

钙复合人工骨种植兔股骨髓的确有新骨的产生,且随着时间的增长,成骨量日益增多,肉眼观察与空白对照组相比,新骨的形成量明显多于空白对照组。根据 Quantimet 570C 型彩色图像分析仪对骨量的统计结果,在 4、8、12 周两种材料的成骨量也一直存在差异。从 HE 切片中可以发现,空白对照组仅在缺损区的边缘有新生的骨组织,中央区未见有骨组织生成,而实验组成骨则相对均匀,这种现象可能是由填充材料的骨传导性决定的。在新骨生长的同时笔者也发现随着时间的延长,材料不断降解,到 12 周时几乎完全降解。这种新型人工骨具有良好的骨传导性、降解性,这是成骨作用的基础。对于复合人工骨的成骨机制推测为:材料种植骨缺损后处于坚强固定状态,通过形成“切割圆锥”直接由松质骨重建骨单位的哈佛系统而恢复骨机械连续性<sup>[11]</sup>。周围组织及血管的基质干细胞提供的成骨细胞前体进而转化为骨细胞。此过程中很少或无骨膜反应,没有骨痂生成。这说明新型的复合材料有良好的成骨性,相较于以前的报道过的单纯  $\alpha$ -半水硫酸钙的溶解时间短不易形成新骨的情况有了明显不同。这应该是牡蛎壳粉及  $\alpha$ -半水硫酸钙相复合延长了  $\alpha$ -半水硫酸钙的降解时间的缘故,其具体原理还有待进一步研究。

本文中 HE 染色只能对成骨起到定性的作用,并且不能知道具体的降解和骨生成量,这需要进一步的 Giemas 染色及 Mic-cT,限于条件和时间,这一部分工作在以后开展。

#### 参考文献

- 1 Mountain AS, Wheeler AP, Snider D. Hemocyte-mediated shell mineralization in eastern oyster [J]. Science, 2004, 304 (5668): 297 -

- 300
- 2 冯永增,薛恩兴,徐华梓. 三维多孔牡蛎壳/消旋聚乳酸复合人工骨的研制及其相关性能的检测 [J]. 中国组织工程学报, 2009, 3 (2): 90 - 95
- 3 薛恩兴,徐华梓. 牡蛎壳材料填充兔股骨骨缺损的实验研究 [J]. 浙江医学, 2009, 5 (5): 437 - 439
- 4 Coetzee AS. Regeneration of bone in the presence of calcmium sulfate [J]. Arch otolaryn, 1980, 106 (7): 405 - 409
- 5 Gao CJ, Huo SJ, Li X, et al. Characteristics of calcium sulfate/gelatin composite biomaterials for bone repair [J]. J Biomater Sci Polym Ed, 2007, 18 (7): 799 - 824
- 6 Maeno S, Niki Y, Matsumoto H, et al. The effect of calcium ion concentration on osteoblast viability, proliferation and differentiation in monolayer and 3D culture [J]. Biomaterials, 2005, 26 (23): 4847 - 4855
- 7 Wang Y, Li Q. Expression of vascular endothelial growth factor and microvessel density in rabbit radius defects repaired with allogeneic and autogenic bone [J]. Clin Orthop Relat Res, 2010, 24 (2): 230 - 234
- 8 King AM, Cranfield F. Radiographic anatomy of the rabbitskull with particular reference to the tympanic bulla and temporomandibular joint: Part 1: lateral and long axis rotational angles [J]. The Veterinary Journal, 2008, 42 (2): 277 - 282
- 9 Nishimura K. Local application of simvastatin to rat incisor sockets augments bone [J]. Kokubyo Gk, 2008, 75 (1): 49 - 54
- 10 Naomi Y, Toth C. A comparative assessment of synthetic ceramic bone substitutes with different composition and microstructure in rabbit femoral condyle model [J]. J Craniofac Surg, 2009, 15 (27): 238 - 244
- 11 Graham J, Ayati M. Connecting biology and mechanics in fracture healing: an integrated mathematical modeling framework for the study of nonunions [J]. Biomechanics and Modeling in Mechanobiology, 2010, 35 (55): 727 - 735 (收稿日期: 2012 - 06 - 14)

