

· 临床研究 ·

静脉应用胺碘酮对胸腔镜下持续性心房颤动射频消融术后复律作用的影响

周晓凯, 龚婵娟, 方 印*

南京医科大学第一附属医院麻醉与围术期医学科, 江苏 南京 210029

[摘要] 目的:探讨静脉应用胺碘酮对胸腔镜下持续性心房颤动(房颤)射频消融术后复律作用的影响。方法:选择2018年1月—2020年3月在南京医科大学第一附属医院行胸腔镜下持续性房颤射频消融术患者180例。随机分为胺碘酮组($n=90$)和对照组($n=90$),两组均采用负荷量加维持量给药方案,胺碘酮组在麻醉诱导后静脉应用胺碘酮负荷量150 mg,随后以1 mg/min泵速维持至手术结束;对照组则泵入等量生理盐水。结果:胺碘酮组消融完成后、电复律后、手术结束时房颤转复率均高于对照组($P < 0.05$)。胺碘酮组术中心率和平均动脉压明显低于对照组($P < 0.05$),术中心率和平均动脉压趋于稳定($P < 0.05$),术中正性肌力药和缩血管药用量高于对照组($P < 0.05$)。结论:胸腔镜下持续性房颤射频消融术中静脉应用胺碘酮,可提高消融完成后整体房颤转复率和术中电复律成功率,且更利于术中血流动力学的管理。

[关键词] 胸腔镜;持续性心房颤动;射频消融;胺碘酮

[中图分类号] R614.2

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2020)11-1668-05

doi: 10.7655/NYDXBNS20201117

心房颤动(房颤)是一种常见的快速性室上性心律失常,可导致卒中、心力衰竭甚至猝死等危害。在发展中国家其患病率为1%~2%,随着年龄的增长而增加,在我国发达地区90岁以上的人群中患病率高达9.16%^[1]。目前介入下导管消融是治疗房颤的主要方式,但对于持续性房颤而言,导管消融的成功率相对低下^[2],且介入下行一站式左心耳封堵额外增加了患者的手术风险和治疗费用。胸腔镜辅助下房颤微创射频消融由Wolf等^[3]在2005年首次报道,该手术方式创伤小、并发症少、消融效果好,可以同期进行左心耳切除,具有内科治疗无法比拟的优势,已成为房颤外科治疗的新方向。

胺碘酮是Ⅲ类抗心律失常药,对于房颤具有转复心律和维持窦性心律的作用,且可以安全用于有器质性心脏病的患者。Kaitani等^[4]研究表明,导管消融术后口服胺碘酮可以降低术后早期房颤复发率;此外胺碘酮还可以降低术后早期因房性心律失常再次住院率或接受电复律的次数^[5]。然而,外科房颤消融后使用胺碘酮的研究较少,尤其是外科手

术中静脉应用胺碘酮对患者心律转复的影响目前还缺乏相关文献的支持。因此,本研究主要通过术中静脉应用胺碘酮,观察胸腔镜下持续性房颤射频消融术后患者心律转复的情况。

1 对象和方法

1.1 对象

本研究经医院伦理委员会批准(2020-R-114),并与患者签署知情同意书。选择2018年1月—2020年3月在南京医科大学第一附属医院行胸腔镜下持续性房颤射频消融术患者180例。

符合下列纳入标准:①年龄18~75岁;②符合2014年美国心脏协会(American Heart Association, AHA)指南有关房颤的诊断标准^[6];③非瓣膜性房颤;④美国麻醉师协会(ASA)分级I~Ⅲ级;⑤纽约心脏病协会(NHYA)分级I~Ⅲ级。

排除标准:①术前服用I类及Ⅲ类抗心律失常药;②术前QTc \geq 480 ms或QT \geq 500 ms;③24 h平均心率 $<$ 50 bpm;④合并高度或3度房室传导阻滞;⑤左房内径 $>$ 50 mm;⑥左室射血分数 $<$ 30%;⑦合并甲状腺功能异常;⑧合并风湿性心脏病;⑨既往有瓣膜置换或成形史;⑩电解质紊乱;⑪胺碘酮过敏;⑫肝肾功能不全;⑬左心耳血栓形成;⑭肺纤维化。

