

本文引用: 刘红娜, 奉水华, 易可兰, 陈一青. 督脉隔药灸联合水凝胶多功能复合敷料对压力性损伤大鼠 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2024, 44(8): 1401-1409.

## 督脉隔药灸联合水凝胶多功能复合敷料对压力性损伤大鼠 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路的影响

刘红娜<sup>1</sup>, 奉水华<sup>1\*</sup>, 易可兰<sup>1</sup>, 陈一青<sup>2</sup>

1. 湖南中医药大学第一附属医院, 湖南 长沙 410007; 2. 桂林医学院附属口腔医院, 广西 桂林 541000

**【摘要】**目的 观察督脉隔药灸联合水凝胶多功能复合敷料对压力性损伤大鼠创面修复及核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor-erythroid 2 related factor 2, Nrf2)/血红素氧合酶 1(heme oxygenase-1, HO-1)/NADPH 醌氧化还原酶 1(NADPH quinone oxidoreductase 1, NQO1)信号通路的影响。方法 选取 50 只 SPF 级 SD 大鼠, 随机分为假手术组、模型组、水凝胶敷料组、督脉隔药灸组、联合干预组, 每组 10 只。除假手术组外, 其余 4 组借助压力装置构建压力性损伤大鼠模型。分组干预并记录各组大鼠的压力性损伤修复情况及创面组织病理变化; 借助 ELISA 检测各组大鼠的血清炎症因子肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(interleukin, IL)-1 $\beta$ 、IL-6 以及氧化应激因子丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)水平; Western blot 与 RT-PCR 检测各组大鼠创面肉芽组织 Nrf2、HO-1、NQO1、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)蛋白及 mRNA 的表达水平。结果 HE 染色结果显示: 假手术组皮肤结构未被破坏; 模型组创面肉芽组织可见明显的细胞坏死、变性及炎性细胞浸润; 干预各组可见创面修复, 表现为散在炎性细胞浸润, “气球样”坏死变性明显减少。Masson 染色结果显示: 假手术组创面皮肤组织胶原纤维较为整齐; 模型组创面肉芽组织可见大面积的胶原纤维沉积、紊乱; 干预各组可见不同程度的创面修复。与假手术组对比, 模型组大鼠血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、MDA 水平和创面肉芽组织 Nrf2、HO-1、NQO1、MMP-9 蛋白及 mRNA 的表达水平均升高( $P<0.05$ ), 而创面修复率、血清 SOD、GSH-Px 水平均下降( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 水凝胶敷料组、督脉隔药灸组、联合干预组的血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、MDA 水平均下降( $P<0.05$ ), 而创面修复率、血清 SOD、GSH-Px 水平和创面肉芽组织 Nrf2、HO-1、NQO1、MMP-9 蛋白及 mRNA 的表达水平均升高( $P<0.05$ ), 且联合干预组较其他干预组更优( $P<0.05$ )。结论 督脉隔药灸可有效促进压力性损伤的创面修复, 与水凝胶多功能复合敷料联合使用效果更佳, 其机制可能与督脉隔药灸抑制创面炎症反应及氧化应激, 并激活 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路相关。

**【关键词】** 督脉; 隔药灸; 水凝胶多功能复合敷料; 压力性损伤; Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路; 创面修复

**【中图分类号】** R245

**【文献标志码】** A

**【文章编号】** doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2024.08.007

## Effects of Du meridian moxibustion on medicines combined with multifunctional composite hydrogel dressing on Nrf2/HO-1/NQO1 signaling pathway in rats with pressure injury

LIU Hongna<sup>1</sup>, FENG Shuihua<sup>1\*</sup>, YI Kelan<sup>1</sup>, CHEN Yiqing<sup>2</sup>

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

2. The Stomatological Hospital of Guilin Medical University, Guilin, Guangxi 541000, China

**【收稿日期】** 2024-03-07

**【基金项目】** 湖南省中医药管理局中医药科研计划项目(B2024072, C2023038)。

**【通信作者】** \* 奉水华, 女, 硕士, 副主任护师, E-mail: 2223693155@qq.com。

**[Abstract] Objective** To observe the effects of Du meridian moxibustion on medicines combined with multifunctional composite hydrogel dressing on wound repair and nuclear factor-erythroid 2 related factor 2 (Nrf2)/heme oxygenase-1 (HO-1)/NADPH quinone oxidoreductase 1 (NQO1) signaling pathway in rats with pressure injury. **Methods** A total of 50 SPF SD rats were randomly divided into sham-operated group, model group, hydrogel dressing group, Du meridian moxibustion on medicines group, and combined intervention group, with ten rats in each group. Except for the sham-operated group, pressure injury rat models were established in the remaining four groups using pressure devices. The intervention was given to each group respectively, and the repair of pressure injury and pathological changes of wound tissue of rats in each group were recorded. ELISA was used to determine the levels of serum inflammatory factors including tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin (IL)-1 $\beta$ , and IL-6, as well as oxidative stress factors including malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), and glutathione peroxidase (GSH-Px) in each group. Western blot and RT-PCR were used to check the protein and mRNA expression levels of Nrf2, HO-1, NQO1, and matrix metalloproteinase-9 (MMP-9) in wound granulation tissue of rats in each group. **Results** The HE staining showed that the skin structure of sham-operated group was not damaged; significant cell necrosis, degeneration, and inflammatory cell infiltration of wound granulation tissue were observed in the model group; wound was repaired in all intervention groups, manifested as scattered infiltration of inflammatory cells and a significant reduction in "balloon like" necrosis and degeneration. The Masson staining showed that the collagen fibers in the wound skin tissue of the sham-operated group were relatively neat; large areas of collagen fiber deposition and disorder in wound granulation tissue were observed in the model group; all intervention groups showed varying degrees of wound repair. Compared with sham-operated group, the serum levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, and MDA, as well as the protein and mRNA expression levels of Nrf2, HO-1, NQO1, MMP-9 in wound granulation tissue of the model group were higher ( $P<0.05$ ), while the wound repair rate, serum levels of SOD and GSH-Px were lower ( $P<0.05$ ). Compared with model group, the serum levels of TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6, and MDA in hydrogel dressing group, Du meridian moxibustion on medicines group, and combined intervention group decreased ( $P<0.05$ ), while the wound repair rate, the serum levels of SOD and GSH-Px, and the protein and mRNA expression levels of Nrf2, HO-1, NQO1, and MMP-9 in wound granulation tissue increased ( $P<0.05$ ), and the combined intervention group showed better results than other intervention groups ( $P<0.05$ ). **Conclusion** Du meridian moxibustion on medicines can effectively promote wound repair in pressure injury and the effect is better when combined with multifunctional composite hydrogel dressing. Its mechanism may be related to the inhibition of wound inflammatory reaction and oxidative stress, as well as the activation of Nrf2/HO-1/NQO1 signaling pathway by Du meridian moxibustion on medicines.

