

难愈创面的发生机制和治疗进展

常 菲,杨长伟,路 卫* (第二军医大学长海医院烧伤科,上海 200433)

[摘要] 慢性难愈创面形成机制复杂,治疗困难。随着创面愈合机制的研究进展及新治疗技术的临床应用,此种情况有所改观。本文着重讨论了难愈创面的发生机制,并介绍了各种治疗手段如皮肤替代物、生长因子、创面负压治疗技术等的应用进展。

[关键词] 伤口愈合;皮肤,人工;生长物质

[中图分类号] R 64 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)11-1259-03

Chronic wound: pathogenesis and current treatments

CHANG Fei, YANG Chang-wei, LU Wei* (Department of Burns, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

[ABSTRACT] Chronic wound has very complicated pathogenesis and is difficult to treat; the situation has been improving owing to the progress in wound healing research and the clinical application of new techniques. This article focuses on the pathogenesis of chronic wound and introduces progress in various kinds of treatment, such as skin substitute, growth factors, negative pressure treatment, etc.

[KEY WORDS] wound healing; skin, artificial; growth substances

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(11): 1259-1261]

慢性难愈创面目前尚无明确定义,通常可以理解为在各种内在或外界因素作用下创面不能通过正常的创面愈合进程达到愈合,进入一种病理性炎症反应状态,从而导致创面经久难愈^[1]。慢性难愈合创面是外科中长期难以解决的治疗难题,造成了较高的致残率。现有的一些治疗措施是基于普通创面模型,而非难愈创面,相关的研究也主要集中在国外,国内较少。近些年来随着基础研究的不断深入,包括对各种细胞因子及其受体的作用和相互影响的研究,以及各种新治疗措施的应用和成熟,慢性难愈创面的治疗水平逐渐提高。本文就近年来难愈创面的发生机制及各种治疗手段如皮肤替代物、生长因子、创面负压治疗技术等的应用进展作一综述。

1 难愈创面的发生机制

创面愈合是一个动态、有序而且复杂的过程,通常可以划分为4个相互联系、重叠的过程:出血、炎症、肉芽组织形成和组织塑形。但在各种系统或局部因素作用下,这种有序的过程被破坏,导致了慢性难愈创面的发生。造成此种破坏的因素归纳起来主要有以下5点:营养不良,组织灌注不良和缺血再灌注损伤,细菌负荷、感染和坏死组织存留,糖尿病,细胞衰老。在上述因素的影响下,创面修复能力被削弱,而以损伤因素为主导,最终导致了难愈创面的形成。

1.1 营养不良 创伤后机体对于营养和能量的需求增加,若同时伴有由血管疾病、低血容量或组织水肿引起的组织灌注不良,则出现蛋白质、能量和各种微量营养元素(通常是各种维生素、微量矿物质各种必须氨基酸如精氨酸)的绝对和(或)相对缺乏。这些均可导致创面延迟愈合或经久不愈,其机制主要包括:合成激素的合成减少,蛋白质合成速率减慢

和分解加快,蛋白缺乏等导致的免疫功能低下以及感染机会的增加。营养不良不仅使患者体质质量下降,而且急性的创面更倾向于变为慢性。Harris等^[2]统计,在制动和丧失去脂肪体重的双重作用下,褥疮的发生率增加了74%。

1.2 组织灌注不良和缺血再灌注损伤 组织灌注不良在难愈创面形成中的作用已得到广泛认同,包括其引发的缺血缺氧,代谢产物堆积,以及缺氧诱发的中性粒细胞功能低下,这些都能造成创面愈合延迟。然而缺血-再灌注损伤对难愈创面发生发展的影响近年来才逐渐得到重视。Mustoe^[3]认为,在组织缺血基础上反复发生的缺血再灌注损伤也是影响难愈创面形成的重要因素之一。缺血再灌注损伤发生后炎细胞在趋化因子的作用下进入组织并释放促炎细胞因子、氧自由基等,同时 N_2O 的含量也会降低,造成血管收缩和组织无灌注现象,加重组织损伤^[4]。衰老细胞对缺血再灌注损伤的反应性更差,这可能是为什么老年患者更容易产生难愈创面的原因之一。

