DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.16.016
第25卷第16期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 16
2003年8月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Aug. 2003

文章编号:1000-5404(2003)16-1441-05

论著

能量可控陡脉冲对人卵巢癌细胞的体外作用

胡 娅[1],胡丽娜[1],米 彦[2],姚成国[2],熊 兰[2],孙才新[2] ([1]重庆医科大学第二临床学院妇产科,重庆 400010;[2]重庆大学电气工程学院,重庆 400044)

提 要:目的 研究不同剂量的能量可控陡脉冲对体外培养的人卵巢癌细胞生物学性状的影响。方法 对人卵巢癌细胞SKOV3施以不同剂量的陡脉冲,采用四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法及细胞增殖曲线法观察急慢性损伤效应,流式细胞技术分析作用前后细胞周期的变化,倒置显微镜、透射及扫描电镜进行形态学观察。结果 MTT实验证实陡脉冲对肿瘤细胞的作用存在剂量效应关系,其杀伤率随剂量的增加而增加。细胞增殖曲线说明高剂量陡脉冲可导致肿瘤细胞的急性损伤效应;流式细胞分析结果表明,S期及G_2/M期减少,G_0/G_1期细胞增加,并呈剂量依赖趋势;通过显微摄影观察到肿瘤细胞在脉冲场中动态变化过程,提示肿瘤细胞带负电荷,在脉冲场中向阳极运动;超微结构及扫描电镜结果显示陡脉冲能引起细胞不可逆性电击穿,导致肿瘤细胞溶解性坏死。另外,由于陡脉冲的电解作用,改变了肿瘤细胞正常生存环境的pH值,强酸强碱环境进一步引发肿瘤细胞死亡。结论 能量可控陡脉冲通过急慢性损伤效应不仅能改变人卵巢癌细胞正常的生物学性状,而且通过其电解作用又改变了肿瘤细胞正常生存环境 最终导致肿瘤细胞死亡。

关键词:陡脉冲/电疗法;卵巢肿瘤;肿瘤细胞;体外培养
中图法分类号:R329.2;R454.1;R737.31 文献标识码:A

Effects of the energy controllable steep pulses on human ovarian carcinoma cell *in vitro*

HU Ya, HU Li-na, MI Yan, YAO Cheng-guo, XIONG Lan, SUN Cai-xin (Department of Obstetrics and Gynecology, Second Affiliated Hospital, Chongqing University of Medical Sciences, Chongqing 400010, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of energy controllable steep pulses on the biological properties of human ovarian cell *in vitro*. Methods After action by different intensities of steep pulses, the acute and delayed effects on human ovarian carcinoma cell line SKOV3 were investigated by measuring the cell growth curves and by 3-(4,5-dimethylthiazol-z-yl)-2,5-dipheny tetrazolium blue (MTT) colorimetric assay. Cell cycle changes were detected by flow cytometry (FCM). Morphological changes were observed by inverted microscope, light microscope and scanning electron microscope. Results MTT assay demonstrated the effects of steep pulses on SKOV3 cells were in a dose-dependent manner. The cell growth curve showed that the highest dose mainly resulted in acute effects. Analysis of cell cycle indicated that S and G_2/M phase cells decreased but G_0/G_1 cells increased in a dose-dependent manner. The morphological dynamic changes of SKOV3 cells in the pulse fields showed that tumor cells had negative charges, moving to anode. Results of ultrastructure and scanning electron microscope s
about irreversible electrical breakdown (IREB) of cell, leading to necrosis of tumor cells. In addition, the function of electrolysis by steep pulse changed the normal pH of the living circumstances of tumor cells and consequently, strong acid and alkali ulteriorly induced the death of cells. Conclusion Energy controllable steep pulses can change not only the features of human ovarian carcinoma cell by acute and delayed effects, but also the normal living circumstances by means of the effects of electrolysis, which, finally, results in death of tumor cells.

