

## 丝蛋白敷料对大鼠浅二度创面的疗效研究

王 磊<sup>1,2</sup>, 张 逸<sup>1</sup>, 谭 谦<sup>2</sup>, 张 剑<sup>3</sup>

(<sup>1</sup>南通大学附属医院烧伤整形科, 江苏 南通 226001; <sup>2</sup>南京大学附属鼓楼医院烧伤整形科, 江苏 南京 210006; <sup>3</sup>上海交通大学医学院附属瑞金医院烧伤研究所, 上海 200025)

**[摘要]** 目的: 观察大鼠二度烫伤创面应用丝蛋白创面敷料覆盖后的疗效。方法: SPF 级雄性大鼠 20 只, 体重 230~250 g, 随机分成对照组和实验组。76℃热水烫伤 10 s, 形成 8 cm × 5 cm 浅二度烫伤创面。腹腔注射平衡液 5 ml 抗休克处理。对照组创面覆盖消毒凡士林纱布, 实验组创面覆盖丝蛋白创面敷料, 外用无菌纱布包扎固定。手术后 3 d 行创面取材, 组织培养后测定其释放表皮细胞生长因子(EGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、血小板衍生生长因子-AB(PDGF-AB)及白细胞介素-8(IL-8)的水平, 并通过 HE 和 Masson 染色对创面组织坏死程度进行形态学观察。结果: 实验组与对照组创面组织 EGF、bFGF、PDGF-AB 及 IL-8 的表达水平有明显差异( $P$  均  $< 0.01$ )。结论: 丝蛋白创面敷料覆盖大鼠浅二度烫伤创面能促进局部生长因子的释放, 抑制炎症因子的表达, 有效抑制创面炎症反应并且对大鼠浅二度烫伤创面的愈合有促进作用。

**[关键词]** 烧伤; 丝蛋白敷料; 创面愈合

**[中图分类号]** R644

**[文献标志码]** B

**[文章编号]** 1007-4368(2014)10-1422-04

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20141034

伤口愈合是一个错综复杂的生物学过程<sup>[1]</sup>。机体烧伤后会产生一系列应激反应, 造成局部或(和)全身炎症反应以及代谢改变。随着分子生物学的不断发展, 人们逐渐认识到某些细胞生长因子的分泌及炎症因子的释放影响创面的愈合。在烧伤创面的修复过程中, 白细胞介素-8(IL-8)、表皮细胞生长因子(EGF)、碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)、血小板衍生生长因子-AB(PDGF-AB)起到了重要作用<sup>[2-9]</sup>。有研究表明烧伤后的 IL-8、EGF、bFGF、PDGF-AB 释放量与组织修复之间的关系密不可分<sup>[10]</sup>。

丝蛋白敷料主要原料是蚕丝丝素蛋白。敷料的主体是以蚕丝丝素蛋白为主要原料制成的丝素微孔材料, 在上表面涂层了医用硅橡胶膜。敷料厚度 2.0 mm 左右。因蚕丝丝素蛋白对组织有很好的亲和性, 敷料能迅速而牢固地黏附创面; 上层医用硅橡胶膜能阻止外面细菌入侵, 减少热量、蛋白质和离子的流失。本实验通过对大鼠浅二度烧伤创面应用丝蛋白创面敷料覆盖后, 创面愈合过程中形态学和局部创面组织炎症因子及生长因子表达水平的研究, 观察丝蛋白创面敷料对大鼠浅二度烧伤创面的疗效。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

#### 1.1.2 试剂

MCDB130 培养液、PDGF-AB、bFGF、FGF、IL-8 ELISA 试剂盒(美国 SIGMA 公司); 丝蛋白创面敷料(商品名: 丝代异; 苏州苏豪生物材料科技有限公司)。

#### 1.2 方法

##### 1.2.1 实验动物分组

SPF 级雄性 SD 大鼠 40 只, 体重 230~250 g [由南通大学医学院动物场提供, 许可证编号: SYXK(苏)20002-0022]。将大鼠随机分成实验组与对照组, 每组 20 只。于术前 1 d 用硫化钡脱毛, 经 2.5% 戊巴比妥钠(35 mg/kg 体重)腹腔注射麻醉。

##### 1.2.2 烧伤模型建立

所有动物于背部用 76℃ 水温烫伤 10 s, 造成浅二度皮肤烫伤, 腹腔注射平衡液 5 ml 抗休克处理。对照组创面予普通消毒凡士林纱布覆盖(南通大学附属医院提供), 外用无菌纱布包扎固定; 实验组创面予丝蛋白创面敷料覆盖, 外用无菌纱布包扎固定。

