

牙冠容易松动甚至脱落,影响治疗进程。治疗前选择合适年龄,检查乳牙牙根长度及松动感,提前告知家长固定正畸有乳前牙松脱的风险,可以避免产生医疗纠纷。

3.4 已有学者发现喂养方式、家族史及咬上唇是导致乳前牙反颌畸形的主要危险因素^[7],过早颌骨缝融合也可能导致安氏Ⅲ类错颌畸形^[8]。在15例患者中有1例治疗结束后1个月复发,另1例1年后有一颗侧切牙反颌复发,2例均有家族成员反颌史,考虑复发原因很可能为家族遗传的因素。破除前伸下颌吮允奶嘴,咬上唇等易致反颌发生的口腔不良习惯,有家族反颌史的病例定期观察,不同的发育阶段采用不同的疗法进行治疗,是防止前牙反颌再次复发及复发后处理的措施。

参考文献

1 傅民魁.口腔正畸学[M].第4版.北京:人民卫生出版社,2003:

186-187.

- 2 张正治,主编.口腔颌面及颈部临床解剖学图谱[M].济南:山东科学技术出版社,2005:45.
- 3 卢仕英,谭桂萍,黄敏方.使用自锁托槽矫治器矫治10例错颌畸形的临床观察[J].中国临床新医学,2013,6(11):1043-1046.
- 4 冷军,段银钟,金军.矫治乳牙反颌后上颌骨、乳切牙、恒切牙胚位置变化的研究[J].实用口腔医学杂志,1997,13(4):43-45.
- 5 曾祥龙,黄金芳.乳前牙反颌的计算机X线头影测量研究[J].口腔医学,1986,6(1):20-23.
- 6 李小兵.儿童错颌畸形早期矫治的必要性和方法[J].中国实用口腔科杂志,2013,6(12):709-717.
- 7 龚爱秀,李静.乳牙反颌相关危险因素的Logistic回归分析[J].口腔医学,2009,29(7):375-376.
- 8 Ruan WH, Winger JN, Yu JC, et al. Induced premaxillary suture fusion: class III malocclusion model[J]. J Dent Res, 2008, 87(9): 856-860.

[收稿日期 2014-03-05][本文编辑 杨光和 韦所苏]

课题研究·论著

胸科手术机械通气前后血清中脂多糖结合蛋白的表达

张丽珍, 黎阳, 彭丹辉, 老启芳, 黄英明, 黄冰

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(编号:桂科自0832232); 广西卫生厅重点科研课题(编号:桂卫重2011079)

作者单位: 530021 南宁, 广西医科大学附属肿瘤医院重症医学科(张丽珍, 黎阳, 老启芳, 黄英明, 黄冰), 麻醉科(彭丹辉)

作者简介: 张丽珍(1984-), 女, 在读研究生, 住院医师, 研究方向: 临床麻醉。E-mail: 175057448@qq.com

通讯作者: 黄冰(1962-), 女, 医学博士, 主任医师, 研究方向: 临床麻醉与肺损伤。E-mail: hhhbing@163.com

[摘要] **目的** 研究胸科手术机械通气前后血清中脂多糖结合蛋白(LBP)表达的差异, 寻求早期诊断呼吸机相关性肺损伤(VALI)的特异性标志物, 并作为临床治疗的作用靶点。**方法** 将入选行开胸肺叶切除手术的20例患者采用随机对照研究方法, 将手术部位、术式相同的患者分别纳入双肺通气(TLV)组和单肺通气(OLV)组, 每组10例。每例分别在机械通气前(T_0)、手术结束时(T_1)、术后24 h(T_2)和术后48 h(T_3)采取静脉血样本, 离心取上清液置 -80°C 保存。Western Blot法检测血清中LBP的表达水平。**结果** LBP随着时间延长呈不断升高趋势, 两组中各时间点LBP表达水平比较差异有统计学意义($P < 0.05$), 但两组间各时间点比较差异无统计学意义($P > 0.05$), 组间与时点间存在交互作用, 即两组LBP升高的幅度不同, OLV组较TLV组上升幅度大。**结论** LBP的表达水平随着机械通气的时长呈升高趋势, OLV升高幅度较TLV大, 机械通气会影响LBP的表达水平, LBP可能参与了VALI的过程。