Key words: steep pulse/electrotherapy; ovarian carcinoma; tumor cell; cultured *in vitro*

电脉冲化学疗法(Electrical impulse chemotherapy, EIC)是近20年来发展起来的一种新的局部物理治疗肿瘤的方法。其作用机制是通过脉冲电场变化引起肿瘤细胞膜局部电通透作用增加,选择性增强低渗透性化疗药物对恶性肿瘤细胞的杀伤作用,并在一、二期临床试验中取得了显著成效。近年来,已有研究[1]显示

基金项目:国家自然科学基金资助项目(50077027)
作者简介:胡 娅(1974-),女,重庆市人,硕士研究生,医师,主要从事生殖医学,妇科肿瘤方面的研究。电话:(023)63826964
收稿日期:2002-09-08;修回日期:2003-02-18

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

当施加的脉冲电压幅值远高于细胞正常膜电压时，还可引起质膜不可逆性电击穿，直接导致细胞死亡。前期实验我们观察了单用脉冲电场对离体恶性肿瘤组织的作用，证实脉冲电场可引起肿瘤细胞的形态结构改变[2]。因此，我们拟进一步研究能量可控陡脉冲对人卵巢癌SKOV3细胞系的体外作用，以观察脉冲变化对培养恶性肿瘤细胞的生物学性状影响，初探其杀伤机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 人卵巢癌SKOV3细胞系 购于重庆医科大学超声研究所。细胞培养于RPMI1640培养液(含10%精制小牛血清，青霉素100 U/ml，链霉素100 U/ml)，置于37 ℃，5% CO_2 孵箱中扩增，0.25%胰酶(美国GIBCO产品)消化传代。

1.1.2 主要试剂 RPMI1640培养基，精制小牛血清为美国Hyclone产品，胰酶为美国GIBCO产品，塞唑蓝(MTT)，二甲亚砜(DMSO)为美国Sigma产品。

1.1.3 主要仪器用品 能量可控陡脉冲治疗样机由重庆大学高电压技术和系统监测省级重点实验室联合研制，能输出电压可调(20~250 V)，电容可调(0.01~0.1 μF)，重复频率(10~1 kHz)不同组合的陡脉冲。Bio-RAD505型酶标检测仪(美国产)，BECKMAN GS-15R Centrifuge(贝克曼高速离心机，德国产)，FACS calibur流式细胞仪(FCM，美国产)，pH试纸。

1.2 方法

为考察能量可控陡脉冲对恶性肿瘤细胞生物学性状的影响，根据脉冲能量公式：总能量= $1/2 \cdot CUm^2 \cdot f \cdot \triangle T$，其中C：放电电容值(μF)，Um：脉冲峰值(V)，f：频率(Hz)，△T：作用时间(s)。我们选择性固定脉冲峰值(200 V)，频率(100 Hz)及时间(20 min)3个参数，改变电容值(取值为0.01、0.022、0.033、0.047、0.1 μF)观察总能量变化引起的生物学效应。

1.2.1 陡脉冲处理方式 将处于对数生长期贴壁生长的SKOV3卵巢癌细胞用0.25% 胰酶消化后离心，加入不含血清的RPMI1640培养液(含酚红，pH 7.0~7.2)制成单细胞悬液，调细胞密度为3×10^6/ml，盛于25 mm×20 mm的称量瓶中，通过自行研制的能量可控陡脉冲治疗仪的铂金电极针(两针间距1 cm)前端插入细胞悬液中，施加不同剂量的陡脉冲。而正常对照组仅插入电极针而不给予陡脉冲刺激。阴极、阳极区分别以pH试纸测定酸碱度的变化。用数值化测温仪的探针插入悬液以测定温度的变化。

1.2.2 剂量-效应关系曲线 陡脉冲作用后调细胞密度为1×10^6个/ml，吸取100 μl(含1×10^5个细胞)接种于96孔板，每个样品设5~8个平行孔，同时设立正常对照组，空白对照组(即只加不含血清的培养液)，然后每组每孔加入MTT(5 mg/ml) 10 μl/孔，继续培养4 h。离心后小心吸弃上清液，每孔加入DMSO 150 μl，振荡15 min后在酶标仪上检验，测定570 nm波长处吸光度(*A*)值，根据公式[3]计算杀伤率：

$$\text{细胞杀伤率}=\frac{\text{正常对照组 } A \text{ 值}-\text{实验组 } A \text{ 值}}{\text{正常对照组 } A \text{ 值}-\text{空白对照组 } A \text{ 值}}$$

