

# 雌激素联合复方紫草油治疗对糖尿病大鼠烫伤创面愈合的影响

吴 健 周美英 史旭锋 武 岳

(甘肃省人民医院烧伤科, 兰州, 730000)

**摘要** 目的:探讨雌激素联合复方紫草油治疗对糖尿病大鼠烫伤创面愈合的影响。方法:将 40 只雄性 SD 大鼠随机分为空白组、模型组、雌激素组、复方紫草油组、雌激素联合复方紫草油组等 5 组;除空白组外,各组大鼠均建立糖尿病模型,成模后在所有大鼠背部造成深Ⅱ度烫伤。空白组与模型组不采取任何治疗,各观察组以相应的药物治疗。于伤后第 1、8、15、22 天检测各组大鼠创面愈合率、血糖及血清转化生长因子  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ )、血管内皮生长因子 (VEGF) 的表达,第 22 天行创面组织病理学观察并作病理评分。结果:与空白组比较,模型组大鼠创面愈合率显著降低、血糖明显升高, TGF- $\beta 1$ 、VEGF 含量显著降低,病理评分显著升高,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ );与模型组比较,各观察组大鼠创面愈合率明显升高、血糖明显降低, TGF- $\beta 1$ 、VEGF 含量显著升高,病理评分明显降低,差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ )。结论:雌激素和复方紫草油可以促进糖尿病大鼠烫伤创面的愈合,且雌激素与复方紫草油联合用药对糖尿病大鼠烫伤创面愈合具有协同作用。

**关键词** 糖尿病创伤;雌激素;复方紫草油;愈合

## Healing Effect of Combined Treatment of Estrogen and Compound Radix Arnebiae Oil on the Scald Wound of Diabetic Rats

Wu Jian, Zhou Meiyang, Shi Xufeng, Wu Yue

(Department of Burns, Gananu Provincial Hospital, Lanzhou 730000, China)

**Abstract Objective:** To explore the effect of the burn wound healing in rats with diabetes by the combined treatment of estrogen and compound Radix Arnebiae Oil. **Methods:** A total of 40 male SD rats were divided randomly into 5 groups, including blank group, model group, estrogen group, Compound Radix Arnebiae Oil group, combined estrogen and Compound Radix Arnebiae Oil group. Except the blank group, the others were established the diabetes model. After the success of the model building, the whole rats were caused deepⅡ degree burn in the back. Apart from the blank group and the model group, each treatment group was treated by the appropriate treatment methods. The wound healing rate and blood glucose of each rat was observed, and the expression of TGF- $\beta 1$  and VEGF in 1, 8, 15, 22 days real-time were detected. The wound tissue pathology of each rat was observed and made pathological grades. **Results:** Compared with the blank group, rat wound healing rate of the model group was significantly reduced, and the blood sugar level increased significantly. The level of TGF- $\beta 1$  and VEGF decreased significantly, and the pathological grades rise significantly ( $P < 0.05$ ). Compared with the model group, the rat wound healing rate of each treatment group was obviously higher, and the blood sugar level was significantly lower. The TGF- $\beta 1$  and VEGF were significantly higher, and the pathological score significantly reduced ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** The estrogen and the Compound Radix Arnebiae Oil can promote the healing of burn wound on diabetic rats and play a role of collaborative work.

**Key Words** Scald wound of diabetic rat; Estrogen; Compound Radix Arnebiae Oil; Healing effect

中图分类号: R242 文献标识码: A doi:10.3969/j.issn.1673-7202.2018.05.042

糖尿病创面的修复是一个比较困难的过程,其修复受到多方面因素的影响,因此寻找有效的糖尿病创面修复方法是目前研究的重点与难点。当前大量文献报道, TGF- $\beta 1$ 、VEGF 在创伤的愈合过程中,起到重要的作用<sup>[1-2]</sup>。而当前的研究发现,在糖尿病的治疗过程中雌激素水平的高低与其出现的血脂、

