

• 论著 •

改构型和野生型酸性成纤维细胞生长因子对肠缺血-再灌注损伤的保护作用及剂量-效应关系研究

翁立新 付小兵 李秀霞 孙同柱 郑曙云 陈伟 黎君友

【摘要】 目的 评价改构型和野生型酸性成纤维细胞生长因子(aFGF)对肠缺血-再灌注损伤后肠道保护作用的机制及剂量-效应关系。**方法** 以夹闭大鼠肠系膜上动脉(SMA)制备肠缺血-再灌注损伤模型,并将动物随机分为假手术组、生理盐水对照组、不同剂量(2、4 和 8 μg)改构型 aFGF 治疗组和 4 μg 野生型 aFGF 治疗组。除假手术组外,其余各组动物均于缺血 45 min 后再灌注 2、6、12 和 24 h 活杀,取血及小肠组织标本,检测血浆中 D-乳酸含量及组织中增殖细胞核抗原(PCNA)的表达特性,并检测肝、肾功能指标,观察不同剂量 aFGF 对肠缺血-再灌注损伤的影响。**结果** 血浆 D-乳酸变化及病理组织学观察显示,再灌注后 12 h 肠屏障功能及肝、肾组织损伤最严重,而改构型 aFGF 4 μg 治疗组在伤后 24 h 损伤较生理盐水对照组和野生型 aFGF 治疗组有所减轻。PCNA 的表达趋势与 D-乳酸类似。**结论** 改构型 aFGF 对肠缺血-再灌注损伤具有一定保护与促修复作用,其抗损伤修复作用呈剂量依赖性。

【关键词】 野生型酸性成纤维细胞生长因子; 改构型酸性成纤维细胞生长因子; 缺血-再灌注损伤; 肠; 器官功能; D-乳酸

Protective effects of acidic fibroblast growth factor on intestinal ischemia/reperfusion in rats WENG

Li - xin *, FU Xiao - bing, LI Xiu - xia, SUN Tong - zhu, ZHENG Shu - yun, CHEN Wei, LI Jun - you. * 304 th Clinical Department of General Hospital of PLA, Beijing 100037, China (WENG Li - xin is working on Nei Monggol Medical College, Hohhot 010059, Nei Monggol, China)

Corresponding author: FU Xiao - bing (Email: fuxb@cqw.net.cn)

【Abstract】 Objective To observe the change in hepatic and renal functions, change in the plasma D-lactate level, and the expression of proliferating cell nuclear antigen (PCNA) after intestinal I/R injury, so as to explore the effects of reconstructive human acid fibroblast growth factor (aFGF) on intestinal I/R injury in rats. **Methods** One hundred and twenty-six Wistar rats were divided into sham-operated, ischemia (45 minutes) plus reperfusion, reconstructive human aFGF treatment (2, 4, 8 μg aFGF) and wild type aFGF (2, 6, 12, and 24 hours, respectively) groups. Hepatic and renal functions and the levels of plasma D-lactate were determined and the expression of PCNA was assessed. **Results** Compared with all other groups, bowel barrier function and hepatic and renal functions showed most marked deterioration in sham-operated group. The damages were less marked in reconstructive human aFGF group compared with other groups 24 hours after ischemia/reperfusion of the intestine, and the protective effect was best shown when 4 μg of aFGF was given. The trend of expression of PCNA was similar to that of changes in D-lactate level. **Conclusion** Wild type reconstructive human aFGF treatment significantly improves the outcome of ischemia/reperfusion injury to the intestine, and the effect is dose-dependent.

