论著

文章编号:1000-5404(2014)07-0708-05

烧伤患者血浆循环DNA水平的变化及其临床意义

刘 潇[1],任 辉[1],彭代智[2],刘小玲[2],何 斌[2],张宜澜[2],钱 卫[2],李睿夫[2],段小冬[2],周 灵[2] (400038 重庆,第三军医大学:护理学院[1],西南医院全军烧伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室[2])

[摘要] **目的** 观察烧伤患者血浆循环DNA水平的动态变化,探索血浆循环DNA在判断烧伤后伤情、病情及临床结局中的意义。**方法** 纳入烧伤面积(BSA)>30%的烧伤患者32例,其中男性25例,女性7例,平均年龄42岁。热力烧伤25例,化学烧伤7例。烧伤至入院中位时间为6.5 h。分别于烧伤后1~3、4~7、8~14、15~21 d收集血浆样本共108份,采用血浆DNA提取试剂盒提取血浆样本中的循环DNA,并用PicoGreen荧光染料法测定其浓度,分析其在烧伤病程中的变化规律。结合烧伤伤情(BSA、Ⅲ度烧伤面积、烧伤指数)、急性生理与慢性健康评分(APACHE Ⅱ),以及多器官功能障碍综合征(MODS)评分,分析血浆循环DNA水平变化的临床意义。**结果** 32例烧伤患者在入院第1次采血(烧伤后1~3 d)的血浆循环DNA水平与BSA、烧伤指数、Ⅲ度烧伤面积、APACHEⅡ等伤情参数呈显著正相关($P<0.01$)。血浆循环DNA水平随烧伤后时间呈现出先略微抬升而后下降的规律,其中特重度烧伤组及死亡组患者入院时的血浆循环DNA水平分别显著高于同期的重度烧伤组、存活组($P<0.01$)。血浆循环DNA水平与患者MODS评分($P<0.01$)及多项临床与实验室指标($P<0.05$)显著相关。入院时血浆循环DNA水平、APACHE Ⅱ评分、MODS评分、BSA、Ⅲ度烧伤面积及烧伤指数皆与临床结局有显著的正相关。**结论** 血浆DNA水平与烧伤伤情和病情的变化密切相关,有望作为烧伤后机体受损的严重程度指标与预后指标。

[关键词] 烧伤;循环DNA;血浆;严重程度;预后

[中图法分类号] R362; R446.119; R644.02 [文献标志码] A

Change and clinical significance of plasma circulating DNA levels in burn patients

Liu Xiao[1], Ren Hui[1], Peng Daizhi[2], Liu Xiaoling[2], He Bin[2], Zhang Yilan[2], Qian Wei[2], Li Ruifu[2], Duan Xiaodong[2], Zhou Ling[2] ([1]School of Nursing, [2]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Burns, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To observe the dynamic changes of plasma circulating DNA in burn patients and investigate its clinical significance. **Methods** According to clinical stages after burn, total 108 plasma samples were collected from 32 cases of burn patients (burn surface area >30%) during post-burn days 1-3, 4-7, 8-14, and 15-21 respectively. They were subjected in March to July 2013, including 25 males and 7 females at a mean age of 42. Twenty-five patients were thermal injuries, and 7 were chemical burns with a median time of 6.5 h after injury. Plasma circulating DNA was extracted with QIAamp DNA Blood Mini Kit and quantified with Quant-iT PicoGreen fluorescent dye reagent. Combined with clinical data, plasma circulating DNA level was analyzed for its variation after burns and its clinical significance. **Results** Plasma circulating DNA levels in the first blood sample of 32 burn patients (taken within 1-3 d after burns) had a significantly positive correlation with percentage of total body surface area (TBSA), burn index, third degree burn area, and Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Ⅱ (APACHE Ⅱ) score ($P<0.01$). Plasma DNA levels of burn patients presented a slight uplift firstly, and then a reduction as time went by. The patients with ≥50% TBSA burnt and those died had significantly higher DNA levels compared to the patients with 30% to 50% TBSA burnt and the survival patients respectively ($P<0.01$). DNA levels were positively related to Multiple Organ Dysfunction Score (MODS) ($P<0.01$) and some clinical and laboratory indicators ($P<0.05$). Plasma DNA level of first blood sample, APACHE Ⅱ score, MODS, burn surface area (BSA), third-degree burn area

