

[文章编号] 1000-4718(2009)04-0830-03

# 褥疮不完全性缺血再灌注损伤简易模型的建立\*

蔡福满, 姜丽萍<sup>△</sup>, 杨晔琴, 陈军, 韦泾云  
(温州医学院护理学院, 浙江温州 325000)

**[摘要]** 目的: 建立一种简易的褥疮不完全性缺血再灌注损伤动物模型。方法: 24 只雄性 SD 大鼠随机分为 3 组: 对照组(C 组); 不完全性缺血组(I 组); 不完全性缺血再灌注组(IR 组)。通过肉眼观察大鼠受压部位皮肤形态和颜色, 光镜下观察皮肤和肌肉组织的病理学变化, 并测定大鼠血浆超氧化物歧化酶(SOD)、乳酸脱氢酶(LDH)活性和丙二醛(MDA)、内皮素-1(ET-1)、一氧化氮(NO)含量的变化。结果: I 组和 IR 组皮肤肉眼观察均出现紫红色; 皮肤和肌肉光镜下观察均出现损伤, 其中 IR 组比 I 组更明显; I 组与 C 组比较, 其 SOD 活性以及 MDA、ET-1、NO 含量差异无显著差异( $P > 0.05$ ), 而 LDH 活性增加( $P < 0.05$ ); IR 组与 C 组、I 组比较, 其 SOD 活性、NO 含量明显下降( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), LDH 活性和 MDA、ET-1 含量明显升高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。结论: 该模型以临床实际情况为基础, 操作简便易行, 可用于皮肤褥疮的机制和防治研究。

**[关键词]** 褥疮; 缺血; 再灌注损伤; 模型; 动物

**[KEY WORDS]** Decubitus ulcer; Ischemia; Reperfusion injury; Models, animal

**[中图分类号]** R632.1 **[文献标识码]** A

目前关于褥疮发生机制的研究认为, 褥疮是由于压力造成皮肤和肌肉组织单纯的缺血性损伤引起<sup>[1]</sup>。但对于发生褥疮的过程中, 当皮肤和肌肉组织受到一定的压力引起组织缺血, 在解压后随之的血流再灌注是否与其它器官组织一样存在着缺血-再灌注损伤目前国内外仍鲜见报道。本研究通过自制简易加压装置建立大鼠褥疮不完全性缺血-再灌注模型, 为褥疮的发生机制及防治研究奠定基础。

## 材 料 和 方 法

### 1 动物与试剂

健康雄性远交群(Sprague-Dawley, SD)大鼠, 体重 200-250 g, 由温州医学院实验动物中心提供。大鼠自由饮水、进食, 室温( $25 \pm 2$ ) °C, 分笼喂养。超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、乳酸脱氢酶(lactic dehydrogenase, LDH)、一氧化氮(nitric oxide, NO)试剂盒由南京建成生物工程研究所提供, 内皮素-1(endothelin-1, ET-1)试剂盒由天津九鼎生物工程有限工公司提供。

### 2 实验分组和模型制备

SD 大鼠 24 只, 10% 水合氯醛( $300 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ )腹腔注射麻醉后, 仰卧于设计好的简易加压装置(图 1)。大鼠的四肢用胶布固定于底盘上, 并将一铁钉的钉尖固定于木板上, 其上可放置一定重量的物体, 钉底放置于大鼠大腿近膝关节骨隆突处, 钉身用两个小半圆形扣子扣于直立的木板上, 以保持铁钉垂直作用于皮肤。根据有关文献报告, 在 70 mmHg 压强下组织持续受压 2 h 以上即可导致不可逆损害<sup>[2]</sup>, 本研究通过计算铁钉钉底的面积, 进而计算出木板上需加的重量, 使

大鼠大腿近膝关节骨隆突处皮肤组织受到 70 mmHg 的压强。随机将大鼠分为 3 组: (1) 对照组(C 组,  $n = 8$ ), 仰卧于该装置, 但未受任何压力后 2 h 立即处死; (2) 缺血组(I 组,  $n = 8$ ), 仰卧于该装置, 受压 2 h 后立即处死; (3) 再灌注组(IR 组,  $n = 8$ ), 仰卧于该装置, 受压 2 h 再放松 2 h 后立即处死。

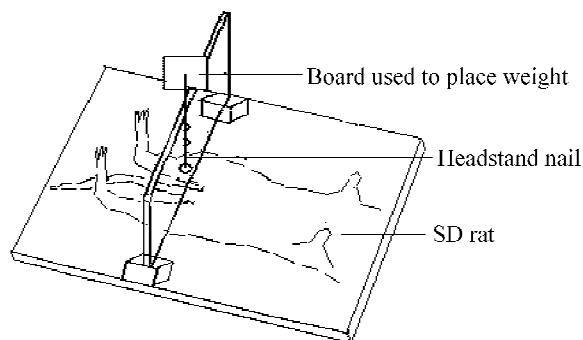


Fig 1 Simple compression apparatus.

