

•综合评述•

细胞内第二信使—钙离子荧光测定方法的研究进展

郭 祎¹ 任兆玉¹ 侯 洵^{1,2}⁽¹⁾ 西北大学光子学与光子技术研究所, 西北大学光电子省级重点开放实验室, 西安 710069)⁽²⁾ 中国科学院西安光学精密机械研究所瞬态光学技术国家重点实验室, 西安 710069)

提要:在介绍了钙信号在生物生长发育过程中的信息传递,对各种内外刺激的生理反应中的作用的基础上综述了实现细胞内钙信号产生及传导的胞质自由钙离子的浓度变化的荧光测定方法,在荧光测定法中对 Ca^{2+} 指示剂的选择进行分类说明,为荧光测定方法中指示剂的选择提供依据。

关键词: Ca^{2+} 信号,钙调素,荧光测定方法, Ca^{2+} 指示剂

Fluorescence methods for analyzing intracellular second messenger—calcium Ion

Guo Yi¹ Ren Zhaoyu² Hou Xun^{1,2}⁽¹⁾ Institute of Photonics & Photon Technology and Provincial Key Laboratory of Photoelectronic Technology, Northwest University, Xi'an 710069)⁽²⁾ State Key Laboratory of Transient Optics and Technology, Xi'an Institute of Optics and Precision Mechanics, Chinese Academy of Sciences, Xi'an 710068)

Abstract: Mainly introduce the function of calcium signals in the message transmission of many procedures for biology growth and development involves physiology reactions to internal and external stimulation. In this base overview the measurement of fluorescence for analyzing the change of calcium concentration in cytoplasm which realize the production and transduction of calcium signals. In addition the sort description of Ca^{2+} indicator in the measurement of fluorescence is reviewed in this paper. Providing the evidence for the choice of indicator in the fluorescence measurement.

Key words: Calcium signals, CaM, the measurement of fluorescence, Ca^{2+} indicator

70 年代初, Ca^{2+} 受体蛋白—钙调素 (CaM) 的发现极其功能研究使 Rasmussen 在 1978 年提出 Ca^{2+} 第二信使学说。钙离子作为第二信使调控细胞内许多重要的生物和病理过程,例如,受精时钙离子激发生命,并控制细胞的生长分化;钙离子信号调控细胞的运动,并能触发细胞损伤和死亡等病理过程。因此近年来,钙作为第二信使在细胞信号转导中的作用一直是细胞生物学和生物光学研究的热点^[1-5]。

细胞内自由 Ca^{2+} 的分布与转移是形成 Ca^{2+} 信号的基础。一般认为,细胞对许多外界环境和激素等刺激作出的反应是通过胞质中自由 Ca^{2+} 浓度变化来传递的。当受到刺激时,胞外 Ca^{2+} 通过 Ca^{2+} 通道的开启进入胞内或胞内钙库(如内质网,液泡等)向胞质释放出 Ca^{2+} ^[2],使细胞溶质 Ca^{2+} 浓度增加,继而与 Ca^{2+} 能够高度亲和的蛋白质或酶(靶分子)结合,使其激活,引起细胞反应,从而起到传递细胞外信号的作用。

Ca^{2+} 信使的靶分子范围很广,种类很多,因而增加了 Ca^{2+} 信号途径的多样性和复杂性。钙调素 (CaM) 是目前已知胞内 Ca^{2+} 信号受体中最重要的一种,参与了多种生理活动的调节。钙调素介导的 Ca^{2+} 信号转导,是在 CaM 与其目的蛋白相互作用中对 Ca^{2+} 依赖性的不同使得细胞对其胞质中 Ca^{2+} 的升高作出各种复杂的生理反应。

