

DOI 10.19656/j.cnki.1002-2406.20230908

证治探析

糖尿病阴证大鼠创面模型的制备

周佳俞¹, 陈丽¹, 康瀚云¹, 丁雅容¹, 王巍¹, 袁忠行¹, 雷嘉欣¹, 周忠志^{2✉}

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

【摘要】目的:探讨糖尿病阴证大鼠创面模型的制备方法。方法:雄性SD大鼠36只,随机分为正常创面组、糖尿病创面组和糖尿病阴证创面组。除正常创面组外,其余两组大鼠采用2 mL高脂乳剂灌胃14 d,予以一次性腹腔注射50 mg/kg STZ-柠檬酸钠混合液,糖尿病阴证创面组大鼠按2 mg/(kg·d)肌肉注射氢化可的松;同时正常创面组灌胃饮用水,腹腔注射生理盐水。7 d后3组大鼠均进行创面手术,观察大鼠一般情况,进行OGTT试验,观察胰腺组织形态以及创面愈合率。结果:糖尿病阴证创面组造模成功率91.7%;与正常创面组比较,糖尿病创面组与糖尿病阴证创面组大鼠血糖明显升高($P < 0.05$),且存在胰岛素抵抗;脏器指数显示,糖尿病阴证创面组较其余两组降低($P < 0.05$);胰腺HE染色表明,正常创面组大鼠胰腺组织肥厚,胰岛完整,而糖尿病创面组与糖尿病阴证创面组胰岛边界模糊,β细胞消融。创面形态方面,糖尿病阴证创面组相较于正常创面组和糖尿病创面组的愈合率较低($P < 0.01$),HE染色可见糖尿病阴证创面组全层皮肤较前两组薄,表皮生长不平整,炎细胞浸润,细胞排列紊乱。结论:给予SD大鼠2 mL高脂乳剂灌胃14 d后,予以一次性腹腔注射50 mg/kg STZ-柠檬酸钠混合液联合2 mL/kg肌肉注射氢化可的松注射液7 d后行创面手术,可建立稳定高效的糖尿病阴证大鼠创面模型。

【关键词】糖尿病阴证;链脲佐菌素;氢化可的松;大鼠模型

【引用格式】

周佳俞,陈丽,康瀚云,等. 糖尿病阴证大鼠创面模型的制备[J]. 中医药信息, 2023, 40(9): 46-53.

ZHOU J Y, CHEN L, KANG H Y, et al. Establishment of wound model of diabetes rats with yin syndrome [J]. Information on TCM, 2023, 40(9):46-53.

糖尿病及其并发症已成为严重影响人类健康的全球性公共卫生问题之一,国际糖尿病联盟(IDF)统计显示,截至2021年我国糖尿病患者超过1.4亿人,其中糖尿病创面发病率高达20%^[1],给家庭和社会带来了沉重负担。糖尿病创面多发展为慢性难愈性创面,患者患病日久、体弱纳差、创面色泽晦暗、生长迟缓、迁延难愈,中医辨证为“阴证”范畴^[2]。为了进一步探究糖尿病创面的病因病机与治疗方法,建立稳定的高质量动物模型是当务之急。目前制备糖尿病、阴证等动物模型的方法多样^[3-4],但仍然存在造模方法不统一、模型不稳定、可重复性不高等问题。本实验针对糖尿病

创面特点并结合前期研究基础建立糖尿病阴证创面动物模型,从动物体征、创面病理改变等角度进行评价,意在对相关模型的建立提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

SPF级雄性SD大鼠(湖南中医药大学实验动物中心),36只,体质量180~200 g。饲养条件:温度22℃左右,相对湿度40%~60%,每12 h光照、黑暗交替,独立通风系统(IVC),3只一笼。实验动物质量合格证号:1107272011007366;实验动物生产许可证号:SYXK

基金项目:国家自然科学基金项目(81973862,82074447);2021年度湖南省大学生创新创业训练计划项目(S202110541037);湖南省卫生健康委2023年度科研计划项目(C202304039570,D202304039377);湖南省卫生健康委2019年度科研计划项目(C2019089)

第一作者简介:周佳俞(2000-),女,主要研究方向:中西医结合临床。

✉通信作者简介:周忠志(1974-),男,主任医师,主要从事中西医结合创面修复与再生研究工作。

(湘)2019-0004;实验单位使用许可证号:SYXK(湘)2019-0009;本研究已通过湖南中医药大学实验动物伦理审查委员会审批,批准号:LL2020071401。

1.1.2 主要试剂

高脂乳剂组成:精制猪油(产品标志号:GB/T8937);6-正丙基-2-硫代尿嘧啶(上海源叶生物科技有限公司,货号:530643);胆酸钠(上海源叶生物科技有限公司,货号:S30219);胆固醇(北京索莱宝生物科技有限公司,货号:C8280);吐温-80(北京索莱宝生物科技有限公司,货号:T8360);1,2-丙二醇(北京索莱宝生物科技有限公司,货号:YZ-190001)。SPF级大小鼠维持饲料(华阜康公司,货号:1022);链脉佐菌素(streptozotocin,STZ)(北京索莱宝生物科技有限公司,货号:S8050);0.1%柠檬酸钠缓冲液(北京索莱宝生物科技有限公司,货号:C1013);戊巴比妥钠(西格玛奥德里奇贸易有限公司,货号:11715);氢化可的松(上海源叶生物科技有限公司,货号:B61935);苏木素、伊红、返蓝液(塞维儿生物科技有限公司)。

