

• 实验研究 •

积雪草苷对糖尿病足溃疡大鼠炎症反应及创面愈合的影响

高永超¹ 喻伟光^{1△} 周芸¹ 张勇¹ 刘晓珂¹

[摘要] 目的:探究积雪草苷(AC)对糖尿病足溃疡(DFU)大鼠炎症反应、创面愈合及沉默信息调节因子 1(SIRT1)/核因子 E₂ 相关因子 2(Nrf2)/血红素氧合酶 1(HO-1)通路的影响。方法:利用高糖高脂食料喂养,腹腔注射链脲佐菌素(STZ)并联合钕铁硼磁铁按压建立糖尿病足溃疡大鼠模型,随机将大鼠分为糖尿病足溃疡组、积雪草苷低剂量组、积雪草苷高剂量组、积雪草苷高剂量+抑制剂组、二甲双胍组,每组 6 只,6 只正常饲养的大鼠为对照组。测算各组大鼠创面愈合率;用血糖仪检测各组大鼠敷药后的空腹血糖(FBG)水平;ELISA 法检测各组大鼠血清中相关炎症因子水平;苏木精-伊红(HE)染色观察各组大鼠创面愈合组织的病理变化;qRT-PCR 法检测各组大鼠创面愈合组织中 SIRT1、Nrf2 和 HO-1 mRNA 表达水平;Western Blot 法检测各组大鼠创面愈合组织中 SIRT1/Nrf2/HO-1 通路相关蛋白表达。结果:糖尿病足溃疡组大鼠的创面愈合率、愈合组织中 SIRT1、Nrf2 和 HO-1 mRNA 及其蛋白表达水平显著低于对照组,FBG、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);二甲双胍组、积雪草苷低剂量组和高剂量组大鼠的创面愈合率、愈合组织中 SIRT1、Nrf2 和 HO-1 mRNA 及其蛋白表达水平显著高于糖尿病足溃疡组,FBG、IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平显著低于糖尿病足溃疡组,差异有统计学意义($P < 0.05$),积雪草苷高剂量组效果优于积雪草苷低剂量组,差异有统计学意义($P < 0.05$),而积雪草苷高剂量组与二甲双胍组差异无统计学意义($P > 0.05$)。SIRT1 抑制剂回补实验发现,积雪草苷对糖尿病足溃疡大鼠的炎症反应和创面愈合以及 SIRT1/Nrf2/HO-1 通路作用被逆转($P < 0.05$)。结论:积雪草苷可能通过激活 SIRT1/Nrf2/HO-1 信号通路,使糖尿病足溃疡大鼠炎症反应和创面愈合情况得到改善。

[关键词] 积雪草苷;糖尿病足溃疡大鼠;炎症反应;创面愈合;沉默信息调节因子 1/核因子 E₂ 相关因子 2/血红素氧合酶 1 通路

[中图分类号] R-33 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 1005-0205(2025)07-0018-06

DOI:10.20085/j.cnki.issn1005-0205.250704

Effects of Asiaticoside on Inflammatory Response and Wound Healing in Rats with Diabetic Foot Ulcer

GAO Yongchao¹ YU Weiguang^{1△} ZHOU Yun¹ ZHANG Yong¹ LIU Xiaoke¹¹Shijiazhuang People's Hospital, Shijiazhuang 050035, China.

Abstract Objective: To investigate the efficacy of asiaticoside (AC) on inflammatory response, wound healing and silent information regulator 1 (SIRT1)/nuclear factor erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)/heme oxygenase-1 (HO-1) pathway in rats with diabetic foot ulcer (DFU). **Methods:** The DFU rat model was established by feeding with high-sugar and high-fat diet, intraperitoneal injection of streptozotocin (STZ) and pressing with NdFe-B magnet. The rats were randomly divided into diabetic foot ulcer group, asiaticoside low-dose group, asiaticoside high-dose group, asiaticoside high-dose + inhibitor group, and metformin group, with 6 rats in each group, and the remaining 6 normal rats were used as control group. The wound healing rate of rats in each group was measured. Blood glucose meter was used to detect the fasting blood glucose (FBG) level of rats after dressing. ELISA was used to detect the levels of related inflammatory factors in the serum of rats

in each group. HE staining was used to observe the pathological changes of wound healing tissue of rats in each group. qRT-PCR was used to detect the mRNA expression levels of SIRT1, Nrf2, and HO-1 in wound healing tissue of

基金项目:石家庄市科技计划项目(231200903)

¹ 石家庄市人民医院(石家庄,050035)

