

局部应用胰岛素对烫伤大鼠创面愈合的影响

刘琰 章雄 张志 方培耀 许伟石

【摘要】 目的 观察局部应用小剂量胰岛素对烫伤大鼠创面愈合的影响,探讨其可能的作用机制。方法 制作深Ⅱ度烫伤大鼠模型。部分大鼠创面下浸润注射 0.1、1.0 U 胰岛素,分别设为 B、C 组;以创面下浸润注射等渗盐水(A组)和腹部皮下注射 0.1 U 胰岛素(D组)的烫伤大鼠作为对照。记录各组创面愈合时间,伤后 3 d 起隔日计算 A、B、C 组的创面愈合百分率。观察各组创面愈合后的组织形态学改变,采用流式细胞仪对各组创面表皮细胞进行细胞周期分析,并测定血糖浓度的变化。结果 A、B、C、D 组创面愈合时间分别为(24.57 ± 5.19)、(18.36 ± 4.12)、(21.46 ± 2.97)、(24.50 ± 1.05) d, B 组较其他 3 组明显缩短($P < 0.01$)。伤后 5、9、11、13、15、17、19 d B 组创面愈合率均明显高于 A 组,且伤后 17 d 时明显高于 C 组($P < 0.05 \sim 0.01$)。组织形态学观察可见 A 组表皮层薄,钉脚数量少,真皮层内多见纤维细胞;B、C 组表皮层增厚,钉脚数量多,真皮层内多见成纤维细胞。B 组伤后 4 d S 期细胞比例明显高于 A 组($P < 0.01$);B 组伤后 4、5 d G2-M 期细胞比例均明显高于 A、C 组($P < 0.05 \sim 0.01$)。烫伤后 24 h A 组血糖波动在 3.42 ~ 4.62 mmol/L;B 组血糖变化规律与 A 组相似;C、D 组注射后 1 h 血糖明显降低($P < 0.01$),注射后 4 h 逐渐恢复正常。结论 局部应用小剂量胰岛素能明显地促进烫伤大鼠创面愈合,胰岛素可加速修复细胞的增殖分裂可能是其作用机制之一。

【关键词】 烧伤; 胰岛素; 伤口愈合; 细胞周期; 血糖

Effects of topical application of insulin on the wound healing in scalded rats LIU Yan, ZHANG Xiong, ZHANG Zhi, FANG Pei-yao, XU Wei-shi. Department of Burns, Ruijin Hospital, Shanghai Second Medical University, Shanghai 200025, P. R. China

【Abstract】 Objective To investigate the effects of topical application of small dose of insulin on the wound healing of the scalded rats, so as to explore its mechanism. Methods The rats employed in the study were subjected to deep partial thickness burn and were divided into group A (with subcutaneous injection of isotonic saline into the rat wounds as control), B and C (with subcutaneous injection of 0.1 U and 1 U insulin in the rat wounds respectively) and D (with subcutaneous injection of 0.1 U insulin in the rat abdomen as control). The wound healing time and wound healing rate were assessed every other day after 3 post-burn days (PBDs). The histological changes of the wounds after injection were examined, the changes in the cell cycle of epidermal cells in the wound were analyzed by flow-cytometry, and blood glucose concentration of each group was determined. Results The wound healing time in group B (18.36 ± 4.12 d) was significantly shorter than that in other groups (A: 24.57 ± 5.19 d, C: 21.46 ± 2.97 d, D: 24.50 ± 1.05 d, $P < 0.01$). The wound healing rate of the rats in group B in 5, 9, 11, 13, 15, 17 and 19 PBD was obviously higher than that in group A, and was markedly higher than that in group C on 17 PBD ($P < 0.05 \sim 0.01$). The epithelial layer was thinner with less epidermal nails but much more fibroblasts in epidermal layer in group A, while the epithelial layer was thicker with abundant epidermal nails in group B and C with many fibroblasts in the dermis. The amount of cells in S phase at 4 PBD in group B was dramatically higher than that in group A, and cells in G2M phase at 4-5 PBD in group B was also higher than that in group A and C ($P < 0.05 \sim 0.01$). The blood level of glucose in group A and B fluctuated between 3.42 to 4.62 mmol/L at 24 PBH, while that in group C and D decreased obviously 1 hour after injection ($P < 0.01$), but gradually returned to normal 4 hours after injection. Conclusion Local injection of small dose of insulin may accelerate burn wound healing due to its role in promoting the proliferation and division of the repairing cells.

