

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.35.001
文章编号: 1005-8982 (2018) 35-0001-05

基础研究 · 论著

适用于无异体皮覆盖的大鼠全层创面 抗挛缩改良模型研究*

王鑫¹, 申传安², 赵东旭²

(1. 锦州医科大学解放军总医院第一附属医院培养基地, 辽宁 锦州 121001; 2. 解放军总医院第一附属医院 烧伤整形科, 北京 100048)

摘要: 目的 为克服大鼠创面容易挛缩和自咬现象, 从复制创面的位置和缝合技巧的细节方面深入研究, 为复制大鼠全层损伤创面模型提供可靠的技术方案。**方法** 选取 24 只 SD 大鼠随机分为 A、B、C 组, 每组 8 只。A 组为传统抗挛缩创面并进行植皮; B 组为改良方法制备创面并进行植皮; C 组为空白对照, 为改良方法制备创面但不植皮。术后 7、14 和 21 d 分析 3 组创面挛缩、钢丝圈暴露、线结脱落情况及所移植皮片生长情况。**结果** 3 组术后 7、14 和 21 d 的创面收缩率有差异 ($P < 0.05$)。术后 21 d 时, 3 组创面收缩率有差异 ($P < 0.05$); A 组较 B 组创面收缩率高 ($P < 0.05$), 相对容易收缩; B 组与 C 组的创面收缩率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。3 组创面收缩率变化趋势有差异 ($P < 0.05$)。术后 21 d, A、B、C 组钢丝圈脱出总长度分别为 35、16 和 13 cm。3 组术后 21 d 时剩余线结数比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), A 组剩余线结数较少。术后 7 d, A、B 组移植皮片成活; 术后 14 d, A 组移植皮片无明显生长, B 组移植皮片生长良好; 术后 21 d, A 组与 B 组创面移植皮片覆盖面积比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 复制合适的大鼠创面模型与植皮修复创面的疗效关系密切, 合理选择创面位置可以避免大鼠自咬创面, 改良缝合方式可以使钢圈缝合更加牢固。

关键词: 皮肤移植; 创伤和损伤; 挛缩; 疾病模型, 动物

中图分类号: R622.1

文献标识码: A

A modified model of full-thickness excision skin wound without allografts in rats*

Xin Wang¹, Chuan-an Shen², Dong-xu Zhao²

(1. Training Base of First Affiliated Hospital of People's Liberation Army General Hospital, Jinzhou Medical University, Jinzhou, Liaoning 121001, China; 2. Department of Burns and Plastic Surgery, First Affiliated Hospital of People's Liberation Army General Hospital, Beijing 100048, China)

Abstract: Objective To establish a reliable technical scheme by modifying the location of wounds and the method of sewing so as to overcome the phenomenon of easy contracture of rat wounds and self-biting. **Methods** Twenty-four SD rats were randomly divided into three groups with 8 in each group. For group A the anti-contracture full-thickness skin defect was established with the traditional method and then grafted by MEEK technique. For group B the same full-thickness skin defect was established with a modified method and grafted by MEEK technique. For group C the same full-thickness skin defect was established with the modified method without skin-grafts, which was a control group. The wound contraction rates were observed on days 7, 14 and 21 after operation, respectively. The steel wire, suture knot and the growth of skin autografts were observed 21 days after operation. **Results** The wound contraction

收稿日期: 2018-06-06

* 基金项目: 国家自然科学基金应急管理项目 (No: 81641090); 全军后勤科研计划重点项目 (No: BWS14J048)

[通信作者] 申传安, E-mail: shenchuanan@126.com; Tel: 010-66848774

rates were significantly different among the three groups on post-operative days 7, 14 and 21 ($P < 0.05$), the wound contraction rate in the group A was higher than that in the group B ($P < 0.05$), there was no statistically significant difference in the wound contraction rate between the groups B and C ($P > 0.05$). Meanwhile, the variation trend of the wound contraction rate was different in the three groups ($P < 0.05$). The length of total exposed steel wire was 35 cm in the group A, 16 cm in the group B and 13 cm in the group C on the 21st day after operation. There was statistically significant difference in the number of remainder line knots among the three groups on the 21st day after operation ($P < 0.05$), the number was obviously smaller in the group A. At last, the skin autografts survived in the groups A and B, and grew better in the group B with significant difference ($P < 0.05$). **Conclusions** It is more effective to establish the anti-contracture full-thickness excision skin wound model in rats through the change of wound location and suture.

