

二、结果

非条件 Logistic 回归模型分析结果见表 3。由表 3 得出回归方程: $\text{logit}(P) = -2.084 + 1.161 X_1 + 0.816 X_2 + 0.947 X_3$ 。经假设检验得出 $P < 0.05$, 回归方程成立。

表 3 非条件 Logistic 回归模型分析结果

变量	β_j	Wald	P 值	OR 值	OR 值 95% 可信区间	
					上限值	下限值
X_1	1.161	7.171	0.007	3.193	1.365	7.468
X_2	0.816	3.997	0.046	2.262	1.016	5.034
X_3	0.947	5.016	0.025	2.578	1.126	5.906
常数项	-2.084	23.048	0.000	0.124	—	—

注: β_j 为 Logistic 回归系数; Wald 代表 Wald 检验统计量值; OR 为比值比; “—” 表示无此项

三、讨论

1995 年国外有学者重新定义了切痂时机: 伤后 5 d 切痂为早期切痂, 伤后 24 h 内切痂为初期切痂。目前的观点一致倾向于只要条件具备, 切痂时间越早越好^[4]。从病理生理角度来看, 大面积烧伤后 6 h 内各脏器功能尚佳, 肠道细菌及内毒素尚未大量入血, 后续释放的炎症介质及细胞因子量也很少, 此期手术可阻断炎症介质及细胞因子的进一步释放, 从而切断瀑布式级联放大效应的根源, 避免发生 SIRS 和 MODS, 降低病死率^[5,6]。

烧伤创面坏死组织的分解产物和痂下水肿液, 含有大量炎症介质和细菌毒素等。既往治疗大面积深度烧伤多采用分批分次切痂手术, 每次手术去除的焦痂和毒性物质有限, 因此治疗过程中易发生创面脓毒症和内脏并发症。目前被临床接受的休克期大面积切痂、自体微粒皮+大张异体皮

移植术, 能去除大部分烧伤创面, 使之成为手术创面; 同时由于去除了焦痂和痂下水肿液, 可阻断细菌及内毒素入血的第 2 次高峰(伤后 4 d)及防止创面细菌大量繁殖, 避免了痂下水肿液对免疫功能的抑制, 减轻了毒性物质回收吸收所致的全身中毒症状, 使病情趋于稳定, 治愈率得以提高^[7]。

本研究中, X_1 、 X_2 、 X_3 3 个变量的回归系数 β_j 均为正值, 且 95% 可信区间上限值与下限值均 > 1 , 说明在伤后 48 h 后(或并发症出现后)进行手术、首次手术面积 $< 30\%$ TBSA 均是增加患者病死率危险因素; 反之, 手术在 48 h 之内(或在并发症出现前)进行、首次手术面积 $\geq 30\%$ TBSA 则可降低病死率。

参 考 文 献

- 黎鳌, 主编. 黎鳌烧伤学. 上海: 上海科学技术出版社, 2001. 464 - 485.
- 刘晓虹, 姜英令, 薛宝升, 等. 休克期切痂植皮治疗特重度烧伤九例. 中华烧伤杂志, 2001, 17: 121.
- 李德绘, 梁自乾. 53 例成人特重度烧伤治疗分析. 广西医学, 2003, 25: 606 - 607.
- 陈璧. 深度烧伤创面早期处理及促进创面修复的进展. 中华烧伤杂志, 2001, 17: 8 - 9.
- 盛志勇. 严重创、烧伤后脓毒症与多器官功能障碍综合征的防治. 中华创伤杂志, 2005, 21: 11 - 14.
- Still JM, Law EJ. Primary excision of the burn wound. Clin Plast Surg, 2002, 27: 23 - 47.
- 黄跃生, 杨宗城, 肖光夏, 等. 烧伤早期损害的防治措施对提高烧伤存活率的作用. 第三军医大学学报, 2001, 23: 217 - 220.

