

Nghiên cứu hiệu quả điều trị loét da mạn tính về mặt hình thái đại thể của bài thuốc GTK 108 trên động vật thực nghiệm

Study on the effectiveness of GTK 108 formula in treatment for chronic skin ulcer on experimental animals

Nguyễn Thu Trang*, Đỗ Thuý Hằng*,
Lương Thị Kỳ Thuý**, Phạm Xuân Thắng**,
Trần Quang Minh***

*Bệnh viện Trung ương Quân đội 108,

**Viện 69,

***Trường

Đại học Y Hà Nội

Tóm tắt

Mục tiêu: Xác định hiệu quả điều trị tại chỗ về mặt hình thái đại thể của bài thuốc GTK 108 đối với các vết loét da mạn tính trên động vật thực nghiệm. **Đối tượng và phương pháp:** Nghiên cứu thực nghiệm đối chứng tự thân trên động vật thực nghiệm. Hiệu quả của bài thuốc GTK108 được đánh giá bằng tốc độ và tỷ lệ liền vết loét, thời gian liền hoàn toàn vết loét và thang điểm DESIGN. **Kết quả:** Bài thuốc GTK 108 giúp co gọn vết loét mạn tính hiệu quả, giảm thời gian liền hoàn toàn vết loét so với nhóm chứng. **Kết luận:** Bài thuốc GTK 108 có hiệu quả về mặt hình thái đại thể trong điều trị loét da mạn tính trên động vật thực nghiệm.

Từ khoá: Loét da mạn tính, động vật thực nghiệm, GTK 108.

Summary

Objective: To determine the **prevalance** of the GTK 108 formula as topical ulcer dressings on experimental animals. **Subject and method:** A experimental research on animals. **Result:** It showed that the chronic skin ulcers which were treated with GTK108 formula were healed faster than the **controlled** groups. The fully healed rate in study group was 100%. **Conclusion:** GTK108 formular was considered to be more effective than other topical applications in the treatment of chronic ulcers on experimental animals.

Keywords: Chronic ulcer, experimental animal, GTK 108.

1. Đặt vấn đề

Loét da mạn tính (chronic skin ulcer - CSU) hay vết thương mạn tính (chronic wound), được định nghĩa là những vết thương không có xu hướng liền sau 4 tuần dù đã được chăm sóc y tế phù hợp, nguyên nhân do rối loạn trật tự và thời gian sửa

chữa về mặt giải phẫu và chức năng tại vị trí tổn thương [2], [4]. Loét da mạn tính gồm loét do tỳ đè, loét bàn chân do đái tháo đường và bệnh lý tĩnh mạch chi dưới... Tỷ lệ loét da mạn tính ngày càng tăng, gây tác động xấu đến tâm lý của bệnh nhân và tăng gánh nặng tài chính cho cả hệ thống y tế.

Ngày nhận bài: 11/3/2020, ngày chấp nhận đăng: 16/3/2020

Người phản hồi: Nguyễn Thu Trang; Email: tranghmu@gmail.com - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108

Rất nhiều phương pháp đã và đang được nghiên cứu, áp dụng trong điều trị loét da mạn tính, ngoài các phương pháp y học hiện đại (YHHĐ), còn có các bài thuốc, vị thuốc y học cổ truyền (YHCT). Bài thuốc GTK 108 của chúng tôi được xây dựng dựa trên ý tưởng và mong muốn được góp phần nhỏ bé vào cuộc chiến điều trị loét da mạn tính, phục hồi chức năng cho bệnh nhân sớm hơn.

Để làm rõ hiệu quả điều trị loét da mạn tính và xác định cơ chế tác dụng của bài thuốc, trước khi được áp dụng trên người, chúng tôi tiến hành nghiên cứu này với mục tiêu: *Xác định hiệu quả điều trị tại chỗ về mặt hình thái đại thể của bài thuốc GTK 108 đối với các vết loét da mạn tính trên động vật thực nghiệm.*

2. Đối tượng và phương pháp

2.1. Chất liệu

Thuốc: Bài thuốc GTK 108 được bào chế tại Khoa YHCT - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108, dạng cao lỏng. Thành phần bài thuốc gồm: Cao trứng gà, Đại hoàng và Hoàng đằng. Bài thuốc đã được nghiên cứu thành phần và độc tính trên động vật thực nghiệm.

