

· 专题讲座 ·

大面积深度烧伤原位干细胞皮肤培植 技术及系统治疗

中国烧伤创疡科技中心主任 徐荣祥
中国中西医结合学会烧伤专业委员会主任委员

【编者按】在国家卫生部首批十年百项重大医药科技成果——烧伤湿润暴露疗法/湿润烧伤膏(MEBT/MEBO)向全国推广普及十周年之际,该项技术发明人徐荣祥教授于2000年8月8日公布了位于世界前沿的最新科技成果——原位干细胞培植再生修复烧伤创面技术,实现了深Ⅱ度烧伤创面生理性再生修复,浅Ⅲ度烧伤创面自行修复愈合,从而使深度烧伤治疗进入了细胞生命科学的皮肤再生新阶段。这一重大成果的问世,引起了国际医学界的极大关注,也使烧伤湿性医疗技术推广普及、临床应用及基础研究提高到了一个新水平。为了更加深入落实卫生部推广普及 MEBT/MEBO 计划,让全国各级医院烧伤专业的医生迅速掌握这项新技术,中国烧伤创疡科技中心、中国中西医结合学会烧伤专业委员会、中国烧伤创疡杂志社,于2000年11月29日至30日在京联合举办了“2000年大面积深度烧伤创面愈合及系统治疗高级学术研讨会”,由徐荣祥教授主讲。徐教授的报告共分九大部分,经编辑部组织有关人员根据录音进行全面整理后,现发表如下:

一、烧伤愈合的前沿科学问题

烧伤愈合存在两种形式,尤其是深度烧伤,一种是生理性愈合,一种是非生理性愈合。所谓生理性愈合是指烧伤组织细胞按伤前正常的形态、结构和功能进行复制,达到无瘢痕修复愈合,也称为再生。非生理性愈合也称病理性愈合,烧伤组织细胞的形态、结构和功能没有恢复正常,为瘢痕性修复。烧伤创面生理性愈合属世界前沿科学研究项目,我们大家为此默默无闻地工作十余年,并取得了重要的研究成果。8月8日我们召开了新闻发布会,美国的NIH干细胞世界新闻网马上在头条新闻中就报道了这条消息,这个成就在世界上引起了非常大的反响。

当人们在剖析干细胞、培养干细胞进行探索的时候,中国人却在修复过程中的创面上找到了干细胞。关于干细胞的寻找,在1998年托马斯的文章中曾这样写道:“从胚囊开始可以在内细胞群发现全能性的胚胎干细胞;从开始形成器官以前到形成器官的胚胎中能找到多功能干细胞。”然而我们却在创面上找到了这种多能干细胞。从胚胎里找到干细胞,已被视为世界科学的最前沿。我们从烧伤创面上找到了干细胞,无论从寻找的途径和方法来讲,还是从现在科学发展的角度来讲,我们的这一发现已是不可争议的属科学最前沿了。我们在报纸上所看到的和新闻网上经常宣传的那些都是体外培养的干细胞,而且大都是动物实验,距人体应用还有相当大的距离。在体外培养皮肤细胞用于烧伤治疗,国外一直走在前面。那么体外培植皮肤表皮和真皮治疗烧伤,是个什么样的成果呢,下面可通过幻灯片向大家介绍一下,以了解所谓的世界前沿水平。

然而,我们采用的是在原位皮肤创面上土生土长的皮肤再生,从设计上就一步跨到了他们的结果水平上。这个结果使得干细胞研究专家们感到他们落后了。在国外考察后发现,他们很多的研究工作尚处于实验研究阶段,有些报道甚至是在想象推测阶段,因为目前还没有很好的办法区别干细胞。唯一世界公认的是,具有持续分裂再生能力的细胞是干细胞。

《科技日报》记者阎新华采访我后写出的报道已总括了全局,不需要再查看其他参考资料,只要读好那篇报道,对干细胞的认识应当说已很清楚了,走到哪里说话都是内行。因为这是最前沿科学,1998年才开始进入系统研究的。干细胞这个名词早在40年代就提出来了,现在的研究多数是围绕着造血干细胞来进行的,但目前发展最快的却是围绕着烧伤领域的研究,而且源于中国。因此我国烧伤的研究和治疗要走在世界万方数据

最前沿。

美国食品与药品管理局(FDA)2000年8月正式规定,烧伤和溃疡创面的治疗效果以皮肤愈合质量为准,同时强调创面用药必须保持创面湿润。从这点上讲,他们对西方传统疗法存在缺陷的认识早于中国的某些传统外科疗法学者。对烧伤创面的处理我们并不反对外科技术,我们也属外科。多年来,不论是学术会议交流还是杂志发表的论文,我们一直着重强调的是对深Ⅱ烧伤的治疗,而Ⅲ度烧伤还在进一步研究中。从去年开始我们才公布Ⅲ度创面的研究成果,但还没有形成常规。Ⅲ度烧伤创面的再生修复治疗要形成常规,还需要进一步试验。但就深Ⅱ度而言,现在我们所使用的技术也是现代科学家、医学家们所向往要学到的技术。如法国专家们讲,我们只要学会你们的深Ⅱ度创面治疗技术,就可以在欧洲全面实施了。

说到促进烧伤创面愈合,人们自然要联想到生长因子,如各种细胞生长因子。细胞生长因子固然具有促进创面愈合的作用,但这是西方医学的思路,虽然也相继传入东方乃至我国。单纯外用生长因子不具备生理愈合的基本条件。我们知道,细胞生长因子源于吞噬细胞,也可产生于纤维细胞和中性粒细胞,或者说它是由组织细胞产生的。组织细胞是要参与愈合过程的,它的功能根据体液的条件和创面的需要而产生。就创面愈合而言,不是由几个、几十个因子决定的,而是无数个生命细胞所决定的。因子不是生命,生命是细胞,因子来源于细胞,也只有通过作用于细胞才能产生作用。一个组织是多细胞的组织,而不是单细胞的。东方人的思路与西方人有根本的不同。细胞与细胞之间如何对话,目前还有许多解不开的秘密,还有许多打不开的锁,秘密解开了,生命的锁也就打开了。比如,为什么卵子和精子结合生成人,直到现在谁也说不清楚。我们要研究的是生命体。干细胞的研究已经成为生命科学的前沿,因为人们看到了机械的研究方法不能解决现实问题,只能作为辅助的手段。要使生命科学发生革命,要使21世纪科学能真正促进生命科学的进步,现在公认的就是干细胞体系的研究,所以大家称其为“生命的新希望”。可惜,目前在干细胞体系上没有一个很好的模型,只有一个模型就是胚胎组织,但是在西方国家又产生了伦理道德问题、政治问题等影响它的发展,加上他们的思路也有问题,所以在深度烧伤创面愈合方面永远脱离不了外科的模式。

