

负压对四肢瘢痕切除创面成纤维细胞的生长环境影响

袁 宗 侯宏义 王耘川 胡大海

摘 要 **目的** 探究持续封闭负压引流技术(VSD)对瘢痕切除创面成纤维细胞生长环境的影响。**方法** 回顾性分析 2014 年 1 月~2015 年 11 月于笔者医院行植皮手术的四肢瘢痕切除术后患者 60 例,根据植皮手术前是否接受 VSD 治疗分为负压组($n=30$)和包扎组($n=30$),负压组均于一期植皮前接受 VSD 治疗,包扎组未接受 VSD 治疗。回顾性分析对比两组患者并发症发生率、首次植皮存活率、创面感染率、住院时间之间的差异。并用 TUNEL 染色、CD34 染色法对比瘢痕标本中成纤维细胞凋亡指数及血管生成情况。**结果** 负压组菌培养阳性率明显低于包扎组($P<0.05$),植皮存活率明显高于包扎组($P<0.05$)。两组并发症发生率、住院时间、疼痛评分、随访 VSS 评分间比较,负压组均明显较低($P<0.05$)。负压组成纤维细胞凋亡指数明显较低,微血管计数明显较高($P<0.05$)。**结论** 负压封闭引流可以减轻瘢痕切除创面感染率,有效减轻炎性水肿,且可以通过改变局部血液循环微环境以及机械应力作用促进成纤维细胞增殖分裂,提高创面恢复效果。

关键词 负压封闭引流 成纤维细胞 生长环境 瘢痕切除

中图分类号 R6

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.05.016

Effect of Negative Pressure on the Growth Environment of Excision Wounds of Extremities. Yuan Zong, Hou Hongyi, Wang Yunchuan, et al. Xijing Hospital Affiliated to The Fourth Military Medical University, Shaanxi 710032, China

Abstract **Objective** To explore the effect of continuous vacuum sealing drainage(VSD) on the growth environment of fibroblasts in scar excision wound. **Methods** We carried out a retrospective analysis of 60 cases of patients with limb scar excision after skin grafting in our hospital from January 2014 to November 2015, and divided the patients into negative group ($n=30$) and control group ($n=30$) according to the skin grafts whether or not to accept the treatment of VSD. Negative pressure groups all received VSD treatment before the first period of grafting skin while the control group did not. Retrospective analysis was performed to compare the two groups in the complication rate for the first time, the survival rate of skin graft, wound infection rate and time difference of hospitalization. And we compared the index of apoptosis and angiogenesis in the scar specimens by TUNEL staining and CD34 staining. **Results** Bacteria culture positive rate in negative pressure group was significantly lower than the control group ($P<0.05$). And the graft survival rate was significantly higher than that of the control group ($P<0.05$). The incidence of complications, hospitalization time, pain score and VSS score were significantly lower in negative group ($P<0.05$). **Conclusion** VSD can reduce the infection rate in scar excision wound, effectively alleviate the inflammatory edema and can also promote fibroblast proliferation and improve wound healing effect by changing the local blood circulation and micro environment and mechanical.

Key words VSD; Fibroblast cell; Growing environment; Scar excision wound

对四肢瘢痕切除创面患者,持续封闭负压引流技术(VSD)具有有效减轻炎性水肿,控制细菌感染,有效清创,有利于创面愈合等优势,在临床取得较好应用效果^[1]。但国内外对负压引流技术影响肉芽组织和成纤维细胞生长环境的研究较少。本研究旨在通过对比植皮存活率、创面感染率、成纤维细胞存活率以及微血管变化等指标来探究封闭负压疗法对植皮后瘢痕切除创面成纤维细胞生长环境的影响。

材料与方法

1. 研究对象:回顾性分析 2014 年 1 月~2015 年 11 月笔者医院烧伤与皮肤外科收治并随访的行植皮手术的四肢瘢痕切除术后患者 60 例,研究根据是否接受 VSD 治疗分为负压组($n=30$)和包扎组($n=30$)。负压组于一期植皮前接受 VSD 治疗,包扎组未接受 VSD 治疗。(1)纳入标准:患者年龄 >18 岁;严重皮肤缺损,创面无植皮难以成活;创面骨骼肌腱外露面积 10cm^2 以内;顺利完成瘢痕切除与植皮手术并出院。(2)排除标准:资料不全或失访患者;合并严重心脏、肺、肝脏、肾脏等器官异常;过敏体质患者;妊娠及哺乳期妇女;治疗期间及随访时死亡;因经费或

