DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.14.007
第25卷第14期 第三军医大学学报 Vol. 25, No. 14
2003年7月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jul. 2003

文章编号:1000-5404(2003)14-1233-04

论著

大鼠放创复合伤时皮肤创伤愈合的形态学观察

冉新泽[1],程天民[1],林 远[1],肖桃元[2],屈纪富[1],陈晓红[3],徐 辉[1],阎国和[1],黄文琪[2],可金星[2] (第三军医大学:[1]预防医学系防原医学教研室、全军复合伤研究所;[2]高原军事医学系中心实验室;[3]基础医学部药理学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 探讨全身辐射对创伤后皮肤愈合的组织学与超微结构变化特点。方法 用^{60}Co γ射线照射2、4、6 Gy,并在大鼠背部致2.5%体表面积全层皮肤创面2个。于伤后不同时间,用HE染色、透射电镜观察其创面变化及形态学改变。结果 放创复合伤后,创伤愈合速度随照射剂量增加而明显减缓。单创组伤后3 d创面底部即见成纤维细胞增生,伤后10~15 d,胶原瘢痕形成,可见新生血管网、神经末梢,表皮细胞生长逐渐覆盖伤口,20 d时创面已愈合。但6 Gy组损伤严重,伤后3 d见大量渗出物、血凝块、坏死组织,15 d表皮细胞蔓延生长缓慢,仍见胞核异型、扭曲、皱褶。2 Gy组影响较轻,伤后7 d已有肉芽组织生长,15 d见纤维瘢痕形成。结论 放创复合伤时皮肤愈合过程较为复杂,肉芽组织及表皮细胞生长的受抑程度随照射剂量增加而加重。

关键词:全身照射;放创复合伤;愈合延迟;形态学变化
中图法分类号:R322.99;R818;R641 文献标示码:A

Morphological study on healing of cutaneous wound combined with radiation-trauma injury in rats

RAN Xin-ze, CHENG Tian-min, LIN Yuan, XIAO Tao-yuan, QU Ji-fu, CHEN Xiao-hong, XU Hui, YAN Guo-he, HUANG Wen-qi, KE Jin-xing (Department of Radiation Medicine, Research Institute of Combined Injury, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To study the pathological changes and the morphological characters of the healing process of cutaneous wound combined with total body irradiation in rats. Methods Rats were irradiated at the single doses of 2, 4 and 6 Gy from a ^{60}Co γ ray source. Within 1 h after irradiation, two whole thickness circular wounds were produced on the back of the animals, corresponding to 2.5% of total body surface area. The pathological changes were observed by HE staining and transmission electron microscopy (TEM). Results After total body irradiation combined with cutaneous wound, the rate of healing was significantly retarded as the irradiation dose increased. Histological results showed that in rats with single wound, on the 3rd day after injury proliferation of fibroblasts in wound bottom was observed; on days 10~15 after injury, collagenic scar formed, vascular net and nerve ending regenerated, and epidermic cells continually grew to cover wound gradually; on the 20th d after injury wound was basically healed. However, in rats combined with 6 Gy radiation, on the 3rd d after injury, a large amount of extract, necrosis tissues, bacterial colonies and inflammatory infiltrations were seen in the wound, but fibroblast growth was not seen in wound bottom; on the 15th d after injury epidermic cells grew slowly, abnormal cell nuclei with turn and ruga and chromatic clumping were also seen; in rats combined with 2 Gy radiation, the effect of radiation on the healing of wound was slight, but there was growth of granulation tissue (7th d) in the wound. Conclusion In soft tissue trauma combined with radiation injury, the changes of morphological character are far more complicated. The growth inhibition of granulation tissues and epidermic cells is definitely related to the dose of radiation inflicted.

