

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.12.010

封闭负压引流对兔糖尿病溃疡创面组织愈合影响的观察*

龚震宇 蒋晓臣 朱富军 刘顺财 冯小艳[△]

(解放军第一八一医院烧伤整形科 广西 桂林 541002)

摘要 目的:探讨封闭负压引流(VAC)对兔糖尿病溃疡创面组织愈合的影响及其可能机制。**方法:**采用四氧嘧啶法建立兔糖尿病溃疡模型,设空白对照组和实验组(对照组创面采用常规包扎治疗处理,实验组创面则采用 VAC 处理),观察和比较两组动物的创面肉眼观、愈合时间,在致伤前、致伤后 3 d、7 d、14 d 取创面软组织,检测和比较两组动物的创面组织含水量、血流量以及血浆 ET-1 和 NO 含量。**结果:**与对照组比较,实验组动物的创面肿胀及分泌物得到明显控制,创面坏死组织的清除与肉芽组织的生长明显加快,平均愈合时间明显缩短($P < 0.05$);致伤后 3 d、7 d 和 14 d,创面组织含水量与血浆 ET-1 含量明显下降($P < 0.05$),创面组织血流量与血浆 NO 含量明显增加($P < 0.05$)。**结论:**VAC 对兔糖尿病溃疡创面组织的愈合可起到积极的促进作用,这可能与其增加血浆 NO 含量及降低 ET-1 的含量有关,其具体机制尚有待于进一步的研究。

关键词:封闭负压引流;糖尿病溃疡;创面愈合;水肿;创面血流量

中图分类号:Q95-3;R587.2;R622 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)12-2238-04

Observation on the Effect of Vacuum-assisted Closure on Healing of Rabbits with Diabetic Ulcers*

GONG Zhen-yu, JIANG Xiao-chen, ZHU Fu-jun, LIU Shun-cai, FENG Xiao-yan[△]

(Department of Burn and Plastic Surgery, No.181 Hospital of PLA, Guilin, Guangxi, 541002, China)

ABSTRACT Objective: To observe the influence and its possible mechanisms of vacuum-assisted closure (VAC) on the healing of rabbits with diabetic ulcer. **Methods:** A rabbit model of diabetic ulcer was established by alloxan and were divided into the control group and experimental group (control group was treated by conventional wound dressing treatment, while the experimental group was treated by VAC wound treatment), the gross appearance of wound surface and healing time were observed and compared between the two groups. The wound tissue water content, tissue blood flow, plasma ET-1 and NO content were detected and compared between the two groups before injury as well as on the 3rd, 7th, and 14th day after injury. **Results:** Compared with that of the control group, the wound swelling and secretions of experimental group were significantly controlled, the removal of necrotic tissue and growth of granulation tissue both significantly accelerated, the average healing time was significantly shortened($P < 0.05$), the water content of wound tissue and plasma ET-1 content were all significantly decreased ($P < 0.05$) on the 3rd, 7th and 14th day after injury, while the blood flow of wound tissue and plasma NO content were significantly increased($P < 0.05$). **Conclusions:** VAC could play a positive role in the wound healing of rabbits with diabetic ulcers through increasing the plasma NO content and decreasing the plasma ET-1 content, the concrete mechanisms were still needed to be further researched.

Key words: Vacuum-assisted closure; Diabetic ulcers; Wound healing; Edema; Wound blood flow

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3; R587.2; R622 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)12-2238-04

前言

封闭式负压引流技术(vacuum-assisted closure, VAC)由 Fleischmann 首创的可控制全创面高压持续引流演变而来,是近年来兴起的一种促进创面愈合的新型治疗方法,其通过将吸引装置与伤口敷料连接后,使创面维持在负压状态下,起到促进创面愈合的作用,目前被广泛运用到各种急性慢性创面的治疗与促进创面愈合中^[1]。糖尿病可导致周围神经与微血管病变,造成病变皮肤营养障碍,引起皮肤受损,继而引发感染。且在高

