论著

文章编号:1000-5404(2010)06-0558-05

赫赛汀对大鼠膀胱肿瘤靶向治疗的体内研究

柳建军,李建昌 (524000 广东 湛江,广东医学院附属医院泌尿外科)

[摘要] **目的** 研究赫赛汀(Herceptin)对大鼠膀胱肿瘤的治疗作用。**方法** 50只SD大鼠随机分两组,对照组膀胱灌注生理盐水,实验组膀胱灌注N-甲基-N-亚硝基脲(N-methyl-N-nitrosourea,MUN),每3周1次,共4次,MNU总量为10 mg;于灌注后第11周切开膀胱取标本,用光镜、免疫组化及RT-PCR方法对其诱发的膀胱肿瘤进行检测。筛选HER-2阳性表达的SD大鼠膀胱癌动物随机分为治疗组(Herceptin按20 mg/kg腹腔注射)和非治疗组,检测赫赛汀作用后肿瘤大小、形态,计算抑瘤率,并用免疫组化S-P法检测HER-2蛋白表达、TUNEL法检测肿瘤细胞的凋亡情况,分析赫赛汀对膀胱肿瘤的作用。**结果** 抑瘤率结果提示治疗组与非治疗组相比抑瘤率为50.0%,差异有统计学意义($P<0.05$),免疫组化S-P法结果提示赫赛汀作用后HER-2蛋白表达下降;TUNEL原位凋亡结果提示治疗组凋亡指数(64.0±6.3)%高于非治疗组(47.9±5.4)%($P<0.05$)。**结论** 赫赛汀对HER-2阳性的实验性膀胱肿瘤有抑制生长、促进凋亡的作用。

[关键词] MNU;动物模型;膀胱肿瘤;HER-2;SD大鼠;赫赛汀

[中图法分类号] R73-36;R737.14;R979.1 [文献标志码] A

Targeted therapy with herceptin to rat bladder tumor model

Liu Jianjun, Li Jianchang (Department of Urinary Surgery, Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhanjiang, Guangdong Province, 524000, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the therapeutic effect of herceptin to rat bladder cancer. **Methods** Totally 50 SD rats were randomly divided into experimental group ($n=40$) and control group ($n=10$). The rats of experimental group received a perfusion into the bladder with N-methyl-N-nitrosourea (MNU) at 2.5 mg every time, once per 3 weeks for 4 times in all, while those of the control group underwent a perfusion with normal saline instead of MNU. In 1 week after the last perfusion, the bladders were slited for gross observation and the biopsies were carried out for pathological observation with HE staining. Immunohistochemical SP method and RT-PCR were applied to detect HER-2 protein and mRNA expression in tumor tissues. Then 16 rats with HER-2 positive bladder cancer were randomly and equally divided into treatment group (herceptin, 20 mg/kg by intraperitoneal injection, once per week for 6 weeks) and non-treatment group (normal saline, 0.5 ml). Tumor weight, size and shape were measured and calculated for the inhibitory rate of herceptin. HE staining was carried out for the morphology of the tumor mass. The expression of HER-2 protein was detected with immunohistochemical SP method, and apoptosis in bladder tumor tissues with TUNEL method. **Results** The results of inhibitory rate was 50.0%, and it showed that the differences were statistically significant in treatment group compared with non-treatment group ($P<0.05$). Immunohistochemical SP staining showed that the expression of HER-2 protein was significantly decreased after herceptin treatment. TUNEL assay indicated that the apoptotic index was higher in treatment group (64.0±6.3)% than in non-treatment group (47.9±5.4)% with significant difference ($P<0.05$). **Conclusion** Herceptin suppresses the growth of tumor mass and improved apoptosis of tumor cells in experimental HER-2-positive bladder tumor in SD rats.