预计西方要在二十年以后才能转变到我们的模式上来,因为他们舍不得丢弃现在的模式。最近在洛杉矶召开的烧伤整形外科会议上,他们的基础研究已经研究了从人体的脂肪细胞变为干细胞,以至于长成皮肤组织。他们研究的目的是为了填充皮下组织,达到美容的效果。这恰恰和我们的原位细胞培植相吻合。脂肪细胞变为皮肤细胞,大家觉得不可能。其实我们可以回顾一下自己的临床实践,我们经常可以看到这样的情况,明明是在脂肪组织创面生长出了好皮肤,但却不敢相信。人体任何组织都有干细胞的存在,可以再生,这是人的本能。今天,我们前进了一步,发现了皮肤器官创伤愈合当中的修复和原位器官的再生。任何科学都要经过从开始发现到进一步深化的过程,如青霉素的发现创造了一个新的学术体系。烧伤治疗也是这样,我们从事的都是临床实验研究,得到并验证了一个结论,而这个结论就是人们所期盼的利用干细胞体系完成器官的修复和器官的再生。这是现代科学前沿研究的结果。我们是一步跨到这个水平的。我们相信,通过烧伤医学研究体系的发展,它将带动一个时代医学的革命。希望我们大家共同把这些工作做好。我们在创面愈合领域上,在溃疡领域上都会大有作为的。比如胃溃疡的发病机制和再生修复原理和我们研究的皮肤创疡是有许多共性的,不存在根本差异。目前走在世界医学领域前沿的是烧伤医学,皮肤是人体的最大器官,体外器官培植成功的是皮肤。但我们却发现了原位再生的新概念,我们比西方先进的地方在于:在原有的烧伤创面上直接培植出新的皮肤。这是西方人所没有想到的。

二、烧伤皮肤再生技术

今天重点讨论的内容是皮肤再生技术。这是我们临床上通用的技术。皮肤能不能再生,再生的概念是什么,所谓再生就是组织细胞重新生长。这是一句俗话,但是从理论的基本概念上说,应该是组织细胞按原来的方式、原来的形态、原来的结构、原来的功能复制。创面愈合未必都是再生,只有生理愈合才是再生,大家要明确这个新名词。将来可能不断的出现好多新名词,用起来要注意。皮肤再生不应该是瘢痕愈合,皮肤愈合出现瘢痕就不是再生。说愈合这个概念,咱们早就讲过,有病理性的和生理性的。在适宜条件治疗下,创面愈合按伤前原来正常的模式进行,也就是自身的组织重建,那就不是病理性的,那是组织生理性修复过程,即再生愈

合过程的程序是生理性的。如果愈合过程是病理性的,就叫病理性愈合。我们治疗的烧伤皮肤愈合属生理性愈合,而不是病理性愈合。所以在此以前我们要接受干细胞知识。大家要了解,干细胞的初始概念叫原始的未分化的细胞,以后又改称具有持续增殖能力的细胞。那么有人说这个概念也不对,癌细胞不也是持续增殖吗,但那是未成熟的细胞。具有持续增殖能力的正常的细胞才是干细胞。骨髓的造血细胞是一种骨髓干细胞,因为它持续的产生血液细胞。成人的皮肤干细胞来自表皮基底层,人的表皮细胞不断从基底产生,持续增殖,表皮干细胞有很多类型,我们所研究的是 19 型,它是胚胎时期的皮肤上皮细胞,具有胚胎功能的细胞。所以,我们从烧伤创面组织中找到了含有 19 型角蛋白的细胞,那就是具有胚胎功能的皮肤干细胞。

干细胞具有在培养下定期分化并产生专门细胞的能力。在正常人体发育环境中,它们得到了最好的诠释。人体的发生起始于精子使卵子受精,产生一种具有形成完整有机体的单细胞受精卵。这种受精卵是全能性的,即它的潜能是完全的。受精后的最初几个小时内,这个细胞分化为完全相同的全能细胞。约在受精后的 4 天,细胞分化经过几个循环之后,这些全能细胞开始专门化,形成一个细胞群,称之为胚囊。胚囊含有一个细胞外层,其内为中空球形,含有一细胞丛,称为内细胞群。单个的内细胞群细胞能形成人体内所能发现的每一种类型细胞,但不能形成一个生物个体。即这种内细胞群细胞是多能性的,它能产生许多类型的细胞。我们在讨论烧伤生理性愈合时,就是要让成体细胞转化为干细胞,而后再用干细胞形成成体组织。这是我们的思路,要实现这个思路,不是在体外培养,而是在原位培植。这里包含两大特点,一个思路,要在成体细胞上下功夫。大家注意,要使成体细胞变为干细胞,而后再由干细胞形成所需要的组织细胞,这是个程序问题,不是体外培养。虽然国外在体外培养干细胞方面已有成功报告,但距临床应用还有相当大的距离。体外的条件大家知道,干细胞要求条件很高,环境条件也很高,而我们在原位。就是说在一个器官上拿出一个细胞来,通过对细胞的激活启动,这个细胞就成为一个干细胞,成为一个组织干细胞。组织干细胞具有持续分裂再生的能力。此时,采用环境条件来控制、诱导、调控、定向分化,使它成为不同的组织细胞。由单一干细胞变为不同的组织细胞,这就是原位干细胞的形成阶段。这是我们的主体思路,也是第一次公布。这个主体思路是根据我们实验结果,经多年研究总结出来的。

