

· 论 著 ·

物理抗菌敷料对术后创面修复的实验研究

谢振年, 安晓静, 李东冰, 桑洁, 贾小强, 赵卫兵, 权隆芳, 曹威巍

[摘要] **目的** 探讨物理抗菌敷料对大鼠创面的修复作用机制的研究。**方法** 选取清洁级 Wistar 大鼠 24 只, 随机数表法分为 3 组, 分别为阴性对照组、药膏组和敷料组。建立大鼠背部皮肤损伤模型, 在术后 7 和 14 d 分别对创面进行取材, 比较各组皮肤溃疡形成的创面愈合程度、创面血管的变化及血管内皮生长因子(VEGF)的表达。**结果** 术后 7 d 时, 相对于阴性对照组来说, 敷料组和药膏组炎性渗出层变薄, 肉芽组织厚度增加, 毛细血管增生活跃; 在 14 d 时, 敷料组和药膏组较阴性对照组相比, 创面肉芽组织更趋于成熟现象, 表现为血管数量减少, 炎细胞减少, 纤维细胞数目增多。免疫组化结果显示, 在创面愈合的早期(7 d)时, VEGF 的表达在药膏组和敷料组中较阴性对照组强; 14 d 时, VEGF 的表达在药膏组和敷料组中较阴性对照组减弱。**结论** 物理抗菌敷料可以和抗菌药物发挥类似的作用, 促进肉芽组织的生长, 加快创面的愈合。

[关键词] 物理抗菌敷料; 创面修复; VEGF 的表达; 血管增生

[中图分类号] R64

[文献标识码] A

DOI: 10.3969/j.issn.1674-3245.2020.04.021

Clinical observation and animal experimental study of physical antibacterial dressing on wound healing after anorectal operation

Xie Zhennian, An Xiaojing, Li Dongbing, et al

(Department of Anorectal, Xiyuan Hospital of China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China)

Corresponding author: An Xiaojing, E-mail: ajlb@163.com

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of physical antibacterial dressing on wound healing in anorectal surgery. **Methods** The rat back skin injury model was established. The rats were divided into 3 groups: negative control group, ointment group and dressing group. The degree of wound healing and the expression of VEGF in each group were compared. At the same time, the clinical observation of wounds after anorectal operation was divided into two groups: the observation group (physical antibacterial dressing group) and the control group (compound polymyxin B ointment group). The healing time of wounds, the healing rate on 1 week, 2 weeks, 3 weeks and 4 weeks and the secretion of wounds were observed respectively. **Results** At 7 days after operation, the inflammatory exudation became thinner in the dressing group and ointment group compared with the negative control group. Meanwhile, the granulation tissue thickness increased. At 14 days, the granulation tissue of the dressing group and the ointment group was more mature than that of the negative control group, which showed that the number of blood vessels and inflammatory cells both decreased, and the number of fibrocytes increased. The results of immunohistochemistry showed that the expression of VEGF in the ointment group and dressing group was stronger than that in the negative control group at the early stage of wound healing (7 days). At 14 days, the expression of VEGF in the ointment group and dressing group was weaker than that in the negative control group. In clinical observation, there was no significant difference in wound healing time and wound healing rate between the two groups. The control of wound secretion in the observation group was better than that in the control group. **Conclusion** We found that physical antibacterial dressings can play a similar role with antibacterial drugs on animal experiments or clinical observation, which promotes the growth of granulation tissue and accelerate the healing of wound. This study offered a new method to control the local wound inflammation and treatment with non drug therapy.

