

支气管哮喘急性发作期患者血小板线粒体功能变化及其与氧化应激的相关性研究

刘慧芳, 李风森, 姜敏, 田戈

【摘要】 目的 探讨支气管哮喘急性发作期患者血小板线粒体功能变化及其与氧化应激的相关性。方法 选取2016年4月—2017年5月新疆维吾尔自治区中医医院呼吸科门诊及住院的支气管哮喘急性发作期患者122例作为哮喘组,另选取同期体检健康者44例作为对照组。比较两组受试者血小板线粒体膜电位、三磷酸腺苷(ATP)、细胞色素C氧化酶(COX)活性及血清8-异前列腺素(8-iso)、硫代巴比妥酸反应物(TBARS)、过氧化脂质(LPO)水平;支气管哮喘急性发作期患者血小板线粒体功能指标与氧化应激指标的相关性分析采用Pearson相关分析。结果 哮喘组患者血小板线粒体膜电位、ATP及COX活性低于对照组($P<0.05$)。哮喘组患者血清8-iso、TBARS、LPO水平高于对照组($P<0.05$)。Pearson相关分析结果显示,支气管哮喘急性发作期患者血小板线粒体膜电位与血清LPO水平呈负相关($r=-0.198, P<0.05$),血小板线粒体ATP与血清8-iso、TBARS水平呈负相关(r 值分别为 $-0.193、-0.203, P<0.05$),血小板线粒体COX活性与血清8-iso、LPO水平呈负相关(r 值均为 $-0.423, P<0.05$)。结论 支气管哮喘急性发作期患者存在血小板线粒体功能损伤,主要表现为呼吸链抑制,且血小板线粒体功能损伤与氧化应激有关,这对探究支气管哮喘的发病机制具有一定参考价值。

【关键词】 支气管哮喘;线粒体;血小板;氧化应激

【中图分类号】 R 562.25 **【文献标识码】** A DOI: 10.3969/j.issn.1008-5971.2018.06.013

刘慧芳,李风森,姜敏,等.支气管哮喘急性发作期患者血小板线粒体功能变化及其与氧化应激的相关性研究[J].实用心脑血管病杂志,2018,26(6):48-52.[www.syxnf.net]

LIU H F, LI F S, JIANG M, et al. Platelet mitochondrial functional change and its correlation with oxidative stress in patients with acute attack of bronchial asthma [J]. Practical Journal of Cardiac Cerebral Pneumal and Vascular Disease, 2018, 26 (6) : 48-52.

Platelet Mitochondrial Functional Change and Its Correlation with Oxidative Stress in Patients with Acute Attack of Bronchial Asthma

LIU Hui-fang, LI Feng-sen, JIANG Min, TIAN Ge

The Traditional Chinese Medicine Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830000, China

Corresponding author: LI Feng-sen, E-mail: fengsen602@qq.com

【Abstract】 Objective To investigate the platelet mitochondrial functional change and its correlation with oxidative stress in patients with acute attack of bronchial asthma. **Methods** From April 2016 to May 2017 in the Department of Respiratory Medicine, the Traditional Chinese Medicine Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, a total of 122 outpatients and inpatients with acute attack of bronchial asthma were selected as case group, meanwhile a total of 44 healthy volunteers admitted to this hospital for physical examination were selected as control group. Membrane potential, ATP and cytochrome C oxidase (COX) activity of platelet mitochondria, serum levels of 8-isoprostone (8-iso), thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) and lipid peroxidase (LPO) were compared between the two groups; Pearson correlation analysis was used to analyze the correlations of index of platelet mitochondrial function with index of oxidative stress in patients with acute attack of bronchial asthma. **Results** Membrane potential, ATP and COX activity of platelet mitochondria in case group were statistically significantly lower than those in control group ($P<0.05$). Serum levels of 8-iso, TBARS and LPO in case group were statistically significantly higher than those in control group ($P<0.05$). Pearson correlation analysis results showed that, membrane potential of platelet mitochondria was negatively correlated with serum LPO level in patients with acute attack of bronchial asthma ($r=-0.198, P<0.05$), ATP of platelet mitochondria was negatively correlated with serum levels of 8-iso

