 2001-11-29

作者简介: 张小妮(1975-),女,住院医师,在读硕士研究生,研究方向为小儿肾病学。

理直接送往医院。而另一部分人则认为在“黄金时间”内应尽可能迅速地对患儿进行治疗处理。因为这种处理将延长入院前的时间,如果抢救技术使用不当的话,这将会导致严重后果。现代教育的目标是发现一条折衷的道路,即教给急救中心的医生或护理人员足够的相关知识,以便他们能很好地使用一种技术,以弥补由于运输延迟而给患儿可能造成的损伤^[3-5]。

3 培训的困难性

在对一般急救人员进行小儿急症入院前紧急处理的培训中仍存在大量问题。

3.1 教师

虽然许多人有入院前急救的经验,另外有很多人熟知病危患儿急救各项技巧,但在这两方面都有广泛经验的人却很少。那些没有在儿科临床训练的人并不一定能认识到成人和儿童间有许多不同,也不知道特殊的小儿护理技术能简化对患儿的照顾。反而,一些医院的儿科医生和护士,认为他们没有足够的有关入院前急救的经验。

3.2 装备和费用

由于缺乏足够的空间,因此设备的选择不得经过仔细的考虑。如果永远不能获得适当的设备去实施某一种技术,则没有教的意义。在某些特定情况下就地取材也许是很有用的^[6]。由于小儿急救技术不是特别常用,所以培训的花费必须和其需求一致。但是儿科医师和其他从事于小儿急救工作的救护人员必须熟悉各项入院前急救措施,并致力向有关人员宣传。

4 所需要的技术

由于心脏骤停通常是由于长时间的缺氧和/或缺血等严重疾病引起,因此对患严重疾病小儿的发现是非常重要的。应该让缺乏经验的人明确这一点,并且让一般急救人员或非专业医生提高警惕以及及时将患儿运送到医院。让所有的儿科急救中心的参与者掌握并不常用的急救技术这是不可能的,也是不适当的,还不如让他们明确特殊情况下简单的处理能挽救生命。应用 Broslw、Oakley 等量表可以减轻药物剂量及其它计算时的麻烦。在那些静脉通道获取困难的小儿,经骨髓输液是一种方便的循环通道^[7]。

一般的急救人员和医师护士相比所受的训练较少,而且人们对他们的技术、知识和培训往往估计过高,实际上他们的急救处理技术的应用需要经验和准确的判断^[8]。英国皇家大学急救联络委员会(JRCALC)其中的成员有三人是皇家大学儿科医师或儿童保健人员,该组织建议在全国范围内对一般急救人员进行一定课程的培训。在局部,需要有当地急救人员指导委员会(LAPSC)对所有的急救中心的急救人员进行测试,该委员会通常由来年医院不同专业的专家组成。一般来说如果一种技术有用的话,就应该立即用于解决存在的问题而不是直到患儿入院时才进行处理,如呼吸通道的建立或心脏除颤等^[5],还有一些技术也许能改善或稳定患儿的病情且不会造成任何不利影响,如给氧、平喘、直肠给药等。

由于大多数的一般急救人员很少有机会去护理病危或外伤儿童,所以技术的维持是有困难的。每年只有不到 1% 的一般急救人员有机会进行一些高级的技术操作如气管插管等。有研究报道大约仅 20% 的小儿在转运过程中得到进一

步的治疗,且没有一例气管插管或接受过骨内注射的^[9]。如果一种简便且有效的急救技术实践应用机会较少,就应该经常进行再培训和评估。

在美国,对从事多年小儿急救工作的急救人员测试结果发现,气管插管时的并发症为 33%,而骨内输注的合并症/失败率为 15%。最近美国一项对 800 多儿童的对照研究表明,和面罩吸氧相比,气管内插管并不能改善小儿的死亡率和神经系统损伤^[10],强调了对急救人员进行再培训的重要性。

5 新的行动

虽然困难很多,但也有一些新的行动。首先,急救部门已经意识到对急救人员在儿科领域进行培训的需要性,在新的培训手册和课程中已经加入了儿科知识的部分^[11]。这将在许多地方进行试验。其次,有关组织已经发展了入院前小儿生命挽救教程,对从事该方面的有关人员提供了在院外环境中护理严重疾病小儿的技术和知识,以不致使对他们的治疗被耽搁。最后,随着医生、护士和急救人员数目的增加,使人们认识到入院前小儿急救护理工作中的不足。现在,许多医院的儿科专家与高年资急救培训者、急救人员共同合作,大家相互了解他人学科的知识、分享经验和技能。希望在不久,这种好的愿望和热情,联合新的培训,将使那些受疾病威胁或外伤的小儿受益。

参考文献:

- [1] Sirbaugh PE, Pepe PE, Shood JE, *et al*. A prospective population-based study of the demographics, epidemiology, management, and outcome of out-of-hospital pediatric cardiopulmonary arrest[J]. *Ann Emerg Med*, 1999, 33: 174 - 184.
- [2] Jewkes F. Prehospital emergency care for children[J]. *Arch Dis Child* 2001, 84: 103 - 105.
- [3] Advanced Life Support Group. Prehospital paediatric life support [P]. London: BMJ Publishing Group, 1999, 4 - 5, 8, 21 - 23.
- [4] Jewkes F. Paediatric advanced life support[J]. *Prehospital Immediate Care*, 1998, 2: 83 - 89.
- [5] Cooke MW. How much to do at the accident scene[J]? *BMJ*, 1999, 319: 1150.
- [6] Markenson D, Foltin G, Tunik M, *et al*. The Kendrick extrication device used for paediatric spinal immobilization[J]. *Prehosp Emerg Care*, 1999, 3: 66 - 69.
- [7] Miner WF, Corneli HM, Bolte G, *et al*. Prehospital use of intraosseous infusion by paramedics[J]. *Pediatr Emerg Care*, 1989, 5: 5 - 7.
- [8] Stephenson J, Cooke MV. General practitioners overestimate ambulance paramedic skills[J]. *Prehospital Immediate Care*, 1998, 2: 75 - 76.
- [9] Reisdorff E, Howell KA, Saul J, *et al*. Prehospital interventions in children[J]. *Prehosp Emerg Care*, 1998, 2: 180 - 183.
- [10] Gausche M, Lewis RJ, Strattons SJ, *et al*. Effect of out of hospital pediatric endotracheal intubation on survival and neurologic outcome[J]. *A controlled clinical trial JAMA*, 2000, 283: 783 - 790.
- [11] Institute of Health Care and Development. Ambulance service paramedic training[R]. 1999.

