DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.05.034
第23卷第5期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 5
562 2001年5月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE May. 2001

论著

文章编号:1000-5404(2001)05-0562-03

猪后肢皮肤撕脱伤后 TNFα 和 IL-1 的检测意义

李向东,鲁开化,郭树忠,高政慧 (第四军医大学西京医院整形外科,西安 710033)

提 要:目的 探讨 TNFα 和 IL-1 在皮肤撕脱伤后早期继发血栓形成的作用。方法 在猪后肢形成12 cm×4 cm 撕脱皮瓣,不同时间取皮肤并抽取静脉血,采用双抗夹心 ELISA 技术和^3[H]-TdR 掺入法,检测血浆和皮肤中 TNFα 的含量和血清 IL-1 活性。结果 血浆和皮肤中 TNFα 含量明显升高($P<0.01$),3 d 分别为(415±24)、(298±18.5) ng·L^{-1};血清中 IL-1 的活性 3 d 时也增高明显($P<0.05$),为(2.59±0.85)。结论 血浆、皮肤内 TNFα 和血清 IL-1 含量和活性变化在诱导、加重皮肤撕脱伤后继发组织坏死和血栓形成中具有重要作用。

关键词:肿瘤坏死因子-α;白细胞介素-1;皮肤撕脱伤
中图法分类号:R392.2;R641.02 文献标识码:A

Significance of detecting TNFα and IL-1 after skin avulsion of hind leg in pigs

LI Xiang-Dong, LU Kai-hua, GUO Shu-zhong, GAO Zheng-hui (Department of Plastic Surgery, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an 710033, China)

Abstract: Objective To study the role of TNFα in the plasma and skin and IL-1 in the serum in the formation of secondary thrombosis after skin avulsion. Methods After avulsive flap at size of 12 cm×4 cm was inflicted on the hind legs of pigs, skin specimens and venous blood samples were taken at various time points. The contents of TNFα in plasma and skin were determined with radio-immunoassay, and the activity of serum IL-1 with ^{3}[H]-TdR. Results The TNFα contents in the plasma and skin were increased significantly after avulsion ($P<0.01$), which were (415±24) ng/L and (298±18.5) ng/L respectively on the 3rd day after the injury. The activity of IL-1 in the serum was increased ($P<0.05$) and was (2.59±0.85) ng/L on day 3. Conclusion The changes of TNFα contents and IL-1 activity in blood and skin play important roles in the inducetion and aggravation of secondary tissue necrosis and early thrombosis after skin avulsion.

Key words: TNFα; IL-1; skin avulsion injury

肿瘤坏死因子-α(TNFα)和白细胞介素-1(IL-1)是由激活的单核-巨噬细胞产生的炎性介质,在烧伤、感染和机体免疫等多方面具有生物学功效,是体内活跃的细胞因子[1~3]。皮肤撕脱伤后 TNFα 和 IL-1 的含量变化以及在皮肤撕脱伤后早期继发血栓形成的作用如何,未见文献报道。为此,我们以猪后肢皮肤撕脱伤为实验模型,了解皮肤和血浆 TNFα、血清 IL-1 含量的变化规律,探讨皮肤撕脱伤后早期继发血栓形成机制。

1 材料和方法

1.1 动物模型的建立和分组

实验分两组,A 组(对照组):12 cm×4 cm 正常皮瓣组,$n=4$;B 组(实验组):12 cm×4 cm 撕脱皮瓣组,$n=6$。

1.2 标本的采集和处理

1.2.1 血标本的采集和处理 两组小猪分别于术前,术后即时,10 h、1、3 和 7 d 抽取静脉血 2 ml,其中 1 ml 静脉血立即放入含 3.8 g·L^{-1}枸橼酸钠抗凝液($\varphi_B=1:9$)试管中混匀,以 3 000 r/min 离心 15 min,抽取血浆;另 1 ml 未抗凝血自然沉淀,分离血清。血浆、血清置于-40 ℃冰箱中保存备检。

1.2.2 皮肤标本的采集及处理 两组小猪分别于术前,术后即时,10 h、1、3 和 7 d 取皮瓣远端组织,置于抗冻塑料管中,并迅速投入液氮中保存。进行复温后,分别将上述组织去除残血,并将其剪碎,置于电子天秤称质量,以 100 mg 组织加入 pH 7.4 的 PBS 1 ml 的比例置于玻璃匀浆器中,冰浴下用电子恒速搅拌组织匀浆器 1 400 r/min 条件下,离心 20 min,然后取上述各时间点组织标本的上清液,分装,液氮中保存待检。

