

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2016.24.001

文章编号: 1005-8982(2016)24-0001-05

论著

负压封闭引流技术对兔创面超敏 CRP 和纤维连接蛋白的影响*

林伟文, 赖茂松, 黄瑞良, 熊浩, 罗鹏刚, 夏雄超, 凌华军, 吴增志, 钟萍
(广东医学院附属高明医院, 广东 佛山 528500)

摘要:目的 观察负压封闭引流(VSD)技术治疗后兔创面超敏 C-反应蛋白(hs-CRP)和血浆纤维连接蛋白(Fn)水平的变化,探讨 VSD 促进创面愈合的作用机制。**方法** 复制兔创面模型 16 只,随机分为两组,常规组($n=8$,创面每日消毒、换药及包扎治疗)和 VSD 组($n=8$,创面行 VSD 敷料护创引流治疗)。在建模前(0 时)及建模后 7 d 内各时间点(6 h、12 h、1 d、3 d、5 d 和 7 d),抽取外周静脉血检测 hs-CRP 及 Fn,观察比较两检测指标的变化情况。**结果** 建模前两组外周静脉血 hs-CRP 及 Fn 含量差异无统计学意义($P>0.05$),建模后两组指标含量均不同程度增高。自 12 h 时间点 VSD 组 hs-CRP 含量与常规组比较差异有统计学意义($P<0.05$),VSD 组 hs-CRP 峰值出现在第 1 天,为 (43.81 ± 3.15) mg/L,而常规组 hs-CRP 峰值出现在第 3 天,为 (70.84 ± 4.82) mg/L。第 1 天时间点 VSD 组 Fn 与常规组比较差异有统计学意义($P<0.05$),两组 Fn 的峰值均出现在第 3 天,分别为 (161.53 ± 8.60) mg/L 和 (109.83 ± 9.18) mg/L,但随后 VSD 组 Fn 维持在一个高浓度的平台期,下降趋势不明显。**结论** VSD 技术可能通过引流清除创面坏死组织和渗液,改善创面微循环,促成纤维细胞增殖,早期降低血浆 hs-CRP 含量,增加 Fn 含量,减少炎症反应,加速创面愈合。

关键词: 负压封闭引流;超敏 C-反应蛋白;纤维连接蛋白

中图分类号: R-332

文献标识码: A

Effect of vacuum sealing drainage on C-reactive protein and fibronectin level in rabbit model of surface wound*

Wei-wen Lin, Mao-song Lai, Rui-liang Huang, Hao Xiong, Peng-gang Luo,
Xiong-chao Xia, Hua-Jun Ling, Zeng-zhi Wu, Ping Zhong
(Gaoming Hospital Affiliated to Guangdong Medical College,
Foshan, Guangdong 528500, China)

Abstract: Objective To investigate changes in serum levels of hypersensitive C-reactive protein (hs-CRP) and fibronectin (Fn) before and after Vacuum Sealing Drainage (VSD) applied on wound surface in a rabbit model. **Methods** Surface wounds were created in 16 rabbits, which were randomly assigned to control group ($n=8$; normal aseptic care and regular dressing changes) and VSD group. Venous samples were obtained at baseline (0 hr), 6 hrs, 12 hrs, 1 d, 3 d, 5 d and 7 d after the injury. Levels of hs-CRP and Fn were compared between groups. **Results** There was no difference of hs-CRP and Fn levels between two groups at baseline. Beginning at 12 hrs after injury, levels of hs-CRP in VSD group were consistently and significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). The level of hs-CRP peaked at day 1 in the VSD group (43.81 ± 3.15 mg/L) compared with day 3 in the control group (70.84 ± 4.82 mg/L). Beginning from day 1, levels of Fn were significantly higher in the VSD group than that in the control group. Fn levels peaked at day 3 in both groups (161.53 ± 8.60 mg/L vs 109.83 ± 9.18 mg/L), but Fn level in the VSD group remained elevated after that and declined smoothly. **Conclusions** VSD technique is able to

收稿日期:2016-04-08

*基金项目:2015 年广东省佛山市卫生局科研立项项目(No:佛卫 2015327)

[通信作者] 赖茂松, E-mail: sixlin666@163.com; Tel: 13794078699

drain debris and exudates from surface wound, improve microcirculation and fibroblast proliferation, also decrease serum hs-CRP level while increasing Fn level, thereby attenuate inflammatory response, which in turn improves wound healing.

