

· 基础研究 ·

MEBO 对烧伤病人血管内皮细胞保护作用的体外实验研究

陈 治¹, 王 冰¹, 张巨波²

【摘要】 目的 探讨 MEBO 对烧伤病人血管内皮细胞的保护作用及其机理。方法 将烧伤血清加入 M199 培养液配成 20% 烧伤血清培养液(BSM), 加入培养融合的人脐静脉内皮细胞中, 设立 1、3、6、12h 4 个时间点, 光镜下观察各时相点人脐静脉内皮细胞的形态学变化, MTT 法测定细胞活力。结论 MEBO 能明显改善烧伤血清所致的血管内皮细胞形态学变化, 维持血管内皮细胞的完整性和连续性, 并能明显降低烧伤血清对血管内皮细胞活力的影响。

【关键词】 MEBO; 烧伤; 血管内皮细胞

【中图分类号】R365 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1001-0726(2001)03-0154-02

Experimental Research on the in vitro Protective Effect of MEBO on Vascular Endotheliocytes of Burn Patients

Chen Zhi, Wang Bing, Zhang Ju-bo, Dept of Burns, 252 Hospital, PLA, Baoding, Hebei Province 071000

【Abstract】 Objective: To explore the mechanism of the protective action of MEBO on vascular endothelial cell of burn patients. **Method:** 20% M199 burned serum culture medium was added to burned serum, then endothelial cells from human umbilical cord vein were added. Observation on the changes in morphology was done under optical microscope, at 1, 3, 6 and 12 hrs after cultivation. Cell activity was determined using MTT method. **Conclusion:** MEBO can improve the morphological changes caused by burned serum in endothelial cells, and reduce its effect on endothelial cell activity.

【Key words】 MEBO; Burn; Vascular endothelial cell

【CLC number】R365 **【Document code】**A **【Article ID】**1001-0726(2001)03-0154-02

严重烧伤早期, 血管内皮细胞受刺激或损伤是导致血管通透性增高, 引发低血容量性休克及脏器功能损害的重要病理基础^[1]。我们通过细胞形态学观察及细胞活力测定, 对 MEBO 在烧伤早期对血管内皮细胞的保护作用进行了如下研究。

材料和方法

一、人脐静脉内皮细胞的培养: 人脐静脉内皮细胞的培养参照杨小平法^[2], 分娩后立即无菌收集脐带 30cm 于冷 D-Hank's 液中, 结扎脐带动脉, 反复冲洗脐带静脉。以 0.25% 的胰蛋白酶(美国 sigma 公司)灌充脐静脉, 37℃ 消化 20min, 收集消化液, 用小牛血清终止消化, 3000r/min 离心 5min, 弃上清, 加入 M199 培养液, 将细胞吹打成悬液, 以 10⁴/ml 密度接种于 3 个 3.5cm 玻璃培养皿中, 37℃, 5% CO₂ 培养箱中培养, 隔天更换培养液 1 次, 至细胞生长融合为单层。

MEBO: 由北京光明中医烧伤创疡研究所研制。

二、烧伤血清的制备: 烧伤血清来源于 50% ~

80% III 度烧伤病人, 伤后 48 小时内取静脉血分离血清, 56℃、30min 灭活补体, 加入 M199 培养液配成 20% 烧伤血清培养液(BSM) 备用。另取 MEBO 1ml 加入烧伤血清及 M199 培养液配成 20% BSM + MEBO 培养液备用。

三、烧伤血清刺激人脐静脉内细胞: 将培养融合的人脐静脉内皮细胞用 0.02% EDTA-Na, 0.25% 胰蛋白酶消化 2~3min, 1000r/min 离心 15min, 调整细胞密度达 1.5 × 10⁵ 个/ml, 150μl/孔接种于 96 孔板, 待细胞融合后弃上清液。将细胞分为两组, 一组加入 20% BSM 150μl/孔, 另一组加入 20% BSM + MEBO 150ul/孔, 每组分别设 1、3、6、12h 四个时间点, 每个时间点设 6 个复孔, 并设正常培养液对照组。

四、细胞形态学观察: 光镜下观察各时相点人脐静脉内皮细胞的形态学变化。

五、MTT 法测定: 各时相点弃去原培养液, 加入 MTT 20μl/孔, 37℃ 5% CO₂ 孵箱孵育 4h, 各孔加入 200μl 二甲亚砷(DMSO), 室温振荡 10min, 酶标仪测定 490nm 波长处 OD 值。

六、统计学处理: 各项数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 应用

[作者单位] 1 解放军 252 医院 河北 保定 071000
2 解放军 66396 部队 河北 保定 071000

Spss 8.0 统计分析软件,对所获得的数据进行 t 检验, $p < 0.05$ 有统计学差异。

结 果

1. 细胞形态学观察结果:观察 ESM 组发现生长融合的脐静脉内皮细胞随时点的变化逐渐形成裂隙,至细胞变形、脱落(图 1);ESM + MEBO 组脐静脉内皮细胞随时点的变化无明显形态学改变(图 2)。

