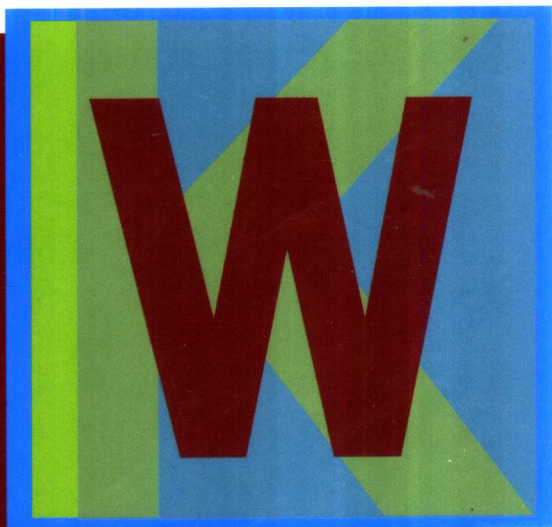


21 世纪高等医学院校教材应试辅导丛书

外科学

主编 李韶山 于彦章



- 教材辅导——针对最新人卫 6 版教材
- 应试完全手册——理解 大纲要求
掌握 内容精讲
精通 各类题型
熟练 应试题库
详读 参考答案



第二军医大学出版社

校教材 **应试新考**丛书

外 科 学

主 编 李韶山 于彦章
编写者 于彦章 吕印冠 闫兴军
许爱琴 杨玉亭 李韶山
高健枝 秦志红

第二军医大学出版社

图书在版编目(CIP)数据

外科学/李韶山,于彦章主编. —上海:第二军医大学出版社,2005.6
(21世纪高等医学院校教材应试辅导丛书)

ISBN 7-81060-509-7

I. 外... II. ①李... ②于... III. 外科学-医学院校-教学参考资料 IV. R6

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2004)第 125466 号

责任编辑 王 楠

外 科 学

主 编 李韶山 于彦章

第二军医大学出版社出版发行

上海市翔殷路 800 号 邮政编码:200433

发行科电话/传真:021-65493093

全国各地新华书店经销

上海崇明裕安印刷厂印刷

开本:850×1168 1/32 印张:18 字数:625千字

2005年6月第1版 2005年6月第1次印刷

印数:1~4 000册

ISBN 7-81060-509-7/R·366

定价:28.00元

序

“健康所系,生命相托”。医学生的水平决定着人类的生存质量,医学教育的质量维系着一代又一代医务工作者的医疗水平。为了适应目前迅速发展的医学教育的需要,帮助医学生掌握正确的学习、复习和考试技巧,指导他们出色地通过各类考试,提高他们的思维应变能力,我们特组织一批长期从事医学教育与临床实践,具有丰富教学经验与临床经验的专家、教授,编写了这套“21 世纪高等医学院校教材应试辅导丛书”。

本套丛书以人民卫生出版社最新出版的全国高等医学院校规划教材为基础,以全国统一制定的教学大纲为准则,结合本科生、研究生和执业医师考试实际,总结各位专家、教授数十年的教学和评卷经验,按照现代考试模式编写而成。

本套丛书力求语言简练,重点突出,针对难点、考点讲解详尽,力求选题合理,答案准确。为了便于学习,各分册的编写体例基本以规划教材章节为序。每章分“大纲要求”“内容精讲”“各类试题”“参考答案及解析”四部分。各类试题共设名词解释、填空题、判断题、单项选择题、多项选择题、问答题、论述题等题型,临床科还有病案分析。试题力求信息量大、覆盖面广、重点突出,以全面测试学生的知识面和分析问题、判断问题与解决问题的能力。书后附有模拟考试题。

本套丛书适用于本科院校在校医学生考试、研究生考试、执业医师考试及医务工作者在岗考试等复习使用。由于编写能力有限,丛书中不妥之处在所难免,衷心期盼同道专家及读者批评指正。

丛书编写组

2004 年 12 月

答题说明

1. 名词解释:根据教材中的定义、解释,准确回答。
2. 填空题:要求答案简洁明了。
3. 判断题:判断一段文字描述的对错,回答“对(√)”或“错(×)”,无需解题。
4. 单项选择题:

