

· 深 II 度烧伤创面的处理 ·

大鼠深 II 度烧伤创面保留变性真皮并覆盖自体皮疗效观察

刘英 黄晓元 杨兴华

【摘要】 目的 为探讨自体皮覆盖变性真皮修复深 II 度烧伤创面的可行性提供实验依据。

方法 在大鼠背部造成直径 3.5 cm 深 II 度烧伤创面。伤后 2—5 d 行创面浅层削痂保留变性真皮，同时在局部移植大张自体断层皮片。移植前和移植后不同时相点分别切取植皮区全层皮肤，光镜下观察其形态学及胶原纤维变化，并检测其生物力学改变。取移植大鼠同体背部正常皮肤作为对照指标。 **结果** (1)保留的变性真皮为玻璃样变性。(2)大鼠自体皮移植术后 7 d，皮片与创面融合无法分离，光镜下可见真皮乳头及网状层。术后 21 d 移植部位皮肤厚度、结构、形态与正常组织相似，有萎缩毛囊，胶原纤维条索密度逐渐增大接近融合。(3)鼠皮抗拉强度、最大应变值在术后逐渐增大，至 60 d 时接近正常。 **结论** 将自体皮覆盖于变性真皮上用以修复深 II 度烧伤创面，变性真皮能够逐渐复苏，使其结构、形态接近正常。

【关键词】 烧伤； 真皮； 皮肤移植； 削痂

Experimental study of autologous skin grafting on retained denatured dermis for the treatment of partial thickness burn wound LIU Ying, HUANG Xiao-yuan, YANG Xing-hua. Department of Burns and Plastic Surgery, Xiangya Hospital, Changsha 410008, P. R. China

Corresponding author: HUANG Xiao-yuan, Email: huxzhong@yahoo.com.cn, Tel: 0731-4327006

【Abstract】 Objective To provide experimental evidence for the feasibility of repair of deep partial thickness burn wounds with autologous skin grafting on retained denatured dermis. Methods Deep partial thickness burn wounds 3.5 cm x 3.5 cm in size were produced on the back of SD rats. Superficial tangential excision was performed on the burn wounds on 2—5 postburn days with the preservation of denatured dermis. Split thickness autograft was grafted on the wounds immediately. Tissue samples of whole layer of the skin were harvested from the grafted sites at different time points after the skin grafting, with 8 rats in each group. The morphology and the changes in the collagen fibres in the above tissue samples were observed by light microscopy (LM) and the changes in the biodynamics were determined. The normal skin from the same rat receiving skin grafting was employed as the control. Results (1) Vitreous degeneration was observed in the preserved denatured dermis. (2) The grafted skin was fused to the burn wound on the 7th day after autografting in rats. The dermal papillae and reticular layer could be discernible under LM. The thickness, structure and morphology of the skin on the grafted area were similar to normal tissue on the 21st day after grafting with atrophic hair follicles. The density of collagen fiber cord increased gradually, and almost fused at last. (3) The tensile strength, and maximum strain value of the rat skin after operation increased gradually, approaching normal on 60 post-operational day. Conclusion The denatured dermis can recover gradually with normal structure and morphology after the application of autograft on it for the repair of deep partial thickness burn wounds.

【Key words】 Burns; Dermis; Skin transplantation; Tangential excision

深度烧伤创面修复一直是烧伤外科领域的重要研究课题之一，目前基础研究已涉及细胞、分子、基因水平，并在生长因子与创面修复方面取得突破性进展^[1]。但在处理深 II 度或 III 度偏浅的创面时，临床仍然依靠传统手术方式——削痂，期望以此改善局部环境，依靠残留皮肤附件上皮细胞再生修复。笔者根据创面组织细胞序贯坏死的变性特点，采用保留局部变性真皮并在其上覆盖大张自体皮片的做

法，修复手部深 II 度烧伤创面，取得良好的治疗效果^[2]。本文拟从实验观察的角度为这一技术提供相关理论依据。

材 料 与 方 法

一、动物来源及方法

1. 烧伤模型制作:SD 大鼠(中南大学湘雅医学院动物室)36 只,体重 200~300 g,雌雄不限。大鼠背部用 400 g/L 硫化钠脱毛后暴露。将铝圆柱体(直径 3.76 cm,高 3.78 cm,总重 500 g)置于 75 ℃ 热水恒温器中 1 h,取出后立即置于大鼠背部 10 s,

作者单位:410008 长沙,中南大学湘雅医院烧伤整形科

通信(讯)作者:黄晓元,Email: huxzhong@yahoo.com.cn, 电话: 0731-4327006

造成直径 3.5 cm 深 II 度烫伤创面(病理切片证实, 以下称烧伤)。

2. 手术方法: 大鼠烧伤后 2—5 d 麻醉并固定, 背部以碘伏消毒铺无菌巾, 行创面浅层削痂保留变性真皮^[2]。在鼠颈项部取自体全层皮肤并修剪成中厚皮片移植于创面, 缝合。网眼纱布加压包扎, 留数根线反方向行腹部结扎, 供皮区间断缝合。两处创面均用无菌敷料覆盖, 宽胶布包扎固定。单笼喂养, 自由饮水、进食。分别在术后 7、9、14、21、60 d 处死大鼠, 切取移植部位全层皮肤送检, 同时留取移植大鼠背部正常皮肤作为对照。

