DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.06.007
第26卷第6期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 6
482 2004年3月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Mar. 2004

论著

文章编号:1000-5404(2004)06-0482-04

约氏疟原虫感染对大劣按蚊PPO4基因转录与卵囊内Ca^{2+}的影响

邱宗文,张锡林,徐文岳,郝宏兴,段建华,况明书,王 英 (第三军医大学基础医学部病原生物学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 观察约氏疟原虫感染对大劣按蚊前酚氧化酶(prophenoloxidase, PPO)基因转录的影响与卵囊黑化期间囊内Ca^{2+}的变化,探讨疟原虫感染不易感蚊种时卵囊黑化的相关机制。方法 分别在大劣按蚊吸血感染约氏疟原虫前与感染后1、2、3和5 d抽提蚊总RNA进行RT-PCR,PCR扩增产物经1%琼脂糖凝胶电泳后扫描进行凝胶图像分析,并对所得数据进行统计学处理。在吸血感染后5、7、11和15 d解剖分离按蚊中肠,以荧光染料Fluo-3/Am作为卵囊内Ca^{2+}指示剂,利用共聚焦扫描显微镜观察不同时期约氏疟原虫卵囊内Ca^{2+}的分布及变化。结果 吸血感染约氏疟原虫前大劣按蚊PPO4基因的RT-PCR扩增产物较少,但感染后明显增加($P<0.01$),尤其在感染后1 d与2 d最为明显;约氏疟原虫未黑化卵囊内Ca^{2+}为(137.15±7.02) nmol/L,完全黑化卵囊内Ca^{2+}为(18.44±1.75) nmol/L,并在囊壁出现明显的钙沉着。结论 吸血感染约氏疟原虫后大劣按蚊PPO4基因转录比感染前明显增强,黑化卵囊内Ca^{2+}较未黑化卵囊明显减少,并有外排现象。

关键词:大劣按蚊;约氏疟原虫;前酚氧化酶基因(PPO4);卵囊;Ca^{2+}
中图法分类号:R382.31;R384.1;R394-33 文献标识码:A

Effects of *Plasmodium yoelii* infection on the transcript abundance of prophenoloxidase from *Anopheles dirus* and intracellular calcium in the oocysts

QIU Zong-wen, ZHANG Xi-lin, XU Wen-yue, HAO Hong-xing, DUAN Jian-hua, KUANG Ming-shu, WANG Ying (Department of Pathogenic Biology, College of Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the melanotic mechanisms in oocysts of *Plasmodium yoelii* in a *Plasmodium*-refractory strain of *Anopheles dirus* by observing the effects of *Plasmodium yoelii* infection on the transcript abundance of prophenoloxidase (PPO) gene from *Anopheles dirus* and the changes of intracellular Ca^{2+} in the oocyst during the melanization of oocysts of *Plasmodium yoelii*. Methods Total RNA of mosquitoes was extracted at 1, 2, 3, and 5 d before and after infection with *Plasmodium yoelii* by blood-feeding. All samples were analyzed by RT-PCR, and the PCR products were analyzed by agarose gel electrophoresis. The data were analyzed statistically. The midguts were dissected out from *Plasmodium yoelii* females at 5, 7, 11, and 15 d after infection with *Plasmodium yoelii*. The distributions and changes of Ca^{2+} in the oocyst of *Plasmodium yoelii* at different time were observed by confocal laser scanning microscopy (CLSM) with Ca^{2+} sensitive dye Fluo-3/Am and Pluronic. Results The products of PPO gene by RT-PCR after infection were significantly more than those before infection with *Plasmodium yoelii*, especially at 1 and 2 d ($P<0.01$). The mean content of Ca^{2+} in normal oocysts was (137.15±7.02) nmol/L, but (18.44±1.75) nmol/L in melanotic oocysts with Ca^{2+} sedimentation in the wall of the oocyst. Conclusion The transcript abundance of PPO gene from *Anopheles dirus* after infection increases obviously than that before infection. The content of the intracellular Ca^{2+} in melanotic oocysts decreases significantly than that in the normal oocysts. The intracellular Ca^{2+} in oocysts is excreted before melanizaiton.