细胞内存在多种多样的信号途径以便应答复杂的环境刺激,钙信号的时空多样性使其能更准确的传递各种复杂信号。其中钙波反映了整体钙信号的空间性质,钙峰体现了振幅特异性而钙振荡则体现了时间特异性。钙波是从一个钙库扩散到另一个钙库释放钙离子产生的,不同的信号会诱导细胞产生形状,形式,动力学各不相同的钙波。钙峰虽然有各种各样的表现,但常有恒定的基线,就钙峰的停滞期,升高时间和保持时间而言,每一种刺激所引起的胞质 Ca^{2+} 信号在这三方面都有其明显的特性。以不同形式的重复性和连续性周期出现的 Ca^{2+} 峰,称为钙振荡,钙振荡的幅度和频率编码了钙信号的特异性。如:集中于花粉管尖端的 Ca^{2+} 浓度梯度存在的振荡与花粉管生长速率密切相关,百合花粉管尖的 $[\text{Ca}^{2+}]$ 水平在 $700-3000\text{nmol/L}$ 范围内波动,与此相关,花粉管生长速率也在 $0.1-0.38\mu\text{ms}^{-1}$ 范围内波动^[6]。因而,准确测定细胞内钙离子的浓度 ($[\text{Ca}^{2+}]$) 具有非常重要的生物学意义。所以近年来钙离子的荧光测定法得到不断发展,已能使我们在亚细胞水平实时、原位、无损伤的研究细胞内 $[\text{Ca}^{2+}]$ 。

1 荧光测定法中的关键参数 K_d

荧光测定法是通过测定荧光强度来反映细胞中钙离子浓度的,而连接荧光信号和 Ca^{2+} 浓度的关键转换参数就是 Ca^{2+} 荧光指示剂的离解平衡常数 (K_d),它的单位为纳摩尔(nM)。当 $[Ca^{2+}]$ 在 $0.1 \times K_d$ 至 $10 \times K_d$ 范围内发生变化时, Ca^{2+} 荧光指示剂的吸收/发射光谱或荧光强度通常会发生变化。 K_d 受很多环境因素的影响,包括温度,PH 值,离子强度以及指示剂和蛋白质的相互作用等。

单波长测量时, Ca^{2+} 浓度与所测荧光强度的关系为 $[Ca^{2+}] = K_d(F - F_{min}) / (F_{max} - F)$ 。其中, F 为实验所测得的荧光强度, F_{min} 和 F_{max} 分别为无 Ca^{2+} 和 Ca^{2+} 饱和时所测得的荧光强度。比率测量时, $[Ca^{2+}] = K_d Q (R - R_{min}) / (R_{max} - R)$, 其中, R 为实验中在两个不同波长位置所测得的荧光强度比, R_{min} 和 R_{max} 分别为无 Ca^{2+} 和 Ca^{2+} 饱和时所测得的荧光强度比, Q 为选取 R 定义中处于分母的波长时无 Ca^{2+} 和 Ca^{2+} 饱和时所测得的荧光强度比^[7]。

高亲和力(低 K_d 值)的 Ca^{2+} 荧光指示剂可发出较强荧光,但它却对细胞内 Ca^{2+} 具有缓冲作用,而且高亲和力的 Ca^{2+} 荧光指示剂在低 $[Ca^{2+}]$ 时容易饱和,易导致细胞内 $[Ca^{2+}]$ 分析的误差。因此近来,低亲和力(高 K_d 值)的 Ca^{2+} 荧光指示剂被广泛应用于分析细胞器内 $[Ca^{2+}]$ 的变化。

2 荧光测定法中常用的 Ca^{2+} 荧光指示剂

2.1 紫外激发的 Ca^{2+} 荧光指示剂

表 1 列出了常用紫外激发的 Ca^{2+} 荧光指示剂的基本参数:

表 1 常用紫外激发的 Ca^{2+} 荧光指示剂的基本参数

Ca^{2+} Indicator	Salt	AM Ester	Dextran	Mode	K_d (nM)
Fura 2	有	有	有	Ex 340/380	145
Indo-1	有	有	有	Em 405/485	230
Bis-fura	有			Ex 340/380	370
Quin-2	有	有		Em 495	60
Fura-4F	有	有		Ex 340/380	770
Fura-5F	有	有		Ex 340/380	400
Fura-6F	有	有		Ex 340/380	5300
Berzothiaza-1	有	有		Ex 340/380	660
Berzothiaza-2	有	有		Ex 340/380	1400
BTC	有	有		Ex 400/480	7000

