

中药解毒生肌膏对大鼠糖尿病足溃疡肌肉中细胞因子影响的研究

刘 阳¹, 韩会民², 徐荣慧², 蒋晓宇², 韩 笑³, 白忠民², 庞金奎², 车蔚娟²,

吕亚丽², 王树国², 叶东海⁴

(1. 黑龙江大庆市人民医院内分泌科, 黑龙江 大庆 163316; 2. 黑龙江大庆第四医院内分泌科;

3. 北京大学人民医院; 4. 黑龙江大庆市油田总医院集团解放社区卫生服务中心)

【摘要】 目的 探讨中药解毒生肌膏对糖尿病大鼠足溃疡肌肉中细胞因子的影响。方法 腹腔注射链脲佐菌素制备糖尿病大鼠模型, 喂养到 6 个月时结扎腓动脉下端, 7 个月时造成足底部深 I 度烫伤制备大鼠糖尿病足模型。将模型大鼠随机分为中药解毒生肌膏治疗组(中药组)、表皮生长因子治疗组(生长因子组)、对照组; 分别予中药解毒生肌膏、重组人表皮生长因子、生理盐水局部外用治疗 30 d; 观察 3 组大鼠治疗前后溃疡面积及愈合情况, 并测定溃疡肌肉组织中血管内皮生长因子(VEGF)和血小板衍生生长因子(PDGF)含量。结果 中药组总有效率为 86.7%(13/15), 明显高于生长因子组 53.8%(7/13) ($P < 0.05$); 对照组 10 只实验鼠中有 8 只足溃疡恶化, 2 只无变化, 总有效率为 0。两个治疗组溃疡肌肉组织中 VEGF 和 PDGF 含量均高于对照组, 且中药组含量明显高于生长因子组 (P 均 < 0.05)。结论 应用中药解毒生肌膏治疗糖尿病大鼠足溃疡有明显的疗效, 其作用机制可能是通过提高局部肌肉组织中 VEGF 和 PDGF 含量从而促进创面愈合。

【关键词】 中药解毒生肌膏; 大鼠; 糖尿病足; 血管内皮生长因子; 血小板衍生生长因子

中图分类号: R285.5; R587.1 文献标识码: A DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2009.01.021

An experimental study on effect of antidotal and myogenic ointment (解毒生肌膏) of traditional Chinese medicine on muscular cell factor in rat with diabetic foot ulcer LIU Yang*, HAN Hui-min, XU Rong-hui, JIANG Xiao-yu, HAN Xiao, BAI Zhong-min, PANG Jin-kui, CHE Wei-juan, LÜ Ya-li, WANG Shu-guo, YE Dong-hai. * Department of Endocrinology, People's Hospital, Daqing 163316, Heilongjiang, China

Corresponding author: HAN Hui-min, Email: Edwardhan001@126.com

【Abstract】 Objective To explore the effect of antidotal and myogenic ointment (解毒生肌膏) of traditional Chinese medicine (TCM) on muscular cell factor in rat with diabetic foot ulcer. Methods Streptozocin was injected intraperitoneally to prepare diabetic rats, and after the animals were fed for 6 months, the popliteal artery was ligated at the distal end. Then at 7th month, they were scalded to establish rat models with I grade burn injury at the ventral side of the diabetic foot. The model rats were randomly divided into three groups: TCM group receiving antidotal and myogenic ointment, growth factor group being treated by epidermal growth factor and control group, by conventional normal saline. In all the three groups, local external therapy was applied for 30 days. The ulcer size and time of healing were observed before and after treatment, and the contents of vascular endothelial growth factor (VEGF) and platelet-derived growth factor (PDGF) in the ulcerative muscular tissue were measured. Results The total therapeutic effective rate in the TCM group (86.7%, 13/15) was markedly higher than that in the growth factor group (53.8%, 7/13, $P < 0.05$). Of the 10 rats in the control group, 8 had ulcer deterioration, and 2 obtained no improvement, the total therapeutic effective rate being 0. The VEGF and PDGF levels in the two treatment groups were obviously higher than those in the control group, and the VEGF and PDGF levels in TCM group were significantly higher than those in the growth factor group (all $P < 0.05$). Conclusion The application of TCM antidotal and myogenic ointment has obvious therapeutic effect for treatment of rats with diabetic foot ulcer. The mechanism is possibly due to the elevation of VEGF and PDGF levels in local ulcerative muscular tissue.