(收稿日期: 2004 - 12 - 20)

(本文编辑: 罗 勤)

内毒素/脂多糖对小鼠腹腔巨噬细胞膜 Toll 样受体 2 及 4 表达的影响

郭菲 汪泱 王共先 李国辉 邢娟娟 彭燕 黄学明

内毒素/脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是革兰阴性菌内毒素的主要成分, 是导致感染和中毒性休克乃至患者死亡的重要原因之一。目前临床上尚无既能杀菌又能中和 LPS 的有效手段^[1]。因此加强对 LPS 致病机制的深入研究, 将有助于寻找新的治疗中毒性休克的途径。本研究采用双荧光抗体标记法, 通过流式细胞仪观察 LPS 刺激后小鼠腹腔巨噬细胞(M ϕ)胞膜上 Toll 样受体(TLR)2 和 TLR4 表达的变化, 以探讨其致病机制。

一、材料与方法

1. 动物来源和主要试剂、仪器: 雄性 BALB/c 小鼠, 16 ~ 22 g, 4 周龄, 由江西医学院动物科学部提供。LPS (*E. coli*, Serotype O55B5, 美国 Sigma 公司), 异硫氰酸荧光素(FITC)标记的大鼠抗小鼠 TLR 2 抗体和藻红蛋白(PE)标记的大鼠抗小鼠 TLR4 抗体及同型对照 IgG(美国 eBioscience 公司), DMEM 液体培养基(美国 Hyclone 公司), 胎牛血清(美国

Gibco 公司), FACSCalibur 流式细胞仪(美国 Becton Dickinson 公司)。

2. 实验操作及检测指标: (1)器材的准备: 玻璃和塑料器具去热原消毒。(2)M ϕ 收集与培养: 常规方法收集小鼠腹腔 M ϕ , 以 2×10^6 /孔的密度接种于 6 孔培养板中, 于 37 $^{\circ}C$ 、体积分数 5% CO₂ 温箱培养, 24 h 后弃去未贴壁细胞, 将贴壁细胞分为 6 组: 每组分别加入不同浓度 LPS [浓度分别为 0.000 (对照组)、0.001、0.010、0.100、1.000、10.000 mg/L] 刺激, 继续培养 2 h, 收集各组培养细胞, 用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤后, 调整细胞密度为 1×10^6 /ml, 待测。实验重复 3 次。(3)检测细胞膜 TLR2 和 TLR4 的表达: 参照文献 [2], FITC-TLR2 和 PE-TLR4 单克隆抗体标记待测细胞悬液, 在流式细胞仪上检测 M ϕ 上 FITC (TLR2) 和 PE (TLR4) 的平均荧光强度 (MFI), 同时设同型 IgG 对照以检测阳性细胞百分率, CellQuest 软件分析检测结果。

3. 统计学处理: 数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 10.0 统计软件行方差分析及 t 检验。

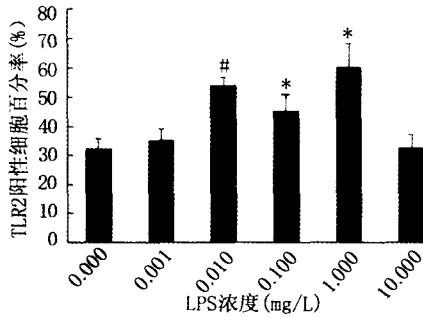
二、结果

1. 不同浓度 LPS 刺激后, M ϕ 胞膜 TLR2 表达的变化: 在

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30260107); 江西省自然科学基金资助项目(024008)

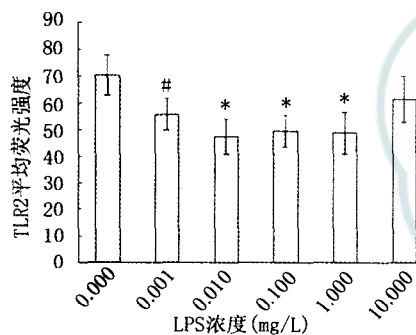
作者单位: 330006 南昌, 江西医学院第一附属医院烧伤科(郭菲、李国辉、邢娟娟、彭燕), 泌尿外科(汪泱、王共先、黄学明)

