

芦荟胶外涂对大鼠背部创面愈合和疤痕形成的影响

袁慧杰¹, 廖紫琼², 欧阳道福³, 李晓敏³, 孙常磊³, 陈明毅², 谢智勇², 赖志辉^{1,4*} (1.中山大学生命科学学院, 广州 510275; 2.中山大学药学院(深圳), 广东 深圳 518000; 3.完美(中国)有限公司, 广东 中山 528400; 4.中山大学测试中心, 广州 510275)

摘要: 目的 研究芦荟胶外涂对大鼠背部创面愈合及疤痕形成的影响。方法 36只健康♂大鼠随机分为空白组、实验组和对照组, 建立大鼠背部切创伤模型, 外涂创面给药后, 以创伤面积愈合率和皮肤组织中毛囊、皮脂腺、胶原纤维等的生成情况来评价愈合效果。结果 与空白组相比, 实验组上皮出现时间早, 创面愈合时间较短, 伤口愈合率明显提高($P<0.05$), 皮肤组织中毛囊、皮脂腺等附属器官及III型胶原纤维的生成较多, 胶原蛋白束排列较为有序; 实验组各项指标与对照组接近。结论 芦荟胶对于皮肤创伤有着较好的治疗效果, 并且可以抑制疤痕的形成。

关键词: 芦荟胶; 创面愈合; 抑制疤痕

中图分类号: R285.5 文献标志码: A 文章编号: 1007-7693(2018)01-0053-04

DOI: 10.13748/j.cnki.issn1007-7693.2018.01.012

引用本文: 袁慧杰, 廖紫琼, 欧阳道福, 等. 芦荟胶外涂对大鼠背部创面愈合和疤痕形成的影响[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(1): 53-56.

Effect of Aloe Vera Gel on Wound Healing and Scar Formation in Back of Rats

YUAN Huijie¹, LIAO Ziqiong², OUYANG Daofu³, LI Xiaomin³, SUN Changlei³, CHEN Mingyi², XIE Zhiyong², LAI Zhihui^{1,4*} (1.School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China; 2.School of Pharmaceutical Sciences, Sun Yat-sen University, Shenzhen 518000, China; 3.Perfect (China) Company Limited, Zhongshan 528400, China; 4.Instrumental Analysis & Research Center, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

ABSTRACT: OBJECTIVE To explore the effect of aloe gel on wound healing and scar formation in back of rats. **METHODS** Thirty-six healthy and male rats were randomly divided into blank control group, experimental group and control group, the model of dorsal wound in rats was established, after applied topically administered, the wound healing rate and the formation of hair follicles, sebaceous glands and collagen fibers in the skin tissues were evaluated. **RESULTS** Compared with the blank group, the appearing time of epithelium in the aloe gel group was earlier, the healing time was shorter, and the healing ratio was obviously improved ($P<0.05$), the contents of hair follicles, sebaceous glands and other accessory organs and type III collagen fibers were more abundant in the skin tissues, collagen bundles were arranged more orderly. The indexes of the experimental group were close to that of the control group. **CONCLUSION** Aloe gel has a better therapeutic effect for skin trauma, and can inhibit the formation of scar.

KEY WORDS: aloe vera gel; wound healing; scar suppression

各种创伤、手术、烧伤等原因导致的皮肤损伤是临床常见病, 直到目前, 皮肤创伤及其愈合后疤痕的形成问题仍然严重威胁着人类的健康和生活质量, 往往给患者带来长期的生理障碍和心理负担^[1-2]。

芦荟多糖是芦荟凝胶部分去除水分后的主要成分, 也是芦荟中的主要生物活性成分, 具有良好的抑菌消炎, 增强免疫力, 促进创面愈合等药

理作用^[3-4]。芦荟作为创面愈合药在民间使用已有1 000多年, 其效果也得到了广泛的认同, 但是民间在使用芦荟治疗创伤时, 常常是将芦荟凝胶直接敷在创面上, 这种使用方法显然不够科学。芦荟胶是以芦荟凝胶冻干粉为原料加工而成的稳定剂型, 本研究利用SD大鼠制备了背部创伤模型, 探讨以芦荟多糖为主要活性成分的芦荟胶在创伤修复方面的疗效以及其对疤痕形成的影响。

基金项目: 国家自然科学基金项目(81473540, 81473319); 广东省科技计划项目(2014A020221027, 2014A020209026, 2015A030401031); 中山市科技计划项目(2016C1015)