人体有很多干细胞可以形成组织干细胞,形成组织干细胞以后,每种干细胞要结合成一种新的组织,我们称作组织培植阶段。由多种干细胞形成干细胞组合群体的过程叫组织组合,这个新词是我们自己命名的。关于自体组合问题,等一会放一些病理图片,大家就会看到什么叫组织组合。在胚胎时期的组合,胚胎要逐步分裂形成多种组织器官,如鼻子、耳朵,开始是干细胞组合过程,后来就慢慢分开了。多种组织细胞组合成一个器官,都带有这种信息,这就是组织组合,也是人的发育成长过程。组织组合和干细胞的定向分化构成了原位干细胞的胚胎组合。这个过程,实际上也是个胚胎时期的过程。不过我们在创面上已经把这个过程印证了。但在胚胎上是各个器官形成的规律。所以我在 1997 年的报刊上仅发表了一些观点,当时没有全部发表,究竟是胚胎基,还是胚胎方式,仅把这个观点提供给大家。组织组合以后形成初步的组织结构,最后过度到原位修复上。原位修复需要一个过程,即成体细胞形成到组织组合结束就形成了一个成体的组织。以皮肤为例,那就是真皮和表皮形成。脂肪和皮下组织结合不是机械的粘合,完全是生理性的组合。等一会在回顾咱们的治疗过程时,请大家看看是怎么样组合的。

这些成体形成以后,完成了一个器官的复制修复。器官修复就是说原来的组织器官是直接从这个细胞开始的。真皮烧伤,深 II 度烧伤,它是胚胎干细胞的修复阶段,不需要从其它细胞转成组织干细胞再诱导分化成被修复的有关细胞,它是直接由残余的组织细胞提供物质基础,由原位同种组织、同种干细胞直接修复。所以深 II 度烧伤的治疗是一个同种干细胞的修复过程。深 II 度对我们来说,达到生理性愈合已不成问题。仅就深 II 度,应当说也完成了一项革命。以后我们在研究深度创面的时候,研究它为什么能长出皮来,研究它的生命过程,完成器官再造的过程。所以,这就形成了一个由组织转成为各种干细胞,最后形成新的器官,达到修复的目的,这是个大的程序图。这个思路很有价值,这也是第一次公布。我们从临床的每一个阶段,从我们的细胞资料和其它相关资料,都展示了这么一个过程。这个组织原位培植修复生产线是我们多年实践总结出来的,而不是现在设计的,如果是设计的就不值钱了,因此说它是无价之宝。综合起来,原位器官的培植有三大部分,一个是原位干细胞的形成部分,二是原位干细胞胚胎组合部分,三是最后形成器官部分。

万方数据

干细胞的形成需要控制,特别是早期控制。一个组织细胞变成干细胞有一种规律,它产生于人体组织破坏之后,是人体的一种自卫反应,并不是由谁来启动的。如胃肠炎,胃肠粘膜脱落后,重新长出新生粘膜来,没有破坏也就没有这种修复。烧伤也是如此。由此可见,这个信息是人体环境的破坏,造成了人体自身的启动。但是这种启动往往不能持续下去。从烧伤角度而言,只要一旦发生烧伤,渗出期一过,就有干细胞启动。究竟是谁启动了干细胞,现在还说不清楚,不过,在原位上人体就有这种本能。人体一旦患病,就有干细胞的启动,相信这个概念多少年后一定会得到印证。因为我们已在烧伤组织中证实了,这就是新的生命医学的开始。干细胞启动后如何维持,有个持续启动和刺激问题,我们认为有两个条件,一个是维持它的生命环境,一个是植物性的调控。维持生命环境的目的就是要求它按正常信息进行愈合,如果受到刺激启动以后,其环境条件不是生理性的,细胞没有办法恢复到人体的正常信息表达阶段。我们所创造的生理条件,首先要接受正常人体修复的综合刺激。植物性的调控就是受体的调控和基因的调控。细胞膜有非常多的受体,细胞要和外界发生对话,产生网络关系,完全靠细胞膜这个门户。他接触什么刺激,产生什么反应,细胞膜上的受体决定着它接受什么语言。所以说我们用仿生学的原理,用植物的信息条件,实现这种引导和定向分化。只有在维持生理的前提下,再加上这种植物的成分,才能调控着细胞继续分裂。如果没有这两大条件,就没有办法实现干细胞的再生。体外培养也是如此。外国人用了多种方法,并称在细胞膜上找到了某种物质,有多种因子再组合。但是它不能在人体形成原来正常的组织器官,就是因为体外环境不是人体的生理环境,而且也没有办法解决如排斥反应等许多问题。我们用在基因调配上的主要物质是磷酸盐,采用仿生学的方法,从植物里面找到这个类似人体基因的磷酸盐物质来调控它,从而实现了干细胞持续分裂。但是组织细胞成为干细胞,启动的绝对不是一种细胞,与胚胎干细胞一样,实际上就是个发现,发现后再找出它的规律。

三、MEBO 促进生理愈合的奥秘

关于 MEBO 的剂型作用,早在 1997 年“烧伤学科带头人高级学术研修班”上讲过,今天所讲的内容是在以往的基础上再深入一步,揭开 MEBO 促进烧伤创面生理性愈合的奥秘。正如前述,MEBO 是一种框架结构的软膏剂型,其主要成份之一是蜂蜡,蜂蜡本身具有促进创伤愈合作用。剂型中还含有油质,既保证药膏框架完整,又不破坏创面细菌生态平衡。我们最终选用了麻油,而花生油、豆油等都不具备这种作用。麻油的分子量相对地小,能溶解许多药物,橄榄油则不行,其它油也不行。MEBO 框架中每个框隔的空间为 19 微米,相当于一个菌体大小。若某种细菌坐落于其中,这种框架结构会限制其生长,加之 MEBO 中不含水分,则不具备细菌生长的基本环境。因此要特别强调,MEBO 中不能加水,水具有占位性,会破坏框架结构,同时会为细菌生长、繁殖创造条件。