注:AM Ester 为指示剂的酯化型式,Dextran 为指示剂的 Dextran 聚合物,Ex 为激发波长,Em 为发射波长,单位为 nm

Fura-2 和 Indo-1 是紫外激发的双波长 Ca^{2+} 指示剂,他们在许多实验中是可以互换的。Fura-2 是双激发波长荧光指示剂,可作为比率成像显微法的染料。图 1 分别给出 Fura-2 和 Bis-fura-2 的激发荧光谱,从图 1(A)可以看出捆绑 Ca^{2+} 后,Fura-2 的最大激发波长从 372nm 转移到 340nm,而荧光发射强度仍为 510nm。相反的,Indo-1 通常由 351-364nm 氩离子激光器激发,是双发射波长荧光指示剂,可适用于流式细胞术仪法。在捆绑 Ca^{2+} 后,Indo-1 的激发波长不变仍为 353nm,最大发射波长却从 472nm 转移到 400nm。Fura-2 和 Indo-1 的 K_d 值都接近于哺乳动物细胞的基本 Ca^{2+} 水平(100nM)。

Bis-fura-2 吸收率大概是 Fura-2 的两倍,但量子产额及捆绑 Ca^{2+} 后的光谱几乎和 Fura-2 一样(从图 1 可以看出)。细胞内注入低浓度的 Bis-fura-2 就可发射出高强度的荧光,Bis-fura-2 的低亲和力降低了对胞内 Ca^{2+} 的缓冲作用,制造出反应更快的钙闪烁信号,而且它带有的负电荷增强了指示剂的持久力。

Quin-2 属于被 Tsien 发现的第一代 Ca^{2+} 指示剂。Quin-2 比 Fura-2,Indo-1,Fluo 和 Calcium Green 的吸收率和量子产额低,但需要更高的注入浓度,其酯化形式 Quin-2 AM 被用来衰竭胞液中的自由 Ca^{2+} ,以确保 Ca^{2+} 的单向性内流。

BTC 具有高选择性,可用来研究胰腺 β -细胞,CHO 纤维细胞原的胞外分泌的 Ca^{2+} 。用低亲和力的 Ca^{2+} 指示剂 BTC 和 Mag-fura-2 探测神经细胞的 Ca^{2+} 瞬间变化要比用高亲和力的 Ca^{2+} 指示剂 Fura-2 和 Calcium Green-2 反应更迅速。

紫外激发的 Ca^{2+} 荧光指示剂常用于 $[Ca^{2+}]$ 的比率分析。比率测量能够减少由于光漂白效应,指示剂泄漏,以及细胞厚度,细胞内荧光指示剂非均匀分布等因素造成的测量误差。

2.2 可见光激发的 Ca^{2+} 荧光指示剂

表 2 列出了常用可见光激发的 Ca^{2+} 荧光指示剂的基本参数:

Fluo-3 的 K_d 值较高,可用于测量高达 $5-10\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的细胞内钙离子浓度,有利于观察钙峰,不易发生钙缓冲作用。Fluo-3 与 Ca^{2+} 结合后荧光信号可增强 50-250 倍,敏感度较大。Fluo-3 的最

大激发波长为 506nm, 最大发射波长为 526nm 普通荧光素滤片也可用, 无需昂贵的石英镜片。Fluo-3 的激发波长可避开一些蛋白质及某些复合物的自发荧光区, 可在其他指示剂不能测量的情况下进行测量^[8], 近年来国内对植物中 Ca^{2+} 的研究, 多使用 Fluo-3, 在植物中已用于根, 原生质体, 胚发育和受精过程中的 Ca^{2+} 测定^[9]。

Fluo-5N, Rhod-5N, X-rhod-5N 极其衍生物的解离平衡常数 K_d 大约为 $1\mu\text{M}$ 可以被用来探测微摩尔范围的胞内钙离子水平, 低亲和力的 Ca^{2+} 指示剂拥有高的离子解离速率, 使它们比 $K_d < 1\mu\text{M}$ 的 Ca^{2+} 指示剂更适于跟踪快速流动的 Ca^{2+} 。