1.3 TNFα 和 IL-1 含量测定

1.3.1 血浆和皮肤中 TNFα 含量测定 采用双抗夹心 ELISA 技术,检测血浆和皮肤中 TNFα 的含量,试剂盒由第四军医大学免疫学教研室提供。

1.3.2 血清中 IL-1 含量的测定 血清 IL-1 活性采用^3[H]-TdR 掺入法测定[4],计算刺激指数(SI)。

SI=(检测血清孔 cpm 值-空白孔 cpm 值)/(无血清对照孔 cpm 值-空白孔 cpm 值)。

1.4 统计学处理

采用 t 检验。

2 结果

2.1 血浆中 TNFα 含量

对照组血浆 TNFα 含量基本维持在正常稳定水平,实验组撕脱后 0.4 d 血浆 TNFα 含量开始升高,1 d 时为(398±20) ng·L^{-1},3 d 后达到峰值为(415±24) ng·L^{-1},与相应各时相对照组比较相差非常显著($P<0.01$),7 d 基本恢复正常,见图 1。

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39470705)
作者简介:李向东(1963-),男,河北省秦皇岛市人,博士,主治医师,发表论文5篇。电话:(029)3375021
收稿日期:2000-10-25;修回日期:2000-12-30

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

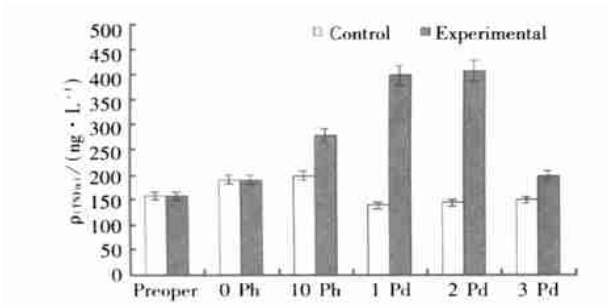


图 1　猪皮肤撕脱伤后血浆 TNFα 含量变化

Fig 1　Changes of plasum TNFα concentration after skin avulsion of pig

Ph: Postoper houn; Pd: Postoper day

2.2　撕脱皮瓣皮肤中 TNFα 含量

对照组皮肤中 TNFα 含量变化不大。实验组 10 h, 1 d, 3 d 含量增加明显, 3 d 时最高, 为(298±18.5) ng·L^{-1}, 与相应各时相对照组比较相差非常显著($P<0.01$), 以后含量下降, 见图 2。

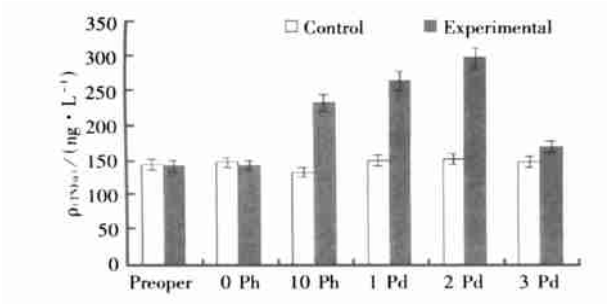


图 2　猪皮肤撕脱伤后皮瓣组织 TNFα 含量变化

Fig 2　Changes of TNFα concentration in skin flap after skin avulsion of pig

Ph: Postoper houn; Pd: Postoper day

2.3　血清中 IL-1 的活性

对照组血清中 IL-1 的活性基本稳定, 实验组皮肤撕脱伤后血清 IL-1 活性 1 d, 3 d 时增高明显, 分别为 2.48±0.67、2.59±0.85, 与相应各时相对照组比较相差显著($P<0.05$), 7 d 时下降, 见图 3。