基金项目:陕西省自然科学基金资助项目(2014JM4179)

作者单位:710032 西安,第四军医大学附属西京医院

通讯作者:胡大海,电子信箱:sansadaas@163.com

其他原因自行要求出院者。60 例患者中,其中男性 41 例,女性 19 例,患者年龄 18 ~ 78 岁,平均年龄 47.02 ± 9.83 岁;创面包括压力性溃疡 13 例,烧伤创面 28 例,创伤性创面 19 例;共计 64 个创面,创面部位包括:足部 10 处,小腿 16 处,股部 14 处,前臂 12 处,肩部 4 处,膝部 3 处,手处 5 处。患者中共 6 例伴有骨骼肌腱外露,创面面积平均为 65cm^2 ,患者住院时间 20 天 ~ 3 个月。两组患者的年龄、性别、创面面积、需植皮面积等一般资料间差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2. 治疗方法:患者入院后结合患者病因及病情进行常规一般及对症治疗,包括完善血常规、肝肾功、离子等实验室检查,补液,纠正水电解质及酸碱平衡紊乱等对症治疗。待病情稳定后,行瘢痕切除术。术后对负压组应用 VSD 治疗,安装负压装置,调节负压压力值,使维持在 $90 \sim 125\text{mmHg}$ ($1\text{mmHg} = 0.133\text{kPa}$),连续应用 3 ~ 5 天,根据肉芽组织生长及创面感染情况更换敷料;包扎组仅给予传统换药处理,方法为:暴露伤口,清除坏死组织及分泌物,分泌物过多时行分泌物引流,术后采用无菌纱布包扎覆盖,每日换药 1 次。根据创面肉芽生长情况,尽早行植皮手术,术后注意防治感染,加强脏器功能维护,注意补充肠内及肠外营养。结合患者全身情况及影像、生化等辅助检查结果,适时停用抗生素,以防机会性耐药菌感染。对无需植皮创面保持清洁干燥,防止创面恶化及感染发生。

3. 临床观察指标:分别收集两组患者的年龄、性别、创面面积、需植皮面积等基本信息。对比两组患者并发症发生率、首次植皮存活率、创面感染率、住院时间。并发症包括皮肤过敏、植皮后感染、创面出血等;创面感染率结合植皮手术前创面菌培养结果,记

录菌培养阳性率;疼痛评分采用视觉痛觉评分法,根据疼痛情况分为 0 ~ 10 分;首次植皮存活率指植皮处皮肤生长较好,无需二次植皮。对全部 60 例患者进行随访,根据温哥华瘢痕量表 (VSS) 评价康复后瘢痕生长情况。

4. 实验方法:两组均于瘢痕切除术后第 7 天留有 $0.3\text{cm} \times 0.3\text{cm}$ 肉芽组织标本,标本均用 10% 甲醛编号保存备用。收集全部 60 例患者切片,用石蜡包埋固定,制成 $5\mu\text{m}$ 厚石蜡切片 $\times 3$ 张,切片均无出血坏死,可作病理观察。3 张切片分别行常规 HE 染色、TUNEL 染色、CD34 染色^[2]。TUNEL 染色使用 TdT 法 (Apoptag 试剂盒,Millipore 公司) 进行凋亡的组织学分析,观察创面组织结构,成纤维细胞及肉芽组织微血管计数情况。微血管计数利用免疫组化方法以 CD34 (鼠抗人单克隆抗 CD34 抗体,美国 Biolegend 公司) 标记内皮细胞以显示微血管。血管及凋亡细胞数计算均先在低倍镜内 ($\times 40$) 观察,然后在高倍镜内 ($\times 200$) 计数,观察计数取 5 个视野取平均值,即 $n = (n_1 + n_2 + n_3 + n_4 + n_5) / 5$,计算成纤维细胞凋亡指数 (凋亡数:未凋亡数)。

5. 统计学方法:采用 SPSS 21.0 软件分析。随访 VSS 评分的数据标准化采用 0 点法;计量资料结果以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,两两比较采用配对资料 t 检验,计数资料采用例数或百分比 (%) 表示,组间比较采用 χ^2 分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 菌培养结果及植皮存活率比较:菌培养结果显示,负压组菌培养阳性率明显低于包扎组,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 5.455, P < 0.05$),植皮存活率比较,负压组存活率明显高于包扎组,差异有统计学意义 ($\chi^2 = 5.963, P < 0.05$,表 1)。