[△]通信作者 E-mail:ckakc6@163.com

rats in each group. Western Blot was used to detect the expressions of proteins related to SIRT1/Nrf2/HO-1 pathway in wound healing tissue of rats in each group. **Results:** The wound healing rate and the mRNA and protein expression levels of SIRT1, Nrf2, and HO-1 in healed tissue of rats in the diabetic foot ulcer group were significantly lower than those in the control group, and the levels of FBG, IL-1 β , IL-6, and TNF- α were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). The wound healing rate of rats in metformin group, asiaticoside low-dose group, and asiaticoside high-dose group were significantly higher than those in diabetic foot ulcer group, and the mRNA and protein expression levels of SIRT1, Nrf2, and HO-1 in healed tissue were significantly higher than those in diabetic foot ulcer group, and the levels of FBG, IL-1 β , IL-6, and TNF- α were significantly lower than those in diabetic foot ulcer group ($P < 0.05$). The effect of asiaticoside high-dose group was better than that of asiaticoside low-dose group ($P < 0.05$), while there was no significant difference between asiaticoside high-dose group and metformin group ($P > 0.05$). SIRT1 inhibitor complementation experiment showed that the inflammatory response and wound healing as well as the effect of SIRT1/Nrf2/HO-1 pathway on DFU rats were reversed by AC ($P < 0.05$). **Conclusion:** AC may improve the inflammatory response and wound healing in DFU rats by activating SIRT1/Nrf2/HO-1 signaling pathway.

Keywords: asiaticoside; diabetic foot ulcer rats; inflammatory response; wound healed; silent information regulator 1/nuclear factor E₂-related factor 2/heme oxygenase-1 pathway

糖尿病足溃疡(Diabetic Foot Ulcer, DFU)是糖尿病引起的常见并发症,患者临床表现为下肢缺血和神经性病变,该病具有发病率、复发率、致残率、致死率高以及治疗费用高的特点,给患者和家属造成极大的生理和心理伤害^[1-2]。炎症反应是导致糖尿病足溃疡患者创面愈合缓慢的重要原因之一,其主要通过炎症因子的相互作用以及活性氧产生影响^[3]。积雪草苷(Asiaticoside, AC)是中药积雪草中分离的化学成分之一,结构为五环三萜皂苷,其在抗炎、抗氧化、伤口愈合等方面具有重要作用^[4-5]。研究表明积雪草苷和一氧化氮联合可以促进糖尿病皮肤溃疡大鼠伤口愈合^[6]。积雪草苷能调控沉默信息调节因子 1(Silent Information Regulator 1, SIRT1)表达,并刺激下游因子磷酸化,通过影响自噬参与保护肾缺血再灌注损伤^[7]。SIRT1/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)激活该通路,具有增强缺血性休克小鼠空间学习和记忆能力,以及促进糖尿病小鼠伤口愈合等作用^[8-9]。推测积雪草苷可能通过调控 SIRT1/Nrf2/HO-1 通路参与影响糖尿病足溃疡大鼠创面愈合,但还需进一步验证。基于此,本研究探讨积雪草苷对糖尿病足溃疡大鼠的炎症反应及创面愈合的作用,并分析 SIRT1/Nrf2/HO-1 通路在此过程中发挥的作用,现报告如下。

1 材料和方法

1.1 实验材料

无特定病原体(SPF)级 SD 雄性大鼠,7 周龄,(180 $\pm$ 20)g,购自河北医科大学实验动物公共服务平台,生产许可证号为 SCXK(冀)2020-001。所有大鼠均在温度为 22 $^{\circ}$ C,湿度为 65%,光暗周期(12 h/12 h)

的饲养房中适应性饲养 1 周。本研究已经过本院动物伦理委员会批准(批号为院科伦审[2023]第 68 号)。

1.2 主要试剂和仪器

积雪草苷(纯度 $\geq 99\%$,北京索莱宝生物,IA1020);二甲双胍 0.25 g/片(深圳中联制药有限公司,国药准字 H20094132);EX-527 抑制剂(纯度 $\geq 99\%$,美国 MCE 公司, HY-15452);山羊抗兔二抗(北京百奥莱博, F020208);血糖检测仪、血糖试条(长沙三诺生物, H3);苏木精-伊红(HE)染色试剂盒(北京索莱宝生物, G1120);IL-6、TNF- α ELISA 检测试剂盒(英国 abcam 公司, ab234570、ab236712);SIRT1 兔单抗、Nrf2 兔单抗、HO-1 兔单抗、GAPDH 兔单抗(英国 abcam 公司, ab189494、ab313825、ab189491、ab181602);BCA 试剂盒(上海碧云天, P0012);Multi-skan SkyHigh 酶标仪(美国赛默飞)。

1.3 方法

1.3.1 糖尿病足溃疡大鼠模型建立 适应性饲养 1 周后随机将大鼠分为对照组(12 只)和实验组(70 只)。实验组大鼠高脂高糖饲料喂养,喂养持续 4 周并禁食不禁水 12 h 后,腹腔一次性注射 1%链脲佐菌素(STZ),注射量为 65 mg/kg。再用高脂高糖饲料喂养 1 周,1 周后检测大鼠血糖,随机血糖 ≥ 16.7 mmol/L 判定为糖尿病大鼠。其后用浓度为 1%戊巴比妥钠(40 mg/kg)麻醉大鼠,并在大鼠足背部用致钛硼磁铁按压出 3 mm $\times$ 7 mm 的溃疡创面,创面深可至筋膜层,符合实验动物创面溃疡的慢性损伤程度则糖尿病足溃疡大鼠造模成功^[10]。对照组大鼠给予普通饲料喂养的同时只进行创面损伤。

