

机制微粒皮对皮肤细胞的影响

陈建设 陈劲松 刘贤志 张宗仁 沈光浴 段红杰 苏踊跃 刘月明 吕根法

【摘要】 目的 观察微粒皮机制作微粒皮对皮肤细胞的损伤情况。方法 将微粒皮机与人工剪制的微粒皮分成 A、B 两组,以透射电镜分别对两组微粒皮边缘细胞进行观察;用酶法试剂盒测定两组微粒皮上清液中琥珀酸脱氢酶的活性;以³H-TdR 掺入法观察微粒皮细胞增殖情况。同时选择 20 例烧伤患者进行两组微粒皮移植,观察创面愈合时间。结果 透射电镜观察显示:A 组微粒皮边缘细胞损伤较轻;其细胞培养上清液中琥珀酸脱氢酶的活性明显低于 B 组;³H-TdR 掺入率明显高于 B 组。A 组创面愈合时间明显短于 B 组($P < 0.05$)。结论 机制微粒皮对微粒皮边缘细胞的损伤轻,创面愈合时间短。

【关键词】 微粒皮机; 微粒皮; 细胞损伤; 烧伤

Study on the injurious effect of a self designed micro-skin machine on the epithelia CHEN Jian-she, CHEN Jin-song, LIU Xian-zhi, ZHANG Zong-ren, SHEN Guang-yu, DUAN Hong-jie, SU Yong-yue, LIU Yue-ming, LV Gen-fa. Department of Burns, The 187th Hospital of PLA, Haikou 571159, Hainan Province, P. R. China

【Abstract】 Objective To observe the injury on micro-skin induced by a self designed micro-skin machine. Methods Micro-skin was produced either with the machine or by hand. Cells at the edge of micro-skin were observed by transmission electron microscope. succinic dehydrogenase activity in supernatant of cultivated cells was analyzed, and the cell proliferation of micro-skin was assessed by ³H-TdR. Twenty patients were enrolled in the study for the observation of the wound healing time between the two groups of micro-skin after being grafted. Results Transmission electron microscope examination revealed that the cellular injury at the edge of the micro-skin in machine-made group was mild compared with that in man-made group. ³H-TdR rate was elevated but the activity of succinic dehydrogenase in the supernatant of cultured cells decreased in supernatant of cultured cells of machine produced microskin. Wound healing time was shortened in machine made group. ($P < 0.05$). Conclusion The cellular injury at the edge of micro-skin in the machine made group was mild when compared with that in the manually group with cell proliferation accelerated and wound healing time shortened.

【Key words】 Micro-skin machine; Micro-skin; Cellular injury; Burn

微粒皮边缘细胞损伤是影响微粒皮边缘生长、融合及创面封闭、愈合时间的重要因素之一。检查制作微粒皮过程对微粒皮边缘细胞的损伤,是衡量制作微粒皮方法优劣及可行性的指标之一。本研究中,笔者将机制的与人工剪制的微粒皮边缘细胞损伤情况进行比较,为探讨微粒皮机^[1]在临床应用的可行性提供实验依据。

资料与方法

1. 微粒皮的制备:采用相同供体薄中厚皮片制成微粒皮,将微粒皮机制作成的微粒皮称为 A 组,人工剪制成的微粒皮称为 B 组。将微粒皮机制作的与人工剪制的微粒皮分别用体积分数 3% 的戊二醛固定,常规石蜡包埋并标记标本方位,在透射电镜

下观察微粒皮边缘细胞情况。

2. 琥珀酸脱氢酶测定:用电子秤称取薄中厚皮片 60 mg (每组 30 mg),分别放入微粒皮机皮池与量杯中,用微粒皮机及剪刀制成微粒皮,将皮粒分别放入两支试管,用 M199 培养液(含体积分数 10% 的小牛血清)2 ml 冲洗微粒皮机皮池与量杯 2 次,将冲洗液分别加至各自的微粒皮试管中混匀。每组微粒皮悬液平分为 6 份,离心半径 30 cm,1 000 r/min 离心 5 min,取上清液 1 ml,用酶法试剂盒(南京建成生物工程公司)测定上清液琥珀酸脱氢酶活性,测定方法参照说明书进行。

