

基础研究

DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2012.02.012

PAEs对原代培养的大鼠脂肪细胞 PPAR- γ 2 表达的影响

伍 剑,代兴碧,郭春红,于露露,尹梁宇

(重庆医科大学公共卫生与管理学院卫生检验教研室,重庆 400016)

【摘要】目的:观察邻苯二甲酸酯类化合物(Phthalate acid esters,PAEs)对原代培养的大鼠脂肪细胞过氧化物酶体增殖剂激活受体- γ 2(Peroxisome proliferator activated receptor gamma 2,PPAR- γ 2)mRNA 表达的影响。方法:对脂肪细胞进行 PAEs 染毒培养,观察脂肪细胞多方面的变化,评价 PAEs 对脂肪细胞的影响。主要实验:①显微镜每天观察脂肪细胞的形态变化;②油红O染色提取法和 MTT 比色法检查脂肪细胞的生长状况;③提取脂肪细胞的总 RNA,通过逆转录 PCR 实验,分析 PPAR- γ 2 mRNA 的表达情况。结果:①PAEs 处理过的脂肪细胞由最初的小圆形变化为梭形最后变成椭圆形,大鼠脂肪细胞内出现脂肪颗粒,并逐渐增加,最后部分脂肪颗粒融合为较大的脂肪颗粒,符合脂肪细胞的发育规律。②随着培养液中 PAEs 浓度的增加,大鼠脂肪细胞产生的脂肪颗粒数量增多。③PPAR- γ 2 的表达随着 PAEs 浓度的增加而增加。结论:可以认为 PAEs 通过增强 PPAR- γ 2 表达来促进脂肪细胞的生长发育,研究结果将会为研究 PAEs 与肥胖的关系提供科学依据,为进一步研究 PAEs 对健康的影响提供了一个新的思路。

【关键词】邻苯二甲酸酯类化合物;过氧化物酶体增殖剂激活受体- γ 2;原代培养;RT-PCR 技术

【中国图书分类法分类号】R155.5;R124.3

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-08-08

Effects of PAEs on the gene expression of PPAR- γ 2
in primary rat adipocytes

WU Jian,DAI Xingbi,GUO Chunhong,YU Lulu,YIN Liangyu

(Department of Health Laboratory,College of Public Health and Administration,Chongqing Medical University)

【Abstract】Objective:To observe the effects of phthalate acid esters (PAEs) on the gene expression of peroxisome proliferator activated receptor gamma2 (PPAR- γ 2) in primary rat adipocytes. **Methods:**Adipocytes in cultures were exposed to PAEs. Main experiments:①observed morphological changes of adipocytes by microscope every day;②Oil red O staining and MTT assay method were used to check the growth status of adipocytes;③Total RNA from these adipocytes was extracted by reverse transcription PCR. **Results:**①Morphological of adipocytes with PAEs changed from Small round to spindle and finally turned into oval. lipochondrion was observed in adipocytes. Along with the increase of culturing time,lipochondrion in adipocytes gradually increase,finally part of lipochondrion fusion to a bigger lipochondrion,accord with the developing law of adipocytes.②A large lipochondrion was present as medium of concentration of PAEs increased;③The expression of PPAR- γ 2 increased as concentration of PAEs increased. The results of this study will provide the scientific basis for the relationship with obesity,and provide a new idea for the the further research of the effects of PAEs to health. **Conclusion:**The major role of adipocytes growth perhaps is that PAEs enhanced the expression of PPAR- γ 2.