1.1.3 主要仪器

微单相机[索尼(中国)有限公司];切片机、显微镜(徕卡公司);数字切片扫描系统(3DHISTECH公司);YK-8生物组织摊烤片机(湖北耀楚医疗器械科技有限公司)。

1.2 分组与模型建立

36只SD大鼠,随机分为正常创面组、糖尿病创面组和糖尿病阴证创面组。适应性喂养后给予充足饮食,除正常创面组外,其余两组大鼠连续14d灌胃高脂乳2mL/d^[5],选择一次性腹腔注射50mg/kgSTZ-柠檬酸钠混合液,同期正常创面组大鼠灌胃饮用水、腹腔注射生理盐水。尾静脉采血测定大鼠血糖值,若血糖值连续3d≥16.7mmol/L,并糖耐量试验阳性,则认为糖尿病造模成功。

糖尿病阴证创面组大鼠按2mL/kg剂量,连续7d左右腿交替肌内注射氢化可的松注射液,其余组注射等量生理盐水。若大鼠创面渗液清稀、肉色灰暗,表现出喜静懒动、纳差便溏、体质量减低等阴证症状,则认为糖尿病阴证造模成功。造模成功后第1天各组大鼠麻醉后

备皮、消毒,然后在背部裸区距正中线1.5cm处,手术构建全层皮肤缺损创面,术后置于电热毯保温,若术后及时恢复活动,3d未出现死亡,则认为创面造模成功。

1.3 观察指标

1.3.1 一般情况

以3d为周期测量并记录每只大鼠体质量、饮食、饮水、随机血糖。

1.3.2 糖耐量检测

口服糖耐量(OGTT)试验:随机选取每组大鼠各10只,禁食不禁水过夜,然后给予50%葡萄糖溶液(2g/kg)灌胃,分别于灌胃后0、30、60、120min测量大鼠尾静脉血糖值。

1.3.3 创面愈合情况

肉眼观察各组大鼠的创面颜色、创面形状、肿胀程度、渗液量、皮肤收缩情况。在造模后、第7、14天放置标尺于创面相机拍照,并使用ImageJ图像分析软件获取创面面积数据,计算愈合面积所占百分比(A)。

$A(\%) = (\text{造模前创面面积} - \text{造模后创面面积}) / \text{造模后创面面积} \times 100\%$

1.3.4 病理形态观察

处死后取材皮肤组织、胰腺检测。脱水、包埋、切片、脱蜡、HE染色、中性树脂封片,使用3DHISTECH SlideViewer系统阅片并拍摄图片。

1.3.5 脏器指数

大鼠取材时选取肾、脾、肾上腺、胸腺,称湿重,用取材时体质量计算器官体质量分数并进行统计学处理。

1.4 统计学方法

使用SPSS 26.0软件进行统计学处理。计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,运用ANOVA单因素方差分析方法。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 大鼠成模率、死亡率统计

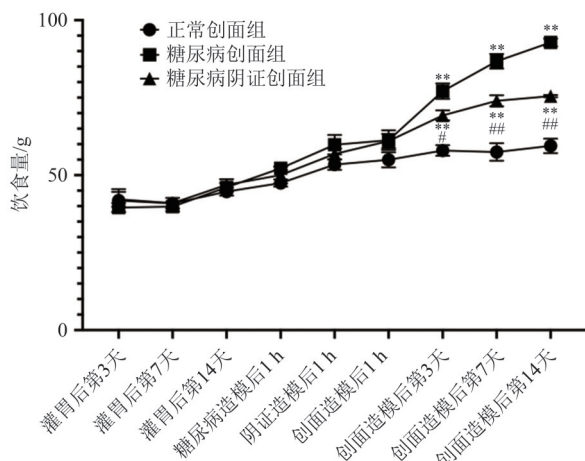
动物饲养与灌胃期间,大鼠健康活泼,状态良好,糖尿病造模后血糖不达标大鼠1只,阴证造模后饲养后期,因虚弱死亡大鼠1只,均予剔除数据。糖尿病创面组与糖尿病阴证创面组造模成功率均为91.7%。结果见表1。

表1 造模成功率及失败原因

组别	造模成功	成功率/%	造模失败原因		
			血糖不达标	糖尿病造模后死亡	阴证造模后死亡
正常创面组	12	100.0	—	—	—
糖尿病创面组	11	91.7	1	—	—
糖尿病阴证创面组	11	91.7	—	—	1

