DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.07.004
第26卷第7期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 7
2004年4月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Apr. 2004

文章编号:1000-5404(2004)07-0569-04

论著

不同取片方式对植入贫铀片大鼠组织铀浓度的影响

李 蓉,艾国平,徐 辉,任 洞,楼淑芬,程天民,粟永萍,郑怀恩,黄跃生,蒋建新 (第三军医大学预防医学系全军复合伤研究所,烧伤创伤复合伤国家重点实验室,重庆 400038)

提 要:目的 取出嵌入的贫铀弹片后,其周围组织中仍有高浓度的贫铀污染,研究何种取片方法能最低限度减轻这种污染,对减轻机体损伤有重要意义。方法 动物麻醉状态下手术植入贫铀片,10 d后以各种不同的方法取出,分为常规手术组、术前4%碳酸氢钠去污组、创口去污组、更换手术器械组、剪去周围组织组和综合法组,在取片后第7、14、21天收集组织样本,测定铀含量。结果 以常规手术组组织铀含量最高,术前去污组、切口去污组和更换器械组次之,剪去周围组织铀含量下降较大,综合组最低。结论 综合应用各种方法实行手术,即术前4%碳酸氢钠去污+切口去污+更换器械+剪去周围组织效果最好,可大大减少铀吸收。

关键词:贫铀;弹片;浓度
中图法分类号:R-332;R615;R818.05 文献标识码:A

Effects of different surgical methods for removal of DU fragments on the uranium concentration in rat tissues

LI Rong, AI Guo-ping, XU Hui, REN Jiong, LOU Shu-fen, CHENG Tian-min, SU Yong-ping, ZHENG Huai-en, HUANG Yue-sheng, JIANG Jian-xin (State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Combined Injury, College of Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To find out the best method for elimination of uranium contamination in rat tissues as low as possible by removal of shrapnel fragments. Methods Experimental rats were divided into six groups: route group, decontamination-before-surgery group, decontamination-in-incision group, changing-surgical-appliances group, removing-tissues-around group, and comprehensive-method group. Uranium concentrations in tissues and fluids in all groups were measured at 7, 14, and 21 d after operation. The efficiency of decontamination by different methods was compared. Results The highest uranium concentration in tissues was found in the route group, but the lowest in the comprehensive-method group, and the second lowest in removing-tissues-around group. Conclusion The comprehensive method is the best one in all of the surgical removal methods. The soft tissues around DU shrapnels should be removed if they are not critical organs.

Key words: depleted uranium; fragment; concentration

海湾战争中,一些美国军人被贫铀(depleted uranium, DU)弹所伤,当时美国防部[1]取出贫铀弹片的指导原则是按常规金属弹片处理,故在手术中,大弹片被取出,嵌入肌肉中的小弹片则被留在原位[2]。研究初步表明,在啮齿动物模型中,植入的贫铀弹片溶解,肾脏、骨骼是铀沉积的主要器官[3]。用贫铀处理培养的人成骨细胞、支气管上皮细胞,可使细胞向肿瘤表型转化[4,5]。有贫铀片植入的部位,因贫铀在机体溶解,取片后其周围肌肉组织仍有高浓度的污染,故研究常规手术方法、术前4%碳酸氢钠去污创面、切口去污和术中更换手术器械等不同的取片方式中,哪一种能更好清除体内的贫铀污染,减轻铀对机体的长期损伤,其结果对指导处理贫铀弹片嵌入伤有重要意义。

1 材料和方法

1.1 材料和试剂

DU片是由99.25%的DU和0.75%的钛组成,其中铀同位素的组成:^{238}U占99.75%,^{235}U占0.2%以及痕量的^{234}U,每个

基金项目:全军"十五"指令性课题(01L061)
Supported by the Mandatory Scientific Research Project of the "Tenth Five-year Plan" of PLA (01L061)
作者简介:李 蓉(1970-),女,四川省阆中市人,博士,讲师,主要从事放射防护和放射生物学方面的研究,发表论文10余篇。电话:(023)68752355
通信作者:粟永萍,电话:(023)68752009
收稿日期:2003-10-24;修回日期:2003-12-27