**[Keywords]** Du meridian; moxibustion on medicines; multifunctional composite hydrogel dressing; pressure injury; Nrf2/HO-1/NQO1 signaling pathway; wound repair

压力性损伤常见于多病、久病的中重度压疮或压力性溃疡患者,往往经久难愈、反复发作<sup>[1]</sup>。压力性损伤患者往往合并多种基础疾病,其创面常常表现出皮肤缺如、深可见骨、潜行窦道、迁延难愈的特征,易发生病原体感染造成全身性脓毒症或重要器官功能衰竭等危症,在很大程度上威胁着患者的生命与健康<sup>[2-3]</sup>。现阶段,创面修复仍是医疗界颇为棘手的临床难题,尚无较好的药物治疗本病。压力性损伤患者往往合并有多种基础疾病,使其治疗及护理的难度骤增,传统的创面负压引流尽管能够对创面进行持续的坏死组织及脓液引流,但并不能促进创面肉芽组织生长,临床效果欠佳<sup>[4]</sup>。传统创面敷料如无菌纱布、合成纤维等,存在功能性欠缺或创面粘

连等缺点,易对创面造成损伤<sup>[5]</sup>。水凝胶多功能复合敷料是一种高度交联、可溶胀、亲水且具有抗氧化、抑菌、促进细胞迁移及血管再生的新型创面修复材料,可有效促进创面修复<sup>[6]</sup>。压力性损伤归属于中医学“席疮”“压疮”等疾病范畴,其根本病机为阳气虚衰。如《灵枢·痈疽》记载:“寒邪客于经络之中则血泣……故痈肿。”《外科大成·疮疡气血论》论述:“凡疮皆起于荣卫不调,气血凝滞,乃生痈肿。”雷作熹等<sup>[7]</sup>研究显示,压力性损伤的主要证型为阳虚证,护卫阳气是治疗本病的关键。前期本课题组进行小范围临床研究,在水凝胶多功能复合敷料的基础上运用督脉隔药灸治疗压力性损伤患者,取得了显著、稳定的临床效果,同时安全性高、无不良事件发生,为

此进一步构建压力性损伤大鼠模型进行预实验,初步发现督脉隔药灸可通过激活核因子 E2 相关因子2 (nuclear factor-erythroid 2 related factor 2, Nrf2)/血红素氧合酶 1(heme oxygenase-1, HO-1)/NADPH 醌氧化还原酶 1(NADPH quinone oxidoreductase 1, NQO1) 信号通路促进压力性损伤的创面修复,但其作用机制仍需进一步证实。基于此,本研究从 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路及创面修复角度,探讨督脉隔药灸联合水凝胶多功能复合敷料对压力性损伤的影响及其作用机制。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验动物

选取 50 只 SPF 级 SD 大鼠,雌雄各半,体质量(200±20) g,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司[动物许可证号:SCXK(湘)2019-0004]。适应性饲养 7 d,饲养室内恒定温度(24±2) °C,室内相对湿度 60%±10%,实验通过湖南中医药大学动物实验中心伦理审批(批准号:LL2021007)。

### 1.2 实验药物

中药饮片(黄芪 30 g,当归 15 g,肉桂 10 g,红花 6 g,地龙 15 g,乳香 10 g,没药 10 g)均购于湖南中医药大学第一附属医院中药房,于中药房超微粉碎机粉碎过筛,并用 5 g 姜粉、50 mL 黄酒调成糊状制药饼,厚约 5 mm;艾绒(南阳市蕲大妈艾制品有限公司,批号:20221206);水凝胶多功能复合敷料(丹麦 Coloplast A/S 公司,批号:D20221215)。

### 1.3 实验试剂

肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素(interleukin, IL)-1 $\beta$ 、IL-6、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)ELISA 试剂盒, Nrf2、HO-1、NQO1、基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase, MMP-9)一抗,羊抗鼠 HRP 二抗(美国 Cell Signaling Technology 公司,批号:20221017、20221105、20221116、20221024、20221204、20221124、20221107、20230105、20221204、20230113、2022121); HE 染色试剂(上海歌凡生物科技有限公司,批号:20220-806、20220815); Masson 染色试剂(上海源叶生物科技有限公司,批号:A20220907); BCA 蛋白定量

试剂盒、RIPA 组织细胞快速裂解液、总 RNA 提取试剂(美国 Thermo Fisher Scientific 公司,批号:20230112、20221214、20221218)。

### 1.4 实验仪器

超精细组织研磨机(德国艾卡公司,型号:S025); 高速冷冻离心机(湖南凯达科学仪器有限公司,型号:KH22R); 半自动石蜡包埋仪(湖北孝感奥华医疗科技有限公司,型号:ABM-A); 冷冻切片机(沈阳誉德电子仪器有限公司,型号:SYD-K2040); PCR 荧光板、荧光定量 RCP 仪(美国 Thermo 公司,型号:AII-2A、66347-A); 透射电镜(日本日立公司,型号:HT7700); 摇床(杭州瑞诚仪器有限公司,型号:DH200); 电泳槽(北京凯元信瑞仪器有限公司,型号:SC12); 电泳仪(美国 Sigma-Aldrich 公司,型号:BM-100)。

