DOI: 10.16016/j.1000-5404.1999.02.002

粉防己碱-胶原复合膜对大鼠单纯切割伤和放射切割复合伤创面愈合的作用

孟德胜* 胡友梅 (第三军医大学基础医学部药理学教研室) 重庆, 400038
程天民 (第三军医大学预防医学系防原教研室、全军复合伤研究所) 重庆, 400038

提 要 目的: 观察粉防己碱-胶原复合膜对大鼠单纯切割伤和放射切割复合伤创面愈合的作用。方法: 大鼠双侧同体对照,用药后不同时间测定创面愈合率和肉芽组织中蛋白、DNA、羟脯氢酸的含量。结果: 含粉防己碱 0.25%~0.50%的外用药膜可有效促进单纯切割伤创面愈合,创面缩小较快,肉芽组织中蛋白、DNA、羟脯氨酸的含量较对照组明显增多。而各剂量组对放射切割复合伤均无效。结论: 粉防己碱-胶原复合膜对单纯切割伤具有促进愈合的作用,而对放射切割复合伤无效。

关键词 粉防己碱;胶原;膜剂;切割伤;放射切割复合伤;大鼠
中图法分类号 R664

创面愈合受多种因素的影响,外源性胶原对创面愈合具有促进作用[1],而粉防己碱则能减轻创伤后炎症反应对组织造成的损害[2]。本研究利用自制的粉防己碱-胶原复合药膜,来治疗单纯切割伤和放射复合切割伤,以期能寻找到能加速创面愈合的有效方法。

1 材料与方法

1.1 动物

Wistar大鼠 96只, 200~250 g,雄性,由本校动物实验中心提供。

1.2 试剂

粉防己碱(Tetrandrine Tet),浙江金华制药厂生产;聚乙烯醇(PVA),重庆化学试剂厂生产;DNA和血清白蛋白标准品由本校生化教研室提供;L-羟脯氨酸,上海生化制品研究所生产。

1.3 复合膜制备

以 PVA作外衬膜,将 Tet和胶原制成复合药膜,并将药膜固定于外衬膜上(制备方法《中国医院药学杂志》待发表)。

1.4 仪器

751型分光光度计,中国杭州仪表厂生产。

1.5 动物模型

单纯切割伤: 大鼠背部去毛,乙醚麻醉后固定,于背部中线两侧画上两个直径约 1.6 cm的圆,两圆相距约 2.0 cm,局部碘酒、酒精消毒,并沿画线剪去一块圆形皮肤,消毒纱布压迫止血。随机选择其中一个创面局部用药,对侧创面作对照,双侧均用无菌纱布包扎,分笼喂养。每只动物切割皮肤后,腹腔注射生理盐水一次(5 ml/200 g)。复合伤: 大鼠 Co源全身辐射,剂量 5 Gy,辐射后 2 h切割皮肤,方法同上。

1.6 动物分组及给药方法

Wistar大鼠随机分为两大组,即单纯切割伤组和复合伤组。随机选择动物一侧创面贴敷自制的含不同浓度粉防己碱的复合药膜,对侧贴敷 PVA外衬膜作同体对照,然后以无菌纱布固定。两组动物均另设空白对照组,即动物双侧均只给予 PVA外衬药膜。两伤类组按用药侧膜中粉防己碱的百分含量分为以下几个剂量组: Control,Ⅰ 0.125% Tet,Ⅱ 0.25% Tet,Ⅲ 0.5% Tet,Ⅳ 1% Tet,Ⅴ 2% Tet。

1.7 愈合速度测定

动物给药后,第 3天去除固定纱布,观察伤口愈合状况,并分别于第 3、5、7、10、14 d在用半透明油酸纸,贴于创面沿外缘画线,记录后用正交坐标纸测定以上各组动物伤口面积,计算愈合率。

$$愈合率 = \frac{初面积 - 终面积}{初面积} \times 100\%$$

1.8 肉芽组织中蛋白、DNA含量测定

根据愈合率试验选择一适当剂量给药,对侧应用 PVA外衬膜作同体对照,无菌纱布包扎固定。于伤后 14 d处死动物,并沿创缘刮取创面肉芽组织称重,充分剪碎后,加入蒸馏水匀浆,1 000 r/min,离心 15 min,上清液-20℃保存待测。

1.8.1 酸性染料比色法测定肉芽组织中蛋白质含量[3]。

* 孟德胜,男,32岁,讲师,硕士

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

1.8.2 二苯胺法测定肉芽组织中 DNA含量。

1.9 羟脯氨酸含量测定[4]