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

DU片约7 mm×4 mm×0.1 mm，每只大鼠约植入0.2 g，共约3～5片。戊巴比妥钠购自上海化学试剂公司，抗干扰(铀)荧光增强剂购自北京核工业第三研究院。LT-8812型激光时间分辨发光分析仪由北京核工业第三研究院生产。

1.2 动物分组及处理

全部选用雌性健康Wistar大鼠95只，6～8周龄，体质量150～180 g，由第三军医大学实验动物中心提供。每个时相点5只大鼠。2%戊巴比妥钠1 ml/kg腹腔注射麻醉，剪去颈部和后肢手术部位皮毛，碘伏和75%酒精消毒，切开皮肤和肌肉，钝性分离肌肉，放入贫铀片，缝合。术后第1天，将大鼠单笼饲养，以防相互间撕咬伤口创面，24 h后按组别一起饲养在大鼠笼中。在整个实验过程中，各组在植入后10 d取出DU片，正常对照组不植入DU片。

常规手术组：按取出普通金属弹片的方法取出贫铀片，即为对照组；术前去污组：术前用已消毒的4%碳酸氢钠微温溶液冲洗手术创面；切口去污组：取出弹片后，用4%碳酸氢钠微温溶液冲洗切口周围的组织进行去污；器械更换组：术中及时更换洁净的手术器械，即将用过的器械置于0.1 mol/L稀硝酸中浸泡数分钟后，蒸馏水冲洗，再置于器械液中浸泡消毒；剪去周围组织组：取出贫铀弹片后，剪去可能被污染的周围组织后再缝合(注意保护关键组织)；综合方法组：将术前去污、切口去污、更换器械、剪去周围组织等措施均实施，即综合各种方法进行。样本收集：在取片后第7、14、21 d收集样本。收集尿、血液，处死大鼠后，取出肺、肝、肾、胸骨、卵巢和肌肉，保存于－20 ℃冰箱，后进行铀含量的测定。

1.3 铀含量的测定

1.3.1 样品的预处理：尿液样本用湿灰化法处理，即取5 ml尿样，加入2 ml 16 mol/L HNO_3，电炉上140 ℃左右加热；再加入2 ml H_2O_2，加热，一般约经过10余次循环后，样品变成白色松散灰状；血液及固体组织用干、湿灰化相结合的方法处理。取血液样本约3 ml，炭化至不冒烟；将肾等固体组织称重后，剪成小块，平铺于烧瓶底，炭化(温度140 ℃左右)后，放入马弗炉中，450～500 ℃加热6～8 h，至样品成白色或灰白色，取出冷却。再加入HNO_3和H_2O_2进行湿灰化，过程同上。

1.3.2 分析试液的制备 向预处理过的样品中加入2 g过硫酸铵，5 ml蒸馏水，加热至气泡冒尽。适量蒸馏水溶解，用NaOH和HNO_3调节pH值至3～4，在10 ml容量瓶中定容。

1.3.3 激光时间分辨发光分析仪测定铀含量

1.3.3.1 样品测量 激光时间分辨发光分析仪的测量条件是：延迟时间25 μs，门宽时间100 μs，累积次数20×8，仪器灵敏度6.0。取4.5 ml分析试液于石英杯中，测量相对荧光强度读数N_0；加入0.5 ml抗干扰(铀)荧光增强剂，搅匀后测量相对荧光强度读数N_1；计算N_1-N_0。

1.3.3.2 标准曲线的绘制 每类样品中选3份(N_1-N_0)值在2 000～5 000的分析试液，将3份混成1份，从中取4.5 ml于石英杯中，测量N_0；加入0.5 ml荧光增强剂，测量N_1；再依次加入50、100、200、500 μl的100 ng/ml标准铀工作液，搅匀后测得相对荧光强度N_2。计算2次荧光强度之差N_2-N_1，绘制荧光强度与铀浓度之间的关系曲线。

