

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.05.026

湿润生肌膏对肛瘘术后创面肉芽组织中碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 表达的影响

王世霞,陈永乐[△],王亚儒,吕高波

(陕西省宝鸡市中心医院肛肠外科 721008)

摘要:目的 探讨湿润生肌膏对肛瘘手术患者术后创面肉芽组织中碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 表达的影响。方法 选取 2016 年 1 月至 2016 年 10 月于该院接受手术治疗的低位单纯性肛瘘患者 95 例作为研究对象,随机分为观察组、对照组与凡士林组;在术后不同时期分别提取 3 组患者的创面组织总 RNA,通过 Poly A Tract(r) mRNA Isolation System 系统进行分离纯化后,使用反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)观察碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 的表达变化,并比较不同组别患者的疗效。结果 观察组术后 7、14、21 d 的创面愈合率分别为 $(51.72 \pm 4.33)\%$ 、 $(63.85 \pm 6.26)\%$ 、 $(95.51 \pm 2.79)\%$,与对照组及凡士林组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);观察组痊愈 29 例(90.63%),显效 3 例(9.37%),治疗效果明显优于对照组及凡士林组患者($P < 0.05$);术后 7 d 时,3 组患者碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 阳性值最高,而观察组患者镜下血管内皮细胞、成纤维细胞与单核细胞等大量细胞的细胞质中出现碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 阳性表达区域多于其他两组。结论 在肛瘘术后应用湿润生肌膏治疗对创面肉芽组织中碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 的表达有影响,在创口愈合的过程中,碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 的阳性表达可以促进修复细胞的迁移与增殖,加速创面的修复能力。

关键词:湿润生肌膏; 肛瘘; 成纤维细胞; 生长因子; mRNA

中图分类号:R266

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)05-0657-04

Influence of Shengji ointment on expression of basic fibroblast growth factor mRNA in granulation tissue after operation of anal fistula

WANG Shixia, CHEN Yongle[△], WANG Yaru, LYU Gaobo

(Department of Anus and Intestine Surgery, Baoji Central Hospital, Baoji, Shaanxi 721008, China)

Abstract: **Objective** To explore the efficacy of Shengji ointment on basic fibroblast growth factor mRNA expression of granulation tissue of patients with anal fistula after surgery. **Methods** From January 2016 to October 2016, 95 patients with simple low anal fistula in our hospital accepted surgical treatment were selected as the research subjects. And they were randomly divided into observation group, control group and vaseline group in different period. After the total RNA was extracted from the tissue of the three groups of patients, RNA was purified by Poly A Tract (R) from mRNA isolation system. Meanwhile, using RT-PCR method, the expression of basic fibroblast growth factor mRNA was observed, and the effect of different groups of patients were compared. **Results** Wound healing rates of seven days, 14 days and 21 days after surgery of observation group were $(51.72 \pm 4.33)\%$, $(63.85 \pm 6.26)\%$ and $(95.51 \pm 2.79)\%$, respectively. Compared with the control group and the vaseline group, differences were statistically significant ($P < 0.05$). A total of 29 cases were cured (90.63%) and 3 cases were effective (9.37%) in the observation group, and the treatment effect was better than the control group and the vaseline group patients ($P < 0.05$). Seven days after surgery, basic fibroblast growth factor mRNA expressions of three groups patients were the strongest, and the basic fibroblast growth factor mRNA expression of cytoplasm of vascular endothelial cells, fibroblasts and mononuclear cells of the observation group were higher than the other two groups. **Conclusion** The application of moist Shengji ointment treatment has effect on the expression of basic fibroblast growth factor mRNA in wound granulation tissue in anal fistula after operation. In the process of wound healing, the positive expression of basic fibroblast growth factor mRNA could promote the migration and proliferation of repair cells and accelerate wound repair ability.