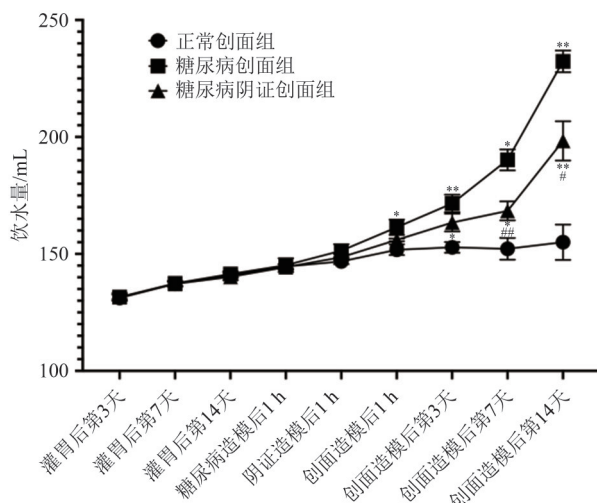
2.2 饮食、饮水、体质量情况比较

实验期间大鼠的体质量、饮食饮水量缓慢增长。糖尿病造模后,糖尿病创面组、糖尿病阴证创面组大鼠较正常创面组出现明显的多饮多食现象,差异有统计学意义($P < 0.05$),创面造模后糖尿病创面组比糖尿病阴证创面组变化更显著($P < 0.05$);正常创面组大鼠体质量持续增长,糖尿病创面组和糖尿病阴证创面组大鼠于创面造模后体质量明显下降,低于正常创面组大鼠($P < 0.05$),其中糖尿病阴证创面组较糖尿病创面组降幅更大($P < 0.05$)。结果见图1~图3。



注:与正常创面组比较,** $P < 0.01$;与糖尿病创面组比较,* $P < 0.05$,
$P < 0.01$ 。

图1 各时间点不同组别大鼠饮食量变化趋势折线图



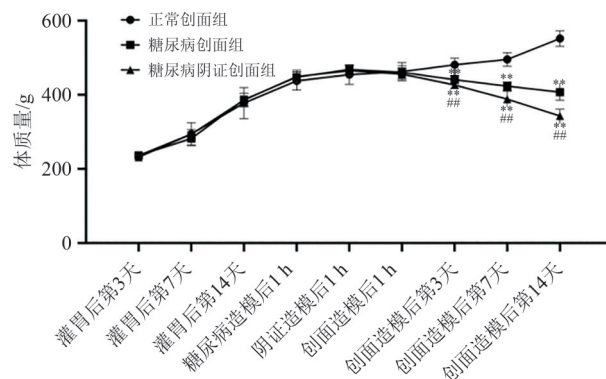
注:与正常创面组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与糖尿病创面组比较,* $P < 0.05$,## $P < 0.01$ 。

图2 各时间点不同组别大鼠饮水量变化趋势折线图

2.3 血糖

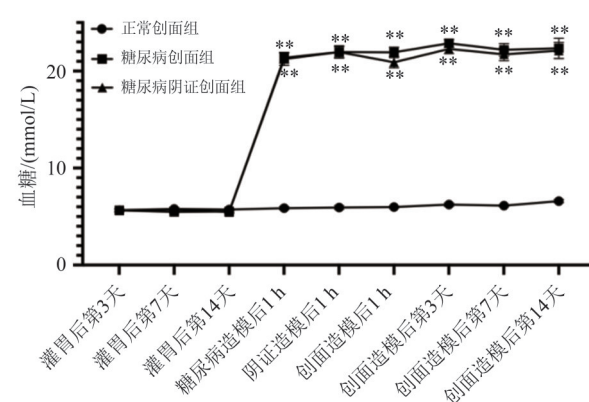
糖尿病造模前,3组大鼠随机血糖浓度均属正常范围,血糖值低于16.7 mmol/L。糖尿病造模后,糖尿病创面组与糖尿病阴证创面组大鼠血糖浓度明显高于正常创面组(17.1~26.2 mmol/L),差异有统计学意

义($P < 0.05$)。结果见图4。



注:与正常创面组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与糖尿病创面组比较,
$P < 0.01$ 。

图3 各时间点不同组别大鼠体质量变化趋势折线图

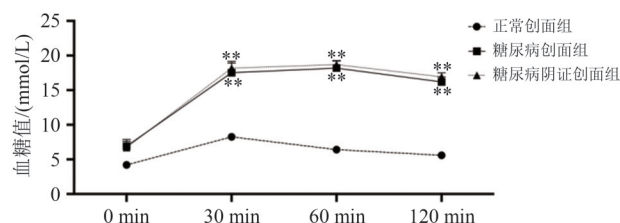


注:与正常创面组比较,** $P < 0.01$ 。

图4 各时间点不同组别大鼠血糖变化趋势折线图

2.4 OGTT试验测定结果

OGTT试验结果表明,正常创面组、糖尿病创面组及糖尿病阴证创面组在未给予葡萄糖负荷前,均表现为非高血糖状态(< 13.6 mmol/L)。给予葡萄糖负荷后,正常创面组血糖出现上升且在30 min达到高峰,而后逐步下降,全程未出现高血糖状态。而糖尿病创面组及糖尿病阴证创面组血糖值高居不下,血糖清除明显减缓,30、60、120 min均高于正常创面组且表现为高血糖状态,差异有统计学意义($P < 0.01$)。以上结果说明,糖尿病创面组及糖尿病阴证创面组大鼠存在胰岛素抵抗。结果见图5。



注:与正常创面组比较,** $P < 0.01$ 。

图5 OGTT试验不同时间点各组平均血糖曲线

2.5 脏器指数

取材后,糖尿病阴证创面组大鼠肾脏、脾脏、肾上腺、胸腺脏器指数均低于其余两组,差异有统计学意义

($P < 0.05, P < 0.01$);糖尿病创面组各类脏器指数高于正常创面组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结果见表2和表3。

