

猪后肢软组织爆炸伤后封闭负压引流组织修复效果与常规法的比较*

汪舒¹, 刘兴炎¹, 葛宝丰², 陈克明², 张晓红²

Repair of explosive wound in pig thigh soft tissue: Vacuum assisted closure versus conventional method

Wang Shu¹, Liu Xing-yan¹, Ge Bao-feng², Chen Ke-ming², Zhang Xiao-hong²

Abstract

BACKGROUND: Vacuum assisted closure (VAC) or vacuum sealing drainage has received satisfactory results in the treatment of infective wound caused by surgical trauma or incised injury, however, whether it can treat explosive wound remains poorly understood.

OBJECTIVE: Based on the therapy model of the explosive wound on the pig thigh soft tissue, this experiment aims to study the treating effect of the VAC on the explosive wound.

METHODS: The explosive wound model was established by blasting the well developed muscle tissue of an alive and healthy pig's double thighs. The wound was polluted by leaving alone for one day without any intervention. One thigh was treated with VAC, and the other, by regular methods, was cleaned by H₂O₂, bromo-geramine, normal saline and then covered with oil gauze. The bacteriological test, hydroxyproline (HYP) content determination and hematoxylin-eosin staining were performed at 3, 5 and 7 days after operation. The differences between the parameters of the two sides were compared.

RESULTS AND CONCLUSION: The density of bacteria at the VAC side was smaller than that of the control side at 3 days after treatment ($P < 0.05$). The content of HYP at the VAC side was obviously higher than the other side at 3, 5 and 7 days after treatment ($P < 0.05$). There was no obviously seepage, but large of granuloma tissues around the broken area at VAC side. VAC is capable of accelerating the healing of the explosive wound, decreasing the rate of infection and complications. The effect of VAC is obviously better than the regular treatment.

¹Department of Traumatic Orthopedics, ²Institute of Bone Disease, General Hospital of Lanzhou Military Area Command of Chinese PLA, Lanzhou 710039, Gansu Province, China

Wang Shu★, Studying for master's degree, Department of Traumatic Orthopedics, General Hospital of Lanzhou Military Area Command of Chinese PLA, Lanzhou 710039, Gansu Province, China
whtoni@gmail.com

Received: 2010-08-09
Accepted: 2010-10-18

Wang S, Liu XY, Ge BF, Chen KM, Repair of explosive wound in pig thigh soft tissue: Vacuum assisted closure versus conventional method. Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu. 2010;14(50): 9337-9340. [http://www.crter.cn http://en.zglckf.com]

摘要

背景: 以往封闭式负压引流在外伤、切割伤等感染创面治疗上效果较为满意, 但其对爆炸伤的治疗效果却少见报道。

目的: 以猪后肢软组织爆炸伤为治疗模型, 观察封闭式负压引流对爆炸伤的治疗效果。

方法: 用雷管先后于 4 只活体健康白猪双后肢肌肉组织发达处行模拟爆炸, 建立爆炸伤动物模型, 并造成伤口污染后, 一侧行封闭式负压引流治疗, 对侧行常规治疗即每日用双氧水、新洁尔灭、生理盐水冲洗, 油纱覆盖。实验动物于爆炸伤后第 3, 5, 7 天分别进行细菌学检查, 羟辅氨酸含量测定, 苏木精-伊红染色, 观察对比双侧各项指标的差异。

结果与结论: 封闭式负压引流治疗 3 d 后, 治疗侧细菌数量少于对照侧 ($P < 0.05$)。封闭式负压引流治疗侧在治疗后第 3, 5, 7 天羟辅氨酸含量明显高于对照侧 ($P < 0.05$), 相比对照侧, 封闭式负压引流侧无明显炎症细胞渗出, 碎裂区外侧可见大量肉芽组织形成。由此可见, 封闭式负压引流能够加快爆炸伤创面愈合, 可减少感染和各种并发症发生概率, 治疗效果明显优于常规治疗。