3. ³H-TdR 掺入法测定细胞增殖情况:每组皮片重 30 mg,微粒皮的制备方法同前,用上述培养液 6 ml 重新悬浮皮粒,加入 12 孔板 1 ml/孔。置于 37℃、体积分数 5% CO₂ 孵箱内培养 12 h,然后加入 ³H-TdR 1.85 × 10⁴ Bq/孔,再培养 12 h。每孔微粒皮用单孔负压细胞收集仪(浙江绍兴卫星机械有限公司)收集细胞,用等渗盐水冲洗 20 遍,总用量 40

作者单位:571159 海口,解放军第一八七医院烧伤科(陈建设、陈劲松、刘贤志、张宗仁、沈光浴、段红杰);第三军医大学西南医院全军烧伤研究所、创伤烧伤复合伤国家重点实验室(苏踊跃、刘月明、吕根法)

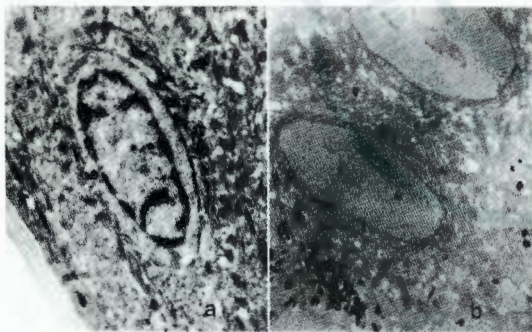
ml。将微粒皮放入带有螺旋盖的试管中,每 100 mg 组织加入体积分数 60% HClO 4.0 ml、H₂O₂ 0.4 ml,入消化液。旋紧螺旋盖,标记后将试管放入 70~80℃ 恒温水浴箱振荡,直至组织完全消化。取出试管,离心半径 30 cm,1 000 r/min,离心 5~10 min。取上清液 200 μl,转入闪烁瓶,加入闪烁液 10 ml,暗适应后测每分钟放射性荧光闪烁计数值,并计算每分钟衰变数(放射性元素)值作统计分析。

4. 临床观察:选择笔者单位 2000 年 1 月~2002 年 10 月收治的烧伤总面积 >47%、Ⅱ度面积 >20% TBSA、需行切(削)痂微粒皮移植术的患者 20 例,其中植入用微粒皮机制作的微粒皮(A 组)10 例;人工制作的微粒皮(B 组)10 例。

5. 统计学处理:所有数据采取 SPSS10.0 软件进行平均值配对,行 t 检验。

结 果

1. 透射电镜结果显示:A 组真皮层细胞结构、线粒体结构较为完整。B 组真皮层细胞结构模糊,胞浆内线粒体肿胀明显,电子密度减低(图 1)。



A 组 B 组
图 1 两组微粒皮的电镜显微结构 ×4 000

Fig 1 Ultrastructure of micro-skin made by different method under electron microscope ×4 000

2. 琥珀酸脱氢酶测定结果:琥珀酸脱氢酶活性 B 组为 3.60 ± 0.78、A 组为 0.77 ± 0.09, A 组琥珀酸脱氢酶活性水平明显低于 B 组 (P < 0.05)。

3. ³H-TdR 掺入法测定微粒皮的增殖情况:每分钟衰变数值 A 组为 1 671 ± 156、B 组为 56 ± 6, A 组明显高于 B 组 (P < 0.01)。

4. 临床观察结果:两组患者的病情、手术情况及全身治疗方法相近,差异无显著性意义 (P > 0.05),见表 1。A 组制作的微粒皮皮粒细小、均匀,如细沙样,不互相牵连,漂浮后分布均匀,植入后成活率高,其创面愈合时间较 B 组短,两组比较差异有显著性意义 (P < 0.05),见表 2。A 组 2 例、B 组 3 例有散在残余创面,行清创植皮术 1 次后,切削痂

创面彻底封闭。

表 1 两组患者一般资料及手术情况比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Comparison of general data and operation condition of burn patients in two groups ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	年龄 (岁)	烧伤面积 (% TBSA)	手术面积 (%)	受供比例
A 组	10	28.0 ± 1.9	59.3 ± 3.4	27.4 ± 1.5	9.43:1
B 组	10	27.8 ± 1.5	64.0 ± 4.6	31.6 ± 1.3	9.84:1

