

地塞米松注射液联合美能片治疗大鼠皮肤压迫性注射胶原蛋白导致过敏的研究

黄家鑫¹, 黄冉¹, 李宏强²

(1. 杭州碧妍哲理健康管理有限公司金沙天街医疗美容诊所, 浙江 杭州, 311500; 2. 斐缓(长春)医药生物科技有限责任公司, 吉林 长春, 130012)

【摘要】目的 探讨造成注射胶原蛋白出现皮肤过敏的原因, 观察地塞米松联合美能片的治疗此类皮肤过敏的效果。**方法** 根据不同的药物和注射操作方式, 建立对照组, 皮内注射组, 压迫性皮内注射组以及阳性药物组。药物研究时, 压迫性注射造模后分为地塞米松联合美能片给药组、地塞米松给药组、美能片给药和生理盐水对照组。造模后处死大鼠, 用生理盐水冲洗腹腔收集洗涤液。然后取皮下注射位置皮肤进行病理实验。**结果** 压迫性皮内注射组可见注射点位水肿, 但水肿程度低于阳性药物组, 且未见明显蓝斑。伊文思蓝结果显示阳性药物组和压迫性皮内注射组伊文思蓝渗出量显著升高 ($P<0.01$)。病理结果显示压迫性皮内注射组真皮层可见明显疏松水肿且可见炎症细胞浸润。药物研究显示地塞米松注射液联合美能片治疗的给药组伊文思蓝渗出量虽无统计学意义, 但呈降低趋势, 且病理结果显示联合用药组的组织炎症细胞浸润减少。**结论** 压迫性注射方式是造成注射胶原蛋白时出现过敏反应的可能原因, 联合应用地塞米松注射液和美能片可有效改善压迫性注射所致的过敏反应。

【关键词】 地塞米松, 美能片, 复方甘草酸苷, 胶原蛋白, 过敏反应

DOI:

A Study on the Treatment of Allergies Caused by Skin Compression Injection of Collagen in Rats with Dexamethasone Injection Combined with Meineng Tablets

HUANG Jia-xin¹, HUANG Ran¹, LI Hong-qiang²

(1. Hangzhou Biyan Philosophy health Management Co., LTD. Jinsha Tianjie medical cosmetology clinic, Zhejiang Province, 311500, China; 2.FIMAN [Changchun] Pharmaceutical Biotechnology Co., Ltd, Jilin Province, 130012, China)

[ABSTRACT] Objective To investigate the causes of skin allergy caused by the injection of and the therapeutic effect of dexamethasone combined with Meineng tablets. **Methods** According to different drugs and injection methods, the rats were divided into 4 groups: control group, intradermal injection group, pressure injection group and positive drug group. The drug study adopted the pressure injection model which was divided into dexamethasone combined with Meineng tablet group, dexamethasone group, Meineng tablet group and normal saline control group. After the rats were killed, and the abdominal cavity was washed with normal saline to collect the washing liquid. Then the skin was taken to the subcutaneous injection site for pathological experiments. **Results** The pressure injection group showed edema at the injection site, but it was not as obvious as that in the positive drug group, and there was no obvious blue spot. Evans Blue showed that the exudation of Evans Blue in the positive drug group and the pressure injection group was significantly increased ($P<0.01$). The pathological results showed that the dermis of the pressure injection group was obviously loose and edema and inflammatory cell infiltration was seen. Drug study showed that although the amount of Evans Blue in the administration group treated with dexamethasone injection combined with Meineng tablets was not statistically significant, it showed a decreasing trend, and the pathological results showed tissue infiltration of inflammatory cells in the administration group reduce. **Conclusion** Pressure injection is a possible cause of allergic reactions when injecting collagen, and the combined application of dexamethasone injection and Meineng tablets can effectively improve allergic reactions caused by pressure injection.

