

·实验研究·

本文引用: 郭李梦, 彭露, 高子琪, 刘彬, 廖若夷. 基于 IGF-1/PI3K/Akt 信号通路探讨象皮生肌膏对压力性损伤大鼠模型的影响及机制研究[J]. 湖南中医药大学学报, 2023, 43(9): 1547-1552.

基于 IGF-1/PI3K/Akt 信号通路探讨象皮生肌膏对压力性损伤大鼠模型的影响及机制研究

郭李梦^{1,2}, 彭露¹, 高子琪¹, 刘彬¹, 廖若夷^{1*}

1.湖南中医药大学第一附属医院, 湖南长沙 410007; 2.湖南中医药大学, 湖南长沙 410208

[摘要] **目的** 通过动物实验观察并基于类胰岛素一号生长因子(insulin-like growth factors-1, IGF-1)/磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)信号通路探讨象皮生肌膏对压力性损伤大鼠模型的影响。**方法** 将 40 只 SD 大鼠(SPF 级, 雌雄各半)复制压力性损伤大鼠模型, 造模成功后随机均分为模型组(生理盐水纱布外敷)、阳性对照组(三乙醇胺乳膏外用)、象皮生肌组(象皮生肌膏外用)、联合给药组(三乙醇胺乳膏与象皮生肌膏联合外用)。另取 10 只健康 SD 大鼠作为空白组, 仅同部位置入磁性装置, 不予施加压力。实验过程中, 每天记录各组大鼠愈合情况。实验结束时, HE 染色法观察创面病理性损伤情况, ELISA 法检测血清肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)水平, Western blot 法及 RT-PCR 法检测创面组织中 PI3K、Akt、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)、IGF-1 蛋白及 mRNA 的表达情况。**结果** 与空白组比较, 模型组大鼠创面面积明显增大($P<0.05$); 与模型组比较, 阳性对照组、象皮生肌组、联合给药组大鼠的创面面积均减小($P<0.05$); 与阳性对照组及象皮生肌组比较, 联合给药组创面面积缩小($P<0.05$)。HE 染色结果显示, 空白组大鼠创面病理结构较完整, 组织细胞排列较规则且病理致密, 未见明显组织坏死碎片、水肿及炎性浸润; 模型组可见明显的肌肉纤维坏死碎片, 空泡变性, 纤维肿大、横断; 阳性对照组、象皮生肌组、联合给药组可见不同程度的病理缓解。与空白组比较, 模型组大鼠血清炎性因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平明显升高($P<0.05$), PI3K、Akt、mTOR、IGF-1 蛋白及 mRNA 表达明显升高($P<0.05$); 与模型组比较, 阳性对照组、象皮生肌组、联合给药组大鼠血清炎性因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平显著降低($P<0.05$), PI3K、Akt、mTOR、IGF-1 蛋白及 mRNA 表达显著升高($P<0.05$); 与阳性对照组及象皮生肌组比较, 联合给药组血清炎性因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平以及 PI3K、Akt、mTOR、IGF-1 蛋白及 mRNA 表达水平明显降低($P<0.05$)。**结论** 象皮生肌膏可改善压力性损伤大鼠模型创面病理情况, 可能与象皮生肌膏上调 IGF-1/PI3K/Akt 信号通路相关蛋白表达, 抑制炎性因子表达相关。

[关键词] 压力性损伤; 象皮生肌膏; IGF-1/PI3K/Akt 信号通路; 血清炎性因子; 机制研究

[中图分类号] R285.5

[文献标志码] A

[文章编号] doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2023.09.001

Effects and mechanisms of Xiangpi Shengji Ointment on pressure induced injury rat model based on IGF-1/PI3K/Akt signaling pathway

GUO Limeng^{1,2}, PENG Lu¹, GAO Ziqi¹, LIU Bin¹, LIAO Ruoyi^{1*}

1. The First Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China;

2. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410208, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effects of Xiangpi Shengji Ointment on pressure induced injury rat models through animal experiments and based on the insulin-like growth factor-1 (IGF-1)/phosphatidylinositol 3-kinase (PI3K)/protein

