论著

文章编号:1000-5404(2010)06-0588-05

青蒿琥酯增加人脑胶质瘤细胞 CHG-5 对 β 射线的敏感性

董俊清[1],赵妍妍[1],姚 琦[1],蒋为薇[1],李 军[1],李 斌[1],庞学利[2],周 红[1] (400038 重庆,第三军医大学:医学检验系暨药学院药理学教研室[1],西南医院肿瘤科[2])

[摘要] **目的** 从青蒿素及其衍生物中筛选出对人脑胶质瘤细胞 CHG-5 及 U87 具有较好放射增敏效果的药物,并初步探讨其放射增敏机制。**方法** ①采用 MTT 法测定上述青蒿素衍生物对 2 株胶质瘤细胞的 IC50,观察以 20% IC50 浓度的青蒿素衍生物联合 β 射线对 CHG-5 及 U87 的放射增敏效果,从中筛选出放射增敏效果最好的药物;②通过克隆形成法计算目标药物的放射增敏比;③划痕法观察它对 β 射线照射后 CHG-5 细胞迁移的影响;④检测胞内还原型 GSH 水平;⑤流式细胞术检测细胞凋亡及细胞周期分布情况。**结果** 青蒿素(artemisinin, ART)、双氢青蒿素(dihydroartemisinin, DHA)、青蒿琥酯(artesunate, AS)对 CHG-5 的 IC50 分别为:1.47、0.20、0.29 mmol/L;对 U87,则分别为 1.61、0.25、0.46 mmol/L。以 20% IC50 为 β 射线的协同给药浓度,仅有 AS 可以同时抑制经 β 射线照射后的 CHG-5 及 U87 细胞的增殖。且 0.06 mmol/L 的 AS 对 CHG-5 细胞的放射增敏比为 1.25,该浓度的 AS 可以明显地抑制 CHG-5 细胞的迁移。GSH 结果表明 0.06 mmol/L AS 处理组较未处理组细胞内 GSH 水平下调($P<0.05$),流式细胞术结果提示 0.06 mmol/L AS 可以阻滞细胞周期于 G_1 期。**结论** 从 3 种 ART 衍生物中筛选出 AS 对 CHG-5 细胞具有放射增敏作用,机制可能与下调的胞内 GSH 水平及细胞周期阻滞于 G_1 期有关。

[关键词] 脑胶质瘤;青蒿素;衍生物;IC50;放射增敏

[中图法分类号] R739.41;R965;R979.9 [文献标志码] A

Artesunate enhances radiosensitivity of human glioma cell line CHG-5 to β-ray

Dong Junqing[1], Zhao Yanyan[1], Yao Qi[1], Jiang Weiwei[1], Li Jun[1], Li Bin[1], Pang Xueli[2], Zhou Hong[1] ([1]Department of Pharmacology, College of Pharmacy, [2]Department of Oncology, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the cytotoxicity of 3 artemisinin derivatives, artemisinin (ART), dihydroartemisinin (DHA) and artesunate (AS) to 2 glioma cell lines CHG-5 and U87, to select a compound which have radiosensitization on both cell lines when synergized with β-ray. **Methods** Firstly, we employed MTT assay to measure the IC_{50} of 2 cell lines to ART and its derivatives. When synergized with β-ray, the radiosensitization of drugs with 20% IC_{50} and selected the optimal one were observed. Subsequently, sensitivity enhancement ratio (SER) was determined by colony-forming assay. Scratch test was used to observe the effect of objective drug on cell migration. Then, intracellular reduced GSH was measured. Finally, flow cytometry was employed to assay the cell apoptosis and cell cycle distribution. **Results** For CHG-5, the IC_{50} of ART, DHA and AS was 1.47, 0.20 and 0.29 mmol/L, respectively. Correspondingly, the IC_{50} for U87 was 1.61, 0.25 and 0.46 mmol/L, respectively. Only AS suppressed the proliferation of both cell lines under the concentration of 20% IC_{50} when combined with β-ray. Furthermore, the SER of 0.06 mmol/L AS for CHG-5 was 1.25. Meanwhile, 0.06 mmol/L AS significantly inhibited the cell migration. Compared with medium group, GSH production was reduced after the treatment of 0.06 mmol/L AS ($P<0.05$). Flow cytometry indicated that the cell cycle was arrested in G_1 phase after 0.06 mmol/L AS treatment. **Conclusion** Our results indicate that AS from the 3 artemisinin derivatives enhances the radiosensitivity of human glioma cell line CHG-5 to β-ray, which may be associated with the decreased intracellular GSH and G_1 arrest.