### 1.5 压力性损伤大鼠造模

根据谢浩焯等<sup>[8]</sup>以及课题组前期造模方法<sup>[9]</sup>,以“压力造模法”构建压力性损伤大鼠模型,具体步骤如下:(1)50 只 SPF 级 SD 大鼠,经过适应性喂养后随机选取 40 只进行造模,其余 10 只作为假手术组;(2)腹腔注射 10%水合氯醛麻醉后,剪掉大鼠背部及右侧腹股沟皮肤毛发,其中背部范围约 8 cm×4 cm,腹股沟范围约 5 cm×5 cm;(3)利用压力装置模拟人体“压力-缺血-再灌注”构建压力性损伤大鼠模型;(4)于腹股沟处切口约 2 cm,植入无菌磁铁,缝合切口观察 48 h;(5)按照“压力-缺血(2 h)-再灌注(0.5 h)”步骤每日循环 6 次,共实施 3 d;(6)假手术组大鼠于腹股沟处切口约 2 cm,植入无菌磁铁,不予压力装置干预;(7)3 d 后,大鼠腹股沟剪毛处可见约 1 cm 的压力性红色或红黑色皮肤瘀痕,并在 30 min 内未见消失,则视为压力性损伤大鼠模型造模成功。

### 1.6 动物分组与干预

除假手术组外,将造模成功的 40 只压力性损伤模型大鼠随机分为模型组、水凝胶敷料组、督脉隔药灸组、联合干预组(水凝胶多功能复合敷料+督脉隔药灸),每组 10 只。

假手术组与模型组均每日予切口消毒处理,常规无菌敷料加压包扎;水凝胶敷料组在此基础上予适量水凝胶多功能复合敷料均匀涂抹,厚约 1 mm,1 日 1 次,连续干预 3 周;督脉隔药灸组大鼠固定在

鼠板后,以大鼠督脉为中心将 8 cm×4 cm 的细目棉布平铺于背部剪毛处,在大鼠皮肤及细目棉布之间夹放微型温度控制器,将药饼平铺于细目棉布,并将厚度约 1 cm 的艾绒置于药饼上面,将艾绒点燃,注意避免烫伤皮肤,调节督脉隔药灸温度波动在(38±2) °C,每 2 日 1 次,连续干预 3 周;联合干预组则予水凝胶多功能复合敷料和督脉隔药灸联合干预,方法、疗程同前。

### 1.7 观察指标

1.7.1 各组大鼠创面修复率评价 在各组大鼠干预前后,采取 IPP 6.0 检测各组大鼠的创面面积并进行记录,计算创面修复率。创面修复率=(干预前创面面积-干预后创面面积)/干预前创面面积×100%<sup>[4]</sup>。

1.7.2 HE 染色观察各组大鼠创面病理情况 将获得的各组大鼠创面肉芽组织固定于 95% 无水乙醇中,梯度乙醇进一步脱水,半自动石蜡包埋仪及冷冻切片完成包埋与切片,苏木素、伊红分别染色,树胶封片固定,透射电镜下观察各组大鼠创面肉芽组织的病理学改变。

1.7.3 Masson 染色观察各组大鼠创面胶原纤维形成情况 取各组大鼠创面肉芽组织切片,Masson 染色,经冰醋酸及磷钼酸浸泡后以苯胺蓝染色,二甲苯透明,树胶封片固定,透射电镜下观察各组大鼠创面皮肤组织胶原纤维情况。其中,胶原纤维在透射电镜下为蓝色,肌肉纤维、纤维素等在透射电镜下为红色。

1.7.4 ELISA 检测各组大鼠血清氧化应激因子及炎症因子 按照 ELISA 试剂盒说明书上的操作步骤严格操作,检测各组大鼠的血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 以及氧化应激因子 MDA、SOD、GSH-Px 水平。

1.7.5 Western blot 检测各组大鼠创面肉芽组织 Nrf2、HO-1、NQO1、MMP-9 的蛋白表达水平 称量各组大鼠创面肉芽组织 100 mg,充分裂解后提取创面肉芽组织总蛋白,BCA 法检测肉芽组织总蛋白浓度,经凝胶电泳后转膜、清洗、封闭、孵育,加入 Nrf2、HO-1、NQO1、MMP-9 抗体孵育过夜,TBST 重复洗膜加入二抗孵育,以 GAPDH 作为内参,显影后借助 CC3.0 软件进行分析,测定各组大鼠创面肉芽组织 Nrf2、HO-1、NQO1、MMP-9 蛋白表达水平。

1.7.6 RT-PCR 检测各组大鼠创面肉芽组织 Nrf2、

HO-1、NQO1、MMP-9 的 mRNA 表达水平 称量各组大鼠创面肉芽组织 100 mg,Trizol 提取创面肉芽组织总 RNA,液氮完全研磨,离心冰乙醇沉淀,进行 RNA 质量检测,配制反应体系逆转录为 cDNA,扩增 Nrf2、HO-1、NQO1、MMP-9,以 GAPDH 作为内参,以  $2^{-\Delta\Delta C_t}$  方法计算上述蛋白的 mRNA 表达水平,引物序列详见表 1。

表 1 RT-PCR 引物序列  
Table 1 RT-PCR Primer Sequence

基因	引物序列(5'→3')	长度/bp
Nrf2	正向:CTGAAAGGCTGCTTTGAGAGA	36
	反向:TGGTGATGGAAAGCAAGGTC	
HO-1	正向:ATGTCCCAGGATTTGTCCG	28
	反向:GTTCTGCTTCTTTCGCTCT	
NQO1	正向:CTGAGAGGAAATCGTCGCTGA	27
	反向:AGGAAGAGGATGCGGCACTGGC	
MMP-9	正向:CTAATTGACTAGGTTAGATGC	31
	反向:TGGCTATTAGACTGCCTAGCT	
GAPDH	正向:CGGAGTCAAGACTTCCGATTCCA	27
	反向:AGCCTTCTCCATGTTAGGAATAC	

