

景亮, 祁永章. 红景天苷对糖尿病足溃疡大鼠 Nrf2/Keap1 信号通路及伤口愈合的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(8): 48-54.

Jing L, Qi YZ. Effects of salidroside on the Nrf2/Keap1 signaling pathway and wound healing in rats with diabetic foot ulcer [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(8): 48-54.

doi: 10. 3969/j.issn.1671-7856. 2021. 08. 007

红景天苷对糖尿病足溃疡大鼠 Nrf2/Keap1 信号通路及伤口愈合的影响

景 亮^{1*}, 祁永章²

(1. 青海大学附属医院临床药学科, 西宁 810000; 2. 青海大学附属医院整形门诊, 西宁 810000)

【摘要】 目的 探究红景天苷(Sal)对糖尿病足溃疡(DFU)大鼠核转录因子 E2 相关因子 2/Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1(Nrf2/Keap1)信号通路及伤口愈合的影响。**方法** 采用高脂高糖饲料喂养结合腹腔注射链脲佐菌素(STZ)建立糖尿病大鼠模型,并于足背部除毛剪皮至筋膜,制作面积约为 3 mm×7 mm 的溃疡创面建立 DFU 大鼠模型,随机分为 DFU 模型组(DFU 组)、Sal 低(Sal-L, 0.1 g/(kg·d))、中(Sal-M, 0.2 g/(kg·d))高(Sal-H, 0.3 g/(kg·d))剂量组,阳性药物二甲双胍组(MET 组, 0.65 g/(kg·d)),另设血糖正常创面大鼠为对照组(NC 组),连续灌胃 2 周。分别于治疗第 7 天、第 14 天后检测各组大鼠体重及空腹血糖(FBG)水平,免疫组化检测创面组织 CD34 表达情况,计算创面微血管密度(MVD);生物化学法测定创面组织 MDA、SOD 水平;免疫印迹(Western blot)检测创面组织 Nrf2、Keap1 蛋白表达。**结果** 治疗第 0 天各组大鼠体重之间比较无统计学意义($P>0.05$),各组 DFU 组、Sal-L 组、Sal-M 组、Sal-H 组、MET 组大鼠 FBG 水平均高于 NC 组($P<0.05$);治疗第 7 天、第 14 天,与 NC 组比较,DFU 组、Sal-L 组、Sal-M 组、Sal-H 组、MET 组大鼠体重、FBG 水平、MDA 含量、Keap1 蛋白表达量均升高($P<0.05$),创面愈合率、CD34 阳性细胞、MVD、SOD 活性、Nrf2 蛋白表达量显著降低($P<0.05$);与 DFU 组比较,Sal-L 组、Sal-M 组、Sal-H 组、MET 组大鼠体重、FBG 水平、MDA 含量、Keap1 蛋白表达量均显著降低($P<0.05$),创面愈合率、CD34 阳性细胞、MVD、SOD 活性、Nrf2 蛋白表达量显著升高($P<0.05$),其中 Sal-L 组与 MET 组差异无统计学意义($P>0.05$)。**结论** Sal 可能通过调节 Nrf2/Keap1 信号通路,增加 DFU 大鼠抗氧化能力,促进创面愈合。

【关键词】 红景天苷;糖尿病足溃疡大鼠;核转录因子 E2 相关因子 2/Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 信号通路;伤口愈合

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856 (2021) 08-0048-07

Effects of salidroside on the Nrf2/Keap1 signaling pathway and wound healing in rats with diabetic foot ulcer

JING Liang^{1*}, QI Yongzhang²

(1. Department of Clinical Pharmacy, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining 810000, China.
2. Plastic Surgery Clinic, Qinghai University Affiliated Hospital, Xining 810000)

【Abstract】 Objective To explore the effects of salidroside (SAL) on nuclear transcription factor-E2 related factor 2/Kelch-like epichlorohydrin-related protein 1 (Nrf2/Keap1) signaling pathway and wound healing in rats with diabetic foot ulcer (DFU). **Methods** Diabetes was induced in rats by feeding of a high-fat and high-glucose diet and intraperitoneal injecting of streptozotocin (STZ), and the back of the foot was shaved and cut to the fascia to create an ulcer

wound with an area of approximately 3 mm×7 mm to establish DFU rat model. The rats were randomly allocated to a DFU model group; Sal-L (0.1 g/(kg·d)), Sal-M (0.2 g/(kg·d)), Sal-H (0.3 g/(kg·d)) groups, metformin group (MET, 0.65 g/(kg·d)), and set normal blood glucose wound rats as the control group (NC group), and all were gavaged daily for 2 weeks. The body mass and concentration of fasting-blood glucose (FBG) of all the rats were measured on the 7th and 14th days of treatment; the expression of CD34 was assessed by immunohistochemistry; the microvascular density (MVD) of the wounds was calculated; the levels of malondialdehyde (MDA) and superoxide dismutase (SOD) concentrations were measured biochemically, and the expression of Nrf2 and Keap1 proteins in the wound tissue was measured by Western blot.

