

·基础研究·

# 新型中药复合海绵敷料对大鼠皮肤创面修复的效果研究\*

张小珍<sup>1</sup> 蔡保塔<sup>2</sup> 黄舒蓉<sup>1</sup> 潘永毅<sup>1</sup> 刘 珊<sup>1</sup> 蔡文智<sup>1,3</sup>

## 摘要

**目的:**探讨新型中药复合海绵敷料对大鼠创面的修复效果。

**方法:**将30只Wistar大鼠随机分为3组。实验组用中药复合海绵敷料覆盖创面,阳性对照组用海绵基质覆盖创面,阴性对照组用凡士林纱布处理。分别于治疗后第3d、7d、14d观察大鼠创面愈合情况,测定创面面积并取创面做病理分析;治疗后第3d、7d测创面炎症积分。

**结果:**治疗后第7d、14d,实验组创面愈合率分别为 $[(71.32\pm 0.08)\%]$ 、 $[(90.44\pm 0.07)\%]$ 显著高于阳性对照组 $[(60.66\pm 0.09)\%]$ 、 $[(81.03\pm 0.04)\%]$ 和阴性对照组 $[(50.01\pm 0.10)\%]$ 、 $[(71.65\pm 0.10)\%]$ ( $P<0.05$ );治疗后第3d、7d,实验组创面炎症积分分别为 $(3.20\pm 0.42)$ 分、 $(1.70\pm 0.48)$ 分,阳性对照组为 $(4.18\pm 0.60)$ 分、 $(2.55\pm 0.52)$ 分,阴性对照组为 $(5.67\pm 0.50)$ 分、 $(3.89\pm 0.33)$ 分,实验组与后两组比较,差异有显著性意义( $P<0.05$ )。

**结论:**新型中药复合海绵敷料对大鼠创面的愈合有促进作用,能够干预创面炎症反应,适宜作为创伤修复敷料。

**关键词** 海绵敷料;创面;修复

中图分类号:R364.5,R64,R493 文献标识码:A 文章编号:1001-1242(2016)-06-0632-05

Effects of a new type of Chinese medicine composite sponge dressing on wound healing in rats/ZHANG Xiaozhen, CAI Baota, HUANG Shurong, et al./Chinese Journal of Rehabilitation Medicine, 2016, 31(6): 632—636

## Abstract

**Objective:** To study the healing effect of a new type of Chinese medicine composite sponge dressing on skin wound in rats.

**Method:** Thirty rats were randomly divided into three groups. The experimental group was rapped with sponge dressing, while the positive control group was rapped with sponge matrix. The control group was rapped with petrolatum gauze. The wound healing and wound pathology was observed at 3,7,14 days after treatment. The each wound area was measured at the 3rd,7th,14th day after treatment, as well as the scores of inflammation response in the wound tissues.

**Result:** After 7 days or 14 days treatment, the wound healing rate of experimental group was about  $[(71.32\pm 0.08)\%]$  or  $[(90.44\pm 0.07)\%]$ , which were obviously higher than the positive control group $[(60.66\pm 0.09)\%]$ ,  $[(81.03\pm 0.04)\%]$  and the control group  $[(50.01\pm 0.10)\%]$ ,  $[(71.65\pm 0.10)\%]$ ( $P<0.05$ ). After 3 days or 14 days treatment, the score of inflammation response in the experimental group was about  $(3.20\pm 0.42)$  or  $(1.70\pm 0.48)$ , which were obviously lower than the positive control group  $(4.18\pm 0.60)$ ,  $(2.55\pm 0.52)$  and the control group  $(5.67\pm 0.50)$ ,  $(3.89\pm 0.33)$ ( $P<0.05$ ).

**Conclusion:** It can be well concluded that the sponge dressings can promote wound healing and reduce wounds

DOI:10.3969/j.issn.1001-1242.2016.06.004

\*基金项目:广东省教育部产学研结合项目(2011B090400578);广州市白云区科技项目基金(2009-st-01)

1 南方医科大学护理学院,广东广州,510515;2 南方医科大学珠江医院;3 通讯作者

作者简介:张小珍,女,在读硕士研究生;收稿日期:2016-03-21

oozing in rats, which makes the sponge dressings be suitable to be skin repair materials.