[基金项目] 国家科技支撑计划(2009BAI87B03);卫生行业科研专项项目(201202002)

[通信作者] 任 辉,E-mail:renhui_tmmu@163.com;彭代智,E-mail:dzpengmd@126.com

[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140102.1435.017.html(2014-01-02)

and burn index on admission were all significant correlated with the clinical outcome. **Conclusion** Plasma DNA level is closely correlated with burn conditions and clinical processes, and might be regarded as a helpful indicator for burn severity and prognosis.

[**Key words**] burn; circulating DNA; plasma; severity; prognosis

Supported by the National Key Technology R&D Program (2009BAI87B03) and the Special Project of Scientific Research of Health Industry (201202002).
Corresponding author: Ren Hui, E-mail: renhui_tmmu@163.com; Peng Daizhi, E-mail: dzpengmd@126.com

严重烧伤不仅直接造成患者广泛的体表组织损伤,还可导致细胞缺血缺氧性损害以及机体免疫功能紊乱[1],从而引起全身性感染[2]、多个组织器官损害,甚至功能衰竭。但目前缺少有效判断烧伤患者病情、预后的可靠指标[3]。循环DNA是独立于细胞外的DNA,被证明广泛存在于包括健康人及病患在内的所有个体血液中,其含量的改变可反映疾病的存在与否及严重程度,已在产前检查、肿瘤、感染性疾病、创伤及自身免疫性疾病的诊断及预后判断等方面被证明具有重要意义[4-5],但其释放机制与来源仍没有形成定论[6]。目前有关烧伤患者循环DNA的临床研究较少。Chiu等[7]采用荧光定量PCR的方法对28例烧伤患者烧伤24 h内的血浆DNA进行定量研究,发现烧伤后循环DNA水平明显升高,并与烧伤面积(BSA)及住院时间相关;Fox等[3]着重研究19例烧伤患者血浆内皮细胞mRNA及DNA在烧伤1~3 d及第10周的水平,发现其与BSA相关,但缺少对循环核酸释放的动态观察,以及结合烧伤情况、病情、预后的综合分析。本研究通过在烧伤病程发展过程中,定量监测患者血浆循环DNA水平,阐述其随烧伤病程的动态变化规律,分析其与MODS评分、临床或实验室生化指标的相关关系,讨论入院时血浆循环DNA水平在烧伤预后的判断价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象

收集本院烧伤科2013年3-7月收治的烧伤患者临床资料。纳入烧伤面积大于30%、年龄18~65岁、依从性好的烧伤患者;排除患恶性肿瘤等严重威胁生命疾病的患者、妊娠或哺乳期妇女。记录患者的受伤时间和入院时间、入院时诊断、急性生理与慢性健康评分(APACHEⅡ评分)、烧伤指数(浅Ⅱ度烧伤面积×1/2+深Ⅱ度烧伤面积×2/3+Ⅲ度烧伤面积×1)。在标本采集当天观察并记录患者的诊断、症状与体征,以及血常规、凝血5项、肝功、心肌酶谱、肾功等生化检查结果。根据Marshall等[8]介绍的MODS评分方法,对32例患者的呼吸频率、肾脏、肝脏、心血管、血液及中枢神经系统情况进行评定,计算并记录标本采集当天患者相应的MODS评分。本研究经第三军医大学西南医院伦理委员会的批准。患者均签署知情同意书。

1.2 主要试剂与仪器

血浆DNA提取试剂盒(QIAGEN公司,德国),DNA浓度测定试剂盒(Invitrogen,美国)。Thermo Varioskan Flash全波长多功能酶标仪(Thermo Scientific公司,美国),GT16-3型高速台式离心机、D75-3型低速台式离心机(北京时代北利离心机有限公司)。

