论著

文章编号:1000-5404(2010)11-1136-05

低渗状态下星形胶质细胞 AQP8 的表达变化

杨 美[1,2],孙善全[1,2],余维华[1,2],刘 辉[1,2],卓 飞[1,2],邱国平[1,2] (400016 重庆,重庆医科大学:基础医学院人体解剖学教研室[1],神经科学研究中心[2])

[摘要] **目的** 探讨低渗透压作用下,星形胶质细胞水通道蛋白8(aquaporin8,AQP8)的表达变化规律。**方法** 原代培养大鼠星形胶质细胞,随机分为对照组(常规培养液)和低渗组(268、254、240 mmol/L),每组分别作用1、3、6、12、24 h,共5个时间点。通过MTT比色法检测细胞活力,免疫细胞化学、免疫荧光、Real time-PCR研究AQP8及其mRNA的表达变化。**结果** 对照组星形胶质细胞的细胞形态、细胞活性、AQP8及其mRNA的表达在各时间点均无明显变化($P>0.05$)。低渗组中,星形胶质细胞水肿,细胞活性下降;AQP8及其mRNA的表达水平随低渗程度的下调和低渗作用时间的延长而增强。低渗液(268、254、240 mmol/L)作用后,免疫细胞化学显示星形胶质细胞的AQP8表达从低渗作用1 h的(0.258 3±0.009 8, 0.280 0±0.010 9, 0.281 7±0.007 5)到低渗作用24 h的(0.385 0±0.010 9, 0.406 7±0.007 0, 0.425 0±0.010 4)($P<0.05$);Real time PCR显示:AQP8与beta-actin的mRNA水平比从低渗作用1 h的(0.127 5±0.011 8,0.134 4±0.032 4, 0.167 5±0.007 8)上升到(3.278 0±0.121 2,5.410 4±0.104 1,8.351 0±0.288 0)。**结论** 低渗作用下,AQP8介导的水分子运输可导致星形胶质细胞肿胀,继而引发细胞结构、功能的损伤;AQP8的表达上调可能是导致星形胶质细胞水肿形成和发展的重要分子机制之一。

[关键词] 水通道蛋白8;星形胶质细胞;渗透压

[中图法分类号] R322.81; R329.28; R338.1 **[文献标志码]** A

Expression of aquporin 8 in rat astrocytes under hypotonic stress

Yang Mei[1,2], Sun Shanquan[1,2], Yu Weihua[1,2], Liu Hui[1,2], Zhuo Fei[1,2], Qiu Guoping[1,2] ([1]Department of Human Anatomy, College of Basic Medical Sciences, Chongqing Medical University, [2]Institute of Neuroscience, Chongqing Medical University, Chongqing, 400016, China)

[Abstract] **Objective** To study the expression of aquaporin8 (AQP8) in rat astrocytes under hypotonic stress. **Methods** Primarily cultured rat astrocytes, randomly divided into control group (280 to 320 mmol/L) and 3 hypotonic groups at the concentration of 268, 254, and 240 mmol/L respectively, were exposed to hypotonic stress for 1,3,6,12,and 24 h, respectively. Viability of astrocytes was detected by MTT colorimetry. Expression of AQP8 at protein and mRNA levels in astrocytes was detected by immunocytochemistry, immunofluorescence, and real time reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR), respectively. **Results** No significant change was observed in morphology and viability of astrocytes as well as in expression of AQP8 and its mRNA at different time points in control group. Edema of astrocytes was observed, the viability of astrocytes was decreased, and the expression of AQP8 at protein and mRNA levels was in a negative concentration-dependent and positive time-dependent manner. Immunocytochemistry showed that the expression of AQP8 in astrocytes was 0.258 3±0.009 8, 0.280 0±0.010 9, 0.281 7±0.007 5 respectively after astrocytes were exposed to hypotonic stress at different concentrations for 1 h and were 0.385 0± 0.010 9, 0.406 7± 0.007 0, 0.425 0±0.010 4, respectively, for 24 h ($P<0.05$). RT-PCR showed that the expression of AQP8 in astrocytes was increased from 0.258 3±0.009 8, 0.280 0±0.010 9, 0.281 7±0.007 5 in 1 h after astrocytes were exposed to hypotonic stress at different concentrations to 0.385±0.010 9, 0.406 7±0.007 0, 0.425 0±0.010 4 in 24 h after exposure ($P<0.05$) compared to the expression of beta-actin mRNA, which was increased from 0.127 5±0.011 8,0.134 4±0.032 4, 0.167 5±0.007 8 in 1 h after exposure to 3.278 0± 0.121 2, 5.410 4±0.104 1, 8.351 0±0.288 0 respectively in 24 h after exposure ($P<0.05$). **Conclusion**