【Key words】 wild type acidic fibroblast growth factor; reconstructive human acidic fibroblast growth factor; intestinal ischemia/reperfusion injury; organ dysfunction; D-lactate

以往我们研究了改构型和野生型酸性成纤维细胞生长因子(aFGF)对肠缺血-再灌注损伤后肝、肾功能的影响,发现两种 aFGF 对肠缺血-再灌注损伤

后的肝、肾功能均有保护作用。同时我们也注意到了野生型 aFGF 在缺血性内脏损伤主动修复中的作用,并已观察到野生型 aFGF 基因表达与损伤的关系^[1]。但由于野生型 aFGF 的促分裂活性与细胞增殖、分化以及肿瘤发生存在一定的联系,因而在大规模应用时受到一定限制。为此我们通过基因工程技术,将野生型 aFGF 进行改构,删去核转位区产生一种突变体 aFGF,它可使诱导 DNA 合成和细胞增殖的能力丧失,但仍能与 aFGF 受体结合并诱导受体介导的酪氨酸磷酸化和 c-fos 的表达。该突变体 aFGF 失去了促分裂效应,但仍保留非促分裂激素

基金项目:国家重大基础研究规划资助项目(G1999054204);国家自然科学基金重点项目(30230370);国家自然科学基金面上项目(30170966);国家课题“863”资助项目(2001AA215131)

作者单位:100037 北京,解放军总医院三〇四临床部(翁立新,付小兵,孙同柱,郑曙云,陈伟,黎君友);010059 呼和浩特,内蒙古医学院(翁立新,李秀霞)

通讯作者:付小兵 (Email: fuxb@cqw.net.cn)

作者简介:翁立新(1966-),女(汉族),江苏省泰兴市人,医学硕士,主治医师。

样活性。在本研究中,我们进一步研究外源性应用不同剂量的两种 aFGF 对肠黏膜损伤、肠道通透性改变的影响及相关性,以期找出最佳的防治剂量。

1 材料与方法

1.1 动物分组及模型制备: Wistar 大鼠 126 只,雄性,平均体重 250 g。随机将其分为假手术组($n=6$)、生理盐水对照组($n=24$)、野生型 aFGF 4 μg 治疗组($n=24$)及改构型 aFGF 2、4 和 8 μg 组($n=24$)。假手术组以夹闭肠系膜上动脉(SMA)45 min 为基础值,其余各组又分为再灌注后 2、6、12 和 24 h 4 个时间点,每个时间点 6 只大鼠。股部肌肉注射速眠新注射液(每只 0.1 ml),麻醉后无菌条件下开腹,钝性分离 SMA 根部,除假手术组外,其余 5 组用微血管夹夹闭,完全阻断血流 45 min,然后放松血管夹,同时相应各组分别静脉注射生理盐水(0.15 ml)、野生型 aFGF(4 μg)和改构型 aFGF 2、4 和 8 μg , aFGF 由广东暨南大学生物医药研发中心提供。按设定时间点从腹主动脉各取血 5 ml,注入抗凝管,然后活杀动物取材。血液离心(3 000 r/min)10 min,抽取上清液, -70 $^{\circ}\text{C}$ 保存;取距回盲部 10 cm 以上的小肠 2 cm,浸泡于体积分数为 10% 的甲醛溶液中,进行苏木素-伊红(HE)染色和免疫组化染色。

1.2 观察指标及方法

1.2.1 常规组织学观察: 标本置 100 ml/L 甲醛溶液固定,梯度乙醇脱水,透明,石蜡包埋,切片,脱蜡至水,常规 HE 染色,进行组织学观察。

1.2.2 肝、肾功能的测定: 分别取血浆约 1 ml,用全自动生化分析仪检测天冬氨酸转氨酶(AST)、丙氨酸转氨酶(ALT)、尿素氮(BUN)、肌酐(Cr)。

1.2.3 增殖细胞核抗原(PCNA)的免疫组化检测及结果判定: 采用 Power VisionTM 两步法免疫组化进行检测,试剂购于北京中山生物技术有限公司,操作按说明书要求进行。石蜡切片按常规脱蜡至水,经

过氧化氢(H_2O_2)处理后,进行柠檬酸抗原热修复。一抗用抗体稀释液按 1:100 稀释;磷酸盐缓冲液(PBS)代替一抗为阴性对照。光镜下观察,结果以胞核棕色者为阳性染色。

