

体外冲击波联合富血小板血浆 对骨质疏松骨折大鼠骨愈合的影响

张卫华 陈 东

摘要 目的 探究体外冲击波(ESW)联合富血小板血浆(PRP)对骨质疏松骨折大鼠骨愈合的影响。方法 采用卵巢摘除术(OVX)构建骨质疏松大鼠模型,将50只雌性3月龄SD大鼠随机均分为对照组(Control)、OVX组、OVX+ESW组、OVX+PRP组和OVX+ESW+PRP组,Control组切除等量卵巢周围组织;上述组别大鼠均造成右侧股骨骨折,并用克氏针髓内固定,观察ESW联合PRP对骨质疏松骨折大鼠骨愈合的影响,并探讨其作用机制。结果 OVX术后大鼠骨密度为(0.22±0.07)g/cm²,显著低于Control组($P < 0.05$)。影像学显示,OVX+ESW+PRP组骨折线清晰,有大量骨痂组织形成,骨折愈合程度优于OVX+ESW组、OVX+PRP组。HE染色显示,治疗后OVX+ESW+PRP组骨小梁变粗、数量增多,排列比较有序,组织病理改善效果优于OVX+ESW组、OVX+PRP组。ESW联合PRP治疗OVX大鼠后,大鼠骨折处最大负荷、骨痂组织中骨形态发生蛋白-2(BMP-2)、成骨分化关键转录调控因子2(RUNX2)及锌指结构转录因子(OSX)蛋白的表达升高,血清骨碱性磷酸酶(BALP)、骨钙素(BGP)及I型前胶原羧基端肽(PICP)水平降低($P < 0.05$),效果优于OVX+ESW组、OVX+PRP组。结论 ESW联合PRP可促进骨质疏松骨折大鼠骨愈合,可能与下调BALP、BGP及PICP水平,上调BMP-2、RUNX2及OSX的表达有关。

关键词 体外冲击波;富血小板血浆;骨质疏松;骨愈合

中图分类号 R 683.4

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)03-0422-06
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.03.019

骨质疏松是一种全身性骨骼疾病,以骨量低、骨组织微结构损坏、骨脆性增加、易骨折等为病理特征,多发于脊椎、髋部及腕部等。骨质疏松骨折虽不直接致死,但骨折后患者长期卧床容易产生一系列并发症,严重影响老年人生活质量,甚至危及患者生命^[1]。体外冲击波(extracorporeal shock wave, ESW)

是一种带有能量的生物学刺激,具有成骨作用。富血小板血浆(platelet rich plasma, PRP)中含有大量的生长因子,可促进成骨细胞的增殖与活化、血管与骨再生,有助于骨缺损的修复。据报道^[2-3], ESW、PRP对骨质疏松骨折大鼠骨愈合有一定促进作用,但关于二者联合在骨质疏松骨折大鼠中的研究较少。现通过建立骨质疏松骨折大鼠模型,分析ESW联合PRP对大鼠模型骨愈合的影响,并初步探究其作用机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物 50只雌性SD大鼠,体质量200~220g,3月龄,购自广州弗尔博生物科技有限公司,动物许可证号:SCXN(粤)2018-0136,SPF级动物房中适应性喂养3d后用于后续实验。

1.2 试剂与仪器 克氏针(上海易汇生物科技有限公司);ELISA试剂盒(美国Thermo公司);蛋白一抗(美国Cell Signaling公司);骨密度仪(美国Faxitron公司);C型臂X光片机(德国SIMENS公司);显微镜(德国Eppendorf公司);冲击波治疗仪(意大利PAGANI公司)。

1.3 模型构建

1.3.1 骨质疏松模型 采用双侧卵巢摘除术(ovariosteresis, OVX)构建骨质疏松大鼠模型^[4],腹腔注射戊巴比妥麻醉大鼠,腹部去毛备皮,消毒后开腹,小心剥离肌层,暴露卵巢(呈淡红色、卵圆形,表面有不规则结节状卵泡,周围有白色脂肪系带)切除整个卵巢组织,依次缝合、关腹。对照组(Control)切除等量卵巢周围脂肪组织替代;3个月后采用骨密度仪检测大鼠右侧股骨骨密度,验证骨质疏松模型是否构建成功。术后注意保暖和抗菌(腹腔注射5万单位青霉素钠盐,连续注射3d),各组大鼠分笼饲养,自由摄食饮水。