[**Key words**] glioma; artemisinin; derivatives; IC_{50}; radiosensitization

Corresponding author: Zhou Hong, Tel: 86-23-68752266 E-mail: zhouh64@mail.tmmu.com.cn

[通信作者] 周 红,电话:(023)68752266, E-mail:zhouh64@mail.tmmu.com.cn

人脑胶质瘤是头颈部常发的恶性肿瘤,尽管目前有多种方式进行的加强治疗,如最大范围的手术切除、放疗、化疗等,但往往患者的存活期都较短[1]。采用放射增敏剂增强对胶质瘤的放疗效果成为优化胶质瘤放疗的一个新途径,从传统的中草药中的有效成分筛选出低毒、高效的放射增敏剂一直是一个研究热点。本实验室前期发现青蒿琥酯(artesunate, AS)对肺癌细胞A549具有较好的放射增敏作用。为扩展青蒿素及其衍生物在肿瘤的放射增敏治疗方面的应用范围,本研究拟从青蒿素及其常见的衍生物——双氢青蒿素、青蒿琥酯中筛选出对两株胶质瘤细胞具有较好放射增敏效果的药物,并初步探讨其放射增敏的机制,以期为青蒿素及其衍生物联合放射治疗在临床治疗脑胶质瘤中的应用提供一定的实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 细胞株 3~5代脑胶质瘤细胞株CHG-5及U87由第三军医大学西南医院病理学研究所卞修武教授惠赠。

1.1.2 试剂 高糖型DMEM购于Gibco公司;10%胎牛血清购于PAA公司;噻唑兰(MTT)购于AMERISU公司;二甲基亚砜(DMSO)购于成都市科龙试剂化工厂;青蒿素(artemisinin, ART)粉剂出自重庆酉阳县涪陵山制药有限公司;双氢青蒿素(dihydroartemisinin, DHA)粉剂由重庆华立武陵山制药有限公司提供。AS粉针剂出自桂林南药股份有限公司。ART与DHA均溶于DMSO配成实验所需浓度。GSH测定试剂盒,南京建成生物工程研究所出品。

1.2 方法

1.2.1 ART、DHA、AS对CHG-5及U87细胞增殖的影响 CHG-5细胞采用含10%胎牛血清的DMEM培养液,于37 ℃、5% CO_2 的培养箱中进行传代培养。取对数生长期的细胞,按 1.0×10^4/孔接种于96孔的培养板,每孔接种细胞悬液180 μl,再在每孔加入20 μl的不同浓度的ART稀释液。每组设5个复孔,并以不加药的单纯细胞培养组为空白对照组(Medium组),置入孵箱继续培养48 h;于每孔加入20 μl MTT溶液(5 mg/ml),培养4 h,弃上清,加DMSO溶解并于490 nm处测定吸光度 $D(490)$。根据公式:抑制率 = [1 − $D(490)$给药组/$D(490)$] × 100%,计算出每个给药浓度下细胞的抑制率,结合其给药浓度,采用Logit法计算 IC_{50}。

1.2.2 具有放射增敏药物的筛选 实验分4个组:空白对照(Medium)、青蒿素处理组(ART)、双氢青蒿素处理组(DHA)、青蒿琥酯处理组(AS)以20% IC_{50}的药物浓度处理给药组及处理联合组作用24 h后给予单纯放射组及联合组6MeV 5Gy[2] β射线(医用2300C/D型直线加速器,美国VARIAN公司),再过24 h,终止培养,余步骤同1.2.1。