血糖状态下,机体的修复能力下降,易引起难以愈合的溃疡创面。如何有效促进糖尿病溃疡的愈合、缩短其病程,以达到降低致残率,是目前医学领域研究的热点之一^[2]。笔者采用兔糖尿病溃疡模型,观察了 VAC 对兔糖尿病溃疡创面组织愈合的影响,旨在为 VAC 促进难愈性创面愈合的作用机制提供理论基础,现报道如下。

1 材料与方法

1.1 实验动物

* 基金项目:广西自然科学基金项目(2011GXNSFB018107)

作者简介:龚震宇(1976-),男,副主任医师,研究方向:创面基础及临床研究, E-mail: gong_jw@163.com

△ 通讯作者:冯小艳,电话:0773-2089084, E-mail: 652519349@qq.com

(收稿日期:2014-10-20 接受日期:2014-11-12)

选择 10 只清洁级新西兰白兔作为研究对象,由解放军第一八一动物实验中心提供,体重 2.0~2.5 kg,饲养时控制温度在(22.6±2.3)℃,湿度在(60.5±5)%。其中,对照组 5 只,雌 3 只,雄 2 只,平均体重(2.2±0.2) kg;实验组 5 只,雌 2 只,雄 3 只,平均体重(2.3±0.3) kg。两组白兔均在相同环境下采取相同饲料及份量饲养。

1.2 设备及试剂

采用由武汉维斯第医用科技股份有限公司提供的封闭负压引流治疗系统,通过电脑控制的压力装置产生持续负压;上海实验仪器厂有限公司生产的 101A-1 型电热恒温鼓风干燥箱;天津南开大学生产的 LDF-3 型激光多普勒微循环血流仪;西安国营二六二厂生产的 XH-6010 型 γ 放射免疫计数器;美国 Denver 仪器公司生产的精度达 1×10^{-4} 电子天平;上海第三分析仪器厂生产的 754 型分光光度计;内皮素-1(Endothelin-1, ET-1)检测试剂盒购自北京北免东雅生物技术研究所;一氧化氮(nitric oxide, NO)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.3 兔糖尿病溃疡模型的建立和治疗处理

造模前,测定兔血糖 <6.0 mmol/L,四氧嘧啶临用前用无菌生理盐水稀释成 2%浓度在 15 min 内使用。采用本研究组的改良分次耳缘静脉注射法(总剂量 180 mg/kg)制备糖尿病模型,以 14 天后血糖 >10.0 mmol/L 且脱水葡萄糖醇 <48 μ mol/L 为糖尿病模型的成功标准。采用本研究组研制的自动控时调压烫伤仪(国家发明专利号 ZL 2009 1 0114104.4)在糖尿病兔背部制作烫伤创面,蒸汽压力与温度(300 mmHg、温度 106℃)条件下设定 0.2S 烫伤时间,行组织病理检查(HE 染色)确定为浅 II°创面。随机分为 VAC 组和对照组,分别采用 VAC 治疗及常规包扎。

1.4 实验观察指标及方法

1.4.1 创面肉眼观及愈合时间 肉眼观察创面肿胀及分泌物情况,观察创面坏死组织清除及肉芽组织的生长情况;记录创面愈合时间,愈合时间即创面完全上皮化所需的时间。

1.4.2 创面组织含水量及血流量测定 创面组织含水量测定采用干湿重法,在致伤前、致伤后 3 d、7 d、14 d 取创面软组织,置入 9 g/L 氯化钠溶液中洗净后用滤纸吸干并电子天平称重,称重值计为湿重;将标本置于电热恒温箱中 90℃下连续烘烤 72 h 后电子天平称重,称重值计为干重,则创面组织含水量(%)=(湿重-干重)/湿重 $\times 100\%$;同时在以上时间点处采用激光多普勒血流仪在距创缘 0.5 cm 处测量创面血流量。

1.4.3 血浆 ET-1 和 NO 含量测定 在致伤前、致伤后 3 d、7 d、14 d 时间点处采集耳静脉血 3 mL,按照试剂盒说明,分别采用放射免疫法测定血浆 ET-1 含量,采用 Griess 法测定血浆 NO 含量。

1.5 统计学方法

记录所得计量数据采用均数 $\pm$ 方差($\bar{x} \pm s$)表示,使用 SPSS 18.0 软件进行分析,采用配对 t 检验进行组间均数比较,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义的标准。