[收稿日期] 2023-02-03

[基金项目] 湖南省科技厅“湖南省临床医疗技术创新引导计划项目”(2020SK514004)。

[第一作者] 郭李梦, 女, 主管护师, 硕士研究生, 研究方向: 中西医结合护理。

[通信作者]* 廖若夷, 女, 主任护师, 博士, E-mail: 2592431302@qq.com。

kinase B (Akt) signaling pathway. **Methods** A total of 40 SD rats (SPF grade, half male and half female) were firstly set as the pressure induced injury rat models, and then randomly divided into model group (physiological saline gauze, external application), positive control group (Triethanolamine Ointment, external application), Xiangpi Shengji Ointment group (Xiangpi Shengji Ointment, external application), and combined administration group (Triethanolamine Ointment combined with Xiangpi Shengji Ointment, external application). Another 10 healthy SD rats were selected as the blank group, and only the same position was inserted into the magnetic device without pressure. The healing status of each group was recorded daily. HE staining was used to observe the pathological damage of wound surface, and ELISA was taken to measure serum tumor necrosis factor- α (TNF- α), Interleukin-1 β (IL-1 β), and interleukin-6 (IL-6) levels. Western blot and RT-PCR methods were taken to check the expressions of PI3K, Akt, mammalian target of rapamycin (mTOR), IGF-1 protein, and mRNA in wound tissue. **Results** Compared with blank group, the wound area of model group rats increased ($P<0.05$); compared with model group, the wound area of rats in the positive control group, Xiangpi Shengji Ointment group, and combined administration group decreased ($P<0.05$); compared with the positive control group and Xiangpi Shengji Ointment group, the combined administration group showed a decrease in wound area ($P<0.05$). The HE staining showed that the pathological structure of the wound in the blank group rats was relatively complete, with regular arrangement of tissue cells and dense pathology. No obvious tissue necrosis fragments, edema, and inflammatory infiltration were observed; in the model group, obvious muscle fiber necrosis fragments, vacuolar degeneration, fiber enlargement, and transection were observed; the positive control group, Xiangpi Shengji Ointment group, and combined administration group showed varying degrees of pathological relief. Compared with blank group, the levels of serum inflammatory factors of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 in the model group rats increased ($P<0.05$), and the expressions of PI3K, Akt, mTOR, IGF-1 protein, and mRNA were higher ($P<0.05$); compared with the model group, the levels of serum inflammatory factors of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 of rats in the positive control group, Xiangpi Shengji Ointment group, and combined administration group decreased ($P<0.05$), while the expressions of PI3K, Akt, mTOR, IGF-1 protein, and mRNA increased ($P<0.05$); compared with the positive control group and the Xiangpi Shengji Ointment group, the levels of serum inflammatory factors of TNF- α , IL-1 β , and IL-6, and the levels of PI3K, Akt, mTOR, IGF-1 protein, and mRNA expression of combined administration group were lower ($P<0.05$). **Conclusion** Xiangpi Shengji Ointment can alleviate the wound pathology of pressure induced injury rat models. It may be related to upregulating the related protein expression of IGF-1/PI3K/Akt signaling pathway and inhibiting the inflammatory factor expression.

[**Keywords**] pressure induced injury; Xiangpi Shengji Ointment; IGF-1/PI3K/Akt signaling pathway; serum inflammatory factors; mechanism research

压力性损伤多由于强烈或长期坐卧形成局部组织受压,出现持续的局部组织供血、供氧减少,形成压力性溃疡^[1]。现阶段临床常见的Ⅳ期压力性损伤的治疗手段为负压引流(vacuum sealing drainage, VSD),其可较有效地消除局部坏死组织,加速创面康复,但在实际临床实践时,单纯运用VSD治疗Ⅳ期压力性损伤,不仅整个病程治疗周期较长,临床效果欠佳,而且对于行动障碍患者、老年人群、癌症人群,压力性损伤伴发的炎性反应可能造成炎性因子风暴而导致患者死亡^[2-3]。在中医学中,压力性损伤属“席疮”“压疮”范畴^[4]。清代著名外科医家顾世澄有云:“席疮为大病后久而生眠疮也,乃皮肉先死,不治。”《素问·病能论篇第四十六》论述:“夫痈气之息者,宜以针开除去之,夫气盛血聚者,宜石而泻之,此所谓同病异治也。”中医学对压力性损伤的病因病机

及发展预后均有着较深入的见解及治疗经验^[5]。课题组前期研究表明,象皮生肌膏可明显修复压疮及慢性难愈性创面^[6]。三乙醇胺乳膏是海藻酸盐类外用,研究显示其有助于降解受损组织中的胶原,使成纤维细胞激活,加快肉芽组织及新生毛细血管的形成,目前已广泛应用于创面修复^[7],故本研究选取该药作为阳性对照药。本研究拟进一步探究象皮生肌膏治疗压力性损伤的相关机制,为压力性损伤的中西医结合临床治疗提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验动物

