

论 著

(基础研究)

肝素钠肌醇烟酸酯乳膏对兔皮肤冻伤的治疗作用及刺激性研究

崔亚玲, 刘小虎, 许子华, 吴 琼

【摘要】 目的 探讨肝素钠肌醇烟酸酯乳膏对白兔皮肤冻伤的治疗作用, 及肝素钠肌醇烟酸酯乳膏多次皮肤给药对兔正常和破损皮肤的刺激反应。**方法** 健康兔 36 只, 按照体重排序, 按随机数字表法随机分成 6 组, 包括: 空白对照组, 模型对照组, 肝素钠肌醇烟酸酯乳膏低、中、高剂量组 (0.14 g/kg、0.28 g/kg、0.56 g/kg), 肝素钠乳膏组 (0.14 g/kg), 每组 6 只。除空白对照组外, 其余各组制备兔皮肤冻伤模型: 将直径 3 cm 的纱布团沾满液氮 (成饱和程度), 将其贴紧兔背部实验部位, 造成一个直径 3 cm 的皮肤冻伤模型。肝素钠肌醇烟酸酯乳膏低、中、高剂量组白兔涂抹相应浓度的肝素钠肌醇烟酸酯乳膏, 观察兔皮肤外观变化、肿胀程度、存活面积和冻区病理学检查等指标, 考察肝素钠肌醇烟酸酯乳膏白兔皮肤冻伤模型的治疗作用。采用自体左右自身对比, 将肝素钠肌醇烟酸酯乳膏多次涂抹于正常皮肤及破损皮肤后进行皮肤刺激试验。**结果** 肝素钠肌醇烟酸酯乳膏低、中、高剂量组能够使冻伤后第 14 天白兔冻伤面颜色趋于正常, 毛发生长趋于正常, 结痂逐渐愈合, 皮肤愈合率分别为 (67.45±8.73)%、(65.65±8.18)%、(81.66±3.66)%。肝素钠肌醇烟酸酯乳膏中剂量组、高剂量组与模型对照组比较, 可分别使红细胞压积、红细胞聚集指数、单核细胞比率和嗜酸性粒细胞比率明显升高。肝素钠肌醇烟酸酯乳膏能明显降低冻伤初期局部组织溃疡面积和肉芽组织面积, 能明显降低冻伤初期局部组织炎症细胞程度。白兔正常皮肤多次接触肝素钠肌醇烟酸酯乳膏低、中、高剂量后不同时间均未见异常反应, 白兔破损皮肤多次接触肝素钠肌醇烟酸酯乳膏低、中剂量无刺激性, 高剂量 (0.28 g/kg) 有轻度刺激反应 (0~2.75 分)。**结论** 肝素钠肌醇烟酸酯乳膏对白兔皮肤冻伤具有良好的治疗作用, 且对正常皮肤局部用药安全, 对破损皮肤高剂量局部用药有轻度刺激作用, 应酌情控制用量。

【关键词】 肝素钠肌醇烟酸酯乳膏; 轻度冻伤; 皮肤刺激性试验

【中图分类号】 R96

【文献标志码】 A

【文章编号】 1672-271X(2021)05-0449-06

【DOI】 10.3969/j.issn.1672-271X.2021.05.001

Research on the therapeutic effect of heparin sodium inositol nicotinate cream for mild frostbite on rabbit skin and its irritation

CUI Ya-ling¹, LIU Xiao-hu², XU Zi-hua¹, WU Qiong¹

(1. Department of Pharmacy, General Hospital of Northern Theater Command, Shenyang 110016, Liaoning, China;

2. Laboratory of Traditional Chinese Medicine Pharmacology, the Second Affiliated Hospital of Liaoning University of Traditional Chinese Medicine, Shenyang 110034, Liaoning, China)

【Abstract】 Objective To explore the therapeutic effect of heparin sodium inositol nicotinate cream for mild frostbite model on rabbit skin, and the Irritation and Allergy Test of Repeated skin administration of heparin sodium inositol nicotinate cream on normal and broken skin of rabbits. **Methods** Thirty-six healthy white rabbits were randomly divided into blank control group, model control

基金项目: 高寒地域部队冻伤防治药物关键技术及制剂研究 (20WQ032)

