2009, 17(1): 25-26.
[7] Delp S L, Suryanarayanan S, Murray W M, *et al*. Architecture of the rectus abdominis, quadratus lumborum, and erector spinae[J]. J Biomech, 2001, 34(3): 371-375.
[8] 申洪. 实用数密度计算方法研究[J]. 中华物理医学杂志, 1991, 13(2): 117-119.
[9] 张洪武, 薛黔, 杨宇平. 人缝匠肌肌构筑特征与肌内神经分布及其临床意义[J]. 第三军医大学学报, 2011, 33(7): 732-734.
[10] Doi K, Hattori Y, Tan S H, *et al*. Basic science behind functioning free muscle transplantation[J]. Clin Plast Surg, 2002, 29(4): 483-495, v-vi.
[11] Lim A Y, Pereira B P, Kumar V P. The long head of the triceps brachii as a free functioning muscle transfer[J]. Plast Reconstr Surg, 2001, 107(7): 1746-1752.
[12] 褚先秋, 李名扬, 薛黔, 等. 按骨骼肌亚部化和肌构筑学原理改进肌移植术重建伸膝功能[J]. 贵州医药, 2000, 24(10): 585-586.
[13] 杨方玖, 薛黔, 李季蓉. 斜方肌各亚部的肌构筑肌梭分布研究及其临床意义[J]. 中国临床解剖学杂志, 2010, 28(1): 7-9.
[14] Sanders I, Han Y, Wang J, *et al*. Muscle spindles are concentrated in the superior vocalis subcompartment of the human thyroarytenoid muscle[J]. J Voice, 1998, 12(1): 7-16.
[15] 杨琳, 高英茂. 格氏解剖学[M]. 第38版. 沈阳: 辽宁教育出版社, 1999: 969-971.
[16] 胡涛, 薛黔, 李季蓉. 人冈上肌肌形态、肌内神经和肌梭分布的研究[J]. 四川解剖学杂志, 2009, 17(4): 9-11.
[17] 李平, 薛黔, 谢鹏. 胸小肌构筑特点和肌内外神经分布及临床意义[J]. 解剖学研究, 2003, 25(3): 206-208.
[18] Spyriounis P K, Lutz B S. Versatility of the free vastus lateralis muscle flap[J]. J Trauma, 2008, 64(4): 1100-1105.
[19] 杨大平, 关德宏, 徐学武, 等. 吻合神经血管的股直肌肌瓣游离移植治疗晚期面瘫的改进[J]. 中华整形外科杂志, 2003, 19(2): 101-103.
[20] Linss W, Frohlich J, Schmidt M, *et al*. The nerve entry into the human femoral quadriceps muscle[J]. Anat Anz, 1990, 170(3/4): 281-287.

(**收稿**:2011-04-05;**修回**:2011-05-21)
(编辑 栾 嘉)

文章编号:1000-5404(2011)18-1973-01

个案与短篇

辛伐他汀对体外培养大鼠呼吸道平滑肌细胞凋亡的作用

孙 云[1,2],赵庆华[1],杨卫梅[3] (430014 重庆,重庆医科大学附属第一医院护理部[1];610500 成都,成都医学院第一附属医院护理部[2];610041 成都,解放军第78006部队门诊部[3])

[**关键词**] 辛伐他汀;呼吸道平滑肌细胞; Bcl-2/Bax
[**中图法分类号**] R974 [**文献标志码**] B

气道重建可导致不可逆的气道阻塞和持续性的气道高反应性,是哮喘发病机制中的重要因素。呼吸道平滑肌增厚是影响气道重建的主要原因。他汀类药物可以影响呼吸道平滑肌细胞(airway smooth muscle cell, ASMC)增殖[1]。本实验初步探讨他汀类药物是否影响ASMC凋亡。

1 材料与方法

1.1 大鼠ASMC培养及分组

组织块消化法获得ASMC[2],含10% FBS的DMEM/F12培养。按药物干预不同分为:辛伐他汀组,分别加入20、100、500 μmol/L辛伐他汀;对照组,加等量PBS替代辛伐他汀。干预时间点为1、12、24、48 h。