1.2.3 AS对CHG-5细胞集落形成的影响 将处于对数生长期的细胞,按每皿100、300、600、1200、2 400、4 800个,共分6组,分别接种于直径为60 mm的培养皿中,每种接种方式均有6个平皿,每皿5 ml,其中3个平皿的目标药物浓度为20% IC_{50},为实验组;另外3个平皿不加药,设为对照组。37 ℃培养24 h后,各平皿分别按组划分接受6MeV的β电子射线0、2、4、6、8、10 Gy的辐射,后继续培养10 d,中途更换培养液1次。培养结束后,弃培养液,PBS洗涤、甲醇固定后Giemsa染色后计数,含50个细胞以上的定义为一个集落(光镜下辅助计数),细胞贴壁率(plating efficiency, PE)及存活率(surviving fraction, SF)计算公式如下:

PE = 对照组集落数/细胞种植数 × 100%

SF = 实验组集落数/细胞种植数 × PE

得出细胞分别在加药与不加药两种情况下分别在0、2、4、6、8、10 Gy照射情况下存活率,采用SigmaPlot v 11.1软件运用放射增敏的多靶单击公式:$S=1-(1-e^{-D/D_0})^n$拟合细胞的存活曲线图,其中S为存活分数,D为放射剂量(Gy),D_0为平均致死剂量,n为外推数。并计算SER(sensitivity enhancement ratio,增敏比) = 未加药单独放射组 D_0 值/加药联合放射组 D_0 值。

1.2.4 目标药物对CHG-5细胞迁移的影响 调整细胞接种浓度为 2.0×10^5/孔,接种于6孔板中,培养4 h待贴壁后,加入20% IC_{50}的浓度的目标药物。培养12 h后,再用移液管头部轻轻地沿培养板底部平直划出一道“一”字型划痕。继续培养12 h,再接受6 MeV、5 Gy β电子射线照射,24 h后于倒置光学显微镜下观察并摄像。

1.2.5 目标药物对细胞胞内还原型GSH水平的影响 将对数生长期的CHG-5细胞,按空白对照组、单纯辐射组、给药组、联合处理组(给药 + 辐射)分组($n=6$),以 2.0×10^5/孔接种于6孔板中,3复孔。按1.2.5步骤加药及辐射方式处理细胞后,胰酶消化细胞,计数,1 000 r/min离心5 min后加适量去离子水,冰浴下超声破碎细胞,再次离心,按照谷胱甘肽试剂盒步骤检测各处理组胞内GSH水平。

1.2.6 目标药物对细胞凋亡及周期分布的影响 按步骤1.2.5进行细胞分组及处理。接种细胞48h后终止培养。胰酶消化成单细胞悬液,经75%冰乙醇固定,RNA酶处理后行PI染色,上机检测细胞凋亡情况及周期分布。

1.3 统计学处理

所有计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用SPSS 13.0进行统计分析。且每个实验至少重复3次。2组之间比较采用 t 检验;多组之间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)。

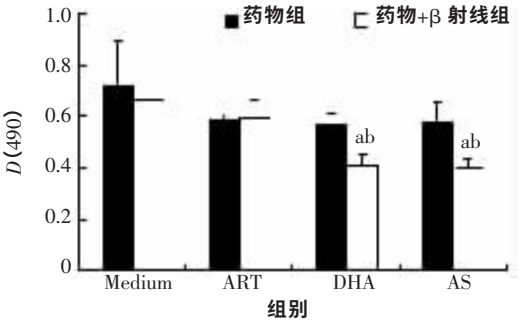
2 结果

2.1 ART及其衍生物对CHG-5及U87的细胞毒作用

ART、DHA、AS对CHG-5细胞 IC_{50} 值分别为:1.47、0.20、0.29 mmol/L;对U8T,则分别为1.61、0.25、0.46 mmol/L。在3种青蒿素及其衍生物中,DHA对2株胶质瘤细胞具有最强的细胞增殖抑制作用,其 IC_{50} 最小。青蒿素及其衍生物对CHG-5的细胞增殖抑制作用较U87细胞更明显。

