

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.24.007

## 湿润烧伤膏对肛瘻术后造模大鼠创面修复的影响\*

鲍新坤 林爱珍<sup>△</sup> 张晓雨 肖文洁 孙光军

(湖北省中医院肛肠科 湖北 武汉 430000)

**摘要 目的:**探究湿润烧伤膏(MEBO)对肛瘻术后造模大鼠创面修复的影响。**方法:**将45只SPF级SD大鼠随机分为模型组(Model组)、MEBO组、易孚组,每组15只。建立全层皮肤缺损开放感染模型。观察肛瘻创面组织一般情况。分别在给药第3、7、14天测定并计算创面愈合率。苏木精-伊红(HE)染色观察大鼠创面组织病理学变化。酶联免疫吸附实验(ELISA)检测各组大鼠创面肉芽组织中炎症因子指标[肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(IL-6)]水平。采用碱性磷酸酶(SAP)免疫组化法对创面肉芽组织进行染色,观察表皮生长因子(EGF)、基质金属蛋白酶-2(MMP-2)水平。蛋白质印迹(Western Blot)法检测各组大鼠创面肉芽组织B细胞淋巴瘤/白血病-xL基因(Bcl-xl)、B细胞淋巴瘤/白血病-2基因拮抗剂(Bak)蛋白表达水平,计算Bcl-xl/Bak比值。**结果:**与Model组相比,MEBO组大鼠创面愈合率(干预7、14d后)、创面肉芽组织中EGF、MMP-2水平、Bcl-xl、Bak蛋白表达水平均显著升高( $P<0.05$ ),创面分泌物和水肿评分、创面肉芽组织生长评分、创面肉芽组织中TNF- $\alpha$ 、IL-6水平、Bcl-xl/Bak比值均显著降低( $P<0.05$ )。大鼠创面组织出血减少、细胞间渗出液减少,血管扩张减轻,炎性细胞浸润减轻,可见大量的新生毛细血管和成纤维细胞。**结论:**MEBO可能通过抑制炎症反应,改善创面微循环和促进组织再生对肛瘻术后大鼠创面修复。

**关键词:**湿润烧伤膏;肛瘻;大鼠;创面修复

中图分类号:R-33;R657.16;R632.1 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2023)24-4642-05

## Effect of Moist Exposed Burn Ointment on Wound Healing in Rats after Anal Fistula Operation\*

BAO Xin-kun, LIN Ai-zhen<sup>△</sup>, ZHANG Xiao-yu, XIAO Wen-jie, SUN Guang-jun

(Department of Anorectal, Hubei Traditional Chinese Medicine Hospital, Wuhan, Hubei, 430000, China)

**ABSTRACT Objective:** To explore the effect of moist exposed burn ointment (MEBO) on wound healing in rats after anal fistula operation. **Methods:** 45 SPF SD rats were randomly divided into model group (Model group), MEBO group and Yi Fu group, with 15 rats in each group. An open infection model of full-thickness skin defect was established. The general situation of anal fistula wound tissue were observed. The wound healing rate was measured and calculated on the 3rd, 7th and 14th day of administration. The pathological changes of wound tissue in rats were observed by hematoxylin-eosin (HE) staining. The levels of inflammatory factors [tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6)] in granulation tissue of rats in each group were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The granulation tissue of the wound were stained by alkaline phosphatase (SAP) immunohistochemical method, and the levels of epidermal growth factor (EGF) and matrix metalloproteinase-2 (MMP-2) were observed. The protein expression levels of B-cell lymphoma/leukemia-xL gene (Bcl-xl) and B-cell lymphoma/leukemia 2 gene antagonist (Bak) in wound granulation tissue of rats in each group were detected by western blot (Western Blot), and the Bcl-xl/Bak ratio was calculated. **Results:** Compared with Model group, the wound healing rate (after 7 and 14 days of intervention), EGF, MMP-2 levels, Bcl-xl and Bak protein expression levels in wound granulation tissue of rats in MEBO group were significantly increased ( $P<0.05$ ), the wound secretion and edema score, wound granulation tissue growth score, TNF- $\alpha$ , IL-6 levels in wound granulation tissue, and Bcl-xl/Bak ratio were significantly decreased ( $P<0.05$ ). The bleeding of wound tissue in rats was reduced, the intercellular exudate was reduced, the vasodilation was reduced, the infiltration of inflammatory cells was reduced, and a large number of new capillaries and fibroblasts were seen. **Conclusion:** MEBO may improve wound micro-circulation and promote tissue regeneration by inhibiting inflammatory response in rats after anal fistula operation.