作者简介: 袁慧杰, 女, 硕士生 Tel: 15626038791 E-mail: 1575195634@qq.com *通信作者: 赖志辉, 男, 高级工程师 Tel: (020)84114877 E-mail: puslzh@163.com

1 材料和方法

1.1 动物

SD 大鼠, SPF 级, 体质量(200±20) g, ♂, 由中山大学实验动物中心提供, 合格证号: 44007200037993, 动物生产许可证号: SCXK(粤)2016-0029。动物实验在中山大学实验动物中心 SPF 级无菌层流环境中进行, 实验单位使用许可证号: SYXK(粤)2016-0112。动物随意进食、自由饮水, 控制环境温度 20~22 ℃, 相对湿度 35%~75%, 光照 12 h, 黑暗 12 h。

1.2 试剂与仪器

芦荟胶(完美中国有限公司, 批号: 105216); 马应龙龙珠软膏(马应龙药业股份有限公司, 批号: 160704); 水合氯醛、福尔马林(天津市大茂化学试剂厂, 批号: 20120620、20140516); 无水乙醇(天津市致远化学试剂有限公司, 批号: 20161015); 苏木色精(广州市凯秀贸易有限公司, 批号: 20150408); 曙红 Y、三氯化铁(国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20150914、20140625); Masson 三色染色液(珠海贝索生物技术有限公司, 批号: 20160512)。

AB135-S 电子分析天平(瑞士 Mettler Toledo 公司); RM2155 电动轮转切片(德国 Leica 公司); TP1020 全自动组织脱水机(德国 Leica 公司); EG1160 石蜡包埋机(德国 Leica 公司); HI1220 烘片机、HI1210 摊片机、DM5000 B 智能型生物显微镜(德国 Leica 公司)。

1.3 创伤模型制备

SD 大鼠 36 只, ♂, 体质量(200±20) g, 单笼喂养, 适应性饲养 5 d。实验当天用 10%水合氯醛腹腔注射麻醉, 剪去背部毛发, 用直尺各量出 1.5 cm×1.5 cm 的面积, 用记号笔标记好该面积, 酒精棉将皮肤消毒后, 用镊子将皮肤提起, 用剪刀剪出 1.5 cm×1.5 cm 的面积, 深至皮下筋膜肌肉, 用碘酒进行消毒, 造模完成^[5]。

1.4 分组及给药

将 36 只 SD 大鼠随机分为空白组、实验组和对照组, 每组 12 只。实验组用芦荟胶外涂伤口区, 对照组涂抹马应龙龙珠软膏, 空白组涂抹生理盐水, 2 d 1 次, 有感染时用抗菌药物外涂。

1.5 评价指标

1.5.1 大体观察及创伤愈合率测定 每天观察创伤愈合和疤痕的形成情况如创面渗出、肉芽生长、

上皮覆盖等。于创伤后 3, 7, 11, 15 d 采用透明膜描记加称重法测定创伤面积^[6]。方法是将创面描记在透明膜上, 再以此为模板, 将质地均匀的硬纸片剪成同样大小, 以硬纸片的质量间接表示创面面积大小, 实验周期为 21 d。创伤愈合率(%)=(0 d 创伤面积-n d 创伤面积)/0 d 创伤面积×100%。

1.5.2 扫描电镜 在创伤后 21 d 处死动物, 取下创伤修复后的组织, 面积 2 cm×2 cm, 去除皮下组织, 于 10%福尔马林溶液中固定 24 h, 70%乙醇过夜、85%乙醇 3 h、95%乙醇 2 h、100%乙醇 1 h 梯度脱水, 临界点干燥仪干燥 1.5 h, 喷金, 扫描电镜上观察修复后内层皮肤的胶原蛋白排列情况^[7]。

1.5.3 组织学检查 于创伤后 21 d 处死大鼠, 在伤口愈合部位进行全皮摘除, 面积 2 cm×2 cm, 切除皮下脂肪, 10%福尔马林溶液中固定, 经脱水、石蜡包埋、切片, 进行 HE 染色、马森三色染色和苦味酸天狼猩红染色^[8-9]。观察创面真皮组织毛囊、皮脂腺和胶原纤维以及表皮的组织学改变。

1.6 数据分析

数据采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。所有实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。2 组数据之间比较, 采用独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 认为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 大体观察

