

红光促进难治性创面愈合的研究

胡明玉 李 倩 章宏伟[△]

(南京医科大学第一附属医院整形烧伤外科 江苏 南京 210029)

摘要 目的 探讨红光照射对难治性创面的创缘组织中血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达及治疗难治性创面的临床效果。方法 收集 2008 年 6 月-2010 年 12 月因难治性创面入住笔者单位治疗的 40 例患者,按治疗方法分为红光照射治疗组 20 例和常规治疗组 20 例。常规治疗组患者创面以 0.5%碘伏与水胶体敷料换药。治疗组在常规治疗的基础上加用红光照射。于治疗后第 7 天、14 天、21 天切取创缘组织,研究红光照射对创缘组织中 VEGF 的影响,并比较两组患者的创面愈合率和愈合时间。结果 临床实验中,治疗组创缘组织中的 VEGF 含量明显高于对照组($P<0.01$),治疗组创面愈合率明显高于对照组($P<0.01$),治疗组的愈合时间低于对照组($P<0.05$)。结论 红光照射能显著提高创缘组织中 VEGF 含量,减少创面愈合时间,促进愈合。

关键词 红光照射;难治性创面;VEGF;创面愈合

中图分类号 R644 文献标识码 A 文章编号:1673-6273(2011)07-1346-03

Effect of Red LED Irradiation on Wound Healing

HU Ming-yu, LI Qian, ZHANG Hong-wei[△]

(Department of Plastic and Reconstructive Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

ABSTRACT Objective: To study the effect of red LED irradiation on the vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in wounded tissue and its clinical effects. **Methods:** Immunohistochemical staining was used to detect the expression of VEGF in the wounded tissue in different time, the rate of wound surface healing and time of wound healing were also observed. **Results:** VEGF was expressed in the process of wound healing. The expression of VEGF in red LED irradiation group was higher than that in the control group. **Conclusion:** red LED irradiation could increase the expression of VEGF in the wounded tissue and promote wound healing.

Key words: Red LED irradiation; Refractory wounds; VEGF; Wound healing

Chinese Library Classification(CLC): R644 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2011)07-1346-03

前言

红光是指波长 600~700nm,可以对生物体产生光化学作用的光线。红光可直接作用于血管、淋巴管、神经末梢和皮下组织等而发挥着相应的治疗作用。近年来有关红光的临床研究正越来越多被人们认识和重视。应用红光照射糖尿病小鼠的实验中,Reddy 等^[1-3]发现 632nm 的红光可增强实验动物线粒体过氧化氢酶活性,提高细胞新陈代谢水平,使糖原、蛋白生物合成增加,总胶原浓度明显升高,促进细胞合成和伤口愈合。另一些动物研究也表明,红光对于糖尿病大鼠创面愈合时的基因表达^[4,5]、鼠源性的成骨细胞、骨骼肌细胞、人类上皮细胞^[6]、血管生成及线粒体的氧化代谢都有着积极的生物调节作用^[7,8]。本实验以收治的 40 例难治性创面患者为研究对象,研究红光照射治疗对创缘组织中 VEGF 含量的影响,并比较两组患者的创面愈合率和愈合时间。为红光照射治疗促进难治性创面愈合提供了理论依据。

1 资料与方法

作者简介 胡明玉,女,硕士研究生,研究方向 组织修,
联系电话:13914727982 E-mail: woaihaoshi@hotmail.com
[△]通讯作者 章宏伟,电话 025-83718836-6521,
Email zhanghw1966@yahoo.com.cn
(收稿日期 2011-01-10 接受日期 2011-02-07)

1.1 临床资料

病例来源选取 2008 年 7 月--2010 年 12 月江苏省人民医院烧伤整形烧伤外科住院病人 40 例。①纳入标准 患者年龄大于 18 岁,难治性创面指糖尿病性溃疡、褥疮等难治性创面,未愈合时间大于或等于 4 个月。②排除标准 患者患有软组织恶性肿瘤、免疫性疾病,使用免疫抑制剂、糖皮质激素及化学治疗药物,低蛋白血症(血清白蛋白小于 30 g/L),中度或重度贫血(Hb 低于 90 g/L),空腹血糖值大于 8mmol/L。