血糖异常等密切相关,绝经后 2 型糖尿病的患者,体内的雌激素水平下降可能与糖尿病并发微血管病密切相关<sup>[3]</sup>。而复方紫草油具有凉血解毒,生肌敛疮,祛腐活血,生肌长肉等功效,现代医学研究也证实复方紫草油具有活血消肿、凉血、止痛生肌及促进创伤愈合的作用<sup>[4]</sup>。我们在大量文献的基础上提出雌激

素联合复方紫草油对糖尿病创伤的愈合具有较好疗效的猜想,因此我们选择了雌激素、复方紫草油及其联合用药对糖尿病烫伤的大鼠进行干预,用以探讨其雌激素联合复方紫草油对糖尿病创伤愈合的影响。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 动物 SPF级雄性SD大鼠( $200 \pm 20$ )g,购于中国农业科学院兰州兽医研究所,动物合格证号:SCXK(甘)2016-0001,质量检测单位:兰州大学实验动物检测中心。

1.1.2 药物 雌激素(苯甲酸雌二醇),武汉欣欣佳丽生物科技有限公司,国药准字J20050120;复方紫草油,健民集团叶开泰国药(随州)有限公司,国药准字Z20044385。

1.1.3 试剂与仪器 大鼠转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$ )ELISA检测试剂盒,产品货号:ml002856;大鼠血管内皮细胞生长因子(VEGF)ELISA检测试剂盒,产品货号:ml002862。血糖仪(江苏鱼跃医疗设备有限公司),酶标仪(Biotek),倒置显微镜(奥林巴斯IX71),移液器(Eppendorf),高速台式离心机(Thermo)。

### 1.2 方法

1.2.1 分组与模型制备 将40只雄性SD大鼠,体重为( $200 \pm 20$ )g,适应性喂养1周后,随机分为5组,即空白组、模型组、雌激素组、复方紫草油组、雌激素联合复方紫草油组(联合组)。除空白组外,其余各组大鼠均建立糖尿病模型,糖尿病模型的建立采用腹腔注射2%的枸橼酸-枸橼酸钠镁溶液配制成的链脲佐菌素(STZ)溶液,剂量为65 mg/kg;注射一周后采血检测随机血糖的水平,并且观察体重的变化。糖尿病模型成功的标准为:STZ注射后的基础血糖 $< 8.9$  mol/L,诱导后的血糖 $> 11.2$  mol/L,大鼠的体重明显地下降。造模成功后,对所有动物进行烫伤造模(包括空白组),剃去所有大鼠背部的毛发,用硫化钼脱毛剂脱毛,24 h后在烫伤处理前,用3%的戊巴比妥钠( $1.5$  mL/kg),给予大鼠腹腔注射麻醉,用控温控电烫伤仪在 $75$  °C的温度下作用11 s,造成直径大约为 $2.5$  cm的深Ⅱ度烫伤创面(病理切片显示有大量的炎性细胞浸润,胶原纤维肿胀玻璃样变性、融合坏死,部分毛囊和皮脂腺崩解,符合深Ⅱ度烫伤的病理变化)。

1.2.2 给药方法 空白组与模型组创伤面不作处理,肌注0.9%的氯化钠注射液;雌激素组创伤面不

作处理,肌注 $1.5$  mg/kg的雌激素;复方紫草油组创伤面外涂适量复方紫草油,肌注0.9%的氯化钠注射液;雌激素联合复方紫草油组,创伤面外涂适量复方紫草油,肌注 $1.5$  mg/kg的雌激素;连续干预21 d后,检测相关指标。