【Key words】 antidotal and myogenic ointment of traditional Chinese medicine; rat; diabetic foot; vascular endothelial growth factor; platelet-derived growth factor

通信作者: 韩会民, Email: Edwardhan001@126.com

作者简介: 刘 阳(1969-), 女(汉族), 黑龙江省人, 医学硕士, 副主任医师。

目前治疗糖尿病足溃疡尚缺少有效方法,中药已显示出一定优势。但国内文献报告中药物治疗糖尿病足溃疡绝大多数是临床观察,其作用机制还是引用原始的中医理论,如清热解毒、活血化瘀、祛腐生肌、消肿止痛等。观察中药解毒生肌膏治疗晚期大鼠糖尿病足溃疡的疗效,探讨其作用机制。

1 材料与方法

1.1 糖尿病动物模型制备及分组:雄性 Wistar 大鼠(购自黑龙江中医药大学实验动物科)45 只,体重(180±20)g。腹腔注射链脲佐菌素(STZ,美国 Sigma 公司)55 mg/kg(用 0.1 mol/L 柠檬酸钠缓冲液稀释, pH4.2),48 h 后取尾静脉血用血糖仪测血糖,将两次血糖≥16.7 mmol/L 的大鼠定为糖尿病模型动物。在成模大鼠的长期饮用水中加入一定比例 Na⁺、K⁺、Cl⁻、Mg²⁺,每日测定血糖指导应用优泌林 70/30(美国礼来公司)控制血糖,每只每日最小量 2 U,最大量 12 U,平均每日用 3~4 U,将血糖控制在 20~25 mmol/L,以控制糖尿病大鼠的急性并发症,使大鼠寿命延长到最大程度,在喂养 6 个月时,用裂隙灯检查大鼠已有明显的白内障及神经、血管病变,此时在显微镜下结扎糖尿病大鼠的双后肢腘动脉下端。在喂养 7 个月时用热铁杆造成大鼠足底部皮肤深Ⅱ度烫伤(相当于 WagnerⅢ级)。

1.2 动物分组及给药方法:将模型大鼠按随机数字表法分为对照组 15 只、表皮生长因子治疗组 15 只、中药治疗组 15 只。中药组局部应用中药解毒生肌膏(成分为黄连、黄柏、血力花等),无菌纱布条外敷,无菌纱布包扎;生长因子组应用重组人表皮生长因子外用液(深圳市华生元基因工程发展有限公司),无菌纱布包扎;对照组应用无菌生理盐水,无菌纱布包扎。3 组均每 2 d 换药 1 次,观察 30 d。

1.3 细胞因子检测:取各组活体大鼠足底烫伤部位肌肉组织称湿重,制备组织匀浆,离心后收集上清液,用酶联免疫吸附法(ELISA,检测试剂盒均购自上海森雄科技实业有限公司)测定血管内皮生长因子(VEGF)和血小板衍生长因子(PDGF)含量,单位以因子含量(ng)/肌肉湿重(g)表示。

1.4 疗效判定标准^[1]:①治愈:创口愈合;②显效:病变 Wagner 分级下降 2 个等级,创口愈合 80%以上;③有效:病变 Wagner 分级下降 1 个等级,创口愈合 40%以上;④无效:治疗前后病变分级和伤口无改善或加重。

1.5 统计学方法:应用 SPSS 13.0 统计软件。计量数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,采用 *t* 检验、方差

分析、LSD 法进行比较;计数资料以率或百分比表示,采用 χ^2 检验;*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 动物纳入情况:实验过程中生长因子组死亡 2 只大鼠,对照组死亡 5 只大鼠,分别以 13 只和 10 只纳入统计学分析。