50只SPF级SD大鼠,雌雄各半,由湖南中医药大学动物实验中心统一购买,动物许可证号:SCXK(湘)2019-0004,体质量180~200g,8~10周龄。饲

养温度 22~25 ℃,饲养湿度 45%~75%,动物设施许可证:SYXK(湘)2019-0009,自由摄食。本研究符合湖南中医药大学动物伦理学要求(伦理批准号:LLBH-202105070005)。

1.2 实验药物

象皮生肌膏(由湖南中医药大学第一附属医院中成药房提供,批号:20211106,规格:100 g/瓶);三乙醇胺乳膏(法国 Biafine 公司,批号:20210904,规格:46.5 g/支)。

1.3 主要试剂与仪器

磷脂酰肌醇 3 激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)鼠单克隆抗体(批号:60500315)、蛋白激酶 B(protein kinase B, Akt)鼠单克隆抗体(批号:47020613)、哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)鼠单克隆抗体(批号:60110720)、类胰岛素一号生长因子(insulin-like growth factors-1, IGF-1)鼠单克隆抗体(批号:43400618)均购自美国 Cell Signaling Technology 公司;PBS 缓冲液(美国 Hyclone 公司,批号:80334412);苏木精核染液、伊红染色液(中国 Abiowell 公司,批号:20210816、20210801);肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)ELISA 试剂盒(批号:20210413)、白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)ELISA 试剂盒(批号:20210526)、白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)ELISA 试剂盒(批号:20210702)、IGF-1 总 RNA 提取试剂盒(批号:20210427)、PI3K 总 RNA 提取试剂盒(批号:20210614)、Akt 总 RNA 提取试剂盒(批号:20210302)、mTOR 总 RNA 提取试剂盒(批号:20210524)均购自武汉博士德生物工程有限公司;无菌生物护创膜(湖南金瑞祥药业有限公司,批号:20210705)。

超净工作台(中国亚泰隆公司,型号:CJ-2NB);病理切片机(金华市益迪医疗设备有限公司,型号:YD315);电泳仪(型号:DYY-6C)、转膜仪(型号:DYCZ-40D)均购自中国北京六一生物科技有限公司;包埋机(中国武汉俊杰电子有限公司,型号:JB-P5);旋转蒸发仪(中国上海一恒科学仪器有限公司,型号:RV-211M);台式冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,型号:H1650R)。

1.4 动物造模与分组

SD 大鼠适应性喂养 3 d,麻醉后(戊巴比妥钠 80 mg/kg)将大鼠侧卧位固定,使用动物专用剃毛仪暴露施压位置(选取大腿右侧股薄肌部)。依照程红等^[8]借助压力装置制备压力性损伤大鼠模型的方法

进行造模,施压部位可见明显压力性红斑(约压力锤大小),同时,30 min 内按之不褪色视为压力性损伤大鼠模型建立成功。上述操作均严格无菌操作。随机选取成模后的压力性损伤大鼠模型分为模型组、阳性对照组、象皮生肌组、联合给药组,每组 10 只。另选 10 只健康 SPF 级 SD 大鼠作为空白组,仅同部位置入磁性装置,不予施加压力。

1.5 动物给药

空白组与模型组均予生理盐水纱布外敷;象皮生肌组创面均匀涂抹厚度约 1 mm 的象皮生肌膏,宽度以超过创缘 2 mm 为度,使用无菌生物护创膜覆盖创面;阳性对照组创面均匀涂抹厚度约 1 mm 的三乙醇胺乳膏,宽度以超过创缘 2 mm 为度,使用无菌生物护创膜覆盖创面;联合给药组创面按上述方法予等量三乙醇胺乳膏及象皮生肌膏混匀后涂抹外用。均连续用药 21 d。

1.6 动物取材

药物干预结束后,在大鼠眼球处取血 1 mL 左右,随即将血液置于 4 ℃的低温下以离心半径 8.7 cm、3 000 r/min 离心 15 min,取上层血清,于-20 ℃冰箱保存,备用。后续断颈处死大鼠,取创面施压部位组织约 1 g,部分立即置于-80 ℃冰箱,用于行 Western blot 及 RT-PCR 操作,部分以多聚甲醛固定,备用。

1.7 创面面积情况

借助小动物计量尺量取创面的长度及宽度最大值,面积(cm^2)计算方法为最大长度(cm) \times 最大宽度(cm)。

1.8 创面组织 HE 染色

4%多聚甲醛液固定创面施压部位组织,分别进行漂洗、脱水、透明和石蜡包埋、切片等步骤,HE 染色观察创面组织病理情况,光学显微镜下随机选取 5 个视野进行观察并摄片。

