

# 紫草油膏对褥疮模型大鼠的治疗作用及机制

刘玉凤<sup>1\*</sup>, 李丹<sup>1</sup>, 黄枚<sup>2</sup>, 南丽红<sup>2</sup>, 谢晴晴<sup>2</sup>

(1. 福州市中医院, 福州 350001; 2. 福建中医药大学药学院, 福州 350122)

**[摘要]** **目的:**观察紫草油膏对褥疮模型大鼠的治疗作用及可能的作用机制,为其临床推广应用提供一定的实验依据。**方法:**采用皮下植入铁片加磁铁的方法复制大鼠褥疮模型。将造模成功的大鼠随机分为模型组、阳性(消炎生肌膏)组、紫草油膏中、高剂量组和碘剂组。另设空白组和假手术组。于造模成功后次日开始外涂给药,每日1次。连续给药3 d后,肉眼观察受压部位皮肤形态学和颜色变化;光镜下观察受压部位皮肤组织病理学变化;免疫组化法检测核转录因子- $\kappa$ B p65(nuclear transcription factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B p65)表达水平;水溶性四唑盐法及微板法检测大鼠血清中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD),丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量;酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)测定大鼠血清中白细胞介素- $1\alpha$ (interleukin- $1\alpha$ , IL- $1\alpha$ ),肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumour necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )的含量。**结果:**与空白组及假手术组比较,模型组大鼠受压部位发红不改变;病理观察到细胞排列紊乱,细胞间隙增宽,炎症细胞浸润等现象;血清中MDA, TNF- $\alpha$ , IL- $1\alpha$ 及皮肤组织细胞核中NF- $\kappa$ B p65的含量明显升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ),而血清中SOD的含量显著降低( $P < 0.01$ )。紫草油膏治疗3 d后,与模型组比较,受压部位皮肤组织红肿消退,状态明显好转;病理状态明显得到改善,炎症程度和数量均明显减轻或减少。紫草油膏中、高剂量组大鼠血清中SOD的含量明显高于模型组,而MDA的含量明显低于模型组( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ );紫草油膏高剂量组较模型组血清中TNF- $\alpha$ , IL- $1\alpha$ 的含量显著降低( $P < 0.05$ ),细胞核中NF- $\kappa$ B p65蛋白表达显著降低( $P < 0.05$ )。**结论:**紫草油膏对褥疮模型大鼠具有一定治疗作用,其机制与抑制细胞核中NF- $\kappa$ B p65的表达、降低大鼠血清中IL- $1\alpha$ , TNF- $\alpha$ , MDA的含量及增加SOD含量有关。

**[关键词]** 紫草油膏; 褥疮模型大鼠; 炎症; 自由基

**[中图分类号]** R285.5 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2017)23-0122-07

**[doi]** 10.13422/j.cnki.syfjx.2017230122

**[网络出版地址]** <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3495.R.20170912.1400.018.html>

**[网络出版时间]** 2017-09-12 14:00

## Therapeutic Effect of Arnebiae Radix Oil Ointment on Rat Pressure Ulcer Model and Its Mechanism

LIU Yu-feng<sup>1\*</sup>, LI Dan<sup>1</sup>, HUANG Mei<sup>2</sup>, NAN Li-hong<sup>2</sup>, XIE Qing-qing<sup>2</sup>

(1. Fuzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine (TCM), Fuzhou 350001, China;

2. School of Pharmacy, Fujian University of TCM, Fuzhou 350122, China)

**[Abstract]** **Objective:** To observe the therapeutic effect of Arnebiae Radix oil ointment (AROO) on a rat model of pressure ulcer (PU) and its possible mechanism, in order to provide the experimental evidence for clinical application. **Method:** Rats were randomly divided into seven groups, namely blank control group, sham group, model group, positive control group, middle-dose AROO group, high-dose AROO group and iodine group. The PU model was induced by applying magnets over irons that were implanted under the skin of rats except for blank control and sham group. AROO was applied the next day after modeling. Rats in blank control, sham group and model group were treated with normal saline, where as the other groups were given the corresponding medicines once a day. After three days of administration, the morphologic and color changes in skin were observed, and the

