

# 气体信号分子硫化氢在新鲜骨折患者血浆中的变化

李瑞明<sup>1</sup> 刘志伟<sup>1</sup> 王聪<sup>1</sup> 刘文莉<sup>1</sup> 王海英<sup>1</sup> 涂家红<sup>1</sup> 赵斌<sup>1</sup>

**【摘要】 目的:**观察新鲜骨折患者血浆中内源性气体信号分子硫化氢水平的变化探讨其可能的临床意义。**方法:**检测骨折患者血浆白细胞计数、中性粒细胞分类计数、血小板计数、纤维蛋白原、碱性磷酸酶含量和血浆硫化氢水平并与正常对照组进行对比分析。**结果:**与对照组相比,血浆白细胞计数、中性粒细胞分类计数、血小板计数、纤维蛋白原和碱性磷酸酶含量在骨折时明显升高,而血浆硫化氢水平明显降低。**结论:**新鲜骨折患者血浆硫化氢含量下降,其可能参与了骨折的病理过程。

**【关键词】** 骨折;硫化氢;血浆

**【中图分类号】** R683 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1009-5918(2012)06-0416-04

## The changes of plasma hydrogen sulfide level in patients with fracture

LI Ruiming LIU Zhiwei WANG Cong LIU Wenli

WANG Haiying TU Jiahong ZHAO Bin

(Department of Emergency, Beijing Jishuitan hospital, Beijing 100035, China)

Corresponding author: ZHAO Bin, E-mail: zhaobin60@yahoo.com.cn

**Abstract Objective:** To investigate the plasma hydrogen sulfide ( $H_2S$ ) level in patients with fracture and approach the effective of endogenous  $H_2S$  in the pathogenesis of fracture healing. **Method:** Peripheral white blood cells (WBC), the percentage of polymorphonuclear cells (PMN%), and platelets (PLT) were counted. Fibrinogen (FIB), alkaline phosphatase (ALP) and  $H_2S$  level in plasma were measured. **Result:** Compared with control group, white blood cells, the percentage of polymorphonuclear cells, and platelets were increased. Fibrinogen and alkaline phosphatase level in plasma were increased. While the  $H_2S$  level in plasma was decreased. **Conclusion:** The  $H_2S$  level in plasma was decreased in fracture patients, endogenous  $H_2S$  may involve in the pathogenesis of fracture healing.

**Key words** fracture; endogenous hydrogen sulfide; plasma

骨折是临床常见病,随着各种交通事故频发,骨折的发病率一直居高不下,给社会造成巨大的负担。目前骨折的治疗多以手术为主,但骨折后其局部和全身发生的病理变化的确切机制尚不清楚,故为手术之外的临床治疗带来困难。近年研究发现在骨折初期即可出现局部炎症反应,多种炎症细胞和炎症因子参与了该反应过程<sup>[1]</sup>。气体信号分子是一系列体内气体小分子物质,其具有广泛的生物学效应,其中的一氧化氮被证明参与了骨折愈合的过程<sup>[2]</sup>,并通过改善局部血流和调节组织应激反应对骨折起到保护作用<sup>[3]</sup>。硫化氢是继一氧化氮和一氧化碳之后,第三个被发现的气体信号分子。它同样具有调节炎症反应,改善组织应激反应以及扩张血管的作用<sup>[4-5]</sup>。有研究证实了硫化氢在离体细胞实验中,可以通过调节氧化应激对成骨细胞起到保护作用<sup>[6]</sup>。但血浆硫化氢在在体新鲜骨折过程中有何变化?目前还不清楚。本研究通过观察新鲜骨折患者血浆硫化氢含量的变化,探讨气体信号分子硫化氢在新鲜骨折患者中可能的临床意义。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

