

凝血酶肽促进缺血创面愈合与皮瓣存活的实验研究

黄跃生 杨宗城 黎鳌 L. Sower DH Carney

【摘要】 目的 探讨凝血酶受体激活肽(TP508)对促进缺血创面愈合与皮瓣存活的作用。**方法** SD大鼠66只,制作部分缺血创面(16只)、完全缺血创面(16只)、正常创面(18只)及皮瓣(16只)模型,每一模型又分为TP508治疗组和等渗盐水对照组。术后第3、7、10、14天,将创面或皮瓣坏死轮廓描记至醋酸纸上,输入计算机求出创面面积或坏死面积。**结果** 术后7d和14d,TP508组正常创面面积仅为对照组的73.7%和45.4%。术后7d,TP508组部分缺血创面面积为(99.8±30.7)mm²,而对照组为(128.0±43.4)mm²。术后第10天,TP508组完全缺血创面面积为(293.0±34.0)mm²,对照组为(352.4±41.2)mm²。术后第7天,TP508组皮瓣坏死面积为对照组皮瓣坏死面积的80.4%,第14天为56.8%。**结论** TP508对促进大鼠缺血创面愈合和皮瓣存活均有显著作用。

【关键词】 凝血酶肽类; 创面愈合; 皮瓣

An experimental study of the effects of thrombin receptor activating peptide (TP508) on healing of ischemic wound and flap survival in rats. HUANG Yuesheng, YANG Zongcheng, LI Ao, et al. Institute of Burn Research, Southwestern Hospital, The Third Military Medical University, Chongqing 400038, P. R. China

【Abstract】 Objective To investigate the effects of the thrombin receptor activating peptide (TP508) on healing of ischemic wound and flap survival in rats. **Methods** Sixty-six Sprague-Dawley rats were employed as the model. On the back of the rats, three kinds of wound and flap were made to establish four groups as follows: partial ischemic wound in 16, full ischemic wound in 16, routine wound in 18 and flap in 16 rats. Each group was further divided into TP508 treating group and isotonic saline control group. The total and necrotic areas of the wounds and flaps were duplicated on acetate papers and calculated with a computer on the 3rd, 7th, 10th and 14th post-operation days (PODs). **Results** In routine wounds, the ischemic wound area treated by TP508 was 73.7% and 45.4% in saline control groups on 7 and 14 (PODs), respectively. While in the flap model, the necrotic flap area treated by TP508 was 80.4% and 56.8% in control groups on 7 and 14 (PODs), respectively. **Conclusion** TP508 could accelerate healing of ischemic wound and improve flap survival in rats.

【Key words】 Thrombin Receptor Activating Peptide; Wound Healing; Flap

如何提高缺血性创面的愈合速度和皮瓣存活率仍是一个尚待解决的问题。现已证明,凝血酶除了其血液凝固作用外,还可刺激成纤维细胞、表皮细胞增生等^[1],在促进创面愈合方面也起重要作用。由美国 Peninsula 实验室合成的凝血酶受体激活肽(TP508),其特点是对与创面愈合有关的“修复细胞”的分裂增殖起“击发”作用。因此,单次小剂量应用即有明显效果,但对缺血性创面愈合及皮瓣存活的作用尚不清楚。本实验对此进行了探讨。

材 料 与 方 法

一、动物实验

成年SD大鼠66只,体重280~340g,经吸入

异氟烷和腹腔注射苯巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉后脱毛,制作以下4种模型:(1)部分缺血创面模型:16只。先在大鼠背部5 cm×6 cm范围内作4个直径1.5 cm达深筋膜平面的圆形皮肤切除创面,然后在两侧作长5 cm的皮肤切口,游离后形成一双蒂皮瓣,再缝合两侧切口,分两组进行治疗。TP508治疗组(8只):在每一圆形皮肤切除创面应用0.1 μg TP508;等渗盐水对照组(8只):于每一圆形皮肤切除创面应用40 μl等渗盐水作为对照。(2)完全缺血创面模型:16只。先在大鼠背部5 cm×6 cm范围内作两个直径1.5 cm的圆形切除创面,然后沿四周作长5 cm和宽6 cm的切口,游离整块皮肤组织,然后回复原位,缝合四周切口。用上法处理每一圆形皮肤切除创面。(3)皮瓣模型:16只。在大鼠背部中央设计并制作蒂部在尾端的带蒂皮瓣(5 cm×1 cm),于皮瓣下(供瓣区)应用0.16 μg TP508(8