1.3.3.3 结果计算 $$Cx=A\left\{[(V_b+V_k)N_1]/V_b-N_0\right\}\cdot V_a/V_b\cdot k\cdot 1/R$$

式中，Cx—被测尿样中铀的含量，μg/L；

A— 由标准曲线查得或由数学表达式计算得到的一个计数所相当的铀含量，μg/计数；

V_a—分析试液的体积，ml；

V_b—测量时取分析试液的体积，ml；

V_k—加入荧光增强剂的体积，ml；

R—分析方法全程回收率，%；

K—体积换算系数；

N_1—加入荧光增强剂后的相对荧光强度计数；

N_0—未加入荧光增强剂的相对荧光强度计数。

1.3.3.4 质控方法 每次测量前用石英杯进行本底测量，在一定期间内用已知铀浓度的标准铀工作液进行质量控制测量。用该方法分析铀的最低探测限值是0.05 ng/ml。血液和尿液的回收率分别是(89±11)%，(95±6)%。

1.4 统计学处理

按各时相点计算单位质量(或体积)的铀浓度(ng/ml或ng/g)的平均值，大于该组平均值2个标准差的数据剔除。用SPSS10.0软件进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 取片后第7天

比较几种方法，以常规组各组织(体液)铀含量最高，如肾铀和肌肉铀分别达18 528.1 ng/g和15 166.1 ng/g，术前去污组、切口去污组和更换器械组次之，剪去周围组织组铀含量下降较大，综合组最低($P\leqslant 0.05$)，肾铀和肌肉铀分别为3 791.8 ng/g和1 430.3 ng/g，已大大下降数倍。剪去污染的肌肉后可使肌肉铀含量大大降低，但综合法更能降低组织铀含量，见表1。各组织中，以肾脏的铀含量为最高，肌肉次之，然后依次是卵巢、胸骨，尿液、血液最低。

表1 不同方式取片后第7天大鼠组织铀含量(ng/ml或ng/g)($n=5$，$\bar{x}\pm s$)

Tab 1 Uranium concentration in some tissues and fluids at 7 d after depleted uranium shrapnel fragments removed by different methods ($n=5$，$\bar{x}\pm s$)

Tissue	Urine	Blood	Muscle	Sternum	Kidney	Ovary
Route method	198.2±28.2	180.1±98.7	15 166.1±3 954.7 *	502.8±124.8	18 528.1±5 649.1 *	830.9±234.7
Decontamination-before-surgery	180.7±45.6	163.3±56.4	12 809.2±2 567.8 *	447.7±103.8	16 492.8±5 716.9 *	792.4±246.8
Changing-surgical-appliances	152.0±36.4	143.7±61.8	12 947.1±4 468.1 *	460.9±110.4	15 842.3±4 691.0 *	748.8±131.2
Decontamination-in-incision	100.4±45.7 *	99.3±25.7 *	9 877.6±1 346.0 *	342.3±56.4 *	14 665.2±2 467.2 *	656.4±98.4
Removing-tissues-around	85.1±13.8 *	75.4±10.3 *	4 975.6±806.8 *	272.6±64.2 *	8 654.3±1 346.1 *	440.2±94.3 *
Comprehensive method	74.8±11.4 *	51.9±14.7 *	1 430.3±298.5 *	144.9±23.1 *	3 791.8±954.3 *	164.4±54.7 *

*：$P<0.05$，*vs* route method

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

2.2　取片后第 14 天

取片后第 14 天, 见表 2, 各组的组织铀含量均较第 7 天明显下降, 变化趋势与第 7 天时大致相似, 说明取片 14 d 后, 组织铀含量下降较显著, 尤其是肾铀和肌肉铀含量, 如综合组已分别降至 2 197.3 ng/g 和 2 075.9 ng/g, 比常规手术组的 11 421.8 ng/g 和 10 439.1 ng/g 下降很多。