[基金项目] 国家自然科学基金(30470608);教育部博士培养基金(20040631002)

[通信作者] 孙善全,电话:(023)68485763,E-mail: sunsq2151@sohu.com

AQP8-mediated water molecule transport can lead to edema, structure and function injury of astrocytes under hypotonic stress. Increased AQP8 expression may be one of the important mechanisms underlying the formation and development of astrocyte edema.

[Key words] aquaporin8; astrocyte; osmotic stress

Supported by the National Natural Science Foundation of China (30470608) and the Foundation for Doctorial Cultivation of Ministry of Education of China (20040631002). Corresponding author: Sun Shanquan, Tel: 86-23-68485763, E-mail: sunsq2151@sohu.com

星形胶质细胞是中枢神经系统内数量最多的细胞类型,在脑组织的水和电解质的运输与平衡调节过程中发挥着重要作用。目前,对星形胶质细胞功能的研究成为了人们关注的重点[1,2]。水通道蛋白(aquaporins,AQPs)是一组与水通透有关的细胞膜转运蛋白,介导着水分子沿渗透压梯度从低渗向高渗移动[3,4]。研究证实,分布于星形胶质细胞的 AQPs 共有 5 种,即 AQP3、AQP4、AQP5、AQP8 和 AQP9[3-8]。5 种不同的 AQP 重复分布于星形胶质细胞,它们如何对水转运?是协同转运还是单独作用?这是值得探讨的问题。然而目前对 AQPs 的研究多局限于 AQP4,AQP9[9-10],而对于其他 AQP 的研究却相对较少。因此,本研究拟通过免疫细胞化学、免疫荧光、Real time-PCR 研究低渗作用下,星形胶质细胞 AQP8 及其 mRNA 的表达变化。

1 材料与方法

1.1 材料

新生 Wistar 大鼠(2 d 内),由重庆医科大学实验动物中心提供,符合国家清洁级实验动物标准。试剂:DMEM 和胎牛血清均购置美国 Hyclone 公司。

1.2 星形胶质细胞的原代培养及鉴定

取出生 2 d 内的新生 Wistar 大鼠,雌雄不限,参照 Yamamoto[3] 和本课题组成员李燕华[9] 的方法进行星形胶质细胞的原代培养。星形胶质细胞的鉴定采用免疫细胞化学方法,一抗为 GFAP 抗体,结果显示纯度达 95 % 以上。本实验均使用培养第 3 代的星形胶质细胞。

1.3 细胞水肿模型的建立和实验分组

实验参照本课题组成员李燕华[9] 建立的方法。按照正常人体的血浆渗透压的标准(280 ~ 320 mmol/L)设计 3 组低于正常范围的低渗液(268、254、240 mmol/L)。实验分为对照组和低渗组,每组分为 1、3、6、12、24 h 共 5 个时间点。将星形胶质细胞按接种密度为 4×10^5/ ml 接种在 75 ml 培养瓶和 24 孔培养板中,接种于培养瓶的细胞用于提取 mRNA,每个时间点重复 5 次;接种于培养板的细胞用于进行细胞形态、细胞活性、免疫细胞化学和免疫荧光的检测,每个时间点的细胞各 6 孔。每种检测方法各自所用的细胞数量均相同。对照组以常规 DMEM 培养。