### 1.8 统计学分析

借助 Graphpad Prism 9.0 软件进行统计分析。计量资料采用“ $\bar{x}\pm s$ ”描述,符合正态性分布,组间比较采用方差分析。若方差齐,则采用单因素方差分析,LS<sub>D</sub> 法进行两两比较;若方差不齐,则采用 Welch 检验,Dunnet's T3 法进行两两比较。均以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组大鼠创面修复率对比

在干预 1、2、3 周后,模型组创面愈合率均低于假手术组( $P < 0.05$ );水凝胶敷料组、督脉隔药灸组、联合干预组的创面愈合率均高于模型组( $P < 0.05$ );其中联合干预组的创面愈合率显著高于其他干预组( $P < 0.05$ )。详见表 2。

### 2.2 各组大鼠创面病理情况

HE 染色结果显示,假手术组创面皮肤结构未被破坏;模型组创面肉芽组织可见明显的缺血性损伤,细胞坏死、变性及炎性细胞浸润范围较大,同时肉芽组织细胞、成纤维细胞层较为紊乱,可见大量的

表2 各组大鼠创面修复率对比(% ,  $\bar{x} \pm s$ )Table 2 Comparison of wound repair rates among different groups of rats (% ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	干预1周后	干预2周后	干预3周后
假手术组	10	67.21±3.65	92.84±1.75	98.14±0.56
模型组	10	18.75±2.24 <sup>▲</sup>	35.45±3.15 <sup>▲</sup>	51.62±3.34 <sup>▲</sup>
督脉隔药灸组	10	32.86±3.28 <sup>*</sup>	55.73±3.86 <sup>*</sup>	82.17±3.02 <sup>*</sup>
水凝胶敷料组	10	37.85±3.27 <sup>*</sup>	64.12±3.11 <sup>*</sup>	86.28±1.95 <sup>*</sup>
联合干预组	10	54.62±4.02 <sup>*#△</sup>	82.31±3.64 <sup>*#△</sup>	95.47±0.86 <sup>*#△</sup>

注:与假手术组比较, <sup>▲</sup> $P < 0.05$ ;与模型组比较, <sup>\*</sup> $P < 0.05$ ;与督脉隔药灸组比较, <sup>#</sup> $P < 0.05$ ;与水凝胶敷料组比较, <sup>△</sup> $P < 0.05$ 。

毛细血管断裂、破坏;水凝胶敷料组、督脉隔药灸组均可见不同程度的创面修复,可见散在炎性细胞浸润,肉芽组织以成纤维细胞增生为主要特征,可见毛细血管增生,“气球样”坏死变性明显减少,且联合干预组创面修复程度明显更佳。详见图1。

### 2.3 各组大鼠创面胶原纤维形成情况

Masson 染色结果显示,假手术组创面皮肤组织胶原纤维较为粗大且整齐,受破坏较少,结构较为完整;模型组创面肉芽组织新生的胶原纤维较少,可见大面积的胶原纤维沉积、紊乱;水凝胶敷料组、督脉隔药灸组、联合干预组创面皮肤组织胶原纤维排列明显较模型组整齐,且联合干预组更佳。详见图2。

### 2.4 各组大鼠血清氧化应激因子及炎症因子水平比较

干预后,与假手术组对比,模型组大鼠的血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、MDA 水平升高( $P < 0.05$ ),而血清 SOD、GSH-Px 水平下降( $P < 0.05$ );与模型组比较,水凝胶敷料组、督脉隔药灸组、联合干预组的血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6、MDA 水平下降( $P < 0.05$ ),而血清 SOD、GSH-Px 水平升高( $P < 0.05$ ),其中联合干预组较其他干预组更优( $P < 0.05$ )。详见表3。

### 2.5 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路关键蛋白及 mRNA 表达水平比较

干预后,与假手术组对比,模型组大鼠创面肉芽组织 Nrf2、HO-1、NQO1、MMP-9 蛋白及 mRNA 的表达水平平均升高( $P < 0.05$ );与模型组比较,水凝胶敷料组、督脉隔药灸组、联合干预组的创面肉芽组织 Nrf2、HO-1、NQO1、MMP-9 蛋白及 mRNA 的表达水平平均升高( $P < 0.05$ ),其中联合干预组较其他干预组更优( $P < 0.05$ )。详见图3、表4—5。

## 3 讨论

压力性损伤,中医学亦称作“压疮”“褥疮”或“压疽”,主要常见于长期卧床的慢性病患者<sup>[10]</sup>。近年来,美国国立卫生研究院对压力性损伤的概念进行

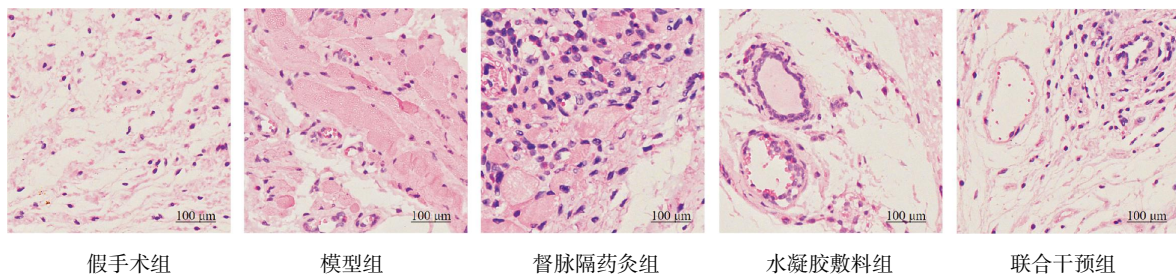


图1 各组大鼠创面病理情况(HE, ×200)

Fig.1 Pathological conditions of wounds in each group of rats (HE, ×200)