表 2 两组微粒皮应用比较 ($\bar{x} \pm s$)

Tab 2 Comparison of clinical application of different micro-skin ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	创面愈合时间(d)	创面一次性封闭例数
A 组	10	26.6 ± 0.5*	8
B 组	10	30.8 ± 0.7	7

注:与 B 组比较, * P < 0.05

讨 论

烧伤创面植皮中将薄中厚皮制成邮票皮片或微粒皮的过程,对皮片及皮肤细胞来讲本身就是一种损伤过程。无论是剪刀剪制、碎皮机制作、轧皮机轧制、还是用微粒皮机切割制作都不例外。过去均以剪刀剪制为无损伤而进行参照比较^[2]。实际上,剪刀剪制皮片是利用两刀刃对挫将皮片断离,断离边缘也必然被挫伤。有关切割皮片时对边缘损伤的比较,尚未见报道。自制的新型微粒皮机^[1]是利用切割原理制作微粒皮,在实验及应用中证明制作速度较快,但对微粒皮边缘细胞的损伤程度尚不清楚。

本研究的目的是比较微粒皮机制作方法与剪刀剪制方法对微粒皮边缘细胞的损伤情况,通过电镜对皮片边缘细胞观察,提示剪制法比微粒皮机制作对微粒皮的损伤严重。琥珀酸脱氢酶存在于上皮细胞的线粒体中,皮肤组织损伤后,琥珀酸脱氢酶从细胞内释放出来,释放的越多,说明组织活力越高^[3]。本实验通过测定制作微粒皮时微粒皮边缘细胞损伤释放出来的琥珀酸脱氢酶活性,间接判断细胞损伤程度,释放的越多,说明损伤越重。测定结果表明,剪制法比微粒皮机制作对皮片细胞的损伤严重。微粒皮移植,是靠其边缘细胞生长扩展,互相融合以封闭创面,同一规格的皮肤以两种方法制作的微粒皮真皮面大小相同,因此,细胞增殖的多少取决于微粒皮边缘细胞的生长。³H-TdR 掺入法是反映细胞增殖能力的常用指标,增殖代谢旺盛的细胞在生长过程中吸收培养液中的³H-TdR。笔者对两组微粒皮进行培养,并用³H-TdR 掺入法观察微粒皮边缘细胞生长情况,结果表明机制法的微粒皮细胞增殖较快。

临床利用机制微粒皮进行皮肤移植,创面封闭较快。说明机制微粒皮对微粒皮边缘细胞损伤较轻,创缘复苏快,有利于边缘细胞的增殖及皮片扩展。以上实验结果和临床观察表明,应用微粒皮机制微粒皮对皮肤细胞的损伤较轻,皮粒扩展、互相融合及创面封闭较快,在临床上有一定的推广和使用价值。

参 考 文 献

- 1 陈建设,刘贤志,陈劲松,等.介绍一种新型自制微粒皮机.中华烧伤杂志,2002,18:375-376.
- 2 张明良,陈伟乐,徐军,等.碎皮机在微粒移植术中的应用.中华整形烧伤外科杂志,1990,6:65-66.
- 3 王锡华,吴军,张宁,等.应用人一鼠皮肤移植判断冻存人体皮肤的活力.中国现代杂志,2000,10:14-16.

(收稿日期:2002-11-13)

(本文编辑:张红)

· 病例报告 ·

救治特重度烧伤并发多器官功能障碍综合征一例

王志强 蔡宝仁 孔繁英 肖杰 田玮

笔者单位收治 1 例烧伤面积为 90% TBSA、合并冲击伤和吸入性损伤的患者,伤后相继并发脑、肺、心、肾、肝脏、血液、胃肠道及代谢系统等 8 个器官系统功能障碍,经治疗痊愈出院。现报告如下。

临床资料:患者男,32 岁,平素健康。因锅炉管道爆炸被高温(350℃)、高压(180 个大气压)水蒸气烫伤,伤后 30 min 入院。查体:体温 36.2℃、脉搏 130 次/min、呼吸为 24 次/min、血压 120/82 mm Hg(1 mm Hg=0.133 kPa)。烦躁,呼吸费力,口渴,声嘶,咳黑色黏稠状痰,四肢湿冷。创面腐皮脱落,创基苍白或红白相间,被粉尘严重污染。诊断:(1)特重度烧伤,面积 90%,其中深 II 度 28%、III 度 62% TBSA。(2)冲击伤。(3)中度吸入性损伤。(4)低血容量休克。