陕西省结核病防治院妇产科 (710054) 庞 婷 霍小燕

关键词 产前 ;健康教育

中图分类号 :R173 文献标识码 :A 文章编号 :1008 2514(2002)04 0187 01

精神心理因素是影响分娩的四因素之一。产前健康教育可以消除孕产妇的恐惧心理,能以良好的心态对待分娩,积极配合医生,对分娩有益。现就我院 2000 年 8~12 月及 2001 年 8~12 月住院自然分娩的 82 例初产妇的总产程、产后出血发生率及新生儿窒息率做一比较并分析,现报告如下:

1 临床资料

1.1 一般资料

82 例均选自我院住院分娩智力正常足月妊娠的产妇。其中 2000 年 8~12 月,38 例,年龄 20~25 岁(平均 22.5 岁)。2001 年 8~12 月,44 例,年龄 21~26 岁(平均 23.5 岁)。82 例均单胎头位经阴道自然分娩,无妊娠合并症,均为农民初产妇。

1.2 方法

1.2.1 分组:A 组,进行正规产前检查(9 次)。B 组,进行正规产前检查(9 次)+产前健康教育。

1.2.2 内容:A 组,在每次产前检查填写西安市妇幼保健手册;B 组,除了填写保健手册外,进行产前健康教育 30~40 分钟及产程中陪伴产妇。健康教育内容:采用上课,看挂图,看正常分娩的录像,讲孕产期卫生保健知识及母乳喂养的好处,对孕期常见问题的解答,让孕妇了解新生儿性别的决定因素及产程中陪伴孕妇,进行交谈,教会分娩时必要的呼吸和躯体放松技术,帮助孕妇完成分娩过程。进行母乳喂养的方式方法和有关事项的具体指导。

1.2.3 观察产程,计时(分钟),从规律性宫缩至胎盘娩出做详细记录。

1.2.4 观察产后 2 小时出血量^[1],用弯盘放于产妇臀下收集阴道出血,估计产后 2 小时出血量 400 mL 为产后出血的诊断标准。

1.2.5 新生儿生后 1 分钟评分,根据 Apgar 评分标准,评分 4~7 分为轻度窒息。0~3 分为重度窒息。

1.2.6 统计学方法。计量资料用 *t* 检验、*u* 检验。

2 结果

2.1 B 组产程缩短

通过统计学分析,发现 B 组较 A 组的产程明显缩短,两者间存在显著差异($P < 0.01$),见表 1。

表 1 两组产妇总产程时间比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	总产程(<i>min</i>)
A	38	778.8 ± 190.5
B	44	503.5 ± 203.6
<i>P</i>		< 0.01

2.2 B 组出血率降低

通过 A、B 两组产后 2 小时出血发生率的比较,两组间存在差异($P < 0.05$),见表 2。

表 2 两组产后两小时出血发生率比较

组别	例数	出血(400 mL)	出血率(%)
A	38	10	26.32%
B	44	4	9.09%
<i>P</i>			< 0.05

2.3 B 组新生儿窒息率减少

通过 A、B 两组新生儿生后 1 分钟窒息率比较,两组间存在显著差异($P < 0.01$)。见表 3。

表 3 两组新生儿窒息率比较

组别	例数	总窒息例数	窒息率(%)
A	38	15	39.47%
B	44	6	13.64%
<i>P</i>			< 0.01

3 讨论

分娩是生理现象,是一种持久而强烈的应激原,分娩既可以产生生理上的应激,也可以产生精神心理上的应激,产妇精神心理因素对分娩的影响,应受到产科医师的关注。相当数量的初产妇常听到一些有关分娩的负面说法,会有不同程度的恐惧心理。怕疼痛,怕出血,怕发生难产,怕胎儿性别不理想,怕胎儿有畸形,甚至担心自己会有生命危险,致使分娩中情绪紧张,常处于焦虑不安和恐惧的精神心理状态。

产妇的这种情绪变化,可使自体植物神经功能紊乱引起交感神经紧张,一受体兴奋,增加对子宫肌抑制作用,致使子宫肌收缩乏力,心率加快,呼吸急促,肺内气体交换不良,致使子宫缺氧收缩乏力,宫口扩张缓慢,产程延长,甚至会造成胎儿宫内缺氧,产后窒息。产妇的心情抑郁,使大脑皮层处于抑制状态,下丘脑发出的冲动减少,垂体后叶分泌的缩宫素减少,从而子宫收缩乏力,产后出血增加。

通过每次产前健康教育及陪伴孕妇分娩,帮助产妇放松,可以使孕妇了解分娩这一生理过程,消除恐惧心理。了解胎儿性别的决定因素,以良好的状态面对分娩,积极配合医生,则有利于产程进展,减小产后出血,降低新生儿窒息率。故产前健康教育对社会对家庭,均有莫大裨益。通过 82 例孕产妇的临床观察,认为产前健康教育确实有利于分娩,还会更加密切医患关系,值的产科临床普遍推广。