2.2 各组疗效(表 1):中药组总有效率明显高于生长因子组(*P*<0.05),对照组 10 只实验鼠中 8 只是溃疡恶化,2 只无变化,总有效率为 0。

表 1 各组大鼠治疗后疗效比较

组别	动物数	疗效(只(%))				
		治愈	显效	有效	无效	总有效
对照组	10	0(0)	0(0)	0(0)	10(100.0)	0(0)
生长因子组	13	3(23.1)	1(7.7)	3(23.1)	6(46.2)	7(53.8)
中药组	15	9(60.0) ^c	3(20.0)	1(6.7)	2(13.3)	13(86.7) ^c

注:与生长因子组比较,^c*P*<0.05

2.3 各组治疗前后溃疡面积变化(表 2):中药组与生长因子组治疗后溃疡面积均有不同程度的改善(*P*均<0.05),对照组治疗后溃疡面积则无改善。中药组与生长因子组治疗后溃疡面积的减小程度明显大于对照组,且中药组溃疡面积明显小于生长因子组(*P*均<0.05)。

表 2 各组大鼠治疗前后溃疡面积变化比较($\bar{x} \pm s$)

组别	溃疡长径(mm)		溃疡短径(mm)	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组	8.90±0.45(15)	8.95±0.51(10)	8.79±0.53(15)	8.82±0.68(10)
生长因子组	8.92±0.51(15)	5.60±3.51(13) ^{ab}	8.84±0.72(15)	4.31±3.29(13) ^{ab}
中药组	8.89±0.30(15)	1.79±1.40(15) ^{abc}	8.72±0.41(15)	1.62±1.00(15) ^{abc}

注:与本组治疗前比较,^a*P*<0.05;与对照组比较,^b*P*<0.05;与生长因子组比较,^c*P*<0.05;括号内为动物数

2.4 各组大鼠溃疡肌肉组织中细胞因子含量比较(表 3):两个治疗组肌肉组织中 VEGF 和 PDGF 含量均明显高于对照组,而且中药组明显高于生长因子组(*P*均<0.05)。

表 3 各组大鼠溃疡组织细胞因子含量比较($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	VEGF(ng/g)	PDGF(ng/g)
对照组	10	224.71±87.96	79.49±34.80
生长因子组	13	299.62±61.86 ^b	102.57±12.40 ^b
中药组	15	383.43±141.11 ^{bc}	174.32±125.47 ^{bc}

注:与对照组比较,^b*P*<0.05;与生长因子组比较,^c*P*<0.05

3 讨论

我们前期的临床工作已证实,通过局部清创、中药解毒生肌膏外敷及控制血糖、血压、血脂等综合治疗,溃疡愈合较快,取得了满意的临床效果^[2];随后在糖尿病足动物实验中又进一步证实解毒生肌膏治疗糖尿病足溃疡疗效确切,且易于操作,无毒副作用,有推广价值^[3]。本研究发现,将糖尿病模型大鼠饲养 6 个月,裂隙灯下检查已有较明显的白内障,神经和血管也已发生相应的病理改变,其病程相当于糖尿病患者晚期,已具备发生糖尿病足的内因条件;结扎大鼠腓动脉下端造成下肢缺血,同时保留了腓动脉与股动脉、小腿各动脉之间的侧支循环,与糖尿病患者的下肢缺血较相近;再造成大鼠后肢足底部皮肤烫伤,又具备患糖尿病足的外因条件,说明该模型是合格的。经不同药物治疗后显示,中药组治疗总有效率明显高于生长因子组,足溃疡面积减小,溃疡部位肌肉组织中 VEGF 和 PDGF 含量升高,说明中药治疗糖尿病足溃疡已显示出一定的优势。

糖尿病足溃疡属中医学“脱疽”范畴。中医认为糖尿病足由于消渴日久,经脉瘀阻,血行不畅,肢端血运失常,破损之后继发感染所致。中药解毒生肌膏以黄连、黄柏为君药,其组方兼顾“整体、复方、君臣佐使^[4]”的原则,其宏观作用机制是清热解毒、消肿止痛、祛腐生肌^[5];现代药理研究表明,黄连、黄柏的主要成分为小檗碱,不仅有较强的抗细菌、真菌、病毒等作用,在治疗糖尿病、改善胰岛素抵抗、降血脂、改善心脏功能等方面还有广泛的药理作用^[6]。