Key words: moist ointment; anal fistula; fibroblast; growth factor; mRNA

肛瘘是肛肠科的常见多发病之一,中医学中又称之为“肛漏”,临床对该病的治疗主要以手术为主,但因发病的病变部位多涉及括约肌,且手术的切口处因存在较多种类的菌群以及粪便的污染,故常出现切口的感染引发患者术后肛门部位的疼痛、水肿以及组织液的渗出^[1]。中医学认为肛瘘患者进行手术后,切口处的肌肤筋脉受到损伤,机体气虚血亏、血行瘀滞,病变部位在魄门,湿热之邪侵扰,影响肛瘘术后患者创面的愈合^[2]。有研究认为,机体在发生创伤后会通过统一的调节作用^[3],使多种生长因子包括成纤维细胞生长因子、表皮生长因子、血小板衍生生长因子及转化生长因子等发生炎性反应,刺激机体中的修复细胞激活、增殖、分化,有效地完成创面部位损伤组织的修复^[4]。本研究使用湿润生肌膏促进肛瘘手术患者术后创面的愈合,并对术后创面肉芽组织中碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 表达情况进行检测,现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 1 月至 2016 年 10 月于本院接受手术治疗的低位单纯性肛瘘患者 95 例作为研究对象。纳入标准:(1)患者年龄 20~60 岁;(2)术后患者的创口面积为 2.5~3.0 cm²;(3)创口距离肛缘处超过 3 cm。排除标准:(1)肛瘘伴随结核感染、克罗恩病以及癌性肛瘘的患者;(2)伴有精神疾病或依从性不满足研究的患者。采用随机数字表法将全部研究对象分为观察组、对照组与凡士林组。观察组患者 32 例,其中男 23 例,女 9 例;平均年龄(46.29±8.73)岁;平均创口面积(2.77±0.19)cm²。对照组患者 32 例,其中男 25 例,女 7 例;平均年龄(43.41±8.96)岁;平均创口面积(2.71±0.16)cm²;凡士林组患者 31 例,其中男 22 例,女 9 例;平均年龄(45.93±9.11)岁;平均创口面积(2.80±0.15)cm²。3 组患者的一般资料比较差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。全部患者均签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 患者的治疗 观察组患者使用由本院自制的湿润生肌油纱,对照组患者使用由龙珠软膏(马应龙药业集团有限公司,国药准字 Z10950017)制成的纱条,凡士林组患者使用由凡士林(南昌白云药业有限公司,赣食药准字 F20050006)制成的纱条,在术后进行定期换药。在术后 24 h 之内进行排便的患者应立即给予换药措施,术后 24 h 之后进行排便的患者应在术后 24 h 进行换药。在换药的过程中应注意动作轻柔,纱条的进入方向由无创区起始,自创面部终结,避免纱条对损伤创面刺激后引发患者的疼痛;在选择纱条时长短应适中,填入创道后略微留有空隙,防止切口与纱条粘连造成假愈合的情况。3 组患者每日换药 1 次,术后应用抗菌药物静脉滴注治疗 3~5 d。

1.2.2 基因的检测 在术后不同时期分别提取 3 组患者的创面组织总 RNA,使用紫外分光分析及凝胶电泳对所提取的总 RNA 的质量与水平进行检测,按照 Poly A Tract(r) mRNA Isolation System 系统对提取出的 mRNA 分离纯化。使用反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)的方法观察碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 的表达变化,根据 Promega 公司的试剂盒说明书进行操作。根据引物设计原则设计引物与内参照^[5],将每份样品取出等量的 mRNA 置于模板中进行 PCR 扩增,取 10 L 的 PCR 产物在 1.5% 琼脂糖中电泳后使用紫外光扫描,最后应用美国 BioRad 公司的 Gel Doc 2000 型凝胶成像分析仪的图像分析系统分析目的基因 PCR 产物的灰密度测定。

1.3 评价指标 创面愈合面积的测量方法是将透亮的薄膜轻覆盖于患者的创面上,使用特制的极细标记笔在薄膜上将创面的边界仔细描画下来,描画成功后将薄膜平铺在心电图描记纸上,计算创口的面积,面积的单位为 cm²。创面愈合率根据创面愈合面积改变的情况进行计算,某天的创面愈合率=(初始创面面积-当前创面面积)/初始创面面积×100%。术后创面愈合情况根据我国中医药行业标准颁发的《中医肛肠科病证诊断疗效标准》进行评价,将创面处完全愈合,有表皮覆盖,瘢痕组织结实,创面愈合率为 100% 的患者评定为痊愈;将创面处肉芽愈合率超过 75%,局部组织生长良好的患者评定为显效;将创面处局部生长良好,愈合率为 75%~25% 的患者评定为有效;将创面处肉芽颜色黯淡,生长缓慢,创口愈合率低于 25% 的患者评定为无效^[6]。