**Key words:** Moist exposed burn ointment; Anal fistula; Rat; Wound healing

**Chinese Library Classification(CLC):** R-33; R657.16; R632.1 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2023)24-4642-05

\* 基金项目:湖北省卫生健康委员会中医药科研青年项目(ZY2021Q034)

作者简介:鲍新坤(1988-),男,硕士,主治医师,研究方向:中西医结合防治肛肠疾病,E-mail: 13871177938@163.com

<sup>△</sup> 通讯作者:林爱珍(1967-),女,博士,主任医师,研究方向:中西医结合防治肛肠疾病,E-mail: linaizhen2003@163.com

(收稿日期:2023-08-09 接受日期:2023-08-31)

## 前言

肛瘘又称肛门直肠瘘,是指肛管直肠与肛门周围皮肤之间的异常通道,患者常表现为肛周肿痛、流脓、瘙痒等<sup>[1-3]</sup>。由于其独特的病变部位和病理学特点,临床通常需要进行手术治疗<sup>[4]</sup>。但由于术后粪便感染、切口疼痛等因素的影响,肛瘘术后创面愈合较慢,排便和换药时的剧烈疼痛、远期瘢痕等是困扰医患双方的主要问题<sup>[5]</sup>。因此,探寻可促进肛瘘术后创面愈合的药物和作用机制具有重要意义。湿润烧伤膏(MEBO)是一种外用的软膏剂,由黄连、黄柏、黄芩、地龙、罂粟壳等组成,能在创面形成一层保护膜,有助于促进表皮干细胞分化,改善病变微环境,提高组织的免疫功能,临床广泛用于治疗烧伤创面<sup>[6-8]</sup>。肛瘘术后创面愈合与创面微环境密切相关,抑制炎症反应、改善创面微循环、促进组织再生在改善创面微环境中扮演着重要的角色<sup>[9-11]</sup>。因此本研究通过建立SD大鼠全层皮肤缺损开放感染模型,评价MEBO对肛瘘术后创面愈合的影响。以为临床治疗促进肛瘘术后创面修复提供新思路。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验动物

45只SPF级SD雄性大鼠,购自湖北省疾病预防控制中心动物中心,动物许可证号:SYXK(鄂)2022-0065。饲养在湖北中医药大学医学实验中心,饲养条件为室温20~25℃,相对湿度40%~60%,大鼠自由摄食、饮水,适应性饲养7d后进行实验。本次实验已得到本院动物伦理委员会批准。

### 1.2 主要试剂

MEBO(60g/支)购自汕头市美宝制药有限公司;易孚(20g/支)购自桂林华诺威基因药业有限公司;生理盐水(500mL)购自湖南科伦制药有限公司;金黄色葡萄球菌大肠杆菌混合菌液由湖北中医药大学肠道微生态实验室提供。苏木精-伊红(HE)染色试剂盒购自南京建成生物工作研究有限公司;白细胞介素(IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )酶联免疫吸附实验(ELISA)试剂盒购自上海酶联生物科技有限公司;表皮生长因子(EGF)、基质金属蛋白酶2(MMP-2)试剂盒购自上海将来实业股份有限公司;B细胞淋巴瘤/白血病-xL基因(Bcl-xl)、B细胞淋巴瘤/白血病-2基因拮抗剂(Bak)抗体及其二抗购自美国GeneTex公司。

### 1.3 造模及分组

参考文献<sup>[12]</sup>,制造模拟肛瘘术后创面的动物模型。将大鼠肛周手术区域进行备皮,并腹腔注射戊巴比妥钠进行麻醉,碘伏棉球常规消毒。剪去肛周边长约3cm的方形皮肤,破坏皮肤全层及皮下筋膜直至肌层,止血后将金黄色葡萄球菌大肠杆菌混合菌液淋洒在伤口表面。创面部位敷上油纱敷料,用纱布包扎止血。24h后去除覆盖物。每日伤口淋洒金黄色葡萄球菌大肠杆菌混合菌液,72h可见伤口有脓性分泌物,渗液较多,创缘皮色发红,则造模成功。本实验共成功造模45只大鼠,采用随机数字表法随机分为3组,分别为模型组(Model组)、易孚组、MEBO组,每组15只。

