

银黄洗剂对糖尿病溃疡大鼠 IL-18、TNF- α 及 HIF-1 α /VEGF 通路的影响

王培宇¹, 贾振², 高杰², 梁学威^{2*}

1. 黑龙江中医药大学, 黑龙江 哈尔滨 150040; 2. 黑龙江中医药大学附属第一医院, 黑龙江 哈尔滨 150040

摘要 目的:探讨银黄洗剂对糖尿病溃疡大鼠创面的治疗效果及机制。方法:采用高糖高脂饮食+一次性腹腔注射链脲佐菌素(STZ)建立 SD 大鼠糖尿病模型;手术+50%冰醋酸刺激建立糖尿病大鼠皮肤溃疡模型;将成模大鼠随机分为模型组、银黄洗剂组和康复新液组,每组 12 只,正常 SD 大鼠 12 只作为对照组。对照组和模型组大鼠溃疡面用浸生理盐水的纱布块敷盖;银黄洗剂组大鼠溃疡面用浸银黄洗剂药液的纱布块敷盖;康复新液组大鼠溃疡面用浸康复新液的纱布块敷盖。各组每日换药 1 次,连续给药 28 d。在给药 14 d、28 d 时,各组随机选取 6 只大鼠,观察大鼠一般状态、体质量、空腹血糖、溃疡面积和溃疡愈合率,ELISA 法检测大鼠血清白细胞介素-18(IL-18)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)含量,Western blot 法检测缺氧诱导因子 1 α (HIF-1 α)、血管内皮生长因子(VEGF)表达水平。结果:第 14、28 天时,与对照组比较,模型组大鼠溃疡面积更大,溃疡愈合率低,炎症因子水平高,相关蛋白表达量降低($P < 0.05$);第 14、28 天时,与模型组相比,银黄洗剂组和康复新液组大鼠溃疡面积更小,溃疡愈合率高,炎症因子水平低,相关蛋白表达量高($P < 0.05$);第 14、28 天时,银黄洗剂组大鼠溃疡面积小于康复新液组($P < 0.01$),溃疡愈合率大于康复新液组($P < 0.01$),炎症因子水平低于康复新液组($P < 0.01$),相关蛋白表达量高于康复新液组($P < 0.01$)。结论:银黄洗剂可通过抑制炎症因子及调节 HIF-1 α /VEGF 信号通路,促进缺血创面血管生成,加速创面组织愈合,缩短糖尿病溃疡治疗周期,起到治疗糖尿病溃疡创面的作用。

关键词 银黄洗剂;糖尿病溃疡;IL-18;TNF- α ;HIF-1 α /VEGF 通路

中图分类号:R285.5

文献标识码:A

文章编号:1002-2392(2026)02-0015-07

DOI:10.19664/j.cnki.1002-2392.260026

糖尿病是由多种原因引起的糖、脂质、蛋白质或氨基酸代谢紊乱,造成各器官和(或)各系统功能障碍或损伤。目前,在全球范围内,糖尿病是严重威胁人类健康的慢性疾病之一。随着我国经济的飞速发展,人们的生活水平逐渐提高、生活节奏越来越快,人口老龄化日趋严重,在这些因素的影响下,目前我国糖尿病患者呈现逐年增加趋势,而糖尿病溃疡是糖尿病主要并发症之一。据 WHO 统计,到本世纪中叶,全球糖尿病患者将达到约 4 亿,其中仅发达国家美国,发展中国家中国和印度糖尿病患者将达到 7 000 万人,2019 年中国

糖尿病足防治指南^[1]中提到,每 20 s 全球就有 1 名糖尿病患者截肢。这一问题,严重影响着糖尿病患者生活及身心健康。

中医学认为,糖尿病溃疡属于“脱疽”范畴,根据糖尿病溃疡多因“热毒蕴结,湿毒下注”的病证特点,本课题组在历代医家及现代学者的治疗经验及长期的临床研究的基础上,以黄连解毒汤为基础进行量减化裁,研制的银黄洗剂在糖尿病溃疡治疗临床工作中取得良好效果,为明确银黄洗剂治疗作用的机制,本实验通过建立糖尿病大鼠溃疡模型,观察银黄洗剂治疗后大鼠一般状态、溃疡愈合情况、大鼠外周血 IL-18、TNF- α 水平及创面组织中 HIF-1 α /VEGF 通路蛋白表达水平变化,探究银黄洗剂对糖尿病大鼠溃疡创面的疗效及机制。

1 材料及方法

1.1 动物

60 只 SPF 级 100~120 g 雄性 SD 大鼠,由黑龙江

收稿日期:2024-05-09 修回日期:2025-03-17

基金项目:黑龙江省中医药科研项目(ZHY2022-159)