1.3.2 分组及药物治疗 糖尿病足溃疡大鼠造模成功后随机分为糖尿病足溃疡组、积雪草苷低剂量组、积

雪草苷高剂量组、二甲双胍组,每组各 12 只。对照组、糖尿病足溃疡组大鼠用 65 mg/kg 生理盐水灌胃,积雪草苷低剂量组和积雪草苷高剂量组大鼠分别用 50, 100 mg/kg 积雪草苷灌胃^[7],二甲双胍组大鼠用 200 mg/kg 二甲双胍敷料灌胃^[10],积雪草苷高剂量+抑制剂组给予 100 mg/kg 积雪草苷灌胃并在灌胃末次时腹腔注射 10 mg/kg EX-527 抑制剂^[11]。每天灌胃 1 次,持续 15 d。

1.3.3 创面愈合率计算 15 d 后对各组大鼠创面愈合情况进行拍照并记录,再用 Image J 软件计算各组大鼠愈合后创面面积。创面愈合率=(1-愈合后创面面积/愈合前创面面积)×100%。

1.3.4 血糖仪检测敷药前后的空腹血糖(FBG)水平 在敷药结束后对每组大鼠尾静脉采血,采血量为 1 mL,然后立即用血糖仪测量各组大鼠空腹血糖。

1.3.5 样本收集 拍照记录结束后,对所有大鼠禁食 12 h,采用戊巴比妥钠对大鼠进行麻醉,用腹主动脉法采血,每只大鼠采血量为 2 mL。采血后对血样进行 4 500 r/min 离心 10 min,离心结束后吸取血清于 1.5 mL 无酶管中,并置于-80℃超低温冰箱中保存。之后将大鼠颈椎脱臼处死,取其足背部创面组织,用生理盐水洗净后,各组随机选取 6 只大鼠的愈合组织装入冻存管于液氮中保存,另外 6 只大鼠组织用 4% 多聚甲醛固定 24 h,然后换用 70% 酒精于 4℃ 下冰箱保存。

1.3.6 ELISA 法检测炎症因子水平 将各组大鼠的血清从-80℃超低温冰箱中取出,冰上溶解后,根据 IL-6、TNF-α 试剂盒说明书依次进行加样,完成后用酶标仪检测样本在 450 nm 处的光密度(OD)值,并绘制标准曲线,计算各组大鼠血清样本中 IL-6、TNF-α 的水平。

1.3.7 HE 染色观察创面愈合组织的病理变化 将各组大鼠的创面愈合组织从 4℃ 冰箱中取出,对组织样本进行脱水处理,然后用包埋机包埋,包埋后用切片机切片,用摊片机摊片,摊片后用载玻片捞片,并在显微镜下初步观察成片效果,挑选符合实验要求的切片用烘箱烘片,观察到组织表面石蜡融化脱落后结束烘片,进行水化处理。根据 HE 染色试剂盒说明书依次加样,染色结束观察染色符合实验要求后用中性树脂封片,室温晾干后用光学显微镜观察创面愈合组织的病理变化。

1.3.8 qRT-PCR 法检测创面愈合组织中 SIRT1、Nrf2 和 HO-1 mRNA 表达水平 将各组大鼠的创面愈合组织从液氮中取出,装入 1.5 mL 无酶管中,然后用低温冷冻研磨仪将组织磨碎,用 RNA 提取试剂盒按照说明书提取各样本的总 RNA,并测量其

浓度,之后再用 PrimeScript RT reagent Kit with gDNA Eraser 试剂盒,清除 RNA 样本中的基因组 DNA,并将 RNA 反转成 cDNA,用 SYRB Premix Ex Taq II 试剂进行 qPCR 定量检测,用 2^{-ΔΔCt} 法计算 SIRT1、Nrf2 和 HO-1 mRNA 相对表达量,引物序列见表 1。

表 1 引物序列

名称	引物序列(5'-3')	长度 /bp
SIRT1-F	TAGCTAGCTAGTATTCCGA	164
SIRT1-R	GCTAGCTAGCTATCAAGTT	
Nrf2-F	GATGATGCCAGCCAGCTGAA	139
Nrf2-R	GCGACTGACTAATGGCAGCAGA	
HO-1-F	ATTTGTCCGAGGCCTTGAA	150
HO-1-R	CCAGGGCCGTATAGATATGGTA	
GAPDH-F	AGCTAGCTAGCTGTCCGA	176
GAPDH-R	GCGAGCTAGCTGACTAAC	

1.3.9 Western Blot 法检测创面愈合组织中 SIRT1/Nrf2/HO-1 通路相关蛋白表达 取出液氮中保存的创面愈合组织,用研磨仪将组织磨碎,之后置于 1.5 mL 无酶管,再加入裂解缓冲液裂解,裂解后 13 000 r/min 离心 30 min,用 BCA 法初步测定蛋白浓度,电泳分离蛋白样品,后用转膜仪将蛋白转移到膜上,用封闭液封闭 1 h,洗膜 5 min,加入对应一抗 4℃ 下冰箱孵育,次日回收一抗,洗膜 10 min,二抗孵育 10 min,洗膜 10 min,加入 ECL 荧光试剂,然后曝光。内参为 GAPDH,用 Image J 软件分析蛋白条带。