2.3　取片后第 21 天

取片后第 21 天, 见表 3, 各组组织铀含量均较第 7、14 天进一步下降, 变化趋势与第 14 天时大致相似, 说明取片 21 d 后, 组织铀含量下降仍显著。

表 2　不同方式取片后第 14 天大鼠组织铀含量 (ng/ml 或 ng/g) ($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 2　Uranium concentration in some tissues and fluids at 14 d after depleted uranium shrapnel fragments removed by different methods ($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

Tissue	Urine	Blood	Muscle	Sternum	Kidney	Ovary
Route method	158.3±34.1	143.4±58.3	10 439.1±3 480.4	687.5±154.9	11 021.8±5 731.0	734.5±346.8
Decontamination-before-surgery	135.7±35.6	123.7±60.8	9 562.2±2 551.3	538.3±141.9	11 349.1±743.2	727.3±302.1
Changing-surgical-appliances	122.9±24.6	120.8±54.9	9 061.7±3 323.8	448.2±124.7 *	10 542.8±3 504.7	701.1±240.7
Decontamination-in-incision	133.1±51.8	128.9±34.7	8 759.4±1 268.1	407.5±87.0	10 649.2±3 521.8	401.5±110.2 *
Removing-tissues-around	88.1±23.5 *	94.5±9.0 *	5 421.6±1 413.1	257.1±103.9 *	7 731.2±1 035.7	340.1±113.8 *
Comprehensive method	60.4±10.6 *	54.3±12.5 *	2 075.9±702.7	107.8±67.0 *	2 197.3±821.9	134.4±91.3 *

*: $P<0.05$, *vs* route method

表 3　不同方式取片后第 21 天大鼠组织铀含量(ng/ml 或 ng/g) ($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

Tab 3　Uranium concentration in some tissues and fluids at 21 d after depleted uranium shrapnel fragments removed by different methods ($n=5$, $\bar{x}\pm s$)

Tissue	Urine	Blood	Muscle	Sternum	Kidney	Ovary
Route method	137.8±44.0	212.4±60.4	8 457.3±823.6	581.3±144.9	10 702.4±4 046.5	680.4±243.7
Decontamination-before-surgery	128.6±35.0	194.6±71.4	7 364.8±872.8	564.1±107.4	10 483.6±3 789.5	672.0±245.1
Changing-surgical-appliances	120.7±34.8	154.9±70.5	7 260.2±458.4	418.2±134.9	10 524.8±4 023.6	653.5±245.7
Decontamination-in-incision	103.4±30.4	117.1±34.2 *	5 409.3±375.1	397.0±78.9	10 264.8±2 870.6	480.3±124.8
Removing-tissues-around	64.2±35.2 *	79.5±11.2 *	3 217.6±321.8	255.3±127.4 *	9 197.3±2 134.0	347.1±97.5 *
Comprehensive method	54.4±15.7 *	69.8±14.0 *	1 564.9±97.3	117.8±97.7 *	3 247.3±792.4	246.8±73.0 *