[KEY WORDS] Dexamethasone; Meineng; compound glycyrrhizin; fillderm Collagen; allergic reaction

胶原蛋白 (Collagen) 是人体内最重要且分布最广泛的蛋白质之一, 是细胞外基质中的一种由三条左旋多肽 α -链缠绕而成的生物大分子^[1], 约占体内总蛋白质含量的30%, 其中50%以上的胶原蛋白位于人

体皮肤组织中。胶原蛋白有很多重要的生物学特性, 如低免疫原性、强亲水性、生物可降解性、生物相容性、促凝血功能等^[2-4]。胶原蛋白是构成皮肤组织基本结构的重要组成部分, 会随年龄增长逐渐流失, 出

现皮肤松弛、皮肤弹性降低、皱纹等衰老表现。所以近年来,胶原蛋白作为生物医用材料,在整形美容领域的应用越来越广,如消除皱纹、凹陷填充、面部塑形、提亮肤色等^[5-9]。

目前胶原蛋白按功能可分为两类:(1)成纤维胶原,有I、II、III、XI、XXIV、XXVII型等,占胶原总量的90%;(2)成纤维胶原,目前已知获国家级相关部门批准的可注射的胶原有十种以上^[8]。随着技术发展,胶原蛋白已不单纯是填充剂,同时也是植入剂、再生剂或修复剂^[9]。胶原蛋白以最符合人体中I型胶原与III型胶原配比的复合胶原,通过补充、诱导、刺激,重建胶原纤维,重塑皮肤纤维结构,合成新胶原,促进组织再生。

尽管如此,在临床运用中仍然发现不少患者在注射后会出现过敏反应,通过临床实践发现,可能原因是由于操作医生错误的注射方法(注射时压迫血管)所致。针对这一情况,临床上目前尚未明确统一的治疗方案,因此,本次研究将通过动物实验来探索和验证这一可能原因,并进一步探索应对该问题的有效治疗措施。

1 材料与方法

1.1 材料与分组

选取SD大鼠,25只,7-8周,雌性(北京斯贝福实验动物有限公司,合格证号NO:1102141911032015),饲养于SPF环境内,温度 $22\pm 2^{\circ}\text{C}$,湿度68%,明暗12阴性对照生理盐水)。共有6组,每组5只,分为对照组:采用生理盐水进行浅表皮内注射;皮内注射组:采用医用胶原蛋白进行浅表皮内注射;压迫性皮内注射组:采用压迫血管的方式进行医用胶原蛋白皮内注射;阳性药物组:采用C48/80, $15\ \mu\text{g/mL}$ 进行皮内注射。药物研究时,压迫性注射造模后分为地塞米松注射液联合美能片给药组(联合用药组)、地塞米松给药组(地塞米松组)、美能片给药组(美能组)和生理盐水对照组(对照组)。药品试剂:医用胶原蛋白[斐缦(长春)医药生物科技有限责任公司,国械注准:20163131609],阳性药物(中化药品工业有限公司),地塞米松注射液(天津全耀药业有限公司),美能片(复方甘草酸苷片,卫材药业有限公司)。实验试剂:伊文思蓝(国药集团化学试剂有限公司),4%多聚甲醛(武汉博士德生物工程有限公司)。

1.2 造模与给药

1.2.1 皮内注射与压迫血管注射方法

以75%酒精消毒皮肤,待干,取出药物驱尽注射器内空气。左手绷紧注射部位皮肤,右手持注射器,针头斜面向上与皮肤成5-15度角刺入皮内。待针尖斜面全部进入皮内后以左手拇指固定针栓,右手推注药液0.1ml可见圆形隆起的皮丘,并显露毛孔。注射完毕拔出针头,切勿按压勿用碘酊消毒皮肤。勿揉擦、盖住注射部位。压迫血管注射操作步骤同皮内注射,但不同的是需寻找血管丰富处皮肤进行。注射时,右手未悬空,直接压在皮肤上,且针头直接压在皮肤上进行注射。