[**Key words**] N-methyl-N-nitrosourea; herceptin; bladder tumor; HER-2; SD rats

Supported by the Natural Science Foundation of Guangdong Province (2008-63041). Corresponding author: Liu Jianjun, Tel: 86-759-2387418, E-mail: zj-liujj@163.com

赫赛汀(Herceptin)目前主要应用于HER-2阳性的乳腺癌[1],是靶向治疗新药,副作用较小,目前有报道用赫赛汀治疗人膀胱肿瘤的病例,具体机制尚不完

[基金项目] 广东省自然科学基金(2008-63041)

[通信作者] 柳建军,电话:(0759)2387418,E-mail:zj-liujj@163.com

全明了。我们用 N-甲基-N-亚硝基脲(N-methyl-N-nitrosourea,MUN)成功诱发了 SD 大鼠的膀胱肿瘤,筛选 HER-2 阳性的膀胱尿路上皮癌用赫赛汀进行治疗实验,通过抑瘤率、免疫组化及 TUNEL 等方法,检测 Hercepin 对膀胱尿路上皮癌的治疗作用,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物及分组

7~8 周龄 SPF 级健康雌性 SD 大鼠,体质量 180~220 g,共 50 只,由广东医学院实验动物中心提供[合格证编号:2008A036SCXK(粤 2004-2008)]。所有实验动物随机分为对照组和模型组,对照组 10 只,模型组 40 只。

1.2 主要试剂及配置

MNU(N-methyl-N-nitrosourea,美国 Sigma)贮存于 -20 ℃冰箱中,实验前 1 天将 MNU 置于 4 ℃冰箱中;5 mg/ml MNU 溶液的配置(现配):称取适量 MNU,溶解于适量 pH 值为 6.0 的枸橼酸盐缓冲液,配置后于 50 min 内用完;戊巴比妥钠(德国);HER-2 多克隆抗体(武汉博士德进口分装);二抗 Polymer Helper、三抗 Polyperoxidase-anti-mouse/rabbit IgG、TUNEL 法细胞凋亡检测试剂盒(北京中杉金桥);RT-PCR 两步法试剂盒(Takara 公司);Master-mix 含染料(广州英韦创津);50 bp DNA Ladder(天根生化);琼脂糖(上海生工);赫赛汀(美国罗氏公司,产品批号:B3345)。

1.3 主要仪器

硬膜外导管(深圳溢心达),石蜡切片机(德国 Leica),电子天平(日本 SHIMADZU),病理组织包埋机(国产 BMZ-Ⅲ型),低温高速冷冻离心机、核酸蛋白测定仪、PCR 扩增仪、微量移液器、EP 管(Eppendorf 公司),光学显微镜(Olympus 公司),稳压稳流电泳仪(北京六一仪器),异丙醇、Trizol、灭酶枪头、灭酶 EP 管(广州威佳)。

1.4 MNU 膀胱灌注

实验前 8~10 h 将大鼠禁水、禁食。3% 的戊巴比妥钠按 30 mg/kg 腹腔注射麻醉,碘伏消毒,无菌硬膜外导管经尿道外口插入膀胱,导出尿液,对照组膀胱灌注 0.5 ml 生理盐水,实验组膀胱灌注 0.5 ml (2.5 mg) MNU 溶液。以含抗生素饮水作灌注后大鼠饮水,3 d 后改饮自来水。膀胱灌注每 3 周 1 次,共 4 次,MNU 总量 10 mg。

1.5 标本的采集

第 4 次膀胱灌注后 1 周(即第 11 周)病检。方法:同上法麻醉妥当后,大鼠仰卧位,固定四肢,碘伏消毒,下腹正中纵形切口长约 2 cm,切开皮肤,钝性牵开肌层,切开膀胱,肉眼观察肿瘤大小、数目、形态、膀胱黏膜、膀胱壁变化,切取一 4 mm × 4 mm 大小增厚的膀胱组织,部分膀胱肿瘤组织放入 EP 管后立即置于液氮罐中保存,部分膀胱肿瘤组织 10% 甲醛固定。膀胱切口用 5-0 肠线单纯连续缝合全层,水平褥式缝合浆肌层,脂肪组织覆盖膀胱切口,分层关闭切口(大鼠不处死待下一步实验时用)。

