

doi:10.3969/j.issn.2095-4344.2012.40.031

[http://www.crter.org/crter-2012-qikanquanwen.html]

汪海涵, 王佳, 龙腾河. 皮瓣移植及免疫调节[J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(40):7588-7595.

皮瓣移植及免疫调节

汪海涵¹, 王佳¹, 龙腾河²广西医科大学第四附属医院¹骨科,²放射科, 广西壮族自治区柳州市 545005汪海涵, 男, 1969年生, 广西壮族自治区柳州市人, 汉族, 1994年桂林医学院毕业, 主治医师, 主要从事整形及手腕部再植研究。
949337723@qq.com通讯作者: 龙腾河, 副主任医师, 广西医科大学第四附属医院放射科, 广西壮族自治区柳州市 545005
longtenhe1965@yahoo.com.cn中图分类号: R318
文献标识码: B
文章编号: 2095-4344(2012)40-07588-08收稿日期: 2012-06-15
修回日期: 2012-07-10
(20120329022/SJ·C)

文章亮点: 皮瓣移植是一种复合组织的移植, 包含皮肤、脂肪、肌肉、软骨、血管及神经的移植, 这些组织移植后均会产生不同程度的免疫排斥反应, 而使皮瓣发生排斥, 同时皮肤组织与其它固体器官相比较, 具有更高的抗原性, 因此, 皮瓣移植免疫排斥反应的发生率更高, 危害性更强, 抑制调节皮瓣移植排斥反应的发生, 可延长皮瓣移植的存活期, 提高移植皮瓣的存活率。

关键词: 皮瓣; 移植; 免疫; 排斥反应; 一氧化氮; 成纤维细胞生长因子; 表皮生长因子; 微循环; 异丙酚; 盐酸罂粟碱; 丙二醛; 过氧化物酶

摘要

背景: 皮肤损伤非常常见, 皮瓣移植是治疗皮肤损伤的方法之一, 而且已被广泛应用。设计合理的皮瓣移植, 抑制移植后排斥反应, 可以改善移植皮瓣的存活状态。

目的: 研究皮瓣移植后的免疫调节机制及抑制调节因素, 为皮瓣移植的免疫调节研究提供参考信息。

方法: 检索万方数据库 2002 至 2011 年收录皮瓣移植后免疫调节相关研究文献, 并进行深入分析, 对皮瓣移植动物模型建立可行性的实验研究和一氧化氮、成纤维细胞生长因子、表皮生长因子对皮瓣移植的影响以及皮瓣移植后的微循环保护研究和感觉神经末梢再生研究进行实验数据分析, 以明确影响移植皮瓣存活的因素, 并进行调控, 延长移植皮瓣的存活期, 改善皮瓣移植后的存活状态。

结果与结论: 皮瓣移植的大鼠实验模型是一种很好的皮瓣移植动物模型, 可以进行各种移植皮瓣的模型建立, 并且可以用于皮瓣移植免疫以及微循环等各方面的实验研究。在皮瓣移植后的免疫调节中, 一氧化氮和成纤维细胞生长因子以及表皮生长因子均可以对免疫反应进行调控影响, 而异丙酚以及盐酸罂粟碱等物质可以对皮瓣移植后的微循环保护起到一定的作用。

Flap transplantation and immunoregulation

Wang Hai-han¹, Wang Jia¹, Long Teng-he²

Abstract

BACKGROUND: Skin lesions are very common, and flap transplantation is a kind of treatment method for skin lesions, and has been widely applied. Design reasonable flap transplantation and suppress the rejection after transplantation can improve the survival status of the transplanted flap.

OBJECTIVE: To research the immunoregulation mechanism and inhibitory factor after flap transplantation, and to provide reference information for the research of immunoregulation after flap transplantation.

METHODS: The Wanfang database was searched for the related articles on the immunoregulation after flap transplantation from 2002 to 2011 and the in-depth analysis was performed. The experimental data analysis was performed to analyze the feasibility of the establishment of flap transplantation models, the effect of nitric oxide and fibroblast growth factor on flap transplantation, as well as the microcirculation protection after flap transplantation, in order to identify the influential factors of the survival of transplanted flap, and to regulate, extend the survival of the transplanted flap and improve the state of survival after flap transplantation.

RESULTS AND CONCLUSION: The rat model with flap transplantation is a good flap transplantation animal model, it can be used to establish the model with various flap transplantation, and can be used for the experimental research on the immunity and the microcirculation of flap transplantation. During the immunoregulation after flap transplantation, both nitric oxide and fibroblast growth factor has regulation effect on the immune response, while the propofol and papaverine hydrochloride substances play a important role in microcirculation protection after flap transplantation.

Wang HH, Wang J, Long TH. Flap transplantation and immunoregulation. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu. 2012;16(40): 7588-7595.

0 引言

皮瓣移植是目前临床常用的修复皮肤缺损的治疗方法, 主要用于修复创面、功能重建和改善外形。皮瓣是外科组织瓣之一, 指含有自身血液供应以及皮肤组织的活性组织块, 主要由蒂部和瓣部2个部分组成。蒂部为瓣部成活的关键因素, 为皮瓣提供必要的血液供应; 瓣部是移植的目标部位, 为被转移的组织。临床应用皮瓣的形式主要有带蒂移位和游离移植。随着皮瓣技术的发展, 皮瓣种类逐渐增多, 应用范围逐渐拓宽, 目前在骨科手外科、头颈颅面外科、整形美容外科等科室均有应用。