治疗:入院后快速补液复苏,吸氧,创面外涂磺胺嘧啶银(SD-Ag)糊剂,远红外线照射。伤后 18 h 因患者呼吸困难行气管切开术。休克期病情平稳,尿量维持在 100~145 ml/h。伤后 5 d 在全身麻醉下行双下肢肌瓣异体皮移植术,肌瓣至浅筋膜;术中补液 4 200 ml,其中全血 1 000 ml;术中生命体征平稳,平均尿量 10 ml/h。第 7 天在全身麻醉下行自体头皮嵌入术,随后出现肾病综合征症状,血压 200/100 mm Hg,血浆白蛋白 22.9 g/L,总蛋白 38.4 g/L,重度浮肿,持续蛋白尿(++),严重低蛋白血症。贫血(血红蛋白 98 g/L、红细胞 $3.15 \times 10^{12}/L$)。第 18 天彩色多普勒超声提示心包积液,肝脏轻度损害,化验示凝血酶原时间延长。双下肢创面有霉菌感染,外用碘伏,全身用氟康唑抗感染治疗。第 36 天患者体温升至 40.5℃,血压降至 75/45 mm Hg,心率为 150 次/min,呼吸 36 次/min,PaO₂ 272 mm Hg, PaCO₂ 235 mm Hg,双肺下野湿性啰音。应用多巴胺等药物使患者血压维持在 75~85/45~55 mm Hg。嗜睡,明显腹胀,大便潜血(++)。球杆菌比例失调,丙氨酸氨基转移酶(GPT)161 IU/L,白细胞 $3.6 \times 10^9/L$ 。血常规镜下见:中毒颗粒为 30%,细胞核肿胀,出现

晚幼粒及中晚幼红细胞。成熟红细胞苍白区明显扩大,不名细胞占 8%,持续约 10 d。第 40 天,患者双下肢自体皮片出现霉菌感染,在硬膜外麻醉下行霉菌感染灶清除术。术后 5 d,尿蛋白消失。术后 10 d 全身水肿消退,伤后 99 d 彩色多普勒超声检查内心结构恢复正常。

结果:伤后 20~28 d,患者头面及前后躯干、臀部创面自行愈合;第 60 天双手、双上肢、双侧胸及颈部创面愈合;双下肢创面第 75 天愈合。患者于伤后 143 d 痊愈出院。

讨论 多器官功能障碍综合征(MODS)是目前烧伤后严重并发症和主要死亡原因之一,出现 3 个脏器以上功能衰竭的患者死亡率达 80%~100%。本例患者在烧伤后相继并发多器官系统功能障碍^[1],其救治的主要措施在于严密监测,及时诊断、治疗。体会如下:(1)本例患者伤后 5 d 发生早发型 MODS,手术和麻醉打击是直接原因,但也与合并冲击伤和吸入性损伤、严重低蛋白血症、术中补液及输血量较大等因素有关。该患者因伤势严重,机体的一般状况在术前未能得到充分纠正,致使伤后很快并发 MODS。(2)该患者感染霉菌使感染症状加重,在发生 MODS 后立即进入严重的感染阶段,体温由正常迅速升至 38.5℃ 以上。尽管早期联合应用高效广谱抗生素,但仍在伤后 36 d 发生感染性休克,并导致以感染为诱因的第 2 次 MODS,直到彻底清除霉菌感染灶,感染症状才得以控制。(3)目前对 MODS 的治疗还缺乏成熟而有效的手段,关键在预防。发生 MODS 后,重点要防止向多脏器衰竭(MOF)发展,并对心、肺、肾、脑、肠道及肝脏等重要脏器功能进行支持与维护。患者治疗期间曾用黄芪、参麦、大黄等中药,及时补充人体免疫球蛋白、血浆蛋白等,调节并保持内环境的稳定。

参 考 文 献

- 1 黎鳌,主编.烧伤治疗学.第 2 版.北京:人民卫生出版社,1995. 273-275.

(收稿日期:2001-05-17)

(本文编辑:苟学萍)

作者单位:121001 锦州,解放军第二〇五医院烧伤整形科