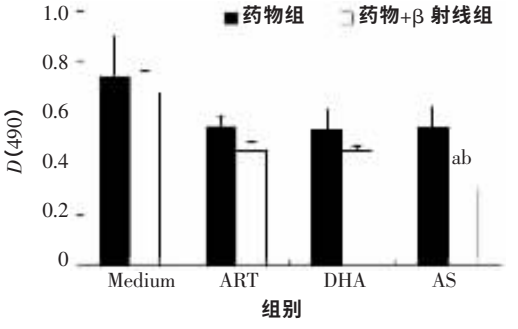
2.2 筛选对CHG-5及U87具有放射增敏的ART衍生物

对CHG-5细胞，应用20% IC_{50}浓度青蒿素及其衍生物联合β射线(6MeV 5Gy)，DHA及AS均显示出一定的放射增敏作用(图1)；而对U87细胞，应用20% IC_{50}浓度青蒿素及其衍生物联合β射线，仅AS显示出一定的放射增敏作用(图2)。因此，在后续实验中，AS被用作目标药物。由于CHG-5细胞对药物以及药物的放射增敏作用更为敏感，因此，在后续实验中，CHG-5细胞被选为研究细胞。



a: $P<0.05$，与Medium组比较；b: $P<0.05$，与药物组比较

图1 ART、DHA、AS联合5Gy β射线后对CHG-5细胞的抑制作用 ($n=3$, $\bar{x}\pm s$)



a: $P<0.05$，与Medium组比较；b: $P<0.05$，与药物组比较

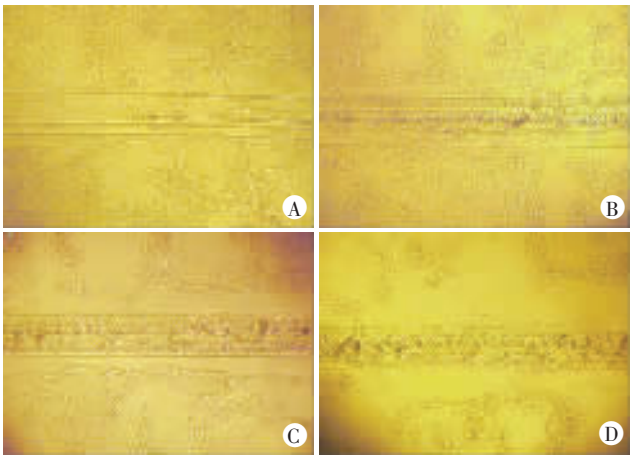
图2 ART、DHA、AS联合5Gy β射线后对U87细胞的抑制作用 ($n=3$, $\bar{x}\pm s$)

2.3 AS联合β射线对CHG-5细胞集落形成的影响

加入AS后，CHG-5细胞的存活分数(SF_2)由79.60%降至62.90%，D_0从2.663 Gy降至2.136 Gy，反映在存活曲线上为曲线直线部分变陡；准阈剂量(Dq)由1.054 Gy减少到0.640 Gy，曲线上表现为肩区变窄。增敏比(SER)=1.25。

2.4 AS对CHG-5细胞迁徙的影响

光镜下可见，未经任何处理的CHG-5细胞贴壁良好，呈梭形，细胞突出明显，折光性好，划痕处布满迁移的细胞(图3A)；经5 Gy β射线照射处理的CHG-5细胞形态无明显改变，但细胞数量稍减少，划痕处无细胞迁移(图3B)；CHG-5细胞经AS(0.06 mmol/L)处理后可见细胞数量进一步减少，划痕处也未见细胞迁移，划痕处周围细胞数量也明显减少(图3C)。细胞经AS和5 Gy β射线照射联合处理后，细胞成团、成链、回缩现象明显，细胞数量明显减少，绝大部分细胞突触消失，划痕处细胞无迁徙，划痕周围细胞减少明显(图3D)。