表 2 常用可见光激发的 Ca^{2+} 荧光指示剂的基本参数

Ca^{2+} Indicator	Salt	AM Ester	Dextran	Mode	$K_d(\text{nM})$
Fluo-3	有	有		Em 525	390
Fluo-4	有	有		Em 525	345
Fluo-5N	有	有		Em 520	90,000
Rhod-5N	有	有		Em 580	320,000
X-rhod-5N	有	有		Em 600	350,000
Calcium Green-1	有	有	有	Em 530	190
Calcium Green-2	有	有		Em 535	550
Calcium Orange	有	有		Em 575	185
Calcium Crimson		有		Em 615	185
Fura Red	有	有		Ex 420/480	140

Calcium Green 有以下几个重要特征: ①Calcium Green 在死细胞中比 Fluo-3 产生更多的荧光, 测量 Ca^{2+} 浓度更准确; ②Calcium Green-1 是首选的用于多光子激发活组织中 Ca^{2+} 浓度测定的指示剂; ③Calcium Green-1 的亲合力在没有 Mg^{2+} 时 ($K_d = 190\text{nM}$) 高于 Fluo-3 ($K_d = 390\text{nM}$) 或 Calcium Green-2 ($K_d = 550\text{nM}$); ④像 Fluo-3 AM 一样 Calcium Green 的酯化形式自身也是没有荧光的; ⑤Calcium Green 对细胞的光线损害小于 Fluo-3。

Calcium Orange 和 Calcium Crimson 可以以 AN 酯化形式被注入细胞, 捆绑 Ca^{2+} 后荧光发射强度增强。Calcium Orange 的最大激发波长接近 550nm, Calcium Crimson 的最大激发波长为 590nm, 是波长最长的 Ca^{2+} 指示剂, 适用于有自荧光干扰问题的样品。

Fura Red 是由可见光激发的 Fura-2 的衍生物, 也是唯一由可见光激发的用荧光显微镜和流式细胞术测定的比例测量法中使用的 Ca^{2+} 双波长荧光指示剂。可见光激发波长 (450-500nm), 最大发射波长为 660nm 的 Fura Red 将组织中自荧光和色素沉着

的干扰减小到最低。

综上所述, 可见光激发的 Ca^{2+} 荧光指示剂和紫外激发的 Ca^{2+} 荧光指示剂相比有以下几个优点: ①更适用于荧光显微镜和流式细胞仪; ②发射光谱受细胞自荧光和背景散射光影响较小; ③可见光辐射对细胞的损伤较 UV 辐射要小得多; ④可见光辐射对染料的吸收率更大, 从而允许活细胞内注入低浓度的染料, 降低了对活细胞的毒性。但这些 Ca^{2+} 荧光指示剂多数为单波长指示剂, 与钙离子结合前后其最大吸收波长和发射波长都是相同的, 主要应用于钙离子的动态变化, 钙离子分布特点的测定, 而在钙离子定量方面的应用则受到了一定的限制。

2.3 Ca^{2+} 生物发光指示剂: 水母发光蛋白

Ca^{2+} 生物发光指示剂 (例如水母发光蛋白) 是基于测定生物发光蛋白与 Ca^{2+} 通过分子内反应发射的可见光来分析细胞内 $[\text{Ca}^{2+}]^{[10,11]}$ 。近年来, 水母发光蛋白的基因已经被克隆出来, 并且通过基因重组可以将其基因整合到多种细胞中, 在这些细胞中表达出发光蛋白。水母发光蛋白与钙离子亲和力高, 所发出的荧光强度比较大。目前钙离子测定方法中水母发光蛋白法定位最准确, 测量精度最高。

3 荧光测定法中 Ca^{2+} 荧光指示剂的装载方法

3.1 显微注入法 水母发光蛋白和 Dextran 偶联的指示剂不能透过细胞膜, 必须通过显微注射的方法装载进入细胞内, 但这种方法对细胞有一定程度的损伤, 而且不适用于批量细胞和个体较小的细胞。

3.2 酸化导入法 离子型指示剂在周围介质呈酸性条件下与氢离子结合成为不带电的分子形式, 可以进入细胞内部, 在细胞内近中性的环境下, 又重新解离成为可以结合钙离子的离子型指示剂, 这种方法特别适用于植物细胞。