2009-12-2010-04 期间就诊我院急诊创伤骨科患者。其中健康组 49 例,男性 35 例,女性 14 例,年龄分布为(33.71±9.97)岁。新鲜骨折组中分为长骨骨折组和短骨骨折组。长骨骨折组中患者 39 例,男 29 例,女 10 例,年龄分布为(34.51±10.15)岁;短骨骨折组中患者 36 例,男 23 例,女 13 例,年龄分布为(33.03±9.25)岁。排除标准为近期有感染病史及既往有高血压、冠心病、高血脂及糖尿病患者等系统慢性病患者。

### 1.2 采样方法

骨折当天采血,EDTA 抗凝,离心:参数为:2 000 r/min,20 min,4℃。将血浆装入 1 ml EP 管, -20℃冰箱保存,备测。同时采血检测白细胞计数、中性粒细胞分类计数、血小板计数、纤维蛋白原和碱性磷酸酶含量测定。

### 1.3 测定方法

采用敏感硫电极方法检测血浆中硫化氢含量,仪器购自上海雷磁公司。检测步骤:①配制标准硫化物溶液:标准液的配制:0.24018 克  $Na_2S \cdot 9H_2O$ ;760 ul 去离子水比例配制 1 mol/L 溶液,按

<sup>1</sup> 北京积水潭医院急诊科(北京,100035)

通信作者:赵斌, E-mail: zhaobin60@yahoo.com.cn

1:10 浓度梯度稀释 3 次到 1 mmol/L 溶液,再次稀释成 10、20、40、60、80 及 100  $\mu\text{mol/L}$  溶液后待测;②配制抗氧化液:NaOH 8 g,EDTA 7 g 加去离子水 85 ml,配制成存储液,使用前按抗坏血酸 0.6 g:储液 10 ml 配制成抗氧化液;③血浆  $\text{H}_2\text{S}$  测定:电极在去离子水中活化 2 h 以上。打开离子计,测定使用 mV 档,斜率调至 100%,取抗氧化液 500  $\mu\text{l}$ ,样品 500  $\mu\text{l}$  加入 EP 管中混匀,将敏感硫电极与参比电极一起浸入到样品中,待读数稳定后记录电压数(mV),用去离子水冲洗电极,每测一个样品结束,电极浸入去离子水中以保持其活化状态。首先检测已配置好的标准硫离子溶液电压值制作标准曲线,然后检测血浆标本的电压值。根据标准曲线计算样本中  $\text{H}_2\text{S}$  的含量( $\mu\text{mol/L}$ )。

1.4 统计学处理

数据采用  $\bar{x} \pm s$  的方式表示,使用 SPSS 16.0 统计分析软件进行分析,多组样本的均数比较采用单因素差分析(one-way ANOVA)。以  $P < 0.05$  作为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组血液白细胞计数、中性粒细胞计数、血小板计数比较

各组血液白细胞计数,中性粒细胞计数,血小板计数比较见表 1。

表 1 各组血液 WBC 计数水平、中性粒细胞百分比及血小板计数水平比较

| 组别    | WBC                                  | PMN/%               | PLT                                  |
|-------|--------------------------------------|---------------------|--------------------------------------|
|       | $/(\times 10^9 \cdot \text{L}^{-1})$ |                     | $/(\times 10^9 \cdot \text{L}^{-1})$ |
| 健康组   | 5.65 $\pm$                           | 53.30 $\pm$         | 213.85 $\pm$                         |
|       | 1.55                                 | 7.85                | 34.36                                |
| 长骨骨折组 | 10.04 $\pm$                          | 73.46 $\pm$         | 243.41 $\pm$                         |
|       | 3.36 <sup>2)</sup>                   | 11.30 <sup>2)</sup> | 80.45 <sup>1)</sup>                  |
| 短骨骨折组 | 9.71 $\pm$                           | 73.97 $\pm$         | 238.97 $\pm$                         |
|       | 3.05 <sup>2)</sup>                   | 10.64 <sup>2)</sup> | 52.23 <sup>1)</sup>                  |

与健康组比较,<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ ; <sup>2)</sup>  $P < 0.01$