1.4 统计学处理 使用 SPSS20.0 软件对数据进行分析。符合正态分布的计量资料使用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料采用百分数表示,组间比较使用秩和检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组患者不同时期创面愈合率比较 在术后 3、7、14、21 d 分别测量患者的创面面积并计算愈合率,比较结果见表 1。在术后第 7 天起,观察组患者的创面愈合率高于对照组及凡士林组,差异有统计学意义($P<0.05$);随着术后药物使用时间的增长,观察组患者创口愈合程度越佳。

表 1 3 组患者不同时期创面愈合率比较(%, $\bar{x}\pm s$)					
组别	<i>n</i>	术后 3 d	术后 7 d	术后 14 d	术后 21 d
观察组	32	16.29±1.18	51.72±4.33*#	63.85±6.26*#	95.51±5.79*#
对照组	32	15.88±1.06	46.50±4.61	52.49±5.88	64.07±5.24
凡士林组	31	16.41±1.27	46.89±4.07	50.08±5.74	62.59±6.58

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与凡士林组比较,# $P<0.05$

2.2 术后创面愈合治疗效果比较 在术后第 28 天对 3 组患者的创面愈合疗效进行比较,结果显示,观

察组患者创面愈合效果与对照组比较,差异有统计学意义($Z=-2.447, P=0.014$);与凡士林组比较,差异也有统计学意义($Z=-2.303, P=0.021$)。见表 2。

表 2 3 组患者术后创面愈合情况[n(%)]					
组别	n	痊愈	显效	有效	无效
观察组	32	29(90.63)	3(9.37)	0(0.00)	0(0.00)
对照组	32	21(65.63)	9(28.12)	2(6.25)	0(0.00)
凡士林组	31	21(67.74)	7(22.58)	3(9.68)	0(0.00)

2.3 3 组患者碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 的表达情况 3 组患者的肉芽组织在术后 7 d 的阳性表达值最高,大量的血管内皮细胞、成纤维细胞与单核细胞的细胞质中出现较强烈的阳性表达,细胞数量较其他时期明显增多;而随着治疗的进展,碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 的阳性表达强度逐渐减弱,多以纤维细胞的细胞质呈阳性表达为主。3 组患者镜下图像比较,观察组患者阳性表达区域面积较大,高于其他两组患者。

3 讨 论

创面的修复过程是连续且复杂的,其生理过程主要包括结缔组织细胞增生、蛋白沉淀与重排、上皮细胞迁移、分化增殖后创面处发生再上皮化,使创口组织恢复完整性与连续性^[7]。肛瘻术后的创面形成主要是因为手术过程中的切口处缺损组织较严重,容易产生感染,导致切口处的局部组织发生肿胀、渗出或者坏死等情况^[8]。根据中医外科学对创口的认识,认为肛瘻术后的创面属于“金创”,术后患者易因血瘀气虚、湿热外感等原因,造成患处引流不利、湿热偏盛,最终使脓腐留滞于创面组织处不易清除^[9],引发患者的水肿、疼痛与渗出等症状。有学者认为,碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 在创面的愈合中有极为关键的作用^[10],作为多效的血管生长因子,在创面愈合时可以通过刺激血管内皮细胞的迁移及增殖,加速毛细血管的生成;亦可以刺激机体分泌纤溶酶原激活物与胶原酶,进行细胞外基质的局部降解,加快毛细血管向创面部位延伸的进程^[11]。但是若创面部位并未得到妥善的清洁或处理,造成感染发生甚至使局部组织发生坏死,生长因子的促修复作用则会受到极大的限制。有临床研究表明,利用中医药制剂可以对创面的愈合起到促进作用^[12],因此如何在分子生物学角度研究中医药制剂的药理效果在临床受到重视。本研究使用本院自制湿润生肌膏治疗肛瘻术后创面的愈合,方药中重用黄芪为君,取其大补脾胃的功效补气行血,祛瘀通络。地榆、当归与三七共为臣药,使和营止血,通脉行瘀,行瘀血而敛新血。丹参、乳香、没药可助当归尾活血去瘀;紫草、白芷、白芨、血竭、地龙、罂

粟壳则有祛腐敛疮生肌之功;五倍子、儿茶、赤石脂、枯矾有收涩生肌之效,以上诸药均为佐药。整首方剂配伍严密,功能益气活血、去腐生肌、收涩敛疮,促进肛瘻术后创面的症状改善及愈合。