2 结果

2.1 两组创面肉眼观及愈合时间的比较

实验组创面采用 VAC 处理后,肉眼观可见创面肿胀及分泌物相较于对照组明显得到控制,创面坏死组织的清除与肉芽组织的生长相较于对照组也明显加快;实验组创面平均愈合时间为(15.2 $\pm$ 2.2) d,对照组创面平均愈合时间为(19.6 $\pm$ 3.4) d,实验组较对照组明显缩短,组间比较差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组创面愈合时间的比较($\bar{x} \pm S$)

Table 1 Comparison of the wound healing time between two groups($\bar{x} \pm S$)

Groups	Cases	Wound healing time(d)
Control group	5	19.6 $\pm$ 3.4
Experimental group	5	15.2 $\pm$ 2.2 ^a

Note: Compared with the control group, ^a $P < 0.05$.

2.2 两组创面组织含水量及血流量的比较

致伤前,实验组与对照组的创面组织含水量和组织血流量比较差异无统计学意义($P > 0.05$);而致伤后 3 d、7 d 和 14 d,实

验组的创面组织含水量均显著低于对照组,组织血流量均显著高于对照组,差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 2。

表 2 两组创面组织含水量及组织血流量的比较($\bar{x} \pm S$)

Table 2 Comparison of the wound tissue water content and tissue blood flow between two groups

Groups	Cases	Wound tissue water content(%)				Wound tissue blood flow(U)			
		Before injury	After injury 3d	After injury 7d	After injury 14d	Before injury	After injury 3d	After injury 7d	After injury 14d
Control group	5	73.4 $\pm$ 1.1	72.9 $\pm$ 0.8	70.6 $\pm$ 0.7	66.5 $\pm$ 0.8	7.2 $\pm$ 0.8	8.8 $\pm$ 1.0	10.2 $\pm$ 1.1	13.2 $\pm$ 1.4
Experimental group	5	73.6 $\pm$ 1.0	70.1 $\pm$ 0.7a	66.8 $\pm$ 0.6a	63.2 $\pm$ 0.7a	7.3 $\pm$ 0.9	14.5 $\pm$ 1.3a	16.4 $\pm$ 1.5a	19.7 $\pm$ 1.6b

Note: Compared with the control group ^a $P < 0.05$.

2.3 两组血浆 ET-1 含量与 NO 含量的比较

致伤前,实验组与对照组的血浆 ET-1 含量与 NO 含量比

较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

而致伤后 3 d、7 d 和 14 d,实验组的血浆 ET-1 含量均显著

低于对照组,血浆 NO 含量均显著高于对照组,差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$),见表 3。

表 3 两组血浆 ET-1 含量与 NO 含量的比较($\bar{x} \pm s$)
Table 3 Comparison of the plasma ET-1 and NO levels between two groups

Groups	Cases	Plasma ET-1 levels(ng/L)				Plasma NO levels(μ mol/L)			
		Before injury	After injury 3d	After injury 7d	After injury 14d	Before injury	After injury 3d	After injury 7d	After injury 14d
Control group	5	116.2 $\pm$ 8.7	112.7 $\pm$ 7.7	106.4 $\pm$ 7.2	98.5 $\pm$ 6.6	27.8 $\pm$ 5.3	34.3 $\pm$ 7.5	37.6 $\pm$ 8.2	33.6 $\pm$ 7.2
Experimental group	5	115.8 $\pm$ 8.6	107.3 $\pm$ 7.1a	97.2 $\pm$ 6.9a	90.4 $\pm$ 6.3a	28.2 $\pm$ 5.5	43.6 $\pm$ 8.6a	46.5 $\pm$ 9.2a	42.4 $\pm$ 8.1b

Note: Compared with the control group * $P < 0.05$.

