

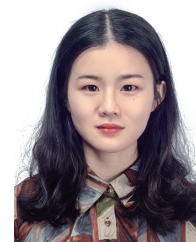
· 论 著 ·

本文亮点:

- (1) 证实红外热成像技术能预测小鼠随意型皮瓣坏死风险。
- (2) 明确术后 3、7 d 预测皮瓣 II 区坏死的相对温度截断值分别为 -0.1 和 0.1 $^{\circ}\text{C}$ 。
- (3) 揭示皮瓣 II 区低温信号与炎症及氧化应激的分子关联。

Highlights:

- (1) It was confirmed that infrared thermography can predict the necrosis risk of random flap in mice.
- (2) The relative temperature cut off values for predicting necrosis in the zone II of flaps at postoperative days 3 and 7 were determined as -0.1 and 0.1 $^{\circ}\text{C}$, respectively.
- (3) The molecular association between hypothermic signals in the zone II of flaps and inflammation and oxidative stress was revealed.



红外热成像技术对随意型皮瓣坏死风险的早期识别作用及其机制

江小琼¹ 徐结² 凌翔伟³ 蔡福满⁴ 陈好¹ 肖健¹

¹温州医科大学附属第一医院创面修复科,温州 325035;²温州医科大学瓯江实验室,温州 325035;³温州医科大学附属第一医院烧伤伤口中心,温州 325035;⁴温州医科大学护理学院,温州 325035

通信作者:肖健,Email:xfxj2000@126.com

【摘要】 目的 探讨红外热成像(IRT)技术对随意型皮瓣坏死风险的早期识别作用及其机制。**方法** 该研究为成组设计实验研究。于 92 只 6~8 周龄雄性 C57BL/6 小鼠背部建立随意型皮瓣模型,从尾部到头部划分为面积相等的 I、II、III 区,用红外热像仪测量 3 个区术后 0(即刻)、3、7 d 的相对温度(目标区与对照区的温度差值)。术后 3、7 d,通过受试者操作特征(ROC)曲线分析皮瓣 II 区相对温度对皮瓣坏死的预测效能,并确定最佳截断值。根据术后 3 d 皮瓣 II 区相对温度,将小鼠分为 >-0.1 $^{\circ}\text{C}$ 组、 ≤ -0.1 $^{\circ}\text{C}$ 组;根据术后 7 d 皮瓣 II 区相对温度,将小鼠分为 >0.1 $^{\circ}\text{C}$ 组、 ≤ 0.1 $^{\circ}\text{C}$ 组,每组各 4 只。计算前 2 组小鼠术后 3 d 和后 2 组小鼠术后 7 d 皮瓣 II 区存活面积百分比,采用激光多普勒血流成像仪测量相应组别相应时间点皮瓣 II 区血流灌注量。术后 3 d,取 >-0.1 $^{\circ}\text{C}$ 组、 ≤ -0.1 $^{\circ}\text{C}$ 组小鼠皮瓣 II 区组织,行转录组测序筛选差异表达基因(DEG),行免疫荧光染色后计算诱导型一氧化氮合酶(iNOS)/CD68、精氨酸酶 1(ARG1)/CD68 比值,行免疫组织化学染色检测趋化因子配体 2(CCL2)的表达,行二氢乙锭染色检测二氢乙锭的表达,行实时荧光定量反转录 PCR 法检测肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 1β (IL- 1β)和 IL-10 的 mRNA 表达,行蛋白质印迹法检测 CD68、iNOS、ARG1、血红素氧合酶 1(HO-1)及超氧化物歧化酶 1(SOD1)的蛋白表达。**结果** 术后 0~7 d,皮瓣 I 区和 II 区相对温度呈升高趋势,而皮瓣 III 区相对温度呈先升高后降低的趋势。术后 3、7 d,皮瓣 II 区相对温度

DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20241118-00453

收稿日期 2024-11-18

引用本文:江小琼,徐结,凌翔伟,等.红外热成像技术对随意型皮瓣坏死风险的早期识别作用及其机制[J].中华烧伤与创面修复杂志,2026,42(8):1-11. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20241118-00453.

Jiang Xiaoqiong, Xu Jie, Ling Xiangwei, et al. Role and mechanism of infrared thermography in early identification of necrosis risk in random-pattern flaps[J]. Chin J Burns Wounds, 2026, 42(8): 1-11. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20241118-00453.



预测皮瓣坏死的 ROC 曲线下面积分别为 0.82、0.85 (95%CI 分别为 0.72~0.93、0.78~0.93), 最佳截断值分别为 -0.1 、 0.1 °C。术后 3 d, ≤ -0.1 °C 组与 > -0.1 °C 组小鼠皮瓣 II 区存活面积百分比及血流灌注量比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$); 术后 7 d, ≤ -0.1 °C 组小鼠皮瓣 II 区存活面积百分比显著低于 > -0.1 °C 组 ($t = 4.19, P < 0.05$), 血流灌注量显著少于 > -0.1 °C 组 ($t = 5.58, P < 0.05$)。术后 3 d, 相较于 > -0.1 °C 组, ≤ -0.1 °C 组小鼠皮瓣 II 区组织中存在 2 849 个 DEG, 其中 1 509 个上调 DEG、1 340 个下调 DEG。术后 3 d, > -0.1 °C 组小鼠皮瓣 II 区组织中 iNOS/CD68 比值显著低于 ≤ -0.1 °C 组 ($t = 4.97, P < 0.05$), ARG1/CD68 比值显著高于 ≤ -0.1 °C 组 ($t = 3.42, P < 0.05$), CCL2、二氢乙锭的表达和 TNF- α 、IL-1 β 的 mRNA 表达及 CD68、iNOS 的蛋白表达均显著低于 ≤ -0.1 °C 组 (t 值分别为 4.82、4.51、4.43、5.47、-3.69、-6.14, $P < 0.05$), IL-10 的 mRNA 表达及 ARG1、SOD1 与 HO-1 的蛋白表达均显著高于 ≤ -0.1 °C 组 (t 值分别为 8.58、8.61、6.24、11.03, $P < 0.05$)。 **结论** IRT 技术可通过监测皮瓣温度实现小鼠随意型皮瓣坏死风险的早期客观预测。术后 3 d 皮瓣 II 区相对温度 ≤ -0.1 °C 时, 组织呈现显著炎症反应、免疫细胞浸润及氧化应激状态。CCL2 可能是诱导巨噬细胞极化的关键趋化因子。

【关键词】 皮肤温度; 炎症; 氧化性应激; 随意型皮瓣; 红外热成像技术; 早期识别

基金项目: 浙江省基础公益研究计划项目 (LGF22H110002); 温州市应用基础研究项目 (GK20250162)

Role and mechanism of infrared thermography in early identification of necrosis risk in random-pattern flaps

Jiang Xiaoqiong¹, Xu Jie², Ling Xiangwei³, Cai Fuman⁴, Chen Hao¹, Xiao Jian¹

¹Department of Wound Healing, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China; ²Oujiang Laboratory, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China; ³Center of Burn and Wound, the First Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China; ⁴School of Nursing, Wenzhou Medical University, Wenzhou 325035, China