VEGF 被认为是目前最强也是惟一特异性促进血管内皮细胞增殖的生长因子,对生理性血管生成和病理性血管再生都有重要的调节作用,具有促进血管再生、增加毛细血管密度及血管通透性的作用,从而改善微循环,有利于肉芽组织的形成和生长^[7]。在正常动物伤口修复过程中,VEGF 可协同碱性成纤维细胞生长因子(bFGF)刺激内皮细胞生长,促进伤口血管化的进程;在糖尿病大鼠创面,VEGF 和 bFGF 的表达在伤后各时间点显著低于正常对照组,且表达明显滞后,因此认为 VEGF 的调节缺陷可能与伤口愈合障碍有关^[8-10]。张曼等^[11]的实验证明将 VEGF 基因导入缺血心肌后,具有促进血管增生、增加侧支循环的生物效应。PDGF 具有促进组织细胞有丝分裂及趋化活性,加速细胞分裂增殖,促进肌纤维母细胞产生胶原,诱导创面血管平滑肌细胞的迁移和内皮细胞增殖,从而促进新生血管形成,因此在创面组织中,PDGF 含量及生物活性的变化常

会影响修复质量和修复后组织改建^[12]。总之,在治疗糖尿病足溃疡方面,促进细胞因子的生成将是最有效的方法之一。

本研究结果显示,中药组大鼠溃疡肌肉组织中 VEGF 和 PDGF 含量明显高于生长因子组,表明中药解毒生肌膏可使 VEGF 和 PDGF 生成增加,促进组织细胞有丝分裂和增殖,加速新生血管形成,增加创面毛细血管密度,改善微循环,促进肉芽组织生长,从而加速糖尿病足溃疡的愈合,这可能是治疗糖尿病足溃疡的作用机制之一。且该中药药源充足,制作工艺简单,成本低,疗效好,无毒副作用,易于操作,对降低糖尿病足患者的截肢率有着广泛的应用前景及良好的经济和社会效益。

参考文献

- [1] Faglia E, Favale F, Quarantiello A, et al. Angiographic evaluation of peripheral arterial occlusive disease and its role as a prognostic determinant for major amputation in diabetic subjects with foot ulcers [J]. Diabetics Care, 1998, 21 (4): 625-630.
- [2] 韩会民, 王树国, 蒋晓宇, 等. 股动脉介入置管保留尿激酶和丹参及山莨菪碱治疗糖尿病足的临床研究 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2006, 13 (4): 234-236.
- [3] 吕雅丽, 梁龙彦, 刘阳, 等. 中药解毒生肌膏治疗大鼠糖尿病足的实验研究 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2008, 15 (4): 233-235.
- [4] 周凤梧. 实用方剂学 [M]. 山东: 山东科学技术出版社, 1989: 38-39.
- [5] 凌一揆. 中药学 [M]. 2 版. 上海: 上海科学技术出版社, 1991: 42-265.
- [6] 崔国辉, 黄秀兰, 周克元. 小檗碱临床应用研究的新进展 [J]. 广东医学院学报, 2008, 26 (2): 202-204, 220.
- [7] 周有龙, 周六合. VEGF 在缺血性脑血管病中的运用及面临的问题 [J]. 中国急诊学杂志, 2004, 4 (10): 1620-1622.
- [8] 林伟栋, 陆树良, 青春, 等. 糖尿病大鼠深二度烧伤创面 VEGF 和 bFGF 的表达规律及其与创面微血管密度的关系 [J]. 中华医学杂志, 2003, 83 (19): 1702-1704.
- [9] Frank S, Hübner G, Breier G, et al. Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes, implications for normal and impaired wound healing [J]. J Biol Chem, 1995, 270 (21): 12607-12613.
- [10] Howdieshell TR, Riegner C, Gupta V, et al. Normoxic wound fluid contains high levels of vascular endothelial growth factor [J]. Ann Surg, 1998, 228 (5): 707-715.
- [11] 张曼, 郭启煜, 张福春, 等. 血管内皮生长因子基因对兔左冠状动脉前降支结扎心肌侧支循环建立的影响 [J]. 中国危重病急救医学, 1999, 11 (1): 15-17.
- [12] 朱旭东, 王正国, 张艳, 等. 血小板源伤口愈合因子改善糖尿病大鼠伤口愈合及与 β 转化生长因子表达的相关性 [J]. 中华创伤杂志, 2000, 16 (11): 678-680.