20世纪50年代以前, 移植皮瓣的应用主要是带蒂转移的随意型血供皮瓣; 20世纪五六十年代出现了肌瓣和轴型血供皮瓣; 20世纪70年代随着显微外科组织移植的开展, 吻合血管的游离皮瓣、肌皮瓣和肌骨皮瓣等获得了发展, 随着研究的不断深入以及相关技术的飞速发展, 皮瓣外科的发展目前已基本成熟, 在人体可选择的轴型皮瓣已达50多处^[1], 而游离皮瓣移植是皮瓣移植中研究最为深入的创面修复方法, 也是最为常用的皮肤组织创面修复方法。

移植游离皮瓣的分型:

直接皮肤血管皮瓣: 营养皮肤的动脉在穿出深筋膜后于皮肤表面平行, 走行于皮下组织内, 并沿途发出小支以供养皮下组织及皮肤。此种皮瓣为典型的轴形皮瓣, 腹股沟皮瓣、胸三角皮瓣均属于此类皮瓣。

肌皮血管皮瓣: 也称肌皮瓣, 通过肌组织发出营养支, 垂直穿透深筋膜至皮下组织及皮肤。此类皮瓣在移植时不可将皮瓣与其深面肌分离, 否则不能成活, 因此, 此类皮瓣实际是一种复合组织瓣。胸大肌皮瓣、背阔肌皮瓣等均属于此类皮瓣。

动脉干网状血管皮瓣: 由动脉干上直接发出许多微细的血管支, 组成丰富的网状结构, 直接营养其所属的皮肤。此类皮瓣的动脉多为体表浅的动脉主干, 口径较粗, 易于吻合成功, 而且主干的两端均较粗, 皆可供吻合。前臂皮瓣属于此类皮瓣。

肌间隔血管皮瓣: 动脉行走于肌间隔内, 然后发出分支至皮肤, 并与其它皮肤动脉吻合。此类皮瓣可分离出较长一段血管蒂, 且多有两条静脉伴行。上臂内、外侧皮瓣及小腿外侧皮瓣均属于此类皮瓣。

在皮瓣移植过程中, 除了选择自体皮瓣移植外, 其余任何异体皮瓣移植都能发生不同程度的免疫应答排斥反应, 而皮肤组织与其它器官组织相比较具有更高的抗原性, 因此, 皮瓣移植后的存活时间比其它组织器官移植物要短很多。有实验表明, 游离皮瓣移植后, 在不采用抗免疫排斥反应措施的情况下, 移植皮瓣的存活期只有10 d左右^[2-4], 因此, 皮瓣移植后的免疫调节作用更为重要。

皮肤组织具有较高的抗原性, 因此, 免疫排斥反应仍是移植失败的主要因素。有实验应用冰冻、干燥、辐照、甲醛等物理或化学方法, 降低或消除移植皮瓣的抗原性, 但移植组织经过处理后, 多不能完全消除抗原性且活性丧失, 而且移植后易发生血栓或动脉瘤等并发症^[5]。降低复合组织移植风险的方法主要有3种: 治疗前实施更为谨慎合理的组织配型方案, 研究新型特异性免疫抑制治疗, 以及复合组织免疫耐受研究^[6]。其中以复合组织免疫耐受研究最受瞩目, 已经成为移植免疫耐受研究领域的热点^[7], 而皮肤包括表皮和真皮, 是复合组织移植中抗原性最强的组织, 因此, 皮肤移植物的免疫耐受研究更是其中的难点^[8]。

免疫抑制治疗可以有效抑制移植组织的急性排斥反应, 提高皮瓣成活率, 但对于慢性排斥反应却作用甚微, 而慢性排斥反应却严重影响了异体皮瓣的功能恢复。若能完全消除供受体之间的免疫应答, 便可有效控制慢性排斥反应的发生, 可以有效的延长移植皮瓣的存活期, 提高皮瓣移植的存活率。

文章通过对皮瓣移植后免疫调节的各种作用机制进行分析, 为皮瓣移植的免疫研究提供参考信息。

1 资料和方法

1.1 资料来源

检索数据库: 万方数据库 (<http://www.wanfangdata.com.cn>)。

检索时间范围: 2002年1月至2011年12月。

检索关键词: 皮瓣; 移植; 免疫。

检索文献量: 共检索文献34篇。

¹Department of Orthopedics,

²Department of Radiology, the Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou 545005, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Wang Hai-han, Attending physician, Department of Orthopedics, the Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou 545005, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
949337723@qq.com

Corresponding author: Long Teng-he, Associate chief physician, Department of Radiology, the Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou 545005, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China
longtenhe1965@yahoo.com.cn

Received: 2012-06-15
Accepted: 2012-07-10

实验文献量: 选取分析文献 7 篇。

1.2 入选标准

纳入标准: ①有肌腱、神经或血管等损伤的创面修复。②器官再造。③增强局部血运改善营养状态。

排除标准: ①皮肤组织的小创口损伤可直接缝合修复。②皮下组织病变引起的皮肤变形。

1.3 资料提取 基于万方数据库检索到的文献进行分析。

1.4 分析指标 ①皮瓣移植后免疫研究的动物实验模型分析。②一氧化氮在皮瓣移植后免疫调节中的作用分析。③成纤维细胞生长因子在皮瓣移植中的变化分析。④表皮生长因子在皮瓣移植中的变化分析。⑤皮瓣移植后微循环的研究分析。⑥皮瓣移植后感觉神经末梢再生的研究分析。

2 结果

2.1 皮瓣移植后免疫实验研究文献分析 万方数据库 2002 至 2011 年收录皮瓣移植后免疫调节研究的相关文献共 34 篇, 选取实验分析文献 7 篇, 见表 1。