1.4 统计学方法

采用 Graphpad prism8.0 统计软件进行分析,符合正态分布用 $\bar{x} \pm s$ 形式表示,多组间比较用单因素方差分析;组间两两多重比较用 Tukey's 事后检验。 $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

2 结果

2.1 积雪草苷对每组大鼠创面愈合率及空腹血糖水平的影响

糖尿病足溃疡组的创面愈合率显著低于对照组,空腹血糖水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);二甲双胍组、积雪草苷低剂量组和积雪草苷高剂量组的创面愈合率显著高于糖尿病足溃疡组,空腹血糖水平显著低于糖尿病足溃疡组,差异有统计学意义($P < 0.05$);且积雪草苷高剂量组的变化幅度优于积雪草苷低剂量组,差异有统计学意义($P < 0.05$),积雪草苷高剂量组与二甲双胍组差异无统计学意义($P > 0.05$);积雪草苷高剂量+抑制剂组的创面愈合率显著低于积雪草苷高剂量组,空腹血糖水平显著高于积雪草苷高剂量组,差异有统计学意义($P < 0.05$),见图 1 及表 2。

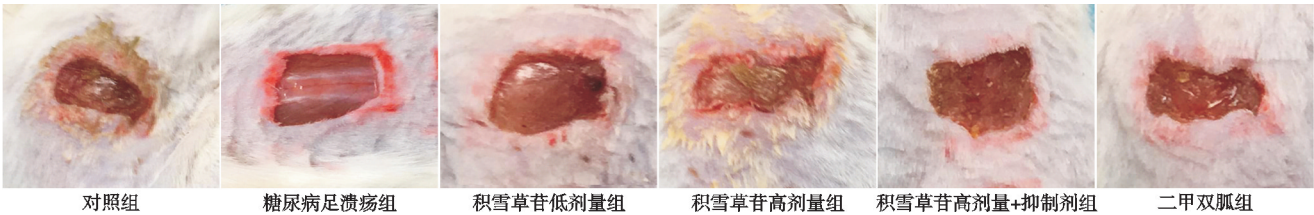


图 1 各组大鼠伤口愈合情况

表 2 积雪草苷对各组大鼠创面愈合率以及空腹血糖水平的影响 (n=12, $\bar{x} \pm s$)

组别	创面愈合率 /%	空腹血糖 /(mmol · L ⁻¹)
对照组	38.31±3.54	4.82±0.37
糖尿病足溃疡组	13.61±2.13 ¹⁾	18.64±1.34 ¹⁾
积雪草苷低剂量组	20.87±2.37 ²⁾	15.01±0.89 ²⁾
积雪草苷高剂量组	29.51±2.93 ²⁾³⁾	9.78±0.64 ²⁾³⁾
积雪草苷高剂量+抑制剂组	22.38±2.45 ⁴⁾	13.84±0.72 ⁴⁾
二甲双胍组	29.57±3.02 ²⁾³⁾	9.81±0.67 ²⁾³⁾

注:1)与对照组相比, $P<0.05$;2)与糖尿病足溃疡组相比, $P<0.05$;3)与积雪草苷低剂量组相比, $P<0.05$;4)与积雪草苷高剂量组相比, $P<0.05$ 。

表 3 积雪草苷对各组大鼠血清中相关炎症因子水平的影响 (n=12, $\bar{x} \pm s$, ng/L)

组别	IL-1 β	IL-6	TNF- α
对照组	18.33±2.09	16.02±1.31	12.13±1.42
糖尿病足溃疡组	64.94±4.71 ¹⁾	36.61±3.57 ¹⁾	26.38±2.74 ¹⁾
积雪草苷低剂量组	46.38±3.24 ²⁾	28.49±2.86 ²⁾	19.91±2.08 ²⁾
积雪草苷高剂量组	24.07±2.38 ²⁾³⁾	19.96±2.17 ²⁾³⁾	15.36±2.01 ²⁾³⁾
积雪草苷高剂量+抑制剂组	39.57±3.08 ⁴⁾	24.94±2.61 ⁴⁾	18.87±2.11 ⁴⁾
二甲双胍组	23.58±2.32 ²⁾³⁾	20.08±2.35 ²⁾³⁾	15.39±1.94 ²⁾³⁾

注:1)与对照组相比, $P<0.05$;2)与糖尿病足溃疡组相比, $P<0.05$;3)与积雪草苷低剂量组相比, $P<0.05$;4)与积雪草苷高剂量组相比, $P<0.05$ 。

2.3 积雪草苷对各组大鼠创面愈合组织的病理变化的影响

对照组大鼠创面愈合组织中细胞排列整齐,结构完整,无炎性细胞浸润;糖尿病足溃疡组大鼠创面愈合组织中有最多的炎性细胞浸润,并可观察到成纤维细胞和毛细血管损伤严重。二甲双胍组、积雪草苷低剂

