



# MEBO 对 SD 大鼠深 II 度烫伤创面微循环的影响

## The effect of MEBO on the microcirculation of deep Second

### Degree Scald Wounds of SD rats

冯智才 崔凤然 朱颉 韩朝飞 李绪 贺全勇

Zhicai Feng, Fengran Cui, Jie Zhu, Chaofei Han, Xu Li, Quanyong He

作者单位: 410000 湖南 长沙, 中南大学湘雅三医院烧伤整形科

通信作者: 贺全勇, E-mail: qyonghe@126.com

Affiliation: Burn and Plastic Surgery of the third Xiangya Hospital of Central South University, Changsha, Hunan, 410000, China.

Corresponding author: Quanyong He, E-mail: [qyonghe@126.com](mailto:qyonghe@126.com)

该研究为中国红十字基金会徐荣祥再生生命公益基金资助项目

**【摘要】目的** 观察美宝湿润烧伤膏(MEBO)对SD大鼠深II度烧伤创面愈合影响,探讨其改善深II度烫伤创面微循环作用机制。

**方法** SD大鼠60只,每只老鼠背部建立2个创面,随机自身对照,治疗组使用MEBO进行治疗,每6小时换药一次,对照组不做任何处理。观察烫伤大鼠在伤后第1、4、7、10、13、16天共6个时相点的创面愈合情况;伤后第13天创面HE染色;伤后第1、6、12、24、48、72、96、120、144小时共9个时相创面组织ET1、NO合成酶和HSP70 PCR相对表达量;伤后第1、4、7、10、13、16天CD34和MPO免疫组化。

**结果** 以愈合率达到95%为创面愈合,MEBO治疗组创面平均愈合时间为16天,对照组创面平均愈合时间为19天,两组创面愈合率进行配对t检验,差异具有统计学意义( $P<0.05$ );HE染色结果显示MEBO治疗组创面上皮化要优于对照组;创面组织ET1、NO合成酶和HSP70 Real-Time PCR相对表达量均无统计学差别( $P>0.05$ )。免疫组化观察结果显示,MEBO治疗组CD34及MPO的表达与对照组相比均无明显统计差别( $P>0.05$ )。**结论** MEBO能促进大鼠深II度烧伤创面的愈合,但其实验结果显示与微循环相关的介质变化无明显的相关性,有待进一步研究。

**【关键词】** MEBO; 微循环; ET1/NO; HSP70; CD34; 髓过氧化物酶。

**【Abstract】Objective** Observing the effect of MEBO in the Treatment of SD rats with deep second degree scald wounds and exploring the mechanism of improving the microcirculation of deep second degree scald wounds. **Methods** Sixty SD rats were used and two wounds were established on the back of each rat. The treatment group was treated with MEBO and the control group did not undergo any treatment by randomized self-controls. The dressing was changed every 6 hours. Observing the wound healing of scald rats on the first, fourth, seventh, tenth, thirteenth and sixteenth days after wounding; Wounds were stained with Hematoxylin-eosin staining on the thirteenth day after scald; The Real-Time PCR relative expression levels of ET1, NO synthase and HSP70 in wound tissue at the first, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120, and 144 hours after

injury; Immunohistochemistry of CD34 and MPO on 1,4,7,10,13,16 days after injury. **Results** Taking the healing rate of 95% or more as wound healed. The average healing time was 16 days in the MEBO treatment group and 19 days in the control group. The wound healing rate in the two groups was analyzed by paired t-test and the difference was statistically significant ( $P<0.05$ ). The MEBO treatment group was superior to the control group showed Hematoxylin-eosin staining. There was no significant difference in Real-Time PCR Relative Expression Level of ET1, NO synthase and HSP70 ( $P>0.05$ ). There was no significant difference in the expression of CD34 and MPO immunohistochemistry between the MEBO group and the control group ( $P>0.05$ ). **Conclusion** MEBO can promote the healing of deep second degree scald wounds in rats, but its experimental results show that there is no obvious correlation with the changes of microcirculation related media. It needs further study.

**【Key words】** MEBO; microcirculation; ET1/NO; HSP70; CD34; myeloperoxidase

烧伤后创面微循环显著变化是微血栓形成, 血管通透性增强<sup>1,2</sup>。皮肤烧伤后创面立即出现三个区带, 即凝固区、瘀滞区、充血区<sup>3</sup>。以深Ⅱ度烧伤为例, 中间为瘀滞区, 局部微动脉短暂收缩, 随后扩张; 微静脉扩张, 红细胞聚集, 血流缓慢, 微静脉内白细胞贴壁黏附, 内皮细胞肿胀, 进一步加重血流瘀滞<sup>4</sup>。瘀滞区的位置随烧伤深度不同而不同, 瘴滞区位于真皮深层为Ⅱ度烧伤, 位于皮肤全层及皮下组织者为Ⅲ度烧伤。瘀滞区的发展决定烧伤深度的最终层次, 如果瘀滞区逐渐加重扩展到全层皮肤引起全层皮肤血流停止和坏死, 就形成Ⅲ度烧伤。反之, 若能改善瘀滞区微循环, 就可避免深Ⅱ度烧伤演变为Ⅲ度烧伤<sup>2</sup>。徐荣祥教授提出的烧伤湿润暴露疗法(MEBT)<sup>5</sup>, 就是针对瘀滞区进行治疗, 改善瘀滞区微循环, 避免微血栓形成, 阻止瘀滞区组织发生进行性坏死。

作为目前所知最强的血管舒张因子和收缩因子 NO、ET1, 对微循环有重要影响, 正常情况下两者是一对平衡体系, 两者之间存在着相互制约的关系:ET1 的增加使 NO 合成增多, 而 NO 又抑制 ET1 合成, 以保持 ET1/NO 比例适当<sup>6,7</sup>, 烧伤后血浆 NO、ET1 上升与创面毛细血管通透性增强成正相关, 导致创面大量外渗、高度水肿<sup>8,9</sup>, 由于 NO 半衰期较短, 难以在组织中准确检测, 大多通过测定组织中 NO 合成酶的含量来间接反映 NO 的含量。热休克蛋白是一类机体在应激时产生的一类保护性蛋白, 其中 HSP70 在烧伤早期及感染时表达明显增加, 对烧伤后胃肠黏膜细胞有保护作用<sup>10</sup>, 能明显改善烧伤后脓毒血症症状及减轻肠黏膜损伤<sup>11,12</sup>, 其早期表达增高是否对创面微循环起到保护作用, MEBO 是否影响其表达, 目前尚无相关研究报道。Hollingsworth 等<sup>13</sup>认为 CD34 是目前血管内皮细胞最可靠的标记物, 并能区分新生血管和正常组织血管。微血管形成与烧烫伤创面愈合关系密切<sup>14,15</sup>, 血管生成对创面微循环的重建及创面愈合有一定影响, 能为创面提供氧、营养, 带走代谢产物, 并提供丰富的细胞生长因子, MEBO 对其表达是否有影响, 目前尚无研究。髓过氧化物酶(MPO)、过氧化氢和卤化物构成中性粒细胞有效的杀菌系统<sup>16,17</sup>, 其中 MPO 是核心, 烧伤早期及感染期中性粒细胞在创面大量聚集可能与机体自身防御相关。MEBO 是否影响其变化, 目前尚无相关研究。