1.3.2 骨质疏松骨折模型 骨质疏松大鼠模型构建3个月后,参照文献^[5]制备骨质疏松骨折模型。麻醉大鼠,于右侧膝关节内侧和股骨远端外侧作切口,暴露膝关节,钝性分离髌骨,暴露股骨髁间窝;于

2019-12-20 接收

基金项目:湖北省卫生健康委员会2019~2020年度面上项目和血防专项(编号:WJ2019M038)

作者单位:武汉市汉阳医院骨一科,武汉 430050

作者简介:张卫华,男,主治医师,本科,责任作者, E-mail: gpywzs@163.com

股骨中远端外侧作 1.0 cm ~ 1.5 cm 切口,逐层分离,暴露股骨中远端,使用钢锯横向切断,造成骨折;植入克氏针(直径 1.5 mm),从股骨远端髓间窝穿出,再反向插入股骨近端,最后于股骨髓间窝处剪短克氏针。术后注意保暖和抗菌(腹腔注射 8 万单位青霉素钠盐,连续注射 3 d),各组大鼠分笼饲养,自由摄食饮水。

1.4 分组与干预 将 50 只雌性 SD 大鼠随机均分为 Control 组、OVX 组、OVX + ESW 组、OVX + PRP 组和 OVX + ESW + PRP 组,造模过程中均未出现感染和死亡。除 Control 组外,其他组采用 OVX 法构建骨质疏松大鼠模型,Control 组切除等量卵巢周围组织;上述组别大鼠均造成右侧股骨骨折,并用克氏针髓内固定。骨质疏松骨折模型构建 1 周内,OVX + ESW 组大鼠骨折处予以 ESW 治疗,OVX + PRP 组予以 PRP 治疗,OVX + ESW + PRP 组予以 ESW 联合 PRP 治疗;冲击波参数:能流密度 0.28 mJ/mm²,频率 5 Hz,2 000 脉冲/只,1 次/周,共治疗 8 周。PRP 的制备:各组大鼠术前眼眶取血 0.3 ml,仅 OVX + PRP 组和 OVX + ESW + PRP 组大鼠骨折处注入 PRP 凝胶(PRP:凝血酶体积比 = 10:1)。

1.5 观察指标

1.5.1 影像学观察 骨质疏松骨折模型构建后、治疗 8 周时,麻醉大鼠,取俯卧位,采用 C 型臂 X 光片机观察骨折处对位对线、加锁髓内针位置及骨痂生成情况,分析股骨骨折处愈合情况,以上阅片过程由 2 名不参与手术过程骨科医师独立进行,并共同商议出最终结果。

1.5.2 组织学观察 干预结束后,采用断颈法处死大鼠,取出右侧股骨骨折处骨痂组织,固定于 10% 的甲醛中,经 20% 乙二胺四乙酸(ethylenediamine tetraacetic acid,EDTA)脱钙处理后,行常规石蜡包埋切片(厚度 0.5 cm),HE 染色后显微镜下观察组织学变化。

1.5.3 生物力学观察 干预结束后,采用断颈法处死大鼠,取出骨折股骨,并剔除周围软骨组织和髓内针,行三点弯曲试验,检测骨折股骨最大载荷。

1.5.4 血清骨生化指标的检测 干预结束后,麻醉大鼠,立即心脏取血,以 3 000 r/min 离心 10 min,分离上清液,参照 ELISA 试剂盒说明书步骤进行操作,检测大鼠血清骨碱性磷酸酶(bone alkaline phosphatase,BALP)、骨钙素(bone gla protein,BGP)及 I 型前胶原羧基端肽(procollagen type I carboxy-terminal peptide,PICP)的含量。

