

照组相比有统计学差异($P<0.01$)。

表 2 两组患者治疗前后血清 CRP 水平($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$, $\bar{x} \pm s$)

组别	治疗前	治疗后 1 周	治疗后 4 周
治疗组	18.30 $\pm$ 4.09	15.10 $\pm$ 3.14*	10.77 $\pm$ 3.20*△
对照组	17.99 $\pm$ 4.35	16.78 $\pm$ 3.45*	13.83 $\pm$ 3.95*△

注:与本组治疗前比较, * $P<0.05$; 与对照组同一时间点比较, △ $P<0.01$

2.3 安全性评价

两组病例在用药期间均未见明显不良反应发生。

3 讨论

CRP 是机体在感染和组织损伤时血浆浓度快速, 急剧升高的主要的急性期蛋白, 由活化的巨噬细胞分泌细胞因子刺激肝细胞而产生, 是系统性炎症的标志物之一, 同时, 它也是一种重要的炎症介质。缺血性卒中患者血清 CRP 水平越高意味着梗死范围越大, 病情越重, 神经功能缺损程度越严重。

脉平片是由银杏叶提取物、何首乌、当归、维生素

C、芦丁组成的复方制剂, 在单纯银杏叶提取物的基础上强化了扩冠、防栓、抗氧化的功能。经现代药理学研究证实: 银杏叶提取物具有扩张脑膜动脉、增加脑血流量, 拮抗血小板活化因子 PAF、抑制血小板聚集, 降低血黏度, 提高超氧化物歧化酶活性、抗脂质过氧化等多种作用, 同时可拮抗 P-选择素诱导的白细胞黏附, 降低血 CRP、TNF- α 及 IL-6 含量。银杏叶提取物用于防治缺血性心、脑血管疾病疗效确切。本研究采用阿司匹林联合脉平片治疗缺血性脑卒中患者, 促进神经功能缺损的恢复, 降低血清 CRP 水平, 疗效优于单用阿司匹林组。

参考文献

[1] 中华人民共和国卫生部. 中药新药临床研究指导原则[M]. 第二辑. 1995:91.

* 陕西省延安大学附属医院胸心外科(716000)

痰浊内阻及心气虚弱型冠心病患者的比较蛋白质组学研究

崔佩佩¹ 朱明丹² 姜 民¹ 宋生有¹ 傅俊曾¹ 王 刚¹ 杜武勋² 范英昌² 罗国安¹

目前, 从系统生物学的视角认识中医辨证分型的物质基础和科学内涵, 利用高通量的基因组学、蛋白质组学、代谢组学等系统生物学技术, 为中医证候本质的研究提供新的技术平台支持, 对于中医药现代化研究具有重要意义^[1]。本研究以心气虚弱和痰浊内阻证冠心病患者为研究对象, 采用差异凝胶电泳和电喷雾质谱技术, 结合生物信息学方法, 对患者血清中蛋白进行差异表达分析, 为认识冠心病中医证候的本质, 完善中医“证”的诊断标准, 阐明中医证候的科学内涵提供直接证据。

1 材料与方法

1.1 一般资料

收集2008年1月~2009年1月于泰达国际心血管病医院心内科住院患者, 对符合纳入标准的冠心病患者, 在其冠脉搭桥手术前2天进行中医证候临床调查并进行辨证分型。中医辨证分型参照《中药新药临床研究指导原则》^[1]并经冠状动脉造影、血脂、超声心动检查确诊为冠心病。最终共收集临床病例18例, 其中心气

虚弱型9例, 痰浊内阻型9例。对纳入患者在术前进行静脉取血2ml, 静置15min, 3000r/min离心15min, 取2ml以上血清, 于-80℃保存, 用于蛋白组学研究。

1.2 仪器与试剂

电泳仪(SE-600 全套电泳设备, Amersham 公司), 光密度扫描仪(GS-710, Bio-Rad 公司), Typhoon 扫描仪和 DeCyder 图谱分析软件(GE healthcare 公司)。

超纯尿素(Urea)、硫脲(Thiourea)、3-[(3-胆酰胺丙基)-二乙胺]-1-丙磺酸(CHAPS)、二硫苏糖醇(DTT)、载体两性电解质(carrier ampholyte, pH3-10 NL)、碘乙酰胺(IAA)、小样品研磨试剂盒、IPG 胶条、DIGE3 种染料(Cy2TM, Cy3TM, Cy5TM)均购自 GE healthcare 公司。罗氏cocktail 酶抑制剂购自 Roche 公司。十二烷基磺酸钠(SDS)、甘氨酸(Glycine)等电泳试剂购自 Bio-Rad 公司。

