

参考文献

- 1 Singer R, Sagiv M, Allalouf D, *et al.* Estimation of hyaluronidase activity of human semen and its relationship with sperm density by means of a simplified method. [J]. Int J Fertil, 1982, 27(3): 176-180
- 2 王珂, 高晓勤. 改良底物膜法对透明质酸酶检测的研究. 中华检验医学杂志, 2007, 30(8): 882-885
- 3 Cui YH, Zhao RL, Wang Q, *et al.* Determination of sperm acrosin activity for evaluation of male fertility. Asia J Androl, 2000, 2(3): 229-232
- 4 周宗瑶. 附睾精子成熟功能研究进展. 生殖与避孕, 2003, 23(4): 238-243
- 5 熊成良, 黄宇烽, 等. 人类精子学. 武汉: 湖北科学技术出版社出版, 2002: 1, 49
- 6 Cherr GN, Yudin AI, Overstreet JW. The dual functions of GPI-anchored PH-20: hyaluronidase and intracellular signaling. Matrix Biol, 2001, 20(8): 515-525
- 7 Yeung CH, Cooper TG, Oberpenning F, *et al.* Changes in movement characteristics of human spermatozoa along the length of the epididymis. Biol Reprod, 1993, 49: 274
- 8 吴立君, 张君慧, 吴明章, 等. 大鼠附睾精子运动调节的有关因子研究. 生殖医学杂志, 1994, 3(1): 36-39
- 9 张宁, 张黎, 丁晓萍, 等. 精子染色体结构分析与精液参数的相关性研究[J]. 中华男科学, 2003, 9(3): 166-169

(收稿: 2010-03-27)

炎症和氧化应激标志物在犬心房颤动模型中的变化及意义

官媛 郑强荪 单兆亮 李运明 郭红阳 张晔

摘要 目的 分析犬心房颤动(房颤)模型炎症和氧化应激标志物的动态变化,探讨房颤的发病机制。**方法** 24只杂种犬随机分为快速心房刺激组(RAP)和对照组,每组12只。RAP组给予右心房快速刺激(800次/分),诱发并维持房颤2h。对照组不接受刺激。分别在基础状态、刺激后1h、2h测定右心房ERP和房颤诱发指数(AFII)、血清炎症(TNF- α 、IL-6)和氧化应激标志物(XO、GSH-Px)的水平。**结果** 与对照组相比,①房颤后RAP组右房ERP显著缩短($P < 0.01$);②在刺激1h时,RAP组XO水平即开始显著增高($P < 0.01$),GSH-Px含量显著减少($P < 0.05$),2h时两者分别达到最大和最小值。TNF- α 、IL-6在刺激2h时方出现显著增高($P < 0.05$);③刺激1h和2h的AFII均与XO呈正相关,而与GSH-Px呈显著负相关。刺激1h时,AFII与炎症指标无显著相关,刺激2h时,AFII与IL-6、TNF- α 呈正相关。刺激1h和2h的AERP_{200ms}与AFII呈显著负相关。**结论** 炎症与氧化应激参与了房颤发生和电重构过程,血清氧化应激标志物(XO和GSH-Px)可作为房颤早期预测指标。

关键词 心房颤动 犬 电重构 炎症 氧化应激

The Changes and Significance of Inflammatory and Oxidative Stress Markers in Dog Model of Atrial Fibrillation. Guan Yuan, Zheng Qiangsun, Shan Zhaoliang, Li Yunming, Guo Hongyang, Zhang Ye. Department of Cardiology, Tangdu Hospital, Shanxi 710038, China