1.5.5 BMP-2 通路蛋白的检测 干预结束后,采用断颈法处死大鼠,取出右侧股骨骨折处骨痂组织,参照蛋白提取试剂盒说明书提取骨架组织中的总蛋白,检测蛋白浓度后,取 50 μg 进行 SDS-PAGE 凝胶电泳,待溴酚蓝电泳至底部时,将蛋白条带电转至 PVDF 膜,浸没于 5% 脱脂奶粉中封闭 2 h,4 °C 孵育相应蛋白一抗过夜,包括 β-Actin(1:1 000)、骨形态发生蛋白-2(bone morphogenetic protein-2,BMP-2)(1:1 500)、成骨分化关键转录调控因子 2(runt-related transcription factor 2,RUNX2)(1:1 500)及锌指结构转录因子(osterix,OSX)(1:1 000);分别浸没于辣根过氧化物酶标记山羊抗兔、抗鼠蛋白抗体(稀释比均为 1:8 000)中孵育 1 h,滴加 ECL 发光液显影,采用 Image J 软件扫描蛋白条带,以 β-Actin 为内参,计算 BMP-2、RUNX2 及 OSX 的相对蛋白表达量。

1.6 统计学处理 数据分析采用 SPSS17.0 统计学软件,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用独立配对 *t* 检验,以 *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 骨质疏松大鼠骨密度的变化 行 OVX 术 3 个月,Control 组大鼠骨密度为 (0.29 ± 0.05) g/cm²,行 OVX 术大鼠的骨密度为 (0.22 ± 0.07) g/cm²,显著低于 Control 组(*t* = 2.813, *P* = 0.009)。

2.2 ESW 联合 PRP 对骨质疏松骨折大鼠影像学的影响 如图 1,右侧股骨骨折术后 X 线检查显示,术后各组大鼠骨折固定情况良好;治疗 8 周后,Control 组骨折线基本消失,并有连续的骨痂组织通过骨折断端;OVX 组骨折清晰,骨折断端为纤维性软骨痂;OVX + ESW + PRP 组骨折线模糊,有大量骨痂组织形成,骨折愈合程度优于 OVX + ESW 组、OVX + PRP 组。

2.3 ESW 联合 PRP 对骨质疏松骨折大鼠骨痂组织病理学的影响 如图 2,HE 染色显示,治疗 8 周后,Control 组有大量成熟的骨小梁形成,且粗大、排列整齐;OVX 组软骨痂周围部分软骨组织出现坏死,原始骨小梁间隙为结缔组织;与 OVX 组相比,OVX + ESW + PRP 组骨小梁变粗、数量增多,排列比较有序,组织病理改善效果优于 OVX + ESW 组、OVX + PRP 组。

2.4 ESW 联合 PRP 对骨质疏松骨折大鼠生物力学的影响 治疗 8 周后,与 Control 组相比,OVX 组

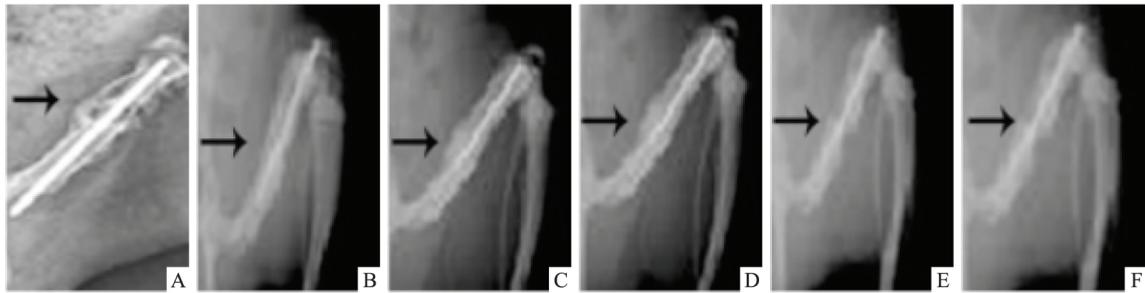


图1 ESW 联合 PRP 对骨质疏松骨折大鼠影像学的影响(箭头标注为骨折处)

A: 术后骨折固定情况; B~F: 治疗 8 周后影像学表现; B: Control 组; C: OVX 组; D: OVX + ESW + PRP 组; E: OVX + ESW 组; F: OVX + PRP 组