[Key words] Physical antibacterial dressing; Wound repair; VEGF expression; Vascular hyperplasia

创面愈合困难是外科工作者在临床工作中遇到的最多也是最为头痛的难题。临床中很多创面愈

合时间长、治疗费用高、可选择的方法有限, 给患者的身心留下巨大的痛苦, 也造成一定的经济负担^[1]。随着现代科技和新型材料的发展, 非药物型的物理抗菌敷料在修复创面, 防治创面耐药菌的产生, 简化换药步骤等方面为临床提供了一条新的方法和途径。本研究就物理抗菌敷料对大鼠创面的修复效果及作用机制进行初步探讨。

基金项目: 北京肛肠学会科研专项(ABCP2018-002); 中国中医科学院西苑医院苗圃课题(2019XYMP-38)

作者单位: 100091 北京, 中国中医科学院西苑医院肛肠外科(谢振年, 李东冰, 贾小强, 赵卫兵, 权隆芳, 曹威巍), 病理科(安晓静); 北京众新胃肠肛门病研究所(桑洁)

通信作者: 安晓静, E-mail: ajlb@163.com

1 材料与方法

1.1 动物 清洁级 Wistar 大鼠 24 只,雌雄各半,随机数表法分为敷料组(物理抗菌敷料组),药膏组(复方多粘菌 B 软膏组)和阴性对照组(生理盐水组)3 组,每组 8 只。每组均设置两组平行实验组,每组平行实验组设 4 只。大鼠许可证号:SCXK(京)2016-0002。

1.2 试剂与药物 物理抗菌敷料为含有有机硅季铵和蒸馏水两种成份的喷雾形式(型号:GJW-121,长葛市经纬科技开发有限公司)。复方粘多菌素 B 软膏(浙江孚诺医药股份有限公司,国药准字:H20061269)。毛细血管内皮生长因子(VEGF,美国 Abcam 公司)。

1.3 方法

1.3.1 体表溃疡模型的建立 在麻醉条件下(10%水合氯醛 30 mg/kg),常规背部脱毛备皮,面积为 4 cm × 5 cm。麻醉成功后,将大鼠固定于手术台上,在背部脊柱一侧旁开 0.9 cm,头尾两端平行于脊柱标记一直径约为 1.8 cm,面积约为 2.54 cm² 的圆形或椭圆形切口。经消毒铺巾后,用手术刀沿标记线切除全层皮肤至深筋膜,形成脊柱旁 1 个创面。

1.3.2 术后敷料 阴性对照组给予生理盐水清洁伤口,无覆盖纱布等敷料。敷料组:先用生理盐水清洁伤口,再喷洒物理抗菌敷料治疗,距离伤口 15 ~ 20 cm 喷洒每次 2 ~ 3 喷,覆盖伤口为准,物理抗菌敷料每天上药 3 次。药膏组:先用生理盐水清洁伤口,再将多粘菌素软膏涂抹至伤口,覆盖伤口,每天上药 3 次,无需覆盖纱布等敷料。分别于给药后 7 和 14 d 对创面取材,进行病理组织形态学检测。

1.3.3 免疫组织化学 VEGF 的表达 采用免疫组织化学 Envision 两步法检测 VEGF(抗体浓度 1:200)的表达水平,操作按照试剂盒说明书进行。以细胞质出现棕黄色着色判读为阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 造模当天大鼠伤口变化 分别对创面进行长度和宽度测量,结果显示术后 0 天 3 组大鼠伤口间差异无统计学意义($P > 0.05$,表 1)。

表 1 术后 0 天伤口长度比较(cm, $\bar{x} \pm s$)

分组	只数	轴长 A	轴长 B
阴性对照组	8	19.14 ± 0.0	18.91 ± 0.76
药膏组	8	19.50 ± 0.46	19.29 ± 0.43
敷料组	8	19.25 ± 0.60	19.31 ± 0.38
F 值		1.493	0.388
P 值		0.298	0.694

