

· 研究原著 ·

文章编号: 1000-2790(2008)11-1027-04

# 同种异体心脏移植急性排斥反应的无创监测

马 涛, 胡 军, 蔡振杰, 李 彤, 王晓武, 程 亮 (第四军医大学西京医院心血管外科, 陕西 西安 710033)

## Noninvasive monitoring of acute rejection after allogenic cardiac transplantation

MA Tao HU Jun CAI Zhenjie LI Tong WANG Xiaowu CHENG Liang

Department of Cardiovascular Surgery Xijing Hospital Fourth Military Medical University Xi'an 710033 China

**【Abstract】** A M: To investigate the dynamic change of serum level of the acute phase reactant C-reactive protein after allogenic cardiac transplantation to determine its roles in evaluating surviving quality and cardiac rejection post transplantation and to research the feasibility of mixed lymphocytes culture as non invasive surveillance of acute rejection after cardiac transplantation and its significance. **METHODS** Serum level of CRP was measured in 26 patients who were then divided into 2 groups: those died within 30 d after cardiac transplantation (dead group,  $n=2$ ) and those survived (surviving group,  $n=24$ ). During the follow-up period of  $1.0 \pm 1.7$  years (ranging from 0.3 to 4.3 years) after transplantation, 32 routine endomyocardial biopsy (EMB) samples were divided into 2 groups according to International Society of Heart and Lung Transplantation (ISHLT): the rejection group ( $1b > 1b$ ,  $n=8$ ) and the negative group ( $0$  or  $1a$ ,  $n=24$ ). We compared the results of modified mixed lymphocytes culture and EMB and analysed their correlation. **RESULTS** CRP reached the peak on the 4th day in all patients postoperation and declined on day 8—14 postoperatively. CRP level was significantly higher in dead group than in surviving group [ $(187.5 \pm 21.2)$  vs  $(18.7 \pm 18.6)$  mg/L,  $P < 0.001$ ]. Moreover, there was significant difference in CRP level between the rejection group and the negative group [ $(14.26 \pm 9.08)$  vs  $(4.81 \pm 2.36)$  mg/L,  $P < 0.05$ ]. CRP level was also correlated significantly with the frequency of acute graft rejection ( $P = 0.02$ ). Modified mixed lymphocytes culture had very close correlation with EMB, which was valuable for the early diagnosis of rejection. **CONCLUSION** The increased CRP is predictive of the early diagnosis of acute rejection after cardiac transplantation. Modified mixed lymphocytes culture can efficaciously detect acute cardiac rejection

and can be taken as one of non-invasive methods to monitor acute rejection.

**【Keywords】** cardiac transplantation; C-reactive protein; mixed lymphocytes culture; acute rejection

**【摘要】**目的: 观察同种异体心脏移植术后血清 C 反应蛋白 (CRP) 的动态变化, 探讨监测其血清浓度水平在评价移植成活质量及判断心脏排斥反应的作用, 并研究体外单项混合淋巴细胞培养作为无创心脏移植排斥反应监测方法及意义。方法: 26 例原位心脏移植患者手术前后及心内膜心肌活检 (EMB) 时同期监测受体血清 CRP 浓度水平, 依术后 30 d 内受体是否成活分为成活组 ( $n=24$ ) 与死亡组 ( $n=2$ ); 依 EMB 标本 ( $n=32$ ) 病理等级 (ISHLT) 分为阴性组 ( $0$  或  $1a$ ,  $n=24$ ) 和排斥组 ( $1b > 1b$ ,  $n=8$ )。通过改良的单向混合淋巴细胞培养与心内膜活检 (EMB) 相对照, 测定淋巴细胞活性与心肌活检病理等级的相关性。结果: CRP 值在移植早期随着手术创伤的恢复而降低, 成活组与死亡组在后期 CRP 水平差别明显。阴性组与排斥组两组间 CRP 水平有明显的差异 ( $P < 0.05$ )。心脏排斥反应发生时血浆中 CRP 浓度水平升高。改良的体外单项混合淋巴细胞培养结果与心内膜活检病理等级有很好的相似性。结论: CRP 可作为判断心脏移植早期成活质量的标志, 对监测心脏移植术后有无可能的排斥反应有一定的提示意义。改良的体外单向混合淋巴细胞培养方法可作为无创监测心脏移植排斥反应的有效手段之一。