【Key words】 Burn; Insulin; Wound healing; Cells cycle; Glucose

作为一种合成激素,胰岛素被应用于大面积烧伤的治疗中,以纠正负氮平衡。胰岛素增加蛋白合成的功能提示其在创面愈合过程中可能发挥着一定

作用,有关报道^[1,2]支持了这一设想。笔者于深Ⅱ度烫伤大鼠背部创面局部应用小剂量胰岛素,观察其对血糖浓度和创面愈合的影响,并从细胞增殖的角度探讨其可能的作用机制,为在烧伤治疗中安全应用胰岛素提供理论依据。

作者单位:200025 上海第二医科大学瑞金医院烧伤科

材 料 与 方 法

1. 动物模型及分组: 清洁级 SD 大鼠(上海必凯-西普尔实验动物有限公司)78 只, 雌雄不拘, 体重 200 ~ 250 g。将其背部浸入 80℃ 水中 5 s, 造成 10% TBSA 深 II 度烫伤, 创面暴露, 腹腔内注射乳酸钠林格液 5 ml 复苏。动物随机分为 4 组: A 组 24 只, 创面下浸润注射 2 ml 等渗盐水。B、C 组各 24 只, 分别将 0.1、1.0 U 长效混悬锌胰岛素(上海生物化学制药厂, 批号 0108035) 稀释于 2 ml 等渗盐水中, 于创面下浸润注射。D 组 6 只, 将 0.1 U 胰岛素稀释于 2 ml 等渗盐水中行腹部皮下注射。各组均自伤后 1 d 开始注射, 隔日 1 次, 直至创面愈合。

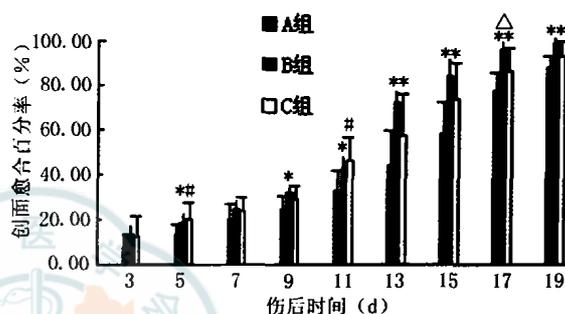
2. 观察项目: (1) 创面愈合时间及愈合百分率: 每组取 6 只动物, 记录其创面愈合时间, 其中 A、B、C 组的 6 只大鼠自伤后 3 d 起用透明描图纸隔日描记创面大小, 扫描入计算机。创面愈合百分率 = (烫伤总面积 - 未愈合创面面积) ÷ 烫伤总面积 × 100%。(2) 表皮细胞周期分析: A、B、C 组各取 6 只大鼠, 于伤后 2、3、4、5、6、10、14 d 取创缘 1 cm 宽皮肤组织, 用 2.5 g/L 胰蛋白酶消化, 制备表皮细胞悬液。取 5×10^4 个细胞, 加入 RNA 酶 100 μ l、碘化丙啶(PI) 100 μ l, 采用流式细胞仪(美国 BD 公司)分析细胞周期。(3) 组织学观察: A、B、C 组各取 6 只大鼠, 于创面愈合日处死, 取小块愈合创面组织固定于体积分数 10% 甲醛溶液中, 行 HE 染色。(4) 血糖浓度测定: 各组取 6 只大鼠, 分别于首次注射胰岛素前及注射后 1、2、3、4、6、8、10、12、24 h 取尾部血, 应用 One-Touch 型血糖仪(美国强生公司)测定血糖浓度。

3. 统计学处理: 数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 *t* 检验进行分析。

结 果

1. 创面愈合时间: A、B、C、D 组的创面愈合时间分别为(24.57 ± 5.19)、(18.36 ± 4.12)、(21.46 ± 2.97)、(24.50 ± 1.05) d, B 组明显短于 A、C、D 组 ($P < 0.01$), C 组明显短于 A 组 ($P < 0.05$), D 组与 A 组比较, 差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。