作者单位: 110016 沈阳, 北部战区总医院药剂科 (崔亚玲、许子华、吴 琼); 110034 沈阳, 辽宁中医药大学附属第二医院中药药理实验室 (刘小虎)

通信作者: 吴 琼, E-mail: wuqiongbaby@126.com

group, the low-dose, medium-dose and high-dose heparin sodium inositol nicotinate cream group (0.14 g/kg, 0.28 g/kg, 0.56 g/kg) and heparin sodium cream group (0.14 g/kg), with 6 rabbits in each group. Except the blank control group, rabbit skin frostbite models were prepared in

other groups: A gauze ball with a diameter of 3 cm was soaked with liquid nitrogen (to a degree of saturation), and it was pressed tightly on the rabbit in the experimental group to cause a skin mild frostbite model with a diameter of 3 cm. Rabbits in each group were applied with low-dose, medium-dose and high-dose of heparin sodium inositol nicotinate cream to observe the appearance changes, swelling degree, survival area and pathological examination of the frozen area of rabbits as the observation index. Using the left and right self-comparison of the same body, the heparin sodium inositol nicotinate cream was applied to normal skin and damaged skin several times and then the skin irritation test was performed. **Results** On the 14th day after frostbite, the color of frostbite surface, hair growth and scab gradually healed in the low-dose, medium-dose and high-dose heparin sodium inositol nicotinate cream groups were normal, and the skin healing rates were $(67.45 \pm 8.73)\%$, $(65.65 \pm 8.18)\%$ and $(81.66 \pm 3.66)\%$, respectively. Compared with model group, the hematocrit, erythrocyte aggregation index, monocyte ratio and eosinophil ratio were significantly increased in medium dose group and high dose heparin sodium inositol nicotinate cream group, respectively. The heparin sodium inositol nicotinate cream significantly reduced the area of local tissue ulcer and granulation tissue in the early stage of frostbite and significantly reduced the degree of inflammatory cells in local tissues at the initial stage of frostbite. The rabbit normal skin group was exposed to heparin sodium inositol nicotinate cream for many times and no abnormal reaction was observed at different times. In the damaged skin group of white rabbits, there was no irritation after repeated exposure to heparin sodium inositol niacin cream at low and medium doses, but mild irritation after exposure to heparin sodium inositol niacin cream at high doses (0.28 g/kg). **Conclusion** Heparin sodium inositol nicotinate cream has a good effect on the treatment of white rabbit skin frostbite, and it is safe for normal skin topical application, and has a mild stimulative effect on damaged skin with high dose topical application, so the dosage should be controlled as appropriate.

[Key words] heparin sodium inositol nicotinate cream; mild frostbite; skin irritation test

0 引言

冻伤是指机体受到寒冷刺激而表现出的局部组织病理结构的改变,机体长时间在低温环境中,能够导致皮肤和肌肉血管极度收缩、血流缓慢、动脉搏动减弱,进而损伤神经,出现神经紊乱、意识模糊、周身疼痛,活动能力、身体协调性下降,出现共济失调的症状^[1-2]。冻伤是我国的东北高寒地区或从事低温作业人员的常见急症,尤其是局部冻伤最为常见,通常在执行任务的部队中成批发生,造成非战斗减员增加,严重削弱部队战斗力。冻伤根据临床损伤程度分为Ⅳ度,Ⅰ~Ⅱ度为轻度冻伤,主要损伤皮肤、肌肉,Ⅲ~Ⅳ度为重度冻伤,主要损伤肌肉和骨^[3-6]。有研究结果表明,冻结性冻伤是一种免疫复合物相关性疾病,冻伤导致大量免疫复合物生成并且沉积于局部血管壁基底膜或组织间隙,通过激活补体、血小板及其他细胞,造成沉积部位的一系列炎症性变化^[7]。肝素钠肌醇烟酸酯乳膏由肝素钠和肌醇烟酸酯组成,肝素钠具有抗凝作用,而肌醇烟酸酯是周围血管扩张剂,两者配伍联合用药,对提高机体冷刺激耐受力具有一定协同作用。本文对肝素钠肌醇烟酸酯乳膏对兔皮肤轻度冻伤的治疗作用和刺激性进行了研究,以期为临床应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料 日本大耳白兔,普通级,雌雄各半,体重 1.5~2.0 kg,由青岛康大生物科技有限公司提供,许可证号:SCXK(鲁)20122005。实验环境:温度 20~23℃,湿度 40%~60%,通风良好。动物实验伦理号:21000092016008。肝素钠肌醇烟酸酯乳膏,由北部战区总医院提供,批号:201508063,规格:每支 20 g;肝素钠乳膏,由山东博士化福瑞达制药有限公司生产,批号:150624031,规格:每支 20 g;赋型剂,肝素钠肌醇烟酸酯乳膏基质,由北部战区总医院提供,批号:201508062,规格:每支 20 g。PBY-N6 Compact 全自动血液流变仪,北京普利生食品有限公司生产。CA1500 全自动凝血分析仪,SYSMEX 生产。XN-1000 全自动模块式血液液体分析仪,SYSMEX 生产。FLPI2-MOOR 激光散斑成像系统,MOOR 生产。MOORVMS-OXY 激光多普勒血流监测系统,MOOR 生产。