作者单位:400038 重庆,第三军医大学西南医院全军烧伤研究所(黄跃生、杨宗城、黎鳌);美国德克萨斯大学加尔维斯顿医学分校人类生物化学与遗传学系(L. Sower, DH Carney)

只)或 64 μl 等渗盐水(8 只)。(4)正常创面模型: 18 只。在大鼠背部作 4 个直径 1.5 cm 圆形皮肤切除,创面用 0.1 μg TP508(9 只)或等量盐水(9 只)。

手术完毕大鼠单笼喂养,于术后 3、7、10、14 d,观察并用醋酸纸描记圆形切除创面和皮瓣坏死轮廓,用 JAVA Jandel 和 IMAGE PRO 图形处理软件计算圆形切除创面面积和皮瓣坏死面积。

二、统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,并进行 t 检验。

结 果

1. TP508 对部分缺血创面愈合的作用:术后第 7 天,经 TP508 处理的部分缺血创面面积为(99.8 ± 30.7)mm²,而等渗盐水对照组创面面积为(128.0 ± 43.4)mm²,两者差异有显著性意义(P < 0.05)。

2. TP508 对完全缺血创面愈合的作用:术后第 10 天,经 TP508 处理的完全缺血创面面积[(293.0 ± 34.0)mm²]显著小于等渗盐水对照组[(352.4 ± 41.2)mm²],两者差异有非常显著性意义(P < 0.01);术后第 14 天,虽两组创面面积均进一步缩小,但 TP508 治疗组[(271.2 ± 50.6)mm²]仍较等渗盐水对照组[(327.9 ± 67.4)mm²]小约 17%,两者差异有显著性意义(P < 0.05)。

3. TP508 治疗组与等渗盐水对照组创面面积比率:为了解 TP508 促进正常和缺血创面愈合的程度,还分析了 TP508 治疗组创面对于盐水对照组创面面积比率。表 1 显示,伤后第 7 天,经 TP508 处理的正常创面为盐水组的 73.6%,14 d 时仅为 45.5%,提示 TP508 处理的正常创面愈合速度为盐水组的 2 倍以上。经 TP508 处理的部分缺血创面面积约为盐水组的 80%,提示创面愈合加速 20%。而经 TP508 处理的完全缺血创面面积则约为对照组的 83%,创面愈合速度加快 17%。

表 1 TP508 治疗组创面面积与盐水组比率 (%)

Tab 1 The wound area in TP508 - treated group and its ratio to that in saline group (%)

模 型	术后时间 (d)	创面面积(mm ²)		面积比率 (%)
		TP508 组	盐水组	
正常创面	7	64.6 ± 21.0	87.7 ± 31.0	73.6
正常创面	14	19.3 ± 17.0	42.5 ± 15.0	45.5
部分缺血创面	7	99.8 ± 30.7	128.0 ± 43.4	78.0
完全缺血创面	10	293.0 ± 34.0	352.4 ± 41.2	83.2
完全缺血创面	14	271.2 ± 50.6	327.9 ± 67.4	82.7