**[收稿日期]** 20170715(009)

**[基金项目]** 福州市卫生和计划生育委员会青年科研项目(2015-S-wq15)

**[通讯作者]** \*刘玉凤, 硕士, 中药师, 从事中药药效物质研究, Tel: 0591-87678519, E-mail: liuyufeng\_510@126.com

histopathological changes in pressed skin tissues were observed under microscope. Nuclear transcription factor- $\kappa$ B p65 (NF- $\kappa$ B p65) was detected by immunohistochemistry; WST-1 and microplate method were used to detect the superoxide dismutase (SOD) and malondialdehyde (MDA) in rat serum. And the levels of interleukin- $1\alpha$  (IL- $1\alpha$ ) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in rat serum were detected as well by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). **Result:** Compared with blank control and sham group, compressed skin parts of the rats in model group were red and swollen; and pathological observation showed that the cell lines were disordered, the cell gaps were widened, and the inflammatory cells were infiltrated. The levels of TNF- $\alpha$ , IL- $1\alpha$  and MDA in the serum and the expression of NF- $\kappa$ B p65 were significantly increased, while the level of SOD was reduced. After being treated with AROO for 3 days, the swelling in compressed tissues subsided, the pathological status was significantly improved, the inflammation was relieved, and the content of SOD in middle and high-dose groups was significantly higher than that of model group. However, the content of MDA was significantly lower than that of model group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), the levels of TNF- $\alpha$  and IL- $1\alpha$  in the serum of high-dose group were significantly lower than those in model group ( $P < 0.05$ ), and the NF- $\kappa$ B p65 protein expression in high-dose group was significantly lower than model group ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** AROO has a therapeutic effect on rat PU model. Its mechanism is possibly related to the regulation of NF- $\kappa$ B p65 expression and the content of IL- $1\alpha$ , TNF- $\alpha$ , SOD and MDA in rat serum.

[**Key words**] Arnebiae Radix oil ointment (AROO); rat model of pressure ulcer; inflammation; free radical

褥疮又名“压疮”、“席疮”、“压迫性溃疡”<sup>[1]</sup>,它是由压力、剪切力或摩擦力导致的皮肤、肌肉或皮下组织的局限性损伤,常发生在骨隆突处;本病与中医病名“席疮”相似。<sup>[2]</sup>它是长期卧床患者,特别是老年人、昏迷、瘫痪等患者的常见并发症。传统上对于褥疮的治疗多体现在清创、疮面覆盖无菌敷料等措施,被动的等待伤口愈合,但是往往因其伤口迁延不愈或愈合速度较慢,且易引起全身感染,严重者可引发败血症而成为临床上常见的难题,给患者及其家庭、社会带来沉重的生理、心理及经济负担。如何缩短治疗时间,提高患者的生存质量,减轻护理人员的负担成为目前临床上亟待解决的问题。

紫草油膏具有凉血解毒、化腐生肌的功效,现代临床常用于褥疮、水火烫伤等,疗效显著。经前期调研发现紫草油膏治疗褥疮及组织损伤的研究仅限于临床观察<sup>[3-4]</sup>,相关分子机制研究较少。压疮的病因学研究普遍认为缺血再灌注(ischemia reperfusion, IR)损伤在压疮形成和发展中发挥着重要的作用<sup>[5]</sup>,组织器官缺血后,促炎症细胞因子[肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )和白细胞介素- $1\alpha$  (IL- $1\alpha$ )]的表达增加<sup>[6]</sup>,当血液重新恢复,缺血组织的再充氧促进了各种活性氧自由基的生成,通过激活核转录因子- $\kappa$ B p65 (NF- $\kappa$ B p65),诱导 TNF- $\alpha$ , IL- $1\alpha$ , 炎症细胞因子和炎症蛋白基因表达增加,促炎症细胞因子基因表达增加,又可诱导活性氧自由基的生成,形成一个活性氧自由基与促炎症细胞因子正反馈

环,导致组织器官损伤进一步加重<sup>[7-8]</sup>。超氧化物歧化酶(SOD)活性的高低直接反映了机体清除自由基的能力,丙二醛(MDA)含量的高低则反映了机体细胞受到氧自由基攻击的严重程度<sup>[9]</sup>。故本研究通过制备褥疮模型大鼠,观察紫草油膏对褥疮模型大鼠的治疗作用,探讨其对皮肤组织中 NF- $\kappa$ B p65 的表达,血清中 IL- $1\alpha$ , TNF- $\alpha$ , SOD, MDA 的含量影响情况,从而为其促进褥疮临床治疗提供一定的实验依据。

## 1 材料

**1.1 动物** SPF 级的健康雄性 SD 大鼠 70 只,体重(220 ± 10)g,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司,合格证号 SCXK(沪)2012-0002,饲养在福建中医药大学实验动物中心,实验符合福建中医药大学动物伦理委员会标准(2016036)。

**1.2 药物** 紫草油膏、消炎生肌膏(福州屏山制药有限公司,批号 160703,160705)。

**1.3 仪器** TS-12D 型生物组织自动脱水机(湖北孝感宏业医用仪器有限公司),YB-6LF 型生物组织石蜡包埋机(湖北省孝感市亚光医用电子技术有限公司),YT-7FB 型生物组织摊烤片机(湖北省孝感市亚光医用电子技术有限公司),HM325 型石蜡切片机(美国 Thermo 公司),DM4000B LED 型光学显微镜(德国 Leica 公司),Infinite M200 Pro 型酶标仪(瑞士 Tecan 公司),DW-86L388(J)型医用低温保存箱(青岛海尔特种电器有限公司),TD5A-WS 型台

