

· 基础研究 ·

高压氧与地塞米松对大鼠真皮下血管网皮瓣愈合的影响

张涛 郭舒亚 贾堂宏 龚维明 孙炳卫 刘淑恒 宋宏亮 李震花

【摘要】目的 研究应用高压氧(HBO)和地塞米松(DEX)对大鼠真皮下血管网(SVN)皮瓣愈合的影响,以及二者的协同作用。**方法** 将 Wistar 大鼠 40 只随机分为对照组、DEX 组、HBO 组和 DEX + HBO 组。于背部制备 $2.5\text{ cm} \times 10\text{ cm}$ SVN 皮瓣。于术后第 7 天观察各皮瓣的成活面积,皮瓣横断面的肉芽组织生长厚度、毛细血管数量以及中性粒细胞浸润情况等。**结果** 4 组大鼠术后第 7 天,皮瓣的成活面积分别为 $7.90, 10.48, 15.53, 15.58\text{ cm}^2$, DEX 组、HBO 组和 DEX + HBO 组与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$),HBO 组和 DEX + HBO 组与 DEX 组比较差异有统计学意义($P < 0.01$),HBO 组和 DEX + HBO 组组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** HBO 与 DEX 单独应用时,均对大鼠 SVN 皮瓣的愈合有促进作用,且 HBO 优于 DEX,二者联合应用亦可促进 SVN 皮瓣的愈合,但与 HBO 单独应用无明显差别。

【关键词】 高压氧; 地塞米松; 真皮下血管网

The effects of dexamethasone and hyperbaric oxygen on the survival of subdermal vascular networks

ZHANG Tao, GUO Shu-ya, JIA Tang-hong, GONG Wei-ming, SUN Bing-wei, LIU Shu-heng, SONG Hong-liang, LI Zhen-hua. Orthopedic department, Ji'nan Central Hospital, Shandong University Clinical Hospital, Ji'nan 250013, China

【Abstract】Objective To study the effects of dexamethasone (DEX) and/or hyperbaric oxygen (HBO) on the subdermal vascular network (SVN). **Methods** SVNs were selected on dorsal skin flaps of 40 Wistar rats. The animals were divided randomly into a control group, a DEX group, a HBO group and a HBO + DEX group. Cranially based, $2.5\text{ cm} \times 10\text{ cm}$ dorsal SVN skin flaps were sharply incised and elevated between the dartos and SVN, then sutured to their beds. On the 7th postoperative day, the surviving flap area was measured along with the number of new capillary, the thickness of meat tissue and the number of infiltrated neutrophilic granulocytes in the SVN skin flap. **Results** The mean surviving flap area for the control group was 7.90 cm^2 , for the DEX group it was 10.48 cm^2 , for the HBO group 15.53 cm^2 , and for the DEX + HBO group it was 15.58 cm^2 . The improvement in surviving flap area was highly statistically significant compared with the control. The improvement was also statistically significant when the HBO group or HBO + DEX group was compared with the DEX group. However, no statistically significant difference was found between the HBO group and HBO + DEX group. **Conclusion** In a rat dorsal skin flap model, DEX or HBO improved skin flap viability, but DEX alone is not as efficacious as HBO or as DEX + HBO. DEX plus HBO showed no additive beneficial effect over HBO alone.

【Key words】 Hyperbaric oxygen; Dexamethasone; Subdermal vascular networks

组织修复是临床上经常遇到的问题,而皮瓣移植又是组织修复的重要组成部分。Myers 等^[1]提出了籍真皮下血管网(subdermal vascular network, SVN)供血的随意型薄皮瓣,Tsukada^[2]首先应用 SVN 皮瓣并获得了成功。SVN 皮瓣充分发挥了 SVN 的作用,被认为是继游离皮瓣和筋膜皮瓣之后,对皮瓣移植术的又一新的挑战,近十年来在创伤外科等得到了广泛应用。为提高其移植的成活率,国内外已进行了相关的研究^[2,3]。而关于高压氧(hyperbaric oxygen, HBO)和地塞米松(dexamethasone, DEX)对

SVN 皮瓣移植愈合的影响方面的研究与应用相对较少。本研究以 Wistar 大鼠为实验动物,观察 HBO 和 DEX 对 SVN 皮瓣愈合的影响,旨在探讨 HBO 或者 DEX 是否能够提高 SVN 皮瓣的成活面积以及二者之间是否存在协同作用。