Các dụng cụ và hoá chất khác phục vụ nghiên cứu.

2.2. Đối tượng

Thỏ chủng Newzealand White, cả 2 giống, khỏe mạnh, trọng lượng 1,8 - 2,2kg, thỏ cái chưa có con, không mang thai, do Trung tâm Chăn nuôi, Viện Kiểm nghiệm Thuốc và Thiết bị Y tế Quân đội cung cấp.

2.3. Phương pháp

Thiết kế nghiên cứu: Nghiên cứu thực nghiệm đối chứng tự thân trên động vật.

Địa điểm nghiên cứu: Khoa Y học thực nghiệm (C15) - Bệnh viện Trung ương Quân đội 108.

Thời gian nghiên cứu: 10 tháng (Từ tháng 09/2017 đến tháng 07/2018).

Cỡ mẫu: 30 thỏ, với 60 vết loét mạn tính được tạo bởi doxorubicin theo mô hình của Rudolph R [6] với liều 2000µg vào trong da tại mỗi vị trí (mỗi thỏ 2 vết loét vùng lưng, đối xứng nhau qua cột sống, Hình 1).

Mỗi thỏ có 1 vết loét nghiên cứu được điều trị bằng bài thuốc GTK 108 (30 vết loét) và 1 vết loét chứng. Vết loét chứng chia 2 nhóm, một nhóm chứng thuốc đã được công nhận là mỡ silver sulfadiazine 1% (SDD) - 20 vết loét; và một nhóm chứng trắng với nước muối sinh lý NaCl 0,9% - 10 vết loét.



Hình 1. Chuẩn bị thỏ tạo vết loét thực nghiệm

Phương pháp đánh giá

Các vết thương được thay băng và rửa theo hướng dẫn của WHO, sau đó bôi thuốc nghiên cứu, SDD và NaCl 0,9% 2 ngày/lần.

Theo dõi, đánh giá diễn biến hình thái vết thương bằng ảnh chụp tại chỗ mỗi lần thay băng,

hình ảnh và số liệu tại thời điểm ngày thứ 1 (D_0), ngày thứ 14 (D_{14}) và ngày thứ 21 (D_{21}) sẽ được sử dụng để đánh giá kết quả nghiên cứu với các chỉ tiêu:

Kích thước vết loét (đo qua ảnh chụp bằng phần mềm Image Pro 10, chế độ polygon).

Tỷ lệ giảm kích thước vết loét.
Tỷ lệ liền hoàn toàn vết loét.

Thời gian liền vết loét hoàn toàn.
Thang điểm DESIGN (Bảng 1).

Bảng 1. Hệ thống tính điểm DESIGN [3]

Chỉ tiêu DESIGN	Giá trị	Điểm
Depth - Độ sâu (được đo ở điểm sâu nhất của vết loét)	- Không có tổn thương khác biệt trên da và không đỏ - Tổn thương đến chân bì - Tổn thương đến mô dưới da - Tổn thương đến cơ, gân, xương	
Exudate - Tiết dịch (dịch thấm băng)	- Không có - Ít đến trung bình - Nhiều	0 3 6
Size - Kích thước* (mm ²)	0 < 400 400 đến < 1600 1600 đến < 3600 3600 đến < 6400 6400 đến < 100.000 ≥ 100.000	0 3 6 8 9 12 15
Infection/Inflammation - Nhiễm trùng/viêm	Không Triệu chứng không rõ ràng hoặc nhiễm trùng tại chỗ	0 3
Grannulation - Mô hạt	Mô hạt không thể xác định vì vết thương bị liền hoặc quá nông Mô hạt khỏe mạnh chiếm ≥ 50% diện tích vết loét Mô hạt khỏe mạnh chiếm < 50% diện tích vết loét	0 3 6
Necrotic - Mô hoại tử	Không có Có	0 3
Pocket - Hốc	Không có Có	0 6

* Đo tại chỗ rộng nhất

3. Kết quả

3.1. Kết quả thay đổi kích thước vết loét

Kích thước vết loét

Bảng 2. So sánh kích thước vết loét giữa các nhóm

Nhóm	n	Kích thước ($\bar{X} \pm SD$) mm ²			p _{D0-D21}
		D ₀	D ₁₄	D ₂₁	
GTK 108 (1)	30	1440,58 ± 197,63	261,07 ± 166,68	39,47 ± 47,21	<0,001
NaCl 0,9% (2)	10	1387,58 ± 228,92	756,98 ± 331,80	437,95 ± 152,57	<0,001

