

复方黄柏液涂剂对深Ⅱ度烧伤创面的干预作用及机制

肖长栓, 刘娅平, 孙奎, 杨景哲*, 陈红雨
(承德医学院附属医院, 河北承德 067000)

[摘要] 目的:研究复方黄柏液涂剂外用对深Ⅱ度烧伤创面的干预作用及可能的机制。方法:将2019年6月至2020年6月承德医学院附属医院烧伤整形科确诊的深Ⅱ度烧伤火毒伤津证患者采用随机数字表法分为对照组、低剂量治疗组和高剂量治疗组,每组各40例,对照组予1%碘伏溶液35 mL,低剂量及高剂量治疗组予1%体表面积创面分别外用复方黄柏液涂剂17.5,35 mL,每日换药1次。观察各组治疗后14 d病理学改变;各组于治疗前及治疗后7,14,21 d量化创面局部症状体征,于治疗后21 d评价临床疗效;治疗后7,14,21 d各组计算创面愈合率,分别按照酶联免疫吸附法(ELISA)测定创面组织中血管内皮生长因子(VEGF),成纤维细胞生长因子(FGF)-2,FGF-7,表皮生长因子(EGF),白细胞介素-10(IL-10),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)及半胱氨酸天冬氨酸水解酶-3(Caspase-3)含量水平,免疫组化法测定创面组织核转录因子- κ B p65(NF- κ B p65)的表达情况,采用原位末端标记法(TUNEL法)检测创面组织细胞凋亡率。结果:治疗前各组局部症状体征评分差异无统计学意义。与对照组比较,低剂量及高剂量治疗组在治疗后7 d创面愈合率差异无统计学意义,在治疗后14,21 d创面愈合率明显增高($P<0.05$);在治疗后21 d临床疗效明显优于对照组;在治疗后7,14,21 d局部症状体征评分均明显降低,创面组织中VEGF,FGF-2,FGF-7,EGF,IL-10水平显著增高,细胞凋亡率,Caspase-3, TNF- α 及NF- κ Bp65表达水平明显降低($P<0.05$),且高剂量组之间上述指标均优于低剂量组($P<0.05$)。光镜下低剂量及高剂量治疗组在治疗后第14天均较对照组炎症细胞浸润减少,且高剂量组表现更显著。结论:复方黄柏液涂剂外用对深Ⅱ度烧伤创面有明显治疗效果,可剂量依赖性的通过上调生长因子水平、改善炎症反应并抑制细胞凋亡促进创面愈合。

[关键词] 复方黄柏液涂剂;深Ⅱ度烧伤创面;临床疗效;创面愈合;量效关系

[中图分类号] R22;R242;R2-031;R644 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2021)16-0102-09

[doi] 10.13422/j.cnki.syfjx.20211695

[网络出版地址] <https://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20210625.1349.001.html>

[网络出版日期] 2021-06-25 15:09

Intervention Effect and Mechanism of Fufang Huangbaiye Tuji on Skin with Deep II Degree Burn Wound

XIAO Chang-shuan, LIU Ya-ping, SUN Kui, YANG Jing-zhe*, CHEN Hong-yu
(Affiliated Hospital of Chengde Medical University, Chengde 067000, China)

[Abstract] **Objective:** To study the intervention effect and underlying mechanism of Fufang Huangbaiye Tuji (FFHBY) on skin with deep II degree burn wound. **Method:** Patients with deep II degree burn of fire-toxin injuring fluid syndrome diagnosed in the Affiliated Hospital of Chengde Medical University from June 2019 to June 2020 were randomly divided into a control group (iodophor solution, 35 mL per 1% body surface area), a low-dose treatment group (FFHBY, 17.5 mL per 1% body surface area), and a high-dose treatment group (FFHBY, 35 mL per 1% body surface area), 40 cases in each group. The patients in each group were treated correspondingly with dressing change once per day. The pathological changes of the wound were observed on the 14th day after treatment. Wound symptoms and signs in each group before treatment and on the 7th, 14th,

[收稿日期] 20210420(001)

[基金项目] 承德市科学技术研究与发展计划项目(201422022)

[第一作者] 肖长栓, 硕士, 主治医师, 从事烧伤创面愈合及机制研究, Tel:0314-2279277, E-mail: xiaochangshuanl@163.com

[通信作者] * 杨景哲, 硕士, 副主任医师, 从事烧伤难愈性创面治疗方法研究, Tel:0314-2279276, E-mail: 13653247707@163.com

and 21st days after treatment were quantified, and the clinical efficacy on the 21st day after treatment was evaluated. Wound healing rates in each group were calculated on the 7th, 14th, and 21st days after treatment. The levels of vascular endothelial growth factor (VEGF), fibroblast growth factor (FGF)-2, FGF-7, epidermal growth factor (EGF), interleukin (IL)-10, tumor necrosis factor (TNF)- α , and Caspase-3 in wound tissues were measured with enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Nuclear factor kappa-B (NF- κ B) p65 expression in wound surface was detected by immunohistochemistry. The apoptosis rate in wound tissues was determined by the TdT-mediated dUTP-biotin nick end labeling assay (TUNEL) method. **Result:** There was no significant difference in scores of symptoms and signs among groups before treatment. Compared with the control group, the treatment groups showed no significant difference in wound healing rates on the 7th day after treatment and increased healing rates on the 14th and 21st day after treatment ($P < 0.05$). The clinical efficacy in the treatment groups was superior to that in the control group on the 21st day after treatment. Additionally, the treatment groups also showed decreased scores of local symptoms and signs, increased levels of VEGF, FGF-2, FGF-7, EGF, and IL-10, and dwindled apoptosis rate and levels of Caspase-3, TNF- α , and NF- κ B p65 expression in wound tissues on the 7th, 14th and 21st day after treatment ($P < 0.05$). The high-dose treatment group was superior to the low-dose treatment group in the above indicators ($P < 0.05$). Histopathological examination showed that inflammatory cell infiltration was relieved in the treatment groups as compared with that in the control group, and the high-dose treatment group exhibited superior efficacy. **Conclusion:** FFHBY had an obvious therapeutic effect on deep II degree burn. It could promote wound healing by up-regulating the level of growth factors, improving inflammatory response, and inhibiting cell apoptosis in a dose-dependent manner.