材料与方法

一、实验动物及分组

40 只 Wistar 大鼠,体重为 $(250 \pm 50)\text{ g}$,雌雄不限,随机分为对照组、DEX 组、HBO 组和 DEX + HBO 组,每组 10 只。

二、模型制备

制备大鼠背部 SVN 皮瓣。腹腔注射 5% 戊巴比妥

作者单位:250013 济南,山东大学临床医学院济南市中心医院骨科

钠(10 mg/kg 体重)麻醉大鼠,背部脱毛,标记术区面积为 $2.5\text{ cm} \times 10\text{ cm}$ (图 1)。均于背部正中制备 SVN 皮瓣,蒂位于头端。将皮瓣掀起,于肌膜层与 SVN 层间作锐性分离。分离术中发现的鼠背顶支动脉,制备成随意型 SVN 皮瓣。原位缝合,皮瓣背部打包,远端压力略大于近端压力(图 2)。

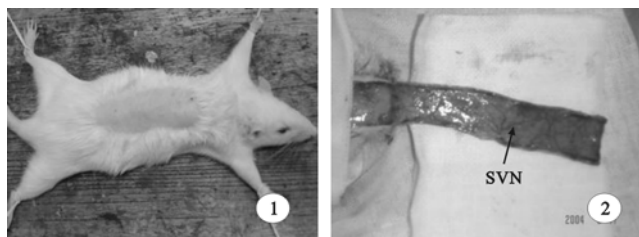


图 1 麻醉并备皮后的大鼠

图 2 制备 SVN 皮瓣

三、处理方法

术前 1 d 至手术后第 7 天,DEX 组和 DEX + HBO 组行腹腔内注射 DEX,对照组和 HBO 组行腹腔注射等量的生理盐水以作实验对照^[3],DEX 首次用量为每天 5 mg/kg 体重,然后逐步减量,术后第 7 天停药。接受 HBO 治疗的大鼠均于术后 8 h 内送至动物用 HBO 舱接受 HBO 治疗^[4](图 3),每天 1 次,每次 2 h,共 7 d。HBO 舱内压力为 2.5 ATA,纯氧舱,舱内氧浓度均维持在 98% 以上。大鼠均在相同条件下进行单笼饲养 7 d 后处死并行大体和组织学观察。饲养期间无感染。



图 3 动物用高压氧舱

四、观察内容

1. 大体观察:皮瓣成活情况及成活面积。

2. 组织学观察:肉芽组织生长厚度,应用显微测微仪进行;中性粒细胞数量,取 10 个高倍视野行细胞计数(求其平均值);新生毛细血管生长情况,取 10 个高倍视野进行微血管计数,其中管腔较大且有较厚平滑肌者,判为非新生毛细血管,不在计数之列(求其平均值)^[5]。

五、统计学分析

实验中所测数据均用($\bar{x} \pm s$)表示,对各组数值进行单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意

义。应用 SPSS 10.0 版统计软件进行分析。

结 果

一、大体观察

术后实验大鼠无死亡。以皮瓣质地变硬、失去弹性、颜色变黑、毛发失去光泽作为判断皮瓣坏死标准^[5]。术后第 7 天的 SVN 皮瓣大体观察情况:DEX 组、HBO 组和 DEX + HBO 组 3 组皮瓣肿胀轻或肿胀近消退,皮色红润,但接近远段均出现了点片状坏死,其余部分基本愈合,而对照组皮瓣肿胀明显,部分大鼠出现中远段皮瓣部分或大部坏死,且质地变硬,全层坏死(图 4,5)。DEX 组、HBO 组和 DEX + HBO 组皮瓣成活面积与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$),并且 HBO 组和 DEX + HBO 组优于 DEX 组($P < 0.01$),而 HBO 组和 DEX + HBO 组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 6。



图 4 HBO 组经 HBO 治疗后 SVN 皮瓣成活情况

图 5 HBO 组皮瓣基底情况

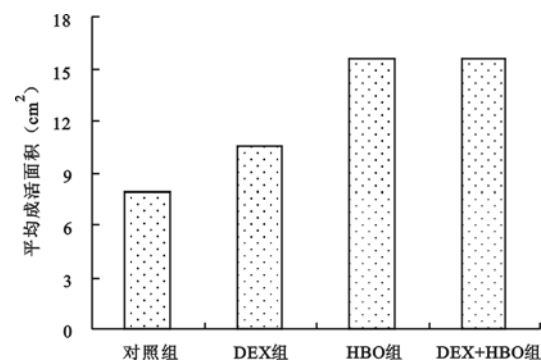


图 6 各组皮瓣平均成活面积

二、组织学观察(镜下观察)

