

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.14.009

负压封闭引流对兔颅骨外露创面愈合效果的实验研究*

李国瑞^{1,2} 陈琳¹ 刘沙¹ 裴娇森¹ 苏映军¹ 郭树忠^{1,Δ}

(1 第四军医大学西京医院全军整形外科研究所 陕西 西安 710032; 2 解放军第25医院烧伤整形科 甘肃 酒泉 735000)

摘要 目的:探讨负压封闭引流技术(VSD)对兔颅骨外露缺损创面愈合的治疗效果。**方法:**选取成年新西兰大白兔76只,平均分为四组并建立兔颅骨外露实验模型。其中,A组(19只):于兔颅骨上方制作直径为2.0cm的圆形创面,保留骨膜,采用-120mmHg负压引流和常规换药治疗;B组(19只):实验动物处理同A组,仅采用常规换药治疗;C组(19只):在兔颅骨上制作直径2.0cm的圆形创面,剔除骨膜,治疗方法同A组;D组(19只):实验动物处理同C组,治疗方法同B组。每组各抽取10只,观察创面愈合率和创面愈合时间;其余9只分别在第7天、10天、20天、30天进行取材检测,分析疗效机制。**结果:**A组创面愈合时间为 19.40 ± 1.65 天,B组为 24.00 ± 2.31 天;C组为 25.40 ± 4.43 天,D组为 30.00 ± 5.50 天。运用VSD治疗和常规治疗创面愈合时间比较有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**VSD治疗兔骨外露缺损创面能有效缩短创面愈合时间,促进血管再生,胶原蛋白合成。

关键词:负压封闭引流;颅骨外露;创面愈合

中图分类号:Q95-3,R68 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2014)14-2640-06

Effects of Vacuum Sealing Drainage on the Treatment of Cranial Bone Exposure in Rabbits*

LI Guo-rui^{1,2}, CHEN Lin¹, LIU Sha¹, PEI Jiao-miao¹, SU Ying-jun¹, GUO Shu-zhong^{1,Δ}

(1 Institute of Plastic Surgery, XiJing Hospital, Affiliated to the Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Department of Burns and Plastic Surgery, No.25 Hospital of PLA, Jiuquan, Gansu, 735000, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the curing effect of vacuum sealing drainage (VSD) on the cranial bone exposure in rabbits.

Methods: 76 healthy white New Zealand Rabbits were selected and divided into four groups with 19 in each one for the establishment of the experimental animal models. A cranium wound of in diameter with (group A and B) or without periosteum (group C and D) were established in the rabbits, which were then treated by the regular medication with (group A and C) or without the combination of -120mmHg vacuum sealing drainage (VSD) (group B and D). Ten rabbits of each group were monitored for the wound healing rate and time and the others were used on the day 7, 10, 20, and or the therapeutical mechanism studies. **Results:** The healing time was 19.40 ± 1.65 days in group A, 24.00 ± 2.31 days in group B, 25.40 ± 4.43 days in group C and 30.00 ± 5.50 days in group D. The VSD-treated groups showed significant difference compared with control groups ($P < 0.05$). **Conclusions:** VSD treatment can effectively shorten healing time and accelerate revascularization and collagen protein synthesis in rabbit cranial bone exposure wound.

Key words: Vacuum sealing drainage; Cranial bone exposure; Wound healing

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3, R68 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2014)14-2640-06

前言

现代高技术条件下局部战争中高能炸药的运用,会导致出现大量软组织缺损、骨折、骨外露伤员。这类骨外露复合伤的患者处理一直是外科医师面临的一大难题,也是战时致伤、致死、致死、截肢的高危因素^[1,2]。封闭负压引流技术自发明至今不断的改进并广泛应用于临床^[3]。封闭负压引流技术具有生物半透膜与组织相容性好的特点,能够有效关闭创面、减少创面与外界接触、保持创面清洁湿润等优点。负压吸引能改善局部血液循环,减轻水肿,清除细菌,促进肉芽组织生长,加速创面愈合^[4,5]。封闭负压吸引在软组织损伤创面的疗效已经被越来越多的医