1.3 细菌负荷、感染和坏死组织存留 细菌负荷、感染和坏死组织存留互为因果。创面渗液和坏死组织不仅充当细菌良好的培养基,构成细菌逃避宿主免疫反应的屏障,增加感染机会。并能释放蛋白酶类和毒素降解生长因子,侵害创周相邻正常组织,形成阻止参与创面修复细胞移动和再上皮化的物理屏障。此外由于初次清创不彻底所遗留的坏死物质(主要包括纤维蛋白、变性的胶原和弹性蛋白),也可以通过形成纤维蛋白网对生长因子产生滞留作用,使创面愈合延缓。细菌负荷和感染都能增加炎症毒素和蛋白水解酶,延长

[作者简介] 常 菲,硕士生. E-mail: chang_812@163.com

* Corresponding author. E-mail: luweismmu@yahoo.com.cn

炎症反应,增加坏死组织。需要注意的是,细菌负荷和感染不同。细菌负荷是指增殖的细菌多到足以损害创面修复,而并不一定导致感染。感染引起的合成性激素减少,分解性激素增加,感染高代谢状态和脓毒症,将会使创面愈合更加困难。

1.4 糖尿病 糖尿病患者常伴有创面血管发生迟滞、神经病变和感染,易形成难愈创面。糖尿病患者创面血管发生迟滞导致创面难愈的观点已被广泛接受,可能的机制包括 NO 含量失调,血管内皮生长因子(VEGF)、神经生长因子(NGF)以及碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)等各种刺激血管生成的生长因子含量下降^[5]。最近 Maruyama 等^[6]对小鼠模型的研究提示,巨噬细胞的活性及数量以及它对淋巴管形成的影响对于糖尿病创面愈合也有着至关重要的作用。神经病变使患者下肢感觉迟钝,从而更倾向于遭受反复的损伤和二次感染。此外糖尿病患者晚期糖基化终末产物对难愈创面形成的影响也颇受关注。可能的机制包括晚期糖基化终末产物(AGE)使炎症反应持续,成纤维细胞胶原沉积减少,生长因子活性降低等^[7]。

1.5 细胞衰老 细胞衰老不仅包括机体正常老化的细胞,还包括在持续暴露于慢性难愈创面渗液中衰老的细胞。有文献证实,在几种难愈创面包括褥疮、静脉曲张性溃疡中的成纤维细胞均表现出衰老的特征^[8]。衰老的细胞不但对正常的创面愈合刺激反应低下,并且占据了有限的创面空间。在正常的创面愈合过程中,这些有限的空间是由对愈合刺激反应良好的正常细胞所占据。

2 难愈创面发生的分子机制

难愈创面发生的分子机制研究较集中的是基质金属蛋白酶(MMPs)和金属蛋白酶组织抑制物(TiMPs)。在难愈创面中,由于炎症介质的持续过度产生和创面大量中性粒细胞的聚集,造成难愈创面渗出液与急性创面相比其 MMPs 水平升高而 TiMPs 含量显著降低^[5,9]。各种炎症介质与 MMPs 和 TiMPs 的相互作用机制正在研究之中。一种可能的机制为肿瘤坏死因子 α (TNF- α)通过 NF- κ B 通路诱导膜型 1-基质金属蛋白酶基因(mt1-mmp gene)的表达,进而激活促-基质金属蛋白酶 2(pro-MMP-2)来使基质金属蛋白酶 2 的表达增高,而且这种效应必须要在胶原存在的情况下才能发生,TNF- α 或胶原单独对成纤维细胞介导促基质金属蛋白酶 2 的激活几乎不起作用^[10]。此外 Stojadinovic 等^[11]用离体的人类皮肤进行实验,研究 β -连环蛋白(β -catenin)和癌基因 c-myc 在难愈创面中的作用,发现难愈创面中 β -连环蛋白(β -catenin)和 c-myc 水平呈现出过度表达,因此提出 β -连环蛋白可能通过几条不同的机制抑制角质形成细胞的迁移、生长和分化,包括激活其下游的癌基因 c-myc;封闭表皮生长因子(EGF)的作用;与鸟氨酸甲基转移酶(CARM-1)一同作为糖皮质激素受体(GR)的共激活因子使得糖皮质激素在基因水平抑制角蛋白 6/角蛋白 16(Keratin6/Keratin 16)的表达,进而影响细胞骨架蛋白结构。而糖皮质激素等是否通过经典的 Wnt 信号转导通路激活 β -连环蛋白正在研究之中。