A 型题:包括肯定的和否定的单个最佳选择题两种,答题时要从4个或5个备选答案中选出1个最合适的答案。

B 型题:属配伍题,即多个问题共用5个备选答案,从中选出1个最佳答案,每个备选答案可选一次、多次或不选。

C 型题:多个问题共用4个备选答案,从中选出1个最佳答案,每个备选答案可选一次、多次或不选。

K 型题:为组合题,从5种组合中选择一个最合适答案。A 表示①+②+③正确,B 表示①+③正确,C 表示②+④正确,D 表示④正确,E 表示①+②+③+④正确。
5. 多项选择题:共有4个或5个备选答案,从备选答案中挑选2个或2个以上正确答案。
6. 问答题:要求答案条理清晰,言简意赅,内容全面。
7. 病案(案例)分析题:根据病案(案例)材料,分析回答所提问题。

目 录

第一章	绪论	(1)
第二章	外科领域的分子生物学	(5)
第三章	无菌术	(19)
第四章	外科病人的体液失调	(31)
第五章	输血	(46)
第六章	外科休克	(55)
第七章	多器官功能障碍综合征	(70)
第八章	麻醉	(85)
第九章	重症监测治疗与复苏	(103)
第十章	疼痛治疗	(114)
第十一章	围手术期处理	(121)
第十二章	外科病人的营养代谢	(132)
第十三章	外科感染	(141)
第十四章	创伤和战伤	(156)
第十五章	烧伤、冷伤、咬螫伤	(165)
第十六章	显微外科	(178)
第十七章	肿瘤	(182)
第十八章	移植	(194)
第十九章	颅内压增高	(206)
第二十章	颅脑损伤	(214)
第二十一章	颅脑和脊髓先天性畸形	(227)
第二十二章	颅内和椎管内肿瘤	(231)
第二十三章	颅内和椎管内血管性疾病	(239)

第二十四章	颜面部疾病	(247)
第二十五章	颈部疾病	(250)
第二十六章	乳房疾病	(263)
第二十七章	胸部损伤	(271)
第二十八章	胸壁疾病	(282)
第二十九章	脓胸	(286)
第三十章	肺部疾病	(291)
第三十一章	食管疾病	(299)
第三十二章	原发性纵隔肿瘤	(303)
第三十三章	心脏疾病	(307)
第三十四章	胸主动脉瘤	(321)
第三十五章	腹外疝	(324)
第三十六章	腹部损伤	(334)
第三十七章	急性化脓性腹膜炎	(344)
第三十八章	胃、十二指肠疾病	(350)
第三十九章	小肠疾病	(363)
第四十章	阑尾疾病	(372)
第四十一章	结、直肠与肛管疾病	(380)
第四十二章	肝疾病	(390)
第四十三章	门静脉高压症	(400)
第四十四章	胆道疾病	(406)
第四十五章	消化道大出血的鉴别诊断和处理原则	(421)
第四十六章	急腹症的诊断与鉴别诊断	(426)
第四十七章	胰腺疾病	(430)
第四十八章	脾疾病	(436)
第四十九章	动脉瘤	(440)
第五十章	周围血管和淋巴管疾病	(443)
第五十一章	泌尿、男生殖系统外科检查和诊断	(455)
第五十二章	泌尿、男生殖系统先天性畸形	(459)

第五十三章	泌尿系统损伤	(464)
第五十四章	泌尿、男生殖系统感染	(469)
第五十五章	泌尿、男生殖系统结核	(473)
第五十六章	泌尿系统梗阻	(479)
第五十七章	尿石症	(483)
第五十八章	泌尿、男生殖系统肿瘤	(487)
第五十九章	泌尿、男生殖系统的其他疾病	(493)
第六十章	肾上腺疾病的外科治疗	(496)
第六十一章	男性功能障碍、不育和节育	(499)
第六十二章	骨折概论	(501)
第六十三章	上肢骨、关节损伤	(508)
第六十四章	手外伤及断肢(指)再植	(514)
第六十五章	下肢骨、关节损伤	(518)
第六十六章	脊柱和骨盆骨折	(523)
第六十七章	周围神经损伤	(532)
第六十八章	运动系统慢性损伤	(536)
第六十九章	腰腿痛和颈肩痛	(540)
第七十章	骨与关节化脓性感染	(546)
第七十一章	骨与关节结核	(551)
第七十二章	非化脓性关节炎	(555)
第七十三章	运动系统畸形	(558)
第七十四章	骨肿瘤	(563)