式低速离心机(湘仪离心机仪器有限公司),HH-2 型数显电子恒温水浴锅(常州国华电器有限公司),DHP-9052 型电热恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司),MLS-3750 型高压蒸气灭菌器(三洋电机株式会社)。

**1.4 试剂** 苏木精(上海展云化工有限公司,批号 0712059);伊红(国药集团化学试剂有限公司,批号 20140818);NF- $\kappa$ B p65 一抗(美国 CST 公司,批号 4764T);IL-1 $\alpha$ ,TNF- $\alpha$  检测试剂盒(上海西塘生物科技有限公司,批号分别为 F20180, F16960);SOD,MDA 生化试剂盒(南京建成生物工程研究所,批号分别为 A001-1, A003-1);EP 免疫组化试剂盒,DAB 显色液(福州迈新生物技术开发有限公司,批号分别为 KIT-9901, Kit-0015);牛血清白蛋白(BSA)(厦门泰京,批号 0332)。

## 2 方法

**2.1 造模** 参考文献[10-15]将大鼠用 10% 水合氯醛( $0.3 \text{ g} \cdot \text{kg}^{-1}$ )腹腔注射麻醉后,在背部中心位置进行脱毛处理,做一深至筋膜约 3 cm 的切口,钝性分离组织,将经过灭菌环形铁片(直径 25 mm,厚 1 mm)植入大鼠背部的深筋膜上,逐层缝合切口。缝合切口完毕后,每只每次肌肉注射青霉素 0.2 mL,连续 3 d,预防全身感染。术后第 4 天在植入铁片相对应的皮肤上放置磁铁(直径 16 mm,厚 5 mm),磁铁与铁片二者产生的作用力及重力会对皮肤产生相应的压力,造成局部组织缺血。每次缺血 2 h 后,将磁铁移去,让局部恢复供血(再灌注)0.5 h,此即为 1 个循环(IR),如此循环,每只大鼠每天进行 3 个循环,连续 3 d。模型成功标准:受压局部出现持续非苍白性发红现象,即临床经典的 I 期压疮早期表现。

### 2.2 分组及给药

**2.2.1 分组** SD 大鼠适应性 1 周后,随机选取 10 只为空白组,10 只为假手术组,剩余大鼠复制模型。受试药物为局部外用,根据预实验,紫草油膏低剂量组浓度低,涂抹压疮部位后附着力差,因此将造模成功的大鼠均分为 5 组,每组 10 只,分别为模型组,消炎生肌膏组,紫草油膏中(质量分数 18.7%,以生药记,每 100 g 紫草油膏含 18.7 g 生药),高剂量组(37.4%),碘剂组。

**2.2.2 给药** 分组后,于次日开始给药,空白组、假手术组和模型组涂抹生理盐水;其余各组涂抹生理盐水后,分别对应给药,碘剂组用棉签蘸取少量碘酊,有中心向外涂抹褥疮部位;消炎生肌膏组和紫草

油膏中、高剂量组大鼠外涂碘酊后,再将相应的药物均匀涂敷于褥疮部位,厚度约 2 mm,每日 1 次,连续 3 d。注意每次换药前先将原来的药膏及渗出物沾净。实验时各组大鼠均是普通饲料喂养,自由摄食和饮水,且保持大鼠清洁环境。

**2.3 苏木素-伊红(HE)病理染色** 取大鼠受压部位皮肤组织,4% 多聚甲醛固定,经梯度脱水后,行常规石蜡包埋,以 5  $\mu\text{m}$  厚度连续切片,烘干制成石蜡切片,切片经常规脱蜡、水化,苏木素-伊红染液染色,经脱水处理及二甲苯透明,将处理好的切片风干,用中性树胶进行封片,显微镜底下观察后并拍照。

**2.4 免疫组化法检测 NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达水平** 组织常规包埋切片后,经脱蜡、水化。采用 SP 法,常规设立阴性对照。PBS,3%  $\text{H}_2\text{O}_2$  处理后进行抗原修复,山羊血清封闭 30 min,5% BSA 稀释的一抗(1:800)在 4  $^{\circ}\text{C}$  冰箱中孵育过夜,山羊抗兔二抗 37  $^{\circ}\text{C}$  孵育 40 min,DAB 显色,苏木素染液复染 20 s,用中性树胶封片,镜下观察。受损组织中 NF- $\kappa$ B p65 主要在细胞核中着色,蛋白染色阳性的信号则为黄褐色颗粒,阴性对照显示胞核及胞膜呈蓝色,胞浆及整片组织呈淡蓝色背景。先用光学显微镜低亮度初步观察,确定有阳性表达后,200 倍镜下随机取受压部位组织 5 个不同部位进行摄像,计数阳性表达。用 Leica Qwin 图像处理系统观察出各个视野中的阳性细胞数,取其平均数以避免随意性,进行半定量分析。