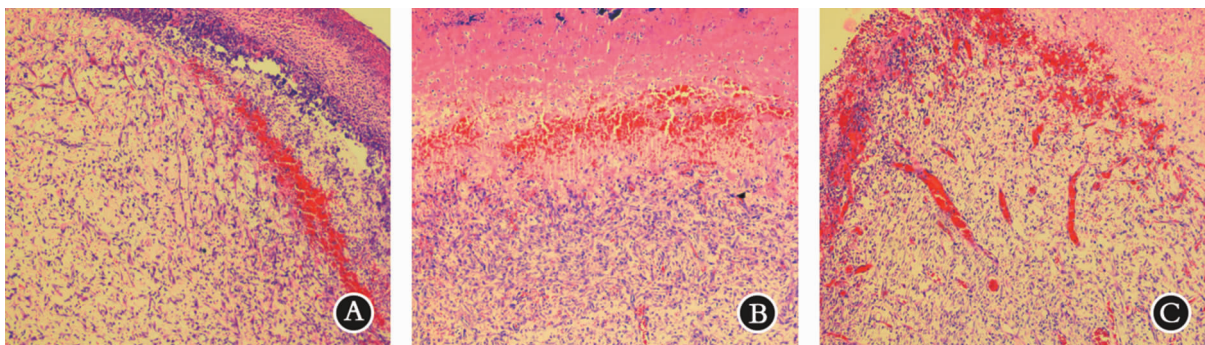
2.2 给药后各组病理形态改变 给药 7 d 后,敷料组和药膏组较阴性对照组相比,炎性渗出层的厚度减少,肉芽组织厚度增加,生长旺盛,可见大量新生毛细血管,炎细胞数量相对较少,以慢性炎细胞浸润为主,水肿较轻,差异均有统计学意义($P < 0.05$),而敷料组和药膏组差异无统计学意义($P > 0.05$,图 1,表 2)。

表 2 3 组大鼠手术后给药不同时间血管计数($\bar{x} \pm s$)

组别	只数	7 d	14 d
阴性对照组	8	7.75 ± 2.86	13.17 ± 6.04
药膏组	8	15.67 ± 5.57 ^a	6.33 ± 4.16
敷料组	8	21.67 ± 2.26 ^{ab}	8.25 ± 4.77

注:与阴性对照组相比,^a $P < 0.05$;与药膏组相比,^b $P > 0.05$

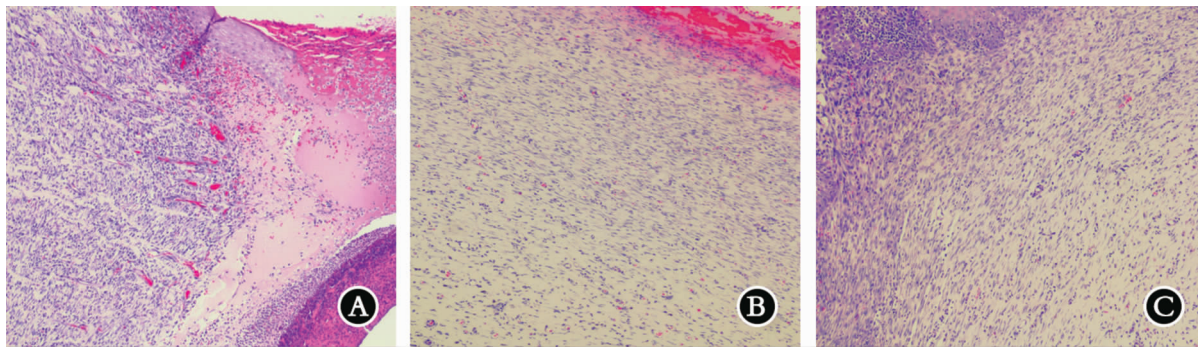
给药 14 d 后,药膏组与阴性对照组相比,创面面积缩小,肉芽组织生长趋向成熟,毛细血管数减少,纤维母细胞数量减少,细长梭形的纤维细胞数量增加;间质内胶原有增加,炎细胞浸润量减少,水分含量减少($P < 0.05$);敷料组和药膏组组织形态表现相似,差异无统计学意义($P > 0.05$,图 2)。