1.2 治疗方法

1.2.1 病例分组 ①红光治疗组 20 例 ②常规治疗组 20 例。

1.2.2 观察方法 所有病例采用随机对照法观察,病程约 4 周。

1.2.3 治疗前准备 入院后患者创面行清创术去除创面全部坏死组织至创面基底有新鲜出血。常规治疗组 0.5%碘伏常规消毒创面后,以与创面等面积的水胶体敷料(康乐保有限公司)覆盖并用无菌敷料包扎创面。红光治疗组:在常规换药的基础上,取仰卧或俯卧位,佩戴特制防护护目镜,予以红光照射创面,照射距离一般为 20 cm,光斑直径 10.5cm,每次照射时间为 30 min,每日 2 次。两组均隔日换药一次。

1.2.4 创缘组织切取 分别于第 7 天、14 天、21 天,在创周区域切取 0.2×0.2cm 创缘组织,放入 10%甲醛溶液固定。

1.3 免疫组化检测

取创面愈合过程中第 7 天、14 天、21 天创缘组织做标本,采用兔抗人血管内皮生长因子(vascular endothelial growth fac-

tor, VEGF)多克隆抗体和免疫细胞化学 SP 试剂盒(北京中山生物工程公司)。按照试剂盒说明书的染色方法进行染色。同时用 PBS 代替一抗作对照实验 结果为阴性。

1.4 结果判定标准

1.4.1 显微镜下观察 细胞质内有棕黄色颗粒为阳性细胞,在低倍镜($\times 100$)下测定切片中上皮长度,高倍镜($\times 400$)下计算阳性细胞数,并计算每 mm 长度上皮中阳性细胞数。

1.4.2 临床创面愈合评价 测算治疗后第 7 天、14 天、21 天创面愈合百分率,自治疗次日开始,第 7 天、14 天、21 天用直尺测量创面最大长径和宽径,出现上皮后,以上皮爬行的边缘进行测量。计算:创面面积 = 最大长径 $\times$ 最大宽径,其中,创面愈合率

$=(\text{原始创面面积} - \text{测量创面面积}) / \text{原始创面面积} \times 100\%$,创面愈合时间为从治疗之日起到创面完全愈合所需的时间。

1.5 统计学方法

以 $\bar{x} \pm s$ 表示,数据结果采用 SPSS12.0 统计软件进行处理分析。

2 结果

在治疗后 7 天、14 天、21 天,治疗组创缘组织中 VEGF 阳性细胞数显著高于对照组,两者有统计学差异($P < 0.01$),说明红光治疗能促进创缘组织中 VEGF 表达。见表 1。

表 1 VEGF 阳性细胞数比较
Tab 1 Expression of VEGF in wounded tissue

组别 Group	例数 n	7(天) 7(day)	14(天) 14(day)	21(天) 21(day)
对照组 Control group	20	5.32 $\pm$ 3.12	5.68 $\pm$ 5.56	6.45 $\pm$ 2.18
治疗组 Red LED irradiation group	20	18.78 $\pm$ 11.46**	32.62 $\pm$ 32.24**	26.23 $\pm$ 12.23**

注 治疗组和对照组相比,** $P < 0.01$

Note: ** $P < 0.01$, red LED irradiation group vs control group

在治疗后 7 天、14 天、21 天,治疗组创面愈合率显著高于对照组,两者有统计学差异($P < 0.01$),说明红光治疗能显著缩小创面面积,促进愈合。见表 2。

表 2 创面愈合率比较(% $n=20$)
Tab 2 Comparison of wound healing rate (% , $n=20$)

组别 Group	例数 n	创面愈合率% Wound healing rate %		
		7(day)	14(day)	21(day)
对照组 Control group	20	0.15 $\pm$ 0.06	0.21 $\pm$ 0.12	0.36 $\pm$ 0.16
治疗组 Red LED irradiation group	20	0.29 $\pm$ 0.04**	0.43 $\pm$ 0.14**	0.56 $\pm$ 0.12**

