

自体脂肪颗粒及微粒皮混合移植修复烧伤患者深度创面

刘顺利 彭毅志 李晓鲁 袁志强 罗高兴 张家平 唐进 颜洪

【摘要】 目的 了解自体脂肪颗粒及微粒皮混合移植修复大面积烧伤深度创面的效果。方法 选择 20 例重度烧伤患者,采用自身同体对照法,将患者双侧肢体或躯干对称部位创面分为脂肪颗粒+微粒皮组和微粒皮组,分别行自体脂肪颗粒+微粒皮(体积比 1:1)混合移植和自体微粒皮移植。术后 30、45、60 d 计算 2 组创面愈合率;术后 7、14、21、28 d 取创面组织,行 HE 染色和增殖细胞核抗原(PCNA)免疫组织化学观察。结果 移植术后 30、45、60 d,脂肪颗粒+微粒皮组创面愈合率分别为(56.3±3.1)%、(76.4±6.1)%、(96.2±1.5)%,均明显高于微粒皮组的(28.3±2.0)%、(47.3±4.8)%、(85.4±2.2)%($P < 0.01$)。HE 染色显示脂肪颗粒+微粒皮组创面上皮化早于微粒皮组,胶原纤维排列较整齐。脂肪颗粒+微粒皮组 PCNA 阳性细胞较微粒皮组多,主要分布于表皮基底层。结论 自体脂肪颗粒+微粒皮混合移植可促进创面愈合。

【关键词】 烧伤; 脂肪组织; 皮肤移植; 创面愈合

Clinical study on the repair of extensive deep burn wounds with autogenous fat granules and autologous microskin grafts in mixed grafting LIU Shun-li, PENG Yi-zhi, LI Xiao-lu, YUAN Zhi-qiang, LUO Gao-xing, ZHANG Jia-ping, TAND Jin, YAN Hong. Institute of Burn Research, Southwest Hospital, State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, the Third Military Medical University, Chongqing 400038, P. R. China
Corresponding author: PENG Yi-zhi, Email: yizhipeng@mail.tmmu.com.cn, Tel: 023-68754175

【Abstract】 Objective To observe the effects of autologous fat granules in mixed grafting with autologous microskin grafts on repair of extensive deep burn wounds in patients. Methods Twenty severe burn patients hospitalized in our ward were enrolled for autogenous self-control test in wounds on both extremities or symmetrical parts of the trunk, and they were randomly divided into experimental(E) and control(C) groups. The wounds in E group were repaired with autologous fat granules together with autologous microskin in mixed grafting (volume ratio 1:1), and in C group only autologous microskin grafting was given. Wound healing rate was measured on 30th, 45th, and 60th day after operation. Wound specimens were harvested for HE staining and PCNA immunohistochemistry examination on 7th, 14th, 21st, and 28th day after operation. Results (1) The mean wound healing rate on 30th, 45th, and 60th day after operation in E group was (56.3±3.1)%, (76.4±6.1)%, (96.2±1.5)%, which were respectively higher than that in C group [(28.3±2.0)%, (47.3±4.8)%, (85.4±2.2)%, $P < 0.01$]. HE staining showed epithelization in E group was earlier than that in C group, with regular arrangement of collagen fibers. The quantity of PCNA positive cells in E group were larger than that in C group, and PCNA was mainly expressed in epithelial cells of basal layer. Conclusion Autologous fat granules in mixed grafting with autologous microskin can promote wound healing.

【Key words】 Burns; Adipose tissue; Skin transplantation; Wound healing

大面积深度烧伤患者自体皮源不足,采用何种材料及时有效地封闭创面成为关注的热点。在烧伤创面愈合过程中,脂肪组织参与了能量储存、脂蛋白分解合成以及释放瘦素和白细胞介素 6 等多个环节。笔者就脂肪颗粒对自体微粒皮移植的促愈合作

用进行了观察。

1 资料与方法

1.1 病例入选及排除标准

入选标准:年龄 18~60 岁,性别不限;Ⅲ度烧伤面积大于 30% TBSA,伤后 1 周内手术者;创面分布于双侧肢体或躯干对称部位。排除标准:化学烧伤、电击伤患者;创面侵袭性感染者;创面脓毒症患者。

1.2 临床资料及分组

选择笔者单位 2006 年 5 月—2007 年 11 月收治的符合病例入选标准的 20 例烧伤住院患者,其中男 18 例、女 2 例,年龄(39.2±2.6)岁,烧伤总面积

基金项目:第三军医大学第一附属医院临床研究专项基金 A 类(WWH2005A002)

作者单位:400038 重庆,第三军医大学西南医院全军烧伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室