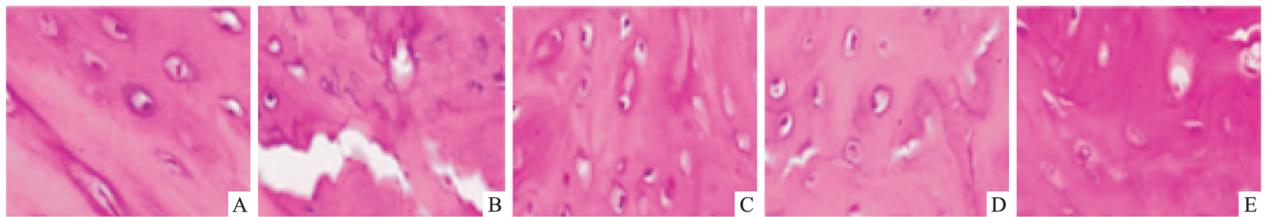


图2 ESW 联合 PRP 对骨质疏松骨折大鼠骨痂组织病理学的影响 HE ×400

A: Control 组; B: OVX 组; C: OVX + ESW + PRP 组; D: OVX + ESW 组; E: OVX + PRP 组

大鼠骨折处最大负荷降低 ($P < 0.05$) ; 与 OVX 组相比 ,OVX + ESW + PRP 组最大负荷升高 ($P < 0.05$) , 且分别高于 OVX + ESW 组、OVX + PRP 组 ($P < 0.05$) 。见表 1。

表 1 ESW 联合 PRP 对骨质疏松骨折大鼠生物力学的影响 ($n = 10 \bar{x} \pm s$)

组别	最大负荷(N)
Control	20.16 ± 0.58
OVX	10.34 ± 0.35 [#]
OVX + ESW + PRP	16.57 ± 0.41 [*]
OVX + ESW	13.16 ± 0.38 [*]
OVX + PRP	12.98 ± 0.45 [*]
F 值	739.697
P 值	0.000

与 Control 组比较: [#] $P < 0.05$; 与 OVX 组比较: ^{*} $P < 0.05$

2.5 ESW 联合 PRP 对骨质疏松骨折大鼠血清骨生化指标的影响 如图 3 治疗 8 周后 , 各组大鼠血清 BALP、BGP 及 PICP 水平的比较差异有统计学意义 ($F = 5.423、5.391、5.360, P = 0.001、0.001、0.001$) ; 与 Control 组相比 ,OVX 组大鼠血清 BALP、BGP 及 PICP 水平升高 ($P < 0.05$) ; 与 OVX 组相比 ,OVX + ESW + PRP 组 BALP、BGP 及 PICP 水平降低 ($P < 0.05$) , 而 OVX + ESW 组、OVX + PRP 组 BALP、BGP 及 PICP 水平无变化 ($P > 0.05$) 。

2.6 ESW 联合 PRP 对骨质疏松骨折大鼠骨痂组织 BMP-2 通路蛋白的影响 如图 4 治疗 8 周后 ,

各组大鼠骨痂组织中 BMP-2、RUNX2 及 OSX 蛋白的表达比较差异有统计学意义 ($F = 28.122、39.182、30.028, P = 0.000、0.000、0.000$) ; 与 Control 组相比 ,OVX 组大鼠骨痂组织中 BMP-2、RUNX2 及 OSX 蛋白的表达下调 ($P < 0.05$) ; 与 OVX 组相比 ,OVX + ESW + PRP 组、OVX + ESW 组和 OVX + PRP 组 BMP-2、RUNX2 及 OSX 蛋白的表达上调 ($P < 0.05$) , 但 OVX + ESW + PRP 组上调幅度大于 OVX + ESW 组和 OVX + PRP 组 ($P < 0.05$) 。

3 讨论

本研究采用 OVX 处理大鼠 , 发现大鼠骨密度降低 , 提示骨质疏松大鼠模型复制成功。ESW 是一种具有力学性质的声波 , 主要通过振动、高速运动等导致介质极度压缩而富集能量 , 可影响介质物理性质 , 使其压强、温度、密度等发生跳跃式改变 ; 且 ESW 可通过调节发生设备功率而控制能量大小 , 还可控制输出方向及形状实现靶向治疗 , 因此 , ESW 具有准确定位、精准调控的优势^[6]。PRP 中含有多种生长因子 , 在细胞增殖、分化、趋化及血管形成过程中有重要作用 , 可促进各类细胞的修复 ; 大量基础实验和临床研究^[7]报道 , PRP 可通过诱导前成骨细胞趋化和有丝分裂 , 上调胶原基质的合成 , 并阻碍破骨细胞生成、骨吸收 , 从而促进骨再生。但 ESW 联合 PRP 在骨质疏松骨折大鼠中的研究较少。