2.2 积雪草苷对各组大鼠血清中相关炎症因子水平的影响

糖尿病足溃疡组的 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平显著高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);积雪草苷低剂量组、积雪草苷高剂量组、二甲双胍组的 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平显著低于糖尿病足溃疡组,积雪草苷高剂量组的 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平显著低于积雪草苷低剂量组,差异有统计学意义($P<0.05$),积雪草苷高剂量组与二甲双胍组差异无统计学意义($P>0.05$);积雪草苷高剂量+抑制剂组 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平高于积雪草苷高剂量组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

量组和积雪草苷高剂量组炎性细胞浸润明显少于糖尿病足溃疡组,积雪草苷高剂量+抑制剂组炎性细胞浸润明显多于积雪草苷高剂量组,见图 2。

2.4 积雪草苷对各组大鼠创面愈合组织中 SIRT1、Nrf2 和 HO-1 mRNA 表达水平的影响

糖尿病足溃疡组的大鼠创面愈合组织中 SIRT1、

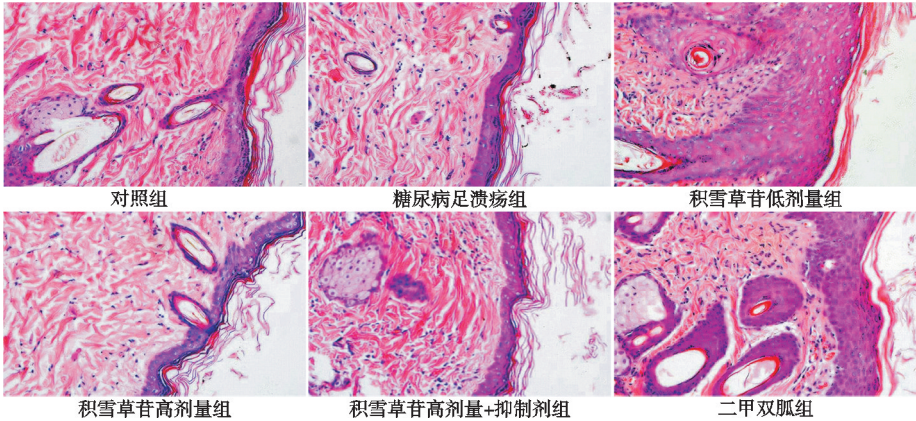


图 2 各组大鼠创面愈合组织的病理形态(HE 染色, ×200)

Nrf2 和 HO-1 mRNA 表达水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),积雪草苷低剂量组、积雪草

苷高剂量组、二甲双胍组 SIRT1、Nrf2 和 HO-1 mRNA 表达水平高于糖尿病足溃疡组,且积雪草苷高

剂量组高于积雪草苷低剂量组,差异有统计学意义($P<0.05$),积雪草苷高剂量组与二甲双胍组差异无统计学意义($P>0.05$);积雪草苷高剂量+抑制剂的 SIRT1、Nrf2 和 HO-1 mRNA 表达水平低于积雪草

苷高剂量组,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。
2.5 积雪草苷对各组大鼠创面愈合组织中 SIRT1/Nrf2/HO-1 通路相关蛋白的影响
糖尿病足溃疡组的大鼠创面愈合组织中 SIRT1、

表 4 积雪草苷对各组大鼠创面愈合组织中 SIRT1、Nrf2 和 HO-1 mRNA 表达水平的影响($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	SIRT1	Nrf2	HO-1
对照组	1.02±0.14	1.01±0.15	1.02±0.13
糖尿病足溃疡组	0.32±0.04 ¹⁾	0.29±0.03 ¹⁾	0.41±0.05 ¹⁾
积雪草苷低剂量组	0.57±0.07 ²⁾	0.49±0.06 ²⁾	0.63±0.08 ²⁾
积雪草苷高剂量组	0.88±0.10 ²⁾³⁾	0.73±0.08 ²⁾³⁾	0.91±0.09 ²⁾³⁾
积雪草苷高剂量+抑制剂组	0.62±0.08 ⁴⁾	0.50±0.09 ⁴⁾	0.74±0.07 ⁴⁾
二甲双胍组	0.89±0.12 ²⁾³⁾	0.75±0.10 ²⁾³⁾	0.92±0.11 ²⁾³⁾

注:1)与对照组相比, $P<0.05$;2)与糖尿病足溃疡组相比, $P<0.05$;3)与积雪草苷低剂量组相比, $P<0.05$;4)与积雪草苷高剂量组相比, $P<0.05$ 。

Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平显著低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),积雪草苷低剂量组、积雪草苷高剂量组、二甲双胍组的 SIRT1、Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平高于糖尿病足溃疡组,且积雪草苷高剂量组高于积雪草苷低剂量组,差异有统计学意义($P<0.05$),积雪草苷高剂量组与二甲双胍组差异无统计学意义($P>0.05$);积雪草苷高剂量+抑制剂组的 SIRT1、Nrf2 和 HO-1 蛋白表达水平低于积雪草苷高剂量组,差异有统计学意义($P<0.05$),见图 3 和表 5。

