

根据不溶性盐离子积进行计算,能够预测药物治疗的效果。这一方式对于相同类型化学烧伤后的中毒防治,具有借鉴意义。

参考文献

[1] 杨晨. 电解质溶液与离子平衡//丁绪亮. 基础化学. 2 版. 北京:人民卫生出版社,1990:363.

[2] Bourke E, Delaney V. Assessment of hypocalcemia and hypercalcemia. Clin Lab Med, 1993,13(1):157-181.

[3] Castelbaum AR, Donofrio PD, Walker FO, et al. Laxative abuse

causing hypermagnesemia, quadriplegia, and neuromuscular junction defect. Neurology, 1989,39(5):746-747.

[4] Saady JJ, Rose CS. A case of nonfatal sodium fluoride ingestion. J Anal Xicol,1988,12(5):270-271.

[5] Simpson E, Rao LG, Evans RM, et al. Calcium metabolism in a fatal case of sodium fluoride poisoning. Ann Clin Biochem, 1980,17(1):10-14.

(收稿日期:2006-07-13)

(本文编辑:王旭)

尼莫地平在烧伤后早期细胞保护中的作用

王光毅 唐洪泰 马兵 程大胜 肖仕初 夏照帆

1 资料与方法

1.1 临床资料

选择笔者单位 2001—2004 年收治的 25 例单纯热力烧伤患者(有严重基础病变者除外),分为对照组(12 例):年龄(36 ± 11)岁,烧伤总面积(77 ± 11)%,其中 II 度(41 ± 13)%、III 度(36 ± 13)% TBSA;治疗组(13 例):年龄(38 ± 11)岁,烧伤总面积(75 ± 10)%,其中 II 度(36 ± 11)%、III 度(39 ± 11)% TBSA。两组患者伤后行液体复苏的时间分别为(2.5 ± 0.7)、(3.0 ± 0.9)d。

1.2 治疗方法及检测指标

两组患者入院后均按常规补液公式进行复苏治疗。当血压、心率、呼吸平稳,尿量在 1 ml · kg⁻¹ · h⁻¹时,治疗组静脉输入尼莫地平(德国 Bayer 公司)20 μg · kg⁻¹ · h⁻¹,持续至伤后 24 h;对照组输注等量的等渗盐水。两组患者其他治疗措施相同。伤后 12 h 采用经食管多普勒超声监护系统(美国 Arrow 公司)检测患者的心率、主动脉血流量(ABF)、左心室射血时间(LVET)、外周血管阻力(TSVR)、左心室血流最大加速度(ACC)、平均动脉压(MAP)。于伤后 24 h 抽取患者静脉血,检测其血浆磷脂酶 A₂(PLA₂)活性和肿瘤

坏死因子 α(TNF-α)、白细胞介素 8(IL-8)、胞间黏附分子 1(ICAM-1)含量及血浆总抗氧化能力(TAC)。

1.3 统计学处理

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,用 SPSS 11.0 统计软件进行 *t* 检验。

2 结果

2.1 血流动力学指标

与对照组比较,治疗组患者 ABF、ACC 显著升高(*P* < 0.01),而心率、MAP、LVET 和 TSVR 下降,但两组比较,差异无统计学意义(*P* > 0.05)。见表 1。

2.2 炎性介质水平

与对照组比较,治疗组患者血浆 TNF-α、IL-8、ICAM-1 含量及 PLA₂ 活性显著降低(*P* < 0.01),TAC 则显著升高(*P* < 0.01)。见表 2。

3 讨论

细胞内“钙超载”是大面积烧伤后细胞损伤的病理过程之一,在烧伤后心功能下降^[1,2]及全身炎症反应综合征(SIRS)的发生发展中起主导作用^[3,4]。研究表明,大面积积

表 1 两组患者伤后 12 h 血流动力学指标的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	ABF(L/min)	ACC(m/s ²)	LVET(ms)	TSVR(Pa · s ⁻¹ · cm ⁻³)	MAP(mm Hg)	心率(次/min)
对照组	12	2.2 ± 0.3	7.3 ± 0.8	389 ± 47	244 ± 42	87 ± 10	114 ± 15
治疗组	13	3.0 ± 0.3 ^a	9.8 ± 0.8 ^a	385 ± 66	228 ± 54	82 ± 10	110 ± 13