1.3 检测指标

1.3.1 临床血标本的采集 按照烧伤临床分期分别于烧伤后1~3、4~7、8~14、15~21 d,采集患者无菌静脉血于EDTA抗凝真空采血管中,共采集血浆标本108份。所有标本于采集后2 h内于2 000×*g*离心10 min,小心转移上层血浆至1.5 mL离心管中,12 000×*g*离心10 min,将上清以200 μL/管分装后于-80 ℃冰箱中保存。

1.3.2 血浆循环DNA水平的检测 200 μL血浆标本解冻后,按试剂盒操作说明提取血浆DNA,并溶于50 μL洗脱缓冲液中,即为血浆循环DNA待测样本,保存于-20 ℃冰箱。以小牛胸腺DNA(Sigma, 德国)为标准品,用1×TE缓冲液配制成0.25~1 000 ng/mL。根据DNA浓度测定试剂盒操作说明,设置测定体系:DNA标准品100 μL或血浆DNA待测样本5 μL(加入1×TE缓冲液95 μL),0.005×Quant-iT PicoGreen dsDNA Reagent 100 μL,混匀后避光室温放置2~5 min。在多功能酶标仪设置荧光激发波长和发射波长分别为480 nm与520 nm,根据读取的DNA标准品荧光值与建立的标准曲线,再利用DNA待测样本的荧光值计算出样本的血浆总DNA浓度。

1.4 统计学分析

性别比、烧伤原因、临床结局等离散变量以频数或百分率表示,采用χ^2检验进行比较。年龄、烧伤面积、首次手术时间、首次手术面积、血浆DNA水平及相关量表评分等连续变量以中位数(M)及25%~75%分位区间(IR)表示,两独立样本比较用Mann-Whitney U检验。两变量相关分析采用Spearman等级相关分析。受试者工作特征曲线(receiver operator characteristic curve,ROC)[9]及曲线下面积(area under the curve,AUC)用于评价APACHEⅡ评分、MODS评分、血浆循环DNA水平对死亡的预测价值。采用SPSS 18.0及MedCalc12.7.3.0统计软件,皆为双侧检验。

2 结果

2.1 纳入病例的基本资料

共纳入烧伤患者32例,其中男性25例(78.1%),女性7例(21.9%),平均年龄42岁。按烧伤面积划分[10]重度烧伤(30%<BSA≤50%)12例(37.5%),特重度烧伤(BSA>50%)20例(62.5%)。救治无效死亡患者6例(18.8%),存活患者26例(81.2%)。按烧伤面积及临床结局分组,资料统计如表1。其中,重度烧伤组的BSA与Ⅲ度烧伤面积显著小于特重度

表1 纳入患者的基本资料

变量	按烧伤面积分组		按临床结局分组	
	重度烧伤组	特重度烧伤组	存活组	死亡组
性别比(男:女)	8:4	17:3	20:6	5:1
年龄(岁,M,IR)	41.0(36.5~45.0)	45.5(34.0~52.0)	43.0(38.0~49.0)	39.5(33.0~59.0)
BSA(%,M,IR)	37.5(35.0~43.5)	70.0(61.0~81.0)[a]	51.0(40.0~65.0)	90.5(80.0~95.0)[c]
浅Ⅱ度烧伤面积	9.0(2.0~14.0)	2.5(0.0~11.5)	4.0(1.0~13.0)	2.0(0.0~3.0)
深Ⅱ度烧伤面积	19.5(16.0~27.0)	30.0(18.0~37.5)	28.0(18.0~35.0)	20.0(11.0~32.0)
Ⅲ度烧伤面积	6.0(2.5~9.5)	27.0(10.0~51.0)[a]	10.0(6.0~27.0)	53.5(32.0~81.0)[d]
首次手术				
时间(伤后时间,M,IR)	16.5(4.5~26.0)	4.0(3.0~6.5)[b]	6.5(4.0~25.0)	3.5(3.0~4.0)[d]
面积(%,M,IR)	12.5(10.0~27.5)	20.0(12.5~37.5)	15(10.0~30.0)	40.0(20.0~50.0)[d]
烧伤原因				
热力烧伤(例)	9	16	20	5
化学烧伤(例)	3	4	6	1
临床结局(存活:死亡)	12:0	14:6[b]		

a: $P<0.01$,b: $P<0.05$,与重度烧伤组比较;c: $P<0.01$,d: $P<0.05$,与存活组比较

烧伤组($P=0.000$,$P=0.000$);存活组的BSA与Ⅲ度烧伤面积显著小于死亡组($P=0.000$,$P=0.022$)。特重度烧伤组首次手术时间显著提前于重度烧伤组($P=0.026$);死亡组首次手术时间显著提前于存活组($P=0.022$),首次手术面积显著大于存活组($P=0.049$)。6例死亡病例的烧伤面积均>50%。

