

生肌膏换药频次对兔慢性溃疡愈合的影响

卢旭亚, 李品川, 张朝晖*

(天津中医药大学第二附属医院, 天津市河北区真理道 816 号, 300150)

摘要 目的 探讨生肌膏治疗慢性溃疡的最佳换药频次及可能机制。方法 30 只新西兰大白兔建立溃疡模型后分为 1 天换药组、2 天换药组、3 天换药组, 每组 10 只。1 天换药组予生肌膏每天 1 次换药, 2 天换药组每 2 天换药 1 次, 3 天换药组每 3 天换药 1 次, 共 6 天。观察各组伤口分泌物重量及白细胞介素 1β (IL- 1β) 和转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 含量, 以及伤口最终愈合时间。结果 1 天换药组伤口 6 天分泌物总量、第 6 天时单位面积分泌物重量最多且 IL- 1β 水平最高, 第 6 天时 2 天换药组 TGF- $\beta 1$ 水平最高, 各组间两两比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。2 天换药组愈合时间最短, 与其他两组比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 生肌膏最佳换药频次为每 2 天 1 次, 其机制可能与增加分泌物 TGF- $\beta 1$ 含量有关。

关键词 生肌膏; 溃疡愈合; 换药频次; 煨脓长肉

生肌膏即生肌象皮膏, 出自于张山雷《疡科纲要》, 具有生肌长皮、活血养血功效, 可应用于各种疮疡疾病中, 尤其适用于溃疡期脓腐基本已净而皮不生肉不长者。“煨脓长肉”是在创面愈合的后期阶段, 运用中草药膏(散)通过皮肤和创面对药物的吸收, 促进局部的气血通畅, 增强其防御能力, 使创面脓液增多, 载邪外出, 从而达到促进创面生长的方法^[1]。文献报道生肌膏多为每日 1 次的换药方法^[2], 我们临床中发现通过调整换药间隔可以形成最佳的“煨脓长肉”条件, 因此, 本研究通过比较生肌膏不同换药间隔对溃疡模型兔疮面愈合效果, 探讨最佳的生肌膏换药频次。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康新西兰大白兔 30 只, 6 个月龄, 体重 2.0 ~ 2.5 kg, 由军事医学科学院实验动物中心提供, 实验动物合格证号: SCXK-(军)-2012-0004, 在温度(28±2)℃, 湿度 37%~48%, 12 h 交替照明的清洁环境中给予标准兔饲料和自来水适应喂养。

1.2 药品及试剂

生肌膏(由象皮 20 g、生血余 15 g、当归 60 g、生地黄 40 g、龟甲 30 g、炉甘石 100 g、生石膏 50 g、麻油 1500 g、黄蜡 120 g 等熬制, 天津中医药

大学第二附属医院院内制剂, 批号 Z20070742), 白细胞介素 1β (IL- 1β) ELISA 试剂盒(上海研拓生物科技有限公司, 批号: 25120817), 转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) ELISA 试剂盒(上海科兴生化试剂有限公司, 批号: KX121023), 水合氯醛(天津福晨化学试剂厂, 批号: 20120921)。

定量分析滤纸(迈博瑞生物膜技术有限公司), 酶标分析仪(DNM-9602, 上海精密仪器仪表有限公司)。电子分析天平(ME235S, 德国赛多利斯天平公司), 多用途台式高速离心机(Biofuge Primo R, 德国 Heraeus 公司)。

1.3 动物模型建立

30 只大白兔预饲 7 天, 采用 10% 水合氯醛 4.5 ml/kg 腹腔注射麻醉后, 剪干净背部兔毛, 常规消毒, 用特制打孔器于大白兔背部脊柱左侧打孔(直径 3 cm), 溃疡深及筋膜层, 外敷凡士林纱条, 期间每只白兔自由饮水与喂食。3 天后溃疡创面有肉芽组织开始生长, 溃疡模型制备成功^[3]。