1.2.4 血浆 D-乳酸含量的测定: 采用酶联紫外分光光度法检测 D-乳酸的含量。取血浆 0.4 ml,加 5.8 mol/L 高氯酸(PCA)0.04 ml,震荡混匀后冰浴 10 min;离心(4 $^{\circ}\text{C}$ 下 4 000 r/min)10 min,取上清液 0.2 ml,用 KOH 调 pH 10~12,混匀震荡后冰浴 10 min,离心(4 $^{\circ}\text{C}$ 下 3 200 r/min)10 min,取上清液备用。检测时取预处理样品 0.125 ml,加入辅酶 I (NAD)-甘氨酸-胍缓冲液 0.375 ml、D-乳酸脱氢酶(D-LDH)0.025 ml,混匀,置 25 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 90 min,取出后室温下立即测吸光度 A_{340} 值。根据标准曲线计算 D-乳酸含量,结果以 mg/L 表示。

1.3 结果判断、分析与统计学处理: 光镜下观察 PCNA 抗原阳性表达的细胞数及其在组织中的定位。在目镜为 10 倍、物镜为 40 倍的条件下,每张切片随机选择 5 个视野,计数 PCNA 的阳性细胞,数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,并进行统计学处理,组间比较用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血浆 D-乳酸含量的变化(表 1): 与假手术组比较,模型动物肠缺血-再灌注损伤后 D-乳酸含量均明显升高,6 h 达峰值,以后逐渐下降,其中生理盐水对照组升高最为显著;改构型 aFGF 治疗组次之,其中以 4 μg 剂量组 D-乳酸含量最低;野生型 aFGF 组在 2 h 时 D-乳酸含量最高,随灌注时间延长, D-乳酸含量逐渐降低。

2.2 肝功能改变(表 2): 生理盐水对照组大鼠伤后 2、6 和 12 h 血浆 AST 分别是假手术组的 2.3 倍、2.9 倍和 3.3 倍, ALT 分别是假手术组的 3.9 倍、3.9 倍和 5.0 倍(P 均 <0.01)。改构型 aFGF 组大

表 1 改构型和野生型 aFGF 对肠缺血-再灌注大鼠血浆 D-乳酸含量及小肠 PCNA 表达的影响($\bar{x}\pm s, n=6$)

Table 1 Effects of reconstructive human aFGF and wild type aFGF on the levels of plasma D-lactate and PCNA after intestinal I/R injury in rats($\bar{x}\pm s, n=6$)

组别	血浆 D-乳酸含量(mg/L)					小肠 PCNA 表达(个)				
	缺血时	再灌注 2 h	再灌注 6 h	再灌注 12 h	再灌注 24 h	缺血时	再灌注 2 h	再灌注 6 h	再灌注 12 h	再灌注 24 h
假手术组	0.13 $\pm$ 0.09					43.5 $\pm$ 17.3				
生理盐水对照组		0.31 $\pm$ 0.10*	0.33 $\pm$ 0.11*	0.25 $\pm$ 0.05	0.22 $\pm$ 0.06		50.6 $\pm$ 19.6	68.5 $\pm$ 25.9*	59.5 $\pm$ 31.2	45.3 $\pm$ 20.1
改构型 aFGF 2 μg 组		0.32 $\pm$ 0.09*	0.33 $\pm$ 0.08*	0.26 $\pm$ 0.12	0.24 $\pm$ 0.07		59.6 $\pm$ 25.6	69.0 $\pm$ 32.1*	55.5 $\pm$ 33.1	48.1 $\pm$ 22.1
4 μg 组		0.25 $\pm$ 0.07	0.28 $\pm$ 0.09 Δ	0.24 $\pm$ 0.11	0.20 $\pm$ 0.08		51.3 $\pm$ 21.3	72.5 $\pm$ 32.1*	65.5 $\pm$ 29.2	49.2 $\pm$ 25.7
8 μg 组		0.34 $\pm$ 0.09*	0.31 $\pm$ 0.07*	0.25 $\pm$ 0.07	0.23 $\pm$ 0.06		52.1 $\pm$ 22.3	67.3 $\pm$ 35.6	57.6 $\pm$ 33.3	49.3 $\pm$ 18.6
野生型 aFGF 治疗组		0.26 $\pm$ 0.11	0.24 $\pm$ 0.12 Δ	0.20 $\pm$ 0.08	0.18 $\pm$ 0.07		49.6 $\pm$ 25.6	89.0 $\pm$ 32.1*	65.5 $\pm$ 36.1	48.1 $\pm$ 22.1