[基金项目] 南京领军型科技创业人才引进计划(2014B06011)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: yitianfang@sina.cn

1.2 方法

1.2.1 干预措施

采用随机数表法,将患者分为胺碘酮组和对照组。给药方案为负荷量+维持量方式。胺碘酮组患者在麻醉诱导完成后开始泵注负荷量胺碘酮 150 mg, 5 min 内匀速泵完;负荷量完成后随即以维持量 1 mg/min 泵注至手术结束。对照组则在对应时间点,以相同速度泵入同等剂量的生理盐水^[6]。

1.2.2 麻醉方法

患者术前常规禁食 8 h, 禁饮 4 h。入室后建立右上肢静脉通路,常规监测心电图、脉搏血氧饱和度和脑电双频指数(BIS),并在局麻下行左桡动脉穿刺置管监测有创血压。麻醉诱导:咪达唑仑 0.05 mg/kg, 顺式阿曲库铵 0.15 mg/kg, 依托咪酯 0.3 mg/kg, 芬太尼 4~7 μ g/kg, 可视喉镜下插入双腔气管导管,并进行右颈内静脉穿刺置管。术中单肺通气参数:潮气量 6~8 mL/kg, 吸呼比值 1:1.5, 调整呼吸频率使呼吸末二氧化碳分压($P_{ET}CO_2$)维持于 35~45 mmHg, 加用呼气末正压 5 cmH₂O。为防止术中突发不良心血管事件,常规放置体表除颤电极片。麻醉维持:丙泊酚 1~2 mg/(kg·h), 顺式阿曲库铵 0.6 mg/(kg·h), 瑞芬太尼 0.2~0.3 μ g/(kg·min), 七氟烷 1%~3%吸入, BIS 值维持于 40~60。切皮前追加芬太尼。术中常规泵入多巴胺、去甲肾上腺素和硝酸甘油维持血流动力学稳定。术中食道超声协助循环管理及排除左心耳有无血栓。

1.2.3 手术方法

患者取仰卧位,左侧垫高约 15°,先进行左侧操作,再进行右侧操作。左侧操作为:取左侧腋中线第 4 肋间、腋前线第 3 肋和第 5 肋间各作 1 cm 切口置入胸腔镜和消融装置,在膈神经后方纵行切开并悬吊心包,先用切割缝合器进行左心耳切除,再用双极射频消融隔离钳于左侧上下肺静脉根部消融,重复消融共 6 次,然后用双极射频消融笔消融左心房顶部和后壁,最后用双极射频消融笔消融 Marshall 韧带上下方并剪刀剪断 Marshall 韧带。右侧操作与左侧相类似:先用双极射频消融隔离钳于右侧上下肺静脉根部消融,重复消融共 6 次,再用双极射频消融笔消融左心房顶部和后壁。双侧操作完成后最终形成双侧肺静脉隔离消融线和左房后壁盒式消融线。

双侧消融完成后,若患者仍为房颤心律,则进行体表双向波电复律 1~2 次,首次复律能量 150 J, 第 2 次为 200 J。

1.2.4 观察指标

分别记录两组患者静脉给予试验药物负荷量前(T1)、负荷量给完后(T2)、左心耳切除后(T3)、双侧消融完成后(T4)、手术结束时(T5)的心律、心率及平均动脉压;记录两组患者术中血管活性药物总用量、消融完成后及手术结束时房颤转归情况。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 21.0 统计软件分析。正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用成组 *t* 检验;两组不同时间点比较采用重复测量方差分析,重复测量方差分析前均进行球形性检验,并以 H-F 法调整相关的自由度;计数资料以例数和百分比(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

两组患者性别、年龄、体重指数(body mass index, BMI)值、左房大小、左室射血分数、NYHA 分级、房颤病程和术前危险因素(高血压、糖尿病、高血脂、卒中史、吸烟史)等比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 不同时间点房颤转归比较

表 1 显示了两组患者房颤转归情况。消融完成后,胺碘酮组房颤转复率高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=5.473, P < 0.05$);消融未转复窦性心律而进一步进行电复律的患者中,胺碘酮组房颤转复率高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=7.274, P < 0.05$);手术结束时两组患者房颤总转复率,胺碘酮组高于对照组,差异也具有统计学意义($\chi^2=9.423, P < 0.05$)。