1.4 动物分组及处理方法

将 30 只造模成功大白兔应用随机数字表分为 1 天换药组、2 天换药组、3 天换药组, 每组 10 只。1 天换药组予生肌膏每天 1 次换药, 2 天换药组每 2 天换药 1 次, 3 天换药组每 3 天换药 1 次。每次换药时将大白兔置于预设装置上固定, 揭去敷料后, 用碘伏消毒伤口周缘, 取固定距离处垂直于伤口拍摄带标尺伤口图片, 采用 Image J 1.48 软件

基金项目: 国家自然科学基金(81273759)

* 通讯作者: zzh45@aliyun.com, 13920987708

(美国国立卫生研究院) 处理图片, 计算伤口面积。将定量分析滤纸裁剪成 $1\text{ cm} \times 5\text{ cm}$ 纸条, 并在试纸 1 cm 处标记, 将纸条一端放置在伤口内, 待在滤纸湿润前端至 1 cm 处停止收集, 然后将试纸湿润部分剪下放入 1 ml PBS 溶液中浸泡 2 h , 后用干棉球蘸干伤口脓性分泌物, 生肌膏涂抹于脱脂棉上覆盖伤口, 外敷纱布, 按照预设频次换药^[9]。

1.5 观察指标及方法

1.5.1 伤口分泌物重量测定 采用重量法进行计算, 通过称量换药前后纱布质量计算伤口分泌物重量 (包括生肌膏和脱脂棉重量), 为避免误差, 换药后纱布采用低温冷冻干燥称取净重量, 收集各组自第 1 天换药开始至第 6 天伤口分泌物, 比较伤口分泌物重量, 每日换药分泌物重量与伤口面积比值即为单位面积伤口分泌物重量。

1.5.2 分泌物 TGF- β 1 和 IL-1 β 测定 均采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 测定, 将 PBS 浸泡液采用 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 针式过滤器过滤, 然后按试剂盒说明书操作。

1.5.3 伤口愈合评估 比较各组伤口愈合时间, 评估伤口愈合速度, 以每日伤口减少面积计算 (cm^2/d)。

1.6 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件包进行统计学处理, 计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组间比较采用 t 检验。

2 结果

2.1 各组白兔伤口分泌物重量比较

表 1 示, 1 天换药组伤口 6 天内分泌物总重量、第 6 天时单位面积分泌物重量最大, 3 天换药组最小, 各组间比较差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.2 各组白兔伤口愈合时间比较

初期各组伤口肉芽组织逐渐增多, 伤口无明显缩小趋势, 待肉芽组织与伤口周缘上皮组织逐渐平时, 周缘上皮组织迅速呈向心性生长覆盖肉芽组

织, 换药时需剪除伤口内凸出肉芽组织, 直至伤口愈合。表 2 示, 2 天换药组愈合时间最短, 3 天换药组伤口愈合时间最长, 2 天换药组与其他两组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

表 1 各组白兔伤口分泌物重量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	兔数	6 天内分泌物总重量 (g)	第 6 天时单位面积分泌物重量 (g/cm^2)
1 天换药组	10	7.23 ± 0.89	1.21 ± 0.18
2 天换药组	10	$5.66 \pm 0.58^*$	$1.17 \pm 0.19^*$
3 天换药组	10	$4.14 \pm 0.47^{*\Delta}$	$0.98 \pm 0.14^{*\Delta}$

注: 与 1 天换药组比较, $* P < 0.05$; 与 2 天换药组比较, $\Delta P < 0.05$

表 2 各组白兔伤口愈合时间比较 ($\bar{d}, \bar{x} \pm s$)

组别	兔数	愈合时间
1 天换药组	10	10.7 ± 1.9
2 天换药组	10	$9.2 \pm 1.3^*$
3 天换药组	10	$12.5 \pm 2.1^\Delta$