务工作者认可,在骨外露创面的上的运用也有相关报道^[6,7]。但是,VSD在骨外露创面上运用的作用机制缺少相关研究,本实验基于此点展开研究。

1 材料和方法

1.1 实验材料及仪器

新西兰大白兔76只, 3.0 ± 0.65 kg, 购于第四军医大学实验动物中心,戊巴比妥钠(佛山市实验化工厂),脱毛剂(硫化钠8 g+40 mL酒精+60 mL水),封闭负压引流套装(武汉维斯第医用科技有限公司生产,主要成分聚乙烯醇水化海藻盐泡沫),封闭负压引流器(武汉维斯第医用科技有限公司生产),生

* 基金项目:全军医药卫生科研基金项目(08G116)

Δ 通讯作者:郭树忠,男,主任医师,教授,博士生导师,主要研究方向:器官再造,创伤修复,

E-mail: shuzhong@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2013-12-15 接受日期:2014-01-12)

物半透性薄膜 S&N(英国施乐辉公司生产,主要成分是聚氨酯和丙烯酸,具有良好的生物相容性和透氧透湿性,并能防止水分、细菌透过薄膜进入创面),羟脯氨酸试剂盒(南京建成生物技术研究所生产)。

1.2 模型制备

麻醉戊巴比妥钠 30 mg/kg,耳缘静脉推注,追加剂量 5

mg/kg,麻醉成功后,用剪除兔颅骨上的毛,用硫化钠均匀涂抹,30 秒钟后擦去脱毛剂,用清水清洗干净,避免烧伤皮肤及眼角膜,消毒铺巾。用美兰沿直径 2.0 cm 的胶片在新西兰大白兔颅骨上标记手术区域(见图 1),局部注射利多卡因约 2 mL,手术刀切除皮肤,露出白色帽状腱膜,剔除帽状腱膜,露出骨膜(见图 2),实验分为保留骨膜组和剔除骨膜组。

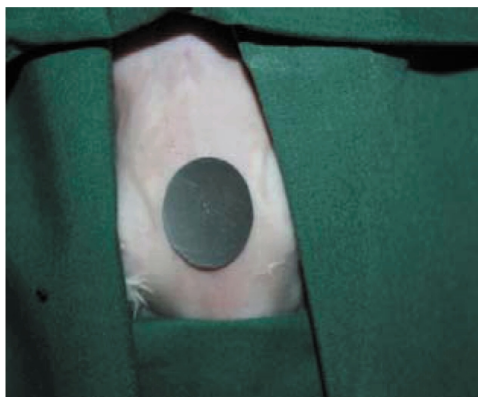


图 1 实验模型制备

Fig.1 Preparation of experimental model



图 2 颅骨外露模型

Fig.2 The model of cranial bone exposure

1.3 实验方法

模型制备好以后,实验组剪取 PVA 泡沫(聚乙烯醇水化海藻盐泡沫)边缘大于创缘 3mm,在泡沫中插入四周多空的硅胶管,连接负压装置,开启负压源,粘贴生物半透膜(见图 3)。用兔规定衣将兔固定在笼子上(见图 4),以大白兔可以轻度活

动,自由进食水为宜,持续 -120mmHg 负压持续吸引直到创面愈合,每 6 小时检查装置密闭性,发现漏气及时更换敷料贴膜。对照组常规用生理盐水湿纱布覆盖,每天换药。PE 手套记录创面大小,观察创面愈合情况(见图 5);取材组分别在第 7 天、第 10 天、第 15 天、第 20 天、第 30 天,进行取材。



图 3 制作 VSD

Fig.3 Preparation of VSD



图 4.兔固定衣

Fig.4 Immobile clothes on rabbit



图 5.持续负压吸引

Fig.5 Vacuum sealing drainage

1.4 观察指标及检测方法

1.4.1 创面愈合率 大体观察创面愈合及组织水肿情况,记录创面愈合时间,用 PE 手套印下创面大小,计算创面愈合率。

1.4.2 肉芽组织羟脯氨酸含量测定 采用羟脯氨酸试剂盒测定第 10 天、第 15 天取材的肉芽组织羟脯氨酸含量。0.5 mL 血清准确加水解液 1 mL,混匀。放试管中加盖后,95 °C 或者沸水浴水解 20 分钟,取 3~4 mL 稀释的水解液加适量活性炭(约 20~30 mg 左右,以上清液离心后澄清无色为准),混匀,3500 转 / 分离心 10 分钟,取上清 1 mL 作检测。