表2 各组7 d脏器指数比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	n	脏器指数/%			
		肾脏	脾脏	肾上腺	胸腺
正常创面组	6	0.604 ± 0.018	0.256 ± 0.010	0.315 ± 0.022	0.190 ± 0.004
糖尿病创面组	5	0.730 ± 0.014**	0.287 ± 0.017**	0.345 ± 0.022*	0.195 ± 0.005
糖尿病阴证创面组	5	0.594 ± 0.032**	0.245 ± 0.015**	0.299 ± 0.021**	0.187 ± 0.004*
F 值		58.694	11.897	5.523	4.602
P 值		0.000	0.001	0.018	0.031

注:与正常创面组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与糖尿病创面组比较,** $P < 0.01$ 。

表3 各组14 d脏器指数比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	n	脏器指数/%			
		肾脏	脾脏	肾上腺	胸腺
正常创面组	6	0.644 ± 0.030	0.263 ± 0.012	0.338 ± 0.046	0.176 ± 0.005
糖尿病创面组	6	0.761 ± 0.021**	0.289 ± 0.008**	0.407 ± 0.066*	0.196 ± 0.009**
糖尿病阴证创面组	6	0.609 ± 0.015***	0.244 ± 0.009***	0.251 ± 0.044***	0.139 ± 0.005***
F 值		72.425	32.310	13.051	105.000
P 值		0.000	0.000	0.001	0.000

注:与正常创面组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与糖尿病创面组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$ 。

2.6 创面形态观察

正常创面组在第7天创面干净,痂皮缩小且较薄;第14天,创面残存少许痂壳,基本修复。糖尿病创面组在第7天创面有痂皮形成,出现流脓渗血;第14天,创周痂皮基本干燥,修复趋势明显,上述各时间点与正常创

面组比较,愈合效果差,差异有统计学意义($P < 0.01$)。糖尿病阴证创面组在第7天,创面干燥,痂皮完整,创周有明显收势;第14天,创面色泽晦暗污秽,修复迟缓,各时间点与正常创面组、糖尿病创面组比较,愈合效果更差,差异有统计学意义($P < 0.01$)。见图6~图7。

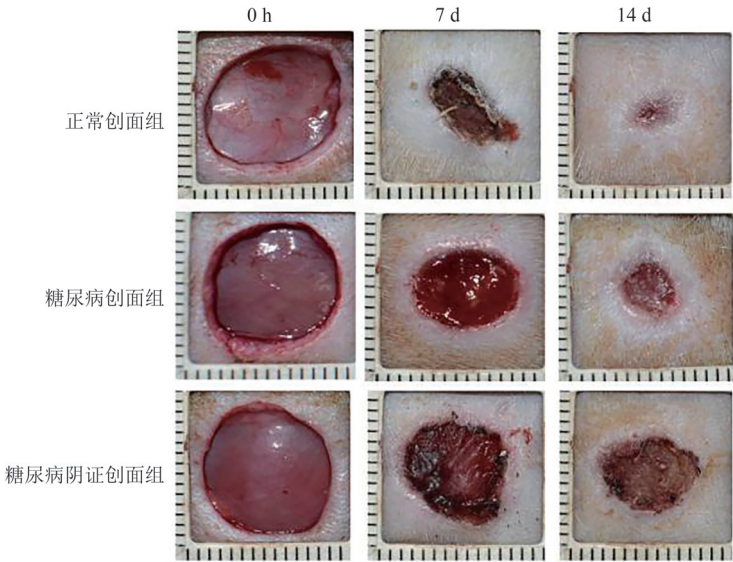


图6 各时间点大鼠创面肉眼观图

2.7 病理切片 HE 染色

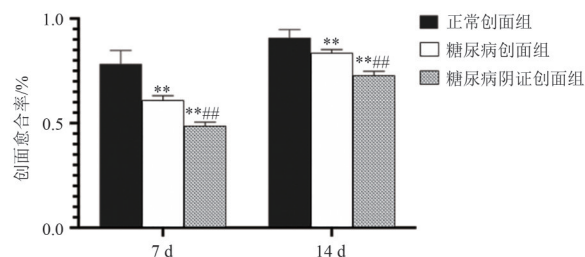
2.7.1 皮肤组织

造模后第7天:正常创面组创缘平整且薄,创面被新生肉芽组织覆盖,组织结构清楚(图8A1),肉芽组织和毛细血管较丰富,可见丰富细密而平行排列的胶原

纤维(图8A2);糖尿病创面组生长缓慢,创面尚未有新生组织填充,创缘结构紊乱,痂皮、表皮层脱落(图8B1),新生细胞少,炎细胞浸润明显(图8B2);糖尿病阴证创面组生长迟缓,有厚重痂皮覆盖(图8C1),边缘可见纤细的胶原纤维向中央爬行(图8C2)。