Keywords: vacuum sealing drainage; hypersensitive C-reactive protein; fibronectin

负压封闭引流(vacuum sealing drainage,VSD)技术作为一种促进创面愈合的新型疗法,是 2008 年卫生部“十年百项”推广项目之一,已广泛应用于各类急慢性创面修复,并取得卓越的疗效^[1],实验研究和临床应用证实^[2-4],VSD 技术能降低炎症反应,改善局部血液循环,促进肉芽组织快速生长及创面愈合。尽管目前 VSD 技术广泛应用于临床,但 VSD 技术对于急性创面炎症反应的影响及其促进创面修复的具体机制研究报道较少。超敏 C-反应蛋白(hypersensitive C-reactive protein,hs-CRP)是急性时相反应蛋白之一,hs-CRP 的水平与炎症的出现及其严重程度具有相关性。纤维连接蛋白(Fibronectin,Fn)是细胞间连接的重要因子,起支架及调理素作用,可促进上皮细胞移行,故 Fn 对加速创伤修复能起重要作用。不少研究均肯定 Fn 在创面愈合中的重要作用^[5-6]。本研究通过复制实验兔模型,比较观察 VSD 技术和常规换药术对急性创面愈合过程中 hs-CRP 及 Fn 水平的影响,进一步了解 VSD 技术减轻炎症反应及促进创面修复愈合的机制。

1 材料与方 法

1.1 实验材料和设备

清洁级日本大耳雄性白兔 16 只,体重(2.00 ± 0.25)kg,由广东省医学动物实验中心提供,饲养于广东医学院附属高明医院动物实验中心,温度(22 ± 2)℃,湿度(60 ± 5)%。特制饲养单笼(广东医学院动物实验室),便携式负压吸引仪(武汉维斯第公司),聚乙烯醇化海藻盐泡沫负压引流护创材料(武汉维斯第公司),透明封闭性贴膜(英国 Smith & Nephew 公司)。仪器设备:BN II 特种蛋白分析仪(德国 Siemens 公司),hs-CRP 检测试剂盒(美国 Dade behring 公司),日立 7600-020 型全自动生化分析仪(日本 Hitachi 公司),人细胞纤维连接蛋白检测试剂盒(美国 Cusabio 公司)。

1.2 实验过程

1.2.1 动物造模 8%硫化钠于兔背侧脱毛处理后特制单笼适应性喂养 3 d。氯胺酮 30 mg/kg 耳缘静脉注射麻醉成功后,脱毛区消毒,无菌操作,手术刀在

背侧全层切开皮肤至肌层,形成 3 cm × 3 cm 大小的创伤创面,压迫止血。

1.2.2 实验分组及干预措施 按随机数表法将模型兔分为 VSD 组和常规组,每组 8 只。常规组采用传统换药方法,每天应用生理盐水清洗创面,0.5% 安尔碘消毒液消毒创面周围组织,用无菌纱布敷料覆盖创面,并用透明封闭性贴膜固定敷料。VSD 组采用 VSD 技术,造模兔创面止血后生理盐水清洗创面,0.5% 安尔碘消毒液消毒及 75% 酒精脱脂棉处理创面周围后,将 VSD 敷料修剪成 5 cm × 5 cm 大小完全覆盖创面,将引流管一端插入敷料中,另一端连接负压装置,创面及周边用生物透性贴膜完全封闭,予持续 -125 mmHg(-16.6 kPa)负压吸引 7 d。为防止创面污染及贴膜破损漏气,上述造模兔均在特制单笼中按标准条件进行饲养。若存在引流管漏气或堵塞,则及时更换贴膜或 VSD 辅料。

1.3 主要观察指标

1.3.1 大体观察 治疗第 7 天拆除敷料时对创面进行创面观察。观察创缘皮肤、组织水肿情况,以及创面面积、颜色、分泌物、微细血管情况等。

1.3.2 hs-CRP 和 Fn 的检测 VSD 组和常规组于建模后 7 d 内各时间点(6 h、12 h、1 d、3 d、5 d 和 7 d),于兔耳缘静脉抽取外周静脉血 5 ml,采用动态定时散射比浊法检测兔外周静脉血中 hs-CRP 和 Fn 含量。同时以建模前兔外周静脉血为对照(0 时),具体操作同上。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 18.0 统计软件进行数据分析,计量资料数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较进行 *t* 检验,*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

16 只模型兔饲养良好,实验过程中无明显异常反应。常规组未出现敷料松脱现象。VSD 组 1 例第 1 天出现 VSD 引流管堵塞,1 例第 3 天敷料松脱漏气,均及时发现并重新更换 VSD 敷料或贴膜,保证实验如常进行。