1.2.3 细胞增殖曲线 取陡脉冲低剂量(0.01 μF)组，高剂量(0.1 μF)组和对照组细胞分别接种，每瓶接种3.0×10^5个细胞，第2天起，每日每组2瓶细胞计数，绘制增殖曲线，并计算细胞在指数生长期群体倍增时间。

1.2.4 细胞周期分析 将浓度为9×10^5个/ml的SKOV3细胞接种于培养瓶中，置于37 ℃、5%二氧化碳培养箱中培养，第2天待大部分细胞贴壁后4 ℃培养1 h，以促成细胞同步化生长。换液继续培养48 h后，用胰酶消化制成细胞悬液，陡脉冲处理同上。收集细胞，70%乙醇固定，碘化丙啶染色后置流式细胞仪分析。

1.2.5 细胞形态学观察

1.2.5.1 倒置显微镜观察 电击小室是用中心具弧形圆孔(直径为17 mm)的玻璃块(厚2 mm)，将两片状铂金电极固定在其上(间距1 cm)而成。作用时将0.2 ml细胞悬液与结晶紫的混合液滴加入小室，左侧电极片与治疗样机阴极相连，右侧与阳极相连，镜下活细胞被染成蓝色，观察其在脉冲场中的动态变化过程。

1.2.5.2 细胞超微结构观察 经上述方法处理后的细胞悬液，离心沉淀细胞，2.5%戊二醛，1%锇酸固定，脱水，环氧树脂包埋，超薄切片，铀/铅染色，透射电镜(H-600 HITACHI)观察处理组与对照组超微结构差异。

1.2.5.3 扫描电镜观察 将处理后的细胞悬液离心清洗，弃上清(重复3次)，将离心后沉淀细胞打散再沉淀30 min后加4%戊二醛、1%锇酸固定，2%单宁酸、TCT液导电处理后，用不同浓度乙醇(30%、50%、70%、90%、100%)梯度脱水，叔丁醇干燥，液氮冷冻后抽低真空1.5 h，缓慢放气(1~2 h)，最后镀膜。用KYKY(AMRAY)1000B型扫描电镜观察细胞膜的变化。

1.3 统计学处理

采用SAS统计软件对计量资料进行方差分析。

2 结果

2.1 肉眼观察

陡脉冲处理时，肿瘤细胞悬液中阴阳两极处均有气泡产生，并随剂量增加而增多。阳极附近变黄，pH试纸测得阳极区pH值为5~6，阴极区pH值为8~10，经数显测温仪测温后发现治疗后温度有一定增加，表现为随时间的延长而增高，最高达30 ℃。

2.2 剂量-效应关系

陡脉冲放电电容值(X)与SKOV3细胞杀伤率(Y)之间经证实存在剂量效应关系，且随剂量的增加而增加，见图1。

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

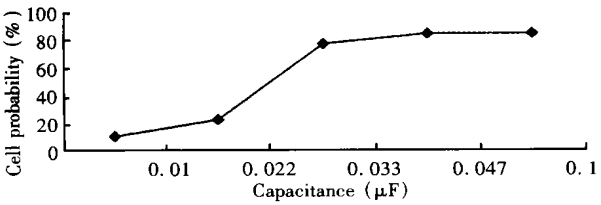
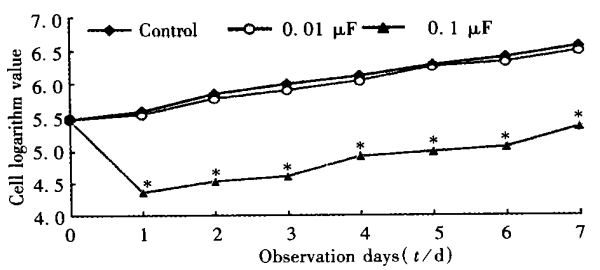


图 1　陡脉冲剂量-效应关系曲线

Fig 1　Dose-response relationship curve by steep pulse

2.3　细胞增殖曲线

对照组与 0.01 μF 剂量组细胞均在接种后 24 h 即见增殖, 而 0.1 μF 剂量组则出现细胞数陡降, 然后再缓慢地增殖, 但增殖程度明显低于前两组, 可见高剂量(0.1 μF)组可导致肿瘤细胞较强的急性损伤效应。对照组与 0.01、0.1 μF 剂量组倍增时间分别为 47.53、50.57、404.87 h。0.1 μF 剂量组较对照增殖明显延缓($P<0.01$), 0.01 μF 组与对照组相比差异无显著性($P>0.05$), 见图 2。