(修回日期: 2012 - 10 - 08)

## 儿童 OSAHS 血浆腺苷水平及认知障碍的研究

严杨艳 凡启军 刘国钧 林发明 黄赛瑜 蔡晓红 倪丽艳

**摘要 目的** 观察儿童阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征 (OSAHS) 智力测定结果, 探讨 OSAHS 儿童血浆腺苷 (adenosine) 水平变化及在认知功能损害中的可能作用。**方法** 儿童 OSAHS 患者 37 例, 健康对照组儿童 20 例, 采用中国 - 韦氏儿童智力量表 (C-WYCSI) 进行智力评估, 用反相高效液相色谱 - 紫外检测法测定血浆腺苷水平。**结果** 儿童 OSAHS 组言语智商及操

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (Y2110277); 浙江省科技厅科研项目 (2008C33011); 温州市科技局社会发展科学研究项目 (Y20080136)

作者单位: 325027 温州医学院附属第二医院耳鼻喉科 (严杨艳、凡启军、刘国钧、林发明、黄赛瑜、倪丽艳); 温州医学院附属育英儿童医院呼吸科 (蔡晓红)

通讯作者: 倪丽艳, 电子信箱: nily2001@126.com

作智商较正常对照组低 ( $F = 13.779, P < 0.01; F = 13.963, P < 0.01$ ), 轻度 OSAHS 组与中重度 OSAHS 组言语智商及操作智商无明显差异 ( $P > 0.05$ )。中重度 OSAHS 组血浆腺苷水平明显升高 ( $41.9 \pm 7.7 \mu\text{g/L}$ ), 与轻度 OSAHS 组与健康对照组比较有统计学意义 ( $F = 4.165, P < 0.01$ )。结论 儿童 OSAHS 患者言语智商及操作智商偏低, 而其血浆腺苷水平升高, 提示可能是 OSAHS 儿童发生认知功能障碍的重要机制。

**关键词** 儿童 阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征 腺苷 认知

**Research of Plasma Adenosine Level and Cognitive Disorders in Children with OSAHS.** Yan Yangyan, Fan Qijun, Liu Guojun, Lin Faming, Huang Saiyu, Cai Xiaohong, Ni Liyan. Department of Otorhinolaryngology and Respiration, The Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Zhejiang 325027, China

**Abstract Objective** To observe the intelligence results in children with obstructive sleep apnea – hypopnea syndrome (OSAHS), also to explore the change of plasma adenosine concentration and its role in the pathophysiology of cognitive impairment in children with OSAHS. **Methods** Subjects were divided into Children with OSAHS ( $n = 37$ ), and control group ( $n = 20$ ). The intelligence was assessed through China – merriam – webster children intelligence scale (C – WYCSI), and plasma adenosine levels were measured by reverse phase high performance liquid chromatography (HPLC) of ultraviolet. **Results** Verbal IQ and performance IQ of children with OSAHS was higher than that of control ( $F = 13.779, P < 0.01; F = 13.963, P < 0.01$ ), but it showed no significant difference between mild OSAHS group and moderate – sever OSAHS group ( $F = 4.165, P < 0.01$ ). The plasma adenosine level was markedly high in moderate – severa OSHAS group ( $41.9 \pm 7.7 \mu\text{g/L}$ ), and it has a obvious statistical significance while comparing mile OSAHS group and control group ( $F = 4.165, P < 0.01$ ). **Conclusion** Children with OSAHS have lower verbal IQ and performance IQ, and the plasma adenosine level is increased, which may be the main mechanism of cognitive dysfunction in children with OSAHS.