深度烧伤创面欲实现生理性再生修复愈合,必须借助于 MEBO 的四大生物化学反应来实现,即水解反应、酶解反应、皂化反应和酸败反应。这四大反应只有在麻油的参与下才能完成。深度烧伤创面要实现生理性再生愈合,必须将烧伤坏死组织由表入里地液化排除。液化与感染是两个截然不同的概念,前者是将已经烧伤坏死的组织变为液态,最终排出体外;而后者是指正常组织发生变性坏死,最终成为脓性液体;或者说液化本身不存在感染问题,而化脓必定存在感染。为了排除烧伤坏死组织,人们已奋斗了一个世纪,但最终仍没有解决问题。然而我们发现,渗出多的部位液化反应发生最早、最快,说明液化必须要湿。这种湿不能靠加水来实现,因为加水后油质无法包绕坏死组织,故应设法将水引流出来。Ⅲ度烧伤组织为什么不容易液化,因为缺乏液体,所以要尽早实行耕耘疗法,使 MEBO 渗入深层,以尽快与间生态组织接触,缩小它们之间的距离,从而发挥其四大生化反应。由此可见,启动 MEBO 四大反应的先决条件是“湿”,而这种湿绝非是单纯的水,而是血浆样的液体。上述四大反应都包绕在油滴之内,在油滴中起反应,最终通过酯化反应排出体外。所谓酯化就是液体和外面的油液发生反应,由表入里进行。酯化完成后就不是油液了,而是由创面排出的乳化液成分。酯化反应向外排出,其穿透力为 1 mm 厚。这个厚度是根据它的比热度设计的,因为外面温度和液化产生的温度各是 38℃ 和 39℃ 时,比药膏溶解温度要高,药膏完全溶解的温度是 24℃。存在这样一个温差,加之液化物的分子量都很大,即发生排斥反应。所以,在外面涂用 MEBO 后很快转为白色,这是创面代谢变化的结果。而且标志深层细胞组织成活,只有成活组织才有渗出。我们不能把创面出现白色液化物误认为感染,前边已

经讲过了,液化与化脓是两个不同的概念,因为药膏中的油滴在液化条件下,可包绕毒素与细菌。所以在创面液化反应期不会发生脓毒症。

水解是最早启动的反应,如果创面早期用水浸泡,病人预后不佳,因为单纯的水解反应产物会被创面吸收。我们采用包绕的方法,里面的坏死组织颗粒、渗出物一旦被包绕,在适宜的温度下(高于 36.5℃)烧伤病人都有发热反应,温度越高液化反应越快,温度越低液化缓慢。水解的目的是把固体颗粒、细胞残体先打开缺口,因为细胞里面有一些变性固体颗粒,每一个细胞都有一些酶要释放出来,要激活酶反应,而不是细胞的溶酶体反应。水解反应之后,紧接着就发生酶解反应,使好多蛋白质和细胞的连接及细胞膜用这种酶切断。因为细胞已经坏死,不存在生命活动,完全是一种物质反应。此时,把一个大颗粒分解成多个小颗粒,将其包绕在内。所以说在发生局部反应时没有全身反应。发生反应以后,因为分子相互之间的失去电子和夺得电子的能力,完全处于一种分子颗粒状态。皂化反应、酸败反应是同时进行的一种互相转化的反应。酶解反应过后,坏死的固体颗粒物质变为液体的坏死物质,但应指出在反应过程中消化了一些油质。外面包着的油质具有保护作用,同时能把这些有毒的液化物通过 MEBO 的油质产生酯化反应,把它分解稀释,这就是我们见到的那种液化物,这有非常重要的作用,是一个惊人的发现。MEBO 中的油质含有亚油酸、亚麻酸,都是促进细胞生长的物质,只有在酯化反应之后,它们才能作为游离的脂肪排出,否则在麻油里它就排不出来。我们的实验已经证实,只有用化学方法才能测得油液中的脂肪酸含量。我们把很多有效物质成份放在油里面,也能释放出来,如小檗碱、黄芩甙、 β -谷甾醇等。特别是 β -谷甾醇,可能是细胞增生和干细胞再生激活的一个物质。当然,它的结构和原来的不完全一样,它必须在几个分子团的作用下产生细胞受体的激活和启动作用。这些成份包括黄芩、黄芩甙等。黄芩清除氧自由基的作用很强,可促进细胞增殖。这些有效成份渗入组织后通过酯化反应,脂肪酸分离出来,细胞残体和它形成一种白色的液化物,这也是非常重要的环节。对这一反应的奥秘开始的认识并不深刻,仅发现和病理性的液化不一样。但这一发现已阐明了我们中国医学几千年来祛腐生肌理论的关键所在。祛腐生肌,如何祛腐,这个现象在好多药物里都有,凡是膏类剂型都有这种液化现象,但往往因液化不充分就出现化脓感染。所以人们讲无脓不长肉。液化其实是一种代谢过程,创面只要有代谢产物,就证明创面存在再生修复过程。坏死组织液化物,只要及时排出,是无毒的,但如果化脓则是有毒的。如何把脓性物质变为没有伤害的物质,把这些腐烂的物质、坏死的组织无损伤性的排除掉,这是我们的研究内容。把固体的坏死组织变成液体的坏死组织,其中的液化反应就是一项治疗技术,液化过程完成,说明治疗过程已完成了大部。如果没有液化技术,完全靠手术刀切除坏死组织,是难以实现的,因为传统的削痂手术好坏组织不易区分,势必要损伤正常组织。由于在不断地液化过程中,是由表入里一层一层进行的,所以不产生痛觉。深度烧伤创面为什么要提倡用耕耘技术,就是因为不损伤正常组织,不产生疼痛反应。没有疼痛感觉的创面有两种,一种是标准的 III 度,一种是表面上看似深 II 度,实际是过渡性 III 度。MEBO 在创面上发生反应的时间约半小时,根据药效作用时间,一次用药可维持 6~8 小时。但临床要求每 4~6 小时用药一次,其目的是保证其疗效。如用药不及时会影响其疗效,故宁愿多给一次药也不要因不正规用药而影响全程治疗。局部温度高低会影响液化进程,温度高则液化快。在创面修复期可采用早、晚各用药一次,但用药一定要均匀。