[关键词] 呼吸机相关性肺损伤; 脂多糖结合蛋白; 免疫印迹

[中图分类号] R 614 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2014)06-0498-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2014.06.05

Expression of serum lipopolysaccharide binding protein before and after mechanical ventilation in thoracic surgery ZHANG Li-zhen, LI Yang, PENG Dan-hui, et al. Department of Critical Care Medicine, Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China

[Abstract] **Objective** To study the difference between the expression of lipopolysaccharide binding protein (LBP) in serum before and after mechanical ventilation, explore the specific marker in early diagnosis of ventilator-induced lung (VALI) injury and find out the target of clinical treatment. **Methods** Twenty patients who received radical resection of lung cancer were selected. Every two lung cancer patients with the same surgical sites and methods were divided into the TLV group and the OLV group. Venous blood was collected at the moment before mechanical ventilation (T_0), at the end of operation (T_1), at 24 h after operation (T_2) and at 48 h after operation (T_3). After the blood was separated by centrifugation, the supernatant was collected and stored them at $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$. Western blot method was used to measure the LBP expression levels. **Results** The difference in the two groups was statistically significant at each time point ($P < 0.05$), but the difference between the groups at each time point was not statistically significant ($P > 0.05$), there was an interaction between the groups and each time points. The increased amplitude of LBP was different in the two groups, the OLV group had a bigger rise than the TLV group. **Conclusion** Mechanical ventilation affects the LBP expression level, and the LBP indeed plays an important role in the VALI.

[Key words] Ventilator-associated lung injury (VALI); Lipopolysaccharide binding protein (LBP); Western blot method

机械肺通气 (mechanical ventilation, MV) 是借助人工装置-呼吸机的力量, 产生或辅助呼吸动作, 达到增强和改善呼吸功能目的的一种治疗措施或方法。目前主要用于心肺复苏、呼吸衰竭的治疗和全身麻醉时。MV 给我们的医疗活动带来的帮助是值得肯定的, 它挽救了无数患者的生命, 但是它也存在着某些缺点, 当使用不当时, 就可能会导致肺部损伤-呼吸机相关性肺损伤 (ventilator-induced lung injury, VALI), 如未能及时发现并处理甚至可导致患者死亡^[1]。因此, 寻求早期诊断 VALI 的方法变得极为重要。脂多糖结合蛋白 (lipopolysaccharide binding protein, LBP) 是机体很重要的炎性蛋白, 通过与脂多糖结合参与各种炎症反应, 同时参与了丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 和核因子- κB (nuclear factor- κB , NF- κB) 两条信号通路, 而这两条通路是目前认为与 VALI 关系最密切的。为此, 本文通过检测患者肺通气前后血液中 LBP 表达的变化情况, 以探讨 LBP 与 VALI 的关系。

1 资料与方法

1.1 病例选择 选 2010-03 ~ 2010-10 于广西医科大学附属肿瘤医院胸外科进行开胸肺叶切除的肺癌患者 20 例。纳入标准: 患者肺功能正常或仅有轻度的通气功能障碍, 无肝肾功能障碍。排除标准: 因个体差异或者体位问题导致双腔管管口定位不良, 血氧饱和度无法维持在 90% 以上; 单肺通气 (OLV) 时间不足 2 h 或者 $> 4\text{ h}$; 术中出现大的血流动力学波动。入选病例采用完全一致的麻醉方式, 按数字表法将术式相同患者随机纳入 OLV 组和双肺通气

(TLV) 组, 每组 10 例。两组患者年龄、性别、体重、ASA I / II 等项目差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。见表 1。

表 1 两组一般情况的比较 [$n, (\bar{x} \pm s)$]

组别	例数	性别		年龄 (岁)	体重 (kg)	ASA	
		男	女			I	II
OLV 组	10	5	5	62.00 $\pm$ 10.13	59.20 $\pm$ 7.36	7	3
TLV 组	10	4	6	60.90 $\pm$ 12.24	59.40 $\pm$ 7.88	5	5
t/χ^2	-	-	-	0.218	0.059	-	-
P	-	1.00 *	-	0.829	0.954	0.65 *	-