(收稿日期: 2008-10-10 修回日期: 2008-11-30)

• 广告目次 •

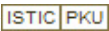
(本文编辑: 李银平)

- ① 天津生化制药有限公司: 注射用氯化可的松琥珀酸钠 …………… (封 3)
- ② 天津红日药业: 血必净注射液 …………… (封底)

中药解毒生肌膏对大鼠糖尿病足溃疡肌肉中细胞因子影响的研究

作者：[刘阳](#), [韩会民](#), [徐荣慧](#), [蒋晓宇](#), [韩笑](#), [白忠民](#), [庞金奎](#), [车蔚娟](#), [吕亚丽](#), [王树国](#), [叶东海](#), [LIU Yang](#), [HAN Hui-min](#), [XU Rong-hui](#), [JIANG Xiao-yu](#), [HAN Xiao](#), [BAI Zhong-min](#), [PANG Jin-kui](#), [CHE Wei-juan](#), [LU Ya-li](#), [WANG Shu-guo](#), [YE Dong-hai](#)

作者单位：[刘阳, LIU Yang](#) (黑龙江大庆市人民医院内分泌科, 黑龙江, 大庆, 163316), [韩会民](#), [徐荣慧](#), [蒋晓宇](#), [白忠民](#), [庞金奎](#), [车蔚娟](#), [吕亚丽](#), [王树国](#), [HAN Hui-min](#), [XU Rong-hui](#), [JIANG Xiao-yu](#), [BAI Zhong-min](#), [PANG Jin-kui](#), [CHE Wei-juan](#), [LU Ya-li](#), [WANG Shu-guo](#) (黑龙江大庆第四医院内分泌科), [韩笑](#), [HAN Xiao](#) (北京大学人民医院), [叶东海](#), [YE Dong-hai](#) (黑龙江大庆市油田总医院集团解放社区卫生服务中心)

刊名：[中国中西医结合急救杂志](#) 

英文刊名：[CHINESE JOURNAL OF INTEGRATED TRADITIONAL AND WESTERN MEDICINE IN INTENSIVE AND CRITICAL CARE](#)

年, 卷(期): 2009, 16(1)

被引用次数: 2次

参考文献(12条)

1. [周有龙;周六合](#) VEGF在缺血性脑血管病中的运用及面临的问题[期刊论文]-[中国误诊学杂志](#) 2004(10)

2. [崔国辉;黄秀兰;周克元](#) 小檗碱临床应用研究的新进展[期刊论文]-[广东医学院学报](#) 2008(02)

3. [凌一揆](#) [中药学](#) 1991

4. [周凤梧](#) [实用方剂学](#) 1989

5. [吕雅丽;梁龙彦;刘阳](#) 中药解毒生肌膏治疗大鼠糖尿病足的实验研究[期刊论文]-[中国中西医结合急救杂志](#) 2008(04)

6. [韩会民;王树国;蒋晓宇](#) 股动脉介入置管保留尿激酶和丹参及山莨菪碱治疗糖尿病足的临床研究[期刊论文]-[中国中西医结合急救杂志](#) 2006(04)

7. [Frank S;Hübner G;Breier G](#) Regulation of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes, implications for normal and impaired wound healing 1995(21)

8. [林炜栋;陆树良;青春](#) 糖尿病大鼠深二度烧伤创面VEGF和bFGF的表达规律及其与创面微血管密度的关系[期刊论文]-[中华医学杂志](#) 2003(19)

