

文章编号 1006-8147(2014)03-0192-04

论 著

康复新液对实验性大鼠皮肤切割伤痂下愈合的影响

张 俊¹, 孟令贺¹, 单士军², 张理涛²

(1. 天津医科大学研究生院, 天津 300070; 2. 天津市中医药研究院附属医院皮肤科, 天津 300120)

摘要 目的: 观察康复新液对实验性大鼠皮肤切割伤痂下愈合的影响。方法: 建立大鼠皮肤切割伤伤口痂下愈合模型, 以不同浓度的康复新液(高剂量组、低剂量组)作用于伤口, 观测创面愈合情况, 计算愈合百分率, 并分别于术后第4、7、14天取创面组织, HE常规染色观察创面新生肉芽组织及形态学改变。结果: 各时间点康复新液高、低剂量组创面平均愈合率均显著高于阴性对照组, 差异有统计学意义($P < 0.01$)。HE染色显示, 与阴性对照组相比, 术后第4、7天, 康复新液各组肉芽组织丰富而炎性细胞浸润较少, 术后第14天, 康复新液组胶原纤维数量更多, 排列更整齐, 表皮结构更加完整。结论: 康复新液对促进大鼠皮肤切割伤的痂下愈合作用显著。

关键词 康复新液; 皮肤切割伤; 组织病理学; 大鼠

中图分类号 R75

文献标志码 A

Effect of Kangfuxin liquid on subcrustal wound healing of rat

ZHANG Jun¹, MENG Ling-he¹, SHAN Shi-jun², ZHANG Li-tao²

(1. Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China; 2. Department of Dermatology, Tianjin Academy of Traditional Chinese Medicine Affiliated Hospital, Tianjin 300120, China)

Abstract Objective: To investigate the effect of Kangfuxin liquid on the rat skin during the process of subcrustal healing. **Methods:** Excision wounds of skin were produced in experimental rats which were divided into Kangfuxin liquid high-dose group and low-dose group. Observation of wound healing, calculation of the healing rate, and histological examination were undertaken at different time points. **Results:** The average healing rate of both high-dose and low-dose group were significantly higher than those of negative group ($P < 0.01$). HE staining showed that compared with negative group, less inflammatory cells infiltration but more new granulation tissue were found in Kangfuxin liquid groups than those in negative group after 4 and 7 days of wounding, and epidermis hyperplasia. **Conclusion:** Kangfuxin liquid can significantly promote subeschar wound healing ability of rats.

Key words Kangfuxin liquid; cutaneous excision wound; histopathology; rats

康复新液是美洲大蠊提取物制成的液体制剂, 成分复杂, 主要为多元醇类、氨基酸及肽类活性物质, 能散瘀活血、养阴生肌^[1]。该药在临床上应用已久, 既可内服用于消化道溃疡等辅助治疗, 又可外用于金疮、烧伤、烫伤、瘰管、褥疮等创面。普遍认为该药能改善创面微循环、加速组织修复、抗菌消炎和增强免疫力^[2]。然而对损伤较大的痂下愈合伤口的研究报道较少。此外, 由于成分复杂, 其促进创面愈合的具体作用机制有待进一步阐明。因此, 本研究建立大鼠痂下愈合的创伤愈合模型, 通过对创面组织进行取材, 观察药物作用不同时间后, 痂下愈合组织的病理学及形态学改变, 探讨康复新液对切割伤痂下愈合伤口的影响。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 药物与试剂 康复新液: 四川好医生攀西药

作者简介 张俊(1987-), 女, 硕士在读, 研究方向: 皮肤病与性病学;
通信作者: 张理涛, E-mail: zhanglitaotao@medmail.com.cn。

业有限责任公司生产, 批号: 110916。美宝湿润烧伤膏: 汕头市美宝制药有限公司生产, 批号: 111025。生理盐水, 水合氯醛, 硫化钠, 酒精, 二甲苯等购自天津生化试剂公司。

1.1.2 动物 清洁级 Wistar 大鼠, 雌雄各半, 体重 180~220 g, 购自军事医学科学院卫生学环境医学研究所, 许可证号: SCXK-(军)2009-003。

1.1.3 主要仪器设备 电子分析天平(上海天平仪器厂), 光学显微镜(OLYMPUS, IX70 日本), 常规切片机, 常规手术器械等。

1.2 实验步骤

1.2.1 切割伤造模 Wistar 大鼠, 8%硫化钠背部脱毛, 温水清洗后归笼。术前一晚禁食水, 手术当天 10%水合氯醛(300 mg/kg)腹腔注射麻醉, 以大鼠背部脊柱为中线, 设计一个左右对称面积约 2.5 cm×2.5 cm 的正方形创面。75%酒精消毒后, 按设计完整切除皮肤、浅筋膜, 直至深筋膜浅面, 彻底止血。伤后按 40 mL/kg 体质量腹腔注射生理盐水行休克期