*: $P<0.05$ *vs* control

图 2　陡脉冲处理前后细胞增殖曲线

Fig 2　Cell proliferation curve by steep pulse

2.4　细胞周期分析

流式细胞仪(FCM)检测 SKOV3 细胞周期分布情况见表 1。各实验组均未发现细胞凋亡峰。0.01 μF 组与对照组相比 G_0/G_1 期, S 期及 G_2/M 期分布差异无显著性($P>0.05$), 而 0.033 μF 组与对照组相比则出现显著性差异, 并随电容值的增加, 出现 G_0/G_1 期细胞明显增加($P<0.01$)。

表 1　陡脉冲对人卵巢癌 SKOV3 细胞作用前后细胞周期分析($\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Cell cycle analysis of human ovarian carcinoma cell line SKOV3 by steep pulse($\bar{x}\pm s$)

Category	Cell cycle distribution	
	G_0/G_1 period(%)	S and G_2/M period(%)
Control	63.80±1.15	36.20±1.15
0.01 μF	65.60±2.04	34.40±2.04
0.033 μF	68.64±1.01 **△	31.36±1.01 **△
0.1 μF	71.04±1.80 **△△	28.96±1.80 **△△

**: $P<0.01$ *vs* control; △: $P<0.05$　△△: $P<0.01$ *vs* 0.01 μF group

2.5　形态学变化

2.5.1　倒置显微镜观察　　表现为细胞位置不再发生改变, 但细胞体积逐渐增大, 胞质溶解, 颜色变淡到最后仅剩下细胞轮廓。

2.5.2　透射电镜观察　　对照组图 3A: 肿瘤细胞表现为核大、畸形, 核仁多个、肥大边集, 核浆比大。胞质内可见线粒体, 细胞边缘可见较多微绒毛。实验组图 3B: 肿瘤细胞表现为不同程度的损伤: "Ⅰ"所示细胞肿胀, 体积增大, 胞核、胞质及其内细胞器溶解性坏死, 仅残留细胞轮廓, 细胞膜完整性破坏; "Ⅱ与Ⅲ"所示肿瘤细胞损伤较前者轻, 表现为胞质、线粒体不同程度的肿胀、空化, 而细胞核及膜结构相对完整, 细胞边缘微绒毛减少。图 3C: 细胞膜向外突出形成胞突, 细胞膜结构仍完整。

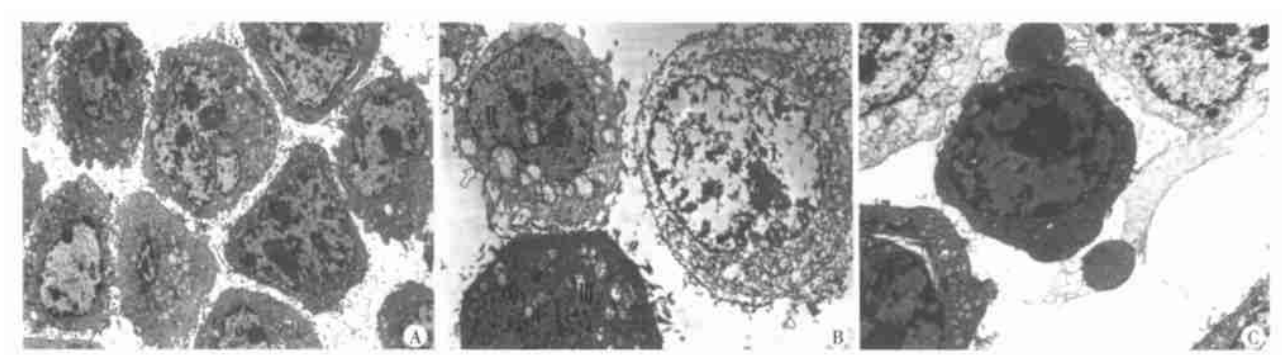


图 3　对照组 A(TEM×3 500)与实验组 B、C(TEM×4 000)超微结构变化情况(B 箭头示胞质、线粒体肿胀、空化, C 箭头所示胞突)