SSD (3)	20	1498,98 ± 150,58	661,45 ± 206,46	392,42 ± 158,76	<0,001
Tổng	60	$p_{1-2}>0,05$ $p_{2-3}>0,05$ $p_{1-3}>0,05$	$p_{1-2}<0,001$ $p_{2-3}<0,05$ $p_{1-3}<0,001$	$p_{1-2}<0,001$ $p_{2-3}<0,05$ $p_{1-3}<0,001$	

Nhận xét: Tại thời điểm bắt đầu nghiên cứu (D_0), diện tích vết loét của 3 nhóm không có sự khác biệt với $p>0,05$. Sau 14 ngày và 21 ngày điều trị, diện tích vết loét nhóm GTK 108 nhỏ hơn so với nhóm SSD và NaCl 0,9%. Sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,001$.

Tỷ lệ giảm kích thước vết loét

Bảng 3. So sánh tỷ lệ giảm kích thước vết loét giữa các nhóm

Ngày	Tỷ lệ giảm (± SD) %			p
	GTK108 (1) (n = 30)	NaCl 0,9% (2) (n = 10)	SSD (3) (n = 20)	
D_{14}	81,87 ± 15,67	45,47 ± 31,0	55,87 ± 37,11	$p_{1-2}<0,01$ $p_{2-3}<0,05$ $p_{1-3}<0,01$
D_{21}	97,26 ± 17,11	68,44 ± 33,35	73,82 ± 5,43	$p_{1-2}<0,01$ $p_{2-3}<0,05$ $p_{1-3}<0,01$

Nhận xét: Tỷ lệ giảm diện tích vết loét sau 14 ngày của nhóm GTK 108 là 81,87 ± 15,67%, cao hơn ở cả hai nhóm chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p<0,01$. Tương tự, sau 21 ngày điều trị, nhóm nghiên cứu cũng có tỷ lệ giảm diện tích vết loét cao hơn nhóm chứng (97,26 ± 17,11% so với 68,44 ± 33,35% và 73,82 ± 5,43%), sự khác biệt có ý nghĩa với $p<0,01$.

Tỷ lệ liền vết loét hoàn toàn

Bảng 4. So sánh tỷ lệ liền vết loét hoàn toàn giữa các nhóm sau 21 ngày

Nhóm	Liền hoàn toàn	Liền không hoàn toàn	Tổng
GTK 108 (1)	29 (96,67%)	1 (3,33%)	30
NaCl 0,9% (2)	0 (0%)	10 (100%)	10
SSD (3)	10 (50%)	10 (50%)	20
Tổng	39	21	60

Nhận xét: Sau 21 ngày điều trị, nhóm GTK 108 có 29/30 vết loét liền hoàn toàn, đạt tỷ lệ 96,67%. Nhóm SSD chỉ có 10/10 vết loét (50%) liền hoàn toàn và nhóm NaCl 0,9% không có vết loét nào liền hoàn toàn sau 21 ngày điều trị.

3.2. Kết quả về thời gian điều trị

Bảng 5. So sánh thời gian điều trị giữa các nhóm

Nhóm	n	Thời gian (± SD) ngày	p
GTK108 (1)	30	19,60 ± 4,38	$p_{1-2}<0,001$

NaCl 0,9% (2)	10	$32,90 \pm 4,43$	$p_{2-3} < 0,01$
SSD (3)	20	$27,55 \pm 5,18$	$p_{1-3} < 0,001$

Nhận xét: Thời gian điều trị khỏi hoàn toàn vết loét mạn tính ở nhóm nghiên cứu (GTK 108) là $19,60 \pm 4,38$ ngày, ngắn hơn so với nhóm chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê với $p < 0,001$. Ở nhóm chứng, các vết loét được điều trị với SSD là $27,55 \pm 5,18$ ngày, ngắn hơn so với các vết loét được đắp NaCl 0,9% là $32,90 \pm 4,43$ ngày ($p < 0,01$).