### 1.4 大鼠肛瘘创面一般情况评估标准<sup>[13]</sup>

观察大鼠肛瘘创面分泌物和水肿情况并进行评分。评分标准:0分为创面无水肿;1分为创面少量分泌物,轻度水肿;2分

为创面中度水肿;3分为创面分泌物增多,重度水肿。分值越高,说明肛瘘创面分泌物和水肿情况越严重。

观察大鼠肛瘘创面肉芽生长情况并进行评分。评分标准:0分指肉芽红润颗粒状,轻擦出血;1分指肉芽色淡红均匀,轻擦出血;2分指肉芽色苍白凹凸,擦之不出血;3分指肉芽色晦暗,局部无肉芽,擦之不出血。分值越高说明创面肉芽组织的生长情况越差。

### 1.5 给药方法

Model组大鼠造模成功后于创面外敷生理盐水;MEBO组大鼠于创面外敷MEBO;易孚组大鼠创面外敷易孚。每日下午定时换药1次。

### 1.6 创面愈合率的计算

在给药第3、7、14d对创面面积进行测定:固定大鼠,将创面周围毛发进行修剪,将透明薄膜平铺于充分暴露的创面上,用记号笔画出伤口边缘。再将标记好的透明薄膜平铺在心电图纸张上,并对创面进行面积计算,最后算出创面愈合率。创面愈合率=(原创面面积-未愈合创面面积)/原创面面积 $\times$ 100%。

### 1.7 HE染色观察大鼠创面组织病理学变化

脱颈处死所有大鼠,取一部分创面组织制备石蜡切片,切片经二甲苯脱蜡,乙醇水化,用HE进行染色,乙醇脱水,二甲苯透明,中性树脂胶封片。在光镜下观察各组大鼠创面组织的病理学变化。另一部分置于-80℃进行保存。

### 1.8 ELISA检测各组大鼠创面肉芽组织中TNF- $\alpha$ 、IL-6水平

取1.7中冻存的部分大鼠创面组织,制备组织悬液,采用ELISA法检测大鼠创面肉芽组织中TNF- $\alpha$ 、IL-6的水平。

### 1.9 碱性磷酸酶(SAP)免疫组化法检测创面肉芽组织EGF、MMP-2水平

取1.7制备的部分大鼠创面组织石蜡切片,修复抗原后采用5%山羊血清封闭1h,加入EGF、MMP-2抗体(均为1:200),4℃下孵育过夜,加入酶标羊抗兔二抗,37℃孵育2h,SAP染色,采用光学显微镜拍照,棕黄色为阳性染色,使用Image-Pro Plus 6.0图像分析软件半定量分析图像的积分光密度(IOD),即EGF、MMP-2的水平。

### 1.10 蛋白质印迹(Western Blot)法检测各组大鼠创面肉芽组织Bcl-xl、Bak蛋白表达水平

取1.7中冻存的大鼠创面组织,加入放射免疫沉淀法裂解缓冲液裂解液提取组织总蛋白。二喹啉甲酸法进行蛋白定量后,12%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离,将蛋白转移到聚偏氟乙烯膜上,5%牛血清白蛋白封闭2h,加入Bcl-xl、Bak一抗(均为1:1000)4℃下孵育过夜,次日加入相应二抗(1:3000)在室温下孵育2h,利用ECL进行显色,以GAPDH为内参,使用凝胶图像处理系统分析目标蛋白的灰度值。

### 1.11 统计学方法

本实验数据采用GraphPad Prism 7.0进行统计分析。符合正态分布的计量资料以( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,进一步两两比较采用LSD-t检验。以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MEBO对大鼠创面愈合率的影响

与易孚组相比,MEBO组大鼠创面愈合率(干预7、14d后)

显著升高( $P<0.05$ )。与 Model 组相比,易孚组、MEBO 组大鼠创面愈合率(干预 7、14 d 后)显著升高( $P<0.05$ )。如图 1 所示。

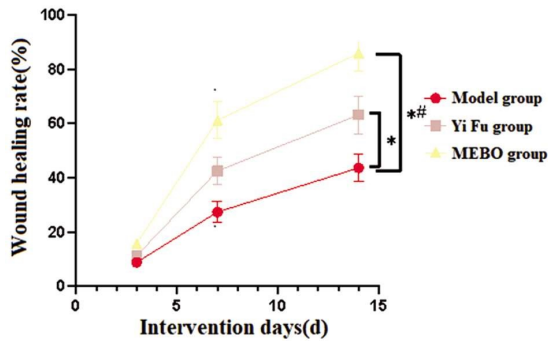


图 1 各组大鼠创面愈合率比较

Fig.1 Comparison of wound healing rate of rats in each group

Note: Compare with Model group,  $*P<0.05$ . Compare with Yi Fu group,  $^{\#}P<0.05$ .