第二步是清除坏死组织,让新生组织生长。以深 II 度为例,在液化反应过程中一旦发现创面露出红色,说明这个部位的坏死组织已被去除掉。上述现象是 MEBO 治疗的最大特点,它是一个自然变化过程。坏死组织一旦去掉了,就自然形成一层透明膜。透明膜由纤维蛋白、蛋白胨等组成,结构相当致密。任何创伤总要在创面上形成一个透明的蛋白胨透明膜,这是生理现象的自然反应,一定要加以保护,万万不可揭去,因为这个膜为创面本身创造了一个生理环境。然而,有些人就是不注意,常常狠心地把它弄掉,从而破坏了局部的生理环境。透明膜虽然是自己形成的,但它本身没有办法长期维持下去,如创面环境一干燥,透明膜就会形成痂,阻碍里边的物质排除。久而久之,形成痂下感染、积脓或形成脓疱。此时,如果强行去掉,因为血管与之粘着,血管顶受到破坏,发生出血。传统换药疗法必将损伤此膜,即使创面达到愈合也是病理性愈合。有时深 II 度痂下虽无积脓,但它的愈合是痂下愈合,属病理性的,这不叫烧伤愈合。只有 MEBO 才具有长期维持透明膜的作用。MEBO 中含有一定的植物成份,使之更加紧密。肉眼下观察膜表面相当光滑,具有反光性,跟角膜相似。如用针头挑起来,可见出血点,因为它已被药膏框架机械性的压在创面上。由于框架不影响透气功能,所以这个

膜具有透气性能。假如没有这层膜,就无法创造创面的生理环境,也就达不到生理性愈合。在不间断正规给药的情况下,或者说在正常的药物动力学作用下,这层膜是半透性的,可以看到渗出。药物中含有 18 种氨基酸,可以渗入其内层,以提供细胞生长的必需品。同时,只有这些成份源源不断地渗入膜下,干细胞才能进行正常分裂增殖,直至形成新生皮肤。说到对透明膜的保护,就必须实行正规地 MEBT/MEBO,既不能因断药而发生干燥,也不因用药过厚而发生浸渍,当然也不能实行包扎。总之,只有 MEBT/MEBO 才能持续维持透明膜的完整性,才能为创面提供一个生理的环境,为干细胞的分裂、增殖提供一切营养必需品,从而实现真正的烧伤愈合。

四、 皮肤再生技术的感染控制

烧伤感染是大家最关注的一个重要问题之一。下边要介绍 MEBT/MEBO 条件下怎样实现抗菌、杀菌问题。自从抗生素问世以来,用抗生素杀灭细菌已是大家公认的。烧伤湿性医疗技术同样也不希望发生细菌感染,也不反对用抗生素抑杀细菌。但是对于烧伤创面来说,不主张把细菌杀死,因为杀菌同时也把再生干细胞的组织损伤了。为了保护干细胞的正常分裂、繁殖,达到生理性愈合,才设想出另一种方法。最早我们的研究并没有想那么多,最早的概念就是在这个湿润环境条件下,发现它能治愈创面,并没有真正把细菌除掉。但以上现象促使我们去了解,既然有细菌存在为什么没有发生感染,所以我们好多的研究都是先有了经验而后探索其理论依据,然后再发展成为科学,这是我们生命科学世界一个共同的基本路子。到现在为止从医学的角度说,对人自身的认识还不十分清楚,什么时候把人弄清楚了,对人的各种疾病就可以得到有效地控制了。所以说这就是科学探索的问题。我们在烧伤方面的探索,创面上有脓也好,无脓也好;有细菌也好,无细菌也好,凡是创面都愈合了,其本身就说明细菌并没有起到破坏作用。我们最早发现创面有细菌时,也像西方传统医学所想的那样,创面会发生感染,但我们认为细菌毒力有大有小,设法降低其毒力就会减轻或控制感染程度,这又是我们的一个新思路。MEBO 究竟有无促使细菌变形、降低细菌毒力的作用,我们进行了体外细菌在 MEBO 条件下的传代培养。因为当时许多人都从杀菌角度说 MEBO 的抗感染有效成份为零,其实我们也证实了这一点,它确实没有杀菌能力,其抑菌环有的不扩散,有的扩散。不管怎样,创面愈合了,说明它有一定控制细菌的能力。把细菌置于 MEBO 环境下进行传代培养,却发现了新问题,即细菌形态变化一天一个样。今天为长形,明天更长,但以后变成了圆形。这一发现把我们的思路打开了,为什么细菌在 MEBO 环境下发生变异,在变异的同时毒力有何变化呢?在这个思路下又展开了细菌的毒力研究。结果不出所料,细菌在 MEBO 条件下,其毒力也明显降低。至于细菌毒力为何降低,除与 MEBO 的框架结构特点有关之外,还与甾醇有关。人体内有三种形式的甾醇,有人的甾醇、细菌甾醇和植物甾醇。细菌吃的甾醇来自人体肠道,细菌吃了就发生变异,从而改变了生态方式。但是 MEBO 中含有甾醇成份,这就促进了细菌变异的发生。发生变异的细菌,如同睡眠状态,其毒力明显下降,菌量不会大于 $10^5/g$ 组织。后退一步说,即使超过这个数值,因毒力已明显下降,也不至引起明显感染中毒症状。这一发现如同青霉素的发现一样,其意义相当深远。当然,MEBO 非杀菌控制感染的研究并非仅限于烧伤创面上,在其它部位上,如肠道也产生了同样结论。总之,我们并不喜欢烧伤创面上有细菌,我们也主张杀菌,但处理方式不同。我们是通过 MEBO 来改变细菌形态和降低细菌毒力,从而降低其侵袭力。应当指出,体外细菌传代培养所用的 MEBO 含量(浓度)相当低,在如此低浓度下传到 6~7 代时,其毒力几乎消失了。

五、 皮肤再生技术的生理湿润环境

生理的湿润环境条件和单纯的湿不是一个概念。烧伤湿润暴露疗法是立体式的暴露在一个生理的湿润环境里面,不是暴露在空气里面,也不是浸泡在水里面。要暴露在一个 MEBO 作用下的生理环境中,即在一个液化环境下的或是在透明膜下的生理环境,但都是在 MEBO 创立的环境中。创面如果不是处在生理的湿润环境中,就没有办法使组织按生理条件再生,这是一个非常重要的道理。从干细胞理论来讲,干细胞增殖非常强调生理胚胎环境。人是怎么形成的,到目前还没有任何一个专家能在体外培养出人来,因为他创造不了子宫的生理环境,再怎么克隆也得把他放回到子宫里面去,因为子宫内是一个非常好的生理环境,氧气交换、