Results Prior to the start of treatment, there was no significant difference in the body mass between the groups, while the FBG of the DFU, Sal-L, Sal-M, Sal-H, and MET groups was higher than that of the NC group ($P<0.05$). On the 7th and 14th day of treatment, the body mass, FBG, MDA content, and Keap1 protein expression in the DFU, Sal-L, Sal-M, Sal-H, and MET groups were higher than those in the NC group ($P<0.05$); and the wound healing rate, CD34 positive cells, MVD, SOD activity, and Nrf2 protein expression were significantly lower ($P<0.05$). The body mass, FBG, MDA content, and Keap1 protein expression in the Sal-L, Sal-M, Sal-H, and MET groups were lower than those in the DFU group ($P<0.05$); and the wound healing rate, CD34 positive cells, MVD, SOD activity, and Nrf2 protein expression were significantly higher ($P<0.05$). However, there were no significant differences between the Sal-L and MET groups ($P>0.05$). **Conclusions** Sal may increase the antioxidant capacity and promote wound healing in rats with DFU via the Nrf2/Keap1 signaling pathway.

【Keywords】 salidroside; diabetic foot ulcer rats; nuclear transcription factor-E2 related factor 2/Kelch-like epichlorohydrin-related protein 1 signaling pathway; wound healing

糖尿病足是糖尿病常见并发症之一,可导致足部出现不同程度感染、溃疡、坏疽,增加截肢风险,严重影响患者身心健康及生活质量^[1-2]。糖尿病足溃疡(diabetic foot ulcer, DFU)是极其难愈性溃疡,且易反复发作,然而如何促进其创面愈合是至今困扰医学界学者的难题之一^[3]。红景天苷(salidroside, Sal)是红景天主要活性成分,具有消炎、镇痛、抗疲劳、抗氧化及免疫调节等多种药理作用^[4],对糖尿病肾病大鼠^[5]、胃溃疡^[6]等具有较好治疗作用,但关于 Sal 对 DFU 的影响尚鲜有研究,基于此,本研究提出假说,Sal 可能对 DFU 有一定治疗作用。核转录因子 E2 相关因子 2/Kelch 样环氧氯丙烷相关蛋白 1 (Nuclear transcription factor-E2 related factor2/Kelch-like epichlorohydrin-related protein 1, Nrf2/Keap1) 信号通路在氧化应激过程中起重要作用,研究报道 Sal 可通过调节 Nrf2/Keap1 通路对肝损伤具有保护作用^[7],且 Nrf2 激动剂可治疗糖尿病血管并发症^[8]。因此本研究通过建立 DFU 大鼠模型,拟探究 Sal 对 DFU 大鼠 Nrf2/Keap1 信号与伤口愈合的作用,初步揭示其药理机制,为临床 DFU 的治疗提供理论基础,带来新思路。

1 材料和方法

1.1 实验动物

健康 SPF 级 SD 雄性大鼠 100 只,购自北京维

通利华实验动物技术有限公司上海分公司[SCXK(沪)2017-0011],体重 200~210 g,于本院动物中心清洁级动物房饲养[SYXK(青)2017-0012],饲养条件:温度设为 21℃~25℃、湿度设为 40%~60%,12 h/12 h 光照/黑暗交替照明,保持饲料饮水供应充足,使大鼠自由饮水饮食。本研究动物实验已经由本院动物实验伦理委员会批准(P-SL-20180099)。实验严格遵守动物实验中的 3R 原则。

1.2 主要试剂与仪器

红景天苷(Sal,货号:SMB00072,纯度≥95%)、链脲佐菌素(streptozotocin, STZ)(货号:S0130, HPLC≥98%)购自 Sigma-Aldrich 公司;盐酸二甲双胍肠溶胶囊(国药准字 H20103017,生产批号:20180124)购自北京协和药厂;超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性检测试剂盒(货号:20170401)、丙二醛(malonaldehyde, MDA)含量检测试剂盒(货号:D799761-0050)购自上海生工生物工程股份有限公司;兔源 anti-CD34 一抗(货号:ab81289)、兔源 anti-Nrf2 一抗(货号:ab137550)、兔源 anti-Keap1 一抗(货号:ab139729)、兔源 anti-GAPDH 一抗(货号:ab181602),羊抗兔 IgG 二抗(货号:ab205718)均购自英国 Abcam 公司;光学显微镜(型号 IX75)购自日本奥林巴斯公司;酶标仪(型号 MODEL550)购自美国 Bio-Rad 公司等。