造模后第 14 天:正常创面组表皮层出现且表面平整,各层组织细胞排列有序(图 8A3),粗壮的胶原纤维排列整齐,填满缺损,炎细胞消退,肉芽组织趋于成熟,甚至可见毛囊生发,创面基本愈合(图 8A4);糖尿病创面组皮肤组织肥厚,分泌物堆积,中间缺失(图 8B3),可见明显的肉芽组织生长、爬行趋势,结构层次较紊乱,胶原排列疏松且不规则,伴有少量炎细胞浸润,表皮层尚未形成(图 8B4);糖尿病阴证创面组可见全层皮肤较前两组薄,出现不连续的新生表皮覆盖,表皮生长不平整,尚未完全填充创面(图 8C3),

创面中成纤维细胞数量多,有炎细胞浸润,细胞排列紊乱(图 8C4)。



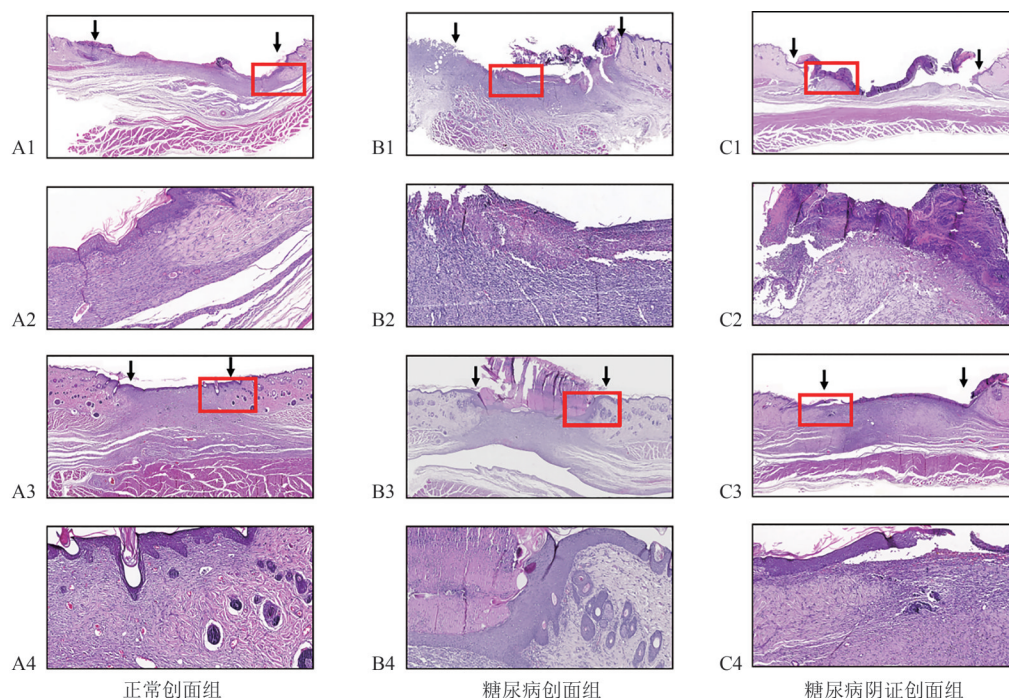
注:与正常创面组比较,** $P < 0.01$;与糖尿病创面组比较,### $P < 0.01$ 。

图 7 各组创面愈合率情况比较

表 4 各组不同时间大鼠创面愈合率比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	第 7 天		第 14 天	
	创面数量	愈合率及统计量	创面数量	愈合率及统计量
正常创面组	24	0.783 ± 0.065	12	0.908 ± 0.039
糖尿病创面组	22	$0.610 \pm 0.107^{**}$	12	$0.853 \pm 0.041^{**}$
糖尿病阴证创面组	22	$0.501 \pm 0.083^{**\#\#}$	12	$0.745 \pm 0.053^{**\#\#}$
F 值		62.473		40.944
P 值		0.000		0.000

注:与正常创面组比较,** $P < 0.01$;与糖尿病创面组比较,### $P < 0.01$ 。



注:黑色箭头所示为创面直径范围;红色方框所示为创缘微观图像放大。

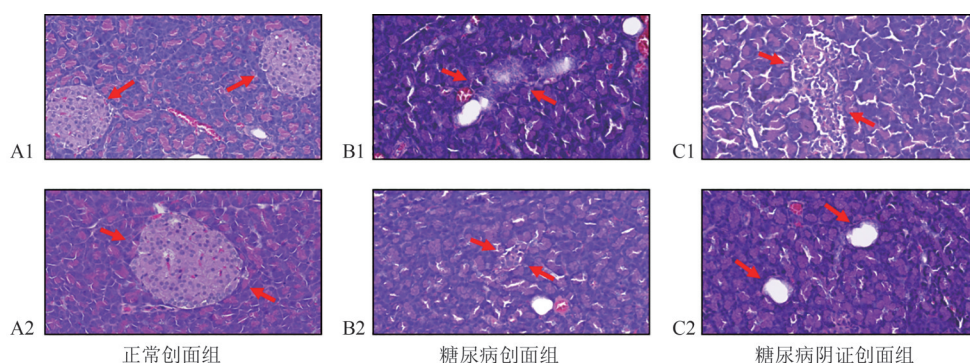
图 8 创面病理形态观察(HE, $\times 20, \times 100$)