2. 创面愈合百分率: 伤后 5、9、11、13、15、17、19 d B 组创面愈合率高于 A 组 ($P < 0.05 \sim 0.01$); 伤后 5、11 d C 组高于 A 组 ($P < 0.05$); 伤后 17 d B 组高于 C 组 ($P < 0.05$), 见图 1。



注: B 组与 A 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; C 组与 A 组比较, # $P < 0.05$; B 组与 C 组比较, $\Delta P < 0.05$

图 1 3 组大鼠烫伤后各时相点的创面愈合百分率

Fig 1 The wound healing percentage of the scalded rats in the 3 groups at different time points

3. 细胞周期: (1) B 组伤后 4 d S 期细胞比例明显高于 A 组 ($P < 0.05$); B、C 组组内伤后 4 d 与 3 d 比较, A 组伤后 5 d 与 4 d 比较, 差异均有显著性意义 ($P < 0.05$)。 (2) A、C 组伤后 4、5 d G2-M 期细胞比例低于 B 组 ($P < 0.05 \sim 0.01$)。见表 1。

4. 组织形态学观察: A 组表皮层薄, 钉脚数量少, 真皮层内以肥大的纤维细胞为主(图 2); B、C 组表皮层厚度增加, 钉脚数量多, 分化良好, 多见梭形、多角形的成纤维细胞(图 3)。

表 1 3 组大鼠烫伤后各时相点创缘表皮细胞 S、G2-M 期细胞比例的变化(%, $\bar{x} \pm s$)

Tab 1 The changes in the percentage of cells in S and G2-M phase among the epidermal cells at the edge of wound in A, B and C groups at different time points(%, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	伤后时间 (d)							
		2	3	4	5	6	10	14	
A 组	6	S 期	24.67 ± 12.84	28.21 ± 7.32	25.63 ± 9.37	34.69 ± 7.45 [▲]	41.25 ± 24.62	42.46 ± 23.07	21.65 ± 12.90
		G2-M 期	0.48 ± 0.35	0.34 ± 0.25	0.70 ± 0.50 ^Δ	0.16 ± 0.09 ^{ΔΔ}	0.49 ± 0.29	0.83 ± 0.48	0.42 ± 0.24
B 组	6	S 期	25.99 ± 10.86	24.39 ± 8.71	39.50 ± 12.7 [*]	33.59 ± 12.26	40.38 ± 29.40	36.81 ± 15.22	19.94 ± 7.88
		G2-M 期	0.43 ± 0.41	0.42 ± 0.31	1.38 ± 0.60	0.76 ± 0.34	0.62 ± 0.19	0.80 ± 0.81	0.51 ± 0.19
C 组	6	S 期	27.03 ± 9.56	21.48 ± 8.40	31.91 ± 8.61 [▲]	35.07 ± 13.69	42.59 ± 28.09	39.52 ± 15.32	18.28 ± 6.21
		G2-M 期	0.44 ± 0.24	0.35 ± 0.37	0.52 ± 0.53 ^Δ	0.13 ± 0.29 ^{ΔΔ}	0.54 ± 0.39	0.86 ± 0.68	0.51 ± 0.20

注: B 组与 A 组同指标比较, * $P < 0.05$; B、C 组伤后 4 d 与 3 d 比较, A 组伤后 5 d 与 4 d 比较, [▲] $P < 0.05$; 与 B 组同指标比较, ^Δ $P < 0.05$, ^{ΔΔ} $P < 0.01$

表 2 4 组烫伤大鼠注射后各时相点血糖浓度的变化 (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

Tab 2 The Changes in blood concentration of glucose at different time points after insulin injection in each group (mmol/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	鼠数	注射前	注射后时间(h)				
			1	2	3	4	6
A 组	6	3.79 ± 0.35	3.67 ± 0.23	3.77 ± 0.27	3.43 ± 0.42	3.68 ± 0.66	3.94 ± 1.00
B 组	6	3.75 ± 0.79	3.79 ± 0.58	3.74 ± 0.89	3.71 ± 0.51	3.64 ± 0.50	4.17 ± 1.27
C 组	6	3.57 ± 0.49	1.79 ± 0.46**	1.52 ± 0.42**	2.51 ± 1.11*	3.84 ± 1.10	4.20 ± 0.62
D 组	6	3.12 ± 0.60	2.58 ± 0.21**△△	3.15 ± 0.69**	3.52 ± 0.58	3.60 ± 0.90	3.80 ± 0.44