**【关键词】** 心脏移植; C 反应蛋白; 混合淋巴细胞培养; 急性排斥反应

**【中图分类号】** R654.2 **【文献标识码】** A

## 0 引言

排斥反应及严重感染是限制心脏移植受体成活的主要因素, 目前用于移植后监测心肌损伤和排斥反应的指标还相对较少, 诊断心脏移植排斥反应发生的“金标准”仍是心肌活检 (EMB)。选择一种高敏感性和特异性、低风险、低成本、方便快速的无创监测指标, 是临床研究的重要课题之一。C 反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 由肝细胞合成, 是一个急性时相特征蛋白, 炎症和组织损伤可引起其血浆浓度升高。淋巴细胞是构成机体免疫系统的基本单位, 淋巴细胞是心脏移植受体排斥异体抗原的重要部分, 供体抗原在一定条件下可诱导淋巴细胞活化。我们通过对心脏

并对传统的混合淋巴细胞培养 (mixed lymphocyte culture, MLC) 技术进行改良, 采取心脏移植受体外周血淋巴细胞体外混合培养以期准确而无创监测心脏移植后急性排斥反应。

## 1 对象和方法

**1.1 对象** 截止 2003-09-26 我科心脏移植患者 26 (男 21 女 5) 例, 年龄 12~68 岁, 体质量 31~86 (平均  $59 \pm 14$ ) kg 其中 17 例为扩张性心肌病, 4 例为缺血性心肌病, 3 例为克山病, 1 例先心病, 1 例为冠心病搭桥术 (CABG) 后。心功能 (NYHT) II 级 4 例, IV 级 22 例。术前超声心动图示左室射血分数 (EF)  $0.21 \sim 0.42$  平均  $0.31 \pm 0.09$  术前右心导管检查示肺动脉收缩压 (PAP)  $32 \sim 56$  (平均  $45 \pm 12$ ) mmHg ( $1 \text{ mmHg} = 0.133 \text{ kPa}$ ); 肺小血管阻力  $1.3 \sim 6.33$  (平均  $2.95 \pm 0.8$ ) Woods 心排指数  $2.1 \sim 3.8$  (平均  $2.7 \pm 0.6$ ) L/( $\text{m}^2 \cdot \text{min}$ )。常规全身麻醉, 体外循环采用离心泵、膜式氧合器。经前正中开胸, 常规中度低温体外循环, 中度血液稀释, 手术中鼻温最低降至  $25.5 \sim 28.5^\circ\text{C}$ , 复温至  $36.5 \sim 37.5^\circ\text{C}$ 。移植术均采用标准原位心脏移植术式, 供心采用改良 St Thomas 液灌注,  $4^\circ\text{C}$  Stanford 大学配方液保存。主动脉阻断时间  $60 \sim 80 \text{ min}$  供心冷缺血时间为  $90 \sim 120 \text{ min}$  体外循环 (CPB) 时间为  $110 \sim 157 \text{ min}$  术后随访时间  $4 \sim 58 \text{ mo}$  术前 24 h 开始口服 FK506  $0.2 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$  和 MMF  $2 \text{ g}/\text{d}$  (分 2 次口服), 术中开始体外循环前将甲基强的松龙  $1000 \text{ mg}$  加入预充液中, 停机后再静脉推注甲基强的松龙  $500 \text{ mg}$  术后采用 FK506、MMF (骁悉) 和泼尼松三联免疫方法, 给予甲基强的松龙  $5 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ , 持续 1 wk 后改为泼尼松  $1 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ , 总量每日递减  $5 \text{ mg}$  直至  $15 \text{ mg}$  维持半年; FK506 用量为  $0.1 \sim 0.33 \text{ mg}/(\text{kg} \cdot \text{d})$ , 术后 1 mo 维持血中 FK506 的谷值在  $15 \sim 25 \mu\text{g}/\text{L}$  3 mo 后为  $5 \sim 15 \mu\text{g}/\text{L}$ , MMF 用量为  $2.0 \text{ g}/\text{d}$  分 2 次口服, 术后半年减至  $1.0 \text{ g}/\text{d}$  分 2 次口服。术后 1 mo 行心肌内膜活检 (endomyocardial biopsy, EMB) 时抽取外周静脉抗凝血, 分离外周淋巴细胞。在获取脑死亡心脏移植供体心脏时, 同时无菌切取部分供体脾脏, 以制备供体淋巴细胞样本。