3 难愈创面的治疗进展

传统的创面治疗技术包括标准的清创包扎、削痂、创面减压和基础病变的治疗等。由于难愈创面的形成往往是多因素导致的,为提高疗效,希望治疗中能够选用有针对性的综合治疗手段。随着对难愈创面发生机制和创面愈合过程的深入了解,以及各种有效的生长因子投送技术、医用新材料和创面治疗新技术如负压创面治疗技术(negative pressure wound therapy, NPWT)的应用和成熟,针对性治疗有望变为现实。

3.1 皮肤替代物的应用 常用的皮肤替代物有 3 种:体外培养的自体或同种异体表皮片,利用天然生物材料(同种或异种真皮)或人工合成的高分子聚合物通过组织工程学构建的真皮支架,以及两者兼有的混合皮肤替代物,主要在两方面发挥作用,即覆盖创面和促进创面愈合^[12]。有较大发展的是混合皮肤替代物,最近 Gibbs 等^[13]报道利用患者自身活检所取得的表皮细胞培养作为皮肤替代物,采用无细胞真皮为支架,治疗下肢慢性溃疡,取得了良好效果。混合皮肤替代物由于其血管化进程滞后于细胞长入,可导致部分长入的或播种的自体细胞缺乏血供而死亡。解决办法之一是在替代物的基质中应用各种生长因子来促进血管化进程。以往所采用的直接将各种生长因子掺入基质中的做法,由于不能相对稳定地释放生长因子,使所掺入的生长因子大部分在病变部位被降解或结合而不能发挥应有的效应。这种情况随着借助交联剂对基质胶原进行改造而逐渐得到改善,如对胶原进行肝素化处理并负载血管内皮生长因子(VEGF),此类方法对内皮增殖和血管化的促进作用均明显优于直接将生长因子掺入基质^[14]。Markowicz 等^[15]通过动物实验提示也可通过对胶原支架进行改造,以促进真皮再生和血管化。此外还可以通过对皮肤替代物中的各种细胞进行基因改造,以持续足量释放各种需要的生长因子(将在下文中叙述)。

3.2 生长因子的应用 生长因子可在细胞外空间与其他分子结合或被蛋白酶降解失效,因此将生长因子直接喷、敷于创面的方法疗效欠佳^[16]。相比较基因疗法展示了良好的应用前景,它通过对参与创面愈合的细胞进行转基因处理,使之能够较稳定地合成和释放所需要的生长因子。基因疗法应当充分考虑三方面的问题:第一是如何将所需目的基因导入靶细胞中且不对机体造成损害或损害轻微;第二是要有足够的靶细胞转染率而且靶细胞中目的基因的表达量要足够产生治疗效果;最后则是对所导入基因要有良好的调控能力,使其表达能够按治疗需要维持一定的时间和浓度。可供应用的有以病毒为载体的,化学的以及机械的转基因技术,各种基因转导技术各有其优缺点,均可以在体外或体内应用。体内转基因技术避免了靶细胞的分离和培养,所需时间也短,因此更为实用。临床应用中较安全且有前景的是基因枪技术和微种植技术^[16-17]。

3.3 负压创面治疗技术 负压创面治疗技术是指将连接特制真空负压泵的引流管置于创面并用纱布或聚亚胺酯海绵包裹,之后用透明贴膜封闭创面,利用负压泵造成创面负压环境来进行创面治疗。相对于传统的被动引流措施,负压创

面治疗是一种更为积极主动的引流手段,可将压力均匀地传导至创面,而且能够防止组织碎屑阻塞引流管。创面负压治疗技术通过多种机制促进创面愈合,包括从创面吸走渗液,减轻组织水肿,促进肉芽组织生长,保持创面湿润^[18]。但对于能否减轻创面细菌负荷,各家报道不一,还需待进一步实验证实^[19]。Braakenburg 等^[20]研究指出负压创面治疗技术疗效可与一些现代创面覆盖物相媲美,既能减少患者痛苦,又可减轻医疗护理任务,对糖尿病性难愈创面尤为适用。因此负压创面治疗技术有望成为一种高效价比的难愈创面治疗手段。

4 展 望

随着研究的深入,将会出现更多有效的治疗措施。例如对转录因子 c-Myb 在创面愈合中作用的研究,提示采用相应靶向药物的可能性^[21]。最近 Hohlfield 等^[22]报道用组织工程重组胎儿皮肤来治疗烧伤获得成功,展示了应用组织工程进行创面治疗的美好前景。

[参 考 文 献]