1.3 实验方法

1.3.1 DFU 模型制备

参考文献^[9]并稍作修改制备 DFU 大鼠模型,所有造模大鼠均予以高糖高脂饲料喂养 4 周,一次性腹腔注射 STZ(65 mg/kg),1 周后尾静脉采血测得空腹血糖(fasting blood-glucose, FBG) ≥ 16.7 mmol/L、体重无明显降低者为糖尿病模型制备成功。成模 2 周后大鼠用 2%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉,于足背部消毒后用印章标记面积约为 3 mm×7 mm 的标记,创面除毛剪皮至筋膜,医用纱布覆盖后,包扎固定,另取 16 只正常饲料喂养大鼠腹腔注射等量生理盐水并进行足背部脱毛进行创面造模处理。

1.3.2 分组及给药方法

成模大鼠随机分为 DFU 模型组(DFU 组)、Sal 低(Sal-L)、中(Sal-M)高(Sal-H)剂量组,阳性药物二甲双胍组(MET 组),另设正常饲料喂养腹腔注射生理盐水并创面造模大鼠为正常对照组(NC 组),每组各 16 只。Sal-L、Sal-M、Sal-H 组分别给予 Sal 0.1 g/kg、0.2 g/kg、0.3 g/kg,所选剂量参考文献^[10]并稍作修改, MET 组给予 MET 0.65 g/kg, NC 组、DFU 组给予等量生理盐水,每天 1 次,连续灌胃 14 d。

1.3.3 体重及 FBG 水平测定

分别于治疗第 0 天、第 7 天、第 14 天测定各组大鼠体重变化,并尾尖采血,采用血糖监测仪监测空腹血糖(fasting blood-glucose, FBG)。

1.3.4 创面愈合率检测

干预治疗 7 d、14 d 后,肉眼观察各组大鼠创面愈合情况,并将带有网格的透明膜贴于创面处,采用扫描仪及 Adobe photoshop CS6 软件分析定量创面面积,计算创面愈合率=(造模时创面面积-治疗结束后创面面积)/造模时创面面积×100%。

1.3.5 创面组织 MVD 检测

干预治疗 7 d、14 d 后,各组大鼠分别随机抽取 8 只,2%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉处死大鼠,取创面组织制备石蜡切片,常规脱蜡至水采用免疫组化(SP 染色)法检测创面组织 CD34 阳性表达情况。石蜡切片经内源性酶灭活、抗原修复、封闭后依次添加 anti-CD34 抗体(1:200)及 IgG(1:5000)抗体孵育, PBS 洗涤后 DBA 显色。苏木素复染、脱水、透明,封片,显微镜下观察。细胞质出现棕褐色颗粒为阳性细胞,10 倍镜视野下选取微血管密集度区,40 倍镜视野下计数所有微血管。采用 MetaMorph-

LCI 型图像分析系统,分析创面组织 MVD^[11]。

1.3.6 创面组织中氧化应激相关指标检测

干预治疗 7 d、14 d 后,每组各选取 8 只大鼠,匀浆制备大鼠创面组织样品液,采用试剂盒通过生物化学法测定 MDA 及 SOD 活性水平,具体步骤参照其说明书指导进行。

1.3.7 创面组织中 Nrf2、Keap1 蛋白表达检测

采用免疫印迹(Western blot)法分别检测各组大鼠(与 1.3.6 共用 8 只大鼠)治疗 7 d、14 d 后创面组织中 Nrf2、Keap1 蛋白表达情况。采用试剂盒提取各组大鼠创面组织总蛋白后通过 BCA 法测定其浓度,具体步骤参照各自说明书指导进行,保存在 -80℃ 备用。蛋白样品上样后,以 SDS-PAGE 电泳进行分离,接着采用湿转实验将分离后的蛋白转移至 PVDF 膜,37.5℃ 下封闭,添加兔源 anti-Nrf2 一抗(稀释比例为 1:1000)、兔源 anti-Keap1 一抗(稀释比例为 1:1000)、兔源 anti-GAPDH 一抗(稀释比例为 1:5000),4℃ 冰箱中孵育 12 h, TBST 缓冲液洗膜,添加羊抗兔二抗 IgG(稀释比例为 1:5000)于 37.5℃ 下孵育, TBST 缓冲液洗膜后显色、曝光、拍照,观察结果并运用 Image J 软件分析蛋白灰度值。

1.4 统计学方法

实验数据都为计量资料,以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,并运用 SPSS 25.0 软件进行统计分析。多组间比较行单因素方差分析,进一步两两比较采用 SNK-*q* 检验。以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠体重、FBG 水平比较

治疗第 0 天各组大鼠体重之间比较无统计学意义($P > 0.05$),各组 DFU 组、Sal-L 组、Sal-M 组、Sal-H 组、MET 组大鼠 FBG 水平均高于 NC 组($P < 0.05$);治疗 7 d、14 d, DFU 组、Sal-L 组、Sal-M 组、Sal-H 组、MET 组大鼠体重、FBG 水平均高于 NC 组($P < 0.05$);与 DFU 组比较, Sal-L 组、Sal-M 组、Sal-H 组、MET 组大鼠体重、FBG 水平均显著降低($P < 0.05$),其中 Sal-L 组与 MET 组差异无统计学意义($P > 0.05$)。见图 1、图 2。