Keywords: skin transplantation; wounds and injuries; contracture; disease models, animal

医学生物的实验研究一般由分子细胞生物研究到动物实验, 最终进入临床实验, 其中动物实验的研究通常是模拟人体实验, 是进行临床实验不可替代的准备环节^[1]。在动物实验研究中, 大鼠具有经济实惠、容易取得、抗病能力强、繁殖快、方便饲养等优点, 经常被作为医学疾病实验模型研究对象。创面组织修复研究领域有众多关于大鼠创面模型报道^[2-3], 然而啮齿类动物深度创面的愈合方式主要靠皮肤收缩, 与人类创面通过肉芽组织形成和表皮细胞再生的愈合机制不同^[4]。另外, 大鼠身体柔韧, 可以舔咬自身创面, 其创面敷料、移植皮片及缝合线容易被咬掉。既往研究应用胸骨钢丝阻隔圈, 避免皮肤挛缩和自咬现象影响创面实验效果^[5]。本实验就具体的实验操作细节再次进行深入探究。

1 材料与方 法

1.1 实验动物及分组

选取健康成年的清洁级 SD 雌性大鼠 24 只, 体重 230 ~ 250 g, 由解放军总医院第一附属医院动物实验室提供。随机分为 A、B、C 组, 每组 8 只。A 组为传统抗挛缩创面并进行植皮; B 组为改良方法复制创面并进行植皮; C 组为空白对照, 为改良方法复制创面但不植皮。

1.2 主要仪器

采用直径 0.7 mm 胸骨钢丝制成 3.6 cm × 3.6 cm 的钢丝框, 4 号丝线, 7 号丝线, 缝合针, 手术器械。

1.3 动物创面模型的复制

实验大鼠经腹腔注射 3% 戊巴比妥钠 (0.10 ~ 0.15 ml/100 g) 麻醉, 背部涂抹温肥皂水, 用剃刀刮毛, 用 Mark 笔在背部画边长为 3.6 cm 的正方形。A 组位置标记在背部近尾端 (见图 1A); B 组位置标

记在背部近头端 (见图 1B); C 组为空白对照, 创面位置同 B 组, 不进行植皮。碘伏消毒 2 遍, 铺无菌洞巾, 用手术刀切开皮肤, 剪下标记的正方形皮肤, 创面暴露至深筋膜层, 用生理盐水纱布包裹所剪皮肤备用。另外, 将 3 cm × 3 cm 纱布用生理盐水浸湿后, 覆盖创面进行保护。将灭菌的 3.6 cm × 3.6 cm 钢圈埋于创缘皮下。A 组用 4 号丝线直接缝合一圈, 缝针由皮肤外侧穿透皮肤, 由皮肤内侧出针越过钢丝, 再从内侧进针穿出皮肤, 在外侧打结剪线, 即可将钢圈固定, 针距约 6 mm (见图 2A)。B 组用 7 号丝线改良缝合方法缝合钢圈, 先行单纯固定钢圈缝合 (同 A 组), 在完成打结固定后暂不剪线, 越过创缘由内侧再次进针, 进针点在钢圈外侧, 穿透皮肤后由外侧出针, 再次进行打结后剪线 (见图 2B); C 组缝合钢圈同 B 组 (见图 2C)。A、B 组均缝合 24 针固定钢圈。修剪所取皮肤的皮下组织并制成 1 : 6 放大的 MEEK 微型皮片, 剪下 3.6 cm × 3.6 cm 粘贴有边长为 3 mm 小皮片的 MEEK 纱, 用生理盐水浸湿后回植创面。用 0 号丝线在靠近 4 个角和中心部的无皮片区进行缝合, 以固定纱。C 组缝合钢圈后不植皮, 直接油纱覆盖。3 组最后用多层纱布覆盖后再进行打包固定。术后每只大鼠腹腔注射 10 ml 生理盐水补液, 单笼