注:与假手术组比较: * $P<0.05$; 与生理盐水对照组比较: $\Delta P<0.05$

表 2 不同剂量改构型 aFGF 组大鼠肠缺血-再灌注过程中脏器功能的变化($\bar{x} \pm s, n=6$)
Table 2 Effects of different dose reconstructive human aFGF on hepatic and renal functions
after intestinal I/R injury in rats($\bar{x} \pm s, n=6$)

组别	时间	AST(U/L)	ALT(U/L)	BUN(mmol/L)	Cr(μ mol/L)
假手术组	缺血 45 min	231 $\pm$ 53	68 $\pm$ 15	7.2 $\pm$ 1.1	29.8 $\pm$ 5.6
生理盐水对照组	再灌注 2 h	541 $\pm$ 100**	268 $\pm$ 50**	11.9 $\pm$ 1.0	43.4 $\pm$ 11.1
	再灌注 6 h	670 $\pm$ 80**	264 $\pm$ 90**	17.6 $\pm$ 2.9**	41.9 $\pm$ 11.5*
	再灌注 12 h	765 $\pm$ 80**	344 $\pm$ 79**	23.0 $\pm$ 6.5**	57.7 $\pm$ 11.0**
	再灌注 24 h	587 $\pm$ 112**	126 $\pm$ 33	13.2 $\pm$ 7.0	30.5 $\pm$ 8.1
改构型 aFGF 2 μ g 组	再灌注 2 h	525 $\pm$ 126**	290 $\pm$ 60**	10.5 $\pm$ 1.1	44.2 $\pm$ 9.7*
	再灌注 6 h	521 $\pm$ 78**	332 $\pm$ 88**	16.8 $\pm$ 3.8*	46.8 $\pm$ 24.7*
	再灌注 12 h	600 $\pm$ 93**	262 $\pm$ 32**	18.2 $\pm$ 7.7**	36.4 $\pm$ 9.1
	再灌注 24 h	538 $\pm$ 137**	236 $\pm$ 67**	6.2 $\pm$ 2.7	20.2 $\pm$ 8.7*
4 μ g 组	再灌注 2 h	343 $\pm$ 33**	212 $\pm$ 45**	10.9 $\pm$ 1.2	33.6 $\pm$ 7.1*
	再灌注 6 h	568 $\pm$ 92**	245 $\pm$ 39**	17.8 $\pm$ 1.8**	42.8 $\pm$ 9.3*
	再灌注 12 h	672 $\pm$ 56**	271 $\pm$ 34**	21.4 $\pm$ 3.1**	30.4 $\pm$ 7.0**
	再灌注 24 h	560 $\pm$ 32**	271 $\pm$ 56	29.6 $\pm$ 3.1	27.6 $\pm$ 2.5
8 μ g 组	再灌注 2 h	592 $\pm$ 69	278 $\pm$ 65	11.2 $\pm$ 4.2	46.5 $\pm$ 12.0
	再灌注 6 h	564 $\pm$ 126	311 $\pm$ 75	15.1 $\pm$ 3.8	38.2 $\pm$ 10.2
	再灌注 12 h	621 $\pm$ 96	256 $\pm$ 70	18.5 $\pm$ 4.3	26.3 $\pm$ 9.6
	再灌注 24 h	576 $\pm$ 122	230 $\pm$ 102	20.3 $\pm$ 3.9	20.6 $\pm$ 6.2