本研究结果显示,在术后第 7 天起,观察组患者的创面愈合率便高于对照组及凡士林组($P<0.05$);而随着术后药物使用时间的增长,观察组患者创口愈合程度越佳。观察组痊愈 29 例(90.63%),显效 3 例(9.37%),治疗效果明显优于对照组及凡士林组患者($P<0.05$)。对患者术后不同时期的碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 表达情况进行观察比较,发现在术后 7 d 时,阳性表达最强烈,而观察组患者镜下血管内皮细胞、成纤维细胞与单核细胞等大量细胞的细胞质中出现碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 阳性表达区域多于其他两组。根据本研究的结果提示,在术后应用湿润生肌膏治疗的第 7 天碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 表达达到峰值,联系其他结果可知,在术后第 7 天创口愈合程度与术后第 3 天比较有较大的进步,说明在创口愈合的过程中,碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 的阳性表达可以促进修复细胞的迁移与增殖,加速创面的修复能力^[13-15],而随治疗时间的推移,碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 阳性表达情况逐渐下降,说明随着术后创面的逐渐的恢复,对创伤刺激的反应降低,也可能与组织生长的自限性有一定的关联^[16-18]。刘小飞^[13]认为在治疗皮肤软组织创面时,碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 的阳性表达可以有效降低炎症的发生,并促进创面的愈合,与本研究对碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 表达对创面愈合的影响认识相符。

综上所述,在肛瘻术后应用湿润生肌膏治疗对创面肉芽组织中碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 的表达有影响,并可以促进创面的愈合。

参考文献

[1] 郑雪平,王业皇,樊志敏,等.乌敛莓膏治疗高位复杂性肛瘻术后创面的临床观察[J].中国药房,2016,27(32):4534-4536.

[2] 韩柯,向前.仙方消毒汤联合温灸对肛瘻术后创面恢复的影响[J].中国实验方剂学杂志,2015,21(21):177-180.

[3] POOLE A,KACER D,COOPER E,et al. Sustained inhibition of proliferative response after transient FGF stimulation is mediated by interleukin 1 signaling[J]. J Cell Physiol,2016,231(3):650-658.

[4] IWAMOTO U,HORI H,TAKAMI Y,et al. A novel cell-containing device for regenerative medicine: biodegradable nonwoven filters with peripheral blood cells promote wound healing[J]. J Artif Organs,2015,18(4):315-321.

[5] PATEL D,GAO Y,SON K,et al. Microfluidic co-cultures with hydrogel-based ligand trap to study(下转第 663 页)

度降低。PCT 作为一种介质,已成为确定患者为严重细菌感染的标志物。但本研究所选样本较小,有着一定的局限性,说服力不够强,因此,需要增加试验对象的数量,进行进一步研究。

综上所述,PCT 联合 NSE 检测小细胞肺癌可提高特异度,对肺癌患者的组织分型和诊断有一定价值。

参考文献

[1] 王济东,颜学庆,王俊杰,等. 早期肺癌局部非手术治疗的研究进展[J]. 癌症进展,2016,14(7):623-627.

[2] 李德经,宁国兰,柳兆飞,等. ProGRP 和 NSE 对小细胞肺癌的诊断及疗效评估的价值[J]. 实用医学杂志,2016,32(5):754-758.

[3] 王懋杰,李学祥,高佳,等. 血清 ProGRP、TPS 及 NSE 在小细胞肺癌患者治疗监测中的应用[J]. 中华检验医学杂志,2011,34(2):152-157.

[4] 姚亚超,李磊,邱厚匡,等. 血清标志物 pro-GRP、NSE 在小细胞肺癌鉴别诊断中的价值[J]. 国际检验医学杂志,2015,36(12):1647-1648.

[5] 尹颜军,荣长利,郑华,等. proGRP、NSE 在小细胞肺癌鉴别诊断中的意义[J]. 放射免疫学杂志,2013,26(3):312-314.

[6] 王纪文,高佳,赫捷,等. ProGRP 与 NSE 对小细胞肺癌诊断价值的 meta 分析[J]. 中国肺癌杂志,2010,13(12):1094-1100.

(上接第 659 页)

paracrine signals giving rise to cancer drug resistance[J]. Lab Chip,2015,15(24):4614-4624.