表 1 菌培养结果及植皮存活率比较 (n)

组别	n	细菌培养阳性率			植皮存活率		
		阳性	阴性	感染率 (%)	存活	失败	存活率 (%)
负压组	30	2	28	6.67	27	3	90.00
包扎组	30	9	21	30	19	11	63.33

2. 并发症、住院时间、疼痛评分、VSS 评分比较:负压组除 2 例出现创面出血外,无其他明显并发症出现,两例患者均于手术止血后继续行 VSD 治疗。包扎组出现创面出血 1 例,感染 4 例,2 例创面感染扩散,2 例为植皮后感染,均经抗生素治疗后好转。两

组并发症发生率分别为 6.67% 和 16.67%,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。两组住院时间、疼痛评分、随访 VSS 评分间比较,负压组均明显较低,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$,表 2)。

表2 患者住院时间、疼痛评分、随访 VSS 评分比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	住院时间(天)	疼痛评分	VSS
负压组	30	47.45 ± 11.23	3.92 ± 1.11	6.27 ± 1.04
包扎组	30	59.32 ± 12.01	6.24 ± 1.93	9.34 ± 1.35
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05

3. 成纤维细胞凋亡指数及血管生成情况:成纤维细胞凋亡指数比较,负压组明显较低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。微血管计数比较,负压组明显较高,差异有统计学意义($P < 0.05$,表3)。

表3 成纤维细胞凋亡指数及血管生成情况

组别	<i>n</i>	凋亡指数	微血管计数
负压组	30	0.11 ± 0.03	110.36 ± 38.47
包扎组	30	2.04 ± 0.25	36.02 ± 12.98
<i>P</i>		<0.05	<0.05

讨 论

负压封闭引流技术(VSD)是一种通过使用医用材料覆盖填充创面,用生物半透膜封闭创面,再通过可控制的负压吸引装置治疗缺损皮肤的技术^[3]。目前临床上使用封闭负压技术来修复创面已取得一定进展,有研究表明,负压引流疗法具有减轻创面水肿,防止感染,有效清创等作用。但对创面肉芽组织成纤维细胞的影响相关报道较少^[4]。

实验结果显示,与包扎组相比,负压组菌培养阳性率较低,植皮存活率较高,且并发症较低,治疗效果和预后也较好。其原因可能为负压持续吸引有助于清除创面渗液、污染物和坏死组织,且封闭引流形成的密闭空间可以有效细菌存活率。适宜的负压还可以通过减小细胞间隙减轻创面微血管的后负荷,增加血管内外压力差,从而有效减轻水肿,保证创面微循环的通畅,有利于促进细胞间的物质交换^[5,6]。局部血液循环改善后,创面免疫细胞和生长因子的富集对杀菌和创面愈合也有一定帮助。同时及时引流创面炎性物质减轻肿胀也可以减少患者疼痛度^[7-9]。切片染色组织学分析结果显示,负压组成纤维细胞凋亡指数明显较低且微血管计数较高。在负压组 TUNEL 染色结果显示成纤维细胞复制程度明显,且凋亡指数明显低于包扎组。其原因可能为良好的局部血液循环可以提供充足氧、营养物质及各种生长因子的微环境,适宜的生长环境保证了细胞旺盛的代谢过程,且有效的引流操作可以降低炎症等有害物质水平,对防止细胞凋亡坏死具有一定意义。

另外有研究表明,机械应力作用可以影响细胞的生长、分化、凋亡等生理过程,其中,细胞外基质一整合素一细胞骨架复合物在机械应力致细胞增殖分化过程中可能起着非常重要的作用^[10,11]。负压引流操作中机械吸引力作用于皮肤创面可以使肉芽组织成纤维细胞等发生理化反应,细胞通过细胞外基质一整合素一细胞骨架复合物,细胞膜上压力敏感通道以及各种细胞信号通路等实现力学向生物学信号的传递,细胞核接收信号后促进对修复基因的表达,从而影响细胞内相关酶类和多种生长因子的表达水平,刺激细胞有丝分裂级联反应,实现对成纤维细胞增殖分裂的调控作用^[12,13]。

综上所述,对四肢瘢痕切除创面使用 VSD 治疗可以有效减轻创面炎性反应和水肿,降低感染率,且可以通过改变局部血液循环微环境以及机械应力作用促进成纤维细胞增殖分裂,提高植皮存活率,从而提高创面愈合效果,改善预后。