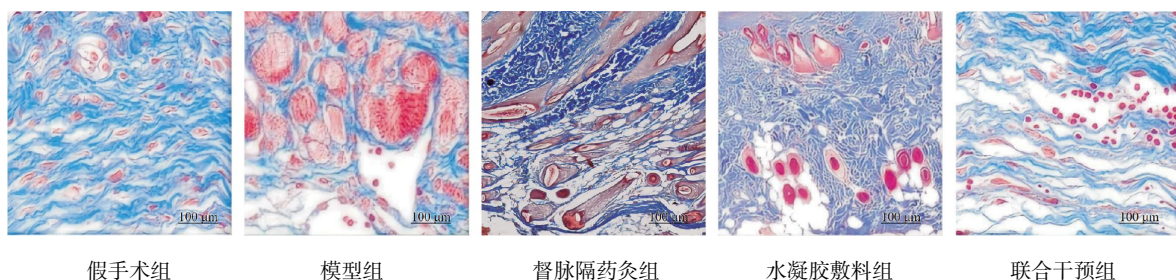


图2 各组大鼠创面胶原纤维形成情况(Masson, ×200)

Fig.2 Formation of collagen fibers in wounds of rats in each group (Masson, ×200)

表3 各组血清氧化应激因子及炎症因子水平比较(pg/mL,  $\bar{x}\pm s$ )Table 3 Comparison of serum levels of oxidative stress factors and inflammatory factors among different groups (pg/mL,  $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	TNF- $\alpha$	IL-1 $\beta$	IL-6	SOD	MDA	GSH-Px
假手术组	10	0.18 $\pm$ 0.04	0.14 $\pm$ 0.03	0.18 $\pm$ 0.05	82.52 $\pm$ 5.42	10.15 $\pm$ 1.62	46.87 $\pm$ 5.63
模型组	10	93.46 $\pm$ 8.87 $\Delta$	61.25 $\pm$ 7.52 $\Delta$	43.97 $\pm$ 5.02 $\Delta$	15.63 $\pm$ 3.11 $\Delta$	35.25 $\pm$ 3.47 $\Delta$	11.63 $\pm$ 1.85 $\Delta$
督脉隔药灸组	10	40.15 $\pm$ 4.38*	35.82 $\pm$ 4.65*	28.53 $\pm$ 4.11*	115.57 $\pm$ 8.42*	30.05 $\pm$ 3.24*	62.82 $\pm$ 5.47*
水凝胶敷料组	10	38.82 $\pm$ 4.96*	38.47 $\pm$ 4.82*	26.43 $\pm$ 3.86*	121.52 $\pm$ 7.15*	28.53 $\pm$ 3.08*	66.23 $\pm$ 6.10*
联合干预组	10	28.51 $\pm$ 4.28* $\blacktriangle$	30.03 $\pm$ 2.76* $\blacktriangle$	18.53 $\pm$ 3.06* $\blacktriangle$	164.25 $\pm$ 8.43* $\blacktriangle$	22.42 $\pm$ 3.26* $\blacktriangle$	86.95 $\pm$ 7.35* $\blacktriangle$

注:与假手术组比较, $\Delta P<0.05$ ;与模型组比较,\* $P<0.05$ ;与督脉隔药灸组比较, $\blacktriangle P<0.05$ ;与水凝胶敷料组比较,\* $P<0.05$ 。

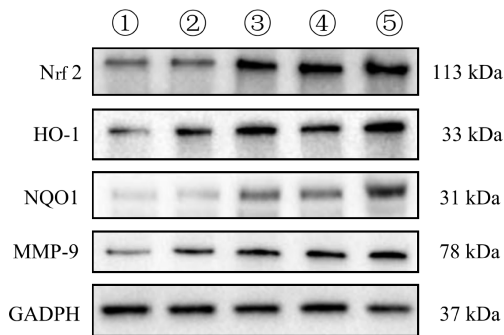


图3 各组大鼠 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路关键蛋白表达情况

Fig.3 Expression of key proteins in the Nrf2/HO-1/NQO1 signaling pathway in each group of rats

NQO1 signaling pathway in each group of rats

注:①假手术组;②模型组;③督脉隔药灸组;④水凝胶敷料组;⑤联合干预组。

了明确界定,将其定义为一种因长时间局部受压导致的皮肤黏膜损伤疾病。该疾病主要表现为局部组织细胞坏死,进而引发持续性的局部炎症、氧化异常、血运障碍及营养不良等病理过程。最终,这些病理变化将导致皮肤黏膜的溃烂和坏死<sup>[11]</sup>。人体的皮肤保护人体维持正常新陈代谢和生理功能的重要器官,极易因各种内外因素造成损伤<sup>[12]</sup>。GRAY 等<sup>[13]</sup>研究显示,压力性损伤的发生与患者卧床时间的长短、年龄层次、皮肤构造以及营养状态等因素密切相关,特别是对于营养状况欠佳的中老年群体,一旦遭受压力性损伤,其伤口的愈合过程将变得尤为困难,从而对患者的疾病恢复进程产生显著影响。在临床实践中,针对压力性损伤的治疗,常采用

表4 各组大鼠 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路关键蛋白表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 4 Comparison of key protein expression levels in the Nrf2/HO-1/NQO1 signaling pathway among different groups of rats ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	Nrf2/GADPH	HO-1/GADPH	NQO1/GADPH	MMP-9/GADPH
假手术组	10	0.27 $\pm$ 0.08	0.21 $\pm$ 0.03	0.07 $\pm$ 0.02	0.25 $\pm$ 0.02
模型组	10	0.41 $\pm$ 0.07 $\Delta$	0.29 $\pm$ 0.03 $\Delta$	0.13 $\pm$ 0.04 $\Delta$	0.31 $\pm$ 0.04 $\Delta$
督脉隔药灸组	10	0.89 $\pm$ 0.11*	0.84 $\pm$ 0.11*	0.48 $\pm$ 0.06*	0.47 $\pm$ 0.05*
水凝胶敷料组	10	0.93 $\pm$ 0.09*	0.75 $\pm$ 0.12*	0.50 $\pm$ 0.05*	0.42 $\pm$ 0.04*
联合干预组	10	1.32 $\pm$ 0.14* $\blacktriangle$	1.08 $\pm$ 0.11* $\blacktriangle$	0.82 $\pm$ 0.07* $\blacktriangle$	0.63 $\pm$ 0.06* $\blacktriangle$

