DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.14.005

174(5): 513-517.
[7] Lee S S, Joo Y S, Kim W U, *et al*. Vascular endothelial growth factor levels in the serun and synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis[J]. Clin Exp Rheumatol, 2001, 19(3): 321-324.
[8] Kasama T, Kobayashi k, Yajima N, *et al*. Expression of vascular endothelial growth factor by synovial fluid neutrophils in rheumatoid arthritis[J]. Clin Exp Immunol, 2000, 121(3): 533-538.
[9] 李忠俊, 程绍钧. 人浸润性膀胱癌裸鼠移植瘤模型的建立及其VEGF的表达[J]. 第三军医大学学报, 2000, 11(22): 1062-1064.
[10] Boocock C A, Charnock Jones D S, Shaukey A M, *et al*. Expression of VEGF and its receptors flt and KDR in ovarian carcinoma[J]. J Natl Cancer Inst, 1995, 87(7): 506-516.
[11] Terman B I, Dougher-Vermazen M, Carrion M E, *et al*. Identification of the KDR tyrosine kinase as a receptor for vascular endothelial cell growth factor[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1992, 187(3): 1579-1586.
[12] 宋述梅 吴 健. 血管内皮细胞生长因子受体KDR胞外配基结合区单抗对内皮细胞增殖及血管形成的抑制[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2000, 20(4): 327-331.
[13] 宋述梅, 曾 莉, 吴 健. VEGF受体KDR胞外Ⅴ~Ⅶ区的克隆, 单抗制备及KDR在不同来源肿瘤组织中的表达[J]. 中华肿瘤杂志, 1999, 21(2): 96-98.

(编辑 薛国文)

个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2004)14-1238-02

氨茶碱对幼猪空运高原1周后氧动力学的影响

Effects of aminophylline on oxygen dynamics of young pigs at 1 week after transportation by air to high-altitude area

郑必海[1], 高钰琪[2], 牟信兵[1], 刘福玉[1], 郑建保[1], 周先利[3], 李素芝[1] ([1] 西藏军区总医院全军高山病防治研究中心, 拉萨 850003; 第三军医大学: [2] 高原军事医学系病理生理学与高原生理学教研室, 全军高原医学重点实验室, 重庆 400038; [3] 新桥医院内分泌科, 重庆 400037)

急性高原病的主要原因是高原缺氧, 所以在高原缺氧的治疗中, 纠正氧供需失衡非常重要。氨茶碱在急性高原病的治疗中虽然已是常规用药, 但其对急性缺氧患者的氧动力学的影响少见报道。为了了解氨茶碱对急性缺氧患者氧动力学的影响, 我们对幼猪空运高原1周后应用氨茶碱氧动力学的变化进行了研究, 现报告如下。

1 材料与方法

1.1 实验材料

长白幼猪8只(由四川医学实验动物繁育场提供), 雄性, 体质量(11.44±1.55)kg, 身长(75.13±4.88)cm, 月龄2个月。由成都(海拔400 m)经飞机空运至拉萨(海拔3 658 m, 大气氧分压97 mmHg), 实验幼猪空运高原1周后开始实验。

1.2 实验方法

1.2.1 动物准备 幼猪于麻醉状态下行气管切开插管, 于右侧股动脉及股静脉插入动脉导管及四腔漂浮导管, 并经传感器接8导生理仪。连接心电监护。经气管插管吸入正压空气, 3 L/min。

1.2.2 实验步骤 应用氨茶碱前测定HR、CO、PAP、AWP及动脉血Hb、PH、HCO_3、SaO_2、PaO_2及$PaCO_2$作为基础值, 供应用氨茶碱后对比。测定结束后, 经四腔漂浮导管静脉注入氨茶碱, 剂量按25 mg/kg计算, 加入5%葡萄糖稀释到20 ml, 5 min静推完毕, 将药物推完后5、15、30、60、90 min设为观察时相点, 并测定上述各指标。

1.3 统计学处理

应用SPSS11.0软件包进行统计学处理, 组间指标用均$\bar{x}\pm s$表示, 经单因素方差分析(SNK法)。

2 结果

空运高原幼猪应用氨茶碱后氧动力学各参数的变化见表1。

表1 空运高原幼猪1周后应用氨茶碱动力学的变化情况($\bar{x}\pm s$)