1.2.3 指标检测与方法 1)各组大鼠创面的愈合率分别于伤后的第1、8、15、22天采用透明胶片描记加称重法测量每组大鼠局部创面之面积,计算的公式为:创面愈合率=(原始创面的面积-未愈合创面的面积)/原始的创面面积 $\times 100\%$ 。2)各组大鼠各时间段血糖的变化分别于伤后的第1、8、15、22天早上8点检测各组大鼠的血糖。3)各组大鼠各时间段血清中TGF- $\beta 1$ 、VEGF的表达情况分别于伤后的第1、8、15、22天采用尾部采血法检测各组大鼠血清中TGF- $\beta 1$ 、VEGF的表达情况。4)各组大鼠创伤面病理形态及评分的变化情况,于伤后第22天,麻醉处死大鼠,取创伤面组织,经固定后做HE染色。每张图片选取3个视野进行病理评分,病理评分原则:0分:创面可见到部分复层上皮,表皮细胞形成较多,且分化良好,新生的胶原排列整齐,炎性细胞极少或无;1分:真皮全层仍可见少量的炎细胞,肉芽组织明显,可见部分表皮细胞;2分:真皮全层仍可见较多的炎细胞,肉芽组织形成较少,可见少量的表皮细胞形成;3分:真皮全层仍可见大量的炎细胞,肉芽组织形成很少,未见表皮细胞形成。

1.3 统计学方法 所有数据用均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用SPSS 19.0统计软件分析,组间显著性检验采用单因素方差分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 不同时间段各组大鼠创面的愈合率 与空白组比较,模型组大鼠创伤面愈合率显著降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型组比较,雌激素组、复方紫草油组、雌激素联合复方紫草油组创伤面愈合率明显升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),且联合组愈合率均较雌激素组、复方紫草油组高。见表1。

2.2 不同时间段各组大鼠血糖值的比较 与空白组比较,模型组大鼠各个时间段血糖均显著升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );与模型组比较,雌激素组、雌激素联合复方紫草油组大鼠血糖明显降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );而复方紫草油组大鼠血糖较模型组有所降低,但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。见表2。

2.3 不同时间段各组大鼠血清中 TGF-β1 的比较  
与空白组比较,模型组大鼠血清中 TGF-β1 的表达量显著降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组比较,雌激素组、雌激素联合复方紫草油组大鼠血清中 TGF-β1 的表达量明显升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ );而复方紫草油组大鼠血清中 TGF-β1 的表达量较模型组有一定的升高,但仅在 22 d 时差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 3。

2.4 不同时间段各组大鼠血清中 VEGF 的比较  
与空白组比较,模型组大鼠血清中 VEGF 的表达量显著降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与模型组比较,雌激素组、雌激素联合复方紫草油组大鼠血清

中 VEGF 的表达量明显升高,差异有统计学意义( $P<0.05$ );而复方紫草油组大鼠血清中 VEGF 的表达量较模型组有一定的升高,但仅在 15 d、22 d 时差异有统计学意义( $P<0.05$ )。见表 4。

2.5 各组大鼠创面病理形态的比较 空白组病理形态可见一定炎细胞,及大量的肉芽组织,分化较好;模型组可见大量的炎细胞,肉芽组织较少,未见明显的新生上皮细胞;雌激素组可见较多的炎细胞,及部分的新生肉芽组织;复方紫草油组可见较少的炎细胞,及较多的肉芽组织形成,可见较少的新生上皮细胞;联合组可见较少的炎细胞,以及大量的新生上皮细胞;见图 1,病理评分结果见表 5。

表 1 各组大鼠创面愈合率比较( $\bar{x}\pm s, \%$ ,  $n=8$ )

| 组别     | 烫伤后时间     |                           |                           |                           |
|--------|-----------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|        | 1 d       | 8 d                       | 15 d                      | 22 d                      |
| 空白组    | 5.46±0.85 | 22.51±1.78                | 34.29±2.69                | 50.40±3.01                |
| 模型组    | 5.22±0.63 | 12.35±1.60 <sup>*</sup>   | 23.60±2.27 <sup>*</sup>   | 38.78±3.69 <sup>*</sup>   |
| 雌激素组   | 5.56±0.82 | 25.68±1.95 <sup>△</sup>   | 38.24±2.24 <sup>△</sup>   | 56.07±3.90 <sup>△</sup>   |
| 复方紫草油组 | 5.67±0.63 | 26.82±1.35 <sup>△</sup>   | 42.94±4.67 <sup>△</sup>   | 58.37±6.19 <sup>△</sup>   |
| 联合组    | 5.40±1.06 | 37.33±2.32 <sup>△▲□</sup> | 56.74±3.22 <sup>△▲□</sup> | 70.89±4.29 <sup>△▲□</sup> |