[Keywords] Fufang Huangbaiye Tuji; deep II degree burn wound; clinical efficacy; wound healing; dose-effect relationship

在日常工作生活中,烧伤是较常见的体表损伤,其中深II度烧伤创面属难愈性创面。有研究表明,深II度烧伤创面局部微循环障碍,过度炎症因子及大量代谢产物聚集,导致相关生长因子的合成及释放受到抑制,从而进一步加重局部组织缺血缺氧,形成恶性循环,造成创面不愈及患者伤残等严重后果^[1-3]。深II度烧伤创面治疗方法繁杂,近年来,削、刮、磨痂植皮手术通过祛除大部分坏死组织、降低感染机会成为处理创面的一种重要手段,但多因二次创伤、费用高昂及皮源紧张为临床所诟病^[4];此外,合理应用有效的外用药物及敷料可提高治疗率,是目前研究的热点^[5-6]。因此,笔者科室团队曾尝试应用银盐和抗生素等化学药物治疗深II度烧伤创面,以促进创面愈合过程中上皮化程度^[1],但化学药物作用机制单一且近年来滥用使创面耐药等问题日益凸显。对于深II度烧伤创面,部分学者在中医药领域进行了积极探索,发现大多中药作用靶点多、作用机制多样,可弥补化学药物的不足,但其安全性和有效性尚需深入研究^[2-3]。多项研究表明,复方黄柏液涂剂广泛应用于糖尿病足溃疡、压疮等慢性难愈性创面中,可通过改善创面炎

症反应、减轻局部组织损伤及促进局部微循环的建立加速创面愈合,疗效较佳,药物安全性及患者依从性较好^[5,7-9],但其对深II度烧伤创面的干预作用及机制却少有研究。基于此,本研究拟通过不同剂量的复方黄柏液涂剂对深II度烧伤创面进行治疗,考察其临床疗效及对相关指标的影响,探讨其可能的作用机制,以期为复方黄柏液涂剂治疗深II度烧伤创面提供新的理论依据,拓展临床治疗思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 连续收集2019年6月至2020年6月于承德医学院附属医院烧伤整形科就诊的深II度烧伤火毒伤津证患者作为研究对象,采用随机数字表法将其分为对照组[男22例,女18例,平均年龄(46.4 \pm 2.05)岁, $n=40$],低剂量治疗组[男24例,女16例,平均年龄(42.7 \pm 1.65)岁, $n=40$]及高剂量治疗组[男20例,女20例,平均年龄(45.2 \pm 2.47)岁, $n=40$],完成21 d的疗程。各组在研究过程中均无脱落病例。对各组年龄、男女构成行单因素方差分析,差异无统计学意义,具有可比性。

1.2 试剂与仪器 碘伏(北京四环卫生药械厂有限公司,京卫消证字2014第0302号,规格500 mL/瓶);复

方黄柏液涂剂(山东汉方制药有限公司,国药准字Z10950097,规格150 mL/瓶,批号19042011);血管内皮生长因子(VEGF),成纤维细胞生长因子(FGF)-2, FGF-7,表皮生长因子(EGF),白细胞介素-10(IL-10),肿瘤坏死因子- α (TNF- α)酶联免疫吸附测定法(ELISA)试剂盒(武汉华美生物工程有限公司,批号分别为20180305,20180401,20180405,20180320,20180505,20180420);半胱氨酸天冬氨酸水解酶-3(Caspase-3)ELISA试剂盒(美国R&D公司,批号20180305);苏木素-伊红(HE,安徽雷根生物技术有限公司,批号20191010);核转录因子- κ Bp65(NF- κ Bp65)多克隆抗体(武汉博士德公司,批号20181220);羊抗兔免疫球蛋白(IgG)二抗抗体(上海申索公司,批号20030417);原位末端标记法(TUNEL)检测阳性对照制备试剂盒(南京凯基生物科技发展有限公司科技发展公司,批号20171020)。

N100型皮肤环钻取样器(北京海德生物科技有限公司);ELX800UV型酶标仪(美国BioTek公司);CK40型显微镜(日本Olympus公司)。

1.3 诊断标准 西医诊断标准为有烧伤病史,辨别深度采用三度四分法^[10],局部肿胀,表皮较白或棕黄,间或有较小的水疱,创面基底微湿、微红或红白相间,质较韧,感觉迟钝,温度降低,并可见粟粒大小的红色小点,或细小树枝状血管枝。中医辨证参考《中药新药临床研究指导原则》^[11],具有火热灼伤史,主证为创面表皮松解或剥脱,红肿灼痛;次证为便秘尿赤,壮热烦渴,口干喜饮;舌脉为舌红绛而干,苔黄或黄糙,或舌光无苔,脉洪数或弦细数。病史及主证必备,次证至少2项,参考舌脉,即可诊断。