表 1 两组患者房颤转归情况比较

组别	消融转复率	电复转复率	总转复率
	[n(%)]	[%(n/N)]	[n(%)]
胺碘酮组(n=90)	22(24.4)	92.6(63/68)	85(94.4)
对照组(n=90)	10(11.1)	76.3(61/80)	71(78.9)
χ^2 值	5.473	7.274	9.423
<i>P</i> 值	0.019	0.007	0.002

表 2 可知术中各时间点房颤心律情况:两组患者 T1、T2、T3 时房颤心律百分比差异无统计学意义($P > 0.05$), T4 和 T5 时胺碘酮组房颤心律百分比低于对照组,差异均具有统计学意义(T4: $\chi^2=5.473, P=0.019$; T5: $\chi^2=9.423, P=0.002$)。

表2 两组患者不同时间点房颤心律情况比较

[n(%)]

组别	T1	T2	T3	T4	T5
胺碘酮组(n=90)	90(100.0)	90(100.0)	90(100.0)	68(75.6)	5(5.6)
对照组(n=90)	90(100.0)	90(100.0)	90(100.0)	80(88.9)	19(21.1)
P值	1	1	1	0.019	0.002

2.3 不同时间点心率变化比较

两组患者各时间点心率比较结果见表3。经两因素重复测量方差分析发现,胺碘酮组心率整体低于对照组($F_{\text{组间}}=108.50, P < 0.05$),两组心率整体随着时间延长而降低($F_{\text{时间}}=297.03, P < 0.05$, H-F调整系数:0.77),胺碘酮组心率下降幅度大于对照组($F_{\text{交互}}=160.00, P < 0.05$, H-F调整系数:0.77)。两组组内进行Dunnett-*t*检验,胺碘酮组T2~T5时间点和T1时间点心率相比,差异有统计学意义($P < 0.05$);对照组T2时间点和T1时间点心率相比差异有统计学意义($P < 0.05$),而T3~T5时间点和T1时间点心率相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。胺碘酮组和对照组比较,在T2~T5时间点胺碘酮组心率明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$,表3)。

2.4 不同时间点平均动脉压变化比较

两组患者各时间点平均动脉压比较显示(表

4):经两因素重复测量方差分析发现,胺碘酮组平均动脉压整体低于对照组($F_{\text{组间}}=133.49, P < 0.05$),两组平均动脉压整体随着时间延长而降低($F_{\text{时间}}=104.76, P < 0.05$, H-F调整系数:0.63),胺碘酮组平均动脉压下降幅度大于对照组($F_{\text{交互}}=136.80, P < 0.05$, H-F调整系数:0.63)。两组组内进行Dunnett-*t*检验,胺碘酮组T2~T5时间点与T1时间点平均动脉压相比,差异有统计学意义($P < 0.05$);对照组T5时间点与T1时间点平均动脉压相比差异有统计学意义($P < 0.05$),而T2~T4时间点平均动脉压与T1时间点相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。胺碘酮组和对照组比较,在T2~T5时间点胺碘酮组平均动脉压明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$,表4)。

2.5 术中血管活性药物使用比较

两组患者术中血管活性药物使用情况比较(表5),胺碘酮组多巴胺和去甲肾上腺素总量明显高于

表3 两组患者不同时间点心率比较

(次/min, $\bar{x} \pm s$)

组别	T1	T2	T3	T4	T5
胺碘酮组(n=90)	94.9 ± 6.8	72.6 ± 7.2 [#]	75.6 ± 7.6 [#]	75.5 ± 6.7 [#]	75.1 ± 6.4 [#]
对照组(n=90)	96.7 ± 14.4	90.8 ± 13.3 [#]	93.3 ± 12.4	94.7 ± 14.0	96.5 ± 13.5

组别和时间点整体分析:两因素重复测量方差分析;组内T2~T5时间点和T1比较:Dunnett-*t*检验;组间相同时间点比较:成组*t*检验。与对照组相同时间点相比,[#] $P < 0.01$ 。与T1时比较,[#] $P < 0.05$ 。