Abstract Objective To investigate the mechanisms of pathogenesis of AF by analyzing dynamic changes of inflammatory and oxidative stress markers in dog model of AF induced by rapid atrial pacing. **Methods** Twenty-four dogs were randomly divided into rapid atrial pacing (RAP) group and normal control group. In the RAP group the right atrium was paced at 800 bpm to induce and maintain AF for 2 hours. The atrial electrophysiological indexes (AERP, AF induced rate), inflammatory markers (TNF- α , IL-6) and oxidative stress markers (XO, GSH-Px) in serum were measured at different time point (baseline, 1 h and 2 h after pacing). **Results** ①The AERP shortened dramatically and AF induced rate increased significantly after 1 hour pacing in RAP group ($P < 0.01$); ②After 1 hour pacing, in RAP group, the level of oxidative index (XO) increased ($P < 0.01$), while the level of anti-oxidation index (GSH-Px) dropped ($P < 0.05$), and the two indexes reached maximum and minimum respectively at 2h. The levels of TNF- α and IL-6 had no significant changes at 1h, but increased markedly after 2 hours pacing in RAP group. ③At 1h and 2h, the level of both XO and GSH significantly correlated with AF induced rate (XO: $r_{1h} = 0.74$, $P < 0.01$; $r_{2h} = 0.68$, $P < 0.05$; GSH: $r = -0.78$, $P < 0.01$; $r_{2h} = 0.83$, $P < 0.01$). But a significant positive correlation could be found only after 2h pacing between inflammatory markers (TNF- α , IL-6)

作者单位: 710038 西安, 第四军医大学唐都医院心内科(官媛、郑强荪); 100853 北京, 解放军总医院心内科(单兆亮、郭红阳、张晔); 610083 成都军区总医院质量管理科(李运明)

通讯作者: 郑强荪, 电子信箱: zhengfmmu@sina.com

and AF induced rate ($r = 0.67, 0.71, P < 0.05$) . At 1h and 2 h, AERP_{200ms} was correlated with AF induced rate significantly($r_{1h} = -0.69, P < 0.05$; $r_{2h} = -0.81, P < 0.01$) . **Conclusion** Oxidative stress and inflammatory reaction are closely associated with AF and electrical remodeling. Oxidative stress markers could predict the genesis of AF.

Key words Atrial fibrillation; Dog; Electrical fibrillation; Inflammation; Oxidative stress

心房颤动 (atrial fibrillation, AF) 是临床上最常见的心律失常。近年来初步证据提示,炎症和氧化应激在 AF 电重构和结构重构中发挥了重要作用,参与了 AF 的发生和维持^[1]。但目前鲜有同时研究炎症、氧化应激和 AF 关系的文献。所以炎症、氧化应激在 AF 发生和维持中的具体作用机制、相互关系等重要问题尚未阐明。本研究通过右心房快速刺激建立犬急性 AF 模型,同时检测炎症及氧化应激指标的动态变化,探讨两者的关系及其在 AF 发生发展中的作用机制。

材料与方法

1. 材料:(1)实验动物:健康成年杂种犬 24 只,雌雄不限,体重 25 ~ 30kg,由军医进修学院实验动物中心提供。(2)实验材料及仪器:GY26328 型 32 道电生理记录仪(华南公司);TECSII 程控心内刺激仪(加拿大);UV2000 紫外可见分光光度计(美国);Spectra Max M5 多功能酶标仪(美国 MD);高速低温离心机(德国 Sigma);TNF- α 、IL-6 的 ELISA 测定试剂盒由北京尚柏生物技术有限公司提供;XO、GSH-Px 测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