2.2 各组大鼠创面愈合率比较

治疗 7 d、14 d, DFU 组、Sal-L 组、Sal-M 组、Sal-H 组、MET 组大鼠创面愈合率均低于 NC 组($P < 0.05$);与 DFU 组比较, Sal-L 组、Sal-M 组、Sal-H 组、MET 组大鼠创面愈合率显著增加($P < 0.05$),其中 Sal-L 组与

MET 组差异无统计学意义($P>0.05$)。见图 3。

2.3 各组大鼠创面组织 MVD 比较

治疗 7 d、14 d,与 NC 组比较,DFU 组大鼠创面组织 CD34 阳性细胞及 MVD 显著降低($P<0.05$);

与 DFU 组比较,Sal-L 组、Sal-M 组、Sal-H 组、MET 组大鼠创面组织 CD34 阳性细胞及 MVD 显著增加($P<0.05$),其中 Sal-L 组与 MET 组差异无统计学意义($P>0.05$),见图 4,图 5,图 6。

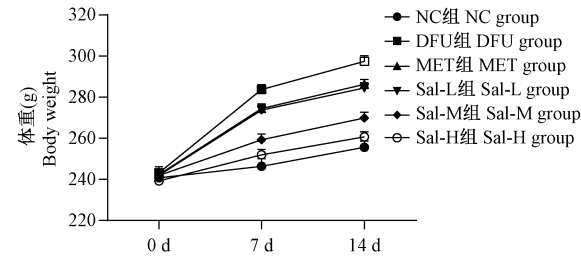


图 1 各组大鼠体重、FBG 水平比较

Figure 1 Comparison of body weight and FBG level of rats in each group

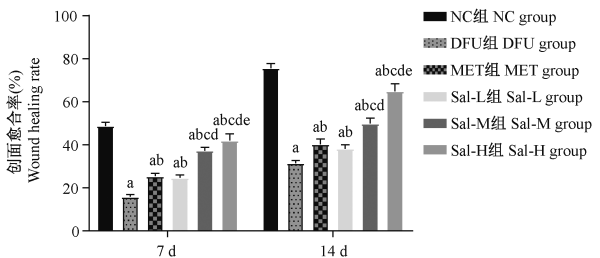


图 3 各组大鼠创面愈合率比较

Note. Compared with NC group, ^a $P < 0.05$. Compared with DFU group, ^b $P < 0.05$. Compared with MET group, ^c $P < 0.05$. Compared with Sal-L group, ^d $P < 0.05$. Compared with Sal-M group, ^e $P < 0.05$.

Figure 3 Comparison of wound healing rate of rats in each group

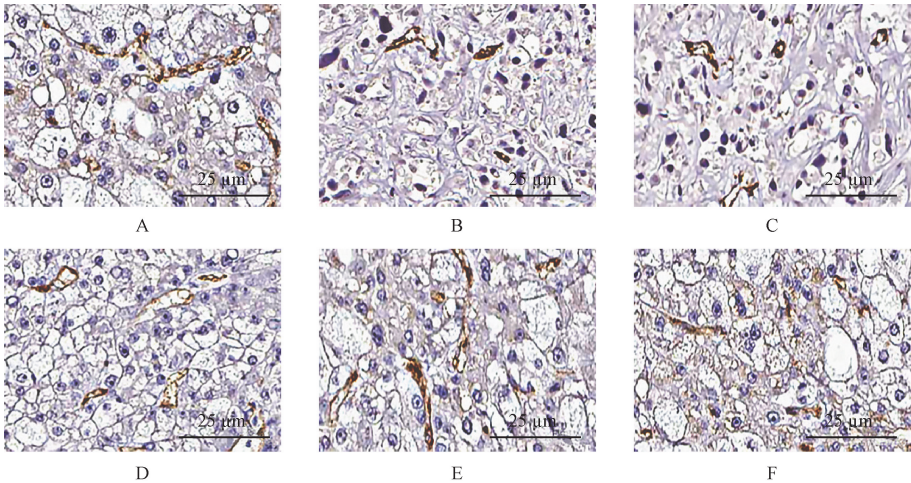


图 5 各组大鼠 7 d 创面组织微血管 CD34 蛋白表达比较

Note. A, NC group. B, DFU group. C, MET group. D, Sal-L group. E, Sal-M group. F, Sal-H group.