A.阴性对照组,炎性渗出层较厚,肉芽组织中血管和纤维细胞数量较少;B.药膏组;C.敷料组;

药膏组和敷料组与阴性对照组相比,炎性渗出层减少,肉芽组织厚度增加,肉芽组织内血管和成纤维细胞数量密度较大

图 1 3 组大鼠术后给药 7 d 后创面取材病理形态改变 HE × 100



A.阴性对照组;B.药膏组;C.敷料组;阴性对照组创面面积缩小,炎性渗出层厚度减少,肉芽组织血管丰富,纤维细胞密度较大;药膏组和物理敷料组炎性渗出层厚度减少,肉芽组织趋于成熟,血管减少,细长梭形细胞数量增加

图 2 3 组大鼠术后给药 14 d 创面取材各组病理形态改变 HE × 100

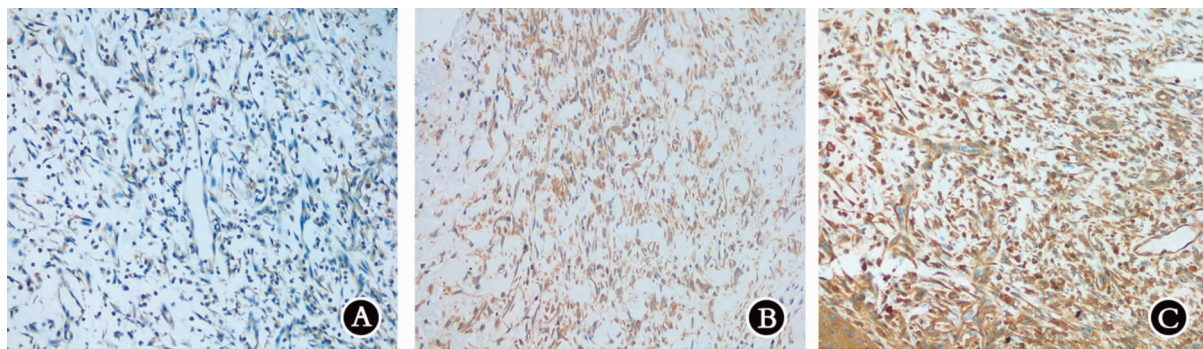
2.3 术后给药 7 和 14 d 各组创面组织中 VEGF 的表达 VEGF 表达于定位纤维细胞的胞质内以及炎细胞,呈棕黄色颗粒状。结果显示在给药后 7 d 时,VEGF 在敷料组和药膏组中的表达均强于阴性对照组(图 3)。14 d 时 VEGF 在物理抗菌敷料组和药膏组中肉芽组织成熟区域的表达均弱于阴性对照组,而在残存的肉芽组织区域要强于阴性对照组(图 4)。