注:与假手术组比较, $\Delta P<0.05$ ;与模型组比较,\* $P<0.05$ ;与督脉隔药灸组比较, $\blacktriangle P<0.05$ ;与水凝胶敷料组比较,\* $P<0.05$ 。

表5 各组 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路关键蛋白 mRNA 表达水平比较( $\bar{x}\pm s$ )

Table 5 Comparison of mRNA expression levels of key proteins in the Nrf2/HO-1/NQO1 signaling pathway among different groups ( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	IL-6/GADPH	JAK2/GADPH	STAT3/GADPH	Caspase-9/GADPH
假手术组	10	0.22 $\pm$ 0.04	0.18 $\pm$ 0.03	0.15 $\pm$ 0.04	0.13 $\pm$ 0.03
模型组	10	0.56 $\pm$ 0.11 $\Delta$	0.30 $\pm$ 0.07 $\Delta$	0.32 $\pm$ 0.10 $\Delta$	0.43 $\pm$ 0.05 $\Delta$
督脉隔药灸组	10	0.78 $\pm$ 0.08*	0.72 $\pm$ 0.08*	0.72 $\pm$ 0.08*	0.63 $\pm$ 0.07*
水凝胶敷料组	10	0.82 $\pm$ 0.09*	0.68 $\pm$ 0.08*	0.68 $\pm$ 0.06*	0.61 $\pm$ 0.04*
联合干预组	10	1.17 $\pm$ 0.12* $\blacktriangle$	1.27 $\pm$ 0.13* $\blacktriangle$	0.92 $\pm$ 0.09* $\blacktriangle$	0.95 $\pm$ 0.11* $\blacktriangle$

注:与假手术组比较, $\Delta P<0.05$ ;与模型组比较,\* $P<0.05$ ;与督脉隔药灸组比较, $\blacktriangle P<0.05$ ;与水凝胶敷料组比较,\* $P<0.05$ 。

多种手段,包括但不限于创面清洗、封闭式负压吸引以及无菌敷料的覆盖等。然而,由于实际临床情况的复杂性和多样性,治疗方式往往存在差异,且大多数方法需要耗费较多的时间和精力,同时难以取得理想的临床疗效,对于压力性损伤的治疗,需要综合考虑患者的个体差异和病情特点,制订个性化的治疗方案,以提高治疗效果,改善患者的生活质量<sup>[14]</sup>。现阶段,压力性损伤发生、治疗相关作用机制暂未被完全阐明。SARI等<sup>[15]</sup>研究表明,长期的全身性炎症反应及氧化应激是压力性损伤难以愈合的主要驱动因素,同时与内环境中的诸多信号通路所调节的生理病理过程存在密切联系。

KOTTNER等<sup>[16]</sup>研究认为,创面修复主要包括5个重要阶段,分别为创面血管生成、炎症反应、氧化应激、增殖扩散以及矩阵重塑,一旦其中某个环节受阻,创面修复则将停留在一个或多个创面修复阶段,难以达到理想的创面功能与结构的持续修复。其中,创面的炎症反应与氧化应激往往复杂多变,其受到诸多内外因素的共同作用调控,一旦创面炎症反应与氧化应激处于失控状态,如过量的炎症反应或氧化应激出现,极易造成局部组织损伤并延缓创面愈合<sup>[17]</sup>。KIM等<sup>[18]</sup>研究显示,TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6等炎症指标均密切参与创面修复的全过程,同时也可以作为其治疗效果的评价指标。YAP等<sup>[19]</sup>研究认为,MDA、SOD、GSH-Px可作为内环境氧化应激水平的重要指标。NAN等<sup>[20]</sup>研究认为,压力性损伤的增殖扩散以及矩阵重塑与MMP家族蛋白密切相关,而其往往受到上述炎性及氧化应激因子的调控。增殖扩散以及矩阵重塑最直观表现为损伤创面细胞外基质的重构过程,并存在于压力性损伤的创面修复全过程。成纤维细胞是创面细胞外基质重构的重要参与者,其与透明质酸等多种物质共同组成了创面皮肤组织胶原纤维,因此,创面皮肤组织胶原纤维可直观地观察到创面修复情况。本研究中,观察到督脉隔药灸联合水凝胶多功能复合敷料可明显地改善创面病理情况,并对创面组织胶原纤维新生具有较好的效果。

压力性损伤患者往往存在一种或多种基础疾病,其创面修复多采用外治法治疗<sup>[21]</sup>。在创面修复的敷料选择上,采用传统的无菌敷料修复创面往往效果欠佳。近年来,水凝胶多功能复合敷料作为新型