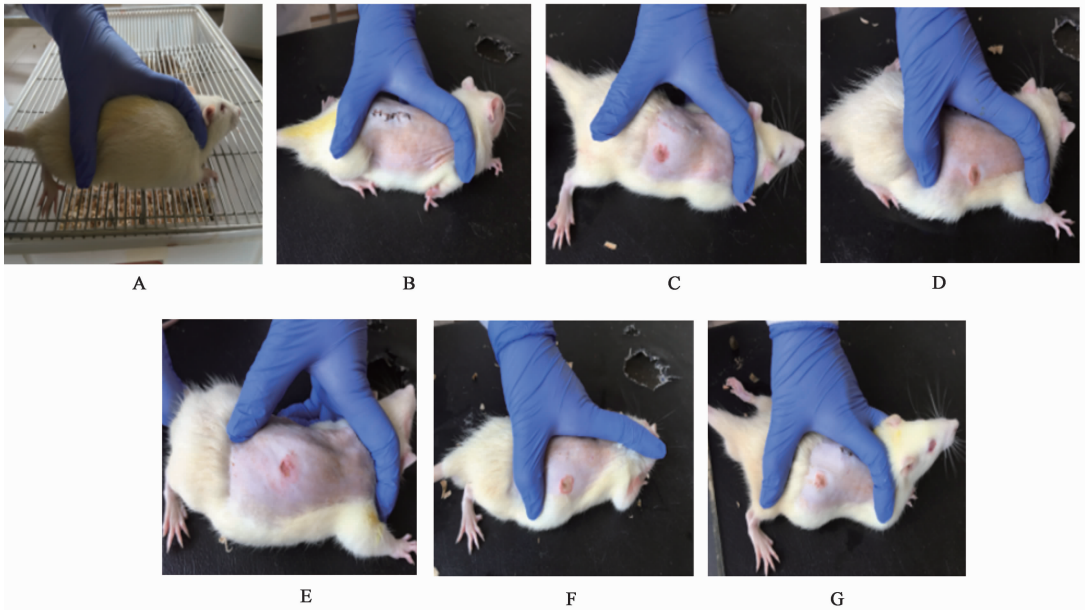
**2.5 试剂盒检测 SOD,MDA,IL-1 $\alpha$ ,TNF- $\alpha$  的含量** 各组大鼠经麻醉后,分别取腹主动脉血 5 mL,3 000  $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 15 min,分离血清并分装于离心管中,置于 -80  $^{\circ}\text{C}$  冰箱待用。根据试剂说明书,水溶性四唑盐法检测 SOD 的含量,微板法检测 MDA 含量,酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒检测 IL-1 $\alpha$ ,TNF- $\alpha$  的含量。

**2.6 统计学处理** 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,用 SPSS 20.0 软件对实验数据进行统计,各组数据间的比较采用单因素方差分析,方差齐时,采用 LSD 检验;方差不齐时,采用 Games-Howell 检验, $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 3 结果

### 3.1 紫草油膏对褥疮模型大鼠的治疗作用

**3.1.1 紫草油膏对大鼠受压部位的影响** 肉眼观察,模型组大鼠受压部位发红不改变,而且皮肤表面出现损伤明显,经紫草油膏治疗 3 d 后,大鼠受压皮肤部位红肿消退,状态明显好转。见图 1。



A. 空白组; B. 假手术组; C. 模型组; D. 碘剂组; E. 紫草油膏中剂量组; F. 紫草油膏高剂量组; G. 消炎生肌膏组(图 2,3 同)

图 1 紫草油膏对大鼠受压部位的影响

Fig.1 Effect of AROO on compressed skin parts of rats

**3.1.2 紫草油膏对大鼠受压部位皮肤组织病理学的影响** 模型组大鼠鳞状上皮细胞变薄,细胞排列紊乱,各个细胞之间间隙增宽,细胞结构略显疏松,胞体缩小,胞质凝集,胞核固缩浓染,有的细胞界限

不清,表皮与真皮连接疏松,真皮轻度胶原变性,毛细血管扩张,有炎症细胞浸润。经过紫草油膏的治疗,大鼠病理状态明显得到改善,炎症程度和数量均明显减轻或减少。见图 2。