9. [Faglia E;Favales F;Quarantiello A](#) Angiographic evaluation of peripheral arterial occlusive disease and its role as a prognostic determinant for major amputation in diabetic subjects with foot ulcers 1998(04)

10. [张曼;郭启煜;张福春](#) 血管内皮生长因子基因对兔左冠状动脉前降支结扎心肌侧支循环建立的影响[期刊论文]-[中国危重病急救医学](#) 1999(01)

11. [Howdieshell TR;Riegner C;Gupta V](#) Normoxic wound fluid contains high levels of vascular endothelial growth factor 1998(05)

12. [朱旭东;王正国;张艳](#) 血小板源伤口愈合因子改善糖尿病大鼠伤口愈合及与β-转化生长因子表达的相关性[期刊论文]-[中华创伤杂志](#) 2000(11)

相似文献(1条)

1. 期刊论文 [吕雅丽](#), [梁龙彦](#), [刘阳](#), [韩会民](#), [蒋晓宇](#), [白忠民](#), [徐荣慧](#), [庞金奎](#), [车蔚娟](#), [王树国](#), [L\(Y\) Ya-li](#), [LIANG Long-yan](#), [LIU Yang](#), [HAN Hui-min](#), [JIANG Xiao-yu](#), [BAI Zhong-min](#), [XU Rong-hui](#), [PANG Jin-kui](#), [CHE Wei-juan](#), [WANG Shu-guo](#) 中药解毒生肌膏治疗大鼠糖尿病足的实验研究 -[中国中西医结合急救杂志](#) 2008, 15(4)

目的 研究中药解毒生肌膏治疗大鼠糖尿病足疗效,并探讨其临床应用价值.方法 腹腔注射链脲佐菌素55 mg/kg制备Wistar大鼠糖尿病模型.喂养6个月时结扎大鼠腠动脉下端,7个月时对糖尿病大鼠后肢足背皮肤进行烫伤,Wagner分级为Ⅲ级.按随机数字表法将40只大鼠均分为糖尿病足溃疡常规治疗组(对照组)和中药解毒生肌膏治疗组(实验组).实验组局部应用中药解毒生肌膏剂外敷,对照组应用重组人表皮生长因子外用液,每2 d换药1次,连续30 d.观察两组治疗前后Wagner分级、溃疡大小、创面肉芽生长情况、愈合时间及药物毒副作用.结果 实验组总有效率(70.0%,14/20)、治愈率(50.0%,10/20)均显著高于对照组(40.0%,8/20,15.0%,3/20),差异均有统计学意义($P < 0.05$).两组治疗后溃疡大小和创面肉芽组织陈旧率均较治疗前有不同程度改善,以实验组效果更为显著($P < 0.05$);且实验组溃疡愈合时间明显短于对照组[(10.2±3.5)d比(16.2±3.5)d, $P < 0.05$].两组治疗前后均未出现药物毒副作用.结论 中药解毒生肌膏可以改善大鼠糖尿病足的微循环,缩短足溃疡愈合时间.

引证文献(2条)

1. XU Rong-hui, 徐荣慧, 刘彦东, 韩会民, 韩笑, 白忠民, 庞金奎, 车蔚娟, 蒋晓宇, 邱明才, 朱崇贵 晚期糖尿病大鼠肺脏病理学改变及环孢素A保护作用的研究[期刊论文]-中国中西医结合急救杂志 2009(3)
2. 徐荣慧, 刘彦东, 韩会民, 韩笑, 白忠民, 庞金奎, 车蔚娟, 蒋晓宇, 邱明才, 朱崇贵 环孢素A对糖尿病大鼠晚期肾脏病理学改变的影响[期刊论文]-中国中西医结合急救杂志 2009(4)

本文链接: http://d.wanfangdata.com.cn/Periodical_zgzyjhjzz200901014.aspx

授权使用: qkzgz16(qkzgz16), 授权号: 2eale694-0657-4fd1-956f-9eec010b9268

下载时间: 2011年5月23日