创面修复敷料对创面修复具有极大的潜力,并且马雯迪<sup>[22]</sup>以及李建康<sup>[23]</sup>的研究证实,其具有高度交联、抗氧化、抗炎、促进细胞外基质重构和血管再生等过程,在加速创面愈合领域具有显著的效果。压力性损伤可归为中医学“褥疮”“席疮”等疾病范畴,在《疡医大全》中认为本病为久病阳气虚衰,气血难以运达流经诸脏腑及营养肌肤,或骶尾受压、肌肤破溃染毒导致,治疗本病的关键在于振奋阳气<sup>[24]</sup>。督脉隔药灸主要由黄芪、当归、肉桂、红花、地龙、乳香、没药磨粉与艾绒共同作用。其中黄芪益气升阳,当归补血活血,肉桂温中散寒、理气止痛,共同升发阳气,阳气得充,则促进创面修复;红花、地龙、乳香、没药共同使用可活血生肌。作为中医外治法中的重要一环,督脉被誉为“阳脉之海”,宛如身体中的阳气统帅,统领着全身各处的阳气运行。在中医理论中,阴阳平衡是健康的关键,而督脉正是维护这一平衡的重要脉络。压力性损伤患者,尤其是久病卧床者,往往因为长时间的卧床导致身体阳气受损,阴气逐渐占据主导地位,在这种情况下,患者的身体功能逐渐衰退、新陈代谢减缓,容易出现各种并发症,因此,对于这类患者来说,开阖阳气、激发身体自身的修复能力显得尤为重要。督脉隔药灸正是基于这样的理论背景而诞生的,通过在督脉上施灸,借助药物的温热作用,能够直接作用于阳气统帅——督脉,从而促进阳气的生成和运行。同时,灸法本身还具有行气活血的作用,能够改善局部血液循环,促进新陈代谢,加速损伤组织的修复和再生。督脉隔药灸的治疗效果也得到了临床证实,研究表明,通过督脉隔药灸可以显著提高压力性损伤患者的免疫功能、减轻疼痛、促进伤口愈合,同时该疗法还具有不良反应小、操作简便、费用低廉等优点,深受患者和医护人员的喜爱<sup>[25]</sup>。督脉隔药灸通过开阖阳气、行气活血,能够有效改善患者的身体状况,提高生活质量,药物可借助督灸之温热有效改善局部血液循环,使其气血运达和谐,消除阴翳,同时加速中药吸收、增强药物功效,促进创面修复。督脉隔药灸现阶段已被逐渐运用于本病的治疗及预防,如成育玲等<sup>[26]</sup>研究显示,艾灸联合水胶体敷料辅助治疗压力性损伤取得了显著的临床效果。

EFTELI等<sup>[27]</sup>研究显示,Nrf2/HO-1/NQO1信号通路是调控创面修复的重要信号通路,目前已证实

其能够调控损伤创面的氧化应激及炎症反应,并且在细胞外基质的重构过程中扮演着关键角色。JOHANSEN 等<sup>[28]</sup>研究显示,Nrf2 蛋白的高表达能够调控下游基因诱导多种抗氧化蛋白如 HO-1、NQO1、SOD、GSH-Px 等的表达,并能够下调活性氧 ROS 等有害物质释放。LI 等<sup>[29]</sup>研究显示,Nrf2 蛋白可下调结肠癌大鼠模型血清 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6 等炎症因子水平,启动机体抗氧化应激、抗炎以及抗凋亡等细胞保护机制。NQO1 的表达受 Nrf2 的调控,其激活能够有效缓解各类急、慢性损伤导致的氧化应激与炎症反应。HO-1 属于机体应激反应蛋白,又是一种抗氧化酶,在机体抗氧化应激以及抑制炎症反应中均具有重要作用<sup>[30]</sup>。此外,GOU 等<sup>[31]</sup>研究表明,机体 HO-1 水平下降成纤维细胞及血管内皮细胞较易被破坏,HO-1 诱导则能够阻断甚至逆转这种情况。基于本实验结果,认为 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路的激活可能是创面修复抗氧化应激、抑制炎症反应以及保护组织细胞结构完整的有效手段。

本研究结果显示,督脉隔药灸联合水凝胶多功能复合敷料能够有效缓解压力性损伤的病理改变,促进创面皮肤组织胶原纤维生成,加速修复过程。其相较于模型组明显更优,同时联合使用均优于二者单独使用,这表明督脉隔药灸联合水凝胶多功能复合敷料更利于通过抗氧化应激、抑制炎症反应促进创面的愈合,凸显了其在创面修复领域的优势。韩超等<sup>[32]</sup>研究显示,灸法可有效降低组织炎症反应,促进压力性损伤的修复进度,与本研究结果相一致。另外本实验结果显示,创面肉芽组织 Nrf2、HO-1、NQO1、MMP-9 蛋白及 mRNA 的表达水平明显升高,这说明督脉隔药灸联合水凝胶多功能复合敷料可能是通过上述调控在促进损伤修复及肉芽组织生长等方面具有较好的效果,从而更利于创面的愈合。分析其原因可能在于,一方面,从创面修复与细胞外基质形成的分子学角度来看,督脉隔药灸联合水凝胶多功能复合敷料能够通过抗氧化应激、抑制炎症反应,促进其创面组织微小血管循环血管重建,减少压力性损伤局部组织缺血、缺氧情况,加速创面肉芽组织的生长,使皮肤屏障功能得以复建;另一方面,督脉隔药灸联合水凝胶多功能复合敷料能够有效抑制细菌增殖,具有较强的杀菌活性,减少炎症细胞对

伤口的持续浸润,促进创面的修复过程。

综上所述,督脉隔药灸可有效促进压力性损伤的创面修复,与水凝胶多功能复合敷料联合使用效果更佳,其机制可能与督脉隔药灸抑制创面炎症反应及氧化应激,并激活 Nrf2/HO-1/NQO1 信号通路相关。