1.4.3 HE 染色 分别于第 7 天、15 天、20 天、愈合后进行病理切片,取皮肤组织 0.5cm²,即刻浸泡于 10% 甲醛溶液 24 小时,石蜡包埋、切片,HE 染色。

1.5 统计学分析

应用 SPSS16.0 统计软件对数据进行分析处理,数据以平均值±标准差表示,组间比较采用 t 检验或方差分析,以 P<0.05 为差异表示具有统计学意义。

2 结果

2.1 各组创面愈合情况

创面愈合时间:保留骨膜 VSD 组(A 组)10 只,最早愈合 16 天,最晚愈合 21 天,平均愈合时间 18±2.5 天,愈合率 100% (图 6、10、11);保留骨膜常规换药对照组(B 组)10 只,最早愈合时间 18 天,最晚愈合 25 天,平均愈合时间为 23±2.8 天,愈合率 100% (图 7、10、11);剔除骨膜 VSD 吸引组(C 组)10 只,最早愈合时间 21 天,最晚愈合 32 天,平均愈合时间为 26±3.4 天,愈合率 100% (图 8、10、11);剔除骨膜常规换药对照组(D

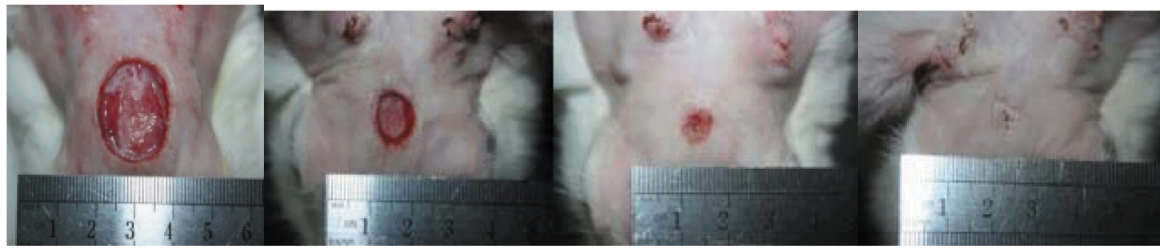


图 6-a(第 5 天)

图 6-b(第 10 天)

图 6-c(第 15 天)

图 6-d(第 20 天)

Fig.6_{a-d} Process of wound healing in Group A

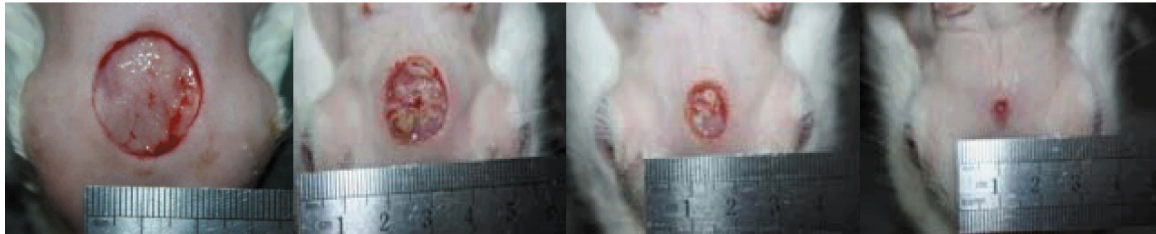


图 7-a(第 5 天)

图 7-b(第 10 天)

图 7-c(第 20 天)

图 7-d(第 25 天)

Fig.7_{a-d} Process of wound healing in Group B



图 8-a(第 5 天)

图 8-b(第 10 天)

图 8-c(第 15 天)

图 8-d(第 25 天)

图 8-e(第 31 天)

Fig.8_{a-e} Process of wound healing in Group C



图 9-a(第 5 天)

图 9-b(第 10 天)

图 9-c(第 20 天)

图 9-d(第 25 天)

图 9-e(第 38 天)