参考文献(略)

新生儿合胞病毒肺炎 32 例临床分析

西安市儿童医院新生儿科 于淑群 赵玉娟 闫 雯

关键词 呼吸道 ;合胞病毒 ;新生儿

中图分类号 :R722.13⁺5 文献标识码 :A 文章编号 :1008 2514(2002)04 0188 01

呼吸道合胞病毒(RSV)是婴幼儿肺炎最重要的病源之一。由于新生儿期 RSV 肺炎缺乏特异性表现,国内报道不多,为观察新生儿 RSV 肺炎的临床特点,现将我院新生儿科 2000 年 10 月~2001 年 3 月共收治 32 例报道如下。

临床资料

1 一般资料

32 例患儿中,男 18 例,女 14 例,孕周为 37~42 周,出生体重为 2.4~3.8kg,小于胎龄儿 1 例,入院日龄为 8~28 天,2 例出生后有轻度窒息,全部患儿无先天性疾病。

2 临床表现

发病前有上呼吸道感染接触史 18 例,起病有鼻塞、流涕 28 例,发热 19 例,其中 $>38.5 \sim 39.5$ 8 例,呼吸道分泌物增多 32 例,咳嗽 26 例,喘憋 14 例,呼吸急促 27 例,嗜睡、吃奶减少 23 例,明显紫绀,呼吸困难,三凹征 6 例,肺部听诊闻及细小或中粗水泡音者 18 例,喘鸣音 7 例,合并心力衰竭 3 例,呼吸衰竭 Ⅱ型 4 例,腹泻 8 例,并存葡萄球菌败血症 2 例。

3 辅助检查

31 例患儿均于入院第 2 天晨采腹静脉血,用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血中呼吸道病毒特异性 IgM 抗体(采用陕西华煜生物医学技术公司试剂),证实为合胞病毒 IgM 阳性。32 例患儿均于入院 3 天内拍摄胸部 X 线正位片,胸片示双肺纹理增粗,模糊 3 例,两肺为斑点状或斑片状阴影 29 例,6 例为普遍肺气肿,未见明显淋巴结肿大及大片肺实变和胸膜病变。血气分析提示 Ⅱ型呼衰 7 例(P_aO_2 5.9~6.61kPa),无 Ⅰ型呼衰;16 例心电图异常,出现低电压, V_sT 波倒置;S—T 段压低改变 7 例,心肌酶异常 9 例,心肌型肌酸激酶同工酶(CK-MB) 235~380IU/L(正常值 4~49IU/L),乳酸脱氢酶(LDH)增高 230~460IU/L(正常值 15~65IU/L);周围血象白细胞 $5.6 \sim 29.6 \times 10^9/L$,17 例小于 $10.0 \times 10^9/L$, $10 \sim 20 \times 10^9/L$ 13 例,大于 $20.0 \times 10^9/L$ 2 例,中性粒细胞小于 50% 13 例,50%~70% 18 例,大于 70% 1 例,血小板为 $110 \sim 480 \times 10^9/L$ 。

4 治疗方法及结果

对于重症患儿给予吸氧、吸痰及雾化吸入治疗,疗程 5~

7 天。根据疗程给予纠酸及水电解质平衡,输血浆等综合治疗,确诊为合胞病毒感染后,给予双黄连注射液静滴 $60mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$,疗程 7~10 天,病毒唑 $10mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$,合并细菌感染用青霉素及羟氨苄青霉素联合静脉点滴抗感染治疗,疗程 7~10 天,合并有败血症者,根据药敏试验应用抗生素,对于 25 例肺部有湿罗音及哮鸣音者给予酚妥拉明 $0.3 \sim 0.5mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$,加入 10% 葡萄糖 20mL 静点,每日 2~3 次,疗程 3~5 天,对于心衰患儿给西地兰及速尿治疗 3~5 天,6 例患儿病情稍较重,给予静脉丙种球蛋白 $200mg \sim 400mg \cdot kg^{-1} \cdot d^{-1}$,2~3 天;32 例均治愈出院,疗程 8~14 天 30 例,2 例合并败血症分别住院 17 天及 23 天。

5 讨论

本组患儿发病集中在冬末春初,多有呼吸道感染病人接触史,均在生后 1 周后发病,因出生约 1 周内新生儿受母体抗体保护而很少发病。

本组新生儿 RSV 感染缺乏特异性表现,鼻塞流涕者占 80%,发热占 59%,咳嗽占 81%,喘憋 44%,呼吸道分泌物增多 100%,呼吸急促 84%,紫绀、呼吸困难、三凹征(+) 19%,肺部罗音占 53%,合并心衰占 9%,胸片为斑片状或斑点状阴影者 96%,肺片示有肺气肿者,随着病情好转,肺气肿很快消失,喘憋及喘鸣音减轻,由于严重缺氧,部分患儿心肌受损,心肌酶及心电图改变。

血象无特异性,53% 白细胞小于 $10.0 \times 10^9/L$,大于 $10 \times 10^9/L$ 占 47%,6 例重症患儿用静脉丙种球蛋白后好转快,与新生儿免疫功能尚不成熟,重症感染时,血 IgG 浓度进一步下降有关^[1]。静丙含 IgG 浓度高,可有效提高体内 IgG 浓度,具有广泛的细菌和病毒抗体谱,达到中和病原体,激活补体,促进吞噬功能的疗效。

11 例无喘憋及哮鸣音,不能因此认为无喘憋及哮鸣音而忽视 RSV 感染。在冬末春初要警惕 RSV 感染,同时应注意母婴同室的婴儿,母亲有上感症状时要注意合胞病毒感染,应及时隔离,新生儿病房人员的手要严格消毒。