图 1 简易加压装置

### 3 观察指标和方法

**3.1 肉眼观察受压部位皮肤形态学和颜色变化** 通过肉眼观察受压部位皮肤的完整性(有无破损, 破损面积大小、深度等)以及皮肤颜色。

**3.2 光镜下观察受压部位皮肤和肌肉组织病理学变化** 将切下来的受压部位皮肤和肌肉组织标本固定于 10% 甲醛液中, 继而石蜡包埋、切片及 HE 染色, 光镜下观察。

**3.3 SOD、MDA、LDH、NO、ET-1 测定** 各组大鼠处死后, 取股动脉血 5 mL 分别测定 SOD、MDA、LDH、NO、ET-1 的活

[收稿日期] 2008-03-04 [修回日期] 2008-08-06

\* [基金项目] 浙江省教育厅基金资助项目(No. 20041082)

△ 通讯作者 Tel: 0577-86699171; E-mail: cfm@wzmc.net

性或含量。其中 SOD、MDA、LDH、NO 采用比色法测量,ET - 1 采用放射免疫法测量。具体的检测方法严格按照试剂盒提供的说明书进行操作。

#### 4 统计学处理

采用 SPSS13.0 统计软件分析处理。计量数据以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,组间差异性比较采用单因素方差分析(One - way ANOVA),方差齐性比较采用 LSD 法,方差不齐者进行 Dunnett's T3 检验。

### 结 果

#### 1 肉眼观察

C 组大鼠皮肤完整,皮肤颜色与实验前比较无明显差别;I 组和 IR 组大鼠皮肤亦完整,但与实验前比较皮肤出现持久的紫红色。IR 组和 I 组之间肉眼观察无明显差别。

#### 2 光镜观察

2.1 C 组 皮肤上皮组织为复层鳞状上皮,上皮结构较清楚,炎症细胞浸润不明显(图 2)。肌纤维排列紧密,横纹清晰,亦无明显炎症细胞浸润(图 3)。

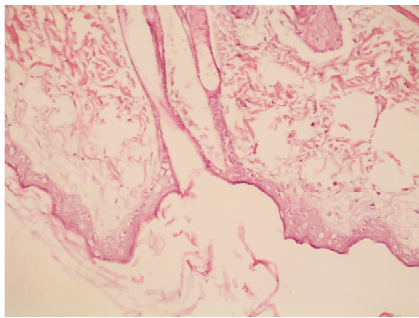


Fig 2 Histopathology of skin in control (C) group under light microscope( ×400).

图 2 C 组光镜下皮肤组织病理

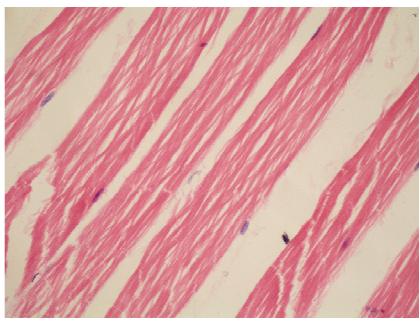


Fig 3 Histopathology of muscle in control (C) group under light microscope( ×400).

图 3 C 组光镜下肌肉组织病理

2.2 I 组 皮肤上皮组织仍为复层鳞状上皮,但相对于 C 组变薄,上皮结构略不清楚,真皮内见到明显炎症细胞浸润(图 4)。肌纤维排列紧密,横纹清晰,但可见明显炎症细胞浸润,轻度水肿(图 5)。

2.3 IR 组 复层鳞状上皮较 C 组和 I 组均薄,结构不清,细胞层次减少以至复层结构消失,部分上皮结构出现断裂,真皮内见到较多的炎症细胞浸润(图 6)。肌纤维亦见明显炎症细胞浸润,水肿明显,间质增宽,横纹模糊(图 7)。

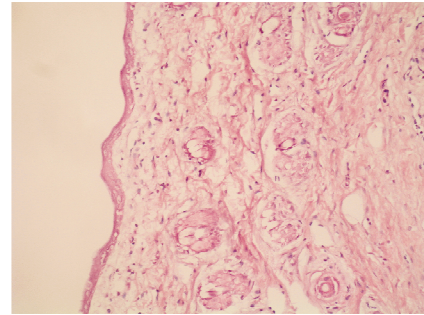


Fig 4 Histopathology of skin in pressure - induced ischemia (I) group under light microscope( ×400).