【Key words】phthalate acid esters(PAEs);peroxisome proliferator activated receptor gamma 2(PPAR- γ 2);primary culture;reverse transcription PCR

邻苯二甲酸酯类化合物(Phthalate acid esters,PAEs),是一类全球性、持久性人工合成有毒有机污染物,属于环境类激素,经过环境和食品进入人体造成危害^[1-5]。过氧化物酶体增殖剂激活受体(Peroxisome proliferators-activated receptor,PPAR)- γ 2主要存在于脂肪细胞中,参与脂肪细胞分化,与肥

胖的发生、发展密切相关。文献显示,PPAR- γ 2可促可促进脂肪细胞分化^[6],同时,元立峰等的研究指出 PAEs 是一种过氧化物酶体增殖剂(Peroxisome proliferators,PP),是 PPAR- γ 2 的一种激活配基^[7,8]。因此,研究者假设 PAEs 可以通过激活 PPAR- γ 2 表达从而影响脂肪细胞的分化。本研究拟通过脂肪细胞原代培养,采用体外实验研究 PAEs 与 PPAR- γ 2 结合并影响其表达的能力,研究结果将为从分子生物学角度研究 PAEs 与肥胖的关系提供科学依据,为进一步研究 PAEs 对健康的影响提供了一个新的思路。

作者简介:伍 剑(1987-),男,硕士,

研究方向:环境与人体健康,卫生检验方法。

现工作单位:四川省德阳市疾控。

通信作者:代兴碧,女,教授,Email:cyddxb@163.com。

1 材料与方法

1.1 实验材料

SPF 级 20 日龄雄性 SD 大鼠,体重约 50~60 g(由重庆医科大学实验动物中心提供)。PBS、DMEM-F12(9.5 g/L)、MTT、DEPC、牛血清白蛋白(均由重庆医科大学生物科学研究院实验室提供);胎牛血清(杭州四季青生物工程材料有限公司);油红 O(美国 sigma 公司);I 型胶原酶(美国 sigma 公司);邻苯二甲酸二丁脂(DBP,分析纯,上海化学试剂总厂);邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP,分析纯,上海阿拉丁试剂公司);二甲基亚砜(DMSO,分析纯,天津市兴夏精细化工研究所);甲醇(分析纯,重庆川东化工有限公司试剂厂);异丙醇(分析纯,重庆川东化工有限公司试剂厂);氯仿(分析纯,重庆川东化工有限公司试剂厂);PCR 试剂盒(Takara,大连宝生物工程有限公司)。

1.2 大鼠脂肪细胞的原代培养

1.2.1 脂肪细胞的制备 断颈处死雄性 SD 大鼠,剪去大鼠腹部皮毛,无菌条件下取大鼠腹股沟及附睾处脂肪组织,移入装有 PBS 的培养皿中,转移至细胞间超净台。仔细去除肉眼可见的结缔组织和血管组织,用含有双抗的 PBS 洗涤 3 次,眼科剪将脂肪组织剪成大小为 0.5~1.0 mm³ 的颗粒,用 I 型胶原酶消化液(9.5 g/L DMEM-F12 培养液+20 g/L 牛血清白蛋白,临用时加入 1 g/L I 型胶原酶)于 37℃ 条件下消化 90 min,每隔 5 min 手动振荡 30 s。待脂肪颗粒被消化为乳糜液后,用 200 目不锈钢细胞筛过滤,过滤后细胞乳糜液移入离心管,1 000 r/min 离心 10 min,弃上清液。加入 2 ml 无血清培养液,小心吹打混匀制成脂肪细胞液。

1.2.2 染毒分组 由于 PAEs 种类繁多,因此选用文献报道的检出量较高、危害较大的邻苯二甲酸二丁酯(Dibutyl phthalate, DBP)和邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(Di-2-ethylhexyl phthalate, DEHP)作为 PAEs 的代表物来进行染毒,通过高中低 3 种不同的浓度进行染毒培养,见表 1。

表 1 染毒分组及染毒剂量 (mg/L)

Tab.1 Exposure group and dose (mg/L)				
分组	对照组	低浓度	中浓度	高浓度
DBP	0	50	100	200
DEHP	0	40	80	160

1.2.3 脂肪细胞的原代培养 以 5×10^4 个/cm² 密度将脂肪细胞液接种于 6 孔培养板(2 个)和 96 孔培养板,每孔加 200 μ l 和 2 500 μ l 基础培养液(9.5 g/L DMEM-F12 培养液,10% 胎牛血清),置于 37℃、5%CO₂ 培养箱培养。96 孔培养板和 6 孔培养板接种 1 d 后按表 1 所示,各组分别加入含有不同浓度 PAEs 的培养液,培养至 8 d,每 2 d 换 1 次培养液。96 孔培养板用作 MTT 法检测,6 孔培养板用作油红 O 染色提取和总 RNA 提取。