1.4 纳入标准 ①符合深Ⅱ度烧伤创面诊断标准;②年龄20~75岁;③无遗传性、传染性疾病,无严重的脏器功能不全,无恶性肿瘤、严重营养不良;④以中国九分法计算烧伤面积,选取创面总面积在10%成人体表面积(TBSA)以下、无Ⅲ度创面的轻度烧伤患者,以1%TBSA以上的深Ⅱ度创面作为观察区域;⑤对本研究知情,并签署知情同意书,自愿参加本研究。

TBSA计算方法为头颈部为9%(1个9%),双上肢为18%(2个9%),躯干(含会阴1%)为27%(3个9%),双下肢(含臀部)为46%(5个9%+1%)。共为 $11 \times 9\% + 1\% = 100\%$ 。

1.5 排除标准 ①大面积烧伤中重度患者,需以手术为主要治疗方式的患者;②严重脏器功能不全,重度营养不良,肿瘤,精神病患者;③孕妇或备孕的

妇女;④拒绝签署知情同意书者。

1.6 治疗方法 各组患者入院后,立即行标准化创面处理,具体方法为流动清洁冷水持续冲洗创面,同时用棉球轻柔拭去创面异物,以0.1%的新洁尔灭溶液冲洗创面数次,对较大水疱行低位引流,祛除部分坏死水疱皮,再用新洁尔灭棉球由内向外环形消毒创面直至边缘5 cm。参考相关资料^[7,9],对照组采用每1%TBSA使用碘伏原液35 mL,浸泡纱布使纱布完全吸干药液后完整覆盖创面,再以凡士林纱布及无菌敷料包扎,每日换药1次;低剂量及高剂量治疗组分别采用每1%TBSA使用17.5,35 mL复方黄柏液涂剂原液,余操作同对照组。

各组患者在住院期间,行常规治疗方案,具体如下①应用广谱抗生素如克林霉素、头孢类抗生素防治创面感染;②应用林格氏液、葡萄糖注射液等常规补液治疗;③根据血常规、生化等化验结果及时调整治疗。不使用其他针对创面的药物及治疗措施,治疗周期为21 d。

1.7 标本采集 于治疗后7,14,21 d各组分别取创面肉芽组织约3 g,选取适量充分研磨,制备组织匀浆,3 000 r·min⁻¹离心15 min(离心半径15 cm)后取上清液,及时保存于-4 °C冰箱中待测VEGF, FGF-2, FGF-7, EGF, IL-10, TNF- α 及Caspase-3水平;另选取适量置于4%甲醛中固定,待免疫组化及TUNEL检测;再选取适量各组治疗后14 d所取标本置于4%甲醛中固定,待病理检查。

取创面肉芽组织方法为将创面分泌物及残存药物用无菌干燥纱布拭干,0.1%新洁尔灭消毒,于烧伤创面基底中央区域,用皮肤环钻取样器,直径5 mm钻取。

1.8 观察指标和检测方法 ①解冻组织上清液样品,以双抗体夹心ELISA严格按照VEGF, FGF-7, FGF-2, EGF, IL-10, TNF- α 及Caspase-3 ELISA试剂盒说明书操作,使用酶标仪在450 nm的波长处测定对照品吸光度 A ,并以对照品浓度及 A 绘制出标准回归曲线,得出计算公式 $y = ax^2 + bx + c$ (y 为浓度, x 为 A , a , b , c 为回归系数),同法在450 nm的波长处测定各组样品 A ,根据实测出的 A 应用计算公式计算样品中VEGF, FGF-7, FGF-2, EGF, IL-10, TNF- α 及Caspase-3含量;②将甲醛固定好的创面组织依次进行脱水、包埋、切片,HE染色,光镜下观察;③采用免疫组化法检测创面组织切片中NF- κ Bp65表达情况。一抗为NF- κ Bp65多克隆抗体(1:100),二抗为羊抗兔IgG(1:500);用 $\times 40$ 光镜观察,细胞胞核、胞

质中出现棕色及蓝色染色抗体分别为阳性及阴性细胞,应用BI-2000医学图像分析系统测定积分吸光度IA;④采用TUNEL法检测创面组织细胞凋亡率,按照TUNEL检测阳性对照制备试剂盒说明书操作,凋亡细胞表现为荧光增强,每例随机选取5个非重叠的高倍镜视野($\times 400$),统计凋亡细胞数和细胞总数,组织细胞凋亡率=凋亡组织细胞数/组织细胞总数 $\times 100\%$;⑤各组治疗后7,14,21 d拍照,采用

MoticMed 6,Photoshop软件处理照片并按公式计算创面愈合率,创面愈合率=(创面总面积-残余创面面积)/创面总面积 $\times 100\%$ 。取两软件所得数值的平均值为最后结果。

1.9 创面局部症状体征评分 参考《十一五国家科技支撑计划—中医外治特色疗法和外治技术示范研究》^[11],分别于治疗前、治疗后7,14,21 d后对入组患者的相应症状体征进行量化,评分规则见表1。

表1 创面局部体征评分标准

Table 1 Scoring criteria for local signs of wounds

症状体征	0分	1分	2分	3分	4分
肿胀范围	无	距创周<1 cm	1 cm \leq 距创周<2 cm	2 cm \leq 距创周 \leq 3 cm	距创周>3 cm
疼痛程度	无	偶有疼痛	服镇痛药可入睡	服镇痛药可入睡但常醒	服药也不可入睡
脓液性质	无	黄白稠厚	黄浊质稠	稀薄	臭秽或流血水
肉芽性质	愈合	红活	暗红	晦暗	光白板亮