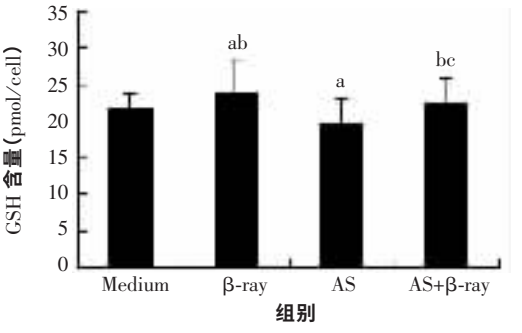


A: Mediums; B: 5 Gyβ-ray; C: AS (0.06 mmol/L); D: AS (0.06 mmol/L) +5 Gy β-ray

图3 不同处理组下CHG-5细胞迁移状态 (LM ×100)

2.5 AS联合β射线对CHG-5细胞胞内还原型GSH水平的影响

结果显示单纯AS处理组较Medium组(或联合处理组)胞内GSH水平低，而β-ray组较Medium组(或联合处理组)胞内GSH水平高，而Medium组与AS+β-ray组之间无统计学差异(图4)。



a: $P<0.05$，与Medium组比较；b: $P<0.05$，与AS组比较；c: $P<0.05$，与β-ray组比较

图4 组间CHG-5胞内还原型GSH表达水平

2.6 AS联合β射线对CHG-5细胞凋亡率及周期分布的影响

凋亡结果显示：Medium组自发凋亡率较低，为(1.49±0.86)%；AS、β-ray及AS+β-ray处理后，凋亡率分别为(1.40±1.33)%、(0.57±0.29)%、(0.28±0.06)%，与Medium组均无差别($P>0.05$)，结果提示AS、β-ray、AS+β-ray处理均不会增加CHG-5细胞的凋亡(表3)。

对于细胞周期，在G_1期，AS及AS+β-ray较Medium及β-ray处理后细胞数量增多，表明AS引起细胞G_1期阻滞；在G_2/M期，β-ray及AS+β-ray较AS及Medium细胞数量增多，提示β射线导致G_2/M阻滞；在S期，组间均有差异，且S期细胞数量：Medium组>β-ray组>AS组>AS+β-ray组。从数据

大小上看,可是认为是 G_1/G_0、G_2/M 分布数排布的结果;从细胞生物学本质上看,也是组间 DNA 合成能力的大小排序(表3)。

表3 各组细胞周期分布及凋亡率 [$n=3$, $(\bar{x}\pm s)\%$]

组别	G_1/G_0	S	G_2/M	凋亡率
Medium 组	74.09 ± 2.80	21.78 ± 2.03	4.14 ± 1.47	1.49 ± 0.86
AS 组	83.52 ± 2.07[ab]	12.97 ± 2.22[ab]	3.52 ± 0.58	1.40 ± 1.33
β-ray 组	73.67 ± 2.35	16.59 ± 1.59[a]	9.73 ± 0.82[ac]	0.57 ± 0.29
AS + β-ray 组	81.62 ± 0.31[ab]	9.34 ± 0.23[abc]	9.04 ± 0.31[ac]	0.28 ± 0.06

a: $P<0.05$,与 Medium 组比较; b: $P<0.05$,与 β-ray 组比较;
c: $P<0.05$,与 AS 组比较

3 讨论

青蒿素及其衍生物均具有易于穿过血脑屏障的特点,已在脑肿瘤治疗方面取得了一些新的研究进展[3,4],而 Kim 等[5]发现 DHA 可以增强体外培养的胶质瘤细胞 U373 对 γ 射线的敏感性,具有低毒、价廉、增敏作用强等特点,可能是一种较有希望的放射增敏剂。