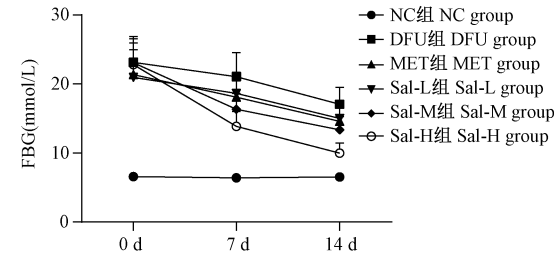
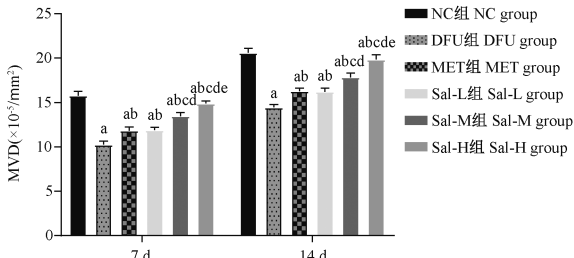


图 2 各组大鼠 FBG 水平比较

Figure 2 Comparison of FBG level of rats in each group



注:与 NC 组比较, ^a $P < 0.05$;与 DFU 组比较, ^b $P < 0.05$;与 MET 组比较, ^c $P < 0.05$;与 Sal-L 组比较, ^d $P < 0.05$;与 Sal-M 组比较, ^e $P < 0.05$ 。

图 4 各组大鼠创面组织 MVD 比较

Note. Compared with NC group, ^a $P < 0.05$. Compared with DFU group, ^b $P < 0.05$. Compared with MET group, ^c $P < 0.05$. Compared with Sal-L group, ^d $P < 0.05$. Compared with Sal-M group, ^e $P < 0.05$.

Figure 4 Comparison of MVD in wound tissue of rats in each group

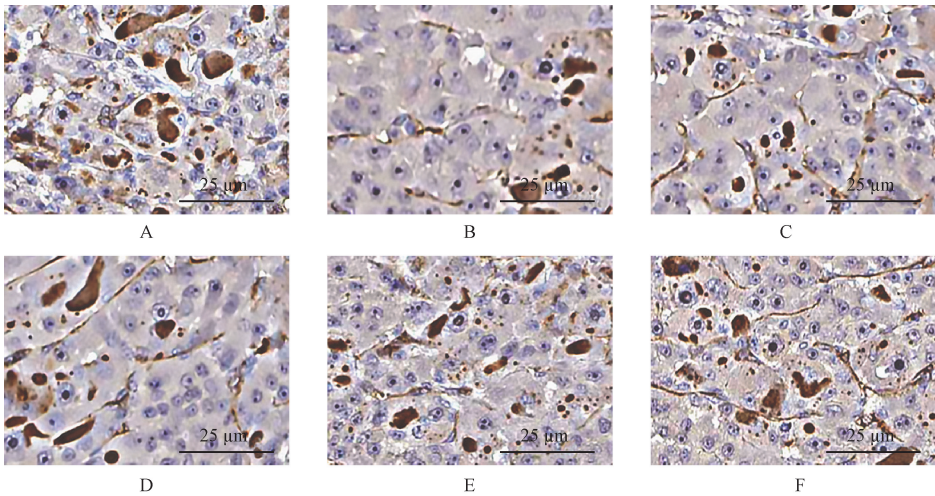
Figure 5 Comparison of CD34 protein expression in microvessels of wound tissues of rats in each group on day 7

2.4 各组大鼠创面组织氧化应激相关指标比较

治疗 7 d、14 d,与 NC 组比较,DFU 组大鼠创面组织 MDA 含量显著升高($P<0.05$),SOD 活性显著降低($P<0.05$);与 DFU 组比较,Sal-L 组、Sal-M 组、Sal-H 组、MET 组大鼠创面组织 MDA 含量显著降低($P<0.05$),SOD 活性显著增加($P<0.05$),其中 Sal-L 组与 MET 组差异无统计学意义($P>0.05$),详见图 7、图 8。

2.5 各组大鼠创面组织中 Nrf2、Keap1 蛋白表达量比较

治疗 7 d、14 d,与 NC 组比较,DFU 组大鼠创面组织中 Nrf2 蛋白表达量显著降低($P<0.05$)、Keap1 蛋白表达量升高($P<0.05$);与 DFU 组比较,Sal-L 组、Sal-M 组、Sal-H 组、MET 组大鼠创面组织 Nrf2 蛋白表达量显著增加($P<0.05$),Keap1 蛋白表达量显著降低($P<0.05$),其中 Sal-L 组与 MET 组差异无统计学意义($P>0.05$),详见图 9、图 10、图 11。

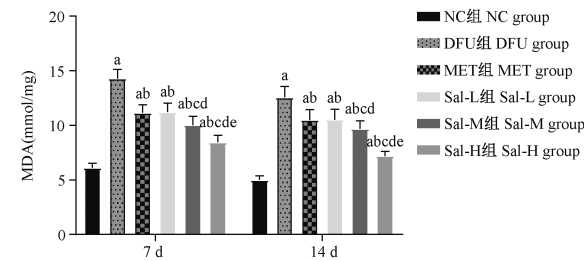


注:A:NC 组;B:DFU 组;C:MET 组;D:Sal-L 组;E:Sal-M 组;F:Sal-H 组。

图 6 各组大鼠 14 d 创面组织微血管 CD34 蛋白表达比较

Note. A, NC group. B, DFU group. C, MET group. D, Sal-L group. E, Sal-M group. F, Sal-H group.