注 治疗组和对照组相比,** $P < 0.01$

Note: ** $P < 0.01$, red LED irradiation group vs control group

治疗组创面愈合时间明显少于对照组,两者相比有统计学意义($P < 0.05$),说明红光治疗能缩短创面愈合时间。见表 3。

表 3 各组愈合时间的比较
Tab 3 Comparison of healing time

组别 Group	例数 n	治愈时间(天) Healing time(day)
对照组 Control group	20	53.54 $\pm$ 8.24
治疗组 Red LED irradiation group	20	38.36 $\pm$ 5.47**

注 治疗组和对照组相比,** $P < 0.05$

Note: ** $P < 0.05$, red LED irradiation group vs control group

3 讨论

难治性创面是指由于局部感染、血管闭塞等原因导致创面经过常规治疗仍无法愈合,一般认为病程迁延超过 6 到 8 周。临床治疗方法除了对原发病进行治疗外,创面处理主要有保守疗法和手术疗法^[9-11]。难治性难愈合创面发生机制包括:创面细

胞外基质成分的基因表达下调,导致组织修复细胞的移动支架遭破坏;主要修复细胞,特别是成纤维细胞的过度凋亡进一步影响了胞外基质,特别是胶原的产生;局部创面生长因子活性下降以及靶细胞受体结构与功能发生了改变,使因子与受体正常的结合发生障碍;是创面愈合调控的网络发生障碍^[12,13]。而红光可以发挥刺激细胞增殖、促进释放生长因子、促进胶原沉积、

新生血管、抗菌、抑制炎症等作用,从而促进创伤愈合^[14]。

随着对难愈创面发生机制和创面愈合过程的深入了解,以及各种有效物理技术的应用和成熟,近年来采用高压氧、电刺激等物理方式在创面愈合的治疗上收到良好的效果^[15-17]。本文以物理治疗方法之一的红光照射为研究对象,以常规创面治疗方法为对照,设计了两种方法治疗难治性创面的对照研究。血管内皮细胞生长因子(VEGF)是一种最直接的促进血管生成的多功能的细胞因子,同时,也是多种细胞因子诱导创伤血管生成的重要中介因子^[18-20]。本实验表明,在创面愈合过程中,创缘组织中均有 VEGF 的表达。在对照组中其表达水平随创面愈合过程而变化,这提示 VEGF 在创面的愈合过程中起着重要的调节作用,常规换药治疗后,VEGF 的表达持续增强,说明创面修复过程的中伴随着血管内皮细胞的增殖。创面经红光治疗后第 7 天即出现创缘组织中 VEGF 含量明显增强,表达持续增强并于伤后第 14 天达峰值,说明经红光照射后,早血管内皮细胞的增殖、迁移活跃,以至于创面的愈合率有显著的提高。治疗第 14 天后,VEGF 表达有所减弱,至第 21 天时,这表明随着创面的修复和改建的逐渐完成,VEGF 的分泌有所抑制,可能和组织生长的自限性有关。在创面愈合的各个阶段,治疗组的 VEGF 表达均明显超过对照组,这表明红光能诱导创缘组织中 VEGF 表达,差异有统计学意义。

红光照射在治疗时间及愈合率均优于常规治疗方法。进一步说明,红光局部照射创面可以通过刺激生长因子的增多而加速修复进程从而促进难治性创面的愈合。实验过程中未见红光受试者出现明显不良反应,说明了红光照射对于人体无明显毒副作用,值得临床推广应用。

参考文献(References)