第一章 绪论

大纲要求

1. 了解外科学的发展史。
2. 熟悉外科疾病与内科疾病的区别。
3. 掌握现代外科学的范畴。

内容精讲

(一) 外科学的范畴

1. 外科学范畴的形成及发展。
2. 按病因不同,目前外科疾病大致可以分为五大类:

(1) 损伤:暴力或其他致伤因子引起的人体组织破坏,例如内脏破裂、骨折、烧伤等,多需要手术或其他外科处理,以修复组织和恢复功能。

(2) 感染:致病的微生物或寄生虫侵袭人体,导致组织、器官的损害、破坏、发生坏死和脓肿。这类局限的感染病灶适宜于手术治疗,例如坏疽阑尾的切除、肝脓肿的切开引流等。

(3) 肿瘤:绝大多数的肿瘤需要手术处理。良性肿瘤切除有良好的疗效;对恶性肿瘤,手术能达到根治、延长生存时间或者缓解症状的效果。

(4) 畸形:先天性畸形,例如唇裂、腭裂、先天性心脏病、肛管直肠闭锁等,均需施行手术治疗。后天性畸形,例如烧伤后瘢痕挛缩,也多需手术整复,以恢复功能和改善外观。

(5) 其他:常见的有器官梗阻,如肠梗阻、尿路梗阻等;血液循环障碍,如下肢静脉曲张、门静脉高压症等;结石形成,如胆石症、尿路结石等;内分泌功能失常,如甲状腺功能亢进症等,也常需手术治疗予以纠正。

(二) 外科疾病与内科疾病的区别与联系

外科一般以手术或手法为主要疗法的疾病为对象,而内科一般以应用药物为主要疗法的疾病为对象。

外科学与内科学的范畴是相对的。外科疾病也不是都需要手术的,而常是疾病在一定的发展阶段才需要手术,而一部分内科疾病在它发展到某一阶段也需要手术治

疗。另外,由于医学科学的进展,有的原来认为应当手术的疾病,现在可以改用非手术疗法治疗;有的原来不能施行手术的疾病,现在已创造了有效的手术疗法;特别近年来,由于介入放射学的迅速进展,使外科与内科以及其他专科更趋于交叉。因此,随着医学科学的发展和诊疗方法的改进,外科学的范畴将会不断地更新变化。

(三)如何学习外科学

1. 必须坚持为人民服务的方向:学习外科学的根本问题、首要问题,仍是为人的健康服务的问题。要经常想到,医生是在做人的工作,只有良好的医德、医风,才能发挥医术的作用。如果外科医生医疗思想不端正,工作粗疏,就会给病人带来痛苦,甚至严重地损害病人的健康。学习外科学必须正确地处理服务与学习的关系,要善于在服务中学习,也就是要在全心全意为病人服务的思想基础上学好本领,再转过来更好地为病人服务。

2. 重视“三基”训练:

(1) 基础知识、基础理论、基本技能的重要性必须重视。基本知识包括基础医学知识和其他临床各学科的知识。如要做好腹股沟疝的修补术,就必须熟悉腹股沟区的局部解剖;施行乳腺癌根治术,就应了解乳腺癌的淋巴转移途径。如要鉴别阻塞性黄疸与肝细胞性黄疸,就要掌握2种黄疸的临床特点。为糖尿病患者手术,应懂得手术前后如何纠正糖代谢紊乱。