- [1] Menke N B, Ward K R, Witten T M, et al. Impaired wound healing[J]. *Clin Dermatol*, 2007, 25: 19-25.
- [2] Harris C L, Fraser C. Malnutrition in the institutionalized elderly: the effect on wound healing[J]. *Ostomy Wound Manage*, 2004, 50: 54-63.
- [3] Mustoe T. Understanding chronic wounds: a unifying hypothesis on their pathogenesis and implications for therapy[J]. *Am J Surg*, 2004: 65-70.
- [4] Mustoe T A, O' Shaughnessy K, Kloeters O. Chronic wound pathogenesis and current treatment strategies: a unifying hypothesis[J]. *Plast Reconstr Surg*, 2006, 117 (7 Suppl): 35S-41S.
- [5] Blakytyn R, Jude E. The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes[J]. *Diabet Med*, 2006, 23: 594-608.
- [6] Maruyama K, Asai J, Ii M, et al. Decreased macrophage number and activation lead to reduced lymphatic vessel formation and contribute to impaired diabetic wound healing [J]. *Am J Pathol*, 2007, 170: 1178-1191.
- [7] Ahmed N. Advanced glycation endproducts--role in pathology of diabetic complications[J]. *Diabetes Res Clin Pract*, 2005, 67: 3-21.
- [8] Telgenhoff D, Shroot B. Cellular senescence mechanisms in chronic wound healing[J]. *Cell Death Differ*, 2005, 12: 695-698.
- [9] Xue M, Le N T, Jackson C J. Targeting matrix metalloproteases to improve cutaneous wound healing[J]. *Expert Opin Ther Targets*, 2006, 10: 143-155.
- [10] Han Y P, Tuan T L, Wu H, et al. TNF- α stimulates activation of pro-MMP2 in human skin through NF-B mediated induction of MT1-MMP[J]. *J Cell Sci*, 2001, 114: 131-139.
- [11] Stojadinovic O, Brem H, Vouhounis C, et al. Molecular pathogenesis of chronic wounds: the role of β -catenin and c-myc in the inhibition of epithelialization and wound healing[J]. *Am J Pathol*, 2005, 167: 59-69.
- [12] Bar-Meir E, Mendes D, Winkler E. Skin substitutes[J]. *Isr Med Assoc J*, 2006, 8: 188-191.
- [13] Gibbs S, van-den-Hoogenband H M, Kirtschig G, et al. Autologous full-thickness skin substitute for healing chronic wounds [J]. *Br J Dermatol*, 2006, 155: 267-274.
- [14] Yao C, Prevel P, Koch S, et al. Modification of collagen matrices for enhancing angiogenesis[J]. *Cells Tissues Organs*, 2004, 178: 189-196.
- [15] Markowicz M P, Steffens G C, Fuchs P C, et al. Enhanced dermal regeneration using modified collagen scaffolds: experimental porcine study[J]. *Int J Artif Organs*, 2006, 29: 1167-1173.
- [16] Hoeller D, Petrie N, Yao F, et al. Gene therapy in soft tissue reconstruction[J]. *Cells Tissues Organs*, 2002, 172: 118-125.
- [17] Zagon I S, Sassani J W, Malefyt K J, et al. Regulation of corneal repair by particle-mediated gene transfer of opioid growth factor receptor complementary DNA[J]. *Arch Ophthalmol*, 2006, 124: 1620-1624.
- [18] Bui T D, Huerta S, Gordon I L. Negative pressure wound therapy with off-the-shelf components[J]. *Am J Surg*, 2006, 192: 235-237.
- [19] Moues C M, Vos M C, van-den-Bemd G J, et al. Bacterial load in relation to vacuum-assisted closure wound therapy: a prospective randomized trial[J]. *Wound Repair Regen*, 2004, 12: 11-17.
- [20] Braakenburg A, Obdeijn M C, 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: 390-397.
- [21] Kopecki Z, Luchetti M M, Adams D H, et al. Collagen loss and impaired wound healing is associated with c-Myb deficiency [J]. *J Pathol*, 2007, 211: 351-361.
- [22] Hohlfield J, de-Buys-Roessingh A, Hirt-Burri N, et al. Tissue engineered fetal skin constructs for paediatric burns[J]. *Lancet*, 2005, 366: 840-842.

[收稿日期] 2007-03-10

[修回日期] 2007-10-11

[本文编辑] 孙 岩