本实验首先检测了 ART、DHA、AS 对受试的两株胶质瘤细胞的细胞毒作用。虽然 DHA 较 AS 具有更小的 IC_{50},但 MTT 检测结果示,较另2种衍生物,AS 联合 β 射线后更能协同抑制细胞的增殖。本实验室集落形成实验确立了 AS 联合 β 射线对 CHG-5 细胞的放射增敏比,而划痕实验进一步显现 AS 对 CHG-5 细胞的迁移行为有一定的抑制作用。

迁移是肿瘤细胞转移过程必不可少的环节,迁移能力与肿瘤的恶性程度密切相关。对于青蒿素对肿瘤细胞迁移的抑制作用,目前认为可能与抑制细胞的基质金属蛋白酶-2(metalloproteinase-2,MMP-2)和整合素(integrin)有关[6],但是否 AS 对于特定的细胞株 CHG-5 也具有类似的机制,尚需要深入的机制实验证实。

关于肿瘤的放射增敏机制,目前有许多机制,但其中最经典的即亲电子学说[7]。即增敏剂由于亲电子作用能捕获瘤细胞上受损分子上的电子,形成阳离子自由基靶分子,使损伤固定。青蒿素及其衍生物一个共同的特点就是都具有一个含过氧桥的倍半萜结构,在胞内亚铁的催化下会生一系列的碳中心自由基,级联产生出一系列的氧化损伤,最终结果会导致细胞的生物膜受损以及参与细胞增殖的 DNA 及蛋白合成受抑[8]。本实验流式结果中 AS 组较 Medium 组细胞 S 期分布比例下降也印证了这点。而亲电子理论机制的另一要点即增敏剂通过抑制 DNA 修复酶,从而加速了肿瘤细胞的死亡,明显地增强了放(化)疗的效果,GSH 就是这类修复酶的代表。细胞内 GSH 水平是反映细胞内氧化应激水平很好的指标,并且 GSH 与辐射反应和放射敏感性密切相关,一定强度和剂量的辐射会导致胞内还原型 GSH 水平的上调,而照射后细胞胞内 GSH 越高,细胞对辐射的耐受能力就会越强[9]。本实验中 AS 组细胞胞内 GSH 水平下降,可能导致参与修复细胞辐射损伤功能的降低,进而发挥其放射增敏作用。

值得注意的是,单独的 0.06 mmol/L AS 处理、单纯的 5Gy β 射线照射以及二者之间的联合处理组均未能增加细胞的凋亡,提示对细胞的放射增敏作用可能是通过非凋亡途径而达到的。有文献确已报道胶质瘤,无论其射线敏感性如何,辐照后细胞均不会走向凋亡[10],而其中射线敏感株胶质瘤会有 G_1 期阻滞的发生[11]。本研究流式细胞术结果显示,AS 对细胞 G_1 期有阻滞作用,与文献[12,13]报道基本一致。Shu 等[10]发现,对含野生型的 p53 的胶质瘤细胞来说,其 G_1 期阻滞与升高的放射敏感性关系密切。对于 S 期分布,Medium 组 > β-ray 组 > AS 组 > AS + β-ray 组的结果表明,单纯的 β 射线或 AS 处理均会造成进入 S 期细胞的减少,二者联合处理后对细胞基因组 DNA 的合成抑制更加明显,从而减缓了细胞的分裂增值速度。而本实验中 β 射线辐射造成 G_2/M 期阻滞,此结果与 Short[14] 和 Holgersson[15] 报道基本一致。由于 G_2/M 期的阻滞,β 射线会造成细胞分裂速度放缓。AS 联合射线处理后,会造成细胞周期 G_1 及 G_2/M 同时阻滞,使得最终进入 S 期的细胞急剧减少,最终肿瘤细胞会因合成障碍而死亡。