2. 方法:(1)分组:24 只实验犬随机分为两组:①快速心房刺激组(RAP 组):经右房电极予以快速起搏(800 次/分、脉宽 2ms、4 倍舒张期阈值)直至诱发 AF,监测体表心电图。在整个实验期间,一旦 AF 终止则继续起搏再次诱发,使 AF 持续存在 2h;②对照组:仅置入右心房电极,不予刺激。(2)动物的准备:实验前禁食水 12h,以 30g/L 戊巴比妥钠(30mg/kg)静脉注射麻醉后,建立静脉通道,每 1h 追加戊巴比妥钠 10mg/kg。仰卧位固定于手术台,颈部正中切口分离右侧颈内静脉,置入 2 根 6F 动脉鞘管,将 2 根 5F 电极导管(Cordis,4 极,电极间距 1cm)置于右心房。连接多导电生理记录仪(华南公司 GY26328 型 32 道电生理记录仪)。调整电极位置,使电极导管记录到的心房信号(A 波)和小的心室信号(V 波)。(3)实验指标的测量:分别在基础状态、AF 后 1h、2h 测定两组犬电生理参数,炎症和氧化应激指标。1)电生理参数:①右心房 ERP:予以 S1S2 刺激,S1:S2 为 8:1,S1 周长分别设定为 200ms 和 150ms,S2 从 80ms 开始以 2ms 为步长递增扫描,刺激延迟 1 s,右心房 ERP 定义为:能够夺获心房的最短 S2 间期,重复相同的 S1S2 刺激各 3 次;②AF 诱发指数(atrial fibrillation induded index, AFII):若 S1S2 刺激间期诱发出 AF,可认为 AF 诱发成功 1 次。如果在程控刺激过程中无 AF 发生,则给与 Burst 刺激,刺激周长为 100ms,持续 5s,重复 3 次。记录 AF 的诱发次数。AFII = AF 诱发次数/总刺激次数(心房

纤颤的定义:腔内心电图上出现 10 次以上快速(>500 次/分)、不规则、形态多变的心房激动。在电生理指标测量过程中,若 AF 发作时间超过 5min 不能自行终止,即实施电转复)。2)炎症及氧化应激指标测定:AF 诱发前及诱发后 1h 和 2h,采静脉血 4ml,离心(3000r/min,15min)取血清,-80℃保存。固相酶联免疫吸附法(ELISA 法)测定血清炎症指标白介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor-alpha, TNF- α)的含量。紫外分光光度法测定血清氧化应激指标黄嘌呤氧化酶(xanthine oxidative, XO)和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性,均严格按照说明书进行操作。

3. 统计学处理:使用 SPSS16.0 软件进行统计处理,数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间均数比较用方差分析,两组间均数比较用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

结 果

1. 电生理指标:随刺激时间延长 RAP 组犬右房 ERP 显著缩短($P < 0.05$),而对照组无显著变化(表 1)。刺激 1h 和 2h 时,RAP 组 AFII 均显著高于对照组($P < 0.01$)(表 2)。相关分析显示,1h 和 2h 的 AERP_{200ms} 以及 2h 的 AERP_{150ms} 与 AFII 均呈显著负相关($r_{1h} = -0.69, P < 0.05, r_{2h} = -0.81, P < 0.01; r_{2h} = -0.6, P < 0.05$)。

表 1 两组右心房有效不应期(ERP)比较($\bar{x} \pm s, n = 12$)

时间	RAP 组		对照组	
	BCL(ms)200	BCL(ms)150	BCL(ms)200	BCL(ms)150
基础值(0h)	102 ± 5	95 ± 6	104 ± 13	106 ± 8
刺激(1h)	88 ± 6 ^{bc}	84 ± 9 ^{ac}	101 ± 10	99 ± 4
刺激(2h)	82 ± 5 ^{ac}	76 ± 6 ^{ac}	99 ± 9	96 ± 5

RAP 组较同时间点对对照组,^a $P < 0.01$,^b $P < 0.05$;RAP 组与本组诱发房颤前(0h)比较,^c $P < 0.01$

表 2 房颤诱发指数(AFII)比较($\bar{x} \pm s, n = 12$)

时间	RAP 组	对照组
刺激 1 h	0.34 ± 0.16 ^a	0.02 ± 0.04
刺激 2 h	0.49 ± 0.24 ^a	0.04 ± 0.06

RAP 组较同时间点对对照组,^a $P < 0.01$

2. 炎症及氧化应激指标:两组犬在基础状态下血清 TNF- α 、IL-6、XO、GSH-Px 水平无统计学差异。在电刺激 1h 时,与对照组相比,RAP 组 XO 活性