本实验通过检测创面组织 ET1、NO 合成酶、HSP70、CD34、MPO 相对含量来比较 MEBT 同传统暴露干燥疗法对 SD 老鼠创面组织的不同影响, 进一步探讨 MEBO 改善烧伤创面微循环的机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物与分组

健康成年 SD 大鼠 60 只(由中南大学湘雅三医院动物中心提供), 雄性, 体重 200 ± 20 克。每只 SD 大鼠背部建 2 个创面, 随机分为 MEBO 治疗组和对照组。该动物实验由中南大学湘雅三医院伦理委员会支持。

### 1.2 模型的建立

将雄性 Sprague Dawley (SD) 大鼠 (8 周龄) 饲养在中南大学湘雅三医院的动物房中。所有动物实验均按照中南大学湘雅三医院批准的动物实验方案进行。为了适应实验室条件, 将所有老鼠适应性喂养 1 周, 并且将所有动物单独饲养。在烫伤前 24 小时, 将背毛剪去并脱毛。烫伤当天, 在腹腔中注射 10% 水合氯醛 (300mg/kg) 使大鼠麻醉。用 75% 乙醇在小鼠的背部区域消毒。将 90°C 热水循环于特制玻璃试管内, 预热 1min, 然后将其垂直接触大鼠背部皮肤 15s, 使其形成大小均一的圆形创面, 创面直径 2 厘米, 在每只老鼠背部前后烫伤制备成 2 个深 II 度创面, 于烫伤后 24h 取全层皮肤组织(每个皮肤组织均为包含正常组织、创缘、过创面中心的长条状组织)做石蜡切片, 确定在此烫伤条件下烫伤深度为深 II 度。烫伤后, 大鼠均采取分笼饲养。

### 1.3 治疗方法与标本的采集

烫伤后立即在治疗组创面处外涂美宝湿润烧伤膏, 涂药厚度为 1 mm. 其后每间隔 6 小时用药一次, 每次用药前清除液化排出的坏死物, 而对照组侧不用药物。分别在伤后 1h、6h、12h、24h、48h、72h、96h、120h、144h 九个时相点, 大鼠麻醉, 俯卧于实验台上, 同一时相点切取全部创面组织(治疗组和对照组), 深达浅筋膜。将切取标本均匀分成两半, 一半放入冻存管中液氮保存用于内皮素、NO 合成酶、HSP70 相关指标检测, 另一半浸入 10% 甲醛溶液固定用于髓过氧化物酶 (MPO)、CD34 免疫组化检测。

### 1.4 创面闭合分析

两名独立的观察员在第 1 天测量创面初始面积的大小, 通过 ImageJ 软件测出开放创面面积等, 并计算出创面愈合率。

### 1.5 苏木精和伊红 (H&E) 染色

石蜡包埋的组织用苏木精和伊红进行常规组织学处理。HE 染色的切片在显微镜下用低倍镜观察。

### 1.6 MPO 和 CD34 的免疫组化

于烫伤后第 1 天、第 4 天、第 7 天分别处死 5 只大鼠, 切取创面组织至筋膜层, 75% 酒精脱水过夜后用 10% 甲醛溶液内固定 24 小时, 然后经脱水透明化、切片烘烤完成制片。标本经脱蜡、抗原修复、非特异性抗原封闭后, 按试剂盒说明书孵育一抗及二抗, 滴加显色剂

苏木精复染后观察。

### 1.7 实时荧光定量 PCR 法检测内皮素、NO 合成酶、HSP70 的相对表达量

标本收集完成后统一按照试剂盒说明书经 Trizol 法提取总 RNA；稀释总 RNA 后使用 DU-800 紫光分光光度仪检测波长为 260nm 和 280nm 时的吸光度，A260 和 A280 比值在 1.8-2.1 范围内，RNA 质量合格。按说明书配制逆转录反应体系 20ul, 42℃ 孵育 60min、70℃ 加热 10min 后终止反应合成第一链 cDNA。按照 PCR 试剂盒说明书，在冰上 96 孔 Real-Time PCR 板中建立 20ul 反应体系。95℃ 预变性 10min，95℃ 变性 15s，60℃ 延伸 1min，共进行 40 次循环并测定量及溶解曲线，统计分析。

### 1.8 统计学处理

使用 GraphPad Prism 7 软件进行数据分析。MEBO 组和对照组之间创面闭合、免疫组化和 PCR 等计量资料采用 t 检验，以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 MEBO 治疗后创面愈合加快

烫伤后第 7 天，MEBO 组大鼠创面湿润，周围坏死组织开始溶解，部分焦痂与创底分离，创面面积缩小；对照组大鼠创面干燥坚硬。烫伤后第 10 天，MEBO 组大鼠创面溶痂明显，坏死痂皮大部分与创面分离，创面底部为黄白色药膜覆盖，创面边缘可见上皮生长，创面面积进一步缩小；对照组大鼠创面仍保持干燥、质地较硬，边缘少量焦痂松动并与底部创面分离，但大部分焦痂与底部创面紧密结合。烫伤后第 13 天，MEBO 组大鼠创面痂皮完全脱落，大部分创面已经愈合，创面面积明显缩小，中心部位残留少许未上皮化的药膜；对照组大鼠创面痂壳大部分脱落，中心部位痂壳仍与创面紧密结合，周围已脱落痂壳的创面部分愈合。烫伤后第 16 天，MEBO 组大鼠创面完全愈合，颜色较周围正常皮肤组织深；对照组大鼠创面焦痂完全脱落，周围大部分创面组织上皮化，创面面积明显缩小（图 1）。两组大鼠烫伤创面愈合率见表 1。从 MEBO 组与对照组的 SD 大鼠整体观可见，MEBO 治疗组创面效果要明显优于对照组（图 2）。