Key words: total body irradiation; combined radiation-trauma injury; wound healing; histological morphology

放创复合伤后,对创伤而言,可导致创口愈合较单纯创伤远为复杂和困难;对放射损伤而言,可使创伤愈合明显延缓[1],使伤情进一步恶化。近年来,我们对放射损伤影响皮肤创伤愈合的因素进行了探讨[2~4],观察了^{60}Co γ射线一次性均匀全身照射1~8 Gy共8个剂量对皮肤软组织创伤愈合的量效和时效关系,推导出不同的效应关系公式[5],本研究则重点观察^{60}Co γ射线2、4和6 Gy全身放射损伤对创伤后不同时间皮肤愈合的组织学与超微结构变化,并与单纯创伤相对照,旨在阐明放创复合伤创面愈合的病变过程及规律,为

基金项目:国家重点基础研究发展规划资助项目("973"项目)(G1999054205)
作者简介:冉新泽(1956-),男,河南省淅川县人,高级实验师,主要从事复合伤发病机制与救治方面的研究,发表论文56篇。电话:(023)68752278
收稿日期:2003-02-25;修回日期:2003-04-28

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

群体判估此类伤员的创伤延缓程度提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

健康 Wistar 大鼠 160 只，体质量(200±20) g，雌雄不拘，由第三军医大学实验动物中心提供。

1.2 致伤条件

将大鼠装入特制的有机玻璃盒内，用 $^{60}Co\gamma$ 射线进行全身一次性均匀照射，吸收剂量分别为 2、4、6 Gy，距离 1.5 m，吸收剂量率(31.02～31.98)cGy/min；照射后用 1%戊巴比妥钠腹腔麻醉(30 mg/kg)，用特制不锈钢圆形打孔刀在大鼠背部切成直径为 22 mm 的创面 2 个(占 200 g 体质量大鼠体表面积的 2.5%)，深达皮下组织全层，创面间隔约 15 mm。所有大鼠均单笼饲养。

1.3 实验分组

结合既往伤情研究[5]，本实验设单纯创伤组、轻度放创复合伤组(2 Gy 组)、中度放创复合伤组(4 Gy 组)、重度放创复合伤组(6 Gy 组)共 4 组，每组 25 只大鼠，观察伤后 30 d 动物存活率及外周血白细胞数变化；同时于伤后 3、7、10、15 和 20 d，每时相点分别活杀 3 只大鼠，用于病理学观察。

1.4 光镜观察

分别取大鼠背部创伤边缘皮肤，然后按文献[6]的方法进行处理。

1.5 透射电镜观察

分别取大鼠背部创伤边缘皮肤，用 2.5%戊二醛磷酸缓冲液固定，然后按文献[7]方法进行观察。

1.6 愈合速度的测定

伤后不同天，沿创缘划线，将动物创面大小描印在透明膜上，然后用 TECBIAS-6803 型真彩色生物医学图像分析系统测量创面面积，以动物致伤后立即测定的面积为伤口原始面积。残留面积百分率=(残留面积/原始面积)×100%。

1.7 统计学分析

结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示，用 SPSS 统计软件的 χ^2 检验、t 检验。

2 结果

2.1 动物活存率的变化

伤后 30 d 单纯创伤组和 2 Gy 放创组动物全部存活，4 Gy 放创组活存 88%，而 6 Gy 放创组仅活存 32%，明显低于单纯创伤组($P<0.01$)。

2.2 创面愈合时间的变化

以手术当时创面面积为原创面积，伤后 3 d 各组创面残留面积即开始缩小，后随损伤时间延长，创面残留面积开始明显减少，但又随不同剂量照射而异。单纯创伤组创面平均愈合时间为(18.3±2.1) d，2 Gy 放创复合伤组为(19.1±1.8) d，而 4 Gy 放创复合伤组为(21.8±1.9)，比单创组延迟 3.5 d。统计学显示有明显的愈合延迟作用($P<0.05$)；但当复合 6 Gy 放射损伤时，平均愈合时间为(27.8±3.0) d，比单创组延迟 9.5 d，愈合延迟作用则非常明显($P<0.01$)。

2.3 创面愈合的组织学变化

伤后 3 d，单纯创伤组大鼠创面渗出物较少，渗出物主要成分血凝块、坏死组织、炎细胞；创面底部开始见成纤维细胞增生，见图 1。伤后 7 d，伤口周围表皮细胞开始向伤口方向延伸蔓延。伤后 10～15 d，上述表皮细胞继续生长逐渐覆盖伤口，肉芽组织生长旺盛，可见周围上皮细胞延伸生长，20 d 切片所示创面已愈合，成纤维细胞逐渐变成纤维细胞，炎细胞较少。