关键词: 封闭式负压引流; 爆炸伤; 羟辅氨酸; 创面愈合; 疗效; 组织构建

doi:10.3969/j.issn.1673-8225.2010.50.007

汪舒, 刘兴炎, 葛宝丰, 陈克明, 张晓红. 猪后肢软组织爆炸伤后封闭负压引流组织修复效果与常规法的比较[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 14(50):9337-9340. [http://www.crter.org http://cn.zglckf.com]

0 引言

封闭负压引流 (vacuum assisted closure, VAC) 技术最早应用在皮瓣转移术后各种并发症的预防, 并取得成功^[1]。Fleischman 等^[2]于 1992 年首先将 VAC 技术用于治疗四肢软组织创面感染, 并发现所有创面清洁迅速, 水肿消退增快, 肉芽组织增生显著, 创面感染发生率显著低于对照侧。其后, 又将 VAC 运用于感染创面治疗, 效果特别满意。

羟辅氨酸是胶原蛋白的主要组成成分^[3], 以

往研究中经常把羟辅氨酸作为创面愈合的主要指标, 而这些研究通常局限在外伤、切割伤等方面, 而爆炸伤由于有冲击波和热能的释放而区别于普通的外伤和切割伤。实验观察了爆炸伤愈合过程中羟辅氨酸含量的变化, 检测 VAC 对爆炸伤的影响, 同时也为爆炸伤创面愈合提供一项新的指标。

1 材料和方法

设计: 自身对照, 动物实验。

时间及地点: 于 2009-03/11 在解放军兰州

解放军兰州军区兰州总医院, ¹创伤骨科, ²骨病研究所, 甘肃省兰州市 710039

汪舒★, 男, 汉族, 1980 年生, 辽宁省沈阳市人, 解放军第四军医大学在读硕士, 主要从事骨科创伤修复方面的研究。
whtoni@gmail.com

中图分类号: R318
文献标识码: A
文章编号: 1673-8225
(2010)50-09337-04

收稿日期: 2010-08-09
修回日期: 2010-10-18
(20091231001/WJ-Z)

军区兰州总医院骨病研究所完成。

材料:

实验动物: 健康五六月龄家猪4只, 雌雄各半, 体重35~40 kg, 由解放军兰州军区兰州总医院骨病研究所提供。实验对动物的处理方法符合中华人民共和国科学技术部颁发的《关于善待实验动物的指导性意见》^[4]。

试剂及仪器:

试剂及仪器	来源
羟辅氨酸测试盒	南京建成生物制品公司
负压吸引器	天津同业公司
雷管, 聚能器	解放军兰州军区兰州总医院

实验方法:

爆炸伤模型的建立: 每只家猪于双侧后肢肌肉组织发达处充分备皮, 于各中心处取一小切口, 长约3 cm, 钝性分离直径2 cm周围的皮肤与皮下组织, 将雷管植入分离区域, 外罩聚能器, 引爆雷管, 形成爆炸创面。爆炸伤10 d后处死。

将模型猪固定在自制悬吊式固定架上, 无菌多孔海绵敷料修剪成创面形状, 置于创面皮肤缺损处, 多孔引流管用穿刺针经皮下于背部引出, 连接于负压吸引器, 辅料外贴单向透气封闭贴膜, 密封绝对严密, 以保证负压吸引的压力正常, 将负压吸引器的负压值设置在5.32 kPa, 持续吸引。