复苏,术后伤口消毒,单笼喂养,自由饮水取食。

1.2.2 实验分组及给药 大鼠造模后随机分为4组:A组为生理盐水阴性对照组,B组为美宝阳性对照组,C组为康复新液高剂量组(原液组),D组为康复新液低剂量组(1/2原液组),每组12只。造模0.5 h后换药,A、C、D组以注射器滴加的方式将药物缓慢浸湿伤口,B组以医用棉签均匀涂抹覆盖创面,每次换药前以75%酒精彻底消毒,清除上次残留药物后进行。给药后创口均保持自然暴露状态,数分钟后归笼。各组每天早、晚各换药1次。

1.2.3 观察指标和检测方法

1.2.3.1 透明胶片法计算创面愈合率:于造模成功后第0、4、7、10、14天用无菌透明胶片覆盖皮肤,沿创口边缘描绘损伤面积的图形,剪下相应图形,以分析天平称取损伤创口面积的胶片重量,计算损伤皮肤面积的减少率。按下式计算:创面愈合面积百分率=(用药前胶片重量-用药后胶片重量)/用药前胶片重量 $\times 100\%$,并拍照存证。

1.2.3.2 创面组织病理学检查:于手术第4、7、14天时间点上,各组均随机抽取3只大鼠行组织病理检查。10%水合氯醛腹腔注射麻醉,小心将创面全层皮肤取下,并处死大鼠。切取的组织以10%的甲醛溶

液固定,石蜡包埋。常规切片,苏木精—伊红染色(HE染色),检测用药不同时间后创伤愈合组织内炎细胞浸润,毛细血管生成,成纤维细胞增生及表皮增生,胶原形成等组织病理学改变。

1.3 统计学方法 实验结果的计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用SPSS18.0统计软件进行分析处理,用单因素方差分析(one-way ANOVA),并用 q 检验(Student-Newman-Keuls法)对数据进行两两比较,当 $P < 0.05$ 时认为差异有统计学意义,当 $P < 0.01$ 时为差异非常显著。

2 结果

2.1 康复新液对大鼠创伤愈合过程的影响 见图1。各组大鼠在造模与给药过程中无一例死亡,无明显感染现象,精神状态和活跃程度较佳。造模成功后即刻观察,可见各组创伤处约 $2.5\text{ cm} \times 2.5\text{ cm}$ 大小皮肤全层缺失,直至深筋膜,创面湿润,创口有少许血液和浆液渗出。造模第4天,各组伤口渗出物干燥形成薄层痂皮,覆盖创面,创口均明显缩小,创缘收缩。阴性组创口周围肿胀,边缘有少许渗液。阳性组和康复新液组创口肿胀轻微,创缘分泌物少,痂皮表面干燥、呈暗红色,触之较软。造模第7天,阴性组表面有渗出物,创缘收缩不明显。阳性组创面