图 1 两组大鼠烫伤创面愈合过程

Figure 1. The healing process of scald wounds in two groups of rats

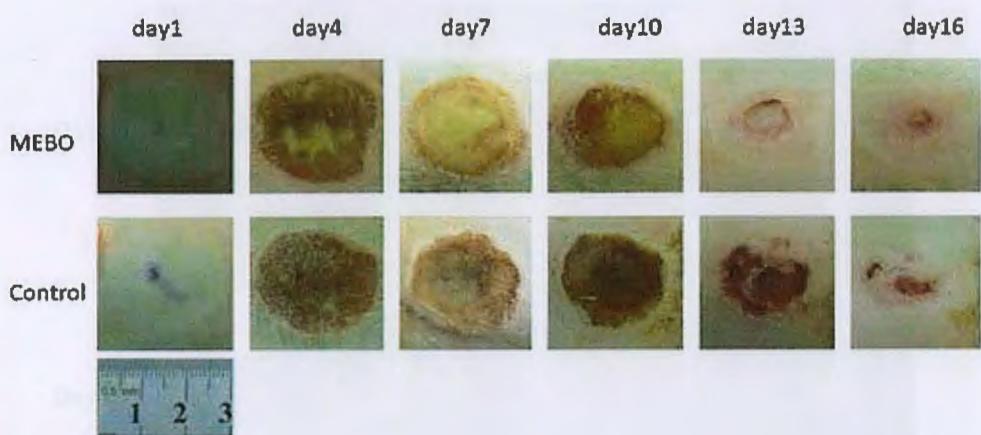


表 1 两组大鼠烫伤创面愈合率 (%，  $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 The rat scald wound healing rate in both groups

组别 Group	day4	day7	day10	day13	day16	day19
MEBO 组	23.56±	29.23±	42.83±	80.62±	97.56±	-
MEBO group	1.71	2.23	1.88	7.29	4.89	
对照组	22.84±	28.29±	37.18±	52.63±	89.11±	98.23±
Control group	1.18	2.18	2.12	3.29	6.21	5.23
p	0.65	0.21	0.02	<0.01	<0.01	-

注:两组大鼠烫伤创面不同时间点的愈合率经 t 检验,  $p<0.05$ , 差异有统计学意义。

Note: The healing rate of scald wounds was tested by t test at different time points in both groups,  $p<0.05$ , and the difference was statistically significant.

图 2 同一只 SD 大鼠烫伤创面愈合过程

Figure2. Scald wound healing process in the same SD rat

MEBO 组	2.23±	4.62±	4.36±	3.29±	1.78±	1.62±	1.47±	1.32±	1.22±
MEBO group	0.20	0.31	0.23	0.15	0.19	0.38	0.26	0.21	0.18
对照组	2.47±	4.67±	4.41±	3.31±	1.89±	1.77±	1.56±	1.41±	1.31±
MEBO group	0.15	0.46	0.39	0.23	0.34	0.29	0.12	0.17	0.23
P	0.52	0.89	0.76	0.87	0.63	0.66	0.97	0.79	0.82

### 2.3.2 髓过氧化物酶 (MPO) 免疫组化测定结果(以下结果均取自于 400 倍视野)

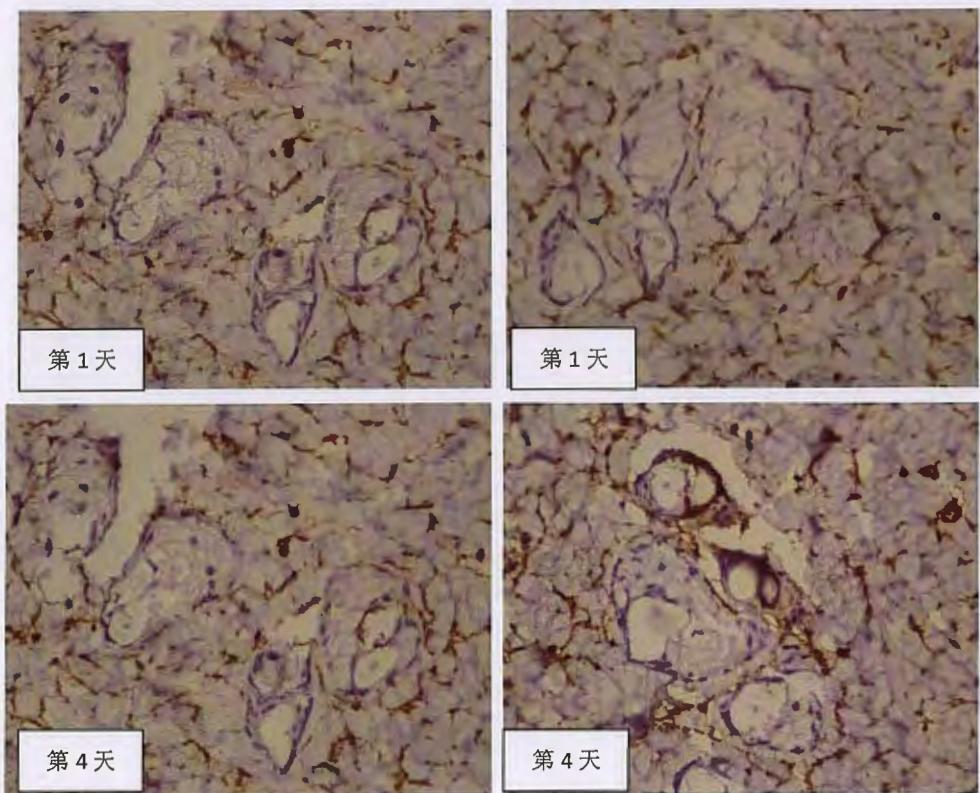
烫伤后第 1 天, MEBO 组大鼠组织切片内可见细胞被染成棕黄色, 部分细胞质被苏木素染蓝, 围绕于血管管腔, 且血管管腔清晰; 对照组与 MEBO 组切片结果相差不大。烫伤后第 10 天、13 天、16 天, MEBO 组和对照组大鼠组织切片内可见被染成棕黄色细胞依次减少。(见图 3)