Fig 3　Changes of ultrastructure in control group A (TEM×3 500) and experimental groups B and C(TEM×4 000) (The arrowhead shows swollen, cavitated cytoplast and mitochondria in B, and cytoplast protuberance in C)

2.5.3　扫描电镜观察　　对照组图 4A 肿瘤细胞膜结构完整, 表面可见微绒毛形成的皱褶。处理组图 4B 肿瘤细胞在脉冲场中发生电穿孔现象, 表现为胞质外涌, 呈喷射状, 细胞膜完整性破坏; 图 4C 所示肿瘤细胞膜表面向外形成突起, 细胞膜仍完整。

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

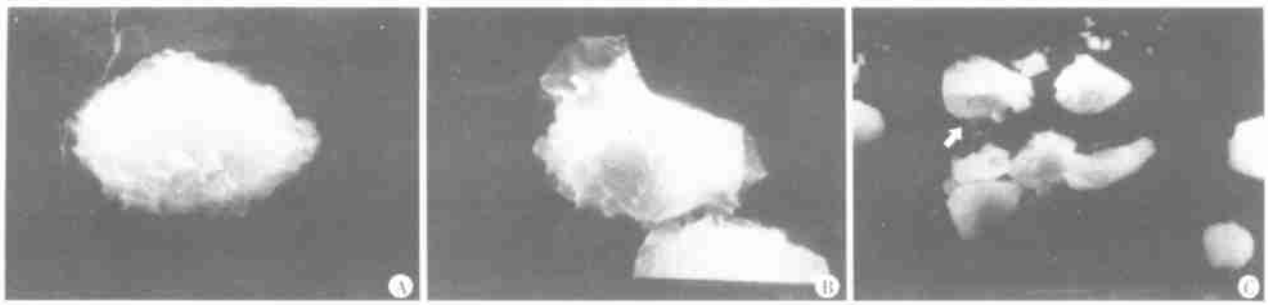


图 4 对照组 A(SEM× 4 000)与实验组 B(SEM× 4 000)、C(SEM× 1 500)扫描电镜结构变化情况(B箭头示胞质电穿孔, C 箭头所示胞突)

Fig 4 Changes of cell structure by scanning electron microscope in control group A (SEM× 4 000) and experimental groups B(SEM× 4000) and C(× 1500) (The arrowhead shows the hole on cell membrane in B and cytoplast protuberance in C)

3 讨论

据世界卫生组织统计,恶性肿瘤已成为严重威胁人类健康的主要疾患之一,目前仍主要采用手术、放射疗法及化疗的综合治疗方式,但由于在实际应用中受其各自适应症、禁忌证和副作用等因素的限制,治疗疗效仍不够理想。近 20 年来人们试图通过研究电化学疗法、微波和高能聚焦超声等新技术对肿瘤细胞的生物学作用效应,寻求新的治疗途径。微波及高能聚焦超声均属于肿瘤热疗范畴。它们是通过局部高温热效应致肿瘤细胞蛋白质变性,凝固性坏死;空化效应致肿瘤细胞机械性破坏而使肿瘤不可逆性死亡。

电脉冲化疗法与热疗不同,它是利用瞬间高电压的电脉冲刺激细胞膜形成暂时可逆性电穿孔,使本来难以通过细胞膜的化疗药物进入细胞内,增强细胞毒作用,达到杀灭肿瘤的目的。EIC 实验研究报道很多,而且已被用于头颈部鳞癌、黑色素瘤、基底细胞癌等肿瘤的临床治疗,并且取得了 85.3%的缓解率[4]。Ramirez 等[5]在采用 EIC 治疗肿瘤时,以单用电脉冲实验作对比,得到低剂量脉冲作用下血凝和血运阻塞效应。我们的前期实验结果也显示脉冲电场所致离体肿瘤组织血管变性坏死,血栓形成及肿瘤细胞核固缩、核碎裂及核溶解等征象[2]。证实单用脉冲电场确能致肿瘤组织细胞形态学改变。因而我们试图不使用化疗药物,直接用能量可控陡脉冲作用于 SKOV3 卵巢癌细胞,观察其杀伤效应。