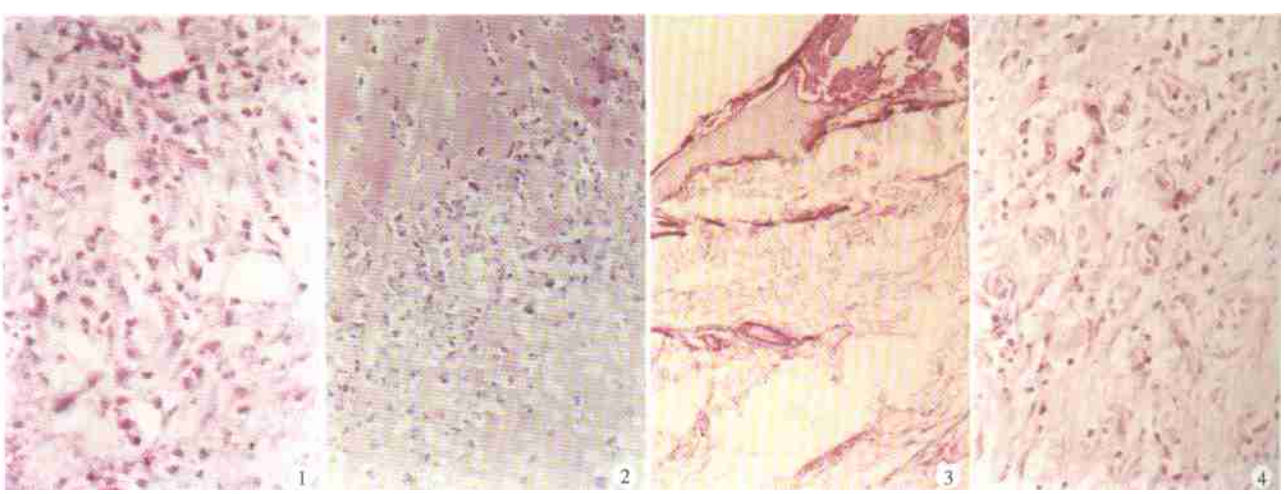


图 1 单创 3 d，成纤维细胞开始增生 (HE× 33)

Fig 1 6 Gy CRW on the 3rd day, a lot of necrotic tissues and inflammatory infiltration can be seen (HE× 33)

图 2 6 Gy 创伤 3 d，坏死组织严重，炎细胞成片浸润 (HE×33)

Fig 2 6 Gy CRW on the 3rd day, a lot of necrotic tissues and inflammatory infiltration are found (HE× 33)

图 3 2 Gy 放创复合伤后 3 d，上皮细胞向伤口内延伸生长 (HE×33)

Fig 3 CRW 2 Gy on the 3rd day, epithelial cells are extended into the wound (HE× 33)

图 4 2 Gy 创伤 7 d，创面见肉芽组织开始生长 (HE× 132)

Fig 4 2 Gy CRW on the 7th day, growth of granulation tissues on the wound surface are seen (HE× 132)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

6 Gy 放创复合伤时创面影响十分严重, 伤后 3 d 即见创面有大量渗出物、血凝块、细菌菌落存在, 坏死组织严重, 炎细胞成片浸润, 见图 2. 创面底部未见成纤维细胞生长。伤后 7 d 少见成纤维细胞增生, 10 d 后炎细胞才有所减少, 但伤后 15 d 伤口仍有大量坏死组织、渗出物及细菌菌落, 但其下纤维细胞增多, 表皮细胞蔓延生长缓慢, 伤后 20 d 创面未见愈合。

2 Gy 放创组创面影响较轻, 伤后 3 d 渗出物较多, 但已见上皮细胞向伤口内延伸生长, 见图 3, 伤后 7 d 已有较多肉芽组织生长, 见图 4. 20 d 时创面大多基本愈合。而 4 Gy 放创组创面的组织学变化特征介于 2 Gy 和 6 Gy 放创组之间。

2.4　创面愈合的超微结构变化

电镜观察可见, 单纯创伤后第 3 天, 伤口边缘与创面底部组织有较多的成纤维细胞, 表皮细胞核和细胞器(线粒体等)有肿胀、变性, 苍白, 真皮胶原水肿, 纤维母细胞增生。2 Gy 放创复合伤后, 表皮细胞核肿胀、苍白, 胞浆个别线粒体嵴断裂, 见图 5; 真皮纤维母细胞核苍白, 但胞浆及基质胶原无明显改变。6 Gy 放创复合伤后, 表皮细胞分离, 间隙增宽, 真皮纤维细胞和胶原呈旋状走行, 核染色质呈致密团块分散, 或扭曲, 或染色质边集, 见图 6. 有凋亡和坏死。