[6] 张康为,项雄华. 溃疡散联合常规西药对肛瘘挂线术后创面愈合及术后感染的影响[J]. 中华中医药学刊,2015,33(3):740-742.

[7] 郑春菊,王业皇,周芳平. 搔刮祛腐法治疗高位后蹄铁形肛瘘术后创面修复的临床研究[J]. 时珍国医国药,2014,25(7):1655-1657.

[8] 赵敏,桑畅野,王振军,等. 速愈平联合半导体激光照射对肛瘘术后创面愈合的影响[J]. 海南医学院学报,2016,22(11):1104-1106.

[9] 畅立强. 益气活血托毒法对减少肛瘘术后创面瘢痕形成的临床研究[J]. 时珍国医国药,2014,25(5):1157-1158.

[10] HIERRO C,RODON J,TABERNERO J. Fibroblast growth factor (FGF) receptor/FGF inhibitors: novel targets and strategies for optimization of response of solid tumors[J]. Semin Oncol,2015,42(6):801-819.

[11] 杨晓津,方涛,高秀清. 复方多黏菌素 B 软膏联合碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 治疗儿童深Ⅱ度烫伤创面疗效分析[J]. 天津医药,2016,44(9):1147-1149.

[7] 张海茂,周爱凤,张蓉,等. 联合检测血浆 ProGRP 和血清 NSE 在小细胞肺癌诊治中的临床价值[J]. 中国医药指南,2014,12(26):202-203.

[8] WATANABE S, SONE T, MATSUI T, et al. Transformation to small-cell lung cancer following treatment with EGFR tyrosine kinase inhibitors in a patient with lung adenocarcinoma[J]. Lung Cancer,2013,82(2):370-372.

[9] ZAROGOULIDIS K, ELEFThERiADOU E, KONTAKI-OTIS T, et al. Long acting somatostatin analogues in combination to antineoplastic agents in the treatment of small cell lung cancer patients[J]. Lung Cancer,2012,76(1):84-88.

[10] JI Z, BI N, WANG J, et al. Risk factors for brain metastases in locally advanced non-small cell lung cancer with definitive chest radiation[J]. Int J Radiation Oncol Biol Phys,2014,89(2):330-337.

[11] 王虹虹,牛义凯,张英凯,等. 血浆 uPA 系统与血清 NSE 联合检测小细胞肺癌的临床价值[J]. 中国全科医学,2010,13(28):3160-3162.

[12] 黄宗华,徐丹丹,张飞艳,等. 血清 ProGRP 和 NSE 对评价小细胞肺癌化疗疗效及其预后的价值[J]. 中华肿瘤防治杂志,2015,22(22):1774-1778.

[13] 张淑艳,王娜. 胸腔积液及血清中 CEA、CYFRA21-1 和 NSE 检测在肺癌鉴别诊断中的意义[J]. 国际检验医学杂志,2014,35(19):2613-2615.

(收稿日期:2017-07-24 修回日期:2017-10-09)

[12] 鲁昌辉. 中医祛腐生肌法对肛瘘术后创面愈合及肛肠动力学变化研究[J]. 四川中医,2014,32(11):62-64.

[13] 刘小飞. 碱性成纤维细胞生长因子 mRNA 对皮肤软组织撕脱伤创面修复效果及肝肾功能影响[J]. 海南医学院学报,2015,21(1):80-82.

[14] HORI H, IWAMOTO U, NIIMI G, et al. Appropriate nonwoven filters effectively capture human peripheral blood cells and mesenchymal stem cells, which show enhanced production of growth factors[J]. J Artif Organs, 2015,18(1):55.

[15] 李建枫,常琳威,郑永亮,等. 分段双重挂线术联合中药熏洗对高位肛瘘的疗效及并发症的影响[J]. 中医药导报,2017,23(21):98-100.

[16] 倪锐,周如乐,汤左洁. 切开挂线术联合中药熏洗对复杂性肛瘘的临床效果分析[J]. 中外医学研究,2014,12(16):30-31.

[17] 马军,刘桂英,杨小勇,等. 分析中药熏洗联合低位切开高位挂线法治疗高位复杂性肛瘘的临床疗效[J]. 内蒙古中医药,2017,36(8):104-105.

(收稿日期:2017-08-06 修回日期:2017-10-15)