表 1 万方数据库 2002 至 2011 年收录皮瓣移植后免疫调节研究的实验分析文献

作者	文题	来源期刊/单位	发表时间
潘华, 等 ^[9]	近交系大鼠腹部游离皮瓣移植模型的建立及意义	中国美容医学	2007
华德军, 等 ^[10]	NO 介导 IL-6、TNF- α 对大鼠任意皮瓣存活影响的实验研究	中国现代医药杂志	2011
刘芬兰, 等 ^[11]	FGF 受体在皮瓣移植中的分布变化	解剖学报	2002
刘芬兰, 等 ^[12]	皮瓣移植过程中表皮生长因子的变化及促进组织修复的机制	中国临床康复	2004
严英光 ^[13]	不同剂量异丙酚对防止大鼠皮瓣缺血再灌注损伤的实验研究	河北医科大学	2010
胡慧敏 ^[14]	盐酸罂粟碱对任意皮瓣微循环影响的实验研究	河北医科大学	2007
刘芳, 等 ^[15]	失神经皮瓣移植术后感觉神经再生的研究	中国现代医药杂志	2002

万方数据库 2002 至 2011 年收录皮瓣移植后免疫调节研究的相关文献共 34 篇, 选取 7 篇文献进行实验研究分析, 分别是 2007 年发表的“近交系大鼠腹部游离皮瓣移植模型的建立及意义”, 第一作者潘华, 来源期刊《中国美容医学》; 2011 年发表的“NO 介导 IL-6、TNF- α 对大鼠任意皮瓣存活影响的实验研究”, 第一作者华德军, 来源期刊《中国现代医药杂

志》; 2002 年发表的“FGF 受体在皮瓣移植中的分布变化”, 第一作者刘芬兰, 来源期刊《解剖学报》; 2004 年发表的“皮瓣移植过程中表皮生长因子的变化及促进组织修复的机制”, 第一作者刘芬兰, 来源期刊《中国临床康复》; 2010 年发表的“不同剂量异丙酚对防止大鼠皮瓣缺血再灌注损伤的实验研究”, 第一作者严英光, 来源于河北医科大学硕士学位论文; 2007 年发表的“盐酸罂粟碱对任意皮瓣微循环影响的实验研究”, 第一作者胡慧敏, 来源于河北医科大学硕士学位论文; 2002 年发表的“失神经皮瓣移植术后感觉神经再生的研究”, 第一作者刘芳, 来源期刊《中国现代医学杂志》。

2.2 皮瓣移植后免疫研究的动物实验模型分析 实验研究一般为动物模型实验研究和临床病例随访实验研究, 动物实验模型的建立可以为临床应用研究提供辅助参考信息。潘华等通过建立动物实验模型研究皮瓣移植后免疫调节, 实验方法见表 2。

表 2 潘华等通过建立动物实验模型研究皮瓣移植后免疫调节的实验方法

实验动物	皮瓣选择	实验分组	评估项目
RT1n 大鼠为供体; RT11 大鼠为受体	以股动静脉为血管蒂, 进行腹部游离皮瓣异体移植	急性排斥组(术后不予免疫抑制治疗); 免疫抑制组(术后腹腔注射免疫抑制剂)	排斥反应发生情况、皮瓣存活时间、组织病理学检查

对 2 组移植后皮瓣进行观察发现, 急性排斥组皮瓣移植后 6-8 d 天发生明显急性免疫排斥反应, 并且逐渐加重, 而免疫抑制组皮瓣移植后均可很好存活, 存活时间均超过 100 d。对两组移植皮瓣进行组织病理学检查发现, 急性排斥组移植后皮瓣有血管炎、毛囊炎及真皮炎症等典型的急性免疫排斥反应表现, 而免疫抑制组移植后皮瓣均无明显免疫排斥反应的病理学表现。

通过对建立动物模型, 对皮瓣移植后的免疫调节进行分析, 潘华等得出实验结论: 近交系大鼠腹部游离皮瓣移植模型是异体皮肤移植免疫学研究良好的动物模型, 操作简单, 易于观察免疫排斥反应的发生并可稳定控制。

皮瓣移植实验中稳定可靠的动物模型建立有重要的意义, 因为猪、兔、犬等实验动物缺乏严格的近交系品种, 异基因体系对照不严格, 为了排除杂合基因的干扰, 所有免疫耐受研究动物模型均要求在近交系动物之间建立。目前复合组织移植如皮瓣移植免疫研究常用的动物模型主要有小鼠或大鼠侧胸部皮瓣

移植模型、大鼠腹壁及背部皮瓣移植模型、大鼠后肢皮瓣移植模型以及大鼠半侧颜面部皮瓣移植模型。

潘华等对游离皮瓣移植的动物实验模型研究不仅为皮瓣移植的免疫学研究提供了很好的动物实验模型参考,而且为皮瓣移植的其它方面如各种类型移植皮瓣的实验模型设计以及对移植皮瓣各种干扰因素的调节等研究提供了重要的动物模型实验参考信息。

2.3 一氧化氮在皮瓣移植后免疫调节中的作用分析 华德军等通过实验研究分析一氧化氮在皮瓣移植后免疫调节中的作用,实验方法及结果见表 3-5。

表 3 华德军等研究分析一氧化氮在皮瓣移植后免疫调节中的作用实验方法

实验模型	实验分组	检测方法及项目
56 只大鼠任意型皮瓣移植模型	左旋精氨酸组、实验组和对照组	硫代巴比妥酸法检测丙二醛;黄嘌呤氧化酶法检测超氧化物歧化酶的活性;双抗体夹心酶联免疫法检测血清白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 水平;皮瓣存活长度与皮瓣实际长度比例计算出皮瓣存活率