肉芽组织生长厚度、中性粒细胞计数和微血管计数的观察测量数据见表 1 所示。肉芽组织生长厚度及新生毛细血管计数:DEX 组、HBO 组和 DEX + HBO 组与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.01$)。中性粒细胞浸润:DEX 组和 DEX + HBO 组与对照组和 HBO 组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

术后第 7 天光镜下可见:4 组皮瓣下均见渗出物,以中性粒细胞和淋巴细胞为主,可见血管内皮细胞及成纤维细胞。DEX 组、HBO 组和 DEX + HBO 组皮瓣

下渗出物较少,肉芽组织增长优于对照组,血管内皮细胞、新生毛细血管数量明显多于对照组。DEX 组和 DEX + HBO 组大鼠的皮瓣只见少量中性粒细胞浸润,而对照组和 HBO 组的皮瓣下均见大量中性粒细胞浸润。4 组皮瓣下均有肉芽组织生长,DEX 组、HBO 组和 DEX + HBO 组皮瓣下肉芽组织含量较对照组明显增多,并可见较多的新生毛细血管垂直于肉芽组织向皮瓣内及皮下组织方向内延伸,血管腔增大,出现血管平滑肌细胞并初步形成毛细血管网。见图 7。

表 1 各组大鼠组织学观察($\bar{x} \pm s$)

组别	n	皮瓣肉芽组织生长厚度(μm)	皮瓣中性粒细胞计数(个)	皮瓣微血管计数(条)
对照组	10	73.00 $\pm$ 12.63	200.00 $\pm$ 16.00	125.00 $\pm$ 16.30
DEX 组	10	100.00 $\pm$ 11.79 ^a	57.00 $\pm$ 11.00 ^b	200.00 $\pm$ 17.90 ^a
HBO 组	10	141.00 $\pm$ 14.56 ^a	157.00 $\pm$ 15.00	417.00 $\pm$ 20.00 ^a
DEX + HBO 组	10	137.00 $\pm$ 13.98 ^a	60.00 $\pm$ 14.00 ^b	310.00 $\pm$ 21.00 ^a

注:与对照组比较,^a $P < 0.01$;与对照组和 HBO 组比较,^b $P < 0.05$

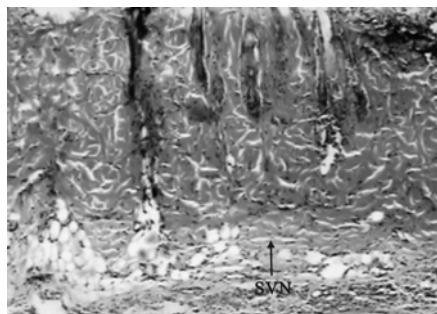


图 7 HBO 组 SVN 皮瓣组织学观察(HE, $\times 40$)

讨 论

一、DEX 对 SVN 皮瓣愈合的影响

DEX 为糖皮质激素类抗炎药,可以调节炎症因子白细胞介素-1 (Interleukin-1, IL-1) 含量以及内皮素、磷脂酶 A 合成,促进某些血管因子的合成,降低基础代谢或增加能量代谢产物的利用率,减少黏附分子的含量,调理中性粒细胞的功能状态。病理切片显示,未应用 DEX 组皮瓣中性粒细胞大量浸润,可见粒细胞过度活化、浸润,而对皮瓣产生损害;而 DEX 组中性粒细胞明显减少。因此,DEX 可调节白细胞的功能状态,防止其在组织中过度浸润,从而增加皮瓣的成活面积^[6]。

近年来认为中性粒细胞是皮瓣损伤过程中很重要的炎症介质,这与中性粒细胞可释放多种毒性物质并破坏正常组织结构及溶解结缔组织有关。其损伤机制为中性粒细胞颗粒包含胶原酶和明胶酶等^[7]。中性粒细胞若有机会介导体内细胞外基质的溶解,细胞的结构及功能就会受到急性不可逆损伤。中性粒细胞能合成多种细胞因子。合成的 IL-8 是中性粒细胞最主

要的细胞因子,可吸引更多的炎性细胞迁移到炎症部位。中性粒细胞与内皮细胞的黏附可引起血管的持续性收缩,导致组织的低灌注。据研究,DEX 可防止皮瓣缺血再灌注损伤^[3]。曹景敏等^[3]认为,DEX 降低了红细胞的聚集性和中性粒细胞的黏附能力,增加了中性粒细胞的变形能力。