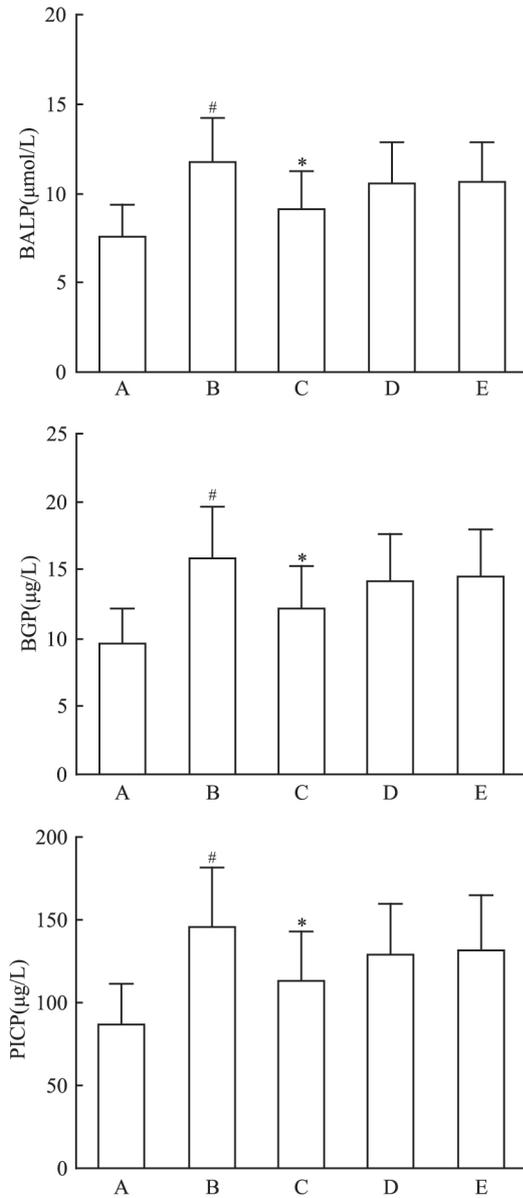


图3 ESW联合PRP对骨质疏松骨折大鼠血清骨生化指标的影响
A: Control组; B: OVX组; C: OVX + ESW + PRP组; D: OVX + ESW组; E: OVX + PRP组; 与Control组比较: [#]*P* < 0.05; 与OVX组比较: ^{*}*P* < 0.05

本研究表明,治疗8周后,OVX + ESW + PRP组并未出现完全愈合现象,但观察到大鼠骨折线OVX组明显模糊,提示ESW联合PRP可早期增强成骨细胞的增殖、分化活性。同一般骨折愈合过程相似,股骨骨折的愈合也包括纤维愈合期、骨痂形成期、骨性愈合期及改造塑形期等4个阶段,而股骨骨折中骨痂形成以软骨内成骨为主^[8]。HE染色结果表明,ESW联合PRP能有效促进骨折处成骨细胞增殖、分化,产生大量的骨痂组织,并向成熟板状骨过渡,但各组大鼠愈合能力:对照组 > OVX + ESW +