注:与 A 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 B 组比较, △△ $P < 0.01$

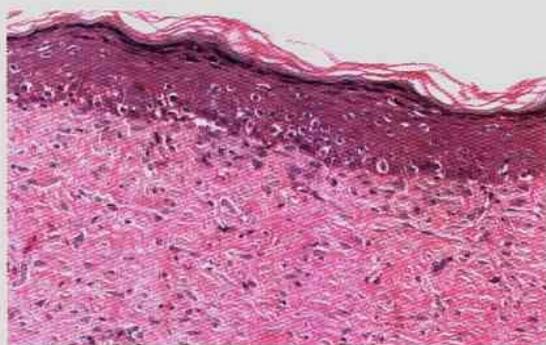


图 2 A 组大鼠烫伤后 25 d 创面组织切片 HE × 200
Fig 2 Tissue slices of the scalded rat wound in group A at 25 PBD HE × 200

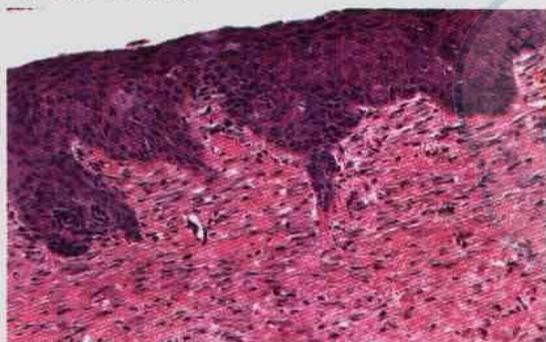


图 3 B 组大鼠烫伤后 19 d 创面组织切片 HE × 200
Fig 3 Tissue slices of the wound in scalded rats in group B at 19 PBD HE × 200

5. 血糖浓度的变化: 注射胰岛素前 A、B、C、D 组血糖浓度差异无显著性意义 ($P > 0.05$)。烫伤后 24 h A 组血糖波动在 3.42 ~ 4.62 mmol/L; B 组血糖变化规律与 A 组相似 ($P > 0.05$); C、D 组注射后 1 h 血糖开始降低 ($P < 0.01$), 4 ~ 24 h 逐渐恢复正常, 见表 2 [注射后 8 ~ 24 h 各组内及组间比较, 血糖浓度差异无显著性意义 ($P > 0.05$), 数据略去]。

讨 论

烫伤大鼠和烫伤家兔应用胰岛素可抑制机体蛋白降解、促进蛋白合成, 严重烧伤患者接受大剂量胰岛素治疗后骨骼肌蛋白合成量增加³⁻⁶。Pierre 等¹¹在大面积烧伤患者中应用胰岛素, 观察到创面愈合速度加快、创面层粘连蛋白和 IV 型胶原量等增加, 提示胰岛素可能具有促进创面愈合的作用。在他们的研究中胰岛素用量为 25 ~ 49 U/h, 需补充葡

萄糖以维持正常血糖浓度。创面局部应用胰岛素可充分发挥其药效, 减少用量以及对全身代谢的影响, 但胰岛素的渗透性不强。因此本研究中笔者采用皮下浸润注射的方法, 以保证局部组织中的胰岛素浓度。笔者在前期实验中观察到, 创面下浸润注射或常规皮下注射相同剂量的胰岛素后, 前者不会对血糖造成明显影响, 而后者可使血糖降低; 后者的血浆胰岛素水平为 (43.9 ± 17.23) $\mu\text{U/ml}$, 明显高于前者 (18.94 ± 3.06) $\mu\text{U/ml}$ ($P < 0.01$)。提示在不同给药途径下胰岛素的吸收量明显不同。