营养供给、羊水环境、温度湿度,都是生理性的,只有在生理的条件下,才能讲胚胎性的环境条件,这是问题的关键。如果一个烧伤创面暴露在干燥、结痂的环境下,则生理性愈合是万万不可能实现的。由于创面直接暴露于空气,不仅要产生气体损伤问题,更重要的是大量水分从创面丧失。人体皮肤即是保护正常皮肤内水分的屏障,又是储水的场所。皮肤烧伤后,尤其是大面积烧伤,必然会影响到局部与全身的水盐代谢,导致血浆成份丢失。我们已完成了有关 MEBO 防止创面水分过度蒸发的研究,其结果已在《中国烧伤创疡杂志》上发表,并且在第六届全国学术会议进行了大会交流,请大家认真阅读。

今天在这里要剖析一下 MEBO 和凡士林的迥异。凡士林已在临床上应用了许多年,尽管外科学不断发展,但它到现在也还没有被其它产品所取代,可能我们要把它淘汰掉。凡士林极不适用于在创面上应用,但是全世界仍在用凡士林纱布覆盖创面。要更新换代,需要完成许多细胞学实验。大家都知道,干燥创面水份蒸发量增加,相当于正常皮肤的好几十倍。因凡士林无透气性,亦无呼吸作用,能阻碍水份蒸发。所以我们研究发现,用凡士林覆盖的烧伤创面总是水汪汪的,甚至有化脓倾向。另外,凡士林的浸渍伤害作用也相当强,它损伤的不仅仅是烧伤部位,周边正常皮肤同样也受浸渍性伤害。所以我们要更新取代它。用什么更新,我们的设想是用 MEBO。因为应用 MEBO 的烧伤创面水分蒸发量虽然也略高于正常皮肤,但无统计学差异。应用 MEBO 替代凡士林的依据不仅仅是水分蒸发量的问题,更重要的是凡士林为矿物质产品,可造成创面湿性坏死,其细胞表现特点是空泡性坏死。而 MEBO 是全天然性产品,主要成份都有可代谢性,具有创伤愈合的治疗作用,虽然应用 MEBO 的创面仍然有轻度炎症反应,这并不意味着是坏事,因为创面无炎性反应就不会生长。

我们的一系列研究证明,MEBT 是一种仿生技术,MEBO 是模仿人体皮肤的呼吸和代谢功能而设计出的具有框架结构的产品,由它来替代损伤皮肤的功能,为创面创造一个生理的湿润环境,保障皮肤再生技术的顺利完成。目前看来,MEBO 是唯一能实现皮肤再生技术的必备的仿生产品。

六、皮肤再生的微观变化

皮肤再生后的微观变化如何?它绝非是传统疗法的结局。以深Ⅱ度为例,几乎所有教科书上都讲,深Ⅱ度烧伤一定是瘢痕愈合。今天将用几家烧伤科技分中心的研究结果,证明 MEBT/MEBO 治疗的深Ⅱ度创面的微观变化特点。经筛选,认为山东兖州矿业集团二院的资料更能说明问题。为了科学的表达这一结果,用组织切片方法,跟踪深Ⅱ度创面愈合的全过程。从组织病理切片的光镜和电镜观察中有许多奇观可以看到。组织细胞的损伤特点是皮肤结构破坏,真皮层出现空泡坏死,发生瘀血改变。电镜下的表现也说明了这一点,如真皮层细胞发生坏死、血流瘀滞、真皮血管发生栓塞等,是典型的深Ⅱ度烧伤特点。然而,经过 MEBT/MEBO 治疗 3 天后,坏死的固体组织变成了液体组织,即标志液化排除过程开始。治疗 5 天,大范围液化开始了,由表入里层层液化。但此时这些组织仍处在坏死阶段。治疗 10 天,液化基本结束,同时修复开始,界限相当清楚。组织在透明膜下生长,一切组织都在膜下生长,这就是再生过程开始。由于再生细胞的形成并不是同时完成的,所以细胞及细胞内部变化并不均匀,只是一个细胞群。而细胞群并不是一天形成的,干细胞群出现,直至最后形成皮肤。对这个现象的认识有一个过程。1988 和 1989 年的研究发现了这种增生活跃细胞,并称之为再生细胞。再生细胞从何处来,现在弄清了,其实就是干细胞。因此说干细胞是本来就存在的,它就是一群增殖分裂、分化能力比较活跃的细胞。干细胞的演变过程是从无到有,从少到多,即形成一个胚胎样结构,再转为从多到少,皮肤创面愈合后则消失。

成纤维细胞代谢活跃,它能为干细胞提供良好的物质,或者说它本身就是一种纤维干细胞的素材。成纤维细胞能生成胶原纤维,只要持续维持它的功能,就能不断地为干细胞提供素材。我们用 MEBO 处理的创面成纤维细胞及纤维相当整齐,如同头发丝一样。但是用磺胺嘧啶银治疗的创面,不会出现上述结果,一定是瘢痕愈合。纤维干细胞修复是个什么状态,我们正在研究。纤维干细胞能产生许多生长因子,调控组织修复。如纤维细胞数量增加,生长因子也增多,便抑制上皮生长因子,使生长因子比例失调。反之也是如此。因此,它们之间必须保持一定的平衡,这就是再生修复的规律。成熟组织一旦形成,就失去干细胞特性。这个深Ⅱ度创面最终在 22 天愈合,完成了皮肤真皮和表皮完美的生理性再现,这才是真正的深Ⅱ度创面愈合的组织表现特点。