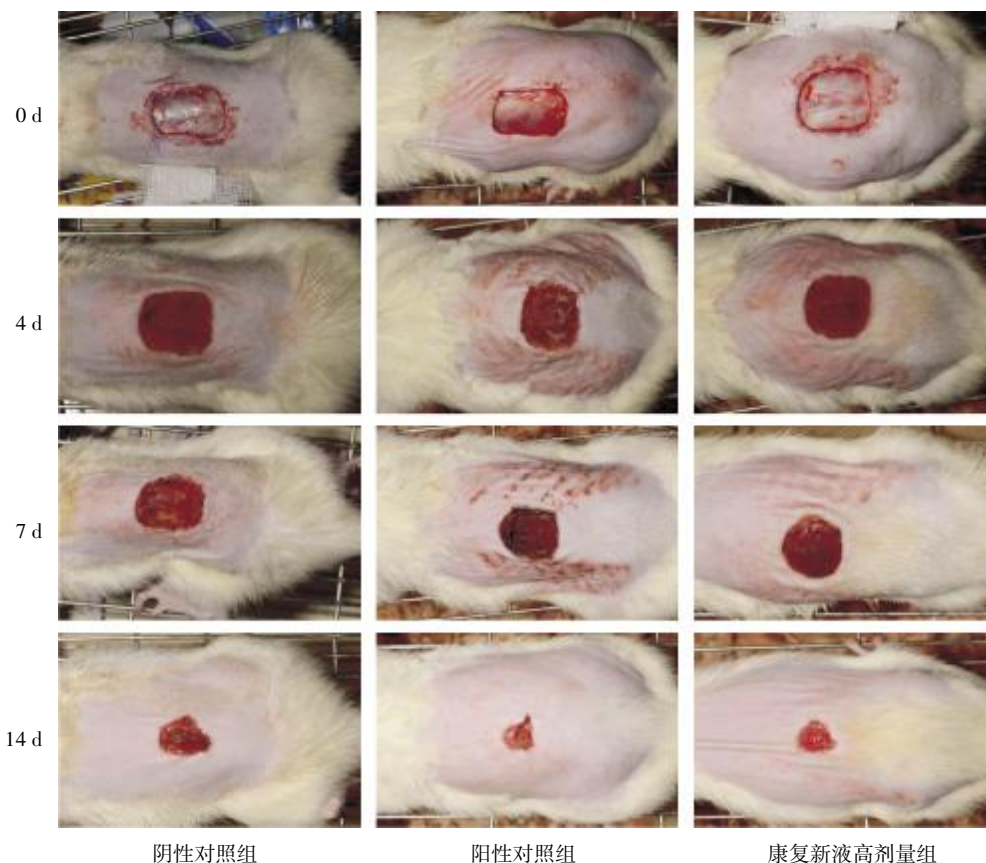


图1 阴性对照组、阳性对照组、康复新液高剂量组 Wistar 大鼠切割伤愈合情况

Fig 1 The wound healing situation of the negative, positive and Kangfuxin liquid high-dose group

部分痂皮脱落,可见其下方肉芽组织生长旺盛,触之易出血。康复新液组部分大鼠创面痂皮局部脱落,残留痂皮表面干燥、皱缩、呈暗红色,触之质韧,边缘不规整。造模第 14 天,阴性组尚有部分陈旧痂皮未脱落,其余部分为肉芽组织填充,创面湿润柔软,收缩明显。阳性组和康复新液组创面陈旧痂皮完全脱落,创面收缩与再上皮化显著,肉芽组织生长活跃,呈鲜红色。创伤愈合期间,康复新液高、低剂量组促进创面愈合作用的差异性不明显。

2.2 切割伤创面愈合率 见表 1,图 2。统计学分析显示,在各时间点,康复新液高、低剂量组创面愈合百分率均明显高于阴性组,差异有统计学意义(P 均 <0.01),而与阳性组相比,差异无统计学意义(P 均 >0.05)。康复新液高剂量组创面愈合百分率高于低剂量组,但差异无统计学意义(P 均 >0.05)。

表 1 各组创伤大鼠不同时间点创面愈合百分率($\bar{x}\pm s$, %)

Tab 1 The healing rate of different groups at different time points ($\bar{x}\pm s$, %)

组别	n	创面愈合百分率			
		4 d	7 d	10 d	14 d
阴性对照组	6	4.69±1.63	12.36±3.25	41.13±4.77	65.98±4.50
阳性对照组	6	14.04±2.15*	23.17±2.84*	52.85±4.65*	75.82±2.32*
康复新高剂量组	6	14.37±2.32**	26.57±3.77**	57.41±3.99**	77.76±1.74**
康复新低剂量组	6	12.68±2.33**	24.10±2.71**	51.43±3.10**	73.68±3.62**

与阴性对照组相比 * $P<0.01$;与阳性对照组相比 ** $P>0.05$

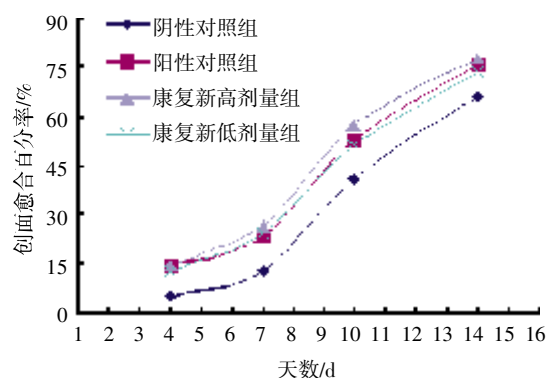


图 2 各组不同时间点大鼠皮肤创伤愈合百分率比较

Fig 2 The comparison of skin wound healing rate in each group at different time points