### 2.3 MEBO 对大鼠肛瘘创面肉芽组织病理学变化的影响

Model 组大鼠创面肉芽组织可见明显的组织出血、细胞之间存在渗出液、血管扩张和大量炎性细胞浸润,可见少量的成纤维细胞沉积但排列方向紊乱。与 Model 组相比,MEBO 组、易孚组大鼠创面组织出血减少、细胞间渗出液减少,血管扩张减

### 2.2 MEBO 对大鼠肛瘘创面一般情况的影响

与 Model 组相比,易孚组、MEBO 组大鼠创面分泌物和水肿评分、创面肉芽组织生长评分均显著降低( $P<0.05$ )。与易孚组相比,MEBO 组大鼠创面分泌物和水肿评分、创面肉芽组织生长评分均显著降低( $P<0.05$ )。如图 2 所示。

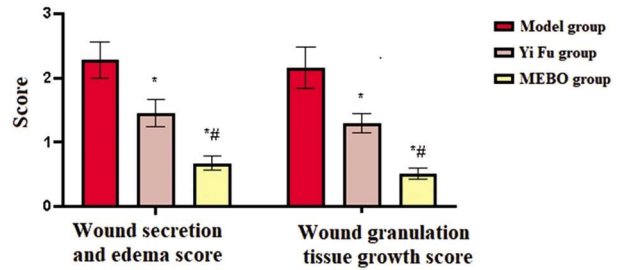


图 2 各组大鼠创面分泌物和水肿评分、创面肉芽组织生长评分比较

Fig.2 Comparison of wound secretion and edema score, wound granulation tissue growth score in each group of rats

Note: Compare with Model group,  $*P<0.05$ . Compare with Yi Fu group,  $^{\#}P<0.05$ .

轻,炎性细胞浸润减轻,可见大量的新生毛细血管和成纤维细胞。其中,MEBO 组的创面组织损伤减轻更为明显。如图 3 所示。

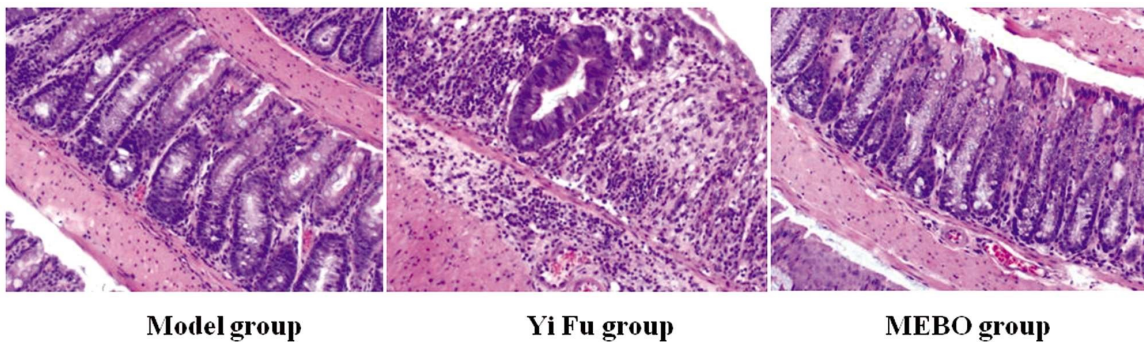


图 3 HE 染色观察大鼠肛瘘创面肉芽组织病理学变化( $\times 200$ )

Fig.3 HE staining was used to observe the pathological changes of granulation tissue in anal fistula wound of rats ( $\times 200$ )

### 2.4 MEBO 对大鼠创面肉芽组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平的影响

与 Model 组相比,易孚组、MEBO 组大鼠创面肉芽组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平均显著降低( $P<0.05$ )。与易孚组相比,MEBO 组大鼠创面 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平均显著降低( $P<0.05$ )。如图 4 所示。