1.2 方法

1.2.1 肝素钠肌醇烟酸酯乳膏治疗兔皮肤冻伤

选取体重 1.5~2.0 kg 健康白兔 36 只,雌雄各半。按照体重排序,按随机数字表法随机分成空白对照组、模型对照组、肝素钠肌醇烟酸酯乳膏低、中、高剂量组(0.14 g/kg、0.28 g/kg、0.56 g/kg),肝素钠乳膏组(0.14 g/kg),共 6 组,每组 6 只,单笼饲养。

兔皮肤冻伤模型的制备:采用 20%乌拉坦麻醉,除空白对照组外,其余各组白兔剪去背部两侧实验部位被毛,用纱布蘸取 10%硫化钠溶液均匀涂抹于实验部位,2~3 min 后待被毛溶解成糊状,立即擦去。即刻用温水彻底洗净使皮肤裸露,备用。将直径 3 cm 的纱布团沾满液氮(成饱和程度),将其贴紧兔背部实验部位 30 s,造成一个直径 3 cm 的皮肤冻伤模型^[8](I 度冻伤:伤及表皮,皮肤局部红肿、充血,症状在暖和时缓慢消失,表皮脱落,水肿消退,不留瘢痕)。造模后,造模部位局部有充血、水肿和水疱形成,水疱液为浆液性或淡血性、水疱基底呈鲜红色且潮湿,皮温较高,吻合度 $\geq 90\%$ 即为造模成功。各组白兔于造模后第 2 天按剂量给药治疗。模型对照组涂赋型剂,每日 1 次;肝素钠乳膏组涂阳性对照药肝素钠乳膏,每日 1 次;低、中、高剂量组每日分别给药 1 次、2 次、4 次,连续给药 14 d。根据《中药外用药理实验技术规范(草案)》^[9],各组在给药前以温等渗盐水清洗给药部位,后采取外用棉签点涂法给药。造模成功后第 15 天进行病理指标、血液指标的采样,采样前禁食 12 h。每天观察并记录兔冻伤皮肤的恢复情况^[10-12]。开始给药后,每天观察冻伤皮肤的触感、厚度、结痂、皱缩变形等情况并做好记录,根据局部皮肤表现情况采取等级半定量积分法计算皮损恢复愈合率。末次给药后 1 h,耳缘静脉取血,检测血常规、血液生化学指标、凝血酶指标等指标。

病理学检查:用 10%甲醛溶液对冻伤部位组织进行固定,石蜡包埋,切片,HE 染色,于光学显微镜下进行病理观察和病理评分。病理评分标准:(1)炎细胞浸润程度:①皮下基本正常,记为(-),记 0 分;②皮下轻度充血水肿,少量炎性细胞浸润,记为(+),记 1 分;③皮下中度充血水肿,较多炎性细胞浸润,记为(++),记 2 分;④皮下重度充血水肿,大量炎性细胞浸润或有脓肿形成,记为(+++),记 3 分。(2)溃疡程度:①无溃疡,记为(-),记 0 分;②出现一个溃疡,溃疡面积相对较小,记为(+),记 1 分;③出现一个溃疡,溃疡面积相对较大,记为(++),记 2 分;④出现两个以上溃疡,记为(+++),记 3 分。(3)肉芽组织形成:①无肉芽组织形成,记为(-),记 0 分;②肉芽组织面积相对较小,记为(+),记 1 分;③肉芽组织面积相对适中,记为(++),记 2 分;④肉芽组织面积相对较大,记为(+++),记 3 分。