**Author's address** School of Nursing, Southern Medical University, Guangzhou, 510515

**Key word** sponge dressings; wound; recovery

创面修复是创伤外科领域最基本、最重要的问题之一。随着社会机械化程度的日益提高,外伤性创面越来越多见,并且伤情也越来越严重,治疗起来更加困难,尤其是本身患有糖尿病、肝病、血管硬化等疾病的患者,其创面治疗更加棘手。中药外用在治疗皮肤创面中独具特色,根据患者及创面的整体分析,提出了清热解毒、化腐生肌;活血化瘀,消肿生肌等不同治疗方法,既能加速创面愈合,又能减少瘢痕产生,提高创面愈合质量<sup>[1]</sup>。将中药与性质优良的高分子材料载体支架结合,对于疗效的发挥更是事半功倍。然而,目前关于中药外用促进创面愈合的药物作用机制研究还不够深入<sup>[2]</sup>。传统外伤验方“三七复方”在民间广泛使用,对急性皮肤伤口的修复具有较好的疗效,前期药理实验已经证实该验方具有良好的止血、抗菌、消肿、镇痛等作用<sup>[3]</sup>。基于上述分析及研究,本课题组采用壳聚糖、明胶与聚乙烯醇高分子材料制备的海绵为载体,加入“三七复方”提取物,研制出一种新型中药复合海绵敷料<sup>[4]</sup>。本实验将深入研究其对大鼠创面修复的效果。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

雄性 SPF 级 Wistar 大鼠 30 只,体重 200—250g,由南方医科大学实验动物中心提供,合格证号 SCXK(粤)2011-0015。实验前置动物于室内适应环境 3d,室温 18—25℃,湿度 50%—70%,专业动物饲料,自由摄取。中药复方浓缩液的制备<sup>[4]</sup>:处方量药材(三七 10g、紫珠 10g、白芨 12g、儿茶 12g、两面针 10g 等 9 味药材,共 95g),加入 8 倍量 70%乙醇提取 2 次,每次 2h;合并 2 次提取液约 1500ml,静置,滤过,浓缩至 50ml。新型中药复合海绵敷料的制备<sup>[4]</sup>:聚乙烯醇-壳聚糖-明胶按 1:3:1 比例混合成 30ml 后充分搅拌,加入甘油 1ml,充分搅拌后加入 2ml 中药复方浓缩液,再充分搅拌,加入 1.5%的戊二醛 0.7ml,充分搅拌后铺膜于 90mm 培养皿中,-20℃冰箱中彻底冷冻 24h,真空冷冻干燥 35h,将成品裁剪成圆形,

直径为 2.5cm。空白海绵基质的制备:制作流程同上,不加中药复方浓缩液。密封包装,钴 60 辐照消毒,标准参照卫生部 1997 年出台的《<sup>60</sup>Co 辐照中药灭菌剂量标准[卫药发 1997 第 38 号]》。

### 1.2 实验方法

将大鼠随机分为 3 组,实验组 10 只,阳性对照组 10 只,阴性对照组 10 只。大鼠取俯卧位,剪去大鼠背部毛发,用 3%的戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,用碘伏及 70%乙醇常规消毒皮肤后,用利刀于大鼠背部左右对称制作 2 个直径为 2cm 的圆形全层缺损创面,醋酸洗必泰溶液充分清洗消毒创面。实验组敷自制的新型中药复合海绵敷料,阳性对照组敷空白海绵基质,阴性对照组敷凡士林纱布,三组均在外层予无菌纱布敷料包扎。前 3 天每日换药 1 次,3 天后隔 1 天换药,1 周后隔 2 天换药。

### 1.3 观察指标

**1.3.1 伤口修复大体情况:**每次换药时,观察各组大鼠创面大体情况,包括创面出血、感染迹象、肉芽组织生长情况。

**1.3.2 创面愈合率:**用数码相机拍照,利用 Image J 软件测定刻度尺像素比例,测出创面面积<sup>[5]</sup>,计算创面愈合率。

**1.3.3 创面炎症积分:**根据创面渗透性状和渗透量进行评分,评分标准<sup>[6]</sup>为创面渗液性状为血清样、浆液样、混浊样、脓液样与渗液量为极少量、少量、中量及大量分别记为 1 分、2 分、3 分及 4 分。渗液量以浸透纱布的层数来观察(<1 层为极少量,≥1 层但<4 层为少量,>4 层但<8 层为中量,≥8 层为大量),创面愈合为 0 分。