1.9 血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 炎症因子检测

将各组大鼠血清从-20 ℃冰箱取出,再次以 1 500 r/min 离心 5 min(离心半径 8.7 cm),去除杂质,ELISA 法检测血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 炎症因子水平,操作严格按说明书进行。

1.10 Western blot 法检测创面组织 PI3K、Akt、mTOR、IGF-1 蛋白表达

RIPA 缓冲液提取创面组织蛋白裂解物,以离心半径 8.7 cm,12 000 r/min 离心 15 min,BCA 法检测蛋白浓度。SDS-PAGE 凝胶电泳,室温封闭 1.5 h,洗膜后加 PI3K(1:1 000)、Akt(1:2 000)、mTOR(1:1 000)、IGF-1(1:1 000)抗体,4 ℃孵育过夜。二

抗 HRP 标记的山羊抗兔 IgG 抗体(1:7 500)室温孵育 1.5 h 后显影,结果运用 Image Lab 软件进行分析。

1.11 RT-PCR 法检测创面组织 PI3K、Akt、mTOR、IGF-1 的 mRNA 表达

收集各组大鼠创面组织,Trizol 提取创面组织总 RNA,紫外分光光度计测定 RNA 的浓度和纯度。参照试剂盒说明书合成 cDNA,SYBR Green RT-PCR 试剂盒扩增 PI3K、Akt、mTOR、IGF-1,重复 3 次,以相对定量 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 分析上述基因相对表达量,引物序列见表 1。

表 1 引物序列

基因	引物序列	引物长度/bp
PI3K	正向:TGCGTCTACTAAAATGCATGG	224
	反向:AACTGAAGGTTAATGGGTCA	
Akt	正向:AGCCCTGGACTACCTGCACTCG	98
	反向:CTGTGATCTTAATGTGCCCGCTCT	
mTOR	正向:TGGGAAACTTGCCTCTGGATG	134
	反向:CAGGACTTGAAGATGAAGGTGAT	
IGF-1	正向:ACAGGCAAGCAGCAAAGTTGTGCGA	149
	反向:ACAGGCAAGCAGCAAAGTTGTGCGA	
β -actin	正向:ACCCTGAAGTACCCCATCGAG	224
	反向:AGCACAGCCTGGATAGCAAC	

1.12 统计学方法

采用 SPSS 22.0 及 Graphpad Prism 8.1 软件进行统计分析,每组至少重复 3 次,所有计量资料均采用“ $\bar{x}\pm s$ ”表示,检验各组数据的正态性和方差齐性,多组均数比较采用单因素方差分析(One-Way ANOVA),重复测量资料进行球形分布检验。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠创面愈合情况及创面面积比较

空白组大鼠创面在第 21 天时已基本愈合。在造模第 7 天、造模第 14 天、造模第 21 天,与空白组比较,模型组大鼠创面面积明显增大($P<0.05$);与模型组比较,阳性对照组、象皮生肌组、联合给药组创面面积均减小($P<0.05$);阳性对照组与象皮生肌组创面面积比较,差异无统计学意义($P>0.05$);与阳性对照组及象皮生肌组比较,联合给药组创面面积缩小($P<0.05$)。详见表 2、图 1。

表 2 各组大鼠创面面积比较($\bar{x}\pm s, \text{cm}^2$)

组别	n	造模第 1 天	造模第 7 天	造模第 14 天	造模第 21 天
空白组	10	0.80±0.03	0.20±0.02	0.09±0.02	0
模型组	10	0.80±0.05	0.63±0.04*	0.58±0.06*	0.46±0.04*
阳性对照组	10	0.79±0.05	0.55±0.04#	0.37±0.03#	0.26±0.04#
象皮生肌组	10	0.80±0.04	0.56±0.04#	0.38±0.04#	0.27±0.04#
联合给药组	10	0.80±0.05	0.05±0.02# Δ Δ	0.49±0.03# Δ Δ	0.22±0.03# Δ Δ

注:与空白组比较,* $P<0.05$;与模型组比较,# $P<0.05$;与阳性对照组比较, Δ $P<0.05$;与象皮生肌组比较, Δ $P<0.05$ 。