Key words: *Anopheles dirus*; *Plasmodium yoelii*; prophenoloxidase gene; oocyst; Ca^{2+}

疟原虫卵囊黑化反应是按蚊抵御疟原虫感染的最主要免疫机制,也是疟原虫感染不易感蚊种的一种主要表型[1],黑化反应中产生的活性物质可抑制或杀死中肠内发育的疟原虫并表现出对疟原虫感染的抗性[2]。按蚊前酚氧化酶(prophenoloxidase, PPO)是介导疟原虫卵囊黑化反应的一种关键酶,而Ca^{2+}是细胞间信号转导的一种重要分子并可调节胞内虫体的生长与发育[3]。为进一步了解二者在疟原虫卵囊黑化中的作

基金项目:国家自然科学基金资助项目(30371261)
Supported by the National Natural Science Foundation of China (30371261)
作者简介:邱宗文(1968-),男,四川省泸县人,硕士研究生,主管技师,主要从事蚊抗疟原虫感染免疫防御反应方面的研究。电话:(023)68752243
通信作者:张锡林,电话:(023)68752243,E-mail:jsczxl@mail.tmmu.com.cn
收稿日期:2003-11-11;修回日期:2004-01-28

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

用及其机制, 本实验利用已成功克隆的大劣按蚊 PPO4 基因[4], 以半定量 RT-PCR 分析大劣按蚊吸血感染约氏疟原虫前、后 PPO4 基因的转录变化, 同时利用共聚焦激光扫描显微镜(confocal laser scanning microscope, CLSM)观察卵囊黑化期间囊内 Ca^{2+} 的分布及含量变化, 探讨约氏疟原虫卵囊黑化相关分子的相互作用机制。

1　材料与方法

1.1　主要试剂与仪器

根据已克隆的大劣按蚊 PPO4 基因(Access Number: AY347484)和 S7 基因(Access Number: AY369135)的序列分别设计 PCR 引物, PPO4 上游引物序列为: 5′-CGCTATGCGAACGGGTTGCCGAAGG-3′、下游引物序列为: 5′-CAACGCCGAAGCCCTCCAGGAACGA-3′; S7 上游引物序列为: 5′-GATCATCATCTACGTGCCGCTG-3′、下游引物序列为: 5′-TGGTGGTCTGCTGGTTCTTGTC-3′, 委托上海生工生物工程有限公司合成; Tripure(Roche), MMLV 逆转录酶、Oligo(dT)16、RNase 抑制剂、*Taq* 酶和 dNTPs(Promega), Ca^{2+} 荧光染料 Fluo-3(molecular probes, Sigma)、二甲基亚砜(Sigma)。PCR 扩增仪(Amplitron II 型, 美国)、凝胶图像分析系统(200 型, 美国 Bio-Rad)、激光共聚焦扫描显微镜(TCS-NT 165211, Leica)。

1.2　供试疟原虫与蚊媒感染

约氏疟原虫 BY265 株, 每周用昆明株小鼠血传 1 次, 每 5 周蚊传 1 次; 大劣按蚊海南株在 24～26 ℃、相对湿度为 70%～80%的养蚊室中饲养, 饲 10%蔗糖水; 以 2～3 d 龄成蚊吸感染约氏疟原虫的小鼠血, 感染后的蚊置 23～24 ℃、相对湿度为 70%～80%的恒温室饲养。昆明株小鼠 6 只为本校实验动物中心提供, 体质量约 16～20 g, 雌雄不限。

1.3　制备按蚊总 RNA 与 RT-PCR

1.3.1　抽提按蚊总 RNA 并逆转录合成 cDNA　　分别收集吸血感染约氏疟原虫前与感染后 1、2、3 和 5 d 的雌性大劣按蚊各 15 只, 去除头部后立即置入已加入 1 ml Tripure 试剂的匀浆器内进行匀浆, 随后按 Tripure 试剂说明进行操作。

