

·基础研究·

·论著·

富含血小板血浆双相接种法构建的组织工程骨修复山羊颅骨缺损

雷华,唐晓军,彭喆,牛峰,俞冰,申顺英,归来

(北京协和医学院·中国医学科学院·整形外科医院 整形六科 北京 100144)

[摘要] 目的 观察以富含血小板血浆(platelet-rich plasma PRP)介导的双相接种法构建的组织工程骨在体内的成骨是否优于普通双相接种法和传统静滴接种法。方法 用传统静滴法(对照组)和富含血小板血浆(PRP 组)、乏血小板血浆(PPP 组)双相接种法构建组织工程骨,并用其修复山羊颅骨临界缺损,术后 3 月通过 CT 扫描、组织病理学观察三组动物颅骨缺损处成骨情况。结果 PRP 组的成骨量显著较 PPP 组合和对照组($P < 0.05$), PPP 组合和对照组无显著差异($P > 0.05$)。结论 用 PRP 介导的双相接种法构建组织工程骨在体内早期成骨优势显著, PRP 双相接种法是安全、简便、实用、高效的细胞接种方法。

[关键词] 富含血小板血浆 细胞接种 骨组织工程 颅骨缺损

[中图分类号] R318 [文献标识码] A [文章编号] 1008-6455(2011)04-0581-05

Repairing goat skull clinical defects with tissue engineering bones constructed by a biphasic seeding strategy with platelet-rich plasma

LEI Hua, TANG Xiao-Jun, PENG Zhe, NIU Feng, YU Bing, SHEN Shun-ying, GUI Lai

(The Sixth Department of Plastic Surgery Hospital, Peking Union Medical College, China Academy of Medical Sciences, Beijing 100144, China)

Abstract: **Objective** To confirm whether platelet-rich plasma (PRP) biphasic seeding strategy can significantly enhance the osteogenesis in vivo, compared with common biphasic seeding and traditional dropping seeding. **Methods** To construct tissue engineering bones with PRP biphasic seeding, common biphasic seeding and traditional dropping seeding respectively. To repair the goat skull clinical defects with the three groups of tissue engineering bones. At 3 days and 3 months postoperatively, goat skulls were examined by CT scanning, the pictures were analyzed by the Osirix software. Following CT scanning at 3 months postoperatively, animals were executed, the skull samples were harvested and examined histologically. **Results** The new bone amount of the group of PRP biphasic seeding was significantly more than the groups of common biphasic seeding and traditional dropping seeding ($P < 0.05$). The difference between the common biphasic seeding group and the traditional dropping seeding group was not obvious ($P > 0.05$). **Conclusion** The PRP biphasic seeding was safe, efficient and practical. The tissue engineering bone constructed by the PRP biphasic seeding strategy can improve the osteogenesis in vivo.

Key words platelet-rich plasma; cell seeding; bone tissue engineering; skull defect

骨组织工程虽已被用于临床,但是仍存在一些问题,如细胞与三维多孔支架材料如何能有效结合的问题。传统的细胞接种方法,是将细胞悬液直接滴加在材料表面。这种方法简便、适合于各种细胞和支架,但是如果三维多孔支架具有疏水性或亲水性不强,不能像海绵一样将细胞悬液吸入内部,大量细胞悬液流失。有时就算细胞悬液进入支架内部的孔洞里,由于没有足够的孔壁贴附,很多细胞液流失了^[1-3]。所以有学者利用双相接种法提高细胞和三维多孔支架的结合,也就是将细胞与纤维蛋白原或胶原液体混合,滴加或灌注于支架上,随即滴加促凝剂,使纤维蛋白原或胶原凝固成胶冻状,将细胞固定在支架表面或内部,提高了细胞的接种效率^[4-14]。本研究也预用双相接种法构建组织工程骨,但是用富含血小板血浆(platelet-rich plasma PRP)代替纤维蛋白原和胶原重悬细胞,原因是 PRP 不仅与纤维蛋白原和胶原一样

具有双相性,在促凝剂的作用下从液态变为胶冻状,而且含有大量血小板,血小板可被促凝剂激活释放大量活性因子,其中包含多种生长因子,可以促进组织愈合等一系列生物事件^[15-16]。所以我们推测 PRP 双相接种法构建的组织工程骨可能进一步促进骨形成。为证实此假设,本研究分别用 PRP、自体纤维蛋白原(platelet-poor plasma PPP)、传统静滴法构建组织工程骨,修复山羊颅骨缺损,观察体内骨形成情况。