## 参考文献

- [1] AYELLO E A, SIBBALD R G. Marching forward with global pressure injury data[J]. *Advances in Skin & Wound Care*, 2023, 36(3): 119.
- [2] WU Z J, SONG B, LIU Y, et al. Barriers and facilitators to pressure injury prevention in hospitals: A mixed methods systematic review[J]. *Journal of Tissue Viability*, 2023, 32(3): 355-364.
- [3] WAN C S, CHENG H, MUSGRAVE-TAKEDA M, et al. Barriers and facilitators to implementing pressure injury prevention and management guidelines in acute care: A mixed-methods systematic review[J]. *International Journal of Nursing Studies*, 2023, 145: 104557.
- [4] DE OLIVEIRA MATOS S D, DE ANDRADE SOUZA A P M, DA SILVA NEVES DE ABREU M, et al. Pressure injury prevention in older people: Construction and validation of an instrument for caregivers[J]. *Revista Brasileira De Enfermagem*, 2023, 76(1): e20210930.
- [5] INGLEMAN J, COYER F. Does size and shape matter for pressure injury development among patients in intensive care? [J]. *Journal of Wound Care*, 2023, 32(3): 131.
- [6] 马俊杰, 刘晨光. 用于糖尿病伤口治疗的水凝胶研究进展[J]. *浙江理工大学学报(自然科学)*, 2023, 49(6): 795-802.
- [7] 雷作熹, 向日晖, 何进财, 等. 老年压疮住院患者临床特点及中医证候分析[J]. *中医临床研究*, 2020, 12(36): 140-142.
- [8] 谢浩煌, 潘莹莹, 王晓慧, 等. 压疮深部组织损伤动物模型的构建及其临床意义[J]. *护理学杂志*, 2014, 29(15): 47-49.
- [9] 肖思民, 徐凤英, 廖若夷. 基于 RAS/RAF/ERK 信号通路探讨益气生肌剂对压力性损伤大鼠创面微小血管生成的作用机制[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2022, 28(2): 185-190.
- [10] IRVING S Y, BERRY K G, MORGAN S, et al. Nutrition association with skin integrity and pressure injury in critically ill pediatric patients[J]. *Nutrition in Clinical Practice*, 2023, 38 (Suppl 2): S125-S138.
- [11] KENNEPP L. 2023 Resolutions: It's time to revamp your pressure injury prevention programs[J]. *Healthcare Management Forum*, 2023, 36(1): 5-14.
- [12] BAYKARA Z G, KARADAG A, BULUT H, et al. Pressure in-



- jury prevalence and risk factors: A national multicenter analytical study[J]. *Journal of Wound, Ostomy, and Continence Nursing*, 2023, 50(4): 289-295.
- [13] GRAY M. Context for practice: Pressure injury and prone positioning, predictors for hospital readmission in patients with an ostomy, workplace bullying[J]. *Journal of Wound, Ostomy, and Continence Nursing*, 2023, 50(3): 189-190.
- [14] PEI J H, GUO X J, TAO H X, et al. Machine learning-based prediction models for pressure injury: A systematic review and meta-analysis[J]. *International Wound Journal*, 2023, 20(10): 4328-4339.
- [15] SARI Y, UPOYO A S, MULYONO W A, et al. Pressure injury prevention: Knowledge and attitude and their predictors in Indonesian nurses working in hospital settings[J]. *Journal of Tissue Viability*, 2023, 32(2): 242-247.
- [16] KOTTNER J, COLEMAN S. The theory and practice of pressure ulcer/injury risk assessment: A critical discussion[J]. *Journal of Wound Care*, 2023, 32(9): 560-569.
- [17] VISCONTI A J, SOLA O I, RAGHAVAN P V. Pressure injuries: Prevention, evaluation, and management[J]. *American Family Physician*, 2023, 108(2): 166-174.
- [18] KIM J Y, SHIN Y K, SEOL G H. Incidence and risk factors for pressure injury in hospitalized non-small cell lung cancer patients: A retrospective observational study[J]. *Journal of Tissue Viability*, 2023, 32(3): 377-382.
- [19] YAP T L, HORN S D, SHARKEY P D, et al. The nursing home severity index and application to pressure injury risk: Measure development and validation study[J]. *JMIR Aging*, 2023, 6: e43130.
- [20] NAN R L, SU Y J, PEI J H, et al. Characteristics and risk factors of nasal mucosal pressure injury in intensive care units[J]. *Journal of Clinical Nursing*, 2023, 32(1/2): 346-356.
- [21] KARACABAY K, SAVCI A, DALKILIC M, et al. Determining the incidence and risk factors of medical device-related pressure injury in intensive care patients[J]. *Journal of Tissue Viability*, 2023, 32(4): 596-600.
- [22] 马雯迪. 多功能复合水凝胶基伤口敷料的制备与性能研究[D]. 长春: 吉林大学, 2022.
- [23] 李建康. OHA-DA/QCS水凝胶促进皮肤伤口愈合的研究[D]. 郑州: 郑州大学, 2022.
- [24] 郭文辉, 于秋香, 孙玮婷, 等. 中医外治法在ICU内的应用研究进展[J]. *世界科学技术: 中医药现代化*, 2022, 24(3): 1278-1285.
- [25] 于杰, 李洪玲, 赵钢, 等. 回旋灸对压力性损伤大鼠创面组织超微结构的影响[J]. *中国全科医学*, 2023, 26(11): 1375-1381, 1388.
- [26] 成育玲, 杨瑛, 任红梅, 等. 艾灸、氧疗联合水胶体敷料对Ⅱ期及Ⅲ期压疮的护理效果观察[J]. *护理研究*, 2021, 35(5): 937-938.
- [27] EFTELI E. Frequency of minor shifts in body position and pressure injury development: A comparative descriptive study[J]. *Journal of Wound, Ostomy, and Continence Nursing*, 2023, 50(4): 285-288.
- [28] JOHANSEN E, BREDESEN I M, JÓNASDÓTTIR R J, et al. ABCD before E—everything else—Intensive care nurses' knowledge and experience of pressure injury and moisture-associated skin damage[J]. *International Wound Journal*, 2023, 20(2): 285-295.
- [29] LI J M, ZHU C, LIU Y, et al. Critical care nurses' knowledge, attitudes, and practices of pressure injury prevention in China: A multicentric cross-sectional survey[J]. *International Wound Journal*, 2023, 20(2): 381-390.
- [30] KOTTNER J, POKORNÁ A. Why is it so difficult to prevent and treat pressure ulcers/injuries effectively? [J]. *Journal of Wound Care*, 2023, 32(9): 529.
- [31] GOU L, ZHANG Z Q, YONGDE A. Risk factors for medical device-related pressure injury in ICU patients: A systematic review and meta-analysis[J]. *PLoS One*, 2023, 18(6): e0287326.
- [32] 韩超, 尹洪娜, 杨稀瑞, 等. 艾灸对压疮大鼠皮肤损伤修复及PI3K/Akt信号通路的影响[J]. *中国全科医学*, 2020, 23(21): 2682-2688.

(本文编辑 匡静之)