注:与假手术组比较:* $P<0.05$,** $P<0.01$;与生理盐水对照组相应时间点比较:† $P<0.05$,†† $P<0.01$

鼠血浆 AST 和 ALT 均显著增高(P 均 <0.01),但增幅与生理盐水对照组相比明显降低($P<0.05$ 或 $P<0.01$),改构型 aFGF 2 和 8 μ g 组大鼠血浆 AST 及 ALT 增幅均高于 4 μ g 组(P 均 <0.05)。

2.3 肾功能改变(表 2):肠缺血-再灌注损伤后大鼠血浆 BUN 和 Cr 均升高,前者升幅大于后者,且持续时间较长,至再灌注后 24 h 仍高于生理盐水对照组,但 Cr 已恢复正常。改构型 aFGF 4 μ g 组大鼠血浆 BUN 和 Cr 的升幅较 2、8 μ g 剂量组相比明显减小(P 均 <0.05)。

2.4 PCNA 在肠缺血-再灌注损伤大鼠小肠中的表达特征(表 1,彩色插页图 1~3):与假手术组比较,小肠壁各层均有 PCNA 表达,小肠隐窝下部的大部分细胞和绒毛下 1/3 的细胞核 PCNA 染色均为阳性,胞质内也可见到阳性颗粒,表明这些部位主要由具有增殖能力的细胞所构成。绒毛上皮细胞表达较少。再灌注 6 h 的小肠中表达为高峰,以后逐渐下降;野生型 aFGF 治疗组较生理盐水对照组和改构型 aFGF 治疗组相应时间点 PCNA 表达增强;改构型 aFGF 治疗组较生理盐水对照组相应时间点 PCNA 表达增强,4 μ g 剂量组较其他剂量组相应时间点 PCNA 表达增强。

2.5 常规组织学观察:常规 HE 染色发现,SMA 夹闭 45 min 并行再灌注后,生理盐水对照组损伤最重,表现为肠黏膜水肿、部分脱落,黏膜下层炎细胞浸润,肠绒毛结构消失。改构型 aFGF 4 μ g 治疗组损

伤较轻,主要变化为肠黏膜轻度充血、水肿,黏膜下层少量炎细胞浸润,肠绒毛结构尚存。

3 讨论

肠缺血-再灌注损伤可累及多个脏器损伤,严重时可导致多器官功能障碍综合征(MODS)或多器官功能衰竭(MOF)的发生,其机制十分复杂,有多种因素参与损伤过程,主要包括氧化代谢产物、炎症介质、白细胞黏附、一氧化氮(NO)代谢障碍及 ATP 下降等,其中炎症反应是导致 MODS 的重要因素。本研究结果显示:模型大鼠肝、肾功能较假手术组均有明显下降,以生理盐水对照组下降更明显,改构型 aFGF 4 μ g 组的肝、肾功能恢复得最好。组织病理学检查发现,除假手术组外,其余各组动物均有小肠绒毛脱落以及黏膜下层炎细胞浸润等改变,其严重程度与肝、肾功能指标水平、PCNA 表达趋势和 D-乳酸活性类似。同时还发现,虽然 3 种不同剂量改构型 aFGF 对大鼠肠缺血-再灌注损伤均有保护作用,但所表现出的作用也不一样。从结果来看,以 4 μ g 中剂量 aFGF 表现出对小肠缺血-再灌注损伤修复作用更为明显。其可能的修复机制是^[1,2]:①缺血-再灌注早期伴随着细胞因子、黏附分子的表达,促使缺血损伤向炎性损伤转变,白细胞聚集、浸润,产生大量自由基、炎症介质和其他效应分子,导致小肠黏膜损伤。缺血-再灌注引起炎症反应时,白细胞被激活,释放大促炎分子和自由基,通过激活膜上的磷脂酶 A₂(PLA₂)氧化分解细胞膜上的花生四烯酸,产生大

量炎性介质,使内皮细胞分泌前列环素(PGI₂)减少,血栓素 A₂(TXA₂)增加,由此介导血管收缩和炎症反应。②减少自由基产生,改善能量代谢。缺血-再灌注时肠组织有氧代谢能力下降,线粒体氧化磷酸化作用降低,导致 ATP 生成减少。