*: $P<0.05$, *vs* route method

总之, 取片后各组组织铀含量逐渐下降, 综合法组最低, 剪去周围组织组次之, 说明选择综合法能最低限度去除贫铀的污染。

3　讨论

美国陆军放射生物研究所对植入体内的贫铀弹片产生的健康效应进行了长期研究, 取得了一些结果。Pellmar 等[3] 将贫铀弹片植入大鼠肌肉, 发现在植入后 1 d 到 18 个月, 肌肉、脾脏、肝脏、心脏、肺脏、脑、淋巴结和睾丸中均含高浓度的铀; 也发现诱发大鼠海马回突触电位的可能性减小, 但振幅上升, 这说明受到贫铀慢性暴露者脑发生生理变化的可能性较大[4]。McDiarmid 等[7] 发现体内残留有贫铀弹片的海湾战争退伍军人首次暴露 8 年后仍持续排泄高水平尿铀, 中枢神经系统似乎有紊乱症状出现, 外周血淋巴细胞的姐妹染色单体互换频率增高。本所的研究[8,9] 表明, 植入贫铀片可引起大鼠肾功能长期损伤, 一定浓度的贫铀对人肾小管上皮细胞具有细胞毒性。贫铀最严重的生物学后果是潜在的致癌、致突变效应。Hahn 等[10] 研究表明一定大小的 DU 弹片会引起局部增生反应, 产生影像学可观察到的软组织肉瘤。故取出贫铀片可大大减少体内污染, 减少对机体的刺激作用, 减轻危害, 但目前国内外还没有关于如何取出嵌入体内的贫铀弹片的报道。

本研究结果表明, 用适当的方法取出嵌入的贫铀弹片, 对去除贫铀内污染, 减少后遗症, 具有一定的意义。常规取片组虽可挽救生命, 缓解生命危象, 但不能很好去除贫铀的污染, 可能留下后遗症; 采取术前 4% 碳酸氢钠去污、对切口去污、术中更换洁净手术器械等措施可部分减少贫铀污染, 但去污效果不明显; 剪去周围组织可较大幅度降低污染, 较彻底去除体内的贫铀“污染源”, 但术中仍存在污染的可能, 如切口、器械等污染; 综合将上述几种方法同时运用, 全方位去污, 使贫铀污染的可能降到最小, 故去除体内嵌入贫铀片造成的污染, 综合运用各种方法效果最好。取片后 7 ~ 21 d, 因去除了体内的“贫铀源”, 各组织(体液)铀含量迅速下降, 尤其是植片部位的肌肉铀含量, 说明适当方法取片, 可去除大部分的贫铀。

尽管采用综合法可大大降低组织铀含量, 但对人员取出弹片时, 若污染的肌肉具有关键功能, 或者贫铀弹片位于关键部位, 剪去污染的肌肉或组织, 可能会影响机体功能, 这时应尽可能保留这些组织器官, 而多采取其他方法如术前 2 次、术后 2 次用 4% 碳酸氢钠进行

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

去污，术中尽可能频繁更换洁净无污染手术器械，这样也可减少组织铀含量。

本研究结果也说明用4% 碳酸氢钠进行伤口去污虽可减少污染，并不能完全去除，可能与伤口去污与体内促排的机制不同有关。碳酸氢钠体内促排时，是利用血液中的重碳酸铀酰只在重碳酸根浓度较大、pH值较高的环境中呈稳定状态、pH值较低时，部分重碳酸铀酰立刻分解释放出 UO_2^{++} 的机制进行的；而在对伤口去污时，可能因贫铀片嵌入数天，在机体作用下，已有部分铀进入肌肉及其他组织（其他学者及作者的研究[3]，在贫铀片嵌入后24 h，即可在尿中检测到铀浓度上升），如仅经过简单的伤口表面去污，并不能去除较深部位的贫铀污染，所以去污效果不如体表去污和口服促排明显；若在伤后立即手术，可能用4%碳酸氢钠去污效果更好，同时也说明了伤后立即手术的重要性。

参考文献：

[1] Kalinich J F, Ramakrishnan N, McClain D E. A procedure for the rapid detection of depleted uranium in metal shrapnel fragments[J]. Mil Med, 2000, 165(2): 626-629.

[2] Hooper F J, Squibb K S, Siegel E L, *et al*. Elevated urine uranium excretion by soldiers with retained uranium shrapnel[J]. Health Phys, 1999, 77(2): 512-519.

[3] Pellmar T C, Fuciarelli A F, Ejnik J W, *et al*. Distribution of uranium in rats implanted with depleted uranium pellets[J]. Toxicol Sci, 1999, 49(1): 29-39.