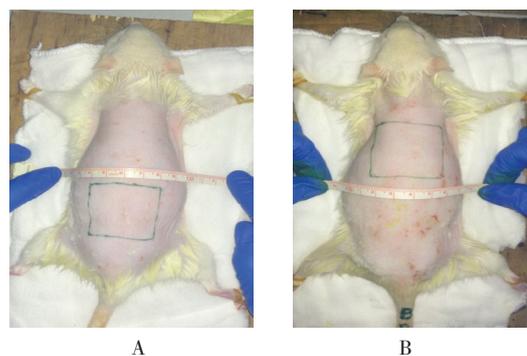


图 1 A、B 组大鼠创面位置

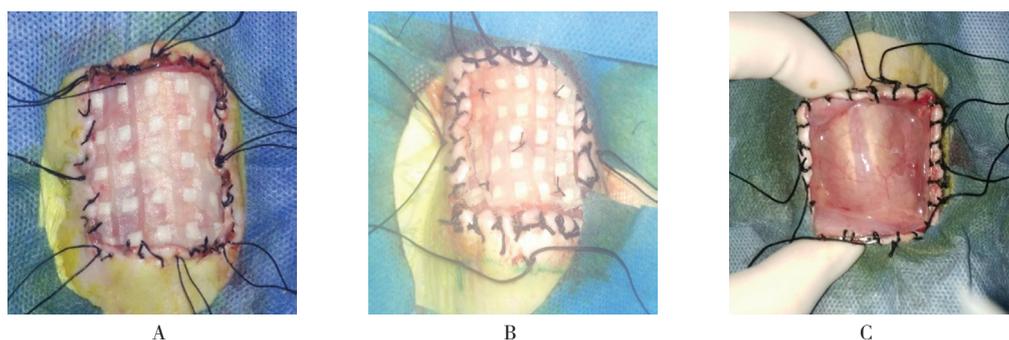


图 2 3 组大鼠创面抗挛缩框缝合效果

饲养。

1.4 观察指标

1.4.1 创面收缩情况 术后 7、14 和 21 d 对创面进行拍照, 运用 ImageJ Fiji 图像分析软件测量创面面积, 计算创面收缩率。创面收缩率 = 四周皮肤越过钢圈生长面积 / 原创面面积 $\times 100\%$ 。

1.4.2 钢圈脱出及线结脱落情况 术后 21 d 用 ImageJ Fiji 图像分析软件测量每只大鼠脱出的钢丝圈长度, 计数剩余线结数。

1.4.3 移植皮片生长情况 术后 7、14 和 21 d 观察移植皮片存活及生长情况, 计算术后 21 d 的 MEEK 皮片生长覆盖创面面积。

1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件, 计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较用 t 检验、单因素方差分析或重复测量设计的方差分析, 两两比较用 LSD- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠创面收缩率比较

A、B、C 组术后 7、14 和 21 d 创面收缩率比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点创面收缩率有差别 ($F = 121.668, P = 0.000$); ②3 组创面收缩率有差别 ($F = 8.685, P = 0.002$), A 组较 B 组创面收缩率高 ($P < 0.05$), 相对容易收缩; B 组与 C 组的创面收缩率比较, 差异无统计学 ($P > 0.05$); ③3 组创面收缩率变化趋势有差别 ($F = 7.408, P = 0.000$)。见附表和图 3。