**Key words** Child; Obstructive sleep apnea – hyperpnoea syndrome; Adenosine; Cognition

儿童阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征 (obstructive sleep apnea – hypopnea syndrome, OSAHS) 是一种发病率高、对儿童生长发育潜在危害性大的疾病, 可以发生在新生儿到青少年的任何年龄段的儿童, 尽管由于很多地区缺乏大规模的流行病学的精确调查, 各地的数据变化较大, 但估计其目前的发病率约为 1% ~ 3%<sup>[1]</sup>。OSAHS 儿童反复发作的夜间缺氧和觉醒导致儿童睡眠结构紊乱, 白天嗜睡、疲劳, 神经认知功能障碍和心血管疾病发生率的增高<sup>[2,3]</sup>。可见, OSAHS 已成为危害儿童身心健康的常见疾病, 而国内外对于儿童 OSAHS 的认知障碍研究较少。目前认为睡眠呼吸障碍的患者可能由于严重缺氧、睡眠中频繁觉醒、睡眠呼吸暂停低通气指数 (AHI) 增高以及兴奋性增高使神经认知发育受到影响, 但是睡眠呼吸障碍究竟通过上述何种机制导致儿童认知障碍还不十分清楚<sup>[4]</sup>。腺苷是一种广泛存在的神经调质, 全称腺嘌呤核苷, 是由腺嘌呤和戊糖结合而成。由于 OSAHS 患者睡眠中存在反复低氧血症, 而低氧血症可以增加 ATP 分解代谢使血中腺苷水平增高, Findley 等<sup>[5]</sup>推测 OSAHS 患者血浆腺苷浓度高于正常人, 且增高程度应与夜间低氧血症的水平相关。因此, 腺苷作为一种内源性信号核苷, 可能在 OSAHS 的发病机制中起着重要的作用。本文就近年来笔者医院行多导睡眠呼吸监测 (polysomography, PSG) 监测的 OS-

AHS 患者与健康对照组进行中国 – 韦氏儿童智力量表 (C – WYCSI) 评估, 并测定各组患儿血浆腺苷水平, 进一步探讨 OSAHS 儿童认知功能损害的发病机制。

## 资料与方法

1. 一般资料: 选择 2010 年 1 月 ~ 2012 年 1 月在笔者医院就诊的 37 例 OSAHS 患儿, 男性 29 例, 女性 8 例; 患儿年龄 6 ~ 11 岁, 平均年龄 7.4 岁; 病史 5 个月 ~ 6 年, 平均 2.1 年。伴随症状: 睡眠打鼾 37 例 (100%), 张口呼吸 35 例 (95%), 夜间憋醒 18 例 (48%), 咽痛 12 例 (32%), 夜间磨牙 6 例 (16%), 遗尿 5 例 (14%), 听力下降 9 例 (24%), 鼻窦炎 14 例 (38%)。查体: 扁桃体 II° 32 例, III° 5 例。视频鼻内镜示: 腺样体轻度肥大 6 例, 中重度肥大 28 例。儿童 OSAHS 的诊断依据参照 2007 年乌鲁木齐 OSAHS 专题学术会议制定的儿童《OSAHS 诊疗指南 (草案)》, 经 PSG 确诊, 其中轻度 23 例, 中重度 14 例<sup>[6]</sup>。选择同期儿童保健科进行健康体检儿童 20 例作为健康对照组, 其中男性 16 例, 女性 4 例, 年龄 6 ~ 11 岁, 平均年龄 8.1 岁; 其体检指标均正常。所有入选对象均除外有夜间打鼾病史, 感染性疾病、肝肾疾病、风湿免疫疾病、脑血管疾病、恶性肿瘤、糖尿病及冠心病等重要脏器疾病。且近期 6 个月无创伤手术史, 并除外饮食及药物等干扰因素。

2. 检测方法: 用美国伟康公司 Alice5 德国的耶格 Sleep Screen 睡眠仪对监测研究对象至少 7h 睡眠, 包括脑电图、口鼻气流、血氧饱和度、胸腹呼吸运动、眼电图、监测仪和下颌肌电图、体位及胫前肌肌电图; 记录并计算下列指标: AHI, 最低血氧饱和度 (LSaO<sub>2</sub>)、睡眠呼吸障碍事件最长时间, 睡眠呼吸障碍事件总时间占睡眠时间百分比。根据 PSG, 每夜睡眠过