七、 干细胞表达的追踪研究

干细胞表达的追踪研究目的是确认干细胞的存在。根据细胞周期的变化规律,有些细胞可长期处在 G₀ 期或 G₁ 期,只有在一定条件才出现增殖活动,但有些细胞可持续进行分裂活动。分裂后的部分子细胞可分化为执行一定功能的成熟细胞,而把一直保持连续分裂、增殖能力的部分子细胞称为干细胞。正常皮肤表皮基底层干细胞可不断地进行分裂,新生的细胞向上方移动,在到达棘层深部时,可再分裂 2~3 次,而后失去分裂能力。由此可见,皮肤浅 II 度烧伤干细胞是显而易见的,而且容易确认。但是在 III 度烧伤创面上,表皮干细胞已破坏殆尽。前边已经讲述了关于纤维干细胞的问题,因为 III 度创面深层存在有脂肪隔纤维,它可以提供干细胞,或者说干细胞是在创面局部就近产生的。以前曾提及,肌肉组织可以生长上皮细胞,当时许多人不理解。1999 年 12 月,美国《科学》杂志公布了当年十大科技成果,其中之一就是干细胞的发现和作用;另一个成果是人类基因组研究。关于干细胞的研究,早在 1998 年我们就完成了这个课题,但与 1999 年《科学》杂志公布的干细胞研究方法完全不同,我们是在烧伤创面上原位培植,并不是体外培养。因此,要说科学前沿问题的发现,应当归于我们。我们在烧伤创面上印证和寻找干细胞的方法是采用免疫细胞化学方法。因为再生的表皮干细胞能合成特有的 19 型角蛋白,用抗人角蛋白 19 型单克隆抗体,用生物素——抗生物素 DCS 体系间接免疫荧光技术,能够准确、特异地测定出深 II 度和浅 III 度烧伤皮肤残存皮下组织再生的表皮干细胞。但应指出,当标本取下后不能使细胞发生传代改变,如果细胞发生传代改变,那就不是干细胞了,而变成了其它细胞。所以,在 1997 年我的学术报告中一再强调,一定要设计原位,如果一旦发生传代,就不能再表达创面的真实病理变化。角蛋白 19 型单克隆抗体免疫荧光试验呈阳性反应只在烧伤创面上出现,而正常皮肤不会出现阳性反应,说明正常皮肤的表皮干细胞、毛囊细胞、汗腺细胞等不产生阳性反应,只在 MEBT/MEBO 治疗后的创面上才出现阳性反应。同时发现,细胞的再生启动是在 2 小时后,而不是以往所说的 3 天后才开始发生再生反应。因为 2 小时后渗出已开始,细胞可从中获得生物素,并开始分裂。第 4 天,几乎所有湿性疗法创面组织里都有干细胞,而且是原始的干细胞。第 7 天干细胞仍然很多,说明液化和细胞生长的高峰期已经开始;14 天达最高峰。III 度烧伤在 27~28 天的时候,真皮层几乎已修复完整,但表皮尚未愈合。当表皮细胞一旦修复,便查不到阳性的 19 型角蛋白了。这就是我们前边所说的,干细胞的生长规律是一个从无到有、从少到多,再从多到少、从少到无的过程。至于是什么物质启动干细胞的增殖、分化,前边已经讲了,MEBO 在其中起到重要作用。由于 MEBT/MEBO 的治疗作用,可能激活了休眠状态的潜在表皮干细胞的再生,从而有力的保证了深 II 度和浅 III 度烧伤能实现无瘢痕愈合和自然修复。

我们的研究还发现,骨组织里面能长肉,将烧伤骨的表面进行钻孔,当肉芽形成时会有表皮细胞生长,并能实现愈合。因为骨髓中有造血干细胞,而且是多功能干细胞。

八、 大面积深度烧伤的系统治疗

烧伤是一种全身性疾病,尤其是大面积烧伤。对待一个烧伤病人,不能仅从创面局部考虑,即局部与全身治疗不能分割开来,要从整体论上去考虑疾病的治疗问题。前边讲的几乎都是在 MEBT/MEBO 作用下,实现创面生理性愈合问题,但创面愈合仅是一种表现,而表现的背后又是如何进行系统的治疗呢?系统治疗是烧伤疾病治疗的保障,没有这个保障,只处理创面恐怕不会产生良好的治疗效果。为什么今天要强调系统治疗?除以上原因外,因为我们的局部治疗方法改变了,即不是过去西方传统的外科治疗模式,我们采用的是烧伤湿性医疗技术,它不是以外科手术为主的治疗方法。鉴于这种情况,必须对全身系统治疗加以调整,进行统一,或者说要有一个治疗方案。但是,这个方案并非适用于所有病人的,因为病人之间差异很大,我们主张治疗方案个体化,或者说这个方案是建议性的,原则性的。就烧伤休克而言,传统疗法的休克复苏公式已沿用了 40~50 年了,但这些公式是从临床实践中推导出来的,欲适用于所有烧伤病人还有一定距离。就液体输入量而言,虽然是同等烧伤面积,相似的烧伤深度,但用同一个输液公式计算补液量未必产生同样的效果。当然,干扰因素有许多,其中每个人的液体最低耐受量和最高耐受量究竟是多少,他们之间差异有多大,可能都是个未知数。又如,有的大面积烧伤病人休克期并没有按公式计算量进行补液,他们的输液量相对地少,或者完

全依靠口服补液,但病人休克期能比较平稳度过,相反,有些按公式要求进行输液的病人经过反而不顺利。这些问题都需要我们去研究,去探讨。

我们的体会是:在整个治疗过程中所采取的一切治疗措施要围绕一个中心,即不增加第二次创伤的治疗方法和不造成第二次打击的治疗方案。这是我们要研究的方向,也是拟定治疗方案的依据之一。无论你的理论、技术、实验研究如何,但要维护生命的整体规律,一切处理都应围绕不对创面刺激、不增加病人的二次打击为原则。不仅是局部,对全身也是如此,如不增加心、肾、脑负担,保护肝脏功能等。