### 2.5 MEBO 对大鼠创面肉芽组织中 EGF、MMP-2 水平的影响

与 Model 组相比,易孚组、MEBO 组大鼠创面肉芽组织中 EGF、MMP-2 水平均显著升高( $P<0.05$ )。与易孚组相比,MEBO 组大鼠创面肉芽组织中 EGF、MMP-2 水平均显著升高( $P<0.05$ )。如图 5、6、7 所示。

### 2.6 MEBO 对大鼠创面肉芽组织中 Bcl-x1、Bak 蛋白表达的影响

与 Model 组相比,易孚组、MEBO 组大鼠创面肉芽组织中 Bcl-x1、Bak 蛋白表达水平均显著升高( $P<0.05$ ),Bcl-x1/Bak 比值显著降低( $P<0.05$ )。与易孚组相比,MEBO 组大鼠创面肉芽组织中 EGF、MMP-2 水平均显著升高( $P<0.05$ ),Bcl-x1/Bak 比值显著降低( $P<0.05$ )。如图 8、9 所示。

## 3 讨论

肛瘘是肛门直肠常见的疾病,随着人们生活习惯、饮食结构的变化,其发病率呈上升趋势。临床主要依靠手术方式治疗肛瘘,此治疗方式可以彻底清除病灶脓液、有效降低疾病复发率<sup>[4]</sup>。但因肛瘘术后创口是开放性创口,容易被粪便污染,导致创口愈合的时间延长,目前研究认为可能与创面的反复感染引起的持续性炎症反应有关,持续的炎症反应不利于细胞增殖和组织重塑<sup>[5]</sup>。因此,寻找有效促进肛瘘术后创面愈合的安全有效的药物,成为缩短肛瘘病程、改善患者预后,减轻患者痛苦的有效办法。

中医药在促进创面修复方面的应用历史悠久,通常采用清热解毒、止痛化痰、化腐生肌、调和气血的中药治疗创面愈合<sup>[6]</sup>。现代药理学研究发现,中医药在促进创面愈合方面的作用机制主要与抑制炎症反应、促进生长因子分泌、改善创面微循环等有关<sup>[7]</sup>。MEBO 是一种油性药膏,能够在创面表层形成一个保护膜,避免神经末梢受到外界刺激影响。在湿润的环境下,表皮细胞的迁移速度加快,促进真皮成纤维细胞的生长因

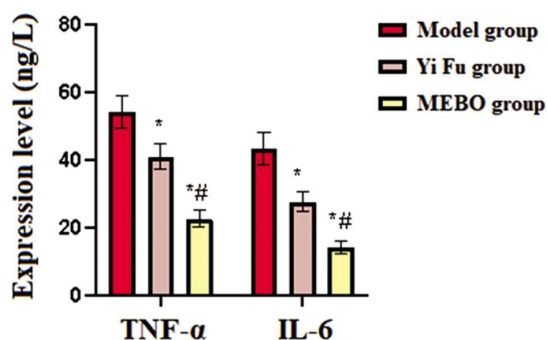


图4 各组大鼠创面肉芽组织中 TNF-α、IL-6 水平的比较

Fig.4 Comparison of TNF-α and IL-6 levels in wound granulation tissue of rats in each group

Note: Compare with Model group, \* $P < 0.05$ . Compare with Yi Fu group, # $P < 0.05$ .

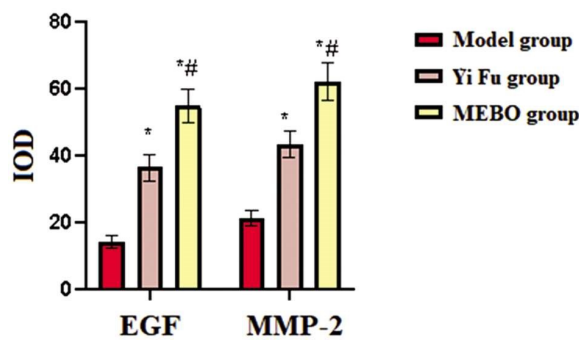
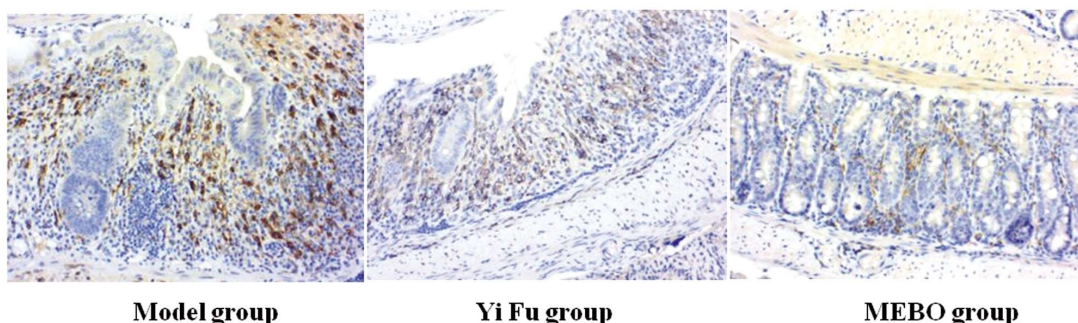