Figure 6 Comparison of CD34 protein expression in microvascular tissue of 14 days in rats of each group

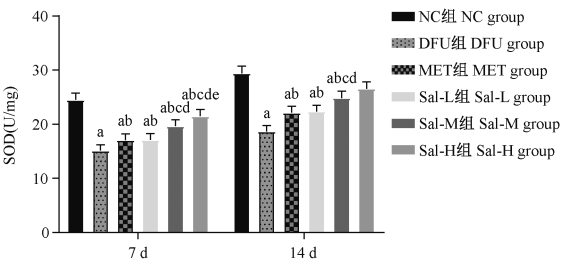


注:与 NC 组比较,^a $P<0.05$;与 DFU 组比较,^b $P<0.05$;与 MET 组比较,^c $P<0.05$;与 Sal-L 组比较,^d $P<0.05$;与 Sal-M 组比较,^e $P<0.05$ 。

图 7 各组大鼠创面组织氧化应激相关指标(MDA)比较

Note. Compared with NC group, ^a $P < 0.05$. Compared with DFU group, ^b $P < 0.05$. Compared with MET group, ^c $P < 0.05$. Compared with Sal-L group, ^d $P < 0.05$. Compared with Sal-M group, ^e $P < 0.05$.

Figure 7 Comparison of oxidative stress related indexes in wound tissue of rats in each group(MDA)



注:与 NC 组比较,^a $P<0.05$;与 DFU 组比较,^b $P<0.05$;与 MET 组比较,^c $P<0.05$;与 Sal-L 组比较,^d $P<0.05$;与 Sal-M 组比较,^e $P<0.05$ 。

图 8 各组大鼠创面组织氧化应激相关指标(SOD)比较

Note. Compared with NC group, ^a $P < 0.05$. Compared with DFU group, ^b $P < 0.05$. Compared with MET group, ^c $P < 0.05$. Compared with Sal-L group, ^d $P < 0.05$. Compared with Sal-M group, ^e $P < 0.05$.

Figure 8 Comparison of oxidative stress related indexes in wound tissue of rats in each group(SOD)

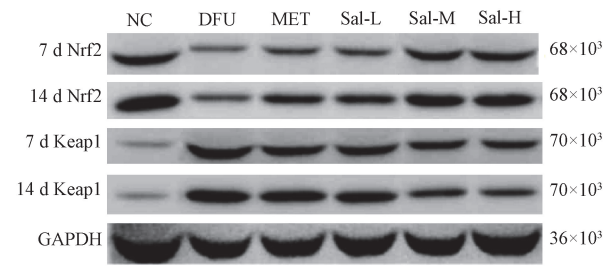
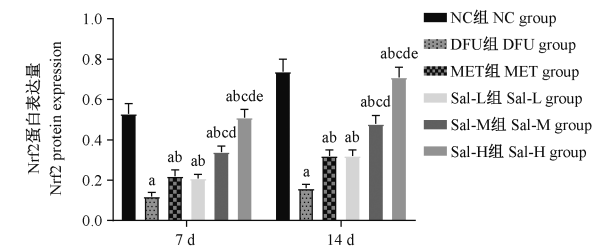


图9 Western blot 检测大鼠创面组织中 Nrf2、Keap1 蛋白表达

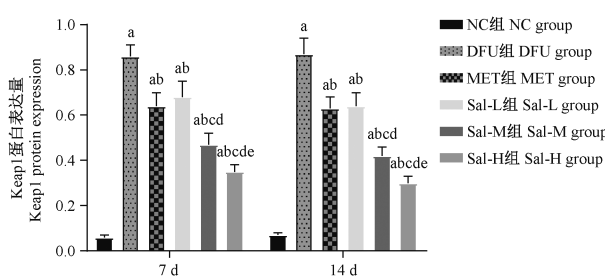
Figure 9 Expression of Nrf2 and Keap1 protein in wound tissue was detected by Western blot



注:与 NC 组比较, ^a $P < 0.05$;与 DFU 组比较, ^b $P < 0.05$;与 MET 组比较, ^c $P < 0.05$;与 Sal-L 组比较, ^d $P < 0.05$;与 Sal-M 组比较, ^e $P < 0.05$ 。

图10 各组大鼠创面组织中 Nrf2 蛋白表达量比较
Note. Compared with NC group, ^a $P < 0.05$. Compared with DFU group, ^b $P < 0.05$. Compared with MET group, ^c $P < 0.05$. Compared with Sal-L group, ^d $P < 0.05$. Compared with Sal-M group, ^e $P < 0.05$.