1.2.2 肝素钠肌醇烟酸酯乳膏对兔皮肤刺激性试验研究 取白兔 24 只,雌雄各半,实验前将兔适应性饲养 1 周,按照体重排序,按随机数字表法分成正常皮肤肝素钠肌醇烟酸酯乳膏低(0.07 g/kg)、中(0.14 g/kg)、高(0.28 g/kg)剂量组和破损皮肤乳膏低(0.07 g/kg)、中(0.14 g/kg)、高(0.28 g/kg)剂量组,共 6 组,每组 4 只,雌雄各半。采用赋形剂作对照,同体左右侧自身对比法。试验前 24 h 对给药区(背部)进行脱毛处理(范围左、右各 3 cm×3 cm),如皮肤有损伤则不宜进行试验。进行破损皮肤试验时,涂药部位用针头划井字,皮肤破损程度以损伤表皮层为限,左右两侧皮肤的破损程度应基本一致^[13]。各组动物均在左侧去毛的皮肤上涂抹相应剂量的受试药肝素钠肌醇烟酸酯乳膏,右侧涂抹赋形剂做对照。保持药物停留时间 4 h。涂药结束后用等渗盐水清洁给药部位。每次给药时间相同,连续在同一部位涂药 7 d。每天去除药物后 1 h 以及次日涂抹前观察及记录红斑及水肿程度,并按皮肤刺激反应评分标准打分^[13]。同时观察涂抹部位是否有色素沉着、出血点、皮肤粗糙等情况及其发生时间及消退时间。末次涂抹后,在去除药物后 24 h、48 h、72 h 肉眼观察并记录涂抹部位有无红斑和水肿等情况。计算每一观察时间点各组积分均值,计算观察期限内每天每只动物刺激积分均值,按皮肤刺激强度评价标准^[13]对肝素钠肌醇烟酸酯乳膏进行刺激性评价。

1.3 统计学分析 应用 SPSS 19.0 统计软件进行数据分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示。对数据进行正态性检验和方差齐性检验,如都满足,则进行单因素方差分析,LS D 法行组间差异比较;若单组数据不符合组内正态分布或方差齐性,则对相关数据进行 Mann-Whitney 检验。以 $P\leq 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 兔冻伤皮肤外观 冻伤造模后观察发现皮肤发白,随后慢慢变红。1 d 后观察冻伤面出现颜色发红、水肿。4~9 d 后模型对照组颜色无明显变化,部分水肿情况加重,肝素钠肌醇烟酸酯乳膏各给药组及肝素钠乳膏组冻伤面颜色开始变浅,水肿情况改善,创面结痂,开始出现毛发生长现象。14 d 后,肝素钠乳膏组颜色有所改善,轻微水肿,而肝素钠肌醇烟酸酯乳膏各给药组颜色趋于正常,结痂逐渐愈合,毛发生长趋于正常。见图 1。

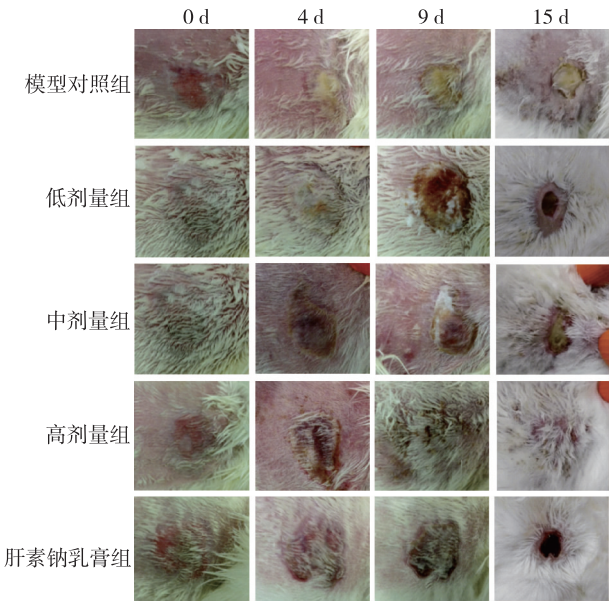
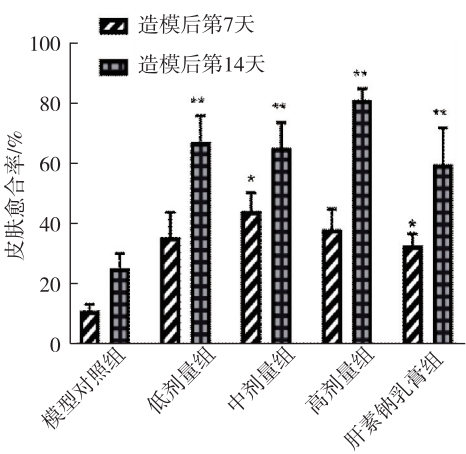