外科医生对基本知识的学习要认真,达到准确无误。若认为这类知识较粗浅而无须用心,结果会使自己认识模糊,不但不能处理外科疾病,而且也不能正确地作出诊断和鉴别诊断。在基本技能方面,首先要写好病史记录、学会体格检查,这样才能较全面地了解和判断病情。要培养严格的无菌观念,熟悉各种消毒方法。要重视外科基本操作的训练,诸如切开、分离、止血、结扎、缝合以及引流、换药等,都要按照一定的外科准则,切不可草率行事,否则会影响到手术的效果。其他处理,如血管穿刺、胃肠减压、气管插管或切开、胸膜腔闭式引流、导尿等,都需认真学习,且能掌握使用。

(2) 明确外科医生与手术治疗的关系。手术是外科治疗的一个重要手段,也是治疗成败的关键。但片面地强调手术,认为外科就是手术,手术能解决一切,这种想法是不正确的和有害的。如果在疾病的诊断尚未肯定或手术是否适合未确定之前,即贸然进行手术,就有可能非但治不好疾病,甚至会给病人带来不可弥补的损害。即使是手术本身成功,也可能由于术前准备或术后处理的不恰当而无法达到预期疗效。一定要纠正单纯手术观点,反对为手术而手术和为练习技术而手术的错误行为。

学习外科学首先要严格掌握外科疾病的手术适应证,如能以非手术疗法治愈的,即不应采用手术治疗;如能以小手术治愈的,即不应采用大手术。要充分做好手术前准备,不但要有详细的手术计划,对术中可能发生的意外也要有所准备。手术时要选用最合适的麻醉方法,安全而有效的麻醉,是手术成功的先决条件。手术中要正确执行每一个操作步骤,还要注意如何保护健康组织。手术后的处理要细致,防止发生任何疏忽或差错。

3. 贯彻理论与实践相结合的原则:外科学的每一进展,都体现了理论与实践相结合的原则。以十二指肠溃疡的外科治疗为例:早年人们曾经施行胃空肠吻合或胃部分切除的手术以治疗此病,但发现在这些手术后溃疡又可复发。通过一个阶段的研究,了解到胃酸分泌及其对溃疡的影响,乃确立了胃大部分切除术的原则。然而,胃大部分切除术虽能避免溃疡复发,却又带来了生理功能紊乱的多种并发症。之后,通过对胃生理和溃疡病病因的深入研究,人们才开始应用迷走神经切断术来治疗十二指肠溃疡;通过术后疗效的观察,由迷走神经干切断术发展到选择性迷走神经切断术,继而进一步提高到现在认为更符合生理原则的高选择性迷走神经切断术。

(1) 自觉地运用理论与实践相结合的认识原则:一方面要认真学习书本上的理论知识,另一方面必须亲自参加实践,也就是说,书本上的知识是不能代替实践的。学习外科学要仔细观察外科病人各系统、各器官的形态和功能变化;要见习和参加各种诊疗操作,包括手术和麻醉;要密切注意病人对药物和手术治疗的反应;要认真总结疗效和经验。

(2) 重视外科实验课的学习:为了学习和科学研究,还要进行动物实验。我们要善于分析实践中所遇到的各种问题,不断通过自己的独立思考,把感性认识和理性知识紧密地结合起来,从而提高我们发现问题、分析问题和解决问题的能力。

应试题库

【问答题】

做一名外科医生,应具备哪些基本素质?

参考答案

【问答题】

外科工作是十分艰巨和复杂的,同时又有较高的风险性。一个合格的外科医

生必须首先是一个过硬的内科医生;同时还应具备规范、熟练的手术技巧和在突发事件面前沉稳果断、临危不乱的应变能力。“一个会做手术的、好的内科医生就是一个好的外科医生”,这句名言不无道理。因此,也就对外科医生提出了更高的要求。我们认为,作为一个外科医生应具备以下基本素质:

1. 思想素质:应具备高尚的职业道德,对病人有高度的责任感和同情心。工作中要求严格、一丝不苟,坚守岗位、踏实勤奋,养成“严谨、严格、严密”的良好作风并具有良好的敬业、奉献精神。因为外科治疗尤其是手术治疗是一种集体劳动,因此还应特别提倡团结协作、相互配合、互相尊重的集体主义精神。