0.001、0.010、0.100、1.000 mg/L LPS 刺激组中,随着 LPS 浓度的升高,TLR2 阳性率呈上升趋势;当 LPS 浓度升至 10.000 mg/L 时,其阳性率下降,与对照组比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见图 1。TLR2 MFI 值则随着 LPS 的应用而下降,经 0.001、0.010、0.100、1.000 mg/L LPS 刺激后的 TLR2 MFI 值与对照组比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 0.01),见图 2。



注:与对照组比较, * $P < 0.05$, # $P < 0.01$

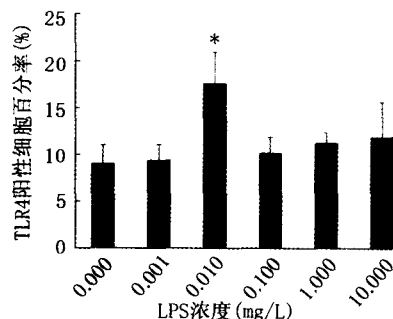
图 1 不同浓度 LPS 对小鼠腹腔 M ϕ 胞膜 TLR2 阳性率的影响



注:与对照组比较, * $P < 0.05$, # $P < 0.01$

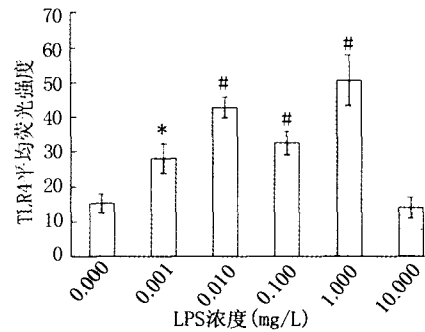
图 2 不同浓度 LPS 对小鼠腹腔 M ϕ 胞膜 TLR2 平均荧光强度的影响

2. 不同浓度 LPS 刺激后, M ϕ 胞膜 TLR4 表达的变化: 经 0.010 mg/L LPS 刺激的 M ϕ TLR4 阳性率较高, 与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见图 3。在 LPS 浓度 < 0.010 mg/L 范围内, TLR4 MFI 则随着 LPS 浓度的升高而增强, 0.010、0.100、1.000 mg/L LPS 刺激组 MFI 与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 见图 4。当 LPS 浓度达到 10.000 mg/L 时, MFI 下降, 与对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。



注:与对照组比较, * $P < 0.05$

图 3 不同浓度 LPS 对小鼠腹腔 M ϕ 胞膜 TLR4 阳性率的影响



注:与对照组比较, * $P < 0.05$, # $P < 0.01$

图 4 不同浓度 LPS 对小鼠腹腔 M ϕ 胞膜 TLR4 平均荧光强度的影响

三、讨论

LPS 是引起脓毒症和休克的主要因素, 通过与单核/M ϕ 膜上的受体结合, 启动细胞炎症反应, 导致多种炎症细胞因子大量合成, 扩大炎症反应。LPS 发挥生物学效应的先决条件就是与各种效应细胞膜上的受体结合, 其中与 LPS 信号转导有关的主要为 TLR2 和 TLR4。为了更确切反映同一细胞群体 TLR2 与 TLR4 对 LPS 刺激的反应, 笔者采用双荧光抗体标记法进行小鼠腹腔 M ϕ 胞膜 TLR2 与 TLR4 表达的检测, 能够同时检测其表达的阳性率和 MFI, 而且 MFI 恰与细胞表达抗原强度成正比。

本研究进一步证实 TLR4 的表达随着 LPS 浓度的增高而增加, 二者在一定范围内呈剂量-效应关系。这与 Yang 等^[3] 报道的 LPS 对 TLR4 mRNA 水平影响的研究结果一致。