3 讨论

糖尿病溃疡形成是局部组织缺血、神经病变和感染三种因素共同作用的结果。局部组织缺血是糖尿病溃疡形成的基础,包括大血管与微血管病变。大血管病变以动脉粥样硬化为主,引起皮肤缺血性改变,导致溃疡与感染的发生,严重时还会导致肢体的坏疽。微血管病变主要由微血管内皮细胞损伤与基底膜增厚引起,是一种全身性病变,造成局部皮肤供氧不足,最终形成局部微血栓以及微血管阻塞发生堵塞^[3-5]。神经病变包括结构与功能改变两个方面。结构改变主要表现为有髓神经髓鞘水肿、溶解、变性,轴突受压^[6],神经膜细胞发生变性和纤维裸露,无髓神经出现水肿及空泡化,微管和微丝出现排列不整齐。功能改变主要包括感觉、运动、自主神经功能受损以及神经递质分泌异常。持续病理性高血糖导致脂肪代谢异常,导致神经细胞水肿、变性,发生节段性脱髓鞘与轴突坏死,影响神经细胞结构的完整性,引起神经细胞自身代谢异常^[7]。糖尿病溃疡易并发感染,可由浅表的皮肤溃疡逐渐发展到广泛坏疽,多数是由数种细菌合并感染,以链球菌和葡萄球菌最常见。这导致了创面出现炎症修复过度障碍、上皮化迟滞以及肉芽形成不良等病理表现,创面出现不愈合或延迟愈合。

VAC 通过封闭的类似吸盘装置以及相关管道做负压吸引治疗,负压直接作用于溃疡创面,增加了创面局部血流量,激活了创面细胞的活性。同时,持续的负压吸引作用于创面,还可及时吸出创面的渗液,防止因创面渗液积聚形成细菌培养基,且持续的负压吸引增加了创伤处细胞的张力,起到了机械性牵引的作用,利于创面的愈合^[11,12]。目前研究认为,VAC 可能通过以下机制促进创面愈合^[13-17]:(1)促进创面局部微循环和肉芽组织生长。创面长期不能愈合多是由于创面局部血供不佳,导致创面组织氧代谢不足。在缺氧的环境下,创面局部组织会出现代谢紊乱,抑制了局部组织细胞的增殖。由于 VAC 去除了局部组织过多的液体,缓解了局部水肿,对周围组织小血管的压迫得以解除;同时,负压下细小动脉会扩张,增加了细胞的有丝分裂,加强了创面周围微血管的增生,有效降低了血管后负荷,溃疡局部血流得以恢复,这又促进了创面的愈合。VAC 还可促进肉芽组织形成,可为上皮组织生长提供条件,利于创面愈合;(2)减轻局部组织水肿。局限性水肿既会压迫创面局部血管与淋巴系统,增加创面的皮肤张力的作用,又会加重创面局部微血管后负荷,减少皮瓣血液供应增加的作用,对创面的愈合产生不良影响。VAC 的负压系统可有效去除创面渗出物与坏死组织,

减少周围组织间压力和组织间液体的积聚,从而降低了周围血管的通透性,缓解了组织水肿。(3)促进创面细胞增殖及抑制凋亡。VAC 可在创面形成一种机械应力,在降低创面张力的同时也可通过细胞骨架与细胞膜传导至细胞内,最终将信号传导至细胞核,促进生长因子的合成与分泌,如 PG、蛋白激酶 C、磷酸肌醇和 Ca^{2+} 等,进而诱导成纤维细胞、表皮细胞、血管内皮细胞等组织细胞增生、蛋白产物合成及血管生成,促进创面的愈合;(4)抑制细菌繁殖,清除坏死物质。溃疡创面延迟愈合甚至不愈合往往与创面感染相关,同时细菌竞争性消耗了局部组织修复所需要的氧气与营养,局部大量细菌繁殖也改变了创面微环境,这对正常组织细胞的生长起抑制作用,最终造成创面的不易愈合。VAC 可令创面保持封闭状态,对外来细菌及有害微生物有效的隔离,避免细菌的交叉感染;封闭所营造的低氧环境也对细胞增殖起到抑制作用,引流也促进了创面细菌、坏死物及渗出物的清除,破坏了利于细菌生长的环境,显著降低了创面细菌的感染率。