**1.3.4 病理学观察:**于术后第 3d、7d、14d 随机抽取 6 只大鼠过量麻醉处死,立即切取创面皮肤,4%的多聚甲醛固定。用 HE 染色,观察炎细胞浸润及坏死、纤维细胞及毛细血管增生、胶原纤维等情况,进行形态学描述。

### 1.4 统计学分析

采用 SPSS13.0 统计软件,对各组数据进行多样

本均数比较的方差分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差表示, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

## 2 结果

### 2.1 大鼠伤口修复大体情况

治疗后第3d,各组未见明显新鲜肉芽组织。阴性对照组敷料粘连创面,换药时渗血;阳性对照组敷料不粘连创面,创面整体湿润,可见感染迹象;实验组创面呈粉红色,表面整体湿润,未见感染迹象和坏死组织。治疗后第7d,阴性对照组仍见出血;阳性对照组个别见感染迹象;实验组创面明显缩小,创面干燥,没有感染迹象,边缘由圆形变化呈梭形。治疗后第14d,阴性对照组大鼠未愈合;阳性对照组2只愈合,其余未愈合;实验组已无明显的伤口,创缘整齐,创面平整,伤口完全愈合。

### 2.2 大鼠创面愈合率的比较

治疗后第3d,实验组、阳性对照组与阴性对照组创面愈合率比较有显著性差异( $P < 0.05$ );随着时间延长,在治疗后第7d、14d,三组创面愈合率逐渐增高,实验组增高更明显( $P < 0.05$ ),至治疗后第14d,实验组创面接近愈合。见表1。

### 2.3 创面炎症积分的比较

治疗后第3d,阴性对照组创面炎症积分约5.67分,创面见中等量混浊样渗液,伴出血;阳性对照组创面渗液量、炎症积分均小于阴性对照组;实验组创面渗液量显著少于对照组,见少量血清样渗液;治疗后第7d,各组创面渗液量均显著减少,阴性对照组仍有部分创面渗液为混浊样,阳性对照组、实验组见极少量血清样渗液。治疗后第14d,各组炎症不明显,故不再评价。见表2。

### 2.4 病理切片分析

术后第3天,阴性对照组表层有坏死组织,见出血,炎细胞较多,细胞间质较疏松,未见明显新生毛细血管和成纤维细胞增生;阳性对照组见出血,炎细胞较多,见少量纤维及血管增生。实验组见少量出血,有少量的毛细血管,成纤维细胞开始增殖(图1)。术后第7天,阴性对照组仍见出血,炎性细胞增多,细胞间质疏松,可见少量成纤维细胞增生;阳性对照组出血减少,成纤维细胞增生较快,数量较多;实验组创面纤维增生明显,胶原纤维明显多于对

表1 各组创面不同时间愈合率 ( $\bar{x} \pm s, \%$ )

| 组别    | 例数 | 治疗后3d                         | 治疗后7d                          | 治疗后14d                         |
|-------|----|-------------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| 阴性对照组 | 10 | 22.02 $\pm$ 0.03              | 50.01 $\pm$ 0.10               | 71.65 $\pm$ 0.10               |
| 阳性对照组 | 10 | 38.33 $\pm$ 0.11 <sup>①</sup> | 60.66 $\pm$ 0.09 <sup>①</sup>  | 81.03 $\pm$ 0.04 <sup>①</sup>  |
| 实验组   | 10 | 40.22 $\pm$ 0.05 <sup>①</sup> | 71.32 $\pm$ 0.08 <sup>①②</sup> | 90.44 $\pm$ 0.07 <sup>①②</sup> |

①与阴性对照组相比 $P < 0.05$ ,②与阳性对照组相比 $P < 0.05$

表2 各组创面炎症积分比较 ( $\bar{x} \pm s$ , 分)

| 组别    | 例数 | 治疗后3d                         | 治疗后7d                         |
|-------|----|-------------------------------|-------------------------------|
| 阴性对照组 | 10 | 5.67 $\pm$ 0.50               | 3.89 $\pm$ 0.33               |
| 阳性对照组 | 10 | 4.18 $\pm$ 0.60 <sup>①</sup>  | 2.55 $\pm$ 0.52 <sup>①</sup>  |
| 实验组   | 10 | 3.20 $\pm$ 0.42 <sup>①②</sup> | 1.70 $\pm$ 0.48 <sup>①②</sup> |