2.2 血浆循环DNA水平检测方法的建立

同1份混合血浆分成5份同时提取DNA,应用PicoGreen荧光染料定量检测,结果显示总体批内变异系数(*CV*)为4.84%;对同1份血浆DNA标本进行5次重复检测,结果显示该样本DNA的批间*CV*为2.56%。每次检测均包含1次标准品等倍稀释建立的标准曲线,检测范围为0.25~1 000 ng/mL,R^2为0.999 8。

2.3 血浆循环DNA水平与烧伤情况的相关分析

结合临床烧伤情况相关指标对患者入院第1次采血结果(烧伤1~3 d)进行相关性分析发现,血浆循环DNA水平与BSA、烧伤指数、Ⅲ度烧伤面积、APACHE Ⅱ评分呈显著正相关($P<0.01$),而与浅Ⅱ度及深Ⅱ度烧伤面积没有显著相关关系(表2)。

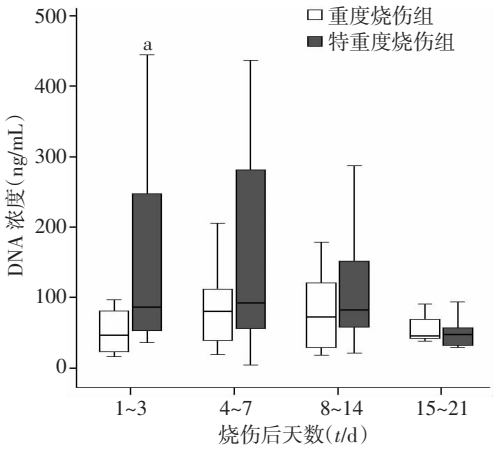
表2 32例烧伤患者伤后第1~3天血浆DNA水平与烧伤情况的相关分析

烧伤情况	*P*值	Spearman等级相关系数
BSA	0.000	0.612
烧伤指数	0.000	0.380
Ⅲ度烧伤面积	0.002	0.280
APACHE Ⅱ评分	0.004	0.495
浅Ⅱ度烧伤面积	0.053	−0.181
深Ⅱ度烧伤面积	0.272	−0.103

2.4 烧伤患者血浆循环DNA水平的动态变化

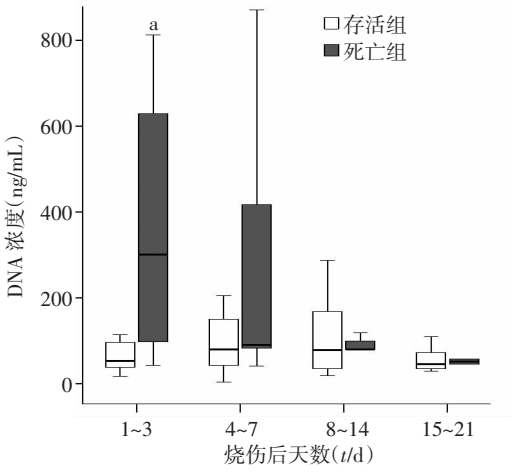
烧伤患者血浆循环DNA水平随烧伤时段变化趋势如图1所示,总体呈现先略微抬升而后下降的趋势。其中,特重度烧伤组血浆循环DNA水平高峰出现在烧伤后4~7 d,而后呈持续下降趋势;重度烧伤组血浆循环DNA水平高峰于烧伤后8~14 d出现,略迟于特重度烧伤组,随后也出现明显下降趋势。特重度烧伤组在入院第1次采血的血浆循环DNA水平显著高于同期重度烧伤组($P<0.01$)。

