维普资讯 http://www.cqvip.com

1.叶应抚，等.全国临床检验操作规程，东南大学出版社 1991;148－149
2.CFD－Ⅲ仪说明书
3.Turner－omes SO Andrew M, Cloes J, et al. Abnormalities in vonwillebrand factor and antithrombin Ⅲ after cardiopulmonary bypass operations for congenital heart disease. J Thorac Cardiovase Surg, 1992;103:87.
4.陈亦江，等.中华心血管外科杂志 1994;10(2):115

(收稿日期 1997－05－20)

Preliminary application of coagulation－fibrinolysis dynamicogram detector in the CPB anticoagulation monitor

Li Guoyang, et al
Institute of Neurology, College of Clinical Medicine

Twtnty－one cases of open heart surgery with CPB were dynamically monitored continuousely. and compared with concurrently measured ACT. Fg. The results show that the ACT and CST before and after CPB were positively correlated (r=0.813 and 0.723 respectively), and MCE% level was correlated with Fg concentration. At the first day after operation, the CFD peak MCT were shortened. At the seventh day after operation, all the parameters restored to the preoperation level except the MCE%. These results revealed that CFD monitor during CPB can intuitively reflect the case of coagulation－fibrinolysis during diffferent phases of pre－and after－operation, and may have definite application value for anticoagulation treatment and after－operation monitor.

KEY WORDS Cardiopulmonary byass; Coagulation; Fibrinolysis.

330－333

透明质酸对伤口愈合调控作用的实验研究

临床学院 烧伤科 张恒术* 黄棠本

提 要 为观测透明质酸(HA)对成年动物伤口愈合调控作用和动态变化，探索其作用机理。本研究采用大鼠开放性创伤模型，局部应用HA后于伤后3、7、14天取肉芽组织，标本经光镜、电镜检查和羟脯氨酸测定，结果显示：局部应用HA后，伤后3天肉芽组织中新生毛细血管较少，伤后7天成纤维细胞出现严重褪变，而其羟脯氨酸含量也显著低于对照组，伤后14天形成的胶原纤维排列较整齐。提示HA对成年动物伤口愈合具有调控作用并对于减少或控制疤痕形成具有潜在意义。

关键词 透明质酸；伤口愈合
中图分类号 R64

伤口愈合为一复杂生物学过程，受多种因素影响。近年来，大量研究表明：哺乳动物胚胎期伤口快速无疤痕愈合与其特殊外环境无关，而与伤口基质中持续大量的透明质酸(HA)关系密切[1,2]。但成年动物伤口仅早期有HA出现，随后下降至低水平[2]，而应用外源性HA于伤口后，可加快愈合速度且形成疤痕较小[3,4]，但尚缺少HA作用的动态研究。本实验应用动物开放创伤模型，观测HA对成年动物伤口愈合的调控作用及动态变

* 男，1965－03出生，主治医师

维普资讯 http://www.cqvip.com



图1 伤后14天，HA外敷组中胶原纤维排列较规则
VG×100

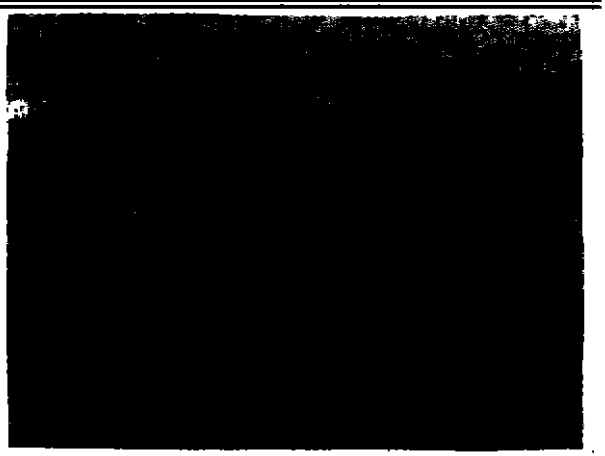


图2 伤后14天，对照组中胶原纤维排列紊乱，甚至有漩涡样改变
VG×100

化，为临床应用HA提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物模型

Wistar大鼠52只，体重190～230g，腹腔注射硫贲妥钠麻醉(30mg/kg)，胸背部剪毛，消毒铺巾后用剪刀沿标记线于脊柱两侧剪去直径2.0cm圆形皮肤全层至深筋膜，轻压止血后，于伤缘外0.5cm处等距离取4点各缝合一针，将皮肤固定于其下筋膜肌肉上，以不粘纱布为内衬，外加数层质地较韧吸水强的纱布制成的衬垫式敷料块，嵌填于伤口内以防伤口过快收缩。

1.2 动物分组和用药方法

取大鼠48只随机分为对照组和HA外敷组各24只，均于伤后3、7和14天时随机取8只切标本观测；另外4只大鼠作多次局部注射HA后于伤后14天取标本观测。

HA(中科院上海生化所提供)，用0.9%生理盐水配制为浓度1.0%溶液。

HA外敷组：伤后即刻用5号针头于伤口中均匀选5点，注射HA液共0.2ml于筋膜内，用含此液0.2ml的不粘纱布块嵌填于伤口中，外加多层纱布包扎，并每24小时更换含HA液0.2ml的内层不粘纱布。