基金项目:新疆维吾尔自治区自然科学基金青年项目(2017D01C175);新疆维吾尔自治区研究生教育创新计划科研创新项目(XJGRI2016089);新疆医科大学研究生创新创业项目(CXCY068)

830000 新疆乌鲁木齐市,新疆维吾尔自治区中医医院

通信作者:李风森, E-mail: fengsen602@qq.com

($r=-0.193$) and TBARS ($r=-0.203$), respectively ($P<0.05$), COX activity of platelet mitochondria was negatively correlated with serum 8-iso ($r=-0.423$) and LPO ($r=-0.423$) level, respectively ($P<0.05$). **Conclusion** Platelet mitochondrial function is damaged in patients with acute attack of bronchial asthma, mainly performed as respiratory chain inhibition, meanwhile platelet mitochondrial functional is closely correlated with oxidative stress, which is a valuable reference for study on pathogenesis of bronchial asthma.

【Key words】 Bronchial asthma; Mitochondria; Blood platelets; Oxidative stress

支气管哮喘是一种以气道慢性炎症为主要特征的异质性疾病, 主要发病特点为不同程度气道通气受限、气道高反应、黏液分泌增多等, 主要发病机制为活性氧蓄积及氧化应激^[1-2]。活性氧包括外源性活性氧和内源性活性氧, 其中外源性活性氧主要包括吸烟、工业污染及汽车尾气排放所含的氧化性气体、臭氧、超微颗粒等; 而内源性活性氧主要由线粒体呼吸作用产生。动物实验结果显示, 支气管哮喘大鼠气道组织中存在结构破坏的线粒体, 表现为线粒体嵴减少或消失, 板层体和线粒体空泡形成^[3]。笔者所在课题组推测支气管哮喘患者线粒体改变可能是全身性的, 而血小板取材非常方便, 故观察血小板线粒体变化具有一定可行性。本研究旨在探讨支气管哮喘急性发作期患者血小板线粒体功能变化及其与氧化应激的相关性, 现报道如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 选取2016年4月—2017年5月新疆维吾尔自治区中医医院呼吸科门诊及住院的支气管哮喘急性发作期患者122例作为哮喘组, 均符合中华医学会呼吸病学分会哮喘学组制定的《支气管哮喘防治指南(2016年版)》^[4]中的支气管哮喘急性发作期诊断标准; 另选取同期新疆维吾尔自治区中医医院体检中心体检健康者44例作为对照组。两组受试者性别、年龄及体质指数(BMI)比较, 差异无统计学意义($P>0.05$, 见表1), 具有可比性。所有受试者对本研究知情同意。

表1 两组受试者一般资料比较

组别	例数	性别 (男/女)	年龄 ($\bar{x}\pm s$, 岁)	BMI ($\bar{x}\pm s$, kg/m ²)
对照组	44	15/29	48.3 \pm 10.5	24.85 \pm 2.01
哮喘组	122	41/81	47.7 \pm 10.9	25.33 \pm 4.51
$\chi^2(t)$ 值		0.003 ^a	0.653	0.716
P 值		0.954	0.515	0.220

注: ^a为 χ^2 值; BMI=体质指数

1.2 排除标准 (1) 年龄<18周岁或>65周岁者; (2) 妊娠期或哺乳期妇女; (3) 合并肺结核、肺纤维化及呼吸衰竭者; (4) 合并恶性肿瘤、免疫系统疾病、血液系统疾病、内分泌系统疾病者; (5) 合并精神病或精神异常者。

1.3 主要试剂与仪器

1.3.1 主要试剂 JC-1 购自美国 Sigma 公司, 血小板线粒体提取试剂盒(GMS10062.2VA) 购自上海杰美基因医药科技有限公司, 三磷酸腺苷(ATP) 检测试剂盒(MAK190) 购自 Sigma 公司, 细胞色素 C 氧化酶(COX) 活性检测试剂盒(CYTOCOX1) 购自 Sigma 公司, 人 8-异前列腺素(8-iso) 酶联免疫分析试剂盒购自北京安迪华泰科技有限公司, 人硫代巴比妥酸反应物(TBARS) 酶联免疫分析试剂盒购自北京安迪华泰科技有限公司, 人过氧化脂质(LPO) 检测试剂盒购自南京建成生物科技有限公司, 电镜专用的 5% 戊二醛固定液购自北京雷根生物技术有限公司, 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS) 购自 Sigma 公司。

