文章编号:1000-5404(2013)10-0981-04

论著

LED红光照射对放创复合伤小鼠创面愈合的影响

任 为[1],程红缨[1],孙慧勤[2] (400038 重庆,第三军医大学:护理学院基础护理学教研室[1],军事预防医学院全军复合伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室[2])

[摘要] **目的** 研究LED红光照射对放创复合伤小鼠创面愈合的影响。**方法** C57BL/6小鼠分为单纯创伤组(单创组)、放创复合伤组(放创组)和放创复合伤红光照射组(放创红光照射组)。单创组于背部制一全层皮肤切除创面,放创组经^{60}Coγ射线5.0 Gy全身一次性均匀照射后在背部制等大创面,放创红光照射组相同制伤后予LED红光照射。伤后动态观察各组创面愈合情况以及小鼠一般情况、体质量、血常规的变化,同时观测红光照射时照射盒内温度变化。**结果** 各组创面均愈合,放创复合伤红光照射组小鼠比放创复合伤组创面平均愈合时间缩短1~2 d($P<0.05$),外周血白细胞计数25 d时比放创复合伤组高出43.41%,第28天时高出37.98%($P<0.05$)。放创复合伤红光照射组体质量增长与放创复合伤组比较并无明显差别($P>0.05$)。**结论** 放创复合伤创面愈合较单创延迟,LED红光照射对放创复合伤创面愈合具有促愈作用。

[关键词] 放创复合伤;创面愈合;LED;红光
[中图法分类号] R364.3;R454.2;R641 [文献标志码] A

Effect of LED red-light radiation on wound healing of combined radiation-trauma injury in a mouse model

Ren Wei[1], Cheng Hongying[1], Sun Huiqin[2] ([1]Department of Fundamental Nursing, School of Nursing, [2]State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Combined Injury, College of Military Preventive Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the effect of LED red-light radiation on promoting wound healing in mice with combined radiation-trauma injury. **Methods** C57BL/6 mice were randomly divided into a simple trauma group, a combined radiation-trauma injury group, and a combined radiation-trauma injury + LED red-light radiation group. Only a full-thickness skin defect wound was made on the back of mice in the simple trauma group. Before wound making, the mice in the combined radiation-trauma injury group underwent single-dose systematic radiation of ^{60}Coγ (5.0 Gy), while the mice in the combined radiation-trauma injury + LED red-light radiation group were subjected to LED red-light radiation after wound making. The following parameters were analyzed: wound healing, changes of general status, body mass and blood routine, as well as temperature change in the radiation capsule during LED red-light radiation. **Results** All the wounds healed. The mean wound healing time in the combined radiation-trauma injury + LED red-light radiation group was shorter than that in the combined radiation-trauma injury group (by 1 – 2 d; $P<0.05$), and the ratio of WBC in peripheral blood was higher (by 43.41% on day 25 and by 37.98% on day 28; $P<0.05$). No significant difference in body mass was observed between these two groups ($P>0.05$). **Conclusion** Wound healing of combined radiation-trauma injury is delayed as compared with that of simple trauma, while LED red-light radiation can promote the process.

[**Key words**] combined radiation-trauma injury; wound healing; LED; red-light

Corresponding author: Cheng Hongying, Tel: 86-23-68752367, E-mail: wenyi93@hotmail.com

放创复合伤主要见于核爆炸和核事故,也可见于临床放疗意外等病例,其突出问题为放射损伤导致造血功能损伤的同时使创面或伤口愈合显著延缓,成为

[通信作者] 程红缨,电话:(023)68752367,E-mail: wenyi93@hotmail.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130314.0930.003.html(2013-03-14)

“难愈性创伤”,这同时也是导致外源性感染和影响整体救治效果的重要因素[1],因此如何促进放创复合伤创面愈合成为复合伤研究的重要内容之一。红光是波长600~700 nm的光线,近年来有关红光照射促进创面愈合的研究日益增多,Alipanah等[2]发现应用685 nm的红光照射可以促进兔子伤口愈合。新近研究[3]还发现,红光照射能显著提高创缘组织中VEGF含量,缩短创面愈合时间。LED(发光二极管)是一种寿命长、转化效率高,能直接将电能转化为光能的光源,目前以LED为光源的红光照射已应用于普通创面的促愈治疗。本研究主要采用以LED为光源的红光照射放创复合伤创面,观测其对创面愈合的影响,为探索放创复合伤难愈创面的治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康雄性C57BL/6小鼠,38只,体质量18~22 g,8周龄,均购于第三军医大学大坪医院野战外科研究所实验动物中心,动物合格证书号SCXK(京)2009-0007。

