重障碍，亦能反映低灌注和休克的严重程度，将其作为全身灌流指标的临床意义愈来愈受到重视[10]。部分烧伤患者尽管尿量维持在 30 mL/h 以上，但血浆乳酸水平较高，提示组织仍处于缺血缺氧状态[11]。本研究对血浆乳酸水平的动态监测也表明，新的复苏方式对特大面积烧伤后全身组织灌注不足和组织缺氧的改善作用明显。此外与对照组比较，研究组患者的病死率有所降低，但组间比较差异无统计学意义（$P>0.05$），笔者分析与纳入研究的样本量不够大有关。

综上所述，对特大面积烧伤的休克期液体复苏，适当增加补液量并给予双通道补液的方式，有助于休克期平稳度过，能减轻脏器损伤。关于补液系数的确立，尚有待大样本病例的统计分析以及多中心协作的进一步深入研究。

参考文献

[1] Lawrence A, Faraklas I, Watkins H, et al. Colloid administration normalizes resuscitation ratio and ameliorates "fluid creep". J Burn Care Res, 2010, 31(1): 40-47.

[2] Levy JH. Treating shock--old drugs, new ideas. N Engl J Med, 2010, 362(9): 841-843.

[3] Latenser BA. Critical care of the burn patient: the first 48 hours. Crit Care Med, 2009, 37(10): 2819-2826.

[4] Fry DE. Sepsis, systemic inflammatory response, and multiple organ dysfunction: the mystery continues. Am Surg, 2012, 78(1): 1-8.

[5] Shinozawa Y. Fluid management and care for multiple organ dysfunction syndrome in patients with extensive burns. Nihon Geka Gakkai Zasshi, 2005, 106(12): 736-739.

[6] Freiburg C, Igneri P, Sartorelli K, et al. Effects of differences in percent total body surface area estimation on fluid resuscitation of transferred burn patients. J Burn Care Res, 2007, 28(1): 42-48.

[7] 杨宗城. 烧伤救治中值得关注的几个问题. 中华烧伤杂志, 2007, 23(5): 321-323.

[8] 施剑武, 陈炯, 周建军, 等. 双静脉通道在烧伤休克期患者液体复苏中的作用. 中华外科杂志, 2010, 48(15): 1194-1195.

[9] Kang YR, Um SW, Koh WJ, et al. Initial lactate level and mortality in septic shock patients with hepatic dysfunction. Anaesth Intensive Care, 2011, 39(5): 862-867.

[10] Holley A, Lukin W, Paratz J, et al. Review article: part one: goal-directed resuscitation--Which goals? Haemodynamic targets. Emerg Med Australas, 2012, 24(1): 14-22.

[11] Andel D, Kamolz LP, Roka J, et al. Base deficit and lactate: early predictors of morbidity and mortality in patients with burns. Burns, 2007, 33(8): 973-978.

（收稿日期：2012-02-28）
（本文编辑：莫愚）

骨髓间充质干细胞移植对烟雾吸入性损伤兔肺血管内皮生长因子以及血管生成素 1 和血管生成素 2 的影响

朱峰　郭光华　陈雯　彭燕　王年云　邢娟娟

吸入性损伤后肺血管内皮细胞的直接机械损伤（包括热力和烟雾等）以及内皮系统损伤后所带来的炎性细胞浸润，是血管通透性增加、肺水肿发生发展的主要原因。同时，肺血管内皮系统的直接或间接损伤，也是阻碍吸入性损伤后期组织修复的关键因素[1]。内皮细胞是肺损伤的一个重要研究方向，而血管内皮生长因子（VEGF）和血管生成素（angiopoietin, Ang）家族是已知仅对血管内皮有作用的特异性生长因子[2-3]。目前，肺外干细胞进入肺组织修复肺损伤可能是重要的细胞治疗措施之一。本研究观察骨髓间充质干细胞（BMSC）移植对烟雾吸入性损伤兔肺内 VEGF、Ang-1 和 Ang-2 的影响，为进一步应用细胞及基因治疗吸入性损伤提供理论依据。