表 4 华德军等研究分析一氧化氮在皮瓣移植后免疫调节中的作用中与对照组进行比较的结果

实验分组	丙二醛含量	超氧化物歧化酶活性	白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 水平
左旋精氨酸组	升高	下降	升高
实验组	升高	下降	升高

表 5 华德军等研究分析一氧化氮在皮瓣移植后免疫调节中的作用中与实验组进行比较的结果

	丙二醛含量	超氧化物歧化酶活性	白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 水平	皮瓣存活率
左旋精氨酸组	下降	升高	降低	升高
统计学分析	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$	$P < 0.01$

与对照组进行比较,左旋精氨酸组和实验组皮瓣移植后丙二醛含量明显升高,超氧化物歧化酶含量明显降低,血清中白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 水平明显升高;在皮瓣移植后第 1, 3, 7 天与实验组进行比较,左旋精氨酸组丙二醛含量明显降低,且差异有显著性意义($P < 0.01$),超氧化物歧化酶活性明显升高,差异有显著性意义($P < 0.01$),血清中白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 水平明显降低($P < 0.01$);在皮瓣移植后第 7 天,实验组皮瓣移植后存活率为 51.30%,左旋精氨酸组皮瓣移植后存活率 68.71%,明显高于实验组。

通过对大鼠游离皮瓣移植实验模型的研究可得出以下结论:皮瓣移植后存在氧化应激和炎症反应的损害,移植皮瓣中丙二醛含量升高,过氧化物歧化酶活性降低,血清中白细胞介素 6 和肿瘤坏死因子 α 水平升高;而一氧化氮介导炎症因子的降低能够改善移植皮瓣的氧化应激状态,减轻炎症反应,对皮瓣移植起到保护作用。

大鼠皮瓣移植后氧化应激和炎症反应参与皮瓣损害,而一氧化氮介导引起炎症因子降低起到抗氧化和抗炎作用,提高移植皮瓣的存活率。

2.4 成纤维细胞生长因子在皮瓣移植中的变化分析 成纤维细胞生长因子能够诱导损伤的细胞快速增殖而使皮瓣移植创面愈合^[16]。成纤维细胞生长因子受体几乎存在于所有的组织中,成纤维细胞生长因子通过与靶细胞膜表面的受体相结合而诱导细胞分裂增殖。刘芬兰等通过大鼠背部皮瓣移植模型分析成纤维细胞生长因子在皮瓣移植中的变化,实验方法及结果见表 6 和表 7。

表 6 刘芬兰等研究分析成纤维细胞生长因子在皮瓣移植中的变化实验方法

实验模型	皮瓣选择	实验分组	检测项目
68 只健康大鼠	大鼠背部设计任意型移植皮瓣	正常组大鼠 4 只;实验组和对照组各 32 只大鼠,按照观察时间各分为 8 组	免疫组化染色后光镜分析、统计学分析

表 7 刘芬兰等研究分析成纤维细胞生长因子在皮瓣移植中的变化实验结果

皮肤组织中的分布	皮瓣移植前后阳性细胞数目的变化	皮瓣移植后加入外源性成纤维细胞生长因子的影响
表皮基层细胞,真皮层、皮下组织和深筋膜中的血管内皮细胞、成纤维细胞及毛囊、汗腺的上皮细胞均有成纤维细胞生长因子受体表达	成纤维细胞生长因子受体免疫反应阳性细胞数在皮瓣移植后 1-5 d 逐渐增加,第 5 天达到高峰,第 7 天恢复到皮瓣移植前的水平	加入外源性成纤维细胞生长因子后,与对照组相比较,实验组成纤维细胞生长因子受体免疫反应阳性细胞数在皮瓣移植后 1-3 d 均有明显增加,移植后第 3 天达到高峰,高峰期提前 2 d,峰值明显增高

皮瓣移植前后成纤维细胞生长因子受体免疫反应强弱的平均吸光度值无明显改变($P > 0.05$),与移植前相比,皮瓣移植后成纤维细胞生长因子受体免疫反应细胞平均面积和平均细胞数在第 1-6 天增加比较明显($P < 0.05$),其中移植后第 5 天增加最多($P < 0.01$),第 7 天恢复到移植前水平。通过实验数据分析得出实验结论:皮瓣各层组织细胞中都存在成纤维细胞生长因子受体,成纤维细胞生长因子受体免疫反应阳性细胞数在移植后 1-5 d 逐渐增加,第 5 天达高峰,加入外源性成纤维细胞生长因子后可使成纤维细

胞生长因子受体增加。

成纤维细胞生长因子是肽类生长因子,能够刺激与创伤细胞快速分裂增殖,形成新的细胞间质和肉芽组织,同时毛细血管增生,促进皮瓣移植创面的愈合。

2.5 表皮生长因子在皮瓣移植中的变化分析 刘芬兰等通过大鼠背部皮瓣移植模型分析表皮生长因子在皮瓣移植中的变化,实验方法及结果见表8和表9。

表8 刘芬兰等研究分析表皮生长因子在皮瓣移植中变化实验方法

实验模型	皮瓣选择	实验分组	检测项目
68只健康大鼠	大鼠背部设计任意型移植皮瓣	正常组大鼠4只;实验组和对对照组各32只大鼠,按照观察时间各分为8组	免疫组化染色后光镜分析、统计学分析

表9 刘芬兰等研究分析表皮生长因子在皮瓣移植中的变化实验结果

皮肤组织中的分布	皮瓣移植前后阳性细胞数目的变化	皮瓣移植后加入外源性表皮生长因子的影响
光镜观察免疫组化染色阳性主要是皮肤表皮、皮下组织和深筋膜中的上皮细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞和毛囊汗腺的上皮细胞	表皮生长因子受体免疫反应阳性细胞数在皮瓣移植后1-9d逐渐增加,至第9天达高峰,第13天恢复到移植前水平	加入外源性表皮生长因子后,与对照组相比较,实验组表皮生长因子受体免疫反应阳性细胞数在皮瓣移植后1-6d均有明显增加,第6天达高峰,高峰期提前3d