1 材料和方法

1.1 BMSCs 原代培养及传代:于一只中国青山羊(5月,10kg)髂后上嵴抽取 5ml 骨髓(肝素抗凝)。15ml 离心管中加入 5ml 人淋巴细胞分离液(Boster,武汉),将 5ml 骨髓沿管壁缓缓注入。200g 离心,10min。取中层移至 25cm² 培养瓶中(Corning, Germany),加入高糖 DMEM(Hyclone, USA)4ml,其

基金项目:高等学校博士学科点专项科研基金(2010110611)

通讯作者:归来 教授,北京石景山区八大处路 33 号,100144。Email: guilaizhuren@163.com

基础研究



图 1 山羊颅骨缺损制作及修复过程:A. 山羊颅顶部 2 个全层颅骨缺损;B. 接种细胞于 PLGA 支架上 (PRP 双相接种法);C. 细胞 / 支架复合体修复颅骨缺损

中含有 10% FBS (Hyclone USA), 100 U/ml 青霉素 (Sigma, China), 100mg/ml 链霉素 (Sigma, China), 37°C 5% CO₂ 孵育 4 天, 换液。继续孵育 3 天换一次液。待细胞 90% 融合时, 0.25% 胰酶 (Sigma, China) 消化、收集细胞至 15ml 离心管中, 200g 离心, 10 min, 弃上清液, DMEM 重悬细胞团, 以 5 000/cm² 的密度接种于 75cm² 培养瓶中, 加入 10ml 培养基, 37°C 5% CO₂ 孵育, 每 3 天换液一次。一般第三代细胞用于实验。

1.2 PRP 和 PPP 的制备: 配置抗凝剂 ACD 0.48g 柠檬酸, 1.32g 柠檬酸钠, 1.47g 葡萄糖 (中国阿拉丁试剂有限公司) 溶于 100ml 双蒸水中, 0.45 μm 过滤消毒, 冷藏备用。于一只中国青山羊 (5 月, 10kg) 颈静脉抽取全血 40ml, 其中加入 40ml ACD 摇匀, 移入 50ml 离心管, 1 000g 离心, 15min。取上层血浆, 弃红细胞, 二次离心, 3 000g 20min。上层为清亮的 PPP, 移入另一 15ml 离心管中备用。中间层为白色的血小板, 轻轻用吸管搅动吸出移至另一离心管中, 下层红细胞弃之。用少量 PPP 将血小板重悬, 人工血小板计数, 调节浓度为 10⁶/μl 的 PRP 备用^[17-19]。

1.3 PLGA 支架预处理 PLGA 支架由济南岱罡生物科技有限公司提供。PLA/PGA=75/25。孔径大小 100~300 μm, 空隙率 80%。用 11 号尖刀片将大块 PLGA 切成直径 11mm 厚 3 mm 的圆盘状。使用前 PLGA 圆盘浸泡于 75% 酒精中 24h, PBS 漂洗 3 次, DMEM 孵育 30 min, 取出置于无菌纱布上, 吸干水分, 再滴加细胞悬液, 以增加 PLGA 的亲水性。

1.4 细胞 / 支架复合体修复山羊颅骨缺损: 中国青山羊 8 只, 7~8 月, 17~20kg。随机分成 4 组 2 只 / 组。用牙科钻在颅顶部制造 2 个直径 2cm 全层颅骨缺损, 去除局部骨膜, 保护硬脑膜完整。4 组动物分别用以下方法修复颅骨缺损: 对照组, 不修复, 直接分层缝合切口; DMEM 组, 用 DMEM 重悬细胞 (2 × 10⁷/ml), 每块 PLGA 支架滴加 500 μl 细胞悬液, 植入颅骨缺损区, 不固定, 缝合切口; PPP 组, 用 PPP 重悬细胞 (2 × 10⁷/ml), 每块 PLGA 支架滴加 500 μl 细胞悬液, 100 μl 凝血酶促凝, 植入颅骨缺损区; PRP 组, 用 PRP 重悬细胞 (2 × 10⁷/ml), 其余同 PPP 组。术后常规肌注抗生素, 青霉素钠 160 万 U 2 次 / 日, 共 3 天。图 1 示手术过程。