ET-1 是众所周知的作用最强的缩血管肽,ET-1 过量释放可导致微血管长时间处于收缩状态,导致微血栓形成;而 NO 则是机体重要的舒血管物质,适量的 NO 可扩张微血管,并在血管内膜形成保护层,阻止中性粒细胞与血小板的附壁,有效抑制微血栓形成。二者在机体内处于动态平衡,维持微血管适当的通透性与舒缩状态^[18]。本研究结果表明:采用 VAC 处理的动物创面肿胀及分泌物得到明显控制,创面坏死组织的清除与肉芽组织的生长明显加快,平均愈合时间明显缩短;致伤后 3 d、7 d 和 14 d,创面组织含水量明显下降,血流量明显增加,同时,血浆 ET-1 含量明显下降,血浆 NO 含量明显增加。以上结果提示 VAC 对兔糖尿病溃疡创面组织的愈合可起到积极的促进作用,这可能与增加血浆 NO 含量及降低 ET-1 的含量有关,其具体机制尚有待于进一步的研究。

参考文献(References)

- [1] 李勇.封闭式负压吸引技术在糖尿病溃疡中的应用[J].中国社区医师,2012,22(14): 67-68
Li-yong. The applications of closed suction technology in diabetic ulcers[J]. Chinese Community Doctors, 2012, 22(14): 67-68
- [2] 钟小晶,何丽展,霍景山.负压封闭引流两种不同负压值对糖尿病溃疡创面愈合的影响[J].广东医学,2013,34(14): 2269-2271
Zhong Xiao-jing, He Li-zhan, Huo Jing-shan. The influence of two different VSD negative values in the wound healing of diabetic ulcers [J]. Guangdong Medical Journal, 2013, 34(14): 2269-2271

- [3] Erdogan M, Solmaz S, Canataroglu A. Plasma thrombinactivatable fibrinolysis inhibitor (TAFI) antigen levels in diabetic foot ulcers[J]. *Endocrine*, 2010, 37(3): 449-454
- [4] Meijer VE, Vant Sant HP, Spronk S, et al. Reference value of transcutaneous oxygen measurement in diabetic patients compared with nondiabetic patients[J]. *J Vasc Surg*, 2008, 48(2): 382-388
- [5] Jaquinandi V, Mahe G, Leftheriotis G, et al. Regarding "Reference value of transcutaneous oxygen measurement in diabetic patients compared with nondiabetic patients" [J]. *J Vasc Surg*, 2009, 49(1): 279-280
- [6] Bharara M, Najafi B, Armstrong DG. Methodology for use of a neuroprosthetic to reduce plantar pressure: applications in patients with diabetic foot disease [J]. *J Diabetes Sci Technol*, 2012, 6(1): 222-224
- [7] Sigauo-Roussel D, Demiot C, Fromy B, et al. Early endothelial dysfunction severely impairs skin blood flow response to local pressure application in streptozotocin-induced diabetic mice [J]. *Diabetes*, 2004, 53(6): 1564-1569
- [8] 李峥璟, 柏素萍, 孙炳伟. 糖尿病溃疡形成机制的研究进展[J]. *江苏大学学报(医学版)*, 2012, 22(4): 363-366
Li Zheng-jing, Bo Su-ping, Sun Bing-wei. Progress in the formation mechanism of diabetic ulcers [J]. *Journal of Jiangsu University (Medicine Edition)*, 2012, 22(4): 363-366
- [9] Christianson JA, Ryals JM, Johnson MS, et al. Neurotrophic modulation of myelinated cutaneous innervation and mechanical sensory loss in diabetic mice[J]. *Neuroscience*, 2007, 145(1): 303-313
- [10] Dellon AL, Muse VL, Nickerson DS, et al. Prevention of ulceration, amputation and reduction of hospitalization: outcomes of a prospective multicenter trial of tibial neurolysis in patients with diabetic neuropathy[J]. *J Reconstr Microsurg*, 2012, 28(4): 241-246
- [11] Petkar KS, Dhanraj P, Kingsly PM, et al. A prospective randomized controlled trial comparing negative pressure dressing and conventional dressing methods on split-thickness skin grafts in burned patients[J]. *Burns*, 2011, 37(6): 921-925
- [12] Stannard JP, Volgas DA, Mc Gwin, et al. Incisional negative pressure wound therapy after high-risk lower extremity fractures [J]. *J Orthop Trauma*, 2012, 26(1): 37-42
- [13] Borgquist O, Ingemansson R, Malmström M. Wound edge microvascular blood flow during negative-pressure wound therapy: examining the effects of pressures from -10 to -175 mmHg [J]. *Plastic and reconstructive surgery*, 2010, 125(2): 502-509
- [14] Hutchison RL, Craw JR. Use of acellular dermal regeneration template combined with NPWT to treat complicated extremity wounds in children[J]. *J of Wound Care*, 2013, 22 (12): 708-712
- [15] Peer SM. Negative pressure wound therapy for sternal wound infections following congenital heart surgery [J]. *J of Wound Care*, 2014, 23(1): 31-36
- [16] 焦娇, 王鹏华, 褚月颀, 等. 封闭负压引流促进糖尿病足溃疡愈合机制的研究[J]. *国际内分泌代谢杂志*, 2014, 34(1): 10-14
Jiao-jiao, Wang Peng-hua, Chu Yue-ji, et al. Study of the mechanism of vacuum assisted closure in promoting the healing of diabetic foot ulcers [J]. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 2014, 34(1): 10-14
- [17] Irkoren S, Sivrioglu N, Karaca H. Rare Complication After VAC Therapy in the Treatment of Tissue Defect Due to Surgical Excision of Pilonidal Sinus [J]. *J of Wound Ostomy & Continence Nursing*, 2013, 40(6): 641-643
- [18] Niitsuma J, Yano H, Togawa T. Experimental study of decubitus ulcer formation in the rabbit ear lobe[J]. *J Rehabil Res Dev*, 2003, 40 (1): 67-73