图5 各组大鼠创面肉芽组织中 EGF、MMP-2 水平比较

Fig.5 Comparison of EGF and MMP-2 levels in wound granulation tissue of rats in each group

Note: Compare with Model group, \* $P < 0.05$ . Compare with Yi Fu group, # $P < 0.05$ .



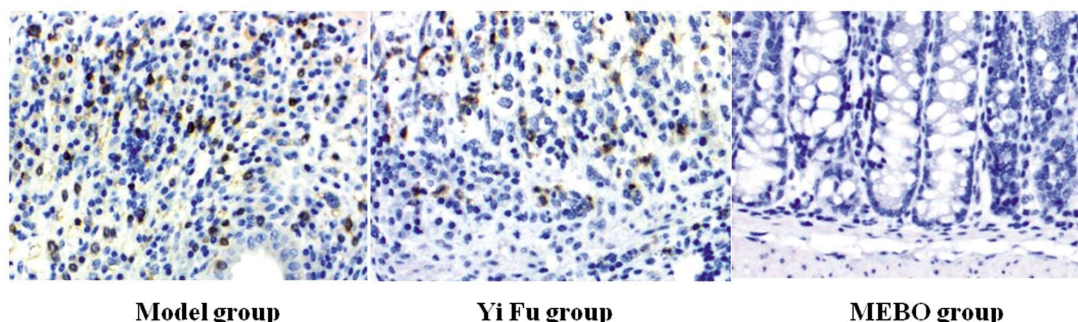
Model group

Yi Fu group

MEBO group

图6 免疫组化检测大鼠创面肉芽组织 EGF 水平(× 200)

Fig.6 Immunohistochemical detection of EGF level in rat wound granulation tissue(× 200)



Model group

Yi Fu group

MEBO group

图7 免疫组化法检测大鼠创面肉芽组织 MMP-2 水平(× 400)

Fig.7 The expression of MMP-2 in granulation tissue of rat wound was detected by immunohistochemistry(× 400)

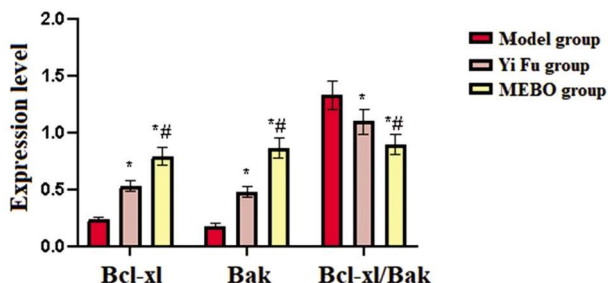


图8 各组大鼠创面肉芽组织中 Bcl-xl、Bak 蛋白表达的比较

Fig.8 Comparison of Bcl-xl and Bak protein expression in wound granulation tissue of rats in each group

Note: Compare with Model group, \* $P < 0.05$ . Compare with Yi Fu group, # $P < 0.05$ .

通路促进糖尿病溃疡大鼠创面修复。本研究结果显示,与 Model 组相比,MEBO 组大鼠创面愈合率(干预 7、14 d 后)显著升高,创面分泌物和水肿评分、创面肉芽组织生长评分显著降低。HE 染色显示大鼠创面组织出血减少、细胞间渗出液减少,血管扩张减轻,炎性细胞浸润减轻,可见大量的新生毛细血管和成纤维细胞。这说明 MEBO 对肛肠术后大鼠创面修复具有一定的促进作用。