2. 爱伤观念:作为一名外科医生,必须具备良好的爱伤观念,所谓爱伤观念,就是要突出“以人为本”,树立整体观念,将外科疾病与整个机体作为一个整体来考虑,在保证病人生命的前提下尽可能最大限度地维护机体组织结构的完整性和脏器的功能状态。体现在外科治疗中,一是能用非手术疗法治愈的疾病,最好不选择手术疗法;二是若必须手术治疗,则应尽可能在最短时间用最简单的手术方式治愈疾病,以使手术引起的损伤减少到最小限度;三是手术中处处爱护病人的组织及器官,不轻易做切除手术或毁损性手术;四是手术过程中严格遵守操作规程,体现稳、准、轻、细、快的原则。

3. 业务素质:扎实的基础学科知识,包括解剖学、生理学、生物化学、病理学等和熟练的外科基本功是做一名合格外科医生的必备条件。临床外科主要由临床诊断和治疗技术两大部分组成,没有丰富扎实的基础知识,就不能准确判断病情和认识疾病;没有精良的熟练的技术能力就不能完成治疗所必需的手术操作。另外,还需善于学习,更新知识,勇于探索和创新,从而不断提高业务、技术水平。

4. 心理素质:具有敏锐的观察力和灵活的主动性。在施行手术中,能高度集中注意力,细致观察病情变化,判断准确,反应敏捷,配合灵活,性格稳重和情绪镇定;工作中,对随时出现的意外情况,不惊慌、不急躁,有较强的自我控制和应变能力。

5. 身体素质:现代外科随时进行急症手术和抢救危重病人,不断开展大型、复杂的高难手术,具有紧迫性、连续性的特点,体力消耗大。因此,必须具备强健的体魄、良好的耐力和较强的适应力。

第二章 外科领域的分子生物学

大纲要求

1. 了解分子生物学在外科领域中的应用现状及前景。
2. 掌握有关分子生物学的一些基本概念。
3. 了解基因的结构与功能。
4. 了解基因诊断与生物治疗的基本程序。

内容精讲

(一) 基因的结构与功能

基因(gene)是编码一条多肽链或一个 RNA 分子所必需的全部 DNA 序列。基因组(genome)是细胞所有染色体上全部基因和基因间的 DNA 总和。

基因产生功能分子的过程称表达(expression),即遗传信息从脱氧核糖核酸(DNA)传给核糖核酸(RNA),再通过翻译(translation)产生蛋白质的过程。

1. DNA 和 RNA:细胞内的核酸有两种类型,即 DNA 和 RNA,它们均为贮存遗传信息的大分子物质。真核细胞的 DNA 分子约 95% 位于染色体上,其余 5% 位于线粒体,为双链线性(染色体 DNA)或环状(线粒体 DNA)分子,由两条核苷酸链组成,每条链的组成单位为脱氧核糖核苷酸。每个脱氧核糖核苷酸由 4 种碱基即腺嘌呤(A)、鸟嘌呤(G)、胞嘧啶(C)和胸腺嘧啶(T)中的一种碱基、一个脱氧核糖和一个共价结合的磷酸基组成,两条链反向平行、碱基互补,并按 A-T、G-C 严格配对,通过互补碱基间形成的氢键结合成双螺旋。真核细胞的 RNA 分子主要位于细胞质中,约占 75%,另有 10% 在细胞核内,15% 在细胞器中,为单链线性分子,其组成与 DNA 相似,区别在于 RNA 以核糖取代脱氧核糖,以尿嘧啶(U)取代胸腺嘧啶(T)。

2. DNA 复制:以 DNA 单链为模板,按照碱基互补配对原则合成新 DNA 链的过程,称为 DNA 复制。在 DNA 复制过程中,首先在解链酶的作用下 DNA 双链解开为两条单链,然后在 DNA 聚合酶的催化作用下以每一条单链为模板合成一条与其互补的新链,产生两条子 DNA 链。因为每条子 DNA 双链含有一条来自亲代 DNA 分子的旧链和一条新生链,所以称为保留复制。