1.6 组织病理学检查

甲醛固定标本石蜡包埋、切片、HE 染色。

1.7 免疫组化 S-P 法检测 HER-2 蛋白表达

常规切片、脱蜡入纯水,组织片放入 EDTA pH = 8.0 修复液在微波炉内修复 5 min,0.01 mol/L PBS 液洗片后入 3% H_2O_2 10 min,充分洗涤后加入一抗室温 60 min,0.01 mol/L PBS 液洗片 3 min × 3,加入二抗室温 40 min,洗涤后加 DAB 显色液,显微镜下观察信号并终止显色,苏木精衬染,脱水、透明、封片。

1.8 RT-PCR 检测 HER-2 mRNA 表达

从 PUBMED 基因库检索到鼠相关的基因系列(基因序列号:NM_017003),采用 Primer 5 和 Oligo 6.5 软件进行引物设计,并结合英俊上海合成部意见设计而成。先提取各大鼠膀胱肿瘤组织的总 RNA,按逆转录试剂盒说明逆转录成 cDNA,逆转录体系 10 μl。随后行 PCR 反应,参照物为 50 bp DNA Ladder(50、100、150、200、250、300、350、400、500 bp),HER-2 上游引物 5′-GGTGTGGGTTCTCCGTATGT-3′,下游引物 5′-CGTGGTTGGGACTCTTGACT-3′,目的片段长度预计 250 bp,反应体系为 10 μl,2% 琼脂糖凝胶电泳检测。

1.9 实验再分组、治疗及处理

经上述方法检测后,将免疫组化 HER-2 阳性及 RT-PCR 阳性的膀胱癌大鼠共 16 只随机分为治疗组 8 只和非治疗组 8 只,另无肿瘤的对照组 9 只作为对照组。于第 11 周开始治疗实验,治疗组用赫赛汀治疗,按 20 mg/kg 用药(根据预实验无明显副作用时的最大剂量确定该剂量),非治疗组用生理盐水 0.5 ml/只,均每周腹腔注射 1 次,连续 6 周。对照组不作处理。

最后 1 次腹腔注射后第 3 天处死大鼠,纵形切开腹部,分离膀胱,剔除膀胱外脂肪组织,于膀胱颈剪断尿道,紧贴膀胱壁离断双侧输尿管,于膀胱前壁剖开观察记录膀胱内情况,剔除膀胱内结石,称量各膀胱质量。膀胱组织放入 10% 甲醛固定,石蜡包埋。

1.10 抑瘤率的测定

先称取对照组大鼠膀胱质量,测得对照组大鼠平均的膀胱质量作为大鼠的膀胱平均质量。治疗组和非治疗组膀胱肿瘤质量记为用其相应大鼠的膀胱质量减去大鼠的平均质量。

抑瘤率 = [(非治疗组平均肿瘤质量 - 治疗组平均肿瘤质量)/非治疗组平均肿瘤质量] × 100%

1.11 TUNEL 法原位凋亡检测

石蜡标本 4 μm 厚切片,脱蜡至水、蛋白酶 K 室温孵育 30 min,PBS 冲洗,0.1% Triton-X-100 的 0.1% 枸橼酸钠溶液 4 ℃孵育 4 min,0.3% H_2O_2 甲醇溶液室温孵育 20 min,PBS 冲洗,20 μl TUNEL 反应液室温孵育 60 min,PBS 冲洗,20 μl POD 室温孵育 30 min,PBS 冲洗,DAB 显色、镜下观察控制显色时间、自来水充分冲洗终止反应,1% 酸酒精分色 1~2 s,自来水冲洗、镜下观察细胞核复染情况,干燥、透明、树胶封片。

1.12 结果判断

1.12.1 免疫组化 S-P 法结果判定 免疫组化以癌细胞细胞膜或(和)细胞质上出现棕黄色物质者定为阳性细胞。综合阳性细胞数所占比例和染色强度进行半定量判定。染色强度按下列标准评定:阴性为 0 分;淡黄色为 1 分;棕黄色为 2 分;深棕色为 3 分。染色的阳性细胞所占比例评定标准:阳性细胞数 <5% 为(-)(0 分);5%~30% 为(+)(1 分);31%~60% 为(++)(2 分);>60% 为(+++)(3 分)。两种评分相加,将