程中阻塞性睡眠呼吸暂停指数 (OAI) > 1 次/小时或 AHI ≥ 5 次/小时为异常。LSaO<sub>2</sub> < 0.92 定义为低氧血症。满足以上两条可以诊断为 OSAHS。根据 PSG 监测分组: 轻度 OSAHS (AHI: 5 ~ 10 次/小时、LSaO<sub>2</sub>: 0.85 ~ 0.91); 中重度 OSAHS (AHI > 10 次/小时、LSaO<sub>2</sub> < 0.85)。所有研究对象均在睡眠检测结束、晨醒 10min 内抽取空腹静脉血 2ml, 将采集的血样置于双嘧达莫化试管中, 立即 3000r/min (4℃, 15min) 离心分离出血浆, -70℃ 低温保存, 采用反相高效液相色谱 - 紫外检测法测定血浆腺苷含量。色谱柱: YWG - C18 柱 (250mm × 4.6mm, 10μm); 流动相: 磷酸盐缓冲液 [50mmol/L 磷酸二氢钠 250mmol/L 磷酸氢二钠, 500: 80 J - 甲醇 (80: 20, pH 5.9)]; 流速: 1ml/min; 检测波长: 254nm; 检测灵敏度: 0.005 AUF; 柱温: 35℃。腺苷标准品购于 sigma 公司, 货号 D9766 - IG。所有入选儿童采用中国 - 韦氏儿童智力量表 (C - WYCSI) 进行评估。C - WYCSI 测定的总智商由语言智商和操作智商两大类 10 个测试项目构成, 其中言语智商反映儿童的知识面、语言表达能力、概括能力、领悟以及算术能力, 由知识、

图片词汇、算术、图片概括、领悟 5 个子项目构成; 操作智商主要反映儿童动手能力以及手眼的协调性、综合判断力、细微分辨力等, 由动物下蛋、图画填充、迷津、视觉分析和木块图案 5 个子项目构成。

3. 统计学方法: 应用 SPSS 20.0 统计软件建立数据库进行统计。数据描述: 样本含量用  $n$  表示, 计量资料符合正态分布用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 计数资料用百分比或率 (%) 描述。采用 Kolmogorov - Smirnov 检验分析数据是否符合正态分布, Levene 检验分析方差齐性。三者比较, 采用双向方差分析, 两两比较, 方差齐采用 SNK 检验, 方差不齐者采用 Tamhane' ST2 检验。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1. 儿童 OSAHS 组 PSG 结果: 睡眠呼吸障碍事件最长时间、睡眠呼吸障碍事件总时间占睡眠时间百分比两者比较方差齐, 采用两样本的  $t$  检验, AHI、LSaO<sub>2</sub> 方差不齐, 采用近似  $t$  检验, 详见表 1。

表 1 儿童 OSAHS 组 PSG 各参数比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 分组        | $n$ | AHI (次/小时) | LSaO <sub>2</sub> | 睡眠呼吸障碍事件    | 睡眠呼吸障碍事件总时间占 |
|-----------|-----|------------|-------------------|-------------|--------------|
|           |     |            |                   | 最长时间 (s)    | 睡眠时间百分比 (%)  |
| 轻度 OSAHS  | 23  | 7.8 ± 3.7  | 0.86 ± 0.05       | 56.8 ± 22.4 | 3.8 ± 1.3    |
| 中重度 OSAHS | 14  | 17.7 ± 5.8 | 0.73 ± 0.08       | 70.4 ± 21.7 | 7.2 ± 1.7    |
| $t$       |     | -5.7       | 5.1               | -1.8        | -6.8         |
| $P$       |     | 0.000      | 0.000             | 0.079       | 0.000        |

2. 轻、中重 OSAHS 组与正常对照组血浆腺苷水平和言语智商及操作智商比较: 3 者比较采用双向方差分析, 两两之间比较, 3 组数据均方差齐, 采用 SNK 检验, 详见表 2。

表 2 轻、中重 OSAHS 组与正常对照组血浆腺苷水平和言语智商及操作智商比较 (分,  $\bar{x} \pm s$ )

| 分组               | $n$ | 腺苷 (μg/L)          | 言语智商                | 操作智商                |
|------------------|-----|--------------------|---------------------|---------------------|
| 轻度 OSAHS         | 23  | 29.9 ± 16.8        | 82.8 ± 18.0         | 89.0 ± 11.9         |
| 中重度 OSAHS        | 14  | 41.9 ± 17.7        | 79.2 ± 17.1         | 91.4 ± 15.3         |
| 正常对照组            | 20  | 27.5 ± 10.1        | 104.1 ± 10.1        | 107.6 ± 8.7         |
| $F$              |     | 4.165 <sup>d</sup> | 13.779 <sup>d</sup> | 13.963 <sup>d</sup> |
| <sup>a</sup> $P$ |     | 0.595              | 0                   | 0                   |
| <sup>b</sup> $P$ |     | 0.008              | 0                   | 0                   |
| <sup>c</sup> $P$ |     | 0.022              | 0.499               | 0.569               |