1.3 MTT 法检测

根据 Zhang^[9]描述的方法,96 孔培养板各处理组培养 8 d 后,每孔加入 20 μ l MTT,37℃ 下继续培养 4 h 后吸出所有液

体,加入 150 μ l 二甲基亚砜(DMSO),用酶标仪测定,波长为 492 nm 各孔的吸光度,记录数据。

1.4 油红 O 染色提取法

6 孔培养板各处理组培养 8 d 后,根据 Ramirez^[10]描述的油红 O 染色提取法,6 孔培养板培养物用 10%甲醛固定 10 min,PBS 漂洗 3 次,然后用油红 O 染色 1 h。移去染液,用水彻底冲洗后干燥,加入异丙醇提取结合到脂滴的染料,在波长 510 nm 处测定各孔的吸光度,记录数据。

1.5 大鼠脂肪细胞 PPAR- γ 2 PCR 分析

按 Takara 试剂说明提取总 RNA,用紫外分光光度仪测定其 A₂₆₀ nm/A₂₈₀ nm 比值在 1.4~1.8 之间,于 -80℃ 冰箱中保存。

根据刘桂芳的研究^[11],设计引物为:正义链:5'TTATTGA-CCCAGAAAGCGAT 3';反义链:5'TATGGCACTTTGGTAGCT-CTG 3',产物长度 290 bp。逆转录总反应体积为 20 μ l,以总 RNA 5 μ g 为模板,PPAR- γ 2 基因采用 oligo dT 为逆转录引物,加入逆转录酶 100 U,RNase Inhibitor 40 U,DEPC 水加至 20 μ l,37℃ 水浴 2.5 h,合成第一链 cDNA。PCR 反应以逆转录产物 2.0 μ l 为模板目的基因,加入 TaqDNA 聚合酶 2.5 μ l,总反应体积为 50 μ l,PCR 条件为:93℃ 变性 15 s,55℃ 退火 15 s,72℃ 延伸 1 min,40 个循环。

在 EP 管中配置反应液,以总反应体积 25 μ l 进行 PCR 扩增,其中含引物 1 μ l、dNTP 混合物 2 μ l、Taq 酶 1 μ l、模板 DNA 5 μ l、10 $\times$ PCR 缓冲液 2.5 μ l,DEPC 水加至 25 μ l。轻轻弹打混匀后,1 500 r/min 离心 30 s,采用下列条件:95℃ 5 min 后,采用 95℃ 变性 30 s,58℃ 退火 30 s,72℃ 延伸 1 min 的条件进行 40 个循环,最后 72℃ 再延伸 10 min。实验结束后进行 1.0% 琼脂糖凝胶电泳。在凝胶成像仪下观察条带,通过软件分析目标条带灰度值/内参条带灰度值的比值,进行半定量分析。

1.6 统计学方法

试验数据采用 SPSS 13.0 统计软件进行完全随机设计的方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 原代培养大鼠脂肪细胞的形态学观察

在大鼠脂肪细胞培养过程中,通过显微镜观察脂肪细胞形态的变化,主要的变化如图 1。

图 1 显示了分离、培养的脂肪细胞形态学的变化,前体脂肪细胞由最初的小圆形变化为梭形最后变成椭圆形,随着培养时间的增加,大鼠脂肪细胞内开始出现脂肪颗粒,并逐渐增加,最后部分脂肪颗粒融合为较大的脂肪颗粒,符合脂肪细胞的发育规律(图 1 中 3 张图片是在换液过程中进行观察的,并没有涉及染色这个步骤,只是在显微镜下进行脂肪细胞形态的观察,这些变化只在染毒组中可以观察到,且 3 组间并没有明显的区别,所以此处只注明染毒培养)。