1.2 动物分组和模型建立

实验动物分为单纯创伤组、放创复合伤组和放创复合伤红光照射组。除单纯创伤组外,各组小鼠装在弧形有机玻璃盒内,同时以^{60}Coγ射线一次性全身照射,吸收剂量为5 Gy,照射后小鼠背部皮肤剃毛,消毒,于背部正中位置制一直径为1.5 cm的全层皮肤切除创面。单纯创伤组小鼠不进行^{60}Coγ射线照射,按同样方法在背部制创。伤后小鼠自由饮食。

1.3 LED红光光源

实验使用的Carnation88高能窄谱红蓝光治疗仪,由深圳普门科技有限公司生产,采用芯片集成式LED光源,其红光波长(640±10)nm,光功率密度70 mW/cm^2,照射距离10 cm,光斑面积260 cm^2。照射方式为1次/d,每次10 min。

1.4 创面残余面积和创面情况

观察和记录创面愈合时间,测定创面残余面积。伤后当天和3、5、7、10、14 d,将创面描印在透明膜上,用Image J图像分析软件测量创面面积,并计算残余面积占原始面积的百分率。残余面积占原始面积的百分率=(残余面积/原始面积)×100%。

1.5 一般情况变化

观察小鼠伤后2、4、6、8、10、12、14 d的体质量,测定伤后体质量占伤前百分率。伤后体质量占伤前百分率=(每时相点体质量/原始体质量)×100%。

1.6 血常规

照射前和照射后3、7、10、13、21、25、28 d小鼠外周血白细胞计数,断尾法采集小鼠10 μL血液,加入130 μL血常规稀释液中,用sysmex xs-800i分析仪测定血液生理指标。

1.7 红光照射不同时间的温度测定

在小鼠照射盒内固定位置放置温度计,分别测量红光照射5 min和10 min时照射盒内的温度。

1.8 统计学分析

实验数据均以$\bar{x}\pm s$表示,采用SPSS 17.0统计软件对实验结果进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 LED红光照射对创面残余面积及伤口平均愈合时间的影响

创面无明显出血、感染,小鼠一般情况良好。从表1可以看出,受到^{60}Coγ射线辐照后,放创复合伤组和放创复合伤红光照射组的创面残余面积占原始面积的百分率在各时相点均大于单纯创伤组,与单纯创伤组比较差异有统计学意义($P<0.05$),证明^{60}Coγ射线辐照后创面愈合延迟。从第10天开始,放创复合伤红光照射组创面残余面积占原始面积的百分率比放创复合伤组低,且差异有统计学意义($P<0.05$),说明给予红光照射后创面的愈合比放创复合伤组快。

从创面愈合时间看,单纯创伤组为(15.10±1.60)d,放创复合伤组为(17.50±0.97)d,放创复合伤红光照射组为(16.36±0.92)d,放创复合伤组和放创复合伤红光照射组的愈合时间都长于单纯创伤组($P<0.05$),但与放创复合伤组相比,放创复合伤红光照射组平均愈合时间较短($P<0.05$)。

2.2 LED红光照射对小鼠体质量的影响

单纯创伤组小鼠伤后4 d体质量略降低,但很快就恢复到伤前的体质量。但放创复合伤组和放创复合伤红光照射组体质量明显降低,与单纯创伤组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。第6天时,放创复合伤组和放创复合伤红光照射组小鼠体质量开始增长,但到14 d时体质量仍未恢复伤前水平。放创复合伤红光照射组体质量增长与放创复合伤组比较并无明显差别($P>0.05$),说明红光照射对放创复合伤小鼠体质量增加并无明显作用。见表2。

2.3 LED红光照射对小鼠外周血白细胞的影响

从表3可以看出,小鼠进行^{60}Coγ射线照射后,放创复合伤组和放创复合伤红光照射组小鼠的外周血白细胞数量明显下降,在第3天降到最低点,然后开始逐渐恢复。放创复合伤红光照射组在辐照后21 d时,外周血白细胞计数高于放创复合伤组,在第25天和第28天明显高于放创复合伤组($P<0.05$)。

表1 各组伤后不同时相点创面残余面积占原始面积的百分率(%,$n=38$,$\bar{x}\pm s$)