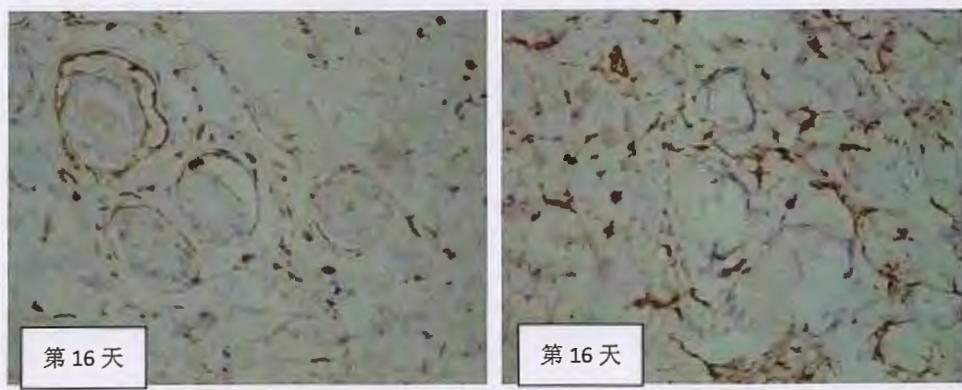
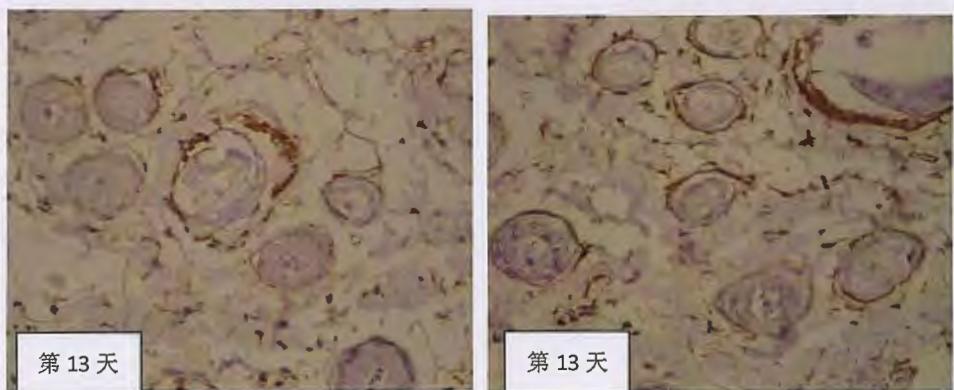
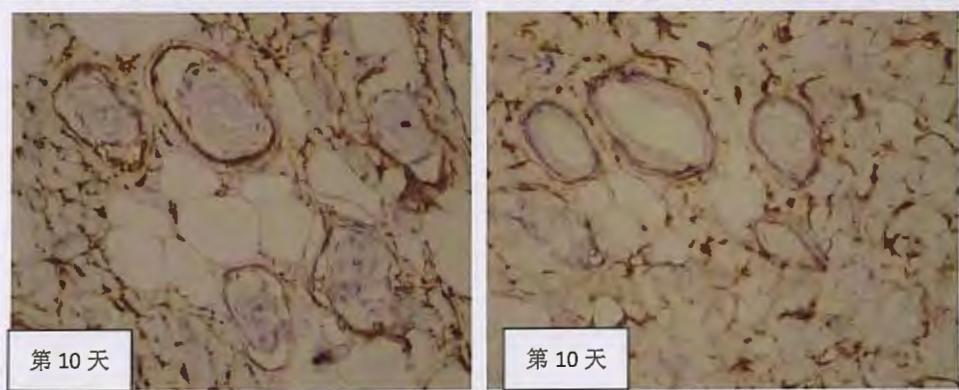
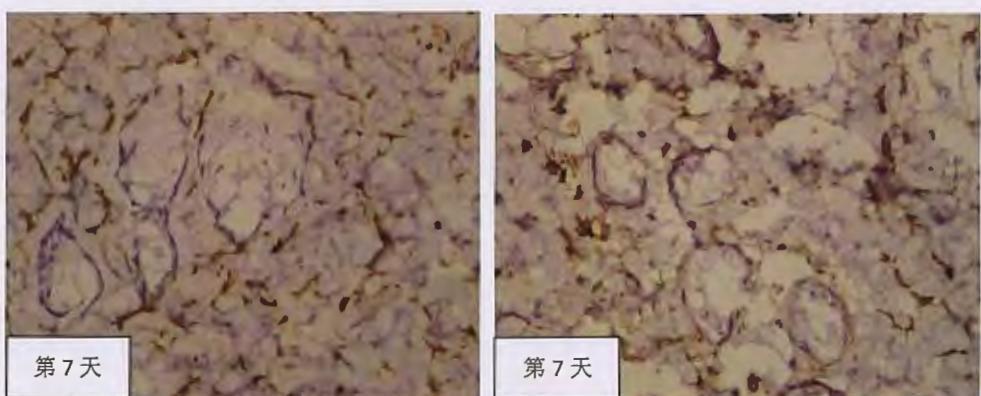
图 3 MEBO 组和对照组免疫组化切片

Figure 3. Immunohistochemistry of MEBO group and control group

MEBO 组

对照组





第 1、4、7、10、13、16 天，两组髓过氧化物酶（MPO）免疫组化染色切片通过图像分析软件 Image-Pro Plus 610 (IPP 610) 进行测量，再通过 GraphPad Prism7 软件作图并

进行统计分析，发现 MEBO 组和对照组相比，无明显统计学差别。（见图 4）

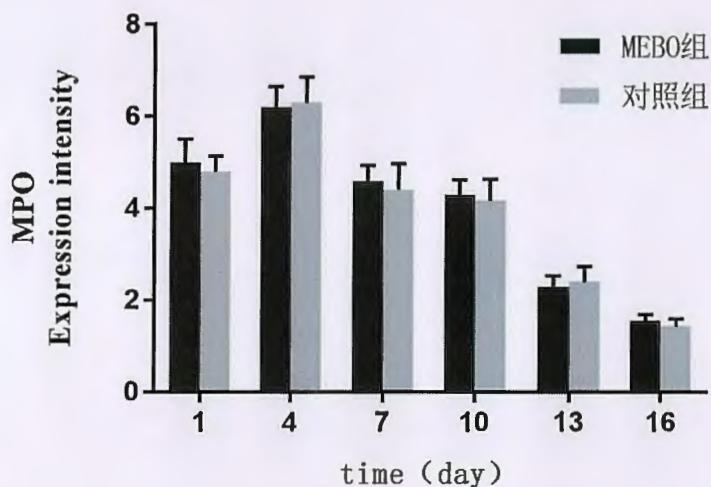


图 4 MEBO 组和对照组 MPO 表达强度的比较

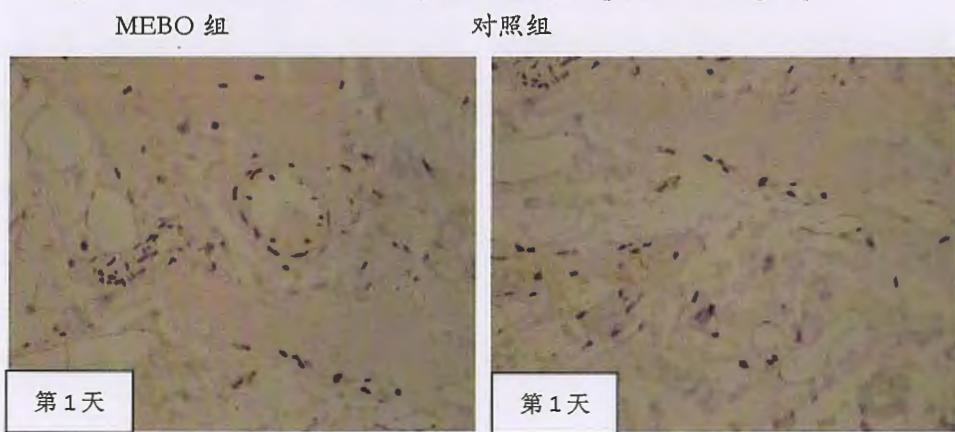
Fig. 4 Comparison of MPO expression intensity between MEBO group and control group