肉芽组织加 6 mol/L HCl 110℃消化 24 h,加入 KOH溶液调 pH至 6.0,1 000 r/min,离心 15 min,上清液测羟脯氨酸含量。

2 结果

2.1 粉防己碱-胶原复合膜对单纯切割伤创面愈合率的影响

中等剂量的复合膜对单纯切割伤创面愈合显促进作用,以含 Tet 0.25%的复合膜作用最明显。剂量增大,作用减弱。当 Tet含量达 2%时,复合膜反而延缓了创面愈合。用药侧结痂较快,创面干燥,而对照侧有较多的渗出液,结果见表 1。

2.2 粉防己碱-胶原复合膜对复合伤创面愈合率的影响

辐射后的动物活动能力明显减弱,第 5天即有少数动物死亡。各剂量组复合药膜对创面愈合均不显促进作用。大剂量组延缓创面愈合,结果见表 1。

表 1 粉防己碱-胶原复合膜对大鼠单纯切割伤和放射切割复合伤愈合率 (%)的作用 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 1 The effect of the pelliculca of Tetrandrine et collagen compositus on wound healing rate (%) of excision and combined radiation-excision wound in rats ($\bar{x}\pm s$)

Group		3 d	5 d	7 d	10 d	14 d
Excision						
Control (n = 10)		6.70± 19.8	38.2± 23.1	63.9± 15.5	87.7± 6.00	98.5± 1.71
Ⅰ (n = 8)	d.s	7.25± 17.7	40.8± 18.9	63.0± 25.1	88.7± 10.1	99.1± 1.75
	c.s	−5.65± 19.9	26.9± 21.8	55.4± 28.7	25.4± 22.0	95.7± 7.32
Ⅱ (n = 12)	d.s	22.7± 23.7	57.2± 13.7*△	83.6± 5.50*△	98.1± 2.00*△	100± 0.00
	c.s	13.1± 21.3	32.4± 19.6	64.6± 7.75	85.4± 7.11	99.4± 1.16
Ⅲ (n = 12)	d.s	26.6± 28.2	50.2± 17.2*△	81.8± 9.00*△	93.9± 4.30*△	100± 0.00*△
	c.s	15.3± 24.6	28.8± 21.7	57.5± 12.2	69.0± 7.8	99.5± 0.86
Ⅳ (n = 12)	d.s	30.8± 16.7	40.5± 15.6	60.4± 13.2	84.0± 9.17	96.5± 7.07
	c.s	21.6± 22.8	37.8± 16.5	58.5± 12.8	79.1± 13.8	96.2± 7.15
Ⅴ (n = 8)	d.s	−15.6± 11.0	12.6± 8.00*△	36.3± 18.4*△	67.1± 14.1*△	80.5± 9.67*△
	c.s	14.4± 19.5	30.3± 13.3	65.0± 12.4	85.4± 7.37	93.1± 7.74
Combined radiation-excision						
Control		1.22± 9.59 (n = 8)	39.8± 9.38 (n = 8)	52.2± 12.0 (n = 8)	75.5± 11.1° (n = 8)	82.2± 19.5° (n = 6)
Ⅰ	d.s	10.7± 16.4	29.6± 13.9	55.0± 19.2	71.9± 17.3	89.4± 01.41
	c.s	4.13± 18.4 (n = 8)	33.6± 20.9 (n = 8)	49.1± 20.2 (n = 8)	71.1± 17.6 (n = 8)	85.0± 14.5 (n = 5)
Ⅱ	d.s	0.52± 16.6	32.0± 11.4	50.6± 16.2	80.7± 12.1	95.9± 3.71
	c.s	6.77± 11.0 (n = 10)	20.8± 13.1 (n = 9)	45.2± 24.4 (n = 9)	77.7± 11.5 (n = 8)	92.5± 10.0 (n = 7)
Ⅲ	d.s	9.57± 16.6	29.1± 15.9	55.7± 12.6	78.8± 14.6	95.8± 2.76
	c.s	6.95± 14.8 (n = 8)	33.1± 12.9 (n = 8)	51.9± 19.8 (n = 8)	69.8± 14.3 (n = 8)	95.0± 4.74 (n = 6)
Ⅳ	d.s	7.20± 17.8	24.5± 16.5	31.9± 15.8	61.9± 19.4	78.4± 17.0
	c.s	4.00± 9.59 (n = 8)	20.7± 6.84 (n = 8)	45.8± 20.7 (n = 7)	71.9± 21.3 (n = 7)	82.0± 8.6 (n = 7)

d.s durg used side; c.s control side; *: $P<0.05$ *vs* control side; △: $P<0.05$ *vs* control; °: $P<0.05$ *vs* excision