肛肠术后创面愈合与创面微环境密切相关,且抑制炎症反应、改善创面微循环、促进组织再生在改善创面微环境方面具有重要作用。TNF-α 能够激活所有类型细胞的核因子-κB,调节其他促炎因子、趋化因子的表达,是炎症反应的主要标志物<sup>[20]</sup>。IL-6 的异常表达与损伤、术后感染等多种疾病相关,能促进白细胞发生趋化反应<sup>[21]</sup>。EGF 是一种多功能生长因子,能促进各种组织细胞的分裂,参与细胞增殖、创面愈合、肿瘤的侵袭和迁移等多种过程<sup>[22]</sup>。MMP-2 是 IV 型胶原酶的基质金属蛋白

子受体表达,进而促进创面愈合<sup>[18]</sup>。Zheng 等<sup>[19]</sup>研究发现 MEBO 能通过调控细胞自噬和磷脂酰肌醇 3- 激酶 / 蛋白激酶 B 信号

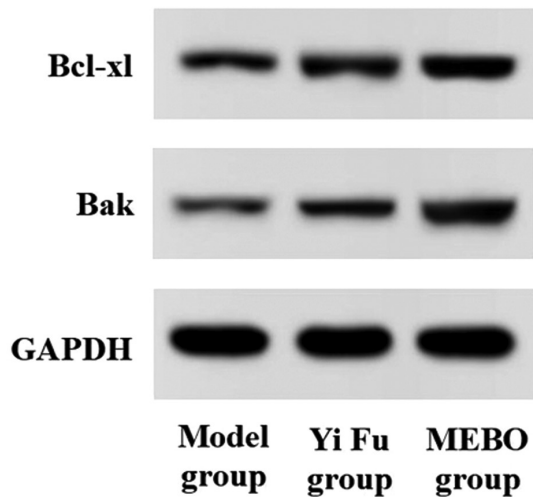


图9 Western Blot 法检测各组大鼠创面肉芽组织 Bcl-xl、Bak 蛋白表达水平

Fig.9 Western Blot method was used to detect the expression levels of Bcl-xl and Bak protein in wound granulation tissue of rats in each group

酶,当其被激活时,可以直接参与细胞外基质动态平衡,提高胶质细胞的迁移,促进伤口愈合<sup>[23]</sup>。Bcl-xl/Bak 是 Bcl-2 蛋白家族的成员,其比值决定组织受到创伤后修复水平的高低<sup>[24]</sup>。本研究结果发现,与 Model 组相比,MEBO 组大鼠创面肉芽组织中 EGF、MMP-2 水平、Bcl-xl、Bak 蛋白表达水平均显著升高,创面肉芽组织中 TNF- $\alpha$ 、IL-6 水平、Bcl-xl/Bak 比值均显著降低。这说明 MEBO 可能通过抑制炎症反应、改善创面微循环和促进组织再生来促进肛瘘术后大鼠创面修复<sup>[25]</sup>。

综上所述,MEBO 可能通过抑制炎症反应、改善创面微循环和促进组织再生来促进肛瘘术后大鼠创面修复。本研究还存在不足之处,MEBO 对肛瘘术后的创面修复可能还存在其他途径,还需进一步设计实验进行研究。

#### 参考文献(References)

[1] Amato A, Bottini C, De Nardi P, et al. Evaluation and management of perianal abscess and anal fistula: SICCR position statement [J]. *Tech Coloproctol*, 2020, 24(2): 127-143

[2] Mei Z, Wang Q, Zhang Y, et al. Risk Factors for Recurrence after anal fistula surgery: A meta-analysis[J]. *Int J Surg*, 2019, 69(1): 153-164

[3] Stijns J, Zimmerman DDE. Anal fistula, there is more than meets the eye[J]. *Tech Coloproctol*, 2022, 26(5): 331-332

[4] Chadbunchachai W, Lohsiriwat V, Paonariang K. Long-term outcomes after anal fistula surgery: results from two university hospitals in Thailand[J]. *Ann Coloproctol*, 2022, 38(2): 133-140

[5] Arroyo A, Sánchez-Guillén L. Commentary on: Risk factors for recurrence after anal fistula surgery: A meta-analysis [J]. *Int J Surg*, 2019, 70(1): 104-112

[6] El Charif MH, Doughan S, Kredly R, et al. MEBO versus topical Diltiazem versus a combination of both ointments in the treatment of acute anal fissure: a randomized clinical trial protocol [J]. *BMC Complement Med Ther*, 2021, 21(1): 75-86

