



烧伤早期切痂后烧伤血清对内皮单层通透性的影响

内皮细胞损伤或受激是导致烧伤后全身失控性炎症反应和脏器损伤的关键因素之一。近年来研究证实烧伤早期切痂可有效地减少感染和内脏并发症[1]。本实验利用体外内皮细胞培养检测烧伤早期切痂后烧伤血清对内皮细胞活力和单层通透性的影响,进一步探讨烧伤早期切痂的机制。

1 材料与方法

1.1 临床资料

1998~1999年连续观察大面积烧伤住院病人14例,随机分为烧伤后48 h内早期切痂组(A组)7例和烧伤48 h后非早期切痂组(B组)7例,于伤后第1、3及7天取股静脉血分离血清,按20%比例与RPMI 1640培养液混合, -20 °C保存。患者一般情况见表1。

表 1 两组烧伤病人一般情况 (n=7)

Tab.1 Clinical data of the burn patients in the two groups (n=7)

Group	Age(year)	Total burned area (%)	III° (%)	First operation	
				Time postburn (h)	Burned area (%)
A	34.5±11.3	61.6±13.5	42.8±16.5	22.3±11.6	35.9±13.5
B	32.7±14.8	57.8±12.6	40.7±18.8	84.3±17.2	39.2±14.8

A: Escharectomy within 48 h postburn; B: Escharectomy after 48 h postburn

1.2 内皮单层通透性测定

体外培养细胞采用ECV-304内皮细胞株(购自美国ATCC公司)。将传代后的第三代内皮细胞高密度接种于含有0.3 μm孔径的滤膜的培养室中(外径3 cm),待内皮细胞融合成单层后,加入含20%血清的M199培养液(美国Sigma公司),继续孵育24 h,用M199培养液清洗2次,每室加入^{99m}Tc标记的白蛋白(中国原子能科学研究院提供)1 ml,并放入六孔培养板(内径3.5 cm)中,向六孔培养板中加入1 ml M199,37 °C孵育1 h。取六孔板的液体1 ml,用γ-计数器(美国Beckman公司)检测(单位: min⁻¹)。

1.3 内皮细胞活力测定

采用噻唑蓝比色法[2]:待96孔板中内皮细胞与血清一同孵育24 h后,弃培养液加入噻唑蓝(Fluka产品,5 mg/ml)PBS,每孔20 μl,37 °C孵育4 h后,显微镜下可见黑色结晶形成,加入二甲基亚砷100 μl,振荡至结晶溶解,避光10 min,酶标仪(美国Beckman公司)上570 nm 波长计D(λ)。

1.4 统计学处理

组间数据比较采用两样本均数t检验。

2.1 内皮细胞活力变化

烧伤后1、3及7 d烧伤血清与内皮细胞一同孵育24 h后, A组内皮细胞活力较B组明显增强(表2)。

表 2 烧伤血清刺激对内皮细胞活力的影响 ($n=7, \bar{x}\pm s$)
Tab.2 Effect of burn sera on EC activity(A) after ECs were
coincubated with burn sera for 24 h ($n=7, Mean\pm SD$)

Group	Time after burn injury (d)		
	1	3	7
A	0.36±0.08	0.68±0.14*	0.69±0.15*
B	0.38±0.07	0.42±0.06	0.47±0.06

* $P<0.01$ vs group B

2.2 内皮单层通透性变化

体外正常培养的内皮细胞, 内皮单层通透性为(17±5)/min; 在A组及B组烧伤病人血清刺激下, 内皮单层通透性均明显升高, 但A组内皮单层通透性显著低于B组(表3)。

表 3 烧伤血清刺激后内皮单层通透性变化 ($n=7, \bar{x}\pm s$)
Tab.3 Changes of EC monolayer permeability(min^{-1}) in
response to burn sera treatment ($n=7, Mean\pm SD$)

Group	Time after burn injury (d)		
	1	3	7
A	78±9	43±5*	37±4*
B	81±8	68±7	54±6

* $P<0.01$ vs group B

3 讨论

严重烧伤后多脏器功能损害的发生一直是影响烧伤治愈的重要因素之一。研究表明, 烧伤后循环血液中异常增多的物质(如LPS、TNF等)可损伤内皮细胞[3], 而内皮细胞损伤是多脏器功能损害的共同通路, 保护内皮细胞可有效地减轻和预防多脏器功能损害。我们应用体外内皮细胞培养, 证实严重烧伤病人伤后血清可损伤内皮细胞, 降低内皮细胞活力, 使内皮单层通透性增高, 从而加剧烧伤后血管内液体渗出, 致组织水肿和缺血缺氧, 在脏器功能损害中起重要作用。因此, 如何减轻烧伤血清损伤内皮细胞是预防脏器功能损害的重要手段。

烧伤早期切痂通过在烧伤早期尽可能地将大面积III度和深II度创面切除, 同时去除了大量痂下水肿液并用自体或异体皮覆盖, 使感染或坏死的烧伤创面成为一相对健康的全封闭创面, 减少炎症介质和细胞因子等入血, 从而减轻内皮细胞损伤。我们以往的研究曾证实, 烧伤休克期后一次性大面积切痂可使术后烧伤血清对内皮细胞损伤减轻[4]。本实验进一步观察到, 烧伤早期切痂后1、3、7 d烧伤血清较烧伤早期非切痂组对内皮细胞活力、内皮细胞单层通透性影响均明显减轻, 说明烧伤早期切痂可进一步减轻烧伤血清对内皮细胞的损伤, 从而有利于保护内皮细胞, 减轻和预防多脏器功能损害。

参考文献:

[1] 高维谊, 郭振荣, 郝岱峰, 等. 大面积烧伤休克期切痂对全身严重反应综合征的防治[J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1998, 14(5):341-4.

[2] 朱文菁, 金慰芳, 张丽丽, 等. MTT法分析培养成骨细胞的存活和增殖能力[J]. 上海医科大学学报, 1996, 7:254-7.

[3] 高建川, 杨宗城, 黎 鳌, 等. 烫伤大鼠血清对血管内皮细胞通透性的影响[J]. 解放军医学杂志, 1997, 22:36-9.

[4] 李志清, 黄跃生, 杨宗城, 等. 一次性大面积切痂前后烧伤血清中内毒素和肿瘤坏死因子及血清损伤内皮细胞的变化[J]. 第一军医大学学报, 1998, 18:280-1.

参考文献:

[1] 高维谊, 郭振荣, 郝岱峰, 等. 大面积烧伤休克期切痂对全身严重反应综合征的防治[J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1998, 14(5):341-4.

[2] 朱文菁, 金慰芳, 张丽丽, 等. MTT法分析培养成骨细胞的存活和增殖能力[J]. 上海医科大学学报, 1996, 7:254-7.

[3] 高建川, 杨宗城, 黎 鳌, 等. 烫伤大鼠血清对血管内皮细胞通透性的影响[J]. 解放军医学杂志, 1997, 22:36-9.

[4] 李志清, 黄跃生, 杨宗城, 等. 一次性大面积切痂前后烧伤血清中内毒素和肿瘤坏死因子及血清损伤内皮细胞的变化[J]. 第一军医大学学报, 1998, 18:280-1.

[回结果列表](#)