Fig.9_{a-e} Process of wound healing in Group D

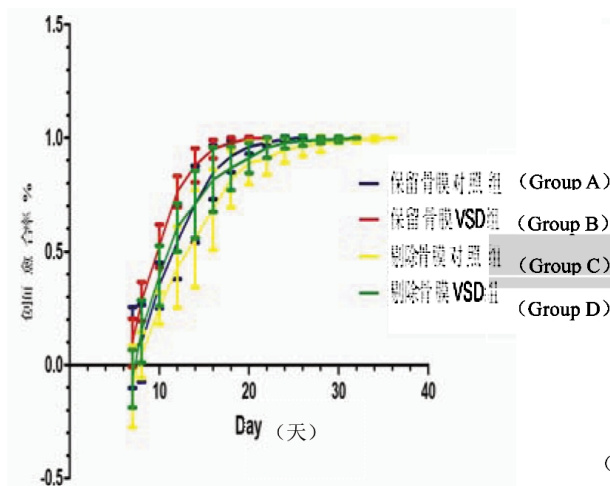


图 10 创面愈合率

Fig.10 Wound healing rate

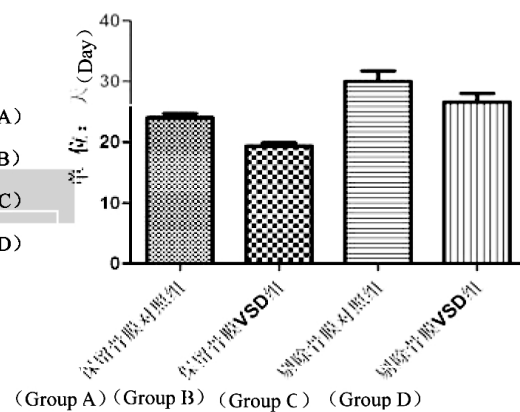


图 11 创面愈合时间

Fig.11 Wound Healing Time

组)10只,最早愈合22天,最晚愈合39天,平均愈合时间 30 ± 4.2 天,愈合率100%(图9、10、11)。保留骨膜VSD组与对照组愈合时间差异显著($P < 0.05$),剔除骨膜VSD组与对照组愈合时间差异显著($P < 0.05$)。

2.2 各组羟脯氨酸含量测定结果

采用羟脯氨酸测试盒测定第10天、第15天取材的肉芽组织羟脯氨酸含量(见图12)。测定结果表明保留骨膜第10天和第15天对照组高于VSD组。剔除骨膜第10天和第15天对照组低于VSD组。方差分析表明,保留骨膜对照组第10天显著高于保留骨膜VSD组第10天。保留骨膜对照组第10天显著高于剔除骨膜对照组第10天。其它组之间差异性不显著。

2.3 各组实验动物的 HE 染色结果

A组(保留骨膜VSD组)第5天、10天、15天、20天染色结果见图13_{a-d}。B组(保留骨膜对照组)第5天、10天、15天、20天染色结果见图14_{a-d}。C组(剔除骨膜VSD组)第10天、15天、20