Corresponding author: Xiao Jian, Email: xfxj2000@126.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the role and mechanism of infrared thermography (IRT) in early identification of necrosis risk in random-pattern flaps (RPFs). **Methods** This study was designed as a group-comparison experimental study. A RPF model was established on the dorsum of 92 male C57BL/6 mice aged 6–8 weeks. The flap was divided into three equal zones (zones I, II, and III) from the caudal to the cephalic end. The relative temperatures (RTs) of the three zones were measured using an infrared thermal imager at postoperative day (PPD) 0 (immediately), 3, and 7. At PPD 3 and 7, receiver operating characteristic (ROC) curves were used to evaluate the predictive efficacy of the RT of zone II for flap necrosis, and the optimal cutoff values were determined. Based on the RT of flap zone II at PPD 3, mice were divided into > -0.1 °C group and ≤ -0.1 °C group; based on the RT of flap zone II at PPD 7, mice were divided into > -0.1 °C group and ≤ -0.1 °C group, with 4 mice in each group. The percentage of surviving area of flap zone II was calculated for the first two groups of mice at PPD 3 and for the latter two groups of mice at PPD 7. Laser Doppler perfusion imaging was used to measure blood perfusion volume in flap zone II of the above groups at the corresponding time points. At PPD 3, the tissue from flap zone II of > -0.1 °C and ≤ -0.1 °C groups of mice was collected for transcriptomic sequencing to identify differentially expressed genes (DEGs), for immunofluorescence staining to calculate the ratios of inducible nitric oxide synthase (iNOS)/CD68 and arginase 1 (ARG1)/CD68, for immunohistochemical staining to detect the expression of chemokine ligand 2 (CCL2), for dihydroethidium (DHE) staining to detect the expression of DHE, for real-time fluorescence quantitative reverse transcription polymerase chain reaction to measure mRNA expressions of tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin-1 β (IL-1 β), and IL-10, and for Western blotting to detect protein expressions of CD68, iNOS, ARG1, heme oxygenase-1 (HO-1), and superoxide dismutase 1 (SOD1). **Results** From PPD 0 to 7, RTs in flap zones I and II showed an increasing trend, while RTs in flap zone III showed a trend of initial increase followed by decrease. At PPD 3 and 7, the areas under the ROC curves of the RT of flap zone II for predicting flap necrosis were 0.82 and 0.85 (with 95% CIs of 0.72–0.93 and 0.78–0.93, respectively), with optimal cutoff values of -0.1 and 0.1 °C, respectively. At PPD 3, there were no statistically significant differences in the percentage of surviving area or blood perfusion volume in flap zone II between ≤ -0.1 °C group and > -0.1 °C group of mice ($P > 0.05$). At PPD 7, the percentage of surviving area ($t = 4.19, P < 0.05$) and blood perfusion volume ($t = 5.58, P < 0.05$) in flap zone II were significantly decreased in ≤ -0.1 °C group of mice compared with those in > -0.1 °C group. At PPD 3,

compared with that in $>-0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ group, there were 2 849 DEGs in tissue of flap zone II in $\leq -0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ group of mice, including 1 509 upregulated DEGs and 1 340 downregulated DEGs. At PPD 3, there were significantly lower iNOS/CD68 ratio ($t=4.97$, $P<0.05$) and significantly higher ARG1/CD68 ratio ($t=3.42$, $P<0.05$), significantly lower expressions of CCL2 and DHE, mRNA expressions of TNF- α and IL-1 β , as well as protein expressions of CD68 and iNOS (with t values of 4.82, 4.51, 4.43, 5.47, -3.69, and -6.14, respectively, $P<0.05$), and significantly higher mRNA expression of IL-10 and protein expressions of ARG1, SOD1, and HO-1 (with t values of 8.58, 8.61, 6.24, and 11.03, respectively, $P<0.05$) in tissue of flap zone II in $>-0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ group of mice compared with those in $\leq -0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ group.

Conclusions IRT enables early and objective prediction of necrosis risk of RPFs in mice through monitoring flap temperature. The RT $\leq -0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ in flap zone II at PPD 3 is associated with marked inflammatory response, immune cell infiltration, and oxidative stress in the tissue. CCL2 may serve as a key chemokine inducing macrophage polarization.

【Key words】 Skin temperature; Inflammation; Oxidative stress; Random-pattern flaps; Infrared thermography; Early identification

Fund program: Zhejiang Basic Public Welfare Research Program Project (LGF22H110002); Wenzhou Applied Basic Research Project (GK20250162)

皮瓣移植是修复外伤、肿瘤切除术后创面、血管性及糖尿病足溃疡等皮肤缺损的关键技术^[1-2]。其中,随意型皮瓣手术便捷,但因缺乏轴型血管,血供仅依赖皮下毛细血管网,术后皮瓣远端易发生缺血坏死^[3-4]。当前,大量研究聚焦于通过药物、高压氧、细胞移植及生长因子等预防皮瓣坏死,但针对其早期风险预测及相关机制的探索相对不足^[5-6]。研究显示,随意型皮瓣坏死主要由血流灌注不足、回流障碍及缺血再灌注损伤所致^[7-8]。然而在临床上,这一复杂过程通常仅依赖肉眼观察皮瓣颜色变化来判断,待出现可视坏死时,往往已错过最佳干预时机^[9-11]。因此,实现坏死风险的早期预测对其防治至关重要。

红外热成像(infrared thermography, IRT)作为一种非接触式测温技术,已被成功用于穿支血管定位、烧伤深度评估及皮肤肿瘤诊断等领域^[12-13]。该技术通过捕捉组织散发的电磁波信号差异生成热图,可有效区分血流丰富区(热区)与周围组织^[14]。研究证实,IRT能通过温度信号评估皮瓣血流灌注情况,有助于早期识别血运障碍,为及时干预创造条件^[15-16]。此外,缺血再灌注引发的细胞凋亡、炎症反应及氧化应激损伤亦是导致皮瓣坏死的重要因素,识别这些危险因素对预防皮瓣坏死具有重要意义^[7, 17-18]。有学者指出,IRT可用于检测不同炎症程度下的皮瓣温度变化,并在识别皮肤感染、疼痛及瘢痕方面展现出潜力^[19]。鉴于此,本研究拟探讨IRT在识别随意型皮瓣坏死风险中非血管因素的作用,并初步探索其内在机制,以期为其临床早期干预提供理论依据。

1 材料与方法

本成组设计实验研究中所有动物实验操作严格遵守中国国立卫生研究院《实验室动物护理和使用指南》的要求,并通过温州医科大学动物护理和使用委员会批准(批号:wydw2025-0186)。

1.1 动物及主要试剂与仪器来源

92只无特定病原体级健康雄性6~8周龄C57BL/6J小鼠,体重20~30g,由温州医科大学实验动物中心提供,生产许可证号:SCXK(浙)2015-000、使用许可证号:SYXK(浙)2020-0014。

兔源性趋化因子配体2(C-C motif chemokine ligand 2, CCL2)单克隆抗体、兔源性诱导型NOS(inducible nitric oxide synthase, iNOS)单克隆抗体、兔源性精氨酸酶1(arginase 1, ARG1)单克隆抗体和兔源性CD34单克隆抗体均购自武汉三鹰生物技术有限公司。兔源性血红素氧合酶1(heme oxygenase 1, HO-1)单克隆抗体、小鼠源性CD68单克隆抗体、小鼠源性 α -平滑肌肌动蛋白(α -smooth muscle actin, α -SMA)单克隆抗体、小鼠源性SOD1单克隆抗体和兔源性GAPDH单克隆抗体购自美国Affinity公司。辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的山羊抗兔IgG抗体、HRP标记的山羊抗小鼠IgG抗体、Alexa Fluor 488标记的山羊抗小鼠IgG抗体和Alexa Fluor 594标记的山羊抗兔IgG抗体购自武汉博士德生物工程有限公司。胶原蛋白杂交肽(collagen hybridizing peptide, CHP)、二氢乙锭购自上海碧云天生物技术有限公司,4',6-二脒基-2-苯基吲哚(4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)购自英国Abcam生物技术公司。

FLIR ONE PRO型红外热像仪购自美国菲力尔

公司, Moor LDI2 型激光多普勒血流成像仪及其配套的分析软件 Moor LDI Review 6.1 版购自英国摩尔仪器公司, ECLIPSE Ci 型光学显微镜及 ECLIPSE Ti2 型荧光显微镜购自日本尼康公司。