(上接第 2224 页)

- [16] Huang ML, Van Peer A, Woestenborghs R, et al. Pharmacokinetics of the novel antipsychotic agent risperidone and the prolactin response in healthy subjects [J]. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 1993, 54(3): 257-268
- [17] 李华芳, 李鸣, 林治光, 等. 利培酮的血药浓度与临床效应的关系[J]. *上海精神医学*, 1999, 11(04): 189-192
Li Hua-fang, Li Ming, Lin Zhi-guang, et al. The relationships between plasma concentration of risperidone and clinical effects [J]. *Shanghai Archives of Psychiatry*, 1999, 11(04): 189-192
- [18] 魏传梅, 傅崇明, 郭瑞臣. 利培酮与 9-羟利培酮对精神分裂症患者血药浓度与剂量的关系[J]. *中国医院药学杂志*, 2005, 25(07): 607-608
Wei Chuan mei, Fu Chong ming, Guo Rui-chen. The relationship between dose of risperidone and the steady plasma concentrations of risperidone and 9-HYdroxyrisperidone in schizophrenic patients [J]. *Chinese Journal of Hospital Pharmacy*, 2005, 25(07): 607-608
- [19] 刘丹, 李上勤, 周鑫, 等. 毛发分析的临床及法医学应用研究[J]. *中外医疗*, 2010, 29(18): 178-179
- Liu Dan, Li Shang-xun, Zhou Xin, et al. Clinical and application in forensic medicine research of hair analysis [J]. *China Foreign Medical Treatment*, 2010, 29(18): 178-179
- [20] 向平. 毛发分析基础及应用[M]. 北京: 科学出版社, 2010: 1-13
Xiang Ping. *Fundamentals and applications of hair analysis* [M]. Beijing: science press, 2010: 1-13
- [21] 沈敏. 体内滥用药物分析方法 (II)--毛发中滥用药物分析方法[J]. *中国司法鉴定*, 2004, 73(02): 30-35
Shen Min. The analysis methods of drug abuse in human (II)--The analysis methods of drug abuse in hairs [J]. *Chinese Journal of Forensic Sciences*, 2004, 73(02): 30-35
- [22] McClean S, O'Kane EJ, Smyth WF. Electrospray ionisation-mass spectrometric characterisation of selected anti-psychotic drugs and their detection and determination in human hair samples by liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Journal of chromatography B*, 2000, 740(2): 141-157