文章编号：1000-5404(2008)13-1293-03

论著

抑郁对大鼠创面愈合过程中胶原含量的影响

周明芳[1]，程天民[2]，冯正直[1]　（第三军医大学：[1]护理系心理学教研室，[2]军事预防医学院防原医学教研室，全军复合伤研究所，创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室，重庆 400038）

摘　要：目的　观察抑郁复合皮肤创伤大鼠创面肉芽组织的胶原含量，初步探讨抑郁影响创面愈合的可能机制。方法　根据建模方法将 126 只 SD 大鼠随机分为单纯皮肤创伤组、皮肤创伤复合抑郁组、抑郁复合皮肤创伤组，采用羟脯氨酸试剂盒检测创面组织的羟脯氨酸含量，苦味酸天狼猩红染色后偏振光显微镜下观察各组各时相点创面的胶原沉积情况。结果　抑郁复合皮肤创伤组大鼠创面肉芽组织中的羟脯氨酸含量及胶原沉积量持续低于其余两组（$P<0.01$，$P<0.05$），伤后 18 d，与皮肤创伤复合抑郁组趋于一致。结论　抑郁复合皮肤创伤可显著降低创面组织羟脯氨酸的合成，减少胶原纤维沉积，从而延缓伤口愈合。

关键词：羟脯氨酸；胶原；伤口愈合；抑郁
中图法分类号：R322.99；R364.33；R395.2　　文献标识码：A

Effects of depression on collagen levels during wound healing in rats

ZHOU Ming-fang[1], CHENG Tian-min[2], FENG Zheng-zhi[1] ([1]Department of Psychology, College of Nursing, [2]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Combined Injury, College of Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective　To measure the collagen content in the granulation tissue of skin wound surface in rats with depression in order to explore the possible mechanism about depression to wound healing. Methods　Totally 126 Sprague-Dawley rats were randomly and equally allocated to 3 groups: simple wound group, depression plus wound group, wound plus depression group. Unpredictable stimuli, including fasting, electrocution, water deprivation, swimming in cold water and others, were performed for 18 d to establish depression model of rats. A full-thickness dermal wound (2.2 cm in diameter) was made on the back of rats to build wound model. Rats from depression plus wound group received 18 days' stimuli and then wound cutting. For those of wound plus depression, stimuli were carried out from the next day of wounding. The basal tissue in the center of the wound was taken out from 6 rats of every group in 3, 5, 7, 10, 14, 18 and 21 d after wounding. Hydroxyproline reagent kit was used to detect the content of hydroxyproline in collected tissue. Wound collagen depositions in every time point were stained by nitroxanthic acid sirius red and then observed by polarization microscopy. Results　Hydroxyproline content and collagen deposition in wound granulation tissue of depression plus wound group rats were lower than those in the other 2 groups. From 18 d after wounding, rats of depression plus wound group had a tendency to the same level as wound plus depression group. Conclusion　Depression plus wound significantly decreases hydroxyproline synthesis, reduces collagen deposition in wound, and then delays the wound healing.

Key words: hydroxyproline; collagen; wound healing; depression

创伤修复是一个十分复杂的生物学过程，近年来作为创伤外科和军事医学领域的热点问题而受到广泛关注。有诸多因素均可影响创面愈合，但近年的研究主要集中在电离辐射影响伤口愈合的辐射剂量、机制及促愈措施等方面[1-3]，虽有心理因素影响创面愈合

作者简介：周明芳，女，四川省自贡市人，硕士，副教授，主要从事战创伤护理、应激与创伤修复方面的研究，发表论文 20 余篇。电话：(023)68753940
通信作者：冯正直，电话：(023)68752269
收稿日期：2007-07-10　修回日期：2008-01-09

的相关报道，但目前国内外相应的实验性研究均十分罕见。我们的前期实验显示，抑郁可显著延缓大鼠皮肤的创面愈合[4]，但对其影响机制并不明了。为此，本研究拟动态观察抑郁复合皮肤创伤大鼠创面组织中羟脯氨酸（hydroxyproline，Hyp）及胶原沉积量的变化规律，以期探讨抑郁影响创面愈合的可能机制。