3.3 常温孵育法 AM 酯化型的指示剂分子是酯溶性的, 可以穿过质膜进入细胞内, 在细胞内酯酶作用下分解形成离子型指示剂。由于植物细胞壁中存在的非特异性酯酶的影响常使装载失败, 这种方法多用于动物细胞中。

3.4 低温导入法 1998 年 Zhang 和 Rengel 报道了这种方法, 其原理是, 低温条件下细胞壁中的酯酶活性受抑制, 因而无法水解酯化型指示剂, 但指示剂分子扩散进入细胞内的过程受低温的影响并不大, 它可以穿过细胞质膜进入细胞内部, 以低温处理一段时间后, 细胞内可以积累一定量的指示剂分子, 回到常温下后, 细胞内酯酶活性即回升, 从而将进入胞内

的指示剂分子水解成离子形式而与钙离子结合,于是在一定波长光的激发下便发出荧光^[12]。于低温下将钙离子指示剂 Fluo-3AM 导入百合花粉粒细

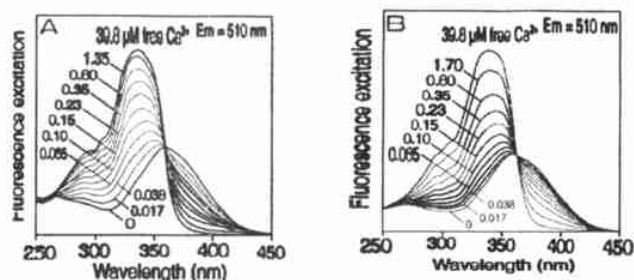


图 1 Fura-2(A)的激发荧光光谱, Bis-fura-2(B)的激发荧光光谱

此外,还有 ATP 诱导渗透法,阳离子输送法, Hypoosmotic shock, Influx pinocytic cell-loading reagent 等多种装载方法。

4 钙离子浓度的荧光测定方法

4.1 荧光分光光度计法

利用比色法测定悬浮液中细胞群体的平均荧光强度,其结果受细胞密度,大小,状态,钙离子指示剂装载量,着色细胞所占比例等因子影响,很难得到准确数值,现在已很少使用。

4.2 流式细胞仪法

流式细胞仪法用于测量流动溶液中悬浮细胞的荧光和散射光,其原理是利用压力使细胞悬浮液通过一根极细的小管,使之成为单细胞液流,利用激光作为激发光源使细胞产生荧光,利用灵敏的光电管以对单个细胞的荧光进行检测,还可以设置 2-3 个光路系统同时获得多个信息,可以用于钙离子浓度测定,特异蛋白含量测定以及在细胞多参数定量分析的基础上将群体中特定的细胞亚群单独分选出来,例如, Tarnok 利用流式细胞仪法无菌分离药物刺激后细胞内 Ca^{2+} 浓度生高的细胞,然后扩大培养^[14]。

4.3 CLSM(激光扫描共聚焦显微镜)法

CLSM 是一种新的三维成像设备,可获得普通光学显微镜无法达到的分辨率。同时具有深度识别能力及纵向分辨率,可对 200-400 μm 的切片进行扫描,因而能看到较厚生物标本中的细节。它利用置于光路中与激光焦点位置共轭的针孔抑制离焦区荧光和杂散光,通过在样品上移动扫描点,收集通过针孔的发射荧光而获得图象,因而提高成像的纵向空间分辨率($<1\text{mm}$)实现对目标区域三维成像。其主要优点是:成像清晰,可以对单细胞进行测量,可进