项目	用药前	用药后(min)				
		5	15	30	60	90
MPAP(mmHg)	30.36±4.25	23.18±4.65**	25.75±2.93**	26.33±3.93**	26.69±2.77**	24.23±1.66**
PVR(mmHg)	637.17±110.68	459.25±83.88*	509.99±95.61*	473.96±107.08*	517.95±52.04*	596.23±162.66
CO(L/min)	2.12±0.47	2.18±0.28	2.40±0.35*	2.46±0.48*	2.25±0.21	2.13±0.52
DO_2(L·min^{-1}·m^{-2})	267.64±43.98	334.17±25.28**	371.44±37.57**	409.09±64.36**	365.50±76.5**	332.76±49.07**
VO_2(L·min^{-1}·m^{-2})	118.31±21.00	128.60±33.57	153.32±44.04*	181.77±65.29*	149.90±44.19	129.03±28.38
O_2Ext(%)	0.44±0.07	0.39±0.11	0.42±0.12	0.45±0.13	0.40±0.11	0.42±0.12
Q_s/Q_t	0.240±0.017	0.234±0.007	0.229±0.016*	0.223±0.01*	0.242±0.043	0.236±0.011

与用药前比较, *: $P<0.05$, **: $P<0.01$

作者简介: 郑必海(1971-), 男, 四川省绵阳县人, 医师, 主要从事高原病方面的研究, 发表论文20余篇。电话: (089)16253207
通信作者: 李素芝, 电话: (089)16253001

收稿日期: 2003-07-01; 修回日期: 2003-09-28

(下转1241页)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

大容量的抗体库我们在许多实验环节进行摸索, 在 RNA 提取和逆转录过程中, 尽量减少 RNA 的降解; 采用随机八聚体作为逆转录引物, 可以促进 mRNA 逆转录为 cDNA 过程中, 尽可能的保留各种编码基因的多样性, 从而提高获取抗体可变区基因的效率; 在连接和转化过程中, 我们也摸索和优化实验条件。我们注意到 SfiI 限制性内切酶的特殊性, 其酶切位点为 5′-GGC-CNNNNNGGCC-3′, 3′-CCGGNNNNNCCGG-5′。

我们在抗体基因编码区正向引物和反向引物中加入 SfiI 酶切位点, 将其中的 5 个随机碱基序列分别设计成和载体上两个 *Sfi*I 酶切位点中一致的序列。这样可以避免过去在构建表达载体时, 通常要选用两个限制性内切酶, 有时在酶切缓冲体系和温度上同时难以满足两个限制性内切酶的不同需求; 同时可以减少限制性内切酶的消耗, 降低试验费用。

在摸索噬菌体抗体库的构建过程中, 我们首先体会到的难处是外周血标本的收集, 其次是工作量很大。为了确定 RNA 提取的完整性, 我们进行了 RNA 电泳, 28 S 和 18 SRNA 条带都很清晰, 表明 RNA 提取的结果较好。通过看家基因 β-actin 的逆转录扩增来判定 mRNA 逆转录为 cDNA 的成功与否, 取 β-actin 的逆转录扩增结果阳性的 cDNA 标本进行抗体引物不同组合的扩增。这样能够较好的节约试验费用。在 RTPCR 获得 VH 和 VL 基因编码片段时, 在大量引物的组合进行不同的 RTPCR 时, 总体上来说, VH 片段的获得比 VL 片段的获得难度大一些, 这一点可能与 VH 转录本的拷贝数量比 VL 转录本的拷贝数量更低有关。

综上, 本研究首先从供者外周血 B 淋巴细胞抽提 RNA, 经过 RT-PCR 反应扩增出人的 VH 和 VL 基因片段, 而后将 VH 和 VL 基因片段用 linker 拼接成 ScFv, 再与载体连接转化构成人抗体文库, 并使抗体蛋白与噬菌体基因 III 产物以融合蛋白形式表达于噬菌体表面。最终获得了一个库容量约为 6.5×10^6 的噬菌体抗体库, 为后续筛选抗巨细胞病毒人源化抗体奠定了基础。进一步的筛选工作正在进行中。

（致谢: 本课题研究过程中受到美国 Scripps 研究所 Carlos F. Barbas 教授和中国人民解放军海军总医院中心实验室王琰教授的指导和帮助, 特此致谢!）

参考文献:

[1] Landolfo S, Gariglio M, Gribaudo G, *et al*. The human cytomegalovirus [J]. Pharmacol Ther, 2003, 98(3): 269－297.

