DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.17.007

胞凋亡的过程中，Bcl-2蛋白调控线粒体即早反应，膜蛋白Apo2.7分子增加、膜电位快速降低并维持这种低电位至濒临死亡。并可以推断其可能通过释放细胞色素C、AIF等凋亡相关因子进一步调控下游的caspase活化、核DNA片段化等凋亡反应。

（感谢新桥医院临床药理基地徐颖硕士在昆明山海棠碱的制取中给予的热情帮助。）

参考文献：

[1] Gottlieb R A. Mitochondria: execution central[J]. FEBS Lett, 2000, 482(1—2): 6—12.
[2] Zhang C, Ao Z, Seth A, *et al*. A mitochondrial membrane protein defined by a novel momoclonal antibody is preferentially detected in apoptotic cells[J]. J Immunol, 1996, 157(9): 3980—3987.
[3] Jacobson M D, Burne J F, King M P, *et al*. Bcl—2 blocks apoptosis in cells lacking mitochondrial DNA[J]. Nature, 1993, 361(6410): 365—369.
[4] Daugas E, Nochy D, Ravagnan L, *et al*. Apoptosis-inducing factor(AIF): a ubiquitous mitochondrial oxidoreductase involved in apoptosis[J]. FEBS Letters, 2000, 476(3): 118—123.
[5] Salvioli S, Ardizzoni A, Franceschi C. JC-1, but not DiOC6(3) or rhodamine 123, is a reliable fluorescent probe to assess ΔΨ changes in intact cells: implications for studies on mitochondrial functionality during apoptosis[J]. FEBS Letters, 1997, 411(1): 77—82.
[6] Piana G L, Marzulli D, Consalvo M I, *et al*. Cytochrome c-induced cytosolic nicotinamide adenine dinucleotide oxidation, mitochondrial permeability transition, and apoptosis[J]. Arch Biochem Biophys, 2003, 410(2): 201—211.
[7] Finkel E. The mitochondrion: is it central to apoptosis?[J] Science, 2001, 292(5517): 624—626.
[8] Metivier D, Dallaporta B, Zamzami N, *et al*. Cytofluorometric detection of mitochondrial alterations in early CD95/Fas/APO-1-triggered apoptosis of Jurkat T lymphoma cells. Comparison of seven mitochondrion—specific fluorochromes[J]. Immunol Lett, 1998, 61(2—3): 157—163.
[9] Matthew G, Vander H, Navdeep S, *et al*. Bcl—xL Regulates the Membrane Potential and Volume Homeostasis of Mitochondria[J]. Cell, 1997, 91: 627—637.

（编辑 汪勤俭）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2003)17-1514-01

术中纤维结肠镜在诊断小肠出血中的价值

Diagnostic value of fibrocolonoscope for bleeding of small intestine during the operation

熊有志，石 彦，孙念绪，余佩武 （第三军医大学附属西南医院普通外科，重庆 400038）

屈氏韧带以下的消化道出血，常因出血部位不清楚，导致手术困难，而术中纤维结肠镜对不明原因的小肠出血能定位和明确原因。我科2000-2001年经术中纤维肠镜检查下消化道出血12例，报告如下。

1 材料和方法

1.1 一般资料

12例中男性7例，女性5例，年龄23～71岁，平均年龄为35岁。

1.2 临床表现

主要表现为鲜血便、暗红色血便或黑便，此外尚有因血容量不足而引起的一系列临床表现，其中急性出血量估计在1 500 ml以上的4例，500～1 000 ml的3例，间断发作性出血的2例，长期反复出血的3例。

1.3 术前检查

均行胃镜检查，在十二指肠降段以上未见有出血病灶和血迹，急诊行结肠镜检查12例，均未见全结肠及回肠末端内有新鲜血便，无活动性出血灶，8例常规行结肠镜检查回肠末端和全结肠未见明显的异常。6例行全消化道钡餐造影检查无异常发现，6例DSA造影见2例小肠血管畸形，全部患者均行腹部B超检查，部分患者进行腹部CT检查，均无明显异常。

