

兔膝关节开放性海水浸泡损伤模型的构建

李文, 曾国庆, 陈爱宝, 杨学洪, 穆继宏

(中国人民解放军第 425 医院骨科, 海南 三亚 572008)

【摘要】 目的 探索并构建理想的兔膝关节开放性海水浸泡损伤的动物模型。方法 取新西兰白兔 60 只, 建立兔膝关节开放性损伤模型, 按照不同的海水浸泡时间分为对照组、0.5 h 组、1 h 组、3 h 组和 6 h 组, 每组各 12 只。对照组不予处理, 各实验组制备膝关节开放性伤口, 分别给予相应的海水浸泡时间。术后观察实验动物伤口及存活情况, 于术后 7 d 抽取各组白兔膝关节液, 采用酶联免疫吸附法检测关节液中炎性因子白细胞介素 1- β (IL-1 β) 和肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 的含量。结果 3 h 组和 6 h 组的 7 d 存活率分别为 91.7%、75.0%, 其余各组均为 100.0%; 1 h 组、3 h 组和 6 h 组的 14 d 存活率分别为 91.7%、83.3% 和 58.3%, 其余各组均为 100.0%。术后 7 d, 3 h 组和 6 h 组中关节液 IL-1 β 水平分别为 (37.50 \pm 6.1) pg/mL 和 (38.40 \pm 5.1) pg/mL, 明显高于其他各组, 差异均有统计学意义 ($P > 0.05$), 而 3 h 组和 6 h 组中关节液 IL-1 β 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 术后 7 d, 1 h 组和 3 h 组关节液中的 TNF- α 水平分别为 (297.48 \pm 35.7) pg/mL 和 (312.84 \pm 34.0) pg/mL, 高于 0.5 h 组和对照组, 低于 6 h 组, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$), 而 1 h 组和 3 h 组关节液中的 TNF- α 水平比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。结论 海水浸泡 3 h 构建兔膝关节海水浸泡损伤的动物模型具有动物存活率高、炎性反应活跃等特点, 是一种理想的关节开放性海水浸泡损伤的动物模型。

【关键词】 膝关节; 海水浸泡; 动物模型; 兔

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2017)02-0183-03

Establishment of a rabbit model of seawater immersion after knee injury. Li Wen, ZENG Guo-qing, CHEN Ai-bao, YANG Xue-hong, MU Ji-hong. Department of Orthopedics, the 425th Hospital of Chinese PLA, Sanya 572008, Hainan, CHINA

【Abstract】 Objective To explore and construct a rabbit model of seawater immersion after knee injury. **Methods** Sixty rabbits of knee injury were randomly divided into five groups: control group, 0.5 h group, 1 h group, 3 h group and 6 h group. The control group was subjected to simple knee injury, and other groups received seawater immersion of different duration respectively. The wound and survival was observed. After 7 days, the content of interleukin-1 β (IL-1 β) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in the synovial fluid in each group was measured by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** The 7-d survival rate was 91.7% in 3 h group, 75.0% in 6 h group, and 100.0% in other groups. The 14-d survival rate was 91.7% in 1 h group, 83.3% in 3 h group, 58.3% in 6 h group, and 100.0% in other groups. Seven days after treatment, the IL-1 β levels of synovial fluid in 3 h group and 6 h group showed no statistically significant difference, which were (37.50 \pm 6.1) pg/mL and (38.40 \pm 5.1) pg/mL, but they were significantly higher than those in other groups. Seven days after treatment, the TNF- α content of synovial fluid in 1 h group and 3 h group, (297.48 \pm 35.7) pg/mL and (312.84 \pm 34.0) pg/mL respectively, were significantly higher than that in 0.5 h group and control group but lower than that in 6 h group ($P < 0.05$). **Conclusion** The models of seawater immersion for 3 hours after knee injury have higher survival rate and more inflammatory reactions, which are recommended.