2.2 各组大鼠模型创面组织病理学情况比较

空白组大鼠创面病理结构较完整,组织细胞排列较规则且病理致密,未见明显组织坏死碎片、水肿及炎性浸润;模型组大鼠创面病理可见明显的肌肉纤维坏死碎片,空泡变性,纤维肿大、横断;阳性对照组、象皮生肌组、联合给药组大鼠可见不同程度的病理缓解。详见图 2。

2.3 各组大鼠血清炎症因子水平比较

与空白组比较,模型组大鼠血清炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平明显升高($P<0.05$);与模型组比

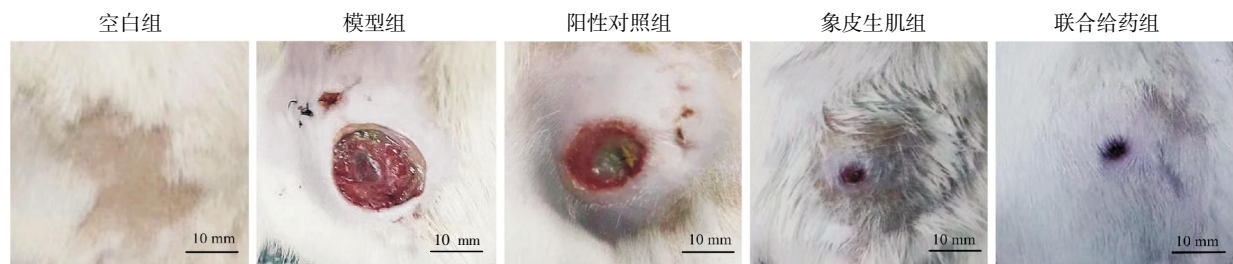


图 1 压力性损伤大鼠模型创面形态学观察(造模第 21 天)

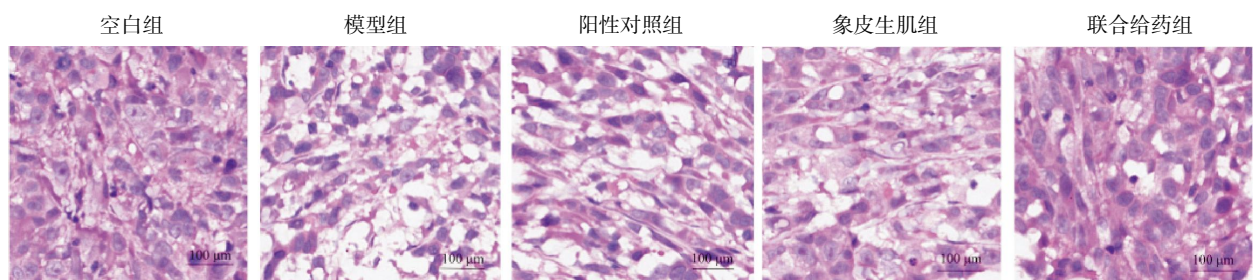


图 2 各组大鼠组织病理学情况(HE, $\times 100$, 标尺=100 μm)

较,阳性对照组、象皮生肌组、联合给药组大鼠血清炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平显著降低($P < 0.05$);阳性对照组与象皮生肌组血清炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与阳性对照组及象皮生肌组比较,联合给药组血清炎症因子 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平明显降低($P < 0.01$)。详见表 3。

表 3 各组大鼠血清炎症因子比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	TNF- α /(pg/mL)	IL-1 β /(pg/mL)	IL-6/(pg/mL)
空白组	10	92.24 \pm 5.23	16.45 \pm 2.86	80.36 \pm 3.57
模型组	10	256.35 \pm 6.38*	39.52 \pm 3.28*	141.35 \pm 5.26*
阳性对照组	10	183.14 \pm 5.65 [#]	25.23 \pm 1.94 [#]	116.25 \pm 4.86 [#]
象皮生肌组	10	178.25 \pm 6.27 [#]	26.36 \pm 1.57 [#]	118.36 \pm 5.03 [#]
联合给药组	10	135.24 \pm 5.11 ^{#$\Delta$$\Delta$}	20.15 \pm 1.42 ^{#$\Delta$$\Delta$}	95.76 \pm 2.91 ^{#$\Delta$$\Delta$}

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$;与阳性对照组比较, ^{Δ} $P < 0.05$;与象皮生肌组比较, ^{Δ} $P < 0.05$ 。