图 4 I 组光镜下皮肤组织病理

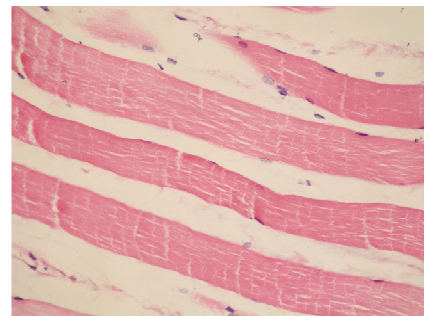


Fig 5 Histopathology of muscle in pressure - induced ischemia (I) group under light microscope( ×400).

图 5 I 组光镜下肌肉组织病理

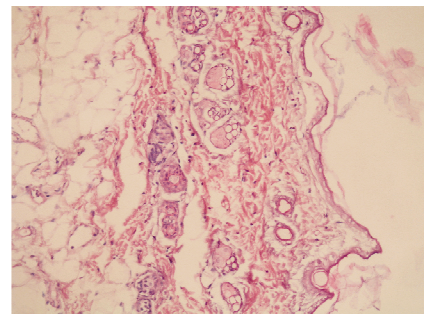


Fig 6 Histopathology of skin 2 h after reperfusion in pressure - induced ischemia and reperfusion (IR) group under light microscope( ×400).

图 6 IR 组光镜下皮肤组织病理

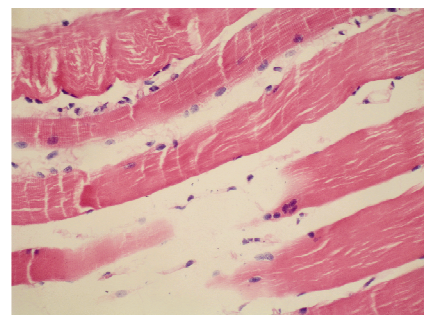


Fig 7 Histopathology of muscle 2 h after reperfusion in pressure - induced ischemia and reperfusion (IR) group under light microscope( ×800).

图 7 IR 组光镜下肌肉组织病理

### 3 各组大鼠血清 SOD、LDH 活性和 MDA 含量

I 组与 C 组比较:其 SOD 活性和 MDA 含量差异无显著 ( $P > 0.05$ ),但 LDH 活性明显增高 ( $P < 0.05$ );IR 组与 C 组和 I 组比较:SOD 活性下降 ( $P < 0.01$  和  $P < 0.05$ ),MDA 含量明显增加(均  $P < 0.01$ ),LDH 活性明显升高 ( $P < 0.01$ ),见表 1。

表 1 不同组别间 SOD、MDA 和 LDH 比较

Tab 1 The changes of SOD,MDA, and LDH in different groups ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Group	SOD( $10^3$ U/L)	MDA( $\mu\text{mol/L}$ )	LDH(U/L)
C	239.30 $\pm$ 34.40	2.03 $\pm$ 0.93	19 589.00 $\pm$ 146.47
I	225.88 $\pm$ 25.19	2.97 $\pm$ 1.48	19 736.25 $\pm$ 120.06 *
IR	185.63 $\pm$ 30.14 ** $\Delta$	6.88 $\pm$ 2.22 ** $\Delta$	19 940.50 $\pm$ 112.63 ** $\Delta\Delta$

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$  vs C;  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs I. C: control; I: pressure - induced ischemia; IR: pressure - induced ischemia and reperfusion.

### 4 各组大鼠血清 ET-1 和 NO 含量

I 组与 C 组比较:ET-1 和 NO 含量差异无显著 ( $P > 0.05$ );IR 组与 C 组和 I 组比较:ET-1 含量明显增加 ( $P < 0.01$ ),NO 含量明显下降 ( $P < 0.01$ ),见表 2。

表 2 不同组别间 ET-1 和 NO 比较

Tab 2 The changes of ET-1 and NO in different groups ( $\bar{x} \pm s, n = 8$ )

Group	ET-1 (ng/L)	NO ( $\mu\text{mol/L}$ )
C	89.22 $\pm$ 2.62	100.00 $\pm$ 18.82
I	91.55 $\pm$ 1.23	95.46 $\pm$ 17.52
IR	97.18 $\pm$ 2.74 ** $\Delta\Delta$	68.19 $\pm$ 10.86 ** $\Delta\Delta$

\*\*  $P < 0.01$  vs C;  $\Delta\Delta P < 0.01$  vs I.