【Key words】 Knee; Seawater immersion; Animal model; Rabbits

随着人们对海洋的不断认识和探索, 海水浸泡损伤在战创伤中所占的比例不断增大。本实验的目的是建立合理的膝关节开放性海水浸泡损伤动物模型, 了解动物模型的病理机制, 提高关节海水浸泡伤的临床处理水平。

1 材料与方法

1.1 实验动物 选取普通新西兰白兔 60 只, 体重 (2.4 \pm 0.2) kg, 雌雄不限。全部实验动物随机分为五组, 每组 12 只。其中 4 组按膝关节外伤后海水浸泡时间分为 0.5 h 组、1 h 组、3 h 组和 6 h 组, 另 1 组实验动

物不予如何处理, 作为对照组。

1.2 实验模型的制备 各实验组白兔按 0.1 mL/kg 给予速眠新肌注麻醉, 四肢固定在实验台上, 单侧膝关节去毛, 常规消毒、铺单。沿髌旁内侧做约 2.5 cm 的横行切口, 逐层切开至关节囊, 直至关节腔, 暴露关节软骨面。在自然天气情况下将各组家兔患膝伤口在海水中分别浸泡 0.5 h、1 h、3 h 和 6 h, 浸泡结束后用无菌生理盐水冲洗关节腔, 依次缝合伤口。对照组白兔不予处理。术后全部实验动物按常规分笼喂养。

基金项目: 海南省三亚市医疗卫生科技创新项目 (编号: 2014YW47)

通讯作者: 穆继宏。E-mail: mu.jihong@hotmail.com

1.3 检测指标

1.3.1 临床观察 大体观察实验动物的伤口情况、关节活动度等,比较各组间术后 7 d 和 14 d 的生存率。

1.3.2 关节液炎症因子指标 于术后第 7 天按相同方式麻醉、消毒,采用注射器于膝关节外侧间隙向关节腔内注射 1.0 mL 无菌生理盐水,待充分混匀后抽取 1.0 mL 关节液备用。样本置于离心管中,1 500 r/min 离心 20 min, -70℃ 保存待测。采用 ELISA 试剂盒检测各样本中白介素-1 β (IL-1 β) 和肿瘤坏死因子 (TNF- α) 的水平。

1.4 统计学方法 血清学指标用均数 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示; 各组间 IL-1 β 和 TNF- α 的水平采用单因素方差分析进行差异性比较, 两组间比较采用 LSD-*t* 检验。所有统计学分析应用 SPSS19.0 软件处理完成, 以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 术后 7 d 和 14 d 各组白兔的生存率比较 全部实验动物术后第 1 天均能站立, 伤口无明显渗出, 局部皮肤无红肿。术后第 3 天, 3 h 组和 6 h 组部分实验动物患膝出现肿胀, 局部皮温高, 伤口无明显渗出。术后第 5 天, 1 h 组 1 例实验动物患膝出现红肿, 皮温稍高。术后 14 d 临床观察, 存活的实验动物中, 仅 6 h 组出现 1 例伤口不愈合, 见表 1。

表 1 术后 7 d 和 14 d 各组生存率比较 [只 (%)]

组别	只数	7 d 存活率	14 d 存活率
对照组	12	12 (100.0)	12 (100.0)
0.5 h 组	12	12 (100.0)	12 (100.0)
1 h 组	12	12 (100.0)	11 (91.7)
3 h 组	12	11 (91.7)	10 (83.3)
6 h 组	12	9 (75.0)	7 (58.3)

2.2 术后 7 d 各组白兔关节液中 IL-1 β 和 TNF- α 的水平 术后 7 d, 各组兔膝关节液中 IL-1 β 和 TNF- α 的水平比较差异均有统计学意义 ($P<0.05$)。3 h 组和 6 h 组的 IL-1 β 水平明显高于 0.5 h 组和 1 h 组 ($P<0.05$), 且 0.5 h 组和 1 h 组的 IL-1 β 水平高于对照组 ($P<0.05$); 此外, 6 h 组的 TNF- α 水平明显高于 1 h 组和 3 h 组 ($P<0.05$), 且 1 h 组和 3 h 组的 TNF- α 水平明显高于对照组和 0.5 h 组。这表明长时间的海水浸泡容易引发更严重的炎症反应, 见表 2。

表 2 术后 7 d 各组白兔膝关节液 IL-1 β 和 TNF- α 水平比较 ($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

组别	只数	IL-1 β	TNF- α
对照组	12	25.49 \pm 2.8	252.00 \pm 57.9
0.5 h 组	12	30.21 \pm 5.8 ^a	254.77 \pm 38.1
1 h 组	12	31.58 \pm 4.7 ^a	297.48 \pm 35.7 ^{ab}
3 h 组	11	37.50 \pm 6.1 ^{abc}	312.84 \pm 34.0 ^{ab}
6 h 组	9	38.40 \pm 5.1 ^{abc}	353.62 \pm 32.3 ^{abcd}
F 值		13.694	13.100
P 值		<0.05	<0.05

注: 与对照组比较, ^a $P<0.05$; 与 0.5 h 组比较, ^b $P<0.05$; 与 1 h 组比较, ^c $P<0.05$; 与 3 h 组比较, ^d $P<0.05$ 。