参考文献(略)

介 评

子宫内膜活检刷在子宫内膜癌的诊断价值

北大临床肿瘤学院(100036) 杜 敏 李蔚范

在此介绍一种为诊断子宫内膜癌而行子宫内膜细胞学样本制作过程的新技术。

资料来自于 1997 年 1 月 ~ 1999 年 12 月 , 三年中在美国纽约大学医学中心对可疑有内膜病变的 101 名妇女 , 同时行陶氏刷及吸液管 (pipette) 内膜活检的研究。前 50 名先用 pipette 法 ; 后 50 名先用陶氏刷法。在这项研究期间 , 除通过扩宫刮术或子宫切开术确诊为子宫内膜癌的患者外 , 其余所有患者均随访 3 ~ 6 个月。

首先按常规进行 pipette 样本制作。陶氏刷样本制作过程如下 : 将陶氏刷头完全退回到鞘内 , 轻轻的将刷子放入宫底 , 拔出外鞘 , 露出刷头并旋转 , 使其重新折回到外鞘 , 然后取出 , 将沾满有内膜的刷子放入细胞固定液中 , 或将刷子取出放入另一容器中。陶氏刷样本被放在富细胞红溶液中 , 上面的悬浮物放在富细胞黄介质中 , 将残留组织用压缩细胞技术制成石蜡块包埋。富细胞黄溶液放在两个玻片上 , 干燥 , 酒精固

定 , papanicolaous 染色。

结果 : 患者年龄 35 ~ 86 岁 , 73 人绝经 , 平均年龄为 61 岁 , 绝经前妇女平均年龄 46 岁。用陶氏刷方法诊断 : 70 名妇女为良性 , 6 例材料不够。21 例恶性或不典型增生。用 pipette 法诊断良性子宫内膜息肉比陶氏刷更准确 ($P = 0.016$)。然而 , Pipette 法中 22 名不典型增生或癌的患者仅有 19 例确诊 , 13 例材料不够 , 54 例良性。

结论 : 31 例患者最后通过诊刮或子宫切开术确诊。在其余的 70 例患者平均随访 21 个月后确诊 , 陶氏刷的最后确诊敏感性为 95.5% , 而 pipette 法仅为 86%。这两种方法特异性均为 100%。总之 , 两种方法在监测或确诊子宫内膜癌有 100% 阳性和阴性预测价值。1998 年 Medicare 用子宫超声或诊刮术取得的子宫内膜样本 , 同用陶氏刷取得的样本相比较 , 陶氏刷法可节省 67 美元。

间隔 6 个月用孕酮对抗小剂量酯化雌激素

西安交通大学第一医院(710061) 吕淑兰 张竹梅 饶儒瑾 曹缙孙

无孕激素对抗的激素替代疗法 (HRT) , 发生子宫内膜增生的危险为 15% ~ 20% , 加用孕激素后 , 子宫内膜增生的发生率可降为 1%。但孕激素对人体有许多不良影响 , 如经前期样症状 , 降低高密度脂蛋白 (high density lipoprotein , HDL) 水平 , 增加乳房疾病及乳癌的发生等 , 在一定程度上抵销或降低了雌激素的作用 , 所以减少孕激素的用量是有意义的。

Ettinger 医学博士等观察在每隔 6 个月使用 14 天孕激素来对抗小剂量雌激素的 HRT 中 , 子宫内膜增生、阴道出血、绝经期症状的变化 , 从而评价此 HRT 方案的安全性、实用性及可接受性。

该方案选择 141 例年龄在 55 ~ 75 岁既往已规律地使用 HRT 的妇女 , 她们每人的雌激素应用总量超过 300 片 (0.625 mg/片结合雌激素) , 孕激素为 5 mg/d 或 10 mg/d。在 HRT 用至第 8、9、10、11 或 12 天时 , 吸取子宫内膜病检 , 子宫内膜增生者 3 例除外 , 进入研究者 138 例。

每个研究对象发给酯化雌激素 200 片 , 要求 0.3 mg/d , 服药前 , 服药后 6 个月、12 个月随访。第 6 个月末加服安宫黄体酮 (medroxyprogesterone acetate , MPA) 10mg/d , 共 14 天。

子宫内膜病检 : 用药前及用药 12 个月月在 MPA 使用第 8、9、10、11、12、13 或 14 天行子宫内膜活检。结果有 : 萎缩 ; 增生 ; 分泌。

阴道出血 : 各研究对象于用药前 1 个月起记录每日阴道出血情况 , 阴道出血定量为 0 ~ 4 级 0 为无出血 , 1 为点滴出血 , 2 为少量出血 , 3 为中量出血 , 4 为大量出血。规律出血指服用 MPA 后 7 ~ 14 天之内出血 ; 不规律出血指上述时间以外

的出血。

Green 绝经症状评分 : 于用药前及用药后 3 月、6 月、12 月评价血管舒缩症状 躯体及心理变化 , 并进行 Green 评分。

138 例研究对象中 13 例 (9.4%) 中途退出研究 , 余 125 例全部完成 1 年随访 , 顺应性为 80% 以上。

子宫内膜活检 : 与研究前相比 , 用药一年后 , 子宫内膜萎缩更明显 , 仅一例单纯性子宫内膜增生 , 停用雌激素并加用 MPA 10mg bid × 6 周后增生消失 ; 另一例为复合粘液类上皮内膜增生 , 在停用雌激素加用 MPA 6 周及 3 个月月后 , 病理无变化 , 停用 HRT 一年后仍存在。

阴道出血 : 标准的 HRT 治疗 , 几乎所有妇女均有撤退性出血 , 有小剂量 HRT 6 个月中 54% 无出血 , 12 个月中 35% 无出血 , 44% 的妇女在任何时间均无出血。研究组 6 个月平均出血 4 天 , 12 个月平均出血 2 天 ; 而标准 HRT 组 6 个月平均出血 12 天 , 12 个月平均出血 10 天。