表4 两组患者不同时间点平均动脉压比较

(mmHg, $\bar{x} \pm s$)

组别	T1	T2	T3	T4	T5
胺碘酮组(n=90)	87.7 ± 6.1	74.1 ± 6.0 [#]	76.9 ± 6.2 [#]	76.7 ± 6.3 [#]	77.1 ± 5.1 [#]
对照组(n=90)	89.2 ± 6.7	88.9 ± 7.1	91.6 ± 11.6	89.2 ± 7.4	93.1 ± 10.4 [#]

组别和时间点整体分析:两因素重复测量方差分析;组内T2~T5时间点和T1比较:Dunnett-*t*检验;组间相同时间点比较:成组*t*检验。与对照组相同时间点相比,[#] $P < 0.01$ 。与T1时比较,[#] $P < 0.05$ 。

对照组,差异有统计学意义(多巴胺: $t=15.309, P < 0.001$;去甲肾上腺素: $t=8.528, P < 0.001$);而胺碘酮组硝酸甘油总量低于对照组,差异亦有统计学意义($t=-4.832, P < 0.001$)。

3 讨论

房颤作为最常见的心律失常之一,其发病率逐渐增加。流行病学研究发现,发达国家房颤的患病人数大约为3 200万,而在发展中国家患病人数可能更多^[7]。有研究预测,到2030年,欧洲国家的房

表5 两组患者术中血管活性药物总量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	多巴胺(mg)	去甲肾上腺素(mg)	硝酸甘油(mg)
胺碘酮组(n=90)	24.53 ± 7.62	0.95 ± 0.33	1.28 ± 0.16
对照组(n=90)	10.38 ± 4.33	0.63 ± 0.15	1.47 ± 0.34
<i>t</i> 值	15.309	8.528	-4.832
P值	< 0.001	< 0.001	< 0.001

颤患病人数将达1 400万~1 700万,且以每年12万~15万的人数增加^[8],而高龄患者以及合并高血压病、心力衰竭、冠心病、糖尿病、瓣膜疾病或慢性肾病的

患者,其房颤的发病率较普通人群更高^[9]。大量研究表明,房颤可导致血栓栓塞事件、心力衰竭甚至猝死等危害,其中心源性血栓引起的缺血性脑卒中和认知功能下降是房颤最常见的并发症,占缺血性脑卒中发病原因的25%~30%^[10];同时,房颤患者卒中的发生率是非房颤患者的5倍,且心血管和全因死亡率显著增加^[11]。因此,房颤的诊治引起了越来越多的临床关注。

节律控制是房颤治疗的重要组成部分,包括药物治疗、电复律、导管消融和外科消融等。胸腔镜下微创房颤射频消融在2005年由Wolf医生成功实施,其术后3个月的房颤转复率高达91.5%^[3],之后该技术在房颤的外科治疗领域得到了广泛开展。一项荟萃分析比较了胸腔镜下房颤消融和内科导管消融的有效性和安全性,结果显示微创消融总体的房颤转复率高于导管消融,阵发性房颤导管消融的成功率接近微创消融,但并发症更少;长程持续性房颤微创消融的成功率明显优于导管消融;而对于持续性房颤而言,考虑到有效性和安全性的问题,二者孰优孰劣仍具有争议^[12]。然而,在微创房颤消融中,可以同时行左心耳切除,避免了房颤所致栓塞事件的发生,这一点较导管消融具有一定优势。

胺碘酮作为广谱的抗心律失常药物,可安全应用于心衰、冠心病和左室肥厚患者^[13-14]。胺碘酮不仅能转复房颤节律,同时对房颤转复后的窦性心律有较好的维持。大量研究表明,导管消融术后短期服用胺碘酮对窦性心律的长期维持有一定帮助^[15]。在微创房颤消融方面,胺碘酮相关研究甚少。Niv等^[16]研究结果显示,胸腔镜下房颤消融术后口服胺碘酮的患者,术后3个月其窦性心律维持率明显高于未服用胺碘酮的患者。这表明胺碘酮在微创房颤消融术后维持窦性心律是有益的。