[2] Castillo J P, Kowalik T F. HCMV infection: modulating the cell cycle and cell death[J]. Int Rev Immunol, 2004, 23(1－2): 113－139.

[3] Krmpotic A, Bubic I, Polic B, *et al*. Pathogenesis of murine cytomegalovirus infection[J]. Microbes Infect, 2003, 5(13): 1263－1277.

[4] Rader C, Barbas C F 3rd. Phage display of combinatorial antibody libraries [J]. Curr Opin Biotechnol, 1997, 8(4): 503－508.

[5] Bruggemann M. Human antibody expression in transgenic mice[J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2001, 49(3): 203－208.

[6] Barbas C F 3rd, Burton D R. Selection and evolution of high-affinity human anti-viral antibodies[J]. Trends Biotechnol, 1996, 14(7): 230－234.

[7] Sui J H, Li W H, Wayne A, *et al*. Potent neutralization of severe acute respiratory syndrome (SARS) coronavirus by a human mAb to S1 protein that blocks receptor association[J]. PNAS, 2004, 101(8): 2536－2541.

（编辑　汪勤俭）

（上接 1238 页）

3　讨论

氧代谢主要包括氧输送(DO_2)、氧消耗(VO_2)和肺内分流(Q_s/Q_t)3 个环节。正常情况下, DO_2 下降时组织细胞通过增加 O_2Ext 而使 VO_2 保持不变, DO_2 的增减一般不会引起 VO_2 的变化, 因此, DO_2 与 VO_2 互不相关, 二者呈非依赖关系。在缺氧情况下, 一旦机体 DO_2 降至不满足组织需要时, VO_2 才随着 DO_2 的降低而降低, 此时二者相关性甚好[1], 出现 VO_2 氧依赖关系。

在以上 3 个环节中 Q_s/Q_t 被认为是肺氧合的金指标, Q_s/Q_t 越小, 肺氧合越好。在实验中, 空运高原幼猪应用氨茶碱前与应用氨茶碱后比较, MPAP、PVR 与 Q_s/Q_t 均处于相对较高水平, CO、DO_2 与 VO_2 则处于相对较低水平, 在应用氨茶碱后 MPAP、PVR 与 Q_s/Q_t 显著降低, CO、DO_2 与 VO_2 则显著升高, 其中 VO_2 随着 DO_2 的变化而变化, 但在应用氨茶碱后 O_2Ext 则无明显变化。这说明空运高原幼猪在应用氨茶碱前机体处于缺氧状态, 而应用氨茶碱后幼猪机体的缺氧得到显著的改善。据研究证明[2], 移居动物在低氧适应的 DO_2、VO_2、O_2Extt3 个环节上主要依靠功能适应, 如以通气增加, 心输出量增加, 红细胞增多来弥补缺氧, 且这 3 项中任一项出现变化都会对 DO_2 产生较大的影响。在实验中氨茶碱可以通过降低 PVP, 增加 CO, 提高 DO_2 而改善缺氧引起的组织氧代谢障碍已得到证实。所以, 根据移居动物在低氧适应上主要依靠功能适应这一原理, 我们认为不仅可以应用氨茶碱来增加 CO 而提高组织的 DO_2、VO_2, 改善组织因缺氧引起的氧代谢障碍。同时也提示我们, 对于慢性高原性疾病(如高原红细胞增多症), 是否可以利用增加 CO, 提高 DO_2, 从而达到预防和治疗的目的, 值得进一步研究。

关键词: 缺氧; 氨茶碱; 氧动力学

中图法分类号: R594.3　　文献标识码: B

参考文献:

[1] Weissman C, Kemper M. The Oxygen uptake-oxygen delivery relationship during ICU interventions[J]. Chest, 1991, 99(2): 430－435.

[2] Garruto R M, Hoff C J. Genetic affinites and history[A]. In: Baker PT, Ltle MA. Man in the Andes: A Multidisciplinary Study of High-Altitude Quechua[M]. Stroudsburg, PA: Dowden, Hutechinson and Ross, 1976. 98－144.

（编辑　陈聪连）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net