3 讨论

海水是一种较为复杂的致伤因素, 当机体出现开放性损伤, 海水浸泡将加重创伤后机体的病理生理改变, 从而导致不同的预后及治疗方案^[1-2]。由于关节内的组织结构复杂, 且软骨、滑膜等组织自愈能力欠佳, 故建立合适的关节内海水浸泡伤动物模型将有助于了解其病理改变, 提供合理的临床治疗方案。

有学者研究证明, 高渗液体可刺激单核细胞内炎症介质基因的表达^[3]。发生海水浸泡伤后, 与创伤愈合的相关蛋白早期表达减弱以及机体对海水中致病菌的暴露, 都可能是影响组织愈合的因素^[4-5]。林建宁等^[6]观察了家兔海水浸泡开放性骨折的特点, 发现海水浸泡使伤口的感染率增高, 骨折愈合的满意率下降, 骨痂形成不良率增高, 骨折愈合过程延迟^[7]。笔者假设海水浸泡对膝关节开放性损伤产生重要的影响, 在关节及全身感染率、关节内组织不可逆损伤、关节液中炎症因子的表达等方面发挥作用, 那么通过比较不同海水浸泡时间的差别, 可以总结出致死率低、关节内炎症改变明显的兔膝关节海水浸泡伤模型。

本实验发现, 海水浸泡 6 h 的动物模型生存率相对较低, 伤口周围炎症反应较其他各组明显。这可能与关节内和全身感染相关, 全身性炎症反应致多器官功能障碍。尽管此组动物模型能够提供足够严重的关节损伤, 但造模过程中实验动物的损失较多, 造模失败率及经济损失过大; 相对而言, 0.5 h、1 h 和 3 h 组的实验动物具有更高的存活率。

关节液中炎症因子的水平可以间接反映关节内炎症反应的程度, 动物实验发现, 海水浸泡可以使损伤组织内的炎症因子含量升高并参与组织继发损伤, TNF- α 、白介素-8 (IL-8)、NO 的含量在浸泡后 3~36 h 内明显较单纯损伤高^[8]。本研究发现, 术后 7 d, 1 h、3 h 和 6 h 组的兔膝关节液中 IL-1 β 和 TNF- α 的水平均高于对照组, 表明海水浸泡损伤是兔膝关节炎性反应较为敏感的致伤因素。同时, 海水浸泡 0.5 h 和 1 h 的实验动物关节液中 IL-1 β 水平明显低于 3 h 和 6 h 组; 海水浸泡 1 h 和 3 h 的实验动物关节液中 TNF- α 的水平明显低于 6 h 组, 说明海水浸泡时间会影响关节液中炎症因子的水平。从实验结果看出, 1 h、3 h 及 6 h 的海水浸泡时间均能够造成兔海水浸泡伤模型膝关节的炎症反应, 浸泡时间越长, 炎症因子水平升高越明显。长时间的海水浸泡使关节组织内的渗透压改变, 合并特殊致病菌感染等因素, 发生一系列病理生理改变, 大量炎症因子介入, 最终导致关节内不可逆的组织损伤^[9]。

海水浸泡致膝关节损伤的作用机制十分复杂, 本研究的造模过程未能纳入关节损伤和海水浸泡伤的全部致伤因素, 如低体温、复合损伤、关节内骨折等。这些因素能够在不同程度上改变损伤的进程, 随着研究的深入, 尚需进一步的实验逐步完善此动物模型。

IL-6 和 STAT3 在结肠癌组织中的表达及意义

张晓芹, 段丽芳, 党琳, 许小凡, 张红

(陕西中医药大学病理生理学教研室, 陕西 咸阳 712046)

【摘要】 目的 检测白介素 6 (IL-6) 和信号转导及转录激活因子 3 (STAT3) 在结肠癌和癌旁组织中的表达及其在结肠癌诊治中的临床意义。方法 收集陕西中医药大学第二附属医院 2012 年 3 月至 2014 年 12 月经病理学诊断的 48 例结肠癌患者的手术标本, 采用免疫组织化学法检测癌及癌旁组织中 IL-6 和 STAT3 的表达, 分析两者表达的相关性。结果 结肠癌组织中 IL-6 的阳性表达率为 91.66%, 而癌旁组织阳性表达率仅 6.25%, 两者比较差异有显著统计学意义 ($P < 0.01$); 结肠癌组织中 STAT3 的阳性表达率为 95.83%, 也明显高于癌旁组织的 4.17%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 结肠癌组织中 STAT3 与 IL-6 的表达呈正相关 ($r = 0.765, P < 0.01$)。结论 IL-6 和 STAT3 参与结肠癌的发生发展, 并可作为结肠癌诊断的重要参考及治疗的靶点。

