DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.01.031

7 Rushmer RF, Cardiovascular dynamics. 4th ed. Philadelphia: WB Sanders, 1976. 92
8 Miura T, Nakano S, Shimazaki Y, et al. Evaluation of right ventricular function by regional wall motion analysis in patients after correction of tetralogy of Fallot. J Thorac Cardiovasc Surg, 1992, 104(4): 917～923
9 Kirklin JW, Barratt-Boyes BG, ed. Cardiac Surgery. 1st ed. New York: John Wiley & Sons, 1986. 719

(收稿:1993-09-28;修回:1993-12-22)

大鼠烧冲复合伤后PAM和PMN呼吸爆发功能及循环内皮细胞变化

周继红 朱佩芳 刘怀林 刘大维 邹用志 杨自力
(第三军医大学野战外科研究所) 630042

机体很多病理生理过程与血管内皮细胞(VEC)有密切关系,而循环内皮细胞(CEC)是目前活体仅有可作为反映血管损伤的特异而直接的指示物,因而受到国内外学者的广泛关注[1]。本文就重度烧冲复合伤大鼠CEC以及多形核粒细胞(PMN)和肺泡巨噬细胞(PAM)呼吸爆发功能变化进行了初步的探讨。

1 材料与方法

1.1 分组与致伤

健康Wistar大鼠48只,体重258±31 g,分成正常对照组和致伤组。致伤前1天用8%硫化钠脱动物背部毛,致伤组用凝固汽油致大鼠背部25%体表面积Ⅱ°烧伤(病理解剖证实)后,用BST－Ⅰ型生物激波管致成中度冲击伤(病理解剖证实),随后分别于伤后4、8、12和24 h随机活杀取血,并立即做支气管肺泡灌洗。

1.2 CEC分离计数

参照杨映波[2]的方法稍加修改。1.5 ml抗凝血加等体积生理盐水,随后加于1 ml比重1.050的Percoll之上,400 g离心20 min。取上层(Percoll界面以上)全部液体,2 000 g离心20 min,弃上清,沉淀加0.5 ml生理盐水充分混匀;中层(Percoll层)取1 ml;下层(红细胞层)取0.1 ml,蒸馏水溶解红细胞后离心2 000 g 20 min,沉淀加0.5 ml生理盐水充分混匀。用细胞计数板分别计上、中、下各层CEC数,计9个大方格中CEC数,同一样本重复4次,取平均值。

1.3 PAM分离和发光

用15 ml生理盐水分3次作支气管肺泡灌洗,离心分离PAM,用RPMI 1640洗涤2次后将PAM调到3×10^5/ml,台盼蓝查PAM活力>90%,纯度>90%。取1ml细胞悬液,加20 μl 11.2 mmol/L的鲁米诺37℃水浴10 min,在DG3030发光仪上加0.1 ml已调理的5 mg/ml酵母多糖后测定20 min,记录化学发光峰值。

1.4 全血化学发光

参照徐孝仪[3]的方法进行测定。

1.5 统计

用本校数理统计程序包作单因素方差分析。

2 结果

致伤后各层CEC数和总CEC数均增多,伤后8 h达峰值,其中以上层和下层增加尤为显著;从各层所占比例看中层CEC在伤后4 h明显减少,而上层和下层CEC在伤后4～8 h却明显增加。伤后24 h各层CEC数均回到伤前水平(见附表)。

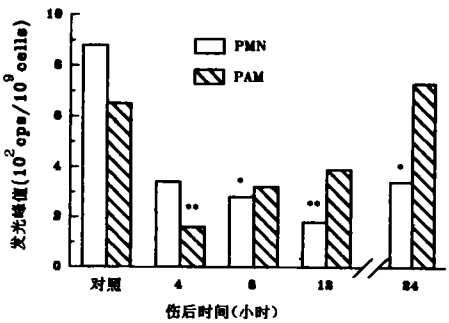
附表 重度烧冲复合伤大鼠CEC的变化

	对照组	伤后时间 (h)			
		4	8	12	24
n	10	9	10	9	10
CEC计数(细胞/0.9 μl)					
上层	0.66±0.12	0.82±0.10*	0.67±0.31	0.68±0.24	0.60±0.13
中层	1.16±0.11	1.08±0.19	1.24±0.17	1.13±0.24	0.96±0.12
下层	0.28±0.13	0.32±0.10	0.41±0.11*	0.36±0.16	0.18±0.09
总数	2.06±0.12	2.13±0.17	2.27±0.20*	2.13±0.59	1.75±0.24
各层CEC比率(%)					
上层	31.0±6.4	38.0±4.8*	29.7±7.2	31.1±5.7	32.1±5.4
中层	55.7±5.2	17.0±3.1**	52.0±6.6	53.0±6.3	55.9±5.1
下层	13.3±6.1	15.0±3.5	18.3±3.7*	15.9±3.9	12.0±6.2