缺血-再灌注损伤时肠屏障易受破坏与肠道特有的组织结构及生化特点有关。肠绒毛顶部是对局部缺氧最敏感、最易受打击的部位^[3,4],由于缺血所致肠黏膜损伤时首要的组织学改变特征是肠绒毛顶部上皮细胞脱落以及肠道屏障的缺损,因此血浆 D-乳酸含量升高。D-乳酸是胃肠道固有细菌的产物,哺乳类动物不具备其分解代谢的酶系统^[5],因此,血浆 D-乳酸含量的增加可以反映出由于肠黏膜损伤而致细菌及其产物进入了循环系统。动物实验表明,急性肠缺血可使血乳酸含量升高,因此,血中 D-乳酸含量升高有助于急性肠缺血的诊断;肝、肾功能可反映肠缺血-再灌注损伤后 MODS 或 MOF 的程度^[4,6],而 aFGF 显著降低了血浆 D-乳酸含量的升高,改善了肠道组织学损伤。

结论:本实验结果表明,改构型 aFGF 能有效减

轻肠道缺血-再灌注损伤造成的肠道通透性改变和远离器官(肝脏、肾脏和心脏)的损伤,加快了修复过程。改构型 aFGF 对 D-乳酸和肝、肾功能的抑制呈剂量依赖性,这种剂量依赖性机制尚无很好的解释。

参考文献:

- 1 Sheng Z Y, Dong Y L, Wang X H. Bacterial translocation and multiple system organ failure in bowel ischemia and reperfusion [J]. J Trauma, 1992, 32: 148 - 153.
- 2 Deitch E A. The role of intestinal barrier failure and bacterial translocation in the development of systemic infections and multiple organ failure [J]. Arch Surg, 1990, 125: 403.
- 3 邢峰,郭宝琛,黎君友,等.表皮生长因子对大鼠肠缺血-再灌注所致肠黏膜通透性改变的影响 [J]. 中国危重病急救医学, 2002, 14: 650 - 653.
- 4 付小兵,程飏,盛志勇.有关创伤修复与组织再生的现代认识 [J]. 中国危重病急救医学, 2002, 14: 67 - 68.
- 5 Smith S M, Eng R H K, Buccini F. Use of D-lactic acid measurement in the diagnosis of bacterial infections [J]. J Infect Dis, 1986, 154: 658 - 664.
- 6 赵志力,付小兵.修复细胞分化的调控机制与鉴别 [J]. 中国危重病急救医学, 2002, 14: 120 - 123.

(收稿日期:2004-08-16 修回日期:2004-12-27)

(本文编辑:李银平)

• 读者 • 作者 • 编者 •

《中国危重病急救医学》杂志第四届编委会名单

总编辑:王今达

副总编辑:黄志强(中国工程院院士) 盛志勇(中国工程院院士) 王士雯(中国工程院院士)

王正国(中国工程院院士) 曹尔澄 陈士奎 王宝恩 沈 洪 付小兵 姚咏明

祝兆林 李宗浩 雪 林 李银平(常务)

编辑部主任:李银平

编委:(按姓氏笔划为序)

于汉力 马 遂 方 桢 火树华 王 左 王 辰 王佩显 王佩燕 王其芳 王家良
王鲁宁 朱元珏 任新生 匡调元 吴 仪 吴恩惠 张 宏 张人华 张文智 张淑文
李天德 李忠诚 李春盛 杨国栋 杨涵铭 杨瑞和 邱明才 邱海波 陈文彬 陈树勋
陈德昌 周宝桐 周荣斌 金丽娟 侯 灿 俞森洋 胡 森 郝希山(中国工程院院士)
费 舟 贺石林 钟南山(中国工程院院士) 郭 仓 郭大任 高长青 崔玉芳 黄体钢
黄邦汉 黄敬孚 景炳文 蔡映云 樊寻梅 黎占良