1.3.2 主要仪器 酶标仪及分光光度计 Thermo1500 购自美国 Thermo 公司, 热恒温培养箱(KD-8D) 购自上海精宏实验设备有限公司, 常温离心机(Thermo Sorvall ST16) 购自美国 Thermo 公司, 流式细胞仪(Guava easyCyte 8HT) 购自德国 Merck 公司, 低温离心机(Thermo LEGEND MICRO21) 购自美国 Thermo 公司, 高速冷冻离心机(Thermo BIOFUGE STRATOS) 购自美国 Thermo 公司。

1.4 检测方法

1.4.1 标本采集 留取体检健康者及支气管哮喘急性加重期患者停用吸入性糖皮质激素后静脉血 18 ml, 置于乙二胺四乙酸(EDTA) 管中备用。

1.4.2 血小板线粒体功能指标

1.4.2.1 标本处理 从 EDTA 管中取 1 ml 全血置于 2 ml EP 管中, 4 $^{\circ}$ C 于 2 h 内分离血小板, 检测膜电位; 另取 1 ml 全血置于 2 ml EP 管中, 4 $^{\circ}$ C 于 2 h 内分离血小板并置于 -80 $^{\circ}$ C 环境下保存, 检测 ATP; 另取 10 ml 全血, 4 $^{\circ}$ C 于 2 h 内分离血小板并置于 -80 $^{\circ}$ C 环境下保存, 检测 COX 活性。

1.4.2.2 分离血小板 全血在 4 $^{\circ}$ C 环境下, 2 000 r/min 离心 15 min, 得到的上清即为富含血小板的血清, 抽取上清至于另一 1.5 ml EP 管中; 4 $^{\circ}$ C、2 000 r/min 离心 15 min, 弃上清; 加入 1 ml PBS 混悬, 4 $^{\circ}$ C、2 000 r/min 离心 15 min 后弃上清, 此步骤重复两次, 得到的沉淀即为血小板。

1.4.2.3 膜电位 采用二甲基亚砜(DMSO) 溶解 JC-1, 充分混匀浓度为 1 μ g/ μ l 作为储备液, 并采用

PBS 稀释至浓度为 2.5 ng/ μ l 的工作液, 注意避光。流式管中加 JC-1 工作液 2 μ l、血小板混悬液 200 μ l、PBS 800 μ l 混匀, 37 $^{\circ}$ C 孵育 20 min 后上流式细胞仪。观察细胞数 5 000 个, FL1 通道激发波长 488 nm, 散发波长 530 nm, 获得黄色荧光, 代表膜电位正常细胞; FL2 通道激发波长 488 nm, 散发波长 575 nm, 获得绿色荧光, 代表膜电位损伤细胞。采用 GUAVA 软件分析黄色荧光和绿色荧光比例即为膜电位。

1.4.2.4 ATP 采用 ATP 检测试剂盒检测线粒体 ATP, 严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.4.2.5 COX 活性 采用 COX 活性检测试剂盒检测线粒体 COX 活性, 严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.4.2.6 血小板超微结构 经差速离心法分离得到血小板沉淀, 加入 2.5% 戊二醛固定液 1 ml 进行固定, 立即送电镜室行树脂浸透、包埋, 超薄切片, 染色, 采用透射电镜观察血小板超微结构。

1.4.3 氧化应激指标 从 EDTA 管中取余下全血约 6 ml, 3 500 r/min 离心 15 min, 分装于 EP 管中, -80 $^{\circ}$ C 环境下保存, 分别采用人 8-iso 酶联免疫分析试剂盒、人 TBARS 酶联免疫分析试剂盒、人 LPO 检测试剂盒检测血清 8-iso、TBARS、LPO 水平, 均严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.5 统计学方法 应用 SPSS 17.0 统计学软件进行数据处理, 符合正态分布的计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用两独立样本 *t* 检验; 不符合正态分布的计量资料以 *M* (*QR*) 表示, 采用秩和检验; 计数资料分析采用 χ^2 检验; 支气管哮喘急性期患者血小板线粒体功能指标与氧化应激指标的相关性分析采用 Pearson 相关分析。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 线粒体功能指标 哮喘组患者血小板线粒体膜电位、ATP 及 COX 活性低于对照组, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05, 见表 1)。两组受试者血小板线粒体膜电位流式细胞图见图 1。