注: * Fisher 确切概率法

1.2 方法

1.2.1 主要试剂和仪器 LBP 单克隆抗体和羊抗兔二抗均购自美国 Abcam 公司; Western Blot 相关试剂购自上海生工; 红外凝胶显像系统购自美国 BIO-RAD 公司 (G800 型); Western Blot 电泳仪为美国 BioRAD 公司产品。

1.2.2 标本的采集和处理 OLV 组和 TLV 组分别于机械通气前 (T_0)、手术结束时 (T_1)、术后 24 h (T_2) 和术后 48 h (T_3) 四个时间点经中心静脉收集病人静脉血 2 ml, 将所得的病人血液样本 2 ml 置于采血管内, 室温放置 30 min, $4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温离心机 3 000 r/min, 离心 20 min, 取上层血清, 置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱保存。

1.2.3 蛋白变性 从 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱中取出两组血清样本, 冰上冻融, 每个样本取 2 μl 血清, 加 8 μl $5\times$ 上样缓冲液, 再加 30 μl TBS 液混匀, 总体积是 40 μl 。70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴变性 10 ~ 15 min。

1.2.4 SDS 电泳和转膜 将预先制备好的 SDS-PAGE 胶安装于电泳槽中,加入足够的普通电泳液,上样采用等体积上样的方式,用微量进样器紧贴离心壁吸取样品 12 μl ,进样器针头插至加样孔中缓慢加入样品。样品经浓缩胶用 60 V 电泳跑,至分离胶后换 80 V 电泳 60 min,电泳结束后 200 mA 恒流转膜 55 min。

1.2.5 封闭 将转好的膜用 TBST 缓冲液从下至上浸湿后,移至 5% 脱脂牛奶封闭液中,室温下脱色摇床上摇动封闭 2 h。

1.2.6 孵抗体 封闭好的膜用 TBST 洗脱 5 min $\times$ 3 次,0.46 $\mu\text{g/ml}$ 兔的抗 LBP 抗体稀释至 1:5 000,孵育 4 $^{\circ}\text{C}$ 过夜;孵好一抗的膜置于 TBST 缓冲液中室温下摇床上洗 5 min $\times$ 3 次;再将膜置于配好的荧光二抗中室温下孵 2 h;TBST 缓冲液洗 5 min $\times$ 3 次。

1.2.7 显影 最后用 odyssey 系统对膜进行扫描,得出目标带的灰度值,计算出各组目标蛋白条带的灰度值和内参蛋白条带的灰度值的比值。

1.3 统计学方法 应用 SPSS13.0 统计软件进行数据处理,计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两组间不同时点比较采用重复测量的方差分析;计数资料组间比较采用 χ^2 检验或 Fisher 确切概率法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

机械通气前后不同时点患者血清中 LBP 表达显示,LBP 随着时间延长呈不断升高趋势,两组中各时点间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$);两组中各时点分别与 T_0 比较, T_1 时点差异无统计学意义 ($P > 0.05$), T_2 、 T_3 时点差异有统计学意义 ($P < 0.05$);两组间各时点比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),组间与时点间存在交互作用 ($P < 0.05$),即两组 LBP 升高的幅度不同,OLV 组较 TLV 组上升幅度大。见表 2。

表 2 两组患者机械通气前后不同时点血清中 LBP 表达比较

组别	例数	T_0	T_1	T_2	T_3
OLV 组	10	0.77 $\pm$ 0.24	0.82 $\pm$ 0.21	0.98 $\pm$ 0.29*	1.07 $\pm$ 0.28*
TLV 组	10	0.79 $\pm$ 0.14	0.84 $\pm$ 0.20	0.89 $\pm$ 0.17*	0.93 $\pm$ 0.21*

注: $F_{\text{组间}} = 0.244$, $P_{\text{组间}} = 0.627$, $F_{\text{时点}} = 31.883$, $P_{\text{时点}} = 0.000$, $F_{\text{时点} \times \text{治疗组间}} = 4.847$, $P_{\text{时点} \times \text{治疗组间}} = 0.005$ 。* 组内与术前比较, $P < 0.05$