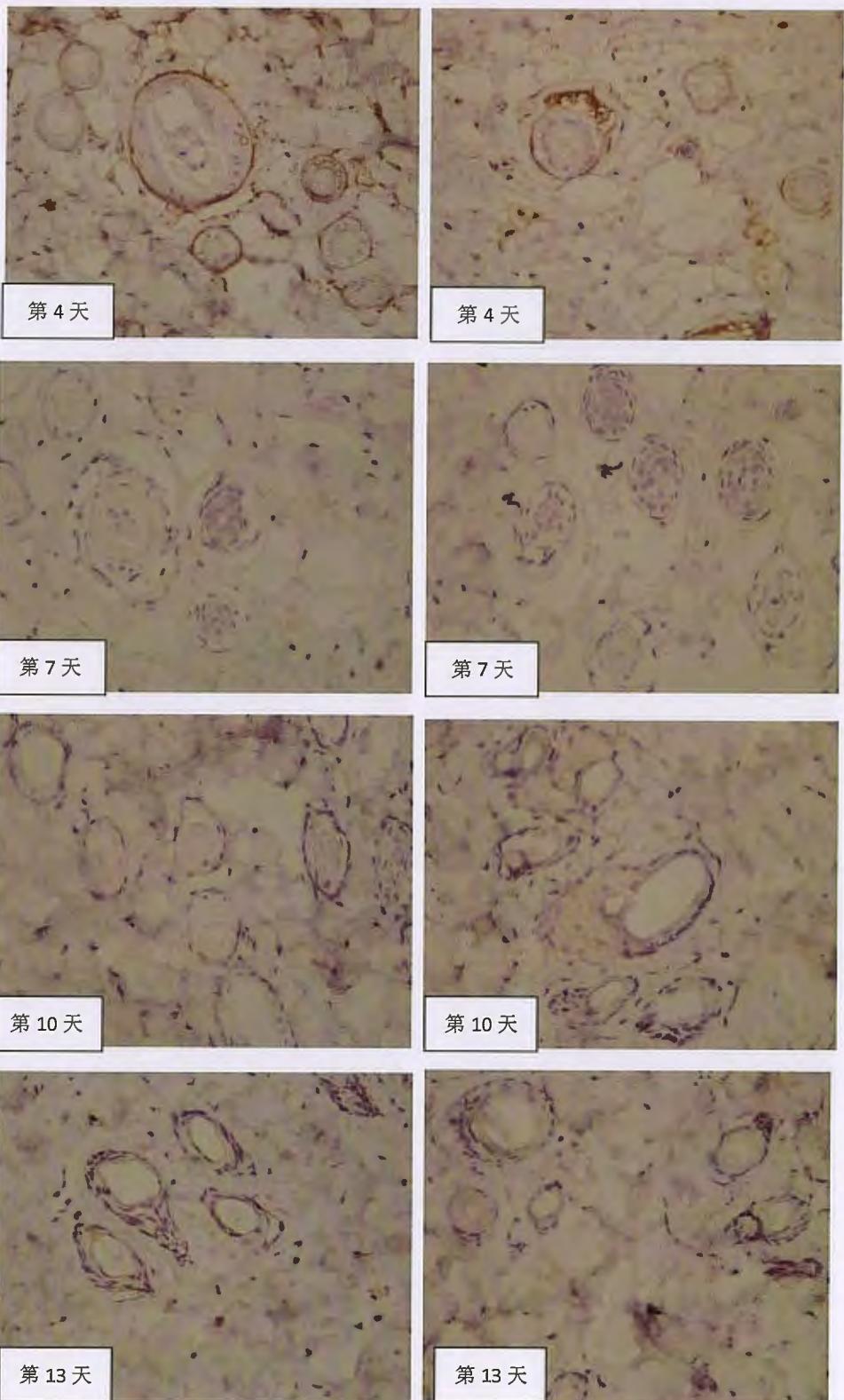
### 2.3.3 CD34 免疫组化测定结果(以下结果均取自于 400 倍视野)。

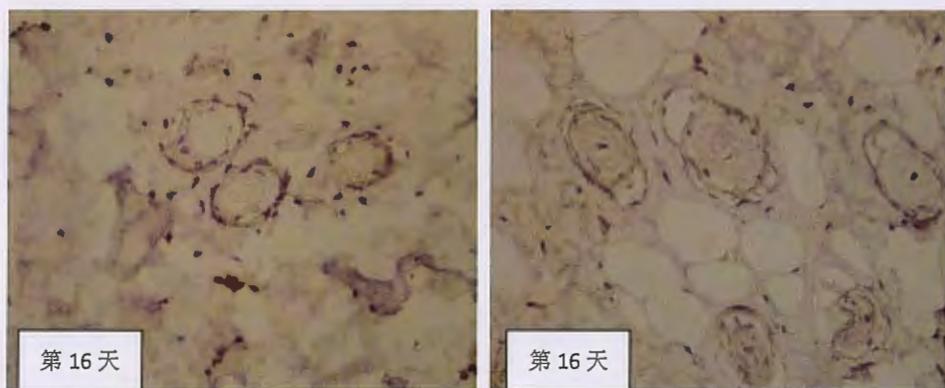
烫伤后第 1 天，MEBO 组和对照组大鼠组织切片内可见围绕血管管壁排列的内皮细胞胞核蓝染，胞质深染染色结果为阳性，两组免疫组化染色结果无明显差别；烫伤后第 7 天，可见大量内皮细胞胞核蓝染，胞质深染，着色明显，围绕血管排列，染色结果为强阳性，但两组免疫组化染色结果无明显差别。(见图 5)

图 5 MEBO 组和对照组免疫组化切片

Figure 5. Immunohistochemistry of MEBO group and control group







第1、4、7、10、13、16天，两组CD34免疫组化染色切片通过图像分析软件Image-Pro Plus 610 (IPP 610)进行测量，再通过GraphPad Prism7软件作图并进行统计分析，发现MEBO组和对照组相比，无明显统计学差别。(见图6)

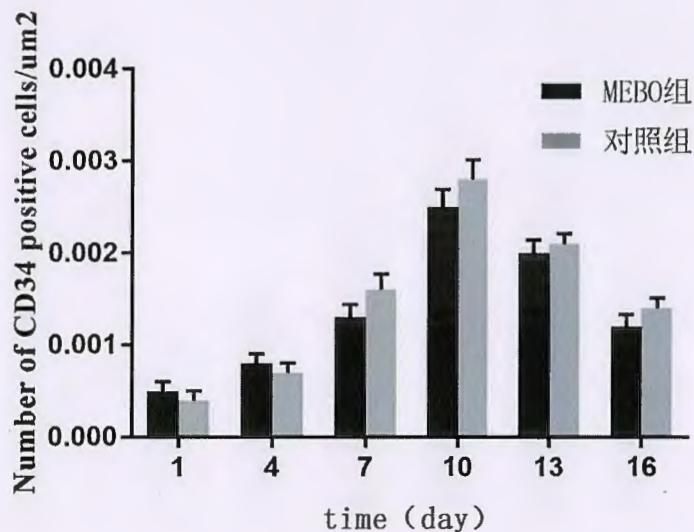


图6 MEBO组和对照组CD34阳性表达数的比较  
Figure 6. Comparison of CD34 positive expression in MEBO and control groups