因此,可以初步确定 PAEs 具有使大鼠脂肪细胞生长发育的能力。但是应该注意的是,大鼠脂肪细胞的发育情况并

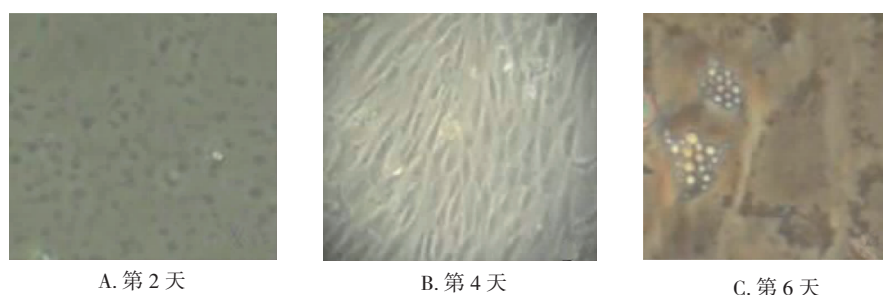


图 1 染毒培养过程中大鼠脂肪细胞的形态学变化

Fig.1 Morphological changes of adipocyte of rats during staining toxicity culture

不良,没有出现明显的大脂肪颗粒,同时含有脂肪颗粒的细胞数量并不多,大约在 50%左右。这可能是由于在进行大鼠脂肪细胞原代培养的过程中,并没有完全去除结缔组织,造成结缔组织细胞污染;也可能是由于 PAEs 不能够很好地促进大鼠脂肪细胞的发育。

2.2 MTT 法实验结果

按 1.3 的方法对 96 孔培养板进行处理后,记录下各处理组的吸光度,各处理组数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示(表 2),进行多样本均数比较的方差分析。

表 2 MTT 法测定不同处理组间的实验数据比较

组别	吸光度 (A)	例数 (n)
空白组	0.359 $\pm$ 0.080	8
低剂量组	0.488 $\pm$ 0.081	8
中剂量组	0.605 $\pm$ 0.076	8
高剂量组	0.726 $\pm$ 0.077	8

注:方差分析, $F=31.965, P<0.001$

由统计结果 $F=31.965, P<0.001$,说明各处理组吸光度值在统计学上并不完全相同,再进行两两比较,发现各处理组间吸光度值差异具有统计学意义,并且由无血清基础培养液组到高剂量组的吸光度平均值具有线性的上升趋势。

2.3 油红 O 染色提取法实验结果

按 1.4 的方法对 6 孔培养板进行处理后,记录下各处理组的吸光度,各处理组数据均以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示(表 3),进行多样本均数比较的方差分析。

表 3 油红 O 染色提取法测定不同处理组间的实验数据比较

组别	吸光度 (A)	例数 (n)
空白组	0.162 $\pm$ 0.086	8
低剂量组	0.381 $\pm$ 0.113	8
中剂量组	0.504 $\pm$ 0.087	8
高剂量组	0.647 $\pm$ 0.104	8

注:方差分析, $F=34.952, P<0.001$

由统计结果 $F=34.952, P<0.001$,说明各处理组吸光度值在统计学上并不完全相同,再进行两两比较,发现各处理组间吸光度值差异具有统计学意义,并且由无血清基础培养液组到高剂量组的吸光度平均值具有线性的上升趋势。

由表 2、3 可见,随着培养液中 PAEs 浓度的增加,大鼠脂肪细胞产生的脂肪颗粒数量增多,说明 PAEs 能够促进大鼠脂肪细胞产生脂肪颗粒。但需要注意的是,空白组的吸光度也很高,说明基底值很高,可能是由于结缔组织细胞污染造成的,这就造成了上述两个实验的实验数据可信度有所降低,并不能够客观地反映出 PAEs 对大鼠脂肪细胞生长发育情况的影响;同时,可以发现,虽然随着 PAEs 浓度的增加,大鼠脂肪细胞产生的脂肪颗粒数量增多,但是增加的幅度并不明显。

