

深层海水对小鼠创面愈合的促进作用*

李为明¹,崔 进^{1△},徐鹏远¹,代佑果²

(1. 昆明医科大学第二附属医院干疗外科,昆明 650101;2. 昆明医科大学第三附属医院普外科,昆明 650118)

摘 要:目的 探讨“深层海水”对创面修复的作用,为创面修复提供新的方法。**方法** 选取 4 周龄昆明种雄性小鼠 24 只,分为实验组(深层海水)12 只和对照组(自来水)12 只,分别喂养 14 d 并计算饮水、饮食量。第 15 天在小鼠背部建立 1 cm×1 cm 面积创面,术后仍以原方案喂养,检测创口愈合速度。术后第 3、5、7 天取创缘组织,行创面病理学观察。**结果** 两组小鼠饮食、饮水总量无明显差别,自术后第 5 天,深层海水组创面愈合率明显高于自来水组,差异有统计学意义($P<0.05$)。组织病理学观察,深层海水组与自来水组比较,新生的肉芽组织中血管内皮细胞和新生毛细血管增多,炎性细胞浸润较少,成纤维细胞增生明显。**结论** 深层海水可以促进小鼠创面的愈合。

关键词:小鼠;深层海水;创面愈合
doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.04.032 文献标识码:A 文章编号:1671-8348(2014)04-0462-03

The influence of deep sea water on wound healing of mice*

Li Weiming¹,Cui Jin^{1△},Xu Pengyuan¹,Dai Youguo²

(1. Department of Special Medical Surgery,the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University,Kunming,Yunnan 650101,China;2. Department of General Surgery,the Third Affiliated Hospital of Kunming Medical University,Kunming,Yunnan 650118,China)

Abstract:**Objective** This experiment aimed to study the influence of deep sea water(DSW) on wound healing of mice. **Methods** 24 Mice were randomly divided into two groups:group DSW($n=12$) and group sterilize tap water(STW)($n=12$),freely feeding for 14 days respectively,and calculated the amount of food and water. On the 15th day,1 cm×1 cm size of wound was established on the back area of mice,and continued to feed with DSW and STW respectively. Tracking the wound healing rate. Specimen was taken in the edge of wound tissue on postoperative 3,5,7 days,then observed histopathological changes. **Results** Compared group DSW with group STW,there was no significant difference in the total amount of food and water. 5 days after the formation of wounds,the wound healing rate of group DSW was significantly higher than group STW. Histological observation;compared with group STW,vascular endothelial cells and new capillaries of the group DSW was increased,and group DSW had less inflammatory cell and more fibroblast cells proliferation. **Conclusion** deep sea water can promote wound healing.

Key words:mice;deep sea water;wound healing

创面修复是一个复杂而有序的过程,不仅涉及细胞自身的运动、黏附、通讯和分化等,也包含细胞内、外物质代谢和基因的启动、调控等一系列生化和分子生物学反应,影响上述过程的因素繁多,目前公认的两个重要因素是感染程度和营养状况。微量元素作为维持机体生命活动和组织细胞新陈代谢的重要物质,与其他营养成分一样,直接或间接参与到创伤修复过程中的细胞免疫、伤口愈合及抗氧化反应等多个环节,过多或不足都会影响创面的愈合^[1]。深层海水是海平面 200 m 以下的海水,其水质稳定而洁净,富含人体细胞所需矿物质及营养成分,病原菌也极少。本研究旨在利用深层海水富含平衡易吸收微量元素的特点,探讨其是否能够促进创面愈合,为创面修复提供新的方法,为进一步开发深层海水在临床上的应用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 深层海水的提取、处理及主要元素含量 在我国南海海域获取海平面 200 m 以下的深层海水,避光运至昆明,室温避光储存,经超微过滤后,用铜锌合金(KDF)除去海水中的重金属,反复冻融方法浓缩并去除海水中多余的盐分浓缩海水,制备成生理性深层海水(physiological deep sea water,PDSW)常规检测主要元素的含量(表 1),再稀释成 45、90 mg/mL 的深

层海水,供后续实验用。深层海水的硬度以如下公式计算^[2]:
硬度=Mg(mg/L)×4.1+Ca(mg/L)×2.5。

表 1 PDSW 中主要元素成分含量* (mg/L)

