

论著

文章编号:1000-5404(2014)12-1260-04

华蟾素对神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞凋亡的影响

李绍平¹, 卢佳², 马小洁³, 秦龙⁴, 李培武¹ (730030 兰州, 兰州大学第二医院: 急诊科¹, 妇产科², 检验科³, 药品研发科⁴)

[摘要] 目的 观察华蟾素对人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞凋亡的影响, 并探讨其作用机制。方法 采用巯基罗丹明 B(SRB)法检测华蟾素对 SH-SY5Y 细胞的抑制率, 流式细胞术检测细胞凋亡率, 荧光探针二乙酸二氯荧光素盐(DCFH-DA)法检测细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平; 罗丹明 123(Rhodamine 123)染色法检测细胞线粒体膜电位; Western blot 检测胞质细胞色素 C(Cyt-C)的表达; ELISA 检测 Caspase-3 和 Caspase-9 酶活性。结果 华蟾素对 SH-SY5Y 细胞增殖具有明显抑制作用, 且表现出剂量和时间依赖性。流式细胞术检测对照组及各浓度组凋亡率分别为 (3.12 ± 0.91)%、(17.65 ± 4.28)%、(29.14 ± 6.72)%、(50.01 ± 9.26)%, 与对照组比较, 华蟾素组的凋亡率均显著性增高 ($P < 0.01$); 华蟾素能够呈浓度依赖的增加细胞内 ROS 水平 ($P < 0.01$), 降低线粒体膜电位 ($P < 0.01$), 增加胞质中 Cyt-C 的表达 ($P < 0.01$), 同时增加 Caspase-3 和 Caspase-9 酶活性。结论 华蟾素能够通过诱导 SH-SY5Y 细胞产生凋亡而发挥增殖抑制作用, 其作用机制可能与激发线粒体凋亡途径有关。

[关键词] 华蟾素; 人神经母细胞瘤; 凋亡; 线粒体

[中图分类号] R285.5; R730.264; R730.53

[文献标志码] A

Cinobufacini-induced apoptosis in human neuroblastoma SH-SY5Y cells

Li Shaoping¹, Lu Jia², Ma Xiaojie³, Qin Long⁴, Li Peiwu¹ (¹Department of Emergency, ²Department of Obstetrics and Gynecology, ³Department of Clinical Laboratory, ⁴Department of Drug Research and Development, Second Hospital, Lanzhou University, Lanzhou, Gansu Province, 730030, China)

[Abstract] **Objective** To investigate apoptotic effects of cinobufacini on human neuroblastoma SH-SY5Y cells and its relevant mechanism. **Methods** Effects of cinobufacini on SH-SY5Y cell proliferation were tested by SRB assay. Cell apoptosis of SH-SY5Y was measured by flow cytometry. The levels of reactive oxygen species (ROS) in the cells were analyzed by ROS-sensitive fluorometric probe DCFH-DA assay and mitochondria transmembrane potential was revealed by rhodamine123 staining. The expression of cytosolic Cyt-C was analyzed by Western blotting. Caspase-3 and caspase-9 activities were detected by ELISA. **Results** Cinobufacini inhibited the proliferation of SH-SY5Y cells in a dose- and time-dependent manner. Flow cytometry results showed that the apoptotic rates in the control group and the cinobufacini-treated groups (cinobufacini concentration 0.125, 0.25, and 0.5 μg/mL) were (3.12 ± 0.91)%, (17.65 ± 4.28)%, (29.14 ± 6.72)%, and (50.01 ± 9.26)%, respectively. Compared with the control group, the cinobufacini-treated cells showed increased apoptotic rate ($P < 0.01$). Cinobufacini, in a dose-dependent manner, increased the ROS levels ($P < 0.01$), decreased mitochondria transmembrane potential ($P < 0.01$), enhanced cytosolic Cyt-C expression ($P < 0.01$) in SH-SY5Y cells, and increased caspase-3 and caspase-9 activities. **Conclusion**

Cinobufacini can inhibit the proliferation of SH-SY5Y cells by inducing cell apoptosis, which may involves the stimulation of mitochondrial apoptotic pathway.