图2为不同临床结局烧伤患者血浆循环DNA水平的动态变化,存活组与整体的变化趋势特征相似,死亡组在烧伤后1~3 d的血浆循环DNA水平显著高于同期存活组($P<0.01$)。



a:$P<0.01$,与同期重度烧伤组比较

图1 烧伤患者血浆循环DNA水平的动态变化



a:$P<0.01$,与同期存活组比较

图2 不同临床结局烧伤患者循环DNA水平的动态变化

2.5 血浆循环DNA水平与MODS评分、临床指标的相关分析

108份血浆标本的血浆循环DNA水平与患者MODS评分存在显著的正相关关系($P<0.01$)。结合每次标本采集当天患者的临床表现、血常规与凝血、肝功、肾功等检验指标相关分析发现,血浆循环DNA水平与心率、呼吸频率、入量、D-二聚体、谷草转氨酶(AST)、血钠、肌酐、血糖、胱抑素C、血尿素氮、降钙素原呈显著正相关($P<0.01$),与血清乳酸水平、活化部分凝血活酶时间(APTT)、总胆红素呈显著正相关($P<0.05$),与尿量、血小板数目、血钾呈显著负相关($P<0.05$,表3)。

表3 血浆循环DNA水平与MODS、临床指标的相关性分析

临床生化指标	Spearman等级相关系数	P值
心率	0.448	<0.01
D-二聚体	0.448	<0.01
MODS评分	0.423	<0.01
入量	0.41	<0.01
肌酐	0.402	<0.01
降钙素原	0.399	<0.01
呼吸频率	0.385	<0.01
胱抑素C	0.377	<0.01
血钠	0.34	<0.01
AST	0.334	<0.01
血糖	0.321	<0.01
血尿素氮	0.265	<0.01
总胆红素	0.231	0.014
血小板数目	−0.228	0.015
APTT	0.282	0.021
血清乳酸	0.259	0.021
尿量	−0.227	0.029
血钾	−0.199	0.033

2.6 血浆循环DNA水平与临床结局的相关分析及ROC曲线分析

根据患者的临床结局,将纳入病例分为死亡组及生存组,经Mann-Whitney U检验,2组间入院时血浆循环DNA水平、病情评分(APACHE Ⅱ评分、MODS评分)、烧伤情况(BSA、Ⅲ度烧伤面积、烧伤指数)均有显著差异($P<0.05$),且各指标与临床结局均呈显著正相关($P<0.05$);ROC曲线分析并计算各AUC,两两间比较均无显著差异($P>0.05$);将6项指标联合做ROC曲线分析,AUC高于任一单项指标,但与各单项指标均无显著差异($P>0.05$,表4)。

3 讨论

循环DNA的研究标本多选择血清或血浆,而本研究选取血浆标本是考虑到在凝血过程中血细胞可能非特异地释放了DNA,血清中的循环DNA含量往往大于血浆中含量,血浆可能比血清更能真实地反映体内循环DNA水平[11]。目前,血浆循环DNA相关检测方法较多,通过定量PCR方法对GAPDH、人类β珠蛋白基因(β-globin)、β-actin等人类看家基因进行特异性扩增并定量,可间接反映人体循环DNA水平。本研究应用PicoGreen荧光染料检测方法,可对直接血浆循环DNA进行综合的定量分析,具有较高的灵敏度,并缩短了定量检测时间。

循环核酸的来源、释放与清除机制尚未完全明确,有观点认为血浆循环DNA主要来源于组织细胞坏死之后的释放[6,12]。对血浆循环DNA水平的动态变化进行分析,发现烧伤患者血浆循环DNA水平随烧伤病程呈现先略微升高再下降的趋势,并与BSA、烧伤指数、Ⅲ度烧伤面积、APACHEⅡ评分等烧伤情况密切相关。这可能是由于严重的Ⅲ度烧伤存在广泛的全层皮肤坏死,细胞坏死后释放核酸增多而清除机制减少致使入院时的血液循环DNA增多;随着组织间水肿液的回收,组织损伤而释放的DNA也随之入血,导致回收期的血浆循环DNA水平进一步升高。其中,重度烧伤组患者血浆循环DNA高峰晚于特重度烧伤组出现,可能是后者伤情严重而尽早进行了深度烧伤创面切(削)痂植皮术等手术,清除了创面坏死组织,阻止了DNA的进一步释放。