①与阴性对照组相比 $P < 0.05$ ;②与阳性对照组相比 $P < 0.05$

照组(图2)。术后第14d,阴性对照组炎性细胞数量减少,成纤维细胞、胶原纤维增多,细胞间质仍疏松水肿;阳性对照组炎性细胞少,成纤维细胞增生明显,胶原纤维增多;实验组胶原纤维增生明显,与术后第7d相比没有明显改变,伤口未见异物组织,没有组织破坏和坏死现象(图3)。

## 3 讨论

中华传统中医药在伤口愈合方面的研究具有十分悠久的历史,在促进创面修复上由古至今也都在发挥着巨大作用,并将促进创面愈合的作用分为透脓祛腐、祛腐生肌、生肌收口三部分<sup>[7-8]</sup>。“三七复方”在民间广为流传使用,对急性皮肤伤口的治疗具有较好的疗效,但存在剂型落后、使用不便等缺点。本课题组将该复方载入高分子材料制备的海绵,研发出一种新型中药复合海绵敷料,具有良好的吸水性、保湿性、透气率。本实验旨在深入研究其对大鼠创面修复的效果,探讨其促进伤口愈合的作用机制。

创面的愈合需要经过局部炎症反应、细胞增殖分化和组织修复重建三个阶段,其中炎症阶段是愈合的基础<sup>[9]</sup>。炎症反应激发的巨噬细胞能吞噬坏死组织,清除细菌等有害物质,并分泌多种生物活性物质以及多种酶类物质引导机体修复。同时,通过产生生长因子促进成纤维细胞分泌和合成胶原蛋白,趋化血管内皮细胞增殖,影响后期的组织改建<sup>[10]</sup>。但过度炎症反应是创面愈合延迟的主要原因<sup>[11]</sup>。当渗液较多时,会干扰生长因子,减慢或阻止细胞增

图1 术后第3天大鼠创面组织 (×200, HE染色)

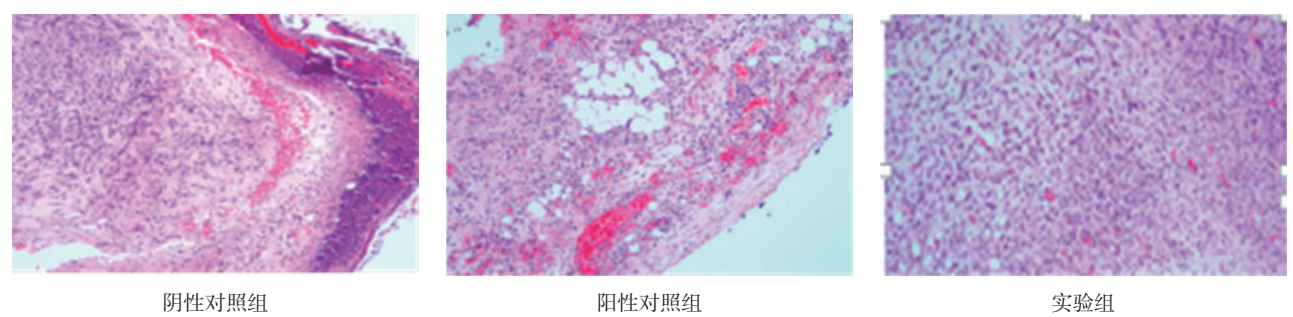


图2 术后第7天大鼠创面组织 (×200, HE染色)