注: 与 1 天换药组比较, $* P < 0.05$; 与 2 天换药组比较, $\Delta P < 0.05$

2.3 各组白兔伤口分泌物 IL-1 β 和 TGF- β 1 含量比较

表 3、表 4 示, 1 天换药组 IL-1 β 、TGF- β 1 均呈逐渐上升然后下降的趋势。第 6 天时 1 天换药组 IL-1 β 水平最高, 3 天换药组 IL-1 β 水平最低, 3 组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。第 6 天时 2 天换药组 TGF- β 1 水平最高, 3 天换药组 TGF- β 1 水平最低, 各组间比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。

3 讨论

“煨脓长肉”是中医外科特有的换药理念, 采用中药所煨之脓不是坏死组织溶解而产生的, 而是血浆内的各种成分自血管向外渗出的物质, 如单核巨噬细胞、中性粒细胞、淋巴细胞、成纤维细胞等^[9]。其中巨噬细胞被认为是细胞修复的“指导员”, 它刺激成纤维细胞产生 TGF- β 1 等生长因子促进肉芽形成, 达到伤口愈合的目的^[6-7]。已有研

表 3 各组白兔不同时间伤口分泌物 IL-1 β 含量比较 ($\text{pg}/\text{ml}, \bar{x} \pm s$)

组别	兔数	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d
1 天换药组	10	18.23 ± 3.67	21.23 ± 3.98	26.54 ± 4.89	22.56 ± 1.65	16.23 ± 1.87	16.11 ± 1.61
2 天换药组	10		19.23 ± 2.98		18.27 ± 1.79		$15.23 \pm 1.46^*$
3 天换药组	10			20.15 ± 3.32			$13.29 \pm 1.11^{*\Delta}$

注: IL-1 β , 白细胞介素 1 β ; 与 1 天换药组比较, $* P < 0.05$; 与 2 天换药组比较, $\Delta P < 0.05$

表 4 各组白兔不同时间伤口分泌物 TGF- β 1 含量比较 ($\text{pg}/\text{ml}, \bar{x} \pm s$)

组别	兔数	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d
1 天换药组	10	22.23 ± 2.34	26.21 ± 2.91	28.37 ± 2.99	30.21 ± 3.26	28.33 ± 2.86	27.29 ± 1.86
2 天换药组	10		30.47 ± 3.98		36.33 ± 3.52		$32.78 \pm 2.49^*$
3 天换药组	10			26.20 ± 2.08			$24.17 \pm 1.34^{*\Delta}$

注: TGF- β 1, 转化生长因子 β 1; 与 1 天换药组比较, $* P < 0.05$; 与 2 天换药组比较, $\Delta P < 0.05$

究^④证实脓液具有多种组织生长所必须氨基酸,但其只能间接为伤口愈合提供营养。本研究直接收集肉芽组织表面分泌物,通过准确测定生长因子含量,可以更加充分的解释“煨脓长肉”可能机制,因此本实验选取与炎症反应密切相关的 IL-1 β ,以及由成纤维细胞分泌与伤口愈合密切相关的 TGF- β 1 作为检测指标。

生肌膏方中象皮、生石膏、炉甘石、血余炭(生血余炼后为炭)四药共奏生肌敛疮之功。其中《本草汇言》载“象皮暖肌肉,治一切刀斧伤疮及经平疮毒,气冷血凝,溃水不收者”,可见其效专力猛;生石膏为外科常用之药,生用可清热消肿;炉甘石生肌、消肿毒、收湿敛疮;血余炭除生肌敛疮外还可止血化瘀。四药相配,使在表之顽疮脓水热毒祛、湿毒清,血脉畅而新肉生。再配伍当归补血活血;生地黄清热凉血、养阴生津;龟甲滋阴潜阳、补肾壮骨、养血安神,于外可濡养受损皮肤,于内可截热,养血生津,煨脓长肉。综观全方,既根除外在病灶之标,又兼顾充实其本。