Figure 10 Comparison of Nrf2 protein expression in wound tissue of rats in each group



注:与 NC 组比较, ^a $P < 0.05$;与 DFU 组比较, ^b $P < 0.05$;与 MET 组比较, ^c $P < 0.05$;与 Sal-L 组比较, ^d $P < 0.05$;与 Sal-M 组比较, ^e $P < 0.05$ 。

图11 各组大鼠创面组织中 Keap1 蛋白表达量比较
Note. Compared with NC group, ^a $P < 0.05$. Compared with DFU group, ^b $P < 0.05$. Compared with MET group, ^c $P < 0.05$. Compared with Sal-L group, ^d $P < 0.05$. Compared with Sal-M group, ^e $P < 0.05$.

Figure 11 Comparison of Keap1 protein expression in wound tissue of rats in each group

3 讨论

慢性溃疡创面愈合是多种因素共同作用的结果,新生血管可为创面愈合提供血氧供应,其生成多少及快慢可影响 DFU 创面愈合,创面难愈与肉芽组织生长期气虚血瘀有关。中医理论亦认为,DFU 属“脱疽”、“消渴”范畴,该病主要病机为毒瘀阻络,因此治疗 DFU 重在清热解毒、活血化瘀、去腐生肌,活血通脉^[11]。Sal 是传统中药红景天主要活性成分之一,现代医学研究发现,Sal 具有抗氧化^[12]、抗细胞损伤、抗肿瘤等多种生物作用^[13]。韩静等^[14] 研究报道,Sal 可促进脑组织内源性神经再生,增加脑内神经营养因子表达,改善脑缺血损伤的神经行为学症状。赵红姝等^[15] 研究报道,高山红景天组方口服可降低糖尿病大鼠视网膜血管内皮生长因子表达,减少血管增生。侯丹等^[16] 研究报道,Sal 可能通过增加 Nrf2、HO-1 等蛋白表达,抑制氧化应激,改善糖尿病大鼠肝糖脂水平。因此本课题组推测,Sal 可能对 DFU 创面愈合有一定积极作用。本研究首先建立 DFU 大鼠模型,结果发现,与 NC 组比较,DFU 组、Sal-L 组、Sal-M 组、Sal-H 组、MET 组大鼠体质量、FBG 水平均显著升高,提示模型制备成功。经 Sal 治疗后,DFU 大鼠 FBG 水平显著降低,创面组织愈合率、CD34 阳性细胞及 MVD 显著增加,提示 Sal 可降低 DFU 大鼠血糖水平,促进血管新生,促进 DFU 创面愈合。

DFU 大鼠持续高糖状态可诱导机体活性氧 (reactive oxygen species, ROS) 含量增多,产生氧化应激,引起胰岛素 β 细胞损伤,转而加重病情,形成恶性循环,溃疡经久不愈。Nrf2/Keap1 是机体抗氧化损伤的关键信号通路,其中 Nrf2 是重要抗氧化因子,可通过核转位进入细胞核与氧化反应元件 (antioxidant responsive element, ARE) 启动 HO-1、SOD、GSH-PX 等抗氧化酶表达,而 Keap1 是 Nrf2 重要调节因子,可与 Nrf2 结合藕联呈复合物抑制 Nrf2 活性^[17-18]。Bitar 等^[19] 研究报道,氧化应激是慢性糖尿病并发症的主要因素,与 Nrf2 缺失导致的氧化应激积累密切相关。Hayashi 等^[20] 研究报道,Nrf2 通过加速细胞迁移参与角膜上皮创伤愈合过程,可能是治疗诸如干眼或慢性角膜上皮缺损等角膜上皮疾病的良好靶点。Rabbani 等^[21] 研究报道,抑制 Keap1 基因表达可加速糖尿病创面愈合。李丹等^[22] 研究报道,运动可通过激活大鼠心机 Keap1/Nrf2 信号通路,促进下游 SOD、GSH-PX 等抗氧化酶

表达,提高心肌抗氧化能力,抵抗糖尿病诱导的心肌氧化损伤。本研究结果发现,与 NC 组比较,DFU 组大鼠创面组织中 Nrf2 蛋白表达量、SOD 活性显著降低,Keap1 蛋白表达量、MDA 含量升高;与 DFU 组比较,Sal 可增加创面组织 Nrf2 蛋白表达量及 SOD 活性,降低 Keap1 蛋白表达量及 MDA 含量,提示 Sal 可能通过调节 Nrf2/Keap1 信号通路,促进抗氧化酶表达,提高 DFU 大鼠抗氧化能力,促进创面愈合。

综上所述,Sal 可能通过调节 Nrf2/Keap1 信号通路,增加 DFU 大鼠抗氧化能力,促进创面愈合,本研究首次探究 Sal 促进 DFU 大鼠创面愈合作用机制,可能对临床 DFU 治疗提供新的靶点及参考。但关于 Sal 外敷效果及促进 DFU 是否涉及其他信号通路共同参与尚不清楚,有待进一步深入探究。