2.2 血小板超微结构 透射电镜下, 哮喘组患者血小

板中可见细胞内管状结构增生, 空泡形成增多, 细胞基质密度变小, 有形细胞器数量减少, 线粒体结构不清晰 (见图 2); 对照组受试者血小板中可见细胞内有形结构基本正常, 未见空泡增多, 细胞器清晰可见 (见图 3)。

2.3 氧化应激指标 哮喘组患者血清 8-iso、TBARS、LPO 水平高于对照组, 差异有统计学意义 (*P* < 0.05, 见表 2)。

2.4 相关性分析 Pearson 相关分析结果显示, 支气管哮喘急性期患者血小板线粒体膜电位与血清 LPO 水平呈负相关, 血小板线粒体 ATP 与血清 8-iso、TBARS 水平呈负相关, 血小板线粒体 COX 活性与血清 8-iso 水平呈负相关 (*P* < 0.05, 见表 3)。

表 1 两组受试者血小板线粒体膜电位、ATP、COX 活性比较
Table 1 Comparison of membrane potential, ATP and COX activity of platelet mitochondria between the two groups

组别	例数	膜电位 ($\bar{x} \pm s$)	ATP [<i>M</i> (<i>QR</i>), nmol/ μ l]	COX 活性 ($\bar{x} \pm s$, U/ml)
对照组	44	1.686 \pm 0.998	0.04 (0.05)	1.673 \pm 1.437
哮喘组	122	0.676 \pm 0.268	0.08 (0.11)	0.914 \pm 0.281
<i>t</i> (<i>Z</i>) 值		-6.405	-3.911 ^a	-3.321
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05	<0.05

注: ATP=三磷酸腺苷, COX=细胞色素 C 氧化酶; ^a 为 *Z* 值

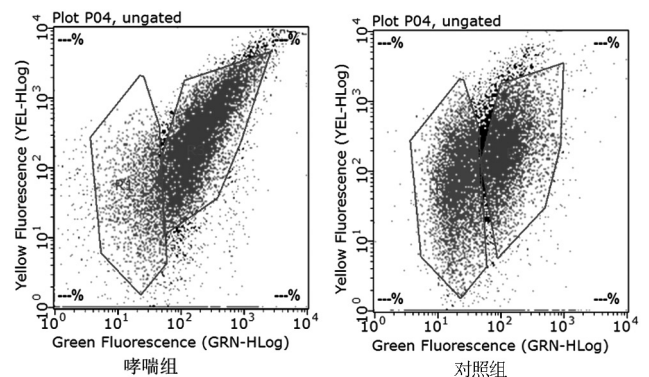
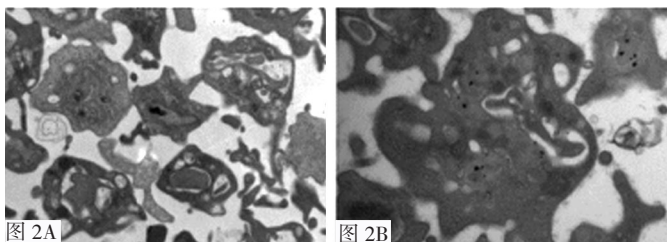
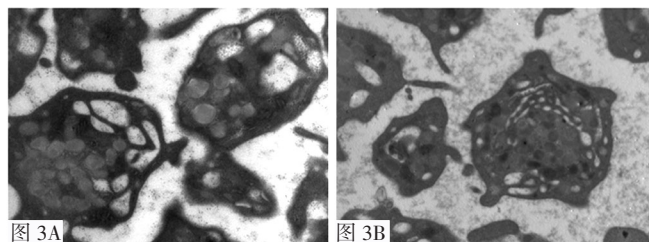


图 1 两组受试者血小板线粒体膜电位流式细胞图
Figure 1 Flow cytometry results for membrane potential of platelet mitochondria in the two groups