Green 绝经期症状评分 : 研究前及研究期间评分均低。躯体症状及心理情况改善较明显 ($P < 0.05$) , 这些变化在单纯服用雌激素 3 个月时改善最显著。在 6 个月、12 个月应用 MPA 后 , 症状的改善则较单用雌激素时差些。

Ettinger 的研究表明 , 大多数 55 岁以上的妇女能接受由标准的周期性加用 MPA 的 HRT 方案转向小剂量服激素间隔 6 个月用 MPA 对抗的方案。该方案无论在安全性和减轻乳房的副反应方面来讲 , 都是值得选用的 , 且小剂量雌激素的 HRT 在控制绝经期症状的同时很少引起阴道出血。

多囊卵巢综合征妇女早孕期服用二甲双胍可减少自然流产

河北医科大学第四医院妇产科(050011) 张娜 刘复权

多囊卵巢综合征(PCOS)以月经稀发和高雄激素血症为特征,多伴有排卵性不孕、胰岛素抵抗(IR)或高胰岛素(INS)血症及肥胖。此外,PCOS 妇女尚存在高活性的纤维蛋白溶酶原激活因子抑制物(PAI)。PAI 作为一个独立因素可诱导凝血从而影响胎盘循环,限制滋养层发育,致使 PCOS 妇女早期流产。而二甲双胍可降低 PAI 的活性,因此在孕期服用二甲双胍有可能减少 PCOS 妇女的早期自然流产率。这项研究目的是确定二甲双胍是否可在不产生畸形的情况下安全地降低自然流产率。

Glueck 等开放式序贯地将服用二甲双胍期间妊娠的 22 名 PCOS 妇女纳入实验组,并回顾性地与在孕期末服用二甲双胍的 125 名 PCOS 妇女的妊娠结局相比较。选择 23 名健康妇女为对照组。22 名 PCOS 妇女怀孕后,有 19 名继续服用二甲双胍。记录 PCOS 妇女及对照组的血清 INS 水平和 PAI 活性,PCOS 妇女均于二甲双胍治疗前、后且未怀孕时测量。监测指标是 PCOS 妇女的早期自然流产数、出生或宫内缺陷数以及超声观察胎儿宫内发育的速率。

结果显示,用二甲双胍治疗前的 PCOS 妇女 50% INS 水平高,52% PAI 活性高,对照组只有 4% PAI 活性高($\chi^2 = 12.8, P = 0.001$)。PCOS 妇女的 PAI 活性明显高于对照组($P = 0.0007$)。INS 水平与 PAI 活性有显著相关性($r = 0.60, P =$

0.004)。用二甲双胍治疗后,INS 水平与 PAI 活性明显降低,且显著相关($r = 0.65, P = 0.04$)。在孕期继续服用二甲双胍的 19 名妇女中,58% 活产,没有出生缺陷,10.5% 早期自然流产,32% 正在妊娠中,所有均在 13 周,超声显示胎儿发育正常。回顾 125 名 PCOS 妇女在未用二甲双胍治疗时共有 265 次妊娠,其中 39% 早期自然流产,60% 获得活产,PAI 活性与活产呈负相关($P = 0.031$)。在孕期继续服用二甲双胍的 19 名妇女中,有 10 名在未服用二甲双胍时有过共 22 次妊娠,其中 27% 活产,没有出生缺陷,73% 早期自然流产。而在此次妊娠中她们 60% 活产,10% 自然流产,30% 正在妊娠中,所有均在 13 周。因此,这 10 名妇女妊娠后继续服用二甲双胍,其早期自然流产率与其先前妊娠相比明显降低($P < 0.002$)。

PAI 活性是一个显著而独立的流产危险因素。它可能是通过减少胎盘内的血栓溶解而引起胎盘功能不足导致流产。PCOS 妇女的 PAI 活性明显高于正常妇女,因此 PCOS 妇女比正常妇女容易流产。二甲双胍可能是通过降低 INS 水平和 IR 而降低 PAI 活性的,并可能因此而明显改善妊娠结局。在这项研究中,孕期服用二甲双胍的 PCOS 妇女与其未服用二甲双胍时相比表现出妊娠结局有很大改善,且二甲双胍治疗没有先天畸形形成,也没有发现母体有持续的不良影响。

用米索前列醇不同途径不同剂量促宫颈容受与引产效果比较

杭州师范学院医学院附属医院(310015) 张竹梅 饶儒瑾

为比较米索前列醇经不同途径、不同剂量促宫颈容受与引产的效果。

研究对象来自 1999 年 3 月 8 日~9 月 5 日间 2000 例产科或医学方面指征需在大学医院引产或分娩者。

选择标准:单胎妊娠;头位;孕期 32~42 周之间胎膜未破; Bishop 评分 6 分;胎心率正常;宫缩每小时 < 8 次。禁忌证为:胎心率可能异常者;阴道分娩禁忌者(如前置胎盘、活动性单纯疱疹病毒感染及以往子宫纵切疤痕者);一次以上子宫下段横形疤痕者;对前列腺素过敏者。

合格妇女共 330 例分为 3 组,每组 110 人:第 1 组阴道放置米索前列醇 25 μ g,并口服米索前列醇 25 μ g;第 2 组阴道放置米索前列醇 25 μ g 及口服安慰剂;第 3 组阴道用安慰剂及口服米索前列醇 25 μ g。服药前先作 Bishop 评分,每 4 小时用药一次,直至有足够的宫缩(一小时内每 10 分钟有 3 次宫缩)及 Bishop 评分 > 8 分或 48h 已用 12 次米索前列醇。