注: \* 与空白组比较  $P<0.05$ , <sup>△</sup>与模型组比较  $P<0.05$ , <sup>▲</sup>与雌激素组比较  $P<0.05$ , <sup>□</sup>与复方紫草油组比较  $P<0.05$

表 2 各组大鼠各时间段血糖值( $\bar{x}\pm s, \text{mmol/L}$ ,  $n=8$ )

| 组别     | 烫伤后时间                   |                           |                           |                           |
|--------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|        | 1 d                     | 8 d                       | 15 d                      | 22 d                      |
| 空白组    | 5.62±1.21               | 4.95±0.88                 | 3.83±0.64                 | 5.53±1.42                 |
| 模型组    | 22.42±3.44 <sup>*</sup> | 26.72±5.02 <sup>*</sup>   | 25.50±3.98 <sup>*</sup>   | 23.11±5.23 <sup>*</sup>   |
| 雌激素组   | 14.07±1.56 <sup>△</sup> | 16.65±0.75 <sup>△</sup>   | 13.79±0.53 <sup>△</sup>   | 15.90±0.31 <sup>△</sup>   |
| 复方紫草油组 | 18.22±4.63              | 23.86±6.17                | 22.91±7.42                | 21.76±3.81                |
| 联合组    | 11.47±0.62 <sup>△</sup> | 14.36±0.78 <sup>△▲□</sup> | 11.83±0.70 <sup>△▲□</sup> | 12.85±0.63 <sup>△▲□</sup> |

注: \* 与空白组比较  $P<0.05$ , <sup>△</sup>与模型组比较  $P<0.05$ , <sup>▲</sup>与雌激素组比较  $P<0.05$ , <sup>□</sup>与复方紫草油组比较  $P<0.05$

表 3 各组大鼠血清中 TGF-β1 表达的比较( $\bar{x}\pm s, \%$ ,  $n=8$ )

| 组别     | 伤后时间                    |                           |                           |                           |
|--------|-------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|        | 1 d                     | 8 d                       | 15 d                      | 22 d                      |
| 空白组    | 20.71±1.86              | 31.29±2.58                | 38.67±2.17                | 50.92±1.52                |
| 模型组    | 18.34±1.33 <sup>*</sup> | 24.44±2.07 <sup>*</sup>   | 30.22±2.74 <sup>*</sup>   | 35.88±2.31 <sup>*</sup>   |
| 雌激素组   | 19.17±1.28              | 36.13±4.13 <sup>△</sup>   | 41.30±2.63 <sup>△</sup>   | 51.15±2.10 <sup>△</sup>   |
| 复方紫草油组 | 18.85±1.89              | 26.80±3.31                | 32.44±5.07                | 40.08±6.72 <sup>△</sup>   |
| 联合组    | 21.63±2.18              | 41.32±1.95 <sup>△▲□</sup> | 53.38±1.71 <sup>△▲□</sup> | 69.02±1.15 <sup>△▲□</sup> |

注: \* 与空白组比较  $P<0.05$ , <sup>△</sup>与模型组比较  $P<0.05$ , <sup>▲</sup>与雌激素组比较  $P<0.05$ , <sup>□</sup>与复方紫草油组比较  $P<0.05$

表 4 各组大鼠血清中 VEGF 表达的比较( $\bar{x}\pm s, \text{vessel/mm}^2$ ,  $n=8$ )

| 组别     | 伤后时间       |                           |                           |                           |
|--------|------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|
|        | 1 d        | 8 d                       | 15 d                      | 22 d                      |
| 空白组    | 17.33±2.79 | 26.17±2.79                | 34.43±1.84                | 46.88±0.92                |
| 模型组    | 18.91±1.93 | 22.39±2.46 <sup>*</sup>   | 28.58±1.51 <sup>*</sup>   | 34.71±1.42 <sup>*</sup>   |
| 雌激素组   | 22.43±2.39 | 33.77±1.96 <sup>△</sup>   | 45.36±0.79 <sup>△</sup>   | 53.33±0.81 <sup>△</sup>   |
| 复方紫草油组 | 19.37±3.22 | 26.88±4.04                | 34.61±6.94 <sup>△</sup>   | 41.12±5.68 <sup>△</sup>   |
| 联合组    | 21.63±2.18 | 41.32±1.95 <sup>△▲□</sup> | 53.38±1.71 <sup>△▲□</sup> | 69.02±1.15 <sup>△▲□</sup> |