抽提的蚊总 RNA 经电泳检测其完整性及纯度后立即进行逆转录反应制备 cDNA, 反应体系如下: 2 μl RNA 模板(约含总 RNA 2 μg)、1 μl Oligo(dT)16(0.5 μg/μl)、4 μl 5× Buffer、1.0 μl dNTPs(10 mmol/L)、0.5 μl RNA 酶抑制剂(40 U/μl)、1 μl MMLV 反转录酶(200 U/μl), 补充 DEPC 处理水至总体积 20 μl, 37 ℃孵育 2 h 后, 95 ℃ 5 min 灭活 MMLV, 将制备好的 cDNA 置－20 ℃冰箱保存。

1.3.2　以按蚊 cDNA 为模板进行半定量 PCR 扩增　　首先以按蚊 cDNA 为模板, S7 为引物进行 PCR 扩增并确定其模板量与循环数, 使各时间点 cDNA 模板扩增所获得的 S7 条带应尽量趋于一致, 随后在相同条件下再分别利用 PPO4 和 S7 引物同时进行 PCR 扩增, 反应体系如下: 1.0 μl 10 倍稀释的 cDNA 模板、2.5 μl 10× Buffer、0.3 μl Taq 酶(5.0 U/μl)、1 μl $MgCl_2$(1 mmol/L)、0.5 μl dNTPs(10 mmol/L)、10 μmol/L S7/PPO4 的上下游引物各 1.0 μl、补充 ddH_2O 至 25 μl。反应条件为: 94 ℃预变性 3 min 后, 94 ℃变性 1 min、57 ℃退火 1 min、72 ℃延伸 1 min、共 30 个循环, 最后在 72 ℃延伸 5 min。PCR 扩增结束后精确吸取 10.0 μl 产物在 1%的琼脂糖凝胶上电泳, 然后利用凝胶图像分析系统扫描读取数据并进行 *t* 检验。

1.4　按蚊感染率、感染度与疟原虫卵囊黑化比率的测定

在吸血感染后 5、7、11 和 15 d 解剖雌性按蚊中肠, 置显微镜下观察卵囊的形态及黑化情况, 并计数卵囊数量。确定按蚊感染率(有卵囊蚊总数/解剖蚊总数)、感染度(卵囊总数/有卵囊蚊总数)与黑化比率(有黑化卵囊蚊总数/有卵囊蚊总数)。

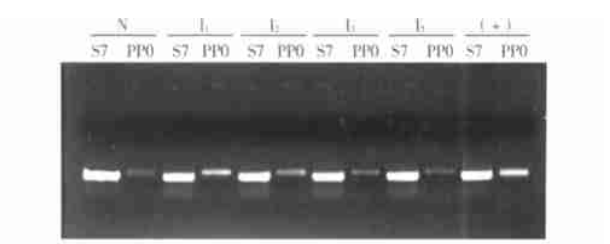
1.5　激光共聚焦检测约氏疟原虫卵囊内 Ca^{2+}

按照文献[5]进行, 利用 Ca^{2+} 敏感的荧光染料 Fluo-3/AM, 以乙酰甲氧基(AM)酯化形式扩散入细胞。用 RPMI 1640 组织培养液分别配制 3 μmol/L Fluo-3/AM 和 25%(W/V)非离子型多元醇表面活化剂(Pluronic F-127)的应用液, 将新鲜分离的按蚊中肠分别加入 Fluo-3/AM 和 Pluronic F-127 后, 置 37 ℃、5% CO_2 培养箱内孵育 60 min, 期间轻摇几次, 孵育结束时用 RPMI 1640 培养液洗涤 2 次, 并重悬于 RPMI 1640 培养液中, 即可用于 CLSM 系统中检测。以 488 nm 的氩离子激光激发, 在 525 nm 处探测荧光发射, Fluo-3 结合 Ca^{2+} 后荧光强度增加, 使用 CLSM 观察及读取数据并采用 IDQ(Leica 公司提供)软件分析结果。