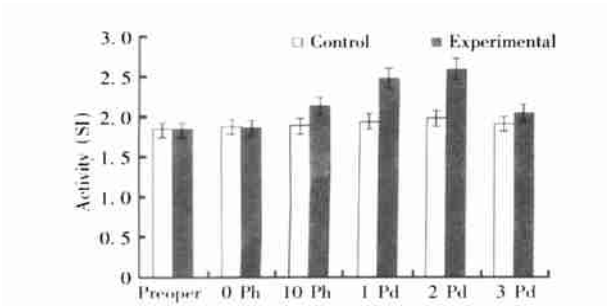


图 3　猪皮肤撕脱伤后血清 IL-1 活性变化

Fig 3　Changes of serum IL-1 activity after skin avulsion of pigs

Ph: Postoper houn; Pd: Postoper day

3　讨论

TNFα 和 IL-1 是由激活的单核-巨噬细胞所分泌, 多种因素, 如内毒素、外毒素、病毒、γ 干扰素等均不同程度地刺激 TNFα 和 IL-1 的生成和释放[5]。IL-1 和 TNF 是 ARDS 的启动因子[6], 用 IL-1 和 TNF 成功地复制了动物 ARDS 模型[7,8]。在严重烧伤的患者, TNFα 血清中的浓度异常增高, 并发感染和无感染患者检测的阳性率分别为 42%和 20%, 因感染死亡的烧伤患者 TNFα 阳性率高于存活者[2]。Sharma 等[3] 在体外培养的 VEC 上观察到内毒素(LPS)可造成 VEC 的损伤, 而 IL-1 和 TNFα 含量的增加, 加重了 LPS 的损伤效应。IL-1 和 TNFα 对 VEC 还有直接的毒性作用, 它可以刺激 VEC 释放凝血酶原, 抑制 VEC 抗凝功能, 促进小血管和毛细血管内血栓形成, 引起 DIC 和血流动力学的改变, 由于它的直接毒性作用, 还可破坏 VEC 的完整性, 导致毛细血管通透性增加, 血浆外渗、组织水肿和血液浓缩[9]。在白细胞与 EC 粘附方面, IL-1 和 TNFα 的作用有许多类似的地方, 均可以诱导 ELAM-1、ICAM-1以及 VCAM-1 等粘附分子的表达[10], 增加血管内血栓的形成。在诱导细胞凋亡方面也具有作用, Robaye 等[11] 在原代培养的猪主动脉 EC 中加入人重组 TNF, 孵育 4 h, 结果 9.4%的 VEC 凋亡, DNA 碎片定量为 11%, 同时具有时间的依赖性。总之, IL-1 和 TNFα 在许多方面具有作用, 在皮肤撕脱伤后其含量的改变如何, 尚未报道。

皮肤撕脱伤后继发组织坏死的主要原因是血栓形成[12,13]。本研究中血浆、皮肤内 TNFα 和血清 IL-1 含量明显增加, 而 IL-1 和 TNFα 含量的增加对白细胞与 EC 粘附率、EC 的直接毒性以及 EC 凋亡具有一定的作用, 因此 TNFα 和 IL-1 含量的增加诱导、加重皮肤撕脱伤后的血栓形成和继发组织坏死。研究 IL-1 和 TNFα 含量变化在血栓形成中的作用, 对了解皮肤撕脱伤继发组织坏死机制, 预防和治疗皮肤撕脱伤具有深远的意义。

参考文献:

[1] Wang X P, Yang M J. Initial study of three methods of detecting interleukin-1[J]. Zhongguo Mianyixue Zazhi (Chin J Immunol), 1987, 3(1): 26—28.

[2] Jaattela M. Biologic activities and mechanisms of action of tumor necrosis facter-alpha/cachectin[J]. Lab Invest, 1991, 64(6): 724—742.

[3] Sharma S A, Olchowy T W, Yang Z, *et al*. Tumor necrosis factor-α and interleukin alpha enhance lipopolysaccharide mediated bovine endothelial cell injury[J]. J Leukoc Biol, 1992, 51(6): 579—585.

[4] Tabor D R, Burchett S K, Jacobs R F. Enhanced production of monokines by canine alveolar macrophages in response to endotoxin-induced shock[J]. Proc Soc Exp Biol Med, 1988, 187(4): 408—416.

[5] Sibille Y, Reynolds H Y. Macrophages and polymorphonuclear neutrophils

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

in lung defense and injury[J]. Am Rev respir Dis, 1990, 141(2): 471—501.

[6] Brigham K, Spragg R. The 3rd international conference on the adult respiratory distress syndrome[J]. Intensive Care Med, 1989, 15(5): 332—336.

[7] Goldblum S E, Jay M, Yoneda K, *et al*. Monokine-induced acute lung injury in rabbits[J]. J Appl Physiol, 1987, 63(5): 2 093—2 100.

[8] Baliviera E F, Mealy K, Smith R J, *et al*. Tumor necrosis factor induces adult respiratory distress syndrome in rats[J]. Arch Surg, 1989, 124(12): 1 400—1 404.

[9] Tracey K J, Lowry S F, Cerami A. Cachetin/TNF-alpha in septic shock and septic adult respiratory distress syndrome[J]. Am Rev Respir Dis, 1988, 138(6): 1 377—1 379.

[10] Pober J S, Gimbrone M A Jr, Lapierre L A, *et al*. Overlapping patterns of activation of human endothelial cell by interleukin-1, tumor necrosis factor, and immune interferon[J]. J Immunol, 1986, 137(6): 1 893—1 896.

[11] Robaye B, Mosselmans R, Fiers W, *et al*. Tumor necrosis focfor induces apoptosis (programmed cell death) in normal endothelial cells *in vitro*[J]. Am J Pathol, 1991, 138(2): 447—453.