1.4 术中肠镜检查方法

应用Olympus-2OI型纤维结肠镜，剖腹后由手术医师在空肠末端做一小切口，操作者在手术医师的帮助下经此切口将肠镜插入小肠内，向内侧插入十二指肠内，降段向肛侧插至回盲瓣，对小肠逐段进行观察，操作中应注意切口保护，动作轻柔。

2 结果

12例中手术前不明原因的小肠出血通过术中的肠镜和冰冻切片检查全部明确出血的原因和部位。出血原因：①以肿瘤和血管发育不良多见，其中肿瘤6例（平滑肌瘤2例，平滑肌肉瘤1例，淋巴瘤2例，腺瘤1例），血管发育不良3例（海绵状血管瘤1例，动静脉畸形1例，血管瘤1例），此外Meckels憩室，伤寒，Crohn病例各一例；②出血部位：均为单一出血灶，部位以回

（下转1517页）

作者简介：熊有志（1973—），男，重庆市人，医师，主要从事消化道肿瘤生物治疗方面的研究，发表论文10篇。电话：（023）76684131

收稿日期：2001-10-31；修回日期：2002-08-24

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

直接将荧光素标记在 dUTP 上的直接法具有更高的敏感性[5]。通过分析核 DNA 含量来检测 DNA 片段化是一个简单的经典方法, 细胞膜打孔后 DNA 片段化形成的寡核苷酸片段可逸出细胞, 因而其 DNA 含量比正常核 DNA 含量减少[6]。

本研究的 2 个实验结果显示 THH 碱能显著地诱导 Jurkat T 淋巴瘤细胞 DNA 断裂和 DNA 片段化, 提示在其凋亡过程中 DNA 在 caspase 等凋亡因子的作用下发生了不可逆转的变化。

在凋亡的效应阶段, 胞内核酸内切酶剪切核 DNA 形成大量 DNA 单链和双链断裂, 之后断裂的 DNA 游离至胞浆中, 即发生 DNA 片段化。由于剪切位点在核小体之间的连接区(Linker DNA), 因此片段为单体或寡聚核小体 DNA 片段。我室前期研究已观察到 THH 碱诱导的 DNA 典型梯状带[7], 本研究 TUNEL 结果显示, 见图 1, 50 μg/ml 等剂量的 THH 碱诱导后 12 h DNA 断裂开始大幅度增加, 而 DNA 含量分析结果显示, 见图 3, 在 50 μg/ml 剂量 THH 碱诱导后 4 h 即开始大幅度增加, 可见在 THH 碱诱导凋亡的早期, DNA 断裂点较少, TUNEL 还不足检测到, 但此时已有部分细胞的 DNA 断裂成较大 DNA 的片段。在 TUNEL 的实验结果中还显示, 在细胞已死亡的末期(36 h 时)仍有 50%以上的细胞未发生大量 DNA 断裂, 说明部分细胞的凋亡在非大量 DNA 断裂的情况下进行。DNA 含量分析结果显示, 凋亡核(失去部分 DNA 的核)发生率在 12h 以前不断增加, 但 12 h 后趋于一个平台期, 可能是凋亡后期细胞大量破解, 形成凋亡小体和细胞碎片, 以致这部分细胞逃逸检测范围, 在流式细胞仪结果图, 见图 2 可看到大量细胞碎片位于低荧光强度的一侧可证明这一点。

我们报道 THH 碱在 50 μg/ml 剂量下诱导后 6 ~ 8 h 后凋亡的早期标志细胞膜磷脂酰丝氨酸外翻显著增加(发生率为 18%)、caspase-3 活化(发生率为 37%)[8,9], 而 TUNEL 的实验结果显示 18 h 后 DNA 断裂才开始发生(发生率为 4.8%), 提示 THH 碱是先启动细胞膜磷脂酰丝氨酸外翻和 caspase-3 活化, 之后发生 DNA 断裂, 细胞走向死亡。

(致谢: 感谢新桥医院临床药理基地徐颖硕士在昆明山海棠碱的制取中给予的热情帮助。)

参考文献:

[1] Nüsse M, Marx K. Flow cytometric analysis of micronuclei in cell cultures and human lymphocytes: advantages and disadvantages[J]. Mutat Res, 1997, 392(1—2): 109—115.