2.7.2 胰腺

造模后第 7 天:正常创面组大鼠胰腺组织肥厚、完整,胰岛数量多,呈类圆形,胰岛 β 细胞呈索状排列,细胞大小一致,细胞颗粒淡染,核染色质清晰,胞浆界线清楚(图 9A1);而糖尿病创面组大鼠胰腺组织萎缩,胰岛处于逐渐消失状态,胰岛边界模糊,胞浆有空泡形成(图 9B1);糖尿病阴证创面组胰岛边界消融,胰岛 β 细

胞排列紧密(图 9C1)。

造模后第 14 天:正常创面组大鼠胰腺组织愈加肥厚,胰岛多且大(图 9A2);糖尿病创面组大鼠胰岛缩小甚至消失, β 细胞皱缩,溶界消失(图 9B2);糖尿病阴证创面组胰岛边界不均,排列稀疏,细胞核淡染,出现大量空泡(图 9C2)。



注:红色箭头所指为胰岛区域。

图9 胰腺病理形态观察(HE染色,×400)

3 讨论

全球糖尿病患者约4.63亿,其中难愈合创面并发率高达20%^[1],严重危害人类健康,给社会和家庭带来沉重负担。糖尿病慢性创面临床过程中常出现创面平塌、色泽灰白、渗液清稀、神疲乏力、生肌长肉迟缓等表现,有缠绵难愈、易于复发的特点,属于“阴证”范畴,严重时成为“脱疽”。中医学采用箍围、熏洗等外治方法治疗糖尿病并发症取得了良好的治疗效果^[6-7]。糖尿病迁延日久,阳气虚衰,温煦推动失职,气血瘀滞,而气血不达肌表,阻碍新肉化生,创面迁延难愈^[8]。这与糖尿病状态下机体代谢功能减弱、生长减缓等因素相符,创面特征为愈合受损、炎症延长和上皮化动力学降低^[9]。因此,本实验模拟糖尿病慢性创面患者临床特征,制备糖尿病阴证创面大鼠模型,观察动物疾病特征、创面发展现象,建立合适的动物模型,并提供实验依据。

目前建立糖尿病大鼠模型的有效方法是使用胰岛细胞特异性毒性药物STZ破坏胰岛细胞,通过影响胰岛素基因的转录翻译,直接减少胰岛素分泌,同时针对胰岛细胞对氧化应激不耐受的特性,STZ直接诱导可造成胰岛细胞DNA断裂,造成胰岛细胞功能障碍并死亡,胰岛形态破坏^[10]。当前,注射STZ主要包括腹腔、肌肉、尾静脉注射等方法,其中,腹腔注射因操作简单、伤害小,且能有效避免因推注造成的血容量增长过快所致的心衰问题,成为目前主要的给药方式^[11]。研究表明,高脂饮食可以引起糖脂代谢异常,影响胰岛素信号传导等途径,降低胰岛素敏感性,从而诱发胰岛素抵抗造成肥胖基础,之后采用高脂饮食配合高浓度高剂量单次注射STZ破坏胰岛是成功制备糖尿病大鼠模型的有效方法^[12]。

阴证模型主要通过免疫抑制进行诱导,包括物理射线照射、注射免疫抑制剂等方法^[13],其中通过大剂量注射糖皮质激素诱导的阴证模型所表现出的蜷

缩、皮温下降、大便溏稀、创面局部晦暗、脓液清稀,肉芽红而不泽等表现与糖尿病创面患者临床表现更为相似^[14]。糖皮质激素在局部稳态、细胞发育和免疫细胞激活中具有重要的生理作用^[15],而糖皮质激素过度使用会通过诱导淋巴细胞死亡并抑制免疫细胞的各项功能而发挥免疫抑制作用,从而影响胸腺、脾脏等免疫器官;并通过下丘脑-垂体-肾上腺轴(hypothalamic-pituitary-adrenal axis, HPA)影响内分泌、消化系统^[16-19],对大鼠造成全身改变,如喜静怠动、纳差便溏、形体消瘦等。这些表现与中医理论中阴证特点相符合,且病理机制与脾、肾等脏腑密切相关^[20]。现代研究认为,HPA的功能障碍是阳虚的病理基础,同时脏器指数降低说明造模后HPA调节紊乱,脾、肾等功能下降^[21-22]。此外,糖皮质激素直接影响物质代谢,通过抑制外周组织对葡萄糖的利用、加剧糖尿病,促进蛋白质分解同时抑制蛋白质合成、促进脂肪分解,减少细胞能量供应,造成大鼠体质量下降,消化吸收功能减弱^[23]。糖皮质激素甚至存在阻碍创面皮肤愈合、导致皮肤萎缩的副作用^[24]。

针对创面模型的制备,主要有全层皮肤切除术^[25]、皮肤磁片压迫法^[26]、高温烫伤法^[27]等,实验过程中发现打孔器难以穿透皮肤或造成创面位置不统一;皮肤磁片压迫法、温度诱导法操作难度大、创面深度及面积不可控,且大鼠温度耐受不同,综上本实验选择了直接手术法。