图 1 各组冻伤造模兔冻伤皮肤的恢复情况

对皮损恢复愈合率结果进行分析,伤后第 7 天,低、中、高剂量组和肝素钠乳膏组皮肤愈合率分别为 $(35.83 \pm 2.08)\%$ 、 $(44.58 \pm 8.27)\%$ 、 $(38.42 \pm 6.76)\%$ 、 $(32.96 \pm 4.00)\%$ 。对伤后第 14 天结果观察,低、中、高剂量组和肝素钠乳膏组皮肤愈合率分别为 $(67.45 \pm 8.73)\%$ 、 $(65.65 \pm 8.18)\%$ 、 $(81.66 \pm 3.66)\%$ 、 $(60.05 \pm 12.16)\%$ 。造模 7 d 后,肝素钠肌醇烟酸酯乳膏中剂量组和肝素钠乳膏组皮肤愈合率与模型对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$);造模 14 d 后,各给药组的愈合率与模型对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.01$)。说明肝素钠肌醇烟酸酯乳膏有较强的促进轻度冻伤兔皮肤创面愈合作用,加速兔皮肤轻度冻伤的治愈。见图 2。



与模型对照组比较, * $P < 0.05$ 、* * $P < 0.01$

图 2 各组兔皮肤愈合率结果

2.2 血液学指标的检测与分析 肝素钠肌醇烟酸酯乳膏对白兔实验性冻伤模型血常规的结果表明,模型对照组与空白对照组比较,白细胞计数、淋巴细胞比率、中性粒细胞比率有明显改变($P < 0.01$);肝素钠肌醇烟酸酯乳膏中剂量组单核细胞比率与模型对照组比较有较明显改变($P < 0.05$);肝素钠肌醇烟酸酯乳膏高剂量组与模型对照组比较嗜酸性粒细胞比率有明显改变($P < 0.01$)。见表 1。

肝素钠肌醇烟酸酯乳膏对白兔实验性冻伤模型血液生化指标的结果表明,模型对照组与空白对照组比较,血液生化指标全血粘度低切、全血粘度中切、全血粘度高切、红细胞压积、红细胞聚集指数有明显改变($P < 0.01$);肝素钠肌醇烟酸酯乳膏中剂量和高剂量组与模型对照组比较,可使红细胞压积和红细胞聚集指数明显升高($P < 0.01$)。见表 2。

表 1 肝素钠肌醇烟酸酯乳膏对白兔实验性冻伤模型血常规的影响($\bar{x} \pm s$)