1.5 山羊颅骨缺损修复前后影像学检查 术后 3 天及 8 周行山羊头颅螺旋 CT (Siemens Somatom 16, Germany) 扫描检查, 140 kV, 130 mA, 层厚 1.5mm。用 Osirix 软件分析, 计算

新生骨的体积, 并进行三维重建。

1.6 山羊颅骨缺损修复 8 周后组织学检查 术后 8 周, 头颅螺旋 CT 检查结束后, 处死动物, 用牙科钻钻取颅骨缺损区样本, 取材范围包括颅骨缺损周边 2mm 正常颅骨在内的所有区域。样本放入 4% 的甲醛中固定 48h, 然后酒精逐级脱水, 树脂包埋, 硬组织切片机 (Leica SM2500 Heidelberg, Germany) 切片, 厚度 40 μm, HE 染色, 光学显微镜 (Leica DM3000, Germany) 观察拍照。Osirix 软件分析, 计算各组代表性切片新生骨面积。

1.7 统计学分析 每个数值以平均值 ± 标准差表示, 组间比较用单因素方差分析 (one-way ANOVA) 及 Tukey's test。设 P < 0.05 具有统计学显著差异性。

2 结果

2.1 BMSCs/PLGA 复合体修复颅骨缺损影像学观察 8 只山羊平稳度过 8 周观察期。CT 平扫 (图 2) 和三维重建 (图 3) 显示 8 周时 PRP 组, 颅骨缺损部分愈合, 缺损明显缩小, 新生骨不仅从缺损区边缘向中心长入, 在缺损的中心部位也有骨岛形成。PPP 组和 DMEM 组只有从缺损边缘的长入的新生骨, 而没有中心部位硬脑膜表面的骨岛形成。空白对照组几乎没有新生骨形成。

各组平均新生骨体积见表 1。PRP 组的新生骨体积

表 1 Osirix 软件计算各组山羊颅骨 CT 三维重建后新生骨的体积

组别	新骨形成面积 (cm ²)
对照组	0.0219 ± 0.00917
DMEM/BMSCs/PLGA	0.0915 ± 0.02706
PPP/BMSCs/PLGA	0.1033 ± 0.02234
PRP/BMSCs/PLGA	0.1660 ± 0.03650

★ 表示 P < 0.05 时, 有显著差异

表 2 Osirix 软件分析各组山羊颅骨病理切片新生骨面积

组别	新骨形成体积 (cm ³)
对照组	0.1782 ± 0.08006
DMEM/BMSCs/PLGA	0.8731 ± 0.02692
PPP/BMSCs/PLGA	1.0034 ± 0.08087
PRP/BMSCs/PLGA	1.5449 ± 0.2541

★ 表示 P < 0.05 时, 有显著差异

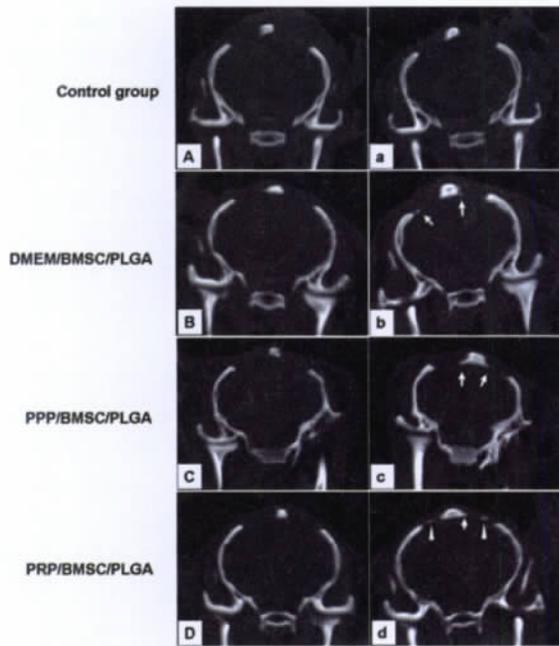


图 2 CT 冠状位扫描代表性图片: A、B、C、D 示术后 3 天图片; a、b、c、d 示 8 周时代表性图片: a. 对照组, 无新骨形成; b. DMEM 组缺损边缘有新骨形成; c. PPP 组缺损边缘有新骨形成; d. PRP 组缺损边缘和中心均有新骨形成, 白箭头示形成的新骨。