[2] Beisker W. A new combined integral-light and slit-scan data analysis system (DAS) for flow cytometry[J]. Comput Methods programs Biomedi, 1994, 42: 15—26.

[3] Martin S J, Green D R, Cotter T G. Dicing with death: dissecting the components of the apoptosis machinery[J]. Trends Biochem Sci, 1994, 19(1): 26—30.

[4] Gold R, Schmied M, Giegerich G, *et al*. Differentiation between cellular apoptosis and necrosis by the combined use of in situ tailing and nick translation techniques[J]. Lab Invest, 1994, 71(2): 219—225.

[5] Darzynkiewicz Z, Juan G, Li X, *et al*. Cytometry in cell necrobiology: analysis of apoptosis and accidental cell death (necrosis)[J]. Cytometry, 1997, 27(1): 1—20.

[6] Bertho A L, Santiago M A, Coutinho S G. Flow cytometry in the study of cell death[J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 2000, 95(3): 429—433.

[7] 敖　琳, 曹　佳, 徐　颖, 等. 昆明山海棠总生物碱诱发 HL-60 细胞凋亡的观察[J]. 第三军医大学学报, 2001; 23(11): 1273—1275.

[8] 杨录军, 敖　琳, Nuesse M, 等. 昆明山海棠碱诱导 Jurkat 淋巴瘤细胞膜磷脂酰丝氨酸外翻及瘤细胞超微结构改变的研究[J]. 第三军医大学学报, 2003, 25(17): 1501—1504.

(编辑　汪勤俭)

(上接 1514 页)

肠多见, 共 8 例, 空肠 3 例, 十二指肠 1 例。

3　讨论

下消化道出血要明确病因和部位非常困难, 而出血又以小肠多见, 出血源以肿瘤和血管扩张多见, 不同年龄其出血的部位也多不同。诊断的主要方法为钡灌肠法和内镜, 选择性腹腔动脉造影是诊断胃肠道出血的有效手段, 但其适于正在出血且出血量大于 0.5 ml/min, 核素扫描虽可检出小量出血(大于 3 ml/h), 但其定性及定位诊断的阳性率不高, 消化道钡餐和气钡双重造影也是一种重要的检查手段, 范围局限易漏诊。而术中肠镜检查不仅能发现小肠出血的病变部位, 同时也可立即取活检组织送冰冻切片病理检查以明确病变性质及范围, 有助于决定手术方式。因此, 认为术中肠镜检查是一种准确、安全而实用的检查方法, 在小肠出血的诊断中有一定的临床价值。

关键词: 纤维结肠镜; 诊断; 小肠出血
中图法分类号: 574.504　文献标识码: B

参考文献:

[1] 蔡伟耀. 原因不明的消化道出血诊断基础及进展[A]. 见: 吴云林. 胃肠病学临床进展[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 1999. 103—108.

[2] 黎忠信. 胃癌所致上消化道出血的临床分析[J]. 腹部外科, 1991, 1(4): 17.

[3] 黄小荣, 张　齐. 消化道溃疡并发出血 1316 例临床分析[J]. 中华消化内镜杂志, 1999, 16(3): 18—19.

[4] Lala A K, Sitara V, Perakath B, *et al*. Intraoperative enteroscopy in obscure gastrointestinal hemorrhage[J]. Hepatogastroentrology, 1998, 45(5): 597—602.

(编辑　郭建秀)

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