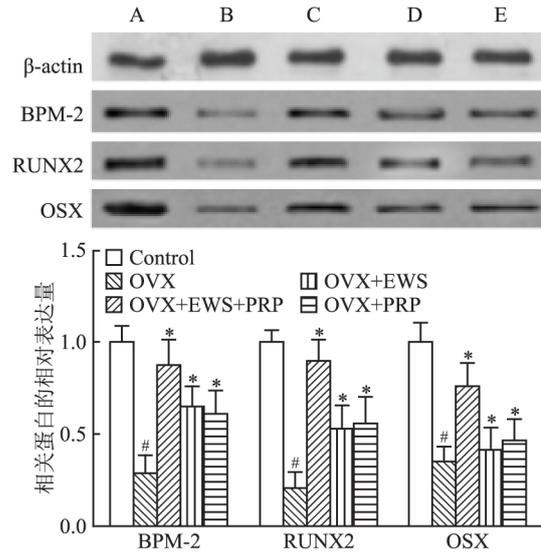


图4 ESW联合PRP对骨质疏松骨折大鼠骨痂组织BMP-2通路蛋白的影响

A: Control组; B: OVX组; C: OVX + ESW + PRP组; D: OVX + ESW组; E: OVX + PRP组; 与Control组比较: [#]*P* < 0.05; 与OVX组比较: ^{*}*P* < 0.05

PRP组 > OVX组,表明骨质疏松明显影响骨愈合,可能是卵巢切除后体内雌激素水平明显下降,导致骨代谢紊乱,引起新生骨不足,从而延缓骨愈合。三点弯曲实验可反映骨的强度和抗外力的能力,其在预测骨折、评价骨愈合方面有重要作用。本研究显示,ESW联合PRP能有效增加骨折处的生物力学,与文献报道^[9-10]结果基本相符。

BALP、BGP及PICP是常见的骨形成指标。BALP可直接反映成骨细胞的活性及功能,BGP是反映骨形成速率的特异性指标之一,而PICP参与骨胶原合成过程,是骨的特异性标志物^[11]。本研究结果显示,ESW联合PRP能下调大鼠BALP、BGP及PICP水平,降低骨转化率,促进骨折的愈合。据报道^[12],BMP-2信号通路能调控成骨细胞分化、扩增、矿化以及与破骨细胞耦联等过程。Wu et al^[13]研究发现BMP-2基因敲除小鼠,均存在骨骼发育及成骨细胞功能缺陷,具体表现为骨质、成骨细胞数量减少及成骨细胞分化、矿化功能障碍。RUNX2是BMP-2的靶基因,是成骨细胞分化、骨发育的重要调节因子^[14]。OSX也是BMP-2信号通路中重要的核转录因子,可调控多种成骨基因的表达^[15]。本研究显示ESW联合PRP能够上调BMP-2信号通路,促进成骨细胞的分化及发育,增加骨质疏松大鼠骨密度,从而加速骨质疏松骨折大鼠骨愈合。另外,本研究结果显示,ESW与PRP可协同改善骨质疏松骨折大鼠

生物力学性能及骨组织形态学 完成骨折修复 促进骨折愈合。后期还可采用不同方式构建骨质疏松骨折大鼠模型 深入探讨 ESW 联合 PRP 对骨质疏松骨折大鼠骨愈合的影响。

参考文献

[1] 易云平,张思伟,潘虹. 老年2型糖尿病骨质疏松相关因素分析[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(1): 59-61, 111.

[2] Huang H M, Li X L, Tu S Q, et al. Effects of roughly focused extracorporeal shock waves therapy on the expressions of bone morphogenetic protein-2 and osteoprotegerin in osteoporotic fracture in rats[J]. *Chin Med J(Engl)*, 2016, 129(21): 2567-75.

[3] Dietrich F, L Duré G, P Klein C, et al. Platelet-rich fibrin promotes an accelerated healing of achilles tendon when compared to platelet-rich plasma in rat[J]. *World J Plast Surg*, 2015, 4(2): 101-9.

[4] 戴冰,李玉星,张嘉妮,等. 六味地黄汤及其三个“一补一泻”药对干预绝经后骨质疏松大鼠模型的作用[J]. *中药药理与临床*, 2017, 33(6): 25-7.

[5] 邓君,邱波. 淫羊藿苷对骨质疏松性老年骨折模型愈合过程的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(5): 1187-90.

[6] 李涛,宋奇志,裴建祥,等. 体外冲击波治疗早中期膝关节骨关节炎的近期临床疗效观察[J]. *重庆医学*, 2017, 46(3): 338-40.

[7] Wang B, Geng Q, Hu J, et al. Platelet-rich plasma reduces skin flap inflammatory cells infiltration and improves survival rates through induction of angiogenesis: an experiment in rabbits[J]. *J Plast Surg Hand Surg*, 2016, 50(4): 239-45.