作者简介:王培宇(1991-),男,博士研究生,主治医师,研究方向:中西医结合治疗周围血管疾病的研究。

*通信作者:梁学威(1988-),女,博士,主治医师,研究方向:中西医结合治疗周围血管系统疾病及其并发症。

中医药大学动物实验中心提供,饲养在黑龙江中医药大学动物实验室,温度为 $(23 \pm 3)^\circ\text{C}$,湿度为 40% ~ 70%,每天 12 h 明暗交替照明,饲养期间自由进食、饮水,实验动物饲养条件符合《实验动物环境及设施》(GB14925-2023)和《黑龙江省实验动物管理条例》。正常饲料为黑龙江中医药大学动物实验中心提供的标准大鼠颗粒饲料,高糖高脂饲料购自北京斯贝福生物技术有限公司,组成为 25% 蔗糖,15% 猪油,1.0% 胆汁和 2.5% 胆固醇。动物标记采用耳标号法。

1.2 药物

银黄洗剂配方中的黄芩、黄连、黄柏、赤芍、栀子、马齿苋及白鲜皮饮片由黑龙江中医药大学附属第一医院药剂科提供。银黄洗剂具体配制方法:取黄芩、黄连、黄柏各 30 g,赤芍 30 g,栀子 30 g,马齿苋 60 g 及白鲜皮 60 g(组方中各药品配比为 1:1:1:1:1:2:2)加入 1 350 mL 蒸馏水(料水比 1:5)常温浸泡 24 h,80 $^\circ\text{C}$ 水浴回流浸提 2 次,每次 120 min,将两次提取液合并,旋转蒸发浓缩至含有生药 1 g/mL 的浓缩液,每 15 mL 分装 1 瓶,高压蒸汽灭菌后 2 ~ 8 $^\circ\text{C}$ 保存备用,即为本实验研究所用的银黄洗剂,使用时恢复至常温。

1.3 主要试剂

苏木素染液(北京中杉金桥生物技术有限公司,货号:ZLI-9610);伊红染色液(北京索莱宝科技有限公司,货号:G1100);ECL 化学发光法检测试剂盒(北京索莱宝科技有限公司,货号:SW2010);柠檬酸钠缓冲液(北京索莱宝科技有限公司,货号:C1010);蛋白提取试剂盒(上海贝博生物技术有限公司,货号:BB-31612);IL-18(杭州联科生物技术股份有限公司,货号:EK218);TNF- α 酶联免疫吸附试剂盒(杭州联科生物技术股份有限公司,货号:EK382HS);BCA 蛋白定量试剂盒(雅酶生物,货号:ZJ101);HIF-1 α 多克隆抗体(Thermo Fisher 科技有限公司,货号:PA1-16601);VEGF Monoclonal Antibody(Thermo Fisher 科技有限公司,货号:MA1-16629);GAPDH 一抗(Thermo Fisher 科技有限公司,货号:MA5-35235);羊抗兔二抗(Thermo Fisher 科技有限公司,货号:31460);链脲霉素(STZ)(索莱宝生物科技有限公司,货号:S8050);康复新液(四川好医生攀西药业有限责任公司,生产批号:C231113)。

1.4 主要仪器

血糖仪(上海玉研科学仪器有限公司,型号:AC-CU-CHEK);显微镜(OLYMPUS,型号:cx23);多功能全波长酶标仪(Thermo Fisher Scientific,型号:A51119500C);生物安全柜(山东博科科学仪器有限公

司,型号:11229BBC86);离心机(上海恒跃医疗器械有限公司,型号:HCF8)。

1.5 模型建立

1.5.1 大鼠糖尿病模型的建立

参考文献^[2-3]采用高糖高脂饮食 + STZ 诱导法建立 SD 大鼠糖尿病模型。造模前,大鼠禁食 12 h,自由饮水,用血糖试纸检测空腹血糖(fasting blood-glucose,FBG)值,排除个体差异。实验大鼠共 60 只,随机选取 12 只大鼠作为正常对照组,给予常规饮食喂养,其余 48 只大鼠给予高糖高脂饲料喂养。造模 2 周后,按体质量空腹腹腔注射 40 mg/kg 的 1% STZ 溶液,72 h 后尾静脉采血测量空腹血糖,将空腹血糖 ≥ 16.7 mmol/L 的 SD 大鼠视为糖尿病造模成功,糖尿病造模成功大鼠共 42 只。12 只对照组大鼠按体质量空腹腹腔注射同体积的柠檬酸钠缓冲液。

1.5.2 糖尿病大鼠溃疡模型的建立

根据文献^[3-4]方法制作糖尿病大鼠体表溃疡模型。将 42 只糖尿病大鼠及 12 只正常 SD 大鼠用戊巴比妥钠(100 mg/kg)麻醉后,采取俯卧位固定,背部备皮,以脊柱中线旁开 1.5 cm 左侧位置设计 2 cm $\times$ 2 cm 区域,手术切除该区域全层皮肤深至筋膜层,形成缺损性创面,每日用 50% 冰醋酸涂抹创面,1 周后待创面形成溃疡后开始给药。给药期间,除对照组大鼠给予常规标准饲料外,其余各组大鼠均给予高糖高脂饲料。共 42 只大鼠进行造模,糖尿病大鼠溃疡模型造模成功大鼠 36 只,死亡 4 只,造模失败 2 只。