##### 1.2.3 创面组织取材及形态学观察

手术后 3 d, 在大鼠背部创面组织剪取相同大小之组织标本(以直径 2 cm 的不锈钢片为模板), 置于含 3 ml MCDB130 培养液的培养瓶内, 在 5% CO<sub>2</sub>、37℃ 培养箱中培养 16 h。终止培养后离心取上清, 置 -70℃ 冰箱保存。于术后 3、5、8、11 和 14 d 创

面换药,同时进行创面大体观察。另外,行创面组织取材,大小约 0.5 cm × 0.5 cm,立即置 10%福尔马林溶液固定。标本制成石蜡切片后,Masson's 染色观察创面愈合过程中组织学变化(细胞核呈蓝黑色,胶原纤维呈绿色,胞浆呈红色)。

#### 1.2.4 EGF、FGF-2、PDGF-AB 及 IL-8 的测定

按相对应的 ELISA 试剂盒中规定的方法对每份培养液中的相应因子含量进行测定。

#### 1.3 统计学方法

以统计软件处理实验结果原始数据,计量资料用均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用单因素方差分析,组

间的比较采用  $q$  检验。 $P \leq 0.05$  为差异有统计意义。

## 2 结果

### 2.1 大鼠烫伤深度的检测

SD 大鼠烫伤后,皮肤表面红润,轻度水肿,Masson 染色观察显示:正常皮肤表皮层细胞排列整齐,颗粒层清晰可见,真皮层内皮肤附件结构、形态良好。烫伤皮肤大部分表皮细胞有细胞核浓缩,结构模糊等变性改变。表皮和表皮下层结构松散。组织染色浅,真皮深层胶原和腺体结构正常,为浅二度烫伤的组织学特点,符合本实验要求(图 1)。

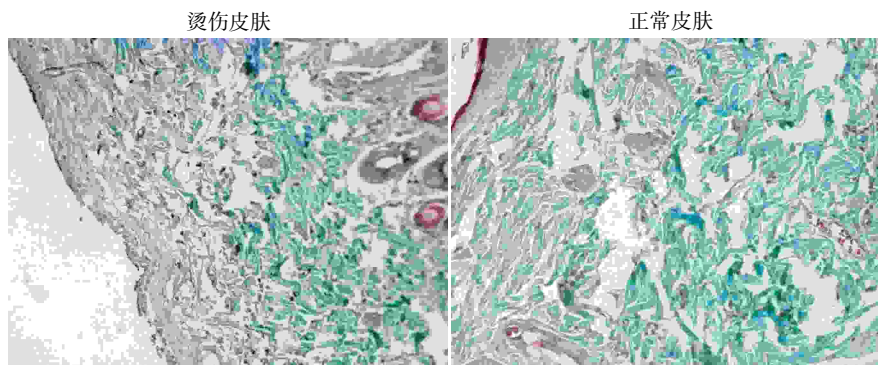


图 1 Masson 染色观察大鼠皮肤的烫伤深度

### 2.2 大鼠创面愈合过程的组织 Masson 染色观察

术后 3 d,对照组创面可见较多炎性细胞浸润,实验组炎性细胞浸润较少,部分痂皮呈脱落趋势;术后 5 d,对照组炎症反应明显,大量炎症细胞浸润,实验组炎症反应相对较轻;术后 8 d,对照组有较明显的炎症反应;实验组与对照组相比明显有较多的表皮细胞聚集生长;术后 11 d,对照表皮层细胞形成薄层,实验组表皮层已基本形成;术后 14 d,表皮层仍在形成过程中,实验组表皮层已形成,而且具备角质层结构(图 2)。

### 2.3 创面组织 EGF、bFGF、PDGF-AB 及 IL-8 的表达

手术后 3 d 创面组织取材培养,丝蛋白敷料组所表达的 bFGF、PDGF-AB、EGF、IL-8 量与对照组比较有明显差异,EGF、bFGF、PDGF-AB 水平明显升高,而 IL-8 的表达水平明显下降( $P < 0.01$ ,表 1)。

## 3 讨论

皮肤是人体的重要器官,能阻止外界微生物的入侵及维持机体内环境平稳,具有重要的物理、化学及生物屏障作用。烧伤是战争和生活中高发的皮肤损伤,烧伤后引起的低体温、新陈代谢变化、免疫