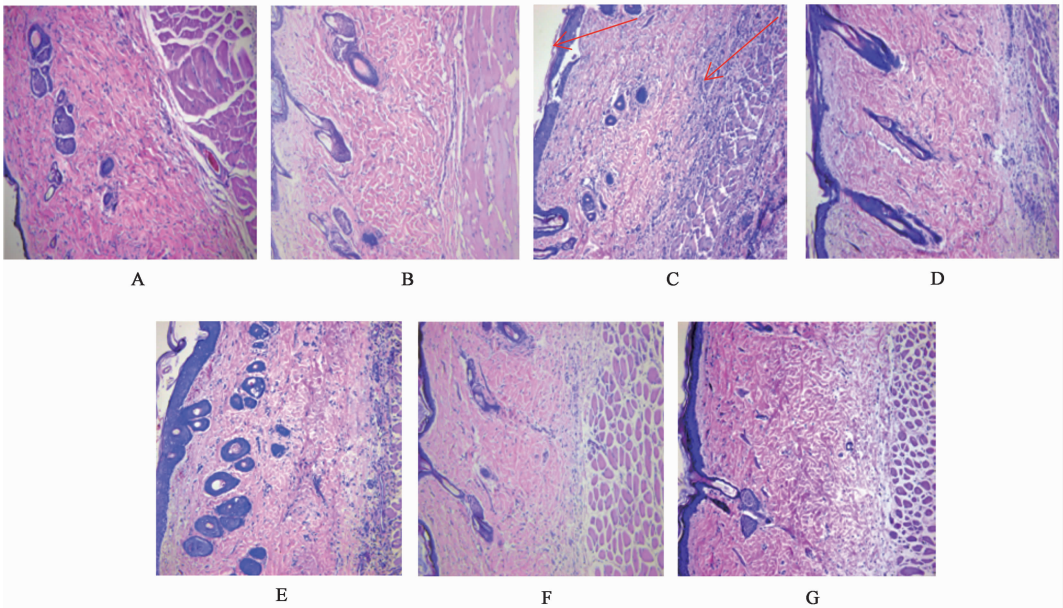


图 2 紫草油膏对大鼠受压部位皮肤组织病理学的影响(HE, ×100)

Fig.2 Effect of AROO on pathology of compressed skin parts of rats(HE, ×100)

### 3.2 紫草油膏治疗褥疮模型大鼠的机制研究

#### 3.2.1 紫草油膏对大鼠血清中 SOD 水平的影响

生化试剂盒检测大鼠血清中 SOD 含量 结果显示,与空白组及假手术组比较,模型组大鼠血清中 SOD

含量明显下降( $P < 0.01$ ),经紫草油膏治疗 3 d 后,紫草油膏中高剂量组大鼠血清中 SOD 的含量明显高于模型组( $P < 0.05, P < 0.01$ )。见表 1。

#### 3.2.2 紫草油膏对大鼠血清中 MDA 水平的影响

表 1 紫草油膏对大鼠血清中 SOD 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 1 Effect of AROO on level of SOD in rat serum ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	SOD/U·mL <sup>-1</sup>
空白	-	233.25 ± 12.63
假手术	-	230.59 ± 10.07
模型	-	202.09 ± 16.57 <sup>1)</sup>
碘剂	-	208.82 ± 18.91
紫草油膏	0.64	216.94 ± 14.42 <sup>2)</sup>
	1.28	222.78 ± 14.44 <sup>3)</sup>
消炎生肌膏	-	224.32 ± 12.06 <sup>3)</sup>

注:与空白组,假手术组比较<sup>1)</sup>  $P < 0.01$ ;与模型组比较<sup>2)</sup>  $P < 0.05$ ,<sup>3)</sup>  $P < 0.01$ (表 2~4 同)。

生化试剂盒检测大鼠血清中 MDA 含量的结果显示,模型组大鼠血清中 MDA 含量明显高于空白组及假手术组 ( $P < 0.01$ ),经紫草油膏油治疗 3 d 后,与模型组比较,紫草油膏高剂量组血清中 MDA 的含量显著下降 ( $P < 0.01$ )。见表 2。

表 2 紫草油膏对大鼠血清中 MDA 水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 2 Effect of AROO on level of MDA in rat serum ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	MDA/nmol·L <sup>-1</sup>
空白	-	6.65 ± 1.05
假手术	-	7.12 ± 0.68
模型	-	9.78 ± 2.44 <sup>1)</sup>
碘剂	-	8.68 ± 1.51
紫草油膏	0.64	8.49 ± 1.24
	1.28	7.30 ± 0.85 <sup>3)</sup>
消炎生肌膏	-	7.69 ± 1.29 <sup>3)</sup>

**3.2.3 紫草油膏对大鼠血清中 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$  水平的影响** ELISA 试剂盒检测大鼠血清中 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$  含量,结果显示,模型组大鼠血清中 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$  含量明显高于空白组及假手术组 ( $P < 0.05, P < 0.01$ ),经紫草油膏治疗 3 d 后,与模型组比较,紫草油膏高剂量组血清中 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$  的含量明显下降 ( $P < 0.05$ )。见表 3。