结果分为4个等级,0~1分为阴性;2分为弱阳性;3~4分为阳性;5~6分为强阳性。

1.12.2 TUNEL原位凋亡结果判定 细胞核固缩、染色质凝集成块或边集、呈棕褐色染色者为凋亡细胞。每个视野计数100个细胞,计数3个视野,凋亡细胞数占细胞总数的百分比即为凋亡指数(AI)。

1.13 统计学处理

所有计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS 16.0软件进行 t 检验。

2 结果

2.1 一般情况观察

诱癌期间:大鼠于麻醉后120~150 min排尿。实验初期插管时约10只大鼠有轻度尿道损伤,尿道口水肿、渗血,对照组大鼠有1例由于麻醉不当而死亡。实验后期大部分大鼠出现精神稍差、食欲减退等现象,部分大鼠出现不同程度血尿。膀胱切开取活检后2~3 d内大鼠出现精神萎靡、食欲减退,后逐渐好转。伤口缝线于术后5~7 d脱落,1例大鼠伤口发生感染、尿瘘,其余大鼠未发生明显感染或尿瘘。

赫赛汀治疗期间:治疗组和非治疗组大鼠毛色、食量、营养状况及体质量等一般情况较前稍差,非治疗组较前差别明显,两组均有部分大鼠有血尿,无尿瘘,无大鼠死亡。

2.2 肉眼观察

第11周切开膀胱时见:对照组大鼠膀胱黏膜未见病变;实验组大鼠膀胱黏膜局部不光滑、增厚,隆起呈菜花状或小结节状,多数实验组大鼠均有肿瘤形成,且呈多发性,肿瘤大小不一(图1A)。3只(7.5%)实验组大鼠并发膀胱结石。

第18周切开膀胱时见:所有大鼠均无腹水,膀胱与周围组织部分粘连;对照组9只大鼠有4只大鼠出现膀胱结石,多发,大小不等;治疗组及非治疗组膀胱内肿瘤多发,呈菜花状或结节状,均有膀胱结石形成,结石大小不等,多发,椭圆形(图1B)。

2.3 赫赛汀对膀胱肿瘤的抑瘤率

对照组大鼠膀胱质量为(258.1±16.8)mg,非治疗组膀胱质量为(317.5±23.2)mg,治疗组膀胱质量为(285.9±21.1)mg,治疗组膀胱肿瘤平均质量均明显小于非治疗组($P<0.05$),以膀胱质量计算治疗组相对非治疗组的抑瘤率为50.0%。

2.4 膀胱肿瘤的光镜检查

第11周时:对照组大鼠膀胱黏膜上皮由2~3层移行上皮细胞组成。实验组40只大鼠中膀胱尿路上皮癌38例(图2A、B),表现为移行上皮结构特征消失,癌细胞多型性明显,核分裂相可见;鳞状上皮化生2例(图2C)。第18周时:对照组同前;非治疗组8只大鼠中肿瘤细胞浸润达深肌层,细胞核较大且极性紊乱或消失,移行上皮结构特征完全消失,呈弥漫分布或排列成实体性癌巢;治疗组基本同非治疗组,可见部分肿瘤坏死(图2D)。

2.5 实验组膀胱尿路上皮癌HER-2的免疫组化S-P法结果

第11周时:38例膀胱癌组织中,阴性(评分0~1分)9例,弱阳性(2分)10例,阳性(3~4分)16例,强阳性(5~6分)0例(图3A、B、C),38例膀胱尿路上皮癌中HER-2蛋白表达阳性率42.1%。

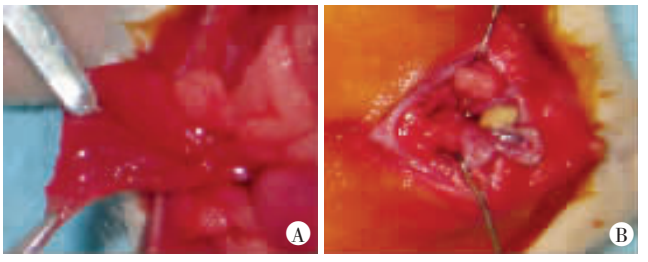
第18周时:治疗组8例治疗前HER-2阳性的膀胱癌,治疗后免疫组化提示HER-2蛋白阴性(图3D)。该结果提示赫赛汀能降低膀胱癌HER-2的表达。