注: A 为放大 15 000 倍, B 为放大 30 000 倍
图 2 哮喘组患者血小板超微结构图

Figure 2 Ultrastructural diagram of platelet in case group



注: A 为放大 15 000 倍, B 为放大 30 000 倍
图 3 对照组受试者血小板超微结构图

Figure 3 Ultrastructural diagram of platelet in control group

表 2 两组患者血清 8-iso、TBARS、LPO 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)**Table 2** Comparison of serum levels of 8-iso, TBARS and LPO between the two groups

组别	例数	8-iso (ng/L)	TBARS (ng/L)	LPO (nmol/L)
对照组	44	235.89 ± 174.26	2 188.87 ± 233.81	8.79 ± 4.97
哮喘组	122	518.57 ± 440.96	2 950.73 ± 449.47	14.92 ± 5.14
<i>t</i> 值		5.873	4.638	6.837
<i>P</i> 值		<0.05	<0.05	<0.05

注: 8-iso=8-异前列腺素, TBARS=硫代巴比妥酸反应物, LPO=过氧化脂质

表 3 支气管哮喘急性发作期患者血小板线粒体功能指标与氧化应激指标的相关性分析**Table 3** Correlation analysis on correlations of index of platelet mitochondrial function with index of oxidative stress in patients with acute attack of bronchial asthma

血小板线粒体功能指标	8-iso (ng/L)		TBARS (ng/L)		LPO (nmol/L)	
	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值	<i>r</i> 值	<i>P</i> 值
膜电位	-0.100	0.273	0.020	0.805	-0.198	0.029
ATP	-0.193	0.033	-0.203	0.025	-0.064	0.484
COX 活性	-0.423	<0.001	-0.050	0.584	-0.423	<0.001

3 讨论

肺部解剖学组织结构特殊,可同时受到内源性活性氧和外源性活性氧的威胁。外源性活性氧可导致气道功能损伤,诱发哮喘等呼吸系统疾病,但当疾病及病理状态形成后,即使阻断外源性活性氧的来源(如戒烟)也无法停止活性氧的持续存在及其对组织的氧化损伤^[3,5],故猜测此时持续存在的威胁可能是由内源性活性氧引起,而线粒体呼吸作用是内源性活性氧的最主要来源。

线粒体是一种独立细胞器,是氨基酸、糖、脂肪等营养物质进行氧化并释放能量的场所,其主要功能是氧化磷酸化、合成 ATP、提供直接能量,并参与钙离子信号传导、影响能量代谢和细胞凋亡,是自由基产生的主要来源,机体 95% 的活性氧来源于细胞线粒体^[6-7]。线粒体功能异常主要由于线粒体数量减少、膜破坏、呼吸链抑制、酶活性降低、线粒体 DNA (mtDNA) 损伤等引起能量代谢障碍、活性氧产生,进而导致一系列损伤。生理情况下,蛋白质、脂肪、糖等物质在细胞质中降解后可进入线粒体,经三羧酸循环产生的氢离子会进入线粒体内膜,在电子传递链(呼吸链) COX 作用下,与氧分子结合并进行氧化还原反应生成水和 ATP;但当线粒体受损、功能障碍时,COX 活性降低、呼吸链抑制,1 个或 2 个电子转移而导致氧化磷酸化过程异常,氧化还原反应不完全而引起超氧阴离子等活性氧自由基过度产生,造成活性氧蓄积及 ATP 合成减少,进而促发炎症反应^[8]。既往研究结果显示,线粒体功能障碍可能参与气道上皮损伤及哮喘的发生^[9-13]。

任何外源性或内源性病理因素均会导致呼吸链内

COX 活性降低,呼吸链抑制后氧化磷酸化反应和氧代谢异常,ATP 释放减少及活性氧、自由基释放增加等。COX 活性可反映线粒体呼吸链功能。膜电位是指细胞膜内外电位差,当 ATP 释放减少时细胞膜内外离子浓度发生改变,进而导致膜电位下降。此外,线粒体功能还与线粒体数量有关。本研究结果显示,哮喘组患者血小板线粒体膜电位、ATP 及 COX 活性低于对照组;且哮喘组患者血小板内线粒体等细胞器数量减少,细胞基质密度变小,空泡形成增多,提示支气管哮喘急性发作期患者血小板线粒体功能损伤,主要表现为呼吸链抑制,且呼吸链抑制可导致内源性活性氧增加,进而引发支气管哮喘。