皮瓣移植后,表皮生长因子免疫反应细胞平均面积和平均细胞数在皮瓣移植后即刻至第3天差异显著,皮瓣移植后4-6d,差异更为明显($P < 0.01$),第7-9天差异最大($P < 0.001$)。第13天恢复至移植前水平。皮瓣移植后,加入外源性表皮生长因子并与对照组进行比较,发现实验组表皮生长因子受体免疫反应细胞数在移植后1-7d均有明显增加,并于第7天达高峰,高峰期提前2d,峰值也显著增加。

刘芬兰等通过研究分析表皮生长因子在皮瓣移植中的变化得出实验结论:大鼠皮瓣移植免疫反应阳性细胞主要存在于表皮、皮下组织和深筋膜中的上皮细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞和毛囊汗腺的上皮细胞。

表皮生长因子是生物体内活性多肽或蛋白质,广泛存在于造血系统以外所有组织中。当人体在正常生理状态下,表皮生长因子在低表达水平上,当细胞受到刺激后,表皮生长因子释放增加,与靶细胞膜上的受体形成特异性复合物,从而发挥生物学效应。

成纤维细胞生长因子和表皮生长因子均可以与细胞膜上的受体相结合形成相应复合物参与启动和调控细胞分裂增殖,促进皮瓣移植创面的修复,加快

愈合。

2.6 皮瓣移植后微循环的研究分析 皮瓣移植后恢复充足的血供是移植皮瓣成活的关键之一,而缺血再灌注后损伤保护更为重要。严英光和胡慧敏分别通过实验模型对皮瓣移植后的微循环进行研究分析,实验方法见表10。

表10 不同物质对皮瓣移植后缺血再灌注损伤调控保护研究的实验方法

项目	作者严英光 ^[13] 文献数据	作者胡慧敏 ^[14] 文献数据
实验模型	健康大鼠80只	健康大鼠60只
实验分组	每组20只大鼠,共4组	每组30只大鼠,共2组
移植皮瓣选择	腹壁浅血管为蒂的岛状移植皮瓣的缺血再灌注模型	大鼠背部的任意型移植皮瓣模型
检测物质	异丙酚	盐酸罂粟碱
评估项目	皮瓣大体观察、皮瓣成活率、光镜观察、丙二醛含量、髓过氧化物酶含量、皮瓣组织中细胞间粘附分子1和NF- κ B的表达以及统计学分析	皮瓣大体观察、皮瓣成活率、光镜观察、丙二醛含量、微血管计数以及统计学分析

2组实验结果见表11和表12。

表11 严英光对异丙酚用于皮瓣移植后缺血再灌注损伤调控保护研究的实验结果

检测项目	检测结果
移植皮瓣大体观察	皮瓣移植后7d,各实验组移植皮瓣近段生长良好,对照组移植皮瓣中段及远段生长较差,P50组移植皮瓣中段及远段生长较差,P100组和P150组移植皮瓣中段生长良好,远段生长较差
皮瓣成活率	P150组>P100组>P50组>对照组,并且各实验组与对照组比较差异均有显著性意义($P < 0.01$);实验组间比较,P150组和P100组之间差异无显著性意义($P > 0.05$),其余各组间差异均有显著性意义($P < 0.01$)
光镜观察	皮瓣移植后7d,对照组表皮、真皮及肉膜层完全坏死,可见中性粒细胞浸润;P50组可见局部坏死,大量中性粒细胞浸润;P100组和P150组皮瓣各层结构物明显改变,可见散在中性粒细胞浸润
丙二醛含量检测	皮瓣移植后丙二醛含量随时间延长而逐渐升高,24h达高峰,4组丙二醛含量比较差异有显著性意义($P < 0.01$),各实验组与对照组比较丙二醛含量下降($P < 0.01$),P100组和P150组丙二醛含量低于P50组($P < 0.05$),P100组与P150组间比较丙二醛含量差异无显著性意义($P > 0.05$)
髓过氧化物酶含量检测	皮瓣移植后髓过氧化物酶含量随时间延长逐渐升高,24h达高峰,4组髓过氧化物酶含量比较有明显差异($P < 0.01$),各实验组与对照组比较髓过氧化物酶含量明显下降($P < 0.01$),P100组和P150组髓过氧化物酶含量低于P50组($P < 0.05$),P100组与P150组间比较髓过氧化物酶含量差异无显著性意义($P > 0.05$)
细胞间粘附分子1的免疫组化染色表达	皮瓣移植后,细胞间粘附分子1的免疫组化染色表达4组比较差异有显著性意义($P < 0.01$),各实验组与对照组比较细胞间粘附分子1表达明显下降($P < 0.05$),P100组和P150组细胞间粘附分子1表达低于P50组($P < 0.05$),P100组与P150组间比较细胞间粘附分子1表达无明显差异($P > 0.05$)
NF- κ B免疫组化染色表达	皮瓣移植后,NF- κ B免疫组化染色表达4组比较差异有显著性意义($P < 0.01$),各实验组与对照组比较NF- κ B表达明显下降($P < 0.05$),P100组和P150组NF- κ B表达低于P50组($P < 0.05$),P100组与P150组间比较NF- κ B表达差异无显著性意义($P > 0.05$)