参考文献:

- [1] Liu Y, Zhou S, Gao Y, et al. Electrospun nanofibers as a wound dressing for treating diabetic foot ulcer [J]. Asian J Pharm Sci, 2019, 14(2): 130-143.
- [2] Price BL, Morley R, Bowling FL, et al. Susceptibility of monomicrobial or polymicrobial biofilms derived from infected diabetic foot ulcers to topical or systemic antibiotics *in vitro* [J]. PLoS One, 2020, 15(2): e228704.
- [3] Wang A, Toma MA, Ma J, et al. Circular RNA hsa_circ_0084443 is upregulated in diabetic foot ulcer and modulates keratinocyte migration and proliferation [J]. Adv Wound Care (New Rochelle), 2020, 9(4): 145-160.
- [4] 李慧,孙乐栋.红景天苷抗衰老和抗氧化药理机制研究新进展[J].中国医药导报,2018,15(7):51-54,81.
- [5] 朴敏虎,王程瑜,李香丹,等.红景天苷对糖尿病肾病大鼠的治疗作用及其机制探讨[J].山东医药,2017,57(10):34-36.
- [6] Chang X, Luo F, Jiang W, et al. Protective activity of salidroside against ethanol-induced gastric ulcer via the MAPK/NF-kappaB pathway *in vivo* and *in vitro* [J]. Int Immunopharmacol, 2015, 28(1): 604-615.
- [7] 左玮,张波,梅丹.红景天苷对乙酰氨基酚诱导肝损伤模型小鼠 Keap1-Nrf2 信号通路的影响 [J]. 中国药房,2018,29(11): 1487-1490.
- [8] 李俊,冯丽洁,刘一平.有氧运动对 2 型糖尿病大鼠血管炎症及 Nrf2/ARE 信号通路的影响 [J]. 免疫学杂志,2019,35

(2): 179-184.

- [9] 李友山,郑琪,冀凌云,等.改良 STZ 法制备糖尿病足溃疡大鼠模型 [J]. 辽宁中医杂志,2016,43(1): 158-160.
- [10] 冷伟,陈明霞,刘春莹,等.红景天苷对链尿佐菌素诱导的糖尿病肾病大鼠肾间质纤维化的改善作用及机制研究 [J]. 卫生研究,2019,48(3): 366-373.
- [11] 郑琪,李友山.四效散对糖尿病足溃疡大鼠创面愈合的影响 [J]. 中国实验方剂学杂志,2017,23(22): 114-118.
- [12] 范芳芳,郭非非,张雯,等.基于网络药理学的藏药大花红景天抗氧化应激分子机制研究 [J]. 中国中药杂志,2018,43(9): 1789-1797.
- [13] 孙安琪,颜天华,巨修练.红景天苷药理作用及分子机制的研究进展 [J]. 时珍国医国药,2018,29(6): 1440-1443.
- [14] 韩静,张继州,肖庆,等.红景天苷促大鼠脑缺血再灌注组织的神经再生作用 [J]. 中国药理学与毒理学杂志,2016,30(10): 1015.
- [15] 赵红姝,魏文斌.高山红景天组方对糖尿病鼠视网膜中 VEGF 表达的影响 [J]. 眼科研究,2010,28(6): 513-518.
- [16] 候丹,许光远,张苗,等.红景天苷改善糖尿病大鼠肝脏脂质水平的作用机制 [J]. 中国实验方剂学杂志,2019,25(1): 130-134.
- [17] 胡流芳,王迎,任汝静,等.Keap1-Nrf2/ARE 信号通路的抗氧化应激作用及其调控机制 [J]. 国际药学研究杂志,2016,43(1): 146-152,166.
- [18] Danilovic D, de Mello ES, Frazzato E, et al. Oncogenic mutations in KEAP1 disturbing inhibitory Nrf2 - Keap1 interaction: Activation of antioxidative pathway in papillary thyroid carcinoma [J]. Head Neck, 2018, 40(6): 1271-1278.
- [19] Bitar MS, Al-Mulla F. A defect in Nrf2 signaling constitutes a mechanism for cellular stress hypersensitivity in a genetic rat model of type 2 diabetes [J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2011, 301(6): E1119-E1129.
- [20] Hayashi R, Himori N, Taguchi K, et al. The role of the Nrf2-mediated defense system in corneal epithelial wound healing [J]. Free Radic Biol Med, 2013, 61(1): 333-342.
- [21] Rabbani PS, Zhou A, Borab ZM, et al. Novel lipoproteoplex delivers Keap1 siRNA based gene therapy to accelerate diabetic wound healing [J]. Biomaterials, 2017, 132(1): 1-15.
- [22] 李丹,王世强.运动对 Keap1/Nrf2 信号通路增强糖尿病大鼠心肌抗氧化能力的影响 [J]. 中国糖尿病杂志,2019,27(5): 386-392.

[收稿日期] 2020-09-25