与对照组比较 *:$P<0.05$;**:$P<0.01$

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

伤后PAM发光峰值迅速下降，伤后4 h最低，随后逐渐回升；全血发光峰值也逐渐下降，伤后12 h达最低点，伤后24 h略有回升，但仍低于正常对照（见附图）。



附图 烧冲复合伤后大鼠PAM和PMN发光峰值变化

*：与对照组比 $P<0.05$；**：与对照组比 $P<0.01$

3 讨论

严重创伤后PMN和PAM等可通过多种途径被激活，而过度激活可导致其吞噬和呼吸爆发功能耗竭[4]。本实验中，伤后PMN和PAM吞噬发光峰值下降提示重度烧冲复合伤导致体内PMN和PAM的过度激活而使得其在体外功能明显减弱。在光镜下可看到伤后大量PAM吞噬有多个破碎红细胞，也提示PAM在体内的功能活性增强。

CEC生理情况下就存在于循环血中，它来自正常代谢过程中脱落的VEC，机械损伤和化学损伤等都可造成VEC的损伤，损伤脱落的VEC进入循环就成为CEC，因此CEC能灵敏地反映VEC的损伤情况[1]。

本实验运用Percoll密度梯度一步分离法将CEC分成3个部份：上层（密度<1.050）、中层（密度=1.050）和下层（密度>1.050）。随密度分布不同，三层CEC的形态和大小也不同[1,5]。将三层CEC细胞面积相比较，上层CEC>下层CEC>中层CEC>正常内皮细胞（EC）；而形状因子是正常EC>中层CEC>上层CEC>下层CEC。当EC衰老和受到损伤时其面积和形状因子都会发生变化，细胞出现增大和不规则，因此在一定范围内CEC离正常EC状态越远，其面积就越大，形状因子就越小，与正常EC的异质性就越大。由此可以推测中层CEC是三层CEC中最接近正常EC的部分，随着其进一步损伤和衰老，其体积将增大、形状不规则，加之其它因素的作用，使其密度发生变化，因而分布于上、下两层之中[1,5]。

富含毛细血管的肺组织是冲击波的主要靶器官之一，冲击伤可造成明显的肺出血水肿以及广泛的VEC损伤，同时热力等作用也造成烧伤区及周围组织的VEC损伤和破坏。本实验结果表明致伤后CEC明显增加，其中以与正常EC异质性较大的上层和下层CEC[1,5]增高尤为显著，较接近正常EC的中层CEC所占比例却明显下降，提示此烧冲复合伤模型中有较广泛的VEC损伤发生，损伤的VEC脱落进入循环使CEC明显增加，另外CEC并非在伤后立即达峰值，而是在致伤后8 h左右最高，表明是个逐渐的过程，其峰值与组织中PMN扣押时间接近一致[6]，提示可能与PAM激活趋化PMN、PMN在微血管内扣押并释放活性氧及其它活性产物有一定关系。因此PAM和PMN的激活和相互作用可能与VEC的继发损伤有关，CEC的变化可作为反映烧冲复合伤后VEC损伤的一个指标。

关键词 灼伤；巨噬细胞；内皮；多形核白细胞

中图法分类号 R644；R329.24

参考文献

1 杨映波，王正国. 循环内皮细胞来源的实验研究——由VEC过渡到CEC的直接证据. 第三军医大学学报，1992，14(3)：251

2 Yang YB, Wang ZG, Zhu PF, et al. Circulating endothelial cells is a feasible indicator for vascular injury in surgical and trauma patients. In: Wang Zg, Becker HM, Mixhima Y, et al. Vascular Surgery Proceedings of the International Conference in Vascular Surgery, International Academic Publishers, Beijing, PR China, 1983, 1: 486～491

3 徐孝仪，程松高. 人全血化学发光及其临床运用. 中国免疫杂志，1986，2：34

4 周继红，朱佩芳，周宝桐，等. 猪钢珠弹伤后血浆及肺组织的脂质过氧化与粒细胞活性氧产量. 第三军医大学学报，1991，13(5)：451

5 杨映波、王正国. 创伤时血管内皮细胞损伤机理的实验和临床研究. 第三军医大学学报，1992，14(1)：102

6 周继红、朱佩芳、王正国、等. 大鼠烧冲复合伤后多形核白细胞功能变化与肺损伤. 中华创伤杂志，1991，7(增刊)：89

（收稿：1993-04-26；修回：1993-12-03）

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