若临产需加用催产素者应在最后一次用米索后 2h 以上;用催产素的适应证是最少 2h 宫颈无变化,子宫收缩不良(< 200 蒙特维德奥(Montevideo)单位—单位时间子宫收缩强度单位)或已用 12 次米索前列醇尚未进入分娩活跃期者。催产素滴注开始时 2mU/min,如需要则每间隔 15~30min 增加 1—2mU/min。

对所有病人均持续采用胎儿及子宫监护仪。当宫口开 4cm,宫颈管消失达 50% 时即行人工破膜,破膜后即放置胎儿头皮电极和宫内压力导管以测宫缩强度。

分娩后回顾检查胎心率及宫缩监护记录有无异常。异常胎心包括心动过速、心动徐缓、晚期减速、严重变异减速或心搏至心搏丧失变异;异常宫缩是指宫缩过频(每 10min 有 6 次宫缩连续 20min)、高张宫缩(一次宫缩持续 > 2min)及过度刺

激综合征(宫缩过频或高张宫缩合并胎心率异常);如发生过度刺激综合征则取左侧卧位,面罩吸氧 8L,除去阴道内米索前列醇,皮下或静脉注射特布他林 250 μ g(terbutaline)治疗,对发生子宫过度刺激综合征者或胎心不能恢复者应停止该项研究。

从开始宫颈容受与引产在 24h 内分娩,组间有显著性差异,第 2 组最好成功率 67%,第 1 组 53%,第 3 组 36% ($P < 0.05$)。超过 24h 阴道分娩率三组间无显著性差异。总的阴道分娩率第 2 组(83%)明显高于第 1 组(70%)和第 3 组(68%) ($P = 0.03$);从引产至分娩间隔时间第 2 组(13.5h)短于其他二组(1 组 14.3h,3 组 23.9h)。

用复合 Logistic 回归分析与控制使用催产素、孕龄、Bishop 评分、未产妇及孕妇体重,24h 阴道分娩率依然是第 2 组最高 ($RR2.61, 95\% CI1.35 \sim 5.05$)。

需用 12 次米索者第 3 组 16%,第 1 组 1%,第 2 组 5% ($P < 0.05$);因 Bishop 评分 > 8 而不需再用米索前列醇者第 2 组明显多于第 3 组 ($P < 0.05$);须加用催产素者第 3 组明显多于(34%)第 1 组和第 2 组(37%, $P < 0.05$)。

发生宫缩过频第 1、2 组多于第 3 组,分别为 34%、32% : 10% ($P < 0.05$);子宫过度刺激综合征第 1、2 组相仿(22%, 15%),多于第 3 组(4%), ($P < 0.05$);须用特布他林者第 1 组多于其他 2 组 ($P < 0.05$);发生高张性子宫者很少,但第 1 组多于其他 2 组 ($P < 0.05$)。

孕妇副反应包括恶心、呕吐及腹泻,发生很少,组间无显著性差异;新生儿预后也无显著性差异。结论:以上研究说明阴道用米索前列醇比口服加阴道用药及单纯口服用药效果更好。

《中国优秀博硕士学位论文全文数据库》(CDMD) 总体介绍

CDMD 由中国学术期刊(光盘版)电子杂志社与清华同方光盘股份有限公司共同研制,得到了国务院学位办与全国近 300 家博士培养单位的大力支持与协助。CDMD 具覆盖学科广、文献量大、收录质量高、全文收录、每日更新、使用方式灵活等特点,是我国最具权威的优秀博硕士学位论文全文数据库。

1、简介

CDMD 覆盖理工、农林、医卫、社会科学各学科,精选收录全国近 300 家博士授予单位 2000 - 2001 年的论文全文近 3000 册,其中“211 工程”高校的收录率达 80%。CDMD 按学科划分为 9 大专辑出版,今后,每年增加博硕士学位论文 20000 册。

2、专辑清单

代码	专辑名称	专辑光盘	学科范围
M - A	理工辑 A (数量科学)	半年刊	数学 力学 物理 生物 天文 地理、测绘、资源 气象、水文、海洋 地质 地球物理学
M - B	理工辑 B(化学化工能源与材料)	半年刊	化学 化工 矿冶 石油 天然气 金属及金属工艺 煤炭 轻工 劳动保护 环境 材料
M - C	理工辑 C (工业技术)	半年刊	工业通用技术及设备 机械 仪表 航空 航天 交通 运输 水利工程 农业工程 建筑 动力 原子能技术 电工技术
M - D	农业辑	半年刊	农业基础科学 农艺学 植保 农作物 园艺 林业 畜牧、动物医学 狩猎、蚕蜂 水产、渔业
M - E	医药卫生辑	半年	预防医学与卫生学 基础医学 临床医学 中医、中药 药学 生物医学工程
M - F	文史哲辑	半年刊	文学 艺术 旅游 历史 哲学 宗教 体育 人物传记
M - G	经济政治 与法律辑	半年刊	经济学 商贸 金融 保险 政论 党建 外交 军事 法律
M - H	教育与 社会科学综合辑	半年刊	社会科学研究方法 社会学 民族学 人口学 人才学 各级各类教育
J - I	电子技术 与信息科学辑	半年刊	无线电 计算机 自动化 新闻与传媒 图书情报 档案

3、出版背景

学位论文与期刊、图书、报纸等文献资料一样,是记载人类创造的知识信息的一种重要文献类型。世界各国的文献信息机构都很重视对它的收藏与开发利用。我国在博硕士学位论文的收集、整理、开发方面已取得了积极的成果,但远不能满足国家信息化建设的要求。CDMD 的建设是在国家信息化建设战略方针的大框架下进行的,实行全面规划、统一标准、规模建库、资源共享。