总之,本实验研究从3种青蒿素衍生物中筛选出 AS 对 CHG-5 细胞具有较好的放射增敏效果,其可能的放射增敏机制是 AS 通过下调胞内还原型 GSH 水平,从而抑制了细胞对射线损伤的修复,并使细胞阻滞于 G_1 期,抑制了细胞 DNA 合成和增值,而与凋亡相关性不大。

参考文献:

[1] Franceschi E, Tosoni A, Bartolini S, *et al*. Treatment options for recurrent glioblastoma: pitfalls and future trends[J]. Expert Rev Anticuncer Ther, 2009, 9(5): 613-619.
[2] 颜伟, 丁国富, 李斌, 等. CpG ODN107 增强人脑胶质瘤细胞放射敏感性的研究[J]. 中华肿瘤防治杂志, 2007, 14(7): 481-484.
[3] Huang X J, Ma Z Q, Zhang W P, *et al*. Dihydroartemisinin exerts cytotoxic effects and inhibits hypoxia inducible factor-1alpha activation in C6 glioma cells[J]. J Pharm Pharmacol, 2007, 59(6): 849-856.
[4] Michaelis M, Kleinschmidt M C, Barth S, *et al*. Anti-cancer effects of artesunate in a panel of chemoresistant neuroblastoma cell lines[J]. Biochem Pharmacol, 2010, 79(2): 130-136.
[5] Kim S J, Kim M S, Lee J W, *et al*. Dihydroartemisinin enhances radiosensitivity of human glioma cells *in vitro*[J]. J Cancer Res Clin Oncol, 2006, 132(2): 129-135.
[6] Buommino E, Baroni A, Canozo N, *et al*. Artemisinin reduces human

melanoma cell migration by down-regulating alpha V beta 3 integrin and reducing metalloproteinase 2 production[J]. Invest New Drugs, 2009, 27(5): 412-418.
[7] Adams G E, Dewey D L. Hydrated electrons and radiobiological sensitisation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1963, 12: 473-477.
[8] Efferth T, Briehl M M, Tome M E. Role of antioxidant genes for the activity of artesunate against tumor cells[J]. Int J Oncol, 2003, 23(4): 1231-1235.
[9] Simone G, Tamba M, Quintiliani M. Role of glutathione in affecting the radiosensitivity of molecular and cellular systems[J]. Radiat Environ Biophys, 1983, 22(3): 215-223.
[10] Shu H K, Julin C M, Furman F, *et al*. Overexpression of E2F1 in glioma-derived cell lines induces a p53-independent apoptosis that is further enhanced by ionizing radiation[J]. Neuro Oncol, 2000, 2(1): 16-21.
[11] Yao K C, Komata T, Kondo Y, *et al*. Molecular response of human glioblastoma multiforme cells to ionizing radiation: cell cycle arrest, modulation of the expression of cyclin-dependent kinase inhibitors, and autophagy[J]. J Neurosurg, 2003, 98(2): 378-384.
[12] Willoughby J A Sr, Sundar S N, Cheung M, *et al*. Artemisinin blocks prostate cancer growth and cell cycle progression by disrupting Sp1 interactions with the cyclin-dependent kinase-4 (CDK4) promoter and inhibiting CDK4 gene expression[J]. J Biol Chem, 2009, 284(4): 2203-2213.
[13] Li Y, Shan F, Wu J M, *et al*. Novel antitumor artemisinin derivatives targeting G_1 phase of the cell cycle[J]. Bioorg Med Chem Lett, 2001, 11(1): 5-8.
[14] Short S C, Martindale C, Bourne S, *et al*. DNA repair after irradiation in glioma cells and normal human astrocytes[J]. Neuro Oncol, 2007, 9(4): 404-411.
[15] Holgersson A, Heiden T, Castro J, *et al*. Different G_2/M accumulation in M059J and M059K cells after exposure to DNA double-strand break-inducing agents[J]. Int J Radiat Oncol Biol Phys, 2005, 61(3): 915-921.