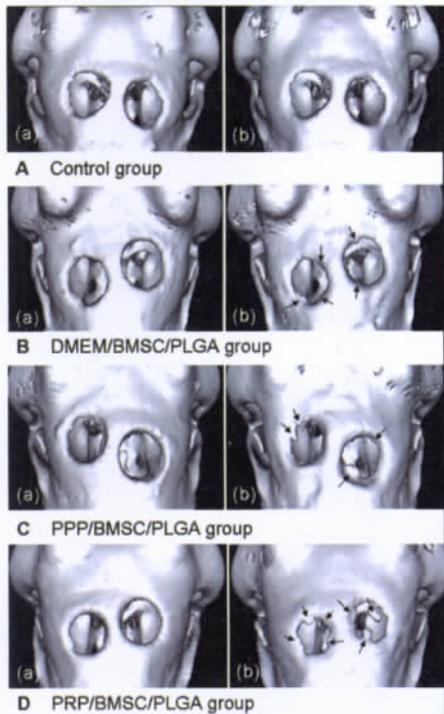


图 3 各组三维重建代表性图像: a. 示术后 3 天的图像; b. 示术后 8 周的图像: A. 示空白对照组 8 周时代表性图片, 几乎没有新骨形成; B. 示 DMEM 组 8 周时代表性图片, 缺损边缘有新骨形成; C. 示 PPP 组 8 周时代表性图片, 缺损边缘有新骨形成; D. 示 PRP 组 8 周时代表性图片, 缺损边缘和中心均有新骨形成, 黑箭头示形成的新骨。

(0.1660 ± 0.03650) cm^3 显著高于其他 3 组 ($P < 0.05$)。DMEM 组 (0.0915 ± 0.02706) cm^3 和 PPP 组 (0.0933 ± 0.01010) cm^3 之

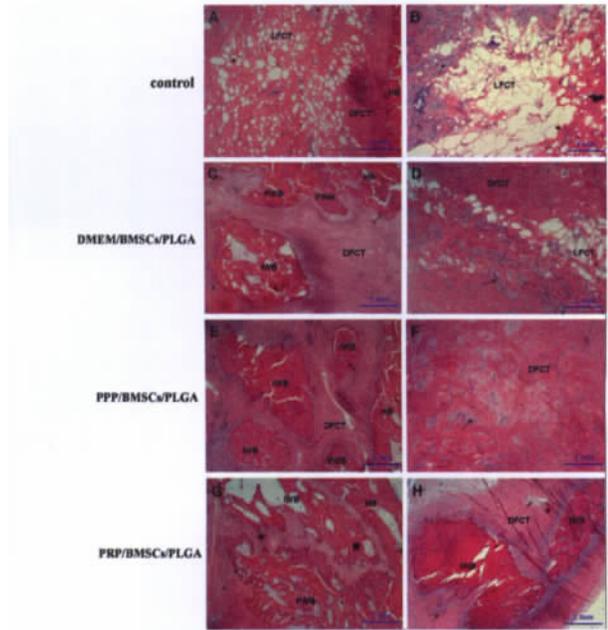


图 4 术后 8W 组织学检查 (HE 染色) ($2.5 \times$, 刻度条长度为 1mm): A、C、E、G 示缺损边缘部位; B、D、F、H 示缺损中心区域; HB 表示宿主正常骨, IWB 表示编织骨岛, PWB 编织骨半岛, LFCT 疏松纤维结缔组织, DFCT 致密纤维结缔组织, CD 表示缺损中心区域; 黑箭头示炎性细胞。

间没有显著差异 ($P > 0.05$)。对照组 (0.0219 ± 0.00917) cm^3 的新生骨显著低于其他 3 组 ($P < 0.05$)。

2.2 BMSCs/PLGA 复合体修复颅骨缺损组织学检查 8 周处死动物解剖标本时, 肉眼可见所有细胞 / 支架复合体植入处无炎症反应, 无纤维薄膜形成, PLGA 材料几乎全部吸收。硬组织切片显示 (图 4) 空白对照组没有新骨形成, 缺损区为疏松结缔组织, 缺损边缘的胶原纤维较中心部致密。DMEM 组、PPP 组和 PRP 组的表现同影像学图片。DMEM 组和 PPP 组均有新生的骨岛位于缺损区边缘, 中心部位均为纤维结缔组织, PPP 组的胶原纤维较 DMEM 组致密。PRP 组缺损区边缘的新生骨岛较 DMEM 和 PPP 组大, 中心区域也可见到新生骨岛, 其他部位为致密的纤维结缔组织。