细菌学检查: 猪爆炸伤模型建立后, 静置1 d, 形成污染创面后两侧患处取材(设为第0天), 一侧行VAC治疗, 设为VCA治疗侧; 对侧常规处理, 每日换药, 双氧水、新洁尔灭、生理盐水冲洗, 油纱覆盖, 设为对照侧。分别于处理后第2, 4, 6, 8, 10 天取创面组织约2 g, 进行细菌培养计数。取活检标本1 g加入99倍无菌生理盐水, 玻璃匀浆器中匀浆; 将匀浆按10倍稀释; 每份稀释液取100 μL分别接种于血琼脂平板, 37 °C 孵育24 h; 进行细菌菌落计数。根据细菌菌落数及稀释倍数, 按公式计算出每克组织细菌含量。

$$\text{细菌数} = \text{菌落数} \times \text{稀释倍数}$$

苏木精-伊红染色: 固定后创面组织形态见图1。

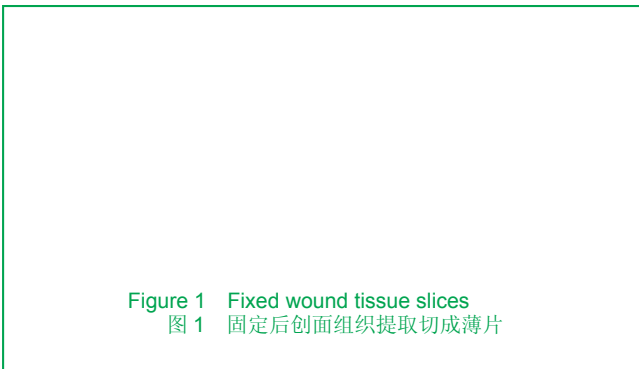


Figure 1 Fixed wound tissue slices
图 1 固定后创面组织提取切成薄片

分别于爆炸伤后治疗前(即刻取材)和第3和6天及模型处死后取创面组织; 体积分数10%甲醛溶液中固定24 h; 取出固定后的创面组织, 清水冲洗120 min; 按组织深浅方向切成薄片, 划分成大小约0.5 cm×0.5 cm大小区域。取有区域代表性的薄片15块, 脱水机中脱水10~15 h。脱水后组织在包埋机下进行石蜡包埋, 冷却后修剪切片, 厚度为15 μm; 用光学显微镜观察比较VCA组和对侧之间炎症细胞浸润、肉芽组织增生等情况。

羟辅氨酸含量测定: 于细菌学检查各时间点取创面组织50~100 mg, 按羟辅氨酸测试盒说明书加水解液制成匀浆, 调整pH值, 离心, 紫外分光光度计550 nm波长条件下测定吸光度值(A), 按以下公式计算各取样点羟辅氨酸含量值:

$$\text{羟辅氨酸含量} = \frac{(\text{测定管A值} - \text{空白管A值})}{(\text{标准管A值} - \text{空白管A值})} \times \text{标准管含量} \times (\text{水解液总体积} / \text{取样量})$$

主要观察指标: VCA侧和对侧的细菌数、创面组织病理学变化和羟辅氨酸含量。

设计、实施、评估者: 实验设计、实施、评估者均为全部作者, 均经过正规培训。

统计学分析: 实验计量数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用SPSS10.0统计学软件对数据进行统计学分析, 组间差异比较采用两样本t检验, 数据均符合正态分布, $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验动物数量分析 共纳入家猪4只, 实验过程中, 动物全部存活, 伤口未见感染, VCA治疗侧伤口愈合速度明显快于对照侧, 最终4只家猪均进入结果分析。

2.2 爆炸创面形态 雷管引爆致伤后, 可见猪双侧臀部损伤大致相当, 创面形状不规则, 长径约7 cm, 短径约4 cm, 深度2 cm, 创面出血80~100 mL, 大量组织焦黑坏死, 创面周围皮肤出现三四条条长度不一裂伤, 见图2。