[7] Zhan HB, Sun QQ, Yan L, et al. Clinical Study of MEBO Combined with Jinhuang Powder for Diabetic Foot with Infection[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2021, 18(1): 553-567

[8] Mabvuure NT, Brewer CF, Gervin K, et al. The use of moist exposed burn ointment (MEBO) for the treatment of burn wounds: a systematic review[J]. *J Plast Surg Hand Surg*, 2020, 54(6): 337-343

[9] 潘慧莹,石光明,齐玥,等.加味苦参汤合紫归解毒膏对肛瘘术后创面愈合、肛肠动力学及血清 TNF- $\alpha$ 、IL-6、bFGF、TGF- $\beta$ 1 水平的影响[J].*现代生物医学进展*, 2022, 22(02): 388-391, 363

[10] Fitzpatrick DP, Kealey C, Brady D, et al. Treatments for the amelioration of persistent factors in complex anal fistula [J]. *Biotechnol Lett*, 2022, 44(1): 23-31

[11] Zhang Y, Zhao T, Ren C, et al. Predictive Risk Factors of the Conversion from Video-Assisted Treatment of Anal Fistula to Seton Fistulotomy [J]. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*, 2022, 32 (6): 634-638

[12] Prosst RL, Herold A, Joos AK, et al. The anal fistula claw: the OTSC clip for anal fistula closure[J]. *Colorectal Dis*, 2012, 14(9): 1112-1127

[13] Zhu Y, Wang Y, Jia Y, et al. Roxadustat promotes angiogenesis through HIF-1 $\alpha$ /VEGF/VEGFR2 signaling and accelerates cutaneous wound healing in diabetic rats[J]. *Wound Repair Regen*, 2019, 27(4): 324-334

[14] Tyrell S, Coates E, Brown SR, et al. A systematic review of the quality of reporting of interventions in the surgical treatment of Crohn's anal fistula: an assessment using the TIDiER and Blencowe frameworks[J]. *Tech Coloproctol*, 2021, 25(4): 359-369

[15] Kang J, Liu Y, Peng S, et al. Efficacy and safety of traditional Chinese medicine external washing in the treatment of postoperative wound of diabetes complicated with anal fistula: Study protocol of a randomized, double-blind, placebo-controlled, multi-center clinical trial[J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13(1): 938-949

[16] Zhou X, Guo Y, Yang K, et al. The signaling pathways of traditional Chinese medicine in promoting diabetic wound healing [J]. *J Ethnopharmacol*, 2022, 282(1): 114-120

[17] Ning S, Zang J, Zhang B, et al. Botanical Drugs in Traditional Chinese Medicine With Wound Healing Properties [J]. *Front Pharmacol*, 2022, 13(1): 885-897

[18] Zhang J, Ge J, Chen C, et al. The Effectiveness of Using CO2 Fractional Laser and Mebo Burn Ointment Together in Treating Scars on the Face after Surgery[J]. *Plast Reconstr Surg Glob Open*, 2023, 11 (9): 525-536

[19] Zheng A, Ma H, Liu X, et al. Effects of Moist Exposed Burn Therapy and Ointment (MEBT/MEBO) on the autophagy mTOR signalling pathway in diabetic ulcer wounds [J]. *Pharm Biol*, 2020, 58 (1): 124-130

[20] Raziyeva K, Kim Y, Zharkinbekov Z, et al. Immunology of Acute and Chronic Wound Healing[J]. *Biomolecules*, 2021, 11(5): 700-708

[21] Hirano T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer [J]. *Int Immunol*, 2021, 33(3): 127-148

[22] Ruiz-Cañada C, Bernabé-García Á, Liarte S, et al. Chronic Wound Healing by Amniotic Membrane: TGF- $\beta$  and EGF Signaling Modulation in Re-epithelialization[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2021, 9(1): 689-697

[23] Hingorani DV, Lippert CN, Crisp JL, et al. Impact of MMP-2 and MMP-9 enzyme activity on wound healing, tumor growth and RACPP cleavage[J]. *PLoS One*, 2018, 13(9): 198-206

[24] Wang B, Mai Z, Du M, et al. BCL-XL directly retrotranslocates the monomeric BAK[J]. *Cell Signal*, 2019, 61(1): 1-9

[25] Alshehabat M, Hananeh W, Ismail ZB, et al. Wound healing in immunocompromised dogs: A comparison between the healing effects of moist exposed burn ointment and honey [J]. *Vet World*, 2020, 13(12): 2793-2797