2.3 HE 染色结果 见图 3。术后第 4 天,各组创面皮肤表皮缺失,薄层血痂形成,其下有少量肉芽组织形成。阳性对照、康复新液高、低剂量组可见成纤维细胞及新生毛细血管管腔较阴性对照组丰富,而巨噬细胞、中性粒细胞、淋巴细胞的浸润相对阴性对照组略少。术后第 7 天,各组创面陈旧痂皮下肉芽组织生成。阳性对照、康复新液高、低剂量组肉芽组织丰富,可见大量成纤维细胞,伴有胶原纤维形成,新生毛细血管多,其周围浸润的炎性细胞减少。其中阳性对照组和康复新液高剂量组表皮层已开始形成,其上仍覆血痂。而阴性对照组炎细胞与成纤维细胞浸润明显,胶原纤维形成少,间质较疏松。

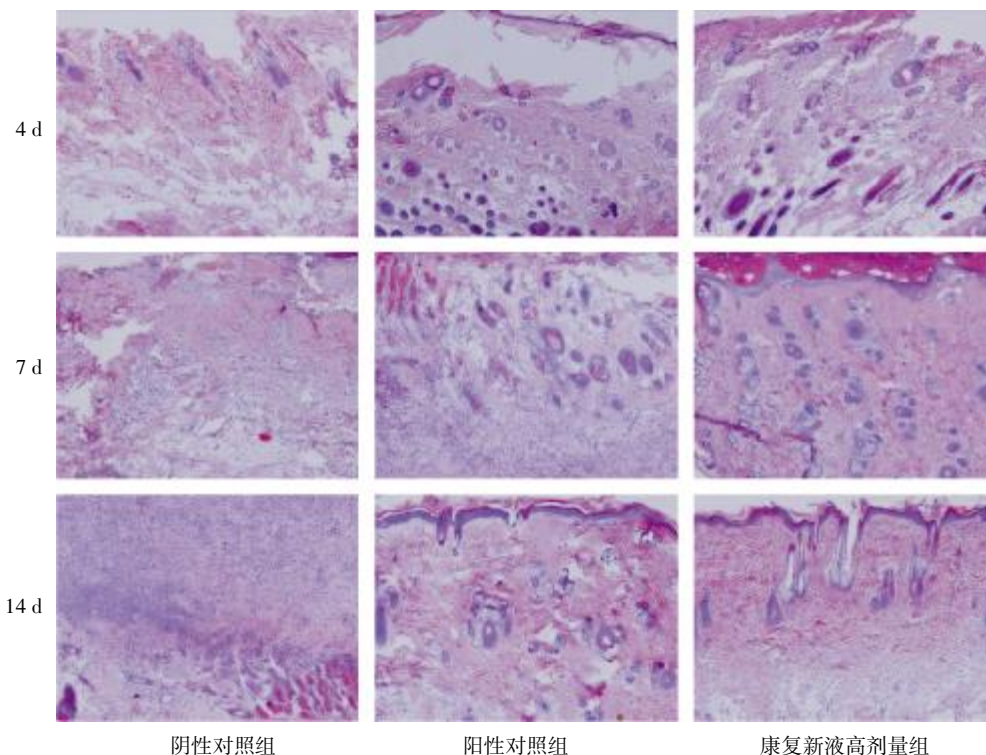


图 3 不同时间点各组创面组织 HE 染色图($\times 40$)

Fig 3 The HE staining figures of the negative, positive and Kangfuxin high-dose group ($\times 40$)

术后第14天,各组创面已基本形成皮肤分层结构。阳性对照、康复新液高、低剂量组新生细胞已形成明显的表皮细胞层,增生显著,下方可见典型毛囊结构,结缔组织中成纤维细胞少而胶原纤维多,排列较整齐;阴性组仍有炎细胞浸润,尚可见大量成纤维细胞,胶原纤维相对较少且排列紊乱。

3 讨论

美洲大蠊作为药用最初见于《神农本草经》,用于治血瘀症、破积聚等。康复新液是美洲大蠊虫体提取物,已应用于临床多年,最初用于烧伤、烫伤、战伤等,后逐步用于消化道溃疡、宫颈疾病、皮肤黏膜损伤及癌症的治疗^[3-4]。多年临床应用提示该药能加快多种创口愈合,然而近年有研究发现,对于某些特殊类型的伤口,康复新液换药时间过长,反而影响治疗效果^[5]。痂下愈合多见于皮肤损伤,其创伤表面形成褐色硬痂,愈合在痂下进行,愈合所需时间长。痂皮对伤口有保护作用的同时不利于外用药物渗透,临床干预措施较局限。本实验发现康复新液具有较强的渗透性,对大鼠皮肤大面积切割伤痂下愈合亦有明显促进作用。在创伤愈合早期能促进成纤维细胞、新生毛细血管的生长,同时能抑制创面炎细胞浸润;创伤愈合中后期能促进肉芽组织成熟、胶原形成及表皮增生,加快陈旧血痂脱落,起到促进皮肤切割伤愈合的作用。其作用机制可能是在创伤愈合不同阶段,通过作用于多个靶点发挥作用。