2.6 HER-2的RT-PCR结果

16例免疫组化HER-2阳性的膀胱尿路上皮癌组织进行RT-PCR检测,所提取总RNA AD260/AD 280均大于1.8,经PCR扩增出250 bp的产物,其大小与设计片段大小一致(图4),从转录水平上证明膀胱尿路上皮癌HER-2阳性。

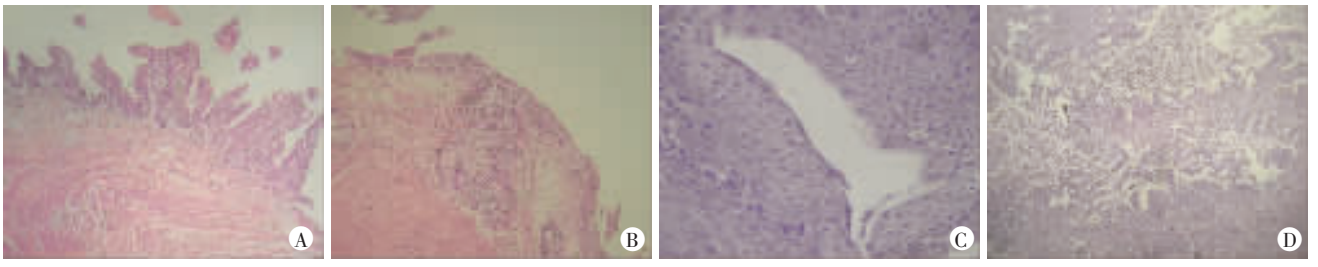
2.7 膀胱肿瘤的凋亡指数

光镜下见肿瘤组织中凋亡细胞呈黄褐色染色(图5),表现为核染色质的浓缩、边聚、碎裂等。结果显示治疗组和非治疗组各8只大鼠中,治疗组AI(64.0±6.3)%,非治疗组AI为(47.9±5.4)%,治疗组与非治疗组相比其细胞凋亡指数明显升高($P<0.05$),差异具有统计学意义,表明赫赛汀能增加肿瘤细胞的凋亡。



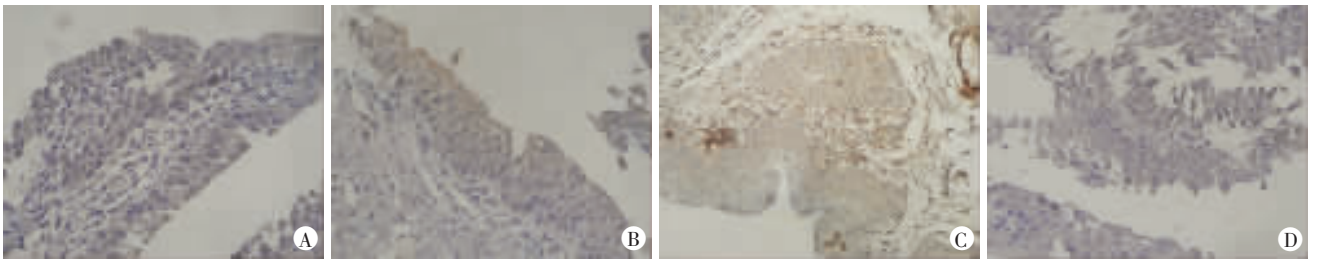
A:诱导的膀胱肿瘤大体标本; B:实验组膀胱结石

图1 第11周实验组膀胱肿瘤的大体标本观察



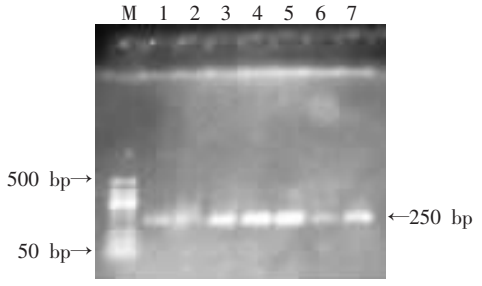
A:诱导的高分级膀胱尿路上皮癌(×100);B:诱导的低分级膀胱尿路上皮癌(×100);C:鳞状上皮化生(×400);D:膀胱尿路上皮癌合并坏死(×100)