二、检测指标

1. 大体观察: 观察大鼠移植部位外观的颜色及有无瘢痕等。

2. 组织学检查: 取保留的变性真皮组织及自体皮移植术后 7、9、14、21 d 的局部组织(每时相点 4 只), 以体积分数 10% 甲醛固定, 石蜡包埋切片, 行 HE 及 Van Gieson(VG)染色, 光镜观察。

3. 生物力学检测: 做鼠皮拉伸试验, 比较术后 9、14、21、60 d(每时相点 4 只)移植部位鼠皮抗拉性能, 取移植大鼠自体背部正常皮肤作为对照。将每块标本切成长方形皮条, 双轴工具显微镜上安装测力和位移传感器后, 皮条用夹具固定(图 1)。用 X-Y 函数记录仪绘制鼠皮应力 σ 与应变 ϵ 曲线(图 2)。

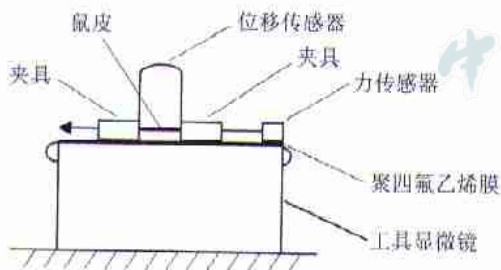


图 1 鼠皮应力 σ 与应变 ϵ 测试信号传递示意图

Fig 1 Sketch of the testing of signal transferring of stress σ and strain ϵ in rat skin



图 2 鼠皮应力 σ 与应变 ϵ 曲线绘制的信号传递方框图

Fig 2 Block diagram of signal transduction plotted by stress σ and strain ϵ in rat skin

三、统计学处理

数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用 SPSS 10.0 统计软件进行单因素方差分析。

结 果

本实验 36 只 SD 大鼠, 除 4 只因移植后固定等原因失败没有列入统计外, 其余 32 只全部成活。

1. 移植部位外观: 术后 4 d, 大鼠移植部位皮片成活、呈粉红色, 但拆线后皮片仍可与创面分离。术后 7 d, 皮片已与创面融合无法分离, 暗红色, 略硬于周围皮肤, 平整光滑, 未见瘢痕及挛缩。14 d 时可见鼠毛散在分布但毛发较细。60 d 时大鼠创面外观与正常部位相同。

2. 组织学观察结果: (1) 保留的变性真皮经组织学检查为玻璃样变性(图 3)。(2) HE 染色: 大鼠自体皮覆盖变性真皮后 7 d, 可见真皮乳头及网状层, 表皮较薄, 生发层细胞呈柱状排列整齐, 有较多毛囊和皮脂腺(图 4)。术后 9 d 表皮逐渐增厚, 表面有角化组织, 角质层、透明层、颗粒层、生发层清晰, 真皮组织中毛囊、皮脂腺减少。术后 14 d, 表皮厚度及形态接近正常, 有明显角化带, 真皮乳头及网状层增厚, 毛囊、皮脂腺萎缩增多。术后 21 d, 表皮结构与术后 14 d 相似, 毛囊萎缩(图 5), 真皮厚度及形态同正常皮肤。(3) VG 染色: 术后 7—21 d, 移植部位标本胶原纤维条索密度逐渐增大, 纤维束增粗接近融合(图 6)。

3. 生物力学检测结果: 大鼠自体皮覆盖变性真



图 3 大鼠深 II 度烫伤创面变性真皮呈玻璃样变性 HE $\times 100$
Fig 3 Vitreous degeneration in denatured dermis in deep partial thickness burn wound of rats HE $\times 100$



图 4 大鼠自体皮覆盖变性真皮后 7 d, 表皮较薄, 可见网状层、生发层及较多皮肤附件 HE $\times 100$
Fig 4 Seven days after the denatured dermis being covered by rat autotransplant, the reticulum, germinal layer and many skin appendage were observed. HE $\times 100$



图 5 大鼠自体皮覆盖变性真皮后 21 d, 表皮、真皮结构接近正常, 毛囊萎缩 HE $\times 100$
Fig 5 Twenty-first days after the denatured dermis being covered by rat autotransplant, the structure of epidermis and dermis was normal with atrophic hair follicle HE $\times 100$



图 6 大鼠自体皮覆盖变性真皮后 21 d, 胶原纤维条索密度较大, 纤维束接近融合 VG $\times 40$
Fig 6 Twenty-first days after the denatured dermis being covered by rat autotransplant, wide and closed collagen fibers were observed VG $\times 40$

皮后,随后时间延长其抗拉强度、最大应变值呈递增趋势,直至接近正常皮肤(表 1)。

表 1 大鼠移植部位皮肤抗拉强度、最大应变的比较($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Comparison of the maximal strain and stretching resistance of the grafted skin in rats($\bar{x} \pm s$)