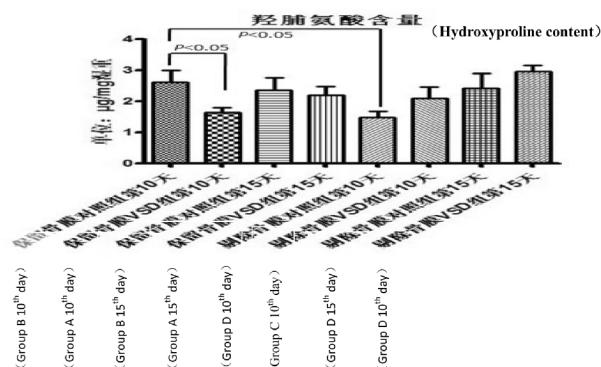


图12 羟脯氨酸含量测定

Fig.12 Hydroxyproline content in granulation tissues

天、30天染色结果见图15_{a-d}。D组(剔除骨膜对照组)第10天、15天、20天、30天染色结果见图16_{a-d}。

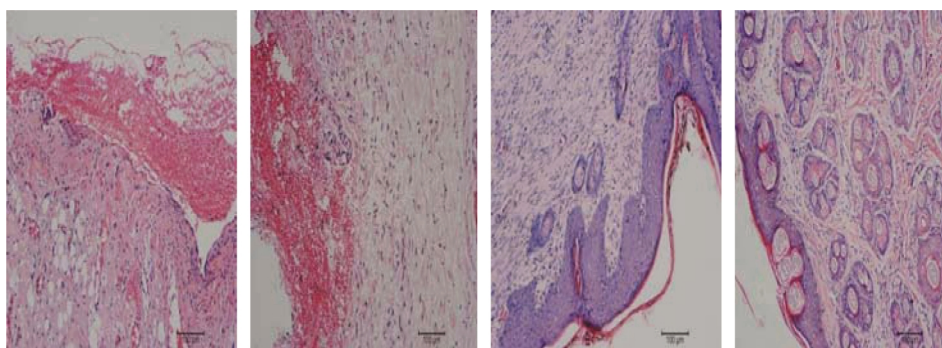


图13-a图

13-b

图13-c

图13-d

图13_{a-d} A组 HE 染色结果($\times 200$)

Fig13_{a-d} HE staining in Group A($\times 200$)

注:图13-a为A组第5天,可见少量淋巴细胞浸润,肉芽组织增生。图13-b为A组第10天,肉芽组织增生明显,少量淋巴细胞浸润。图13-c为A组第15天,可见血管再生,真皮层增厚。图13-d为A组第20天,可见大量血管再生,皮肤组织结构完整。

Note: In Fig13-a, a few of lymphocytes infiltrated and granulation tissue hyperplasia on day 5; In Fig13-b, a few of lymphocytes infiltrated and more granulation tissue hyperplasia on day 10; In Fig13-c, capillary regeneration and thickened dermal layer on day 15; In Fig13-d, plenty of regenerated capillaries and the intact structure of skin tissue on day 20.

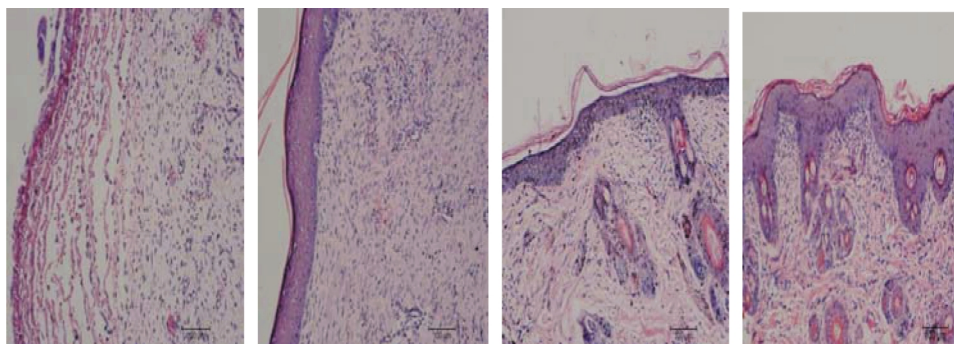


图14-a

图14-b

图14-c

图14-d

图14_{a-d} B组 HE 染色结果($\times 200$)

Fig.14_{a-d} Results of HE in Group B($\times 200$)

注:图14-a为B组第5天,可见淋巴细胞浸润。图14-b为B组第10天,真皮层增厚,淋巴细胞浸润。图14-c为B组第15天,可见少量血管再生,真皮层增厚,肉芽组织增生。图14-d为B组第20天,可见血管再生,皮肤组织结构完整。

Note: In Fig14-a, lymphocytes infiltration can be seen on day 5; In Fig14-b, thickened dermal layer and lymphocytes infiltration can be seen on day 10; In Fig14-c, a few of capillaries regeneration can be observed and thickened dermal layer and granulation tissue hyperplasia on day 15; In Fig14-d, capillary regenerated and the intact structure of skin tissue was complete on day 20.