将样品在 DIGE 裂解液中进行裂解, 然后通过

lorry 法对样品进行蛋白定量,加入内标。使用 DIGE 荧光染料对内标及样品进行标记, Cy2 标记内标, Cy3 与 Cy5 标记样品。

1.4 双向电泳

首先将样品加入到 IPG 胶条中进行水化,然后依次进行第一向等电聚焦(IEF)(电泳条件:30V 12h, 500V 1h, 1000V 1h, 8000V 6h, 500V 4h),第二向 SDS-PAGE 电泳(15mA/胶30min, 30mA/胶至溴酚蓝离胶下沿 0.5cm)。将跑完的胶移至染色盒中进行银染。

1.5 胶图扫描及图像分析

凝胶通过 Typhoon 扫描仪扫描,胶图数据存储后,采用 DeCyder 图谱分析软件进行凝胶的蛋白点检测及匹配。通过软件中的胶内差异分析(differential in-gel analysis, DIA)及生物学差异分析(biological variation analysis, BVA)进行统计分析。

1.6 质谱鉴定

切割蛋白质点置于 Eppendorf 管中,进行胶内酶解(Trypsin, 20h),抽提酶解肽段,通过 ESI 质谱分析后,原始文件用 BOWWORKS 软件搜索 IPI human 数据库,最后得到鉴定的蛋白质结果。

1.7 生物信息学分析

将得到的差异蛋白数据,结合 KEGG、BioCarta、GenMAPP 3 大通路数据库,搜寻到一些蛋白参与的体内重要通路。

2 结果

2.1 差异凝胶电泳图像分析情况

经 DeCyder 图谱分析软件对凝胶进行 DIA 和 BVA 分析后,以 1.5 倍差异表达为标准,在冠心病心气虚弱证和痰浊内阻证患者血清蛋白质中共检测出 12 个差异表达的蛋白质点。

2.2 差异蛋白点的质谱分析及搜库情况

通过对差异蛋白点进行酶解、质谱分析后, BOWWORKS 软件搜库得到鉴定的蛋白质结果,其中载脂蛋白 H,补体成分 C3,血红素结合蛋白, α 2-巨球蛋白,巨噬细胞刺激蛋白 1,血浆血管舒缓素,维生素 D 结合蛋白,凝溶胶蛋白亚型 1,补体 C4-A,抗凝血酶 III,血清淀粉样 p 物质,载脂蛋白 E 均在痰浊内阻证患者体内高表达。

2.3 差异蛋白点的生物信息学通路分析情况

将得到的差异蛋白结合生物信息学数据库,搜寻到的蛋白参与的体内相关通路有:血液连锁反应系、磷酸戊糖途径、半乳糖代谢、糖酵解等。

3 讨论

冠心病属于中医学“胸痹”、“心痛”、“真心痛”等范畴。本病以脏腑虚损为本,气滞、瘀血、痰浊为标,因虚而致实、本虚标实^[2]。其中心气虚弱型冠心病患者主要表现为胸痛胸闷,心悸气短,神倦乏力,面色紫暗,舌淡紫,脉弱而涩;痰浊内阻型患者主要表现为胸闷如窒而痛,或痛引肩背,气短喘促,体胖多痰,身体困重,舌苔浊腻或滑,脉滑^[3]。

本研究结果表明,运用蛋白组学技术可对两证候加以区分,其患者体内蛋白表达水平在血液连锁反应系及血脂代谢、能量代谢等体内代谢通路方面均表现出显著差异。血液连锁反应系包括凝血系、补体系、激肽系,这是机体内几个重要的连锁反应系,通过生化学的及免疫学的相互作用以保持机体内部环境稳定。两证候相比较,3 个反应系表达均上调。其中凝血系中的关键蛋白凝血酶在血液凝固中起重要作用,其表达上调,可证明痰浊内阻证患者血瘀程度强于心气虚弱证患者,血流成相对高凝状态。血瘀阻于心,可见心悸、胸闷心痛等临床症状,两证候患者均有此临床表现,但比较而言,前者明显强于后者。在研究结果的 12 种差异表达蛋白中,载脂蛋白 E、载脂蛋白 H 表达水平具有明显差异,且与脂代谢均有比较重要的关系。载脂蛋白 E (ApoE) 是一种富含甘油三酯的脂蛋白,通过与低密度脂蛋白受体结合,在脂质代谢中起重要作用,且其参与激活水解脂肪的酶类。载脂蛋白 H 参与脂代谢,存在于多种脂蛋白中,可能通过在脂蛋白中的分布不同导致脂代谢紊乱。鉴于两种蛋白在脂代谢中的作用,我们发现,痰浊内阻证患者对体内脂代谢影响与心气虚弱证有明显不同,脂类代谢相对紊乱。通过生物信息学手段,搜寻到多条差异蛋白参与的体内能量代谢通路,如磷酸戊糖途径、半乳糖代谢、糖酵解等。能量代谢存在差异可揭示两种证候在对体内整体新陈代谢方面的影响差异。几条能量代谢途径均为上调,表明心气虚弱证患者新陈代谢水平不及痰浊内阻证患者。

综上所述,本研究结果表明,可在血液凝固性强弱、脂类代谢及能量代谢水平方面入手,将痰浊内阻及心气虚弱证候区别开来。在证候诊断标准方面,也可从这几方面去寻找合适的、特异性的、灵敏度高的客观辨证依据。从本次研究结果可看出,血凝酶、载脂蛋白 E 在两证候间表达差异大,在体内也起到相对重要的作用,其表达水平或许可为两种证候诊断提供依据,但还需要进一步的研究证实。

参考文献

[1] 罗国安, 梁琼麟, 王义明, 等. 中医药系统生物学发展及展望[J]. 中国天然药物, 2009, 7(4): 242-248.