图2 第11周实验组膀胱肿瘤光镜观察 (HE)



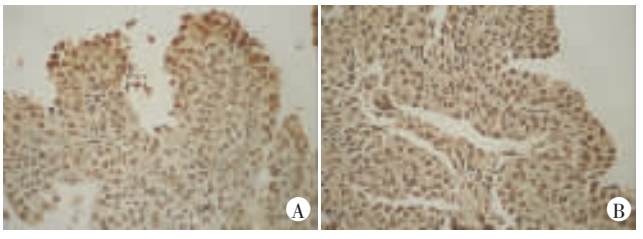
A:HER-2 染色阴性;B:HER-2 染色弱阳性;C:HER-2 染色阳性;D:赫赛汀治疗后 HER-2 阴性

图3 第11周实验组膀胱尿路上皮癌 HER-2 的免疫组化观察 (S-P ×100)



M:标准;1~7:膀胱癌组织

图4 第11周实验组膀胱尿路上皮癌 HER-2 mRNA 的 RT-PCR 结果



A:非治疗组;B:治疗组

图5 第18周非治疗组和治疗组膀胱肿瘤的凋亡观察 (TUNEL ×400)

3 讨论

3.1 HER-2 与膀胱尿路上皮癌

HER-2 是原癌基因 HER-2/neu 编码的一种具有酪氨酸激酶活性的跨膜糖蛋白,HER-2 的过度表达能引起 HER-2 同源二聚体的激活而无需配体的结合,从而引起不受控制的细胞生长和癌基因的转化,同时高度激活的信号可持续通过信号传导网传导并导致细胞周期相关蛋白/细胞周期蛋白依赖激酶复合物活性增加、细胞周期紊乱、逃避细胞凋亡,并引起对化疗的耐受性。在前期实验的基础上,本实验用 MNU 成功建立了 HER-2 阳性的膀胱肿瘤动物模型,并筛选 HER-2 阳性的大鼠进行赫赛汀的治疗。

3.2 赫赛汀的研究现状及其作用机制

赫赛汀目前主要研究方向包括:①用于治疗其他 HER-2 过度表达的恶性肿瘤,比如前列腺癌[2]、肺癌、卵巢癌等;②与化疗药物的协同作用,多项临床试验的结果表明铂类、紫杉醇、健择[3]、希罗达等与赫赛汀联合应用具有协同作用;③用于乳腺癌术前的新辅助治疗[4];④联合细胞免疫疗法治疗乳腺癌。

研究表明,赫赛汀单药疗效与化疗药物相近,而赫赛汀联合应用化疗药物治疗 HER-2 过度表达的乳腺癌可明显提高疗效。在1项赫赛汀联合化疗的临床试验[5]中,联合治疗可延长中位进展时间、提高客观缓解率、延长中位生存时间、降低1年死亡率。2005年8月报道的1例关于赫赛汀联合化疗治疗转移性胃癌的临床经验值得注意[6]。该例 HER-2(+++)胃癌患者,应用联合化疗使患者的总生存期(带瘤生存)达4年、疾病稳定期达2年,证明赫赛汀联合化疗治疗胃癌疗效显著。

在膀胱癌的靶向治疗方面,虽然有研究认为赫赛汀单一用药治疗膀胱癌的临床疗效并不令人满意[7],但联合用药可以提高其疗效。Wallerand 等[8]认为,靶向治疗已成为常规化疗的补充,提高了治疗膀胱癌的疗效和安全性,恢复癌细胞对化疗药物化学敏感性,可和化疗药物联合进行综合治疗[9]。本实验抑瘤率、凋亡指数指标表明,赫赛汀单药治疗 HER-2 阳性的 SD 大鼠膀胱癌有效。由于本实验动物少,本实验未能对赫赛汀与化疗药物的联合应用作研究,尚需进一步实验证明其疗效。