各组切片平均新生骨面积见表 2。空白对照组的新生骨面积 (0.1782 ± 0.08006) cm^2 明显少于其他 3 组 ($P < 0.05$)。PRP 组的新生骨面积 (1.5449 ± 0.2541) cm^2 显著较其他组多 ($P < 0.05$)。PPP 组 (1.0034 ± 0.08087) cm^2 新生骨面积较 DMEM 组 (0.8731 ± 0.02692) cm^2 多, 但是差异不显著 ($P > 0.05$)。

3 讨论

实验中 8 只山羊均平稳渡过整个观察期, 术后 8 周取标本时, 可见山羊头皮伤口愈合良好, 无红肿热痛, 头皮下方组织无充血水肿, 组织切片显示无明显炎症细胞浸润、血管增生等, 支架材料均被吸收, 颅骨缺损处已被新生骨和纤维组织覆盖, 这说明 PRP 和 PLGA 支架修复体内骨缺损是安全有效的。

CT 冠状位平扫和三维重建图片以及组织学切片都显示

用 PRP 构建的组织工程骨修复山羊颅骨缺损 较 PPP 双相接种法(普通双相接种法)和传统静滴法构建的组织工程骨有更多的新骨形成。这可能是 PRP 中的血小板促进植入的 BMSCs 的增殖分化、趋化宿主基质细胞并促其增殖分化、促进细胞外基质分泌和血管再生,最终使相应的组织再生修复创伤^[20]。尽管,这个复杂的生物过程还没有被完全解析,但从我们的实验结果可以肯定血小板在体内骨形成中有一定的促进作用 PRP 也较 PPP 更适合做为双相接种的媒介。

以往的研究表明,当 PRP 与 BMSCs 混合修复犬下颌骨缺损^[17]和兔颅骨缺损时^[21],较单纯 PRP 或自体骨颗粒更能促进体内新骨形成;当 PRP 与 BMSCs 和冻干异体骨颗粒混合修复兔股骨远端髁状突缺损时,表现出较好的促进骨愈合和骨塑性过程^[22];在上颌窦充填、窦底提升时,PRP 与 BMSCs 的混合物较单纯松质骨颗粒或单纯 PRP 更能促进骨再生^[23]。这些研究结果均表明 PRP 在有 BMSCs 存在时可以促进骨再生。但是这些研究均是将 PRP 与细胞或自体骨颗粒直接混合植入受区发挥成骨作用,而本研究首次将 PRP 做为接种媒介将细胞与三维多孔支架结合,构建组织工程骨,修复骨缺损。这为骨缺损的三维个性化修复中,细胞与三维多孔支架的复合提供新思路。

根据以往文献报道,双相接种法的细胞接种效率显著高于传统静滴法^[8-11],所以我们推测 PPP 组植入细胞初始量较多,成骨也应较多,但本研究结果显示 PPP 双相接种法与传统接种法构建的组织工程骨在体内成骨数量没有差异,这说明组织工程骨在体内的成骨不单纯与植入细胞的初始量有关,与细胞植入后的增殖分化、宿主基质干细胞的趋化移入、骨缺损局部微环境,等等因素均密切相关,也正因如此,PRP 中的血小板的生物作用显得非常重要。不过 PPP 双相接种法没有显示出较传统静滴法的优势,也可能与实验观察时间短(8w)或样本量小有关(n=4)。这些都有待于深入研究。本研究的观察时间较短(3 月),也许随着时间延长,各组的成骨数量和质量会变得没有差异,但本实验至少可以说明 PRP 可在早期促进骨形成。

4 结论

本研究结果显示,由于 PRP 中大量血小板的存在,用 PRP 介导的双相接种法构建组织工程骨在体内早期成骨显著,而且 PRP 很容易地由自体全血经两步离心获得,无毒、无免疫源性,所以 PRP 双相接种法是一个安全、实用、高效的细胞接种方法,可以有效输送细胞至三维多孔支架内的同时,输送自体生物因子,其中包括很多种生长因子。