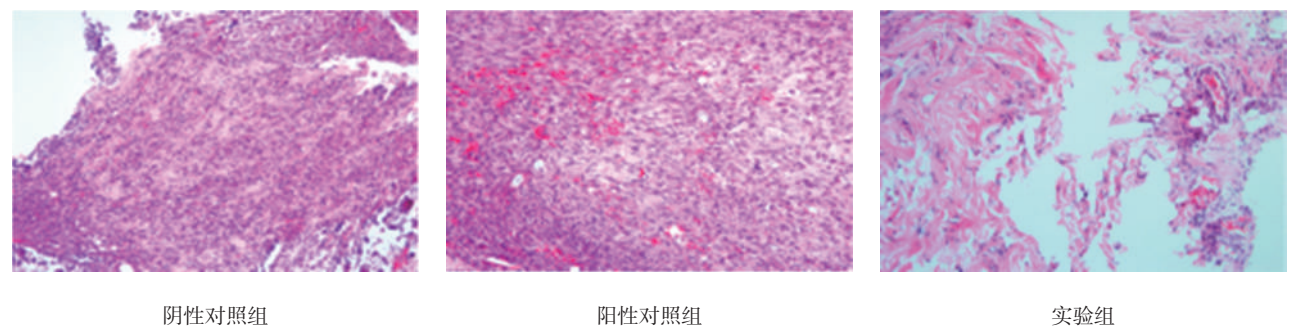
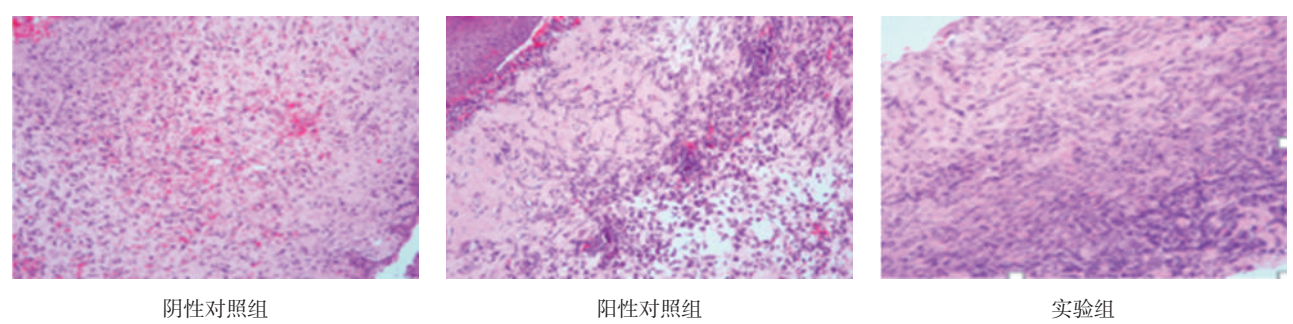


图3 术后第14天大鼠创面组织 (×200, HE染色)



殖,导致局部组织细胞坏死和全身性感染<sup>[12-13]</sup>。因此,管理好渗液,干预创面炎症反应是促使创面修复的关键。新型中药复合海绵敷料中的壳聚糖成分可以增强吞噬细胞的系统功能,具有良好的吸收、保湿、抑菌功效,被认为是最有希望应用于皮肤组织的材料<sup>[14-15]</sup>;敷料中的紫珠草、鸡矢藤、两面针、虎杖等中草药有清热解毒的功效,对多种细菌有抑制作用。这些优势决定了新型中药复合海绵敷料具有消炎抗菌作用。观察炎症反应,实验组与阳性对照组、阴性对照组比较有显著性差异( $P<0.05$ )。提示新型中药复合海绵敷料能减少创面渗出,调节创面炎症反应,阻断创伤感染的病理过程,从而提高机体免

疫力,促进创面愈合。  
成纤维细胞是组织修复细胞中最重要的细胞之一,其合成的胶原对创面愈合过程和瘢痕形成过程起决定性作用。血管生成是创伤修复的重要环节,新生毛细血管可为创面的修复提供充足的氧份,有利于细胞的增殖及分化<sup>[16]</sup>。海绵敷料中的壳聚糖、聚乙烯醇和明胶具有良好的生物相容性、生物降解性和成膜性等优点,同时具有良好的保湿、止血、促进血管生成等功效<sup>[17-21]</sup>。敷料中的三七、白芨、儿茶、两面针、大黄等草药具有活血止血,消炎镇痛,促进血管新生等作用。这些优势决定了新型中药复合海绵敷料可以保持创面湿润,改善局部微循环,为创

面提供血液等营养物质。实验结果显示,在肉眼观察下,用海绵敷料处理的大鼠,比用海绵基质、凡士林纱布处理的大鼠伤口面积缩小发生的时间更早,创面愈合平整。统计学分析,治疗后第3d,实验组、阳性对照组与阴性对照组创面愈合率比较有显著性差异( $P < 0.05$ );治疗后第7d、14d,三组创面愈合率逐渐增高,实验组增高更明显( $P < 0.05$ )。组织学染色观察,实验组、阳性对照组成纤维细胞增生、胶原纤维及毛细血管增生比阴性对照组出现得更早。治疗后第3d,实验组毛细血管增生,胶原组织、成纤维细胞增多,使创面得以填充并引起收缩;治疗后第14d已基本愈合,创面未见异物。提示新型中药复合海绵敷料能够促进大鼠肉芽组织的生长,以缩小创面面积,加速创面的愈合,并能减少瘢痕的产生,减少后遗症,降低死亡率。