4、用途:

发展高等教育、特别是研究生教育事业 培养高层次科技人才; 推进科技工作人员之间的学术交流,促进学科建设和科研工作; 建设国家基础知识设施和国家创新体系。

5、检索系统

提供 CNKI 知识仓库分类导航与学科专业导航两套导航检索系统; 提供关键词、中文题名、副题名、中文摘要、作者姓名、导师、全文、引文等基本检索功能; 提供初级检索与高级检索两套检索界面,支持二次检索、多种逻辑组合检索等专业检索功能; 提供中文简体、中文繁体和英文检索三种检索界面,支持中英文对照和中文简繁对照检索; 提供论文全文的在线浏览、全文下载、保存、打印等功能,提供摘录功能。

6、使用方式

网上包车库服务(WEB 方式):读者直接登录 CNKI 数据库交换服务中心网站(全国共有 10 个)进行检索; 镜像站点方式:将 CDMD 数据库系统安装到用户单位的内部网络服务器上,读者在内部网上进行检索; 全文光盘方式:将 CDMD 全文光盘(DVD 格式)安装在本单位的计算机或局域网上使用。

7、更新周期

CNKI 数据库交换服务中心网站数据每日更新,镜像站点通过互联网或卫星每日更新,光盘每半年出版一期。

8、软件环境

用户端:Window 95/98/ME/2000/NT/XP 服务器端:Window 2000/NT/XP

愿 CDMD 成为您科研和教学的帮手。希望社会各界共同关心中国知识基础设施工程(简称 CNKI 工程),对我们的产品和服务提出宝贵的意见和建议。

全国免费咨询热线 8008100946

地址:北京清华大学华业大厦 1300 室 通信地址:北京清华大学 84 - 48 信箱 邮编:100084

联系人:张莉 联系电话:010 - 62791829/30/31 E-mail:zklw@cnki.net

详情请访问:CNKI 电信全国中心 <http://www.cnki.net/> CNKI 教育全国中心 <http://www.cnki.net/>

中国学术期刊(光盘版)电子杂志社 清华同方光盘股份有限公司 光盘国家工程研究中心

国家级继续医学教育项目 《全国儿科发育诊断技术研讨班》通知

随着医学模式的转变,生物—心理—环境医学模式已在整个医学中占主导地位。此外,随着社会经济的发展的卫生条件的改善,儿科感染性疾病逐渐减少,而躯体发育和心理发育疾病越来越多。但由于儿科发育性疾病的诊断和治疗知识及技能未得到普及,致使很多医生对这类疾病束手无策,无法识别加以治疗。儿科发育性疾病漏诊、误诊率极高,儿科发育性疾病未得到控制。

受国家卫生部委托,西安交通大学第一医院儿科(原西安医科大学第一附属医院)拟于 2002 年 10 月 11 日~18 日在西安举办国家级继续医学教育项目:《全国儿科发育诊断技术研讨班》(项目编号:2002—06—04—004)。届时将邀请全国数位儿科知名专家为学员授课,学习结束后经考试合格者,颁发国家级继续医学教育证书,并授予 Ⅰ 类学分 10 分。现将有关事项通知如下:

一、形式:采取专题讲授、实行操作、学术交流与参观考查相结合的方式进行。

二、报名条件:从事儿科临床、儿童保健等的高年资住院医师、主治医师;社区儿童健康工作者、儿少卫生工作者。

三、时间:2002 年 10 月 11 日~18 日。

四、费用:500 元,食宿统一安排,费用自理。负责预定返程车(机)票。

五、报名地址:参加者请于 9 月 30 日前将回执寄:《国外医学妇幼保健分册》编辑部

邮编:710061 电话:(029)8546568 传真:(029)5275049 联系人:王懿

地址:陕西省西安市朱雀大街 205 号西安交大医学院 144 信箱,E-mail:bjblm@mail.xjtu.xjtu.edu.cn

六、报到时间:定于 2002 年 10 月 11 日全天。

七、报到地点:西安交通大学第一医院教学科(东一楼七层)。乘车路线:西安火车站乘 5 路公共汽车终点站下车向西 100 米即到。

另:报到时请准备一寸免冠照片 1 张。

西安交通大学第一医院教学科
2002 年 6 月 24 日

.....按此线撕下.....

全国儿科发育诊断技术学习班报名回执(复印有效)

姓 名		姓 别		年 龄		职 称	
单位及科室:							
通讯地址:							
联系电话		邮编		住宿	是	否	
返程车票	地点:						

《全国儿科发育诊断技术研讨班》

沈晓明	教授、院长	上海第二医科大学 新华医院	发育儿科学研究的方法学
静 进	教授、副院长	广州中同医科大学 公共卫生学院	儿童语言、言语发育评价技术及其应用
苏祖佑	教授	西安交通大学 第一医院儿科	家庭环境评价技术在小儿生长发育中的应用
闫晓莉	教授、副院长	西安市儿童医院	青春期发育内分泌变化评价及相关疾病
姚凯南	教授、室主任	西安交大行为发育 儿科研究室	儿童气质发育评定及其临床意义
李 平	教授、主任	西安儿童医院 儿保科	儿童听力发育评价技术和听力发育异常
潘建平	教授、副主任	西安交大妇幼 保健中心	儿童营养发育评价技术及营养发育疾病
刘黎明	副教授	西安交大妇幼 保健中心	儿童视力发育评价技术和视力发育异常
孙晓勉	副教授、主任	西安交通大学 第一医院儿科	儿童智力发育评价技术和智力发育异常
孙晓勉	副教授、主任	西安交通大学 第一医院儿科	新生儿及婴幼儿神经发育评价技术及临床意义