[参考文献]

- [1] Li Y, Ma T, Kniss DA, et al. Effects of filtration seeding on cell density, spatial distribution, and proliferation in nonwoven fibrous matrices [J]. *Biotechnol Prog*, 2001, 17(5): 935-944.
- [2] Wendt D, Marsano A, Jakob M, et al. Oscillating perfusion of cell suspensions through three-dimensional scaffolds enhances cell seeding efficiency and uniformity [J]. *Biotechnol Bioeng*, 2003, 84(2): 205-214.
- [3] Wang J, Asou Y, Sekiya I, et al. Enhancement of tissue engineered bone formation by a low pressure system improving cell seeding and medium perfusion into a porous scaffold [J]. *Biomaterials*, 2006, 27(13): 2738-2746.
- [4] Karp JM, Sarraf F, Shoichet MS, et al. Fibrin-filled scaffolds for bone-tissue engineering: An in vivo study [J]. *J Biomed Mater Res A*, 2004, 71(1): 162-171.
- [5] Chim H, Schantz JT. Human circulating peripheral blood mononuclear cells for calvarial bone tissue engineering [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2006, 117(2): 468-478.
- [6] Zheng YX, Ringe J, Liang Z, et al. Osteogenic potential of human periosteum-derived progenitor cells in PLGA scaffold using allogeneic serum [J]. *J Zhejiang Univ SCIENCE B*, 2006, 7(10): 817-824.
- [7] Jaquie?ry C, Schaeren S, Farhadi J, et al. In vitro osteogenic differentiation and in vivo bone-forming capacity of human isogenic jaw periosteal cells and bone marrow stromal cells [J]. *Ann Surg*, 2005, 242(6): 859-868.
- [8] Toh YC, Ho ST, Zhou Y, et al. Application of a polyelectrolyte complex coacervation method to improve seeding efficiency of bone marrow stromal cells in a 3D culture system [J]. *Biomaterials*, 2005, 26(19): 4149-4160.
- [9] Ushida T, Furukawa K, Toita K, et al. Three-dimensional seeding of chondrocytes encapsulated in collagen gel into PLLA scaffolds [J]. *Cell Transplant*, 2002, 11(5): 489-494.
- [10] Taira M, Araki Y. Scaffold consisting of poly (lactide-caprolactone) sponge, collagen gel and bone marrow stromal cells for tissue engineering [J]. *J Mater Sci Lett*, 2001, 10(2): 1773-4.
- [11] Sittinger M, Huttmacher DW, Risbud MV. Current strategies for cell delivery in cartilage and bone regeneration [J]. *Curr Opin Biotechnol*, 2004, 15(5): 411-418.
- [12] 吕仁发, 周强, 许建中, 等. 双相接种法体外构建组织工程骨 [J]. *第三军医大学学报*, 2005, 27(16): 1656-1659.
- [13] 秦辉, 许建中, 王序全, 等. 双相接种技术构建组织工程骨的异位成骨观察 [J]. *第三军医大学学报*, 2005, 27(16): 1660-1662.
- [14] 吕仁发, 周强, 许建中, 等. 种子细胞双相接种技术促进组织工程骨体外成熟的研究 [J]. *中华创伤杂志*, 2006, 22(4): 291-295.
- [15] Eppley BL, Pietrzak WS, Blanton M. Platelet-rich plasma: a review of biology and applications in plastic surgery [J]. *Plast Reconstr Surg*, 2006, 118(6): 147e-159e.
- [16] Marx RE. Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP [J]. *Implant Dent*, 2001, 10(4): 225-228.
- [17] Yamada Y, Ueda M, Naiki T, et al. Autogenous injectable bone for regeneration with mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma: tissue-engineered bone regeneration [J]. *Tissue Eng*, 2004, 10(5-6): 955-964.
- [18] Sarkar MR, Augat P, Shefelbine SJ, et al. Bone formation in a long