元素	含量		元素	含量	
	海水	自来水		海水	自来水
硫	40.000	10.800	硒	0.321 0	0.000 30
磷	18.900	0.600	钒	—	0.000 40
钾	249.000	2.400	铬	0.000 2	0.000 10
钙	158.000	32.900	镍	0.028 6	0.002 80
镁	636.000	9.0	砷	—	0.002 00
锌	2.050	0.070	钼	0.018 0	0.011 00
铜	0.190	0.020	镉	0.000 3	0.000 40
锰	0.050	0.003	锡	0.005 3	0.000 10
硼	3.420	0.004	铋	0.000 8	0.000 20
锶	2.960	0.350	铅	0.001 4	0.001 60
钠	2 020.000	5.200	汞	—	—

*:2011 年 9 月 21 日由农业部产品质量监督检验测试中心(昆明)检测提供;—:表示此项无数据。

* 基金项目:云南省科学技术厅联合专项基金资助项目(2010CD166)。 作者简介:李为明(1976—),在读博士,主治医师,主要从事普通外科及深层海水方面的研究。 △ 通讯作者,Tel:(0871)65351281 转 2778;E-mail:yncuijin@126.com。

1.2 实验动物及分组 昆明种雄性小鼠 24 只购自昆明医科大学实验动物中心,4 周龄,体质量(18.0 ± 2.0)g,选取同一窝次兄弟配对,避免遗传基因差别,组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。混合饲料单笼饲养,分为 A 组(深层海水)和 B 组(自来水),每组 12 只,实验前两组分别以深层海水和自来水给小鼠自由饮用 14 d,计算两组小鼠每日饮水、饮食量,术前 1 d 背部脱毛。

1.3 方法

1.3.1 小鼠创伤模型建立 以戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔注射麻醉,在小鼠背部以 1.0 cm×1.0 cm 方格预定创伤面积,用眼科剪沿预定线修剪皮肤至肌肉筋膜表面,彻底止血、消毒,形成大小为 1.0 cm×1.0 cm 的创面。创面形成后 A 组以深层海水,B 组以自来水自由饮用,混合饲料单笼饲养。

1.3.2 创面形态及愈合的观察 创伤手术后当天开始,每隔 1 天检测 1 次创伤恢复情况,直到创伤完全愈合为止。检测方法是透明方格纸描绘创口,扫描入电脑后以专用软件 Adobe Photoshop CS2 测量创口面积,并根据创口面积变化来计算创口的愈合程度。计算公式:创面愈合率=(创面面积-各时相点创面面积)÷创面面积×100%。

1.3.3 标本取材及处理 术后第 3、5、7 天分别取创缘组织,固定于 4%多聚甲醛中,常规石蜡包埋切片,行常规 HE 染色,100 倍光镜下观察染色切片。

1.4 统计学处理 采用 Adobe Photoshop CS2 及 SPSS 17.0 软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组小鼠饮水、饮食量比较 在相同的饲养条件下喂养 14 d,两组小鼠饮食、饮水量差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 2。

表 2 小鼠 14 d 饮食、饮水量($n=12, \bar{x} \pm s$)		
组别	饲料量(g)	饮水量(mL)
A 组	834.3 ± 21.8	853.6 ± 16.8
B 组	840.6 ± 20.0	843.2 ± 17.5

2.1 形态学观察 (1)A 组:创伤后第 3 天,创面底部可见较薄一层鲜红色的肉芽组织,触之易出血,创缘未见上皮生长,部分创面仍有少许淡黄色渗出,创面缩小不明显;创伤后第 5 天,创面被肉芽组织填充,表面呈颗粒状,肉芽组织较坚实,创面较前明显缩小,表面有痂皮覆盖(图 1),可见白色新生上皮由四周向创面中心生长,创面基本无渗出物;创伤后第 7 天,创面迅速缩小,大部分痂皮剥落,表面由新生上皮覆盖;创伤后第 10 天,大部分创面完全愈合,张力稍大于周围皮肤。(2)B 组:创伤后第 3 天,创面水肿,炎性渗液多,创面底部有少量不完整的肉芽组织,颜色淡红,创缘无上皮生长,创面未见缩小;创伤后第 5 天,创面水肿减轻明显,渗出减少,由肉芽组织填充,创面较前缩小,表面有痂皮覆盖,部分小鼠创面有少量新生上皮由四周向创面中心生长(图 2);创伤后第 7 天,创面缩小较前明显,大部分创面仍有痂皮覆盖,小部分创面痂皮下按压有少许分泌物,痂皮周围创面由新生上皮覆盖;创伤后第 12~13 d,创面完全愈合,张力大于周围皮肤明显。

2.2 创面愈合率 创面形成后第 3 天开始,A 组小鼠的创面愈合率 $35.3\% \pm 1.3\%$ 高于 B 组 $34.4\% \pm 1.7\%$,但差异无统计学意义($P > 0.05$);创面形成后第 5 天开始,A 组小鼠的创面愈合率 $55.1\% \pm 1.8\%$ 明显高于 B 组 $51.8\% \pm 1.2\%$,差异