继续医学教育学习班通知

由西安交通大学第一医院妇产科主办的国家级继续医学教育《妊娠滋养细胞疾病诊治进展》学习班,将于2002年11月1日至11月5日在西安举办,为期5天。此次学习班考核通过者,授予国家级继续医学教育学分10分证书。面向全国妇科医师招生。欲报名或索要免费简章者请于2002年10月10日前,将本人详细姓名、单位、地址、邮编以及其它联系方式,寄至西安交通大学第一医院妇产科 邮编 710061 联系人:李齐灵 王姝,电话 029-5252981 或 5252911 转 2414, E-mail: 2am@sina.com,信封注明:“GTD 学习班”。报名额满为止。本期 CME 学习班办班具体地点待第二轮通知。

《国外医学》妇幼保健分册稿约须知

本刊为妇幼保健专业学术性情报性刊物,主要以文献综述、编译、文摘、论坛等形式,向国内读者介绍国外妇幼保健专业方面的新进展,妇幼保健管理、妇女及儿童各阶段保健和疾病预防的新经验,妇幼心理行为及健康指导、围产医学、优生、遗传等方面的新理论和实验研究新动向。稿约要求如下:

1. 本刊读者对象主要是妇幼保健专业人员,相关学科的医、教、研人员,要求来稿选题要结合我国实际,突出群体与个体保健相结合的特点。

2. 期刊缩写一律按 Index Medicus 规定。计量单位一律按“中华人民共和国法定计量单位”执行,正斜体、大小写、上标、下标要注明。旧制单位可在括号内标明,如 4.27 kPa(32 mmHg)。不可随意简化医学术语。

3. 外国人和医院名称用原文,地名用译名,专用词汇请注明原文。医学缩略语在文中首次出现时,应首先注明中文,括号中注出原文及外文缩写。图表尽量省略,必须用表时请用三格表,表中用阿拉伯数字。

4. 稿件要求文词精炼,字迹清楚,正确运用简化字。

5. 来稿如用稿纸,请按格式誊清,标点符号占一格,文稿中的外文和参考文献请打字,编译和文摘请附原文复印件,综述及编译请附关键词。

6. 本刊编排格式及著录格式执行中国学术期刊综合评价数据库统一要求。综述文章首页左下方附作者简介:姓名(出生年一)、性别(民族为汉族者可省略)、籍贯、职称、学位、简历及研究方向(可任选)。还可附资助课题基金项目名称,括号内注明编号。

6.1 综述和编译 综述要求重点突出,有分析有综合,避免文献罗列。字数不超过 5 000 字并附 200 字左右的摘要。主要参考文献 10 篇~15 篇,均应是作者亲自阅读过的、最主要的、近 5 年内公开发表的国外文献。编译应主选一篇国外期刊中有价值的综述性文章,再选取 2~3 篇相关内容的参考文献择其精华进行综合编写。字数在 3 000 字~4 000 字,并撰写 200 字左右的摘要,文句要通俗易懂,避免文献罗列。资料也可来源于出国访问、留学参加之讲座、来华学者讲学、座谈内容等。

编排格式: 文题 主要责任人单位、邮编、姓名 审校者单位、邮编、姓名 摘要 关键词 中图分类号 文献标识码 正文 参考文献。

摘要 应是完整独立的短文,简明陈述文章的重要内容,如研究目的、范围、内容、方法等,重点是结果和主要结论。

关键词 应选取反映文章内容的关键词 3~5 个,尽可能与 Medical Subject Headings(MeSH)和中国医学科学院医学情报研究所编的《医学主题词注释字顺表》(MeSHAAL)相一致。文中所用名词术语可参阅全国自然科学名词审定委员会公布的《医学名词》。

参考文献引用格式

引用期刊格式:主要责任人(3 人以下全部列出,3 人以上后加 et al). 文题[文献类型标识]. 刊名,出版年,卷(期) 起页-止页.

期刊引文格式举例:Homer T,Libertson R,Blinek MS,et al.Psychosocial profile of adults with complex congenital heart disease[J]. Mayo Clin Proc,2000,75(1):31-36.

引用书籍格式:主要责任人(3 人以下全部列出,3 人以上后加 et al). 书名[文献类型标识]. 版次(初版省略). 出版地:出版者,出版年. 起页-止页.

引用会议录、论文集、论文汇编格式:主要责任人. 题目. In(见) 编者[文献类型标识](多编者用 eds.)文集名. 会议名. 会址. 开会年. 出版地:出版者. 出版年. 起页-止页.

文题后应用方括号标注文献类型及标识:

参考文献类型	专著	论文集	报纸文章	期刊文章	学位论文	报告	标准	专刊
文献类型标识	M	C	N	J	D	R	S	P

文献标识码:

理论与应用 研究论文	实用性成果 学习实践总结	业务指导 管理类文章	一般动态性 信息	文件、资料
A	B	C	D	E

6.2 妇幼保健论坛:1 500 字左右,可将有关国内外妇幼保健发展的某一新观点、新理论、新技术、新成果以讨论的形式进行论述。

编排格式: 题目 作者单位、邮编及姓名 关键词 中图分类号 文献标识码 正文

7. 本刊以自由投稿为主,来稿务请自留底稿,不退文稿,切勿一稿两投,寄文稿同时请寄送软盘或发电子邮件附件。稿件选用后即发录用通知。本刊对文稿有删改权。

8. 首次来稿者请附单位介绍信,并写明作者和审校者技术职称,以及单位地址、邮编、联系电话、电子邮件地址等。

9. 来稿请寄:西安市南郊朱雀大街原西安医科大学院内《国外医学》妇幼保健分册编辑部(邮政编码 710061)

Email:bjblm@mail.xjtu.edu.cn 电话:(029)8546568 传真:(029)5275049