[Key words] cinobufacini; neuroblastoma; apoptosis; mitochondria

Supported by the Special Fund of Fundamental Research for the Central Universities(lzujbky-2013-216). Corresponding author: Li Peiwu, E-mail: lzulpw@163.com

[基金项目] 中央高校基本科研业务专项资金(lzujbky-2013-216)

[通信作者] 李培武, E-mail: lzulpw@163.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140107.2041.005.html> (2014-01-07)

神经母细胞瘤(neuroblastoma)是一种节后交感神经系统的恶性肿瘤,是儿童最为常见的颅外实体肿瘤之一,因其具有高发病率和病死率并且预后差而被称为“儿童癌症之王”^[1]。华蟾素(cinobufacini)是由中

华大蟾蜍皮加工制成的水溶性中药制剂,具有解毒、化淤软坚、消肿、止痛等功效,目前在国内临床已广泛用于肝癌、胃癌等疾病的治疗^[2-3]。研究表明华蟾素能够通过多种机制诱导多种细胞产生凋亡^[4-5],但目前尚少有文献报道其对神经母细胞瘤的作用,本研究旨在观察华蟾素对神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞凋亡的影响,并对其作用机制进行探讨,为将华蟾素用于治疗神经母细胞瘤提供一定的实验依据。

1 材料与方 法

1.1 细胞系

人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞由中科院细胞库(上海)提供。

1.2 药品、试剂及仪器

华蟾素注射液(安徽金蟾生化股份有限公司,批号 120610-1),DMEM/F12 (1:1)高糖培养基[赛默飞世尔生物化学制品(北京)有限公司],巯基罗丹明 B 蛋白染料(SRB, Sigma 公司),二乙酸二氯荧光素盐(DCFH-DA) ROS 检测试剂盒、Caspase-3、Caspase-9 活性检测试剂盒和 Bradford 蛋白浓度测定试剂盒(P0006,碧云天生物技术研究所),罗丹明 123(Rhodamine123)染色试剂盒和 Annexin V-FITC/PI 细胞凋亡检测试剂盒(南京凯基科技发展有限公司)。细胞色素 c(Cyt-C)抗体(美国 Santa Cruz 公司), β -Actin(美国 Sigma 公司)。Accuri C6 流式细胞仪(美国 BD Accuri 公司),全波长 Multiskan Spectrum 酶标仪(美国 Thermo 公司)。

1.3 方 法

1.3.1 细胞培养 用含有 10% 胎牛血清、100 U/mL 青霉素和 100 μ g/mL 链霉素的 DMEM/F12 (1:1)高糖培养基,于 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 条件下培养 SH-SY5Y 细胞。实验均在细胞对数生长期进行。

1.3.2 细胞增殖抑制率检测 将 SH-SY5Y 细胞以 5×10^3 个/孔接种于培养板中培养 24 h,分别加入经培养基稀释成不同浓度的华蟾素,根据文献^[6]报道选用华蟾素浓度为 0.125、0.25、0.5 μ g/mL,另设对照组(只加等体积培养基),每组设 4 个复孔,药物作用 24 h 后进行 SRB 染色。用酶标仪在 515 nm 波长处测定光密度值 $[D(515)]$,按公式计算药物对细胞的增殖抑制率。华蟾素作用 48、72 h 处理方法与 24 h 类似。实验均重复 4 次。

生长抑制率 = $[1 - \text{实验组 } D(515) \text{ 值} / \text{对照组 } D(515) \text{ 值}] \times 100\%$

1.3.3 流式细胞术测细胞凋亡 将 SH-SY5Y 细胞以 1×10^5 个/孔接种于培养板中培养 24 h 后分别加入华蟾素(0、0.125、0.25、0.5 μ g/mL),待药物作用 48 h 后,收集细胞,用预冷的 PBS 洗涤 2 遍,按照 Annexin V-FITC/PI 试剂盒说明操作,采用流式细胞仪检测并分析细胞凋亡率。