1.4 MTT 比色法检测细胞活力

此方法用于检测培养活细胞线粒体内琥珀酸脱氢酶活性。细胞在不同程度的低渗培养液分别作用 1、3、6、12、24 h 后,分别取每个时间点的细胞各 6 孔,每孔加入 15 μl/ml MTT(5 mg/ml)置于 37 ℃ 5 % CO_2 培养箱孵育 4 h 后,吸出孔内液体,加 150 μl 二甲基亚砜至 MTT 反应结晶产物完全溶解,置全自动酶标仪(Bio Rad 公司,3550 型)上测出每孔光密度值(OD 值),测定波长为 *D*/(570 nm)。

1.5 免疫细胞化学检测 AQP8 蛋白的表达

取正常和低渗液作用各时间点的星形胶质细胞,进行免疫细胞化学染色。步骤为:取出培养在盖玻片上的星形胶质细胞,入 70% 酒精 + 10% 冰醋酸室温固定 30 min,10 % 的山羊血清封闭 20 min,加入兔抗大鼠 AQP8 单克隆抗体(浓度为1∶500,Chemico International Inc,美国) 4 ℃过夜,,加入 1∶100 的生物素标记的羊抗兔二抗,常温孵育 1 h,加入 1∶200 的磷酸酶标记的链霉卵白素常温孵育 1 h, BCIP/NBT 显色,常规封片,镜检。上述各步骤除滴加山羊血清封闭后不漂洗外,余下各步骤后均采用 0.01 mol/L PBS 漂洗 10 min × 3 次。

1.6 免疫荧光检测 AQP8 蛋白的表达

取正常和低渗液作用各时间点的星形胶质细胞,进行免疫荧光检测。步骤为:取出培养在盖玻片上的星形胶质细胞,入 70% 酒精 + 10% 冰醋酸室温固定 30 min,10% 的山羊血清室温封闭 2 h,加入兔抗大鼠 AQP8 单克隆抗体(浓度为 1∶500,Chemico International Inc,美国) 和小鼠抗大鼠 GFAP 抗体 (浓度为 1∶500,Santa Cruz,美国) 4 ℃过夜,,加入 1∶100 的 FITC 标记的羊抗兔和 TRITC 标记的羊抗小鼠二抗,常温孵育 1 h,50% 的甘油封片,上述各步骤除滴加山羊血清封闭后不漂洗外,余下各步骤后均采用 0.01 mol/L PBS 漂洗 10 min × 3 次。采用激光共聚焦显微镜观察(Leica TCS SP2, 德国)。

1.7 Real time PCR 检测 AQP8 mRNA 含量的变化

取正常和低渗液作用各时间点的星形胶质细胞,提取总 RNA,按 AMV 逆转录试剂盒(上海生工)操作说明将组织总 RNA 中的 mRNA 逆转录合成 cDNA。用以下引物对 AQP8 及 beta-actin 的 cDNA 进行扩增:AQP8 上游引物 5′-GTTCATGCAGGCTCC AGAGAT-3′,下游引物 5′-CCATTGGTTTCTCTGTGTCATTGT G-3′,MGB-探针 FCCACCACCTGCCAGGAP 扩增片段长 65 bp。Beta-actin 上游引物 5′-CCCTGGCTCCTAGCACCAT-3′,下游引物 5′-CACAGAGTACTTGCGCTCAGGA-3′ MGB-探针 FAAGA TCAAGATCATTGCTCP 扩增片段长 186 bp。把加好样品的 96 孔板放在 ABI 7000 Sequence Detector 上进行反应,检测标准曲线和样品的质量及浓度范围,标准曲线的相关系数应接近 1。

1.8 统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 10.0 统计分析程序对各组数据进行重复测量数据的方差分析和相关性检验。