和内分泌系统的失调、蛋白质和水电解质代谢等异常等一些列的病理生理变化,均与皮肤生物屏障被破坏有关。因此,不论伤情如何,尽早应用理想的创面敷料覆盖创面,起到临时的屏障作用,为等待皮肤组织的自行愈合或为下一步皮肤移植争取时间。因此,寻找比较理想的暂时性敷料,是目前烧伤治疗不断探索的目标。

丝蛋白敷料具有:①较好的黏附性:由于蚕丝素蛋白良好的组织亲和性,能迅速而牢固地与创面黏附;②较好的屏障功能:上层医用硅胶膜能阻止细菌入侵,减少热量、蛋白质和离子的流失;③良好的生物安全性:无细胞毒性、刺激性、过敏性;④良好的顺应性:具有良好的柔韧性,可随体形覆盖创面,不因缝合、牵拉而撕裂;⑤良好的抗菌性:抗菌银离子成分能阻止病原微生物的增殖,防止感染;⑥能减轻疼痛:保护神经末梢免受外界刺激;⑦促进创面愈合:利用蚕丝素蛋白良好的生物相容性和丝素微孔材料保水能力,为细胞生长因子和组织修复细胞的聚集创造良好的微环境,促进创面上皮化,但不促使暂时的新的基质过度沉积,无占位性;⑧适当的通透性:能控制水分蒸发。由于采用高温等工艺处理,使丝素微孔材料内的丝素结晶化,