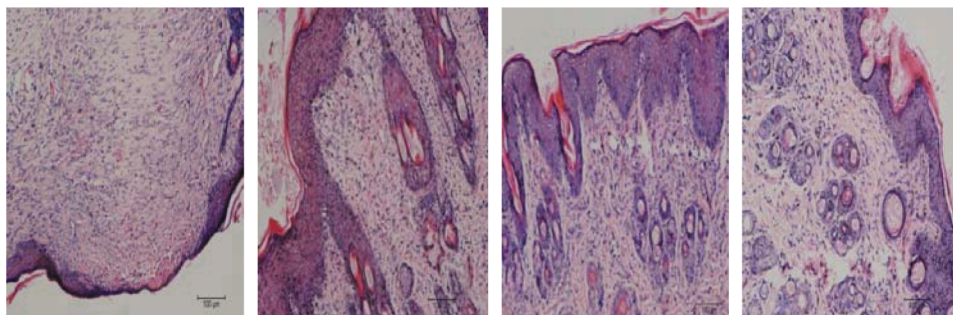


图 15-a

图 15-b

图 15-c

图 15-d

图 15-a-d C 组 HE 染色结果($\times 200$)Fig.15-a-d Results of HE in Group C($\times 200$)

注:图 15-a 为 C 组第 10 天,可见淋巴细胞浸润。图 15-b 为 C 组第 15 天,真皮层增厚,淋巴细胞浸润,少量血管再生。图 15-c 为 C 组第 20 天,可见血管再生,真皮层增厚,肉芽组织增生。图 15-d 为 C 组第 30 天,可见大量血管再生,皮肤组织结构完整。

Note: In Fig15-a, lymphocytes infiltration can be seen on day 10; In Fig15-b, thickened dermal layer and a few of lymphocytes infiltrated and a few capillaries regenerated on day 15; In Fig15-c, capillaries regeneration and thickened dermal layer can be observed on day 20; In Fig15-d, plenty of capillaries regenerated and the intact structure of skin tissue was complete on day 30.

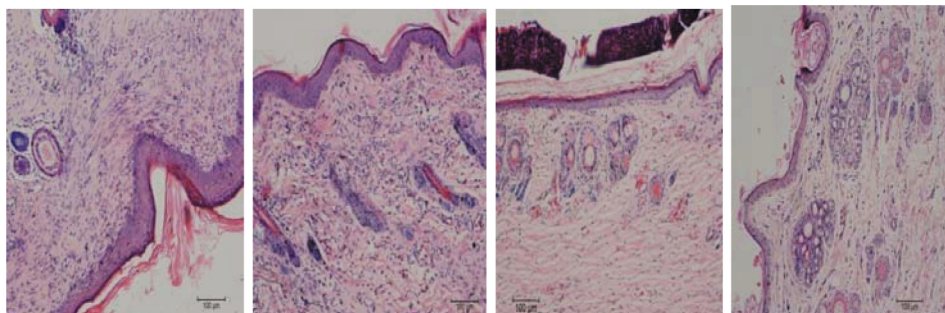


图 16-a

图 16-b

图 16-c

图 16-d

图 16-a-d D 组 HE 染色结果($\times 200$)Fig.16-a-d Results of HE in Group D($\times 200$)

注:图 16-a 为 D 组第 10 天,可见淋巴细胞浸润,真皮层增厚。图 16-b 为 D 组第 15 天,真皮层增厚,淋巴细胞浸润。图 16-c 为 D 组第 20 天,可见少量血管再生,肉芽组织增生。图 16-d 为 D 组第 30 天,可见血管再生,皮肤组织结构完整。

Note: In Fig16-a, lymphocytes infiltration and thickened dermal layer can be seen on Day 10; In Fig16-b, thickened dermal layer and lymphocytes infiltrated on day 15; In Fig16-c, a few of capillaries regeneration and granulation tissue hyperplasia can be observed on day 20; In Fig16-d, plenty of capillaries regenerated and the intact structure of skin tissue was complete on day 30.