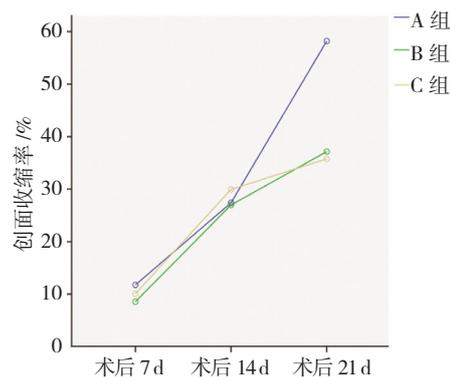
2.2 3 组大鼠钢圈脱出及线结脱落情况

2.2.1 钢圈脱出 术后 21 d, A 组大鼠钢圈脱出严重, 钢丝脱出总长度 35 cm; B 组钢圈基本保持原位, 少量边角脱出, 钢丝脱出总长度 16 cm; C 组情况与 B

附表 3 组大鼠各时间点创面收缩率比较

($n = 8, \%, \bar{x} \pm s$)

组别	术后 7 d	术后 14 d	术后 21 d
A 组	11.7 \pm 5.8	27.4 \pm 4.4	58.2 \pm 14.7
B 组	8.5 \pm 2.5	27.0 \pm 9.2	37.2 \pm 8.0
C 组	10.6 \pm 1.5	29.9 \pm 2.1	35.7 \pm 1.6

图 3 3 组大鼠创面收缩率变化趋势 ($n = 8$)

组相似, 钢丝脱出总长度 13 cm。

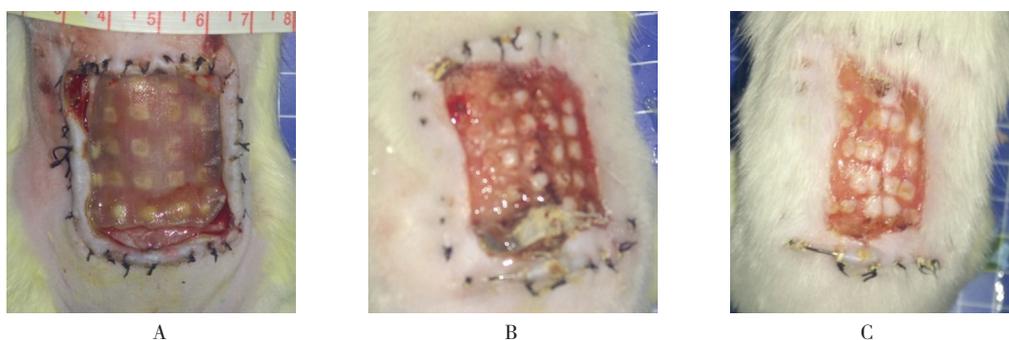
2.2.2 线结脱落 A 组线结大量脱落, 剩余线结 (8.4 ± 8.3) 个; B 组少许线结脱落, 剩余线结 (17.4 ± 6.1 个), C 组剩余线结 (20.0 ± 4.8) 个。3 组剩余线结数比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 6.864, P = 0.005$)。进一步两两比较经 LSD- t 检验, A 组剩余线结数低于 B、C 组 ($P < 0.05$); B 组与 C 组剩余线结数比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.3 3 组大鼠移植皮片生长情况

术后 7 d, A、B 组皮片成活 (见图 4A、5A)。术后 14 d, A 组皮片无明显生长, B 组皮片生长良好 (见图 4B、5B)。术后 21 d, A 组皮片仍无生长, 部分大鼠皮片被咬掉脱落, 残余移植皮片覆盖创面, 面积 (1.9 ± 0.5) cm^2 (见图 4C); B 组移植皮片进一步生长, 逐渐覆盖部分创面, 面积 (4.5 ± 0.4) cm^2