1.3.4 荧光探针 DCFH-DA 检测细胞内活性氧水平 将 SH-SY5Y 细胞以 1×10^5 个/孔接种于培养板中培养 24 h 后分别加入华蟾素(0、0.125、0.25、0.5 μ g/mL),待药物作用 48 h 后,去除细胞培养液,加入 10 μ mol/L DCFH-DA 溶液 1 mL 后孵

育 20 min。重悬细胞,使用磷酸盐缓冲液洗涤细胞 3 遍,利用流式细胞仪检测其荧光强度值。

1.3.5 Rhodamine123 染色法检测细胞线粒体膜电位 将 SH-SY5Y 细胞以 1×10^5 个/孔接种于培养板中培养 24 h 后分别加入不同浓度的华蟾素(0、0.125、0.25、0.5 μ g/mL),待药物作用 48 h 后,加入 10 μ mol/L Rhodamine123 染液 1 mL 后孵育 30 min。重悬细胞,使用磷酸盐缓冲液洗涤细胞 3 遍,利用流式细胞仪检测其荧光强度值。

1.3.6 Western blot 检测 Cyt-C 表达 将 SH-SY5Y 细胞以 1×10^5 个/孔接种于培养板中培养 24 h 后分别加入不同浓度的华蟾素(0、0.125、0.25、0.5 μ g/mL),待药物作用 48 h 后收集细胞,加入适量的 RIPA 细胞裂解液及各种蛋白酶抑制剂,并用振荡器振荡制成细胞悬液,置于冰浴中 30 min 使细胞裂解充分,低温高速离心 60 min (20 000 $\times g$, 4 $^{\circ}$ C),离心后所得上清液为胞浆蛋白,并对所提蛋白进行定量,规定上样量为 40 μ g。Cyt-C 抗体稀释浓度为 1:500, β -actin 抗体稀释浓度为 1:4 000,其他均参考文献^[7]的方法。

1.3.7 ELISA 检测 Caspase-3 和 Caspase-9 酶活性 将 SH-SY5Y 细胞以 1×10^5 个/孔接种于培养板中培养 24 h 后分别加入不同浓度的华蟾素(0、0.125、0.25、0.5 μ g/mL),待药物作用 48 h 后,收集各组细胞,冰浴裂解 20 min。低温高速离心 15 min (16 000 $\times g$, 4 $^{\circ}$ C),取上清,Bradford 法测蛋白浓度。酶活性检测按试剂盒说明书进行操作。具体概括如下:反应在 96 孔板中进行,取检测缓冲液 80 μ L,样品 10 μ L,Ac-DEVD-pNA (2 mmol/L, Caspase-3 底物)或者 Ac-LEHD-pNA (2 mmol/L, Caspase-9 底物)10 μ L,混匀,37 $^{\circ}$ C 孵育 120 min,酶标仪测定波长 405 nm 处光密度值 $[D(405)]$ 。

1.4 统计学分析

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 15.0 统计软件进行分析,表 1 的数据进行双因素方差分析;其余数据进行单因素方差分析,并使用 LSD-t 检验进行组间均数的多重比较。

2 结 果

2.1 华蟾素对 SH-SY5Y 细胞增殖的影响

华蟾素(0.125、0.25、0.5 μ g/mL)作用 24、48、72 h 后对 SH-SY5Y 细胞增殖具有明显的抑制作用,并表现出明显的浓度依赖($P < 0.01$)和时间依赖效应($P < 0.01$,表 1)。

2.2 华蟾素对 SH-SY5Y 细胞凋亡的影响

华蟾素(0.125、0.25、0.5 μ g/mL)作用 48 h 后各组凋亡率依次为 (17.65 \pm 4.28)%、(29.14 \pm 6.72)%、(50.01 \pm 9.26)%。结果显示华蟾素能浓度依赖地增加 SH-SY5Y 细胞凋亡率($P < 0.01$)。与对照组[(3.12 \pm 0.91)%]相比,0.125、0.25、0.5 μ g/mL 华蟾素均具有统计学差异($P < 0.01$)。