3 讨论

现代战争、交通运输、工业建设都会导致大量骨外露患者,通常这些创面需早期彻底清创、换药后,用湿纱布或生物敷料覆盖创面,暂时关闭伤口,待创面清洁后再行皮瓣转移术、游离皮瓣移植术^[10]。对于战时爆炸伤的创面,往往都是复合性损伤,伤口污染严重,周围坏死组织边界不清,无法进行一期彻底清创,这类创面在进行简单清创后,可以在一级救治阶梯,运用 VSD 治疗,其优点有:①有效覆盖创面,使创面与外界隔绝,减少战时医疗环境恶劣造成的创面污染,同时为创面生长提供清洁、湿润的环境;②持续负压吸引可以清除创面渗出物,消除细菌的培养基,抑制细菌的生长繁殖,阻止感染扩散,毒素扩散;③负压吸引能加快创面组织肿胀消退,改善局部血液循环,促进肉芽生长,加快创面愈合;④负压治疗不用天天换药,对感染严重、分泌物多的创面,可以及时对局部局部运用抗生素冲洗,极大的减轻了伤员的痛苦,减少了战时医务人员的工作量^[11-13];⑤负压治疗的良好效果,使减少后送伤员、延时后送成为可能。

当然,封闭负压引流替代不了手术清创,我们可以根据引流液的颜色、性质,透明生物贴膜观察组织转归情况,确定有无必要行二次清创及清创时机。骨外露创面往往合并严重软组织挫裂伤和骨折,可以用外固定架固定骨折,利用生物贴膜两面对合粘贴或整体覆盖外固定架螺钉,为下一步治疗提供良好条件^[14]。

本实验骨外露分为骨膜缺失组和骨膜保留组,从愈合时间来看,有骨膜存在的创面愈合时间明显短于骨膜缺失组,我们在骨外露创面清创时尽可能保留骨膜及周围软组织。该实验组全程持续 -120mmHg 负压治疗直到创面愈合,羟脯氨酸是胶原蛋白特有的一种氨基酸,它的浓度可以被用来评价组织中胶原的含量(Madden & Peacock, 1968)^[8],从而间接的评价创面愈合过程(Gurler Akinbingol, 2013)^[9]。羟脯氨酸含量是正常组织的一种合适的指示剂,因为各种各样的疾病会导致它的含量高于或低于正常范围,比如受损的抗张强度、增生性瘢痕或者瘢痕疙瘩。VSD 可以促进胶原合成的效果仅在剔除骨膜的情况下得以体现,可能是由于在保留骨膜第 10 天和第 15 天时,VSD 促

进胶原合成的效果已经随着时间推移而消失,而此时对照组胶原大量合成正值高峰期。Sharone Jacobs 等人测定 VEGF、FGF-2 等因子时也得出类似的结果^[5]。因此,对骨外露创面有无必要全程使用负压治疗目前尚不清楚,是使用持续负压还是间歇负压还缺少定论。

目前,对于骨外露创面,多采用皮瓣移植和游离皮瓣治疗,皮瓣移植受创伤部位的限制较大,术后体位引起患者不适,游离皮瓣需要显微外科技术,手术条件要求高,手术时间长,风险高,这两种术式均引起新的创伤。本实验选择新西兰大白兔为实验动物,在大白兔颅骨上制作直径 2.0 cm 的圆形骨外露创面,创面采用 VSD 治疗和常规换药治疗,均完全愈合。说明负压治疗对骨外露创面有良好的效果,多大的创面能够运用 VSD 治疗能够完全愈合,多大的创面不能愈合,以及愈合的时间、愈合机制目前尚不清楚,解决这些问题将对战伤和临床运用提供相关指导,具有广泛而深远的意义。

参考文献(References)