从上述结果可看出,高分子材料与中药的结合比单纯采用支架材料或凡士林纱布更有利于皮肤伤口的愈合。新型中药复合海绵敷料在促进皮肤伤口愈合方面的优势在于具有良好的吸收、保湿、透气、止血、抑菌功能,能吸收伤口过多的渗出物,为创面愈合制造良好的微环境,促进肉芽组织组织的生长,减少瘢痕的产生,加速创面的愈合,并且固定良好,使用方便,密闭性好,接触感良好,患者容易接受,从而能减轻医务人员的工作量。然而,本实验结果仅仅是动物实验的结果,在临床的具体情况如何仍需进一步临床探讨。

## 参考文献

- [1] 周肃陵,陈默,安建原.中药外用促进创面愈合的研究进展[J].中国中医骨伤科杂志,2011,19(11):79—80.
- [2] 丁玲.中药外用促进创面愈合机理的研究进展[J].江苏中医药,2006,27(12):71—72.
- [3] 蔡文智.密闭性功能敷料的研制[D].中国人民解放军第一军医大学,2003.
- [4] 潘永毅.三紫创愈海绵敷料的制备研究[D].南方医科大学,2014.
- [5] Rennert R, Goiinko M, Kapiian D, et al. Standardization of wound photography using the Wound Electronic Medical Record [J]. Adv Skin Wound Care, 2009, 22(1):32—38.
- [6] Woodbury MG, Houghton PE, Campbell KE, et al. Development, validity, reliability and responsiveness of a new leg ulcer measurement tool[J]. Adv Skin Wound Care, 2004, 17(4Pt1):187—196.
- [7] 马疆青,陈红凤.中医药促进难愈性创面修复治疗概况[J].辽宁中医药大学学报,2015,17(3):200—203.
- [8] 冯鑫,周永梅,房德敏.中药对伤口愈合干预作用的机理研究[J].辽宁中医杂志,2015,42(8):1498—1501.
- [9] 旭辉,董建勋,李健,等.回阳生肌方药对慢性皮肤溃疡大鼠创面愈合及炎症因子的影响[J].北京中医药大学学报,2013,36(3):170—173.
- [10] 王羽依,王顺梅,唐莹,等.中医药促进创面愈合机制研究进展[J].中国医药导报,2014,11(19):156—158.
- [11] Kroeze KL, Vink L, Boer EM, et al. Simple wound exudate collection method identifies bioactive cytokines and chemokines in (arterio)venous ulcers[J]. Wound Repair Regen, 2012, 20(3):294—303.
- [12] 冯志凯,刘华.伤口愈合机制的研究进展[J].中华外科杂志,2012,50(4):368—372.
- [13] Fatanga V. Wound healing and its impairment in the diabetic foot[J]. Lancet, 2005, 366:1736—1743.
- [14] Rabea EI, Badawy MET, Stevens CV, et al. Chitosan as antimicrobial agent: Applications and mode of action[J]. Biopolymers, 2003, 4:1457—1465.
- [15] 余珍,石陆娥,孙永富,等.壳聚糖医用敷料的研究进展[J].健康研究,2012,32(4):298—301.
- [16] Hanselmann C, Mauch C, Werner S. Haem oxygenase-1: a novel player in cutaneous wound repair and psoriasis? [J]. Biochem, 2001, 353(Pt 3):459—466.
- [17] Tamura H, Furuie T, Nair SV, et al. Biomedical applications of chitin hydrogel membranes and scaffolds [J]. Carbohydr Polym, 2011, 84(2):820—824.
- [18] Strand SP, Lelu S, Reitan NK, et al. Molecular design of chitosan gene delivery systems with an optimized balance between polyplex stability and polyplex unpacking[J]. Biomaterials, 2010, 31(5): 975—987.
- [19] Tchemtchoua VT, Atanasova G, Aqil A, et al. Development of a procedure to simultaneously isolate RNA, DNA and proteins from characterizing cells invading or cultured on chitosan scaffold[J]. Anal Biochem, 2009, 393(1):145—147.
- [20] NV Toan, CH Ng, KN Aye, et al. Production of high-quality chitin and chitosan from Preconditioned shrimp shells[J]. J Chem Tech Biotech, 2006, 81(7):1113—1118.
- [21] 陈丽萍.壳聚糖/PVA/明胶复合膜的制备及性能优化[D].哈尔滨工业大学,2011.