3.3. Kết quả theo thang điểm DESIGN

Bảng 6. So sánh tổng điểm DESIGN giữa các nhóm sau 14 và 21 ngày

Nhóm	n	DESIGN ($\pm$ SD) điểm			$p_{D_0-D_{21}}$
		D_0	D_{14}	D_{21}	
GTK 108 (1)	30	$20,87 \pm 1,96$	$4,90 \pm 2,01$	$1,60 \pm 1,52$	$< 0,001$
NaCl 0,9% (2)	10	$21,30 \pm 2,21$	$16,40 \pm 1,84$	$12,70 \pm 2,50$	$< 0,001$
SSD (3)	20	$21,25 \pm 2,17$	$15,05 \pm 3,24$	$10,70 \pm 2,52$	$< 0,001$
Tổng	60	$p_{1-2} > 0,05$ $p_{2-3} > 0,05$ $p_{1-3} > 0,05$	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{2-3} > 0,05$ $p_{1-3} < 0,001$	$p_{1-2} < 0,001$ $p_{2-3} < 0,05$ $p_{1-3} < 0,001$	

Nhận xét: Ở thời điểm bắt đầu nghiên cứu (D_0), tổng điểm DESIGN của cả ba nhóm không có sự khác biệt với $p > 0,05$.

Sau 21 ngày điều trị, tổng điểm DESIGN ở mỗi nhóm đều giảm so với khi bắt đầu điều trị, sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Tổng điểm DESIGN của vết loét ở nhóm GTK 108 chỉ còn $1,60 \pm 1,52$, nhỏ hơn nhiều so với hai nhóm chứng ($12,70 \pm 2,50$ và $10,70 \pm 2,52$) với $p < 0,001$.

Bảng 7. Đánh giá hiệu quả điều trị theo thang điểm DESIGN ở ngày 21

Nhóm	Hiệu quả	Không hiệu quả	Tổng
GTK108 (1)	30 (100%)	0 (0%)	30
NaCl 0,9% (2)	2 (20%)	8 (80%)	10
SSD (3)	11 (55%)	9 (45%)	20
Tổng	43	17	60

Nhận xét: Tỷ lệ thõ điều trị có hiệu quả theo tổng điểm DESIGN ở nhóm điều trị GTK 108 cao hơn so với nhóm chứng, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$).



A (Thỏ 2)

B (Thỏ 2)

C (Thỏ 5)

Hình 2. Kích thước vết loét sau 21 ngày của nhóm GTK 108 (A), nhóm SSD (B) và nhóm NaCl 0,9% (C)

4. Bàn luận

4.1. Kích thước vết loét

Bảng 2 cho thấy sự thay đổi về kích thước vết loét của 3 nhóm. Ở ngày đầu tiên, sự khác biệt về diện tích vết loét của nhóm chứng và nhóm nghiên cứu không có ý nghĩa thống kê, như vậy đảm bảo tính tương đồng giữa các nhóm cho thời điểm bắt đầu nghiên cứu.

Sau 21 ngày điều trị, kích thước vết loét ở cả 3 nhóm đều giảm rõ rệt ($p < 0,001$). Tại thời điểm ngày 21, diện tích vết loét của nhóm điều trị GTK 108 là $39,47 \pm 47,21 \text{ mm}^2$ nhỏ hơn nhiều so với nhóm chứng sử dụng SSD ($392,42 \pm 158,76 \text{ mm}^2$) và NaCl 0,9% ($437,95 \pm 152,57 \text{ mm}^2$), sự khác biệt là có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Như vậy, so với các nhóm chứng, tốc độ co gọn vết loét của nhóm nghiên cứu nhanh hơn nhiều.

So sánh với kết quả nghiên cứu của Lương Thị Kỳ Thủy và cộng sự (2014) [1] sử dụng cao lỏng trứng gà (bản chất là dầu lòng đỏ trứng gà) cho kết quả diện tích vết loét ở ngày 22 là $52 \pm 55 \text{ mm}^2$, ở nhóm chứng điều trị SSD và NaCl 0,9% lần lượt là $215 \pm 67 \text{ mm}^2$ và $344 \pm 131 \text{ mm}^2$. Hiệu quả điều trị của SSD và NaCl 0,9% giữa hai nghiên cứu là tương đương nhau, cho thấy tính khách quan trong nghiên cứu. Diện tích vết loét sau 21 ngày khi điều trị bằng GTK 108 nhỏ hơn so với diện tích vết loét điều trị bằng cao TG sau 22 ngày.