1.10 临床疗效评价 治疗21 d后进行临床疗效评估。痊愈为创面愈合率 $\geq 90\%$;显效为创面肉芽新鲜,上皮化良好,面积明显缩小,无坏死组织及脓苔,创周浸润带基本消失,60% \leq 创面愈合率 $< 90\%$;有效为创面肉芽组织轻度水肿,有上皮化,面积有所缩小,伴有少许坏死组织或脓苔,创周可呈现淡紫色浸润带,30% \leq 创面愈合率 $< 60\%$;无效为创面未见明显好转,或创面面积无明显缩小,创面愈合率 $< 30\%$ 。总有效率=(痊愈+显效+有效)例数/总例数 $\times 100\%$ 。

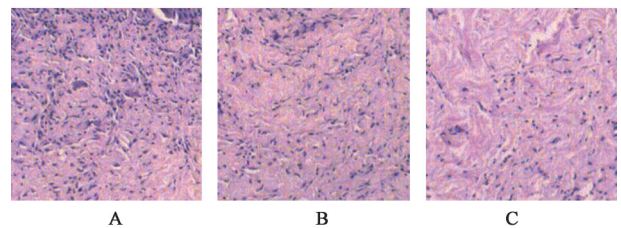
1.11 伦理审批 本研究获承德医学院附属医院医学伦理委员会批准、备案,编号LL085,研究方法符合伦理学标准。各组所有患者基于自愿的原则入组前均签署知情同意书,并最大程度地保护患者的隐私及权益,研究结果及研究内容均不存在利益冲突。

1.12 统计学处理 本研究所有计数资料以例数及百分比表示,等级资料的比较采用秩和检验;所有计量数据运用SPSS 20.0统计软件进行处理,均进行方差齐性及正态检验,以 $\bar{x} \pm s$ 表示,符合正态分布且方差齐时使用t检验,不符合正态分布且方差不齐时采用非参数检验,组间两两比较采用SNK-q法进行统计学分析。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对创面组织病理的影响 观察各组伤后第14天病理切片,结果显示,对照组创面少量血管化,血管通透性改变明显,可见大量炎症细胞聚集、

浸润;低剂量组炎症细胞浸润及血管通透性程度较对照组为轻,有一定程度的血管化;高剂量组炎症细胞浸润程度较低剂量组进一步减轻,血管化程度最明显。见图1。



A. 对照组;B. 复方黄柏液涂剂低剂量组;C. 复方黄柏液涂剂高剂量组(图2同)

图1 复方黄柏液涂剂对各组第14天创面组织病理的影响(HE, $\times 200$)

Fig. 1 Effect of Fufang Huangbaiye Tuji on change of pathomorphology of patients of each group on 14 day (HE, $\times 200$)

2.2 对创面愈合率的影响 在治疗后7 d,各组创面均出现少量散在上皮化,差异无统计学意义;在治疗后14,21 d,与对照组比较,低、高剂量治疗组创面愈合率明显增高($P < 0.05$),与低剂量治疗组相比,高剂量治疗组创面愈合率进一步升高($P < 0.05$)。见表2,图2。

2.3 对创面局部症状体征评分的影响 治疗前各组各项评分差异均无统计学意义;治疗后7,14,21 d,与对照组比较,低、高剂量治疗组肿胀范围评分、创面疼痛程度评分、脓液性质评分、肉芽性质评分均降低($P < 0.05$),与低剂量治疗组比较,高剂量治疗组上述各项评分进一步降低($P < 0.05$)。见表3。

表2 复方黄柏液涂剂对各组患者创面愈合率的影响 ($\bar{x}\pm s, n=40$)

Table 2 Effect of Fufang Huangbaiye Tuji on healing rate of each group of patients ($\bar{x}\pm s, n=40$)

组别	剂量/mL	愈合率/%		
		治疗后 7 d	治疗后 14 d	治疗后 21 d
对照	35 ¹⁾	4.84±0.61	19.42±4.55	52.48±16.98
复方黄柏液涂剂	17.5	4.91±0.45	55.05±3.09 ²⁾	75.22±11.91 ²⁾
	35	4.86±0.58	69.67±7.51 ^{2,3)}	88.45±5.47 ^{2,3)}

注: ¹⁾对照组使用药物为碘伏;与对照组比较 ²⁾ $P<0.05$;与低剂量组比较 ³⁾ $P<0.05$ (表3~7同)。



1. 组治疗后 7 d; 2. 组治疗后 14 d; 3. 组治疗后 21 d

图2 复方黄柏液涂剂对各组患者创面愈合的影响

Fig. 2 Effect of Fufang Huangbaiye Tuji on healing of each group of patients

2.4 对临床疗效的影响 治疗 21 d 后, 低 ($\chi^2=5.175, P<0.05$), 高 ($\chi^2=7.378, P<0.05$) 剂量治疗组临床疗效(总有效率)均优于对照组; 与低剂量治疗组相比, 高剂量治疗组临床疗效更优 ($\chi^2=4.221, P<0.05$)。见表 4。

2.5 对创面组织 VEGF, FGF-2, FGF-7, EGF 水平的影响 治疗后 7, 14, 21 d, 与对照组比较, 低、高剂量治疗组创面组织 VEGF, FGF-2, FGF-7, EGF 水平均明显升高 ($P<0.05$), 与低剂量治疗组相比, 高剂量治疗组创面组织 VEGF, FGF-7, FGF-2, EGF 水平进一步升高 ($P<0.05$)。见表 5。