显著升高 ($6.5 \pm 1.45 \text{ U/L}$ vs $3.45 \pm 0.54 \text{ U/L}$, $P < 0.01$), 而 GSH - Px 水平显著降低 ($4.32 \pm 1.54 \text{ mg/L}$ vs $6.72 \pm 1.25 \text{ mg/L}$, $P < 0.05$)。TNF - α 、IL - 6 在电刺激后 1h 时无显著改变, 而至 2h 时, 与同时时间点的对照组相比, 方出现显著升高 ($P < 0.01$)。相关分析显示, AFII 与 XO 水平呈显著正相关 ($r_{1h} = 0.74$, $P < 0.01$; $r_{2h} = 0.68$, $P < 0.05$), 而与 GSH - Px 水平呈显

著负相关 ($r_{1h} = -0.78$, $P < 0.01$; $r_{2h} = -0.83$, $P < 0.01$)。AERP200ms 与 XO 水平呈显著负相关 ($r_{1h} = -0.75$, $P < 0.01$; $r_{2h} = -0.79$, $P < 0.01$)。直至刺激 2h 时, AFII 与 IL - 6、TNF - α 方呈显著正相关 ($r_{2h} = 0.67$, $r_{2h} = 0.71$, $P < 0.05$), AERP200ms 与 TNF - α 、IL - 6 水平显著负相关 ($r_{2h} = -0.81$, $r_{2h} = -0.75$, $P < 0.01$)。

表 3 血清炎症及氧化应激指标比较 ($\bar{x} \pm s$, $n = 12$)

	血清 TNF - α (pg/ml)		血清 IL - 6 (pg/ml)		血清 XO (U/L)		血清 GSH - Px (mg/L)	
	RAP 组	对照组	RAP 组	对照组	RAP 组	对照组	RAP 组	对照组
基础	4.01 $\pm$ 0.49	4.13 $\pm$ 0.29	4.14 $\pm$ 0.35	4.15 $\pm$ 0.4	2.43 $\pm$ 0.47	2.89 $\pm$ 0.64	6.16 $\pm$ 0.17	6.75 $\pm$ 1.85
刺激 1h	4.77 $\pm$ 0.96	4.51 $\pm$ 0.47	4.40 $\pm$ 0.38	4.41 $\pm$ 0.46	6.5 $\pm$ 1.45 ^a	3.45 $\pm$ 0.54	4.32 $\pm$ 1.54 ^b	6.72 $\pm$ 1.25
刺激 2h	9.65 $\pm$ 0.60 ^a	4.53 $\pm$ 0.36	9.48 $\pm$ 0.4 ^a	4.32 $\pm$ 0.38	8.68 $\pm$ 0.67 ^a	3.52 $\pm$ 0.37	2.59 $\pm$ 1.01 ^b	6.20 $\pm$ 1.37

PAP 组与对照组比较, ^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$

讨 论

心房电重构和结构重构是 AF 发生发展的重要机制^[1]。电重构最早表现为心房 ERP 的缩短, 这一变化导致 AF 更易被诱发和维持^[2]。近年来进一步的研究表明, AF 电重构可能与氧化应激和炎症反应密切相关。Korantzopoulos 等^[3]提出氧化应激时活性氧簇增多, 可导致细胞内 Ca^{2+} 超负荷, 引起房颤电重构。Shiroshita 和 Carnes 等^[4,5]分别发现具有抗炎抗氧化作用的辛伐他汀和维生素 C 能够逆转快速心房起搏导致的 AERP 缩短。进一步的研究显示, 快速心房起搏/AF 导致心肌组织氧化应激, 其原因可能是由于 XO 及 NADPH 氧化酶活性的增加导致的氧自由基增多和谷胱甘肽含量的减少^[6,7]。在另一方面, 炎症与 AF 孰因孰果是近年来一直争论的难题。但研究者一致的发现是: 在心房纤颤时均伴随有炎症介质 (hs - CRP、IL - 6、TNF - α) 的升高^[8~10]。综合分析已有的研究结果, 目前认为氧化应激和炎症都可能参与了心房的电重构, 但各自的地位及因果关系不明确。