[2] 曹晋, 黄文权. 冠心病中医证型的最新研究进展[J]. 中国中医急症, 2009, 18(10): 1673-1674.

[3] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[M]. 北京: 中国医药

科技出版社, 2002: 69-70.

基金项目: 国家自然科学基金重大研究计划面上项目(90709003)

1 南开大学药学院(300071);

2 天津中医药大学第二附属医院

化瘀通络法配合经皮激光椎间盘减压术 治疗腰椎间盘突出症

都芳涛* 于德国*

经皮激光椎间盘减压术(PLDD)治疗腰椎间盘突出症(LDH)创伤小、安全性高、操作方便、术后恢复快、并发症少。但其术后的炎性反应对患者造成相当大的痛苦,应用减轻神经根水肿药物,效果并不理想。我院于2006年9月~2010年2月,应用腰痛宁胶囊配合PLDD治疗LDH患者,现报道如下。

1 临床资料

1.1 一般资料

随机选取98例LDH患者,男57例,女41例;病程1~36个月,平均(16.9±6.4)个月;住院时间1~7d。单间隙发病患者共69例,其中L3~4间隙8例,L4~5间隙48例,L5~S1间隙13例;双间隙同时发病患者共29例,其中的L3~4与L4~5双间隙11例,L4~5与L5~S1双间隙18例。将患者按照随机数字表法分为治疗组、对照组,治疗组49例,男29例,女20例,平均年龄(34.0±4.6)岁;对照组49例,男28例,女21例,平均年龄(32.0±3.3)岁。两组患者性别、年龄、病程等一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 诊断标准

西医诊断标准符合国内有关LDH诊断标准^[1],中医辨证标准依据《中医病证诊断疗效标准》^[2]拟定。

1.3 排除标准

排除腰椎间盘突出、游离、钙化、椎管或侧隐窝狭窄、明显的椎间隙狭窄、腰椎滑脱、马尾神经症状等。妊娠或哺乳期妇女;合并有严重心脑血管、肝、肾疾病及精神异常者;合并有血液、淋巴、内分泌及神经系统疾病者。

1.4 统计学方法

数据采用SPSS 11.5统计软件进行分析,疗效比较采用Ridit分析,计数资料比较采用 χ^2 检验。

2 治疗方法

2.1 器械及设备

ND:YAG脉冲式激光治疗仪:日本SLT公司生产,波长1064nm,额定输出功率40W。直径400 μ m光导纤维,三通管,18G穿刺针长20cm。NEPHSTARTM特定蛋白分析仪:深圳国赛生物技术有限公司生产。

2.2 手术方法

患者取侧卧位,C型臂X线机固定于以目的椎间盘为中心。用克氏针定位后,体表标线,常规皮肤消毒,铺单,注入0.5%利多卡因5ml沿穿刺路径行局部浸润麻醉,L3~4、L4~5平椎间隙后正中旁开8~10cm,与腰背矢状面呈35°~45°;L5~S1后正中旁开6~8cm紧贴髂嵴上缘,与冠状面呈45°~60°斜向骶尾侧穿刺,经椎间盘侧前方穿破纤维环进入椎间盘0.5~1.0cm。针体平行于相邻椎体上下缘,针尖正位定位于椎间隙中央,距脊突0.5cm;侧位椎间隙中后1/3处。正位观察,针尖应位于棘突正中。确认位置后,拔出针芯,置入光导纤维,注意光导纤维超出针尖5mm。激光功率设置为15W,脉冲持续时间1.0s,间隔时间1.0s。每200J左右向外拔出穿刺针1次,分3次拔出,最后一次拔出针尖应位于椎体后缘,每个间盘激光总能量为500~700J为宜。术中全程监听脉冲音,观察患者反应。激光照射完毕,注射器抽吸残存气体,注入地塞米松5mg,拔出光纤和穿刺导针,局部压迫止血20min,贴无菌创可贴。术中激光照射量最小900J,最大2260J,平均1600J。

2.3 术后处理

术后卧床3天。对照组:术后第1天口服扶他林25mg,每日2次,连用7天。治疗组:术后第1天口服腰痛宁胶囊,黄酒兑少量温开水送服,每次6粒,每日1次,睡前半小时服,连续1周。

2.4 疗效评价标准

采用中华医学会脊柱学组腰痛手术评定标