1.2 构建小鼠随意型皮瓣模型

将所有小鼠饲养于标准环境:温度 21~25 °C, 湿度 50%~60%, 12 h 光照、12 h 黑暗循环, 自由进食饮水。所有小鼠经腹腔注射 0.1 g/mL 戊巴比妥钠溶液 (50 mg/kg) 麻醉后, 去除小鼠背部毛发。在小鼠背部设计面积为 4.5 cm×1.5 cm 的随意型皮瓣(皮瓣蒂部在小鼠尾部)。沿设计线切开皮肤, 深达筋膜层, 钝性分离皮瓣。将皮瓣与深筋膜完全分离后, 用手术刀切断皮瓣蒂部 2 条骶动脉, 保留真皮下毛细血管网。彻底止血后, 用 4-0 丝线将皮瓣原位缝合并用碘伏消毒缝合处。将皮瓣区域分为 3 个面积相等(均为 1.5 cm×1.5 cm)的区域:尾部为 I 区、中部为 II 区、头部为 III 区。

1.3 皮瓣各区的相对温度测量

将 92 只小鼠麻醉成功后 5 min 再进行数据采集。距皮瓣垂直距离 0.3 m, 用红外热像仪测量术后 0(即刻)、3、7 d 目标区域的皮肤温度。测量时去除加热灯等一切热源, 关闭所有门窗, 避免空气大幅度对流, 以减少对测量结果的干扰。运用红外热像仪配套软件 FLIR TOOLS 进行热像图分析, 热像图中不同颜色表示皮瓣不同区域的温度分布^[13]。以小鼠头部面积 1.5 cm×1.5 cm 非手术区域作为对照区, 采用矩形框选取感兴趣区域的方式, 分别测量对照区与 I、II、III 区的温度。计算各目标区与对照区的温度差值, 作为该区的相对温度。

1.4 动物分组

根据术后 3 d 时皮瓣 II 区相对温度, 将小鼠分为 >-0.1 °C 组(相对温度 >-0.1 °C)、≤-0.1 °C 组(相对温度 ≤-0.1 °C); 根据术后 7 d 时 II 区皮瓣相对温度, 将小鼠分为 >0.1 °C 组(相对温度 >0.1 °C)、≤0.1 °C 组(相对温度 ≤0.1 °C), 每组各 4 只。

1.5 随意型皮瓣存活情况评估

对 >-0.1 °C 组和 ≤-0.1 °C 组小鼠术后 3 d 皮瓣进行拍照, 对 >0.1 °C 组和 ≤0.1 °C 组小鼠术后 7 d 皮瓣进行拍照, 并使用 Image J 1.53e 图像分析软件(美国国立卫生研究院)分析皮瓣 II 区存活面积, 计算存活面积百分比。皮瓣 II 区存活面积百分比=皮瓣 II 区存活面积÷皮瓣 II 区总面积×100%。本实验样本数为 4。皮瓣坏死判断标准:皮瓣表皮颜色发

黑, 质地坚硬, 组织弹性差, 发生部分挛缩^[20]。

1.6 激光多普勒血流成像检测皮瓣血流灌注量

使用激光多普勒血流成像仪测量 >-0.1 °C 组、≤-0.1 °C 组小鼠术后 3 d 及 >0.1 °C 组和 ≤0.1 °C 组小鼠术后 7 d 皮瓣 I、II、III 区的血流灌注情况。成像图中绿色、黄色、红色代表血流灌注量从低到高, 蓝色代表没有血流灌注量。采用仪器配套分析软件 Moor LDI Review 进行定量分析。本实验样本数为 4。

1.7 组织病理学情况检测

术后 7 d, 取 ≤0.1 °C 组和 >0.1 °C 组小鼠, 常规麻醉后断颈处死, 取皮瓣 II 区组织常规制作 4 μm 厚石蜡切片。取切片, 行 HE 染色, 于光学显微镜 200 倍放大倍数下观察新生血管情况, 计算单位面积血管数。另取切片, 行 Masson 染色, 于光学显微镜 200 倍放大倍数下观察胶原纤维沉积情况。本实验样本数为 4。

1.8 CHP 染色

取 1.8 中 2 组小鼠皮瓣 II 区组织石蜡切片, 行 CHP 染色。将 CHP 溶液稀释至合适浓度, 于 80 °C 水浴中加热 5 min 后, 立即置于冰水浴中 15~90 s 降至室温。用冷却后的 CHP 溶液均匀覆盖切片, 4 °C 孵育过夜, 使用 DAPI 染细胞核后封片。在荧光显微镜 200 倍放大倍数下观察 CHP 荧光强度(绿色), 用 Image J 软件进行定量分析。本实验样本数为 4。

1.9 免疫荧光染色检测 CD34 和 α-SMA 双阳性细胞数

取 ≤0.1 °C 组和 >0.1 °C 组小鼠术后 7 d 皮瓣 II 区组织石蜡切片, 行免疫荧光染色。一抗为兔源性 CD34 单克隆抗体、小鼠源性 α-SMA 单克隆抗体(稀释比均为 1:200), 二抗为 Alexa Fluor 488 标记山羊抗小鼠 IgG 抗体和 Alexa Fluor 594 标记山羊抗兔 IgG 抗体(稀释比均为 1:200), 使用 DAPI 染细胞核。在荧光显微镜 200 倍放大倍数下观察 CD34 和 α-SMA 双阳性细胞数(阳性染色分别为红色、绿色), 使用 Image J 软件进行定量分析。本实验样本数为 4。

1.10 不同相对温度皮瓣 II 区组织中的差异表达基因检测

术后 3 d, 取 >-0.1 °C 组、≤-0.1 °C 组小鼠, 常规麻醉后断颈处死, 取皮瓣 II 区组织, 提取总 RNA 后, 委托广州安德生物科技有限公司进行 RNA 质量检测、转录组文库构建及 Illumina 平台测序。使用 DESeq2 软件分析 2 组间的差异表达基因。差异表

达基因的筛选标准为:错误发现率 <0.05 且 $|\log_2(\text{差异倍数})| \geq 1$ 。其中, $\log_2(\text{差异倍数}) \geq 1$ 的基因定义为上调差异表达基因, $\log_2(\text{差异倍数}) \leq -1$ 的基因定义为下调差异表达基因。利用基迪奥生物信息云工具平台对分析结果进行可视化。本实验样本数为3。

1.11 免疫荧光染色检测巨噬细胞极化情况

术后3 d,另取 $>-0.1^\circ\text{C}$ 组、 $\leq -0.1^\circ\text{C}$ 组小鼠,常规麻醉后断颈处死,取皮瓣Ⅱ区组织,常规制作厚4 μm 石蜡切片,行免疫荧光染色。一抗分别为小鼠源性CD68单克隆抗体、兔源性iNOS单克隆抗体、兔源性ARG1单克隆抗体,二抗为Alexa Fluor 488标记山羊抗小鼠IgG抗体和Alexa Fluor 594标记山羊抗兔IgG抗体(稀释比均为1:200),使用DAPI染细胞核。在荧光显微镜200倍放大倍数下观察CD68、iNOS、ARG1的表达(荧光强度),其中CD68阳性染色为绿色,iNOS、ARG1阳性染色为红色,使用Image J软件进行定量并计算iNOS/CD68、ARG1/CD68比值。本实验样本数为4。

1.12 免疫组织化学染色

取1.11中2组小鼠皮瓣Ⅱ区组织石蜡切片,行免疫组织学染色,一抗为兔源性CCL2单克隆抗体,二抗为HRP标记的山羊抗兔IgG抗体(稀释比均为1:200)。使用二氨基联苯胺显色液进行显色,苏木精复染。于光学显微镜200倍放大倍数下观察CCL2的表达(棕色),使用Image J软件进行定量。本实验样本数为4。

1.13 二氢乙锭染色

取 $>-0.1^\circ\text{C}$ 组、 $\leq -0.1^\circ\text{C}$ 组小鼠术后3 d皮瓣Ⅱ区组织,置于300 g/L的蔗糖溶液中脱水直至沉底。将脱水后的组织包埋在最佳切割温度包埋剂中,制作20 μm 厚冷冻切片。将切片解冻后,使用自体荧光猝灭剂处理5 min,滴加二氢乙锭工作液(稀释比为1:1 000), 37°C 孵育30 min,使用DAPI染核后封片。在荧光显微镜200倍放大倍数下观察二氢乙锭的表达(红色荧光强度),使用Image J软件进行定量。本实验样本数为4。