1.6 分组

将糖尿病溃疡模型大鼠按随机数表法随机分为模型组(MOD 组)、银黄洗剂组(YHG 组)、康复新液组(KFG 组),正常 SD 大鼠作为对照组(CON 组),每组 12 只。

1.7 给药

将医用无菌纱布叠成 8 层,制成 2 cm $\times$ 2 cm 纱布块后高压蒸汽灭菌备用。对照组和模型组大鼠溃疡面用浸生理盐水的纱布块敷盖,医用弹力绷带固定。银黄洗剂组大鼠溃疡面用浸银黄洗剂药液的纱布块敷盖,医用弹力绷带固定。康复新液组大鼠溃疡面用浸康复新液药液的纱布块敷盖,医用弹力绷带固定。所有组每日换药 1 次,连续给药 28 d。

1.8 指标检测及方法

1.8.1 大鼠一般状态、体质量和空腹血糖

实验期间,观察并记录大鼠一般状态,包括大鼠精神状态、进食、饮水、尿量、自主活动等。本研究在给药 14 d 和 28 d 两个时间点观察各项指标,给药 14 d 后各

组随机选取 6 只大鼠,记录各组大鼠体质量,取大鼠尾尖血检测空腹血糖,然后取血、处死大鼠,取创面组织用于后续实验。另外 6 只大鼠于给药 28 d 观察各项指标。

1.8.2 溃疡面积及溃疡愈合率

参考文献^[5-6]方法计算创面面积及创面愈合率。以戊巴比妥钠(100 mg/kg)麻醉大鼠,俯卧位固定,用数码相机垂直于溃疡面拍照(每次拍摄时闪光灯、光圈等相机设置保持一致),照片使用 photoshop CC2019 软件裁剪成 2.5 cm×2.5 cm 大小,使用 Image J 软件计算溃疡面积。计算公式:溃疡面积=(溃疡区域的像素值/图片总像素值)×图片总面积;溃疡面愈合率=1-Sn/S0×100%(Sn:第 n 天溃疡面积;S0:初始溃疡面积)。

1.8.3 ELISA 法检测大鼠血清 IL-18、TNF-α 含量

给药 14 d、28 d,取腹主动脉血约 4 mL,室温静置 1 h,4℃,3 000 r/min 离心 20 min,取上清液-20℃保存,用于 IL-18、TNF-α 检测。待测物质抗体包被微孔板,制成固相抗体,向包被单抗的微孔中加入待测物质,形成抗体-抗原-酶标抗体复合物,洗涤后加显色液显色,加终止液终止,10 min 内在酶标仪 450 nm 波长下测定吸光度,通过标准曲线计算样本 IL-18、TNF-α 实际含量。

1.8.4 创面组织病理学观察

给药 14 d、28 d,取大鼠创面组织,行常规 HE 染色步骤,石蜡包埋,切片,烤片,脱蜡,染色,脱水,透明,封片,显微镜下观察创面组织病理学变化。

1.8.5 Western-blot 法检测创面组织 HIF-1α/VEGF 通路蛋白表达

给药 14 d、28 d,取大鼠创面组织,匀浆后取上清液,提取总蛋白质,定量蛋白浓度后,沸水浴 5 min 蛋白变性,取同质量各组待测蛋白进行电泳后,将蛋白进行转膜、封闭处理,分别加入一抗溶液,HIF-1α(1:1 000)、VEGF(1:1 000)、GAPDH(1:5 000)一抗,4℃环境中孵育过夜,TBST 洗涤 3 次,加入羊抗兔二抗溶液(1:10 000),室温孵育 2 h,TBST 洗膜 5 次,每次 15 min,经 ECL 显影剂显色后置于凝胶成像仪中拍照,使用 Image J 软件进行灰度扫描并计算蛋白表达,以 GAPDH 为内参,以目的蛋白与内参蛋白灰度值的比值代表目的蛋白表达量。

1.9 数据处理与统计分析

采用 Graphpadprism 7.0 和 Office Excel 365 绘制图或表。采用 SPSS 24.0 进行数据统计分析,实验数据结果均以平均值±标准误($\bar{x} \pm s$)表示,采用 one-

way ANOVA 单因素方差分析进行组间比较,方差齐性采用 LSD 法,方差性不齐采用 Dummett's T3 法,以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 实验结果

2.1 大鼠一般状态、体质量和空腹血糖比较

CON 组大鼠各时期观察均精神状态良好,体态健康,自主活动正常,反应灵敏,进食、饮水量、尿量正常;MOD 组大鼠给药 14 d、28 d,大鼠表现精神萎靡,运动减少,舔毛行为增加,饮水量、尿量增加;YHG 组、KFG 组大鼠给药 14 d 时存在消极行为,如表现不活跃,同时饮水及尿量有所增加;给药 28 d 时 YHG 组、KFG 组一般状态较前改善。