**3.2.4 紫草油膏对大鼠皮肤组织中 NF- $\kappa$ B p65 蛋白水平的影响** 免疫组化法检测受压部位皮肤组织中 NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达的结果见表 4,图 3。与假手术组比较,褥疮模型组大鼠皮肤组织细胞核中 NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达量明显增多 ( $P < 0.01$ ),经紫草油膏治疗 3 d 后,紫草油膏高剂量组较模型组细胞核中 NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达均明显减少 ( $P < 0.05$ )。见图 3,表 4。

表 3 紫草油膏对大鼠血清中 TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$  水平的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 3 Effect of AROO on levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$  in rat serum ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	TNF- $\alpha$	IL-1 $\alpha$
空白	-	44.95 ± 4.95	19.24 ± 6.66
假手术	-	48.70 ± 14.89	20.93 ± 3.84
模型	-	66.40 ± 8.44 <sup>1)</sup>	49.93 ± 15.04 <sup>1)</sup>
碘剂	-	56.88 ± 13.54	33.51 ± 8.43
紫草油膏	0.64	50.80 ± 13.83 <sup>2)</sup>	25.51 ± 4.35 <sup>2)</sup>
	1.28	49.74 ± 10.71 <sup>2)</sup>	22.84 ± 8.13 <sup>2)</sup>
消炎生肌膏	-	49.89 ± 9.69 <sup>2)</sup>	22.42 ± 4.34 <sup>2)</sup>

表 4 紫草油膏对大鼠皮肤组织中 NF- $\kappa$ B p65 的影响 ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

Table 4 Effect of AROO on protein level of NF- $\kappa$ B p65 in rat skin tissues ( $\bar{x} \pm s, n = 10$ )

组别	剂量/g·kg <sup>-1</sup>	NF- $\kappa$ B p65 阳性表达
空白	-	55.29 ± 14.03
假手术	-	95.00 ± 16.71
模型	-	290.80 ± 48.16 <sup>1)</sup>
碘剂	-	263.30 ± 30.47
紫草油膏	0.64	211.83 ± 34.93
	1.28	176.67 ± 20.53 <sup>2)</sup>
消炎生肌膏	-	151.25 ± 27.73 <sup>2)</sup>

## 4 讨论

**4.1 紫草油膏对褥疮大鼠的治疗作用** 本实验采用 IR 损伤复制褥疮模型大鼠,大鼠作为褥疮模型的复制对象在早期及新近研究中一直作为首选<sup>[16]</sup>。有学者<sup>[17]</sup>指出,大鼠皮肤组织与人类皮肤组织结构相似,且机体损伤及愈合机制与人类相似性高,适合用作褥疮动物模型的复制,尤其适合用于褥疮治疗的实验研究;此外大鼠相对于猪、狗、羊等动物价格低廉,体态小,便于操作,是比较理想的作为褥疮动物模型复制的选择对象。采用皮下埋置无菌铁片外加磁铁施压的方法,通过间隙性地移去磁铁引起受压部位皮肤和肌肉缺血再灌注,该模型最突出的优势是整个受压和减压过程实验大鼠均处于非麻醉状态,因此可以排除麻醉因素对某些生理指标的影响,更加贴近于临床褥疮的发生背景<sup>[18]</sup>,也符合大家普遍认可的褥疮发病机制。