循环DNA也可来源于凋亡细胞和活细胞[4,12]。烧伤不仅导致创面局部存在大量的凋亡细胞,尤其是

表4 各组患者入院时血浆循环DNA水平、APACHE Ⅱ评分、MODS评分与临床结局的相关分析

变量	死亡组 (M,25% ~75% IR)	生存组 (M,25% ~75% IR)	与临床结局的Spearman等级相关系数	AUC	诊断界值	灵敏度	特异度
血浆循环DNA(ng/mL)	300.62(86.06 ~812.66)	52.46(37.64.30 ~98.60)[b]	0.382	0.782	83.3	83.3%	69.2%
APACHE Ⅱ评分	20.5(14.3 ~25.3)	8.0(6.0 ~12.3)[a]	0.601	0.942	14.5	83.3%	88.4%
MODS评分	8.0(7.8 ~11.5)	4.0(3.0 ~6.0)[a]	0.687	0.926	6.5	100%	69.2%
BSA(%)	90.5(80.0 ~95.0)	51.0(40.0 ~65.0)[a]	0.578	0.926	77.5	83.3%	92.3%
Ⅲ度烧伤面积(%)	53.5(32.0 ~81.0)	10.0(6.0 ~27.0)[b]	0.408	0.801	29.5	83.3%	80.8%
烧伤指数(%)	75.6(55.0 ~89.8)	38.5(25.7 ~50.2)[a]	0.572	0.923	50.5	100%	76.9%
6指标联合			0.826	0.949		83.3%	100%

a: $P<0.01$; b: $P<0.05$,与死亡组比较

深Ⅱ度创面[13-14]，而且还会引起其他组织细胞发生凋亡，特别是淋巴组织[15-16]。血浆循环DNA主要来源于活细胞，特别是增殖旺盛的细胞[17]。研究发现，热损伤后骨髓来源内皮祖细胞可存在于外周血，参与血管生成等创伤修复过程[18]，创伤可刺激骨髓来源的干细胞或祖细胞转移至相应的器官组织，参与重建与修复过程[19]。因此，烧伤后的血液循环DNA增多也可能与组织细胞凋亡和组织修复相关。

烧伤指数只能反映烧伤面积及烧伤深度，无法反映多系统组织的病理损伤情况。本研究发现血浆DNA水平与MODS评分及临床指标、血常规与凝血、肝脏及肾脏多个器官功能有显著相关，说明血浆DNA水平对烧伤后各器官功能受损具有一定的提示作用。许多研究也都表明血浆循环DNA浓度在一定程度上可反映创伤患者的受创严重程度[6,20]。血浆循环DNA水平可客观反映烧伤后细胞病理损伤程度，有望作为烧伤后机体受损的程度指标与恢复指标。近期一项研究[21]发现，严重颅脑损伤患者的循环DNA水平较健康人群有显著升高，而且循环DNA在创伤24 h内的下降程度可能预测了患者的临床结局。本研究发现死亡组烧伤患者入院时血浆DNA水平显著高于存活组，6指标联合对烧伤预后具有较好的提示意义。但本研究样本总量及死亡样本量较小，且在烧伤初期标本采集的周期较长。下一步研究可以在扩大样本量进行验证性试验的基础上，增加在烧伤初期对血浆DNA水平的监测频率，并将血浆DNA水平精确至拷贝数，再结合健康人群血浆DNA含量分析，细化对烧伤初期的分析，以进一步明确血浆DNA水平在烧伤病情及烧伤预后中的临床意义。

参考文献：

[1] 彭代智. 我国烧伤免疫的研究[J]. 中华烧伤杂志，2008，24(5)：390-392.

[2] 彭代智，刘小玲，刘智勇，等. 烧伤患者2748株病原菌分布特点及耐药性分析[J]. 中华烧伤杂志，2012，28(2)：87-95.