1 材料与方法

1.1 实验动物与分组

健康SD雄性大鼠126只，体质量170～200 g，由第三军医大学野战外科研究所实验动物中心提供，动物经编号后按随机数字表法分为单纯皮肤创伤组、皮肤创伤复合抑郁组和抑郁复合皮肤创伤组，每组42只。

1.2 主要仪器和试剂

微量电子天秤，电热恒温水浴箱，台式低速离心机，紫外可见光分光光度仪，普通切片机，Olympus光学显微镜，显微照相系统，偏振光显微镜；Image Pro Plus 4.5图像分析系统；1%戊巴比妥钠，羟脯氨酸试剂盒（南京建成生物工程研究所提供，批号20060424），苦味酸天狼猩红染液（Sigma公司）。

1.3 模型的制备

参照文献[5]进行。

1.4 标本留取及检测方法

1.4.1 Hyp检测 分别于致伤后3、5、7、10、14、18、21 d，1%戊巴比妥钠30 mg/kg腹腔注射麻醉大鼠后取创面中心部位基底组织，每组每时相点6只动物。检测方法按说明书进行：微量电子天平精确称取湿重组织30～50 mg，加碱水解液1 ml混匀，95℃水浴箱中水解20 min；流水冷却后向各管逐滴加入调pH液，调pH值至6.0～6.8（管内液体变成黄绿色）；加蒸馏水稀释至10 ml，混匀；取4 ml稀释液加适量活性碳混匀后3 500 r/min离心10 min；取上清1 ml按试剂盒说明逐步加入试剂1、2、3；再经60℃水浴15 min，冷却后3 500 r/min离心10 min，取上清100 μl在550 nm处，以蒸馏水调零，测定各管吸光度值[D(550)]。Hyp含量按以下公式计算。

Hyp含量(μg/mg)＝[测定管D(550)值－空白管D(550)值]/[标准管D(550)值－空白管D(550)值]×标准管含量(5 μg/ml)×水解液总体积(10 ml)/组织湿质量(mg)。

1.4.2 胶原检测 各时相点沿创缘取材，10%福尔马林固定，常规石蜡包埋切片后，用苦味酸天狼猩红对切片进行染色，具体步骤为：切片脱蜡至水，蒸馏水洗2次，苦味酸天狼猩红染液浸染1 h，水洗5 min，苏木精复染2 min，梯度乙醇脱水，二甲苯透明，中性树胶封片。偏振光显微镜下观察并采集图像，Ⅰ型胶原纤维呈强双折射的红色或黄色粗纤维，Ⅲ型胶原纤维呈弱折射的绿色细纤维。不同实验动物每个时相点、每个创面切片采集5个视野，用Image Pro Plus 4.5图像分析系统量化不同创面活检组织的胶原沉积情况，用平均光密度值表示。

1.5 统计学处理

数据资料用$\bar{x} \pm s$表示，采用SPSS 10.0统计软件行单因素方差分析。

2 结果

2.1 创面组织Hyp含量比较

伤后第1天3组间Hyp含量无显著差异；自第3天起，抑郁复合皮肤创伤组的Hyp含量即显著低于其余两组（$P<0.05$），而单纯皮肤创伤组与皮肤创伤复合抑郁组的Hyp含量在伤后7 d内均未显示出显著性差别；伤后10 d，各组间Hyp含量差异有统计学意义（$P<0.01$），以抑郁复合皮肤创伤组最低，单纯皮肤创伤组最高并持续至伤后21 d；伤后14 d皮肤创伤复合抑郁组的Hyp含量增长减慢但仍高于抑郁复合皮肤创伤组（$P<0.05$）；自第18天起皮肤创伤复合抑郁组的Hyp含量低于抑郁复合皮肤创伤组，但并无统计学意义。结果见表1。