2.1 大体观察

治疗第 7 天,VSD 组创缘清洁,创面面积(5.26 ± 1.15)cm²,创面基底部红润、清洁,无明显水肿,无异常分泌物,肉芽组织丰满并呈细小颗粒状,触之即渗血,其下微小血管清晰可见;常规组创缘有少量血痂附着,创面面积(7.36 ± 1.25)cm²,与 VSD 组比较差异有统计学意义(P<0.05),创面基底部呈暗红色,水肿明显,有淡黄色分泌物附着,肉芽水肿模糊。

2.2 VSD 组和常规组 hs-CRP 变化

hs-CRP 含量在建模前 VSD 组和常规组分别为(2.81 ± 0.59)mg/L 及(2.74 ± 0.50)mg/L,差异无统计学意义(P>0.05),具有可比性。自 12 h 时间点 VSD 组 hs-CRP 与常规组比较差异有统计学意义(P<0.05),VSD 组 hs-CRP 峰值出现在第 1 天,为(43.81 ± 3.15)mg/L,而常规组 hs-CRP 峰值出现在第 3 天,为

(70.84 ± 4.82)mg/L。各组 hs-CRP 达到峰值后呈渐进性下降,但 VSD 组下降更迅速,在第 7 天降至(11.50 ± 1.78)mg/L,而常规组 hs-CRP 含量仍高达(43.20 ± 3.07)mg/L,两组比较差异有统计学意义。见表 1 和图 1。

2.3 VSD 组和常规组 Fn 变化

建模前 VSD 组和常规组 Fn 含量分别为(56.03 ± 5.79)mg/L 和(54.71 ± 5.88)mg/L,差异无统计学意义(P>0.05),具有可比性。而两组 Fn 含量变化差异有统计学意义的时间点出现在第 1 天(P<0.05),两组 Fn 均在第 3 天时间点达至高峰,分别为(161.53 ± 8.60)mg/L 和(109.83 ± 9.18)mg/L,差异有统计学意义。尽管达到峰值后持续下降,但 VSD 组 Fn 在随后维持一个高浓度的平台期,下降趋势不明显,第 7 天仍高达(135.02 ± 3.56)mg/L,平均含量比常规组高峰值还高。见表 2 和图 2。

表 1 两组 hs-CRP 的变化 (n=8,mg/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	0 h	6 h	12 h	1 d	3 d	5 d	7 d
VSD 组	2.81 ± 0.59	13.76 ± 1.01	28.37 ± 1.88	43.81 ± 3.15	32.39 ± 2.90	20.68 ± 1.70	11.50 ± 1.78
常规组	2.74 ± 0.50	13.83 ± 1.22	34.45 ± 3.69	60.18 ± 4.05	70.84 ± 4.82	53.93 ± 5.09	43.20 ± 3.07
t 值	0.288	0.149	3.653	10.792	20.357	15.856	21.736
P 值	0.782	0.886	0.008	0.000	0.000	0.000	0.000

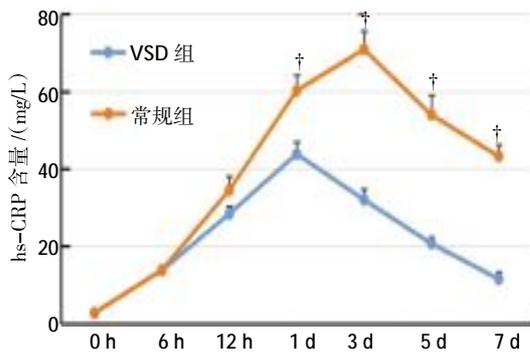


图 1 两组不同时间 hs-CRP 变化趋势

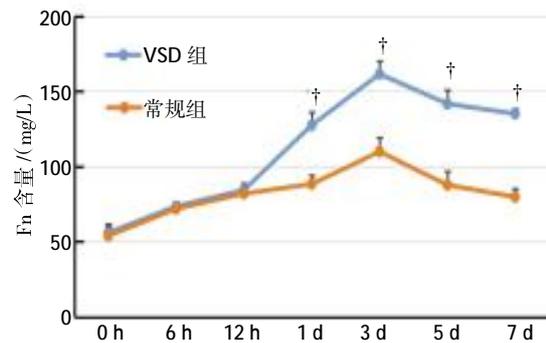


图 2 两组不同时间 Fn 变化趋势

表 2 两组 Fn 的变化 (n=8,mg/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	0 h	6 h	12 h	1 d	3 d	5 d	7 d
VSD 组	56.03 ± 5.79	73.61 ± 3.00	84.49 ± 4.23	127.39 ± 8.77	161.53 ± 8.60	141.73 ± 9.04	135.02 ± 3.56
常规组	54.71 ± 5.88	71.86 ± 3.04	82.04 ± 3.29	88.41 ± 5.86	109.83 ± 9.18	87.87 ± 8.97	79.81 ± 5.64
t 值	0.354	1.568	1.902	12.637	10.586	9.393	26.650
P 值	0.731	0.162	0.103	0.000	0.000	0.000	0.000