实验中模型组大鼠从受压部位皮肤外观观察发现,受压部位发红不改变,而且皮肤表面出现损伤明

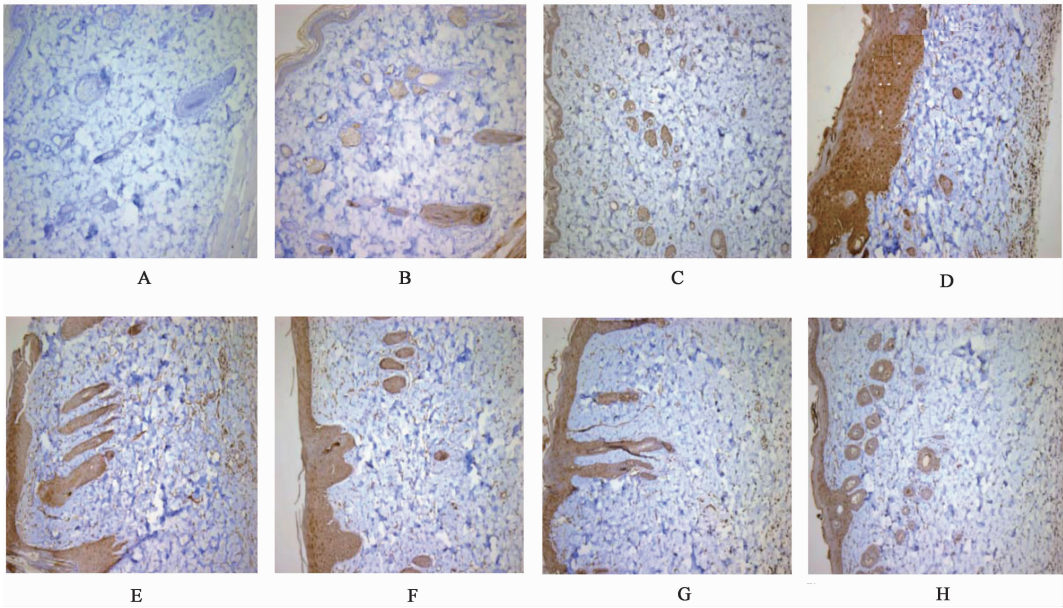


图 3 紫草油膏对大鼠皮肤组织中 NF-κB p65 的影响(IHC, ×100)

Fig. 3 Effect of AROO on protein level of NF-κB p65 in rat skin tissues(IHC, ×100)

显,但皮肤的完整性尚未被破坏。经紫草油膏治疗一段时间后,大鼠受压皮肤部位红肿消退,状态明显好转。HE 病理染色结果显示模型组大鼠受压皮肤组织中模型组大鼠鳞状上皮细胞变薄,细胞排列紊乱,细胞间的间隙增宽,结构略显疏松,胞体缩小,胞质凝集,胞核固缩浓染,有的细胞界限不清,表皮与真皮连接疏松,真皮轻度胶原变性,毛细血管扩张,有炎症细胞浸润;紫草油膏治疗后病理状态明显得到改善,炎症程度和数量均明显减轻或减少,结果表明大鼠褥疮模型复制成功且紫草油膏在治疗 3 d 后,能有效地减轻因 IR 导致的损伤。

**4.2 紫草油膏治疗褥疮模型大鼠的机制研究** 压疮的病因学研究普遍认为 IR 损伤在压疮形成和发展中发挥着重要的作用<sup>[3]</sup>,组织器官缺血后,促炎症细胞因子(TNF-α 和 IL-1α)的表达增加<sup>[4]</sup>,当血液重新恢复,缺血组织的再充氧促进了各种活性氧自由基的生成<sup>[5-6]</sup>。NF-κB 由两类亚基形成同源或异源二聚体,最常见的亚基组成形式为 p65/p50 或 p65/p65,未被激活时分布在细胞浆中。促炎症细胞因子、活性氧自由基可以激活炎症反应的核心调控因子 NF-κB,通过一个或多个信号途径使抑制性蛋白 IκB 磷酸化、泛素化并进一步降解,使 NF-κB 与 IκB 解离,移位至胞核,与 DNA 上启动子区域相应的靶基因位点结合,进而启动一系列免疫相关基因 mRNA 如前炎症介质(如 IL-1α, TNF-α 等)及一些炎性相关酶类的转录程序,导致炎症细胞因子和炎

症蛋白基因表达增加<sup>[19-20]</sup>,促炎症细胞因子基因表达增加,又可诱导活性氧自由基的生成,形成一个活性氧自由基与促炎症细胞因子正反馈环,导致组织器官损伤进一步加重<sup>[7-8]</sup>。通过免疫染色检测 NF-κB 的主要亚基 p65 是否被转移到细胞核内,就可以判断 NF-κB 是否被激活。

在生物体内,自由基作用于脂质发生过氧化反应,氧化终产物为 MDA,会引起蛋白质、核酸等生命大分子的交联聚合,且具有细胞毒性,同时 MDA 的含量可以间接地反映机体受伤程度,以此可以与观察到的模型组大鼠受压部位损伤情况相对比<sup>[9]</sup>。SOD 作为重要的机体内抗氧化酶(生物体内重要的超氧阴离子自由基清除剂),其主要作用是能专一地清除生物氧化过程中产生的超氧阴离子自由基,有助于防止生物大分子损伤<sup>[21-23]</sup>。监测 SOD 含量对了解褥疮的发病机制、病况、预后以及临床治疗有重要的意义。

本实验结果显示,与空白及假手术组比较,模型组血清中 MDA, TNF-α, IL-1α 及皮肤组织细胞核中 NF-κB p65 的含量明升高,而血清中 SOD 活性显著降低,此结果提示在正常的机体内自由基的生成与清除始终处在一种动态平衡的状态,本实验的造模方法对大鼠皮肤造成 IR 损伤,在此损伤下机体会产生大量的自由基及炎症因子,因此破坏了动态平衡状态,进而造成皮肤组织的损伤。经紫草油膏治疗后,给药组大鼠血清中 MDA, TNF-α, IL-1α 及皮肤

组织细胞核中 NF- $\kappa$ B p65 的含量明显低于模型组, 而 SOD 则高于模型组, 表明紫草油膏治疗大鼠皮肤褥疮的主要机制是通过提高机体自由基清除能力、减少脂质代谢物 MDA 含量、降低 TNF- $\alpha$  与 IL-1 $\alpha$  含量、降低细胞核中 NF- $\kappa$ B p65 蛋白表达。

[参考文献]

[1] 孙忠人, 任雪, 张秦宏, 等. 电针傍刺对大鼠褥疮炎症细胞的影响[J]. 上海针灸杂志, 2014, 33(9): 862-867.