2. 烧伤血清对人脐静脉内皮细胞 MTT 产物 OD 值的影响:见表 1。

表 1 烧伤血清对培养人脐静脉内皮细胞 MTT 产物 OD 值的影响($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 1h | 3h | 6h | 12h |
|--------------|-------------|--------------|--------------|--------------|
| BSM 组 | 0.76 ± 0.05 | 0.56 ± 0.05* | 0.38 ± 0.05* | 0.21 ± 0.05* |
| BSM + MEBO 组 | 0.72 ± 0.03 | 0.70 ± 0.06* | 0.68 ± 0.05* | 0.62 ± 0.05* |

*: 两组间 OD 值差异显著 ($P < 0.05$)

讨 论

烧伤后血管内皮细胞损害是造成毛细血管通透性增高,进而引起微循环障碍甚至多脏器功能障碍的病理基础。首先,血管内皮细胞在烧伤后发生明显的形态学变化,严重者内皮细胞间有裂隙形成,内皮细胞脱落,循环内皮细胞增多,使半透膜屏障功能受损,血管通透性增高。其次,烧伤后血管内皮细胞能释放多种介质,影响循环特别是微循环的平衡^[3]。我们通过形态学观察发现,MEBO 能明显改善烧伤血清所致的血管内皮细胞形态学变化,维持血管内皮细胞的完整性和连续性。通过 MTT 法检测进一步显

示:组于 3、6、12 时点与烧伤血清 + MEBO 组相比,脐静脉内皮细胞活力明显下降,说明 MEBO 能明显降低烧伤血清对血管内皮细胞活力的影响。以上研究表明:MEBO 能明显改善烧伤血清所致的血管内皮细胞损害,从而维持半透膜的屏障功能,防止血管通透性增高,对多系统器官衰竭具有防治作用。我们推测,MEBO 改善烧伤血清所致的血管内皮细胞损害的机理有二:首先,MEBO 能改善烧伤早期物质因素和体液因子所致的微循环障碍,从而减少血管内皮细胞受到的缺氧性损害。其次,MEBO 能增强吞噬细胞的吞噬功能^[4],有利于内毒素的消除,从而减轻内毒素血症造成的内皮细胞损害。

参 考 文 献

- [1] 杨宗诚, 高建川. 血管内皮细胞在烧伤脏器损害发病的作用. 中华整形烧伤外科杂志, 1995; 11(3): 225 ~ 227.
- [2] 杨小平, 陈国芬, 张英珊. 人脐静脉内皮细胞的培养及形态观察. 中华心血管病杂志, 1988; 16(5): 298 ~ 300.
- [3] 杨宗诚. 烧伤早期脏器损害发病机制的探讨. 解放军医学杂志, 1998; 23(23): 84 ~ 87.
- [4] 曲云英. MEBO 抗感染机理实验研究. 中国烧伤创疡杂志, 1996; (1): 19.

(收稿日期 2001-03-02; 修回日期 2001-05-22)

【作者简介】

陈治(1969-),男(汉族),河北保定人,2000年获第一军医大学普外硕士学位,主治医师。

王冰(1964-),女(汉族),河南南阳人,第二军医大学护理系毕业,护士长。

张巨波(1970-),男(汉族),四川什邡人,石家庄军医学校毕业,主治医师。

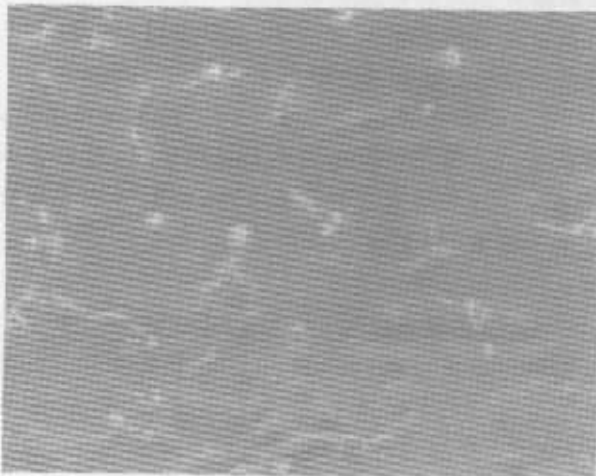


图 1 烧伤血清组(12 时点像,部分脐静脉内皮细胞变形、脱落)

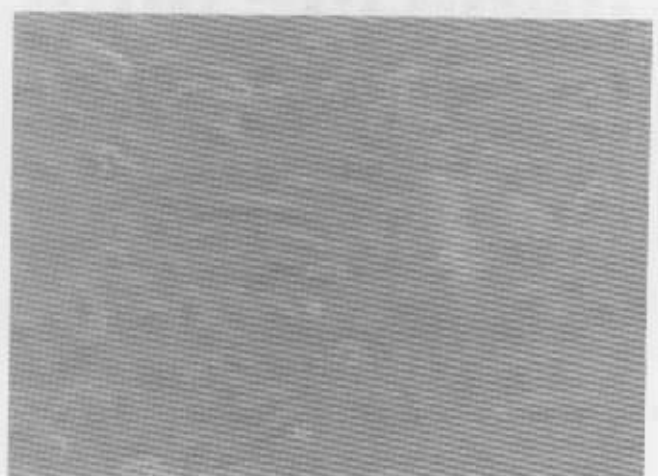


图 2 烧伤血清 + MEBO 组(12 时点像脐静脉内皮细胞无明显形态学改变)