

任何治疗时所有兔伤后 3 h 内体温均下降到 35.0 ℃ 以下,血液流变学指标均高于正常,且随着复温时间延长其指标不断下降。

血液黏度增加会加重循环障碍。高切还原黏度与组织的微循环直接相关;低切还原黏度主要反映大、中等血管中的血液流变性,其还原黏度越低,微循环灌注压力越大,可改善组织的微循环状况<sup>[4]</sup>。血液黏度降低会增加组织的营养供应,也加快代谢废物的排出。红细胞变形能力差,即刚性指数升高,不仅造成毛细血管堵塞,而且使红细胞间聚集性增强<sup>[5]</sup>,血液与组织之间的气体交换就受阻;红细胞聚集性升高更加重微循环障碍。本实验结果证明,用加温输液的方法复温速度快、效果好,缩短了低体温持续时间,可有效改善血液流变指标及微循环。同时,复温快使血红蛋白氧解离曲线右移,增加了血红蛋白结合氧的释放,提高了组织摄取和

利用氧的能力,促进了有氧代谢。

#### 参考文献

- [1] 许翔,孙泽光,杨永熙,等.严重烧伤患者血液流变学临床研究.中国血液流变学杂志,2006,16(2):248-251.
- [2] 张倩,金玄玉,陈树斌,等.低温对口腔颌面手术病人血液流变学的影响.中国血液流变学杂志,2005,15(3):417-419.
- [3] 崔晓林,盛志勇,郭振荣,等.严重烧伤抗休克时胃肠粘膜内缺血的研究.中华整形烧伤外科杂志,1998,14(4):262-265.
- [4] 陈文杰.血液流变学.天津:天津科学技术出版社,1987:10-36.
- [5] 吴庆云,王翔,罗向东,等.烧伤后红细胞膜粘弹性改变对心肌局部血流量的影响.中华烧伤杂志,2001,17(6):354-356.

(收稿日期:2007-01-05)

(本文编辑:张红)

## 人端粒末端转移酶反转录酶及 bcl-2 在病理性瘢痕成纤维细胞中的表达

黄勇 邢新

端粒末端转移酶的激活与肿瘤的发生密切相关<sup>[1]</sup>。随着对其研究的深入,人们逐渐认识到人端粒末端转移酶反转录酶(human telomerase reverse transcriptase, hTERT)可能在端粒末端转移酶活性调节中发挥重要作用。但在病理性瘢痕的发生发展过程中,有关端粒末端转移酶激活的机制及其与 bcl-2 mRNA 表达水平的关系鲜见报道。笔者通过检测 hTERT、bcl-2 mRNA 在人病理性瘢痕成纤维细胞中的表达水平,旨在探讨在此过程中是否存在端粒末端转移酶激活机制及其意义。

### 1 对象与方法

#### 1.1 材料准备

**1.1.1 标本及试剂来源** 增生性瘢痕患者 8 例、瘢痕疙瘩患者 8 例,年龄 16~32 岁,病程 12~22 个月。切取 16 例患者的病理性瘢痕标本,选择边缘凸起发红的部分作为增生性瘢痕组和瘢痕疙瘩组进行观察。另从前述 8 例增生性瘢痕患者正常皮肤中取样作为正常组进行观察(患者知情同意)。RNA 提取液由第二军医大学长海医院中心实验室提供, Taq 酶、反转录酶购于美国 Gibco 公司,PCR 扩增试剂盒购自日本 TaKaRa 公司。凝胶扫描成像分析仪购自上海复日公司。