特邀审稿编委:罗 涛 黎宝莲 张宪文 翟德佩 王凤楼 王维力 陈乃生 陈宝元 王学谦

金鸿宾 张久山 杨士琨 任 群 孙根义 钱绍诚 高企贤 张望云 秦英智

王家泰 刘克强 张 赛 黎檀实

P物质和降钙素基因相关肽在胎兔皮肤无瘢痕愈合中的作用

(正文见76页)

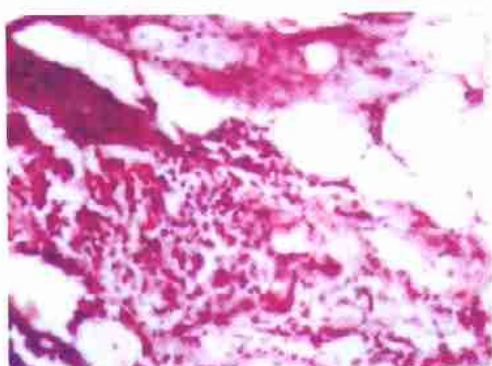


图1 创伤成兔伤后3 d皮肤真皮层肉芽组织
(HE, x200)
Figure 1 Granulation tissue in dermis of adult rabbit at the 3rd day post-injury(HE, x200)



图2 创伤胎兔伤后1 d皮肤SP阳性表达降低
(SP, x200)
Figure 2 Expression of SP of wound decreased in fetal rabbit at the 1st day post-injury(SP, x200)

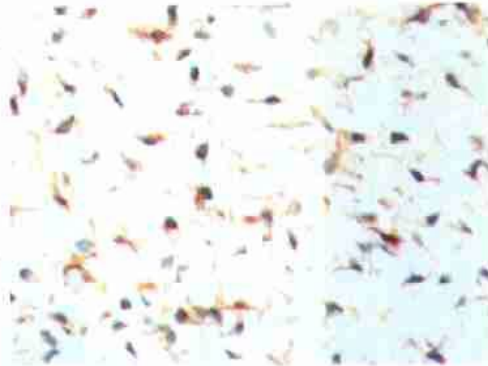
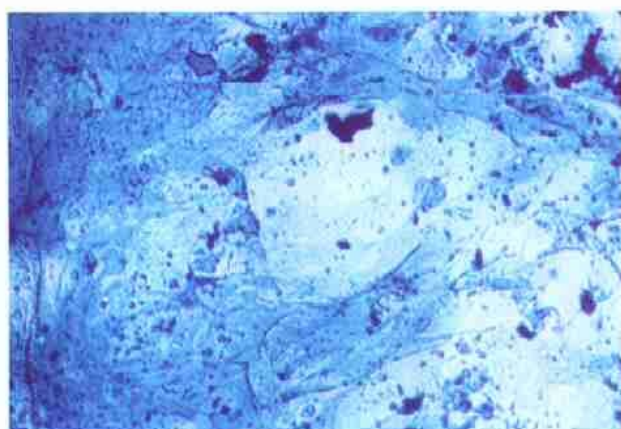


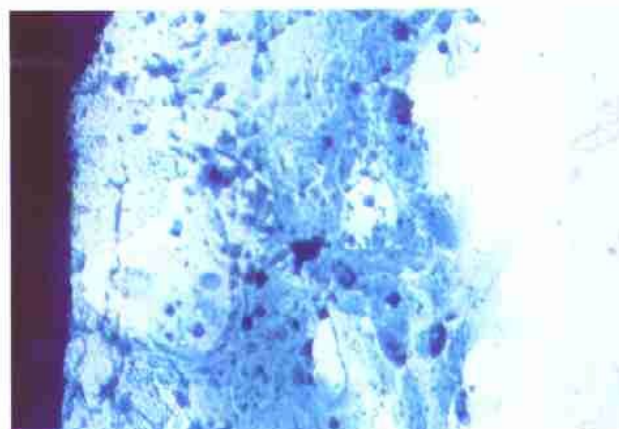
图3 创伤成兔伤后3 d皮肤SP阳性表达增高
(SP, x200)
Figure 3 Expression of SP of wound increased in adult rabbit at the 3rd day post-injury(SP, x200)