本研究结果显示,在微创房颤消融手术中,麻醉诱导后静脉应用胺碘酮至手术结束,消融完成后房颤的转复率明显增加,而未恢复窦性心律的患者进一步行电复律治疗,其电复律的成功率也明显增加。总体而言,静脉应用胺碘酮的患者,手术结束时房颤的转复率较未应用者显著提高。房颤由于心脏节律不规整和心率波动性大,术中循环和心率的管理难度增加。而本研究结果表明,应用胺碘酮组患者的心率和平均动脉压在手术中整体低于对照组患者,并且术中心率和平均动脉压较对照组更加平稳。这提示胺碘酮的应用可有助于手术中心

率和血压稳定。然而,胺碘酮组患者正性肌力药和缩血管药的使用量明显高于对照组、扩血管药使用量则低于对照组,这可能是因为胺碘酮有降低心率和血压的作用,但胺碘酮组患者的心率和平均动脉压仍控制在正常范围内,因而术中静脉应用胺碘酮相对安全且有利于术中血流动力学的管理。

综上所述,胸腔镜下持续性房颤射频消融术中静脉应用胺碘酮,可提高手术结束后房颤转复率和术中电复律成功率,虽然术中血管活性药用量增加,但患者的心率和平均动脉压更加平稳,更有利于血流动力学的管理。

[参考文献]

- [1] 周 俊,李志明,李 双,等. 上海市社区老年人群心房颤动的流行病学调查[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2018,38(9):1314-1318
- [2] HALDAR S K, JONES D G, BAHRAMI T, et al. Catheter ablation vs. electrophysiologically guided thoracoscopic surgical ablation in long-standing persistent atrial fibrillation: the CASA - AF study [J]. *Heart Rhythm*, 2017, 14(11):1596-1603
- [3] WOLF R K, SCHNEEBERGER E W, OSTERDAY R, et al. Video-assisted bilateral pulmonary vein isolation and left atrial appendage exclusion for atrial fibrillation [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2005, 130(3):797-802
- [4] KAITANI K, INOUE K, KOBORI A, et al. Efficacy of antiarrhythmic drugs short-term use after catheter ablation for atrial fibrillation (EAST-AF) trial [J]. *Eur Heart J*, 2016, 37(7):610-618
- [5] DARKNER S, CHEN X, HANSEN J, et al. Recurrence of arrhythmia following short-term oral AMIODARONE after CATHETER ablation for atrial fibrillation: a double-blind, randomized, placebo-controlled study (AMIO-CAT trial) [J]. *Eur Heart J*, 2014, 35(47):3356-3364
- [6] JANUARY C T, WANN L S, ALPERT J S, et al. 2014 AHA/ACC/HRS guideline for the management of patients with atrial fibrillation: a report of the American college of cardiology/American heart association task force on practice guidelines and the heart rhythm society [J]. *J Am Coll Cardiol*, 2014, 64(21):e1-e76
- [7] DILAVERIS P E, KENNEDY H L. Silent atrial fibrillation: epidemiology, diagnosis, and clinical impact [J]. *Clin Cardiol*, 2017, 40(6):413-418
- [8] STEGMANN C, HINDRICKS G. Atrial fibrillation in heart failure - diagnostic, therapeutic, and prognostic relevance [J]. *Curr Heart Fail Rep*, 2019, 16(4):108-115
- [9] KIRCHHOF P, BENUSSI S, KOTECHA D, et al. 2016

(下转第1691页)

their apoptosis level were increased after LPS stimulation ($P < 0.05$). However, STS can partially reverse the described effects of LPS in a dose-dependent manner ($P < 0.05$). **Conclusion:** STS inhibits LPS-induced dysfunction and apoptosis in HUVEC, thus exerts protective effects on vascular endothelium.