1.14 实时荧光定量反转录PCR法

取 $>-0.1^\circ\text{C}$ 组、 $\leq -0.1^\circ\text{C}$ 组小鼠术后3 d皮瓣Ⅱ区组织,使用TRIzol试剂提取总RNA并测定浓度,反转录合成互补DNA。采用实时荧光定量反转录PCR法检测促炎性细胞因子TNF- α 、IL-1 β 和抗炎细胞因子IL-10的mRNA表达。TNF- α 的上游引物为

5'-CAGGCGGTGCCTATGTCTC-3',下游引物为5'-C GATCACCCCGAAGTTCAGTAG-3',产物大小为89 bp; IL-1 β 的上游引物为5'-GAAATGCCACCTTTTGACA GTG-3',下游引物为5'-TGGATGCTCTCATCAGGAC AG-3',产物大小为116 bp; IL-10的上游引物为5'-C CAAGCCTTATCGGAAATGA-3',下游引物为5'-TTT TCACAGGGGAGA AATCG-3',产物大小为220 bp; GAPDH的上游引物为5'-AGGTCGGTGTGAACGGA TTTG-3',下游引物为5'-TGTAGACCATGTAGTTGA GGTCA-3',产物大小为123 bp。以GAPDH为内参照,基于 Δ 循环阈值计算TNF- α 、IL-1 β 和IL-10的mRNA相对表达量。本实验样本数为4。

1.15 蛋白质印迹法

取 $>-0.1^\circ\text{C}$ 组、 $\leq -0.1^\circ\text{C}$ 组小鼠术后3 d皮瓣Ⅱ区组织,提取总蛋白,采用蛋白质印迹法检测CD68、iNOS、ARG1、HO-1及SOD1的蛋白表达。一抗为小鼠源性CD68单克隆抗体、兔源性iNOS单克隆抗体、兔源性ARG1单克隆抗体、兔源性HO-1单克隆抗体、小鼠源性SOD1单克隆抗体及兔源性GAPDH单克隆抗体(稀释比均为1:1 000)。二抗为HRP标记山羊抗兔IgG抗体和HRP标记山羊抗小鼠IgG抗体(稀释比均为1:10 000)。使用化学发光系统检测信号,采用Image J软件对蛋白条带灰度值进行定量分析,以GAPDH为内参照计算目的蛋白的相对表达量。本实验样本数为3。

1.16 统计学处理

采用SPSS 26.0及GraphPad Prism 9.0软件进行统计学分析,计量资料数据均符合正态分布及方差齐性,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。皮瓣各区在不同时间点的相对温度总体比较采用单因素方差分析。采用受试者操作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线分析评估术后3、7 d皮瓣各区相对温度对皮瓣坏死的预测效能,并确定皮瓣Ⅱ区相对温度的最佳截断值。基于皮瓣Ⅱ区相对温度的最佳截断值进行分组,绘制Kaplan-Meier生存曲线,采用Log-rank检验比较2组小鼠术后7 d皮瓣Ⅱ区存活率。其余2组间比较采用独立样本 t 检验。所有检验为双侧检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 皮瓣各区的相对温度

术后0、3、7 d,皮瓣各区的相对温度总体比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。皮瓣各区相对温度

多分布于 0℃ 以下,且术后 0 d 均最低。术后 0~7 d,皮瓣 I 区和 II 区相对温度呈升高趋势,而皮瓣 III 区相对温度呈先升高后降低的趋势。术后 0、3 d,皮瓣 I、II、III 区的相对温度依次升高;术后 7 d,皮瓣 I、III 区相对温度低于 II 区。见表 1。

表 1 小鼠术后各时间点随意型皮瓣各区的相对温度
(℃, $\bar{x} \pm s$)

Table 1 The relative temperature of various random-pattern flap zones of mice at different time points post operation

区域	鼠数(只)	术后 0 d(即刻)	术后 3 d	术后 7 d
I 区	92	-1.71±1.03	-0.71±0.52	-0.44±0.43
II 区	92	-0.85±0.63	-0.14±0.37	0.03±0.33
III 区	92	-0.40±0.46	-0.01±0.32	-0.13±0.30
F 值		133.20	162.00	77.17
P 值		<0.001	<0.001	<0.001

注:相对温度指皮瓣各区温度与对照区温度的差值

2.2 皮瓣各区相对温度预测皮瓣坏死的效能

术后 3、7 d,皮瓣 II 区相对温度预测皮瓣坏死的 ROC 曲线下面积(area under the curve, AUC)分别为 0.82、0.85(95%CI 分别为 0.72~0.93、0.78~0.93),皮瓣 I 区相对温度预测皮瓣坏死的 AUC 分别为 0.57、0.69(95%CI 分别为 0.43~0.70、0.56~0.81),皮瓣 III 区相对温度预测皮瓣坏死的 AUC 分别为 0.60、0.49(95%CI 分别为 0.47~0.74、0.37~0.69)。皮瓣 II 区相对温度预测皮瓣坏死具有良好效能,最佳截断值分别为 -0.1、0.1℃。见图 1。

生存曲线分析显示,术后 3 d,≤-0.1℃组小鼠皮瓣 II 区存活率显著低于>-0.1℃组($HR=4.57$, 95%CI 为 2.23~9.35, $P<0.001$)。术后 7 d,≤0.1℃组小鼠皮瓣 II 区存活率显著低于>0.1℃组($HR=$

1.98, 95%CI 为 1.10~3.55, $P<0.001$)。见图 2。

2.3 不同相对温度的皮瓣 II 区组织的病理生理情况

术后 3 d,≤-0.1℃组与>-0.1℃组小鼠皮瓣 II 区存活面积百分比[(79±3)%、(80±8)%]及血流灌注量[(179±12)、(175±5)PU]比较,差异均无统计学意义(t 值分别为 0.23、0.60, P 值分别为 0.825、0.573)。术后 7 d,≤0.1℃组小鼠皮瓣 II 区存活面积百分比为(34±8)%,显著低于>0.1℃组的(65±13)%($t=4.19$, $P=0.006$);血流灌注量为(240±30)PU,显著少于>0.1℃组的(336±17)PU($t=5.58$, $P=0.001$)。见图 3。

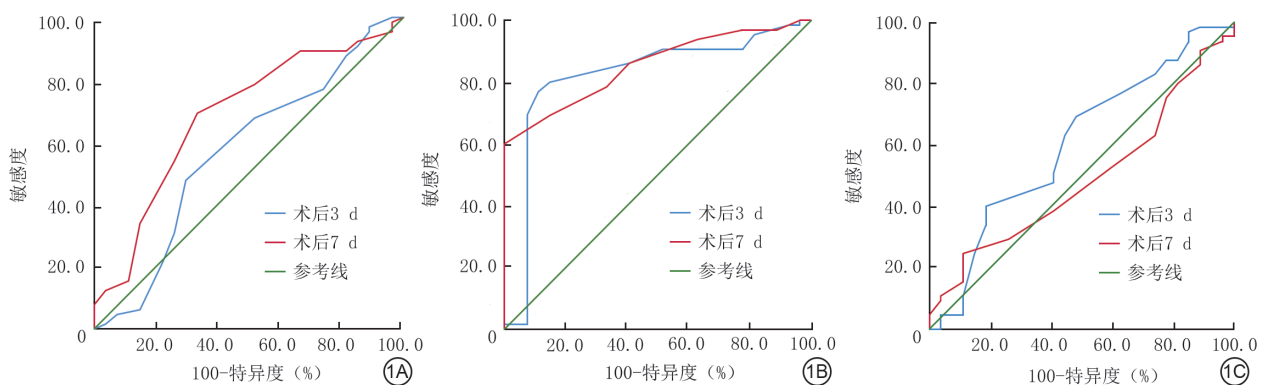
术后 7 d,>0.1℃组小鼠皮瓣 II 区组织中血管数为(280±91)根/mm²,显著多于≤0.1℃组的(91±39)根/mm²($t=2.98$, $P=0.025$);胶原纤维沉积为 42±5,显著多于≤0.1℃组的 28±4($t=4.51$, $P=0.004$);CHP 的表达为 2.2±0.5,显著低于≤0.1℃组的 5.1±0.9($t=5.52$, $P=0.001$);CD34 和 α-SMA 双阳性细胞数为(388±85)个,显著多于≤0.1℃组的(168±54)个($t=4.36$, $P=0.005$)。见图 4。