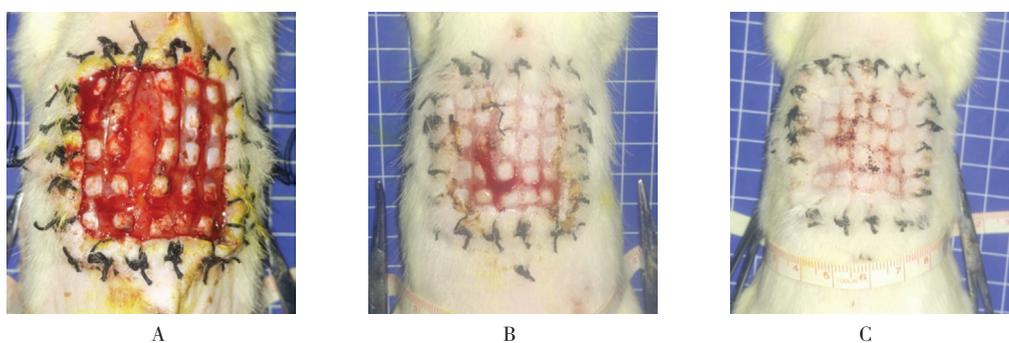
(见图 5C), 经独立样本 t 检验, 差异有统计学意义 ($t=4.033, P=0.001$), B 组覆盖创面面积大于 A 组。

C 组为空白对照, 未进行植皮, 创面呈肉芽组织状态 (见图 6)。



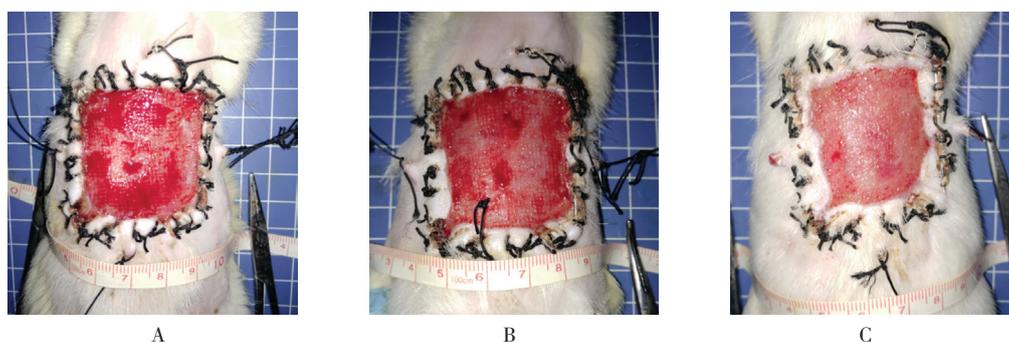
A: 术后 7 d; B: 术后 14 d; C: 术后 21 d

图 4 A 组术后各时间点移植皮片生长情况



A: 术后 7 d; B: 术后 14 d; C: 术后 21 d

图 5 B 组术后各时间点移植皮片生长情况



A: 术后 7 d; B: 术后 14 d; C: 术后 21 d

图 6 C 组术后各时间点创面修复情况

3 讨论

创伤修复实验动物模型常用的动物有大鼠、小型猪、兔等^[6-7]。大鼠具有体型小、饲养方便、繁殖快、价格相对较低等优点, 因而成为最常用的实验动物。有多种在大鼠背部皮肤复制全层缺损模型的方法: 余刚等^[8]提出 C 形阻隔圈; 张颖等^[9]应用硅胶环来固定创面; 柴政^[10]将塑料环植入大鼠背部皮肤缺损, 以复

制慢性皮肤溃疡创面模型; 王如然等^[11]用直接打孔的方式在大鼠背部复制溃疡创面, 各种方法均有优缺点。尚玉茹等^[5]利用胸骨钢丝固定创缘, 复制抗挛缩创面模型。采用移植异体皮覆盖创面, 移植后的异体皮可以在创面存活生长, 存活的异体皮具有占位效应, 一定程度减小四周创缘的挛缩。3 周后异体皮因排异反应脱落, 创面开始出现明显挛缩。本实验基于上述