参考文献

- Wathoni N, Motoyama K, Higashi T, *et al.* Physically crosslinked - sacran hydrogel films for wound dressing application [J]. *Int J Biol Macromol*, 2016, 89:465 - 470
- Song Y, Ding J, Jin R, *et al.* Expression and purification of FGF21 in *Pichia pastoris* and its effect on fibroblast - cell migration [J]. *Mol Med Rep*, 2016, 13(4):3619 - 3626
- 杨少玲,孙蕾蕾,胡丽叶,等. 创面负压治疗对糖尿病足创面肉芽组织碱性成纤维细胞生长因子的影响 [J]. *中华糖尿病杂志*, 2016, 2:103 - 107
- 孙桂芳,张晓芬,陈亚峰,等. 转化生长因子 - $\beta 1$ /Smads 信号在增生性瘢痕形成中的作用研究进展 [J]. *创伤外科杂志*, 2015, 5: 473 - 477
- Xuan Y, Chi L, Tian H, *et al.* The activation of the NF - κ B - JNK pathway is independent of the PI3K - Rac1 - JNK pathway involved in the bFGF - regulated human fibroblast cell migration [J]. *J Dermatol Sci*, 2016, 82(1):28 - 37
- Lin L, Wang Y, Liu W, *et al.* BAMBI inhibits skin fibrosis in keloid through suppressing TGF - $\beta 1$ - induced hypernomic fibroblast cellproliferation and excessive accumulation of collagen I [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(8):13227 - 13234
- Gharibi R, Yeganeh H, Rezapour - Lactoe A, *et al.* Stimulation of wound healing by electroactive, antibacterial, and antioxidant polyurethane/siloxane dressing membranes: in vitro and in vivo evaluations [J]. *ACS Appl Mater Interfaces*, 2015, 7(43):24296 - 24311
- 钱晓玲,周学芹,尹晓莉,等. 封闭负压引流干预慢性创面神经生长因子和微血管的变化 [J]. *中国组织工程研究*, 2014, 11:1647 - 1652
- Zhu HY, Li C, Bai WD, *et al.* MicroRNA - 21 regulates hTERT via PTEN in hypertrophic scar fibroblasts [J]. *PLoS One*, 2014, 9(5): e97114

(下转第 131 页)

血、氧化应激有关,通过分析汉族女性妊娠期高血压疾病与正常女性对比,结果显示汉族女性妊娠期高血压疾病患者的 ACE 基因和 AT1R 基因、Th1/Th2 比值、PLGF、ROS 和 LPO 明显高于正常女性。ACE 基因和 AT1R 基因属于免疫学指标,可以反映该病的发病机制,而 Th1/Th2 比值反映了遗传学指标,可以很好地反映遗传学的发病机制,PLGF、ROS 和 LPO 反映胎盘或滋养细胞缺血、氧化应激的机制,因此可以作为胎盘或滋养细胞缺血、氧化应激的指标进行分析,结果也显示了妊娠期高血压疾病的发病机制。而且这些指标是免疫学、遗传学、胎盘或滋养细胞缺血、氧化应激中比较重要的指标可以很好的反应这个反应机制,因此通过研究显示汉族女性妊娠期高血压疾病的发病与免疫学、遗传学、胎盘或滋养细胞缺血、氧化应激有关。这个结果和其他研究的结果基本一致^[13,14]。本研究将妊娠期高血压疾病的发病机制这些指标进行详细的分析,这也是其他研究的创新之处。

本研究对应用汉族女性妊娠期高血压疾病的影响因素进行分析,结果显示 >35 岁的初产女性、过高或过低的孕前体重指数、孕中期平均动脉压高、具有子痫前期史、糖尿病或肾脏疾病史、多胎妊娠等因素是该病发生的危险因素,因此在治疗上要特别关注这些影响因素,对其进行干预,可以减少该病的发生。

综上所述,汉族女性妊娠期高血压疾病的发病与免疫学、遗传学、胎盘或滋养细胞缺血、氧化应激中的相关指标有关,而且 >35 岁的初产女性、过高或过低的孕前体重指数、孕中期平均动脉压高、具有子痫前期史、糖尿病或肾脏疾病史、多胎妊娠是导致汉族女性妊娠期高血压疾病的危险因素。