## 1.2 方法

**1.2.1 CRP 检查** 采取受体外周静脉血离心后 ELISA 法检测, 移植前检查 1~2 次, 移植后每天检查 1 次至 1 mo, 在受体复查及心内膜心肌活检时同期检查。其参考的正常范围  $0 \sim 5 \text{ mg}/\text{L}$ 。

EMB) 心脏移植后 3 mo 内做活检 1~2 次, 3 mo 后每隔 6 mo 左右检查一次, 怀疑发生排斥反应时随时做。每次活检均在局麻、X 线引导下取右心室室间隔处标本,  $40 \text{ g}/\text{L}$  甲醛固定液固定做病理和  $2.5 \text{ g}/\text{L}$  戊二醛固定液固定做电镜检查。病理切片石蜡包埋, HE 染色, 急性心脏排斥反应等级按照 ISHLT (International Society of Heart and Lung Transplantation) 1990 年分级标准 (0~4 等级) 进行排斥反应分析。

**1.2.3 混合淋巴细胞培养** ①供体淋巴细胞的制备在 RPMI1640 培养液中研磨供体脾脏, 将细胞悬液离心  $10 \text{ min}$  加入温热氯化铵溶解红细胞, 再次离心  $10 \text{ min}$  全部吸取中层灰色细胞层, 生理盐水离心清洗 2 次, 台盼蓝染色, 计数板计数。调整细胞密度为  $2 \times 10^6/\text{L}$  分成 3 管, 各自离心, 每管中加入  $250 \mu\text{L}$  丝裂霉素 (终浓度  $50 \text{ mg}/\text{L}$ ) 和  $1.75 \text{ mL}$  生理盐水,  $37^\circ\text{C}$  水浴  $40 \text{ min}$  生理盐水离心洗涤 2 次。用含  $100 \text{ mL}/\text{L}$  胎牛血清的 RPMI1640 液调整细胞浓度为  $1 \times 10^6/\text{L}$ 。  $-70^\circ\text{C}$  冰箱冻存备用。在进行混合淋巴细胞培养时,  $37^\circ\text{C}$  水浴解冻, 生理盐水洗涤 1 次, 用含  $120 \text{ mL}/\text{L}$  胎牛血清的 RPMI1640 培养液调整细胞浓度为  $1 \times 10^6/\text{L}$  标记为 D ②受体淋巴细胞的制备新鲜外周静脉血按 1:1 比例加在装有比重为 1.077 的淋巴细胞分离液的离心管中, 离心  $20 \text{ min}$  吸取中间雾状淋巴细胞层, 生理盐水洗涤 2 次。用含  $120 \text{ mL}/\text{L}$  胎牛血清的 RPMI1640 培养液调整细胞密度为  $1 \times 10^6/\text{L}$  标记为 R ③混合淋巴细胞培养及分组 将已制备好的 R 和 D 按如下分组加入 96 孔板, 置  $37^\circ\text{C}$ ,  $50 \text{ mL}/\text{L}$   $\text{CO}_2$  孵箱中培养 24 h A 组:  $R 50 \mu\text{L} + D 50 \mu\text{L}$  B 组:  $R 50 \mu\text{L} + D 50 \mu\text{L} + \text{IL-2 纯化中和单抗 } 15 \mu\text{L}$  C 组:  $R 50 \mu\text{L} + \text{IL-2 纯化中和单抗 } 15 \mu\text{L}$  D 组:  $R 50 \mu\text{L}$  每组 3 个复孔, 空白对照组 RPMI1640 培养液  $100 \mu\text{L}$  ④酶标分析仪检测 培养 24 h 后, 每孔加入 MTT 试剂 ( $5 \text{ mg}/\text{L}$ )  $15 \mu\text{L}$  继续  $37^\circ\text{C}$ ,  $50 \text{ mL}/\text{L}$   $\text{CO}_2$  孵箱中培养 2~4 h 离心  $20 \text{ min}$  弃上清, 每孔加入 DMSO  $150 \mu\text{L}$  震荡  $10 \text{ min}$  静置  $20 \text{ min}$  待结晶完全溶解后, 在酶标分析仪上测定 A 值, 测定波长为  $570 \text{ nm}$  结果判定: (A) 倒置显微镜下直接观察, 各孔细胞转化黄色可溶性 MTT 为紫蓝色结晶物质的量, 比较试验孔和阴性对照孔的差异; (B) 以刺激指数 (stimulation index, SI) 判断细胞活性高低:  $SI = \frac{A_{\text{实验孔}}}{A_{\text{空白对照}}}$ 。