检测项目	正常值	术后时间(d)			
		9	14	21	60
抗拉强度 (MPa)	2.65 ± 0.25	1.63 $\pm 0.15^*$	1.86 $\pm 0.07^*$	2.15 $\pm 0.19^*$	2.60 ± 0.37
最大应变	0.578 ± 0.024	0.483 $\pm 0.049^*$	0.519 $\pm 0.039^*$	0.527 ± 0.045	0.560 ± 0.045

注:与正常值比较,* $P < 0.05$

讨 论

近几年来异体(种)脱细胞真皮的研制及与自体皮复合移植的临床应用取得一定进展,使创面修复水平明显提高^[3-6],但不足之处是手术操作比较复杂、价格偏贵。常规削痂后移植皮片,由于削痂深度要求至正常组织且见密集出血点,皮片移植后仍有发生继发性挛缩畸形的可能,其原因与创面或移植皮肤所含真皮厚度有直接关系。为保证真皮的足够厚度,笔者单位利用创面自身变性真皮与整张自体中厚皮片复合移植,与传统的手术方式比较:术中出血少,损伤轻微,可避免伤及深部组织结构;能保证术后有足够厚度的真皮及移植皮片的成活,避免或减轻因真皮厚度不足所致的挛缩畸形。但手术操作过程中,变性真皮保留的厚度目前无法精确测量,笔者认为以浅削痂或刮痂至创面有血浆样液体渗出或散在小出血点为宜。

变性真皮是指烧伤创面上虽然发生了组织细胞新陈代谢障碍,细胞功能降低并有形态学的改变,但在局部环境改善后,有可逆性、能恢复正常形态和功能的那部分真皮^[2]。本实验中大鼠烧伤创面切痂后变性真皮呈灰白色、韧性差,光镜下组织结构多为玻璃样变性。用自体皮覆盖变性真皮后,组织学检查结果提示,术后 7 d 真皮乳头和网状层结构形成,变性真皮已复苏至接近正常真皮的状态。变性真皮与自体皮血液循环的建立,决定于创面必须有血浆样液体渗出或散在出血点,便于术后早期为移植皮片提供营养。笔者在较厚的变性真皮上切开多个“#”字形,同时注意移植皮片的包扎固定,避免创面感染。

笔者推测,变性真皮可能保留了大部分真皮的结构即胶原纤维、弹力纤维和网状纤维等,可诱导成

纤维细胞、内皮细胞长入,以合成新的血管和胶原,对自身复苏及所植皮片的成活起到了“模板”作用。而这些真皮组织的存在又是皮片成活后质地相对柔软、挛缩程度及色泽改变减轻的物质基础^[3]。

皮肤的血供较为特殊,从皮下组织至真皮乳头层由深至浅存在 5 级动脉血管网,而发向皮肤的动脉主干窝居于皮下组织中,一边上升一边吻合分支,形成一庞大的树枝状结构。保留变性真皮因为有比较完整的皮下组织,使皮下至真皮乳头层血管系统免遭破坏,有充足的血供促进变性真皮向正常转化并为所植皮片提供营养。本实验结果亦证实,移植自体皮后 7 d 外观皮片已成活且与创面融合无法分离;9 d 时镜下观察表皮内可见角化组织,说明角质形成细胞生长活跃、血运丰富;术后 14 d 移植部位的皮肤结构和形态已接近正常皮肤组织。皮肤的物理性状取决于真皮内的胶原纤维和弹力纤维,胶原纤维较粗,则韧性大、弹性小。本实验结果证实,用自体皮覆盖变性真皮后,胶原纤维逐渐增多,推测与皮肤的韧性逐渐增强有关。

抗拉强度是指鼠皮单位面积所能承受的最大拉力,最大应变是指上述最大拉力下鼠皮所能延伸的最大长度(长度变量)。只有单位面积上的力和这个力下的长度变量(被拉长的长度)才能正确反映生物体的韧性。因此抗拉强度、最大应变值反映了鼠皮的抗拉性能即韧性。本实验生物力学结果证实,大鼠皮肤的抗拉强度、最大应变值从术后 9—60 d 逐渐递增最后接近正常皮肤。

参 考 文 献

- 1 Paul M. Wound healing-aiming for perfect skin regeneration. Science, 1997, 276:75-81.
- 2 黄晓元,杨兴华,雷少榕,等.变性真皮与自体皮复合移植修复手部深度烧伤.中华烧伤杂志,2001,17:60-61.
- 3 柴家科,杨红明,李利根,等.去细胞异体真皮、去细胞猪真皮和自体刃厚皮移植在临床中的应用.中华外科杂志,2000,38:790-793.
- 4 贾生贤,金曙雯,陈玉英,等.无细胞真皮的研制.实用美容整形外科杂志,2000,11:59-62.
- 5 潘圣鑫,朱小平,苏为,等.无细胞异种真皮基质与自体头皮薄片复合移植的临床研究.医学文选,2002,21:137-139.
- 6 陈斌,付晋凤,曹文德,等.异种脱细胞真皮和自体刃厚皮片复合移植修复关节部深度烧伤创面.中国修复重建外科杂志,2001,15:343-346.

(收稿日期:2003-03-21)

(本文编辑:王旭)