有统计学意义($P < 0.05$);创面形成后第 7 天,A 组小鼠创面愈合率达 $87.1\% \pm 1.6\%$,B 组愈合率为 A 组 $78.2\% \pm 2.2\%$,差异有统计学意义($P < 0.01$),见图 3。

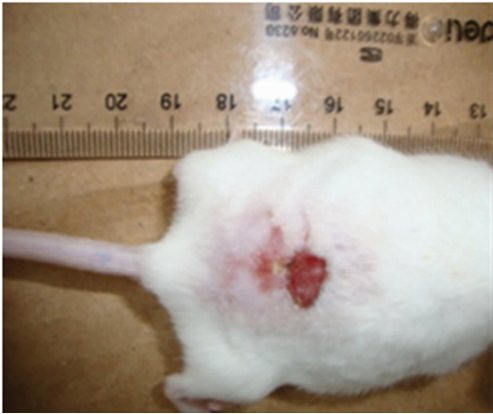


图 1 A 组第 5 天



图 2 B 组第 5 天

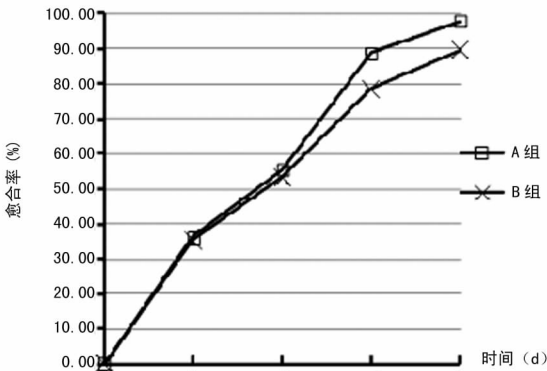


图 3

2.3 光镜观察 (1)A 组:创伤后第 3 天新生的肉芽组织中血管内皮细胞增生,新生毛细血管生成,伴炎细胞浸润,成纤维细胞增生明显,核呈圆形或椭圆形,染色较深;创伤后第 5 天,炎症细胞浸润减少,成纤维细胞数量多,染色较深,毛细血管成分多(图 4);创伤后第 7 天,新生毛细血管及炎症细胞数量减少,成熟的成纤维细胞数量增多,细胞排列成束状,较为整齐,红染的基质成分均匀(图 5)。(2)B 组:创伤后 3 d 炎症细胞浸润明显,少量内皮细胞,成纤维细胞数量较其他组少,排列紊乱;创伤后 5 d,肉芽组织中有少量毛细血管形成,细胞以炎症细胞为主,成纤维细胞虽较前增多,但比 A 组少,毛细血管少见(图 6);创伤后 7 d,炎症细胞逐渐减少,成纤维细胞明显增多,排列呈漩涡状,较为紊乱,见图 7。

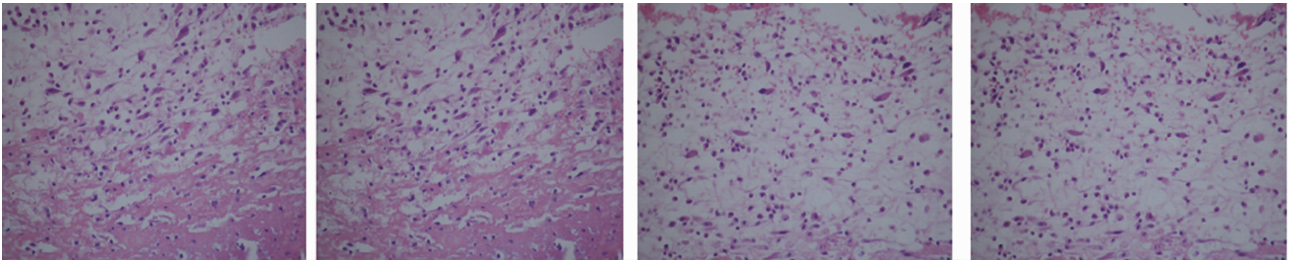


图 4 A 组第 5 天(HE×100);图 5 A 组第 7 天(HE×100);图 6 B 组第 5 天(HE×100);图 7 B 组第 7 天(HE×100)

3 讨 论

深层海水一般是指海平面 200 m 以下的水,水质稳定而洁净、富含人体细胞所需、成分比例组合与人体体液相似、人体极易吸收的矿物质成分,病原菌也极少。1996 年日本学者 Yoshiyuki^[3] 检测发现,深层海水含有 82 种元素,同时测出了各元素的含量。当前,深层海水已经应用在食品、农业、化妆品、医学等各领域,也有利用深层海水改善微量元素失衡来治疗特应性皮炎的报道^[4],而深层海水应用于创面的修复,目前国内外尚未见相关研究报道。