2.3 华蟾素对 SH-SY5Y 细胞内 ROS 水平的影响

通过检测 DCF 荧光间接反映细胞内活性氧的水平,结果显示华蟾素(0.125、0.25、0.5 μ g/mL)作用 48 h 后各组荧光强度依次为 (127.34 \pm 9.86)、(169.88 \pm 21.15)、(228.26 \pm 19.14)。可见华蟾素能浓度依赖地增加 SH-SY5Y 细胞荧光强度($P < 0.01$),即增加细胞内 ROS 水平。与对照组(101.86 \pm 12.35)相比,0.125、0.25、0.5 μ g/mL 华蟾素均具有统计学差异($P < 0.01$)。

表1 不同浓度华蟾素对SH-SY5Y细胞增殖的影响 [n=4, (x̄±s)%]

组别	24 h	48 h	72 h
对照组	0	0	0
华蟾素			
0.125 μg/mL 组	11.23 ± 1.21 ^a	27.61 ± 6.36 ^{ad}	42.05 ± 8.25 ^{ade}
0.25 μg/mL 组	25.32 ± 5.16 ^{ab}	44.31 ± 9.02 ^{abd}	71.62 ± 11.26 ^{abde}
0.5 μg/mL 组	40.35 ± 7.02 ^{abc}	77.54 ± 7.58 ^{abcd}	86.35 ± 10.02 ^{abcde}

a: P < 0.01, 与对照组比较; b: P < 0.01, 与华蟾素 0.125 μg/mL 组比较; c: P < 0.01, 与华蟾素 0.25 μg/mL 组比较; d: P < 0.01, 与作用 24 h 比较; e: P < 0.01, 与作用 48 h 比较

2.4 华蟾素对SH-SY5Y细胞线粒体膜电位的影响

华蟾素作用 48 h 后 SH-SY5Y 细胞荧光强度呈浓度依赖的降低 (P < 0.01), 即线粒体膜电位呈浓度依赖的降低; 同时可以观察到红色荧光减弱, 绿色荧光增强, 绿色荧光与红色荧光的强度比值增加 (P < 0.01, 表 2)。

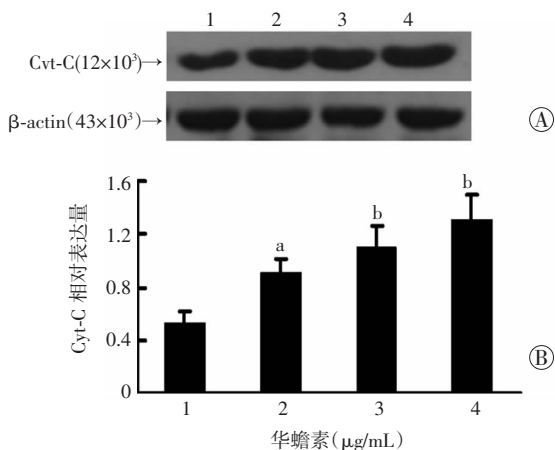
表2 不同浓度华蟾素对SH-SY5Y细胞线粒体膜电位的影响 (n=4, x̄±s)

组别	荧光强度	绿色/红色荧光比值
对照组	5 963.36 ± 798.12	0.81 ± 0.15
华蟾素		
0.125 μg/mL 组	5 001.01 ± 665.98 ^a	2.44 ± 0.57 ^b
0.25 μg/mL 组	3 905.13 ± 589.53 ^b	4.12 ± 1.12 ^b
0.5 μg/mL 组	2 465.61 ± 701.75 ^b	6.17 ± 1.06 ^b

a: P < 0.05, P < 0.01, 与对照组比较

2.5 华蟾素对SH-SY5Y细胞Cyt-C表达的影响

华蟾素作用 48 h 后 SH-SY5Y 细胞胞浆 Cyt-C 表达明显增强 (P < 0.01); 与对照组相比, 0.125、0.25、0.5 μg/mL 华蟾素均具有统计学差异 (P < 0.05, P < 0.01, 图 1)。这表明 Cyt-C 从线粒体释放到胞质中。



A: Western blot 检测结果 1: 对照组; 2: 0.125 μg/mL 组; 3: 0.25 μg/mL 组; 4: 0.5 μg/mL 组; B: 半定量分析结果 a: P < 0.05, b: P < 0.01, 与对照组比较