2　结果

2.1　细胞活性MTT比色法测定结果

低渗组的D(570 nm)值低于对照组,并随低渗程度的增加和低渗作用时间的延长,其D(570 nm)值亦进一步降低。低渗液对星形胶质细胞活性的影响见图1。

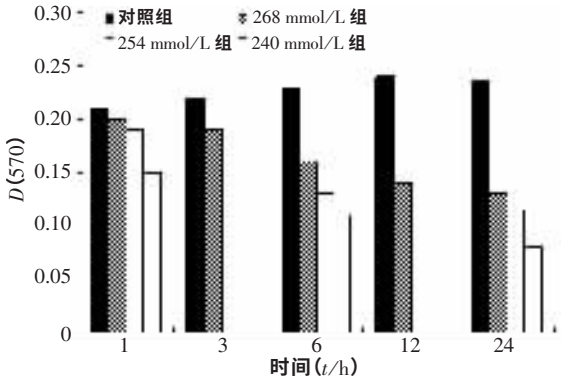
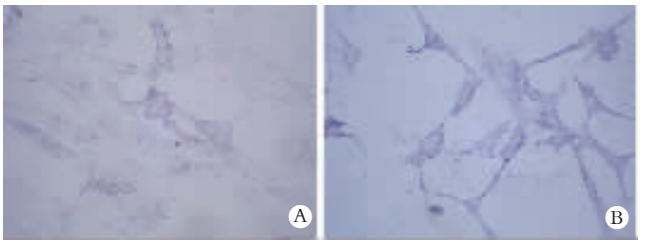


图1　MTT比色法检测低渗液对星形胶质细胞活性的影响

2.2　低渗状态下星形胶质细胞AQP8的表达

免疫细胞化学显示,AQP8阳性产物主要分布于细胞膜和细胞质内,细胞核不表达,阳性产物呈紫蓝色。对照组细胞爬片可见AQPs表达呈弱阳性,且在作用的各时间段,表达水平无明显变化($P>0.05$)。不同程度的低渗液分别作用于星形胶质细胞后,AQP8表达水平随着作用时间的延长和培养液低渗程度的下调而增强,与对照组相比,差异有显著意义($P<0.05$)(图2,表1)。



A:正常培养基;B:低渗液(240 mmol/L)组

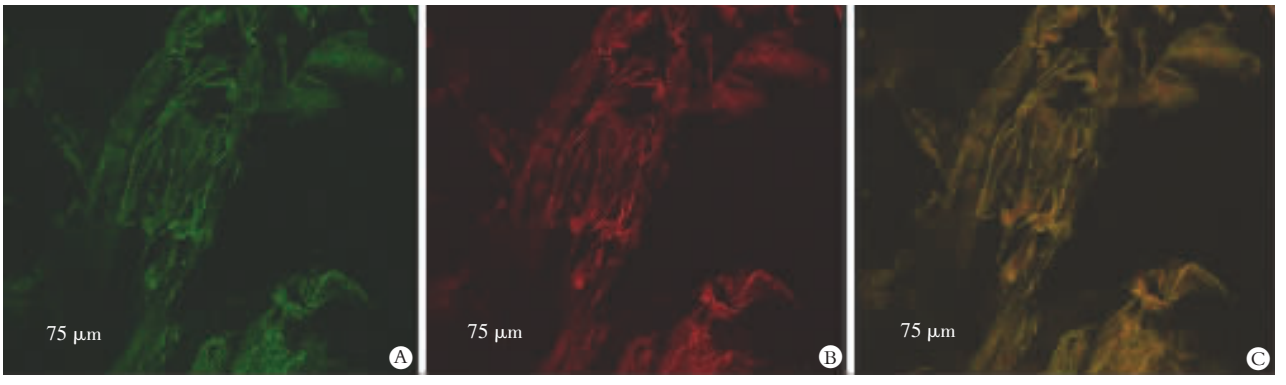
图2　正常培养基和低渗液作用3 h后,星形胶质细胞AQP8的表达　(BCIP/NBT ×400)

表1　低渗培养液各培养时间对星形胶质细胞AQP8表达的影响($n=30$)(吸光度值)

组别	1 h	3 h	6 h	12 h	24 h
对照组	0.192 1±0.008 9	0.203 3±0.008 1	0.188 3±0.008 2	0.195 3±0.013	0.202 3±0.009 5
268 mmol/L组	0.258 3±0.009 8[a]	0.268 3±0.007 5[a]	0.313 3±0.008 2[a]	0.340 0±0.008 9[a]	0.380 5±0.010 9[a]
254 mmol/L组	0.280 0±0.010 9[a]	0.290 0±0.008 9[a]	0.335 0±0.010 4[a]	0.360 1±0.007 6[a]	0.406 7±0.007 0[a]
240 mmol/L组	0.281 7±0.007 5[a]	0.310 0±0.009 0[a]	0.353 3±0.010 3[a]	0.380 0±0.008 9[a]	0.425 0±0.010 4[a]