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1009-2587.2012.06.022

基金项目：国家自然科学基金（81060155）；江西省科技厅支撑计划（2010BSA10300）

作者单位：330006　南昌大学第一附属医院重症医学科（朱峰），烧伤科（郭光华、陈雯、彭燕、王年云、邢娟娟）

通信作者：郭光华，Email: guogh2000@hotmail.com，电话：13007222375

1　材料与方法

1.1　动物及主要材料来源

4 周龄健康纯种新西兰大耳兔 1 只，体质量 2 kg 左右；健康成年新西兰大耳兔 56 只，体质量（3.8 ± 0.7）kg，雌雄不拘，均由南昌大学实验动物中心提供。控烟、控时烟雾吸入性损伤致伤仪由南昌大学第一附属医院烧伤科自制，CX40 型光学显微镜购自日本 Olympus 公司，Model 680 型酶标仪购自美国 Bio-Rad 公司，低温离心机购自美国 BD 公司。DMEM-F12 培养基、FBS 购自美国 Hyclone 公司，PBS 购自美国 Gibco 公司，2.5 g/L 含乙二胺四乙酸的胰蛋白酶（体积比为 1∶1）购自北京 Solarbio 公司，兔 VEGF、Ang-1、Ang-2 的 ELISA 定量测定试剂盒购自上海森雄科技实业有限公司。

1.2　兔 BMSC 的分离、培养和鉴定

取 1 只 4 周龄新西兰大耳兔参照文献[4]方法分离、培养和鉴定兔 BMSC。细胞呈长梭形贴壁生长，簇状增殖灶分布均匀，排列类似旋涡状。流式细胞仪检测显示 CD34、CD5 呈阴性表达，CD44、CD105 呈阳性表达，提示该细胞为间充质干细胞（MSC）[5]。取第 3 代兔 BMSC 以胰蛋白酶消化备用。

1.3　实验分组及处理

参照文献[6]将 48 只成年新西兰大耳兔制成重度烟雾

版权所有 盗版必究　Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?

吸入性损伤。按照随机数字表法将其分为吸入性损伤组和干细胞治疗组，每组 24 只。吸入性损伤组兔致伤后立即经耳缘静脉缓慢注入 10 mL PBS，干细胞治疗组兔伤后同法立即注入含 1×10^7 个兔 BMSC 的 PBS 10 mL。随后 2 组兔均自由摄食、饮水。另取 8 只成年新西兰大耳兔作为正常对照组，不致伤，仅同法注入 10 mL PBS。

1.4　肺组织 VEGF、Ang-1、Ang-2 水平的检测

伤后 2、4、6 h 分别处死 2 组致伤兔（每组 8 只）并取其肺组织制成匀浆液，于 4 ℃下以离心半径 13.5 cm，3000 r/min 离心 15 min，取上清液 -20 ℃保存。应用 ELISA 法检测肺组织匀浆液中 VEGF、Ang-1、Ang-2 水平，操作严格按照试剂盒说明书进行。正常对照组兔取肺组织同法检测上述指标。

1.5　统计学处理

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 SPSS 15.0 统计软件进行析因设计方差分析，LSD 法（软件自动略去该统计量值）进行两两比较。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结果

2.1　肺组织中 VEGF 水平的变化

与正常对照组比较，吸入性损伤组伤后 2 h 肺组织 VEGF 水平迅速下降，随着时间推移，其水平逐渐降低（t 值分别为 4.32、12.50、15.09，P 值均小于 0.01）。与正常对照组比较，干细胞治疗组伤后各时相点 VEGF 水平呈下降趋势（t 值分别为 4.00、7.25、8.90，P 值均小于 0.01）。与吸入性损伤组比较，干细胞治疗组伤后 4、6 h VEGF 水平显著升高（t 值分别为 2.17、3.23，P 值均小于 0.05）。见表 1。

表 1　3 组兔肺组织中血管内皮生长因子水平比较（pg/mL，$\bar{x}\pm s$）

组别	兔数（只）	伤后 2 h	伤后 4 h	伤后 6 h
吸入性损伤组	24	55 ± 14^{a}	38 ± 8^{a}	29 ± 7^{a}
干细胞治疗组	24	71 ± 14^{a}	51 ± 14^{ab}	45 ± 12^{ab}