细胞外基质(extracellular matrix, ECM)是创伤修复过程中的关键,主要成分有胶原蛋白、弹力蛋白、纤维连接蛋白、层粘连蛋白、基质细胞蛋白和蛋白多糖等。细胞受到刺激后释放的多种生长因子同样发挥了重要作用,如表皮生长因子、转化生长因子、成纤维细胞生长因子、血管内皮细胞生长因子、白介素1及血小板释放的血小板源性生长因子等。成纤维细胞是创面愈合中的主要修复细胞,本研究发现康复新液组创伤初期组织的成纤维细胞数量较阴性组多,提示该药可能有促进成纤维细胞增殖或迁移的作用,推测与其含有表皮生长因子等成分有关。宋芹等^[6]曾通过细胞划痕实验,初步探明美洲大蠊提取物对体外培养皮肤成纤维细胞有促进其向创面迁移的作用,这或许是其促进创面愈合的机制之一。李珊瑚等^[7]认为该药促进创伤愈合根本在于其原料中的W11-a12,可能是多环节地影响了生

长因子、成纤维细胞及IV型胶原、纤维结合蛋白、表皮细胞、微量元素,还有ECM及多种细胞因子,从而促进创面修复。此外,康复新液能有效增强创面的牵张强度,提示该药能增加创面内胶原的产生与沉积,促进创面组织重建^[8],这与我们通过组织学检查所得结果相符。一项动物实验证实,本品能阻止慢性胃溃疡病理瘢痕的形成,可能与抑制生长激素、羟脯氨酸的合成表达,优化成纤维细胞功能有关^[9]。此外,叶本兰等^[10]发现该药可在一定程度上抑制放射损伤引起的钙依赖性钾通道开放增加,这也可能是其促进创面愈合的一个重要途径。

康复新液对常见创面的修复有着独到的促进作用,临床实践中已得到证实。但是由于其成分复杂且多变,真正的活性物质基础不够明确^[11],创伤愈合过程中涉及多个环节、多种因子,故目前针对其促愈机制的研究还是比较浅显,对具体的作用过程了解不够详细,尤其是在细胞和分子水平的研究还比较少。深入研究康复新液对创伤愈合过程中关键酶、生长因子和细胞因子表达的影响,将会进一步揭示其促进创伤愈合的作用机制。

参考文献:

- [1] 焦春香,刘光明,周萍.天然药物康复新的研究进展[J].时珍国医国药,2008,19(11):2623
- [2] 邹金凯,傅得兴.康复新液的临床应用[J].首都医药,2008,8(4):29
- [3] 陈筱云.康复新液治疗褥疮60例的临床观察[J].中国实用医药,2013,8(7):158
- [4] 高黎黎,王鲁平,李光辉.康复新的临床新用途[J].中国误诊学杂志,2006,6(7):1390
- [5] 刘碧霞,李玉云,陶佳.康复新液不同用药时间在儿童耳前瘘管换药中的疗效观察[J].浙江中医药大学学报,2013,37(1):94
- [6] 宋芹,张臻,毛茜,等.美洲大蠊提取物对小鼠真皮成纤维细胞迁移影响的初步研究[J].中药与临床,2013,4(1):34
- [7] 李珊瑚,李勇敏,彭淑珍.康复新液对家兔创伤愈合的影响[J].临床和实验医学杂志,2006,5(6):730
- [8] 舒崇湘,程天民.康复新对单纯皮肤创面和合并全身放射损伤时的促愈作用[J].第三军医大学学报,1999,21(3):16
- [9] 苏金仁,陈瑾,黄秀深,等.康复新液对大鼠胃溃疡病理瘢痕形成的影响[J].中药材,2013,36(6):979
- [10] 叶本兰,舒崇湘,程天民,等.电离辐射对3T3细胞膜钙依赖性钾通道的影响及康复新的作用[J].中国应用生理学杂志,2002,18(3):83
- [11] 王光强,陈鉴东,徐小军,等.固相萃取高效液相色谱法测定康复新液中有效成分KFX-4[J].亚太传统医药,2012,8(12):24

(2013-11-27 收稿)