本研究的创面愈合时间和愈合百分率结果显示, 局部应用胰岛素具有明显的促进创面愈合作用, 且这种作用与剂量间存在一定关系, 0.1 U 较 1.0 U 效果更佳。组织形态学观察可见, 以表皮厚度、钉脚数量评价愈合质量时, B、C 组优于 A 组; A 组真皮内以功能相对不活跃的纤维细胞为主, 而 B、C 组多为功能相对活跃的成纤维细胞。表皮细胞周期分析结果显示, B 组 S 期、G2-M 期细胞比例于伤后 4 d 即有明显升高, 较 A、C 组细胞周期提前, 表明创面局部应用小剂量胰岛素后修复细胞的分裂增殖能力增强、功能活跃, 这可能是加快愈合速度、改善愈合质量的细胞学基础。鉴于诸多生长因子 (如表皮生长因子) 具有促表皮细胞增殖的作用⁷¹, 了解它们的变化及其与胰岛素的相互关系, 将有助于阐明胰岛素的作用机制。

本研究结果表明, 胰岛素具有促进创面愈合、改善修复质量的作用。创面下浸润注射小剂量胰岛素是安全、有效的给药方式。

参 考 文 献

- 1 Pierre EJ, Barrow RE, Hawkins HK, et al. Effects of insulin on wound healing. J Trauma, 1998, 44: 342 - 345.
- 2 王伟, 解震河. 表皮生长因子配伍胰岛素在糖尿病慢性伤口愈合中的作用. 河南诊断与治疗杂志, 2001, 15: 198 - 199.
- 3 Solomon V, Madhally S, Mitchell RN, et al. Antiproteolytic action of insulin in burn-injured rats. J Surg Res, 2002, 105: 234 - 242.
- 4 Zhang XJ, Chinkes DL, Wolf SE, et al. Insulin but not growth hormone stimulates protein anabolism in skin wound and muscle. Am J Physiol, 1999, 276: 712 - 720.

- 5 Zhang XJ, Chinkes DL, Irtun G, et al. Anabolic action of insulin on skin wound protein is augmented by exogenous amino acids. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2002, 282: 1308 - 1312.
- 6 Ferrando AA, Chinkes DL, Wolf SE, et al. A submaximal dose of insulin promotes net skeletal muscle protein synthesis in patients with

severe burns. *Ann Surg*, 1999, 229: 11 - 18.

- 7 王世岭, 郭振荣, 周一平, 等. 重组人表皮生长因子促进慢性创面的愈合. *中华创伤杂志*, 1998, 14: 348 - 349.

(收稿日期: 2003 - 07 - 21)

(本文编辑: 罗勤 莫愚)

· 经验交流 ·

指蹼瘢痕粘连畸形的修复

杨建申 常明 柳建中 岳海涛

手部深 II、III 度烧伤常造成指蹼间瘢痕挛缩, 进而形成假蹼、粘连及不同程度的并指畸形。1978 年 1 月 ~ 2000 年 12 月, 笔者单位治疗手部烧伤愈后指蹼瘢痕粘连 926 例, 效果较为满意。

本组患者中男 648 例、女 278 例, 年龄 2 ~ 48 岁。植皮 122 例次, 植皮 + 皮瓣 98 例次, 梯形皮瓣 356 例次, 五瓣成形 456 例次, 食指桡侧皮瓣 22 例次, 指蹼间保留瘢痕并修薄成形指两侧植皮 58 例次, Z 成形皮瓣 32 例次。

虎口瘢痕: 虎口狭小常由外伤及深度烧伤后出现的瘢痕挛缩引起, 其拇指活动受限。而蹼状畸形多由浅度烧伤及手背切/削痂植皮引起, 可分 3 种: (1) 指间瘢痕蹼已软化。一种是指蹼能张开, 但因蹼状牵拉而外观不佳; 另一种是手背切/削痂植皮后形成, 限制手指张开, 以儿童多见。可采用五瓣成形法、双 Z 成形法、单 Z 成形法、梯形皮瓣法等修复, 以达到既能松解, 也能减少切口的目的。(2) 外伤、电击伤、硫酸烧伤等引起虎口瘢痕性挛缩。因伤及肌肉甚至掌腱膜, 其瘢痕硬、粘连深、弹性差、拇指外展及内收均受限, 可采用食指桡侧血管神经束皮瓣、前臂逆行背侧骨间血管蒂岛状皮瓣、腹部带蒂皮瓣等修复。为阻止两指合力, 可在拇指张开状态下用克氏针固定, 使拇指在被动状态下呈外展状, 既能矫正其内收, 也有利于皮瓣的成活。(3) 虎口瘢痕为烧伤后增生性瘢痕。采用 Z 成形法矫正或皮瓣转移有困难时用全厚皮移植, 术后用热型夹板将虎口固定于外展位, 防止皮片早期挛缩。