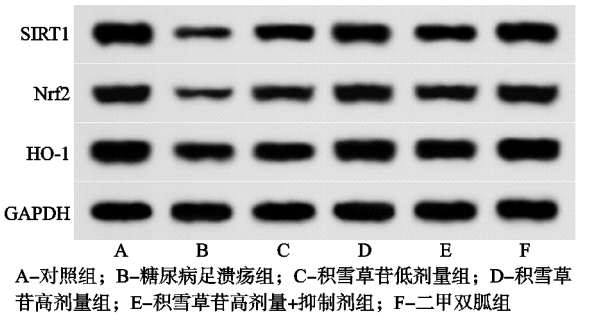


图 3 各组大鼠创面愈合组织中 SIRT1/Nrf2/HO-1 通路相关蛋白的表达

表 5 各组大鼠创面愈合组织中 SIRT1/Nrf2/HO-1 通路相关蛋白的表达($n=6, \bar{x} \pm s$)

组别	SIRT1	Nrf2	HO-1
对照组	1.35±0.18	0.94±0.16	1.45±0.21
糖尿病足溃疡组	0.32±0.03 ¹⁾	0.19±0.04 ¹⁾	0.65±0.06 ¹⁾
积雪草苷低剂量组	0.59±0.08 ²⁾	0.40±0.06 ²⁾	0.89±0.09 ²⁾
积雪草苷高剂量组	0.99±0.12 ²⁾³⁾	0.73±0.10 ²⁾³⁾	1.26±0.13 ²⁾³⁾
积雪草苷高剂量+抑制剂组	0.63±0.09 ⁴⁾	0.49±0.07 ⁴⁾	0.95±0.09 ⁴⁾
二甲双胍组	1.02±0.11 ⁴⁾	0.75±0.09 ⁴⁾	1.29±0.14 ⁴⁾

注:1)与对照组相比, $P<0.05$;2)与糖尿病足溃疡组相比, $P<0.05$;3)与积雪草苷低剂量组相比, $P<0.05$;4)与积雪草苷高剂量组相比, $P<0.05$ 。

3 讨论

糖尿病足溃疡是糖尿病患者下肢血管病变和神经病变引起下肢溃疡、感染或坏疽形成的一种疾病,是导致糖尿病患者死亡和残疾的主要原因^[12]。据统计糖尿病足溃疡患者在 3~5 年内复发率高达 65%,有 20% 的患者进行截肢手术,且患者在第 5 年的死亡率高达 50%~70%,如此高的死亡和残疾率给患者和社会带来了严重的负面影响。因此,寻找可以有效治疗糖尿病足溃疡的药物显得十分重要^[13-14]。

积雪草苷是积雪草中含量最高的化合物,属于五环三萜苷,其具有保护皮肤、神经元以及促进创口愈合的功能,同时其在抑制炎症、抵抗氧化应激反应和改善损伤器官等过程中具有重要作用^[15-16]。本研究通过建立糖尿病足溃疡大鼠模型探讨积雪草苷在愈合伤口和

降血糖方面的作用,结果发现积雪草苷处理后提高了糖尿病足溃疡大鼠的创面愈合率,降低空腹血糖,表明积雪草苷对于糖尿病足溃疡大鼠愈合伤口和血糖降低具有重要作用。炎症反应在糖尿病足溃疡大鼠创面愈合中起关键作用,炎症反应会产生大量炎细胞因子,炎细胞因子能够使创面组织中的基质金属蛋白酶表达异常,从而使创面愈合情况受到限制^[17]。本研究中糖尿病足溃疡组大鼠创面愈合组织中炎性细胞浸润较多,成纤维细胞和毛细血管损伤严重,其血清 IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平显著高于对照组;积雪草苷处理组大鼠炎性细胞浸润明显减少,IL-1 β 、IL-6、TNF- α 水平显著低于糖尿病足溃疡组,且积雪草苷高剂量组与二甲双胍组相比无明显差异,表明积雪草苷对糖尿病足溃疡大鼠的炎症反应发挥抑制作用。

SIRT1/Nrf2/HO-1 是目前研究的热点, SIRT1 与 Nrf2/HO-1 信号级联之间存在密切关系, SIRT1 可以调节 Nrf2 及其下游靶基因的转录活性^[18-19]。Nrf2 是一种转录因子, 其能够激活编码抗氧化酶和细胞保护的多个基因抑制氧化应激反应^[20]。HO-1 是一种限速酶, 其能够催化血红蛋白产生一氧化碳、胆绿素和亚铁, 而血红蛋白与氧化应激反应关系密切, 可由多种应激源诱导应激反应, 包括炎性细胞因子、氧化应激反应及紫外线辐射等^[18-19]。已有研究表明, 酸性成纤维细胞生长因子可以通过 SIRT1/Nrf2/HO-1 通路抑制活性氧诱导的血管内皮细胞上皮-间充质转分化, 进而促进糖尿病小鼠伤口愈合^[9]。本研究中糖尿病足溃疡组的愈合组织中 SIRT1、Nrf2、HO-1 mRNA 和蛋白表达水平显著低于对照组; 积雪草苷组的愈合组织中 SIRT1、Nrf2 和 HO-1 mRNA 和蛋白表达水平显著高于糖尿病足溃疡组, 表明积雪草苷对 SIRT1/Nrf2/HO-1 通路具有激活作用, 且随着积雪草苷剂量的增加激活效果更明显。而通过 SIRT1 抑制剂回补实验发现, 积雪草苷高剂量+抑制剂组的创面愈合率、愈合组织中 SIRT1、Nrf2 和 HO-1 表达显著低于积雪草苷高剂量组, 血糖及炎症因子水平显著高于积雪草苷高剂量组, 表明积雪草苷对糖尿病足溃疡大鼠的治疗作用与 SIRT1/Nrf2/HO-1 通路作用有关。