2.4 不同相对温度皮瓣 II 区组织中的差异表达基因

术后 3 d,相较于>-0.1℃组,≤-0.1℃组小鼠皮瓣 II 区组织中存在 2 849 个差异表达基因,其中上调差异表达基因 1 509 个,下调差异表达基因 1 340 个,其中的 CCL2 为调控巨噬细胞极化、炎症趋化最显著的差异表达基因。

2.5 不同相对温度的皮瓣 II 区组织中巨噬细胞极化和炎症趋化及氧化应激情况

术后 3 d,>-0.1℃组小鼠皮瓣 II 区组织中



注:相对温度指皮瓣各区温度与对照区温度的差值

图 1 92 只小鼠术后各时间点随意型皮瓣各区相对温度预测皮瓣坏死的受试者操作特征曲线。1A、1B、1C. 分别为 I、II、III 区

Figure 1 Receiver operating characteristic curves for predicting the random-pattern flap necrosis based on the relative temperatures of various flap zones of 92 mice at different time points post operation

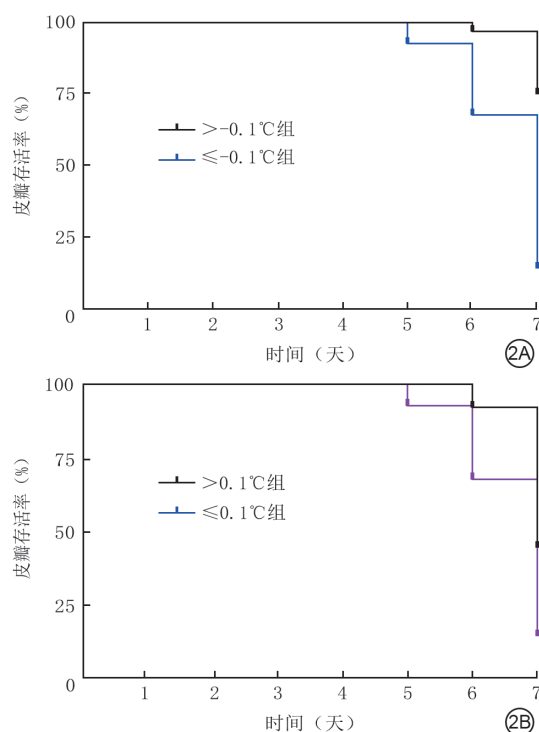


图2 各组小鼠术后各时间点随意型皮瓣Ⅱ区的存活率。2A. 术后3 d, ≤ -0.1 °C组和 > -0.1 °C组; 2B. 术后7 d, ≤ 0.1 °C组和 > 0.1 °C组

Figure 2 The survival rate of the zone II of random-pattern flaps of mice in different groups at different time points post operation

iNOS/CD68 比值为 0.54 ± 0.10 , 显著低于 ≤ -0.1 °C 组的 0.85 ± 0.08 ($t=4.97, P=0.003$); ARG1/CD68 比值为 0.80 ± 0.12 , 显著高于 ≤ -0.1 °C 组的 0.54 ± 0.10 ($t=3.42, P=0.014$); CCL2 的表达为 24.8 ± 2.9 , 显著低于 ≤ -0.1 °C 组的 35.5 ± 3.4 ($t=4.82, P=0.003$); 二氢乙锭的表达为 25.0 ± 2.7 , 显著低于 ≤ -0.1 °C 组的 34.4 ± 3.2 ($t=4.51, P=0.004$)。见图5。

术后3 d, > -0.1 °C 组小鼠皮瓣Ⅱ区组织中促炎

性细胞因子 TNF- α 、IL-1 β 的 mRNA 表达分别为 0.88 ± 0.06 、 0.42 ± 0.12 , 均显著低于 ≤ -0.1 °C 组的 1.50 ± 0.27 、 1.55 ± 0.39 (t 值分别为 4.43、5.47, P 值分别为 0.004、0.002); 抗炎细胞因子 IL-10 的 mRNA 表达为 1.51 ± 0.18 , 显著高于 ≤ -0.1 °C 组的 0.65 ± 0.08 ($t=8.58, P<0.001$); CD68 和 iNOS 的蛋白表达分别为 0.76 ± 0.03 、 0.31 ± 0.15 , 均显著低于 ≤ -0.1 °C 组的 1.33 ± 0.27 、 1.09 ± 0.16 (t 值分别为 -3.69、-6.14, $P<0.001$); ARG1、SOD1 与 HO-1 的蛋白表达分别为 0.61 ± 0.08 、 0.70 ± 0.11 、 0.61 ± 0.04 , 均显著高于 ≤ -0.1 °C 组的 0.18 ± 0.03 、 0.30 ± 0.03 、 0.24 ± 0.04 (t 值分别为 8.61、6.24、11.03, P 值分别为 0.001、0.003、0.005)。见图6。

3 讨论

皮瓣作为一块具备自身血液供应的皮肤及皮下组织,在整形修复、创伤愈合等医学领域应用广泛^[21-22]。皮瓣的存活状况是临床关注的焦点,皮瓣出现部分或全部坏死会致使手术失败,延长患者康复时间,增加患者痛苦并提高医疗成本^[23-24]。相较于传统检测方法,IRT技术具有显著优势,该技术基于物体表面热辐射原理,可检测到皮瓣表面发出的红外线,并将其转换为可视化热图像,以此反映皮瓣表面的温度^[25]。此外,该技术能够实时和连续监测皮瓣温度变化,以便及时观察到温度异常区域,对于早期判定皮瓣血液循环状态及存活情况极为关键^[26-27]。目前已有较多的研究应用 IRT 技术监测皮瓣温度以反映皮瓣血运建立情况,从而实现早期干预,减少皮瓣缺血性坏死的发生^[28-29]。研究显示,皮瓣坏死与缺血再灌注所引发的细胞凋亡、炎症反应以及细胞氧化损伤等因素有关。有研究者关注