通讯作者:彭毅志,Email: yizhipeng@mail.tmmu.com.cn,电话:023-68754175

(90.3 ± 3.5)%, 其中Ⅲ度(47.2 ± 1.2)% TBSA。创面分布于双上肢 9 例、双下肢 10 例、躯干 1 例。采用自身同体对照法,按随机化原则将双侧肢体或躯干对称部位创面分为脂肪颗粒+微粒皮组和微粒皮组(患者或其家属知情同意),脂肪颗粒+微粒皮组创面(990 ± 82) cm^2 ,微粒皮组创面(991 ± 81) cm^2 ,两者比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

1.3 手术方法

手术切痂至深筋膜,脂肪颗粒+微粒皮组创面混合移植自体脂肪颗粒与微粒皮(体积比 1:1);微粒皮组仅移植自体微粒皮,自体微粒皮移植面积扩展比为 15:1。随后用大张异体皮覆盖创面,外用大纱布包扎固定。术后常规应用抗生素。待患者异体皮脱落后进行药浴,创面不用其他药物处理。

1.4 计算创面愈合率

分别于移植术后 30、45、60 d 用透明膜覆盖患者创面,用笔描记已愈合部分创缘,异体皮残留部分视作未愈合。用图像处理软件采样并计算已愈合创面面积与初始创面面积的百分比,即创面愈合率。

1.5 组织学观察

经征得患者同意,移植术后 7、14、21、28 d 于创面中心位置切取小块组织,用体积分数 4% 甲醛固定,石蜡包埋,切片,行 HE 染色和增殖细胞核抗原(PCNA)免疫组织化学染色,光学显微镜下观察。

1.6 统计学处理

数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,应用 SPSS 11.0 统计软件包进行 t 检验。

2 结果

本组 20 例患者在治疗过程中死亡 4 例,另有 3 例中途放弃治疗出院,实际参与研究者共 13 例。

2.1 创面愈合率

移植术后 30、45、60 d,脂肪颗粒+微粒皮组创面愈合率分别为(56.3 ± 3.1)%、(76.4 ± 6.1)%、(96.2 ± 1.5)%,均明显高于微粒皮组[(28.3 ± 2.0)%、(47.3 ± 4.8)%、(85.4 ± 2.2)%, $P < 0.01$]。

2.2 组织学观察

HE 染色示:脂肪颗粒+微粒皮组术后 7 d 的部分组织切片中可见表皮细胞生长,微粒皮组未见该现象。术后 14 d,2 组均可见表皮细胞生长。脂肪颗粒+微粒皮组表皮层偏厚,胶原纤维排列较整齐。PCNA 染色示:术后 7 d,脂肪颗粒+微粒皮组即有大量 PCNA 阳性细胞,主要分布于表皮基底层,14~21 d 达高峰,术后 28 d 仅见少数。微粒皮组 PCNA

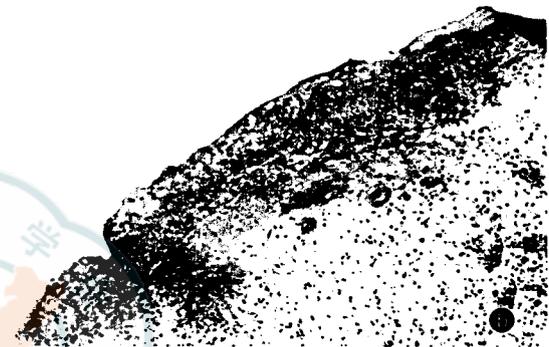
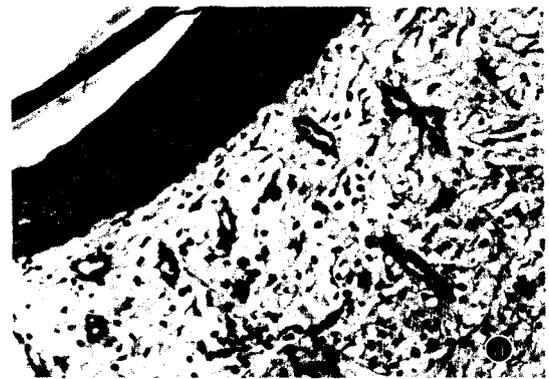


图 1 术后 21 d 某患者愈合创面组织切片。a. 脂肪颗粒+微粒皮组创面表皮层厚,胶原纤维排列较规则 HE $\times 200$; b. 微粒皮组创面表皮层较薄,胶原纤维排列紊乱 HE $\times 200$; c. 脂肪颗粒+微粒皮组创面增殖细胞核抗原(PCNA)阳性细胞较多,主要为表皮细胞 PCNA $\times 200$; d. 微粒皮组创面 PCNA 阳性细胞较少,散在分布 PCNA $\times 200$