组别	n	白细胞计数 ($\times 10^9/L$)	淋巴细胞 比率(%)	单核细胞 比率(%)	中性粒细胞 比率(%)	嗜酸性粒细胞 比率(%)	嗜碱性粒细 胞比率(%)	血小板计数 ($\times 10^9/L$)	平均血小板 体积(fL)	血小板 压积(%)	血小板体积 分布宽度(fL)
空白对照组	6	6.69 \pm 1.18	46.9 \pm 9.47	7.13 \pm 3.27	48.83 \pm 7.68	0 \pm 0	2.13 \pm 1.27	394.17 \pm 80.30	7.07 \pm 0.16	0.28 \pm 0.06	6.58 \pm 0.28
模型对照组	6	16.30 \pm 7.39*	26.98 \pm 6.92*	9.75 \pm 3.42	62.32 \pm 6.14*	0.04 \pm 0.34	0.93 \pm 0.51	475.67 \pm 146.45	7.32 \pm 0.25	0.35 \pm 0.10	6.92 \pm 0.59
乳膏低剂量组	6	13.77 \pm 5.83	33.12 \pm 6.27	9.90 \pm 3.82	55.87 \pm 5.55	0.02 \pm 0.04	1.10 \pm 0.83	386.83 \pm 140.44	7.07 \pm 0.26	0.27 \pm 0.10	6.68 \pm 0.36
乳膏中剂量组	6	16.39 \pm 6.85	26.85 \pm 9.89	14.43 \pm 2.55 [#]	57.37 \pm 9.36	0 \pm 0	1.35 \pm 0.81	606.00 \pm 301.54	7.22 \pm 0.30	0.44 \pm 0.22	7.02 \pm 0.58
乳膏高剂量组	6	10.74 \pm 3.98	28.03 \pm 3.76	7.53 \pm 4.68	65.42 \pm 3.60	8.48 \pm 0.42 ^{##}	0.97 \pm 0.46	468.33 \pm 201.07	7.33 \pm 0.62	0.34 \pm 0.15	6.87 \pm 0.69
肝素钠乳膏组	6	10.96 \pm 5.19	29.83 \pm 14.62	11.85 \pm 7.70	56.72 \pm 9.74	8.48 \pm 0.42 ^{##}	1.6 \pm 0.91	427.17 \pm 138.44	7.22 \pm 0.49	0.31 \pm 0.10	6.92 \pm 0.64

与空白对照组比较,* $P < 0.01$;与模型对照组比较,[#] $P < 0.05$ 、^{##} $P < 0.01$

表 2 肝素钠肌醇烟酸酯乳膏对白兔实验性冻伤模型血液生化指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	全血粘度 低切 (mpa. s)	全血粘度 中切 (mpa. s)	全血粘度 高切 (mpa. s)	血沉 (mm/H)	红细胞 压积 (%)	红细胞 聚集指数
空白对照组	6	6.17±0.30	3.55±0.16	3.07±0.20	1.50±0.84	45.67±1.86	2.02±0.13
模型对照组	6	7.74±0.84 [*]	4.22±0.26 [*]	3.49±0.24 [*]	1.17±0.28	3.08±0.07 [*]	0.11±0.02 [*]
乳膏低剂量组	6	0.28±0.15 [#]	0.08±0.11 [#]	0.18±0.70 [#]	7.85±0.23 [#]	2.06±0.56	0.12±0.05
乳膏中剂量组	6	7.14±1.82	4.29±0.92	3.63±0.84	12.67±14.96	8.67±2.56 [#]	1.96±0.10 [#]
乳膏高剂量组	6	8.67±3.01	4.75±0.85	3.92±0.52	3.00±1.58 [#]	45.00±3.08 [#]	2.18±0.49 [#]
肝素钠乳膏组	6	6.67±1.33	3.89±0.47	3.28±0.39	4.40±5.41	42.4±2.07 [#]	2.02±0.18 [#]

与空白对照组比较,* $P<0.01$;与模型对照组比较,# $P<0.01$

肝素钠肌醇烟酸酯乳膏对白兔实验性冻伤模型凝血酶指标的结果表明,造模 14 d 后,模型对照组与空白对照组比较,凝血酶时间有较明显升高($P<0.05$);凝血酶原时间和纤维蛋白原与空白对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$);其余各剂量组与模型对照组比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 3 肝素钠肌醇烟酸酯乳膏对白兔实验性冻伤模型凝血酶指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	凝血酶原 时间(s)	凝血酶 时间(s)	纤维蛋 白原(g/L)
空白对照组	6	7.80±0.39	17.35±2.27	3.85±1.33
模型对照组	6	7.62±0.46	21.62±1.62 [*]	5.11±0.92
乳膏低剂量组	6	7.98±0.66	22.37±3.68	5.59±0.35
乳膏中剂量组	6	7.60±0.47	23.03±2.94	5.34±0.38
乳膏高剂量组	6	7.68±0.43	21.80±1.36	5.34±0.89
肝素钠乳膏组	6	7.75±0.33	20.82±1.86	4.70±1.14

