

· 短篇论著 ·

# 两种生长因子联合应用对大鼠缺血皮瓣成活的影响

廖毅 张波 童庭辉 陈跃

血管内皮生长因子(VEGF)可调节血管生长中的内皮细胞外基质溶解和内皮细胞迁移、增生及管腔形成。碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)能够诱导内皮细胞萌芽、增殖,增加血管通透性。二者按一定方式联合使用能否起到促血管生长的协同作用?为此,笔者将二者联合应用,观察其对大鼠缺血皮瓣血供恢复及血管重建的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 动物模型和分组

健康 Wistar 雌性大鼠 40 只(泸州医学院实验动物中心),体质量(300 ± 20)g,按照完全随机法分为联合注射组(注射 VEGF 与 bFGF)、VEGF 注射组、bFGF 注射组、对照组(注射等渗盐水),每组 10 只,分笼喂养,自由饮水,室温为(25 ± 3)℃,于实验前一晚停止喂食。采用 50 g/L 氯胺酮肌肉注射(30 mg/kg)麻醉,背部剃毛,于每只大鼠背部制作单蒂型缺血随意皮瓣 8 cm × 2 cm(蒂靠尾侧,皮瓣内包括皮肤、皮下肉膜层、浅筋膜层)。每块皮瓣有 2 处注射点,分别距蒂部 2.6 cm 及距皮瓣边缘 1 cm(肉膜层)。联合注射组每处注射点注射 VEGF(6 mg/L)50 μL + bFGF(4200 U/mL)150 μL;其他组分别注射 VEGF、bFGF 和等渗盐水,每块皮瓣注射总量为 400 μL。将皮瓣原位缝合,创缘涂红霉素软膏。

### 1.2 检测指标

1.2.1 大体观察 观察皮瓣颜色、质地、渗出、坏死范围及切割皮瓣出血等情况。

1.2.2 皮瓣成活率 术后 5 d 计算皮瓣成活率。

1.2.3 检测皮瓣的血供 术后 5 d 将各组皮瓣原位剥离创面基底部,保留蒂部完好并翻转皮瓣。于大鼠尾静脉注射 1 mL 焦磷酸钠 30 min 后,再注入 <sup>99</sup>Tc<sup>m</sup> 1 mL。利用单光子发射计算机断层摄影(SPECT)检测红细胞在皮瓣血液中的分布情况,照相,以靶点/非靶点比值(T/NT)表示。

### 1.3 统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,用 SPSS 12.0 统计软件包行 F 分析。

## 2 结果

### 2.1 大体观察

术后 2~3 d,各组大鼠皮瓣远端出现面积不等的紫红或暗红区;术后 4~5 d,皮瓣远端或中远端不断扩大的紫红区逐渐转为黑色或暗紫色。各用药组皮瓣坏死面积均小于对照组;联合注射组坏死面积最小,位于皮瓣远端,其中 1 只大鼠皮瓣完全成活,原位掀起皮瓣时出血量较多,筋膜上有许多血管或血管网。见图 1,2。



图 1 术后 5 d 对照组大鼠皮瓣坏死面积较大



图 2 术后 5 d 联合注射组大鼠皮瓣坏死面积小于对照组

### 2.2 皮瓣成活率

联合注射组皮瓣成活率为(88.8 ± 4.6)%,明显高于 VEGF 注射组[(75.4 ± 2.8)%]、bFGF 注射组[(64.3 ± 4.5)%]和对照组[(47.6 ± 7.9)%],*P* < 0.01,其中 VEGF 注射组皮瓣成活率高于 bFGF 注射组(*P* < 0.01),对照组皮瓣成活率低于其他两注射组(*P* < 0.01)。

### 2.3 SPECT 检测皮瓣血供情况

联合注射组 T/NT 为 1.76 ± 1.15,与 VEGF 注射组(0.93 ± 0.42)、bFGF 注射组(0.78 ± 0.33)、对照组(0.50 ± 0.23)相比明显增高(*P* < 0.05),其中 VEGF 注射组、bFGF 注射组 T/NT 水平相近(*P* > 0.05)。见图 3,4。



图 3 单光子发射计算机断层摄影显示对照组大鼠皮瓣模糊。箭头所示为血供情况

作者单位:646000 四川泸州医学院附属医院整形烧伤科(廖毅、童庭辉),核医学科(陈跃);泸州医学院 2004 级烧伤专业研究生(张波)

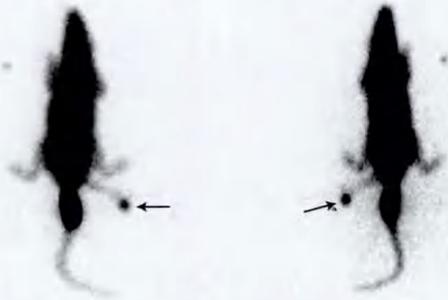


图 4 单光子发射计算机断层摄影显示联合注射组大鼠皮瓣清晰。箭头所示为供血情况

### 3 讨论

VEGF 结合在微血管内皮细胞的囊-泡小体上,促进生物分子的跨膜转运,以此增加血管通透性,使血管内纤维蛋白原等血浆蛋白外渗。纤维蛋白原与血管外的纤维连接蛋白等多种成分凝集形成交叉的纤维蛋白凝胶体,为内皮细胞、成纤维细胞的迁移提供纤维网络,有利于血管生成。

bFGF 是从牛脑垂体中发现的一种对成纤维细胞具有明显促生长作用的碱性蛋白,对新生血管形成过程中的多个环节如毛细血管基底膜降解、内皮细胞迁移增生、胶原合成、小血管管腔形成等均有明显促进作用。这种促血管生成作用,有可能使皮瓣在转移后较早与受床建立血管网。