2.3 细菌学检查 猪爆炸伤模型建立后, 静置1 d后, 双侧创



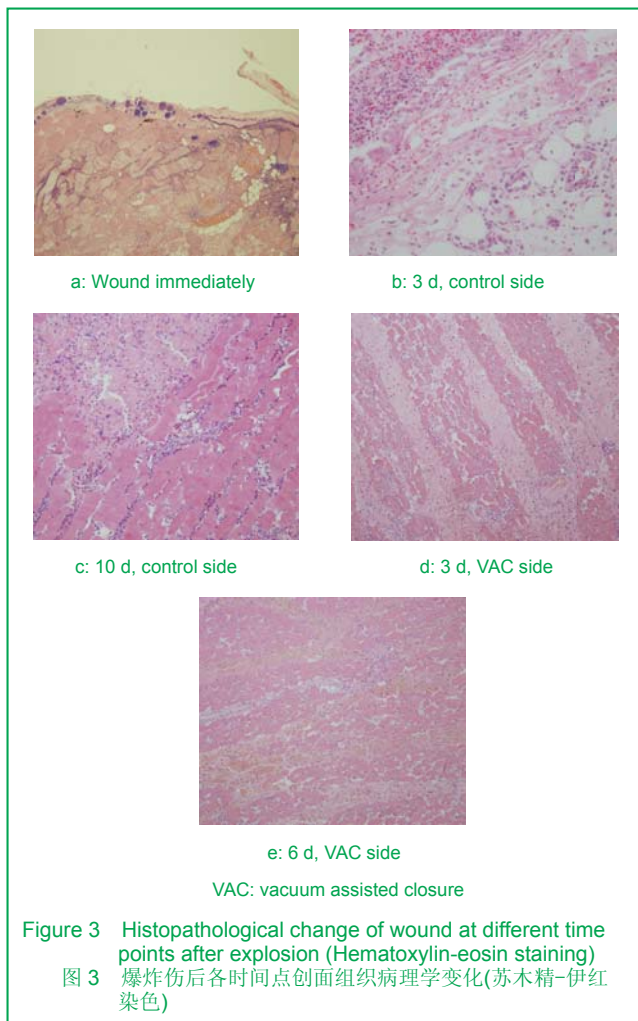
面细菌含量基本相当, 均在 $10^7/\text{g}$ 组织以上。治疗2 d后, VAC治疗侧细菌数即降至 10^6 , 第6天时对照侧细菌数下降缓慢, 改变不明显, 治疗第6天时, 细菌数仍逐渐下降, 直至第10天时细菌数量仍在 10^6 范围内。治疗后各时间点, VAC治疗侧和对照侧细菌数两两比较, 差异均有显著性意义($P < 0.05$), 见表1。

表1 VAC治疗侧和对照侧创面细菌数的比较
Table 1 Comparison of bacterial content in the injured area ($\bar{x} \pm s$, $n=4$, 10^5 cfu/g)

Time (d)	Control side	VAC side
0	337.4±30.2	335.3±29.6 ^a
2	257.2±33.1	46.7±3.5 ^a
4	196.3±14.3	7.4±1.4 ^a
6	94.5±7.6	0.3±0.1 ^a
8	13.8±5.6	0.1±0.0 ^a
10	3.4±1.8	0.0±0.0 ^a

VAC: vacuum assisted closure; ^a $P < 0.05$, vs. control side

2.4 爆炸伤后创面组织病理学变化 见图3。



伤后即刻取材观察可见创面色苍白, 镜下总细胞数和炎性细胞数减少, 组织水肿明显, 见图3a。对照侧治疗后3 d, 炎症细胞稍增多, 细胞增殖现象不明显,

见图3b。对照侧治疗后第6天, 大体可见粉红色肉芽组织, 创面深度变浅, 肉芽组织间有黄色脓性分泌物, 镜下创面出现大量炎症细胞, 细胞数目增多。对照侧治疗后第10天创面出现红色肉芽组织, 创面深度变浅, 见图3c。治疗侧伤后3 d创面内即出现鲜红色肉芽组织, 创面深度变浅, 镜下可见创面炎症细胞浸润, 大量肉芽组织增生, 见图3d。治疗后第6天, 镜下见肉芽组织增生更加明显, 细胞水肿基本消失, 见图3e。治疗后第10天, 创面恢复情况更加明显。