3. 基因表达:所有细胞遗传信息的表达大多是单一途径:DNA 特异性决定 RNA 的合成, RNA 特异性决定多肽(然后形成蛋白质)的合成,即 DNA→RNA→多肽(蛋白质),这种遗传信息的传递方式普遍存在,在分子生物学中称为中心法规。①转录(transcription):以 DNA 为模板,在 RNA 聚合酶作用下,合成 RNA 的过程称为转录。相反,以 RNA 为模板,在逆转录酶作用下合成互补 DNA(cDNA),再以 cDNA 为模板合成双链 DNA 的过程称为逆转录。②翻译:以 mRNA 为模板合成蛋白质(多肽)的过程称为翻译。

人类基因的功能是多种多样的。一定数量的基因最终合成特异的多肽,具有不同的功能,包括结构蛋白(膜组分、骨架蛋白等)、转运蛋白、激素、受体、酶、调节性蛋白及信号分子等。其余大多数基因编码蛋白质合成所必需的 rRNA、tRNA,还有各种各样的参与 RNA 剪接和其他功能的核内 RNA(SnRNA)和胞质 RNA。

4. 基因表达的调控:同一机体的不同组织细胞所含的基因都是相同的,但是并非基因组中所有的结构基因在各种不同细胞中都同时表达,而是根据机体不同的组织细胞、不同的发育阶段及不同的功能状态,有选择性、秩序性地在特定细胞中表达特定种类和数量的基因,这就是基因表达的调控。该调控是一个涉及基因组、转录、转录后、翻译和翻译后等各种水平的复杂过程。

5. 基因突变和修复:基因突变是指 DNA 分子的改变,即基因的核苷酸排列顺序和组成的改变。单个碱基的改变称为点突变(point mutation),如果点突变引起一个氨基酸改变,称为错义突变(missense mutation),将引起蛋白质结构和功能的改变。如果点突变引起一个氨基酸密码子被一个终止密码子替代,称为无义突变(nonsense mutation),将导致翻译提前终止,致使其编码蛋白质缺失。DNA 链中插入或丢失 1 个或多个碱基,导致插入或丢失部位以后的密码子顺序发生改变,进而引起蛋白质结构和功能的改变,称为移码突变(frame shift mutation)。

DNA 损伤的修复系统主要有以下几个:①损伤碱基的直接修复;②切除修复,包括碱基切除修复、核苷酸切除修复和 DNA 交链的切除修复;③错配修复;④重组修复,又称复制后修复;⑤跨损伤 DNA 合成,这是一种利用损伤核苷酸为模板,通过 DNA 聚合酶使碱基掺入到复制终止处进行 DNA 合成,从而延长 DNA 链的修复。

6. 癌基因与抑癌基因:

(1)癌基因:是在自然或实验条件下,参与或直接导致正常细胞发生恶变的基因。分病毒癌基因(virus oncogene, v-onc)和原癌基因(proto-oncogene)两大类,前者为病毒中存在的、能诱导正常细胞转化为肿瘤细胞的致瘤基因,后者为存在于

正常细胞中的癌基因同源性序列、起调节细胞生长和分化作用。已分离的癌基因有 100 多种,根据基因的结构及其产物的功能,可将原癌基因分为五大类:①生长因子类;②生长因子受体类;③细胞内信号传导蛋白类;④蛋白激酶类;⑤细胞核内转录调节蛋白类。

原癌基因具有正常生理功能,但功能异常时又具有潜在致癌能力。其致癌能力与这类基因的异常激活有关,异常激活可发生在下列情况:①点突变;②启动子插入;③甲基化程度降低;④基因扩增与高表达;⑤基因易位或重排。激活后的原癌基因称为癌基因,不适当地表达癌基因产物使细胞增殖控制丧失而形成癌。

