

龙血竭对大鼠撕脱皮瓣存活面积影响的实验研究

罗志红¹, 鲁开化^{2*}, 张荣平³, 王继华⁴, 胡炜彦³, 康文博², 王师平²

(1. 昆明医学院, 昆明 605000; 成都军区昆明总医院附属中医院, 昆明 650032;

2. 第四军医大学西京医院全军整形外科研究所, 西安 710032; 3. 昆明医学院药学院, 昆明 605000;

4. 昆明医学院第二附属医院整形外科, 昆明 650101)

[摘要] 目的: 探讨龙血竭对撕脱皮瓣微循环血流量及存活面积的影响。方法: 75 只 SD 大鼠随机分为基质组(A)、地塞米松组(B)、龙血竭组(C)。在大鼠背部制作一个蒂在尾部的 3 cm × 9 cm 大小的撕脱伤皮瓣, 皮瓣碾压撕脱后原位缝合。激光多普勒血流检测仪检测皮瓣微循环血流量, HE 染色光镜观察皮瓣组织学改变, 术后 7, 14 d 计算皮瓣成活率。结果: C 组近、中段血流与 A、B 组比较明显升高, 具有统计学意义($P < 0.05$), 术后 7, 14 d 皮瓣成活率龙血竭组明显高于基质组和地塞米松组($P < 0.01$)。结论: 龙血竭可提高撕脱皮瓣微循环血流量, 从而提高皮瓣的成活面积。

[关键词] 龙血竭; 撕脱皮瓣; 血流量; 存活面积

[中图分类号] R285.5 [文献标识码] B [文章编号] 1005-9903(2010)03-0119-03

目前交通事故及其他机械性损伤成为人民生活的社会公害, 皮肤撕脱伤是常见的创伤之一, 其救治已成为整形外科的重要研究课题之一。在撕脱皮瓣救治中, 手术时尚有血液循环反应的撕脱组织, 在术后逐渐发生坏死。因此, 防治撕脱皮瓣的继发坏死成为主要的难点。

龙血竭是从龙血树中提取的一种红色树脂, 是传统名贵中药, 在我国中医药学中的记载和应用已有一千五百多年的历史, 李时珍在《本草纲目》中称之为“活血圣药”, 临床广泛用于多种疾病的治疗, 特别在外科跌打损伤方面有比较肯定的疗效。本研究在撕脱伤动物模型上给予龙血竭外用, 观察对撕脱皮瓣的保护作用, 探索防治皮瓣坏死的有效方法, 为临床应用提供实验依据。

1 材料

1.1 龙血竭外用药的制备 龙血竭和地塞米松外用药的制备在昆明医学院天然药物药理实验室完成, 龙血竭粉(昆明医学院天然药物药理实验室提供), 醋酸地塞米松片(650032 天津药业股份有限公司, 批号: 081209), 分别配制成浓度为 10% 的外用制剂。

1.2 实验动物 SD 大鼠 75 只(雌雄不限), 体重 220 g ~ 250 g。购于第四军医大学动物实验中心。(动物实验在第四军医大学西京医院全军整形外科研究所完成)。

1.3 实验仪器 皮肤撕脱伤模型机(第四军医大学西京医院全军整形外科研究所研制); 激光多普勒血流检测仪(瑞典 PERIMED 公司)。

2 方法

2.1 大鼠撕脱伤皮瓣模型制备方法: 1% 戊巴比妥钠($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) ip 麻醉, 剃毛机剃除背部的毛后用硫化钠脱毛, 皮肤常规消毒后, 以背部中线为准, 蒂位于尾侧, 设计 3 cm × 9 cm 大小的长方形任意皮瓣, 沿设计线切开皮肤和皮下组织, 于筋膜下掀起皮瓣, 然后将皮瓣放置于大鼠皮肤撕脱伤模型机固定底板与齿轮之间, 调节二者合适高度, 确保对皮瓣产生基本相同的压力; 使齿轮旋转并从皮瓣的远端向蒂部快速滑动, 对皮瓣形成碾压撕脱伤。重复碾压 4 次。将皮瓣复位后用 5-0 丝线原位缝合。