2.5 羟脯氨酸含量变化 如表2所示, 治疗侧与对照侧的羟脯氨酸含量均随时间增加而增加, 但治疗第4天后治疗组羟脯氨酸含量增高明显多于对照侧($P < 0.01$)。

表2 羟脯氨酸含量比较
Table 2 Comparison of hydroxyproline content in the injured area ($\bar{x} \pm s$, $n=4$, mg/g)

Side	Time after treatment (d)	
	2	4
VAC	689.24±31.20	1 398.63±34.84 ^a
Control	553.77±29.63	739.73±36.21

Side	Time after treatment (d)	
	8	10
VAC	3 349.02±30.41 ^a	4 005.84±31.01 ^a
Control	1 573.67±32.95	2 482.15±29.45

VAC: vacuum assisted closure; ^a $P < 0.01$, vs. control side

3 讨论

近年来, VAC被广泛应用到感染创面和慢性创面如压疮, 糖尿病溃疡等所有种类创面的治疗中, 并取得了满意的效果^[5-7]。实验仅就VAC对爆炸伤感染创面愈合中细菌学、病理学和羟脯氨酸含量等方面的影响进行了探讨。从实验结果观察到, VAC能够从各个方面促进爆炸伤口的愈合。在细菌学观察中, VAC治疗侧与常规方法治疗组的细菌数量在第2天便出现了显著差异, VAC治疗侧在治疗第6天, 创面中细菌数降到 10^5 以下, 第8天时降到了 10^4 以下, 而常规治疗组在治疗第5天时, 细菌数仍处在 10^7 范围内, 直到第10天才降到 10^5 , 可见在治疗速度上, VAC技术明显高于普通治疗方式。目前, VAC降低创面内细菌数量的机制尚不明确, 大多数学者认为其能高效引流创面渗出液, 从而减少细菌存活、繁殖的培养基。许龙顺^[8]认为, VAC能够促进坏死组织脱落, 减少细菌培养基, 并且VAC可以提高爆炸创面中的分子髓过氧化物酶活性以降低创面内的细菌数量, 作者认为, 其最主要机制是VAC能够给爆炸伤创面提供一个负压环境, 使创面内液体向敷料方向流动, 减少了细菌在其中繁殖的概率, 并且相对破坏了细菌的生长环

境。这些都与细菌数量的减少有关。

实验病理学观察结果显示, 对照侧第3天时只出现炎症细胞的略微增多, 细胞增殖并不明显, 直至第6天时才出现粉红色肉芽组织, 而VAC治疗侧在第3天时就呈现粉红色肉芽组织, 镜下见大量细胞增殖, 炎症细胞浸润, 第6天时肉芽组织更加明显, 细胞水肿基本消失, 镜下可见大量成纤维细胞和血管内皮细胞。这说明两组在启动愈合的时间点上存在差异, VAC能够减轻爆炸伤感染创面继发性坏死, 减少创面细菌培养基数量从而减少细菌繁殖, 并能减少革兰阴性菌比例, 快速启动创面修复过程中的肉芽组织增生。另外, VAC可以促进创面血液循环, 也为肉芽组织增生提供了良好条件。在创面愈合过程中, 早期的炎症反应是创面愈合过程的标志之一, 表现为大量炎症细胞浸润, 创面面积和深度变化不大, 本实验中VAC治疗侧与对照侧之间的比较, 恰恰说明了VAC能够快速启动创面愈合过程。

胶原是极少数含有羟脯氨酸的蛋白质之一^[3, 9-10], 因此, 羟脯氨酸含量的多少反应了局部新合成的胶原的多少, 而胶原蛋白含量的多少又可以反映创面愈合的程度。在本实验中, VAC治疗侧与对照侧的羟脯氨酸含量比较, 在治疗第4天时便出现了明显差异, VAC治疗侧羟脯氨酸含量明显高于对照侧, 说明在VAC治疗下, 爆炸伤创面内胶原蛋白含量增长速度远远高于对照侧, 同时也说明了VAC治疗的爆炸伤创面愈合进度远高于普通处理创面。通过实验的证明, VAC在促进爆炸伤创面愈合方面明显优于常规处理。