对照组：于伤后用同样的方法注射0.9%盐水0.2ml，并每日更换含0.2ml盐水的内层敷料。

HA注射组：于伤后即刻，第4、7、10天创面内交替均匀选5点注射HA共0.2ml，更换内层不含HA液敷料。

1.3 检测方法和统计处理

伤后3、7、14天时，麻醉下切取肉芽组织，一半用于组织切片后HE和VG染色观察，并取小块肉芽组织，按电镜常规制备样品，在H－600型透射电镜下观察成纤维细胞功能形态；VG染色切片在MD－20型真彩色图像分析仪下行图像分析，检测组织中胶原含量。

另一半肉芽组织经烘烤干燥处理，称重后煮沸酸消化，取消化液按Woessner氏法[5]用721型分光光度计在波



图3 伤后3天，HA外敷组成纤维细胞胞浆中可见脂肪小滴，有变性改变
TEM×5000

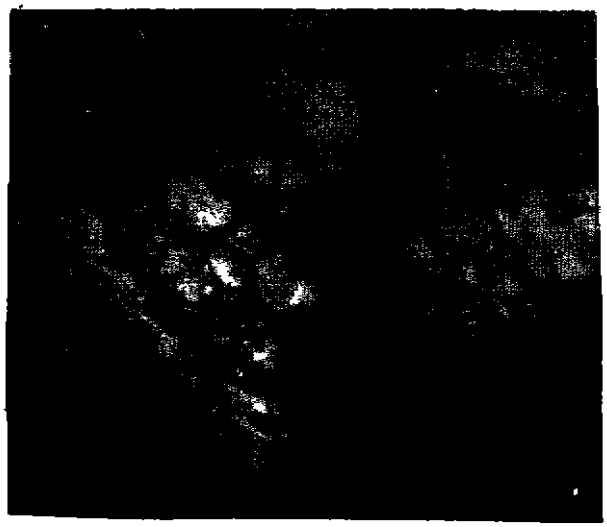


图4 伤后7天，HA外敷组成纤维细胞出现严重变性，胞膜破裂，胶浆内呈空泡样改变
TEM×1,0000

维普资讯 http://www.cqvip.com

长560nm下测定肉芽干组织中羟脯氨酸含量。

结果均为两组计量资料比较，t检验处理。

2 结果

2.1 HE染色 伤后3天HA外敷组肉芽组织中新生毛细血管显著少于对照组；而伤后7天和14天时，两组间新生血管量无明显差异。

2.2 VG染色 HA外敷组胶原纤维排列较规则(图1)，而对照组中胶原纤维排列紊乱，甚至出现漩涡样改变(图2)。

2.3 电镜检查 伤后3天对照组为正常功能活跃之成纤维细胞，而HA外敷组成纤维细胞功能活跃，但有较度变性改变(图3)；7天时对照组成纤维细胞功能仍活跃正常，而HA外敷组成纤维细胞严重退变(图4)；14天时，HA外敷组中出现幼稚成纤维细胞，未清除之退变细胞周围可见白细胞浸润。

2.4 图像分析 伤后3天，对照组与HA外敷组中胶原总面积和光密度总值均无显著性差异($P>0.05$)。伤后7天，HA外敷组肉芽中胶原总面积(0.134 ± 0.018)显著低于对照组(0.207 ± 0.029，$P<0.01$)；但14天时两组胶原总面积相比较无显著性差异($P>0.05$)。

2.5 羟脯氨酸定量测量 应用Woessner氏法[5]分别测定伤后3天、7天和14天时对照组与HA外敷组伤口肉芽组织中羟脯氨酸含量。结果见表I。而局部注射HA大鼠8个伤口在伤后14天其肉芽干组织中羟脯氨酸含量为$74.19\pm7.55\mu g/mg$，与HA外敷组相比，其$P<0.01$；而与对照组相比较，$P<0.005$，差异均有极显著性。

表1 伤后不同时间肉芽组织羟脯氨酸含量
(μg/mg组织)($\bar{x}\pm s$)

伤后时间	3d	7d	14d
HA外敷组	48.51±12.83(16)**	61.31±8.40(16)	90.84±14.17(16)
盐水对照组	50.43±12.05(16)	77.16±11.94(16)	101.21±24.50(16)
P*	>0.05	<0.01	>0.05

* P值为两组相比较所得；** 括号内数据为动物伤口数。

3 讨论

细胞外基质中含有多种氨基多糖(GAG)，除硫酸软骨素等外，HA是一种非硫化类的GAG，广泛存在于机体组织中，对于稳定组织内环境和调节细胞活动起重要作用[1-3]。在成年动物伤口愈合早期，基质中HA产生较多，但随后被含硫GAG取代，伤后7天几乎不能测出[2]。这与哺乳动物胎儿伤口愈合时基质持续含有大量HA，以及伤口愈合后胶原形成少，无明显疤痕形成[1,2]则完全不同，这种基质中HA的显著差异，至少部分地与二者愈合方式不同有关。

