

烧伤血清和痂下水肿液对内皮细胞凋亡和坏死的影响

李志清¹ 杨宗城² 袁新洲¹ 周一平¹ 渊第一军医大学南方医院烧伤科 广东 广州 510515 第三军医大学西南医院烧伤研究所 重庆 400038

摘要 目的 了解烧伤血清和痂下水肿液对内皮细胞凋亡和坏死的影响 探讨烧伤血清在烧伤后内皮细胞损伤中的作用 方法 将烧伤血清和痂下水肿液与人脐静脉内皮细胞一同孵育 12 h 后 采用 Annexin-V-Fluos 和碘化丙啶 PI 标记内皮细胞 流式细胞仪检测其凋亡和坏死百分率 结果 烧伤血清和痂下水肿液与人脐静脉内皮细胞一同孵育 12 h 后 即出现凋亡和坏死增多 4 h 后 凋亡和坏死进一步增加 结论 烧伤血清和痂下水肿液均可导致内皮细胞凋亡和坏死 在烧伤后内皮细胞损伤中可能起重要作用

关键词 烧伤 内皮细胞 细胞凋亡 坏死

中图分类号 R644 文献标识码 B 文章编号 000-2588(2001)03-0213-02

LIZhi-qing¹, YANGZong-cheng², RONGXin-zhou¹, ZHOUYi-ping¹

(¹Department of Burns, Nanfang Hospital, First Military Medical University, Guangzhou 510515, China; ²Institute of Burn Research, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract Objective To explore the effects of burn serum and subeschar tissue fluid (STF) on post burn damage of the endothelial cells (EC). Methods Human umbilic vein ECs cultured and stained with annexin-V-Fluos (A-V) and propidium iodide (PI) were incubated with peripheral blood serum or STF collected from patients with severe burn injuries, and apoptosis and necrosis of the EC were observed by means of flow cytometry. Results Incubation with the burn serum and STF caused the increase of apoptosis and necrosis of the EC. Conclusion Burn serum and STF may induce apoptosis and necrosis of the EC, and may play an important role in post burn injury of the EC.

Key words Burns; endothelial cells; apoptosis; necrosis

血管内皮细胞衬覆于血管内壁 构成血管通透性的主要屏障 能合成和分泌调节血管舒张和凝血纤溶系统等的多种因子 并在血管形成 创伤愈合和炎症反应中起重要作用 血管内皮细胞损伤是烧伤后脏器损害发生的病理基础 既往研究表明烧伤血清和痂下水肿液可损伤内皮细胞 本研究观察了烧伤血清和痂下水肿液诱导下的内皮细胞凋亡和坏死情况

1 材料和方法

1.1 烧伤血清和烧伤痂下水肿液(STF)的制备

10 例本院收治的严重烧伤病人 男性 7 名 女性 3 名 年龄 4.7 依 77 岁 烧伤总面积占体表总面积 2.8 依 1.5 袁 其中 度烧伤面积均超过 20% TBSA 遥 每例病人均在烧伤后 3~4 d 切痂前取外周静脉血 5 ml 并分离血清 袁于术中用无菌注射器收集 STF 袁以 8 例健康成人外周静脉血血清为对照 遥

STF 和血清按 20% 比例与 M199 培养液混合 袁分别刺激内皮细胞 遥

1.2 内皮细胞培养

常规方法复苏 ECU304 内皮细胞株 袁接种于细胞培养板中 袁当细胞生长达亚融合时 弃培养液 加入无血清培养液 RPMI1640 培养 24 h 再弃去培养液 遥将血清分为正常血清组 烧伤血清组 和 STF 组 袁在各组培养板中加入血清或 STF 袁继续培养 12 和 24 h 后分别收集细胞 袁用 70% 乙醇固定 遥

1.3 流式细胞仪检测

采用 Annexin-V-Fluos 和 PI 双标法流式细胞仪检测细胞凋亡和坏死百分率 遥步骤如下 收集血清和 STF 刺激后的内皮细胞 调整细胞密度为 10⁶ 个 /ml 袁 PBS 液冲洗 袁离心 5 min 袁加入预先配制好的双标液 100 滋 袁 1 ml Heps 缓冲液 +20 滋 袁 Annexin-V +20 滋 袁 PI 袁均自德国宝灵曼公司 袁室温孵育 10~15 min 袁上机检测 遥

1.4 统计处理

所有数据以 袁表示 袁组间数据比较采用两样本均数 袁检验 遥

收稿日期 000-04-27

作者简介 李志清 渊967- 袁男 湖南沅江人 袁996 年毕业于第三军医大学 袁主治医师 袁电话 20-85147627

2 结果

烧伤血清和 STF 刺激体外培养的人脐静脉内皮细胞 12 h 后袁内皮细胞凋亡和坏死百分率均明显增多袁以 STF 诱导更明显袁 4 h 后内皮细胞凋亡和坏死百分率进一步上升袁表 1 袁

表 1 烧伤血清或痂下水肿液刺激内皮细胞 12 h 后细胞凋亡和坏死的百分率(% 袁)

Table with 3 columns: Group, Apoptosis, Necrosis. Rows: Normalserum, Burnserum, STF.