### 3 讨论

烧伤创面瘀滞区进行性微血栓形成会造成烧伤深度加深，直接影响患者创面愈合情况及预后<sup>18</sup>。如何减轻这一损害，加速创面愈合、减少疤痕形成，是传统烧伤外科尚未解决的重要课题。徐荣祥教授提出的烧伤湿润暴露疗法解决了这一难题<sup>19</sup>。本实验通过研究MEBT/MEBO对创面组织中ET1/NO、HSP70、CD34、MPO等的影响，以进一步丰富MEBT/MEBO促进创面愈合分子机制。

#### 3.1 ET1/NO与烧伤创面

内皮素(Endothelin, ET)是日本学者Yanagisawa等从培养的猪主动脉内皮细胞中分离纯化出一种由21个氨基酸残基组成的活性多肽，是迄今所知最强的缩血管物质，其生物

作用极其广泛,过量释放能引起微血管长时间处于收缩、痉挛状态,导致微血栓形成<sup>20</sup>。NO为活性很强的自由基,几乎所有创面愈合相关细胞均可表达一氧化氮合成酶(NOS)<sup>21</sup>,如巨噬细胞表达诱导型合成酶(iNOS)<sup>22</sup>;成纤维细胞和表皮角质形成细胞表达内皮细胞一氧化氮合成酶(eNOS)和iNOS<sup>23-25</sup>。NOS催化L-精氨酸(L-Arg)的末端氮原子与氧结合而生成NO。一氧化氮作为趋化因子直接趋化单核细胞<sup>26</sup>,或诱导产生IL-8、TGF-β,趋化中性粒细胞和巨噬细胞<sup>27</sup>,放大炎症反应。一氧化氮可能具有促进创面血管新生的作用,使血管内皮细胞VEGF表达增加,促进细胞增殖,减少凋亡<sup>28</sup>。本实验MEBO组在创面愈合率和愈合质量上均优于对照组。但是MEBO组创面组织ET1和NO合成酶含量与对照组相比,烫伤后第1、6、12、24、48、72、96、120和144小时,两组间比较的差异无统计学意义。笔者认为,可能由于皮肤组织胶原纤维含量较高,组织难以完全碾碎,细胞不能完全裂解而导致提取的mRNA精度不高。烧伤创面外覆MEBO通过是否能够调控创面ET1、NO适量释放,使血浆ET1/NO比例尽快恢复到正常水平,这有待进一步研究。

### 3.2 热休克蛋白与烧伤创面

热休克蛋白(Heat Shock Protein, HSP)是在从细菌到哺乳动物中广泛存在一类热应激蛋白质,诱导HSP产生的因素包括热应激、化学物质(氧自由基、乙醇等)、缺血缺氧、感染及严重创伤等<sup>29</sup>。HSP表达明显增高,可以提高细胞的应激能力,抵御各种损害因素的影响,起到保护细胞和维持细胞正常的生理功能的作用<sup>30</sup>。其中HSP70系列是最重要的应激蛋白,几乎在所有生物的应激细胞中均高表达。在严重创伤中,中性粒细胞HSP表达明显增高,且可有效调节中性粒细胞的功能,有利于减轻机体的损伤、促进机体的恢复<sup>31</sup>。但本研究中MEBO组创面组织HSP含量与对照组相比,烫伤后第1、6、12、24、48、72、96、120和144小时,两组间的差异无统计学意义,可能也是由提取mRNA精度不高导致。笔者认为,在严重烧伤中HSP异常表达及保护作用的具体机制很有研究价值,因此有待今后进一步的深入研究。

### 3.3 CD34、MPO与烧伤创面

微血管形态学研究发现CD34内皮细胞抗原在毛细血管、小血管内皮细胞呈强阳性。CD34标记的微血管显影效果良好,背景染色浅,血管与周围组织对比明显。人髓过氧化物酶(MPO),是中性粒细胞的一种重要的标志酶<sup>32</sup>,存在于髓系细胞,主要是中性粒细胞和单核细胞的嗜苯胺蓝颗粒中,于中性粒细胞激活时脱颗粒释放,与过氧化氢和卤化物构成中性粒细胞有效的杀菌系统。损伤后的血管内皮细胞与中性粒细胞细胞膜上的粘附分子表达增强,致使大量中性粒细胞粘附于内皮细胞并进入组织,释放大量MPO、弹性蛋白酶、氧自由基等生物活性物质<sup>33</sup>。但本研究中CD34和MPO两组免疫组化染色结果无明显差别。可能烧伤创面毛细血管扩张,通透性增强,药物进入血液循环,对对照组创面造成一定的影响。

本实验从整体动物创面效果而言,MEBO效果确实比较明显,但在创面组织中的内皮素、NO合成酶、热休克蛋白、CD34、MPO检测中无统计学意义。笔者认为:一是皮肤组织蛋白和mRNA提取方法需要进一步改善和加强;二是可能需要加大烫伤深度,由深Ⅱ度加重到深Ⅱ

深型（浅III度），这样可能 MEBO 组与对照组差别会有统计学意义；三是烧伤创面毛细血管扩张，通透性增强，药物进入血液循环，难以排除对自身对照组创面的影响，为避免这一因素的影响，今后可再观察非自身对照创面的情况，可能会得到更为客观的结果。

美宝湿润烧伤膏作为一种中成药膏，有效保护了创面微环境，使其局部湿润度、温度、PH 值、无菌、血浆成分等接近于生理状态，有利于创面间生态组织和受损细胞的能量代谢和损伤修复，创面不再加深<sup>34</sup>。而不涂药的对照组部位创面加深，也不是创面干燥单一因素所致，而是整个创面微环境改变，影响受损组织和细胞的能量代谢和损伤修复<sup>35</sup>。因此，MEBO 对烫伤创面微循环影响的机制需要进一步深入研究。