4. TP508 对皮瓣存活的影响:以皮瓣缺血坏死面积作为判断皮瓣成活的指标。术后不同时相点,TP508 处理组皮瓣缺血坏死面积均小于等渗盐水组,除术后第 3 天两组无显著差异外,第 7 和 14 天

均有显著差异(P < 0.05)。随着时间的延长,TP508 与盐水组皮瓣坏死面积比值逐渐减少(图 1)。

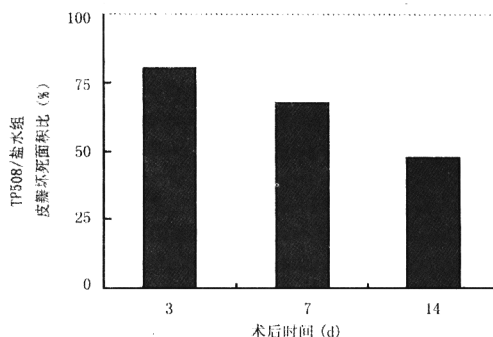


图 1 TP508 对大鼠背部皮瓣存活的作用

Fig 1 The effects of TP508 on the survival of the flap on the rat back

讨 论

生长因子在创面愈合过程中起重要作用。但外源性生长因子存在以下潜在缺点:非重组产品具有过敏等副作用;过度刺激成纤维细胞等增生,导致瘢痕形成;有潜在全身性作用或致细胞转化作用^[2]。而使用非重组的肽类,如 TP508 (人凝血酶原分子序列第 508 ~ 530 个氨基酸残基,可特异性激活细胞表面的高亲和性凝血酶受体,刺激细胞分裂和趋化),则既可刺激细胞增生、促进创面愈合,又极少产生全身性作用。Carney 等^[3]提出,单次应用 TP508 即可显著增加大鼠皮肤切口撕裂力。术后 7 d,TP508 治疗组皮肤切口撕裂力约等于等渗盐水对照组 11.5 d 的切口撕裂力。TP508 也能加速正常大鼠和愈合能力受损大鼠皮肤切除创面的愈合^[4],在大鼠背部直径 2 cm 正常圆形皮肤切除创面应用 TP508 后 8 ~ 10 d,创面较等渗盐水对照组缩小 40% ~ 50%,表明其愈合速度较对照组增加 80% ~ 100%^[2]。本实验结果显示,单次应用 TP508 可显著加速大鼠部分缺血和完全缺血创面的愈合,减少带蒂皮瓣缺血与坏死程度,缩小坏死范围。

TP508 促进创面愈合的作用,随创面缺血程度的不同,其强度也不同。本实验结果显示,TP508 处理的正常创面愈合速度是对照组的 2 倍以上,并随着时间的延长,其作用愈明显。在部分缺血创面,TP508 治疗组创面愈合速度较对照组加速 20%。而在完全缺血创面,仅使创面愈合速度加速 17%。这种差异提示,TP508 促进创面愈合作用的强度可能与创面的血供有关。表明尽管 TP508 可显著加速创面的愈合过程,但创面愈合速度同时也受缺血程度的影响。

TP508 促进创面愈合的机制尚未完全阐明,已

知氧自由基在缺血损伤中起重要作用。在缺血性创面模型,防止皮肤组织或皮瓣缺血损伤对缺血组织或皮瓣的存活和愈合是至关重要的措施。Senel 等^[5]提出,氧自由基是缺血性创面愈合失败的重要因素。抗氧化剂可部分改善缺血性皮肤创面的愈合。Carney 等^[3]的研究显示,TP508 可增加基质形成,促进中性粒细胞聚集,促进血管再生,增加 I 型胶原纤维形成和促进上皮化。在糖尿病慢性溃疡创面,TP508 可通过使中性粒细胞聚集和活化,提高其吞噬和杀菌能力,从而促进创面愈合。因此,在缺血创面,TP508 促进创面愈合的机制可能包括促进毛细血管生成,引发对创面愈合和防止感染所必须的早期炎症反应以及促进上皮化等。

参 考 文 献

- 1 黄跃生,杨宗城,DH Carney,等. 凝血酶肽类对创面愈合及表皮细胞增生与移行中的作用研究. 中华烧伤杂志,2000,16:26-29.
- 2 Stiernberg J, Redin WR, Warner WS, et al. The role of thrombin and thrombin receptor activating peptide (TRAP-508) in initiation of tissue repair. Thrombosis and Haemostasis,1993,70: 158-162.
- 3 Carney DH, Mann R, Readin WR, et al. Enhancement of incisional wound healing and neovascularization in normal rats by thrombin and synthetic thrombin receptor-activating peptides. J Clin Invest,1992, 89:1469-1477.
- 4 Warren WC, Mustoe TA, Glenn KC. Tissue repair by thombin-derived peptides in the rat. Peptide Res,1992,5: 331-335.
- 5 Senel O, Cetinkale O, Ozbay G, et al. Oxygen free radicals impair wound healing in ischemic rat skin. Ann Plast Surg,1997,39: 516-523.