注：正常对照组兔数为 8 只，肺组织中血管内皮生长因子水平为（95 ±10）pg/mL；与正常对照组比较，$^{a}P<0.01$；与吸入性损伤组比较，$^{b}P<0.05$

2.2　肺组织中 Ang-1 水平的变化

吸入性损伤组肺组织 Ang-1 水平于伤后 2 h 迅速升高，随着时间的推移，其水平逐渐降低，但均明显高于正常对照组（t 值分别为 8.19、4.30、4.37，P 值均小于 0.01）。干细胞治疗组伤后各时相点 Ang-1 水平呈下降趋势，但均明显高于正常对照组（t 值分别为 26.63、11.18、11.35，P 值均小于 0.01）与吸入性损伤组（t 值分别为 14.16、4.81、7.19，P 值均小于 0.01）。见表 2。

2.3　肺组织中 Ang-2 水平的变化

吸入性损伤组伤后 2、4 h 肺组织 Ang-2 水平均显著高于正常对照组（t 值分别为 10.33、7.28，P 值均小于 0.01）；伤后 6 h Ang-2 水平下降，接近正常对照组（$t=0.89$，$P>0.05$）。干细胞治疗组伤后 2、4 h Ang-2 水平均明显高于正常对照组（t 值分别为 6.39、3.07，P 值均小于 0.01），伤后 6 h Ang-2 水平接近正常对照组（$t=0$，$P>0.05$）。干细胞治疗组与吸入性损伤组伤后各时相点 Ang-2 水平接近（t 值分别是 0.13、0.65、0.78，P 值均大于 0.05）。见表 3。

表 2　3 组兔肺组织中血管生成素 1 水平比较（pg/mL，$\bar{x}\pm s$）

组别	兔数（只）	伤后 2 h	伤后 4 h	伤后 6 h
吸入性损伤组	24	25 ± 4^{a}	19 ± 5^{a}	17 ± 3^{a}
干细胞治疗组	24	51 ± 3^{ab}	30 ± 4^{ab}	30 ± 4^{ab}

注：正常对照组兔数为 8 只，肺组织中血管生成素 1 水平为（10 ±3）pg/mL；与正常对照组比较，$^{a}P<0.01$；与吸入性损伤组比较，$^{b}P<0.01$

表 3　3 组兔肺组织中血管生成素 2 水平比较（pg/mL，$\bar{x}\pm s$）

组别	兔数（只）	伤后 2 h	伤后 4 h	伤后 6 h
吸入性损伤组	24	0.51 ± 0.12^{a}	0.38 ± 0.12^{a}	0.06 ± 0.03
干细胞治疗组	24	0.50 ± 0.19^{a}	0.32 ± 0.23^{a}	0.07 ± 0.03

注：正常对照组兔数为 8 只，肺组织中血管生成素 2 水平为（0.07 ±0.03）pg/mL；与正常对照组比较，$^{a}P<0.01$

3　讨论

VEGF 是目前已知的强特异性刺激肺血管内皮细胞增殖的生长因子，具有增加肺血管通透性、促进有丝分裂、促进血管生成和内皮细胞存活、驱动血管内皮细胞移位、促进肺泡上皮细胞增殖等功能，已成为一种反映急性肺损伤（ALI）病理及修复状况的生物学指标[7]。VEGF 的增高能明显促进 ALI 肺内新生血管形成，保护肺血管内皮细胞及上皮细胞并促进其再生，在肺损伤后肺血管修复中起关键作用，而且能抑制炎症刺激引起的内皮细胞凋亡和众多炎症因子的生成，减轻肺组织的损伤[8-9]。本研究显示，烟雾吸入性损伤后，肺组织中 VEGF 水平随着时间的推移逐步降低。与吸入性损伤组比较，干细胞治疗组伤后各时相点肺组织中 VEGF 水平明显升高。发生上述变化的机制虽然不十分清楚，但结合相关领域的研究推测，烟雾吸入性损伤后，由于肺泡Ⅱ型上皮细胞持续大量被破坏以及肺泡毛细血管膜通透性增加，造成 VEGF 生成减少且呈浓度梯度增加流失入血液，导致烟雾吸入性损伤后肺组织中 VEGF 水平降低。