2.4 PCR 凝胶电泳成像实验结果

按 1.5 的方法进行 PCR 凝胶电泳,电泳 30 min 后,将电泳凝胶置于凝胶成像仪下进行观察。

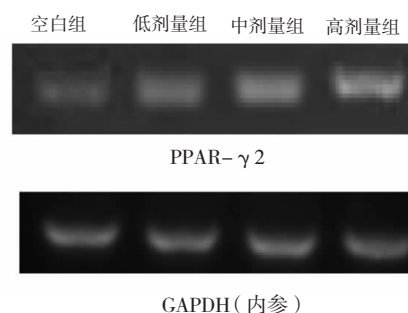


图 2 各处理组及内参基因条带

Fig.2 Groups of genes bands with internal reference

由图 2 可以看出,PPAR- $\gamma 2$ 在无血清处理组、低剂量组、中剂量组和高剂量组中均有表达,且可以看出,随着 PAEs 浓度的增加,PPAR- $\gamma 2$ 表达增强。同时需要注意,虽然可以看出表达增强,但是由图 2 中空白组和低剂量组两处条带来看,其表达增强并不明显,需要增加到高剂量才能看出明显的变化,这可能是由于 PAEs 并不是 PPAR- $\gamma 2$ 的强有力配体,需要浓度增加到一定程度才能明显地增强 PPAR- $\gamma 2$ 的表达。各处理组的灰度值见表 4。

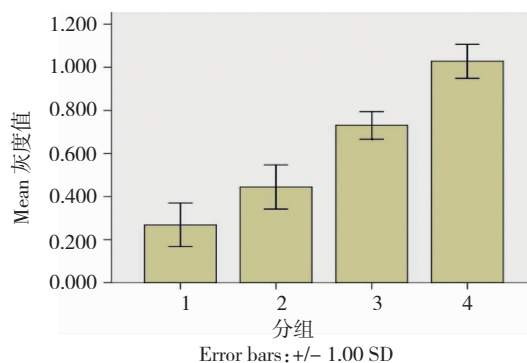
3 结 论

PAEs 广泛分布在环境中,可以在我们生活的每一个角落发现,任何塑料制品以及所盛装的液体,如饮用水、食用油等都会存在,我们每天所吃的食物,所饮用的水,所接触的塑料袋都含有 PAEs。研究发现,PAEs 大部分是脂溶性的物质,

表 4 各处理组灰度值的数据比较

Tab.4 Gray value of each treatment group data comparison

组别	灰度值	例数
空白组	0.268 ± 0.101	8
低剂量组	0.444 ± 0.102	8
中剂量组	0.730 ± 0.064	8
高剂量组	1.028 ± 0.079	8

注:方差分析, $F=114.576$, $P<0.001$ 

1. 空白组; 2. 低剂量组; 3. 中剂量组; 4. 高剂量组

注:对各处理组进行两两比较,发现各处理组间灰度值之比有差异具有统计学意义, $P<0.001$ 图 3 各处理组 PPAR- γ 2 mRNA 表达的变化Fig.3 Changes of PPAR- γ 2 mRNA with groups

只有少部分水溶性的物质才会随尿液排出,大部分于脂肪组织中蓄积。而 PPAR- γ 2 主要在脂肪组织中表达,对脂肪细胞和脂肪组织的分化起着非常重要的作用^[6]。由于 PAEs 是一过氧化物酶体增殖剂^[7],能够作为配基激活 PPAR- γ 2,因此,用 PAEs 染毒脂肪细胞能够评价 PAEs 对 PPAR- γ 2 表达的影响,从而为研究 PAEs 与肥胖的关系提供科学依据。