综上所述, 积雪草苷可能通过激活 SIRT1/Nrf2/HO-1 信号通路, 使糖尿病足溃疡大鼠炎症反应及创面愈合情况得到改善。本研究明确了积雪草苷对糖尿病足溃疡的治疗作用, 并阐述了其相关作用机制, 但关于积雪草苷的更多作用机制还有待继续研究。

参考文献

- [1] 丁玲芳, 王海, 马也名, 等. 中医药治疗糖尿病足溃疡的研究进展[J]. 中国民族民间医药, 2024, 33(17): 48-51.
- [2] LU Q, WANG J, WEI X, et al. Cost of diabetic foot ulcer management in China: a 7-year single-center retrospective review[J]. Diabetes Metab Syndr Obes, 2020, 13: 4249-4260.
- [3] WAN R, WEISSMAN J P, GRUNDMAN K, et al. Diabetic wound healing: the impact of diabetes on myofibroblast activity and its potential therapeutic treatments[J]. Wound Repair Regen, 2021, 29(4): 573-581.
- [4] ZHUANG L G, ZHANG R, JIN G X, et al. Asiaticoside improves diabetic nephropathy by reducing inflammation, oxidative stress, and fibrosis: an in vitro and in vivo study[J]. World J Diabetes, 2024, 15(10): 2111-2122.
- [5] RAZIF R, FADILAH N I M, AHMAD H, et al. Asiaticoside-loaded multifunctional bioscaffolds for enhanced hyperglycemic wound healing[J]. Biomedicines, 2025, 13(2): 277-308.
- [6] NIE X, ZHANG H, SHI X, et al. Asiaticoside nitric oxide gel accelerates diabetic cutaneous ulcers healing by activating Wnt/ β -catenin signaling pathway[J]. Int Immunopharmacol, 2020, 79: 106109.
- [7] 胡彦, 王锁刚, 翟琼瑶, 等. 积雪草苷调控 SIRT1-FOXO3-PINK1-Parkin 通路介导的线粒体自噬保护肾缺血再灌注损伤的机制研究[J]. 天津医药, 2021, 49(11): 1148-1153.
- [8] ABUKHALIL M H, AL-ALAMI Z, ALFWUAIRES M A, et al. Taxifolin protects against 5-fluorouracil-induced cardiotoxicity in mice through mitigating oxidative stress, inflammation, and apoptosis: possible involvement of Sirt1/Nrf2/HO-1 signaling[J]. Cardiovasc Toxicol, 2025, 25(3): 455-470.
- [9] ZHANG Y, HEI F, XIAO Y, et al. Acidic fibroblast growth factor inhibits reactive oxygen species-induced epithelial-mesenchymal transdifferentiation in vascular endothelial cells via the miR-155-5p/SIRT1/Nrf2/HO-1 pathway to promote wound healing in diabetic mice[J]. Burns Trauma, 2024, 12: tkae010.
- [10] 雷慧, 鲍亚玲, 鲍喜静, 等. 金丝桃苷对糖尿病足溃疡大鼠炎症反应、创面愈合及 AMPK/SIRT1 信号通路的影响[J]. 天津医药, 2023, 51(11): 1205-1210.
- [11] 马振旺, 姜德友, 胡丙成, 等. 橙皮苷通过 SIRT1/Nrf2/HO-1 信号通路改善 2 型糖尿病大鼠心肌缺血/再灌注损伤的机制研究[J]. 海南医学院学报, 2022, 28(8): 566-571.
- [12] 潘旭月, 陈兆军, 祁印泽, 等. 基于中医辨证分型应用中药外用制剂促进糖尿病足溃疡愈合的临床研究[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2024, 32(1): 36-41.
- [13] MCDERMOTT K, FANG M, BOULTON A J M, et al. Etiology, epidemiology, and disparities in the burden of diabetic foot ulcers[J]. Diabetes Care, 2023, 46(1): 209-221.
- [14] WANG X, YUAN C X, XU B, et al. Diabetic foot ulcers: classification, risk factors and management[J]. World J Diabetes, 2022, 13(12): 1049-1065.
- [15] VASANTH S, MOHANRAJ R S, MANDAL J. In-vitro study of the effect of centella asiatica on cholera toxin production and the gene expression level of ctxA gene in vibrio cholerae isolates[J]. J Ethnopharmacol, 2021, 279: 113930.
- [16] 赵强, 肖波, 陈天逸, 等. 积雪草苷对脂多糖诱导的成骨细胞增殖和分化的影响[J]. 中国中医骨伤科杂志, 2024, 32(7): 24-28.
- [17] MARÓNEK M, MARAFINI I, GARDLÍK R, et al. Metalloproteinases in inflammatory bowel diseases[J]. J Inflamm Res, 2021, 14: 1029-1041.
- [18] SHEN K, JIA Y, WANG X, et al. Exosomes from adipose-derived stem cells alleviate the inflammation and oxidative stress via regulating Nrf2/HO-1 axis in macrophages[J]. Free Radic Biol Med, 2021, 165: 54-66.