2.2 各组血液纤维蛋白原、血浆碱性磷酸酶、血浆硫化氢含量比较

各组血液纤维蛋白原、血浆碱性磷酸酶、血浆硫化氢含量比较见表 2。

新鲜长骨骨折组、短骨骨折组与健康组相比,血液纤维蛋白原含量均明显升高( $P < 0.01$ ),长骨骨折与短骨骨折组比较差异无统计学意义。

新鲜长骨骨折组、短骨骨折组与健康组相比,血浆碱性磷酸酶含量均明显升高( $P < 0.05$ ),长骨骨折与短骨骨折组比较差异无统计学意义。

新鲜长骨骨折组、短骨骨折组与健康组相比,血浆硫化氢含量均明显降低( $P < 0.05$ ),长骨骨折

与短骨骨折组比较差异无统计学意义,见表 2。

表 2 各组血浆纤维蛋白原含量、碱性磷酸酶含量及硫化氢含量

| 组别    | FIB                                | ALP                                | $\text{H}_2\text{S}$                   |
|-------|------------------------------------|------------------------------------|----------------------------------------|
|       | $/(\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$ | $/(\text{IU} \cdot \text{L}^{-1})$ | $/(\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1})$ |
| 健康组   | 2346.4 $\pm$                       | 56.95 $\pm$                        | 46.09 $\pm$                            |
|       | 508.6                              | 12.35                              | 13.72                                  |
| 长骨骨折组 | 3589.7 $\pm$                       | 69.33 $\pm$                        | 37.96 $\pm$                            |
|       | 911.3 <sup>2)</sup>                | 37.19 <sup>1)</sup>                | 16.95 <sup>1)</sup>                    |
| 短骨骨折组 | 3346.2 $\pm$                       | 67.63 $\pm$                        | 38.57 $\pm$                            |
|       | 631.8 <sup>2)</sup>                | 22.68 <sup>1)</sup>                | 16.01 <sup>1)</sup>                    |

与健康组比较,<sup>1)</sup>  $P < 0.05$ , <sup>2)</sup>  $P < 0.01$

3 讨论

骨折是急诊创伤常见病,是指骨的完整性和连续性的中断,分为创伤性骨折和病理性骨折。创伤性骨折是指机体在正常状态下单纯因外力作用导致骨折,而病理性骨折是指机体自身存在骨骼疾病如骨髓炎、骨肿瘤等,导致骨骼在较小外力作用下即出现骨折。为方便研究,排除干扰因素,本研究仅选用单纯创伤性骨折患者进行研究。

骨折愈合是一个连续而又复杂的过程,其机制仍不十分清楚。以往的研究表明机体在骨折后 6~8 h 内即在骨折处发生血肿及血凝块,同时引起无菌性炎症反应,多种炎症细胞如中性粒细胞,巨噬细胞等,炎性介质,及细胞因子参与其中<sup>[1]</sup>。同时有研究显示多种生长因子在骨折愈合过程中起到促进作用<sup>[7]</sup>。在本研究中,骨折时血液中白细胞计数与中性粒细胞比例较正常组明显升高,与既往的研究结果相符合。与此同时,炎性标志物指标血小板,与纤维蛋白原的结果也表现出相同的变化趋势。研究证实血小板可以通过增加白细胞与炎症部位血管内皮细胞之间的粘附作用从而加重白细胞的聚集以及炎性介质的释放<sup>[8]</sup>,从而也再次证实骨折时即出现了炎症反应。