8-iso 是氧化应激的重要生物标志物。TBARS 则涵盖了大部分氧化损伤产生的全酮类物质,故被作为衡量氧化应激的有效指标。LPO 是体内细胞膜结构中的多介不饱和脂肪酸受到氧自由基作用生成的脂质过氧化产物。本研究结果显示,哮喘组患者血清 8-iso、TBARS、LPO 水平高于对照组,与既往研究结果相一致^[1-2],提示哮喘患者存在氧化应激。为了进一步探究线粒体功能损伤引起哮喘的可能机制,本研究进一步行相关性分析,结果显示,支气管哮喘急性发作期患者血小板线粒体膜电位水平与血清 LPO 水平呈负相关,血小板线粒体 ATP 与血清 8-iso、TBARS 水平呈负相关,血小板线粒体 COX 活性与血清 8-iso、LPO 水平呈负相关,提示支气管哮喘急性发作期患者血小板线粒体功能损伤与氧化应激有关。

综上所述,支气管哮喘急性发作期患者存在血小板线粒体功能损伤,主要表现为呼吸链抑制,且血小板线粒体功能损伤与氧化应激有关,对探究支气管哮喘的发病机制具有一定参考价值。但本研究样本量较小,且尚不能明确血小板线粒体功能损伤与氧化应激的因果关系;此外,线粒体抗氧化剂可能为支气管哮喘的治疗提供新的思路,均有待进一步研究探讨。

作者贡献:李风森进行文章的构思与设计,研究的实施与可行性分析,负责文章的质量控制及审校,对文章整体负责,监督管理;刘慧芳、姜敏、田戈进行数据收集、整理、分析;刘慧芳、姜敏进行结果分析与解释;刘慧芳负责撰写论文。

本文无利益冲突。

参考文献

- [1] 赵彩霞. 支气管哮喘发病机制的研究进展 [J]. 医学理论与实践, 2016, 29 (7): 870-872.
- [2] KLENIEWSKA P, PAWLICZAK R. The participation of oxidative stress in the pathogenesis of bronchial asthma [J]. Biomed Pharmacother, 2017, 94: 100-108. DOI: 10.1016/j.biopha.2017.07.066.

[3] MABALIRAJAN U, GHOSH B. Mitochondrial Dysfunction in Metabolic Syndrome and Asthma [J]. *J Allergy (Cairo)*, 2013; 340476. DOI: 10.1155/2013/340476.

[4] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南(2016年版) [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2016, 39(9): 675-697. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2016.09.007.

[5] ZHANG Q, QIU Z, CHUNG K F, et al. Link between environmental air pollution and allergic asthma: East meets West [J]. *J Thorac Dis*, 2015, 7(1): 14-22. DOI: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.12.07.

[6] PALMIERI F, PIERRI C L, DE GRASSI A, et al. Evolution, structure and function of mitochondrial carriers: a review with new insights [J]. *Plant J*, 2011, 66(1): 161-181. DOI: 10.1111/j.1365-313X.2011.04516.x.

[7] PRASAI K. Regulation of mitochondrial structure and function by protein import: A current review [J]. *Pathophysiology*, 2017, 24(3): 107-122. DOI: 10.1016/j.pathophys.2017.03.001.

[8] YK D, NOVGORODTSEVA T, KONDRAT' EVA E V, et al. Morpho-functional characteristics of blood cell mitochondria in bronchial asthma [J]. *Klin Med (Mosk)*, 2015, 93(10): 47-51.

[9] 王文珊. 线粒体损伤在支气管哮喘发生机制中的作用[D]. 武汉: 华中科技大学, 2013: 42-44.

[10] 包葵平, 张旻, 张颖颖, 等. 氧化应激相关线粒体功能障碍与支气管哮喘 [J]. *国际呼吸杂志*, 2017, 37(14): 1110-1116. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2017.14.013.

[11] 王蕾, 李锋, 周新. 线粒体与慢性气道疾病 [J]. *国际呼吸杂志*, 2017, 37(19): 1511-1514. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-436X.2017.19.017.

[12] ASHMORE R, DURHAM A, MICHAELOUDES C, et al. Investigating mitochondrial dysfunction in asthma [J]. *Eur Respir J*, 2015, 46(suppl 59): OA175.