[8] Cho J W, Oh C W, Leung F, et al. Healing of atypical subtrochanteric femur fractures after cephalomedullary nailing: which factors predict union[J]. *J Orthop Trauma*, 2017, 31(3): 138-45.

[9] Hazan-Molina H, Reznick A Z, Kaufman H, et al. Periodontal cytokines profile under orthodontic force and extracorporeal shock wave stimuli in a rat model[J]. *J Periodontal Res*, 2015, 50(3): 389-96.

[10] 苏柯,白玉明,王军,等. 关节腔内联合软骨下骨松质骨内注射富血小板血浆治疗膝骨关节炎的疗效观察[J]. *山东医药*, 2017, 57(13): 83-5.

[11] 王燕,闫国霞,石翠霞,等. 抗骨质疏松组合方案辅助治疗老年骨质疏松性桡骨远端骨折可行性研究[J]. *中国骨质疏松杂志*, 2018, 24(3): 328-31.

[12] Segredo-Morales E, García-García P, Reyes R, et al. Bone regeneration in osteoporosis by delivery BMP-2 and PRGF from tetrionic-Alginate composite thermogel[J]. *Int J Pharm*, 2018, 543(1-2): 160-8.

[13] Wu L, Wang F, Donly K J, et al. Establishment of immortalized mouse Bmp2 knock out dental papilla mesenchymal cells necessary for study of odontoblastic differentiation and odontogenesis[J]. *J Cell Physiol*, 2015, 230(11): 2588-95.

[14] Zhang Y, Gao Y, Cai L, et al. MicroRNA-221 is involved in the regulation of osteoporosis through regulates RUNX2 protein expression and osteoblast differentiation[J]. *Am J Transl Res*, 2017, 9(1): 126-35.

[15] Zhang S Y, Gao F, Peng C G, et al. miR-485-5p promotes osteoporosis via targeting Osterix[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2018, 22(15): 4792-9.

Effects of extracorporeal shock wave combined with plateletrich plasma on bone healing in rats with osteoporotic fracture

Zhang Weihua, Chen Dong

(The First Dept of Orthopedics, Hanyang Hospital of Wuhan, Wuhan 430050)

Abstract Objective To explore effects of extracorporeal shock wave (ESW) combined with platelet rich plasma (PRP) on bone healing in rats with osteoporotic fracture. **Methods** Osteoporosis rat models were established by ovariosteresis (OVX). 50 female 3 months old SD rats were randomly divided into control group (Control), OVX group, OVX + ESW group, OVX + PRP group and OVX + ESW + PRP group, 10 cases in each group. In Control group, the same amount of ovarian surrounding tissue was excised. The right femur fracture was conducted on rats in the above groups, and the rats were given intramedullary fixation with Kirschner wire. The effects of ESW combined with PRP on bone healing in rats with osteoporotic fracture were observed. And the action mechanism was explored. **Results** After OVX, bone mineral density of rats was (0.22 ± 0.07) g/cm² and significantly lower than that in Control group (P < 0.05). Imaging showed that fracture line was clear in OVX + ESW + PRP group, there were large number of bone callus tissues formation, and fracture healing was better than that in OVX + ESW group and OVX + PRP group. HE staining showed that after treatment, bone trabecula was thicker and its number got more in OVX + ESW + PRP group. And arrangement was orderly, histopathological improvement was better than that in OVX + ESW group and the OVX + PRP group. After OVX rats were treated with ESW and PRP, in maximum load