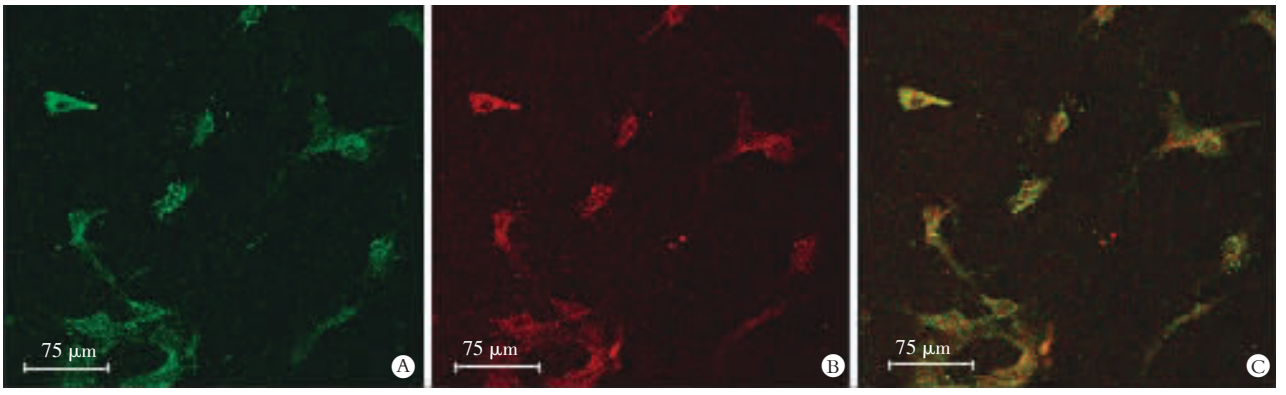
a:$P<0.05$,与对照组比较

免疫荧光的结果显示,红色的GFAP均匀地分布于细胞质,绿色的AQP8主要分布于细胞膜和细胞质。不同程度的低渗液分别作用于星形胶质细胞AQP8的荧光强度随着低渗作用时间的延长和培养液低渗程度的下调而增强;与对照组相比,差异具有显著性($P<0.05$)(图3,4)。



A:AQP8阳性细胞(绿色);B:GFAP阳性细胞(红色);C:AQP8和GFAP共表达

图3　AQP8和GFAP在正常培养基作用12 h的表达　(免疫荧光)

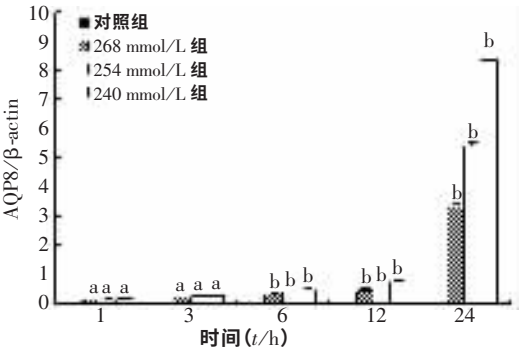


A:AQP8阳性细胞(绿色);B:GFAP阳性细胞(红色);C:AQP8和GFAP共表达

图4　低渗液(240 mmol/L)作用12 h星形胶质细胞AQP8和GFAP的表达　(免疫荧光)

2.3 Real-time PCR 检测低渗透压培养液对星形胶质细胞表达 AQPs mRNA 的影响

结果显示,正常培养液培养的星形胶质细胞能表达较低水平的 AQP8 mRNA。低渗培养液作用星形胶质细胞 1 h 后,AQP8 mRNA 表达水平开始增高,并随着作用时间的延长,其表达亦逐渐增强($P<0.05$)(图 5)。



a: $P<0.05$, b: $P<0.01$, 与对照组比较

图 5　低渗培养液对星形胶质细胞 AQP8 mRNA 表达的影响

3　讨论

众所周知,星形胶质细胞是中枢神经系统内分布广泛、数量最多的细胞类型,其不仅对神经元的生存和整个生命活动发挥着支持、营养、保护、修复等重要作用,而且对维持脑组织内环境的稳定具有重要作用[11,12]。研究[13-15]发现,无论是血管源性脑水肿还是细胞毒性脑水肿,均伴有不同程度的星形胶质细胞肿胀。在这一过程中,水分子可能通过星形胶质细胞膜快速向细胞内转运,然而其分子机制却并不十分清楚。