2.6 对创面组织 IL-10, TNF- α 水平及 NF- κ Bp65 表达的影响 研究结果显示, 治疗后 7, 14, 21 d, 与对照组比较, 复方黄柏液涂剂低、高剂量治疗组创面组织 IL-10 水平明显升高, TNF- α , NF- κ Bp65 水平

明显降低 ($P<0.05$); 与低剂量治疗组比较, 高剂量治疗组创面组织 IL-10 水平进一步升高, TNF- α , NF- κ Bp65 水平进一步降低, 差异具有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 6。

2.7 对创面组织细胞凋亡率及 Caspase-3 含量的影响 治疗后 7, 14, 21 d, 与对照组比较, 低、高剂量治疗组创面组织细胞凋亡率及 Caspase-3 含量明显降低 ($P<0.05$), 与低剂量治疗组比较, 高剂量治疗组创面组织细胞凋亡率及 Caspase-3 含量进一步降低 ($P<0.05$)。见表 7。

2.8 不良反应评价 研究期间, 出现发热, 心脑血管意外, 创面出血, 瘙痒, 创周皮疹共 5 例, 请专科医师会诊判断与本药无关。

3 讨论

深 II 度烧伤可造成机体组织细胞损伤及皮肤防御功能障碍, 其原因可能与过度的炎症反应、多种生长因子的低水平表达及细胞凋亡程序的启动有关^[12]。研究表明, 某些外用药物及敷料可通过抑制细胞凋亡、反向调节多种炎症及生长因子水平促进烧伤创面愈合, 但其存在多种局部及全身毒副反应, 可对机体形成“二次损害”, 用药的合理性及安全性不足^[13-14]。对创面良好的干预手段除能提供最优的愈合微环境, 还应具有使用安全方便、不良反应小的特点。如何有效合理选择相关外用药物、拓宽临床思路, 一直是深 II 度烧伤创面治疗中的热点问题。复方黄柏液涂剂中君药为连翘、黄柏, 臣药为金银花, 佐药为蒲公英, 使药为蜈蚣, 具有不良反应小, 稳定性好, 使用便捷等优点^[15]。有报道表明, 复方黄柏液涂剂在外伤感染、创疡溃后、骨髓炎等疾病的治疗中具有广谱抗菌、减轻炎症反应、上调相关生长因子及抑制细胞凋亡的作用, 可减少分泌物、减轻红肿疼痛、促进伤口愈合^[16-17]。基于上述深 II 度烧伤创面的病理机制, 综合复方黄柏液涂剂抗炎、抗凋亡及调节生长因子水平的作用, 笔者推测可能为复方黄柏液涂剂对深 II 度烧伤创面具有良好治疗效果的原因。本研究结果表明, 低、高剂量

表3 复方黄柏液涂剂对各组患者治疗前后肿胀范围评分、创面疼痛程度评分、脓液性质评分、肉芽性质评分的影响 ($\bar{x} \pm s, n=40$)

Table 3 Effect of Fufang Huangbaiye Tuji on swelling score, wound pain score, purulent property score and granulation property score of each group of patients ($\bar{x} \pm s, n=40$) 分

组别	剂量/mL	治疗时间/d	肿胀范围评分	创面疼痛程度评分	脓液性质评分	肉芽性质评分
对照	35 ¹⁾	0	3.69±0.49	3.68±0.48	3.60±0.51	3.93±0.26
		7	2.86±0.36	2.93±0.26	2.82±0.39	2.93±0.26
		14	1.93±0.26	1.93±0.26	1.82±0.39	1.75±0.44
		21	0.89±0.49	0.86±0.36	0.71±0.46	1.03±0.51
复方黄柏液涂剂	17.5	0	3.75±0.44	3.79±0.42	3.61±0.50	3.86±0.36
		7	2.29±0.46 ²⁾	2.32±0.47 ²⁾	2.29±0.46 ²⁾	2.25±0.44 ²⁾
		14	1.36±0.49 ²⁾	1.21±0.42 ²⁾	1.07±0.47 ²⁾	1.14±0.36 ²⁾
		21	0.43±0.51 ²⁾	0.29±0.46 ²⁾	0.25±0.44 ²⁾	0.61±0.26 ²⁾
	35	0	3.71±0.46	3.74±0.44	3.62±0.49	3.91±0.25
		7	1.88±0.47 ^{2,3)}	1.89±0.45 ^{2,3)}	1.64±0.37 ^{2,3)}	1.68±0.33 ^{2,3)}
		14	0.79±0.31 ^{2,3)}	0.76±0.27 ^{2,3)}	0.58±0.22 ^{2,3)}	0.72±0.38 ^{2,3)}
		21	0.19±0.29 ^{2,3)}	0.11±0.56 ^{2,3)}	0.09±0.41 ^{2,3)}	0.28±0.59 ^{2,3)}

表4 复方黄柏液涂剂对各组患者临床疗效的影响 ($n=40$)

Table 4 Effect of Fufang Huangbaiye Tuji on clinical efficacy of each group of patients ($n=40$)

组别	剂量/mL	痊愈/例	显效/例	有效/例	无效/例	总有效/%
对照	35 ¹⁾	5	13	3	19	52.5
复方黄柏液涂剂	17.5	10	17	5	8	80.0 ²⁾
	35	12	21	7	0	100 ^{2,3)}

表5 复方黄柏液涂剂对各组患者创面组织 VEGF, FGF-7, FGF-2, EGF 水平的影响 ($\bar{x} \pm s, n=40$)