联合应用 VEGF 和 bFGF 可以协同促进血管生成,使缺血区快速血管化以达到临床治疗的目的。两者发挥协同作用的可能机制:(1) bFGF 促进了 VEGF 的表达。Seghezzi 等<sup>[1]</sup>认为 bFGF 能上调 VEGF 在内皮细胞中的表达。Saadeh 等<sup>[2]</sup>观察到随着 bFGF 的增加,VEGF 的表达亦增强,这种剂

量依赖作用是独立的。(2) VEGF 是 bFGF 发挥作用的基础。内皮细胞产生的 VEGF 是 bFGF 诱导血管生成的一种重要“中介”自分泌因子,而且 VEGF 能增强 bFGF 诱导内皮细胞增殖的功能<sup>[1,3]</sup>。Ley 等<sup>[4]</sup>报道,bFGF 与 VEGF 剂量比值为 3:1 时能产生很强的协同效应。

研究表明,VEGF 在恶性黑色素瘤中过高表达,而在色素痣中不表达<sup>[5]</sup>。体外实验表明,过高表达的 VEGF 具有直接促进恶性黑色素瘤细胞增殖的作用<sup>[6]</sup>。因此,VEGF 在皮瓣中应用的安全性问题尚需进一步研究。

### 参考文献

- [1] Seghezzi G, Patel S, Ren CJ, et al. Fibroblast growth factor-2 (FGF-2) induces vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in the endothelial cells of forming capillaries; an autocrine mechanism contributing to angiogenesis. *J Cell Biol*, 1998, 141(7):1659-1673.
- [2] Saadeh PB, Mehrara BJ, Steinbrech DS, et al. Mechanisms of fibroblast growth factor-2 modulation of vascular endothelial growth factor expression by osteoblastic cells. *Endocrinology*, 2000, 141(6): 2075-2083.
- [3] 孙京华, 陈艳艳, 刘常明, 等. b-FGF, VEGF 在碱烧伤大鼠角膜中的表达与新生血管的关系. *眼外伤职业眼病杂志*, 2007, 29(2):81-84.
- [4] Ley CD, Olsen MW, Lund EL, et al. Angiogenic synergy of bFGF and VEGF is antagonized by Angiopoietin-2 in a modified in vivo Matrigel assay. *Microvasc Res*, 2004, 68(3):161-168.
- [5] 陶娟, 涂亚庭. 恶性黑色素瘤内皮型一氧化氮合酶和血管内皮生长因子的表达. *中华皮肤科杂志*, 2004, 37(10):575-577.
- [6] 陶娟, 涂亚庭. 一氧化氮在血管内皮生长因子诱导恶性黑色素瘤细胞增殖机制中的研究. *中国皮肤性病学期刊*, 2004, 18(5): 269-272.

(收稿日期:2007-11-16)

(本文编辑:莫愚)

## 烧伤患者不同时期增生性瘢痕的透明质酸含量

何晓升 倪有娣 刘茂林 刘苏杭 钟晓春

胎儿创口中富含透明质酸(HA),为正常组织的再生提供了良好的局部环境,可使胎儿无瘢痕愈合。成人伤口愈合时,由于 HA 含量较低,引起瘢痕组织明显增生,有时甚至是肥厚性增生<sup>[1]</sup>。本研究选用烧伤患者伤后不同时期的增生性瘢痕组织,观察其 HA 含量的动态变化,旨在为今后用 HA 治疗瘢痕提供参考。

### 1 对象与方法

#### 1.1 标本取材

选择烧伤后增生性瘢痕患者 29 例,年龄 2~19 岁,瘢痕

形成时间:小于 6 个月 11 例(男 5 例、女 6 例);大于或等于 6 个月,小于 2 年 8 例(男 7 例、女 1 例);大于或等于 2 年 10 例(男 8 例、女 2 例)。留取患者术中切除的瘢痕组织标本,以其术中剩余的腹股沟处正常皮肤标本作为对照,患者或其家属均知情同意。将每块标本分为 3 等份,进行下述检测。

#### 1.2 组织病理学观察

标本用 Bouin 液固定,常规切片,行 HE、胶原纤维(VG)染色,光学显微镜下观察。

#### 1.3 HA 的免疫组织化学分析

将去除皮下组织的标本置于体积分数 10% 甲醛中固定 24 h。乙醇脱水,石蜡包埋,切片(厚 5 μm)。切片用体积分数 3% 过氧化氢处理 10 min,磷酸盐缓冲液清洗,按一抗(HA 结合蛋白)试剂盒(武汉中美科技有限公司)、二抗(与链霉亲和素结合的鼠抗人免疫球蛋白 G)试剂盒(美国 DAKO 公

基金项目:杭州师范大学科研基金(2004XYZ04)

作者单位:310015 杭州市第二人民医院烧伤科

通讯作者:钟晓春,Email:zjhzzxc@163.com,电话:13157125169