与空白对照组比较, * $P < 0.05$

2.3 肝素钠肌醇烟酸酯乳膏对白兔实验性冻伤模型病理指标的影响

造模 14 d 后,模型对照组与空白对照组比较,炎细胞浸润程度和肉芽组织面积有明显改变($P<0.01$),溃疡程度有较明显改变($P<0.05$),说明造模成功。肝素钠低剂量组溃疡程度与模型对照组比较有较明显改变($P<0.05$),肉芽组织面积与模型对照组比较有明显改变($P<0.01$);肝素钠中剂量组炎细胞浸润程度与模型对照组比较有明显改变($P<0.01$),溃疡程度与模型对照组比较有较明显改变($P<0.05$)。见表 4。

表 4 肝素钠肌醇烟酸酯乳膏对白兔实验性冻伤模型病理指标的影响 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	炎细胞浸润程度	溃疡程度	肉芽组织面积
空白对照组	6	1.17±0.41	0.33±0.82	0.17±0.41
模型对照组	6	2.33±0.52 ^{* *}	2.00±1.26 [*]	2.83±0.41 ^{**}
乳膏低剂量组	6	2.17±0.98	0.50±0.84 [#]	1.00±1.10 ^{##}
乳膏中剂量组	6	1.33±0.52 ^{##}	0.67±0.82 [#]	1.50±1.64
乳膏高剂量组	6	1.50±0.84	0.83±0.98	1.67±1.37
肝素钠乳膏组	6	1.33±0.82 [#]	0.17±0.41 ^{##}	0.17±0.41 ^{##}

与空白对照组比较,* $P<0.05$ 、** $P<0.01$;与模型对照组比较,# $P<0.05$ 、## $P<0.01$

2.4 皮肤刺激性试验结果 兔正常皮肤的刺激性试验结果显示,肝素钠肌醇烟酸酯乳膏低、中、高剂量及赋形剂多次给药对白兔正常皮肤各时间点均未见局部红斑、水肿、色素沉着、出血点及皮肤粗糙等情况,表明肝素钠肌醇烟酸酯乳膏及赋形剂对白兔正常皮肤无刺激作用(0分)。兔破损皮肤的刺激性试验结果显示,肝素钠肌醇烟酸酯乳膏高剂量多次给药对白兔破损皮肤,在给药第3天起出现红斑现象,末次涂药72 h后逐渐恢复,评分结果说明高剂量肝素钠肌醇烟酸酯乳膏对白兔破损皮肤有轻度刺激作用(0~2.75分),而肝素钠肌醇烟酸酯乳膏低剂量、中剂量及赋形剂均未发现对白兔破损皮肤有刺激作用(0~0.25分)。由此可知,低、中、高剂量肝素钠肌醇烟酸酯乳膏多次给药对于白兔正常皮肤无刺激性作用,而对于白兔破损皮肤,高剂量(0.28 g/kg)有轻度刺激作用。见表5。

表5 肝素钠肌醇烟酸酯乳膏高剂量给药后白兔皮肤刺激反应评分($n=4$)[illegible]

3 讨 论

冻伤是机体的一部分组织因寒冷侵袭而出现局部损伤的症候群。部分组织出现血液循环障碍,造成皮肤和肌组织的充血、水肿、坏死甚至形成坏疽,从而发生比较严重的局部或全身损伤^[14]。冻伤分为四个等级:I 度冻伤伤及表皮,皮肤局部红肿、充血,症状在暖和时缓慢消失,表皮脱落,水肿消退,不留瘢痕。II 度冻伤伤及真皮,皮肤局部明显充血、水肿,12~24 h 内形成水疱,疱液呈血清样,水疱在 2~3 周内干燥结疤,以后脱痂愈合,可有轻度瘢痕形成。III~IV 度为重度冻伤,主要损伤全层皮肤、皮下组织、肌肉和骨骼^[15]。冻伤初期血小板数增加,聚集率增高,局部组织出现短时充血,红肿,血流加速^[16]。