注: \* 与空白组比较  $P<0.05$ , <sup>△</sup>与模型组比较  $P<0.05$ , <sup>▲</sup>与雌激素组比较  $P<0.05$ , <sup>□</sup>与复方紫草油组比较  $P<0.05$

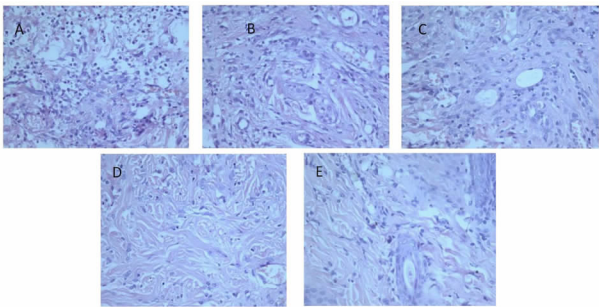


图 1 各组大鼠创伤面组织的病理变化 (HE × 400)

表 5 各组大鼠创面组织病理评分的比较 ( $\bar{x} \pm s$ , 分,  $n = 8$ )

| 组别     | 病理评分                           |
|--------|--------------------------------|
| 空白组    | 1.08 ± 0.35                    |
| 模型组    | 2.14 ± 0.66 *                  |
| 雌激素组   | 1.87 ± 0.42 $\Delta$           |
| 复方紫草油组 | 1.57 ± 0.81 $\Delta$           |
| 联合组    | 1.34 ± 0.53 $\Delta$ $\square$ |

注: \* 与空白组比较  $P < 0.05$ ,  $\Delta$  与模型组比较  $P < 0.05$ ,  $\blacktriangle$  与雌激素组比较  $P < 0.05$ ,  $\square$  与复方紫草油组比较  $P < 0.05$

3 讨论

糖尿病为临床上常见的疾病,由于糖尿病患者的微血管病变,导致糖尿病患者对外界温度的刺激表现不敏感,出现反应迟钝,因而易被烫伤,其病情迁延,不易恢复。当前研究发现女性在绝经后,雌激素水平是下降的,其可影响患者的血糖、血脂水平<sup>[5]</sup>。雌激素水平的下降与 2 型糖尿病、高血压、血脂异常、胰岛素抵抗密切相关<sup>[6]</sup>。进一步研究发现,雌激素对糖尿病患者具有一定的辅助治疗作用。黄继良等<sup>[7]</sup>研究示每日口服倍美力 0.625 mg,其可降低绝经后 2 型糖尿病患者之血糖,及其改善胰岛素水平,显著提高胰岛素的敏感性;钟国连<sup>[8]</sup>研究示尼尔雌醇雌激素可以显著改善绝经后 2 型糖尿病患者的胰岛素抵抗及其血脂的异常。最新研究发现采用雌激素替勃龙治疗围绝经期 2 型糖尿病患者,可显著降低患者的血糖水平,获得良好的临床效果<sup>[9]</sup>。由此可见雌激素具有治疗糖尿病的作用。而复方紫草油是临床常备的外用中成药,具有凉血解毒,生肌敛疮,祛腐活血,生肌长肉等功效,除轻中度烧烫伤外,临床上还用于疔疮久溃,创面不收、肌肉不生之症;药理研究发现其具有镇痛、抗炎、活血化瘀、促进创面愈合等作用<sup>[4,10]</sup>。其外用对皮肤的刺激性小,换药时与伤口不粘连<sup>[11]</sup>,在治疗肛瘘手术后创面的愈合<sup>[12]</sup>、糖尿病足、溃疡等方面<sup>[13]</sup>,具有独特的疗效。相较于一些敷料而言,其治疗烧烫伤等疾病价廉效佳,显著降低医保费用支出和减轻患者负担,值得临床广泛应用。