3 讨论

作为一种改善创面修复愈合的新型疗法,VSD 技术得到广泛应用。这项技术通过创新性地将 V (vacuum, 负压)、S(sealing, 封闭)、D(drainage, 引流) 3 者相结合,使创面处于相对隔离独立空间,消除创面潜在腔隙,将传统的点状引流变为全方位引流,促进坏死组织、渗出液和细菌清除,同时促进毛细血管新生,增加毛细血管流量,修复细胞增殖,刺激肉芽组织生长,从而促进创面愈合。本研究中对模型兔的创面大体观察也证实 VSD 技术处理的创面红润、清洁,无明显水肿,渗出液无积聚,肉芽组织生长质量高。与诸多学者报道的相符合^[7-8]。

hs-CRP 是一种在正常机体中含量极微的非特异性急性时相蛋白,当机体受到损伤或感染数小时后就明显升高,研究发现 hs-CRP 在 48~72 h 达到峰值,其升高幅度越明显,表示机体损伤和炎症的程度越严重。本研究表明,建模前外周静脉血 hs-CRP 含量非常低,在 6 h 时间点两组 hs-CRP 含量虽然较建模前升高明显,但差异无统计学意义,这可能是创伤后炎症反应早期(6 h 内)受创面大小等直接调控,其后的炎症反应由于炎症介质互相作用,开始发生创伤炎症应激链式反应,产生“瀑布样”效应,刺激 hs-CRP 等迅速、大量释放,于是 hs-CRP 在常规组仅换药而无其他干预措施的情况下,在第 3 天时间点达到高峰,相反,VSD 组由于创面富含炎症因子的坏死物质和渗出液被 VSD 引流清除,阻断包括 hs-CRP 在内的炎症网络通路,迅速降低 hs-CRP 的含量,同时也提前了峰值时间点,于第 1 天时即达到浓度高峰。随后的下降考虑可能跟 VSD 以下机制相关:①生物透性贴膜使创面与外界隔开,构成防止细菌入侵的屏障,避免了传统换药可能导致的外来细菌污染,抑制创面附着细菌的滋生,降低感染可能引发的 hs-CRP 升高。②全方位的负压引流使创面区渗出物和坏死组织“零聚积”,破坏细菌繁殖的环境,抑制创面细菌的滋生,阻止毒素重吸收和感染再扩散,有效切断毒素重吸收对机体的“二次打击”。③对比传统的干燥创面,密闭性创面形成的潮湿环境不仅易于免疫细胞的渗出和游走,也有利于吞噬细胞发挥更好的吞噬功能,亦可降低后期 hs-CRP 的反应性分泌,更有利于预防创面感染。

研究表明^[9],当机体存在创伤、感染、急性炎症等应激情况时,hs-CRP 是急性时相蛋白中变化最敏感

的一种,也是目前评价炎症和感染程度最为敏感的指标。hs-CRP 的半衰期约为 15~19 h,故机体发生组织损伤或炎症、细菌感染时,其浓度升高,但当病情明显好转及治愈时,hs-CRP 水平迅速降低。本研究发现,VSD 技术降低炎症反应的机制可能与创伤后 hs-CRP 的峰值时间并降低峰值,随后迅速下降相关。