长期以来,人们一直认为水的转运是通过细胞膜自由扩散的。然而,单纯扩散却不能解释水分子能高速透过细胞膜的能力。随着水通道蛋白的发现,人们对水的转运有了新的认识。水通道蛋白家族是一组与水、尿素、甘油等小分子的转运有关的膜蛋白,迄今为止在哺乳动物体内发现的水通道蛋白共 13 种,即 AQP0 ~ AQP12[3,4]。根据 AQP 对水和其他溶质的通透性,AQP 家族可分为以下几类:一类为对水具有高度选择通透性,即除水之外,不转运其他小分子溶质,它们分别是:AQP0、AQP1、AQP2、AQP4、AQP5、AQP6、AQP8;另一类为对水有相对选择通透性,即对水、尿素和甘油等其他小分子溶质均有通透性,包括有 AQP3、AQP7、AQP9 和 AQP10,亦称为水甘油亚族[14];此外,AQP11 和 AQP12 可能和细胞内水的转运有关。在 13 种 AQP 中,分布于脑组织的共 6 种 AQP1, AQP3, AQP4, AQP5, AQP8 和 AQP9。AQP1 主要表达于脉络丛上皮细胞,与脑脊液的产生有关;AQP4 是脑内含量最为丰富的 AQP,与脑组织水的转运密切相关,并参与多种病理生理过程;AQP9 是中枢神经系统除 AQP4 外研究相对清楚的 AQP,AQP9 除协助 AQP4 参与神经系统水的运输和转运外,还可能与脑内能量代谢有关。然而,目前对与 AQP4 同属于水通道蛋白亚族的 AQP8 在脑组织中的研究相对较少。我们前期研究[16]发现,缺血脑水肿中 AQP8 表达上调,提示 AQP8 参与了缺血性脑水肿的形成,星形胶质细胞膜上 AQP8 可能作为渗透压感受器,在生理和病理条件下参与了脑组织水代谢调节过程。然而,这一推断尚需要加以证实。

本实验参照李燕华[9]的方法,观察低渗环境对星形胶质细胞的活性及其 AQP8 表达的影响,以探讨 AQP8 的生理功能及其表达变化在星形胶质细胞水肿的发生、发展过程中的作用。结果显示,培养的星形胶质细胞不论是在同一低渗透压、不同的作用时间,还是在同一作用时间、而不同低渗透压的状态下,其光密度值(MTT 法检测)均小于对照组,并与低渗程度和作用时间呈正相关。上述结果提示:低渗环境可降低星形胶质细胞的生存能力;而星形胶质细胞活性的降低是造成中枢神经系统功能受损的重要因素之一。

免疫细胞化学、免疫荧光双标以及 Real-time PCR 结果显示:在对照组和低渗组均有 AQP8 的表达,其主要分布于星形胶质细胞的胞膜和细胞质内;随着低渗液作用时间的延长、低渗程度的增加,星形胶质细胞 AQP8 及其 mRNA 的表达水平逐渐增强。以上结果提示,AQP8 及其 mRNA 的表达变化与低渗的程度及其作用时间密切相关;低渗液可从基因和蛋白水平上调 AQP8 的表达; AQP8 可能是一种细胞外的渗透压感受器。