- bone defect model using a platelet-rich plasma-loaded collagen scaffold [J]. *Biomaterials*, 2006, 27(9): 1817-1823.
- [19] Weibrich G, Hansen T, Kleis W, et al. Effect of platelet concentration in platelet-rich plasma on peri-implant bone regeneration [J]. *Bone*, 2004, 34(4): 665-671.
- [20] Bhanot S, Alex JC. Current applications of platelet gels in facial plastic surgery [J]. *Facial Plast Surg*, 2002, 18(1): 27-33.
- [21] 羊书勇, 毛天球, 程晓兵, 等. 富含血小板血浆和骨髓基质干细胞复合物修复兔颅骨缺损 [J]. *中国美容医学*, 2005, 14(2): 138-140.
- [22] Dallari D, Fini M, Stagni C, et al. In vivo study on the healing of bone

- defects treated with bone marrow stromal cells, platelet-rich plasma, and freeze-dried bone allografts, alone and in combination [J]. *J Orthop Res*, 2006, 24(5): 877-888.
- [23] Ohya M, Yamada Y, Ozawa R, et al. Sinus floor elevation applied tissue-engineered bone. Comparative study between mesenchymal stem cells/platelet-rich plasma (PRP) and autogenous bone with PRP complexes in rabbits [J]. *Clin Oral Implants Res*, 2005, 16(5): 622-629.

[收稿日期] 2010-12-28 [修回日期] 2011-03-20

编辑 / 张惠娟

· 论著 ·

腺苷 A2A 受体激活缺血后处理保护皮瓣作用研究

林煌, 董勇

(北京首都医科大学附属安贞医院整形激光科 北京 100029)

[摘要] 目的 缺血后处理需要反复夹闭血管蒂, 可能对血管造成机械性损伤。药物缺血后处理成为缺血后处理的发展方向。腺苷 A2A 是调控皮瓣炎症的关键靶点, 进行相关研究进一步探究腺苷 A2A 激活缺血后处理对皮瓣有无保护作用。方法 健康成年新西兰大白兔, 分为 3 组。A 组为假手术组, B 组为缺血再灌注损伤组, C 组, 再灌注前 5min 注射腺苷 A2A 激活剂。分别进行皮瓣存活率检测和 ELISA 检测 TNF 以及 IL-6。结果 腺苷 A2A 激活剂组皮瓣存活率高, 炎症因子检测活性低于缺血再灌注损伤组。结论 腺苷 A2A 激活剂缺血后处理可以抑制炎症因子, 具有保护皮瓣作用。运用腺苷 A2A 受体激活缺血后处理可能成为保护皮瓣的新措施。

[关键词] 腺苷 A2A 缺血后处理 皮瓣

[中图分类号] R622 [文献标识码] A [文章编号] 1008-6455(2011)04-0585-03

Study on the role of the ischemia postconditioning with adenosine A2A receptor agonist

LIN Huang, DONG Yong

(Department of Plastic Surgery, Anzhen Hospital, Capital University of Medical Science, Beijing 100029, China)

Abstract: **Objective** Ischemia postconditioning has been used performed on the vascular pedicle with repeated clamping and loosening which may compromise the vascular. The drug postconditioning is recorded as a future development, widely among heart and kidney and so on. Adenosine A2A is a key target to control the inflammation of the skin flap. So further research is performed to explore whether adenosine A2A postconditioning can protect the skin flap. **Methods** The healthy new Zealand rabbits are divided into 3 groups. A group is defined as sham group; B group is ischemia reperfusion group; C group, adenosine A2A is injected 5 minutes before the reperfusion. Then the examinations are held about the survival skin flap, TNF and IL-6. **Results** B group has a more survival percentage area of skin flap. The inflammation factor is lower than the ischemia-reperfusion group. **Conclusion** Adenosine A2A postconditioning can inhibit the inflammation factor and protect the skin flap. It can be a new therapeutic measure to protect the skin flap with adenosine A2A postconditioning.

Key words: Adenosine A2A; ischemia postconditioning; skin flap

缺血再灌注损伤的防治一直是众多学者关注的热点, 缺血预处理被发现为一种有效的减轻再灌注损伤的手段。在此基础上, 有学者提出了缺血后处理概念, 并且通过一系列动物实验证实后处理具有心肌、肌肉等保护作用。目前认为腺

苷 A2A 是调控皮瓣炎症的关键靶点, 而过度的炎症反应是导致皮瓣缺血再灌注损伤的主要机制之一。我们研究将腺苷 A2A 激活剂用于后处理皮瓣, 观察其是否产生保护效应和对下游炎症细胞因子表达影响。