硫化氢是第三个被发现的气体信号分子,具有在体内连续合成、快速弥散,发挥广泛气体信号分子的生物学作用<sup>[9]</sup>。已经发现的气体信号分子有一氧化氮、一氧化碳和硫化氢,其中一氧化氮已经被证实参与了骨折的愈合过程<sup>[10]</sup>。内源性硫化氢在体内由高同型半胱氨酸和半胱氨酸经胱硫醚  $\beta$ 2 合酶(CBS)、胱硫醚  $\gamma$  裂解酶(CSE)催化生成<sup>[9]</sup>。已有研究证实硫化氢参与了机体的氧化应激<sup>[11]</sup>,炎症因子调控<sup>[12]</sup>和抑制凋亡作用等。硫化氢广泛参与了高血压<sup>[13]</sup>、心肌缺血<sup>[14]</sup>、糖尿病<sup>[15]</sup>、慢性阻塞性肺疾病<sup>[16]</sup>及胃粘膜病变<sup>[17]</sup>等机体各个系统疾病的病理生理调节过程,但是尚未有相关的研究关注硫化氢是否参与新鲜骨折方面的病理生理调节。本

研究对这一方面进行探讨。

由于硫化氢参与了多个系统病变的调节,所以我们在进行本项实验中,严格将合并有高血压,糖尿病,冠心病,脂代谢异常、COPD及其他明确慢性病史的骨折患者排除在本研究之外。

在研究中我们检测了骨折患者当天血浆硫化氢的水平,并和健康对照组进行比较。实验结果证实骨折组患者血浆硫化氢水平较正常组明显降低,提示硫化氢参与了骨折急性期的病理过程。

陈等在慢性阻塞性肺疾病的临床研究中发现COPD患者血清硫化氢水平与患者血液的中性粒细胞水平呈明显的负相关,并认为血清硫化氢可以作为检测COPD疾病活动程度的指标<sup>[18]</sup>,这一结果与我们的结果相同。同样在硫化氢与炎性细胞的研究中,硫化氢可以降低白细胞在炎性局部的凝聚以及增加局部血流<sup>[19]</sup>,因此我们认为硫化氢参与骨折愈合过程可能与减轻局部白细胞浸润有关。

成骨细胞是骨折愈合的重要组成部分,它在骨折时增殖活跃,大量的聚集在骨折处,在骨折的早期就参与到骨折的愈合。成骨细胞内存在着大量的碱性磷酸酶,其浓度远远大于血浆中的浓度,随着成骨细胞增殖,被释放入血的碱性磷酸酶增多,导致血浆碱性磷酸酶升高,因此说血浆碱性磷酸酶是反应成骨细胞活性的标志物<sup>[20]</sup>。在实验中我们检测了血浆碱性磷酸酶的浓度,骨折组与健康组相比有明显升高,与以往的实验一样,证实成骨细胞参与了骨折的病理过程。

在已知的研究中,有人观察到在骨折中存在氧化应激水平明显升高,使成骨细胞的增殖受到抑制。另有研究证实硫化氢可以通过抑制离体成骨细胞的氧化应激对骨质疏松起到保护作用<sup>[6]</sup>。

综上所述我们首先发现了硫化氢在单纯骨折患者中有明显下降,并通过阅读相关文献推测硫化氢在骨折愈合过程中可能通过降低局部炎性细胞浸润并通过抑制成骨细胞中的氧化应激反应,对成骨细胞起到保护作用。但具体机制还有待进一步研究明确。