2　结果

2.1　吸血感染疟原虫前后按蚊 PPO4 基因的转录变化

以大劣按蚊各时间点 cDNA 为模板, 利用 S7 和 PPO4 引物分别进行 PCR 扩增, 产物经 1%的琼脂糖凝胶电泳后可见 S7 引物扩增所得的各条带之间的亮度基本一致, 统计学分析显示无明显差异($P>0.05$), 条带较锐利清晰, 扩增条带大小均与以 S7 质粒为模板扩增所获得的片段大小完全一致。然而, 以 PPO4 引物扩增所获得的各条带之间的亮度具有明显差异($P<0.01$), 吸血感染前的条带较弱, 而感染后的条带明显增强、条带较清晰锐利, 尤其在感染后 1 d 与 2 d 两个时间点最为明显, 而 3 d 与 5 d 两个时间点相对较弱, 其中 5 d 时的条带亮度与感染前基本接近。此外, 以 PPO4 引物扩增所得的各目的条带大小均与以 PPO4 质粒为模板扩增出的片段一致(图 1)。



N: Pre-infection; I_{1-5}: Post-infection (days); (+): Positive plasmid

图 1　约氏疟原虫感染前与感染后不同时间点的 RT-PCR 扩增结果

Fig 1　Results of RT-PCR amplification at different time points before and after *Plasmodium yoelii* infection

2.2　大劣按蚊的感染率与感染度和卵囊黑化比率

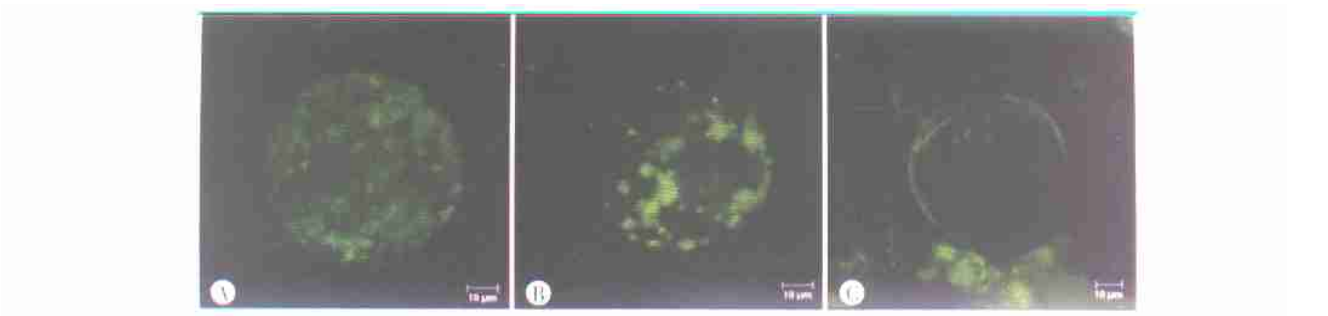
大劣按蚊吸血感染约氏疟原虫后 5 d 时在中肠壁形成的卵囊数量不多, 个体相对较小, 感染率为 55.0%(11/20), 在每个感染蚊中平均的卵囊数为 17(187/11), 卵囊黑化比率为 0。在感

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

染后 7 d时的情况与 5 d基本相似，但在 11 d 时可见部分卵囊出现局部黑化，囊内有黑色素沉着，感染率为 50.0%（10/20），每个感染按蚊的平均卵囊数为 12（120/10），卵囊黑化比率为 40.0%（4/10）。在吸血感染后 15 d 时，大部分卵囊均出现部分黑化或完全黑化，感染率为 42.7%（9/21），但黑化比率为 100.0%。