严英光实验中将 80 只健康大鼠随机分为 4 组, 每组 20 只大鼠, P0 组为对照组, P50 组为注射异丙酚 50 mg/kg 剂量组, P100 组为注射异丙酚 100 mg/kg 剂量组, P150 组为注射异丙酚 150 mg/kg 剂量组, 进行生化检测、光镜检查以及移植皮瓣的观察。胡慧敏实验中将 60 只健康大鼠随机分为 2 组, 每组 30 只大鼠, 每组再根据大鼠移植皮瓣检测项目的不同各分为 3 组, 以用于生化检测、光镜检查以及皮瓣成活情况的观察。

表 12 胡慧敏对盐酸罂粟碱用于皮瓣移植后缺血再灌注损伤调控保护研究分析的实验结果

检测项目	检测结果
形态学观察	皮瓣移植后 4 d 各组进行对比观察, 实验组生长良好, 对照组移植皮瓣中段及远段呈现不同程度的坏死, 端蒂后, 实验组远段可见坏死开始, 对照组更为严重
移植皮瓣存活率	端蒂后 10 d, 实验组移植皮瓣的存活率为 88.51%, 对照组移植皮瓣的存活率 62.54%, 2 组间比较差异有显著性意义($P < 0.05$)
组织学观察	2 组移植皮瓣的形态学相似, 无明显的炎性细胞浸润
微血管计数	400 倍显微镜下真皮血管网计数, 2 组间比较差异有显著性意义($P < 0.05$)
丙二醛含量检测	皮瓣移植后 24 h, 2 组移植皮瓣间丙二醛含量比较差异有显著性意义($P < 0.05$)

严英光和胡慧敏分别对异丙酚和盐酸罂粟碱用于皮瓣移植后缺血再灌注损伤保护进行实验分析研究, 根据实验中的各项检测数据结果得出实验结论, 见表 13。

表 13 严英光和胡慧敏分别对皮瓣移植后缺血再灌注损伤保护研究分析的实验结论

作者	实验结论
严英光 ^[13]	NF- κ B 的活化与细胞间粘附分子 1 的诱导对移植皮瓣缺血再灌注损伤的保护起着重要作用; 异丙酚可能通过抑制缺血皮瓣组织的各种作用机制抑制 NF- κ B 的表达与活化, 继而下调细胞间粘附分子 1 的表达, 从而对皮瓣缺血再灌注损伤起保护作用; 大鼠腹腔应用异丙酚的最佳剂量为 100-150 mg/kg
胡慧敏 ^[14]	盐酸罂粟碱注射液能够诱导随意皮瓣真皮下血管网血管生成, 能够对皮瓣缺血再灌注损伤产生一定的保护作用

异丙酚和罂粟碱对皮瓣移植后缺血再灌注损伤均有一定的保护作用, 分别应用两种药物后, 对移植皮瓣无论是在大体形态、免疫组化染色、微血管计数以及存活率的检测均显示了具有提高移植皮瓣存活率的作用, 因此, 两种药物均可以应用于移植皮瓣的微循环保护调控中。

通过对严英光及胡慧敏应用于移植皮瓣缺血再灌注损伤保护的实验模型研究, 可知异丙酚和盐酸罂

粟碱通过不同的作用机制对皮瓣移植后的缺血再灌注损伤进行保护, 对两种药物可以进行进一步的深入研究以明确临床应用的可能。

异丙酚作为临床常用的一种麻醉药物, 除了具有麻醉和镇静作用外, 还具有降低炎症反应和对器官缺血再灌注损伤的保护作用。该药物直接作用于血管平滑肌, 能够扩张血管, 增加血流, 改善微循环^[17-18]。

罂粟碱是一种血管松弛剂, 可预防性抑制微循环的痉挛收缩, 改善缺血再灌注损伤, 减少自由基的生成, 诱导真皮下血管网的血管生成, 提高移植皮瓣的存活率^[19]。

2.7 皮瓣移植后神经再生的研究分析 皮瓣移植常伴有相关支配神经的损伤, 移植后皮瓣既能够良好存活, 又能够恢复神经感觉及其它神经系统功能, 才达到满意的移植效果。刘芳等通过实验分析皮瓣移植后感觉神经的再生, 实验方法及结果见表 14 和表 15。

表 14 刘芳等研究分析皮瓣移植后感觉神经再生的实验方法

实验模型	皮瓣选择	实验分组	检测项目
21 只健康大鼠	大鼠右下腹腹壁设计任意型移植皮瓣	A 组为对照组, 大鼠 5 只; B 组为术后 1 个月组, 大鼠 5 只; C 组为术后 2 个月组, 大鼠 5 只; D 组为术后 3 个月组, 6 只大鼠	改良 Bielschowsky 银染法 ^[20-21] 和免疫组化 ^[22-24] 染色后光镜分析、统计学分析

表 15 刘芳等研究分析皮瓣移植后感觉神经再生的实验结果

实验分组	大体形态	免疫组化 S-100 抗体 (条/mm)	免疫组化 NF 抗体 (条/mm)	改良 Bielschowsky 银染法 (条/mm)
术后 1 个月组	神经末梢短小、零乱、稀少	0.32	0.30	0.43
术后 2 个月组	神经逐渐增长, 短弧形, 密度略有增加	0.72	0.74	0.81
术后 3 个月组	神经末梢密度增加, 长弧形、长丝状, 长度和密度接近正常	1.32	1.25	1.20

正常对照组大鼠腹壁皮瓣神经末梢平均数为 1.35 条/mm。皮瓣移植术后 1 个月组与 2 个月组之间以及 2 个月组与 3 个月组之间进行比较, 差异无显著性意义($P > 0.05$), 但是皮瓣移植术后 1 个月组与 3 个月组之间进行比较, 神经末梢的生长有显著差别, 说明皮瓣移植术后 3 个月神经末梢才开始有明显恢复。