(收稿:2009-09-07;修回:2009-10-10)
(编辑 王 红)

个案与短篇

文章编号:1000-5404(2010)06-0592-01

连续动脉穿刺测压致桡、尺动脉严重痉挛2例

魏昌伟,刘秀珍,王卓强,李 伟 (100091 北京,解放军第309医院麻醉科)

[关键词] 动脉穿刺;尺动脉;桡动脉;痉挛
[中图法分类号] R543.5 [文献标志码] B

桡动脉穿刺测压已广泛应用于各类危重、大手术及术中血流动力学波动大、需要血液稀释、控制性降压的患者[1]。连续监测动脉血压既可保证测压的准确性和即时性,又可及时调整各种血管活性药物的使用。我院自2000年至今,术中行连续桡动脉穿刺测压14 000余例,偶有导管阻塞、管道脱出及出血致肢体肿胀等并发症发生,发生率0.01%。近期我院收治因动脉穿刺测压导致桡、尺动脉严重痉挛患者2例,现报告如下。

1 临床资料

病例1:患者,女性,75岁,体质量62 kg。因胆囊结石伴急性胆囊炎在全麻下行经腹腔镜胆囊切除术。患者自诉无高血压病史,入室测NBP 150/80 mmHg,心率78/min,左手食指SpO_2 96%。Allen试验阴性,行左侧桡动脉穿刺测压ABP 180/86 mmHg。麻醉诱导给予芬太尼0.1 mg,依托咪酯10 mg,万可松5 mg,行气管插管,用瑞芬太尼0.3μg/(kg·min),异丙酚3 mg/(kg·h)持续泵入维持麻醉。手术开始20 min时突然发现SpO_2数值、波形消失,此时ABP 150/70 mmHg。检查SpO_2探头与指端连接良好,观察左手掌及手指颜色略发紫,触摸发凉,考虑桡、尺动脉痉挛,立即经桡动脉测压连接管分2次注入1%利多卡因共100 mg,并局部热敷,同时检查右手及双足均未见异常。5 min后,患者手掌颜色逐渐变红,SpO_2显示100%,波形规则。患者清醒拔管后,拔出动脉穿刺套管针,按压10 min后止血良好,将患者安全送回病房。随访3 d,患者左手血液循环良好,术后10 d安全出院。

病例2:患者,女性,70岁,体质量60 kg。因急性阑尾炎并发感染性休克急诊在全麻下行剖腹探查、阑尾切除术。患者入手术室时意识淡漠,血压80/50 mmHg,心率122/min,脉搏血氧饱和度96%。给予快速补液,静脉推注多巴胺3 mg,后立即行左侧桡动脉穿刺(Allen试验阴性),测得有创动脉血压(ABP)为130/58 mmHg、心率118/min、麻醉诱导给予依托咪酯8 mg、芬太尼0.1 mg、卡肌宁10 mg,行气管插管并确认插管位置无误后开始手术。麻醉维持用瑞芬太尼0.05 μg/(kg·min)、异丙酚3 ml/(kg·h)泵入。术中清理脓液时ABP由110/55 mmHg逐渐降低,最低时78/35 mmHg期间分2次静注多巴胺共5 mg,快速胶体输注500 ml,血压上升至120/58 mmHg,心率120/min。遂抽血查动脉血气。此时发现左手拇指及指根部苍白,随后手腕以下及其余四指背侧、掌侧皮肤逐渐变得苍白,脉搏血氧饱和度测不到,即刻从桡动脉测压管给予1%利多卡因100 mg,分3次静注,局部给予热敷,15 min后左手颜色由桡侧至尺侧逐渐变红,脉搏血氧饱和度100%。观察右手及双足末梢循环未发现异常。术中经扩容、抗休克治疗,循环稳定,有创动脉血压维持在118/58 mmHg左右、心率100/min左右。手术顺利,手术时间90 min,输液2 000 ml,出血100 ml,

[通信作者] 魏昌伟,电话:(010)66775506, E-mail: wcw0025@sina.com

(下转596页)