胞,结果对花粉的活力并不造成明显影响。在蚕豆叶片气孔保卫细胞和茎维管束薄壁细胞以及小麦根毛细胞中也取得良好效果。^[13]。

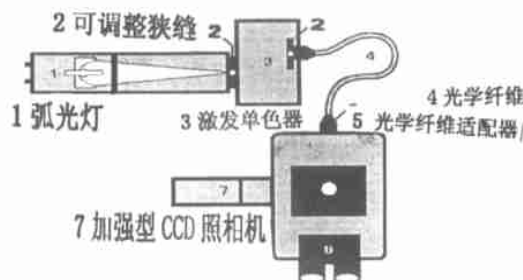


图 2 比率荧光成像法实验装置图 1 弧光灯 2 可调整狭缝 3 激发单色器 4 光学纤维 5 光学纤维适配器 7 加强型 CCD 照相机

行活体实验,三维重组功能。主要的局限在于激发波长有限(常用光源为氩离子或氩氦激光器)和时间分辨率不高。采用紫外激发共焦扫描显微术,时间分辨率可提高到图象速率 30 帧/秒^[15,16]在钙离子测定方面,CLSM 主要应用于单波长 Ca^{2+} 荧光指示剂的测定。

4.4 双光子激光扫描共聚焦显微镜法

分子的多光子激发需要的光子能量比单光子低,例如,双光子激发需要的光子能量大约是单光子激发所需能量的一半,因此多光子激发能够用红外或者近红外光代替紫外光。实际测量中只在焦点附近激发并产生荧光,具有固有的三维成像能力,大大减弱离焦区的光化学作用,减小对活细胞的损伤作用。在 CLSM 基础上发展起来的双光子激光扫描共聚焦显微镜具有成像穿透深度深,光学三维分辨率高等特点,为实时,原位观察生物活体提供了最佳方法。

4.5 比率荧光成像法

比率荧光成像法不同于一般的显微镜成像法,主要应用于双波长荧光指示剂的测定,它使用的仪器是比率荧光光谱仪,其光源为普通的氩弧灯,可产生适于双波长 Ca^{2+} 指示剂的两种不同波长,这两种波长以交互的方式激发置于倒置式显微镜载物台上的样品,样品发射的荧光由 CCD 同步接收从而获取高分辨率的图象。所有的系统运行都是由计算机控制,数据的采集和分析由软件完成,相应的软件还可以加工处理去除聚焦平面以外的杂光,以获得精确的聚焦效果。比率荧光成像法可对单细胞或多细胞内的离子动态变化进行实时观测。

5 结论与展望

近二十年来,细胞内钙离子的荧光测定法得到

快速发展, 我们已经得到在亚细胞水平实时, 原位, 无损伤的研究细胞内钙离子浓度变化情况的技术。未来, 各种新型 Ca^{2+} 荧光指示剂的应用, 可能提供许多有关 Ca^{2+} 信号的必要信息, 其中, 水母发光蛋白的转基因材料在钙离子荧光指示剂中会占有越来越重的比例。在双光子激光扫描共聚焦显微镜的基础上会发展出三光子激光扫描共聚焦显微镜, 甚至更多光子激光扫描共聚焦显微镜, 以进一步改善成像质量, 提高成像速度。我们希望在这些技术的发展下, 使我们更深入的研究和了解钙离子在细胞内的动态变化过程和生物调控机制, 得到关于信号时空特性的详细图谱及鉴定解释这一信号的靶蛋白, 从而通过物理解析的方法, 弄清楚各信号系统之间的相互关系, 找出细胞中不同类型 Ca^{2+} 信号能引起不同基因表达的直接证据, 以获得钙离子作为胞内第二信使在信号转导过程中的更多信息。

参考文献

- [1] 宋秀芬, 洪剑明植物细胞中钙信号的时空多阳性与信号转导. 植物学通报, 2001, 18: 436—444
- [2] 杨弘远. 钙在有花植物受精过程中的作用. 植物学报, 1999, 41: 1027—1035
- [3] 刘宏涛, 李冰, 周人纲. 钙—钙调素信号系统与环境刺激. 植物学通报 2001, 18: 554—559
- [4] 尚忠林, 马力耕, 王学臣, 孙大业. 细胞外钙调素对百合花粉细