通过对皮瓣移植后感觉神经再生的动物模型进行实验研究可得出结论: 失神经皮瓣移植术后感觉神经末梢可以再生, 一般从边缘开始向中央生长、再生速度为 10 d 1 mm, 神经末梢再生的速度与皮瓣的大小以及厚度有关。

移植皮瓣感觉神经末梢是可以再生的, 再生恢复时间与移植皮瓣面积大小及厚度有关, 移植皮瓣面积大、厚度大, 感觉神经末梢恢复的时间可能相对较长^[25]。小面积移植皮瓣有感觉神经全部自行恢复的可能。因此, 完全无神经支配的移植皮瓣, 神经有可能再生, 面积小的皮瓣可完全恢复神经感觉, 面积大的皮瓣可部分恢复神经感觉。

3 讨论

随着城市化的不断发展, 四肢高能量损伤不断增加, 组织损伤的程度也在加重, 损伤部位不仅局限于粉碎性骨折, 而且常伴有软组织的挫灭、缺损, 甚至出现血管神经损伤, 更严重的可出现肢体断离的发生。大面积的组织缺损, 长时间骨、血管以及神经组织的暴露, 应用皮瓣移植可短期愈合创面, 保护骨、血管和神经组织, 对肢体功能的恢复, 提高治疗效果, 缩短病程, 减少患者痛苦, 甚至避免截肢等具有重要的意义。

皮瓣是具有血液供应的皮肤及其附着的皮下脂肪组织所形成。皮瓣移植时常伴有相关神经、血管的移植, 是一种复合组织移植。经过多年的实验研究以及临床应用, 已经开始考虑移植皮瓣的美观效果来选择最佳皮瓣的供区, 达到供区的功能和美观影响均最小, 受区也可以获得较好的功能和美观效果^[26-28]。因此, 选择供瓣区皮瓣时, 要求皮肤外观正常, 质地柔软而无瘢痕, 其中至少有一对适当长度和外径的正常动、静脉分布, 并且解剖位置较明确, 变异较小, 以便能够在手术显微镜下吻合, 皮瓣选择可供足够大小的皮瓣的需要, 且皮瓣的厚薄、肤色要能满足受区的需要, 皮瓣有可供缝接的感觉神经, 转移后对供皮瓣部位的功能和形态影响不大。

常用来选择的移植皮瓣有侧胸皮瓣、肩胛区皮瓣、股内侧皮瓣、股前内侧皮瓣、股外侧皮瓣、足背皮瓣、胸肩峰皮瓣、前臂皮瓣、下腹皮瓣、髂腰部皮瓣等。例如, 四肢大面积的创面修复, 多采用侧胸部、股前外侧部、脐旁部等部位的皮瓣移植修复; 而手部、足部小面积的创面, 可采用臂内侧、足外、内侧、膝

内侧以及大腿和小腿内、外侧部小型皮瓣移植修复。带血管蒂皮瓣移植修复创面也是目前皮瓣移植应用较多的选择。例如内、外踝上部皮瓣, 小腿中、上部皮瓣, 指趾蹠皮瓣, 足内、外侧部皮瓣, 腓浅神经伴行血管蒂皮瓣, 阴囊部与腹股沟部皮瓣等, 这些部位的皮瓣皮质较好。大都是皮支或肌皮支血管为蒂, 带蒂移位成活率较高, 减少吻合血管的麻烦, 不损伤重要血管。

除了自体皮瓣移材料, 还有另一类皮肤修复材料, 即异体皮瓣移植和异种皮瓣移植。1942 年 Brown 最早应用异体皮瓣移植修复大面积皮肤缺损, 此后, 便开始了皮瓣移植替代物的研究, 异种皮瓣移植和异体皮瓣移植既可以防止体内水、电解质和蛋白质等各种营养成分的丢失, 也可以减少皮肤创面的污染, 避免引起病原体的感染, 还可以减轻创面疼痛, 提高患者对治疗的耐受性, 同时提高移植皮瓣的存活率, 促进创面愈合, 另外, 异种皮瓣移植和异体皮瓣移植仍然是现今解决自体移植皮瓣来源不足或者无法接受自体移植皮瓣条件等问题的主要方法。但是异种皮瓣移植和异体皮瓣移植过程中存在的免疫反应更为严重, 尤其是排斥反应的发生, 因此, 皮瓣移植免疫机制及调控的研究更为重要。

皮瓣移植过程中要辅助综合治疗以延长皮瓣的存活期, 提高皮瓣的存活率, 既要给予免疫抑制剂预防急、慢性排斥反应的发生, 由要诱导免疫耐受治疗, 同时还要随移植皮瓣进行缺血再灌注损伤后的保护, 免疫移植剂也具有此类作用, 另外还要根据移植皮瓣的情况促进支配神经的再生, 不仅使移植皮瓣达到美观的满意效果, 还要回复移植皮瓣的神经功能如深浅感觉功能以及精细感觉功能等。

文章通过对皮瓣移植实验动物模型建立的研究以及对一氧化氮、成纤维细胞因子、表皮细胞因子对皮瓣移植免疫的影响及变化研究, 分析皮瓣移植的免疫调节机制, 抑制免疫排斥反应的发生, 延长移植皮瓣的存活期, 提高移植皮瓣的存活率。同时分析异丙酚和盐酸罂粟碱在皮瓣移植中对微循环的保护调控作用, 对延长移植皮瓣的存活仍有重要帮助。

总之, 在皮瓣移植前要根据患者皮瓣缺损部位、程度以及周围皮肤情况进行综合分析, 选择合适的移植皮瓣供应区, 并且要充分进行预防性的微循环保护, 调控抑制免疫, 同时促进神经再生, 使移植皮瓣能够永久性存活。