图1 Western blot 检测不同浓度华蟾素对SH-SY5Y细胞Cyt-C的表达

2.6 华蟾素对SH-SY5Y细胞Caspase-3和Caspase-9活性的影响

如表 3 所示, 华蟾素作用 48 h 后 SH-SY5Y 细胞内 Caspase-3 和 Caspase-9 活性均显著性升高 (P < 0.01), 表明 Caspase-3 和 Caspase-9 参与了华蟾素诱导的 SH-SY5Y 细胞凋亡。

表3 ELISA 检测不同浓度华蟾素对SH-SY5Y细胞Caspase-3和Caspase-9活性的影响 (U/mg, n=4, x̄±s)

组别	Caspase-3	Caspase-9
对照组	349.25 ± 79.17	807.33 ± 121.14
华蟾素		
0.125 μg/mL 组	579.69 ± 99.32 ^a	1 052.32 ± 63.61 ^a
0.25 μg/mL 组	656.74 ± 42.08 ^b	1 217.14 ± 39.50 ^b
0.5 μg/mL 组	776.31 ± 102.52 ^b	1 432.21 ± 193.25 ^b

a: P < 0.05, b: P < 0.01, 与对照组比较

3 讨论

近年来在神经母细胞瘤的研究与治疗上取得了很大的进步, 但目前临床上仍没有彻底有效地治疗药物, 高危神经母细胞瘤患儿的长期生存率仍非常低^[8]。因此, 寻找新的抗神经母细胞瘤药物迫在眉睫。

本实验观察了华蟾素对人神经母细胞瘤 SH-SY5Y 细胞凋亡的影响, 结果发现华蟾素能够引起 SH-SY5Y 细胞凋亡, 其中高浓度 (0.5 μg/mL) 诱导的凋亡率可达 (50.01 ± 9.26)%; 结合文献^[9]报道, 我们通过检测华蟾素对 ROS、线粒体膜电位凋亡相关因子 Cyt-C、Caspase-3 和 Caspase-9 的影响对其诱导凋亡机制进行了探讨, 结果显示华蟾素不仅能够增加细胞内 ROS 水平, 降低线粒体膜电位, 同时能够上调胞浆中 Cyt-C 的表达并增加 Caspase-3 和 Caspase-9 酶的活性, 这与学者在人肺癌细胞中的研究结果相似^[10]。

ROS 诱发的线粒体凋亡途径是细胞凋亡主要途径之一^[11], ROS 会导致线粒体膜受损并开放线粒体通透性转导孔 (MPTP), 进而引起线粒体膜电位的丧失并导致核膜的破裂以及 Cyt-C 释放^[11-14]。进入胞浆的 Cyt-C 通过激活 Caspase-9 和 Caspase-3 的级联反应并诱导细胞凋亡^[15]。实验中发现线粒体膜电位水平明显降低, 这就提示在此过程中存在 MPTP 的开放增加, 而华蟾素诱导的 ROS 水平的升高正是导致 MPTP 的开放的主要因素。MPTP 开放诱发线粒体膜电位崩解, 结果使得线粒体外膜通透性增高从而引起线粒体内部细胞色素 C 释放进入胞质^[14, 16-17]。本实验结果也证实了这一点, Western blot 检测显示胞质 Cyt-C 的表达明显增高。研究发现 Caspase-3 和 Caspase-9 酶活性显著增加, 即表明释放进入胞质的 Cyt-C 可能激活了下游的 Caspase 效应分子, 因此, 华蟾素诱导 SH-SY5Y 细胞 ROS 水平的升高, 引起 MPTP 的开放继而诱发线粒体膜电位的崩解, 导致线粒体细胞色素 C 的释放, 激活了 Caspase 效应分子, 从而触发细胞线粒体凋亡瀑布反应, 并最终导致 SH-SY5Y 细胞产生凋亡。