脂肪组织提取液促进大鼠皮肤生长的实验研究

(正文见87页)



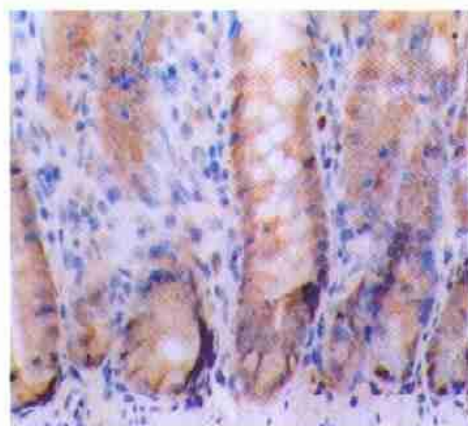
注：左侧颜色较深部分为接种皮肤，右侧颜色较浅部分为新生皮肤
图1 脂肪组织提取液培养后的大鼠皮肤(罗丹明耐尔蓝, x100)
Figure 1 Rat skin cultured in adipose tissue extract
(Rhodamine-Nile blue sulfate, x 100)



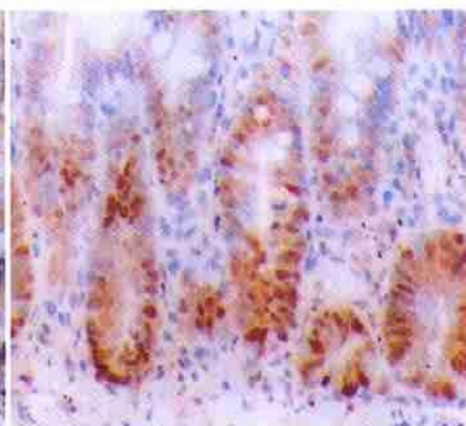
注：左侧颜色较深部分为接种皮肤，右侧颜色较浅部分为新生皮肤
图2 PBS培养后的大鼠皮肤(罗丹明耐尔蓝, x100)
Figure 2 Rat skin cultured in PBS
(Rhodamine-Nile blue sulfate, x 100)

改构型和野生型酸性成纤维细胞生长因子对肠缺血-再灌注损伤的保护作用及剂量-效应关系研究

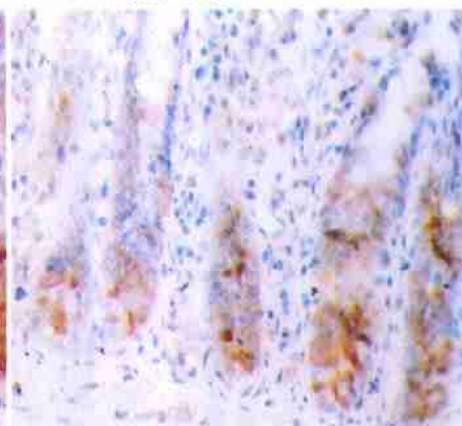
(正文见98页)



注：小肠隐窝下部的大部分细胞和绒毛下1/3的细胞核均为阳性染色
图1 改构型aFGF 2 μg剂量组PCNA在肠缺血-再灌注6 h的表达(免疫组化, x200)
Figure 1 Expression of PCNA of reconstruction human aFGF 2 μg group at 6 hours after intestinal I/R injury in rats (Immunohistochemical, x200)



注：PCNA表达增强，肠壁各层均有表达
图2 改构型aFGF 4 μg剂量组PCNA在肠缺血-再灌注6 h的表达(免疫组化, x200)
Figure 2 Expression of PCNA of reconstruction human aFGF 4 μg group at 6 hours after intestinal I/R injury in rats (Immunohistochemical, x200)



注：小肠隐窝下部的大部分细胞和绒毛下1/3的细胞核均为阳性染色
图3 改构型aFGF 8 μg剂量组PCNA在肠缺血-再灌注6 h的表达(免疫组化, x200)
Figure 3 Expression of PCNA of reconstruction human aFGF 8 μg group at 6 hours after intestinal I/R injury in rats(Immunohistochemical, x200)