1.2.2 给药方法与取材

尾静脉注射0.1%的伊文思蓝溶液,10 ml/kg,注射完成后动物背部备皮,行脊柱周围4个点注射,胶原内皮注射组动物皮内注射胶原0.1 ml,压迫组进行压迫血管注射方法注射胶原蛋白,阳性药物组注射0.5 mg/100ul,可造成快速过敏反应。药物研究时,压迫性皮下注射造模后,随机分为四组,共给药7天。第1天,联合用药组和地塞米松组分别腹腔注射药物地塞米松,美能组和对照组分别腹腔注射等量生理盐水,随后每2天,联合用药组进行地塞米松+美能片灌胃,地塞米松组进行地塞米松灌胃,美能组进行美能片灌胃,对照组进行等量生理盐水灌胃。第7天给药后2小时各组动物尾静脉注射0.1%伊文思蓝10 ml/kg。随后处死大鼠,剪开腹腔,用生理盐水冲洗腹腔,收集洗涤液5 ml。然后取皮下注射位置皮肤进行病理实验。

1.2.3 伊文思蓝含量测定

将收集到的洗涤液,在723型分光光度计于610nm波长处测定吸收值,计算伊文思蓝渗出量。

1.2.4 HE染色

大鼠皮肤组织在4%中性缓冲福尔马林中固定24 h后,将组织包埋在石蜡中,切片后,进行苏木碱伊红染色。使用LEICA DM 2500显微镜获取图像。

1.3 统计学分析

应用SPSS 23.0软件进行分析,各组间比较采用ANOVA方法进行方差分析,两组间比较采用配对t检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组皮内注射后大鼠背部皮肤变化比较

