

• 研究报告 •

短期机械通气气管导管留置对支气管上皮细胞 DNA 增殖周期的影响

张育苗 朱寅南 周毅 戚佳飞 张华梁

【关键词】机械通气；气管导管留置；DNA 增殖

正压机械通气及气管导管插入和留置可对气管壁产生物理性刺激,进而影响细胞有丝分裂。本研究拟应用流式细胞术(FCM)测定正压机械通气及气管导管留置时支气管上皮脱落细胞 DNA 各期含量和 DNA 指数(DI),探讨其对支气管上皮细胞增殖周期和 DNA 倍体的影响。

1 资料与方法

1.1 研究对象与取材方法:入住重症监护治疗病房(ICU)的成年急性颅脑损伤和脑血管意外患者 35 例,其中男 28 例,女 7 例;年龄 20~40 岁,平均(30.2±4.5)岁;均需气管插管或气管切开留置气管导管行正压机械通气,均无呼吸道合并症。使用 Portex 低压套囊气管导管,采用持续辅助/控制模式(A/C)或同步间歇指令通气(SIMV),分别于插管后即刻(通气前)及插管后 4~7 d(通气后)用生理盐水诱导痰方法^[1,2]或用软质试管刷留取支气管上皮脱落细胞,立即置于生理盐水中用注射器轻轻吹打至分散,500~800 r/min 离心 2 min 进行细胞漂洗,离心去上清液,300 目筛网过滤,去团块,计数并稀释到 1×10¹⁰/L 细胞悬液备用。

1.2 DNA 含量和细胞周期分析方法:取制备好的标本 70 μl,加 30 μl 鸡红细胞混匀,再加 200 μl DNA 固定剂(DNA - Prep LRP, Beckman Coulte 公司)轻轻混匀 8~10 s 直至透明;加入 2 ml DNA 染料(DNA - Prep Stain)碘化丙啶(Beckman Coulte 公司),室温下避光 15 min。使用 EPICSX 流式细胞仪(Beckman Coulte 公司)检测样品,每个样品测

定 10 000 个细胞,采用 DNA 倍体分析软件(Multicycle 软件)分析各细胞周期时相的百分比。参照物鸡红细胞的制备方法同上。

1.3 观察指标:①DNA 含量直方图绘制方法:以 DNA 含量(荧光强度相对值)为横坐标,以细胞数(细胞出现频率)为纵坐标,由流式细胞仪自动输出细胞休止期(G₀/G₁)、活跃 DNA 合成期(S)以及细胞分裂期(G₂/M)各期的分布率。②DI: DI=支气管上皮细胞 G₀/G₁ 峰均值与参照物 G₀/G₁ 的峰均值之比。DNA 倍体的判断遵循目前国际公认的标准^[3];DI 范围在 0.90~1.10 为二倍体,<0.90 为亚二倍体,>1.10 为超二倍体。③对离心涂片进行细胞计数。

1.4 统计学方法:数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,t 检验,P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

35 例患者中无一例发生套囊破损、导管滑脱,均无肺炎并发症,机械通气持续时间(5.2±2.4) d。机械通气前后患者支气管上皮细胞细胞周期分布、DI 及痰脱落细胞计数见表 1。

3 讨论

在细胞周期中,DNA 含量随细胞时相发生周期性变化。正常情况下,大多数细胞处于 G₀/G₁ 期为二倍体;处于 S 期的细胞 DNA 含量为二倍体~四倍体;处于 G₂/M 期细胞 DNA 含量最大(四倍体)。即同一时刻观察到的细胞大多数处于 G₀/G₁ 期,而 S、G₂/M 期细胞只占相对很小的比例。本研究结果发现,短期机械通气后支气管脱落上皮细胞 G₀/G₁

期和 G₂/M 期减少,S 期增加;细胞周期中 S 期的比例代表了该细胞群体中增殖细胞的数量,从一个侧面反映出细胞的增殖状态。G₂/M 期细胞减少表明该细胞群体中处于细胞分裂期的细胞减少,说明脱落的上皮细胞还未进入有丝分裂就被脱落。本研究中 S 期增加,炎性细胞增多,上皮细胞脱落增加,表明存在支气管上皮的急性炎症,从细胞水平解释了气管插管机械通气对支气管黏膜损伤的存在。

生物细胞中 DNA 含量比较恒定,一般只随细胞增殖周期时相变化而变化。DNA 含量的微小改变可能导致或提示恶性肿瘤的发生。本研究结果表明正压机械通气及气管导管留置对气管上皮细胞 DNA 倍体数并未产生明显影响,与 Keenan 等^[4]和 Kim 等^[5]的报道相符。

参考文献:

- 1 李秋根,刘江红,郭德华,等.检测哮喘患者诱导痰嗜酸粒细胞和嗜酸粒细胞阳离子蛋白及其意义[J].中国危重病急救医学,2002,14:149.
- 2 王曾礼.诱导痰在评估气道炎症中的应用[J].中华结核和呼吸杂志,2000,23:765.
- 3 覃吉超,龚建平.细胞周期分析方法[J].癌症,2000,20:102-104.
- 4 Keenan K P, Saffiati U, Stinson S P, et al. Multifactorial hamster respiratory carcinogenesis with interdependent effects of cannula-induced mucosal wounding, saline, ferric oxide, benzopyrene and N-methyl-N-nitrosourea[J]. Cancer Res, 1989,49:1528-1529.
- 5 Kim J S, Rabe K F, Magnussen H, et al. Migration and proliferation of guinea pig and human airway epithelial cell in response to tachykinins[J]. Am J Physiol, 1995,269:L119-126.

表 1 机械通气前后支气管上皮细胞细胞周期分布、DI 和痰脱落细胞计数变化($\bar{x} \pm s$)

时间	例数 (例)	细胞周期			DI	痰脱落细胞计数(×10 ⁶ /L)			
		G ₀ /G ₁	S	G ₂ /M		细胞总数	巨噬细胞	中性粒细胞	支气管上皮细胞
通气前	35	96.10±3.36	3.42±2.34	1.93±2.03	0.98±0.06	40.29±42.14	21.26±20.27	4.30±6.90	1.50±3.70
通气后	35	91.02±4.78	9.06±4.90	0.56±0.53	1.00±0.03	87.39±36.22	30.26±20.15	21.43±5.90	28.23±4.20
t 值		5.04	3.18	6.00	1.98	4.88	1.79	10.87	27.28
P 值		0.005	0.032	0.001	0.080	0.001	0.700	0.001	0.001

作者单位:311800 浙江省诸暨市人民医院 ICU

(收稿日期:2004-03-14 修回日期:2005-07-19)

作者简介:张育苗(1966-),男(汉族),浙江省诸暨市人,副主任医师(Email:zjzymzj@mail.china.com)。

(本文编辑:郭方)