既往的研究表明,VSD 不仅能影响机体炎症因子的调控^[10],明显改善创面微循环状态并促进血管新生^[11],也对多种影响创面愈合的细胞因子具有调节作用^[12-14],从而表现出较明显的减少创面组织坏死、促进肉芽组织增殖和创面愈合的功能。Fn 是细胞外基质最重要的成份之一,广泛存在于血液、体液及组织中,其广泛参与细胞运动,具有黏附功能,对细胞具有趋化性,能调动单核吞噬细胞系统清除创伤区的失活有害组织,可促进细胞分裂,具有生长因子作用。本研究中笔者发现,两组模型兔 Fn 均在第 3 天达到峰值,与黄晓春等^[15]报道创伤后组织 Fn 迅速增加,于伤后 72 h 达高峰的结论相符合。但两组比较第 1 天的 Fn 差异有统计学意义 ($P<0.05$),考虑 VSD 可能是通过负压吸引作用明显增加微血管数量,扩张微血管口径,改善微循环流速,促使创面的成纤维细胞、血管内皮细胞、巨噬细胞迅速增殖,增加 Fn 的合成。另一方面,VSD 通过零积聚引流,减少影响创面愈合的渗出液残留,减轻细胞组织间水肿,增加 Fn 的趋化性,促使单核、巨噬细胞聚集于创伤区域并引导单核、巨噬细胞清除创伤区的失活组织,发挥调理作用,为创伤修复提供必要的细胞外环境,也促进 Fn 的分泌及再分布。付小兵^[16]认为,在肉芽组织基质的形成尤其在创伤愈合早期 Fn 起着关键作用。本实验中笔者发现,在 VSD 组 Fn 下降过程呈一高浓度的平台期,考虑 VSD 技术促使肉芽组织生长旺盛,Fn 维持高浓度并通过其与细胞结合,成为上皮细胞移行的支架,加速创面肉芽或上皮化,从而增加创面组织的弹力收缩力,缩小创面,促进创面愈合。

本实验结果表明,VSD 能使 hs-CRP 峰值时间提前并降低 hs-CRP 的峰值,随后促其下降;同时提高 Fn 的峰值并维持一高浓度的平台期。hs-CRP 和 Fn 分别是评价创面感染的重要炎症因子和创面修复的主要生长因子,笔者应用 VSD 技术治疗兔创面,通过 hs-CRP、Fn 含量的变化观察其作用,探讨 VSD 减轻感染创面炎症反应,促进创面修复的作用

机制,从而为 VSD 在促进创伤修复的研究方面提供一些实验依据,更好服务临床工作。

参 考 文 献:

- [1] 汪华侨,常湘珍,朱庆棠. 负压封闭引流技术专题座谈会专家意见[J]. 中华显微外科杂志, 2014, 37(2): 209.
- [2] 刘兴邦,余国荣,陶圣祥,等. 封闭负压引流对肉芽成纤维细胞生物学行为的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2010, 27(11): 1599-1601.
- [3] 杨帆,胡尚,白祥军,等. 负压封闭引流技术对兔外周血炎症因子的影响[J]. 创伤外伤杂志, 2011, 13(5): 438-441.
- [4] 陈波,贲道锋,夏照帆. 负压创面治疗技术的研究应用进展[J]. 中华损伤与修复杂志: 电子版, 2014, 9(2): 198-202.
- [5] QIU Z, KWON A H, HIRAON Y, et al. Effects of plasma fibronectin on the healing Of full-thickness skin wounds instreptozotocin-induced diabetic rats[J]. J Surg Res, 2007, 138(1): 64-70.
- [6] 付小兵. 慢性难愈合创面防治理论与实践[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 148-149, 167-174.
- [7] 吴希林,黄军荣,于雷刚,等. 负压封闭引流对猪软组织金黄色葡萄球菌感染创面愈合的影响 [J]. 中华实验外科杂志, 2014, 31(2): 399-401.
- [8] 龚震宇,冯小艳,熊锐华,等. 封闭负压引流对兔放射性溃疡创面愈合的影响[J]. 海军医学杂志, 2015, 36(1): 16-19.
- [9] 张晓慧,李光韬,张卓莉. C 反应蛋白与超敏 C 反应蛋白的检测及其临床意义[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2011, 5(1): 74-79.
- [10] 杨帆,胡尚,白祥军,等. 负压封闭引流对兔皮肤创面炎症细胞趋化和炎症因子分泌的影响[J]. 重庆医学, 2012, 41(7): 686-688.
- [11] 栾夏刚,陈澜,柯玲玲,等. 封闭负压创面治疗对猪肢体高压电烧伤炎症反应及创面血管化的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2015, 32(2): 277-280.
- [12] 周岳平,张春新,陈静,等. 封闭负压引流技术对兔深 II 度烫伤创面组织 bFGF、CK 表达及愈合的影响[J]. 广州医学, 2013, 44(3): 9-12.
- [13] ARSLAN E, OZCURK O G, AKSOY A, et al. Vacuum-assisted closure therapy leads to an increase in plasma fibronectin level[J]. Int wound J, 2011, 8(3): 224-228.
- [14] 李晨,喻爱喜,白育庭,等. 负压封闭引流对创面愈合和血浆纤维连接蛋白水平的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2014, 31(1): 190-191.
- [15] 黄晓春,李泽兵,唐红敏,等. 组织纤维连接蛋白在软组织创伤修复中的作用[J]. 中国康复医学杂志, 1999, 14(6): 260.

(张蕾 编辑)