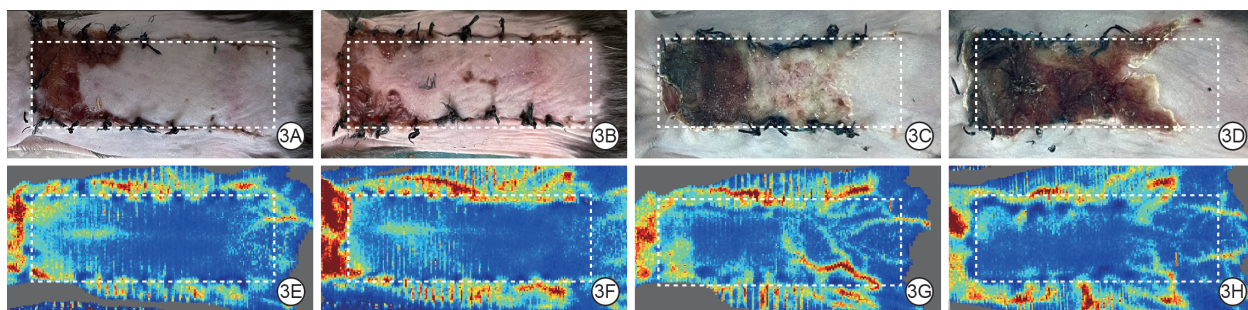
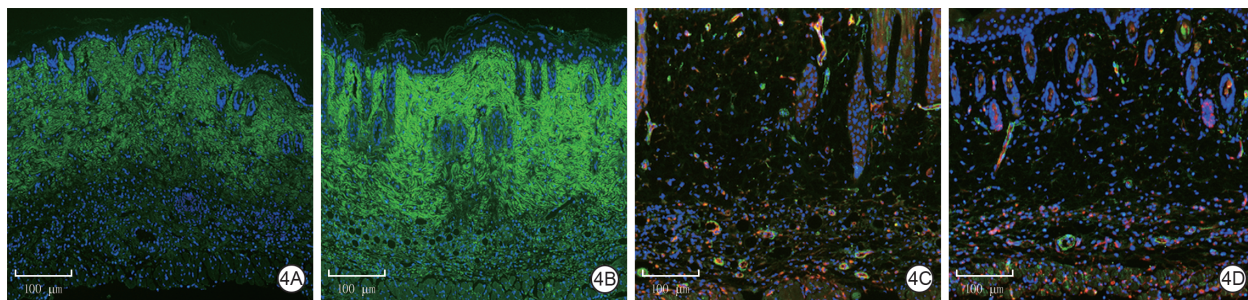


图3 各组小鼠术后不同时间点随意型皮瓣存活情况及血流灌注情况。3A、3B. 分别为 > -0.1 °C组和 ≤ -0.1 °C组术后3 d皮瓣存活情况,图3A和图3B皮瓣Ⅱ区存活面积相近;3C、3D. 分别为 > 0.1 °C组和 ≤ 0.1 °C组术后7 d皮瓣存活情况,图3C皮瓣Ⅱ区存活面积大于图3D;3E、3F. 分别为 > -0.1 °C组和 ≤ -0.1 °C组术后3 d皮瓣血流灌注情况,图3E和图3F皮瓣Ⅱ区血流灌注量相近;3G、3H. 分别为 > 0.1 °C组和 ≤ 0.1 °C组术后7 d皮瓣血流灌注情况,图3G皮瓣Ⅱ区血流灌注量多于图3H

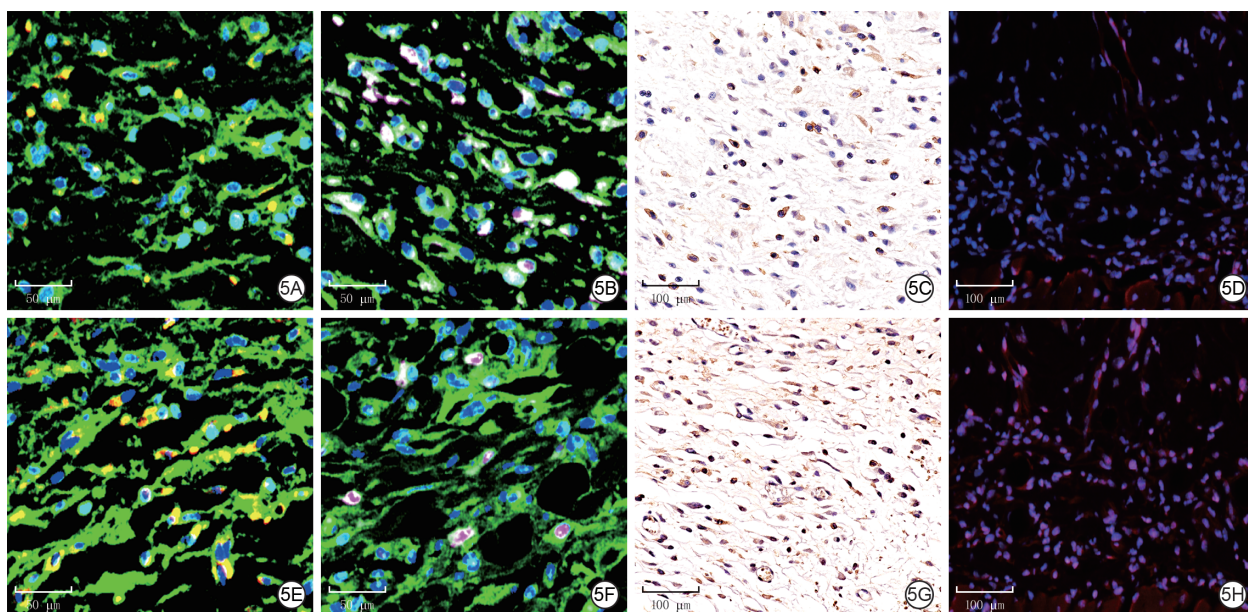
Figure 3 Survival and blood flow perfusion of random-pattern flaps in different groups of mice at different time points post operation



注:胶原蛋白杂交肽(CHP)阳性染色为绿色,CD34和 α -平滑肌肌动蛋白(α -SMA)阳性染色分别为红色、绿色

图 4 2组小鼠术后7 d随意型皮瓣Ⅱ区组织中CHP荧光强度及CD34和 α -SMA双阳性细胞数。4A、4B.分别为 $>0.1^{\circ}\text{C}$ 组和 $\leq 0.1^{\circ}\text{C}$ 组 CHP 荧光强度 荧光显微镜 $\times 200$,图4A中CHP荧光强度低于图4B;4C、4D.分别为 $>0.1^{\circ}\text{C}$ 组和 $\leq 0.1^{\circ}\text{C}$ 组 CD34和 α -SMA双阳性细胞数 Alexa Fluor 488-Alexa Fluor 594-4',6-二胺基-2-苯基吡啶 $\times 200$,图4C中CD34和 α -SMA双阳性细胞数多于图4D

Figure 4 The fluorescence intensity of CHP and the number of CD34- and α -SMA- positive cells in the zone II tissue of random-pattern flaps in two groups of mice at postoperative day 7



注:CD68阳性染色为绿色,诱导型一氧化氮合酶(iNOS)、精氨酸酶1(ARG1)阳性染色为红色;趋化因子配体2(CCL2)阳性染色为棕色,二氢乙锭阳性染色为红色

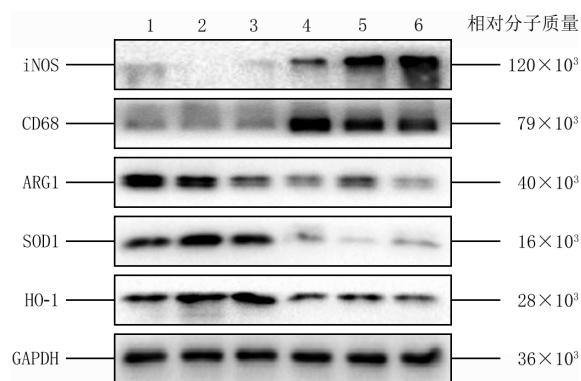
图 5 2组小鼠术后3 d随意型皮瓣Ⅱ区组织中巨噬细胞极化、炎症趋化及氧化应激情况。5A~5D和5E~5H.分别为 $>0.1^{\circ}\text{C}$ 组和 $\leq 0.1^{\circ}\text{C}$ 组,图5A、5E和5B、5F分别为M1型(iNOS/CD68比值)、M2型(ARG1/CD68比值)巨噬细胞情况 Alexa Fluor 488-Alexa Fluor 594-4',6-二胺基-2-苯基吡啶 $\times 200$,图5C和5G为CCL2表达情况 二氨基联苯胺-苏木精 $\times 200$,图5D和5H为二氢乙锭表达情况 二氢乙锭-4',6-二胺基-2-苯基吡啶 $\times 200$;与 $>0.1^{\circ}\text{C}$ 组比较, $\leq 0.1^{\circ}\text{C}$ 组皮瓣Ⅱ区组织中iNOS/CD68比值升高、ARG1/CD68比值降低、CCL2和二氢乙锭的表达升高