在同一 M ϕ 群体中, TLR2 阳性率亦随着 LPS 浓度的升高逐步上升, 且在一定范围内呈剂量依赖关系, 但随着 LPS 的出现, TLR2 MFI 值发生显著下降, 当 LPS 浓度升至 10.000 mg/L 时, 又有所回升。值得注意的是 10.000 mg/L 的 LPS 刺激浓度似乎是一个转折点, TLR2 和 TLR4 的表达趋势几乎均在该浓度发生转变, 并且该现象还与 Hajishengallis 等^[4] 观察 0.000 ~ 10.000 mg/L 浓度的 LPS 刺激组织瘤细胞后肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素 6 分泌的结果相似。这可能是由于在高浓度 LPS 作用下, 细胞产生了耐受。虽然有研究报道 LPS 刺激后 TLR2 mRNA 表达的总量变化不大^[5], 但是本实验结果表明 LPS 刺激后, TLR2 在整个细胞群体中的分布发生了变化。说明 LPS 可能通过调整 M ϕ 群体胞膜的 TLR2 分布而发挥作用, 具体的机制还有待进一步探讨。

综上所述, 本实验证实 LPS 能够上调 M ϕ 胞膜 TLR4 的表达及调整 M ϕ 胞膜 TLR2 的分布, 提示 TLR2 与 TLR4 的变化可能是 LPS 对机体产生生物学效应的机制之一。

参 考 文 献

- 1 蒋建新, 朱佩芳. 对细菌内毒素致病作用的新认识. 解放军医学杂志, 2003, 28: 191-193.
- 2 Mirlashari MR, Lyberg T. Expression and involvement of Toll-like receptors (TLR) 2, TLR4 and CD 14 in monocyte TNF- α production induction by lipopolysaccharides from Neisseria meningitidis. Med Sci Monit, 2003, 9: 316-324.
- 3 Yang QW, Zhu PF, Wang ZG, et al. Lipopolysaccharide upregulates the expression of Toll-like receptor 4 in human vascular endothelial cells. Chin Med J, 2002, 115: 286-289.
- 4 Hajishengallis G, Martin M, Schifferle RE, et al. Counteracting inter-

actions between lipopolysaccharide molecules with differential activation of toll-like receptors. Infect Immun, 2002, 70:6658-6664.
5 陈虹, 钟琦, 薛峰, 等. 地塞米松对小鼠脾脏巨噬细胞内 TLR4 和 TLR2 表达的影响. 上海免疫学杂志, 2003, 23:91-94.

(收稿日期: 2004-08-16)

(本文编辑: 赵敏)

· 经验交流 ·

治疗孕妇烧伤 21 例

毛远桂 刘德伍 张志安 曾元临 李国辉 苏子毅

孕妇由于特殊的生理状态, 烧伤后既要治愈孕妇、同时需保护腹中胎儿, 治疗比较困难。1990—2004 年笔者单位共收治烧伤孕妇 21 例, 疗效满意, 现报告如下。

临床资料: 本组患者年龄 18 ~ 37 岁。致伤原因: 热水烫伤 9 例, 蒸气烫伤 6 例, 液化气火焰烧伤 4 例, 汽油火焰烧伤 1 例, 石灰水烧伤 1 例。烧伤面积: 10% ~ 29% 8 例, 30% ~ 50% 12 例, 68% TBSA 1 例。烧伤深度: 以 II 度烧伤为主, 其中 9 例伴有 III 度烧伤, III 度面积 2% ~ 21% TBSA。烧伤主要部位: 头颈部、胸部和四肢, 3 例伴有下腹部和会阴部烧伤。入院时间: 伤后 1 ~ 28 h。本组患者妊娠时间与烧伤面积分布情况见表 1。患者烧伤前妊娠均正常, 1 例妊娠 6 个月的患者烧伤面积达 68% TBSA, 伤后 18 h 入院时已休克, 自诉无胎动感。检查时听不到胎心音, B 超提示胎儿死亡, 其余 20 例患者妊娠正常。

表 1 患者妊娠时间与烧伤面积分布情况 (例)

妊娠时间	例数	烧伤面积 (% TBSA)		
		10 ~ 29	30 ~ 50	68
1 ~ 3 个月	14	5	9	0
4 ~ 6 个月	6	3	3	0
6 个半月	1	0	0	1
总计	21	8	12	1