[Key words] sodium tanshinone II A sulfonate; human umbilical vein endothelial cell; LPS; IL-1 β ; cleaved caspase-3; cleaved caspase-9

[J Nanjing Med Univ, 2020, 40(11): 1590-1596]

内皮细胞是构成血管内膜的主要细胞类型,其直接与血液成分发生接触,参与维持血管内膜的完整性和通透性。在体内外损伤因素的作用下,内皮细胞可以发生活力减低、炎症因子释放增加、迁移能力减弱等功能异常,同时伴有凋亡水平的增高^[1-2]。革兰阴性菌胞壁成分脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)是常见的炎症介质,能够在体外条件下通过核因子 κ B(nuclear factor- κ B, NF- κ B)依赖的方式,引起人脐静脉内皮细胞(human umbilical vein endothelial cell, HUVEC)上白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 等炎性因子的高表达,并抑制其迁移修复能力^[3-4]。丹参是祖国医学中传统的活血化瘀药,其活性成分之一是丹参酮II A磺酸钠(sodium tanshinone II A sulfonate, STS),它能够通过抑制NF- κ B-p65表达,抑制血管内皮细胞黏附分子表达,减少单核细胞黏附和血管内膜炎症^[5]。尽管STS对血管内皮的保护作用已有了部分报道,但其对LPS引起的血管内皮细胞功能异常和凋亡的调控作用仍有待进一步探讨。为此,本研究以HUVEC作为体外内皮细胞模型,探讨不同浓度STS对LPS引起的HUVEC功能异常和凋亡的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

HUVEC(ATCC,美国);LPS(上海昂一生物科技有限公司);STS(上海上药第一生化药业有限公司);CFSE(5,6-carboxyfluorescein diacetate succinimidyl ester)、Annexin V/PI凋亡双染试剂盒、人IL-1 β ELISA试剂盒(杭州联科生物技术有限公司);核蛋白抽提试剂盒(沈阳万类生物科技有限公司);DMEM高糖培养基(Gibco公司,美国);胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)(Wisent公司,加拿大);CCK-8试剂盒(南京厚载生物科技有限公司);兔抗人IL-1 β 多克隆抗体、兔抗人 β -actin多克隆抗体和兔抗人PCNA多克隆抗体(武汉博士德生物工程有限公司);兔抗人NF- κ B p65单克隆抗体、兔抗人cleaved

caspase-3多克隆抗体、兔抗人cleaved caspase-9多克隆抗体(Cell Signaling Technology公司,美国);辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔IgG抗体(上海康为世纪公司);蛋白转运抑制剂Monensin(Sigma-Aldrich公司,美国);DFC300FX荧光显微镜(Leica公司,德国);光学倒置显微镜(Olympus公司,日本)。

1.2 方法

1.2.1 HUVEC的培养与处理

HUVEC细胞用含1 000 U/L青霉素、100 ng/L链霉素以及含10% FBS的DMEM培养液,在5% CO₂、37 °C饱和湿度培养箱中进行培养。取对数生长期的HUVEC种于6孔板内,待融合率达80%时,分组处理如下:DMEM组、LPS(1.0 μ g/mL)处理组、高浓度(50.0 μ g/mL)STS预处理组、中浓度(25.0 μ g/mL)STS预处理组和低浓度(12.5 μ g/mL)STS预处理组。各STS预处理组均在1 μ g/mL LPS刺激前加入对应浓度的STS干预细胞2 h。所有刺激物均以含10%FBS的DMEM培养液稀释。

1.2.2 CCK-8法检测HUVEC的细胞活力

在96孔板中加入HUVEC细胞悬液100 μ L(细胞浓度为 6×10^5 个/mL),边缘孔用等体积的PBS填充。在培养箱中孵育12 h后,按1.2.1所述方法分组处理。之后,向每孔中加入10 μ L CCK-8溶液或等体积DMEM,继续孵育4 h。以仅含有培养基和CCK-8溶液而无HUVEC的孔作为空白组,以加入DMEM而非CCK-8溶液的孔作为对照组,采用分光光度计测定450 nm处的吸光值并按如下公式计算各组HUVEC的增殖活力:细胞增殖活力=(实验组吸光值-空白组吸光值)/(对照组吸光值-空白组吸光值) $\times 100\%$ 。

1.2.3 CFSE法检测HUVEC增殖

将CFSE用DMSO溶解成10 mmol/L的储存液,-20 °C保存备用。弃去HUVEC培养基,预冷PBS洗3次后,用0.25%胰蛋白酶消化细胞并计数。取 1×10^6 个/mL细胞,1 000 r/min离心5 min,弃去上清液;