2.2 胶原沉积的定量分析

各组动物致伤后7 d内，创面组织胶原沉积均不明显；伤后7 d单纯皮肤创伤组和皮肤创伤复合抑郁组创面肉芽组织内出现少量细小Ⅰ、Ⅲ型胶原，抑郁复合皮肤创伤组出现微量Ⅰ、Ⅲ型胶原纤维，抑郁复合皮肤创伤组与其余两组相比有显著差异（$P<0.05$，$P<0.01$），而皮肤创伤复合抑郁组与单纯皮肤创伤组间无统计学意义。随着创伤时间的延长，各组创面组织中胶原沉积量逐渐增多，至第14天时3组间胶原含量差异显著，但第18天起皮肤创伤复合抑郁组与抑郁复合皮肤创伤组创面的胶原纤维含量无显著差别。结果见表2。

表1 各组大鼠伤后不同时间皮肤创面组织中Hyp含量比较(μg/mg，$n=6$，$\bar{x} \pm s$)

组别	3 d	5 d	7 d	10 d	14 d	18 d	21 d
单纯皮肤创伤组	0.419 7±0.037 6	0.845 0±0.045 7	1.194 7±0.120 6	1.874 2±0.082 4	2.861 3±0.123 4	4.566 7±0.204 8	6.032 5±0.359 0
皮肤创伤复合抑郁组	0.417 1±0.019 0	0.835 9±0.060 1	1.106 3±0.121 3	1.571 3±0.093 3[a]	2.128 9±0.108 6[a]	3.654 2±0.304 7[a]	4.695 8±0.479 4[a]
抑郁复合皮肤创伤组	0.375 7±0.020 0[bd]	0.765 7±0.023 8[bd]	0.901 2±0.059 4[ac]	1.399 0±0.070 5[ac]	1.936 4±0.079 1[ad]	3.829 4±0.180 5[a]	4.756 6±0.418 6[a]

a：$P<0.01$，b：$P<0.05$，与单纯皮肤创伤组比较；c：$P<0.01$，d：$P<0.05$，与皮肤创伤复合抑郁组比较

表2 各组大鼠伤后不同时间创面局部胶原含量检测结果($n=6$，$\bar{x} \pm s$)

组别	7 d	10 d	14 d	18 d	21 d
单纯皮肤创伤组	0.624 5±0.044 2	0.687 2±0.043 0	0.747 6±0.034 1	0.809 3±0.046 2	0.876 8±0.065 1
皮肤创伤复合抑郁组	0.596 3±0.055 8	0.648 9±0.031 4	0.678 7±0.045 9[a]	0.718 2±0.035 4[a]	0.729 3±0.075 2[b]
抑郁复合皮肤创伤组	0.522 1±0.040 8[bc]	0.592 5±0.017 0[bc]	0.623 9±0.019 3[bc]	0.722 3±0.065 3[a]	0.775 0±0.039 4[a]

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与单纯皮肤创伤组比较；c：$P<0.05$，与皮肤创伤复合抑郁组比较

3　讨论

胶原是皮肤细胞外间质的主要成分，是结合其他间质蛋白的物理支架，占皮肤干质量的 60% ～80%。迄今至少已有 15 种不同类型的胶原被发现，但皮肤组织中以Ⅰ、Ⅲ型胶原含量最为丰富，其他类型胶原含量很少[6]。羟脯氨酸是构成胶原的主要成分之一，在胶原中所占比例相对恒定[7]，且动物组织中的羟脯氨酸主要存在于胶原蛋白中，在其他蛋白质中含量很少或不含。因此，不同组织中的羟脯氨酸含量可作为衡量其胶原组织代谢的重要指标。在创伤愈合过程中，胶原的合成和分泌是伤口愈合的决定性因素，检测组织中羟脯氨酸的含量，既可反映胶原蛋白量的变化，也可反映创伤愈合情况。

本研究结果显示，随着伤口的愈合，各组创面组织的羟脯氨酸和Ⅰ、Ⅲ型胶原纤维含量逐渐增高。但抑郁复合皮肤创伤组在创面修复的启动阶段其含量即显著低于其余两组，皮肤创伤复合抑郁组在伤口愈合早期并未表现出与单纯皮肤创伤组间的差异，这可能是因为早期阶段对大鼠的刺激尚不足以引起其情绪及行为的改变，随着不可预见性刺激次数的增加及时间的延长，大鼠逐渐出现反应迟钝、活动能力降低、探究行为减少、兴趣丧失、快感缺乏等一系列抑郁症状[5]，因此，在伤口愈合后期皮肤创伤复合抑郁组的羟脯氨酸含量和胶原纤维沉积增长速度减慢，而抑郁复合皮肤创伤组则因刺激撤除时间的延长而逐渐恢复，两组的羟脯氨酸和胶原纤维沉积水平在皮肤创伤后 18 d 趋于一致，均显著低于单纯创伤组，说明抑郁可显著降低大鼠创面组织的羟脯氨酸合成，减少胶原纤维沉积，从而延缓伤口愈合。