统计学处理: 所得数据以  $\bar{x} \pm s$  表示, 使用 SPSS 11.5 软件进行数据分析, 采用单因素方差分析比较组间差异。  $P < 0.05$  为差异有显著统计学意义。

## 2 结果

**2.1 一般情况** 本组 26例,死亡 5例(19%),2例术前已有肝、肾功能不全,分别于术后 16~23 d死于多脏器功能衰竭,1例死于精神抑郁,1例死于消化道大出血,另 1例死于曲霉菌感染。余 21例顺利康复出院(存活率 74%)。长期随访 1例出现房性早搏,1例表现为轻度腹胀。X线检查心影均无明显扩大,其血液动力学,射血分数,均未见明显改变。

**2.2 CRP变化** 将心脏移植受体术后 30 d内按是否成活分为成活组( $n=24$ )与死亡组( $n=2$ ),各组分别统计 CRP值并绘制曲线图(图 1)。可以看出术后 8 d左右血浆 CRP水平均有明显下降,CRP值在移植早期随着手术创伤的恢复而降低,2例死亡病例在早期下降后又有一明显的再次升高( $P<0.001$ )。成活组与死亡组在后期(14~21 d) CRP水平差别明显。

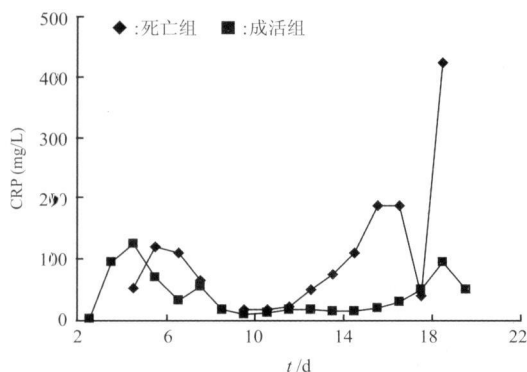


图 1 心脏移植受体术后 CRP的变化

**2.3 EMB** 26例心脏移植共检测 32例次心肌样本,14例次阴性(0等级),10例次 1<sup>a</sup>等级,1例次 1<sup>b</sup>等级,7例次>1<sup>b</sup>等级(1例次 2等级,4例次 3<sup>a</sup>等级,2例次 3<sup>b</sup>等级)。病理等级 0和 1<sup>a</sup> CRP为( $4.81\pm2.36$ ) mg/L,  $n=24$ ] 认为是阴性,等级≥1<sup>b</sup> CRP为( $14.26\pm9.08$ ) mg/L,  $n=8$ ] 看作可能的急性排斥反应。

**2.4 倒置显微镜观察** 各孔细胞转化黄色可溶性 MTT为紫蓝色结晶物质的量呈现一定的规律。EMB病理等级≥1<sup>b</sup>紫蓝色结晶量多呈现为 D组>C组>A组>B组,而病理等级<1<sup>b</sup>紫蓝色结晶量多无明显规律可循。

**2.5 EMB病理等级与 CRP检测数值比较分析** 心内膜心肌活检时同时检测 CRP数值,EMB病理等级 0和 1<sup>a</sup>为阴性组,EMB病理等级 1<sup>b</sup>和>1<sup>b</sup>为排斥组。经检测及统计分析,阴性组( $4.81\pm2.36$ ) mg/L与排斥组( $14.26\pm9.08$ ) mg/L两组间有明显的差异

CRP浓度水平升高。

**2.6 EMB病理等级与 MLC检测数值比较分析** 心内膜心肌活检时同时 MLC,EMB病理等级 0~1<sup>a</sup>等级有 24人次,MLC时 3个复孔,共获取 72组数据;EMB病理等级≥1<sup>b</sup>等级有 8人次,MLC时 3个复孔,共获取 24组数据。经检测及统计分析,EMB病理等级<1<sup>b</sup>时 MLC A、B、C、D各组差异不明显( $P>0.05$ ),即淋巴细胞活性在受到特异抗原和中和抗体作用下,淋巴细胞活性无明显影响。EMB病理等级≥1<sup>b</sup>时, A、B、C组与 D组均有显著差异( $P<0.05$ ),在分别受到特异抗原和中和抗体作用时,淋巴细胞活性减弱,在两者共同作用下,淋巴细胞活性减弱更加明显( $P<0.05$ )。由此可见,EMB病理等级≥1<sup>b</sup> MLC各组刺激指数(SI)明显呈现 D组>C组>A组>B组的规律(表 1)。