本实验结果表明,糖尿病造模后的大鼠阴证症状突出,表现为毛发粗糙杂乱,二便剧增,气味烘臭、毛发黯淡污秽、行动迟缓、蜷缩畏寒、大便溏稀等。与正常创面组比较,糖尿病阴证创面组与糖尿病创面组大鼠血糖明显升高($P < 0.05$),维持在17.1~26.2 mmol/L;OGTT试验结果提示,糖尿病阴证创面组及糖尿病创面组大鼠存在胰岛素抵抗。相较于正常创面组,糖尿病阴证创面组与糖尿病创面组表现出糖尿病多饮、多

食、体质量减轻等症状($P < 0.05$)。糖尿病阴证创面组大鼠肾脏、脾脏、肾上腺、胸腺脏器指数低于其余两组,糖尿病创面组各类脏器指数高于正常创面组($P < 0.05$)。HE染色结果表明,正常创面组大鼠胰腺组织肥厚,胰岛完整,而糖尿病阴证创面组与糖尿病创面组胰岛边界模糊, β 细胞消融;第14天较第7天胰腺组织消融更明显。创面修复情况显示:糖尿病阴证创面组相较于糖尿病创面组、正常创面组修复速度明显缓慢,第7、14天时间点创面愈合率均更低($P < 0.01$)。且糖尿病阴证创面组HE切片染色可见全层皮肤较前两组薄,出现不连续的新生表皮覆盖,表皮生长不平整,创面中成纤维细胞数量多,有炎细胞浸润,细胞排列紊乱。综上所述,本实验建立的大鼠糖尿病阴证创面模型确有依据且符合中医辨证思路。本研究在取材过程中发现糖尿病阴证创面组大鼠脾、肾萎缩显著,有别于其他组,今后有望从此着手深入探究脾肾阳虚模型机制。

目前已有大鼠糖尿病创面模型^[13]、小鼠糖尿病阴证创面模型^[5]等相关研究,方法均为分步依次造模。但是大鼠糖尿病阴证创面模型各步骤造模方法尚未统一,模型效果也存在差距,影响了相关实验的稳定性与可重复性。本团队所采用的通过2 mL高脂乳剂灌胃14 d后,予以一次性腹腔注射50 mg/kg STZ-柠檬酸钠混合液联合2 mL/kg肌内注射氢化可的松注射液7 d后行创面手术,可建立稳定高效的糖尿病阴证大鼠创面模型。同时探索出制备符合中医阴证证候的糖皮质类激素的适宜浓度与注射方法,提高了糖尿病大鼠阴证创面的稳定性和可重复性,具有一定的推广意义。

【参考文献】

- [1] LIU J, BAI R, CHAI Z, et al. Low- and middle-income countries demonstrate rapid growth of type 2 diabetes: an analysis based on Global Burden of Disease 1990—2019 data[J]. *Diabetologia*, 2022, 65(8): 1339–1352.
- [2] 蒋安, 彭鑫. 浅谈皮肤病辨治中的广义阴证[J]. *四川中医*, 2019, 37(1): 23–25.
- [3] 贾湘隆, 徐旭英, 谢书睿. 糖尿病大鼠皮肤溃疡阴证模型[J]. *动物医学进展*, 2019, 40(1): 106–109.
- [4] 李媛, 赵光明, 董建勋, 等. 中医证相符的糖尿病慢性皮肤溃疡大鼠造模方法初探[J]. *中国实验动物学报*, 2014, 22(1): 63–66, 12.
- [5] 侯铖宇, 陈丽, 周忠志, 等. 高成模率和高稳定性的小鼠2型糖尿病阴证创面模型制备方法[J]. *中国中医基础医学杂志*, 2022, 28(5): 709–713, 809.
- [6] 寻毅, 周耀, 易祥龙, 等. 温阳生肌膏联合带蒂复合组织皮瓣治疗压力性损伤的临床观察[J]. *中国现代医生*, 2022, 60(12): 144–147.
- [7] 王广宇, 王雨, 王雷永, 等. 以“生肌三法”为代表的方药对糖尿病足伴慢性疮面作用机制的探讨[J]. *世界中医药*, 2020, 15(14): 2116–2121.
- [8] 易祥龙, 陈其华, 陈丽, 等. 基于“阳虚阴结”理论应用温阳化痰法治疗糖尿病足溃疡[J]. *中国中医药信息杂志*, 2022, 29(2): 144–146.
- [9] HOLL J, KOWALEWSKI C, ZIMEK Z, et al. Chronic Diabetic wounds and their treatment with skin substitutes[J]. *Cells*, 2021, 10(3): 655.
- [10] SOMMER K, JAKOB H, REICHE C, et al. 11, 12-epoxyeicosatrienoic acid rescues deteriorated wound healing in diabetes[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(21): 11664.
- [11] 林江, 骆飞, 刘鹏, 等. 糖尿病动物皮肤损伤模型制备要素和受试物数据的文献分析[J]. *实验动物与比较医学*, 2021, 41(6): 515–520.
- [12] CANFORA E E, JOCKEN J W, BLAAK E E. Short-chain fatty acids in control of body weight and insulin sensitivity[J]. *Nat Rev Endocrinol*, 2015, 11(10): 577–591.
- [13] 樊炜静, 柳国斌. 糖尿病难愈性创面大鼠实验模型的研究进展[J]. *中医药学报*, 2020, 48(8): 76–80.
- [14] 贾湘隆, 徐旭英. 基于PI3K/AKT通路对回阳生肌膏促进糖尿病阴证疮面的微血管新生作用机制的初探[J]. *中华中医药杂志*, 2020, 35(2): 646–649.
- [15] TALABÉR G, JONDAL M, OKRET S. Extra-adrenal glucocorticoid synthesis: immune regulation and aspects on local organ homeostasis[J]. *Mol Cell Endocrinol*, 2013, 380(1/2): 89–98.
- [16] PAP R, UGOR E, LITVAI T, et al. Glucocorticoid hormone differentially modulates the in vitro expansion and cytokine profile of thymic and splenic Treg cells[J]. *Immunobiology*, 2019, 224(2): 285–295.
- [17] PRETE A, BANCOS I. Glucocorticoid induced adrenal insufficiency[J]. *BMJ*, 2021, 374: n1380.
- [18] ORAY M, SAMRA K, EBRAHIMIADIB N, et al. Long-term side effects of glucocorticoids[J]. *Expert Opin Drug Saf*, 2016, 15(4): 457–465.
- [19] LENGTON R, LYER A M, VAN DER VALK E S, et al. Variation in glucocorticoid sensitivity and the relation with obesity[J]. *Obes Rev*, 2022, 23(3): e13401.
- [20] 刘运华, 张新雪, 郑鹏飞, 等. 慢性肾脏病肾阳虚证“病证结合”大鼠模型的对比研究[J]. *世界科学技术-中医药现代化*, 2021, 23(11): 3897–3906.
- [21] 吴琪, 张新雪, 焦婷婷, 等. 慢性肾脏病肾阳虚证证候特征与临床生物学指标相关性危险因素[J]. *中国实验方剂学杂志*, 2022, 28(19): 204–213.
- [22] 张哲, 赵雯雯, 孙秀蕊, 等. 肉桂对肾阳虚大鼠下丘脑-垂体-靶腺轴相关mRNA表达及组织病理变化的影响[J]. *中华中医药学刊*, 2023, 41(4): 59–63, 264.
- [23] ELENA C, CHIARA M, ANGELICA B, et al. Hyperglycemia and diabetes induced by glucocorticoids in nondiabetic and diabetic patients: revision of literature and personal considerations[J]. *Curr Pharm Biotechnol*, 2018, 19(15): 1210–1220.
- [24] SCHOEPE S, SCHÄCKE H, MAY E, et al. Glucocorticoid therapy-induced skin atrophy[J]. *Exp Dermatol*, 2006, 15(6): 406–420.