我们的研究表明, 快速心房起搏和 AF 可导致 AERP 显著缩短, 使 AF 更易诱发, 同时伴随有炎症介质 (TNF - α 、IL - 6) 水平显著升高, 这与既往的研究结果相一致。更有意义的是, 本文首次报道了快速心房起搏可导致血清 XO 活性显著增高和 GSH - Px 水平显著降低, 且这种变化发生在炎症指标 (TNF - α 和 IL - 6) 升高之前。此结果提示: 在快速心房起搏/心房纤颤条件下, 氧化应激早于炎症而出现, 可能是导致心房电重构和心房纤颤易感性增加的始动因素。既往的研究表明, XO 活性的增强除导致氧自由基增

多外, 尚可诱导核转录因子及 TNF - α 等炎症介质的生成, 所以在本研究的实验条件下, 氧化应激发生在先的假说很可能成立^[11]。已有研究对氧化应激导致心房电重构的相关机制进行了探索。增多的 ROS 通过直接影响钙调蛋白或间接通过细胞膜脂质过氧化产生细胞内 Ca^{2+} 超负荷, 参与心房纤颤的电重构^[12]。Caouette 等^[13]研究发现, 过氧化氢 (一种强氧化剂) 可加快 Kv1.5 通道开放速度, 导致动作电位时程和 AERP 的缩短。我们的研究发现, 与炎症标志物 (IL - 6、TNF - α) 相比, 氧化应激标志物与心房 ERP 呈显著相关, 且相关性出现最早, 从而说明氧化应激极有可能与本实验中的心房电重构 (心房 ERP 缩短) 之间存在因果关系。

总之, 本研究证实, 快速心房起搏可导致以心房 ERP 缩短为特征的心房电重构和心房纤颤易感性增加, 其机制涉及机体氧化应激和炎症反应的增强。综合相关文献和本研究的结果, 我们认为可能存在快速心房起搏 - 机体氧化应激/炎症反应 - 心房电重构 - 心房纤颤易感性增强这一因果级联关系。此外, 已有研究表明, 炎症和氧化应激相关指标能预测心房纤颤及其并发症的发生, 所以, 本文研究结果的意义还在于为心房纤颤的无创预测提供了有价值的、有实践操作价值的指标——血清氧化应激标志物。本研究的不足之处是未包括抑制氧化应激的干预组, 这使实验结果的分析存在一定的局限性。

参考文献

- 1 Korantzopoulos P, Kolettis T, Siogas K, et al. Atrial fibrillation and electrical remodeling: the potential role of inflammation and oxidative