2.2 实验分组 将大鼠随机分为 3 组: 基质组(A)、地塞米松组(B)、龙血竭组(C), 每组 25 只, 在撕脱皮瓣形成后原位缝合, 术后分别给予基质、地塞米松和龙血竭外用制剂涂沫患处, $16 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$, 3 次/d, 连续给药 7 d。

2.3 观测指标

2.3.1 皮瓣成活情况观察 观察皮瓣颜色、质地、

[收稿日期] 2010-01-11

[通讯作者] * 鲁开化, Tel: 13809186698; E-mail: lukaihua@fmmu.edu.cn

组织水肿、炎症、坏死等皮瓣成活状况。术后 1 ~7 d 每天对皮瓣定时观察并记录。

2.3.2 皮瓣微循环血流量监测 在皮瓣距蒂 2 cm、5 cm 处分别作一标记点,代表皮瓣近、中段,各时点的测量均固定于这两个点上。测量时用乙醚短时间吸入麻醉,把探头放在测量部位,用双面胶把探头座粘在皮肤上,探头尖轻轻接触组织,保持无压力接触,待血流值稳定时,记录血流变化值。测量时间为术前、术后即刻、12 h、24 h、3 d、5 d、7 d、14 d。

2.3.3 光镜观察大鼠背部皮瓣组织切片 术后 1, 2, 3, 5, 7 d 5 个时间点各组分别处死 3 只大鼠,采集皮瓣远、中、近端组织块,10% 甲醛固定。切片长度为皮瓣全宽,包含皮瓣全层,行常规病理学检查。观察皮瓣组织中毛细血管、组织水肿、炎症细胞浸润、坏死等情况。

2.3.4 术后 7 d、14 d 皮瓣存活区面积百分比的测量 于术后 7 d 和 14 d,数码照相,用图象分析软件 PHOTO SHOP 予以分析。皮瓣成活率 = 皮瓣存活面积 / 皮瓣总面积 × 100%。以皮瓣质地柔软、呈粉红色、皮温正常、毛发恢复生长为成活,以皮瓣手感变硬、颜色转黑为坏死标准。

2.3.5 统计学处理 所得数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用

SPSS11.5 统计软件进行数据处理,样本间比较采用方差分析, $P < 0.05$ 为有显著性差异。

3 结果

3.1 皮瓣成活情况动态观察 术后 24 h, A、B 组皮瓣远段 4 cm ~6 cm 处颜色变青, C 组皮瓣远段 1 cm ~3 cm 处颜色变青; 术后 2 d, A、B 组远段瘀血、水肿明显, C 组远段轻度肿胀,瘀血不明显; 术后 3 d, 皮瓣坏死与成活区域开始出现, 3 组远段均出现面积不等的暗黑色坏死区, 有轻度水肿, C 组皮瓣坏死面积较 A、B 组少。术后 7 d, 3 组皮瓣远段不同面积坏死痂壳形成, 成活与坏死区界限清楚, A、B 组坏死区为质硬的深黑色痂壳, 无弹性, 针刺无出血, 不易剥离, C 组部分痂壳能剥离, 剥落后可见创面鲜红出血。术后 14 d, 3 组坏死区域稳定, 坏死部份干涸回缩成黑色痂壳, C 组部分远端黑色痂壳下面有新生的表皮生长。

3.2 皮瓣微循环血流量(PU) A、B 组皮瓣近、中段血流值于术后即刻至术后 5 d 均下降, 术后 12 h、24 h、48 h、3 d、5 d 时, C 组近、中段血流量与 A、B 组比较明显升高, 具有统计学意义 ($P < 0.01$), A 组和 B 组比较没有显著性差异。(见表 1)