- [25] JIAO Y, CHEN X, NIU Y, et al. Wharton's jelly mesenchymal stem cells embedded in PF-127 hydrogel plus sodium ascorbyl phosphate combination promote diabetic wound healing in type 2 diabetic rat[J]. Stem Cell Res Ther, 2021, 12(1):559.
- [26] 黄芳, 杨晶金, 王雪玲, 等. VEGF 和 bFGF 在大鼠压疮模型中的表达及其意义[J]. 中国病理生理杂志, 2012, 28(8):1504-1506.
- [27] REZA R, ASHRAFZADEH T M. The effects of low level laser therapy on Staphylococcus aureus infected third-degree burns in diabetic rats[J]. Acta Cirurgica Brasileira, 2016, 31(4):250.
- (收稿日期:2023-03-21)

Establishment of Wound Model of Diabetes Rats with Yin Syndrome

ZHOU Jiayu¹, CHEN Li¹, KANG Hanyun¹, DING Yarong¹, WANG Wei¹, YUAN Zhonghang¹,
LEI Jiaxin¹, ZHOU Zhongzhi^{2✉}

(1. Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, China;

2. The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha 410007, China)

【Abstract】 Objective: To explore the preparation method of wound model of diabetes rats with yin syndrome. Methods: 36 Sprague Dawley male rats were randomly divided into three groups: normal wound group (group A), group of diabetes and wound (group B), and group of diabetes and wound with yin syndrome (group C). 2 mL high-fat emulsion was administered by gavage for 14 days, 50 mg/kg STZ sodium citrate mixture was intraperitoneally injected once, and 2 mg/kg/d hydrocortisone was given by intramuscular injection. After 7 days, wound was made surgically. General condition of the animals, OGTT test, pancreatic tissue morphology, and wound healing rate were recorded. Results: The success rate of modeling for group C was 91.7%. Compared with group A, the blood glucose of group B and group C was significantly increased ($P < 0.05$), and there was insulin resistance in these 2 groups. Group C gave lower organ index than the other two groups ($P < 0.05$). HE staining of pancreatic tissue showed that the pancreatic tissue of rats in the group A was hypertrophic and the islets were intact, while the boundary of the islets in the group B and group C was blurred and the β cells were ablated. The wound healing rate was lower in group C than that in group A and group B ($P < 0.01$), and HE staining showed that the full-layer skin at the wound in group C was thinner than that in the group A and B. The epidermal growth was uneven, there were inflammatory cells infiltrated, and the cell arrangement was in disorder in group C. Conclusion: Based on this, we can establish a stable wound model of diabetes rats with yin syndrome.

【Key words】 Diabetes with yin syndrome; Streptozotocin; Hydrocortisone; Rat model