(收稿日期:2000-04-26)

(编辑:张 宁)

经验交流 ·

特重烧伤的综合治疗

曾元临 李国辉 肖长辉 毛远桂 辛国华 苏子毅

分析比较江西烧伤中心 1990 年成立前后,对特重度烧伤的不同救治方法及结果,以期不断总结经验,努力提高临床救治水平。

一、一般资料

1. A 组:为 1973~1988 年收治的 376 例特重度烧伤患者,男 284 例,女 92 例,平均年龄 27.7 岁。烧伤面积 50%~98%,平均 63.87% TBSA。Ⅲ度烧伤面积 10%~60%,平均 32.55% TBSA。

2. B 组:为 1990~1999 年收治的 682 例特重度烧伤患者,男 475 例,女 207 例。平均年龄 26.5 岁。烧伤面积 50%~100%,平均 65.13% TBSA。Ⅲ度烧伤面积 10%~70%,平均 34.06% TBSA。

二、治疗方法

A 组患者使用传统方法治疗,即静脉输血、补液抗休克,创面换药至肉芽创面植皮等。

B 组患者使用以下综合治疗方法:

1. 早期抗休克:(1)一般情况下按公式进行补液,遇到延迟复苏、特殊烧伤(如电烧伤、化学烧伤)或并发复合伤时根据实际情况酌情增减补液量。(2)1992 年以来采用量子血治疗烧伤休克期患者,对补充血容量提高氧分压,降低血粘度改善微循环,起到了一定作用^[1]。

2. 创面处理:(1)浅Ⅱ度创面清创后,用辐照氟银猪皮覆盖,术后第 2 天去除外敷料,暴露猪皮至自然脱落,创面愈合时间(11.05±4.37)d。(2)深Ⅱ度创面行削痂后猪皮覆盖术,创面愈合时间(13.84±3.77)d,少许肉芽创面行邮票植皮术。(3)Ⅲ度创面通常在伤后 4~7 d 切痂,猪皮覆盖嵌

植自体皮,猪皮粘附时间为(20.63±5.55)d。或自体微粒皮移植后猪皮覆盖,猪皮粘附创面的时间约(21.5±3.42)d。(4)应用皮瓣和肌皮瓣修复深度烧伤组织。(5)注意选择性创面用药。

3. 并发症的处理:(1)防治感染。特重烧伤患者败血症出现早且来势凶猛,宜在早期甚至是休克期使用广谱强效抗生素如复达欣、舒普深等,必要时使用大扶康预防真菌感染。适时应用利尿剂消肿同时促进体内毒素及代谢产物排出,改善心脏功能。(2)预防应激性溃疡。(3)预防急性肾功能衰竭。条件允许时最好进行腹膜透析或血液透析,治疗肾衰恢复肾功能。

4. 吸入性损伤的治疗:(1)对已确诊合并重度吸入性损伤患者应尽早进行气管切开。(2)及时导管给氧或使用呼吸机进行机械通气。(3)加强雾化吸入,保持呼吸道通畅。

5. 营养支持:适时选择完全肠道外营养或肠道营养。

6. 增强免疫力:烧伤后 T 淋巴细胞亚群的变化与烧伤程度密切相关,表现为 CD8 细胞增多,CD4/CD8 比值减少甚至倒置,以伤后 8~15 d 表现最为明显,同时 NK 细胞数量也出现下降。因此针对性地使用胸腺五肽、CD3AK 细胞、白介素 2 等,可以改善和提高患者的免疫功能。

随着烧伤医学研究的不断深入,烧伤治疗已从 20 世纪 70 年代的对症处理发展为现在的综合治疗,笔者单位死亡率因此由 46.28% 降为 33.72%,极大的提高了抢救成功率。

参 考 文 献

- 1 曾元临,李国辉,吴燮卿,等. 量子血治疗烧伤低氧血症 112 例体会. 中华整形烧伤外科杂志,1996,5:397-398.

(收稿日期:2000-03-08)

(编辑:赵 云)