3 讨论

3.1 LBP 属于急性期反应蛋白,正常情况下由肝细胞产生并分泌,表达量少,只有当机体在受到炎症刺

激时,肺、肾、肠等肝外组织也参与合成,表达量明显增加。LBP 对脂多糖 (ipopolysaccharide, LPS) 有很高的亲和力,当机体受到炎症刺激时,LBP 将 LPS 转移至 LPS 受体-CD14^[1],激活炎症细胞,分泌细胞因子[白介素-1 (IL-1)、白介素-6 (IL-6)、肿瘤坏死因子 (TNF)、血小板活化因子 (PAF)、白介素-8 (IL-8) 等],导致炎症反应发生,有放大炎症反应的作用^[2]。Mathison^[3]体外研究显示,无 LBP 时 100 ng/ml LPS 4.5 ~ 8 h 才能刺激细胞表达 TNF mRNA,8 h 后方可检测到 TNF 的活性,而一旦加入 0.1 $\mu\text{g/ml}$ LBP 后,1.5 h 后 TNF mRNA 表达迅速增加,4.5 h 达高峰,可见 LBP 是诱导细胞产生 TNF 的重要介质。还有研究显示,无血清时,1 $\mu\text{g/ml}$ LPS 才能刺激单核细胞产生组织因子 (TF) 活性,但有血清或 LBP 状态下,0.05 $\mu\text{g/ml}$ LPS 就能刺激细胞内 TF 活性增加^[4],提示 LBP 可以增强 LPS 对单核细胞的刺激作用。各研究显示,LBP 能增强 LPS 对巨噬细胞、中性粒细胞、内皮细胞的刺激作用,促使它们分泌细胞因子的量增加,参与炎症反应^[5-7]。像其他细胞一样,当肺 II 型细胞受到 LPS 刺激时,它也可以产生 LBP^[8],使胞内的核转录因子- κB (NF- κB) 活化,释放大量的炎症介质如肿瘤坏死因子 2α (TNF 2α)、白介素-28 (IL-28)、氮氧化物 (NO)、过氧化氢 (H_2O_2)、单核细胞炎症因子 22 (MIP22)、单核细胞趋化蛋白和前列腺素等^[9]。

3.2 机械通气时,由于牵张作用,可刺激各种炎症细胞产生化学和生物分子信号,通过多条信号通路影响下游的炎症因子的转录和表达,导致大量的炎症介质释放,从而加重肺的损伤^[10]。目前的研究认为,VALI 时激活的信号转导通路主要有丝裂原活化蛋白激酶 (MAPK) 和 NF- κB 两条通路。吴学玲等学者^[11]研究发现 LBP 抑制肽可以抑制 NF- κB 的活性,对脂多糖所致肺损伤可能具有潜在的预防作用。还有学者研究发现早期使用 LBP 抗体可以抑制内毒素诱导的肺泡 I 型细胞 NF- κB 的活化和细胞因子的产生^[12]。综上两个证据我们可以推导出 LBP 可能参与了 VALI 的过程。本研究发现在手术部位、术式相同的状态下,术后 24 h、术后 48 h 两个时点 LBP 在 OLV 组和 TLV 组的表达存在统计学差异,OLV 组的表达高于 TLV 组。虽然到目前为止还没有相关的研究证明 OLV 比 TLV 更加容易导致肺损伤,但是根据 VALI 形成最常见的原因 (气压伤和容积伤) 来推断,OLV 更加容易导致肺损伤,这和本研究的实验结果是吻合的。