伤后 7 d, 单创组成纤维细胞和胶原组织大量增多; 2 Gy 放创组有纤维母细胞增生, 基质水肿; 6 Gy 放创组则有大量细菌和坏死组织。伤后 10 d, 单创组胶原瘢痕形成, 可见修复后的表皮细胞; 而 2 Gy 放创组表皮细胞处于休眠状态, 胞核、胞浆苍白, 细胞分离, 真皮胶原处于萎缩状; 6 Gy 放创组可见胞核异型、扭曲、皱褶等。

伤后 15 d, 单创组可见大量纤维母细胞, 胶原血管增生, 并有新生血管网、神经末梢及吞噬细胞, 见图 7. 血管内皮肥厚, 皮肤恢复良好, 创面于伤后 20 d 愈合。2 Gy 放创组伤后 15 d 可见纤维瘢痕形成, 但有纤维母细胞异型、双核, 见图 8, 和凋亡小体等; 创面大多于伤后 20 d 基本愈合, 镜下见真皮瘢痕, 表皮结构较好, 有的仍有两个核仁。6 Gy 放创伤组则以真皮胶原为主, 可见纤维母细胞活跃, 细胞核仍有异型、扭曲、皱褶, 染色质团状, 边集, 见图 9. 20 d 创面未见愈合。

