维普资讯 http://www.cqvip.com

The changes of copper,manganese,zinc,iron,SOD and MDA in diaphragm muscles of the diabetic rats

Shen Xinping, et al
Department of Endocrinology,College of Clinincal Medicine

Using the spectrum absorption method,we have determined the contents of the copper,manganese,zinc and iron in the alloxan－induced diabetic rat diaphragm muscles,and detected their activities of superoxide dismutase (SOD) and contents of malondiadehyde(MDA). The results indicated that the copper and zinc were lower and the iron was higher in diabetic rat diaphragm muscles than in control group,but in manganese,there were no significant defferences between control and diabetic group.The activities of SOD decreased significantly and the contents of MDA increased significantly in diaphragm of diabetic rats as compared with the control group.In addition,there was positive correlation between zinc and SOD,and negative correlation between zinc and MDA in diaphragm of the diabetic rats.The results suggest that the changes of the contents of Cu,Zn,Fe and the increase of oxidative stress in diaphragm may be related to the early diabetes.The zinc plays an importment role in lipid peroxidation of diabetic diaphragm.

KEY WORDS Micro Element; Diaphragm; Diabetes Mellitus

17-19

(6)

PCR检测胃粘膜幽门螺杆菌与其它三种方法比较

R573.04
R378.99
~~R446.5~~

临床学院内科 王丕龙* 余剑平 张玉洪
基础医学院 杨致邦
深圳宝安市人民医院 董临江

提 要 本文建立了聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR)检测胃粘膜幽门螺杆菌(Helicobacter pylori,Hp)的方法，并与临床常用的快速脲素酶试验、涂片镜检、细菌培养3种方法进行比较。从100例十二脂肠溃疡患者的164份胃粘膜标本中，Hp的检出率分别是:PCR63%、快速脲素酶试验62%、涂片镜检59%、细菌培养55%。4种方法检出结果无显著性差异($P>0.05$)。若以细胞培养结果为标准，PCR法的敏感性和特异性分别为95.7%和97.2%。

关键词 聚合酶链反应; 幽门螺杆菌
中图分类号 R446.5

胃粘膜

聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)检测胃粘膜幽门螺杆菌(Helicobacter pylori,Hp)的高度敏感性和特异性已被肯定[1-2-3]。本文建立了PCR检测胃粘膜Hp的方法，应用于临床诊断，并与常用的快速脲素酶试验、涂片镜检、细菌培养3种方法的检测结果进行比较，以探讨临床诊断的应用价值。

1 材料和方法

1.1 病例

经胃镜诊断的活动期十二脂肠溃疡患者100例，其中

* 男，1945－8.20出生，教授

维普资讯 http://www.cqvip.com

男性73例、女性27例，平均年龄39岁。在治疗前和治疗过程中共收取标本164次，每次经胃镜钳取胃大弯距幽门2－3cm处粘膜3－4块。用于PCR、快速脲素酶试验、涂片镜检的标本分别有164份，用于培养的标本84份，取后立即放入特制的Hp培养转送液中，在6小时内完成培养。

1.2 Hp检测

1.2.1 快速脲素酶试验 采用纸片法 将胃粘膜1块放在特制的Hp脲酶试纸上，在试纸上滴1滴配制好的脲素溶液，以30分钟内，试纸由黄色变为兰色者判为阳性。特制Hp试纸和脲素培养均为自行配制。

1.2.2 涂片镜检 取胃粘膜1块，直接涂抹于载玻片上，常规方法革兰氏染色后油镜检查，以发现具有Hp典型形态的革兰氏阴性细菌者判为阳性。

1.2.3 细菌培养 将Hp转送液中的胃粘膜划线接种于Hp选择琼脂平板，置压氧缸中气袋法微需氧培养，37°C3－5天观察。以菌落形态、细菌形态和生化反应鉴定有无Hp生长。Hp转送液、Hp选择琼脂平板、产气袋为自制。

1.2.4 聚合酶链反应 取胃粘膜标本(约100mg)置处理液中(Tris.Hcl 20mmol/L、Tween－20, 0.5%、TritenX－100 0.5%、蛋白酶K100μg/ml，PH8.0)56°C孵育2小时待组织完全消化后，煮沸10分钟灭活蛋白酶K，1000r/min离心5分钟，取5μl上清液用于PCR扩增。PCR引物按Hp16SrRNA基因序列设计，由北京赛百盛生物工程公司合成。引物1: 5′—TGG CGT GTC TAT TGA CAG CGA GC—3′，引物2: 5′—CCT GCT GGG CAT ACT TCA CCA TG.3′。在50μl体积中进行反应，反应体积中含Fris.Hcl 10mmol/L(pH8.3)，KCL 50mmol/L，$MgCl_2$1.5mmol/L，引物各0.5μmol/L，dNTP各200μmol/L，TaqDNA聚合酶2u(华美生物工程公司生产)。在PCR扩增仪(PE9600型)上先94°C充分变性3分钟。然后94°C30秒、68°C1分钟两温循环35次。最后72°C充分延伸5分钟。取10μl PCR产物，2%琼脂糖凝胶电泳，溴化乙锭染色，紫外灯下观察。与标准Hp菌株扩增后在同一位置(298bp)处出现清晰明亮的扩增带者判为Hp阳性。