给药 14 d,MOD 组、YHG 组、KFG 组大鼠体质量明显低于 CON 组($P < 0.05$, $P < 0.01$),YHG 组大鼠体质量高于 MOD 组($P < 0.05$);给药 28 d,MOD 组大鼠体质量低于 CON 组($P < 0.01$),YHG 组、KFG 组与 CON 组相比,体质量差异无统计学意义($P > 0.05$);与 MOD 组比较,28 d 时 YHG 组、KFG 组大鼠体质量较高,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 大鼠体质量比较($\bar{x} \pm s$,g)

组别	n	14 d	28 d
CON 组	6	258.77 ± 8.03	348.71 ± 10.77
MOD 组	6	214.19 ± 7.36**	286.58 ± 8.46**
YHG 组	6	241.96 ± 10.45*#	324.91 ± 11.41#
KFG 组	6	225.75 ± 5.89**	310.20 ± 10.66#

注:与 CON 组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 MOD 组比较,# $P < 0.05$ 。

给药 14 d,各造模组大鼠血糖明显高于 CON 组,与 CON 组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。与 MOD 组比较,KFG 组、YHG 组大鼠 14 d 时血糖降低($P < 0.01$),14 d 时 YHG 组与 KFG 组大鼠血糖无明显差异($P > 0.05$)。给药 28 d,各造模组大鼠血糖明显高于 CON 组,与 CON 组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。MOD 组、YHG 组、KFG 组比较,空腹血糖无明显差异($P > 0.05$),见表 2。

表 2 大鼠空腹血糖值比较($\bar{x} \pm s$,mmol/L)

组别	n	14 d	28 d
CON 组	6	5.80 ± 0.52	6.22 ± 0.30
MOD 组	6	25.35 ± 0.68**	22.63 ± 1.03**
YHG 组	6	22.51 ± 1.08##	20.26 ± 0.67
KFG 组	6	21.70 ± 0.80##	21.74 ± 1.14

注:与 CON 组比较,** $P < 0.01$;与 MOD 组比较,## $P < 0.01$ 。

2.2 溃疡面积及溃疡愈合率比较

各组大鼠治疗后创面面积缩小,第 14 天时,MOD 组

大鼠溃疡面积显著大于 CON 组($P < 0.01$),与 MOD 组相比,YHG 组和 KFG 组大鼠溃疡面积显著减小($P < 0.01$),与 KFG 组相比,YHG 组大鼠溃疡面积显著减小($P < 0.01$);第 28 天时,与 MOD 组比较,KFG 组大鼠溃疡面积显著减小($P < 0.01$),与 KFG 组比较,YHG 组大鼠溃疡面积显著减小($P < 0.01$),与 CON 组比较,YHG 组大鼠溃疡面积显著减小($P < 0.05$)。各组大鼠溃疡面积见表 3,治疗 14 d、28 d 大鼠创面示例见图 1。

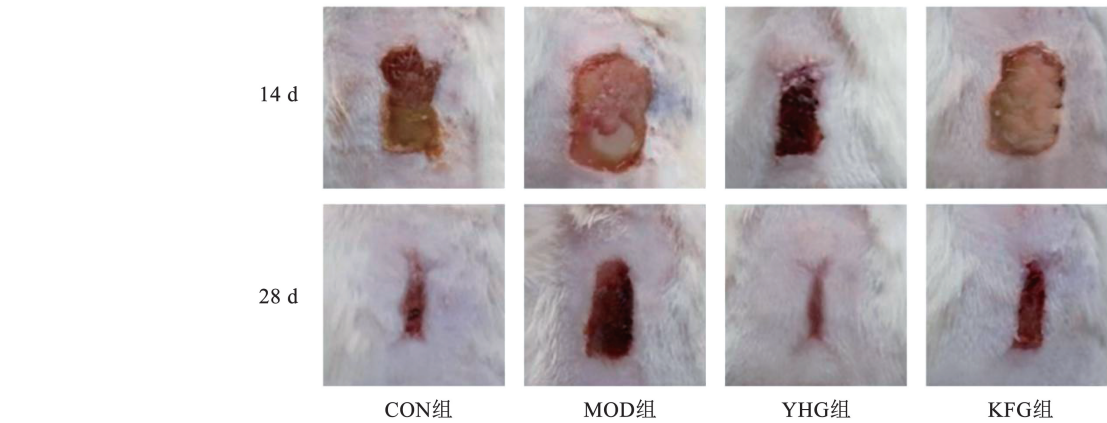


图 1 各组大鼠创面

第 14、28 天时,MOD 组大鼠溃疡愈合率低于 CON 组($P < 0.01$);第 14、28 天时,YHG 组和 KFG 组大鼠溃疡愈合率高于 MOD 组($P < 0.01$);第 14 天时,YHG 组大鼠溃疡愈合率显著高于 KFG 组($P < 0.01$);第 28 天时,YHG 组大鼠溃疡愈合率高于 KFG 组($P < 0.01$)。各组大鼠溃疡愈合率见表 4。