注:ABF 为主动脉血流量,ACC 为左心室血流最大加速度,LVET 为左心室射血时间,TSVR 为外周血管阻力,MAP 为平均动脉压;1 mm Hg = 0.133 kPa;与对照组比较,a: *P* < 0.01

表 2 两组患者伤后 24 h 血浆炎性介质水平的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	TNF-α(ng/L)	IL-8(ng/L)	ICAM-1(μg/L)	PLA ₂ (U/ml)	TAC(U/ml)
对照组	12	42 ± 5	36 ± 6	1042 ± 34	63 ± 5	6.5 ± 0.7
治疗组	13	35 ± 5 ^a	15 ± 4 ^a	799 ± 29 ^a	46 ± 3 ^a	7.6 ± 0.6 ^a

注:TNF-α 为肿瘤坏死因子 α,IL-8 为白细胞介素 8,ICAM-1 为胞间黏附分子 1,PLA₂ 为磷脂酶 A₂,TAC 为总抗氧化能力;与对照组比较,a: *P* < 0.01

基金项目:国家自然科学基金(30571921);全军医学科学技术研究“十一五”计划专项课题(06Z019);上海市科学技术委员会科研计划(05JC14046);上海市医学重点学科建设计划(05 III 007)

作者单位:200433 上海,第二军医大学长海医院全军烧伤中心

伤早期,心脏泵血功能明显下降^[5]。烧伤后心肌细胞发生“钙超载”是心功能下降的主要原因,抑制心肌细胞“钙超载”能改善心功能^[1,2]。本研究观察到,经静脉持续给予钙通道阻断剂尼莫地平,患者 ACC 升高,ABF 明显增多;而心率、MAP、LVET(心脏前负荷指标)和 TSVR 有所下降,表明尼莫地平能在一定程度上缓解烧伤后心功能下降。同时本研究结果显示,治疗剂量的尼莫地平能轻度扩张外周血管,引起血压、TSVR、心率降低。因此在应用该药时应保证有充足的血容量和良好的血流动力学监测。

免疫细胞内钙离子作为细胞内信号转导第二信使,参与多种免疫反应过程。动物实验表明,钙离子通道阻断剂能抑制免疫细胞炎性介质的释放,降低烧伤后血浆内促炎性细胞因子水平^[3,4]。TNF- α 是重要的 SIRS 始动和促动细胞因子;IL-8 是一种强烈的免疫细胞趋化因子;ICAM-1 是介导白细胞与血管内皮细胞黏附的必不可少的一个环节;PLA₂ 能催化花生四烯酸代谢途径,产生血小板活化因子、前列腺素、白三烯、血栓素等促炎性细胞因子。氧化性损害在组织细胞损害中起重要作用,TAC 是衡量抗氧化能力的主要指标。本研究结果表明,治疗剂量的尼莫地平能降低患者血浆 TNF- α 、

IL-8、ICAM-1 含量及 PLA₂ 活性,使其血浆 TAC 升高;同时还能显著减少烧伤后多种促炎性细胞因子的产生,减轻白细胞与内皮细胞间的黏附,提高全身抗氧化能力,可缓解烧伤后过度免疫反应造成的组织细胞损害,对烧伤后的细胞保护治疗具有现实意义。

参考文献

- [1] 夏照帆, 田建广, 唐洪泰, 等. 烫伤大鼠心肌收缩功能与细胞内游离钙的研究. 中华烧伤杂志, 2001, 17(5): 342-344.
- [2] Xia ZF, Zhao P, Horton JW. Changes in cardiac contractile function and myocardial. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001, 280(4): 1916-1922.
- [3] 王光毅, 夏照帆, 朱世辉, 等. 尼莫地平抑制烧伤大鼠促炎细胞因子产生的观察. 中华烧伤杂志, 2002, 18(5): 311.
- [4] 王光毅, 朱世辉, 唐洪泰, 等. 尼莫地平对大鼠烫伤后库普弗细胞白介素-1 β 和白介素-6 产生的抑制作用. 中国危重病急救医学, 2003, 15(4): 210-212.
- [5] 黄跃生. 烧伤后早期心肌损害的分子机制及防治研究进展. 中华烧伤杂志, 2004, 20(5): 257-259.