参考文献

- 1 Tremblay LN, Slutsky AS. Ventilator-induced injury: from barotrauma to biotrauma[J]. Proc Assoc Am Physicians, 1998, 110(6): 482 - 488.
- 2 Bas S, Gauthier BR, Spenato U, et al. CD14 is an acute-phase protein[J]. J Im Munol, 2004, 172(7): 4470 - 4479.
- 3 Mathison JC, Tobias PS, Wolfson E, et al. Plasma lipopolysaccharide (LPS)-binding protein. A key component in macrophage recognition of gram-negative LPS[J]. J Immunol, 1992, 149(1): 200 - 206.
- 4 Mészáros K, Aberle S, Dedrick R, et al. Monocyte tissue factor induction by lipopolysaccharide (LPS): dependence on LPS-binding protein and CD14, and inhibition by a recombinant fragment of bactericidal/permeability-increasing protein[J]. Blood, 1994, 83(9): 2516 - 2525.
- 5 Tobias PS, Ulevitch RJ. Lipopolysaccharide-binding protein and CD14 in the lipopolysaccharide-dependent activation of cells[J]. Chest, 1994, 105(3 Suppl): 48S - 50S.
- 6 Yasui K, Komiyama A, Molski TF, et al. Pentoxifylline and CD14 antibody additively inhibit priming of polymorphonuclear leukocytes for enhanced release of superoxide by lipopolysaccharide: possible mechanism of these actions[J]. Infect Immun, 1994, 62(3): 922 - 927.
- 7 Goldblum SE, Brann TW, Ding X, et al. Lipopolysaccharide(LPS)-binding protein and soluble CD14 function as accessory molecules for LPS-induced changes in endothelial barrier function, in vitro[J]. J Clin Invest, 1994, 93(2): 692 - 702.
- 8 Dentener MA, Vreugdenhil AC, Hoet PH, et al. Production of the acute-phase protein lipopolysaccharide-binding protein by respiratory type II epithelial cells: implications for local defense to bacterial endotoxins[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2000, 23(2): 146 - 153.
- 9 Sunil VR, Connor AJ, Guo Y, et al. Activation of type II alveolar epithelial cells during acute endotoxemia. [J]. Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol, 2002, 282(4): L872 - L880.
- 10 Belperio JA, Keane MP, Lynch JP 3rd, et al. The role of cytokines during the pathogenesis of ventilator-associated and ventilator-induced lung injury[J]. Semin Respir Crit Care Med, 2006, 27(4): 350 - 364.
- 11 吴学玲, 钱桂生, 徐德斌, 等. 肺损伤机制研究: 脂多糖结合蛋白抑制肽对脂多糖诱导的人单核细胞株核转录因子 κ B 活性的影响[J]. 中国临床康复, 2005, 9(11): 89 - 91.
- 12 李永旺, 张德明, 毛宝龄, 等. 脂多糖结合蛋白抗体对内毒素诱导的肺型细胞 NF- κ B 活化的影响[J]. 重庆医学, 2004, 33(11): 1606 - 1607.

[收稿日期 2014-03-25][本文编辑 黄晓红 韦颖]

课题研究 · 论著

低剂量宝石能谱 CT 结肠成像在检测结肠息肉中的可行性研究

李家言, 何欣, 黄增超, 刘熙荣, 廖海, 袁文昭, 张锡流, 袁捷, 韦兰珍, 黄乔统

基金项目: 广西卫生厅科研课题(编号: Z2013168)

作者单位: 530023 南宁, 广西中医药大学第一附属医院放射科

作者简介: 李家言(1964-), 男, 大学本科, 医学学士, 副主任医师, 研究方向: 腹部疾病的影像诊断。E-mail: lijiaayanme@126.com

[摘要] 目的 探讨低剂量宝石能谱 CT 结肠成像(CTC)在检测结肠息肉中的可行性。方法 对 50 例疑似结肠息肉患者行低剂量宝石能谱 CTC 及内镜检查, 以内镜结果作为金标准, 计算低剂量宝石能谱 CTC 检测结肠息肉的符合率, 并记录扫描的 CT 剂量指数(CTDI_w)。结果 内镜诊断结肠息肉阴性 12 例, 阳性 38 例; 低剂量宝石能谱 CTC 诊断结肠息肉阴性 16 例, 阳性 34 例; 共发现 79 个息肉。对于 ≥ 0.5 cm 的息肉, 低剂量宝石能谱 CTC 的符合率为 91.07%, < 5 mm 的息肉符合率为 50%。结论 辐射剂量降低至 1.01 mGy 的宝石能谱 CTC 检测 ≥ 0.5 cm 的息肉, 与内镜有较高的符合率。

[关键词] 结肠成像; X 线计算机体层摄影术; 辐射剂量; 结肠息肉

[中图分类号] R 445 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2014)06-0501-03

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2014.06.06