表 4 各组大鼠溃疡面愈合率($\bar{x} \pm s, \%$)				
组别	<i>n</i>	14 d	28 d	
CON 组	6	46.75 $\pm$ 1.97	88.29 $\pm$ 0.49	
MOD 组	6	24.75 $\pm$ 2.04 ^{**}	62.25 $\pm$ 0.80 ^{**}	
YHG 组	6	52.26 $\pm$ 1.35 ^{***$\Delta\Delta$}	95.75 $\pm$ 0.27 ^{***$\Delta\Delta$}	
KFG 组	6	34.46 $\pm$ 1.46 ^{***}	73.50 $\pm$ 0.58 ^{***}	

注:与 CON 组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与 MOD 组比较,^{##} $P < 0.01$;与 KFG 组比较, ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$ 。

表 5 各组大鼠血清炎症因子量比较($\bar{x} \pm s, \text{ng/L}$)

组别	<i>n</i>	IL - 18		TNF - α	
		14 d	28 d	14 d	28 d
CON 组	6	21.42 $\pm$ 0.65	13.89 $\pm$ 0.78	25.19 $\pm$ 1.39	20.19 $\pm$ 0.71
MOD 组	6	54.42 $\pm$ 1.64 ^{**}	47.50 $\pm$ 1.46 ^{**}	41.75 $\pm$ 0.95 ^{**}	39.09 $\pm$ 1.00 ^{**}
YHG 组	6	40.26 $\pm$ 1.47 ^{***$\Delta\Delta$}	17.68 $\pm$ 0.66 ^{***$\Delta\Delta$}	28.16 $\pm$ 0.71 ^{***$\Delta\Delta$}	21.82 $\pm$ 1.00 ^{***$\Delta\Delta$}
KFG 组	6	38.13 $\pm$ 1.35 ^{***}	24.55 $\pm$ 1.57 ^{***}	34.74 $\pm$ 1.54 ^{***}	25.90 $\pm$ 0.87 ^{***}

注:与 CON 组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与 MOD 组比较,^{##} $P < 0.01$;与 KFG 组比较, ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$ 。

2.4 创面组织 HE 染色结果比较

HE 染色结果显示,14 d 时,CON 组大鼠创面组织细胞排列较规整,结缔组织紧密连接,炎症反应轻,少

表 3 各组大鼠溃疡面积比较($\bar{x} \pm s, \text{cm}^2$)

组别	<i>n</i>	14 d	28 d
CON 组	6	2.13 $\pm$ 0.08	0.47 $\pm$ 0.02
MOD 组	6	3.01 $\pm$ 0.08 ^{**}	1.51 $\pm$ 0.03 ^{**}
YHG 组	6	1.91 $\pm$ 0.05 ^{***$\Delta\Delta$}	0.17 $\pm$ 0.01 ^{***$\Delta\Delta$}
KFG 组	6	2.62 $\pm$ 0.06 ^{***}	1.06 $\pm$ 0.02 ^{***}

注:与 CON 组比较,^{*} $P < 0.05$,^{**} $P < 0.01$;与 MOD 组比较,^{##} $P < 0.01$;与 KFG 组比较, ^{$\Delta\Delta$} $P < 0.01$ 。

2.3 炎症因子 IL - 18、TNF - α 含量

与 CON 组比较,MOD 组大鼠 14 d 和 28 d 时血清 IL - 18、TNF - α 含量明显升高($P < 0.01$)。与 MOD 组比较,KFG 组和 YHG 组大鼠 14 d 和 28 d 时血清 IL - 18、TNF - α 含量明显降低($P < 0.01$)。KFG 组与 YHG 组大鼠血清 IL - 18 含量在 14 d 时差异无统计学意义($P > 0.05$),28 d 时 YHG 组 IL - 18 含量更低,与 KFG 组差异有统计学意义($P < 0.01$),KFG 组与 YHG 组大鼠血清 TNF - α 含量在 14 d、28 d 差异显著,YHG 组 TNF - α 含量更低($P < 0.01$),见表 5。

量中性粒细胞和淋巴细胞浸润,血管形态正常,无明显扩张或充血;MOD 组大鼠溃疡创面 HE 染色可观察到明显的损伤和炎症反应,细胞呈现变性、坏死,中性粒

细胞和淋巴细胞浸润明显;与 MOD 组相比,YHG 组和 KFG 组大鼠创面组织炎性细胞较少,无明显中性粒细胞浸润,新生血管较多。28 d 时各组大鼠创面组织病

理学改变均较治疗前改善,表现为炎性细胞浸润减少,新生血管增多,坏死组织减少,见图 2。

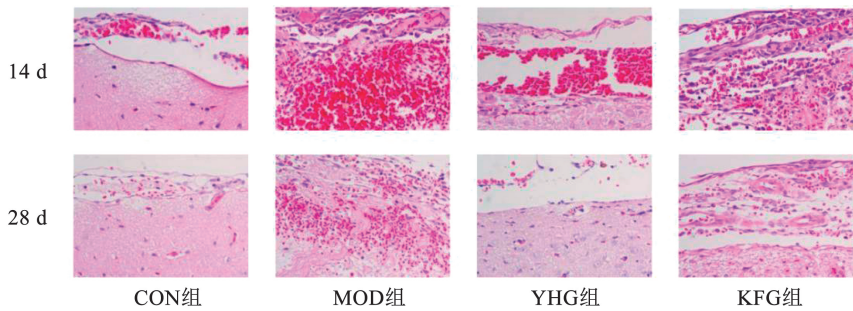


图2 各组大鼠创面 HE 染色(×400)