DEX 在炎症早期可减轻渗出、水肿、毛细血管扩张、白细胞浸润及吞噬反应,在后期可抑制毛细血管和纤维母细胞的增生,延缓肉芽组织生成,防止粘连及瘢痕形成。因此,糖皮质激素在抑制炎症、减轻症状的同时,也降低机体的防御功能,可致感染扩散、阻碍创口愈合。本研究中,DEX 组虽未观察到皮瓣感染的情况与其他组有明显的差别,但是,临床应用中不能忽视 DEX 的双重作用。皮瓣的新生微血管数量、肉芽组织厚度,与 HBO 组比较相对较少,这也印证了上述理论。

二、HBO 对 SVN 皮瓣愈合的影响

HBO 疗法是一种物理疗法。将 HBO 应用于 SVN 皮瓣,可增加 SVN 皮瓣的成活面积。其机理为:(1) HBO 提高 SVN 皮瓣组织的氧分压。SVN 皮瓣术后,血管断裂、栓塞、收缩;局部血管渗出造成创口组织缺血、缺氧。组织 PaO_2 对于毛细血管再生具有重要意义^[8]。经 HBO 治疗后皮瓣组织 PaO_2 升高,刺激了成纤维细胞合成、胶原基质生成和毛细血管再生,从而有利于皮瓣的成活。(2) HBO 能改善 SVN 皮瓣血液循环。皮瓣坏死的主要原因是动脉供血不足。实验中设计 SVN 皮瓣时增加了长宽比例,故存在供血不足。Manson 等^[9]应用激光多普勒血流仪检查,证明皮瓣经 HBO 治疗后,血流量有显著增加。HBO 引起周围血管收缩,降低组织液液压,减轻水肿;HBO 能选择性地关闭皮瓣远端的动-静脉短路,从而增加毛细血管的血供,提高皮瓣成活率;HBO 能促进血管上皮的再生并改善毛细血管分布。(3) HBO 减少缺血再灌注损伤。实验中,由于 SVN 皮瓣缺血,氧供应减少,三磷酸腺苷生成减少而二磷酸腺苷积聚。经过催化而产生自由基,即引起再灌注损伤。Tai 等^[10]认为皮瓣经 HBO 治疗,自由基产生减少,而减轻缺血-再灌注损伤,提高皮瓣成活率。对大鼠皮瓣进行 HBO 治疗后,发现超氧化物歧化酶活性增高,认为 HBO 亦通过提高其活性而促进自由基清除,减轻缺血再灌注损伤。(4) HBO 与皮瓣表面对氧的吸收。Kaelin^[11]等对 2 组兔带蒂皮瓣术后进行 HBO 治疗,以及 Zamboni 等^[12]将皮瓣远端变紫的猪处死后置于 HBO 中,皮瓣远端又逐渐变红,均证明 SVN 皮瓣表面皮肤吸收氧是存在的。(5) HBO 的抑菌作用。创伤局部氧分压增高可以抑制厌氧菌和需氧菌的生长。HBO 治疗可以增强巨噬细胞、中性粒细胞吞噬,杀灭细菌、吞噬坏死组织,增强其抗感染的

能力。

SVN 皮瓣是近十几年来得到发展并广泛应用的皮瓣,其解剖血供和制备均有其特殊性,通过我们的动物实验,证明 HBO 和 DEX 二者均对 SVN 皮瓣的愈合有明显的促进作用。

参 考 文 献

- [1] Myers B, Donovan W. The location of the blood supply in random flaps. *Plast Reconstr Surg*, 1976, 58:314-316.
- [2] Tsukada S. Transfer of free skin grafts with a preserved subcutaneous vascular network. *Ann Plast Surg*, 1980, 4:500-506.
- [3] 曹景敏, 鲁开化, 郭树忠, 等. 地塞米松对阻断静脉的岛状皮瓣缺血再灌注损伤的保护作用. *中国整形外科杂志*, 2001, 17: 151-153.
- [4] 陈林生, 钟景林, 马兆龙, 等. HBO 对外伤患者皮瓣移植存活率的影响. *中华航海医学与高气压医学杂志*, 2002, 9:97-98.
- [5] 赵焕童, 李湘洲, 王歧刚, 等. 碱性成纤维细胞生长因子对大鼠真皮下血管网皮片愈合的影响. *中国临床康复*, 2003, 7:3168-3169.