## 参考文献

1. Altintas B, Altintas AA, Kraemer R, et al. Acute effects of local cold therapy in superficial burns on pain, in vivo microcirculation, edema formation and histomorphology. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*. 2014;40(5):915-921.
2. Mihara K, Nomiyama T, Masuda K, et al. Dermoscopic insight into skin microcirculation--Burn depth assessment. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*. 2015;41(8):1708-1716.
3. 成路. VAC 减轻烧伤瘀滞区坏死的实验研究. 第四军医大学 2014.
4. 谭家祺. 负压联合局部给氧治疗大鼠深 II 度烧伤创面进行性坏死的实验研究. 第四军医大学 2013.
5. 徐荣祥. 烧伤创疡医学 第六章 临床应用. 中国烧伤创疡杂志. 1994(04):42-58.
6. Sartoreto SM, Santos-Eichler R, de Cassia ATR, et al. Role of nitric oxide and endothelin in endothelial maintenance of vasoconstrictor responses in aortas of diabetic female rats. *Journal of diabetes*. 2013;5(2):197-206.
7. Zhao YB, Wang YZ, Yue YH, et al. Variation of plasma levels of endothelin, calcitonin gene-related peptide, nitric oxide, and malondialdehyde in acute myocardial ischemia reperfusion injury in a rabbit model. *Genetics and molecular research : GMR*. 2015;14(2):5577-5584.
8. 张晓雯. 地奥司明治疗深 II 度烧伤后早期水肿的疗效分析. 中国医疗前沿. 2013(12):46+38.
9. Thomas DD. Breathing new life into nitric oxide signaling: A brief overview of the interplay between oxygen and nitric oxide. *Redox biology*. 2015;5:225-233.
10. 曾志刚, 张红艳. 热休克蛋白 70 对严重烧伤等应激状态下胃肠黏膜的保护机制. 广东医学. 2013;34(10):1626-1628.
11. Yuan ZQ, Peng YZ, Li XL, et al. Induction of heat shock protein 70 by sodium arsenite attenuates burn-induced intestinal injury in severe burned rats. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*. 2008;34(2):247-253.
12. 张红艳, 吕农华, 谢勇, et al. 热休克预处理对严重烫伤大鼠胃黏膜热休克蛋白 60、70 及 iNOS 表达的影响. 第三军医大学学报. 2007(15):1507-1510.
13. Hollingsworth HC, Kohn EC, Steinberg SM, et al. Tumor angiogenesis in advanced stage ovarian carcinoma. *The American journal of pathology*. 1995;147(1):33-41.
14. Hu D, Yu Y, Wang C, et al. microRNA-98 mediated microvascular hyperpermeability during burn shock phase via inhibiting FIH-1. *European journal of medical research*. 2015;20:51.
15. Bai X, Fan L, He T, et al. SIRT1 protects rat lung tissue against severe burn-induced remote ALI by attenuating the apoptosis of PMVECs via p38 MAPK signaling. *Scientific reports*. 2015;5:10277.

16. Al-Abbasi FA. In vitro activation of dibromoacetonitrile to cyanide by myeloperoxidase. *Toxicology and industrial health*. 2016;32(8):1478-1485.
17. Martin NL, Bass P, Liss SN. Antibacterial Properties and Mechanism of Activity of a Novel Silver-Stabilized Hydrogen Peroxide. *PloS one*. 2015;10(7):e0131345.
18. 王慧媛, 王凌峰, 巴特. 肝素促进创面愈合作用的研究进展. 中华临床医师杂志(电子版). 2013(02):727-729.
19. 徐荣祥. 论烧伤创面治疗原则. 中国烧伤创疡杂志. 1992(04):7-21.
20. Asakura H, Asamura R, Ontachi Y, et al. Selective inducible nitric oxide synthase inhibition attenuates organ dysfunction and elevated endothelin levels in LPS-induced DIC model rats. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2005;3(5):1050-1055.
21. Altaany Z, Moccia F, Munaron L, et al. Hydrogen sulfide and endothelial dysfunction: relationship with nitric oxide. *Current medicinal chemistry*. 2014;21(32):3646-3661.
22. Zhao Y, Vanhoutte PM, Leung SW. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *Journal of pharmacological sciences*. 2015;129(2):83-94.
23. Larsson-Callergfelt AK, Weitoff M, Nihlberg K, et al. iNOS affects matrix production in distal lung fibroblasts from patients with mild asthma. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2015;34:64-71.
24. Renis M, Cardile V, Grasso S, et al. Switching off HSP70 and i-NOS to study their role in normal and H2O2-stressed human fibroblasts. *Life sciences*. 2003;74(6):757-769.
25. Shen T, Zhu QX, Yang S, et al. Trichloroethylene induce nitric oxide production and nitric oxide synthase mRNA expression in cultured normal human epidermal keratinocytes. *Toxicology*. 2007;239(3):186-194.
26. Czepluch FS, Barres R, Caidahl K, et al. Strenuous physical exercise adversely affects monocyte chemotaxis. *Thrombosis and haemostasis*. 2011;105(1):122-130.
27. del Campo M, Sagredo A, del Campo L, et al. Time-dependent effect of orchidectomy on vascular nitric oxide and thromboxane A2 release. Functional implications to control cell proliferation through activation of the epidermal growth factor receptor. *PloS one*. 2014;9(7):e102523.
28. Iyer AK, Ramesh V, Castro CA, et al. Nitric oxide mediates bleomycin-induced angiogenesis and pulmonary fibrosis via regulation of VEGF. *Journal of cellular biochemistry*. 2015;116(11):2484-2493.
29. King AM, MacRae TH. Insect heat shock proteins during stress and diapause. *Annual review of entomology*. 2015;60:59-75.
30. Noor R. Mechanism to control the cell lysis and the cell survival strategy in stationary phase under heat stress. *SpringerPlus*. 2015;4:599.
31. 黄建康. HSP70 在机体创伤应激及维持内环境稳定作用的实验研究. 广西医科大学 2010.
32. Nauseef WM. Myeloperoxidase in human neutrophil host defence. *Cellular microbiology*. 2014;16(8):1146-1155.
33. Sio SW, Puthia MK, Lu J, et al. The neuropeptide substance P is a critical mediator of burn-induced acute lung injury. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2008;180(12):8333-8341.
34. Rose LF, Chan RK. The Burn Wound Microenvironment. *Advances in wound care*. 2016;5(3):106-118.
35. Chen J, Su GL, Li Q, et al. [Effect of different dressing materials in various combinations on wound microenvironment of donor site in burn patients]. *Zhonghua shao shang za zhi = Zhonghua shaoshang zazhi = Chinese journal of burns*. 2009;25(3):218-221.