指蹼间瘢痕粘连: (1) 粘连出现在掌侧或背侧, 常见有瘢痕蹼软化和未软化两种。未软化的瘢痕蹼主要在硬侧切开, 依靠蹼的掌侧面或背侧面残存的皮肤形成皮瓣; 软化的瘢痕蹼则在蹼的正中线切开, 以梯形皮瓣修复(其设计与五瓣相似, 只是三角瓣换为较宽的梯形皮瓣), 松解指蹼、手指

的屈曲牵拉。(2) 粘连齐第 1 指间关节。从指间纵行切开至第 1 指骨中段予缝合, 其余蹼采用梯形皮瓣修复。如直接按梯形皮瓣法切开, 指两侧形成创面后会增加手术的复杂程度。(3) 指间瘢痕性粘连, 间隙小、瘢痕硬且活动差。从指中间纵行切开, 在近掌指关节处形成对偶三角形皮瓣, 两侧创面植皮, 如皮瓣形成困难时也可彻底切除瘢痕行全厚皮移植。(4) 手背瘢痕且指蹼粘连时, 在切除瘢痕的同时切开指蹼间粘连, 并在指蹼处呈鱼尾状切开形成三角形皮瓣, 在手背植皮时将皮片剪开插入切口内, 使皮片和皮瓣呈交叉状。(5) 手指皮瓣断蒂分指时, 切开皮瓣要一侧缝合、另一侧植皮, 防止指两侧同时植皮缝合后在指蹼处形成对偶三角形。

讨论 指蹼修复的时间一般不宜过早, 因为指蹼的粘连主要影响手指张开而对手指的伸屈影响较小, 手术时间可推迟至瘢痕软化后, 以免影响瘢痕增生期手术效果; 若手背瘢痕需早期切除植皮时可一同矫正。切口瘢痕的形成影响手术开大的效果, 正处于发育期的患儿矫正指蹼后, 所形成的切口瘢痕无论硬或软, 对其发育都有影响; 成人指蹼在增生期不宜过早手术, 且切口也不能过多, 否则会因切口瘢痕的再次增生、挛缩影响手术效果。选择手术方法时要根据手局部的伤情, 其原则是: 不伤及血管、神经束; 不影响手指的血液循环; 切开皮瓣时不宜过深; 缝合或压迫时不宜过紧, 以免静脉回流障碍引起手指肿胀、指尖起疱甚至指端坏死等。在止血带下进行手术可减少出血, 术野清晰, 能避免伤及血管、神经束。修复后包扎时压力要适当, 避免指蹼过分张大而裂开; 指蹼间植皮 + 皮瓣修复后需用棉花打包固定, 压力也不能过大, 以免影响皮瓣的血运。总之, 指蹼的修复方法要根据临床情况灵活运用, 创伤越小愈后效果越好。

(收稿日期: 2002 - 06 - 13)

(本文编辑: 苟学萍)

作者单位: 463008 驻马店, 解放军第一五九医院整形科

· 消息 ·

欢迎购买 2000 ~ 2003 年《中华烧伤杂志》电子光盘版

2000 ~ 2003 年《中华烧伤杂志》电子光盘版(CD-ROM)已制作完成。该光盘共 1 张, 介绍了本刊自创刊以来的发展概况, 并收录了 16 ~ 19 卷共 24 期全部图文, 一定程度上展示了我国烧伤医学的发展进程。内容丰富, 版面美观, 便于广大医务工作者检索、阅读与收藏。价格: 180 元(含邮购费), 欢迎购买。汇款请寄: 重庆市沙坪坝区西南医院中华烧伤杂志编辑部, 邮编: 400038, 电话: 023 - 68754670、65460278; 传真: 023 - 65460398, Email: cmashz@mail.tmmu.com.cn。