- [6] Mendelson BC, Woods JE. Effect of corticosteroids on surviving length of skin flaps in pigs. *Br J Plast Surg*, 1978, 31:293-294.
- [7] Larson JL, Stephenson LL, Zamboni WA. Effect of hyperbaric oxygen on neutrophil CD18 expression. *Plast Reconstr Surg*, 2000, 105: 1375-1381.
- [8] Hunt TK, Pai MP. The effect of varying ambient oxygen tensions on wound metabolism and collagen synthesis. *Surg Gynecol Obstet*, 1972, 135:561-567.
- [9] Manson PN, Im MJ, Myers RAM, et al. Improved capillarities by hyperbaric oxygen in skin flaps. *Surg Forum*, 1980, 31:564.
- [10] Tai YJ, Birely BC, Im MJ, et al. The use of hyperbaric oxygen for preservation of free flaps. *Ann Plast Surg*, 1992, 28:284-287.
- [11] Kaelin CM, Im MJ, Myers RAM, et al. The effects of hyperbaric oxygen on free flap in rats. *Arch Surg*, 1990, 125:607-609.
- [12] Zamboni WA, Roth AC, Russell RC, et al. The effect of acute hyperbaric oxygen therapy on axial pattern skin flap survival when administered during and after total ischemia. *J Reconstr Microsurg*, 1989, 5:343-347.

(修回日期:2006-12-14)

(本文编辑:松 明)

· 标准与指南 ·

小儿脑性瘫痪的定义、分型和诊断条件

中国康复医学会儿童康复专业委员会

中国残疾人康复协会小儿脑瘫康复专业委员会

(2006 年 8 月 长沙 第二届全国儿童康复、第九届全国小儿脑瘫康复学术会议讨论通过)

1989 年在佳木斯召开的我国首届小儿脑瘫座谈会上制定了脑性瘫痪定义和分型^[1],十几年来,在指导临床诊断和治疗方面起到了一定的作用。随着对脑性瘫痪病因、病理等方面的深入研究和了解,对其定义和分型有了许多新的认识,为了与国际接轨及更确切的表述,在本次会议上参考国外相关资料和 2004 年由《中华儿科杂志》编辑委员会、中华医学会儿科学分会神经组在云南组织召开的全国小儿脑性瘫痪专题研讨会上所提出的修订草案^[2],经过与会代表的充分讨论,初步确定后再次征求两学会顾问和副主任委员的意见,最后确定我国脑性瘫痪最新定义和分型方案。

一、定义

脑性瘫痪是自受孕开始至婴儿期非进行性脑损伤和发育缺陷所导致的综合征,主要表现为运动障碍及姿势异常。

二、临床分型

1. 痉挛型(spastic):以锥体系受损为主。
2. 不随意运动型(dyskinetic):以锥体外系受损为主,不随意运动增多。表现为手足徐动(athetic)、舞蹈样动作(choreic)、肌张力失调(dystonic)、震颤(tremor)等。
3. 强直型(rigid):以锥体外系受损为主,呈齿轮、铅管样持续性肌张力增高。
4. 共济失调型(ataxia):以小脑受损为主。
5. 肌张力低下型(hypotonic)。

6. 混合型(mixed types):同一患儿表现有两种或两种以上类型的症状。

三、按瘫痪部位分型

1. 单瘫:单个肢体受累。
2. 双瘫:四肢受累,上肢轻,下肢重。
3. 三肢瘫:三个肢体受累。
4. 偏瘫:半侧肢体受累。
5. 四肢瘫:四肢受累,上、下肢受累程度相似。

四、诊断条件

1. 引起脑性瘫痪的脑损伤为非进行性。
2. 引起运动障碍的病变部位在脑部。
3. 症状在婴儿期出现。
4. 可合并智力障碍、癫痫、感知觉障碍、交流障碍、行为异常及其他异常。
5. 除外进行性疾病所致的中枢性运动障碍及正常小儿暂时性运动发育迟缓。

参 考 文 献

- [1] 林庆. 全国小儿脑性瘫痪座谈会纪实. *中华儿科杂志*, 1989, 27: 162-163.
- [2] 林庆. 2004 年全国小儿脑性瘫痪专题研讨会纪要. *中华儿科杂志*, 2005, 43:262.

(陈秀洁 执笔 李树春 审)