Figure 5 Macrophage polarization, inflammatory chemotaxis, and oxidative stress in the zone II tissue of random-pattern flaps in two groups of mice at postoperative day 3

到IRT技术具备对炎症反应引起的皮瓣温度变化的监测能力^[30-31]。因此,本研究从预防皮瓣坏死的角度探讨皮瓣术后缺血再灌注过程中引起的氧化应激与炎症反应对皮瓣存活的影响,并建立该病理过程与皮瓣温度的联系,从而更全面地阐明皮瓣温度变化与炎症反应的分子关联,推动临床皮瓣温度的常规监测。

本研究借助实时红外热像仪对皮瓣修复过程

中的温度变化予以监测,证实IRT技术不仅能够识别皮瓣血运建立情况(术后7 d),而且在识别早期缺血再灌注过程中的炎症反应及氧化应激状态方面具有优势(术后3 d)。通过IRT技术监测皮瓣相对温度并绘制ROC曲线,得出术后3、7 d皮瓣Ⅱ区相对温度预测小鼠随意型皮瓣坏死的最佳截断值分别为 -0.1 、 0.1°C 。基于早期干预的研究目的,本研究主要聚焦术后3 d皮瓣Ⅱ区的温度变化进行探



注:iNOS为诱导型一氧化氮合酶,ARG1为精氨酸酶1,SOD1为超氧化物歧化酶1,HO-1为血红素氧合酶1,GAPDH为3-磷酸甘油醛脱氢酶;条带上方1~3为 $\geq -0.1^\circ\text{C}$ 组的3个样本,4~6为 $\leq -0.1^\circ\text{C}$ 组的3个样本

图6 蛋白质印迹法检测的2组小鼠术后3 d皮瓣Ⅱ区组织中巨噬细胞相关蛋白及抗氧化酶的蛋白表达

Figure 6 Protein expressions of macrophage-related proteins and antioxidant enzymes in the zone II tissue of random-pattern flaps of two groups of mice at postoperative day 3 detected by Western blotting

讨。生存曲线分析显示,术后3 d皮瓣Ⅱ区相对温度 $\leq -0.1^\circ\text{C}$ 的小鼠术后7 d皮瓣坏死面积显著增大,表现为血流灌注面积减少,皮瓣温度降低,说明术后3 d的温度信号对皮瓣坏死具有一定的早期预测价值。更有意义的是,IRT技术能在早期(术后3 d)识别皮瓣温度差异,在热图像上表现为不同颜色区域(皮瓣Ⅱ区相对温度 $> -0.1^\circ\text{C}$ 和 $\leq -0.1^\circ\text{C}$ 时,IRT图像分别呈高亮红色、暗红色),而此时,皮瓣不同相对温度的小鼠皮瓣坏死面积和血流灌注量无明显差异。与传统视觉检测和多普勒超声检测^[31]相比,IRT技术在预测皮瓣Ⅱ区坏死方面具有优势,这一优势在许多其他皮肤相关疾病的早期识别中亦得到验证^[15,25,32]。术后3 d,传统视觉检测和多普勒血流灌注检测尚未见明显异常时,IRT技术已通过皮瓣温度变化及热图像差异识别出皮瓣坏死的早期信号,值得进一步在临床场景中应用。

在研究皮瓣的炎症浸润过程中,有研究者提出IRT技术可以辅助检测不同炎症反应程度下皮瓣的温度变化^[33-34]。当M1型巨噬细胞浸润增加、M2型巨噬细胞浸润减少时,皮瓣的温度可能会发生相应的改变,而IRT技术可以直观地显示这种温度差异^[5,35]。本研究结果显示,术后3 d,随意型皮瓣Ⅱ区相对温度 $\leq -0.1^\circ\text{C}$ 与早期炎症反应、巨噬细胞浸润及氧化应激水平升高密切相关。转录组测序结果显示,差异表达基因显著富集于趋化性及白细胞黏

附等炎症相关通路,提示这些通路可能通过调控趋化因子CCL2的表达,介导巨噬细胞的趋化与浸润,从而影响皮瓣温度^[36]。基于此,说明CCL2可能参与调控促炎微环境的形成,进而加剧氧化应激与组织损伤。此外,有研究者指出CCL2的表达水平与人体温度变化存在联系^[37],值得后续进一步开展大型动物皮瓣模型实验及临床研究加以验证。然而,CCL2在此过程中的具体调控机制仍需进一步探索。例如,是否通过CCL2受体介导巨噬细胞极化?这些问题的解答将有助于更全面地阐明皮瓣温度变化与炎症反应的分子关联。

随着IRT技术的发展,有望通过改进设备的分辨率和灵敏度,提高对皮瓣温度测量的准确性,减少环境因素的干扰;开发自适应温度补偿功能的IRT技术设备,能够根据环境温度自动调整测量参数。本研究是建立IRT技术与皮瓣坏死分子机制关联性的初步探索,可以将IRT技术与其他检测技术(如三维成像技术、分子标记技术等)联合应用。通过多技术联合,实现对皮瓣从宏观温度分布到微观分子机制的全面、深入研究,为皮瓣的临床应用提供更准确、更全面的指导。

利益冲突 所有作者声明不存在利益冲突

作者贡献声明 江小琼:文稿撰写和修改、数据分析、动物实验操作;徐结:图像处理和分析;凌翔伟、陈好:数据分析和经费支持;蔡福满、肖健:课题设计、文稿审核、经费支持

参考文献

- [1] Berry CE, Le T, An N, et al. Pharmacological and cell-based treatments to increase local skin flap viability in animal models[J]. J Transl Med, 2024, 22(1): 68. DOI: 10.1186/s12967-024-04882-9.
- [2] 王晓武,朱仙瑾,王永强,等.神经生长因子改善糖尿病大鼠随意皮瓣缺血坏死的机制[J].温州医科大学学报,2024,54(2): 87-98.DOI:10.3969/j.issn.2095-9400.2024.02.001.
- [3] Lou J, Zhang H, Qi J, et al. Cyclic helix B peptide promotes random-pattern skin flap survival via TFE3-mediated enhancement of autophagy and reduction of ROS levels[J]. Br J Pharmacol, 2022, 179(2): 301-321. DOI: 10.1111/bph.15702.
- [4] Yu G, Chen Y, Yang N, et al. Apoptotic bodies derived from fibroblast-like cells in subcutaneous connective tissue inhibit ferroptosis in ischaemic flaps via the miR-339-5p/KEAP1/Nrf2 Axis[J]. Adv Sci (Weinh), 2024, 11(24): e2307238.DOI:10.1002/adv.202307238.
- [5] Avila FR, Torres-Guzman RA, Huayllani MT, et al. Human stem cells prevent flap necrosis in preclinical animal models: a systematic review[J]. Clin Transl Res, 2022, 8(2): 110-124.
- [6] Zhang X, Jiang X, Deng H, et al. Engineering exosomes from fibroblast growth factor 1 pre-conditioned adipose-derived stem cells promote ischemic skin flaps survival by activating autophagy[J]. Mater Today Bio, 2024, 29: 101314. DOI:

- 10.1016/j.mtbio.2024.101314.
- [7] 黄亚伟,徐停伟,张浩. 皮瓣缺血再灌注损伤大鼠模型的构建及其运用进展[J]. 中国实验动物学报,2023,31(6):827-832. DOI:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.06.016.
- [8] Wu H, Ding J, Wang L, et al. Valproic acid enhances the viability of random pattern skin flaps: involvement of enhancing angiogenesis and inhibiting oxidative stress and apoptosis[J]. *Drug Des Devel Ther*, 2018, 12: 3951-3960. DOI: 10.2147/DDDT.S186222.
- [9] Johnson BM, Cullom ME, Egan KG, et al. Comparing tissue oximetry to doppler monitoring in 1367 consecutive breast free flaps[J]. *Microsurgery*, 2023, 43(1): 57-62. DOI: 10.1002/micr.30873.
- [10] Tange FP, Verduijn PS, Sibinga Mulder BG, et al. Near-infrared fluorescence angiography with indocyanine green for perfusion assessment of DIEP and msTRAM flaps: a Dutch multicenter randomized controlled trial[J]. *Contemp Clin Trials Commun*, 2023, 33: 101128. DOI: 10.1016/j.conctc.2023.101128.
- [11] 符健松,刘英,王辉,等. 高频彩色多普勒超声引导下精准设计第1掌骨桡背侧皮瓣修复拇指小面积皮肤软组织缺损的疗效[J]. 中华烧伤与创面修复杂志,2025,41(10):986-993. DOI: 10.3760/cma.j.cn501225-20241130-00468.
- [12] Xiao W, Zhang S, Li H, et al. The use of infrared thermography in determining timing for early pedicle division of the preexpanded bipedicle visor flap after ischemic preconditioning[J]. *Appl Bionics Biomech*, 2022, 2022: 8564922. DOI:10.1155/2022/8564922.
- [13] Cai F, Jiang X, Hou X, et al. Application of infrared thermography in the early warning of pressure injury: a prospective observational study[J]. *J Clin Nurs*, 2021, 30(3/4): 559-571. DOI:10.1111/jocn.15576.
- [14] 张丕红. 浅谈薄型穿支皮瓣切取与穿支血管探测和皮瓣血运评估[J]. 中华烧伤与创面修复杂志,2023,39(10):911-918. DOI:10.3760/cma.j.cn501225-20230812-00047.
- [15] Phillips CJ, Barron MR, Kuckelman J, et al. Mobile smartphone thermal imaging characterization and identification of microvascular flow insufficiencies in deep inferior epigastric artery perforator free flaps[J]. *J Surg Res*, 2021, 261:394-399. DOI:10.1016/j.jss.2020.12.044.
- [16] Jiang X, Hou X, Dong N, et al. Skin temperature and vascular attributes as early warning signs of pressure injury[J]. *J Tissue Viability*, 2020, 29(4): 258-263. DOI: 10.1016/j.jtv.2020.08.001.
- [17] Li J, Lou J, Yu G, et al. Targeting TFE3 protects against lysosomal malfunction-induced pyroptosis in random skin flaps via ROS elimination[J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 643996. DOI:10.3389/fcell.2021.643996.
- [18] Lou J, Wang X, Zhang H, et al. Inhibition of PLA2G4E/cPLA2 promotes survival of random skin flaps by alleviating Lysosomal membrane permeabilization-induced necroptosis[J]. *Autophagy*, 2022, 18(8): 1841-1863. DOI: 10.1080/15548627.2021.2002109.
- [19] Mota-Rojas D, Olmos-Hernández A, Verduzco-Mendoza A, et al. Infrared thermal imaging associated with pain in laboratory animals[J]. *Exp Anim*, 2021, 70(1): 1-12. DOI: 10.1538/expanim.20-0052.
- [20] Li J, Chen H, Lou J, et al. Exenatide improves random-pattern skin flap survival via TFE3 mediated autophagy augment[J]. *J Cell Physiol*, 2021, 236(5): 3641-3659. DOI: 10.1002/jcp.30102.
- [21] 楼承浩,卢颖枫,王健. 褪黑素通过激活 Nrf2 抑制铁死亡改善随意皮瓣存活[J]. 温州医科大学学报,2023,53(7):526-531, 539. DOI:10.3969/j.issn.2095-9400.2023.07.002.
- [22] 赵毅,闫洪伟,王玉琦,等. 腺病毒介导的肝细胞生长因子/血管内皮生长因子 165 对大鼠超比例随意皮瓣成活的影响及机制研究[J]. 中国美容医学,2024,33(2):60-63,97.
- [23] 姚兴璋,姚辉,赵秋玥,等. 消肿止痛合剂调控 PI3K/AKT 信号通路对大鼠皮瓣 IRI 的影响[J]. 甘肃医药, 2024, 43(4): 289-291,296.
- [24] Gu M, Li C, Deng Q, et al. Celastrol enhances the viability of random-pattern skin flaps by regulating autophagy through the AMPK-mTOR-TFEB axis[J]. *Phytother Res*, 2024, 38(6): 3020-3036. DOI:10.1002/ptr.8198.
- [25] Jiang X, Wang Y, Wang Y, et al. Application of an infrared thermography-based model to detect pressure injuries: a prospective cohort study[J]. *Br J Dermatol*, 2022, 187(4): 571-579. DOI:10.1111/bjd.21665.
- [26] Kim H, Kwak SH, Byeon JY, et al. An experimental and clinical study of flap monitoring with an analysis of the clinical course of the flap using an infrared thermal camera[J]. *Bioengineering (Basel)*, 2024, 11(7): 688. DOI: 10.3390/bioengineering11070688.
- [27] 盛淑文. 红外热成像技术在皮瓣外科中的应用[D]. 南昌:南昌大学医学部,2020.
- [28] Singla P, Dixit PK, Kala PC, et al. Free flap monitoring using infrared thermography: an objective adjunct to clinical monitoring[J]. *Indian J Plast Surg*, 2024, 57(3): 179-183. DOI: 10.1055/s-0044-1786742.
- [29] Raheman FJ, Rojoa DM, Patel NG. Performance of infrared thermography and thermal stress test in perforator mapping and flap monitoring: a meta-analysis of diagnostic accuracy[J]. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*, 2021, 74(9): 2013-2025. DOI:10.1016/j.jbips.2021.03.088.
- [30] Casas-Alvarado A, Mota-Rojas D, Hernández-Ávalos I, et al. Advances in infrared thermography: surgical aspects, vascular changes, and pain monitoring in veterinary medicine[J]. *J Therm Biol*, 2020, 92: 102664. DOI: 10.1016/j.jtherbio.2020.102664.
- [31] Mota-Rojas D, Ogi A, Villanueva-García D, et al. Thermal imaging as a method to indirectly assess peripheral vascular integrity and tissue viability in veterinary medicine: animal models and clinical applications[J]. *Animals (Basel)*, 2023, 14(1):142. DOI:10.3390/ani14010142.
- [32] Shen H, Zhao Z, Liu J, et al. The application value of early postoperative pain management (EPPM) combined with skin temperature monitoring (STM) after flap repair of soft tissue defects in the lower limbs: a non-randomized controlled trial[J]. *Ann Palliat Med*, 2022, 11(3): 1068-1076. DOI:10.21037/apm-22-161.
- [33] Chang A, de Barros Pinto E, Silva DR, et al. Photobiomodulation in promoting increased Skin Flap Viability: a systematic review of animal studies[J]. *Lasers Med Sci*, 2024, 39(1):109. DOI:10.1007/s10103-024-04055-6.
- [34] John HE, Niumsawatt V, Rozen WM, et al. Clinical applications of dynamic infrared thermography in plastic surgery: a systematic review[J]. *Gland Surg*, 2016, 5(2): 122-132. DOI: 10.3978/j.issn.2227-684X.2015.11.07.
- [35] Zhou K, Chen H, Lin J, et al. FGF21 augments autophagy in random-pattern skin flaps via AMPK signaling pathways and improves tissue survival[J]. *Cell Death Dis*, 2019, 10(12): 872. DOI:10.1038/s41419-019-2105-0.

- [36] Wu H,Ding J,Li S,et al.Metformin promotes the survival of random-pattern skin flaps by inducing autophagy via the AMPK-mTOR-TFEB signaling pathway[J].Int J Biol Sci,2019, 15(2):325-340.DOI:10.7150/ijbs.29009.
- [37] Bhavani SV,Wolfe KS,Hrusch CL,et al.Temperature trajectory subphenotypes correlate with immune responses in patients with sepsis[J]. Crit Care Med, 2020, 48(11): 1645-1653.DOI:10.1097/CCM.0000000000004610.