本实验免疫组化结果:8例 HER-2 阳性的膀胱癌用赫赛汀治疗后免疫组化提示 HER-2 变为阴性,提示赫赛汀能降低膀胱癌 HER-2 蛋白的表达,证实了赫赛汀通过下调细胞表面的 HER-2 蛋白这一抗肿瘤机制。TUNEL 凋亡指数增高,说明赫赛汀能促进肿瘤细胞的凋亡。临床前研究显示赫赛汀抗肿瘤机制还包括[10]:①减少血管内皮生长因子的产生;②介导对过度表达 HER-2 的肿瘤细胞的抗体依赖性细胞毒作用(ADCC);③抑制 HER-2/neu 蛋白与受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinase,RTK)超家族的其他成员发生交联形成异质二聚体;④减弱细胞生长信号的传递;⑤增强化疗所致细胞毒性。

3.3 赫赛汀的副作用

赫赛汀的常见副作用是与药物输注相关的寒战(25% ~ 36%)、发热(22% ~ 38%)、疼痛(18% ~

48%)、乏力(23% ~46%)、恶心(14% ~36%)等[11],多在首次用药后发生,给予对症、抗过敏治疗多可缓解,再次给药后不良反应发生率大大降低。赫赛汀无化疗药物常见的脱发、黏膜炎、血液学毒性等不良反应,具有较好的耐受性。本实验单用赫赛汀未见大鼠出现明显毒副作用。但有研究表明赫赛汀联合化疗后化疗的轻中度不良反应有所加重[12],较严重的是心功能不全,尤其与蒽环类药物联合应用时,尚需进一步观察。

参考文献:

[1] 郎海滨, 糜漫天, 朱俊东. 郝赛汀和9-顺式视黄酸联合用药对HER2阳性荷瘤鼠乳腺癌细胞的抑制效应[J]. 第三军医大学学报, 2008, 30(17): 1601 -1603.

[2] Iczkowski K A, Montironi R. Adenoid cystic/basal cell carcinoma of the prostate strongly expresses HER-2/neu[J]. J Clin Pathol, 2006, 59(12): 1327 -1330.

[3] Schaller G, Fuchs I, Gonsch T, *et al*. Phase II study of capecitabine plus trastuzumab in human epidermal growth factor receptor 2 overexpressing metastatic breast cancer pretreated with anthracyclines or taxanes[J]. J Clin Oncol, 2007, 25(22): 3246 -3250.

[4] Tayama K, Fujii T, Toh U, *et al*. The synergistic clinical effect of autologous tumor-stimulated T lymphocyte and Herceptin on the immunotherapy of breast cancer[J]. J Clin Oncol, 2005, 23(16S): 775.

[5] Marty M, Cognetti F, Maraninchi D, *et al*. Randomized phase II trial of the efficacy and safety of trastuzumab combined with docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer administered as first-line treatment: the M77001 study group[J]. J Clin Oncol, 2005, 23(19): 4265 -4274.

[6] Rebischung C, Barnoud R, Stefani L, *et al*. The effectiveness of trastuzumab (Herceptin) combined with chemotherapy for gastric carcinoma with overexpression of the c-erbB-2 protein[J]. Gastric Cancer, 2005, 8(4): 249 -252.

[7] Black P C, Agarwal P K, Dinney C P. Targeted therapies in bladder cancer--an update[J]. Urol Oncol, 2007, 25(5): 433 -438.

[8] Wallerand H, Reiter R R, Ravaud A. Molecular targeting in the treatment of either advanced or metastatic bladder cancer or both according to the signalling pathways[J]. Curr Opin Urol, 2008, 18(5): 524 -532.

[9] Wallerand H, Robert G, Bernhard J C, *et al*. Targeted therapy for locally advanced and/or metastatic bladder cancer[J]. Prog Urol, 2008, 18(7): 407 -417.

[10] Arpino G, Gutierrez C, Weiss H, *et al*. Treatment of human epidermal growth factor receptor 2-overexpressing breast cancer xenografts with multiagent HER-targeted therapy[J]. J Natl Cancer Inst, 2007, 99(9): 694 -705.

[11] Seidman A D, Fornier M N, Esteva F J, *et al*. Weekly trastuzumab and paclitaxel therapy for metastatic breast cancer with analysis of efficacy by HER2 immunophenotype and gene amplification[J]. J Clin Oncol, 2001, 19(10): 2587 -2595.