可见阳性对照组动物背部快速过敏反应,皮肤包块比前两组大,注射点位明显水肿,压迫性皮内注射组,可见注射点位水肿,但不如阳性药物组明显,见图1。

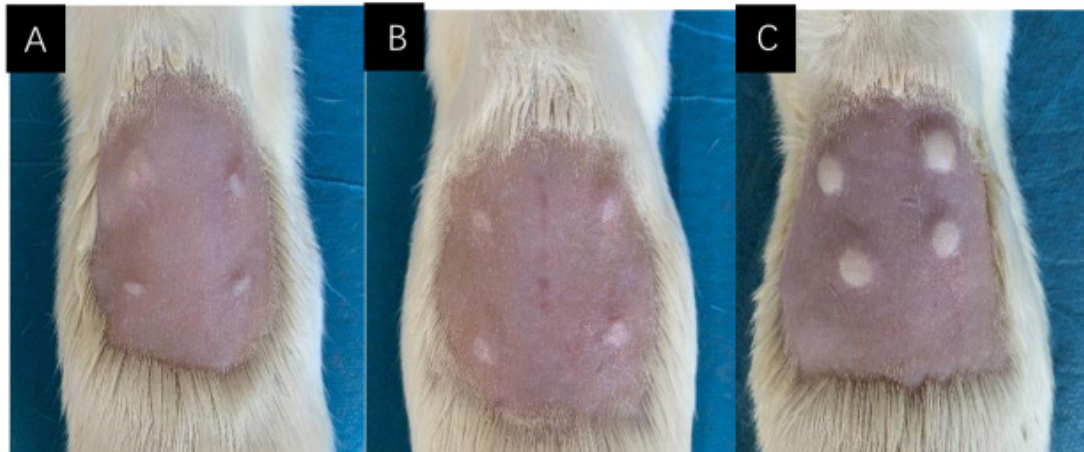


图1 各组皮内注射后大鼠背部皮肤变化比较

A: 皮内注射组; B: 压迫性皮内注射组; C: 阳性药物组

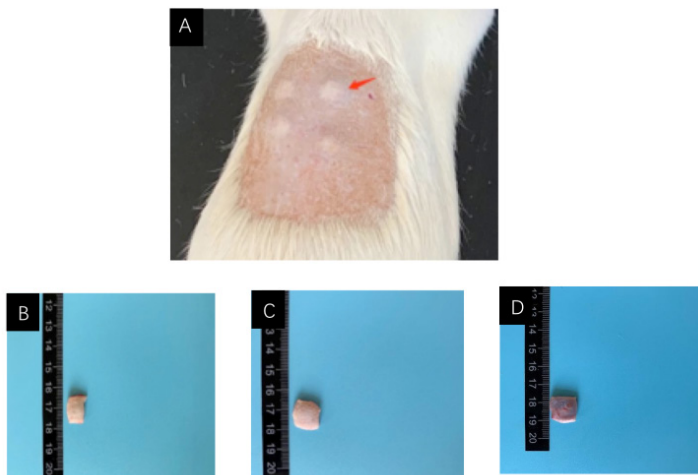


图2 各组间皮内注射后大鼠背部皮肤蓝斑变化比较

A: 阳性药物组; B: 皮内注射组;
C: 压迫性皮内注射组; D: 阳性药物组

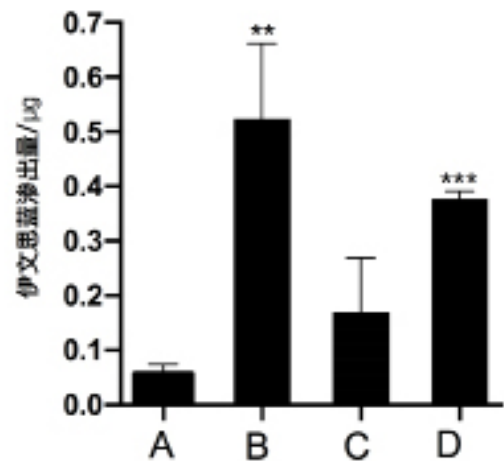


图3 各组间伊文思蓝含量比较

A: 生理盐水对照组; B: 阳性药物组; C: 皮内注射组; D: 压迫性皮内注射组; **: vs 阴性对照生理盐水组, $P < 0.01$; ***: vs 阴性对照生理盐水组, $P < 0.0001$

2.2 各组间皮内注射后大鼠背部皮肤蓝斑变化比较

阳性药物组注射后, 注射点有明显水肿, 且蓝斑逐渐明显 (见图2 A红色箭头所指)。而皮内注射组和压迫性注射组未见明显蓝斑 (见图2 B)。

2.3 伊文思蓝结果分析

与对照组相比, 阳性药物组和压迫性皮内注射组伊文思蓝渗出量显著升高 ($P < 0.01$)。而皮内注射组伊文思蓝渗出量虽有升高趋势, 但与对照组相比无统计学差异, 见图3。

2.4 各组病理结果

病理结果显示皮内注射组组织整体结构基本正常, 表皮角质层结构清晰, 未见明显角化过度角化不全, 表皮细胞未见明显疏松水肿, 真皮层胶原纤维丰富组织未见明显炎症细胞就浸润 (见图3 A)。压迫性皮内注射组组织整体结构轻度异常, 表皮角质层结

构清晰, 未见明显角化过度角化不全, 真皮层可见明显疏松水肿 (见图3 B红色箭头所示), 且组织可见炎症细胞浸润 (见图3 B黑色箭头所示)。阳性药物组组织整体结轻度异常, 表皮角质层结构清晰, 未见明显角化过度角化不全, 真皮层可见胶原纤维断裂明显疏松水肿 (见图3 C黑色箭头所示), 真皮层毛囊数量明显增多 (见图3 C红色箭头所示), 组织未见明显炎症细胞浸润。

2.5 药物治疗后伊文思蓝结果分析

在压迫性注射医用胶原蛋白后, 与生理盐水对照组相比, 单独地塞米松治疗和单独美能片治疗, 均无明显变化。但经过地塞米松注射液联合美能片治疗后, 伊文思蓝渗出量虽无统计学意义 ($P > 0.05$), 但呈降低趋势。表明药物治疗后血管通透性有所降低。