4 参考文献

- [1] 于家傲. 皮肤修复材料的发展历程—理念与技术的融合[J]. 中华损伤与修复杂志, 2011, 6(1): 8-10.
- [2] Gruber RP, Park E, Newman J, et al. The spreader flap in primary rhinoplasty. *Plast Reconstr Surg.* 2007;119(6): 1903-1910.
- [3] Bardach J, Kelly KM, Salyer KE. The effects of lip repair with and without soft-tissue undermining and delayed palate repair on maxillary growth: an experimental study in beagles. *Plast Reconstr Surg.* 1994;94(2):343-351.
- [4] 黄慕洁, 郭瑞华. 药物灌注对狗皮瓣异体移植的影响[J]. 中国重复修建外科杂志, 1993, 7(1): 41-43.
- [5] 涂青虹. 微型静脉皮瓣桥接断指再植[J]. 中国显微外科杂志, 1999, 22(2): 153-154.
- [6] 曲明, 于永山, 薛莲, 等. 同种异体血管移植的实验研究与临床应用[J]. 中华显微外科杂志, 1999, 22(3): 216.
- [7] Pidwell DJ, Burns C. The immunology of composite tissue transplantation. *Clin Plast Surg.* 2007;34(2):303-317.
- [8] Petit F, Lantieri L, Randolph MA, et al. Future research in immunology for composite tissue allotransplantation. *Ann Chir Plast Esthet.* 2006;51(1):11-17.
- [9] 潘华, 郭树忠, 王璐, 等. 近交系大鼠腹部游离皮瓣移植模型的建立及意义[J]. 中国美容医学, 2007, 16(12): 1672-1675.
- [10] 华德军, 潘维亮. NO介导IL-6、TNF- α 对大鼠任意皮瓣存活影响的实验研究[J]. 中国现代医药杂志, 2011, 13(9): 37-40.
- [11] 刘芬兰, 赵建文, 闻杰, 等. FGF受体在皮瓣移植中的分布变化[J]. 解剖学报, 2002, 33(6): 642-646.
- [12] 刘芬兰, 齐金萍, 邢雪松, 等. 皮瓣移植过程中表皮生长因子的变化及促进组织修复的机制[J]. 中国临床康复, 2004, 8(2): 230-231.
- [13] 严英光. 不同剂量异丙酚对防止大鼠皮瓣缺血再灌注损伤的实验研究[D]. 河北: 河北医科大学, 2010: 1-51.
- [14] 胡慧敏. 盐酸罂粟碱对任意皮瓣微循环影响的实验研究[D]. 河北: 河北医科大学, 2007: 1-52.
- [15] 刘芳, 常增林. 失神经皮瓣移植术后感觉神经再生的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2002, 12(7): 28-31.
- [16] Finch PW, Rubin JS. Keratinocyte growth factor/fibroblast growth factor 7, a homeostatic factor with therapeutic potential for epithelial protection and repair. *Adv Cancer Res.* 2004;91:69-136.
- [17] Aoki H, Mizobe T, Nozuchi S, et al. In vivo and in vitro studies of the inhibitory effect of propofol on human platelet aggregation. *Anesthesiology.* 1998;88(2):362-370.
- [18] 曹江北, 李云峰, 米卫东, 等. 丙泊酚对细胞内钙离子的调节[J]. 国外医学分册药理学分册, 2002, 29(5): 293-296.
- [19] Hong JP, Chung YK, Chung SH. The effect of prostaglandin E1 versus ischemia reperfusion injury of musculocutaneous flaps. *Ann Plast Surg.* 2001;47(3):316-321.
- [20] 李学拥, 陈绍宗, 李跃军, 等. 猴失神经手指神经植入后游离末梢的溃变与再生[J]. 中华显微外科杂志, 1998, 21(4): 283-284.
- [21] 吕荣, 白巍. 皮肤感觉神经末梢和环层人体的感染技术[J]. 中华病理学杂志, 1995, 24(1): 35.
- [22] 李跃军, 陈绍军, 胡三觉, 等. 兔耳大神经植入颈肩部失神经皮瓣后重建的量化研究[J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1990, 19(3): 193-195.
- [23] 张金池, 郭平凡, 林永堃, 等. 肢端动脉周围交感神经切除术治疗雷诺综合征[J]. 中国现代医学杂志, 2000, 10(7): 50.
- [24] 高水华, J David Gibeault. 吻合不吻神经的游离皮瓣感觉神经再生的实验研究[J]. 中华整形烧伤外科杂志, 1990, 6(3): 217-218.
- [25] 吴煜农, 蒲玲, 邢树忠. 皮瓣及肌皮瓣移植感觉功能恢复过程的临床研究[J]. 上海口腔医学, 1997, 6(4): 202-230.
- [26] 鲁开化, 刘建波. 轴型皮瓣研究与临床应用的进展[J]. 中华显微外科杂志, 1992, 15: 136.
- [27] 刘彦春, 王炜, 曹谊林, 等. 利用组织工程技术再生软骨组织的实验研究[J]. 中华显微外科杂志, 1999, 22(2): 122-124.
- [28] Cendales LC, Kirk AD, Moresi JM, et al. Composite tissue allotransplantation: classification of clinical acute skin rejection. *Transplantation.* 2005;80(12):1676-1680.

来自本文课题的更多信息——

作者声明: 文章为原创作品, 数据准确, 内容不涉及泄密, 无一稿两投, 无抄袭, 无内容剽窃, 无作者署名争议, 无与他人课题以及专利技术的争执, 内容真实, 文责自负。