造模后所有大鼠创面均有出血、渗出和周围组织水肿现象。

创伤后 3 d, 各组均有几只大鼠出现腹腔积水现象, 剔除腹腔积水大鼠。其余大鼠术后状况良好, 活动正常, 无腹泻、拒食等不良反应; 实验组和对照组创面边缘皮肤收缩明显, 可见颗粒状肉芽, 空白组颗粒状肉芽较少。创伤后 7 d, 实验组创面较为湿润, 分泌物较多, 肉芽组织生长明显, 可见白色薄层上皮, 空白组创面较为干燥, 分泌物及肉芽组织均较少。创伤后 11 d, 实验组和对照组伤口愈合明显, 愈合面积达到 80%, 空白组创面仅约 70%为肉芽组织填充。创伤后 17 d, 实验组和对照组已有过半大鼠背部创伤愈合, 空白组创面仅约 90%为肉芽组织填充。

创面愈合率目前仍是最有效、最直接的创面修复评价指标。经统计学处理显示, 实验组和对照组在 3, 7, 11, 15 d 时创面愈合率均高于空白组; 15 d 时, 实验组愈合率明显高于空白组 ($P < 0.01$), 对照组愈合率与空白组间也有显著性差

异($P<0.05$); 与对照组比较, 实验组愈合率差异无统计学意义。表明芦荟胶组和马应龙龙珠软膏组创伤愈合速度大于空白组。结果见表 1。

表 1 3 组不同时间创伤愈合率的比较($n=8, \bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Comparison of wound healing rate between 3 groups at different time ($n=8, \bar{x} \pm s$)

组别	大鼠创伤愈合率/%			
	3 d	7 d	11 d	15 d
空白组	9.2±5.2	34.2±10.9	72.8±10.4	92.4±4.0
实验组	17.1±7.9 ¹⁾	44.5±6.6 ¹⁾	82.3±6.8 ¹⁾	97.4±1.4 ²⁾
对照组	15.7±3.3 ²⁾	43.1±11.1	79.0±9.1	96.0±3.1 ¹⁾

注: 与空白组比较, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。

Note: Compared with blank group, ¹⁾ $P<0.05$, ²⁾ $P<0.01$ 。

2.2 扫描电镜结果

有文献报道, 创伤修复后真皮内的胶原蛋白束排列越整齐, 越不容易形成疤痕^[7]。在正常皮肤中, 胶原排列整齐有序, 而在空白组的皮肤中, 胶原排列杂乱无序, 胶原纤维纤细且有断裂; 实验组和对照组皮肤胶原排列与正常皮肤真皮层的胶原蛋白排列情况比较接近, 规整有序, 方向一致。结合文献报道, 说明芦荟胶能够促进创伤的修复, 同时还可以抑制疤痕的形成。结果见图 1。

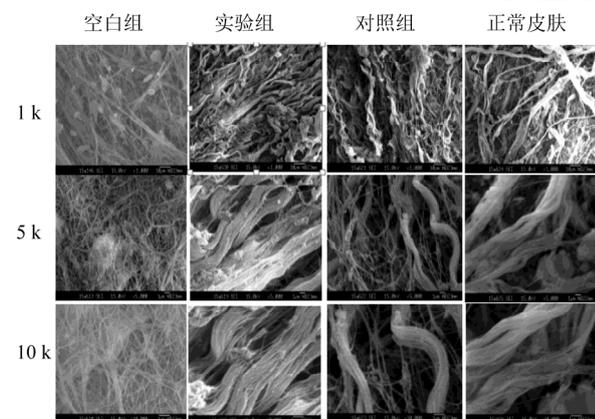


图 1 创伤 21 d 后扫描电镜观察新生皮肤的胶原排列情况
Fig. 1 The collagen arrangement of the new skin which was observed by SEM in 21 d after trauma

2.3 组织切片染色结果

2.3.1 HE 染色 在皮肤的创伤修复过程中, 早期纤维组织会大量增生, 并随着创伤皮肤的愈合, 纤维组织增生逐渐减少, 最后恢复到正常情况; 毛囊、皮脂腺等附属器官也会出现。正常大鼠皮肤真皮层胶原纤维排列疏松, 呈碎布样, 可见毛囊、皮脂腺等结构; 空白组大量纤维组织增生, 胶原呈致密的疤痕型排列, 真皮层毛囊、皮脂腺

消失; 而实验组和对照组纤维组织增生较少, 已处于皮肤创伤愈合的后期, 胶原排列较为疏松, 真皮层的毛囊、皮脂腺数量明显高于空白组, 与正常皮肤较为接近。结果见图 2。