【关键词】 结肠癌; 白介素 6; 信号转导及转录激活因子 3

【中图分类号】 R735.35 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1003-6350(2017)02-0185-03

Expression and significance of IL-6, STAT3 in colon carcinoma tissue. ZHANG Xiao-qin, DUAN Li-fang, DANG Lin, XU Xiao-fan, ZHANG Hong. Department of Pathophysiology, Shaanxi University of Chinese Medicine, Xianyang 712046, Shaanxi, CHINA

【Abstract】 Objective To detect the expression of interlenkin-6 (IL-6) and signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) in colon carcinoma tissue and paracancerous tissue, and to analyze its clinical significance in the diagnosis and treatment of colon carcinoma. **Methods** Forty-eight samples of colon carcinoma confirmed by pathology in the Second Affiliated Hospital of Shaanxi University of Chinese Medicine from March 2012 to December 2014 were collected. The expression of IL-6 and STAT3 in colon cancer tissue and paracancerous tissue were detected by immunohistochemistry. The correlation between the two were analyzed. **Results** The positive expression rate of IL-6 in colon carcinoma tissue was 91.66%, which was higher than that in paracancerous tissue of 6.25% ($P < 0.01$). The positive expression rate of STAT3 in colon carcinoma tissue was 95.83%, which was significantly higher than that in paracancerous tissue of 4.17% ($P < 0.05$). The expression of STAT3 was positively correlated with IL-6 in colon carcinoma tissue. **Conclusion** IL-6 and STAT3 are involved in the occurrence and development of colon carcinoma, which can be used as an important reference for colon carcinoma diagnosis and therapeutic targets.

【Key words】 Colon carcinoma; Interlenkin-6 (IL-6); Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3)

基金项目: 陕西中医药大学培育基金(编号: 2016PY09)

通讯作者: 张红。E-mail: zhangh1227@163.com

综上所述, 采用 1 h、3 h 及 6 h 海水浸泡兔膝关节的造模方法可以提高关节液中的炎性因子水平, 但 6 h 海水浸泡的实验动物存活率较低, 因而 1 h 和 3 h 的海水浸泡时间可以满足兔膝关节海水浸泡损伤的造模需要, 而 3 h 的浸泡时间更容易引发造模所需的炎症反应。该兔膝关节海水浸泡损伤模型可应用于进一步研究, 在损伤分型、病理改变和早期救治等方面发挥作用。

参考文献

[1] 张雪非, 吕荣, 陈士明, 等. 海水浸泡爆炸伤关节滑膜修复的研究[J]. 中国骨与关节损伤杂志, 2006, 21(12): 980-982.

[2] 张雪非, 刘文华, 史惠强, 等. 肢体关节爆炸伤并海水浸泡后的创伤反应[J]. 中华创伤骨科杂志, 2005, 7(8): 761-763.

[3] Shapiro L, Dinarello CA. Hyperosmotic stress as stimulant for proin-

flammatory cytokine production [J]. Exp Cell Res, 1997, 231(2): 354-362.

[4] 洪建明, 刘敏, 胡学峰. 海水浸泡感染后皮肤软组织缺损修复的异性观察[J]. 中国矫形外科杂志, 2013, 21(15): 1569-1571.

[5] 宁浩勇, 孟宇宏, 刘肖, 等. 创伤合并海水浸泡后愈合过程延迟的因素分析[J]. 转化医学杂志, 2013, 2(5): 272-276.

[6] 林建宁, 阮狄克, 杨伟志. 模拟海水浸泡开放骨折的实验研究[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志, 2006, 13(3): 140-142.

[7] 杨伟志, 阮狄克, 林建宁. 海水浸泡股骨开放性骨折的早期救治[J]. 中华创伤骨科杂志, 2005, 7(3): 250-253.

[8] 张炎, 刘刚, 王育红, 等. 肿瘤坏死因子- α 、白介素-6、丙二醛、超氧化物歧化酶在大鼠腹腔海水浸泡伤中的表达[J]. 实用医学杂志, 2009, 25(22): 3764-3766.

[9] 刘瑾红, 韩善桥. 海战伤细菌感染特点及抗菌药物的应用[J]. 人民军医, 2014, 57(10): 1043-1044.

(收稿日期: 2016-07-07)