2.3 激光共聚焦检测卵囊内 Ca^{2+}

在 3 μmol/L 的 Fluo-3/AM 溶液中按 1 μl/ml 的比例加入 25% 的 Pluronic F-127，37 ℃孵育 60 min 后，约氏疟原虫卵囊内 Ca^{2+} 呈黄绿色荧光。利用 CLSM 可观察到未黑化卵囊内 Ca^{2+} 的分布与黑化卵囊明显不同，未黑化卵囊内 Ca^{2+} 呈匀质状分布，囊壁未显黄绿色荧光，而黑化卵囊内 Ca^{2+} 聚集成块状或片状，在完全黑化卵囊壁还可见到因 Ca^{2+} 沉着而发出的明显荧光（图 2）。结合 IDQ 软件对 CLSM 读取的数据进行分析后得知，感染 5d 时尚未黑化的约氏疟原虫卵囊内 Ca^{2+} 的均值为（137.15±7.02）nmol/L；当感染 11 d 和 15 d 时，局部黑化卵囊内 Ca^{2+} 含量明显减少，其均值为（63.43±5.98）nmol/L；而卵囊完全黑化时，囊内 Ca^{2+} 减少更为明显，均值为（18.44±1.75）nmol/L。



A: Oocysts at 5 d after infection; B: Oocysts at 11 d after infection; C: Oocysts at 15 d after infection

图 2 感染后不同时期约氏疟原虫卵囊内 Ca^{2+} 的分布

Fig 2 Distribution of intracellular Ca^{2+} in oocysts of *Plasmodium yoelii* at different time after infection

3 讨论

黑化反应是昆虫中最常见的一种现象，除卵壳和几丁质的硬化与色素沉积、以及创伤愈合外，还包括入侵的病原体。疟原虫卵囊黑化是不易感按蚊抗疟原虫感染的一种最主要表型，也是抗疟原虫感染的一种重要先天性免疫防御机制[6]。按蚊 PPO 介导的级联反应能产生大量的醌类产物，可沉积于疟原虫卵囊周围并形成黑色素，从而杀死卵囊内的疟原虫或阻滞其发育。Ca^{2+} 是的一种重要的信号分子并可影响细胞的分裂、分化和生长，因此卵囊内 Ca^{2+} 的分布及含量变化可能与卵囊及其囊内疟原虫的发育相关。

按蚊 PPO 是介导疟原虫卵囊黑化反应的一种关键酶，已在冈比亚按蚊中成功克隆了 6 种不同的 PPO 基因，并证实在蚊发育的不同虫期以及在疟原虫感染前后均具有不同的表达模式[7]。大劣按蚊是我国和东南亚地区最重要的传疟蚊媒，可黑化中肠内发育的约氏疟原虫卵囊。我们在成功克隆大劣按蚊 PPO4 基因的基础上，应用半定量 RT-PCR 分析了约氏疟原虫感染大劣按蚊前与感染后不同时期 PPO4 的转录变化，结果显示吸血感染约氏疟原虫后大劣按蚊 PPO4 基因转录比感染前明显增强。由于按蚊可识别入侵的病原体，经激活信号转导途径后调控相应效应基因的转录，其表达产物决定了宿主对入侵病原体的反应[8]。因此，吸血感染约氏疟原虫后大劣按蚊 PPO4 基因转录明显增加，其表达的 PPO 可以介导卵囊黑化反应。但吸未感染约氏疟原虫的小鼠血是否也可诱导大劣按蚊 PPO4 基因转录增加、以及与卵囊黑化相关的详细机制等均需要进一步研究。

有研究认为 PPO 介导约氏疟原虫卵囊黑化反应可在大劣按蚊感染后第 5 天或更早时间内被激活[9]，表明 PPO 基因转录的增加比 PPO 被激活的时间还要早，而本实验结果显示大劣按蚊 PPO4 基因转录增强在感染后 1 d 与 2 d 时最为明显。此外，尽管吸血感染约氏疟原虫后大劣按蚊 PPO 在较短的时间内就可被激活，但通常在感染 11 d 后才可见到较多的卵囊黑化，并随着时间的延长大部分卵囊出现部分黑化或完全黑化，因此镜下见到的黑化卵囊其实是在各种黑化相关分子共同作用下最终出现的一种特殊形态学变化，与黑化相关分子的转录和表达可能在按蚊识别入侵病原体后就已被激活。