- 的机制研究[J]. 中国中药杂志, 2025, 50(3): 1-13.
- [9] 朱鹏飞, 赖晓蓉, 熊沿, 等. 蟛蜞菊内酯通过抑制 AMPK/NLRP3/Caspase-1 信号通路减轻脂多糖诱导的肺泡上皮细胞焦亡[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2024, 23(7): 488-494.
- [10] ZHIVODERNIKOV I V, KIRICHENKO T V. Molecular and cellular mechanisms of osteoporosis [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(21): 15772-15793.
- [11] WANG B, LI Z, MAI C, et al. miR-26b-5p promotes osteogenesis of bone mesenchymal stem cells via suppressing FGF21[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2023, 102(38): 35333-35339.
- [12] REN L, ZHU X, TAN J, et al. MiR-210 promotes bone formation in ovariectomized rats by regulating osteogenic/adipogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells through downregulation of EPHA2[J]. *J Orthop Surg Res*, 2023, 18(1): 811-821.
- [13] ZHOU X, XU S, ZHANG Z, et al. Gouqi-derived nanovesicles (GqDNVs) inhibited dexamethasone-induced muscle atrophy associating with AMPK/SIRT1/PGC1 α signaling pathway[J]. *J Nanobiotechnol*, 2024, 22(1): 276.
- [14] LIU X, ZHOU K, DENG X, et al. Salvianolic acid C promotes osteogenic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells in osteoporotic rats through activation of AMPK/SIRT1 pathway[J]. *Int J Rheum Dis*, 2023, 26(8): 1571-1578.
- [15] HUANG R X, TAO J. Nicotinamide mononucleotide attenuates glucocorticoid induced osteogenic inhibition by regulating the SIRT1/PGC-1 α signaling pathway[J]. *Mol Med Rep*, 2020, 22(1): 145-154.
- [16] 安方玉, 王霞霞, 颜春鲁, 等. 藤黄健骨胶囊通过 SIRT1/PGC-1 α /Nrf2 信号通路抑制绝经后骨质疏松大鼠成骨细胞凋亡[J]. 中国生物化学与分子生物学报, 2024, 40(3): 383-392.
- [17] GU M, WEI Z, WANG X, et al. Myostatin knockout affects mitochondrial function by inhibiting the AMPK/SIRT1/PGC1 α pathway in skeletal muscle[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(22): 13703-13716.
- [18] LI Y, WEI Z F, SU L. Anti-aging effects of icariin and the underlying mechanisms: a mini-review [J]. *Aging Med (Milton)*, 2024, 7(1): 90-95.
- [19] SI Y, LI Y, GU K, et al. Icariin ameliorates osteoporosis in ovariectomized rats by targeting Cullin3/Nrf2/OH pathway for osteoclast inhibition[J]. *Biomed Pharmacother*, 2024, 173(1): 1164220-1164229.
- [20] LIU W, XIANG S, WU Y, et al. Icariin promotes bone marrow mesenchymal stem cells osteogenic differentiation via the mTOR/autophagy pathway to improve ketogenic diet-associated osteoporosis[J]. *J Orthop Surg Res*, 2024, 19(1): 127-136.
- [21] HUANG M, WANG Y, PENG R. Icariin alleviates glucocorticoid-induced osteoporosis through EphB4/Ephrin-B2 axis[J]. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2020, 1(1): 2982480-2982487.
- [22] JIN Y, WU A, BIAN S, et al. Icariin upregulates methyltransferase-like 14-mediated prolyl 4-hydroxylase β subunit m6A modification to promote osteogenic differentiation of bone marrow stem cells[J]. *Exp Cell Res*, 2024, 440(2): 114138.

(收稿日期: 2024-12-16)

(上接第 23 页)

- [19] SETHI P, MEHAN S, KHAN Z, et al. Acetyl-11-keto-beta boswellic acid(AKBA) modulates CSTC-pathway by activating SIRT-1/Nrf2-HO-1 signalling in experimental rat model of obsessive-compulsive disorder; evidenced by CSF, blood plasma and histopathological alterations[J]. *Neurotoxicology*, 2023, 98: 61-85.
- [20] MOHAN S, GUPTA D. Crosstalk of toll-like receptors signaling and Nrf2 pathway for regulation of inflammation[J]. *Biomed Pharmacother*, 2018, 108: 1866-1878.

(收稿日期: 2024-12-14)