通过细胞电化学分析,肿瘤细胞膜具有较高的负电荷,在脉冲电场的作用下,会向阳极聚集。在本实验中通电后在持续陡脉冲作用下,我们通过倒置显微镜观察到活体肿瘤细胞在脉冲场中的动态变化过程,也进一步证实了肿瘤细胞带负电荷,在电场中向阳极运动,这种特性有利于脉冲电场选择性杀死肿瘤细胞。同时由于电解作用使电极针局部培养液 pH 值发生了改变。朱帆三等[6]认为电脉冲作用于组织的效应是通过能量叠加累积达一定量而产生一系列的电生理化学反应,导致脉冲电场作用区内 pH 值改变。细胞的正常功能有赖于合适的周围环境,其中 pH 值,渗透压等必须维持在一定范围内,才能适合于不同酶蛋白系的活性和物质代谢的进行。肿瘤细胞由于它较正常细胞生长活跃,对周围环境的变化更加敏感,因而肿瘤细胞生存环境的改变也可能是导致其死亡的原因之一。

本实验中由于细胞悬液中两电极间产生的是非均匀陡脉冲电场,因此陡脉冲可引起肿瘤细胞不同程度的病理改变,继而引发一系列生物学效应。正如细胞超微结构所示重者肿瘤细胞肿胀溶解性坏死,细胞器结构消失,细胞膜完整性破坏;轻者出现胞突及胞质、线粒体肿胀空化等现象,但细胞膜完整性尚未破坏。相应的扫描电镜观察也显示出陡脉冲引起质膜外表面电穿孔和胞突现象。细胞膜不仅是细胞的一道重要屏障,而且是细胞进行内外物质与信息交换的场所,张锦珠等[7]研究发现在强脉冲电场作用下,可造成细胞膜蛋白和膜骨架蛋白的脱出使细胞膜稳定性降低,细胞易变形和形成伪足,甚至死亡。这种看法与我们观察到的结果是一致的。肿瘤细胞重度损伤的形态学变化向我们揭示出陡脉冲可直接引起细胞质膜不可逆性电击穿,导致离子泄露、细胞膜内外的化学平衡被打破,从而引发溶解性坏死改变,这表现为陡脉冲的急性损伤效应。

线粒体是细胞 ATP 产生的场所,对各种因素反应敏感,且往往较其他形态学改变出现早,其状况直接影响细胞生存力[8]。如果线粒体损伤不可逆,则会影响细胞的增殖能力。在本研究中,对于细胞超微结构显示的线粒体不同程度的损伤,通过肿瘤细胞增殖能力曲线反映出随陡脉冲剂量的增加,抑制效应越明显,说

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

明低剂量下线粒体损伤是可逆的，在指数生长期仍表现出较强的增殖能力，而高剂量下线粒体损伤绝大部分是不可逆的，故增殖能力明显减缓。流式细胞周期分析结果可以看出，在所选剂量下，处于 DNA 合成和分裂期的肿瘤细胞，可能对陡脉冲电场更加敏感，而易受到损伤，使得 $G_0 \sim G_1$ 期细胞相对增多，并表现为剂量依赖关系。提示陡脉冲能引起细胞内 DNA 的损伤，出现 $G_0 \sim G_1$ 期阻滞现象，从另一方面又证实了陡脉冲能够抑制肿瘤细胞的增殖。这反映为陡脉冲的迟发性抑制作用。

另外，在整个实验过程中温度变化不大，最高仅为 30 ℃，而传统的肿瘤温热疗法需 42 ℃以上才能发挥杀灭肿瘤细胞的作用，因此陡脉冲在此过程中可能起主要作用的是非热生物学效应。

综上所述，本研究揭示陡脉冲对体外培养的恶性肿瘤细胞存在急慢性损伤效应，不仅能通过不可逆性电击穿直接杀死肿瘤细胞，改变其生存环境，还能抑制瘤细胞的增殖。而且陡脉冲输出剂量可调，操作方便，同时又克服了化疗药物的毒副作用，因而用于肿瘤的治疗是可行的。值得进一步探索其治癌机制，为今后的临床试验提供理论依据。