组别	3 d	5 d	7 d	10 d	14 d
单纯创伤组	28.68±8.93	20.87±7.11	14.90±4.16	6.44±1.63	0.53±0.44
放创复合伤组	55.14±11.79[a]	32.95±8.22[a]	23.33±4.25[a]	16.37±4.35[a]	2.61±0.98[a]
放创复合伤红光照射组	45.96±4.95[a]	34.15±5.91[a]	23.27±3.56[a]	12.74±3.16[ab]	1.57±0.69[ab]

a:$P<0.05$,与单纯创伤组比较;b:$P<0.05$,与放创复合伤组比较

表 2 伤后 14 d 内各组小鼠体质量变化情况（g，$n=38$，$\bar{x}\pm s$）

组别	2 d	4 d	6 d	8 d	10 d	12 d	14 d
单纯创伤组	97.49±1.78	97.64±2.83	102.71±2.93	103.61±3.60	109.30±3.58	108.48±3.77	110.25±3.99
放创复合伤组	83.69±3.51[a]	83.67±3.36[a]	90.05±4.10[a]	90.52±3.39[a]	95.75±4.24[a]	97.30±3.94[a]	99.88±3.37[a]
放创复合伤红光照射组	85.52±2.63[a]	81.98±3.52[a]	88.91±3.49[a]	90.30±6.20[a]	93.68±9.41[a]	95.29±9.58[a]	96.50±10.43[a]

a：$P<0.05$，与单纯创伤组比较

表 3 LED 红光照射对各组小鼠外周血白细胞的影响（$\times10^9$/L，$n=38$，$\bar{x}\pm s$）

组别	3 d	7 d	10 d	13 d	21 d	25 d	28 d
单纯创伤组	13.08±2.57	20.76±4.09	16.70±1.75	16.14±2.12	14.77±3.73	13.30±1.80	10.89±1.68
放创复合伤组	1.09±0.47[a]	3.12±1.40[a]	5.41±2.79[a]	7.57±2.17[a]	6.14±0.75[a]	7.29±1.83[a]	7.31±1.87[a]
放创复合伤红光照射	1.25±0.49[a]	2.67±1.34[a]	4.89±2.25[a]	6.21±2.21[a]	7.85±2.32[a]	10.43±2.99[ab]	10.11±1.73[ab]

a：$P<0.05$，与单纯创伤组比较；b：$P<0.05$，与放创复合伤组比较

2.4 放创复合伤红光照射组 LED 红光照射时温度变化

放创复合伤红光照射组照射时照射盒内温度上升，5 min 时温度上升为（3.98±0.63）℃，10 min 时温度上升为（6.55±0.61）℃，在不同时间点 LED 红光照射温度上升情况见表 4。

表 4 LED 红光照射不同时间温度上升情况（℃，$\bar{x}\pm s$）

照射时间	1 d	7 d	14 d	21 d	28 d
5 min	3.80±0.84	4.00±0.71	3.80±0.45	4.25±0.50	4.25±0.50
10 min	6.40±1.14	6.20±0.84	6.20±0.45	6.50±0.58	6.75±0.50

2.5 病理学观察

致伤后第 1 天创面表面见大量炎性渗出，创面内组织充血水肿。伤后 5 d，单纯创伤组肉芽组织生长丰富。放创复合伤组仍有较多渗出，肉芽组织增生少，血管增生少。放创复合伤红光照射组肉芽组织增生较丰富（图 1）。

3 讨论

放射复合伤伤情重，救治困难，是战时核武器爆炸和平时核事故等条件下发生的重要和特殊的伤类[4]。放射合并皮肤创伤虽然平时发生较少，而一旦发生则创面难以愈合，成为治疗的难题之一。研究[5]表明，放创复合伤时皮肤创面愈合延迟有明显的量效关系，而这种关系尤以复合 4 Gy 以上、伤后 7～20 d 最为显著。所以实验中予小鼠以^{60}Coγ 射线 5 Gy 一次性全身照射后合并背部全层皮肤损伤，以复制重度放射损伤合并创伤模型。本研究模型表明放创复合伤组和放创复合伤红光照射组创面的愈合时间均长于单纯创伤组，创面残余面积占原始面积的百分率在各时相点也高于单纯创伤组，外周血白细胞计数在第 3 天时明显下降，说明该剂量的^{60}Coγ 射线辐照后的小鼠创面愈合延迟，这与以往的文献报道是一致的。