## 讨 论

以往褥疮的再灌注损伤动物模型是通过将一金属盘植入动物皮下,然后在金属盘外的皮肤上放一块一定重量的磁铁,通过磁铁的磁力和重力给动物施加一定压力,再通过移去磁铁引起受压部位皮肤和肌肉组织的缺血再灌注<sup>[3]</sup>。由于这种模型需要将金属盘事先植入皮下,因此额外地对动物皮肤和肌肉组织造成损伤。而本实验通过简易装置给予加压造成缺血,再通过解压引起再灌注,在整个过程中不会对组织造成额外的损伤。

本课题组先前已经证实褥疮引起的组织损伤程度主要受压力大小和持续时间长短的影响<sup>[4]</sup>,本实验在压力大小以及持续时间的选择方面与以往相关研究所不同的是以临床病人的实际情况为指导。在压力方面,Sundin 等<sup>[5]</sup>所建立的猪动物模型的压力大小为 150 mmHg,但一般情况下病人仰卧位时,除了右足跟压力可以达到 70 mmHg 外,其它的身体部位均小于这个压力<sup>[2]</sup>。结合有关文献报道,阻断人体皮肤微血管血流所需要的压力为 300 mmHg 以上<sup>[6]</sup>,因此本实验所建立的模型为不完全性缺血再灌注模型。在压力持续时

间方面,临床上各种原因导致不能移动或者活动的病人一般是间隔 2 h 翻身 1 次,这就意味着病人可能局部皮肤持续缺血达 2 h 左右,因此本模型给予大鼠持续 2 h 受压亦符合临床实际情况。

本实验肉眼观察虽然 I 组和 IR 组大鼠受压部位皮肤仍完整,但与实验前比较出现持久的紫红色表现。光镜下观察,I 组和 IR 组皮肤和肌肉组织均已出现炎症浸润等损伤的表现,其中 IR 组又比 I 组更为明显。因此,可以说明在 70 mmHg 压力和持续 2 h 缺血的情况下便可导致大鼠皮肤和肌肉组织损伤,并且随之解压引起的再灌注会加重这种损伤。

本研究观察到缺血组 LDH 含量明显较 C 组要高,说明在大鼠皮肤褥疮缺血期便已经出现了一定的组织细胞损伤,该结果同光镜下观察相一致,分析其原因可能是由于组织不完全性缺血时导致氧的供应不足而引起细胞膜的通透性改变或坏死,LDH 被释放入血。而 IR 组与 I 组相比较其 LDH 含量亦有显著地升高,因此说明再灌注时组织细胞损伤比单纯的缺血时更明显,该结果亦同光镜观察结果相一致。结合 IR 组与 I 组在 SOD 活性以及 MDA、ET-1 和 NO 含量的变化,可以说明不完全性缺血再灌注引起皮肤褥疮的组织细胞损伤加重,导致 LDH 漏出增高,其原因除了再灌注时氧化应激之外,血管内皮细胞损伤也起着重要的作用。

综上所述,本实验建立的简易动物模型证实了再灌注加重了组织损伤,而对于受压持续 4 h 与受压 2 h 再解压 2 h 的再灌注损伤在同一时点上的比较,以及如何预防和治疗不完全性缺血再灌注损伤,有待进一步的研究。

## [参 考 文 献]

- [1] McCord S, McElvain V, Sachdeva R, et al. Risk factors associated with pressure ulcers in the pediatric intensive care unit [J]. J Wound Ostomy Continence Nurs, 2004, 31 (4):179 - 183.
- [2] 刘光维. 褥疮防治进展[J]. 护理研究, 2005, 19(10): 2082 - 2084.
- [3] Peirce SM, Skalak TC, Rieger JM, et al. Selective A (2A) adenosine receptor activation reduces skin pressure ulcer formation and inflammation [J]. Am J Physiol, 2001, 281(1): H67 - H74.
- [4] 姜丽萍,蔡福满,杨晔琴,等. 局部皮肤持续受压致褥疮的实验研究[J]. 解放军护理杂志,2007,24(12A):4 - 5,8.
- [5] Sundin BM, Hussein MA, Glasofer S, et al. The role of allopurinol and deferoxamine in preventing pressure ulcers in pigs [J]. Plast Reconstr Surg, 2000, 105 (4): 1408 - 1421.
- [6] Wong VK, Stotts NA. Physiology and prevention of heel ulcers: The state of science [J]. J Wound Ostomy Continence Nurs, 2003, 30(4):191 - 198.