血流感染肺炎克雷伯菌毒力基因分布及与 CRISPR-CAS 系统相关性研究

宋国滨 王刚 黄颖 徐元宏

摘要 目的 分析该院血流感染阳性肺炎克雷伯菌的常见荚膜血清型和毒力基因分布特征,探讨毒力基因与成簇的规律间隔的短回文重复序列及其相关序列(CRISPR-CAS)系统的相关性。方法 收集 Bac T/ALERT 3D 全自动培养仪报告阳性的血培养瓶并经鉴定为肺炎克雷伯菌 61 株,运用纸片扩散法和 Vitek-compact2 仪器法检测菌株对临床常用抗生素的敏感性,用拉丝实验筛选高黏液型肺炎克雷伯菌,聚合酶链式反应(PCR)检测 6 种常见荚膜血清型(K1、K2、K5、K20、K54、K57)、7 种毒力相关基因(rmpA、aerobactin、alls、Kfu、wcaG、magA、fimH)及 3 种 CRISPR-CAS 系统基因(CRISPR-1、CRISPR-2、CAS1)。结果 荚膜血清型以 K1、K2 型为主,检出率分别是 19.7%、13.1%。K5、K20、K57 各检出 1 例,未检出 K54 型。毒力基因 rmpA、aerobactin、alls、Kfu、wcaG、magA、fimH 检出率分别是 32.8%、23.0%、9.8%、31.1%、19.7%、19.7%、98.4%。高黏液表型筛选出 14 株。CRISPR-CAS 系统阳性检出 11 株,检出率为 18%,与 CRISPR-CAS 系统阴性菌株相比,其毒力基因携带率高,经 χ^2 检验,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 血流感染肺炎克雷伯菌荚膜血清型以 K1、K2 为主,毒力基因主要存在于表型为高黏液型的菌株,CRISPR-CAS 系统阳性菌株毒力基因携带率高。

关键词 高毒力肺炎克雷伯菌;CRISPR-CAS 系统;毒力基因
中图分类号 R 446.5

2019-11-27 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81171606)

作者单位:安徽医科大学第一附属医院检验科,合肥 230022

作者简介:宋国滨,男,硕士研究生;

徐元宏,男,教授,主任技师,博士生导师,责任作者,E-mail:xyhong1964@163.com

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2020)03-0427-05
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2020.03.020

肺炎克雷伯菌由于最近几年对临床常用抗生素的耐药率呈现大幅度增长,已经跃居为院内感染的第二大致病菌,引起临床医师、临床微生物实验室医务工作者的高度重视^[1]。除耐药率越来越高的特点外,其毒力基因同样受到广大医务工作者及科研工作者的关注,从 1986 年 Liu et al^[2]报道了肺炎克雷伯菌导致的原发性侵袭性肝脓肿,伴有转移性眼内炎病例以来,越来越多的病例在国内外很多医疗机构都有报道,因其具有高毒力性、高致病性,有学者^[3]将其称为高毒力肺炎克雷伯菌(*hypervirulent Klebsiella pneumoniae*, hvKP),其细胞壁结构具有丰富的荚膜多糖导致菌落呈现高黏液表型,可以抵抗中性粒细胞对其的杀伤作用,并可借助中性粒细胞向远处转移,引起眼部和中枢神经系统感染^[4]。尤其肺炎克雷伯菌引起的血流感染,导致的败血症极易增加患者的住院时间,引起患者的死亡。成簇的规律间隔的短回文重复序列(clustered regularly interspaced shortpalindromic repeats, CRISPR)及其相关序列(CRISPR associated sequences, CAS)组成的 CRISPR-CAS 系统广泛存在于古细菌和细菌中,是近 30 年发现的天然的适应性免疫调节系统^[5]。该研究着重探讨分离于安徽医科大学第一附属医院血流感染阳性的肺炎克雷伯菌的荚膜血清型、毒力相关基因的分布情况,以及与 CRISPR-CAS 系统的相关性,以便更好地阐明两者之间的关系,有助于为临

at fracture site, the expression of bone morphogenetic protein-2 (BMP-2), runt-related transcription factor 2 (RUNX2) and zinc finger transcription factor (OSX) in bone callus tissue increased, while the levels of serum bone alkaline phosphatase (BALP), bone gla protein (BGP) and procollagen type I carboxy-terminal peptide (PICP) decreased ($P < 0.05$). And the effect was better than that in OVX + ESW group and OVX + PRP group.

Conclusion ESW combined with PRP can promote bone healing in rats with osteoporotic fracture, which may be related to down-regulation of BALP, BGP and PICP levels, and up-regulation of BMP-2, RUNX2 and OSX expression.

Key words extracorporeal shock wave; platelet-rich plasma; osteoporosis; bone healing