由于 PAEs 种类繁多,因此我们选用文献报道的检出量较高、危害较大的邻苯二甲酸二丁酯(Dibutyl phthalate, DBP)和邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(Di-2-ethylhexyl phthalate, DEHP)作为 PAEs 的代表物来进行染毒,通过高中低 3 种不同的浓度进行染毒培养。本研究的脂肪细胞生长情况检测选择了 3 个指标来评价 PAEs 对脂肪细胞的影响:脂肪细胞的形态改变、脂肪颗粒的产生和 PPAR- γ 2 mRNA 的表达。综合评价这 3 个指标,可以反映出 PAEs 影响 PPAR- γ 2 表达来促进脂肪细胞的生长发育情况。有研究指出,PAEs 可能与腹部肥胖和儿童肥胖相关^[12-14],而本研究结果也证明,在一定程度上,PAEs 浓度越高,PPAR- γ 2 表达也就高,脂肪细胞的生长发育情况就越好,但实验结果也显示,PAEs 并不能有效地促进脂肪细胞的分化,这可能是由于 PAEs 不能够有效地引起 PPAR- γ 2 的大量表达,需要浓度增加到一定程度才能明显地增强 PPAR- γ 2 的表达。

PPAR- γ 2 主要在脂肪组织中表达,在脂肪组织分化过程中,PPAR- γ 2 起着至关重要的作用^[6]。PPAR- γ 2 是一类需要配基激活的核受体,其配基分为天然配基和合成配基。人工合成配基包括抗糖尿病药物(噻唑烷二酮类如曲格列酮,

罗格列酮,环格列酮和吡格列酮)、非甾体类药物(消炎痛,舒林酸,布洛芬等)和白三烯;天然配基主要来源于食物,包括脂肪酸及其代谢衍生物(亚油酸,亚麻酸,氧化低密度脂蛋白和白三烯)、前列腺素及其衍生物和花生四烯酸代谢产物等,其中最有效的配基是前列腺素 J2(15-PGJ2)及其代谢产物 15-脱氢前列腺 J2(15d-PGJ2)。由此可以看出,PAEs 并不是 PPAR- γ 2 的强有力配基,不能够明显地增强 PPAR- γ 2 的表达。在本研究中,PAEs 在一定程度上引起了大鼠脂肪细胞的分化发育并产生了大量的脂肪颗粒,并且在一定程度上增强了 PPAR- γ 2 的表达,所以,可以认为 PAEs 具有能够增加 PPAR- γ 2 的表达,起到促进脂肪细胞生长发育而引起肥胖的作用。

从实验结果来看,虽然 PAEs 能够引起了大鼠脂肪细胞的生长发育并产生了大量的脂肪颗粒,并且在一定程度上增强了 PPAR- γ 2 的表达,但由于实验条件的限制以及各种因素的影响,体外实验并不能够有效地说明 PAEs 与肥胖的关系,因此研究结果存在一定的局限性。但本实验为未来从体内实验进一步科学地、深入地研究 PAEs 与肥胖的关系以及人群调查等方面的研究提供了科学依据。

参 考 文 献

- [1] Wormuth M, Scheringer M, Vollenweider M, et al. What are the sources of exposure to eight frequently used phthalic acid esters in Europeans[J]. Risk Anal, 2006, 26(3):803-824.
- [2] Liang D W, Zhang T, Herbert H P, et al. Phthalates biodegradation in the environment[J]. Indoor Air, 2004, 14(3):725-727.
- [3] 杨 梅, 扈志勇, 蒲俊兵, 等. 重庆典型岩溶区地下水水体 PAEs 分布特征研究[J]. 中国环境监测, 2009, 25(6):62-66.
- [4] 张茂生, 李明阳, 王纪阳. 东莞市蔬菜基地邻苯二甲酸酯(PAEs)的污染特征研究[J]. 广东农业科学, 2009, (6):172-175, 180.
- [5] 朱媛媛, 田 靖, 杨洪彪, 等. 空气和土壤中钛酸酯的污染及其相关性分析[J]. 环境污染与防治, 2010, 32(2):41-45.
- [6] Berger J, Moller D E. The mechanisms of action of PPARs[J]. J Biol Chem, 1997, 272(30):18779-18789.
- [7] 金 丰, 李隆贵. 过氧化物酶体增殖剂激活受体研究进展[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2002, 2(6):38-41.
- [8] 金 丰, 李隆贵. 过氧化物酶体增殖剂激活受体研究进展[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2002, 2(6):38-41.
- [9] 金 丰, 李隆贵. 过氧化物酶体增殖剂激活受体研究进展[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2002, 2(6):38-41.
- [10] 金 丰, 李隆贵. 过氧化物酶体增殖剂激活受体研究进展[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2002, 2(6):38-41.
- [11] 金 丰, 李隆贵. 过氧化物酶体增殖剂激活受体研究进展[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2002, 2(6):38-41.
- [12] 金 丰, 李隆贵. 过氧化物酶体增殖剂激活受体研究进展[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2002, 2(6):38-41.
- [13] 金 丰, 李隆贵. 过氧化物酶体增殖剂激活受体研究进展[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2002, 2(6):38-41.
- [14] 金 丰, 李隆贵. 过氧化物酶体增殖剂激活受体研究进展[J]. 中国分子心脏病学杂志, 2002, 2(6):38-41.