- [1] Fisher A, Brady B. Vacuum assisted wound closure therapy Canadian-Coordinating Office for Health Technology Assessment (CCOHTA) [J]. *Emerging Health Technologies*, 2003, (44): 1-6
- [2] Braakenburg A, Obdeijn MC, Feitz R, et al. The clinical efficacy and cost effectiveness of the vacuum-assisted closure technique in the management of acute and chronic wounds: a randomized controlled trial[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2006,118(2):390-397
- [3] Svensson S, Monsen C, Kölbelt T, et al. Predictors for Outcome after Vacuum Assisted Closure Therapy of Peri-vascular Surgical Site Infections in the Groin [J]. *Eur J Vasc Endovasc Surg*, 2008, 36(1): 84-89
- [4] Domkowski PW, Smith ML, Gonyon DL Jr, et al. Evaluation of vacuum-assisted closure in the treatment of poststernotomy mediastinitis[J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2003, 126(2):386-390
- [5] Morykwas MJ, Argenta LC, Shelton-Brown EI, et al. Vacuum-assisted closure: a new method for wound control and treatment: animal studies and basic foundation[J]. *Ann Plast Surg*, 1997, 38:553-562
- [6] Antony S, Terrazas S. A retrospective study: clinical experience using vacuum-assisted closure in the treatment of wounds [J]. *J Natl Med Assoc*, 2004, 96(8):1073-1077
- [7] Mithani SK, Tufaro AP. Management of wound complications in spinal surgery[J]. *Contemporary Spine Surgery*, 2008, 9:1-6
- [8] Madden, J. W. & Peacock, E. E. (1968). Studies on the biology of collagen during wounding healing[J]. *Surgery*, 2009, 64: 288-294
- [9] S. M. Ghamsari, J. A. Acorda, K. Taguchi, et al. Evaluation of wound healing of the teat with and without low level laser therapy in dairy cattle by laser doppler flowmetry in comparison with histopathology, tensiometry and hydroxyproline analysis[J]. *British Veterinary Journal*, 1996, 152(5): 583-592
- [10] Gurler Akinbingola, Huseyin Bormana, Tugrul Marala, et al. Uysala, Handan, Ozdemirb, Suna Turkoglu, Medhment Haberal. Wound healing at adaptation zones of skin flaps harvested from acute burned skin[J]. *Burns*, 2013,9(6), 1206-1211
- [11] Mullner T, Mrkonjic L, Kwasny O, Vecsei V. The use of negative pressure to promote the healing of tissue defects: a clinical trial using the vacuum sealing technique [J]. *Br J Plast Surg*, 1997, 50 (3): 194-199
- [12] Thoner B, Fleischmann W, Moch D. Wound treatment by vacuum sealing[J]. *Krankenpf J*, 1998, 36:78-82
- [13] 吕小星,李学拥,胡昭华. 封闭负压引流技术对创周组织水肿及血管通透性的影响 IN[J]. *中国临床康复*,2003,7(8):1244-1245
Lv Xiao-xing, Li Xue-yong, Hu Zhao-hua. The Influence of Vacuum Sealing Drainage on Wound Tissue Edema and Vascular Permeability [J]. *The Journal of Chinese Clinic Rehabilitation*, 2003, 7 (8):1244-1245
- [14] 熊发明,刘兴炎,葛宝丰,等. 封闭负压引流对早期处理爆炸创面的细菌微循环的影响[J]. *中国矫形外科杂志*, 2010, 18(2):147-150
Xiong Fa-ming, Liu Xing-yan, Ge Bao-feng, et al. The Influence of Vacuum Sealing Drainage on Bacteria Microcirculation of Explosive Wound [J]. *The Journal of Chinese Plastic Surgery*, 2010, 18(2): 147-150
- [15] Sharone Jacobs a, David A. Simhae a, Anna Marsano b, et al. Efficacy and mechanisms of vacuum-assisted closure (VAC) therapy in promoting wound healing: a rodent model [R]. *Journal of Plastic, Reconstructive & Aesthetic Surgery*, 2009, 62(10): 1331-1338
- [16] Ubbink DT, Westerbos SJ, Evans D, L et al. Topical negative pressure for treating chronic wounds [R]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2011, 16(3):CD001898
- [17] Gregor S, Maegele M, Sauerland S, et al. Negative pressure wound therapy: a vacuum of evidence?[J]. *Arch Surg*, 2009,143(2):189-196
- [18] Krug E, Berg L, Lee C, et al. International expert panel on negative pressure wound therapy [NPWT-EP]. Evidence-based recommendations for the use of negative pressure wound therapy in traumatic wounds and reconstructive surgery: steps towards an international consensus[J]. *Injury*, 2011, 42(Suppl. 1):S1-12
- [19] Lee HJ, Kim JW, Oh CW, et al. Negative pressure wound therapy for soft tissue injuries around the foot and ankle [J]. *J Orthop Surg Res*, 2009, 9(4):14
- [20] Braakenburg A, Obdeijn MC, Feitz R, et al. The clinical efficacy and cost effectiveness of the vacuum-assisted closure technique in the management of acute and chronic wounds: a randomized controlled trial[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2006, 118(2):390-397, discussion 398-400