本实验应用开放性创伤模型，观测外源性HA对伤口愈合的调控作用，结果发现HA对成年动物伤口愈合的调控作用具有明显的时相差异。伤口愈合早期，HA作用明显，肉芽组织中新生毛细血管显著少于对照组，成纤维细胞出现变性并逐渐加重，胶原纤维合成减少，排列较规则；而伤口愈合后期(14天)，HA作用减弱，变性成纤维细胞恢复或被清除，出现功能活跃的成纤维细胞，胶原合成与对照组无差异。这种随伤口愈合时间不同而作用相异的特征，文献中未见类似报导，但有报道称HA对伤口愈合影响最后结果与对照无显著差异[6]。此现象发生可能与HA的分子量和组织中透明质酸酶活性有关。

HA是一种大分子物质，分子量在$10^6\sim10^7$ dal，在组织中是与特异的蛋白质结合而发挥作用的。由于HA的巨大分子在局部点滴或外敷时不易或较少进入组织中，因此其作用微弱，这可能与报道HA作用不显著有关[3,6]，但临床上有报道效果显著[4]，可能与鼓膜等组织薄易进入有关。因此为更好发挥HA的作用，本实验采用首次注射HA的方法，提高了局部组织中HA浓度，其作用就明显；而伤口愈合后期，由于使用外敷HA的方法，其进入组织的量可能很少，则作用显著减弱。为进一步说明此点，采用多次局部注射的4只大鼠，伤后14天其胶原纤维合成显著低于HA外敷组和对照组。由此说明，HA的调控作用的时相差异与进入组织的量有显著关系。

HA是结缔组织基质成分之一，在体内的降解代谢与透明质酸酶关系密切[7]。大分子HA的降解

维普资讯 http://www.cqvip.com

产生的低分子片段具有强烈刺激血管发生的作用[8]，这正与HA抑制或减少血管形成作用[9]相反，在伤口愈合早期，透明质酸酶活性很低，7天后升高[10]。本实验伤后3天时，应用HA后肉芽组织中毛细血管减少，而7天时已与对照组无差异，可能系透明质酸酶降解HA而致。

HA可由多种细胞产生，伤口愈合时主要由成纤维细胞产生。实验中我们发现，应用HA后可以引起成纤维细胞变性，这与Mast等[11]报道HA可抑制成纤维细胞增殖有相似之处，但该报道未见细胞损害。实验中细胞变性的严重程度正好与胶原合成量的多少一致，这种成纤维细胞本身可合成的HA，反过来又作用于该细胞，其机理尚不明确，可能与HA的浓度和HA特异结合蛋白有关。

实验结果表明，外源性HA可以显著调控成年动物的伤口愈合，但要真正发挥HA的作用，关键是如何使HA进入组织并保持稳定的相对高浓度，本实验采用局部注射方法，部分地提高了HA的作用。如何更好地应用HA，充分发挥其作用，并应用到临床上，尚需进一步探索。

参考文献

1.Krummel TM, et al. J Pediatr Surg. 1987;22:640
2.Longaker MT, et al. Ann Surg. 1991;213:292
3. Abatangelo G, et al. J Surg Res. 1983;35:410
4. Laurent C. et al. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. 1988;114:1435
5.Woessner Jr W JF, et al. Arch Biochem Biopnys. 1961,93:440
6.Davison JM, et al. Clin Mater. 1991;8:171
7. Laurent TG, et al. Catabolism of hyahuronan in Degradation of Bioactive Substances. Physiolgy and Pathology 249－265. CRC Press,1990
8.West DC, et al. Ciba Found Symp.1989;143:187
9.Feinberg RN, et al. Science. 1983;220:1177
10.Bertolami CN, et al. J Surg Res. 1978;25:256
11.Mast BA, et al. Matrix.1993;13:44

(收稿日期 1997－03－26)

Modulating effects of exogenous hyaluronic acid on wound healing:an experimental study

Zhang Hengshu, et al
Department of Burn and Plastic Surgery, College of Clinical Medicine

To investigate the modulating effects of exogenous hyaluronic acid(HA) on adult wound healing and its dynamic process, the excisional cutaneouos wounds on dorsum in 52 rats were made and exogenous HA was applied topically. Granulating tissue specimens were harvested at 3, 7 and 14 days after wounding for light microscopic, transsmission electron microscopic examination and hydroxyproline(HYP) determination. It was demonstrated that after topical application of exogenous HA:at 3rd day postwounding angiogenesis was remarkabaly less than that in control group, but fibrobasts degenerated seriously and the contents of HYP was significantly lower than that in control at 7th day; 14 days after wounding, the depositcd collagen in HA group was more well－organized than that in control group.It is concluded that the modulating effects was more effective in early period and less in later stage.It is sugggested that exogenous HA might have potential value to lesen or control scar formation.

KEY WORDS Hyaluronic acid; Wound healing