**1.1.2 细胞培养** 将标本按组织块法<sup>[2]</sup>进行培养,取第 3~4 代成纤维细胞用于实验。

#### 1.2 检测方法

**1.2.1 引物合成** hTERT 及 bcl-2 引物均由上海生工生物工程股份有限公司合成。

#### 1.2.2 反转录-PCR 法检测 hTERT、bcl-2 基因表达水平

按提取液说明书要求逐步提取总 RNA。以随机引物反转录合成互补 DNA(cDNA),再将 cDNA 行 PCR 扩增。PCR 反应条件为:94 ℃ 30 s,62 ℃ 30 s,72 ℃ 30 s,扩增 36 个循环,最后于 72 ℃ 下延伸 2 min。扩增产物经 15 g/L 琼脂糖凝胶电泳分离,条带吸光度值用凝胶扫描成像分析处理系统进行分析。根据 hTERT/ $\beta$  肌动蛋白、bcl-2/ $\beta$  肌动蛋白值进行统计分析及评价 hTERT、bcl-2 基因在各组成纤维细胞中的表达水平。

#### 1.3 统计学处理

数据以  $\bar{x} \pm s$  表示,应用 SPSS 11.5 统计软件行方差分析,组间比较行 *t* 检验。

### 2 结果

#### 2.1 hTERT 在成纤维细胞中的基因表达水平

瘢痕疙瘩组 hTERT mRNA 表达水平(0.353 ± 0.031)显著高于增生性瘢痕组(0.229 ± 0.018)和正常组(0.204 ± 0.016),差异有统计学意义( $P < 0.01$ );与正常组比较,增生性瘢痕组 hTERT mRNA 表达水平明显升高( $P < 0.05$ )。

#### 2.2 bcl-2 在成纤维细胞中的基因表达水平

瘢痕疙瘩组 bcl-2 mRNA 表达水平(0.324 ± 0.027)显著高于增生性瘢痕组(0.224 ± 0.017)和正常组(0.211 ± 0.017),差异有统计学意义( $P < 0.01$ );增生性瘢痕组与正

作者单位:264000 山东烟台,毓璜顶医院烧伤整形科;第二军医大学长海医院整形外科(邢新)

常组比较, bcl-2 mRNA 的表达水平差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

### 3 讨论

端粒末端转移酶的发现和“端粒-端粒末端转移酶假说”的提出,使有关肿瘤的研究有了长足的进展。现已知端粒末端转移酶是一种核糖核蛋白复合体,是 RNA 与蛋白质组成的复合物,主要包括 3 个结构亚单位。其中 hTERT 是维持端粒末端转移酶活性最重要的成分<sup>[3]</sup>,有关研究业已证明,端粒末端转移酶除表达于部分正常组织细胞外,在恶性实体瘤中有较高的表达<sup>[4,5]</sup>。普遍的观点为:hTERT mRNA 表达水平上调是肿瘤发生中端粒末端转移酶被激活的关键步骤。从细胞学的观点来看,肿瘤和病理性瘢痕都是细胞超常增生的病理性改变,特别是瘢痕疙瘩所具有的侵袭性生长和永生性类似于肿瘤。本研究结果显示,瘢痕疙瘩组 hTERT mRNA 表达水平明显高于增生性瘢痕组和正常组,且增生性瘢痕组该指标也明显高于正常组。hTERT mRNA 表达水平上调则端粒末端转移酶被激活,表明端粒末端转移酶的活性增高与恶性或良性增生性皮肤病变均相关。

细胞凋亡又称程序性细胞死亡,可能由凋亡相关基因编码的蛋白调控,是多种因素共同作用的结果。bcl-2 是细胞凋亡过程中的一种调节因子<sup>[6]</sup>。本研究结果表明,瘢痕疙瘩组 bcl-2 mRNA 的表达水平明显高于增生性瘢痕组和正常组,而后 2 组该指标差异无统计学意义。bcl-2 是一种抑凋亡基因,其过度表达说明其参与了瘢痕疙瘩形成的调控,而且机制与促肿瘤细胞形成相似。端粒末端转移酶被激活, bcl-2 基因表达上调见于多种肿瘤细胞,故人们猜测端粒末端转移