表 1 大鼠皮瓣近段和中段循环血流量 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	皮瓣近段血流量									
	术前	术后 0 h	12 h	24 h	48 h	3 d	5 d	7 d	14 d	
基质组 (A)	48.2 ± 2.4	35.5 ± 2.1	29.2 ± 2.1	33.8 ± 2.2	35.3 ± 3.4	36.6 ± 2.5	40.3 ± 3.7	46.5 ± 3.4	47.6 ± 2.5	
地塞米松组 (B)	49.7 ± 2.6	36.8 ± 3.5	30.5 ± 3.1	32.1 ± 2.4	34.5 ± 3.6	37.3 ± 2.0	40.7 ± 2.5	45.2 ± 3.6	48.3 ± 3.5	
龙血竭组 (C)	49.3 ± 2.1	34.7 ± 2.5	44.8 ± 3.0 ²⁾	51.5 ± 4.1 ²⁾	49.2 ± 2.3 ²⁾	48.5 ± 3.1 ²⁾	47.8 ± 2.4 ²⁾	47.5 ± 3.5	49.8 ± 3.4	
组别	皮瓣中段血流量									
	术前	术后 0 h	12 h	24 h	48 h	3 d	5 d	7 d	14 d	
基质组 (A)	27.4 ± 3.1	19.2 ± 2.3	20.2 ± 2.3	21.7 ± 2.5	24.5 ± 2.1	23.5 ± 2.4	25.3 ± 3.5	28.7 ± 3.1	27.6 ± 3.7	
地塞米松组 (B)	28.5 ± 2.4	18.3 ± 3.1	22.5 ± 2.1	24.6 ± 2.2	24.4 ± 2.5	25.5 ± 2.7	24.5 ± 3.5	28.4 ± 3.4	28.8 ± 3.6	
龙血竭组 (C)	28.2 ± 2.6	17.1 ± 2.5	29.4 ± 3.2 ²⁾	31.6 ± 3.2 ²⁾	34.2 ± 3.2 ²⁾	35.5 ± 2.8 ²⁾	32.8 ± 3.4 ²⁾	31.6 ± 2.1	29.8 ± 3.7	

注:与 A、B 组比较, ¹⁾ $P < 0.05$, ²⁾ $P < 0.01$ (下同)

3.3 皮瓣组织 HE 染色组织学观察 撕脱术后 24 h, 可见皮瓣组织表皮细胞部分脱落, 毛细血管扩张, 部分破裂、瘀血, 毛细血管内集聚大量血细胞, 皮下组织水肿明显, 出现中性粒细胞浸润。48 h 局部出现大量炎细胞浸润、明显的皮下组织水肿和毛细血管血栓形成。3 d 时远段有大量炎细胞浸润, 血栓形成, 组织发生全层坏死, 水肿较前减轻。5 d、7 d

时炎细胞浸润明显减少, 水肿基本消失, 皮瓣远段表现为典型的缺血性坏死。C 组皮瓣中性粒细胞浸润较 A、B 组减少, 近中段毛细血管可见扩张, 真皮及皮下组织水肿减轻。

3.4 术后皮瓣存活区面积百分比: 术后 7 d、14 d 检测皮瓣成活率, 龙血竭组皮瓣成活率明显高于其它两组, 具有显著差异 ($P < 0.01$) (见表 2)

表 2 大鼠撕脱皮瓣术后 7 d、14 d 成活率的比较(%, $\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	术后 7 d	术后 14 d
基质组(A)	34.94 \pm 9.83	37.80 \pm 3.52
地塞米松组(B)	38.48 \pm 7.22	40.34 \pm 3.26
龙血竭组(C)	77.39 \pm 6.48 ²⁾	80.33 \pm 1.34 ²⁾