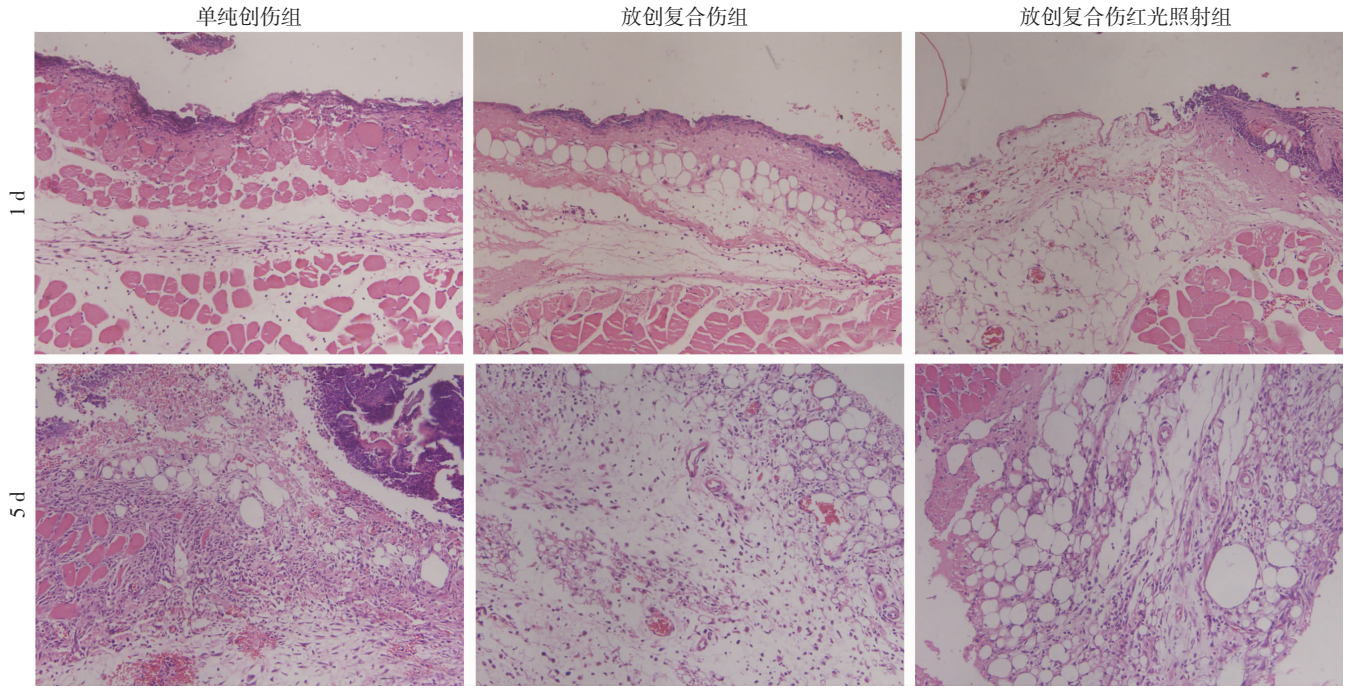


图 1 各实验组小鼠伤后 1、5 d 的皮肤病理学观察（HE ×200）

创伤愈合过程大致可分为3个相互区分而又联系的阶段：炎症反应期、增殖期或肉芽组织形成期、组织改建期[6]。Gu等[7]发现辐照后创伤愈合过程明显延迟，主要表现为：①早期炎症反应明显受抑，创伤局部浸润的巨噬细胞和中性粒细胞等炎性细胞显著减少，另外血管也受到了损伤，出血较明显；②肉芽组织形成和成熟均明显减缓，成纤维细胞受损，胶原mRNA及蛋白水平均降低；③重新上皮化过程延迟，愈合时间延长。

人体细胞线粒体吸收红光后，使线粒体过氧化氢酶活性、蛋白合成、三磷酸腺苷分解增加，过氧化氢酶、超氧化物歧化酶等多种酶活性得到激发，促进细胞新陈代谢，糖原含量增加，蛋白质合成加强，促进细胞增生和合成代谢，改善微循环，促进肉芽组织生长从而促进伤口愈合[8-10]。红光照射促进创面愈合已经在普通难愈伤口的治疗上取得了较好的效果，Schindl等[11]应用红光照射不同原因导致的难治性溃疡患者，所有患者的溃疡在足够的照射后均能愈合，且无明显毒副作用。从本实验结果可以看出，放创复合伤组的愈合时间比放创复合伤红光照射组的时间延迟1~2 d。在第10、14天，放创复合伤红光照射组的创面残余面积占原始面积的百分率分别为(12.74±3.16)%、(1.57±0.69)%，均低于放创复合伤组。说明红光照射对放创复合伤创面愈合有促进作用，可能因为红光能促进肉芽组织生长而促进创面愈合，但其机制还需要进一步研究。