2.4 各组大鼠 IGF-1/PI3K/Akt 信号通路蛋白及 mRNA 表达情况

与空白组比较,模型组大鼠 PI3K、Akt、mTOR、IGF-1 蛋白及 mRNA 表达明显升高($P < 0.05$);与模型组比较,阳性对照组、象皮生肌组、联合给药组大鼠 PI3K、Akt、mTOR、IGF-1 蛋白及 mRNA 表达显著升高($P < 0.05$);阳性对照组与象皮生肌组 PI3K、Akt、mTOR、IGF-1 蛋白及 mRNA 表达比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);与阳性对照组及象皮生肌组比较,联合给药组 PI3K、Akt、mTOR、IGF-1 蛋白及 mRNA 表达明显升高($P < 0.01$)。详见图 3、表 4—5。

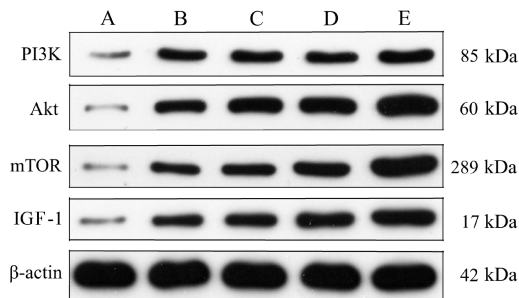


图 3 各组大鼠创面组织 PI3K、Akt、mTOR、IGF-1 蛋白表达条带图

注:A.空白组;B.模型组;C.阳性对照组;D.象皮生肌组;E.联合给药组。

表 4 各组大鼠创面组织 PI3K、Akt、mTOR 及 IGF-1 的蛋白表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PI3K	Akt	mTOR	IGF-1
空白组	10	0.05 \pm 0.02	0.03 \pm 0.01	0.05 \pm 0.01	0.06 \pm 0.02
模型组	10	0.30 \pm 0.03*	0.32 \pm 0.03*	0.28 \pm 0.04*	0.33 \pm 0.04*
阳性对照组	10	0.39 \pm 0.05 [#]	0.50 \pm 0.04 [#]	0.43 \pm 0.03 [#]	0.39 \pm 0.03 [#]
象皮生肌组	10	0.41 \pm 0.04 [#]	0.53 \pm 0.05 [#]	0.46 \pm 0.04 [#]	0.42 \pm 0.05 [#]
联合给药组	10	0.49 \pm 0.05 ^{#$\Delta$$\Delta$}	0.91 \pm 0.05 ^{#$\Delta$$\Delta$}	0.94 \pm 0.06 ^{#$\Delta$$\Delta$}	0.90 \pm 0.05 ^{#$\Delta$$\Delta$}

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$;与阳性对照组比较, ^{Δ} $P < 0.05$;与象皮生肌组比较, ^{Δ} $P < 0.05$ 。

表 5 各组大鼠创面组织 PI3K、Akt、mTOR 及 IGF-1 的 mRNA 表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PI3K	Akt	mTOR	IGF-1
空白组	10	0.36 \pm 0.08	0.26 \pm 0.08	0.43 \pm 0.09	0.56 \pm 0.10
模型组	10	2.03 \pm 0.21*	2.05 \pm 0.30*	2.41 \pm 0.42*	2.86 \pm 0.34*
阳性对照组	10	3.53 \pm 0.31 [#]	3.18 \pm 0.28 [#]	3.32 \pm 0.31 [#]	3.69 \pm 0.28 [#]
象皮生肌组	10	3.69 \pm 0.33 [#]	3.25 \pm 0.34 [#]	3.35 \pm 0.34 [#]	3.76 \pm 0.31 [#]
联合给药组	10	4.94 \pm 0.41 ^{#$\Delta$$\Delta$}	4.86 \pm 0.42 ^{#$\Delta$$\Delta$}	4.36 \pm 0.29 ^{#$\Delta$$\Delta$}	4.82 \pm 0.45 ^{#$\Delta$$\Delta$}

注:与空白组比较,* $P < 0.05$;与模型组比较,[#] $P < 0.05$;与阳性对照组比较, ^{Δ} $P < 0.05$;与象皮生肌组比较, ^{Δ} $P < 0.05$ 。

3 讨论

压力性损伤是中老年患者在临床上最常见的并发症之一,临床治疗中颇为棘手^[9]。有研究认为,压力性损伤的愈合与机体免疫功能密切相关^[10]。有文献综述认为,压力性损伤创面存在大量的炎症反应,同时创面愈合与机体微环境变化及免疫调节存在密切关联^[11]。研究表明,TNF- α 能够抑制创面微血管生成及结缔组织细胞增殖^[12]。近年来较多研究表明,血清 TNF- α 、IL-1 β 、IL-6 水平可作为评价创面愈合程度的生物标志物^[13-14]。中医学认为本病多因机体局部受压所致,压力性损伤的病机为气虚血瘀、蕴毒形成,为本虚标实之证,多以气虚为本,蕴毒为标^[15]。因此,压力性损伤的治疗原则应为扶正祛邪,标本兼治^[16-18]。本研究结果显示,象皮生肌膏可有效降低血清炎症因子水平,促进创面愈合。