[12] Li X D, Lu K H, Guo S Z, *et al*. Effect of GMP-140 on thrombosis after skin avulsion injury in pigs[J]. Di-si Junyi Daxue Xuebao(J Four Mil Med Univ), 1999, 20(11): 926—928.

[13] Li X D, LU K H, Gao S Z, *et al*. Relationship between adherence of leukocyte and TNFα after skin avulsion in pigs[J]. Di-si Junyi Daxue Xuebao(J Four Mil Med Univ), 1999, 20(11): 932—933.

(编辑 张大春)

个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2001)05-0564-01

CT诊断肝母细胞瘤1例报告

CT diagnosis of a case of hepatoblastoma

文 利, 杜义 (第三军医大学附属西南医院放射科, 重庆 400038)

患者, 男, 13岁, 因反复右季肋部疼痛8 d入院。一般情况好, 无其他伴随症状。体检肝脏下缘在右锁骨中线肋缘下5 cm, 剑突下8 cm, 质软无触痛。实验室检查AFP> 1 000 μg/L, CEA 5.96 μg/ml。B超示右肝13.3 cm× 13.2 cm的巨大实质不均质肿块, 边界尚清, 内部回声不均质, 似有多个团块融合。CDFI示其血流较丰富, 内部有动脉血流频谱。CT表现为肝右叶13 cm× 14 cm大小的肿块, 边界不清, 密度不均匀, 其外后份见不规则的更低密度区, 肿块内可见散在的小点状、斑点状钙化灶, 见图1。CT诊断为"肝母细胞瘤"。术中发现肝脏明显增大, 右肝被14 cm× 14 cm大小的黄白色肿块所占据, 边界欠清。左内、外叶均见较多直径为0.5~1.0 cm的黄白色菜花样结节。病理诊断为"肝母细胞瘤"。

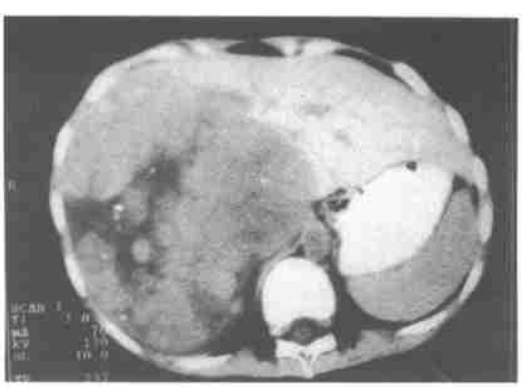


图1 肝母细胞瘤CT征象

作者简介: 文 利(1972—), 女, 重庆市人, 硕士研究生, 医师, 主要从事肝癌CT灌注方面的研究。电话: (023)68754424

收稿日期: 2001-01-07; 修回日期: 2001-03-20

讨论

肝母细胞瘤是胚胎源性恶性肿瘤, 约占儿童腹部肿瘤的15%[1]。Merten[2]认为其发生与染色体11号短臂上的基因改变有关。常发生于婴幼儿, 也可见于儿童或成年人, 男女发生比率为3∶2。临床主要表现为肝脏肿大或肿块, 可伴贫血, 纳差, 淋巴结肿大等症状。多有甲胎蛋白升高。本例患者甲胎蛋白也明显高于正常值。CT表现为: ①单个或多个巨块型低密度区, 边缘清楚, 增强后可见瘤内裂隙形、类圆形和不规则形的多发更低密度区, 本例也表现出这一特点。Dachman[3]认为这些更低密度区代表了瘤内坏死和出血。②钙化发生率高, 钙化数目较多, 有时呈大块状钙化, 本例可见散在多发小钙化灶, 但钙化并非肝母细胞瘤所特有的征象。③增强扫描可有弧形或环形强化。典型的CT表现结合甲胎蛋白升高及患者年龄, 诊断较易。但有些肝母细胞瘤的CT表现不典型, 可为多灶性, 肿块边界不清, 浸润周围器官。本病主要需与肝脏血管内皮细胞肉瘤相鉴别, 后者多发生于1岁以下、通常不伴有钙化、AFP为阴性。

关键词: X线计算机体层摄影; 肝母细胞瘤
中图法分类号: R735.704 文献标识码: B

参考文献:

[1] 王培军, 段承祥, 陶文照, 等. 肝母细胞瘤的CT表现及其病理基础[J]. 临床放射学杂志, 1994, 13(1): 32—34.

[2] Merten D F, Gold S H. Radioloic staging of thoracoabdominal tumors in childhood[J]. Radiol Clin North Am, 1994, 32(1): 133—149.

[3] Dachman A H, Pakter R L, Pos P R, *et al*. Hepatoblastoma: radiology-pathologic correlation in 50 cases[J]. Radiology, 1987, 164(1): 15—19.

(编辑 王 红)

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