在红光照射过程中，室温为(20±2)℃，5 min时照射盒内温度升高(3.98±0.63)℃，10 min时温度升高为(6.55±0.61)℃。温度在伤口愈合过程中也起重要作用，袁方等[12]发现，经过高温[干球温度(Tdb)(36.00±0.20)℃，湿球温度(Twb)(32.00±0.50)℃]暴露的创伤伤口组织损伤严重、修复时间长、感染率高。《伤口护理临床实践指南》[13]中指出，保持伤口温度在28~32 ℃，有利于细胞移入和肉芽组织形成。实验中10 min时照射盒内温度不构成高温环境，对创面愈合延迟没有影响。适宜的温度升高可能对伤口愈合有促进作用，但还需要进一步的研究。

造血系统是辐射的主要敏感器官，外周血象的改变是辐射损伤的显著特征[14]。机体受到辐照后，造血干细胞和其他造血细胞发生变性坏死、损伤、增殖障碍、造血微环境破坏等，使血液中各类血细胞得不到正常更新和补充，在此基础上并发出血和感染。白细胞寿命短，更新快，造血组织的辐射损伤首先反应在外周血白细胞的数量上[15]。实验结果显示，放创复合伤红光照射组和放创复合伤组的外周血白细胞计数在第3天时降到最低点，其后开始逐渐恢复，但到28 d时仍未完全恢复到辐照前的水平。给予红光照射后，第25天放创复合伤红光照射组白细胞计数比放创复合伤组高出43.41%，第28天时高出37.98%，提示红光照射对白细胞数量的恢复可能有促进作用，但还需进一步验证。

本研究表明波长(640±10) nm，光功率密度70 mW/cm^{2}的红光照射，可以促进^{60}Coγ射线5 Gy一次性全身照射后合并背部全层皮肤损伤的放创复合伤创面的愈合，缩短创面愈合的时间，并且对白细胞恢复有促进作用，这丰富了放创复合伤创面的治疗方法，对其机制还需进一步深入研究。

参考文献：

[1] 史春梦，程天民. 放射损伤对创面愈合的影响[J]. 国外医学：放射医学核医学分册，2005，29(1)：30-32.

[2] Alipanah Y，Asnaashari M，Anbari F. The effect of low level laser (GaAlAs) therapy on the post-surgical healing of full thickness wounds in rabbits[J]. Med Laser Appl，2011，26(3)：133-138.

[3] 胡明玉，李倩，章宏伟. 红光促进难治性创面愈合的研究[J]. 现代生物医学进展，2011，11(7)：1346-1348.

[4] Cheng T，Chen Z，Yan Y，*et al*. Experimental studies on the treatment and pathological basis of combined radiation and burn injury[J]. Chin Med J (Engl)，2002，115(12)：1763-1766.

[5] 冉新泽，程天民，林远，等. 全身放射损伤影响皮肤创伤愈合的剂量效应研究[J]. 中华放射医学与防护杂志，2002，22(3)：149-152.

[6] 屈纪富，程天民，冉新泽. 电离辐射和创伤难愈[J]. 中华放射医学与防护杂志，2002，22(3)：195-197.

[7] Gu Q，Wang D，Cui C，*et al*. Effects of radiation on wound healing [J]. J Environ Pathol Toxicol Oncol，1998，17(2)：117-123.

[8] Weisenseel P，Kuznetsov A V，Molin S，*et al*. Photodynamic therapy for granuloma annulare：more than a shot in the dark [J]. Dermatology，2008，217(4)：329-332.

[9] Dai T，Tegos G P，Zhiyentayev T，*et al*. Photodynamic therapy for methicillin-resistant Staphylococcus aureus infection in a mouse skin abrasion model[J]. Lasers Surg Med，2010，42(1)：38-44.

[10] 赵葆菊. 红光照射治疗顽固性皮肤溃疡的临床观察[J]. 中华物理医学与康复杂志，2009，31(9)：643-644.

[11] Schindl M，Kerschan K，Schindl A，*et al*. Induction of complete wound healing in recalcitrant ulcers by low-intensity laser irradiation depends on ulcer cause and size[J]. Photodermatol Photoimmunol Photomed，1999，15(1)：18-21.

[12] 袁方，李亚洁. 高温高湿环境下负压伤口疗法对创面愈合的影响[J]. 临床军医杂志，2012，40(3)：522-525.

[13] 蒋琪霞. 伤口护理临床实践指南[M]. 南京：东南大学出版社，2004：76.

[14] 郝玉徽，罗圣霖，刘晶，等. 新型异黄酮T1对辐射引起的造血损伤的防护作用[J]. 第三军医大学学报，2011，33(9)：878-882.

[15] 闵锐，李雨，潘真. 核武器及放射损伤医学防治学[M]. 上海：第二军医大学出版社，2008：90.

(**收稿**：2013-01-14；**修回**：2013-03-04)

(编辑 张 维)