创面修复的病理进程与多个基因、蛋白及细胞因子的调控密切相关,但它们的启动及传导又需要相关信号通路的激活。IGF-1 是 IGF-1/PI3K/Akt 信号通路的重要调节起始点,PI3K 及 Akt 可被 IGF-1 激活,从而调节创面修复的各个生物学过程^[19]。本研究结果显示,象皮生肌膏能够促进 IGF-1/PI3K/Akt 信号通路 PI3K、Akt、mTOR、IGF-1 蛋白及 mRNA 表达。在健康的生理状态下,PI3K、Akt、mTOR 及 IGF-1 在细胞内的表达水平很低^[20],本研究结果亦表明,空白组的上述蛋白表达明显低于其他各组。但当机体损伤时,IGF-1 水平反应性快速升高,PI3K 快速活化,当压力性损伤发生时,PI3K 被大量募集,招募 PDK1、Akt、mTOR 信号蛋白互相结合,从而调控多种细胞因子及炎症抑制因子,促进创面修复^[21],这属于机体创面修复的生理机制,因此,在应激状态下,压力性损伤大鼠模型中上述蛋白表达明显高于空白组。在象皮生肌膏干预后,IGF-1/PI3K/Akt 信号通路持续被激活,促进 PI3K、Akt、mTOR、IGF-1 蛋白持续高水平表达,从而促进压力性损伤创面修复。

压力性损伤的修复愈合是一个多因素的续贯、交叉、动态的过程。近期 XIA 等^[22]研究显示,IGF-1/

PI3K/Akt 信号通路在压力性损伤的损伤与修复过程中扮演着重要角色。本研究结果显示,与模型组比较,各药物干预组可显著升高大鼠创面受压组织的 PI3K、Akt、mTOR、IGF-1 蛋白及 mRNA 表达,且联合给药组升高程度最大,提示象皮生肌膏可通过调控 IGF-1/PI3K/Akt 信号通路关键蛋白表达,促进创面愈合。近期研究^[23]显示,IGF-1 能够通过拮抗炎性反应,从而缓解组织损伤,同时对损伤组织局部缺氧缺血发挥保护作用,是介导压力性损伤修复的重要细胞因子。PI3K/Akt 信号通路是 IGF-1 发挥生物学作用的主要信号通路,廖小婷^[24]研究显示,IGF-1/PI3K/Akt 信号通路可拮抗创面炎症因子表达水平,降低局部炎症因子水平,同时可激活下游的 VEGF 途径促进创面微小血管新生。本研究结果显示,象皮生肌膏可有效降低创面炎症反应程度,能够有效改善局部组织损伤,缩短炎症反应程度,促进组织修复。

综上所述,象皮生肌膏能明显促进压力性损伤创面修复,有效降低血清炎症因子水平,可能与象皮生肌膏上调 IGF-1/PI3K/Akt 信号通路相关蛋白表达,抑制炎症因子表达相关。