总之, 我们认为华蟾素能够通过激活线粒体凋亡途径引起 SH-SY5Y 细胞凋亡, 从而发挥抗神经母细胞瘤作用。这为华蟾素应用于儿童神经母细胞瘤的临床治疗提供了有力的实验依据。

参考文献:

- [1] 熊稀霖,黎阳. 复发性或难治性神经母细胞瘤的治疗进展[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志, 2011, 16(1): 42-45, 48.
- [2] 姜玉凤. 华蟾素注射液的药理作用及临床不良反应[J]. 中医学报, 2011, 26(9): 1082-1083.
- [3] 王双双,李柏,翟笑枫. 华蟾素注射液抗肿瘤应用及其机制研究进展[J]. 山东中医药大学学报, 2008, 32(5): 436-438.
- [4] 张丙亮,吴华. 华蟾素抗肿瘤作用及其机制的研究进展[J]. 中外医学研究, 2012, 10(14): 152-154.
- [5] 李泉旺,孙韬,胡凯文. 华蟾素抗肿瘤机制的研究进展[J]. 中华中医药杂志, 2010, 25(12): 2075-2078.
- [6] 孙宇,单路娟,刘越坚,等. 华蟾素注射液对人肝癌 HepG2 细胞增殖及凋亡的影响[J]. 中国肿瘤, 2010, 19(6): 410-413.
- [7] 齐芳华. 华蟾素及其活性成分蟾毒灵和华蟾毒精诱导肝癌细胞凋亡的机制探讨[D]. 济南: 山东大学, 2011.
- [8] 吉毅,肖现明. 神经母细胞瘤的研究与治疗现状[J]. 中华小儿外科杂志, 2011, 32(9): 703-706.
- [9] 吴雪,陈义虎,姜春阳,等. PBDE-47 对人神经母细胞瘤细胞凋亡和线粒体膜电位及细胞色素 C 蛋白表达的影响[J]. 环境与健康杂志, 2012, 29(8): 675-678.
- [10] Sun L, Chen T, Wang X, *et al.* Bufalin induces reactive oxygen species dependent Bax translocation and apoptosis in ASTC-a-1 cells[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2011, 2011: 249090.
- [11] Circu M L, Aw T Y. Reactive oxygen species, cellular redox systems, and apoptosis[J]. Free Radic Biol Med, 2010, 48(6): 749-762.
- [12] Schumacker P T. Reactive oxygen species in cancer cells: live by the sword, die by the sword[J]. Cancer cell, 2006, 10(3): 175-176.
- [13] Manda G, Nechifor M T, Neagu T M. Reactive oxygen species, cancer and anti-cancer therapies[J]. Curr Chem Biol, 2009, 3(1): 342-366.
- [14] Wlodkowic D, Skommer J, Darzynkiewicz Z. Cytometry of apoptosis. Historical perspective and new advances[J]. Exp Oncol, 2012, 34(3): 255-262.
- [15] Singh M H, Brooke S M, Zemlyak I, *et al.* Evidence for caspase effects on release of cytochrome c and AIF in a model of ischemia in cortical neurons[J]. Neurosci Lett, 2010, 469(2): 179-183.
- [16] 刘晓婷,王延让,张明. 线粒体介导细胞凋亡的研究进展[J]. 环境与健康志, 2013, 30(2): 182-185.
- [17] Hamanaka R B, Chandel N S. Mitochondrial reactive oxygen species regulate cellular signaling and dictate biological outcomes[J]. Trends in Biochem Sci, 2010, 35(9): 505-513.

(收稿:2013-10-30;修回:2013-11-29)

(编辑 汪勤俭)

(上接 1254 页)