Table 5 Effect of Fufang Huangbaiye Tuji on level of VEGF, FGF-7, FGF-2, EGF in wound tissue of each group of patients ($\bar{x} \pm s, n=40$)

组别	剂量/mL	治疗时间/d	VEGF	FGF-2	FGF-7	EGF
对照	35 ¹⁾	7	31.26±1.71	42.69±0.56	121.11±1.52	4.36±0.21
		14	112.16±5.66	238.61±6.75	631.65±27.14	9.37±0.08
		21	80.36±5.64	162.16±4.99	360.83±27.61	5.26±0.21
复方黄柏液涂剂	17.5	7	89.50±3.27 ²⁾	119.02±5.26 ²⁾	204.26±3.57 ²⁾	8.49±0.17 ²⁾
		14	161.61±5.61 ²⁾	538.49±6.49 ²⁾	755.13±22.59 ²⁾	16.51±0.29 ²⁾
		21	106.11±2.47 ²⁾	282.69±5.79 ²⁾	405.33±13.68 ²⁾	11.58±0.36 ²⁾
	35	7	123.55±2.89 ^{2,3)}	359.71±7.85 ^{2,3)}	658.55±2.58 ^{2,3)}	14.89±0.29 ^{2,3)}
		14	245.47±6.42 ^{2,3)}	706.42±7.99 ^{2,3)}	892.79±19.86 ^{2,3)}	31.75±0.18 ^{2,3)}
		21	152.58±4.12 ^{2,3)}	392.65±6.01 ^{2,3)}	670.46±11.12 ^{2,3)}	19.68±0.16 ^{2,3)}

组7, 14, 21 d局部症状评分均较对照组明显降低, 治疗21 d后, 临床疗效均明显优于对照组; 病理切片显示低、高剂量组较对照组微血管增生明显, 炎性细胞浸润数量减少; 另外, 治疗后14, 21 d, 低、高剂量组较对照组愈合率明显升高; 且上述表现均呈现剂量依赖性。显而易见, 复方黄柏液涂剂对深Ⅱ度烧伤创面具有显著的临床疗效, 可明显促进血

管化及上皮化、减轻炎症反应, 并与用药剂量呈正相关, 但其具体机制如何, 尚无文献报告。

烧伤后创面微循环破坏, 机体释放大量促炎介质, 抑制多种生长因子如EGF, FGF, VEGF的合成及释放, 造成创面不愈、感染, 是烧伤患者高伤残率及高死亡率的重要原因^[18]。EGF是一种生物学效应较强的细胞分裂因子, 可诱导干细胞分化, 促进

表6 复方黄柏液涂剂对各组患者创面组织IL-10、TNF- α 、NF- κ Bp65水平的影响 ($\bar{x}\pm s, n=40$)

Table 6 Effect of Fufang Huangbaiye Tuji on level of IL-10, TNF- α , NF- κ Bp65 in wound tissue of each group of patients ($\bar{x}\pm s, n=40$)

组别	剂量/mL	治疗时间/d	IL-10/ng·L ⁻¹	TNF- α /ng·L ⁻¹	NF- κ Bp65
对照	35 ¹⁾	7	232.28±6.84	775.22±10.25	2.89±0.05
		14	295.54±5.41	656.19±10.95	2.54±0.04
		21	341.37±4.29	545.89±7.17	1.99±0.05
复方黄柏液涂剂	17.5	7	315.88±7.82 ²⁾	595.75±10.94 ²⁾	2.02±0.02 ²⁾
		14	402.29±4.51 ²⁾	486.84±7.86 ²⁾	1.54±0.03 ²⁾
		21	497.64±5.05 ²⁾	405.96±9.18 ²⁾	0.98±0.02 ²⁾
	35	7	425.77±7.58 ^{2,3)}	468.48±14.52 ^{2,3)}	1.28±0.05 ^{2,3)}
		14	551.62±6.07 ^{2,3)}	383.28±8.28 ^{2,3)}	0.75±0.03 ^{2,3)}
		21	613.08±4.90 ^{2,3)}	260.92±10.95 ^{2,3)}	0.35±0.02 ^{2,3)}

表7 复方黄柏液涂剂对各组患者创面组织细胞凋亡率及Caspase-3含量的影响 ($\bar{x}\pm s, n=40$)

Table 7 Effect of Fufang Huangbaiye Tuji on comparison of apoptosis and Caspase-3 content in the wound tissue of each group of patients ($\bar{x}\pm s, n=40$)

组别	剂量/mL	治疗时间/d	创面组织细胞凋亡率/%	Caspase-3 /mmol·L ⁻¹
对照	35 ¹⁾	7	36.02±0.55	55.78±1.08
		14	31.57±0.84	48.49±0.99
		21	29.18±0.49	40.15±1.47
复方黄柏液涂剂	17.5	7	28.57±0.91 ²⁾	42.66±0.83 ²⁾
		14	20.13±0.58 ²⁾	35.37±1.21 ²⁾
		21	18.82±0.64 ²⁾	25.37±1.15 ²⁾
	35	7	19.22±0.77 ^{2,3)}	30.34±1.18 ^{2,3)}
		14	14.34±0.65 ^{2,3)}	19.97±0.65 ^{2,3)}
		21	9.79±0.23 ^{2,3)}	8.69±1.11 ^{2,3)}