<sup>a</sup> 为轻度 OSAHS 组与正常对照组比较; <sup>b</sup> 为中重度 OSAHS 组与正常对照组比较; <sup>c</sup> 为轻度 OSAHS 组与中重度 OSAHS 组比较; <sup>d</sup>  $P < 0.05$

## 讨 论

儿童 OSAHS 是一种在睡眠过程中反复发生上气道部分或完全阻塞, 引起低通气或通气暂时停止, 扰

乱儿童正常通气和睡眠结构而引起的一系列病理生理变化<sup>[7]</sup>。本研究结果显示: 儿童 OSAHS 组 (轻、中重度) 言语智商及操作智商较正常对照组低 ( $F = 13.779, P < 0.01; F = 13.963, P < 0.01$ )。这与 Beebe<sup>[8]</sup>的研究结果一致, 表明儿童 OSAHS 可以引起认知功能障碍, 但其病理生理机制尚不完全明确, 有学者认为, 反复发作的夜间低氧血症是导致 OSAHS 患者认知功能损害的重要机制<sup>[8,9]</sup>。间歇性缺氧可以影响中枢和周围神经系统, 增加相关神经元的凋亡并且降低大脑言语和记忆功能<sup>[10]</sup>。Halbower 等<sup>[11]</sup>认为儿童 OSAHS 可导致 IQ 和行政职能的缺陷, 也可能引起皮质和海马神经元损伤, 因此推论 OSAHS 儿童长期不治疗可以改变儿童认知功能的潜能。Pears 等<sup>[12]</sup>对 19 个认知功能障碍的学龄前 OSAHS 患儿给予行扁桃腺样体切除术, 一段时间后其认知功能恢复至与正常对照组相同水平。可见儿童 OSAHS 患者普遍存在认知功能障碍, 但结果还表明, 轻度 OSAHS 组与中重度 OSAHS 组言语智商及操作智商无明显差异 ( $P > 0.05$ ), 这也说明 OSAHS 患者引起认知功能障碍的程

度与疾病本身的严重程度不呈正比。有学者认为儿童的认知功能是由基因与环境因素共同作用的结果,此外某些严重的疾病也可以导致 OSAHS 的发生<sup>[13]</sup>。

本研究还发现,中重度 OSAHS 组血浆腺苷水平明显升高( $41.9 \pm 17.7 \mu\text{g/L}$ ),与轻度 OSAHS 组与健康对照组比较有统计学意义( $F = 4.165, P < 0.01$ ),而轻度 OSAHS 组与正常对照组无显著性差异( $P > 0.05$ )。同样的,有学者也发现 OSAHS 患者摄入腺苷受体拮抗剂咖啡后认知功能提高,表明血浆腺苷水平与 OSAHS 认知功能存在一定相关性<sup>[14]</sup>。大量的证据表明内生性腺苷是促进清醒到睡眠这一过渡阶段的睡眠平衡因素;细胞外腺苷在清醒期则有选择性的聚集在基底核和皮质,在睡眠期间又缓慢的下降,OSAHS 患者反复出现夜间睡眠的觉醒,可以导致腺苷水平代偿性增高。此外,腺苷的血浆半衰期较短,且可被大多数细胞摄取,并经腺苷脱氢酶灭活,因此测定血浆中腺苷水平存在较多不稳定因素,需要采用含有腺苷灭活抑制剂的容器快速测定其含量。故本研究亦采用双嘧达莫化的试管抑制腺苷被快速灭活,所有血样收集后立即处理,并放置于  $-70^\circ\text{C}$  冰箱待测。本研究结果显示轻度 OSAHS 组与正常对照组血浆腺苷水平无显著性差异( $P > 0.05$ ),对于此现象不排除操作及测量过程中出现的误差,但也许对于轻度 OSAHS 组,其缺氧及夜间微觉醒程度不至于导致血浆腺苷水平的改变,而其具体的质变导致量变的过程仍需进一步研究。