MSC 具有多向分化、抗炎-免疫调节和旁分泌特征，其旁分泌特征日益受到重视[10]。MSC 旁分泌的活性分子包括 VEGF。MSC 移植入体内后，一方面从数量上补充因合成不足损失的 VEGF；另一方面，可对抗多种促炎因子，阻断炎症信号的瀑布效应及其带来的损害，为肺泡上皮细胞和肺血管内皮细胞的修复和再生创造条件，增加 VEGF 的再生。同时，MSC 可能通过其表面的一些受体分子以及分泌的抑制性因子参与了这个病理生理过程。因此笔者认为，MSC 能调节烟雾吸入性损伤后 VEGF 水平，对血管再生以及肺组织修复具有一定的促进作用。

Ang 最早作为一种血管形成因子，相关研究主要集中在

Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?

其对血管生成的作用上。Ang 家族包括 Ang-1、Ang-2、Ang-3、Ang-4 等 4 种，它们均属于酪氨酸激酶受体 2(Tie-2)的配基。Ang-1 可以促进内皮细胞周围支持细胞的聚集，包括小血管的外膜细胞、大血管的平滑肌细胞，从而包装内皮管道，不仅可以维持血管结构的完整性，还能有效防止炎症及 VEGF 所致的血管通透性增加，使新生血管结构完整，具有维持血管稳定、抗血管渗漏、抗凋亡、抗炎、促进淋巴管形成及组织液回流、减少水肿等功能，在肺损伤的防治和修复方面潜力巨大[11]。Ang-1 具有稳定血管、拮抗炎症因子所致的血管渗漏以及局部抗炎症作用，在肺损伤的干预上具有广阔的应用前景[12]。Ang-2 主要由内皮细胞分泌，其过表达可破坏血管形成，Ang-2 作用于内皮细胞特异性受体 Tie-2，进而拮抗 Ang-1 和 Tie-2 结合，导致血管通透性增高，引起血管渗漏和肺水肿[13]。van der Heijden 等[14]研究显示，Ang-2、Ang-2/Ang-1 比值均与肺血管通透性、ALI 和(或)急性呼吸窘迫综合征严重程度呈正相关。不仅如此，研究还显示，Ang/Tie-2 系统除了在血管生成中具有重要作用外，还在急性血管反应如炎症和凝血中有重要作用[15-16]。

本实验显示，烟雾吸入性损伤后，Ang-1 和 Ang-2 水平均明显高于正常值(吸入性损伤组伤后 6 h Ang-2 水平除外)，这既可认为是吸入性损伤后内皮细胞受损的直接表现，也可认为是机体对肺血管损伤以及重建肺内皮系统的适应性、反馈性反应。干细胞治疗组 Ang-1 水平明显高于吸入性损伤组，而 Ang-2 水平与吸入性损伤组近似，说明 MSC 移植能升高 Ang-1 水平而对 Ang-2 无影响，从而降低 Ang-2/Ang-1 比值，既有利于肺内皮系统和血管的修复和生成，也可防止炎症及 VEGF 所致的血管通透性增加，减轻吸入性损伤程度。本研究小组已有的研究证实，MSC 移植后，烟雾吸入性损伤兔体内主要促炎因子如 IL-1β、IL-6、TNF-α 水平均明显降低，而主要抗炎介质 IL-10 水平显著升高，体现了 Ang-1 和 Ang-2 在血管生成以外的抗炎-免疫调节作用[4]。MSC 移植后烟雾吸入性损伤兔肺内 Ang-1 和 Ang-2 的变化机制尚不清楚，但相关领域的研究结果显示与 MSC 的旁分泌特征有关[10]。

本研究初步证实，通过静脉全身给予 BMSC 能显著提高烟雾吸入性损伤兔肺内 VEGF 和 Ang-1 水平，而 Ang-2 水平未见明显变化。这种现象有利于吸入性损伤后肺内血管新生，减少血管通透性和肺水肿。该结论为干细胞治疗吸入性损伤提供了一个新的干预靶点。

参考文献

[1] 杨宗城. 吸入性损伤//杨宗城. 烧伤治疗学. 3 版. 北京：人民卫生出版社，2006：349-368.