1.2 细胞凋亡检测

待测细胞制成1×10^6/ml的单细胞悬液。取100 μl细胞悬液于流式管中,加入5 μl FITC-Annexin V和10 μl 20 μg/ml的碘化丙锭(PI)溶液(北京中杉金桥公司),混匀后室温、避光孵育15 min,流式细胞仪(FACS)分析检测。

[**通信作者**] 赵庆华,E-mail: zhaoqinghuacy@163.com

1.3 质粒转染

按Invitogen公司Lipofectamine™2000转染试剂说明书操作,分别转染Bcl-2真核表达质粒pGS1.2-Bcl-2及空质粒对照pGS1.2,转染后24 h加入含G418(800 μg/ml)的选择培养基筛选。

1.4 Western blot检测

细胞总蛋白上样后依次行SDS-PAGE电泳、半干转膜,转膜后封闭2 h后加入抗大鼠Bcl-2、Bax一抗(武汉博士德公司),4 ℃孵育过夜后,孵育二抗2 h,然后用化学发光试剂盒检测杂交信号。

2 结果

2.1 辛伐他汀促ASMC凋亡

低浓度辛伐他汀可浓度依赖促进ASMC凋亡,但浓度达到100 μmol/L以上,增加浓度并不能明显增加其促凋亡作用。辛伐他汀可时间依赖促进ASMC凋亡,但作用时间超过24 h后,增加作用时间也不能明显增加ASMC凋亡。

2.2 辛伐他汀对ASMC Bcl-2及Bax表达影响

100 μmol/L辛伐他汀作用24 h后,辛伐他汀组ASMC的Bcl-2蛋白水平低于对照组(0.18 ± 0.02 *vs* $0.32\pm0.0.5$, $P<0.01$),而Bax蛋白水平高于对照组(0.82 ± 0.09 *vs* 0.60 ± 0.04, $P<0.05$)。

(下转1982页)

为减少PKP术中骨水泥渗漏,我们强调正确穿刺操作的技术、适当的骨水泥注射时机和注射速度以及注射量,以及注射过程中全程透视监视的重要性。另外,改进骨水泥注射方法也可减少骨水泥的渗漏,如采用"二次填充技术"[9]、"蛋壳技术"[10]。对于周壁破损容易渗漏的椎体骨折患者,尤其是后壁或椎弓根内壁破裂,一旦骨水泥渗漏容易造成严重后果的患者,可采用fabric pod[11]。fabric pod为一种新型的防骨水泥渗漏的装置,其基本原理是通过工作管道向椎体内置入一个可扩张的fabric pod,通过骨水泥灌注孔向fabric pod内直接灌注骨水泥,使之膨胀扩张,从而恢复椎体高度,待骨水泥于成团晚期部分凝固后,通过体外的释放绳像拆除毛线衣一样拆除fabric pod。由于骨水泥被包裹于fabric pod,故极大地避免了骨水泥向椎体外渗漏。

PKP作为一种有效的治疗疼痛性椎体压缩骨折的微创方法得到了广泛的认可,但仍有一定的骨水泥渗漏率,存在造成严重后果的并发症的可能性。本组病例数有限,随访时间短,关于骨水泥渗漏的远期后果,仍需要进一步的随访研究。

参考文献:

[1] Hulme P A, Krebs J, Ferguson S J, *et al*. Vertebroplasty and kyphoplasty: a systematic review of 69 clinical studies[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2006, 31(17): 1983-2001.

[2] 王文献, 杨华, 刘卫金, 等. MRI对脊柱损伤全面性评估的临床价值[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(15): 1495-1497.

[3] 张士杰, 耿孟录, 何贵生, 等. 椎体水泥灌注术治疗老年陈旧性胸腰椎压缩性骨折9例[J]. 郑州大学学报:医学版, 2008, 43(5): 1060-1062.

[4] 周英杰, 赵刚, 刘宏建, 等. 复合BMP的磷酸钙骨水泥应用于椎体成形术治疗骨质疏松性胸腰椎压缩骨折15例[J]. 郑州大学学报: 医学版, 2009, 44(5): 1101-1103.

[5] 张建党, 邹德威, 马华松, 等. 单侧椎弓根穿刺椎体后凸成形术治疗高龄骨质疏松性椎体压缩骨折[J]. 颈腰痛杂志, 2010,31(4): 263-265.