[4] Miller A C, Blakely W F, Livengood D, *et al*. Transformation of human osteoblast cells to the tumorigenic phenotype by depleted uranium-uranyl chloride[J]. Environ Health Perspect, 1998, 106(2): 465-471.

[5] 杨陟华，范保星，陆 颖，等. 贫铀诱发人支气管上皮细胞恶性转化[J]. 癌症，2002，21(9)：944-948.

[6] Pellar T C, Keyser D O, Emery C, *et al*. Electrophysiological changes in hippocampal slices isolated from rats embedded with depleted uranium fragments[J]. Neurotoxicology, 1999, 20(2): 785-792.

[7] Mcdiarmid M A, Squibb K, Engelhardt S, *et al*. Surveillance of depleted uranium exposed Gulf War veterans: health effects observed in an enlarged "friendly fire" cohort[J]. J Occup Environ Med, 2001, 43(3): 991-1000.

[8] 李 蓉，艾国平，徐 辉，等. 贫铀对人肾小管上皮细胞的毒性作用[J]. 第三军医大学学报，2004，26(3)：185-188.

[9] 李 蓉，艾国平，徐 辉，等. 植入贫铀片大鼠血液和肝肾功能的变化[J]. 第四军医大学学报，2004，25(2)：182-185.

[10] Hahn F F, Guilmette R A, Hoover M D. Implanted depleted uranium fragments cause soft tissue sarcomas in the muscles of rats[J]. Environ Health Perspect, 2002, 110(1): 51-59.

（编辑 刘洪娥）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2004)07-0572-02

HLA-DR、-DQ在慢性乙型肝炎肝组织中的表达及其意义

Expression of HLA-DR and HLA-DQ in chronic hepatitis B and the significance

刘 俊，蒋业贵，王宇明 （第三军医大学西南医院全军感染病研究所，重庆 400038）

HBV感染所致肝细胞损伤的轻重，主要取决于以宿主细胞毒性T细胞（LTL）介导的细胞免疫反应。HLA调节着免疫反应，尤其是T细胞介导的细胞免疫反应。HLA Ⅱ类抗原（HLA-DR和HLA-DQ）是机体细胞主要的表面抗原之一，在介导淋巴细胞活化、抗原呈递增免疫应答等过程中起重要作用[1]。本研究采用免疫组化单染与双重染色技术法检测慢性乙型肝炎肝组织中HLA-DR和-DQ的表达状态，并探讨其意义。

1 材料与方法

1.1 材料

慢性乙型肝炎肝穿刺活检组织取自36例1998-2000年本院住院患者，男29例，女7例，平均年龄（35.2±8.3）岁。临床和组织病理诊断按照2000年第十五次全国传染病与寄生虫学术会议修订的诊断标准，其中轻度肝炎20例，中度和重度肝炎16例。20例正常肝组织取自尸检和胆囊切除术患者，男13例，女7例，平均年龄（41.8±6.2）岁，经血清学和免疫组化证实肝炎病毒标志物均阴性。肝组织经10%中性福尔马林固定，常规石蜡包埋，切成5 μm厚连续切片。

1.2 方法

HLA-DR和HLA-DQ检测采用S-P法，S-P试剂盒和鼠抗人HLA-DR单克隆抗体、鼠抗人HLA-DQ单克隆抗体购自博士德生物工程有限公司。分别作HLA-DR/HBcAg、HLA-DQ/HBcAg免疫组化双重染色。试剂盒购自Zymed公司。

1.3 统计学处理

采用χ^2检验。

2 结果

2.1 HLA-DR、-DQ表达的检测

正常肝组织仅见部分窦内皮细胞、Kupffer细胞、单个核细

作者简介：刘 俊（1973-），男，安徽省无为县人，技师，主要从事肝细胞方面的研究。电话：(023)68754289

收稿日期：2004-01-18；修回日期：2004-03-05

（下转579页）

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net