肝素钠能干扰血凝过程中的许多环节,阻止血小板凝集和破坏,妨碍凝血激活酶的形成;阻止凝血酶原变为凝血酶;抑制凝血酶,从而妨碍纤维蛋白原变成纤维蛋白。肌醇烟酸酯,是一种温和的周围血管扩张剂,解除血管痉挛,改善末梢血管循环,可选择性地使寒冷刺激的病变部位和敏感部位的血管扩张。肝素钠和肌醇烟酸酯配伍联合用药能够使白兔冻伤面皮肤颜色趋于正常,毛发生长趋于正常,结痂逐渐愈合,大大提高皮肤愈合率,亦能明显减轻白兔实验性冻伤模型的溃疡程度、肉芽组织面积和炎细胞浸润程度。因冻伤的组织血流不畅,肝素钠长期或过量使用会导致皮肤过敏、系统性凝血功能降低,反而容易形成血肿、血栓,这可能是抗凝血酶 III(AT-III)局部耗竭所致,两药合用,肌醇烟酸酯改善末梢血管循环机制,不但增效,还能因血管扩张缓解长期单纯使用肝素钠易导致的局部血肿血栓形成和皮肤刺激,有效降低系统性凝血功能低下的副作用,两者合用具有相辅相成的效果,但对于白兔破损皮肤,高剂量(0.28 g/kg)用药有轻度的刺激作用,故用药时应酌情控制用量。

【参考文献】

[1] 王 鹏,李 剑. 不同程度大鼠冻伤模型的构建[J]. 中国组

织工程研究与临床康复, 2010, 14(16): 8608-8611.

- [2] 杨成君,吕 薇,尹旭辉,等. I~IV 度冻伤组织病理结构的变化[J]. 工业卫生与职业病, 2003, 29(2): 81-83.
- [3] 冯逸飞,王伟忠,谭 兴,等. 极地寒区户外作业人员冻伤防治策略的研究进展[J]. 职业与健康, 2019, 35(17): 2446-2448.
- [4] 暴 龙,朱 清,殷智颖,等. 某部边防巡诊医疗队高原寒区救治批量冻伤的措施及体会[J]. 东南国防医药, 2018, 20(3): 331-334.
- [5] 苗志远,艾宏伟,高 超,等. 复方花芪防冻霜对兔耳 II 度冻伤治疗作用的初步研究[J]. 成都中医药大学学报, 2013, 36(4): 15-17.
- [6] 韩 晋,周 旭,袁海龙,等. 复方灵芝乳膏对兔耳轻(II)度冻伤治疗作用的初步研究[J]. 中国药学杂志, 2012, 47(9): 689-692.
- [7] Glennie JS, Milner R. Non-freezing cold injury[J]. J R Nav Med Serv, 2014, 100(3): 268-271.
- [8] 李兆翌,谭 丽,黄 真,等. 冻伤模型及冻伤机制的研究进展[J]. 海峡药学, 2010, 22(8): 40-41.
- [9] 苗明三,白 明. 中药外用药理实验技术规范(草案)[J]. 中药药理与临床, 2014, 30(4): 128-131.
- [10] 周慧英,薛智谋,周正宇,等. 兔冻伤模型的建立[J]. 上海实验动物科学, 2003, 23(1): 51-52.
- [11] 刘 璟,迪里夏提,尹东峰,等. 自制冻伤软膏治疗兔冻伤的病理观察[J]. 药学服务与研究, 2012, 12(1): 38-40.
- [12] 梁 卫,董国刚,刘 梅,等. 创伤生肌水凝胶对动物皮肤创伤的愈合作用[J]. 东南国防医药, 2021, 23(2): 117-121.
- [13] 国家食品药品监督管理局,《化学药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则》课题研究组. 化学药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则[M]. 2014.
- [14] 董昌金,董 聪,李刚华,等. 专利药物“皮肤修复生态乳剂”对冻伤的疗效研究[J]. 湖北师范大学学报, 2018, 38(4): 1-4.
- [15] 张 永,刘 宇,薛晓东,等. 寒区局部冻伤流行病学研究[J]. 临床军医杂志, 2019, 47(1): 50-52.
- [16] 焦明克,楼 林,胡 劼,等. 普通冻伤与高原冻伤血液微循环恢复的差异[J]. 解放军医学杂志, 2017, 42(1): 66-69.

(收稿日期:2021-02-01; 修回日期:2021-04-28)

(责任编辑:叶华珍; 英文编辑:朱一超)