参考文献：

[1] Schoenbach K H, Abou-Ghazala A, Vithoulkas T, *et al*. The effect of pulsed electrical fields on biological cells[J]. IEEE, 1997, 73－78.
[2] 李大强，熊 兰，胡丽娜，等. 能量可控陡脉冲对离体肿瘤组织杀伤作用的观察[J]. 重庆医科大学学报，2001，26(4)：413－415.
[3] 温汉平，王小宁，孙华蕴，等. 肿瘤细胞体外药敏实验 MTT 分解法[J]. 中华肿瘤杂志，1993，15(6)：470－471.
[4] Mir L M, Glass L F, Sersa G, *et al*. Effective treatment of cutaneous and subcutaneous malignant tumours by electrochemotherapy[J]. Br J Cancer, 1998, 77(12)：2336－2342.
[5] Ramirez L H, Orlowski S, An D, *et al*. Electrochemotherapy on liver tumors in rabbits[J]. Br J Cancer, 1998, 77(12)：2104－2111.
[6] 朱帆三，陈柏好，林家瑞，等. R 波同步电脉冲治疗癌症的实验研究[J]. 中国生物医学工程学报，1995，14(4)：299－305.
[7] 张锦珠，孔克健，鲁崎晤，等. 脉冲电场对人红细胞膜结构影响的冷冻断裂研究[J]. 实验生物学报，1994，27(2)：183－191.
[8] 于廷和，彭明利，王智彪. 超声损伤卵巢癌细胞线粒体的体视学研究[J]. 中国超声医学杂志，2000，16(4)：249－251.

（编辑 王 红）

文章编号：1000-5404(2003)16-1445-01

个案与短篇

胰岛素泵治疗 2 型糖尿病 6 例观察

Observation of 6 type 2 diabetic patients treated with insulin pump

艾智华，蔡红卫 （第三军医大学附属西南医院内分泌科，重庆 400038）

胰岛素泵在我国应用时间不长，我院近期开展了便携式胰岛素泵皮下连续输注胰岛素(Continous subcutaneous insulin injection, CSII)治疗糖尿病，现报告 6 例 2 型糖尿病患者的治疗情况。

1 资料与方法

1.1 对象

胰岛素泵治疗组 6 例(CSII)均为住院的 2 型糖尿病患者，男 5 例，女 1 例，年龄 37～54 岁，平均 45.3 岁，病程 3 个月至 7 年，平均 4.3 年。空腹血糖大于 16.7 mmol/L，其中初诊 4 例，2 例已较长时间用胰岛素治疗血糖控制不佳。常规胰岛素治疗组(Multi subcutaneous insulin injection, MSII)为同期住院的 2 型糖尿病患者 9 例，空腹血糖大于 16.7 mmol/L。所有病人均以糖尿病饮食治疗，体力活动相对固定，接受糖尿病知识教育。

1.2 方法

1.2.1 CSII 组的治疗 ①用优泌林 R 胰岛素，由 MiniMed 507 型胰岛素泵 24 h 不间断皮下输注基础值胰岛素，进餐前输入餐前负荷量；②血糖仪监测手指毛细血管血糖每日 7 次，包括三餐前、餐后 2 h、睡前，必要时测凌晨 2、4 时血糖。③泵治疗的初始剂量的设定：已使用胰岛素的患者，每日泵胰岛素用量＝泵治疗前胰岛素日剂量×0.8。未使用过胰岛素者，每日泵胰岛素用量＝体质量(kg)×0.44(U/kg)。每日泵胰岛素用量的 50％ 作为每日基础量，50％为餐前负荷量，平均分配到三餐前。④根据血糖情况调整胰岛素剂量。

1.2.2 MSII 组按常规胰岛素治疗方法，三餐前皮下注射优泌林 R 胰岛素，睡前皮下注射优泌林 N 胰岛素，监测三餐前、餐后 2 h、睡前手指毛细血管血糖。

1.3 血糖控制目标

空腹及餐前 4.4～7.0 mmol/L，餐后 2 h 4.4～8.0 mmol/L，连

（下转 1449 页）

作者简介：艾智华(1969－)，男，江西省临川县人，硕士，主治医师，主要从事糖尿病并发症发病机制及其防治方面的研究。电话：(023)68754138

收稿日期：2002-12-05；修回日期：2003-07-05

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