SpO₂无法测出,明显增加了麻醉管理的难度。因此,术前详细地询问病史仍是麻醉管理的关键环节。

该类患者确切的发病因素尚未完全明确,但主要的诱发因素为:寒冷刺激、情绪激动、精神紧张、电解质紊乱。其他诱发因素为感染、疲劳等。还有可能与性腺功能、交感神经系统功能紊乱、遗传因素、免疫功能异常等有关^[2-3]。一旦发作,手指皮色突然变为苍白,继而发紫。发作常从指尖开始,以后扩展至整个手指,甚至掌部。伴有局部发凉、麻木、针刺感和感觉减退。持续数分钟后逐渐转为潮红。病情严重者,可出现指(趾)末端指腹变平、坏疽。末节指骨可因缺血而坏死、被吸收、溶解,出现变短或截指现象。在一些抵抗力低的患者,指端缺血而发生溃疡有可能导致骨髓炎、败血症等疾病,这也是本病最严重的并发症。其预防措施中避免寒冷刺激和情绪激动;禁忌吸烟;避免应用麦角胺、β-受体阻滞剂和避孕药;明显职业原因所致者(长期使用震动性工具、低温下作业)尽可能改换工种;细心保护手指免受外伤,因轻微损伤容易引起指尖溃疡或其他营养性病变;日常生活中饮少量酒类饮料;如条件许可者可移居气候温和、干燥地区,更可减少症状发作;解除患者精神上顾虑,保持乐观心态等^[4]。

在手术麻醉过程中由于麻醉后热量的再分布,体温一般会下降0.5~1℃。麻醉下患者长期暴露于手术室,通过传导、辐射、对流等形式使体温下降,据统计下降可达0.6~1.7℃^[5]。而且手术应激也会引起患者情绪激动、精神紧张。故本例患者基本上包含了三大主要诱发因素:寒冷刺激、情绪激动、精神紧张。

另外,在手术过程中,由于患者双手置于床沿被治疗单所覆盖,我们没有目测其典型的临床表现:依次出现苍白、青紫和潮红。但是SpO₂做出了及时的提示。脉搏血氧计就是基于血液中氧合血红蛋白和还原血红蛋白的吸收光谱特性,采用血液容积记录法而设计^[6]。本病例在更换指氧饱和度探头、监测对象,排除了仪器故障的原因后,又通过对患者没有血红蛋白异

常病史(比如MetHb和COHb浓度异常增高),也没有用过静脉内染料(例如亚甲蓝几靛胭脂静脉注射),且触摸患者桡动脉搏动正常,患者的血流动力学平稳,没有外周脉搏减弱,患者是在麻醉状态、正确放置SpO₂探头的情况下,故也不考虑活动性伪差和半影效应。在排除相关的导致SpO₂异常的情况后,通过对双手肤色的改变及对患者的追问,最终确诊为雷诺病引发的SpO₂监测异常。随即针对患者发冷、电解质紊乱而采取了升温、KCl、钙剂等措施对症处理。随着体温的升高、电解质的恢复,双手的肤色逐渐改善,SpO₂终能测出96%~98%,并最终安全返回病房。

术前仔细询问患者的既往病史是非常重要的关键环节。手术过程中应做好各项预防工作、尤其是体温的监测,尽量避免各种诱发因素。遇到监测结果异常时,不要轻易地怀疑仪器,要理性地分析、逐项地排查,直至发现并解决问题。

参考文献:

- [1] 吴在德. 外科学[M]. 5版. 北京: 人民卫生出版社, 2001: 681-682.
- [2] Muller F B, Groth W, Mahrle G. Multiple autoimmune syndrome. Reynolds-syndrome (acral scleroderma, primary biliary cirrhosis, Sjogren syndrome) associated with the lupus erythematosus/lichen planus overlap syndrome[J]. Hautarzt, 2004, 55(5): 465-470.
- [3] Stadie V, Wohlrab J, Marsch W C. Reynolds syndrome-a rare combination of 2 autoimmune diseases[J]. Med Klin (Munich), 2002, 97(1): 40-43.
- [4] Panadero F J, Seoane-Pampin C, del-Olmo M E, *et al.* The Reynolds syndrome. Its diagnostic accessibility and therapeutic intervention in primary care[J]. Aten Primaria, 1992, 10(1): 573-574.
- [5] 庄心良,曾因明,陈伯鉴. 现代麻醉学:下册[M]. 3版. 北京: 人民卫生出版社, 2004: 2039-2047.
- [6] 郑方,范从源. 麻醉设备学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 141-143.

(收稿:2014-02-27;修回:2014-04-15)

(编辑 吴培红)