(2)抑癌基因:是一类存在于正常细胞中的、与原癌基因共同调控细胞生长和分化的基因,也称抗癌基因(antioncogene)、隐性癌基因(recessive oncogenes)。自从 1986 年人类第一个抑癌基因 Rb 被分离克隆和鉴定后,有许多抑癌基因逐步被克隆鉴定,并发现它们与许多肿瘤密切相关。迄今为止发现的常见抑癌基因有:①p53 基因:是一种与人类肿瘤相关性最高的基因;②Rb (retinoblastoma) 基因;③p16 基因;④APC (adenomatous polyposis coli) 基因;⑤nm23 基因;⑥MCC (mutated colorectal cancer) 基因;⑦DCC (deleted in colorectal carcinoma) 基因;⑧NF1 (neurofibromatosis type 1) 基因;⑨WT1 (Wilms tumor type 1) 基因。

抑癌基因的根本作用是抑制细胞进入增殖周期,诱导终末分化和细胞凋亡,维持基因稳定,具有潜在抑制肿瘤生长的功能。当其发生突变、缺失或功能失活时,可导致细胞恶性转化而发生肿瘤。其作用机制可能通过抑制原癌基因的活化及表达或通过使癌基因表达蛋白产物失活等,从而对细胞增殖起负调节作用。

(二)基因诊断

基因诊断是用分子生物学的理论和技术,通过直接探查基因的存在状态或缺陷,从基因结构、定位、复制、转录或翻译水平分析基因的功能,从而对人体状态与疾病作出诊断的方法。基因诊断检测的目标分子是 DNA 或 RNA,反映基因的结构和功能。检测的基因有内源性(即机体自身的基因)和外源性(如病毒、细菌等)两种,前者用于诊断基因有无病变,后者用于诊断有无病原体感染。

基因诊断的意义在于不仅能对某些疾病作出确切诊断,如确定某些遗传病,也能确定基因与疾病有关联的状态,如对疾病的易感性、发病类型和阶段的确定等。就目前已经开展的工作而言,外科领域的遗传性疾病、遗传易感性疾病、多种恶性肿瘤、感染性疾病、器官移植反应等都可以用基因诊断的方法加以诊断。

基因诊断的主要技术有核酸分子杂交、聚合酶链反应和生物芯片技术。

1. 核酸分子杂交技术:

(1)原理:具有一定互补序列和核苷酸单链在液相或固相中按碱基互补配对原则缔合成异质双链的过程,称为核酸分子杂交。杂交的双方是待测核酸序列和探针序列。应用该技术可对特定 DNA 或 RNA 序列进行定性或定量检测。

(2)基因探针及其标记:基因探针是一段与待测 DNA 或 RNA 互补的核苷酸序列,可以是 DNA 或 RNA,长度不一,可为完整基因,也可为其中一部分。根据探针的来源和性质分为基因组 DNA 探针、cDNA 探针、RNA 探针和人工合成的寡核苷酸探针。作为探针至少必须满足两个条件:一是应为单链(或通过变性形成单链);二是应带有可被追踪和检测的标记。有了合适的探针,就有可能检测出目的基因,观察有无突变,也可根据探针的结合量进行定量检测。选择探针最基本的原则是要有高度特异性,其次也需考虑到制备探针的难易性和检测手段的灵敏性等其他因素。

(3)常用核酸分子杂交技术:①Southern 印迹杂交;②Northern 印迹杂交;③斑点杂交(dot blotting);④原位杂交(*in situ* hybridization);⑤夹心杂交(三明治杂交);⑤液相杂交。

2. 聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR):

(1)原理:PCR 是模板 DNA 引物和四种脱氧核糖核苷三磷酸(dNTP)在 DNA 聚合酶作用下发生酶促聚合反应,扩增出所需目的 DNA。包括 3 个基本步骤:①双链 DNA 模板加热变性成单链(变性);②在低温下引物与单链 DNA 互补配对(退火);③在适宜温度下 TaqDNA 聚合酶催化引物沿着模板 DNA 延伸。