深型(浅III度),这样可能MEBO组与对照组差别会有统计学意义;三是烧伤创面毛细血管扩张,通透性增强,药物进入血液循环,难以排除对自身对照组创面的影响,为避免这一因素的影响,今后可再观察非自身对照创面的情况,可能会得到较为客观的结果。

美宝湿润烧伤膏作为一种中成药膏,有效保护了创面微环境,使其局部湿润度、温度、PH值、无菌、血浆成分等接近于生理状态,有利于创面间生态组织和受损细胞的能量代谢和损伤修复,创面不再加深<sup>34</sup>。而不涂药的对照组部位创面加深,也不是创面干燥单一因素所致,而是整个创面微环境改变,影响受损组织和细胞的能量代谢和损伤修复<sup>35</sup>。因此,MEBO对烫伤创面微循环影响的机制需要进一步深入研究。

## 参考文献

1. Altintas B, Altintas AA, Kraemer R, et al. Acute effects of local cold therapy in superficial burns on pain, in vivo microcirculation, edema formation and histomorphology. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*. 2014;40(5):915-921.
2. Mihara K, Nomiya T, Masuda K, et al. Dermoscopic insight into skin microcirculation--Burn depth assessment. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*. 2015;41(8):1708-1716.
3. 成路. VAC 减轻烧伤瘀滞区坏死的实验研究. 第四军医大学 2014.
4. 谭家祺. 负压联合局部给氧治疗大鼠深II度烧伤创面进行性坏死的实验研究. 第四军医大学 2013.
5. 徐荣祥. 烧伤创疡医学 第六章 临床应用. 中国烧伤创疡杂志. 1994(04):42-58.
6. Sartoretti SM, Santos-Eichler R, de Cassia ATR, et al. Role of nitric oxide and endothelin in endothelial maintenance of vasoconstrictor responses in aortas of diabetic female rats. *Journal of diabetes*. 2013;5(2):197-206.
7. Zhao YB, Wang YZ, Yue YH, et al. Variation of plasma levels of endothelin, calcitonin gene-related peptide, nitric oxide, and malondialdehyde in acute myocardial ischemia reperfusion injury in a rabbit model. *Genetics and molecular research : GMR*. 2015;14(2):5577-5584.
8. 张晓雯. 地奥司明治疗深II度烧伤后早期水肿的疗效分析. 中国医疗前沿. 2013(12):46+38.
9. Thomas DD. Breathing new life into nitric oxide signaling: A brief overview of the interplay between oxygen and nitric oxide. *Redox biology*. 2015;5:225-233.
10. 曾志刚, 张红艳. 热休克蛋白 70 对严重烧伤等应激状态下胃肠黏膜的保护机制. 广东医学. 2013;34(10):1626-1628.
11. Yuan ZQ, Peng YZ, Li XL, et al. Induction of heat shock protein 70 by sodium arsenite attenuates burn-induced intestinal injury in severe burned rats. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*. 2008;34(2):247-253.
12. 张红艳, 吕农华, 谢勇, et al. 热休克预处理对严重烫伤大鼠胃黏膜热休克蛋白 60、70 及 iNOS 表达的影响. 第三军医大学学报. 2007(15):1507-1510.
13. Hollingsworth HC, Kohn EC, Steinberg SM, et al. Tumor angiogenesis in advanced stage ovarian carcinoma. *The American journal of pathology*. 1995;147(1):33-41.
14. Hu D, Yu Y, Wang C, et al. microRNA-98 mediated microvascular hyperpermeability during burn shock phase via inhibiting FIH-1. *European journal of medical research*. 2015;20:51.
15. Bai X, Fan L, He T, et al. SIRT1 protects rat lung tissue against severe burn-induced remote ALI by attenuating the apoptosis of PMVECs via p38 MAPK signaling. *Scientific reports*. 2015;5:10277.

16. Al-Abbasi FA. In vitro activation of dibromoacetonitrile to cyanide by myeloperoxidase. *Toxicology and industrial health*. 2016;32(8):1478-1485.
17. Martin NL, Bass P, Liss SN. Antibacterial Properties and Mechanism of Activity of a Novel Silver-Stabilized Hydrogen Peroxide. *PloS one*. 2015;10(7):e0131345.
18. 王慧媛, 王凌峰, 巴特. 肝素促进创面愈合作用的研究进展. 中华临床医师杂志(电子版). 2013(02):727-729.
19. 徐荣祥. 论烧伤创面治疗原则. 中国烧伤创疡杂志. 1992(04):7-21.
20. Asakura H, Asamura R, Ontachi Y, et al. Selective inducible nitric oxide synthase inhibition attenuates organ dysfunction and elevated endothelin levels in LPS-induced DIC model rats. *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*. 2005;3(5):1050-1055.
21. Altaany Z, Moccia F, Munaron L, et al. Hydrogen sulfide and endothelial dysfunction: relationship with nitric oxide. *Current medicinal chemistry*. 2014;21(32):3646-3661.
22. Zhao Y, Vanhoutte PM, Leung SW. Vascular nitric oxide: Beyond eNOS. *Journal of pharmacological sciences*. 2015;129(2):83-94.
23. Larsson-Callerfelt AK, Weitoff M, Nihlberg K, et al. iNOS affects matrix production in distal lung fibroblasts from patients with mild asthma. *Pulmonary pharmacology & therapeutics*. 2015;34:64-71.
24. Renis M, Cardile V, Grasso S, et al. Switching off HSP70 and i-NOS to study their role in normal and H2O2-stressed human fibroblasts. *Life sciences*. 2003;74(6):757-769.
25. Shen T, Zhu QX, Yang S, et al. Trichloroethylene induce nitric oxide production and nitric oxide synthase mRNA expression in cultured normal human epidermal keratinocytes. *Toxicology*. 2007;239(3):186-194.
26. Czepluch FS, Barres R, Caidahl K, et al. Strenuous physical exercise adversely affects monocyte chemotaxis. *Thrombosis and haemostasis*. 2011;105(1):122-130.
27. del Campo M, Sagredo A, del Campo L, et al. Time-dependent effect of orchidectomy on vascular nitric oxide and thromboxane A2 release. Functional implications to control cell proliferation through activation of the epidermal growth factor receptor. *PloS one*. 2014;9(7):e102523.
28. Iyer AK, Ramesh V, Castro CA, et al. Nitric oxide mediates bleomycin-induced angiogenesis and pulmonary fibrosis via regulation of VEGF. *Journal of cellular biochemistry*. 2015;116(11):2484-2493.
29. King AM, MacRae TH. Insect heat shock proteins during stress and diapause. *Annual review of entomology*. 2015;60:59-75.
30. Noor R. Mechanism to control the cell lysis and the cell survival strategy in stationary phase under heat stress. *SpringerPlus*. 2015;4:599.
31. 黄建康. HSP70 在机体创伤应激及维持内环境稳定作用的实验研究. 广西医科大学 2010.
32. Nauseef WM. Myeloperoxidase in human neutrophil host defence. *Cellular microbiology*. 2014;16(8):1146-1155.
33. Sio SW, Puthia MK, Lu J, et al. The neuropeptide substance P is a critical mediator of burn-induced acute lung injury. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 2008;180(12):8333-8341.
34. Rose LF, Chan RK. The Burn Wound Microenvironment. *Advances in wound care*. 2016;5(3):106-118.
35. Chen J, Su GL, Li Q, et al. [Effect of different dressing materials in various combinations on wound microenvironment of donor site in burn patients]. *Zhonghua shao shang za zhi = Zhonghua shaoshang zazhi = Chinese journal of burns*. 2009;25(3):218-221.