表 1 不同 EMB病理等级 MLC刺激指数的变化 ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	EMB(0~1 <sup>a</sup> )	EMB(≥1 <sup>b</sup> )	组别	EMB(0~1 <sup>a</sup> )	EMB(≥1 <sup>b</sup> )
A	2.72±0.34	3.07±0.31 <sup>a</sup>	C	2.30±0.22	3.65±0.24 <sup>a</sup>
B	1.98±0.37	1.64±0.11	D	2.43±0.38	4.16±0.23 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P<0.05$  <sup>b</sup> $P<0.01$  vs B

## 3 讨论

EMB目前被认为是诊断心脏急性排斥反应的“金标准”,但却是有创性检查方法,频繁的右心活检会造成心肌的损伤,反复静脉穿刺容易形成血栓或导致感染并发症,而且还需昂贵的费用,患者比较痛苦,不易接受。移植心脏的排斥反应是灶型病理改变,从右心室局部取材有误诊可能,且心肌活检本身可引起心肌的炎症反应,干扰对病变情况的判断。CRP是一个急性时相敏感性特征蛋白,它的检测对于疾病的诊断虽无特异性,但其浓度上升是各种原因引起的炎症和组织损伤的指标,是心脏移植受体免疫或炎症反应活性增强的标志<sup>[1]</sup>。在心脏移植前后,我们对受体 CRP监测发现 CRP值在移植早期随着手术创伤的恢复而降低,但有的受体 CRP数值波动很大,死亡与存活患者有明显区别,推测 CRP可作为判断心脏移植受体“健康”或病变状态的一个指标,也是观察心脏移植受体早期成活质量的标志。

本研究我们发现在 EMB(1<sup>b</sup>和>1<sup>b</sup>)时,血浆中 CRP浓度水平升高,推测在心脏移植排斥反应发生时,其 CRP值可能会明显上升<sup>[2]</sup>。心脏移植后急性排斥反应是以淋巴细胞为主的一系列免疫反应,其中 T淋巴细胞起着核心的作用。研究发现在特异性

心脏移植患者长期临床随诊观察中, 也发现免疫淋巴细胞活性抑制的现象。由此, 设计了改良体外单向混合淋巴细胞培养方法, 在加入丝裂霉素灭活的供体细胞同时, 引入 IL-2 纯化中和抗体, 通过改变反应条件诱导淋巴细胞的主动及被动性凋亡从而对活化淋巴细胞的增殖产生影响, 而最终通过 MTT 法来测定细胞的增殖活性, 使反应序列细化, 增加了反应的特异性, 检测手段相对简单, 经济可行。

本研究采用供体灭活细胞与 IL-2 纯化中和单抗联合培养的方法, 在体外证实供体特异受体淋巴细胞在特定供体抗原诱导下, 淋巴细胞活性受到抑制。同时发现, 供体特异的受体淋巴细胞在供体抗原和 IL-2 中和单抗联合作用下, 淋巴细胞活性被强烈抑制; 仅单独 IL-2 中和单抗对淋巴细胞活性也有抑制, 但弱于供体细胞抗原对淋巴细胞活性的抑制作用, 提示其供体细胞抗原是始动因素并起关键作用。引用特异的供体细胞抗原和 IL-2 中和单抗多种配组方式, 监测反应序列化, 监测手段特异性强, 对照直观而敏感, 减少了感染等因素的干扰, 较单个核细胞活性检测有更高的应用价值。但本实验仅在体外诱导出外周淋