由此我们可以推测,AQP8 作为一种渗透压感受器,可以感知胞外环境中渗透压的变化,继而通过一系列信号转导,将这一信号传递到细胞内,并最终在转录和翻译水平调控 AQP8 的表达;AQP8 的表达上调,可介导水分子从细胞外进入到细胞内。虽然这一过程有利于胞外过量水分子的清除,但由于胞外水分子大量进入细胞内,在胞外水分子减少的同时,却导致了水分子在胞内的聚积,引发细胞内水肿。本实验结果表明:在低渗液作用下,AQP8 介导的水分子运输可导致星形胶质细胞肿胀,继而引发细胞结构、功能的损伤;AQP8 的表达上调可能是导致细胞毒性脑水肿形成和发展的重要分子机制之一。我们的既往研究已证实[9],AQP4 在低渗液中持续高表达,这可能是星形胶质细胞对低渗透环境的一种病理性适应反应[17]。本实验结果表明 AQP8 在低渗作用下亦持续高表达,提示 AQP8 可能协同 AQP4 参与了细胞毒性脑水肿。AQP8 与 AQP4 的这一协同作用,提示其可能享有或部分享有共同的信号通路调节。然而迄今为止,有关 AQPs 在低渗环境中的表达变化规律及其调控机制仍知之甚少,尚有待进一步的深入研究。值得注意的是,在离体实验中[15],AQP8 不仅在星形胶质细胞上有表达外,而且在神经元上也有表达。这一现象提示:

AQP8在中枢神经系统中还可能发挥着更多的作用，尚待我们进行研究。因此，深入对AQP8在中枢神经系统中的作用进行研究，将有助于加深对中枢神经系统水电解质平衡的认识，并可为脑水肿的防治提供一条新的途径。

参考文献：

[1] 熊加祥，白云，宋敏，等. 炎性介质脂多糖、γ干扰素活化星形胶质细胞效应[J]. 第三军医大学学报，2008，30(22)：2065－2068.

[2] 周烜，邬力祥，刘发益，等. 低氧预适应对离体星形胶质细胞缺氧/复氧耐受性的影响[J]. 第三军医大学学报，2007，29(8)：681－684.

[3] Yamamoto N, Yoneda K, Asai K, *et al*. Alterations in the expression of the AQP family in cultured rat astrocytes during hypoxia and reoxygenation[J]. Brain Res Mol Brain Res, 2001, 90(1): 26－38.

[4] Speake T, Freeman L J, Brown P D. Expression of aquaporin 1 and aquaporin 4 water channels in rat choroid plexus[J]. Biochim Biophys Acta, 2003, 1609(1): 80－86.

[5] Agre P, King L S, Yasui M, *et al*. Aquaporin water channels--from atomic structure to clinical medicine[J]. J Physiol, 2002, 542 (Pt 1): 3－16.

[6] King L S, Kozono D, Agre P. From structure to disease: the evolving tale of aquaporin biology[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2004, 5(9): 687－698.

[7] Verkman A S. Novel roles of aquaporins revealed by phenotype analysis of knockout mice[J]. Rev Physiol Biochem Pharmacol, 2005, 155: 31－55.

[8] Morishita Y, Sakube Y, Sasaki S, *et al*. Molecular mechanisms and drug development in aquaporin water channel diseases: aquaporin superfamily (superaquaporins): expansion of aquaporins restricted to multicellular organisms[J]. J Pharmacol Sci, 2004, 96(3): 276－279.

[9] 李燕华，孙善全. 低渗液对星形胶质细胞水通道蛋白-4表达的影响[J]. 中华医学杂志，2004，84(6)：496－501.

[10] 刘辉，孙善全，杨美，等. 大鼠轻度脑外伤后水通道蛋白9在大脑皮质及海马的表达变化[J]. 第三军医大学学报，2008，30(3)：220－222.

[11] 韩济生. 神经科学原理(下册)[M]. 北京：北京医科大学出版社，1999：1074－1076.

[12] Simard M, Nedergaard M. The neurobiology of glia in the context of water and ion homeostasis[J]. Neuroscience, 2004, 129(4): 877－896.

[13] Chen Y, Swanson R A. Astrocytes and brain injury[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2003, 23(2): 137－149.

[14] Kimelberg H K. Water homeostasis in the brain: basic concepts[J]. Neuroscience, 2004, 129(4): 851－860.

[15] Xiao F. Bench to bedside: brain edema and cerebral resuscitation: the present and future[J]. Acad Emerg Med, 2002, 9(9): 933－946.