2.5 创面组织 HIF-1α/VEGF 信号通路蛋白表达比较

给药第 14 天,与 CON 组比较,MOD 组大鼠创面组织 HIF-1α、VEGF 蛋白表达水平降低($P<0.01$),与 MOD 组比较,KFG 组、YHG 组大鼠创面组织 HIF-1α、VEGF 蛋白表达水平升高($P<0.01$),与 KFG 组比较,YHG 组大鼠创面组织 HIF-1α、VEGF 蛋白表达水

平升高($P<0.05$, $P<0.01$);给药第 28 天,MOD 组大鼠创面组织 HIF-1α、VEGF 蛋白表达水平低于 CON 组($P<0.01$),KFG 组、YHG 组大鼠创面组织 HIF-1α、VEGF 蛋白表达水平高于 MOD 组($P<0.01$),KFG 组与 YHG 组大鼠创面组织 HIF-1α、VEGF 蛋白表达水平无明显差异($P>0.05$),见表 6、图 3。

表 6 各组大鼠创面 HIF-1α、VEGF 蛋白含量比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	14 d		28 d	
		HIF-1α	VEGF	HIF-1α	VEGF
CON 组	6	0.78 ± 0.11	0.84 ± 0.17	0.95 ± 0.12	0.88 ± 0.10
MOD 组	6	0.42 ± 0.07 **	0.30 ± 0.08 **	0.85 ± 0.09 **	0.76 ± 0.08 **
YHG 组	6	0.85 ± 0.14 ###△△	0.89 ± 0.11 ###△	0.96 ± 0.13 ###	0.97 ± 0.14 * ###
KFG 组	6	0.64 ± 0.09 * ###	0.77 ± 0.09 ##	0.94 ± 0.12 ##	0.94 ± 0.11 * ###

注:与 CON 组比较,* $P<0.05$,** $P<0.01$;与 MOD 组比较,### $P<0.01$;与 KFG 组比较,△ $P<0.05$,△△ $P<0.01$ 。

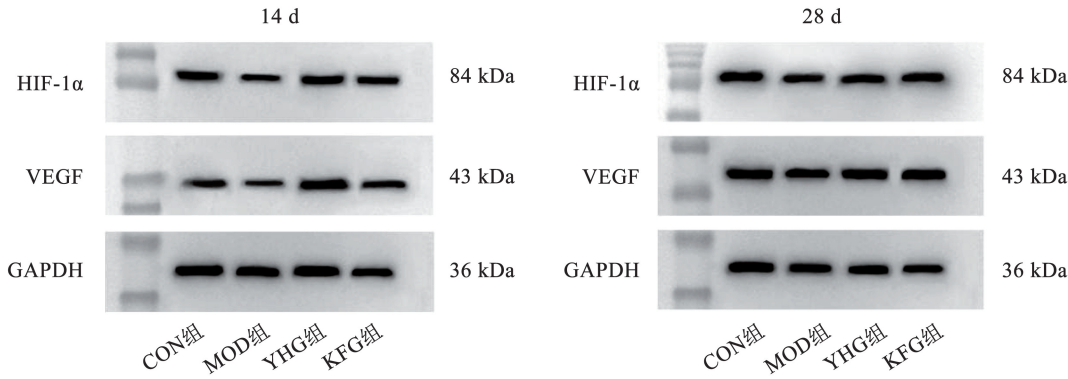


图3 各组大鼠创面组织 HIF-1α、VEGF 蛋白条带

3 讨论

糖尿病性溃疡属中医“消渴”“脱疽”范畴,以湿热、阴虚、气虚等证候最常见,证候间实证与虚证相结合,气阴两虚、湿热下注、瘀血阻络是基本证型^[7]。当前治疗手段主要包括降糖、调脂、扩张血管、抗凝、抗感染等内科基础治疗,外科植皮、介入、血管重建等手术

治疗方式,存在愈合缓慢,反复发作,治疗昂贵等难题^[8]。《圣济总录·消渴门》曰:“消渴者……久不治,则经络壅涩,留于肌肉,发为痈疽”。消渴日久,气阴耗伤,血行不畅,筋脉失养,气阴两虚,湿热下注而致肢端坏疽,或外邪侵袭,热毒炽盛,肉腐化脓,而成脱疽。但当前对糖尿病难愈性溃疡的辨证论证尚缺乏统一的