STF: Subeschartissuefluid; *孕0.01 增normalserumgroup; 孕0.01 增burnserumgroup

表 2 烧伤血清或痂下水肿液刺激内皮细胞 24 h 后细胞凋亡和坏死的百分率(% 袁)

Table with 3 columns: Group, Apoptosis, Necrosis. Rows: Normalserum, Burnserum, STF.

*孕0.01 增normalserumgroup; 孕0.01 增burnserumgroup

3 讨论

血管内皮细胞并不仅仅是被动的靶细胞袁其本身具有屏障和分泌等功能袁在严重烧伤后脏器损伤中起重要作用遥严重烧伤后损伤内皮细胞的因素众多袁大多数为循环血液中异常增多的物质 渊内毒素尧 TNF 琢等冤既往研究 渊袁表明烧伤血清和痂下水肿液均可导致内皮细胞形态尧功能和通透屏障的变化袁本实验进一步发现烧伤血清和痂下水肿液不但可诱导内皮细胞坏死袁也可导致内皮细胞凋亡袁而且凋亡百分

率高于坏死百分率袁提示烧伤血清和 STF 损伤内皮细胞袁部分可能是以细胞凋亡的方式进行遥有研究表明内毒素所致的血管内皮细胞损伤是以细胞凋亡形式出现的袁鼠被注入内毒素或 TNF 琢后 6 h 袁肺尧肝尧肠尧脾等脏器在非内皮细胞组织损伤前即出现内皮细胞凋亡袁内皮细胞凋亡在内毒素休克发病中起重要作用遥由于血管内皮细胞不属于快速自我更新的细胞群体袁内皮细胞凋亡后降低了内皮细胞储备袁造成血管管腔表面内皮细胞丢失袁其屏障及分泌功能也受影响袁从而加重组织微循环障碍袁导致组织缺血缺氧遥虽然烧伤血清和痂下水肿液可诱导体外培养内皮细胞凋亡和坏死袁但内皮细胞凋亡在机体烧伤后内皮致细胞和脏器损伤中的机制尚有待进一步研究遥

烧伤痂下水肿液诱导内皮细胞坏死和凋亡作用较烧伤血清强袁可能与痂下水肿液中内毒素尧 NF 琢等含量较高有关遥因烧伤血清和烧伤痂下水肿液可诱导内皮细胞凋亡和坏死袁临床上我们应尽早切痂袁切除坏死烧伤组织同时引流痂下水肿液袁并可用血液交换尧滤过等手段袁减轻烧伤血清和痂下水肿对内皮细胞的损伤遥

参考文献

袁哲 Vane JR, Anggard EE, Botting RM. Regulatory functions of the vascular endothelium. Engl J Med, 1990, 323: 27-36.
袁哲 杨宗城. 烧伤早期脏器损害发病机制的探讨. 解放军医学杂志, 1998, 23: 84-7.
袁哲 李志清, 任加良, 周一平, 等. 烧伤痂下水肿液对内皮细胞单层通透性的影响. 中华创伤杂志, 1999, 15: 357-9.
袁哲 Haimovitz FA, Cordon CC, Bayoumy S. Tumor necrosis factor-琢 induces disseminated endothelial apoptosis requiring ceramide generation. Exp Med, 1997, 186: 1831-41.
袁哲 Eissner G, Kohlhuber F, Grell M, et al. Critical involvement of transmembrane tumor necrosis factor-琢 in endothelial programmed cell death mediated by ionizing radiation and bacterial endotoxin. Blood, 1995, 85: 4184-93.

急诊床边体外超滤救治急性左心衰竭合并急性肾功能衰竭 1 例报告

欧阳平¹, 袁 键¹, 袁 宏发², 刘伊丽¹ 渊第一军医大学南方医院¹ 心内科袁 肾内科袁 广东 广州 510515 冤

关键词 体外超滤 心力衰竭 肾功能衰竭

中图分类号 R541 文献标识码 B 文章编号 000-2588(2001)03-0214-01

1 临床资料

患者袁袁 5 岁袁 因多饮尧 多尿 12 年尧 胸闷尧 心悸 1 个月尧 肢及阴囊水肿 1 周于 1999 年 10 月 29 日入我院内分泌科查

体 渊血压 23/10 kPa, 袁口唇轻度紫绀, 袁颈静脉充盈, 袁右下肺可闻及少许湿罗音, 袁心界向左下扩大, 袁心率 86 次/min, 袁律齐, 袁瓣膜区未闻及杂音, 遥移动性浊音阳性, 袁腹水, 袁下肢明显水肿, 遥尿常规示尿蛋白+++ 袁血尿素氮 8.8 mmol/L, 袁肌酐 310 滋, 袁血清白蛋白 28 g/L, 袁空腹血糖 6.2 mmol/L 遥

入院诊断为 野 I 型糖尿病袁 糖尿病肾病, 口高血压病 III 期, 袁

收稿日期 000-10-04

作者简介 袁 欧阳平 (1965-) 袁 男, 1987 年毕业于第一军医大学, 博士袁 主治医师, 电话 020-85147640

渊转 240 页冤