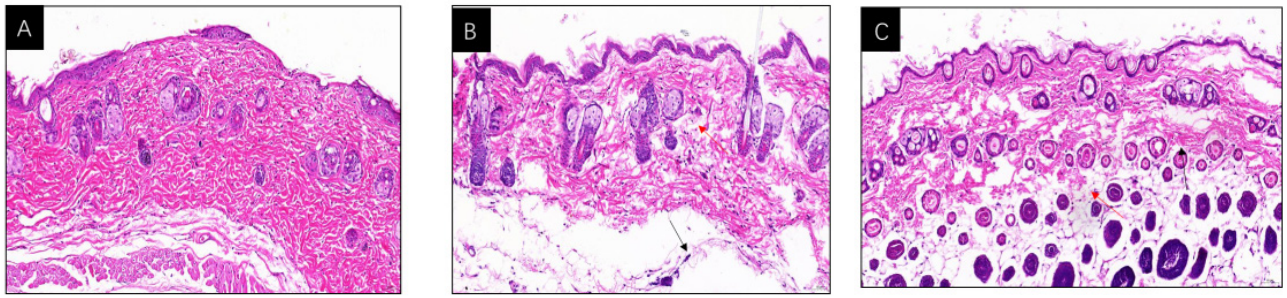


图4 各组组织 HE 染色后的病理变化 (×100)
A: 皮内注射组; B: 压迫性皮内注射组; C: 阳性药物组

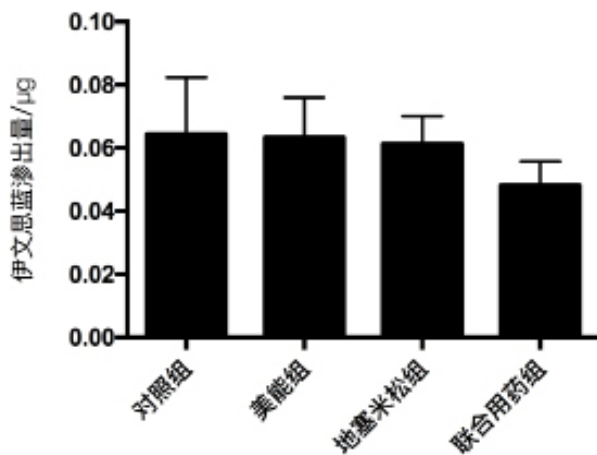


图5 药物治疗后四组间伊文思蓝含量比较

2.6 药物治疗后病理结果

病理结果显示对照组组织存在大量炎性细胞浸润, 以分叶核白细胞为主, 纤维母细胞增生。而经过药物治疗后, 地塞米松组和美能组组织均出现较少炎性细胞浸润, 联合用药组出现少量炎性细胞浸润、纤维母细胞增生。见图6。