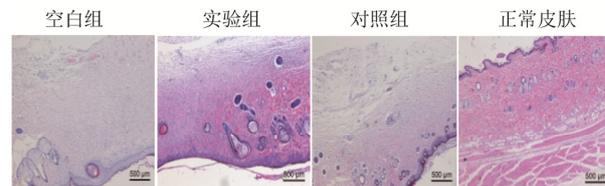


图 2 创伤 21 d 后新生皮肤组织的 HE 染色图
Fig. 2 HE staining of skin tissue in 21 d after trauma

2.3.2 马森三色染色 空白组真皮损伤区有大量平行致密排列的胶原纤维(70%~80%), 这是皮肤修复早期的状态, 类似疤痕组织, 实验组大鼠真皮层损伤区平行致密排列的胶原纤维含量最少, 约占 30%, 对照组含量次少, 约占 40%; 正常动物真皮层未见平行排列的胶原纤维。结果见图 3。从这一结果可以看出, 芦荟胶对于急性创伤皮肤的恢复有着较好的效果, 皮肤创伤愈合状况较接近正常皮肤。

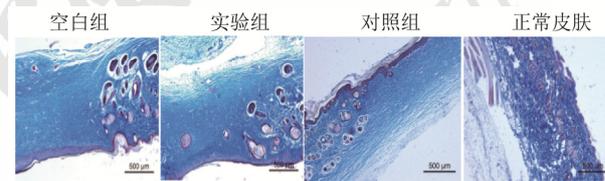


图 3 创伤 21 d 后新生皮肤组织的马森三色染色图
Fig. 3 Mason staining of the new skin in 21 d after trauma

2.3.3 苦味酸天狼猩红染色 在皮肤创伤修复的早期, 先是生成 III 型胶原纤维, 之后 I 型胶原纤维逐渐取代 III 型胶原纤维成为主要的胶原纤维, 所以从 I 型胶原纤维和 III 型胶原纤维的比例可以看出创伤愈合的情况。从图 4 可以看出, 在正常皮肤组织中, 亮色部分较多, 大部分为 I 型胶原纤维, 计数后得出其 I 型胶原纤维和 III 型胶原纤维的比例约为 1.36; 空白组中, 亮色部分非常少, 说明主要为 III 型胶原纤维, 其 I 型胶原纤维和 III 型胶原纤维的比例约为 0.09; 实验组和对照组中, III 型胶原纤维也较多, 但已有大量的 I 型胶原纤维取代 III 型胶原纤维, I 型胶原纤维和 III 型胶原纤维的比例分别已经达到 0.72 和 0.69。从中也可以看出, 芦荟胶对于皮肤创伤有着显著的疗效, 给药后可以使创伤皮肤的愈合速度明显的高于自然恢复组。

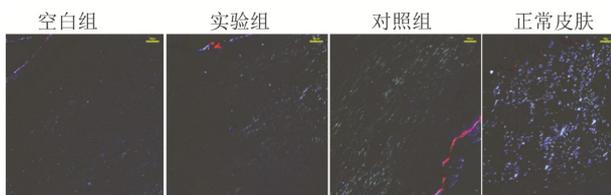


图4 创伤21 d后新生皮肤组织的天狼猩红染色图
Fig. 4 Sirius Red staining of the new skin in 21 d after trauma

3 讨论

创面愈合是创伤后引起的病理过程的总称，是由多种生长因子、细胞因子、修复细胞及炎症细胞共同参与的一个复杂而又高度协调的过程^[10]。皮肤作为人体最大最外部的器官极易遭受创伤，因此，创伤修复一直是医学领域的研究热点，与此同时，具有促进创伤愈合作用的药物也引起了科学工作者的广泛关注^[11-13]。

芦荟作为传统中药，在中国已有上千年的应用历史，传统医学和现代医学都对芦荟的药用价值给予了肯定，其资源丰富，安全有效，含有多种活性物质，具有非常广泛的药理作用，临床上有很高的应用价值。促进创伤愈合是芦荟在民间最为广泛的用途之一，民间用芦荟鲜叶或去表皮的芦荟叶敷于小面积创伤部位，有助于伤口的愈合。有研究发现^[14]，芦荟中含有上百种生物活性成分，具有抗菌、止血，加快细胞的增殖和移行，促进上皮细胞再生以及受损血管修复的功效，能够显著增强局部组织的血液供应，增加胶原蛋白的合成，从而促进伤口的愈合。Chithra等^[15]用芦荟凝胶治疗治疗糖尿病小鼠模型背部的伤口，发现芦荟凝胶可以通过影响纤维组织的形成、胶原蛋白的合成、炎症和伤口的收缩而加速伤口愈合。外用于深度烧伤，芦荟凝胶组平均愈合时间为11.89 d，凡士林对照组则需要18.19 d^[16]。