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

2.3 复合膜对单纯切割伤肉芽组织中蛋白、DNA和羟脯氨酸含量的影响

含 0.25% Tet的复合膜可促进单纯切割伤肉芽组织中蛋白质、DNA的合成,羟脯氨酸含量相应增加。但对放射切割复合伤肉芽组织中蛋白质、DNA和羟脯氨酸含量无明显影响,见表 2

表 2 粉防己碱-胶原复合膜对创面肉芽组织中蛋白、DNA和羟脯胺酸含量的影响 ($\bar{x}\pm s$)

Tab 2 The effects of the pelliculea of Tetrandrine et collagen on the content of protein, DNA and hydroxyproline in granulation tissue of wound ($\bar{x}\pm s$)

	Protein(mg/g)	DNA(mg/g)	Hydroxyproline(mg/g)
Excision			
Control(n=10)	245.3± 25.6	4.92± 0.21	1.03± 0.19
d.s(n=12)	305.2± 39.9*△	6.37± 0.34*△	1.74± 0.34*△
c.s(n=12)	268.0± 40.2	5.59± 0.63	1.27± 0.49
Combined radiation-excision			
Control(n=8)	208.6± 45.9	3.37± 0.88	0.88± 0.24
d.s(n=7)	232.4± 23.6	3.66± 0.79	0.89± 0.35
c.s(n=7)	225.3± 19.0	3.57± 0.54	0.79± 0.17

*: $P<0.05$ *vs* control side; △: $P<0.05$ *vs* control

3 讨论

创伤后机体产生的 IL-1、TNF等细胞因子不仅介导了早期炎症反应对组织的损害,也参与了组织修复过程[5,6]。粉防己碱具有抗炎作用,可抑制炎性细胞趋化、粘附和炎症介质的释放[7]。本实验结果表明含 Tet 0.25%~0.5%的复合膜可促进单纯切割伤愈合,而含 Tet 2%的复合膜反而延缓了创面愈合。推测其原因可能是小剂量 Tet抑制创伤初期 IL-1、TNF等过度表达对组织的损害;而大剂量 Tet则抑制 IL-1、TNF等在创伤后期参与组织修复。放射可降低机体免疫功能,放射复合切割伤创面内 IL-1、TNF等炎症因子产生减少[8],因此,粉防己碱-胶原复合膜对因放射引起的复合伤无效。

参考文献

1 王 旭,吴 军,王甲汉.复合皮覆盖烧伤创面的实验研究.第三军医大学学报,1996,18(3):199

2 孟德胜,宋裕南,胡友梅.粉防己碱外用对烫伤小鼠的治疗作用.中药药理与临床,1997,13(4):23

3 赵善政,陈明伟.微克水平蛋白染料综合比色法.中华医学检验杂志,1983,6(4):210

4 郑少雄.血尿羟脯氨酸测定的改进.中华医学检验杂志,1983,6(3):133

5 杨自力.白细胞介素-1与创伤.国外医学:军事医学分册,1992,9(3):97

6 李文维.肿瘤坏死因子研究进展.国外医学:皮肤性病学分册,1993,19(1):22

7 何华美,李新芳,张 敏.粉防己碱的抗炎作用与磷脂酶 A_2 的关系.中国药理学报,1994,15(5):477

8 宋述强,程天民,林 运.全身γ射线照射后大鼠伤口巨噬细胞功能的变化及苯妥因钠的影响.中华放射医学与防护杂志,1996,16(15):317

(收稿:1998-05-20;修回:1998-11-16)

(编辑 汪勤俭)

Effects of pelliculea of tetrandrine et collagen compositus on wound healing after excision and combined radiation-excision injury in rats

Meng Desheng, Cheng Tianmin, Hu Youmei (Department of Pharmocology, Faculty of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, Chongqing, 400038)

Abstract Objective: To investigate the effects of the pelliculea of tetrandrine (Tet) et collagen compositus on wound healing after excision and combined radiation-excision injury in rats. Methods: The skin on both sides on the back of rats was excised. The wound on one side was treated with Tet and that on the other was not. At different time phases after excision, the rate of wound healing and the contents of protein, DNA and hydroxyproline of the granulation tissue were determined. Results: When the dose of Tet ranged from 0.25% to 0.5%, the wound healing of the excision was promoted and the contents of protein, DNA and hydroxyproline of the granulation tissue were much higher than those in the control. However, these results were not seen in the wound caused by excision and radiation in combination. Conclusion: The pelliculea of Tet et collagen compositus can promote the wound healing of excision injury but can not that of combined radiation-excision injury.

Key words tetrandrine; collagen; pelliculea; excision; radiation; rat

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