3 讨论

目前动物源性胶原蛋白生物材料主要是从牛、猪等中提取。近年来随着胶原蛋白酶解去端肽技术成熟, 动物源性胶原蛋白发生过敏反应的概率逐渐降

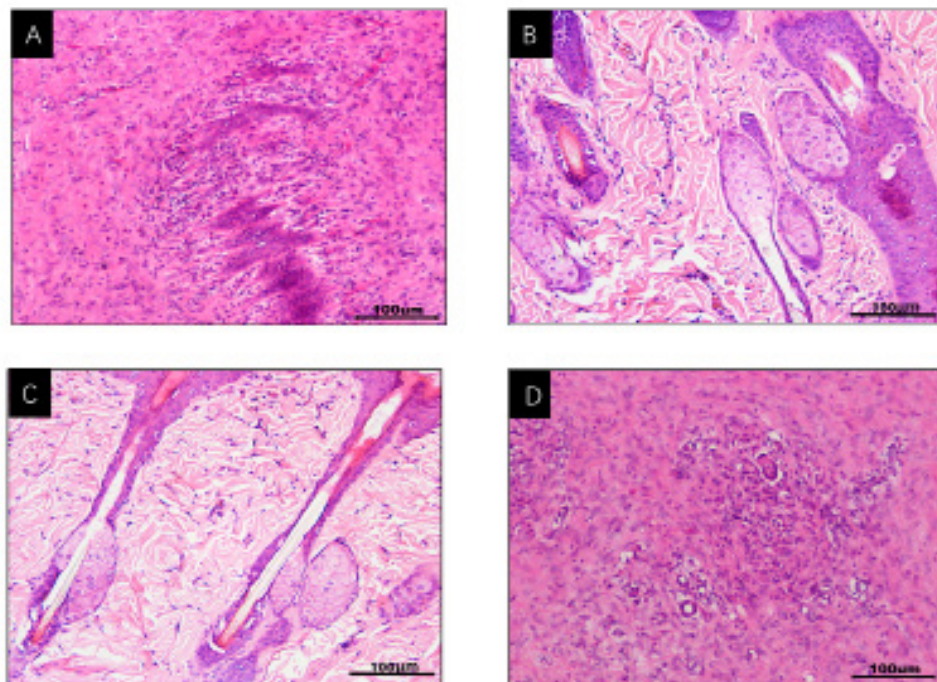


图6 药物治疗后两组组织 HE 染色后的病理变化 (×200)
A: 生理盐水对照组; B: 美能片给药组;
C: 地塞米松给药组; D: 地塞米松注射液联合美能片给药组

低。临床上发生过敏的常见原因多为个人体质原因或胶原蛋白变性^[7, 11-12]。但在严格筛选注射人群, 严格把控胶原蛋白储存条件的情况下, 不正确的注射方式成为导致患者出现过敏反应又一要因。因此本次研究我们应用大鼠模拟可能出现的错误操作来验证其与过敏反应的相关性。

临床结果以及病理结果表明, 在大鼠表皮进行压迫性注射(即压迫血管注射)后, 会出现与阳性药物所致过敏相似的反应, 只是过敏反应相对较轻。伊文思蓝在正常情况下是不会渗出的, 而压迫性注射组的明显升高, 这表明表皮血管通透性增高, 此时发生了过敏反应^[11,13]。因此, 可以认为错误的注射方式可能造成患者出现相应过敏症状。

目前临床研究中, 医生对于压迫性注射胶原蛋白导致过敏的治疗措施知之甚少, 因此我们基于前期压迫性注射大鼠模型, 对此进行进一步的研究。

地塞米松因其具有抗炎、抗风湿、抗过敏以及免疫抑制作用而被应用于治疗炎症、过敏、自身免疫性疾病等治疗中^[13]。其原理可能是地塞米松注射液可降低毛细血管通透性, 减少局部渗出, 从而有利于过敏症状好转。而在肿瘤化疗患者经外周静脉穿刺中心静脉置管(peripherally inserted central venous catheters, PICC)相关皮肤过敏研究中发现地塞米松注射液可有效地改善PICC引起的皮肤过敏^[14,15]。

美能片即复方甘草酸苷片, 目前药理学研究表明其主要成分甘草酸二铵可抑制肥大细胞颗粒、组胺和缓激肽等介质的释放^[16], 此外其还具有抑制局部过敏坏死反应和施瓦茨曼现象(Shwartzman Phenomenon)等抗过敏作用, 对皮质激素有着增强抑制应激反应的作用, 但对激素的渗出作用无影响^[17,18]。因此, 基于这两种药物的特性, 本次实验利用地塞米松注射液联合美能片来研究其对压迫性注射所致过敏的疗效。研究发现, 给药组大鼠在分别服用地塞米松注射液和美能片, 以及联合用药后, 其病理结果显示炎症相比于对照组有着明显改善, 并且联合用药效果更佳。同时, 伊文思蓝结果也表明血管通透性有所降低。两项结果皆证明地塞米松注射液联合美能片对治疗压迫性注射胶原蛋白所引起的过敏反应有一定的疗效。

综上所述, 压迫性注射是造成注射胶原蛋白时出现过敏反应的可能原因, 联合应用地塞米松注射液和美能片可以有效地改善压迫性注射所致的过敏反应。

然而压迫性注射所致过敏以及地塞米松注射液和美能片如何改善过敏反应的机制均尚不清楚, 因此我们将就此开展更深层次的研究, 探索相关病理生理机制、提供更多的理论依据, 为临床用药提供更多思路。