[16] Yang M, Gao F, Liu H, *et al*. Temporal changes in expression of aquaporin-3, -4, -5 and -8 in rat brains after permanent focal cerebral ischemia[J]. Brain Res, 2009, 1290: 121－132.

[17] Lang F, Busch G L, Ritter M, *et al*. Functional significance of cell volume regulatory mechanisms[J]. Physiol Rev, 1998, 78(1): 247－306.

(**收稿**:2010-01-26;**修回**:2010-04-01)

(编辑 王 红)

(上接1135页)

痰，容易吸出；中度：痰液外观粘稠，需要用力咳嗽才能有效吸出；重度，痰液明显粘稠，呈黄白，附于管壁上，不易咳出和吸出。③拔管时间及成功拔管率；30 d内能否成功拔管。④肺部感染率，痰培养阳性为肺部感染。

1.4 护理要点

将患者妥善安置于抢救室，室温18～22 ℃，湿度50%～60%；定时做好气切护理，2次/d，必要随时给予更换；湿化液现用现配，注射器一次性使用，延长线每天更换；间断有效吸痰，吸痰前后用听诊器评价吸痰效果，妥善固定气管套管，防止脱落。

1.5 统计学分析

采用χ^2检验。

2 结果

治疗组显效21例(50%)，有效9例(21.43%)，无效12例(28.57%)，与对照组[显效6例(14.29%)，有效14例(33.33%)，无效22例(52.38%)]相比，差异显著($P<0.01$)。治疗组痰液粘稠度(轻度22例，中度10例，重度10例)与对照组(轻度13例，中度7例，重度22例)相比，差异显著($P<0.01$)。治疗组30 d内成功拔除气管套管(拔管提前32例，拔管延时10例)与对照组(拔管提前11例，拔管延时31例)相比，差异显著($P<0.05$)。治疗组肺部感染(阳性10例，阴性32例)与对照组(阳性28例，阴性14例)相比，差异显著($P<0.05$)。

3 讨论

重症胸外伤患者行气管切开后，由于呼吸道水分丢失增加可达800 ml/d[3]，且气管切开后吸入气体不能充分湿化，可引起纤毛运动频率下降或停止，使粘液纤毛系统清除异物的能力大大减低，粘稠的分泌物在气道内滞留，严重者会形成痰痂阻塞气道，导致呼吸困难，肺不张和肺部感染的发生率升高，成功拔管时间延长。因此，充分有效的人工气道湿化是气管切开术后护理的关键之一。盐酸氨溴索为粘液溶解剂，能增加呼吸道粘膜浆液腺的分泌，减少粘液腺的分泌，降低痰液的粘度，还可促进肺表面活性物质的分泌，增加支气管纤毛运动，使痰液易于咳出或有效吸出[4]。微量泵持续泵入氨溴索湿化液能及时补充从呼吸道丢失的水分，持续稀释痰液、避免形成痰痂、使痰液易于咳出或吸出，不致于潴留于肺部，从而提高疗效，降低肺部感染率。结果显示，治疗组疗效、痰液粘稠度、成功拔管例数及肺部感染率对比差异均有统计学意义($P<0.05$)。氨溴索微量泵持续湿化气道在重症胸外伤行气管切开术后患者的临床疗效明显优于氨溴索间断湿化气道患者。

参考文献：

[1] 李军清，李祥双，鲁月英，沐舒坦雾化吸入用于气管切开术后的疗效观察[J]. 当代护士：综合版，2005，4(1)：36.

[2] 黄少娅，罗秀娟，詹若燕. 气管切开患者不同沐舒坦气道湿化方法的效果观察[J]. 护理学报 2008，15(4)：76－77.

[3] 李有莲，郭楼英. 气管切开呼吸道护理相关因素的监测与管理[J]. 中华医院感染学杂志，2000，10(2)：141－142.

[4] 张玲梅，袁丽荣，王艳红. 气管切开术后两种气道湿化方法的效果观察[J]. 护理研究，2002，16(1)：40.

(**收稿**:2010-03-05;**修回**:2010-04-18)

(编辑 邓强庭)