- [1] Yaakobi T, Maltz L, Oron U. Promotion of bone repair in the cortical bone of the tibia in rats by low energy laser (He-Ne)irradiation[J]. Calif Tissue Int, 1996,59:297-300
- [2] 王锐, 景红. 对于慢性创面的治疗体会 [J]. 中华临床医学杂志, 2004,5(4):82-83
Wang Rui, Jing Hong. Taste of chronic surface of wound curing[J]. Chinese journal of clinical practical medicine, 2004,5(4):82-83
- [3] Reddy GK, Stehno-Bittel L, Enwemeka CS. Laser photo stimulation accelerates wound healing in diabetic rats [J]. Wound Repair Regen, 2001,9:248-255
- [4] Whelan, H.T., Buchmann, E.V., Dhokalia, A., et al. (2003). Effect of NASA light emitting diode irradiation on molecular changes for wound healing in diabetic mice [J]. J Clin Laser Med Surg, 2003,21, 67-74
- [5] Whelan, H.T., Smits, R.L., Buchman, E.V., et al. (2001). Effect of NASA light-emitting diode irradiation on wound healing [J]. J Clin. Laser Med Surg, 2001,19, 305-314
- [6] Corazza, A.V., Jorge, J., Kurachi, C., and Bagnato, V.S. (2007). Photobiomodulation on the angiogenesis of skin wounds in rats using different light sources[J]. Photomed Laser Surg, 2007,25, 102-106
- [7] Desmet, K.D., Paz, D.A., Corry, J.J., et al. (2006). Clinical and experimental applications of NIR-LED photobiomodulation [J]. Photomed Laser Surg, 2006,24, 121-128
- [8] DeLand, M.M., Weiss, R.A., McDaniel, D.H., and Geronemus, R.G. (2007). Treatment of radiation-induced dermatitis with light-emitting diode (LED) photomodulation[J]. Lasers Surg Med, 2007,39, 164-168
- [9] 付小兵. 进一步重视体表慢性难愈合创面发生机制与防治研究[J]. 中华创伤杂志, 2004,20(8):449-451
Fu Xiaobing. Attach further importance to studies on mechanism and prevention of chronic dermal ulcers [J]. Chinese journal of trauma, 2004,20(8):449-451
- [10] Lee SY, You CE, Park MY. Blue and red light combination LED phototherapy for acne vulgaris in patients with skin phototype IV [J]. Lasers Surg Med, 2007,39(2):180-188
- [11] Schindl A, Schindl M, Schon P, et al. Red light laser therapy: A review [J]. Invest Med, 2000,48(3):312-326
- [12] 孙永华, 田孝臣, 等. 再谈封闭负压技术治疗急性慢性创面有关的问题[J]. 中华损伤与修复杂志, 2010,05(1):6-8
- [13] Sun Yong-hua, Tian Xiao-chen, et al. Discussion about vacuum-assisted closure therapy for the treatment of acute and chronic wounds [J]. Chinese Journal of Injury Repair and Wound Healing, 2010,05(1): 6-8
- [14] Thackham JA, McElwain DL, Long RJ. The use of hyperbaric oxygen therapy to treat chronic wounds: a review [J]. Wound Repair Regen, 2008,16(3):321-330
- [15] Eming SA, Krieg T, Davidson JM. Gene therapy and wound healing [J]. Clin Dermatol, 2007,25(1):79-92
- [16] 张望, 路卫. 基因及转基因技术在慢性创面修复中的应用[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010,50(31):35-37
Zhang Wang, Lu Wei. Application of gene and gene technology on chronic surface of wound restoration[J]. Journal of Clinical Rehabilitative Tissue Engineering Research, 2010,50(31):35-37
- [17] Botusan IR, Sunkari VG, Savu O, et al. Stabilization of HIF-1 α is critical to improve wound healing in diabetic mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008,105(49):19426-19431
- [18] Sen CK. Wound healing essentials: let there be oxygen [J]. Wound Repair Regen, 2009,17(1):1-18
- [19] Reger SI, Hyodo A, Negami S, et al. Experimental wound healing with electrical stimulation. Artif Organs, 1999,23(5):460-462
- [20] Botusan IR, Sunkari VG, Savu O, et al. Stabilization of HIF-1 α is critical to improve wound healing in diabetic mice[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008,105(49):19426-19431