2 结果

聚合酶链反应、快速脲素酶试验、涂片和培养Hp检出结果见表1。

表1 四种方法Hp检出率比较

	聚合酶链反应	尿素酶试验	涂片	培养	P值
检查次数	164	164	164	84	
Hp阳性(%)	104(63)	101(62)	96(59)	46(55)	>0.05
Hp阴性(%)	60(37)	63(38)	68(41)	38(45)	>0.05

PCR法Hp检出率略高于其它三种方法，但无显著性差异($P>0.05$)。若以快速脲素酶试验和涂片两项结果同时阳性判为阳性为标准，PCR法的敏感性和特异性分别为94.7%(89/94)和93.3%(56/60)。其假阳性率为8.5%，假阴性率为11.5%。若以Hp培养为标准，PCR法的敏感性和特异性分别为95.7%(44/46)和97.2%(35/36)。假阳性率为2%，假阴性率为6%，阳性预测值为97.8%，阴性预测值为94.6%。

3 讨论

本文建立的PCR法检测Hp，其检出率高于临床常用的快速脲素酶试验、涂片镜检、培养3种方法，与国内外文献报道一致[2,3,4]。若分别以快速脲素酶试验和涂片镜检两项检测同时阳性或以培养为标准，PCR法检测Hp均存在假阳性和假阴性。其原因可能所选引物与其它细菌DNA发生交叉反应[1]，或实验室污染而导致假阳性结果。而标本在提取过程中Hp DNA的丢失，或体内存在Taq DNA聚合酶抑制物，以及所取胃粘膜因部位差异而无Hp均可出现假阴性[2,3]。尽管有的作者对PCR检测Hp的引物进行了许多研究，试图提高引物的特异性，对反应条件也作了许多改良[4]，但仍难避免假阳性和假阴性结果。

目前用于检测胃粘膜Hp的方法较多，培养虽最可靠但影响因素多，阳性率低，有的文献报道仅有18%[5]。快速脲素酶试验和涂片镜检的敏感性和特异性也不能令人满意，故临床诊断多采用二种方法联合使用。PCR法其特异性和敏感性高于前述几种方法，除可用于临床诊断外，尤其适用于

维普资讯 http://www.cqvip.com

Hp根除的评价。

参 考 文 献

1.Sheng－Amg HO, et al. Clin J Microbiol 1991;29:2545
2.Marten H,et al. Clin J Microbiol 1992;30:54
3.Fabere R et al. Gut 1994;35:905
4.张 沥,等.中华内科杂志 1995;34(4):243
5.陈一平,等.中华传染病杂志 1994;12(3):141

(收稿日期 1997－07－23)

The comparison of PCR with three other methode in detecting helicobacter pylori of gastric mucosa

Wang Pilong, et al
Department of Gastroenterology, College of Clinical medicine

PCR(polymerase chain reaction) method for detecting helicobacter pylori(Hp) of gastric mucosa was established and compared with method of rapid urease test, smear and bacterial culture.164 specimens of gastric biopsy mucosa from 100 patients with duodenal ulcer were examined for Hp.The positive rates of Hp were 63%、62%、59% and55% by PCR、rapid urease test、smear and bacterial culture respectively. There ware no differences among four methods. The sensibility and specificity of PCR wer 95.7% and 97.2% respectively.

KEY WORDS Polymerase chain reaction; Helicobacter pylori

19-21 (7)

NIDDM患者血浆内皮素与红细胞膜流动性改变的关系

R587.1

临床学院内科 刘 纯* 杨刚毅 欧造国
江北区中医院 江雅琴

提 要 测定了56例NIDDM患者血浆皮内素水平和红细胞膜微粘度，结果显示:NIDDM患者血浆内皮素及红细胞膜微粘度明显较正常人增高，并且NIDDM患者血浆内皮素(ET)与空腹血糖及红细胞膜微粘度呈明显正相关，与血浆胰岛素呈明显负相关。说明长期高血糖可导致NIDDM患者红细胞膜微粘度增高，而引起微循环障碍，也可导致内皮细胞损伤，使ET释放增加，而内皮素引起的缩血管作用又加重微循环障碍，上述恶性循环可能与糖尿病微血管病变发生有关。

关键词 非胰岛素依赖型糖尿病; 内皮素; 膜微粘度; 红细胞膜流动性 NIDDM
中图分类号 R587.1

非胰岛素依赖型糖尿病(NIDDM)患者由于存在高血糖和高胰岛素血症而致血管内皮细胞损伤，使内皮素(ET)分泌增加[1]。另一方面，由于高血糖及脂质代谢紊乱等导致脂质过氧化作用增强，从而使患者红细胞流动性降低。这两个因素在糖尿病微血管病变的发生和发展中具有重要作用。本文采用放免法和荧光偏振技术同时测定了56例NIDDM患者血浆ET水平和红细胞膜流动性，通过分析二者之间的相互关系，探讨糖尿病微血管病变形成的可能机制。

* 女，1963－05出生，讲师