#### 参考文献

- [1] CAI C, CAO Z, LOUGHRAN P A, et al. Mast cells play a critical role in the systemic inflammatory response and end-organ injury resulting from trauma[J]. *J Am Coll Surg*, 2011, 213: 604—615.
- [2] NICHOLS S P, STORM W L, KOH A, et al. Local delivery of nitric oxide: Targeted delivery of therapeutics to bone and connective tissues[J]. *Adv Drug Deliv Rev*, 2012, 64: 1177—1788.
- [3] MULLENDER M G, DIJCKS S J, BACABAC R G, et al. Release of nitric oxide, but not prostaglandin E2, by bone cells depends on fluid flow frequency[J]. *J Orthop Res*, 2006, 24: 1170—1177.
- [4] YAN S K, CHANG T, WANG H, et al. Effects of hydrogen sulfide on homocysteine-induced oxidative stress in vascular smooth muscle cells[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2006, 351: 485—491.
- [5] PAN T T, FENG Z N, LEE S W, et al. Endogenous hydrogen sulfide contributes to the cardioprotection by metabolic inhibition preconditioning in the rat ventricular myocytes[J]. *J Mol Cell Cardiol*, 2006, 40: 119—130.
- [6] XU Z S, WANG X Y, XIAO D M, et al. Hydrogen sulfide protects MC3T3-E1 osteoblastic cells against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative damage-implications for the treatment of osteoporosis[J]. *Free Radic Biol Med*, 2011, 50: 1314—1323.
- [7] DEVESCOVI V, LEONARDI E, CIAPETTI G, et al. Growth factors in bone repair[J]. *Chir Organi Mov*, 2008, 92: 161—168.
- [8] NARASIPURA S D, WOJCIECHOWSKI J C, DUFFY B M, et al. Purification of CD45+ hematopoietic cells directly from human bone marrow using a flow-based P-selectin-coated microtube[J]. *Am J Hematol*, 2008, 83: 627—629.
- [9] YOSHIDA Y, ITO S, KAMO M, et al. Production of hydrogen sulfide by two enzymes associated with biosynthesis of homocysteine and lantionine in *Fusobacterium nucleatum* subsp. *nucleatum* ATCC 25586[J]. *Microbiology*, 2010, 156: 2260—2269.
- [10] CORBETT S A, HUKKANEN M, BATTEN J, et al. Nitric oxide in fracture repair: differential localisation, expression and activity of nitric oxide synthases[J]. *J Bone Joint Surg [Br]*, 1999, 81-B: 531—537.
- [11] FU Z F, LIU X M, GENG B, et al. Hydrogen sulfide protects rat lung from ischemia reperfusion injury[J]. *Life Sciences*, 2008, 82: 1196—1202.
- [12] LI T S, ZHAO B, WANG C, et al. Sulfide on interleukin-6, 8, 10 on acute lung injury in rats[J]. *Exp Biol Med*, 2008, 233: 1081—1087.
- [13] 杜军保, 闫辉, 唐朝枢. 新型气体分子硫化氢参与高血压形成机制[J]. *北京大学学报(医学版)*, 2003, 35(1): 102—102.
- [14] HU L F, PAN T T, NEO K L, et al. Cyclooxygenase-2 mediates the delayed cardioprotection induced by hydrogen sulfide preconditioning in isolated rat cardiomyocytes[J]. *Pflugers Arch Eur J Physiol*, 2008, 455: 971—978.
- [15] 田莉莉, 王燕飞, 杜军保, 等. 气体信号分子硫化氢在妊娠期糖尿病患者脐静脉血中的变化[J]. *中国医刊*, 2008, 43(11): 30—32.
- [16] CHEN Y H, YAO W Z, DING Y L, et al. Effect of theophylline on endogenous hydrogen sulfide production in patients with COPD[J]. *Pulmonary Pharmacology & Therapeutics*, 2008, 21: 2140—2146.
- [17] YONEZAWA D, SEKIGUCHI F, MIYAMOTO M, et

# VSD 治疗大面积皮肤软组织缺损的疗效观察

肖东<sup>1</sup> 恩哈木江<sup>1</sup> 那尔满<sup>1</sup> 黄振飞<sup>2</sup>

**[摘要]** 目的:分析采用持续封闭负压引流治疗创伤性大面积皮肤软组织缺损的临床效果。方法:采用封闭式负压引流技术治疗我科收治的 14 例大面积创伤性皮肤软组织缺损患者,敷料覆盖创面,维持负压,治疗 5~7 d 后,去除敷料行二期植皮术。结果:14 例患者中 12 例患者二期植皮一次成功,2 例患者行二次封闭式负压引流治疗后植皮全部成活。结论:封闭式负压引流能有效清除创伤性大面积软组织缺损患者创面的分泌物和坏死组织,减轻炎症性刺激,促进肉芽生长,提高植皮成功率,明显缩短治疗时间,减轻换药痛苦,值得临床推广。