(一) 早期救治问题

这是烧伤治疗的第一关。刚才讲了,一定不给病人造成二次创伤打击,除不对创面的打击外,还包括对精神因素的保护。精神因素分主、客观两方面。烧伤后病人恐惧感加重,脑垂体要分泌、释放许多激素类物质,可能会在短时间内全部释放出来,这是病人的自我保护性反应。但在烧伤那一霎那痛觉产生,烧伤疼痛与创面直接暴露于空气中有关,这个发病过程影响烧伤全病程。当情绪稳定后,大面积烧伤病人抵抗力低下,这是个规律。面对这一规律,首要的问题是稳定病人情绪。此后进入第二阶段,病人从一个情绪最激昂状态一下落到最低状态,但早期应激状态下的代谢产物,要在此阶段产生病理生理反应。所以说烧伤病人的全身功能状态从一脱离现场开始,即进入低潮阶段,而且逐步降低。伤后 2 小时之内的变化为内分泌性的、打击性的,2 小时之后的改变与血容量下降有关,心肌相对缺血,体液重新分配。因此要加强心、肾等脏器的保护,注意病人采取合适的体位,宜取平卧位,但不取头低位,也不宜搬动病人。早期救助的第二个问题是注意保温。因为病人体温调节功能低下,水分蒸发量增加,热量大量丧失,自我保温功能降低。正常人有一个环境温度耐受指数,最低 24℃。24℃ 以上不管着衣与否,都能耐受,能通过皮肤进行自我调节。但大面积烧伤后,自我控温功能被破坏,大量热量丢失。我们观察到病人感觉越冷、体温越高,感觉不冷反而不发热。因此,早期救助起码要从热量消耗角度通过环境予以补充。第三个问题是创面处理,如果现场无法处理可不予处理,但能处理者一定不要给予二次打击,可用 MEBO 保护,或简单包扎起来后送医院治疗。化学烧伤早期处理是一大难题,国外有人搞化学烧伤中和剂,伤后立即喷洒,2 秒钟内即可将酸碱等分解,使之不发生化学反应。这是个信息,我们也要研究。

(二) 治疗问题

病人入院后不进行彻底清创处理,而用美宝(MEBO)清创术。所谓美宝清创术是以药刀相结合而达到创面清洁的方法,不是用水冲洗。这种清创术可在病房内进行。美宝可止痛,可以去除余热,利于已坏死组织液化等。

关于强心问题以前讲过了,但一定要早开始,对这个问题要做进一步规范。紧接着就是保护肾脏,具体方法在上次研讨会上也已经讲过了。在强心、保肾措施的同时,要注意观察尿量,因为它对补液措施的制定有重要参考价值。

关于休克期补液量问题,因为我们采用的是湿性医疗技术,在局部处理方法上与西方传统医学截然不同,因此不能机械地执行他们的补液公式。根据我们 10 多年的临床实践得出的经验公式为:

$$\text{每日液体入量(ml)} = \frac{\text{每日生理需水量(2000ml} \sim \text{2500ml)} + \% \text{TBSA} \times 1.0 (\text{ml}) \times \text{kg 体重}}{\text{ml 尿量} \cdot \text{kg 体重}^{-1} \cdot \text{小时}^{-1}}$$

以上公式适用于伤后 48 ~ 72 小时之内,主要调整指标是尿量。只要保证每小时每公斤体重尿量不少于 1 ml,不论成人还是小儿,此公式皆宜。当然,每个医院都有自己的治疗经验,此公式仅是一个经验公式,应根据病人的具体情况确定输入液体的种类及总量,同时应对休克原因进行分析,据情做相应处理。

除抗休克之外,另一个重要问题是抗感染治疗。抗感染治疗的原则是根据烧伤后细菌的变化规律而制定的。因为烧伤后早期(7 天内),全身因创伤应激反应处于亢进状态。在这 7 天内,应当说全身几乎动用了所有的力量来对付严重的应激状态。我们把这 7 天的变化归纳为三波,或称三种改变:即创伤波、休克波、代谢波。由于三波的存在,这 7 天内机体的变化是反复无常的,体内没有更多的能量及抗病能力,表现最突出的一点就是免疫功能下降。此时要用高效、广谱、足量抗菌药物,其目的之一是预防性应用,辅助机体度过难关。抗菌

药物虽有一定副作用,但此时应用常不明显。7 天后,机体合成代谢加强,主要表现在脏器功能和创面愈合方面。如肝脏,由于肝细胞修复能力很强,经过早期作用之后,肝细胞功能很快恢复,蛋白合成速度增加,抗感染能力加强。在创面修复方面,干细胞的代谢需要蛋白质,要分裂、增殖,若再使用大量高效广谱抗菌药物,会抑制细胞合成。故从全局角度考虑,5~7 天后建议应停用抗菌药物。当然,7 天后可能还会发生感染,但感染原因来自肠道的可能性很小,多数情况为创面感染,因为此时肠粘膜功能已基本恢复。所以我们应经常检查创面是否存在病灶,一旦发现感染灶,立即清除。一般认为,休克过程中存在有肠源性感染的倾向,因为肠粘膜总有损害,故有感染的危险。但休克期的感染不易辨认。对全身性感染的识别,我们强调要观察呼吸、心跳、体温的变化,把这三方面的症状结合起来分析,简称为三联征,而且需要一个一个的识别,一个一个的排除。细菌学检查很有必要,但往往来不及进行,此时要看周围血象中白细胞的中毒颗粒。因为后者与菌血症、毒血症有关联性。菌血症时常出现吞噬细胞变化,而不出现中毒颗粒,毒血症中毒颗粒明显增加,此时可采用一次性大剂量抗生素处理,并应寻找感染源。关于抗感染治疗,我们仍强调并非把细菌杀死才是抗感染,MEBO 本身具有改变细菌形态和降低细菌毒力的能力,这对抗感染来说应视为与抗生素同等重要。

营养支持疗法也是全身系统治疗的一个重要组成部分,以肠道营养为主是我们多年的治疗经验,但何时实行口服营养,或是接受静脉营养治疗,应视病情而定。请参考 1997 年的讲课内容及有关治疗经验实施资料。

九、今后工作的设想

1、加强学术队伍建设,提高学术理论和技术水平,继续推广烧伤湿性医疗技术。除两年举行一次全国学术会议之外,计划不定期举行专题会、研讨会、学术交流会。参加人员不一定很多,可按学术系统进行。另一方面是组成专家队伍,走出去到国外交流,以展示中国烧伤科学领域的成果。

2、学习、掌握烧伤治疗中的前沿科学问题。应当认识到干细胞的发展已进入科学新时代,原位培植干细胞,使烧伤创面实现生理性愈合是中国人的一大发明。但我们同时应该感到,压在我们肩上的担子更重了,要继续深入地研究下去,揭开干细胞中尚未知晓的其它奥秘。

3、开展干细胞相关医学领域的研究,如采用 MEBT/MEBO 治疗各种皮肤病、消化道粘膜溃疡、体表各种创疡的修复、以及延缓人类皮肤衰老、美容、更换皮肤等,破译其它器官再生基因密码,实现人类其他器官的干细胞原位复制。

4、办好《中国烧伤创疡杂志》,加强临床和基础研究,提高学术论文质量。