研究结果,对创面的复制过程进一步细化研究。本实验采用 MEEK 植皮技术所移植皮片可以存活,但每个微型皮片面积较小,皮片间有一定距离。与空白对照组创面边缘收缩情况比较,MEEK 植皮在术后 3 周不会因为皮片的成活而产生占位效应,进而抑制创缘向中心收缩。术后 1 周,3 组大鼠创缘四周出现收缩趋势,随时间推移进一步收缩;术后 3 周明显挛缩,A 组收缩最严重,B、C 组大鼠收缩程度较 A 组轻。结果表明,B、C 组采用的改良方法对无异体皮覆盖的全层损伤创面有提高抗挛缩的效果。

本研究通过改良复制创面的位置和缝合方法,有效地提高全层皮肤缺损抗挛缩模型的稳定性。动物实验中大鼠的依从性差,通常会自咬、自舔创面,改变创面位置可以有效避免此类情况发生,为创面的生长消除不利因素。术后 3 周,B 组皮片生长情况优于 A 组,表明改良方法有利于植皮修复实验的进行。大鼠在自咬打包敷料及缝线时,可能造成钢圈脱落。钢圈脱落有 2 种方式:脱出体外和脱出线结但仍在皮下,2 种方式脱出的钢圈均不能发挥抗挛缩作用。钢圈脱落的另一种原因是因为皮肤挛缩而挣脱线结。更换较粗缝线提高缝线的强度和改变缝合方式,将钢圈更加牢靠地固定于皮下,能有效避免缝线和钢圈脱落,起到抗挛缩作用。

复制合适的大鼠创面模型与植皮修复创面的疗效关系密切^[12]。对复制创面模型的细节进行深入探究,更有利于实际操作。成熟的复制动物模型技术可为创面修复实验顺利进行提供便利。

参 考 文 献:

- [1] 吴静. 浅谈动物实验在医药研究中的应用 [J]. 科技视界, 2017 (15): 104-108.
- [2] SHI Q, QIAN Z, LIU D, et al. GMSC-derived exosomes combined with a chitosan/silk hydrogel sponge accelerates wound healing in a diabetic rat skin defect model[J]. *Front Physiol*, 2017, 8: 904.
- [3] 伍小敏, 蔡放, 王宏法, 等. 罗哌卡因对皮肤损伤愈合及 GM-CSF 表达的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2017, 27(6): 23-26.
- [4] GALIANO R D, MICHAELS J, DOBRYANSKY M, et al. Quantitative and reproducible murine model of excisional wound healing[J]. *Wound Repair Regen*, 2004, 12(4): 485-492.
- [5] 尚玉茹, 申传安, 海恒林, 等. 大鼠全层皮肤缺损创面抗挛缩模型的建立 [J]. 中华损伤与修复杂志: 电子版, 2012, 7(6): 596-599.
- [6] ALSAAD S M, ROSS E V, SMITH W J, et al. Analysis of depth of ablation, thermal damage, wound healing, and wound contraction with erbium YAG laser in a yorkshire pig model[J]. *J Drugs Dermatol*, 2015, 14(11): 1245-1252.
- [7] TAMRI P, HEMMATI A, BOROJERDNIA M G. Wound healing properties of quince seed mucilage: in vivo evaluation in rabbit full-thickness wound model[J]. *Int J Surg*, 2014, 12(8): 843-847.
- [8] 余刚, 谢卫国, 赵超莉, 等. C 形阻隔圈在小鼠皮肤移植模型中的应用 [J]. 中华实验外科杂志, 2008, 25(11): 1531.
- [9] 张颖, 邢伟, 黄宏, 等. 2 型糖尿病非收缩性难愈合伤口模型的建立 [J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(24): 4432-4436.
- [10] 柴政. 一效膏促进慢性皮肤溃疡创面修复的研究 [D]. 沈阳: 辽宁中医药大学, 2016: 15-22.
- [11] 王如然, 常柏. 生肌象皮膏对糖尿病大鼠难治性溃疡创面肉芽组织病理结构的影响 [J]. 中国现代医学杂志, 2008(17): 2449-2451.
- [12] 付小兵, 孙同柱, 盛志勇. 几种用于创伤修复研究的动物模型 [J]. 中华实验外科杂志, 1999, 9(16): 479-480.

(童颖丹 编辑)