[6] Phillips F M, Todd-Wetzel F, Lieberman I, *et al*. An *in vivo* comparison of the potential for extravertebral cement leak after vertebroplasty and kyphoplasty[J]. Spine (Phila Pa 1976), 2002, 27(19): 2173-2179.

[7] Gaitanis I N, Hadjipavlou A G, Katonis P G, *et al*. Balloon kyphoplasty for the treatment of pathological vertebral compressive fractures[J]. Eur Spine J,2005, 14(3): 250-260.

[8] Eck J C, Nachtigall D, Humphreys S C, *et al*. Comparison of vertebroplasty and balloon kyphoplasty for treatment of vertebral compression fractures: a meta-analysis of the literature[J]. Spine J, 2008, 8(3): 488-497.

[9] 袁宏, 赵喜滨, 孙治国. 球囊单侧扩张椎体后凸成形术治疗老年骨质疏松性椎体压缩骨折[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2007, 17(12): 913-917.

[10] Greene D L, Isaac R, Neuwirth M, *et al*. The eggshell technique for prevention of cement leakage during kyphoplasty[J]. J Spinal Disord Tech, 2007, 20(3): 229-232.

[11] 张建党, 邹德威, 马华松, 等. 应用Fabric pod行椎体后凸成形术治疗骨质疏松性椎体骨折[J]. 中国脊柱脊髓杂志, 2011, 21(3): 193-196.

(**收稿**:2011-04-06;**修回**:2011-04-16)

(编辑 龙 亮)

(上接1973页)

2.3 过表达Bcl-2减弱辛伐他汀促凋亡作用

pGS1.2-Bcl-2转染后ASMC的Bcl-2蛋白表达增加约8.6倍。100 μmol/L辛伐他汀作用24 h后,转染pGS1.2-Bcl-2的细胞凋亡率较正常细胞明显降低[(0.95±0.04)% *vs* (3.53±0.24)%, $P<0.01$];而空质粒pGS1.2转染的细胞凋亡率与对照组无统计学差异。

3 讨论

支气管哮喘存在不同程度的气道壁结构改变,这些改变除炎性细胞浸润外,还有一个重要表现即气道重建,包括气道平滑肌层增厚,基底膜增厚及其玻璃样变。他汀类药物可以抑制ASMC增殖,平滑肌层增厚是ASMC增殖和凋亡动态平衡的结果。本研究发现辛伐他汀可以浓度和时间依赖性地促进气道平滑肌凋亡,因凋亡增加是阻止平滑肌细胞过度增生的重要因素,推测辛伐他汀可能对气道平滑肌增厚有抑制作用。他汀类药物可以下调巨噬细胞表达TNF-α、IL-1和IL-6,抑制炎症细胞迁移;降低平滑肌对其促生长因子PDGF的反应性;抑制ERK1/2通路,诱导细胞凋亡。这些综合作用可能是他汀类药物促气道平滑肌凋亡的分子机制。Bcl-2蛋白家族是与凋亡关系密切的线粒体膜蛋白,包括抗凋亡基因Bcl-2和促凋亡基因Bax等。Bax同源二聚体促进凋亡,Bcl-2的同源二聚体抑制细胞凋亡。本研究发现辛伐他汀可明显减少细胞Bcl-2蛋白,增加Bax蛋白,Bcl-2/Bax明显降低。Bcl-2/Bax降低直接导致Bax同源二聚体增多,促进细胞凋亡[3]。本实验中,过表达细胞Bcl-2可以显著减少辛伐他汀诱导的细胞凋亡,提示Bcl-2蛋白是辛伐他汀促ASMC凋亡的重要途径。

参考文献:

[1] 陈颇静, 蔡志春, 黎敏, 等. 氟伐他汀对溶血性磷脂酰胆碱致动脉平滑肌细胞增殖和凋亡相关因子表达的影响[J]. 中国临床药理学与治疗学, 2007, 12(6): 649-654.

[2] 王超智, 许继德, 白洪波. 改良组织块消化法建立大鼠气道平滑肌细胞模型[J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(14): 2631-2633, 2648.

[3] 罗春山, 田晓滨, 汪雷, 等. 汉防己甲素对大鼠急性脊髓损伤后bcl-2和bax表达的影响[J]. 第三军医大学学报, 2010, 32(12): 1321-1324.

(**收稿**:2011-05-12;**修回**:2011-07-01)

(编辑 邓强庭)