巴细胞活性受抑制, 其具体抑制机制及体内情况还需要进一步深入研究。

## 【参考文献】

- [1] Marc SE, Hong JC, Malik KW, et al. Elevated levels of plasma C-reactive protein are associated with decreased graft survival in cardiac transplant recipients [J]. Circulation, 2000, 102 (17): 2100—2105
- [2] Chance JJ, Segal JB, Wallerson G, et al. Cardiac troponin T and C-reactive protein as markers of acute cardiac allograft rejection [J]. Clin Chim Acta 2001; 312: 31
- [3] Gollapudi S, Gupta S. Anti-P-Glycoprotein antibody induced apoptosis of activated peripheral blood lymphocytes: A possible role of P-Glycoprotein in lymphocyte survival [J]. J Clin Immunol, 2001, 21(6): 420—430
- [4] Fourie S, Genestier L, Robinet E. Human T cells require IL-2 but not G1/S transition to acquire susceptibility to Fas-mediated apoptosis [J]. J Immunol 1996; 157: 4309—4315
- [5] Musci MA, Latinis KM, Koretzky GA. Signaling events in T lymphocytes leading to cellular activation or programmed cell death [J]. Clin Immunol Immunopathol, 1997; 83: 205—222

编辑 黄良田

· 经验交流 · 文章编号: 1000-2790(2008)11-1030-01

# 绒毛结节性滑膜炎 29 例膝关节镜手术的康复护理

申 彬, 马凤萍, 范少地

(解放军第 451 医院骨科, 陕西 西安 710054)

【关键词】滑膜炎, 结节性; 关节镜手术; 康复护理

【中图分类号】R684 【文献标识码】B

0 引言 膝关节是人体负重关节, 其损伤在运动伤中发生率最高<sup>[1]</sup>, 绒毛结节性滑膜炎是介于炎症和良性肿瘤之间的炎性物质造成的繁殖反应性滑膜疾病。若手术切除不彻底, 易复发。应用膝关节镜技术, 能更清楚地观察关节内的病变部位, 结合术前检查、分型, 有针对性进行重点处理, 对关节腔损伤小、切口小、手术反应轻、痛苦小、锻炼早、康复快, 手术时间和平均住院日大大缩短<sup>[2-3]</sup>。我科 2005-10 /2007-11 共收治绒毛结节性滑膜炎患者 29 例, 经过精心治疗与护理, 取得满意疗效。

1 临床资料 本组 29(男 18 女 11)例, 年龄 25~55(平均 41.3)岁, 均有外伤史, 表现为疼痛、肿胀 12 例, 浮髌试验阳性 7 例, 关节穿刺抽出红棕色或血浆样液体 10 例, 全部病例均行膝关节镜手术, 术后当天直腿抬高功能锻炼, 第 3 日屈伸膝关节功能锻炼, 本组 1 例失访, 其余病例出院后分别于 3、12、24

mo 复查, 均恢复良好。

## 2 康复护理

2.1 术前 ①心理护理: 患者缺乏对疾病及手术治疗知识的了解, 心理忧虑、恐惧, 应面对面地与患者交流沟通, 介绍手术的目的、方法、过程及安全性, 解答患者的疑问和顾虑, 创造温馨的环境, 使其安全平静地接受手术<sup>[4]</sup>。②大小便的护理: 指导患者在床上排便以防止术后便秘及尿潴留。③术前功能锻炼: 可促进股四头肌肌力和膝关节功能, 防止术后膝关节功能退化, 为术后的功能锻炼做好准备。

2.2 术后 ①疼痛的护理: 冷疗时温度控制在 20℃左右, 可促使局部血管收缩, 减轻出血、肿胀, 并抑制疼痛感觉的传导, 减少肌肉痉挛, 减轻痛感。②肿胀的护理: 术后 6 h 取平卧位, 密切监测生命体征变化, 抬高患肢 30 度, 促进血液回流, 减轻腿部充血, 避免患肢肿胀。③饮食营养与日常生活指导: 术后及时补充营养和微量元素, 以促进关节功能的恢复。④功能锻炼: 麻醉作用消失、生命体征平稳后即进行。

2.3 出院指导 出院后继续锻炼股四头肌, 保持生活规律、情绪乐观, 宜进高热量、高蛋白、高维生素、清淡易消化食物, 注意饮食有节制, 遵医嘱按时服用药物, 定期到医院复查。

## 【参考文献】

- [1] 侯筱魁. 关节镜手术学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2003: 6—11.
- [2] 张春礼, 李明全, 李立文, 等. 膝骨关节病的关节镜诊断治疗[J]. 第四军医大学学报, 2001 22(13): 1024—1026
- [3] 邓小柱, 黄遂柱, 上官峰. 关节镜下关节清理术治疗膝关节炎 90 例[J]. 第四军医大学学报, 2004 25(12): 1091
- [4] 王国强. 心身疾病的心理护理原则和目标[J]. 实用护理杂志,