胶原纤维的合成是伤口愈合的重要环节，胶原不仅与伤口张力密切相关，还可为参与组织修复的各类细胞提供一个稳定、平衡的附着环境，其合成量的改变将直接导致伤口愈合过程的异常，因此，胶原合成减少可能是抑郁影响创面愈合的重要原因之一。

参考文献：

[1] 冉新泽，程天民，屈纪富，等. 全身辐射对创伤后皮肤愈合的时间效应研究[J]. 中国临床康复，2002，6(14)：2070－2071.

[2] 郑　军，黄晓元，韦　星. 重组人表皮生长因子促进大鼠皮肤创面愈合的研究[J]. 中华整形外科杂志，2005，21(5)：379－383.

[3] 刘　霞，刘建忠，周元国，等. 局部辐射对大鼠伤口愈合过程中细胞增殖和凋亡的影响规律[J]. 中华放射医学与防护杂志，2002，22(3)：187－188.

[4] 周明芳，程天民，冯正直. 抑郁复合皮肤创伤对大鼠创面愈合的影响[J]. 创伤外科杂志，2007，9(6)：537－539.

[5] 周明芳，冯正直，程天民. 慢性应激抑郁复合皮肤创伤对大鼠行为及体重的影响[J]. 创伤外科杂志，2007，9(2)：154－156.

[6] 尚晓滨，吴咸中，薛小平，等. 活血化瘀中药对清解通下中药增效作用的实验研究Ⅳ——大鼠腹膜粘连组织羟脯氨酸和Ⅰ、Ⅲ型胶原含量测定[J]. 中国中西医结合外科杂志，2006，12(3)：254－257.

[7] DiMicco M A，Waters S N，Akeson W H，*et al*. Integrative articular cartilage repair：dependence on developmental stage and collagen metabolism[J]. Osteoarthritis Cartilage，2002，10(3)：218－225.

（编辑　汪勤俭）

医学科技论文中“渗透浓度”和“渗透压”的正确表述

半透膜隔开的有浓度差别的溶液，其溶剂通过半透膜由低浓度溶液向高浓度溶液扩散的现象称为渗透（osmose）；为维持溶液与纯溶剂之间的渗透平衡而需要的超额压力称为渗透压（osmotic pressure），其量的符号为 π。国际纯粹化学和应用化学联合会（IUPAC）临床化学部和国际临床化学联合会推荐，在临床化学中使用渗透质量摩尔浓度和渗透体积摩尔浓度两个量，单位分别是 mol/kg 和 mol/L。过去常用的单位（mOsm/L、mOsm/kg、mOsm/kg H_2O 等）尽管沿用已久，影响深远，但均属于非法定单位，应予以废除。法定单位与习用单位之间换算系数均为 1，即 1 mOsm/L = 1 mol/L；1 mOsm/kg = 1 mmol/L；1 mOsm/kg H_2O = 1 mmol/L。

渗透压是一种特殊形式的压强，所以其国际单位（SI）与压强相同——“帕斯卡”（pascal），国际符号为 Pa，中文符号为“帕”，实用单位为“千帕”（kPa）、“兆帕”（MPa）。渗透压的本质是压强，而渗透浓度的本质是浓度。根据范特荷甫公式溶液的渗透压不仅和溶液的渗透浓度相关，还和溶液的温度有关。虽然临床上渗透压和渗透浓度呈正比，用渗透浓度来表示渗透压有很强的直观性和实用性，且为临床医生所熟悉。但是按照国家标准规定：人体体液的渗透压只能用“Pa”或“kPa”为单位，不能用 mol/L、mmol/L，也不能用 Osmol/L 为单位。

本刊编辑部