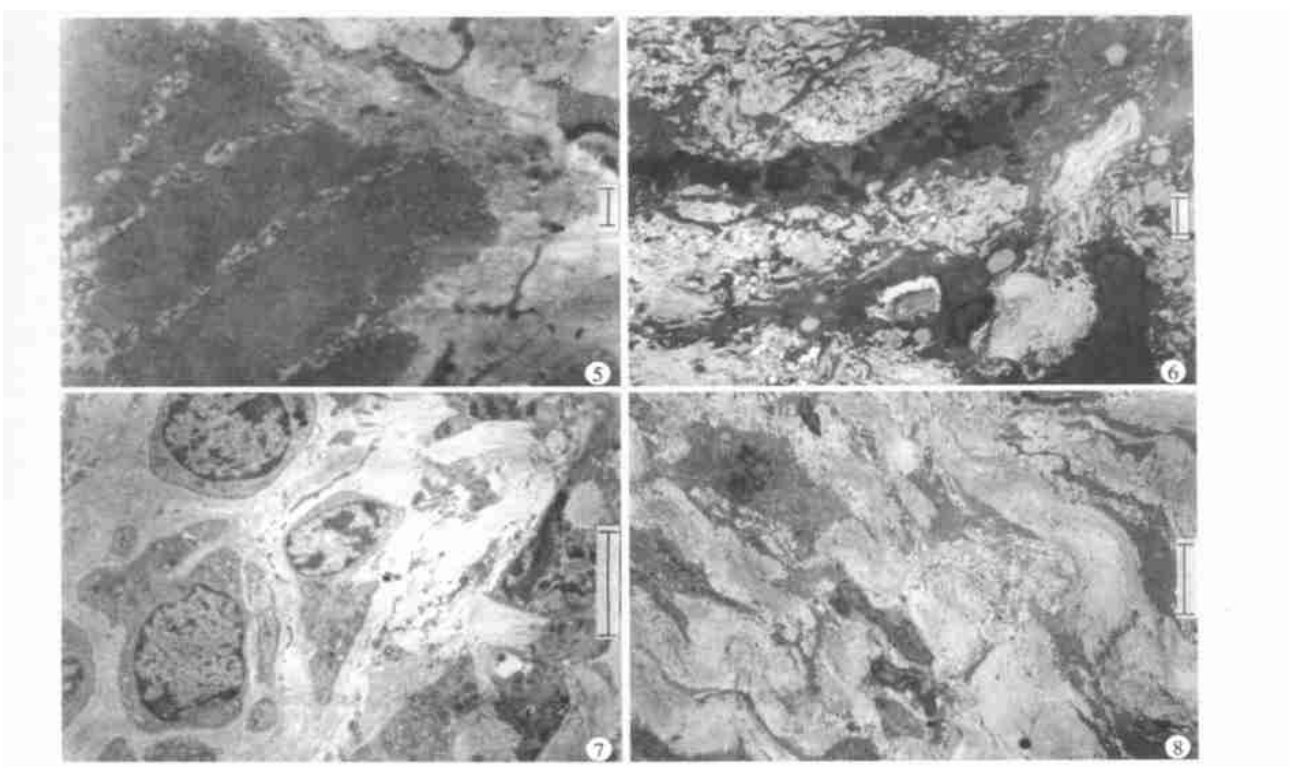


图 5　2 Gy 创伤 3 d, 表皮细胞核肿胀、苍白, 胞浆个别线粒体嵴断裂 (TEM, 标尺= 1 μm)

Fig 5　2 Gy CRW on the 3rd day, swollen and pallor epidermic cellular nuclei and individual broken mitochondrial crista in plasma can be seen (TEM, Bar= 1 μm)

图 6　6 Gy 创伤 3 d, 真皮纤维细胞和胶原呈旋状走行, 核染色质呈致密团块分散或边集 (TEM, 标尺=2 μm)

Fig 6　6 Gy CRW on the 3rd day, fiber cells and collagens in dermis are spiral and chromatins are densely clumped and distributed diffusedly or to the nuclear border (TEM, Bar= 2 μm)

图 7　单创 15 d, 见新生血管网、神经末梢及吞噬细胞 (TEM, 标尺= 5 μm)

Fig 7　Simple wound on the 15th day, regeneration of new capillary blood vessel, phagocytic cells and nerve ending can be seen (TEM, Bar= 5 μm)

图 8　2 Gy 创伤 15 d, 纤维瘢痕形成, 恢复好, 但纤维母细胞异型, 有双核 (TEM, 标尺= 5 μm)

Fig 8　2 Gy CRW on the 15th day, well-formed fiber scar, but the abnormal nucleus of fibroblast with binuclei are seen (TEM, Bar=5 μm)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

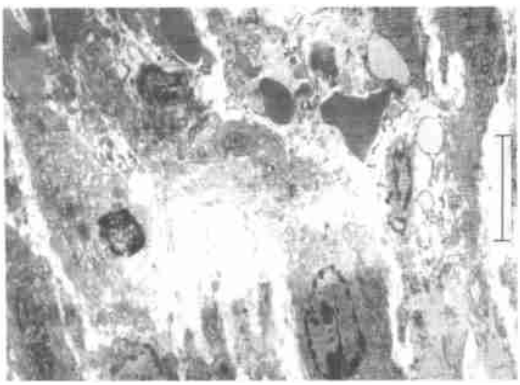


图9 6 Gy 创伤15 d, 纤维母细胞活跃, 核有异型, 扭曲, 皱褶, 染色质团状, 边集 (TEM, 标尺=5μm)

Fig 9 6 Gy CRW on the 15th day. fibroblasts grow fast. Nucleus of the fibroblast is abnormal with turn and ruga. Chromatin is densely clumped and distributed to the nuclear border (TEM, Bar=5μm)

3 讨论

一般认为, 创伤或伤口愈合的基本过程大致可区分为3个相互区别而又联系的时期(阶段)[8]: 先是炎症反应, 溶解、清除坏死组织; 后为结缔组织细胞和血管内皮细胞游动、增殖, 形成肉芽组织; 最后是新生结缔组织基质沉积和新生组织改造、改建, 而这一过程往往是重叠进行的。但辐射损伤对创伤愈合的影响则与普通伤口愈合有较大的区别[3~7], 其变化特点可能与创伤的损伤程度、受照剂量[5]、受照时间、病理阶段以及机体的全身状态等因素有关。

本实验结果表明, 小剂量(如2 Gy)全身放射损伤对皮肤伤口愈合影响较小, 其伤口平均愈合时间(19.1 d)与单创组(18.3 d)比较相差无几; 伤后7 d可见纤维母细胞增生, 第15天见纤维瘢痕形成, 表皮结构较好。而中等以上(如6 Gy)剂量照射则显著影响皮肤伤口愈合, 表现为伤口愈合显著延缓(比单创组延迟9.5 d, $P<0.01$), 白细胞总数至伤后30 d仅恢复到伤前值的82.5%, 伤后15 d仍见大量坏死组织、炎细胞浸润及细菌菌落存在, 仍有胞核异型、扭曲、皱褶等; 并明显地抑制了肉芽组织及表皮细胞生长, 尤其在复合伤早期(如本实验1 d左右), 创口收缩不仅进展缓慢, 而且还可停顿下来。Kumar等[9]研究也发现, 小鼠受4或6 Gy照射后, 创面收缩速度和创面愈合时间显著延迟。这些结果提示, 全身照射对皮肤伤口愈合具有明确的延迟效应, 并且与照射剂量密切相关。