(收稿日期: 2006-05-15)

(本文编辑: 张红)

有血清和无血清培养人表皮干细胞的比较研究

辛国华 曾元临 邱泽亮 罗旭 余於荣 李国辉

1 对象与方法

1.1 主要试剂

II 型 dispase 酶、角质形成细胞无血清培养液(K-SFM)、胎牛血清(FCS)、DMEM 无血清培养液、牛垂体提取物(BPE)均购自美国 Gibco 公司,人胎盘 IV 型胶原购自美国 Sigma 公司,角蛋白 19(K19)单克隆抗体为福州迈新生物技术开发有限公司产品,整合素 β_1 多克隆抗体购自美国 Oncogene 公司,Envision 试剂盒由丹麦 DAKO 公司提供。FACS Calibur 型流式细胞仪为美国 Becton Dickinson 公司产品。

1.2 细胞培养

1.2.1 表皮与真皮的分离 将健康人包皮环切术后剩余的新鲜包皮(供者知情同意)用含有青、链霉素的磷酸盐缓冲液冲洗 8~10 次,剔除皮下组织,剪成 1.0 cm \times 0.5 cm 的皮片,置于 4 g/L II 型 dispase 酶中,4 $^{\circ}$ C 下消化 12~15 h,分离表皮和真皮。

1.2.2 有血清及无血清培养液的配制 取真皮,用 2.5 g/L 胰蛋白酶消化法获取真皮组织成纤维细胞后,用 DMEM 无血清培养液进行传代培养。收集第 2~3 代对数生长期细胞的培养上清液,用孔径 0.22 μ m 的滤膜过滤除菌后,与 K-SFM 等体积混合,每升加 FCS 100 ml、表皮生长因子 5 μ g、氯化可的松 400 μ g、氯化钙 0.05 mmol、L-谷氨酰胺 0.1 mol、BPE 1.0 mg,配成表皮干细胞(ESC)有血清培养液。不添加 FCS 但其余成分同前者制成 ESC 无血清培养液。

1.2.3 ESC 的培养与分组 分离的表皮片用胰蛋白酶-乙二胺四乙酸 37 $^{\circ}$ C 消化 5 min,所得细胞以 DMEM 悬浮,利用 IV 型胶原分离、富集 ESC,将其分别加入有血清培养液(有血清组)和无血清培养液(无血清组)中培养,隔日换液。培养 11 d 细胞形成较大克隆后,用 2.5 g/L 胰蛋白酶 37 $^{\circ}$ C 消化 5 min,以 1:2 比例传代。

1.3 细胞克隆形成率的测定

取两组第 2 代 ESC,按 200 个/孔接种至预先用 IV 型胶原包被的 24 孔培养板中。培养 2 周后,记录克隆数(细胞数 \geq 50 个计为 1 个克隆)和克隆维持时间(即克隆停止扩展的时刻-克隆开始形成的时刻)。克隆形成率 = 细胞克隆数 \div 接种时细胞数 \times 100%。

1.4 细胞生长曲线测定

取两组第 2 代 ESC(达 70% 融合),以 4 \times 10³ 个/孔接种于 96 孔板,每组 4 孔,隔日换液。分别于培养后第 1、3、5、7、9、11、13 天,用噻唑蓝法^[1]测定波长 490 nm 下吸光度值,绘制细胞生长曲线。

1.5 细胞周期分析

两组原代 ESC 生长至 60%~70% 融合时,用 2.5 g/L 胰蛋白酶常规消化,调整细胞浓度至 1 \times 10⁶ 个/ml,体积分数 70% 的乙醇 4 $^{\circ}$ C 固定过夜,用流式细胞仪进行细胞周期分析。

1.6 整合素 β_1 和 K19 强阳性表达率检测

选取 20 个包皮标本,行原代 ESC 分离和分组培养达 60%~70% 融合时,消化传代并制作细胞玻片,Envision 两步

作者单位: 330006 南昌大学第一附属医院烧伤科(辛国华、曾元临、罗旭、余於荣、李国辉); 丽水市人民医院烧伤科(邱泽亮)