[2] 李特, 万钢. 中西医治疗褥疮的研究进展[J]. 中国老年保健医学, 2014, 12(4): 63-64.

[3] 刘宏旭, 李海玲. 紫草油膏外用治疗褥疮 45 例观察[J]. 新疆中医药, 2011(3): 26-30.

[4] 朱春晖, 张晓明, 蔡辉, 等. 紫草油膏在青海玉树地震后软组织损伤治疗中的临床疗效观察[J]. 西部中医药, 2013(4): 56-58.

[5] Houwing R, Overgoor M, Kon M, et al. Pressure-induced skin lesions in pigs: reperfusion injury and the effects of vitamin E[J]. J Wound Care, 2000, 9(1): 36-40.

[6] Herskowitz A, Choi S, Ansari A A, et al. Cytokine mRNA expression in postischemic/reperfused myocardium[J]. Am J Pathol, 1995, 146(2): 419-428.

[7] Tsutakawa S, Kobayashi D, Kusama M, et al. Nicotine enhances skin necrosis and expression of inflammatory mediators in a rat pressure ulcer model[J]. Br J Dermatol, 2009, 161(5): 1020-1027.

[8] Genovese T, Esposito E, Mazzon E, et al. Evidence for the role of mitogen-activated protein kinase signaling pathways in the development of spinal cord injury[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2008, 325(1): 100-114.

[9] 张秦宏, 赵文麟, 阎成海, 等. 电针傍刺对大鼠皮肤压疮血浆 SOD 活性及 MDA 含量的影响[J]. 针灸临床杂志, 2012, 28(11): 60-62.

[10] 王雪玲. 动物压疮模型及压疮形成的分子机制研究进展[J]. 护理学杂志, 2011, 26(7): 90-92.

[11] Peirce S M, Skalak T C, Rieger J M, et al. Selective A

(2A) adenosinereceptor activation reduces skin pressure ulcer formation and inflammation[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2001, 281(1): 67-74.

[12] 姜丽萍, 王艳艳, 张纯瑜, 等. 大鼠股薄肌早期压疮局部腺苷三磷酸酶活性与兰尼碱受体 1 mRNA 表达[J]. 中华烧伤杂志, 2011, 27(3): 178-182.

[13] 王艳艳, 孙海琴, 张纯瑜, 等. 压疮早期动物模型的制备及评价[J]. 护理学杂志, 2010, 25(14): 1-5.

[14] 陆瑾, 徐俐, 李海东. 黄连溶液对大鼠早期压疮缺血再灌注损伤中 HIF-1 $\alpha$  与 VEGF 的影响[J]. 上海中医药大学学报, 2014, 28(5): 66-69.

[15] 范丽红, 何英, 张平, 等. 黄芪注射液对大鼠早期压疮炎症因子和氧自由基的影响[J]. 解放军护理杂志, 2014, 31(15): 22-24.

[16] 谢小燕, 刘雪琴. 压疮的动物实验研究进展[J]. 解放军护理杂志, 2004, 21(8): 52-53.

[17] 燕群美. 压疮动物模型的研究进展[J]. 护理研究, 2009, 23(9): 2261-2264.

[18] 庄嘉元, 宋继红, 姜小鹰, 等. 压疮护理 SD 大鼠模型的建立[J]. 中华现代护理杂志, 2010, 16(36): 4363-4365.

[19] Harhaj E W, Dixit V M. Deubiquitinases in the regulation of NF-kappaB signaling[J]. Cell Res, 2011, 21, 22-39.

[20] Sethi G B, Sung B B, Aggarwal F. Nuclear factor-kappa B activation: from bench to bedside[J]. Exp Biol Med (Maywood), 2008, 233(1): 21-31.

[21] 谢继青, 李玉华, 杨春梅, 等. 超氧化物歧化酶的药理作用[J]. 中国生化药物杂志, 2009, 30(1): 72-75.

[22] 蔡福满, 姜丽萍, 杨晔琴, 等. 氧自由基损伤在压疮形成中的作用机制实验研究[J]. 护理学杂志, 2008, 23(14): 12-14.

[23] 李长荣, 姜军作, 衣运玲. 超氧化物歧化酶与疾病关系的探讨[J]. 医学与哲学临床决策: 论坛版, 2007, 10(28): 43-44.

[责任编辑 邹晓翠]