Khi xét về tỷ lệ giảm diện tích vết loét (Bảng 3), sau 14 ngày, các vết loét nhóm nghiên cứu được điều trị bằng GTK 108 giảm $81,87 \pm 15,67\%$ diện tích so với diện tích ban đầu, giảm nhanh hơn so với

nhóm chứng SSD và NaCl 0,9% giảm lần lượt $55,87 \pm 37,11\%$ và $45,47 \pm 31,0\%$, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê. Sau 21 ngày điều trị, các vết loét nhóm nghiên cứu gần như kín hoàn toàn khi giảm $97,26 \pm 17,11\%$ diện tích, giảm nhiều hơn so với nhóm chứng, $p < 0,01$.

Một vết thương được coi là liền hoàn toàn khi biểu mô phủ kín mặt vết thương. Bảng 4 cho thấy, sau 21 ngày điều trị nhóm nghiên cứu điều trị bằng GTK 108 có 29/30 vết loét (96,67%) liền hoàn toàn, trong khi nhóm chứng SSD chỉ đạt 50% và nhóm NaCl 0,9% không có vết loét nào liền hoàn toàn. Tỷ lệ này tương đương với kết quả nghiên cứu của Lương Thị Kỳ Thủy và cộng sự [1].

Tóm lại, GTK108 thể hiện hiệu quả co gọn diện tích vết loét tốt hơn so với SSD và NaCl 0,9% khi tốc độ giảm diện tích nhanh hơn và tỷ lệ liền vết thương hoàn toàn sau 21 ngày điều trị cao hơn.

4.2. Thời gian liền vết loét hoàn toàn

Liền hoàn toàn một vết thương mạn tính, vết thương lâu liền là một trong những điểm cuối trong điều trị vết thương có ý nghĩa nhất về mặt lâm sàng. Liền hoàn toàn vết thương được định nghĩa là biểu mô hóa hoàn toàn, không còn tiết dịch hoặc không cần băng, được xác nhận qua hai lần kiểm tra liên tiếp trong 2 tuần. Nghiên cứu phân tích theo mốc thời gian trong các thử nghiệm có các nhóm đối chứng có ý nghĩa khoa học rất cao để đánh giá hiệu quả của một phương pháp điều trị.

Bảng 5 cho thấy thời gian liền vết thương hoàn toàn ở ba nhóm: Nhóm điều trị bằng GTK 108 có thời gian điều trị là $19,60 \pm 4,38$ ngày, ngắn hơn so

với nhóm chứng sử dụng NaCl 0,9% ($32,90 \pm 4,43$ ngày) và SSD ($27,55 \pm 5,18$ ngày), sự khác biệt có ý nghĩa thống kê ($p < 0,001$). Như vậy, so với nhóm chứng, GTK 108 giúp vết thương liền nhanh hơn, bổ sung cho kết quả về diện tích vết thương sau 22 ngày điều trị đã được bàn luận ở trên.

Nghiên cứu của Lương Thị Kỳ Thủy và cộng sự (2014) [1] cho thấy thời gian điều trị để liền vết thương hoàn toàn của nhóm nghiên cứu điều trị bằng cao TG ($29,9 \pm 2,4$ ngày) ngắn hơn so với nhóm SSD ($p < 0,01$) và NaCl 0,9% ($p < 0,001$).

So sánh với kết quả trong nghiên cứu trên, thời gian này ở nhóm điều trị GTK 108 của chúng tôi ngắn hơn so với nhóm điều trị Cao trướng gà, dù diện tích vết loét tạo được của chúng tôi lớn hơn so với tác giả có thể do GTK 108 có thêm thành phần Đại hoàng và Hoàng đằng, giúp thúc đẩy tốc độ liền vết loét nhanh hơn.

4.3. Thang điểm DESIGN

Chúng tôi lựa chọn sử dụng thang điểm DESIGN được Sanada H và cộng sự [6] đưa ra năm 2004 do các chỉ tiêu đánh giá được toàn bộ đặc điểm của vết thương mạn tính và chia thành các điểm chi tiết giúp định lượng được những thay đổi của chúng trên lâm sàng.