[2] McCarter SD, Mei SH, Lai PF, et al. Cell-based angiopoietin-1 gene therapy for acute lung injury. Am J Respir Crit Care Med, 2007, 175(10): 1014-1026.

[3] 宋俊峰，孙波. 血管内皮细胞生长因子与急性肺损伤. 国际儿科学杂志，2008, 35(1): 22-25.

[4] 朱峰，郭光华，陈雯，等. 骨髓间充质干细胞移植对吸入性损伤家兔炎症反应和肺损伤的影响. 中华烧伤杂志，2010, 26(5): 360-365.

[5] 朱峰，郭光华，陈任生，等. 骨髓间充质干细胞在烟雾吸入性损伤家兔体内向功能细胞分化的观察. 中华烧伤杂志，2011, 27(2): 150-155.

[6] 朱峰，郭光华，王年云，等. 兔烟雾吸入性损伤模型的改进和建立. 广东医学，2009, 30(12): 1800-1802.

[7] Lahm T, Crisostomo PR, Markel TA, et al. The critical role of vascular endothelial growth factor in pulmonary vascular remodeling after lung injury. Shock, 2007, 28(1): 4-14.

[8] Kosmidou I, Karmpaliotis D, Kirtane AJ, et al. Vascular endothelial growth factors in pulmonary edema: an update. J Thromb Thrombolysis, 2008, 25(3): 259-264.

[9] 陈玉君，刘唐威，陈克正. 血管内皮生长因子在急性肺损伤中的促炎作用. 中国小儿急救医学，2006, 13(5): 480-481.

[10] Lee JW, Fang X, Krasnodembskaya A, et al. Concise review: mesenchymal stem cells for acute lung injury: role of paracrine soluble factors. Stem Cells, 2011, 29(6): 913-919.

[11] Mei SH, McCarter SD, Deng Y, et al. Prevention of LPS-induced acute lung injury in mice by mesenchymal stem cells over expressing angiopoietin 1. PLos Med, 2007, 4(9): e269.

[12] Xu J, Qu J, Cao L, et al. Mesenchymal stem cell-based angiopoietin-1 gene therapy for acute lung injury induced by lipopolysaccharide in mice. J Pathol, 2008, 214(4): 472-481.

[13] Maisonpierre PC, Suri C, Jones PF, et al. Angiopoietin-2, a natural antagonist for Tie2 that disrupts in vivo angiogenesis. Science, 1997, 277(5322): 55-60.

[14] van der Heijden M, van Nieuw Amerongen GP, Koolwijk P, et al. Angiopoietin-2, permeability oedema, occurrence and severity of ALI/ARDS in septic and non-septic critically ill patients. Thorax, 2008, 63(10): 903-909.

[15] Fiedler U, Reiss Y, Scharpfenecker M, et al. Angiopoietin-2 sensitizes endothelial cells to TNF-alpha and has a crucial role in the induction of inflammation. Nat Med, 2006, 12(2): 235-239.

[16] Ganter MT, Cohen MJ, Brohi K, et al. Angiopoietin-2, marker and mediator of endothelial activation with prognostic significance early after trauma?. Ann Surg, 2008, 247(2): 320-326.

(收稿日期：2012-03-20)
(本文编辑：莫愚)

·产品信息·

磺胺嘧啶铈乳膏及相关产品

乳膏：磺胺嘧啶铈乳膏，国药准字 H20094208；磺胺嘧啶银乳膏、银锌霜，豫卫消证字[2000]第 0129 号；聚乙烯醇凝胶(瘢痕类)，豫新食药监械(准)字 2008 第 1640156 号。

原料粉剂：磺胺嘧啶银粉、磺胺嘧啶铈粉、磺胺嘧啶锌粉。

企业厂址：河南省新乡经济开发区青龙路(小冀)。联系电话：15893820999，13937389562，0373-5596211。

新乡市华信药业有限公司

Q2xvdWRWZXJzaW9uLQo?