(2)PCR 引物:PCR 技术的特异性取决于引物和模板 DNA 结合的特异性,引物设计决定 PCR 反应的成败。由于致病基因是在正常基因序列中发生点突变、片段插入和(或)缺失,基因两翼的 DNA 序列和正常基因仍然相同,因此根据基因两翼的 DNA 序列可设计出各 20 个碱基左右的一对引物。

(3)常用 PCR 技术:利用 PCR 技术,在适当条件下扩增目的基因,然后分析 PCR 产物,便可判断其是否为致病基因及其变异性。PCR 技术具有快速、灵敏、特异性高等特点。为扩大其应用范围,根据需要,目前已衍生和发展出以下方法:①常规 PCR;②复合 PCR;③逆转录 PCR(RT-PCR);④原位 PCR;⑤反向 PCR;⑥膜结合 PCR;⑦彩色 PCR;⑧定量 PCR;⑨固着 PCR;⑩免疫 PCR。

3. 生物芯片技术:是近年发展起来的分子生物学与微电子技术相结合的核酸分析检测技术。最初的生物芯片技术主要目标是用于 DNA 序列测定、基因表达谱鉴定和基因突变体检测和分析,所以又称为 DNA 芯片或基因芯片技术。由于

目前这一技术已扩展至免疫反应、受体结合等非核酸领域,出现了蛋白质芯片、免疫芯片、细胞芯片、组织芯片等,所以改称生物芯片技术更符合发展趋势。

DNA 芯片技术的基本原理是将 cDNA 或寡核苷酸探针以每平方厘米 $10^5 \sim 10^6$ 位点的密度结合在固相支持物(即芯片)上,每个位点上的 cDNA 或寡核苷酸探针的顺序是已知的,将该探针与荧光标记的待测样品 DNA、RNA 或 cDNA 在芯片上进行杂交,然后用激光共聚焦显微镜对芯片进行扫描,并配合计算机系统对杂交信号作出比较和检测,从而迅速得出所需的信息。由于它携带信息量大、体积小、分析过程自动化、分析过程快及所需样品和试剂量少,因而具有广泛的应用前景。迄今能在临床上用于疾病诊断的芯片主要见于传染性疾病,如丙型肝炎、乙型肝炎及艾滋病等少数几种疾病病毒检测芯片。如果将该技术广泛用于疾病诊断,目前仍存在较大困难。原因在于当前对基因功能的认识仍不充分,而且疾病的发生与很多因素有关,要从大量基因库中筛选出疾病相关的特异性基因制成芯片,难度相当大。

(三) 肿瘤标志物检测

肿瘤标志物是指肿瘤细胞和组织由于相关基因或异常结构的相关基因的表达所产生的蛋白质和生物活性物质,在正常组织中不产生或产量甚微,而在肿瘤病人的组织、体液和排泄物中可检测到。此外,在病人机体中,由于肿瘤组织浸润正常组织,引起机体免疫功能和代谢异常,产生一些生物活性物质和因子,虽然这些物质和因子特异性低,但与肿瘤发生和发展有关,也可用于肿瘤辅助诊断。

1. 肿瘤标志物的测定方法:

(1) 生物化学技术:用于测定由肿瘤细胞产生并分泌到体液中的肿瘤标志物,因其含量与肿瘤活动度有关,所以适用于绝大多数肿瘤病人的监测、疗效和预后观察。

(2) 免疫组化技术:可从形态学上详细了解细胞分化、增殖和功能变化的情况,有助于确定肿瘤组织类型、预后和临床特征的分析。

(3) 单克隆抗体技术:临床上已用于甲胎蛋白(AFP)、癌胚抗原(CEA)、前列腺特异性抗原(PSA)、CA19-9、CA125、CA50 等肿瘤相关抗原的检测。

2. 肿瘤标志物分类:

(1) 原位性肿瘤相关物质:在同类正常细胞含量甚微,而当细胞癌变时迅速增加,如各种癌细胞内的酶。

(2) 异位性肿瘤相关物质:是由恶变的肿瘤细胞产生,不是同类正常细胞的组分,如异位性激素,在肺癌时促肾上腺皮质激素(ACTH)明显升高。