参考文献

- [1] SAMANTRAY S R, MOHAPATRA I. Study of the relationship between pelvic organ prolapse quantification (POP-Q) staging and decubitus ulcer in pelvic organ prolapse[J]. *Cureus*, 2021, 13(1): 12443-12447.
- [2] GOODALL R, ARMSTRONG A, HUGHES W, et al. Trends in decubitus ulcer disease burden in European union 15+ countries, from 1990 to 2017[J]. *Plastic and Reconstructive Surgery-Global Open*, 2020, 8(11): 142-146.
- [3] OGAWA K. Clinical effect of enteral nutrition with eicosapentaenoic, docosahexaenoic, and gamma-linolenic acids for preventing bedsores after neurosurgery[J]. *Clinical Nutrition ESPEN*, 2020, 40(3): 101-106.
- [4] 张卫, 王开莲, 贾其娟, 等. 活血消肿利水法用于治疗中风患者初期褥疮的理论探讨[J]. *中医临床研究*, 2020, 12(30): 51-52.
- [5] 牧晶. 中医外治法治疗 2-4 期压疮的系统评价及 Meta 分析[D]. 北京: 北京中医药大学, 2020.
- [6] 彭露, 廖若夷, 唐燕, 等. 象皮生肌膏对压疮模型大鼠创面愈合的影响及其作用机制研究[J]. *湖南中医杂志*, 2023, 39(2): 182-188.
- [7] 黄丽芳, 许彦, 唐乾利. 压力性损伤的中西医结合治疗进展[J]. *中国烧伤创疡杂志*, 2020, 32(1): 12-14, 25.
- [8] 程红, 马希佳, 任娟, 等. 芪归紫草油干预大鼠 IV 期压力性损伤的实验研究[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2022, 28(2): 210-212.
- [9] 谢志勤, 曹利宁, 汤利萍, 等. 基于全球疾病负担大数据的中国压力性损伤疾病负担分析[J]. *现代预防医学*, 2023, 2(2): 210-215.
- [10] RIZZONI D, DE CIUCEIS C, SZCZEPANIAK P, et al. Immune system and microvascular remodeling in humans[J]. *Hypertension*, 2022, 79(4): 691-705.
- [11] SHINSUKE T, YUKINORI T, ROUKO H, et al. Utility of thoracic cage width in assessing surgical difficulty of minimally invasive esophagectomy in left lateral decubitus position[J]. *Surgical Endoscopy*, 2020, 34(8): 36-41.
- [12] ALISON G, MARK B, KATHY H, et al. A randomized controlled trial comparing right and left lateral decubitus starting position on outcomes in colonoscopy[J]. *Surgical Endoscopy*, 2020, 34(8): 1175-1179.
- [13] 朱爱萍, 刘虹梅. 托里透脓汤与冰片加诺氟沙星联合治疗 III 期、IV 期压疮的临床效果及其血清 TNF- α 、IL-6 水平的影响[J]. *四川中医*, 2018, 36(4): 75-78.
- [14] 张坤, 任琳, 彭金霞. 托毒生肌散联合新型敷料治疗难愈性创面效果及对渗出液中 TGF- β 1、IL-1 β 影响[J]. *中医药临床杂志*, 2018, 30(9): 1684-1687.
- [15] LORD J M, MIDWINTER M J, CHEN Y F, et al. The systemic immune response to trauma: An overview of pathophysiology and treatment[J]. *Lancet*, 2014, 384(9952): 1455-1465.
- [16] 郑明声, 林松庆, 张平, 等. 自制封闭负压引流装置治疗坐骨结节 IV 期压疮合并感染临床观察[J]. *中国医药科学*, 2020, 10(2): 254-256, 275.
- [17] 康良琦, 邓宝贵, 谢裕华, 等. 中药乐肤佳涂擦治疗不同部位的 I 期压力性损伤效果观察[J]. *广州中医药大学学报*, 2021, 38(6): 1133-1137.
- [18] 孙素霞, 蒋秋丽, 冯俐, 等. 中药湿敷治疗 2,3 期压力性损伤的临床观察[J]. *云南中医中药杂志*, 2021, 42(3): 99-101.
- [19] 李吉庆, 林道斌, 张永杰, 等. 裸花紫珠调控 IGF-1/PI3K/Akt 信号通路对糖尿病足溃疡大鼠创面愈合的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2023, 43(6): 1458-1462.
- [20] 吕欣. 发散式冲击波对大鼠骨骼肌损伤修复及 IGF-1/PI3K/Akt 信号通路的影响[D]. 锦州: 锦州医科大学, 2021.
- [21] 吕欣, 曹宇, 周达岸. 冲击波对大鼠骨骼肌钝挫伤修复及 IGF-1/PI3K/Akt 信号通路的影响[J]. *中国运动医学杂志*, 2020, 39(12): 953-958, 987.
- [22] XIA H, ZHANG B B, YANG D, et al. Yi-qi-Jian-pi-Xiao-yu-Xie-Zhuo formula improves muscle atrophy via modulating the IGF-1/PI3K/Akt signaling pathway in 5/6 nephrectomized rats[J]. *Frontiers in Pharmacology*, 2021, 12: 624303.
- [23] HUANG X Q, XU J S, YE X R, et al. Wide pulse width electroacupuncture ameliorates denervation-induced skeletal muscle atrophy in rats via IGF-1/PI3K/Akt pathway[J]. *Chinese Journal of Integrative Medicine*, 2021, 27(6): 446-454.
- [24] 廖小婷. 甲状腺素 T₃ 通过激活 IGF-1/PI3K/Akt 信号通路对小鼠心肌梗死后心脏的保护作用及机制研究[D]. 武汉: 武汉大学, 2020.