3 讨论

创面修复是一个动态、复杂有序的变化过程,主要有 3 个阶段:炎症反应阶段、细胞增殖阶段、组

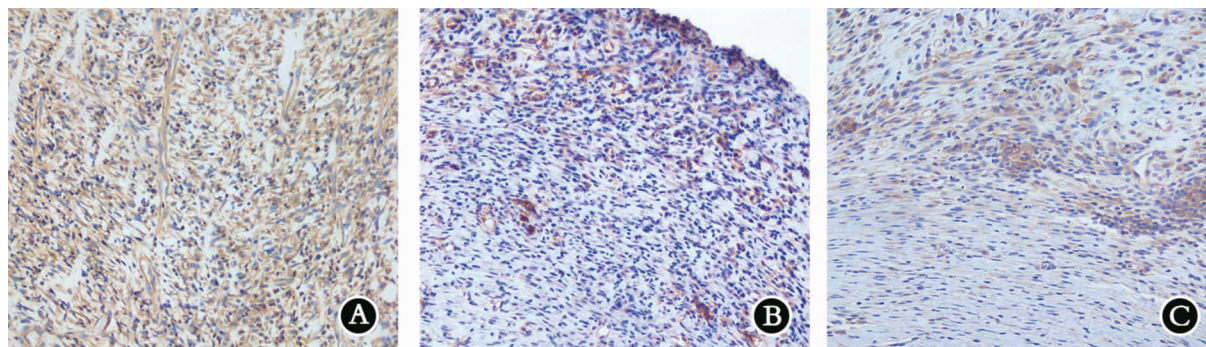
织重塑阶段,炎症反应阶段与创面修复关系密切而不可避免,而这种情况在肛肠术后的创面尤为突出^[2-3]。对于难愈性创面,有研究提出了基于专科医生和护士指导,家庭康复为辅,治疗、康复与自我管理相结合的中国特色创面修复学科体系,为临床工作者提供了很好的指导思想^[4]。

随着现代科技的发展,各种新型材料应运而生,其中喷雾式物理抗菌(非药物抗菌)敷料抗菌方法可避免抗菌药物导致的耐药菌^[5]。其抗菌原理是当敷料喷到创面后,物理抗菌敷料在创面形成带正电



A.阴性对照组;B.药膏组;C.敷料组

图 3 3 组大鼠术后给药 7 d 后 VEGF 的表达情况 HE × 200



A.阴性对照组;B.药膏组;C.敷料组

图 4 3 组大鼠术后给药 14 d 后 VEGF 的表达情况 HE × 200

荷的低分子抗菌隔离网膜,吸附带负电荷的病原微生物,被抗菌网膜隔离的病原微生物因无法与外界进行物质交换而窒息死亡,达到物理抗菌的目的^[6]。

创面修复中的炎性反应阶段,细胞因子向炎症细胞和局部细胞群发出趋化信号,中性粒细胞、单核细胞及巨噬细胞等先后移行至损伤部位,促进炎症反应,因此如何在创面修复过程中,控制炎症细胞,减少炎性渗出物至关重要^[7-8]。物理抗菌敷料很好的完成这个作用,其效果不亚于抗生素药膏。本实验也显示用药后 7 d 敷料组可以见到炎性渗出层的厚度减少,肉芽组织厚度增加,大量新生毛细血管,炎细胞数量相对较少,以慢性炎细胞浸润为主,水肿较轻,且与以外用抗菌为主的复方多粘菌 B 软膏(主要成分硫酸多粘菌素 B、硫酸新霉素、杆菌肽以及盐酸利多卡因)相比差异不大。而第 14 天时,炎性渗出层厚度减少,肉芽组织趋于成熟,血管减少,成纤维细胞数量增加。这与常说的创面修复的病理生理过程类似。

血管生成过程中,在创面修复的细胞增殖阶段,非常重要的特点就是血管生成、细胞迁移、再上皮化、肉芽组织形成、胶原形成和收缩^[9-10]。术后的创面新生血管主要是在原有血管的基础上,在血管内皮生长因子(VEGF)、转化生长因子、成纤维细胞生长因子等作用下以出芽方式促使新生血管形成^[11-13]。在众多生长因子中,VEGF 的作用至关重要,它能够促进血管内皮细胞的分裂和增生,保持血管通透性等作用,是血管生长的最重要的因子;同时也可促进血管内皮细胞的迁移,参与血管的构建和生成^[14]。本研究观察到在创面的早期,敷料组 VEGF 呈高表达状态,从而进一步促进了肉芽组织的生长,缩短了创面的愈合时间。

随着临床工作者对创面干预措施的重视及国家对抗生素管理的严格,因此非药物治疗或敷料的使用应运而生^[15]。临床的观察中也发现物理抗菌敷料能促进伤口愈合,减少创面渗出物,加速创面的愈合率,因为其是喷雾剂,使用起来方便、操作简单、容易掌握,避免了负压引流及膏性药物带来的不适感,患者接受程度高^[16-17]。