上皮细胞增殖,是各种创面愈合的关键因子;上皮化作用还可使EGF抑制I型胶原的再生,从而减轻创面愈合后瘢痕^[19-21]。机体损伤后,通过MAPK信号转导通路激活大量内皮细胞、血旺细胞,合成并分泌大量FGF-2, FGF-7,其促进创面愈合机制如下①活化创面修复细胞并加快其增殖速率;②细胞外基质的合成;③促进创面血管化及再上皮化;④作用于基质金属蛋白酶-1(MMP-1),调节创面中胶原蛋白的水平,抑制瘢痕组织增生^[22]。另有研究表明,FGF-7还可促进VEGF的表达,VEGF是一种促血管生长因子,在组织损伤早期VEGF即可启动转录和分泌,活化单核巨噬细胞、血小板,形成正反馈,进一步释放VEGF,特异地作用于血管内皮细胞,使血管芽生并形成细小管腔,改善血管通透性,诱导血管基底细胞趋化移行,促进创面的血管

化^[23]。有报道称,复方黄柏液可明显促进难愈性蛇伤溃疡VEGF, FGF, EGF等生长因子的表达,从而加速创面愈合^[24]。基于此,本研究通过检测创面组织VEGF, FGF-2, FGF-7, EGF水平来评估机体组织损伤的恢复程度。研究结果表明,各组创面组织VEGF, FGF-2, FGF-7, EGF水平自治疗后7至21 d呈先升高后降低的趋势,原因可能与损伤后期创面大部坏死组织脱落,刺激减弱,血管化程度降低有关;治疗后各时相点低、高剂量组较对照组上述指标水平明显升高,且高剂量组此变化更加明显。表明复方黄柏液涂剂可明显上调深II度烧伤创面相关生长因子水平,具有明显的创面血管化和上皮化作用,并与用药剂量存在密切关系。

烧伤后抗/促炎介质如TNF- α , IL-10, IL-6, IL-2等大量释放,可诱发全身炎症反应综合征及皮肤基底角细胞凋亡,使烧伤患者预后极差^[18];有文献表明,胸腺素 β_4 (T β_4)联合碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)可通过抑制NF- κ B炎症信号通路调节TNF- α , IL-10及Caspase-3的表达,对深度烫伤大鼠模型发挥抗炎、抗凋亡作用,从而促进创面愈合^[25]。NF- κ B是调节炎症因子表达的转录因子蛋白家族,在生理状态下胞浆中NF- κ Bp65为无活性形式,机体损伤可使NF- κ Bp65发生转移并与NF- κ Bp50在胞核中结合为二聚体,启动多种促炎及抗炎因子的转录^[26],故本研究通过检测p65的表达水平来观察NF- κ B活化情况。TNF- α 是活化NF- κ B蛋白介导的一种重要的促炎细胞因子,可趋化众多免疫细胞,形成级联式炎症反应,促进机体产生血小板活化因子,损伤血管内皮,是直接体现组织损伤及炎症反应严重程度的重要指标,其异常变化可负反馈调节IL-10的合成及分泌^[27]。IL-10是一种重要抗炎因

子,可抑制单核巨噬细胞及淋巴细胞分泌 TNF- α , IL-1 β , IL-6, IL-2,拮抗其对组织的破坏作用^[28]。此外, TNF- α 可促进细胞色素 C 等凋亡启动因子的释放,诱发 Caspase 级联反应,激活下游凋亡执行因子 Caspase-3,从而造成大量细胞凋亡,导致创面不愈^[29]。Caspase-3 是细胞凋亡进入不可逆阶段的标志,故测定组织细胞凋亡率及其 Caspase-3 水平可反映创面组织细胞凋亡的情况。有研究表明,复方黄柏液可通过调节抗/促炎症介质平衡、抑制组织细胞凋亡来有效缓解溃疡性结肠炎的临床症状^[30]。本组资料显示,与对照组相比,治疗后各时相点低、高剂量组 IL-10 水平明显升高, TNF- α , NF- κ Bp65,创面组织细胞凋亡率及 Caspase-3 水平明显降低,高剂量组此变化更加明显,表明复方黄柏液涂剂可通过 NF- κ B 信号通路调控深 II 度烧伤创面相关促炎与抗炎间的平衡,从而有效改善创面炎症反应,并进一步通过抑制组织细胞凋亡而发挥创面保护作用,且存在一定的量效关系。

综上所述,复方黄柏液涂剂外用对深 II 度烧伤创面有明显治疗效果,可剂量依赖性的上调生长因子水平,改善创面炎症反应,抑制细胞凋亡,进而促进创面愈合。此外,用药的剂量、浓度及给药时机还有待进一步的研究论证。

[利益冲突] 本文不存在任何利益冲突

[参考文献]

[1] 杨景哲,温海玲,耿琪璞,等. rHGM-CSF 和纳米银联合外用对深 II 度烧伤创面上皮化的影响[J]. 华西药理学杂志,2015,30(2):184-186.

[2] 杨媚月,黄湘俊,刘秀芝,等. 蜈蚣油对中国白兔深 II 度烧伤组织中 VEGF、IL-8 表达水平的影响[J]. 护理研究杂志,2018,32(7):1078-1081.

[3] 李莉. 黄芪多糖对深 II 度烧伤大鼠免疫功能及创面巨噬细胞炎症蛋白-2 和单核细胞趋化蛋白-1 表达的影响[J]. 中国临床药理学杂志,2020,36(9):1110-1113.

[4] 王德昌,赵冉. 重视磨痂术在早期深 II 度烧伤创面的应用[J]. 中华烧伤杂志,2020,36(6):506-509.