- Qi L F, Xu Z R. Peroxisome proliferation agent receptor and lipid metabolism regulation[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2003, 37 (7): 33-35.
- [9] Zhang C B, Teng L, Shi Y. Effect of emodin on proliferation and differentiation of 3T3-L1 preadipocyte and FAS activity[J]. Chin Med J (Engl), 2002, 115 (7): 1035-1038.
- [10] Ramirez-Zacarias J L, Castro-Muñozledo F, Kuri-Harcuch W. Quantitation of adipose conversion and triglycerides by staining intracytoplasmic lipids with Oil red O[J]. Histochemistry, 1992, 97 (6): 493-497.
- [11] 刘桂芳, 高彦彬, 林长青. 糖脂平对胰岛素抵抗大鼠脂肪组织 PPAR- γ 2mRNA 表达的影响[J]. 吉林中医药, 2009, 29 (5): 436-438.
- Liu G F, Gao Y B, Lin C Q. Effect of TangZhiping expression of PPAR- γ 2 mRNA of adipose tissue in insulin resistance rats[J]. Jilin Journal of Traditional Chinese Medicine, 2009, 29 (5): 436-438.
- [12] 李平, 代兴碧, 但洪. 肥胖儿童血清中三种 PAEs 的检测和

分析[J]. 卫生研究, 2008, 37 (5): 581-583.

- Li P, Dai X B, Dan H. Determine and parallel analysis of three kinds of PAEs in serum for obese children[J]. Journal of Hygiene Research, 2008, 37 (5): 581-583.
- [13] 代兴碧, 舒为群, 但洪. 城乡儿童血清中 3 种邻苯二甲酸酯类化合物的浓度[J]. 环境与健康杂志, 2008, 25 (6): 503-505.
- Dai X B, Shu W Q, Dan H. Serum level of three kinds of PAEs in children living in city and countryside in an area in China[J]. Journal of Environment and Health, 2008, 25 (6): 503-505.
- [14] Stahlhut R W, van Wijngaarden E, Dye T D, et al. Concentrations of urinary phthalate metabolites are associated with increased waist circumference and insulin resistance in adult U.S. males[J]. Environ Health Perspect, 2007, 115 (6): 876-882.

(责任编辑: 关蕴良)

(上接第 105 页)