综上所述,儿童 OSAHS 患者言语智商及操作智商偏低,而其血浆腺苷水平升高,提示可能是 OSAHS 儿童发生认知功能障碍的重要机制。

#### 参考文献

1 Lumeng J, Chervin R. Epidemiology of pediatric obstructive sleep ap-

- nea[J]. *Proc Am Thorac Soc*, 2008, 15(2): 242–252
- 2 Haensel A, Bardwell W, Mill P, *et al.* Relationship between inflammation and cognitive function in obstructive sleep apnea[J]. *Sleep Breath*, 2009, 13(1): 35–41
- 3 Kheirandish L, Gozal D. Neurocognitive dysfunction in children with sleep disorders[J]. *Dev Sci*, 2006, 9(4): 388–399
- 4 Bruin PF, Baquato Mda C. Cognitive impairment in obstructive sleep apnea syndrome[J]. *J Bras Pneumol*, 2010, 36(2): 32–37
- 5 Findley LJ, Boykin M, Fallon T, *et al.* Plasma adenosine and hypoxemia in patients with sleep apnea[J]. *J Appl Physiol*, 1988, 64: 556–561
- 6 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志编委会, 中华医学会耳鼻咽喉科学分会. 儿童阻塞性睡眠呼吸暂停低通气综合征诊疗指南草案(乌鲁木齐)[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2007, 42(2): 83–84
- 7 Section on Pediatric Pulmonology, Subcommittee on Obstructive Sleep Apnea Syndrome. American Academy of Pediatrics. Clinical practice guideline: diagnosis and management of childhood obstructive sleep apnea syndrome[J]. *Pediatrics*, 2002, 109: 704–712
- 8 Beebe D. Neurobehavioral dysfunction in children with obstructive sleep apnea[J]. *PLoS Med*, 2006, 3(8): e323
- 9 O'Brien LM, Gozal D. Behavioural and neurocognitive implications of snoring and obstructive sleep apnoea in children: facts and theory[J]. *Paediatr Respir Rev*, 2002, 3(1): 3–9
- 10 Row BW. Intermittent hypoxia and cognitive function: implications from chronic animal models[J]. *Adv Exp Med Biol*, 2007, 618: 51–67
- 11 Halbower A, Degaonkar M, Barker P, *et al.* Childhood obstructive sleep apnea associates with neuropsychological deficits and neuronal brain injury[J]. *PLoS Med*, 2006, 3(8): e301
- 12 Pears K, Fisher PA. Developmental, cognitive, and neuropsychological functioning in preschool – aged foster children: associations with prior maltreatment and placement history[J]. *J Dev Behav Pediatr*, 2005, 26(2): 112–122
- 13 Gozal D, Khtirandish L. Oxidant stress and inflammation in the snoring child: confluent pathways to upper airway pathogenesis and end – organ morbidity[J]. *Sleep Med Rev*, 2006, 10: 83–96
- 14 Norman D, Bardwell W, Lored J, *et al.* Caffeine intake is independently associated with neuropsychological performance in patients with obstructive sleep apnea[J]. *Sleep Breath*, 2008, 12(3): 199–205

(收稿: 2012–04–17)

(修回: 2012–05–02)

## TGF- $\beta$ 1 和 MMP-2 在口腔鳞状细胞癌的表达及其与肿瘤浸润和转移相关性研究

胡振宇

**摘要** 目的 通过观察 TGF- $\beta$ 1 和 MMP-2 在口腔鳞状细胞癌的表达情况, 探讨研究其与肿瘤浸润和转移相关性。  
**方法** 运用免疫组化染色方法观察 TGF- $\beta$ 1 和 MMP-2 在 36 例手术切除的口腔鳞状细胞癌组织中的表达情况, 并与正常组织

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目(Y208274)

作者单位: 310014 杭州, 浙江省人民医院