此外，根据疟原虫卵囊内 Ca^{2+} 的检测结果显示部分与完全黑化卵囊内 Ca^{2+} 的分布与感染早期尚未黑化卵囊内的 Ca^{2+} 明显不同，且平均 Ca^{2+} 含量明显减少，尤其是完全黑化卵囊内 Ca^{2+} 的减少最为明显，在完全黑化卵囊内壁可见因 Ca^{2+} 的沉着而发出的明显荧光，提示囊内 Ca^{2+} 有外排现象，表明卵囊内 Ca^{2+} 的不同分布及含量变化与卵囊黑化及黑化程度密切相关。由于在疟原虫卵囊黑化过程中可能因卵囊的退变而导致囊壁对离子的通透性增加，囊内 Ca^{2+} 外排破坏

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

了囊内虫体的 Ca^{2+} 平衡并可影响卵囊内疟原虫的发育。至于囊内 Ca^{2+} 的外排机制以及在卵囊黑化中的作用均尚未充分认识, 是否因卵囊黑化后导致 Ca^{2+} 外排或囊内 Ca^{2+} 外排促进了卵囊黑化等均需要进一步研究。

参考文献:

[1] Collins F H, Sakai R K, Vernick K D, *et al*. Genetic selection of a Plasmodium-refractory strain of the malaria vector *Anopheles gambiae*[J]. Science, 1986, 234(4776): 607－610.

[2] Dimopoulos D, Muller H M, Levashina E A, *et al*. Innate immune defense against malaria infection in the mosquito[J]. Curr Opin Immunol, 2001, 13(1): 79－88.

[3] Passos P A D, Garcia C R S. Inositol 1, 4, 5-triphosphate induced Ca^{2+} release from chloroquine-sensitive and sensitive intracellular stores in the intraerythrocytic stage of the malaria parasite *P. chabaudi*[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1998, 245(1): 155－160.

[4] 邱宗文, 郝宏兴, 张锡林, 等. AdPPO4 基因部分序列的 cDNA 克隆与序列分析[J], 第三军医大学学报, 2004, 26(6): 473－475.

[5] 张锡林, 徐文岳, 王　英, 等. 约氏疟原虫卵囊黑化与卵囊内游离钙关系的研究[J], 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2003, 21(2): 84－86.

[6] Lavine M D, Strand M R. Insect hemocytes and their role in immunity[J]. Insect Biochem Mol Biol, 2002, 32(10): 1295－1309.

[7] Muller H M, Dimopoulos G, Blass C, *et al*. A hemocyte-like cell line established from the malaria vector *Anopheles gambiae* expresses six prophenoloxidase genes[J]. J Biol Chem, 1999, 274(17): 11727－11735.

[8] Dimopoulos G. Insect immunity and its implication in mosquito-malaria interactions[J]. Cell Microbiol, 2003, 5(1): 3－14.

[9] 徐文岳, 黄复生, 段建华, 等. 大劣按蚊酚氧化酶活性与约氏疟原虫卵囊黑化关系的研究[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(4): 440－442.

(编辑　冯崇英)

(上接 475 页)

在复查 CT 同时, 3、6 个月时随访 HIE 患儿的智能发育。方法: 采用上海科技出版社出版的《小儿智能发育检查》推荐的 Gesell 智能检查表, 分别测定患儿动作能、应物能、言语能、应人能发育商数(DQ)。如 DQ＞ 85 为正常, 85＞ DQ＞ 75 为边缘状态, DQ＜ 75 则为明显落后, 为智能低下[2]。

2　结果

CT 检查: 阳性结果为 67 例。HIE 患儿早期脑水肿多见达 63 例, 中期以脑实质低密度影为多见达 53 例, 晚期则以脑室扩大, 脑萎缩多见达 10 例。同时也分别观察临床分度为轻、中、重度患儿不同时期 CT 变化结果。轻度: 24 例, 早期 CT 正常 4 例, 脑水肿 20 例; 中期 24 例中 12 例正常, 12 例表现有脑实质低密度影。中度: 26 例, 早期 CT 脑水肿 24 例, 蛛网膜下腔出血 7 例, 硬膜外出血 2 例; 中期均表现有脑实质低密度影, 硬膜外出血 2 例吸收; 7 例蛛网膜下腔出血患儿中, 在恢复期有 2 例出现脑室扩大, 1 例伴脑沟增宽。重度: 17 例, 早期 CT 均有明显异常, 恢复期脑实质低密度影仍存在, 6 例有脑表面沟回增宽、同时脑室扩大。另 1 例早期明显蛛网膜下腔出血, 恢复期出现脑室系统明显扩大, 有脑积水征象。