治疗: 主要包括抗休克、防治感染、创面处理和胎儿监测等。患者入院后行液体复苏治疗, 根据尿量、心率等指标进行休克期监护。选择对胎儿安全的抗生素, 每次静脉滴注青霉素 160 ~ 320 万 U 或头孢唑啉 2 ~ 3 g, 2 次/d。创面涂五黄油 [赣药制字 (2004) 第 Z0029 号] 或磺胺嘧啶银, 换药, 1 次/d。非手术疗法治愈患者 16 例, 其中包括 4 例有 III 度创面的患者。另 5 例患者辅以手术。其中 1 例烧伤面积 68% TBSA 的患者入院时胎儿已死亡, 入院后 36 h 自然流产, 终止妊娠, 见胎盘包膜完整, 脐带连续未断。伤后第 6 天行削痂术, 削痂面积约 50% TBSA, 术后以辐照氟银箔皮覆盖术区, 伤后 21、33 d 行自体皮移植术。其余 4 例分 1 ~ 3 次在局部麻醉下行自体皮移植术。定期监测患者胎心音、胎动和妊娠反应, B 超检查胎儿羊水和胎盘。

结果: 本组患者均平稳度过休克期, 除 1 例终止妊娠外, 其余 20 例妊娠正常。创面愈合时间 11 ~ 46 d, 平均 23.7 d。

患者出院后随访 1 ~ 6 年, 其中 19 例继续妊娠, 3 ~ 8 个月后分娩, 无死胎和畸形等异常情况; 随后于孩子 1、2、5 岁跟踪随访其生长发育和智力情况, 结果均正常。另外 1 例患者出院后 2 个月 (孕 5 个月) 因家庭因素自动终止妊娠, 停止随访。

讨论 由于家庭和社会的双重保护, 孕妇烧伤的概率相对比较小。其治疗的特殊性主要体现在两方面: 一是如何尽快治愈创面使孕妇康复, 二是尽可能地保证胎儿不受任何损害。妊娠期尤其是前 3 个月全身用药需特别慎重, 很多药物可能导致胎儿发育不正常或畸形等, 烧伤治疗包括抗休克、防治感染、创面修复等, 药物治疗是必需的, 由此产生矛盾。

笔者单位在治疗中采取以下措施: (1) 尽量减少全身性用药。液体复苏时少用血液制品以减少母婴外源性疾病的感染, 以电解质溶液为主, 并鼓励患者增加口服液体摄入量。本组以中、重度烧伤为主, 对特重度烧伤仍应按胶体与电解质的正常比例输入血液制品行液体复苏。慎用抗生素, 选用经临床反复验证对妊娠无任何影响的抗生素, 如青霉素、头孢唑啉类。(2) 积极处理创面, 以换药等非手术疗法为主。五黄油是纯中药制剂, 为烧伤创面外用, 安全可靠, 无毒副作用^[1], 有一定的抗炎作用, 对于新鲜无感染的 II 度烧伤创面疗效确切^[2], 用于 III 度创面有时需配合磺胺嘧啶银等使用。患者妊娠期手术风险较大, 本组 20 例伤后正常妊娠的患者早期均采用保守治疗, 这与现代烧伤外科提倡早期手术切除坏死组织的观点^[3]相悖, 仅作参考。其中 1 例患者终止妊娠后手术削痂, 因削痂面积较大, 加上产后虚弱等因素没有同时移植自体皮。全身麻醉对妊娠的影响较大, 4 例患者在局部麻醉下手术比较安全。(3) 加强对孕妇和胎儿的监测。对于特重度烧伤合并有休克、感染或重要脏器损害者, 应考虑终止妊娠, 以便全力救治孕妇。

参 考 文 献

- 1 毛远桂, 辛国华, 曾元临, 等. 五黄油在深二度烧伤削痂创面的应用. 辽宁中医杂志, 2003, 30:817-818.
- 2 苏子毅, 毛远桂, 曾元临, 等. 五黄油在烧伤创面的临床应用. 江西医药, 1999, 34:267-268.
- 3 陈璧. 深度烧伤创面早期处理及促进创面修复的进展. 中华烧伤杂志, 2001, 17:8-9.

(收稿日期: 2005-01-12)

(本文编辑: 赵敏)

作者单位: 330006 南昌, 江西医学院第一附属医院烧伤科