本研究建立了大鼠背部皮肤切创伤模型。实验结果表明，芦荟胶外涂创面，能够促进肉芽组织生长，缩短伤口愈合时间，明显提高伤口的愈合速率；能够促进毛囊、皮脂腺等附属器官的新生，胶原蛋白束的有序排列以及III型胶原纤维的生成。说明芦荟胶对于皮肤创伤有着较好的治疗效果，同时还可以抑制疤痕的形成。这可能与芦荟胶能够润湿创面，起到保护伤口的作用，以及其有效成分芦荟多糖具有良好的抑菌抗炎、促进

表皮细胞增殖等药理作用有关^[2]。

REFERENCES

- [1] BOMBARO K M, ENGRAV L H, CARROUGHER G J, et al. What is the prevalence of hypertrophic scarring following burns [J]. *Burns*, 2003, 29(4): 299-302.
- [2] LI L J, ZHANG Y, PENG L H, et al. Research progress of Chinese medicine based on topical preparations for treating skin wound [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2015, 32(10): 1285-1288.
- [3] LIU W J, WANG Y H, CHEN G X, et al. The preventive effect of aloe polysaccharides on gastric ulcer in mice induced by aspirin [J]. *E-J Trans Med*(转化医学电子杂志), 2017, 4(3): 30-32.
- [4] LI X H, DONG L, HOU X Y, et al. Apoptosis of human lung adenocarcinoma A549 cells induced by aloe polysaccharide through the mitochondrial pathway [J]. *Chin J Mod Appl Pharm*(中国现代应用药理学), 2014, 31(3): 270-274.
- [5] BIAN M X, SHEN R W, LIU X T, et al. The effect of propolis on wound healing of skin in rats [J]. *China Mod Med*(中国当代医药), 2016, 23(3): 11-14.
- [6] TANG J H, LIU C Y, HE J, et al. Effect of aloe gel on agglutination of wound surfaces to second degree of scalding rats [J]. *Chin J Exp Tradit Med Form*(中国实验方剂学杂志), 2010, 16(10): 156-157.
- [7] KWAN K H, LIU X, TO M K, et al. Modulation of collagen alignment by silver nanoparticles results in better mechanical properties in wound healing [J]. *Nanomedicine*, 2011, 7(4): 497-504.
- [8] PENG L H, MAO Z Y, QI X T, et al. Transplantation of bone-marrow-derived mesenchymal and epidermal stem cells contribute to wound healing with different regenerative features [J]. *Cell Tiss Res*, 2013, 352(3): 573-583.
- [9] PENG L H, WEI W, QI X T, et al. Epidermal stem cells manipulated by pDNA-VEGF165/CYD-PEI nanoparticles loaded gelatin/beta-TCP matrix as a therapeutic agent and gene delivery vehicle for wound healing [J]. *Mol Pharm*, 2013, 10(8): 3090-3102.
- [10] 张洁, 杨风微, 戈胜, 等. 外用中药促进创伤愈合机制的研究进展[J]. *中国畜牧兽医*, 2009, 36(3): 143-145.
- [11] 李晓康, 王舒, 于杨, 等. 皮肤创伤修复研究进展[J]. *中国中西医结合皮肤性病学期刊*, 2016, 15(1): 62-65.
- [12] WANG W Q, HU H C, ZHANG Z Q, et al. Research on promotion of wound healing by amputated lumbricus extract [J]. *World Sci Tech-Mod Tradit Chin Med*(世界科学技术: 中医药现代化), 2015, 17(7): 1449-1453.
- [13] XU Q R, WANG S F, LUO L N, et al. Effect of fluorofenidone on inhibiting scar formation in rat cutaneous wounds [J]. *Chin J New Drugs*(中国新药杂志), 2017, 26(6): 639-643.
- [14] TANG N, BIAN K. Application of aloe in wounds healing [J]. *Shanghai J Tradit Chin Med*(上海中医药杂志), 2010, 44(9): 72-75.
- [15] CHITHRA P, SAJITHLAL G B, CHANDRAKASAN G. Influence of aloe vera on the healing of dermal wounds in diabetic rats [J]. *J Ethnopharmacol*, 1998, 59(3): 195-201.
- [16] LIU H Y, LIAO C J. The research progress of aloe in treatment of burn wound [J]. *J Jiangxi Univ Tradit Chin Med*(江西中医药大学学报), 2016, 28(1): 122-124.

收稿日期: 2017-08-19

(本文责编: 李艳芳)