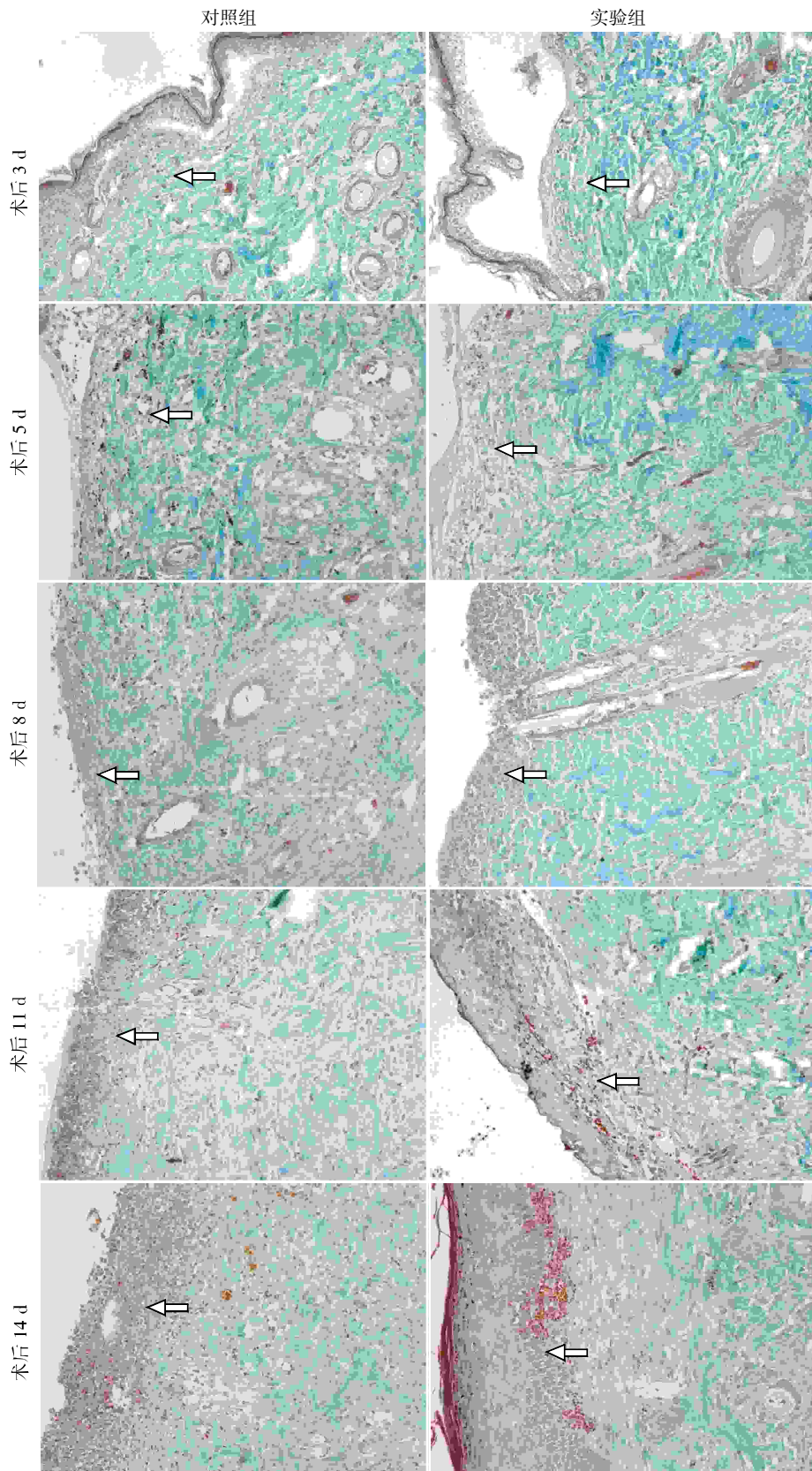


图 2 Masson 染色观察大鼠创面愈合过程

使其在覆盖在创面的短期(15 d)内不会被降解、吸收,可覆盖至创面愈合,一般情况下中途不需更换敷料,因此,丝蛋白创面敷料能够对创面的愈合有良好

的促进作用。丝蛋白创面敷料应用于烧伤创面不仅能保护创面,而且有利于维持创面湿润环境,促进创面坏死组织脱落,从而减轻炎症反应,抑制创面进行性

表 1 创面组织 EGF、bFGF、PDGF-AB 及 IL-8 的表达水平 (ng/ml,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	bFGF	EGF	PDGF-AB	IL-8
对照组	10	30.6 ± 10.1	544.4 ± 130.2	6.8 ± 2.9	296.3 ± 90.2
丝蛋白敷料组	10	59.3 ± 16.3*	2 200.4 ± 407.1*	20.3 ± 6.7*	182.3 ± 68.3*

与对照组比较, \* $P < 0.01$ 。

加深,加速创面愈合进程。而凡士林纱布外用烧伤创面使创面形成焦痂,加深创面和加重局部炎症反应。本研究成果表明,丝蛋白创面敷料应用于大鼠烧伤创面能增加 EGF、bFGF、PDGF-AB 在局部组织的释放量,抑制 IL-8 的表达,减轻炎症反应,加速创面愈合进程。因此,丝蛋白创面敷料是一种具有较为理想的烧伤创面外用敷料。

[参考文献]

[1] Martin P. Wound healing-animing for perfect skin regeneration[J]. Science, 1997, 276(4): 75-81  
 [2] 向 军,王志勇,杨丽英,等. 伤后 24 h 内削痂对深二度烧伤创面生长因子释放的影响[J]. 上海第二医科大学学报, 2004, 24(7): 528-530  
 [3] Huber AR, Kunker SL, Todd RF III, et al. Regulation of transendothelial neutrophil migration by endogenous interleukin 8[J]. Science, 1991, 254(5028): 99-102  
 [4] Richter J, Ng Sikorski J, Olsson I, et al. Tumor necrosis factor induced degranulation in adherent human neutrophils is dependent on CD11b/CD18 integrin triggered

oscillations of cytosolic free  $Ca^{2+}$ [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1990, 87(23): 9472-9476  
 [5] Robinson CJ. Growth factors; therapeutic advances in wound healing[J]. Ann Med, 1993, 25(6): 535  
 [6] Tanaka K, Abe M, Sato Y. Roles of extracellular signal-regulated kinase 1/2 and p38 mitogen-activated protein kinase in the signal transduction of basic fibroblast growth factor in endothelial cells during angiogenesis[J]. Jpn J Cancer Res, 1999, 90(6): 647  
 [7] 付小兵,孙同柱,王亚平,等. 表皮细胞生长因子与碱性成纤维细胞生长因子促进创面修复效应的比较性研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 1999, 13(5): 278  
 [8] 付小兵,王亚平,常国友,等. 碱性成纤维细胞生长因子促进受创皮肤再生的实验研究[J]. 中国修复重建外科杂志, 1996, 10(1): 23  
 [9] Deuel TF, Kawahara RS, Mutoe TA, et al. Growth factors and wound healing: Platelet-Derived growth factor as a model cytokine[J]. Annu Rev Med, 1991, 42: 567-584  
 [10] 王正国. 创伤愈合与组织修复[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1998: 59-106

[收稿日期] 2014-04-28