[12] Ardavanis A, Tryfonopoulos D, Orfanos G, *et al*. Safety and efficacy of trastuzumab every 3 weeks combined with cytotoxic chemotherapy in patients with HER2-positive recurrent breast cancer: findings from a case series[J]. Onkologie, 2005, 28(11): 558 -564.

(**收稿**:2009-09-17;**修回**:2009-11-10)

(编辑 王 红)

(上接557页)

3 讨论

脑室出血病情危重,病死率高[1,2],早期腰大池持续引流联合侧脑室枕角穿刺尿激酶灌注治疗脑室出血,通过脑脊液自然循环的途径及侧脑室枕角穿刺脑室外引流加速蛛网膜下腔出血的廓清,促进脑脊液再生成而淡化血性脑脊液的浓度[3]。

腰大池引流具有:①操作简便;②创伤小;③带管时间长,可留置15 ~30 d;④感染率低;⑤经鞘内注射药物治疗及送检化验方便等优点。侧脑室枕角穿刺尿激酶灌注能将脑室出血及时引出,防治脑脊液循环受阻,是重型脑室出血治疗成功的关键[4]。临床操作时腰大池持续引流及侧脑室枕角穿刺也各具缺点,首先腰大池持续引流由于引流管为硬膜外麻醉管,管径较细,血性脑脊液中小血块易堵塞致引流不畅,我们的经验是可定期予少量生理盐水冲洗以减少堵管机会;硬膜外麻醉管质地硬而滑,易致引流管脱落,具体操作时我们的体会是先用无菌纸胶布缠绕引流管近穿刺部位1周,再于穿刺部位皮肤处缝线并固定于该处,以减少引流管脱落机会。枕角穿刺脑室外引流需作颅骨钻孔,穿刺可致脑部损坏且带管时间短,大多仅能保留1周的时间,同时经脑室外引流管注射药物对脑室刺激性较大。腰大池持续引流联合侧脑室枕角穿刺尿激酶灌注结合了两者的优点,既在短时间内清除脑室内血肿,解除脑脊液循环梗阻,迅速降低颅内压,防止脑疝的发生,同时因加速了脑脊液引流及置换,减轻了脑血管痉挛,缓解脑膜刺激症状。通过脑室外引流管的引流液搏动的高度可直接判断颅内压的高低,借此以指导调节脱水药用量。因行腰大池及侧脑室枕角穿刺后先开放脑室外引流管,使颅压平稳过渡到安全水平(150 ~200 mmH_2O)后再开放腰大池引流管,避免了高颅压下脑脊液从腰大池引流管快速流出导致脑疝的危险,因而安全[5]。持续腰大池引流一次穿刺长期留管,避免了反复腰穿导致的局部皮肤红肿感染及蛛网膜下腔粘连,腰穿引流量有限等缺点。

参考文献:

[1] 金传兵, 方经宏, 朱光宇, 等. 微创侧脑室外引流加尿激酶灌注治疗自发性脑室出血[J]. 安徽医药, 2008, 12(12): 1195 -1196.

[2] 金祝华, 游潮, 曾力, 等. 不同剂量尿激酶治疗自发性脑室出血疗效分析[J]. 四川医学, 2008, 29(2): 224 -225.

[3] 何欣, 刘晓化, 吕芙蓉. 腰大池持续外引流术治疗蛛网膜下腔出血56例的临床分析[J]. 第三军医大学学报, 2006, 28(19): 1934, 1938.

[4] 徐全华, 吴光明, 田斌, 等. 枕角穿刺尿激酶灌注治疗高血压引起的脑室出血27例[J]. 卫生职业教育, 2005, 23(24): 105.

[5] 陈茂刚, 左其龙, 黄小鹏, 等. 侧脑室穿刺联合腰大池置管脑脊液双向引流术治疗重症蛛网膜下腔出血的临床研究[J]. 临床神经外科杂志, 2006, 3(1): 14 -15.

(**收稿**:2009-11-02;**修回**:2009-12-08)

(编辑 王 红)