参考文献

- Yang SJ, Kim TN, Baik SH, *et al.* Insulin secretion and insulin resistance in Korean women with gestational diabetes mellitus and impaired glucose tolerance [J]. *Korean J Intern Med*, 2013, 28 (3): 306 – 313
- Verhaeghe J, Van Ilerck K, Benhalima K, *et al.* Glycated hemoglobi-
- nin pregnancies at increased risk for gestational diabetes mellitus [J]. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*, 2012, 161 (2): 157 – 162
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus [J]. *Diabetes Care*, 2012, 35 (1): S64 – S71
- 巨容, 胡旭红, 徐若梅, 等. 妊娠期高血压疾病患者母、胎转化生长因子- β 1, 血管紧张素 II 及血管内皮生长因子表达水平分析 [J]. *中华妇幼临床医学杂志: 电子版*, 2014, 10 (6): 774 – 778
- Weinert LS, Mastella LS, Oppermann ML, *et al.* Postpartum glucose tolerance status 6 to 12 weeks after gestational diabetes mellitus: a Brazilian cohort [J]. *Arq Bras Endocrinol Metabol*, 2014, 58 (2): 197 – 204
- Pérez – Ferre N, Valle LD, Torrejón M J, *et al.* Diabetes mellitus and abnormal glucose tolerance development after gestational diabetes: a three – year prospective randomized clinical – based, Mediterranean lifestyle interventional study with parallel groups [J]. *Clin Nutr*, 2014, 34 (4): 579 – 585
- 陈园园, 李红梅. VEGF 和 vWF 与妊娠期高血压疾病发病机制的相关性探讨 [J]. *西南国防医药*, 2014, 24 (8): 917 – 919
- Ludford I, Scheil W, Tucker U, *et al.* Pregnancy outcomes for nulliparous women of advanced maternal – age in – South – Australia 1998 – 2008 [J]. *Aust NZJ Obstet Uynaecol*, 2012, 52 (3): 235 – 241
- Mangos UJ, Spawn JJ, Pirabhabhar S, *et al.* Markers of cardiovascular disease risk after hypertension in pregnancy [J]. *J Hypertens*, 2012, 30 (2): 351 – 358
- Levantesi U, Marlisi RM, Franzosi MU, *et al.* Uric acid: a cardiovascular risk factor in patients with recent myocardial infarction [J]. *Int J Cardiol*, 2013, 167 (1): 262 – 269
- 张慧丽, 陈敦金. 美国妇产科医师学会“妊娠期高血压疾病指南”解读 [J]. *中华产科急救电子杂志*, 2014, 3 (1): 40 – 46
- Janzarik WG, Eblers E, Ebmann R, *et al.* Dynamic cerebral autoregulation in pregnancy and the risk of preeclampsia [J]. *Hypertension*, 2014, 63 (1): 161 – 166
- 陈方方, 陈春燕, 常青青, 等. 妊娠高血压疾病胎盘组织中 NGAL 和 sLox – 1 的表达及临床意义 [J]. *医学研究杂志*, 2015, 44 (3): 248 – 251
- 顾航超, 黄亚娟. 合体滋养细胞微粒与子痫前期发病机制的最新研究进展 [J]. *医学研究杂志*, 2014, 43 (11): 1248 – 1251
- (收稿日期: 2016 – 09 – 01)
- (修回日期: 2016 – 09 – 14)
- (上接第 62 页)
- 刘浩, 孙磊, 齐岩, 等. 封闭负压引流修复严重软组织损伤: 多种因素联合应用的评价 [J]. *中国组织工程研究*, 2014, 47: 7666 – 7671
- Wang Y, Zhang L, Lei R, *et al.* Effects of blocking two sites of transforming growth factor – β /Smads signaling on the formation of scar – related proteins in human skin fibroblasts [J]. *Zhonghua Shao Shang Za Zhi*, 2015, 31 (5): 372 – 377
- 流小舟, 徐海栋, 赵建宁, 等. 生物与合成敷料封闭负压引流促进植皮创面愈合的对比 [J]. *中国组织工程研究*, 2014, 8: 1295 – 1300
- 向光俊, 杨洪政, 马云飞, 等. 封闭负压引流技术在大面积烧伤后期感染难愈创面治疗中的应用 [J]. *临床与病理杂志*, 2015, 8: 1493 – 1497
- (收稿日期: 2016 – 09 – 21)
- (修回日期: 2016 – 09 – 22)