智能随访结果: 轻度 24 例: 3、6 个月时全部正常。中度患儿 26 例: 3 个月时 20 例正常, 边缘状态 5 例, 智能低下 1 例; 6 个月时仍有边缘状态 1 例, 智能低下 1 例。重度 17 例, 3 个月时边缘状态 13 例, 智能低下 4 例。6 个月时边缘状态 14 例, 智能低下 3 例。随访 67 例 HIE 患儿中恢复期(6 个月)智能正常(DQ＞ 85)48 例, 边缘状态(DQ 平均值 76.5)15 例, 智能低下 4 例 DQ 平均值 60.5)。正常占 71.6%, 边缘状态占 22.4%, 智能低下占 6.0%。

3　讨论

HIE 是指在围产期缺氧导致脑的缺氧缺血性损害, 临床出现一系列脑病的表现, 目前已成为威胁新生儿健康的主要疾病之一。CT 检查对本病的诊断、分度以及预后判断有很大的帮助[3]。然而, 病程不同, CT 表现也不同。在急性发病的早期, 特别是出生 3 d 内, 以脑水肿及蛛网膜下腔出血为主。中期则脑实质低密度影增多, 它的病理基础是脑水肿, 细胞缺氧进一步加重的结果, 多发生在额叶、侧脑室前角及顶叶, 这与文献[4]报道相似, 因为这些区域为缺氧的敏感区。持续的低密度影往往有脑软化灶的可能。恢复期主要以脑萎缩的征象为主, 尤其 6 个月时 67 例中仍有 9 例(13.4%)出现脑萎缩, 这是缺氧缺血导致脑细胞的严重病理改变, 临床上出现不同程度的智能改变。所以不同时期 CT 征象反映不同时期的病理改变, 反映出病情的轻重及预后, 因此应该作动态观察, 才能更客观、准确地作临床分度及判断预后[5]。

本研究智能检查结果与文献报道相似。轻度患儿预后良好, 中、重度患儿有 6 例(35.3%)有智能低下, 反映出神经运动的整体性、大脑皮层完整性以及智慧潜力等方面均受到一定程度的影响。智能随访结果与 CT 动态观察结果基本一致, 出现神经系统后遗症的患儿均表现有脑萎缩的 CT 征象[6]。更说明 CT 在判断预后的准确性。因此作者强调 HIE 患儿应作 CT 动态观察。

关键词: 新生儿; 缺氧缺血性脑病; CT
中图法分类号: R743.310.4　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 韩玉昆, 虞人杰, 卜定方. 新生儿缺氧缺血性脑病临床诊断依据和分度[J]. 中华儿科杂志, 1990, 28(1): 31－32.

[2] 曹　云, 邵肖梅, 周蓓华, 等. 新生儿缺氧缺血性脑病早期康复干预的临床疗效观察[J]. 中国实用儿科杂志, 2002, 17(3): 167－169.

[3] Stillger A, Kumar R K. Neonatal cerebral infarction: USS or CT for imaging[J]? Indian J Pediatr, 1999, 66(1): 141－143.

[4] 米　延, 王竹颖, 蒋桂芹, 等. 新生儿缺氧缺血性脑病临床与 CT: 附 143 例分析[J]. 哈尔滨医科大学学报, 1995, 29(6): 504－505.

[5] 崔红凯, 杨智华, 秦海霞, 等. 新生儿缺氧缺血性脑病 CT 检查与预后的关系[J]. 实用儿科临床杂志, 2002, 17(3): 275－276.

[6] 张　泓, 雷　磊, 孙　启, 等. 新生儿缺氧缺血性脑病 65 例随访分析[J]. 小儿急救医学, 2002, 9(1): 38－39.

(编辑　栾　嘉)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net