认识,其治疗有效性及安全性缺乏临床大样本分析,且行之有效的方案难以大范围推广,因此探索有效、安全、经济的治疗方案是当前研究热点、难点。

本课题组根据糖尿病患者阴虚易感外邪的特点,分析糖尿病性溃疡为邪气日久瘀于局部易于化热,热盛而肉腐,进而成脓,与中医学认为的糖尿病溃疡主要的致病机理为热毒蕴结、湿毒下注相一致,在历代医家及现代学者的治疗经验及本课题组长期临床研究的基础上,以黄连解毒汤为基础进行量减化裁而成银黄洗剂,以黄芩、黄连、黄柏共为君药,共奏清热燥湿、解毒之功;赤芍清热消肿、散瘀止痛,为臣药;佐以马齿苋和白鲜皮,清热燥湿、祛风解毒生肌;使以栀子,导热下行,诸药共用,共奏清利湿热、活血化瘀、祛腐生肌之功^[9]。本研究结果显示,造模后糖尿病溃疡大鼠一般状态不同程度受损,模型组大鼠在体质量、创面愈合、创面病理变化等方面均较对照组差。银黄洗剂组和康复新液组治疗后,大鼠一般状态好转,创面愈合率较模型组增加,创面病理变化较模型组减轻,同时血管生成相关蛋白表达增加,结果表明银黄洗剂和康复新液对糖尿病溃疡创面均有治疗作用,通过对比银黄洗剂组和康复新液组实验结果,银黄洗剂组表现出更好的治疗效果。各造模组大鼠空腹血糖水平对比,银黄洗剂组和康复新液组较模型组稍低,两组治疗方式中未包含明确降糖作用药物,尚需进一步实验设计及研究明确血糖水平差异原因。

高血糖可导致感觉神经病变,降低组织对创伤和疼痛的感知,增加了受伤的风险,同时高血糖通过导致小动脉管壁硬化和微血管通透性增加造成组织血液循环不良、局部组织缺血、缺氧状态,影响创伤后愈合能力和抗感染能力^[10]。同时,高血糖影响白细胞趋化和吞噬能力,使创面更容易发生感染^[11]。HIF-1 α 转录因子为氧浓度依赖型转录因子,在低氧环境下,HIF-1 α 蛋白稳定并进入细胞核,与 HIF-1 β 亚单位结合形成活性的 HIF-1 复合物,低氧环境下,HIF-1 α 激活可导致 VEGF 基因的转录水平上调,从而促进内皮细胞的增殖、迁移和管腔形成,最终导致新血管的形成和血管再生^[12]。糖尿病研究中发现,HIF-1 α 在糖尿病情况下功能活性降低,进而影响 VEGF 的表达,血管生成受阻,伤口愈合受限^[13]。康复新液为临床常用中药制剂,含多肽、氨基酸、生物硷等多种药理成分,可通过促进坏死组织脱落及促进细胞蛋白质合成等,产生抗炎、组织修复和再生等功效,在烧伤、创伤、术后伤口修复中有广泛应用^[14],同时也应用于褥疮、糖尿病足等慢性难愈合创面的治疗^[15],临床采用外敷康复新液

治疗皮肤溃疡,操作简便,效果较好,且不良反应极少。本研究通过建立糖尿病溃疡大鼠模型,观察银黄洗剂对大鼠创面愈合的影响,并通过对比银黄洗剂与康复新液治疗效果的差异,结果显示,银黄洗剂组大鼠创面炎症因子 IL-18、TNF- α 含量下降,创面组织 HIF-1 α /VEGF 信号通路蛋白表达增加,提示银黄洗剂可通过抑制组织炎症反应,增加创面组织血管生成,进而起到治疗糖尿病溃疡的作用,且治疗效果优于康复新液,在抑制创面炎症反应及促进创面修复方面,银黄洗剂有一定优势。

综上所述,本研究根据中医在糖尿病溃疡中的诊治规律,外用银黄洗剂治疗糖尿病溃疡,其促进创面组织愈合,缩短糖尿病难愈性溃疡治疗周期作用机制可能通过 IL-18 及 TNF- α 抑制炎症水平,调节 HIF-1 α /VEGF 信号通路实现。

参考文献:

- [1] 中华医学会糖尿病学分会,中华医学会感染病学会,中华医学组织修复与再生分会.中国糖尿病足防治指南(2019版)(I)[J].中华糖尿病杂志,2019,11(2):17.
- [2] CHENG F F, MA C Y, SUN L M, et al. Synergistic neuroprotective effects of Geniposide and ursodeoxycholic acid in hypoxia-reoxygenation injury in SH-SY5Y cells[J]. Exp Ther Med, 2018, 15(1): 320-326.
- [3] HASSANZADEH K N, KIM E Y, DRYER S E. TRPC6 inactivation does not protect against diabetic kidney disease in streptozotocin (STZ)-treated Sprague-Dawley rats[J]. FASEB Bioadv, 2019, 1(12): 773-782.
- [4] 袁娜. SDF-1 对糖尿病大鼠溃疡创面愈合的研究[D]. 昆明:昆明医科大学,2019.
- [5] ILI P, SARI F. Egg yolk oil accelerates wound healing in streptozotocin induced diabetic rats[J]. Biotech Histochem, 2023, 98(2): 94-111.
- [6] KO J R, SEO D Y, KIM T N, et al. Aerobic exercise training decreases hepatic asprosin in diabetic rats[J]. J Clin Med, 2019, 8(5): 666.
- [7] 周方圆, 杨宇峰, 石岩. 基于“因虚致瘀”理论探讨糖尿病周围神经病变病机[J]. 辽宁中医药大学学报, 2024, 26(8): 43-46.
- [8] 蔡素华, 任礼锡. 加味芩桂术汤联合奥氮平对糖尿病大鼠 P38-MAPK 信号通路介导的心肌纤维化影响[J]. 吉林医学, 2022, 43(6): 1450-1451.
- [9] 宋聪琳, 张威娜. 黄连解毒汤加减治疗 2 型糖尿病的临床疗效[J]. 辽宁中医杂志, 2022, 49(4): 110-113.
- [10] 张筱茜, 范琦琛, 王良一, 等. 基于网络药理学和分子对接探讨三妙丸治疗糖尿病足溃疡的作用机制[J]. 中医临床研究, 2023, 15(26): 98-103.
- [11] CODO A C, DAVANZO G G, DE BRITO MONTE IRO L, et al. Elevated glucose levels favor SARS-CoV-2 infection and monocyte response through a HIF-1 α /glycolysis-dependent axis[J]. Cell Metab, 2020, 32(3): 437-446, e5.
- [12] CATRINA S B, ZHENG X. Hypoxia and hypoxia-inducible factors in diabetes and its complications[J]. Diabetologia, 2021, 64(4): 709-

716.

影响[J]. 中国实验方剂学杂志, 2016, 22(22): 145–149.

[13] GUNTUN J E. Hypoxia – inducible factors and diabetes[J]. J Clin Invest, 2020, 130(10): 5063–5073.

[15] 陈筱云. 康复新液治疗褥疮 60 例的临床观察[J]. 中国实用医药, 2013, 8(7): 158–159.

[14] 杨胜群, 熊茜, 邹俊波, 等. 美洲大蠊水提取物对小鼠烫伤模型的

Effects of Yinhuang Lotion on IL – 18, TNF – α , and the HIF – 1 α /VEGF Pathway in Diabetic Ulcer Rats

WANG Peiyu¹, JIA Zhen², GAO Jie², LIANG Xuewei²

1. Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China;

2. The First Affiliated Hospital of Heilongjiang University of Chinese Medicine, Harbin 150040, China

Abstract Objective: To investigate the therapeutic effects and mechanisms of Yinhuang Lotion on wound healing in diabetic ulcer rats. Methods: A diabetic model was established in SD rats using a high – sugar, high – fat diet combined with a single intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ). A diabetic skin ulcer model was then created through surgical intervention and stimulation with 50% glacial acetic acid. The successfully modeled rats were randomly divided into a model group, a Yinhuang Lotion group, and a Kangfuxin Liquid group, with 12 rats in each group. An additional 12 normal SD rats served as the control group. The ulcer wounds of the control and model groups were covered with gauze soaked in normal saline. The Yinhuang Lotion group received gauze soaked in Yinhuang Lotion, while the Kangfuxin Liquid group was treated with gauze soaked in Kangfuxin Liquid. All groups underwent daily dressing changes for 28 days. On days 14 and 28, six rats from each group were randomly selected to assess general condition, body weight, fasting blood glucose, ulcer area, and ulcer healing rate. Serum levels of interleukin – 18 (IL – 18) and tumor necrosis factor – α (TNF – α) were measured using ELISA, while the expression levels of hypoxia – inducible factor 1 α (HIF – 1 α) and vascular endothelial growth factor (VEGF) were detected via Western blot. Results: On days 14 and 28, compared with the control group, the model group exhibited larger ulcer areas, lower ulcer healing rates, higher levels of inflammatory factors, and reduced expression of related proteins ($P < 0.05$). In contrast, the Yinhuang Lotion and Kangfuxin Liquid groups showed smaller ulcer areas, higher ulcer healing rates, lower inflammatory factor levels, and increased expression of related proteins ($P < 0.05$). Furthermore, on days 14 and 28, the Yinhuang Lotion group demonstrated significantly smaller ulcer areas ($P < 0.01$), higher ulcer healing rates ($P < 0.01$), lower inflammatory factor levels ($P < 0.01$), and higher expression of related proteins ($P < 0.01$) compared with the Kangfuxin Liquid group. Conclusion: Yinhuang Lotion can promote angiogenesis in ischemic wounds, accelerate tissue repair, and shorten the treatment period for diabetic ulcers by inhibiting inflammatory factors and regulating the HIF – 1 α /VEGF signaling pathway, thereby effectively treating diabetic ulcer wounds.

Key words Yinhuang Lotion; Diabetic ulcer; IL – 18; TNF – α ; HIF – 1 α /VEGF pathway