微量元素作为人体内重要代谢介质,参与人体数量众多的酶类和激素的合成与活化,除对机体的代谢、免疫、细胞分裂增殖等具有调控作用外,还可影响体内氧化还原反应,并参与细胞外基质合成与分解、成纤维细胞的形成与增生及细胞因子的生成与释放,其含量的变化一定程度上影响着机体的新陈代谢和创面的愈合。近年来国内学者发现,严重烧伤后血、尿液和局部组织中微量元素的含量均发生一些异常变化,这些变化可能对创面的修复过程带来许多不利影响,并认为诸多微量元素的变化,可能与创面修复期需求量增加、持续丢失与摄入不足等因素有关,及时补充微量元素,有利于恢复其正常浓度,促进创面愈合^[5-8]。

创伤后血液和创面局部组织均可发生微量元素的异常,这一观点在医学界已基本得到认可。现市场出现各种补充微量元素的人工合成产品(如:微量元素片),含量只有几种或几十种元素,人体内所有的微量元素都存在有直接或间接的关系,彼此相互影响,其相互作用错综复杂,因此,补充部分微量元素必然达不到预期效果,有时反而适得其反。深层海水含有人体所需、易吸收、平衡的所有元素,通过口服深层海水可以达到改善机体微量元素平衡。本研究中,首先给予小鼠口服深层海水 14 d,恢复机体的微量元素平衡后,在 15 d 建立创伤创面模型,继续给予口服深层海水,改善因创伤导致的微量元素失衡,实验设计目的就是要充分利用深层海水来调节小鼠机体微量元素平衡。实验结果显示,在创伤后第 3 天就出现深层海水的促创伤愈合的优势,但此时差异无统计学意义($P>0.05$),考虑原因为微量元素是逐步调整的过程。在 5 d 以后,深层海水组的创面愈合率较自来水组有明显提高。行组织学观察同时也

发现深层海水组成熟的成纤维细胞数量增多,细胞排列成束状,较为整齐。

综上所述,深层海水可以促进创面的愈合,深层海水发挥作用的原因目前考虑为其丰富、易吸收、平衡的微量元素,下一步本研究将设计检测实验组和对照组创伤前后血液和局部微量元素的变化,以验证其理论。

参考文献:

[1] 颜世铭,洪昭毅,李增禧. 实用元素医学[M]. 郑州:河南医科大学出版社,1999:25.

[2] Verissimo MIS, Oliveira JA, Gomes MTS. Determination of the total hardness in tap water using acoustic wave sensors[J]. Sensors and Actuators B: Chemical, 2007, 127 (1):102-106.

[3] Yoshiyuki N. Table of the elements in seawater and its remarks[J]. Bull Soc Sea Water Sci Jpn, 1997, 51:4-6

[4] Hataguchi Y, Tai H, Nakajima H, et al. Drinking deep-seawater restores mineral imbalance in atopic eczema/dermatitis syndrome[J]. Eur J Clin Nutr, 2005, 59(9):1093-1096.

[5] Berger MM, Shenkin A. Trace element requirements in critically ill burned patients[J]. J Trace Elem Med Biol, 2007, 21(Suppl 1):44-48.

[6] 李利根,郭振荣,赵霖,等. 缺锌和补锌对烫伤大鼠血清和组织锌含量,含锌酶、激素、蛋白质的影响[J]. 中国临床营养杂志, 2006, 14(1):29-32.

[7] 韩兆峰,王甲汉. 重度烧伤患者中后期肉芽创面多种微量元素的动态变化[J]. 南方医科大学学报, 2008, 28(3):505-506.

[8] 何丽,张雪,府伟灵,等. 重度烧伤病人血清及 24 小时尿中 7 种微量元素的动态变化[J]. 重庆医学, 2006, 35 (23):2142-2145.

(收稿日期:2013-09-28 修回日期:2013-11-12)

(上接第 461 页)

[13] Salaszyk RM, Williams WA, Boskey A, et al. Adhesion to vitronectin and collagen I promotes osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells[J]. J Biomed Biotechnol, 2004, 2004(1):24-34.

[14] Klees RF, Salaszyk RM, Kingsley K, et al. Laminin-5 in-

duces osteogenic gene expression in human mesenchymal stem cells through an ERK-dependent pathway[J]. Mol Biol Cell, 2005, 16(2):881-890.

(收稿日期:2013-09-10 修回日期:2013-10-28)