我们研究发现,与空白组比较,模型组大鼠各个时间段血糖均显著升高 ( $P < 0.05$ ),成功建立了糖尿病模型,再进一步对大鼠进行了模拟烫伤处理。在应用雌激素、复方紫草油进行治疗 8 d 后,创面的愈合率高于模型组, TGF- $\beta$ 1 与 VEGF 的表达升高 ( $P < 0.05$ ),联合组更明显 ( $P < 0.05$ );雌激素治疗后大鼠创面有较多的炎症因子和部分肉芽组织,复方紫草油组可见较多的肉芽组织和少量的炎症因子,联合观察组可见大量的新生上皮细胞;病理评分与模型组比较,治疗后降低,联合组表现更明显 ( $P < 0.05$ ),可以看出,联合组的疗效要比单纯的治疗疗效好,雌激素联合复方紫草油治疗糖尿病烫伤,发挥了协同促进创面愈合的治疗作用。在治疗后, TGF- $\beta$ 1 和 VEGF 的表达升高,我们猜测,糖尿病烫伤迁延难愈的主要原因与 TGF- $\beta$ 1 与 VEGF 的低表达密切相关,这可能是其病情迁延、不易恢复的发病机制之一<sup>[14]</sup>。

参考文献

[1] 王文婷,单菲,王晓川,等. TGF- $\beta$ 1 对糖尿病大鼠深 II 度烫伤创面愈合的影响[J]. 山东大学学报:医学版,2011,49(7):19-23.

[2] 杨永熙,冯佳雄,黄晓涛,等. 糖尿病患者与非糖尿病患者下肢烧伤的治疗结局差异性及其机制研究[J]. 中华损伤与修复杂志(连续型电子期刊),2016,11(6):428-432.

[3] 马小慧,宁涛,吴铁花,等. 2 型糖尿病患者性激素水平测定的临床意义[J]. 实用糖尿病杂志,2015,11(2):55-56.

[4] 封玉东,封丽,王婉,等. 复方紫草油促进烫伤面愈合和抗炎作用的实验研究[J]. 中医中医药科技,2008,15(5):378.

[5] 陈芳. 女性绝经后雌激素水平与血脂、血糖和同型半胱氨酸的关系研究[J]. 中国实验诊断学,2016,20(5):758-760.

[6] 李广红,侯丽君,王辉,等. 绝经后女性 2 型糖尿病患者血清雌激素的临床意义[J]. 泰山医学院学报,2015,36(2):147-149.

[7] 黄继良,施锦仁,赵瑞芝. 雌激素对绝经后妇女 2 型糖尿病患者胰岛素敏感性的影响[J]. 河北医药,2001,23(3):181-182.

[8] 钟国连,吕维名,肖丽霞,等. 雌激素补充治疗对绝经后 2 型糖尿病患者胰岛素抵抗及脂代谢的影响[J]. 赣南医学院学报,2010,30(6):869-870.

[9] 高伟聪,李丽,刘改欣. 雌激素替代治疗对 2 型糖尿病围绝经期妇女血糖的影响[J]. 临床与病理杂志,2017,37(5):1019-1024.

[10] 周玉新,张永恒,王伟勇,等. 复方紫草油在烧伤植皮术后的应用[J]. 中华烧伤杂志,2002,18(2):37.

[11] 覃英姿. 紫草油治疗老年人重度褥疮[J]. 药物与临床杂志,2005,4(2):84.

[12] 杨保华. 复方紫草油纱用于肛瘘术后促进创面愈合临床研究[D]. 济南:山东中医药大学,2008:1-41.

[13] 姚明,葛晓东. 紫草油纱治疗糖尿病足溃疡的临床研究[J]. 浙江中医药大学学报,2013,37(7):875-876.

[14] 王文婷. TGF- $\beta$ 1 对糖尿病大鼠深 II 度烫伤创面愈合的影响[D]. 济南:山东大学,2011,49(7):19-23.