本实验结果显示,1 天换药组伤口愈合早期 IL-1 β 均呈逐渐上升趋势,至伤口愈合后期 IL-1 β 呈下降趋势,提示生肌膏应用早期机体可能存在适应过程,刺激局部的炎症反应增强;第 6 天时 1 天换药组 IL-1 β 最高,提示反复换药操作刺激可加重局部炎症反应。1 天换药组 TGF- β 1 亦呈逐渐上升后下降的趋势,与溃疡早期炎症反应增强相关。第 6 天时 2 天换药组 TGF- β 1 水平最高,3 天换药组

TGF- β 1 水平最低,其可能原因:1) 生肌膏为油性制剂,药物释放存在一定的起效时间;2) 换药频次过多减少了生肌膏有效成分释放,不能达到最大的药物有效浓度;3) 换药频次过低使大量伤口分泌物附着于生肌膏表面,阻止有效成分对肉芽组织的直接刺激作用;4) 换药频次过低可能使生肌膏药物有效成分减少。

参考文献

- ① 关靖,陈宝元,李京向,等. 生肌象皮膏研究现状 [J]. 浙江中医药大学学报,2010,34(1):122-123.
- ② 王晓媛,王自辉,段旭东,等. “透脓祛腐”“煨脓长肉”的理论与应用 [J]. 辽宁中医药大学学报,2007,9(1):115-116.
- ③ 张杨,李秀兰,张文海,等. 含有生肌液的组织工程皮肤修复免皮肤缺损 [J]. 中国组织工程研究与临床康复,2008,12(46):9001-9005.
- ④ Muller M, Trocme C, Lardy B, et al. Matrix metalloproteinases and diabetic foot ulcers: the ratio of MMP-1 to TIMP-1 is a predictor of wound healing [J]. Diabet Med, 2008,25(4):419-426.
- ⑤ 刘胜,唐汉钧,陆德铭,等. “煨脓长肉”法在中医外科中的应用 [J]. 中医杂志,2000,41(7):443.
- ⑥ 刘惠洁. 煨脓长肉理论在糖尿病足临床应用的研究 [J]. 时珍国医国药,2012,23(7):1830-1831.
- ⑦ 白振丽,杜韦静,关静,等. 陈宝元教授临证应用“煨脓长肉”法经验介绍 [J]. 新中医,2008,40(1):14-15.
- ⑧ Mueller C, Müller B, Perruchoud AP. Biomarkers: past, present, and future [J]. Swiss Med Wkly, 2008,138(15-16):225-229.

Impact of Different Dressing-Change Frequency of Shengji Ointment on Rabbit Chronic Ulcer Healing

LU Xuya, LI Pinchuan, ZHANG Zhaohui

(Second Affiliated Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin, 300150)

ABSTRACT Objective To observe the best dressing change frequency of Shengji Ointment in order to treat chronic ulcer and discuss the possible mechanism. **Methods** After being made into the ulcer models, 30 New Zealand white rabbits were divided into 1-day group, 2-day group and 3-day group, with 10 in each group. The 1-day group, 2-day group and 3-day group changed the dressing daily, every 2 days and every 3 days respectively, for 6 days. The secretion weight, as well as content of interleukin-1 β (IL-1 β) and transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) in ulcer secretion were measured, and the healing time was recorded. **Results** The weight of secretion for all 6 days, weight of secretion per unit area on day 6 and the IL-1 β levels in the 1-day group were the highest, while on day 6, the TGF- β 1 levels in the 2-day group achieved the highest, and there were significant differences in the results between every two groups ($P < 0.05$). As for healing time, the 2-day group had the best results among the groups ($P < 0.05$). **Conclusion** The best dressing change frequency of Shengji Ointment was every 2 days, and its possible mechanism could be related with the increase of TGF- β 1 in secretion.

Keywords Shengji Ointment; ulcer healing; dressing change frequency; culturing the pus for the growth of muscles

(收稿日期: 2014-04-21; 修回日期: 2014-09-15)

编辑: 邓 媛