**[关键词]** 持续封闭负压引流;皮肤软组织缺损;植皮

**[中图分类号]** R75 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1009-5918(2012)06-0419-02

## Clinical therapeutic effect of the vacuum sealing drainage on complicated defect in skin and soft tissue

XIAO Dong<sup>1</sup> EN Hamujiang<sup>1</sup> NA Erman<sup>1</sup> HUANG Zhenfei<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Department of Orthopedics, the People's Hospital of Boertala Zhou, Xingjiang, 833400, China; <sup>2</sup>Department of Orthopaedics, Union Hospital Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology)

Corresponding author: HUANG Zhenfei, E-mail: zhenfeihuang2012@163.com

**Abstract Objective:** To observe the clinical therapeutic effect of the vacuum sealing drainage (VSD) technology on complicated traumatic skin and soft tissues defect. **Method:** A total of 14 cases with complicated traumatic skin and soft tissues defect were enrolled in this study. VSD dressing was used in all patients to cover wounds after surgical debridement. Then the dressing was removed and secondary dermepenthes was performed. **Result:** 12 of 14 patients survived after the secondary dermepenthes, and other 2 patients accepted two VSD treatments. **Conclusion:** VSD treatment can significantly accelerate healing of traumatic skin and soft tissues defects by draining the wound surface completely and stimulate the proliferation of granulation tissue. It can shorten the course of disease and reduce the pain for dressing change.

**Key words** vacuum sealing drainage (VSD); soft tissues defect; dermepenthes

治疗由创伤导致的四肢大面积皮肤软组织缺损甚至骨外露一直是骨科的难题,传统方法是持续不断的换药至创面清洁,肉芽增生满意后植皮或肌皮瓣转移。不但医生的劳动强度大,也给患者的身心健康及经济带来极大的负担。我院自 2008 年起使用 VSD 技术治疗此类患者,取得满意效果,现报道如下。

<sup>1</sup>新疆博尔塔拉蒙古自治州人民医院骨科 华中科技大学同济医学院附属协和医院博州分院(新疆博尔塔拉蒙古, 833400)

<sup>2</sup>华中科技大学同济医学院附属协和医院骨科  
通信作者:黄振飞, E-mail: zhenfeihuang2012@163.com

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

本组病例 14 例,男 12 例,女 2 例。年龄 19~66 岁,平均年龄 37 岁。致伤原因为车祸、高处坠落伤及机器碾压伤。上肢 4 例,下肢 10 例。创面缺损面积最小 3 cm×4 cm,最大 12 cm×16 cm。伴有骨外露 2 例。并发不同程度感染 11 例。采用武汉维斯第医用科技有限公司生产的一次性使用负压引流专用敷料。

### 1.2 治疗方法

①彻底清创 清除创面失活组织及脓苔,留取标本行菌培养及药敏试验。反复用双氧水,0.9%

al. A protective role of hydrogen sulfide against oxidative stress in rat gastric mucosal epithelium[J]. Toxicology, 2007, 241: 11-18.

[18] CHEN Y H, YAO W Z, GENG B, et al. Endogenous hydrogen sulfide in patients with COPD[J]. Chest, 2005, 128: 3205-3211.

[19] FIORUCCI S, ORLANDI S, MENCARELLI A, et al. Enhanced activity of a hydrogen sulphide-releasing de-

rivative of mesalamine (ATB-429) in a mouse model of colitis[J]. Br J Pharmacol, 2007, 150: 996-1002.

[20] LEUNG K S, FUNG K P, SHER A H, et al. Plasma bone-specific alkaline phosphatase as an indicator of osteoblastic activity[J]. J Bone Joint Surg, 1993, 75-B: 288-292.

(收稿日期: 2012-04-09)