Tổng điểm DESIGN của các vết loét trong nghiên cứu trung bình khoảng 21, có sự tương đồng giữa nhóm nghiên cứu và nhóm chứng. Sau 14 ngày, khi nhóm chứng chỉ giảm được khoảng 5 điểm, nhóm nghiên cứu đã giảm khoảng 15 điểm. Sau 21 ngày, cả ba nhóm đều giảm điểm DESIGN rõ rệt, tuy nhiên, nhóm chứng vẫn còn điểm DESIGN > 10 , nhóm nghiên cứu chỉ còn $1,60 \pm 1,52$. Như vậy, GTK 108 làm giảm điểm DESIGN nhanh hơn trên tất cả các chỉ tiêu so với nhóm chứng.

Khi đánh giá hiệu quả điều trị bằng tổng điểm DESIGN sau 21 ngày điều trị, cả 30 vết loét nghiên cứu (100%) đều giảm tổng điểm DESIGN $> 50\%$ so với trước điều trị, cao hơn so với nhóm chứng SSD có 11/20 vết loét (55%) và NaCl 0,9% có 2/10 vết loét (20%) hiệu quả, sự khác biệt có ý nghĩa thống kê.

Kết quả về tổng điểm DESIGN trong nghiên cứu của chúng tôi có sự tương đồng với tác giả Lương Thị Kỳ Thủy và cộng sự (2014) khi dùng dầu lòng đỏ trứng gà để điều trị loét da mạn tính trên thực nghiệm [1].

Trong nghiên cứu này, 100% các vết loét được điều trị bằng GTK 108 sạch hoại tử rất sớm, mô hạt tại lên nhanh, đều và đẹp. Kích thước sẹo tại thời điểm ngày 21 của nhóm GTK 108 nhỏ hơn rất nhiều so với nhóm SSD, thậm chí vết thương nhóm GTK 108 sau khi co gọn để lại vết sẹo rất nhỏ, trên nền sẹo màu đỏ hồng đã mọc lông trở lại. Trong khi đó, sau 21 ngày, vết thương đắp NaCl 0,9% diện tích vẫn còn lớn, bề mặt nhiều giả mạc, rửa sạch giả mạc thấy còn hốc.

Tóm lại, các vết loét mạn tính thực nghiệm trên thỏ được điều trị bằng GTK 108 giảm kích thước, tăng sinh mô hạt, giảm hoại tử và tổng điểm DESIGN nhanh hơn có ý nghĩa thống kê so với các nhóm chứng.

5. Kết luận

Bài thuốc GTK 108 giúp co gọn vết loét mạn tính hiệu quả: Tăng tốc độ co gọn vết loét, tăng tỷ lệ giảm diện tích vết loét ở nhóm nghiên cứu. Tỷ lệ liền hoàn toàn vết loét ở nhóm nghiên cứu đạt 100%, cao hơn so với nhóm chứng.

Bài thuốc GTK 108 rút ngắn thời gian liền hoàn toàn vết loét mạn tính và có hiệu quả trong giảm điểm DESIGN.

Tài liệu tham khảo

1. Lương Thị Kỳ Thủy, Lê Đình Roanh, Phạm Viết Dự và cộng sự (2014) *Đánh giá tác dụng điều trị loét da mạn tính của cao TG trên mô hình thực nghiệm*. Tạp Chí Dược Học Cổ Truyền Quân Sự, 4(2), tr. 15-22.
2. Frykberg RG and Banks J (2015) *Challenges in the treatment of chronic wounds*. Adv Wound Care 4(9): 560-582.
3. Sen CK, Gordillo GM, Roy S et al (2009) *Human skin wounds: A mand snowballing threat to public health and the economy*. Wound Repair Regen Off Publ Wound Heal Soc Eur Tissue Repair Soc 17(6): 763-771.
4. Li FL, Wang YF, Li X et al (2012) *Characteristics and clinical managements of chronic skin ulcers based on traditional Chinese medicine*. Evid Based Complement Alternat Med: 1-6.
5. Rudolph R, Woodward M, and Hurn I (1979) *Ultrastructure of doxorubicin (Adriamycin)-induced skin ulcers in rats*. Cancer Res 39(9): 3689-3693.
6. Sanada H, Moriguchi T, Miyachi Y et al. (2004) *Reliability and validity of DESIGN, a tool that*

classifies pressure ulcer severity and monitors healing. J Wound Care 13(1): 13-18.