- stress[J]. *Med Sci Monit*, 2003, 9: RA225 - 229
- 2 Chung - Chuan Chou, Peng - Sheng Chen. New Concepts in Atrial Fibrillation: Mechanism and Remodeling [J]. *Med Clin North Am*, 2008, 92(1): 53 - 63
- 3 Van Wagoner DR, Nerbonne JM. Molecular basis of electrical remodeling in atrial fibrillation [J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2000, 32: 1101 - 1117
- 4 Kumagai K, Nakashima H, Saku K. The HMG - CoA reductase inhibitor atorvastatin prevents atrial fibrillation by inhibiting inflammation in a canine sterile pericarditis model [J]. *Cardiovasc Res*, 2004, 62: 105 - 111
- 5 Shiroshita TA, Schram G, Lavoie J, *et al.* Effect of simvastatin and antioxidant vitamins on atrial fibrillation promotion by atrial - tachycardia remodeling in dogs [J]. *Circulation*, 2004, 110 (16): 2313 - 2319
- 6 Carnes CA, Chung MK, Nakayama T, *et al.* Ascorbate attenuates atrial pacing induced peroxy - nitrite formation and electrical remodeling and decreases the incidence of postoperative atrial fibrillation [J]. *Circ Res*, 2001, 89 (6): E322 - E38
- 7 Eiichi Yamamoto, Zhong - Fang Lai, Takuro Yamashita, *et al.* Enhancement of cardiac oxidative stress by tachycardia and its critical role in cardiac hypertrophy and fibrosis [J]. *Hypertension*, 2006, 24: 2057 - 2069
- 8 Carnes CA, Janssen PM, Ruehr ML, *et al.* Atrial glutathione content, calcium current and contractility [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282: 28063 - 28073
- 9 Sata N, Hamada N, Horinouchi T, *et al.* C - reactive protein and atrial fibrillation: is inflammation a consequence or a cause of atrial fibrillation? [J]. *Jpn Heart J*, 2004, 45: 441 - 445
- 10 Boos CJ, Anderson RA, Lip GYH. Is atrial fibrillation an inflammatory disorder? [J]. *Eur Heart J*, 2006, 27: 136 - 149
- 11 Naoyuki S, Naokazu H, Takashi H, *et al.* C - reactive Protein and atrial fibrillation. Is inflammation a consequence or a cause of atrial fibrillation? [J]. *JapanHeart*, 2004, 45(3): 441 - 445
- 12 Shibata N, Kobayashi M. The role for oxidative stress in neurodegenerative diseases [J]. *Brain Nerve*, 2008, 60(2): 157 - 170
- 13 Lin PH, Lee SH, Su CH, *et al.* Oxidative damage to mitochondrial DNA in atrial muscle of patients with atrial fibrillation. [J]. *Free Radic Biol Med*, 2003, 35: 1310 - 1318
- 14 Kim YS, Im J, Choi JN, *et al.* Induction of ICAM - 1 by Armillariella mellea is mediated through generation of reactive oxygen species and JNK activation [J]. *Ethnopharmacol*, 2010, 14: 79 - 86

(收稿: 2010 - 03 - 09)

Kirschner wire 和 Cable - pin 在髌骨骨折手术治疗中的临床效果分析

吴广森 才晓军 蒋长亮 余方圆 常 青

摘 要 **目的** 分析比较 Kirschner wire 和 Cable - pin 在髌骨骨折治疗中的临床效果和应用价值。**方法** 回顾 2006 年 12 月 ~ 2009 年 12 月间笔者医院收治的 107 例髌骨骨折病人, 分别用 Kirschner wire 和 Cable - pin 手术治疗 68 例和 39 例, 记录两组病人的骨折类型、手术历时、术中出血量、住院日、医疗费用、术后并发症及远期膝关节功能恢复情况, 应用 SPSS11.0 软件对观察指标进行统计学分析。**结果** 107 例病人全部获得随访, 随访时间为 3 ~ 21 个月, 平均 14.2 个月。Cable - pin 治疗组患者的手术历时和术中出血量均明显少于 Kirschner wire 治疗组 ($P < 0.05$), 但医疗费用远高于后者 ($P < 0.01$)。两组病人术后并发症、住院日、骨折愈合时间和远期膝关节功能恢复情况无统计学差异。**结论** 应用 Kirschner wire 手术治疗髌骨骨折更为广泛, 方法灵活且疗效肯定, 是一种性价比较高的治疗方法; Cable - pin 操作简单、疗效可靠, 但仅适用于横断性髌骨骨折, 且医疗费用昂贵, 在临床应用中有一定局限性。

关键词 髌骨骨折 张力带 钢缆系统 统计学分析

The Clinical Effect Analysis of Kirschner wire and Cable - pin in the Patella Fracture Surgical Treatment. Wu Guangsen, Cai Xiaojun, Jiang Changliang, *et al.* Department of Orthopedics, The 309th Hospital of People's Liberation Army, Beijing 100091, China

Abstract Objective To analyze and compare Kirschner wire and Cable - pin in the treatment of patellar fracture in clinical effect and application value. **Methods** From December 2006 to December 2009, 107 cases of patellar fracture patients admitted to our hospital were treated with Kirschner wire (68 cases) and Cable - pin surgical treatment (39 cases). The fracture type, operation time, blood loss, hospital stay, medical costs, postoperative complications and long - term recovery of knee function in the two groups were recorded and an-