[13] PIERRY C, TRIAN T, MAURAT E, et al. Ultrastructure mitochondriale du muscle lisse bronchique chez l'asthmatique sévère et non sévère: étude quantitative en microscopie électronique à transmission [J]. *Retour Au Numéro*, 2017. DOI: 10.1016/j.rmr.2016.10.868.

(收稿日期: 2018-03-16; 修回日期: 2018-06-20)
(本文编辑: 谢武英)

(上接第 47 页)

[2] 杨世兵, 胡杰伟, 周海宁. 胸腔镜手术与传统开胸手术对非小细胞肺癌患者心肺功能的影响及疗效分析 [J]. *实用癌症杂志*, 2017, 32(6): 969-971, 974. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5930.2017.06.029.

[3] 殷金鑫. 电视胸腔镜手术和传统开胸手术对老年患者术后心肺并发症的影响 [J]. *齐齐哈尔医学学报*, 2015, 36(22): 3320-3321.

[4] SCHWEIGERT M, BERON M, DUBECZ A, et al. Video-assisted thoracoscopic surgery for posttraumatic hemothorax in the very elderly [J]. *Thorac and Cardiovasc Surg*, 2012, 60(7): 474-479. DOI: 10.1055/s-0031-1298069.

[5] 陈康, 马金山, 努尔兰·阿汗. 杂交式单操作孔胸腔镜肺叶切除术治疗早期肺癌的临床研究 [J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2014, 8(16): 2948-2951. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2014.16.005.

[6] 张卫强, 左建新, 谭健, 等. 电视胸腔镜手术对老年非小细胞肺癌患者术后心肺并发症的影响分析 [J]. *中国全科医学*, 2014, 17(2): 220-222. DOI: 10.3969/j.issn.1007-9572.2014.02.028.

[7] 谢忠海, 李鸿伟, 沈琦斌, 等. 电视胸腔镜手术对原发性非小细胞肺癌患者 GLU、WBC 及 PA 的影响 [J]. *中国现代医生*, 2015, 53(18): 4-6.

[8] 赵纯诚, 郭志强, 王征. 微创手术对老年非小细胞肺癌患者心肺功能的影响 [J]. *实用癌症杂志*, 2015, 30(1): 82-85. DOI: 10.3969/j.issn.1001-5930.2015.01.024.

[9] LIU L, MEI J, PU Q, et al. Thoracoscopic bronchovascular double sleeve lobectomy for non-small-cell lung cancer [J]. *Eur J Cardiothorac Surg*, 2014, 46(3): 493-495. DOI: 10.1093/ejcts/ezu103.

[10] 王安生, 刘以尧, 段贵新, 等. 肺癌患者完全胸腔镜与开胸肺叶切除术后近期生活质量的比较 [J]. *中国微创外科杂志*, 2014, 14(5): 439-441. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6604.2014.05.017.

[11] 王光宇, 初向阳, 李国, 等. 单操作孔电视胸腔镜肺叶切除术的学习曲线研究 [J]. *中国医药*, 2014, 9(5): 642-644. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4777.2014.05.009.

[12] KIM J W, KIM J S, CHO J Y, et al. Successful video-assisted thoracoscopic lobectomy in a pregnant woman with lung cancer [J]. *Lung Cancer*, 2014, 85(2): 331-334. DOI: 10.1016/j.lungcan.2014.05.022.

[13] 张宇峰, 刘秀宝. 早期非小细胞肺癌电视胸腔镜肺叶切除术对患者术后心肺功能的影响 [J]. *河南外科学杂志*, 2015, 21(5): 20-22.

[14] JIANG W, CHEN X, XI J, et al. Selective mediastinal lymphadenectomy without intraoperative frozen section examinations for clinical stage I non-small-cell lung cancer: retrospective study of 403 cases [J]. *World J Surg*, 2013, 37(2): 392-397. DOI: 10.1007/s00268-012-1849-9.

[15] 申文明, 岑浩锋, 袁小冬, 等. 胸腔镜下与常规开胸肺癌根治术手术效果的对照研究 [J]. *浙江医学*, 2014, 36(13): 1165-1167.

(收稿日期: 2018-03-14; 修回日期: 2018-06-12)
(本文编辑: 宋朋花)