阳性细胞较少,最早见于术后 14 d 切片中,且散在分布,之后数目不断增加直至术后 28 d。见图 1。

2.3 典型病例

患者男,27 岁,高温煤渣烫伤,总面积 77%,其中浅 II 度 13%、深 II 度 24%、III 度 40% TBSA。伤后 2 d 行双上肢切痂 + 微粒皮移植 + 异体皮覆盖术:根据随机编号,左上肢创面移植脂肪颗粒 + 微粒皮,右上肢创面仅移植微粒皮。术后 30、45、60 d,左上肢创面愈合率分别为 62%、89%、100%,右上肢分别为 30%、54%、87%。见图 2。



图 2 术后 45 d 患者双上肢创面愈合情况。a. 左上肢移植脂肪颗粒 + 微粒皮后表皮生长速度快,创面基本愈合;b. 右上肢移植微粒皮后表皮生长较慢,仍有肉芽创面裸露

3 讨论

大面积深度烧伤患者由于自体皮源不足,易引发全身严重感染及诸多内脏并发症,甚至危及生命。针对自体皮源缺乏的问题,国内外学者进行了大量研究,如表皮细胞膜片培养,自、异体角质形成细胞混合培养及复合皮的应用等^[1]。但总体而言,临床上目前可以选用的技术方法十分有限,包括大张异体(种)皮开洞嵌植小块自体皮、大张异体(种)皮覆盖自体微粒皮移植等,均有不尽如人意之处,难以及时有效地封闭创面。

烧伤创面的愈合是一个复杂的生物学过程,大致分为炎性反应、肉芽组织形成、再上皮化及伤口闭合后塑形几个阶段,是一个有序的变化过程^[2]。本

研究中,脂肪颗粒 + 微粒皮组创面 PCNA 阳性细胞早于微粒皮组出现,且数目多,集中分布于基层层,提示表皮分化增生活跃,因而新生表皮形成早,创面愈合快。微粒皮组创面 PCNA 阳性细胞出现时间晚、数目少,散在分布于肉芽组织层,增生不活跃,故创面愈合较慢。Sugihara 等^[3]证实,脂肪细胞在体外共培养体系中可以促进表皮细胞的增殖和分化。雷永红等^[4]也证明脂肪干细胞(ADSC)可以被诱导向表皮细胞表型转分化。

笔者推测,自体脂肪颗粒 + 微粒皮移植后创面愈合速度明显增快的原因可能是:(1)脂肪组织具有内分泌功能。脂肪组织不仅是能量储存器官,更像一个内分泌器官^[5]。在机体处于应激状态时能分泌血管内皮生长因子(VEGF)、胰岛素样生长因子(IGF)、瘦素、金属硫蛋白(MT)、基质金属蛋白酶及促炎因子等。VEGF 和 IGF 是促进血管内皮细胞增殖、迁移的重要因子^[6],瘦素可以促进正常及糖尿病鼠皮肤创面的再上皮化^[7],脂肪组织还通过分泌 MT、基质金属蛋白酶及促炎因子等影响创伤愈合的过程^[8]。(2)脂肪组织可提供营养。创伤修复的许多步骤都需要以营养为基础,不同营养水平将影响代谢和生理过程,营养缺乏可能导致创面局部脂肪酸减少而影响修复结局。创伤发生后,能量、蛋白质、碳水化合物、脂肪、水及维生素发生代谢变化。脂肪酸作为组成亚细胞膜三酰基甘油和磷脂的关键成分,其含量的减少可影响修复结局。严重损伤后,脂肪酸的变化将影响蛋白的代谢^[9]。(3)ADSC 的作用。ADSC 也叫前体脂肪细胞,是脂肪组织中的一种含有类似成纤维细胞样的间充质细胞,体积较小,低分化,对创伤和缺氧的耐受力比成熟脂肪细胞好。ADSC 除了可以向自身组织分化外,还有多潜能干细胞的特征,可以在不同诱导条件下向其他细胞分化。

近几年来陆续有学者从脂肪组织中分离出多潜能干细胞,在不同诱导条件下可分化为骨、软骨、脂肪及肌肉等组织,甚至心肌细胞^[6]。不仅如此,Zuk 等^[10]对 ADSC 表面的 CD marker 进行了检测,结果显示,它仅有 2 个 CD marker 与骨髓基质干细胞的表达不同,即 CD49d 为阳性表达,CD106 为阴性。虽然 ADSC 能否于在体条件下分化为表皮细胞进而修复、封闭创面尚有待进一步证实,但创面应用脂肪细胞后确实对创伤修复过程产生了积极的影响。

参考文献

[1] 黎鳌. 黎鳌烧伤学. 上海:上海科学技术出版社,2001;560-575.

[2] 付小兵,王正国,盛志勇. 正常创伤修复与“失控”创伤修复的研究现状与展望. 中国修复重建外科杂志,2001,15(6):385-388.