综上所述,物理抗菌敷料具有明显的抗菌和抑菌作用,且不会产生抗药性和耐药性,也能减少抗生素的使用量,这将为临床局部伤口的炎症控制和治疗开辟了一条新的方法和途径,还需进一步进行观察和实践。

参考文献

- [1] 倪俊,许献荣,陈瑞彩. 难愈性创面感染的病原菌分布及定植感染相关因素[J/CD]. 中华实验和临床感染病学杂志(电子版),2018,12(1):35-39.
- [2] Aboulhoda BE,Abd EI Fattah S. Bone marrow-derived versus adipose-derived stem cells in wound healing: value and route of administration[J]. Cell Tissue Res,2018,374(2):285-302.
- [3] 张立明,蔡洁云,潘福强,等. 脂肪干细胞在炎性创面中的应用及前景[J]. 中国组织工程研究,2019,23(25):4089-4090.
- [4] 付小兵. 中国特色创面修复学科体系建设的内涵[J]. 中华损伤与修复杂志(电子版),2020,15(1):1-3.
- [5] 邓润智,曾以周,周炳荣,等. 洁悠神物理抗菌喷雾敷料对口腔癌瘤术后菌群的影响[J]. 口腔医学研究,2007,23(5):541-543.
- [6] 曾以周,邓润智,周炳荣,等. 物理抗菌喷雾敷料在口腔癌术创预防感染的研究[J]. 口腔医学研究,2008,24(3):308-310.
- [7] Goodarzi P,Alavi-Moghadam S,Sarvari M,et al. Adipose tissue-derived stromal cells for wound healing[J]. Adv Exp Med Biol,2018,1119:133-149.
- [8] Dong Y,Hassan WU,Kennedy R,et al. Performance of an in situ formed bioactive hydrogel dressing from a PEG-based hyperbranched multifunctional copolymer[J]. Acta Biomater,2014,10(5):2076-2085.
- [9] Masee M,Chinn K,Lei J,et al. Dehydrated human amnion/chorion membrane regulates stem cell activity in vitro[J]. J Biomed Mater Res B Appl Biomater,2016,104(7):1495-1503.
- [10] Cury V,Moretti AS,Assis L,et al. Low level laser therapy increases angiogenesis in a model of ischemic skin flap in rats mediated by VEGF,HIF-1 α and MMP-2[J]. J Photochem Photobiol,2013,125(4):164-170.
- [11] 唐乾利,葛斌,李利青. 内皮祖细胞在创面修复中的血管新生机制研究进展[J]. 中国烧伤疮疡杂志,2019,31(1):1-4.
- [12] Hong WX,Hu MS,Esquivel M,et al. The role of hypoxia-inducible factor in wound healing[J]. Adv Wound Care(New Rochelle),2014,3(5):390-399.
- [13] Tepper OM,Capla JM,Galiano RD,et al. Adult vasculogenesis occurs through in situ recruitment,proliferation,and tubulization of circulating bone marrow-derived cells[J]. Blood,2005,105(3):1068-1077.
- [14] 刀吉攻,陈千益. 血管内皮细胞生长因子在损伤修复中的作用[J]. 大理学院学报,2007,6(Suppl):215-217.
- [15] 牧晶,牛少辉,曹建春,等. 干预创周治疗慢性溃疡及护场理论初探[J]. 中医药信息,2020,37(4):86-90.
- [16] 王雨,周聪,董雨,等. 间歇性低负压创面疗法治疗糖尿病足溃疡 40 例临床观察[J]. 中华保健医学杂志,2016,18(6):474-477.
- [17] 胡晓林. 湿润烧伤膏用于拔牙术后创面的疗效观察[J]. 中华保健医学杂志,2016,18(6):492-493.

(收稿日期:2020-02-14;修回日期:2020-04-23)