酶与 bcl-2 可能存在某种关联<sup>[7]</sup>。

本研究结果提示:瘢痕疙瘩成纤维细胞中 bcl-2 mRNA 过度表达,可能在端粒末端转移酶活性调节中发挥重要作用。亦从侧面证实瘢痕疙瘩中的成纤维细胞可能不同于增生性瘢痕,而是具有肿瘤细胞的某些特性,这可能是瘢痕疙瘩具有无限制生长和术后易复发等特征的原因之一。

### 参考文献

- [1] Osborne T. Accurate urine telomerase test for detecting bladder cancer. *Nat Clin Pract Oncol*, 2006, 3(2):69.
- [2] 黄勇,任林森,岑瑛. 瘢痕成纤维细胞培养及其生物学行为的实验研究. *中国修复重建外科杂志*, 1998, 12(6):332-334.
- [3] 梁光萍,罗向东,杨宗城. 人端粒酶蛋白催化亚单位基因转染对人胚胎成纤维细胞增殖的影响. *中华烧伤杂志*, 2005, 21(1):30-32.
- [4] Kumar SK, Zain RB, Ismail SM, et al. Human telomerase reverse transcriptase expression in oral carcinogenesis-a preliminary report. *J Exp Clin Cancer Res*, 2005, 24(4):639-646.
- [5] Bowles L, Bialkowska-Hobrzanska H, Bukala B, et al. A prospective evaluation of the diagnostic and potential prognostic utility of urinary human telomerase reverse transcriptase mRNA in patients with bladder cancer. *Can J Urol*, 2004, 11(6):2438-2444.
- [6] Cory S, Adams JM. Killing cancer cells by flipping the Bcl-2/Bax switch. *Cancer Cell*, 2005, 8(1):5-6.
- [7] Atsushi I, Akio Y, Kazuo H, et al. Telomerase activity in colorectal cancer and its relationship to bcl-2 expression. *J Surg Oncol*, 2000, 73(4):219-223.

(收稿日期:2006-07-04)

(本文编辑:赵敏)

## 肠道部分缺血再灌注损伤诱发全身性炎症反应的实验观察

曹卫红 胡森 柴家科 孙丹 盛志勇

全身性炎症反应是创(烧)伤后常见的病理生理过程,肠道缺血再灌注损伤(I/R)在其中的作用逐渐引起人们的重视。笔者通过复制肠道部分 I/R 动物模型<sup>[1]</sup>,观察兔肠系膜上动脉(SMA)阻断前后多种炎症介质水平及脏器功能的变化,以进一步阐明创伤后失控性炎症反应及多器官功能障碍综合征的发病机制。

### 1 材料与方

#### 1.1 动物来源及分组

清洁级雄性大耳白兔 55 只,体质量(2.0±0.3)kg,购自北京大学医学部实验动物中心。实验前适应性饲养 1~2 周。按随机数字表法分为肠部分 I/R 组(25 只)、假手术组(25 只)、正常对照组(5 只)。前 2 组参照文献[2]方法制作肠部分 I/R 损伤模型,其中假手术组仅分离 SMA,不阻断。各致伤组均在处理后 2、4、6、8、24、48、72 h 留取兔动脉血标

本待测,并于处理后 2、6、24、48、72 h 留取小肠组织标本待测。正常对照组不致伤,处死后留取相应标本待测。

#### 1.2 检测指标

采用放射免疫法测定兔血浆及小肠组织中白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α(TNF-α)和 IL-10 的含量;流式细胞术测定外周血中性粒细胞凋亡率;免疫组织化学法观察外周血中性粒细胞中半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(caspase-3)的表达水平。

#### 1.3 统计学处理

数据用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用 STATA 4.0 统计软件行 *t* 检验和方差分析。

### 2 结果

#### 2.1 血浆 TNF-α、IL-6、IL-10 含量的变化

SMA 阻断后肠部分 I/R 组血浆 TNF-α、IL-6、IL-10 含量均逐渐升高,阻断后 24 h TNF-α 达峰值,阻断后 6 h IL-6、IL-10 达峰值。而假手术组波动范围较小。见图 1,2。

作者单位:100037 北京,解放军总医院第一附属医院全军烧伤研究所