死。

入院后应患者要求拟于次日抽血检查。予阿司匹林抗血小板, 阿托伐他汀钙稳定动脉粥样斑块, 丹红活血化瘀, 以及改善脑细胞代谢等治疗。患者于当天 19:00 出现左侧肢体无力进行性加重的同时, 右侧肢体亦出现进行性无力, 以至于完全不能动弹, 并出现呼吸困难, R35 次/min, 但神志清楚。急诊复查头颅 CT 与入院时 CT 所见无改变; 血气分析: pH 7.41, PO₂ 60 mmHg, PCO₂ 32 mmHg, HCO₃⁻ 29 mmol/L; 甲功 (27 日 17:20 报告): TT₄ 215.6 nmol/L (62~164 nmol/L), TT₃ 16.3 nmol/L (1.3~3.1 nmol/L), FT₄ 43.7 pmol/L (12~22 pmol/L), FT₃ 22.1 pmol/L (3.6~7.5 pmol/L), TSH<0.05 μ IU/ml (0.27~4.2 μ IU/ml); 电解质: K⁺ 不能测出, Na⁺ 138.2 mmol/L, Cl⁻ 106 mmol/L, HCO₃⁻ 26.3 mmol/L; 心电图: u 波出现, T 波低平, QT 间期延长。考虑诊断: 低钾型周期性瘫痪。立即予以生理盐水+氯化钾+硫酸镁行静脉补钾镁, 同时口服补钾, 以及气管插管、呼吸机辅助呼吸等治疗, 患者于 27 日 1:35 因室性心律失常而死亡, 住院时间不到 1 d。

2 讨论

周期性瘫痪是一种离子通道病^[1], 原发性低钾型周期性瘫痪是钙通道病^[2]。低钾型周期性瘫痪首发症状多为夜间或清晨起床时出现对称性肢体肌肉无力或完全瘫痪, 下肢重于上肢、近端重于远端。亦有以晕厥、癫痫、呼吸困难、心律失常及颈部屈肌无力等少见症状为首发症状的病例报道^[3], 但至今尚未见以偏侧肢体乏力起病的低钾型周期性瘫痪的报道。低钾型周期性瘫痪在临床上容易误诊为吉兰-巴雷综合征、多发性肌炎、重症肌无力、低血糖症^[4]等, 一般不会误诊为脑梗死。我院所报道的这例以偏侧肢体乏力起病的低钾型周期性瘫痪, 在起病之初就被误诊为脑梗死。造成误诊的原因主要是: 以突发偏侧肢体无力起病者在周期性瘫痪非常罕见, 而常常是卒中的一个主要特征; 加上该例患者头颅 CT 有腔隙性

梗死灶更容易误诊为脑梗死。

该患者给的教训是: 以偏侧肢体无力起病的患者, 如无面舌瘫及感觉障碍、无力肢体腱反射不增高、病理反射阴性时, 除了要考虑卒中外, 还有想到低钾型周期性瘫痪, 特别是肢体无力从一侧波及到另一侧时。及时进行电解质、心电图检查, 可帮助确定有无低钾型周期性瘫痪。也可通过肌电图检查来帮助诊断, 肌电图对周期性瘫痪的诊断准确率达 90% 以上^[5]。

参 考 文 献

- [1] Davies N P, Hanna M G. The skeletal muscle channelopathies: basic science, clinical genetics and treatment[J]. Curr Opin Neurol, 2001, 14 (5): 539-551.
- [2] 王维治, 黄煜敏. 钙通道与神经肌肉疾病[J]. 中华神经科杂志, 1999, 32 (3): 111-113.
- Wang W Z, Huang Y M. The calcium channel and neuromuscular disease[J]. Chinese Journal of Neurology, 1999, 32 (3): 111-113.
- [3] 吴冰, 王俊, 郑彦宏. 以晕厥为首发症状的低钾周期性瘫痪[J]. 临床误诊误治, 2006, 19 (2): 90.
- Wu B, Wang J, Zheng Y H. To start with syncope symptoms of low potassium periodic paralysis[J]. Clinical Misdiagnosis and Mistherapy, 2006, 19 (2): 90.
- [4] 廖晓明, 廖进宝. 低钾性周期性瘫痪三例误诊[J]. 临床误诊误治, 2005, 18 (2): 150.
- Liao X M, Liao J B. Low potassium periodic paralysis three cases of misdiagnosis[J]. Clinical Misdiagnosis and Mistherapy, 2005, 18 (2): 150.
- [5] 崔丽英. 伸伸手指就可诊断周期性神经麻痹[J]. 中国社区医师, 2009, 11 (14): 196.
- Cui L Y. Stretch your fingers can diagnosis periodic paralysis[J]. Chinese Community Doctors, 2009, 11 (14): 196.

(责任编辑: 冉明会)