全身放射损伤所致创伤愈合延迟的机制较为复杂[8], 至今仍为完全阐明。本实验结果显示, 放创复合伤时, 由于造血组织破坏, 白细胞数下降, 创面或伤口炎细胞浸润减少, 吞噬功能降低, 全身代谢障碍, 以至细菌和坏死组织不易被吞噬和清除; 同时又因中性粒细胞减少, 炎症反应减弱, 其释放的蛋白溶解组织不易脱落、清除, 既影响组织修复, 又易遭致细菌滋生, 加重感染, 进一步阻碍组织修复[10], 加重了放创复合伤时的皮肤愈合延迟作用。此外, 放创复合伤时伤口局部成纤维细胞及表皮细胞生长均较单纯创伤者显著受抑[11], 肉芽组织形成也显著减少, 提示全身放射损伤使创伤局部组织增殖反应受抑可能也是放创复合伤创伤愈合延迟的原因之一。

参考文献:

[1] 程天民, 冉新泽. 合并放射损伤的创伤难愈与促愈研究的进展与思考[J]. 中华放射医学与防护杂志, 2002, 22(3): 145-148.

[2] 舒崇湘, 程天民. 康复新对单纯皮肤创面和合并全身放射损伤的促愈作用[J]. 第三军医大学学报, 1999, 21(3): 164-168.

[3] 陈晓红, 程天民, 冉新泽. 电离辐射对大鼠创面愈合早期阶段的影响[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(1): 24-26.

[4] 舒崇湘, 程天民, 李树楠. 5Gy全身照射对大鼠伤口巨噬细胞的抑制效应及W11-a12的促愈作用[J]. 第三军医大学学报, 2001, 23(7): 756-758.

[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] 闫国和, 粟永萍, 艾国平, 等. 人羊膜负载猪骨髓间充质干细胞生长的形态学研究[J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(7): 775-777.

[7] 闫国和, 粟永萍, 艾国平, 等. 人羊膜负载猪角朊细胞重建表皮的形态学研究[J]. 第三军医大学学报, 2002, 24(8): 933-936.

[8] 屈纪富, 郝 利, 孙 薇, 等. 细胞因子在创伤愈合过程中的变化及其意义的研究进展[J]. 创伤外科杂志, 2003, 5(1): 74-76.

[9] Kumar P, Jagetia G C. Modulation of wound healing in Swiss albino mice by different doses of gamma radiation[J]. Burns, 1995, 21(3): 163-165.

[10] 付小兵, 王德文. 现代创伤修复学[M]. 北京: 人民军医出版社, 1999. 301-327.

[11] 屈纪富, 程天民, 许霖水, 等. 全身放射损伤对皮肤伤口成纤维细胞参与组织修复能力的影响[J]. 生理学报, 2002, 54(5): 395-399.

(编辑 王 红)

欢迎投稿 欢迎订阅

《局解手术学杂志》由重庆市科学技术协会主管, 重庆市解剖学会及第三军医大学主办。国内统一刊号为: CN50-1162/R, 双月刊, 是全国惟一的局部解剖学与临床外科手术学相结合的杂志。本刊主要刊登人体解剖学、应用解剖学、断面解剖学及临床外科手术学的基础理论、实验研究及临床研究。本刊设置的栏目有: 专家述评、科研论著、教学研究、经验交流、综述与讲座、短篇与个案、手术方法改进、国内外本领域研究动态等。本刊每逢双月的25日出版, 每册定价: 10.00元, 全年60.00元(含邮资费)。

地 址: 重庆市第三军医大学外科应用解剖与手术学教研室《局解手术学杂志》编辑部, 张天飞 同志(收) 邮 编: 400038

电 话: (023)68752251 68752250 传 真: 023(68752250) E-mail: guogjin@yahoo.com, guogjin@263.net

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net