[3] Sugihara H, Toda S, Yonemitsu N, et al. Effects of fat cells on keratinocytes and fibroblasts in a reconstructed rat skin model using collagen gel matrix culture. Br J Dermatol, 2001, 144(2):244-253.

[4] 雷永红,付小兵,盛志勇,等. 诱导脂肪干细胞向表皮细胞表型的转分化研究. 中华实验外科杂志,2006,23(12):1536-1538.

[5] Kim S, Moustaid-Moussa N. Secretary, endocrine and autocrine/paracrine function of the adipocyte. J Nutr, 2000, 130(12):3110-3115.

[6] Nakagami H, Morishita R, Maeda K, et al. Adipose tissue-derived stromal cells as a novel option for regenerative cell

therapy. J Atheroscl Thromb, 2006, 13(2):77-81.

[7] Matarese G, La Cava A, Sanna V, et al. Balancing susceptibility to infection and autoimmunity: a role for leptin? Trends Immunol, 2002, 23(4):182-187.

[8] Bouloumie A, Sengenès C, Portolan G, et al. Adipocyte produces matrix metalloproteinases 2 and 9 involvement in adipose differentiation. Diabetes, 2001, 50(9):2080-2086.

[9] Jeschke MG, Herndon DN, Ebener C, et al. Nutritional intervention high in vitamins, protein, aminoacids, and omega3 fatty acids improves protein metabolism during the hypermetabolic state after thermal injury. Arch Surg, 2001, 136(11):1301-1306.

[10] Zuk PA, Zhu M, Ash JP, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. Mol Biol Cell, 2002, 13(12):4279-4295.

(收稿日期:2007-12-04)

(本文编辑:罗勤)

· 技术与方法 ·

介绍一种瘢痕注射推进器

岳长路 蔡景龙

增生性瘢痕和瘢痕疙瘩组织致密、坚硬,注射时用力较大。为了解决瘢痕药物注射的困难,笔者设计了一种方便、省力的注射推进器。临床应用效果较好,并取得了实用新型专利(专利号:200420065642.1)。

注射推进器由注射器固定架和螺旋推进杆组成。前端为抓钩,两侧为抓钩臂,抓钩臂外面套有可移动的固定环。固定架尾端的圆盘中心有一个螺孔,旋转推进杆装在螺孔中,其前端为与注射器活塞接触的压柄,螺旋推进杆的尾端为旋转手柄,旋转手柄可以制成 T 形、燕尾形或圆形。注射推进器固定架制成能够将尾端折曲的臼状关节连接在一起并可开大或收小的两部分,以方便其拆装及与各种型号的注射器配套使用。旋转推进杆起到推进注射器活塞的作用。因旋转手柄的长度和旋转推进杆直径的比例相差 5~10 倍,根据杠杆原理,注射旋转推进时就能省同样倍数的力。旋转推进杆和注射器的接触部分制成平滑型或半球形,以防止在旋转推进时与注射器活塞绞轧。2 个抓钩臂起到固定注射器管筒的作用。注射器固定架尾端的圆盘直径约 3 cm,是根据中等注射器的直径而制成,前端的注射器两侧抓钩长度之和加最小注射器的直径,应大于注射器固定架尾端圆盘的直径,以利注射药物时抓钩固定环套紧抓钩臂。见图 1。注射器抓钩与注射器的接触部分为一段凹型的圆弧,注射前,将装有药物的不同型号的注射器夹卡在两抓钩间并套紧固定环,旋转手柄即可达到对坚硬瘢痕组织进行高压注射的目的。该推进器采取了旋转推进的方法,其操作方便、省时省力,与其他注射工具^[1]相比,它可与各种不同型号的注射器

配套使用,特别适用于向致密组织或需要注射较多液体的部位加压注射。

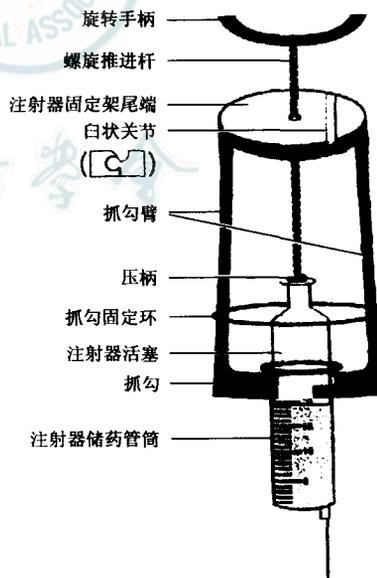


图 1 瘢痕注射推进器示意图

参考文献

[1] 杨苓山,周德,孙建忠. 用于瘢痕注射的注射器助力件. 中华烧伤杂志,2003,19(2):103.

(收稿日期:2007-06-04)

(本文编辑:张红)

作者单位:044000 山西省运城市中心医院烧伤整形科(岳长路);山东医科大学第二医院整形美容科(蔡景龙)