4 讨论

皮肤撕脱伤是临床常见创伤,撕脱组织常发生继发性坏死,组织坏死机理相当复杂。本课题组以往的研究表明,微循环严重损伤、白细胞贴壁黏附、血管周围大量炎细胞浸润、毛细血管内大量微血栓形成、皮瓣中血流量明显下降、自由基、钙离子超负荷等因素参与了撕脱皮瓣的损伤^[1~5]。虽然撕脱组织全层都可能有损伤,但以血液循环系统特别是微循环损伤为重,动脉缺血,静脉回流不畅是皮瓣继发坏死的重要原因。光造影、皮温测定、荧光含量测定等方法证明撕脱皮瓣中血流量明显下降^[6]。1975年, Stern^[7]首次报道应用激光多普勒血流测定仪(laser-Doppler flowmetry, LDF)监测皮肤微循环血流量,多年来, LDF 在皮肤、肌肉、移植皮瓣、脑和肾脏等组织器官微循环血流监测的实验和临床应用研究不断深入,取得较大进展。PU 为 LDF 测量的基本指标,即流动的 RBC 产生的多普勒位移值,是一个表示测量深度内局部组织微循环血流量大小的相对单位,PU 值的变化直接反应了组织微循环血流量的改变^[8]。本实验采用了 LDF 监测撕脱皮瓣微循环血流量发现,撕脱皮瓣术后即刻、12 h、24 h、2 d、3 d 时微循环血流量明显下降,说明皮瓣微循环的损伤,血流量下降是皮瓣坏死的重要原因之一。

血竭(Sanguisdraxonis)是中药外治皮肤损伤中最常用的生肌药物,具有活血化瘀、祛腐生肌、消肿止痛、止血敛疮、软坚散结等功效。现代药理研究表明,血竭可使全血黏度和血浆浓度下降,改善黏、浓、凝、聚的血液流变学异常;调节凝血和抗凝血的功能及其动态平衡;显著抑制血小板聚集,防止血栓形成;具有强大的抗炎镇痛及改善机体免疫的功能;改善创面及周围皮肤的血液循环,使局部血流加快;改善创面淤滞带微循环,显著减少淤滞带坏死面积;清除自由基和抗氧化,从而减轻创面的继发损害;促进成纤维细胞增殖,促进角质形成细胞的游走、增殖;

刺激创面新生血管形成,改善创面血供及组织血液灌注量,抗细菌、抗真菌及消炎止痛等多种药理活性^[9~11]。本研究证明,龙血竭组皮瓣存活率明显高于基质组和地塞米松组($P < 0.01$)。龙血竭在撕脱皮瓣术后前 5 d 可提高皮瓣微循环血流量,与基质组和地塞米松组比较差异显著($P < 0.01$),说明龙血竭外用可以提高皮瓣微循环血流量,从而改善局部微循环,使皮瓣成活面积增加。龙血竭对防治撕脱皮瓣坏死具有较好的效果,该药无明显毒副作用、经济、易得、临床使用方便,有望成为防治撕脱皮瓣坏死的有效药物。龙血竭药理作用广泛,我们下一步将对该药在促进撕脱皮瓣存活方面的作用机理做进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] 郭杰,鲁开化,郭树忠,等.皮肤撕脱伤撕脱皮瓣组织血管活性因子的变化及意义[J].中华显微外科杂志,1997,(20)3:221.
- [2] 李向东,鲁开化,郭树忠,等.猪皮肤撕脱伤后白细胞粘附与 TNFA 的关系[J].第四军医大学学报,1999,(11)20:932.
- [3] 郭树忠,鲁开化,张琳西.猪皮肤撕脱伤组织中钙含量的变化及意义[J].中国美容医学,2001,(10)4:286.
- [4] 郭树忠,鲁开化,张琳西.皮肤撕脱伤后丙二醛含量变化及其意义[J].中国美容医学,2001,(10)6:477.
- [5] 李向东,鲁开化,郭树忠,等.猪后肢皮肤撕脱伤后 TNF 和 IL21 的检测意义[J].第三军医大学学报,2001,(23)5:562.
- [6] 潘宝华,李荟元.血管牵拉性撕脱伤损伤机理[J].中国美容医学,2002,(11)1:72.
- [7] Stern MD. In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering[J]. Nature,1975,254:56.
- [8] 吴劲松,陈衍城,陆栋.激光多普勒血流测定法[J].中国激光医学杂志,1999,8(3):185.
- [9] 罗世成,胡瑞祥,时德.血竭的基础研究与临床应用[J].现代中西医结合杂志,2001,10(23):2327.
- [10] 何书平.血竭的药理研究[J].中国药房,2008,19(24):1912.
- [11] 黄崇根,吕国忠.血竭在烧伤创面中的应用[J].中华损伤与修复杂志(电子版)[J].2008,3(1):108.