- 胞内钙离子浓度的影响. 植物学报, 2001, 43: 12—17
- [5] 孙大业, 郭艳林, 马力耕, 崔素娟等编著. 细胞信号转导. 北京: 科学出版社, 2001
 - [6] Pierson E S, Miller D D, Callaham D A, Van Aken J, Hackett G, Hep-ler P K. Tip — localized calcium entry fluctuates during pollen tube growth. Dev Biol, 1996, 174: 160—173
 - [7] Grynkiewicz G, Poenie M, Gunter K K. J. Biol. Chem. [J], 1985, 260: 3440—3450
 - [8] Merritt JE, McCarthy SA, Davies MPA et al. Use of fluo — 3 to measure cytosolic Ca^{2+} in platelets and neutrophils. Biochem J, 1990, 269: 513—519
 - [9] 孟繁霞, 苗龙, 冷强, 张蜀秋. 测定蚕豆保卫细胞胞质中游离 Ca^{2+} 的荧光染料孵育法. 植物生理学通讯, 2001, 37 (5): 429—432
 - [10] Shimomura O. Soc. Exp. Biol. [J], 1985, 39: 351—372
 - [11] Tsuji F. I., Ohmiya Y., Fagan T. F., Toh H., Inouye S. Photochem. Photobiol. [J], 1995, 62: 657—661
 - [12] Zhang WH, Rengel Z. Determination of intracellular Ca^{2+} in cells of intact wheat roots: loading of acetoxymethyl ester of fluo — 3 under low temperature. Plant J, 1998, 15 (1): 147—151
 - [13] 尚忠林, 王永飞, 钱洪, 马力耕, 孙大业. 百合花粉细胞中钙离子的荧光测定法. 植物生理学通讯, 2001, 37 (4): 319—322
 - [14] Tarnok A. Rare — event sorting by fixed — time flow cytometry based on changes in intracellular free calcium. Cytometry [J], 1997, 27: 65—70
 - [15] Bacskaï B. J., Wallen A. K., Lw — Ram V., Griliner S., Tsien R. Y. Neuroon [J], 1995, 14: 19—28
 - [16] Hama T., Takahashi A., Ichihara A., Takamatsu T. Cell Signal. [J], 1998, 10: 331—337

·激光医学与医学·

CO₂ 激光治疗尖锐湿疣的治疗与护理

刘美玉 尉京成

(山东省莱阳中心医院, 莱阳 265200)

我院自 1994 年 8 月至 2002 年 8 月, 应用 CO₂ 激光治疗尖锐湿疣 69 例病员。愈后取得了满意疗效, 现将临床观察结果报告如下。

1 临床资料: 所有病例均经妇科门诊、皮肤门诊 (包括性病门诊) 肉眼诊断、病理诊断证实尖锐湿疣。69 例病历, 年龄 8—70 岁, 青壮年多数。传染途径: 婚外性行为, 夫妻传染。病程最长 1 年, 最短 1 个月。湿疣好发于大、小阴唇、阴道口、肛周、会阴。

2 临床表现: 外阴奇痒、破溃、出血, 外形: 粉色赘生物, 呈扁平状、乳头状、菜花状、树枝状赘生物, 或灰白色, 质脆、易破溃出血, 甚至继发感染。

仪器: 采用激光机, 波长 10.6cm, 输出功率 250V。

手术方法: 常规月经干净 5—7 天, 治疗方法: 女性取膀胱截石位, 0.5% 碘伏棉球消毒疣体, 采用 1—2% 利多卡因在疣体基底部, 浸润麻醉 1 分钟后, 激光功率 80—150V, 激光聚

集点光束进行全凝烧灼, 汽化后, 新洁尔灭棉球轻擦, 露出新鲜的硬化表皮底面, 勿烧邻近正常皮肤和粘膜, 深度不超过表皮基底层, 如果疣体比较多、大者可多次治疗。

3 术后护理

① 术后创面深烧伤湿润膏 2 小时一次消毒止痛。

② 术后利君沙片 0.2、6 小时一次口服, 阿昔洛韦片 0.2、4 小时一次口服。

③ 术后 1 个月禁止性生活。

CO₂ 激光治疗尖锐湿疣有以下优点: 操作简便易行, 一次治疗只需 5—15 分钟, 痛苦小, 安全, 出血少, 感染少。CO₂ 激光治疗妇科、皮肤科、外科疾病, 激光治疗随访一年, 观察其疗效优于其他治疗方法, 值得推广。