[3] Fox A, Gal S, Fisher N, *et al*. Quantification of circulating cell-free plasma DNA and endothelial gene RNA in patients with burns and relation to acute thermal injury[J]. Burns, 2008, 34(6): 809-816.

[4] Wong B C, Lo Y M. Cell-free DNA and RNA in plasma as new tools for molecular diagnostics[J]. Expert Rev Mol Diagn, 2003, 3(6): 785-797.

[5] Chan A K, Chiu R W, Lo Y M, *et al*. Cell-free nucleic acids in plasma, serum and urine: a new tool in molecular diagnosis[J]. Ann Clin Biochem, 2003, 40(Pt 2): 122-130.

[6] Lo Y M, Rainer T H, Chan L Y, *et al*. Plasma DNA as a prognostic marker in trauma patients[J]. Clin Chem, 2000, 46(3): 319-323.

[7] Chiu T W, Young R, Chan L Y, *et al*. Plasma cell-free DNA as an indicator of severity of injury in burn patients[J]. Clin Chem Lab Med, 2006, 44(1): 13-17.

[8] Marshall J C, Cook D J, Christou N V, *et al*. Multiple organ dysfunction score: a reliable descriptor of a complex clinical outcome[J]. Crit Care Med, 1995, 23(10): 1638-1652.

[9] 刘润幸. 使用SPSS作多变量观察值的ROC曲线分析[J]. 中国公共卫生，2003，19(9)：1151-1152.

[10] 黎鳌. 黎鳌烧伤学[M]. 上海：上海科学技术出版社，2001：12.

[11] Lui Y Y, Chik K W, Chiu R W, *et al*. Predominant hematopoietic origin of cell-free DNA in plasma and serum after sex-mismatched bone marrow transplantation[J]. Clin Chem, 2002, 48(3): 421-427.

[12] Jahr S, Hentze H, Englisch S, *et al*. DNA fragments in the blood plasma of cancer patients: quantitations and evidence for their origin from apoptotic and necrotic cells[J]. Cancer Res, 2001, 61(4): 1659-1665.

[13] Harada T, Izaki S, Tsutsumi H, *et al*. Apoptosis of hair follicle cells in the second-degree burn wound unders hypernatremic conditions [J]. Burns, 1998, 24(5): 464-469.

[14] Gravante G, Palmieri M B, Esposito G, *et al*. Apoptotic death in deep partial thickness burns vs. normal skin of burned patients[J]. J Surg Res, 2007, 141(2): 141-145.

[15] Hobson K G, Cho K, Adamson L K, *et al*. Burn-induced thymic apoptosis corresponds with altered TGF-beta(1) and Smad 2/3[J]. J Surg Res, 2002, 105(1): 4-9.

[16] Tan J Q, Zhang H H, Lei Z J, *et al*. The roles of autophagy and apoptosis in burn wound progression in rats[J]. Burns, 2013, 39(8): 1551-1556.

[17] van-der-Vaart M, Pretorius P J. Circulating DNA. Its origin and fluctuation[J]. Ann N Y Acad Sci, 2008, 1137: 18-26.

[18] Gill M, Dias S, Hattori K, *et al*. Vascular trauma induces rapid but transient mobilization of VEGFR2(+)AC133(+) endothelial precursor cells[J]. Circ Res, 2001, 88(2): 167-174.

[19] Crosby J R, Kaminski W E, Schatteman G, *et al*. Endothelial cells of hematopoietic origin make a significant contribution to adult blood vessel formation[J]. Circ Res, 2000, 87(9): 728-730.

[20] Ren B, Liu F, Xu F, *et al*. Is plasma cell-free DNA really a useful marker for diagnosis and treatment of trauma patients? [J]. Clin Chim Acta, 2013, 424: 109-113.

[21] Macher H, Egea-Guerrero J J, Revuelto-Rey J, *et al*. Role of early cell-free DNA levels decrease as a predictive marker of fatal outcome after severe traumatic brain injury[J]. Clin Chim Acta, 2012, 414: 12-17.

（**收稿**：2013-09-29；**修回**：2013-10-30）

（编辑　龙　亮）