参考文献

- [1] 何杜鹃, 马旭, 刘盛, 等. 重组人源化胶原蛋白促进创面修复研究及其医用敷料应用[J]. 生物化工, 2023,9(4):46-51. DOI:10.3969/j.issn.2096-0387.2023.04.011.
- [2] 张浩. 胶原支架材料的制备及其生物相容性研究[D]. 天津: 天津工业大学, 2015. DOI:10.7666/d.Y2986151.
- [3] 李清梅, 李世财, 刘亚林, 等. 胶原蛋白及其制品的研究[J]. 中兽医学杂志, 2014(10):11-12.
- [4] 厉盈颖, 张俊杰, 吴志明等. 胶原蛋白的制备、生物学特性及应用[J]. 食品工业, 2021,42(08):192-196.
- [5] 整形材料那点事儿——胶原蛋白全揭秘[J]. 医学美容美容(蜜), 2013(7):54-57.
- [6] 许淑君. 胶原蛋白基的研究现状及医学美容应用研究[J]. 化工设计通讯, 2016,42(4):203-203,204. DOI:10.3969/j.issn.1003-6490.2016.04.173.
- [7] 张浩玮, 胡竟一, 王岚. 胶原蛋白在整形美容中的研究进展[J]. 科技视界, 2019(2):152-154. DOI:10.19694/j.cnki.issn2095-2457.2019.02.064.
- [8] 高景恒, 袁继龙. 试论胶原蛋白的当今与未来[J]. 中国美容整形外科杂志, 2017,28(11):702-704. DOI:10.3969/j.issn.1673-7040.2017.11.021.
- [9] 汪晓鹏. 胶原生物材料在临床医学上的应用[J]. 西部皮革, 2021,43(09):20-21.
- [10] 梁健华. 胶原蛋白的提取、性质及其应用的研究进展[J]. 现代食品, 2021(16):44-49. DOI:10.16736/j.cnki.cn41-1434/ts.2021.16.012.
- [11] 柯兵兵, 李燕, 王平慧, 等. 基于小鼠耳廓蓝染实验评价静注人免疫球蛋白(pH4.0)类过敏反应[J]. 中国药物警戒, 2023,20(12):1357-1361. DOI:10.19803/j.1672-8629.20230514.
- [12] 陈光宇, 罗盛康, 洪伟, 等. 胶原蛋白眶周填充的操作规范专家共识[J]. 中国医疗美容, 2022,12(9):1-8. DOI:10.19593/j.issn.2095-0721.2022.09.001.
- [13] 戴菁, 舒成喆, 弓雪莲, 等. 不同剂型紫杉醇注射液过敏反应的比较研究[J]. 中南药学, 2015,13(9):908-910,946. DOI:10.7539/j.issn.1672-2981.2015.09.004.
- [14] 孙燕敏. 静脉与硬膜外注射地塞米松对吗啡硬膜外术后镇痛的影响[D]. 黑龙江: 哈尔滨医科大学, 2013.
- [15] 陆杰荣, 黄玉红. 肿瘤化疗患者留置PICC致不同程度皮肤过敏患者的护理[J]. 实用临床护理学电子杂志, 2018,3(50):90,92. DOI:10.3969/j.issn.2096-2479.2018.50.071.
- [16] 王玉杰, 邢绍芝, 马珍珍. 地塞米松注射液联合康惠尔透明贴对PICC相关皮肤过敏的疗效观察[J]. 中国医药科学, 2020,10(24):136-138,154. DOI:10.3969/j.issn.2095-0616.2020.24.038.
- [17] Timm, Kartin, Nett-Mettler, Claudia S. The pruritic dog(part2)-infectious and neoplastic causes[J]. Kleintier-Praxis: Archiv fur Kleine Haus-und Nutztiere Sowie Laboratoriums-und Zoo-Tiere, 2015, 60(6): 311-330.
- [18] 梁锐炯. 复方甘草酸苷联合西替利嗪治疗过敏性皮肤病[J]. 中国继续医学教育, 2020,12(7):130-132. DOI:10.3969/j.issn.1674-9308.2020.07.053.