4 参考文献

[1] Raffel AB. The use of negative pressure under skin flaps after radical mastectomy. *Ann Surg.* 1952;136(6):1048.
 [2] Fleischmann W, Strecker W, Bombelli M, et al. Vacuum sealing as treatment of soft tissue damage in open fractures. *Unfallchirurg.* 1993;96(9):488-492.
 [3] Zhang ZQ, Zhao DX, Yang XL. Anjisuan yu Shengwu Ziyuan. 2006;28(1):55-58.
 张自强, 赵东旭, 杨新林. 羟脯氨酸的研究与开发[J]. 氨基酸和生物资

源, 2006;28(1):55-58.
 [4] The Ministry of Science and Technology of the People's Republic of China. *Guidance Suggestions for the Care and Use of Laboratory Animals.* 2006-09-30.
 [5] Isago T, Nozaki M, Kikuchi Y, et al. Negative pressure dressings in the treatment of pressure ulcers. *J Dermatol.* 2003;30(4):299.
 [6] Fleck TM, Fleck M, Moidl R, et al. The vacuum assisted closure system for the treatment of deep sternal wound infections after cardiac surgery. *Ann Thorac Surg.* 2002;74(5):1596-1600.
 [7] Clare MP, Fitzgibbons TC, McMullen ST, et al. Experience with the vacuum assisted closure negative pressure technique in the treatment of non-healing diabetic and dysvascular wounds. *Foot Ankle Int.* 2002;23(10):896-901.
 [8] Xu LS. Xi'an: Disi Junyi Daxue. 2001;7(3):354.
 许龙顺. 创面封闭负压引流技术促进创面愈合的实验与临床研究[D]. 西安: 第四军医大学, 2001.7(3):354.
 [9] Suo W, Ma AM, Wang XL, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu.* 2007;11(1):99-102.
 索伟, 马爱敏, 王兴林. 短波紫外线照射四肢火器伤后组织中羟脯氨酸含量的变化[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007, 11(1):99-102
 [10] Xiong LX, Shi XL, Li WL, et al. *Zhongguo Zuzhi Gongcheng Yanjiu yu Linchuang Kangfu.* 2007;11(23):4466-4469.
 熊丽霞, 石小玉, 李文林, 等. 白细胞介素13刺激成纤维细胞胶原基因转录和胶原蛋白的合成[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2007; 11(23):4466-4469.

来自本文课题的更多信息--

致谢: 本课题是在尊敬的导师刘兴炎教授悉心指导与热切关怀下完成的, 导师3年来无私的给予了作者学习中的指导和生活中的关怀, 他渊博的医学知识、严谨认真的治学风及勇于追求真理的执著精神让我铭记于心, 并将使我终生受益, 在此献上我由衷的敬意与诚挚的谢意! 感谢解放军兰州军区兰州总医院骨病研究所副所长陈克明副教授、病理室张晓虹老师等在实验过程中的帮助, 并感谢微生物室和放射科诸位老师的大力支持。感谢作者的愛人和家人的大力支持。

利益冲突: 课题未涉及任何厂家及相关雇主或其他经济组织直接或间接的经济或利益的赞助。

设计或课题的偏倚与不足: 由于实验经费有限, 本文样本量受到一些限制, 另外, 实验中实验动物的治疗环境不完美, 可能与临床存在一些差异。

提供临床借鉴的价值: 作为一名军人, 应该看到未来战争的可能性和残酷性, 爆炸伤的救治将是未来战地医疗的主要任务, 本实验将封闭式负压引流技术应用到爆炸伤的救治, 并获得了一些可行性数据, 相信会为以后的爆炸伤治疗研究提供帮助。