[5] 张春月,廖毅. rhGM-CSF 与胰岛素联合应用对糖尿病大鼠烧伤创面 TGF- β_1 和 FGF-2 表达的影响[J]. 中国美容医学,2018,27(6):45-50.

[6] HÜGING M, BIEDERMANN T, SOBRIO M, et al. The effect of wound dressings on a bio-engineered human dermo-epidermal skin substitute in a rat model [J]. *Burn Care Res*,2017,38(6):354-364.

[7] 郭婷,何虹,胡丰阳,等. 复方黄柏液治疗卡培他滨所

致手足综合征的疗效观察[J]. 中华中医药杂志,2019,34(6):2829-2832.

[8] 徐旭英,杨博华,李友山,等. 复方黄柏液涂剂治疗外伤感染的临床疗效研究[J]. 中国新药杂志,2016,25(20):2349-2352.

[9] 李凌霄,徐俊,王鹏华,等. 复方黄柏液局部应用对糖尿病足溃疡愈合的临床研究[J]. 重庆医科大学学报,2017,42(3):289-294.

[10] 杨宗城. 烧伤治疗学[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社,2006:5-9,206.

[11] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行)[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002:85-89.

[12] MYRIANTHEFS P M, BALTOPOULOS G J. Circulating cytokines and outcome prediction of burned children with concomitant inhalation injury [J]. *Crit Care*,2018,12(3):155-157.

[13] 边海旭,伍晓晓,李伟,等. 五谷虫提取物凝胶对深 II 度烫伤创面愈合的影响[J]. 中国医院药学杂志,2018,37(4):363-367.

[14] 贺金秋,廖毅,李玲,等. rhGM-CSF 联合胰岛素对 1 型糖尿病大鼠深 II 度烫伤创面组织中 CD31、HIF-1 α 及 VEGF 表达的影响[J]. 中国烧伤创疡杂志,2018,30(2):101-112.

[15] 李艳梅,唐志坤. 复方黄柏液临床应用进展[J]. 实用中医药杂志,2018,34(5):450-453.

[16] 方瑞忠,罗明雷,马传玉等. 高压氧联合复方黄柏液治疗肛周脓肿术后创面愈合的临床研究[J]. 中华航海医学与高气压医学杂志,2018,25(4):254-256.

[17] 张硕峰,贾占红,吴金英,等. 复方黄柏液对家兔皮肤创口肉芽组织增生的影响[J]. 中国生化药物杂志,2016,36(5):40-42.

[18] 赵璐,邹鹏,方振伟,等. 秘制烧伤膏对大鼠浅 II 度烧伤的保护作用及机制研究[J]. 沈阳医学院学报,2017,19(3):232-234.

[19] 刘川玉,唐建红,何洁,等. 芦荟凝胶对深 II 度烧伤大鼠创面愈合及 EGF、bFGF 表达的影响[J]. 中成药,2019,41(1):201-203.

[20] KIM P J, ATTINGER C E, CRIST B D, et al. Negative pressure wound therapy with instillation: review of evidence and recommendations [J]. *Wounds*,2017,27(12):S2-S19.

[21] GALK H, OLSZ W L. Spontaneous cluster formation of veiled cells and lymphocytes from skin lymph [J]. *Scand J Immunol*,2018,35(6):727-734.

[22] MARCHANDADA S, PLANTIER S, BERMUAU F, et al. Keratinocyte growth factor expression by fibroblasts in pulmonary fibrosis: poor response to interleukin-1beta [J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*,

- 2017,32(5):470-477.
- [23] MUTHUKUMAR T, ANBARASU K, PRAKASH D, et al. Effect of growth factors and ro-inflammatory cytokines by the collagen biocomposite dressing material containing *Macrotyloma uniflorum* plant extract-*In vivo* wound healing [J]. *Colloids Surf B Biointerfaces*,2016,121:178-188.
- [24] 张乃忻,潘俊卿,毛文丽,等. 复方黄柏液持续灌注冲洗联合封闭负压吸引治疗难愈性蛇伤溃疡36例临床观察[J]. *中医杂志*,2020,61(20):1807-1811.
- [25] 李树松,马滢,吴晓明,等. 胸腺素 β 4联合外源性bFGF对深II°烫伤创面愈合的影响及机制研究[J]. *西部医学杂志*,2020,32(2):203-209.
- [26] CASTELLANI G, PALIURI G, ORSO G, et al. An intracellular adrenomedullin system reduces IL-6 release via a NF- κ B mediated, cAMP- independent transcriptional mechanism in rat thymic epithelial cells [J]. *Cytokine*,2016,88:136-143.
- [27] SWADZBA J, IWANIEC T, Musial J. Increased level of tumor necrosis factor- α in patients with antiphospholipid syndrome: markernot only of inflammation but also of the prothrombotic state [J]. *Rheumatol Int*, 2017, 31 (3) : 307- 313.
- [28] SAWADA H. Clinical efficacy of edaravone for the treatment of amyotrophic lateral sclerosis [J]. *Expert Opin Pharmacother*,2017,18(7):735-738.
- [29] GUO Y, YOU Y, LV D, et al. Inducible nitric oxide synthase contributes to insulin resistance and cardiac dysfunction after burn injury in mice [J]. *Life Sci*, 2019,doi:10. 1016/j. lfs. 2019. 116912.
- [30] 卢灿省,张鑫龙,石健,等. 复方黄柏液涂剂保留灌肠治疗湿热型溃疡性直肠炎的疗效观察及其对血清炎症因子的影响[J]. *中国新药杂志*,2018,27(15):1776-1780.

[责任编辑 王鑫]